

ГАЛОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ ИЗ СОЛОНЧАКОВ ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА КОРРОЗИЮ МЕТАЛЛОВ

Матвеев Илья Константинович¹, Саранчина Наталья Валерьевна¹,
Саранчин Евгений Павлович¹

Тюменская область, г. Тюмень, ФГКОУ
«Тюменское президентское кадетское училище»¹

HALO-PHILIC BACTERIA FROM THE SALINE PADES OF THE TYUMEN REGION AND THEIR EFFECT ON METAL CORROSION

Matveev Ilya Konstantinovich¹, Saranchina Natalya Valerievna¹, Saranchin Evgeny Pavlovich¹
Tyumen Region, Tyumen, Federal State Educational Institution of Higher Education Tyumen
Presidential Cadet School¹

Аннотация

В лаборатории химии и биологии Тюменского кадетского училища второй год ведется последовательное и глубокое изучение микрофлоры особых видов почв – солончаков. Из коллекции галофильных бактерий солончаков Тюменской области нам удалось выделить бактериальные образцы, способные к формированию биопленок. Были проанализированы семь образцов бактерий с обнаруженными ранее признаками галотолерантности и галофильности. Четыре микроорганизма из изучаемых образцов продемонстрировали выраженную способность к биопленкообразованию при разных параметрах культивирования (с перемешиванием и без перемешивания). Самой важной частью исследования стали эксперименты по изучению влияния этих бактерий на процесс коррозии металлов и сплавов: меди, оцинкованного железа и стали. Опыты показали, что в ряде случаев в соленой среде (с содержанием 5% NaCl) некоторые галофильные бактерии значительно изменили скорость коррозии указанных образцов. В зависимости от металла и штамма бактерий защита от коррозии по сравнению с контролем (соленая вода) варьировалась: для оцинкованного железа (Zn) бактерии снижали коррозию на 80–97% (в 5–30 раз), особенно штамм №4 (97% защиты); для меди (Cu) штамм №4 уменьшал коррозию на 85% (в 7 раз), но смесь H+№4 усиливала ее на 70%. Для железа (Fe) бактерии снижали коррозию (до 83% от контроля), но без радикального эффекта.

Ключевые слова: галофильные бактерии, биопленка, биокоррозия, солончаки, Тюменская область.

Abstract

For the second year, the chemistry and biology laboratory of the Tyumen Cadet School has been conducting a consistent and in-depth study of the microflora of special types of soils, such as salt marshes. From the collection of halophilic bacteria from salt marshes in the Tyumen region, we have successfully isolated bacterial samples capable of forming biofilms. Seven bacterial samples with previously identified characteristics of halotolerance and halophilism were analyzed. Four of the

studied microorganisms demonstrated a significant ability to form biofilms under different cultivation conditions (with and without stirring). The most important part of the study was the experiments to investigate the effect of these bacteria on the corrosion process of metals and alloys, such as copper, galvanized iron, and steel. The experiments showed that in some cases, certain halophilic bacteria significantly altered the corrosion rate of these samples in a saline environment (containing 5% NaCl). Depending on the metal and the bacterial strain, the protection against corrosion varied.

Keywords: halophilic bacteria, biofilm, bio-corrosion, salt marshes, Tyumen Region.

Введение

Коррозия металлов – это серьезная проблема, наносящая огромный экономический ущерб промышленности и транспорту. В последние десятилетия стало ясно, что микроорганизмы, особенно формирующие биопленки, играют ключевую роль в ускорении коррозионных процессов. Особый интерес представляют галофильные бактерии, способные расти в условиях высокой солёности, при высоких концентрациях хлорида натрия (NaCl). Они обитают в морях, соленых озерах, нефтяных месторождениях и промышленных системах. Их способность формировать плотные биопленки на металлах в соленых средах делает их важными участниками микробиологической коррозии металлов. Однако исследования последних лет показывают, что биопленки могут не только вредить, но и защищать металл от коррозии! Следует отметить, что на данный момент в пределах Тюменской области (ТО) остается малоизученным протекторный эффект галофильных бактерий-биопленкообразователей от солевой коррозии различных металлических поверхностей. Поэтому мы обозначили следующую **цель** нашей работы: возможность использования биопленок галофильных бактерий солончаков Тюменской области для защиты металлических поверхностей от коррозии.

Задачи исследования:

1. Выявить галофильные и галотолерантные бактерии, способные формировать биопленки.
2. Оценить количественно способность к формированию биопленок галофильными и галотолерантными бактериями.
3. Оценить влияние бактериальных биопленок на скорость коррозионных процессов разных металлов.

Предметом исследования являются процессы формирования и влияния биопленок галофильных бактерий на коррозию металлов в условиях засоленных почв Тюменской области.

Объектом исследования служат галофильные бактерии, выделенные из солончаков Тюменской области, и их способность влиять на коррозию трёх типов металлов: меди (Cu), оцинкованного железа (Zn) и обычного железа (Fe).

Актуальность исследований обусловлена тем, что, несмотря на удаленность территорий Тюменской области от морей, процесс засоления затрагивает как почвы, так и городские пространства, создавая условия для усиления коррозионных процессов на металлических конструкциях. Это относится как к городскому транспорту, так и к расположенным в Тюмени горячим источникам. Вопрос защиты металлов важен как для нефтегазового сектора, так и для предприятий пищевой промышленности.

Новизна исследования заключается в том, что на сегодняшний день данная тематика представлена крайне ограниченно. Научные исследования, посвящённые указанным проблемам, практически отсутствуют. В частности, ни в институтах, ни в научных лабораториях Тюменской области ранее подобные исследования не осуществлялись.

Гипотеза исследования: галофильные бактерии способны формировать биопленки, обладающие защитными свойствами, препятствующими коррозии.

1. Литературный обзор

Бактериальные биопленки галофильных бактерий и их двойственная роль в коррозии металлов. Биопленки галофильных бактерий часто ускоряют коррозию металлов через сложные электрохимические процессы. Во-первых, их неравномерная структура создает условия для «коррозионных батареек»: под толстыми участками биопленки создается зона с дефицитом кислорода, где металл становится анодом и растворяется, в то время как под тонкими участками или в порах, где кислорода больше, формируется катод [1, 2]. Возникающая разница потенциалов генерирует ток, усиливающий коррозию под биопленкой, а высокая соленость среды, характерная для галофилов, действует как хороший проводник, усугубляя этот эффект. Во-вторых, бактерии выделяют агрессивные вещества: некоторые галофилы производят органические кислоты (уксусную, молочную), локально снижая pH и растворяя защитные пленки на металле [3]; в соленых средах также могут присутствовать галофильные или устойчивые к соли сульфатредуцирующие бактерии (СРБ), например, некоторые *Desulfovibrio*, которые превращают сульфат в сероводород (H_2S) – сильнейший коррозионный агент, вызывающий глубокие язвы (питтинги) и образование черных отложений сульфидов железа [4, 5, 6]. Кроме того, выделяются и другие агенты, такие как аммиак, перекиси и хелаторы (вещества, связывающие ионы металлов), которые также могут повреждать металл [1]. В-третьих, внеклеточные полимерные вещества (ВПС) и продукты бактерий способны разрушать защитные покрытия, «забивая» ингибиторы коррозии или медленно разлагая краски и лаки на металле [7]. Наконец, некоторые бактерии ускоряют коррозию, «поедая» ее продукты (например, ионы водорода), что стимулирует катодные реакции [2]. Однако, в определенных условиях те же биопленки галофильных бактерий могут и замедлять коррозию. Это явление называют инги-

