

5. НАНОХИМИЯ

УДК 620.193.82

Оригинальная статья

ОБРАЗОВАНИЕ КЛАСТЕРОВ МЕДИ В ПРОЦЕССЕ БИОКОРРОЗИИ СПЛАВОВ АЛЮМИНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ

Д.В. Белов^{1,2}, С.Н. Беляев^{1,2}, П.А. Юнин², А.А. Назаров²

¹ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики

им. А. В. Гапонова-Грехова РАН»,

603950, Россия, Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

²Институт физики микроструктур Российской академии наук – филиал

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики

им. А.В. Гапонова-Грехова РАН»

603950, Россия, Нижегородская обл., Кстовский р-н, д. Афонино, ул. Академическая, 7

bdv@ipfran.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.888

Аннотация. В работе исследована биокоррозия сплавов алюминия Д16Т и АМгб в условиях воздействия микроскопических грибов. Показано, что микромицеты продуцируют активные формы кислорода – супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, инициирующие биокоррозию металлов. Методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии определен состав продуктов биокоррозии Д16Т и АМгб после экспозиции сплавов на газоне консорциума микромицетов. Проведено рентгенофазовое исследование продуктов биокоррозии сплавов. Сканирующей электронной микроскопией и рентгенодифракционным анализом показано образование наноразмерных и субмикронных кластеров меди. Предложен физико-химический механизм биокоррозии сплавов алюминия микроскопическими грибами. Высказано предположение о механизме работы систем «нульвалентный металл – пероксид водорода», которые могут запускать каскад реакций, ведущих к деструктивному окислению металлов. В работе дана попытка объяснения роли биопленок сообщества микроскопических грибов как основного фактора микробиологической коррозии металлов.

Ключевые слова: биокоррозия, микробиологическая коррозия, сплавы алюминия Д16Т, АМгб, нульвалентный алюминий, нульвалентная медь, микроскопические грибы, активные формы кислорода, супероксидный анион-радикал, пероксид водорода, кластеры меди.

1. Введение

Наиболее активными биологическими агентами, повсеместно распространёнными в почве, воде и воздухе являются микроскопические грибы (микромицеты). Видовое многообразие микроскопических грибов, их высокая приспособляемость к условиям обитания и мощный ферментный аппарат определяют большой потенциал воздействия практически на все объекты производственной и хозяйственной деятельности человека, в том числе на металлические материалы. Некоторые геоактивные микроскопические грибы могут непосредственно участвовать в биотрансформации металлов. В работе [1] показано, что микромицеты могут существовать в условиях прямого или косвенного

контакта с металлом и колонизировать его поверхность. В частности, микромицет *Aspergillus niger* способен инициировать биокоррозию металлической меди. Как указывают авторы, механизм растворения опосредован протонами и органическими лигандами. Особую роль при биотрансформации металлов микроскопическими грибами авторы отводят экскреции оксалата. Образование вторичной биоминеральной пленки, в которую входит оксалат меди (муроит) вместе с отложением куприта, приводит к существенному изменению топографии поверхности. Колонизация микромицетами культурных реликвий и исторических артефактов и их последующее биологическое разрушение может иметь существенные негативные последствия.

Однако у явления биокоррозии металлов есть положительные стороны. В настоящее время интенсивно разрабатываются технологии биовыщелачивания ценных металлов из отработанных литий-ионных аккумуляторных батарей мобильных телефонов с использованием микромицета *A. niger* [2].

Микробиологической коррозией (биокоррозией) металлов называют разрушения, вызванные непосредственным или косвенным воздействием микроорганизмов. Биокоррозия металлов особенно характерна в атмосферных и почвенных условиях, в хорошо вентилируемых местах с благоприятными температурно-влажностными характеристиками, с наличием на поверхности металла загрязнений. Биокоррозия металлов представляет собой серьезную экологическую и экономическую проблему.

В большинстве случаев коррозия металлов протекает в среде, содержащей кислород. Среди микроорганизмов, принимающих участие в биокоррозии металлов, наиболее активными являются аэробные. Дополнительно ускоряют окисление металлов внеклеточные ферменты, например, гидрогеназы. Возможен прямой перенос электронов без посредников от окисляющегося металла к клеткам микробов [3-5].

Впервые открытая в 1978 году специфическая форма существования бактерий в виде биопленок [6] признана преобладающей формой микробной жизни на нашей планете. Биопленка – это особая форма организации микроорганизмов, образующихся на разделе двух фаз, интенсивно обменивающихся генетической информацией и способных координировать свое поведение за счет секреции молекулярных сигналов – *Quorum Sensing* [7,8]. В естественной среде микроскопические грибы также не имеют изолированных клеток. Они развили способность к коммуникационному взаимодействию, что позволяет им адаптироваться к локальным изменениям окружающей среды и конкурировать за выживание и размножение [9]. Однако исследования грибного квorum находятся в зачаточном состоянии. Многоклеточные сообщества микромицетов

способны формировать устойчивые биопленки на различных биотических и абиотических поверхностях, что является одним из определяющих факторов в инициировании и развитии биокоррозии металлов. Однако вопрос о влиянии биопленок микроскопических грибов на биокоррозию металлов изучен недостаточно.

Морфологию биопленки микроскопических грибов можно описать как сложную трехмерную структуру гетерогенных поверхностно-ассоциированных колоний, состоящих из нитевидных гиф (цепочек удлиненных клеток), псевдогифальных клеток, дрожжеподобных клеток и различных форм внеклеточного матрикса. В настоящее время показано, что микроорганизмы способны прикрепляться практически к любым поверхностям [10, 11]. Поверхностно-ассоциированные микромицеты, формирующие биопленки, образуют особый фенотип, существенно отличающийся от планктонных организмов. Они имеют специфические механизмы прикрепления к поверхности, которые регулируются разнообразными характеристиками питательной среды, субстрата и клеточной поверхности.

Адгезивная способность микромицетов обуславливает их дальнейшую колонизацию поверхности металла. Следующая за первичной адсорбцией стадия атаки микромицетов на поверхность металла характеризуется инвазивным ростом микроорганизма. Протеолитические, липолитические ферменты грибов (протеазы, липазы, пероксидазы, оксидазы и др.) участвуют в разрушении поверхностных структурных элементов защитной пленки на поверхности металла и реализуют ее дальнейшую колонизацию.

В своих исследованиях мы наблюдали образование биопленок микроскопических грибов на всех изучаемых поверхностях корродирующих металлов (алюминий, медь, магний, цинк, титан и др.). На рис. 1 приведены фотографии биопленок микроскопических грибов на поверхностях различных металлов и сплавов.

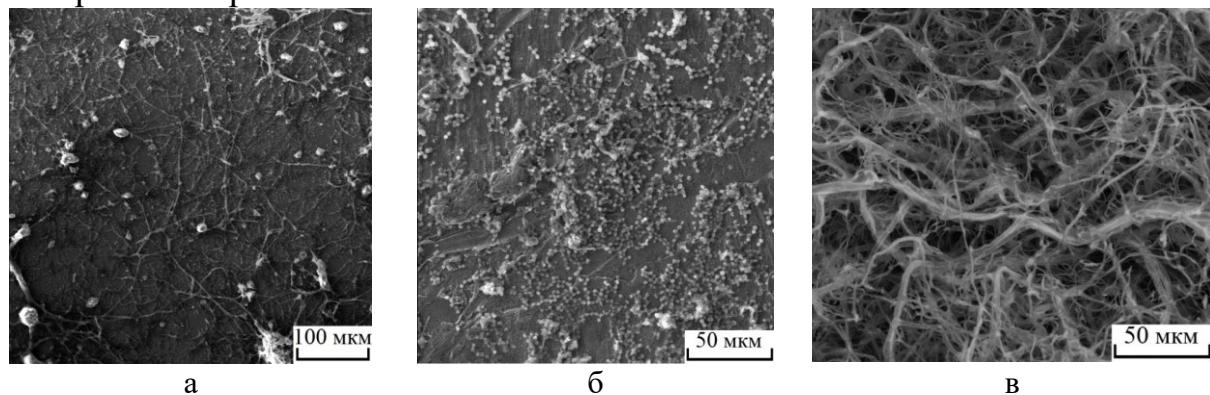


Рис. 1. Фотографии биопленок ассоциаций микромицетов на металлических поверхностях: титановый сплав VST2 (а); медь М0 (б); алюминий АД0 (в).

Активно растущая биопленка представляет собой слой с изменяющимися диффузионно-массовыми потоками, обусловленными пространственной и химической гетерогенностью. Матрица биопленки способна предотвращать диффузию O_2 в катодные области и ионов в анодные области корродирующего металла. Это приводит к формированию пар дифференциальной аэрации. С другой стороны, развитие и локализация микросред облегчает процесс окисления металла. Разделение катодных и анодных областей на металлической поверхности приводит к формированию концентрационных ячеек. В результате чего высвобождаемые ионы и продукты коррозии сорбируются компонентами биопленки.

Присутствие микроорганизмов на поверхности материала может сильно повлиять на его эксплуатационные характеристики. Поверхностно-опосредованный микробный рост и образование на твердом субстрате биопленки, провоцирует его дальнейшее биообразование. Наличие микромицетных биопленок способствует межфазным физико-химическим реакциям, которые нежелательны в абиотических условиях.

Разработка современных методов достоверной оценки влияния биокоррозии на механические характеристики изделий и безопасности их эксплуатации являются важными и актуальными задачами. В связи с этим, изучение проблемы микробиологической коррозии металлов имеет огромное значение для разработки способов повышения долговечности металлических материалов, изделий и конструкций на их основе.

Алюминий и его сплавы находят широкое применение в качестве основного конструкционного материала для изготовления оборудования пищевой промышленности, медицинских изделий, в производстве радиоэлектронного оборудования, приборов промышленного и военного назначения, самолетов и космических аппаратов. Однако биокоррозия алюминия и сплавов на его основе до сих пор остается малоизученным вопросом и вызывает много споров в научном мире.

Цель работы: определение основного фактора, инициирующего биокоррозию сплавов алюминия Д16Т и АМг6 с образованием меди и ее продуктов окисления; определение механизма образования агломератов меди в процессе биокоррозии алюминиевых сплавов; оценка степени биологического воздействия ассоциации микроскопических грибов на сплавы алюминия с целью дальнейшей разработки научно-обоснованных и эффективных методов защиты алюминия и его сплавов от биокоррозии микромицетами.

Активные формы кислорода (АФК) и их роль в биокоррозии металлов.

Производство АФК, таких как супероксидный анион-радикал (O_2^\cdot),

пероксид водорода (H_2O_2), гидроксильный (HO^-) и гидропероксильный (HO_2^{\cdot}) радикалы, является характерным явлением для всех живых организмов, в том числе плесневых грибов [12]. На рис. 2 приведена схема взаимопревращений АФК.

