

NEIYUANWEISHENGWU
CAIYOUJISHULUNWENJI

董汉平 汪卫东 等编

内源微生物采油技术 论文集

石油工业出版社

内源微生物采油技术论文集

董汉平 汪卫东 等编

石油工业出版社

内 容 提 要

本书精选的 63 篇论文,内容涵盖了油藏内源微生物群落结构、采油功能微生物、微生物营养特征及激活剂、微生物驱物理模拟和数值模拟模型、微生物产物特征、微生物驱油机理及现场试验等内容,汇集了微生物采油研究方面的最新进展。

本书可供从事三次采油,特别是微生物采油工作的技术人员及有关院校师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

内源微生物采油技术论文集/董汉平等编.

北京:石油工业出版社,2012.12

ISBN 978-7-5021-9149-8

I. 内…

II. 董…

III. 微生物采油-文集

IV. TE357.9-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 138617 号

出版发行:石油工业出版社

(北京安定门外安华里 2 区 1 号 100011)

网 址:www.petropub.com.cn

编辑部:(010)64523533 发行部:(010)64523620

经 销:全国新华书店

印 刷:北京中石油彩色印刷有限责任公司

2012 年 12 月第 1 版 2012 年 12 月第 1 次印刷

787×1092 毫米 开本:1/16 印张:28.75

字数:736 千字

定价:96.00 元

(如出现印装质量问题,我社发行部负责调换)

版权所有,翻印必究

前 言

随着油田开发程度的逐步加深以及经济发展对石油需求的不断增大,当今油田开发面临的一个重要问题是怎样提高已开发油田的采收率。我国油田普遍采用同步注水开发方式进行开发,改善水驱、三次采油及微生物采油技术(MEOR)都是提高水驱油田采收率的强化采油技术。

微生物采油技术从 19 世纪 20 年代就开始受到国外学者的关注。1975—1990 年以来,先后在美国、苏联、加拿大、英国、罗马尼亚、澳大利亚、中国、德国等国家进行了理论研究和现场试验工作,处于蓬勃发展阶段。大量矿场试验说明,微生物采油技术可以有效提高石油采收率。

微生物采油技术主要有两种方式:一是以美国为代表的将筛选出的菌种在地面培育后同营养液一起注入油藏,利用其代谢产物提高石油采收率;二是以苏联为代表的内源微生物采油技术,通过往油藏注入营养液和空气,激活油田注水过程中在地层内形成的稳定的微生物群落,以达到提高石油采收率的目标。

我国油田的 MEOR 技术始于 20 世纪 80 年代,以外源微生物采油技术研究、试验及引进为主。2000 年以来,在与俄罗斯合作研究试验基础上,结合国内油田实际,开始了内源微生物采油技术自主研发的新阶段。

目前,我国相当一部分油田进入注水开发的后期,地层中已经形成了稳定的微生物群落,微生物提高石油采收率具有较大的开发潜力,仅中国石油天然气股份有限公司各油田适合微生物驱的储量约为 $55.09 \times 10^8 \text{ t}$ 。同时,该技术具有成本低、施工简便、环境友好和适用范围广等优点,是一种经济效益显著的驱油技术。为了加强内源微生物采油技术研究,中国石油天然气集团公司先后牵头承担了国家 973 项目“化学驱和微生物驱提高石油采收率的基础研究”和国家 863 项目“内源微生物采油技术研究”,形成了中国石油天然气集团公司、中国石油化工股份有限公司、北京大学、南开大学、华东理工大学等单位组成的攻关团队。通过联合攻关,在内源功能菌群驱油机理、新型培养技术、廉价长效激活剂的筛选、注采配套工艺技术、现场监测和效果评价技术等方面取得了一系列进展,并针对高含水、水驱稠油、聚合物驱后三类典型油藏,相继展开了油田矿场试验。部分试验区已见到了明显降水增油效果。

为了系统总结国家 863 项目取得的主要成果,更好地和国内外从事微生物采油技术的同行进行充分的交流,我们编写了本文集。本文集共收录论文 63 篇,由项目各课题负责人和科研骨干编写。论文分别从内源高效菌群的构建、内源微生物营养特征及激活剂筛选、内源微生物代谢作用机制、内源微生物物理模拟和数值模拟评价技术、矿场试验方案设计及效果评价等

方面较系统地总结了内源微生物采油技术的进展,可供从事微生物采油工作的技术人员及有关院校师生参考。

本文集涉及多项内源微生物采油的先进技术,必将深化微生物驱油机理的理论认识,推进微生物采油技术合理应用,为我国油田稳产、保障能源供应作出贡献。

由于本文集涉及成果仅是项目研究的阶段成果,不当之处,欢迎指正。

本文集的出版得到了国家 863 项目(No. 2009AA063504)的资助,在此表示感谢!

