油田采出水微生物菌株的筛选及适应性评价

朱 恒[1,2] 李 毅[3] 周文涛[4] 程 翔[4]

(1. 中国石油长庆油田分公司油气工艺研究院;2. 低渗透油气田勘探开发国家工程实验室;
3. 中国石油长庆油田分公司第八采油厂;4. 中国石油长庆油田分公司第三采油厂)

摘 要 微生物处理油田采出水技术已在各油田广泛应用,如何针对地层条件、区块采出水特性筛选适宜的采出水降解菌株需要进一步探讨。文章从长庆油田姬塬油田某联合站采出水中分离纯化出 5 种微生物菌株,分别研究温度、酸碱性、盐度等条件对筛选菌株的影响,从而探讨菌株对该区块油藏条件的适应性;结果表明 5 种菌株能够适应该区块油藏条件,其中 A 菌株生长繁殖趋势最好;进一步开展 5 种筛选菌株降解原油性能的实验,结果表明 A 菌株对石油类的降解率达到 55.6%,可作为油田采出水降解菌菌株。

关键词 油田采出水; 降解菌株; 油藏条件; 菌株适应性

DOI:10.3969/j.issn.1005-3158.2022.05.005 **文章编号**: 1005-3158(2022)05-0024-04

Screening and Adaptability Evaluation of Microbial Strains in Oilfield Produced Water

Zhu Heng[1,2] Li Yi[3] Zhou Wentao[4] Cheng Xiang[4]

(1. *PetroChina Changqing Oilfield Oil and Gas Technology Research Institute*;
2. *National Engineering Laboratory for Exploration and Development of Low Permeability Oil and Gas Fields*;
3. *The NO. 8 Production Plant of PetroChina Changqing Oilfield Company*;
4. *The NO. 3 Production Plant of PetroChina Changqing Oilfield Company*)

ABSTRACT Microbial treatment of oilfield produced water has been widely used in various oilfields. How to screen suitable produced water degradation strains according to formation conditions and block produced water characteristics needs to be further discussed. In this paper, five microbial strains were isolated and purified from the produced water of a block in Dingbian, Changqing Oilfield by plate streaking. Through simulation experiments, the adaptability of the screened strains to the main reservoir conditions, including temperature, acidity and alkalinity, salinity, were studied respectively. The results showed that the five strains could adapt to the reservoir conditions of the block, and the growth and reproduction trend of strain A was the best. In addition, the degradation rate of petroleum by strain A was more than 55.6%, which could be used as a strain of degrading bacteria in oilfield produced water.

KEYWORDS oilfield produced water; degrading strain; reservoir conditions; strain adaptability

0 引 言

在油田开采与开发过程中,随着注水驱油措施的广泛应用,大量的油田采出水被回注到油藏层位。回注能大幅度缓解采出水带来的环境压力,但是仍不可避免的对地层和土壤环境带来一定的影响[1]。微生物处理技术由于其成本低、对环境友好的特性在油田采出水处理工艺中得到广泛应用,但对油藏特性不同的采出水中微生物的影响还不清楚。

由于地层条件复杂,各区块采出水特征也不尽相同[2]。本文试验场站选择长庆油田位于陕西省定边县境内的姬塬油区某联合站,该区块油藏埋藏深度 1 680~2 200 m,含油饱和度 60%,油藏温度 45~60℃,矿化度 30 000~90 000 mg/L,属于低孔特低渗油藏,采收率较低,含水量较大[3]。结合适合微生物

通讯作者:朱恒,2015 年毕业于西南大学环境工程专业,现在中国石油长庆油田分公司油气工艺研究院从事安全环保工作。通信地址:陕西省西安市未央区凤城四路苏里格大厦,710018。E-mail:zhuheng_cq@petrochina.com.cn。

生长的油藏条件[4]:油藏深度＜2 438 m,温度＜100℃,含盐量＜10^5 mg/L。由于水的矿化度为水中各种阴、阳离子的总和,水中的各类盐类一般是以离子形式存在,即可用含盐量的多少衡量矿化度的高低。可以看出该区块油藏条件适合微生物生长。

1 实　验

1.1 采出水水质

实验所用采出水由长庆油田定边某联合站提供,经过混凝、沉淀预处理后用于本实验研究。采出水的检测结果如表 1 所示。

表 1　采出水理化性质

检测指标	结果
石油类/(mg·L^{-1})	25.1
悬浮物/(mg·L^{-1})	20
pH 值	7～8
矿化度/(mg·L^{-1})	38 596.21
色度/倍	42
水型	$CaCl_2$

