

# 陆梁油田菌群结构解析及激活后群落变化

伊丽娜<sup>1,2</sup>, 崔庆锋<sup>3</sup>, 马原栋<sup>3</sup>, 俞理<sup>3</sup>, 黄立信<sup>3</sup>

1. 中国科学院渗流流体力学研究所, 廊坊 065007
2. 中国科学院大学物理科学学院, 北京 100049
3. 中国石油勘探开发研究院廊坊分院, 廊坊 065007

**摘要** 针对新疆陆梁油田呼图壁河组注水井 LU3064 注入水, 设计一组营养剂激活配方, 该配方能够成功乳化原油。经平板计数法、最大或然计数法(MPN)和理化性质检测发现, 激活后注入水菌浓明显增加, 表面张力下降 37%。采用建立细菌 16S rDNA 克隆文库方法, 对 LU3064 注入水、LU3036 采出液、LU3064 激活液细菌进行多样性研究。从克隆文库中随机挑选 100 个克隆子测序, 并在 GenBank 中比对, 结果表明, 注入水菌群具有高度多样性, 优势菌属于 Alphaproteobacteria; 采出液较地层水菌群结构简单, 存在 *Pseudomonas*(假单胞菌属)、*Bacillus*(芽孢杆菌属)等功能菌属; 激活液菌群结构最为单一, 仅存在 *Bacillus*(芽孢杆菌属)。*Bacillus* 在注入水和采出液中均有发现, 但都不是优势菌种。该激活剂配方成功激活了可在地层中生长的功能菌属 *Bacillus*。

**关键词** 内源微生物; 采收率; 激活剂; 细菌群落; 16S rDNA 文库

中图分类号 Q939.97

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.15.002

## Microbial Community and Community Variability after Activated in Luliang Oilfield

YI Lina<sup>1,2</sup>, CUI Qingfeng<sup>3</sup>, MA Yuandong<sup>3</sup>, YU Li<sup>3</sup>, HUANG Lixin<sup>3</sup>

1. Institute of Porous Flow and Fluid Mechanics, Chinese Academy of Science, Langfang 065007, China
2. School of Physical Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
3. Langfang Branch of Research Institute, Petroleum Exploration and Development, Langfang 065007, China

**Abstract** A group of nutrient activators with respect to injection well LU3064 in Xinjiang oil field Hutubi river group are designed, for emulsifying the crude oil. With the bacteria counting method, the MPN method, and the physiochemical property detection method, it is discovered that, in the injection water, upon activation, the concentration of bacteria rises significantly, while its surface tension decreases by 37%. With the molecular biological techniques (16S rDNA clone library), the LU3064 injection water, the LU3036 produced water and the LU3064 activated water are studied. One hundred clones are randomly selected from the clone library to blast in Genbank. The observations show that the injection water is highly diversified, and Alphaproteobacteria is the dominating bacteria. Compared to the injection water, the produced water has a simpler structure, which provides habitats with function bacteria genera such as *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc. The community structure is found most monotonous in the activation fluid, only *Bacillus* can be found. *Bacillus* is discovered in both the injection water and the produced water, but does not dominate in them. The formula successfully activates *Bacillus* which can be grown in the stratum.

**Keywords** indigenous microorganism; oil recovery; activator; bacterial community; 16S rDNA clone library

收稿日期: 2013-10-29; 修回日期: 2014-04-13

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863计划)项目(2013AA064402)

作者简介: 伊丽娜, 博士研究生, 研究方向为微生物采油, 电子信箱: ilmwr\_b\_cn@sina.com

引用格式: 伊丽娜, 崔庆锋, 马原栋, 等. 陆梁油田菌群结构解析及激活后群落变化[J]. 科技导报, 2014, 32(15): 25-31.

油田经过一段时间的注水开发会在油藏内形成数量和结构上相对稳定的微生物群落<sup>[1,2]</sup>,营养剂和空气的加入可以改变微生物的群落结构。内源微生物采油技术主要通过通过对微生物的选择性调控,激活能够代谢原油产生对提高原油采收率有用的代谢产物的微生物,从而提高原油采收率<sup>[3]</sup>。与需要向地层中注入微生物的外源微生物采油技术相比,内源微生物采油技术现场不需要添加大型地面设备,操作简单,经济环保,因此成为提高采收率的一项新技术<sup>[4,5]</sup>。

油藏内源菌能够适应油藏高温高压等特殊环境<sup>[6]</sup>,并在特殊环境下进行较为缓慢的生长、繁殖与代谢,内源微生物采油技术的关键是营养剂激活地层水中对采油有益的内源菌<sup>[7,8]</sup>。营养激活剂可以通过注水井注入油藏,有可能实现对地层水中微生物的定向激活,将对现场原油采收率的提高大有裨益。