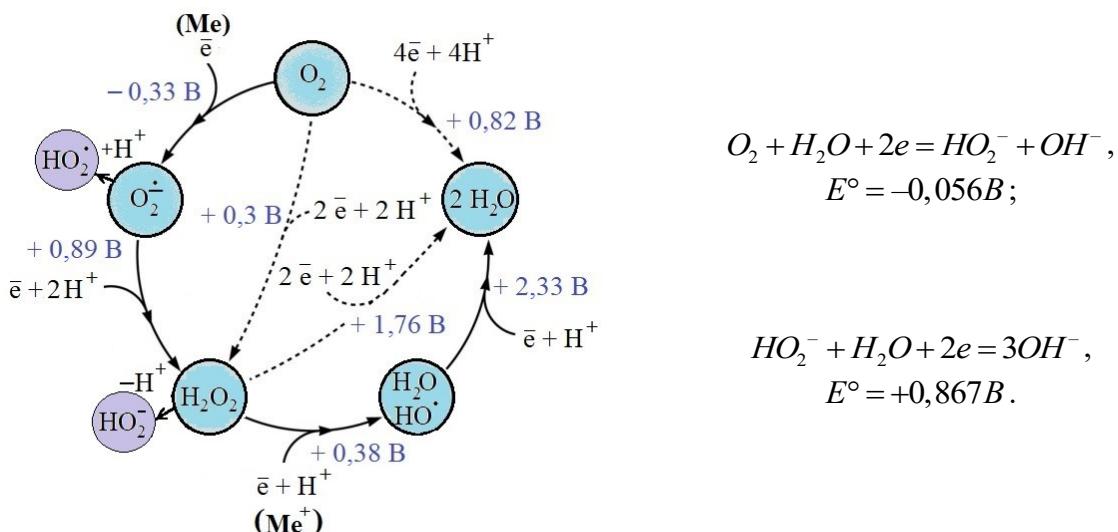


Рис. 2. Схематическое представление взаимосвязи и превращений АФК (значения стандартных электродных потенциалов полуреакций E° приведены относительно нормального водородного электрода).

АФК выполняют различные роли в клеточной защите и в передаче сигналов, контролирующих дифференцировку, развитие и патогенез клеток микромицетов, а также регулируют прорастание, развитие и межклеточные взаимодействия у микроскопических грибов [13, 14].

Пероксид водорода является основной АФК, образующейся в качестве побочного продукта в различных клеточных процессах, и является конечным продуктом многих метаболических реакций [15]. В физиологических условиях пероксид водорода проявляет слабые кислотные свойства:

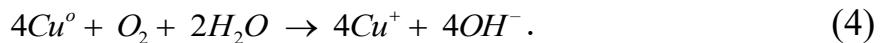
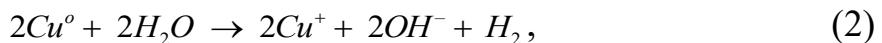
$$H_2O_2 \leftrightarrow HO_2^- + H^+, K_a = (1,4 \div 2,6) \cdot 10^{-12}, pK_a \sim 11,5. \quad (1)$$

Крупным прорывом в биотехнологии стало открытие лизитических ферментов микроскопических грибов – полисахаридных монооксигеназ (Lytic Polysaccharide Monoxygenases, LPMOs), которые участвуют в каталитическом окислительном расщеплении полисахаридов клеточной стенки растений и используются для деполимеризации растительных биополимеров. Было показано, что LPMOs используют пероксид водорода в качестве субстрата [16, 17].

В физиологическом диапазоне концентраций (от 1 нМ до 0,5 мкМ) H_2O_2 действует как сигнальная молекула, принимает участие в процессах дифференцировки, миграции и пролиферации клеток [18]. Широко известна способность почвенных микромицетов синтезировать и выделять

во внешнюю среду пероксид водорода [19, 20]. В ряде литературных источников рассматривается вопрос о влиянии пероксида водорода на коррозию металлов и о его участии в инициировании и стимулировании коррозии металлов [21, 22].

В настоящее время для деградации органических загрязнителей в качестве активатора кислорода и пероксида водорода в водном растворе применяется наноразмерная нульвалентная медь (nZVC) [23, 24]. Она рассматривается в качестве эффективного нанокатализатора во многих процессах, связанных с разложением органических загрязнителей, с участием АФК. При этом происходит ионизация меди в соответствии со схемами (2)-(4):



Далее происходит активация пероксида водорода в процессе коррозии nZVC в водном растворе. Пероксид водорода ускоряет коррозию nZVC с высвобождением Cu^+ , что приводит к дальнейшей активации H_2O_2 посредством Фентон-подобной реакции согласно схемам (5)–(6):

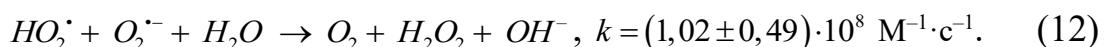
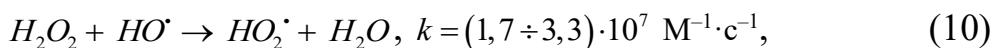
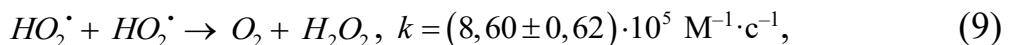
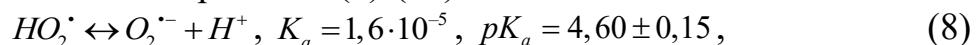


Супероксидный анион-радикал в инициировании биокоррозии металлов.

В предыдущих работах [25, 26] нами было показано, что O_2^\cdot , образующийся в процессе жизнедеятельности микроскопических грибов, может переходить в оклоклеточную среду и выполнять роль инициатора физико-химических процессов, ведущих к глубокой деструкции металлов. В водном растворе O_2^\cdot существует в виде равновесной смеси основания и сопряженной кислоты – гидропероксидного радикала [27] (7):



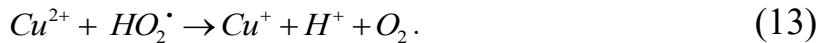
При $pH > 7$ равновесие сдвинуто в сторону O_2^\cdot , радикалы равновесной смеси в водных растворах быстро превращаются в устойчивые продукты в результате протекания параллельных реакций [28] в соответствии со схемами реакций (8)–(12):



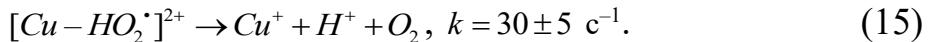
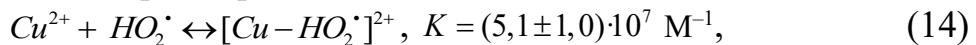
В результате протекания каскада этих реакций в среде накапливаются коррозионно-активные агенты, инициирующие коррозию

металла.

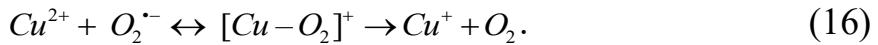
Радикалы HO_2^\cdot и O_2^\cdot участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. Так, радикал HO_2^\cdot легко взаимодействует с ионами Cu^{2+} с константой скорости реакции $k \sim 1 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [29] по схеме (13):



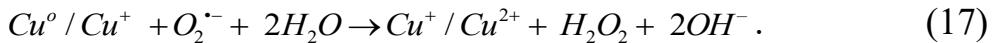
Доказано [30], что взаимодействие Cu^{2+} с гидропероксидным радикалом протекает через образование комплекса по схемам (14), (15):



Взаимодействие ионов Cu^{2+} с супероксидным анион-радикалом протекает с образованием промежуточного комплекса с константой скорости реакции $k = (1,7 \pm 0,3) \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ [31] по схеме (16):



Также реализуется реакция окисления нуль- и одновалентной меди с образованием пероксида водорода по схеме (17):



2. Экспериментальная часть

Обоснование выбора материалов. Объектами исследований были выбраны сплавы алюминия Д16Т и АМг6. Сплав Д16Т (дюралюминий) использовали после закалки и естественного старения в соответствии с ГОСТ 4784–2019. Сплав широко применяется для изготовления силовых элементов конструкций и оборудования топливных систем самолетов, кузовов автомобилей, деталей различных машин и агрегатов, работающих при низких температурах, в пищевой и фармацевтической промышленности. Сплав АМг6 (магналий) имеет высокое содержание магния в качестве легирующего элемента в соответствии с ГОСТ 4784-97. Сплав широко востребован в машиностроении (вагоностроение, кораблестроение, аэрокосмическая отрасль, строительство). В предыдущих работах нами исследовалась биокоррозия алюминия марки АД0 и сплавов на основе алюминия: В65, Д16, АМг6 [32].

Подготовка образцов и оценка биокоррозионных повреждений. Образцы металлов в виде брусков 30x20x15 мм шлифовали до получения гладкой поверхности и полировали до зеркального блеска. Затем их промывали водой, обезжиривали поверхность гексаном, этиловым спиртом и высушивали.

Продукты коррозии после экспозиции удаляли механически с помощью щетки с полимерным ворсом. Прочно сцепленные с поверхностью удаляли ультразвуковой очисткой с частотой ультразвука 20–30 кГц. Средой являлась деионизированная вода с температурой

(20±2)°С.

Микробиологические эксперименты. В экспериментах использовали смесь штаммов микроскопических грибов, споры которых были выделены из воздуха производственных помещений и из смызов с рабочих поверхностей оборудования. Поверхность плотной питательной среды Чапека-Докса с сахарозой, разлитая в чашки Петри, инокулировалась спорами микромицетов. Чашки Петри с плотной питательной средой в открытом виде находились в рабочих зонах производственных помещений в течение нескольких часов, после чего помещались в термостат для развития газона микромицетов. Согласно второму способу, на поверхность плотной питательной среды наносили смызы с поверхностей оборудования в виде суспензии спор микромицетов в деионизированной воде. Далее на газон микромицетов помещали подготовленные металлические образцы. Опыт длился не менее 10 месяцев при температуре (27±2)°С в биологическом термостате. Сравнение проводили с контрольными образцами, помещенными на стерильные питательные среды.

Идентификацию микромицетов с поверхности металлических образцов проводили на основании их морфолого-культуральных особенностей, используя определители [33, 34]. Микрофлора алюминиевых сплавов в основном представлена родами микромицетов: *Aspergillus*, *Alternaria* и *Penicillium*.

Приборы и методы. Для выявления микроструктуры наиболее сильных биоповреждений образцы анализировали с помощью оптического микроскопа ZEISS Axio Imager Vario. Применяли соответствующие методы исследования в отраженном свете: светлое поле, темное поле, поляризационный контраст, дифференциально-интерференционный контраст (ДИК Номарского).

Анализ тонкой структуры прокорродировавших образцов проводили на сканирующем электронном микроскопе VEGA 3 XMN производства компании TESCAN с катодом из гексаборида лантана LaB_6 . Качественный и полукачественный анализ химических элементов, присутствующих в составе продуктов коррозии после экспозиции образцов на газоне консорциума микромицетов, проводили методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDS-анализ). Оборудованием для проведения EDS-анализа выступал энергодисперсионный спектрометр на основе полупроводникового кремний-дрейфового детектора с безазотным охлаждением, установленный на колонну растрового электронного микроскопа с диапазоном детектируемых элементов от $Be(4)$ до $Pu(94)$.

Рентгенодифракционные эксперименты по фазовому анализу образцов выполняли на рентгеновском дифрактометре Bruker D8 Discover (оборудование ЦКП ИФМ РАН) в симметричной геометрии Брэгга-

Брентано с использованием $CuK\alpha$ излучения. Съемка дифрактограмм осуществлялась $\theta/2\theta$ -сканированием в угловом диапазоне от 10° до 80° по углу 2θ . Шаг по углу составлял $0,05^\circ$. Использовался линейный позиционно-чувствительный детектор LynxEYE со 192 независимыми каналами и угловой апертурой 2° по углу 2θ . Время накопления в точке составляло 2 сек. Идентификацию кристаллических фаз осуществляли путем сопоставления полученных экспериментальных значений межплоскостных расстояний и относительных интенсивностей с эталонными по базам данных COD и PDF-2 release 2011.

