



[www.rsd.tfbor.bg.ac.rs](http://www.rsd.tfbor.bg.ac.rs)

Pregledni rad

## MIKROORGANIZMI KAO POTENCIJALNI INHIBITORI KOROZIJE METALA

### MICROORGANISMS AS POTENTIAL CORROSION INHIBITORS OF METALLIC MATERIALS

Žaklina Z. Tasić, Milan M. Antonijević<sup>#</sup>, Marija Petrović Mihajlović

Univerzitet u Beogradu, Tehnički fakultet u Boru, Bor, Srbija

Primljen: 09.septembar 2016.

Prihvaćen: 20.novembar 2016

**IZVOD** - Proces korozije predstavlja destrukciju kako metalnih tako i nemetalnih materijala usled hemijske ili elektrohemijske interakcije sa okolnom sredinom. Kao rezultat interakcija između površine metala i bakterijskih ćelija, odnosno njihovih metabolita nastaje mikrobiološki indukovana korozija. Međutim, neke vrste mikroorganizama utiču na smanjenje procesa korozije. Shodno tome, analizirana je literatura koja se bavi primenom mikroorganizama kao potencijalnih inhibitora korozije metala. Različite bakterijske vrste ispitivane su kao potencijalni inhibitori korozije. Istaknut je značaj samih mikroorganizama kao i uloga ekstracelularnih polimernih supstanci na koroziono ponašanje metala. Prikazano je da na stepen zaštite pored tipa primenjenog mikroorganizma, utiče i vrsta metala. Takođe, na osnovu prikazanih podataka može se videti da pojedine vrste mikroorganizma mogu uspešno zameniti organske inhibitore koji mogu biti toksični.

**Ključne reči:** mikroorganizmi, korozija, metali, inhibitori, bakterijske vrste

**ABSTRACT** - Corrosion presents the destruction of materials through chemical or electrochemical interactions with their environment. Interactions between the metal surface and bacterial cells or products of their metabolic activities can lead to microbially-influenced corrosion. Also, it is known that certain microorganisms can contribute to corrosion inhibition. In accordance to that, the literature dealing with the application of different microorganisms as a potential corrosion inhibitors of metals is investigated. Different bacterial strains as a corrosion inhibitor of a metallic materials are examined. Further, the role of extracellular polymeric substances in corrosion behavior of metals is emphasized. Based on the data presented in this work, it can be said that inhibition efficiency depends on microorganism as well as type of metal. Also, it is presented that some bacterial species can be used as a good corrosion inhibitor instead of toxic organic compounds.

**Key words:** microorganisms, corrosion, metals, inhibitors, bacterial strains

<sup>#</sup> Kontakt adresa autora: Milan M. Antonijević, Tehnički fakultet u Boru, Univerzitet u Beogradu, Vojske Jugoslavije 12, 19210 Bor, Srbija. E-mail: [mantonijevic@tfbor.bg.ac.rs](mailto:mantonijevic@tfbor.bg.ac.rs)

## UVOD

Korozija metala predstavlja problem svetskih razmera u različitim granama industrije, što dovodi do velikih ekonomskih gubitaka. To je proces razaranja materijala usled hemijskog ili elektrohemijskog dejstva okoline kojoj su izloženi. Proces korozije materijala mogu izazvati i različiti mikroorganizmi. Mikrobiološki indukovana korozija (MIC) dovodi do oštećenja kako metala, tako i nemetalnih materijala, zbog prisustva i aktivnosti mikroorganizama [1, 2]. Međutim, uočeno je da pojedini mikroorganizmi mogu imati i suprotnu ulogu, odnosno sposobnost da zaštite materijal od korozije.

Jedan od načina zaštite metala od korozije jeste primena organskih jedinjenja kao inhibitora [3, 4]. Međutim, primena ovih inhibitora predstavlja potencijalnu opasnost po životnu sredinu jer nisu sva organska jedinjenja ekološki prihvatljiva. Osim organskih jedinjenja, kao zaštita se mogu koristiti i različite prevlake. Poznato je da prevlake mogu da sadrže hrom za koji je poznato da je toksičan. Pošto pojedine bakterijske vrste imaju sposobnost da oblože metal biofilmom, mogu se iskoristiti kao potencijalni inhibitori korozije. Takođe, formirani biofilm ima sposobnost regeneracije [5].

Poslednjih godina sve veća pažnja je posvećena ekstracelularnim polimernim supstancama (EPS) proizvedenim od strane mikroorganizama, kao i ispitivanju njihovog sastava, strukture, biosinteze i funkcionalnih osobina [5] kako bi se mogle iskoristiti i kao potencijalni inhibitori korozije. Ekstracelularne polimerne supstance (EPS) jesu ekološki prihvatljive supstance, jeftine, i pogodna su alternativa postojećim hemijskim polimernim supstancama, pa se mogu primenjivati i u drugim granama industrije.

Međutim, nemaju sve bakterijske vrste sposobnost da uspre ili spreče koroziju. Sulfat-redukujuće bakterije (SRB) [6, 7], mangan-oksidirajuće bakterije [8], gvožđe-redukujuće bakterije [9] i CO<sub>2</sub> redukujuće bakterije [10] su glavni induktori (aktivatori) korozije različitih metala.

U ovom radu prikazani su dosadašnji rezultati ispitivanja uticaja različitih bakterijskih vrsta na proces inhibiranja korozije metala i njihovih legura. Takođe, uočeno je da u dosadašnjim ispitivanjima ne postoji objašnjenje o mehanizmu inhibiranja korozije što bi u budućnosti trebalo više istraživati.

## FORMIRANJE BIOFILMA

Biofilm se formira na površini materijala usled adsorpcije bakterijskih ćelija, koje formiraju kolonije i reprodukuju se na površini materijala [11, 12]. U procesu formiranja biofilma može učestvovati više bakterijskih vrsta. Uloga biofilma jeste da spreči ili

smanji difuziju korozivnih agenasa do površine metala, smanjujući tako i brzinu korozije [1, 13]. Takođe, u prisustvu biofilma dolazi do promene sadržaja kiseonika u medijumu, kao i pH vrednosti što se odražava na korozioni proces [14].

