

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ ВТОРИЧНОЙ ДОБЫЧИ НЕФТИ

**ПОВЫШЕНИЕ НЕФТЕОТДАЧИ ПЛАСТОВ
НА 10—15% РАВНОСИЛЬНО ОТКРЫТИЮ
НОВЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ.**

Нефть является одним из основных энергетических и химических сырьевых ресурсов. Однако по некоторым прогнозам мировые запасы нефти могут быть исчерпаны уже в течение ближайших 50 лет. Вместе с тем существующая технология позволяет извлекать только половину нефти, содержащейся в месторождениях. В связи с этим в настоящее время заметно возрос интерес к поиску путей и средств повышения вторичной добычи нефти, и в частности к микробиологическим методам.

Микробные технологии основаны на использовании физиолого-биохимических особенностей микроорганизмов, вводимых в пласт: их способности расти в широком диапазоне температур, давления, солености, в аэробных и анаэробных условиях и использовать для жизнедеятельности в качестве источника питания нефть. В результате микробиологического синтеза непосредственно в пласте они образуют такие метаболиты, как газы, кислоты, поверхностно-активные вещества, что способствует повышению нефтеотдачи на 40%. Практическое применение биотехнологии позволяет на 5—7% увеличить вовлекаемые в разработку запасы, в 1,5—2 раза повысить продуктивность скважин, а текущую добычу нефти — на 15—25%. На фоне постоянного роста цен на энергоносители биотехнологические методы окупаются в течение 1,5—2 лет.

Микробиологические методы увеличения нефтеотдачи

В настоящее время широко известны следующие основные направления развития и применения микробиологических технологий в нефтяной промышленности [1]:

- увеличение нефтеотдачи пластов;
- стимуляция скважин;
- очистка почвы и воды от нефтяных загрязнений;
- очистка (ингибирование) скважинного оборудования;
- очистка (ингибирование) отложений солей в скважинном оборудовании и трубопроводах.

Как и многие другие технологии, основанные на микробиологических процессах, микробиологические методы увеличения нефтеотдачи пластов привлекают внимание малой инвестиционной потребностью, высокой эффективностью и экологической безопасностью. В биотехнологиях дополнительное вытеснение нефти обусловлено теми же механизмами, которые составляют основу физико-химических методов. Однако микробные метаболиты образуются преимущественно непосредственно при контакте с нефтью в пористой среде, что существенно увеличивает эффективность их воздействия.

При использовании большей части микробиологических технологий, закачиваемые питательные вещества проникают в промытые водой каналы и зоны и создают там благоприятные условия для метаболизма бактерий. В результате их жизнедеятельности закупориваются высокопроницаемые зоны и происходит перераспределение закачиваемого агента в непромытые малопроницаемые зоны. Лабораторными и промысловыми экспериментами доказано, что продукты микробного синтеза изменяют межфазные натяжения между нефтью и водой, вызывают рост фильтрационных сопротивлений для водных растворов в высокопроницаемых зонах пласта, улучшают эффективность смачивания пород вытесняющей водой.

Основными из известных в настоящее время направлений использования микроорганизмов и биохимических процессов, приводящих к изменению свойств нефти и коллектора, является увеличение подвижности нефти и изменение фильтрационных свойств пласта. Известны три варианта технологии микробиологического воздействия на пласт:

- биосинтез увеличивающих нефтеотдачу химических реагентов непосредственно в пласте путем закачки микроорганизмов и питательных сред с поверхности;
- закачка химических элементов, включая кислород, с целью активизации аборигенной микрофлоры;
- биосинтез химических реагентов (биополимеров, биоПАВ, биогазов) для увеличения нефтеотдачи

в заводских условиях и последующая закачка их растворов в пласт.

Технология извлечения вязких нефтей предназначена для повышения нефтеотдачи неоднородных пластов с трудноизвлекаемыми запасами, а именно трещинно-поровых карбонатных коллекторов, содержащих вязкие нефти. В результате комплексного воздействия на нефтяной пласт происходит интенсификация нефтевытеснения из высокопроницаемых коллекторов за счет кольтматации проводящих каналов, выравнивания фронта вытеснения и вовлечения в разработку низкопроницаемых пропластков. За счет образованных микроорганизмами метаболитов снижается вязкость нефти на 30—50%, повышается ее подвижность, улучшаются коллекторные свойства, увеличивается нефтевытеснение на 30—40%.

Микробиологический метод увеличения нефтеотдачи заводненных пластов состоит из двух последовательных этапов: первый — собственно активация микрофлоры в призабойной зоне нагнетательных скважин, приводящая к образованию комплекса нефтевытесняющих агентов — продуктов биodeградации углеводов; второй — обычное заводнение, в соответствии со схемой разработки данного участка месторождения, для перемещения выработанного на первом этапе комплекса агентов к добывающим скважинам.

На первом этапе механизм действия пластовой микрофлоры на процесс вытеснения нефти основан на резком увеличении активности биоценоза, сформированного в призабойной зоне, путем закачки азрированного раствора минеральных солей азота и фосфора. Нагнетание в нефтяную залежь обогащенной кислородом и минеральными солями воды приводит к образованию аэробной зоны в нефтеносном пласте вокруг нагнетательной скважины, в которой интенсивно идут процессы разрушения нефти аэробными углеводородокисляющими микробами. Это сопровождается накоплением углекислого газа, водорода и низкомолекулярных органических кислот, которые поступают в анаэробную зону нефтяной залежи и превращаются метанобразующими бактериями в метан. Разрушение нефти и образование газов приводят к разжижению нефти и повышению газового давления в нефтеносном пласте, что сопровождается увеличением добычи нефти из скважин.

Принципиальная возможность использования микробиологического воздействия с целью увеличения нефтеотдачи и интенсификации добычи нефти, впервые запатентованная С.Е. Zobell (1946 г.) [2], в настоящее время подтверждена многими исследователями и успешными промысловыми экспериментами [3—8].