Идентификация АФК. Для регистрации внеклеточного супероксидного анион-радикала O_2^{\cdot} использовали краситель – нитросиний тетразолий хлорид ($HCT^{2+}\cdot 2Cl^-$), который широко применяется для этих целей в разнообразных химических и биохимических исследованиях [35]. При взаимодействии с супероксидным анион-радикалом НСТ восстанавливается до моно- и диформазанов, характеризующихся максимумами поглощения при 525 нм ($\varepsilon_{525}=23400\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ в $EtOH$) и 605 нм ($\varepsilon_{605}=40200\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ в смеси $EtOH-CHCl_3$) соответственно [36]. Для экстракции формазана использовали смесь $DMSO-CHCl_3$ в объемном соотношении 2:1. Концентрацию окрашенного формазана в анализируемых пробах определяли с помощью спектрофотометра UV-3600i Plus (Shimadzu). В качестве контроля использовали раствор красителя с добавлением супероксиддисмутазы (СОД, 15 ед. акт.), которая при $pH=7$ и температуре $(20-25)^\circ\text{C}$ с константой скорости $k=(1,8-2,3)\cdot 10^9\text{ M}^{-1}\cdot\text{c}^{-1}$ с абсолютной специфичностью катализирует реакцию дисмутации супероксидного анион-радикала до H_2O_2 и O_2 [37].

Для идентификации пероксида водорода в жидким экссудате, образующимся в процессе биокоррозии алюминия, применяли FOX-метод, основанный на изменении окраски красителя ксиленолового оранжевого ($\lambda_{max}=540\text{ nm}, \varepsilon_{540}=26800\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Реакционный реагент включал: 500 мкмоль $NH_4Fe(SO_4)_2\cdot 12H_2O$; 50 ммоль H_2SO_4 ; 100 ммоль сорбита; 250 мкМ ксиленолового оранжевого [38]. Измерения проводили на спектрофотометре UV-3600i Plus (Shimadzu) при длине волны 540 нм. Количество пероксида водорода рассчитывали с помощью калибровочных кривых. Концентрацию H_2O_2 определяли титановым методом [39].

3. Результаты и обсуждение

Начальной стадией биокоррозии является локальное появление на поверхности газона консорциума микромицетов, контактирующегося с металлом, экссудата в виде прозрачной легко подвижной жидкости с

pH 8–9. Образование экссудата было замечено также при изучении биокоррозии алюминия в условиях воздействия на него индивидуальных штаммов микромицетов [32]. Сходства прослеживаются также в стадийности процесса и общих наблюдениях. В течение двух-трех суток с начала эксперимента консистенция экссудата становится гелеобразной. Прозрачный гель со временем превращается в студень, подвергается старению и происходят его структурные изменения: уплотнение, помутнение и кристаллизация, а значение *pH* постепенно смещается к нейтральному.

Изучение морфологии поверхности образцов на начальной стадии биокоррозии показало, что мицелий микромицетов закрепляется на поверхности образцов и далее проникает сквозь защитную пленку вглубь металла (см. рис. 3).

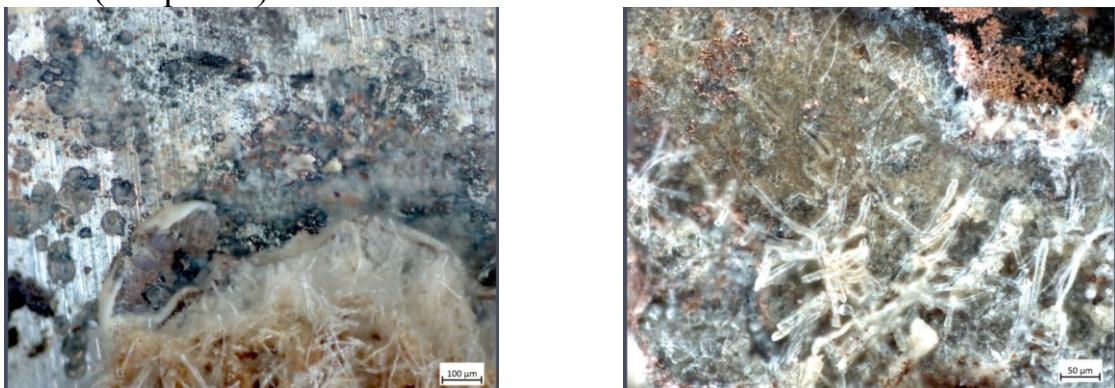


Рис. 3. Биопленка микроскопических грибов, прочно сцепленная с поверхностью сплавов.

После адсорбции и закрепления гиф микромицетов на определенных энергетически выгодных участках поверхности сплава, гифы и конидии микромицетов внедряются в рыхлые и дефектные места поверхностных слоев металла. В этих местах впоследствии обнаруживаются питтинги и язвы.

Механизм биокоррозии алюминия. Биокоррозия алюминия – это комплексное явление, включающее в себя несколько стадий [32]: 1) взаимодействие компонентов защитной пассивной пленки и чистого металла с активными формами кислорода (O_2^{\cdot} , H_2O_2), выделяющимися в процессе жизнедеятельности микроскопических грибов; 2) электрохимическая коррозия сплава, протекающая за счет работы короткозамкнутых гальванических элементов; 3) восстановительная активация кислорода с участием наноразмерных нульвалентных металлов (алюминия *nZAl*, меди *nZVC*) с образованием пероксида водорода, участвующего в прямом разрушении металла и в каскаде реакций АФК; 4) гетерогенное разложение пероксида водорода по механизму, схожему с реакцией Фентона с образованием коррозионно-активного иона OH^- .

Интенсивные коррозионные повреждения поверхности сплавов Д16Т и АМг6 на начальных этапах воздействия микроскопических грибов позволяют предположить, что основными коррозионно-активными агентами являются, прежде всего, OH^- и H_2O_2 . Однако при реализации только электрохимического механизма коррозии становится сложным объяснить непрерывное накопление OH^- -ионов в объеме капли жидкого экссудата на начальных этапах биокоррозии. В этот период явных коррозионных повреждений не наблюдается, однако капли экссудата, находящиеся в непосредственном контакте с поверхностями образцов, растут в объеме и вместе с этим увеличивается их значение pH (с 7 до 10-11). При воздействии микроскопических грибов OH^- -ионы постоянно накапливаются в жидком экссудате в местах непосредственного контакта с металлом, что возможно только в результате протекания в клетках микроскопических грибов дыхательных и обменных процессов с участием кислорода и воды.

Оценка коррозионных повреждений. Коррозионные разрушения развиваются по механизму питтинговой коррозии, переходящей в язвенную, и локализуются в местах контакта алюминия с экссудатом, продуцируемым микромицетами. После 10 месяцев экспозиции вся поверхность образцов, находящаяся в тесном контакте с мицелием консорциума микроскопических грибов, была подвергнута коррозионным поражениям. Характерными признаками финальной стадии биокоррозии сплавов алюминия являются глубокие язвы (до 2-3 мм) и каверны различной формы, заполненные продуктами коррозии (см. рис. 3, 4).

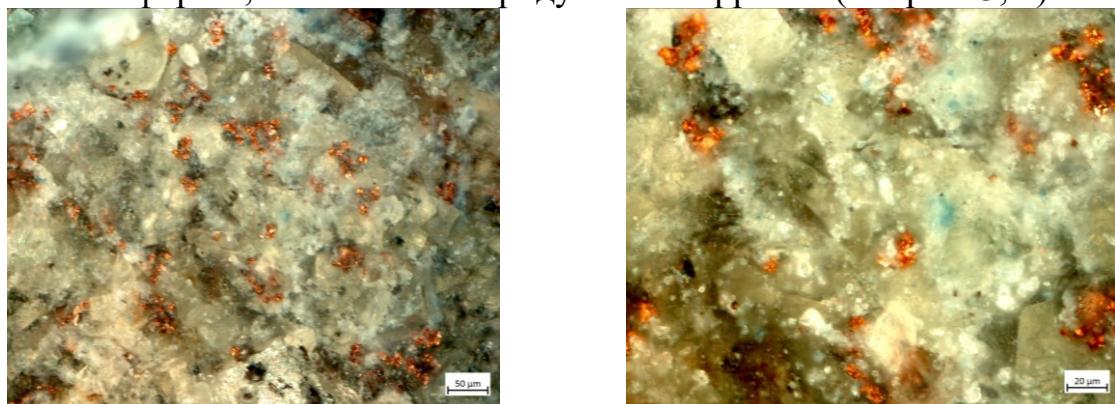


Рис. 4. Агломераты и субмикронные кластеры меди в продуктах коррозии Д16Т.

В объеме продуктов коррозии белого цвета нами были замечены кристаллиты меди различной структуры, морфологии и размеров. На рис. 4 представлены фотографии агломератов меди и ее субмикронных кластеров.

На рис. 5 приведены фотографии дендритов меди с древовидной ветвящейся структурой, а также образования с пористой и губчатой структурой.

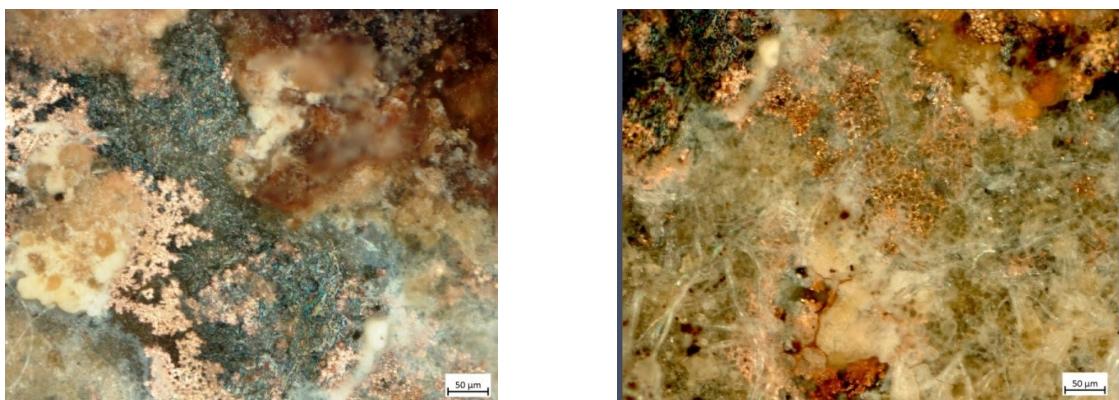


Рис. 5. Дендриты и губчатые структуры меди на поверхности образцов.

Наряду с продуктами коррозии белого и коричневого цвета в виде скоплений неправильной формы, мы наблюдали продукты коррозии светло-голубого оттенка, характерные для соединений меди (см. рис. 6).