Proizvodnja ekstracelularnih polimernih supstanci (EPS) od strane bakterija zapravo olakšava formiranje biofilma na površini različitih metala [15, 16]. U sastav EPS ulaze polisaharidi, proteini, nukleinske kiseline, lipidi [17]. U zavisnosti od bakterijske vrste koje sintetišu EPS i uslova rasta, zavisi i udeo navedenih organskih jedinjenja koja ulaze u sastav EPS [18]. Zbog prisustva različitih funkcionalnih grupa u EPS poput karboksilnih, sulfhidrilnih, fenolnih, hidroksilnih grupa, EPS mogu formirati kompleks sa jonima metala [19-21]. Konstante stabilnosti kompleksa EPS sa jonima Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> i Zn<sup>2+</sup> su reda veličine od 105 do 109. Osim navedenog, EPS imaju sposobnost da adsorbuju organske zagađivače kao što su benzen i njegovi derivati, zatim različite organske boje. Ova sposobnost se pripisuje hidrofobnom delu molekula EPS. Zbog svog sastava, EPS poseduju sposobnost adsorpcije, biodegradacije, ponašaju se kao hidrofobne odnosno hidrofilne supstance.

Neki autori su zabeležili da dolazi do ubrzane korozije metala u prisustvu mikroorganizama odnosno bakterija koje formiraju biofilm [22, 23]. Do intenzivnijeg procesa korozije dolazi u prisustvu biofilma koji je sintetisan u prisustvu različitih bakterija. U takvim biofilmovima dolazi do interakcije različitih bakterijskih vrsta koje mogu izazvati niz biohemijjskih reakcija i na taj način ubrzati proces korozije [9, 13]. Takođe, važno je pomenuti da u prisustvu SRB i gvožđe oksidujuće bakterije dolazi do izraženijeg korozionog procesa zbog postojanja sinergističkog efekta između njih [24]. Međutim, Lee i dr., [25] u svojoj studiji su zabeležili da biofilm koji se formira u prisustvu SRB i gvožđe redukujućih bakterija smanjuje brzinu korozije u odnosu na formirani biofilm u prisustvu samo SRB. Druga grupa naučnika [26, 27] ukazala je da biofilmovi koji se sastoje od polimernih supstanci imaju sposobnost da štite metal od korozije. Bakterije kolonizuju površinu metala i proizvode heterogene ekstracelularne polimerne supstance koje prijanjanju za metalnu površinu zbog prisustva funkcionalnih grupa u molekulima EPS. Utvrđeno je da deksrani koji ulaze u sastav EPS imaju sposobnost inhibiranja korozije metala [28].

## INHIBICIJA KOROZIJE POMOĆU BIOFILMA

Određene bakterije koje se mogu naći u medijumu imaju sposobnost da na granici faza metala i rastvora formiraju zaštitni biofilm smanjujući tako brzinu korozije. Formirani biofilm smanjuje difuziju korozivnih agenasa poput jona hlorida, zatim i kiseonika do

površine metala. Pored toga, prisustvo biofilma može uticati na bakterije izazivače korozije, odnosno dolazi do njihove eliminacije [1]. Određene bakterijske vrste mogu da sintetišu i antimikrobne agense koji inhibiraju rast bakterija izazivača korozije [29].

Sposobnost EPS da sa metalima izgradi kompleks je važan parametar za MIC, i zavisi kako od bakterijske vrste tako i od samog metalnog jona. Tako, neke bakterijske vrste deluju aktivatorski na korozioni proces. San sa svojim saradnicima [30] je utvrdio da formirani biofilm u prisustvu *Aeromonas eucrenophila* utiče na ubrzanje korozije Ni-Cu legure. EPS koji grade biofilm u svojoj strukturi poseduju funkcionalne grupe sa kiselim karakterom što za posledicu ima ubrzanje korozije. Takođe, usled metaboličkih aktivnosti bakterije *Delftia acidovorans* dolazi do intenzivnijeg korozionog procesa Ni-Zn legure [31]. Utvrđeno je da EPS mogu inhibirati aktivnost sulfat-redukujućih bakterija (SRB) [28, 32, 33]. Tako bakterijska vrsta *Desulfovibrio alaskensis* sintetiše EPS koji inhibiraju koroziju gvožđa i ugljeničnog čelika, dok vrste *Desulfovibrio vulgaris* i *Desulfovibrio indonesiensis* svojom metaboličkom aktivnošću sintetišu EPS koji se ponašaju kao aktivatori korozionih procesa [28].

Neke bakterijske vrste u toku svojih metaboličkih aktivnosti troše kiseonik, što značajno utiče na smanjenje procesa korozije [34]. Do istog zaključka došli su i Jayaraman sa saradnicima [26, 35, 36] u svojim istraživanjima ispitujući koroziono ponašanje čelika (SAE 1018), bakra i aluminijuma [37] u prisustvu različitih bakterija (*Bacillus brevis* 18 i *Pseudomonas fragi* K). Uočeno je da bakterije *Pseudomonas fragi* i *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  formiraju zaštitni biofilm na površini čelika štiteći ga na taj način od korozije. Takođe, ove bakterijske vrste smanjuju koncentraciju kiseonika u ispitivanom medijumu. Primećeno je da dolazi do povećanja debljine biofilma sa vremenom doprinoseći povećanju inhibicione efikasnosti, što se može videti na osnovu prikazanih podataka u Tabeli 1. Aerobna vrsta *P. fragi* kao i anaerobna *E. coli* proizvode biofilmove koji su se pokazali kao efikasni inhibitori korozije. Biofilm sintetisan od strane aerobne bakterijske vrste se pokazao efikasnijim što dovodi do zaključka da potrošnja kiseonika od strane bakterijske vrste ima značajnu ulogu u procesu korozije [26, 35]. Kao potencijalni inhibitori korozije čelika pokazale su se i bakterijske vrste *Chryseobacterium indolgenes* MUT.2 i *Klebsiella pneumonia* MUT.1 koje formiraju zaštitni sloj na površini čelika [38].

