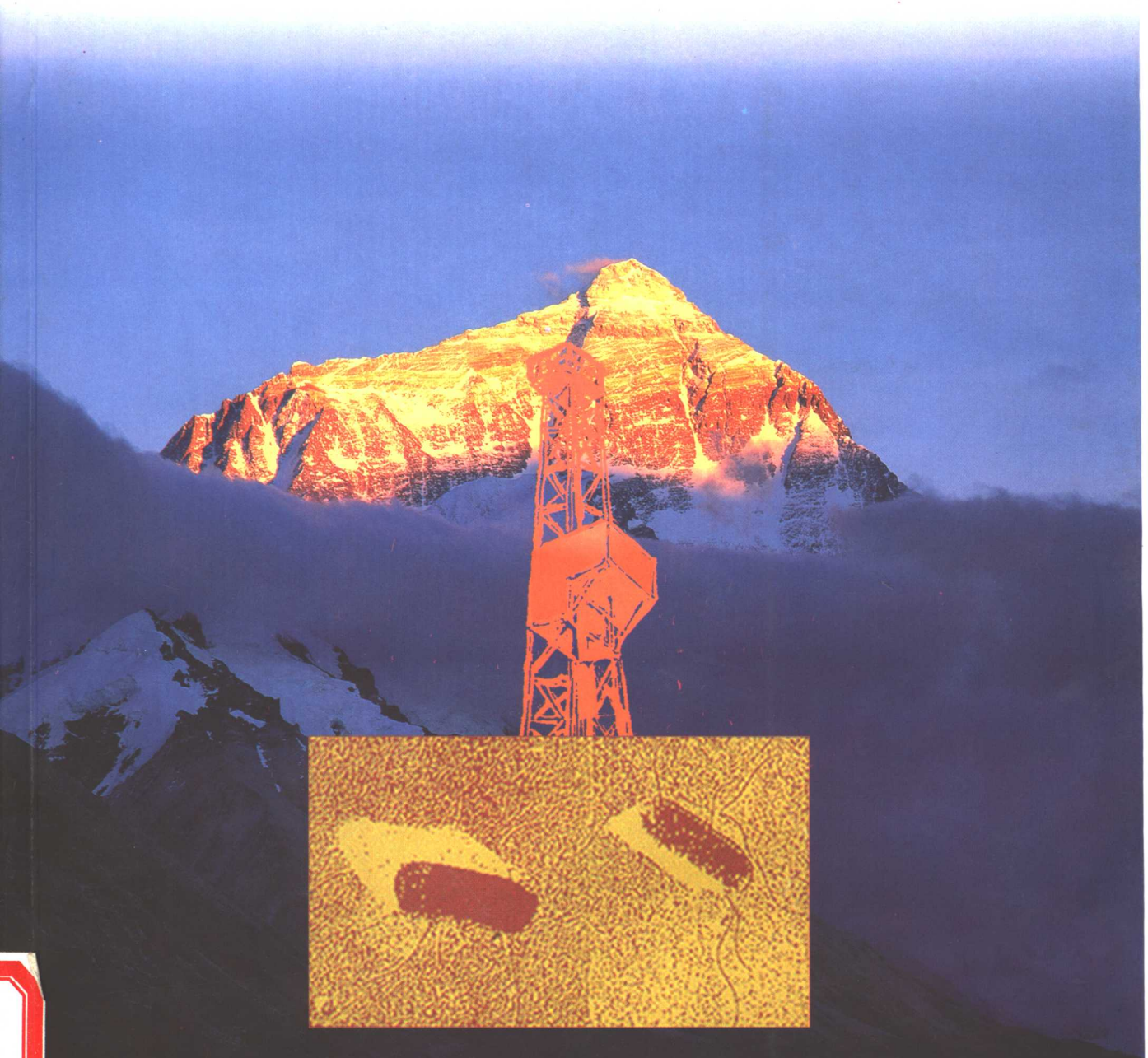


石油与环境微生物技术

易绍金 余跃惠 著



中国地质大学出版社

石油与环境微生物技术

易绍金 余跃惠 著

中国地质大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

石油与环境微生物技术/易绍金,余跃惠著. —武汉:中国地质大学出版社,2002.7

ISBN 7-5625-1704-5

I. 石…

Ⅱ. ①易…②余…

Ⅲ. 石油-微生物

Ⅳ. ①P618,②Q93

石油与环境微生物技术

易绍金 余跃惠 著

责任编辑:高勇群

责任校对:张咏梅

出版发行:中国地质大学出版社(武汉市洪山区鲁磨路31号)

邮编:430074

电话:(027)87482760 传真:87481537 E-mail:cbo@cug.edu.cn

经 销:全国新华书店

开本:787毫米×1092毫米 1/16

字数:430千字 印张:16.75

版次:2002年7月第1版

印次:2002年7月第1次印刷

印刷:湖北地矿印业公司

印数:1—1 000册

ISBN 7-5625-1704-5/P·581

定价:39.80元

如有印装质量问题请与印刷厂联系调换

目 录

前 言	(1)
第一章 石油与环境微生物技术概述	(2)
第一节 石油与环境微生物学的产生与发展	(2)
第二节 石油与环境微生物学的研究内容与任务	(3)
第三节 石油与环境微生物学的地位与作用	(10)
第四节 石油与环境微生物学的现状与展望	(11)
参考文献	(11)
第二章 油气微生物勘探技术	(13)
第一节 油气微生物勘探技术的发展历程	(13)
第二节 油气微生物勘探技术的理论基础	(20)
第三节 油气微生物勘探的理论模型	(29)
第四节 油气微生物勘探的方法	(30)
第五节 油气微生物勘探的应用	(38)
参考文献	(52)
第三章 微生物提高石油采油率技术	(55)
第一节 微生物提高石油采油率技术发展概况	(55)
第二节 微生物提高石油采收率原理	(64)
第三节 本源微生物采油技术	(64)
第四节 异源微生物采油技术	(89)
参考文献	(101)
第四章 钻井液及其废弃物生物评价与生物处理技术	(105)
第一节 钻井液及其废弃物的环境法规与环境对策	(105)
第二节 钻井液及其废弃物生物毒性评价技术	(107)
第三节 钻井液生物降解性评价技术	(113)
第四节 面对环境法规的挑战——环境可接受的钻井液体系的新发展	(122)
第五节 钻完井液废弃物生物处理技术	(125)
参考文献	(133)
第五章 石油污染事故的生物补救和污染场地的生物修复技术	(136)
第一节 生物补救和生物修复概述	(136)
第二节 石油烃类化合物的生物降解及其影响因素	(138)
第三节 含油废弃物的生物补救技术	(143)
第四节 海洋石油污染的生物补救技术	(153)
参考文献	(158)
第六章 石油工业中微生物的危害、检测与控制技术	(160)
第一节 石油工业中的微生物及其危害	(160)
第二节 几种主要有害微生物的检测技术	(167)
第三节 石油工业中有害微生物的控制技术	(177)
参考文献	(201)
第七章 微生物生产的油田化学剂技术	(204)
第一节 黄原胶	(204)