本研究利用陆梁油田 LU3064 注入水自配激活剂,通过对油田注入水、产出液及实验室激活液水样总菌浓、理化性质、细菌群落结构的分析,得到一种高效激活剂配方,激活同时存在于注入水和产出液中的高效功能菌。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

Premix PCR 扩增体系、用于 PCR 片段连接转化的 pEASY-T3 Cloning Kit、Trans1-T1 感受态细胞购于全式金公司;氨苄、IPTG、x-Gal 购于 Biodee 公司;引物合成由上海基康公司完成。

### 1.2 实验材料

水样取自新疆陆梁油田呼图壁河组同层连通注水井 LU3064 和油井 LU3036,地层温度 37℃,总矿化度 8471.2 mg/L,较适合微生物生长。

### 1.3 注入水激活培养

采用向注入水中加入营养物的方式激活地层水中的微生物:将糖蜜、NaNO<sub>3</sub>、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、酵母膏加入 LU3064 注入水,37℃常压厌氧培养 40 d,观察原油乳化效果。采用油膜空斑法检测菌液对原油的乳化能力。用 Turbiscan 红外稳定性分析仪测定乳化后油滴颗粒粒径和变化速率。

### 1.4 菌浓计数、菌群分析及表面张力测定

采用平板计数法(LB 培养基:蛋白胨 1%、酵母提取物 0.5%、NaCl 1%、琼脂粉 1.5%,pH 值调至 7.5,高压蒸汽灭菌 20 min)检测 LU3064、LU3036 及激活后水样总菌浓,并使用最大或然数计数法(MPN 法)检测上述 3 个样品烃氧化菌(HOB)、硝酸盐还原菌(NRB)、腐生菌(TGB)、厌氧发酵菌(FMB)、硫酸盐还原菌(SRB)菌浓。使用 FTA1000B 表面张力仪测量样品表面张力。

### 1.5 总 DNA 的提取

水样用纱布滤去油污和泥沙,8000 r/min 离心 5 min,收集菌体;菌体加 800 μL CTAB,摇匀;65℃ 水浴 1 h,加 800 μL 氯仿/异戊醇轻摇;20℃,12000 r/min 离心 10 min,取上清;加入

等体积的 CI(氯仿:异戊醇=24:1)混匀,12000 r/min 离心 10 min,取上清;加等体积的 CI 混匀,12000 r/min 离心 10 min;取等体积预冷异丙醇,将上清液缓慢加入;-20℃ 静置过夜;4℃ 10000 r/min 离心 5 min,弃上清;加 70% 乙醇 1 mL,4℃ 10000 r/min 离心 5 min,使用无菌水洗涤沉淀两次,无水乙醇 1 mL 洗涤 1 次;37℃ 风干 30 min,加 TE 溶解;琼脂糖凝胶电泳检测 DNA。

### 1.6 16S rDNA 克隆文库构建

水样细菌 16S rDNA 扩增使用通用引物(8F:5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';1541R:5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3')<sup>[9]</sup>,扩增体系共 25 μL,包括 premix 12.5 μL,引物各 0.5 μL,总 DNA 模板 0.5 μL,无菌水 11 μL。扩增程序为 95℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 45 s,50℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 90 s,30 个循环;72℃ 延伸 10 min,4℃ 至样品取出后,在 -20℃ 保存备用<sup>[10]</sup>。PCR 反应产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

得到的 16S rDNA 片段与 pEASY-T3 载体连接,转入 Trans1-T1 感受态细胞,待克隆子长出,随机挑选 100 个克隆子,用引物 T7(5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3')、SP6(5'-ATTTAGGTGACACTATAGAA-3')验证<sup>[11]</sup>,去除假阳性克隆子。克隆子送至北京艾博永华生物公司测序,将获得的 16S rDNA 序列在 GenBank 中比对,用软件 Bioedit 和 Mega 4.0 以邻位相连法(neighbor-joining)构建系统发育树。

### 1.7 激活配方适应性研究

将该激活剂配方注入新疆油田另外两个区块(七西区、六中区)注入水,分别加入对应区块原油,在油藏温度条件下(七西区 33℃、六中区 20℃)厌氧培养,观察原油乳化效果,并采用油膜空斑法检测菌液对原油的乳化能力,平板计数法检测激活液总菌浓度。