Brojni istraživači su svoja ispitivanja usmerili ka bakterijama iz roda *Bacillus*. Jayaraman i sar., [39] je u svom istraživanju utvrdio da *Bacillus brevis*, koji ima sposobnost da prirodno sintetiše antimikrobni peptid gramicidin S, inhibira koroziju čelika u prisustvu sulfat-

redukujućih bakterija (SRB). Do sličnih rezultata došli su i drugi istraživači [24, 40, 41]. Kada se na površini čelika formira biofilm bakterije *B. brevis* 18-3, uzorci čelika bivaju zaštićeni od korozije. Površinskom analizom uzoraka (SEM analiza) potvrđeno je da u prisustvu gramicidin-S površina metala ostaje neoštećena u prisustvu SRB bakterija za koje je poznato da su izazivači korozije. Osim čelika, bakterija *Bacillus brevis* pokazala je sposobnost da zaštiti i bakar i aluminijum 2024 od korozije formirajući biofilm na površinama ispitivanih metala [40].

Sojevi *Bacillus*-a mogu se genetički modifikovati u cilju sintetisanja antimikrobnih peptida poput indolicidina, bakteneцина i probakteneцина. Sintetisani peptidi imaju sposobnost da spreče rast bakterija izazivača korozije mekog čelika (*Desulfovibrio vulgaris* i *D. gigas*) [42].

U prisustvu bakterija *Bacillus subtilis* i *Escherichia coli* genetički modifikovanih za sintezu inhibitora korozije (poliaspartata, poliglutamata, polifosfata) i *Bacillus licheniformis*, koji prirodno sintetiše  $\gamma$ -poliglutamat, zapažena je smanjena brzina korozije aluminijuma [43]. Biofilmovi genetički modifikovanog *B. subtilis* WB600/pBE92, koji je sintetisao poliaspartat i *B. licheniformis* koji je sintetisao  $\gamma$ -poliglutamat, smanjuju brzinu korozije aluminijuma 2024 [44]. Pretpostavlja se da dolazi do formiranja kompleksa između aluminijuma i poliaspartata odnosno aluminijuma i  $\gamma$ -poliglutamata. Na osnovu elektrohemijske impedansne spektroskopije (EIS) utvrđeno je da  $\gamma$ -poliglutamat smanjuje brzinu tačkaste (pitting) korozije aluminijuma za 67% u odnosu na kontrolni rastvor pri koncentraciji od 4,3 g/l u prva tri dana. Međutim, daljim izlaganjem površine aluminijuma u prisustvu inhibitora, dolazi do pojave korozije što se objašnjava razlaganjem  $\gamma$ -poliglutamata u prisustvu enzima  $\gamma$ -poliglutamata depolimeraze koju sintetiše sama bakterija *B. licheniformis*. Juzeliunas i sar., [45] došli su do zaključka da bakterija *B. mycooides* inhibira korozioni proces aluminijuma, dok koroziju cinka aktivira. Du i dr., [46] su potvrdili da sojevi *Bacillus*-a formiraju kompaktni biofilm na površini čelika A3 štiteći ga tako od daljeg rastvaranja.

Bakterijska vrsta *Pseudomonas fluorescens* ima sposobnost da sintetiše biosufraktant koji je ispitivan kao potencijalni inhibitor korozije čelika u rastvoru 0,15 M NaCl [47, 48]. Sama adsorpcija biosufraktanta na površini čelika se odvija brzo, ali formirani zaštitni sloj nije kompaktni.

Uočeni su delovi na površini filma u koje mogu prodrati joni hlorida i izazvati koroziju u obliku tačkaka (pitting korozija) [48].

Tabela 1. Inhibiciona efikasnost metala i legura metala u prisustvu određenih bakterijskih vrsta

Bakterija	Legura ili metal	Vreme izlaganja	Mehanizam inhibicije	EI (%)	Ref.
<i>P. fragi</i> K	čelik SAE 1018	14 dana	uklanjanje kiseonika	80,2 <sup>GM</sup>	[26]
<i>E. coli</i> DH5a				83,3 <sup>GM</sup>	
<i>P. fragi</i> K	čelik SAE 1018	8 dana		80,6 <sup>GM</sup>	[36]
<i>E. coli</i> DH5a	čelik SAE 1018	8 dana		61,3 <sup>GM</sup>	
				82,5 <sup>GM</sup>	
				63,5 <sup>GM</sup>	
<i>P. aeruginosa</i>	nikl-cink legura	NP	zaštitni biofilm	68,7 <sup>EIS</sup>	[55]
<i>B. subtilis</i> C2	hladno valjani čelik	240h	zaštitni biofilm	93,5 <sup>PP</sup>	[61]
<i>B. brevis</i> i <i>D. vulgaris</i>	čelik SAE 1018	32 dana	antimikro-bni peptid (gramidi-cin S)	78,5 <sup>GM</sup>	[39]
<i>B. brevis</i> 18-3 i <i>D. orientis</i> i <i>L. disco-phora</i> SP-6	meki čelik	12 dana		70,3 <sup>GM</sup>	[24]
			81,8 <sup>EIS</sup>		
<i>B. brevis</i> 18-3 i <i>D. orientis</i>	meki čelik 1010	5 dana	antimikro-bni peptid (gramidicin S)	55,32	[40]
				42,55	
<i>P. fragi</i> K	meki čelik 1018	15 dana	uklanjanje kiseonika i metabolički produkti	96,43	[63]
<i>Spirulina platensis</i>	Ugljenični čelik	7 dana	zaštitni biofilm	63,64	[59]
<i>Spirulina platensis</i> u 1 M HCl	Meki čelik	/	/	74,13 <sup>GM</sup> 66,97 <sup>PP</sup> 75,82 <sup>EIS</sup>	[60]
<i>Spirulina platensis</i> u 1 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Meki čelik	/	/	82,65 <sup>GM</sup> 81,99 <sup>PP</sup> 80,21 <sup>EIS</sup>	
<i>Aeromonas salmonicida</i>	nikl-kobalt legura	5 h	zaštitni biofilm	57,6 <sup>PP</sup> 56,6 <sup>EIS</sup>	[54]
<i>Clavibacter michigensis</i>				80,8 <sup>PP</sup> 83,5 <sup>EIS</sup>	
<i>Staphylococcus sp.</i>	meki čelik	7 dana	EPS i zaštitni biofilm	98,75	[65]
<i>Lactobacillus fermentum</i>	Čelik	12 h	biofilm	74,07	[5]
<i>Vibrio neocaledonicus</i>	Ugljenični čelik	1 dan	Uklanjanje kiseonika i EPS	97,96 <sup>EIS</sup>	[57]
		5 dana		98,03 <sup>EIS</sup>	
		10 dana		98,15 <sup>EIS</sup>	
		20 dana		97,83 <sup>EIS</sup>	
		30 dana		98,31 <sup>EIS</sup>	
<i>Vibrio neocaledonicus</i>	Ugljenični čelik Q235	/	EPS	84,0 <sup>EIS</sup> 89,4 <sup>PP</sup>	[58]
/	Željezo gvožđe	5 dana	EPS	66,4 <sup>PP</sup>	[65]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ZK	Nerđajući čelik (SS 304)	15 dana	biofilm	22,65 <sup>PP</sup> 22,24 <sup>GM</sup>	[50]
<i>Bacillus subtilis</i> S1X				62,93 <sup>PP</sup> 78,73 <sup>GM</sup>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ZK + <i>Bacillus subtilis</i> S1X				60,55 <sup>PP</sup>	
				60,46 <sup>GM</sup>	