1.2 实验材料

石油类是石油开采行业衡量采出水水质的重要指标,本文主要研究采出水微生物对石油类的降解,因此采用废钻井泥浆中原油降解菌[5]的培养基作为采出水原油降解菌的培养基,具体如下:

富集培养基:牛肉膏 5.0 g、蛋白胨 10.0 g、NaCl 5.0 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 值 7.0～7.2,配制固体培养基需加入 2% 的琼脂。灭菌条件:0.1 MPa,121℃,20 min。

无机盐液体培养基:NH_4NO_3 2.0 g、KH_2PO_4 0.5 g、K_2HPO_4 1.0 g、$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.02 g、$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g、NaCl 5.0 g、蒸馏水 1 000 mL,pH 值 7.0～7.2。灭菌条件:0.1 MPa,121℃,20 min。

选择培养基:无机盐液体培养基 1 000 mL 加备试采出水 20.0 mL,pH 值 7.0～7.2,加入 2% 的琼脂。灭菌条件:121℃,0.1 MPa,20 min。

本文开展采出水降解菌富集和分离,具体过程为:

1)在无菌操作下,按 10% 的接种量吸取 10 mL 采出水加入到 100 mL 富集培养基中,置于恒温摇床(35℃,135 r/min)中培养 3 d,培养液出现混浊。

2)按 10% 的接种量将 1)中的培养液加入到 50 mL 已灭菌的无机盐液体富集培养基中,再置于恒温摇床(35℃,135 r/min)中培养 3 d,获得新的培养液。

3)将 2)获得的培养液按照 2)步骤连续转接培养 3 次,得到目的菌占绝对优势的微生物混合培养液。

4)对上述步骤的富集培养物在固体培养基平板上进行划线分离,置于恒温摇床(35℃,135 r/min)中培养 3 d。

5)选取湿润、圆整、表面光滑、边缘整齐、凸出且个体较大的菌落进行多次平板划线分离纯化,观察其菌落培养特征。

1.3 分析方法

首先从该区块采出水中富集、分离、筛选出以原油采出水为唯一碳源的微生物菌株,分别研究温度、酸碱性、盐度等条件对筛选菌株的影响,进一步通过室内试验初步研究各筛选菌株对采出水中石油类含量的降解率。

2 结果与讨论

2.1 油田采出水降解菌株的富集与分离

通过多次平板划线法对菌株进行富集分离,最终筛选得到 5 株菌株,分别编号为 A 菌、B 菌、C 菌、D 菌和 E 菌,菌株形态特征见表 2,可以看出,5 种菌株的菌落特征在形态、大小、颜色、透明程度、表面和边缘特征及是否产生色素方面存在一定的差异。

表 2　菌株的基本形态特征

菌株编号	菌落特征					
	形态	颜色	透明度	高度	表面和边缘	革兰氏染色
A	圆形	淡黄	半透明	隆起	不光滑/整齐	G-
B	圆形	淡黄	不透明	扁平	不光滑/整齐	G-
C	不规则	黄	半透明	扁平	不光滑/不整齐	G+
D	圆形	淡黄	半透明	隆起	光滑/不整齐	G+
E	不规则	淡黄	半透明	隆起	光滑/不整齐	G-

参照《常用细菌系统鉴定手册》,对 5 种菌株种类进行初步鉴定。可以看出 A、B 和 E 菌株初步鉴定为肠杆菌属或其他革兰氏阴性菌,C 和 D 初步鉴定为短杆菌属。

2.2 生长曲线测定

分别将 5 种菌株接种于 1.2 选择培养基(采出水为唯一碳源的液体培养基),置于恒温摇床(35℃,135 r/min)培养。每培养 24 h 取样一次,了解筛选菌株的生长状况,明确各菌株适宜的培养时间。结果如图 1 所示。

