

Cultivation and Performance Evaluation of a Crude Oil Degrading Bacteria

Bing Liu, Mingming Cheng, Siyao Wang, Xue Xu, Yue Wang, Jiaojiao Wang

School of Chemical Engineering and Safety, Binzhou University, Binzhou Shandong
Email: rachel19cheng@163.com

Received: Apr. 30th, 2019; accepted: May 14th, 2019; published: May 21st, 2019

Abstract

Microbial enhanced oil recovery shows great vitality for high water content and nearly exhausted old oil fields. Microbial reproduction metabolism utilizes residual oil as a carbon source. Oil was degraded in this process. To obtain higher efficiency of the oil extraction the special bacteria were sifted through experiments. The 16SrDNA-23SrDNA sequence of the strain was amplified and sent for sequencing. The influence of nutrient concentration and dissolved oxygen content were tested by laboratory experiment. The process parameters of microbial oil displacement were optimized by physical simulation experiment. The move improved the microbial adaptability to the reservoir environment.

Keywords

Microbial Enhanced Oil Recovery, Strain Identification, Growth Metabolism, Physical Simulation Experiment

一株原油降解菌的培养与性能评价

刘冰, 程明明, 王思瑶, 许雪, 王月, 王娇娇

滨州学院, 化工与安全学院, 山东 滨州
Email: rachel19cheng@163.com

收稿日期: 2019年4月30日; 录用日期: 2019年5月14日; 发布日期: 2019年5月21日

摘要

微生物采油对于高含水和近枯竭的老油田显示出其强大的生命力。其利用微生物自身的繁殖、代谢等功能, 对原油进行降解, 有利于启动残余油, 提高井组的原油采收率。本研究在油藏油样和井旁的油污土

壤分离出菌种，利用平板反复分离纯化，提取菌落基因组DNA，扩增16SrDNA-23SrDNA间区序列并送测序，对筛选到的菌株进行初步鉴定。通过模拟油藏温度和压力条件，测试了溶氧含量，碳源、氮源、磷源等营养基浓度对微生物生长繁殖的影响，提高外源微生物对油藏、地层环境适应性。运用岩心物理模拟实验进行多次验证及优化，确定微生物驱油的工艺参数。

关键词

微生物采油，菌种鉴定，生长代谢，物理模拟

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

石油是目前世界最重要的能源，也是最重要的战略物资，石油资源的需求日益增长，而石油勘探开发的难度却越来越大。

在目前三次采油技术发展中，微生物采油技术利用微生物自身的繁殖、代谢等功能，对原油进行降解，使部分残余油进入可流动状态，最终提高井组的原油采收率。油藏中的微生物是个庞大的体系，是较为稳定的微生物群落，有的微生物是在油田开发过程中随注入水进入油层的，也有的是在油藏形成过程中就已经存在的。有些微生物处于活跃期，有些微生物处于休眠期，其中具有采油功能的微生物只是一部分。本研究通过对微生物生长条件的确定，能够提高微生物对油藏、地层环境适应性，使其在油藏条件下优势生长，有利于提高微生物采油有效率、降低施工成本。

2. 实验研究

2.1. 菌种性能鉴定

菌种分离自某油田油井旁油污土壤，在油藏温度和压力下富集培养，取最终富集的培养液，稀释涂布后，利用油平板反复分离纯化，将不同形态的单菌落挑出，保存于斜面培养基上[1] [2] [3]，于4℃冷藏备用。为了解所给菌种情况，将所给混合菌液进行了分离提，取菌落基因组DNA，扩增16SrDNA-23SrDNA间区序列并送测序，对筛选到得菌株进行初步鉴定。

2.2. 培养基浓度对微生物生长的影响

在模拟油藏温度和压力条件下，实验测试了溶氧含量、碳源、氮源、磷源浓度对微生物生长情况的影响[4] [5] [6]。

碳源是微生物生长的主要营养，易水解的低分子碳源最易于微生物的吸收，室内进行了不同碳源的激活内源微生物实验。磷源是微生物的重要生长因子，实验考察了 Na_2HPO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 K_2HPO_4 为磷源的微生物激活情况。

2.3. 微生物生长规律实验研究

将微生物接种在配制好的培养基上。取5个锥形瓶倒入同样量的微生物营养液，通氮气除氧，以空气泵向培养基中通空气，以空气流量计控制5个锥形瓶中氧含量分别为0.5 mg/L, 1.5 mg/L, 3.0 mg/L, 4.5 mg/L, 5.5 mg/L。将锥形瓶于恒温下培养三天，隔12小时记录OD值。