бированием коррозии биопленкой. Защитные механизмы включают: создание плотной биопленкой и ее ВПС физического барьера между металлом и агрессивной средой (кислородом, хлоридами), затрудняющего диффузию коррозионных агентов к поверхности [8, 9]; активное потребление бактериями в биопленке растворенного кислорода у поверхности металла, что снижает его концентрацию и замедляет кислородную коррозию, особенно на начальных стадиях [8, 10]; способность некоторых бактерий или их ВПС стимулировать образование на поверхности металла более стабильных и защитных минеральных слоев (например, карбонатов кальция или магния), действующих как естественное покрытие [9, 11]. Российские исследователи подчеркивают, что состав ВПС галофилов, особенно полисахаридов, может активно участвовать в связывании ионов и формировании таких защитных слоев [12, 11]. Другой механизм – конкуренция «мирных» галофилов в биопленке за питание и место с более агрессивными коррозионными бактериями (например, СРБ), что не дает последним закрепиться и навредить [13]. Работы, проведенные на российских объектах, таких как изучение микробных сообществ на нефтепромыслах Западной Сибири с высокоминерализованными водами, подтверждают важность состава биопленки для этого эффекта [12, 14]. Кроме того, метаболизм некоторых бактерий может локально повышать pH у поверхности металла, способствуя пассивации (образованию защитной оксидной пленки) некоторых металлов, например, нержавеющей стали [10]. Понимание этой двойственной роли биопленок галофилов критически важно для многих отраслей. К ним относятся: морской флот и портовая инфраструктура (корпуса судов, причалы, трубопроводы); нефтегазовая отрасль (трубопроводы, оборудование для закачки соленой пластовой воды, резервуары); а также энергетика и промышленность (системы охлаждения морской водой, опреснительные установки). Российские исследователи вносят значительный вклад в эту область: изучаются микробные сообщества соленых озер (Баскунчак, Эльтон) и их способность к образованию биопленок [12, 11]; разрабатываются методы диагностики МИК и оценки защитных свойств биопленок в условиях высокого солесодержания, характерных для российских нефтегазовых месторождений [4, 14]; исследуются механизмы как коррозионного воздействия галофильных СРБ, так и потенциального защитного действия ВПС определенных галофилов [6, 11]. Таким образом, биопленки галофильных бактерий в солёных средах оказывают сложное и двоякое воздействие на коррозию металлов. С одной стороны, они являются мощным фактором ускорения МИК через создание коррозионных элементов, продукцию агрессивных метаболитов (кислот, H_2S) и разрушение защитных слоев. С другой стороны, при определенных условиях (состав, структура) они могут выступать как естественный защитный барьер, замедляющий коррозию за счет физического экранирования, потребления кислорода, формирования защитных минеральных слоев и конкуренции с

агрессивными видами. Исследования российских ученых подтверждают важность этих процессов в условиях отечественных соленых водоемов и промышленных объектов [12, 11, 14]. Понимание этих сложных взаимодействий «биопленка-металл-среда» необходимо для разработки научно обоснованных методов борьбы с вредной МИК и, возможно, использования потенциала «полезных» биопленок для защиты металлов в экстремально соленых условиях.

2. Материалы и методы исследований

Исследования проводились на базе лаборатории химии и биологии Тюменского президентского кадетского училища (далее ТПКУ) и лаборатории антимикробной резистентности института экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО, ТюмГУ) весной и летом 2025 года. В работе использовались галофильные бактерии из коллекции бактериальных штаммов ТПКУ (Приложение 1).

Первоначально был проведен отбор бактериальных штаммов на основе способности к росту на питательной среде LB с высоким содержанием соли (5-10% NaCl) (из 17 образцов бактерий были выбраны штаммы 2; 2.1; 3; 3.1; 4; 6; 7.2 и H2). Номера были присвоены ранее другим исследователем [15] нашей лаборатории. Например, штамм H2 был получен из солончака с территории Новосибирской области. Остальные номера принадлежат солончакам Тюменской области. Манипуляции с микроорганизмами проводились в соответствии с инструкциями и методиками, представленными в пособии А.М. Мардановой с соавт. [16] и практикума по микробиологии под авторством Терещенко Н.Н. [17]. Затем приступали к исследованию способности бактерий формировать биопленки. Выращивание культур происходило в двух вариантах: в статичной среде и в условиях непрерывного перемешивания. Такое сравнение позволило детально оценить влияние движения среды на эффективность формирования биопленок. Для исследования биопленкообразования галофильных бактерий использовали 96-луночные полистироловые планшеты с U-образным дном. Суточную культуру бактерий получали путем культивирования в течение 24 часов в термостате при температуре 28°C. Затем бактериальную культуру разводили в питательной среде до оптической плотности (ОП) 620 нм, равной 0,015. В каждую лунку вносили по 180 мкл суспензии в восьми повторностях (ри-

сунок 1). Контрольные лунки содержали только питательную среду LB. Планшеты инкубировали при температуре 28°C в течение 48 часов как с перемешиванием, так и без него. Для количественной оценки биопленкообразования использовали метод окрашивания кристаллическим фиолетовым (CV). После инкубации надосадочную часть, содержащую планктонные клетки, удаляли, а лунки дважды промывали фосфатно-солевым буфером. Затем в лунки вносили по 100 мкл 0,1% раствора CV и инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре. После этого лунки трижды промывали стерильной водой для удаления не связавшегося красителя, а планшет высушивали в течение 10-15 минут. Краситель элюировали 200 мкл

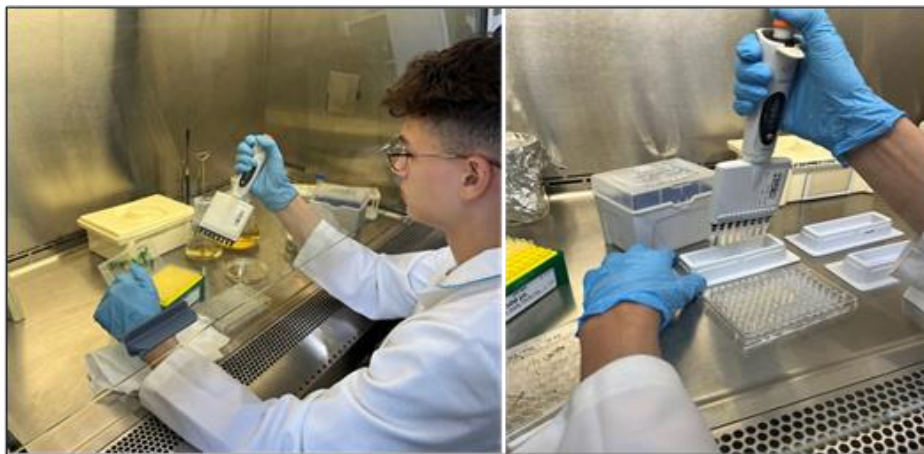


Рис.1. Работа с 96 луночным планшетом

95% этанола в течение 15 минут, после чего измеряли оптическую плотность (OD) на спектрофотометре Termo scientific при 590 нм. По данным, представленным в работе Мардановой М.А. с соавт. [15], плотность биопленки интерпретировали следующим образом: биопленка слабая, если OD равна или меньше удвоенного значения оптической плотности контрольного образца ($2 \times \text{Odt}^{\text{онр}}$); биопленка умеренная, если её OD превышает двукратное значение контроля, но ниже четырёхкратного показателя ($2 \times \text{Odt}^{\text{онр}} < \text{OD} \leq 4 \times \text{Odt}^{\text{онр}}$); биопленка плотная если величина OD значительно превосходит четырехкратное значение контрольного образца ($\text{OD} > 4 \times \text{Odt}^{\text{онр}}$).

