

· 环境矿物学 ·

Doi: 10.20086/j.cnki.yskw.2026.5015

高温酸性油藏内源硅酸盐分解混菌与蒙脱石 交互作用研究

陈风吟¹, 胡婧², 王帅栋¹, 束青林³, 姬翔¹, 周川野¹, 王长秋¹, 丁竑瑞¹, 鲁安怀¹

(1. 造山带与地壳演化教育部重点实验室, 矿物环境功能北京市重点实验室, 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871; 2. 中国石油化工股份有限公司胜利油田分公司石油工程技术研究院, 山东 东营 257000; 3. 中国石油化工股份有限公司胜利油田分公司, 山东 东营 257000)

摘要: 针对胜利油田高温酸性油藏(60℃、pH=6.5)中蒙脱石水化膨胀引发的储层伤害问题,从原位地层水中分离出耐高温硅酸盐混合菌(编号SSB-Mnt),探究其对蒙脱石矿物结构改造的耦合机制。通过X射线衍射分析(XRD)、傅里叶红外变换光谱(FTIR)、扫描电子显微镜-能谱分析(SEM-EDS)和电感耦合等离子体发射光谱分析(ICP-OES)等多尺度表征结合体系元素含量动态分析,发现SSB-Mnt通过代谢产酸(pH值由6.6降至5.5)与电子传递的协同作用,30天内实现蒙脱石中43.8%~49.7%结构Fe³⁺的还原(Fe²⁺平均浓度为0.402 mmol/L)。矿物学证据表明,微生物作用导致蒙脱石层间坍塌,层间距由1.49 nm缩小至1.22 nm,硅氧骨架解聚(Si—O—Si吸收峰强度降低)以及与Fe、Ca、Ti、P元素相关的次生矿物形成。本研究探索了油藏条件下耐高温菌群-矿物协同改造模型,调配了配伍培养基,为非常规油气储层微生物防膨技术提供了理论依据。

关键词: 原位耐高温硅酸盐菌; 蒙脱石结构变化; 异化铁还原; 微生物-矿物交互; 微生物缩膨

中图分类号: P578.967; P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2026)01-0137-10

Study on the interaction between endogenous silicate-decomposing mixed bacteria and montmorillonite in high-temperature sour oil reservoirs

CHEN Feng-yin¹, HU Jing², WANG Shuai-dong¹, SHU Qing-lin³, JI Xiang¹, ZHOU Chuan-ye¹,
WANG Chang-qiu¹, DING Hong-rui¹ and LU An-huai¹

(1. Key Laboratory of Orogenic Belts and Crustal Evolution; Beijing Key Laboratory of Mineral Environmental Function; School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China; 2. Research Institute of Petroleum Engineering and Technology, SINOPEC Shengli Oilfield Company, Dongying 257000, China; 3. SINOPEC Shengli Oilfield Company, Dongying 257000, China)

Abstract: In this study, to address the reservoir injury problem triggered by montmorillonite hydration and expansion in high-temperature sour reservoirs (60℃, pH=6.5) in Shengli Oilfield, high-temperature-resistant silicate mixing bacterium was isolated from in-situ formation water and named as SSB-Mnt, to investigate the coupling mechanism of the modification of the mineral structure of montmorillonite. Through multi-scale characterization by X-ray diffraction analysis (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy-energy spectroscopy (SEM-EDS) and inductively coupled plasma-optical emission spectrometer (ICP-OES) combined with dynamic analysis of the elemental content of the system, it was found that SSB-Mnt synergized with electron

收稿日期: 2025-02-26; 接受日期: 2025-05-14; 编辑: 郝艳丽

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC2105200); 山东省泰山产业创新项目(tscy 202312058)

作者简介: 陈风吟(2001-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 环境矿物学, E-mail: 2025906654@qq.com; 通讯作者: 鲁安怀(1962-), 男, 教授, 研究方向: 环境矿物学, E-mail: ahlu@pku.edu.cn。

transfer through the metabolic production of acid (pH value reduction from 6.6 to 5.5), the reduction of 43.8%~49.7% structural Fe^{3+} in montmorillonite was achieved within 30 days (average Fe^{2+} concentration 0.402 mmol/L). Mineralogical evidence suggests that microbial action resulted in montmorillonite interlayer collapse with a reduction in layer spacing from 1.49 to 1.22 nm, depolymerization of the silica-oxygen skeleton (reduction in the intensity of the Si—O—Si absorption peaks), and the formation of secondary minerals associated with elements Fe, Ca, Ti, and P. In this study, we explored the model of synergistic modification of high-temperature-resistant bacteria and minerals under reservoir conditions, and formulated the formulated medium, which provided a theoretical basis for the microbial anti-expansion technology in unconventional oil and gas reservoirs.

Key words: In situ high-temperature-resistant silicate bacteria; montmorillonite structural change; heterogeneous iron reduction; microbial-mineral interactions; microbial condensation

Fund support: National Key Research and Development Program of China (2022YFC2105200); Taishan Industrial Innovation Project of Shandong Province (tscy202312058)

随着我国常规油气资源的逐渐枯竭,开采成本的增加,环保压力的增大,具有低孔渗、黏土矿物含量高的非常规油气藏的绿色开发具有稳油增气的重要意义(刘朝霞等, 2024)。但在油田钻井、完井、注入、尝试增产或生产油井等各开发阶段,因储层中广泛存在高岭石、蒙脱石、伊利石和绿泥石等黏土矿物,特别是蒙脱石遇到外来水或水基物质时会发生水化膨胀、分散运移,而导致孔隙吼道堵塞,降低地层渗透率,造成储层伤害(Wilson *et al.*, 2014; Wang, 2020)。针对水敏性储层损坏,常使用各种防膨剂抑制黏土矿物膨胀,包括无机聚合物、酸、碱、阳离子有机聚合物、阳离子低聚物、有机硅烷、阳离子表面活性剂等(Muhammed *et al.*, 2021a; 孟祖超等, 2024)。这些防膨剂很多已经得到广泛使用,但它们也各有不足,如往往不具备较好的热稳定性、不耐高矿化度和操作复杂等(Quainoo *et al.*, 2020; Muhammed *et al.*, 2021b),加之全球碳达峰碳中和目标的提出,环境友好成为影响油藏开发技术的一个重要因素。基于以上原因,我们仍需寻找一种环境友好、稳定性高、低成本、低健康风险和操作便捷的黏土矿物膨胀抑制方法,以便提高强水敏性储层的采收率(Wang, 2020)。

