



内源微生物驱油及其对油藏微生物活动的影响

崔庆锋^{1,3*}, 俞理^{1,3}, 张群^{1,3}, 代学成², 王红波²

1 中国石油勘探开发研究院提高采收率研究中心, 北京 100083

2 中国石油新疆油田分公司实验检测研究院, 新疆 克拉玛依 834000

3 提高石油采收率国家重点实验室, 北京 100083

崔庆锋, 俞理, 张群, 代学成, 王红波. 内源微生物驱油及其对油藏微生物活动的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(6): 2173-2184.

CUI Qingfeng, YU Li, ZHANG Qun, DAI Xuecheng, WANG Hongbo. Indigenous microbial flooding and its influence on microbial activities in reservoirs[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(6): 2173-2184.

摘要: 【目的】新疆油田六中区为典型水驱普通稠油油藏, 水驱效果较差, 油藏具有丰富的内源微生物, 本研究通过分析内源微生物驱油对油藏微生物活动的影响, 确定内源微生物驱油技术在该类油藏的应用潜力。【方法】采用高通量测序及分析化学技术, 系统研究实施内源微生物驱油技术后油藏细菌群落结构组成、细菌总数和功能菌群的浓度以及采出液的流体性质, 总结内源微生物驱油对油藏微生物活动的影响。【结果】现场试验注入激活剂和空气后, 内源微生物被显著激活, 细菌群落结构发生明显变化, 细菌总数及功能菌群浓度普遍提高了2-3个数量级; 各种内源微生物代谢活动显著增强, 与地层流体相互作用后, 原油明显被乳化, 最终石油采收率提高5.2%。【结论】对于内源微生物较为丰富的水驱普通稠油油藏, 内源微生物驱油技术对油藏微生物活动的影响显著, 具有显著的技术优势和较大的应用潜力, 微生物群落结构、功能菌群浓度及其相关代谢产物可以作为评价内源微生物驱油现场激活效果的重要指标, 为其他内源微生物驱油现场试验提供技术参考。

关键词: 内源微生物驱油; 油藏微生物; 激活; 微生物活动; 提高采收率

资助项目: 中国石油科学研究与技术开发项目(2021DJ1605, 2021DJ1102)

This work was supported by the PetroChina Science Research and Technology Development Project (2021DJ1605, 2021DJ1102).

*Corresponding author. Tel: +86-10-83597100, E-mail: cuiqf69@petrochina.com.cn

Received: 2023-01-01; Accepted: 2023-03-03; Published online: 2023-03-11

Indigenous microbial flooding and its influence on microbial activities in reservoirs

CUI Qingfeng^{1,3*}, YU Li^{1,3}, ZHANG Qun^{1,3}, DAI Xuecheng², WANG Hongbo²

1 Research Center of Enhanced Oil Recovery, PetroChina Research Institute of Petroleum Exploration & Development, Beijing 100083, China

2 Research Institute of Experimental Detection, PetroChina Xinjiang Oilfield Company, Karamay 834000, Xinjiang, China

3 State Key Laboratory of Enhanced Oil Recovery, Beijing 100083, China

Abstract: **[Objective]** The Liuzhong area of Xinjiang Oilfield is a typical ordinary heavy oil reservoir with poor water flooding effect and rich indigenous microorganisms. We studied the application potential of indigenous microbial flooding in this reservoir by analyzing the impact of indigenous microbial flooding on the microbial activities in the reservoir. **[Methods]** During the implementation of indigenous microbial flooding, we employed high-throughput sequencing and the techniques of analytical chemistry to systematically determine the microbial community structure, total bacterial count, number of functional microorganisms, and properties of the produced fluid. **[Results]** The injection of the activator and air into the reservoir in the field test significantly activated the indigenous microorganisms, changed the bacterial community structure, and increased the number of total bacteria and functional bacteria by 2–3 orders of magnitude. Moreover, it significantly enhanced the metabolic activities of indigenous microorganisms. After interaction with formation fluid, the crude oil was obviously emulsified, and the oil recovery was finally improved by 5.2%. **[Conclusion]** Indigenous microbial flooding significantly affects the microbial activities in the water drive ordinary heavy oil reservoirs with abundant indigenous microorganisms, demonstrating significant technical advantages and great application potential. The microbial community structure, number of functional microorganisms, and concentrations of related metabolites can be used as indicators to evaluate the on-site activation effect of indigenous microbial flooding. The findings of this study provide technical reference for other on-site experiments of indigenous microbial flooding.

Keywords: indigenous microbial flooding; reservoir microorganism; activation; microbial activity; enhanced oil recovery

随着社会经济的快速发展,作为人类现代社会的动力燃料、化工原料和重要战略物资,石油的需求量与日俱增。目前,我国大部分油田都采用注水增加油藏能量的开发方式。油藏经过长期注水开发后,因注入水会携带氧气及营养物质进

入油藏储层,从注水井的有氧地带逐渐到油藏深部的少氧地带和无氧地带,会形成由腐生菌(saprophytic bacteria, TGB)、烃氧化菌(hydrocarbon oxidizing bacteria, HOB)、厌氧发酵菌(anaerobic fermentation bacteria, FMB)、硝酸盐

还原菌(nitrate reducing bacteria, NRB)、硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)和产甲烷菌(methanogenic bacteria, PMB)等组成且相对稳定的内源微生物群落^[1-3]。

内源微生物驱油技术以油藏内源微生物为基础, 在注入水中加入激活剂和空气, 激活地层中已有的内源微生物, 利用菌体和代谢产物的综合作用来提高石油采收率^[4]。注水井周围的好氧菌和兼性厌氧菌被激活后, 利用原油组分生成醇类、脂肪酸、表面活性剂和多糖等代谢产物^[5], 它们作为驱油剂驱替原油, 同时也作为底物梯次激活油层深部严格厌氧菌, 油藏中厌氧的产甲烷菌等被激活后, 产生 CH_4 、 CO_2 和其他产物(图 1)^[6]。多种内源微生物及其代谢产物共同与岩石和流体相互作用, 改善油水界面性质、提高原油流动性能和储层动用程度, 从而提高石油采收率^[7]。由于该技术可利用油田已有的注水系统, 不需要微生物地面发酵装置, 因此具有工艺简单、绿色环保、投入产出比高等显著优点^[8-9]。

