

# 一种基于 BIOLOG 代谢指纹分析的油气微生物勘探新方法

廖先燕<sup>1,2</sup>, 张涛<sup>2</sup>, 曾军<sup>2</sup>, 孙建<sup>2</sup>, 胡雯<sup>1,2</sup>, 娄恺<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

<sup>2</sup>新疆农业科学院微生物应用研究所, 乌鲁木齐 830091

**摘要:** 【目的】建立基于土壤微生物群落生理功能代谢的油气微生物勘探新方法。【方法】采集新疆玛北油气藏区浅层地表土壤样品 45 份, 非油气藏区样品 25 份, 利用 BIOLOG 微平板, 测定微生物群落代谢活性, 采用判别分析模型判断油气藏区微生物异常。【结果】从 95 种碳源中, 筛选到 10 种能够体现油气藏区与非油气藏区土壤微生物群落结构差异的典型碳源, 利用判别函数对试验及对照区进行回判, 油气藏区判别正确率为 97.8%, 非油气藏区判别正确率为 100%, 总判别正确率为 98.6%。【结论】BIOLOG 技术能高效准确的用于油气藏初步勘测。

**关键词:** 土壤微生物群落, 油气勘探, BIOLOG 技术

中图分类号: Q93-3 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2012) 04-0505-07

利用常规方法勘探非构造圈闭型或隐蔽型油气藏的难度大, 成本高<sup>[1]</sup>, 微生物油气勘探作为近年出现的新技术, 以其直接、有效、快速且经济的特点, 倍受各国关注<sup>[2]</sup>。

石油和天然气是众多微生物的能量来源, 在其运移、聚集和形成的漫长过程中与微生物有着密切联系<sup>[3]</sup>, 其中的短链烃及甲烷渗流作用使部分好氧和厌氧微生物生长繁殖, 造成油气藏近地表土壤菌群的高异常密度<sup>[4]</sup>, 据此特征可预测下伏油气藏的存在<sup>[5]</sup>。

近地表土壤油气指示微生物主要采用可培养法<sup>[6-8]</sup>、基因探针<sup>[9]</sup>、实时定量 PCR (RT-PCR) 及克隆文库法<sup>[10]</sup>等进行检测, 通过菌群数量可判定异常, 不足之处是忽略了油气藏区与非油气藏区近地表土壤微生物群落生理功能代谢的不同。微生物群落对碳源利用程度的差异可表征其生理特性<sup>[11]</sup>, 本研究旨在利用 BIOLOG 技术, 筛选出能够体现油气

藏区与非油气藏区土壤微生物群落结构差异的典型碳源, 建立判别函数, 对油气藏进行初步预测, 目前此项研究国内外未见公开报道。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 研究区概况及样品采集:**新疆玛北油气田位于准噶尔盆地西北缘斜坡地带, 油气藏埋藏深, 储量规模大且丰度低, 具有异常高压、低孔、特低渗、储层非均质性强的特点, 是目前新疆油气公司最大的难采储区之一<sup>[12]</sup>。根据新疆西北石油局提供的资料, 确定样品采集地域。如图 1 所示: a (45°58'24N, 85°52'01E), b (45°59'56N, 85°54'43E), c (45°55'39N, 85°53'43E), d (45°58'82N, 85°56'95E) 标示区域为油气藏区, e (45°51'32N, 85°41'87E), f (45°51'67N, 85°40'16E), g (45°50'07N, 85°41'92E), h

基金项目: 新疆特殊环境微生物实验室开放课题 (XJYS0203-2010-08)

\* 通信作者。Tel: +86-991-4521590; E-mail: loukai02@mail.tsinghua.edu.cn

作者简介: 廖先燕 (1985-) 女, 新疆人, 硕士研究生, 主要从事特殊生境环境微生物研究。E-mail: liaoxianyan@gmail.com

收稿日期: 2011-11-06; 修回日期: 2012-01-21

(45°50'93N, 85°40'28E) 标示区域为非油气藏区, 均属于新疆干旱荒漠地带, 地表形态为戈壁滩, 无植被覆盖, 无动物出没痕迹, 人迹罕至。两采样地均采取 1 km × 1 km 网格划分, 油气藏区采样面积为 45 km<sup>2</sup>, 非油气藏区为 25 km<sup>2</sup>, 采样深度为 1 m, 无菌聚乙烯样品袋 4℃ 密封保存。共取得油气藏区地表浅层土壤样品 45 个, 非油气藏区样品 25 个, 大部分土壤样品为砂黏土。



图 1 样品采集区示意图

Fig. 1 Sketch map of sample collection area.