最近的大量研究表明生物抑制剂(生物表面活性剂、多糖和氨基)具有环境接受度高和良好的热稳定性,被认为是下一阶段的潜在抑制剂(Geetha *et al.*, 2018)。在矿物学领域,微生物与黏土矿物相互作用的研究十分丰富,腐败假单胞菌(Jaisi *et al.*, 2007)、产乙醇热厌氧杆菌(Zhang *et al.*, 2007)、异化铁还原原核生物(Jaisi *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012)、脱弧硫菌(Liu *et al.*, 2012)、马泽氏甲烷八

叠球菌(Zhang *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013)、异化铁还原菌希瓦氏菌 MR-1(Koo *et al.*, 2014)和硫还原地杆菌(Wu *et al.*, 2017)等微生物均被证明能通过氧化还原作用还原蒙脱石结构铁 $\text{Fe}(\text{III})$,抑或通过酸溶作用破坏矿物结构影响蒙脱石层间电荷、膨胀率和表面积,使蒙脱石发生伊利石化(Liu *et al.*, 2012; Koo *et al.*, 2014; Dong *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2019)。在胶质芽孢杆菌 DB41 与蒙脱石交互作用后,由于酸溶作用,pH 值、蒙脱石膨胀率和阳离子交换能力均下降(Yang *et al.*, 2016)。

同时,在近 100 年利用微生物提高采收率(microbial enhanced oil recovery, MEOR)的油藏开发史中,在温度低于 80℃、盐度低于 10%、渗透率高于 5 mD 的储层中,利用微生物提高采收率的应用已十分成熟(Karimi *et al.*, 2012; Geetha *et al.*, 2018; She *et al.*, 2019)。油藏中存在许多种类的微生物,包括铁、锰以及硝酸盐还原的微生物种群(Pannekens *et al.*, 2019),表明理论上可以从中分离出可与储层易水化膨胀的矿物发生相互作用的微生物,改变矿物结构,降低相应矿物的膨胀率,实现缩膨、减膨、解决水敏性破坏问题,进而提高采收率。

不同于矿物学研究环境,油藏环境具有高温高压、高矿化度等特征(汪卫东, 2021)。针对这些特点,我们通过实验发现,在常温常压条件下能较好与黏土矿物相互作用的模式菌株不具有热稳定性,无法耐受高温,并且常规培养基中含大量磷酸盐、硫酸盐等无机盐,无法配伍地层水。因此,本研究在寻找一种微生物防膨提高采收率的思路下,通过不断尝试,从高温油藏的原位地下水中分离出一种耐高温的混合菌株(编号 SSB-Mnt),并利用核苷酸二钠作

为其与蒙脱石相互作用体系的磷源、氮源,最终发现其在温度为 $63 \pm 2^\circ\text{C}$ 、pH 值为 6.5 ± 0.2 、矿化度为 $8\,000\text{ mg/L}$ 的油藏条件下,具有破坏蒙脱石矿物结构并降低其(001)晶面层间距能力。这对为油田提供一种作用于矿物的微生物防膨提高采收率的技术方法有积极意义,并为推动该技术从实验室走向实际生产应用提供了一定参考。

1 实验材料

1.1 油田采出液

本研究菌株分离所用采出液取自胜利油田 CG102-35 与 C20-P24 两口生产井,通过无菌采样技术(预充氮气无菌袋)采集于井口直接封装,全程 4°C 低温冷链运输至实验室。两批次样品总量 40 L ,储存于厌氧环境中。

1.2 矿物样品

本研究采用湖南怀化沉积型膨润土矿床的天然钠基蒙脱石作为实验材料,经 X 射线衍射定量分析,蒙脱石含量为 99%,次要相石英含量 1%。原始矿样经程序控温烘箱 60°C 干燥 2 h 以去除自由水,随后采用玛瑙研钵机械研磨并通过 ASTM 200 目标准筛(孔径 $75\text{ }\mu\text{m}$),收集过筛粉末于干燥器中避光保存备用。

1.3 培养基

基于硅酸盐细菌代谢特征及矿物-微生物相互作用机制(Sheng *et al.*, 2008; Etesami *et al.*, 2017),配制高选择性培养基: 5 g/L 的葡萄糖、 0.5 g/L 的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{ H}_2\text{O}$ 、 0.1 g/L 的 CaCO_3 、 0.006 g/L 的 FeCl_3 、 0.2 g/L 的 $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ 、 3 g/L 的蒙脱石粉,调 pH 值至 6.5 ± 0.2 。

为规避传统磷酸盐与地层水 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的结垢风险,设计核苷酸二钠培养基: 5.72 g/L 的 CH_3COONa 、 1.13 g/L 的核苷酸二钠(I+G)、 0.1 g/L 的酵母提取物; 4.5 g/L 的蒙脱石粉,调 pH 值至 6.5 ± 0.2 。

2 实验步骤与分析方法

2.1 硅酸盐分解细菌分离

采用原位富集-梯度选择法定向分离耐高温硅酸盐分解菌群,具体流程如下。

(1) 浓缩培养基制备

将硅酸盐分解细菌分离培养基按 3.67 倍浓度浓缩($110\text{ mL} \rightarrow 30\text{ mL}$)配制,使用 0.1 M HCl/NaOH 调节 pH 值至 6.5 ± 0.2 (模拟原位储层初始条件),分装至 115 mL 厌氧瓶(N_2 置换 3 次), 121°C 高压灭菌 20 min 。

(2) 严格厌氧接种

实验组:在手套箱中,向灭菌培养基注入 80 mL 未过滤油田采出液(含原位微生物群落),密封橡胶塞;

空白对照组:以灭菌超纯水替代采出液,同步操作;

共设置 10 个生物重复实验组与 2 组空白对照,确保统计学效力。

(3) 动态培养与监测

将培养瓶置于恒温振荡培养箱($63 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 50 r/min),维持微好氧条件(顶空氧浓度 $<0.1\%$)。

每 5 天采用无菌注射器穿刺取样 2.5 mL ,立即转移至预充氮气厌氧管。取 0.5 mL 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,采用改进型菲罗嗉法($\lambda = 562\text{ nm}$,标准曲线 $R^2 > 0.995$)定量 Fe^{2+} 浓度;剩余样品经 $10\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min ,上清液监测 pH 值。

(4) 优势菌群筛选与保藏

第 30 天终止培养,选择 Fe^{2+} 峰值浓度最高组,以 10%接种量转接至新鲜培养基(3 代传代培养);