编 者

2011 年 12 月

目 录

油藏微生物群落结构研究综述	李 彦 赵洁玉 汤岳琴 吴晓磊(1)
生物表面活性剂在采油生产中的研究及应用	王兴彪 聂 勇 汤岳琴 吴 钢 吴晓磊(7)
石油烃微生物厌氧降解机制的研究进展	聂 勇 方 卉 梁洁良 王兴彪 汤岳琴 吴晓磊(12)
烷烃羟化酶的研究进展	聂 勇 方 卉 梁洁良 王兴彪 汤岳琴 吴晓磊(20)
油藏微生物的代谢特征和生态关系	高配科 马 挺 赵玲侠 李国强 刘如林(27)
胜利油田沾 3 区块内源微生物激活剂的筛选、优化及效果评价	高配科 马 挺 赵玲侠 李国强 曹美娜 王燕森 梁凤来(34)
聚合物驱后油藏内源微生物群落结构解析与分布特征研究	赵玲侠 高配科 曹美娜 高梦黎 李国强 马 挺(45)
嗜热解烃菌 DM-2 产生的乳化剂及其在石油开采中的应用	纪凯华 齐义彬 张 悦 吴萌萌 刘 云 马 挺 李国强(55)
油藏内源微生物高效激活剂筛选与评价方法	高配科 赵玲侠 李国强 梁凤来 马 挺(65)
烷烃单加氧酶基因 <i>alkB</i> 家族的序列特征及其应用	司凤彬 李国强 马 挺(76)
<i>Enterbacter</i> sp. CJF-002 产生的细菌纤维素及其在石油开发中的应用	李召雨 纪凯华 李国强 马 挺(86)
新疆克拉玛依油田六中区克下组油藏内源微生物驱油过程中微生物群落结构变化与分析	曹美娜 赵玲侠 高配科 李国强 马 挺(95)
胶质降解和生物乳化在稠油降黏中的作用	齐义彬 吴萌萌 李国强 马 挺(103)
石油烃厌氧生物降解代谢产物研究进展	周 蕾 Mbadinga Serge Maurice 王立影 刘金峰 杨世忠 牟伯中(111)
Optimum Surfactin Hydrolysis Condition by Modification the Reaction Temperature Evaluated with GC-MS	Zhao Yue Yang Shizhong Mu Bozhong(122)
The Variants of Fatty Acids in Microbial Lipopeptides Determined by GC-MS	Yang Shizhong Liu Jinfeng Li Yiming Mu Bozhong(129)
The Two-Step Synthesis of Deuterium Labeled 8,8,9,9- d_4 -Hexadecane from Nonanoic Acid	Zhou Lei Bian Xinyu Yang Shizhong Mu Bozhong(139)

Nitrate – reducing Community in Production Water of Three Oil Reservoirs and Their Responses to Different Carbon Sources Revealed by Nitrate – reductase Gene (*napA*)

..... Feng Wenwen Liu Jinfeng Gu Jidong Mu Bozhong(145)

Methanogenic Microbial Community Composition of Oily Sludge and an Enrichment from It Amended with Alkanes Incubated for Over 500 Days

Wang Liying Li Wei Serge Maurice Mbadinga Liu Jinfeng Gu Jidong Mu Bozhong(154)

Molecular Characterization of Archaeal Community Structure in Water – flooding Petroleum Reservoirs with Different Temperatures

Wang Liying Serge Maurice Mbadinga Liu Jinfeng Gu Jidong Mu Bozhong(168)

鼠李糖脂发酵条件优化和采油应用研究 夏文杰 董汉平 俞理(182)

储层中菌体微观调剖的驱油效果分析 刘保磊 董汉平 俞理 杨玲(192)

不同采出程度下微生物采油效果分析 刘保磊 俞理 黄立信 郑齐义(198)

一株耐温、耐盐烃降解菌 *Geobacillus* sp. XDF – 4 性能研究
..... 夏文杰 董汉平 俞理 黄立信(203)

花土沟高矿化度油藏内源微生物提高采收率研究 王 俊 黄立信 俞理(213)

内源微生物驱油物理模拟研究中实验压力的变化特性

..... 张静楠 董汉平 俞理 李荣华 崔庆峰(217)

高矿化度油藏内源微生物激活产气性能室内研究 王 俊 黄立信 俞理(222)

微生物提高采收率数值模拟研究现状

..... 修建龙 董汉平 俞理 黄立信 郭英(228)

不同注气方式及岩心的微生物驱油实验研究 ... 张静楠 董汉平 俞理 李荣华(233)

内源微生物驱油渗流场—微生物场耦合数学模型研究 ... 修建龙 俞理 郭英(240)

内源微生物驱油技术中激活配方筛选评价方法探讨
..... 代学成 王红波 杨朝晖 彭晓钟 崔庆峰(247)

克拉玛依油田六中区克下组油藏内源微生物激活现场试验研究
..... 王红波 吴运强 徐国勇 汪玉琴 彭晓钟 代学成(252)

新疆油田高含水油藏内源微生物驱矿场试验研究
..... 李 红 代学成 汪玉琴 王洪波 徐国勇(256)

鼠李糖脂的复配驱油体系及现场试验
..... 乐建君 马亮亮 郭盟华 陈星宏 刘洪涛 麻成斗(261)

微生物采油技术在大庆油田低渗透油藏的应用
..... 盖立学 王艳玲 柏璐璐 窦绪谋(267)

