

一株嗜热脂肪地芽孢杆菌的驱油性能及机理*

曹嫣宾¹ 刘涛^{1**} 李彩凤¹ 胡婧¹ 巴燕¹ 吴昕宇²

¹中国石化胜利油田分公司石油工程技术研究院 东营 257000

²北京市一零一中学 北京 100091

摘要 针对油藏高温条件下微生物数量较少, 驱油机理不够明确的特点, 对胜利油田不同区块微生物进行筛选. 得到一株能够乳化分散原油的细菌, 经鉴定为嗜热脂肪地芽孢杆菌, 能够耐受60 ℃以上的高温并能有效生长代谢, 代谢产物主要由糖类、脂类和蛋白质组成. 利用该菌的培养液、培养后代代谢产物及培养后的菌体分别进行驱油实验, 结果表明3种不同的驱替液均能够提高驱替效率, 其中培养液能够提高驱替效率11.8%, 其他两种驱替液提高驱替效率分别为4.5%和3%. 培养液和培养后菌体驱替时岩心压力升高0.5 MPa以上, 而培养后代代谢产物驱替过程中压力变化不明显, 但是代谢产物能够乳化剥离原油, 同样达到提高驱替效率的作用. 岩心驱替结束后对岩心内剩余油测定表明, 从入口到出口呈现逐渐升高的趋势, 证明微生物驱替时不断“推移”、“驱赶”原油的过程. 综合实验结果, 该菌株具备进一步现场实际微生物驱油应用的潜力. 图4 表2 参21

关键词 微生物驱油; 嗜热脂肪地芽孢杆菌; 乳化; 驱油机理; 驱替实验

CLC Q939.97 : TE357.9

Efficiency and mechanism of oil displacement by a strain of *Geobacillus stearothermophilus**

CAO Yanbin¹, LIU Tao^{1**}, LI Caifeng¹, HU Jing¹, BA Yan¹ & WU Xinyu²

¹Research Institute of Petroleum Engineering, Shengli Oilfield Company, Sinopec, Dongying 257000, China

²Beijing 101 Middle School, Beijing 100091, China

Abstract An effective crude oil emulsion microbe SL-1 was isolated from ShengLi oilfield. The microbe was identified as *Geobacillus stearothermophilus* by the molecular biology method. SL-1 could maintain normal growth and metabolism at 60 °C reservoirs and produce a metabolite composed of polysaccharide, fatty acids and proteins. The oil displacement experiments were carried out by using the culture liquid, metabolites and the bacteria respectively. The results showed that all of the displacement fluids could improve the displacement efficiency, which was enhanced by 11.8 by the culture fluid, 4.5% and 3% by the other two displacement fluids. The core pressure increased by 0.5 MPa for using culture medium and bacteria as displacement fluid, but the pressure change in the process of the metabolites was not obvious. The improvement of displacement efficiency by metabolic products was regarded to be through stripping of oil film. The determination of remaining oil in the core after flooding indicated that the residual oil gradually increased from the entrance to the exit, showing the process of SL-1 and its metabolites keeping driving out the crude oil in the core. The results indicated that SL-1 has potential applications in oil recovery.

Keywords MEOR; *Geobacillus stearothermophilus*; emulsification; oil displacement mechanism; displacement experiment

微生物驱油技术可分为外源微生物驱油技术 (Microbial enhanced oil recovery, MEOR) 和内源微生物驱油技术 (Activation of stratal microflora recovery, ASMR) 两种^[1-3]. 微生物驱油过程中由于受油藏温度、渗透率、矿化度等因素的影响, 部分油藏不适合开展内源微生物驱油技术^[4-5]. 因此, 通过筛选的方法得到具有特殊性能的外源微生物, 经过地面发酵补充到地层中, 实现其在地层中的生长繁殖代谢是目前外源微生物驱油的发展趋势^[6-7].

