

# 精细化工<sup>®</sup>

## FINE CHEMICALS

- ✔ 入选中国科技期刊卓越行动计划
- ✔ EI、CSCD、中文核心、北大核心等权威数据库收录
- ✔ 国内精细化工行业创刊最早的权威期刊
- ✔ 中国化工学会精细化工专业委员会会刊

### 知网首发

稿件一经录用，中国知网可查询，并由编辑部与知网共同出具网络首发证书。

### 报道范围

涵盖当代中国精细化工科学与工业的众多新兴领域。如：功能材料、能源化工、生物工程、中药现代化技术、环境保护、食品化学品、油田化学品、表面活性剂、医药与日化原料等。



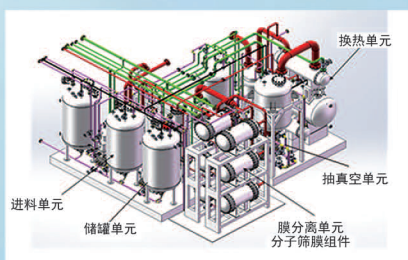
扫描二维码关注我们

## 《精细化工<sup>®</sup>》编辑部



浙江汇甬新材料有限公司

# 微波合成第二代脱水膜

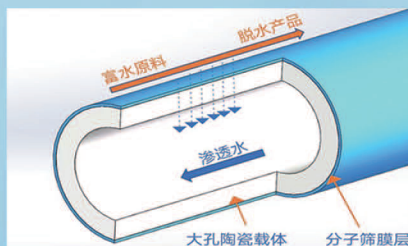


国家自然科学基金二等奖 成果转化

I ChemE全球 创新产品冠军

微波分子筛膜 脱水性能遥遥领先

共沸体系、热敏体系、含水有机物脱水精制换代技术



收率高、能耗低、连续脱水、无需再生

在如下领域的有机物脱水精制已有工业化应用

锂电池电解液溶剂及NMP生产、回收

BDO产业链、煤化工、石油化工精细化学品

制药行业、溶媒回收、燃料乙醇、超纯溶剂

广泛适用于醇类、醚类、酯类、酮类、苯系物、卤代烃的脱水精制



固定电话：0574-87648996

电话：13396592011

网址：[www.hymater.com](http://www.hymater.com)

地址：浙江省宁波市江北高新园区庆丰路联东U谷国际港56号楼

油田化学品与油品添加剂

## XJ-21 菌株在胍胶压裂液体系中破胶驱油的复合性能

翟怀建<sup>1</sup>, 董景锋<sup>1</sup>, 张凤娟<sup>1</sup>, 尹剑宇<sup>1</sup>, 孙秀鹏<sup>2</sup>, 赵静<sup>2\*</sup>

(1. 中国石油新疆油田分公司工程技术研究院, 新疆 克拉玛依 834000; 2. 大连知微生物科技有限公司, 辽宁 大连 116000)

**摘要:** 在储层压裂改造过程中, 胍胶压裂液体系低温破胶难, 储层改造效果差, 是新疆油田油藏开发亟待解决的关键技术难题。针对这一技术难题, 将微生物强化采油技术应用于压裂液体系中, 从新疆油田吉 7 井区烧房沟组采集到油泥, 通过对样品中微生物的富集培养及分离, 筛选得到一株能够高产生物表面活性剂的菌株, 将其命名为 XJ-21。结合菌落形态观察、革兰氏染色及 16S rRNA 序列分析结果, XJ-21 菌株被鉴定为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。FTIR 分析确定 XJ-21 代谢产物中的生物表面活性剂与环脂肽类结构一致。XJ-21 菌株与外源 ZW-027 菌株复配后, 复配体系对油藏环境条件具有广泛适应性, 不仅在温度为 35~55 °C 的范围内可以产生生物酶使胍胶冻胶破胶, 还可在 50 °C 下降低样品所在区块的原油黏度, 降黏率可达 95.45%。在水驱后, 使用复配体系驱油与仅用水驱技术相比可以提高 10.14% 的驱油率。

**关键词:** 压裂液; 胍胶; 微生物强化采油; 稠油降黏; 表面活性剂; 油田化学品

中图分类号: TE357.12 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2023) 04-0911-09

## Compound performance of XJ-21 strain in guar gum fracturing fluid system

ZHAI Huaijian<sup>1</sup>, DONG Jingfeng<sup>1</sup>, ZHANG Fengjuan<sup>1</sup>,  
YIN Jianyu<sup>1</sup>, SUN Xiupeng<sup>2</sup>, ZHAO Jing<sup>2\*</sup>

(1. Research Institute of Engineering Technology, Xinjiang Oilfield Company, PetroChina, Kelamayi 834000, Xinjiang, China; 2. Dalian Chivy Biotechnology Co., Ltd., Dalian 116000, Liaoning, China)

**Abstract:** During the process of reservoir fracturing modification, guanidine gum fracturing fluid is difficult to break gel at low temperature and has poor reservoir reconstruction effect, which needs to be solved urgently in reservoir development of Xinjiang Oilfield. Herein, microbial enhanced oil recovery technique was applied in guar gum fracturing fluid trying to solve these problems. The oil sludge was collected from the Shaofanggou group in Ji 7 block of Xinjiang Oilfield, and a strain named XJ-21, which was capable of producing high-yield surfactant, was obtained after enrichment culture, isolation and screening. This strain was identified as *Bacillus subtilis* based on its morphology, Gram Staining and 16S rRNA sequence analysis. Moreover, FTIR analysis revealed that the biosurfactant in XJ-21 metabolites had the same structure as cyclic lipopeptides. When XJ-21 strain was combined with an exogenous strain ZW-027, the formed compound system exhibited wide adaptability to reservoir environment, could produce biological enzymes to break guanidine gel in the temperature ranging 35~55 °C, also could reduce the crude oil viscosity in the sample block at 50 °C with the viscosity reduction rate reaching 95.45%. The oil displacement efficiency could be improved by 10.14% by flooding with the combination system compared with water flooding only.

**Key words:** fracturing fluids; guar gum; microbial enhanced oil recovery; viscosity reduction; surfactants; oilfield chemicals

收稿日期: 2023-03-01; 定用日期: 2023-07-05; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230155

基金项目: 大连市重点研发科技计划项目 (2022YF12GX058); 大连市科技人才创新支持计划 (青年科技之星) 项目 (2022RQ063)

作者简介: 翟怀建 (1986—), 男, E-mail: 44867336@qq.com。联系人: 赵静 (1974—), 教授级高级工程师, E-mail: zhaoj@dl-opus.com。



在油田开发的初期和中期,为了使油田能够增产,通常需要使用压裂液将地下岩层压裂开。压裂液在压裂施工中的主要作用是将地面工作的高压传递到油气层,使油藏地层岩石开裂产生缝隙,形成油气流动通道,压裂措施所形成的岩层缝隙方向与大小决定了压裂作业是否能够有效地提高油田产量。按施工过程中压裂液的作用阶段,压裂液可以分为前置液、携砂液和顶替液;根据压裂液的不同体系,可分为水基压裂液、油基压裂液、泡沫压裂液、酸基压裂液、乳化压裂液、清洁压裂液等。目前,水基压裂液体系由于具有安全、清洁、价廉且性质易于控制等特点而得到了广泛的应用。油田常用的水基压裂液体系为胍胶压裂液,其主要成分为胍胶。虽然胍胶压裂液能够有效提升原油产量,但存在返排率低、对地层损害大、压裂改造后单井产量提高难度大等问题。上述这些问题可以通过降低压裂液黏度而得到有效解决。在现场施工中,常使用破胶剂来降低压裂液黏度,从而形成压裂返排液排至地面,仅留下与压裂液混合注入的支撑剂在压裂造成的岩石缝隙中,以保证较好的裂缝导流能力,保持油气流动的通道<sup>[1]</sup>。

