



# 生物竞争抑制作用对渤海 J 油田微生物降解驱油聚合物功能的影响

张世仑<sup>1,2\*</sup>, 王大威<sup>1,2</sup>, 尹榆钧<sup>3</sup>, 靖波<sup>1,2</sup>

1 海洋石油高效开发国家重点实验室, 北京 100028

2 中海油研究总院有限责任公司, 北京 100028

3 南开大学生命科学学院, 分子微生物学与技术教育部重点实验室, 天津 300071

张世仑, 王大威, 尹榆钧, 靖波. 生物竞争抑制作用对渤海 J 油田微生物降解驱油聚合物功能的影响. 微生物学报, 2022, 62(6): 2289–2298.

Zhang Shilun, Wang Dawei, Yin Yujun, Jing Bo. Impact of bio-competitive exclusion on the degradation of polymers for oil displacement by endogenous microorganisms in Bohai J-oilfield. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2289–2298.

**摘要:**【目的】揭示可降解驱油用聚合物的油藏内源微生物群落组成, 分析生物竞争抑制作用 (bio-competitive exclusion, BCX) 对微生物聚合物降解功能的影响。【方法】通过室内培养实验, 观察 BCX 对驱油用聚合物黏度的影响, 随后借助高通量测序技术分析渤海 J 油田中与聚合物降解相关的微生物菌种, 并探寻样本中丰度较高的聚合物降解功能基因—酰胺酶、加氧酶、硫化氢生成酶基因。之后, 比对测序结果, 采用实时荧光定量法验证上述功能基因在样本之间的含量差异, 最后进一步注释携带上述功能基因的微生物群落组成。【结果】BCX 可有效地延缓驱油聚合物黏度的损失。油田中与聚合物降解相关的微生物有 *Acetomicrobium*、*Tepidiphilus*、*Thermoanaerobacter*、*Fervidobacterium*、*Ralstonia*、*Halomonas*、*Roseovarius*、*Deferribacteraceae* 和 *Comamonadaceae* 等 9 类菌种。高通量测序分析得到样本中 BCX 可显著下调丰度的聚合物降解功能基因共计有 7 种, 其中酰胺酶基因 *ansB*、加氧酶基因 *ssuD* 在样本之间的含量经定量验证, 发现受到了 BCX 的抑制, 这与测序结果相一致。群落组成注释表明, BCX 对渤海 J 油田聚合物高效降解菌—代尔夫特菌 (*Delftia*) 存在明显的抑制作用。【结论】揭示了油田中可降解驱油用聚合

基金项目: 国家科技重大专项(2016ZX05025003)

Supported by the National Science and Technology Major Project of China (2016ZX05025003)

\*Corresponding author. Tel: +86-10-84523526; Fax: +86-10-64662989; E-mail: zhangshl53@cnooc.com.cn

Received: 16 August 2021; Revised: 24 September 2021; Published online: 14 February 2022

物的内源微生物群落组成,发现 BCX 对微生物降解聚合物的抑制效用,证实 BCX 有助于解决海上油田聚合物驱稳粘问题。

**关键词:** 群落组成; 生物竞争抑制; 黏度; 高通量测序; 聚合物驱

## Impact of bio-competitive exclusion on the degradation of polymers for oil displacement by endogenous microorganisms in Bohai J-oilfield

ZHANG Shilun<sup>1,2\*</sup>, WANG Dawei<sup>1,2</sup>, YIN Yujun<sup>3</sup>, JING Bo<sup>1,2</sup>

1 State Key Laboratory of Offshore Oil Exploitation, Beijing 100028, China

2 China National Offshore Oil Corporation (CNOOC) Research Institute, Beijing 100028, China

3 Key Laboratory of Molecular Microbiology and Technology, Ministry of Education, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Abstract:** [Objective] This study aimed to reveal the composition of endogenous microbial community degrading the polymers for oil displacement in the reservoir and analyze the influence of bio-competitive exclusion on the microbial degradation of polymers. [Methods] Through indoor culture experiments, we observed the influence of bio-competitive exclusion on the viscosity of the polymers, and used high-throughput sequencing technology to analyze the microbial strains related to polymer degradation in Bohai J-oilfield. We then mined the genes (encoding amidase, oxygenase, hydrogen sulfide-generating enzyme) with high abundance and involved in polymer degradation in the samples. After that, we employed the real-time fluorescence PCR to compare the abundance of the above-mentioned functional genes between samples, and finally annotated the microbial taxa carrying the above-mentioned functional genes. [Results] Bio-competitive exclusion mitigated the viscosity loss of the polymers for oil displacement. Nine taxa of microorganisms related to the degradation of polymers were identified, including *Acetomicrobium*, *Tepidiphilus*, *Thermoanaerobacter*, *Fervidobacterium*, *Ralstonia*, *Halomonas*, *Roseovarius*, *Deferribacteraceae*, and *Comamonadaceae*. High-throughput sequencing revealed that bio-competitive exclusion significantly down-regulated the abundance of 7 genes involved in the polymer degradation in the samples. The measurement of abundance in samples showed that the abundance of the amidase gene *ansB* and the oxygenase gene *ssuD* was down-regulated by bio-competitive exclusion, which was consistent with the sequencing results. The community composition annotation indicated that bio-competitive exclusion significantly inhibited *Delftia*, a highly efficient bacterial taxa for polymer degradation in Bohai J-oilfield. [Conclusion] We revealed the endogenous microbial taxa related to the degradation of polymers for oil displacement in the oilfield and discovered the inhibitory effect of bio-competitive exclusion on the degradation, confirming that bio-competitive exclusion can help to stabilize the viscosity of polymers for oil displacement in offshore oilfield.