目前对微生物菌种筛选评价的研究较多^[8-10], 但是针对油藏高温条件下菌种筛选和评价的研究较少, 而针对油藏条件下菌株培养液组成不同部分驱油机理的研究更少. 因此, 本研究选择高温油藏开展微生物菌株的筛选, 对筛选到的高温菌株进行驱油实验, 同时分析驱油机理, 旨在为现场实施微生物驱油提供可靠的功能菌株来源, 同时对解释现场实施效果、分析生产动态提供参考和依据.

1 材料与方法

1.1 菌种来源

菌种样品取自胜利油田5个油藏的10口生产井, 这些区块都进行过水驱, 区块温度范围55-91 ℃, 产出水的矿化度范围

收稿日期 Received: 2015-04-27 接收日期 Accepted: 2015-06-01

*国家高技术研究发展计划 (863计划, 2013AA064401) 资助
Supported by the National High-tech R & D Program of China (863 Program, 2013AA064401)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: greensky1123@163.com)

9 794-18 461 mg/L, 地面原油粘度16.8-4 143 mPa.s.

以原油为唯一碳源, 另外添加 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 2.5 g/L、 KNO_3 1.5 g/L作为初筛配方, 再按照培养基为葡萄糖5 g/L、蛋白胨1.5 g/L、 K_2HPO_4 0.5 g/L复筛的方法, 筛选到一株在60 °C条件下能够生长代谢并乳化分散原油的细菌, 取名为SL-1.

1.2 菌种鉴定

1.2.1 基因组DNA的制备 DNA的提取过程为: (1) 将上述筛选出的菌株SL-1在60 °C下培养24 h; (2) 取菌液于EP管中, 4 °C, 10 000 r/min离心10 min, 收集菌体, 弃去上清液; (3) 用AxyPrep细菌基因组DNA提取试剂盒提取菌体DNA; (4) 基因组DNA提取后用无菌去离子水溶解, 放入-20 °C保存备用.

1.2.2 16S rRNA的PCR扩增 将菌株SL-1的DNA提取后, 利用细菌16S rRNA基因通用引物: P11: 5'-AGAGTTTGATCATGGCTCAG-3' (对应于*E. coli* 8-27) 和P12: 5'-TACGGTTACCTTGTACGACTT-3' (对应于*E. coli* 1492-1510) 扩增16S rRNA基因序列, 引物由大连宝生物工程公司合成. 反应条件: 94 °C预变性5 min; 94 °C变性1 min, 55 °C退火1 min, 72 °C延伸1 min, 30个循环; 72 °C延伸10 min.

1.2.3 测序 扩增产物经电泳检测后送上海生物工程公司测序. 序列在GenBank中用BLASTN比较, 并用DNASTAR软件进行序列对比和同源性分析.

1.3 代谢产物分析

将菌株SL-1的培养液在10 000 r/min, 4 °C下离心20 min, 去掉菌体, 取上清液; 用3倍体积的冷乙醇溶液沉淀上清液来分离生物代谢产物. 将沉淀的生物代谢产物用蒸馏水重新溶解, 用蒸馏水透析48 h; 取透析带内液体离心, 取上清液放入-70 °C冰箱冷冻24 h, 最后用冷冻干燥器冷冻干燥, 得白色絮状物质为生物代谢产物(生物乳化剂). 对代谢产物的组分进一步分析参考文献[11-13].

1.4 驱油性能评价方法

为了进一步研究所筛选菌株SL-1提高采收率的机理, 通过物理模拟驱油的方法分别用菌株的培养液、培养后的代谢产物及菌体进行驱油实验, 根据驱油效果进一步研究分析该菌株提高采收率机理.

1.5 驱油实验步骤

实验利用人工填砂的方法进行物理模拟驱油实验, 具体步骤为: (1) 石英砂填装岩心, 测定岩心渗透率; (2) 抽真空饱和地层水, 测定岩心孔隙体积、孔隙度; (3) 饱和原油造束缚水, 计算岩心的原始含水饱和度; (4) 岩心60 °C老化放置10 d后, 一次水驱驱替3 PV, 记录驱替过程中产出油量、产出水量、驱替压力变化; (5) 用上述筛选到菌株的培养液、培养后离心的代谢产物、培养后离心的菌体作为驱替相二次驱替岩心管; (6) 二次驱替4 PV, 记录驱替过程中产出油量、产出水量、驱替压力变化, 计算采收率、含水率的变化; (7) 实验结束后对岩心管内不同部位的石英砂进行拆卸, 并对石英砂所含剩余油进行分析, 以明确微生物作用后岩心管内原油的剩余分布.