新疆油田六中区为典型水驱普通稠油油藏,

地层原油黏度高达 80 mPa.s, 由于油水流动度比差异大, 导致油藏水淹水窜严重, 水驱效果较差, 区块平均采出程度仅为 19.25%, 而区块综合含水已达 75.7%。六中区油藏平均温度为 21 °C, 地层水矿化度为 6 320.20–10 444.53 mg/L, 适宜微生物繁殖代谢; 而且早期油藏内源微生物普查表明该油藏存在丰富的内源微生物, 具有很好的内源微生物驱油潜力。不同于国内外已开展的中高温内源微生物驱油油藏^[10-11], 六中区属于低温油藏, 目前对该类油藏的内源微生物群落和油藏内微生物活动缺乏了解, 因此具有独特的研究价值。为解决该油藏上述开发存在的问题、评价内源微生物驱油在该类油藏的应用潜力, 在六中区开展内源微生物驱油现场试验, 周期性注入筛选优化的激活剂和空气, 采用分子生物学及分析化学技术, 系统研究现场试验前后油藏细菌群落结构组成、细菌浓度和功能菌群的浓度变化, 以及现场试验后地层流体的变化情况, 分析内源微生物驱油对油藏微生物活动的影响, 为内源微生物驱油技术的现场效果评价和在同类油藏技术推广应用提供技术参考。

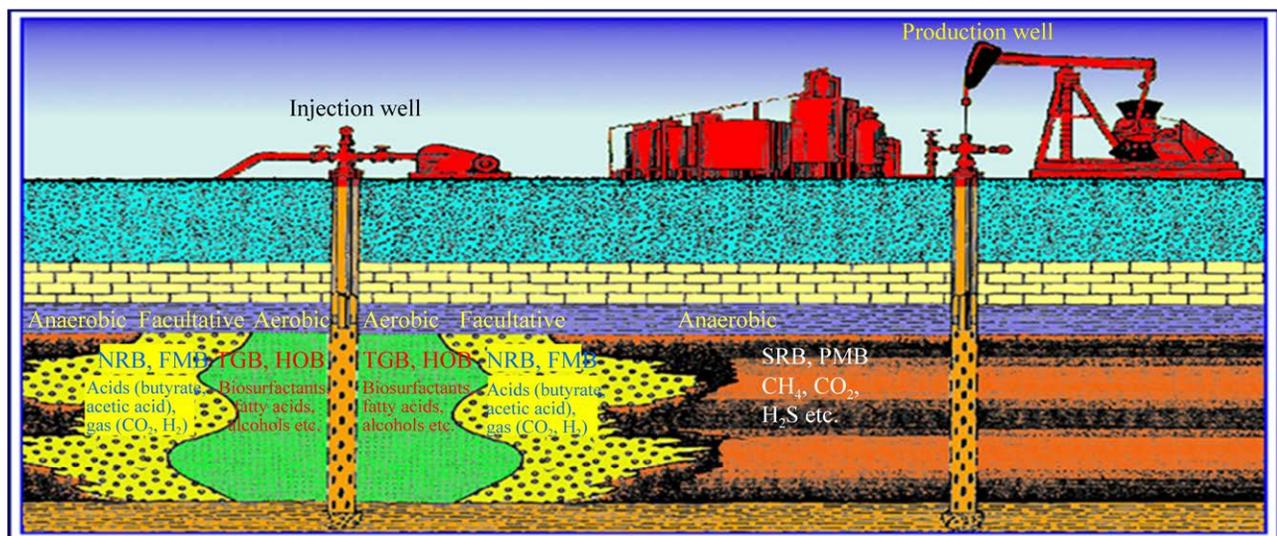


图 1 内源微生物驱油机理图

Figure 1 Mechanism of indigenous microbial flooding.

1 材料与amp;方法

1.1 材料和设备

1.1.1 材料

新疆油田六中区四注七采试验井组(油藏温度 21 °C, 油层深度 480 m, 地层压力 7.2×10^6 Pa, 井距 125 m); 试验井组中心油井采出液, 水质分析结果见表 1。

现场用激活剂组分为有机碳源、硝酸盐和磷酸盐, 稀释后以注入速度为 20–30 m³/d 同时在 4 口注水井注入, 总注入激活剂 1.56×10^4 m³ 和空气 6.20×10^4 m³ (气液比为 4:1)。

1.1.2 设备和仪器

现场用注水泵、空气压缩机、普瑞奇真空抽滤装置、电感耦合等离子体发射光谱仪 ICP-900 (N+M) 和 Biodrop 超微量蛋白核酸分析仪购自 Thermo 公司; My Cyclor 梯度 PCR 仪、GelDoc 2000 凝胶成像系统购自 Bio-Rad 公司。

1.2 样品采集

采用 10–25 L 干净无菌容器, 在油藏油井的井口采集地层油水样, 在水井对应的注水站采集注入水水样。采样前打开井口采样阀, 使液体畅流 15–20 L, 采样时使样品充满采样容器, 立即封口; 采集地层气体样品时从采样套管连接管线, 采集气体于钢瓶。在样品容器上标注采样类别、名称、采样点、时间及采样人。采样后在 4 h 内对样品进行预处理, 或者在 4 °C 下保藏样品, 并在 72 h 内对样品进行预处理。现场试验前样品分别取样 3 次, 现场试验后定期采集采出液和气体进行分析。

1.3 样品预处理及基因组 DNA 提取

将样品油水分离后, 使用真空抽滤装置及

0.22 μm 水系滤膜得到菌体; 将菌体反复洗涤后进行 DNA 提取, 提取方法参见细菌基因组提取试剂盒说明书; 提取后得到的 DNA 使用 BioDrop 超微量蛋白核酸分析仪进行 DNA 浓度检测, 对质检合格的 DNA 样品送样, 完成高通量测序。

