

УДК 620.193.8

DOI: 10.17072/2223-1838-2020-1-84-93

Н.А. Медведева, С.Ю. Баландина, А.Г. Бортник, М.Д. Плотникова, Н.Ю. Лисовенко
Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

О ВОЗМОЖНОСТИ ВЛИЯНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ НА КОРРОЗИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ УГЛЕРОДИСТОЙ СТАЛИ

Определено, что в нефтепромысловых районах Пермского края пробы воды и грунта содержат микромицеты различного рода. Выявлены и идентифицированы Penicillium, Aspergillus, Trichoderma. Влияние микромицетов на коррозию стали исследовали методом грибостойкости. Установлено, что присутствие Penicillium, Aspergillus, Trichoderma вызывает существенные коррозионные разрушения конструкционной углеродистой качественной стали марки Ст20. Характер коррозионных разрушений устанавливали методом оптической микроскопии. Показано, что области поражения микромицетами имеют неравномерный характер коррозионных разрушений с отдельными точечными и язвенными поражениями поверхности Ст20. Установлено изменение интенсивности нарастания микромицетов различного рода на стали от времени экспозиции.

Ключевые слова: биокоррозия; микромицеты; коррозионные разрушения стали

N.A. Medvedeva, S. Yu. Balandina, A.G. Bortnik, M.D. Plotnikova, N.Yu. Lisovenko
Perm State University, Perm, Russia

ON THE POSSIBILITY OF INFLUENCE OF MICROMYCETES ON CORROSION BEHAVIOR OF CARBON STEEL

It is determined that in the oil field regions of the Perm Territory, water and soil samples contain micromycetes of various kinds. Penicillium, Aspergillus, Trichoderma were identified and identified. The effect of micromycetes on steel corrosion was investigated using the fungus resistance method. It was established that the presence of Penicillium, Aspergillus, Trichoderma causes significant corrosion damage to structural carbon steel quality grade St20. The nature of corrosion damage was determined by optical microscopy. It was shown that the areas affected by micromycetes have an uneven nature of corrosion damage with individual point and ulcerative lesions of the St20 surface. The change in the intensity of the growth of micromycetes of various kinds on steel from the time of exposure was established.

Keywords: biocorrosion; micromycetes; corrosion damage to steel

Введение

Биоповреждения металлов принято называть микробиологической коррозией (биокоррозией) металлов. Биоповреждение металлов под воздействием микроорганизмов может происходить различными путями: за счет непосредственного воздействия продуктов метаболизма микроорганизмов на металл [1]; через образование органических продуктов, которые могут действовать как деполяризаторы или катализаторы коррозионных реакций; путем, при котором коррозионные реакции являются отдельной частью метаболического цикла микроорганизмов [2–3].

В основе биокоррозионного действия, безусловно, находятся ферментативные процессы, регулируемые, в основном, такими ферментами, как оксидоредуктаза и гидролаза. Ферментативная активность проявляется в водной среде, при этом вода, достаточная для коррозионного процесса, может вноситься самим микроорганизмом [4]. Биологическая коррозия в зависимости от вида микроорганизмов делится на бактериальную и микологическую, а также может быть смешанной. Микологическая коррозия — разрушение металлов и металлических покрытий при воздействии агрессивных сред, формирующихся в результате жизнедеятельности мицелиальных (несовершенных, плесневых) грибов [5].

Микромицеты создают коррозионно-активную среду, в которой в присутствии воды протекает коррозия по обычным законам электрохимии. Колонии микроорганизмов могут создавать на поверхности металлов наросты и пленки мицелия или слизи, под

которыми может развиваться язвенная (питтинговая) коррозия в результате разности электрических потенциалов на различных участках поверхности металла и ассимиляции ионов металлов самими микроорганизмами. В период развития плесневые грибы содержат более 90 % воды, кроме того, они сильно гигроскопичны и притягивают из атмосферы большое количество влаги. В результате выделения грибами кислых продуктов обмена (койевой, итаконовой, лимонной, щавелевой и других кислот) происходит коррозия поверхностей [6].