Успехи биотехнологии обеспечили появление на мировом рынке группы водорастворимых полимеров — микробных полисахаридов [9—12]. Ксантан ($C_{35}H_{49}O_{29}$)_n — наиболее известный микробный полисахарид, используемый для повышения нефтедобычи.

Ксантан может применяться для извлечения нефти из иссякающих месторождений, в которых остаточная нефть адсорбируется на различных породах, содержащихся в нефтеносных пластах, и не вымывается из них водой. Он термостабилен, устойчив к действию электролитов, сохраняет вязкость в засоленных растворах, не адсорбируется твердыми частицами. Раствор ксанта в воде обладает высокой вязкостью и при закачке в пласты под повышенным давлением высвобождает нефть из всех трещин и углублений нефтеносных пород.

В качестве примеров разработанных и внедренных технологий следует назвать следующие. На месторождениях России для выравнивания профилей приемистости, снижения обводненности и повышения нефтеотдачи с 1995 г. используется биополимер Продукт БП-92 и композиции на его основе. Химическая основа нового реагента — смесь экзополисахаридов, получаемых при культивировании микроорганизма *Azotobacter vinelandii* [3, 4]. Применение препарата позволило дополнительно добыть 230 тыс. т нефти [5].

Технологии, разработанные в Институте микробиологии РАН и ОАО «Татнефть», основываются на активации жизнедеятельности микрофлоры нефтяного пласта (как интродуцированной, так и аборигенной) [6—8, 17]. Активация микрофлоры осуществляется введением в пласт раствора биогенов, источника кислорода и при необходимости биомассы углеводородокисляющих микроорганизмов. Целенаправленная активация микробиологических процессов позволяет вызвать синтез биоПАВ, биополимеров и других эффективных агентов нефтевытеснения непосредственно в порах нефтесодержащих пород. Применение предлагаемого метода наиболее эффективно на высокообводненных нефтяных пластах и позволяет получать дополнительно не менее 20% нефти от общей добычи. Такой показатель добавочного нефтеизвлечения достаточно высок и сравним с зарубежным.

При опытно-промышленном испытании этого метода на одном из участков Бондюжского нефтяного месторождения (ОАО «Татнефть») за 5 лет с начала испытаний получено дополнительно 47 тысяч тонн нефти, что составило около 30% общей добычи нефти на этом участке за указанный период времени. Испытания на других нефтяных месторождениях (Ромашкинское, Сергеевское, Быстринское, Солкинское, Локбатанское) позволили получить дополнительно от 29 до 35% нефти от ее общей добычи на пилотных участках этих месторождений [6].

Для закачки в скважину Арланского месторождения был использован геобиореагент, приготовленный на основе шатурского торфа и содержащий комплекс разнообразных групп микроорганизмов [7]. Улучшению фильтрационной характеристики пласта и выравниванию профиля приемистости способствовали кислоты и ПАВ, вырабатываемые бактериями, а также гуминовые кислоты, содержание которых в торфе достигает 50%.

Одним из наиболее эффективных методов повышения нефтеотдачи, применяемых в НГДУ «Аксаковнефть», является закачка биоПАВ в композиции с биополимером «Симусан» [1]. Метод основан на создании стойких микроэмульсий биоПАВ с нефтяной фазой при одновременном увеличении охвата пласта вследствие присутствия биополимера «Симусан». Кроме того, полимер обладает высокими нефтеотмывающими свойствами. В процессе фильтрации композиции в неоднородной пористой среде реализуется механизм селективной закупорки сравнительно высокопроницаемых пластов, приводящий к выравниванию фронта дренирования и увеличению охвата пласта.

На месторождениях НГДУ «Аксаковнефть» при закачке биореагента на Раевском месторождении в результате закупорки высокопроницаемых участков микробной массой снизилась проницаемость пласта, увеличилась нефтеотдача, позволившая добыть 14 674 т дополнительной нефти.

На Шкаповском и Знаменском месторождениях за счет применения сухого активного ила добыто 10 828 т нефти. Экономический эффект от закачки активного ила составил 73 483 тыс. руб./год [8]. Удельная технологическая эффективность закачки ИАИ на Шкаповском месторождении составила по очагам 916, 901, 422—59,6; 103,3 и 485,9 т на 1 м³ ИАИ, соответственно.

Биореагент КШАС-М, являющийся продуктом жизнедеятельности микроорганизмов рода *Pseudomonas aeruginosa* S-7, обладает способностью снижать поверхностное натяжение воды до 30 мН/м, а межфазное по отношению к гептану до 1—3 мН/м. Ему свойственна также высокая эмульгирующая активность [9]. Препарат способен сохранять исходные поверхностно-активные свойства при разбавлении водой до 250 раз. При обработке им 35 скважин в 7 НГДУ АНК «Башнефть» дополнительная добыча нефти составила 44 000 т с экономическим эффектом 7 612,6 тыс. руб.

Микроорганизмы, используемые в технологиях повышения нефтеотдачи пласта

Одной из важнейших задач микробиологической технологии увеличения добычи нефти является получение бактериальных штаммов, способных расти и продуцировать метаболиты, повышающие нефтеотдачу, в неблагоприятных условиях нефтяного пласта. Особенности залежей нефти как экологической ниши для развития микроорганизмов определяются совокупным влиянием таких факторов, как повышенная температура, высокая соленость, слабокислая реакция среды, отсутствие кислорода в подстилающей залежь пластовой воде.

Известны микроорганизмы, способные расти в низко-, средне- и высокотемпературных, низко-, средне- и высокосолёных средах, в залежах с легкими и тяжелыми нефтями при давлениях 203 МПа (2 000 атм.).

Основным компонентом углеводородокисляющего сообщества нефтяных месторождений являются бактерии рода *Rhodococcus* [10]. В пластовых водах присутствуют и другие нокардиоподобные и коринеподобные бактерии, представители родов *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* и *Arthrobacter*. Кроме указанных микроорганизмов в коллекторах нефтяных месторождений обнаружена разнообразная анаэробная микрофлора, включающая представителей броидильных, сульфатовосстанавливающих и метанообразующих микроорганизмов.