通过梯度稀释法($10^{-6} \sim 10^{-8}$)结合 Hungate 滚管技术,分离纯化优势菌株(编号 SSB-Mnt),冻存于 -20°C 甘油管(体积分数 30%);部分菌株经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤后进行 16S rRNA 测序。

2.2 以核苷酸二钠为唯一磷源的菌-矿动态反应体系构建

(1) 配伍培养基制备

将菌-矿反应培养基按 3.67 倍浓度预浓缩($110\text{ mL} \rightarrow 30\text{ mL}$)配制,使用超纯水(电阻率 $\geq 18.2\text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)溶解,分装至 115 mL 血清瓶中, 121°C 高压灭菌 20 min ,冷却后于手套箱中无菌无氧操作,再注入 80 mL 经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤并高温灭菌的采出液。

(2) 严格标准化接种

实验组:接种 1 mL 浓缩菌悬液($\text{OD}_{600} = 2.0 \pm 0.1$,经 $3\,000\text{ r/min}$ 离心 10 min 富集);

空白对照组:等体积无菌生理盐水替代菌悬液;

设置 3 个生物重复实验组与 2 组技术对照,满

足统计分析需求。

(3) 多动态培养取样

将反应体系置于恒温摇床($63\pm 2^{\circ}\text{C}$, 50 r/min 偏心距振荡),第15天通过无菌注射器注入 2.5 mL 补充培养基,补偿营养消耗。

第30天终止反应,快速转移至厌氧手套箱($\text{O}_2 < 1\times 10^{-6}$):取 10 mL 样品经 $10\,000\text{ r/min}$ 离心 15 min 分离固液两相,矿物相经冷冻干燥后用于多尺度表征。

2.3 取样测试

(1) 周期性采样与预处理

每5天采用无菌穿刺针抽取 2.5 mL 固液两相混合样品,立即转移至预充氮气厌氧管,取 0.5 mL 样品注入含 3.5 mL 2%硝酸的预酸化离心管,超声波震荡混匀 30 s 后经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,采用结合菲罗嗉分光光度法和电感耦合等离子体色谱仪(ICP-OES)测定 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 浓度(检出限 0.01×10^{-6})。

剩余 2 mL 样品经 4°C 预冷离心机 $4\,000\text{ r/min}$ 离心 10 min (转子温度维持 $4\pm 1^{\circ}\text{C}$)。上清液测定pH值(三点校准,精度 ± 0.01);沉淀物经冻融裂解后,采用改良BCA法(Smith *et al.*, 1985; Olson *et al.*, 2007)定量体系总蛋白含量(标准曲线 $R^2 > 0.998$)。

(2) 矿物相表征

收集反应后固相样品进行冷冻干燥。采用玛瑙研钵研磨至 200 目 ($75\text{ }\mu\text{m}$),进行X射线衍射分析(XRD)、扫描电子显微镜(SEM-EDS)观察和傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析。

2.4 测试方法

(1) 矿物物相及元素分析

将蒙脱石原矿及菌-矿作用后产物经冷冻干燥,研磨并过 200 目 标准筛后,通过PANalytical X-pert3 Powder型粉末X射线衍射仪(XRD)进行测试分析,电压 40 kV ,电流 40 mA ,X射线源为Cu靶,连续扫描模式,扫描范围 $5^{\circ}\sim 80^{\circ}$,扫描速度 $6^{\circ}/\text{min}$ 。利用HighScore Plus软件对矿物物相进行分析鉴定。蒙脱石原矿总铁含量采用氢氟酸溶解后使用电感耦合等离子体色谱仪(ICP-OES)测定,测试仪器为Spectroblue Sop型全谱直读等离子体发射光谱仪(ICP-OES),亚铁含量采用滴定法(黄明宪,1991)测定。

(2) pH值及 Fe^{2+} 等阳离子浓度分析

固定时间取样后,采用菲罗嗉分光光度法(马明

洁,2019)测定 Fe^{2+} 浓度,测试仪器为赛默飞Evolution 220紫外可见分光光度计(UV-Vis)。使用ICP-OES(Spectroblue Sop)测定 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 浓度,采用《水质32种元素的测定电感耦合等离子体发射光谱法.HJ 776-2015》标准。

(3) 菌-矿反应产物矿物学分析

菌-矿反应后产物粉末,用搭载能谱仪的FEI Quattro S型环境扫描电子显微镜(ESEM)进行粉末表征分析。之后称取 1 mg 矿物粉末与 199 mg 光谱纯KBr粉末混匀,经压片后使用VERTEX 80v型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)进行表征分析。