T – RFLP 技术分析大庆聚合物驱后油藏微生物多样性
..... 郭盟华 窦绪谋 刘洋 金锐 王颖(273)

微生物降解原油产甲烷气能力和群落构成研究

..... 金 锐 侯兆伟 陈星宏 刘 洋 张明哲(279)

机采井微生物清防蜡工艺及应用效果评价

..... 乐建君 王新宇 李云祥 柏璐璐 王 蕊(285)

萨北过渡带微生物增效水驱矿场试验

..... 乐建君 李 蔚 郭盟华 金海军 李红梅 赵春艳(289)

萨中开发区聚合物驱后油藏微生物的 PCR - DGGE 解析

..... 乐建君 马 挺 侯兆伟 赵玲侠 张继元 郭盟华 柏璐璐(295)

细胞疏水性对采油微生物运移吸附作用的影响的初步研究

..... 刘 洋 李 蔚 单厚菲 王 蕊(303)

大庆萨南开发区高台子油层细菌群落结构研究

..... 任国领 曲丽娜 乐建君 由春梅 黄永红(309)

大庆油田油藏微生物基因组 DNA 的提取与分析

..... 任国领 袁红梅 侯兆伟 卞立红 黄永红(318)

五种有机激活剂对原油乳化性能的影响 王 蕊 李 蔚 刘 洋 侯兆伟(325)

生物技术与化学驱结合提高石油采收率研究 王 颖(331)

微生物与三元复合驱结合提高石油采收率研究

..... 王 颖 窦绪谋 常剑飞 陈星宏(339)

内源微生物驱油技术在大港油田的研究及应用

..... 张淑琴 闫云贵 腾钟杰 徐伟生 柳 敏 邢立国(345)

复合型内源微生物驱油体系优化研究与实践

..... 柳 敏 李晓利 汪娟娟 梁建春 王洪波 佃生权 苗永滨(352)

新型复合内源微生物驱营养体系研究与应用

..... 程海鹰 冯庆贤 柳 敏 李 丽 马先平(358)

羊二庄内源微生物驱试验效果分析 ... 程海鹰 冯庆贤 冯 刚 李 辉 滕克孟(364)

内源微生物驱油效果的因素分析和对策

..... 冯庆贤 高维刚 许惠芳 王 莹 曹小梅 王正海(370)

微生物采油技术在宝力格油田的应用

..... 张双艳 吴 刚 宋社民 游 靖 薄海江 余吉良 李 青 朱立国(376)

胜利邵家沾 3 断块内源微生物现场激活试验及分析

..... 曹功泽 徐登霆 唐存知 孙刚正 耿雪丽 张绍东 汪卫东(381)

内源微生物驱激活剂注入能力评价

..... 郭辽原 宋智勇 宋永亭 郭省学 张绍东 汪卫东(390)

激活剂及空气对注入设备的腐蚀性实验及控制策略研究	高光军 王 静 王 新 郭省学 汪卫东(400)
内源微生物驱空气配注参数优化研究	宋智勇 郭辽原 袁长忠 段传慧 汪卫东 蒋 焱(407)
激活体系与沾3区块地层水的配伍性研究	宋 欣 王 静 郭省学 汪卫东 蒋 焱(412)
内源微生物驱激活体系注入工艺参数优化研究	郭辽原 宋智勇 宋永亭 郭省学 汪卫东 蒋 焱(417)
沾3区块内源微生物试验区油藏地质综合研究	赵凤敏 束青林 段小兰 黄高健 曹功泽 姚寒梅(424)
微生物驱油注入工艺流程研究	刘 涛 徐登霆 曹功泽 赵凤敏 巴 燕 汪卫东(430)
内源微生物驱油现场跟踪监测方法研究	高光军 曹功泽 宋永亭 郭省学 汪卫东 蒋 焱(437)
微生物驱油产出液循环再利用物理模拟实验研究	宋智勇 郭辽原 李彩凤 吴晓玲 郭省学 汪卫东(441)
微生物驱油自吸式配气工艺优化研究	徐登霆 蒋 焱 王 静 苏俊杰 赵凤敏(446)

油藏微生物群落结构研究综述

李彦 赵洁玉 汤岳琴 吴晓磊

(北京大学工学院能源与资源工程系)

摘 要 本文描述了在油藏极端环境下,研究油藏微生物群落的目的及意义。系统阐述了目前国内外油藏微生物群落研究的方法,包括微生物人工培养的方法以及分子生物学分析方法。列举了在油藏环境中的几种主要的微生物类群,主要有石油烃降解菌、硫酸盐还原菌、产甲烷菌、硝酸盐还原菌等。并且对油藏微生物群落研究工作进行了展望:油藏微生物群落研究的日趋完善和深入,有利于更加有针对性和目的性地开展后续的油藏开采和石油污染治理工作。

