

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017.02.2016062701

李进, 刘梦, 祁誉, 等. 再生水环境中杀菌剂对 SS316L 表面生物膜活性与电化行为影响[J]. 环境化学, 2017, 36(2): 328-335.

LI Jin, LIU Meng, QI Yu, et al. Effects of fungicides on the biofilm activity and electrochemical behaviors of stainless steel SS316L in the reclaimed water[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(2): 328-335.

再生水环境中杀菌剂对 SS316L 表面生物膜 活性与电化行为影响*

李 进** 刘 梦 祁 誉 季思彤 黄忠源 梁 锐 李建香

(北京交通大学市政与环境工程系, 水中典型污染物控制与水质保障北京市重点实验室, 北京, 100044)

摘 要 本文应用生物化学和电化学分析方法研究了发电厂循环水系统常用杀菌剂 NaClO 和十二烷基二甲基苄基氯化铵(1227)对硫酸盐还原菌(SRB)脱氢酶活性, 胞外聚合物(EPS)以及对不锈钢 SS316L 表面生物膜电化行为的影响. 结果表明, 2 种杀菌剂均有效地降低了细菌脱氢酶活性和细菌代谢产物 EPS 中多糖和蛋白质的含量. 其中 NaClO 和 1227 对多糖削减水平相当, 平均降幅均为 72 mass%; NaClO 对蛋白质削减效果较为明显, 平均降幅为 60 mass%, 而 1227 对蛋白质的平均降幅为 48 mass%. 添加 2 种杀菌剂后, SS316 电极表面溶解电流随时间缓慢下降, 表明这两种杀菌剂在一定程度上能够减缓 SRB 生物膜对 SS316L 表面的电化腐蚀. 1227 能够维持 SS316 电极表面较为稳定的溶解电流和钝化区间.

关键词 硫酸盐还原菌, 脱氢酶, 胞外聚合物(EPS), SS316L, 杀菌剂, 阳极极化.

Effects of fungicides on the biofilm activity and electrochemical behaviors of stainless steel SS316L in the reclaimed water

LI Jin** LIU Meng QI Yu JI Sitong HUANG Zhongyuan LIANG Rui LI Jianxiang

(Department of Municipal and Environmental Engineering, Beijing Key Laboratory, Beijing JiaoTong University, Beijing, 100044, China)

Abstract: In this paper, the effects of fungicides (NaClO and 1227) on the dehydrogenase activity of sulfate-reducing bacteria and their extracellular polymeric substances (EPS), as well as electrochemical behaviors of biofilms on the stainless steel SS316L in power plant reclaimed water were investigated using biochemical and electrochemical analysis. The results show that these two fungicides effectively reduced the contents of polysaccharides and proteins in the extracellular polymeric substances. NaClO and 1227 had a similar effect on reducing polysaccharides with an average decline of 72 mass%. NaClO had a more significant effect on reducing proteins than 1227 with an average decline of 60 mass% vs 48 mass%. The results from the potentiodynamic curve analysis for the SS316L electrodes show that the passive current density diminished with time, indicating that these two fungicides had inhibition effect on biofilm corrosion of SS316L. Adding 1227 can maintain the steady-state passive current density and broad passive range.

Keywords: sulfate-reducing bacteria, dehydrogenase activity, EPS, stainless steel (SS316L), fungicides, potentiodynamic polarization.

2016 年 6 月 27 日收稿(Received: June 27, 2016).

* 国家自然科学基金(51278035)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(51278035).

** 通讯联系人, Tel: 010-51684391, E-mail: jinli@bjtu.edu.cn

Corresponding author, Tel: 010-51684391, E-mail: jinli@bjtu.edu.cn

将经过二级处理后的城市污水回用于发电厂循环冷却水系统,作为循环冷却系统的补充水,此举有效地节约了水资源.再生水水质相对于自然水资源,具有盐分高、营养物质含量高、有机物、微生物菌群复杂,水质多变等特点^[1].通常,发电厂为减少循环冷却水系统的排污水量,将循环冷却水的浓缩倍率控制在 3 倍或更高倍数,视补水水质而定.因此会使水中杂质成倍增加.循环冷却系统的特殊环境以及再生水水质特点形成了适合微生物生长繁殖的条件.微生物在凝汽器管表面大量滋生,并且它分泌的胞外聚合物(EPS)可以吸附在金属表面形成不均匀的生物膜,微生物被包藏于由 EPS 以及一些沉积物共同构成的凝胶相里,在金属表面形成浓差电池^[2-3],不仅加快了管材的腐蚀,还降低了换热效率,严重时可引发安全事故^[4].刘靖^[5]等研究表明,电极表面电位分布的不均匀会造成局部腐蚀,而 SRB 的存在及生长会促进生物膜向不均匀性发展,其代谢产物也能加速局部腐蚀.李相波等研究显示^[6],在天然海水中,生物膜的形成可能使金属钝化膜变厚,从而使钝化电流减小;在微生物膜形成初期,能提高钼不锈钢的钝化性及耐蚀性.Dagbert^[7]等研究表明,荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)可以产生一种生物表面活性剂,能较好地吸附在不锈钢表面,从而抑制氯离子及氧分子向不锈钢表面的扩散,降低不锈钢的点蚀情况.由此可见,生物膜对金属的腐蚀与生物膜的致密程度有关,EPS 的疏水性对生物膜的致密性和完整性产生重要影响^[8].

