



## 油藏铁还原微生物的研究进展

翁雪<sup>1</sup> 余跃惠<sup>\*2,3</sup> 王子琛<sup>1</sup>

1 长江大学化学与环境工程学院 湖北 荆州 434023

2 长江大学石油工程学院 湖北 武汉 430100

3 非常规油气湖北省协同创新中心 湖北 武汉 430100

**摘要:** 地下深部油藏通常为高温、高压以及高盐的极端环境, 含有非常丰富的本源嗜热厌氧微生物, 按代谢类群可分为发酵细菌、硫酸盐还原菌、产甲烷古菌和铁还原菌。从油田环境已经分离出 90 株铁还原微生物, 如热袍菌目、热厌氧杆菌目、脱铁杆菌目、 $\delta$ -变形菌纲脱硫单胞菌目、 $\gamma$ -变形菌纲希瓦氏菌属和广古菌门栖热球菌属等, 这些菌株生长温度范围为 4–85 °C, 生长盐度范围为 0.1%–10.0% NaCl, 还未见到文献报道油藏铁还原菌的耐压性研究。在油藏环境中存在微生物、矿物和流体(油/水)三者之间的相互作用, 油藏中的粘土矿物能够作为微生物生命活动的载体, 也能为微生物代谢作用提供电子受体。本文综述了油藏铁还原菌分离和表征的研究进展, 简述了油藏铁还原菌的环境适用性, 并展望了铁还原菌在提高原油采收率方面的应用前景。

**关键词:** 油藏, 铁还原菌, 高温高压, 粘土矿物转化, 微生物提高原油采收率

## Progress of Fe(III)-reducing microorganisms in petroleum reservoirs

WENG Xue<sup>1</sup> SHE Yue-Hui<sup>\*2,3</sup> WANG Zi-Chen<sup>1</sup>

1 College of Chemistry and Environmental Engineering, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434023, China

2 College of Petroleum Engineering, Yangtze University, Wuhan, Hubei 430100, China

3 Hubei Cooperative Innovation Center of Unconventional Oil and Gas, Wuhan, Hubei 430100, China

**Abstract:** Oil reservoirs are often deep subsurface extreme environments with high temperatures, pressures, and salinities. Several physiological and taxonomic groups of thermophilic anaerobic bacteria are present in the oil reservoirs, such as fermentative, methanogenic, sulfate-reducing and Fe(III)-reducing microorganisms. A total of 90 strains of Fe(III)-reducing bacteria have been isolated from oilfield fluids and identified as the genus *Thermotoga*, *Thermoanaerobacter*, *Deferribacteres*, the order *Desulfuromonadales* within the class *Deltaproteobacteria*, the order *Shewanella* within the class *Gammaproteobacteria*, and *Thermococcus* within the *Euryarchaeota*, in the growth temperature range of 4–85 °C and the growth salinity range of 0.1%–10% NaCl. The growth pressure range of Fe(III)-reducing microorganisms in oil reservoirs has not been reported yet. There is strong interaction among the

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (51634008, 51474034); National Science and Technology Major Project (2017ZX05009-004-003)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-27-69111069; E-mail: sheyuehui@163.com

**Received:** 10-08-2018; **Accepted:** 05-11-2018; **Published online:** 13-12-2018

**基金项目:** 国家自然科学基金(51634008, 51474034); “十三五”国家科技重大专项(2017ZX05009-004-003)

**\*通信作者:** Tel: 027-69111069; E-mail: sheyuehui@163.com

**收稿日期:** 2018-08-10; **接受日期:** 2018-11-05; **网络首发日期:** 2018-12-13

microorganisms, minerals and fluids (oil/water) at the actual reservoir conditions. The clay minerals can serve as carriers for microbial life activities and also provide electron acceptors for microbial metabolism. Here, we present the current status of isolation and characterization of Fe(III)-reducing bacteria in oil reservoirs, describe the environmental applicability of Fe(III)-reducing bacteria, and predict microbial enhanced oil recovery (MEOR) application prospects by using Fe(III)-reducing bacteria.

**Keywords:** Oil reservoir, Fe(III)-reducing bacteria, High temperature and high pressure, Clay mineral transformation, Microbial enhanced oil recovery

微生物提高原油采收率(Microbial enhanced oil recovery)技术工艺简单、经济环保,已成为近年来的研究热点<sup>[1-3]</sup>。在油藏深部始终存在着微生物、流体(油/水)、矿物三者之间的相互作用,某些微生物还参与地层矿物的形成和转化,地层矿物中丰富的金属离子,如 Fe(III)矿物为微生物的生命活动提供源源不断的电子受体。因此,微生物 Fe(III)还原作用可能是油藏厌氧环境中最为重要的代谢活动。

虽然早在 1927 年异化铁还原作用就被学界所认识<sup>[4]</sup>,但直到 1987 年才从石油油藏中分离出第一株具有异化铁还原活性的希瓦氏菌<sup>[5]</sup>。到目前为止,仅见 5 篇公开发表报道油藏铁还原菌的论文<sup>[5-9]</sup>,已从油藏中分离出热袍菌目、热厌氧杆菌目、脱铁杆菌目、 $\delta$ -变形菌纲脱硫单胞菌目、 $\gamma$ -变形菌纲希瓦氏菌属和广古菌门栖热球菌属的 90 株铁还原菌。铁还原菌对温度、压力和盐度都有一定程度的耐受性。当油藏含 Fe(III)矿物时,铁还原菌将细胞外 Fe(III)还原为 Fe(II)获得能量,当油藏不含 Fe(III)矿物时,铁还原菌能通过多种代谢方式保证生命活动的正常进行。除铁还原菌外,油藏本源厌氧微生物(发酵细菌<sup>[10]</sup>、硫酸盐还原菌<sup>[11]</sup>和产甲烷古菌<sup>[12]</sup>)都能还原 Fe(III)。由于铁还原菌的代谢活动能改变含 Fe(III)粘土矿物表面的物理化学性质,促使自然界低温蒙皂石伊利石化,蒙皂石发生缩膨作用,可有效提高低渗透油藏的原油采收率,因此油藏铁还原菌必将成为研究微生物采油技术的热点。目前人们对油藏铁还原菌与含 Fe(III)矿物间的作用机理缺乏清晰直观的认识,因此,研究油藏铁还原菌的多样性,分离油藏铁还原菌,研究铁还原菌在油藏环境条件下的代谢特征,对提高低渗透油田的原油采收率具有重要的理论和实践意义。