2.4. 微生物相结合的驱油实验研究

用填砂岩心饱和模拟油后,在油层温度下进行水驱(驱替速度 0.48 m/d,为实验注入强度 0.2 ml/min),到含水 60%~75%后以水驱速度注入 1 个段塞的内源微生物、然后注入注 0.15 PV 水为分割段塞,接着以同样的速度注入 1 个段塞的外源微生物进行驱油实验然后关闭岩心在油层温度下静止 3d 后再后续水驱到不产油,记录整个过程压力、产油,计算含水、采出程度和提高采收率大小。

3. 实验结果与分析

3.1. 菌种鉴定分析

通过鉴定筛选菌种为地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)为兼性厌氧菌。测序结果在 NCBI 数据库中通过 Blast 程序进行相似度搜索,得出所的菌种与参比菌株 *Bacillus licheniformis* ATCC 14580 同源性为 98.86。充足氧气条件下,地衣芽孢杆菌将迅速繁殖扩张,占领空间优势,产生多种有效代谢产物,包括脂肽类,肽聚糖,肽类,核酸类,磷酸类,腐殖酸类等[7] [8] [9]。地衣芽孢杆菌培养菌落见图 1。



Figure 1. Colony diagram of *Bacillus licheniformis* culture
图 1. 地衣芽孢杆菌培养菌落图

3.2. 碳源对微生物生长效果的影响

以葡萄糖、蔗糖、调和油、糖蜜做碳源时激活的微生物生长总浓度不是很高,在 10^4 ~ 10^6 个/mL 左右。激活微生物碳源较佳为玉米浆干粉[10] [11] [12] [13]。以玉米浆干粉为碳源时能够很好的激活水样中微生物,总菌浓达到了 10^8 个/mL 以上。不同碳源对微生物生长的影响见图 2。

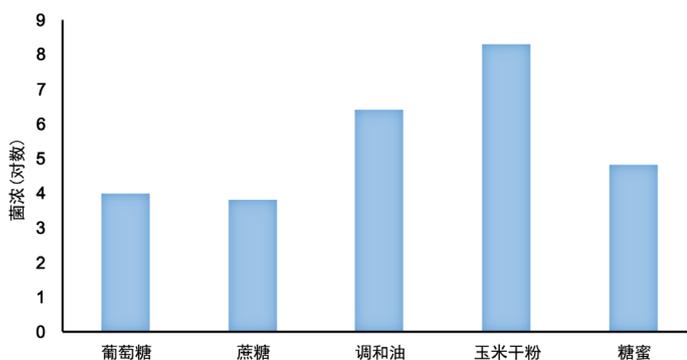


Figure 2. The effects of different carbon sources on microbial growth
图 2. 不同碳源对微生物生长的影响

3.3. 磷源对微生物生长效果的影响

不同磷源对微生物生长的影响见图3。可以看出, Na_2HPO_4 , K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 这3种磷源均能很好的激活水样中微生物, 原因是这三种磷酸盐水溶液显示为碱性, 水样的 pH 一定程度上被中和了, 使水样环境近中性, 适合微生物生长, 其中磷酸氢二铵效果最好, 总菌浓达到了 10^8 个/mL 以上。因此选择磷酸氢二铵作为微生物磷源, 磷酸氢二铵同时也为微生物提供了氮源。

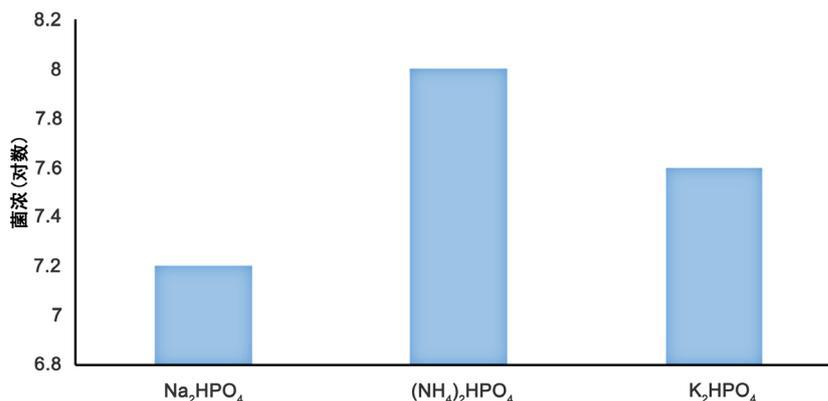


Figure 3. The effects of different phosphorus sources on microbial growth
图3. 不同磷源对微生物生长的影响

