

*Наталія ДЕМЧЕНКО¹, Світлана ТКАЧЕНКО¹, Анатолій ВАСИЛЬЧЕНКО²,
Станіслав ДЕРЕВ'ЯНКО², Олександр ТРЕТЯК¹*

ІНГІБУВАННЯ БІОКОРОЗІЇ МАЛОВУГЛЕЦЕВОЇ СТАЛІ НАНОЧАСТИНКАМИ ZnO

¹*Національний університет «Чернігівський колегіум» імені Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, м. Чернігів, 14013, Україна.*

²*Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НАН України
вул. Шевченка, 9, м. Чернігів, 14000, Україна. E-mail: nata_demch@ukr.net*

*Nataliya DEMCHENKO¹, Svetlana TKACHENKO¹, Anatolii VASYLCHENKO²,
Stanislav DEREVIANKO², Oleksandr TRETIAK¹*

INHIBITION OF LOW-CARBON STEEL BIOCORROSION BY ZnO NANOPARTICLES

¹*T.H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium"
53, Hetmana Polubotka St., 14013, Chernihiv, Ukraine.*

²*Institute of Agricultural Microbiology and Agro-industrial Production of NAS of Ukraine
97, Shevchenka St., 14027, Chernihiv, Ukraine. E-mail: nata_demch@ukr.net*

ABSTRACT

Possibility of the use of ZnO nanoparticles for the inhibition of microbial corrosion with simultaneous inhibition of sulfate-reducing bacteria activity has been shown, which can be considered as a new alternative for the prevention of the microbial corrosion of steel.

Influence of ZnO nanoparticles on microbial corrosion of steel in neutral aqueous-saline medium under the presence of bacteria of sulfidogenic group and monoculture of sulfate-reducing bacteria of *Desulfovibriosp.* M-4.1 strain has been described in the work.

Both sulfate-reducing bacteria of *Desulfovibriosp.* M-4.1 strain and sulfidogenic bacterial association were negatively influenced by ZnO nanoparticles. Addition of ZnO nanoparticles to the corrosion medium at concentration 0,03 mg/ml does not inhibit the process of corrosion, but the sulfate-reducing activity is suppressed. Increasing the concentration of nanoparticles to 0,03 mg/ml the rate of steel corrosion inhibits by 5,2 – 6,7 times. Protective effect is up to 85%. Suppression of the activity of planktonic and biofilm forms of corrosion active bacteria has been observed.

KEY WORDS: *biocorrosion, strains of sulphate-reducing bacteria Desulfovibriosp.M-4.1, sulfidogenic association, nanoparticles, corrosion inhibitor, zinc oxide.*

ВСТУП

Наночастинки оксидів металів являють собою новий клас важливих матеріалів, які все частіше розробляються для використання в наукових дослідженнях та застосуваннях, пов'язаних з різними сферами діяльності людини. Останні досягнення в галузі нанотехнологій, зокрема, можливість одержання високо упорядкованих наночастинок металів будь-якого розміру і форми, призвели до розвитку нових підходів щодо застосування їх як біоцидних засобів. Дослідження показали, що препарати наночастинок можуть бути використані як ефективні бактерицидні засоби та матеріали у медицині [1, 2].

В останні роки в якості антикорозійних засобів часто використовують наночастинки (НЧ) металів та їх оксидів. Механізми захисту від корозії можуть бути різні, проте, переважно НЧ здатні заповнювати дефекти на поверхні матеріалів, розміщуючись в щілинах і тріщинах, тим самим захищаючи метал від агресивних агентів. Їх використовують як індивідуально, так і в складі розчинів органічних інгібіторів [3-5].

Мета роботи - дослідити вплив наночастинок ZnO на мікробну корозію сталі у нейтральному водно-сольовому середовищі за присутності бактерій сульфідогенного угруповання та монокультури сульфатвідновлювальних бактерій штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для дослідження процесів мікробної корозії маловуглецевої сталі за присутності наночастинок ZnO (концентрації 0,03 mg/ml та 0,3 mg/ml) та визначення їх впливу на розвиток бактерій досліди проводили у рідкому середовищі Постгейта «В» (СП), інокульованому сульфідогенним мікробним угрупованням (СМУ) та сульфатвідновлювальними бактеріями штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1. Як контроль використовували середовище Постгейта «В» за присутності бактерій без наночастинок.

