

厌氧产表面活性剂微生物提高原油采收率的研究进展

赵峰,张颖*

(中国科学院沈阳应用生态研究所 污染生态与环境工程重点实验室,辽宁 沈阳 110016)

摘要: 微生物强化采油(microbial enhanced oil recovery, MEOR)是近年来在国内外发展迅速的一项提高原油采收率技术。微生物在油藏中高效生产表面活性剂等驱油物质是微生物采油技术成功实施的关键之一。然而,油藏的缺/厌氧环境严重影响好氧表面活性剂产生菌在油藏原位的生存与代谢活性;油藏注空气会增加开采成本,且注入空气的作用时效和范围难以确定。因此,开发厌氧产表面活性剂菌种资源并强化其驱油效率对于提高原油采收率具有重要意义。本文综述了国内外近年来利用厌氧产表面活性剂微生物提高原油采收率的研究进展,简述了微生物厌氧产表面活性剂的相关驱油机理、菌种资源开发现状以及油藏原位驱油应用进展,并对当前的研究提出了一些思考。

关键词: 微生物采油;厌氧;生物表面活性剂;菌种资源;基因工程

中图分类号: Q 939.97

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2018)02-0101-06

Advances in enhanced oil recovery by biosurfactant producing microorganisms under anaerobic conditions

ZHAO Feng, ZHANG Ying*

(Key Laboratory of Pollution Ecology and Environmental Engineering, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, Liaoning, China)

Abstract: Microbial enhanced oil recovery (MEOR) is a rapidly developing enhanced oil recovery technology in recent years. Efficient *in situ* production of active metabolites such as biosurfactants in oil reservoirs by microorganisms is one of the keys to successful MEOR technology. Considering the anoxic or anaerobic conditions within subsurface oil reservoirs, the survival and metabolic activity of biosurfactant-producing bacteria are seriously affected. Air injection into oil reservoirs increases oil production cost, and the maintaining time, effect and extent of the injected air is difficult to determine. Developing microbial resources which can anaerobically produce biosurfactants and improve the oil displacement efficiency is of great importance for *in situ* production of biosurfactants in oil reservoirs to enhance oil recovery. In this paper, we review the research progress of using microorganisms to anaerobically produce biosurfactants to enhance oil recovery. We also briefly describe the oil displacement mechanism, microbial resource development status and oilfield *in situ* oil displacement application progress by microorganisms anaerobically producing biosurfactants. We also provide some suggestions towards further research on microorganisms anaerobically producing biosurfactants to enhance oil recovery.

Key words: microbial enhanced oil recovery; anaerobic condition; biosurfactant; microbial resource; genetic engineering

收稿日期:2017-09-28 修回日期:2017-12-04

作者简介:赵峰(1988-),男,助理研究员,博士,现主要从事生物表面活性剂菌种资源开发、微生物采油等研究。E-mail:zhaofeng@iae.ac.cn

* 通讯联系人 E-mail:yzhang@iae.ac.cn

基金项目:国家自然科学基金青年基金(31700117)

引用格式:Zhao F, Zhang Y. Advances in enhanced oil recovery by biosurfactant producing microorganisms under anaerobic conditions[J]. Biotic Resources, 2018, 40(2): 101-106.

赵峰,张颖. 厌氧产表面活性剂微生物提高原油采收率的研究进展[J]. 生物资源, 2018, 40(2): 101-106.

0 引言

当前我国经济发展对石油的需求量持续增长,而我国油藏的可开采储量不断减少,发现新油气资源的难度增大,通过科研创新提高现有油田的采收率对于保障我国能源安全具有重大战略意义^[1]。化学驱油技术在大幅提高原油采收率的同时也带来了严重的环境污染问题^[2]。微生物强化采油(microbial enhanced oil recovery, MEOR)是近年来在国内外发展迅速的一项提高原油采收率技术,是利用微生物在油藏中的生长代谢活动或其代谢产物来提高原油采收率的综合性技术^[3]。该技术驱油潜力大、综合成本低、采出液不需特殊处理,是一项经济有效、绿色环保的采油技术^[4]。实验室内研究和现场实验研究证实了利用微生物在油藏原位的代谢产生表面活性剂提高原油采收率是一项切实可行的微生物采油技术^[4~6]。经两期国家 863 计划的资助,微生物采油技术研究取得了较大的发展,新疆油田与胜利油田现场实验均取得了较好的提高采收率效果。研究证实好氧或者厌氧功能微生物在油藏中的稳定生长并产生表面活性剂等驱油产物是微生物采油技术成功实施的关键^[3,5,7]。

