

富营养化淡水中黑色金属试样腐蚀加速的微生物学机制研究

吕博学, 崔佳鑫, 毛旭辉, 甘复兴

(武汉大学 资源与环境科学学院, 武汉 430079)

摘要:目的 探究黑色金属在污染淡水中后期腐蚀加速规律的生物学机制。方法 采用高通量测序分析 A3 钢在富营养化水体和清洁水体中腐蚀产物内微生物的种群结构, 并结合元素分析和 XPS 分析。结果 获得了 A3 钢的腐蚀产物内微生物的门水平物种分布柱状图、OTU 估计数统计表、OTU 韦恩图、硫酸盐还原菌各属的相对丰度、微生物属水平热图数据。结论 在富营养化水体中, 硫酸盐还原菌呈现更显著的水平, 造成金属的硫化腐蚀更为严重, 验证了黑色金属在富营养化污染淡水水体中后期腐蚀速率反转加速的现象。

关键词:富营养化; 金属腐蚀; 高通测序; 硫酸盐还原菌

DOI: 10.7643/issn.1672-9242.2017.02.004

中图分类号: TJ04; TG172

文献标识码: A

文章编号: 1672-9242(2017)02-0019-05

Microbiological Mechanisms for Accelerated Corrosion of Black Metals in Eutrophic Fresh Water

LYU Bo-xue, CUI Jia-xin, MAO Xu-hui, GAN Fu-xing

(School of Resource and Environmental Sciences, Wuhan University, Wuhan 430079, China)

ABSTRACT: **Objective** To explore the biological mechanism for acceleration rules in later corrosion of black metal in polluted fresh water. **Methods** High-throughput sequencing was used for the first time to analyze the microbial community structure in the corrosion products of A3 steel in eutrophic and clean water, combining elements analysis and XPS analysis. **Results** Data on corrosion products of A3 steel were obtained, including the microbial species distribution histogram on gate level, statistical tables of OTU estimate number, OTU Wayne map, relative abundances for each genus of sulfate-reducing bacteria and microbial infrared images on genus level. **Conclusion** Sulfate-reducing bacteria in corrosion products are more significant in eutrophic water, causing more serious metal sulfide corrosion. Finally, the phenomenon of reversed acceleration corrosion in later corrosion of black metal in polluted eutrophic fresh water is verified.

KEY WORDS: eutrophication; metal corrosion; high-throughput sequencing; sulfate-reducing bacteria

我国的淡水资源短缺, 而淡水水体污染的程度之深、范围之广, 已逐渐成为环境污染中的一个突出问题。富营养化是水污染的一种常见形式, 水体中氮、磷等营养水平超出水生生态系统的自净能力, 从而造成水体中浮游植物大量增加、溶解氧消耗以及特定鱼

种和沉水植物减少等一系列负面影响^[1-2]。淡水环境是金属材料服役的重要场所, 而淡水水体富营养化之后, 其水质环境的变化必然会引起结构金属的腐蚀行为的改变^[3-4]。

通过多年的清洁水体和污染水体的现场挂片试

验,对比发现碳钢黑色金属在富营养化污染淡水水体中前期腐蚀速度比清洁淡水水体低,而后期则会发生腐蚀速率反转加速^[5]。R. E. Melchers 等认为^[6-7],黑色金属在自然水体中的腐蚀分为几个阶段,其中第一阶段和第二阶段都是与氧浓度有关的好氧腐蚀过程,氧的扩散速率对于这两个阶段的腐蚀起到决定性作用。腐蚀的第三阶段是好氧向厌氧腐蚀的转换阶段,而第四阶段则是黑色金属的厌氧腐蚀线性阶段。在富营养化水体中,溶解氧的浓度低,因此,在初期阶段可以观测到富营养化水体中黑色金属的腐蚀速率更低,而在厌氧腐蚀阶段,金属腐蚀与水体污染程度的相关性尚不明确。

通过多年的淡水挂片发现,富营养化淡水中黑色金属的厌氧腐蚀更加显著,说明富营养化水体中存在造成黑色金属厌氧腐蚀加速的因素。S.A. Main 和 T.H. Arnold 在早期发现,硫酸盐还原菌(SRB)参与了碳钢的腐蚀^[8]。考虑到金属的垢下厌氧腐蚀与微生物密