Среди многочисленных контаминантов антропогенного происхождения, попадающих в окружающую среду, нефть и нефтяные углеводороды занимают одно из приоритетных мест [7]. Их повсеместная распространенность в промышленных регионах оказывает негативное воздействие на почву, растительность и атмосферный воздух, поверхностные и подземные воды. Большинство исследований, проведенных в различных биоклиматических зонах, свидетельствуют, что почвенные микроорганизмы отвечают на умеренное углеводородное загрязнение повышением валовой численности и усилением активности [8].

Известно об устойчивости к нефтяным углеводородам родов микромицетов — *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Trichoderma*. Доминирующие в нефтезагрязненных почвах микромицеты в подавляющем большинстве являются условно-патогенными формами [9].

Таким образом, целью работы является оценка возможности влияния различных микромицетов и их скорости нарастания на

характер коррозионных разрушений углеродистой стали.

Экспериментальная часть

В местах нефтяных загрязнений Пермского края были отобраны следующие пробы: вода реки Пыж, отобранная выше по течению Лукойл-Пермнефтеоргсинтез; вода реки Пыж, отобранная ниже по течению Лукойл-Пермнефтеоргсинтез; место нефтяного загрязнения почвы береговой линии реки Пыж; почва около д. Зуята, подвергнутая нефтяному загрязнению. С помощью метода почвенных разведений Ваксмана [10] был осуществлен посев субстратной суспензии на питательные среды Чапека и Сабуро [11]. Через 14 суток выявлены и идентифицированы наиболее встречаемые в пробах микромицеты.

Для идентификации грибов использовался метод светового микроскопирования, с помощью микроскопа «Микромед» с цифровой камерой TourCam и программным обеспечением Tour View с последующим определением рода с использованием микологических атласов и определителей [12–13].

Влияние микромицетов на коррозию стали исследовали с помощью метода изучения грибостойкости. В качестве образцов использовали сталь конструкционную углеродистую качественную марки Ст20. Стальные образцы площадью 4 см² перед заражением спорами грибов тщательно шлифовали на наждачной бумаге SIA с зернистостью 500, 1000, 2000, 2500 с последовательным уменьшением зернистости. После чего образцы обезжиривали этиловым спиртом, высушивали и взвешивали на аналитических весах.

Для оценки грибостойкости готовили водную суспензию спор грибов: *Aspergillus*, *Penicillium* и *Trichoderma*, выращенных в течение 14 дней, при температуре 29±1° С на скошенной твердой питательной среде Чапека. Споровая нагрузка каждого гриба в дистиллированной воде была приготовлена по стандарту мутности Мак-Фарланда с использованием денситометра ОП=1,0 равной 10⁹ микробных клеток/мл. Водную суспензию спор каждого рода микромицетов использовали для заражения опытных стальных образцов, помещенных на дно чашек Петри. Разложенные образцы с помощью пульверизатора орошали водной суспензией спор грибов до полного увлажнения, не допуская слияния капель. Зараженные образцы помещали в предварительно подготовленные эксикаторы, на дно которых налита вода и далее термостатировали при температуре 29±2 °С и относительной влажности более 90 % в течение 8 суток [14].

В процессе испытаний через 5 и 8 суток визуально оценивали варианты образцов на наличие или отсутствие роста грибов. Контролем служили чистые стальные образцы, не зараженные культурами грибов. После испытаний образцы извлекали из эксикатора, взвешивали и осматривали визуально, характер коррозионных разрушений был исследован с использованием оптического микроскопа «OLYMPUS BX51M» с системой визуализации изображения.

Скорость нарастания микромицетов на поверхности стали оценивали гравиметрически.

Экспериментальные результаты

Выделение и идентификация микромицетов

Для экспериментальных исследований были проанализированы пробы воды и почвы на наличие микромицетов. Выделенные чистые культуры были идентифицированы методом оптической микроскопии (рис.1). Анализ результатов позволил говорить о наличии в пробах следующих микромицетов: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*.

На рис. 1,а приведены макро- и микрофотография культур, выделенных из проб. Представлены фотографии чистых выделенных культур *Penicillium*, *Aspergillus* и *Trichoderma*, которые впоследствии для изучения процессов биокоррозии переносили на стальную поверхность.