**Keywords:** community composition; bio-competitive exclusion; viscosity; high-throughput sequencing; polymer flooding

聚合物驱油技术是通过注入高黏度的聚合物溶液, 调节油水两相的流度比, 降低水相有效渗透率, 控制水相指进, 扩大波及体积, 达到提高原油采收率的目的<sup>[1-2]</sup>。因此, 黏度是评价聚合物驱油效果的关键指标<sup>[3]</sup>。海上油田驱油用聚合物溶液以回注的污水配制, 而污水中的矿物离子、酸碱度及细菌浓度等因素都会降低聚合物溶液的黏度。其中, 细菌会通过生物物理、生物化学、酶反应等作用, 使聚合物链断裂或氧化, 致使聚合物溶液黏度下降, 进而影响其驱油性能<sup>[4]</sup>。Nakamiya 等<sup>[5]</sup>分离出以聚丙烯酰胺为碳、氮源的好氧菌, Kumar 等<sup>[6]</sup>发现降解酰胺基的假单胞菌, Kay-Shoemake 等<sup>[7]</sup>证实聚丙烯酰胺的氨基易被微生物产生的酰胺酶水解, 李宜强等、Bao 等<sup>[8-9]</sup>认为好氧微生物会降解聚丙烯酰胺的碳链骨架。可见, 抑制油田系统中可降解驱油聚合物的细菌活性具有重要意义。考虑到环境保护和长期抑制效果, 生物竞争抑制法(bio-competitive exclusion, BCX)受到多国学者的共同关注, 应用最多的是加入硝酸盐/亚硝酸盐抑制剂处理, 即在油田注入水中加入硝酸盐抑制硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)的生长<sup>[10]</sup>。

本文一方面揭示了渤海 J 油田中参与驱油聚合物降解过程的微生物菌种, 另一方面比较了油田硫化氢治理措施井与非措施井之间微生物介导的聚合物降解功能差异变化。发现在 BCX 作用下, 聚合物溶液黏度的减损趋缓, 且与聚合物降解过程相关的功能基因表达量、功能微生物—代尔夫特菌(*Delftia*)丰度均显著下降<sup>[11]</sup>, 多层次地证实了 BCX 对驱油聚合物的稳粘作用, 在加深对海上注聚油田环境中微生物多样性认识的同时, 也为保障油田聚合物驱油效果探索出新的方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和设备

渤海 J 油田 A 区块(油藏温度 65 °C, 埋深 1 300–1 500 m)两类井采出液: X1 (非硫化氢治理井)、X2 (硫化氢治理井)。

疏水缔合聚合物 AP-P4 (四川光亚聚合物化工有限公司, 中国)、AxyPrep™ 细菌基因组 DNA 试剂盒(Axygen Biosciences)、EmeraldAmp® PCR 反应混合物(TaKaRa)、Bestar® Sybr Green qPCR 反应混合物(DBI Bioscience)、ABI GeneAmp® 9700 PCR 仪(Applied Biosystems)、CFX96 实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad)、LV-DV-II 黏度计(Brookfield)、Illumina MiSeq 测序平台(上海美吉生物医药科技有限公司)。

### 1.2 样本采集

取 25 L 塑料桶, 用医用酒精洗 2–3 遍; 根据井口压力选择性接上高(低)压取样器, 打开取样阀, 让采出液流出 5–10 min 并冲洗塑料桶 2–3 遍; 将采出液灌满塑料桶, 每口井 25 L (其中原油至少 1 L, 地层水至少 10 L), 拧紧盖子密闭常温保存(注意冬季防冻结、夏季防暴晒); 样品采集后尽快运送至实验室进行预处理。

### 1.3 聚合物降解实验

取 X1、X2 井地层水, 分别加入 1 000 mg/L 的聚合物 AP-P4, 水浴恒温 60 °C 搅拌 2 h, 转速 300 r/min, 至聚合物完全溶解。将 200 mL 上述溶液加入厌氧培养瓶, 抽取真空并充入氮气, 确保培养瓶内的无氧条件。于 60 °C 恒温培养箱中, 静置培养。每 7 d 取样 20 mL, 使用 LV-DV-II 黏度计进行黏度检测。

### 1.4 DNA 提取及扩增子测序

将上述培养液, 每 7 d 取样 10 mL。针对采集样品的水相部分, 直接采用离心法(12 000 r/min 离心 5 min)收集其中的菌体; 针对油相部分,

预先与异辛烷混合,充分溶解得到单一相,再进行离心(12 000 r/min 离心 20 min)收集沉淀;将上层液相通过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜,过滤收集菌体。取菌液 20 mL 于离心管中,12 000 r/min 离心 10 min;菌体使用 1 mL lysis buffer 洗 2 次后,用 0.6 mL lysis buffer 重悬并加入 0.2 g 玻璃珠,研磨 1 min,重复 3 次,加入终浓度为 10 mg/mL 的溶菌酶在 37  $^{\circ}\text{C}$  下反应 1 h;加入 120  $\mu\text{L}$  20% 的 SDS 在 65  $^{\circ}\text{C}$  下反应 1 h;使用 AxyPrep<sup>TM</sup> 细菌基因组 DNA 试剂盒完成后续提取,具体方法步骤参照说明书。

