

海洋中石油烃类降解与微生物腐蚀关系研究

张一梦^{1,2,3,4}, 郑泽旭⁵, 段继周^{1,2,3,4}

(1.中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2.青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 山东 青岛 266237; 3.中国科学院大学, 北京 100049; 4.中国科学院海洋大科学研究中心, 山东 青岛 266071; 5.中石化重庆涪陵页岩气勘探开发有限公司, 重庆 408014)

摘 要: 在工程实践中, 国家重要的海洋工程设施(如海底输油管线和船舶燃料系统等)发生的腐蚀破坏案例常常涉及到油水环境, 并与微生物腐蚀作用密切相关, 而了解海洋含油环境中石油烃类的生物转换机制是了解微生物腐蚀的关键。阐述了海洋环境中降解石油烃类的主要微生物及其降解机制, 其在有氧和无氧条件下呈现不同的特点。微生物降解石油烃类过程中非常重要的一步即为接受电子, 该过程将生物无法直接利用的化学能转换成可直接利用的能量形式, 即腺苷三磷酸(ATP)。有氧条件下的烃类降解以氧气作为最终电子受体, 而在缺氧条件下可利用硝酸盐、铁离子、硫酸盐等作为电子受体。海洋环境中的石油烃类会促进腐蚀性硫化物的生成, 因此油水环境下的微生物腐蚀机理以硫化物的腐蚀破坏为主。此外, 烃类降解过程产生的琥珀酸等酸性中间代谢物也会加剧腐蚀的发生。但目前关于海洋油水环境中微生物群落作为一个整体展现出的功能性及其对钢铁设施的破坏机理, 仍然缺乏系统性的研究, 而基于高通量测序的微生物组学研究技术将成为有效解决这些问题的手段之一。

关键词: 海洋; 石油; 碳氢化合物; 微生物腐蚀; 生物降解; 金属; 油水混合

中图分类号: TG172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2019)07-0211-09

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2019.07.023

Relationship between Hydrocarbon Degradation and Biocorrosion in Marine Environment

ZHANG Yi-meng^{1,2,3,4}, ZHENG Ze-xu⁵, DUAN Ji-zhou^{1,2,3,4}

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 5. Sinopec Chongqing Fuling Shale Gas Exploration and Development Co. Ltd, Chongqing 408014, China)

ABSTRACT: In engineering practice, the corrosion of some national significant marine infrastructures such as the pipelines of offshore oil-gas exploration and the fueling systems of ships usually occur under the oil-containing conditions and is closely related to serious microbiologically influenced corrosion (MIC). The knowledge about the biodegradation mechanisms of hydrocarbon in marine environment is the essential to understand the MIC mechanisms. The work reviewed the microbial degradation

收稿日期: 2018-11-30; 修订日期: 2019-01-24

Received: 2018-11-30; Revised: 2019-01-24

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(41576080); 山东省重点研发计划(2018GHY115003)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (41576080), Key Research and Development Plan of Shandong Province (2018GHY115003)

作者简介: 张一梦(1992—), 女, 博士研究生, 主要研究方向为微生物腐蚀。

Biography: ZHANG Yi-meng (1992—), Female, Doctor, Research focus: biocorrosion.

通讯作者: 段继周(1972—), 男, 博士, 研究员, 主要研究方向为海洋金属腐蚀与防护。邮箱: duanjz@qdio.ac.cn

Corresponding author: DUAN Ji-zhou (1972—), Male, Doctor, Professor, Research focus: marine corrosion and protection. E-mail: duanjz@qdio.ac.cn

mechanisms and corresponding microbes in oil-containing marine environment, as well as different features under aerobic and anaerobic conditions. The electron-accepting process was a key step in microbial degradation. The energy stored in the hydrocarbon was transferred into adenosine triphosphate (ATP) that was easier to be utilized by microbes in the form of chemical bond. Oxygen acted as electron acceptors under aerobic conditions while nitrate, ferric ion, sulfate and carbon dioxide accepted electrons under anoxic conditions. The degradation of hydrocarbon stimulated the formation of sulfide, so MIC was dominant in oil-containing environment. In addition, the intermediate metabolites during degradation of hydrocarbons such as the fatty acids also caused MIC. However, the systematical studies on the functions of microbial communities as a whole and the corrosion mechanisms of steel infrastructures in marine environment are still scarce. The microbial molecular techniques based on high-throughput sequencing are expected to become one of effective methods to solve these problems.

KEY WORDS: marine; crude oil; hydrocarbon; MIC; biodegradation; metal; water-oil mixture

2006 年, 英国 BP 石油公司在北极圈普拉德霍湾的海底输油管线发生大面积海上溢油事故, 事后检查发现其海底原油输送管线发生十数个大面积腐蚀泄露, 整体管壁厚平均减薄达 70%~81%, 至少 16 英里的管线被置换, 损失巨大, 该管线腐蚀被认为与微生物腐蚀直接有关^[1]。微生物腐蚀是指由微生物和微生物活动引发的一类腐蚀。据有关数据表明, 由微生物腐蚀引发的损失可占全部腐蚀损失的 20%^[2]。微生物腐蚀不仅频繁发生于人造环境(如工业水环境和油气环境)中, 也被认为是自然环境(如土壤环境)中引发构件腐蚀的重要腐蚀形式, 尤其是在复杂海水环境中: 由微生物腐蚀引起的海洋工程设施的腐蚀速率最大可高达 4 mm/a, 平均腐蚀速率也可达 0.3 mm/a^[2]。因此, 微生物腐蚀对于海洋工程的影响不容小觑, 也是腐蚀行业面临的重要挑战之一。

实际海洋环境除包含大气、海水及海泥之外, 也经常涉及到石油等大分子有机化合物形成的油相环境。据统计, 每年大约有 170 万~880 万吨石油烃类通过海底油气资源的缓慢渗出、石油运输管道泄漏、海上油气开采平台及输油船只爆炸等途径进入海洋^[3]。此外, 海上运输船舶的燃油系统和润滑油系统等也都是含油环境。以上含有石油烃类的海上环境中, 经常涉及到许多由微生物腐蚀引发的问题。由此可见, 海洋油水环境中的微生物腐蚀问题亟需解决。

微生物是海洋中石油降解和腐蚀发生的关键因素。据统计, 海洋中的微生物每年降解约 60 万吨石油烃类物质^[4]。因此理解海洋油水环境中微生物腐蚀的根本机制, 需要了解石油烃类生物转化过程中, 微生物的碳源和能源问题。本文重点综述独特的海洋含油环境中, 微生物对石油烃类的降解机制及降解过程中引发的金属材料腐蚀问题, 期望为预防海洋油水混合环境中的微生物腐蚀提供一定的理论指导。

