

Effect of Anaerobic Bacterium Clostridium sp. on the Corrosion Behavior of the API X42Microalloyed Pipeline Steel in Saline Simulated Soil Solution

Mojtaba Baghalzadeh¹, *Khalilollah Gheisari², Hossein Motamedi³

1. MSc student, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. Associate Professor, Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Citation: Baghalzadeh M, Gheisari Kh, Motamedi H. Effect of Anaerobic Bacterium Clostridium sp. on the Corrosion Behavior of the API X42Microalloyed Pipeline Steel in Saline Simulated Soil Solution. Metallurgical Engineering 2021; 24(1): 30-41 <http://dx.doi.org/10.22076/ME.2022.527037.1311>

doi : <http://dx.doi.org/10.22076/ME.2022.527037.1311>

ABSTRACT

In this study, the effect of bacterium clostridium sp. as an anaerobic sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of API X42 micro-alloyed pipeline steel was evaluated in a saline simulated soil solution at different immersion times (varying from 3 days to 40 days) under biotic condition. In this process, a soil sample containing sludge was used as a source of production sulfate-reducing bacteria and a saline soil sample was used as the basis of the saline simulated soil solution. The corrosion behavior and microstructure of the corrosion products were evaluated as a function of immersion time. Microstructural examinations show the accumulation of bacteria on the steel surface after 7 days. By further immersed times to the middle times (21-24 days), a biofilm comprised of the dense extracellular polymeric substances was formed. After that, biofilm exfoliation was observed showing physical biofilm breakdown. This microstructural variation is associated with a remarkable variation in corrosion resistance. At first, the corrosion resistance decreases sharply from $1019\Omega\cdot\text{cm}^2$ at 3 days to $274\Omega\cdot\text{cm}^2$ at 7 days due to the metabolic bacterial activity. As a result of this high corrosion rate, a densely packed biofilm was formed at the middle times in such a way that corrosion resistance rises sharply to $7330\Omega\cdot\text{cm}^2$ at 21 days. However, the dense protective biofilm formed at the surface was unstable and biofilm was degraded rapidly; consequently, the corrosion resistance decreases to $480\Omega\cdot\text{cm}^2$ at 40 days.

Keywords: Sulfate-reducing bacterium clostridium sp, X42 microalloyed steel, Biofilm, Electrochemical impedance spectroscopy.

Received: 19 March 2021

Accepted: 8 March 2022

■ ■
* *Corresponding Author:*

Khalilollah Gheisari, PhD

Address: Department of Materials Science and Engineering, Faculty of Engineering, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Tel: +98 (9167298767)

E-mail: khgheisari@scu.ac.ir

اثر گونه باکتری بی‌هوازی کلوستریدیوم بر رفتار خوردگی خط لوله فولاد میکروآلیاژ API X42 در محلول شبیه‌سازی شده خاک شور

مجتبی بقال زاده^۱، *خلیل الله قیصری^۲، حسین معتمدی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، مهندسی مواد، گرایش شناسایی و انتخاب مواد، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- دانشیار، مهندسی مواد، گروه مهندسی مواد، دانشکده مهندسی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- استاد، میکروبیولوژی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

چکیده

در این پژوهش، اثر گونه باکتریایی کلوستریدیوم به عنوان یک باکتری بی‌هوازی احیا کننده سولفات بر رفتار خوردگی فولاد میکروآلیاژ X42 در محلول شبیه‌سازی شده خاک شور آزمایشگاهی طی بازه‌های زمانی ۳ روز تا ۴۰ روز تحت شرایط تلقیح شده با باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور، از یک نمونه خاک حاوی لجن به عنوان منبع تولید باکتری و از یک نمونه خاک شور به عنوان مبنای آنالیز اولیه جهت تولید محلول شبیه‌سازی شده خاک شور استفاده شد. رفتار خوردگی و ریزساختار محصولات خوردگی به صورت تابعی از زمان ماندگاری مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی‌های ریزساختاری نشانگر تجمع باکتری‌ها بر سطح فولاد بعد از ۷ روز است. با افزایش زمان ماند تا زمان میانی (۲۱ تا ۲۴ روز)، بیوفیلمی متراکم از مواد پلیمری برون سلولی شکل گرفت. اما پس از آن، بیوفیلیم با ظاهری پوسته‌ای شکل ظاهر شد که نشان از فروپاشی بیوفیلیم است. این تغییرات ریزساختاری توام با تغییرات چشمگیر در مقاومت خوردگی بود. مقاومت خوردگی ابتدا به دلیل فعالیت باکتری‌های احیا کننده سولفات از $10.19 \Omega \cdot \text{cm}^2$ در ۳ روز به $274 \Omega \cdot \text{cm}^2$ در ۷ روز کاهش یافت. این افزایش سرعت خوردگی، زمینه ایجاد بیوفیلیم متراکم در دوره زمانی میانی را فراهم کرد؛ به نحویکه مقاومت خوردگی به $7330 \Omega \cdot \text{cm}^2$ در زمان ماندگاری ۲۱ روز افزایش یافت. اما بیوفیلیم متراکم محافظ، ناپایدار بوده و به سرعت فرو پاشید که در اثر آن مقاومت خوردگی مجدداً کاهش و به مقدار $480 \Omega \cdot \text{cm}^2$ در زمان ماندگاری ۴۰ روز رسید.

واژه‌های کلیدی: گونه باکتریایی کلوستریدیوم احیا کننده سولفات، فولاد میکروآلیاژ X42، بیوفیلیم، طیف‌سنجی امیدانسن الکتروشیمیایی.

دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۲۹ | پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۷

۱. مقدمه

می‌کند و با تشدید شدت خوردگی محیط، مسبب نوعی خاص از خوردگی به نام خوردگی میکروبی (میکروبیولوژیکی؛ ریززیستی) می‌شود [۲].

میکروارگانیزم‌ها مسبب خوردگی میکروبی در همه جا حضور دارند، از جمله در خاک. هر گرم خاک می‌تواند حاوی 10^{10} میکروارگانیزم باشد [۳]. گونه‌های متفاوتی از این میکروارگانیزم‌ها شناسایی شده است که از جمله آنها می‌توان به باکتری‌های احیا کننده سولفات (SRB) [۴]، باکتری‌های احیا کننده نیترات [۵]، باکتری‌های متانوژنیک [۶]، باکتری‌های تولید کننده اسید [۷]، باکتری‌های احیا کننده آهن [۸]، باکتری‌های اکسید کننده آهن [۹] و باکتری‌های اکسید کننده گوگرد [۱۰] اشاره کرد که با سازوکارهای مختلفی منجر به تسریع خوردگی می‌شوند.

فولادهای میکروآلیاژ به صورت ویژه در خطوط انتقال انرژی (نفت و گاز) مورد استفاده قرار می‌گیرند. ۸۰ درصد خطوط انتقال انرژی (نفت و گاز) در زیر خاک قرار دارند که به منظور حفاظت از خوردگی با پوشش آلی بیرونی پوشیده می‌شوند. پوشش‌های آلی معمولاً به صورت موضعی دچار آسیب دیدگی جدایش اتصال پوشش با زیر لایه فلز می‌شوند. در مکان‌های جدایش، ممکن است رطوبت خاک به دام افتاده و با انحلال گازها (اکسیژن یا دی کسیدکربن)، محیط خورنده موثری شکل گیرد [۱]. اما شرایط از این نیز می‌تواند وخیم‌تر گردد؛ مادامی که پوشش محافظ دچار آسیب می‌گردد، سطح برهنه فلز، میکروارگانیزم‌های (ریز جان‌داران) بی‌هوازی را جذب

* نویسنده مسئول:

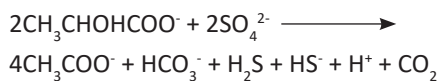
دکتر خلیل الله قیصری

نشانی: اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی مواد.

تلفن: (۹۱۶۷۲۹۸۷۶۷) ۹۸+

پست الکترونیکی: khgheisari@scu.ac.ir

استفاده کرده و با احیای آن به استات (CH_3COO^-)، افزون بر تولید بی‌کربنات (HCO_3^-)، به افزایش غلظت یون‌های هیدروژن می‌انجامد [۱۸]:



یون‌های هیدروژنی که به این طریق تولید می‌گردد، محرک وقوع واکنش ۳ و در نتیجه افزایش بیشتر آهنگ خوردگی می‌شود.

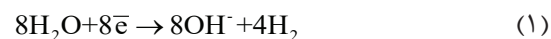
اما تبعات اثر فعالیت باکتری‌ها به این حد محدود نمی‌شود. فعالیت باکتری‌ها به تولید سولفید (S^{2-}) و سایر محصولات آلی نیز می‌انجامد که علاوه بر تشدید خوردگی، آثار غیر مستقیم دیگر نظیر خوردگی حفره‌ای را با سازوکارهای متفاوتی به دنبال دارد [۴]. همچنین، آزادسازی هیدروژن در اثر واکنش خوردگی، در کنار حضور سولفید، احتمال جذب هیدروژن را بالا برده و شرایط آسیب‌های هیدروژنی نظیر تردی هیدروژنی را نیز امکان پذیر می‌سازد [۱۹]. این امر به پیچیدگی سازوکارهای عملکرد و گستردگی بازه تأثیرات نامطلوب خوردگی میکروبی انجامیده است.

