

高温油藏生物膜内硫酸盐还原菌的腐蚀机理及防治策略

胡语婕^{1,2}, 余跃惠^{*1,2}, 张凡^{2,3}, 孙珊珊^{1,2}, 董浩^{2,4}

1 长江大学石油工程学院, 湖北 武汉 430100

2 非常规油气湖北省协同创新中心, 湖北 武汉 430100

3 中国地质大学(北京)能源学院, 北京 100083

4 长江大学化学与环境工程学院, 湖北 荆州 434023

胡语婕, 余跃惠, 张凡, 孙珊珊, 董浩. 高温油藏生物膜内硫酸盐还原菌的腐蚀机理及防治策略[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3435-3450

Hu Yujie, She Yuehui, Zhang Fan, Sun Shanshan, Dong hao. Corrosion mechanism of sulfate-reducing bacteria in biofilms in high-temperature oil reservoirs and inhibition strategies[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 3435-3450

摘要: 硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)广泛分布于高温、高压及高盐的石油油藏中, 在油藏硫循环中起主导作用。SRB 能在油藏生物膜内生长, 有微量低分子有机酸时利用硫酸盐为电子受体并将其还原成硫化氢。硫化氢会腐蚀管道, 导致原油泄露等其他安全问题, 每年造成的经济损失超过 7 000 亿元。本文首先总结了油藏生物膜内微生物菌群多样性, 分析了生物膜内 SRB 及其相关菌群的协同腐蚀机理; 然后讨论了高温油藏 SRB 介导的硫氮氢生物地球化学循环过程、胞外电子传递机制及其腐蚀作用, 并通过几个高温油藏 SRB 生物膜内腐蚀的现场案例进一步阐明了 SRB 的腐蚀机制。在此基础上, 提出了应对高温油藏生物膜内 SRB 腐蚀的生物纳米防治策略, 这为高温油藏管道防腐提供了新思路。

关键词: 高温油藏; 生物膜; 微生物腐蚀; 硫酸盐还原菌; 纳米抑菌

基金项目: 国家自然科学基金(51634008, 51574038, 51774257)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (51634008, 51574038, 51774257)

*Corresponding author: E-mail: sheyuehui@163.com

Received: 2021-12-11; Accepted: 2022-01-22; Published online: 2022-02-10

Corrosion mechanism of sulfate-reducing bacteria in biofilms in high-temperature oil reservoirs and inhibition strategies

HU Yujie^{1,2}, SHE Yuehui^{*1,2}, ZHANG Fan^{2,3}, SUN Shanshan^{1,2}, DONG Hao^{2,4}

1 College of Petroleum Engineering, Yangtze University, Wuhan 430100, Hubei, China

2 Hubei Cooperative Innovation Center of Unconventional Oil and Gas, Wuhan 430100, Hubei, China

3 College of Energy, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China

4 College of Chemistry & Environmental Engineering, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei, China

Abstract: Sulfate-reducing bacteria (SRB), the anaerobic bacteria omnipresent in petroleum reservoirs, play an essential part in the cycling of sulfur in oil reservoirs. Many SRB can reduce sulfate to hydrogen sulfide which corrodes metal pipes, thus leading to lots of safety problems such as oil spill and causing economic loss of over 700 billion CNY each year. In this paper, the diversity of microbial communities living within biofilms of reservoirs and the synergistic corrosion mechanism of SRB with other related groups in biofilms were first summarized. Then, the sulfur-nitrogen-hydrogen biogeochemical cycle mediated by SRB in high-temperature reservoirs, the extracellular electron transfer mechanism, and the corrosion were discussed. Moreover, we introduced the field cases of SRB corrosion in high-temperature oil reservoirs to further elucidate the mechanism of SRB corrosion. Finally, we proposed to control the corrosion of SRB in biofilms in high-temperature reservoirs with nanomaterials.

Keywords: high-temperature oil reservoirs; biofilm; microorganism corrosion; sulfate-reducing bacteria; nano-bacteriostatic

1 油藏内生物膜的生物多样性

随着油田的不断开发, 目前国内的陆上油田开采已普遍进入“三次采油”阶段, 地层压力普遍不足, 为提高采收率通常采用人工向油层间注水或注气的方法提高地层压力, 这一过程需要大量的油田采出污水进行回注^[1]; 而在海上油田开发的过程中, 通常直接注入海水进行驱油^[2]。这会使地层中异化硫酸盐的细菌大量富集, 当电子供体(如碳源)缺失或耗尽时细菌从金属获得电子导致金属被腐蚀^[3]。在 Web of Science 中调研近五年与微生物影响的腐蚀(microbiologically influenced corrosion, MIC)和硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)相关度最高的 100 篇研究性论文, 使用 SATI^[4]构建关联网络图(图 1), 筛选出相关性在 0.075

以上的节点一共只有 6 个, 分别为不锈钢(stainless steel)、行为学(behavior)、软钢(mild steel)、碳钢(carbon-steel), 以及 2 个条件关键词 MIC 和 SRB。可以发现目前的文章大多只使用纯培养微生物对腐蚀过程进行了研究, 如普通脱硫弧菌(*Desulfovibrio vulgaris*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)等, 关于微生物共生群落形成的生物膜影响腐蚀的过程探讨较少。然而现场发生的腐蚀为多种微生物形成生物膜后共同作用的结果^[5], 因此, 抑菌剂对生物膜的作用效果可能是该药品能否长期有效缓蚀的关键。

在本课题组对微生物提高采收率的研究中发现, 微生物群落可以改变油藏环境中地质系统的渗透率和化学性质^[6], 但地层环境改变后微生物代谢物对油气采输管线的影响更需要

原古菌的活性。分析高温油藏的微生物群落可以发现其 16S rRNA 基因克隆文库中细菌以厚壁菌门 (*Firmicutes*) 为主, 古菌以热球菌属 (*Thermococcales*) 为主。高温油藏中的 SRB 几乎完全为嗜热菌, 如脱硫葡萄状菌属 (*Desulfacinum*) 和脱硫肠状菌属 (*Desulfotomaculum*)。在现场注入硝酸盐后古生球菌属 (*Archaeolobus*) 的相对丰度明显降低, 但会出现异养硝酸盐还原菌属 (*Deferribacterales*), 还有热球菌属 (*Thermococcales*)、热脱菌属 (*Thermotogales*) 和热厌氧杆菌属 (*Thermoanaerobacter*) 中其他可以产生硫化物的细菌种类。这证明高温油藏系统中的微生物代谢产生硫化氢气体的过程不受硝酸盐还原菌的抑制。

环境对于 SRB 代谢的影响尤其明显。通常 SRB 会出现在富含硫酸盐的上层沉积物中, 而产甲烷的古菌则会出现在含硫酸盐的深层沉积物中^[10]。当环境中不含硫酸盐时, 许多 SRB 能利用有机酸和醇产生氢气、乙酸和二氧化碳, 甚至可以通过产甲烷菌消耗氢气和乙酸并把有机物转化成甲烷^[11]。例如在海洋沉积物中, SRB 与产甲烷菌的有机质降解过程是相互补充的, 这使得 SRB 在不同环境中的存活率