1 海洋环境中石油烃类的生物降解

1.1 海洋环境中的石油烃类

原油是海洋环境中常见的大分子碳氢化合物, 是

未经加工处理的石油。原油成分非常复杂, 最新研究使用超高分辨率的质谱仪, 分析出原油中含有约 17 000 种化学物质^[5], 并且原油来源不同, 其化学组成也不同, 因此很难统一明确这种复杂物质的化学组成。一般可将原油中的成分粗略地划分为四大类物质: 饱和烃类、芳香烃、沥青和树脂。轻油中的饱和烃和芳香烃含量较高, 而极性的树脂和沥青含量较低; 重油中则含有较高极性的化学物质, 如沥青和树脂等成分, 其一般在油井等缺氧环境下经生物降解后形成^[6]。

原油中的饱和烃是首先被生物降解的成分, 芳香烃和包含沥青及树脂在内的极性化学物质较难降解^[7](图 1)。因此在自然条件下, 石油中的这些毒性较强且较难降解的极性物质可长时间存在于环境中, 并持续对环境产生影响。一定时间范围内, 泄漏到海洋中的石油烃类, 一部分溶解分散在海水中, 一部分轻质烃类漂浮在海面形成油膜或随海潮贴岸, 一部分经过生物降解后凝聚形成残留物而沉入海底沉积物中。

1.2 海洋中石油烃类降解微生物

一百年前分离得到了第一株石油降解细菌, 至今已发现共有 200 多种包括细菌、蓝细菌、藻类和真菌在内的菌属, 其中将近 500 多种菌种和菌株^[8]。海洋环境中石油降解微生物的发现相对较晚, 陆生石油降解微生物除利用烃类物质之外, 还可利用其他多种有机物作为碳源和能源物质, 而海洋环境中的石油降解微生物大部分只能利用烃类。英国纽卡斯尔大学石油微生物学家 Ian M. Head 教授在 Nature Reviews Microbiology 上发表了一篇经典综述, 汇总了目前在海洋中分离得到的纯培养好氧石油烃类降解微生物, 如表 1 所示^[7]。这些好氧微生物以石油作为碳源, 包括食烷菌属(*Alcanivorax* spp.)^[9]、解环菌属(*Cycloclasticus* spp.)^[10]、嗜油菌属(*Oleiphilus* spp.)^[11]、油螺旋菌属(*Oleispira* spp.)^[12]、深海弯曲菌属(*Thalassolituus* spp.)^[13]和动性球菌属(*Planococcus* spp.)^[14], 其中食烷菌属、嗜油菌属、油螺旋菌属、深海弯曲菌属和动性球菌属可以利用分支类饱和烷烃及直链饱和烷烃, 而解环菌属利用多环芳香族烷烃作为碳源。这些

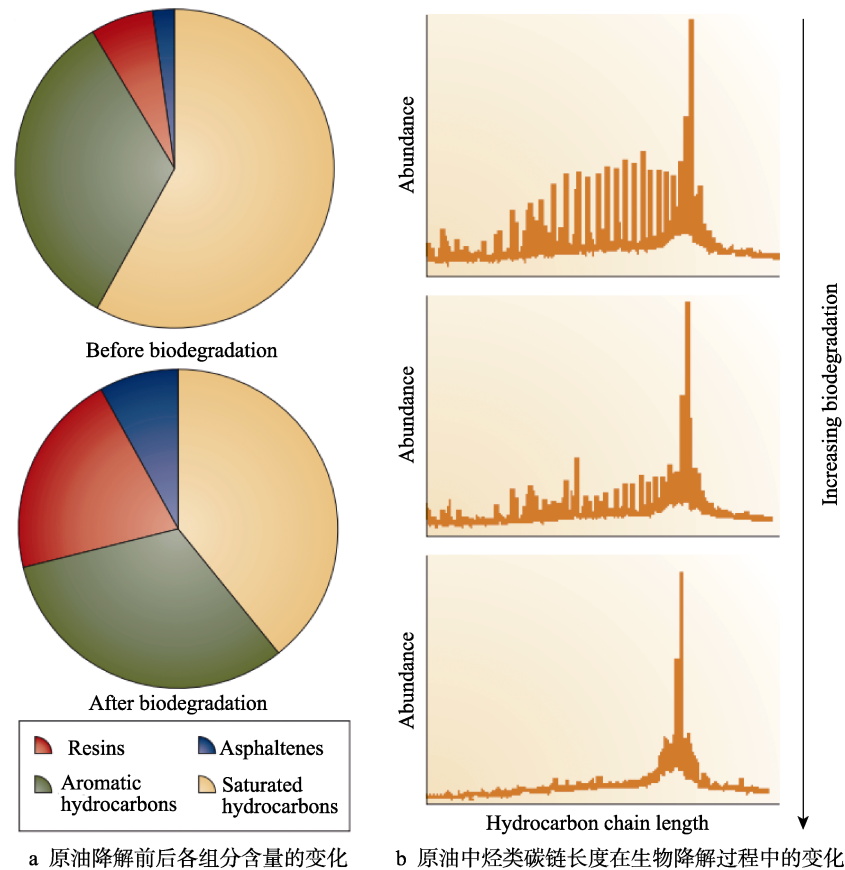


图 1 生物降解对原油成分的影响^[7]

Fig.1 Effects of biodegradation on oil composition^[7]: a) composition of crude oil (top panel) and a slightly biodegraded (heavy) oil (bottom panel), b) hydrocarbon chain length of crude oil that is increasingly biodegraded (from top to bottom)

表 1 海洋中分离到的好氧石油烃降解菌^[7]

Tab.1 Aerobic hydrocarbon-degrading bacteria in marine^[7]

Phylum/Class level	Strain	Hydrocarbons utilized
<i>γ-Proteobacteria</i>	<i>Cycloclasticus pugetii</i>	Polycyclic aromatic hydrocarbon
	<i>Marinobacter hydrocarbonoclasticus</i>	Saturated hydrocarbons
	<i>Oleiphilus messinensis</i>	Saturated hydrocarbons
	<i>Alcanivorax borkumensis</i>	Saturated hydrocarbons
	<i>Oleispira antarctica</i>	Saturated hydrocarbons
	<i>Thalassolituus oleivorans</i>	Saturated hydrocarbons
	<i>Neptunomonas naphthovorans</i>	Polycyclic aromatic hydrocarbon
<i>Firmicutes</i>	<i>Planomicrobium alkanoclasticum</i>	Saturated hydrocarbons