Работа по изучению влияния биопленок галофильных бактерий на металлы проходила в два этапа. В первую очередь была проведена оценка роста бактерий в присутствии металлов. Для этого использовали различные металлические поверхности в виде пластинок: чистая медь (Cu), оцинкованное кровельное железо (Zn) и стальные скрепки (Fe) (приложение 2). Все металлы предварительно взвешивались на аналитических весах с точностью до 0,0001 г и погружались в питательную среду LB с 5% NaCl. В качестве контроля служила соленая вода (5% NaCl) и питательная среда LB (5% NaCl) без бактерий. Все образцы стерилизовали в автоклаве, далее вносили в пробирки с образцами по 100 мкл бактериальных суспензий изучаемых штаммов. Инкубировали образцы при температуре 28°C с перемешиванием в течение 7 суток (при-

ложение 3). Изменение массы пластинок фиксировали после очистки от возникающей биопленки на ультразвуковой ванне «Сапфир» в течение 35 мин (приложение 4). Вторым эксперимент отличался трехкратной повторностью по каждому металлу и в качестве образца железа использовали расплюснутые гвозди из стали марки ЗПС (приложение 5). Для изучения влияния различных факторов на коррозию также проводили измерения pH раствора после эксперимента. Сливали жидкую фазу из трех пробирок с одним образцом металла и бактерии в один фалькон и трехкратно измеряли уровень pH на приборе pH200. Таким образом, оценивался показатель потери массы образцов и происходящие изменения уровня pH среды. Это дало четкое представление о скорости и масштабе разрушения металлов под влиянием бактериального фактора. Параллельно проводились микроскопические и физико-химические анализы. Использование светового микроскопа и метода спектрофотометрии обеспечило глубокое понимание структуры и основных характеристик сформировавшихся биопленок.

Полученные данные обрабатывались методами математической статистики. Она служила инструментом для точного анализа и интерпретации результатов, позволяя уверенно говорить о наличии значимых различий между отдельными группами опытных образцов.

3. Анализ полученных данных

3.1. Исследование характеристик биопленки галофильных бактерий

Исследование галофильных бактерий на предмет способности к формированию биопленок показало следующие результаты. Штамм из Новосибирской области (Н2) не формировал биопленки, поэтому было решено использовать его как дополнительный контроль в следующем эксперименте по коррозии металлов. Остальные исследованные галофильные бактерии демонстрировали выраженную способность к биопленкообразованию, которая сохранялась даже при неблагоприятных условиях аэрации и перемешивания (рисунок 2).

Наиболее устойчивые биопленки при изменяющихся параметрах культивирования демонстрировали штаммы 7.2 и 3.1, в то время как штамм 2.1 показал зависимость биопленкообразования от динамических условий. Способность бактерий формировать биопленки при изменяющихся условиях среды имеет важное значение для их выживания и потенциального воздействия на окружающие поверхности.

Наиболее выраженную способность к образованию биопленок показали штаммы 7.2, 4 и культура 3.1. Для штамма 7.2 отмечена самая большая разница по показателю OD в эксперименте: около 10.1 с перемешиванием и 9.65 без перемешивания. Штамм 3.1 также показал высокие результаты, особенно в условиях статического культивирования (9.14 без перемешивания против 7.76 с перемешиванием). Культуры 4 и 6 также стабильно формировали плотные биопленки при обоих условиях культивирования, разница OD варьировала в пределах 5.35-6.72. Культура 3 показала выраженную способность к биопленкообразованию, но несколько



Рис.2. Результаты спектрофотометрического анализа биопленкообразования галофитных бактерий (OD 590 нм)

меньшую активность (разница OD ~3.94-4.1), находясь тем самым на нижней границе категории «плотная». Культура 2 также формировала плотные биопленки, хотя показатели OD (5.68 с перемешиванием, 6.125 без перемешивания) были меньше, чем у упомянутых выше микроорганизмов

Таким образом, были выделены четыре штамма галофильных бактерий с высокими характеристиками биопленкообразования: 7.2; 4; 6 и 3.1. К большому сожалению, активность бактерий 7.2 была утрачена и дальнейшие испытания проходили без данного штамма.

3.2. Исследование коррозии металлов в присутствии галофильных бактерий

Первый эксперимент. Как было отмечено ранее, для оценки воздействия галофильных бактерий на металлы было проведено два основных эксперимента. В первом случае мы взяли по одной пластинке каждого металла и после взвешивания погружали в жидкую питательную среду с содержанием соли (5% NaCl) (приложение 6). После этого автоклавировали при температуре 120 °C в течение 15 мин. Далее засеивали в пробирки, исследуемые штаммы бактерий. После 7 суток инкубирования (28 °C) с перемешиванием все образцы были взвешены и определена потеря массы по сравнению с начальной массой, выраженная в % (приложение 7).

Цифровые показатели первого эксперимента представлены в приложении 8. Эксперимент показал, что существует выраженная зависимость между исследуемой бактерией и ско-

ростью коррозионных процессов. Лучшими протекторными свойствами характеризуется микроорганизм из Новосибирского солончака Н2. Если оценивать коррозию оцинкованной стали и железных скрепок, то у бактерий №4 выявлена способность к ускорению коррозии меди. Оценка по виду металлов показывает, что протекторные свойства бактерий Н2 проявляются в отношении Меди (Cu) (1,03% потерь), бактерий Н2 и №4 в отношении цинка (Zn) (~0,03% потерь), а микроорганизм №4 демонстрирует защитные свойства в отношении железа (Fe) (0,08% потерь). Таким образом, мы наметили для себя следующие возможные направления исследования. 1. Увеличить выборку металлических пластин и заменить скрепки обычной сталью. 2. Проверить влияние бактерий на кислотно-щелочные характеристики сред. 3. Проверить влияние смеси бактерий Н2 и №4 на металлы. 4. Незначительно сократить количество образцов и не использовать медь с №6, а цинк с №3.1.

3.3. Изменение pH среды

Второй эксперимент по изучению влияния галофильных бактерий на коррозию металлов включал в себя также исследование влияния бактерий на pH среды. Медь (Cu), оцинкованная сталь (Zn) и сталь марки ЗПС (Fe) после 7 суток инкубации при 28°C с перемешиванием дали интересные и достаточно явные результаты (приложение 9). В качестве контроля использовали дистиллированную воду с 5% солью (NaCl) и питательную среду LB также с 5% солью. Значение pH контрольного образца (вода с 5% солью (NaCl)) оказалось равным 7,06, что очень близко к нейтральному значению pH, а стандартная ошибка была не больше (0,1), что говорит о хорошей воспроизводимости в контрольных условиях. Вариант вода с солью без бактерий при контакте с металлами показал слабое защелачивание: в присутствии меди (Cu) pH – 8,53; железа (Fe) – 7,63; цинка (Zn) pH – 8,13. Однако внесение бактериального инокулята в среду LB 5% соли привело к значительным и разнонаправленным сдвигам pH, сильно зависящим как от штамма бактерий, так и от типа металла. Самый выраженный эффект подкисления наблюдался в присутствии бактерий штамма Н2. Особенно ярко этот эффект проявился для меди (Cu): средний pH снизился до 6,74, что существенно ниже контроля LB (7,06) и воды с солью без бактерий. Примечательно, что и в среде LB 5% соли без добавленных бактерий, но с медью, pH тоже снизился (до 6,93), хотя и не так выражено, как с Н2. Это указывает на то, что медь сама по себе или в сочетании с компонентами среды/бактериями может способствовать подкислению среды. В случае с железом (Fe) и цинком (Zn) в LB без бактерий также наблюдалось небольшое подкисление (pH 7,49 и 7,81, соответственно) по сравнению с контролем LB. Некоторые бактериальные штаммы вызвали явное защелачивание среды. Так, бактерии №4 с медью (Cu) приводили к повышению показателя pH до 8,39, а с железом (Fe) – до 8,45. Штамм №3,1 приводил к более выраженному увеличению показателя pH: с медью (Cu)