В модельных опытах и в опытах с мечеными по углероду субстратами на примере отдельных штаммов *Rhodococcus rhodochrous*, *R. luteus* и *R. maris*, выделенных из пластовых вод нефтяных месторождений Пермского Прикамья, показана устойчивость исследуемых микроорганизмов к экстремальным условиям нефтяного пласта: высокой солености пластовых вод и рассолов, слабокислой реакции среды, отсутствие растворенного в пластовой воде кислорода [8]. Выявленные физиологические особенности позволяют предположить участие родококков в биогеохимических процессах, происходящих в разрабатываемых нефтяных месторождениях.

Устойчивость к отклонениям реакции среды от нейтральных значений позволяет родококкам хорошо переносить кислотные и щелочные обработки нефтяной залежи и не ограничивает их развитие при слабокислых значениях pH. Пластовые воды, подстилающие нефтяную залежь, не содержат кислорода, что должно препятствовать активному окислению углеводородов. Однако при заводнении кислород поступает в залежь в значительных количествах. В закачиваемой под давлением 200 атм пресной воде содержание кислорода составляет 20—30 мг/л. Поэтому, если приемистость нагнетательной скважины, например, 700 м³ в сутки, то через нее в залежь поступает 14—21 кг кислорода. Основная часть этого кислорода, по-видимому, используется углеводородокисляющей микрофлорой в призабойной зоне нагнетательной скважины, где концентрация кислорода составляет 12 мг/л, а численность углеводородокисляющих бактерий самая высокая — 10³ клеток/мл.

Проникая дальше по пласту, кислород создает в залежи микроаэробные зоны. На полное окисление 1 мг углеводородов бактериями требуется 3—4 мг O₂ и немного меньше при использовании углеводородов в качестве ростового субстрата. Отсутствие кислорода в пластовой воде лимитирует окисление углеводородов нефти. С другой стороны, растворимость кислорода в нефти в 100 раз выше, чем в воде, поэтому можно предположить, что кислород, поступивший в залежь с пресными водами, растворяется в основном в нефти и таким образом проникает в более удаленные от нагнетательных скважин зоны пласта. Становится понятным, почему по этим участкам пласта распростра-

нены только углеводородокисляющие бактерии рода *Rhodococcus*, которые в двухфазной системе нефть-вода располагаются в углеводородном слое.

Одними из эффективных агентов нефтевытеснения являются биосурфактанты. Благодаря своим физико-химическим свойствам, способности проявлять их в присутствии высоких концентраций солей и не адсорбироваться на известняках и песчаниках, биоэмульгаторы в смеси с другими (например, неионогенными) ПАВ могут быть эффективным средством повышения нефтедобычи [11]. Введение микроорганизмов-продуцентов ПАВ в нефтяное месторождение с последующим размножением их и образованием биоПАВ непосредственно в пластах существенно влияет на вытеснение нефти.

Биогенные ПАВ синтезируются бактериями, дрожжами, микроводорослями и некоторыми мицелиальными грибами. Наиболее изучены биосурфактанты бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodococcus erythropolis*, *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. brevis*, *B. polymixa*, *Ac-*

нии [15]. Биосурфактанты условно могут быть разделены на две группы. К первой группе относятся ПАВ с низким молекулярным весом, такие как гликолипиды (рамнолипиды, трегалозолипиды, софоролипиды, трегалозотетраэфиры, дикогиномиколат), липопептиды (сурфактин, вискозин, стрепофактин, полимиксин, грамицидин), которые обладают также эффективным противомикробным действием. Гликолипиды и липопептиды способны снижать поверхностное и межфазное натяжение жидкостей, но, как правило, не образуют стабильных эмульсий. Вторую группу составляют полимерные ПАВ большого молекулярного веса, представленные полисахаридами, липопротеинами, липополисахаридами и их комплексами. Эти сурфактанты образуют стабильные эмульсии, однако не снижают поверхностное натяжение. Образование стабильной эмульсии позволяет микроорганизмам-сурфактантообразователям закрепиться на гидрофобной поверхности и активно деградировать субстрат [16].

Биосурфактанты имеют гидрофильную часть, состоящую из аминокислотных или пептидных анионов или катионов; моно-, ди- или полисахаридов и гидрофобную, состоящую из ненасыщенных или насыщенных жирных кислот. Поэтому, в соответствии с химической природой, биосурфактанты разделяют на следующие группы [17]:

1) гликолипиды (рамнолипиды — *Pseudomonas aeruginosa*, *P. sp*; трегалозо-

липиды — *Rhodococcus erythropolis*, *Nocardia rhodochrous*, *N. erythropolis*, *Mycobacterium phlei*; софорозолипиды — *Torulopsis bombicola*, *T. ampicola*, *T. petrophilum*);

2) липопротеины и липопептиды (лихенизин — *Bacillus licheniformis*; сурфактин — *B. subtilis*; субтилизин — *B. subtilis*, циркулоцины — *B. circularis*; полимиксины — *B. polymixa*; вискозин — *Pseudomonas fluorescens*; эмульсан — *Phormidium sp.*; липозан — *Candida lipolytic*); грамицидин — *B. brevis*);

3) полисахариды (эмульсаны — *Arthrobacter sp.*, *A. calcoaceticus*; *Phormidium sp.*; ксантан — *Xanthomonas campestris*);

4) жирные кислоты — *Candida sp.*, *C. lepus*;

5) фосфолипиды — *Tiobacillus thiooxidans*; *Corynebacterium sp.*; *Candida sp.*;

6) нейтральные липиды — *N. erythropolis*.