油藏是一个缺氧环境,在油藏深处甚至是完全厌氧的^[8,9]。但是目前研究报道的表面活性剂产生菌绝大多数为好氧微生物,因而必须通过向缺/厌氧的油藏环境注入空气才能有效保持好氧表面活性剂产生菌在油藏原位的生长代谢活性,进而保证驱油效率。当前微生物采油现场应用的空气注入体积为液气比大约为 1:8~1:10^[10,11]。向油藏注空气既增加开采成本,又因空气的作用时效和范围不确定而难于保障好氧微生物菌种有效的氧气供给。

厌氧产表面活性剂微生物在油藏中的生长代谢不会受油藏缺/厌氧环境条件的限制。开发厌氧产表面活性剂菌种资源,强化微生物厌氧产表面活性剂的能力,提高其驱油潜力,对于油藏原位产表面活性剂提高原油采收率的技术具有重要的理论和应用价值。本论文简述了我国微生物采油技术研究发展,综述了微生物厌氧产表面活性剂的驱油机理、菌种资源开发现状以及油藏原位驱油应用进展。

1 微生物采油技术发展简史

虽然微生物采油技术是近年来在国内外发展迅速的一项提高原油采收率的技术,但是微生物采油技术的研究已有近百年的历史^[12]。美国科学家 Beckman 于 1926 年提出了“微生物采油”的设想;

ZoBell 提出了应用厌氧硫酸盐还原菌进行二次采油的现场方案,并申请了利用微生物提高采收率的第一个专利^[13,14],标志着微生物采油技术的成型。

我国微生物采油技术研究开始于在 20 世纪 60 年代^[15]。早期,我国胜利油田和新疆油田开展过短期的微生物采油技术研究工作;大庆油田在 20 世纪 70 年代开展了微生物采油的相关研究和实验,并取得了一定成果^[12,16]。1980 年至 2000 年期间,油田与一些高校和科研院所开展合作进行了微生物采油的室内研究和现场实验^[16]。2005 年,国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目“化学驱和微生物驱提高石油采收率的基础研究”启动,在微生物驱油机理和菌种培育等方面取得了重要进展。进入 21 世纪后,我国分别在新疆油田、胜利油田、长庆油田和华北油田等设立开展了现场实验,并取得了较好的提高采收率效果;此外,2008 年和 2013 年,国家科技部分别设立了两期国家 863 计划项目“内源微生物采油技术研究”和“微生物采油关键技术”,标志着微生物采油研究进入科技攻关的关键阶段。研究学者多年积累的研究结果表明,利用微生物合成生物表面活性剂驱油是微生物采油技术的一个主要研究方向^[3,5]。

2 生物表面活性剂提高原油采收率的应用方式

微生物合成生物表面活性剂提高原油采收率的应用方式主要分为地上法和地下法。地上法是指将微生物菌种先在地面上进行发酵,生产生物表面活性剂,然后将含生物表面活性剂的发酵液或者生物表面活性剂产物注入油藏中,发挥驱油作用^[17]。地下法是将实验室获得的高效菌种及其营养物注入油藏,或单纯注入营养物激活油藏中的内源表面活性剂产生菌,将油藏作为一个巨大的“发酵罐”,使表面活性剂产生菌在油藏中进行原位生长、代谢产生生物表面活性剂,发挥驱油作用^[18,19]。

在微生物采油现场应用中,生物表面活性剂的需要量大。地上法需要建立发酵厂房,发酵设备的运行及维护成本、发酵液大量运输等花费较大,生物表面活性剂的浓缩提取等增加其驱油应用的技术复杂性和应用成本^[20],这些因素限制了地上法的大规模驱油应用。