使用通用引物 515F (5'-GTGYCAGCMGC CGCGGTAA-3')和 926R (5'-CCGYCAATTYMT TTRAGTTT-3')对 X1 井样品及其加入聚合物培养的实验组样品 DNA 进行细菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增<sup>[12]</sup>,PCR 反应体系(2 $\times$ Taq PCR Master Mix 10  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 12  $\mu\text{L}$ , 正、反向引物各 1  $\mu\text{L}$ , DNA 1  $\mu\text{L}$ ), PCR 反应程序(94  $^{\circ}\text{C}$  4 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 50  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 30 个循环: 72  $^{\circ}\text{C}$  5 min); PCR 产物送至上海美吉生物医药科技有限公司进行微生物群落组成和多样性分析。

### 1.5 数据处理和分析

Wilcoxon 秩和检验(Wilcoxon rank-sum test),也叫曼-惠特尼 U 检验(Mann-Whitney U test),是 2 组独立样本非参数检验的一种方法,其原假设为 2 组独立样本来自的两总体分布无显著差异,通过对 2 组样本平均值的研究来实现判断两总体的分布是否存在差异,该分析可以对 2 组样本的物种进行显著性差异分析,并对  $P$  值进行多种方法的校正。

使用软件 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>)对原始测序数据进行质控;利用 Megahit (<https://github.com/voutcn/megahit>)软件针对不同测序深度序列进行组装;使用 MetaGene<sup>[13]</sup>

(<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>)对拼接结果中的 contigs 进行 ORF 预测;用 CD-HIT 软件<sup>[14]</sup> (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>)进行聚类(默认参数为: 90% identity、90% coverage),每个类取最长的基因作为代表序列,构建非冗余基因集;使用 BLASTp (BLAST Version 2.2.28+, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)将非冗余基因集序列与 KEGG<sup>[15]</sup> (kyoto encyclopedia of genes and genomes, <http://www.genome.jp/kegg/>)的基因数据库(GENES)进行比对, BLAST 比对参数设置期望值 e-value 为 1e-5;根据比对结果使用 KOBAS 2.0<sup>[16]</sup> (KEGG orthology based annotation system)进行功能注释;使用 KO、Pathway、EC、Module 对应的基因丰度总和计算该功能类别的丰度。

### 1.6 聚合物降解功能基因的筛选和验证

参与聚合物降解过程的生物酶包括酰胺酶、加氧酶和硫化氢生成酶等。基于宏基因组测序结果,采用 RPKM (reads per kilobase of exon model per million mapped reads)计算方法对以上三类酶的丰度进行计算分析<sup>[17]</sup>。根据所得 RPKM 值,寻找在未治理井(X1)样本中丰度较高的三类酶。比对 KEGG 数据库已有序列,使用 MEGA-X 软件寻找三类酶基因中可用于荧光定量的保守区域,据此使用 Primer 5 软件设计聚合物降解功能基因引物。

对所提取的 DNA 进行实时荧光定量分析,以 16S rRNA 基因为内参基因,利用 $-\Delta\Delta C_t$ 法分析样本之间功能基因含量的差异,引物如表 1 所示。

相对定量算法公式:功能基因含量的比值= $2^{-\Delta\Delta C_t(X2/X1)}$ ;  $\Delta C_t(X1)=C_t(X1 \text{ 功能基因})-C_t(X1 \text{ 内参基因})$ ,  $\Delta C_t(X2)=C_t(X2 \text{ 功能基因})-C_t(X2 \text{ 内参基因})$ ,  $\Delta\Delta C_t(X2/X1)=\Delta C_t(X2)-\Delta C_t(X1)$ 。

PCR 反应体系(SYBR Green Master Mix

表 1 实时荧光定量的引物序列

Table 1 Primer sequences for real-time fluorescence quantification

Genes	Primers sequences (5'→3')
16S rRNA <sup>[18]</sup>	F: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG R: GCTGCCTCCCGTAGGAGT
<i>ansB</i>	F: AAGTCCGTA AACATCAAGACCGAA R: ACGTTCCCGTAGCCGTAAGC
<i>ssuD</i>	F: CCACGGATCAGGTCGATACTTACT R: CCTGCCAGAGGTTTGGAGAA
<i>nicD</i>	F: CTGGTGCTGATCGACCCG R: GCAGGTGTGCAGCCATTCG
<i>hipO</i>	F: CGCTACGGCTGAGGTTACGC R: GCCTTTGGGTTGGGCTTCC
<i>glpE</i>	F: AAAGAGGCGGTGCTGGTTCG R: CCTTTGCTGCTATTGCCGTGA
<i>cysJ</i>	F: GGCGTAGCAACAGCCTTCC R: ATGACCCTCCGCCACCA
<i>tauD</i>	F: TGACCTTTCTGCCGACACC R: CGCTCCAACGGGAATGACT

10  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 8.9  $\mu\text{L}$ , 正、反向引物各 0.05  $\mu\text{L}$ , DNA 1  $\mu\text{L}$ , PCR 反应程序(95  $^{\circ}\text{C}$  5 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 55  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 40 个循环; 80  $^{\circ}\text{C}$  10 s)。

### 1.7 国际基因库测序接受号

采出液样品高通量测序原始数据上传至 NCBI 的 SRA (Sequence Read Archive) 数据库, 接受号为 PRJNA688608、PRJNA688392。