بر مبنای پژوهش لیو و همکاران [۲۰]، در اثر حضور باکتری‌های SRB، سرعت خوردگی در خاک برای فولاد میکروآلیاژ X52 از 0.473 mm/y به 0.282 mm/y افزایش یافته است (حدود ۶ برابر). این افزایش در اثر فعالیت بی‌هوازی باکتری‌های SRB برای فولاد میکروآلیاژ X80 در محلول حاوی باکتری حدود ۳ برابر توسط وانگ و همکاران [۲۱] گزارش شده است. علاوه بر این، شهریار و همکاران [۱۱]، شواهدی از وقوع خوردگی موضعی به صورت حفره‌ای در اثر فعالیت باکتری‌های SRB را ارائه دادند.

گزارش‌های فوق به دلیل شرایط مساعد فعالیت بی‌هوازی این باکتری‌ها در خاک بر می‌گردد. میزان اکسیژن برای لوله‌های دفن شده در خاک بسیار اندک است، از طرفی آنیون‌های سولفات معمولاً در محیط خاک حضور دارند. از آنجا که سطح فولادی این خطوط می‌تواند مواد آلی مورد استفاده باکتری‌های SRB را جذب نماید، مکان مناسبی برای ایجاد کلونی سلول‌های SRB را فراهم می‌کند؛ به این ترتیب، این باکتری‌های علاوه بر دریافت الکترون مورد نیاز تنفس خود (احیای سولفات به سولفید) از منابع آلی، می‌توانند الکترون‌های آهن را نیز دریافت و انرژی لازم برای حیات و تکثیر خود را از طریق این سازوکار تنفسی تأمین نمایند [۲۰]. باکتری‌هایی که به این شکل به سطح فلز متصل می‌شوند، شبکه‌ای به نام بیوفیلم را متاثر از فعالیت خویش ایجاد می‌کنند. بیوفیلم متشکل از سلول‌های باکتریایی، مواد پلیمری برون سلولی تولید شده توسط باکتری‌ها و محصولات خوردگی است [۲۲]. تشکیل بیوفیلم، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی سطح مشترک بین فلز و محلول را تغییر می‌دهد؛

باکتری‌های احیا کننده سولفات از جمله مهم‌ترین موارد خوردگی ناشی از عوامل میکروبیولوژیک محسوب می‌گردد که می‌تواند به افزایش سرعت خوردگی بینجامد. این باکتری‌ها، گونه‌های بسیار متنوعی دارد که هم در شرایط بی‌هوازی (نظیر گونه سیتروباکتر [۱۱]) و هم هوازی (نظیر گونه سودوموناس [۱۲]) می‌تواند به فعالیت خود ادامه دهد. باکتری‌های احیا کننده سولفات می‌توانند در بازه pH ۶ تا ۸ و در محدوده دمایی ۲۰ تا ۳۷ درجه سانتیگراد فعال باشند [۱۳].

تئوری‌های مختلفی برای نحوه عملکرد خوردگی SRB ارائه شده است. در متداول‌ترین آنها، خوردگی به صورت اکسایش آهن و احیای اکسند غیر اکسیدی سولفات صورت می‌گیرد. به منظور درک بهتر این سازوکارها، ابتدا بهتر است فرآیند خوردگی در یک محیط فاقد باکتری بررسی گردد. در محلول‌های فاقد باکتری، خوردگی آهن را می‌توان بر مبنای واکنش کاتدی احیای آب و آندی اکسایش آهن به صورت زیر توصیف نمود [۱۴ و ۱۵]:



باکتری احیا کننده سولفات، از H_2 ناشی از واکنش احیای آب (واکنش ۱) به عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند تا به کمک H^+ ناشی از تجزیه آب، مطابق واکنش زیر سولفات را به سولفید احیا نماید [۱۶]:



در واقع، باکتری‌های SRB از آنیون‌های سولفات (SO_4^{2-}) به عنوان پذیرنده نهایی الکترون در حلقه واکنش‌های الکتروشیمیایی برای تأمین انرژی مورد نیاز در سوخت و ساز خود استفاده می‌کنند. به تعبیر دیگر، این باکتری‌ها برای تنفس خود از سولفات استفاده می‌کنند. به این شکل، در اثر حضور SRB، H_2 بر روی سطح فلز مصرف می‌گردد که کاهش فشار جزئی مولکول هیدروژن را به دنبال دارد. جبران کاهش فشار جزئی H_2 به تشدید واکنش کاتدی ۱ و در نتیجه آن، افزایش آهنگ واکنش آندی اکسایش آهن ۲ منجر می‌گردد. بنابراین، باکتری SRB شبیه کاتالیزور عمل کرده و افزایش سرعت خوردگی را به دنبال دارد. این اثر به صورت افزایش شیب شاخه کاتدی منحنی پلاریزاسیون در برخی سیستم‌های آلیاژی ظاهر شده که با انتقال محل تقاطع به پتانسیل‌های بالاتر و شدت جریان بیشتر، به افزایش پتانسیل خوردگی توأم با افزایش سرعت خوردگی می‌انجامد [۱۷].

اما در محیط‌های آبی بی‌هوا، به دلیل محدودیت شکل‌گیری هیدروژن بر روی سطح فلز، باکتری SRB نمی‌تواند به خوبی از طریق واکنش ۳ به احیای سولفات بپردازد. در این شرایط باکتری از منبع کربنی (لاکتات) موجود در محیط

نتیجه شناسایی مولکولی جدایه‌های جداسازی شده بیانگر حضور باکتری کلوستریدیوم (Clostridium) است؛ به نحویکه در یک جدایه تشابه ۹۶/۴۱ درصدی با گونه Clostridium aestuarii strain Hy و جدایه دوم نیز تشابه ۹۵/۷۵ درصدی با گونه Clostridium ganghwense strain داد. همانطور که بیان شد، کلوستریدیوم باکتری بی‌هوازی اجباری و خاک زی است.

به منظور تشخیص نقش باکتری بر رفتار خوردگی، از فولاد میکروآلیاژ X42 مورد استفاده در خطوط انتقال گاز استفاده شد. نمونه‌ها به ابعاد $1/5 \times 1/5 \times 1$ cm³ برش و پس از ماشین‌کاری، اطراف آن توسط رزین سرد پوشش داده شد و تنها سطحی معادل ۲/۲۵ cm² از آن‌ها در معرض محیط خورنده قرار گرفته شد. جهت برقراری رسانندگی الکتریکی برای هر نمونه سیم مسی به ناحیه انتهایی هر یک متصل گردید. نمونه‌های فولادی تحت سمباده‌هایی با اندازه زبری ۶۰ تا ۱۲۰۰ تحت صیقل‌کاری و پرداخت قرار گرفته و سپس توسط آب مقطر و استون شسته شده و بمدت ۲۰ دقیقه توسط الکل ۷۵ درصد و با استفاده از لامپ UV استریل گردید. پس از آماده سازی محلول کشت باکتری، محلول شبیه سازی شده خاک و نمونه‌های فولادی، مقدار ۱۱۴ سی‌سی از محلول خاک شبیه‌سازی شده در یک بشر ۱۵۰ سی‌سی ریخته و ۶ سی‌سی از محلول کشت باکتری به آن تلقیح شد. متناسب با تعداد نمونه‌های فولادی، محلول فوق تهیه گردید. پس از قرارگیری نمونه‌های فولادی در درون محلول‌ها، مطابق با شکل ۱، محلول‌ها به خوبی پوشانیده شدند تا از تبخیر و یا هر نوع آلودگی در دوره‌های ماندگاری جلوگیری گردد. سپس برای برقرار شدن شرایط مناسب جهت تکثیر باکتری در محلول شبیه‌سازی شده خاک شور، محلول‌ها در جار بی‌هوازی قرار داده شدند. برای ایجاد شرایط بی‌هوازی درون جار، به همراه نمونه‌ها یک گازپگ نوع A قرار گرفت و جار نیز در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. به منظور مطالعه تأثیر زمان ماندگاری نمونه‌ها در محلول حاوی باکتری، دوره ماندگاری مختلفی (۳، ۷، ۱۰، ۱۴، ۲۱، ۲۴، ۲۸، ۳۵، ۴۰ روز) در نظر گرفته شد.



شکل ۱. قرارگیری نمونه‌ها در محلول شبیه‌سازی شده استریل و تلقیح شده با باکتری.

بنابراین تأثیر ثانویه دیگری بر رفتار خوردگی می‌نهد [۲۳]. بیوفیلم تشکیل شده بسته به مورفولوژی و ساختار خود، سبب خوردگی موضعی بر سطح و یا حتی می‌تواند سبب جلوگیری از خوردگی گردد [۱۲ و ۲۴].

پارامترهای متفاوتی خوردگی خطوط لوله در خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از جمله آنها می‌توان به میزان رطوبت خاک، مقاومت خاک، میزان اسیدیته، ترکیب و غلظت گونه‌های شیمیایی موجود در خاک اشاره نمود. تغییر هر یک از این پارامترها، می‌تواند بر فعالیت باکتری‌های SRB تأثیر و رفتار خوردگی را تغییر دهد [۲۰].