与地上法相比,地下法则成本低、工艺简单,操作方便且灵活多变。油藏是一个缺氧环境^[8,9],因此,保证生物表面活性剂产生菌在油藏缺氧环境中稳定生长、代谢产生表面活性剂是成功应用生物表面活性剂地下法驱油的关键^[21]。油藏注空气增加

开采成本,安全系数较低,并且空气注入后在油藏中的浓度和维持时间都无法保证。厌氧产表面活性剂微生物可以在油藏中生长、代谢产生表面活性剂,起到原位驱油的作用。厌氧产表面活性剂菌种资源的研发对于油藏原位产生物表面活性剂驱油(地下法)的发展与应用具有重要的推动作用。

3 油藏原位产生物表面活性剂的驱油机理

油藏原位产生物表面活性剂提高原油采收率是指利用表面活性剂产生菌在油藏中生长代谢和繁殖、产生表面活性剂,随着菌体、营养液以及表面活性剂产物在油藏中发生运移,通过微生物作用引发油藏内岩层、油、水的物性改变,进而达到驱油效果^[5,22]。生物表面活性剂在油藏中能够提高原油采收率的机理主要包括:生物表面活性剂能够改变储油层岩石表面的润湿性,降低岩石对原油的吸附力;生物表面活性剂能够有效降低油水界面张力,从而减少了原油在储层孔隙中的流动阻力,使原油从岩石孔隙释放;生物表面活性剂还能够乳化原油,使原油均匀分散于地下流体中,进而随采出液开采出来;还有些表面活性剂能降低原油的粘度,增加原油流动性^[4,5,22,23]。目前,我国微生物采油领域的学者比较认同生物表面活性剂通过对地下原油的“乳化携带”作用来提高原油采收率。

4 厌氧产生物表面活性剂的菌种资源

4.1 野生型菌种资源

目前已报道的能够厌氧产表面活性剂的菌种资源比较少。发现巴氏梭状芽胞杆菌(*Clostridium pasteurianum*)能在厌氧条件下产生胞外中性脂类表面活性剂,可将表面张力从 72 mN/m 降至 55 mN/m^[24]。从某油藏中筛选出的地衣芽胞杆菌(*Bacillus licheniformis*)JF-2 能在厌氧条件下产生脂肽类表面活性剂,可将发酵液表面张力降至 30 mN/m 以下,具有潜在的油藏原位驱油应用潜力,但是经过连续传代后,菌株厌氧产脂肽的能力逐渐减弱,并且厌氧生长代谢过程中还需要寡核苷酸等特异的生长因子^[25]。报道了地衣芽胞杆菌 RS-1 和枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)NRRLB-23049 能够在油藏原位厌氧条件下产生脂肽类表面活性剂^[18,19]。Soudmand-asli 等^[6]报道了枯草芽胞杆菌 PTCC 1365 可在厌氧的多孔介质模型中产生脂肽类表面活性剂。从伊朗的一油井采出液样品中分离出一株莫哈韦芽胞杆菌(*B. mojavensis*),它可在厌氧条件下产脂肽类表面活性剂,使发酵液表面张力降

到 27 mN/m 以下^[26]。从巴西某油田中筛选到了 5 株能够在厌氧条件下产生表面活性剂的芽胞杆菌(*Bacillus* sp.),产生的生物表面活性剂可以将水的表面张力由 72 mN/m 降低到 30 mN/m,该菌还能够能够在油藏缺氧条件下降解长链烷烃,并降低原油粘度^[27]。从大庆油田龙虎泡区块采油污水样中分离到一株高效嗜热耐盐的地芽胞杆菌(*Geobacillus* sp.)WJ-2,该菌能够在厌氧条件下产生表面活性剂;在好氧和厌氧条件下,该菌在一次水驱基础上可分别进一步提高采收率 6.96% 和 6.42%^[28]。

一些假单胞菌属细菌能够在厌氧条件下产生鼠李糖脂表面活性剂。铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)ATCC 10145 在棕榈酸-硝酸盐培养基中,可以通过硝酸盐呼吸在缺氧条件下合成鼠李糖脂表面活性剂^[29]。从城市下水道污泥中,筛选分离出一株可在厌氧条件下产鼠李糖脂表面活性剂的假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)ANBIOSURF-1^[20]。报道了铜绿假单胞菌 E03-40 和 PAO1 利用甘油在反硝化条件下能够厌氧合成鼠李糖脂^[30]。从新疆油田油藏采出液中筛选到了利用甘油能够厌氧合成鼠李糖脂的铜绿假单胞菌 SG,但是菌株 SG 在厌氧条件下的鼠李糖脂产量仅为 228 mg/L^[31]。