Образцы, отобранные из почвы д. Зуята были контаминированы преимущественно микромицетами рода *Penicillium*. Колонии примерно 2,5–3 см плоские, в центральной части складчатые, оливково-серого цвета. Экссудат в виде пурпурных капель. Микроморфология: конидиеносцы мелко-шероховатые, многократно разветвленные. Кисточки с веточками и метулями, образующимися в разных узлах. Конидии круглые.

В результате микологического исследования установлено, что в образце (пробы почвы у р. Бым) содержалось

значительное количество плесневых грибов родов *Aspergillus* и *Trichoderma*.

Макро- и микроморфология *Aspergillus*: колонии плоские, диаметром 3–4 см, желтовато-кремового цвета, обратная сторона пурпурно-красного оттенка. Экссудат отсутствует. Конидиальные головки короткоколонковидные. Конидиеносцы светло-коричневые, гладкие. Вздутие полушаровидное, фиалиды двухъярусные. Конидии шаровидные.

Trichoderma – колонии быстрорастущие, достигают 9 см в диаметре, желтовато-зеленого цвета, на обратной стороне не окрашены. Мицелий состоит из бесцветных, гладких, ветвистых гиф. Конидиеносцы ветвистые, веточки отходят под углом. Стеригмы гладкие, короткие грушевидные. Конидии бледно-зеленые, продолговатые.

Необходимо отметить, что максимальная концентрация жизнеспособных спор микромицетов выделена из пробы почвы, взятой у р. Бым. Данное обстоятельство может свидетельствовать о наибольшем биологическом загрязнении почвы, а также о том, что микромицеты в таких условиях наиболее приспособляемые и агрессивные.