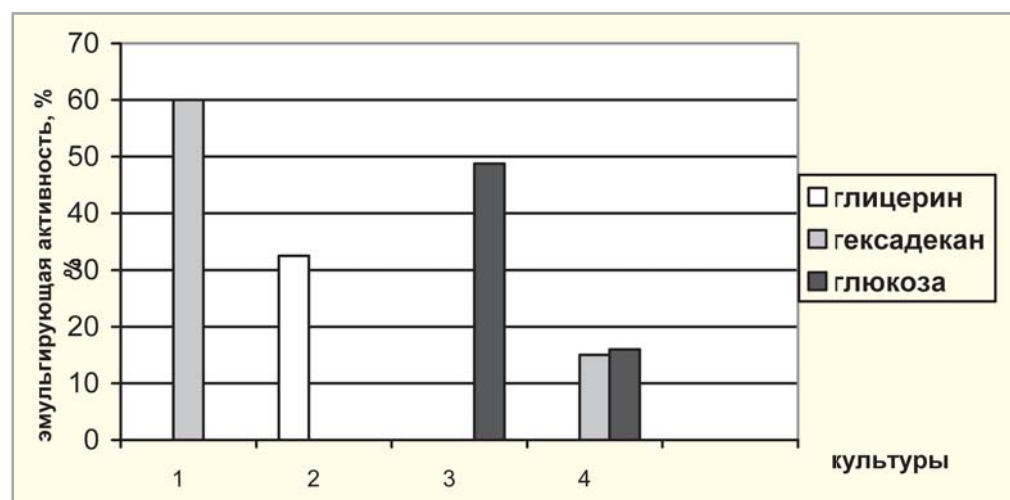
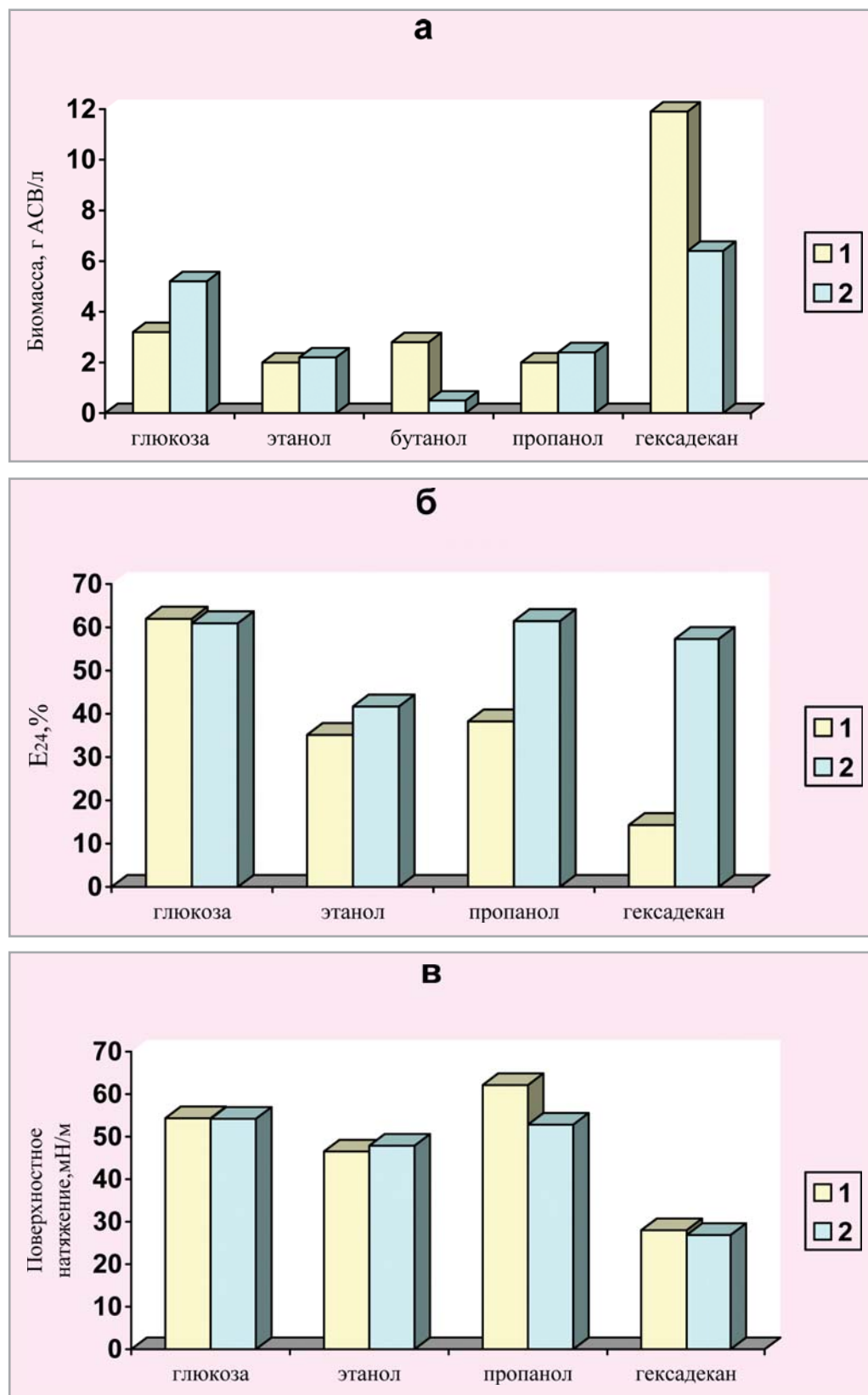


Рисунок 1. Эмульгирующая активность бактерий, выращенных на средах с различными источниками углерода.

netobacter calcoaceticus, и дрожжей *Torulopsis*. Впервые образование сурфактантов (рамнолипидов) культурой *Pseudomonas aeruginosa* было показано Джарвисом и Джонсоном в 1949 году [12—14].

Биосурфактанты, продуцируемые микроорганизмами, как и ПАВ, полученные путем химического синтеза, могут быть с успехом использованы в процессах добычи и переработки нефти. Одним из потенциальных потребителей биосурфактантов является нефтяная промышленность, которая может использовать микробные препараты как на основе суспензии целых клеток, так и их метаболитов.

