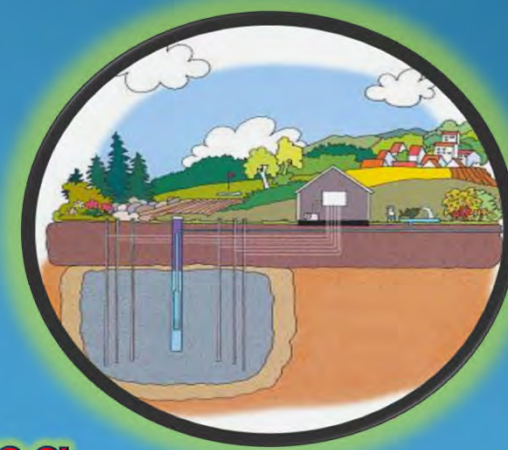


„Biofouling” Biofilm & Biokorozja w przemysłowych systemach wodnych

Dr. habil. Anna Salek
International Bio-Consulting,
Germany, 2010



Czynniki wywołujące korozję

- ❖ Sekrecja agresywnych kwasów nieorganicznych.
- ❖ Sekrecja agresywnych kwasów organicznych.
- ❖ Sekrecja organicznych „rozpuszczalników”.
 - ❖ Produkcja przez mikroorganizmy H_2S (aerobowo lub anaerobowo).
- ❖ Utlenianie amoniaku do kwasu azotawego (HNO_2).
- ❖ Tworzenie biofilmu, zawierającego komórki mikroorganizmów produkujących EPS.

Korozja

Potencjał elektrochemiczny pomiędzy dwoma metalami w elektrolicie powoduje przepływ elektronów i powstawanie jonów.

Jony te w połączeniu z tlenem lub innymi elementami indukują korozję materiału.

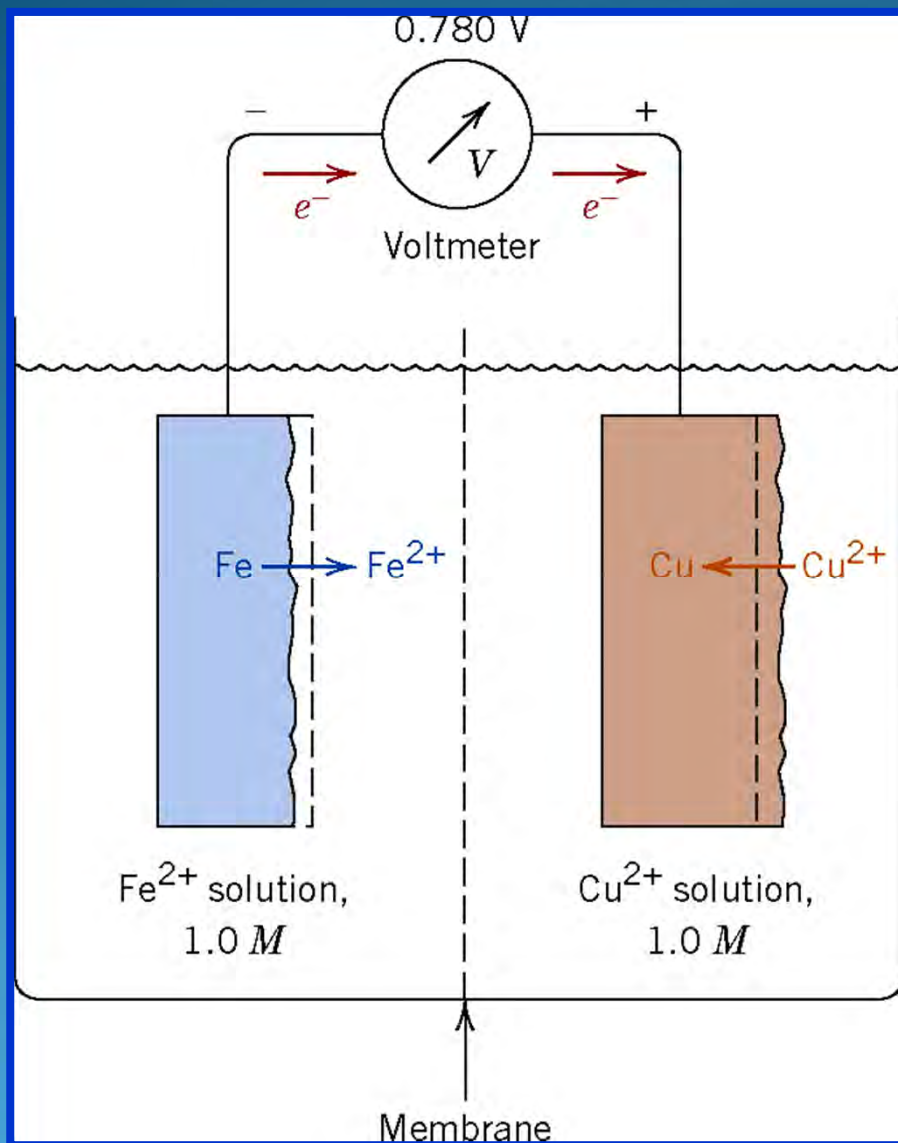
Oczyszczenie powierzchni z efektów korozji nie rozwiązuje problemu.

Przyczyną korozji są warunki środowiska, jak elektrolity lub same metale.

Korozja

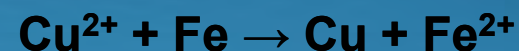
Umieszczenie dwóch metali, kontaktujących się wzajemnie, wywołuje w elektrolicie reakcje galwaniczne. Metal bardziej aktywny ulega jonizacji (rozpuszczaniu). Efekty korozji zależą od odległości pomiędzy stykającymi się metalami w trakcie reakcji galwanicznych, jakkolwiek istnieje wiele innych czynników (rodzaj elektrolitu, wielkość i kształt katody i anody, czas), które kontrolują korozję .

Korozja – reakcje elektrochemiczne



Warunki standardowe:

Reakcja ciągła:

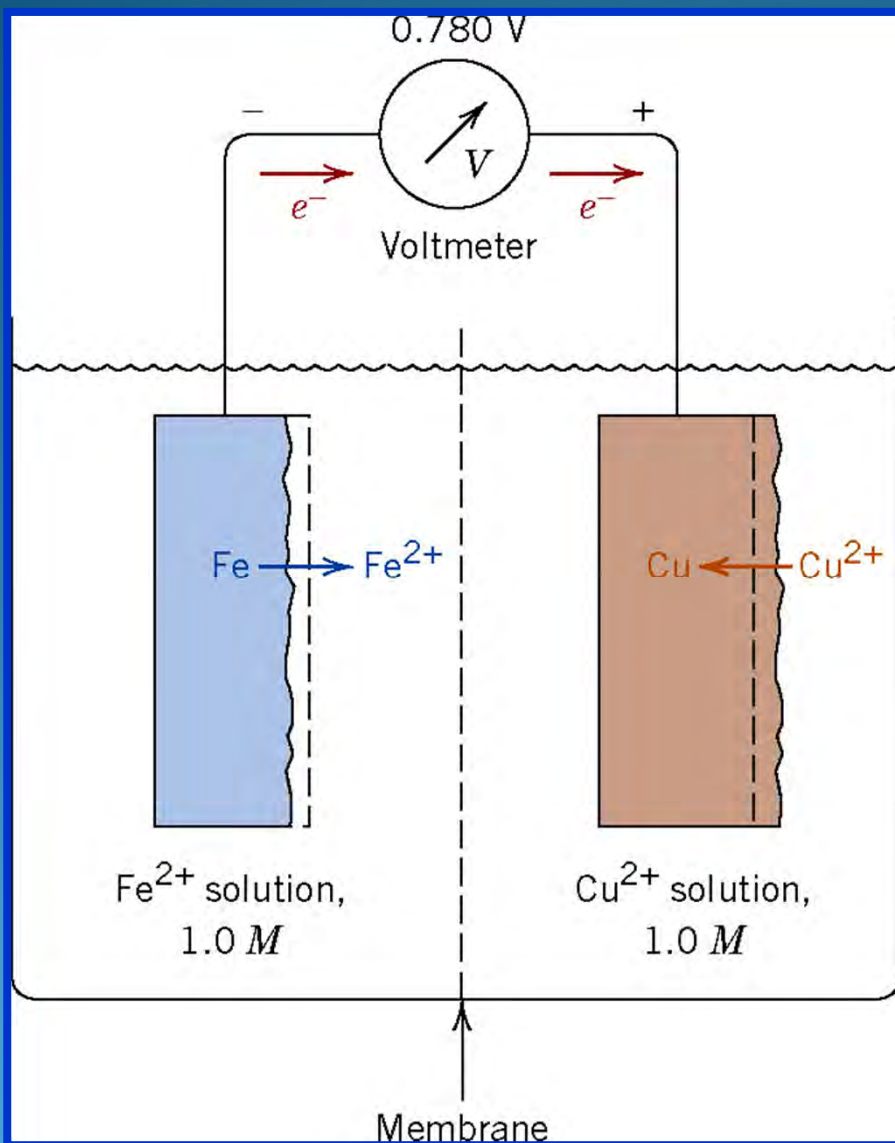


Reakcja częściowa:



W reakcji ciągłej: $+0.780 \text{ V}$

Korozja – reakcje elektrochemiczne

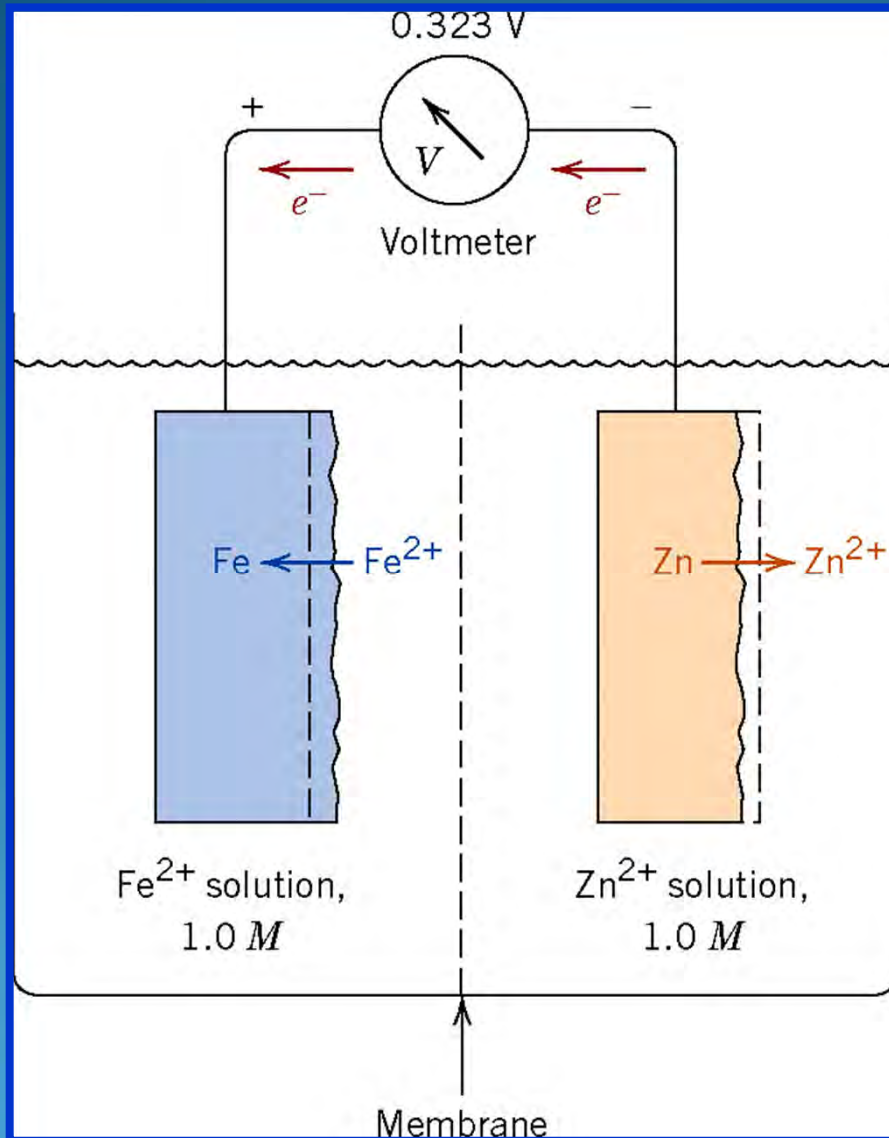


Warunki niestandardowe:

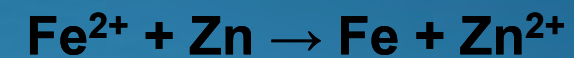
$$V = V^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{[M_{products}]}{[M_{reactants}]} \right)$$

$$V = V^0 - \frac{0.0592 \text{ V}}{n} \ln \left(\frac{[M_{products}]}{[M_{reactants}]} \right)$$

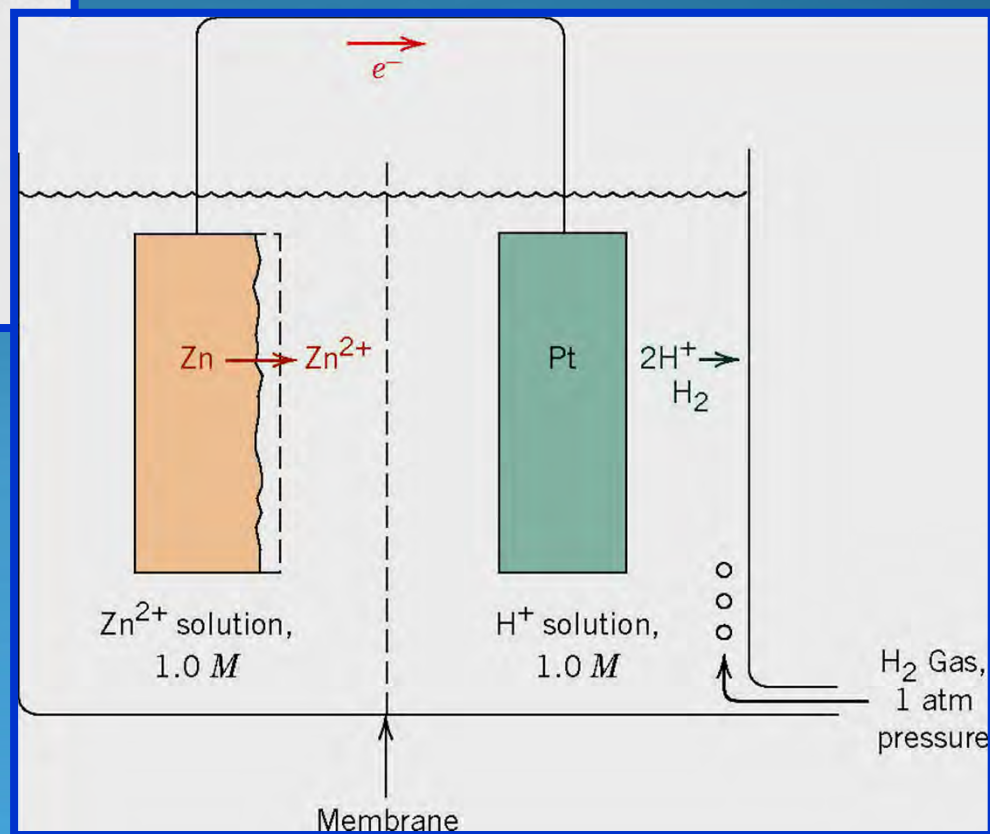
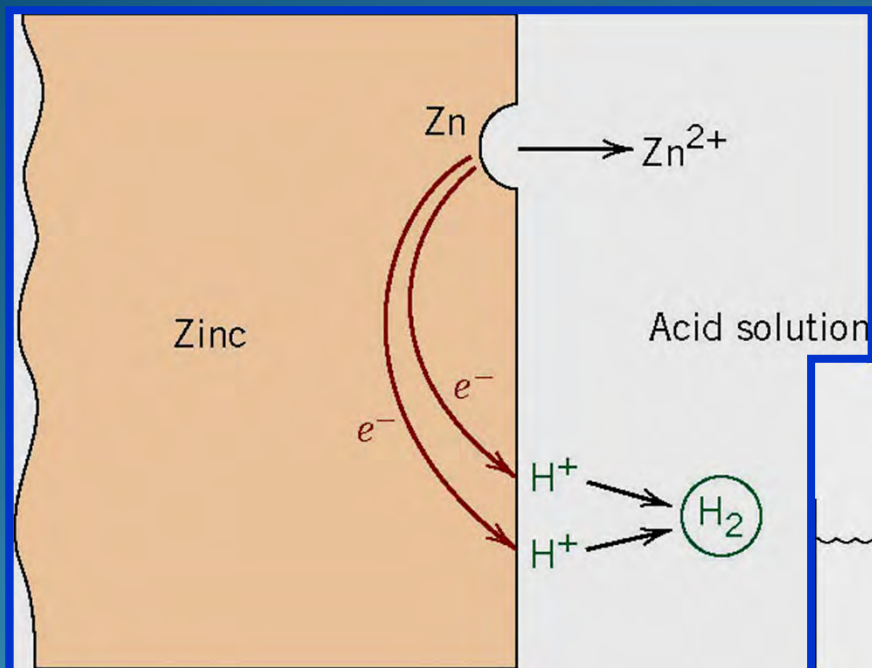
Korozja – reakcje elektrochemiczne



Reakcja ciągła:



Badanie korozji w różnych warunkach



Dziury korozyjne wywołane przez bakterie redukujące siarczany:

- Anoda: $4 \text{ Fe} \rightarrow 4 \text{ Fe}^{2+} + 8 \text{ e}^-$
- Katoda: $8 \text{ e}^- + 8 \text{ H}^+ \rightarrow 4 \text{ H}_2$ (korozja kwasowa)
 $\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} + 4 \text{ e}^- \rightarrow 4 \text{ OH}^-$ (korozja zasadowa)
- Redukcja siarczanu: $4 \text{ H}_2 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + \text{OH}^- + 3 \text{ H}_2\text{O}$
- Wytrącanie żelaza: $4 \text{ Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{S} + 2 \text{ OH}^- + 4 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow \text{FeS} + 3 \text{ Fe(OH)}_2 + 6 \text{ H}^+$

Reakcje elektrochemiczne

Kluczową rolę odgrywają wymiary katody.

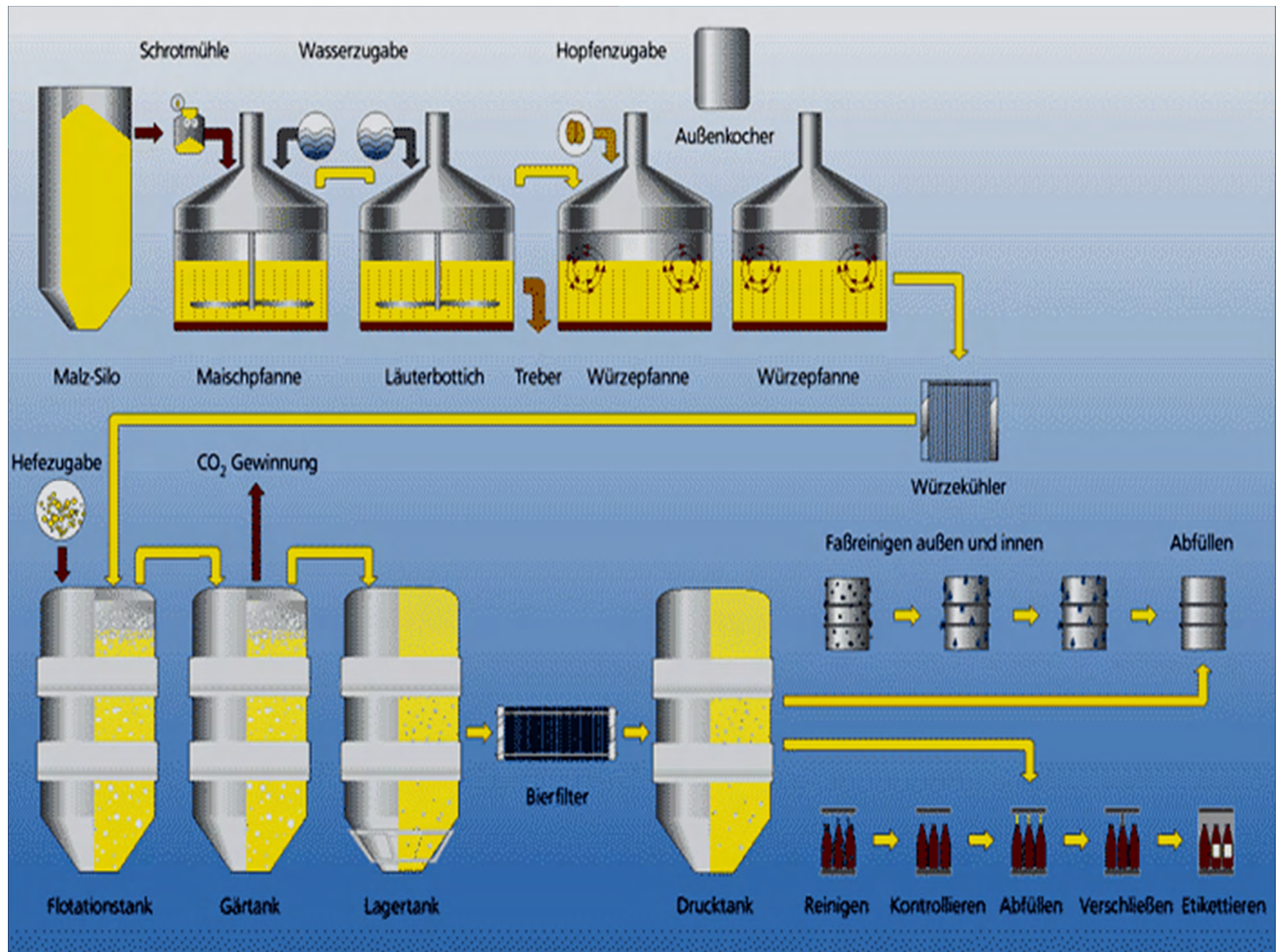
**Jeśli wielkość katody jest znacznie
mniejsza niż anody, wówczas korozja
jest stosunkowo nieduża.**

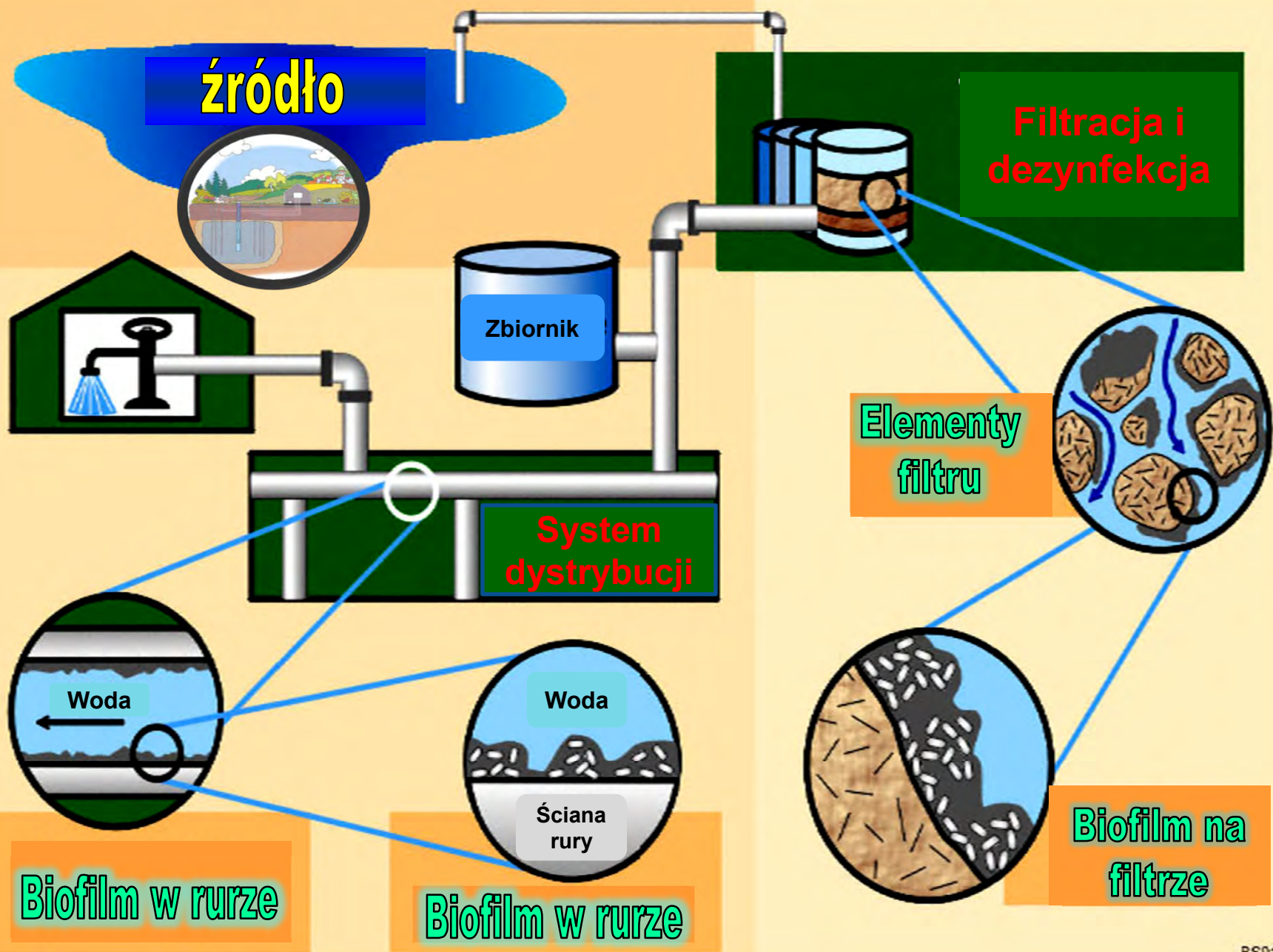
„Biofouling”

Biofilm & Biokorozja

w przemysłowych systemach

wodnych browaru





Korozja w browarnictwie

Piwo ma silne właściwości korozyjne.

Tradycyjnym materiałem do budowy tanków i naczyń w browarnictwie było dawniej drewno.

Obecnie stosowane są inne materiały antykorozyjne, przeważnie stal lub kompozycje zawierające aluminium.

Korozja w browarnictwie

Korozja w piwie spowodowana jest właściwościami acidofilnymi piwa oraz obecnością mikroorganizmów indukujących „biofouling” i biofilm, które prowadzą do biokorozji.

Korozja w browarnictwie

Właściwości korozyjne piwa są przyczyną wielu zmian w tankach produkcyjnych oraz w systemach jego przepływu.

Znaczna część problemów związanych z korozją dotyczy również budynków produkcyjnych.

Korozja w browarnictwie

Piwo jest znakomitym elektrolitem.

