

文章编号: 1000-0550 (2005) 03-0542-06

实验室条件下微生物降解原油的地球化学特征研究

窦启龙^{1,3,4} 陈践发^{2,5} 薛燕芬⁶ 王杰^{1,4} 段文标^{1,4} 郭建军²

1(中国科学院兰州地质研究所气体地球化学重点实验室 兰州 730000) 2(石油大学(北京)资源与信息学院 北京昌平 102249)

3(北京燃气集团公司燃气输配分公司 北京 100011) 4(中国科学院研究生院 北京 100039)

5(长江大学 湖北荆州 434023) 6(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘要 通过对胜利油田四个正常原油样品微生物作用前后的族组分及饱和烃色谱质谱分析,发现实验室条件下微生物对原油有明显的降解作用。微生物作用以后的原油族组分其饱和烃相对含量降低,饱和芳比也明显降低,而芳烃、非烃和沥青质的相对含量都不同程度的升高。通过饱和烃色谱—质谱分析,发现微生物作用以后原油正构烷烃被严重降解,姥植(Pr/Ph)比值和 C_{21-} / C_{22+} 比值都明显降低。微生物作用原油后能产生表面活性剂,造成了培养基表面张力的降低。

关键词 微生物降解 生物标记化合物 表面活性剂

第一作者简介 窦启龙 男 1976年出生 硕士研究生 油气地球化学

中图分类号 P593 **文献标识码** A

1 引言

大量研究表明^[1~6],微生物对原油的降解作用具有很强的选择性,生物标记化合物抗微生物降解能力一般按下列顺序增强:正构烷烃,类异戊二烯烷烃,甾烷,藿烷、重排、甾烷,芳构化甾烷,卟啉;并建立了评价石油遭受微生物降解程度的尺度。

所谓微生物采油(Microbial Enhanced Oil Recovery, MEOR)是利用微生物对原油的降解作用来提高原油采收率的一项综合性技术。在 MEOR 研究中,微生物能降解原油,产生表面活性剂,降低原油粘度。我国东部的主要油田已进入高含水期,目前普遍面临着开采难度大、成本高、采收率低等难题和巨大压力。微生物采油技术和传统的三次采油技术相比,具有适应范围广、工艺简单、经济效益好等特点,是目前具有良好发展前景的一项三次采油技术。它的应用和推广对我国老油田的“挖潜增效”和“稳产战略”意义重大,对我国石油工业的可持续发展有十分积极的意义。

本实验的目的,是研究微生物在实验室条件下如何降解原油的,以此探讨在自然界条件下微生物降解原油的机理,并为 MEOR 矿场试验提供依据。一来可以了解降解的过程,二来可以对次生生物气的成因

提出新的证据。本实验用的是对比的方法,这也是一个新的尝试。

2 实验分析

2.1 样品来源

本实验样品采自胜利油田单 12 块沙三下 1 层段,井号分别是 S12-4, S12-5, S12-13, S12-X19。井段从 1 367.8 m 到 1 470.9 m。地面原油平均密度为 0.886 g/cm³,平均凝固点 27℃,粘度平均为 69.5 mPa·s(50℃),含蜡量平均为 10.6%。

2.2 实验条件

本实验所用的菌株为单 12 块油田水中富集的喜氧混合菌系(由中科院微生物研究所极端微生物实验室保存),在培养基中生长,培养基中未加入含碳物质,原油是微生物生长所需要的唯一碳源,37℃ 恒温条件下摇床反应 14 天。

对微生物作用前后的油样族组分进行分离。首先用正己烷沉淀原油中的沥青质,然后用柱层把脱沥青质原油分离成饱和烃、芳烃和非烃。

饱和烃色谱—质谱分析在 Finnigan SSQ710 色谱—质谱仪上进行。色谱柱为 HP—5MS 弹性石英毛细柱(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)。升温程序为,80