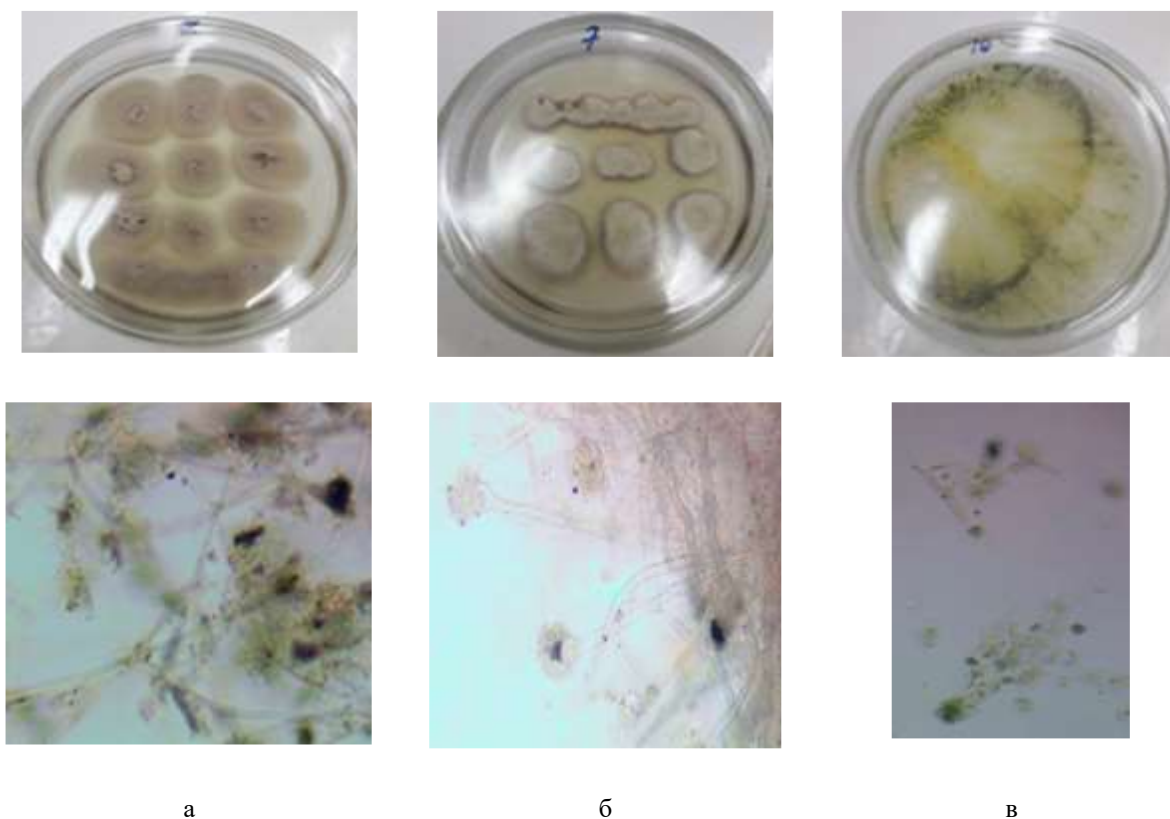


Рис. 1. Выделенные микромицеты из мест нефтяного загрязнения:
а – *Penicillium*, б – *Aspergillus*, в – *Trichoderma*

Коррозионные испытания

Влияние микромицетов на коррозию стали изучали с помощью методов лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов. После пятидневной экспозиции на поверхности Ст20 невооруженным глазом заметно развитие микромицетов и продуктами коррозии (рис. 2). На рис. 3,б–3,г для каждого гриба ареал распространения имеет различную площадь, что впоследствии оказывает влияние на глубину коррозионных разрушений. Образцы, с нанесенными на них суспензии спор

Penicillium и *Trichoderma*, почти на половину поверхности покрыты пленкой мицелия, которая с течением времени утолщается и стремится занять большую площадь. Однако локализация колоний микромицетов на поверхности Ст20 между ними отличается: так, для *Penicillium* имеет место формирование сплошных единичных образований, а для *Trichoderma* наблюдается равномерное распределение колоний. В случае *Aspergillus* локализация распространения мицелия заполняет объемные дефекты поверхности стали.