1.6 岩心内剩余油检测方法

岩心内剩余油的检测利用紫外分光光度测定的方法, 具体步骤为: (1) 配制不同浓度原油的标准溶液, 紫外分光光度测定, 绘制标准曲线; (2) 对岩心不同位置石英砂进行

拆卸, 并用石油醚萃取; (3) 分液漏斗分离石油醚萃取相和水相, 留石油醚萃取相; (4) 测定石油醚萃取相吸光度; (5) 根据标准曲线计算含油量, 确定岩心不同位置原油的剩余含量.

2 结果与讨论

2.1 菌株鉴定结果

登陆<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 将测序结果用BLSAT与GenBank中的16S rRNA序列进行同源性比较, 鉴定结果表明所筛选菌株为地芽孢杆菌属, 进一步比对该菌株属于嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*), GenBank登录号AY044052.

2.2 代谢产物分析结果

菌株SL-1代谢产物是一种生物大分子乳化剂, 由糖类、脂类和蛋白质组成, 其中糖类含量29.4%, 脂类含量31.2%, 蛋白质含量15.5%, 剩余部分23.9%为未分离物质. 糖类组成包括4种单糖, 分别是乳糖、葡萄糖、鼠李糖甘露糖; 脂类组成包括4种脂肪酸, 分别是正癸酸、十二碳脂肪酸、十六碳脂肪酸及十八碳脂肪酸; 蛋白质组成包括15种氨基酸组成, 其中极性氨基酸有天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、赖氨酸、组氨酸和精氨酸, 非极性氨基酸有异亮氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸. 文献[14-15]表明此类菌株能够在70-80 °C条件下生长, 同时能够代谢产生多糖、蛋白质、脂肪酸等活性物质, 这些都是产生驱油效果的物质基础. 文献结果与实验测定的代谢产物组成能够对应.

2.3 物模驱油实验结果及机理分析

2.3.1 岩心驱替效率 为评价菌株SL-1的驱油性能, 设计了3种不同体系的驱替实验, 分别是菌株SL-1的培养液、培养后的代谢产物以及培养后的菌体. 其中培养液中包含了菌体和代谢产物; 培养后的代谢产物, 包括了糖类、脂类和蛋白质等大分子物质; 培养后的菌体仅包含了自身一种物质. 具体形态见图1A-C.

表1为岩心基本参数, 表2为岩心驱替结果, 3种不同的驱替介质驱替以后都产生了驱油效果, 用培养液驱替时驱替效率最高, 达到了11.8%, 而用代谢产物和菌体驱替时驱替效率分别为4.5%和3%, 这证明微生物培养液对岩心的驱替效果要优于单独离心代谢产物和菌体的作用效果, 体现了代谢产物及其菌体的综合作用.

2.3.2 岩心驱替含水与压力变化结果 为进一步解释不同驱替液产生驱替效果不同的原因, 对驱替过程中的含水率和驱替压力进行了分析. 图2得出当用培养液驱替时, 开始阶段含水升高, 驱替1 PV以后含水逐渐降低, 最高含水下降了1.8%, 而空白岩心含水一直升高. 分析原因是培养液中菌体与多孔介质, 代谢产物与原油的作用有关. 菌体运移过程中在多孔介质内的孔喉部位产生架桥作用, 微观上能够改变驱替液的渗流方向, 从而扩大了波及体积. 同时代谢产物与原油的作用, 在油水界面处对原油乳化分散, 从而剥离多孔介质内的残余油, 提高洗油效率^[16]. 此过程与含水的变化能够对应, 开始阶段含水升高, 这是岩心内原有的液体被驱替出