**1.1.2 BIOLOG 板:** BIOLOG 革兰氏阴性板 (BIOLOG GN2 MicroPlate™) 购自美国 BIOLOG 公司 (BIOLOG, Hayward, USA), 含有 95 种碳源, 分为 6 大类: 糖类 (carbohydrates) 30 种、羧酸类 (carboxylic acids) 24 种、氨基酸类 (amino acids) 20 种、胺/ 氨类 (amines / amides) 6 种、聚合物类 (polymers) 5 种和其他类 (miscellaneous) 10 种。

**1.1.3 主要仪器设备:** BIOLOG 微生物自动分析系统 (BIOLOG MicroStation™, USA)、生化培养箱 (LRH-250A 广东省医疗器械厂)、摇床 (THZ-C-1 中科院新疆仪器厂)。

**1.2 油气藏与非油气藏土壤微生物群落代谢活性测定**

采用 BIOLOG GN2 板测定。称取 10 g 土壤于 250 mL 三角瓶中, 加入 90 mL 无菌去离子水, 4℃ 下充分振荡 1 h, 静置 3 min 后用 8 道加样枪直接接种于 BIOLOG GN2 板 (150 μL/孔), 置于 25℃ 培养 10 d, 每隔 24 h 测定 590 nm 处的光密度值, 直至光密度值稳定为止。

**1.3 孔平均颜色变化率 (Average Well-Color Development, AWCD)**

采用孔平均颜色变化率 (AWCD) 测定土壤微生物

利用单一碳源的能力。AWCD 的计算公式:  $AWCD = \sum (C_i - R) / 95$ , 式中,  $C_i$  为各反应孔在 590 nm 下的光密度值;  $R$  为 GN2 板对照孔 A1 的光密度值;  $C_i - R$  小于零的孔, 计算中记为零, 即:  $C_i - R \geq 0$ <sup>[13]</sup>; 每种碳源反应孔的平均颜色变化率  $AWCD_i = C_i - R$ , 代谢指纹图谱中  $AWCD_i$  为 3 次重复平均值。

#### 1.4 数据处理

实验数据采用 Excel (V2003)、SPSS (V17.0) 进行分析。

利用单个样本 Kolmogorov-Smirnov 检验, 对 BIOLOG GN2 板 95 种数值型碳源因子是否呈正态分布进行分析, 经检验  $p < 0.05$ , 所得数据符合正态分布。

利用非参数估计中的 2 个独立样本 Mann-Whitney U 检验, 对 BIOLOG GN2 板的 95 种数值型碳源因子的差异进行分析。

采用逐步判别分析对 BIOLOG GN2 板 95 种碳源因子进行分析, 以确定影响油气藏区与非油气藏区微生物差异的关键碳源, 建立判别函数, 对所有样品的类别进行回判, 准确率/% = 判别正确的样品数 / 实测样品数 × 100%。

## 2 结果和分析

**2.1 油气藏与非油气藏土壤微生物碳源利用的 BIOLOG 分析**

**2.1.1 平均颜色变化率 (AWCD):** AWCD 可反映土壤微生物群落利用不同碳源的整体能力及活性, AWCD 增加越快表明微生物群落代谢活性越高<sup>[13]</sup>。在整个培养期间 (9 d), 油田区样品 AWCD 从 24 h 后开始逐渐增加, 在 6 d 后趋于稳定 (图 2); 非油田

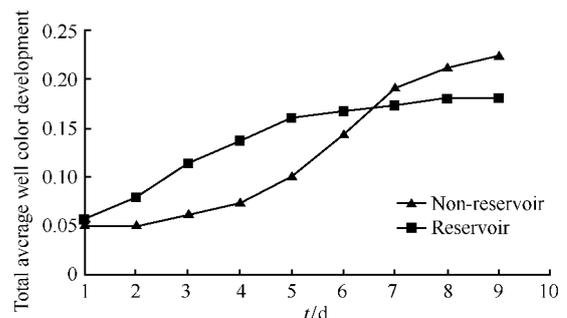


图 2 在 9 天的培养期间总平均颜色变化率

Fig. 2 Changes of total average well color development (AWCD) during 9d incubation.