第二节 生物破胶剂..... (212)

第三节 微生物转化丙烯腈生产丙烯酰胺..... (216)

参考文献..... (218)

第八章 生物表面活性剂技术..... (220)

第一节 生物表面活性剂概述..... (220)

第二节 生物表面活性剂的分类和其微生物来源..... (220)

第三节 生物表面活性剂的分析鉴定..... (229)

第四节 生物表面活性剂的合成及调控..... (230)

第五节 生物表面活性剂的遗传学研究..... (236)

第六节 生物表面活性剂的应用..... (238)

参考文献..... (243)

第九章 石油与环境微生物新技术研究..... (249)

第一节 生物技术在采油废水处理中的应用研究..... (249)

第二节 微生物絮凝剂及其在油田废水处理中的应用潜力..... (256)

第三节 酶技术在油气生产中的新应用..... (259)

参考文献..... (262)

前 言

石油微生物学已经有了近一个世纪的发展历史。自 20 世纪七八十年代世界各国日益重视环境保护以来,石油工业环境问题也得到高度重视,而微生物与石油工业环境保护之间存在着十分密切的关系。由此,石油微生物学逐渐演变拓展成为石油与环境微生物学。近二三十年以来,石油与环境微生物学的发展十分迅速,其研究内容不断深入,研究范围不断扩大。从国外,到国内;从地质微生物学,到油层微生物学,再到环境微生物学;从微生物在石油工业中的有害作用及其控制,到微生物在石油工业中的有益作用及其应用;从理论认识,到实际应用;从油气勘探、石油开发,到石油炼制、油气田环境保护;从地面,到地下,石油与环境微生物学的研究内容日益丰富,作为一门综合性、边缘性和交叉性学科,石油与环境微生物学受到了人们的普遍关注。

认识的目的在于应用。石油与环境微生物学的大发展,带动了石油与环境微生物技术的大发展。许多石油与环境微生物技术已成功地应用于石油工业的诸多领域与环节,更多的技术则正在不断开发、拓展和完善。本书重点结合笔者的科研实践,介绍了油气微生物勘探技术、微生物提高石油采收率技术、钻井液完井液环境可接受性生物评价技术、含油废弃物生物修复与生物补救技术、利用生物技术生产油田化学剂技术、生物表面活性剂技术、石油工业中微生物危害及其控制技术以及一些其他新技术。

本书由江汉石油学院化工系易绍金副教授、余跃惠副研究员共同撰写。其中第一章、第四章、第五章、第六章、第七章和第九章由易绍金撰写,第二章、第三章和第八章由余跃惠撰写。全书的统稿工作由易绍金完成。在该书的撰写与出版过程中,得到了江汉石油学院及化工系和中国地质大学出版社的大力支持,在此一并表示感谢!

由于笔者的水平和能力有限,书中一定存在许多遗漏和不当之处,敬请读者批评指正。

易绍金 余跃惠

2002 年 3 月 18 日

第一章 石油与环境微生物技术概述

随着人们物质和文化生活水平的提高，人们对能源的需求量不断增加。石油作为主要的能源，势必要求石油工业有更大的发展。随着石油勘探开发的进行，勘探开发的难度也越来越大。为了适应勘探开发的需要，各种新技术、新方法、新材料、新工具不断出现；同时，石油工业对环境的污染问题也日显突出，再加上世界范围内环境保护法律法规的日益严格和民众环境意识的日益增强，石油工业的环境保护已逐步成为制约石油工业可持续发展的重要因素。

生物技术尤其是微生物技术是一门既古老又年轻的技术，自 20 世纪 20 年代以来显现出突飞猛进的发展态势。生物技术正在向各个领域渗透，并不断向纵深方向发展。生物技术与石油工业存在着密不可分的关系，早在一百多年前就有人发现了微生物利用石油烃类的现象；而生物技术与环境保护（包括石油工业环境保护）的关系则更是紧密相连。随着生物技术的发展、石油工业发展的需要和石油工业环境保护的需要，微生物与石油、环境保护之间的相互关系日益受到重视，人们对这些关系的认识范围不断扩大，认识程度不断加深，这样，就逐渐产生并形成了一门系统研究微生物与石油及石油工业环境保护相互关系的综合性边缘学科——石油与环境微生物学。

石油与环境微生物学系统研究微生物与石油、微生物与石油工业环境保护之间的相互关系及其应用。石油与环境微生物学的许多研究成果不仅具有重要的理论意义，而且具有重要的实际应用价值。事实上，以石油与环境微生物学为理论基础的许多新技术、新方法、新材料、新工具已成功地应用于石油工业领域，并在不断拓展。

因此，可以这样认为：石油与环境微生物学是石油与环境微生物技术的理论基础，而石油与环境微生物技术则是石油与环境微生物学的具体应用。本书重点介绍石油与环境微生物技术，在此之前先介绍石油与环境微生物学。

第一节 石油与环境微生物学的产生与发展

任何一门学科的产生与发展，都是与社会的需要和科学技术的发展相联系的。起初，石油工业技术与微生物学是两个各自互不相干的学科体系。后来，人们逐渐发现，微生物在许多方面都与石油存在着极为密切的关系，于是就开始了有关石油的微生物学研究。首先是研究微生物对石油工业的有害作用及其控制方法，后来又发现，微生物对石油工业也具有许多有益作用。到了 20 世纪 70 年代，世界范围内的环境保护呼声越来越高，石油工业环境保护也日益受到重视，微生物与石油工业环境保护的研究受到重视。这样，从理论到实践，从有害作用到有益作用，从石油工业生产到石油工业环境保护，微生物在石油工业中的各个方面都得到了比较系统的研究和探索，石油与环境微生物学便从此产生并逐渐发展起来（张树政、王修垣，1988；易绍金、陈希天，1989）。