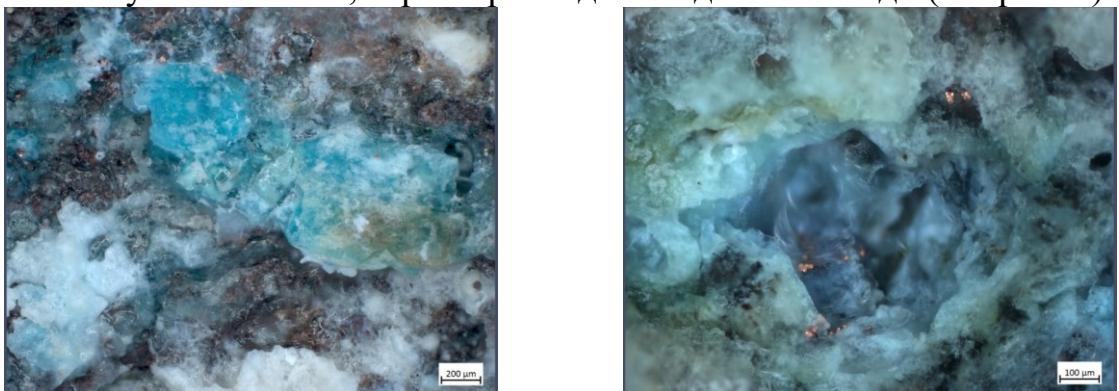


Рис. 6. Медь и продукты ее биокоррозии на поверхности сплавов.

На начальном этапе наблюдается локальная избирательная коррозия на небольшой площади, которая интенсивно распространяется вглубь металла по границам зерен. Далее локальная коррозия в виде пятен распространяется по поверхности образцов. Наблюдения с помощью электронного микроскопа позволили обнаружить наличие очагов межкристаллитной коррозии (см. рис. 7, 8). Глубина коррозионных поражений на некоторых участках поверхности достигает 1,5-2,0 мм. Коррозионно-активная среда, формирующаяся в результате жизнедеятельности микроскопических грибов и содержащая АФК и гидроксид-ионы, поступает вглубь металла и разрушает внешние границы зерен сплавов Д16Т и АМг6. Происходит фрагментарное разрушение зерен. В этом случае материал границы зерен выполняет роль анода по отношению к зернам, богатым медью, которые являются катодными участками.

Микроструктурные исследования образцов показали наличие участков биокоррозионных разрушений под поверхностью металла. Подповерхностная коррозия начинается на поверхности металла и распространяется вглубь. Мицелий микроскопических грибов может легко

проникать в образующиеся полости в объеме сплава, что способствует углублению процесса.

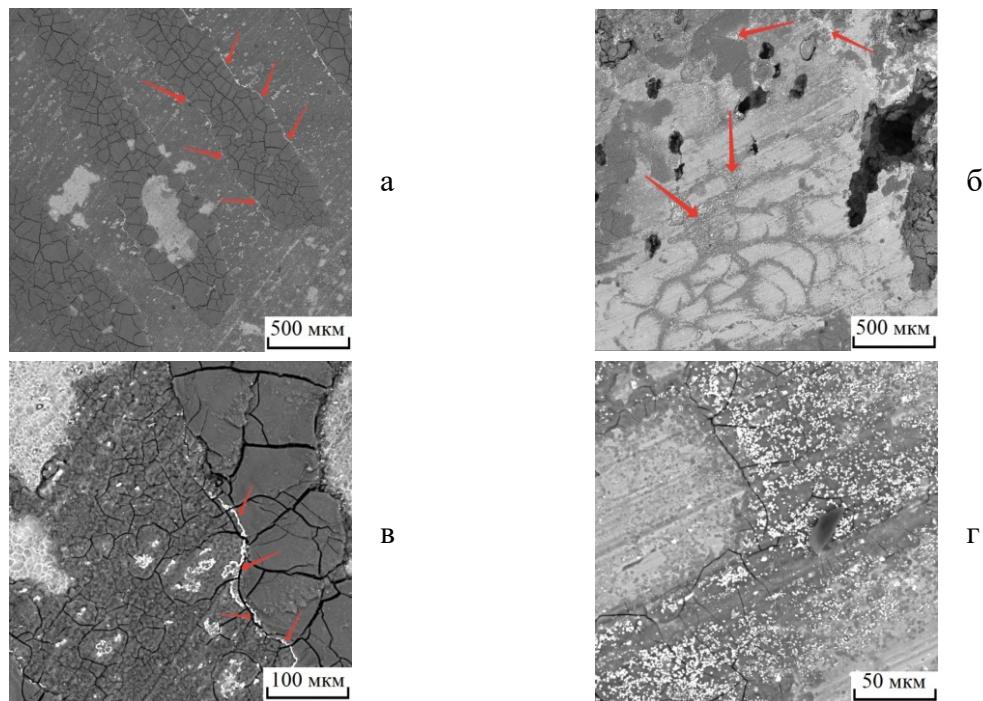


Рис. 7. Микрофотографии поверхности образца Д16, находившейся в контакте с консорциумом микроскопических грибов: общий вид (а, в); микроструктура с продуктами коррозии и остатками мицелия микромицетов (б, г). Стрелками показаны скопления субмикронных агломератов меди.

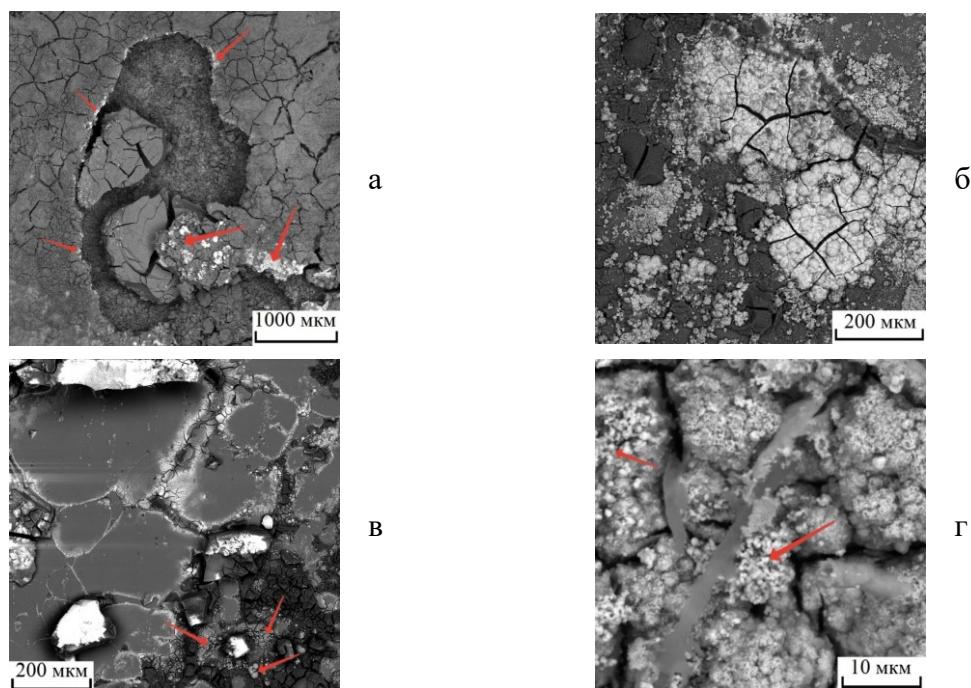


Рис. 8. Микрофотографии поверхности образца АМг6, находившейся в контакте с консорциумом микроскопических грибов: общий вид (а, в); микроструктура с продуктами коррозии и остатками мицелия микромицетов (б, г). Стрелками показаны скопления субмикронных агломератов меди.

На рис. 7, 8 представлены микрофотографии участков поверхности изучаемых сплавов, на которых четко видны кристаллиты меди и ее субмикронные агломераты. Выделение меди происходит по границам зерен.

В Таблицах 1 и 2 приведены результаты EDS-анализа продуктов коррозии образцов Д16Т и АМгб на разных участках поверхности в соответствии с обозначениями на рис. 9, 10 соответственно. EDS-анализ подтвердил присутствие в продуктах коррозии кислородных соединений алюминия, магния и меди. Помимо кислорода среди неметаллов были зафиксированы фосфор, сера и азот. На наш взгляд, источниками этих неметаллов являются остатки клеток микроскопических грибов и элементов питательной среды.

Таблица 1. Результаты EDS-анализа (содержание элементов в % по массе) продуктов биокоррозии сплава Д16Т на разных участках поверхности.

Элемент	Условный номер спектра (в соответствии с обозначениями на рис. 9)					
	Спектр 1	Спектр 2	Спектр 3	Спектр 4	Спектр 5	Спектр 6
O	33,3	21,2	39,9	43,6	47,9	12,2
Al	56,7	73,4	20,7	21,0	40,3	82,9
Mg	1,3	1,2	2,9	2,8	1,3	1,3
Cu	6,4	3,4	33,3	29,6	7,0	2,9
Прочие (N, P, S)	2,3	0,8	3,2	3,00	3,5	0,7
Сумма	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Таблица 2. Результаты EDS-анализа (содержание элементов в % по массе) продуктов биокоррозии сплава АМгб на разных участках поверхности.

Элемент	Условный номер спектра (в соответствии с обозначениями на рис. 10)							
	Спектр 1	Спектр 2	Спектр 3	Спектр 4	Спектр 5	Спектр 6	Спектр 7	Спектр 8
O	28,5	13,6	23,2	4,9	5,1	44,1	12,2	19,4
Al	28,3	2,6	63,1	87,8	87,7	11,3	2,2	61,3
Mg	3,3	0,8	4,7	6,3	6,1	2,3	1,0	5,2
Cu	24,5	78,1	0,6	0,3	0,5	10,5	77,7	6,8
Прочие (S, P, N)	15,4	4,9	8,4	0,7	0,6	31,8	6,9	7,3
Сумма	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

На рис. 11, 12 приведены результаты рентгенофазового анализа продуктов коррозии образцов сплавов Д16Т и АМгб, находящихся на разных участках поверхности. Из рис. 11 видно, что изначально поверхность слитка Д16Т имеет слой естественного оксида и на дифрактограмме фиксируется фаза байерита. На дифрактограмме прокорродированного участка образца фиксируются более выраженные пики гидроксида алюминия (гиббсита) и слабые пики дополнительной фазы. Из результатов исследований элементного состава продуктов биокоррозии изучаемого образца, проведенного методом рентгенофлюоресцентного анализа, было сделано предположение, что эти

пики относятся к фазе меди, что и подтвердилось при поиске в базе данных PDF. Оценка размеров кристаллитов по формуле Шеррера-Селякова дала значения около 10 нм для гиббсита $Al(OH)_3$, а также около 30 нм для меди. На дифрактограмме порошкообразных продуктов биокоррозии, собранных с поверхности образца, имеются пики, относящиеся к фазе гиббсита с размером кристаллитов около 9 нм.

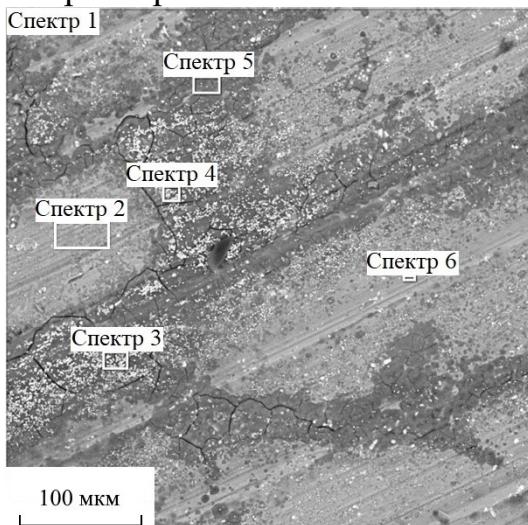


Рис. 9. Результаты EDS-анализа продуктов биокоррозии сплава Д16Т.