## 1 油藏的特点

地下深部油藏通常为高温、高压、高盐的极端缺氧环境,不同油藏的地质条件(如沉积环境、流体性质和烃源岩等)及理化特征(如温度、压力和 pH 等)存在很大的差异<sup>[13-14]</sup>。油藏沉积环境按自然地理单元划分为大陆环境组、海陆过渡环境组和海洋环境组。油藏中的流体主要为原油和水,地层原油粘度差别较大,可分为常规油( $<100$  mPa·s)、稠油( $\geq 100$  mPa·s 而  $<10\,000$  mPa·s)、特稠油( $\geq 10\,000$  mPa·s 至  $<50\,000$  mPa·s)和沥青( $\geq 50\,000$  mPa·s)。油田水的矿化度分布范围广,例如委内瑞拉西部的拉斯·克鲁斯油田水矿化度仅为 323 mg/L,而中国江汉油田采出水矿化度高达  $3 \times 10^5$  mg/L。烃源岩包括油源岩、气源岩和油气源岩,依据各地层岩石中有机质数量、有机质类型和有机质成熟度对其生烃能力及烃(非烃)源岩性质进行定性和定量评价<sup>[15]</sup>。油藏温度一般为 40–180 °C,压力通常为几兆帕至数十兆帕,孔隙水中的 pH 值通常为 3.0–7.0<sup>[16]</sup>。

石油储存在岩石的孔隙、裂缝和洞穴之中,世界上约有 50%的石油是从石灰岩中采收的<sup>[17]</sup>。在地下含油岩石中常见含 Fe(III)粘土矿物,不同产地粘土矿物 Fe(III)含量变化较大,如产自美国怀俄明的蒙脱石 SWy-1 Fe(III)含量为 0.4 mmol/g,而产自澳大利亚的绿脱石 N Au-2 Fe(III)含量为 4.2 mmol/g<sup>[18]</sup>。油藏中的粘土按成分可分为高岭石、蒙脱石、绿泥石和伊利石四类,但水敏矿物主要是蒙脱石。当注入水与粘土矿物接触时,可发生水化膨胀和分散运移,堵塞油藏孔隙和喉道,使油层的渗透率大大降低,严重时甚至可以堵死油层。当细粒砂岩中含 1%–4% 水敏性粘土时,注入水就可能完全堵死油气流动通

道, 由粘土矿物造成的油层损害可使原油产量降低70%以上。Warr 等发现富 Fe(III)粘土矿物绿脱石能促进烃氧化菌对石油烃的降解<sup>[19]</sup>。Kim 等发现铁还原菌能促使自然界低温蒙皂石伊利石化<sup>[20]</sup>。因此, 研究油藏铁还原菌与粘土矿物的相互作用对提高低渗透油藏的原油采收率具有重要的作用。

在油藏非均质多孔介质中充满着油和水, 在油藏环境中存在微生物、矿物和流体(油/水)三者之间的作用关系。在含油和水的岩石中生长的油藏本源厌氧微生物构成了地下深部生物圈的一部分<sup>[21-23]</sup>, 按代谢类群可分为发酵细菌、硫酸盐还原菌、产甲烷古菌和铁还原菌。单种功能微生物(发酵细菌<sup>[10]</sup>, 铁还原菌<sup>[12]</sup>, 硫酸盐还原菌<sup>[11]</sup>, 产甲烷古菌<sup>[12]</sup>)与矿物的相互作用已有了广泛报道, 除铁还原菌外, 发酵细菌、硫酸盐还原菌和产甲烷古菌都能还原含 Fe(III)矿物。Stucki 等尝试利用一株发酵菌株还原蒙皂石并观察到 Fe(III)还原现象<sup>[10]</sup>。刘邓发现硫酸盐还原菌和产甲烷古菌都能还原含 Fe(III)矿物<sup>[24]</sup>。具有不同功能的油藏本源厌氧微生物在油藏中处于不同的生态位, 它们协作完成含 Fe(III)矿物的还原。

## 2 油藏铁还原菌的特点

### 2.1 油藏铁还原菌的种属及生理生化特征

油藏中含有非常丰富的厌氧微生物, 但分离的铁还原菌相对较少。油藏中已分离的铁还原菌包括: 热袍菌目(*Thermotogales*)的 *Thermotoga subterranea* SL1<sup>T</sup> 和 *Thermotoga maritima* M12597<sup>[8]</sup>, 热厌氧杆菌目(*Thermoanaerobacteriales*)的 *Thermoanaerobacter acetoethylicus* SL26、*Thermoanaerobacter acetoethylicus* SL28 和 *Thermoanaerobacter brockii* M739<sup>[8]</sup>, 脱铁杆菌目(*Deferribacteres*)的 *Deferribacter thermophiles*<sup>[7]</sup>,  $\delta$ -变形菌纲脱硫单胞菌目(*Desulfuromonadales*)的 *Geoalkalibacter subterraneus*<sup>[9]</sup>,  $\gamma$ -变形菌纲的 *Shewanella putrefaciens*<sup>[5]</sup>, 广古菌门的 *Thermococcus* sp. T642、*Thermococcus* sp. T739 和 *Thermococcus* sp. T13044<sup>[8]</sup>。金属还原菌的遗传多样性和生态多样性