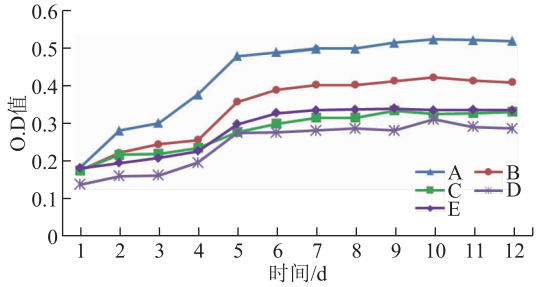

图 1 5 种菌株的生长曲线

由图 1 可见，5 种筛选菌株的生长趋势基本较一致，在 1～5 d 内随着培养时间的增加而显著增长，随后生长趋势较为平缓。其中 A、B、D 3 种菌株均在 10 d 时 O. D 值达到最大；C 和 E 菌株在 9 d 时 O. D 值达到最大；由于 C 和 E 菌株在 10 d 时的 O. D 值下降不明显，因此选择 10 d 作为培养菌株的最佳时间。

2.3 菌株适应性评价

2.3.1 温度适应性评价

将恒温摇床分别设置为 25，35，45，55，65，75℃，将菌种接种于 1.2 选择培养基中，分别置于不同温度的恒温摇床(135 r/min)中培养 10 d，测定各培养菌液的菌体生长情况。结果如图 2 所示。

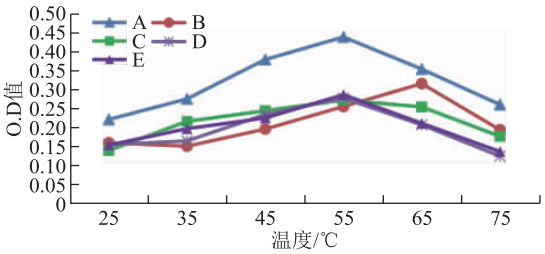

图 2 菌株在不同温度下的生物量

由图 2 可见，温度对 5 种筛选菌株的生长影响明显，随着温度的升高 O. D 值逐渐增大，都属于嗜温菌株；其中 A、C、D 和 E 4 种菌株在 55℃ O. D 值达到最大，B 菌株在 65℃ O. D 值达到最大；由此可见，5 种菌株均可在本实验区块的油藏温度下生长繁殖，A 菌株更能适应该区块油藏温度。

2.3.2 酸碱度适应性评价

以 1.2 的选择培养基为基础，分别调节 pH 值为 3.5，4.5，5.0，5.5，6.0，6.5，7.0，7.5，8.0 和 9.0，将每一种菌株分别接种在不同 pH 条件的选择培养基上，置于 55℃恒温摇床(135 r/min)培养 10 d，测定各培养菌液的菌体生长量。结果如图 3 所示。

由图 3 可见，A 菌株最适宜生长的 pH 条件为 7.5，表现为 O. D 值可高达 0.9，在 pH 值 7.0～8.0 之间

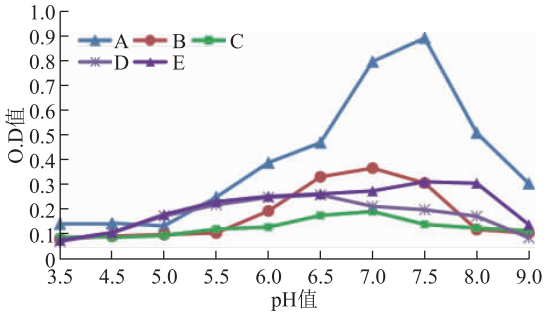

图 3 菌株在不同 pH 值下的生物量

的生长量明显高于其他菌株，在偏碱性环境下生长良好；B、C 和 E 菌株最适宜生长的 pH 条件为 7.0，在中性环境下能更好生长繁殖；D 菌株在 pH 值为 6.5 条件下生长量最大，在偏酸性环境下生长良好。该区块油藏为偏碱性环境，更适合 A 菌株生长繁殖。

2.3.3 矿化度适应性评价

地层水中包括许多种盐类，其中 90% 以上为 NaCl[6]，因此本文选择使用 NaCl 来调节培养液盐度，探究矿化度对菌株生长的影响。以 1.2 的选择培养基为基础，使用 NaCl 溶液调节其盐度分别为 0，1%，5%，10%，15%，20%，25%，30%，将每一种菌株分别接种在不同 NaCl 含量的液体培养基中，置于 55℃恒温摇床(135 r/min)培养 10 d，测定各培养菌液的菌体生长量。结果如图 4 所示。