## 2 结果与分析

### 2.1 聚合物黏度的测定

以 7 d 为间隔, 收集 X1、X2 井实验组样本, 进行黏度测定。如图 1 所示, 在 0–7 d, X1 井样本黏度由 17.2 cP 降至 3.7 cP, 下降了 78.5%; 在第 7 天之后, 样本黏度的下降趋势逐渐平缓, 步入平台期, 终黏度为 2.7 cP。相比之下, 经 BCX 处理的 X2 井样本在前 7 d, 黏度由 13.4 cP 降至 5.8 cP, 降幅为 56.7%, 终黏度为 4.9 cP。由此可见, BCX 延缓了聚合物黏度的下降趋势。

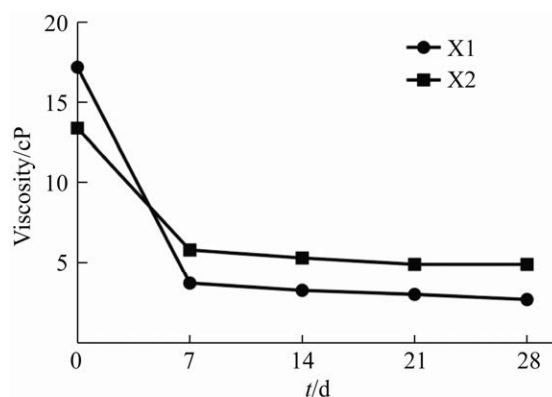


图 1 聚合物黏度变化

Figure 1 Changes in polymer viscosity under the action of BCX. X2 was a hydrogen sulfide treatment well, while X1 was a non-treatment well.

### 2.2 细菌群落多样性分析

为了研究样品的细菌组成及多样性信息, 选取细菌 16S rRNA 基因测序获得的 OTU 代表性序列, 与 NCBI 数据库进行比对获得细菌注释信息。基于细菌注释信息, 计算各类细菌的相对丰度, 绘制细菌相对丰度分布图(图 2)。结合 Wilcoxon 秩和检验(图 3), 发现在加入驱油用聚合物的地层水样本中, 有 *Tepidiphilus*、*Ralstonia*、*Acetomicrobium*、*Halomonas*、*Thermoanaerobacter*、*Roseovarius*、*Deferribacteraceae*、*Fervidobacterium*、*Comamonadaceae* 等 9 类菌种在油藏内源微生物群落组成中的丰度要高于不加聚合物的对照组。可见, 这 9 类菌种的存在与驱油用聚合物的降解现象密切相关, 它们能够利用环境中的聚合物作为营养物质, 使各自菌群数量得以显著提升。

### 2.3 聚合物降解功能基因的筛选和验证

基于驱油聚合物的分子结构, 酰胺酶可作用于其酰胺基团, 加氧酶可作用于其碳氧双键和 R 基团。根据宏基因组测序所获得的 RPKM 值, 比较样本之间聚合物降解功能酶—酰胺酶、加氧酶、硫化氢生成酶基因的丰度差异。如

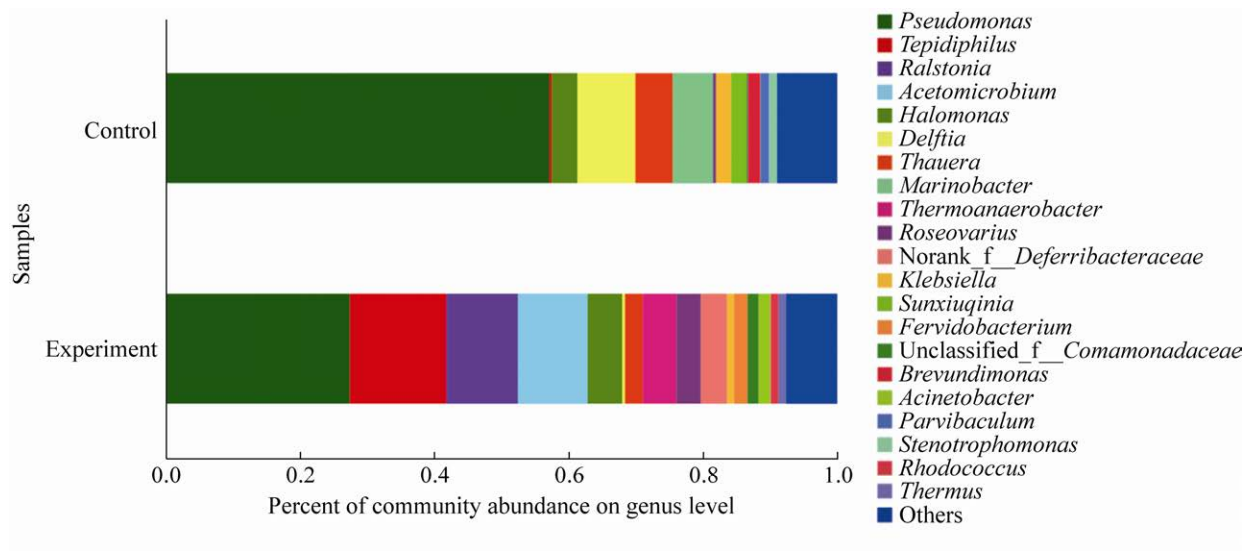


图 2 细菌相对丰度分布

Figure 2 Relative abundance distribution of bacteria. The ordinate showed sample names, in which the experimental group was cultured with oil displacement polymers added to the formation water, while the control group was cultured with only formation water added. The abscissa showed the proportion of bacteria in the samples.