## 2 结果和讨论

### 2.1 激活后水样乳化效果

LU3064 厌氧培养 40 d 后激活效果见图 1。观察发现,激活后原油乳化较为明显,基本溶解在基质中散成小液滴,形成水包油乳状液,乳化液稳定性较好。



(a) 3064 激活液

(b) 空白对照

图 1 原油乳化效果

Fig. 1 Comparison of emulsification after activation

由图2可以看出, LU3064激活后液相表面活性较强, 油膜空斑直径3 cm。表1对比了激活样和空白样透射光变化速率、粒径变化和稳定性。乳状液中由于油滴随时间不断上浮, 使得澄清层透射光不断增强, 所以利用透射光变化可以直观反映油滴上浮情况, 可见激活后样品变化速率较空白样品慢; 激活后3 h内平均粒径仅为空白对照样的1/25, 激活后稳定性较空白样更好。以上数据分析说明激活后样品对原油乳化性更好。

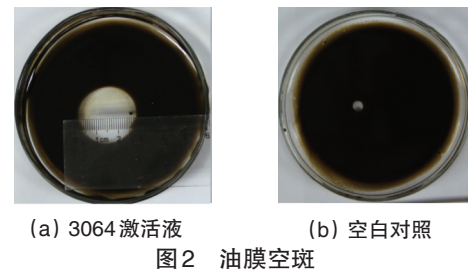


图2 油膜空斑  
Fig. 2 Comparison of the oil membrane's clear plaques

表1 LU3064 激活样品乳化分散及稳定性检测

Table 1 Testing of emulsifying dispersion and stability of activation sample

样品	透射光变化速率 (0~15 min)	透射光变化速率 (1~3 h)	平均粒 径/m	粒径变化速 率/(m·h <sup>-1</sup> )	稳定性系数
LU3064 激活样	6.35%	3.04%	13.3758	1.9	8.12
空白样	44.86%	8.11%	318.562	118.94	28.2

## 2.2 菌浓计数、菌群分析及表面张力测定结果分析

陆梁油田注入水总菌浓和各类功能菌浓均较油井采出液多(表2), 且注入水菌群结构也较油井采出液复杂, 说明大部分注入水细菌不能适应地层高温寡营养环境; 而在激活后的注入水中, 除硫酸盐还原菌(SRB)外, 各类功能菌数目均有上升, 尤其烃氧化菌(HOB)上升幅度明显, 同时水样表面张力下降37%, 降幅明显。

油井注入水一般为循环利用的工业废水, 长期储存在常温常压含氧环境中, 因此其中菌群结构较为丰富, 注入水随

油井注入油藏, 在地层高压缺氧寡营养的自然筛选下, 只有既能够在油藏条件下生长繁殖并且与地层本源菌有很好兼容性的菌落才能够生长, 因此采出液总菌浓和各类功能菌都较注入水更少。

通过营养剂与注入水的共同注入, 使得油藏中可被细菌直接利用的碳源、氮源增多, 激活了各类菌群, 而油藏中丰富的原油资源, 又使得能够以烃类为唯一碳源的烃降解菌获得了更大的生长优势, 从而代谢烃类产生生物表面活性剂, 使得表面张力大幅降低, 形成了较好的乳化效果。

表2 不同样品总菌浓和功能菌浓对比

Table 2 Numbers of microorganisms and available bacteria

样品	总菌浓/mL <sup>-1</sup>	HOB/mL <sup>-1</sup>	SRB/mL <sup>-1</sup>	NRB/mL <sup>-1</sup>	FMB/mL <sup>-1</sup>	TGB/mL <sup>-1</sup>	表面张力/(mN·m <sup>-1</sup> )
LU3064 注入水	1.21×10 <sup>4</sup>	7.0×10 <sup>2</sup>	2.5×10 <sup>-1</sup>	1.1×10 <sup>4</sup>	2.0×10 <sup>4</sup>	1.1×10 <sup>4</sup>	72.81
LU3036 采出液	6.5×10 <sup>2</sup>	0.6×10 <sup>1</sup>	0	2.5×10 <sup>2</sup>	2.5×10 <sup>1</sup>	1.4×10 <sup>4</sup>	71.13
LU3064 激活液	3.9×10 <sup>8</sup>	2.5×10 <sup>6</sup>	0.6×10 <sup>-1</sup>	7.0×10 <sup>5</sup>	6.5×10 <sup>6</sup>	2.0×10 <sup>6</sup>	45.68

## 2.3 16S rDNA 序列测序结果

将成功转化的克隆子 16S rDNA 序列在 GenBank 中比对, 序列相同的克隆子定义为一个分类操作单元(OTU)(表3、表4、表5)。对测序结果中同源序列进行分析, 并用软件 Clustal X2、Bioedit 和 Mega 4.0 进行多序列比对, 建立系统发育树(图3、图4、图5)。