pH 8,45, с железом (Fe) – 8,55. Микроорганизмы №6 с железом (Fe) и цинком (Zn) подщелачивали среду до значений pH 8,46 и 7,92, соответственно. Цинк (Zn) в присутствии №6 показал абсолютно стабильные значения во всех трех повторностях (7,92). Наиболее сильный щелочной сдвиг был зафиксирован при использовании смеси бактерий H2 и №4 с медью (Cu) средний показатель pH достиг – 8,59, а с железом (Fe) – 8,58. Это самые высокие значения pH во всем эксперименте. При этом с оцинкованным железом (Zn) в этой смеси pH составил 7,75, что близко к значениям цинка (Zn) в других условиях, но с большим разбросом (стандартная ошибка 0,13 – самая высокая для Zn).

Анализируя поведение металлов в контексте их взаимодействия с бактериями, можно отметить следующие особенности:

➤ Медь (Cu): Проявила наибольшую «чувствительность» к воздействию бактерий, демонстрируя самый широкий диапазон изменений pH – от сильного подкисления (6,74 с H2) до самого сильного защелачивания (8,59 с H2+№4). Бактерии приводили к выраженному изменению кислотных свойств.

➤ Железо (Fe): В большинстве случаев (кроме LB без бактерий) стабильно поддерживало щелочные значения pH (от 7,63 в воде до 8,55 с №3.1). Эффект бактерий был скорее усиливающим щелочную реакцию.

➤ Цинк (Zn): Показал себя наиболее «инертным» металлом в этом отношении. Значения pH колебались в относительно узком диапазоне (7,68 – 8,13) и были преимущественно слабощелочными. Бактерии оказывали на металл наименьшее влияние (кроме несколько большего разброса с H2+№4).

Статистический анализ данных демонстрирует их высокую надежность. Стандартные ошибки для большинства средних значений pH были незначительными (<0.1), что свидетельствует о хорошей воспроизводимости результатов трех повторностей. Исключением является цинк (Zn) в смеси H2+№4, где стандартная ошибка составила 0,13, что указывает на наибольший разброс значений (7,48, 7,86, 7,90). Абсолютная стабильность Zn в №6 (стандартная ошибка ≈ 0) также представляет собой статистически значимый результат.

В целом, эксперимент четко показал:

1. Галофильные бактерии значительно влияют на конечный pH среды в присутствии металлов.
2. Влияние на pH сильно зависит от конкретного штамма бактерий и типа металла.
3. Некоторые штаммы (H2) вызывают подкисление среды, особенно выраженное при взаимодействии с медью.
4. Большинство штаммов (№4, №3.1, №6) и их смеси (H2+№4) приводят к защелачиванию, причем смесь H2+№4 дала максимальные значения pH.

5. Медь (Cu) наиболее подвержена влиянию бактерий, демонстрируя выраженные изменения pH. Железо (Fe) стабильно поддерживает щелочную реакцию. Цинк (Zn) наименее чувствителен в этих условиях.

Полученные результаты указывают на явную способность бактерий изменять параметры pH среды, что, в свою очередь, наталкивает на вопрос о возможных механизмах, приводящих к подобному эффекту бактерий на кислотно-щелочной показатель. Особенно любопытным является резкое подкисление меди (Cu) под воздействием бактерий H2 и значительное защелачивание, вызванное смесью H2+№4. Было показано, что развитие коррозионных процессов у различных металлов отличалось и зависело от вида вносимого микроорганизма. Медь (Cu) оказалась самым чувствительным материалом. В обычной воде с 5% соли (контроль 1) коррозия металла была умеренной — около 2,7% потери массы. Но внесение меди в питательную среду LB без бактерий (контроль 2) приводило к усилению коррозии до 3,6%. Возможно, компоненты питательной среды имеют некий негативный эффект на металл, приводя тем самым к увеличению коррозии. Данные по pH: в LB без бактерий с медью pH был 6,93, то есть среда становилась слабокислой. Возможно, именно это подкисление и сыграло роль в усилении коррозии.

Штамм H2, который в предыдущем эксперименте резко подкислял среду с медью (pH падал до 6,74), в данном эксперименте усиливал коррозию ещё заметнее — до 3,7%. Подобный эффект возможен в том числе из-за продукции метаболитов бактериями, которые создали для меди крайне неблагоприятные условия. Штамм №4, наоборот, проявил протекторный эффект — в присутствии бактерий коррозия меди упала до рекордно низких 0,4%. Полученные данные коррелируют с тем, что микроорганизм создавал щелочную среду (pH 8,39), которая обычно тормозит процесс коррозии меди. Интересный результат показала смесь бактерий H2+№4. Несмотря на то, что данный вариант приводил к выраженному защелачиванию среды (pH 8,59), коррозия меди увеличилась до 4,6%. Показатель был выше, чем в кислой среде с H2! Возможно, в данном случае проявляется некий синергизм микроорганизмов, приводящий к подобному эффекту.

Железо (Fe) вело себя иначе. В обоих контролях — и в воде, и в LB без бактерий — коррозия была минимальной (около 0,6%). Это довольно инертный металл в данных условиях.

Цинк (Zn) показал самый позитивный результат с точки зрения защитного эффекта. В контроле (вода) коррозия была самой высокой среди металлов — около 2,2%. Но внесение бактерий имело ингибирующий эффект на процесс коррозии металла. Даже в присутствии H2, который подкислял среду, коррозия цинка упала до 0,5% — в 4 раза ниже, чем в воде. А штаммы №4, №6 и смесь H2+№4 снизили её до 0,07-0,12%. Штамм №6 показал выраженный

протекторный эффект на образец цинка, у которого не зафиксировано формирование коррозии. Полученный результат согласуется с данными по pH – для цинка в №6 среда была стабильно слабощелочной (pH 7,92), а бактерии, возможно, сформировали защитную биопленку.

Интересно сравнить цинк в двух контролях. В LB без бактерий его коррозия (0,6%) была значительно ниже, чем в воде (2,2%). Это говорит о том, что, возможно, компоненты среды LB имеют некоторый защитный эффект для цинка. При внесении бактерий, особенно штамма №4, данный эффект усиливался в 10 раз по сравнению с контролем.

Сопоставляя данные по коррозии и pH, наблюдаются некоторые закономерности. Во-первых, кислая среда, характерная для штамма H2, однозначно усугубляет процесс коррозии меди, но практически не влияет на железо и цинк. Во-вторых, щелочная среда, характерная для №4, №3.1, защищает медь и цинк от образования коррозии, но не имеет выраженного положительного эффекта на железо. В-третьих, смеси бактерий могут иметь разные эффекты, так смесь H2+№4 создает щелочную среду, но при этом разъедает медь. Скорее всего, эффект связан не только с влиянием на показатель pH, но и объясняется сложным взаимодействием метаболитов бактерий с поверхностью металла.

В целом, эксперимент ярко показал, что галофильные бактерии принимают участие в процессах развития коррозии металлов. Для меди они могут быть как «разрушителями» (H2), так и «защитниками» (№4). Для цинка почти все штаммы — отличные «защитники», снижающие коррозию в десятки раз по сравнению с водой. А железо, кажется, более устойчиво, но и его взаимодействие с бактериями (особенно смесями микроорганизмов) может приводить к разнообразным эффектам. Ключевой вывод: оценивая коррозию металлов, нельзя ориентироваться только на показатель pH. Биологический фактор играет также важную роль в развитии данного процесса.