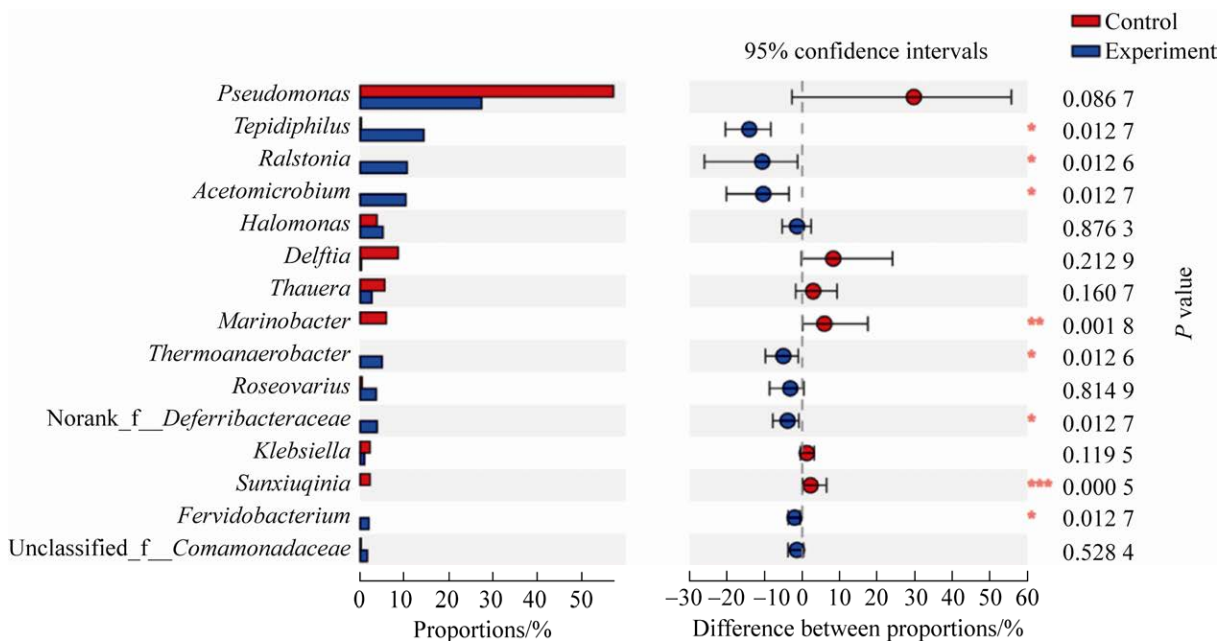


图 3 Wilcoxon 秩和检验

Figure 3 Wilcoxon rank sum test of bacterial relative abundance. The ordinate showed names of the strains, and columns corresponding to the strains indicated the respective abundance in the samples. The experimental group was cultured with oil displacement polymers added to the formation water, while the control group was cultured with only formation water added. The position of dots indicated the difference in the abundance of bacteria between samples, and the color of dots showed samples with higher abundance of the bacteria. \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ ; \*\*:  $0.001 < P \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $P \leq 0.001$ .

图 4 所示, 发现在 BCX 作用下, X2 井样本微生物中: 酰胺酶 ANS (谷氨酰胺(天冬酰胺)酶)、NIC (N-甲酰基马来酸甲酰化酶)、HIP (马尿酸水解酶); 加氧酶 SSU (烷烃磺酸盐单加氧酶)、TAU (牛磺酸双加氧酶); 硫化氢生成酶 GLP (硫代硫酸盐硫转移酶)、CYS (同化亚硫酸盐还原酶)等 7 类酶基因的丰度要低于 X1 井。此外, 通过宏基因组功能注释, 发现两类加氧酶 SSU 和 TAU 也参与了硫化氢生成通路。以上结果从基因水平上说明了 BCX 对微生物降解驱油聚合物功能的抑制作用。

对宏基因组测序揭示的 BCX 下调丰度的聚合物降解功能基因, 用实时荧光定量 PCR 方法进行了验证。如图 5 所示, 在 BCX 作用下, 相比 X1 井, X2 井样本中酰胺酶基因 *ansB*、加氧酶基因 *ssuD* 的含量分别下降了 72.5% 和 87.5%, 该趋势与图 4 中 2 种基因在样本之间的

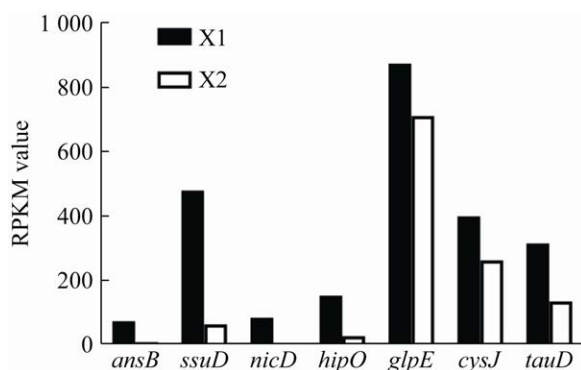


图 4 聚合物降解功能基因的表达差异

Figure 4 Differences in the expression of polymers degradation functional genes under the action of BCX. X2 was a hydrogen sulfide treatment well, while X1 was a non-treatment well. The RPKM value meant the number of reads (read length, obtained from a single sequence) aligned to each gene with a unit of one thousand bases in every one million sequences. The RPKM value was a standard to measure the level of genes expression.

