

海泥中硫酸盐还原菌数量变化对主要腐蚀环境因子的影响

朱永艳^{1,2}, 郑传波^{1,2}, 李言涛¹, 黄彦良¹

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

摘要: 海泥中硫酸盐还原菌 (Sulfate Reducing Bacteria, SRB) 数量的变化会对其主要腐蚀环境因子产生影响。实验室条件下, 在灭菌青岛海泥中加 SRB 菌种得到含 SRB 的海泥。在 SRB 的一个生长周期内, 测量了由 SRB 数量变化引起的硫电位、银电位、pH 值、氧化还原电位及电导率等主要腐蚀环境因子的变化, 并找出了该变化的规律, 探讨了通过腐蚀环境因子的变化测量 SRB 数量的可能性。

关键词: 海泥; 硫酸盐还原菌 (Sulfate Reducing Bacteria, SRB) 数量; 腐蚀因子
中图分类号: TG174 **文章标识码:** A **文章编号:** 1000-3096 (2006) 11-0037-04

硫酸盐还原菌 (Sulfate Reducing Bacteria, SRB) 能够促进氢渗透。研究表明, SRB 存在时渗氢电流是无 SRB 时的 3~4 倍^[1]。而材料中的氢能引起材料脆化, 导致裂纹的形成和扩展加速。

海底泥在海水的覆盖下处于缺氧状态, 加上丰富的有机质的存在, SRB 十分活跃。因此, 处于海泥环境中的金属有被腐蚀的危险。海泥中 SRB 数量不同, 对金属的腐蚀行为也不同, 直接表现为海泥中主要腐蚀环境因子的不同。这是因为 SRB 生长代谢过程中产生大量的生物和化学产物, 造成海泥中硫电位、银电位、pH 值、氧化还原电位及电导率等主要腐蚀环境因子的变化, 即海泥中 SRB 菌体数量与腐蚀环境因子具有一定的对应关系^[2]。

作者对 SRB 的培养采用密闭体系, 与外部环境无物质交换, 海泥的腐蚀环境因子变化皆由 SRB 代谢过程及其产物引起。

1 材料与方法

1.1 菌种及海水

实验用菌种采自渤海海域的海泥中; 实验用海水取自青岛汇泉湾。

1.2 实验用海泥的配制

富集培养 SRB, 得 SRB 菌种。在灭菌青岛海泥中加 SRB 菌种, 在生化培养箱中 30 °C 培养, 控制培养天数, 得到含有不同数量 SRB 的海泥。在每个 500 mL 广口瓶中加 400 mL 灭菌青岛海泥, 再加 20

mL 菌龄为 7 d 的 SRB 菌种, 搅拌均匀后加入 100 mL 培养基, 再次搅拌均匀。

1.3 海泥中 SRB 个数的测定

培养基: $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.5 g/L, NH_4Cl 1.0 g/L, Na_2SO_4 0.5 g/L, $CaCl_2$ 0.1 g/L, $MgSO_4$ 2.0 g/L, 乳酸钠 3.5 g/L, 酵母膏 1.0 g/L, 陈海水 1 L。用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值为 7.2 ± 0.2 ; 121 °C 蒸汽灭菌 20 min; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 7H_2O$ 1.2 g 和抗坏血酸 0.4 g, 分别溶于 121 °C 蒸汽灭菌 20 min 的 40 mL 蒸馏水中, 实验前每 100 mL 培养基中加入 1 mL 该溶液。

采用国家标准最大可能数 (MPN) 法对海泥中的 SRB 进行计数, 5 个平行管进行绝迹稀释。取一定量海泥, 用生理盐水按倍比稀释并分别接种于各试管, 灌满培养基, 用橡胶塞密封试管, 置 30 °C 生化培养箱中培养 7~21 d, 观察计数试管中 SRB 的个数, 试管或管底呈黑色者为阳性。

1.4 实验装置

腐蚀环境因子的测定实验在平行的 500 mL 广口瓶中进行, 瓶口用橡胶塞密封, 其中电导电极、

收稿日期: 2004-09-20; 修回日期: 2005-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40276032)