В отличие от синтетических сурфактантов, которые классифицируются в зависимости от заряда полярных групп, систематизация биосурфактантов основана на их химической структуре и микробном происхожде-



а — биомасса, б — эмульгирующая активность, в — поверхностное натяжение.

Рисунок 2. Рост и сурфактантообразующая активность культуры *Rhodococcus sp. 1HГ* на средах с различными источниками углерода.

Наиболее изученными биоПАВ являются гликолипиды, которые содержат углеводные участки, соединенные с длинноцепочечными или гидроксиалифатическими кислотами. Среди гликолипидов наиболее исследованы рамнолипиды, трегалолипиды и софоролипиды (рисунок 1).

Рамнолипиды, продуцируемые *Pseudomonas sp.*, способны снижать межфазное натяжение против н-гексадекана до 1 мН/м и поверхностное натяжение до 25—30 мН/м. Установлено, что трегалолипиды, продуцируемые бактериями *Mycobacterium*, *Nocardia* и *Corynebacterium*, отличаются по размеру и структуре миколовой кислоты, количеству атомов углерода и степени насыщения [18]. Детально исследован трегалозодимиколат, синтезируемый *Rhodococcus erythropolis* [19]. Трегалоллипиды, продуцируемые *R. erythropolis* и *Arthrobacter sp.*, снижают поверхностное и межфазное натяжение культуральной жидкости до 25—40 и 1—5 мН/м соответственно. Софоролипиды, которые образуются главным образом дрожжами *Torulopsis bombicola*, *T. petrophilum* [20] и *T. apicola* состоят из димерного углевода софорозы, соединенного с длинноцепочечной гидрокси-жирной кислотой.

Циклический липопептид сурфактин, продуцируемый *Bacillus subtilis* ATCC 21332, является одним из наиболее активных биосурфактантов, который снижает поверхностное натяжение с 72 до 27,9 мН/м при концентрации 0,005% [21].

Детально изучены такие полимерные биосурфак-

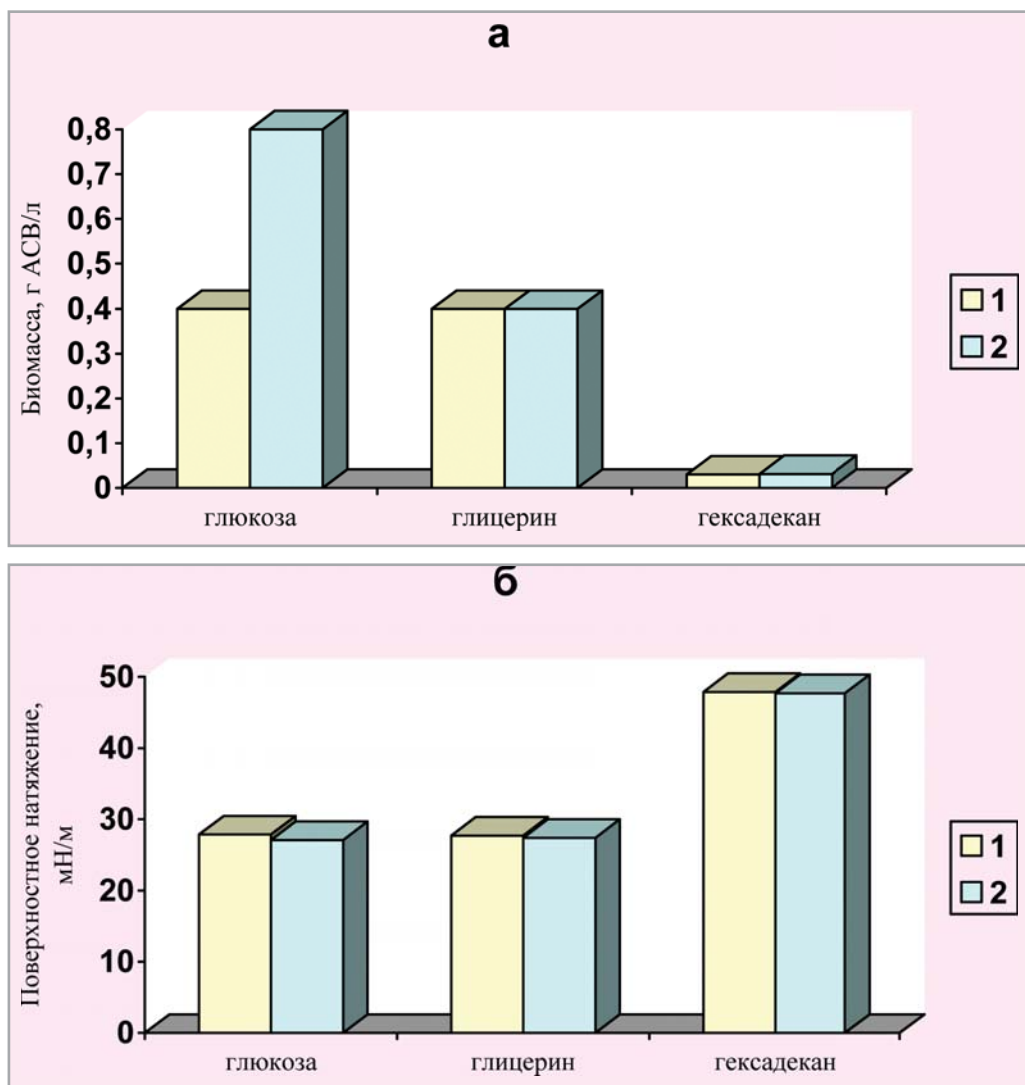
танты, как эмульсан (рис. 3), продуцируемый *Acinetobacter calcoaceticus*, и липозан, образуемый *Candida lipolytica*. Использование эмульсана в концентрации 0,001—0,01% очень эффективно в качестве эмульгирующего агента для получения прямых эмульсий. Эмульсан — один из активных стабилизаторов эмульсий, при использовании этого биоПАВ даже в соотношении вода/масло, равном 1/4, не происходит инверсия фаз. Липозан — водорастворимый эмульгатор, состоящий из 83% углеводов и 17% протеина. Углеводная фракция содержит глюкозу, галактозу, галактозамин и галактуроновою кислоту.