微生物在石油污染出现之前，在海水中含量非常少，而海水被石油污染之后，2 周左右即可形成以石油降解菌为主的优势菌群，一般 3 个月左右大部分石油会被降解掉，可见好氧石油降解微生物在海洋生态系统的元素循环中起到非常重要的作用。

海洋环境中除存在以上好氧的石油降解微生物以外，还存在一些在缺氧环境（如海底沉积物中降解石油烃类）的厌氧微生物，但这些可在严格厌氧条件下降解石油的微生物直到 19 世纪 90 年代才被完全证实^[15]。目前已知的厌氧石油烃类降解微生物如表 2 所示，其中大部分微生物分离自油井和海底沉积物等厌氧含油环境。这些厌氧微生物大多为细菌，主要包

括硝酸盐还原菌和硫酸盐还原菌。

1.3 海洋含油环境中石油烃类的微生物降解机制

如图 2 所示，海洋环境中大分子碳氢化合物主要由不产氧光能异养微生物、好氧化能异养菌和厌氧化能异养菌参与完成降解。烃类作为碳源和能源物质，其中一部分用于微生物产能，一部分被同化成为细胞组分。石油烃类的降解过程与能量代谢过程相耦合，即烃类大分子的化学键裂解释放化学能伴随着微生物体内 ATP 的合成，该过程本质上是电子释放、传递和接收的过程。在有氧条件下，氧气作为电子受体，

表 2 厌氧烃降解微生物
Tab.2 Degrading microorganisms of anaerobic hydrocarbon

Class level	Strain	Hydrocarbons utilised	Type of metabolism	References
α -Proteobacteria	<i>Roseobacter</i> * strain BS-TN	Toluene	Photosynthesis	[16]
	<i>Blastochlorisulfoviridis</i> strain ToP1	Toluene	Photosynthesis	[17]
	<i>Thaueraaromatica</i> strains T1,K172	Toluene	Denitrification	[18-19]
β -Proteobacteria	<i>Azoarcus</i> spp., various strains	Toluene	Denitrification	[20-22]
	<i>Azoarcus</i> spp. Strains T, mXyN1, M3,Td3, Td15	Toluene, m-xylene	Denitrification	[20,23-25]
	<i>Azoarcus</i> spp. strain EbN1	Ethylbenzene, toluene	Denitrification	[24]
	<i>Azoarcus</i> spp. strain EB1	Ethylbenzene	Denitrification	[26]
	<i>Azoarcus</i> spp. strain PbN1	Ethylbenzene n-propylbenzene	Denitrification	[24]
	<i>Azoarcus</i> spp. strain pCyN1	p-cymene, toluene	Denitrification	[27]
	<i>Azoarcus</i> spp. strain HxN1	Alkanes (C6-C8)	Denitrification	[28]
	<i>Rhodocyclus</i> * strain OcN1	Alkanes (C8-C12)	Denitrification	[28]
	<i>Vibrio</i> spp. NAP-4	Naphthalene	Denitrification	[29]
γ -Proteobacteria	<i>Halomonas</i> spp. NS-TN	Toluene	Denitrification	[16]
	<i>Pseudomonas</i> spp. NAP-3	Naphthalene	Denitrification	[29]
	<i>Ectothiorhodospira</i> * strain HdN1	Alkanes (C14-C20)	Denitrification	[28]
	<i>Desulfovibrio</i> * strain TD3	Alkanes (C6-C16)	Sulfate reduction	[15]
δ -Proteobacteria	Strain NaphS2	Naphthalene	Sulfate reduction	[30]
	Clone 30	Benzene	Sulfate reduction	[31]
	Strain mXyS1	m-xylene, m-ethyltoluene, toluene	Sulfate reduction	[32]
	Strain EbS7	Ethylbenzene	Sulfate reduction	[16]
	<i>Desulfobacterium</i> * strain oXyS1	o-ethyltoluene, o-xylene, toluene	Sulfate reduction	[32]
	<i>Desulfobaculatoluolica</i>	Toluene	Sulfate reduction	[33]
	Clone SB29	Benzene	Sulfate reduction	[31]
	Strain Hxd3	Alkanes (C12-C20)	Sulfate reduction	[34]
	Strain Pnd3	Alkanes (C14-C17)	Sulfate reduction	[35]
	Strain AK01	Alkanes (C13-C18)	Sulfate reduction	[36]
	<i>Desulfoglaebaalkanexedens</i> strain ALDC	Alkanes (C6-C12)	Sulfate reduction	[37]
	<i>Desulfuromonas</i> *			
	<i>Geobactermetallireducens</i>	Toluene	Fe(III) reduction	[38]
	<i>Syntrophus</i> * clones B1-B3	Alkanes (C16)	Syntrophic relationship	[39]

Notes: "*" refers to bacteria that cannot degrade hydrocarbons and is used to mark the relative positions of anaerobic petroleum degrading bacteria in the evolutionary tree before and after.

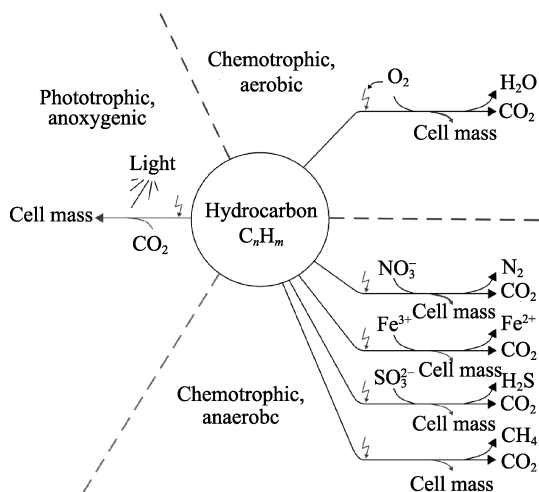


图 2 海洋环境中碳水化合物（含石油烃类）降解机制^[16]
Fig.2 Degradation mechanism of hydrocarbon
(including crude oil) in marine^[16]

起到活化底物的作用,这个过程由好氧的化能异养降解菌完成。而在厌氧条件下,微生物代谢石油烃的生化转化机制尚不清楚,目前较为认可的一种降解机制,认为石油烃活化过程与甲苯活化过程类似,即通过延胡索酸形成琥珀酸衍生物,进而激活大分子烃类的降解转化^[16,40]。这些生化反应也与能量代谢过程相结合,呼吸方式的优先与否由电子受体的电位高低而定:硝酸盐的电位是+433 mV,因此硝酸盐首先由硝酸盐还原菌或亚硝酸盐还原菌经反硝化作用形成氮气;第二种被消耗的电子受体是三价铁离子和四价锰离子(+200 mV),由金属离子还原菌分别还原形成二价铁离子和三价锰离子;其后硫酸盐(-200 mV)作为电子受体,由硫酸盐还原菌还原成硫化物;二氧化碳(-380 mV)是最后被利用的电子受体,由产甲烷菌还原生成甲烷^[41]。尽管理论上电子受体接受电子