证实了在细菌域和古菌域中可能广泛存在金属还原菌的说法<sup>[25]</sup>。

1987年, Semple 等<sup>[5]</sup>首次从加拿大亚伯达中部5个油田产出液中分离出80株 *Shewanella putrefaciens*。*Shewanella putrefaciens* 为革兰氏阴性杆菌, 含有单极性鞭毛, 并产生鲑鱼粉红色至橙色色素。能够利用铁离子、硫代硫酸盐和亚硫酸盐作为电子受体进行兼性好氧生长。其中19株分离菌每天能以792-5688 mg/L 的速率快速还原可溶性 FePO<sub>4</sub>, 7株分离菌5 d 内以 16.5±2.9 mg/L 的速率缓慢还原不溶性氧化铁。根据形态学和生理生化特征分析将分离菌分类为 *Shewanella putrefaciens* [(G+C)mol% 含量为 42-56 mol%]。这些菌株对盐度和温度具有一定的耐受性, 一些细菌能在 7.5% (质量体积比) NaCl 下生长, 也有一些细菌能在 4 °C 下生长。

1997年, Greene 等<sup>[7]</sup>首次从英国北海 Beatrice 高温高盐油田生产用水中分离出一株嗜热厌氧锰铁还原菌 BMA<sup>T</sup>。该菌革兰氏阴性并含极性鞭毛, 不产生孢子, 游动性差, 菌落为橙红色圆形; 能利用酵母提取物、蛋白胨、酪蛋白氨基酸、胰蛋白胨、氢气、苹果酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、琥珀酸盐和戊酸盐, 能通过还原锰(IV)、铁(III)和硝酸盐获得生长所需的能量。生长耐受温度为 50-65 °C (最适温度为 60 °C), 耐受盐度范围为 0-5% NaCl (最适盐度为 2% NaCl), 耐受 pH 5.0-8.0 (最适 pH 6.5)。对青霉素、万古霉素、链霉素和环丝氨酸敏感, 对四环素耐受。DNA 碱基中(G+C)mol% 的含量为 34 mol%。16S rRNA 基因系统发育关系鉴定为细菌域。相似性最高的已知细菌是中等嗜热菌 *Flexistipes sinusarabici* (相似度 88%)。在表型和系统发育分析的基础上, 他们提出该新菌代表一个新物种, 命名为 *Deferribacter thermophilus* gen. nov. sp. nov.。

1999年, Slobodkin 等<sup>[8]</sup>收集了25个西西伯利亚高温(60-84 °C)深部(1700-2500 m)油藏中的地层流体样品, 在蛋白胨作为电子供体时有44%的 Fe(III)被还原, 在 H<sub>2</sub> 作为电子供体时有76%的 Fe(III)

被还原。原始样品中可培养的利用  $H_2$  嗜热铁还原菌的数量为  $10-100$  cells/mL, 富集培养后可达  $(4-6)\times 10^7$  cells/mL。从油藏中分离的 8 株铁还原菌为嗜热厌氧杆菌、嗜热孢菌和嗜热球菌, 它们能利用蛋白胨或  $H_2$  作为电子供体, 无定形 Fe(III)氧化物作为电子受体, 异化还原 Fe(III), Fe(II)的最终累积量在  $8-20$  mmol/L。用  $H_2$  作为电子供体还原 Fe(III)的能力是各种超嗜热菌的共同特征。这些结果表明, Fe(III)还原可能是地下深部油藏中各种厌氧嗜热菌和超嗜热菌协同作用的结果。

2009 年, Greene 等<sup>[9]</sup>从美国 Redwash 油田产出水中分离出一株严格厌氧的 Fe(III)还原菌 Red1<sup>T</sup>。细菌大小为  $(1.0-5.0)$  mm $\times$  $(0.5-0.6)$  mm, 革兰氏阴性并含极性鞭毛。Red1<sup>T</sup> 能从 Fe(III)、Mn(IV)、硝酸盐、元素硫和氧化三甲胺等各种电子供体的还原过程中获得能量, 电子供体还包括各种有机酸、醇类、生物提取物和  $H_2$ 。Red1<sup>T</sup> 不能发酵生长, 生长耐受温度为  $30-50$  °C (最适生长温度为  $40$  °C), 耐受 pH  $6.0-9.0$  (最适 pH  $7.0$ ), 耐受盐度范围为  $0.1\%-10.0\%$  NaCl (质量体积比) (最适盐度为  $2\%$  NaCl)。DNA 中(G+C)mol%含量为  $52.5$  mol%。16S rRNA 基因序列的系统发育分析表明 Red1<sup>T</sup> 是  $\delta$  变形菌纲脱硫单胞菌目的成员, 与已知细菌 *Geoalkalibacter ferrihydriticus* Z-0531T 的相似性最高为  $95.8\%$ 。在表型和系统发育分析的基础上, 他们提出该新菌代表一个新物种, 命名为 *Geoalkalibacter subterraneus* sp. nov.。

迄今为止, 只有 4 篇公开发表的文献报道了油藏铁还原菌的分离和表征, 有 1 篇报道了古菌。这 90 株铁还原菌除  $\gamma$ -变形菌纲的 *Shewanella putrefaciens* 为兼性好氧细菌外, 其余都属于严格厌氧菌, 但种类各不相同, 如发酵细菌、硫酸盐还原菌及部分古菌。受取样方法、培养方法和油藏环境的限制, 目前仅分离到一株嗜热铁还原菌新种<sup>[7]</sup>, 未分离出典型的铁还原菌-地杆菌, 也未分离出能还原 Fe(III)的产甲烷古菌。

## 2.2 油藏铁还原菌的代谢特征

当油藏环境中含 Fe(III)矿物时, 铁还原菌通过

厌氧呼吸代谢形式, 利用细胞外含 Fe(III)矿物作为电子受体, 氧化作为电子供体的有机物, 将细胞外 Fe(III)还原为 Fe(II), 保证生命活动的正常进行。当油藏环境中不含 Fe(III)矿物时, 铁还原菌能通过多种代谢方式保证生命活动的正常进行。例如大多数铁还原菌能还原单质硫生成  $H_2S$ <sup>[26]</sup>。油藏本源厌氧微生物处于不同的生态位, 它们协作完成含 Fe(III)矿物的还原。Nazina 等发现俄罗斯罗马什金油田地层水中广泛存在硫酸盐还原菌和铁还原菌, 当培养基不含硫酸盐时, 富集培养物中除了铁还原菌外, 还含有硫酸盐还原菌<sup>[6]</sup>, 硫酸盐还原菌群不仅能还原  $SO_4^{2-}$ , 而且还能还原培养基中所含的部分不溶性氧化铁<sup>[27]</sup>; Slobodkin 等在没有添加 Fe(III)作为电子受体的培养基中分离出铁还原菌和硫还原菌<sup>[8]</sup>。这些现象与 Vargas 等<sup>[28]</sup>的发现一致, 在地下深层环境中微生物生长可能使用不同的代谢模式。油藏本源厌氧微生物都能还原 Fe(III), 这说明铁还原菌能适应环境变化改变代谢形式保证生命活动的正常进行。