3 结果与讨论

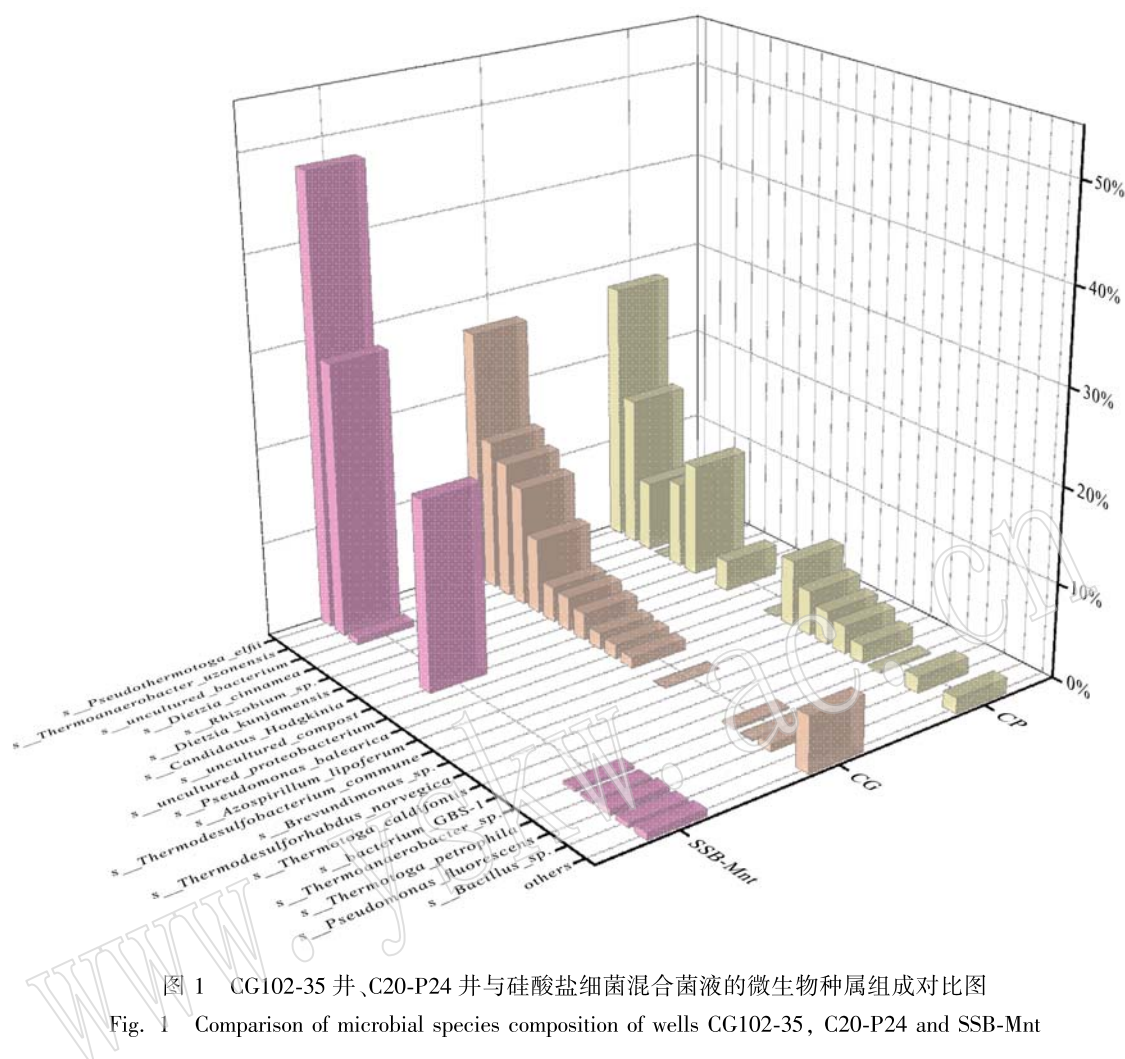
3.1 基于16S rRNA高通量测序的菌群结构解析

采用Illumina NovaSeq平台对采出液(CG102-35、C20-P24井)及硅酸盐分解混合菌液(SSB-Mnt)进行V3-V4区双端测序(PE300),测序原始数据下机后,首先进行数据质控,通过序列拼接、过滤和去嵌合体后得到优化序列,然后进行OTU聚类及注释。基于聚类结果进行Alpha多样性分析和Beta多样性分析,基于注释结果得到各水平的分类信息,进而进行样本组成及样本间群落结构差异相关分析。分析结果显示, β 多样性(Bray-Curtis距离)、SSB菌群与CG102-35井和C20-P24井采出液呈现显著聚类,共有OTUs占比达66%。

3.1.1 物种组成相似性分析

如图1、图2所示,CG102-35井物种占比大于1%的优势菌属为*Pseudothermotoga elfii*(27.09%)、*Thermoanaerobacter uzonensis*(16.01%)、uncultured bacterium(14.48%)、*Dietzia cinnamomea*(12.69%)、*Rhizobium* sp.(8.07%)、*Dietzia kunjamensis*(3.75%)、*Candidatus Hodgkinia*(3.59%)、uncultured compost(2.85%)、uncultured proteobacterium(1.71%)、*Pseudomonas balearica*(1.49%)、*Azospirillum lipoferum*(1.16%)。

C20-P24井物种占比大于1%的优势菌属为*Pseudothermotoga elfii*(27.86%)、*Thermoanaerobacter uzonensis*(16.07%)、*Dietzia kunjamensis*(12.04%)、*Rhizobium* sp.(9.15%)、uncultured bacterium(7.46%)、*Thermodesulfobacterium commune*(7.10%)、*Brevundimonas* sp.(4.74%)、*Thermodesulfobacterium norvegica*(3.56%)、uncultured compost(3.25%)、*Thermotoga caldiformis*(3.01%)、



bacterium GBS-1 (1.95%)、*Pseudomonas fluorescens* (1.74%)。

硅酸盐分解混合菌液 SSB-Mnt 的优势菌属为 *Pseudothermotoga elfii* (47.70%)、*Thermoanaerobacter uzonensis* (28.95%) 和 uncultured compost (20.16%)。

3.1.2 关键功能菌株特性解析

(1) *Pseudothermotoga elfii*: Ravot 等 (1995) 从深层油藏分离出的嗜热厌氧杆状细菌, 生长温度范围 50~72℃, 最佳为 66℃, 生长 pH 值范围 5.5~7.5, 最佳为 6.1, 且可在 20~40 MPa 静水压力下生长。

(2) *Thermoanaerobacter uzonensis*: 一种首次分离自俄罗斯 Uzon 火山口热泉的异养厌氧嗜热杆状细菌, 生长温度范围 32.5 ~ 69℃, 最佳生长温度 61℃, 生长 pH 值范围 3.9 ~ 9.1, 最佳 7.1 (Wagner *et al.*, 2008)。

(3) *uncultured compost*: 表示未识别到具体的种, 但在属水平上该类细菌主要为 *Caldibacillus* 属, 属于一嗜热芽孢杆菌属。

这些研究表明, 本实验从采出液中分离得到 SSB-Mnt 混合菌液具备在高温、酸性、厌氧条件下生长的基本生理特性; SSB-Mnt 混合菌液也可在 65℃、pH=6.5 的高温酸性油藏条件下生长并与蒙脱石发生交互作用。

3.2 蒙脱石原矿矿物学特征解析

通过 Rietveld 全谱精修法 (图 3) 对钠基蒙脱石进行了物相定量分析, 结果显示, 主矿物相为蒙脱石 (ICSD PDF#00-043-0688), 其特征衍射峰位于 $2\theta = 5.94^\circ$ (001)、 14.21° (002)、 19.78° (100)、 28.71° (004)、 34.79° (110) 及 61.97° (330), 对应层间距 $d_{001} = 1.49$ nm; 微量杂质相为石英 (PDF#00-046-1045)。

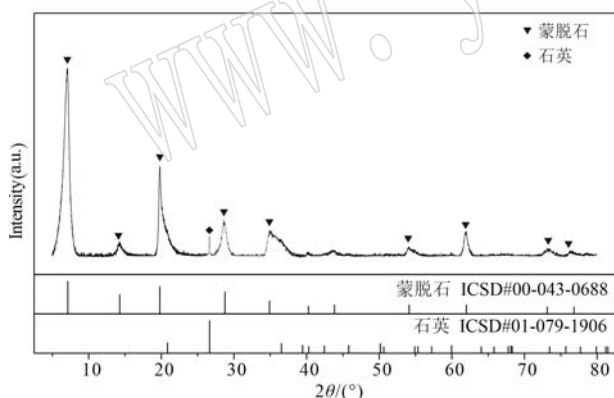


图 3 蒙脱石原矿 XRD 谱图

Fig. 3 XRD spectrum of montmorillonite raw ore powder

结合氢氟酸溶解后电感耦合等离子体色谱仪 (ICP-OES) 与改良 Wilson 滴定法 (黄明宪, 1991), 解析了铁元素的化学态, 结果表明实验用蒙脱石矿粉全铁含量为 1.085%, 其中 Fe^{3+} 含量为 1.057%, Fe^{2+} 含量为 0.028%。