LU3064 注入水克隆文库(测序结果)结果显示, 注入水克隆子分属于4门(变形杆菌门、厚壁菌门、酸杆菌门和浮霉菌门)8纲。5个 OTU 位于  $\alpha$ -变形菌纲(Alphaproteobacteria), 共73个克隆子; 3个 OTU 位于芽孢杆菌纲(Bacilli), 共5个克隆子。除此之外还有  $\beta$ -变形菌纲(Betaproteobacteria), 2个克隆子;  $\delta$ -变形菌纲(Deltaproteobacteria), 3个克隆子;  $\gamma$ -变形菌纲(Gammaproteobacteria), 2个克隆子; 梭菌纲(Clostridia), 2个克隆子; 浮霉菌纲(Planctomycetacia), 2个克隆子; 酸杆菌纲

(Acidobacteria), 2个克隆子。LU3036 采出液菌群较注入水菌群结构简单, 仅检测到4个菌属: 位于 Gammaproteobacterium 的假单胞菌属(*Pseudomonas*) (共72个克隆子)、Alphaproteobacterium 的鞘鞍醇单胞菌属(*Sphingomonas*) (共10个克隆子)和注水井中同样检测到的位于 Bacilli 的芽孢杆菌属(*Bacillus*) (5个克隆子)、Planctomycetacia 的浮霉菌属(*Planctomyces*) (2个克隆子)。激活后的 LU3064 水样文库显示, 水样中仅有位于 Bacilli (芽孢杆菌纲) *Bacillus* (芽孢杆菌属) 下的3个种。

注水井中优势菌 Alphaproteobacteria 对水质要求不高, 寡营养也能生长, 污水中发现大量的该细菌<sup>[2]</sup>, 但较少有采油功能菌的报道。Betaproteobacteria 多为兼具呼吸和代谢方式的兼性异养菌<sup>[3]</sup>。Bacilli 和 Gammaproteobacteria 代谢降解石油烃类并产生生物表面活性剂等代谢产物, 属于报道中常见的采油

表3 LU3064注入水克隆子16S rDNA序列测序结果

Table 3 Blast results of 16S rDNA gene clones isolated from LU3064 injected water

各OTU 编号	各OTU所含 克隆子数目	长度 /bp	登录号	对比序列		
				登录号	GenBank 已知菌种	同源性/%
A1	2	1535	KF733610	NR_025327	<i>Planctomyces maris</i> strain 534-30	98
A2	18	1477	KF733611	EU726271	<i>Stappia indica</i> strain B106 16S ribosomal RNA gene	99
A3	2	1542	KF733604	NR_102783	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. 168 strain 168	99
A4	4	1455	KF733612	JX094172	<i>Brevundimonas basaltis</i> strain 02-9 16S ribosomal RNA gene	99
A5	2	1478	KF733613	NR_044545	<i>Marispirillum indicum</i> strain B142	98
A6	15	1459	KF733614	GU441680	<i>Rhodobacter</i> sp. Cr5-50 16S ribosomal RNA gene	97
A7	12	1476	KF733615	NR_044216	<i>Rhizobium selenitireducens</i> strain B1	97
A8	2	1479	KF059939	HQ652582	<i>Rhizobium</i> sp. p49(2011) 16S ribosomal RNA gene	99
A9	3	1552	KF059948	NR_074945	<i>Desulfobacula toluolica</i> Tol2	97
A10	1	1544	KF733605	KC485000	<i>Bacillus licheniformis</i> strain B3-15 16S ribosomal RNA gene	99
A11	2	1517	KF733616	JN713308	<i>Clostridiales</i> bacterium canine oral taxon 141 clone PU008	97
A12	8	1460	KF733617	AJ810841	<i>Rhodobacteraceae</i> bacterium 218 partial 16S rRNA gene	99
A13	3	1475	KF733618	AM084032	<i>Sinorhizobium</i> sp. R-25067 16S rRNA gene, strain R-25067	96
A14	2	1542	KF733606	HE774679	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. plantarum YAU B9601-Y2	99
A15	2	1531	KF733620	HQ222278	<i>Acidovorax</i> sp. enrichment culture clone Van62	96
A16	4	1459	KF059945	FN376425	<i>Roseovarius</i> sp. AMV6 partial 16S rRNA gene	98
A17	3	1476	KF059946	NR_042277	<i>Phenylobacterium falsum</i> strain AC-49	99
A18	1	1475	KF059947	KC878323	<i>Labrenzia</i> sp. WP69 16S ribosomal RNA gene	99
A19	2	1530	KF059938	NR_102806	<i>Thalassolituus oleivorans</i> MIL-1 strain MIL-1	99
A20	1	1482	KF733619	FN397680	<i>Altererythrobacter</i> sp. AMV9 partial 16S rRNA gene	96
A21	3	1496	KF059940	GQ902908	<i>Acidobacteria</i> bacterium enrichment culture clone Ac-F6	98