هدف از این پژوهش، بررسی اثر خاک شور بر نحوه عملکرد باکتری‌های احیا کننده سولفات است. به این منظور، از خاک منطقه ۲ اهواز به عنوان مبنای آنالیز اولیه جهت تولید محلول شبیه‌سازی شده خاک شور استفاده شد. همچنین، یک نمونه خاک حاوی لجن به عنوان منبع باکتری انتخاب گردید. پس از کشت باکتری و تلقیح آن به محلول شبیه‌سازی شده خاک شور، رفتار خوردگی به کمک آزمون امپدانس الکتروشیمیایی به صورت تابعی از زمان ماند بررسی گردید. شایان ذکر است که گونه‌های متنوعی از باکتری‌های احیا کننده سولفات شناسایی شده است. گونه شناسایی شده در این پژوهش از نوع کلوستریدیوم است که باکتری میله‌ای شکل، گرم مثبت و بی‌هوازی اجباری و خاک زی محسوب می‌گردد که از جمله عوامل ایجاد کننده بیماری‌های گوارشی و مسمومیت‌زا محسوب می‌شود [۲۵].

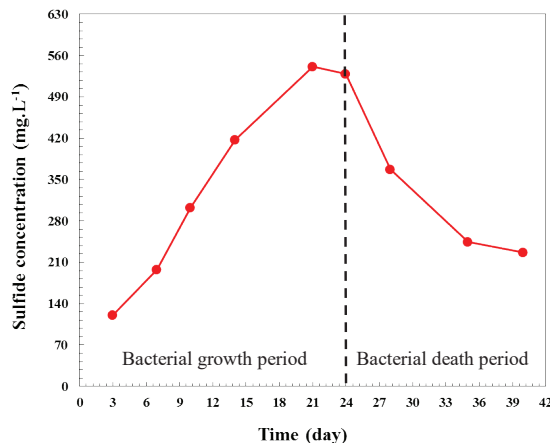
۲. مواد و روش تحقیق

آماده‌سازی محلول خاک شبیه‌سازی شده شور حاوی باکتری برای تشخیص ترکیب یون‌های موجود در خاک شور، چند نمونه خاک از اعماق مختلف تهیه و ترکیب و عناصر موجود در خاک توسط دستگاه جذب اتمی (AAS) شناسایی گردید. محیط شبیه‌سازی شده بر مبنای غلظت آنیون‌های سولفات، کلرید و بی کربنات شناسایی شده مطابق با جدول ۱ تهیه گردید. به منظور شناسایی و سپس جداسازی باکتری احیا کننده سولفات، از یک خاک آلوده حاوی لجن نمونه برداری شد. خاک بلافاصله به یک ظرف شیشه‌ای استریل شده ریخته شده و به آزمایشگاه میکروبیولوژی جهت جداسازی، شناسایی و کشت باکتری‌ها انتقال داده شد. جزئیات مراحل یاد شده در پژوهش پیشین محققین آمده است [۱۱].

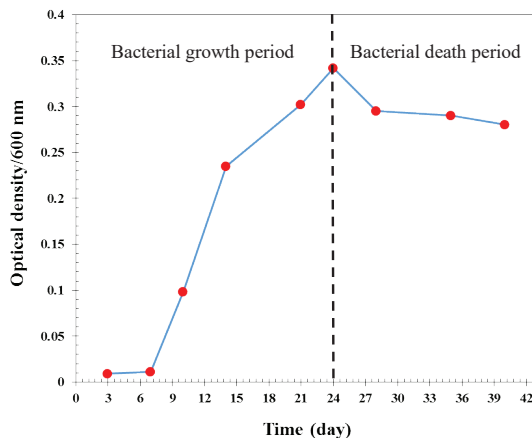
جدول ۱. نوع و غلظت ترکیبات استفاده شده در محلول شبیه‌سازی شده خاک شور آزمایشگاهی.

ترکیب	NaHCO ₃	NaCl	Na ₂ SO ₄
غلظت (g/L)	۴/۸	۸۴/۵	۲/۱۴

ارزیابی خواص



شکل ۲. تغییرات مقدار سولفید حل شده در محلول تلقیح شده با باکتری بر حسب زمان از ۳ تا ۴۰ روز.



شکل ۳. جذب نور در محلول خاک شبیه‌سازی شده حاوی باکتری بر حسب زمان ماندگاری نمونه.

سولفات، به کمک اندازه‌گیری میزان کدورت محلول، سولفید آهن سیاه رنگ تولید شده توسط باکتری احیا کننده سولفات مورد ارزیابی قرار گرفت. به این منظور، میزان جذب چگالی نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر برای محلول حاوی باکتری طبق شکل ۳ به صورت تابعی از زمان ماندگاری بدست آمد. منحنی جذب چگالی نوری نشان می‌دهد که رشد و تکثیر باکتری به دو دوره تقسیم شده است. دوره اول از ۳ الی ۲۴ روز می‌باشد که در این بازه زمانی میزان کدورت محلول روند صعودی را دنبال کرده است که بیانگر افزایش فعالیت متابولیسم باکتری است. این دوره همخوانی با زمان رشد باکتری‌ها مطابق شکل ۲ دارد. پس از زمان ۲۴ ساعت، کدورت محلول اندکی کاهش و ثابت باقی مانده است. عدم افزایش میزان کدورت در این دوره به معنای توقف فعالیت باکتری‌های است. پیش بینی می‌شود که در ۲۴ روز اول، بیوفیلم شکل گرفته ولی به دلیل، کاهش میزان سولفید پس

خواص شیمیایی محلول شامل میزان سولفید و کدورت محلول به ترتیب به کمک روش تیتراسیون یدومتری و اسپکتروفتومتری تعیین شد. رفتار خوردگی نمونه‌ها در دوره ماندگاری مختلف به کمک روش طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی و با استفاده از یک سیستم اندازه‌گیری الکتروشیمیایی حاوی یک سل الکتروشیمیایی سه الکترودی (Auto Lab, AUT 84091) تعیین شد. در سل الکتروشیمیایی از نمونه فولادی به عنوان الکترود کار، الکترود پلاتینی به عنوان الکترود شمارنده و الکترود Ag /AgCl به عنوان الکترود مرجع استفاده شد. طیف‌سنجی امپدانس الکتروشیمیایی برای هر نمونه در پتانسیل مدار باز و با بکارگیری دامنه ± 10 mv نسبت به پتانسیل مدار باز در بازه بسامدی $10^4 - 0.1$ Hz انجام گردید. جهت استخراج داده‌های آزمون پلاریزاسیون از نرم افزار نرم افزار NOVA 1.10.4 و جهت شبیه‌سازی داده‌های امپدانس و انتخاب مدار معادل، از نرم افزار ZView استفاده شد. مورفولوژی محصولات خوردگی، بیوفیلم، شکل ظاهری باکتری‌ها و ترکیب شیمیایی آن‌ها به کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی نشر میدان (FESEM) مجهز به طیف‌سنج تفکیک انرژی (EDS) بررسی گردید. قبل از ارزیابی ریزساختاری، فرآیند آب‌زدایی و تثبیت محصولات بیولوژیک بر روی نمونه‌ها صورت پذیرفت که جزئیات آن در مرجع [۱۱] آمده است.

۳. نتایج و بحث

بررسی آثار فعالیت باکتری

جهت تشخیص سوخت و ساز باکتری موجود در محلول خاک‌شور شبیه سازی شده، میزان تغییرات سولفید (آهن) در محلول طی دوره‌های ماند مختلف در شکل ۲ آمده است. با توجه به شکل، مقدار سولفید حل شده در محیط حاوی باکتری، افزایش شدیدی به خصوص در ۲۴ روز ابتدایی داشته است (دوره رشد باکتری)؛ به نحویکه از ۱۲۱ mg/L در سه روز به ۵۲۹ mg/L در ۲۴ روز افزایش و پس از آن در دوره ۲۴ الی ۳۵ روز به مقدار ۲۴۵ mg/L کاهش یافته و تا زمان ماندگاری ۴۰ روز تقریباً ثابت مانده است (دوره مرگ باکتری). این نحوه رفتار توسط کانگ و همکاران [۲۶]، همچنین شهریاری و همکاران [۱۱] گزارش شده است. افزایش میزان سولفات در دوره رشد باکتری و در نتیجه احیای سولفات به سولفید توسط باکتری صورت می‌گیرد [۱۱]. در عوض، کاهش غلظت سولفید در دوره مرگ ممکن است به دلیل رسوب سولفید در محلول (نه لزوماً بر روی سطح نمونه) باشد که به دلیل عدم تولید بیشتر آن توسط باکتری، با کاهش غلظت در محلول مواجه شده است. جهت اطمینان کافی از فعالیت باکتری احیای کننده

کدورت و غلظت سولفید است، نشان از فعالیت باکتری‌ها در این دوره زمانی دارد. اما فعالیت الکتروشیمیایی باکتری‌ها بایستی از الگوی تبعیت نماید که همخوان با کاهش pH باشد. یکی از مدل‌های پیشنهادی برای فعالیت باکتری‌ها که با کاهش میزان اسیدیته محلول تطابق دارد، بر مبنای استفاده از منبع کربنی لاکتات برای فعالیت باکتری است. زمانی که هیدروژن کافی جهت انجام واکنش متابولیکی باکتری کافی نباشد، باکتری از منبع کربنی لاکتات بسته به میزان pH محلول در محیط جهت انجام واکنش مورد نظر استفاده می‌نماید و سبب تولید استات، بی‌کربنات و یا اسیدهای چرب درون سیستم می‌گردد [۱۸].