在现场压裂实施过程中,破胶剂是直接影响压裂返排液返排率的重要添加剂。目前,油田主要使用 3 类破胶剂,分别是化学破胶剂、生物酶破胶剂和胶囊破胶剂。化学破胶剂在压裂过程中使用条件苛刻,难以控制压裂液的破胶程度,破胶后的压裂液残渣相对分子质量较大,容易堵塞孔道<sup>[2-3]</sup>。胶囊破胶剂则是在破胶剂的外表包裹一层薄膜或胶囊以达到延缓释放破胶剂的目的。这层薄膜能够避免压裂液早期降解,在处理薄膜后内容物释放,能迅速降解聚合物。虽然胶囊破胶剂结合生物酶破胶剂能达到更好的降解压裂液效果,但是操作相对使用单一破胶剂更加复杂。与化学破胶剂和胶囊破胶剂相比,生物酶破胶剂具有对胍胶的专一性和高效性,因而能够更高效、更精准地降解胍胶,提高破胶效果。并且,生物酶能够催化断裂糖苷键形成更小的分子,在生物酶破胶剂的作用下,胍胶压裂液能够被彻底破胶,破胶后的压裂液残渣相对分子质量小、残渣量少,对地层的损害更小。综上可知,采用生物酶破胶剂进行压裂液的降解对提高原油采收率、保护地层和周围环境都具有重大意义<sup>[4-5]</sup>。

微生物采油技术(MEOR)是一种利用微生物自身活动(对原油的降解作用)和代谢产物(生物表面活性剂)来提高油井产量或原油采收率的综合性技术。主要方法是将地面分离培养的微生物菌液(外源微生物)和营养液注入油层,或单纯注入营养液以激活油层内源微生物,从而使内源微生物在

油层内生长繁殖。经微生物的生物活动(如产酸、产气等)或代谢产物的某些特性(如乳化、降黏作用等)作用于原油,改变原油的黏度、稠度和流动性等物化特性,从而提高原油产量<sup>[5]</sup>。MEOR 作为一种有效改善油藏性质的储层改造手段,具有施工简便、作用时间长、成本低廉、环境友好等优势,通常与其他化学或物理储层改造技术一同应用于难以开发的非常规油藏中<sup>[6]</sup>。

本研究将 MEOR 技术应用于新疆油田胍胶压裂前置液中,通过对内源微生物的筛选,研究其生理特性及代谢产物,从油水混合样品中分离筛选出 1 株高效产生物表面活性剂的内源菌株(XJ-21)。结合高效产生物酶、具有胍胶破胶功能的外源菌株枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) ZW-027,形成 XJ-21 和 ZW-027 的内源-外源微生物复配体系,研究复配体系的环境适应性、破胶性能、降黏特性、乳化活性、原油降解能力、产生物表面活性剂的能力和岩心驱替剩余油的效率,旨在通过提高压裂液返排效率,进而提高原油采收率,达到高效高质量压裂作业的同时提高单井产量的效果。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

葡萄糖、CaCl<sub>2</sub>, AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司;琼脂, BR, 北京奥博星生物技术有限责任公司; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、NH<sub>4</sub>Cl, AR, 天津市大茂化学试剂厂; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, AR, 天津市双船化学试剂厂; MnSO<sub>4</sub>, AR, 天津市福晨化学试剂厂; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, AR, 天津市风船化学试剂科技有限公司;胍胶, 一级, 中国石油化学昆山有限公司;苏丹红 III, AR, 上海迈坤化工有限公司;液体石蜡, CP, 广东光华科技股份有限公司。

DH3600 II 电热恒温培养箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; BXM-30R 立式蒸汽灭菌器, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; SHZ-82A 气浴恒温振荡器, 常州易晨仪器制造有限公司; QJZY-1 全自动界面张力仪, 上海平轩科学仪器有限公司; FD-1A-50 真空冷冻干燥机, 北京博医康实验仪器有限公司; Spectrum 100 傅里叶变换红外光谱仪, 美国珀金埃尔默股份有限公司; HLB-10140 岩心流动仪, 西安茂东机电设备有限公司; UV752N 紫外-可见分光光度计, 上海佑科仪器仪表有限公司; 7900A 气相色谱仪, 北京汇龙有限公司; HTD13145 六速旋转黏度计, 青岛海通达专用仪器有限公司。

### 1.2 样品

实验用油水混合样品采集自新疆油田吉 7 井区



烧房沟组,样品采集按照 GB/T 4756—2015 执行,采集得到的油水混合样品用分液漏斗静置 24 h 后分离,得到地层原油和采出水。参照 SY/T 0520—2008、GB/T 510—2008、SY/T 5329—2012 和 SY/T 5523—2016 测定获得的地层原油和采出水<sup>[7]</sup>的物性。

实验用人工岩心制备方法参照张广清等<sup>[8]</sup>的方法。

外源功能菌株为大连知微生物科技有限公司冷藏保存的采油功能菌 ZW-027。

### 1.3 培养基

无机盐液体培养基(均为质量浓度, g/L,下同):葡萄糖 30.0、NH<sub>4</sub>Cl 6.0、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 6.0、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0、CaCl<sub>2</sub> 0.5、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01、MnSO<sub>4</sub> 0.002、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.002, pH 为 7.0~7.2。

无机盐固体培养基(均为质量浓度, g/L,下同):琼脂 20.0,其余同无机盐液体培养基。

胍胶固体培养基(均为质量浓度, g/L,下同):胍胶 10.0、NH<sub>4</sub>Cl 6.0、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 6.0、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0、CaCl<sub>2</sub> 0.5、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01、MnSO<sub>4</sub> 0.002、CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.002、琼脂 20.0, pH 为 7.0~7.2。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 内源功能菌株的筛选

富集培养:在 250 mL 锥形瓶中装入 100 mL 无机盐液体培养基;取 3 g 地层原油及 7 g 采出水,并加入 90 mL 无菌水(高压灭菌制得)振荡 30 min 制得混合液,吸取 5 mL 混合液至 100 mL 无机盐液体培养基中,37 °C 培养 48 h,制得富集菌液。

初筛:在无机盐固体培养基上,利用稀释平板法<sup>[9]</sup>和平板划线法<sup>[10]</sup>分离纯化单菌株;将富集菌液用无菌水进行  $1.0 \times 10^{-1} \sim 1.0 \times 10^{-7}$  梯度稀释,分别用  $1.0 \times 10^{-1} \sim 1.0 \times 10^{-7}$  稀释度的富集菌液进行涂布,37 °C 培养 48 h 得到分离的单菌落,肉眼观察,挑取长势良好且分隔开的单菌落作为目标菌株,在新的无机盐固体培养基上用平板划线法进行目标菌株的纯化,得到纯化单菌落。