Количество и тип сурфактантов зависит, главным образом, от штамма-продуцента. Однако условия культивирования, такие как источник углерода, азота, микроэлементы, температура, pH, аэрация, также значительно воздействуют на продукцию биоПАВ.

В ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» по инициативе Белорусского научно-исследовательского проектного Института нефти (БелНИПИнефть) начаты исследования по созданию микробной технологии повышения нефтеотдачи пласта.

На первом этапе исследований проведено выделение из проб вязких нефтей культур микроорганизмов, способных продуцировать биологические поверхностно-активные вещества (биоПАВ) и эмульгировать (разжижать) нефть. Поиск и выделение микроорганизмов сурфактант-образователей провели в образцах нефти Северо-Домановичского, Восточно-Дроздовского и Вишанского месторождений. Среди выделенных 167 изолятов бактерий, способных расти на средах, содержащих нефть, 29% изолятов активно используют нефть в качестве единственного источника углерода, что свидетельствует о наличии у них потенциальной способности к продукции биоПАВ.

Исследование культурально-морфологических особенностей наиболее активных четырех штаммов



а — биомасса, б — поверхностное натяжение.

Рисунок 3. Рост и сурфактантообразующая активность культуры *Bacillus sp.4НГ* на средах с различными источниками углерода.

бактерий показало, что три из них представлены микроорганизмами, подробная идентификация которых позволила нам отнести их к роду *Rhodococcus*, а именно к *Rhodococcus sp. 1НГ*, *Rh. sp. 2НГ*, *Rh. sp. 3НГ* и изолят № 4 отнесен нами к роду *Bacillus* — *Bacillus sp. 4НГ*.

При выращивании бактерий на питательных средах отобранные изоляты проявили различную эмульгирующую активность. Образование ими ПАВ зависело от источника углерода в среде и биологических свойств микроорганизмов (рисунок 1).

Наибольшая эмульгирующая активность, проявленная штаммом *Rhodococcus sp. 1НГ* только при наличии в среде гексадекана, служит свидетельством того, что метаболическая система данной бактерии обладает набором необходимых ферментов, способных к деградации углеводов. Образование биоПАВ в ми-



Рисунок 4. Влияние хлорида натрия на рост культуры *Rhodococcus sp. 1HГ* на агаризованной минеральной среде:
1 — 3% NaCl; 2 — 5% NaCl; 3 — 7% NaCl; 4 — 10% NaCl;
5 — 15% NaCl; 6 — 30% NaCl.



Рисунок 5. Влияние хлорида натрия на рост культуры *Bacillus sp. 4HГ* на агаризованной минеральной среде:
1 — 3% NaCl; 2 — 5% NaCl; 3 — 7% NaCl;
4 — 10% NaCl; 5 — 15% NaCl.



Рисунок 6. Влияние хлорида натрия на рост сурфактантообразующих микроорганизмов на агаризованной полноценной среде:
1 — без NaCl; 2 — 3% NaCl; 3 — 5% NaCl; 4 — 7% NaCl;
5 — 10% NaCl; 6 — 15% NaCl; 7 — 30% NaCl;
(в каждой чашке: слева — *Rhodococcus sp. 1HГ*, справа — *Bacillus sp. 4HГ*).

неральной среде культурой *Rhodococcus sp. 2HГ* стимулировалось глицерином.

Глюкоза явилась наиболее предпочтительным субстратом для образования биоПАВ культурой *Rhodococcus sp. 3HГ*. Глюкоза и гексадекан способствовали проявлению эмульгирующей активности культурой *Bacillus sp. 4HГ*.

Культура *Rhodococcus sp. 1HГ* на питательных средах со всеми испытанными источниками углерода синтезирует биоПАВ, проявляющие высокую эмульгирующую активность (выше 41,6%) (рисунок 2). Образование сурфактантов, способных значительно снижать поверхностное натяжение, отмечено у *Rhodococcus sp. 1HГ* только на гидрофобном субстрате — гексадекане. При росте на этом субстрате в концентрации 1% и 2% указанный родококк продуцирует биоПАВ, снижающие поверхностное натяжение культуральной жидкости до 28,0 и 26,9 мН/м, соответственно. Микроорганизмы, снижающие поверхностное натяжение культуральных сред более чем на 10 мН/м, уже считаются перспективными в качестве продуцентов.

Среди исследованных нами культур эффективные эмульгаторы синтезировала также культура *Bacillus sp. 4HГ* (рисунок 3). Наиболее низкие значения поверхностного натяжения отмечены при выращивании ее на глюкозе и глицерине (27,1—29,1 мН/м). При росте на среде с гексадеканом показатель δ достигает значения 47,9—50,8 мН/м. Следует отметить, что эта культура обладала низкой эмульгирующей активностью при росте на всех изученных источниках углерода.

Культуры *Rhodococcus sp. 1HГ* и *Bacillus sp. 4HГ*, активно образующие сурфактант, а также синтезирующие наиболее активный эмульгатор будут использованы на дальнейших этапах разработки технологии получения микробного препарата для повышения нефтеотдачи пласта.

Важным технологическим свойством культур, продуцирующих ПАВ, является устойчивость их к воздействию минерализованной пластовой воды и температуры.

Исследование влияния солености среды на рост культур *Rhodococcus sp. 1HГ* и *Bacillus sp. 4HГ* на агаризованной минеральной среде с гексадеканом или глицерином в качестве единственного источника углерода и энергии показало, что наилучший рост этих культур наблюдается при 3—7% хлорида натрия (рисунки 4, 5). Увеличение концентрации хлорида в среде культивирования до 10% и выше приводит к снижению ростовой активности исследованных микроорганизмов.