3.3 作用过程体系介质变化

3.3.1 体系不同价态 Fe 元素浓度变化

在 $63 \pm 2^\circ\text{C}$ 油藏模拟条件下, SSB-Mnt 菌群与蒙

脱石作用 30 天后, 液相中 Fe^{2+} 浓度由初始低于检测下限显著升高至 0.376 ~ 0.427 mmol/L, 均值 0.402 mmol/L (图 4), 对应蒙脱石结构 Fe^{3+} 的还原效率为 43.8% ~ 49.7%。而 ICP 测定结果表明, SSB-Mnt 菌群与蒙脱石交互作用体系中的总 Fe 浓度上升至 3.5×10^{-6} (图 5), 同样指示蒙脱石结构中 Fe 元素的明显溶出。

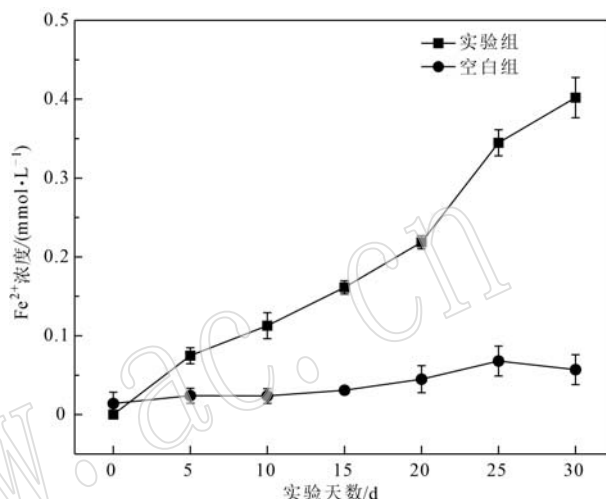


图 4 SSB-Mnt 与蒙脱石交互作用过程 Fe^{2+} 浓度变化图

Fig. 4 Fe^{2+} concentration changes during SSB-Mnt interaction with montmorillonite

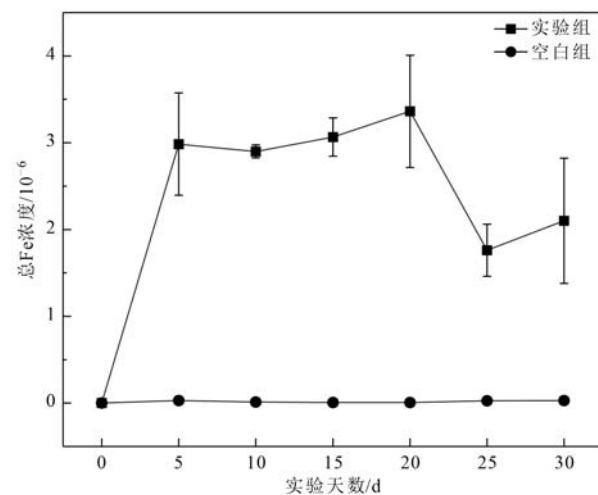


图 5 SSB-Mnt 与蒙脱石交互作用过程总 Fe 浓度变化图

Fig. 5 Total Fe concentration changes during SSB-Mnt interaction with montmorillonite

3.3.2 体系 pH 值变化

实验组 pH 值由初始 6.6 持续下降至 5.5 (图 6)。pH 值降低与 Fe^{2+} 浓度升高的协同变化表明, 微生物代谢活动通过酸化作用促进了蒙脱石

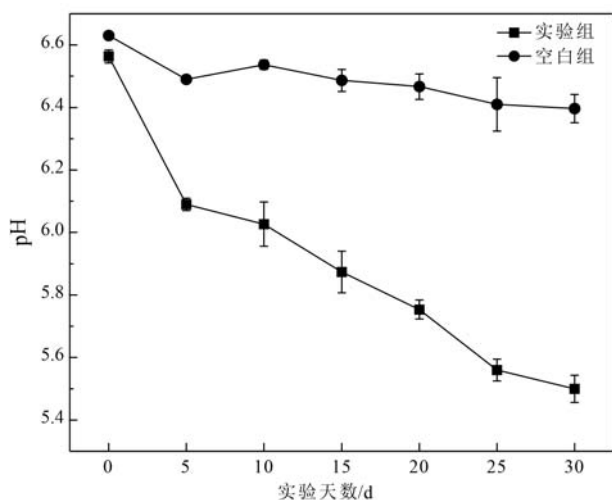


图6 硅酸盐细菌混合菌液与蒙脱石交互作用过程 pH 值变化图

Fig. 6 Changes in pH value during the interaction of silicate bacteria mixed fluids with montmorillonite

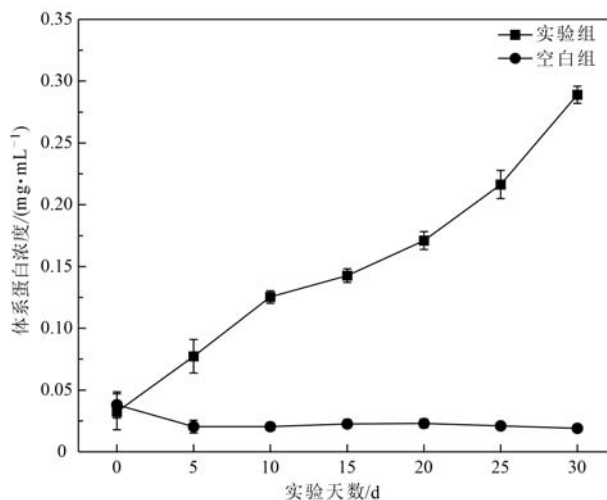


图7 硅酸盐细菌混合菌液与蒙脱石交互作用过程 总蛋白浓度变化

Fig. 7 Changes in total protein concentration during the interaction of SSB-Mnt with montmorillonite