恒温 1 min, 4 /min 升温至 250 ,再以 2.5 /min 升温至 300 ,保持 20 min。进样器温度 290 ,载气为氦气。

培养基表面张力的测定,用 K12 界面张力仪在 24.5 下进行测定。

3 实验结果分析

3.1 族组分特征分析

经过微生物作用的原油,其饱和烃、芳烃、非烃和沥青质的相对含量都发生了较显著的变化,其中饱和烃相对含量明显降低,芳烃、非烃和沥青质的相对含量都不同程度的升高,即表现出很明显的“三高一低”特征(见表 1、图 1)。S12-4 井, S12-5 井, S12-13 井, S12-X19 井的原油的饱芳比由 2.86、4.40、2.38 和 4.50 分别降为 1.70、1.62、1.32 和 2.08,饱芳比的

显著降低,这也是微生物降解原油的特征。说明微生物主要以饱和烃为作用对象,从而造成了饱和烃相对丰度的降低。

表 1 原油样品微生物作用前后族组成特征

Table 1 Compositions of the crude oil with bacteria treatment

项 目	饱和烃 /%	芳烃 /%	非烃 /%	沥青质 /%	饱 / 芳
S12-4前	63.09	22.04	11.71	3.16	2.86
S12-4后	49.37	29.00	16.77	4.86	1.70
S12-5前	71.05	16.15	7.35	5.45	4.40
S12-5后	45.25	27.91	15.49	11.35	1.62
S12-13前	58.80	24.72	12.44	4.04	2.38
S12-13后	42.60	32.26	17.79	5.35	1.32
S12-X19前	72.00	16.01	8.27	3.71	4.50
S12-X19后	53.47	25.73	13.20	7.61	2.08