得益于分子生物学技术的快速发展, 目前对铁还原菌的铁呼吸机理已有较为清晰的认识, 不同种属的铁还原菌有不同的电子传递机制, 其中对中温铁还原菌-希瓦氏菌(*Shewanella*)已经进行了深入研究, 而且油藏中也分离出希瓦氏菌, 这对了解油藏铁还原菌的铁呼吸机理具有重要意义。希瓦氏菌(*Shewanella*)为革兰氏阴性菌, 不能与含铁粘土矿物直接接触, 电子需要通过内膜上的 FAD-脱氢酶、NADH-脱氢酶和含醌复合体(蒽醌和甲基萘醌)以及外膜上的多血红素细胞色素 C (MHC)跨越细胞内膜和细胞外膜传递到胞外。油藏中含有大量天然电子穿梭体腐殖酸和各种长链有机酸, 为铁还原菌提供了较好的生存环境。研究人工电子穿梭体蒽醌-2,6-二磺酸钠(AQDS)对 *Shewanella piezotolerans* WP3 在  $0.1$  MPa 和  $20$  MPa 下 Fe(III)还原程度几乎相同; 没有加入 AQDS 时, *Shewanella piezotolerans* WP3 在  $20$  MPa 下对蒙脱石的生物初

始还原速率和最终还原程度均低于 0.1 MPa, 说明加入 AQDS 能显著提高 *Shewanella piezotolerans* WP3 在高压下对蒙脱石的还原能力<sup>[29]</sup>。

### 2.3 油藏铁还原菌的环境适用性

随着油藏深度的增加, 温度与压力都会增加, 不同油藏的矿化度不同, 温度、矿化度和压力可能同时对油藏本源厌氧微生物的生命活动产生影响。虽然在深层环境中 Fe(III)还原过程很重要<sup>[30]</sup>, 但是温度、矿化度和压力对 Fe(III)还原的影响尚未见报道。Picard 等研究发现压力对深层地下生物地球化学循环少数厌氧过程产生影响<sup>[31]</sup>。目前尚未有从油藏中分离的耐压和嗜压铁还原菌的报道, 因此研究铁还原菌的环境适用性对研究油藏铁还原过程具有重要意义。

#### 2.3.1 油藏铁还原菌耐温性研究

油藏深度增加 100 m, 油藏温度增加 3 °C, 不同的油藏具有不同的原位温度。Zhang 等<sup>[32]</sup>利用高通量测序技术发现原位温度为 25 °C 的新疆油田和原位温度为 40 °C 的长庆油田中存在脱铁杆菌目和脱硫单胞菌目的成员, 原位温度为 55 °C 的大港油田和原位温度为 70 °C 的河南油田中存在热袍菌目的成员, 但并未分离出铁还原菌。目前从油藏中分离的铁还原菌较少, 但已经从油藏中分离出嗜温铁还原菌、中等嗜热铁还原菌以及超嗜热铁还原菌。在油藏中广泛存在嗜温铁还原菌, Semple 等从加拿大亚伯达省中部油田样品中分离出嗜温 Fe(III)还原菌(腐败希瓦氏菌), 该菌株能在 4 °C 下生长<sup>[5]</sup>; Greene 等从美国 Redwash 油田产出水中也分离出一株嗜温 Fe(III)还原菌, 该菌为脱硫单胞菌目的成员, 能在 30–50 °C 下生长, 最适生长温度为 40 °C<sup>[9]</sup>。关于油藏中嗜热金属还原菌的报道很少, 1997 年 Greene 等首次从英国北海油田的生产用水中分离出一株嗜热铁还原菌, 该菌为脱铁杆菌目的成员, 能在 50–65 °C 下生长, 最适生长温度为 60 °C<sup>[7]</sup>。Slobodkin 等从西西伯利亚油田生产水样中分离出具有 Fe(III)还原能力的嗜热厌氧细菌和古菌, 它们能在 60–85 °C 下生长<sup>[8]</sup>。油藏铁还原菌能在 4–85 °C

下生长, 对温度适应性广, 这与不同油藏理化性质区别较大密不可分。

#### 2.3.2 油藏铁还原菌耐盐性研究

不同油藏的矿化度不同, 分离铁还原菌的种类存在较大差异, 油藏铁还原菌的耐盐性与油藏的原位条件息息相关。Semple 等从盐度范围为 (8–71)×10<sup>3</sup> mg/L 的油田产出液中分离出 80 株铁还原菌 *Shewanella putrefaciens*, 分离的铁还原菌在培养基没有加入 NaCl 的情况下能生长, 并且也能在 4.5% NaCl 下生长(即它们耐盐), 但是只有从高盐油田产出液分离的 *Shewanella putrefaciens* 才能在 7% NaCl 下生长<sup>[5]</sup>。Greene 等从英国北海高温高盐油田生产用水中分离的一株嗜热厌氧锰铁还原菌新种, *Deferribacter thermophiles* gen. nov. sp. nov., 耐受盐度范围为 0–5% NaCl (最适盐度为 2% NaCl)<sup>[7]</sup>。Greene 等从美国 Redwash 油田产出水中分离的一株严格厌氧的 Fe(III)还原菌新种 *Geoalkalibacter subterraneus* sp. nov., 耐受盐度范围为 0.1%–10.0% NaCl (最适盐度为 2% NaCl)<sup>[9]</sup>。从油藏中分离的铁还原菌的耐盐性与油藏矿化度密切相关, 确定油藏的矿化度对富集分离油藏铁还原菌具有重要影响。