3.4. 溶氧量对微生物生长规律的影响

微生物生长曲线见图4。可以看出, 溶氧浓度为 4.5 mg/L 时, 培养液相对较快达到对数生长期, 溶氧浓度低于 4.5 mg/L 时, 菌液浓度增加相对迟缓, 氧含量不足使微生物的生长繁殖速度受到限制。溶氧高于 4.5 mg/L 的情况下, 菌液浓度增加效果也不显著, 这是由于氧气在水中可被还原为过氧化氢(H_2O_2)、羟基自由基以及超氧化物自由基($\text{O}_2\cdot^-$)等, 它们是强氧化剂, 能迅速破坏细胞组分[14] [15] [16] [17]。

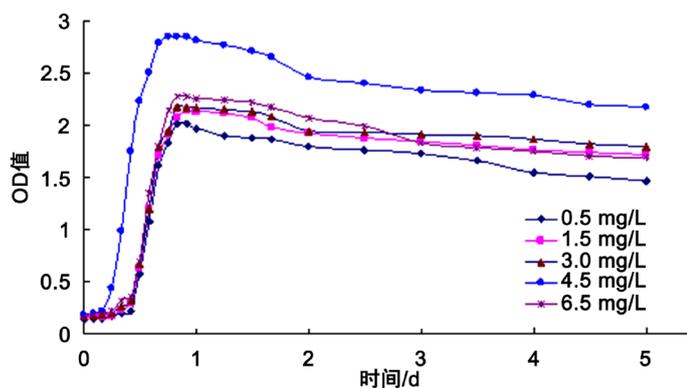


Figure 4. The microbial growth curve
图4. 微生物生长曲线

3.5. 微生物驱油实验研究

驱替过程中的剩余油分布见图5。

由图5可以看出, 水驱后剩余油减少, 模型中原油饱和度降低, 空气-微生物驱和微生物-空气驱后均比水驱后剩余油饱和度降低, 微生物-空气驱后剩余油饱和度降低程度更大。

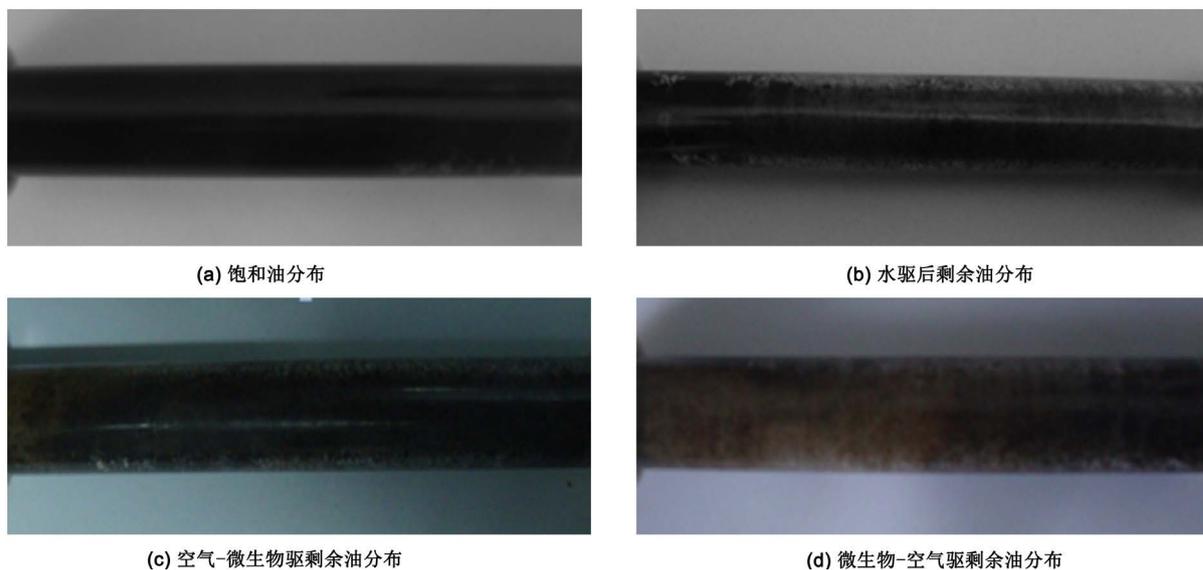


Figure 5. The residual oil distribution of microbial oil displacement experiment

图 5. 微生物驱油实验剩余油分布图

总菌浓分别为 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 个/ml 的提高采收率值及残余油饱和度如表 1 所示。

Table 1. The improved recovery and residual oil saturation of different bacterial concentrations

表 1. 不同菌浓度下的提高采收率值及残余油饱和度

菌浓(个/ml)	提高采收率(%)	采收率(%)	残余油饱和度
0	0.00	69.39	0.16
10^5	4.00	74.38	0.15
10^6	6.10	75.38	0.14
10^7	8.00	76.39	0.14
10^8	8.60	78.00	0.12