大大提高^[12]。

为了研究生物膜影响管道表面腐蚀的具体过程, 图 2 综述了其反应发生提供的条件。由于输油管道输送具有高压高盐且酸碱度变化大的特点, 通常采用低合金高强钢 (X52、X65 和 X80 等)。目前已分离出影响腐蚀的微生物有硫杆菌属、铁细菌、铁锈弧菌属等。碳钢提供了反应场所, 各种微生物在此代谢产生蛋白质、多糖、脂质等胞外产物。这些产物在表面发生氧化反应, 产生不同价态的铁沉积物 (Fe_2O_3 、 FeOOH 、 FeS 等) 并通过还原反应产生硫化氢气体。由于 MIC 机制具有多样性^[13], 需针对不同环境中的腐蚀情况进行特异性防治。本文通过研究环境中 S、N、H 元素的生物循环和分析生物胞外产物, 阐明微生物在金属腐蚀中的具体代谢过程及影响因素, 总结高温油藏中出现的特征性腐蚀类别并提出可行的防治方案。

2 微生物膜腐蚀金属的机理

金属的微生物腐蚀本质上是一个生物电化学过程。微生物缺乏碳源时从金属获得电子, 从而导致金属被腐蚀, 并通过打破钝化层和刺激阳极或阴极反应来增强腐蚀过程, 其结果是: (1) 产

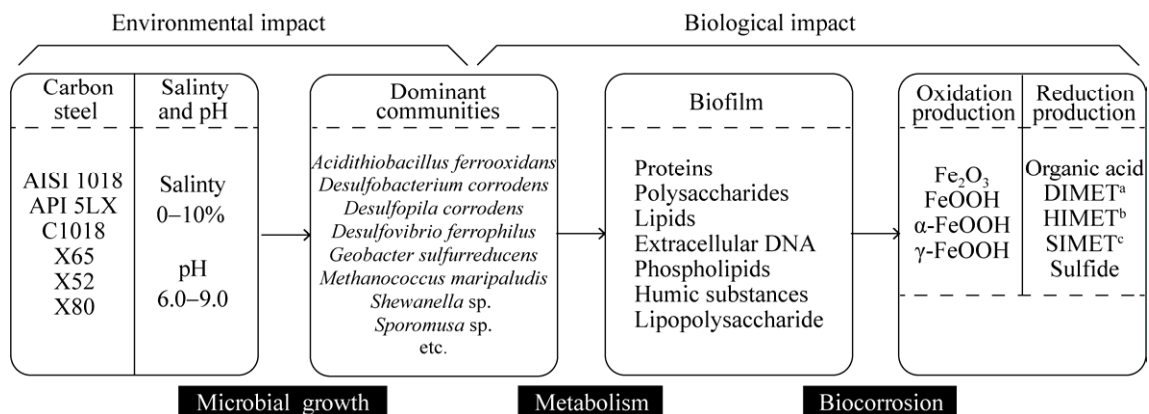


图 2 生物膜腐蚀的生物学过程

Figure 2 The biological process of the biofilm corrosion. ^a: Direct iron-to-microbe electron transfer; ^b: H_2 -mediated iron-to-microbe electron transfer; ^c: Shuttle-mediated iron-to-microbe electron transfer.

生酸和其他腐蚀性化合物,如氨和硫化物^[14-15]; (2) 消耗或降解钝化层或保护层^[8,16-17]; (3) 分泌氧化还原酶(如氢化酶)或电活性分子(如细胞色素和黄素)^[16]; (4) 生产具有金属离子结合位点的胞外聚合物^[18]; (5) 通过形成生物膜在金属表面形成梯度电位^[8,16-17]。

微生物的共代谢作用使抑制腐蚀的研究变得困难, Plugge 等^[10]早在 2011 年就提出了 SRB 的代谢具有灵活性, 随着其在环境中生态位的变化, 代谢途径主要有硫化物代谢、乙酰代谢和氢代谢。因此不能忽略生物膜为腐蚀微生物提供的动态平衡内环境。

2.1 研究腐蚀的方法

研究 MIC 需要建立微生物驱动的碳钢腐蚀模型, 了解发生腐蚀时微生物的具体代谢过程及作用机制, 并且确定这些过程中涉及的催化物及载体, 以实现 MIC 的预防及缓解^[19]。这一过程需要使用一系列现代化的技术及跨学科领域的研究方法, 分析微生物群落及其胞外聚合物的成分和作用(表 1)。主要包括: 对腐蚀程度的评估预测, 对腐蚀产物的理化分析, 对形成腐蚀的微生物群落分析, 以及微生物胞外产物的理化性质分析。这涉及电化学、化学以及生物学科的多种分析检测方法。

2.2 影响腐蚀的生物膜结构

金属材料表面微生物的存在会对材料的性能产生深远的影响。有些微生物在金属材料表面生长, 分泌出多糖、脂类等物质形成生物膜, 为细菌生长提供了良好的环境, 并与金属发生各种反应, 使多种微生物能够吸附在材料表面。因生物膜的存在而导致金属表面的变化(通常为不良变化)称为生物膜腐蚀^[25]。

形成生物膜是生物腐蚀过程发展的第一步, 其能产生与原环境介质明显不同的环境(酸碱度、溶氧、有机物、无机物等), 更适合微生

物生存。生物膜是一种复杂的结构, 主要由水(95%)、细菌、胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)(多糖、酶、蛋白质、脂类)、腐蚀产物和金属离子组成^[31]。由微生物产生的胞外聚合物(包含不同的大分子)介导原始细胞与材料表面的黏附, 并形成进行多种代谢活动的生物膜基质。而且生物膜对杀菌剂和抗生素具有一定的抗药性, 可作为化学屏障阻止药物扩散到微生物。生物体与金属表面相互作用的方式多种多样^[13], 但也存在细微的差别: 一是作为细胞黏附结构的直接电子转移(生物膜); 二是由发酵产物、次级代谢物或氧化还原物质(蛋白质、有机和无机化合物)介导的电子转移。微生物可以通过细胞外膜上的多血红素、细胞色素等电子穿梭调节通道以及细胞膜内的黄素等电子传递链, 直接介导腐蚀过程中的电子转移, 促进无机化合物的还原^[12]。