的能力存在以上高低排序,但并不表明当以上电子受体同时存在时,微生物会严格按照以上顺序进行厌氧呼吸,例如实际原油污染的近岸海底沉积物中同时存在一定浓度的硝酸根、硫酸根和少量三价铁离子,但降解石油的厌氧微生物仍然以硫酸盐还原的呼吸过程为主^[42]。在实验室的培养实验中额外加入一定浓度的三价铁离子和硝酸盐,也并不能转变以硫酸盐还原为主的呼吸模式^[43-44]。由此可见,在海底沉积物中,硫酸盐还原过程对原油降解的重要性。

1.4 海洋石油烃类降解微生物与金属腐蚀

石油烃类降解微生物可直接或间接参与金属腐蚀过程。目前研究较多的直接参与到金属腐蚀过程的海洋石油烃类降解微生物,大部分属于硫酸盐还原菌。与海洋无油环境中分离得到的硫酸盐还原菌只能利用小分子有机酸(如甲酸和乳酸)不同的是,该类硫酸盐还原菌能通过直接降解大分子石油烃类获得自身生长所需的碳源,同时产生电子并将硫酸盐作为电子受体产生能量,加剧腐蚀。比较典型的菌株是表 1 所示的 *Desulfoglaebaalkanedens* strain ALDC, 该菌能够利用环境中的 C6-C12 烷烃,在有硫酸盐存在的条件下,进行硫酸盐还原并引发金属腐蚀;若无硫酸盐等电子受体存在时,该菌则与产甲烷菌等形成互养共生关系,腐蚀作用也被减弱^[45]。

除以上石油烃类降解微生物通过硫酸盐还原反应直接参与金属腐蚀过程之外,其他烃类降解微生物也会间接影响腐蚀过程。例如印度 Aruliah Rajasekar 带领的团队通过对兼性厌氧石油烃类降解微生物的研究,提出一种石油烃类降解微生物促进腐蚀的新假设:自土壤中分离的 *Bacillus cereus* ACE4、*Serratiamarcescens* ACE2 和 *Streptomyces parvus* B7 可分泌过氧化物酶和过氧化氢酶,使其在降解烃类物质的同时,能够氧化二价铁离子形成三价铁离子,而三价铁离子对氧有更强的吸附能力,这加速了三氧化二铁的形成,进而促进腐蚀的发生^[46-47]。这个假设似乎可以解释在无硫酸盐还原菌时油气管道中仍然发生较为严重腐蚀的原因,但仍然需要进一步验证。此外,海洋和土壤环境不同,海水中分离到的烃类降解微生物是否具有类似的腐蚀机理,这方面的研究仍是空白。另一种烃类降解微生物间接影响腐蚀的方式,可能是通过产生酸性中间代谢物乙酸等对金属产生影响,一方面其代谢产生的有机酸等物质有助于酸性微环境的形成,进而加速腐蚀;另一方面有机酸等中间代谢物可以作为群落中其他微生物(如硫酸盐还原菌、产甲烷菌等)的碳源,通过促进这种腐蚀微生物的生长而影响腐蚀。以上研究都需要考虑整个微生物群落的组成和功能,而非单一的石油烃类降解微生物,然而关于此方面的系统性研究也较少。

2 海洋不同油水环境下金属的微生物腐蚀研究现状

石油烃的降解机制还在研究中,但显然这些生化反应通过与各种电子受体结合,形成了与金属腐蚀相关的中间代谢产物和终产物,进而将石油烃的降解和微生物腐蚀联系到了一起。目前海洋含油环境中微生物腐蚀方面的研究更多集中于厌氧环境的研究,如海底输油管线、船舶燃油和润滑油系统等,研究手段则集中于使用传统的微生物培养、电化学、表面观察和组分分析等技术相结合。

2.1 油气开采

在海上油气田开发生产中,以钢铁为主要材料的海上钻井平台、采油平台及油水输送管线等普遍存在着严重的内外腐蚀,而这些海上油气开采平台的特殊环境,可为腐蚀性微生物的生存提供一定的条件。例如,与陆上油气开采不同,海上油气开采通过注入含较高浓度硫酸盐的海水来提高油气采出率,而陆上油气开采的注入水一般为硫酸盐浓度较低的地下水或河水,这种差异可能使海上油气开采设施的腐蚀速率远高于陆上油气开采设施^[48]。

硫酸盐还原菌仍然是油气开采行业引发微生物腐蚀的最主要微生物,所以硫酸盐还原菌已被油气开采行业作为管道腐蚀指标,以检测微生物腐蚀的发生。目前,对油气开采行业微生物腐蚀问题比较主流的看法是:石油烃类在油井、运输管道和开采设备中经过厌氧降解,其本身和产生的中间产物,如乙酸和乳酸等,都可作为硫酸盐还原菌的碳源和电子供体,使得硫酸盐还原菌得到富集和生长,通过阴极去极化和产生腐蚀性的硫化物,引发严重的微生物腐蚀^[49]。但 Brenda J. Little 等^[50]认为硫酸盐还原菌的作用被夸大了,其数量的多少和微生物腐蚀是否直接相关仍然存在争议。此外,并非所有的硫化物都是由硫酸盐还原菌产生,微生物通过还原亚硫酸盐及硫代硫酸盐等也可产生硫化物^[51]。

随着二代高通量测序技术的普及,使得油藏、输油管线和油气生产设备中更多无法通过纯培养获得的微生物得以被发现,研究者们逐渐认识到引发油气行业微生物腐蚀的微生物并非只有硫酸盐还原菌,产甲烷古菌和金属还原菌等其他多种微生物也会直接或间接促进腐蚀的发生^[52-53]。研究者对海上石油运输管线中的微生物群落进行分析发现^[47]:虽然可进行硫酸盐还原的脱硫弧菌是优势细菌,但同时也存在铁还原菌 *Pelobacter*, 产甲烷古菌 *Methanobacterium*、*Methanosarcina*、*Methanlobus*, 硫还原菌 *Geotoga*, 发酵产酸菌 *Clostridia*、*Syntrophomonas* 等。其中, *Pelobacter* 可利用石油烃类等作为底物,还原三价铁