عملکرد باکتری در این شرایط به کمک واکنش ۴ قابل توصیف است که در نتیجه آن، یون‌های کربنات با یون‌های آهن واکنش داده و سبب تولید سیدریت (FeCO_3)، علاوه بر سولفید آهن (FeS) می‌گردد [۱۸ و ۲۷]. اما در بازه زمانی دوم مرحله رشد باکتری (بین ۱۴ تا ۲۴ روز) که توام با افزایش pH است، فعالیت باکتری احتمالاً از الگوی دیگری تبعیت می‌کند. پس از اتمام منابع کربنی در دوره اول فعالیت باکتری‌ها، باکتری‌های SRB از H_2 ناشی از واکنش احیای آب (واکنش ۱) به عنوان دهنده الکترون استفاده می‌کند تا مطابق واکنش ۳، سولفات را به سولفید احیا نمایند [۱۶]. شایان ذکر است که واکنش احیای سولفات به طریق دیگری نیز در تئوری‌های متاخرتر پیشنهاد شده است. بر این پایه، باکتری بدون واسطه، الکترون‌های آزاد شده توسط واکنش آندی آهن (واکنش ۲) را مصرف می‌کند تا واکنش کاتدی احیای سولفات زیر جایگزین واکنش ۳ گردد [۱۸]:

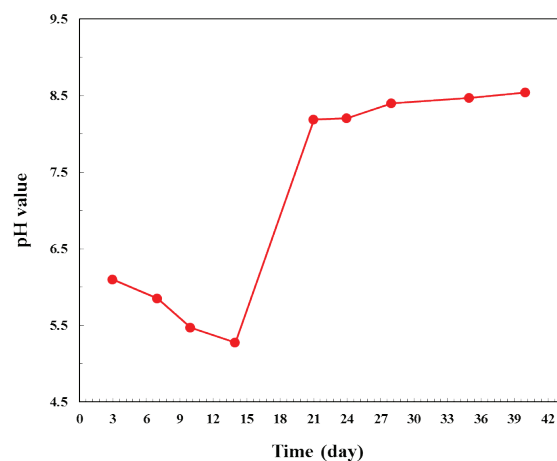


با توجه به واکنش‌های ۳ و ۵، احیای سولفات همراه با کاهش میزان یون‌های هیدروژن و افزایش مقدار pH است. افزایش قابل توجه pH از ۵/۲۸ تا ۸/۱۹ در اثر افزایش زمان ماندگاری از ۱۴ روز تا ۲۱ روز که همراه با افزایش غلظت یون سولفید از ۴۱۷ میلی‌گرم بر لیتر به ۵۴۱ میلی‌گرم بر لیتر شده است، ناشی از جهش فعالیت باکتری در این دوره زمانی است. شایان ذکر است که سولفید آهن، در تعقیب رابطه بالا، در اثر واکنش سولفید هیدروژن ناشی از فعالیت باکتری‌ها با یون‌های آزاد شده آهن (واکنش آندی) ایجاد می‌گردد. پس از دوره زمانی ۲۴ روز، به دلیل اینکه باکتری وارد مرحله مرگ خود می‌شود، تغییرات چندانی در pH محلول دیده نمی‌شود.

ارزیابی ریزساختاری محصولات ناشی از فعالیت باکتری‌ها
به منظور ارزیابی ریزساختاری سطح نمونه‌ها قرار گرفته در معرض محیط حاوی باکتری در زمان‌های ماندگاری مختلف، پس از فرآیند تثبیت، شستشو و آب زدایی، از میکروسکوپ الکترونی روبشی استفاده شد. شکل ۵ تصویر میکروسکوپ

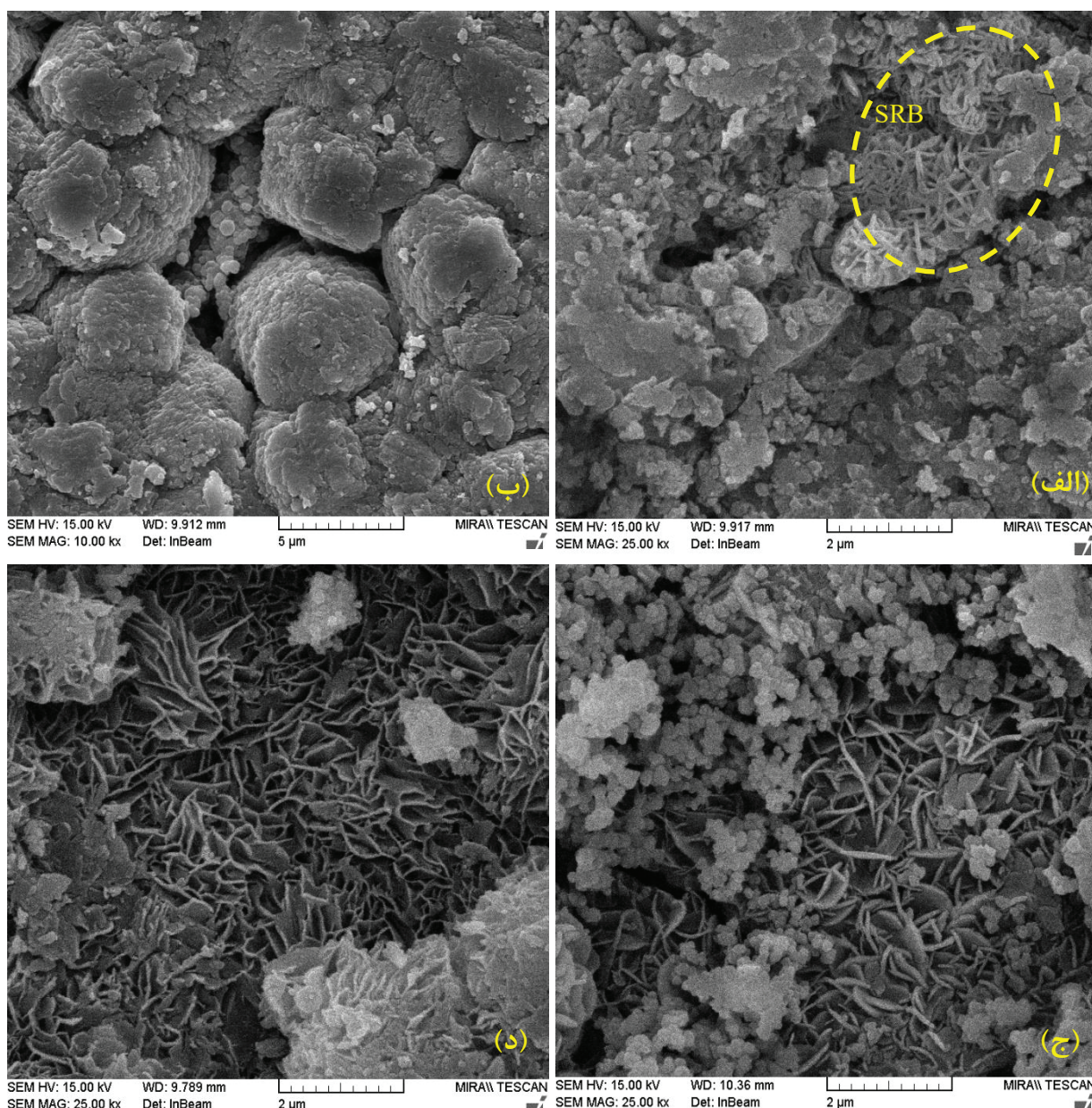
از این دوره، بیوفیلم شروع به تجزیه شدن نموده است [۱۱]. شایان ذکر است که کاهش سولفید در محلول در زمان‌های ماندگاری بیش از ۲۴ روز به دلیل تشکیل رسوب‌های سولفیدی نسبت داده می‌شود. اما عدم کاهش قابل توجه کدورت (متناسب با کاهش سولفید در محلول) پس از زمان ۲۴ ساعت را می‌توان به غلظت بالای پیکره باکتری‌ها در دوره مرگ خود در محلول نسبت داد. بنابراین، کاهش قابل توجه سولفید پس از ۲۴ ساعت تناقضی با عدم کاهش در کدورت محلول ندارد.

جهت ارزیابی تغییرات شیمیایی ایجاد شده در محلول خاک شور شبیه‌سازی شده در زمان‌های مختلف، مقدار pH محلول پس از اتمام هر دوره زمانی، اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفته شد. شکل ۴ تغییرات میزان pH محلول حاوی باکتری در بازه‌های زمانی متفاوت را نشان می‌دهد. با توجه به شکل، دو روند تغییرات متفاوت در میزان اسیدیته محلول مشاهده می‌شود. در دوره زمانی ۳ تا ۱۴ روز، میزان اسیدیته محلول از ۶/۱ به ۵/۲۸ رسیده است. اما از دوره ۱۴ روز با رشد ناگهانی از ۵/۲۸ به ۸/۱۹ در زمان ۲۱ روز رسیده و تقریباً در همین حد باقی مانده است.



شکل ۴. تغییرات مقدار pH محلول در زمان بندی متفاوت در محیط حاوی باکتری.