1.4 高通量测序

对试验前后中心油井采出液样品 DNA, 使用细菌通用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3') 进行细菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增^[12] 后, 使用 Illumina HiSeq 测序平台进行测序。根据测序结果, 得到样品细菌的群落结构组成。

1.5 功能菌及功能基因定量分析

应用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)^[13] 检测驱替液中细菌浓度与烃氧化菌 (hydrocarbon-oxidizing bacteria, HOB) 的浓度变化。其中, 使用引物 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 338R (5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3')^[14] 对样品 DNA 进行细菌 16S rRNA 基因进行扩增, 使用引物 *alkB*wf (5'-AAAYCANGCNCAYGARCT NGGVCAYAA-3') 和 *alkB*wr (5'-GCRTGRTGRTC HGARTGNCGYTG-3') 对烷烃羟化酶基因 *alkB* 进行扩增。硝酸盐还原菌 (nitrate-reducing bacteria, NRB) 和硫酸盐还原菌 (sulfate-reducing bacteria, SRB) 的丰度变化通过细菌测试瓶法检测。测试瓶检测是利用绝迹稀释原理对细菌进行定量的一种方法, 通过将样品在测试瓶中进行逐步稀释, 每个稀释度设 3 个平行, 用格里斯和二苯胺试剂检测 NRB 是否生长, 观察在不同稀释度下

表 1 六中区采出液离子组成

Table 1 Ionic compositions of formation water in 6-middle block

Sample	Na ⁺ +K ⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	HCO ₃ ⁻ (mg/L)	pH	Salinity (mg/L)	Water type
T6190 formation water	3 419.92	36.43	60.07	3 693.44	208.20	2 817.02	7.68	10 235.07	NaHCO ₃

SRB 是否生成 FeS 黑色沉淀, 按照 3 次重复测数统计表计算 NRB 和 SRB 的具体数量。

1.6 地层水离子组分及气体组分分析

应用离子色谱技术和电感耦合等离子体发射光谱技术分析中心油井采出液的阴、阳离子组成。气体组分分析按 GB/T 17623 执行; 甲烷碳同位素分析按 GB/T 18340.2 执行。

1.7 采出原油状态分析

现场试验前后, 定期采集中心油井采出液, 观察其采出原油状态, 并采用光学显微镜观察采出液中原油的乳化状态。

2 结果与分析

2.1 试验前后细菌群落结构分析

高通量测序实验结果比对到属(图 2), 可以看出, 在试验前中心油井采出液中, 细菌主要有 18 个属, 其总的相对丰度为 88.07%。其中, 优势菌属为弓形杆菌属(*Arcobacter*)、反硝化短枝单胞菌属(*Brachymonas*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*), 所占丰度分别高达 33.61%、

12.35%和 12.16%; 其次为未培养菌(*uncultured*)、*Spirochaeta*、*Sulfurimonas* 和 *Sulfurospirillum*, 所占丰度分别为 8.96%、6.54%、6.08%和 5.07%。它们主要以变形菌门(*Proteobacteria*)为主, 这和之前的报道^[15]结果一致, 在较浅的低温、微氧的深地环境中, 细菌往往以变形菌门为主。其中, 假单胞菌在中低温油藏环境下极为常见, 和其生长适应能力强、可利用底物种类多有关。*Sulfurospirillum*、*Sulfurimonas* 可同时利用硫化物及硝酸盐、亚硝酸盐, 它们所占丰度较高和地层水中含有较高浓度硫酸根有关。

开展现场试验 180 d 后, 中心油井采出液中细菌群落结构发生明显变化(图 2), 细菌总体的多样性降低, 这显然和注入的激活剂更有利于某些细菌生长繁殖、使其成为优势菌群有关。在优势细菌中, 所占丰度变化较大的主要有弓形杆菌属(*Arcobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和陶厄氏菌属(*Thauera*)。其中, 弓形杆菌属(*Arcobacter*)所占丰度由试验前的 33.61%降到了 11.20%, 而假单胞菌属(*Pseudomonas*)和陶厄氏

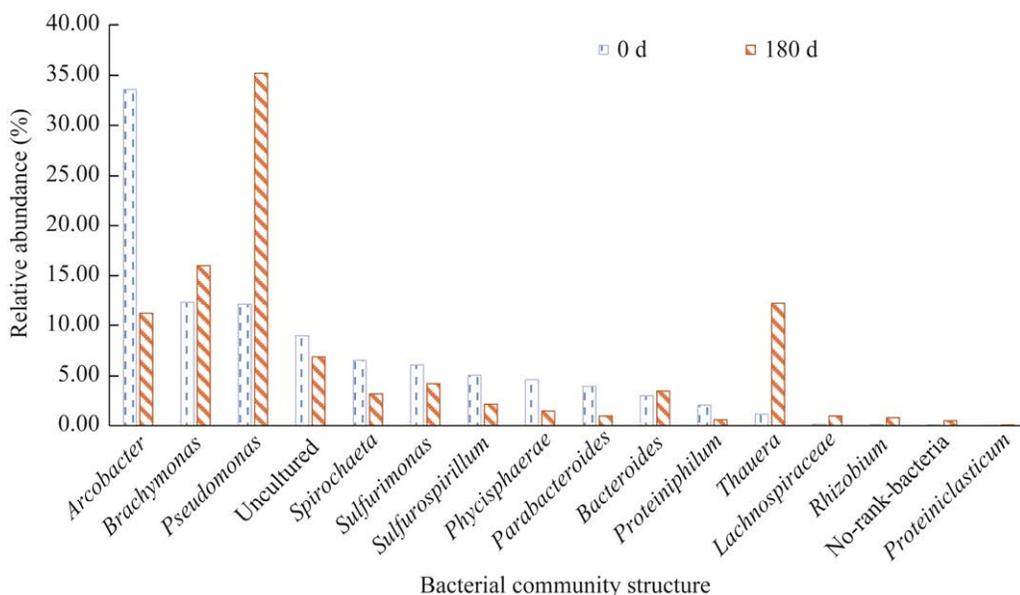


图 2 试验前后中心油井采出液细菌群落结构组成

Figure 2 Composition of bacterial community structure in the produced liquid before and after the test.

