

УДК 620.193.8

А.А. Калинина<sup>1</sup>, А.Н. Москвичев<sup>2</sup>, Е.Н. Разов<sup>2</sup>, С.Ю. Хлопин<sup>1</sup>,  
Т.Н. Соколова<sup>1</sup>, В.Р. Карташов<sup>1</sup>

### ВЛИЯНИЕ АДСОРБИРОВАННЫХ НА ЦИНКЕ ФЕНОЛОВ НА БАКТЕРИАЛЬНУЮ КОРРОЗИЮ

Нижегородский государственный технический университет им. Р. Е. Алексеева<sup>1</sup>,  
Нижегородский филиал института машиноведения им. А. А. Благонравова РАН<sup>2</sup>

Установлено, что на ранних стадиях бактериальной коррозии цинка фенолы, адсорбированные на поверхности металла, оказывают значительное влияние на ход коррозионного процесса. Характер этого влияния зависит как от вида бактерий, так и от структуры фенолов.

*Ключевые слова:* микроорганизмы, бактериальная коррозия, активные формы кислорода (АФК), супероксидный анион, фенольные соединения, цинк.

Ранее нами было показано, что иницирующая роль микромицетов и бактерий в коррозии металлов может быть связана с выделением микроорганизмами в окружающую среду супероксидного аниона [1-3]. Известно, что супероксидный анион  $O_2^-$  взаимодействует с фенолами с высокой скоростью [4-5]. Эти данные дают основание полагать, что фенолы могут оказывать существенное влияние на коррозионный процесс, если в нем принимает участие  $O_2^-$ .

В работах [6, 7] было обнаружено, что при воздействии на цинк ряда микромицетов происходит значительная активация коррозии под влиянием нанесенных на металл фенолов, которая приводит к более глубоким повреждениям металлической поверхности. Нами было показано [8], что активирующее воздействие на коррозию цинка под воздействием бактерии *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub> может оказывать 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол (ионол). Были установлены продукты биотрансформации ионола бактерией *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub> и предложена схема их образования с участием  $O_2^-$ .

В настоящей работе расширен круг как исследуемых бактерий, так и адсорбированных на поверхности цинка фенолов. В качестве тест-организмов использовали музейные штаммы бактерий: *Escherichia coli* 321-5, *Proteus vulgaris* 1212, *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub>, *Staphylococcus aureus* 956, *Staphylococcus epidermidis* 1061 (Всероссийская коллекция микроорганизмов, г. Пущино Московской области). Подготовку поверхности образцов цинка, биологические исследования проводили, как описано в работах [1-3,7-9]. В качестве фенолов использовали соединения: фенол (I), 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол (ионол) (II), гидрохинон (III), пирокатехин (IV), 2,5-ди-*трет*-бутил-гидрохинон (V), 3,5-ди-*трет*-бутил-пирокатехин (VI). Соединения (I) – (IV) являлись коммерческими препаратами марки «хч». Вещества (V) – (VI) были получены по известным методикам [9] и имели чистоту не менее 99,0 %.

В качестве растворителей в адсорбционном процессе использовали этиловый спирт при растворении фенола (I), гексан – ионола (II), ацетон – гидрохинона (III) и пирокатехина (IV), диэтиловый эфир – 2,5-ди-*трет*-бутил-гидрохинона (V) и 3,5-ди-*трет*-бутил-пирокатехина (VI). Все растворители подвергали дополнительной очистке и перегонке.

Цинковые образцы выдерживали в 0,01М растворах фенолов в соответствующих растворителях в течение 12 ч, после чего высушивали на воздухе при комнатной температуре и помещали на поверхность плотной питательной среды (мясопептонный агар), предвари-

тельно заселенной суспензией суточных культур бактерий, выращенных в пробирках на скошенном агаре. Культивирование проводили при температуре  $(37 \pm 2)$  °С и влажности воздуха 90%.

Микроскопические исследования поверхности металлов осуществляли на приборе СЭМ (Tescam Vega II, Чехия).