GM – metoda gubitka mase; PP – potenciodinamička polarizaciona metoda; EIS – elektrohemijaska impedansna spektrometrija.

Interesantno je da se i EPS koje sintetišu mlečne bakterije mogu primeniti kao inhibitori korozije. U radu Ignatova-Ivanova i Ivanova [5] prikazani su podaci o proizvodnji EPS i njihovom efektu na proces korozije čelika u morskoj vodi. Ispitivana je mlečna bakterijska vrsta *Lactobacillus fermentum* Ts. Sposobnost proizvodnje EPS ove bakterijske vrste ispitivana je u medijumu koji je sadržao 10% sukroze, 10% fruktoze i 10% maltoze. Korišćena je gravimetrijska metoda za određivanje brzine korozije čelika. Nastali biofilm sprečava koroziju čelika pri čemu se pretpostavlja da dolazi do formiranja kompleksnog jedinjenja metal-polisaharid na površini čelika, koji ima zaštitnu ulogu. Van Leeuwen i dr., [49] u svom istraživanju uočili su da D-glukan proizveden od strane *Lactobacillus reuteri* takođe inhibira koroziju metala. Osim toga, korišćen je i sloj EPS sintetisan od strane *Leuconostoc mesenteroides* kao prevlaka u cilju zaštite nisko ugljeničnog čelika od korozije [33].

Wadood i saradnici [50] su ispitivali koroziono ponašanje nerđajućeg čelika (SS 304) u rastvoru 1,5% NaCl u prisustvu bakterijskih vrsta *Bacillus subtilis* S1X i *Pseudomonas aeruginosa* ZK. Utvrđeno je da obe vrste bakterija formiraju zaštitni biofilm na površini čelika štiteći ga na taj način od procesa korozije. Veći stepen zaštite postignut je u prisustvu bakterije *B. subtilis* S1X usled formiranja kompaktnijeg i debljeg biofilma na površini nerđajućeg čelika (Tabela 1). Međutim, Li i dr., [51] su došli do suprotnog zaključka što se tiče inhibicione sposobnosti biofilma bakterije *Pseudomonas aeruginosa*. Na osnovu elektrohemijjskih merenja uočili su da prisustvo ove bakterije u morskoj vodi zapravo dovodi do povećanja korozije čelika (2707 HDSS). Do sličnih zaključaka došli su i drugi autori [52] ispitivanjem korozije legure bakra (70/30 CuNi). Pretpostavlja se da nastali biofilm ima ulogu biokatalizatora u procesu redukcije kiseonika [53].

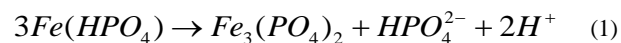
U radu San i dr., [54] ispitivano je koroziono ponašanje Ni-Co legure u prisustvu bakterija *Aeromonas slmonicida* i *Clavibacter michiganensis*. Veća inhibiciona efikasnost postignuta je u prisustvu vrste *C. michiganensis*. Elektrohemijjskom analizom rastvora u kome se nalazila i bakterija *C. michiganensis* uočeno je da dolazi do smanjenja vrednosti korozione gustine struje. Utvrđeno je da formirani biofilm u prisustvu *C. michiganensis* ima kompaktniju strukturu u odnosu na biofilm sintetisan od strane *A. Slmonicida* što se može uočiti i na osnovu stepena inhibicije (Tabela 1).

U radu San i dr., [55] ispitivan je uticaj formiranja biofilma bakterijske vrste *Pseudomonas aeruginosa* na koroziono ponašanje Ni-Zn i Ni-Cu. Uočeno je da formirani biofilm ima zaštitno dejstvo na Ni-Zn leguru, dok je aktivatorsko dejstvo uočeno prema koroziji Ni-Cu legure. Nakon uranjanja Ni-Zn legure u inokulisani medijum, elektrohemijjskom analizom utvrđeno je da

dolazi do inhibiranja korozionog procesa. Na osnovu SEM analiza potvrđeno je da dolazi do formiranja biofilma na površini legure, koji ima kompaktnu strukturu i na taj način predstavlja barijeru za agresivne jone.

Chongdar i sar., [27] u svojoj studiji izvršili su tretman uzoraka mekog čelika u fosfatnom puferском rastvoru u prisustvu dve različite aerobne bakterijske vrste: *Pseudomonas alcaligenes* i *Pseudomonas cichorii*. U ispitivanom medijumu u kome se nalazila bakterija *P. cichorii* uočeno je značajno smanjenje korozionog procesa usled formiranja biofilma. Nastali biofilm sastoji se od EPS koji stupaju u reakciju sa jonima gvožđa u rastvoru i formiraju organometalni kompleks, Fe-EPS. U prisustvu bakterije *P. alcaligenes* proizvedeni EPS imaju kiseli karakter pa formiranje kompleksa Fe-EPS nije izvodljivo. Prisustvo kiselih grupa u EPS doprinosi smanjenju pH vrednosti medijuma što dalje dovodi do povećanja brzine korozije.