4.2 厌氧产表面活性剂的复合菌系

从墨西哥某油田中富集得到的嗜热厌氧富集物 A7,经 16S rDNA 的 V3 区测序分析后可知该菌系中的优势菌属为高温厌氧杆菌属(*Thermoanaerobacter*),富集物 A7 可以在厌氧条件下产生表面活性剂和生物气,降低原油粘度,在模拟油藏条件下提高原油采收率为 12%^[32]。从印度某油田采出液中富集得到一组嗜热厌氧复合菌系 TERIB#90,该菌系能够在厌氧条件下产生表面活性剂,将培养液的表面张力由 64 mN/m 降低到 27 mN/m^[33],该菌系还能够将原油粘度从 665 cp 降低到 10 cp,16S rDNA 克隆文库分析该菌系中的优势菌属为穆尔氏菌(*Moorella* sp.)。报道了从加拿大某油田筛选到具有硝酸盐还原功能的厌氧富集物,该富集物能够在厌氧条件下产生气体和表面活性剂,降低油水界面张力,提高原油采收率 10% 以上^[34]。从墨西哥某油田中获得了两个嗜热耐盐的内源菌系 IMP-100 和 IMP-200,内源菌系能够在厌氧条件下产生具有表面活性的产物,能够乳化原油、降低原油粘度,在物模岩心实验中可分别提高原油采收率 8.5% 和 13.0%^[35]。

4.3 厌氧产表面活性剂的基因工程菌

MEOR 技术的核心是微生物菌种,驱油用微生

物菌种的优良与否直接关系到微生物采油技术的效果好坏及成本高低。因此,获得优质、高效的驱油菌种对于微生物采油技术的应用十分必要^[3,23]。利用分子生物学技术,在基因水平上改造功能微生物菌种,已成为当今主流的菌种改良技术。目前利用分子生物学技术进行菌种改造所涉及的方面主要包括功能基因的启动子改造、拷贝数增加以及异源表达等。

将铜绿假单胞菌 SQ6 中参与鼠李糖脂合成的 *rhlABRI* 基因克隆并转化到反硝化细菌施氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) DQ1 中构建了厌氧产鼠李糖脂的基因工程菌施氏假单胞菌 Rhl^[36]。利用原生质体融合技术将好氧产脂肽类表面活性剂的解淀粉芽胞杆菌 (*B. amyloliquefaciens*) BQ-2 和莫哈韦芽胞杆菌 JF-2 分别与兼性厌氧的施氏假单胞菌 DQ-1 融合,构建了能够厌氧产脂肽类表面活性剂的融合子 JD-3 和 FA-2^[37,38]。Zhao 等^[39]通过替换厌氧产鼠李糖脂铜绿假单胞菌 SG 中 *rhlAB* 基因的启动子并增加该融合基因的拷贝数构建了基因工程菌铜绿假单胞菌 PoprAB,该工程菌的鼠李糖脂厌氧产量比野生型菌株 SG 提高接近 3 倍。利用分子生物学技术对驱油相关菌种进行改良,获得性状优良的菌种,使菌种能够在油藏复杂环境中高效生长代谢,将是未来微生物采油菌种资源开发的重要方向之一。