作者简介: 朱永艳 (1980-), 山东菏泽人, 博士研究生, 主要从事海洋结构用钢在海洋环境中腐蚀与防护研究, 电话: 0532-82898743, E-mail: zhuyongyan@ms.qdio.ac.cn; 黄彦良, 通讯作者, 电话: 0532-82898743, E-mail: hyl@ms.qdio.ac.cn

氧化还原电极、银电极通过在橡胶塞上打孔一直埋在海泥中,在 SRB 的一个生长周期内不取出。硫电位的测定是每次取出定量海泥,用抗氧络合剂稀释 100 倍,然后用硫离子选择电极的标准方法测定。

测定仪器为: DDS-11A 电导率仪, pHs-25 型 pH/mV 计。

实验中,所有电位均相对于饱和甘汞电极。

2 实验结果及讨论

2.1 SRB 的生长曲线

在海泥中不连续培养 SRB (只在接种时加入营养物质),一个生长周期内的生长曲线如图 1 所示。

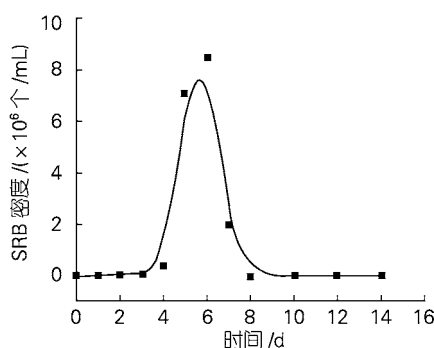


图 1 海泥中 SRB 的生长曲线

Fig.1 The growing curve of SRB in sea mud

从图 1 可以看出,在海泥中 SRB 生长数量变化大致可分为 3 个阶段: 0~6 d 为快速生长阶段,大量营养物质的加入,使 SRB 数量迅速增长,由刚接种时的 25 个/mL 增加到 8.5×10^6 个/mL,6 d 内增长了 5 个数量级; 7~10 d 为衰亡阶段,细菌仍在繁殖,但是原有细菌也在不断死亡,总趋势是细菌总量减少; 10 d 以后为残余阶段,细菌数量很少,但由于海泥中为厌氧环境,即使不再加入新的营养物质,活性菌体数量也能较长时间保持稳定^[3]。

2.2 硫电位的变化

SRB 新陈代谢最重要的特征是细菌把溶液中的硫酸盐转化为硫离子,导致海泥中硫离子质量浓度显著增加,而硫离子质量浓度增加又表现为硫电位的降低。图 2 表示硫电位在 SRB 的一个生长周期内的变化。

由图 2 可见,在接种后的前 6 d,硫电位随 SRB 的生长而迅速下降。在进入 SRB 的衰亡阶段后,SRB

活菌体不断减少,但是硫离子却不会消亡,在海泥中不断积累,所以硫电位在 SRB 逐渐衰亡后只是稍微有些减小。在 SRB 生长的残余阶段,硫电位只是发生稍微的波动,仍然保持在这一水平上。

由于硫离子具有很强的还原性,它的质量浓度变化将会影响海泥体系的氧化还原电位;在硫离子与其他代谢产物的共同作用下,其弱酸平衡方程式为:



加上弱酸平衡的存在,海泥体系的 pH 值和电导率也会发生变化。

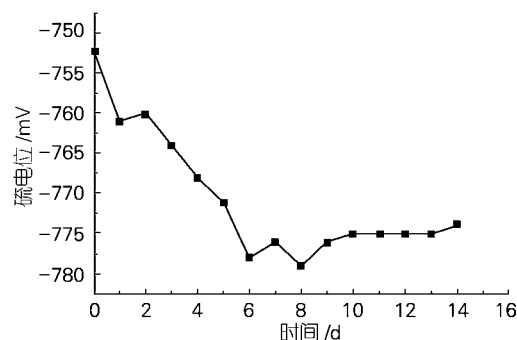


图 2 硫电位随 SRB 生长过程的变化

Fig.2 The change in $E(\text{S})$ with SRB growth

2.3 银电位的变化

测量银电位的目的是探索海泥 SRB 数量和银电位的关系,探讨通过测量银电位快速测量 SRB 数量的可能性。银电极对 SRB 的响应,可能也是对硫离子的响应, $2\text{Ag} + \text{S}^{2-} - 2\text{e}^- \rightarrow \text{Ag}_2\text{S}$, 由于 Ag_2S 具有极小的溶度积,该反应易发展进行,因此 Ag 电极对 SRB 的响应非常敏感。