طبق نتایج حاصل از میزان سولفید (شکل ۲) و همچنین میزان جذب (شکل ۳) می‌توان به این نتیجه رسید که با توجه به اینکه در ۲۱ تا ۲۴ روز ابتدایی، باکتری در دوره رشد می‌باشد، بنابراین دارای بیشترین فعالیت بوده است. اما با توجه به دو روند متفاوت کاهشی (۳ تا ۱۴ روز) و افزایشی (۱۴ تا ۲۴ روز) در مقدار اسیدیته محلول در این دوره رشد، احتمالاً باکتری در این دو بازه زمانی متفاوت رشد، از دو مسیر متفاوت به احیای سولفات پرداخته که در یکی کاهش pH و در دیگری افزایش pH محیط را به دنبال داشته است. از آنجا که کاهش pH از ۳ تا ۱۴ روز توام با تغییرات

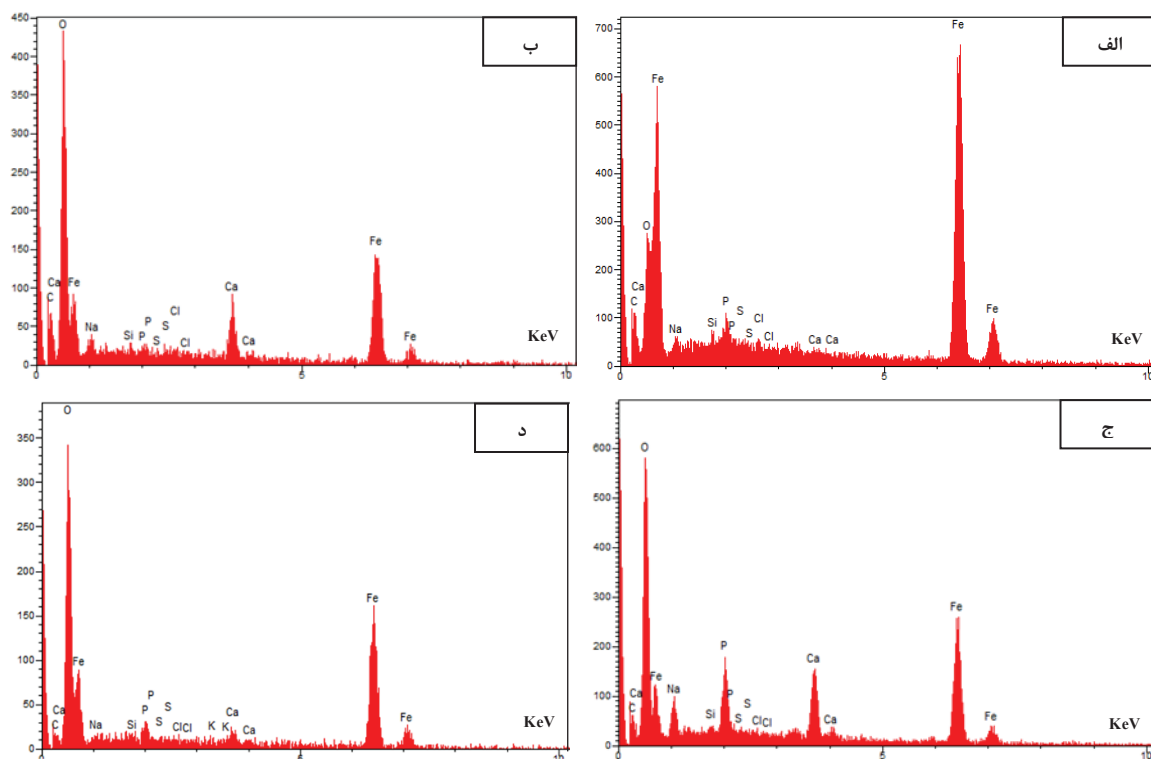


شکل ۵. تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از مورفولوژی بیوفیلم بر روی سطح نمونه فولاد X42 در زمان های ماندگاری ۷ روز (الف)، ۲۴ روز (ب)، ۲۸ روز (ج) و ۴۰ روز (د)

مورفولوژی گل کلمی کل سطح را به صورت نسبتاً متراکمی پوشانده است.

با رسیدن به دوره زمانی طولانی تر، همان گونه که در شکل ۵-ج مشاهده می شود، ساختار محصولات تشکیل شده بر سطح فولاد دارای ظاهری متفاوت گردید است. ظهور مورفولوژی رشته ای شکل، نشان از آغاز فروپاشی بیوفیلم در دوره مرگ خود دارد. با افزایش زمان ماندگاری به ۴۰ روز، بیوفیلم مورفولوژی متراکم و توده ای خود را از دست داده و به صورت ظاهر رشته ای شکل، گسترش بیشتری یافته است. این پوستهای شدن ساختار نشان دهنده فرو ریختن دیواره بیوفیلم است که به کاهش ویژگی محافظتی بیوفیلم می انجامد.

الکترونی روبشی در زمان های ماندگاری منتخب ۷ روز (مرحله اولیه رشد)، ۲۴ روز (مرحله نهایی رشد)، ۲۸ روز (مرحله اولیه مرگ) و ۴۰ روز (مراحل پایانی مرگ) را نشان می دهد. همانطور که مشخص است، در هر مرحله از فعالیت باکتری، مورفولوژی سطحی به صورت متفاوتی ظاهر گردیده است. کلونی های باکتری در مرحله رشد و تکثیر باکتری در زمان ماندگاری ۷ روز، به همراه مواد پلیمری برون سلولی، سطح زیر لایه فولادی را پوشش داده است. تمایل به تشکیل کلونی، از ویژگی های بارز باکتری در فاز رشد خود محسوب می گردد [۵ و ۱۸]. با افزایش زمان ماندگاری به ۲۴ روز و افزایش فعالیت باکتری، ماده پلیمری برون سلولی با



شکل ۶. طیف‌های تفکیک انرژی مربوط به مورفولوژی‌های مشاهده شده در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۴) در زمان‌های ماندگاری ۷ روز (الف)، ۲۴ روز (ب)، ۲۸ روز (ج) و ۴۰ روز (د)

به اکسیژن، می‌تواند به دلیل تغییر ترکیب شیمیایی محصول خوردگی نیز باشد. اگر فرض گردد که محصول خوردگی در زمان‌های ماندگاری مختلف از نوع Fe_xO_y باشد، با افزایش زمان ماندگاری به ۲۴ روز، نسبت X به Y افزایش یافته است. همچنین در زمان ماندگاری ۲۴ روز، درصد قابل توجهی از کلسیم مشاهده می‌شود. با افزایش زمان ماندگاری به ۲۸ روز، درصد قابل توجهی فسفر نیز مشاهده شده است. لازم به ذکر است که عناصر کلسیم و فسفات در محیط کشت باکتری حضور دارد. همچنین غلظت‌های کمتری از سایر عناصر نظیر سدیم و کلر نیز مشاهده می‌شود که از منبع خاک شور شبیه‌سازی شده دریافت شده‌اند.

شکل‌گیری درصد قابل توجهی از فسفر و کلسیم در زمان ماندگاری ۲۸ روز، ممکن است ناشی از سازوکار دیگری باشد که به تشکیل ترجیحی ترکیبی از این دو عنصر در بیوفیلیم منجر شده است. از طرفی در این دوره ماند، درصد بیشتری از اکسیژن مشاهده می‌شود. حضور توأم با هم این سه عنصر ممکن است به دلیل تشکیل فسفات کلسیم ($Ca_3(PO_4)_2$) باشد.

اما احتمال دیگر که درصد بالای فسفر را در محصولات توجیه می‌کند، عملکرد باکتری‌ها در احیای فسفات و تشکیل فسفین بر اساس واکنش پیشنهادی زیر است:



بنابراین، با توجه به تصاویر ریزساختاری، پوشاندگی و تراکم بیوفیلیم بر روی سطح در دوره رشد (تا ۲۴ روز) روند صعودی داشته و سپس روند معکوسی را در دوره مرگ دنبال نموده است.

همانطور که اشاره شد، ورقه‌ای شدن دیواره به مرور زمان، نشانگر دوره مرگ باکتری است [۱۱]. دوره مرگ باکتری را به خاصیت خودلایزشوندگی پیکره باکتری روی سطح فولاد نسبت داده‌اند. از طرف دیگر، به دنبال افزایش ضخامت بیوفیلیم به همراه جذب مواد مغذی موجود در محلول، فعالیت سلول‌های موجود در مناطق عمیق‌تر زیر لایه‌ای کم‌تر شده که این رویداد نیز به عنوان دلیل دیگر برای دوره مرگ باکتری بیان شده است [۲۸].