区样品在前 2 d 无明显变化,碳源基本未被利用,3 d 后迅速升高,表明微生物群落开始大幅度利用碳源,7 d 后趋于稳定。在 9d 培养期间,两样品 *AWCD* 在 4d 均处于对数生长期(图 2)。因此,后续采用 4 d 的光密度值进行统计分析。

**2.1.2 油气藏与非油气藏土壤微生物对单一碳源利用的差异:**对 BIOLOG GN2 板 95 种碳源 96h 光密度值的 Mann-Whitey U 检验表明,油气藏区与非油气藏区土壤微生物对糖原、吐温-80、D-半乳糖、L-丙氨酸、苯基乙胺、甘氨酸基-L-天冬酰胺酸、L-鸟氨酸、D-丝氨酸、L-丝氨酸、D,L-肉碱、次黄嘌呤核苷、嘧啶核苷、胸腺嘧啶核苷、甘油、D,L, $\alpha$ -磷酸甘油酯、 $\alpha$ -D-1-磷酸葡萄糖、6-磷酸葡萄糖等的利用差异极显著( $p < 0.001$ ) (表 1)。

**2.1.3 油气藏与非油气藏土壤微生物利用碳源的类型:**基于土壤微生物群落组成不同,必然导致其利用同一类型碳源能力存在差异,因此本研究对油气藏区与非油气藏区土壤微生物利用 BIOLOG GN2 板每一类型碳源的 96h 平均光密度值在六大碳源中所占的比例进行分析(图 3)。结果显示,油气藏土壤微生物以聚合物类、胺/氨类和其他类为主要代谢碳源,而非油气藏土壤微生物以聚合物类、羧酸类和糖类为主要代谢碳源。两者对聚合物类和氨基酸类碳源的代谢能力变化不大。

## 2.2 判别因子选择及判别函数建立

以 BIOLOG GN2 板 95 种碳源光密度值进行逐步判别函数分析。根据 Wilks'  $\lambda$  检验分析发现  $\lambda$  值总体趋向“0”,说明油气藏区与非油气藏区土壤样品在各个变量上的均值不相等,具有分类学意义。有 10 种碳源因子 F 检验的概率小于 0.001 (表 2),能显著区分油气藏区和非油气藏区微生物群落的差异,贡献大小依次是丁二酸、糊精、6-磷酸葡萄糖、D,L-乳酸、甲基琥珀酸酯、嘧啶核苷、D-密二糖、 $\alpha$ -酮基奶油酸、N-乙酰基-D-葡萄糖胺和癸二酸。

根据判别因子种类及其典型函数系数(表 2),建立油气藏和非油气藏的判别函数方程如下:式中 D 为各样品判别得分值, $x$  代表判别因子(碳源)在 96h 的光密度值。

$$D = 5.421x_1 - 10.184x_2 - 12.354x_3 + 4.615x_4 \\ - 12.100x_5 + 7.183x_6 + 6.563x_7 + 6.672x_8 \\ - 6.651x_9 + 5.214x_{10} + 0.007$$

由油气藏和非油气藏判别函数的特征根及判别

指数可知(表 3),该函数能够很好的分辨出油气藏区与非油气藏区两个类别。经 Wilks' Lambda 检验,统计量  $\chi^2$  的显著性概率  $< 0.001$ ,说明根据十种碳源因子所建立的判别函数的判别能力极显著。

## 2.3 油气藏和非油气藏判别函数的回判验证

判别函数建立后,还须给出一定的判别准则。将样本的指标值代入判别函数中,比较两类别的判别得分组均值,可判断 1 个样品的归属<sup>[14]</sup>。为了验证判别函数的准确率,分别将判别函数选择的油气藏区与非油气藏区 10 种碳源 96h 光密度值代入判别函数,油气藏区的判别得分组均值为 1.481,有 1 个样品被错判为非油气藏,正确率为 97.8% (图 4);非油气藏区的判别得分组均值为 -2.665,正确率为 100%;因此,该模型总判别正确率为 98.6%。

