

[英] 科琳·惠特比 Corinne Whitby

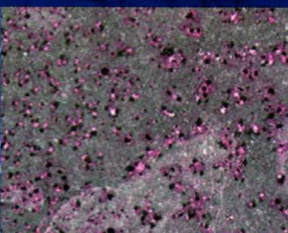
[丹麦] 托本·隆德·史柯胡斯 Torben Lund Skovhus

主编

薛燕芬 于波 马延和 等译

油田系统 应用微生物学 与分子生物学

Applied Microbiology
and Molecular Biology
in Oilfield Systems



化学工业出版社

[英] 科琳·惠特比 Corinne Whitby

主编

[丹麦] 托本·隆德·史柯胡斯 Torben Lund Skovhus

薛燕芬 于波 马延和 等译

油田系统 应用微生物学 与分子生物学

Applied Microbiology
and Molecular Biology
in Oilfield Systems



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

油田系统应用微生物学与分子生物学/ [英] 惠特比
(Corinne, W.), [丹麦] 史柯胡斯 (Torben, L. S.) 主编;
薛燕芬等译. —北京: 化学工业出版社, 2015. 6

书名原文: Applied microbiology and molecular
biology in oilfield systems
ISBN 978-7-122-23458-2

I. ①油… II. ①惠… ②史… ③薛… III. ①油田工
程-微生物学②油田工程-分子生物学 IV. ①TE49
②Q939.97③Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 061807 号

Applied Microbiology and Molecular Biology in Oilfield Systems by Whitby,
Corinne, Lund Skovhus, Torben.

ISBN 978-1-118-77793-0

Copyright © 2011 by Springer Netherlands. Springer Netherlands is a part
of Springer Science+Business Media. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by
Springer-Verlag GmbH Inc.

本书中文简体字版由 Springer Science+Business Media, LLC 授权化学工
业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分, 违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2015-3695

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 何 芳

责任校对: 宋 玮

装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市胜利装订厂

710mm×1000mm 1/16 印张 19 $\frac{3}{4}$ 字数 283 千字 2015 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519680) 售后服务: 010-64519661

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 88.00 元

版权所有 违者必究

油田系统 应用微生物学与分子生物学

2009 年《油田系统应用微生物学和分子生物学
国际研讨会 (ISMOS-2) 》论文集

Applied Microbiology and Molecular Biology
in Oilfield Systems
Proceedings from the International Symposium
on Applied Microbiology and Molecular Biology
in Oil Systems (ISMOS-2), 2009

主编

科琳·惠特比 Corinne Whitby

英国埃塞克斯大学生物科学系 科尔切斯特

托本·隆德·史柯 hus Torben Lund Skovhus

丹麦 VIA 大学学院能源与环境研究组 奥尔 hus

译者序

石油工业对当今世界发展有着极其重要的影响，而石油资源的开发和利用却面临着一系列严峻的问题，急需采用新的技术来提高油气资源采收率，降低开采、储运过程中的设备损耗。生物技术尤其是微生物技术受到了人们的普遍关注，正在向各个领域渗透。微生物与石油工业也紧密相连，从石油的开采到后期储运过程等流程，都有微生物参与其中。研究表明石油微生物技术可以给人们提供新的解决方案。其研究内容不断深入，研究范围不断扩大，从油气勘探、石油开发，到石油炼制、油气田环境保护中都有广泛用途。目前各种高通量的分析技术及现代分子微生物学技术的介入，极大地推动了石油微生物学与技术的发展及应用。

《油田系统应用微生物学与分子生物学》一书由来自学术界和石油工业界的领军人物所撰写，涵盖了近年来石油微生物学研究的大部分最新进展。全书分 28 章，系统而详细地介绍了样品采集及实验流程、分子微生物学在石油微生物研究中的应用、石油行业中微生物引起的问题和解决策略、微生物技术在油田的应用及未来新型生物能源技术的展望，为油藏及其下游加工过程的微生物学研究提供了参考。该书不仅介绍了石油微生物技术的基本原理性内容，还通过多个实例，详细归纳总结了目前石油微生物学研究所用的各种技术方法，是一本优秀的理论与实践相结合的参考书，专业性强。同时附录部分还给出了本书所介绍的各种现代微生物技术的详细实验操作流程，也极大地方便了专业外读者群的参阅。为了帮助我国读者了解油田系统中应用微生物学与分子生物学研究的国际发展动向，我们翻译了这本书。希望这本书中文版的出版会推动我国石油微生物技术的研究及产业化应用，并对油田行业及科研院校从事相关技术的工程技术、教学和科研人员有所帮助。