切相关,对全浸3年的金属试样的腐蚀产物进行了取样研究,首次采用高通量生物测序,分析了腐蚀产物内微生物的种群结构。研究结果为探索黑色金属在污染淡水中的后期腐蚀加速规律的生物学机制,提供了有价值的线索。

1 实验方法

按照 GB 5776—1986《金属材料在表面海水中常规暴露腐蚀试验方法》,制备了 Q235 钢试样。对钢样进行 6, 12, 18, 24, 30, 36 个月等 6 个周期挂片试验。全浸腐蚀试验的地点选择在武汉东湖的沙滩浴场全浸挂样点(轻度富营养化水体)和湖南龙源水库(一类清洁水体)。两个挂样点的水质参数见表 1,一般认为总氮(TN)质量浓度 ρ_{TN} 为 0.2 mg/L、总磷(TP)质量浓度 ρ_{TP} 为 0.02 mg/L 是判定水体富营养化的标准^[9]。

表 1 现场腐蚀挂片试验点水质情况

	pH	溶解氧/(mg·L ⁻¹)	ρ_{CODMn} /(mg·L ⁻¹)	ρ_{TN} /(mg·L ⁻¹)	ρ_{TP} /(mg·L ⁻¹)	电导率/($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	$\rho_{\text{硫酸根}}$ /(mg·L ⁻¹)
湖南龙源水库	6.8~7.3	10.9~11.5	< 5	<0.1	<0.02	2.89×10^2	12
东湖沙滩浴场	7.2~7.9	6.8~4.7	15~26	0.5~1.2	0.4~1.2	3.18×10^2	22

注:根据2个年度内8次水质分析结果给出的均值或者范围。

淡水环境挂片样品的腐蚀产物取样与高通量测序分析。将在水体中浸没 36 个月的样品从水体中取出(东湖和龙源水库两处的现场挂片样),去除表面覆盖的藻类和泥沙,采集样品底部的锈层(样品 a 为污染水体的样品,样品 b 为清洁水体的样品)。冷冻保存后,在 1 个星期内进行腐蚀产物中微生物的高通量测序分析,比较二者的细菌种群差异,特别是硫酸盐还原菌的分布情况。腐蚀产物的 C, H, N, S 元素分析采用 Elementarvario EL-III 元素分析仪器, XPS 分析采用 Thermo Scientific 公司的 Escalab 250Xi 型号测试仪。

2 实验结果与讨论

2.1 富营养化淡水中黑色金属腐蚀反转加速的现象

图 1 给出了 A3 钢样在富营养化水体和清洁水体中 4 年期挂样的腐蚀速率的对比。在全浸试验第一时间阶段(0~580 天),金属在富营养化水体的腐蚀速率要低于清洁水体;在 580 天以后,相对于清洁水体, A3 钢的腐蚀速率增加更为明显,呈现出后期“反转加速”的规律。在 4 年的试验周期内, A3 钢在富营养化淡水中腐蚀减薄达到 0.13mm,而在清洁水体中腐蚀只有 0.09mm。这一结果表明,对于湖泊、水库等淡

水水体环境中的钢结构材料,富营养水质条件会加速金属材料的腐蚀。A3 钢金属材料在全浸 580 天后,已经形成较厚的腐蚀层,因此,腐蚀过程主要是垢下的厌氧腐蚀过程。考虑到这一过程与硫酸盐还原菌等微生物过程密切相关,因此需要采用分子生物学手段进一步研究。

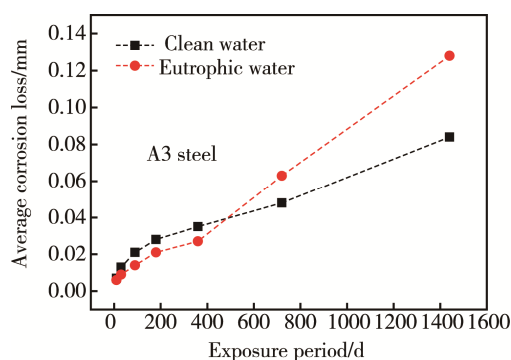


图 1 富营养化水体中 A3 钢样腐蚀后期反转加速的现象^[5]

2.2 金属试样腐蚀产物中微生物的高通量测序分析

硫酸盐还原菌(Sulfate-Reducing Bacteria, 简称 SRB)是一类能把硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐等硫化物以及元素硫还原形成硫化氢的细菌统称^[10]。它广泛存在于土壤、海水、河水、地下管道以及油气