石油与环境微生物学作为微生物学的一门分支学科,研究微生物在石油烃类形成、转化和开发等过程中的作用,探索在石油工业各环节中应用微生物的途径和消除、控制石油工业各环节中有害微生物的方法。因此,石油与环境微生物学与石油有关学科存在着密切的关系,并相互渗透和推动。

早在 1895 年, Miyoshi 就首先记载了微生物利用烃类的现象。Щейко 于 1901 年发现油层中有微生物。Гинзбург-карагицева 和 Bastin 在 1926 年又证实了苏、美的油层水中存在着硫酸盐还原菌等生理菌群,同年, Backman 提出了利用微生物活动提高采油效果的设想。直到 1946 年, Zobell 才申请了微生物采油法的第一个专利, Söhngen 和 Kaserer 在 1906 年分离到甲烷氧化菌。Могипевский 拟定了利用气态烃氧化菌勘探油气藏的方法。到 20 世纪 50 年代,许多国家开展了微生物利用烃类为碳源生产用途广泛的各种产物的研究。遗传工程技术在 20 世纪 70 年代引入到石油微生物的研究中,一些研究成果已应用于石油工业,或正在进行中间试验或现场试验。从 20 世纪 70 年代后期,美国大致每两年召开一次利用微生物提高采油效果的国际会议。在有关生物工程的国际会议上,也组织专题组讨论与石油相关的问题。

石油微生物学研究在我国始于 1955 年。首先研究的是气态烃氧化菌和油气田的微生物学勘探法。为此,中国科学院菌种保藏委员会(微生物研究所前身)组织了细菌勘探法研究组。从 20 世纪 60 年代起,开始研究油田微生物的生态学和生理学,探索微生物在石油工业中应用的途径及其在有机沉积物转化中的作用,并逐渐扩展到石油脱蜡、单细胞蛋白的生产、有机酸的生产、生物聚合物和生物表面活性剂的研制等方面。进入 20 世纪 80 年代以来,石油微生物学逐渐拓展其研究领域,其中石油工业环境保护成为一个显著的发展方向。石油微生物学逐渐演变成石油与环境微生物学。

第二节 石油与环境微生物学的研究内容与任务

微生物在自然界中的分布极为广泛,可作用于石油工业的许多领域和技术环节,因此,石油与环境微生物学的研究内容十分广泛,研究任务非常繁杂。下面重点介绍石油与环境微生物学的几个主要研究内容与任务。

一、与石油地质和石油地球化学有关的微生物学研究

石油地质和石油地球化学的微生物学,是地质微生物学的一个重要分支,也是石油微生物学研究的一个重要内容。它主要研究微生物在沉积岩、油藏、地下深层水以及土壤等环境中的分布规律及其对这些环境的作用;研究微生物在石油、天然气形成和转化过程中的作用;研究微生物在地下水化学成分形成中的作用;并据此预防和控制微生物对石油天然气的不利影响,发挥和促进微生物对石油天然气的有益作用。

在石油成因假说中,微生物的作用具有重要意义。王大珍(1979)报道了青海湖第四纪沉积四个剖面(最深 141m)九类生理菌群和生化、地化分析结果,表明原始有机质的数量、类型和沉积环境是决定有机质保存及转化的重要因素,也是决定微生物活动强度的重要因素。微生物在有机质转化早期,起着产氢、转氢、脱氧、创造还原环境、促进成岩等作用;微生物分解有机物质时释放的能量,一部分储存于环境中,创造了还原条件,有利于剩余有机质的保存;另一部分转给剩余的有机质使之还原并向石油方向转化,脂肪酸是有机质转化早期的主要中间产物,在三个还原性剖面中约为有机质总量的一半。在接种岩心样及湖底沉积物

样的脂肪酸发酵产物中,鉴定出甲烷、乙烷、丙烷、正丁烷、异丁烷和丁烯等。据此推断,沉积物中的重烃可能是由微生物发酵有机质产生的。

易绍金等(1992)研究了硫酸盐还原菌对重晶石的生物还原作用。表明硫酸盐还原菌确能利用重晶石中的 SO_4^{2-} 而使其还原,同时使 Ba^{2+} 从重晶石中释放出来。易绍金等(1993)还对原油生物降解对砂岩孔隙的影响进行了试验研究。试验研究表明,原油生物降解前后原油的族组成发生了明显变化,水溶液的pH值明显下降是原油生物降解过程中产生有机酸所致,而砂岩孔隙增大并遭受清洗。陈传平等(1997, 1995)则对原油生物降解对地层水中有机酸的生成进行了试验研究。试验结果表明,原油的生物降解产生了低分子有机酸。上述试验研究均表明,微生物与石油地质、石油地球化学存在着十分密切的关系。

二、油气微生物勘探

气态烃类如甲烷、乙烷、丙烷和丁烷等可以从油气层中渗漏,到达地表土壤和浅层地下水中。这些烃类能被专一性较强的微生物利用,从而改变地表土壤和浅层地下水的微生物生态。氧化气态烃类的微生物在土壤和浅层水中分布规律的异常,是利用微生物进行油气勘探的理论基础。

油气微生物勘探法源于前苏联。早在1937年,苏联地质微生物学家Mogilevski发现由于细菌繁殖引起的近地表土壤中烃类气发生季节性变化,进而提出了石油与天然气的微生物勘探方法,并在实践中运用甲烷氧化菌作为地下气藏的指示菌。1937—1939年间,B. C. 布特凯维奇等进行了大量的研究工作,研究结果证实了这种方法原理的正确性,同时拟定了具体的操作步骤。随后该方法在苏联得到了广泛应用,实际效果好。据统计,从1943年至1953年,微生物勘探法的成功率达到了65%。但是20世纪50年代以来,由于微生物油气勘探的理论基础——轻烃垂直运移理论受到怀疑,苏联的微生物油气勘探受到冷落。