表4 LU3036采出水克隆子16S rDNA序列测序结果

Table 4 Blast results of 16S rDNA gene clones isolated from LU3036 produced water

各OTU 编号	每个OTU所含 克隆子数目	长度 /bp	登录号	对比序列		
				登录号	GenBank 已知菌种	同源性/%
B1	10	1477	KF733607	JQ396552	<i>Sphingomonas</i> sp. MN5-8 16S ribosomal RNA gene	98
B2	68	1528	KF733608	JQ773431	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain RI-1	99
B3	6	1542	KF733604	NR_102783	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. 168	99
B4	1	1492	JX307094	AJ231186	<i>Planctomyces</i> sp. (strain 248) 16S rRNA gene	99
B5	4	1529	KF733609	FJ859914	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain LC2-8	99

表5 LU3064激活液克隆子16S rDNA序列测序结果

Table 5 Blast results of 16S rDNA gene clones isolated from LU3064 activated water

各OTU 编号	每个OTU所含 克隆子数目	长度 /bp	登录号	对比序列		
				登录号	GenBank 已知菌种	同源性/%
C1	45	1542	KF733604	JX402129	<i>Bacillus subtilis</i> strain ZLY 16S ribosomal RNA gene	99
				NR_102783	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. subtilis str. 168 strain 168	99
C2	43	1544	KF733605	KC485000	<i>Bacillus licheniformis</i> strain B3-15	99
				JF700489	<i>Bacillus licheniformis</i> strain BPRIST039	99
C3	14	1542	KF733606	HE774679	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. plantarum YAU	99
				CP002927	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> XH7	99

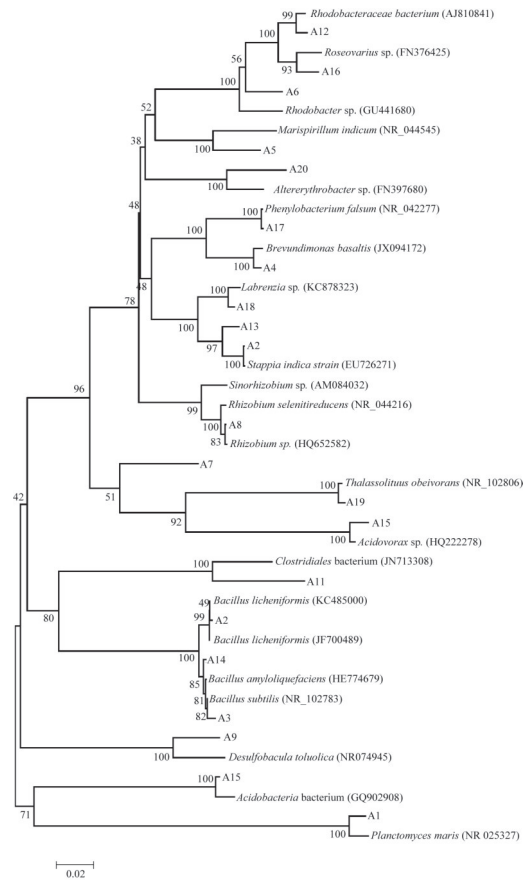


图3 LU3064注入水细菌系统发育分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of bacteria from LU3064 injected water

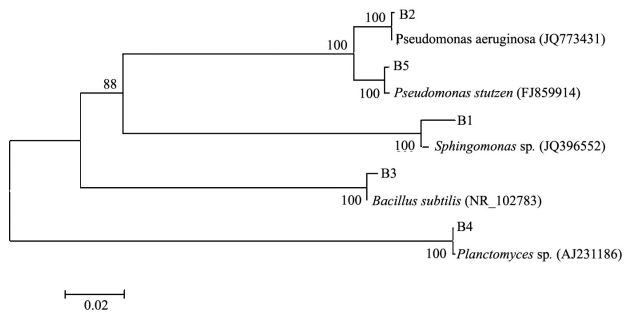


图4 LU3036注入水细菌系统发育分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of bacteria from LU3036 produced water

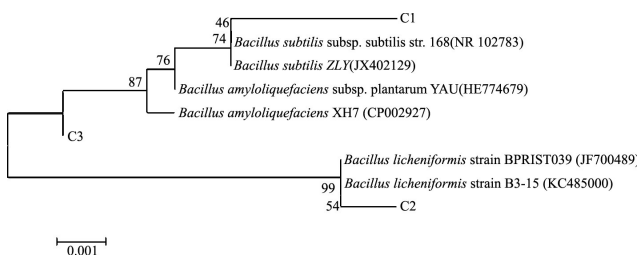


图5 LU3064激活液细菌系统发育分析

Fig. 5 Phylogenetic analysis of bacteria from LU3064 activated water

功能菌,代谢产生鼠李糖脂的假单胞菌属就属于 Gammaproteobacteria。Clostridia在油层中能发酵糖蜜产生二氧化碳和有机酸,对提高驱油能力起到辅助作用。对注入水菌群结构分析表明,虽然优势菌没有提高驱油能力的报道,但注入水菌群结构丰富,存在多种采油功能菌,可以通过注入营养剂激活而成为优势菌发挥作用,进而提高原油采收率。