井等缺氧环境中，在无氧或极少氧情况下，能利用金属表面的有机物作为碳源，并利用细菌生物膜内产生的氢作为主电子给体，将硫酸盐还原成硫化氢，从氧化还原反应中获得生存的能量^[11—13]。相比于清洁水体，富营养化水体中有机物增多导致微生物大量生长繁殖，消耗掉水中的溶解氧使得水体含氧量下降，同时营养水平增加，形成微生物的共代谢物质，有利于硫酸盐还原菌等厌氧性微生物的生长。

两个样品（样品 a 为富营养化水体金属样的内层腐蚀产物，样品 b 为清洁水体的对试样）在门水平的物种分布如图 2 所示，可以看出，微生物的种类以及各微生物的序列数，即各微生物的相对丰度。微生物群落中存在最多的为蓝藻细菌门（Cyanobacteria）、变形菌门（Proteobacteria）和拟杆菌门（Bacteroidetes），这三类微生物的总相对丰度在两个样品中都达到了 80% 以上。

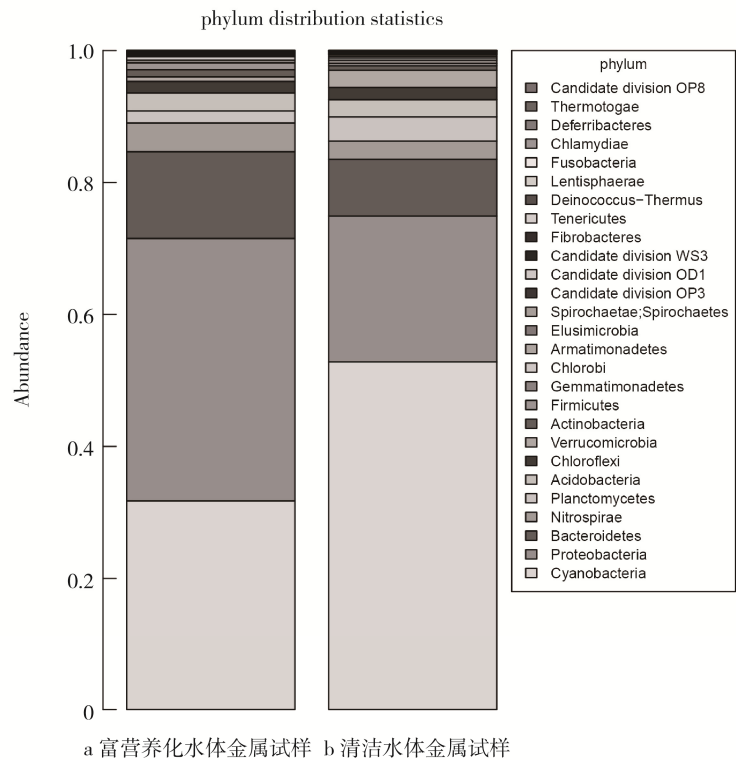


图 2 门水平物种分布

该研究在 97% 相似水平下的 OTU 进行生物信息统计分析^[14]，见表 2。样品 a 和样品 b 中被分入所有 OTU 中的总优化序列数（Reads）分别为 21501 和 21079，而样品优化序列划分得到的 OTU 数目则分别为 3621 和 4336。表明样品 a（污染水体中金属的内层腐蚀产物）的微生物种类相比于样品 b（清洁水体金属的内层腐蚀产物）较少。表 2 中 Reads SRB 表示被分入硫酸盐还原菌的总优化序列数，样品 a 和样品 b 中的序列数分别为 333 和 63，在一定程度上显示污染水体样品中硫酸盐还原菌的数量高于清洁水体样品。OTUSRb 表示在划分得到的 OTU 中硫酸盐还原