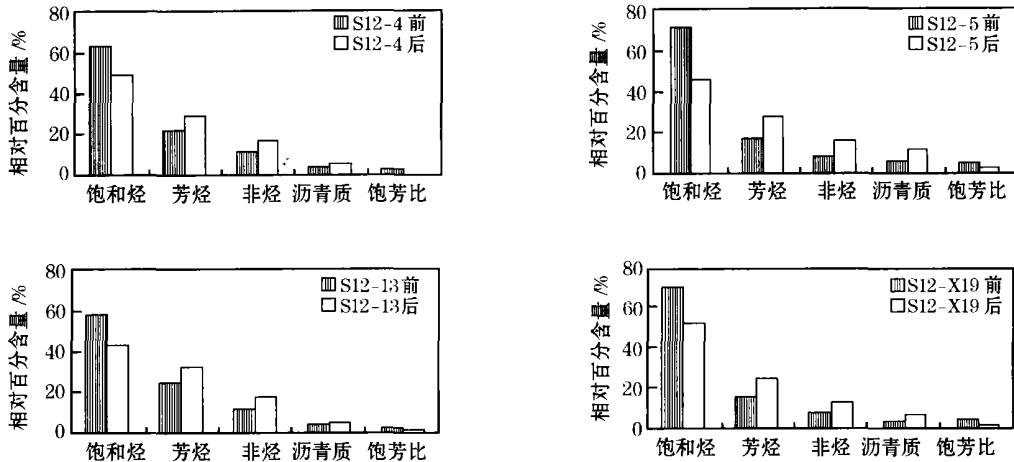


图 1 原油样品微生物作用前后族组成对比柱状图

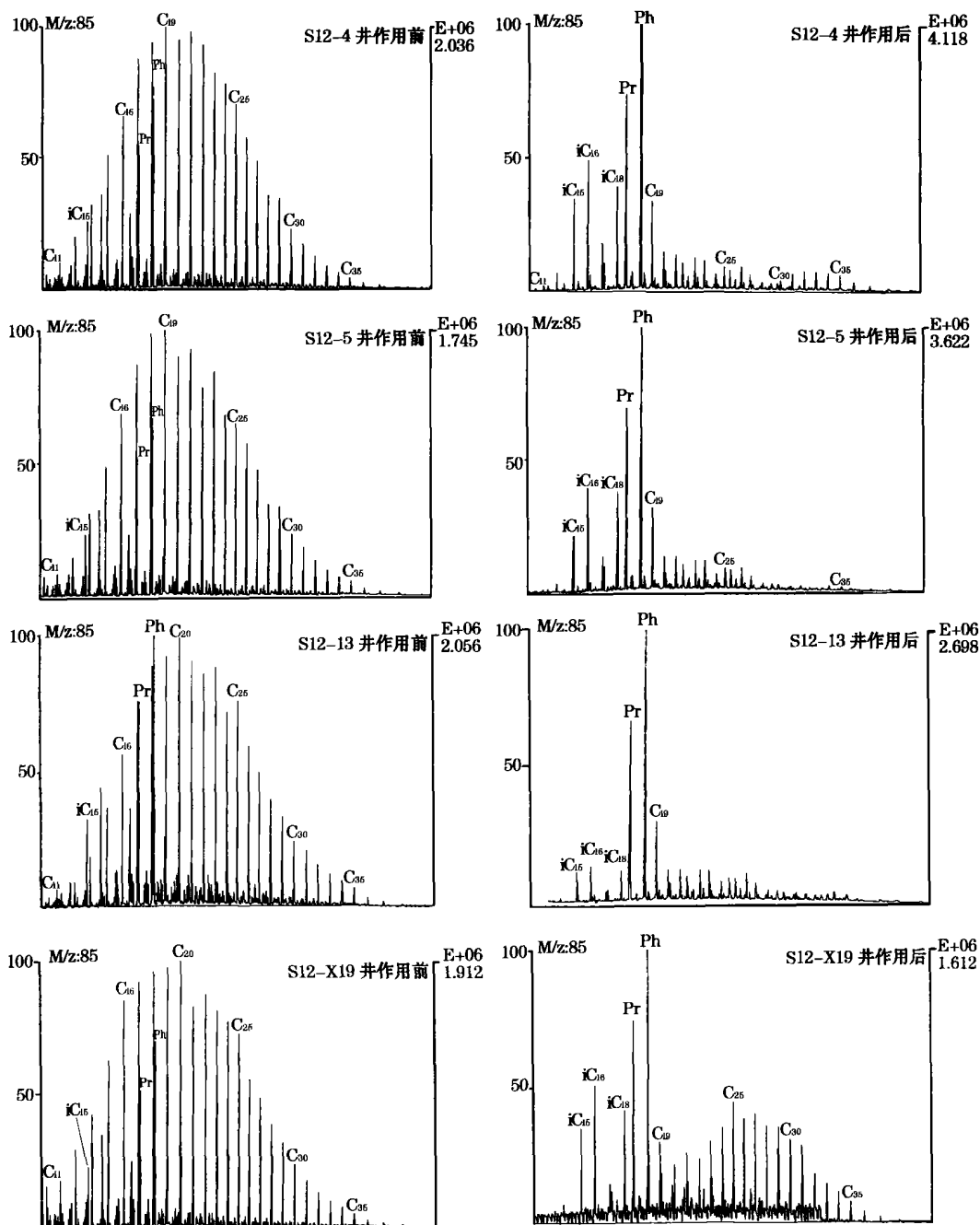
Fig 1 Compositions of the crude oil with bacteria treatment

表 2 原油样品微生物作用前后生标特征

Table 2 Biomarker parameters of the saturated hydrocarbon of the crude oil before and after microbial treatment