生物膜内含有的多种微生物(如 SRB、NRB、IOB 和产甲烷菌等)是生物腐蚀的第二步。Lyu 等^[17]的研究结果表明, SRB 和 IOB 的组合腐蚀就是一个生物膜增强腐蚀的过程。在 SRB+ IOB 混合培养物中, 好氧 IOB 对氧气的消耗促进了厌氧 SRB 的生长, 腐蚀过程受到 SRB 和 IOB 代谢活性、生物膜结构和代谢产物的综合控制, 促进了局部点蚀的形成, 加剧了腐蚀的破坏程度。此外, Otwell 等^[15]的研究也指出, 在油井中利用 SRB 和 NRB 之间的竞争抑制硫化氢的产生是不可取的, 他们发现 NRB *Intrasporangium calvum* C5 的生长和活性受到硫化物和半胱氨酸水平升高的抑制, 这为某些环境中 SRB 和 NRB 的相互排斥提供了机制解释; 但反之, 硫化物水平升高也可能会阻止 NRB 在 SRB 活跃的生态位中的生长。微生物之间相互影响形成内部平衡的“微生物城市”, 大大小小的分子可以加强细菌和金属表面之间的物质交换和电子流

表 1 生物膜介导腐蚀的常用研究工具

Table 1 Common tools for studying biofilm-mediated corrosion

种类	应用	缺点	参考文献
Types	Applications	Disadvantages	References
开路电位 Open circuit potential (OCP)	可以快速在稳定及自然状况的环境下测量无外加电流的金属的腐蚀微电位和参考电极之间的全面电位差 It can quickly measure the overall potential difference between the corrosion micro-potential of the metal without external current and the reference electrode in a stable and natural environment	只能判断腐蚀几率, 不能测量腐蚀速率 Can only determine the chance of corrosion, cannot measure the corrosion rate	[20-21]
塔菲尔极化曲线 Tafel polarization curve	将金属样品制成电极浸入腐蚀介质中, 测量稳态的伏安(E-I)数据, 作 $\lg(I -E)$ 图, 快速得到腐蚀效率 The metal sample is made into an electrode and immersed in the corrosive medium, and the steady-state volt-ampere (E-I) data is measured, and the $\lg(I -E)$ diagram is drawn to quickly obtain the corrosion efficiency	需要一个稳定的系统; 在海水中对固体悬浮物无效 Requires a stable system; Not effective in seawater for solid suspensions	[7]
电化学阻抗谱 Electrochemical impedance spectroscopy (EIS)	测量交流电势与电流信号的比值随正弦波频率 ω 的变化, 结果精确, 可以用来解释腐蚀机制 By changing the scanning speed and scanning method of the polarization potential, a preliminary evaluation of the corrosiveness of the medium is carried out	难以解释数据; 需要一个稳定的系统 Very dependent on experimental conditions	[22]
电化学噪声 Electrochemical noise	发生腐蚀的电极表面所出现的一种电位或电流随机自发波动的现象, 以此区分腐蚀类型 Measure the change of the ratio of the alternating current potential to the current signal with the sine wave frequency ω , or the change of the phase angle Φ of the impedance with ω . The results are accurate and can be used to explain the corrosion mechanism	难以解释数据 Difficult to interpret data	[23]
飞行时间-二次离子质谱 Time of flight-secondary ions mass spectrometry (TOF-SIMS)	通过离子束对样品表面进行轰击产生的二次离子对表面进行分析, 结果灵敏准确, 将化学变化可视化 A phenomenon of random and spontaneous fluctuations of potential or current on the surface of the electrode where corrosion occurs to distinguish the type of corrosion	真空环境; 产生大量需要数据处理的結果 A vacuum environment; Producing a lot of results that require data processing	[24]
X 射线光电子能谱 X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)	以 X 射线为激发光源对表面元素进行定量分析	需要真空环境; 耗费时间 Requires a vacuum; Time-consuming	[25]
共聚焦激光扫描显微法 Confocal laser scanning microscopy (CLSM)	获得特定深度下焦点内的 3D 图像, 可直接测量点腐蚀深度 Obtain a 3D image in focus at a specific depth, allowing direct measurement of pitting corrosion depth	无 Null	[1]

(待续)

(续表 1)

耗散型石英晶体微天平 Dissipative quartz crystal microbalance (QCM-D)	利用石英晶体的压电效应将表面质量变化转化为晶体振荡电信号的频率变化, 通过精确的数值分析细胞与分子之间的吸附 The piezoelectric effect of the quartz crystal is used to convert the surface quality change into the frequency change of the crystal oscillation electrical signal, and the adsorption between cells and molecules is analyzed through accurate numerical values	需要稳定的条件 Requires very stable conditions	[26]
显微放射自显影 Microautoradiograph (MAR)	利用照相感光材料测量放射性示踪剂的分布, 对活性微生物和代谢机制进行定位和定量分析 The distribution of radiotracer is measured using photographic sensitized materials for localization and quantification of active microorganisms and metabolic mechanisms	耗费时间 Time-consuming	[18]
实时荧光定量 PCR Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) 高通量测序技术 High-throughput sequencing	通过荧光信号, 对 PCR 进程进行实时监测 Real-time detection of PCR processes by fluorescence signals 能够同时对数十万至上百万个 DNA 分子进行一次平行的序列分析, 通常读取的序列更短。 Simultaneous parallel analysis of 100 000 to millions of DNA molecules and reading of shorter sequences	先了解目标基因 Requires prior knowledge of target genes 读长短; 耗费时间长; 末端质量差 Reads short; Time-consuming; poor end quality	[27] None
蛋白质分析质谱 Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF) 扫描电子显微镜 Scanning electron microscopy (SEM)	通过质量的不同对蛋白质加以区分, 研究 MIC 过程中的胞外产物 Differentiation of proteins by mass and study of extracellular products in the MIC process 观察表面腐蚀形貌及微生物形态, 进行半定量表面化学分析; 拍摄的图像有良好分辨率 Observe surface corrosion morphology and microbial morphology and perform surface chemical analysis. Taking images with good resolution	昂贵; 耗费时间 Expensive; Time-consuming 需要真空; 样品需要导电性良好 Requires vacuum; Samples need to be well-conducted	[28] [8]
拉曼光谱 Raman spectroscopy	通过散射光谱研究分子结构, 监测生物体内的电子转移 Molecular structures are studied by scattering spectroscopy and electron transfer in organisms is monitored	耗费时间; 数据处理量大 Time-consuming; A large amount of data processing	[8]
傅里叶变换红外光谱法 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)	由光程差实现不同样品的化学分析, 识别为生物代谢行为 The chemical analysis of different samples is realized by the optical path difference, which could be recognized as biological metabolic behavior	需要已知数据对比 Needs to be compared with known data	[29]
电子顺磁共振 Electron paramagnetic resonance (EPR)	对物质的原子或分子中包含的未配对电子进行定性和定量, 并探索其周围的结构特性 Unpaired electrons contained in atoms or molecules of a substance are detected qualitatively and quantitatively, and the structural properties surrounding them are explored	昂贵; 耗费时间 Expensive; Time-consuming	[30]