中国科学院微生物研究所的侯剑峰、姜凯、马超、周航、殷亮、常琦、朱凌峰、管祥辰、姜旭、王红岩、蔡昱萌、杨寒、张彩丽等参与了翻译和部分校对工作。薛燕芬、于波、马延和负责了全书的文字整理与校对

工作。化学工业出版社的编辑在本书的出版过程中也付出了许多心血。在此对各位译校者和编辑表示诚挚的谢意！

由于时间仓促，加上译者水平所限，译稿疏漏之处，敬请广大读者批评指正。

薛燕芬 于波 马延和
于中国科学院微生物研究所
2015年4月

前言

本书由来自学术界和石油工业界领域的领军人物所撰写，为油藏及其下游加工过程的分子微生物学研究提供了理论和实践相结合的方法。本书是基于特定案例分析，并概括了“油田系统应用微生物学和分子生物学国际研讨会（ISMOS）”的会议主题。正文阐释了每个方法是如何工作及从中可以获得哪些信息。这与石油工业工作人员直接相关，包括油藏工程师、生产化学家、防腐蚀专家、现场技术人员和微生物学家。从第2章开始着重介绍油田系统采样相关的实际问题及采集样品种类。具体而言，着重介绍了正确取样技术的重要性，如何保持样品在被送到实验室进行处理前的完整性（如从海上设施取样），并详细介绍了从现场样品中提取DNA/RNA及PCR扩增的方法。

第3至11章关注特定的微生物学或技术问题，依次介绍了每个分子学方法及可获得的信息类型。例如，如果问题是“样品中存在何种微生物群落？”，那么可以利用的分子学方法包括聚合酶链反应（PCR）、DNA指纹图谱、荧光原位杂交（FISH）和克隆测序。如果问题是“样品中存在有多少微生物？”，那么可以应用针对于某个特定靶基因的定量PCR（qPCR）；为了解决“样品中哪些微生物是活跃的？”，可以利用针对功能基因的RNA分析方法。我们将每种技术这样分类其实是过于简单化，事实上每种方法获得的信息可以解决多种微生物学问题。举个例子来说，利用FISH可以进行微生物在环境中的识别和定位，同时如果利用特异性探针也可以获得它们相对丰度的定量数据。同时，本书也详细介绍了最近发展的下一代测序技术和微阵列技术，这些技术可以快速获得大量数据并能在未来极大推动油田微生物学的发展。但值得一提的是，如此大量数据的产生就需要更加复杂精细的生物信息学软件和专业人员来更好地处理、理

解和利用其中获得的信息以使工业界从中受益。

第 12 至 19 章详细介绍了油田系统中微生物引起的问题，如生物腐蚀和储层酸化。正文介绍了分子微生物学方法如何提供了一种监测原位微生物群落的新方法，其未来可以用于减缓由微生物所带来的潜在问题和确定可行有效的处理方案（如硝酸盐、生物杀菌剂、 H_2S 清除、清管/清洗和腐蚀/垢的抑制剂）。除了说明微生物所引起的问题，第 20 至 25 章介绍了一些特定微生物过程所带来的有益影响以及如何利用分子微生物学方法进行进一步的开发利用。这包括利用微生物进行生物修复、对石油产品升级的生物精炼和生物加工过程、利用微生物进行石油开采，即微生物强化采油（MEOR）以及利用厌氧微生物过程转化石油为甲烷。

第 26 至 28 章展望了未来新型燃料，包括生物燃料的发展、去除环烷酸以使重油升级和生物修复尾矿池污水。最后，在附录中提供了作者采用的各种方法的细节，为在石油工业中的非专业人员提供实验操作指南。目前，还有许多其他的方法能够对我们深入理解表层之下微生物生态及其过程提供帮助，例如稳定同位素示踪、蛋白质组学和代谢组学等。因此，在复杂的石油系统中，由于存在许多影响微生物菌落及其活动的物理化学因素，因此采用分子微生物学研究、生理生化分析以及详尽的环境特性描述等多相结合的方法是十分重要的。这种多相联合分析技术将会提高原油产量、延长设备使用时间、提高人员安全和更有效的保护环境。因此，在不久的将来，分子微生物学方法的广泛应用将使能源领域获益匪浅。