Cote i dr., [56] ispitivali su uticaj bakterije *Geobacter sulfurreducens* na elektrohemijjsko ponašanje ugljeničnog čelika u anaerobnom rastvoru u kome su se nalazili acetati (1 mM), fosfati (5 mM) i fumarati (10 mM). Ova bakterijska vrsta ima sposobnost da redukuje jone gvožđa  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$ . Za  $Fe^{2+}$  jone je karakteristično da mogu formirati  $Fe^{2+}$ -fosfatni sloj na površini čelika. Ovaj sloj se formira u prisustvu bakterije i zaslužan je za zaštitu ugljeničnog čelika C1145 od korozije. Proces formiranja zaštitnog sloja se može prikazati sledećom reakcijom:



Kada je bakterija u medijumu, ona stupa u reakciju sa oksidom gvožđa, pri čemu dolazi do redukcije  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$ .

Osim navedene bakterijske vrste, u radu Moradi i dr., [57] utvrđeno je da bakterija *Vibrio neocaledonicus* ima sposobnost da inhibira koroziju ugljeničnog čelika u rastvoru morske vode, što se može videti na osnovu postignutog stepena zaštite (Tabela 1). U prisustvu bakterije dolazi do smanjenja koncentracije kiseonika što je uticalo na smanjenje korozionog procesa. Nakon toga, formirani zaštitni sloj koji se sastojao od EPS sprečava difuziju agresivnih jona poput  $Cl^-$  jona do površine metala i na taj način kontroliše korozioni proces. Do sličnih zaključaka došli su i Tao i sar., [58] ispitujući istu bakterijsku vrstu kao inhibitor korozije ugljeničnog čelika Q235 u 0,5 M  $H_2SO_4$ . Postignuti rezultati sumirani su u tabeli 1.

U radu Mert i sar., [59] ispitivano je koroziono ponašanje ugljeničnog čelika u 3,5% rastvoru NaCl bez i u prisustvu vrste *Spirulina platensis*. Na osnovu potenciodinamičke polarizacione metode utvrđeno je da

u prisustvu *S. platensis* dolazi do smanjenja vrednosti korozione gustine struje. Takođe, vrednost korozionog potencijala ( $E_{kor}$ ) se pomera ka pozitivnijim vrednostima. Postignuti rezultati su posledica nastajanja biofilma u prisustvu ispitivanog mikroorganizma, koji sprečava dalji transfer između supstrata i korozionog medijuma. Zanimljivo je da se pri višim vrednostima potencijala biofilm pokazao stabilnijim. Kemal i Sethuraman [60] su takođe ispitivali sposobnost *Spirulina platensis* da inhibira koroziju mekog čelika. Ispitivanje je sprovedeno u kiselim rastvorima, 1M HCl i 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, na različitim temperaturama (303 K, 313 K i 323 K). Utvrđeno je da se inhibitor adsorbuje na površini metala po Temkinovom modelu izoterme. Takođe, stepen inhibicije se povećava sa povećanjem koncentracije inhibitora u rastvoru 1M HCl kao i u rastvoru 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, odnosno povećava se broj konstitutivnih molekula *S. platensis* koji se adsorbuju na površini čelika. Na osnovu polarizacione metode je utvrđeno da inhibitor ima uticaja i na anodnu i na katodnu reakciju, što dovodi do zaključka da se ponaša kao mešoviti tip inhibitora. Na osnovu metode gubitka mase uočeno je da sa povećanjem temperature dolazi do smanjenja inhibicione efikasnosti što ukazuje da formirani biofilm nije stabilan na visokim temperaturama.

Qu sa svojim saradnicima, [61] zaključio je da bakterija *Bacillus subtilis* C2 utiče na koroziono ponašanje hladno valjanog čelika u sintetičkom rastvoru morske vode. Uočeno je da prisustvo ispitivane bakterije utiče na smanjenje pH vrednosti medijuma. Takođe, dolazi do formiranja biofilma na površini čelika koji postaje deblji i kompaktniji sa vremenom. Analizirana je promena potencijala otvorenog kola (POK) u rastvoru morske vode bez i u prisustvu bakterije *Bacillus subtilis* C2. Uočeno je da dolazi do smanjenja vrednosti POK u prisustvu bakterije što se objašnjava formiranjem zaštitnog biofilma koji sprečava difuziju kiseonika i jona vodonika što dovodi do smanjenja katodnog redukcionog potencijala. Do sličnih rezultata došao je i Cheng i dr., [62].

Ono što se može reći na osnovu dobijenih rezultata (Tabela 2) jeste da u prvih 16 časova ne dolazi do smanjenja korozione struje ( $i_{kor}$ ), čak su vrednosti i malo povišene u odnosu na osnovni rastvor morske vode. Međutim, daljim tretiranjem hladno valjanog čelika, značajniji je uticaj bakterije na korozionu gustinu struje. Pretpostavlja se da se sa vremenom povećava i broj bakterija na površini metala koje se adsorbuju i formiraju biofilm (bakterije su kolonizovale površinu metala i na taj način je smanjena korozija).

**Tabela 2.** Vrednosti korozione gustine struje hladno valjanog čelika u sintetičkom rastvoru morske vode bez i u prisustvu bakterije *Bacillus subtilis* C2 u funkciji vremena [61]

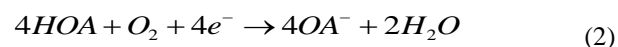
t (h)	Sintetički rastvor morske vode	Sintetički rastvor morske vode + <i>Bacillus subtilis</i> C2
	$i_{kor}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )	$i_{kor}$ ( $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ )
2	12,9	16,1
10	17,6	20,6
16	20,8	21,3
24	21,1	7,1
48	22,1	6,0
72	19,7	1,3
96	18,5	1,2
240	16,9	1,1

Sam mehanizam inhibiranja korozije metala u prisustvu mikroorganizama još uvek nije razjašnjen i njega bi trebalo dalje proučavati. Zuo, [13] je opisao tri moguća mehanizma inhibiranja korozije u prisustvu biofilma:

- 1) Uklanjanje korozivnih agenasa usled mikrobiološke aktivnosti
- 2) Proizvodnja antimikrobnih supstanci koje štite materijal od daljeg rastvaranja
- 3) Formiranje zaštitnog sloja sastavljenog od EPS koje sintetišu mikroorganizmi.