项 目	CPI	OEP	Pr/Ph	Pr/nC ₁₇	Ph/nC ₁₈	$\frac{C_{21}^-}{C_{22}^+}$	碳数	主峰碳
S12-4前	1.10	1.06	0.94	0.99	1.03	1.05	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₁₉
S12-4后	1.48	1.39	0.71	111.44	44.64	0.99	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₁₉
S12-5前	1.10	1.03	0.93	1.03	1.04	0.71	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₁₉
S12-5后	1.68	1.47	0.72	55.70	35.42	0.99	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₁₉
S12-13前	1.09	1.00	0.85	1.52	1.55	0.91	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₂₀
S12-13后	1.54	1.42	0.63	70.48	68.07	0.67	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₁₉
S12-X19前	1.10	1.05	0.91	0.87	0.94	1.15	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₂₀
S12-X19后	1.19	0.94	0.74	112.18	114.29	0.43	nC ₁₁ -C ₃₈	C ₂₅

$$CPI = \frac{1}{2} \left(\frac{C_{25} + C_{27} + C_{29} + C_{31} + C_{33}}{C_{24} + C_{26} + C_{28} + C_{30} + C_{32}} + \frac{C_{25} + C_{27} + C_{29} + C_{31} + C_{33}}{C_{26} + C_{28} + C_{30} + C_{32} + C_{34}} \right) \quad OEP = \frac{C_{21} + 6C_{23} + C_{25}}{4(C_{22} + C_{24})}$$

图 2 微生物作用前后 m/z 85 质量色谱图Fig 2 MCS of m/z 85 of crude oil with bacteria treatment

3.2 正构烷烃和类异戊二烯烷烃特征

色谱—质谱—计算机联用仪 (GC/MS/DS) 给出的 m/z 85 质量色谱图 (图 2), 显示了样品中有机质的正构烷烃和类异戊二烯烷烃的分布特征。图 2 给出的是 S12-4 井、S12-5 井、S12-13 井和 S12-X19 井微生物

作用前后的 m/z 85 质量色谱图。图中明显看出, 正构烷烃的分布特征, 在微生物作用前, S12-4 井、S12-5 井、S12-13 井和 S12-X19 井很接近, 碳数分布均为 $nC_{11} \sim nC_{38}$, 单驼峰形, nC_{29} 以后高碳数正构烷烃的相对含量均属缓慢下降形状, nC_{38} 之后无法检

出。在微生物作用后, S12-4 井、S12-5 井、S12-13 井和 S12-X19 井的 m/z 85 质量色谱图发生了变化, 正构烷烃被严重降解, 类异戊二烯烷烃得到较好的保留。正构烷烃碳数分布为 $nC_{11} \sim nC_{38}$, 主峰碳的变化 S12-

4 井和 S12-5 井微生物作用前后都是 C_{19} , 没有发生变化; S12-13 井和 S12-X19 井由微生物作用前的 C_{20} 分别变为 C_{19} 和 C_{25} 。