**Jeśli urządzenia ze stali miękkiej
kontaktują się z miedzią, stal koroduje.**

**Jeśli natomiast miedź z urządzeń
browarniczych ma kontakt ze stalą
nierdzewną, wówczas miedź koroduje.**

Korozja w browarnictwie

**Z praktycznego punktu widzenia,
zamiana tanku ze stali nierdzewnej na
tank z miedzi mogłaby powodować
minimalną korozję miedzi.**

Jednakże taka operacja jest już historią.

Korozja w browarnictwie

**Inwestycja w odpowiednie urządzenia browarnicze
jest niezwykle istotna.**

**Jakikolwiek kontakt metalu z piwem
nie powinien wywoływać powstawanie obcych zapachów.**

**Z tego powodu najczęściej jest stosowana stal
nierdzewna kwasooporna, gdyż nie zmienia piwa.**

**Inne popularne w browarnictwie metale, to miedź, aluminium,
stal miękka. Ich obecność stanowi częste problemy
zwane – korozją galwaniczną.**

Biokorozja

Mikroorganizmy z biofilmu wywołują korozję w materiałach pochodzenia mineralnego, w metalach i w polimerach, indukując tym samym proces „biokorozji”.

Szacuje się, że w Niemczech roczne straty spowodowane korozją wynoszą ok. 6 Mrd. €, przy czym 10-20 % strat jest pochodzenia mikrobiologicznego.

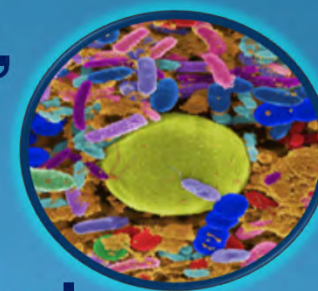
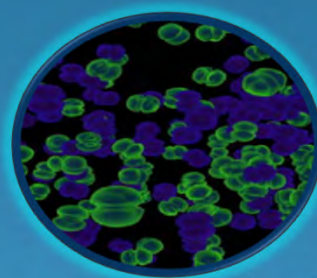
Biokorozja

W związku z tymi stratami, podjęto intensywne i systematyczne badania nad mechanizmem korozji, szczególnie spowodowanej mikroorganizmami, lokującymi na granicznych powierzchniach i wywołujących zmiany biotyczne (fizyczne) lub abiotyczne (chemiczne).

Biokorozja

Biokorozję wywołują bakterie:

- redukujące siarczany,
- utleniające siarkę,
- utleniające, bądź redukujące żelazo,
- wydzielające kwasy organiczne,
- wydzielające poza komórkę substancję polimeryczną, zw. egzopolisacharydem



Proteobacteria:

1.- Fototrofy beztlenowe:

a - siarkowe, purpurowe: *Chromatium*, *Ectothiorhodospira*,

b - niesiarkowe, purpurowe: *Rhodospirillum*, *Rhodomicrobium*

2.- Chemolitotrofy:

a - nitryfikujące: *Nitrosococcus*, *Nitrobacter*

b - utleniające siarkę: *Thiobacillus*, *Beggiatoa*, *Thioploca*

c - utleniające żelazo: *Leptothrix*, *Gallionella*

d - utleniające wodór

e - utleniające metan

3.- Chemoorganotrofy:

a - tlenowce: *Pseudomonas*, utleniające kwas octowy,

N-wiążące: *Azotobacter*, *Photobacteria*

b - beztlenowce: S - reduktory, *Desulfovibrio* spp.

c - fakultatywne tlenowce: bakterie jelitowe, *E. coli*

d - fermentujące: *Zymomonas*

e - patogeny: *Neisseria*, *Campylobacter*, *Salmonella*

Vibrios, *Spirilla*, *Prostecate bacteria*, *Myxobacteria*

Energia, elektrony i źródła tlenu

- | | |
|---------------|--------------------------|
| - Fototrofy | światło |
| - Chemotrofy | związki chemiczne |
| - Litotrofy | nieorganiczne związki |
| - Organotrofy | organiczne związki |
| - Autotrofy | wiązanie CO ₂ |

Podział mikroorganizmów

❖ Temperatura: poniżej 0°C – 116°C

krio-, mezo-, termofile

❖ Ciśnienie: 400 do ponad 1000 bar

barofile od 400 barów

❖ pH: 0 – 13

acido-, neutro-, alkiliofile

❖ Ciśnienie osmotyczne: do -680 barów

osmofile -680 barów

halofile -400 barów

normalne -30 barów

❖ Wzrost mikroorganizmów: od -420 do +850 mV

Termodynamiczna sekwencja redukcji substancji nieorganicznych

Reakcja

Eh (pH 7,0)

Redukcja tlenu do wody: $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- = 2\text{H}_2\text{O}$ 816 mV

Redukcja azotanów do azotynów: $\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$ 421 mV

Redukcja jonów Mn^{4+} do Mn^{2+} : $\text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ + 2\text{e}^- = \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O}$ 396 mV

Redukcja jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} : $\text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+ + \text{e}^- = \text{Fe}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O}$ -182 mV

Redukcja SO_4^{2-} do H_2S : $\text{SO}_4^{2-} + 10\text{H}^+ + 8\text{e}^- = \text{H}_2\text{S} + 4\text{H}_2\text{O}$ -215 mV

Redukcja CO_2 do CH_4 : $\text{CO}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- = \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ -244 mV

Mikrobiologicznie Indukowana Korozja, MIC

(Microbiologically Influenced Corrosion, MIC)

**Mikroorganizmy występujące w
biofilmach, często wywołują procesy
elektrochemiczne,
tworząc mikroogniwa**

Mikrobiologicznie Indukowana

Korozja, MIC

(Microbiologically Influenced Corrosion, MIC)

- ❖ Mikrobiologiczna korozja

- ❖ Biokorozja

- ❖ Biodeterioracja

- ❖ (Bio)erozja

- ❖ (Bio)fouling

Mikroorganizmy z biofilmu

indukujące MIC

- są to głównie bakterie, ale również pleśnie i glony,
- tlenowce wytwarzające śluz, np. *Pseudomonas aeruginosa*, mogą podnieść stężenie tlenu w środowisku,
- bakterie redukujące siarczany (SRB), np. *Desulphovibrio vulgaris*, produkując H_2S z siarczanów i tio-siarczanów,
- utleniacz związków siarki, np. *Thiobacillus thiooxidans*, produkujący kwas siarkowy w wyniku utleniania zredukowanych związków siarki,
- utleniacze żelaza, np. *Gallionella*, utleniające rozpuszczalne związki żelaza Fe^{2+} do Fe^{3+} , wytrącając osad $FeOOH$, i formując kwaśne środowisko, odpowiedzialne za korozję

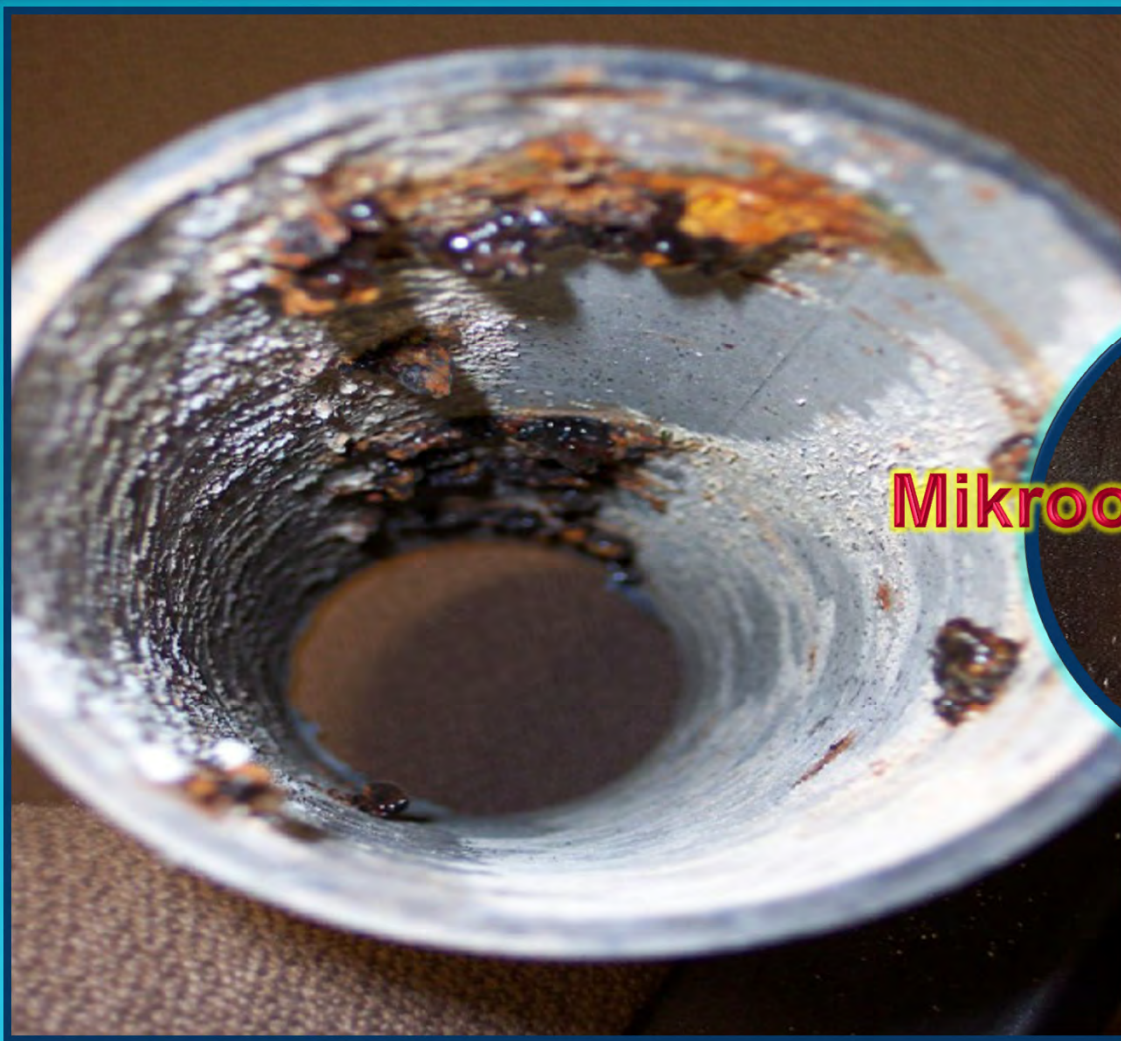
Warunki indukcji mikrobiologicznej korozji

- *Thiobacillus thiooxidans*: przy pH=1.0
- *Thiobacillus ferrooxidans*: przy pH=2.0
- *Thiobacillus intermedius*: przy pH=2.5
- Bakterie utleniające żelazo (*Gallionella* sp):
są aktywne przy pH=7.4
- Bakterie redukujące siarczany
(*Desulfovibrio* sp., *Desulfotomaculum* sp):
przy pH=7.0

MIC w galwanizowanej rurze

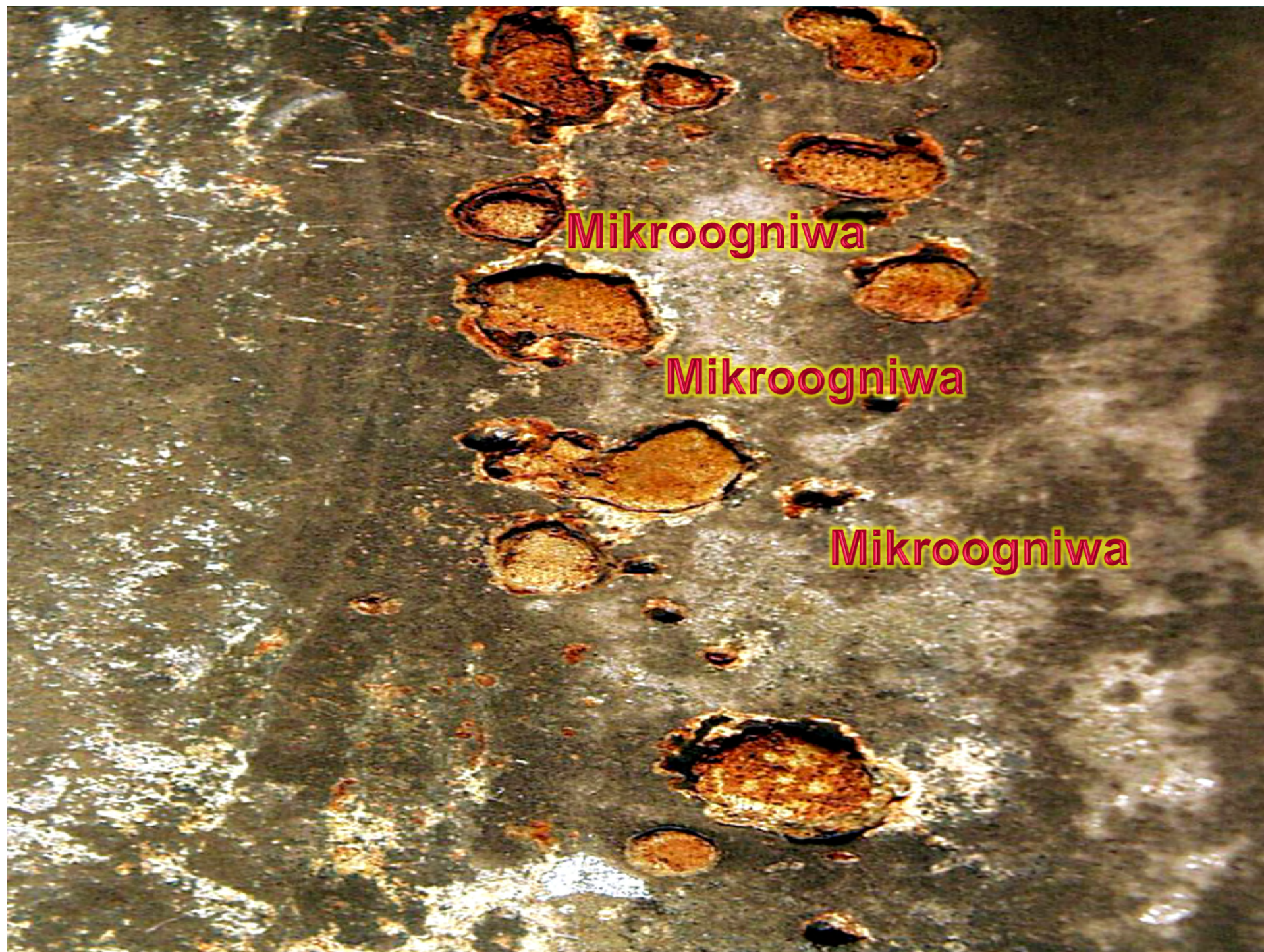


MIC w galwanizowanej rurze

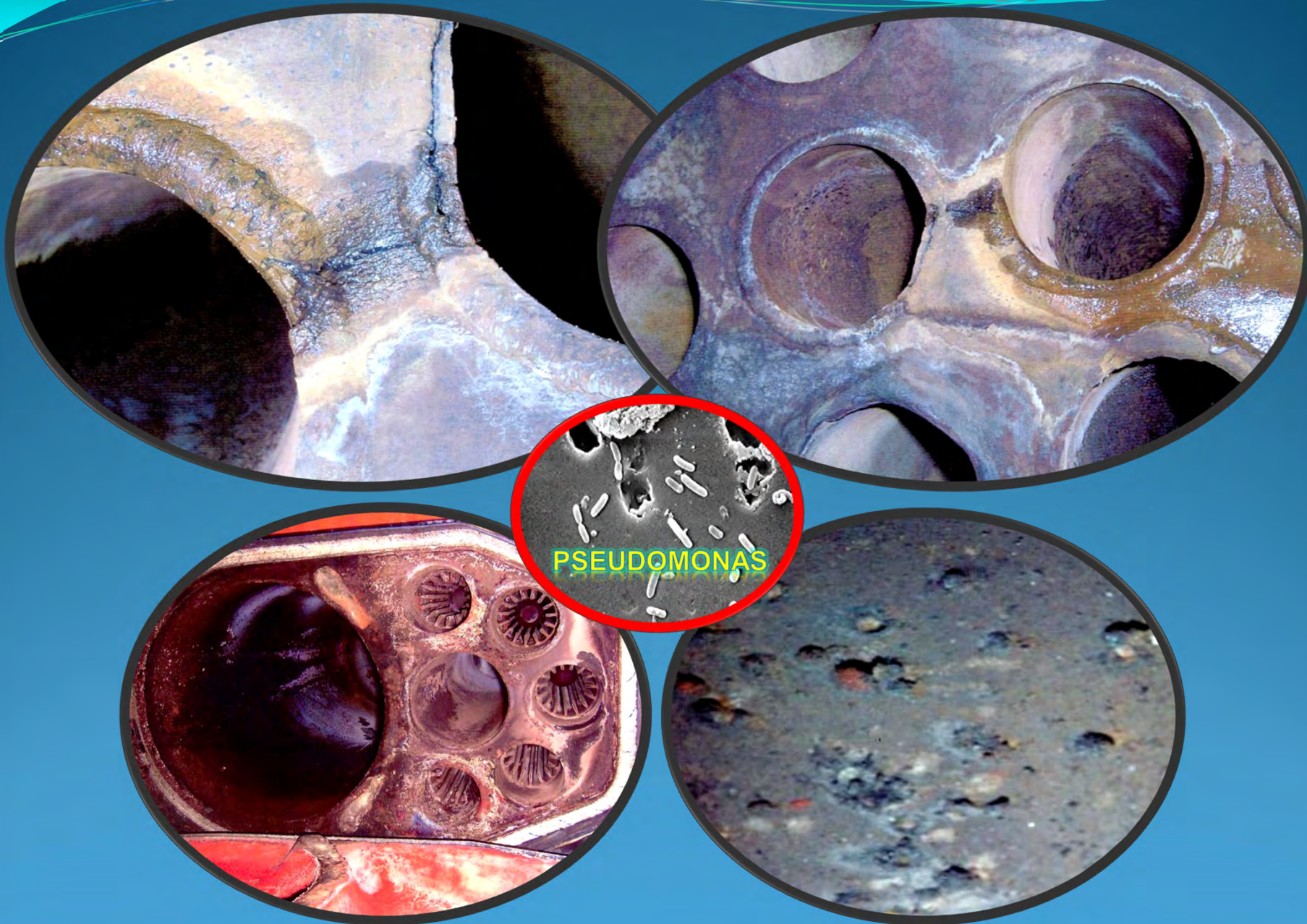


Mikroogniwa





MIC na galwanizowanych metalach



MIC w galwanizowanej rurze



Mikroogniwa

Mikroogniwa

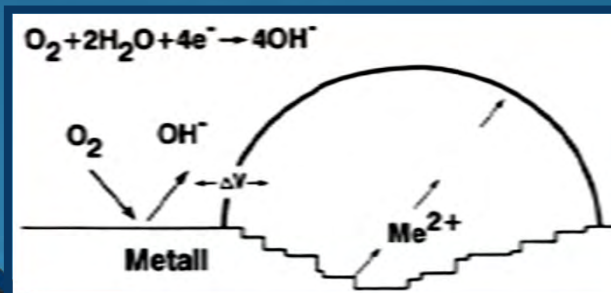
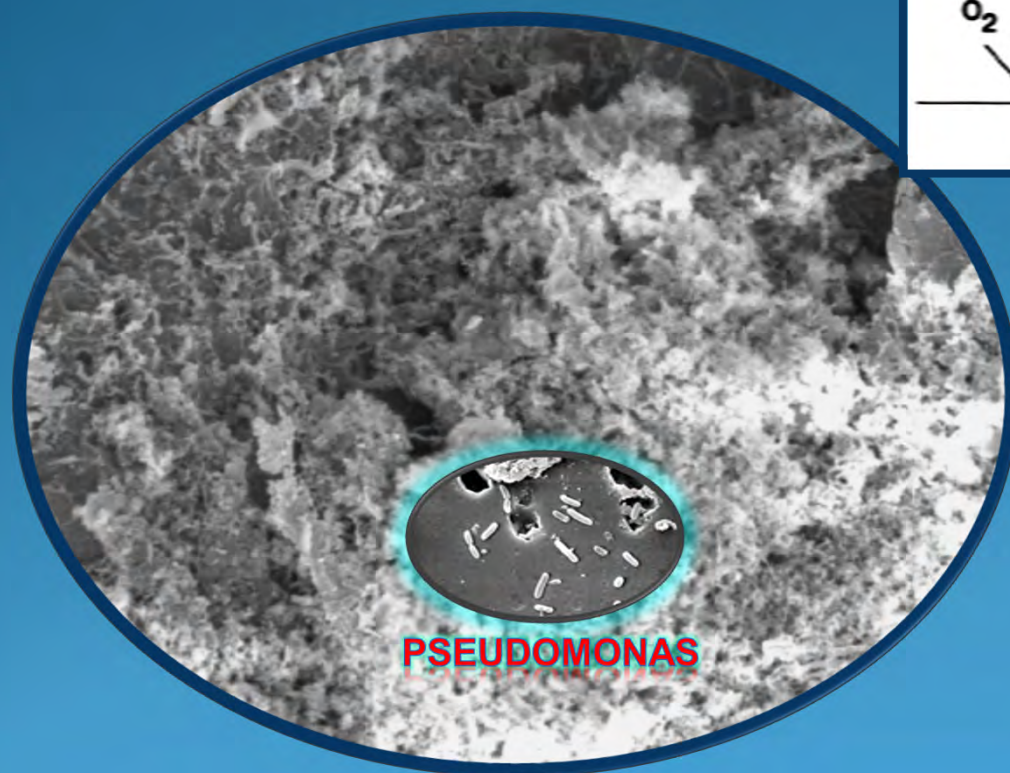


Mikroogniwa



Biokorozja materiałów metalowych

Korozja/wżery pod osadem



- Biofilm, EPS, zw. chelatowe
- Stężenie elektrolitów,
- Depolaryzacja i zmiany w potencjale red-ox,
- Komory/komórki przewietrzania

Biokorozja

W systemie ciepłej wody



Biokorozja



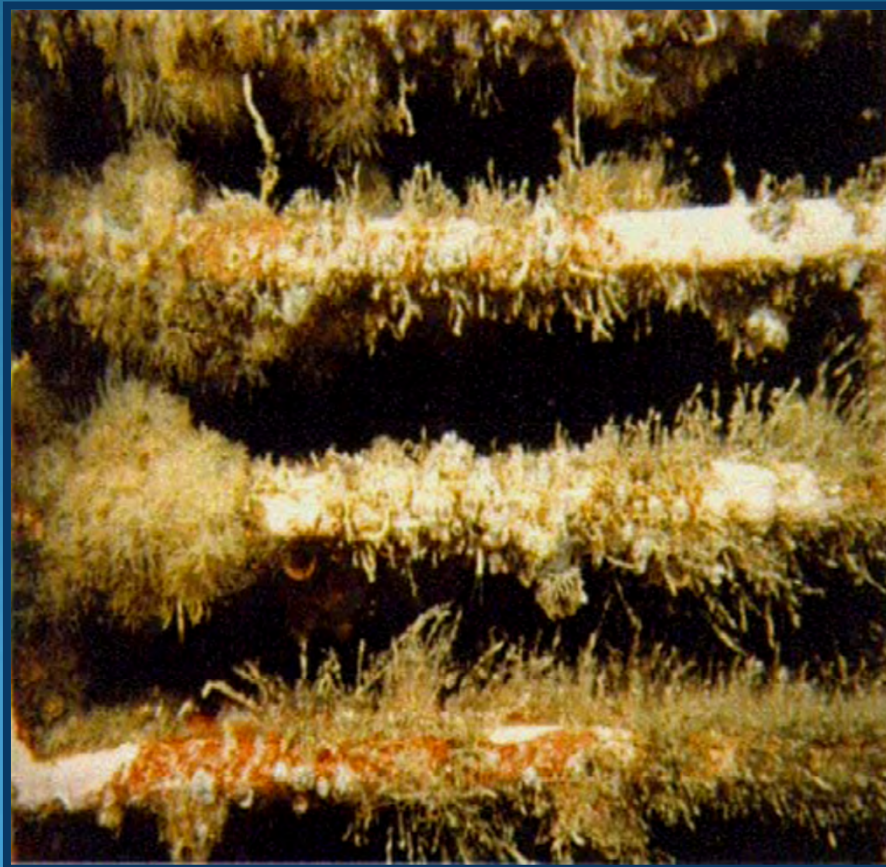
W rurze z ciepłą wodą

Biokorozja



„Bio-fouling” wywołany przez bakterie żelazowe

Biokorozja



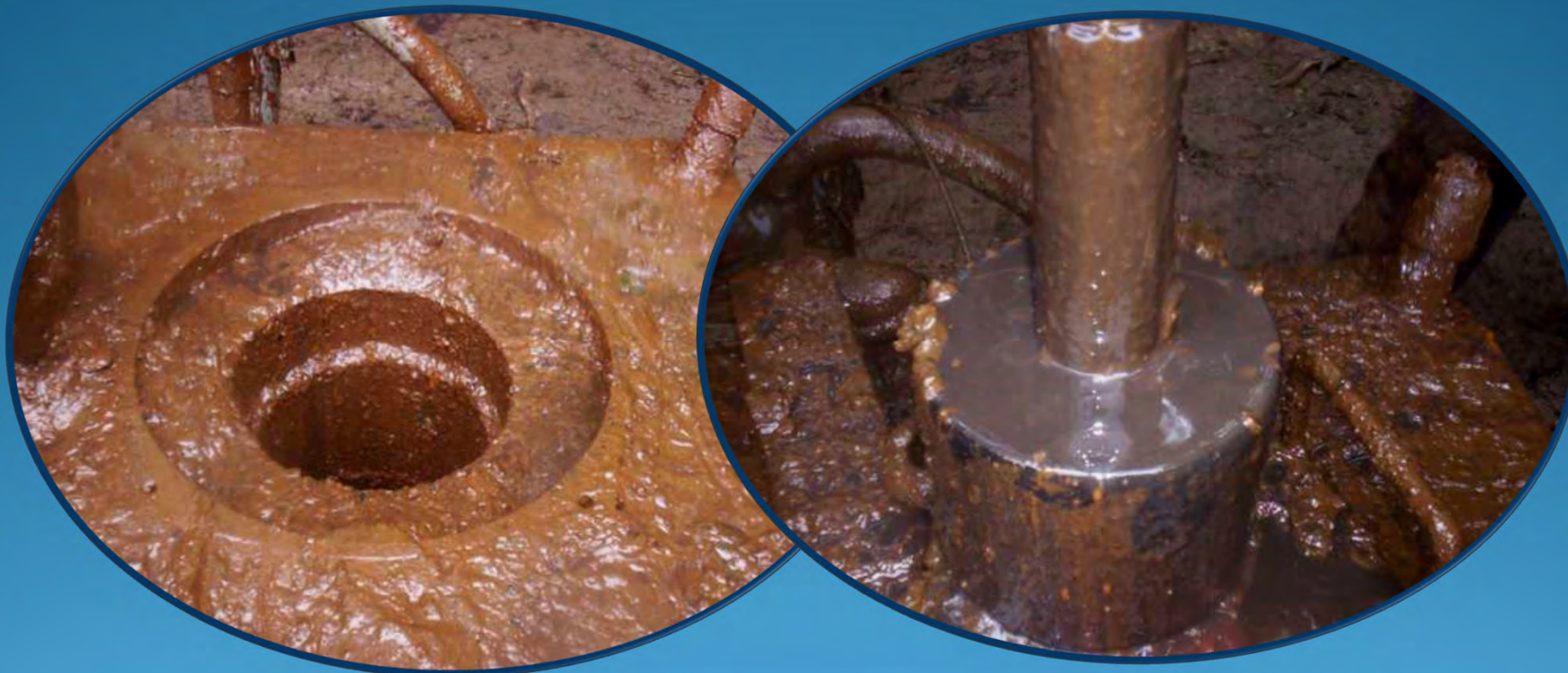
Chroniczny „bio-fouling” wywoływany przez bakterie żelazowe