Qu i saradnici, [61] predložili su da se smanjenje brzine korozije hladno valjanog čelika u prisustvu *Bacillus subtilis* C2 odvija po jednom od sledećih mehanizama:

- a) Smanjena je koncentracija kiseonika na granici faza metal/elektrolit u prisustvu bakterije što se može predstaviti sledećom reakcijom koja se odvija na katodi:



U prisustvu bakterije *B. subtilis* C2 u sintetičkom rastvoru morske vode, dolazi do formiranja organskih kiselina (HOA) koje se po reakciji (2) redukuju.

- b) Formirani biofilm sprečava difuziju agresivnih jona  
c) Bakterija svojim metaboličkim produktima utiče na smanjenje korozionog procesa usled adsorpcije ovih proizvoda na površini čelika.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu izloženog može se videti da prisustvo mikroorganizama ima značajan uticaj na proces korozije različitih metala i njihovih legura. Neke vrste mikroorganizama dovode do intenziviranja korozionog procesa, dok se određene vrste mogu koristiti kao potencijalni inhibitori korozije metala. Primena bakterija kao inhibitora korozije u nekim situacijama bi mogla da zameni klasične inhibitore korozije koji nisu ekološki prihvatljivi.

Bakterije kao inhibitori korozije uglavnom formiraju biofilm na površini metala. Nastali zaštitni sloj ima ulogu da smanji ili spreči difuziju agresivnih jona do metalne površine. Osim toga, neke bakterijske vrste u toku svojih metaboličkih aktivnosti sintetišu antimikrobne supstance koje sprečavaju aktivnost bakterija izazivača korozije.

Uočeno je da na stepen efikasnosti inhibicije utiču vreme izlaganja metala u rastvoru inhibitora, zatim sama bakterijska vrsta kao i vrsta metala. Visoka vrednost efikasnosti inhibicije Ni-Co legure (97,8%) zabeležena je u prisustvu bakterije *Clavibacter michigensis*, kao i u prisustvu *Aeromonas salmonicida* (93,7%). Takođe, bakterijske vrste *Staphyococcus sp.* i *Pseudomonas fragi* pokazale su dobar stepen zaštite čelika od korozije.

Što se samog mehanizma inhibiranja korozije tiče, postoje još neke nedoumice i nerazjašnjene činjenice kojima bi trebalo posvetiti istraživanja u budućnosti.

## LITERATURA

- Zarasvand, K., Rai, R.; Microorganisms: Induction and inhibition of corrosion in metals. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2014, 87, 66-74.
- Duan, J., Wu, S., Zhang, X., Huang, G., Du, M., Hou, B.; Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater. *Electrochimica Acta* 2008, 54(1), 22-28.
- Milić, S., Antonijević, M.; Some aspects of copper corrosion in presence of benzotriazole and chloride ions. *Corrosion Science* 2009, 51(1), 28-34.
- Petrović-Mihajlović, M., Antonijević, M.; Copper corrosion inhibitors. Period 2008-2014. *International Journal of Electrochemical Science*, 2015, 10(2), 1027-1053.

- Ignatova-Ivanova, T., Ivanov, R.; Exopolysaccharides from Lactic acid bacteria as corrosion inhibitors. *Journal of Life Sciences* 2014, 8, 940-945.
- Venzlaff, H., Enning, D., Srinivasan, J., Mayrhofer, K., Hassel, A., Widdel, F., Stratmann, M.; Accelerated cathodic reaction in microbial corrosion of iron due to direct electron uptake by sulfate-reducing bacteria. *Corrosion Science* 2013, 66, 88-96.
- Enning, D., Venzlaff, H., Gareelfs, J., Dinh, H., Meyer, V., Mayrhofer, K., Hassel, A., Stratmann, M., Widdel, F.; Marine sulfate-reducing bacteria cause serious corrosion under electroconductive biogenic mineral crust. *Environmental Microbiology* 2012, 14 (7), 1772-1787.
- Ashassi-Sorkhabi, H., Moradi-Haghighi, M., Zarrini, G.; The effect of *Pseudomonas sp.* as manganese oxidizing bacterium on the corrosion behavior of carbon steel. *Material Science and Engineering C* 2012, 32 (2), 303-309.
- Videla, H., Herrera, L.; Understanding microbial inhibition of corrosion. A comprehensive overview. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2009, 63 (7), 896-900.
- Miranda, E., Bethencourt, M., Botana, F., Cano, M., Sánchez-Amaya, J., Corzo, A., Garcia de Lomas, J., Fardeau, M., Olliver, B.; Biocorrosion of carbon steel alloys by an hydrogenotrophic sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio capillatus* isolated from a Mexican oil field separator. *Corrosion Science* 2006, 48 (9), 2417-2431.
- Hori, K., Matsumoto, S.; Bacterial adhesion: From mechanism to control. *Biochemical Engineering Journal* 2010, 48(3), 424-434.
- Javed, M., Stoddart, P., Palombo, E., McArthur, S., Wade, S.; Inhibition or acceleration: Bacterial test media can determine the course of microbiologically influenced corrosion. *Corrosion Science* 2014, 86, 149-158.
- Zuo, R.; Biofilms: strategies for metal corrosion inhibition employing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2007, 76 (6), 1245-1253.
- Lin, J., Ballim, R.; Biocorrosion control: Current strategies and promising alternatives. *African Journal of Biotechnology* 2012, 11(91), 15736-15747.
- Neyens, E., Baeyens, J., Dewil, R., Deheyder, B.; Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering. *Journal of Hazardous Materials* 2004, 106(2-3), 83-92.
- Czarczyk, K., Myszk, K.; Biosynthesis of extracellular polymeric substances (EPS) and its