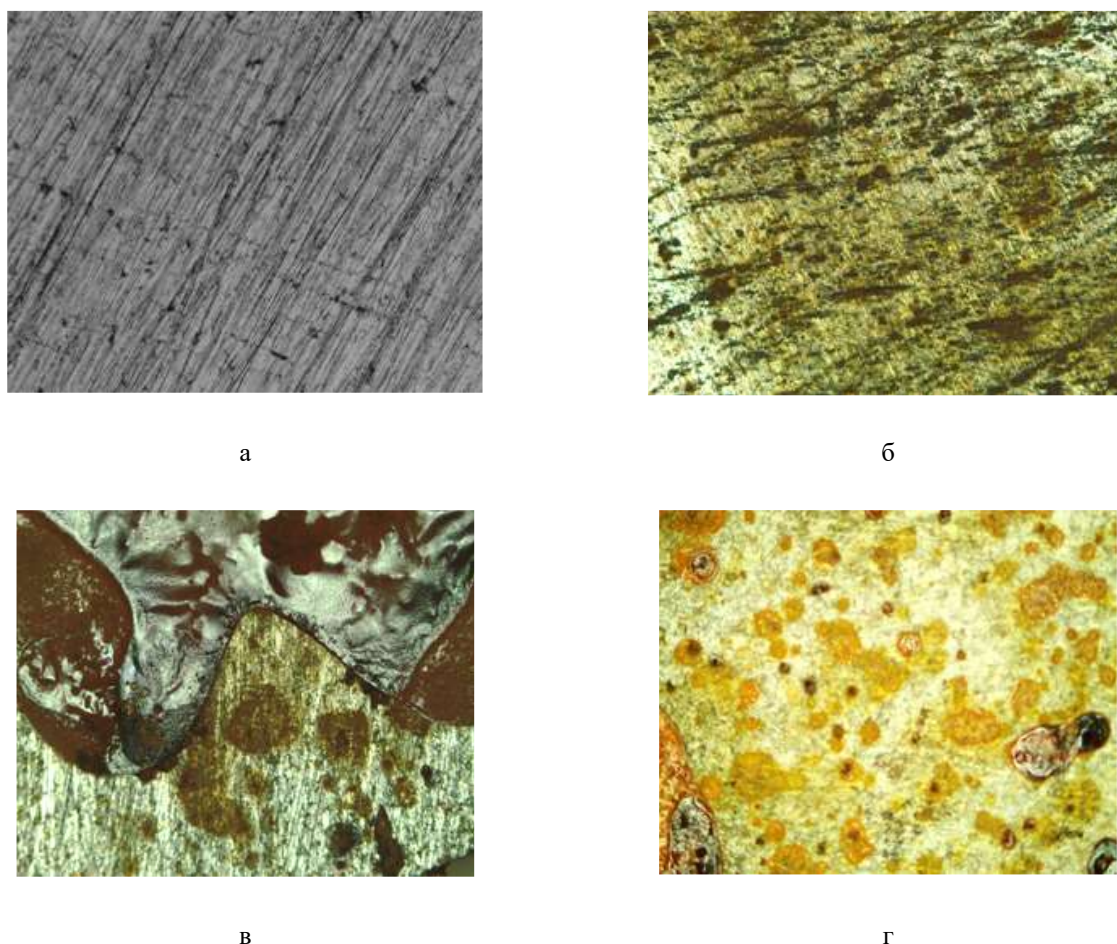


Рис. 2. Поверхность образцов Ст20 до (а) коррозионных испытаний и после воздействия микромицетов в течение 5 суток: б – *Aspergillus*, в – *Penicillium*, г – *Trichoderma*

Результаты микроскопических исследований коррелируют с гравиметрическими данными по скорости нарастания микромицетов (рис. 3). Через 5 суток исследований скорость нарастания *Aspergillus* составляет примерно 0,4 мг/см²·сут, а *Penicillium* и *Trichoderma* 0,5 и 0,7 мг/см²·сут соответственно. Спустя 8 суток картина кардинально меняется: скорость нарастания *Aspergillus* заметно возрастает до 1,1 мг/см²·сут, тогда как *Penicillium* и *Trichoderma* снижается до 0,25 и 0,44 мг/см²·сут соответственно. Это, вероятно, связано с дефицитом питательной среды в случае *Trichoderma* и *Penicillium*, мицелий которых,

согласно микроскопическим исследованиям (рис. 2), занимает большую поверхность стали, чем *Aspergillus*.

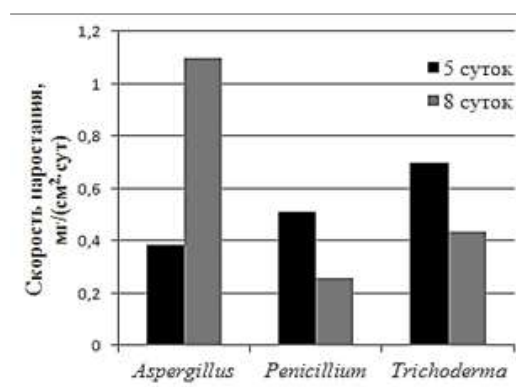


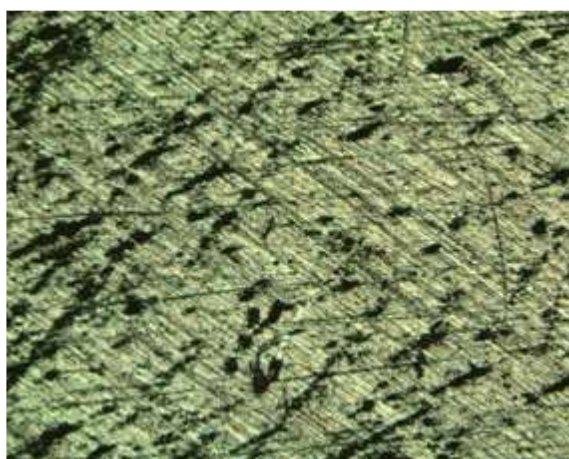
Рис. 3. Изменение интенсивности нарастания микромицетов различного рода на стали от времени экспозиции

Для оценки характера коррозионных разрушений было проведено удаление микромицетного слоя и продуктов коррозии. Результаты представлены на рис. 4.