5 厌氧产生物表面活性剂微生物提高采收率的应用现状

关于利用微生物在缺氧的油藏原位生产表面活性剂来提高原油采收率的经济性和技术可行性,已经得到实验室研究和现场实验的证实。Soudmand-asli 等^[6]报道了枯草芽胞杆菌 PTCC 1365 可在厌氧的多孔介质模型中生长代谢产生脂肽类表面活性剂,降低原油粘度和油水界面张力,提高原油采收率,为油藏原位产生物表面活性剂驱油的可行性提供了室内研究数据。Youssef 等^[18,19]的现场实验研究结果显示,将两种产生脂肽类表面活性剂的芽胞杆菌及其营养物质注入到油藏中,菌株能够在油藏原位产生脂肽类表面活性剂,采出液中均检测到了脂肽类表面活性剂;2007 年的现场实验中检测到的平均浓度约 90 mg/L,2013 年的现场实验中检测到的浓度为 20 mg/L 和 28 mg/L。物理模拟岩心实验中动用原油所需的最低脂肽类表面活性剂浓度约为 10 mg/L^[5],结果表明利用厌氧产表面活性剂微生物在油藏原位产表面活性剂进行驱油的经济性和技术可行性。目前国内有关利用厌氧产表面活性剂微生物提高采收

率的现场实验还正在筹备之中。

6 展望

目前已获得的厌氧产表面活性剂微生物菌种资源有限,并且有些厌氧产表面活性剂菌种并非从油藏环境中分离得到,其对于油藏环境的适应性还有待进一步评价。微生物菌种在厌氧条件下的表面活性剂产量较低成为油藏原位产表面活性剂提高采收率技术的瓶颈。因此,筛选油藏本源的厌氧产表面活性剂的菌种资源,并提高其在厌氧条件下的表面活性剂产量,对于不依赖于空气注入的厌氧产表面活性剂提高原油采收率技术的研发和应用具有重要意义。

虽然利用厌氧产表面活性剂微生物提高采收率技术逐渐受到重视,但是还需要油田与高校和科研院所加强合作,产学研相结合,将厌氧产表面活性剂菌种资源开发和驱油机制研究与油田微生物驱、微生物单井吞吐等现场实验相结合,助推厌氧产表面活性剂微生物驱油技术的发展。作者认为,今后厌氧产表面活性剂微生物提高采收率的研究要加强以下三个方面的研究工作:①油藏是一个微生物菌种资源库,具有丰富的微生物物种多样性和功能多样性。现代微生物分子生态学研究证明,油藏中 95%~99% 的微生物还未能在实验室条件下获得分离与纯化。今后研究中应着力于设计新型筛选模型和培养基,以期从油藏中筛选得到更多的能够在厌氧条件下产表面活性剂的微生物菌种。②运用基因组、转录组以及代谢组等规模化的生物学分析技术,解析微生物在厌氧条件下代谢产生表面活性剂的合成机理。通过代谢途径优化、信号分子调控等分子生物学手段,对现有菌种资源进行基因改造,研发厌氧高产表面活性剂的菌种资源和能够利用廉价底物或者石油烃厌氧产表面活性剂的菌种。③开发经济有效的营养剂配方,一方面满足油田生产中降本增效的需求,另一方面保证厌氧产表面活性剂微生物在油藏环境中维持较高的种群丰度和代谢活性。

参考文献

- [1] Han D K. Status and challenges for oil and gas field development in China and directions for the development of corresponding technologies [J]. Engineering Sciences, 2010, 12(5): 51-57.
韩大匡. 中国油气田开发现状, 面临的挑战和技术发展方向 [J]. 中国工程科学, 2010, 12(5): 51-57.
- [2] Huo H Y. Study on environmental geology after oil exploitation [J]. Industry, 2015(4):4.

