

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Биологический факультет

Кафедра микробиологии

**Разнообразие денитрифицирующих бактерий
из низкотемпературных месторождений
тяжёлой нефти**

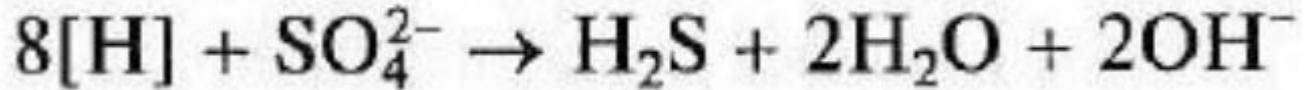
Ершов Алексей Павлович

Научный руководитель:

д.б.н. Назина Т. Н.

Лаборатория нефтяной микробиологии ФИЦ Биотехнологии РАН

Сульфатредукция в нефтяных пластах



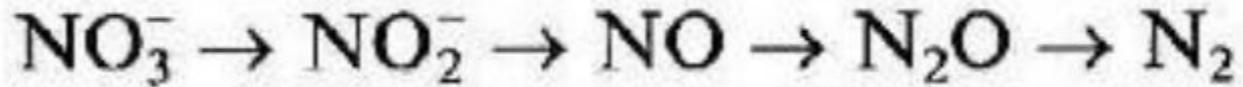
- При добыче нефти с использованием технологии заводнения активизируются микробные процессы в нефтяном пласте.
- Активизация жизнедеятельности сульфатредуцирующих бактерий приводит к увеличению содержания сероводорода в пластовой воде, нефти и газе.



Накопление сероводорода в нефтяном пласте вызывает:

- Коррозию оборудования
- Ухудшение качества нефти
- Ухудшение экологии

Денитрификация в нефтяных пластах



Активизация денитрифицирующих бактерий нефтяного пласта позволяет подавить образование сероводорода:

- Восстановление нитратов энергетически более выгодно, чем восстановление сульфатов.
- Образующийся нитрит является токсичным для многих сульфатредуцирующих бактерий.
- Нагнетание в пласт нитратов вместе с водой позволяет стимулировать рост денитрификаторов и подавляет рост сульфатредуцирующих прокариот в нефтяном пласте.

Цель и задачи работы

Цель работы: изучение разнообразия денитрифицирующих бактерий в месторождениях тяжелой нефти и оценка возможности их стимуляции для подавления сульфатредукции.

Задачи работы:

- Получить накопительные культуры денитрифицирующих бактерий в среде с нефтью.
- Определить образование нитритов накопительными культурами денитрифицирующих бактерий на разных субстратах.
- Изучить состав накопительных культур молекулярными методами.
- Выделить из исследуемых сообществ чистые культуры денитрифицирующих бактерий, растущие на углеводородах.
- Сравнить потребление *n*-алканов нефти чистыми культурами в аэробных условиях и анаэробно в присутствии нитратов.
- Определить влияние нитратов на образование сероводорода сообществом нагнетаемой воды.