由于再生水的推广使用,许多发电厂循环冷却水系统已经从铜材质换成更耐腐蚀的不锈钢材质,但不锈钢对硫酸盐还原菌(Sulfate-reducing bacteria SRB)、Cl⁻和还原性硫化物引起的局部腐蚀表现得非常敏感^[9-10],SRB 引起的局部腐蚀是由于金属表面形成了生物膜和疏松的硫化铁膜层^[11],且局部腐蚀的危害要远大于均匀腐蚀.SRB 是一种厌氧的革兰氏阴性菌,SRB 能够在无氧或氧含量极少的情况下,将一些硫氧化物如硫酸盐、亚硫酸盐,以及硫元素等作为电子受体并将其还原成 H₂S^[12].SRB 寄生附着在金属表面并形成生物膜是引起热交换器金属管材微生物腐蚀和生物污损的前提.

本文采用生物化学和电化学分析方法研究了含 SRB 的浓缩 3 倍再生水环境中,在一次给药周期内,发电厂循环水系统常用杀菌剂 NaClO 和 1227 对 SRB 脱氢酶活性和 EPS 中多糖和蛋白质含量的影响;研究杀菌剂 NaClO 和 1227 对 SS316L 表面 SRB 生物膜电化学行为的影响.研究成果对于防止发电厂循环冷却水系统微生物腐蚀具有重要意义.

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验菌种与培养

实验所用 SRB 是从北京某热电厂循环冷却水系统补充水的再生水中分离得到的.经过数次分离提纯、扩大培养后,再经过分离纯化后置于-80 ℃冷藏保存.

Postgate C 培养基组分为:KH₂PO₄ 0.5 g, NH₄Cl 1.0 g, CaCl₂·2H₂O 0.06 g, Na₂SO₄ 4.5 g, MgSO₄·7H₂O 0.06 g, 乳酸钠(80%) 6 mL, 酵母浸膏 1.0 g, FeSO₄·7H₂O 0.004 g, 柠檬酸钠 0.3 g, 蒸馏水 1000 mL, 用 HCl 和 NaOH(0.05 mol·L⁻¹)调节 pH 值在 7.0—7.2 范围内,在 0.14 MPa 灭菌锅中消毒 20 min,待培养基冷却之后,添加经过紫外线消毒 30 min 的 H-Cys-OH HCl 和抗坏血酸,在 37±1 ℃生化培养箱中恒温培养.

1.2 活化与计数

每次使用菌种时,都需要对细菌进行活化,以保证接种的 SRB 活性大致相当.将冷藏保存的菌种放在 37±1 ℃生化培养箱中恒温活化 2 h 后,取 20 mL 菌液接种,采用 Postgate C 培养基在 37±1 ℃生化培养箱中恒温培养 24 h.若培养基变成黑色,则该菌液有活性,可直接用于实验;若未变成黑色,则待其变黑后重新接种,直到变黑为止.活化后,用血球计数板计数,确定不同时间的细菌数量.

1.3 实验用水

实验用水取自北京某热电厂循环冷却水系统的补水,该补水来自北京高碑店污水处理厂的再生水,再生水水质分析如表 1 所示.

本实验采用 3 倍浓缩水进行试验.将再生水中添加一定阻垢缓蚀剂,恒温 40 ℃条件下进行浓缩,得到 3 倍浓缩水.然后用 0.22 μm 的微孔滤膜进行真空泵抽滤,过滤去除大部分细菌后,封存在经高压灭菌的贮存瓶中,冷藏(4 ℃)于冰箱中备用.

表 1 再生水水质分析

Table 1 Compositions of the reclaimed water

pH	电导率 Specific conductance/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	$\text{SO}_4^{2-}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{Cl}^-/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NH}_4^+/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	硬度 Water hardness/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	浊度 Turbidity/ (NTU)	$\text{COD}_{\text{Cr}}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
7.55	890	61.57	99.17	0.75	4.17	1.89	16.26

1.4 不锈钢 SS316L 试片和电极的制备

实验材料为不锈钢 SS316L, 材料主要成分见表 2. 目前多数以再生水作为循环冷却系统补水的发电厂均采用 SS316L 作为凝汽器管材, 以保证循环系统的安全运行.