3.4. Исследование коррозии металлов в присутствии галофильных бактерий.

Второй эксперимент. Завершением нашей работы стал эксперимент, проводимый в трехкратной повторности с бактериальными штаммами и разными металлами. Результаты изменения массы металлических пластин можно оценить по таблице (приложение 10). Для оценки полученных результатов также представлены диаграммы (приложение 11). Как и в первом эксперименте мы очищали пластины металла от биопленки с помощью ультразвуковой ванны, высушивали их на фильтровальной бумаге и взвешивали на аналитических весах с точностью до 0,00001 г. Из изучаемых металлов наиболее выраженный коррозионный эффект зафиксирован для меди. Потеря по весу для меди после обработки бактериями была самой высокой. Выраженный отрицательный эффект демонстрировала комбинация бактерий H2+№4, приводящая к потере массы: -4.83%. Это почти вдвое больше, чем в контроле (соле-

ная вода без бактерий): -2,75%. Наименее выраженный эффект имел микроорганизм №4. Данный штамм не приводил к значительным изменениям по массе пластинки после обработки (-0.43%), однако при комбинации штамма №4 с Н2 разница по потере в сравнении с №4 была практически в 11 раз. Возможно, бактерии Н2+№4 совместно создают очень щелочную среду (рН около 8.6), являющуюся особенно агрессивной для меди.

Коррозийный эффект для железа был невыраженным, бактерии оказывали протекторный эффект на данный металл. Во всех исследуемых вариантах с бактериями железо корродировало меньше, чем в соленой воде (-0.58%). Наибольший защитный эффект для железа имели штаммы №4 (-0.05%) и №6 (-0.06%). Они показали наименьшую потерю по массе железа. Разница с контролем (соленой водой) была достоверна. Возможно, протекторный эффект объясняется способностью данных штаммов формировать биопленки, который действуют как «щит», покрывая металл и мешая тем самым развитию коррозии. Интересно, что штамм Н2, неспособный к биопленкообразованию, также препятствовал коррозии железных пластин, но заметно слабее, чем остальные бактерии (в 2-3 раза).

Оцинкованное железо (Zn) как и медь оказалось очень неустойчивым к коррозии. В контроле с соленой водой пластины потеряли 2,25 % от исходной массы. В контрольных вариантах, таких как соленая LB и в пробирках с штаммом Н2 коррозия сильно уменьшилась (0,63-0,49%, соответственно). Данные могут свидетельствовать о роли питательной среды LB на устойчивость к химическому разрушению. Но все три использованных штамма или смесь бактерий резко (до 0,07 – 0,49%) снизили уровень коррозии. Наибольший эффект демонстрировал штамм №4 (0,07%). Вероятнее всего, данный штамм защищал цинк от повреждений за счет способности формировать биопленки. Косвенно об этом свидетельствуют данные по анализу рН среды. Именно в опыте с цинком не наблюдалось значительных изменений по показателю кислотно-щелочного баланса.

Таким образом, можно сделать следующие выводы. Для меди: комбинация Н2+№4 – самый сильный «разрушитель», однако №4 в одиночку наименее опасен. Для железа и цинка: Бактерии №4 и №6 – лучшие «защитники» от коррозии в соленой воде за счет формирования биопленок. Различия в действии разных бактерий являются достоверными, что подтверждается воспроизводимостью результатов экспериментов, анализом ошибок и статистическими тестами. Полученные результаты могут быть полезны, например, для поиска новых микроорганизмов в целях защиты кораблей или труб в соленой морской воде от коррозии. Так, используя «хорошие» бактерии, к примеру, №4 или №6, можно попытаться замедлить ржавление железа и цинка. Однако при использовании смеси бактерий необходимо исследовать синергетический эффект микроорганизмов, так как он может сильно отличаться от действия бактерий по отдельности.

Выводы

Проведя многочисленные наблюдения и эксперименты, мы пришли к следующим выводам:

1. Галофильные бактерии обладают выраженным защитным потенциалом для оцинкованного железа (Zn). В соленой среде (5% NaCl) штаммы №4 и №6 снижали коррозию оцинкованного железа на 80–97% (в 5–30 раз) по сравнению с контролем. Штамм №4 показал максимальную эффективность (97% защиты), формируя плотные биопленки, которые действовали как физический барьер, ограничивая доступ коррозионных агентов к поверхности металла.

2. Влияние на медь (Cu) зависит от штамма и может быть разнонаправленным. Штамм №4 *снижал* коррозию меди на 85% (в 7 раз), вероятно, за счет создания щелочной среды (pH ~8.4), подавляющей электрохимические процессы. Смесь H₂ + №4 *усиливала* коррозию на 70% (до 4.83% потери массы), несмотря на щелочной pH (8.6). Это указывает на синергетический эффект микроорганизмов, генерирующих агрессивные соединения.

3. Биопленки играют двойственную роль в коррозии железа (Fe). Железо демонстрировало низкую исходную коррозионную активность, но бактерии значительно усиливали его защиту (до 83% от контроля). Наилучшие результаты показали штаммы №4 и №6 (потери массы ~0.05–0.06%).

4. Динамика pH среды — ключевой фактор коррозии. Кислотные сдвиги (штамм H₂, pH ~6.7) ускоряли коррозию меди, но не влияли на цинк и железо. Щелочные сдвиги (штаммы №4, №3.1, смесь H₂+№4, pH 8.4–8.6) защищали цинк и медь (кроме комбинации H₂+№4), способствуя пассивации металлов. Цинк проявлял наименьшую чувствительность к pH, а медь — наибольшую (диапазон pH 6.7–8.6 коррелировал с изменением коррозии на 300%).

5. Практическое применение для промышленности. Для защиты оцинкованных конструкций (трубы, суда, портовые сооружения) в соленых средах целесообразно использовать штаммы №4 или №6, которые формируют стабильные биопленки. Для медных элементов следует избегать комбинации H₂+№4 и контролировать кислотность среды.