自20世纪40年代以来,美国微生物学家从地表土壤样品中分离出烃类氧化菌,并将其作为地下油气藏指示菌。在随后的一二十年中,美国、苏联、波兰和德国都在这方面做了大量工作,得到了令人满意的结果。

到20世纪50年代后期,美国地质微生物学家Hitzman D O博士开发出一种油气微生物勘测技术MOST (microbial oil survey technique),该技术利用丁烷氧化菌的高抗丁醇特性来探测烃微渗现象。利用此项技术,对美国86个新区块进行了野猫井勘探,在MOST法预测的18口生产井中,有13口井为工业油气流井,成功率为72% (Beghtel F W *et al.*, 1987)。

自1956年以来,德国的Wagner M博士(1998a, 2000)独立地开发了一项新型的地表勘探技术——油气微生物勘探技术MPOG (microbial prospection for oil and gas),20世纪90年代初,该技术的应用从西北欧陆续拓展到北海区域内。在6 000km²勘探区域内,先后发现和证实了17个油田,其油藏最深达3 500m,成功率高达90%。

我国在1956—1971年期间,主要采用土壤细菌勘测法勘探了甘肃、四川、广西、山东、黑龙江、宁夏、陕西、青海、北京和天津等省市约20多个已知油区和未知油区,证实了该方法的可行性。微生物勘探法的结果与钻井资料的吻合性在65%左右(张树政、王修垣, 1988)。

进入20世纪90年代以来,德国、美国等国大大地提高了油气微生物勘探法的精度,并迅速扩展其应用范围。这一技术已引起我国石油工业界的高度重视。

三、利用微生物提高原油采收率

微生物提高原油采收率是石油微生物学中研究最为活跃、发展最快的重要领域。

1926年,美国人 Beckman 提出了利用微生物增加原油产量的想法。关于微生物在石油开采中应用的第一重大研究工作是由 Zobell 在 20 世纪 40 年代进行的,这项工作主要研究厌氧的硫酸盐还原菌从砂体中释放原油的机理。Zobell 的先导性工作对以后微生物用于石油开采的发展起了巨大的影响。继 Zobell 之后,Updegraff (1954)、Hitzman (1962) 和苏联的 Kuznetsov (1961) 等人对硫酸盐还原菌、芽孢形成菌以及油层内的原生微生物类群提高原油采收率的机理做了大量的研究工作(张春英,1989)。

在 20 世纪 70 年代发生能源危机之前,由于油价较低,美国等西方国家利用微生物提高原油采收率的研究工作主要集中在室内,而东欧的波兰、罗马尼亚、前捷克斯洛伐克和匈牙利等国家进行了大量的现场试验。可以说,微生物提高原油采收率最早的现场试验经验是从东欧国家获得的。随着能源危机的发生,美国能源部为了达到能源自给的目的,着手进行了一系列的研究项目,大大刺激了微生物提高原油采收率技术的发展。自 1980 年美国开始支持大学从事分离和筛选具有提高石油采收率特性的厌氧菌,微生物在提高石油采收率方法中的应用,利用微生物降低原油粘度的方法,细菌通过孔隙介质的运移等课题的研究。近一二十年以来,国外研究微生物采油的研究机构日益增加,许多大石油公司以及独立的高技术实验室也在进行研究和开发,取得了许多可喜的成果(张春英,1989)。

微生物提高石油采收率是将筛选的微生物或它们的代谢产物注入到油藏中,通过微生物的代谢活动,产生降解重质烃类和石蜡的酶类,产生二氧化碳、甲烷等气体,产生表面活性物质、生物聚合物、有机酸、醇类等化学物质,从而改变地层和原油的性能,提高石油采收率(易绍金,1994)。这一方法与其他的三次采油方法相比具有以下优点:①具有自我复制机能,注入到油藏中的细菌通过生长繁殖,可以在一段很长的时期内起作用;②可以使几种机理同时起作用,在矿场试验中往往将具有不同功能的细菌一起注入地下,使它们共同起作用;③所需设备和注入工艺简单,施工方便;④成本低廉。

以俄罗斯 M. V. 伊万诺夫院士为首的俄罗斯微生物学家所采用的微生物提高石油采收率的方法则不同于美国等西方国家所采用的微生物提高石油采收率方法。美国等国采用的是注入菌种使其在油层中发酵产生有利于采油的化学物质的方法,而俄罗斯则利用地层本源微生物提高石油采收率。

苏联从 1926 年开始研究油藏的微生物区系,并首先在油层水中发现了各种细菌。油层生境的分析结果表明,微生物在油层中的分布有一定的规律。注入地表水是决定微生物在此类生态系统中分布状况的主要因子。在未注水的含油层或水交替贫乏的油田中,通常未发现微生物的存在,这是油藏在各地质时期中未受影响并得以保存下来的原因。随地表水带到油层中的氧使油层中的烃类氧化,创造了有利于复杂的微生物食物链发生作用的条件。食物链的启动环节是烃类和石油氧化菌,这类细菌在注水井近井底带最丰富。在含氧地带氧化产生的有机物质被注入水推进到油层中的无氧地带,成为各种厌氧菌,如发酵型细菌、硫酸盐还原菌和甲烷产生菌等利用的基质。含油层中的石油在被好氧菌和厌氧菌利用的过程中形成了各种代谢产物,如有机酸、表面活性剂、生物聚合物、二氧化碳、氢气、甲烷和硫化氢等。细菌在含油层中产生的这些代谢产物是有效的石油释放剂。酸类可溶解碳酸盐,增加含油岩的渗透率。菌体可选择性地堵塞油层,调整吸水剖面,改变和扩大注入水的扫油面积。因此,微

生物的代谢能力使之有可能借助于调整其地球化学活动,发展出最适当的方法,提高具有不同水文化学、流体动力学、物理化学和岩性学等特性的油田石油采收率(王修垣,1995)。

