

ИЗУЧЕНИЕ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ И МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НЕФТЯННЫХ СКВАЖИН ЗАПАДНОГО КАЗАХСТАНА

Аннотация

Из проб пластовых вод отобранных из нефтяных скважин Западного Казахстана выделено 10 культур микроорганизмов. Изучена нефтеокисляющая способность и метаболическая активность микроорганизмов. Определено количественное содержание биоПАВ, продуцируемых микроорганизмами.

Ключевые слова: деструкция нефти, биосурфактанты, эмульгирующая активность.

Keywords: oildegradation, biosurfactants, emulsifying activity.

Введение

В последнее время усиленно изучаются микроорганизмы нефтяных резервуаров, в связи с высоким потенциалом их применения в промышленности. Микроорганизмы нефтяного пласта обладают большим биотехнологическим потенциалом [1,125] и могут быть использованы в технологиях микробиологического увеличения нефтеотдачи.

Микробиологическое увеличение нефтеотдачи пластов (МУН) – это один из потенциальных методов продления жизни скважин поздней стадии разработки [2,106]. Механизм воздействия микробиологических методов увеличения нефтеотдачи основывается на изменении реологических свойств нефтей, коллекторских свойств пород, очистке их от асфальто-смолопарафиновых отложений, что обеспечивает комплексное действие на пласт: ограничивается движение воды по пласту блокированием промытых зон экзополисахаридами микроорганизмов и доотмыв нефти продуктами их жизнедеятельности, что, в конечном итоге, обеспечивает повышение нефтеотдачи пластов [3, 307].

Особый интерес представляют аэробные углеводородокисляющие бактерии, которые являются первым звеном трофической цепи, основанной на биодеградации нефти [4, 3]. Они способны метаболизировать углеводороды, производя органические растворители, такие как спирты и альдегиды, жирные кислоты, обладающие поверхностной активностью, газообразные продукты и другие метаболиты, увеличивающие подвижность нефти.

Одним из важных метаболитов, применяемых в МУН являются биосурфактанты. Биосурфактанты представляют собой комплекс биополимерных соединений, выделяемых микробными клетками, выращенных на углеводородах или других субстратах, таких как углеводы.

Цель настоящей работы – изучение нефтеокисляющей способности и метаболической активности микроорганизмов, выделенных из нефтяных скважин Западного Казахстана.

Материалы и методы

Пробы пластовых вод отобраны из 3 нефтяных скважин Западного Казахстана месторождений Жанаталап и Чинарево.

Для оценки нефтеокисляющей способности микроорганизмов производили посев чистых культур на жидкую среду Ворошиловой-Диановой (В-Д) с добавлением 3% сырой нефти в качестве единственного источника углерода и энергии. В колбы емкостью 250 мл со 100 мл стерильной среды В-Д вносили 1 мл суспензии клеток. Культивирование проводили при постоянной аэрации и температуре 28°C в течение 14 суток. Контролем служила

стерильная среда В-Д с добавлением того же количества сырой нефти без внесения микроорганизмов. [5, 6].

Для определения индекса эмульгирования культуры микроорганизмов культивировали на среде с гексадеканом 7 суток, далее к супернатанту добавляли керосин в качестве гидрофобного субстрата и хорошо перемешивали в течение 2 минут. Замер эмульсии проводили через 24 часа [6, 57].

Определение количественного содержания биосурфактантов проводили с использованием метиленового синего спектрофотометрическим методом. Предварительно была построена калибровочная кривая с растворами стандартных ПАВ известной концентрации.

Образец помещали в делительную воронку, устанавливали рН раствора, используя индикатор фенолфталеин, прибавляли растворы 3% H_2O_2 , фосфатный буфер и раствор метиленового синего. Экстрагировали двумя порциями хлороформа по 2мл. Экстракт собирали в приемнике, фильтруя через воронку со стекловатой. В качестве контрольного раствора использовали растворитель без ПАВ.

Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре АРЕLРD-303UV при $\lambda=652$ нм. Содержание сурфактантов рассчитывали по калибровочной кривой, полученной с использованием стандартных растворов [7, 24].

Результаты исследований.

Из нефтяных скважин Западного Казахстана было выделено 10 культур микроорганизмов.

В Атырауской области были отобраны пробы пластовых вод из нефтяного месторождения Жанаталап со скважины №105. Пластовые воды хлоркальциевые с плотностью 1177-1184 кг/м³ и минерализацией 277,4-289,2 г/л, содержат большое количество сероводорода. Способ эксплуатации – безкомпрессорный газолитный. Продуктивные горизонты сложены терригенными породами, коллектора поровые. Режим работы залежей водонапорный.