动(图 3)。由于生物膜中的微生物具有多样性, 可以提供许多不同的代谢通路: (1) IOB 和 SRB 以铁作为电子供体, 硫酸盐为电子受体产生硫化氢气体^[17]; (2) NRB 的反硝化作用产生 NH_4^+ 与 SO_4^{2-} 在 SRB 作用下产生 HS^- ^[15]; (3) 产甲烷菌在细胞色素存在的情况下与 SRB 的异化作用耦合, 先将乳酸还原为乙酸, 再以 H_2 作为电子源还原乙酸, 产生硫化氢气体^[32]。在此过程中, 丙酮酸通过丙酮酸脱氢酶将电子转移到多血红素细胞色素 c3/氢化酶复合体中, 生成氢气, 再由细胞色素将电子从氢分子氢转化为亚硫酸盐还原酶, 即与酸性环境中的电子传递蛋白有关^[33]。另外, 氢化酶似乎具有能量调节作用, 缺乏乳酸、丙酮酸等碳源时可补充还原力, 或者在缺乏硫酸盐或钼酸盐抑制硫酸盐呼吸时接

受电子。

研究生物膜内的代谢组学和蛋白质组学将有助于更好地理解关键分子的调控/表达/抑制, 这对于有效破坏生物膜杀灭细菌具有重要意义。

2.3 S、N 和 H 的生物循环

S^{2-} 、 S^0 和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 通过一系列氧化反应可以在厌氧呼吸作用下以 S 作为末端电子受体产生硫酸盐, 这是地球硫循环的中心部分。SRB 合成的 ATP 硫酸化酶、APS 和亚硫酸还原酶 3 种酶在生物硫循环中发挥重要作用^[34], 可对硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐、硫磺等进行异化还原, 使其转化为硫化物^[35]。这种生物代谢过程的热稳定性很高, 例如 SRB 可以以乳酸盐、丙酮酸盐、苹果酸、简单芳香族化合物(苯或酚)、

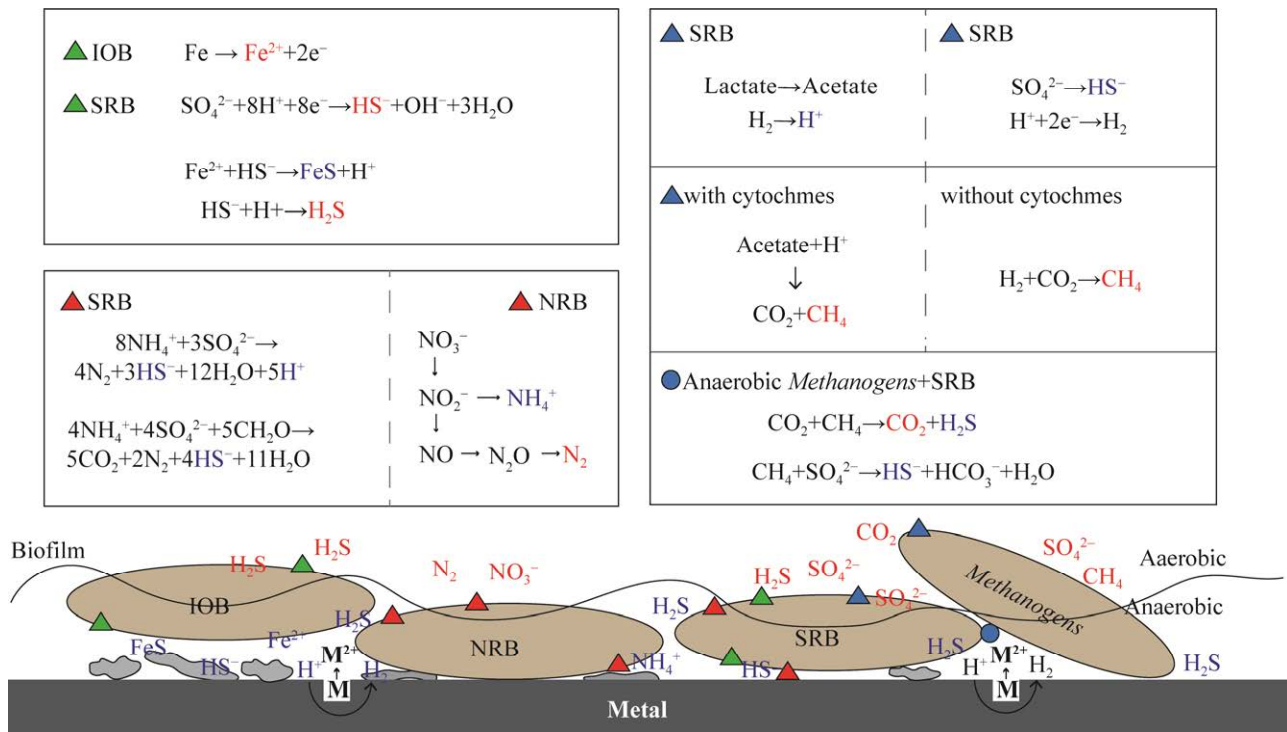


图 3 金属表面的细胞膜结构 蓝色标注的物质为厌氧环境下细菌代谢产物; 红色为好氧环境下细菌代谢产物

Figure 3 The cell membrane structure on the metal surface. The blue is bacterial metabolites in an anaerobic environment; The red is bacterial metabolites in an aerobic environment.

胞表面与细胞外基质直接作用,使细胞从细胞外基质转移到基质;(2) 细胞导电的纳米级鞭毛在细胞和基质之间建立桥梁,催化电子转移;(3) 电子穿梭通道或小分子(例如螯合剂)在细胞与底物之间传递电子。研究表明,特定的氢化酶可以存在于腐蚀形成的生物膜中进行电子传递^[38],而膜中的微生物将多种电子穿梭机制耦合在一起,共同参与 S、N、H 生物化学循环。综上所述,如果在未来的工作中对污水样品中 *micH* 的定量有一个更好的理解,也许能够在早期发现并改善工业环境中 MIC 的严重情况。

3 高温油田现场的生物膜腐蚀案例

大多数研究都把 SRB 归类为中温层细菌,生长温度为 25–55 °C,但事实上,在 65 °C 以上(原位油藏 80–90 °C)的油田采出水中也可以富集到 SRB 的一些属。高温下这些微生物利用混合挥发性脂肪酸(乙酸、丙酸、丁酸)或乳酸作为电子供体,硫酸盐还原的速率相对较低。当采出水在地表温度下降后,SRB 活性恢复从而开始产生硫化氢气体。目前发现最常见的潜在占主导地位的 SRB 为梭菌属(*Clostridium*)和 δ -变形菌属(*Deltaproteobacteria*),其中包括脱硫微菌(*Desulfomicrobium*)、脱硫球茎菌(*Desulfobulbus*)和脱硫肠菌(*Desulfotomaculum*),这些属在低温油藏中含量很高,而脱硫微杆菌属(*Desulfomicrobium*)、脱氯单胞菌属(*Dechloromonas*)、硫杆菌属(*Thiobacillus*)和硫肠状菌属(*Desulfotomaculum*)在高温油藏中出现较多^[39]。这一研究证明温度对油藏中产生硫化氢气体的微生物群落结构影响很大,因此不能采用同样的缓释剂进行处理。近年来,国内外都对高温油田采出水含有的 SRB 菌群进行了研究。Zhou 等^[40]对我国某海上