俄罗斯科学院微生物研究所和鞅鞅石油公司通过一系列简易的工艺处理,强化注水井近井底带的微生物活动,达到提高石油采收率的目的。在油田实践中,利用向油层补气的方法并添加含氮磷营养盐,提高油层微生物的地球化学活动,增加了石油产量。利用本源微生物提高石油采收率已在鞅鞅斯坦、阿塞拜疆和西西伯利亚的油田上应用。从1987年8月至1994年7月,共增产石油60 214t,微生物增产的油量占总采油量的18.5%~43.2%,而应用微生物提高石油采收率技术在鞅鞅斯坦、西西伯利亚和阿塞拜疆各油田共增产石油134 900t(1985—1994),石油产量增加10%~46%(王修垣,1995)。

Ivanov M V等根据注水油田地层微生物群落的活化原理,对利用本源微生物提高采油率进行了现场试验。这项技术包括注入含有矿物盐的充气淡水。在注水井近井底地带,微生物群落包括需氧菌和厌氧菌的活性剧增。微生物活动过程分两个阶段进行。在第一个阶段中,活化原油中有机物质的需氧氧化过程,并由此形成驱油物质,如有机酸、表面活性剂、多糖类以及二氧化碳等;在第二个厌氧阶段中,生成甲烷和二氧化碳等气体。现场试验是在罗马什金油田不同注水区的三个先导试验开展的,总增油量41 080t,占试验总采油量的32.9%。试验还发现,石油采收率的提高与甲烷生成速度有关(张正卿等,1996)。

近几年来,国内十分重视利用微生物提高石油采收率的技术研究,全国各大油田几乎都不同程度地进行了室内研究和现场应用试验,已取得了不少经验,积累了大量资料。目前,利用微生物提高石油采收率的技术研究正在不断深入,微生物提高石油采收率技术已逐渐成为一种有效的三次采油技术。

四、利用微生物及其代谢产物和制剂作为油田化学剂

随着生物科学和工程技术的发展,微生物学家能利用微生物生产多种生物聚合物和生物表面活性剂及其他化学物质。这些化学物质具有许多人工化合物不具备的特殊理化性能,可作为油田化学剂广泛地应用于油田生产的各个环节。如生物聚合物黄原胶具有许多特殊的理化性能,已大量地用作钻井液添加剂,用于制备完井液、修井液、压裂液,并作为驱油材料提高石油采收率。生物表面活性剂的研究与应用也在日益受到重视。另外,某些微生物还可作为破乳剂用于原油破乳;某些微生物还能用于生产聚丙烯酰胺的单体丙烯酰胺,而聚丙烯酰胺大量用作驱油剂和油田污水净水剂;某些微生物产生的酶可用作压裂液破胶剂,可弥补氧化型破胶剂在低温破胶方面的不足;某些微生物则能生产微生物絮凝剂,这种絮凝剂具有高效、低毒、易生物降解、无二次污染等优点,在油田废水处理中应用潜力很大。目前,上述生物代谢产物和制剂作为油田化学剂,有些已工业化生产并大量应用于油田生产过程之中,有些正在不断完善,可望获得实际应用。

作为油田化学剂的微生物代谢产物及其制品的应用前景十分光明。在这方面,目前需要解决的问题有:在科研方面要寻找优良菌种,开发新型制品;在生产制备方面要尽快使现有的优秀生物制剂达到工业化生产水平,并尽可能降低生产成本;在现场应用方面要积极试用并将使用效果反馈给科研和生产部门,以便促进科研、生产和应用的良性循环。

五、原油的微生物脱硫

高含硫原油是大气污染物二氧化硫的主要来源之一,也是石油加工炼制设备腐蚀的重要

原因之一。已经发现,有许多微生物(如细菌、放线菌、酵母菌)能选择性去除原油中的硫组分。原油的微生物脱硫研究比较活跃,甚至已采用遗传工程的手段并取得成果。但原油微生物脱硫的工业化进程缓慢,是今后研究的主要课题和发展方向。

六、石油脱蜡与生产单细胞蛋白

石油及石油产品中蜡质组分含量高必然引起凝固点高,而凝固点过高则会影响石油及其产品的正常使用。尽管采用化学方法可以脱蜡降低凝固点,但能力有限,尤其是当油品中蜡质含量较低时,利用微生物脱蜡效果更好。

上海有机化学研究所等单位自20世纪60年代以来就致力于石油脱蜡并生产单细胞蛋白的研究。李祥鹏等用N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 $300\mu\text{g/mL}$ 在 33°C 处理 *Candida tropicalis* y-17 30min,得到诱变株 RB-40,该菌利用正链烷作碳源,在100ml三角瓶通气培养,其核糖核酸含量从出发菌株 y-17 的5.5%提高到8.8%。为了石油酵母工业的需要,方风山等研制了55L内循环空气提升式发酵罐。从氧传递速度及正链烷发酵两方面考察了发酵罐各主要结构,如内循环通气管直径的大小、各种空气分布器、内循环通气管内装饰板等与发酵性能之间的关系,以 $\text{C}_{14}\sim\text{C}_{18}$ 正链烷为碳源,连续培养 *Candida tropicalis* y-17,发酵液中油、水混合良好,生产能力可达 $2.7\text{g/L}\cdot\text{h}$,能适合连续培养工艺的要求。该罐已成功地放大到 1m^3 、 6m^3 和 12m^3 规模。此外还研究了 AS2.1207 及 y-17 石油蛋白对动物的安全性。表明,该石油蛋白用作饲料不宜超过20%。王大琛等报道了 k_{79} 酵母菌在6L发酵罐中连续培养的适宜条件;朱丕基提出了一种提高石油酵母回收率的方法。

关于油品脱蜡降凝方面也开展了大量的研究。牟川静等报道, *Pichia petroleum* Mu sp. nov. D₃ 在发酵轻重混合馏分油品时,60h能使油品凝固点从 $+17^\circ\text{C}$ 下降到约 -50°C ;另一株酵母菌 *Torulopsis deparaffina* n. sp. c,发酵300~400 $^\circ\text{C}$ 馏分油(正链烷含量5.6%)70h,可将凝固点从 $+4.5^\circ\text{C}$ 下降到 -60°C ,并得到干酵母5.4g/kg油。凌代文等鉴定了两株嗜热的烃氧化菌: *Corynebacterium thermophilum* nov. sp. F76 和 *C. deparaffinicum* nov. sp. F76。它们在30h发酵中可把中质润滑油(正构烷含量20%)凝固点从 $+26^\circ\text{C}$ 下降到 -37°C 。