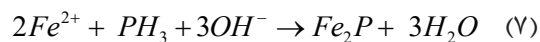
شکل ۶، طیف‌های تفکیک انرژی مربوط به زمان‌های ماندگاری منتخب مختلف در دوره رشد و مرگ باکتری متناسب با تصاویر ریزساختاری شکل ۵ را نمایش داده است. حضور عناصر کربن، اکسیژن و آهن در زمان ماندگاری ۷ روز، تشکیل بیوفیلیم متشکل از ماده پلیمری برون سلولی و محصول خوردگی اکسیدی را تایید می‌کند. با افزایش زمان ماندگی به ۲۴ روز، نسبت شدت قله آهن به قله اکسیژن کاهش یافته است. این کاهش نسبت می‌تواند به دلیل افزایش ضخامت بیوفیلیم باشد؛ به نحویکه درصد کمتر از آهن زیر لایه فولادی در حجم نمونه‌گیری میکروآنالیز شیمیایی قرار گرفته است. علاوه بر آن، تغییر نسبت شدت خط انرژی آهن

بهترین انطباق ممکن در جدول ۲ گزارش گردیده است. در مدار معادل استفاده شده، دو ثابت زمانی در نظر گرفته شده است. یکی مربوط به لایه محافظ بیوفیلیم که شامل دو عضو مداری عنصر فاز ثابت (CPE_f) و مقاومت لایه (R_f) است و دیگری مربوط به لایه دوگانه است که به طور مشابه شامل دو عضو مداری موازی عنصر فاز ثابت (CPE_{ct}) و مقاومت انتقال بار از عرض لایه دوگانه (R_{ct}) است. ثابت زمانی در بسامدهای بالا مربوط به تشکیل بیوفیلیم و ثابت زمانی دوم در بسامد پایین مربوط به انجام واکنش های الکتروشیمیایی روی سطح است [۲۸]. علاوه بر آن، مقاومت محلول نیز با نماد R_s در نظر گرفته شده است. در مدار معادل به جای خازن ایده آل به این دلیل از عنصر فاز ثابت استفاده شده است که توزیع غیر یکنواخت گونه های شیمیایی روی سطح، سطحی غیر یکنواخت ایجاد کرده است. در این پژوهش، مجموع دو مقاومت R_f+R_{ct} به عنوان معیار مقاومت به خوردگی در نظر گرفته شده است.

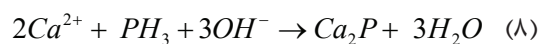
با توجه به شکل ۷-الف، قطر نیم دایره نایکویست در زمان ماندگاری ۲۱ روز بیشترین مقدار بوده، به نحوی که قبل و پس از آن به ترتیب با کاهش زمان ماند و افزایش زمان ماند، روند کاهش را دنبال نموده است. این موضوع به خوبی رفتار محافظتی بیوفیلیم شکل گرفته در زمان ماند ۲۱ روز را نشان می دهد. همچنین منحنی فاز نشان می دهد که در این زمان، بسامدی که در آن قدرمطلق زاویه فاز بیشینه است، به کمترین مقدار نسبت به زمان های ماندگاری کمتر از خود رسیده است. این انتقال بسامدی در منحنی فاز، معادل با انتقال بسامدی نقطه شکست به بسامدهای کمتر است. منظور از بسامد نقطه شکست، بسامدی است که در یک سوی آن رفتار خازنی لایه محافظ مدار معادل (بسامد بالا) و در سوی دیگر، مجموع اجزای مقاومتی مدار معادل (بسامد پایین) نقش غالب را در مسیر حامل های بار دارند [۳۱]. مادامیکه این پدیده رخ دهد، طیف امپدانس به سمت رفتار ایده آل خازنی نزدیک می شود که در اثر آن، محل تقاطع منحنی بد با بسامد نزدیک به صفر در مقادیر امپدانس بالاتری رخ می دهد که بیانگر مقدار بزرگتری از شاخص $\text{Log } Z_{0.01\text{Hz}}$ است. بررسی منحنی فاز در زمان ماندگاری ۲۱ روز نیز این واقعه را تایید می کند.

از آنجا که بسامد قدرمطلق بیشینه زاویه فاز رابطه معکوس با حاصلضرب مقاومت لایه در ظرفیت لایه دارد، هم افزایش مقاومت لایه و هم ظرفیت خازنی لایه محافظ به کاهش این بسامد منجر می گردد. با فرض اینکه ظرفیت لایه با تغییر زمان ماندگاری تغییر نکند، هر چه لایه محافظ درصد تخلخل کمتر و در برابر نفوذ الکترولیت مقاوم تر باشد، مقاومت به انتقال گونه های خوردنده در درون لایه افزایش می یابد، که در نتیجه آن، بسامد قدرمطلق بیشینه زاویه فاز کاهش و $\text{Log } Z_{0.01\text{Hz}}$ افزایش می یابد. از طرفی، قطر منحنی نایکویست

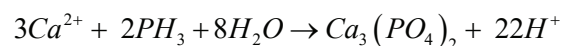
محصول این واکنش با یون های آهن آزاد شده در نیم واکنش آندی واکنش داده تا فسفید آهن را تشکیل دهد [۲۹]:



اما فسفید ایجاد شده ممکن است با یون های دیگر موجود در محلول که از ترکیب های خاک شبیه سازی شده یا محیط کشت باکتری وارد شده، واکنش دهد. همچنین ممکن است درصد بالای کلسیم مشاهده شده در محصولات سطحی از طریق واکنش زیر ایجاد شده باشد:



و یا:

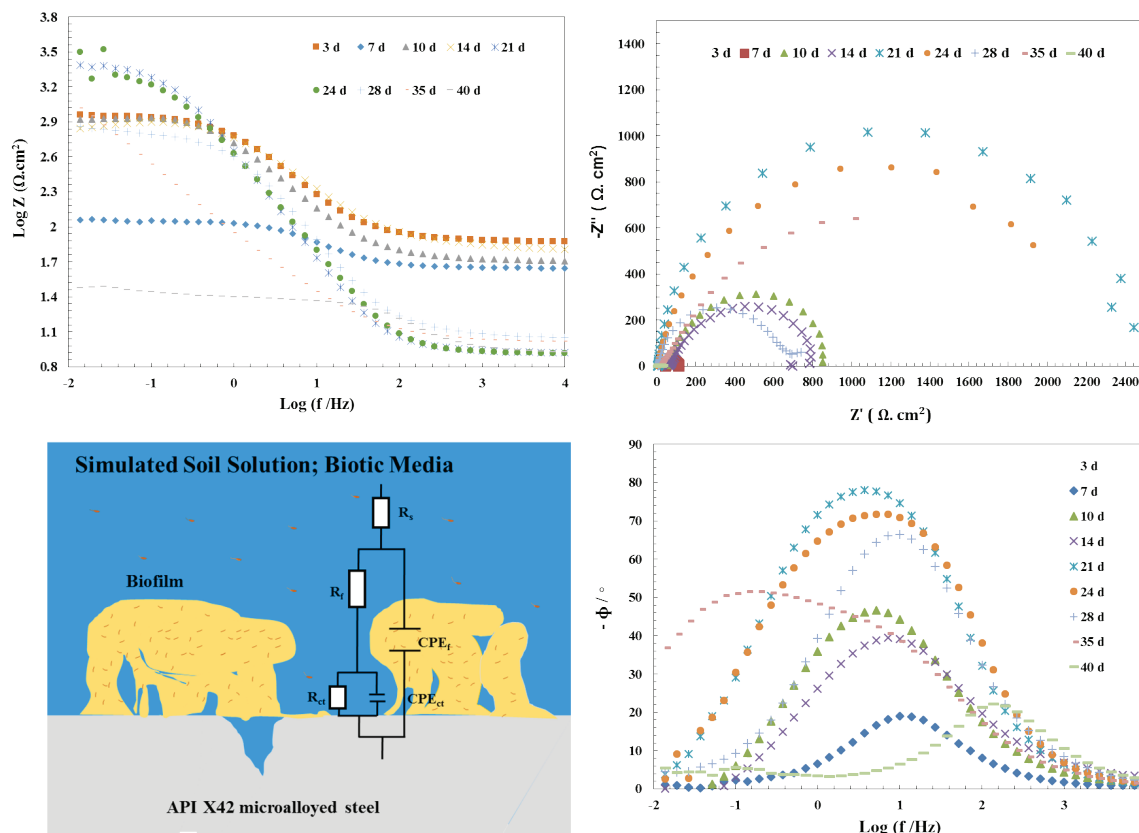


در زمان ماندگاری ۴۰ ساعت، غلظت کلسیم و فسفر کاهش یافته است. این کاهش که با کاهش غلظت خط مشخصه کربن نسبت به دوره رشد همراه بوده است، احتمالاً به دلیل فروپاشی بیوفیلیم است. در اثر این فروپاشی، ترکیبات حاوی فسفر و کلسیمی که احتمالاً در بین لایه های بیوفیلیم به دام افتاده بود نیز از سطح جدا و وارد محلول گردیده است. در طیف های تفکیک انرژی مربوط به زمان های ماندگاری مختلف، خطوط انرژی بارزی برای گوگرد مشاهده نمی شود؛ در صورتیکه شکل ۲، افزایش غلظت سولفید را با افزایش ماندگاری در دوره زمانی رشد تایید می کند که نشانگر فعالیت موفق باکتری در احیای سولفات در دوره رشد است. در واقع، داده های شکل ۲ بر پایه سولفید آزاد شده در محلول است. بنابراین، به نظر می رسد که سولفید آهن به عنوان محصول خوردگی حاصل از فعالیت باکتری ها نتوانسته است بر روی بیوفیلیم رسوب نماید.

شایان ذکر است که حضور سولفید آهن نیمه رسنا در بیوفیلیم به افزایش رسانایی الکتریکی بیوفیلیم می انجامد. در این شرایط یک پیل گالوانیک بین بیوفیلیم و زیرلایه فلزی ایجاد می شود که به افزایش سرعت خوردگی منجر می گردد [۱۸ و ۳۰]. رفتار محافظتی بیوفیلیم در پایان دوره رشد، همانطور که در ادامه خواهیم دید، تایید کننده عدم تشکیل چنین ترکیبی است که سازگار با یافته های طیف های تفکیک انرژی است.