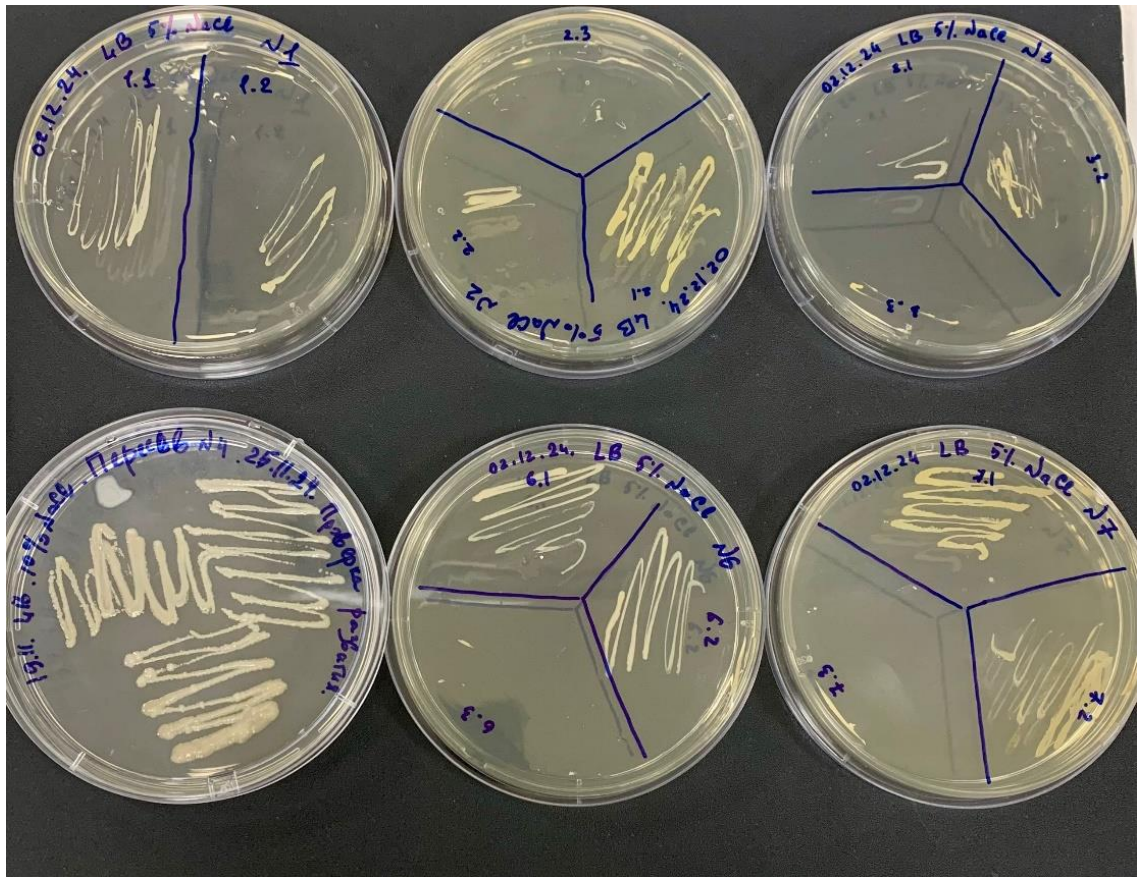
Железо требует дополнительных исследований для усиления защитного эффекта биопленок. Новизна работы подтверждает уникальность тюменских штаммов галофильных бактерий и их потенциал для применения в нефтегазовой отрасли, опреснительных установках и защите городской инфраструктуры от солевой коррозии. В дальнейшем планируется работа по восстановлению штамма 7.2 и изучению его воздействия на антикоррозионные характеристики. Также планируются эксперименты с увеличением выборки и повторностей и проверкой более долгосрочных этапов нахождения пластин в соленой среде.

Список источников литературы

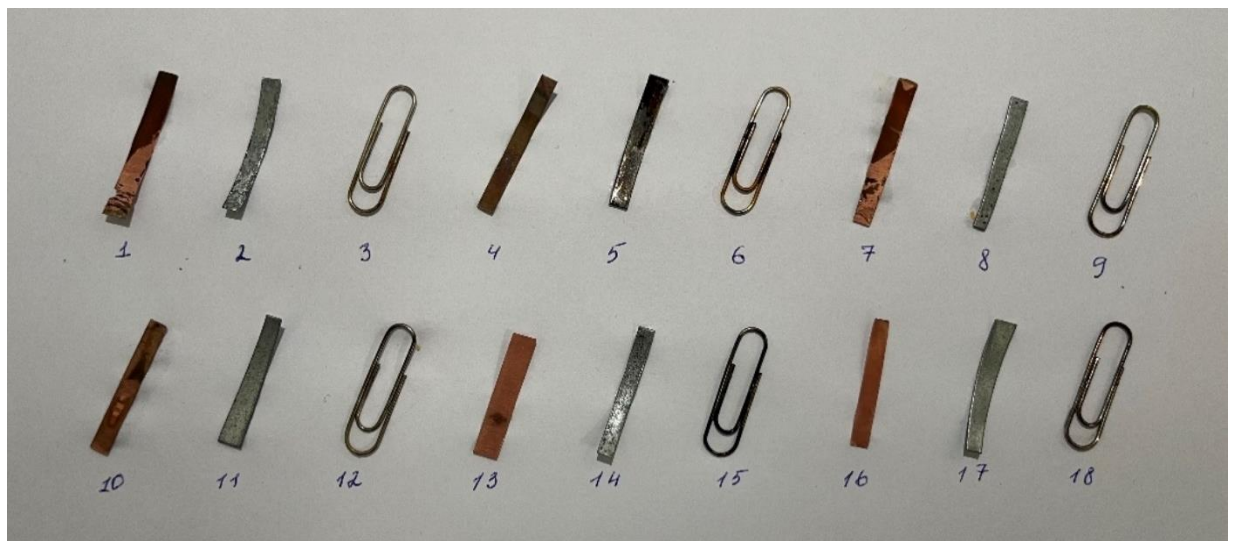
1. Beech I.B., Sunner J. Biocorrosion... // Current Opinion in Biotechnology. 2004. Vol. 15, № 3. P. 181–186. DOI:10.1016/j.copbio.2004.05.001
2. Gu T. [et al.] Toward a better understanding... // Journal of Materials Science and Technology. 2019. Vol. 35, № 4. P. 631–636. DOI:10.1016/j.jmst.2018.10.026
3. Javaherdashti R. Microbiologically Influenced Corrosion... London: Springer, 2008. ISBN: 978-1-84800-073-5
4. Рязанов А.В., Завершинский А.Н. Изучение процесса интенсификации сероводородной коррозии в присутствии сульфатовосстанавливающих бактерий // Вестник Томского государственного университета. 2013. Т. 18, № 5. С. 2319–2321.
5. Enning D., Garrelfs J. Corrosion of iron by sulfate-reducing bacteria... // Applied and Environmental Microbiology. 2014. Vol. 80, № 4. P. 1226–1236. DOI:10.1128/AEM.02848-13
6. Защита от коррозии, старения и биоповреждений машин, оборудования и сооружений: Справочник. В 2 т. Т. 1 / Герасименко А.А. [и др.]. М.: Машиностроение, 1987. 688 с.
7. Zuo R. Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition... // Applied Microbiology and Biotechnology. 2007. Vol. 76, № 6. P. 1245–1253. DOI:10.1007/s00253-007-1130-6
8. Jayaraman A. [et al.] Axenic aerobic biofilms inhibit corrosion... // Applied Microbiology and Biotechnology. 1999. Vol. 52, № 6. P. 787–790. DOI:10.1007/s002530051592
9. Белов Д.В., Беляев С.Н. Об определяющей роли биопленок микроорганизмов в инициировании и развитии микробиологической коррозии металлов // Практика противокоррозионной защиты. 2022. Т. 27, № 4. С. 52–66.
10. Кашковский Р.В., Хохлачев Н.С. Микробиологические аспекты коррозионного разрушения подземных трубопроводов [Электронный ресурс] // КиберЛенинка. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologicheskie-aspekty-korrozionnogo-razrusheniya-podzemnyh-truboprovodov/viewer> (дата обращения: 12.07.2025).
11. Воздействие гетеротрофной микрофлоры на металл [Электронный ресурс] / Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р., Ауэзова О.Н., Татаркина Л.Г. // КиберЛенинка. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vozdeystvie-geterotrofnoy-mikroflory-na-metall/viewer> (дата обращения: 12.07.2025).
12. Борецкая М.А., Суслова О.С., Горчев В.Ф., Карахим С.А. Изучение структуры экзополимерного комплекса биопленки коррозионно-активных бактерий // Биотехнология. 2012. Т. 5, № 6. С. 78–83.
13. Kip N., van Veen J.A. The dual role of microbes... // The ISME Journal. 2015. Vol. 9, № 3. P. 542–551. DOI:10.1038/ismej.2014.169
14. Яркеева Н.Р., Насыров Э.А., Газизова Э.Р. К вопросу о микробиологической коррозии на месторождениях Западной Сибири // Разработка и эксплуатация нефтяных и газовых месторождений. 2019. № 8. С. 102–106.
15. Барабанов Д. А., Саранчин Е. П. 2025. Поиск продуцентов антимикробных веществ в солончаковой почве. Preprints.ru. <https://doi.org/10.24108/preprints-3113341>
16. Марданова А.М. Биопленки: Основные принципы организации и методы исследования/Учебное пособие/ Марданова А.М. с соавт. – Казань: К(П)ФУ, 2016, - 42 с.