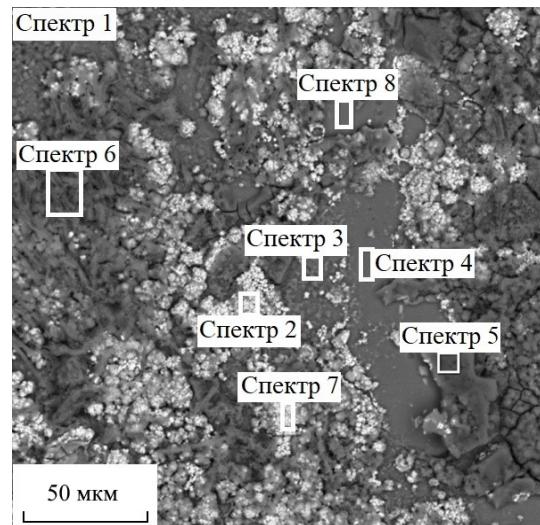


Рис. 10. Результаты EDS-анализа продуктов биокоррозии сплава АМг6.

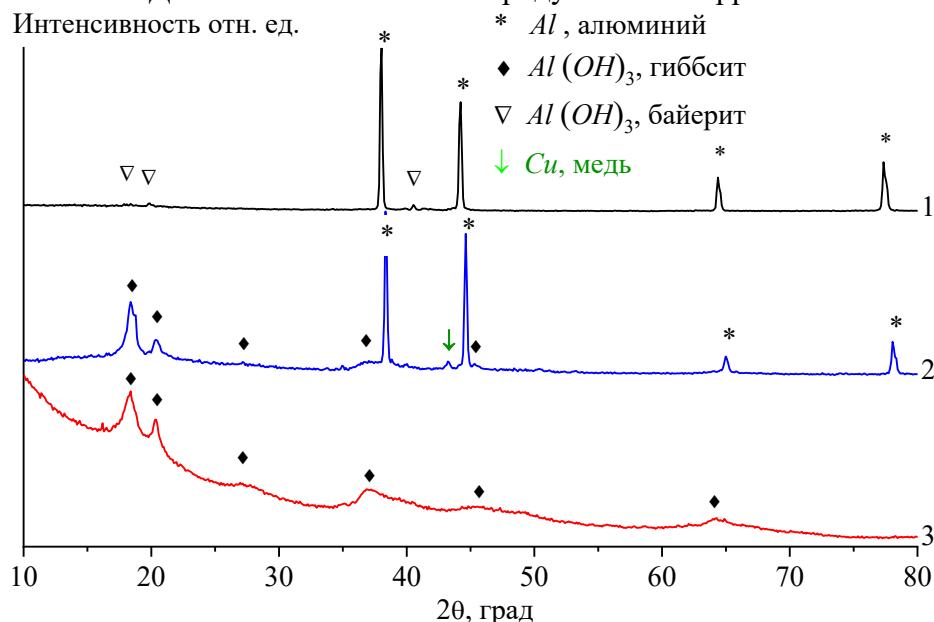


Рис. 11. Дифрактограммы образца Д16Т: 1 – исходная некородированная поверхность; 2 – корродированная поверхность образца, взаимодействующая с ассоциацией микромицетов; 3 – порошкообразные продукты биокоррозии сплава, снятые с поверхности, подвергающейся воздействию микромицетов.

Из рис. 12 видно, что исходная поверхность слитка АМг6 также покрыта слоем естественного оксида и на дифрактограмме содержится пик, отвечающий фазе байерита. На дифрактограмме

прокорродированного участка образца кроме фазы гиббсита, присутствуют пики, характеризующие фазу меди. В случае продуктов биокоррозии АМг6, находящихся на поверхности образца, пики, характеризующие фазу меди на дифрактограмме, значительно более выражены, чем для продуктов биокоррозии Д16Т. Кроме того, на дифрактограмме продуктов биокоррозии есть пики, вероятно характеризующие фазу интерметаллида $MgAl$, что подтверждается данными рентгенофлюoresцентного анализа. Оценки размеров кристаллитов обнаруженных фаз: Cu – 26 нм, $Al(OH)_3$ – 11 нм, $MgAl$ – 10 нм. В порошкообразных продуктах биокоррозии идентифицируются пики гиббсита с размером кристаллитов около 8 нм и также слабые пики интерметаллида $MgAl$.

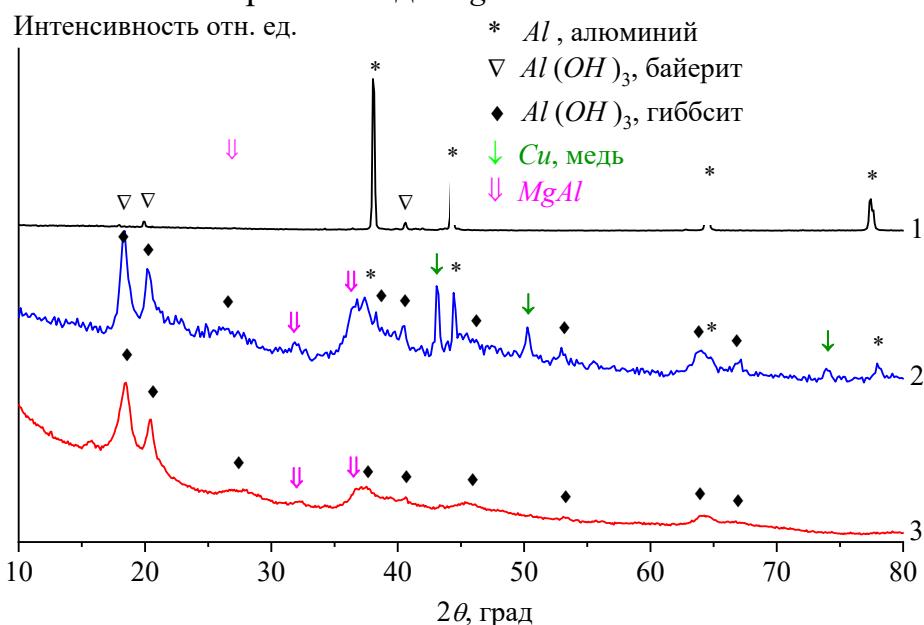


Рис. 12. Дифрактограммы образца АМг6: 1 – исходная некорродированная поверхность; 2 – корродированная поверхность образца, взаимодействующая с ассоциацией микромицетов; 3 – порошкообразные продукты биокоррозии сплава, снятые с поверхности, подвергающейся воздействию микромицетов.

В продуктах биокоррозии Д16Т и АМг6 нами были обнаружены также $\alpha-Al(OH)$, $5Al_2O_3 \cdot H_2O$, Cu_2O , CuO [40, 41].

О наличии меди в продуктах коррозии Д16Т и АМг6. Наличие в составе продуктов биокоррозии изучаемых сплавов соединений меди и магния можно объяснить компонентно-избирательной коррозией сплава и селективным вытравливанием из его структуры алюминия. Вероятно, в поверхностных слоях Д16Т и АМг6 происходит более интенсивное разрушение алюминия.

Истинная плотность гиббсита ($2,44 \text{ г}/\text{см}^3$) и байерита ($2,53 \text{ г}/\text{см}^3$) ниже истинной плотности оксидов меди: CuO ($6,45 \text{ г}/\text{см}^3$) и Cu_2O

(6,11 г/см³). Это может способствовать протеканию процессов коагуляции продуктов биокоррозии меди.

Взаимодействие меди и магния с АФК при $pH > 7$ термодинамически возможно. Это находит подтверждение в результатах EDS-анализа продуктов коррозии (см. рис. 9, 10).

Мы полагаем, что окисление меди в щелочной среде реализуется с образованием ее кислородных соединений по схемам (18)–(20):

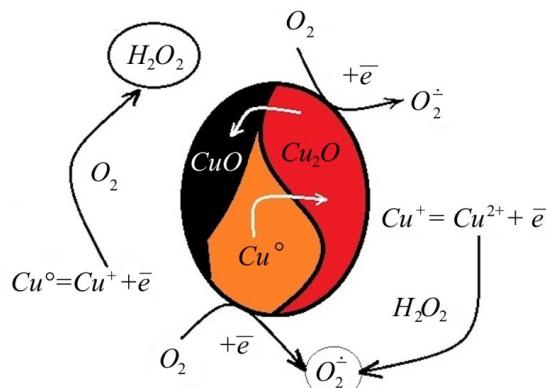
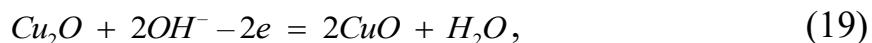


Рис. 13. Схематическое представление участия нульвалентной меди в образовании АФК (окислительное растворение меди и восстановительная активация АФК).

Нульвалентная медь имеет сильную тенденцию реагировать с OH^- . Основываясь на термодинамических расчетах и кинетических исследованиях [42] можно предположить, что куприт (Cu_2O) является одним из первых твердых продуктов биокоррозии меди, образующимся на ее поверхности. В естественных условиях поверхность меди покрыта двухслойной купритной пленкой. Первый слой на поверхности металла компактен и имеет толщину ~2 мкм. Второй слой куприта имеет более высокую пористость. Из-за этих структурных различий на границе раздела компактной и пористой купритной пленки создается высокое электрическое сопротивление. Это уменьшает переход электронов в пористую пленку. В свою очередь это приводит к ее дальнейшему окислению и последующему образованию $Cu(II)$.

Образование гидроксильного радикала способствует протеканию каскада окислительно-восстановительных реакций с участием как металлической меди, так и ее ионизированных форм. На рис. 13 приведена схема, иллюстрирующая участие нульвалентной меди в восстановительной активации АФК, а также ее окислительное растворение в результате взаимодействия с АФК.

Межкристаллитная коррозия. Движущей силой межкристаллитной

коррозии (МКК) сплавов алюминия (см. рис. 14) является разница электрохимических потенциалов, возникающая на границе раздела матрица/частица (алюминиевый твердый раствор/вторая фаза), величина которой, в общем случае, тем больше, чем менее когерентна межфазная граница и чем больше размер частицы.

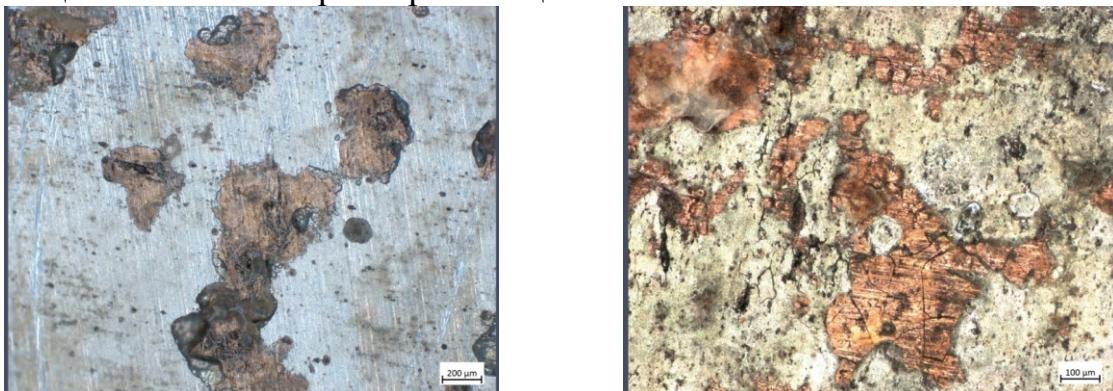


Рис. 14. Кристаллиты меди на поверхности сплава Д16Т, находившегося под влиянием микроскопических грибов.