ارزیابی رفتار خوردگی

در شکل ۷، منحنی های نایکویست، بُد، فاز و همچنین مدار معادل که معرف سازوکار فیزیکی خوردگی است نشان داده شده است. اجزای مدار معادل به نحوه تعیین گردیدند که منحنی های شبیه سازی شده بهترین انطباق را با منحنی های تجربی داشته باشد. داده های استخراج شده پس از حصول



شکل ۷. منحنی‌های نایکوئیست (الف)، بُد (ب)، فاز (ج) و طرحواره‌ای (د) از مدار معادل الکتریکی استفاده شده در محیط حاوی باکتری در زمان‌های ماند متفاوت.

ساختار متراکم بیوفیلم در اثر فعالیت باکتری‌ها نسبت داد. محصولات خوردگی خلل و فرج بیوفیلم را پر کرده و سبب متراکم‌تر شدن آن و مسدود نمودن بخش‌هایی از بیوفیلم می‌شوند که در نهایت به بهبود اثر محافظتی بیوفیلم و توقف فعالیت باکتری‌ها منجر می‌شوند. از طرف دیگر، با توجه به داده‌های طیف‌های تفکیک انرژی شکل ۶، بیوفیلم تشکیل شده فاقد سولفید آهن نیمه‌رسانا است؛ بنابراین نمی‌تواند به ایجاد پیل گالوانیک بین بیوفیلم و زیر لایه بینجامد. از این رو، به رفتار محافظتی بیوفیلم آسیبی نمی‌رسد.

اما در زمان‌های بالاتر و پس از رسیدن به دوره مرگ باکتری (پس از ۲۴ روز)، پیکره باکتری‌ها بر سطح خارجی نمونه فولادی و در ناحیه زیرین بیوفیلم، سبب لیز شدن ساختار بیوفیلم می‌شود. این خودلیزشوندگی سبب پوسته‌ای شدن ساختار بیوفیلم حاصل و ورقه‌ای شدن آن مطابق شکل ۵ می‌گردد. حاصل این ساختار ورقه‌ای، فروپاشی بیوفیلم و کاهش مجدد مقاومت به خوردگی در زمان‌های پایانی فرآیند به دلیل کاهش اثر دافعه‌ای بیوفیلم جهت ورود عوامل خورنده به سمت زیرلایه است (جدول ۲). شایان ذکر است که مرگ باکتری، به دلیل کمبود مواد مغذی برای ادامه حیات و یا کند شدن واکنش‌های تنفسی به دلیل تولید ساختارهای فشرده بیوفیلم است.

نیز که از جمع دو مولفه مقاومت لایه محافظ و انتقال بار تشکیل شده نیز افزایش می‌یابد. افزایش مقاومت لایه محافظ به دلیل تشکیل بیوفیلم با قابلیت مسدود کنندگی بالا، باعث می‌شود که گونه‌های خورنده الکترولیت، از جمله باکتری‌ها، نتوانند به راحتی به سطح فلز محافظت شده دسترسی یابند، بنابراین به دلیل کاهش غلظت گونه‌های خورنده، سرعت واکنش آندی در سطح مشترک کاهش می‌یابد. کاهش سرعت واکنش آندی در سطح مشترک، به کاهش غلظت یون‌های آهن تولیدی منجر می‌شود که به تضعیف پلاریزاسیون می‌انجامد. تضعیف شدن پلاریزاسیون به معنای کاهش ظرفیت لایه دوگانه است که مقاومت به انتقال بار از لایه دوگانه را سخت‌تر کرده و به افزایش مقاومت انتقال بار می‌انجامد. از طرف دیگر، کاهش غلظت گونه‌های خورنده مهاجر در عرض لایه دو گانه به دلیل نفوذپذیری دشوار آنها از لایه محافظ، به معنای افزایش مقاومت به انتقال بار در عرض لایه دو گانه نیز است. مجموع این عوامل باعث شده که مقاومت به انتقال بار در عرض لایه دو گانه در زمان ماندگاری ۲۱ روز به مقدار $63.04 \Omega \cdot \text{cm}^2$ جهش یابد. که در نتیجه آن مقاومت کل (قطر نیم دایره) به بیشترین مقدار ممکن نیز رسیده است. افزایش مقاومت به خوردگی در اثر بیوفیلم را می‌توان به

جدل ۲. داده‌های به دست آمده از مدار معادل به منظور تخمین شاخص‌های خوردگی در محیط حاوی باکتری در زمان‌های ماند متفاوت.

زمان ماندگاری	R_s ($\Omega.cm^2$)	CPE_f ($F.cm^{-2}.s^{-1}$)	R_f ($\Omega.cm^2$)	CPE_{dl} ($F.cm^{-2}.s^{-1}$)	R_{ct} ($\Omega.cm^2$)	R_{corr} ($\Omega.cm^2$)
۳	۶۵	۰/۰۰۰۴۷	۶۶۳	۰/۰۰۱۷۵	۳۵۶	۱۰۱۹
۷	۴۵	۰/۰۰۰۱۵	۱۳۴	۰/۰۰۲۵۴	۱۴۰	۲۷۴
۱۰	۷۵	۰/۰۰۰۵۶	۵۲۸	۰/۰۰۲۱۶	۲۰۵	۷۳۳
۱۴	۹۰	۰/۰۰۰۳۴	۶۳۸	۰/۰۰۳۴۸	۳۶۴	۱۰۰۲
۲۱	۳۵۰	۰/۰۰۰۳۴	۱۰۲۶	۰/۰۰۲۹۳	۶۳۰۴	۷۳۳۰
۲۴	۱۵	۰/۰۰۰۵۳	۱۳۹۱	۰/۰۰۱۷۹	۷۳۵	۲۱۲۶
۲۸	۱۰	۰/۰۰۰۳۹	۶۴۲	۰/۰۰۵۲۶	۱۰۶	۷۴۸
۳۵	۱۵	۰/۰۰۰۸۶	۱۰۵	۰/۰۰۳۹۴	۳۳۲	۴۳۷
۴۰	۱۵	۰/۰۰۰۷۶	۱۳۸	۰/۰۰۲۸۷	۳۴۲	۴۸۰

به ۵/۲۸ در ۱۴ روز کاهش و سپس به ۸/۱۹ در ۲۱ روز افزایش یافت و در همین حدود تا دوره زمانی بالاتر باقی ماند. بر این مبنا، فعالیت باکتری در مرحله رشد خود را می‌توان با دو سازوکار متفاوت توصیف نمود. در دوره اول فعالیت (۳ تا ۱۴ روز)، باکتری از منبع کربنی لاکتات برای فعالیت خود استفاده می‌نماید. در صورتیکه در دوره دوم (۱۴ تا ۲۱ روز)، الکترون مورد نیاز برای تنفس خود را از فلز دریافت می‌نماید.

۳- بر مبنای آزمون الکتروشیمیایی طیف‌نگاری امپدانس الکتروشیمیایی، در اثر فعالیت باکتری و به دلیل واکنش کاتدی احیای سولفات، ابتدا سرعت واکنش خوردگی افزایش می‌یابد؛ به نحویکه کمترین مقاومت به خوردگی در زمان ماندگاری ۷ روز به میزان $274 \Omega.cm^2$ مشاهده گردید. سپس در اثر محصولات خوردگی و تولید ماده پلیمری برون سلولی تولید شده توسط باکتری، بیوفیلم فشرده‌ای شکل می‌گیرد که به افزایش قابل توجه مقاومت به خوردگی به $7330 \Omega.cm^2$ می‌انجامد. با افزایش زمان ماندگاری، به دلیل تخریب بیوفیلم، اثر محافظتی آن از بین رفته و مقاومت خوردگی با کاهش چشمگیری به $480 \Omega.cm^2$ در زمان ماندگاری ۴۰ روز می‌رسد.

۵. تشکر و قدردانی

تقدیر از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل اعطای پژوهانه مورد نیاز این پژوهش به شماره SCU.EM99.222، وظیفه‌ای است که با کمال امتنان ادا می‌گردد.

گرچه تشکیل بیوفیلم به افزایش مقاومت به خوردگی انجامیده است، اما این افزایش مقاومت به خوردگی خصوصاً در زمان ماندگاری ۲۱ روز، به دلیل تسریع واکنش خوردگی در زمان‌های کمتر است. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، در زمان ماندگاری ۷ روز، سرعت خوردگی به بیشترین مقدار خود رسیده است. سرعت خوردگی بالا در زمان‌های ۱۰ و ۱۴ روز نیز مشاهده می‌شود. این افزایش سرعت خوردگی به دلیل اضافه شدن واکنش کاتدی احیای سولفات توسط باکتری به سایر واکنش‌های کاتدی ممکن در محلول، به افزایش حجم محصولات خوردگی و تولید مواد پلیمری برون سلولی در اثر فعالیت باکتری می‌انجامد. در نتیجه، زمینه تشکیل بیوفیلم را فراهم آورده که پس از آن اثر محافظتی را به همراه می‌آورد.