高温油田两口生产井的原核基因组和活性微生物群落进行了表征,发现在属水平上,两个样本的基因组和活性群落的优势成员分别为不动杆菌属(*Acinetobacter*)、包西氏菌属(*Bosea*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)和产甲烷石状菌属(*Methanocalculus*)以及甲烷热杆菌属(*Methanothermobacter*)、甲烷丝状菌(*Methanosaeta*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、热球菌属(*Thermococcus*)和产甲烷石状菌属(*Methanocalculus*)。这项研究并未对影响腐蚀的微生物进行深入的分類,只提供了通过基因组和转录组的高通量测序技术研究特异环境下微生物群落的思路,深入了解了深海储层微生物组成。这一方法对于研究储层中未培养的种属具有重大意义,进一步分析水样中的活性成分(如硝酸盐/硫酸盐还原、硫氧化、烃的生物降解和甲烷的生成)及表面腐蚀部位生物膜的群落组成,可以缓解腐蚀、延长输油管线使用年限。该研究证明同一油藏内不同区域的 SRB 结构也不尽相同,因此抑菌剂是否具有广谱性将成为评价其抗菌能力的重要指标。

国内外近期对于高温油田的杀菌剂也有一些探索。Yang 等^[41–42]对我国渤海海域高温酸败油井采出水中的 SRB 进行研究,分离出一株与 *Soehngenia saccharolytica* BOR-YT 相似度极高的硫酸盐还原古菌菌株 WJ1,以及与 *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough 具有极高相似度的 BQ1;处于同一海域的它们生理差异却十分显著,WJ1 菌株与 BQ1 相比不能利用硫单质,因此控制该油井酸败的潜在有效杀菌剂也有所不同。戊二醛、溴硝醇和二氧化氯是 BQ1 的有效杀菌剂,而 WJ1 的有效杀菌剂则是不同浓度的溴硝醇、戊二醛和四羟甲基硫酸磷。Sokolova 等^[43]从哈萨克斯坦的高温油田中富集硫化物微生物群落,在未受海水影响的水

体中发现广古生菌门(*Euryarchaeota*)和甲烷球菌属(*Methanothercoccus*)占主导地位, 这些细菌可能是硫代硫酸盐或/和硫还原剂; 而在富含硫酸盐和硫化物的地层水中检测到了脱硫藻(*Desulfoglaeba*)、热脱硫杆菌属(*Thermodesulfobacterium*)、脱硫肠状菌属(*Desulfotomaculum*)、热硫还原杆菌属(*Thermodesulforhabdus*)和脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*), 这说明硫酸盐的增加使得 SRB 的比例增加; 而且受到温度的影响, 在注水井近井地带可以观察到中温反硝化细菌海洋杆菌属(*Marinobacter*)、暗杆菌属(*Pelobacter*)和嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)。这说明海水中的硫酸盐浓度和注入海水后储层温度的改变可以明显影响到 MIC 的群落组成。

综上所述, 由于高温环境中发生的腐蚀具有特异性, 其优势群落与中低温层具有明显区别, 因此需要了解 SRB 耐受高温的代谢机制。耐高温蛋白质结构稳定性是微生物适应高温环境的基础。嗜热细菌的适应性包括: 额外的氢键网络, 减少表面环的长度, 加强二级结构倾向, 提高核疏水能力, 增加范德华力, 离子相互作用, 以及增加封装密度来提高细胞蛋白质的热稳定性^[44]。除稳定蛋白外, 另一个适应高温的关键因素是通过调节脂质成分稳定细胞膜。升温促进膜的流动性和渗透性增加, 因此, 高温适应性可诱导硬化, 促进碳氢链的有序排列^[45]。嗜热古菌有很高比例的支链脂肪酸, 而且目前认为醚基膜脂和醚键结构的耐水解特性与它们在高温下的生长能力密切相关。高温下, DNA 的热阻结构, 如增加反向回旋酶的正向超扭、GC 碱基对(茎环)和结合组蛋白提高熔化温度都有利于 DNA 结构的稳定性^[44]。在目前已分离的耐盐耐温 MIC 类群中, 需要研究其热稳定机制和代谢变化的途径, 以提高对高温储层

微生物学的认识, 达到将污染控制在最小范围内治理腐蚀的目的。

4 防治方法及思路

目前通常综合地从管道的材料选择、注入的抑菌药物及微生物种间竞争 3 个方面对腐蚀进行预防和治理^[25]。但由于生物膜的保护, 形成了一个适合 SRB 生长代谢的内环境, 这使完全杀灭 SRB 细菌变得困难, 因此在加药时需要考虑破坏生物膜及杀灭细菌这 2 个过程, 以达到长期有效的缓蚀效果。

4.1 化学杀菌剂

通过注入杀菌剂和生物代谢抑制剂的方式可以对 SRB 的生长进行抑制, Prajapat 等^[46]研究了解到, 在高温储层中, 低盐度是导致酸化的主要原因, 因此他们使用苯扎氯铵 BAC (0.27 mg/L)与硝酸盐(0.08 mg/L)体系抑制 SRB 的生长, 但这一方法对环境的危害尚不可知。本课题组也对我国吐哈油田丘陵站硫化氢生物抑制进行研究, 得出的最佳抑制剂体系为 200 mg/L 硝酸钠和 60 mg/L JHB, 矿场试验过程中达到 SRB 菌数低于 10^2 个/mL, 硫化物含量低于 1 mg/L, 悬浮物含量降至 30 mg/L 以下, 达到水质排放的要求^[47]。这些杀菌剂均可以达到缓蚀的目的, 但杀菌剂的滥用可能会导致生态环境的破坏, 并且 SRB 在不断进化中产生的抗药性已经使得单一的药物注入变得乏力。

4.2 替代性还原底物

SRB 通过异化硫酸根产生硫化氢气体, 对金属材料进行腐蚀。改变其还原底物可以减少铁-硫化物的产生, 例如加入钼酸盐。钼酸盐与 SRB 的反应分为两步, 首先是在硫化物环境中产生 Mo(V), 形成某种类型的钼-硫化物, 然后化合物在 SRB 周质空间累积并被还原为结晶性不佳的黑色硫化钼。这一过程不会产生硫化