### Результаты и их обсуждение

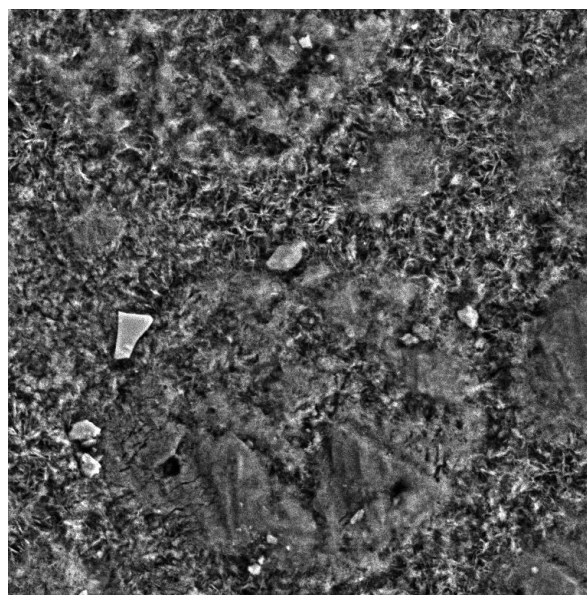
Известно, что взаимодействие бактерий с поверхностью начинается с формирования на ней биохимической структуры, определяемой как биопленка [10]. Химическая основа биопленки, а также продукты жизнедеятельности бактерий, в том числе  $O_2^-$ , в комплексе являются иницилирующими факторами коррозии металлов. О формировании биопленки на поверхности цинка нами сообщалось в работах [11].

Установлено, что фенолы исследуемого нами ряда, входящие в группу биологических регуляторов, оказывают влияние на характер образующейся биопленки. На рис. 1 показано состояние поверхности цинка с адсорбированным ионолом спустя пять суток с начала экспозиции под воздействием бактерий *Escherichia coli* 321-5. Как видно, клетки бактерий находятся в контакте с адсорбированным веществом, экранирующим поверхность металла (рис. 1).



SEM HV: 10.00 kV WD: 9.842 mm  
SEM MAG: 1.01 kx Det: BSE Detector  
Date(m/d/y): 04/17/12 guest

a)



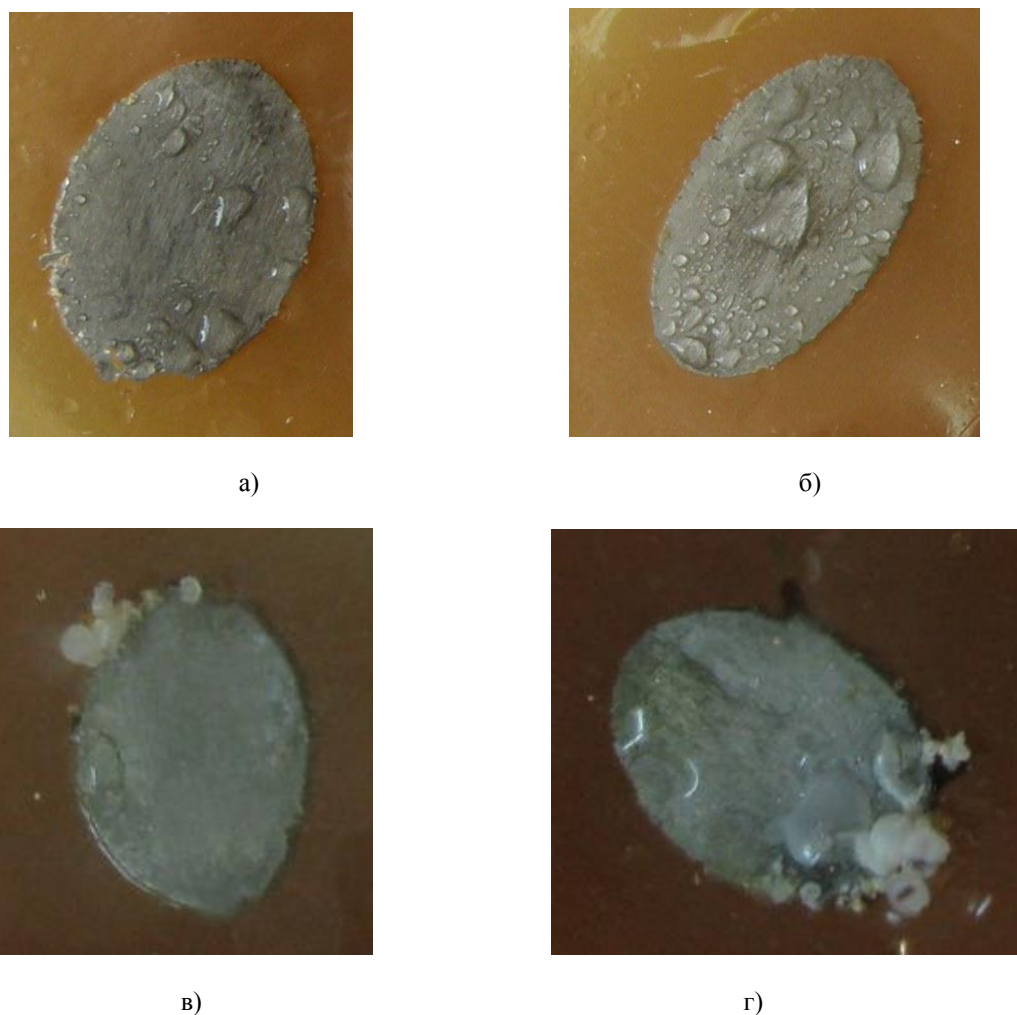
SEM HV: 10.00 kV WD: 8.108 mm  
SEM MAG: 5.00 kx Det: BSE Detector  
Date(m/d/y): 04/18/12 guest