Интенсивность и глубина МКК зависят от строения матрицы, и прежде всего от протяженности и структуры границ зерен и субзерен. Поскольку сплав Д16Т находится на границе ($\alpha + S$) и ($\alpha + S + \theta$) областей, то в нем могут выделяться два вида упрочняющих частиц – θ (Al_2Cu) и S (Al_2MgCu), поляризация которых по отношению к матрице различна: θ фаза является катодом по отношению к матрице, а S фаза – анодом.

Фаза интерметаллидного соединения Al_2Cu выделяется по границам зерен, является малоустойчивой и избирательно разрушается вследствие электрохимической гетерогенности. Из интерметаллидного соединения Al_2Cu алюминий может избирательно переходить в раствор, а медь образует кластеры и конгломераты неправильной формы. Поверхность становится пористой, образуются полости различной конфигурации и глубины (см. рис. 6, 7). В дальнейшем и медь подвергается разрушению, о чем свидетельствует наличие продуктов ее окисления.

Процесс растворения S фазы более сложен. Сначала она растворяется по анодному механизму, теряя ионы алюминия и магния. Это приводит к изменению химического состава фазы, и она становится катодом по отношению к матрице с соответствующим изменением механизма ее выкрашивания.

Исходя из полученных данных следует, что МКК сплава Д16Т в условиях воздействия на него микроскопических грибов обусловлена синергическим эффектом структурных и фазовых факторов. Коррозионные поражения характеризуются большой глубиной и разветвленностью. Это может быть обусловлено выделением фаз по границам субзерен и возникновением большей движущей силы коррозии (разницей

электрохимических потенциалов). Наряду с этим наблюдаются сравнительно узкие, но весьма глубокие каналы коррозионных поражений, которые сливаются в сплошные коррозионные очаги в виде язв. Такая картина может быть обусловлена распадом твердого раствора, который приводит к формированию в рекристаллизованных областях крупных частиц стабильных S и θ фаз [43].

Исследование микроструктуры образцов сплава АМг6 показало наличие участков биокоррозионного поражения под поверхностью сплава, достигающих глубины до 900 мкм. По границам этих участков также наблюдалось развитие межкристаллитной коррозии, что может быть вызвано наличием β -фазы (Al_3Mg_2) по границам зерен в виде сплошной сетки. Количество β -фазы определяет прочностные свойства, а характер ее распределения – коррозионную стойкость сплава. Имеющиеся участки в виде строчечных скоплений интерметаллидов в структуре основного сплава являются дополнительным усиливающим фактором проникновения разрушений вглубь металла.

К вопросу о защите от биокоррозии металлов. Классические методы защиты от коррозии, заключающиеся в применении органических ингибиторов или покрытий на основе полимерных материалов, в условиях развития микроскопических грибов становятся малоэффективны. Наиболее эффективными в данных условиях будут методы ингибирования, а не борьбы с биокоррозией. Образование и выделение во внешнюю среду микромицетами активных форм кислорода является одним из основных факторов биокоррозии. Наличие воды способствует превращению АФК в их наиболее стабильные и «долгоживущие» формы, которые либо сами являются инициаторами биокоррозии металлов, либо запускают каскад реакций с участием гидроксидных ионов.

На модельных системах показано, что поверхность сплавов алюминия, контактировавшая с сообществом микромицетов, подвергается глобальным разрушениям. Основываясь на биокоррозии металлов при воздействии на них микроскопических грибов, будут разработаны эффективные методы защиты от биокоррозии.

4. Заключение

В процессе жизнедеятельности микроскопических грибов образуются активные формы кислорода, инициирующие биокоррозию сплава Д16Т. Начальная стадия биокоррозии обусловлена гидролизом защитной пассивной пленки алюминия. На стадии интенсивной биокоррозии образуются кислородсодержащие соединения алюминия в виде водонасыщенного геля. Далее происходит наработка этого продукта и уменьшение его водопроницаемости. Гель подвергается «старению» и

превращается в кристаллические продукты. Конидии и гифы микроскопических грибов адгезируются, механически закрепляются на поверхности металла и проникают в поверхностные слои и вглубь металла, вызывая его коррозионные разрушения в виде питтингов, язв и каверн. Инициирование биокоррозии металлов является следствием гиперпродукции клетками микромицетов активных форм кислорода.

Развитие межкристаллитной и питтинговой коррозии сплавов Д16Т и АМг6 происходит в местах контакта с экссудатом, который за счет протекания каскада реакций с участием АФК локально обогащается гидроксид-ионами. Зарождение и развитие питтинга на поверхности дюралюминия протекает в дефектах пассивной оксидной пленки вследствие вытеснения кислородсодержащих поверхностных соединений алюминия и их взаимодействия с коррозионно-активными анионами OH^- и АФК. Пероксид водорода, как промежуточный продукт метаболизма микромицетов, на поверхности сплавов может участвовать в фентоновском процессе или гетерогенно разлагаться, также провоцируя развитие биокоррозии алюминия.

Сканирующей электронной микроскопией и рентгенофазовым анализом в продуктах биокоррозии Д16Т и АМг6 показано образование наноразмерных и субмикронных кластеров меди. Высказано предположение о механизме работы системы «нульвалентная медь – пероксид водорода», которая может запускать каскад реакций, ведущих к деструктивному окислению меди.

Конечной целью исследований микробной коррозии металлов является разработка инструментов, направленных на диагностику возникновения, изучения механизмов и скорости биокоррозии металлов. Это позволит реализовать наиболее эффективные стратегии защиты. Необходим системный биологический подход, включающий инновационные методы выделения и характеристики коррозионно-активных штаммов микроскопических грибов; проведение функциональных геномных исследований; изучение особенностей функционирования микробных сообществ и динамично развивающихся взаимоотношений с занимаемыми ими средами обитания; уникальных метаболитов, являющихся конечными точками специфических клеточных процессов.

Библиографический список:

1. **Zhao, J.** Biocorrosion of copper metal by *Aspergillus niger* / J. Zhao, L. Csetenyi, G.M. Gadd // International Biodeterioration and Biodegradation. – 2020. – V. 154. – Art. № 105081. – 10 p. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.105081.
2. **Horeh, N.B.** Bioleaching of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries using *Aspergillus niger* / N.B. Horeh, S.M. Mousavi, S.A. Shojaosadati // Journal of Power Sources. – 2016. – V. 320. – P. 257-266. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2016.04.104.

3. **Lekbach, Y.** Microbial corrosion of metals: The corrosion microbiome / Y. Lekbach, T. Liu, Y. Li et al. // Advances in Microbial Physiology. – 2021. – V. 78. – P. 317-390. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2021.01.002.
4. **Tang, H.Y.** Stainless steel corrosion via direct iron-to-microbe electron transfer by Geobacter species / H.Y. Tang, C. Yang, T. Ueki et al. // The ISME Journal. – 2021. – V. 15. – № 10. – P. 3084-3093. DOI: 10.1038/s41396-021-00990-2.
5. **Li, S.** Extracellular electron transfer of *Bacillus cereus* biofilm and its effect on the corrosion behaviour of 316L stainless steel / S. Li, L. Li, Q. Qu et al. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2019. – V. 173. – P. 139-147. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.09.059.
6. **Costerton, J.W.** How Bacteria Stick / J.W. Costerton, G.G. Geesey, K.J. Cheng // Scientific American. – 1978. – V. 238. – I. 1. – P. 86-95. DOI: 10.1038/scientificamerican0178-86.
7. **Lamin, A.** Quorum sensing inhibitors applications: A new prospect for mitigation of microbiologically influenced corrosion / A. Lamin, A.H. Kaksonen, I.S. Cole, X.-B. Chen // Bioelectrochemistry. – 2022. – V. 145. – Art. № 108050. – 10 p. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108050.
8. **Huang, S.** Field testing of an enzymatic quorum quencher coating additive to reduce biocorrosion of steel / S. Huang, C. Bergonzi, S. Smith et al. // bioRxiv. – 2022. – Art. № 518914. – 31 p. DOI: 10.1101/2022.12.02.518914.
9. **Mehmood, A.** Fungal quorum-sensing molecules and inhibitors with potential antifungal activity: A review / A. Mehmood, G. Liu, X. Wang et al. // Molecules. – 2019. – V. 24. – I 10. – Art. № 1950. 18 p. DOI: 10.3390/molecules24101950.
10. **Wang, Y.** Extracellular polymeric substances and biocorrosion/biofouling: Recent advances and future perspectives / Y. Wang, R. Zhang, J. Duan et al. // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23. – I. 10. – Art. no. 5566. – 20 p. DOI: 10.3390/ijms23105566.
11. **Pal, M.K.** Microbial influenced corrosion: Understanding bioadhesion and biofilm formation / M.K. Pal, M. Lavanya // Journal of Bio- and Triboro-Corrosion. – 2022. – V. 8. – Art. № 76. – 13 p. DOI: 10.1007/s40735-022-00677-x.
12. **Belozerskaya, T.A.** Reactive oxygen species and the strategy of antioxidant defense in fungi: A review / T.A. Belozerskaya, N.N. Gessler // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2007. – V. 43. – I. 5. – P. 506-515. DOI: 10.1134/S0003683807050031.
13. **Sies, H.** Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents / H. Sies, D.P. Jones // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2020. – V. 21. – I. 7. – P. 363-383. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.
14. **Gessler, N.N.** Reactive oxygen species in regulation of fungal development / N.N. Gessler, A.A. Aver'yanov, T.A. Belozerskaya // Biochemistry (Moscow). – 2007. – V. 72. – I. 10. – P. 1091-1109. DOI: 10.1134/S0006297907100070.
15. **Aslanidi, K.B.** Resistance of microscopic fungi to oxidative stress / K.B. Aslanidi, A.E. Ivanova, Y.V. Blazhevskaya et al. // Doklady Biochemistry and Biophysics. – 2003. – V. 392. – I. 1. – P. 241-243. DOI: 10.1023/a:1026178410988.
16. **Hedison, T.M.** Insights into the H₂O₂-driven catalytic mechanism of fungal lytic polysaccharide monooxygenases / T.M. Hedison, E. Breslmayr, M. Shanmugam et al. // The FEBS Journal. – 2021. – V. 288. – I. 13. – P. 4115-4128. DOI: 10.1111/febs.15704.
17. **Bissaro, B.** Oxidative cleavage of polysaccharides by monocopper enzymes depends on H₂O₂ / B. Bissaro, Å.K. Røhr, G. Müller et al. // Nature Chemical Biology. – 2017. – V. 13. – I. 10. – P. 1123-1128. DOI: 10.1038/nchembio.2470.
18. **Sideri, M.** Differentiation and hydrogen peroxide production in *Sclerotium rolfsii* are induced by the oxidizing growth factors, light and iron / m. sideri, c.d. georgiou // Mycologia. – 2000. – V. 92. – I. 6. – P. 1033-1042. DOI: 10.2307/3761468.
19. **Zhang, J.** Guttation capsules containing hydrogen peroxide: an evolutionarily conserved NADPH oxidase gains a role in wars between related fungi / J. Zhang, Y. Miao, M.J. Rahimi et al. // Environmental Microbiology. – 2019. – V. 21. – № 8. – P. 2644-2658. DOI: 10.1111/1462-2920.14575.
20. **Wiberth, C.-C.** Oxidative enzymes activity and hydrogen peroxide production in white-rot fungi and soil-borne micromycetes co-cultures / C.-C. Wiberth, A.-Z. C. Casandra, F. Zhiliang, H. Gabriela // Annals of Microbiology. – 2018. – V. 69. – I. 2. – P. 171-181. DOI: 10.1007/s13213-018-1413-4.
21. **Xu, W.** Accelerated corrosion of 316L stainless steel in simulated body fluids in the presence of H₂O₂ and albumin / W. Xu, F. Yu, L. Yang et al. // Materials Science and Engineering: C. – 2018. – V. 92. – P. 11-19. DOI: 10.1016/j.msec.2018.06.023.
22. **Dong, C.** Coupling mechanism between wear and oxidation processes of 304 stainless steel in hydrogen peroxide environments / C. Dong, C. Yuan, X. Bai et al. // Scientific Reports. – 2017. – V. 7. – I. 1. – Art. № 2327. 9 p. – DOI: 10.1038/s41598-017-02530-5.