复筛:在 250 mL 锥形瓶中装入 100 mL 无机盐液体培养基,将初筛得到的纯化单菌落分别接种到无机盐液体培养基中进行活化,37 °C 恒温培养 24 h 后得到初筛菌株的活化菌液;将初筛菌株的活化菌液(5 mL)按体积分数 5% 的接种量接种到已灭菌的 100 mL 无机盐液体培养基中,37 °C 恒温培养 24 h 后得到复筛菌液,使用紫外-可见分光光度计测量菌液在 600 nm 处的光密度值(OD<sub>600</sub>),该值能作为判断菌液生长情况,选取 OD<sub>600</sub>>1.8 的菌株进行后续实验。使用圆环法<sup>[11]</sup>测定菌液的表面张力,选取表面张力<30 mN/m 的菌株作为内源功能菌株。

鉴定:针对所筛选出的内源功能性菌株,通过

菌落形态、革兰氏染色及 16S rRNA 基因序列分析结果,确定菌株的种属<sup>[12]</sup>。

#### 1.4.2 内源功能菌株菌液活性分析

内源功能菌株活化菌液制备:将 1.4.1 节中选定为内源功能菌株的复筛菌液(5 mL)按照 5% 的接种量接种于已灭菌的 100 mL 无机盐液体培养基内,37 °C 培养 24 h,制得内源功能菌株活化菌液。

表面张力测定<sup>[13]</sup>:吸取 20 mL 内源功能菌株活化菌液于试样杯(全自动界面张力仪自带的测量配件)中,测定该菌液的表面张力,测定 3 次取平均值。

1.4.1 节中鉴定结果显示,本研究筛选获得的内源功能性菌株是枯草芽孢杆菌,该菌株的主要功能是产生物表面活性剂,因此主要评价获得的内源功能性菌株产生物表面活性剂的能力,排油圈实验可以测定菌株产生物表面活性剂的能力,原理是依靠生物表面活性剂降低油膜表面张力的特性使油膜中心部位形成一个排油圈。排油圈实验<sup>[14]</sup>:将 0.5 g 苏丹红 III 溶于 100 mL 液体石蜡,搅拌均匀后,过滤除去杂质,得到染色液体石蜡;将 60 mL 蒸馏水加入直径为 9 cm 的培养皿中,随后加入 8 mL 用苏丹红 III 染色的液体石蜡,当培养皿表面形成薄膜后,吸取 500 μL 复筛后的菌液缓慢滴加在培养皿中心位置,将培养皿置于电热恒温培养箱 37 °C 下 60 s 后观察排油圈的大小。

表面活性剂产生作用的方式是乳化原油,通过乳化活性实验判断菌株是否有乳化油相的能力。乳化活性实验<sup>[15]</sup>:取两支带有刻度的比色管,一支比色管加入 5 mL 煤油,另一支比色管加入 5 mL 液体石蜡;然后,在两支比色管内分别加入 5 mL 内源功能菌株活化菌液,混匀后静置 24 h,分别观察并记录煤油及液体石蜡的乳化层高度。

参照赵凤兰等<sup>[16]</sup>的方法,通过肉眼观察原油乳化后的现象判断乳化能力,如形成悬浊液、油水界面浑浊、油水界面清晰无乳化现象等。原油乳化降解能力测定<sup>[17]</sup>:将地层原油参照 SY/T 0081—2010 脱水后得到脱水原油,取 30 g 脱水原油,接种于 70 g 内源功能菌株活化菌液中,于 50 °C 下振荡培养 7 d,观察脱水原油乳化降解情况;最后,通过气相色谱仪检测与内源功能菌株反应前后的脱水原油,对比反应前后脱水原油组分的变化情况,以是否出现轻烃类组分作为判断原油乳化降解能力的指标。

#### 1.4.3 内源功能菌株产生物表面活性剂的提取、纯化和定性分析

产物提取<sup>[18]</sup>:吸取 10 mL 内源功能菌株活化菌液于离心管中,4 °C、10000 r/min 离心 20 min;将上清液转移至空离心管内,用 6 mol/L 的盐酸调节

pH 至 2.0, 管内会出现絮状沉淀; 4 °C 静置过夜后, 于 10000 r/min 离心 20 min 收集沉淀; 使用 5 mL pH 为 2.0 的盐酸洗涤沉淀 3 次, 再用 5 mL pH 为 8 的碳酸钠水溶液对沉淀进行溶解, 在 (-52±2) °C 下真空冷冻干燥 12 h 后即获得生物表面活性剂粗产物。

纯化: 称取 1 g 获得的生物表面活性剂粗产物, 使用 5 mL pH 为 8 的碳酸钠水溶液溶解, 以  $V(\text{氯仿}) : V(\text{甲醇}) = 3 : 1$  配制 15 mL 混合溶剂进行萃取, 以去除剩余的蛋白质及无机盐离子, 将萃取后的水相溶液真空冷冻干燥 (真空冷冻干燥机无法设定温度, 该实验在冬天进行, 温度范围 (-52±2) °C) 12 h 后即得白色粉末状纯化后的生物表面活性剂。

表面张力测定: 称取 1 g 纯化后的生物表面活性剂溶于 100 mL 无菌水中, 制得质量浓度为 10 g/L 的纯化生物表面活性剂水溶液, 取 20 mL 此溶液于全自动界面张力仪的试样杯中进行表面张力测定, 测定 3 次取平均值。

FTIR 测试: 采用傅里叶变换红外光谱仪对纯化后的生物表面活性剂进行测试, 波数范围 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 样品制备方法参照弥迟芳等<sup>[19]</sup>的方法。

#### 1.4.4 内源功能菌株及复配体系环境适应性评价

##### 1.4.4.1 内源功能菌株环境适应性评价

温度适应性评价<sup>[20]</sup>: 将内源功能菌株活化菌液 (5 mL) 按 5% 接种量接种于 100 mL 已灭菌的无机盐液体培养基内, 同时调节培养基 pH 至 7, 矿化度为 0, 将上述培养基放置于不同温度的电热恒温培养箱内培养 5 d; 电热恒温培养箱温度分别设定为 40、45、50、55、60 和 65 °C; 培养 5 d 后, 通过平板计数法<sup>[21]</sup>, 统计每个温度下生长的菌体数量。

pH 适应性评价<sup>[22]</sup>: 在无菌条件下, 用 1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠溶液分别将已灭菌的无机盐液体培养基 pH 调节至 4、5、6、7、8 和 9, 再将内源功能菌株活化菌液 (5 mL) 按 5% 接种量接种于不同 pH 的已灭菌无机盐液体培养基 (100 mL) 内, 同时将培养基矿化度调至 0, 将上述培养基在 35 °C 下培养 5 d, 通过平板计数法, 统计每个 pH 下生长的菌体数量。

矿化度适应性评价<sup>[23]</sup>: 将配制好的无机盐液体培养基的总矿化度分别调至  $0.5 \times 10^4$  和  $1 \times 10^5$  mg/L, 按 5% 接种量将内源功能菌株活化菌液 (5 mL) 接种于不同矿化度的培养基 (100 mL) 内, 调节培养基 pH 至 7, 35 °C 下培养 5 d, 通过平板计数法, 统计每个矿化度下生长的菌体数量。