菌的 OTU 数目，可以看出，在污染水体样品腐蚀产物中硫酸盐还原菌的 OTU 数目要高于清洁水体样品，即样品 a 硫酸盐还原菌的种类也要多于样品 b。

图 3 表示的是污染水体金属试样（样品 a）和清洁水体金属试样（样品 b）腐蚀产物中硫酸盐还原菌

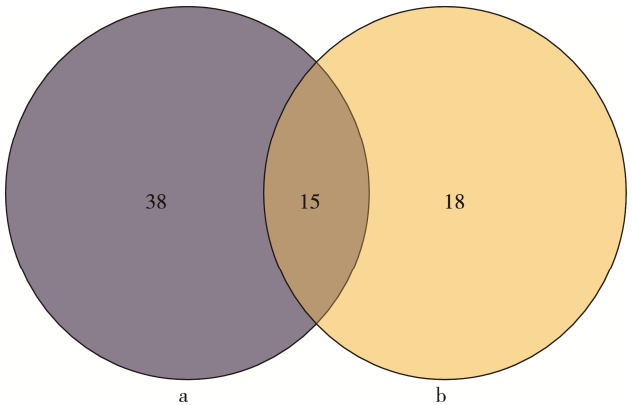


图 3 全浸试样腐蚀产物中的硫酸盐还原菌 OTU 韦恩图

表 2 样品中 OTU 估计数统计(97%的相似水平)

SampleID	Reads	OTU	ReadsSRB	OUTSRB
污染水体腐蚀产物（样品 a）	21501	3621	333	53
清洁水体腐蚀产物（样品 b）	21079	4336	63	33

OTU 数目的韦恩图,显示金属试样硫酸盐还原菌总的 OTU 数目为 71。其中两种环境下腐蚀产物都含有的硫酸盐还原菌 OTU 的数目为 15, 污染水体腐蚀产物独有的数目为 38, 清洁水体独有的数目为 18。

通过测序分析,还发现的硫酸盐还原菌分布在以下目:绿菌目(Chlorobiales)、脱硫盒菌目(Desulfarculales)、脱硫杆菌目(Desulfobacterales)、脱硫弧菌目(Desulfovibrionales)、硫还原菌目(Desulfurellales)、除硫单胞菌目(Desulfuromonadales)和互营杆菌目(Syntrophobacterales)。其中数量最多的为脱硫弧菌目(Desulfovibrionales),脱硫弧菌目(Desulfovibrionales)下面包括四个科,分别为脱硫弧菌科(Desulfovibrionaceae)、脱硫化卤菌科(Desulfobacteriaceae)、脱硫化微菌科(Desulfomicrobiaceae)和脱硫化苏打菌科(Desulfonatronumaceae)。样品中所有的脱硫弧菌属均为脱硫弧菌科(Desulfovibrionaceae)中的脱硫弧菌属(Desulfovibrio),其对应的序列总数为 182, 占硫酸盐还原菌对应序列总数(333)的 54.7%。表 3 显示的是硫酸盐还原菌在属水平上的相对丰度,同样说明在样品 a 中硫酸盐还原菌的量要多于样品 b。由上述的分析可以看出,硫酸盐还原菌群落中的优势菌种为脱硫弧菌属,并且在污染水体样品的腐蚀产物中,硫酸盐还原菌无论从种类和数量来说,都呈现更加显著的水平。

从两个样品的属水平热图(如图 4 所示)可以看出,样品中微生物群落的差异性。图 4 中脱硫弧菌属

表 3 在属水平上硫酸盐还原菌各属的相对丰度

Classification	Name	Abundance	
		污染水体样品 a	清洁水体样品 b
Genus	Desulfovibrio	0.008 371 704	0.000 094 881
	Desulfobulbus	0.000 465 095	0.000 094 881
	Desulfobacca	0.000 139 528	0.000 047 441
	Desulfarculus	0.000 093 019	0
	Desulfocapsa	0.000 046 509	0
	Desulfobacula	0	0.000 047 441
	Desulfuregula	0.000 046 509	0

(Desulfovibrio)在样品 a 和样品 b 中分别为浅灰色和黑色,这反映出脱硫弧菌属在样品 a(即污染水体腐蚀产物)中丰度较高,而在样品 b(清洁水体样品)中很低。

在自然环境中,氮磷等营养元素能够促进微生物的繁殖,这已经是公认的现象,也是氮磷水平较高的水体容易发生水华现象的原因。例如,磷是合成核酸、磷脂、一些辅酶及高能磷酸化合物的重要原料,细菌在有磷源培养基中的生长繁殖,明显比在无磷源培养基中的好^[15-16]。富营养化水体中有丰富的氮、磷物质和小分子有机物,这些物质能够渗透到腐蚀产物的内层,促进腐蚀产物中包括硫酸盐还原菌在内的微生物生长。因此,可以观测到在富营养化水体中金属内层腐蚀产物中,硫酸盐还原菌的种类和丰度都呈现更高的水平。该研究采用高通量测序这一先进手段,进一步提供了在自然腐蚀条件下氮磷水平促进硫酸盐还原菌繁殖的证据。