菌属(*Thauera*)所占丰度则由试验前的 12.16%、2.05%分别上升到了 35.21%和 12.25%。总体而言,内源微生物驱油现场试验在地层内注入含有有机碳源、硝酸盐和磷盐的激活剂和空气后,显著改变了细菌群落结构,弓形杆菌属所占丰度显著降低,而假单胞菌属、陶厄氏菌属等被显著激活,所占丰度明显升高。

2.2 功能菌及功能基因定量分析

采用绝对定量的方法,对采出液中的细菌浓度、HOB、NRB 和 SRB 浓度进行定量。细菌的浓度变化能够反映激活剂对细菌的整体激活效果,HOB 是烃降解菌,在油藏内部可以利用原油烃等组分生长代谢^[16],生成生物表面活性剂和生物乳化剂改变原油的流动性^[17],同时会将烃类物质降解成小分子有机酸、乙醇和脂肪酸等物质;NRB 可以利用激活剂中的硝酸盐,并代谢产生小分子有机酸、有机溶剂以及 H₂和 CO₂等气体^[18];SRB 可以将硫酸盐、亚硫酸盐和硫代硫酸盐等还原为 H₂S,从而在采油过程造成多方面危害^[19]。因此,通过这 4 种功能菌

的浓度变化可以看出激活剂对内源微生物的激活效果。试验前后中心油井采出液功能菌及功能基因定量分析结果如图 3 所示。由图 3 可知,在注入激活剂后,中心油井采出液中细菌浓度、HOB、NRB 和 SRB 浓度都得到了明显的提升。不同采样时间的细菌浓度均大于 10⁸ 个/mL,比试验前提高了 3 个数量级;同时激活后 HOB 和 NRB 浓度都有不同程度的提高,HOB 浓度提升速度较慢,在现场注入 180 d、270 d 后,浓度逐步由 10⁴ 个/mL 提高到 10⁷ 个/mL,提升了 3 个数量级,而 NRB 则是随着激活剂硝酸盐的注入,浓度迅速提升了 2–3 个数量级;SRB 浓度迅速提升到 10⁶ 个/mL 后逐步回落到 10³ 个/mL,显然与 NRB 被激活后与之竞争从而被抑制有关。这证明了开展内源微生物驱油现场试验、注入激活剂和空气后,不但改变了细菌的群落结构组成,而且显著激活内源微生物,使它们的浓度普遍提高了 2–3 个数量级,直接提升了内源微生物驱油过程中作用原油及油藏的微生物数量,对达到提高石油采收率的目的具有重要作用。

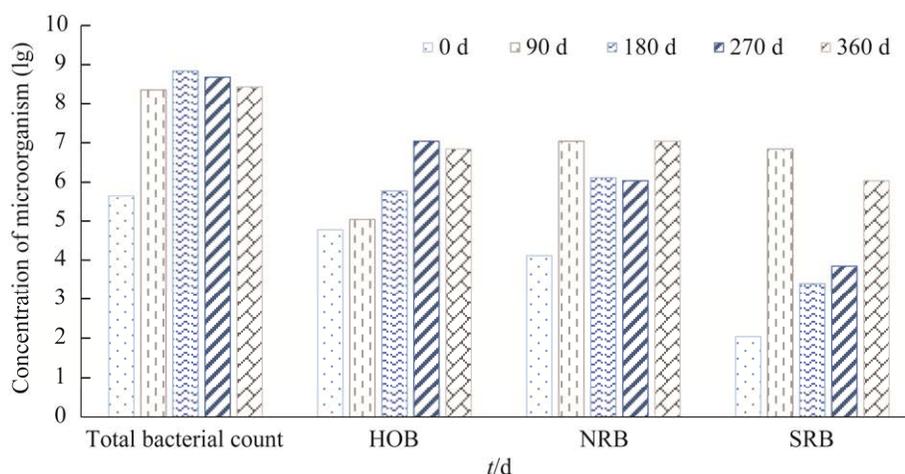


图 3 试验前后中心油井采出液功能菌及功能基因定量分析结果

Figure 3 Quantitative analysis results of functional bacteria and functional genes in produced fluid of central oil well.

2.3 采出液流体组成分析

2.3.1 气体组分分析

六中区內源微生物驱油现场试验中,在注水井注入主要组分为有机碳源、硝酸盐和磷酸盐的激活剂和空气,按照內源微生物驱油机理,好氧菌、兼性厌氧菌和严格厌氧菌被依次激活后,可能产生的气体主要有 CO₂、CH₄ 和 H₂S。考虑到注入的空气中主要含有 N₂ 和 O₂, 因此对地层气体样品中的相关气体组分进行了监测(图 4)。

由图 4 可知,现场试验注入空气后, N₂ 含量明显升高,从试验前的 0.87% 上升到了 2.26%–4.16%; O₂ 仅在现场试验 360 d 取样时检测到相对含量为 0.50%, 其余时间未检出 O₂, 说明注入空气中的 O₂ 完全被內源微生物消耗。气体组分中, CO₂ 含量在现场试验前后变化很小,在 8.35%–9.39% 之间浮动。这似乎与內源微生物中好氧菌、兼性厌氧菌等利用有机碳源、原油烃组分等产生 CO₂ 气体不符。考虑到试验油藏压力为 7.2×10⁶ Pa、且储层同时分布有石油、地层水和天然气,非极性 CO₂ 气体可能溶于石油或地层水,而未以游离态的 CO₂ 气体分子存在,因此与 2.3.2 中 HCO₃⁻ 浓度变化联合分析。H₂S 气体含量在试验后有所升高,由试验前的 35.50 mg/m³

升高到了 49.70–81.40 mg/m³, 这与 SRB 被激活有关,也与 2.2 中 SRB 浓度升高的结果相一致,说明即使激活 NRB, 也不能完全抑制油藏内部的 SRB 生长和代谢。