##### 1.4.4.2 复配体系环境适应性评价

油藏地层环境复杂, 其中地层温度、pH 和矿化度对微生物的生长繁殖有着不同程度的影响, 因此需要针对这些因素对应用于油藏条件下的微生物进

行评价, 以确保微生物能够在油藏条件下正常生长, 发挥功能。

复配体系活化菌液制备: 取 ZW-027 菌株平板, 挑取 2 个单菌落接种到 100 mL 灭菌的无机盐固体培养基内, 37 °C 培养 20 h 得到 ZW-027 菌株的活化菌液; 按照  $V(\text{内源功能菌株活化菌液}) : V(\text{ZW-027 菌株活化菌液}) = 1 : 1$  的比例, 将内源功能菌株活化菌液和 ZW-027 菌株的活化菌液 (共 5 mL) 按 5% 接种量接种于已灭菌的无机液体盐培养基 (100 mL), 37 °C 培养 20 h 得到复配体系活化菌液。

温度适应性评价: 按照  $V(\text{内源功能菌株活化菌液}) : V(\text{ZW-027 菌株活化菌液}) = 1 : 1$  的比例, 将内源功能菌株活化菌液及 ZW-027 菌株活化菌液 (共 5 mL) 按 5% 接种量接种于已灭菌的无机液体盐培养基 (100 mL), 调节培养基 pH 至 7, 矿化度为 0, 将上述培养基放置于不同温度的电热恒温培养箱内培养 5 d, 电热恒温培养箱温度分别设定为 40、45、50、55、60 和 65 °C, 培养 5 d 后, 通过平板计数法, 统计每个温度下生长的菌体数量。

pH 适应性评价: 在无菌条件下, 通过 1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠溶液分别将培养基的 pH 调节为 4、5、6、7、8 和 9, 按照  $V(\text{内源功能菌株活化菌液}) : V(\text{ZW-027 菌株活化菌液}) = 1 : 1$  的比例, 将内源功能菌株活化菌液及 ZW-027 菌株活化菌液 (5 mL) 按 5% 接种量接种于不同 pH 的培养基 (100 mL) 内, 将上述培养基在 35 °C 下培养 5 d, 通过平板计数法, 统计每个 pH 下生长的菌体数量。

矿化度适应性评价: 将所配制的无机盐液体培养基的总矿化度调至为  $0.5 \times 10^4$  和  $1 \times 10^5$  mg/L, 按 5% 接种量将复配体系活化菌液 [ $V(\text{内源功能菌株活化菌液}) : V(\text{ZW-027 菌株活化菌液}) = 1 : 1$ , 5 mL] 接种于不同矿化度的培养基 (100 mL) 内, 调节培养基 pH 为 7, 35 °C 下培养 5 d, 通过平板计数法, 统计每个矿化度下生长的菌体数量。

##### 1.4.5 原油降黏性能评价

利用内源功能菌株与外源 ZW-027 菌株进行原油降黏实验。参照文献[24]: 在无菌条件下, 在 4 个培养瓶内分别加入 70 g 实验区块的脱水原油, 其中 3 个培养瓶分别加入 30 mL 内源功能菌株活化菌液、30 mL ZW-027 菌株活化菌液及 30 mL 复配体系活化菌液, 另一个培养瓶内加入 30 mL 不接菌无机盐液体培养基, 37 °C 下培养 72 h; 将培养 72 h 后的 ZW-027 活化菌液、内源功能菌株活化菌液及复配体系活化菌液和原油混合物分别倒入 100 mL 烧杯中, 将旋转黏度计设定温度为 50 °C, 测定 3 组实验前后原油的黏度变化。设 ZW-027 菌株组、内源功能菌株组及复配体系组为实验组, 不接菌组为

空白对照组, 降黏率计算公式如式(1)所示:

$$\text{降黏率}/\% = \frac{\mu_0 - \mu_1}{\mu_0} \times 100 \quad (1)$$

式中:  $\mu_1$  为实验组作用后的原油黏度, mPa·s;  $\mu_0$  为空白对照组原油黏度, mPa·s。

#### 1.4.6 微生物复配体系破胶性能评价

复配体系胍胶降解实验: 吸取 0.1 mL 1.4.4.2 节制得的复配体系活化菌液, 均匀涂布在胍胶固体培养基平板, 于 37 °C 培养 24 h, 观察菌落生长情况。

复配体系冻胶破胶实验<sup>[25]</sup>: 称取 3 g 胍胶, 缓慢加入到 100 mL 自来水中, 同时快速搅拌, 配制 100 mL 质量浓度为 30 g/L 的胍胶溶液, 将复配体系活化菌液 (3 mL) 按 3% 接种量接种于胍胶溶液 (100 mL) 后, 加入 0.5 mL 交联剂 SITAR-II (大连知微生物科技有限公司, 官网网址: <http://www.chivybio.com/Product/Content.aspx?ProductId=78>) 并快速搅拌至形成冻胶, 将冻胶分别放置在 35、45、55 °C 下恒温培养 24 h, 用玻璃棒挑挂冻胶观察破胶情况, 并测定破胶反应后冻胶的黏度和破胶液表面张力。

#### 1.4.7 微生物复配体系驱油实验

参照王娟娟等<sup>[26]</sup>的方法, 将 5 cm 的人工岩心放置于 105 °C 干燥箱内进行烘干, 使其建立饱和油后分别进行驱替实验。

(1) 水驱: 使用实验区块的地层水进行驱替, 直至含有饱和油的岩心不出油为止。此时已达到水驱极限, 根据油水分离器的刻度数及采油量, 计算驱油率: 驱油率/% = (采油量/岩心原始含油量) × 100。

(2) 复配体系驱: 用复配体系进行饱和驱替 10 PV 以上的模拟油, 记录第 1 次采油量; 随后关闭仪器前后端阀门, 保持围压为 2 MPa, 在夹持器中模拟地层温度孵育 7 d; 用实验区块的地层水驱至不出油为止, 记录第 2 次采油量。总采油量为两次采油量之和, 并根据总采油量计算最终采收率: 最终采收率/% = (总采油量/岩心原始含油量) × 100。

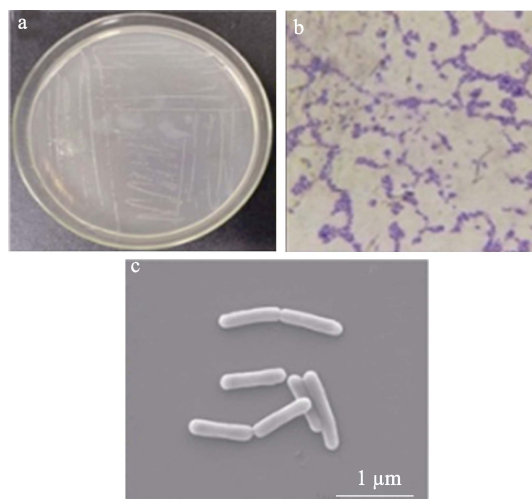
## 2 结果与讨论

### 2.1 内源功能菌株的筛选

本研究从实验区块油藏中采集油水混合样品 4 份。由新疆油田吉 7 井区烧房沟组采集的油水混合物过滤得到地层原油, 为普通稠油。地层原油物理性质: 密度 0.905 g/cm<sup>3</sup>; 黏度 4400 mPa·s; 凝固点 22 °C。由新疆油田吉 7 井区烧房沟组采集的油水混合物过滤得到采出水, 水样总矿化度为 7682 mg/L, Cl<sup>-</sup> 含量为 4865.2 mg/L, 水型为 CaCl<sub>2</sub> 型。