从表 2 中可以看出这四个原油的 CPI 和 OEP 值

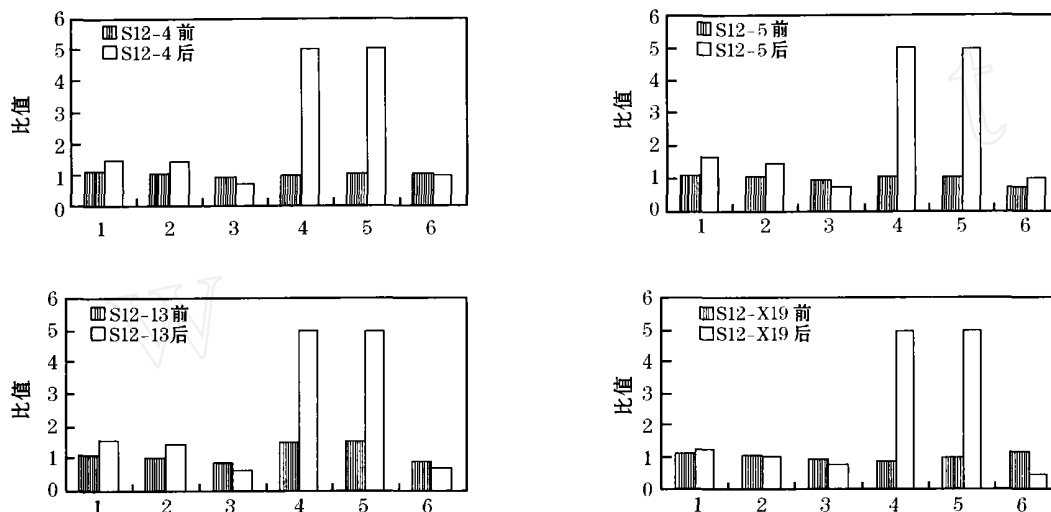


图 3 原油样品微生物作用前后生标特征对比柱状图

Fig 3 Biomarker parameters of the saturated hydrocarbon of the crude oil before and after microbial treatment

1: CPI, 2: OEP, 3: Pr/Ph, 4: Pr/ nC_{17} , 5: Ph/ nC_{18} , 6: C_{21-} / C_{22+}

都是大于 1, 分布在 1.0 ~ 1.10 之间, 表现为略呈奇数碳优势特征。说明这四个原油的演化程度相近, 均表现了成熟有机质的特征。微生物作用以后的 CPI 和 OEP 值, 这几个样品都比较一致的表现出升高的特征 (见表 2、图 3), 其奇碳优势更加明显, 说明微生物降解对偶碳更加敏感。

表 2 也给出了正构烷烃和类异戊二烯烷烃的有关数据。黄第藩等^[7]根据饱和烃色谱资料研究认为, nC_{21} 以前的低碳数正烷烃来自脂肪酸, nC_{22} 以后的高碳数正烷烃来自植物蜡, 异戊二烯烷烃 (植烷系列) 主要来自叶绿素。孟仟祥^[8]认为, C_{21-} / C_{22+} 比值, 表示低碳数正构烷烃相对丰度总和与高碳数正构烷烃相对丰度总和的比值。它既可反映母质来源的差异 (一般认为 C_{21-} 主要来自于水生生物, C_{22+} 主要来自陆生生物), 又可反映演化程度的不同 (在相近环境和母质来源的情况下, 演化程度越高, 高碳数正构烷烃向低碳数正构烷烃转化的程度越高)。表 2 给出的正构烷烃和类异戊二烯烷烃的有关数据, 这四个原油的 C_{21-} / C_{22+} 比值分布在 0.71 ~ 1.15 之间, 并且 C_{29} 以后高碳数正构烷烃相对丰度很低, 表明这些原油以水生生物为主要母质来源。微

生物作用以后, 除了 S12-5 井的 C_{21-} / C_{22+} 比值变大外, 其余三个样品的 C_{21-} / C_{22+} 比值都变小, 这说明微生物对 C_{21} 以前的低碳数正构烷烃的降解程度要大一些, 从而造成了低碳数正构烷烃的相对丰度的减少。至于 S12-5 井的 C_{21-} / C_{22+} 比值反常的变大, 具体原因还有待进一步探讨。

表 2、图 3 显示, 微生物作用后的原油 Pr/ nC_{17} 和 Ph/ nC_{18} 值变大了几十倍到上百倍, 说明微生物对原油正构烷烃的降解要优先于类异戊二烯烷烃。

姥鲛烷、植烷以及姥植比 (Pr/Ph) 可作为沉积环境及介质酸碱度重要标志^[9~11]。经典的观点认为, 姥鲛烷形成于较氧化环境, 植烷形成于较还原环境^[11,12]。大量研究表明, 这一认识也比较适应中国陆相原油的地质地球化学特征^[13,14]。梅博文^[9]认为 Pr/Ph 值 0.2 ~ 0.8 属于强还原咸水深湖相, 2.8 ~ 4 属于弱氧化—弱还原淡水湖沼相, 介于其间则是淡水—微咸水深湖相。姥植 (Pr/Ph) 比值, 不但反映了沉积环境的氧化还原程度, 还可间接推论古环境水体的深浅, 一般水体较深时属还原环境, 反之属于较氧化环境。这四个原油的 Pr/Ph 值分布在 0.85 ~ 0.94 之间, 呈植烷优势分布, 表明这些原油的母质类