#### 2.3.3 油藏铁还原菌耐压性研究

近年来随着高压实验设备和技术的发展, 压力对微生物的影响才被研究。压力是油藏环境的一个独特参数, 压力不仅可以改变微生物细胞的形态、体积与组分, 还会改变其核酸结构、基因表达及生物学功能<sup>[33]</sup>。高压还能影响硫酸盐还原、产甲烷过程等生理过程, 对微生物的生命活动产生影响<sup>[34]</sup>。然而, 到目前为止, 尚未有从油藏中分离耐压和嗜压铁还原菌的报道, 油藏压力是否会影响含 Fe(III)粘土的微生物还原以及随后的矿物转化(例如蒙皂石伊利石化)尚未得到研究。目前, 对绝大多数耐压和嗜压铁还原菌的分离培养及相关研究都是以深海铁还原菌为研究对象进行的<sup>[35]</sup>。由于深海高压环境与油藏高压环境相似, 从深海分离培养的耐压和嗜压铁还原菌的研究成果, 也成为研究油藏耐压和嗜压铁还原菌生命活动规律的主要参考和借鉴<sup>[36]</sup>。

希瓦氏菌是深海中广泛分布的嗜压微生物,该属中的 *Shewanella putrefaciens* 在油藏中也被分离出来,但其压力适应性尚未见报道<sup>[5]</sup>。对深海嗜压希瓦氏菌的压力影响研究发现分离自海底 4 500 m 深海沉积物的 *S. profunda* LT13a 在 120 MPa 以内,压力增加不影响 Fe(II)生成的速度,而且平均初始细胞浓度只随着压力的增加而略微下降,这表明呼吸链在施加压力后不会立即受到影响,这项研究说明了有关地下深部环境中细胞能量需求的观点<sup>[37]</sup>。这说明在深海环境中嗜压铁还原菌参与到了铁的生物地球化学循环中,并在铁循环中起到积极的促进作用。研究分离自美国纽约州 Oneida 湖沉积物的 *Shewanella oneidensis* MR1<sup>[38]</sup>发现它能异化还原胞外含 Fe(III)矿物形成磁铁矿<sup>[39]</sup>,在 0.1–30.0 MPa 范围内,细菌生长速率随着压力增加逐渐增加<sup>[40]</sup>;在 0.1–50.0 MPa 范围内,Fe(III)还原率随着压力增加而提高,Fe(III)还原活性的压力极限达到 110 MPa<sup>[41]</sup>。陆地深处发现大量细颗粒磁铁矿的形态特征与微生物铁还原过程产生的磁铁矿非常相似,是微生物诱导成矿的典型范例<sup>[42]</sup>,但目前对生物诱导成矿机制还需进一步研究。研究分离自西太平洋深海沉积物的 *Shewanella piezotolerans* WP3<sup>[43]</sup>,发现其在高达 50 MPa 的静水压力下能还原水合铁氧化物<sup>[44]</sup>,并诱导生成纳米级的磁铁矿颗粒<sup>[45]</sup>,随着压力增加 Fe(III)还原率和磁铁矿产量降低,同时伴随着磁铁矿的结晶度和晶粒尺寸的增加<sup>[46]</sup>,这一研究结果为评价深海沉积物中磁性矿物的生物贡献提供了重要参考。使用 DNA 微阵列分析评估 *Shewanella piezotolerans* WP3 适应 50 MPa 静水压力下的全基因表达模式,差异表达基因模式的层次聚类分析表明 *Shewanella piezotolerans* WP3 可以采用不同的策略适应静水压力变化,这为深海铁还原菌适应压力的反应提供了转录组资源<sup>[47]</sup>。近年来,微生物与粘土矿物相互作用的研究越来越受到重视。*Shewanella piezotolerans* WP3 在两种压力(0.1 MPa 及 20 MPa)条件下还原绿脱石的速率大致相同,升高压力对蒙皂石伊利石化具有促进作用<sup>[24]</sup>。该发现

表明海洋微生物可以作为低温蒙皂石伊利石化的催化剂,能够为自然界低温蒙皂石伊利石化的机理提供新的解释。除了希瓦氏菌外,分离自海洋的嗜热铁还原菌也表现出一定程度的耐压性。分离自东太平洋深海热液区硫化物样品的嗜热铁还原新菌 *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619<sup>T[48]</sup>,可在 0.1–30.0 MPa 的静水压力下生长,最高铁还原速率可达到 2.82  $\mu\text{mol/h}$ <sup>[49]</sup>。Fang 等从深海煤层中分离出耐压菌 19R1-5 和 29R7-12,生长的最佳压力分别为 20 MPa 和 10 MPa<sup>[50]</sup>。这些研究工作都表明了耐压和嗜压铁还原菌具有良好的压力适应性,它们都能参与到了铁的生物地球化学循环中,并在铁循环中起到积极的促进作用,也预示着在油藏高温高压环境中存在铁还原过程。

### 3 油藏铁还原菌的应用前景

在油藏环境中存在微生物、矿物和流体(油/水)三者之间的相互作用,早期对微生物与原油间的相互作用研究取得了很多成果,但微生物与矿物间相互作用的研究成果则相对较少。在低渗透油藏中粘土矿物的水化膨胀会导致地层岩石强度降低,堵塞岩石内部的孔隙和喉道,因此抑制粘土膨胀能提高原油采收率。在采油过程中常用化学防膨剂进行处理,但防膨剂对环境存在一定污染,后期治理困难,并且能改变粘土表面的润湿性,使水润湿变为油润湿,降低原油采收率。研究表明铁还原菌的代谢活动能改变含 Fe(III)粘土矿物表面的物理化学性质<sup>[24]</sup>,促使蒙皂石伊利石化,使用铁还原菌抑制粘土膨胀安全可靠、无污染。铁还原菌与油藏含 Fe(III)粘土矿物间的相互作用不仅影响微生物的生命活动、矿物的化学组成和晶体结构,还对提高原油采收率具有重要的研究意义<sup>[51]</sup>。硫酸盐还原菌也被证实具备蒙皂石伊利石化催化功能<sup>[52]</sup>,并在碱性条件下催化速率能显著提高<sup>[53]</sup>,这说明油藏微生物可能参与了蒙皂石伊利石化过程。油藏中的铁还原菌、硫酸盐还原菌和产甲烷古菌等微生物功能群<sup>[54]</sup>能够在地表常温常压下实现蒙皂石伊利石化,对油藏