关键词 油藏微生物群落 微生物采油 分子生物技术

引 言

我国是一个能源消耗大国,石油供需矛盾已经成为制约我国国民经济发展的重要因素之一。加之陆上主力油田已经进入中后期开发阶段,而目前通过一次、二次石油开采,仍然有大约 60% 的石油残留在地下无法被利用。因此亟须新的技术来提高石油产量和采收率。微生物三次采油技术具有成本低、适用范围广、环境相对友好等优点而备受重视,其实质是通过人为干预调整油藏微生物生态,逐步形成有利于提高原油采收率的油藏生态环境,通过微生物的代谢作用及代谢产物的作用,最终达到提高石油产量和采收率的目的^[1]。研究油藏微生物生态对微生物提高原油采收率技术的发展具有重要的现实意义。其中,如何准确把握油藏微生物群落结构的遗传多样性及动态变化,有的放矢地对油藏微生物群落进行调控成为该技术的核心所在。

1 典型的油藏生态环境

油藏环境是一种典型的极端生态环境,油藏的温度、压力和矿化度比较高,温度一般为 40 ~ 180℃,压力在几兆帕到数十兆帕之间,矿化度可达 20% 以上,过去一直认为是“生命禁区”。但随着油田的长期注水开发,一些营养物质及地面微生物的输入,逐渐形成了比较稳定的微生物群落。在厌氧、高温、高压、高矿化度和贫营养等极端的理化因子的长期作用下,造就了这些油藏微生物对极端环境条件的适应性和生存依赖性,形成了丰富的油藏极端微生物资源和基因资源^[2,3]。

对于特定油藏,由于其复杂的理化因子综合作用的影响,形成的微生物群落也大相径庭。包括温度、矿化度、pH 值、压力、溶氧浓度和有机质含量等都会影响到微生物群落结构的组成^[4]。其中温度是油藏微生物分布的主要影响因素。微生物内生物分子的热不稳定性的阈值决定了油藏微生物生长的温度范围^[5,6]。

油藏矿化度、pH 值以及油藏压力、溶解氧浓度也是影响油藏微生物种群的重要因素。Orphan 等人用克隆文库法和富集培养法研究了加利福尼亚州陆上和海上未注水高温油藏中的菌群分布,检测到的菌种主要为嗜热发酵菌、异养硫呼吸细菌和古菌,这一结果与厌氧富含

硫和有机物的油藏环境条件相吻合。

2 油藏微生物群落研究方法

对油藏微生物群落的分析主要可以分为:传统的人工纯培养的方法和现代分子生物学的分析方法。

2.1 人工纯培养方法

传统的人工纯培养方法的具体步骤通常为:利用常规的培养条件和富集培养基将微生物从油藏群落中分离出来,通过对分离菌株进行种类鉴别、计数和功能测试来了解油藏微生物群落结构^[7,8]。但是这种方法仅能培养极少数微生物(0.01%~1%),而且由于人工培养条件的选择性,检测到的微生物也是选择和富集后的结果,并不能完全准确地反映油藏中的真实情况。从而导致无法对油藏微生物群落进行准确、有效地调控,也无法高效地提高原油采收率。针对这些情况,提高微生物的可培养性已经成为微生物领域中新的研究热点,可以通过减少富营养的毒害作用,利用来自于油藏环境的物质作为基质,或者以多聚物为碳源,以及降低营养基质的浓度,从而改善微生物的可培养性^[9,10],油井中的嗜热球菌长期适应油井中营养匮乏的贫营养环境而更能耐受饥饿。也只有在模拟油井中极端环境的条件下,才能对这些微生物进行培养。此外,还可以通过加入调节微生物相互作用的信号分子来简单模拟微生物间的相互作用,满足微生物生长繁殖的要求^[3];在培养基中添加不同的电子供体和电子受体也可以提高油藏微生物的可培养性;以及利用微生物细胞分散法、延长培养时间等方法提高油藏微生物群落的可培养性。

2.2 现代分子生物学的分析方法

现代微生物分子生态分析方法突破了纯培养瓶颈,能从分子水平上较为客观地揭示环境微生物的多样性,近年来在油藏微生物群落研究中的应用发展迅速,促进了人们对油藏微生物多样性的认识,成为人们分析油藏微生物群落结构的新工具。

目前测定微生物群落结构的方法主要包括:16S rRNA 基因序列分析、变性梯度凝胶电泳(DGGE/TGGE)和末端限制性片段长度多态性技术(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)等。测定群落功能的方法主要包括:实时定量 PCR 技术(Real-time Quantitative PCR)、荧光原位杂交技术(Fluorescence in Situ Hybridization, FISH)、基因芯片技术(Geochip)和放射性同位素标记(Radiography)等。

2.2.1 16S rRNA 基因序列分析

细菌的 16S rRNA 基因分子的平均大小分别是 1500bp 左右,其基因内的可变区部分以不同的速率进化,通过测定 16S rRNA 基因全序列或大部分序列,并将测序结果在 GeneBank 中进行比较,确定样品中所含微生物群落的丰度以及多样性,同时它们携有的信息用于系统发育关系的分析。首先从油井水样中富集细菌并提取总 DNA,然后设计细菌通用的或特异性引物,通过 PCR 的方法直接在油藏样品总 DNA 中扩增出 16S rRNA 基因,将这些片段的混合物构建到合适的克隆载体上,转化到受体菌中后筛选阳性克隆,进行序列测定,分析比对序列,从而鉴定样品中细菌的种类。较其他方法而言,16S rRNA 基因序列测定分析更适用于确定属及属以上分类单位的亲缘关系^[11]。但是这种方法需要耗费的工作量及资金都比较大,而且难以