油井采出液菌群结构中的假单胞菌属(*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、鞘鞍醇单胞菌属(*Sphingomonas*)均为油田普遍应用的采油功能菌:假单胞菌属能够降解长碳链烃、非烃类和芳香烃类等,产生鼠李糖脂生物表面活性剂<sup>[14,15]</sup>,广泛用于提高石油采收率和石油污染修复。芽孢杆菌属也是应用较广泛的产生表面活性剂的烃降解菌<sup>[16,17]</sup>,在高温高矿化度油藏的微生物驱油模拟实验中,提高驱油能力平均比空白对照高出5.7%,可较好地提高驱油能力<sup>[18]</sup>。鞘鞍醇单胞菌属对芳香化合物有极为广泛的代谢能力,并且该菌属某些菌株能够合成有价值的胞外生物高聚物。虽然油井采出液菌群结构大部分由采油功能菌构成,但总菌数和功能菌总数较少,因此油井采出液表面张力较注入水并无明显变化。

经营养物激活后的LU3064注入水菌群结构与未激活前差异较大,未激活注入水中占总数5.4%、仅有5个克隆子的芽孢杆菌属(*Bacillus*)3个菌种激活后成为绝对优势菌,说明该激活剂可有效激活芽孢杆菌,使其作为能够提高驱油能力的功能菌群在激活后样品中大量存在。激活液中大量存在的芽孢杆菌属,也成为乳化原油降低表面张力的原因。而在油井采出液中成功检测到的芽孢杆菌属(*Bacillus*)说明该菌属能够适应陆梁油田地层压力和温度条件,在营养适宜的条件下,可在油藏条件下激活。

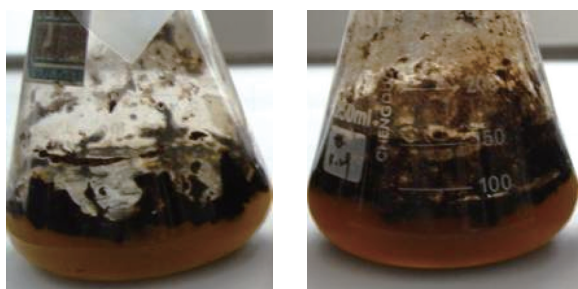
#### 2.4 激活后群落变化及对乳化效果的影响

芽孢杆菌属能产生脂肽类生物表面活性剂,枯草芽孢杆菌单菌(*Bacillus Subtilis*)发酵液表面张力可降低到25 mN/m。营养剂激活后的LU3064注入水中芽孢杆菌成为优势菌属,芽孢杆菌代谢产生的脂肽类表面活性物质的亲油基团帮助微生物细胞粘附于烃类物质表面进行解烃代谢,促进微生物代谢疏水物质,降低表面张力,促进原油乳化和分散,激活后样品可使原油被乳化为小颗粒分散在水相中,稳定性较好,说明激活后的芽孢杆菌能够正常代谢乳化原油。而多种脂肽具有抗微生物活性,造成了激活后菌落中检测不到其他细菌。芽孢杆菌属烃氧化菌,因此激活后样品HOB大量生长,相比原注入水样上升了 $10^4$ 倍。

#### 2.5 激活配方适应性研究

七西区、六中区水样激活后厌氧培养,激活效果如图6所示。

观察发现,激活后水样颜色较深,但原油乳化不明显,激活液对瓶壁上原油洗油效果很差,不能形成乳液。油膜空斑法中发酵液并未形成排油圈,对应表面张力下降不大,均在60 mN/m。六中区、七西区激活前样品由于烃氧化菌含量较



(a) 六中区

(b) 七西区

图6 七西区、六中区激活后原油乳化效果

Fig. 6 Comparison of emulsification after activation

少,未能成功检测,激活后七西区总菌浓 $4 \times 10^7$ /mL,其中HOB $9 \times 10^3$ /mL,六中区激活后总菌浓 $7 \times 10^6$ /mL,HOB $2 \times 10^3$ /mL。