В Западно-Казахстанской области пробы пластовых вод отобрали со скважин №11 и №48 нефтяного месторождения Чинарево. Чинаревское месторождение представляет собой многопластовую структуру с отложениями палеозойской эры – в пластах нижнепермского, нижнее каменноугольного и девонского периодов на глубинах от 2700 до приблизительно 5000 метров. Коллекторами являются карбонатные породы. Тип коллекторов каверново-поровый [8, 47]. Эксплуатация скважин осуществляется фонтанным способом. Данное месторождение сравнительно молодое, в эксплуатации находится 56 скважин.

Нефтеокисляющая активность микроорганизмов, выделенных из пластовых вод месторождения Жанаталап предстала на рисунке 1.

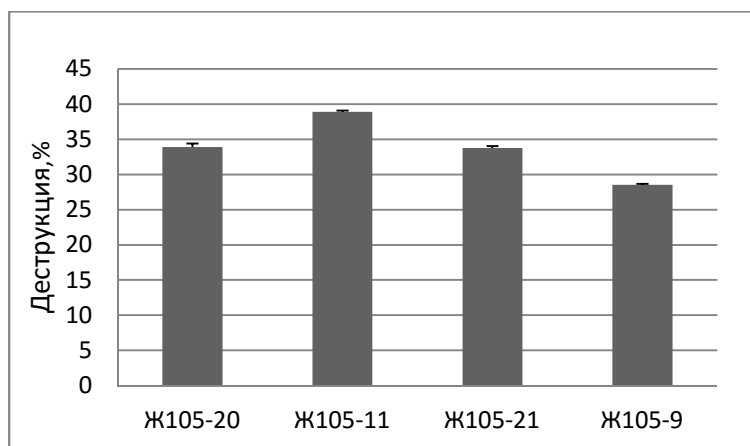


Рис. 1 – Деструкция нефти культурами микроорганизмов, выделенных из пластовых вод месторождения Жанаталап

Наибольшей деструктирующей способностью обладала культура Ж105-11, деструкция нефти составила 38,9%. В пределах 33,75% и 33,99% деструктурировали нефть микроорганизмы Ж105-21 и Ж105-20, соответственно. Наименьшей разрушающей способностью обладала культура Ж105-9, деструкция нефти составила всего 28,55%.

Из пластовых вод месторождения Чинарево было выделено 6 культур микроорганизмов. Изучение нефтеокисляющей активности показало, что наибольшей деструктирующей способностью обладала культура Ч11-2 (рис. 2), деструкция нефти составила 47,89%.

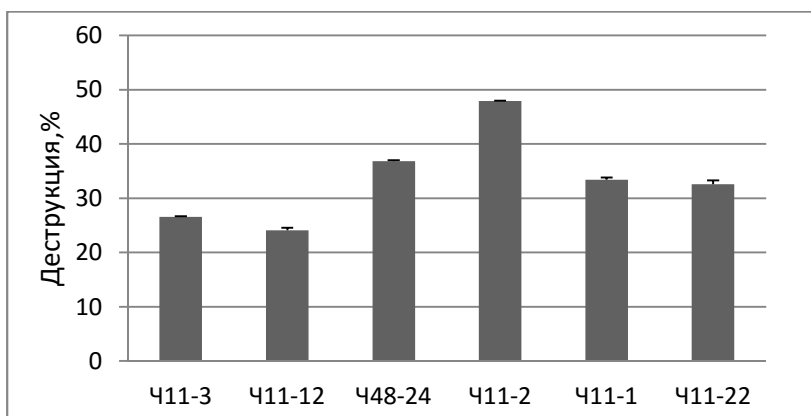


Рис. 2 – Деструкция нефти культурами микроорганизмов, выделенных из пластовых вод месторождения Чинарево

В пределах 36,81%, 33,4% и 32,59% деструктурировали нефть штаммы микроорганизмов Ч48-24, Ч11-1 и Ч11-22, соответственно. Наименьшей разрушающей способностью по отношению к нефти обладали Ч11-3 и Ч11-12, деструкция нефти составила всего 26,56% и 24,07%.

Таким образом, все исследуемые культуры обладали нефтеокисляющей активностью. Наиболее активными деструкторами нефти оказались культуры Ч11-2 и Ж105-11.

При окислении углеводов микроорганизмы образуют поверхностно-активные вещества (ПАВ), способствующие проникновению углеводов в клетку. ПАВ существенно изменяют реологические свойства нефти, что обуславливает использование этих бактерий в технологиях повышения нефтеотдачи.

Первичную оценку способности микроорганизмов образовывать поверхностно-активные вещества оценивали путем определения эмульгирующей активности.