中粘土矿物的转化研究具有重要意义。

地质微生物具有与地质温压类似的一些等效地质作用,可以在地表常温常压下形成较高地质温压下才能形成的矿物,甚至岩石<sup>[55]</sup>。沉积岩中的蒙皂石伊利石化通常被认为是高温高压作用的产物,需在 300–350 °C 及 100 MPa 的地质条件下反应 4–5 个月<sup>[56]</sup>。Kim 等在 25 °C、1 MPa 条件下利用铁还原菌 14 d 内就完成了绿脱石向伊利石转化<sup>[20]</sup>。伊利石等硅酸盐矿物形成过程中的微生物催化机理尚不清晰,但研究发现微生物还原蒙皂石沉淀次生矿物涉及到“溶解-再沉淀”这一机制<sup>[57]</sup>。首先微生物在其铁还原酶(譬如 Mtr 系列功能酶)的作用<sup>[58]</sup>下溶解破坏蒙皂石矿物结构时,大量 Al、Si 等元素释放到溶液中,微生物细胞表面及胞外多糖吸附 Al、Si 等元素,从而成为伊利石硅酸盐矿物的结晶模板<sup>[59]</sup>。微生物利用其物理吸附作用降低硅酸盐矿化体系的自由能,在常温常压条件下发挥着与地质高温高压同等效果的作用。

#### 4 结论与展望

不同油藏的地质条件及理化特征存在很大的差异,在细菌域和古菌域中可能广泛存在金章还原菌,但迄今为止,只有 5 篇公开发表的文献报道了油藏铁还原菌的分离和生化特征,受取样方法、培养方法和油藏环境的限制,仅从油藏中分离出 90 株铁还原菌。不同种属的铁还原菌有不同的电子传递机制,除了铁还原菌能还原含 Fe(III)矿物外,油藏本源厌氧微生物都能还原 Fe(III)矿物,或者在铁还原条件下,降解复杂石油烃以及其它有机质。油藏铁还原菌的环境适用性广,对温度、盐度和压力都有一定程度的耐受性,虽然油藏温度可高达 180 °C,但目前已经从油藏中分离的铁还原菌只能在 85 °C 下存活,尚未有从油藏中分离耐压和嗜压铁还原菌的报道,只能借鉴参考与油藏高压环境相似的深海高压环境分离耐压和嗜压铁还原菌的研究成果。油藏中的蒙脱石作为主要的水敏矿物,在油藏注水开采后粘土膨胀会降低油层渗透性和注

水效果,进而对原油采收率产生极大的影响,铁还原菌可在地表常温常压下实现蒙皂石伊利石化,预示着在油藏条件下也能实现这一过程,因而对研究提高低渗透油藏的原油采收率具有重要意义。

近年来,分子生态学分析方法(如高通量和宏基因组学)克服了纯培养的缺陷,能快速发现新菌种,建议利用分子生物学手段对我国不同温度油藏铁还原菌的多样性进行研究,然后根据研究结果,对有价值的铁还原菌进行定向分离。目前对铁还原菌的研究都是在地表环境进行的,未有在油藏条件下进行的铁还原菌研究。因此,研究油藏铁还原菌与粘土矿物等的相互作用必将成为今后该领域的热点,使用高压反应釜或者高压培养容器,在油藏高温高压条件下进行铁还原菌与粘土矿物相互作用的模拟实验,能深入研究和了解油藏铁还原菌的代谢功能,揭示油藏环境中铁元素的生物地球化学循环过程。通过铁还原菌参与的岩心驱替模拟试验,并采用 CT 扫描、电镜、质谱、核磁共振等仪器,对驱油前后岩心物性和矿物组成结构变化、残余油组成结构以及剩余油分布等进行深入研究和分析,能揭示铁还原菌对提高原油采收率的贡献及其作用机理。

#### REFERENCES

- [1] Wang TY, Xiu JL, Huang LX, et al. Microbial enhanced oil recovery model in porous media[J]. *Acta Petrolei Sinica*, 2016, 37(1): 97-105 (in Chinese)  
王天源, 修建龙, 黄立信. 多孔介质微生物提高原油采收率模型[J]. *石油学报*, 2016, 37(1): 97-105
- [2] Yue QY, Song L, Pan Y, et al. The application research status of microbial enhanced oil recovery[J]. *Applied Chemical Industry*, 2017, 46(3): 577-580,585 (in Chinese)  
岳庆友, 宋力, 潘一, 等. 微生物驱油技术的应用研究进展[J]. *应用化工*, 2017, 46(3): 577-580,585
- [3] Kryachko Y. Novel approaches to microbial enhancement of oil recovery[J]. *Journal of Biotechnology*, 2018, 266: 118-123
- [4] Starkey RL, Halvorson HO. Studies on the transformations of iron in nature. II. concerning the importance of microorganisms in the solution and precipitation of iron[J]. *Soil Science*, 1927, 24(6): 381-402
- [5] Semple KM, Westlake DWS. Characterization of iron-reducing *Alteromonas putrefaciens* strains from oil field fluids[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1987, 33(5): 366-371