Було оцінено ефективність застосування наночастинок ZnO в якості інгібіторів мікробної корозії маловуглецевої сталі СтЗпс. Наночастинок синтезовано методом ерозійно-вибухового диспергування. Середній діаметр одержаних частинок оксиду цинку складав 30 – 60 nm. Для утворення рівномірної колоїдної системи всі наночастинок оксиду металу ресуспендували стерильно у подвійно дистильованій воді застосовуючи ультразвук [6]. Усі експерименти проводилися зі свіжоприготовленої колоїдної суспензії.

Дослідження проводилися гравіметричним та мікробіологічними методами.

Гравіметричні корозивні дослідження проводили в герметичних ємностях зі зразками (19 cm²) маловуглецевої сталі СтЗпс в стерильному поживному середовищі Постгейта «В», інокульованому сульфідогенним мікробним угрупованням та бактеріями штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1. Склад мікробного угруповання визначали методом граничних розведень при висіві клітинної суспензії на відповідні рідкі елективні середовища. Сульфатвідновлювальні бактерії (СВБ) виділяли на середовищі Постгейта «В», залізівідновлювальні бактерії (ЗВБ) – на середовищі Каліненка, денітрифікувальні бактерії (ДНБ) – на середовищі Гільтая. Асоціантами переважальних сульфатвідновлювальних бактерій (10⁶ cf/ml) в сульфідогенному мікробному угрупованні є денітрифікувальні (10⁷ cf/ml) та залізівідновлювальні (10⁶ cf/ml) бактерії. Як монокультуру досліджували сульфатвідновлювальні бактерії штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1, виділені нами із сульфідогенного природного угруповання феросфери та ідентифіковано молекулярно-біологічними методами.

Перед дослідом зразки сталі знежирювали ацетоном і активували (занурення на 20 s у 6 N розчин H₂SO₄), після досліду обробляли механічно та хімічно для видалення продуктів корозії з їх поверхні. За втратою маси зразків розраховували швидкість корозії (K_m , g/(m² × h)), коефіцієнт гальмування корозивного процесу ($\gamma_m = K_m / K_m'$, де K_m та K_m' – швидкість корозії зразків без та за присутності інгібітору) та ступінь захисту металу від корозії ($Z_m = (1 - 1/\gamma_m) \times 100\%$). Культивування проводили за температури 28 ± 2 °C впродовж 14 days.

У процесі дослідження мікробної корозії сталі також оцінювали чисельність корозійно активних бактерій в планктоні та біоплівці (метод граничних десятикратних розведень), концентрацію H₂S (метод йодометричного титрування). При виконанні експерименту дотримувались способу зберігання сірководню: мінімальний час взяття проби, герметично закриті корки, перед відбором проби струшування та перемішування стерильною піпеткою. Відносний ступінь впливу НЧ на сульфатредукцію бактерій розраховували за формулою: $S = ((C - C')/C) \times 100\%$, де S – відносний ступінь впливу НЧ на сульфатредукцію; C' та C – середня концентрація сірководню в досліджуваній і контрольній пробі відповідно, mg/l.

Статистичне опрацювання результатів експерименту проведено для рівня значущості 0,05 з врахуванням нормального t-розподілення; повторність дослідів триразова. Відносна похибка не перевищує 10%.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що за внесення в корозивне середовище наночастинок ZnO у концентрації 0,03 mg/ml процес мікробної корозії не інгібується але спостерігається пригнічення сульфатвідновлювальної активності бактерій: концентрація біогенного сірководню зменшується в 2,8 рази порівняно з контролем (табл. 1). При цьому чисельність СВБ в планктоні за присутності НЧ не змінюється, але їх фізіологічна активність знижується: відносний ступінь впливу НЧ на бактеріальну сульфатредукцію становить 77,6 %. Показано,