中结构 Fe^{3+} 的酸溶还原。

3.3.3 体系总蛋白浓度

利用 BCA 法 (Smith *et al.*, 1985; Olson and Markwell, 2007) 测定的蛋白结果显示, 实验组总蛋白浓度在 0~10 天显著上升, 反映微生物处于对数生长期; 10~15 天趋于稳定, 表明进入生长平台期; 补充培养基后 (第 15 天), 蛋白浓度再次升高, 与 Fe^{2+} 溶出及 pH 值下降趋势一致 (图 7), 证实 Fe^{3+} 还原过程和蒙脱石的酸溶过程由微生物活性驱动。

3.4 矿物结构变化

3.4.1 显微傅里叶变换红外光谱

硅酸盐分解混合菌 SSB 与蒙脱石作用后, 较于空白组蒙脱石红外光谱特征发生了显著变化 (图 8), 表现为 $1\,375$ 、 $1\,475$ 、 $1\,699\text{ cm}^{-1}$ 处出现吸收峰, $1\,641\text{ cm}^{-1}$ 处蒙脱石特征吸收峰消失。 $1\,641\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰代表蒙脱石—OH 弯曲振动, 吸收峰消失反映蒙脱石层间脱水或结构羟基破坏; $1\,400\text{ cm}^{-1}$ 左右吸收峰代表 Si—O 键伸缩振动, 说明新生成的吸收峰代表新的 Si—O、Al—O 键形成, 同样指示蒙脱石的结构被破坏改变。

3.4.2 X 射线衍射图谱

通过 Rietveld 全谱精修定量分析了微生物作用后蒙脱石的结构演变, 结果发现, (001) 晶面衍射峰由 $2\theta = 5.94^\circ$ ($d_{001} = 1.49\text{ nm}$) 偏移至 7.21° ($d_{001} = 1.22\text{ nm}$), 层间距缩小 17.96%, 指示蒙脱石层间域坍塌层间距收缩; (100) 晶面 ($2\theta = 19.78^\circ$)、(110)

晶面 ($2\theta = 34.79^\circ$)、(214) 晶面 ($2\theta = 61.90^\circ$) 衍射峰强度分别降低 67.9%、49.2%、54.3%, 表明八面体片发生扭曲, 指示蒙脱石结构失稳 (图 9)。

(004) 晶面 ($2\theta = 29.65^\circ$) 等更高阶衍射峰对应层间距的整数倍, 依赖于层间域的周期性排列。微生物作用后产物该晶面的衍射峰消失 (图 9), 表明层间结构的长程有序性被破坏, 层间距可能不再保持严格的周期性, 指示蒙脱石的层间结构发生了显著变化。

另外, 在 $2\theta = 25.91^\circ$ 、 27.72° 和 31.77° 处出现了新的衍射峰, 依靠 HighscorePlus 软件分析出这几个衍射峰与 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 、 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 有关, 这也与 SEM-EDS 指示的形成了 Fe 元素聚集颗粒相互印证。

3.4.3 扫描电子显微镜观察

SEM-EDS 分析显示 (图 10), 微生物作用后蒙脱石表面出现铁元素富集区域 (Fe 含量达 14.4%~19.7%), 并形成次生矿物颗粒, 表明 Fe^{2+} 可能通过重结晶或氧化沉淀生成新矿物相。此外微生物作用后的蒙脱石表面出现钛元素的富集, 部分颗粒 Ti 含量达 24.6% (图 10a)。

4 结论

本研究通过微生物分离、纯化、培养基优化, 并结合多尺度表征与元素分析, 系统揭示了耐高温硅酸盐混合菌 SSB-Mnt 在油藏环境 ($63 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH} = 6.5 \pm$

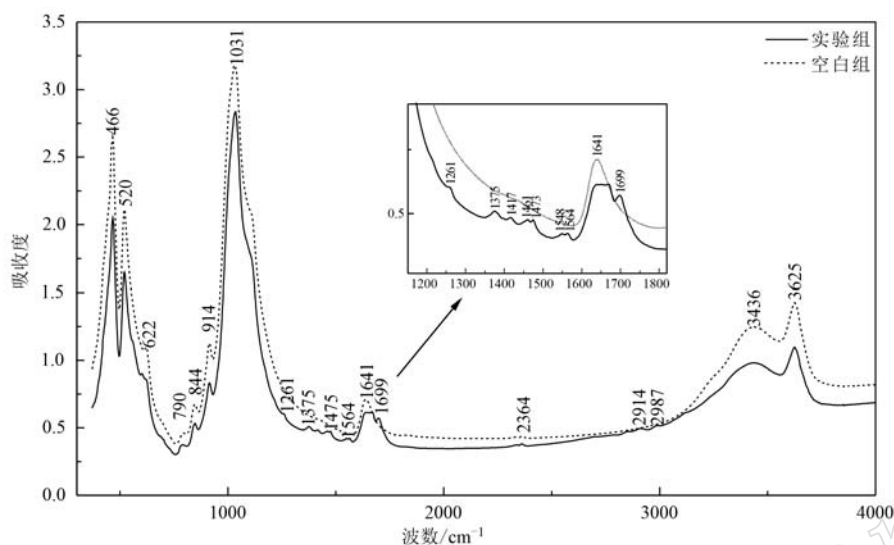


图 8 硅酸盐分解混合菌液交互作用后蒙脱石傅里叶红外分析谱图

Fig. 8 FTIR spectra of montmorillonite after interaction of silicate bacteria mixed fluids