型以水生生物为主,处于较强还原环境。另外在不同母质输入类型时,Pr/Ph值也有较大差异。以陆生高等植物为主要母质输入的有机质中Pr/Ph值也较高,呈姥鲛烷优势;而在湖相、湖沼相和海相样品中该比值一般较低,显示出植烷优势。所以Pr/Ph值也反映了母质输入类型和环境的差异。微生物作用以后的姥植(Pr/Ph)比值,这四个样品都有较明显的降低(见表2、图3),可能是微生物对沥青质中具有植烷侧链的大分子前身物发生降解作用,使原油中植烷的相对丰度升高,从而导致Pr/Ph值的降低;同时也表明,微生物对沥青质有降解的作用。

3.3 藿烷类特征

从表3可以看出,微生物作用后的原油的Ts/Tm值变化比较一致,都表现出明显增大的特征,表明微生物对Tm的降解要优先于Ts。这反映出微生物对藿烷骨架上的角甲基有明显的重排作用,即由不定位向稳定位转移。

22, 29, 30-17 (H) 三降藿烷(Tm)在18位有一个角甲基,由于藿烷立体构型的影响,C₁₈位的角甲基显然不如C₁₇位的角甲基稳定,因此在外力作用下(热作用或者细菌微生物作用),C₁₈位的角甲基将向C₁₇位的角甲基转移,使该藿烷变为一个22, 29, 30-18 (H) 三降藿烷(Ts)。

微生物作用后的C₃₁ 22S/22(S+R)值基本没有发生变化,均分布在0.57~0.58很窄的区间,表明在本实验条件下,微生物对其有手性碳(22位)的藿烷对映异构体的立体构型并不起改造作用。但是微生物作用以后的C₂₉ Ts/C₂₉ NH值降低,这说明微生物在对它们的降解先后顺序是,C₂₉ Ts先于C₂₉ NH。

3.4 甾烷类特征

从表4可以看出,样品甾烷的生物标记化合物特

表3 原油样品微生物作用前后藿烷生标特征

Table 3 Biomarker parameters of hopanes of saturated hydrocarbon from the crude oil

项目	Ts/Tm	C ₃₁ 22S/22(S+R)	C ₂₉ Ts/C ₂₉ NH
S12-4前	1.09	0.57	0.35
S12-4后	1.18	0.58	0.29
S12-5前	1.12	0.58	0.32
S12-5后	1.18	0.57	0.28
S12-13前	1.08	0.57	0.33
S12-13后	1.03	0.58	0.27
S12-X19前	1.15	0.58	0.37
S12-X19后	1.22	0.58	0.36

表4 原油样品微生物作用前后甾烷生标特征

Table 4 Biomarker parameters of saturates of the saturated hydrocarbon in the crude oil

	C ₂₉ 20S/(20S+20R)	C ₂₉ / (+)	C ₂₇ 20R / C ₂₉ 20R
S12-4前	0.47	0.37	0.88
S12-4后	0.48	0.36	0.91
S12-5前	0.48	0.43	0.87
S12-5后	0.49	0.37	0.92
S12-13前	0.46	0.36	0.83
S12-13后	0.45	0.36	0.78
S12-X19前	0.47	0.38	0.74
S12-X19后	0.47	0.41	0.73

征,C₂₉ 20S/(20S+20R), C₂₉ / (+), C₂₇ 20R / C₂₉ 20R这三个指标,微生物作用前后的变化非常不明显,说明在本实验条件下微生物还没有对甾烷起降解作用。