- 霍红岩. 石油开采后的环境地质问题研究 [J]. 工业, 2015(4):4.
- [3] Brown L R. Microbial enhanced oil recovery (MEOR)[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13(3): 316-320.
- [4] Youssef N, Elshahed M S, McInerney M J. Microbial processes in oil fields: culprits, problems, and opportunities [J]. *Adv Appl Microbiol*, 2009, 66: 141-251.
- [5] McInerney M, Nagle D, Knapp R. Microbially enhanced oil recovery: past, present, and future [M]. Washington, USA; ASM Press, 2005: 215-238.
- [6] Soudmand-asli A, Ayatollahi S S, Mohabatkar H, *et al.* The *in situ* microbial enhanced oil recovery in fractured porous media [J]. *J Pet Sci Eng*, 2007, 58(1): 161-172.
- [7] Dong H P. Preface [J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2016(3): 3.
董汉平. 刊首语 [J]. *生物加工过程*, 2016(3): 3.
- [8] Cheng L, Chou T L, Deng Y, *et al.* Recent advances in anaerobic microbiology of petroleum reservoirs [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(5): 740-744.
承磊, 仇天雷, 邓宇, 等. 油藏厌氧微生物研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, 12(5): 740-744.
- [9] Magot M, Ollivier B, Patel B K C. Microbiology of petroleum reservoirs [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2000, 77: 103-116.
- [10] Kong X P, Bao M T, Wang W D, *et al.* Experimental study on endogenous micro-organism flooding [J]. *Journal of Xi'an Shiyou University (Natural Science Edition)*, 2005, 20(1): 37-42.
孔祥平, 包木太, 汪卫东, 等. 内源微生物提高原油采收率物理模拟驱油实验研究 [J]. *西安石油大学学报: 自然科学版*, 2005, 20(1): 37-42.
- [11] Cui Q F. Activation on indigenous microorganism and its displacement mechanism of typical reservoir in Xinjiang oilfield [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences (Institute of Flow and Fluid) Mechanics), 2014.
崔庆锋. 新疆典型油藏内源微生物激活及驱油机理研究 [D]. 北京: 中国科学院研究生院 (渗流流体力学研究所), 2014.
- [12] Zhang L, Wang Y, Liang G. Summary of microbial enhanced oil recovery development [J]. *Chemical Engineering & Equipment*, 2011(6): 159-160.
张林, 王彦, 梁岗. 微生物采油技术发展综述 [J]. *化学工程与装备*, 2011(6): 159-160.
- [13] Zobell C. Action of microorganisms on hydrocarbons[J]. *Bacteriol Rev*, 1946, 10(1-2): 1-49.
- [14] Zobell C. Recovery of hydrocarbons; US Patent 2, 641, 566 [P]. 1953.
- [15] Zhao D, Zhang X, Wang L, *et al.* Overview of microbial enhanced oil recovery technology [J]. *Nei Jiang Ke Ji*, 2013, 34(6): 150-150.
赵栋, 张洋, 王玲, 等. 微生物采油技术综述 [J]. *内江科技*, 2013, 34(6): 150-150.
- [16] Yu J, Bai S. Microbial enhanced oil recovery technology and its progress [J]. *China Petroleum and Chemical Industry*, 2002(9):40-42.
庾晋, 白杉. 微生物采油技术及其进展 [J]. *中国石油和化工*, 2002(9):40-42.
- [17] Amani H, Müller M M, Syldatk C, *et al.* Production of microbial rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* MM1011 for *ex situ* enhanced oil recovery [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2013, 170(5): 1 080-1 093.
- [18] Youssef N, Simpson D R, Duncan K E, *et al.* *In situ* biosurfactant production by *Bacillus* strains injected into a limestone petroleum reservoir [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(4): 1 239-1 247.
- [19] Youssef N, Simpson D R, McInerney M J, *et al.* *In situ* lipopeptide biosurfactant production by *Bacillus* strains correlates with improved oil recovery in two oil wells approaching their economic limit of production[J]. *Int Biodeterior Biodegradation*, 2013(81): 127-132.
- [20] Albino J D, Nambi I M. Partial characterization of biosurfactant produced under anaerobic conditions by *Pseudomonas* sp ANBIOSURF-1 [J]. *Adv Mat Res*, 2010, 93(94): 623-626.
- [21] Zhao F, Shi R, Cui Q, *et al.* Biosurfactant production under diverse conditions by two kinds of biosurfactant-producing bacteria for microbial enhanced oil recovery[J]. *J Pet Sci Eng*, 2017, 157: 124-130.
- [22] Lazar I, Petrisor I G, Yen T F. Microbial enhanced oil recovery (MEOR) [J]. *Pet Sci Technol*, 2007, 25(11): 1 353-1 366.
- [23] Lei G L. The research and application of microbial enhanced oil recovery [J]. *Acta Petrolei Sinica*, 2001, 22(2):56-61.
雷光伦. 微生物采油技术的研究与应用 [J]. *石油学报*, 2001, 22(2):56-61.
- [24] Cooper D G, Zajic J F, Gerson D F, *et al.* Isolation and identification of biosurfactants produced during anaerobic growth of *Clostridium pasteurianum* [J]. *J Fermentation Technol*, 1980, 58(1): 83-86.
- [25] Javaheri M, Jenneman G E, McInerney M J, *et al.* Anaerobic production of a biosurfactant by *Bacillus licheniformis* JF-2 [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1985, 50(3): 698-700.
- [26] Ghojavand H, Vahabzadeh F, Azizmohseni F. A