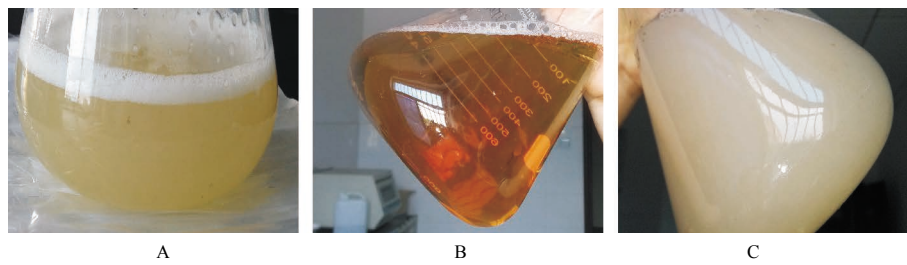


图1 菌株SL-1的培养液(A)、培养后的代谢产物(B)和培养后的菌体(C)。
Fig. 1 Culture medium (A), metabolites of the centrifuged culture (B) and thalli of the centrifuged culture (C) used in the displacement experiment.

表1 岩心管基本参数
Table 1 Basic parameters of cores

岩心号 Core number	驱替介质 Displacement material	孔隙体积 Pore volume (V/mL)	孔隙度 Porosity (Φ/%)	渗透率 Permeability (K/10 ⁻³ μm ²)	原始含油 Original oil (V/mL)	一次水驱采出油 Oil of first flooding (V/mL)	一次水驱含水率 Water ratio of first flooding (R/%)	一次水驱驱替效率 Displacement efficiency of first flooding (R/%)
空白 Blank	水 Water	215	31.6	1185	194	93	95.2	48
1	SL-1培养液 Culture fluid	221	32.5	1265	208	99	95.6	47.6
2	培养后代代谢产物 Metabolites of culture fluid	216	31.8	1194	190	92	95.5	48.4
3	培养后菌体 Thalli of culture fluid	210	30.9	1208	192	95	94.7	49.5

表2 岩心管驱替效果
Table 2 Results of core displacement experiment

岩心号 Core number	驱替介质 Displacement material	驱替量 (PV) Displacement amount	驱替增油量 (mL) Displacement increment of oil	提高驱替效率 (R/%) Displacement efficiency increase	微生物提高驱替效率 (R/%) Displacement efficiency increase by microbes
空白 Blank	水 Water	4	14	7.2	-
1	SL-1培养液 Culture fluid	4	39.6	19	11.8
2	培养后代代谢产物 Metabolites of culture fluid	4	22.3	11.7	4.5
3	培养后菌体 Thalli of culture fluid	4	19.7	10.2	3

的过程, 含水较高. 随着驱替的进行, 菌体及代谢产物的作用开始显现, 含水逐步降低, 随着岩心内残余油的减少, 微生物能够作用的原油减少, 含水在后期又开始升高. 图3A中岩心驱替时压力和含水的变化关系, 更加证明微生物在岩心内驱替时, 菌体在岩心中的架桥封堵作用, 导致压力升高, 微观波及体积增大, 含水降低, 从而驱替出更多的残余油的过程^[17].

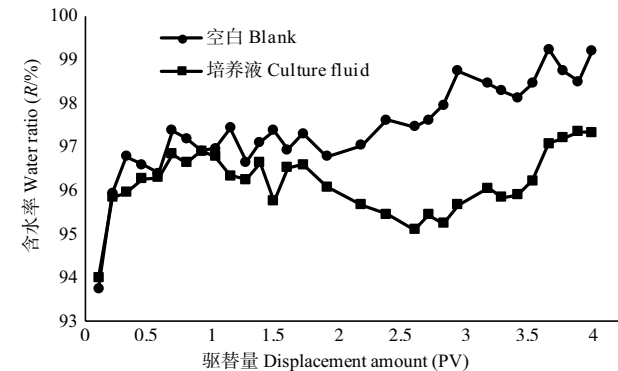


图2 培养后岩心空白与培养液含水变化。
Fig. 2 Changes of water ratio in culture medium and blank with the displacement fluid amount.