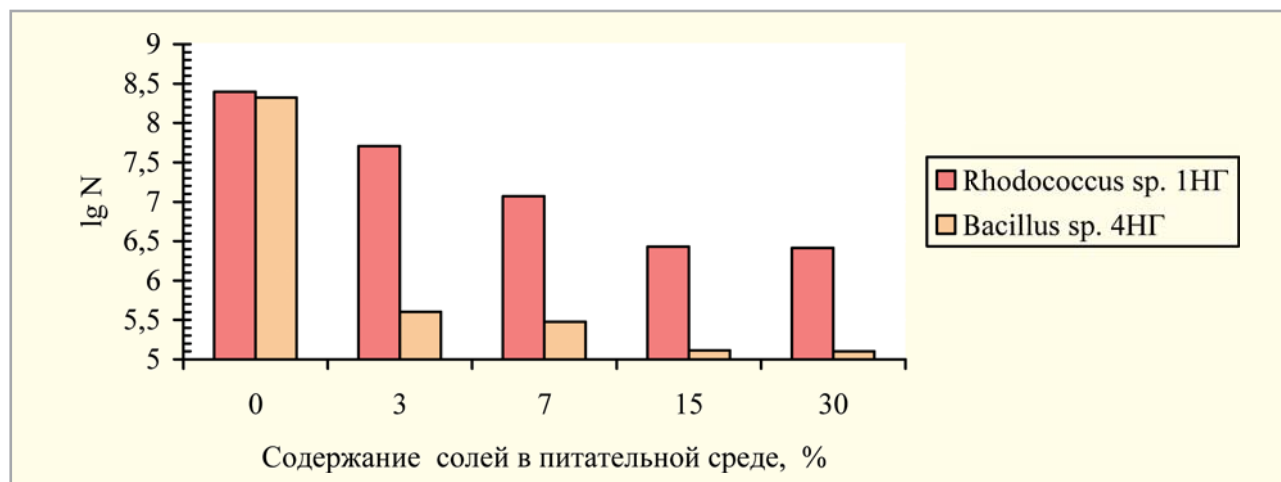


Рисунок 7. Рост сурфактантообразующих бактерий в жидкой минеральной среде в присутствии хлорида натрия в различных концентрациях (4 суток культивирования).

Штаммы *Rhodococcus sp. 1НГ* и *Bacillus sp. 4НГ* хорошо растут на полноценной агаризованной среде (МСА) в присутствии NaCl в концентрации до 10% (рисунок 6). Рост их ингибируется при 15—30% хлорида натрия в среде культивирования.

Исследованные культуры также растут в жидкой минеральной среде в присутствии NaCl в концентрации 3—30% (рисунок 7). Однако хлорид натрия оказывает угнетающее действие на рост *Rhodococcus sp. 1НГ* и *Bacillus sp. 4НГ*: при увеличении его концентрации до 15—30% титр клеток уменьшается в 100 и 1 000 раз соответственно.

Наличие у исследованных культур природной устойчивости к гиперсолености позволяет повысить ее методами

адаптивной селекции до уровня требуемого при использовании их в микробной технологии повышения нефтеотдачи пласта.

Установлена способность использованных микроорганизмов рода *Rhodococcus* и *Bacillus* к активному росту и сурфактантообразованию в интервале температур 27—45 °С.

Таблица 1. Термостабильные свойства культуральных жидкостей сурфактантообразующих микроорганизмов.

Штамм	Поверхностное натяжение, мН/м	
	до прогрева	после прогрева
<i>Rhodococcus sp. 1НГ</i>	37,4	28,6
<i>Bacillus sp. 4НГ</i>	29,1	28,3

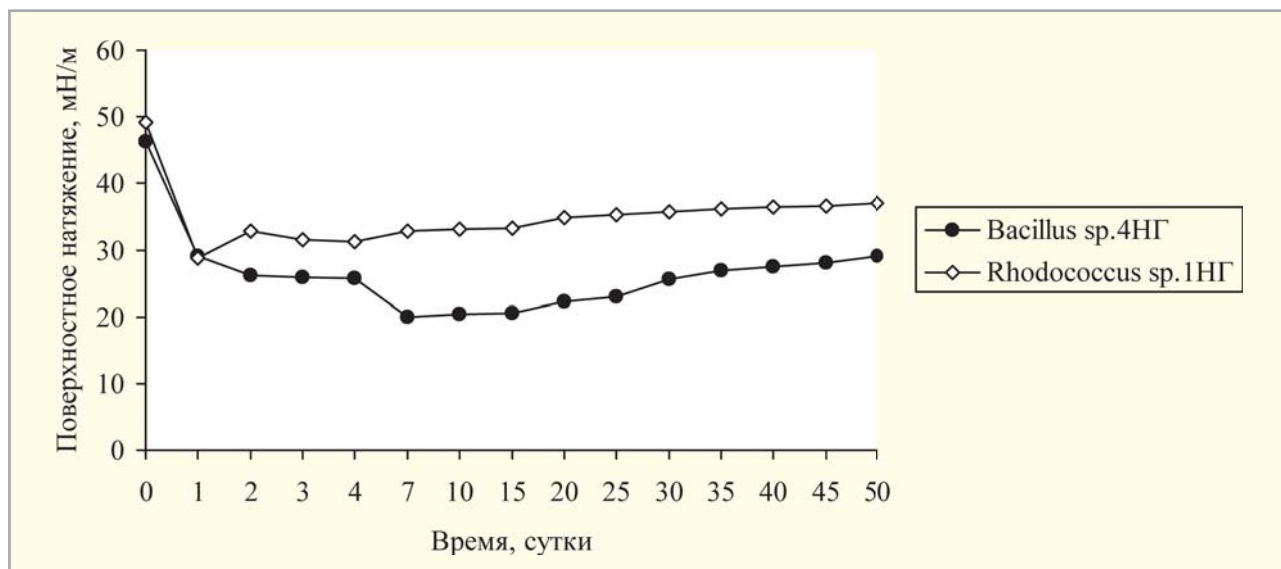


Рисунок 8. Изменение поверхностного натяжения культуральных жидкостей сурфактантообразующих микроорганизмов при длительном хранении.