## 3 讨论

利用 BIOLOG 法测定微生物群落对不同碳源的利用能力,可表征其群落生理代谢,但该方法存在选择性培养问题,只有能够利用微孔板碳源的菌群才能得到反映<sup>[15]</sup>。有研究表明绝大多数烃类降解菌都是革兰氏阴性菌<sup>[16-17]</sup>,而本研究选用的 BIOLOG GN2 板可鉴定革兰氏阴性菌,包含的碳源适用于此类微生物<sup>[15]</sup>,发现其能较全面区分油气藏区和非油气藏区微生物群落组成差异。

油气藏区与非油气藏区土壤微生物对糖原、吐温-80、D-半乳糖等 17 种碳源因子的利用能力上差异极显著(表 1),同时逐步判别分析的结果(表 2)也表明油气藏与非油气藏土壤微生物对碳源的选择存在较大差异。这验证了我们的预测,油气藏近地表土壤微生物的高度异常,即与非油气藏区近地表土壤微生物群落组成的差异,必然导致其对碳源的利用存在显著不同。

油气藏上层土壤中高异常密度的微生物除能利用短链碳化合物、醇、醛和一些甲基类营养物外,还包括能代谢多糖和单糖类的菌群<sup>[5]</sup>,此类菌对氨氧化有较大贡献<sup>[18]</sup>。羧酸类物质作为其中间代谢产物,可被其进一步氧化为  $\text{CO}_2$  释放<sup>[19]</sup>。本研究油气藏与非油气藏土壤样品中微生物对糖类、胺/氨类、羧酸类和其他类碳源的代谢能力差异较大,表明了其群落结构的不同,从而可判断油气微生物异常。

表1 油气藏与非油气藏土壤微生物利用单一碳源的比较

Table 1 Comparison of reservoir and non-reservoir soil microorganisms using single carbon source