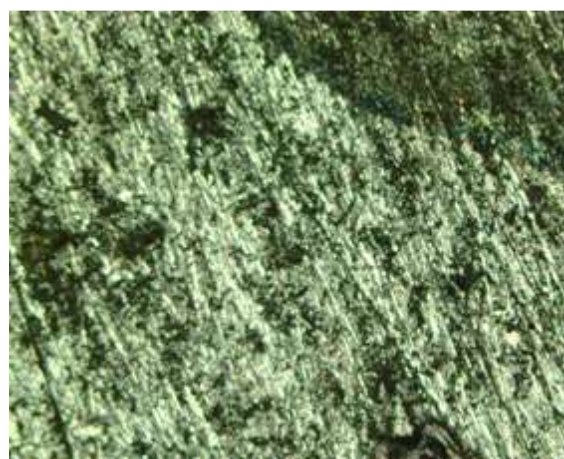
В случае *Aspergillus* и *Penicillium* наблюдается неравномерный характер коррозионных разрушений с отдельными точечными и язвенными поражениями поверхности Ст20. Размер местных коррозионных разрушений соответствует площади покрытия поверхности образцов пленками мицелия. В случае *Penicillium*

язвенные разрушения имеют больший размер, по сравнению с *Aspergillus*, где преобладают питтинговые поражения.

В случае воздействия на стальную поверхность *Trichoderma* при увеличении $\times 250$ сложно оценить характер коррозионных разрушений (рис. 4,в). Однако при больших увеличениях можно наблюдать значительный растрав поверхности образца (рис.5), что скорее всего вызвано воздействием продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, которые могут вызывать изменения pH среды [15].



а



б



в

Рис. 4. Характер коррозионных разрушений Ст20 после воздействия микромицетов в течении 5 суток: а – *Aspergillus*, б – *Penicillium*, в – *Trichoderma*. Увеличение $\times 250$

Высокий уровень коррозионных разрушений всеми идентифицированными микромицетами также обусловлен адаптацией к экстремальным условиям (отсутствие питательных веществ в ходе роста), что приводит к образованию вторичных метаболитов и проявлению широкого спектра экзоферментной активности микромицетов.

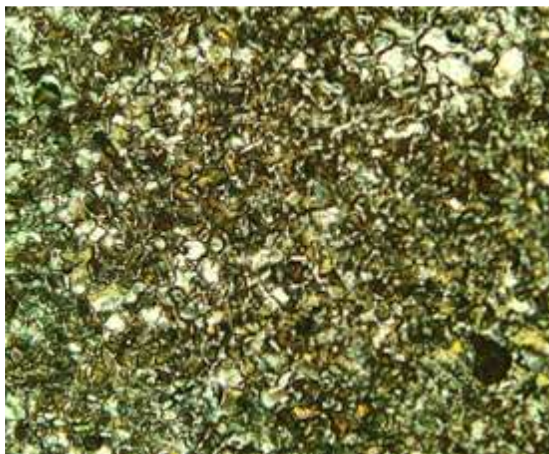


Рис. 5. Поверхность образцов Ст20 после удаления микромицетного слоя *Trichoderma*.

Время экспозиции 5 дней, увеличение $\times 1000$

Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют о существенном негативном воздействии микромицетов родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* на конструкционную углеродистую качественную марки Ст20. Выделенные из проб почвы и воды в местах нефтяных загрязнений Пермского края микромицеты за незначительный промежуток времени (5–8 дней) вызывают существенные коррозионные разрушения материала. Полученные результаты предполагается использовать при разработке ингибиторов биокоррозии и комплексном исследовании их эффективности.