б)

**Рис. 1. Микрофотографии поверхности цинка с адсорбированным ионолом спустя пять суток с начала экспозиции под воздействием бактерий *Escherichia coli* 321-5: а – внешняя сторона; б – сторона, обращенная к питательной среде**

Как отмечалось в работах [8], на ранних стадиях, когда химические вещества биопленки играют главную роль, воздействие бактерий на металл проявляется визуально в образовании экссудата с  $pH > 7$  на поверхности металла. Время появления экссудата, его pH могут быть критериями как для оценки коррозионной активности бактерий в целом, так и выявления факторов, влияющих на коррозию.

Динамику коррозии обработанных фенолами образцов изучали в сравнении с коррозией необработанных (контрольных) образцов. Каждый опыт проводили не менее чем в четырех поверхностях (табл. 1, рис. 2).



**Рис. 2. Внешний вид поверхности цинка:**

*а* – под воздействием *Proteus vulgaris* 1212 через семь суток с начала экспозиции,  $\text{pH} \approx 11$ ;  
*б* – под воздействием *Proteus vulgaris* 1212 через семь суток с начала экспозиции с адсорбированным ионолом (активация); *в* – под воздействием *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub> через 40 суток с начала экспозиции; *г* – при тех же условиях с адсорбированным ионолом.