致 谢

对所有参与的作者表示衷心的感谢，同时感谢编校们对本书提供的十分有用的意见和建议。

英国科尔切斯特

科琳·惠特比 Corinne Whitby

丹麦奥尔胡斯

托本·隆德·史柯胡斯 Torben Lund Skovhus

贡献者名单

Laura Acuña Álvarez Centro de Innovación y Transferencia de Tecnología (CITT), Universidad de Santiago de Compostela (USC), Edificio Emprendia, Campus Sur, 15872, Santiago de Compostela, Spain, laura.acuna@usc.es

Matt Ashby Taxon Biosciences, Tiburon, CA 94920, USA, ashbym@taxon.com

Sergey S. Belyaev Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117312, Russia, belyaev@inmi.host.ru

Floris Buijzen Department of Biotechnology, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands, floris@buijzen.nl

Sean M. Caffrey Genome Alberta, Calgary, AB, Canada T2L 2K7, scaffrey@genomealberta.ca

Luciana S. Contador Laboratory of Biocorrosion and Biodegradation, National Institute of Technology, Rio de Janeiro 20081-312, Brazil, luciana.contador@int.gov.br

Maarten de Ridder Department of Biotechnology, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands, riddermaarten@hotmail.com

Kathleen E. Duncan Department of Botany and Microbiology, Institute for Energy and the Environment, University of Oklahoma, Norman, OK 73019, USA, Kathleen. E. Duncan-1@ou. edu

Mariana M. Galvão Laboratory of Biocorrosion and Biodegradation, National Institute of Technology, Rio de Janeiro, 20081-312, Brazil, mariana. galvao@int. gov. br

LisaGieg Department of Biological Sciences, University of Calgary, Alberta, Canada T2N 1N4, lmgieg@ucalgary. ca

Antje Gittel Department of Biological Sciences, Aarhus University, DK-8000 Aarhus, Denmark, antje. gittel@biology. au. dk

Neil D. Gray School of Civil Engineering and Geosciences, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK, n. d. gray@newcastle. ac. uk

HansOve Hansen Danish Technological Institute, Renewable Energy and Transport, DK-8000 Aarhus, Denmark, hoh@dti. dk

Ian M. Head School of Civil Engineering and Geosciences, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK, i. m. head@ncl. ac. uk

LarsHolmkvist Danish Technological Institute, DTI Oil & Gas, DK-8000 Aarhus, Denmark, lht@dti. dk

BradleyHuizinga ConocoPhillips, Houston, TX 77079, USA, Bradley. J. Huizinga@conocophillips. com

Valeriy S. Ivoilov Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117312, Russia, ivoilov_vs@mail.ru

Michael Jensen Maersk Oil and Gas AS, DK-1263 Copenhagen, Denmark, michael.jensen@maerskoil.com

Richard Johnson Department of Biological Sciences, University of Essex, Colchester, CO4 3SQ, UK, rjohn@essex.ac.uk

Martin D. Jones School of Civil Engineering and Geosciences, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK, martin.jones@ncl.ac.uk

Cor A. T. Kuijvenhoven Shell, Innovation, Research & Development, Houston, TX 77082, USA, Cor.kuijvenhoven@shell.com

Jan Larsen Maersk Oil and Gas AS, DK-1263 Copenhagen, Denmark, jan.larsen@maerskoil.com

Rick Levinson ConocoPhillips, Anchorage, AK 99510, USA, Rick.A.Levinson@conocophillips.com

Bart P. Lomans Shell International Exploration & Production, Rijswijk, The Netherlands, Bart.lomans@shell.com

Márcia T. S. Lutterbach Laboratory of Biocorrosion and Biodegradation, National Institute of Technology, Rio de Janeiro 20081-312, Brazil, marcia.lutterbach@int.gov.br

Elaine McFarlane Shell Research Ltd., Shell Technology Centre, Thorn-

ton, Chester CH2 4NU, UK, elaine. mcfarlane@shell. com

Brandon E. L. Morris Department of Botany and Microbiology, Institute for Energy and the Environment, University of Oklahoma, Norman, OK 73019, USA, brandon. morris@ou. edu

GerardMuyzer Department of Biotechnology, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands, g. muijzer@tudelft. nl

Tamara N. Nazina Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, 117312 Moscow, Russia, nazina _ tn@mail. ru

Sune D. Nygaard Danish Technological Institute, Laboratory for Chemistry and Microbiology, DK-8000 Aarhus, Denmark, snd@dti. dk

Jette Johanne Østergaard Maersk Oil and Gas AS, DK-6700 Esbjerg, Denmark, Jette. Johanne. Ostergaard@maerskoil. com