现场试验后, CH₄ 相对含量略有升高,由试验前的 69.97% 在 180 d 后最高升高到了 76.15%。为了确定 CH₄ 气体的成因及来源,对甲烷进行了碳同位素分析(图 5)。以 δ¹³C‰ (Pee Dee Belemnite, PDB) 表示样品中碳元素的稳定同位素比值相对标准相应比值的千分偏差^[20], 现场试验后碳同位素逐步下降,表明油藏内部的产甲烷菌在持续生成甲烷。

2.3.2 地层水离子组成分析

地层水离子组成分析表明,现场试验注入激活剂后,采出液中相应的阳离子、阴离子浓度及地层水总矿化度均相应升高,图 6 展示了和內源微生物代谢活动相关的乙酸根 (AC⁻)、碳酸氢根 (HCO₃⁻) 和 pH 的变化情况。

由图 6 可知,注入激活剂 30 d 后,采出液中 AC⁻ 浓度迅速由试验前的 4.86 mg/L 升高到 380.00 mg/L, 之后 AC⁻ 浓度逐步下降,在现场实验 450 d 后,下降到了 15.93 mg/L。这说明在现场试验初期,油藏好氧菌和兼性厌氧菌激活

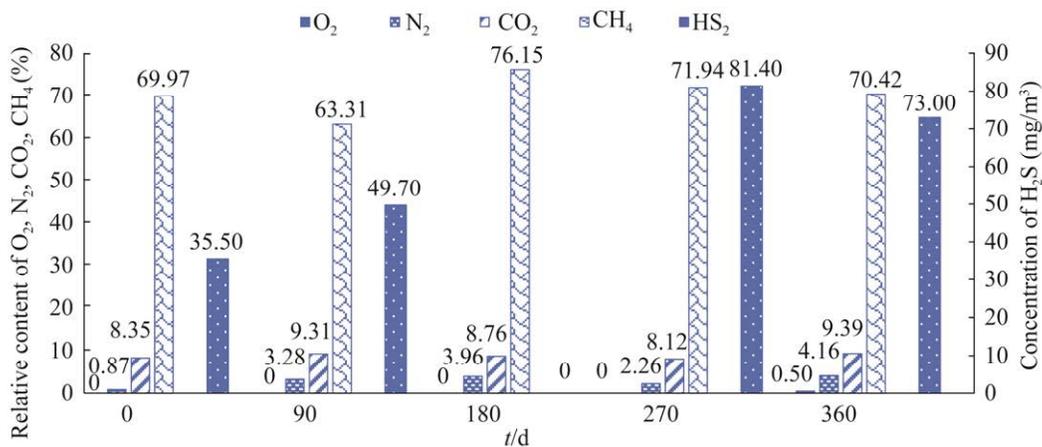


图 4 试验前后中心油井气体组分相对含量监测结果

Figure 4 Monitoring results of relative content of gas components in central oil well before and after test.

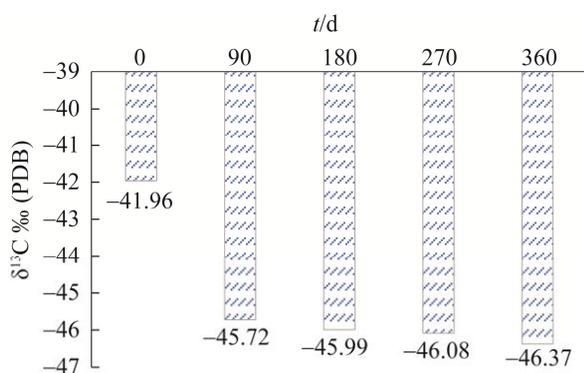


图5 试验前后中心油井甲烷气体碳同位素分析结果

Figure 5 Carbon isotope analysis results of methane gas in central oil well before and after the test.

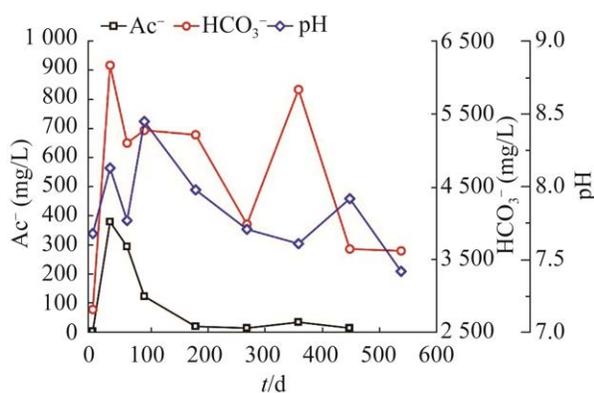


图6 试验前后中心油井采出液乙酸根、碳酸氢根及pH分析结果

Figure 6 Analysis results of acetate, bicarbonate and pH of produced fluid from central oil well.

后,代谢活动随之增强,有机碳源和原油组分被氧化为 AC^- ,从而表现出 AC^- 浓度的升高;后期 AC^- 浓度逐步下降,则表明随着 AC^- 浓度的增加,油藏深部可以利用乙酸根作为底物厌氧菌被激活后,代谢活动随之增强,从而逐步降低了 AC^- 浓度。

随着在注水井周期性注入激活剂和空气,内源微生物代谢有机碳源、原油烃组分和乙酸根,最终将其氧化为 CO_2 ,最终产甲烷菌利用部分乙

酸或 CO_2 生成甲烷。地层水离子组成分析表明,地层水中未检测到 CO_3^{2-} 离子,但 HCO_3^- 浓度在试验后显著升高。从图6可以看出,注入激活剂30 d后,采出液中 HCO_3^- 浓度迅速由试验前的2817.02 mg/L升高到6171.87 mg/L,说明有机碳源、原油组分和乙酸根被油藏好氧菌和兼性厌氧菌氧化生成的 CO_2 气体在地层压力下和地层水相互作用,在地层水中以 HCO_3^- 离子形式存在;之后 HCO_3^- 浓度在5836.55 mg/L和3622.15 mg/L之间波动,这与激活剂以多段塞、周期性被注入有关。地层水pH在试验后也发生明显升高,且其变化趋势与 HCO_3^- 浓度变化一致,证明了被内源微生物氧化生成的 CO_2 在地层水中确实以 HCO_3^- 离子形式,正是因为 HCO_3^- 水解显碱性,从而导致地层水pH升高。