23. **Gong, Z.** Oxidation towards enrofloxacin degradation over nanoscale zero-valent copper: mechanism and products / Z. Gong, J. Xie, J. Liu et al. // Environmental Science and Pollution Research. – 2023. – V. 30. – I. 13. – P. 38700-38712. DOI: 10.1007/s11356-022-24984-5.
24. **Kumar, S.** Nanoscale zerovalent copper (nZVC) catalyzed environmental remediation of organic and inorganic contaminants: A review / S. Kumar, P. Kaur, R.S. Brar, J.N. Babu // Heliyon. – 2022. – V. 8. – I. 8. – Art. № e10140. – 21 p. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10140.
25. **Белов, Д.В.** О роли активных форм кислорода в инициировании коррозии металлов микроскопическими грибами / Д.В. Белов, М.В. Челнокова, Т.Н. Соколова, В.Р. Карташов // Коррозия: материалы, защита. – 2009. – № 11. – С. 43-48.
26. **Белов, Д.В.** Генерация супероксидного анион-радикала микромицетами и его роль в коррозии металлов / Д.В. Белов, М.В. Челнокова, Т.Н. Соколова и др. // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. – 2011. – Т. 54. – № 10. – С. 133-136.
27. **Bielski, B.H.J.** Reactivity of HO₂/O₂⁻ radicals in aqueous solution / B.H.J. Bielski, D.E. Cabelli, R.L. Arudi, A.B. Ross // Journal of Physical and Chemical Reference Data. – 1985. – V. 14. – I. 4. – P. 1041-1100. DOI: 10.1063/1.555739.
28. **Winterbourn, C.C.** Biological chemistry of superoxide radicals / C.C. Winterbourn // ChemTexts. – 2020. – V. 6. – I. 1. – Art. № 7. 13 p. DOI: 10.1007/s40828-019-0101-8.
29. **Khudyakov, I.V.** Oxidation-reduction reactions of free radicals / I.V. Khudyakov, V.A. Kuz'min // Russian Chemical Reviews. – 1978. – V. 47. – I. 1. – P. 22-42. DOI: 10.1070/rcc1978v047n01abeh002201.
30. **Meisel, D.** Hydroperoxyl radical reactions. II. Cupric ions in modulated photolysis. Electron paramagnetic resonance experiments / D. Meisel, H. Levanon, G. Czapski // The Journal of Physical Chemistry. – 1974. – V. 78. – I. 8. – P. 779-782. DOI: 10.1021/j100601a004.
31. **Pham, A.N.** Fenton-like copper redox chemistry revisited: Hydrogen peroxide and superoxide mediation of copper-catalyzed oxidant production / A.N. Pham, G. Xing, C.J. Miller, T.D. Waite // Journal of Catalysis. – 2013. – V. 301. – P. 54-64. DOI: 10.1016/j.jcat.2013.01.025.
32. **Belov, D.V.** Research of corrosion cracking of D16T and Amg6 aluminum alloys exposed to microscopic fungi / D.V. Belov, S.N. Belyaev, M.V. Maksimov, G.A. Gevorgyan // Inorganic Materials: Applied Research. – 2022. – V. 13. – I. 6. – P. 1640-1651. DOI: 10.1134/s2075113322060028.
33. **Коваль, Э.З.** Микодеструкторы промышленных материалов / Э.З. Коваль, Л.П. Сидоренко. – Киев: Наукова думка, 1989. – 192 с.
34. **Ринальди, М.** Определитель патогенных и условно патогенных грибов / М. Ринальди, Д. Саттон, А. Фотергилл. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
35. **Berridge, M.V.** Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction / M.V. Berridge, P.M. Herst, A.S. Tan // Biotechnology Annual Review. – 2005. – V. 11. – P. 127-152. DOI: 10.1016/s1387-2656(05)11004-7.
36. **Seidler, E.** The tetrazolium-fomazan system: design and histochemistry / E. Seidler // Progress in Histochemistry and Cytochemistry. – 1991. – V. 24. – I. 1. – P. 3-79. DOI: 10.1016/s0079-6336(11)80060-4.
37. **Fridovich, I.** Superoxide radical and superoxide dismutases / I. Fridovich // Annual Review of Biochemistry. – 1995. – V. 64. – I. 1. – P. 97-112. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
38. **Burns, J.M.** Methods for reactive oxygen species (ROS) detection in aqueous environments / J.M. Burns, W.J. Cooper, J.L. Ferry et al. // Aquatic Sciences. – 2012. – V. 74. – I. 4. – P. 683-734. DOI: 10.1007/s00027-012-0251-x.
39. **Pobiner, H.** Determination of hydroperoxides in hydrocarbon by conversion to hydrogen peroxide and measurement by titanium complexing / H. Pobiner // Analytical Chemistry. – 1961. – V. 33. – I. 10. – P. 1423-1426. DOI: 10.1021/ac60178a045.
40. **Белов, Д.В.** О механизме биокоррозии сплавов алюминия Д16Т и АМг6 (обзор) / Д.В. Белов, С.Н. Беляев, М.В. Максимов, Г.А. Геворгян // Коррозия: материалы, защита. – 2021. – Т. 10. – С. 1-22. DOI: 10.31044/1813-7016-2021-0-10-1-22.
41. **Belov, D.V.** Physicochemical features of the mechanism of the biocorrosion of D16T duralumin by microscopic fungi / D.V. Belov, S.N. Belyaev, G.A. Gevorgyan, M.V. Maksimov // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2022. – V. 96. – I. 8. – P. 1599-1614. DOI: 10.1134/S0036024422080052.
42. **Merkel, T.H.** General corrosion of copper in domestic drinking water installations: scientific background and mechanistic understanding / T.H. Merkel, S.O. Pehkonen // Corrosion Engineering, Science and Technology. – 2006. – V. 41. – I. 1. – P. 21-37. DOI: 10.1179/174327806X94009.
43. **Крымский, С.В.** Межкристаллитная коррозия криопрокатанного и состаренного алюминиевого сплава Д16 / С.В. Крымский, Р.Р. Ильясов, Е.В. Автократова и др. // Физикохимия поверхности и защита материалов. – 2017. – Т. 53. – № 6. – С. 646-655. DOI: 10.7868/S0044185617060158.

References:

1. Zhao J., Csetenyi L., Gadd G.M. Biocorrosion of copper metal by *Aspergillus niger*, *International Biodegradation and Biodegradation*, 2020, vol. 154, art. no. 105081, 10 p. DOI: 10.1016/j.ibiod.2020.105081.
2. Horeh N.B., Mousavi S.M., Shojaosadati S.A. Bioleaching of valuable metals from spent lithium-ion mobile phone batteries using *Aspergillus niger*, *Journal of Power Sources*, 2016, vol. 320, pp. 257-266. DOI: 10.1016/j.jpowsour.2016.04.104.
3. Lekbach Y. Y., Liu T., Li Y., Moradi M., Dou W., Xu D., Smith J.A., Lovley D.R. Microbial corrosion of metals: The corrosion microbiome, *Advances in Microbial Physiology*, 2021, vol. 78, pp. 317-390. DOI: 10.1016/bs.ampbs.2021.01.002.
4. Tang H.Y., Yang C., Ueki T. et al. Stainless steel corrosion via direct iron-to-microbe electron transfer by *Geobacter* species, *The ISME Journal*, 2021, vol. 15, no. 10, pp. 3084-3093. DOI: 10.1038/s41396-021-00990-2.
5. Li S., Li L., Qu Q. et al. Extracellular electron transfer of *Bacillus cereus* biofilm and its effect on the corrosion behaviour of 316L stainless steel, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, vol. 173, pp. 139-147. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.09.059.
6. Costerton J.W., Geesey G.G., Cheng K.J. How Bacteria Stick, *Scientific American*, 1978, vol. 238, issue 1, pp. 86-95. DOI: 10.1038/scientificamerican0178-86.
7. Lamin A., Kaksonen A.H., Cole I.S., Chen X.-B. Quorum sensing inhibitors applications: A new prospect for mitigation of microbiologically influenced corrosion, *Bioelectrochemistry*, 2022, vol. 145, art. no. 108050, 10 p. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108050.
8. Huang S., Bergonzi C., Smith S. et al. Field testing of an enzymatic quorum quencher coating additive to reduce biocorrosion of steel, *bioRxiv*, 2022, art. no. 518914, 31 p. DOI: 10.1101/2022.12.02.518914.
9. Mehmood A., Liu G., Wang X. et al. Fungal quorum-sensing molecules and inhibitors with potential antifungal activity: A review, *Molecules*, 2019, vol. 24, issue 10, art. no. 1950, 18 p. DOI: 10.3390/molecules24101950.
10. Wang Y., Zhang R., Duan J. et al. Extracellular polymeric substances and biocorrosion/biofouling: Recent advances and future perspectives, *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, vol. 23, issue 10, art. no. 5566, 20 p. DOI: 10.3390/ijms23105566.
11. Pal M.K., Lavanya M. Microbial influenced corrosion: Understanding bioadhesion and biofilm formation, *Journal of Bio- and Triboro-Corrosion*, 2022, vol. 8, art. no. 76, 13 p. DOI: 10.1007/s40735-022-00677-x.
12. Belozerskaya T.A., Gessler N.N. Reactive oxygen species and the strategy of antioxidant defense in fungi: A review, *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2007, vol. 43, issue 5, pp. 506-515. DOI: 10.1134/S0003683807050031.
13. Sies H., Jones D.P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2020, vol. 21, issue 7, pp. 363-383. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.
14. Gessler N.N., Aver'yanov A.A., Belozerskaya T.A. Reactive oxygen species in regulation of fungal development, *Biochemistry (Moscow)*, 2007, vol. 72, issue 10, pp. 1091-1109. DOI: 10.1134/S0006297907100070.
15. Aslanidi K.B., Ivanova A.E., Blazheevskaya Y.V. et al. Resistance of microscopic fungi to oxidative stress, *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2003, vol. 392, issue 1, pp. 241-243. DOI: 10.1023/a:1026178410988.
16. Hedison T.M., Breslmayr E., Shanmugam M. et al. Insights into the H₂O₂-driven catalytic mechanism of fungal lytic polysaccharide monooxygenases, *The FEBS Journal*, 2021, vol. 288, issue 13, pp. 4115-4128. DOI: 10.1111/febs.15704.
17. Bissaro B., Røhr Å.K., Müller G. et al. Oxidative cleavage of polysaccharides by monocopper enzymes depends on H₂O₂, *Nature Chemical Biology*, 2017, vol. 13, issue 10, pp. 1123-1128. DOI: 10.1038/nchembio.2470.
18. Sideri M., Georgiou C.D. Differentiation and hydrogen peroxide production in *Sclerotium rolfsii* are induced by the oxidizing growth factors, light and iron, *Mycologia*, 2000, vol. 92, issue 6, pp. 1033-1042. DOI: 10.2307/3761468.
19. Zhang J., Miao Y., Rahimi M.J. et al. Guttation capsules containing hydrogen peroxide: an evolutionarily conserved NADPH oxidase gains a role in wars between related fungi, *Environmental Microbiology*, 2019, vol. 21, issue 8, pp. 2644-2658. DOI: 10.1111/1462-2920.14575.
20. Wiberth C.-C., Casandra A.-Z.C., Zhiliang F., Gabriela H. Oxidative enzymes activity and hydrogen peroxide production in white-rot fungi and soil-borne micromycetes co-cultures, *Annals of Microbiology*, 2018, vol. 69, issue 2, pp. 171-181. DOI: 10.1007/s13213-018-1413-4.
21. Xu W., Yu F., Yang L. et al. Accelerated corrosion of 316L stainless steel in simulated body fluids in the presence of H₂O₂ and albumin, *Materials Science and Engineering: C*, 2018, vol. 92, pp. 11-19. DOI: 10.1016/j.msec.2018.06.023.