Biokorozja



Chroniczny „bio-fouling” wywoływany przez bakterie żelazowe

Biokorozja



Chroniczny „bio-fouling” wywoływany przez bakterie żelazowe

Biokorozja



„Bio-fouling” wywoływany przez bakterie żelazowe

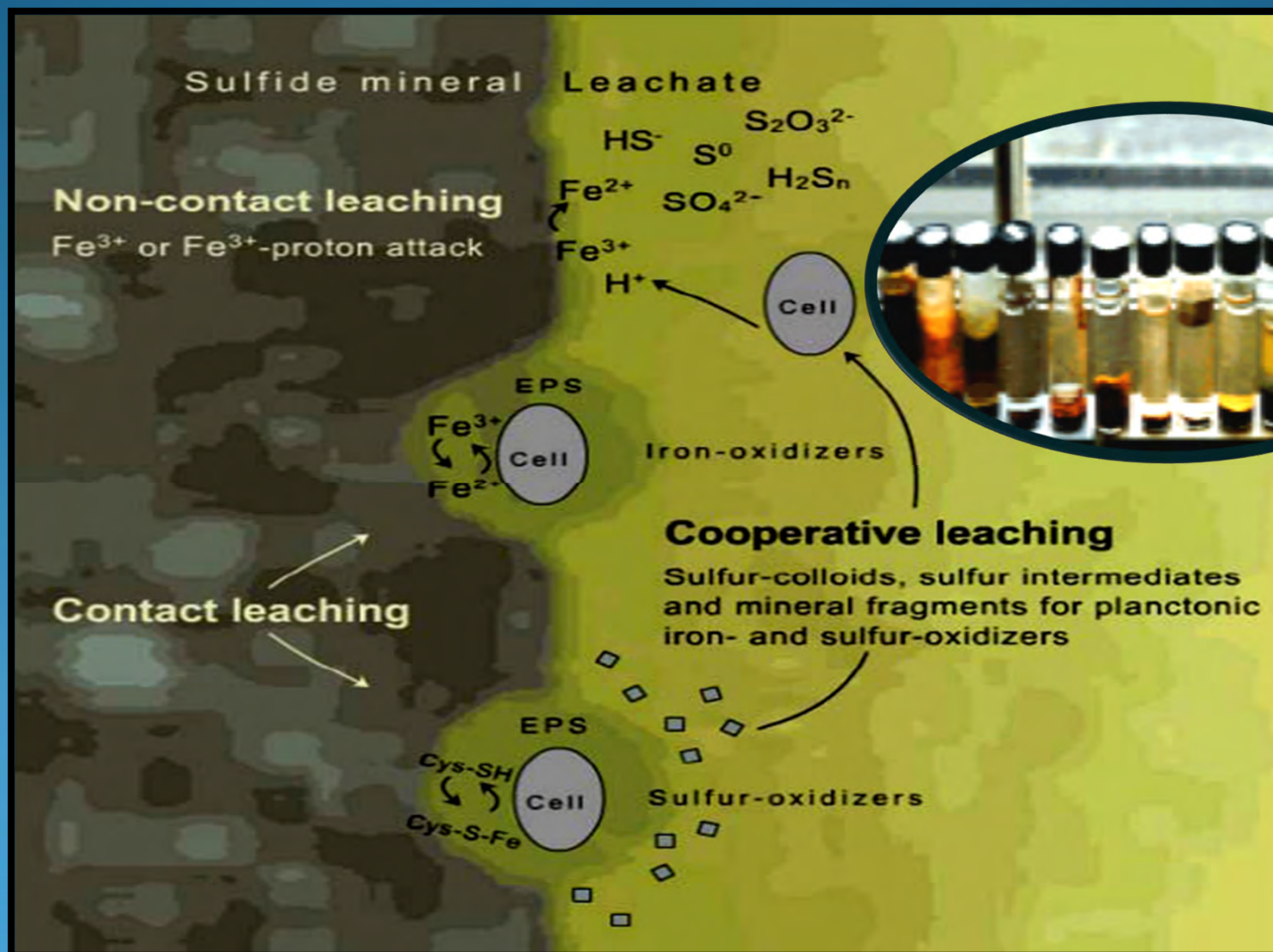


Biokorozja

PROPOZYCJE BADAN:

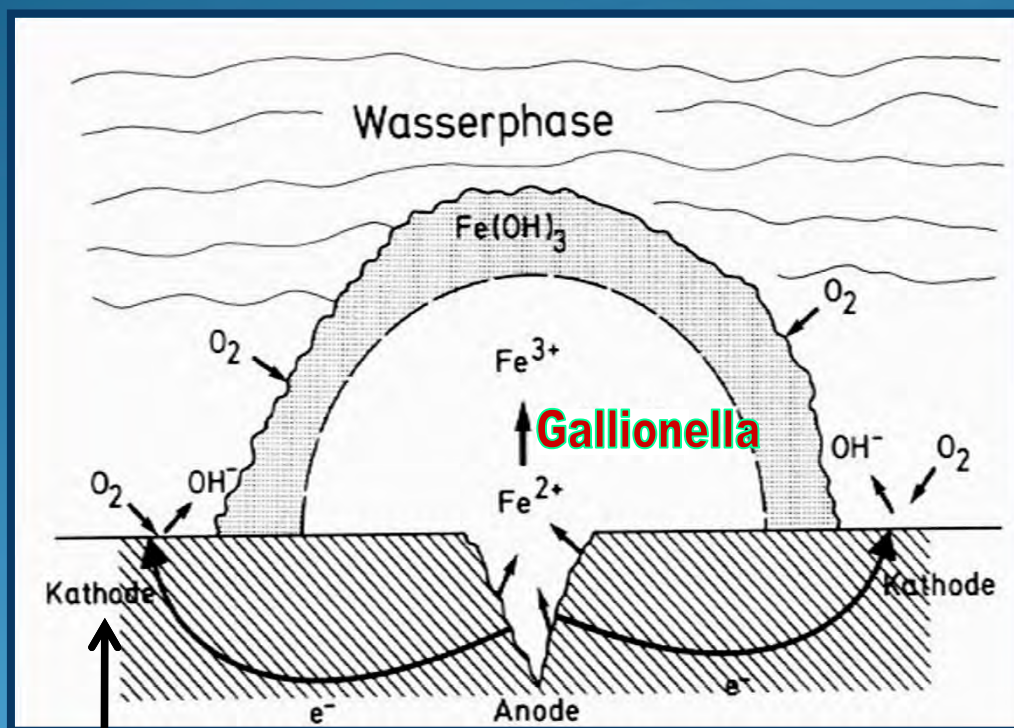
- ▶ Metody poszukiwania mikroorganizmów wywołujących biokorozję,
 - ▶ Pomiar aktywności życiowej mikroorganizmów przy użyciu mikrokalorymetrii,
 - ▶ Charakterystyka grup mikroorganizmów odpowiedzialnych za biokorozję,
- ▶ Opracowanie i budowa urządzeń symulujących albo wykorzystanie istniejących urządzeń (np. bioreaktor) do badań naukowych nad mechanizmem korozji,
- ▶ Opracowanie procesu zapobiegania i usuwania efektów biokorozji.

Aktywność korozyjna różnych bakterii



Biokorozja materiałów metalowych

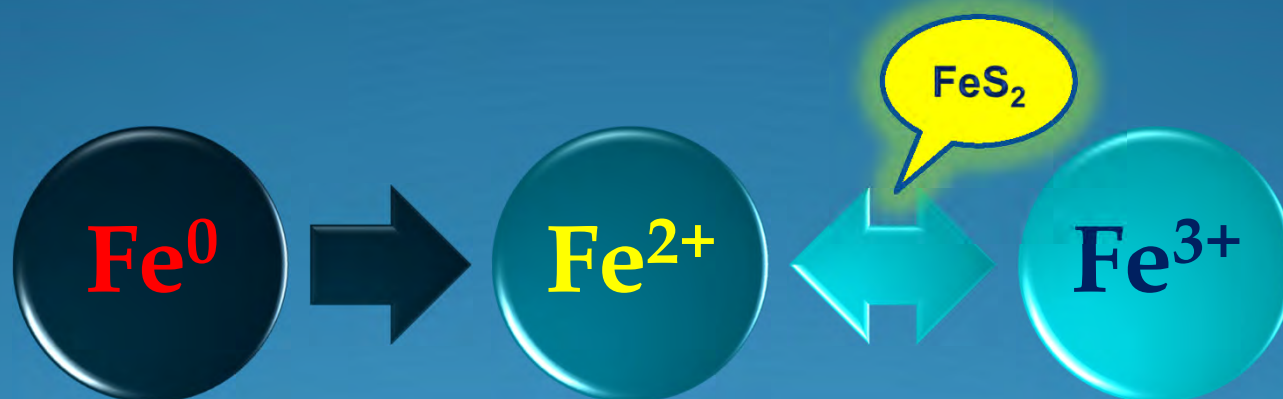
Korozja spowodowana przez bakterie żelazowe i manganowe



- Utlenianie Fe^{2+} i Mn^{2+}
- Redukcja CO_2 i powstawanie wodorotlenku,
- Depolaryzacja na anodzie

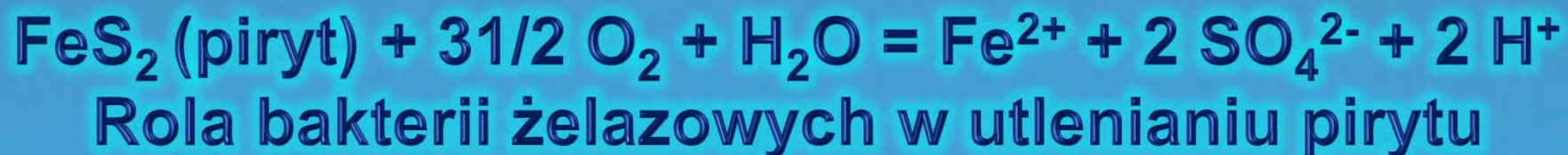
Mikroogniwo

Elektrochemiczny i mikrobiologiczny cykl żelaza

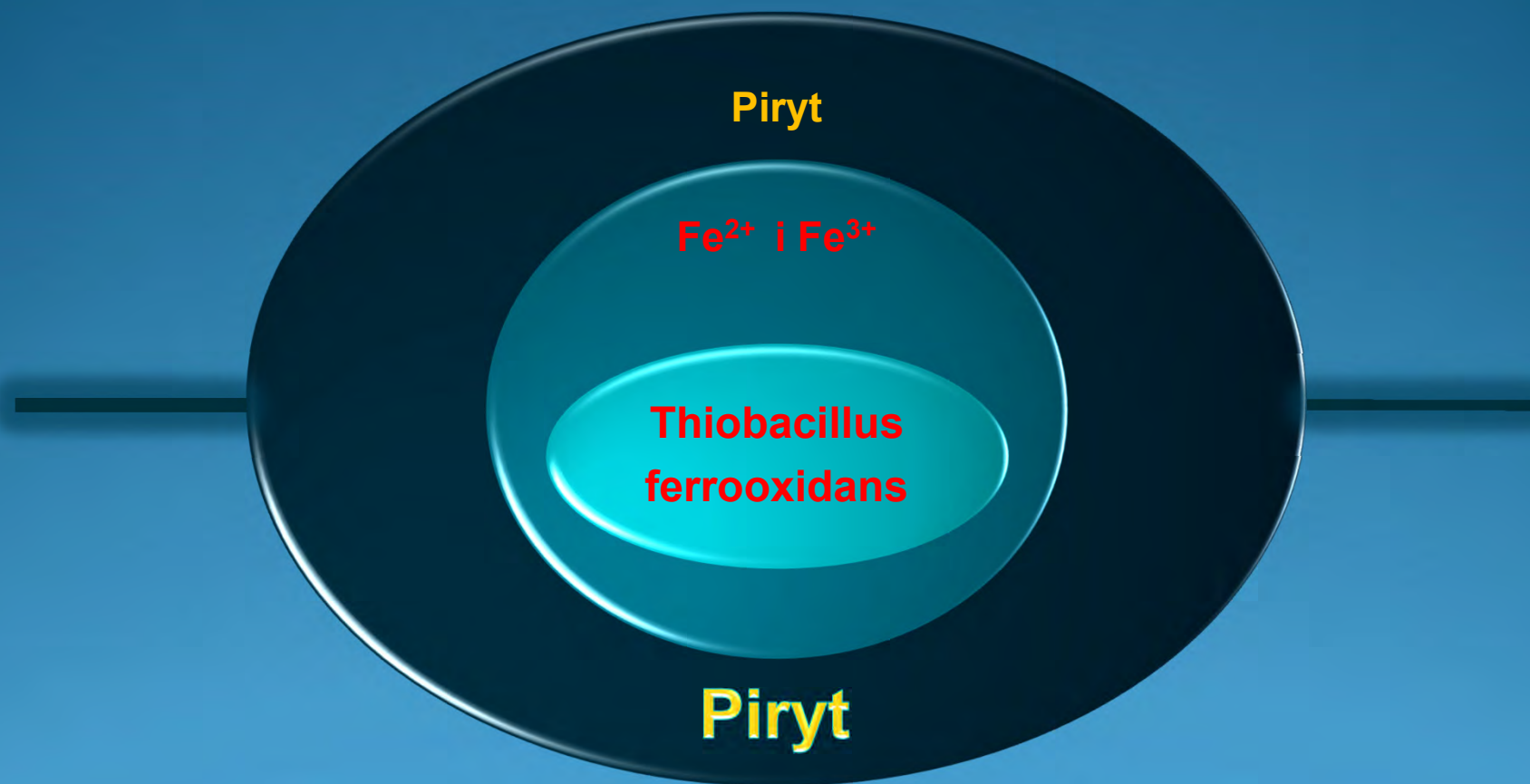


Proces elektrochemiczny
+ biogeniczny H_2SO_4 i H_2S

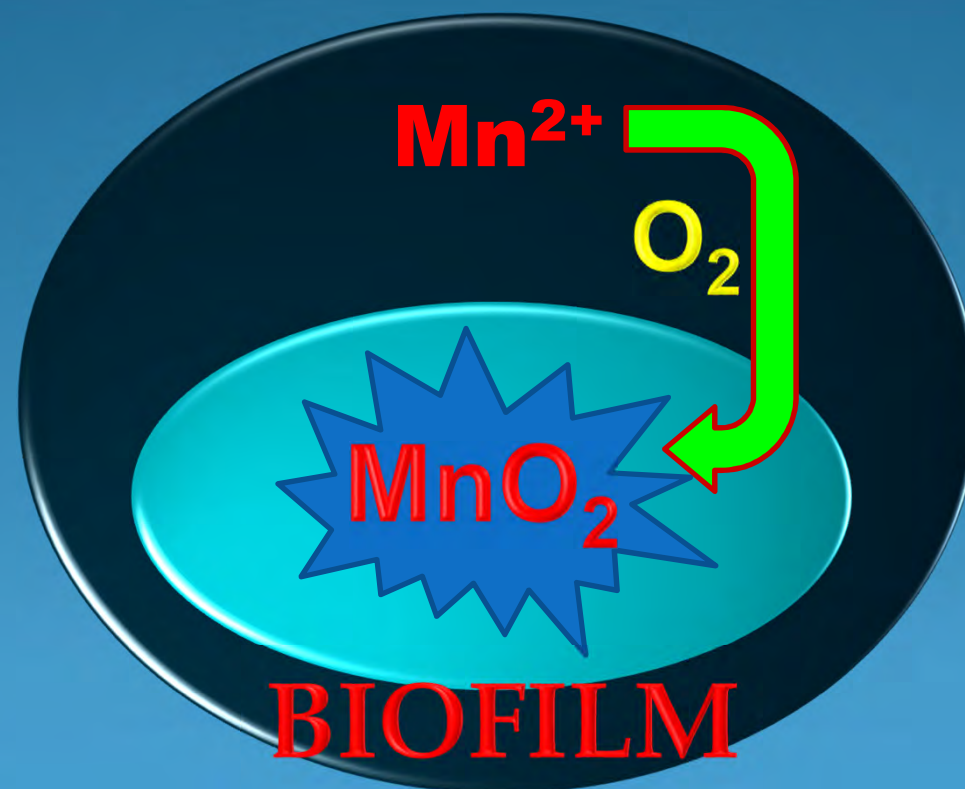
Bioredukcja (beztlenowo)
Biooksydacja (tlenowo)



Rola bakterii żelazowych w utlenianiu pirytu

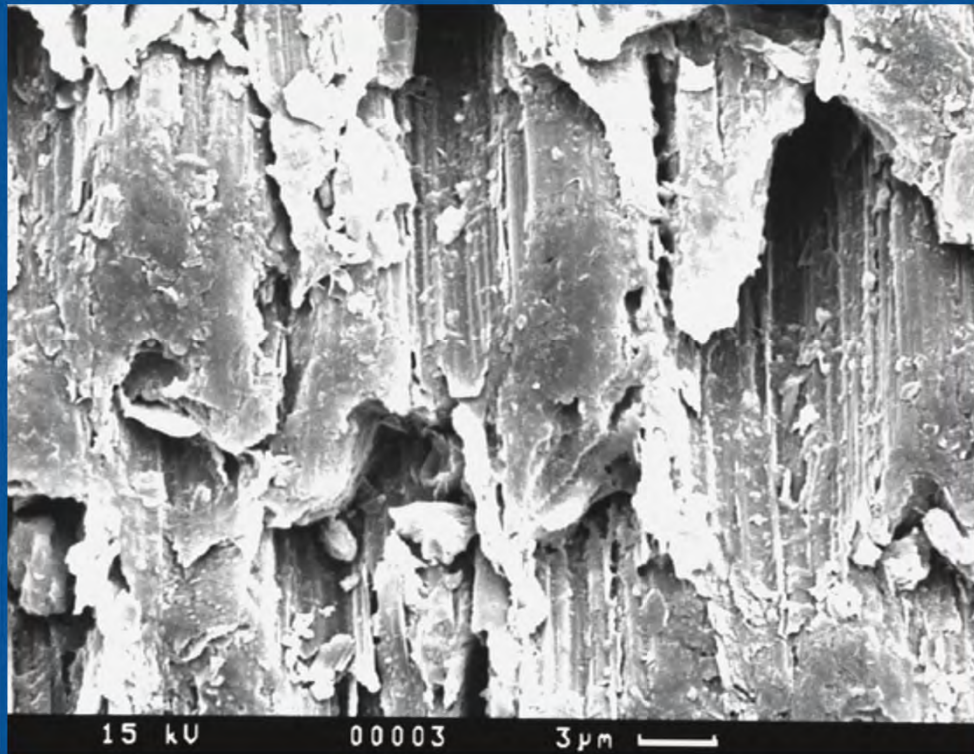


Rola mikroorganizmów: bakterii, drożdży, pleśni i glonów w utlenianiu manganu



Biokorozja materiałów sztucznych

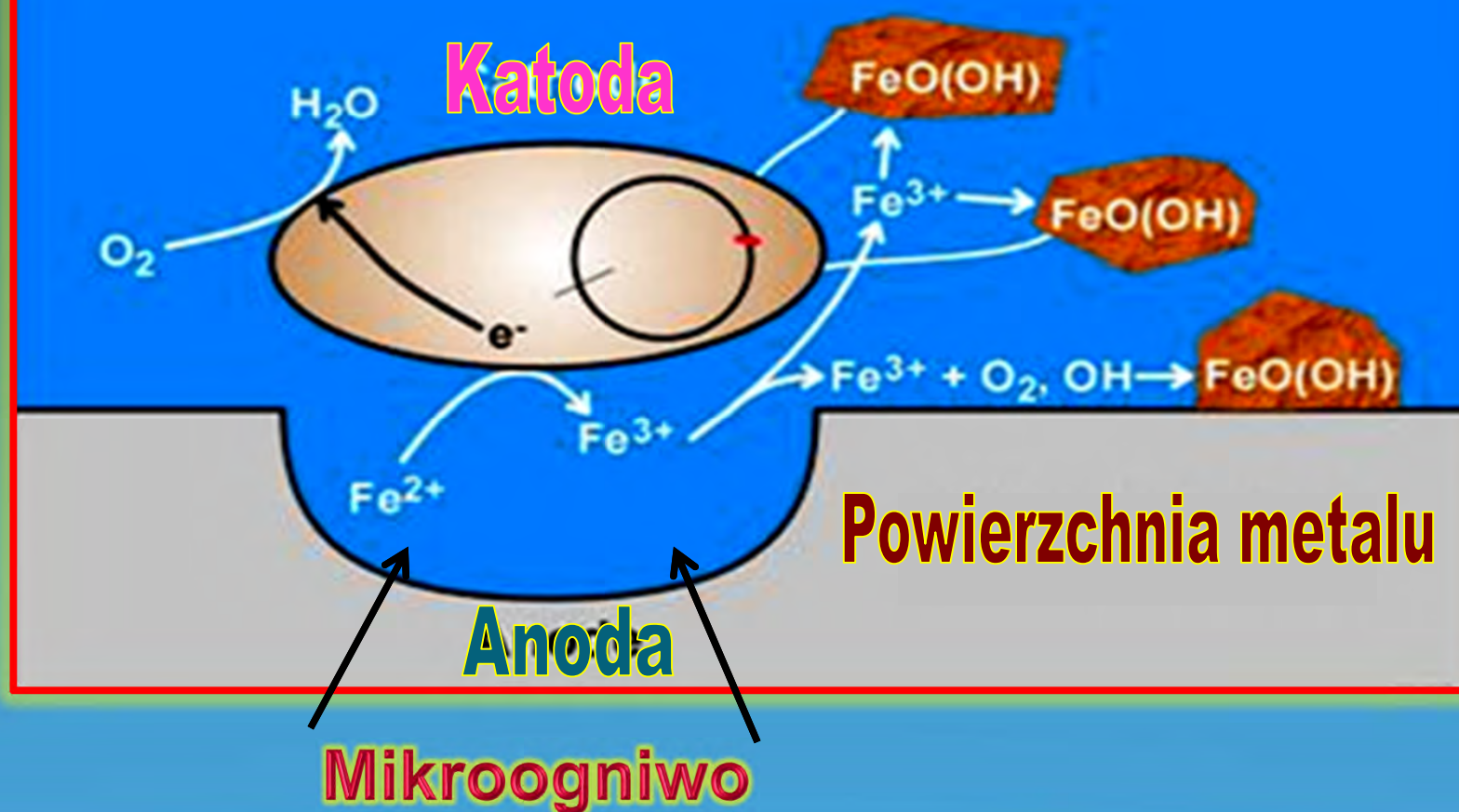
Korozję powodują:



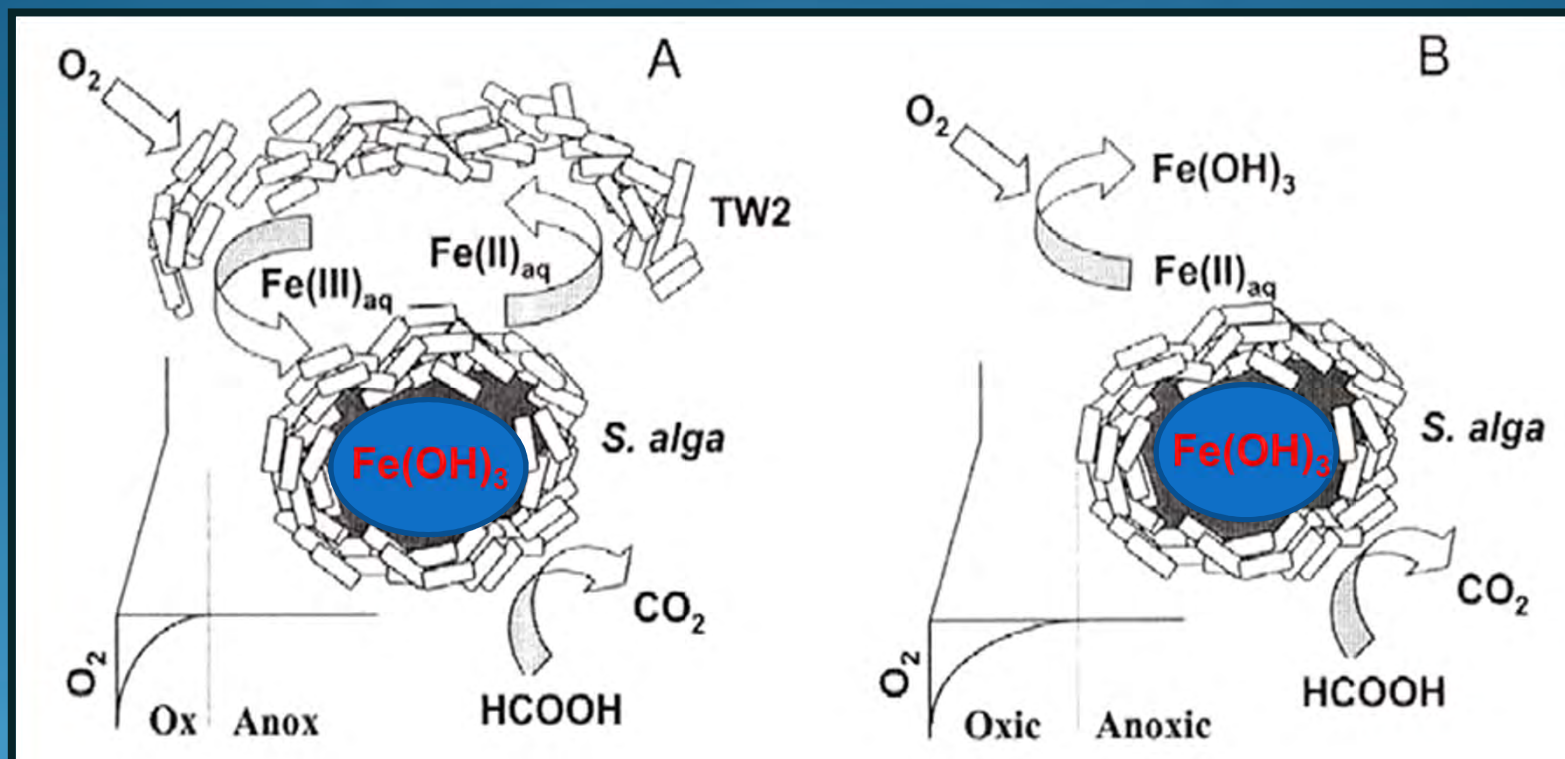
- Metabolity
- Kwasy
- Enzymy
- Mechaniczne zmiany