Объект исследования

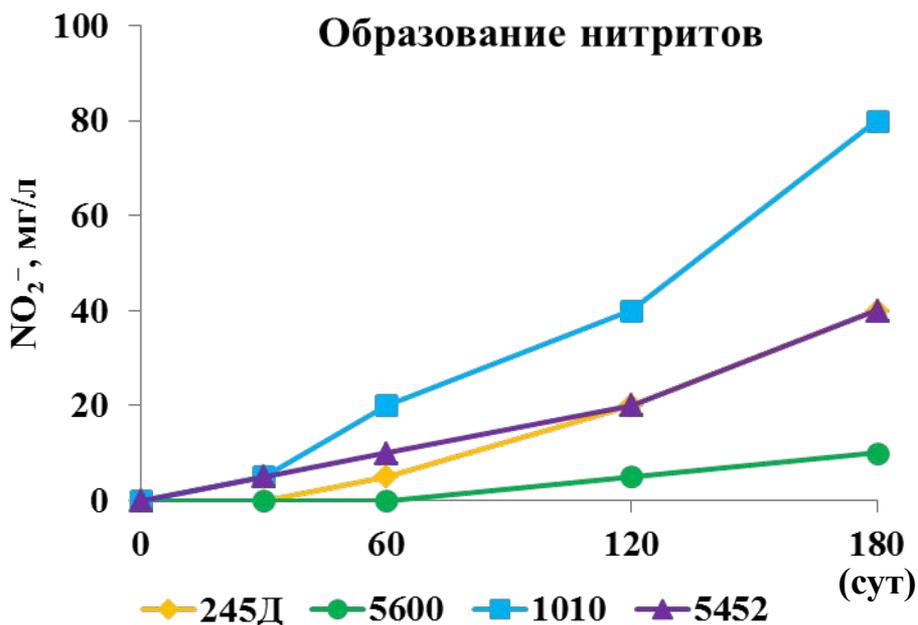
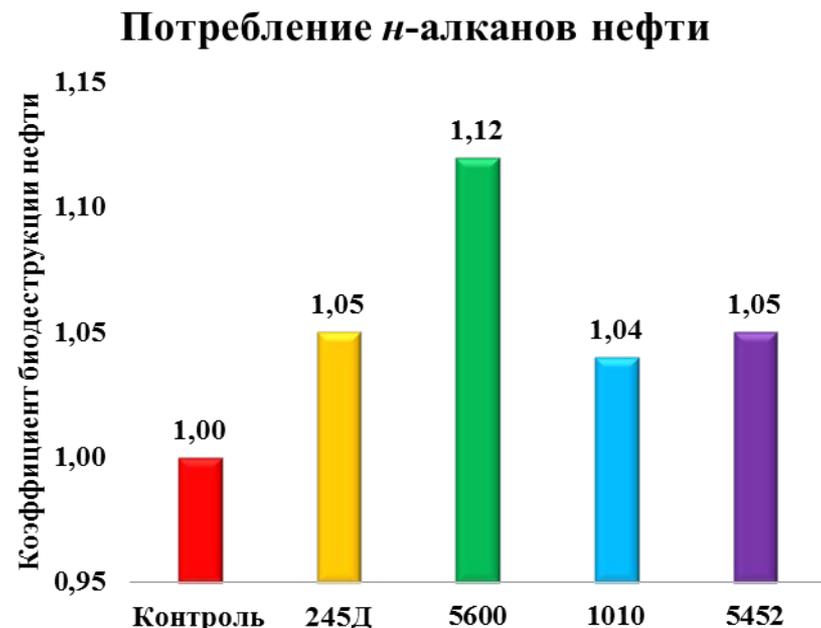
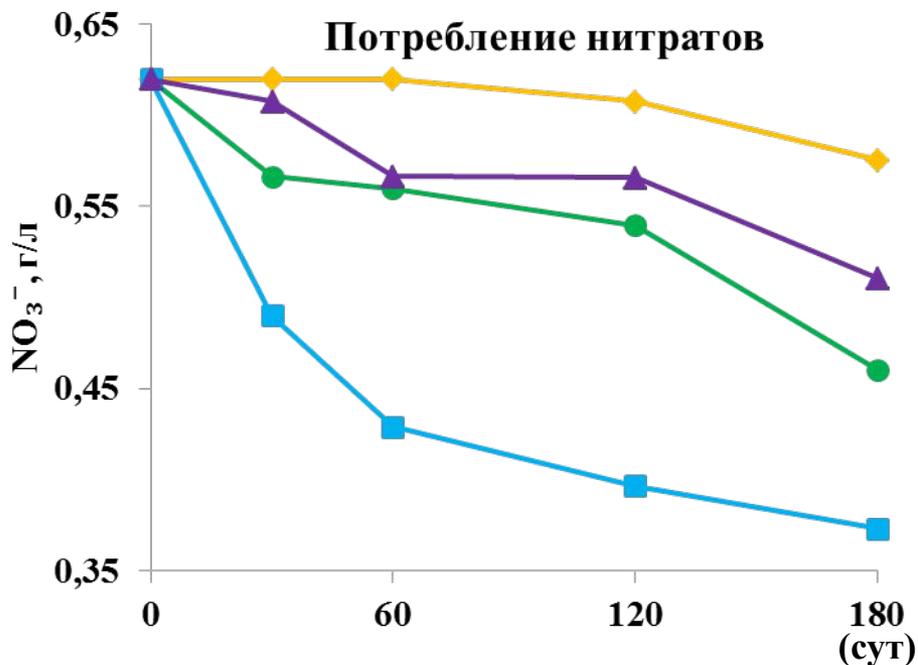
Объектом исследования были микробные сообщества, полученные из проб пластовой и нагнетаемой воды Черёмуховского и Восточно-Анзирского нефтяных месторождений Татарстана:

- Добывающая скважина 5452
- Нагнетательная скважина 5600
- Добывающая скважина 245Д
- Нагнетательная скважина 1010

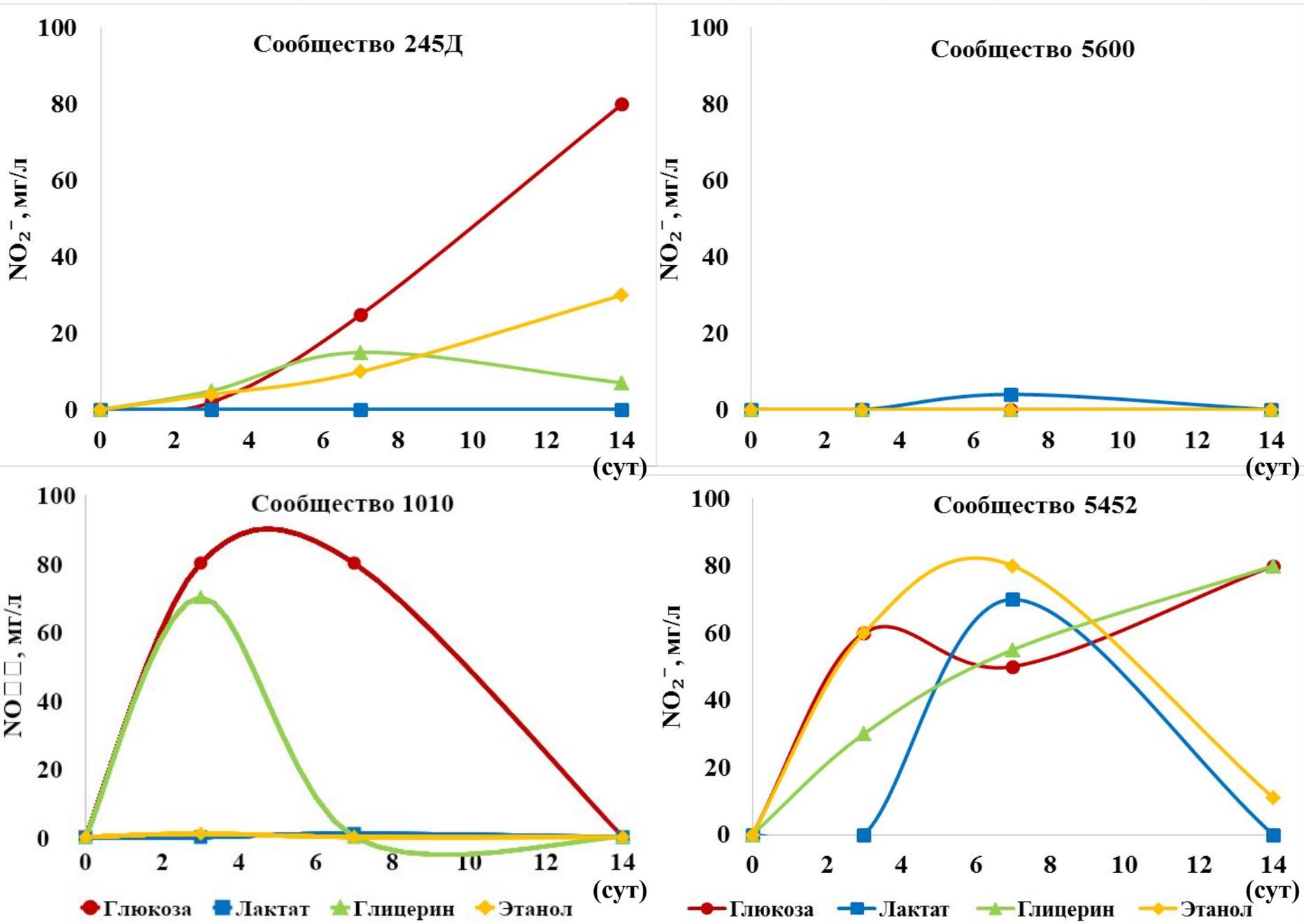
Накопительные культуры получали путём посева проб воды в среду с нефтью и нитратом и их культивирования в анаэробных условиях в течение 1 года.