**Таблица 1**

**Оценка накопления экссудата на поверхности цинка через 5 суток с начала экспозиции**

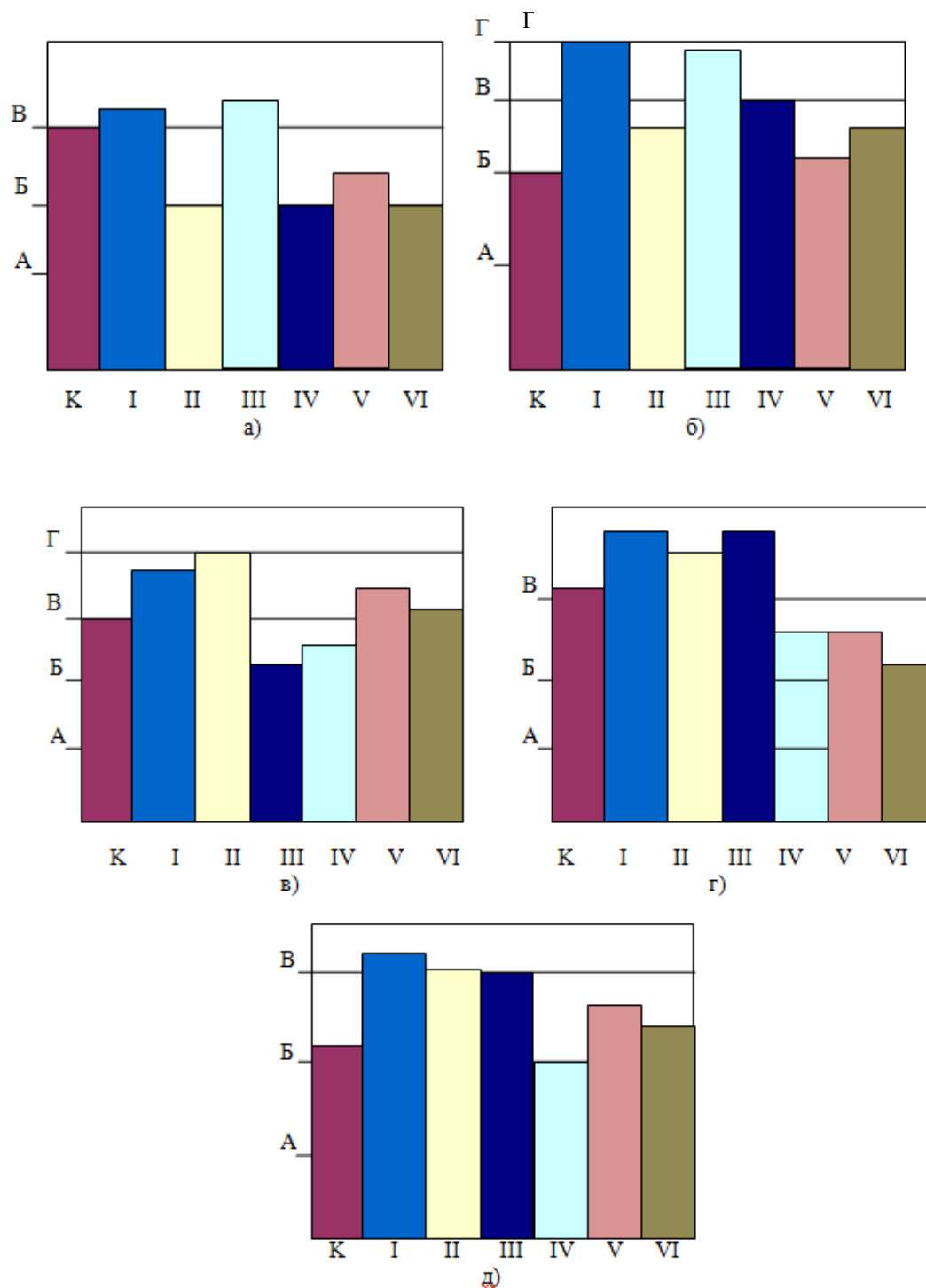
№	Микроорганизмы	Фенолы					
		I	II	III	IV	V	VI
1	<i>Escherichia coli</i> 321-5	++	-	++	-	-	-
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 969 <sub>1</sub>	++	++	++	++	++	++
3	<i>Staphylococcus aureus</i> 956	++	++	-	-	++	++
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1061	++	++	++	-	-	-
5	<i>Proteus vulgaris</i> 1212	++	++	++	-	++	++

Примечание: - ингибирование, ++ активация.

В целом влияние на раннюю стадию коррозии адсорбированных на цинке фенолов проявляется в двух вариантах. В одном из них, фенолы усиливают образование экссудата, в другом – ингибируют. Как видно из табл. 1, фенол (I), 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол (ионол) (II) и гидрохинон (III) активируют этот процесс практически для всего ряда исследуемых бактерий; 2,5-ди-*трет*-бутил-гидрохинон (V) и 3,5-ди-*трет*-бутил-пирокатехин (VI)

только в отдельных единичных случаях оказывают ингибирующий эффект, а пирокатехин (IV), за исключением *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub>, ингибирует образование экссудата.