表 2 SS316L 材料成分 (mass%)

Table 2 The composition of stainless steel 316L (mass%)

材料 Materials	C	Si	P	S	Cr	Ni	Mo	Mn	Fe
SS316L	0.021	0.62	0.032	0.0042	16.56	10.43	2.06	1.1	余量

将试样加工成面积为 $10\text{ mm}\times 10\text{ mm}\times 1\text{ mm}$ 的正方形试片. 电极制备: 将相同尺寸的试片背面焊接上铜导线, 然后用环氧树脂密封非工作面. 依次用 800[#]、1200[#]、2000[#] 水砂纸逐级打磨, 用丙酮除去表面油, 再用无水乙醇清洁表面后干燥, 置于干燥器内备用. 试样使用前将其置于紫外灯下照射 30 min 灭菌.

1.5 杀菌剂的选择

实验采用两种杀菌剂 NaClO 和十二烷基二甲基苄基氯化铵 (1227). 其中 NaClO 有效浓度为 10%; 1227 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{NCl}$, 有效浓度为 45%. 两种药剂为某电厂提供. 杀菌剂的浓度根据实验确定, NaClO 为 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 1227 为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.6 脱氢酶活性测试

将准备好的 SS316L 试片浸泡于接种 SRB 浓缩 3 倍再生水中, 分别加入杀菌剂 NaClO 和 1227 并充氮气 20 min 以驱赶氧气, 创造厌氧环境, 将瓶口密封后, 置于 $37\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱中厌氧培养. 在 1 次给药周期内, 于不同的浸泡时间 (1 d、3 d、5 d、7 d) 取出试片, 检测细菌浓度和脱氢酶含量. 用三苯基四氮唑氯化物 (TTC) 比色法^[13] 检测脱氢酶的活性. 测试数据为平行 2 次, 取平均值.

1.7 生物膜 EPS 组分的测试

操作步骤与 1.6 节相同, 同时将试片浸泡于接种了 SRB 的浓缩 3 倍再生水环境中不加杀菌剂, 作为对照. 采用甲醛-NaOH 法^[14] 提取 SS316L 试片表面生物膜中的 EPS.

配制 $\text{pH}=7$ 的缓冲溶液 ($2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_3\text{PO}_4$, $4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaH}_2\text{PO}_4$, $9\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$, $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KCl}$). 在不同时间取出试片, 用经紫外线消毒的刷子将试片表面的微生物膜刷入 50 mL 缓冲溶液中. 加入 0.3 mL 36.5% 的甲醛, 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下搅拌 1 h 后, 加入 50 mL $0.04\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaOH}$, 以 $300\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度搅拌 1 h; 以 $6000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下离心 10 min, 用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤, 然后在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 透析 (3500 Dalton) 24 h 提纯, 得到溶液待测.

用考马斯亮蓝 (Coomassie Brilliant Blue) 法测定 EPS 中蛋白质的含量^[15], 用苯酚-硫酸比色法测定多糖的含量.

1.8 SS316L 表面生物膜电化学测试

将 SS316L 电极分别浸泡于接种浓度为 $3\times 10^7\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓缩 3 倍再生水介质中, 加入一定浓度杀菌剂 NaClO 和 1227, 于浸泡不同时间 (1 d、3 d、5 d、7 d) 进行电化学测试.

实验采用 CS 电化学工作站. 将灭菌的电极放入电解池中. 参比电极为饱和甘汞电极 (SCE), 辅助电极为铂电极, 工作电极为 SS316L 不锈钢电极. 采用动电位扫描法测试阳极钝化极化曲线, 动电位扫描范围: $-0.3\text{—}1.8\text{ V}_{\text{SCE}}$, 速率: $0.5\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 杀菌剂对细菌浓度和脱氢酶活性的影响

在接种 SRB 的浓缩 3 倍再生水中一次性加入杀菌剂, 细菌浓度随时间变化见图 1.

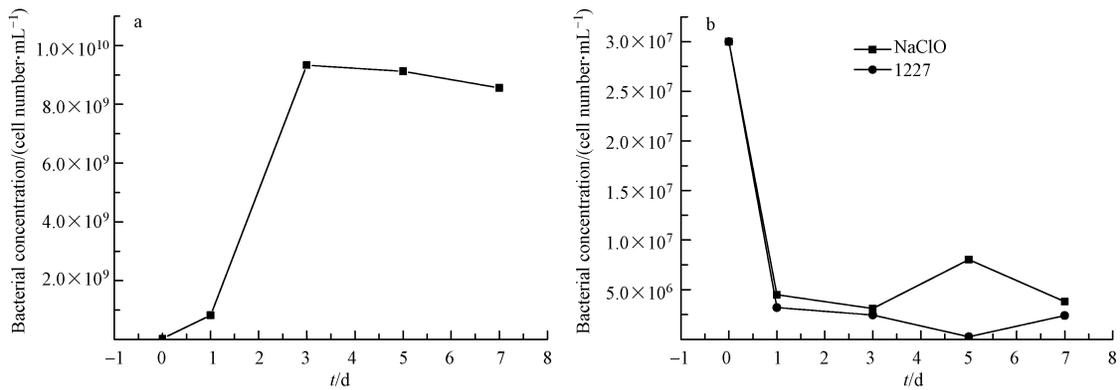


图1 杀菌剂对接种 SRB 的浓缩 3 倍再生水中细菌浓度的影响

(a) 未添加杀菌剂; (b) 添加杀菌剂

Fig.1 Effects of different fungicides on the SRB growth in the reclaimed water concentrated by 3 times