На основании данного эксперимента определено, что 10 из 19 культур микроорганизмов обладали индексом эмульгирования выше 50%. Наибольшей эмульгирующей активностью обладали культуры Ч11-22, Ж105-9, Ж105-20, Ж105-11.

Количественный учет концентрации продуцируемых микроорганизмами биоПАВ определяли по содержанию АПАВ (таблица 1).

Анионные ПАВ вещества, которые содержат в молекуле полярные группы, растворяются в воде и диссоциируют с образованием отрицательно заряженных длинноцепочечных органических ионов, определяющих их поверхностную активность.

Таблица 1

Количественные и качественные показатели способности бактерий продуцировать биоПАВ

Наименование культуры	Визуальная оценка	Индекс эмульгирования, %	Концентрация С, мг/л
			АПАВ
Месторождение Жанаталап			
Ж105-9	+++	68,11	10,488

Ж105-20	+++	63,38	7,663
Ж105-21	-	-	7,934
Ж105-11	+++	65,71	10,175
Месторождение Чинарево			
Ч11-1	+++	57,35	5,096
Ч11-2	+	14,49	4,270
Ч11-3	+++	57,97	3,340
Ч11-12	+	15,94	5,152
Ч11-22	+++	78,26	8,135
Ч48-24	-	-	8,933
Контроль	-	-	-
Примечания			
1 «+++»- высокая биосурфактантная активность			
2 «++» - средняя биосурфактантная активность			
3 «+» - слабая биосурфактантная активность			

Изучение количества продуцируемого исследуемыми культурами биоПАВ показало, что они способны продуцировать АПАВы в концентрации выше 5мг/л, за исключением 3 культур микроорганизмов. Активными продуцентами АПАВ оказались – Ж105-9 и Ж105-11.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в пластовых водах исследуемых месторождений обитают аэробные микроорганизмы, обладающие нефтеокисляющей активностью и способные образовывать нефтевытесняющие метаболиты, такие как поверхностно-активные вещества. Изучение нефтеокисляющей активности, показало, что все культуры способны деструктировать нефть. По результатам гравиметрического анализа наибольшей деструктирующей способностью обладала культура Ч11-2, выделенная из скважины месторождения Чинарево (деструкция составила 47,89%). Определено, что 6 из 10 культур обладали индексом эмульгирования выше 50%. Наибольшей эмульгирующей активностью обладали изоляты Ч11-22, Ж105-9, Ж105-20, Ж105-11. Наибольшее количество биоПАВ более 10 мг/л образуется культурами Ж105-9 и Ж105-11.

Изоляты Ч11-22, Ж105-9 и Ж105-11 являются перспективными для использования в технологиях биоремедиации почв и вод и технологиях повышения нефтеотдачи пластов.

Литература

1. Еремин Н.А., Ибатуллин Р.Р., Назина Т.Н., Ситников А.А. Биометоды увеличения нефтеотдачи: учебное пособие / под ред. Н.Т. Мищенко. – М.:РГУ нефти и газа им. И.М. Губкина, 2003. – 125с.
2. Al-Bahry S.N., Elshafie A.E., Al-Wahaibi Y.M., Al-Bemani A.S., Joshi S.J., Al-Maaini R.A., Al-Alawi W.J., Sugai Y., Al-Mandhari M. Microbial consortia in Oman oil fields: a possible use in enhanced oil recovery // Microbiological of Biotechnology. – 2013. – Vol. 23, № 1. – P. 106-107.
3. Шараяова А. Б., Нуршаханова Л. К., Тулешева Г. Применение микробиологических методов для повышения нефтеотдачи и интенсификации нефтедобычи // Молодой ученый. – 2014. – №8. – С. 307-309.
4. Михайлова М. Е. бактерии рода *Geobacillus* из высокотемпературных заводняемых нефтяных пластов и гены биодegradации n-алканов: автореф. ... канд. биол. наук: 03.02.03 / Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского. – Москва, 2012. – 3 с.
5. ПНД Ф 16.1.41-04 Методические указания по выполнению измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах почв гравиметрическим методом. – 6 с.
6. Волченков Н.Н., Карасева Э.В. Скрининг углеводородокисляющих бактерий – продуцентов поверхностно-активных веществ биологической природы и их применение в опыте по ремедиации нефтезагрязненной почвы и нефтешламов // Биотехнология. – 2006. – №2. – С. 57–62.
7. Титов А.О., Титова И.И. Лабораторный практикум по курсу «Дисперсные системы в производстве кожи и меха» для студентов. – Улан-Удэ.: ВСГТУ, 2006. – С. 24-25.

8. Матлошинский Н. Г., Альжанов А. А. Геологическое строение и нефтегазоносность Чинаревского выступа фундамента и прилегающей территории // ТОО ЖайкМунай. – 2001. – Т.1. – 47 с.