穷尽样品中所有的生物群落的多样性,无法对目标菌群进行原位和实时跟踪分析。

2.2.2 变性梯度凝胶电泳技术

变性梯度凝胶电泳(DGGE)方法运用到油藏微生物研究中是从油井水样样品直接提取总DNA,经PCR扩增得到含有某一高变区的目的DNA序列产物,通过DGGE得到带谱。因为DGGE带谱中的每个条带很可能就代表一个不同的微生物物种,所以DGGE带谱中条带的数量反映出该油藏中微生物群落中优势类群的数量。

该技术主要是基于核酸序列的不同而将片段大小相同的DNA序列分开。双链DNA分子在含梯度变性剂(尿素、甲酰胺)聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳时,因其解链的速度和程度与其序列密切相关,从而使具有不同序列的DNA片段滞留于凝胶的不同位置,结束电泳时,形成相互分开的带谱^[12]。该技术可以快速对群落的变化迁移进行比较性分析,但是易受PCR偏差的影响,而且只能检测样品中丰度在1%~2%以上的微生物种类,属于半定量技术,需要辅助于克隆文库。余跃惠等人通过用PCR-DGGE的方法对新疆克拉玛依油田一中区注水井及油井的微生物群落结构的研究发现了假单胞菌属(*Pseudomonas*)、硫酸盐还原菌属(*Sulfate reducing*)、氨基杆菌属(*Aminobacter*)等和拟杆菌纲(*Bacteroidetes*)的拟杆菌属(*Bacteroides*),为该油田下一步微生物提高原油采收率的现场应用提供了很多有价值的信息^[13]。

2.2.3 限制性内切酶片段长度多态性技术(T-RFLP)

限制性内切酶片段长度多态性技术(RFLP)主要是利用能识别特定的DNA序列的限制性核酸内切酶处理群落16S rDNA的PCR扩增产物,基于不同种群的16S rDNA序列的差异,将得到的长度和数量不同的DNA片段,用高分辨率的聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离,并利用溴乙啶等荧光燃料进行显色,得到的特异性图谱来分析微生物群落结构。

近年来发展起来的末端限制性片段长度多态性技术(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism, T-RFLP)也是RFLP的一种,只是PCR扩增中使用的引物一端或两端带有荧光标记,酶切所得的末端片段被标记,电泳后通常只分析末端片段的种类、长度与数量。每一种长度的末端片段被认为至少代表一种微生物的基因型,因此可以反映对应的样品中的微生物群落的组成结构。由于使用了荧光或放射性标记,具有较高的灵敏度、方便快捷等特点,而且可以有效检测到群落中相对丰度在0.1%以上的微生物类群^[14]。值得一提的是这种方法也是一种半定量的分析,需要结合克隆文库来对样品进行系统透彻解析。陈海鹰等用T-RFLP的方法分析了胜利油田沾3区块营养剂注入前后的微生物群落的变化,结果发现营养物注入后,T-RF的数量与丰度都有显著提高,且不同时期呈现出不同的群落结构。从而证明了T-RFLP方法是跟踪油藏微生物群落动态和对比分析群落结构的有效方法^[15]。

2.2.4 荧光原位杂交技术

荧光原位杂交技术主要是根据那些已公布的、定位在不同分类等级的rDNA分子的特征位置,设计以rDNA为靶点的寡核苷酸探针,然后用荧光标记探针于原位鉴定单个细胞。目前这一技术主要应用于原核生物,可以同时对不同类群的细菌在细胞水平上进行原位的定性定量分析和空间位置标示,甚至估算单个细胞在原位的生长速率。该方法研究油藏微生物生态的基本步骤为:(1)水样中细菌的富集;(2)样品细胞的固定;(3)用含荧光标记的16S rRNA寡核苷酸探针的杂交液处理固定好的细胞;(4)样品温育使标记探针和互补rRNA序列杂交;

(5)杂交后洗去未杂交上的探针;(6)样品用荧光显微镜进行微生物鉴定和计数。Yumiko Kodama 等人利用针对古生球菌属的特异性探针对被原油污染的地下水微生物群落进行了荧光原位杂交技术(FISH),对其中的古生球菌的多样性、丰度及活性进行了研究^[16]。

2.2.5 基因芯片技术(Geochip)

基因芯片(Geochip)技术是用一种高通量基因芯片,分析微生物群落,并研究其群落结构对生态系统的作用。该高通量基因芯片,囊括了参与主要地球化学循环(如碳循环、氮循环、金属抗性、有机物降解、硫循环和磷循环等)的微生物功能酶类的寡聚核苷酸探针编码。这样就可以通过已知碱基顺序的DNA片段,结合被标记的具有碱基互补序列的DNA或RNA,从而确定其相应的类别,并由此推断环境样品中具有各种功能的微生物类群^[17]。