2.3.3 采出原油状态

对现场试验前后中心油井采出原油状态进行了实验监测,结果表明试验前中心油井采出油水界面清晰,地层水透明无色(图7A);现场试验进行30 d后,中心油井油水样品发生明显乳化,地层水呈现褐色(图7B),光学显微镜观察其主要为水包油乳状液形式(图8A);180 d后油井采出液乳化更加明显、稳定(图7C),取样样品除顶部10%为原油、底部10%为地层水外,中间80%样品均为油包水型乳化层(图8B)。粘度计测定乳化层粘度可达620 mPa·S,离心后测定乳化层的油水界面张力为1.213 mN/m。

2.4 现场试验效果

跟踪分析表明,六中区內源微生物驱现场试验实施后,试验区油井增油降水效果显著,注入的4井组中7口油井均有不同程度的受效。按照线性递减曲线评价方法进行了内源微生物驱增油量评价,评价结果表明在激活剂注入量仅为地层孔隙体积的4%的条件下,试验井组累计增产石油10104 t,最终石油采收率提高5.2%。

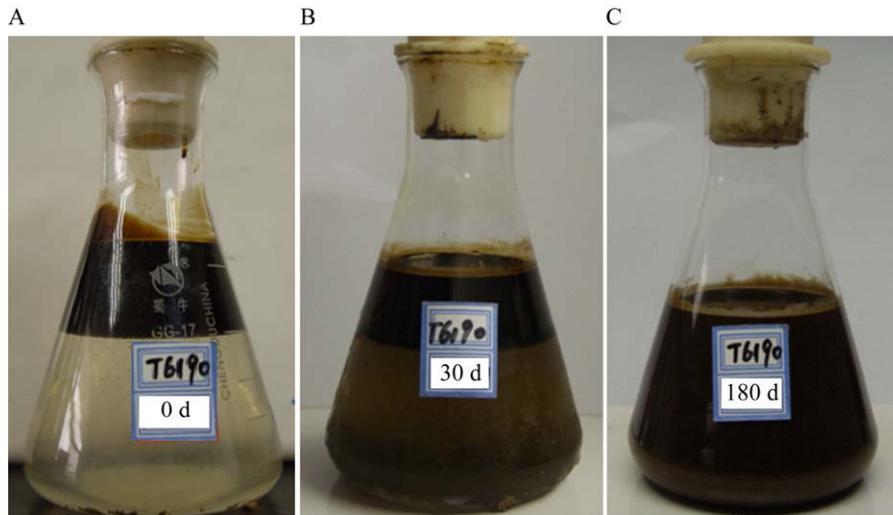


图 7 试验前后中心油井采出液原油状态

Figure 7 Status of produced liquid crude oil from central oil well before and after test. A: 0 d, the formation water was colorless and the oil-water interface was clear. B: 30 d, the crude oil was emulsified and the formation water became brown. C: 180 d, the crude oil and formation water formed water-in-oil emulsion.

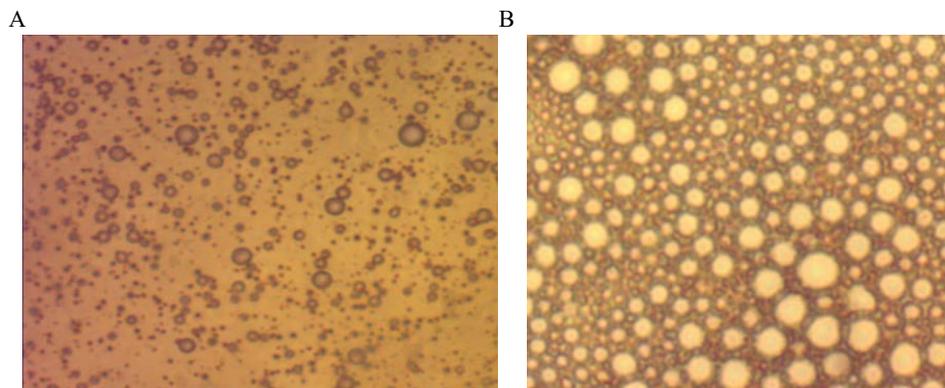


图 8 水包油乳状液和油包水乳状液的光学显微镜照片(放大倍数 400 倍)

Figure 8 Optical microscope photographs of emulsion (400×). A: 30 d, the crude oil and formation water formed oil-in-water emulsion. The water was continuous phase. B: 180 d, the crude oil and formation water formed water-in-oil emulsion. The oil was continuous phase.

3 讨论

在六中区内源微生物驱油现场试验中,内源微生物驱油技术展现出显著的技术优势。不同于直接注入微生物发酵液的外源微生物驱,内源微生物驱激活内源微生物,使之在油藏内生长、繁殖、代谢产生多种有利于采油的代谢产物并直接作用于原油,因此往往比外源微生物驱提高石油

采收率幅度更高^[21]。六中区内源微生物驱油现场试验在地层内注入含有有机碳源、硝酸盐和磷酸盐的激活剂和空气,注入量仅为地层孔隙体积的 4%,但已显著改变油藏细菌的群落结构,假单胞菌属、陶厄氏菌属等被明显激活,所占丰度明显升高,总菌浓度、HOB、NRB 等功能菌群浓度被提高 2-3 个数量级,代谢产物 AC^- 和 HCO_3^- 浓度显著增高,而且产甲烷菌在油藏内部持续生

成甲烷。现场试验中微生物及其代谢产物作用原油效果明显,采出液中原油明显被乳化,从而提高了石油采收率。同时,试验后从中心油井采出液中检测到和生物表面活性剂脂肽、鼠李糖脂质核比相近的活性物质,证明微生物在油藏内代谢产生脂肽、糖脂生物表面活性剂。但由于采出液中生物表面活性剂脂肽和糖脂浓度极低,而且与表面活性剂相关的油水界面张力变化较小,其原因是油藏为比表面积巨大的多孔介质^[22],可以吸附大量的生物表面活性剂。