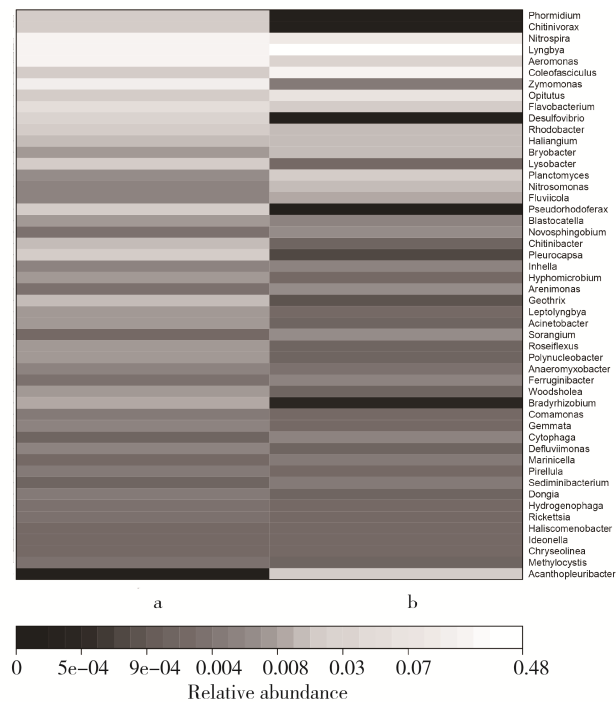


图 4 全浸试样腐蚀产物中的微生物属水平热图

2.3 腐蚀产物的元素分析和 XPS 分析

高通量测序的结果充分说明在富营养化淡水中,金属内层腐蚀产物中广泛存在硫酸盐还原菌。进一步分析内层腐蚀产物的硫元素含量,特别是低价硫元素的存在(因为水体中不含有低价硫),能够确证硫酸盐还原菌是否对金属加速腐蚀产生了作用。表 4 是富营养化水体(样品 a)和清洁水体(样品 b)金属试样底层腐蚀产物的元素分析结果。可以看出,富营养化水体中金属腐蚀产物的 C, N 含量明显增高, S 含量也高于清洁水体。进一步采用 XPS 研究了靠近金属基体界面的腐蚀产物,结果(如图 5 所示)能够清楚地反映出,富营养化水体中金属腐蚀产物包含 SO_4^{2-} , $-\text{HS}$ 和 S^{2-} , 而清洁水体的样品中仅含有 SO_4^{2-} 。SBR 在生长和繁殖过程中可将 SO_4^{2-} 还原为 H_2S , 从而确证了富营养化水体中金属的厌氧腐蚀过程的发生。因此,在腐蚀发生的后期,硫酸盐还原菌的活性在富营养化水体中更强,造成硫化物增多,使得金属的腐蚀加剧。

表 4 金属挂片试样表面腐蚀产物元素分析 %

样品编号	C	H	S	N
样品 a (富营养水体试样腐蚀产物)	2.44	0.912	0.696	0.15
样品 b (清洁水体试样腐蚀产物)	0.36	0.627	0.616	0.00

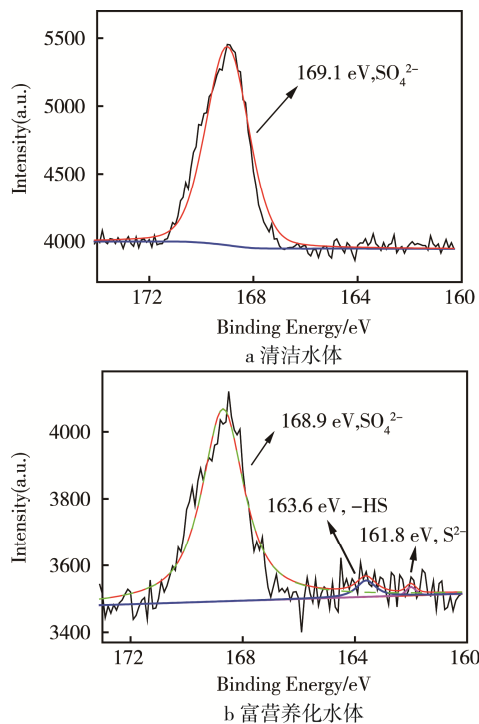


图 5 两种水体中金属腐蚀产物的 S2p3/2 XPS 光谱及峰^[17]