22. Dong C., Yuan C., Bai X. et al. Coupling mechanism between wear and oxidation processes of 304 stainless steel in hydrogen peroxide environments, *Scientific Reports*, 2017, vol. 7, issue 1, art. no. 2327, 9 p. DOI: 10.1038/s41598-017-02530-5.
23. Gong Z., Xie J., Liu J. et al. Oxidation towards enrofloxacin degradation over nanoscale zero-valent copper: mechanism and products, *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, vol. 30, issue 13, pp. 38700-38712. DOI: 10.1007/s11356-022-24984-5.
24. Kumar S., Kaur P., Brar R.S., Babu J.N. Nanoscale zerovalent copper (nZVC) catalyzed environmental remediation of organic and inorganic contaminants: A review, *Heliyon*, 2022, vol. 8, issue 8, art. no. e10140, 21 p. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e10140.
25. Belov D.V., Chelnokova M.V., Sokolova T.N., Kartashov V.R. O roli aktivnykh form kisloroda v initiirovaniy korrozii metallov mikroskopicheskimi gribami [On the role of reactive oxygen species in the initiation of metal corrosion by microscopic fungi], *Korroziya: materialy, zashchita [Corrosion: Materials, Protection]*, 2009, no. 11, pp. 43-48 (in Russian).
26. Belov D.V., Chelnokova M.V., Sokolova T.N. et al. Generaciya superoksidnogo anion-radikala mikromycetami i ego rol v korrozii metalloy [Generation of superoxide anion-radical by micromycetes and its role in metal corrosion], *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedenii Khimiya i Khimicheskaya Tekhnologiya [ChemChemTech]*, 2011, vol. 54, no. 10, pp. 133-136 (in Russian).
27. Bielski B.H.J., Cabelli D.E., Arudi R.L., Ross A.B. Reactivity of HO₂/O₂⁻ radicals in aqueous solution, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 1985, vol. 14, issue 4, pp. 1041-1100. DOI: 10.1063/1.555739.
28. Winterbourn C.C. Biological chemistry of superoxide radicals, *ChemTexts*, 2020, vol. 6, issue 1, art. no. 7, 13 p. DOI: 10.1007/s40828-019-0101-8.
29. Khudyakov I.V., Kuz'min V.A. Oxidation-reduction reactions of free radicals, *Russian Chemical Reviews*, 1978, vol. 47, issue 1, pp. 22-42. DOI: 10.1070/rcc1978v047n01abeh002201.
30. Meisel D., Levanon H., Czapski G. Hydroperoxyl radical reactions. II. Cupric ions in modulated photolysis. Electron paramagnetic resonance experiments, *The Journal of Physical Chemistry*, 1974, vol. 78, issue 8, p. 779-782. DOI: 10.1021/j100601a004.
31. Pham A.N., Xing G., Miller C.J., Waite T.D. Fenton-like copper redox chemistry revisited: Hydrogen peroxide and superoxide mediation of copper-catalyzed oxidant production, *Journal of Catalysis*, 2013, vol. 301, pp. 54-64. DOI: 10.1016/j.jcat.2013.01.025.
32. Belov D.V., Belyaev S.N., Maksimov M.V., Gevorgyan G.A. Research of corrosion cracking of D16T and AMg6 aluminum alloys exposed to microscopic fungi, *Inorganic Materials: Applied Research*, 2022, vol. 13, issue 6, pp. 1640-1651. DOI: 10.1134/s2075113322060028.
33. Koval E.Z., Sidorenko L.P. *Mikodestruktori promyshlennyykh materialov* [Mikodestructors of industrial materials]. Kiev, Naukova dumka Publ., 1989, 192 p. (in Russian).
34. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. *Opredelitel' patogennykh i uslovno patogennykh gribov* [The determinant of pathogenic and conditionally pathogenic fungi]. Moscow. Mir Publ., 2001, 486 p. (in Russian).
35. Berridge M.V., Herst P.M., Tan A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction, *Biotechnology Annual Review*, 2005, vol. 11, pp. 127-152. DOI: 10.1016/s1387-2656(05)11004-7.
36. Seidler E. The tetrazolium-fomazan system: design and histochemistry, *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 1991, vol. 24, issue 1, pp. 3-79. DOI: 10.1016/s0079-6336(11)80060-4.
37. Fridovich I. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases, *Annual Review of Biochemistry*, 1995, vol. 64, issue 1, pp. 97-112. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
38. Burns J.M., Cooper W.J., Ferry J.L. et al. Methods for reactive oxygen species (ROS) detection in aqueous environments, *Aquatic Sciences*, 2012, vol. 74, issue 4, pp. 683-734. DOI: 10.1007/s00027-012-0251-x.
39. Pobiner H. Determination of hydroperoxides in hydrocarbon by conversion to hydrogen peroxide and measurement by titanium complexing, *Analytical Chemistry*, 1961, vol. 33, issue 10, pp. 1423-1426. DOI: doi.org/10.1021/ac60178a045.
40. Belov D.V., Belyaev S.N., Maksimov M.V., Gevorgyan G.A. O mekhanizme biokorrozii splavov alyuminiya D16T i AMg6 (obzor) [On mechanism of biocorrosion of aluminum alloys D16T and AMg6 (Review)], *Korroziya: materialy, zashchita [Corrosion: Materials, Protection]*, 2021, no. 10. pp. 1-22. DOI: 10.31044/1813-7016-2021-0-10-1-22. (in Russian).
41. Belov D.V., Belyaev S.N., Gevorgyan G.A., Maksimov M.V. Physicochemical features of the mechanism of the biocorrosion of D16T duralumin by microscopic fungi, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2022, vol. 96, issue 8, pp. 1599-1614. DOI: 10.1134/S0036024422080052.
42. Merkel T.H., Pehkonen S.O. General corrosion of copper in domestic drinking water installations: scientific background and mechanistic understanding, *Corrosion Engineering, Science and Technology*, 2006, vol. 41,

issue 1, pp. 21-37. DOI: 10.1179/174327806X94009.

43. Krymskiy S.V., Ilyasov R.R., Avtokratova E.V., Situdikov O.Sh., Markushev M.V. Intergranular corrosion of cryorolled and aged D16 aluminum alloy, *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*, 2017, vol. 53, issue 6, pp. 1091-1099. DOI: 10.1134/S2070205117060144.

Original paper

FORMATION OF COPPER CLUSTERS IN THE PROCESS OF BIOCORROSION OF ALUMINUM ALLOYS BY MICROSCOPIC FUNGI

D.V. Belov^{1,2}, S.N. Belyaev^{1,2}, P.A. Yunin², A.A. Nazarov²

¹*Federal Research Center A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the RAS,
Nizhny Novgorod, Russia*

²*The Institute for Physics of Microstructures – branch of the IAP RAS, Afonino, Russia*

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.888

Abstract: In this work, biocorrosion of D16T and AMg6 aluminum alloys under the influence of microscopic fungi was studied. It has been shown that micromycetes produce reactive oxygen species – superoxide anion-radical, hydrogen peroxide, which initiate biocorrosion of metals. The composition products of biocorrosion of D16T and AMg6 after exposure of the alloys on the lawn of a consortium of micromycetes was determined by energy-dispersive X-ray spectroscopy. An X-ray phase study of alloy biocorrosion products was carried out. Scanning electron microscopy and X-ray diffraction analysis show the formation of nanosized and submicron copper clusters. A physicochemical mechanism of biocorrosion of aluminum alloys by microscopic fungi is proposed. An assumption is made about the mechanism of operation of the «zerovalent metal – hydrogen peroxide» systems, which can trigger a cascade of reactions leading to the destructive oxidation of metals. The paper attempts to explain the role of microfungal community biofilms as the main factor in the mycological corrosion of metals.

Keywords: biocorrosion, microbiological corrosion, aluminum alloys D16T, AMg6, zerovalent aluminum, zerovalent copper, microscopic fungi, reactive oxygen species, superoxide anion radical, hydrogen peroxide, copper clusters.

Белов Денис Владимирович – к.х.н., доцент, с.н.с., ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грекова Российской академии наук»; ведущий технолог, Институт физики микроструктур – филиал ИПФ РАН

Беляев Сергей Николаевич – к.х.н., научный сотрудник, заведующий лабораторией, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грекова РАН»; ведущий технолог, Институт физики микроструктур – филиал ИПФ РАН

Юнин Павел Андреевич – к.ф.-м.н., научный сотрудник, заведующий лабораторией, Институт физики микроструктур – филиал ИПФ РАН

Назаров Артем Александрович – лаборант отдела технологии, наноструктур и приборов, Институт физики микроструктур – филиал ИПФ РАН

Denis V. Belov – Ph. D., Associate Professor, Senior Researcher, Federal Research Center A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the RAS; Leading technologist, The Institute for Physics of Microstructures – branch of the IAP RAS.

Sergey N. Belyaev – Ph. D., Researcher, Head of Laboratory, Federal Research Center A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences; Leading technologist, The Institute for Physics of Microstructures – branch of the IAP RAS

Pavel A. Yunin – Ph. D., Researcher, Head of Laboratory, The Institute for Physics of Microstructures – branch of the IAP RAS

Artem A. Nazarov – Laboratory Assistant, Department of Technology, Nanostructures and Devices, The Institute for Physics of Microstructures – branch of the IAP RAS

Поступила в редакцию/received: 01.06.2023; после рецензирования/revised: 29.06.2023; принят/a/accepted: 05.07.2023.