对比代谢产物和菌体驱替过程中含水和压力变化, 两者呈现了不同的驱油机理. 图3B证明代谢产物在驱替过程中压力没有明显的变化, 这说明上清液的主导作用机理不是产生封堵的作用, 而是利用代谢产物作用于油水界面, 乳化剥离原油达到提高驱替效率. 尽管测定油水界面张力为0.5 mN/m, 并没有达到化学驱油剂的超低界面张力^[18-19], 但是微生物代谢产生的大分子物质能够在油水界面形成更加稳定的分布^[20], 更加有利于原油的累计运移, 所以含水整体呈现缓慢降低后逐渐升高的过程.

培养后菌体驱替时压力出现了较大的波动, 最高时压差达到了0.5 MPa, 而且压力变化趋势与含水的变化趋势呈现正相关性 (图3C). 分析原因主要与菌体在多孔介质中的架桥封堵作用有关, 压力升高的过程为微观封堵的过程, 而压力突破降低以后原油被驱出, 菌体进一步向前运移封堵过程中压力继续升高, 后续压力降低, 原油再被驱出, 直到整个岩心管内菌体达到平衡之后压力降低, 含水也随之升高.

2.3.3 岩心驱替后多孔介质剩余油的变化 为进一步明确不同驱替液驱替后岩心内剩余油的分布特征, 明确驱替液的作用机理, 对驱替后岩心内不同部位的油砂进行了含油的测定. 从图4A、B、C的测定结果分析, 培养液驱替后岩心内剩

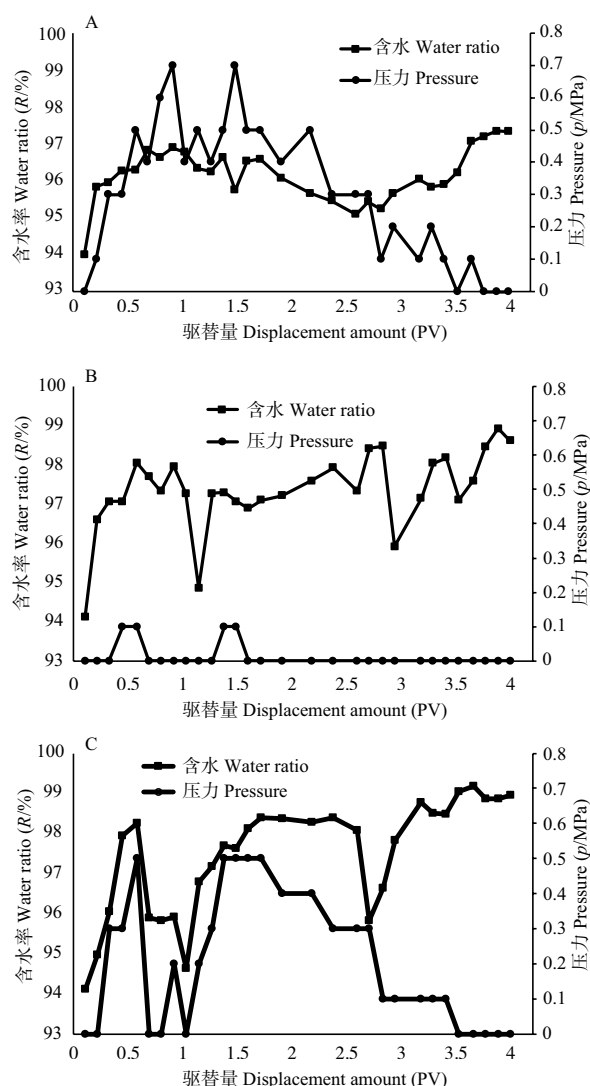


图3 培养液(A)、培养后代谢产物(B)和培养后菌体(C)驱替过程中含水与压力变化。

Fig. 3 Changes of water ratio and pressure of culture medium with the displacement amount.