Bakterie żelazowe - biokorozja

Elektrochemiczna reakcja

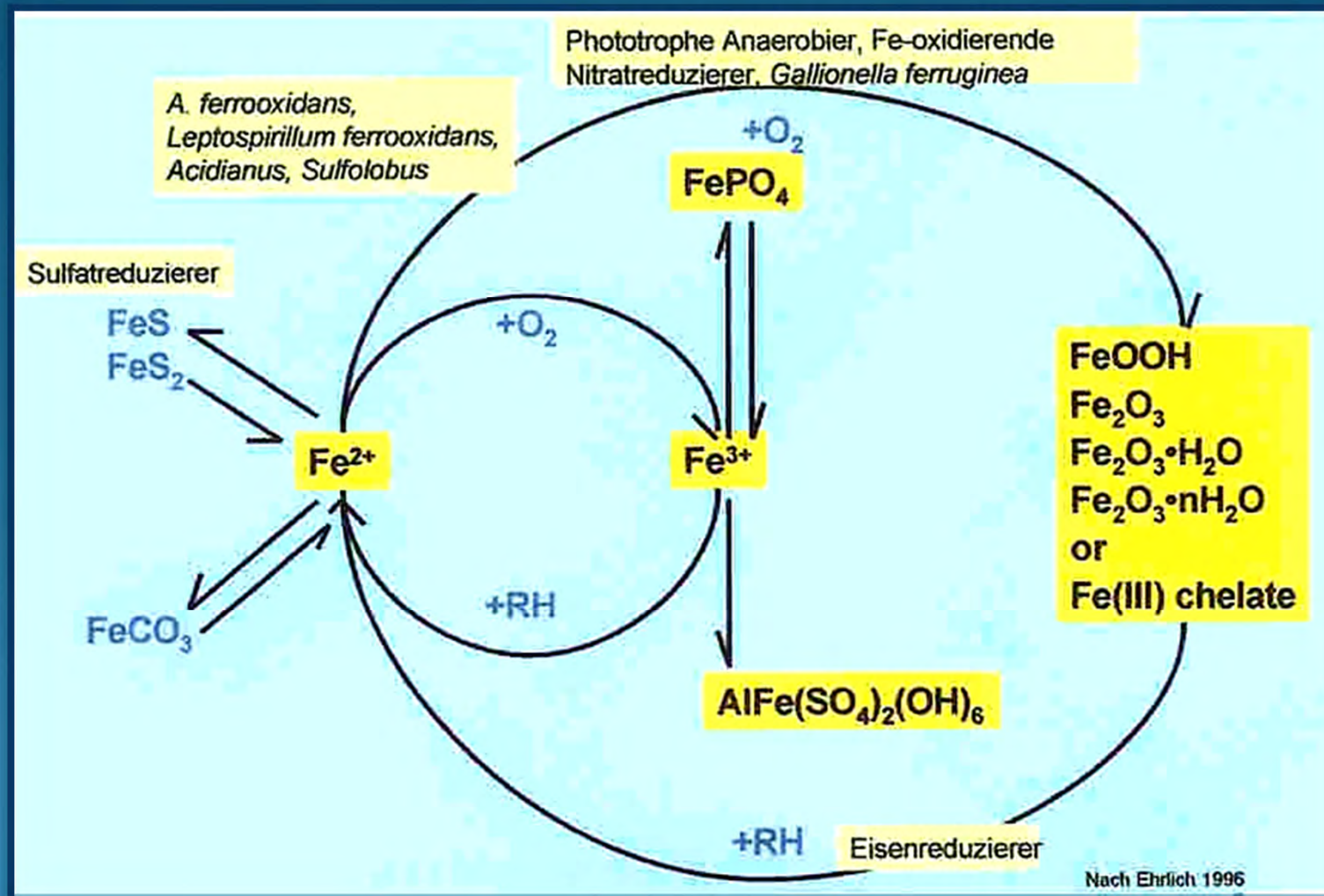


Model tworzenia się małych niszy z żelazem

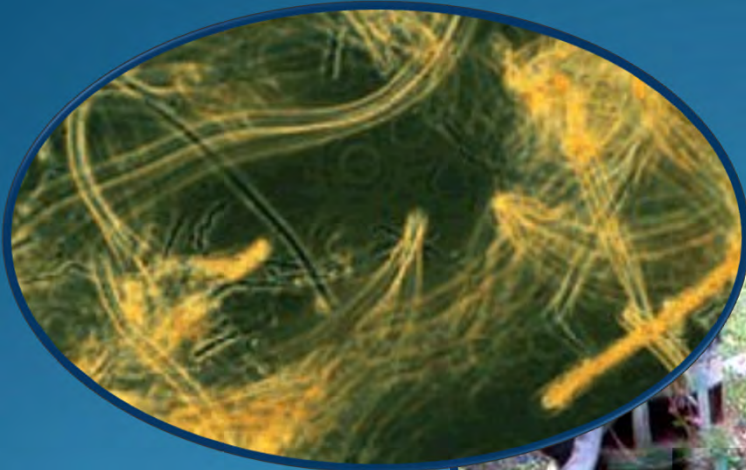


A z Fe(II)-ox , B bez Fe(II)-ox . Szczep *Gallionella* TW2

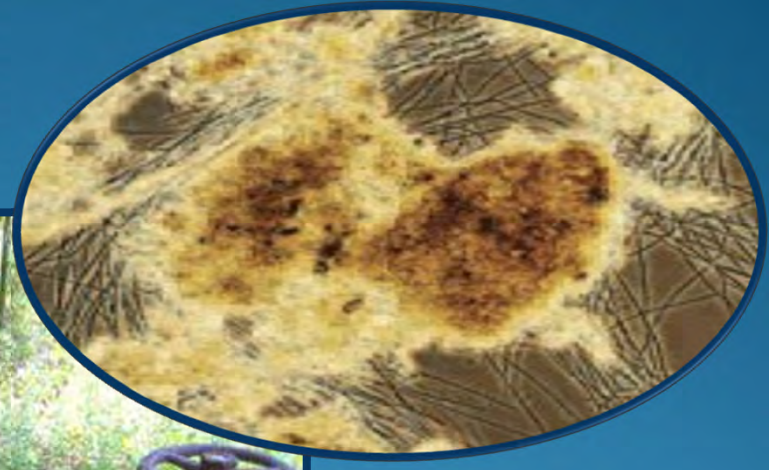
Obieg żelaza indukowany przez bakterie



Bakterie żelazowe



Gallionella

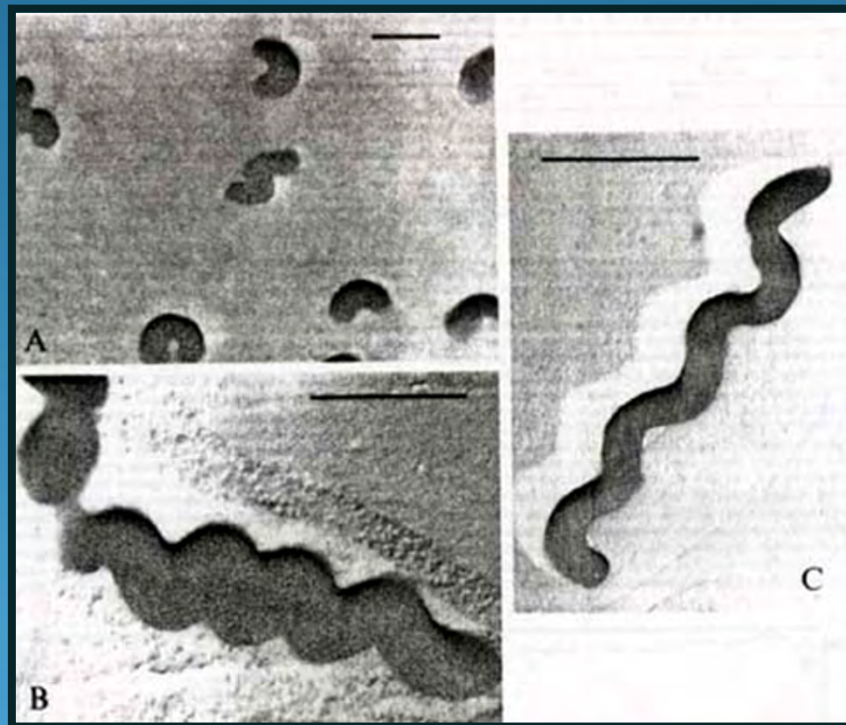


Leptothrix

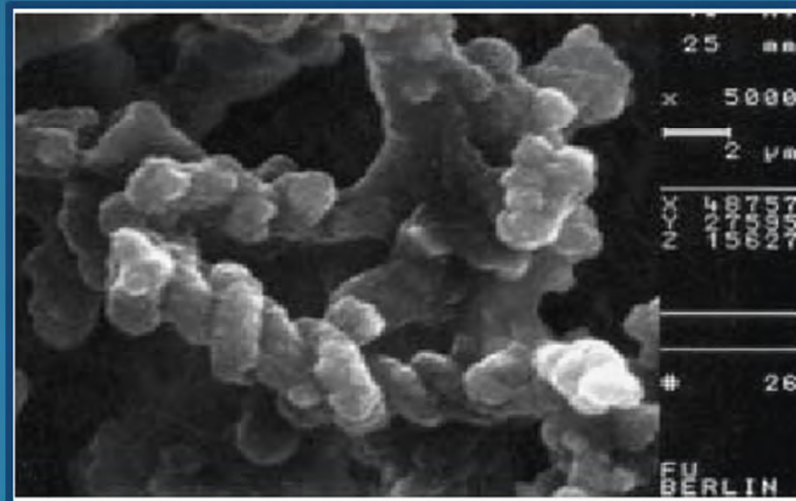


Acidofilne tlenowce utleniające Fe^{2+}

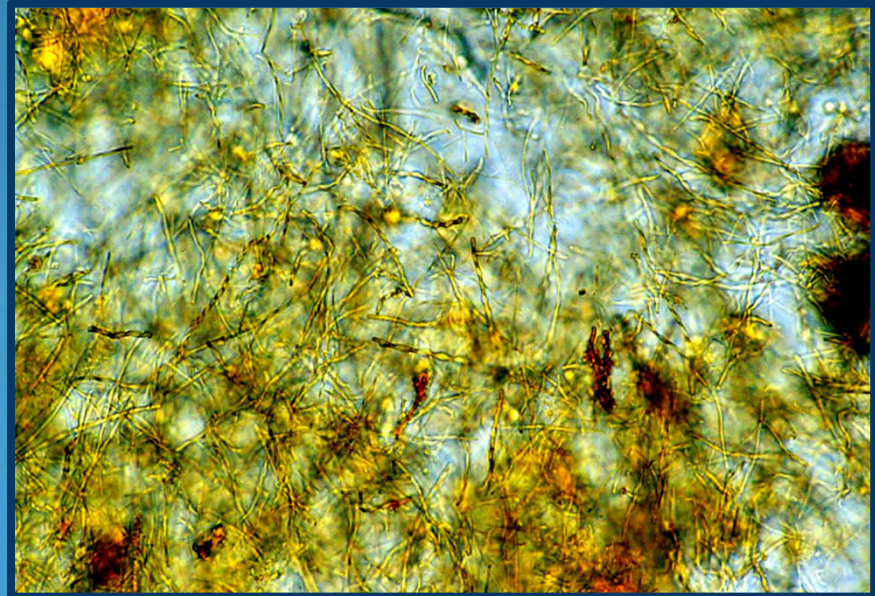
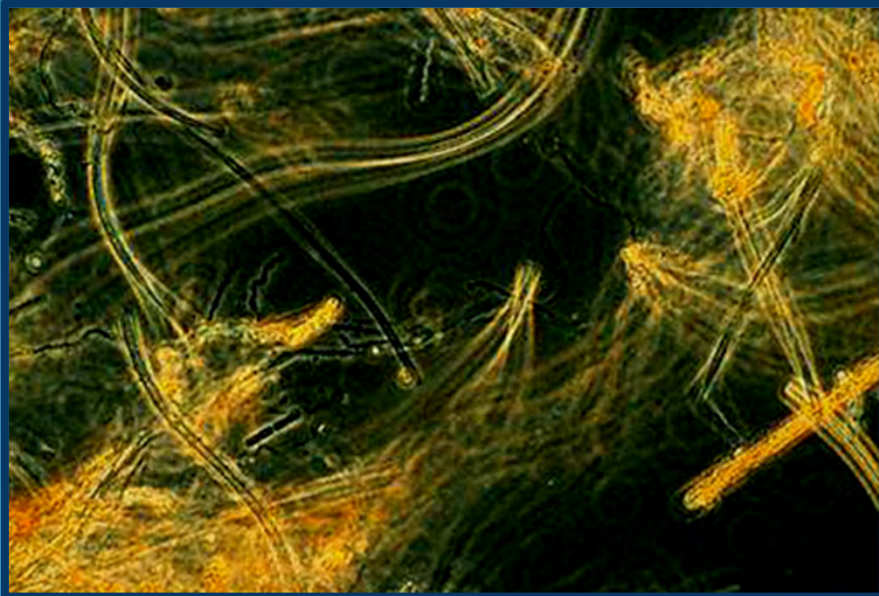
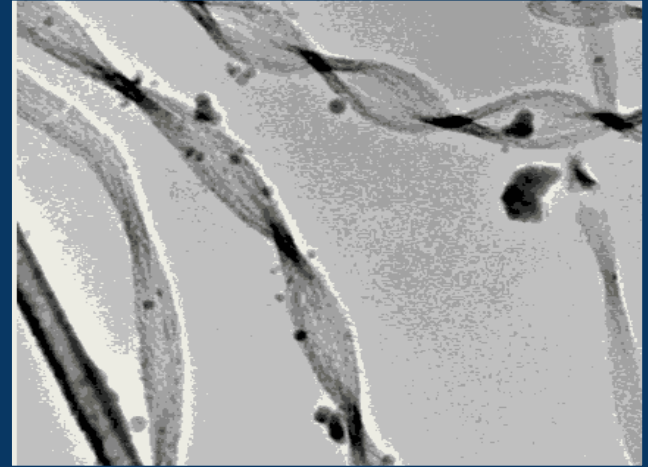
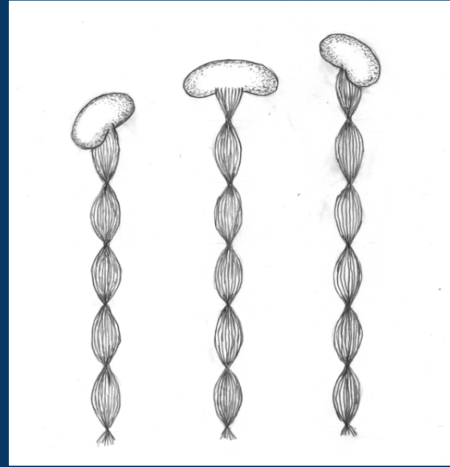
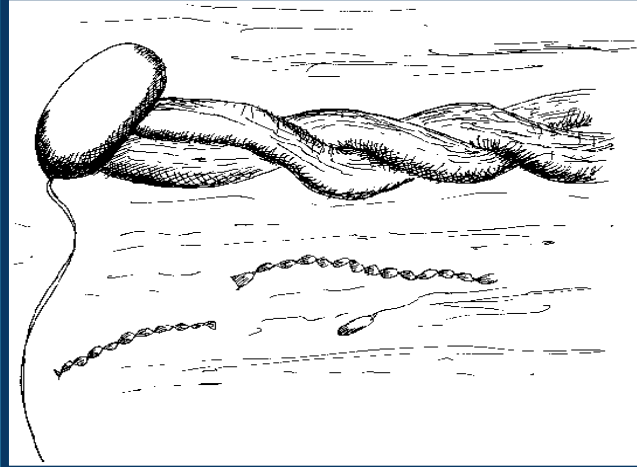
Leptospirillum ferrooxidans



Gallionella ferruginea



Gallionella ferruginea



Gallionella w skorodowanym produkcie

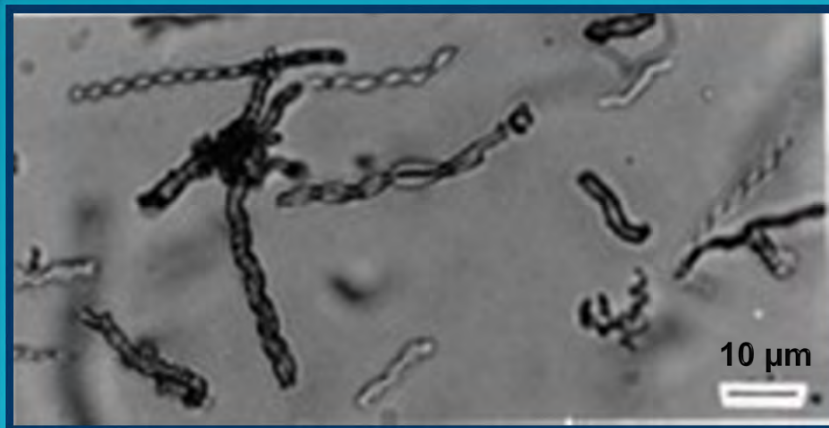


Gallionella ferruginea

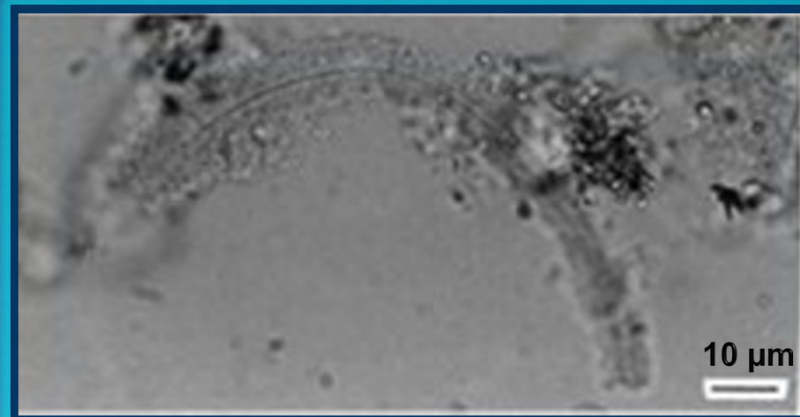
Gallionella ferruginea należy do:

- autotrofów, asymilujących CO₂ i mixotrofów,
 - neutrotrofów, utleniających Fe²⁺ do Fe³⁺,
 - mikroaerofili (0,1 – 1,0 O₂ mg/l) o E = 200-320 mV
- i o optymalnej temperaturze rozwoju 20°C
- oraz pH 6,6

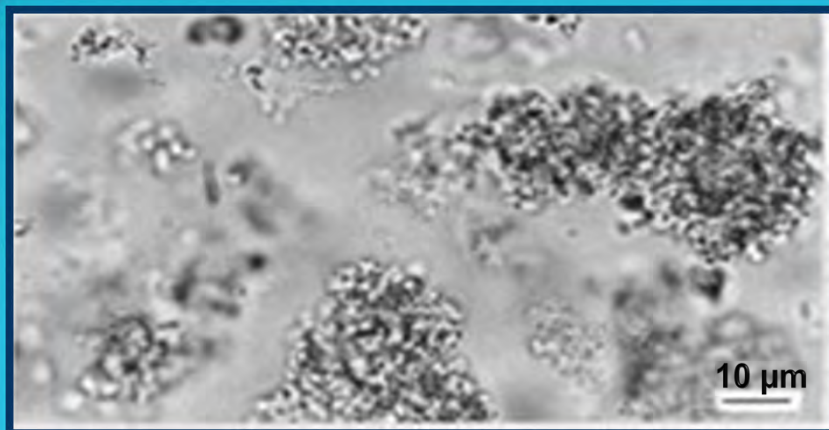
Mikrografy bakterii wytrącających żelazo i mangan



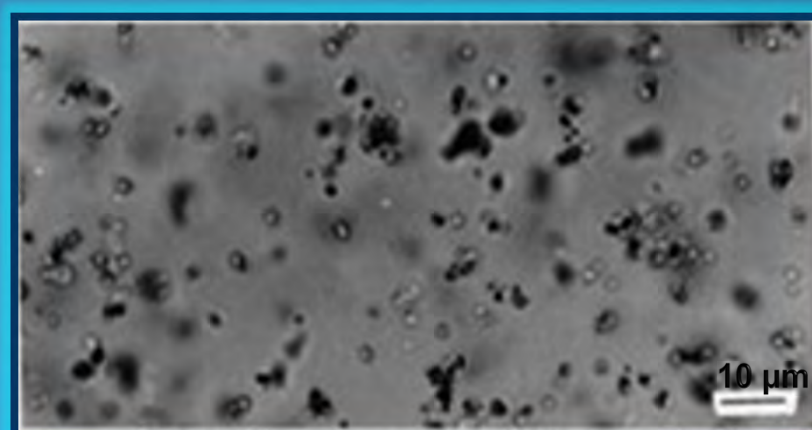
• *Gallionella ferruginea*



• *Leptothrix cholodnii*

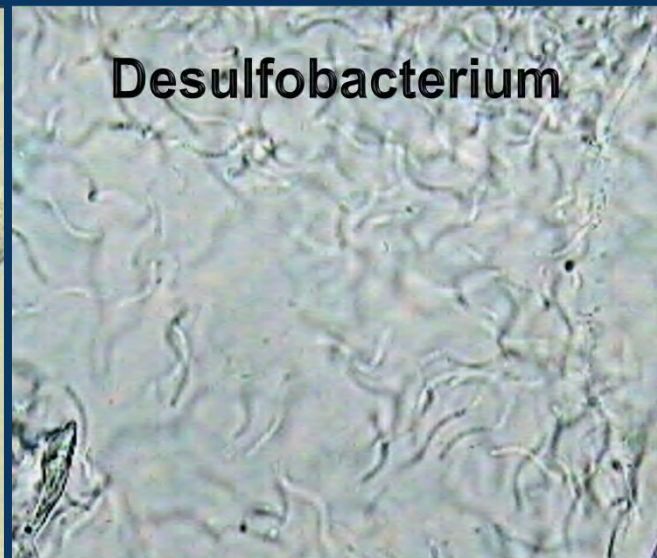


• *Thiobacillus*

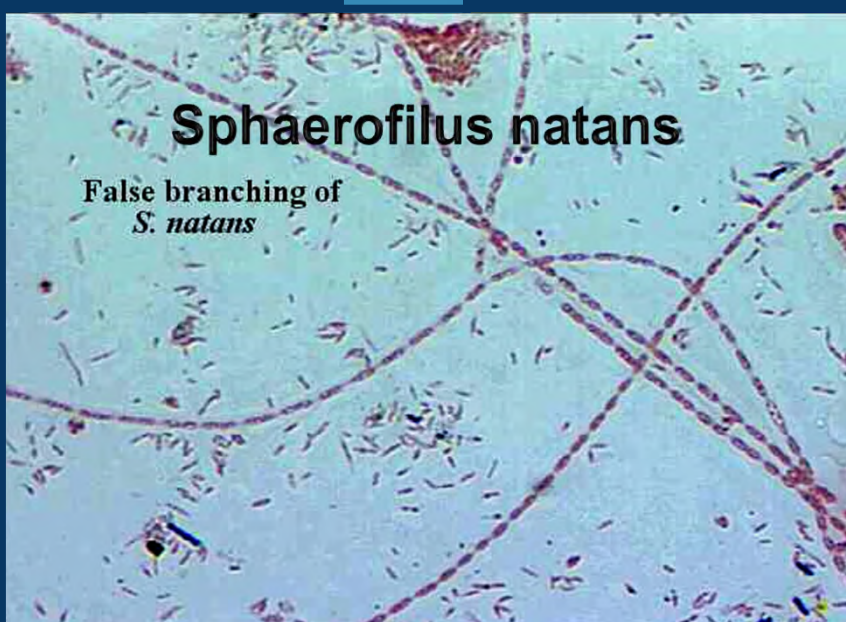


• *Siderococcus*

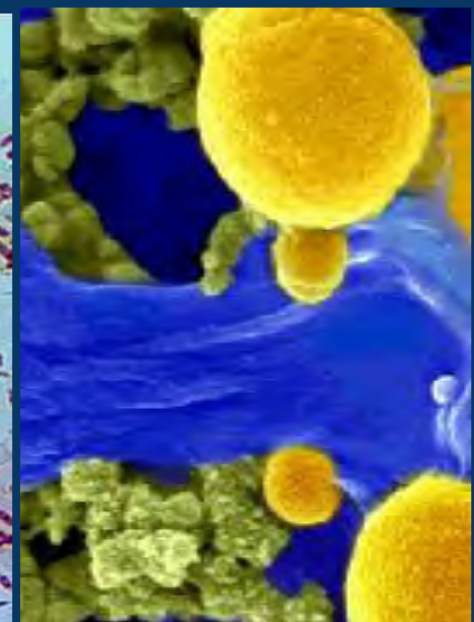
Bakterie redukujące siarczany



Desulfobacterium



Sphaerofilus natans
False branching of
S. natans

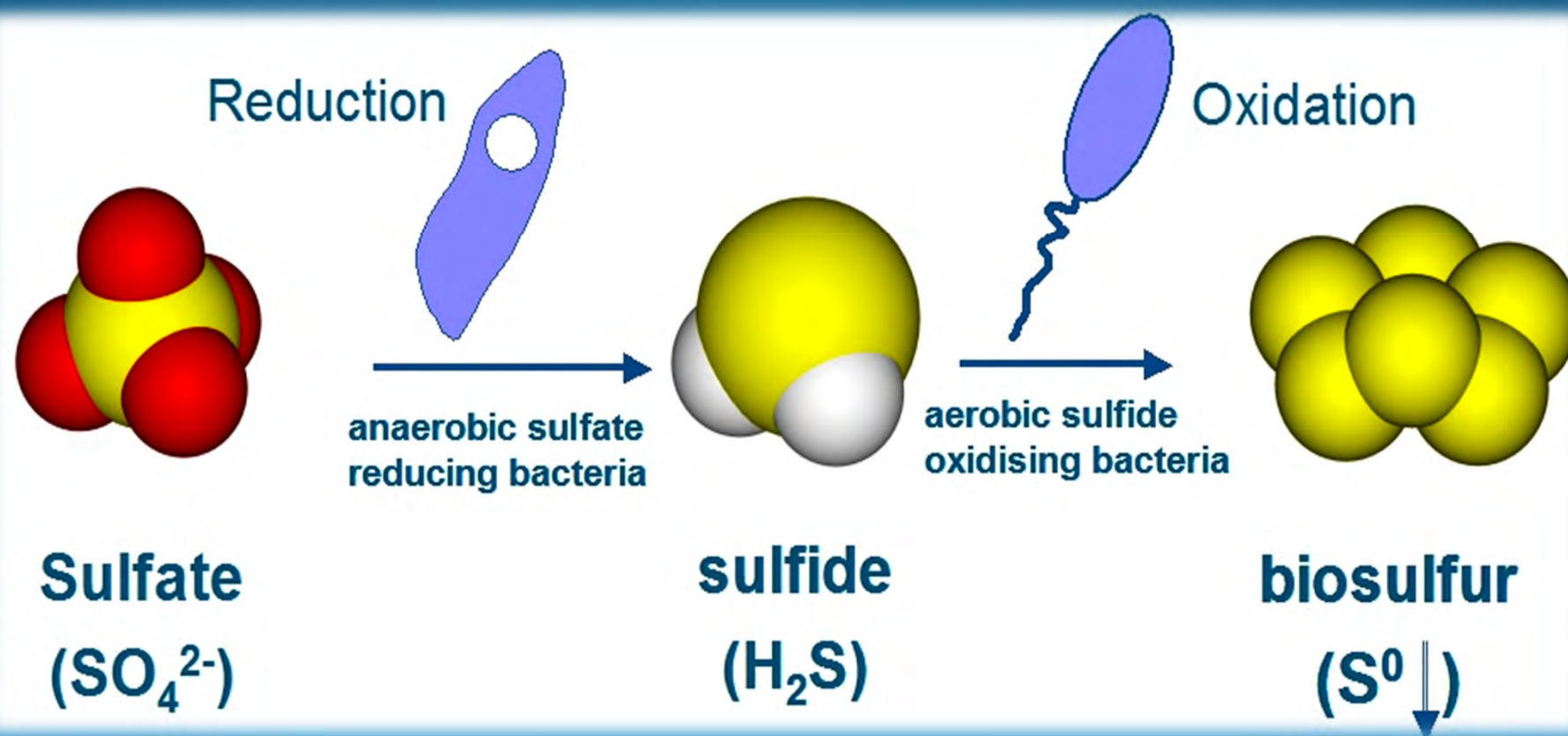


Bakterie redukujące siarczany SRB

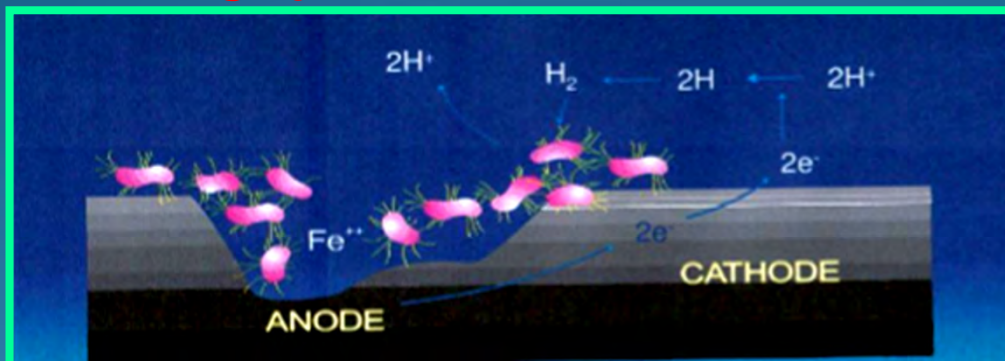
SRB (*sulfat reducing bacteria*) to bakterie, które są odpowiedzialne za korozję, ponieważ redukują jony siarczanowe lub siarczynowe, obecne w środowisku, do jonów siarczkowych, powodując końcowe powstawanie H_2S jako produktu.