- [6] Nazina TN, Ivanova AE, Golubeva OV, et al. Occurrence of sulfate- and iron-reducing bacteria in stratal waters of the Romashkinskoe oil field[J]. *Microbiology*, 1995, 64(2): 203-208
- [7] Greene AC, Patel BKC, Sheehy AJ. *Deferribacter thermophilus* gen. nov., sp. nov., a novel thermophilic manganese- and iron-reducing bacterium isolated from a petroleum reservoir[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1997, 47(2): 505-509
- [8] Slobodkin AI, Jeanthon C, L'Haridon S, et al. Dissimilatory reduction of Fe(III) by thermophilic bacteria and archaea in deep subsurface petroleum reservoirs of Western Siberia[J]. *Current Microbiology*, 1999, 39(2): 99-102
- [9] Greene AC, Patel BKC, Yacob S. *Geoalkalibacter subterraneus* sp. nov., an anaerobic Fe(III)- and Mn(IV)-reducing bacterium from a petroleum reservoir, and emended descriptions of the family *Desulfuromonadaceae* and the genus *Geoalkalibacter*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59(4): 781-785
- [10] Stucki JW, Komadel P, Wilkinson HT. Microbial reduction of structural iron(III) in smectites[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1987, 51(6): 1663-1665
- [11] Li YL, Vali H, Sears SK, et al. Iron reduction and alteration of nontronite N<sub>Au</sub>-2 by a sulfate-reducing bacterium[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, 68(15): 3251-3260
- [12] Liu D, Wang HM, Dong HL, et al. Mineral transformations associated with goethite reduction by *Methanosarcina barkeri*[J]. *Chemical Geology*, 2011, 288(1/2): 53-60
- [13] Orphan VJ, Goffredi SK, Delong EF, et al. Geochemical influence on diversity and microbial processes in high temperature oil reservoirs[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2003, 20(4): 295-311
- [14] Takahata Y, Nishijima M, Hoaki T, et al. Distribution and physiological characteristics of hyperthermophiles in the Kubiki Oil Reservoir in Niigata, Japan[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(1): 73-79
- [15] Cao DY, Wang D, Li J, et al. Gas source analysis of natural gas hydrate of Muri coalfield in Qilian Mountain permafrost, Qinghai Province, China[J]. *Journal of China Coal Society*, 2012, 37(8): 1364-1368 (in Chinese)  
曹代勇, 王丹, 李靖, 等. 青海祁连山冻土区木里煤田天然气水合物气源分析[J]. *煤炭学报*, 2012, 37(8): 1364-1368
- [16] Magot M, Ollivier B, Patel BKC. Microbiology of petroleum reservoirs[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2000, 77(2): 103-116
- [17] Slobodkin AI, Wiegel J. Fe(III) as an electron acceptor for H<sub>2</sub> oxidation in thermophilic anaerobic enrichment cultures from geothermal areas[J]. *Extremophiles*, 1997, 1(2): 106-109
- [18] Zhang G, Dong H, Kim J, et al. Microbial reduction of structural Fe<sup>3+</sup> in nontronite by a thermophilic bacterium and its role in promoting the smectite to illite reaction[J]. *American Mineralogist*, 2007, 92(8/9): 1411-1419
- [19] Warr LN, Schlüter M, Schauer F, et al. Nontronite-enhanced biodegradation of Deepwater Horizon crude oil by *Alcanivorax borkumensis*[J]. *Applied Clay Science*, 2018, 158: 11-20
- [20] Kim J, Dong HL, Seabaugh J, et al. Role of microbes in the smectite-to-illite reaction[J]. *Science*, 2004, 303(5659): 830-832
- [21] Grassia GS, McLean KM, Glénat P, et al. A systematic survey for thermophilic fermentative bacteria and archaea in high temperature petroleum reservoirs[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1996, 21(1): 47-58
- [22] L'Haridon S, Reysenbach AL, Glénat P, et al. Hot subterranean biosphere in a continental oil reservoir[J]. *Nature*, 1995, 377(6546): 223-224
- [23] Stetter KO, Huber R, Blöchl E, et al. Hyperthermophilic archaea are thriving in deep North Sea and Alaskan oil reservoirs[J]. *Nature*, 1993, 365(6448): 743-745
- [24] Liu D. Mineral transformations associated with structural Fe(III) reduction in clay minerals by different microbial functional groups[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of China University of Geosciences, 2012 (in Chinese)  
刘邓. 不同厌氧微生物功能群对粘土矿物结构 Fe(III)的还原作用及其矿物转变[D]. 武汉: 中国地质大学博士学位论文, 2012
- [25] Lonergan DJ, Jenter HL, Coates JD, et al. Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(8): 2402-2408
- [26] Zeng X, Shao ZZ. Microbial functional groups and molecular mechanisms for biomineralization in hydrothermal vents[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(4): 890-901 (in Chinese)  
曾湘, 邵宗泽. 深海热液区微生物矿化过程的功能群和分子机制[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(4): 890-901
- [27] Lovley DR. Dissimilatory metal reduction[J]. *Annual Review of Microbiology*, 1993, 47: 263-290
- [28] Vargas M, Kashefi K, Blunt-Harris EL, et al. Microbiological evidence for Fe(III) reduction on early Earth[J]. *Nature*, 1998, 395(6697): 65-67
- [29] Liu D, Wang FP, Dong HL, et al. Biological reduction of structural Fe(III) in smectites by a marine bacterium at 0.1 and 20 MPa[J]. *Chemical Geology*, 2016, 438: 1-10
- [30] Lovley DR, Chapelle FH. Deep subsurface microbial processes[J]. *Reviews of Geophysics*, 1995, 33(3): 365-381
- [31] Picard A, Daniel I. Pressure as an environmental parameter for microbial life-A review[J]. *Biophysical Chemistry*, 2013, 183: 30-41
- [32] Zhang F, She YH, Chai LJ, et al. Microbial diversity in long-term water-flooded oil reservoirs with different *in situ* temperatures in China[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 760
- [33] Wang SL, Wu XZ, Hao LH, et al. Mutation effect of ultra high pressure on microbe[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2005, 45(6): 970-973 (in Chinese)  
王岁楼, 吴晓宗, 郝莉花, 等. (超)高压对微生物的影响及其诱变效应探讨[J]. *微生物学报*, 2005, 45(6): 970-973
- [34] Abe F, Horikoshi K. The biotechnological potential of piezophiles[J]. *Trends in Biotechnology*, 2001, 19(3): 102-108
- [35] Fang JS, Bazylnski DA. Deep-sea geomicrobiology[A]//Michiels C, Bartlett DH, Aertsen A. *High-Pressure Microbiology*[M]. Washington DC: ASM Press, 2008: 237-264
- [36] Wang L, Nie Y, Song XM, et al. Microbial community in petroleum reservoir and its pressure adaptation mechanisms[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(11): 2495-2505 (in Chinese)  
王璐, 聂勇, 宋新民, 等. 油藏微生物及其压力适应机制[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(11): 2495-2505
- [37] Picard A, Testemale D, Wagenknecht L, et al. Iron reduction by the deep-sea bacterium *Shewanella profunda* LT13a under subsurface pressure and temperature conditions[J]. *Frontiers in*