Показано, что штаммы *Rhodococcus sp.* 1НГ и *Bacillus sp.* 4НГ образуют при росте на минеральной среде с гексадеканом и глицерином поверхностно-активные вещества, выдерживающие прогревание при температуре 85 °С в течение 1 часа и не подвергающиеся биоразложению в течение 50 суток (таблица 1, рисунок 8).

Высокая термостатичность культуральной жидкости полученных нами сурфактантообразующих микроорганизмов, а также длительное сохранение устойчивости к повышенным температурам при хранении дают основание использовать их в разработке и производстве микробного препарата для повышения нефтеотдачи пласта.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Увеличение нефтеотдачи на поздней стадии разработки месторождений. Теория. Методика. Практика / Р.Р. Ибатуллин [и др.] — М.: Недра. — 2004. — 292 с.
2. Bacteriological Process for Treatment of Fluid — Bearing Earth Formation: US Pat. / C.E. Zobell — № 2413278. — 1946.
3. Штамм бактерий — продуцент экзополисахарида: пат. 2073712 РФ, / Н.В. Краснопецева, В.А. Чепнягин, С.В. Яроцкий; опубл. 20.02.97.
4. Булавин В.Д. Технологический комплекс для интенсификации добычи нефти и увеличения нефтеотдачи на основе отечественного биополимера / В.Д. Булавин, Н.В. Краснопецева // Новости науки и техники. — 2006. — № 4. — С. 116—117.
5. Технология повышения нефтеотдачи пластов, снижения обводненности и интенсификации добычи с использованием биополимеров и композиций на их основе / В.В. Балакин [и др.] // Тр. Всероссийского совещания по разработке нефтяных месторождений, Альметьевск, 5—9 июня 2000 г.: в 2 ч. // «ТатАСУнефть», ОАО «Татнефть» — Альметьевск, 2000. — № 2. — С. 50—54.
6. Развитие микробиологических процессов в разрабатываемых пластах Ромашкинского нефтяного месторождения / С.С. Беляев [и др.] // Микробиология. — 1990. — № 6. — С. 118—125.
7. Юлбарисов Э.М. Микробиологические методы повышения охвата пласта заводнением на различных стадиях разработки / Э.М. Юлбарисов // Нефтепромысловое дело. — 1982. — № 12. — С. 9—10.
8. Жданова Н.В. Биотехнологии на основе сухого активного ила для увеличения нефтеотдачи пластов / Н.В. Жданова, У.Н. Садыков, В.Р. Баязитова // Интервал. — 2000. — Т. 4—5, № 15—16. — С. 4.
9. Использование биореагента КШАС-М для увеличения нефтеотдачи пластов / Ю.М. Симаев [и др.] // Интервал. — 2000. — Т. 4—5, № 15—16. — С. 4.
10. Бердичевская М.В. Особенности физиологии родококков разрабатываемых нефтяных залежей / М.В. Бердичевская // Микробиология. — 1989. — № 1. — С. 60—65.

11. Образование нефтewытесняющих соединений микроорганизмами из нефтяного месторождения Дацин (КНР) / Т.Н. Назина [и др.] // Микробиология. — 2003. — Т. 72. — № 2. — С. 206—211.

12. Ron, E.Z. Natural role of biosurfactants / E.Z. Ron., E. Rozenberg // Environ. Microbiol. — 2001. — Vol. 3. — P. 229—236.

13. Chemical characterization and physicochemical behaviour of biosurfactants / J.L. Parra [et al] // J. Am. Oil Chem. Soc. — 1989. — Vol. 66. — P. 141—145.

14. McInerney, M.J. Properties of the biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* strain JF-2 / M.J. McInerney, M. Javaheri, D.P. Nagle // J. Ind. Microbiol. — 1990. — Vol. 5. — P. 95—102.

15. Christofi, N. Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation / N. Christofi, I.B. Ivshina // Journal of Applied Microbiology. — 2002. — Vol. 93. — P. 915—929.

16. Karanth, N.G.K. Microbial production of biosurfactants and their importance / N.G.K. Karanth, P.G. Deo, N.K. Veenanadig // Current Science. — 1999. — Vol. 77. — P. 116—126.

17. High- and low-molecular-mass microbial surfactants / E. Rosenberg, E.Z. Ron // Applied Microbiology and Biotechnology. — 1999. — Vol. 52. — P. 154—162.

18. Georgiou, G. Surface-active compounds from microorganisms / G. Georgiou, S.C. Lin, M.M. Sharma // Biol. Technol. — 1992. — Vol. 10 — P. 60—65.

19. Kretschmer, A. Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkane / A. Kretschmer, H. Bock, F. Wagner // Appl. Environ. Microbiol. — 1982. — Vol. 44. — P. 864—870.

20. Cooper, D.G. Torulopsis petrophilum and surface activity / D.G. Cooper, D.A. Paddock // Appl. Environ. Microbiol. — 1983. — Vol. 46. — P. 1426—1429.

21. Studies on the biosynthesis of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis* ATCC / B. Kluge [et al] // FEBS Lett. — 1989. — Vol. 231. — P. 107—110.

Алисса САМСОНОВА,
зав. лабораторией
деградации ксенобиотиков и
биоремедиации природных и
производственных сред
ГНУ «Институт микробиологии
НАН Беларуси»,
доктор биологических наук,
Анна МАКАРЕВИЧ,
зав. лабораторией
химического обеспечения
интенсификации нефтедобычи
Белорусского
научно-исследовательского и
проектного института нефти,
доктор химических наук