що вплив НЧ ZnO (0,03 mg/ml) на розвиток корозійно активних бактерій в планктоні та біоплівці різний за умов мікробної корозії сталі, індукованої сульфідогенним угрупованням (рис. 1). Так, чисельність ЗВБ та ДНБ в планктоні знижується на порядок. Встановлено негативний вплив НЧ ZnO на бактерії біоплівки: кількість СВБ, ДНБ та ЗВБ зменшується на два, один та три порядки відповідно. Отже, встановлено, що бактерії сформованої на поверхні металу біоплівки виявилися більш чутливими до НЧ ZnO концентрацією 0,03 mg/ml. Це є необхідною умовою для інгібіторів мікробної корозії металів. Ультрамалі розміри НЧ металів обумовлюють підвищення біодоступності, подолання біобар'єрів, можливість зв'язування з нуклеїновими кислотами та білками, вбудовування у мембрани клітин, проникнення в органели зі зміною їх функцій, що призводить до зниження функціонування мікроорганізмів [5], зокрема бактерій сульфідогенного мікробного угруповання. Потрібно зауважити, що вказаної концентрації біоциду недостатньо для стійкого пригнічення росту бактерій.

Таблиця 1. Показники процесу мікробної корозії сталі Ст3пс за присутності наночастинок ZnO
Table1. Indices of microbial St3ps steel corrosion in the presence of ZnO nanoparticles

Варіант дослідю	$K_m, g/(m^2 \times h)$	γ_m	Вміст H_2S , mg/l	S, %
СП+СМУ (контроль)	$(15,9 \pm 1,2) \times 10^{-3}$	-	501,5 \pm 2,3	-
СП+СМУ+НЧ (0,03 mg/ml)	$(16,5 \pm 0,5) \times 10^{-3}$	0,96	181,9 \pm 1,5	63,7
СП+СМУ+НЧ (0,3 mg/ml)	$(2,4 \pm 0,3) \times 10^{-3}$	6,6	112,3 \pm 0,9	77,6
СП+ <i>Desulfovibriosp.</i> М-4.1(контроль)	$(16,8 \pm 0,9) \times 10^{-3}$	-	334, 8 \pm 0,7	-
СП+ <i>Desulfovibriosp.</i> М-4.1+НЧ (0,3 mg/ml)	$(3,1 \pm 0,4) \times 10^{-3}$	5,2	80,5 \pm 0,9	76,0

Примітка «-» - показник не розраховується

При збільшенні концентрації НЧ ZnO до 0,3 mg/ml швидкість біокорозії сталі, індукованої сульфідогенним мікробним угрупованням, гальмується в 6,6 рази. Захисний ефект становить 85,0%. При цьому виявляється інгібуєчий ефект НЧ ZnO на розвиток бактерій сульфідогенного угруповання: кількість СВБ та ЗВБ в планктоні зменшилась на п'ять порядків порівняно з контролем, а ДНБ не виявлено (рис. 1). Визначено, що НЧ ZnO впливають на сульфатвідновлювальну активність бактерій: ступінь пригнічення склав 77,6% (накопичення сірководню за присутності наночастинок в корозивному середовищі зменшується в 4,5 рази). Чисельність СВБ в біоплівці за присутності НЧ знижується на три порядки, а ЗВБ – на один порядок.

Отже, під впливом НЧ ZnO концентрацією 0,3 mg/ml розвиток бактерій сульфідогенного мікробного угруповання в планктоні та біоплівці пригнічується, тобто спостерігається біоцидна дія наночастинок ZnO щодо корозійно активних бактерій. Це є необхідною умовою для інгібіторів-біоцидів мікробної корозії сталі.

Сульфатвідновлювальні бактерії є переважальною групою в сульфідогенному мікробному угрупованні та основними продуцентами біогенного сірководню. При цьому склад мікробного середовища визначає ефективність інгібіторів-біоцидів. Тому наступним етапом роботи була оцінка процесу біокорозії маловуглецевої сталі, індукованої монокультурою сульфатвідновлювальних бактерій штаму *Desulfovibriosp.* М-4.1, за присутності наночастинок ZnO концентрацією 0,3 mg/ml.

Результати проведених нами досліджень показали, що ведення в корозивне середовище НЧ ZnO концентрацією 0,3 mg/ml, пригнічується функціонування сульфатвідновлювальних бактерій штаму *Desulfovibriosp.* М-4.1. Продуктування біогенного сірководню знижується в 4,2 рази. При цьому швидкість мікробної корозії сталі зменшується в 5,2 рази. Захисний ефект становить 81,0%. Чисельність бактерій за дії НЧ знижується, але їх вплив на планктонну та біоплівкову форми життєдіяльності різний. Так, за присутності НЧ ZnO спостерігається зменшення чисельності бактерій в планктоні на 5 порядків та а в біоплівці – на 4 порядки порівняно з контролем.