余油从入口到出口是逐渐升高的趋势,这证明培养液在驱替时原油在岩心内是整体向前运移被驱出的过程,岩心内整体油砂的含油量较低。而代谢产物和菌体驱替后岩心内剩余油的分布是入口和出口较低,中间部位较高。分析原因主要是代谢产物和菌体单独作用时对岩心内原油的作用能力有限,仅是靠“洗”和“堵”的作用,而培养液因为含有菌体和代谢产物的双重作用,能够更加有效的对岩心内原油进行“洗”和“堵”,所以剩余原油更低,而且大部分原油被推移到岩心的出口端^[21]。

3 结论

(1) 对不同区块的油藏微生物进行了筛选评价,得到了一株能够耐受60℃以上高温并能够乳化分散原油的菌株,经分子生物学鉴定为嗜热脂肪地芽孢杆菌,其代谢能够产生糖类、脂类和蛋白质等物质,其中糖类含量29.4%,脂类含

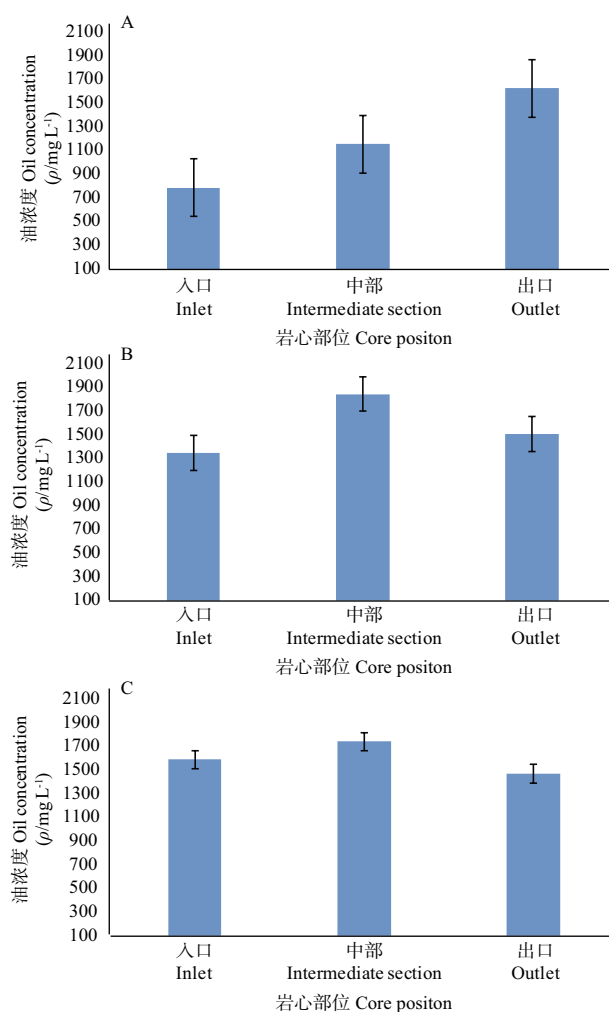


图4 培养液(A)、培养后离心代谢产物(B)和培养后离心菌体(C)驱替后岩心剩余油的变化。

Fig. 4 Changes of surplus oil with the culture (A), the metabolites (B) and the thalli (C) of culture medium displacement.

量31.2%,蛋白质含量15.5%。

(2) 利用物理模拟的方法对菌株的培养液、代谢产物和菌体分别进行了驱油实验,驱替过程体现了微生物菌体“堵”和代谢产物“洗”的作用机理,菌体和代谢产物的协同作用要优于上清液和菌体单独作用的效果。

(3) 岩心驱替后剩余油从入口到出口呈现逐渐升高的趋势,证明微生物作用后不断“推移”、“驱赶”原油的过程,因此该类微生物具备进一步现场应用的潜力。

参考文献 [References]