3 结论

在富营养化水体中,黑色金属腐蚀产物中的硫酸

盐还原菌,在种类和数量上都呈现更显著的水平,并且硫酸盐还原菌群落中的优势菌种为脱硫弧菌属。在金属腐蚀的后期,腐蚀垢下的厌氧腐蚀已经成为金属腐蚀减薄的主要原因。由于富营养化水体中,氮磷的营养水平更高,造成硫酸盐还原菌繁殖更多、活性更高,造成金属的硫化腐蚀更为严重,出现了腐蚀速率高于清洁水体的反转加速现象。从富营养化水体的腐蚀产物中检出了金属硫化物,证实了这一推断的正确性。综上所述,通过该实验的研究工作,确证了黑色金属在富营养化淡水中后期反转加速的现象,并通过高通量测序、腐蚀产物分析,进一步明确了氮磷水质环境中硫酸盐还原菌在后期反转加速中的作用。

参考文献:

[1] NYENJE P, FOPPEN J, UHLENBROOK S, et al. Eutrophication and Nutrient Release in Urban Areas of Sub-Saharan Africa—A Review [J]. Science of the Total Environment, 2010, 408(3): 447—455.

[2] SMITH V H, SCHINDLER D W. Eutrophication Science: Where Do We Go from Here? [J]. Trends in Ecology and Evolution, 2009, 24(4): 201—207.

[3] AL-HAJJI J, REDA M. The Corrosion of Copper-Nickel Alloys in Sulfide-polluted Seawater: the Effect of Sulfide Concentration[J]. Corrosion Science, 1993, 34(1): 163—177.

[4] MELCHERS R E. Effect of Nutrient-based Water Pollution on the Corrosion of Mild Steel in Marine Immersion Conditions[J]. Corrosion, 2005, 61(3): 237—245.

[5] JIANG R, TANG D, ZHAO Y, et al. Immersion Corrosion of Mild Steel and Low Alloy Steel in Eutrophic Freshwater Lakes[J]. Materials Performance, 2014, 53(9): 58—59.

[6] MELCHERS R E. The Effects of Water Pollution on the Immersion Corrosion of Mild and Low Alloy Steels[J]. Corrosion Science, 2007, 49(8): 3149—3167.

[7] MELCHERS R E. Modelling Immersion Corrosion of Structural Steels in Natural Fresh and Brackish Waters[J]. Corrosion Science, 2006, 48(12): 4174-4201.

[8] MAIN S, ARNOLD T. The Corrosion of Steel in Estuarine Tropical Waters[J]. Journal of the Iron and Steel Institute, 1950, 165(3): 268—275.

[9] 金相灿, 刘鸿亮, 屠清瑛. 中国湖泊富营养化[M].北京: 中国环境科学出版社, 1990:343.

[10] 闵航, 陈美慈, 赵宇华. 厌氧微生物学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1993.

[11] HAO O J, CHEN J M, HUANG L, et al. Sulfate-reducing Bacteria[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1996, 26(2): 155—187.

[12] MIZUNO O, LI Y, NOIKE T. The Behavior of Sulfate-reducing Bacteria in Acidogenic Phase of Anaerobic Digestion[J]. Water Research, 1998, 32(5): 1626—1634.

[13] 布坎南 RE, 吉本斯 NE. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 万方数据资源系统. 1984.

[14] 叶丹丹, 樊萌萌, 关琼, 等. 宏基因组研究的生物信息学平台现状[J]. 动物学研究, 2012, 33(6): 574—585.

[15] 胡家骏, 周群英. 环境工程微生物学[M]. 北京:高等教育出版社, 1988: 72.

[16] 王国惠, 单爱琴. 环境工程微生物学[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.

[17] STRUIS R P W J, SCHILDHAUER T J, CZEKAJ I. Sulphur Poisoning of Ni Catalysts in the SNG Production from Biomass: A TPO/XPS/XAS Study [J]. Applied Catalysis A, General, 2009, 362(1): 121—9.