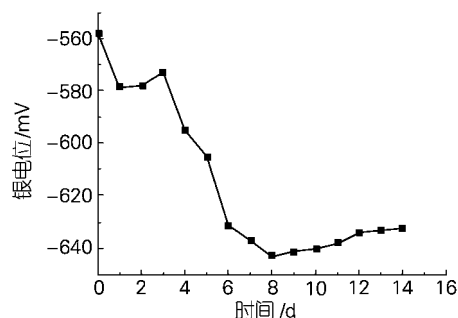


图 3 银电位随 SRB 生长过程的变化

Fig.3 The change in $E(\text{Ag})$ with SRB growth

从图 3 可以看出, 银电极电位变化范围达 90 mV, 而硫离子选择电极的电位变化范围仅为 30 mV, 这就为通过测量银电极电位测量 SRB 数量提供了方便条件。

实验表明, 银电极具有操作简单、响应快、与 SRB 数量线性关系显著等优点^[2]。黄彦良等^[4]依据银电极的此优点已发明实用新型专利硫酸盐还原菌测量传感器, 该传感器可以用于测量海水中 SRB 的数量。作者在此基础上探讨海泥中银电极电位与 SRB 数量的关系。

2.4 pH 的变化

pH 随 SRB 生长过程的变化如图 4 所示。由图 4 可见, 在一个生长周期内, SRB 的代谢活动并未使海泥的 pH 值发生较大波动, 溶液基本保持在中性或弱碱性范围内, 这是因为海泥和培养基本身都具有一定的缓冲性能。

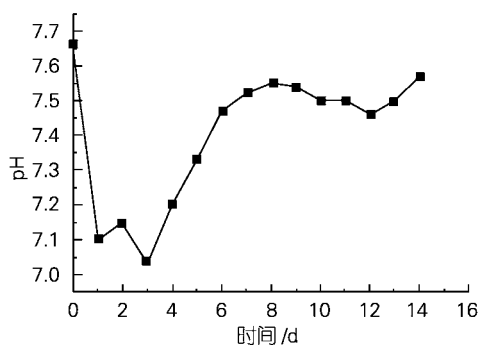


图 4 pH 随 SRB 生长过程的变化

Fig.4 The change in pH with SRB growth

在 SRB 生长的最初 3 d 内, 特别是接种后的第 1 天, 大量代谢产物生成, 代谢产物中的硫离子大部分以 H_2S 的形式存在, 导致海泥的 pH 值迅速下降; 在代谢产物增加的过程中, 弱酸平衡向硫离子增加方向移动, pH 值随之增加。SRB 的生长到达衰亡阶段后, 海泥体系的 pH 值发生轻微波动。在残余阶段, pH 值基本保持稳定。

2.5 氧化还原电位的变化

图 5 为含 SRB 海泥中, 氧化还原电位值随 SRB 生长过程的变化曲线。由图 5 可知, 在 SRB 生长的最初 4 d 里, 氧化还原电位值由最初的 -333 mV 达到 -470 mV, 达到第 6 天以后, 基本保持在同一水平上。

氧化还原电位值的变化表明硫化物浓度的增加是体系的还原能力增强的直接原因。即使 SRB 活性降低, 只要体系内硫离子质量浓度不再变化, 则氧化还原电位值将一直保持在一个基本稳定的水平。

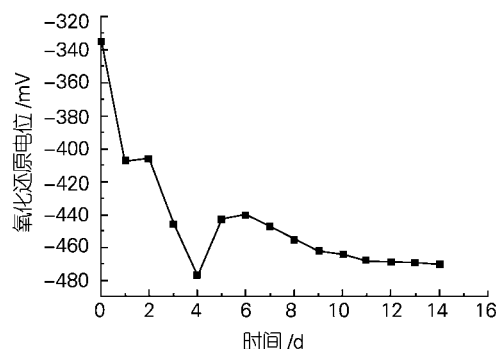


图 5 氧化还原电位随 SRB 生长过程的变化

Fig.5 The change in Oxidation Reduction Potential(ORP) with SRB growth

电导率随 SRB 生长过程的变化如图 6 所示。由图 6 可见, 电导率在 SRB 的生长周期内变化不大, 仅有 $2.39 \mu\text{S}/\text{cm}$ 。在 SRB 的快速生长阶段, 海泥体系的电导率快速变小; 在生长的衰亡阶段, 由于 SRB 仍在繁殖, 所以电导率仍有所下降; 在生长的残余阶段, 电导率基本保持稳定。