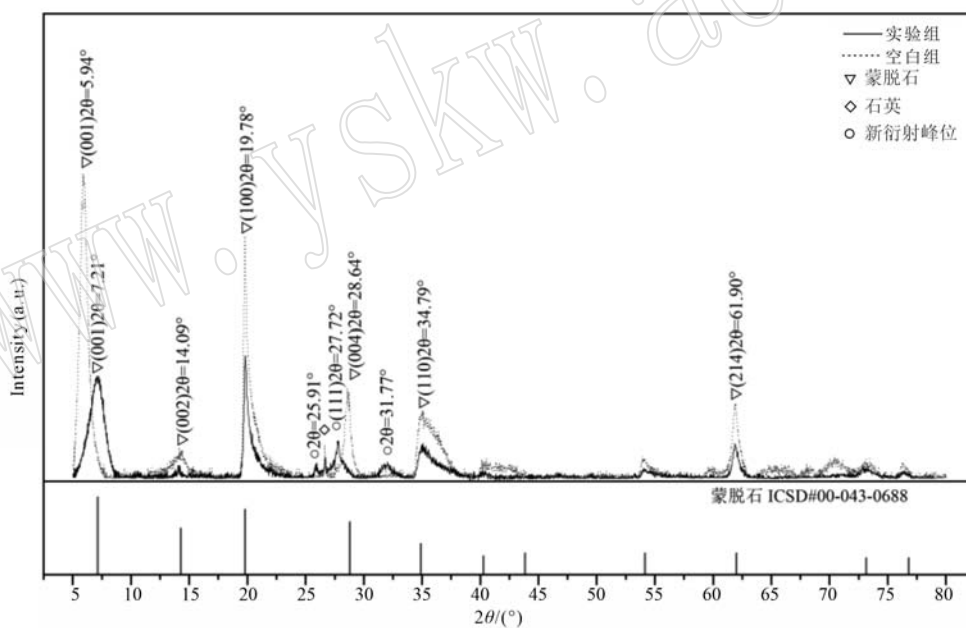


图 9 硅酸盐分解混合菌液交互作用后蒙脱石 X 射线衍射分析谱图

Fig. 9 X-ray diffraction(XRD) analysis spectra of montmorillonite after interaction of silicate bacteria mixed fluids

0.2) 中驱动蒙脱石矿物改造的部分机制与地质效应,主要结论如下。

(1) 高温适应性菌群构建与功能优势

从胜利油田原位采出液中富集的 SSB-Mnt 菌群,以 *Pseudothermotoga elfii* (47.70%) 和 *Thermoanaerobacter uzonensis* (28.95%) 为核心功能菌株,其耐高温(65℃)及耐酸(pH=4.8)特性显著。在模拟油藏条件下,通过代谢产酸与电子传递的协同作用,

30 天内实现蒙脱石中 43.8%~49.7% 结构 Fe^{3+} 的还原。

(2) 蒙脱石层间域坍塌,硅氧骨架解聚,发生次生矿物成核

蒙脱石(001)晶面层间距由 1.49 nm 收缩至 1.22 nm, (004) 晶面对应的衍射峰消失,表明层间周期性排列的长程有序性被破坏,层间结构发生显著无序化,红外结果也表明层间脱水或结构羟基破坏。

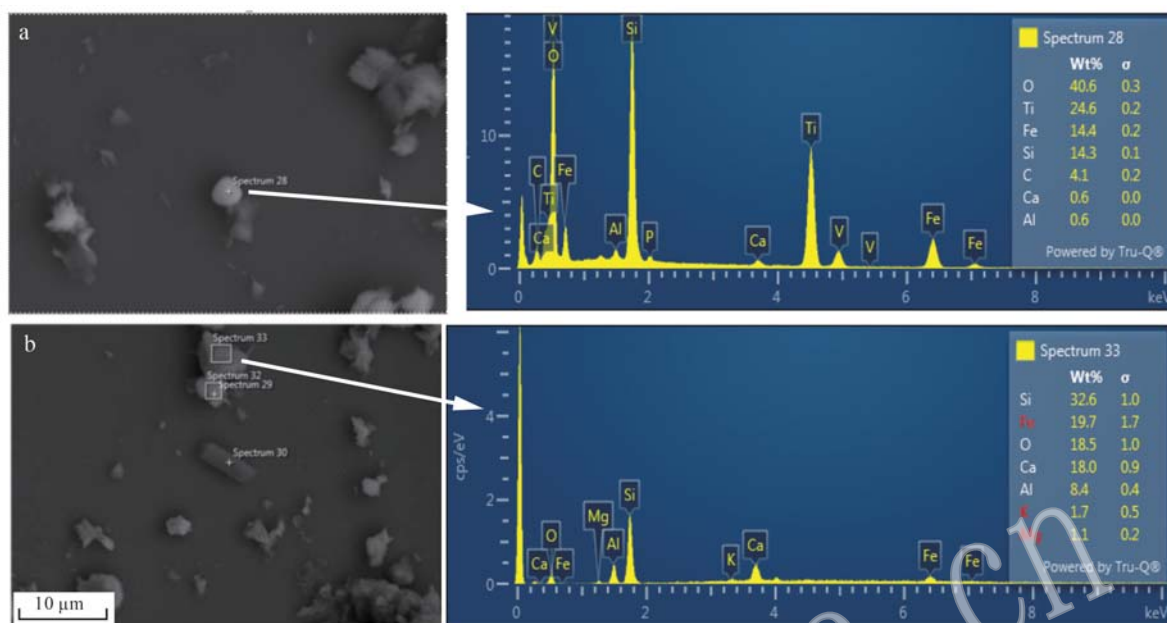


图 10 硅酸盐分解混合菌液交互作用后蒙脱石扫描电镜与能谱分析(SEM-EDS)谱图

Fig. 10 Scanning electron microscopy and energy spectra(SEM-EDS) analysis of montmorillonite after silicate bacteria mixed fluids interaction spectra

此外,SEM-EDS 与 XRD 结果中出现与 Fe、Ca、P 等元素相关矿物相形成的新衍射峰,可能指示次生矿物的形成(部分颗粒 Fe 含量 14.4%~19.7%,部分颗粒 Ti 含量 24.6%)。

(3) 元素迁移与资源化效应。

SSB-Mnt 在油藏环境与蒙脱石交互作用过程中,不仅降低蒙脱石水化膨胀,还通过次生矿物封存重金属离子(如 Fe^{2+} 、 Ti^{4+}),兼具储层开发保护与环境修复双重效益。本研究改良的配伍培养基(核苷酸二钠培养基)不仅具有配伍采出液、避免磷酸钙沉淀的问题,还具有质优价廉的特性,有利于工业大面积推广。

References

- Dong H, Jaisi D P, Kim J, *et al.* 2009. Microbe-clay mineral interactions [J]. *American Mineralogist*, 94(11~12): 1 505~1 519.
- Etesami H, Emami S and Alikhani H A. 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects—A review[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4): 897~911.
- Geetha S J, Banat I M and Joshi S J. 2018. Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR)[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14: 23~32.
- Huang Mingxian. 1991. Determination of iron KBH_4 - KMnO_4 titration method[J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science)*, 16(4): 440~445(in Chinese with English abstract).
- Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. 2016. Water Quality-Determination of 32 Elements-Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry: HJ 776—2015 [S]. Beijing: China Environmental Science Press (in Chinese).
- Jaisi D P, Dong H L, Kim J, *et al.* 2007. Nontronite particle aggregation induced by microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction and exopolysaccharide production[J]. *Clays and Clay Minerals*, 55(1): 96~107.
- Jaisi D P, Eberl D D, Dong H L, *et al.* 2011. The formation of illite from nontronite by mesophilic and thermophilic bacterial reaction [J]. *Clays and Clay Minerals*, 59(1): 21~33.
- Karimi M, Mahmoodi M, Niazi A, *et al.* 2012. Investigating wettability alteration during MEOR process, a micro/macro scale analysis [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 95: 129~136.
- Koo T H, Jang Y N, Kogure T, *et al.* 2014. Structural and chemical modification of nontronite associated with microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction: Indicators of "illitization" [J]. *Chemical Geology*, 377: 87~95.
- Li G L, Zhou C H, Fiore S, *et al.* 2019. Interactions between microorganisms and clay minerals; New insights and broader applications [J]. *Applied Clay Science*, 177: 91~113.
- Liu Chaoxia, Bao Jingwei, Chen Jianjun, *et al.* 2024. Optimized directions for high-quality development strategy of unconventional oil and gas [J]. *Petroleum Science and Technology Forum*, 43(3): 24~31.