通过培养基富集培养、平板涂布法及平板划线法获取 4 株纯种菌株, 通过测定 4 株菌株活化菌液

的表面张力, 确定其中 1 株菌株具有降低表面张力的性能, 将这株菌株命名为 XJ-21。XJ-21 菌株的菌落形态见图 1。在无机盐固体培养基上, XJ-21 菌株菌落体积较小, 呈淡黄色, 中部凸起, 表面光滑、湿润 (图 1a)。XJ-21 菌株革兰氏染色结果为阳性 (图 1b)。SEM 观察结果显示, XJ-21 菌株为杆菌, 大小为 (0.2~0.3) μm × (1.0~2.0) μm, 无荚膜 (图 1c), 可运动。16S rRNA 基因序列测序后, 比对分析显示 XJ-21 菌株与 *Bacillus subtilis* NBRC101239 具有最高的同源性, 因此鉴定菌株 XJ-21 为芽孢杆菌属 (*Bacillus Cohn*) 的枯草芽孢杆菌。菌株 XJ-21 的系统发育进化树如图 2 所示。由图 2 可知, XJ-21 菌株与 *Bacillus subtilis* NBRC101239 菌株的亲缘关系较近。



a—LB (Luria-Bertani) 平板上的菌落形态; b—革兰氏染色结果; c—XJ-21 菌株的 SEM 图

图 1 XJ-21 菌株的菌落形态  
Fig. 1 Colonies of strain XJ-21

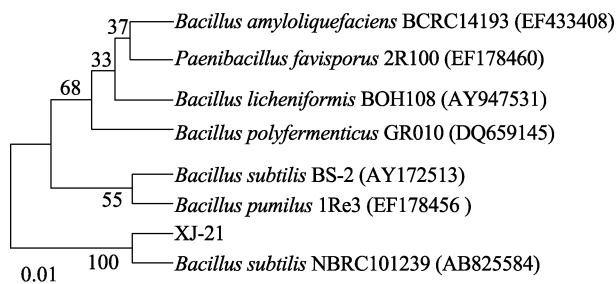


图 2 XJ-21 菌株的系统进化树  
Fig. 2 Phylogenetic tree of strain XJ-21

### 2.2 内源功能菌株活化菌液活性分析

微生物产表面活性剂的产量及产物稳定性可以通过测其活化菌液的表面张力、排油圈活性实验、乳化煤油和液体石蜡的能力强弱来表示。XJ-21 菌株在无机盐液体培养基 37 °C 培养 24 h 后, 培养基



的表面张力由 69.7 mN/m 降低至 28.3 mN/m, 表明该菌株具有降低液体表面张力的性能。菌株 XJ-21 活化菌液的排油圈见图 3。当将 XJ-21 菌株活化菌液滴加到苏丹红 III 染色的液体石蜡的培养皿上, 显示出排油圈, 排油圈直径为 7 cm(图 3); 当将 XJ-21 菌株活化菌液分别与煤油、液体石蜡混合静置 24 h 后, 煤油菌株混合液和液体石蜡菌株混合液的乳化层高度分别为 5.8 和 5.5 cm。由上述实验结果可初步判断, XJ-21 菌株能够产生物表面活性剂, 并且能够有效降低表面张力, 且具有较好的乳化活性<sup>[27]</sup>。

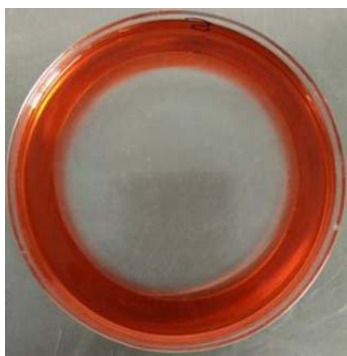


图 3 菌株 XJ-21 活化菌液的排油圈

Fig. 3 Oil drain ring of activated strain XJ-21 bacteria solution

本研究进一步使用 XJ-21 菌株作用于脱水原油样品, 作用前后原油组分气相色谱测试结果如图 4 所示。

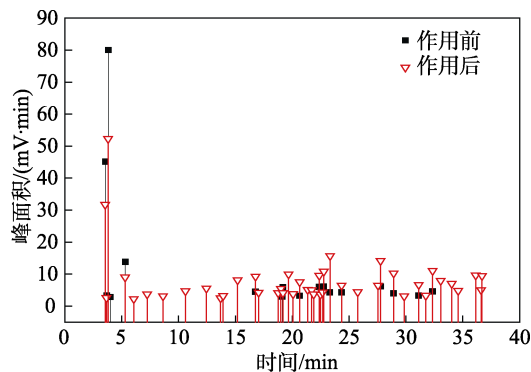


图 4 菌株 XJ-21 活化菌液的原油降解气相色谱图

Fig. 4 GC diagram of crude oil degradation by strain XJ-21 activated bacteria solution

由图 4 可知, 经 XJ-21 菌株降解后, 原油的组分发生了明显的变化, 且 5~10 min 的出峰时间内, 组分主要为 C<sub>10</sub>~C<sub>18</sub> 的轻烃类组分。结合常规石油烃

气相出峰时间及其他已有研究结果<sup>[28-29]</sup>可以判断出, 原油在降解后产生了许多新的轻烃类组分。然而, 这些轻烃类组分在 XJ-21 菌株作用前的原油中是不存在的, 说明 XJ-21 菌株对原油具有一定的降解作用。

### 2.3 内源功能菌株生物表面活性剂定性分析

提纯后, 质量浓度为 10 g/L 的纯化生物表面活性剂水溶液的表面张力为 24.5 mN/m。纯化生物表面活性剂样品 FTIR 谱图见图 5。如图 5 所示, 3434.86 cm<sup>-1</sup> 处为 N—H 收缩振动吸收峰, 1626.81 和 1355.99 cm<sup>-1</sup> 处分别为酰胺 I 谱带和酰胺 II 谱带, 说明此生物表面活性剂含有一个侧链, 为亲水的肽链; 2925.41 cm<sup>-1</sup> 处为脂肪族碳链的 C—H 伸缩振动吸收峰, 1047.25 cm<sup>-1</sup> 处为酯的特征吸收峰, 说明此生物表面活性剂分子的疏水基是一类脂肪酸分子, 与环脂肽类生物表面活性剂表面活性肽 (Surfactin) 的结构特征一致<sup>[30]</sup>。

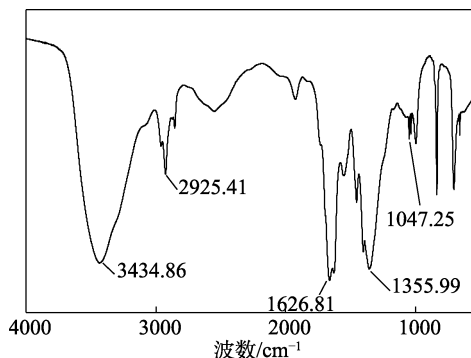


图 5 菌株 XJ-21 生物表面活性剂样品的 FTIR 谱图

Fig. 5 FTIR spectrum of biosurfactant sample from strain XJ-21

### 2.4 内源功能菌株及复配体系环境适应性评价

#### 2.4.1 内源功能菌株及复配体系温度适应性评价

在培养基 pH 为 7、矿化度为 0 的条件下, XJ-21 菌株及复配体系在 35~65 °C 下的菌体生长量 ≥ 1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL, 均表现出较强的生长能力, 说明此条件下 XJ-21 菌株和复配体系对温度的变化不敏感; XJ-21 菌株的最适生长温度为 35~55 °C, 在此温度下 XJ-21 的菌体生长量 ≥ 1.0×10<sup>7</sup> CFU/mL (表 1)。此外, XJ-21 菌株与 ZW-027 菌株之间没有明显的配伍禁忌, 且适应温度与新疆油田吉 7 井区烧房沟组油藏 50 °C 的温度特征相吻合。