Bakterie redukujące siarczany

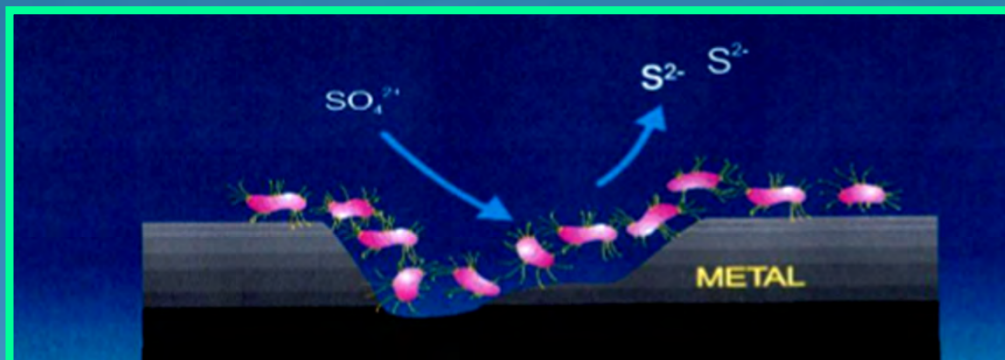
Schemat reakcji



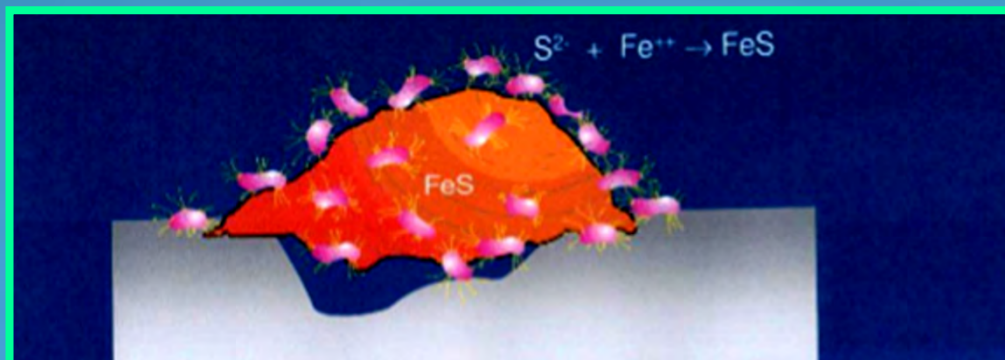
Bakterie redukujące siarczany wywołujące porowatość materiału



Stadium 1

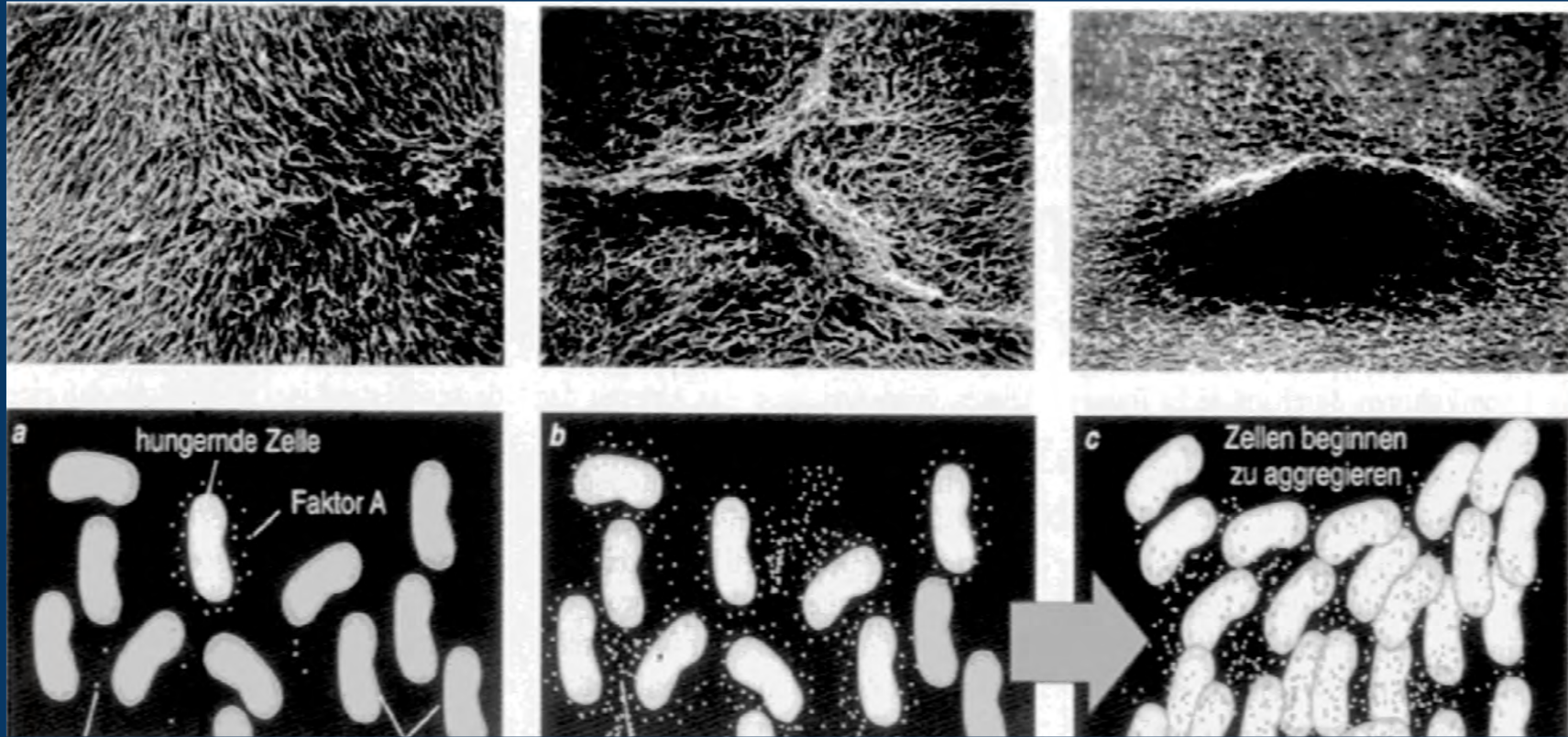


Stadium 2



Stadium 3

Biofilm

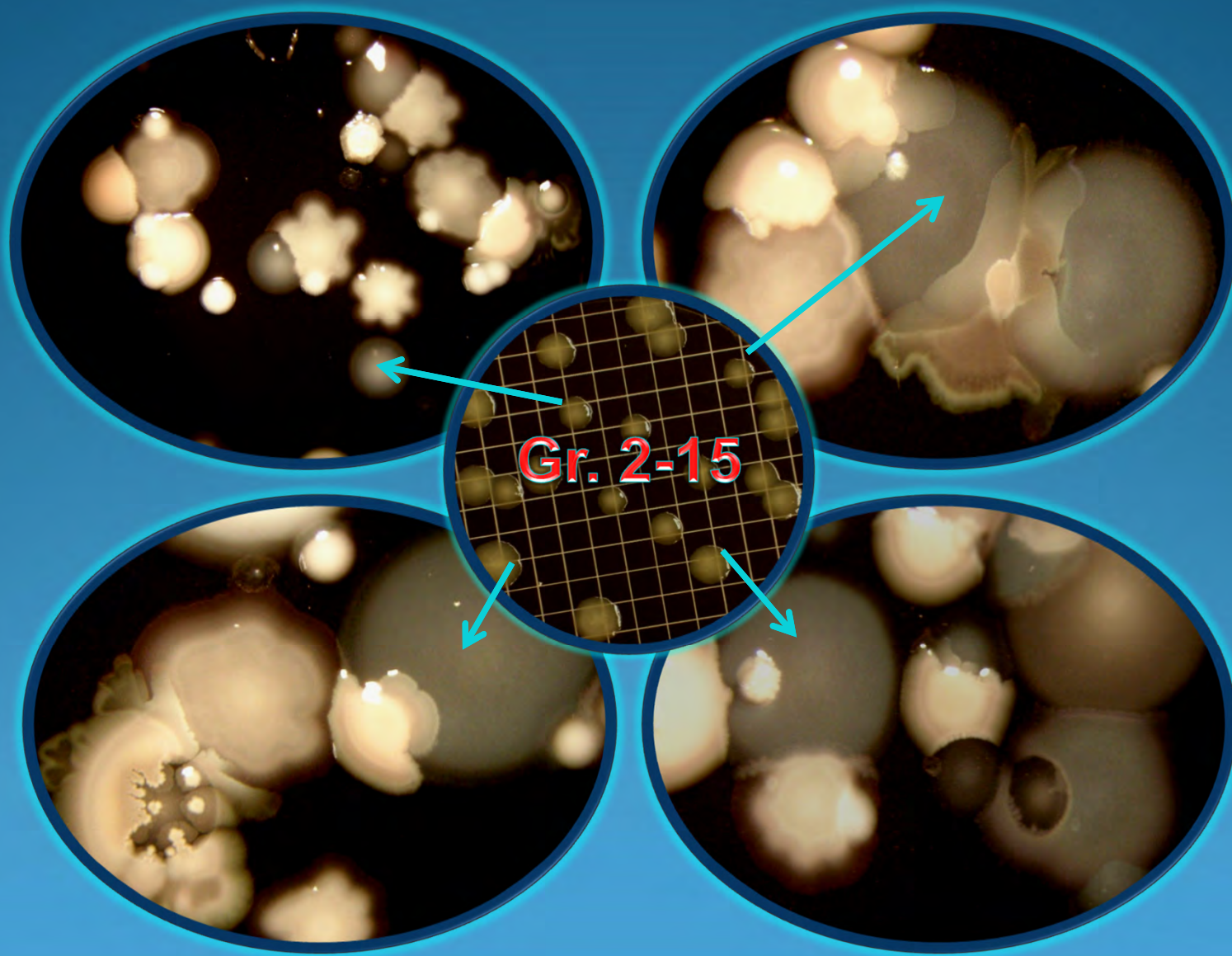


API Test dla bakterii z biofilmu

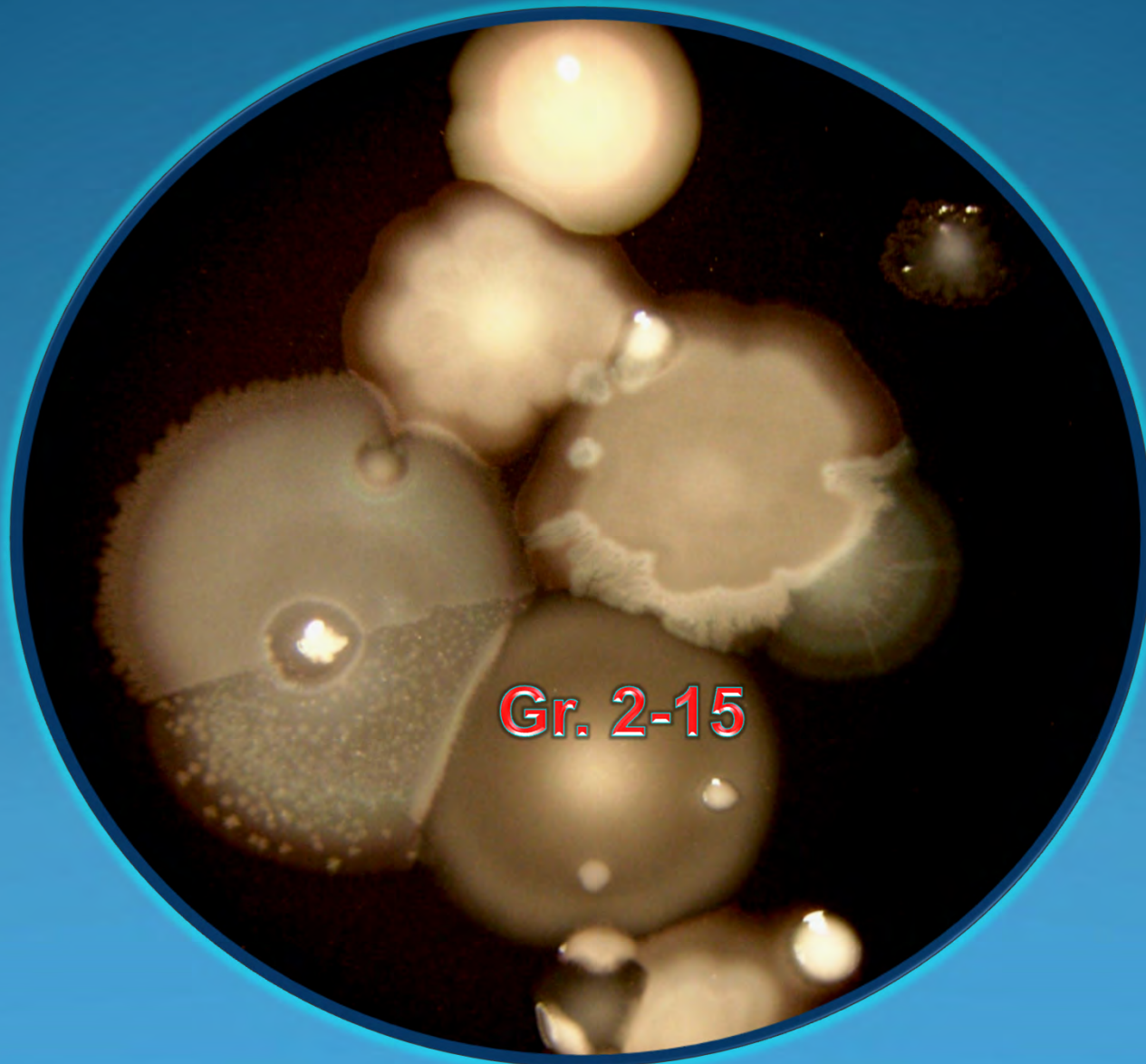




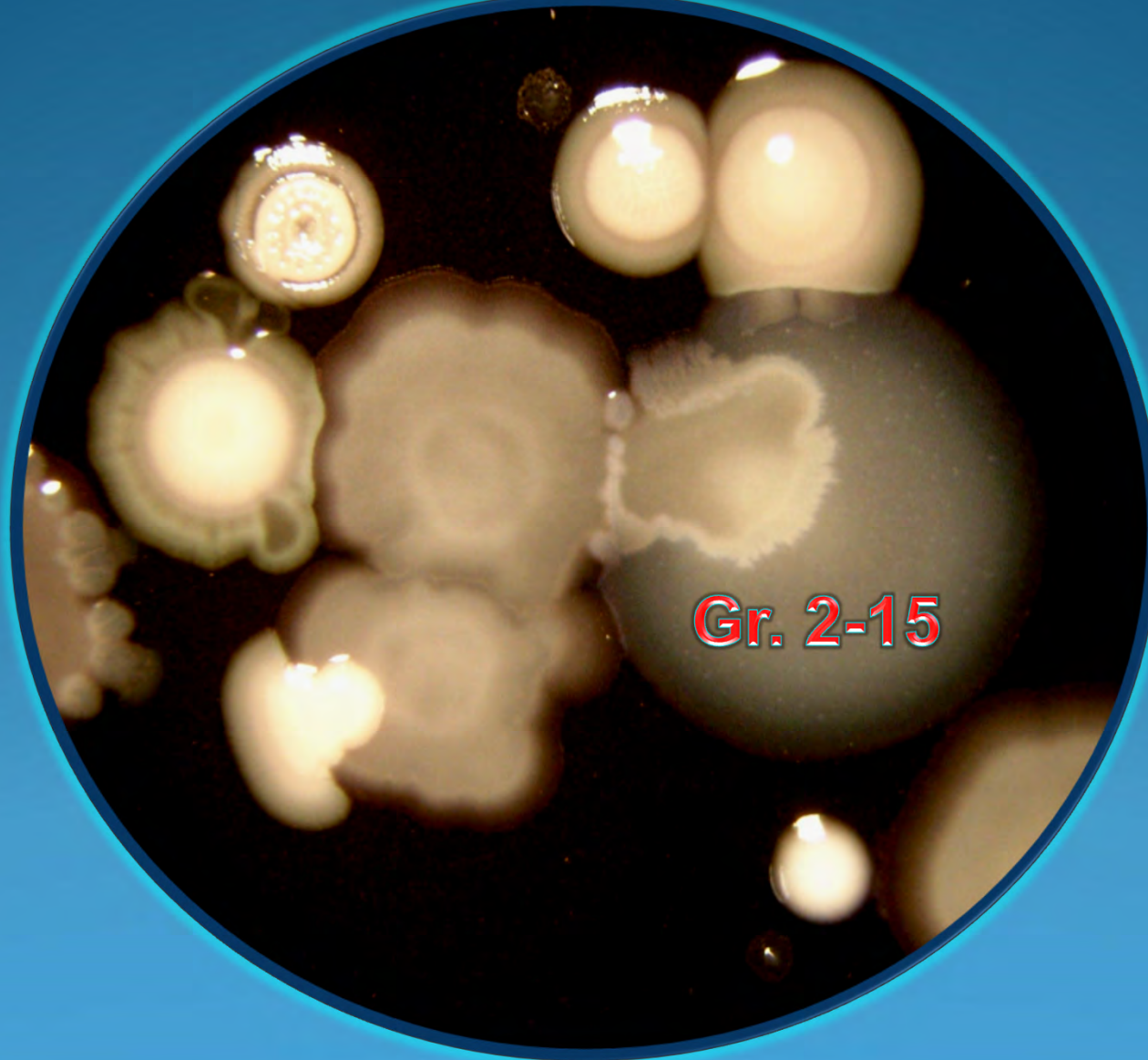
Legionella i inne bakterie biofilmu



Legionella i inne bakterie biofilmu



Legionella i inne bakterie biofilmu

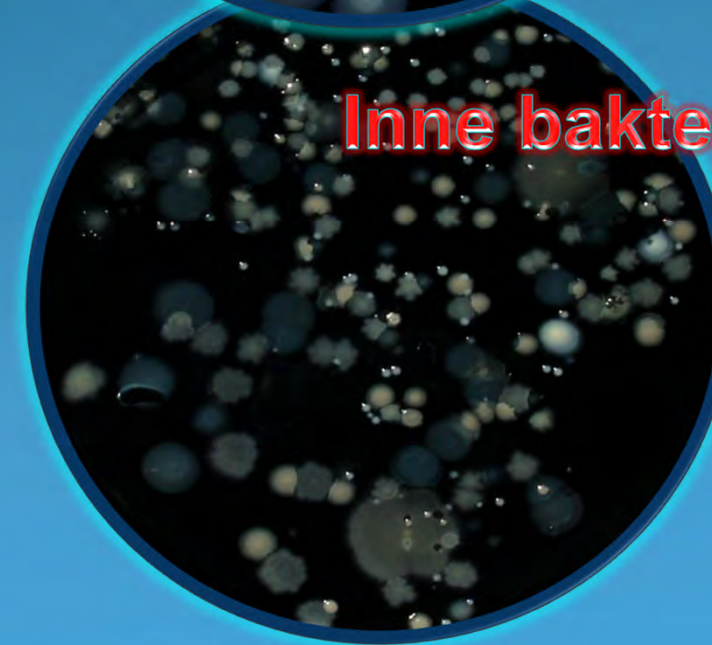
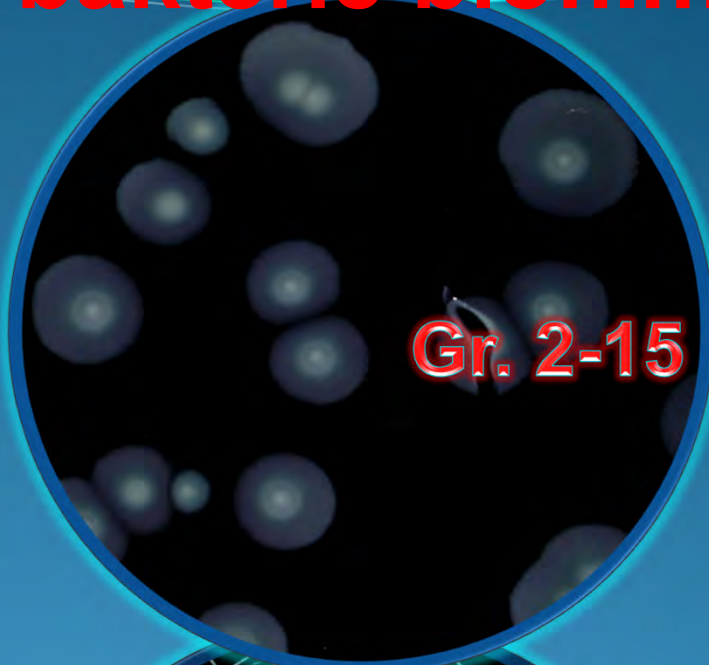
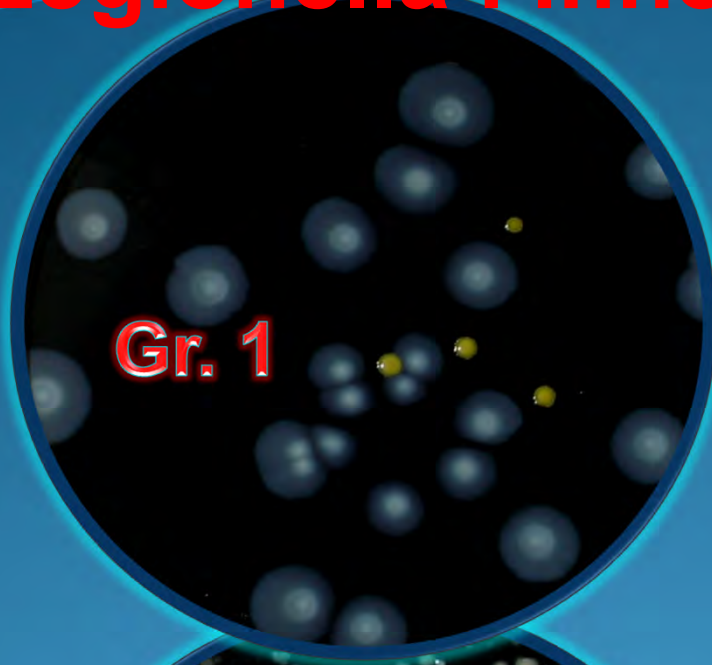