- Bao MT, Liu T, Chen Z, Guo LY. A laboratory study for assessing microbial enhanced oil recovery [J]. *Energy Sources*, 2013, **35** (22): 2141-2148
- 宋智勇, 郭辽原, 袁书文, 郝斌, 吴晓玲. 高温油藏内源微生物的堵调及种群分布[J]. 石油学报, 2010, **31** (6): 975-979 [Song ZY, Guo LY, Yuan SW, Hao B, Wu XL. Microbial plugging and community distribution of indigenous thermophilic microbes in high-temperature oil

- reservoirs [J]. *Acta Petrol Sin*, 2010, **31** (6): 975-979]
- 3 Zhu HB, Han KC, John D. Coates applicability of anaerobic nitrate-dependent Fe(II) oxidation to microbial enhanced oil recovery (MEOR) [J]. *Environ Sci Technol*, 2013, **47**: 8970-8977
 - 4 杜荣光, 郭辽原, 郭省学. 沾3块内源微生物驱现场注入工艺参数优化[J]. 大庆石油学院学报, 2011, **35** (3): 60-63 [Du RG, Guo LY, Guo SX. Injection technology parameter optimization of indigenous microorganisms flooding in Zhan 3 Block [J]. *J Daqing Petrol Inst*, 2011, **35** (3): 60-63]
 - 5 Li H, Yang SZ, Mu BZ. Molecular analysis of the bacterial community in a continental high-temperature and water-flooded petroleum reservoir [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, **257**: 92-98
 - 6 Hossein G, Farzaneh V, Alireza KS. Enhanced oil recovery from low permeability dolomite cores using biosurfactant produced by a *Bacillus mojavensis* (PTCC 1696) isolated from Masjed-I Soleyman field [J]. *J Petrol Sci Eng*, 2012, **81**: 24-30
 - 7 Hajime K, Hideo K, Keita E. Analysis of methane production by microorganisms indigenous to a depleted oil reservoir for application in microbial enhanced oil recovery [J]. *J Biosci Bioeng*, 2012, **113**: 84-87
 - 8 程海鹰, 柳敏, 胡静, 冯庆贤, 李辉, 梁建春. 新型淀粉-纤维素基微生物驱营养体系研究[J]. 石油学报, 2010, **31**(1): 105-109 [Cheng HY, Liu M, Hu J, Feng QX, Li H, Liang JC. Study on novel nutrient system based on starch-cellulose for microbial flooding [J]. *Acta Petrol Sin*, 2010, **31** (1): 105-109]
 - 9 乐建军, 刘芳, 张继元, 柏璐璐, 王蕊, 刘晓波, 侯兆伟, 伍晓林. 聚合物驱后油藏激活内源微生物驱油现场试验[J]. 石油学报, 2014, **35** (1): 99-105 [Le JJ, Liu F, Zhang JY, Bai LL, Wang L, Liu XB, Hou ZW, Wu XL. A field test of activation indigenous microorganism for microbial enhanced oil recovery in reservoir after polymer flooding [J]. *Acta Petrol Sin*, 2014, **35** (1): 99-105]
 - 10 刘涛, 宋智勇, 曹功泽, 孙刚正. 微生物驱油过程中模拟地层条件对微生物生长的影响[J]. 油田化学, 2013, **30** (1): 92-95 [Liu T, Song ZY, Cao GZ, Sun GZ. The grows of microbial was influenced by simulating formation condition in MEOR [J]. *Oilfield Chem*, 2013, **30** (1): 92-95]
 - 11 傅海燕, 曾光明, 袁兴中. 生物表面活性剂的分离提纯及其发展前景[J]. 生物学杂志, 2013, **20** (6): 1-4 [Fu HY, Zeng GM, Yuan XZ. Isolation and purification of biosurfactant [J]. *J Biol*, 2013, **20** (6): 1-4]