离子形成硫化亚铁, 间接促进腐蚀; *Geotoga* 还原硫单质形成硫化氢引发腐蚀^[54]; *Clostridia* 和 *Syntrophomonas* 等产酸细菌产生的乳酸等物质可促进硫酸盐还原菌的生长, 且在金属表面形成酸性微环境, 进而促进腐蚀^[55]; 产甲烷古菌与 *Pelobacter* 和 *Syntrophomonas* 通过氢气作为电子传递载体而形成互养共生关系^[56], 此外产甲烷古菌本身也被证实可直接从金属表面获得电子而加速腐蚀反应^[57]。由此可看出, 在海洋石油生产设备中, 微生物腐蚀的发生并非单一物种与金属发生的单一反应, 而在是多种微生物共同作用下发生的反应, 因此很难界定在这种含有油相的复杂环境中, 具体的微生物腐蚀机理是什么。

2.2 船舶运输

船舶内部结构中含油区域主要包含油轮油舱、燃料油系统及润滑油系统, 这些区域发生的微生物腐蚀问题直到近 20 年才开始引发人们的重视, 存储在这些系统中的一般为原油的精炼产品。例如, 船舶燃料油系统中装载的燃油即为原油的精炼产品, 沸程为 150~400 °C, 是含碳原子数在 15~22 个左右的烷烃; 汽油也用于发动机燃料, 是指碳原子数在 5~12 的液体烷烃和环烷烃混合物; 润滑油用于发动机润滑油、润滑脂等, 是指碳原子数在 20~50 的烷烃、环烷烃和芳香烃。

柴油是海洋船舶运输中最容易遭受微生物污染的燃料。柴油中的水分是影响微生物生长最重要的成分。据相关研究报道, 燃料系统中 1 mL 水相中存在的微生物个数约为 1000 或者 40 000 个, 但每升油相中仅存在 50 个微生物^[58]。硫酸盐还原菌仅在水相中被检测到^[59]。燃料系统中水分主要来源于: 柴油中本身存在的少量水分在发动机内壁凝聚形成; 柴油具有一定的吸湿性, 潮湿的空气进入燃料系统后也增加了水分的含量。柴油微生物污染造成最严重的问题之一是引发微生物腐蚀, 进而导致燃料系统穿孔, 其中主要腐蚀微生物为细菌、酵母和丝状真菌。Christine C. Gaylarde 等^[60]汇总了部分燃料系统中分离得到的腐蚀微生物, 这些微生物可利用燃料作为碳源进行生长繁殖, 主要包括细菌中的 *Acinetobacter*、*Alcaligenes*、*Bacillus*、*Pseudomonas* 和多种硫酸盐还原菌; 酵母中的 *Candida* 和 *Rhodotorula*; 真菌中的 *Acremonium*、*Aspergillus*、*Cladosporium*、*Fusarium*、*Hormoconis*、*Paecilomyces*、*Penicillium*、*Rhinochadiella*、*Trichoderma* 和 *Trichosporon* 等。

燃料油的性质根据油品标准的不同而呈现出一定的差异。随着环保要求的提高, 为减少硫排放, 很多国家要求降低柴油中的硫含量至 15 mg/kg, 使得低硫燃料成为现在的焦点之一。硫含量的降低会影响柴油的某些性质, 如降低其润滑性, 也有可能降低对微生物的抑制性。最近的研究模拟海上运输船舶的运输环境, 对比了超低硫柴油、低硫柴油、高硫柴油及船用柴油对微生物腐蚀的影响, 结果表明, 四种不同硫

含量的柴油都会发生生物降解, 并促进硫酸盐还原反应的发生, 进而引发严重的微生物腐蚀, 其中船用柴油的促进作用最为明显。结果也表明, 柴油中有机硫含量的高低对微生物腐蚀并无直接影响^[61]。尽管如此, 柴油性质的改变或多或少会影响到其生物稳定性, 在新型燃料投入使用前, 仍然需要对燃料的生物可降解性和发生微生物腐蚀的可能性进行一定的评估和预测。

由于传统化石燃料的燃烧导致全球气候变暖, 生物燃料作为绿色燃料, 成为除低硫燃料外的另一热点燃料。生物柴油是目前常用的可再生生物燃料之一, 提取自油菜、大豆和棕榈等植物中, 制备过程如下: 在氢氧化钠等催化剂作用下, 植物油和醇类进行反应, 酯基转移生成生物柴油, 和甲醇反应生成脂肪酸甲酯 (FAME), 和乙醇反应生成脂肪酸乙酯^[62]。随着生物柴油的普及, 越来越多的生物柴油被用于海上运输船舶的燃料。但由于生物柴油结构比传统化石燃料更简单, 且具有较强的吸湿性, 因此更易被生物降解^[58]。目前关于生物柴油的生物降解机制仍然了解较少。

近几年美国著名的石油微生物学家 Joseph M. Suflita 教授, 带领科学团队逐渐开展了海洋环境中生物柴油的厌氧降解与微生物腐蚀之间关系的研究。首先, 他们将来自淡水和海水的接种物接种于生物燃油中, 在厌氧条件下分析比较了生物燃油的降解程度和碳钢的腐蚀情况, 结果发现尽管接种物来源不同, 生物柴油都能在一个半月之内被降解完, 降解过程中产生了多种脂肪酸类的中间代谢物, 并很快被微生物利用代谢掉; 加入来自海水的接种源 (港口沉积物含原油降解菌群的接种源和船舶压载舱的接种源) 的生物燃油中, 金属腐蚀呈现点蚀的腐蚀形貌; 与未添加生物柴油的阴性对照组相比, 生物柴油的降解明显促进了硫酸盐还原反应的发生。作者认为生物柴油降解过程产生的各种有机酸是加速点蚀速率的主要原因^[63]。之后, 该团队又重点研究了生物柴油对海水中微生物的影响和对微生物腐蚀的影响, 发现生物柴油的加入导致梭菌目中海杆菌的数量增多, 并加速硫化物的产生, 进而促进点蚀的发生。该研究中一个比较有趣的结果是, 尽管硫化物是此研究中造成微生物腐蚀的主要原因, 但生物柴油的加入并没有使硫酸盐还原菌的数量增多, 所以硫化物可能是由其他微生物产生的, 遗憾的是文中并没有提及产生硫化物的微生物^[64]。关于生物降解过程中原位微生物群落的结构变化有待进一步研究。

生物柴油在实际使用过程中一般与化石柴油混合使用。因此, Joseph M. Suflita 的研究团队进一步研究了海军的两种新型生物柴油 (Camelina-JP5 和 Fisher-Tropsch-F76) 及其与传统化石柴油的混合油在海水环境中的生物降解和微生物腐蚀问题: 研究再次证实了在海水中加入生物柴油, 会促进硫化物的产生, 进而加速碳钢的微生物腐蚀速度; 两种新型生物柴油及其混合油在厌氧条件下都容易降解, 因此在生