Библиографический список

1. Little B., Wagner P., Mansfeld F. Pages Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys // International Materials Reviews Vol. 36. 1991 Issue 1. 253–272.
2. Пехташева Е. Л., Неверов А. Н., Заиков Г. Н., и др. Микробиологическая коррозия металлов и защита от нее // Вестник Казанского технологического университета. 2012. С. 131–137.
3. Javed M. A., Neil W. C., McAdam G., Wade S.A. Effect of sulphate-reducing bacteria on the microbiologically influenced corrosion of ten different metals using constant test conditions // International Biodeterioration & Biodegradation. 2017 125 73-85.
4. Джамалова Г.А., Ерназарова А.К., Мусина У.Ш., и др. Анализ условий и факторов, влияющих на биокоррозию металлов // Научное обозрение. Реферативный журнал. 2018. № 2. С. 5–15.
5. Колесникова Н. Н., Луканина Ю. К., Хватов А. В., и др. Биологическая коррозия металлических конструкций и защита от нее // Вестник Казанского технологического университета. 2013. С. 170–174.
6. Андреюк Е.И., Билай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и ее возбудители. Киев: Наук. Думка, 1980. 286 с.
7. Андреева, Д.Д., Фахрутдинов, Р.З. Коррозионно-опасная микрофлора нефтяных месторождений // Вестник Казанского технологического университета. 2013. №10. С. 237–242.
8. Шаркова, Т.В, Колоколова, Н.Н., Боме, Н.А. Коррозионно-опасная микрофлора грунтов околотрубного пространства нефтяных месторождений Западной Сибири // Вестник Тюменского государственного университета. 2009. № 3. С. 194–200.
9. Донерьян Л.Г., Водянова М.А., Тарасова Ж.Е. Микроскопические почвенные грибы – организмы-биоиндикаторы нефтезагрязненных почв // Гигиена и санитария. 2016. С.891–894.
10. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 552 с.
11. Поляк М. С., Сухаревич В.И., Сухаревич М. Э. Питательные среды для медицинской микробиологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008. 350 с.
12. Билай В.И., Курбацкая З.А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев: Наука Думка, 1990. 236 с.

13. Ринальди М., Саттон Д. Фотергилл А. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. Изд.: Мир, 2001. 486 с.
14. ГОСТ 9.048-89 «Единая система защиты от коррозии и старения (ЕСЗКС). Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов».
15. Hongchang Qian, Dawei Zhang, Yuntian Lou, et al. Laboratory investigation of micro-biologically influenced corrosion of Q235carbon steel by halophilic archaea *Natronorubrum tibetense* // *Corrosion Science* 145 (2018) 151–161.

References:

1. Little B., Wagner P. and Mansfeld F. (1991), “Microbiologically influenced corrosion of metals and alloys”, *International Materials Reviews*, vol. 36, Issue 1, pp. 253-272.
2. Pekhtasheva E. L., Neverov A. N., Zaikov G. N., Sofyina S. U., Deberdeev R. Y. and Stoyanov O. V. (2012), “Microbiological corrosion of metals and protection against it” // *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, pp. 131-137.
3. Javed M. A., Neil W. C., McAdam G. and Wade S.A. (2017), “Effect of sulphate-reducing bacteria on the microbiologically influenced corrosion of ten different metals using constant test conditions”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, no. 125, pp. 73-85.
4. Dzhamalova G.A., Ernazarova A.K., Musina U.S., Sertaj S.A., Serikov T.A. (2018), “Analysis of conditions and factors affecting biocorrosion of metals”, *Nauchnoe obozrenie. Referativnyj zhurnal*, no. 2, pp. 5-15.
5. Kolesnikova N. N., Lukanina Y. K., Hvatov A. V., Lihachev A. N., Popov A. A., Zaikov G. E., Abzal'dinov H.S. (2013), “Biological corrosion of metal structures and protection against it”, *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, pp. 170-174.
6. Andreyuk E.I., Bilaj V.I., Koval' E.Z., Kozlova I.A. (1980) *Mikrobnaya korroziya i ee vzbuditeli* [Microbial corrosion and its causative agents], Naukova Dumka, Kiev, Ukraine.
7. Andreeva, D.D., Fahrutdinov, R.Z. (2013), “Corrosion-hazardous microflora of oil fields”, *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, no.10, pp.237—242.
8. Sharkova, T.V, Kolokolova, N.N., Bome, N.A. (2009), “ Corrosion-hazardous microflora of soils near the pipe space of oil fields in Western Siberia”, *Vestnik Tyumenskogo gosudarstvennogo universiteta*, no.3, pp.194—200.
9. Doner'yan L.G., Vodyanova M.A., Tarasova Z.E. (2016), “Microscopic soil fungi - bio-indicators of oil-contaminated soils”, *Gigiena i sanitariya* [Hygiene and sanitation], pp.891 – 894.
10. Bilaj V.I. (1982), *Metody eksperimental'noj mikologii* [Methods of experimental mycology], Naukova Dumka, Kiev, Ukraine.
11. Polyak M. S., Suharevich V.I., Suharevich M. E. (2008), *Pitatel'nye sredy dlya medicinskoj mikrobiologii* [Nutrient media for medical microbiology], ELBI-SPb, St.-Petersburg, Russia.
12. Bilaj V.I., Kurbackaya Z.A. (1990) *Opredelitel' toksinoobrazuyushchih mikromicetov* [Determinant of toxin-forming micromycetes], Naukova Dumka, Kiev, Ukraine.
13. Rinaldi M., Satton D., Fotergill A. (2001), *Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov* [Key to pathogenic and conditionally pathogenic fungi], Mir, Moskow, Russia.
14. ГОСТ 9.048-89 “Edinaya sistema zashchity ot korrozii i stareniya (ESZKS). Izdeliya tekhnicheskie. Metody laboratornyh ispytaniy na stojkost' k vozdeystviyu plesnevyyh gribov” [Unified system of protection against corrosion and aging (ESZKS). Technical products. Mold Testing Methods].
15. Hongchang Qian, Dawei Zhang, Yuntian Lou, Ziyu Li, Dake Xu, Cuiwei Du and Xiaogang Li. (2018), “Laboratory investigation of micro-biologically influenced corrosion of Q235carbon steel by halophilic archaea *Natronorubrum tibetense*”, *Corrosion Science*, no. 145, pp. 151–161.