 - 12 王大威, 刘永建, 杨振宇, 郝春雷. 脂肽生物表面活性剂在微生物采油中的应用[J]. 石油学报, 2008, **29** (1): 111-115 [Wang DW, Liu YJ, Yang ZY, Hao CL. Application of surfactin in microbial enhanced oil recovery [J]. *Acta Petrol Sin*, 2008, **29** (1): 111-115]
 - 13 李晴, 邵宗泽. 不动杆菌生物乳化剂活性成分研究[J]. 应用与环境生物学报, 2008, **14** (4): 553-557 [Li Q, Shao ZZ. Components in bioemulsifier produced by *Acinetobacter* strains [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2008, **14** (4): 553-557]
 - 14 唐雪明, 邵蔚蓝, 沈微, 王正祥, 方惠英, 诸葛健. 地衣芽孢杆菌2709和6816碱性蛋白酶基因在大肠杆菌中的克隆、表达及序列分析[J]. 应用与环境生物学报, 2002, **2** (8): 209-214 [Tang XM, Shao WL, Shen W, Wang ZX, Fang HY, Zhu GJ. Cloning, expression and sequence analysis of the gene encoding alkaling protease from *Bacillus licheniformis* 2709 and 6816 in *E. coli* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2002, **2** (8): 209-214]
 - 15 唐兵, 周林峰, 陈向东, 戴玄, 彭珍荣. 嗜热脂肪芽孢杆菌高温蛋白酶的产生条件及酶学性质[J]. 微生物学报, 2000, **40** (2): 188-192 [Tang B, Zhou LF, Chen XD, Dai X, Peng ZR. Production and some properties of a thermophile IC protease from *Bacillus stearo thermophilus* WF146 [J]. *J Microbiol*, 2000, **40** (2): 188-192]
 - 16 赖小娟, 张育超, 郭亮, 姚百胜, 刘建英, 杨虎, 罗庆梅. 超低界面张力表面活性剂的驱油性能研究[J]. 精细石油化工, 2014, **31** (4): 40-44 [Lai XJ, Zhang YC, Guo L, Yao BS, Liu JY, Yang H, Luo QM. Study on oil displacement properties of surfactant with ultra-low interfacial tension [J]. *Speciality Petrochem*, 2014, **31** (4): 40-44]
 - 17 曹旭龙. 非均相复合驱油体系设计与性能评价[J]. 石油学报(石油加工), 2013, **29** (1): 115-121 [Cao XL. Design and performance evaluation on the heterogeneous combination flooding system [J]. *Acta Petrol Sin (Petrol Process Sect)*, 2013, **29** (1): 115-121]
 - 18 张相春, 孙卫, 杨剑, 刘向伟, 陈富林, 吴汉宁. 特低渗透储层微生物解堵响应特征及地质主控因素[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21** (1): 29-35 [Zhang XC, Sun W, Yang J, Liu XW, Chen FL, Wu HN. Response characteristics and main geologic controlling factors of microbial blockage-removing in ultra-low permeability reservoirs [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (1): 29-35]
 - 19 程杰成, 吴军政, 胡俊卿. 三元复合驱提高原油采收率关键理论与技术[J]. 石油学报, 2014, **35** (2): 310-318 [Cheng JC, Wu JZ, Hu JQ. Key theories technologies for enhanced oil recovery of alkaline/surfactant/polymer flooding [J]. *Acta Petrol Sin*, 2014, **35** (2): 310-318]
 - 20 李国强, 纪凯华, 李佳斌, 刘云, 梁凤来, 马挺. 嗜热解烃菌DM-2产生的生物乳化剂[J]. 微生物学通报, 2014, **41** (4): 585-591 [Li GQ, Ji KH, Li JB, Liu Y, Liang FL, Ma T. Bio-emulsifier produced by a thermophilic hydrocarbon-degrading strain DM-2 [J]. *Microbiol China*, 2014, **41** (4): 585-591]
 - 21 张健, 向问涛, 韩明, 李敏, 姜伟. 乳化原油的化学破乳作用[J]. 油田化学, 2005, **22** (3): 283-288 [Zhang J, Xiang WT, Han M, Li M, Jiang W. Review on chemical demulsification of crude oil emulsion [J]. *Oilfield Chem*, 2005, **22** (3): 283-288]