Carbon source factors	Reservoir		Non-reservoir		Mann-WhiteyU tests z	p
	OD <sub>590</sub> /45	SD	OD <sub>590</sub> /25	SD		
<b>Polymers</b>						
α-Cyclodextrin	0.12209	0.152404	0.03704	0.041117	-2.155	0.031 <sup>+</sup>
Glycogen	0.24593	0.219562	0.04674	0.037698	-4.836	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
tween-40	0.22321	0.185506	0.10324	0.159018	-3.335	0.001 <sup>**</sup>
tween-80	0.20897	0.201822	0.06320	0.075556	-3.572	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
<b>Carbohydrates</b>						
L-Arabinose	0.15480	0.184213	0.07030	0.103050	-2.149	0.032 <sup>+</sup>
D-Galactose	0.19049	0.160803	0.05866	0.072375	-4.236	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
m-Inositol	0.19711	0.173176	0.07854	0.094187	-3.234	0.001 <sup>**</sup>
Lactulose	0.11121	0.130059	0.06994	0.154405	-2.945	0.003 <sup>**</sup>
D-Mannose	0.14299	0.160700	0.10140	0.158092	-2.064	0.039 <sup>+</sup>
D-Melibiose	0.03730	0.074716	0.03958	0.043276	-2.426	0.015 <sup>+</sup>
D- Psicose	0.12980	0.137865	0.04528	0.031886	-2.619	0.009 <sup>**</sup>
Pyruvic Acid - Methyl Ester	0.14616	0.155178	0.08636	0.141812	-2.361	0.018 <sup>+</sup>
Succinic Acid Mono - Methyl Ester	0.18568	0.174492	0.07994	0.111888	-2.510	0.012 <sup>+</sup>
<b>Carboxylic acids</b>						
Citric Acid	0.14356	0.169495	0.04938	0.084694	-2.489	0.013 <sup>+</sup>
Formic Acid	0.10051	0.153021	0.00994	0.015472	-3.293	0.001 <sup>**</sup>
D-Glucosaminic Acid	0.23836	0.202883	0.07874	0.060847	-3.389	0.001 <sup>**</sup>
α-Ketovaleric Acid	0.20632	0.190372	0.09042	0.078227	-2.282	0.022 <sup>+</sup>
Propionic Acid	0.21761	0.202480	0.06688	0.108179	-3.398	0.001 <sup>**</sup>
Sebacic Acid	0.16449	0.180832	0.06560	0.100785	-2.197	0.028 <sup>+</sup>
Bromosuccinic Acid	0.22912	0.246450	0.08564	0.099874	-2.209	0.027 <sup>+</sup>
<b>Amines / Amides)</b>						
Succinamic Acid	0.14430	0.150974	0.05308	0.031201	-2.936	0.003 <sup>**</sup>
Glucuronamide	0.15568	0.158088	0.04430	0.041892	-3.190	0.001 <sup>**</sup>
L-Alaninamide	0.17842	0.171636	0.04138	0.045519	-4.764	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
Phenylethyl-amine	0.24590	0.196635	0.05810	0.060048	-4.808	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
Putrescine	0.19112	0.192942	0.04454	0.068071	-3.076	0.002 <sup>**</sup>
<b>Amino acids</b>						
D-Alanine	0.16499	0.146343	0.07540	0.066358	-2.740	0.006 <sup>**</sup>
L-Alanine	0.17883	0.158454	0.07378	0.055859	-3.163	0.002 <sup>**</sup>
L-Alanyl-Glycine	0.14628	0.146194	0.05036	0.067272	-3.249	0.001 <sup>**</sup>
L-Asparagine)	0.16300	0.170435	0.06630	0.072169	-2.499	0.012 <sup>**</sup>
L-Aspartic Acid	0.22831	0.214833	0.10042	0.145574	-3.318	0.001 <sup>**</sup>
L-Glutamic Acid	0.15120	0.171515	0.06770	0.137204	-2.472	0.013 <sup>**</sup>
Glycyl-L-Aspartic Acid	0.21044	0.179058	0.08298	0.106230	-3.500	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
Glycyl-L-Glutamic Acid	0.13643	0.140012	0.05502	0.098784	-3.031	0.002 <sup>**</sup>
Hydroxy-L-Proline	0.12306	0.115398	0.07432	0.083440	-2.158	0.031 <sup>+</sup>
L-Ornithine	0.15150	0.145436	0.03814	0.039802	-4.479	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
L-Phenylalanine	0.14414	0.155335	0.04470	0.056305	42.750	0.006 <sup>**</sup>
L-Proline	0.17349	0.169087	0.06992	0.083790	-2.994	0.003 <sup>**</sup>
L-Pyroglutamic Acid	0.15703	0.167659	0.06332	0.068446	-2.498	0.012 <sup>+</sup>
D-Serine	0.20783	0.223794	0.03998	0.048644	-3.856	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
L-Serine	0.22546	0.181271	0.09696	0.165502	-3.826	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
L-Threonine	0.15739	0.185340	0.06294	0.102922	-3.361	0.001 <sup>**</sup>
D,L-Carnitine	0.20293	0.173761	0.06386	0.101180	-4.092	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
γ-Aminobutyric Acid	0.14641	0.160641	0.06038	0.107346	-2.722	0.006 <sup>**</sup>
<b>Miscellaneous</b>						
Inosine	0.22722	0.211948	0.05296	0.052053	-4.989	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
Uridine	0.24330	0.195790	0.05282	0.038856	-5.087	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
Thymidine	0.15197	0.196232	0.01232	0.028723	-3.870	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
2-Aminoethanol	0.16473	0.195199	0.03526	0.063529	-2.479	0.013 <sup>+</sup>
2,β-Butanediol	0.19461	0.195933	0.05732	0.053785	-3.066	0.002 <sup>**</sup>
Glycerol	0.22941	0.177006	0.08632	0.159858	-4.297	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
D,L α-Glycerol Phosphate	0.24008	0.219380	0.08774	0.111945	-3.672	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
α-D-Glucose-1-Phosphate	0.23571	0.194118	0.07106	0.081549	-3.900	<b>0.000</b> <sup>***</sup>
D-Glucose-6-phosphate	0.23339	0.189831	0.06796	0.097958	-4.416	<b>0.000</b> <sup>***</sup>

① Sample sizes were n = 45 for reservoir and n = 25 for non-reservoir; ② Significant p values: <sup>+</sup> p < 0.05, <sup>\*\*</sup> p < 0.01, <sup>\*\*\*</sup> p < 0.001