(a) no fungicides; (b) with fungicides

在浓缩 3 倍再生水中接种 3×10^7 个 mL^{-1} 浓度的 SRB, 细菌的生长曲线如图 1(a) 所示. 在实验期间, SRB 生长可分为 3 个阶段: 第 1 阶段延迟期菌体数量增长缓慢; 第 2 阶段为指数生长期 (1—3 d), 细胞生长代谢活跃, 数量大幅度增长, 在第 3 天达到峰值 9.33×10^9 个 mL^{-1} ; 第 3 阶段为稳定生长期 (3—7 d), 此时细菌的死亡率等于增长率, 细菌代谢活动稳定, 细菌数量稳定在 9.12×10^9 个 mL^{-1} 左右.

由图 1(b) 可知, 加入杀菌剂后, 细菌数量均迅速减小, 在 1 d 时有较高的杀菌效率. 加入 NaClO 1 d 后细菌浓度变为 4.5×10^6 个 mL^{-1} , 杀菌效率达 85%; 3—5 d 之间, 细菌浓度由 3.11×10^6 个 mL^{-1} 升高到 8.03×10^6 个 mL^{-1} , 7 d 时细菌浓度 3.8×10^6 个 mL^{-1} , 较第 5 天略有降低. NaClO 对细菌的灭活速率有所下降, 这说明 NaClO 药性持续时间较短. 加入杀菌剂 1227 的 1 d 后细菌浓度为 3.2×10^6 个 mL^{-1} , 杀菌效率达 89%, 3 d 后细菌浓度变为 2.45×10^6 个 mL^{-1} , 5 d 后细菌浓度降低为 2.5×10^5 个 mL^{-1} . 实验结果表明在加药初期 (1 d 后) 两种杀菌剂的效果接近, 加药后期 (5 d 后) 期 1227 灭菌效果稍好于 NaClO.

图 2 为浓缩 3 倍再生水中添加与不添加杀菌剂 SRB 脱氢酶浓度随时间的变化. 脱氢酶是由生物膜中微生物产生的, 而且只由活的生物体所产生. 它能使被氧化有机物的氢原子活化并传递给特定的氢受体. 因而, 脱氢酶的活性可以反映生物膜中活性微生物量^[16].

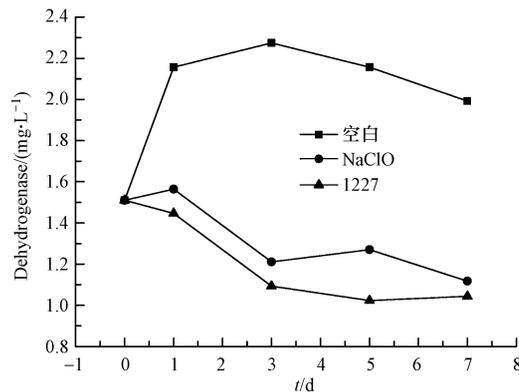


图2 杀菌剂对浓缩 3 倍再生水中 SRB 脱氢酶活性的影响

Fig.2 Effects of different fungicides on the concentration of dehydrogenase in the reclaimed water concentrated by 3 times with SRB

图 2 显示在不加杀菌剂条件下, 脱氢酶含量变化呈现先增加后减小的趋势. 1 d 后细菌脱氢酶浓度增加到 $2.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 3 d 时为 $2.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 细胞活性达到最大值. 3 d 后脱氢酶浓度开始下降, 到 7 d 时脱氢酶浓度下降到 $1.99 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 实验结果表明, 在细菌的对数生长期和稳定生长期, 细胞活性很强, 脱氢酶含量也随之增多. 随后, 细菌进入衰亡期, 细胞活性降低, 脱氢酶含量下降.

加入杀菌剂 NaClO 和 1227 后, 脱氢酶浓度均大幅度降低, 表明杀菌剂有效地抑制了生物细胞的活

性.加入杀菌剂 NaClO, 1 d 后脱氢酶浓度由不加杀菌剂的 $2.15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降为 $1.56 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 3—7 d 时脱氢酶浓度下降为 $1.261\text{—}1.11 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围.加入杀菌剂 1227 后,脱氢酶浓度处于持续下降的状态,1 d 后脱氢酶浓度为 $1.45 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 3—7 d 时脱氢酶浓度降低为 $1.09\text{—}1.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围.