尽管目前针对16S rRNA的基因芯片还处在基础研究阶段,但随着16S rRNA/DNA技术的广泛应用,这类产品的市场化是必然趋势。Eliza - veta A Bonch - Osmolovskaya 等人,对俄罗斯西伯利亚地区Samotlor油田高温油藏内的嗜热性微生物群落进行寡核苷酸微芯片(Microchip)分析,并针对嗜热菌和古生球菌设计探针,发现这些细菌的分布比过去认为的更广泛得多^[18]。此外,采用实时荧光定量PCR的方法可以对某些特定功能的菌群进行准确定量,考察它们在原始样品中的含量。

随着现代生物技术的迅猛发展,焦磷酸测序技术、新一代高通量测序技术等新技术不断涌现,将会极大地扩宽油田微生物群落研究的深度和广度。其中建立在rRNA基因序列比对基础上的分析方法是相对成熟的。这些方法看似独立,实则相互影响互为补充,只有综合运用取长补短,才能深入说明油藏微生物群落的结构和功能。

3 油藏中常见的微生物群落

经过对油藏的长期开发,不同的油藏形成了其特有的、稳定的微生物群落^[19]。早在1992年,Bernard 等人^[20]通过对一些油藏分离菌的生理生化性质的研究发现,这些性质与当地油藏环境是密切相关的。对现有的微生物菌群,微生物学家将其分为以下几类^[21]。

(1)硫酸盐还原菌(Sulphate - reducing Bacteria)。

硫酸盐还原菌在油田污水回注系统和油层缺氧环境中广泛存在。SRB代谢产生H₂S酸性气体,可以提高地层压力,溶解碳酸盐岩层,促进原油的释放和增大地层的渗透率。某些菌种还可以降解石油中的重馏分,改善原油的流动性能,提高石油采收率。但是,另一方面这类菌产生的气体中含有大量硫化氢,增加生产设施的腐蚀问题,并带来严重的生产安全问题。具有代表性的有嗜温硫酸盐还原菌,如脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*);还有嗜热硫酸盐还原菌,如脱硫肠菌属(*Desulphotomaculum*)。

(2)烃降解菌(Hydrocarbon Degrading Bacteria)。

烃氧化菌(HDB)可以通过自身的代谢作用产生分解酶,乳化原油,能降解C₁₀—C₃₀的正构烷烃,裂解重质烃类和石蜡,降低原油的黏度,改善原油的流动性能,提高原油采收率,还可代谢产生表面活性剂、聚合物、有机酸、醇类和二氧化碳等有利于驱油的产物。具有代表性的菌株有微球菌属(*Micrococcus*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、红球菌属(*Rhodococcus*)和盐杆菌属(*Halobaeterium*)等。这类细菌在注水井及近井底地带最为丰富,是注水油层中微生物食物链的启动环节。

(3)产甲烷菌(Methanogenic Bacteria)。

产甲烷菌为严格厌氧菌,在低盐度到高盐度的中温油藏中都有产甲烷菌存在。一般认为高温高盐环境使得微生物群落急剧减少。筛选到的甲烷生成菌包括甲烷杆菌和甲烷八叠球菌,这类细菌处于油层生态系统的最后阶段,可以解除生物链的末端抑制,使得一系列的生化反应持续不断地进行。对微生物采油而言,油藏中产甲烷菌的生长繁殖可以促使发酵菌等微生物更好地生长繁殖。除上述微生物外,还有铁细菌、硫细菌、硝酸盐还原菌等。此外,还有绝大多数的未培养微生物。这些微生物菌落对石油的生产都有一定的影响。

根据微生物对油藏开采的利弊,微生物学家将油藏微生物划分为有利和不利于油藏开采的两种细菌群落。其中微生物对提高石油采收率的有益菌有:石油烃降解菌、脱氮菌、产甲烷菌;微生物对提高石油采收率的有害菌有:硫酸盐还原菌、铁细菌、硫细菌、腐生菌等。

4 油藏微生物群落研究的发展趋势

随着现代生物技术的飞速发展,以及其在油藏环境研究中的不断渗透,油藏微生物群落正在将其真实的面容逐渐展示在人们的面前,由一开始人们心目中的“生命禁区”到现在逐渐被人们所认识,再到以后的完全被油藏微生物研究者所了解,并用于指导现场的微生物采油以及石油污染治理的开展。当然这其中也有许多应注意之处,比如在油藏开发过程中要尽量避免外源微生物对油藏土著微生物的“污染”,分析过程中将几种分析方法相互结合等,这样才能使得油藏微生物的研究工作更加有的放矢,使得油藏环境中有益微生物发挥更好的作用,有害微生物的危害降到最低,微生物采油的优势得以更加高效、充分地发挥。