- halotolerant, thermotolerant, and facultative biosurfactant producer: identification and molecular characterization of a bacterium and evolution of emulsifier stability of a lipopeptide biosurfactant[J]. *Biotechnol Bioprocess Eng*, 2011, 16(1): 72-80.
- [27] Gudíña E J, Pereira J F B, Rodrigues L R, *et al.* Isolation and study of microorganisms from oil samples for application in microbial enhanced oil recovery [J]. *Int Biodeterior Biodegradation*, 2012, 68(2): 56-64.
- [28] Xia W J, Dong H P, Yu L. Oil-degrading characterization of thermophilic and halotolerant strain *Geobacillus* sp. WJ-2 [J]. *Journal of Central South University (Science and Technology)*, 2012, 43(1): 10-18.
夏文杰, 董汉平, 俞理. 嗜热耐盐烃降解菌 *Geobacillus* sp. WJ-2 降解原油性能研究 [J]. *中南大学学报 (自然科学版)*, 2012, 43(1): 10-18.
- [29] Chayabutra C, Wu J, Ju L K. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification; effects of limiting nutrients and carbon substrates [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 72(1): 25-33.
- [30] Pinzon-Gamez N M. Rhamnolipid biosurfactant production from glycerol: new methods of analysis and improved denitrifying fermentation[D]. Akron, USA: University of Akron, 2009.
- [31] Zhao F, Zhang J, Shi R, *et al.* Production of biosurfactant by a *Pseudomonas aeruginosa* isolate and its applicability to *in situ* microbial enhanced oil recovery under anoxic conditions [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(45): 36 044-36 050.
- [32] Castorena-Cortés G, Zapata-Peñasco I, Roldán-Carrillo T, *et al.* Evaluation of indigenous anaerobic microorganisms from Mexican carbonate reservoirs with potential MEOR application [J]. *J Pet Sci Eng*, 2012, 81: 86-93.
- [33] Lavania M, Cheema S, Lal B. Potential of viscosity reducing thermophilic anaerobic bacterial consortium TERIB# 90 in upgrading heavy oil [J]. *Fuel*, 2015, 144: 349-357.
- [34] Kryachko Y, Voordouw G. Microbially enhanced oil recovery from miniature model columns through stimulation of indigenous microflora with nitrate [J]. *Int Biodeterior Biodegradation*, 2014, 96: 135-143.
- [35] Gaytán I, Mejía M A, Hernandez-Gama R, *et al.* Effects of indigenous microbial consortia for enhanced oil recovery in a fragmented calcite rocks system [J]. *J Pet Sci Eng*, 2015, 128: 65-72.
- [36] Zhao F, Shi R, Zhao J, *et al.* Heterologous production of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid under anaerobic conditions for microbial enhanced oil recovery [J]. *J Appl Microbiol*, 2015, 118(2): 379-389.
- [37] Liang X L, Zhao F, Shi R J, *et al.* Construction and evaluation of an engineered bacterial strain for producing lipopeptide under anoxic conditions [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(8): 2 553-2 560.
梁小龙, 赵峰, 史荣久, 等. 厌氧产脂肽工程菌的构建及其代谢活性评价 [J]. *应用生态学报*, 2015, 26(8): 2 553-2 560.
- [38] Liang X L, Shi R B, Radosevich M, *et al.* Anaerobic lipopeptide biosurfactant production by an engineered bacterial strain for *in situ* microbial enhanced oil recovery [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(33): 20 667-20 676.
- [39] Zhao F, Cui Q, Han S, *et al.* Enhanced rhamnolipid production of *Pseudomonas aeruginosa* SG by increasing copy number of *rhlAB* genes with modified promoter [J]. *RSC Adv*, 2015, 5(86): 70 546-70 552.

□