脱氢酶的活性在一定程度上反映生物膜中活性微生物量,脱氢酶含量越低,生物膜活性越弱.NaClO 和 1227 对脱氢酶浓度都有较好的削减作用,从而抑制了脱氢酶对生命体一系列的化学反应的催化,降低了溶液中细菌的浓度,有利于缓解其对金属的电化学腐蚀.

2.2 杀菌剂对 EPS 中多糖和蛋白质的影响

微生物膜是由微生物及其胞外聚合物(EPS),腐蚀产物及环境中的沉积物构成的一个组分复杂的生物体系.EPS 主要来源于细菌分泌,它具有复杂的化学成分,多糖(PS)和蛋白质(PN)是其中最主要的两种成分.

在浓缩 3 倍再生水环境中添加与不添加杀菌剂 SS316L 表面生物膜中多糖和蛋白质含量随时间变化如图 3 所示.

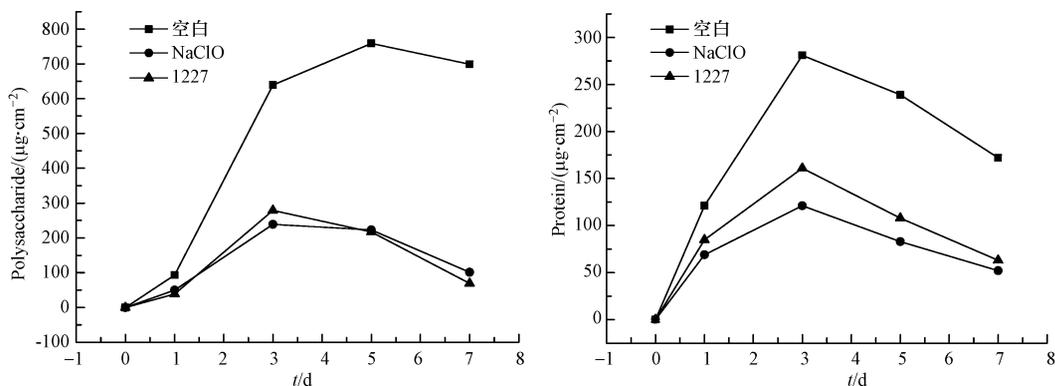


图 3 杀菌剂对 SS316L 表面生物膜中多糖(a)和蛋白质(b)含量的影响

Fig.3 Effects of fungicides on biofilm EPS contents of SS316L (a) polysaccharides and (b) proteins, in reclaimed water concentrated 3 times with SRB

从图 3(a)中可以看出,不加杀菌剂条件下,在浸泡初期(1—3 d)SS316L 表面生物膜中多糖含量增长较快,5 d 时多糖含量达到最大值 $759 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, 5 d 后多糖含量缓慢下降.浸泡初期多糖含量增加,主要是因为处于对数生长期细胞新陈代谢旺盛,代谢产物积累较多,使得 EPS 中碳水化合物含量上升较快.在衰亡期,生物膜内部由于营养物质的缺乏,细胞进入内源呼吸阶段,从而导致多糖含量下降.

加入杀菌剂 NaClO 和 1227 后多糖含量显著降低,在第 3 天时多糖含量均达到最大值,分别为 $239 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $279 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$;之后多糖含量缓慢降低,浸泡 7 d 时多糖含量分别为 $101 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $69 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.与未添加杀菌剂相比,在一次给药周期内(7 d),NaClO 和 1227 对多糖的平均降幅基本相同均为 72 mass%.杀菌剂的加入使细菌丧失活性, EPS 多糖含量显著降低.

从图 3(b)中可以看出,在添加杀菌剂和不加杀菌剂介质中, EPS 中蛋白质含量随时间变化趋势相似.在不加杀菌剂条件下,浸泡初期 SS316L 表面生物膜内蛋白质含量增长较快,3 d 时蛋白质含量达到最大值为 $281 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.3 d 后 SS316L 表面 EPS 内蛋白质含量缓慢下降,7 d 时蛋白质含量降为 $174 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.加入 NaClO 和 1227 杀菌剂后 SS316L 表面生物膜内蛋白质含量显著下降.加入 NaClO 和 1227 杀菌剂的介质中,浸泡 3 d 时,SS316L 表面生物膜内蛋白质最大含量分别为 $125 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $161 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$;7 d 时蛋白质含量分别降为 $69 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和 $85 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$.与未添加杀菌剂相比,在一次给药周期内(7 d),NaClO 和 1227 对 EPS 蛋白质的平均降幅分别为 60 mass% 和 48 mass%.NaClO 对生物膜蛋白质含量削减较 1227 更为明显.这是可能因为 NaClO 的氧化作用可以使蛋白质分解为 NH_3 ,进一步转化为 NO_2^- 和 NO_3^- .