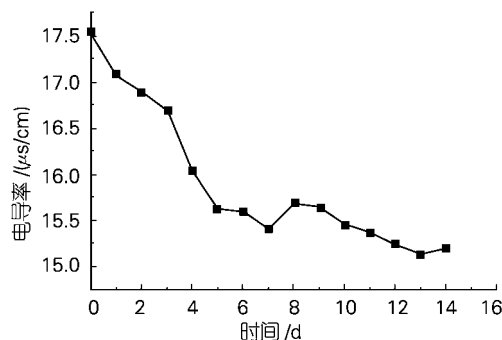
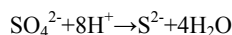


图 6 电导率随 SRB 生长过程的变化

Fig.6 The change in conductivity with SRB growth

2.6 电导率的变化

硫酸盐还原菌阴极去极化作用公式为:



水的分解: $8\text{H}_2\text{O} \rightarrow 8\text{H}^+ + 8\text{OH}^-$

反应产物: $\text{Fe}^{2+} + \text{S}^{2-} \rightarrow \text{FeS}$

$3\text{Fe}^{2+} + 6\text{OH}^- \rightarrow 3\text{Fe}(\text{OH})_2$

总反应:

$5\text{Fe}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeS} + 4\text{Fe}(\text{OH})_2$

可见, 在 SRB 生长过程中, 培养基中的 Fe^{2+} 和 SO_4^{2-} 被消耗。由于 SRB 的新陈代谢是一个非常复杂的过程, 代谢产物的组成也很复杂, 包括大量的生物和化学物质。代谢产物导致体系的电导率有所下降, 其机理有待进一步研究。

3 结论

(1) 在海泥中, SRB 的一个生长周期分 3 个特征阶段: 快速生长阶段、衰亡阶段和残余阶段; (2) 在 SRB 的快速生长期, 海泥中 SRB 活性菌体的数量与代谢产物硫离子的含量成正比, 表现为与硫电位、银电位、pH 值、氧化还原电位和电导率等主要腐蚀环境因子成反比; (3) 在 SRB 的衰亡阶段, 硫电位、

银电位、pH 值、氧化还原电位和电导率等主要腐蚀环境因子基本不再发生大的变化, 但由于 SRB 仍在繁殖, 加上弱酸平衡的存在, 腐蚀环境因子也发生轻微的变化; (4) 在 SRB 的残余阶段, 各种主要腐蚀环境因子一直保持在一个相对稳定的水平上。

参考文献:

- [1] Edyven R G J, Benson J, Thomas C J, *et al.* Biological influences on hydrogen effects in steel in seawater[J]. *Materials Performance*, 1998, 37(4): 40.
- [2] 严莉. 海水环境中硫酸盐还原菌与金属电化学状态相关性研究[R]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2004.
- [3] 张经磊, 侯保荣, 刘玉珊, 等. 海泥中 SRB 对 A₃ 钢电偶效应的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2000, 31(4): 448-452.
- [4] 黄彦良. 一种硫酸盐还原菌测量传感器[P]. 中国: ZL02 2 75306.0, 2003, 8, 27.

The change in corrosion parameter with SRB growth in sea mud

ZHU Yong-yan^{1,2}, ZHENG Chuan-bo^{1,2}, LI Yan-tao¹, HUANG Yan-liang²

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. The Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Received: Sep., 20, 2004

Key words: sea mud; Sulfate-Reducing Bacteria; corrosion parameter

Abstract: In this paper, the relation between the growth of SRB in sea mud and the main corrosion parameter has been studied. SRB was cultured and enriched in originated sea mud from Bohai gulf using culture medium in laboratory. Then, we can get various sea muds containing SRB of different concentrations. And our aim is to determine the changes of corrosion parameters with SRB growth and find rules of the changes by drawing figures.

(本文编辑: 谭雪静)