۴. نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثر گونه باکتریایی کلستریدیوم به عنوان یک باکتری بی‌هوازی احیا کننده سولفات بر رفتار خوردگی فولاد میکروآلیاژ X42 در محلول شبیه‌سازی شده خاک شور آزمایشگاهی طی بازه‌های زمانی ۳ روز تا ۴۰ روز تحت شرایط تلقیح شده با باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. مهم‌ترین دستاوردهای این پژوهش از قرار زیر است:

- ۱- بررسی میزان سولفید حل شده در محلول حاوی باکتری، یک روند صعودی از ۳ روز تا زمان میانی (۲۱ تا ۲۴ روز) و یک روند از زمان میانی تا ۴۰ روز را نشان داد. در دوره زمانی افزایش غلظت سولفید حل شده در محلول، روند صعودی نیز در میزان کدورت محلول مشاهده گشت. بر این مبنا، باکتری در دوره زمانی ۳ روز تا زمان میانی (۲۱ تا ۲۴ روز) در فاز رشد خود بوده است. اما با توجه به کاهش کدورت محلول و غلظت سولفید در بازه زمانی ۲۴ روز تا ۴۰ روز، باکتری وارد دوره میرایی خود شده است.
- ۲- در مرحله رشد باکتری، دو روند مختلف در میزان اسیدیته محلول مشاهده گشت. ابتدا اسیدیته از ۶/۱ در سه روز

References

- [1] H. Liu, Y. F. Cheng, Corrosion of initial pits on abandoned X52 pipeline steel in a simulated soil solution containing sulfate-reducing bacteria, *Journal of Materials Research and Technology*, Vol. 9, No. 4, 2020, Pp. 7180-7189.
- [2] Z. Wang, F. Xie, D. Wang, J. Liu, Effect of applied potential on stress corrosion cracking behavior of X80 steel in alkaline soil simulated solution with sulfate-reducing bacteria, *Engineering Failure Analysis*, Vol. 121, 2021, Pp.105109.
- [3] H. Liu, Y.F. Cheng, Microbial corrosion of initial perforation on abandoned pipelines in wet soil containing sulfate-reducing bacteria, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, Vol. 190, 2020, Pp. 110899.
- [4] M. Lv, M. Du, X. Li, Y. Yue, X. Chen, Mechanism of microbiologically influenced corrosion of X65 steel in seawater containing sulfate-reducing bacteria and iron-oxidizing bacteria, *Journal of Materials Research and Technology*, Vol. 8(5), 2019, Pp.4066-4078.
- [5] R. Jia, D. Yang, J. Xu, D. Xu, T. Gu, Microbiologically influenced corrosion of C1018 carbon steel by nitrate reducing *Pseudomonas aeruginosa* biofilm under organic carbon starvation, *Corrosion Science*, Vol. 127, 2017, Pp. 1-9.
- [6] R. Boopathy, L. Daniels, Effect of pH on anaerobic mild steel-corrosion by methanogenic bacteria, *Appl Environ Microbiol*, Vol. 57, 1991, Pp. 2104-8.
- [7] D. Xu, Y. Li, T. Gu, Mechanistic modeling of biocorrosion caused by biofilms of sulfate reducing bacteria and acid producing bacteria, *Bioelectrochemistry*, Vol. 110, 2016, Pp. 52-8.
- [8] J. Duan, S. Wu, X. Zhang, G. Huang, M. Du, B. Hou, Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater, *Electrochim Acta*, Vol. 54, 2008, Pp. 22-8.
- [9] H. Wang, L.K. Ju, H. Castaneda, G. Cheng, BZ Newby, Corrosion of carbon steel C1010 in the presence of iron oxidizing bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Corrosion science*, Vol. 89, 2014, Pp. 250-7.
- [10] S. Okabe, M. Odagiri, T. Ito, H. Satoh, Succession of sulfur-oxidizing bacteria in the microbial community on corroding concrete in sewer systems, *Applied and environmental microbiology*, Vol. 73, 2007, Pp. 971-80.
- [11] Z. Shahryari, Kh. Gheisari, H. Motamedi, Effect of sulfate reducing *Citrobacter* sp. strain on the corrosion behavior of API X70 microalloyed pipeline steel, *Materials Chemistry and Physics*, Vol. 236, 2019, Pp. 121799.
- [12] Shahryari, Kh. Gheisari, H. Motamedi, Corrosion behavior of API X70 microalloyed pipeline steel in a simulated soil solution in the absence and presence of aerobic *Pseudomonas* species, *Materials Research Express*, Vol. 6 (6), 2019, Pp. 065409.
- [13] M. Wasim, MB. Djukic, Long-term external microbiologically influenced corrosion of buried cast iron pipes in the presence of sulfate-reducing bacteria (SRB), *Engineering Failure Analysis*, Vol. 115, 2020, Pp.104657.
- [14] F. M. AlAbbas, C. Williamson, S. M. Bhola, J. R. Spear, D. L. Olson, B. Mishra, A. E. Kakpovbia, Influence of sulfate reducing bacterial biofilm on corrosion behavior of low-alloy, high-strength steel (API-5L X80), *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 78, 2013, Pp. 34-42.
- [15] X. Chen, G. Wang, F. Gao, Y. Wang, C. He, Effects of sulphate-reducing bacteria on crevice corrosion in X70 pipeline steel under disbonded coatings, *Corrosion Science*, Vol. 101, 2015, Pp.1-11.
- [16] X. Ping, X. Chao, W. Tao, W. Jing, Zh. Yajun, Chemical and electron microbial influenced corrosion, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, Vol. 5(12), 2013, Pp. 476-481.
- [17] B.J Little, J.S. Lee. Microbiologically influenced corrosion. John Wiley & Sons; 2007.
- [18] F.M. AlAbbas, C. Williamson, S. M. Bhola, J. R. Spear, D. L. Olson, B. Mishra, A. E. Kakpovbia, Microbial corrosion in linepipe steel under the influence of a sulfate-reducing consortium isolated from an oil field, *Journal of materials engineering and performance*, Vol. 22, No. 11, 2013, Pp. 3517-3529.
- [19] T. Wu, M. Yan, D. Zeng, J. Xu, C. Sun, C. Yu, W. Ke, Hydrogen permeation of X80 steel with superficial stress in the presence of sulfate-reducing bacteria. *Corrosion Science*, Vol. 91, 2015, Pp.86-94.
- [20] H. Liu, Y.F. Cheng, Mechanism of microbiologically influenced corrosion of X52 pipeline steel in a wet soil containing sulfate-reduced bacteria. *Electrochimica Acta*, Vol. 253, 2017, Pp.368-378.
- [21] D. Wang, F. Xie, M. Wu, D. Sun, X. Li, J. Ju, The effect of sulfate-reducing bacteria on hydrogen permeation of X80 steel under cathodic protection potential, *International Journal of Hydrogen Energy*, Vol. 42(44), 2017, Pp.27206-27213.
- [22] H. Liu, T. Gu, M. Asif, G. Zhang, H. Liu, The corrosion behavior and mechanism of carbon steel induced by extracellular polymeric substances of iron-oxidizing bacteria, *Corrosion Science*, Vol. 114, 2017, Pp. 102-111.
- [23] Q. Li, J. Wang, X. Xing, W. Hu, Corrosion behavior of X65 steel in seawater containing sulfate reducing bacteria under aerobic conditions, *Bioelectrochemistry*, Vol. 122, 2018, Pp.40-50.
- [24] E. Ilhan-Sungur, T. Unsal-Istek, N. Cansever, Microbiologically influenced corrosion of galvanized steel by *Desulfovibrio* sp. and *Desulfosporosinus* sp. in the presence of Ag-Cu ions, *Materials Chemistry and Physics*, Vol. 162, 2015, Pp. 839-851.
- [25] K.A. Kouassi, A.T. Dadie, Z.Y. Nanga, K.M. Dje, Y.G. Loukou, Prevalence of sulfite reducing *Clostridium* species in barbecued meat in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, Vol. 38, 2011, Pp. 2518-2522.
- [26] F. Kuang, J. Wang, L. Yan, D. Zhang, Effects of sulfate-reducing bacteria on the corrosion behavior of carbon steel, *Electrochim Acta*, Vol. 52, 2007, Pp. 6084-6088.
- [27] Y. Wan, D. Zhang, H. Liu, Y. Li, B. Hou, Influence of sulphate-reducing bacteria on environmental parameters and marine corrosion behavior of Q235 steel in aerobic conditions, *Electrochimica Acta*, Vol. 55, No. 5, 2010, Pp.1528-1534.
- [28] H. Liu, H. L. Xu, J. Zeng, Role of corrosion products in biofilms in microbiologically induced corrosion of carbon steel, *British corrosion journal*, Vol. 35, 2000, Pp. 131-135.
- [29] A. George, microbial reduction of phosphate?, *Microbial Diversity project*, School of molecular and medical biosciences, University of wales cardff, Cardiff, UK, 1995.
- [30] C. Sun, J. Xu, F. Wang, Interaction of sulfate-reducing bacteria and carbon steel Q 235 in biofilm, *Indust. Engineer. Chem. Research*, Vol. 50, No. 22, 2011, Pp. 12797-12806.
- [31] R. G. Kelly, J.R. Scully, D. Shoesmith, R.G. Buchheit, *Electrochemical techniques in corrosion science and engineering*. CRC Press, 2002.