- role in microbial biofilm formation. *Polish Journal of Environmental Studies* 2007, 16(6), 799-806.
17. More, T., Yadav, J., Yan, S., Tyagi, R., Surampalli, R.; Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications. *Journal of Environmental Management* 2014, 144, 1-25.
  18. Beech, I.; Corrosion of technical materials in the presence of biofilms-current understanding and state-of-the art methods of study. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2004, 53(3), 177-183.
  19. Ha, J., Gelabert, A., Spormann, A., Brown, G.; Role of extracellular polymeric substances in metal ion complexation on *Shewanella oneidensis*: batch uptake, thermodynamic modeling, ATP-FTIR and EXAFS study. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2010, 74(1), 1-15.
  20. Liu, H., Fang, H.; Characterization of electrostatic binding sites of extracellular polymers by linear programming analysis of titration data. *Biotechnology and Bioengineering* 2002, 80(7), 806-811.
  21. Priester, J., Olson, S., Webb, S., Neu, M., Hersman, L., Holden, P.; Enhanced exopolymer production and chromium stabilization in *Pseudomonas putida* unsaturated biofilms. *Applied and Environmental Microbiology* 2006, 72(3), 1988-1996.
  22. Beech, I., Sunner, J.; Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metal. *Current Opinion in Biotechnology* 2004, 15(3), 181-186.
  23. Beech, I., Campbell, S.; Accelerated low water corrosion of carbon steel in the presence of a biofilm harbouring sulphate-reducing and sulphur-oxidising bacteria recovered from a marine sediment. *Electrochimica Acta* 2008, 54 (1), 14-21.
  24. Zuo, R., Wood, T.; Inhibiting mild steel corrosion from sulfate-reducing and iron-oxidizing bacteria using gramicidin-S-producing biofilms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2004, 65(6), 747-753.
  25. Lee, A., Buehler, M., Newman, D.; Influence of a dual-species biofilm on the corrosion of mild steel. *Corrosion Science* 2006, 48(1), 165-178.
  26. Jayaraman, A., Earthman, J., Wood, T.; Corrosion inhibition by aerobic biofilms on SAE 1018 steel. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1997, 47(1), 62-68.
  27. Chongdar, S., Gunasekaran, G., Kumar, P.; Corrosion inhibition of mild steel by aerobic biofilm. *Electrochimica Acta* 2005, 50(24), 4655-4665.
  28. Stadler, R., Furbeth, W., Harneit, K., Grooters, M., Woellbrink, M., Sand, W.; First evaluation of the applicability of microbial extracellular polymeric substances for corrosion protection of metal substrates. *Electrochim Acta* 2008, 54(1), 91-99.
  29. Kip, N., van Veen, J.; The dual role of microbes in corrosion. *The International Society for Microbial Ecology Journal* 2015, 9(3), 542-551.
  30. San, N., Nazir, H., Donmez, G.; Microbial corrosion of Ni-Cu alloys by *Aeromonas eucrenophila* bacterium. *Corrosion Science* 2011, 53(6), 2216-2221.
  31. San, N., Nazir, H., Donmez, G.; Microbiologically influenced corrosion of NiZn alloy coatings by *Delfia acidovorans* bacterium. *Corrosion Science* 2012, 64, 198-203.
  32. Stadler, R., Wei, L., Furbeth, W., Grooters, M., Kuklinski, A.; Influence of bacterial exopolymers on cell adhesion of *Desulfovibrio vulgaris* on high alloyed steel: corrosion inhibition by extracellular polymeric substances (EPS). *Materials and Corrosion* 2010, 61(12), 1008-1016.
  33. Finkenstad, V., Cote, G., Willett, J.; Corrosion protection of low-carbon steel using exopolysaccharide coatings from *Leuconostoc mesenteroides*. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(6), 1093-1100.
  34. Dubiel, M., Hsu, C., Chien, C., Mansfeld, F., Newman, D.; Microbial Iron Respiration Can Protect Steel from Corrosion. *Applied and Environmental Microbiology* 2002, 68(38), 1440-1445.
  35. Jayaraman, A., Cheng, E., Earthman, J., Wood, T.; Axenic aerobic biofilms inhibit corrosion of SAE 1018 steel through oxygen depletion. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1997, 48(1), 11-17.
  36. Jayaraman, A., Sun, A., Wood, T.; Characterisation of axenic *Pseudomonas fragi* and *Escherichia coli* biofilms that inhibit corrosion of SAE 1018 steel. *Journal of Applied Microbiology* 1998, 84(4), 485-492.
  37. Jayaraman, A., Ornek, D., Duarte, D., Lee, C., Mansfeld, F., Wood, T.; Axenic aerobic biofilms inhibit corrosion of copper and aluminium. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1999, 52(6), 787-790.
  38. Ghafari, M., Bahrami, A., Rasooli, I., Arabian, D., Ghafari, F.; Bacterial exopolymeric inhibition of carbon steel corrosion. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2013, 80, 29-33.
  39. Jayaraman, A., Hallock, P., Carson, R., Lee C-C, Mansfeld, F., Wood, K.; Inhibiting sulfate-reducing bacteria in biofilms on steel with antimicrobial peptides generated in situ. *Applied*