Об авторах

Медведева Наталья Александровна,
кандидат химических наук
Пермский государственный национальный
исследовательский университет
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
nata-kladova@yandex.ru

Баландина Светлана Юрьевна,
заведующий лабораторией «Бактерицид»,
кафедра фармакологии и фармации
Пермский государственный национальный
исследовательский университет
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
bactericid@yandex.ru

Бортник Алиса Георгиевна,
Магистрант кафедры физической химии
Пермский государственный национальный
исследовательский университет
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
oscuraSangre@gmail.com

Плотникова Мария Дмитриевна,
кандидат химических наук
Пермский государственный национальный
исследовательский университет
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
plotnikova-md@mail.ru

Лисовенко Наталья Юрьевна,
кандидат химических наук, доцент
кафедра фармакологии и фармации
Пермский государственный национальный
исследовательский университет
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.
lisovn@mail.ru

About the authors

Medvedeva Natalia Aleksandrovna,
candidate of chemistry
Perm State University
15, Bukireva st., Perm, Russia, 614990
nata-kladova@yandex.ru

Balandina Svetlana Yurievna,
Head of the Laboratory "Bactericide",
Department of pharmacology and pharmacy,
Perm State University
15, Bukireva st., Perm, Russia, 614990
bactericid@yandex.ru

Bortnik Alice Georgievna,
Magistr of chemistry
Perm State University
15, Bukireva st., Perm, Russia, 614990
oscuraSangre@gmail.com

Plotnikova Mariia Dmitrievna,
candidate of chemistry,
Perm State University.
15, Bukireva st., Perm, Russia.
plotnikova-md@mail.ru

Lisovenko Natalya Yuryevna,
Candidate of Chemical Sciences, Associate
Professor, Department of pharmacology and
pharmacy,
Perm State University
15, Bukireva st., Perm, Russia, 614990.
lisovn@mail.ru

Информация для цитирования:

Медведева Н.А., Баландина С.Ю., Бортник А.Г., Плотникова М.Д., Лисовенко Н.Ю. О возможности влияния микромицетов на коррозионное поведение углеродистой стали // Вестник Пермского университета. Серия «Химия». 2020. Т. 10, вып. 1. С. 84–93. DOI: 10.17072/2223-1838-2020-1-84-93.

Medvedeva N.A., Balandina S.Iu., Bortnik A.G., Plotnikova M.D., Lisovenko N.Iu. *O vozmozhnosti vliianiia mikromitsetov na korrozionnoe povedenie uglerodistoi stali* [On the possibility of influence of micromycetes on corrosion behavior of carbon steel] // Vestnik Permskogo universiteta. Seriya «Khimiya» = Bulletin of Perm University. Chemistry. 2020. Vol. 10. Issue 1. P. 84–93 (in Russ.). DOI:10.17072/2223-1838-2020-1-84-93.