物柴油的使用、运输和存储过程中,都要制定相关的微生物腐蚀防护策略以防腐蚀的发生^[65]。

2.3 研究手段

海洋环境中微生物腐蚀机理的研究手段主要包括电化学研究技术、微生物学研究技术、分析化学及显微成像技术^[66]。其中电化学研究技术、分析化学及显微成像技术是海洋腐蚀领域的常规技术手段,已得到较为广泛的应用^[67-69]。但随着研究的深入,以上传统的微生物腐蚀研究手段能解决的问题非常有限,新技术的引入和应用成为趋势之一。

目前海洋油水环境中研究微生物腐蚀需要克服的困难较多。首先,天然的海水油水环境和微生物群落具有一定的复杂性,越来越多的研究表明微生物腐蚀的发生并非单一微生物的作用,而是多种微生物共同作用下的结果。基于分离培养的传统微生物学手段与上述其他技术手段相结合是目前经常使用的研究方法。但由于自然界中大部分微生物是不可培养的,尤其是油水环境中的微生物之间经常形成互养共生的种间关系,加大了获得纯培养菌株的难度。其次,分离培养出的微生物无法反映原位环境中的微生物群落结构特点,使得某些微生物(如硫酸盐还原菌)的功能被过分夸大^[50],而基于高通量测序技术的组学技术能很好地弥补这些缺点。Iwona Beech的团队使用宏基因组学和宏代谢组学技术,研究了海底原油运输管道中的微生物腐蚀特点,发现具有高腐蚀速率的输油管道中末端电子传递相关的功能基因较多,宏代谢组学同样也鉴定出石油烃类在厌氧条件下被降解,产生了琥珀酸等酸性中间代谢物^[70]。这些研究虽然还未成系统,但能从一定程度上解释油水环境中微生物群落作为一个整体而体现出的功能性特点。

笔者前期针对天然海水环境中浸泡一段时间的碳钢等金属材料表面好氧和厌氧生物膜的微生物群落进行初步研究,发现即便是浸泡在近岸天然海水环境中(不能排除石油等污染物的影响),钢铁锈层中的微生物组成也十分复杂,除 *Desulfovibrio*、*Desulfotomaculum* 和 *Desulfobacter* 等硫酸盐还原菌外,还存在 *Sulfurimonas*、*Prolixibacter* 等其他多种微生物^[71],这仅从材料微生物腐蚀的角度十分难以解释。因此,利用高通量测序等组学技术能进一步加深研究人员对微生物在石油烃类降解机制和腐蚀机理方面的研究,应成为深入研究海洋环境中烃类降解和微生物腐蚀机理的有效研究手段。

3 总结与展望

根据海洋中石油烃类存在的环境特点,其降解主要可分为好氧降解和厌氧降解,涉及到油水环境中的微生物腐蚀研究,目前主要集中于海上石油运输管道和船舶系统中厌氧条件下腐蚀机理研究。在厌氧环境

中微生物引发腐蚀的主要原因是石油烃类及其精炼产品作为碳源和能源物质,促进腐蚀性硫化物或酸性中间代谢物的产生,因此加剧了腐蚀的发生。但一些油港码头钢桩结构表面经常接触到海水表面的油膜,在这种好氧条件下的石油烃类降解机制和厌氧环境下降解机制呈现出不同的特点,此环境下的微生物腐蚀机理还有待进一步研究。此外,微生物腐蚀机理的传统技术手段局限于在实验条件下开展研究,而忽略了天然条件下微生物群落作为一个复杂整体而呈现出的多样性和功能性特点,进而忽略了微生物群落作为一个整体时对腐蚀造成的影响。因此,基于微生物组学的研究技术,将在未来海洋油水环境中金属腐蚀机理的研究方面发挥巨大的作用。

参考文献:

- [1] JACOBSON G A. Corrosion at prudhoe bay—A lesson on the line[J]. Mater perform, 2007, 46(8): 26-34.
- [2] HOU B R, LI X, MA X, et al. The cost of corrosion in China[J]. Materials degradation 2017, 1(1): 4.
- [3] COLEMAN J, BAKER J, COOPER C, et al. Oil in the sea: Inputs, fates, and effects, 2002. national research council. national academy press, washington, DC[J]. Spill science & technology bulletin, 2002, 7(5-6): 197-199.
- [4] United States National Research Council. Committee on sea turtle conservation decline of the sea turtles: causes and prevention[M]. Washington DC: National Academy Press, 1990.
- [5] MARSHALL A G, RODGERS R P. Petroleomics: The next grand challenge for chemical analysis[J]. Accounts of chemical research, 2004, 37(1): 53-9.
- [6] HEAD I M, JONES D M, LARTER S R. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil[J]. Nature, 2003, 426(6964): 344-352.
- [7] HEAD I M, JONES D M, ROLING W F M. Marine microorganisms make a meal of oil[J]. Nature reviews microbiology, 2006, 4(3): 173-182.
- [8] PRINCE R C. Bioremediation of marine oil spills[J]. Introduction to petroleum biotechnology, 2010, 15(5): 2617-2630.
- [9] YAKIMOV M M, GOLYSHIN P N, LANG S, et al. *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium[J]. International journal of systematic bacteriology, 1998, 48: 339-348.
- [10] DYKSTERHOUSE S E, GRAY J P, HERWIG R P, et al. *Cycloclasticus pugetii* gen-nov, sp-nov, an aromatic hydrocarbon-degrading bacterium from Marine-Sediments[J]. International journal of systematic bacteriology, 1995, 45(1): 116-23.
- [11] GOLYSHIN P N, CHERNIKOVA T N, ABRAHAM W R, et al. *Oleiphilaceae* fam. nov., to include *Oleiphilus messinensis* gen. nov., sp nov., a novel marine bacterium that obligately utilizes hydrocarbons[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology,