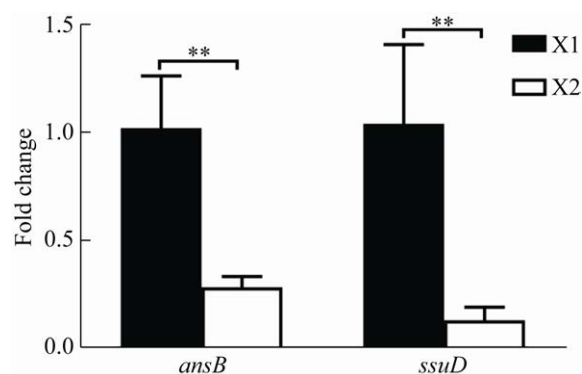


图 5 聚合物降解功能基因的定量验证

Figure 5 Quantitative verification of BCX inhibiting polymers degradation functional genes. X2 was a hydrogen sulfide treatment well, while X1 was a non-treatment well. \*\*:  $0.001 < P \leq 0.01$ .

表达差异相一致, 进一步证明了 BCX 对聚合物降解功能基因的抑制作用。

#### 2.4 聚合物降解功能微生物的群落结构

基于宏基因组测序结果, 将定量验证通过的酰胺酶基因 *ansB*、加氧酶基因 *ssuD* 进行相关功能微生物群落构成的注释。发现在 X1 井样本中(图 6、图 7), 聚合物高效降解菌 *Delftia* 丰度较高; 在经过 BCX 处理后, X2 井样本中 *Delftia* 占比显著减少, 意味着微生物菌群对驱油聚合物的分解作用趋缓, 即从群落构成的宏观水平, 验证了 BCX 对可降解驱油聚合物菌群的抑制能力。

### 3 讨论

保持聚合物驱油体系在地层驱油过程中的长效性是提高海上油田采收率的关键, 而微生物对驱油聚合物的降解是其生长需求, 聚合物的酰胺基侧链可作为氮源被微生物利用, 其 C-C 主链可作为微生物生长的碳源<sup>[19-20]</sup>。因此, 加深对海上注聚油田环境微生物多样性的认识, 是分析油藏内源驱油用聚合物降解相关微生物种群结构的前提条件。

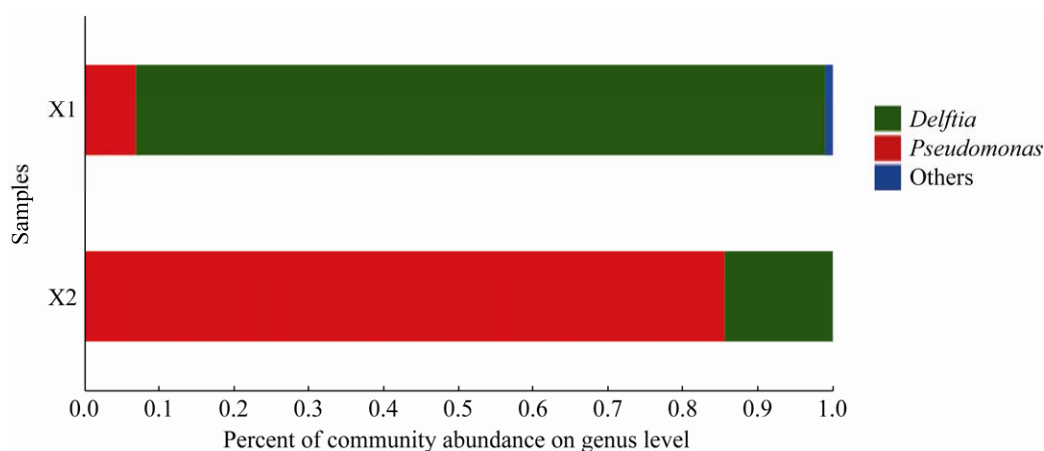


图 6 携带 *ansB* 基因的菌群丰度分布图

Figure 6 The abundance distribution of floras carrying the *ansB* gene. The ordinate showed sample names, X2 was a hydrogen sulfide treatment well, while X1 was a non-treatment well. The abscissa showed the proportion of bacteria in the samples.

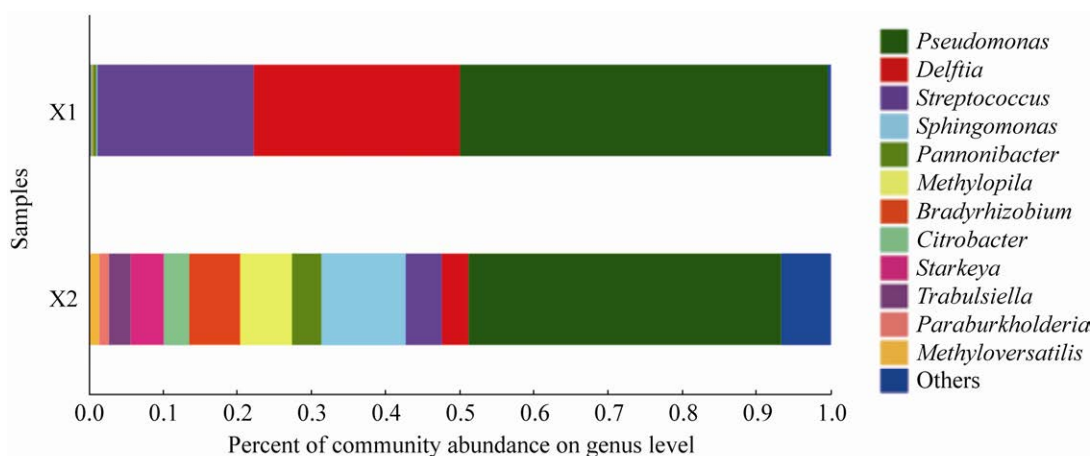


图 7 携带 *ssuD* 基因的菌群丰度分布图

Figure 7 The abundance distribution of floras carrying the *ssuD* gene. The ordinate showed sample names, X2 was a hydrogen sulfide treatment well, while X1 was a non-treatment well. The abscissa showed the proportion of bacteria in the samples.