表 1 温度对菌株 XJ-21 及复配体系生长量的影响

Table 1 Effects of temperature on growth of strain XJ-21 and its compound system

体系	温度/°C						
	35	40	45	50	55	60	65
XJ-21/(CFU/mL)	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>
复配体系/(CFU/mL)	1.0×10 <sup>6</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>	1.0×10 <sup>6</sup>

### 2.4.2 内源功能菌株及复配体系 pH 适应性评价

pH 对菌株 XJ-21 及复配体系生长量的影响见表 2。由表 2 可知, 在培养基矿化度为 0、培养温度为 35 °C 的条件下, XJ-21 菌株无法在强酸强碱 ( $\text{pH} \leq 4$  或  $\text{pH} \geq 9$ ) 的条件下正常生长繁殖, 但在中性及弱酸 ( $\text{pH}$  为 6)、弱碱性 ( $\text{pH}$  为 8) 的条件下可以良好生长, 生长量  $\geq 1.0 \times 10^7$  CFU/mL。XJ-21 菌株的最适生长 pH 为 6~8, 与对应的油藏 pH 环境特征保持一致。复配体系在强酸及强碱条件下也无法正常生长繁殖, 但在弱酸 ( $\text{pH}$  为 5 和 6)、中性、弱碱性 ( $\text{pH}$  为 8) 条件下生长良好, 生长量  $\geq 1.0 \times 10^7$  CFU/mL。复配体系的最适生长 pH 为 5~8, 同样适应于油藏 pH 环境。

表 2 pH 对菌株 XJ-21 及复配体系生长量的影响  
Table 2 Effect of pH on the growth of strain XJ-21 and its compound system

体系	pH					
	4	5	6	7	8	9
XJ-21/ (CFU/mL)	0	$1.0 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^3$
复配体系/ (CFU/mL)	0	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^4$

### 2.4.3 内源功能菌株及复配体系地层水矿化度适应性评价

地层水矿化度对菌株 XJ-21 及复配体系生长量的影响见表 3。由表 3 可知, XJ-21 菌株对地层水矿化度的变化较为敏感。在矿化度为 0、pH 为 7、35 °C 的条件下, 培养 24 h 后 XJ-21 菌株的菌落数可达到  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL; 在其他条件不变, 矿化度为  $5 \times 10^4$  mg/L 时, XJ-21 菌株的菌落数为  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL, 矿化度对其无明显影响; 而当矿化度  $> 5 \times 10^4$  mg/L 时, 菌株的菌落生长受到明显抑制, 且在矿化度为  $1 \times 10^5$  mg/L 时菌落停止生长。地层采出水矿化度对复配体系的影响与对菌株 XJ-21 的影响相近, 在矿化度为 0 及  $5 \times 10^4$  mg/L 时, 菌株的菌落数均为  $1.0 \times 10^7$  CFU/mL, 但当矿化度  $> 5 \times 10^4$  mg/L 时, 菌落生长受到明显抑制, 且在矿化度为  $1 \times 10^5$  mg/L 时停止生长。实验区块地层采出水平均矿化度约为  $7 \times 10^3$  mg/L, 在此条件下, XJ-21 及复配体系生长量均维持在最佳水平。

表 3 地层水矿化度对菌株 XJ-21 及复配体系生长量的影响  
Table 3 Effects of salinity in formation water on growth of strain XJ-21 and its compound system

体系	矿化度/( $\times 10^4$ mg/L)		
	0	5	10
XJ-21/(CFU/mL)	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^6$	0
复配体系/(CFU/mL)	$1.0 \times 10^7$	$1.0 \times 10^7$	0

## 2.5 原油降黏分析

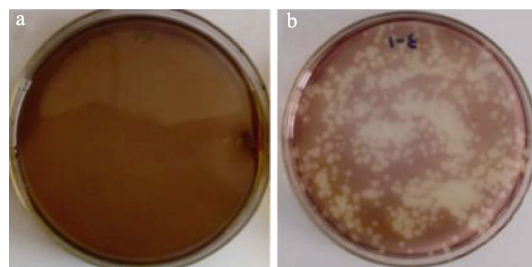
本研究在 35 °C 下测定了 3 组实验组作用前后原油的黏度变化。将培养 72 h 后的菌株 ZW-027、XJ-21 及复配体系和原油混合物倒入 100 mL 烧杯中, 使用旋转黏度计进行黏度测定, 结果如表 4 所示。由表 4 可知, 复配体系作用于原油后, 原油的黏度由 4400 mPa·s 降低到 200 mPa·s, 降黏率达到 95.45%, 比单独使用 ZW-027 菌株或 XJ-21 菌株体系的降黏率高, 说明复配体系中 ZW-027、XJ-21 两种菌株在生长过程中产生的不同生物表面活性剂具有协同作用, 有利于原油的乳化与分散, 从而能有效提高驱油效率<sup>[31-32]</sup>。

表 4 菌株 ZW-07、XJ-21 复配体系原油降黏情况  
Table 4 Viscosity reduction of crude oil in the compound system of strains ZW-07 and XJ-21

体系	温度/ °C	V(油): V(水)	作用前黏度/ (mPa·s)	作用后黏度/ (mPa·s)	降黏 率/%
ZW-027	50	7:3	4400	1500	65.91
XJ-21	50	7:3	4400	1000	77.27
复配体系	50	7:3	4400	200	95.45

## 2.6 微生物复配体系破胶性能评价

取复配体系活化菌液 0.1 mL 涂布于胍胶平板, 培养 24 h 后, 滴加碘液, 结果见图 6。结果显示, 涂布了复配体系活化菌液的胍胶平板表面出现大量透明圈 (图 6b), 这是因为, 培养基内的胍胶被复配体系降解成为了小分子糖类, 无法和碘液发生显色反应, 所以产生了透明圈, 说明复配体系可以以胍胶为碳源进行生长繁殖, 从而降解胍胶。



a—空白对照组; b—复配体系降解胍胶使碘液染色后的平板出现透明圈

图 6 复配体系胍胶降解照片

Fig. 6 Photos of guar gum degraded by compound system

利用复配体系进行破胶实验, 结果见表 5。由表 5 可知, 冻胶经复配体系处理后, 在 35、45、55 °C 条件下恒温培养 24 h 后均完全破胶, 破胶液黏度分别为 1.7、1.6、1.7 mPa·s, 表面张力分别为 29.1、28.9、29.3 mN/m。结果表明, 复配体系具有良好的破胶效果, 可以使压裂液完全破胶, 从而加快压裂