氢气体,也不会以管道金属的电子转移作为电子供体,起到了保护管道的效果。Biswas 等^[48]和 De Jesus 等^[49]的实验也证明了钼酸盐在抑制 SRB 产生硫化氢气体中的作用,他们的实验证明 12.8 mg/L 钼酸盐及钼酸盐/硫酸盐的摩尔比为 0.004 时,足以抑制 SRB 活性 168 h。然而,钼酸盐的注入只能在短期内抑制 SRB 产生硫化氢的活性,并不能特异性地杀灭环境中的 SRB 细菌。

4.3 生物竞争法

有报道尝试通过生物种间竞争法抑制 SRB 的生长。有研究通过注入硝酸盐刺激 NRB 生长实现对 SRB 的抑制^[46],也有研究通过高氯酸盐处理含硫混合连续流系统,使用高氯酸盐还原菌 DPRB 实现对 SRB 的生物竞争抑制^[50]。高氯酸盐的加入可以使 SRB 菌群因生长缓慢而容易被冲刷,但采出水要想达到回注标准仍需经过杀菌过程降低因刺激生长而升高的化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)。长江大学微生物采油项目组近年对江汉油田的 *dsrA* 克隆文库进行了研究,发现其中包含 13 个 OTU,主要为脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、脱硫单胞菌属(*Desulfosalsimonas*)、脱硫肠状菌属(*Desulfotomaculum*)、脱硫葡萄状菌属(*Desulfacinum*)和脱硫细菌属(*Desulfoglacba*)^[51]。采用生物竞争法投注激活剂后 NRB 被有效激活,最高达到 10^6 个/mL 以上,而铁细菌(iron bacteria, IB)和腐生菌(saprophytic bacteria, TGB)基本控制在 10^2 – 10^4 个/mL,主要控制指标 SRB 低于 10^2 个/mL,硫化物含量低于 3 mg/L,达到污水处理标准^[52]。但这一方法的使用使得悬浮物含量偏高,生产过程中需要谨慎调整药品用量,避免管道堵塞。

4.4 纳米抑菌剂

由于上述方案对生物膜破坏具有局限性,对 SRB 的抑制也具有时效性,停止加药后会立

刻出现反弹现象。因此有学者提出了预防 MIC 的新方法,即纳米材料在杀菌方面的应用。近几年关于纳米材料作为杀菌剂在医学上的应用研究已十分广泛,这些原理在生态环境及材料保护上也同样可以实现。已经有实验证明了生物表面活性剂作为稳定剂的银纳米粒子可以达到广谱抗菌的效果^[53],杨梅等^[54]也在 2020 年的一篇报道中证实了银纳米簇水凝胶对油田管道中的 SRB 具有抗菌性能,这主要是由于银纳米粒子可以进入细胞,改变细胞膜结构及通透性,并使细胞产生过量的活性氧而导致细胞凋亡。

与此同时,纳米材料也可以用在管道材料的改性上。Fan 等^[55]使用纳米铜对钢材进行改性,使其在 550 °C 处理 10 min 后显示出良好的强度和韧性,并具有显著的抗菌性能。目前认为富铜相纳米在抗菌方面的机理为:悬浮液中纳米颗粒不断地向营养介质中产生铜离子,并附着在细菌细胞膜上并使其破裂,导致蛋白质变性和细胞死亡。这一方法可以从根本上杀死 SRB 菌体,也避免了滥用抗生素所带来的隐患。SRB 作为一种原核生物组群,代谢途径多样,与环境中多种微生物可协同共生。单一的杀菌方法并不能满足现场应用中的需求,因此,研究纳米材料在杀菌领域的应用十分必要。

5 结论

在 MIC 的防治中抑制 SRB 的生长十分重要,由于 SRB 的代谢途径随环境改变发生适应性变化,这一过程仅靠一个科学领域无法解决。目前管道防腐的研究中油田采出水处理后均可以达到排放/回注标准,但常用的处理方法在高温油田中的应用效果并不理想,并且未能实现对 SRB 长期有效的抑制。通过对微生物群落互作机制的探索后可以推测,高温环境下传统的杀菌剂效果不理想可能是由于生物膜内的微生

物共生群落为 SRB 代谢提供了有氧或无氧、高渗或低渗、自养或异养等不同环境, 这一相对稳定的“内环境”可以在一定程度上使膜内的生物群落具有抗药性。因此, 有效地破坏生物膜、使用杀菌剂处理 MIC 成为高温油田管道腐蚀治理中的关键。

进一步的研究可以集中于以下几个方面:

(1) 静态系统并不代表腐蚀发生的环境, 可考虑采用连续流系统、循环流回路和改进的连续搅拌槽反应器进行实验; (2) 研究高温储层中未培养种属的细胞外基质的组成、细胞摄取和外排, 阐明生物膜对生物杀菌剂敏感性物种、生长时间和不同环境下适用的杀菌剂类型差异; (3) 完全杀死生物膜微生物所需的杀菌剂有效浓度比杀死浮游微生物所需的浓度高几个数量级, 因此, 清除生物膜是一个重要的问题; (4) 研究细菌在金属表面形成的蛋白螯合点及其在金属表面的黏附过程及生物膜成因, 可作为防止腐蚀发生的靶点。总之, 在未来的研究中需要整合多组学技术的分析信息, 从生物膜内微生物代谢和基因调控等层面研究腐蚀机理, 以实现对高温油田现场生物腐蚀长期有效的调控。