Legionella i inne bakterie biofilmu

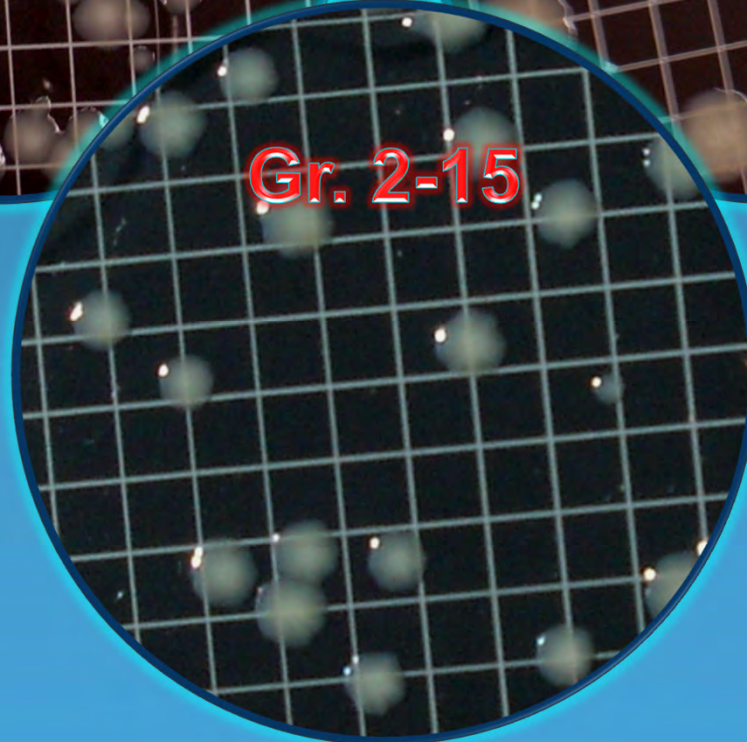
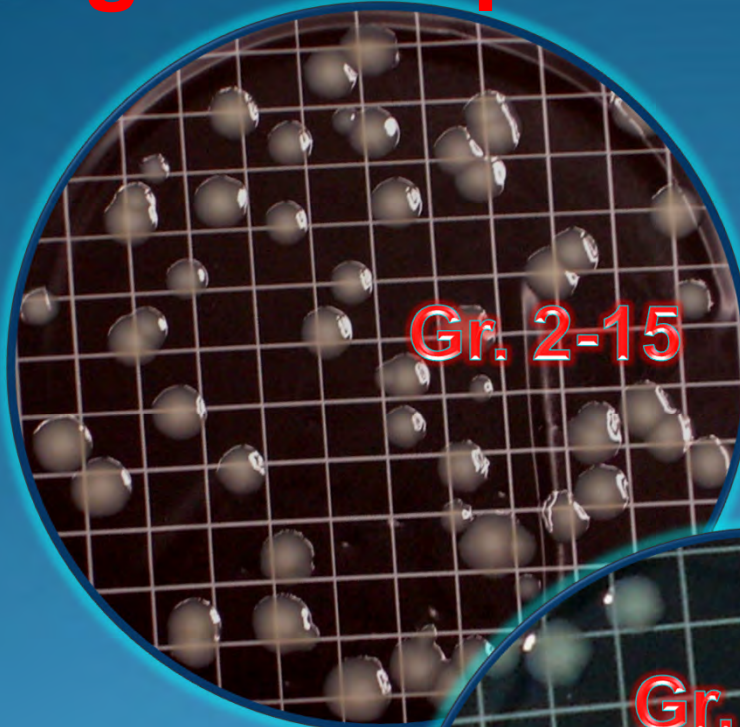
Gr. 1

Gr. 2-15

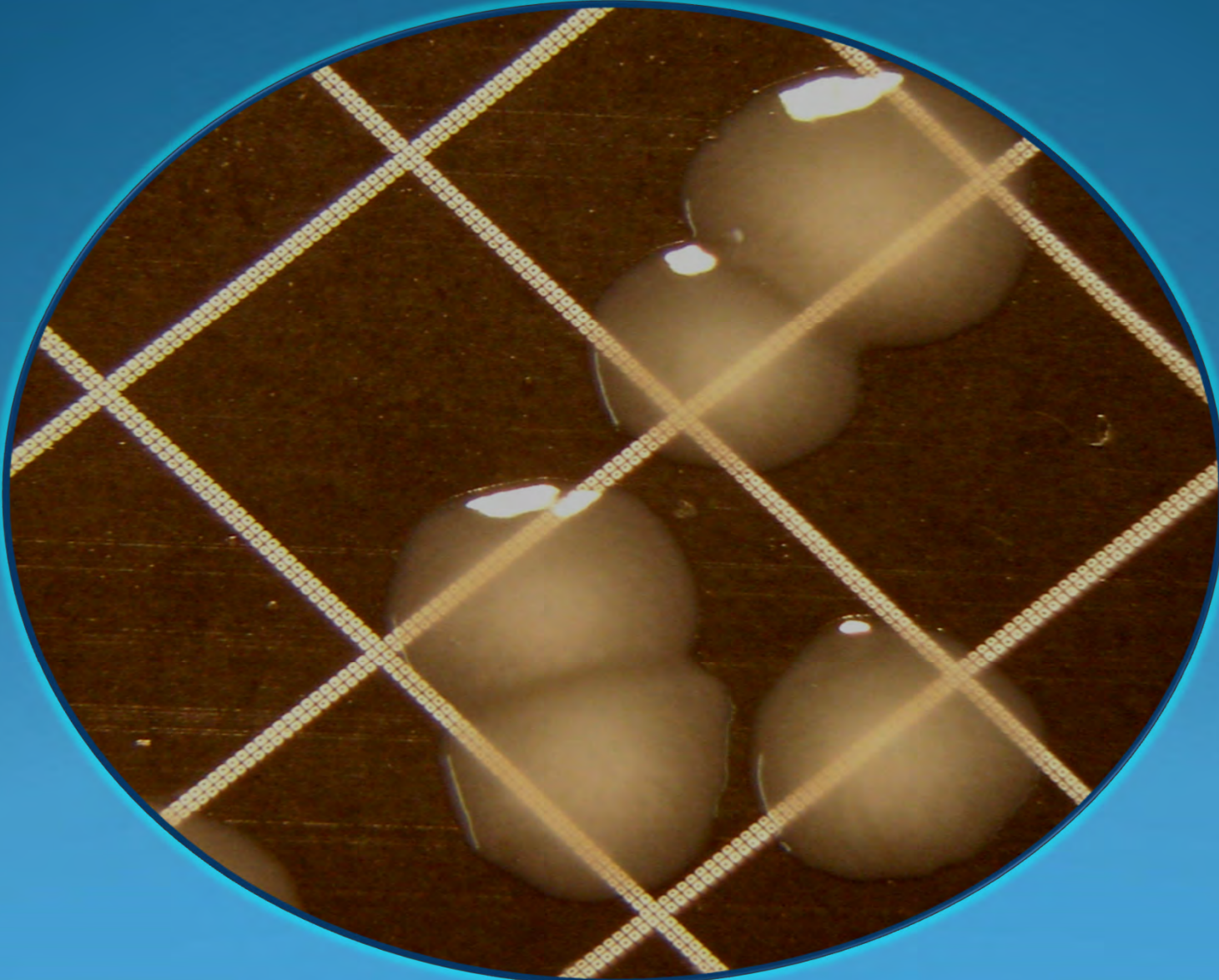
Inne bakterie biofilmu



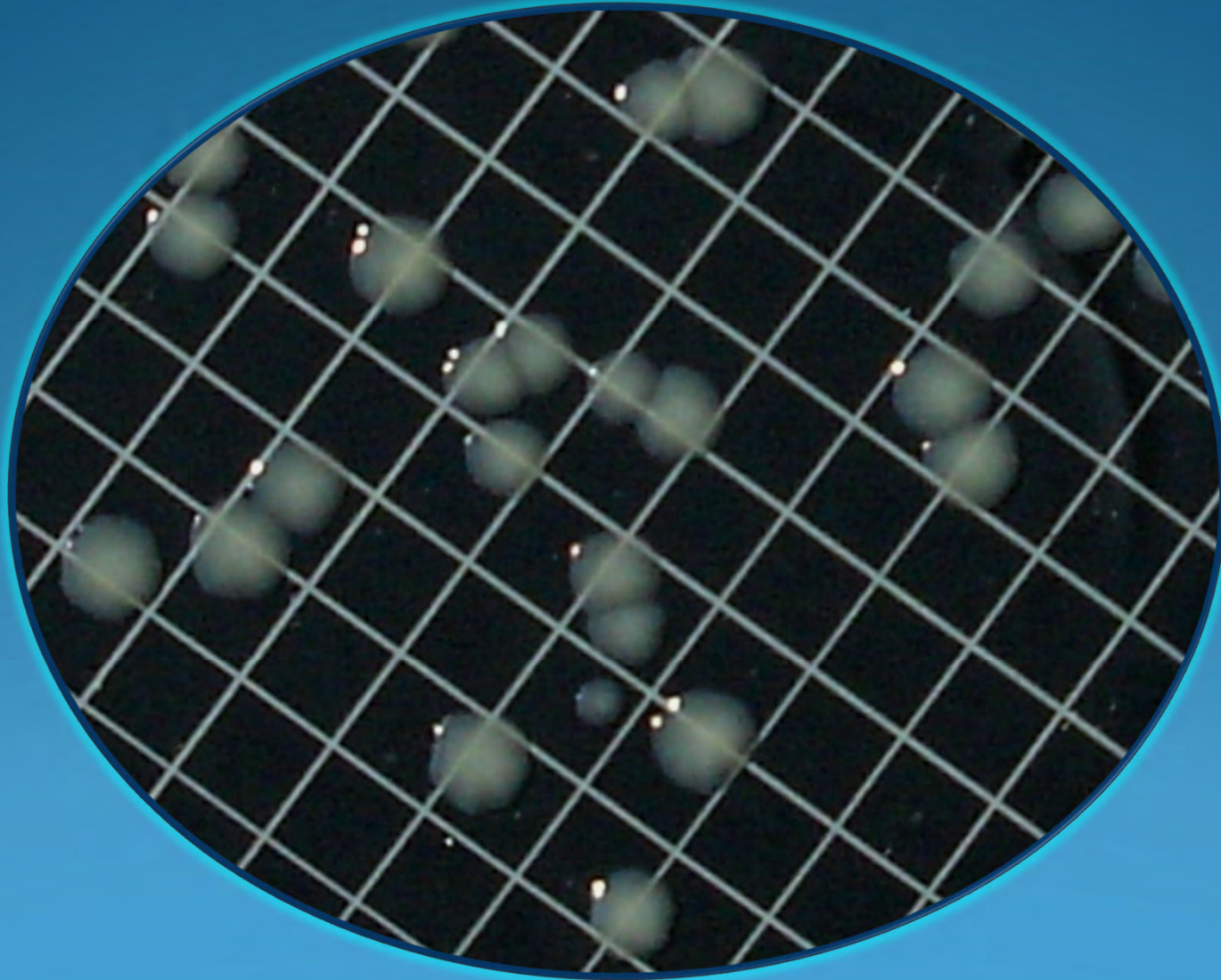
Legionella pneumophila z biofilmu



Legionella pneumophila gr. 2 - 15

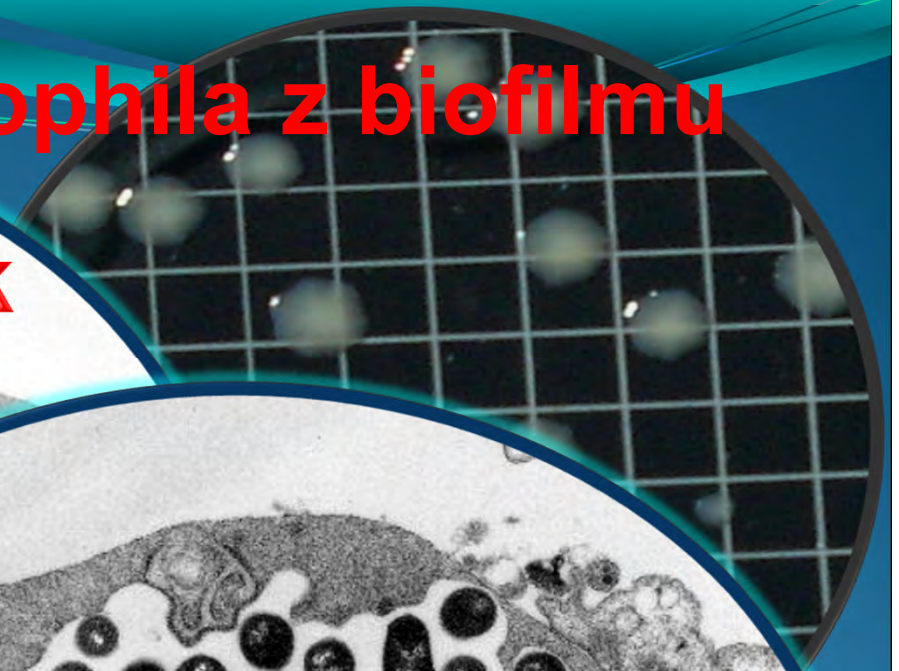


Legionella pneumophila gr. 2 - 15



Legionella pneumophila z biofilmu

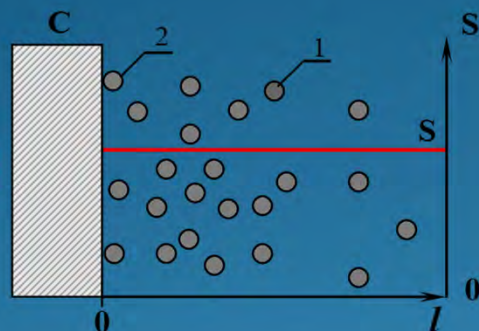
Kolonia komórek



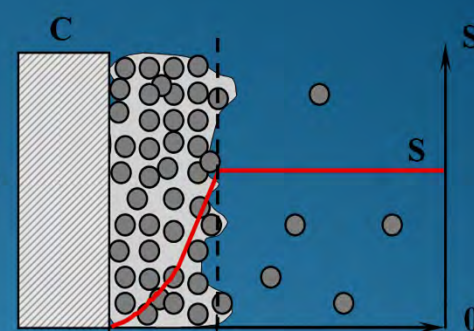
Wnętrze komórki

Stadia powstawania biofilmu

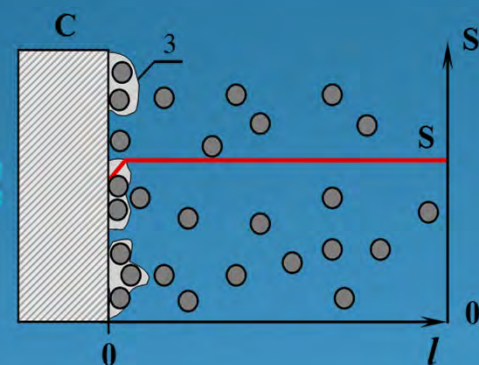
Stadium 1



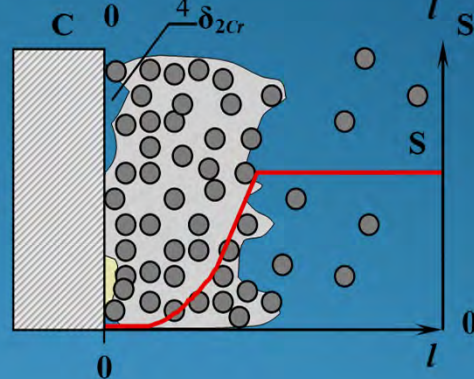
Stadium 4



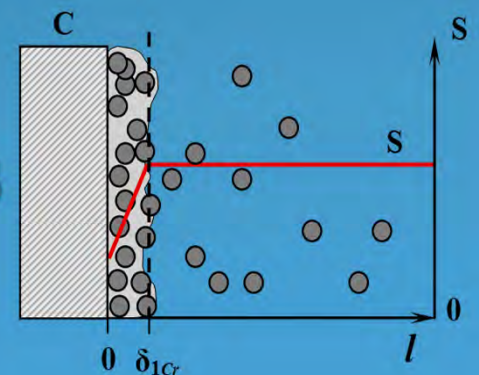
Stadium 2



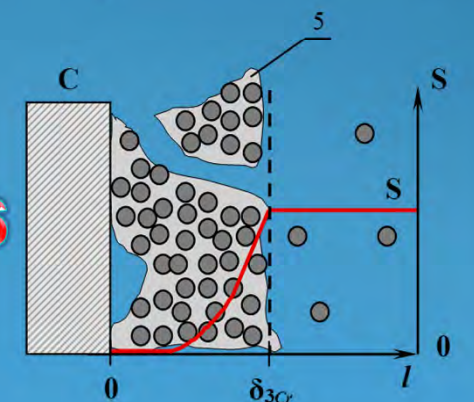
Stadium 5



Stadium 3



Stadium 6

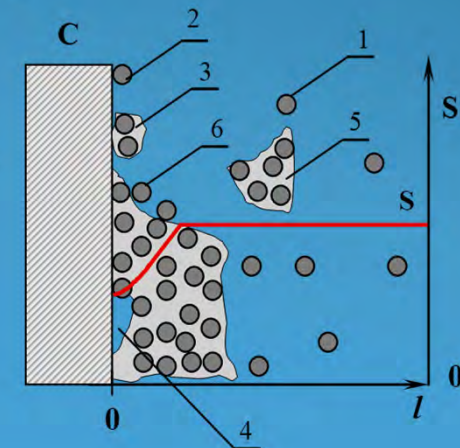


Stadia powstawania biofilmu

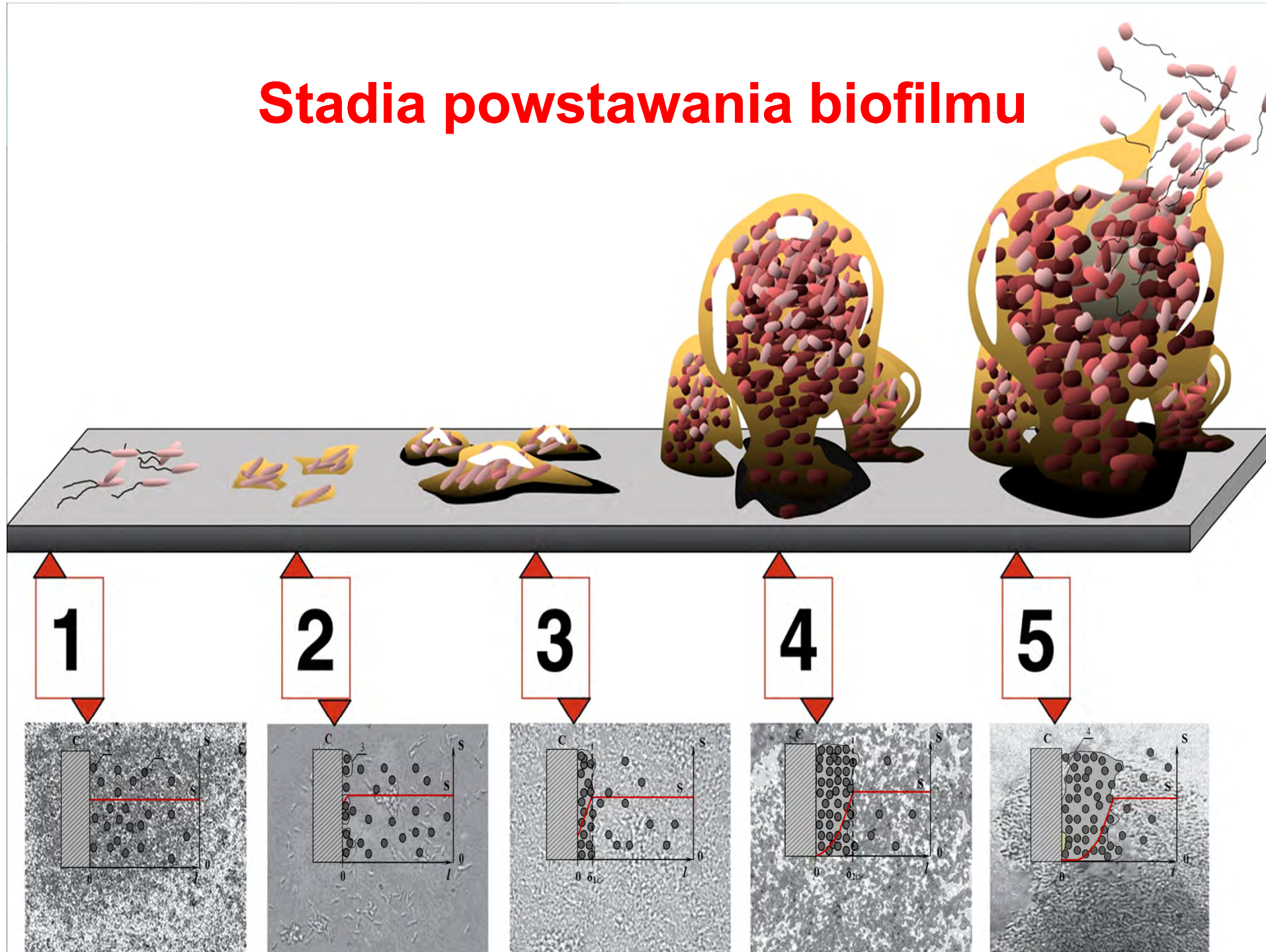
- Stadium 1.** Adaptacja komórek do powierzchni nośnika: C – powierzchnia nośnika; S – substrat; l – odległość do powierzchni nośnika; 1- pływające komórki (zawiesina komórek); 2 – adhezja komórek.
- Stadium 2.** Formowanie się komórek w postaci „monolayer”: 3 – exopolisaccharyd powodujący stałą adhezję komórek na nośniku.
- Stadium 3.** Formowanie struktury biofilmu. Pierwsza krytyczna grubość biofilmu - δ_{1Cr}
- Stadium 4.** Stały wzrost biofilmu. Druga krytyczna grubość biofilmu - δ_{2Cr}

Stadia powstawania biofilmu

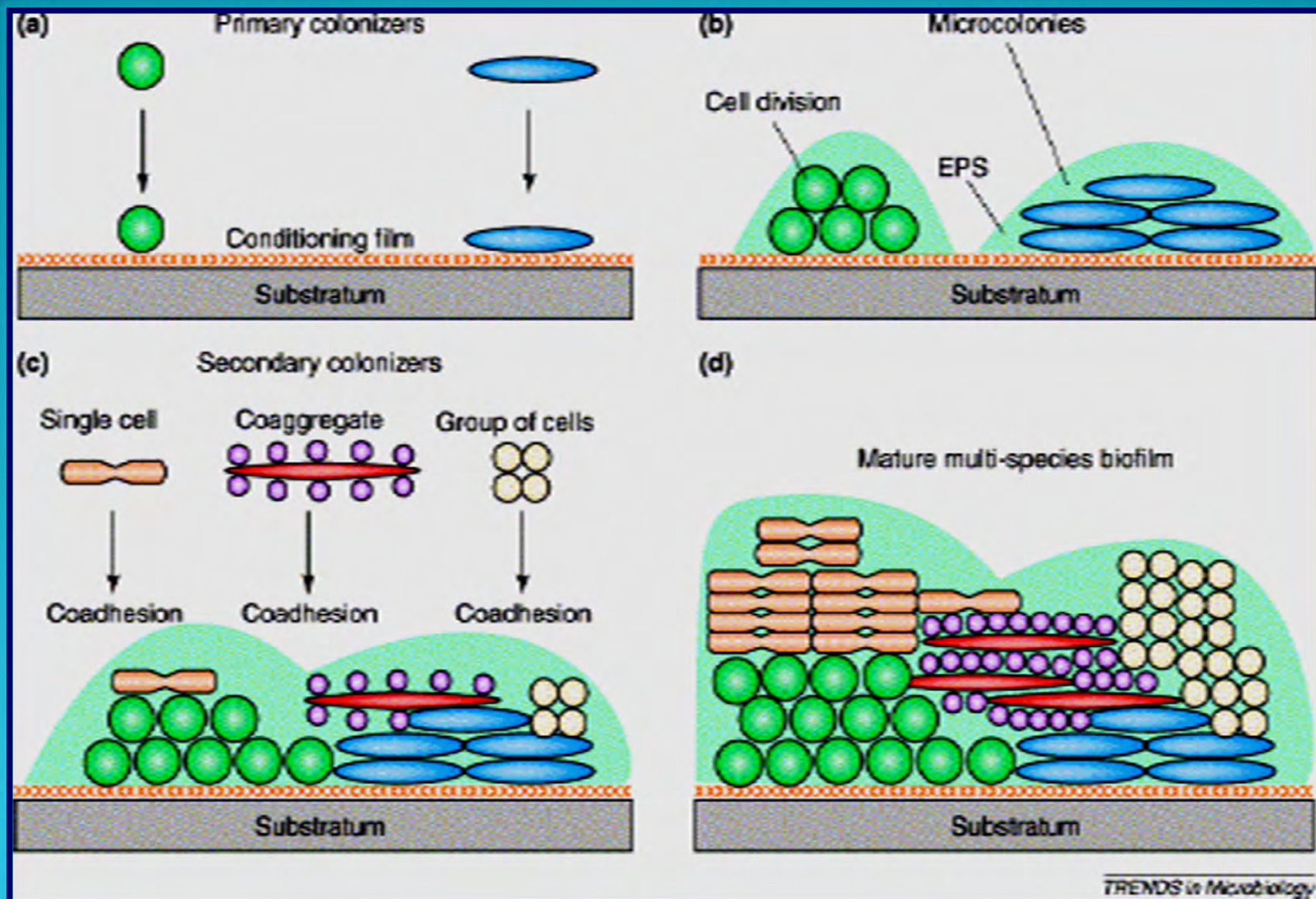
- Stadium 5.** Niekontrolowany i niestabilny wzrost biofilmu. Formowanie się „cavities” (dziur). 4 – „cavities” (dziury).
- Stadium 6.** Destrukcja biofilmu. Trzecia krytyczna grubość biofilmu - δ_{3Cr}
5 – odrywanie się pewnych partii biofilmu.
- Stadium 7.** Reformowanie się biofilmu na nowo.