17. Терещенко Н. Н., Акимова Е. Е., Минаева О. М. Практикум по микробиологии для оценки плодородия почвы и качества грунтов : учеб.-метод. пособие. – Томск : Изд-во ТГУ, 2011. – 96 с.

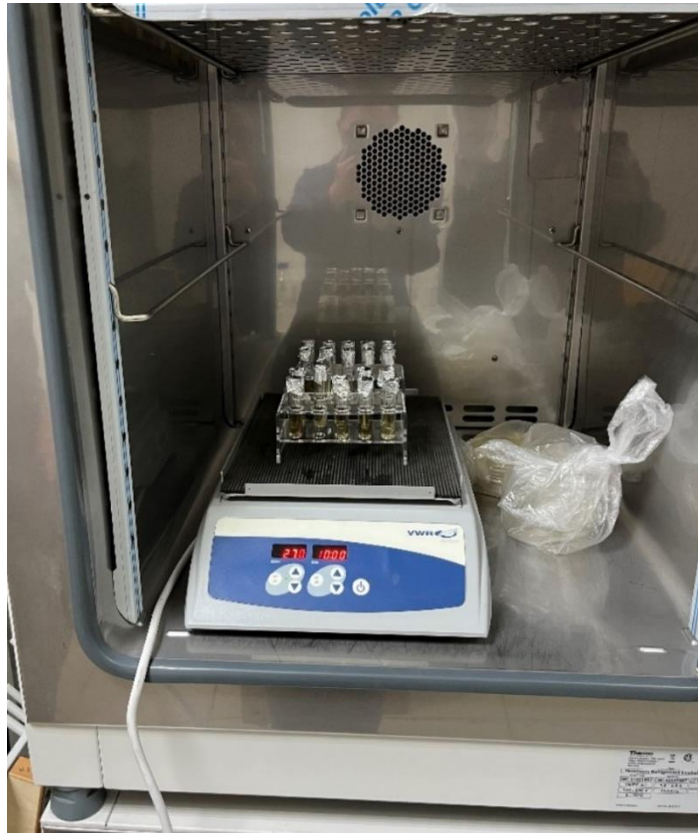
Банк галофильных бактерий из солончаков юга Тюменской области (часть)



Образцы металлов после первого эксперимента



Первый эксперимент с коррозией металлов. Перемешивание на горизонтальном шейкере.



Чистка от биопленки в ультразвуковой ванне



Взвешивание результатов второго эксперимента



Результаты первого эксперимента с коррозией



Диаграммы уровня коррозии на основе анализа потери массы металлических образцов после обработки различными вариантами сред

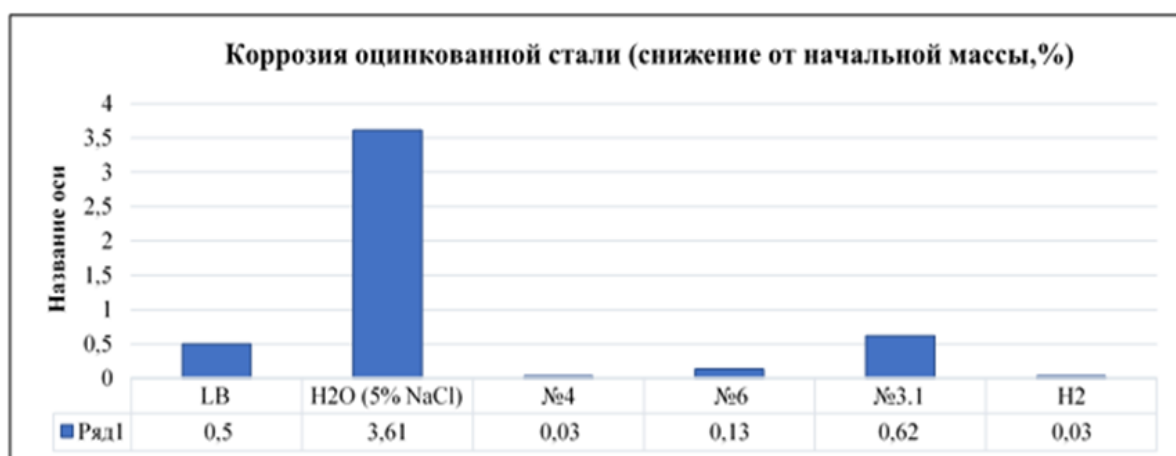
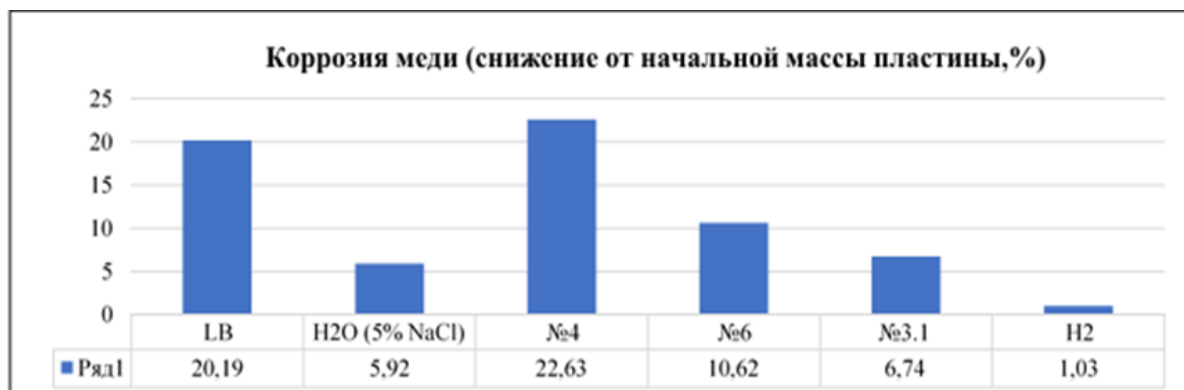


Таблица. Масса металлических пластин (мг) в начале и в конце первого эксперимента (питательная среда LB с 5% NaCl). (составлена автором)

| Среды и бактерии | № пробирки | Cu | Cu (итог) | Снижение массы, % |
|----------------------------|------------|--------|-----------|-------------------|
| LB | 1 | 115,5 | 96,1 | 20,19 |
| H ₂ O (5% NaCl) | 4 | 85,9 | 81,1 | 5,92 |
| №4 | 7 | 106,2 | 86,6 | 22,63 |
| №6 | 10 | 90,6 | 81,9 | 10,62 |
| №3.1 | 13 | 104,5 | 97,9 | 6,74 |
| H ₂ | 16 | 78,6 | 77,8 | 1,03 |
| Среды и бактерии | № пробирки | Zn | Zn (итог) | Разница в % |
| LB | 2 | 339 | 337,3 | 0,50 |
| H ₂ O (5% NaCl) | 5 | 373 | 360 | 3,61 |
| №4 | 8 | 290,8* | 290,9* | +0,03 |
| №6 | 11 | 377,9 | 377,4 | 0,13 |
| №3.1 | 14 | 307,4 | 305,5 | 0,62 |
| H ₂ | 17 | 368,8 | 368,7 | 0,03 |
| Среды и бактерии | № пробирки | Fe | Fe (итог) | Разница в % |
| LB | 3 | 376,6 | 369,8 | 1,84 |
| H ₂ O (5% NaCl) | 6 | 376,6 | 372,9 | 0,99 |
| №4 | 9 | 379,3 | 379 | 0,08 |
| №6 | 12 | 364,4 | 363,3 | 0,30 |
| №3.1 | 15 | 377 | 376,6 | 0,11 |
| H ₂ | 18 | 376,8 | 376,2 | 0,16 |