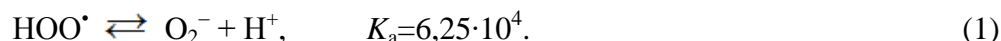
Установлена закономерность, чем больше образуется экссудата с  $\text{pH} > 7$  на ранней стадии экспозиции, тем сильнее коррозионное повреждение металла в целом. На рис. 3 представлены гистограммы коррозионного повреждения цинка через 40 суток с начала экспозиции. Для оценки биокоррозионного процесса использовалась разработанная нами балльная шкала (баллы А – Е) [1-3].



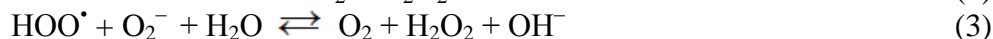
**Рис. 3. Гистограммы динамики коррозии образцов цинка, обработанного фенолами, на 40-е сутки с начала экспозиции под воздействием:**

*a* – *Escherichia coli* 321-5; *б* – *Pseudomonas aeruginosa* 969<sub>1</sub>; *в* – *Staphylococcus aureus* 956; *г* – *Staphylococcus epidermidis* 1061; *д* – *Proteus vulgaris* 1212 (К – контроль)

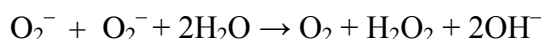
Известно, что в водном растворе  $O_2^-$  существует в виде равновесной смеси гидропероксидного радикала как кислоты Бренстеда и  $O_2^-$  в форме сопряженного основания [5]:



Равновесная смесь очень быстро превращается в устойчивые продукты в результате протекания двух параллельных реакций (2) и (3) с константами скоростей  $8,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ сек}^{-1}$  и  $9,7 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ сек}^{-1}$  соответственно:



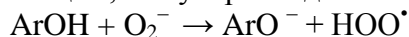
Скорость бимолекулярной реакции между супероксидными анионами



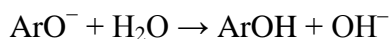
по сравнению со скоростями реакций (2) и (3) мала, и этим взаимодействием как одним из потоков превращения  $O_2^-$  в устойчивые продукты можно пренебречь.

Гидроксильные ионы, как отмечалось в предыдущих работах [1-3, 6, 7], совместно с противоионами и водой питательной среды способны сформировать на отдельных участках поверхности металла объемную жидкую фазу с рН 8-11. При таких рН супероксидный анион является доминирующим компонентом равновесной смеси и может вступать в реакцию с фенольными соединениями, адсорбированными на поверхности цинка.

Критический анализ реакционной способности системы  $O_2^- - OH^-$  с фенольными соединениями приведен в обзоре [5]. В зависимости от структуры фенольного соединения значение константы скорости лежит в пределах  $10^3 - 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ с}^{-1}$ . При взаимодействии  $O_2^-$  с одноатомными фенолами происходит перенос протона гидроксильной группы, непосредственно связанной с ароматическим кольцом, на супероксидный анион [4]



Гидропероксидный радикал может далее вступать в реакцию (3). Фенольный анион, будучи сильным основанием Бренстеда, подвергается гидролизу с регенерацией некоторой части исходного фенола:



Эта последовательность превращений может происходить до тех пор, пока рН экссудата не достигнет максимального значения. Фенолятные анионы, по-видимому, подвергаются окислительному разложению.

При взаимодействии  $O_2^-$  с двухатомными фенолами, содержащими гидрохиноновые или пирокатехиновые фрагменты, в начальной стадии образуются семихиноновые соединения и, соответственно, пероксид водорода.

Очевидно, что поверхностная концентрация фенолов (на  $\text{см}^2$ ) выше, чем концентрация  $O_2^-$ , транспортируемого через соответствующие каналы в околочлеточное пространство, по этой причине количество деструкторов –  $OH^-$ ,  $HO\dot{O}$  и  $H_2O_2$ , которые образуются в начальный период процесса по реакциям (2)–(3), должно возрасти, что и приводит к усилению коррозионных разрушений.