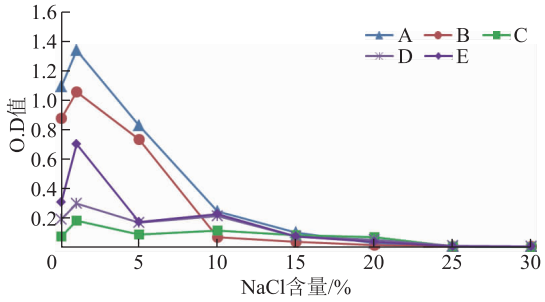

图 4 菌株在不同矿物度下的生物量

由图 4 可看出，5 种菌在不同盐度的营养液中有比较统一的生长趋势，均呈现先上升后急速下降的趋势；在 NaCl 含量＜1%时表现出比较明显的生长优势，当 NaCl 含量＞15%时 5 种微生物几乎不能生长繁殖，可推断在很高的矿化度情况下会造成细菌的细胞内外渗透压差值过大。盐度可以用来衡量矿化度，因此 5 种菌株在矿化度＜1×10^4 mg/L 时能很好的生长繁殖，矿化度＞1.5×10^5 mg/L 时 5 种菌株不能生存，A 菌株在矿化度＜5×10^4 mg/L 时也有较好的生长趋势。该区块矿化度＜10^5 mg/L，适合 5 种菌株生长繁殖。

2.4 采出水降解菌株对原油的降解效果

为探究本文筛选菌株对原油的降解效果,将分离出来的菌株接种于以原油为唯一碳源的液体培养基中进行培养,观察其对原油的降解效果,实验设置条件见表 3。图 5 为筛选的 5 种菌株的原油降解率。

表 3　5 种菌株的原油降解实验条件

菌株编号	实验条件		
	温度/℃	pH 值	培养时间/d
A	55	7.5	10
B	65	7	10
C	55	7	9
D	55	6.5	10
E	55	7	9

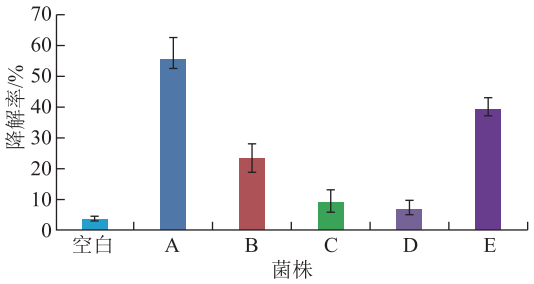

图 5　5 种菌株对原油的降解率

从图 5 可看出,5 株筛选的采出水降解菌株中,A 菌株对原油的降解效果最佳,降解率为 55.6%,其次为 E 菌株,其原油降解率为 38.9%,而 C 和 D 菌株的原油降解效果则较差,降解率分别为 8.9%和 6.7%。A 菌株可作为采出水降解菌菌株,以开展后续的研究工作。

3　结　论

1)通过富集培养、菌株的分离与纯化得到了 5 株不同的采出水降解菌株。

2)5 种菌株均能适应该区块油藏温度和矿化度,A 菌株生长繁殖最佳;该区块油藏为偏碱性环境,更适合 A 菌株生长繁殖。

3)A 菌株对原油的降解率达到 55.6%,可作为采出水降解菌菌株,需要进一步通过形态学特征、生理生化分析及 16 s rRNA 基因来开展菌株鉴定工作。

参 考 文 献

[1]　王恒.油田污水处理技术现状及发展趋势[J].化工管理,2017(9):10.

[2]　何志英,范婧,查广平,等.油田采出水水质分析及工艺评价[J]内蒙古石油化工,2020,46(10):43-45.

[3]　徐爱华.姬塬油田多层系复杂油藏开发技术研究[D].西安:西北大学,2018:1-86.

[4]　袁姝玲.定边油田微生物采油菌株的筛选与性能评价[D].西安:西安石油大学,2011:1-78.

[5]　雷富强.废弃钻井泥浆降解菌的筛选与处理效果研究[D].西安:西安石油大学,2021:1-91.

[6]　文守成,李秀生,何顺利,等.微生物采油菌种性能评价及现场应用效果[J].油田化学,2009,26(2):195-198.

(收稿日期　2022-03-24)
(编辑　王 蕊)

广 告 索 引

“环境监测·环境评价”主题征文活动通知　封　二
征订启事　后插一 后插二
“石油与环保”摄影作品征集　封　三
投稿要求　封　底