EPS 的组成和含量与微生物腐蚀有着密切的联系.EPS 中所含有的一NH、—COOH 和—OH 官能团具有捕获许多高价金属离子(如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Fe^{3+})的能力^[17].不锈钢材料一旦发生点蚀, EPS 通过捕获溶解的金属离子,形成 Me^{n+} (EPS)的络合物,加速不锈钢材料的溶解.实验结果表明,杀菌剂 NaClO

和 1227 都能够有效地降低胞外聚合物中多糖和蛋白质含量,从而在一定程度上抑制 EPS 对不锈钢材料的腐蚀.

2.3 杀菌剂作用下 SS316L 表面/生物膜界面电化学特性

添加与不添加杀菌剂,SS316 电极阳极极化曲线随时间的变化特征如图 4 所示.

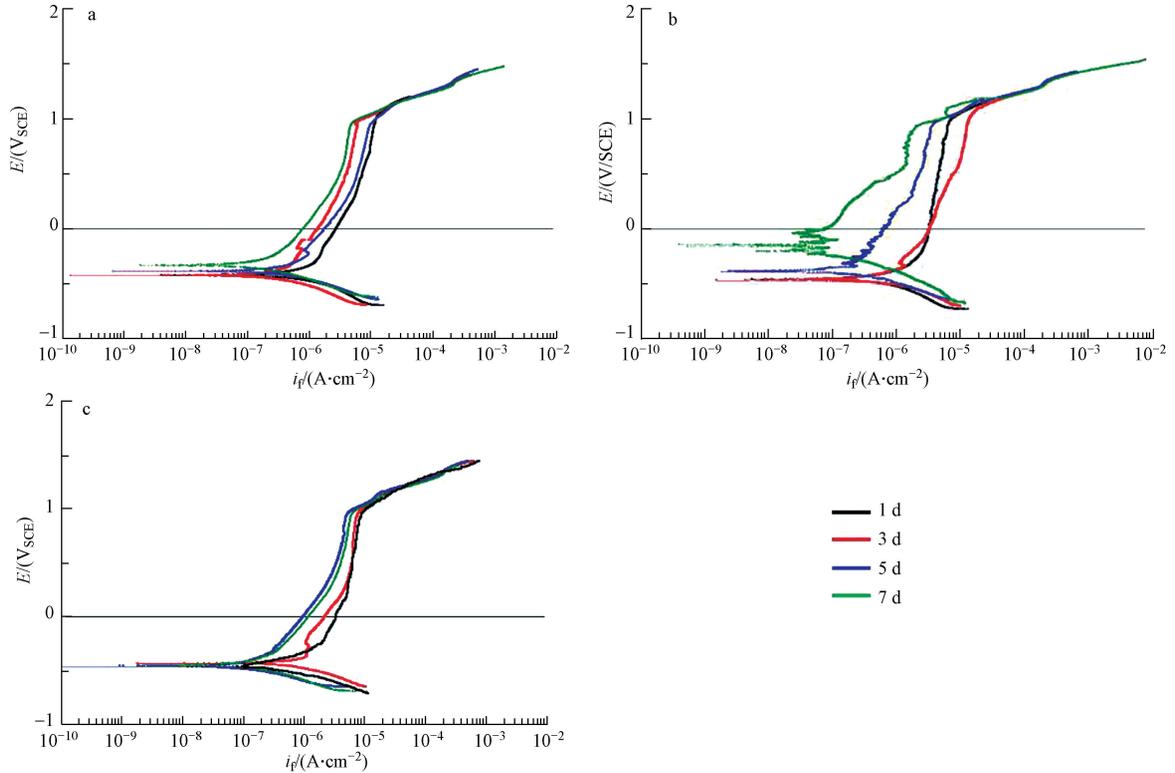


图 4 含菌的浓缩 3 倍再生水中的 SS316L 电极的阳极极化曲线,

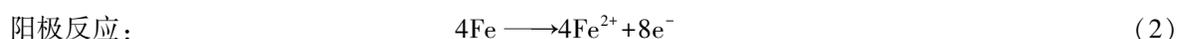
(a) 未添加杀菌剂; (b) 添加 NaClO; (c) 添加 1227

Fig.4 The polarization curves of the SS316L electrode in the reclaimed water concentrated 3 times with SRB

(a) no fungicides; (b) NaClO added; (c) 1227 added

SS316L 是典型的钝态金属材料,表现为其电极阳极动电位极化曲线出现明显的钝化区间.从图 4 可以看出,在 3 种介质条件下,随着浸泡时间的延长,SS316 电极的阳极维钝(溶解)电流密度(i_t)有减少的趋势.不添加杀菌剂只有 SRB 存在时(图 4a),浸泡 1—3 d,SS316 电极的 i_t 为 $9.780\text{—}5.250\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$;第 5 天时增加到 $8.040\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$.加入 NaClO 后(图 4b),1—3 d, i_t 为 $5.930\text{—}9.290\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$;5 d 时 i_t 下降为 $2.820\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$.加入 1227 后(图 4c) 1—3 d, i_t 为 $4.960\text{—}4.820\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$;5 d 时 i_t 为 $4.400\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$.此外,在图 4 的 3 种介质条件下,浸泡 5 d 时其钝化电位分别为 $0.959\ \text{V}_{\text{SCE}}$ 、 $1.290\ \text{V}_{\text{SCE}}$ 、 $1.350\ \text{V}_{\text{SCE}}$.上述电化学参数变化表明,添加杀菌剂后 SS316 电极表面钝化电位有所增加,溶解电流密度略小于只有 SRB 存在时的溶解电流密度,阳极溶解电流密度降低表示杀菌剂的加入,使得阳极反应(金属的溶解)速率减缓.