陆梁油田、七西区、六中区地层水性质及原油性质见表6。由表6可见,新疆油田3个区块总矿化度均在微生物可生长范围内,陆梁油田矿化水及原油性质与其他两个区块对比并没有明显不同,因此七西区、六中区原油未能被乳化并不是由地层水及原油性质引起。由激活后浓度看,虽然七西区、六中区两个区块激活后总菌浓均达到 $10^7$ /mL(数据未列出),但烃氧化菌浓度较低,未被激活,说明该配方不能成功激活七西区和六中区水样中的烃氧化菌,这与地层水原始群落结构有关,这两个区块水样中原始烃氧化菌菌群含量较少。

表6 各区块地层水及原油性质

Table 6 Properties of formation water and crude oil in different block

区块	氯离子质量浓度/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	地层水水型	矿化度/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	温度/ $^{\circ}\text{C}$	原油黏度/( $\text{mPa} \cdot \text{s}$ )	原油密度/( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ )
陆梁	4960.8	$\text{CaCl}_2$	8471.2	37	11.4	0.851
七西区	8120.0	$\text{CaCl}_2$	10964.0	33	12.1	0.8217
六中区	1210.0	$\text{NaHCO}_3$	4212.0	20	80.0	0.876

### 3 结论

1) 注入水注入油藏后,经过油藏寡营养无氧环境的自然筛选,LU3036油井采出液群落结构简单,总菌浓低;而通过加入营养剂激活注入水中菌群,改变地层寡营养环境,总菌浓和烃氧化菌浓度明显增加,表面张力下降37%,激活后水样中菌群乳化原油效果较好。

2) 注入水主要由过滤后工业废水与循环利用的油井采出水组成,注入水长期存放于常温含氧环境,并于各种管道中运移,造成菌群结构复杂、菌浓较大、存在多种功能菌但均不是优势菌种;采出液中检测到的优势菌大多为采油功能菌,但总菌浓较低,难以发挥作用;激活液中采油功能菌*Bacillus*(芽孢杆菌属)被成功激活,使得原油被稳定乳化,表面张力降低。

3) 芽孢杆菌作为广泛使用的采油功能菌可有效代谢石油烃类产生表面活性物质,降低表面张力,提高驱油能力。该实验成功激活芽孢杆菌,菌浓达 $10^8$ /mL,激活后芽孢杆菌正常代谢乳化原油。油井采出液也检测到该菌属的存在,说明该菌属能适应地层极端条件。如将营养剂随注入水注入地层,芽孢杆菌在地层中可能被大量激活、生长并乳化原油,有效提高注入水驱油效率。这一结论能为油田制定现场注入体系提供实验室实验依据。

#### 参考文献(References)

[1] 包木太,孔祥平,宋永亭,等.胜利油田S12块内源微生物群落选择性

激活条件研究[J].石油大学学报:自然科学版,2004,28(6):44-48.  
 Bao Mutai, Kong Xiangping, Song Yongting, et al. Selective activation condition of stratal microflora of S12 block in Shengli Oilfield[J]. Journal of the University of Petroleum: Nature Science Edition, 2004, 28(6): 44-48.  
 [2] 罗跃,余跃惠.微生物采油技术研究的国内外动态及本源微生物采油技术[J].国外油田工程,1999,8(4):1-2.  
 Luo Yue, She Yuehui. Dynamics in land and abroad of MEOR and experiments on EOR employing indigenous microorganisms[J]. Foreign Oilfield Engineering, 1999, 8(4): 1-2.  
 [3] Brown L R. Microbial enhanced oil recovery (MEOR)[J]. Current Opinion in Microbiology, 2010, 13(3): 316-320.  
 [4] Zheng C, Yu L, Huang L, et al. Investigation of a hydrocarbon-degrading strain, *Rhodococcus ruber* Z25, for the potential of microbial enhanced oil recovery[J]. Journal of Petroleum Science and Engineering, 2012, 81: 49-56.  
 [5] 李希明,冯时林,曾庆坤,等.微生物采油技术研究[J].油气采收率技术,1997(1):9-18.  
 Li Ximing, Feng Shilin, Zeng Qingkun, et al. Research of microorganism oil recovery technique[J]. Petroleum Geology and Recovery Efficiency, 1997(1): 9-18.  
 [6] Yamane K, Hattori Y, Ohtagaki H, et al. Microbial diversity with dominance of 16S rRNA gene sequences with high GC contents at 74 and 98 degrees C subsurface crude oil deposits in Japan[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 76(2): 220-235.  
 [7] 包木太,袁书文,宋智勇,等.不同碳源激活剂对胜利油田中一区油藏内源菌激活效果评价[J].化工学报,2011(3):786-791.  
 Bao Mutai, Yuan Shuwen, Song Zhiyong, et al. Evaluation on effects of different carbon source on activating indigenous bacteria in Zhongyi