4 生物表面活性剂

辽河油田的李牧等^[15]用滴定法测得产活性剂菌23-1在含油的培养基中发酵后,表面活性剂含量为2.6%,23-1菌水基培养基培养后使蒸馏水的表面张力从76 mN/m降为39 mN/m。雷光伦^[16]等用K12界面张力仪,在50℃下对作用后的原油以及含微生物的水进行界面张力测试,界面张力从作用前的36 mN/m降至34~25 mN/m,油水界面张力降低,表明水中有表面活性剂的生成。本实验将微生物作用以后的原油的培养基测表面张力,微生物作用前这四个原油培养基的表面张力都是65 mN/m,微生物作用后,S12-4井降为47 mN/m,S12-5井降为54 mN/m,S12-13井降为43 mN/m,S12-X19井降为55 mN/m。表面张力的降低,同样说明微生物作用原油以后产生了表面活性剂。

5 结论

(1) 微生物优先作用饱和烃,从而造成了原油族组分中饱和烃相对丰度的降低,其它组分相对丰度的升高,从而导致饱芳比的显著降低。

(2) 微生物对原油作用以后,m/z85正构烷烃质量色谱图会发生显著变化,正构烷烃被很严重的降解。微生物对原油降解的先后顺序是,正构烷烃>类异戊二烯烷烃>藿烷,nC₂₁>nC₂₂。

(3) 微生物降解原油以后Ts/Tm值的明显变化表明,微生物对Tm的降解要优先Ts,同时也反映出微生物对藿烷骨架上的角甲基有明显的重排作用—

即由不定位向稳定位转移。

(4) 微生物作用后的 $C_{31} \quad 22S/22(S+R)$ 值基本没有发生变化,表明在本实验条件下,微生物对其有手性碳(22位)的藿烷对映异构体的立体构型并不起改造作用。

(5) 微生物作用原油以后能产生表面活性剂,造成培养基表面张力的降低。

参考文献 (References)