比较图 4b 和 4c 还可以看出,加入 NaClO 后期(5—7 d)SS316 电极溶解电流密度下降较为明显,但点蚀电位和钝化区间也有所下降.点蚀电位的下降与杀菌剂 NaClO 的氧化特性有一定关系.NaClO 是一种氧化性杀菌剂,在水溶液中 NaClO 电离成 Na^+ 和 ClO^- . ClO^- 具有强氧化性,并且 Cl^- 是其还原过程的最终产物. ClO^- 可以作为阴极参与电化学反应,反应如下:



式(4)中,半电极反应的标准电极电位($E_{\text{ClO}^-/\text{Cl}^-}^0$)为 $0.89 \text{ V}^{[18]}$,远大于(3)式中可逆氢电极的电极电位 $^{[19]}$,从而加速金属的电化学腐蚀过程,在阳极钝化曲线上表现为点蚀电位下降。

图 4c 显示加入 1227 杀菌剂后,SS316 电极表面阳极溶解电流密度维持较低水平,浸泡后期(7 d)溶解电流密度略有增大;点蚀电位和钝化区间基本维持不变。1227 不仅对微生物浓度和 EPS 有很大削减,且在溶液中可离解成分子量较大而界电常数较小的有机阳离子和无机阴离子。季胺阳离子的极性基团与金属有较大亲和力而优先在金属表面吸附 $^{[20]}$,从而阻碍了金属表面的析氢过程和金属离子向溶液的扩散过程,维持 SS316 电极表面较为稳定的溶解电流和钝化区间。

实验结果表明,加入杀菌剂 NaClO 和 1227 后均能够在一定程度上减缓 SRB 生物膜对 SS316 表面的电化学腐蚀。然而,这种变化不显著,这表明该作用没有改变腐蚀反应机理 $^{[21]}$ 。1227 能够维持 SS316 电极表面较为稳定的溶解电流和钝化区间。

3 结论(Conclusion)

(1)在接种 SRB 的浓缩 3 倍再生水中,杀菌剂 NaClO 和 1227 能够有效地降低细菌的浓度和脱氢酶活性;1 d 时达最大杀菌效率,NaClO 和 1227 杀菌效率分别是 85% 和 89%。

(2)2 种杀菌剂均能够有效地降低 SRB 代谢产物胞外聚合物(EPS)中多糖和蛋白质的含量,有效地抑制 EPS 在 SS316L 不锈钢表面吸附与腐蚀。其中 NaClO 和 1227 对多糖削减水平相当,平均降幅均为 72 mass%; NaClO 对蛋白质削减较为明显,平均降幅为 60 mass%,而 1227 对蛋白质的平均降幅为 48 mass%。

(3)2 种杀菌剂均能够在一定程度上减缓 SRB 生物膜对 SS316 表面的电化学腐蚀。添加 NaClO 后具有氧化性的 ClO^- 参与了阴极去极化过程,使 SS316 电极表面点蚀电位有较大降低。1227 能够维持 SS316 电极表面较为稳定的溶解电流和钝化区间。

参考文献(References)