- (in Chinese with English abstract).
- Liu D, Dong H, Bishop M E, *et al.* 2012. Microbial reduction of structural iron in interstratified illite-smectite minerals by a sulfate-reducing bacterium[J]. *Geobiology*, 10(2): 150~162.
- Ma Mingjie. 2019. Research and Application of Fe(II) Two-Dimensional Distribution Analyzer in Sediment Pore Water Based on Phenazine Color Development and CCD Detection[D]. Xiamen: Xiamen University(in Chinese with English abstract).
- Meng Zuchao, Li Zhenghui, Ma Hairui, *et al.* 2024. Preparation and performance study of a novel amphoteric ionic clay stabilizer[J]. *Applied Chemical Industry*, 53(4): 848~852, 857 (in Chinese with English abstract).
- Muhammed N S, Olayiwola T, Elkatatny S, *et al.* 2021a. Insights into the application of surfactants and nanomaterials as shale inhibitors for water-based drilling fluid; A review[J]. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 92: 103987.
- Muhammed N S, Olayiwola T and Elkatatny S. 2021b. A review on clay chemistry, characterization and shale inhibitors for water-based drilling fluids[J]. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 206: 109043.
- Olson B J S C and Markwell J. 2007. Assays for determination of protein concentration[J]. *Current Protocols in Pharmacology*, 38(1): A~3A.
- Pannekens M, Kroll L, Müller H, *et al.* 2019. Oil reservoirs, an exceptional habitat for microorganisms[J]. *New Biotechnology*, 49: 1~9.
- Quainoo A K, Negash B M, Bavoh C B, *et al.* 2020. A perspective on the potential application of bio-inhibitors for shale stabilization during drilling and hydraulic fracturing processes[J]. *Journal of Natural Gas Science and Engineering*, 79: 103380.
- Ravot G, Magot M, Fardeau M L, *et al.* 1995. *Thermotoga elfii* sp. nov., a novel thermophilic bacterium from an African oil-producing well[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45(2): 308~314.
- She H C, Kong D B, Li Y Q, *et al.* 2019. Recent advance of microbial enhanced oil recovery (MEOR) in China[J]. *Geofluids*, (1): 1871392.
- Sheng X F, Zhao F, He L Y, *et al.* 2008. Isolation and characterization of silicate mineral-solubilizing *Bacillus globisporus* Q12 from the surfaces of weathered feldspar[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(12): 1 064~1 068.
- Smith P K, Krohn R I, Hermanson G T, *et al.* 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid[J]. *Analytical Biochemistry*, 150(1): 76~85.
- Wagner I D, Zhao W, Zhang C L, *et al.* 2008. *Thermoanaerobacter uzonensis* sp. nov., an anaerobic thermophilic bacterium isolated from a hot spring within the Uzon Caldera, Kamchatka, Far East Russia[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(11): 2 565~2 573.
- Wang L. 2020. Clay stabilization in sandstone reservoirs and the perspectives for shale reservoirs[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 276: 102087.
- Wang Weidong. 2021. Research advance and development trend in microbial enhanced oil recovery technology[J]. *Petroleum Geology and Recovery Efficiency*, 28(2): 1~9 (in Chinese with English abstract).
- Wilson L, Wilson M J, Green J, *et al.* 2014. The influence of clay mineralogy on formation damage in North Sea reservoir sandstones: A review with illustrative examples[J]. *Earth-Science Reviews*, 134: 70~80.
- Wu T, Griffin A M, Gorski C A, *et al.* 2017. Interactions between Fe(III)-oxides and Fe(III)-phyllosilicates during microbial reduction 2: Natural subsurface sediments[J]. *Geomicrobiology Journal*, 34(3): 231~241.
- Yang X X, Li Y, Lu A H, *et al.* 2016. Effect of *Bacillus mucilaginosus* D4B1 on the structure and soil-conservation-related properties of montmorillonite[J]. *Applied Clay Science*, 119: 141~145.
- Zhang G X, Dong H L, Kim J, *et al.* 2007. Microbial reduction of structural Fe³⁺ in nontronite by a thermophilic bacterium and its role in promoting the smectite to illite reaction[J]. *American Mineralogist*, 92(8~9): 1 411~1 419.
- Zhang J, Dong H L, Liu D, *et al.* 2012. Microbial reduction of Fe(III) in illite-smectite minerals by methanogen *Methanosarcina mazei* [J]. *Chemical Geology*, 292: 35~44.
- Zhang J, Dong H L, Liu D, *et al.* 2013. Microbial reduction of Fe(III) in smectite minerals by thermophilic methanogen *Methanothermobacter thermautotrophicus* [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 106: 203~215.

附中文参考文献

- 黄明宪. 1991. 硼氢化钾-高锰酸钾滴定法测铁研究[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 16(4): 440~445.
- 刘朝霞, 鲍敬伟, 陈建军, 等. 2024. 非常规油气高质量发展战略方向优选[J]. *石油科技论坛*, 43(3): 24~31.
- 马明洁. 2019. 基于菲啰嗪显色和 CCD 检测的沉积物孔隙水 Fe(II) 二维分布测定仪的研究与应用[D]. 厦门: 厦门大学.
- 孟祖超, 李正辉, 马海瑞, 等. 2024. 新型两性离子粘土稳定剂的制备及其性能研究[J]. *应用化工*, 53(4): 848~852, 857.
- 中华人民共和国环境保护部. 2016. 水质 32 种元素的测定 电感耦合等离子体发射光谱法 HJ 776—2015[S]. 北京: 中国环境科学出版社.
- 汪卫东. 2021. 微生物采油技术研究进展与发展趋势[J]. *油气地质与采收率*, 28(2): 1~9.