- Connan J, Dessort D. Biodegradation of crude oil in reservoirs. In: Brooks J and Welte D H, eds. *Advance in Petroleum Geochemistry*. London: Academic Press, 1984. 299 ~ 355
- Chosson P, Connan J, Dessort D, and Lanau C. In vitro biodegradation of steranes and terpanes: A clue to understanding geological situations. In: Moldowan J.M, Albrecht P, and Philp R P, eds. *Biological Markers in Sediments and Petroleum*. New Jersey: Prentice Hall, Englewood Cliffs N J, 1992. 320 ~ 349
- Peters K E, Moldowan J.M. The biomarker guide: Interpreting molecular fossils in petroleum and ancient sediments. New Jersey: Prentice Hall, Englewood Cliffs, 1993. 233 ~ 265
- 陈传平,梅博文,易绍金,等. 砂岩储层中原油微生物降解的模拟实验研究. *沉积学报*, 1997, 15(1): 135 ~ 140 [Chen Chuaping, Mei Bowen, Yi Shaojin, *et al*. The experiment research of crude oil in sedimentation of microbe degradation. *Acta Sedimentologica Sinica*, 1997, 15(1): 135 ~ 140]
- 包建平,朱翠山,马安来,等. 生物降解原油中生物标志物组成的定量研究. *江汉石油学院报*, 2002, 24(2): 22 ~ 26 [Bao Jianping, Zhu Cuishan, Ma Anlai, *et al*. The research of biomarkers compositions of crude oil in microbe degradation. *Journal of Jianghan Petroleum Institute*, 2002, 24(2): 22 ~ 26]
- 卢鸿,彭平安,徐兴友,张林晔. 济阳拗陷特殊生物降解油的初步研究. *沉积学报*, 2004, 22(4): 694 ~ 699 [Lu Hong, Peng Ping'an, Xu Xingyou, Zhang Linye. Preliminary study on the severely biodegraded crude oil in Jiyang Depression, China. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2004, 22(4): 694 ~ 699]
- 黄第藩,李晋超. 利用气相色谱资料探讨几种成油生源构成. *石油与天然气地质*, 1982, 3(3): 251 ~ 259 [Huang Difan, Li Jinchao. The research of oil source by way of MCS. *Oil & Gas Geology*, 1982, 3(3): 251 ~ 259]
- 孟仟祥,房嫒,徐永昌,沈平. 柴达木盆地石炭系烃源岩和煤岩生物标志物特征及其地球化学意义. *沉积学报*, 2004, 22(4): 729 ~ 736 [Meng Qianxiang, Fang Xuan, Xu Yongchang, Shen Ping. Biomarkers and geochemical significance of Carboniferous source rocks and coals from Qaidam. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2004, 22(4): 729 ~ 736]
- 梅博文,刘希江. 我国原油中异戊间二烯烃的分布及其与地质环境的关系. *石油与天然气地质*, 1980, 1(2): 99 ~ 115 [Mei Bowen and Liu Xijiang. The distribution of isoprenoid alkanes in China a crude oil and its relation with the geologic environment. *Oil & Gas Geology*, 1980, 1(2): 99 ~ 115]
- 王铁冠,等. *生物标志物地球化学研究*. 武汉: 中国地质大学出版社, 1990 [Wang Tieguan, *et al*. *Approach to Biomarker Geochemistry*. Wuhan: China University of Geoscience Press, 1990]
- Powell T, Mckirdy D M. Relationship between ratio of pristane to phytane, crude oil composition and geological environments in Australia. *Nature*, 1973, 243: 37 ~ 39
- Seifert W K, Moldowan J.M. Paleoreconstruction by biological markers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1981, 45: 783 ~ 794
- Fu J.M, Sheng G Y, Xu J Y, *et al*. Application of biological markers in the assessment of paleoenvironment of Chinese non-marine sediments. *Organic Geochemistry*, 1990, 16: 769 ~ 779
- Huang D F, Li J C, Zhang D J. Maturation sequence of continental crude oil in hydrocarbon basins in China and its significance. *Organic Geochemistry*, 1990, 16: 521 ~ 529
- 雷光伦. 微生物采油技术的研究与应用. *石油学报*, 2001, 22(2): 56 ~ 63 [Lei Guanglun. The Research and Application in MEOR. *Petroleum Sinica*, 2001, 22(2): 56 ~ 63]
- 雷光伦,郭云尧,郑家明,等. 高温微生物提高采收率实验研究. *油气地质与采收率*, 2002, 9(4): 15 ~ 20 [Lei Guanglun, Guo Yunyao, Zheng Jiaming, *et al*. The research of microbe in MEOR. *Petroleum Geology and Recovery Efficiency*, 2002, 9(4): 15 ~ 20]

A Comparative Study of the Geochemical Characters of Crude Oil after Microbe Degradation in Laboratory

DOU Qi-long^{1,3,4} CHEN Jian-fa^{2,5} XUE Yan-fen⁶ WANG Jie^{1,4} DUAN Wen-biao^{1,4} GUO Jian-jun²

1(State Key Laboratory of Gas Geochemistry, Lanzhou Institute of Geology, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

2(Resource and Information College, Petroleum University of China, Changping Beijing 102249) 3(Beijing Gas Group Co., Ltd Gas Transmission and Distribution Branch Co., Beijing 100011) 4(Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039) 5(Yangtze University, Jingzhou Hubei 434023) 6(Institute of Microbe, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract Based on the analyses of the four crude oil samples in Shengli oil fields, it is found that microbe can degrade the crude oil in laboratory. After the microbe degradation, the crude oil samples have low saturated hydrocarbon contents and low saturated hydrocarbon/aromatic hydrocarbon ratios, and high aromatic hydrocarbon, non-hydrocarbon and asphaltene. It also shows that the normal paraffin hydrocarbon of crude oil has a deep degradation after microbe degradation, and a low Pr/Ph value and a low $C_{21} / C_{22} +$ ratio. After the action of microorganisms on crude oil, some surface-active substances produced, and caused low surface tension.

Key words microbe degradation, biomarker, surface-active substances