参 考 文 献

- 1 罗跃,余跃惠. 微生物采油技术研究的国内外动态及内源微生物采油技术. 国外油田工程,1999,8(4):1~2
- 2 刘金峰,牟伯中. 油藏极端环境中的微生物. 微生物学杂志,2004,24(4):31~34
- 3 谷峻,石成芳,吴晓磊等. 研究油藏微生物群落的方法学进展. 生态学报,2007,27(1):323~328
- 4 李辉,牟伯中. 油藏微生物多样性的分子生态学研究进展. 微生物学通报,2008,35(5):803~8081
- 5 Magot, M, Ollivier, B, Patel, B K C. Microbiology of Petroleum Reservoirs. Antonie van Leeuwenhoek, 2000, 77:103~116
- 6 Stetter, K O, Hoffmann, A, Huber, R. Microorganisms Adapted to High Temperature Environments. Guerrero R & Pedros - Alio C (Ed) Trends in Microbial Ecology, 1993, 25~28
- 7 Amann, R I, Ludwig, W, Schleifer, K H. Phylogenetic Identification and in Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. Microbiological Reviews, 1995, 59(1):143~169
- 8 Rahman M, H, Suzuki, S, Kawai, K. Formation of Viable but Non culturable State (VBNC) of *Aeromonas Hydrophila* and Its Virulence in Goldfish, *Carassius Auratus*. Microbiological Research, 2001, 156(1):103~106
- 9 Bogosian, G, Aardema, N D, Bourneuf E V, et al. Recovery of Hydrogen Peroxide Sensitive Culturable Cells of *Vibrio Vulnificus* Gives the Appearance of Resuscitation from a Viable but Nonculturable State. Journal of Bacteriology, 2000, 182(18):5070~5075
- 10 郭斌,吴晓磊,钱易. 提高微生物可培养性的方法和措施. 微生物学报,2006,46(3):504~507
- 11 杨永华,姚健. 分子生物学方法在微生物多样性研究中的应用. 生物多样性,2000,8(3):337~342
- 12 刘上峰,傅俊江,李麓芸. 变性梯度凝胶电泳的原理应用及其进展. 国外医学遗传分册,2002,25(2):74~76
- 13 余跃惠,张凡,向廷生等. PCR-DGGE 方法分析原油储层微生物群落结构及种群多样性. 生态学报,2005,

25(2):237 ~ 242

- 14 余素林. 石油污染土壤修复中的微生物群落结构解析[博士学位论文]. 北京:清华大学环境科学与工程系,2007
- 15 程海鹰,肖生科,马光东等. 营养注入后油藏微生物群落 16S rRNA 基因的 T-RFLP 对比分析. 石油勘探与开发,2006,33(3):356 ~ 373
- 16 Yumiko Kodama, Kazuya Watanabe. Isolation and Characterization of a Sulfur – Oxidizing Chemolithotroph Growing on Crude Oil under Anaerobic Conditions. Appl Envir Microbiol,2003,69(1):107 ~ 112
- 17 He Zhili, Terry J Gentry, Christopher W Schadt, Wu Liyou et. al. GeoChip: a Comprehensive Microarray for Investigating Biogeochemical, Ecological and Environmental Processes. The ISME Journal,2007,1:67 ~ 77
- 18 Elizaveta A Bonch – Osmolovskaya, Margarita L Miroshnichenko, Alexander V Lebedinsky, et al. Radioisotopic, Culture-based, and Oligonucleotide Microchip Analyses of Thermophilic Microbial Communities in a Continental High-temperature Petroleum Reservoir. Appl Envir Microbiol,2003,69(10):6143 ~ 6151
- 19 孔祥平,包木太,马代鑫等. 油田水中细菌群落分析. 油田化学,2003,20(4):372 ~ 376
- 20 Barth, T, Riis, M. Interactions between Organic Acid Anions in Formation Waters and Reservoir Mineral Phases. Org Geochem,1992,19:455 ~ 482
- 21 向廷生,王莉,张敏. 油藏微生物及其在石油工业中的应用. 生物技术,2005,15(4):87 ~ 90

生物表面活性剂在采油生产中的研究及应用

王兴彪^{1,2} 聂 勇¹ 汤岳琴¹ 吴 钢² 吴晓磊¹

(¹北京大学工学院,²中国科学院生态环境研究中心)

摘 要 综述了生物表面活性剂用于石油开采的研究历史、采油机理、表面活性剂类型、菌株选育、影响活性的因素、菌种性能评价、表面活性剂在采油工程中的应用,同时比较了生物表面活性剂在石油开采中的优势和缺点。

关键词 生物表面活性剂 采油 应用

引 言

微生物在一定条件下培养,其代谢过程中分泌具有表面活性的代谢产物,如糖脂、多糖脂、脂肽、表面活性蛋白、磷脂、脂蛋白或中性类脂衍生物等^[1]。这些物质同时含有脂肪烃链构成的非极性憎水基和极性亲水基。这种由细菌、酵母和真菌等多种微生物产生的具有表面活性的化合物称为生物表面活性剂(Biosurfactant)。生物表面活性剂能显著地降低表面张力、改善界面性质。和化学合成表面活性剂相比,生物表面活性剂具有选择性好、用量少、无毒、能够被生物降解、不对环境造成污染、可用微生物引入化学方法难以合成的新化学基团等优点。