Andrei B. Poltaraus Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117984, Russia, abpolt@gmail. com

Andy Price Oil Plus Ltd, Berkshire RG14 5PX, UK, a. price@oilplus. co. uk

Wilfred F. M. Röling Faculty of Earth and Life Sciences, Department of Molecular Cell Physiology, Vrije University Amsterdam, 1081HV Amsterdam, The Netherlands, wilfred. roling@falw. vu. nl

SvetlanaRudyk Esbjerg Institute of Technology, Aalborg University, Aalborg, Denmark, sr@aaue. dk

Angela Sherry School of Civil Engineering and Geosciences, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK, angela.sherry@newcastle.ac.uk

Natalya M. Shestakova Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117312, Russia, genomnat@mail.ru

Ajay Singh Lystek International Inc., Waterloo, ON, Canada N2J 3H8, ajasingh@uwaterloo.ca

Arvind K. Singh School of Civil Engineering and Geosciences, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne NE1 7RU, UK, arvind.singh@newcastle.ac.uk; aksingh-nehu@yahoo.co.in

Torben Lund Skovhus VIA University College, Research Group for Energy and Environment. DK-8000 Aarhus, Denmark, tls@dti.dk

Erik Søgaard Esbjerg Institute of Technology, Aalborg University, Esbjerg, Denmark, egs@aaue.dk

Gitte Sørensen Danish Technological Institute, Chemistry and Biotechnology, DK-8000 Aarhus, Denmark, gsn@dti.dk

Ketil Bernt Sørensen Danish Technological Institute, DTI Oil & Gas, DK-8000 Aarhus, Denmark, kes@dti.dk

Dariusz Strapoc' ConocoPhillips, Houston, TX 77079, USA, Dariusz.Strapoc@conocophillips.com

Joseph M. Suflita Department of Botany and Microbiology, Institute for Energy and the Environment, University of Oklahoma, Norman, OK 73019, USA, jsuflita@ou. edu

Uffe Sognstrup Thomsen Danish Technological Institute, DTI Oil & Gas, DK-8000 Aarhus, Denmark, uth@dti. dk

Tatiana P. Tourova Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow 117312, Russia, tptour@rambler. ru

Geert M. van der Kraan Department of Biotechnology, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands, g. m. vanderkraan@tudelft. nl

CorinneWhitby Department of Biological Sciences, University of Essex, Colchester, CO4 3SQ, UK, cwhitby@essex. ac. uk

Nicole Williamson Oil Plus Ltd, Berkshire RG14 5PX, UK, n. williamson@oilplus. co. uk

Ladonna Wood Taxon Biosciences, Tiburon, CA 94920, USA, ladonna. wood@taxon. com

目 录

第一部分 引言、样品采集及实验流程 / 1

第 1 章 引言 / 3

参考文献 / 6

第 2 章 油田样品的采集和核酸提取流程 / 7

参考文献 / 16

第二部分 分子微生物学方法在石油工业中的应用 / 19

第 3 章 分子微生物学方法用于石油工业分析 DNA、RNA 和蛋白质 / 21

参考文献 / 27

第 4 章 存在何种微生物群落？

选择合适的引物及探针对于在油田系统使用分子微生物学方法 (MMM) 至关重要 / 29

参考文献 / 33

第 5 章 存在何种微生物群落？

PCR-DGGE 之应用：油田岩芯样本案例研究 / 34

参考文献 / 44

第 6 章 存在何种微生物群落?

克隆文库的应用: 高温油藏互养乙酸盐降解产甲烷——培养和
16S rRNA 基因特性 / 46

参考文献 / 54

第 7 章 存在何种微生物群落?

荧光原位杂交 (FISH) 方法应用: 石油和燃料样品中有害微生物的显微计数 / 56

参考文献 / 62

第 8 章 存在何种微生物群落?

基于测序的宏基因组学 / 63

参考文献 / 76

第 9 章 存在多少微生物?

反转录定量 PCR (qRT-PCR) / 79

参考文献 / 87

第 10 章 存在多少微生物?

油田微生物的计数方法 / 88

参考文献 / 95

第 11 章 哪些微生物群落成员是活跃的?

基因芯片 / 96

参考文献 / 101

第三部分 石油行业中微生物引起的问题和解决策略 / 103

第 12 章 微生物引起的问题和解决策略

运用分子微生物学方法监测和预防油藏酸化 / 105

参考文献 / 109