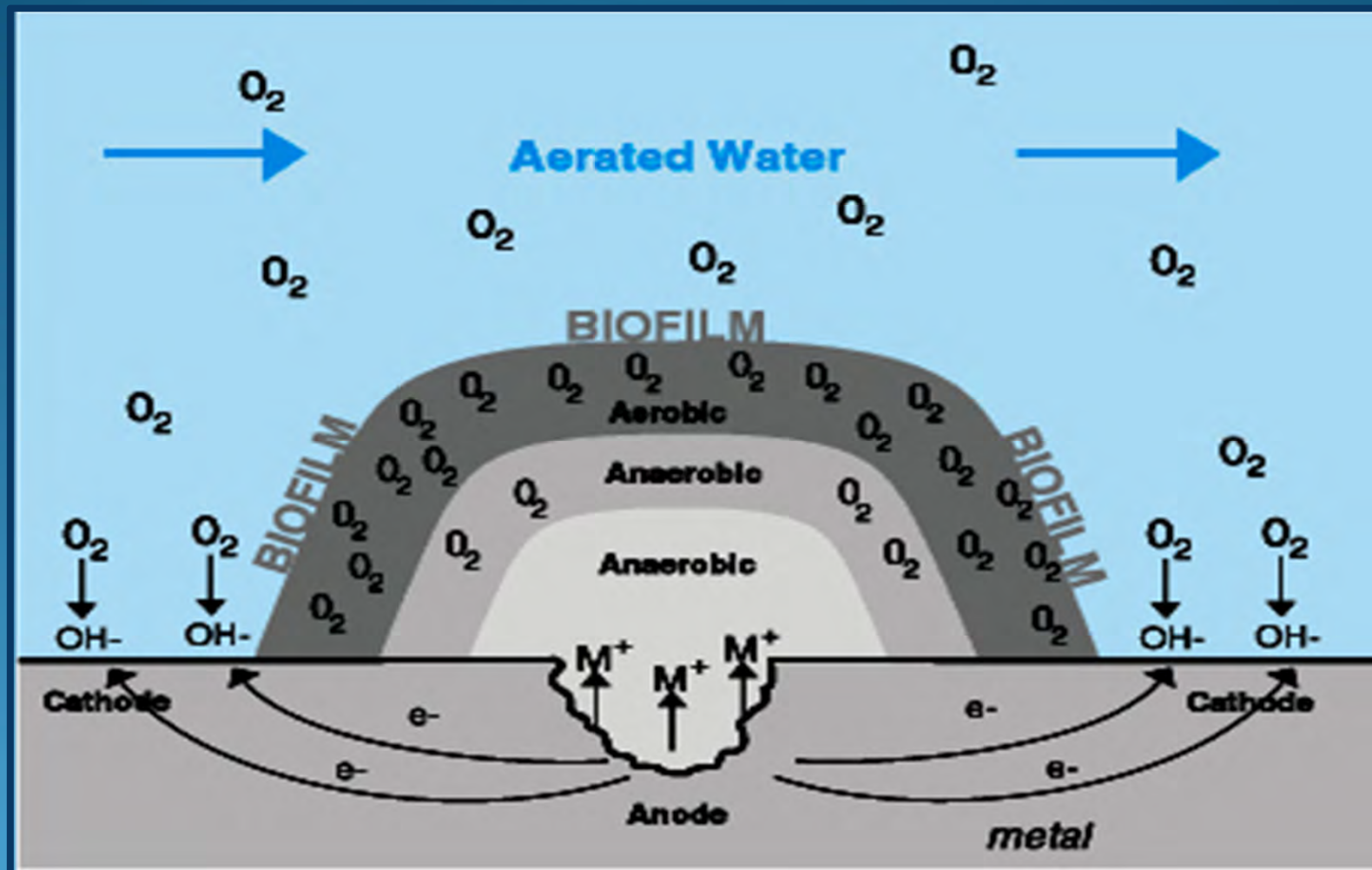
Stadia powstawania biofilmu



Stadia powstawania biofilmu



Biofilm – kolonizacja przez bakterie



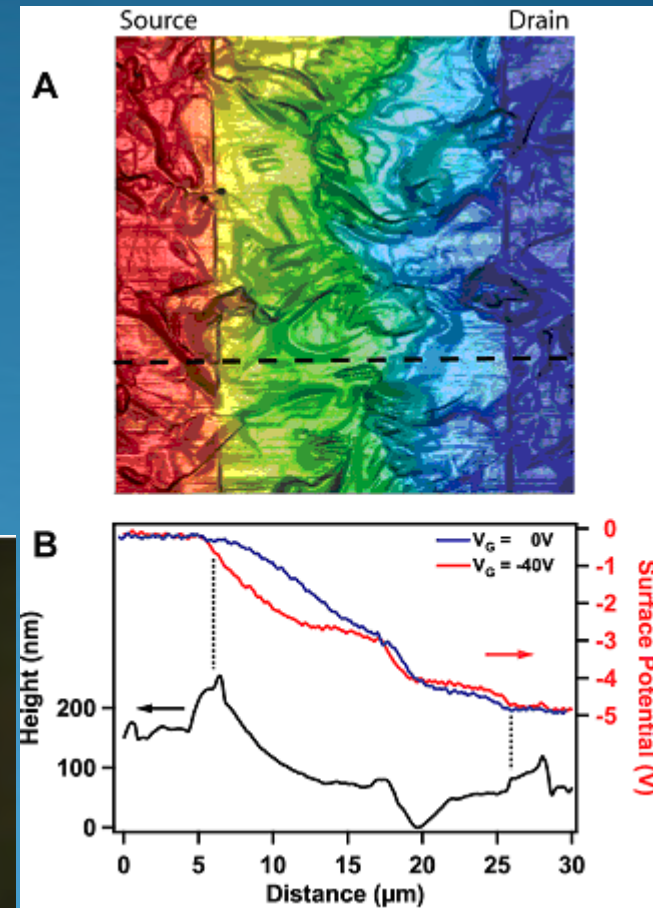
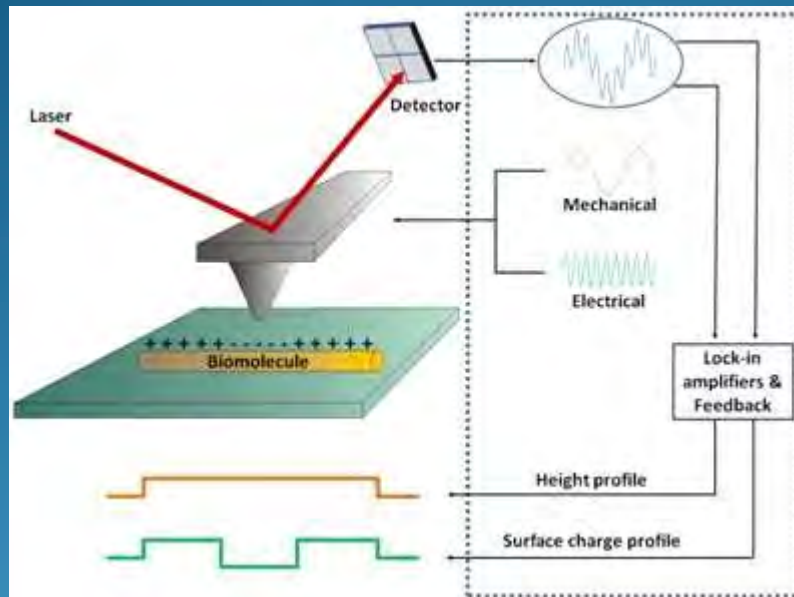
Kolonizacja biofilmu: wewnątrz przez bakterie anaerobowe, a na zewnątrz przez bakterie tlenowe (aerobowe), których wzrost ulega inhibicji wewnątrz biofilmu z tytułu braku tlenu (Borenstein 1994).

Kevin – Probe – Force - Microscopy

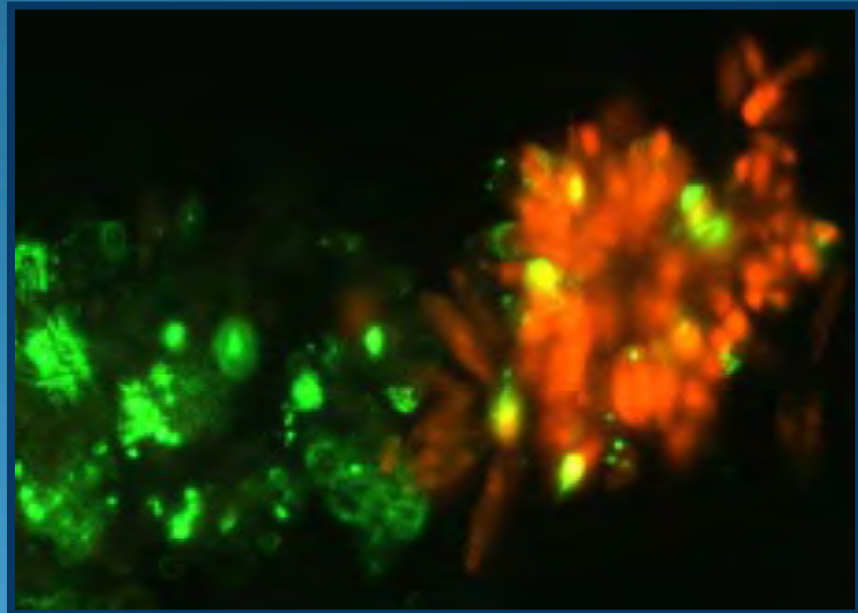
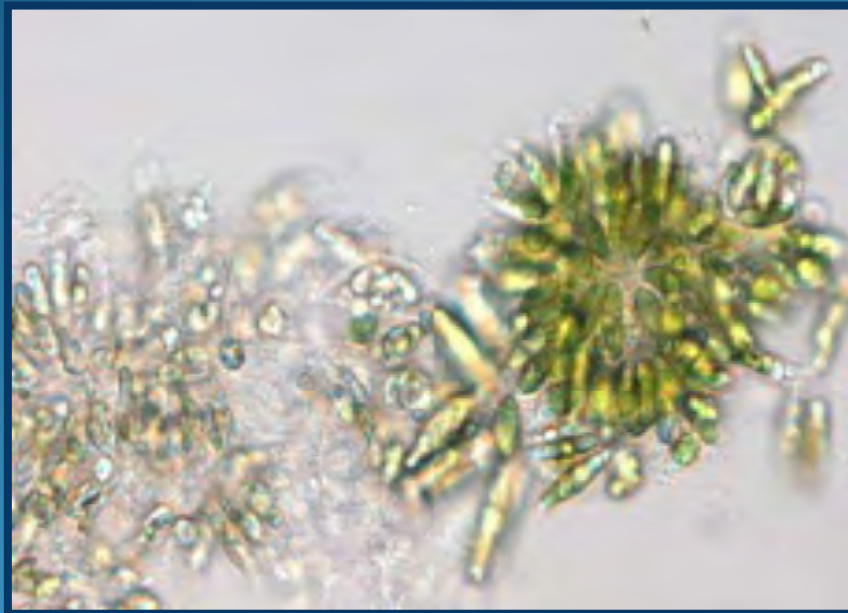
Identyfikacja bakterii w biofilmie



Kevin Probe Force



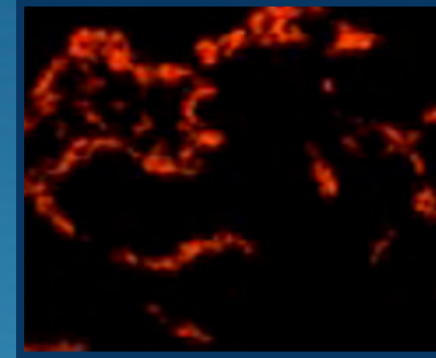
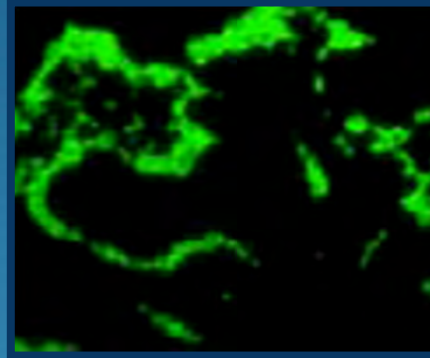
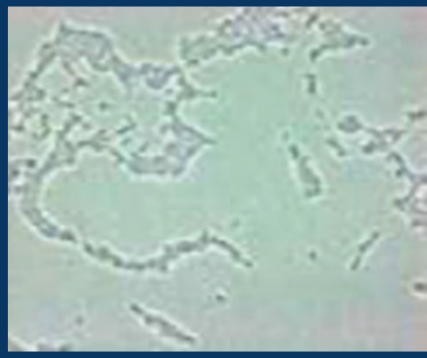
Fluorescencyjna diagnostyka biofilmu



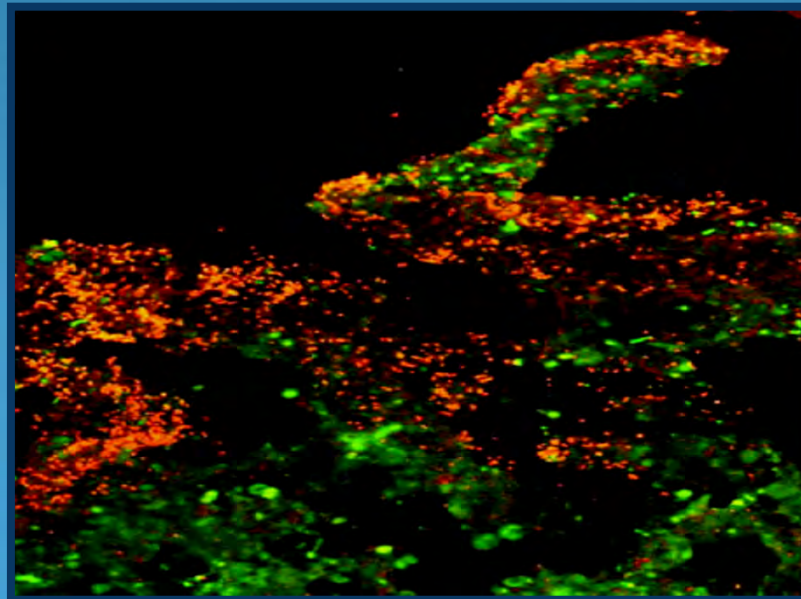
Fragilaria striatula

EPI – mikrobiologiczna aktywność, enzym fosfataza

Monitoring i diagnostyka biofilmu

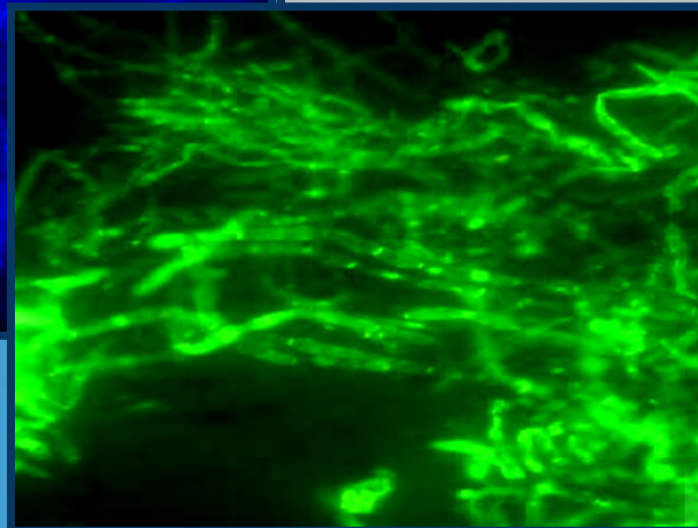
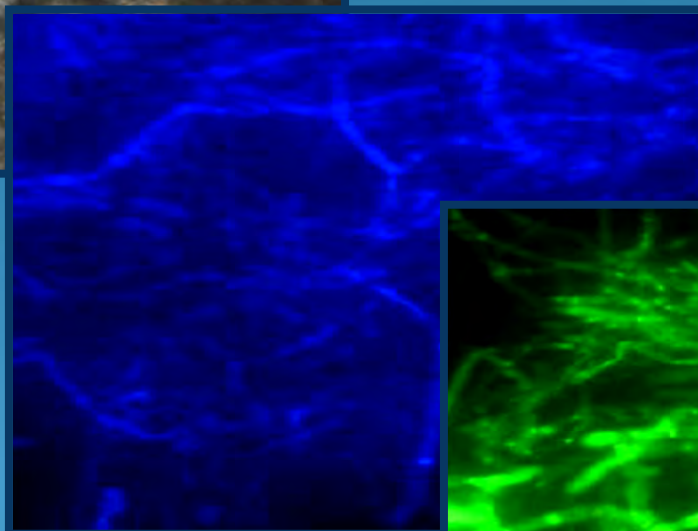
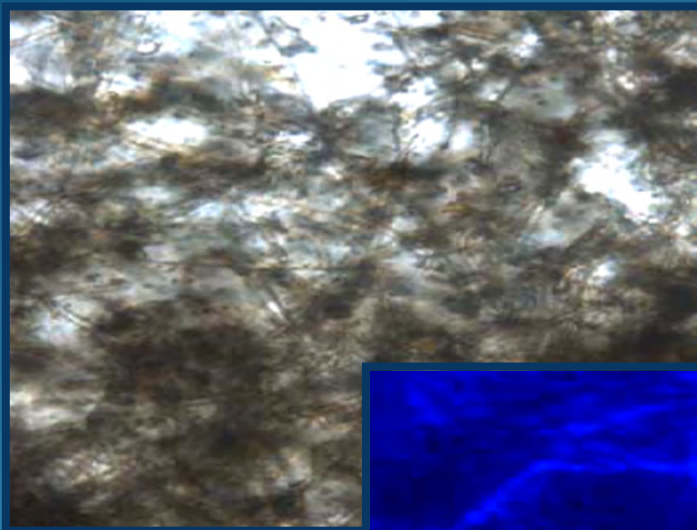


Legionella spp. LEG705 *L. pneumophila* LEGPNE1

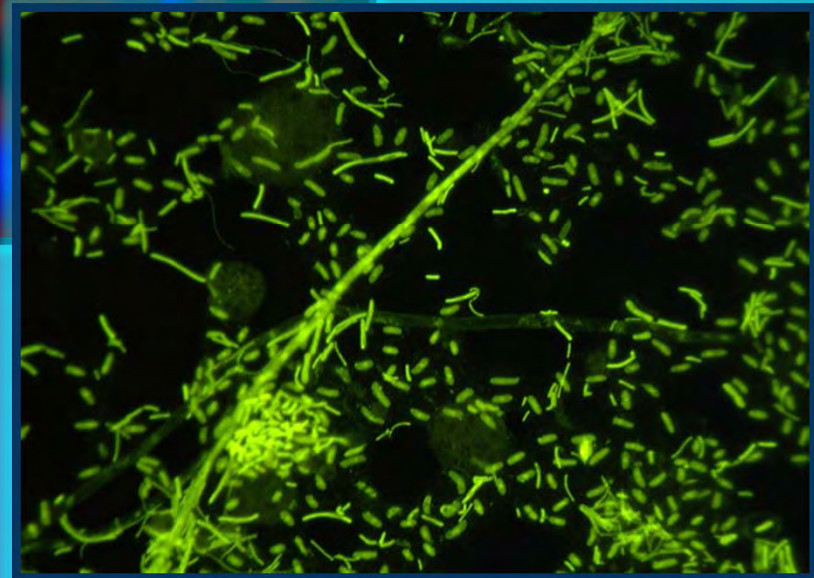
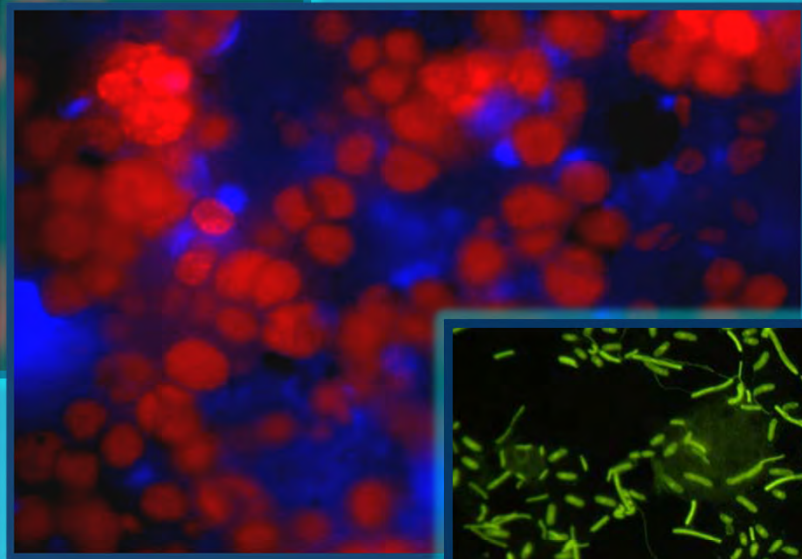
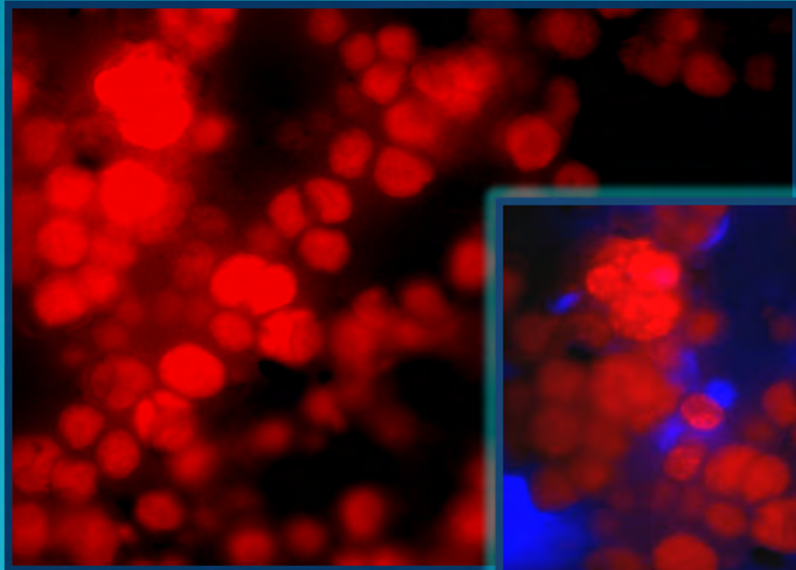


Vermicon, ITO et al., 2004

Monitoring i diagnostyka biofilmu



Monitoring i diagnostyka biofilmu

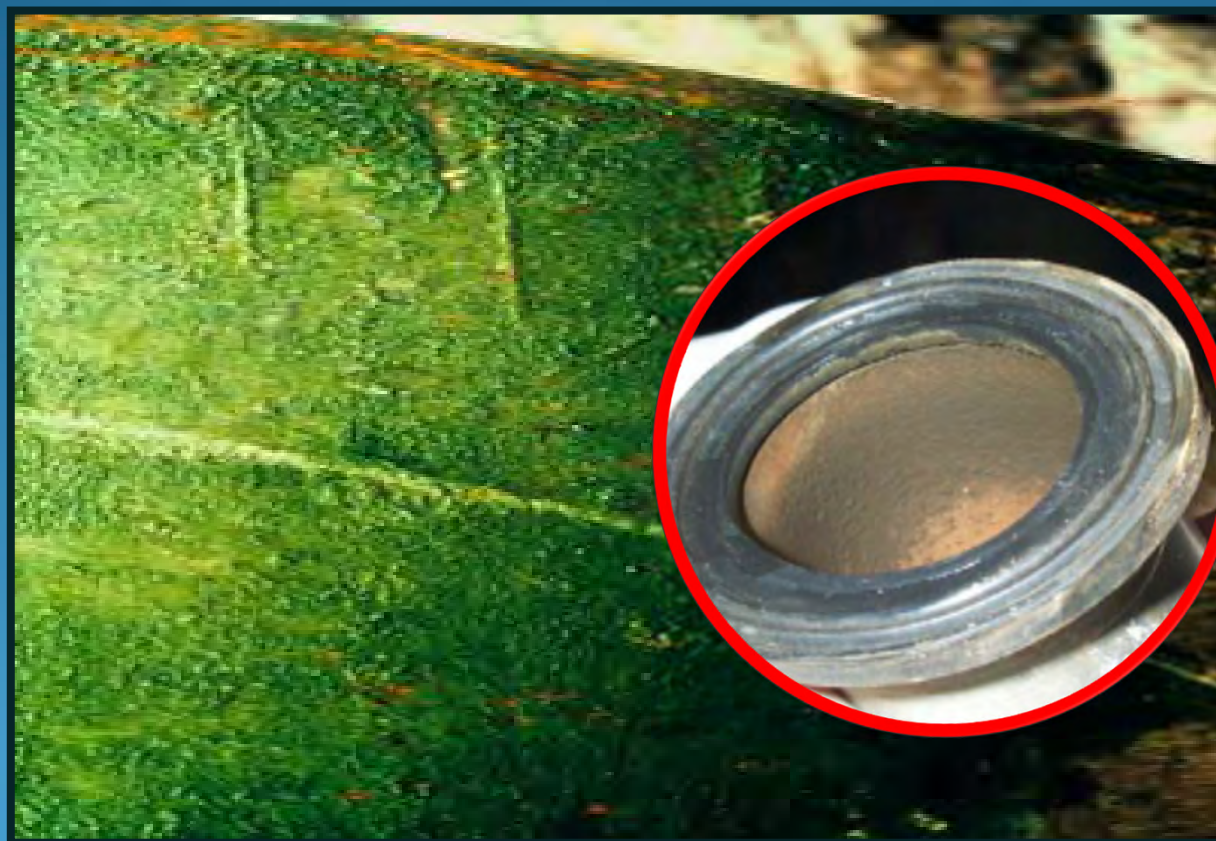


Monitoring i diagnostyka biofilmu

Bakterie

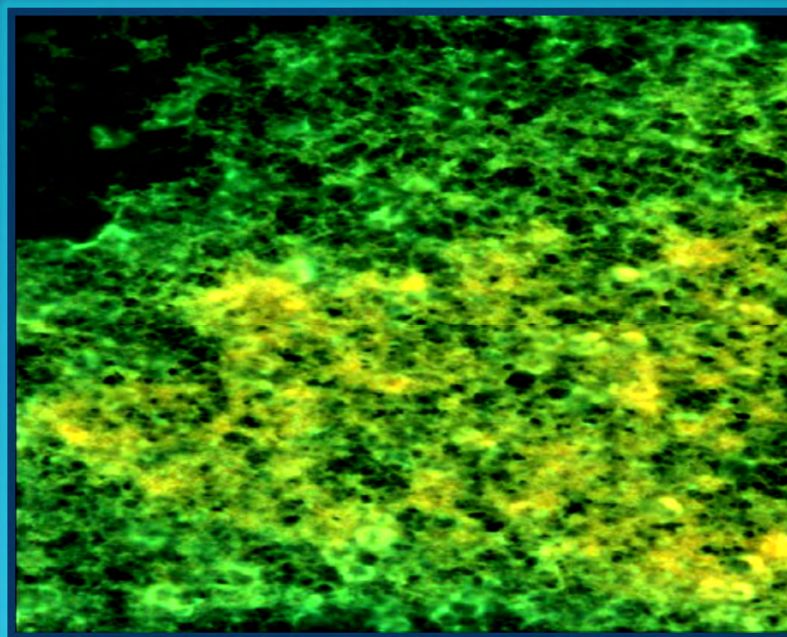
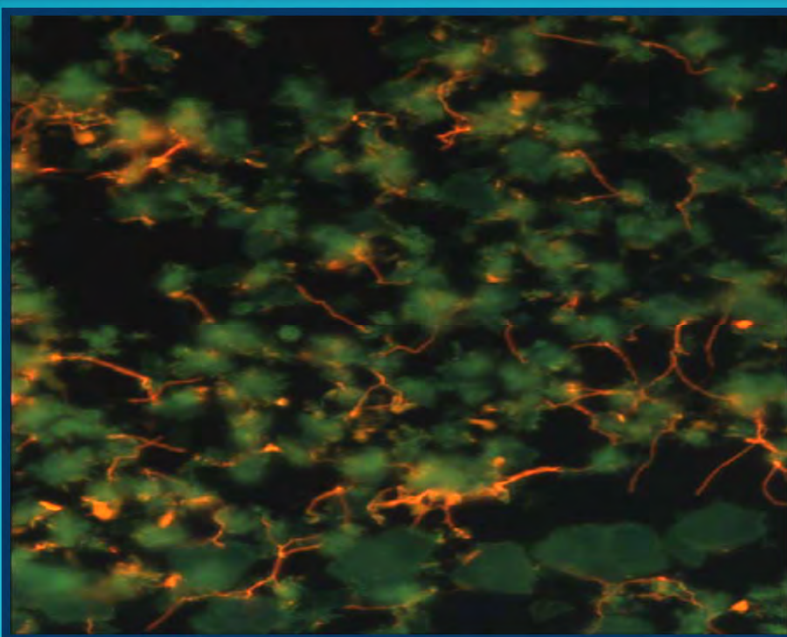
- Barwienie DNA za pomocą DAPI lub SYBR
- Badanie enzymów hydrolitycznych przy użyciu CMFDA,
 - Badanie oddychania za pomocą CTC
 - Fluorescencyjne sondy genowe
- Wykrywanie bakterii na filtrach membranowych, np. po użyciu biocydów, przy użyciu barwienia komórek martwych i żywych

Biofouling



„Bio-fouling” wywoływany przez bakterie żelazowe
i redukujące siarczany

Biofouling

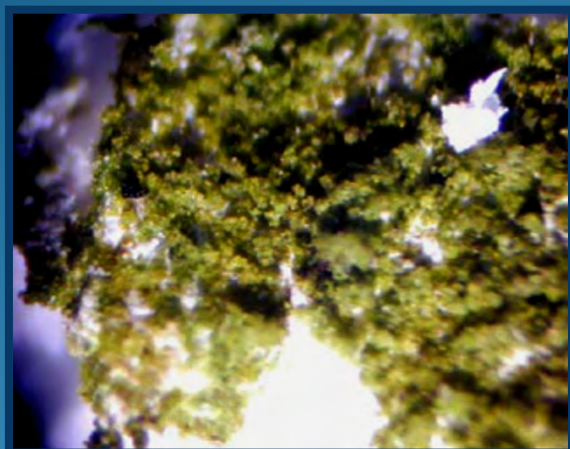


„Bio-fouling” bakterie odporne na środki czyszczące

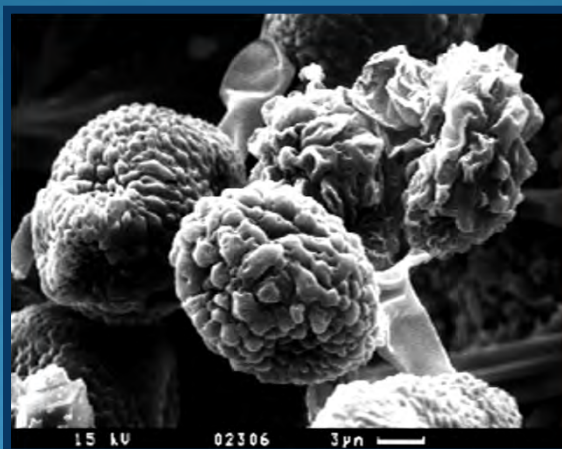
„Biofouling” / Biofilm / Biokorozja w przemysłowych systemach wodnych



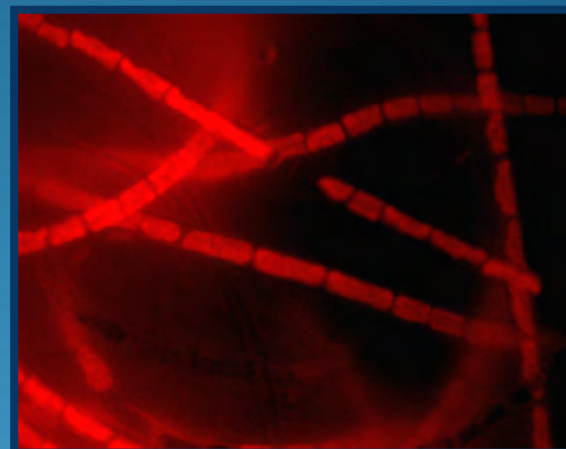
„Biofouling” / Biofilm / Biokorozja w przemysłowych systemach wodnych



a.