对生物表面活性剂的研究来源于在采油和相关行业中的应用,由于它对生物表面活性剂的纯度和专一性要求不高,可用已生产好的生物表面活性剂注入地下或在岩层中培养微生物产生生物表面活性剂来用于强化采油^[2]。我国油藏及储层类型多,原油性质变化大,地质条件复杂,对微生物驱油机理的研究非常重要。

1 生物表面活性剂用于石油开采的历史

在提高石油采收率的技术中应用表面活性剂不是最近提出来的。1927年,L. C. Uren 和 E. H. Fahmy 认为:“油与注入介质的界面张力和该方法所获得的采收率之间存在着明显的关系。界面张力降低,驱替效率提高”。同年,H. Atkinson 提出使用皂的水溶液或其他水溶液,降低油与注入介质之间的界面张力,提高石油采收率并申请了专利。20世纪30年代初的专利中,De Croot 曾提出表面活性剂有助于提高石油采收率。Blair 和 Lehman 在1942年申请了有关油井增产措施的专利,在石油开采文献中第一次提出了应用微乳液,即向生产井中注入透明乳状液除去有害蜡固体的方法^[3]。1946年,Zobell 首次进行了详细的微生物提高石油采收率的研究工作,此后陆续报道了美国、东欧、中国、马来西亚、阿根廷、澳大利亚和中东等国家和地区成功的实验研究和矿场试验^[4]。1959年,Holm 和 Bernard 发表专利,建议采用溶有0.1%~3%的表面活性剂的低黏度烃作为注入剂,以减少活性剂在亲水油层中的吸附。1967年,Jones 提出了一项专利,介绍了在提高石油采收率时,采用较高表面活性剂浓度的水溶液体系和胶束分散体系。1973年,壳牌石油公司的 Hill 等提出用水溶性表面活性剂采油,这一体系用于美国伊利诺伊州贝通油田的焦油泉砂层时,把表面活性剂水溶液与聚合物混合,

采出了 85% 的残余油。由此可见,在这些提高石油采收率的研究中,生物表面活性剂的研究是重点内容。

2 生物表面活性剂驱油机理

生物表面活性剂的驱油原理是通过加入表面活性剂直接降低油水界面张力,增加原油流动性,同时加大原油与岩石的剥离程度而提高采出效率。一般采油用生物表面活性剂至少应具备以下条件^[5]:(1)能使原油与水的界面张力降至较低的程度,应低于 0.001 ~ 0.01mN/m,具有适宜的溶解度、pH 值、浊点和相持性;(2)可降低岩层对原油的吸附作用;(3)在储层的环境中,能长时间保持理化稳定性,耐温、耐盐性好,对电解质不敏感;(4)能与大部分的储层接触,提高驱油率;(5)影响油、水(或岩石)间的界面膜。同时,与岩石吸附量小、较大扩散速度等也应该在考虑范围之内。

3 采油用表面活性剂的类型

国内外研究开发的采油用表面活性剂的类型主要有:阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、非离子表面活性剂,非离子—阴离子复合型表面活性剂以及高分子表面活性剂。不同类型的表面活性剂的优缺点列于表 1^[6]。

表 1 不同类型表面活性剂在采油中的优缺点比较

表面活性剂种类	优点	缺点
阴离子表面活性剂	界面活性高,耐温性能好,在带负电的砂岩表面吸附量较少,价格低,种类多	耐盐性差,对二价阳离子如 Ca^{2+} , Mg^{2+} 敏感
阳离子表面活性剂	在酸性介质中具有较好的乳化分散润湿性能,可以通过表面电性反转机理、润湿反转机理进行驱油	当 $\text{pH} > 7$ 时,自由胺容易析出,从而失去表面活性。一般吸附量大,价格较高
非离子表面活性剂	耐盐,耐多价阳离子的性能好,种类多	在底层中稳定性差,不耐高温,吸附量比阴离子表面活性剂大,价格高
非离子—阴离子复合型表面活性剂	耐高矿化度和较高温度,大大降低非离子、阴离子表面活性剂复配时的色谱分离	种类少,价格高
高分子表面活性剂	兼具降低界面张力和增黏的效果,降低总的化学剂加入量,吸附量小,具有较好的耐温耐盐性能	种类较少,价格高

4 采油用生物表面活性剂产生菌的研究

采油用生物表面活性剂的生产首先依赖于生产菌,不同生产菌产生不同的表面活性剂,或多种生产菌产生同一类表面活性剂。由于采油用生物表面活性剂对提取和纯化要求不高,因此研究主要集中在微生物筛选改良和培养上。微生物大部分来自自然界,主要来源于油藏及油污环境中^[7,8]。谢丹平等^[9]由一株以石油为碳源生长,并产生表面活性物质的假单胞菌 XD21 (*Pseudomonas* sp. XD21),通过正交优化得到了产生表面活性剂的最佳发酵条件,并测定了产生表面活性剂与原油降解的关系以及表面活性剂成分的鉴定。梁凤来等^[10]从华北油田马二断块得到了烃降解细菌 NX22,在油藏温度(87℃)条件下用人造均质岩心进行的物理模拟驱油实验表明,NX22 菌适应地层条件,具有增采和改善原油性质的作用。宋茂勇等^[11]从胜