- [1] 许萍,王锦,张雅君,等.基于市政再生水的微生物金属腐蚀行为比较[J].天津大学学报,2013,46(2):127-132.
XU P, WANG J, ZHANG Y J, et al. Comparison of microbiologically induced corrosion on metals in industrial recycling cooling system makeup by municipal reclaimed water[J]. Journal of Tianjin University, 2013, 46(2): 127-132 (in Chinese).
- [2] BEER D, STOODLEY P, ROE F, et al. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport[J]. Biotechnol Bioeng, 1994, 43: 1131-1138.
- [3] LEE W, BEER D. Oxygen and pH microprofiles above corrosion mild steel covered with a biofilm[J]. Biofoul, 1995, 8: 273-280.
- [4] 李锐,何世德,张占梅,等.城市中水在电厂循环冷却水系统的应用与展望[J].环境科学与原理,2008,33(3):152-155.
LI R, HE S D, ZHANG Z M, et al. Application and prospect of municipal reclaimed water in circulating cooling water system of power plant [J]. Environment Science and Management, 2008, 33(3): 152-155 (in Chinese).
- [5] 刘靖,刘宏芳,许立铭,等.采用丝束电极研究硫酸盐还原菌生物膜的电化学不均匀性[J].腐蚀与防护,2001,22(8):325-327.
LIU J, LIU H F, XU L M, et al. A study on electrochemical inhomogeneity of the sulfate-reducing bacteria biofilm using wire-beam electrode [J]. Corrosion & Protection, 2001, 22(8): 325-327 (in Chinese).
- [6] 李相波,王佳,郭为民,等.微生物附着对不锈钢钝化性能的影响[J].中国腐蚀与防护学报,2006,26(5):295-298.
LI X B, WANG J, GUO W M, et al. Effect of biofilm on the electrochemical passivity of stainless steel[J]. Journal of Chinese Society for Corrosion and Protection, 2006, 26(5): 295-298 (in Chinese).
- [7] DAGBERT C, MEYLHEUCB T, BELLON-FONTAINE M N. Pit formation on stainless steel surfaces pre-treated with biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*[J]. Electrochimica Acta, 2008, 54(1): 35-40.
- [8] 张静,李进,王开强,等再生水中弗氏柠檬酸杆菌生物膜特性研究[J].环境化学,2011,30(10):1687-1694.
ZHANG J, LI J, WANG K Q, et al. Study on the characteristic of *Citrobacter freundii* biofilm in reclaimed water[J]. Environmental Chemistry, 2011, 30(10): 1687-1694 (in Chinese).
- [9] 李进,许兆义,李久义,等.再生水环境中 304 不锈钢生物膜腐蚀电化学特征[J].物理化学学报,2010,26(10):2638-2639.
LI J, XU Z Y, LI J Y, et al. Characteristics of the microbiologically influenced corrosion of 304 stainless steel in reclaimed water environment[J]. Acta Phys-Chim Sin, 2010, 26(10): 2638-2646 (in Chinese).
- [10] 魏仁超,李焰,许凤玲,等.SRB 腐蚀与生物矿化作用的研究进展[J].材料开发与应用,2013,28(5):102-103.
WEI R C, LI Y, XU F L, et al. The state of the art of sulfate reducing bacterial corrosion and biomirialization [J]. Development and

- Application of Materials, 2013, 28(5): 102-103 (in Chinese).
- [11] ALABBAS F M, WILLIAMSON C, BHOLA S M, et al. Influence of sulfate reducing bacterial biofilm on corrosion behavior of low-alloy, high-strength steel (API-5L X80) [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 78:34-42.
- [12] CHANDEL M, AZMI W. Optimization of process parameters for the production of tyrosine phenol lyase by *Citrobacter freundii* MTCC 2424 [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(5): 1840-1846.
- [13] 周春生,尹军, TTC-脱氢酶活性检测方法的研究[J]. 环境科学学报, 1996, 16(4): 400-405.
ZHOU C S, YIN J, A method for measurement of TTC-dehydrogenase activity[J]. ActaScientiae Circumstantiae, 1996, 16(4): 400-405 (in Chinese).
- [14] LIU H, FANG H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. Journal of Biotechnology, 2002, 95: 249-256.
- [15] 李娟,张耀庭,曾伟,等.应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J].中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118-120.
LI J, ZHANG Y T, ZENG W, et al. Measurement of total protein content using coomassie brilliant blue method [J]. Chinese Journal of Biologicals, 2000, 13(2): 118-120 (in Chinese).
- [16] 齐鲁青,汪晓军,詹德明.优化 TTC-脱氢酶还原法测定陶粒负载微生物活性[J].现代化工, 2012, 32(3): 93-96.
QI L Q, WANG X J, ZHAN D M, Study on determination of biofilm activity by BAF TTC-dehydrogenase assay [J]. Modern Chemical Industry, 2012, 32(3): 93-96 (in Chinese).
- [17] BEECH I B, SUNNER J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2004, 15(3): 181-186.
- [18] 黄君礼,水分析化学[M].北京:中国建筑出版社, 2008: 511-522.
HUANG J L, Water Analytical Chemistry [M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2008: 511-522 (in Chinese).
- [19] STAROSVETSKY D, STAROSVETSKY J, ARMON R, et al. A peculiar cathodic process during iron and steel corrosion in sulfate reducing bacteria (SRB) media [J]. Corrosion Science, 2010, 52: 1536-1540.
- [20] 王旭珍,焦庆祝,郭相坤.盐酸介质中苯扎氯胺在纯铝上的吸附、缓蚀作用[J].材料保护, 2001, 34(6): 16-20.
WANG X Z, JIAO Q Z, GUO X K. Adsorption and corrosion inhibition of benzalkonium chloramine on pure aluminum in hydrochloric acid [J]. Material Protection, 2001, 34(6): 16-20 (in Chinese).
- [21] BENTISS F, TRAINEL M, VEZINH, et al. 2,5-Bis (4-dim ethylaminophenyl)-1,3,4-oxadiazole and 2,5-bis (4-dimethylaminophenyl)-1,3,4-thiadiazole as corrosion inhibitors for mild steel in acidic media [J]. Corrosion Science, 2004, 46: 2781-2792.