在现场试验中,假单胞菌属、陶厄氏菌属所占丰度明显升高。其中,假单胞菌属(*Pseudomonas*)是应用最为广泛的微生物采油功能菌之一,其中以铜绿假单胞菌尤为著名。研究显示,铜绿假单胞菌可以产生生物表面活性剂鼠李糖脂,可有效降低油水界面张力,同时能降解原油中多种组分,将原油乳化分散为粒径为 1–8 μm 的油滴,进而形成水包油或油包水乳状液^[23];在无氧条件下,铜绿假单胞菌 ATCC 101045 在棕榈酸-硝酸盐培养基中可以通过硝酸盐呼吸合成鼠李糖脂表面活性剂^[24];从新疆油田油藏采出液中筛选到的铜绿假单胞菌 SG 也可以利用甘油厌氧合成鼠李糖脂,产量为 228 mg/L^[25]。陶厄氏菌(*Thauera*)是一种常见的硝酸盐还原菌,可利用硝酸盐作为电子受体、以乙酸盐和硫化物作为电子供体进行生长代谢,已有的研究显示 *Thauera* 属的菌种可以降解石油组分中的酚类化合物^[26]。这表明现场注入激活剂后,激活了能够利用石油组分和注入的硝酸盐、产生生物表面活性的油藏内源细菌,它们在地层水中或原油-地层水界面上生长、繁殖、代谢,降低油水界面张力,乳化原油,有利于原油流动^[17],从而提高石油采收率。

从碳、氮、硫等元素的循环和迁移转化角度看,在整个内源微生物驱油过程,碳元素从有机碳源、石油烃等分子中,逐步被氧化为乙酸根、

CO_2 , 之后被产甲烷菌还原为甲烷;氮元素从硝酸根,被反硝化细菌还原为亚硝酸盐等物质;硫元素从硝酸根,被硫酸盐还原菌还原为 S^{2-} 离子,并生成 H_2S 气体。微生物介导的碳、氮、硫循环代谢活动相互依存,油藏微生物菌群功能多样,几乎占据了所有可能的菌群生态位,直接参与有机物降解、产甲烷、硫还原和反硝化等多种代谢活动。内源微生物提高石油采收率的效果及其在多种元素循环中的作用,都证明了油藏内源微生物资源种类和代谢功能的多样性和重要性。同时,内源微生物细菌群落结构分析表明其中未培养菌(uncultured)比例高达 8.96%,产甲烷菌在油藏内部持续生成甲烷,提示油藏内部还有大量的细菌和古菌资源等待去开发利用。

4 结论

本研究围绕六中区内源微生物驱油现场试验,采用分子生物学及分析化学技术,系统对现场试验前后油藏细菌的群落结构组成、细菌浓度和功能菌群的浓度、采出液流体组成进行了分析,研究了内源微生物驱油对油藏微生物活动的影响。结果显示,现场试验注入激活剂后,内源微生物被显著激活,采出液细菌群落结构发生明显变化,细菌总数、HOB、NRB 和 SRB 浓度普遍提高了 2–3 个数量级;各种内源微生物代谢活动显著增强,代谢产物 AC^- 和 HCO_3^- 浓度显著增高,产甲烷菌持续生成甲烷。同时,微生物及其代谢产物与地层流体相互作用,原油明显被乳化,最终累计增产石油 10 104 t,石油采收率提高 5.2%。以上结论表明,对于内源微生物较为丰富的水驱普通稠油油藏,内源微生物驱油技术具有较大的应用潜力,值得在同类油藏内推广应用。同时,本研究的检测和分析方法也可以为其他内源微生物驱油现场试验提供技术参考。