- Microbiology and Biotechnology 1999, 52(2), 267-275.
40. Zuo, R., Kus, E., Mansfeld, K., Wood T.; The importance of live biofilm in corrosion protection. *Corrosion Science* 2005, 47(2), 279-287.
  41. Korenblum, E., von der Weid, I., Santos, A., Rosado, A., Sebastián, G., Coutinho, C., Magalhaes, F., Paiva, M., Seidin, L.; Production of antimicrobial substances by *Bacillus subtilis* LFE-1, *B. firmus* H2O-1 and *B. licheniformis* T6-5 isolated from an oil reservoir in Brasil. *Journal of Applied Microbiology* 2005, 98(3), 667-675.
  42. Jayaraman, A., Mansfeld, F., Wood, T.; Inhibiting sulfate-reducing bacteria in biofilms by expressing the antimicrobial peptides indolicin and bacterenecin. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 1999, 22(3), 167-175.
  43. Mansfeld, F., Hsu, H., Örnek, D., Wood, T., Syrett, B.; Corrosion Control Using Regenerative Biofilms on Aluminium 2024 and Brass in different Media. *Journal of Electrochemical Society* 2002, 149(4), 130-138.
  44. Örnek, D., Jayaraman, A., Syrett, B., Hsu, C-H., Mansfeld, F., Wood, T.; Pitting corrosion inhibition of aluminium 2024 by *Bacillus* biofilms secreting polyaspartate or  $\gamma$ -polyglutamat. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2002, 58(5), 651-657.
  45. Juzeliunas, E., Ramanauskas, R., Lugauskas, A., Leinartas, K., Samulevičienė, M., Sudavičius, A.; Influence of wild strain *Bacillus mycoides* on metals. *Electrochimica Acta* 2006, 51(27), 6085-6090.
  46. Du, J., Li, S.-M., Liu, J.-H., Yu, M.; Corrosion Behavior of Steel A3 influenced by *Bacillus*. *Acta Physico - Chimica Sinica* 2010, 26(6), 1527-1534.
  47. Dagbert, C., Meylheuc, T., Bellon-Fontaine, M-N.; Corrosion behaviour of AISI 304 stainless steel in presence of biosurfactant produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Electrochimica Acta* 2006, 51(24), 5221-5227.
  48. Dagbert, C., Meylheuc, T., Bellon-Fontaine, M-N.; Pit formation on stainless steel surfaces pre-treated with biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Electrochimica Acta* 2008, 54(1), 35-40.
  49. van Leeuwen, S., Kralj, S., van Geel-Schutten, I., Grewig, G., Dijkhuizen, L., Kamerling, J.; Structural analysis of the  $\alpha$ -D-glucan (EPS180) produced by the *Lactobacillus reuteri* strain 180 glucansucrase GTF180 enzyme. *Carbohydrate Research* 2008, 343(7), 1237-1250.
  50. Wadood, H., Rajasekar, A., Ting, Y.-P., Sabari, A.; Role of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* on Corrosion Behaviour of Stainless Steel. *Arabian Journal for Science and Engineering* 2015, 40(7), 1825-1836.
  51. Li, H., Zhou, E., Zhang, D., Xu, D., Xia, J., Yang, C., Feng, H., Jiang, Z., Li, X., Gu, T., Zang, K.; Microbiologically Influenced Corrosion of 2707 Hyper-Duplex Stainless Steel by Marine *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Scientific Reports* 2016, 6, 1-12.
  52. Yuan, S., Choong, A., Pehkonen, S.; The influence of the marine aerobic *Pseudomonas* strain on the corrosion of 70/30 Cu-Ni alloy. *Corrosion Science* 2007, 49(12), 4352-4385.
  53. Cournet, A., Berge, M., Roques, C., Bergel, A., Delia, M.-L.; Electrochemical reduction of oxygen catalyzed by *Pseudomonas aeruginosa*. *Electrochimica Acta* 2010, 55(17), 4902-4908.
  54. San, N., Nazır, H., Dönmez, G.; Evaluation of microbiologically influenced corrosion inhibition on Ni-Co alloy coatings by *Aeromonas salmonicida* and *Clavibacter michigensis*. *Corrosion Science* 2012, 65, 113-118.
  55. San, N., Nazır, H., Dönmez, G.; Microbially influenced corrosion and inhibition of nickel-zinc and nickel-copper coatings by *Pseudomonas aeruginosa*. *Corrosion Science* 2014, 79, 177-183.
  56. Cote, C., Rosas, O., Basseguy, R.; *Goebacter sulfurreducens*: An iron reducing bacterium that can protect carbon steel against corrosion? *Corrosion Science* 2015, 94, 104-113.
  57. Moradi, M., Xiao, T., Song, Z.; Investigation of corrosion inhibitory process of marine *Vibrio neocaledonicus* sp. bacterium for carbon steel. *Corrosion Science* 2015, 100, 186-193.
  58. Tao, X., Moradi, M., Zhenlun, S., Lijing, Y., Tao, Y., Lifeng, H.; Inhibition Effect of Exopolysaccharide of *Vibrio Neocaledonicus* sp. on Q235 Carbon Steel in Sulphuric Acid Solution, *Journal of Chinese Society for Corrosion and Protection* 2016, 36(2), 150-156.
  59. Mert, B., Mert, M., Kardas, G., Yazici, B.; The role of *Spirulina platensis* on corrosion behavior of carbon steel. *Materials Chemistry and Physics* 2011, 130(1-2), 697-701.
  60. Kemal, C., Sethuraman, M.; *Spirulina platensis* – A novel green inhibitor for acid corrosion of mild steel. *Arabian Journal of Chemistry* 2012, 5(2), 155-161.
  61. Qu, Q., He, L., Wnag, L., Xu, H., Li, L., Chen, Y., Ding, Z.; Corrosion behavior of cold rolled steel in artificial seawater in the presence of *Bacillus subtilis* C2. *Corrosion Science* 2015, 91, 321-329.
  62. Cheng, S., Tian, J., Chen, S., Lei, Y., Chang, X., Liu, T., Yin, Y.; Microbially influenced corrosion of stainless steel by marine bacterium *Vibrio natriegens*: (I) corrosion behavior. *Materials Science and Engineering C* 2009, 29(3), 751-755.

63. Ismail, K., Gehrig, T., Jayaraman, A., Wood, T., Trandem, K., Arps, P., Earthman, J.; Corrosion Control of Mild Steel by Aerobic Bacteria Under Continuous Flow Conditions. *Corrosion* 2002, 58(5), 417-423.
64. Ponmariappan, S., Maruthumuthu, S., Palaniappan, R.; Inhibition of Corrosion of Mild Steel by *Staphylococcus* sp. *Transcription of the SAEST* 2004, 39(4), 99-108.
65. Jin, J., Wu, G., Zhang, Z., Guan, Y.; Effect of extracellular polymeric substances on corrosion of cast iron in the reclaimed wastewater. *Bioresource Technology* 2014, 165, 162-165.