七、利用油品生产有机酸

有机酸是很有用的工业原料。田静等报道,经亚硝基胍处理得到的 *Candida rugosa* 的突变株 S_{B-7} 能利用重液体石蜡(6%, V/V)产生大量琥珀酸。适宜的N源为尿素0.1%,需要足够的碳酸钙控制pH值。该酸的最高产量为4.45%,对底物的转化率为74%。

另一株 *C. rugosa* C₉₀ 产生反丁烯二酸,该菌在6%重液体石蜡和5%碳酸钙存在时,发酵74~85h,可产反丁烯二酸3.8%~4.2%,转化率为63%~70%;当添加碳酸钙时,发酵162h,反丁烯二酸可达5.15%,转化率在85%左右。经亚硝基胍和钴处理后得到的突变菌株发酵6%重液体石蜡产生反丁烯二酸6%,转化率达116%。

中国科学院微生物研究所石油蛋白组分离、筛选到几株能高产 α -酮戊二酸的石油酵母菌,其中 *Candida lipolytica* AS 2.1207 (716) 在含重液体石蜡10% (V/V) 的培养基中发酵生产 α -酮戊二酸,产量为3%,转化率为40%。

Candida lipolytica PC711 产生柠檬酸和异柠檬酸。重液体石蜡6%~8% (W/V),发酵5d,积累7%~8%的柠檬酸和异柠檬酸。而另一株 *Candida lipolytica* AS.1222 (B74) 在重液体石蜡、过磷酸钙等组成的培养基上发酵4d,发酵液中柠檬酸含量达7.0%,用吡啶显色,

总酸含量达 13.8%。将异柠檬酸转化为柠檬酸,发酵液中柠檬酸含量上升到 12%~13%,柠檬酸占总酸之比从 40%~50%提高到 80%~90%,原料转化率按柠檬酸计达 112%,按总酸计达 132.5%,最高达 184%。天津市工业微生物研究所等由果园土中筛选出一株利用重液体石蜡生成柠檬酸的酵母菌 *Candida lipolytica* 8-2,在含重液体石蜡 10%~12%,发酵 5d,柠檬酸总量最高达 11%,转化率达 110%,该菌株通过亚硝基胍和紫外线处理,得到了对于氟乙酸极为敏感并利用柠檬酸能力甚弱的 NV-1,产柠檬酸的比例明显提高,约从 50:50 提高到 80:20。

中国科学院林业土壤研究所等报道了产癸二酸的研究。*Candida lipolytica* C₁₉₋₂在含正癸烷(10%, V/V)醋酸钠和尿素等组成的培养基中发酵 96h,癸二酸产量为 30g/L,转化率约 40%。

中国科学院微生物研究所烃代谢组在研究 *Candida lipolytica* AS2.1207 和 *C. tropicalis* 1230 及其突变株 U₃₋₂₁代谢正烷烃的产物及其代谢途径的过程中观察到醇、酸、脂是它们代谢烷烃的普遍产物。菌种不同,代谢产物和途径也不同。例如,AS2.1207 能一端甲基氧化生成一羧酸,也能两端甲基氧化生成二羧酸。此外,它还能产生不饱和一羧酸及比基质链长的一羧酸,说明它具有脱氢及加长碳链的能力。而 1230 主要是两端氧化生成短链二羧酸,很少产生一羧酸。该菌株经亚硝基胍和紫外线处理后得到了产生链长在 C₁₀以上的二羧酸突变株 U₃₋₂₁。该菌株能利用一系列单一正烷烃 C₁₀~C₁₈产生与基质链长相应的二羧酸。改进了发酵条件,重液体石蜡用量 10%,发酵 96~120h,混合二元酸产量达 6.0%。经亚硝酸处理得到的 *C. tropicalis* 突变株 D₂₈,产癸二酸及癸烷-1,10-二羧酸分别为 2.9%和 4.8%。菌株 U₃₋₂₁不能在 40℃生长和产酸,采用高温直接处理的方法从 U₃₋₂₁得到了在 40℃产酸为 3%以上的耐高温菌株 MHT39-9。该菌株经室温转接保存 3a,高温产酸性能稳定。

王大珍等研究了 *Candida lipolytica* AS2.1207 产长链脂肪酸的发酵条件。在含重液体石蜡 15% (V/V) 的培养基中发酵 4d,长链脂肪酸产量为 13~14g/L。脂肪酸的组分主要为同碳数的 C₁₃~C₁₈酸,其中 C₁₆~C₁₈酸占总酸量的 80%以上,不饱和酸占总酸的 80%,以 C₁₇含量最高。该菌经⁶⁰Coγ射线照射诱变,得到 AS2.1399,产酸稳定,长链脂肪酸组分与亲株基本相同,而产量为 21g/L,平均提高 51%。

八、微生物在石油工业环境保护中的作用与应用

在石油工业勘探、开发、炼制、运输和使用等一系列过程中,普遍存在着环境污染和环境破坏问题,如废弃钻井泥浆、钻井废水、采油废水的污染,土地的破坏和土壤的污染,含油污泥的污染等等。随着环境保护法律法规的日益严格,石油工业环境污染问题日益突出;而随着生物技术的发展,生物技术在石油工业环境保护中的作用和应用日益扩大,发挥着越来越重要的作用。

随着油气田勘探开发的不断深入,油田化学剂的种类日益增多,这些油田化学剂经使用后会以各种途径进入环境,并可造成环境污染。目前国际上流行的环境控制技术(ECT)主张从源头控制污染源以防止环境污染(Wojtanowici, 1991),这一观点已为我国石油环境保护界所接受。它要求油田化学剂及其体系(如钻井液体系,完井液体系等)本身即能为环境所接受,即表现出环境友好性,而环境可接受性或环境友好性的评价指标通常认为包括生物毒性、生物降解性和生物富集性等。钻井液及其体系是人们普遍关注的环境污染源。以美国为代表的许多国家均把钻井液的生物毒性和生物降解性作为环境可接受性的两项重要指标。美