- Block of Shengli Oilfield[J]. *CIESC Journal*, 2011(3): 786-791.
- [8] 高配科, 马挺, 赵玲侠, 等. 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[J]. *化工学报*, 2011(7): 2005-2012.  
Gao Peike, Ma Ting, Zhao Lingxia, et al. Screening, optimization and evaluation of indigenous microorganism activation system in Zhan 3 Block, Shengli Oilfield[J]. *CIESC Journal*, 2011(7): 2005-2012.
- [9] Gittel A, Sorensen K B, Skovhus T L, et al. Prokaryotic community structure and sulfate reducer activity in water from high-temperature oil reservoirs with and without nitrate treatment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(22): 7086-7096.
- [10] Strapoc D, Picardal F W, Turich C, et al. Methane-producing microbial community in a coal bed of the Illinois basin[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(8): 2424-2432.
- [11] de Weert J P, Vinas M, Grotenhuis T, et al. Degradation of 4-n-nonylphenol under nitrate reducing conditions[J]. *Biodegradation*, 2011, 22(1): 175-187.
- [12] 刘秀红, 杨庆, 吴昌永, 等. 不同污水生物脱氮工艺中 $N_2O$ 释放量及影响因素[J]. *环境科学学报*, 2006(12): 1940-1947.  
Liu Xiuhong, Yang Qing, Wu Changyong, et al.  $N_2O$  emissions from different biological nitrogen removal processes and factors affecting  $N_2O$  production[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006(12): 1940-1947.
- [13] 窦娜莎, 王琳. 16S rDNA 克隆文库法分析 Biostyr 曝气生物滤池处理城市污水的细菌多样性研究[J]. *环境科学学报*, 2011(10): 2117-2124.  
Dou Nasha, Wang Lin. Bacteria diversity in a biostyr biological aerated filter of municipal wastewater by 16S rDNA[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011(10): 2117-2124.
- [14] Xia W J, Luo Z B, Dong H P, et al. Synthesis, characterization, and oil recovery application of biosurfactant produced by indigenous *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 using waste vegetable oils[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 166(5): 1148-1166.
- [15] 吴小红, 曾光明, 袁兴中, 等. 生物表面活性剂鼠李糖脂对水体中石油烃降解的促进作用[J]. *应用与环境生物学报*, 2006(4): 570-573.  
Wu Xiaohong, Zeng Guangming, Yuan Xingzhong, et al. Enhancement of Rhamnolipid Biosurfactant for Biodegradation of *Petroleum hydrocarbons* in water[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006(4): 570-573.
- [16] Simpson D R, Natraj N R, McInerney M J, et al. Biosurfactant-producing *Bacillus* are present in produced brines from Oklahoma oil reservoirs with a wide range of salinities[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 91(4): 1083-1093.
- [17] Sung M H. *Geobacillus toebii* sp. nov., a novel thermophilic bacterium isolated from hay compost[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52(6): 2251-2255.
- [18] 夏文杰, 董汉平, 俞理, 等. 嗜热耐盐烃降解菌 *Geobacillus* sp. WJ-2 降解原油性能研究[J]. *中南大学学报: 自然科学版*, 2012, 43(1): 8-16.  
Xia Wenjie, Dong Hanping, Yu Li, et al. Oil-degrading characterization of thermophilic and halotolerant strain *Geobacillus* sp. WJ-2[J]. *Journal of Central South University: Science and Technology Edition*, 2012, 43(1): 8-16.

(责任编辑 王媛媛)

## ·学术动态·



中国科学技术协会

## 中国科协发布化学等30个学科发展报告

为进一步发挥中国科协及所属全国学会在引导学科发展中应有的作用,推进学科交叉、融合与渗透,促进学科发展和原始创新,培养新的学术增长点,在2012年继续组织开展学科发展研究、学科史研究、中国科协科技期刊发展状况研究、中国科协全国学会发展研究的基础上,2014年4月2日在北京召开2014中国科协学术建设发布会。

在本次发布会上,发布了2012—2013年度化学、地理学、植物学、生物化学与分子生物学、植物生物学、心理学、管理科学与工程、青藏高原研究、运筹学、晶体学、机械工程、电气工程、工程热物理、控制科学与工程、图学、电子信息、道路工程、航空科学技术、航天科学技术、兵器科学技术、冶金工程技术、纺织科学技术、食品科学技术、照明科学与技术、体视学、基础农学、植物保护学、草业科学、人体解剖与组织胚胎学、全科医学30个学科发展状况,中国科协科技期刊发展状况,中国科协所属全国学会发展状况,中国海洋学学科史等4个学科史研究成果。

详见中国科协网 <http://www.cast.org.cn/n35081/n35488/15481591.html>。