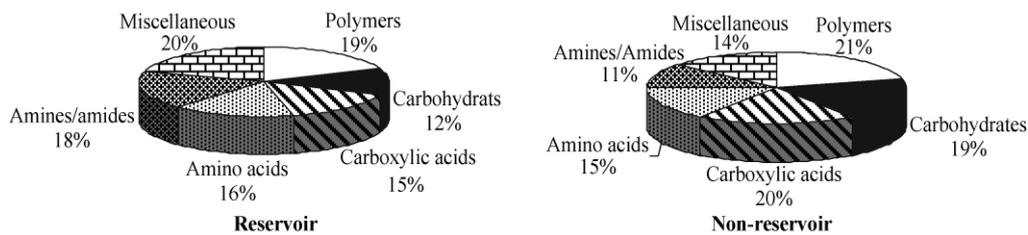


图 3 油气藏与非油气藏土壤微生物利用碳源类型

Fig. 3 Carbon source types of reservoir and non-reservoir soil microorganisms utilized.

表 2 BIOLOG GN2 板碳源的逐步判别分析

Table 2 Stepwise discrimination model of BIOLOG GN2 carbons

Discriminant Factor (carbon source)	Carbon source types	Wilks' $\lambda$	F	P	Contribute value	Canonical coefficients
X <sub>1</sub> Uridine	Miscellaneous	0.747	8.765	0.000	0.863	5.421
X <sub>2</sub> Dextrin	polymers	0.566	46.153	0.000	-1.476	-10.184
X <sub>3</sub> D-Melibiose	Carbohydrates	0.489	10.575	0.000	-0.808	-12.354
X <sub>4</sub> Sebacic Acid	Carboxylic acids	0.394	9.079	0.000	0.726	4.615
X <sub>5</sub> Succinic Acid	Carboxylic acids	0.351	29.431	0.000	-1.856	-12.100
X <sub>6</sub> D-Glucose-6-phosphate	Miscellaneous	0.293	18.655	0.000	1.174	7.183
X <sub>7</sub> $\alpha$ -Ketobutyrid Acid	Carboxylic acids	0.258	8.702	0.000	0.806	6.563
X <sub>8</sub> Succinic Acid Mono-Methyl Ester	Carbohydrates	0.240	8.995	0.000	1.036	6.672
X <sub>9</sub> D, L-Lactic Acid	Carboxylic acids	0.218	10.561	0.000	-1.046	-6.651
X <sub>10</sub> N-Acetyl-D-Galactosamine	Carbohydrates	0.198	6.256	0.000	0.767	5.214
Distant	/	/	/	/	/	0.007

表 3 典型判别函数的判别指数

Table 3 Discriminator index of canonical discriminant function

Eigenvalue	Variance / %	Cumulative / %	Canonical Corr	Wilks' $\lambda$	Chi-square ( $\chi^2$ )	Sig.
4.062	100.0	100.0	0.896	0.198	102.170	0.000

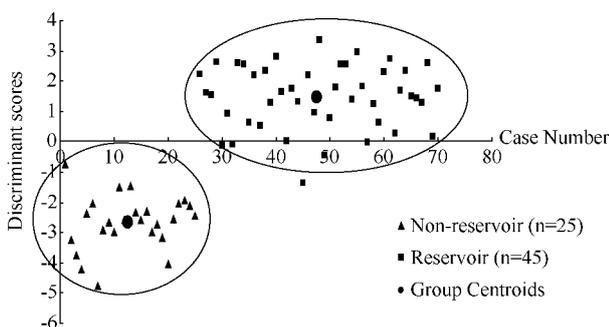


图 4 油气藏区与非油气藏区样品判别结果

Fig. 4 Discriminate results of reservoir and non-reservoir samples.