REFERENCES

- [1] Spark A, Wang K, Cole I, Law D, Ward L. Microbiologically influenced corrosion: a review of the studies conducted on buried pipelines[J]. *Corrosion Reviews*, 2020, 38(3): 231-262
- [2] Qian HC, Chang WW, Cui TY, Li Z, Guo DW, Kwok CT, Tam LM, Zhang DW. Multi-mode scanning electrochemical microscopic study of microbiologically influenced corrosion mechanism of 304 stainless steel by thermoacidophilic archaea[J]. *Corrosion Science*, 2021, 191: 109751
- [3] Enning D, Venzlaff H, Garrelfs J, Dinh HT, Meyer V, Mayrhofer K, Hassel AW, Stratmann M, Widdel F. Marine sulfate-reducing bacteria cause serious corrosion of iron under electroconductive biogenic mineral crust[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(7): 1772-1787
- [4] 刘启元, 叶鹰. 文献题录信息挖掘技术方法及其软件 SATI 的实现: 以中外图书情报学为例[J]. *信息资源管理学报*, 2012, 2(1): 50-58
Liu QY, Ye Y. A study on mining bibliographic records by designed software SATI: case study on library and information science[J]. *Journal of Information Resources Management*, 2012, 2(1): 50-58 (in Chinese)
- [5] Gittel A, Sørensen KB, Skovhus TL, Ingvorsen K, Schramm A. Prokaryotic community structure and sulfate reducer activity in water from high-temperature oil reservoirs with and without nitrate treatment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(22): 7086-7096
- [6] 何延龙, 张凡, 柴陆军, 蒲春生, 董浩, 韩春春, 余跃惠. 注采水样微生物群落与高凝原油的相互作用[J]. *中国石油大学学报(自然科学版)*, 2015, 39(4): 131-139
He YL, Zhang F, Chai LJ, Pu CS, Dong H, Han CC, She YH. Interaction between high-wax crude oil and the microorganism inhabiting injection and production water[J]. *Journal of China University of Petroleum: Natural Science*, 2015, 39(4): 131-139 (in Chinese)
- [7] Zhang J. Study on corrosion protection method of reinjection water treatment system in a natural gas processing plant[J]. *Meteorological and Environmental Research*, 2020, 11(4): 64-70, 74
- [8] Cui LY, Liu ZY, Hu P, Shao JM. Laboratory investigation of microbiologically influenced corrosion of X80 pipeline steel by sulfate-reducing bacteria[J]. *Journal of Materials Engineering and Performance*, 2021, 30(10): 7584-7596
- [9] Elumalai P, AlSalhi MS, Mehariya S, Karthikeyan OP, Devanesan S, Parthipan P, Rajasekar A. Bacterial community analysis of biofilm on API 5LX carbon steel in an oil reservoir environment[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2021, 44(2): 355-368
- [10] Plugge CM, Zhang WW, Scholten JCM, Stams AJM. Metabolic flexibility of sulfate-reducing bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 81
- [11] Tidwell TJ, Broussard ZR. Methanogens and MIC: Leveraging Bioinformatics to Expose an Underappreciated Corrosive Threat to the Oil and Gas Industry[M]. CRC Press, 2021: 137-167
- [12] Tsola SL, Zhu YZ, Ghurnee O, Economou CK, Trimmer M, Eyice Ö. Diversity of dimethylsulfide-degrading methanogens and sulfate-reducing bacteria in anoxic sediments along the Medway Estuary, UK[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(8): 4434-4449

- [13] Chen YJ, Leung PM, Wood JL, Bay SK, Hugenholtz P, Kessler AJ, Shelley G, Waite DW, Franks AE, Cook PLM, et al. Metabolic flexibility allows bacterial habitat generalists to become dominant in a frequently disturbed ecosystem[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(10): 2986-3004
- [14] Cui YY, Qin YX, Ding QM, Gao YN. Study on corrosion behavior of X80 steel under stripping coating by sulfate reducing bacteria[J]. *BMC Biotechnology*, 2021, 21(1): 5
- [15] Otwell AE, Carr AV, Majumder ELW, Ruiz MK, Wilpiseski RL, Hoang LT, Webb B, Turkarlan S, Gibbons SM, Elias DA, et al. Sulfur metabolites play key system-level roles in modulating denitrification[J]. *mSystems*, 2021, 6(1): e01025-e01020
- [16] Liu HW, Cheng YF. Mechanism of microbiologically influenced corrosion of X52 pipeline steel in a wet soil containing sulfate-reduced bacteria[J]. *Electrochimica Acta*, 2017, 253: 368-378
- [17] Lyu MY, Du M, Li X, Yue YY, Chen XC. Mechanism of microbiologically influenced corrosion of X65 steel in seawater containing sulfate-reducing bacteria and iron-oxidizing bacteria[J]. *Journal of Materials Research and Technology*, 2019, 8(5): 4066-4078
- [18] Bao P, Li GX, Sun GX, Xu YY, Meharg AA, Zhu YG. The role of sulfate-reducing prokaryotes in the coupling of element biogeochemical cycling[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 613/614: 398-408
- [19] Van Gaalen K, Gremse F, Benn F, McHugh PE, Kopp A, Vaughan TJ. Automated *ex-situ* detection of pitting corrosion and its effect on the mechanical integrity of rare earth magnesium alloy-WE43[J]. *Bioactive Materials*, 2022, 8: 545-558
- [20] Faimali M, Chelossi E, Pavanello G, Benedetti A, Vandecandelaere I, De Vos P, Vandamme P, Mollica A. Electrochemical activity and bacterial diversity of natural marine biofilm in laboratory closed-systems[J]. *Bioelectrochemistry*, 2010, 78(1): 30-38
- [21] Dall'Agnol LT, Cordas CM, Moura JGG. Influence of respiratory substrate in carbon steel corrosion by a sulphate reducing prokaryote model organism[J]. *Bioelectrochemistry*, 2014, 97: 43-51
- [22] Tolouei NE, Ghamari S, Shavezipur M. Development of circuit models for electrochemical impedance spectroscopy (EIS) responses of interdigitated MEMS biochemical sensors[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2020, 878: 114598
- [23] Kawasaki Y, Fukuyama T, Okamoto T. Acoustic emission method and electrochemical noise technique for evaluation of rebar corrosion in reinforced concrete[A]//Acoustic Emission and Related Non-Destructive Evaluation Techniques in the Fracture Mechanics of Concrete[M]. Amsterdam: Elsevier, 2021: 65-79
- [24] Kovač J, Finšgar M. Analysis of the thermal stability of very thin surface layers of corrosion inhibitors by time-of-flight secondary ion mass spectrometry[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2018, 29(12): 2305-2316
- [25] Lekbach Y, Liu T, Li YC, Moradi M, Dou WW, Xu DK, Smith JA, Lovley DR. Microbial corrosion of metals: the corrosion microbiome[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2021, 78: 317-390
- [26] Schwind M, Reddy C, Langhammer C, Kasemo B, Zoric I. Nanoplasmonic sensing (NPS) combined with electrochemical and QCM-D sensing for corrosion studies[J]. 2011
- [27] Shi PB, Gu MF. Transcriptome analysis and differential gene expression profiling of two contrasting quinoa genotypes in response to salt stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 568
- [28] Li GX, Bao P. Transcriptomics analysis of the metabolic mechanisms of iron reduction induced by sulfate reduction mediated by sulfate-reducing bacteria[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, 97(3): fiab005
- [29] 夏进, 徐大可, 南黎, 刘宏芳, 李绮, 杨柯. 从生物能量学和生物电化学角度研究金属微生物腐蚀的机理[J]. *材料研究学报*, 2016, 30(3): 161-170
- Xia J, Xu DK, Nan L, Liu HF, Li Q, Yang K. Study on mechanisms of microbiologically influenced corrosion of metal from the perspective of bioelectrochemistry and bio-energetics[J]. *Chinese Journal of Materials Research*, 2016, 30(3): 161-170 (in Chinese)
- [30] Babunts RA, Gurin AS, Uspenskaya YA, Asatryan HR, Tolmachev DO, Romanov NG, Badalyan AG, Baranov PG. Specific features of a high-frequency electron paramagnetic resonance spectrometer with frequency modulation[J]. *Technical Physics Letters*, 2020, 46(5): 454-457
- [31] Jia R, Tan JL, Jin P, Blackwood DJ, Xu DK, Gu TY. Effects of biogenic H₂S on the microbiologically influenced corrosion of C1018 carbon steel by sulfate reducing *Desulfovibrio vulgaris* biofilm[J]. *Corrosion Science*, 2018, 130: 1-11