在图 2、图 3 所揭示的 9 类聚合物降解相关菌种中，嗜热厌氧杆菌(*Thermoanaerobacter*)能够将硫代硫酸盐还原为硫化物，是 SRB 的一种<sup>[21]</sup>。SRB 降解聚合物的主要机制包括以聚合物作为自身生长的营养物质、分泌降解聚合物的酶来打断其分子链结构，而硫酸盐还原反应的终产物  $S^{2-}$  也会降低聚合物的黏度<sup>[22-23]</sup>。此外，在添加聚合物的实验组中，*Tepidiphilus*、

*Halomonas*、*Roseovarius*、*Deferribacteraceae* 和 *Comamonadaceae* 等硝酸盐还原菌(nitrate-reducing bacteria, NRB)的丰度显著提升，NRB 可与 SRB 竞争电子供体物质(如有机酸等)，抑制 SRB 生长；在 NRB 还原硝酸盐的过程中，生成的亚硝酸盐也可以直接抑制 SRB<sup>[24-27]</sup>。因此，聚合物黏度下降一方面是由于其为微生物的增殖提供营养,另一方面是 SRB 代谢产物  $S^{2-}$



对聚合物的分解作用。在图 1 的硫化氢治理井样品中, 由于硝酸盐的加入, 引起样品中 NRB 的增殖, 进而在 BCX 作用下, SRB 生长受到抑制, 缓解了聚合物黏度的减损趋势。

借助高通量测序等生物信息学方法, 不仅能全面分析功能微生物的群落构成, 更能深层次地挖掘出涉及驱油聚合物降解、硫化氢生成过程的基因通路信息, 从而为建立聚合物驱油田次生硫化氢的防控<sup>[28]</sup>以及驱油聚合物的稳粘增效方法提供依据和指导。

## 4 结论

本文通过室内培养实验, 从 BCX 可延缓聚合物溶液黏度下降的现象出发, 分析了海上聚合物驱油田环境中可降解驱油用聚合物的内源微生物菌群组成, 发现了 9 类可降解聚合物的相关菌种。借助宏基因组测序技术, 分析并验证了 BCX 对微生物中聚合物降解功能基因的抑制作用; 同时, 在群落构成这一宏观层面, 发现 BCX 可使油藏中聚合物高效降解菌种 *Delftia* 极大程度地失去活性。以上结论表明, BCX 在防控次生硫化氢危害的同时, 也可为实现驱油用聚合物稳粘增效的目标提供有力的支持。

## 参考文献

- [1] 李生涛, 吴夏, 王丹玲, 喻志骅, 翁雪波. 聚合物驱油体系及发展趋势研究. 当代化工, 2018, 47(3): 632–634, 638.  
Li ST, Wu X, Wang DL, Yu ZH, Weng XB. Research on polymer flooding system and its development trend. *Contemporary Chemical Industry*, 2018, 47(3): 632–634, 638. (in Chinese)
- [2] 李兆雯. 聚合物驱采油技术现状及发展趋势综述. 化学工程与装备, 2018(2): 243–245, 281.  
Li ZW. Overview of the current situation and development trend of polymer flooding and oil recovery technology. *Chemical Engineering & Equipment*, 2018(2): 243–245, 281. (in Chinese)
- [3] 龙旭. 聚合物驱油动态特征及驱油效果影响因素分析. 化工管理, 2017(6): 23.  
Long X. Analysis of dynamic characteristics of polymer flooding and influencing factors of oil flooding effect. *Chemical Enterprise Management*, 2017(6): 23. (in Chinese)
- [4] 程林波, 张鸿涛. 废水中聚丙烯酰胺的生物降解试验研究初探. 环境保护, 2004, 32(1): 20–23.  
Cheng LB, Zhang HT. Preliminary study on biodegradation of polyacrylamide in wastewater. *Environmental Protection*, 2004, 32(1): 20–23. (in Chinese)
- [5] Nakamiya K, Kinoshita S. Isolation of polyacrylamide-degrading bacteria. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1995, 80(4): 418–420.
- [6] Kumar A, Kumar A. Isolation of a *Pseudomonas aeruginosa* strain capable of degrading acrylamide. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1998, 8(4): 347–352.
- [7] Kay-Shoemaker JL, Watwood ME, Sojka RE, Lentz RD. Polyacrylamide as a substrate for microbial amidase in culture and soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(13): 1647–1654.
- [8] 李宜强, 沈传海, 景贵成, 胡锦涛. 微生物降解 HPAM 的机理及其应用. 石油勘探与开发, 2006, 33(6): 738–742.  
Li YQ, Shen CH, Jing GC, Hu JQ. Mechanism of HPAM-biodegradation and its application. *Petroleum Exploration and Development*, 2006, 33(6): 738–742. (in Chinese)
- [9] Bao MT, Chen QG, Li YM, Jiang GC. Biodegradation of partially hydrolyzed polyacrylamide by bacteria isolated from production water after polymer flooding in an oil field. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 184(1/2/3): 105–110.
- [10] Voordouw G. Production-related petroleum microbiology: progress and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(3): 401–405.
- [11] 郑国林, 周晓见, 董昆明, 缪莉, 靳翠丽, 姜薇. 一株丙烯酰胺高效降解菌的筛选及其降解性能. 环境工程学报, 2013, 7(1): 360–364.  
Zheng GL, Zhou XJ, Dong KM, Miao L, Jin CL, Jiang W. Screening and degradability of an acrylamide degrading bacterium. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2013, 7(1): 360–364. (in Chinese)
- [12] 吴悦妮, 冯凯, 厉舒祯, 王朱珺, 张照婧, 邓晔. 16S/18S/ITS 扩增子高通量测序引物的生物信息学评估和改进. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2897–2912.  
Wu YN, Feng K, Li SZ, Wang ZJ, Zhang ZJ, Deng Y. *In-silico* evaluation and improvement on 16S/18S/ITS primers for amplicon high-throughput sequencing. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2897–2912. (in Chinese)