通过对比采用微生物驱方案与普通水驱分别至开采极限时剩余油分布情况可看出，微生物驱后的剩余油明显少于水驱后的剩余油，故提高采收率效果明显。对比微生物驱与原始水驱含水率，微生物驱含水率比水驱含水率下降，微生物控水稳油效果明显。

4. 分析与结论

通过实验与模拟，主要得到如下结论：

1) 在油藏油样和井旁的油污土壤分离出菌种，利用平板反复分离纯化，通过鉴定得出所筛选菌种为地衣芽孢杆菌，为兼性厌氧菌。在缺氧条件下可生存，在充足氧环境中可大量繁殖，代谢出脂肽类，肽聚糖，肽类，核酸类，磷酸类，腐殖酸类等有效代谢产物。

2) 模拟驱油实验表明，微生物驱油及空气辅助微生物驱油均比单纯水驱提高采收率效果显著。说明微生物菌液有良好的注入能力，微生物生长繁殖产生脂类等代谢物质可以有效封堵地层，防止气窜效应，提高了水驱波及面积。

3) 不同菌浓度下的提高采收率值及剩余油可以看出，微生物驱后的剩余油明显少于水驱后的剩余油， $10^7 \sim 10^8$ 个/ml 为较佳的微生物驱油浓度。

基金项目

山东省自然科学基金项目(ZR2017PEE003); 大学生创新创业计划项目(201710449045)。

参考文献

- [1] Cheng, M., Lei, G., Gao, J., *et al.* (2014) Laboratory Experiment, Production Performance Prediction Model, and Field Application of Multi-Slug Microbial Enhanced Oil Recovery. *Energy & Fuels*, **28**, 6655-6665.
<https://doi.org/10.1021/ef5014083>
- [2] Cheng, M., Gao, J., Lei, G., *et al.* (2017) Laboratory Research on Air-Assisting Microbial Enhanced Oil Recovery. *Advances in Sciences and Engineering*, No. 9, 14-19.
- [3] 周星远, 梁永图, 张昕, 等. 成品油管道开泵方案优化 MILP 模型[J/OL]. 油气储运, 2019(1): 1-8.
- [4] 程明明, 夏添, 雷光伦, 等. 低渗透油藏多段塞微生物驱开发指标预测[J]. 中国石油大学学报(自然科学版), 2014(6): 113-120.
- [5] 张国华, 黄楚州, 张胜卿, 等. 一种去油污微生物洗涤剂制备及性能研究[J]. 广州化工, 2018, 46(19): 86-89.
- [6] 车晓军, 屈撑囤, 郭敏俊. 含油污泥堆肥处理的研究[J]. 广州化工, 2016, 44(12): 35-37+57.
- [7] 程明明, 雷光伦, 耿孝恒, 等. 空气辅助微生物改变地层岩石与流体性质的能力研究[J]. 石油与天然气化工, 2018(2): 65-70.
- [8] 侯研博, 宋欣, 孙刚正, 等. 新型激活剂提高内源微生物驱油效果研究及应用[J]. 石油与天然气化工, 2018, 47(5): 85-89.
- [9] 张国华, 黄楚州, 张胜卿, 等. 一种去油污微生物洗涤剂制备及性能研究[J]. 广州化工, 2018, 46(19): 86-89.
- [10] 宋永亭. 不同配气条件下微生物驱油生长代谢规律[J]. 应用与环境生物学报, 2017, 23(6): 974-978.
- [11] 程明明, 雷光伦, 耿孝恒, 等. 空气辅助微生物提高采收率室内实验研究[J]. 科学技术与工程, 2017, 17(32): 93-100.
- [12] 马挺, 陈瑜. 油藏微生物的代谢特征与提高原油采收率技术[J]. 微生物学杂志, 2018, 38(3): 1-8.
- [13] 张忠林, 王成俊. 延长油田特低渗油藏新型驱油剂研究进展[J]. 应用化工, 2018, 47(6): 1246-1249+1253.
- [14] 王永梅, 聂亚涛, 王晓辉. 本源微生物采油技术在子长油田的应用[J]. 云南化工, 2018, 45(3): 125.
- [15] 郭省学, 刘涛, 郭辽原, 等. 岩心渗透率对微生物驱油效果及生长分布的影响[J]. 油田化学, 2018, 35(1): 131-134+155.
- [16] 刘涛, 赵凤敏, 林军章, 等. 胜利油田辛 68 区块内源微生物驱油现场试验[J]. 石油与天然气化工, 2018, 47(2): 71-74.
- [17] 赵峰, 张颖. 厌氧产表面活性剂微生物提高原油采收率的研究进展[J]. 生物资源, 2018, 40(2): 101-106.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2324-7924, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: jlce@hanspub.org