返排液返排速度, 减少对地层的损害。

表 5 复配体系破胶结果

Table 5 Results of gel breaking by compound system

	OD <sub>600</sub>	黏度/ (mPa·s)	破胶 效果	破胶液表面张力/ (mN/m)
对照组	0.15	89.0	未破胶	—
35 °C	2.29	1.7	破胶	29.1
45 °C	2.31	1.6	破胶	28.9
55 °C	2.24	1.7	破胶	29.3

### 2.7 微生物复配体系驱油性能评价

本实验选取 2 个人工岩心, 岩心平均渗透率为 0.15 μm<sup>2</sup>, 平均水驱采收率为 48.44%。岩心驱油实验测试结果见表 6。由表 6 可知, 水驱过后岩心中仍有 51.55% 的原油残留; 利用微生物复配体系作用人工岩心 7 d 之后再次进行驱替, 驱替出剩余原油的平均驱油率为 10.14%。结果说明, 岩心加入复配体系后, 复配体系产生的生物表面活性剂作用于岩心孔隙中的原油, 并产生了乳化作用使原油黏度降低, 从而对岩心孔隙表面的吸附能力降低, 因此提高了驱油效率<sup>[33]</sup>。水驱后, 继续使用复配体系可将驱油效率再次提高 10.14%, 驱油效果显著。

表 6 岩心驱油实验测试结果

Table 6 Test results of core displacement experiments

样品	水驱油率/%	复配体系驱油率/%	最终采收率/%
1	49.30	10.11	59.41
2	47.59	10.17	57.76

## 3 结论

(1) 本研究通过对新疆油田吉 7 井区烧房沟组的油水样品进行培养和筛选, 得到一株高产生物表面活性剂的内源功能菌株 XJ-21。通过菌落形态观察、革兰氏染色及 16S rRNA 序列分析, 鉴定菌株 XJ-21 为枯草芽孢杆菌, 其代谢产生的表面活性剂经 FTIR 分析, 判定为环脂肽类物质。XJ-21 菌株在 37 °C 培养 24 h 后, 菌液表面张力由 69.7 mN/m 降低至 28.3 mN/m。同时, 结合乳化实验结果, 菌株 XJ-21 代谢产物具有良好的降低表面张力及乳化原油的性能。

(2) 将菌株 XJ-21 与具有胍胶降解能力的菌株 ZW-027 按照 V(XJ-21): V(ZW-027)=1:1 进行复配。复配体系的最佳生长温度为 35~55 °C, 最适生长 pH 为 5~8。矿化度 ≤ 5×10<sup>4</sup> mg/L 时, 复配体系适宜生长。上述复配体系的最适生长条件与烧房沟区块

油藏环境具有广泛适应性。

(3) 复配体系对新疆油田吉 7 井区烧房沟组脱水原油样品降黏率可达 95.45%。岩心模拟驱油实验结果显示, 在水驱后, 继续使用复配体系可将驱油效率再次提高 10.14%, 驱油效果显著。通过本研究获得的破胶-驱油复合功能微生物复配压裂前置液体系在室内模拟原油降黏、驱油及破胶实验中均取得了良好的效果。利用前置液微生物体系的生物催化过程, 实现了内源-外源微生物体系在压裂液中的破胶-驱油功能一体化作用, 为绿色压裂液的开发及应用提供了理论和物质基础, 也为油藏的高效精细开发提供了一条新的途径。

### 参考文献:

- [1] FAN H K (范昊坤), HE J (何静), WANG X X (王仙仙), *et al.* Research and application of low concentration fracturing fluid in Yanchang tight reservoirs[J]. *Petrochemical Industry Application (石油化工应用)*, 2021, 40(2): 20-24.
- [2] YIN Y P (殷玉平), HUANG S (黄帅), YE H (叶红). Research and application of biological enzyme gel breaking technology under low temperature[J]. *Petrochemical Industry Technology (石化技术)*, 2018, 25(11): 118-119.
- [3] WANG A P (王安培), WANG W T (王稳桃), ZHAO B C (赵保才), *et al.* Experimental research on damage of hydroxypropylguar gum fracturing fluid filter cake on cores[J]. *Drilling & Production Technology (钻采工艺)*, 2018, 41(1): 92-94.
- [4] LI F G (李风光), LIU Y (刘音), NIU Z Q (牛增前), *et al.* Application of biological enzyme breaker in oil and gas field during hydraulic fracturing process[J]. *Petrochemical Industry Application (石油化工应用)*, 2014, 33(8): 4-7.
- [5] LIN J Z (林军章), WANG W D (汪卫东), HU J (胡婧), *et al.* Progress in research and application of microbial enhanced oil recovery technology in Shengli Oilfield[J]. *Petroleum Geology and Recovery Efficiency (油气地质与采收率)*, 2021, 28(2): 18-26.
- [6] GAO C H. Experiences of microbial enhanced oil recovery in Chinese oil fields[J]. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 2018, 166: 55-62.
- [7] KANG Z Y (康志勇), LI X T (李晓涛), TIAN W (田文), *et al.* Type classification of surface water/formation water and its classified method[J]. *Journal of Earth Science and Environment (地球科学与环境学报)*, 2022, 44(1): 65-77.
- [8] ZHANG G Q (张广清), CHEN J M (陈佳敏), PAN R (潘睿). Preparation method of standard artificial simulated rock core specimens: CN 201310415297[P]. 2023-06-19.
- [9] CUI Z Z (崔正忠), XIAO Y Z (肖玉珍), FU J Z (付建政). The study of dilution plate improvement method about detecting fungus[J]. *Journal of Northeast Agricultural University (东北农业大学学报)*, 2000, 31(1): 32-35.
- [10] LI C X (李存香), ZHANG Q W (张青雯), XIN Y Q (辛有全), *et al.* A study of colonial morphology of *Yersinia pestis* carrying bacteriophages[J]. *Chinese Journal of Vector Biology and Control (中国媒介生物学及控制杂志)*, 2020, 31(6): 699-701.
- [11] XIA C (夏成). Determination of interfacial tension between trioctyl phosphate and water using circular Du Nouy method[J]. *Chemical Propellants & Polymeric Materials (黎明化工)*, 1990(3): 36-39.
- [12] JI L Y (纪凌云), LI M C (李马超), JIANG Y (蒋毅), *et al.* Application of 16S rRNA in identification of common pathogenic mycobacteria[J]. *Laboratory Medicine and Clinic (检验医学与临床)*, 2022, 19(11): 1467-1471.
- [13] XU K Y (徐科玉), ZHAO G Q (赵国群). Screening and identification of a high-IAA-yield microbial strain and its fermentation characteristics[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(1): 121-126.
- [14] LIN J Z (林军章), WANG J (王静), WANG W D (汪卫东), *et al.* Oil displacement performance of biosurfactants[J]. *Journal of China University of Petroleum (Edition of Natural Science) (中国石油大学学报: 自然科学版)*, 2022, 46(2): 145-151.