Ингибирование коррозии фенолами, вероятно, связаны с особенностями формирования биопленки и влияния фенолов непосредственно на метаболизм бактерий.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Коррозия алюминия и его сплавов под воздействием микроскопических грибов / Д.В. Белов [и др.] // Коррозия: материалы, защита. 2007. № 9. С. 36 – 41.
2. Коррозия алюминия и алюминиевых сплавов под воздействием микроорганизмов / Д.В. Белов [и др.] // Изв. вузов. Сер. Химия и химическая технология. 2007. Т. 50. № 6. С. 60 – 64.

3. Роль супероксидного анион-радикала в бактериальной коррозии цинка / Д.В. Белов [и др.]. // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. № 3. С. 302 – 307.
4. Tsujimoto, Y. Superoxide radical scavenging activity of phenolic compounds / Y. Tsujimoto, H. Hashizume, M. Yamazaki // Int. J. Biochem. 1993. V. 25. № 4. P. 491–494.
5. Reactivity of HO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub><sup>-</sup> Radicals in Aqueous Solution / В.Н.И. Bielski [etc] // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1985. V. 14. P. 1041 – 1100.
6. О роли активных форм кислорода в иницировании коррозии металлов микроскопическими грибами / Д.В. Белов [и др.] // Коррозия: материалы, защита. 2009. № 11. С. 43 – 48.
7. Влияние адсорбированных на поверхности фенолов и родственных им соединений на биологическую коррозию цинка / Д.В. Белов [и др.] // Труды НГТУ им. Р.Е. Алексеева. 2010. № 2. С. 258-263.
8. Бактериальная коррозия цинка и ее активация ионолом / Д.В. Белов [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2011. № 6-1. С. 127-131.
9. Взаимодействие пространственно экранированных фенолов и хинонов с органическими радикалами / И.П. Едимечева [и др.] // Журнал общей химии. 2005. Т. 75. Вып. 4. С. 632 – 635.
10. Little, B. J., Lee, J. S. Microbiologically Influenced Corrosion / B. J. Little, J. S. Lee – ISBN 978-0-471-77276-7. John Wiley & Sons. Inc. Hoboken. NJ. 2007. Hardcover. 279 p.
11. Соединения – акцепторы электронов в исследовании биокоррозионных явлений / А.А. Калинина [и др.] // Коррозия: материалы, защита. 2011. № 12. С. 29-32.

*Дата поступления  
в редакцию 28.11.2012*

**A.A. Kalinina<sup>1</sup>, A.N. Moskvichev<sup>2</sup>, E.N. Razov<sup>2</sup>, S.Y. Khlopin<sup>1</sup>,  
T.N. Sokolova<sup>1</sup>, V.R. Kartashov<sup>1</sup>**

## **EFFECT OF PHENOL ADSORBED ON ZINC ON BACTERIAL CORROSION**

Nizhny Novgorod state technical university n.a. R.E. Alexeev<sup>1</sup>,  
Nizhny Novgorod branch of Institute of mechanical engineering n.a. A.A. Blagonravov<sup>2</sup>

**Purpose:** Study the effect of adsorbed on zinc phenols to bacterial corrosion.

**Design / methodology / approach:** Was conducted a literature review of previously published evidence of interaction of superoxide anion with phenols. SEM was investigated change in the state of sample surfaces with adsorbed phenol under the influence of bacteria.

**Findings:** Found that in the early stages of bacterial corrosion of zinc phenol adsorbed on the metal surface, have a significant influence on the corrosion process. The nature of this effect depends on the type of bacteria, and the structure of phenols.

**Research limitations/implications:** These studies are aimed at identifying the main factors that may trigger biological corrosion, which will facilitate the search for new inhibitors of biological corrosion.

**Originality/value:** Established regularities of biological corrosion, depending on the strain of microorganism and adsorbed on the surface of the metal compounds.

*Key words:* microorganisms, bacterial corrosion, reactive oxygen species (ROS), superoxide anion, phenolic compounds, zinc.