参考文献

- [1] GAO PK, LI GQ, TIAN HM, WANG YS, SUN HW, MA T. Differences in microbial community composition between injection and production water samples of water flooding petroleum reservoirs[J]. *Biogeosciences*, 2015, 12(11): 3403-3414.
- [2] MAGOT M, OLLIVIER B, PATEL BKC. Microbiology of petroleum reservoirs[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2000, 77(2): 103-116.
- [3] ZHANG F, SHE YH, LI HM, ZHANG XT, SHU FC, WANG ZL, YU LJ, HOU DJ. Impact of an indigenous microbial enhanced oil recovery field trial on microbial community structure in a high pour-point oil reservoir[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(3): 811-821.
- [4] 向廷生, 冯庆贤, N. T. Nazina, 余跃惠, 倪方天, 周俊初. 本源微生物驱油机理研究及现场应用[J]. *石油学报*, 2004, 25(6): 63-67.
XIANG TS, FENG QX, NAZINA TN, SHE YH, NI FT, ZHOU JC. Mechanism of indigenous microbial enhancement of oil recovery and pilot test[J]. *Acta Petrolei Sinica*, 2004, 25(6): 63-67 (in Chinese).
- [5] NAZINA TN, XUE YF, WANG XY. Diversity and activity of microorganisms in the Daqing Oil[J]. *Resource and Environmental Biotechnology*, 2000, 3: 161-172.
- [6] NAZINA TN, XUE YF, WANG XY, BELYAEV SS, IVANOV MV. Microorganisms of the high-temperature Liaohe oil field[J]. *Resource and Environmental Biotechnology*, 2000, 3: 149-160.
- [7] YOUSSEF N, ELSHAHED MS, McINERNEY MJ. Microbial processes in oil fields: culprits, problems, and opportunities[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2009, 66: 141-251.
- [8] 柳敏, 李辉, 高云才, 汪娟娟, 梁建春, 滕克孟. 港西油田三区一断块本源微生物驱油试验研究[J]. *油田化学*, 2006, 23(3): 269-272.
LIU M, LI H, GAO YC, WANG JJ, LIANG JC, TENG KM. Results of indigeneous microbes flood trial project at faulted block 1 in Gangxi-3 district of Dagang[J]. *Oilfield Chemistry*, 2006, 23(3): 269-272 (in Chinese).
- [9] SIMPSON DR, NATRAJ NR, MCLNERNEY MJ, DUNCAN KE. 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: 1083-1093.
- [10] BELYAEV SS, BORZENKOV IA, NAZINA TN, ROZANOVA EP, GLUMOV IF, IBATULLIN RR, IVANOV MV. Use of microorganisms in the biotechnology for the enhancement of oil recovery[J]. *Microbiology*, 2004, 73(5): 590-598.
- [11] 冯庆贤, 杨怀军, Nazina T N, 王建强, 余跃惠, 倪方天. 孔店油田本源微生物驱油先导试验研究[J]. *石油勘探与开发*, 2005, 32(5): 125-129.
FENG QX, YANG HJ, NAZINA TN, WANG JQ, SHE YH, NI FT. Pilot test of indigenous microorganism flooding in Kongdian Oilfield[J]. *Petroleum Exploration and Development*, 2005, 32(5): 125-129 (in Chinese).
- [12] CAPORASO JG, LAUBER CL, WALTERS WA, BERG-LYONS D, LOZUPONE CA, TURNBAUGH PJ, FIERER N, KNIGHT R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(Suppl 1): 4516-4522.
- [13] 纪冬, 辛绍杰. 实时荧光定量 PCR 的发展和数据分析[J]. *生物技术通讯*, 2009, 20(4): 598-600.
JI D, XIN SJ. Development and data analysis of real-time fluorescent quantitative PCR[J]. *Letters in Biotechnology*, 2009, 20(4): 598-600 (in Chinese).
- [14] GAO PK, TIAN HM, LI GQ, SUN HW, MA T. Microbial diversity and abundance in the Xinjiang Luliang long-term water-flooding petroleum reservoir[J]. *MicrobiologyOpen*, 2015, 4(2): 332-342.
- [15] MAGNABOSCO C, RYAN K, LAU MCY, KULOYO O, LOLLAR BS, KIEFT TL, HEERDEN EV, ONSTOTT TC. A metagenomic window into carbon metabolism at 3 km depth in Precambrian continental crust[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(3): 730-741.
- [16] 张洁, 王卫卫, 郭欣, 王楠, 陶发琴. 两株高效石油烃氧化菌的正十六烷降解特性[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2013, 43(3): 403-410.
ZHANG J, WANG WW, GUO X, WANG N, TAO FQ. Identification of two high-efficiency hexadecane-degrading bacteria and their degradation characteristics[J]. *Journal of Northwest University (Natural Science Edition)*, 2013, 43(3): 403-410 (in Chinese).
- [17] WHANG LM, LIU PWG, MA CC, CHENG SS. Application of rhamnolipid and surfactin for enhanced

- diesel biodegradation—effects of pH and ammonium addition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2-3): 1045-1050.
- [18] 胥元刚, 何延龙, 张凡, 简洁, 韩春春, 余跃惠. 厌氧微生物对新疆六中区稠油的降解特性[J]. *西安石油大学学报(自然科学版)*, 2012, 27(3): 67-71.
XU YG, HE YL, ZHANG F, JIAN J, HAN CC, SHE YH. Degradation effect of anaerobic microbe on the oil from No. 6 block in central Xinjiang Oilfield[J]. *Journal of Xi'an Shiyou University (Natural Science Edition)*, 2012, 27(3): 67-71 (in Chinese).
- [19] GIEG LM, JACK TR, FOGHT JM. Biological souring and mitigation in oil reservoirs[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 92: 263-282.
- [20] WHITICAR MJ. Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane[J]. *Chemical Geology*, 1999, 161(1-3): 291-314.
- [21] CUI QF, SUN SS, LUO YJ, YU L, ZHANG ZZ. Comparison of *in situ* and *ex-situ* microbial enhanced oil recovery by strain *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 in laboratory sand-pack columns[J]. *Petroleum Science and Technology*, 2017, 35(21): 2044-2050.
- [22] 汪卫东. 微生物采油与油藏生物反应器的应用[J]. *生物加工过程*, 2017, 15(3): 74-78.
WANG WD. Application of microbial enhanced oil recovery and bioreactor in oil reservoir[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2017, 15(3): 74-78 (in Chinese).
- [23] CUI QF, ZHENG WT, YU L, XIU JL, ZHANG ZZ, LUO YJ, SUN SS. Emulsifying action of *Pseudomonas aeruginosa* L6-1 and its metabolite with crude oil for oil recovery enhancement[J]. *Petroleum Science and Technology*, 2017, 35(11): 1174-1179.
- [24] CHAYABUTRA C, WU J, JU LK. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification: effects of limiting nutrients and carbon substrates[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, 72(1): 25-33.
- [25] ZHAO F, CUI QF, HAN SQ, DONG HP, ZHANG J, MA F, ZHANG Y. Enhanced rhamnolipid production of *Pseudomonas aeruginosa* SG by increasing copy number of *rhlAB* genes with modified promoter[J]. *RSC Advances*, 2015, 5(86): 70546-70552.
- [26] 乔能虎, 张静静, 刘德健, 汤孝胜, 郗丽君, 刘建国. 陶厄氏菌 *Thauera* sp. K11 对酚类化合物降解作用及途径研究[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(10): 184-190.
QIAO NH, ZHANG JJ, LIU DJ, TANG XS, XI LJ, LIU JG. Study on the degradation and mechanism of phenolic compounds by the *Thauera* sp. K11[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(10): 184-190 (in Chinese).



崔庆锋, 中国石油勘探开发研究院高级工程师, 致力于微生物采油、微生物辅助气驱提高石油采收率等油气生物技术研究, 具有丰富的石油微生物研究经验, 形成了以功能微生物为主要研究对象的多学科、多尺度、多种研究方法结合的环境微生物组研究体系。自 2004 年以来一直从事油藏环境中的微生物、代谢产物及其与油藏流体、储层相互作用过程的相关研究工作, 先后参与多项国家高技术研究发展计划和中国石油科学研究与技术开发项目。已在 *Carbohydrate Polymers*、*Journal of Petroleum Science & Engineering*、*Petroleum Science & Technology*、*SPE Improved Oil Recovery Symposium* 等石油工程和微生物领域经典期刊及会议发表论文 30 余篇。