- [15] NA J (那金), ZHANG L (张历), GE Q P (葛菁萍), *et al.* Induction of pectinolytic enzyme from *Bacillus cereus* HDYM-02 and application of flax degumming[J]. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University* (黑龙江大学自然科学学报), 2018, 35(4): 467-472.
- [16] ZHAO F L (赵凤兰), YUE X A (岳湘安), HOU J R (侯吉瑞), *et al.* Impact of alkali on emulsification of compound flooding system and crude oil[J]. *Petroleum Drilling Techniques* (石油钻探技术), 2010, 38(2): 62-66.
- [17] SUN F P (孙凤萍). Microbial viscosity reduction technology in overseas river oilfield[J]. *Journal of Chengde Petroleum College* (承德石油高等专科学校学报), 2017, 19(5): 11-14.
- [18] WANG L (王龙), LIU H E (刘会娥), CHEN S (陈爽), *et al.* Solubilization performance for quaternary ammonium salt cationic surfactants microemulsion systems[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2019, 36(6): 1091-1096.
- [19] MI C F (弥迟芳), SHI P (石朴), LIU H J (刘慧杰), *et al.* Introduction and application examples of several common sample preparation methods in infrared spectroscopy analysis[J]. *Contemporary Chemical Industry* (当代化工), 2023, 52(3): 743-747.
- [20] HU X (胡鑫), LI D H (李大卉), HUANG J Y (黄锦玉), *et al.* Isolation, identification and salinity tolerance of a novel hydrocarbon-degrading strain, *Rhodococcus* sp. HX-2[J]. *Science Technology and Engineering* (科学技术与工程), 2019, 19(25): 364-373.
- [21] LIU K (刘珂), YU X (余希). Comparative analysis of plate counting method and disk method for detecting total microbial colony in food[J]. *Modern Food* (现代食品), 2023, 29(2): 191-193.
- [22] GONG H Y (龚汉意), DENG C P (邓春萍), KE Q (柯强), *et al.* Isolation, identification and degradation characteristics of a salt tolerant petroleum hydrocarbon degrading bacterium[J]. *Shandong Chemical Industry* (山东化工), 2021, 50(4): 39-42.
- [23] WANG Z Y (王之语), YUAN L M (原陇苗), LIU Y H (刘艳红), *et al.* Screening and degradation characteristics of high efficiency saline alkali-resistant petroleum hydrocarbon degrading bacteria[J]. *Acta Sedimentologica Sinica* (沉积学报), 2022, 40(3): 849-860.
- [24] DENG X F (邓学峰), ZHANG Y G (张永刚), ZHAO J (赵静), *et al.* Evaluation and pilot test of depressurization and augmented injection by surfactant for low permeability Weibei oil reservoir[J]. *Drilling & Production Technology* (钻采工艺), 2016, 39(1): 103-106.
- [25] YANG T Y (杨同玉), HE Q (何青), FU N (付娜), *et al.* Field trials of ultra-low concentration guar gum fracturing fluid system in Daniudi tight gas reservoir[J]. *Chemical Engineering of Oil & Gas* (石油与天然气化工), 2017, 46(3): 61-66.
- [26] WANG J J (王娟娟), ZHANG Y (张宇), FU N (付娜), *et al.* Microbial huff and puff field trial in ultra-low permeability reservoir[J]. *Microbiology China* (微生物学通报), 2016, 43(2): 241-253.
- [27] LI N Z (李南臻), WANG G (王刚), WAN Y J (万玉军), *et al.* Breeding of rhamnolipid-producing *Pseudomonas aeruginosa* and optimization of fermentation conditions[J]. *Food and Fermentation Science & Technology* (食品与发酵科技), 2018, 54(1): 1-8, 17.
- [28] LI B H (李冰环). Carbon number distribution of crude oil measured by gas chromatographic method[J]. *Complex Hydrocarbon Reservoirs* (复杂油气藏), 2020, 13(1): 1-4.
- [29] TONG T (童婷), ZHANG W F (张万峰), LI D H (李东浩), *et al.* Characterization of compounds in crude oils by gas purge micro-syringe extraction coupled to comprehensive two-dimensional gas chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography* (色谱), 2014, 32(10): 1144-1151.
- [30] LI Y Y (李艳艳), ZHANG J (张剑). Research progress in surfactin[J]. *Chemistry* (化学通报), 2017, 80(10): 918-924.
- [31] WU Z W (吴志伟). Effects of surfactant's emulsifying capacity and interfacial activity on oil displacement in low-permeability reservoir[J]. *Oilfield Chemistry* (油田化学), 2017, 34(1): 119-125.
- [32] GEETHA S J, BANAT I M, JOSHI S J. Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR)[J]. *Biocatalysis & Agricultural Biotechnology*, 2018, 14: 23-32.
- [33] YANG Z Y (杨子云), MA K F (马科锋), HE Y K (何禹锟), *et al.* Advances in production of surfactin and its application in petroleum industry[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering* (生物加工过程), 2018, 16(1): 67-74.
- 
- (上接第 894 页)
- [13] LAMBERTH C, DINGES J. Bioactive heterocyclic compound classes[M]. Berlin: Wiley-VCH, 2012.
- [14] JIN Q T (金秋彤), HAN G T (韩广田), HU D Y (胡冬燕), *et al.* Synthesis and antifungal activity of 6-(piperazin-1-yl)-harmine amide derivatives[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science* (农药学报), 2023, 25(3): 1-7.
- [15] HE L Y, ZHANG S S, PENG D X, *et al.* Synthesis and evaluations of selective COX-2 inhibitory effects: Benzo[d]thiazol analogs[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2020, 30(17): 127376-127383.
- 
- (上接第 901 页)
- [10] DAI S, SUO Y, LIU D, *et al.* Controllable CO<sub>2</sub>-responsiveness of O/W emulsions by varying the alkane carbon number of a tertiary amine[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2018, 20(16): 11285-11295.
- [11] DAI S S, ZHU P W, SUO Y, *et al.* Controllable CO<sub>2</sub>-responsiveness of an oil-in-water emulsion by varying the number of tertiary amine groups or the position of the hydroxyl group of tertiary amine[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2019, 123(11): 2558-2566.
- [12] MA W J, DAI S S, ZHU P Y, *et al.* Dual CO<sub>2</sub> responsiveness of an oil-in-water emulsion by using sodium oleate and water-soluble tertiary amines[J]. *Langmuir*, 2021, 37(2): 750-758.
- [13] MA X P (马喜平), HUANG L (黄莉), YANG L (杨立). Synthesis and performance evaluation of cyclodextrin modified hyperbranched polymer[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2020, 37(3): 604-608, 628.
- [14] QIAO W H, CUI Y C, ZHU Y Y, *et al.* Dynamic interfacial tension behaviors between Guerbet betaine surfactants solution and Daqing crude oil[J]. *Fuel*, 2012, 102: 746-750.
- [15] DOMIAN E, BRYNDA-KOPYTOWSKA A, OLEKSZA K. Rheological properties and physical stability of O/W emulsions stabilized by OSA starch with trehalose[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 44: 49-58.
- [16] MERCER S M, JESSOP P G. "Switchable water": Aqueous solutions of switchable ionic strength[J]. *ChemSusChem*, 2010, 3(4): 467-470.
- [17] WANG Y (王毓), REN J P (任俊鹏), ZHAO J (赵君). Synthesis and phase transition behaviors of temperature-sensitive polyidiacetone acrylamide-co-vinylamine with CO<sub>2</sub>[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2021, 38(6): 1130-1134, 1140.
- [18] ZHANG Q J (张倩洁), WANG P L (王平礼), ZHANG D M (张冬梅). Research progress and cosmetic applications of Pickering emulsion stabilized with natural solid particles[J]. *Fine Chemicals* (精细化工), 2022, 39(12): 2377-2386, 2397.