国以糠虾生物试验法作为生物毒性评价方法，但该法十分繁琐；加拿大等国则采用微毒性试验法，该法以发光细菌为试验菌种，具有简单、快速等优点；我国也开展了利用发光细菌法测定钻井液添加剂及其体系生物毒性的试验研究。而钻井液添加剂及其体系的生物降解性评价方法则多采用好氧生物降解法和厌氧生物降解法两大类方法。因此，利用生物技术可进行钻井液添加剂及体系的环境可接受性评价。

含油污泥、油污土壤及含油钻屑等含油废弃物是石油工业中的重要污染源。利用生物技术可对这些含油废弃物进行生物处理，其基本原理是借助于石油烃类降解菌对油类的生物降解。目前已发展了三类含油废弃物生物处理技术，即地耕法、生物堆肥法和生物反应器法。这些方法具有处理效果好，处理成本较低等优点，因而受到了国内外的普遍关注。国外把利用生物技术就地处理含油废弃物的方法称为生物修复或生物补救。生物修复或生物补救技术不仅可以应用于含油污泥、油污土壤和含油钻屑等含油废弃物，而且还适用于海岸石油污染和海面石油污染（李永祺、黄健，1995）。国内也十分重视海洋石油污染及其生物防治技术研究。丁美丽等（1979）调查了胶州湾石油降解菌的数量及其种类组成。结果表明：油膜水样的菌量最高，沉积样次之，水样较低，油污越重，菌数越多。石油降解菌量（HC）和异养菌量（AA）的比值（HC/AA）百分率与石油污染程度相关，它是水域油污程度的一个重要标志。石油降解菌除了5株放线菌和1株酵母菌，其余均是细菌。李进道等（1990）研究成功了一种去除海洋石油污染的长效肥料。这种肥料密度小，不易溶于水，它在油污区与油膜漂浮在一起，由于油的溶解和微生物的分解作用，能够逐渐释放营养盐，促进油膜中烃类氧化菌的生长繁殖，因而在油污区的表面形成一层石油、肥料和微生物的复合物。在这种复合物中，烃类氧化菌大量繁殖，从而加强了油污的降解。应用试验表明，一次投入油量10%的长效肥料，9d内可除去油膜的57%左右。

采油废水外排COD不达标是近几年来油田环境保护中的一个突出问题。许多物理、化学方法均难以解决这一问题或处理成本很高而难以为实际应用所接受。因此，采油废水生物处理法去除COD的技术研究成为近年来一个活跃的研究领域，并取得了不少研究成果，生物处理技术在渤西终端含油污水COD处理中获得成功应用（丁九亮，2001）。稠油采油废水处理难度更大，目前正在积极开展稠油采油废水的生物处理技术研究。

九、微生物的腐蚀作用及其控制

在石油工业中广泛使用管道、储存罐、钻机等金属设备和金属材料。这些金属设备和金属材料常常遭到水体或土壤中微生物的严重腐蚀，从而给生产带来严重影响，并造成巨大的经济损失。在腐蚀性微生物中，硫酸盐还原菌的危害最大。因此，硫酸盐还原菌及其腐蚀机理的研究，以及硫酸盐还原菌控制技术的研究，是防治石油工业微生物腐蚀危害的重要研究内容。其中以油田污水和注水系统的腐蚀问题尤为突出。

十、油层微生物学及其应用

油层微生物活动规律的研究是石油微生物学的基础。阐明微生物的活动规律就有可能想办法加速其有益活动，或预测在油田开发时对微生物活动认识不足而引起的有害后果，从而加以预防或控制。

在油田开发中，注水是普遍采用的采油方法，称为二次采油。注水会导致油层微生物活动的强化。在油层的微生物中，主要存在着腐生菌、硫酸盐还原菌、烃类降解菌和反硝化细

菌等。一方面这些微生物会随着采出液一起排出地面，进而进入油田污水注水系统，引起金属材料 and 设备的腐蚀，并再次随注水进入注水井，在注水井井底周围形成细菌活跃发育带；另一方面，油层中细菌大量增殖会引起油层酸化和堵塞，进而影响油田注水生产。因此，要采取杀菌、解堵、增注和防腐等综合性处理措施以控制微生物的危害。

此外，深入探讨油层中微生物的生长、繁殖、迁移及其他活动规律，有助于指导利用微生物提高石油采收率的实际应用。

十一、微生物对油田化学剂的生物降解与控制

在石油钻井、开发过程中都要使用各种油田化学剂。如钻井过程中要使用钻井液添加剂，注水中要使用各种注水添加剂，采油中要使用驱油剂等。由于微生物在自然界中分布极为广泛，并存在于石油生产的各个环节和过程，因此，微生物污染油田化学剂常常是难以避免的。在油田化学剂中有些有机化合物尤其是生物聚合物易于被微生物降解，使油田化学剂失去应有的功效，从而影响石油生产的顺利进行。

解决微生物降解油田化学剂的办法有两个，一是研制不被微生物降解的或难被微生物降解的油田化学剂，但这不符合环保要求；二是研究能有效地防止微生物降解又不影响油田化学剂功效的抑菌剂或杀菌剂。此外，油田化学剂生物降解的室内评价方法也值得探讨（易绍金等，1993）。

十二、微生物对石油及其产品的污染降解及其控制

某些具有烃代谢能力的微生物，可通过种种途径进入石油及其产品中，污染石油及其产品，并在其中生长繁殖，降解石油及其产品中的某些成分，使其粘度、挥发性等发生变化，从而影响石油及其产品的原有性能，给生产和生活带来不便与危害。

燃料油贮存过程中微生物的存在和繁殖，不仅影响油品的性质和贮油设备，而且可能是引起飞行事故的原因之一。王修垣等（1981）从8个大型燃料贮罐中取得航空煤油样20个、灯用煤油样6个、柴油样9个、汽油样14个。在22个纯油样中只有4个发现了个别细菌和真菌。在25个罐底油，油水、水或微含水和淤渣样品中，有16个样品微生物数量较多，细菌最高达 2.7×10^7 个/mL，真菌最高达 8.0×10^4 个/mL。有少数样品中有液体石蜡氧化菌、硫酸盐还原菌和铁细菌。煤油和柴油比汽油更容易受到微生物的污染，还发现了两株典型的航空煤油污染菌：*Cladasporium resinae* 973-26-1 和 922-23-2-1。证明了可给态氮的缺乏是限制微生物发育的因子，而避免水和其他杂质的污染对于防止微生物的破坏作用是很重要的。而王孔星等（1985）指出，二甲基氨基丙胺对乳化油具有防腐作用。