- [13] Noguchi H, Park J, Takagi T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(19): 5623–5630.
- [14] Fu LM, Niu BF, Zhu ZW, Wu ST, Li WZ. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, 2012, 28(23): 3150–3152.
- [15] Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(1): 27–30.
- [16] Xie C, Mao XZ, Huang JJ, Ding Y, Wu JM, Dong S, Kong L, Gao G, Li CY, Wei LP. KOBAS 2.0: a web server for annotation and identification of enriched pathways and diseases. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39(Web Server issue): W316–W322.
- [17] Lawson CE, Wu S, Bhattacharjee AS, Hamilton JJ, McMahon KD, Goel R, Noguera DR. Metabolic network analysis reveals microbial community interactions in anammox granules. *Nature Communications*, 2017, 8: 15416.
- [18] Yu Y, Lee C, Kim J, Hwang S. Group-specific primer and probe sets to detect methanogenic communities using quantitative real-time polymerase chain reaction. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 89(6): 670–679.
- [19] Wen QX, Chen ZQ, Zhao Y, Zhang HC, Feng YJ. Biodegradation of polyacrylamide by bacteria isolated from activated sludge and oil-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 175(1/2/3): 955–959.
- [20] Kay-Shoemaker JL, Watwood ME, Sojka RE, Lentz RD. Soil amidase activity in polyacrylamide-treated soils and potential activity toward common amide-containing pesticides. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 31(2): 183–186.
- [21] Lee YJ, Prange A, Lichtenberg H, Rohde M, Dashti M, Wiegel J. *In situ* analysis of sulfur species in sulfur globules produced from thiosulfate by *Thermoanaerobacter sulfurigenens* and *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes*. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(20): 7525–7529.
- [22] 包木太, 陈庆国, 王娜, 郭省学, 李希明. 油田污水中聚丙烯酰胺(HPAM)的降解机理研究. *高分子通报*, 2008(2): 1–9.
- Bao MT, Chen QG, Wang N, Guo SX, Li XM. Study on the mechanism of HPAM-degradation in the sewage of oilfield. *Chinese Polymer Bulletin*, 2008(2): 1–9. (in Chinese)
- [23] 黄峰, 范汉香, 董泽华, 许立铭. 硫酸盐还原菌对水解聚丙烯酰胺的生物降解性研究. *石油炼制与化工*, 1999, 30(1): 33–36.
- Huang F, Fan HX, Dong ZH, Xu LM. Study on biodegradation of partially hydrolyzed polyacrylamide by sulfate reducing bacteria. *Petroleum Processing and Petrochemicals*, 1999, 30(1): 33–36. (in Chinese)
- [24] Kumaraswamy R, Ebert S, Gray MR, Fedorak PM, Foght JM. Molecular- and cultivation-based analyses of microbial communities in oil field water and in microcosms amended with nitrate to control H<sub>2</sub>S production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(6): 2027–2038.
- [25] Jung YT, Lee JS, Oh KH, Oh TK, Yoon JH. *Roseovarius marinus* sp. nov., isolated from seawater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(Pt 2): 427–432.
- [26] Fida TT, Chen C, Okpala G, Voordouw G. Implications of limited thermophilicity of nitrite reduction for control of sulfide production in oil reservoirs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(14): 4190–4199.
- [27] Liebensteiner MG, Tsesmetzis N, Stams AJM, Lomans BP. Microbial redox processes in deep subsurface environments and the potential application of (per)chlorate in oil reservoirs. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 428.
- [28] 马云, 韩静, 屈撑囤, 秦芳玲. 采气污水中 SRB 分离、纯化及其电化学腐蚀特性研究. *油田化学*, 2013, 30(3): 452–456.
- Ma Y, Han J, Qu CT, Qin FL. Selection and electrochemistry characterization of sulfate reducing bacteria in produced water from gas field. *Oilfield Chemistry*, 2013, 30(3): 452–456. (in Chinese)

(本文责编 李磊)



张世仑, 博士, 毕业于复旦大学微生物学专业, 中海油研究总院有限责任公司油田化学工程师, 致力于化学驱、微生物采油等三次采油技术领域研究, 具有丰富的海上油藏环境微生物研究经验, 形成了以油田采出液微生物为主要研究对象的多学科、多方向结合的深海内源微生物组研究体系。自 2017 年以来一直从事海上油田内源微生物提高采收率及硫化氢控制技术相关研究工作, 受到国家科技重大专项、国家重点实验室开放基金课题等支持。已在 *Science China Life Sciences*、*International Biodeterioration & Biodegradation* 等期刊发表论文 10 余篇, 授权专利 8 件。