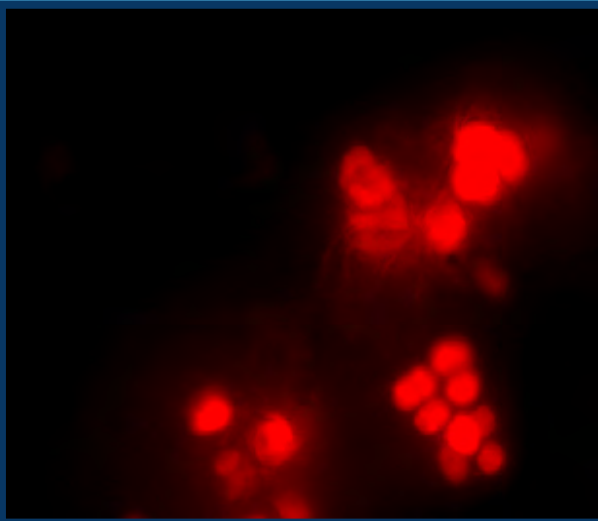
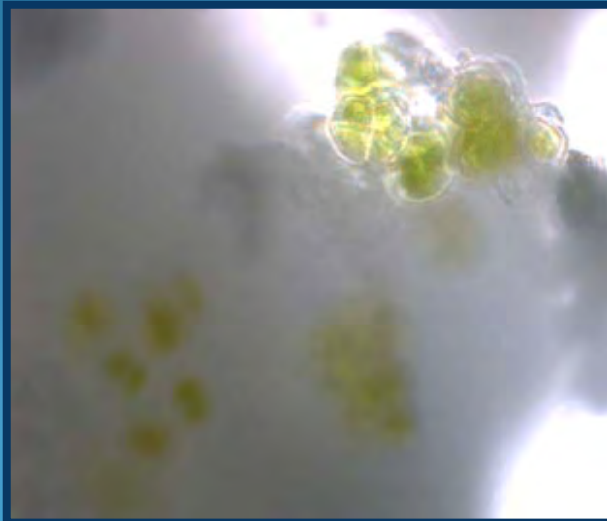
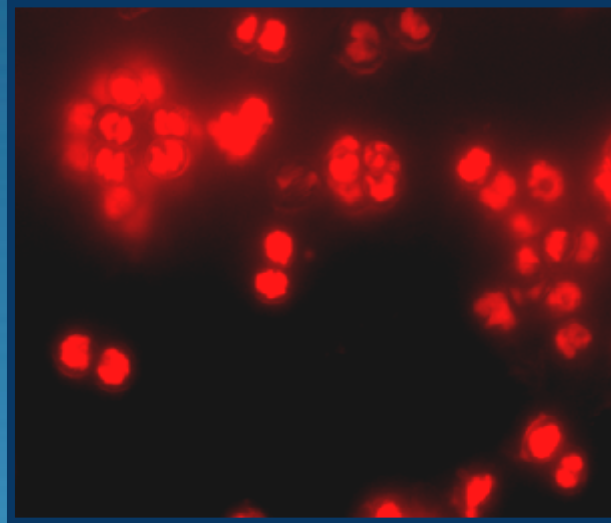
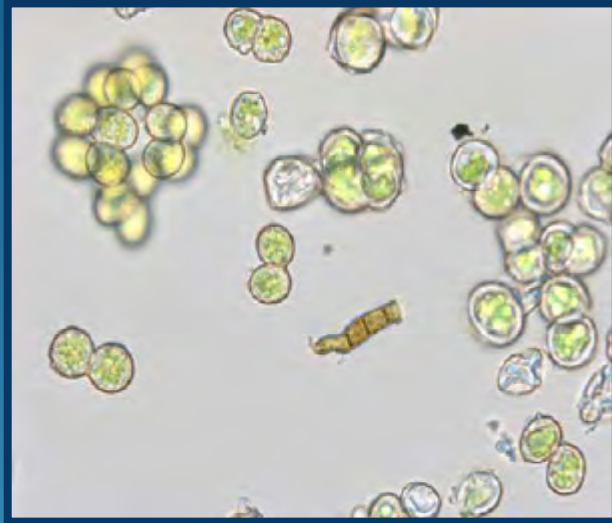
b.



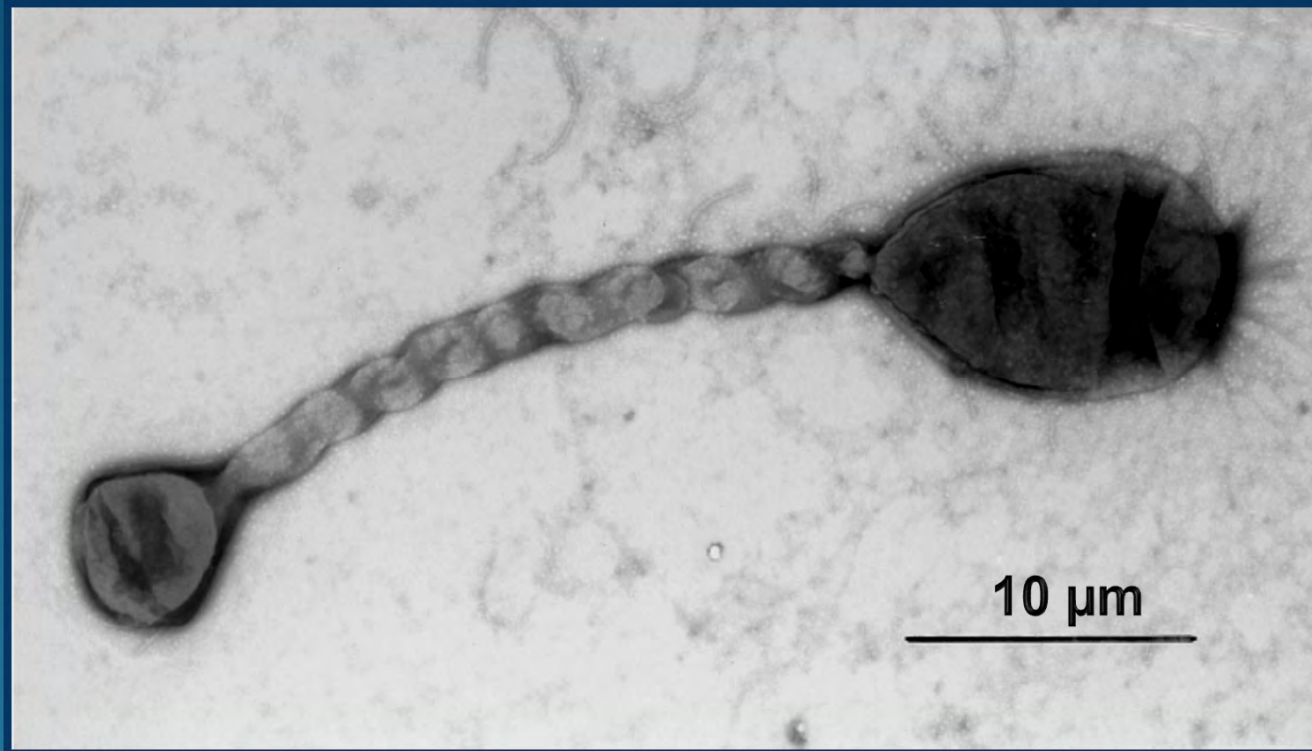
c.

a - stereomikroskop,
b - mikroskop transmisyjny,
c - mikroskop świetlny

Fluorescencyjna diagnostyka glonów

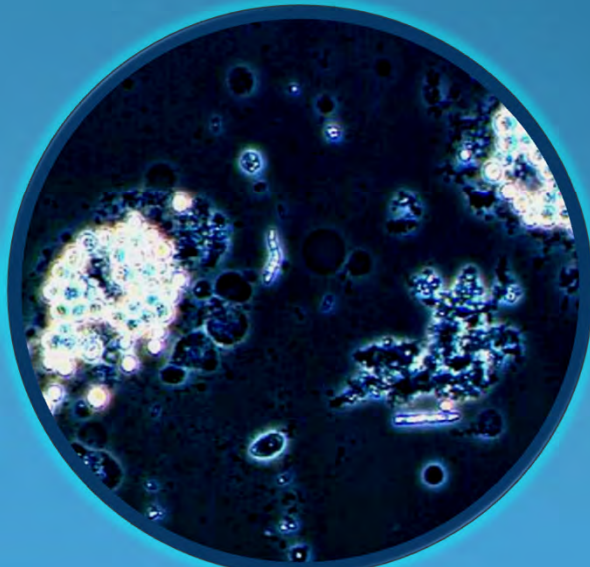
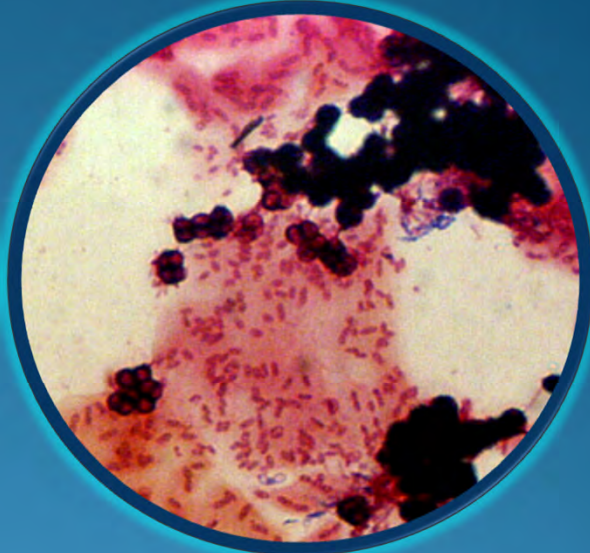
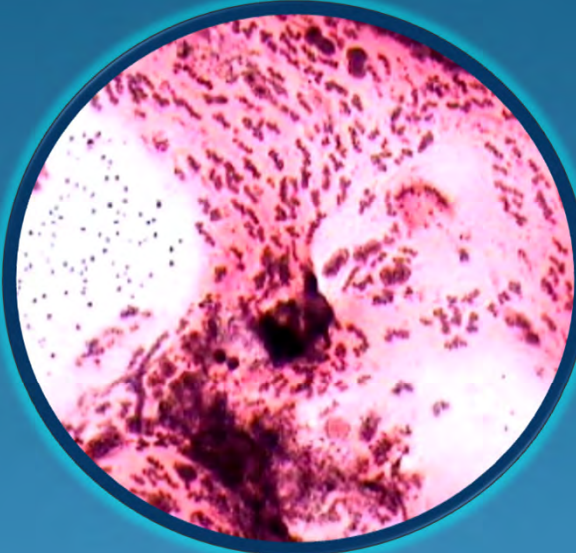
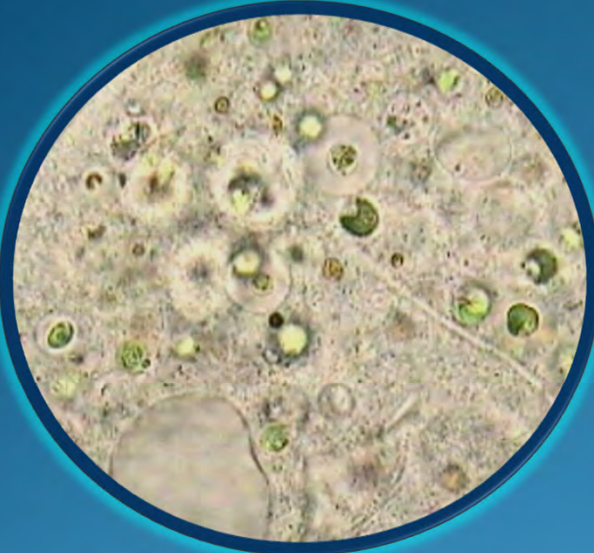


Hyphomicrobium



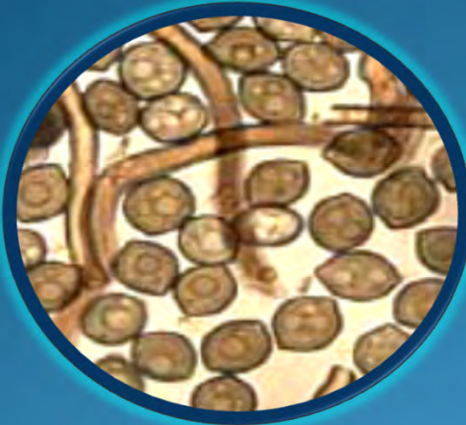
Hyphomicrobium - izolat ze szlamu w systemie wodnym.
Szczep IFAM 1465, fakultatywny metylotrof.

Bakterie tworzące „biofouling”

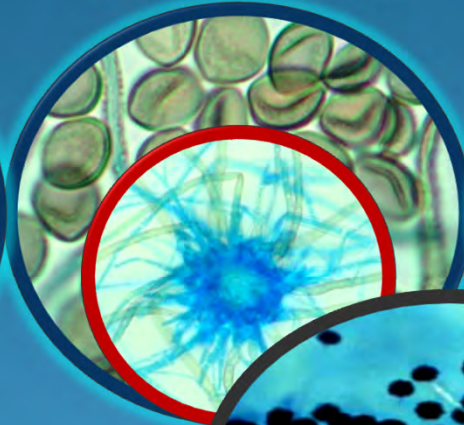


Pleśnie wchodzące w skład „biofouling”

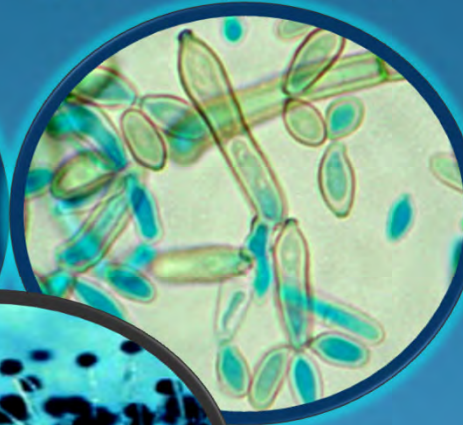
Eurotium



Chaetomium



Cladosporium



Acremonium



Rhizopus



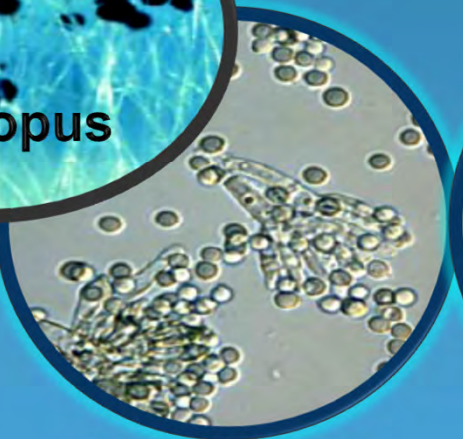
Fusarium



Curvularia



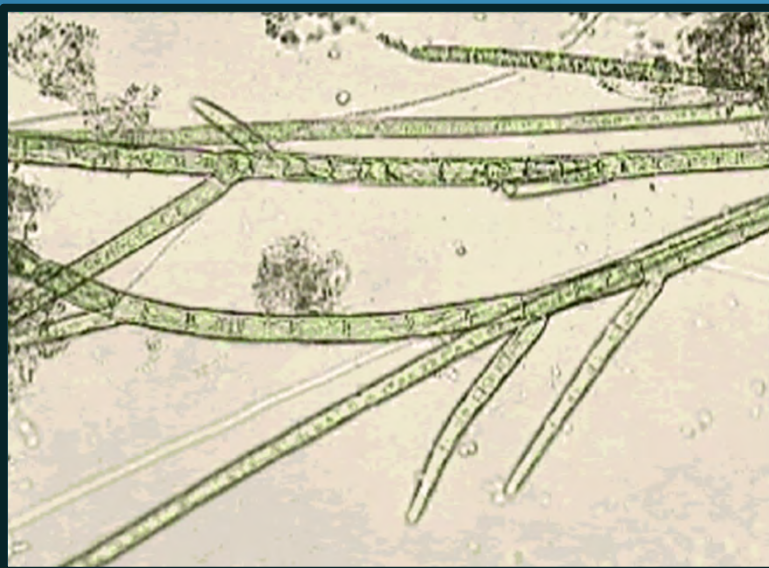
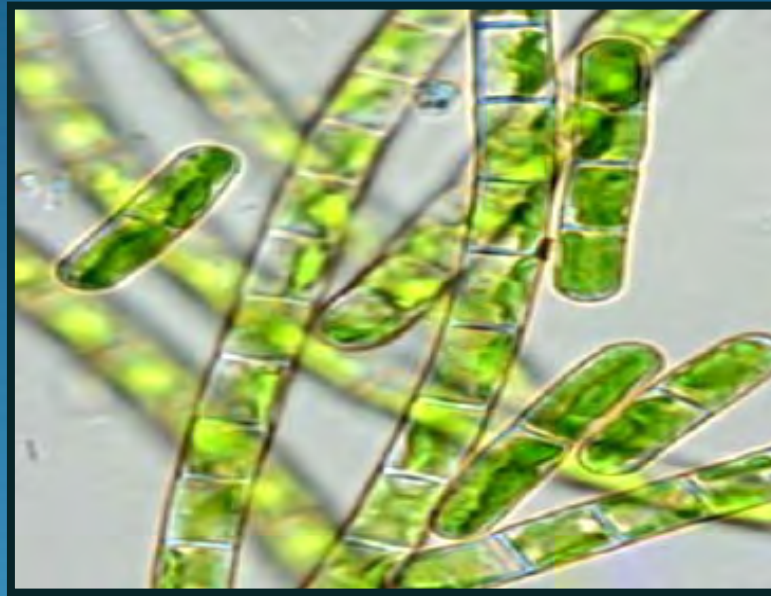
Penicillium



Alternaria



Glony wchodzące w skład „biofouling”



Glony wchodzące w skład „biofouling”



Glony wchodzące w skład „biofouling”



Podsumowanie

Zagadnienie biokorozji zaczyna odgrywać coraz bardziej znaczącą rolę.

Z powodu zmian klimatycznych, nowoczesnych sposobów budowy i nowych materiałów – mikroorganizmy mają coraz to inne „substraty”. Ponadto powstałe biofilmy zmieniają właściwości materiałów, tak, że dotychczas odporne materiały ulegają uszkodzeniom.

Biokorozja powoduje straty wówczas, gdy zostanie przekroczona pewna grubość mikrobiologicznego osadu. Powstający początkowo biofilm jest następnie naruszony przez „biofouling”, co w konsekwencji prowadzi do nieodwracalnych zmian w materiale budulcowym.

Biokorozja jest częścią naturalnego procesu przemiany materii

**Stąd spotykane zmiany materiałowe mogą być
wykorzystywane również w pozytywnym
znaczeniu, np. rozkład odpadków
i substancji szkodliwych.**

Pożądana jest obserwacja i detekcja
początkowych stadiów tworzenia się
biofilmu w formie *in situ*
oraz wykorzystywanie w tym procesie
substratów



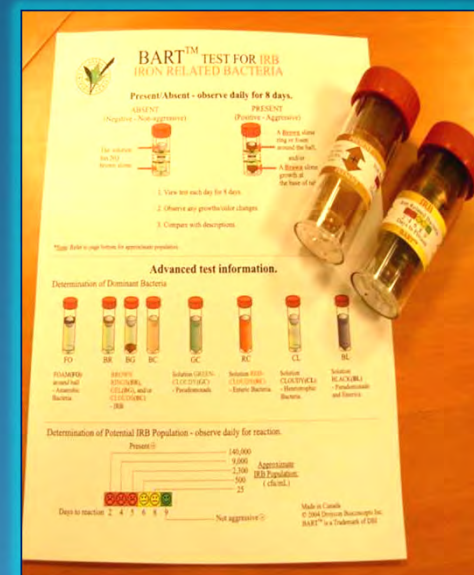
Sposoby wykrywania przyczyn biokorozji

- IRB-BART i SRB-BART Testy

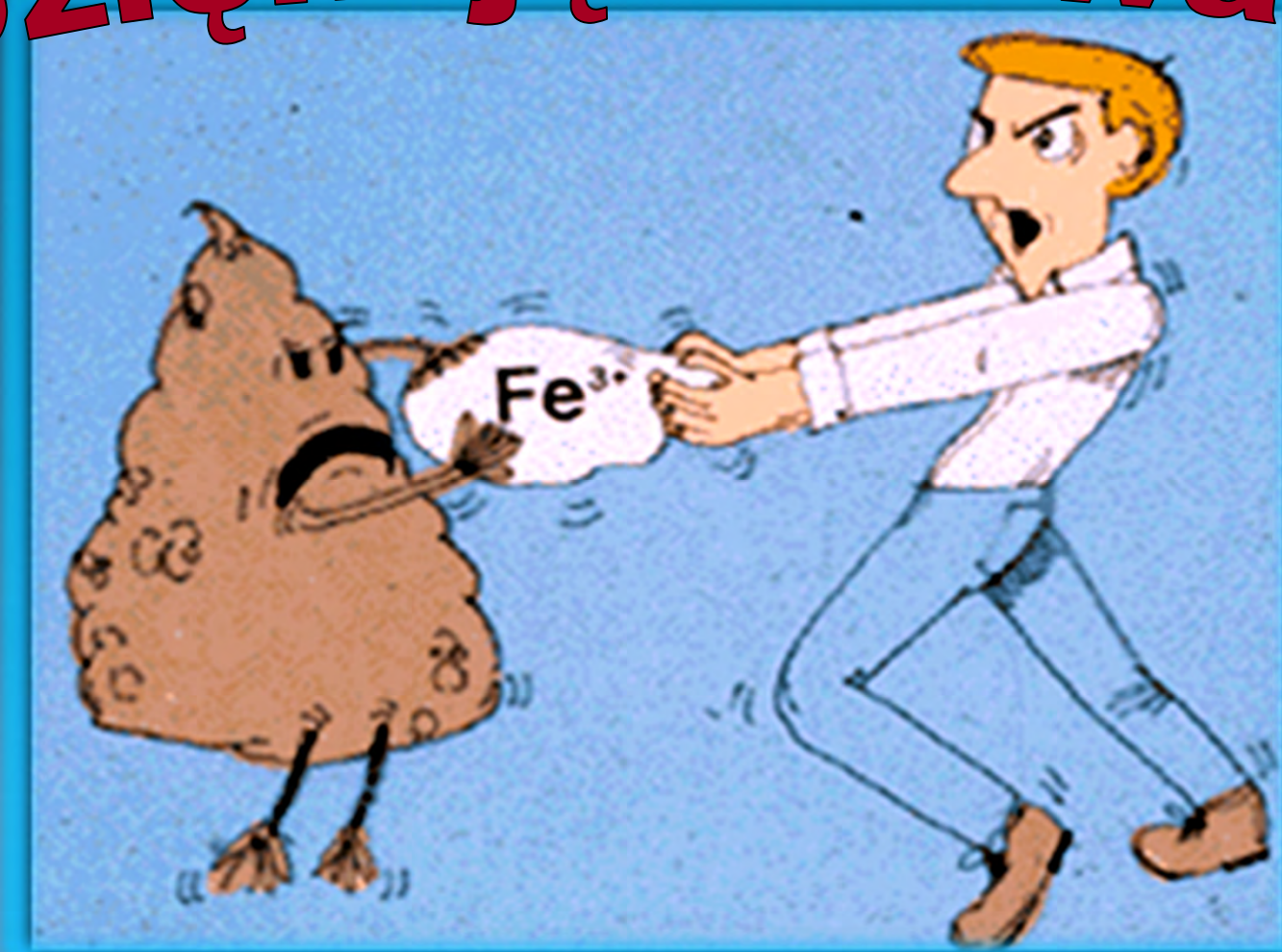
- Total Plate Count

- Wizualna identyfikacja rodzajów bakterii

pod mikroskopem świetlnym



Dziękuję za uwagę



Dziękuję za uwagę