以上简要介绍了石油与环境微生物学的主要研究内容和研究任务，可见该学科具有十分广泛的研究内容和十分繁重的研究任务。

第三节 石油与环境微生物学的地位与作用

石油与环境微生物学是一门研究微生物与石油及其环境保护相互关系的综合性学科。它以微生物学为基础，以石油工业为研究对象，利用其他相关学科的理论成果和技术方法，研究石油工业中包括环境保护在内的一切有关微生物的问题。它是应用微生物学、工业微生物学和环境微生物学的一个重要分支，又是石油技术的一项重要内容。

石油与环境微生物学的研究,在微生物学和石油工业技术及环境保护方面都具有重要的理论意义和实际价值。它研究各种特定环境中的微生物及其活动规律,对于丰富和发展微生物学理论具有重要意义;它研究石油工业中各个环节的微生物学问题,对于预防和处理微生物的有害作用,发挥和促进微生物的有益作用,从而加快石油工业的发展都具有重要的实际价值。

第四节 石油与环境微生物学的现状与展望

石油与环境微生物学的研究水平在世界各国很不一致,发展极不平衡。在欧美一些国家,石油微生物学的研究开始较早,发展较快。早在 20 世纪 50 年代,美国学者 Beerstecher 就出版了《石油微生物学》一书;1967 年 Davis 又出版了系统讨论石油与环境微生物学的专著,1984 年又以论文集形式出版了《石油微生物学》一书。此后有关石油与环境微生物学的理论研究和实际应用都很活跃,如几乎每两年举行一次国际微生物采油会议;几乎每两年举行一次国际就地生物复原会议,其中关于石油烃类污染的交流论文所占比重最大。这些即可从一个侧面反映石油与环境微生物学的快速发展。目前,石油与环境微生物学的研究内容正在不断加深,研究范围正在不断扩大。除了研究微生物在石油工业中的有害作用外,微生物在石油工业中的应用越来越受到重视。

在我国,石油与环境微生物学的研究起步较晚,发展较慢。但近二三十年尤其是近一二十年以来,石油与环境微生物学的研究十分活跃,发展比较迅速,有不少技术已投入工业化应用,一些新的技术正在逐渐得到应用。石油与环境微生物学的发展,是石油工程专家、微生物学家和油气田环境保护工作者的共同愿望和事业。可以相信,随着微生物学的发展和石油工业发展的需要,一门系统研究石油、环境与微生物相互关系的综合性学科——石油与环境微生物学,将会有有一个更大的发展。

石油与环境微生物学是石油与环境微生物技术的理论基础,石油与环境微生物技术则是石油与环境微生物学的实际应用。石油与环境微生物学的大发展,必将带来石油与环境微生物技术的大进步。本书将重点讨论石油与环境微生物若干技术问题及其新进展。

参考文献

- 陈传平,梅博文,易绍金等.砂岩储层中原油微生物降解的模拟实验研究.沉积学报,1997,15(1):135~140
- 陈传平,梅博文,易绍金等.地层水中低分子量有机酸成因分析.石油学报,1995,16(4):48~54
- 丁美丽,高月华,岑作贵.胶州湾石油降解菌的分布.微生物学通报,1979,6(6):11~14
- 丁九亮.生物处理方法在渤西终端含油污水 COD 处理工艺中的应用.中国海上油气(工程),2001,13(5):1~5
- 李进道,丁美丽,陈德辉等.用长效肥料提高微生物分解海面油膜试验.青海海洋大学学报,1990,20(3):84~88
- 李永祺,黄健.用细菌清除近岸海域油污染的研究.生物工程进展,1995,15(2):14~17
- 王大珍.微生物在有机质转化中的地质作用.青海湖综合考察报告.北京:科学出版社,1979,223~264
- 王修垣.俄罗斯利用微生物提高石油采收率的新进展.微生物学通报,1995,22(6):383~384
- 王修垣,田新玉,王先极.燃料油贮存过程中的微生物学研究.生态学报,1981,(4):307~314

- 王孔星, 谢裕敏, 周立焜. 二甲基氨基丙胺对某些特种油品的防腐研究. 微生物学通报, 1985, 12 (5) : 200~203
- 易绍金, 陈希天. 一门研究微生物与石油相互关系的综合性学科——石油微生物学. 石油知识, 1989, (1) : 40~42
- 易绍金, 梅博文, 陈传平. 硫酸盐还原菌对重晶石的生物还原作用. 江汉石油学院学报, 1992, 14 (2) : 107~108
- 易绍金, 梅博文, 陈传平等. 原油生物降解对砂岩孔隙的影响. 江汉石油学院学报, 1993, 15 (4) : 95~97
- 易绍金. 微生物提高石油采收率发展现状及展望. 石油与天然气化工, 1994, 23 (4) : 149~153
- 易绍金, 邹文, 刘丽芬. 油田化学剂生物降解室内评价方法探讨. 石油钻采工艺, 1993, 15 (2) : 96~97
- 张树政, 王修垣主编. 工业微生物学成就. 北京: 科学出版社, 1988, 145~162
- 张春英. 国外微生物采油技术水平调查. 石油钻采工艺, 1989, 13 (1) : 1~10
- 张正卿, 刘春德, 赵刚等编译. 国外微生物提高采收率技术论文选. 北京: 石油工业出版社, 1996, 129~135
- Beghtel F W, Hitzman D O and Sundberg K R. Microbial oil survey technique (MOST). Evaluation of new wildcat wells in Kansas. The Association of Petroleum Geochemical Explorationists-AAPG Bulletin, 1987. 3 (1) : 1~14
- Wagner M, Wagner M Jr. and Rasch H J. MPOG—Microbial prospection for oil and gas. Field examples and their geological background. Conference Cracov. Poland, AO-05, 1998a, 118~121
- Wagner M, Wagner M Jr., Piske J. Case histories of microbial prospection for oil and gas onshore and offshore in North-West Europe. AAPG-SEG Case Histories, 2000.
- Wojtanowici A K. Oilfield environmental control technology; A Synopsis. SPE22815, 1991 : 541~553