- Microbiology, 2015, 5: 796
- [38] Myers CR, Nealson KH. Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor[J]. Science, 1988, 240(4857): 1319-1321
- [39] Perez-Gonzalez T, Jimenez-Lopez C, Neal AL, et al. Magnetite biomineralization induced by *Shewanella oneidensis*[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2010, 74(3): 967-979
- [40] Wang YF. Study effects of salinity and pressure on the reduction rate of iron(III) oxyhydroxides by two dissimilatory iron-reducing bacteria[D]. Wuhan: Master's Thesis of Wuhan Textile University, 2016 (in Chinese)  
王雨飞. 盐度和压力对两株异化铁还原细菌还原三价铁矿物速率的影响研究[D]. 武汉: 武汉纺织大学硕士学位论文, 2016
- [41] Picard A, Testemale D, Hazemann JL, et al. The influence of high hydrostatic pressure on bacterial dissimilatory iron reduction[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2012, 88: 120-129
- [42] Frankel RB, Bazylinski DA, Schuler D. Biomineralization of magnetic iron minerals in bacteria[J]. Supramolecular Science, 1998, 5(3/4): 383-390
- [43] Xiao X, Wang P, Zeng X, et al. *Shewanella psychrophila* sp. nov. and *Shewanella piezotolerans* sp. nov., isolated from west Pacific deep-sea sediment[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(1): 60-65
- [44] Wu WF, Pan YX, Wang FP. High hydrostatic pressure effect on deep-sea iron reducing bacteria *Shewanella piezotolerans* WP3 biomineralization[A]/Proceedings of the 28th Annual Conference of Chinese Geophysical Society[C]. Beijing: Chinese Geophysical Society, 2012 (in Chinese)  
吴文芳, 潘永信, 王风平. 高静水压力下深海铁还原细菌 *Shewanella piezotolerans* WP3 的生物矿化研究[A]/中国地球物理学会第二十八年年会论文集[C]. 北京: 中国地球物理学会, 2012
- [45] Wu WF, Li B, Hu J, et al. Iron reduction and magnetite biomineralization mediated by a deep-sea iron reducing bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. Journal of Geophysical Research, 2011, 116(G4): G04034
- [46] Wu WF, Wang FP, Li JH, et al. Iron reduction and mineralization of deep-sea iron reducing bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 at elevated hydrostatic pressures[J]. Geobiology, 2013, 11(6): 593-601
- [47] Jian HH, Li SK, Tang XX, et al. A transcriptome resource for the deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3 under cold and high hydrostatic pressure shock stress[J]. Marine Genomics, 2016, 30: 87-91
- [48] Zeng X, Zhang Z, Li X, et al. *Caloranaerobacter ferrireducens* sp. nov., an anaerobic, thermophilic, iron(III)-reducing bacterium isolated from deep-sea hydrothermal sulfide deposits[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(6): 1714-1718
- [49] Li X, Zeng X, Zhang Z, et al. Characteristics of different iron oxides reduction by a thermophilic dissimilatory iron reducing bacterium *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619<sup>T</sup> from deep sea[J]. Haiyang Xuebao, 2016, 38(8): 82-92 (in Chinese)  
李曦, 曾湘, 张昭, 等. 深海嗜热异化铁还原菌 *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619<sup>T</sup> 对不同铁氧化物的铁还原特性[J]. 海洋学报, 2016, 38(8): 82-92
- [50] Fang JS, Kato C, Runko GM, et al. Predominance of viable spore-forming piezophilic bacteria in high-pressure enrichment cultures from ~1.5 to 2.4 km-deep coal-bearing sediments below the ocean floor[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 137
- [51] Lu AH, Yang XX, Wang HR, et al. Method for enhancing crude oil recovery ratio: China, CN103147731A[P]. 2013-06-12 (in Chinese)  
鲁安怀, 杨晓雪, 王浩然, 等. 一种提高原油采收率的方法: 中国, CN103147731A[P]. 2013-06-12
- [52] Liu D, Dong H, Bishop ME, et al. Microbial reduction of structural iron in interstratified illite-smectite minerals by a sulfate-reducing bacterium[J]. Geobiology, 2012, 10(2): 150-162
- [53] Jaisi DP, Eberl DD, Dong HL, et al. The formation of illite from nontronite by mesophilic and thermophilic bacterial reaction[J]. Clays and Clay Minerals, 2011, 59(1): 21-33
- [54] Nazina TN, Shestakova NM, Semenova EM, et al. Diversity of metabolically active *bacteria* in water-flooded high-temperature heavy oil reservoir[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 707
- [55] Xie SC, Liu D, Qiu X, et al. Microbial roles equivalent to geological agents of high temperature and pressure in deep Earth[J]. Science China Earth Sciences, 2016, 59(11): 2098-2104  
谢树成, 刘邓, 邱轩, 等. 微生物与地质温压的一些等效地质作用[J]. 中国科学: 地球科学, 2016, 46(8): 1087-1094
- [56] Huang WL, Longo JM, Pevear DR. An experimentally derived kinetic model for smectite-to-illite conversion and its use as a geothermometer[J]. Clays and Clay Minerals, 1993, 41(2): 162-177
- [57] Dong HL, Jaisi DP, Kim J, et al. Microbe-clay mineral interactions[J]. American Mineralogist, 2009, 94(11/12): 1505-1519
- [58] Shi L, Thomas CS, Zachara JM, et al. Respiration of metal (hydr)oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: A key role for multihaem *c*-type cytochromes[J]. Molecular Microbiology, 2007, 65(1): 12-20
- [59] Konhauser KO, Urrutia MM. Bacterial clay authigenesis: A common biogeochemical process[J]. Chemical Geology, 1999, 161(4): 399-413