油气微生物勘探技术将油气异常微生物菌群的定量检测<sup>[6-9]</sup>与地球化学方法综合应用,建立模型,预测下伏地层是否存在油气藏及其属性<sup>[20]</sup>。本文利用 BIOLOG 微平板,从 95 种碳源筛选出 10 种能够体现油气藏区与非油气藏区土壤微生物群落结构差异的典型碳源,建立判别函数并对试验及对照区进行回判,总回判准确率为 98.6%,表明基于

BIOLOG 法建立的异常油气微生物判别函数模型能够高效、快速、经济的对油气藏进行初步预测。

本研究区域属于新疆干旱荒漠地带,对其它生境油气藏则需利用 BIOLOG 数据建立各自判别模型,才能获得较好应用效果。

### 参考文献

[1] 袁志华,李雪. 油气微生物勘探方法及其应用. 物探与化探 (*Geophysical and Geochemical Exploration*), 2007, 31 (2): 157-159.

[2] 胡国全,张辉,邓宇,尹小波,张敏. 微生物法在油气勘探中的应用研究. 应用与环境生物学报 (*Chinese Journal of Applied Environmental Biology*), 2006, 12 (6): 824-827.

[3] Ehrlich HL. *Geomicrobiology*. 4th ed. New York: Rensselaer Polytechnic Institute Troy, 1995, 121-122.

[4] Hubert C, Judd A. Using Microorganisms as Prospecting Agents in Oil and Gas Exploration // Timmis KN.

- Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology. 1<sup>st</sup> ed. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2010: 2714-2725.
- [ 5 ] Wagner M , Piske J , Wagner M , Smit R. Case Histories of Microbial Prospecting for Oil and Gas , Onshore and Offshore in Northwest Europe // Schumacher D , Leschack LA. In surface exploration case histories: applications of geochemistry , magnetics , and remote sensing. 1st ed. University of California: *American Association of Petroleum Geologists and Society of Exploration Geophysicists* ,2002: 453-479.
- [ 6 ] Rasheed MA , Veena Prasanna M , Satish Kumar T , Patil DJ , Dayal AM. Geo-microbial prospecting method for hydrocarbon exploration in Vengannapalli Village , Cuddapah Basin , India. *Current Science* ,2008 ,95(3) : 361-366.
- [ 7 ] Yuan ZH , Zhang YQ , Zhao Q , Jiang HF , Liu ZH , Li X , Wang ST , Li B , Pan GH , Gao XY , Zhang GL. New progress of microbial prospecting of oil and gas in China: Taking the Satellite Oilfield in Daqing as an example. *Science in China Series D-earth Sciences* ,2009 ,52(1) : 152-158.
- [ 8 ] 金文标 ,姚建军 ,陈孟晋 ,高哲荣. 天然气微生物勘探指示菌的筛选. *天然气工业(Natural Gas Industry)* , 2002 ,22(5) : 20-22.
- [ 9 ] Kotler HK , Brakstad OG , Markussen S , Winnberg A. Use of petroleum biotechnology throughout the value chain of an oil company: an integrated approach. // Vazquez-Duhalt R , Quintero-Ramirez R. *Studies in Surface Science and Catalysis*. 1<sup>st</sup> ed. Amsterdam: Elsevier ,2004 ,151: 1-28.
- [10] Zhang F , She YH , Zheng Y , Zhou ZF , Kong SQ , Hou DJ. Molecular biologic techniques applied to the microbial prospecting of oil and gas in the Ban 876 gas and oil field in China. *Applied Microbiology and Biotechnology* ,2010 ,86: 1183-1194.
- [11] 王强 ,戴九兰 ,吴大千 ,余悦 ,申天琳 ,王仁卿. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析. *生态学报(Acta Ecologica Sinica)* ,2010 ,30(3) : 0817-0823.
- [12] 刘亚峰. 2010 油田家族: 西北缘卷. 克拉玛依: 新疆石油报社 ,2010 ,80-85.
- [13] Garland JL. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* ,1997 ,24(4) : 289-300.
- [14] 王贵斌 ,张作雄. 运用 SPSS 软件构建创业者核心素质判别模型. *科技管理研究(Research on Science-technology Management)* ,2011 ,05: 158-161.
- [15] Stefanowicz A. The Biolog Plates Technique as a Tool in Ecological Studies of Microbial Communities. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006 ,15(5) : 669-676.
- [16] Westlake DWS , Jobson A , Philippe R , Cooke FD. Biodegradability and crude oil composition. *Canadian Journal of Microbiology*. 1974 ,20: 915-928.
- [17] Vomberg A , Klinner U. Distribution of alkB genes within n-alkane-degrading bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 2000 ,89: 339-348.
- [18] O'Neill JG , Wilkinson JF. Oxidation of ammonia by methane-oxidizing bacteria and the effects of ammonia on methane oxidation. *General and Applied Microbiology*. 1997 ,100: 407-412.
- [19] 梁战备 ,史亦 ,岳进. 甲烷氧化菌研究进展. *生态学杂志(Chinese Journal of Ecology)* ,2004 ,23(5) : 198-205.
- [20] 梅海 ,林壬子 ,梅博文 ,Daniel H. 油气微生物检测技术: 理论、实践和应用前景. *天然气地球科学(Natural Gas Geoscience)* ,2008 ,19(6) : 888-893.