- 2002, 52: 901-911.
- [12] YAKIMOV M M, GIULIANO L, GENTILE G, et al. *Oleispira antarctica* gen. nov., sp nov., a novel hydrocarbon clastic marine bacterium isolated from Antarctic coastal sea water[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2003, 53: 779-785.
 - [13] YAKIMOV M M, GIULIANO L, DENARO R, et al. *Thalassolituus oleivorans* gen. nov., sp nov., a novel marine bacterium that obligately utilizes hydrocarbons[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2004, 54: 141-148.
 - [14] ENGELHARDT M A, DALY K, SWANNELL R P J, et al. Isolation and characterization of a novel hydrocarbon-degrading, Gram-positive bacterium, isolated from intertidal beach sediment, and description of *Planococcus alkanoclasticus* sp. nov.[J]. Journal of applied microbiology, 2001, 90(2): 237-247.
 - [15] RUETER P, RABUS R, WILKEST H, et al. Anaerobic oxidation of hydrocarbons in crude oil by new types of sulphate-reducing bacteria[J]. Nature, 1994, 372(6505): 455-458.
 - [16] WIDDEL F, RABUS R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons[J]. Curr opin biotechnol, 2001, 12(3): 259-276.
 - [17] ZENGLER K, HEIDER J, ROSSELLO-MORA R, et al. Phototrophic utilization of toluene under anoxic conditions by a new strain of *blastochloris sulfoviridis*[J]. Arch microbiol, 1999, 172(4): 204-212.
 - [18] EVANS P J, MANG D T, KIM K S, et al. Anaerobic degradation of toluene by a denitrifying bacterium[J]. Appl environ microbiol, 1991, 57(4): 1139-1145.
 - [19] ANDERS H J, KAETZKE A, KAMPFER P, et al. Taxonomic position of aromatic-degrading denitrifying *pseudomonad* strains K-172 and KB-740 and their description as new members of the *genera thauera*, as *thauera-aromatica* sp-nov, and *azoarcus*, as *azoarcus-evansii* sp-nov, respectively, members of the beta-subclass of the proteobacteria[J]. Int j syst bacteriol, 1995, 45(2): 327-333.
 - [20] FRIES M R, ZHOU J H, CHEESANFORD J, et al. Isolation, characterization, and distribution of denitrifying toluene degraders from a variety of habitats[J]. Appl environ microbiol, 1994, 60(8): 2802-2810.
 - [21] SPORMANN A M, WIDDEL F. Metabolism of alkylbenzenes, alkanes, and other hydrocarbons in anaerobic bacteria[J]. Biodegradation, 2000, 11(2-3): 85-105.
 - [22] SONG B, HAGGBLOM M M, ZHOU J Z, et al. Taxonomic characterization of denitrifying bacteria that degrade aromatic compounds and description of *Azoarcus toluovorans* sp. nov. and *Azoarcus toluoclasticus* sp. nov.[J]. Int j syst bacteriol, 1999, 49: 1129-1140.
 - [23] DOLFING J, ZEYER J, BINDEREICHER P, et al. Isolation and characterization of a bacterium that mineralizes toluene in the absence of molecular-oxygen[J]. Arch microbiol, 1990, 154(4): 336-341.
 - [24] RABUS R, WIDDEL F. Anaerobic degradation of ethylbenzene and other aromatic-hydrocarbons by new denitrifying bacteria[J]. Arch microbiol, 1995, 163(2): 96-103.
 - [25] HESS A, ZARDA B, HAHN D, et al. In situ analysis of denitrifying toluene- and m-xylene-degrading bacteria in a diesel fuel-contaminated laboratory aquifer column[J]. Appl environ microbiol, 1997, 63(6): 2136-2141.
 - [26] BALL H A, JOHNSON H A, REINHARD M, et al. Initial reactions in anaerobic ethylbenzene oxidation by a denitrifying bacterium, strain EB1[J]. J Bacteriol, 1996, 178(19): 5755-5761.
 - [27] HARMS G, RABUS R, WIDDEL F. Anaerobic oxidation of the aromatic plant hydrocarbon p-cymene by newly isolated denitrifying bacteria[J]. Arch microbiol, 1999, 172(5): 303-312.
 - [28] EHRENREICH P, BEHREND S, HARDER J, et al. Anaerobic oxidation of alkanes by newly isolated denitrifying bacteria[J]. Arch microbiol, 2000, 173(1): 58-64.
 - [29] ROCKNE K J, CHEE-SANFORD J C, SANFORD R A, et al. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions[J]. Appl environ microbiol, 2000, 66(4): 1595-1601.
 - [30] GALUSHKO A, MINZ D, SCHINK B, et al. Anaerobic degradation of naphthalene by a pure culture of a novel type of marine sulphate-reducing bacterium[J]. Environ microbiol, 1999, 1(5): 415-420.
 - [31] PHELPS C D, KERKHOF L J, YOUNG L Y. Molecular characterization of a sulfate-reducing consortium which mineralizes benzene [J]. FEMS microbiol ecol, 1998, 27(3): 269-279.
 - [32] HARMS G, ZENGLER K, RABUS R, et al. Anaerobic oxidation of o-xylene, m-xylene, and homologous alkylbenzenes by new types of sulfate-reducing bacteria[J]. Appl environ microbiol, 1999, 65(3): 999-1004.
 - [33] RABUS R, NORDHAUS R, LUDWIG W, et al. Complete oxidation of toluene under strictly anoxic conditions by a new sulfate-reducing bacterium[J]. Appl environ microbiol, 1993, 59(5): 1444-1451.
 - [34] AECKERSBERG F, BAK F, WIDDEL F. Anaerobic oxidation of saturated-hydrocarbons to CO₂ by a new type of sulfate-reducing bacterium[J]. Arch microbiol, 1991, 156(1): 5-14.
 - [35] AECKERSBERG F, RAINEY F A, WIDDEL F. Growth, natural relationships, cellular fatty acids and metabolic adaptation of sulfate-reducing bacteria that utilize long-chain alkanes under anoxic conditions[J]. Arch microbiol, 1998, 170(5): 361-369.
 - [36] SO C M, YOUNG L Y. Isolation and characterization of a sulfate-reducing bacterium that anaerobically degrades alkanes[J]. Appl environ microbiol, 1999, 65(7): 2969-2976.
 - [37] DAVIDOVA I A, DUNCAN K E, CHOI O K, et al. *Desulfoglaeba alkanexedens* gen. nov., sp nov., an n-alkane-degrading, sulfate-reducing bacterium[J]. Int j syst evol microbiol, 2006, 56: 2737-2742.
 - [38] LOVLEY D R, BAEDECKER M J, LONERGAN D J, et al. Oxidation of aromatic contaminants coupled to microbial iron reduction [J]. Nature, 1989, 339(6222): 297-300.
 - [39] ZENGLER K, RICHNOW H H, ROSSELLO-MORA R, et al. Methane formation from long-chain alkanes by anaerobic microorganisms[J]. Nature, 1999, 401(6750): 266-269.
 - [40] NZILA A. Biodegradation of high-molecular-weight

- polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives[J]. *Environ pollut*, 2018, 239: 788-802.
- [41] HEIDER J, FUCHS G. Microbial anaerobic aromatic metabolism[J]. *Anaerobe*, 1997, 3(1): 1-22.
- [42] ACOSTA-GONZALEZ A, ROSSELLO-MORA R, MARQUES S. Characterization of the anaerobic microbial community in oil-polluted subtidal sediments: Aromatic biodegradation potential after the prestige oil spill[J]. *Environ microbiol*, 2013, 15(1): 77-92.
- [43] COATES J D, ANDERSON R T, WOODWARD J C, et al. Anaerobic hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated harbor sediments under sulfate-reducing and artificially imposed iron-reducing conditions[J]. *Environ sci technol*, 1996, 30(9): 2784-2789.
- [44] CALDWELL M E, GARRETT R M, PRINCE R C, et al. Anaerobic biodegradation of long-chain n-alkanes under sulfate-reducing conditions[J]. *Environ sci technol*, 1998, 32(14): 2191-2195.
- [45] LYLES C N, LE H M, BEASLEY W H, et al. Anaerobic hydrocarbon and fatty acid metabolism by syntrophic bacteria and their impact on carbon steel corrosion[J]. *Frontiers in microbiology*, 2014, 5: 114.
- [46] PARTHIPAN P, ELUMALAI P, TING Y P, et al. Characterization of hydrocarbon degrading bacteria isolated from Indian crude oil reservoir and their influence on biocorrosion of carbon steel API 5LX[J]. *Int biodeterior biodegrad*, 2018, 129: 67-80.
- [47] RAJASEKAR A, BALASUBRAMANIAN R, KUMA J V M. Role of hydrocarbon degrading bacteria *Serratia marcescens* ACE2 and *Bacillus cereus* ACE4 on corrosion of carbon steel API 5LX [J]. *Industrial & engineering chemistry research*, 2011, 50(17): 10041-10046.
- [48] OKORO C, SMITH S, CHIEJINA L, et al. Comparison of microbial communities involved in souring and corrosion in offshore and onshore oil production facilities in Nigeria[J]. *J ind microbiol biotechnol*, 2014, 41(4): 665-678.
- [49] VANS I, THRASHER D R. Reservoir souring: Mechanism and prevention[M]. Washington, DC: ASM Press, 2005.
- [50] LITTLE B J, LEE J S. Microbiologically influenced corrosion: An update[J]. *Int mater rev*, 2014, 59(7): 384-393.
- [51] ENNING D, GARRELF S J. Corrosion of iron by sulfate-reducing bacteria: New views of an old problem[J]. *Appl environ microbiol*, 2014, 80(4): 1226-1236.
- [52] VIGNERON A, ALSOP E B, CHAMBERS B, et al. Complementary microorganisms in highly corrosive biofilms from an offshore oil production facility[J]. *Appl environ microbiol*, 2016, 82(8): 2545.
- [53] LENHART T R, DUNCAN K E, BEECH I B, et al. Identification and characterization of microbial biofilm communities associated with corroded oil pipeline surfaces[J]. *Biofouling*, 2014, 30(7): 823-835.
- [54] DAVEY M E, WOOD W A, KEY R, et al. Isolation of three species of *geotoga* and *petrotoga*: Two new genera, representing a new lineage in the bacterial line of descent distantly related to the thermotogales[J]. *Syst appl microbiol*, 1993, 16(2): 191-200.
- [55] USHER K M, KAKSONEN A H, MACLEOD I D. Marine rust tubercles harbour iron corroding archaea and sulphate reducing bacteria [J]. *Corros sci*, 2014, 83: 189-197.
- [56] ZHANG T, FANG H H P, KO B C B. Methanogen population in a marine biofilm corrosive to mild steel[J]. *Appl microbiol biotechnol*, 2003, 63(1): 101-106.
- [57] DANIELS L, BELAY N, RAJAGOPAL B S, et al. Bacterial methanogenesis and growth from CO₂ with elemental iron as the sole source of electrons[J]. *Science*, 1987, 237(4814): 509-511.
- [58] HILL E C. *Fuels*[M]. New York: Wiley, 1987.
- [59] BENTO F M, GAYLARDE C C. Microbial contamination of stored diesel oil in Brasil[J]. *Rev microbiol*, 1996, 27(3): 192-196.
- [60] GAYLARDE C C, BENTO F M, KELLEY J. Microbial contamination of stored hydrocarbon fuels and its control[J]. *Rev microbiol*, 1999, 30(1): 1-10.
- [61] LYLES C N, AKTAS D F, DUNCAN K E, et al. Impact of organosulfur content on diesel fuel stability and implications for carbon steel corrosion[J]. *Environ sci technol*, 2013, 47(11): 6052-6062.
- [62] WEDEL R V. Technical handbook for marine biodiesel in recreational boats[J]. *Biodiesel fuels*, 1999(4): 22.
- [63] AKTAS D F, LEE J S, LITTLE B J, et al. Anaerobic metabolism of biodiesel and its impact on metal corrosion[J]. *Energy & fuels*, 2010, 24(5): 2924-2928.
- [64] LEE J S, RAY R I, LITTLE B J, et al. Sulphide production and corrosion in seawaters during exposure to FAME diesel[J]. *Biofouling*, 2012, 28(5): 465-478.
- [65] LIANG R X, AKTAS D F, AYDIN E, et al. Anaerobic biodegradation of alternative fuels and associated biocorrosion of carbon steel in marine environments[J]. *Environ sci technol*, 2016, 50(9): 4844-4853.
- [66] 管方. 阴极保护下硫酸盐还原菌腐蚀机理研究[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2017.
- GUAN Fang. Research on the corrosion mechanism of sulfate-reducing bacteria under cathodic protection[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Science, 2017.
- [67] JIA R, YANG D, RAHMAN H B A, et al. An enhanced oil recovery polymer promoted microbial growth and accelerated microbiologically influenced corrosion against carbon steel[J]. *Corros sci*, 2018, 139: 301-308.
- [68] DUAN J, WU S, ZHANG X, et al. Corrosion of carbon steel influenced by anaerobic biofilm in natural seawater[J]. *Electrochim acta*, 2008, 54(1): 22-28.
- [69] YU L, DUAN J Z, DU X Q, et al. Accelerated anaerobic corrosion of electroactive sulfate-reducing bacteria by electrochemical impedance spectroscopy and chronoamperometry[J]. *Electrochem commun*, 2013, 26: 101-104.
- [70] BONIFAY V, WAWRIK B, SUNNER J, et al. Metabolomic and metagenomic analysis of two crude oil production pipelines experiencing differential rates of corrosion[J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8(140): 99.
- [71] LI X, DUAN J, XIAO H, et al. Analysis of bacterial community composition of corroded steel immersed in sanya and Xiamen seawaters in China via method of illumina miseq sequencing[J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8: 1737.