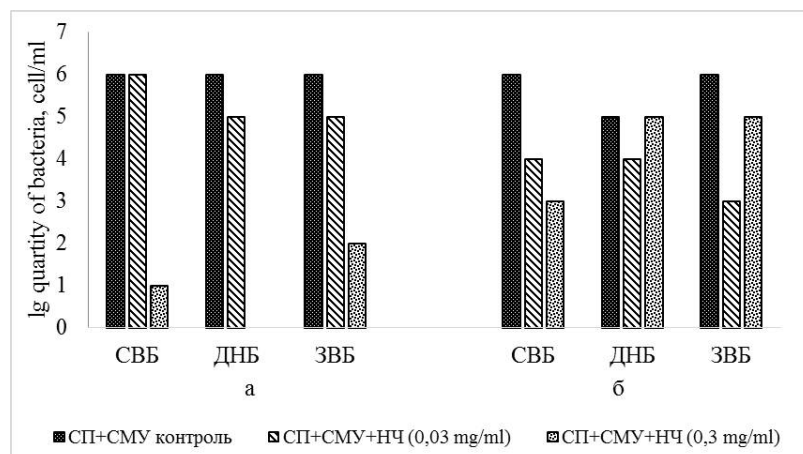


Рис. 1. Чисельність клітин бактерій у планктоні (а) та біоплівці (б) без (контроль) та за присутності наночастинок ZnO за умов мікробної корозії сталі.

Fig. 1. Number of bacteria cells in plankton (a) and biofilm (b) without (control) and in the presence of ZnO nanoparticles under microbial corrosion of steel.

Таким чином, встановлена можливість застосування наночастинок ZnO для інгібування мікробної корозії з одночасним пригніченням росту та сульфатвідновлювальної активності бактерій корозійно активного угруповання, що можна вважати новою альтернативою для попередження мікробної корозії.

ВИСНОВКИ

- З'ясовано вплив наночастинок ZnO на мікробну корозію сталі у нейтральному водно-сольовому середовищі за присутності бактерій сульфідогенного угруповання та монокультури сульфатвідновлювальних бактерій штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1. Показано, що як сульфатвідновлювальні бактерії штаму *Desulfovibriosp.* M-4.1, так і бактерії сульфідогенного угруповання зазнавали негативного впливу наночастинок ZnO.
- Встановлено, що за внесення в корозивне середовище наночастинок ZnO (0,3 mg/ml) захисний ефект становить до 85% та виявляється пригнічення функціонування корозійно активних бактерій планктонних та біоплівкових форм.

ЛІТЕРАТУРА

- Sondi I & Salopak-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria // *Journal of Colloid and Interface Science.* – 2004. – № 275. – P. 177–182.
- Lewis K, Klibanov A. M. Surpassing nature: rational design of sterile-surface materials // *Trends Biotechnol.* – 2005. – № 23. – P. 343–348.
- Rassouli L., Naderi R., Mahdavian, M. Study of the active corrosion protection properties of epoxy ester coating with zeolite nanoparticles doped with organic and inorganic inhibitors // *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers.* – 2018. – № 85. – P. 207-220.
- Umoren S. A., Madhankumar A. Effect of addition of CeO₂ nanoparticles to pectinase inhibitor of X60 steel corrosion in HCl medium // *Journal of Molecular Liquids.* – 2016. – № 224. – P. 72-82.
- The significant role of stabilized colloidal ZrO₂ nanoparticles for corrosion protection of AA2024 / Sh. Elbasuney, M. Gohara, M. Zorinyan, A. Maraden, I. Naeem // *Environment Nanotechnology, Monitoring & Management.* – 2019. – Vol. 12. – P.100242.
- Пат. 23550 України, МПК B22F 9/14 Спосіб ерозійно-вибухового диспергування металів / Косінов М. В., Каплуненко В. Г. Заявл. 09.02.2007; опубл. 25.05.2007. Бюл. № 7.