- [32] Lahme S, Mand J, Longwell J, Smith R, Enning D. Severe corrosion of carbon steel in oil field produced water can be linked to methanogenic archaea containing a special type of [NiFe] hydrogenase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(3): e01819-e01820
- [33] Perme S, Lau K, Duncan M. Effect of crevice morphology on SRB activity and steel corrosion under marine foulers[J]. *Bioelectrochemistry*, 2021, 142: 107922
- [34] Barton LL, Fauque GD. Biochemistry, physiology and biotechnology of sulfate-reducing bacteria[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2009, 68: 41-98
- [35] Ayangbenro AS, Olanrewaju OS, Babalola OO. Sulfate-reducing bacteria as an effective tool for sustainable acid mine bioremediation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1986
- [36] He R, Wang J, Pohlman JW, Jia Z, Chu YX, Wooller MJ, Leigh MB. Metabolic flexibility of aerobic methanotrophs under anoxic conditions in Arctic Lake sediments[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(1): 78-90
- [37] Keller KL, Wall JD. Genetics and molecular biology of the electron flow for sulfate respiration in desulfovibrio[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 135
- [38] Qin M, Liao KX, He GX, Ye N, Zhao S, Zhang SJ. Flow influenced initiation and propagation of SRB corrosion on L360N carbon steel[J]. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2021: 1-12
- [39] Tian HM, Gao PK, Chen ZH, Li YS, Li Y, Wang YS, Zhou JF, Li GQ, Ma T. Compositions and abundances of sulfate-reducing and sulfur-oxidizing microorganisms in water-flooded petroleum reservoirs with different temperatures in China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 143
- [40] Zhou L, Lu YW, Wang DW, Zhang SL, Tang EG, Qi ZZ, Xie SN, Wu J, Liang B, Liu JF, et al. Microbial community composition and diversity in production water of a high-temperature offshore oil reservoir assessed by DNA- and RNA-based analyses[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2020, 151: 104970
- [41] 杨春璐, 苑美玉, 史荣久, 闫鹏举, 赵峰, 韩斯琴, 张颖. 海域高温油田 1 株耐高温耐盐硫酸盐还原菌的筛选与生理特性及活性抑制[J]. *环境科学*, 2018, 39(10): 4783-4792
Yang CL, Yuan MY, Shi RJ, Yan PJ, Zhao F, Han SQ, Zhang Y. A thermotolerant and halotolerant sulfate-reducing bacterium in produced water from an offshore high-temperature oilfield in Bohai Bay, China: isolation, phenotypic characterization, and inhibition[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(10): 4783-4792 (in Chinese)
- [42] 杨春璐, 闫鹏举, 魏宠, 史荣久, 韩斯琴, 张颖, 万传明. 一株源自渤海海域高温酸败油井采出水的硫酸盐还原菌筛选与活性抑制[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(5): 1332-1341
Yang CL, Yan PJ, Wei C, Shi RJ, Han SQ, Zhang Y, Wan CM. Isolation and activity inhibition of a sulfate-reducing bacterium in produced water from an offshore high-temperature soured oilfield in the Bohai Sea area, China[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(5): 1332-1341 (in Chinese)
- [43] Sokolova DS, Semenova EM, Grouzdev DS, Bidzhieva SK, Babich TL, Loiko NG, Ershov AP, Kadnikov VV, Beletsky AV, Mardanov AV, et al. Sulfidogenic microbial communities of the uzen high-temperature oil field in Kazakhstan[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(9): 1818
- [44] Coker JA. Recent advances in understanding extremophiles[J]. *F1000Research*, 2019, 8: 1917
- [45] Marietou A. Sulfate reducing microorganisms in high temperature oil reservoirs[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2021, 116: 99-131
- [46] Prajapat G, Jain S, Rellegadla S, Tailor P, Agrawal A. Synergistic approach to control reservoir souring in the moderately thermophilic oil fields of western India[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2021, 14: 100649
- [47] 邓舒元, 王博, 孙珊珊, 白拉贝, 余跃惠, 张凡. 硫化物生物抑制剂体系筛选及应用[J]. *油田化学*, 2021, 38(3): 547-552
Deng SY, Wang B, Sun SS, Bai LB, She YH, Zhang F. Screening and application of sulfide biological inhibition system[J]. *Oilfield Chemistry*, 2021, 38(3): 547-552 (in Chinese)
- [48] Biswas KC, Woodards NA, Xu HF, Barton LL. Reduction of molybdate by sulfate-reducing bacteria[J]. *BioMetals*, 2009, 22(1): 131-139
- [49] De Jesus EB, De Andrade Lima LRP, Bernardez LA, Almeida PF. Inhibition of microbial sulfate reduction by molybdate[J]. *Brazilian Journal of Petroleum and Gas*, 2015, 9(3): 95-106
- [50] Stoeva MK, Nalula G, Garcia N, Cheng YW, Engelbrektsen AL, Carlson HK, Coates JD. Resistance and resilience of sulfidogenic communities in the face of the specific inhibitor perchlorate[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 654

- [51] 苏三宝, 张凡, 喻高明, 顾永安, 余跃惠. 油藏环境异化铁还原菌的生物多样性[J]. 科学技术与工程, 2018, 18(30): 30-34
Su SB, Zhang F, Yu GM, Gu YA, She YH. The biological diversity of dissimilated iron reducing bacteria in oil reservoirs[J]. Science Technology and Engineering, 2018, 18(30): 30-34 (in Chinese)
- [52] 余跃惠, 胡琳琪, 曾琦, 顾永安, 张凡. 硝酸盐还原菌提高原油采收率研究进展[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2021, 18(1): 70-78
She YH, Hu LQ, Zeng Q, Gu YA, Zhang F. Research progress on enhancing oil recovery by nitrate-reducing bacteria (NRB)[J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2021, 18(1): 70-78 (in Chinese)
- [53] Bezza FA, Tichapondwa SM, Chirwa EMN. Synthesis of biosurfactant stabilized silver nanoparticles, characterization and their potential application for bactericidal purposes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 393: 122319
- [54] 杨梅, 邵泽宇, 廖晓玲, 徐文峰, 张园园. 银纳米簇水凝胶对油田管道中硫酸盐还原菌的抗菌性能研究[J]. 分析化学, 2020, 48(12): 1674-1680
Yang M, Shao ZY, Liao XL, Xu WF, Zhang YY. Antibacterial activity of Ag nanoclusters hydrogel to sulfate reducing bacteria in oil field pipeline[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2020, 48(12): 1674-1680 (in Chinese)
- [55] Fan YQ, Ma CW, Li SP, Zhang H. Novel Cu-rich nano-precipitates strengthening steel with excellent antibacterial performance[J]. Metals, 2019, 9(1): 52