Влияние бактерий на изменение показателя pH среды

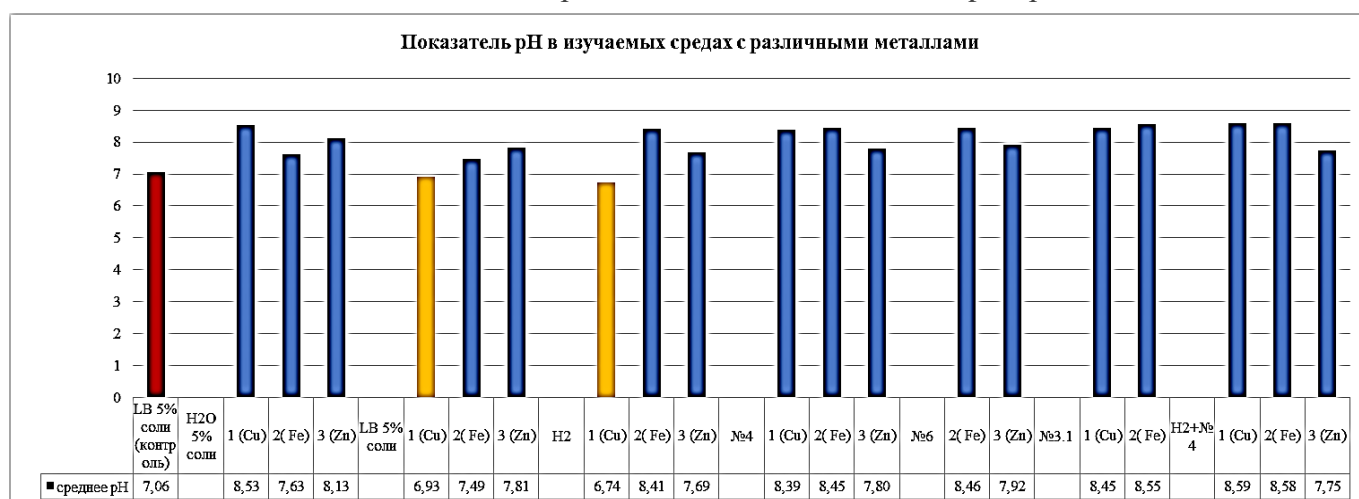


Таблица. Результаты эксперимента по влиянию различных сред и бактерий на уровень коррозии металлов*(* Cu1 и Cu1/2 обозначают массу металлической пластины (меди) до и после пребывания в среде) (составлено автором)

| Среды/бактерии | Масса, мг | | | | | | | | | | |
|----------------|---------------|-------|------------------|----------------|-------|------------------|-----------------|-------|------------------|---------------------|---------------------|
| | I Повторность | | Разница массы, % | II повторность | | Разница массы, % | III повторность | | Разница массы, % | Среднее значение, % | Ошибка среднего (±) |
| | Cu1 | Cu1/2 | | Cu2 | Cu2/2 | | Cu3 | Cu3/2 | | | |
| Вода(5%NaCl) | 86,7 | 84,3 | -2,85 | 78,9 | 76,8 | -2,73 | 61,6 | 60,0 | - 2,67 | - 2,75 | 0,05 |
| LB(5%NaCl) | 82,3 | 78,6 | -4,71 | 92,8 | 89,8 | -3,34 | 74,3 | 71,9 | - 3,34 | - 3,80 | 0,46 |
| H2 | 84,2 | 81,5 | -3,31 | 80,9 | 78,0 | -3,72 | 85,3 | 81,6 | - 4,53 | - 3,86 | 0,36 |
| №4 | 100,4 | 99,6 | -0,80 | 55,6 | 55,4 | -0,36 | 71,6 | 71,5 | - 0,14 | - 0,43 | 0,20 |
| №3,1 | 90,3 | 88,7 | -1,80 | 71,2 | 70,9 | -0,42 | 77,5 | 77,0 | - 0,65 | - 0,96 | 0,43 |
| H2+№4 | 79,3 | 76,0 | -4,34 | 80,7 | 78,2 | -3,20 | 83,2 | 77,8 | - 6,94 | - 4,83 | 1,11 |
| | Fe1 | Fe1/2 | | Fe2 | Fe2/2 | | Fe3 | Fe3/2 | | | |
| Вода(5%NaCl) | 561,1 | 557,8 | -0,59 | 561,8 | 559,1 | -0,48 | 558,8 | 555,1 | - 0,67 | - 0,58 | 0,05 |
| LB(5%NaCl) | 567,8 | 565,4 | -0,42 | 547,5 | 544,3 | -0,59 | 550,2 | 545,8 | - 0,81 | - 0,61 | 0,11 |
| H2 | 570,2 | 569,5 | -0,12 | 567,2 | 565,9 | -0,23 | 540,7 | 539,5 | - 0,22 | - 0,19 | 0,03 |
| №4 | 552,9 | 552,7 | -0,04 | 565,2 | 564,9 | -0,05 | 564,3 | 563,9 | - 0,07 | - 0,05 | 0,01 |
| №6 | 539,5 | 539,2 | -0,06 | 524,3 | 523,8 | -0,10 | 554,1 | 553,9 | - 0,04 | - 0,06 | 0,02 |
| №3,1 | 519,1 | 518,9 | -0,04 | 556,6 | 556,1 | -0,09 | 552,5 | 551,9 | - 0,11 | - 0,08 | 0,02 |
| H2+№4 | 568,6 | 567,9 | -0,12 | 555,9 | 555,5 | -0,07 | 547,2 | 547,0 | - 0,04 | - 0,08 | 0,03 |
| | Zn1 | Zn1/2 | | Zn2 | Zn2/2 | | Zn3 | Zn3/2 | | | |
| Вода(5%NaCl) | 313,2 | 306,2 | -2,29 | 400,3 | 391,7 | -2,20 | 248,5 | 243,0 | - 2,26 | - 2,25 | 0,03 |
| LB(5%NaCl) | 373,1 | 368,1 | -1,36 | 345,7 | 344,5 | -0,35 | 417,5 | 416,7 | - 0,19 | - 0,63 | 0,37 |
| H2 | 258,3 | 257,3 | -0,39 | 256,1 | 255,7 | -0,16 | 250,8 | 248,5 | - 0,93 | - 0,49 | 0,23 |
| №4 | 322,6 | 322,5 | -0,03 | 232,8 | 232,5 | -0,13 | 252,3 | 252,2 | - 0,04 | - 0,07 | 0,03 |
| №6 | 335,7 | 335,7 | 0,00 | 328,7 | 327,9 | -0,24 | 246,3 | 246,2 | - 0,04 | - 0,09 | 0,08 |
| H2+№4 | 288,4 | 288,3 | -0,03 | 351,5 | 351,1 | -0,11 | 329,0 | 328,3 | - 0,21 | - 0,12 | 0,05 |

Диаграммы результатов второго эксперимента по коррозии металлов

Диаграммы результатов второго эксперимента по коррозии металлов