# A new method of microbial prospecting for oil and gas based on BIOLOG metabolic fingerprinting analysis

Xiyan Liao<sup>1,2</sup>, Tao Zhang<sup>1</sup>, Jun Zeng<sup>1</sup>, Jian Sun<sup>1</sup>, Wen Hu<sup>1,2</sup>, Kai Lou<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science and Technology of Xinjiang University, Urumqi 830046, China

<sup>2</sup>Institutes of Microbiology, Xinjiang Academy of Agriculture Science, Urumqi 830091, China

**Abstract:** [Objective] Establishing a new method of microbial prospecting for oil and gas based on microbial community metabolic function. [Methods] In this study, 45 shallow reservoir soil samples and 25 non-reservoir soil samples were collected. Carbon catabolic activity of the microbial community was measured by biolog microplate, and microbial anomaly of reservoir was judged by discriminant function. [Result] We screened 10 typical carbon sources of 95 carbon sources which could reflect the differences of reservoir and non-reservoir soil microbial community structure and made the validation test set to experimental zone and controlled zone samples using the discriminant function. The discriminate rate of reservoir and non-reservoir were 97.8% and 100% respectively and the overall accuracy was 98.6%. [Conclusion] Biolog technology provided a highly efficient and precise method for preliminarily predicting oil and gas reservoir.

**Keywords:** soil microbial community, oil and gas exploration, biolog technology

(本文责编:王晋芳)

Supported by the Open Project of the Key Lab of Microorganisms in Xinjiang Specific Environment (XJYS0203-2010-08)

\* Corresponding author. Tel/Fax: +86-991-4512590; E-mail: loukai02@mail.tsinghua.edu.cn

Received: 6 November 2011 / Revised: 21 January 2012

## 梅特勒-托利多

全新一代 FiveEasy Plus™ 系列台式仪表于 2012 年 3 月隆重上市!

新一代 FiveEasy Plus™ 系列产品包含 pH 计和电导率仪: FiveEasy Plus™ (FE20) 基础型台式 pH/mv/ORP 测量仪; FiveEasy Plus™ (FE30) 基础型台式电导率/TDS/盐度测量仪。了解更多关于 FiveEasy Plus™

FiveEasy Plus™ 系列仪表是 FiveEasy™ 系列的升级产品, 秉承了 Five 系列仪表设计简洁、性能可靠的优点, 并增加了 RS232 接口和数据存储功能, 使实验室 pH 和电导率测量更为便捷, 适用于教育、食品饮料、水处理和及其它各行各业。

选择 FiveEasy Plus™ 的 5 个理由:

1. 出色的性能, 高性价比:

(1) 具有自动锁定终点、自动校准、仪表自检等功能, 提高测量效率;

(2) 具有 RS232 接口, 可连接打印机;

(3) 可储存 99 组测量数据;

(4) pH 计可自动识别缓冲液、自动温度补偿, 可进行多达三点校准, 可连接参比电极, 作为简单离子计使用, 功能更灵活;

(5) 电导率仪可直接测量显示电导率、TDS 和盐度, 无需换算, 可自动判别量程, 分辨率自动可变, 操作更简便

2. 五个清晰简明的按钮: 可一键完成校准、测量、切换测量模式或数据管理, 简化操作流程

3. 清晰的显示屏: 可同时显示读数、温度、终点模式以及各种实用信息; 便于快速测量和校准

4. 各种实用附件: 如快速操作指南, 可帮助您迅速掌握仪表操作过程

5. 卓越的人体工程学设计, 友好的操作界面, 易学易用