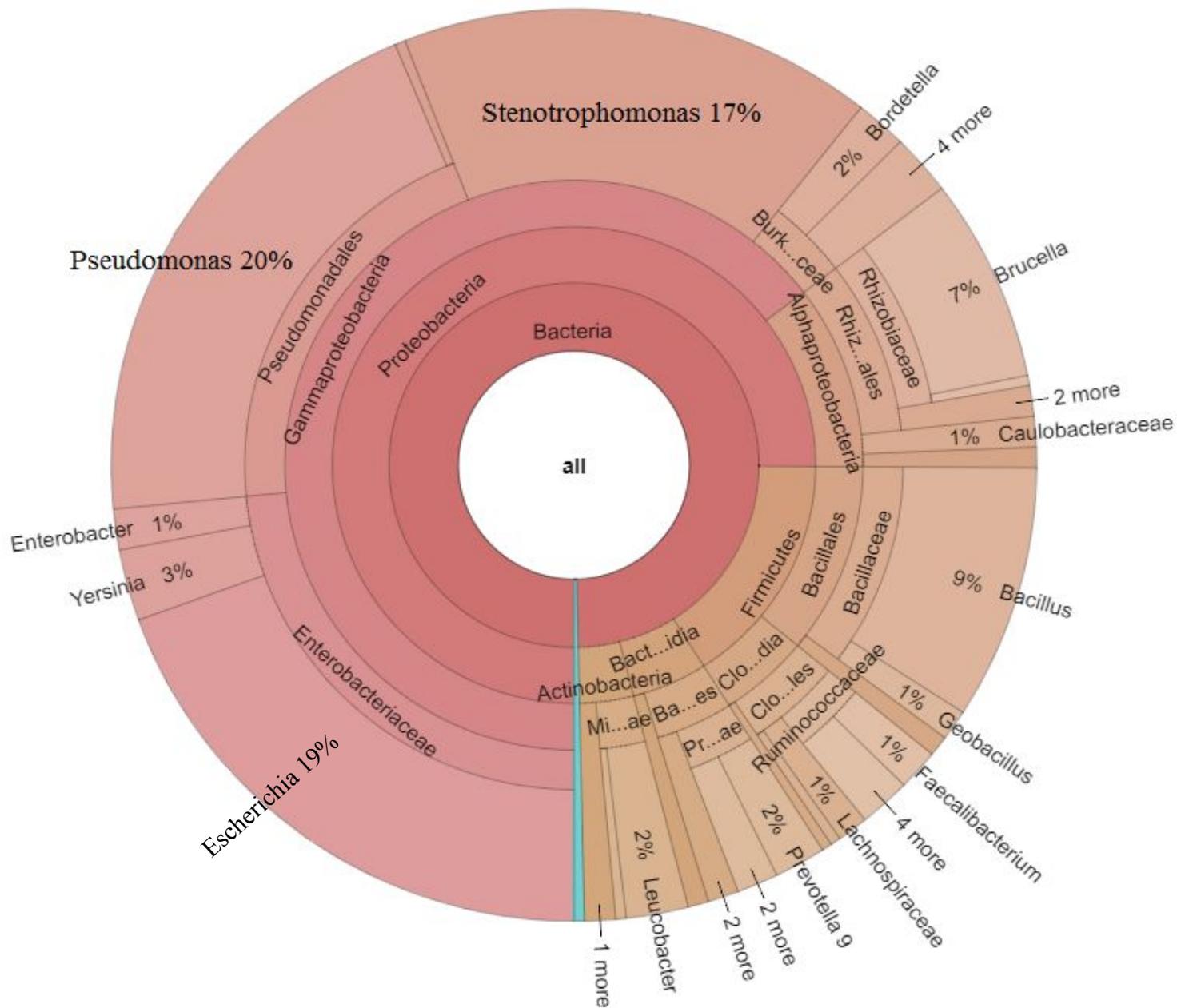
Рост накопительных культур денитрифицирующих бактерий на тяжёлой нефти



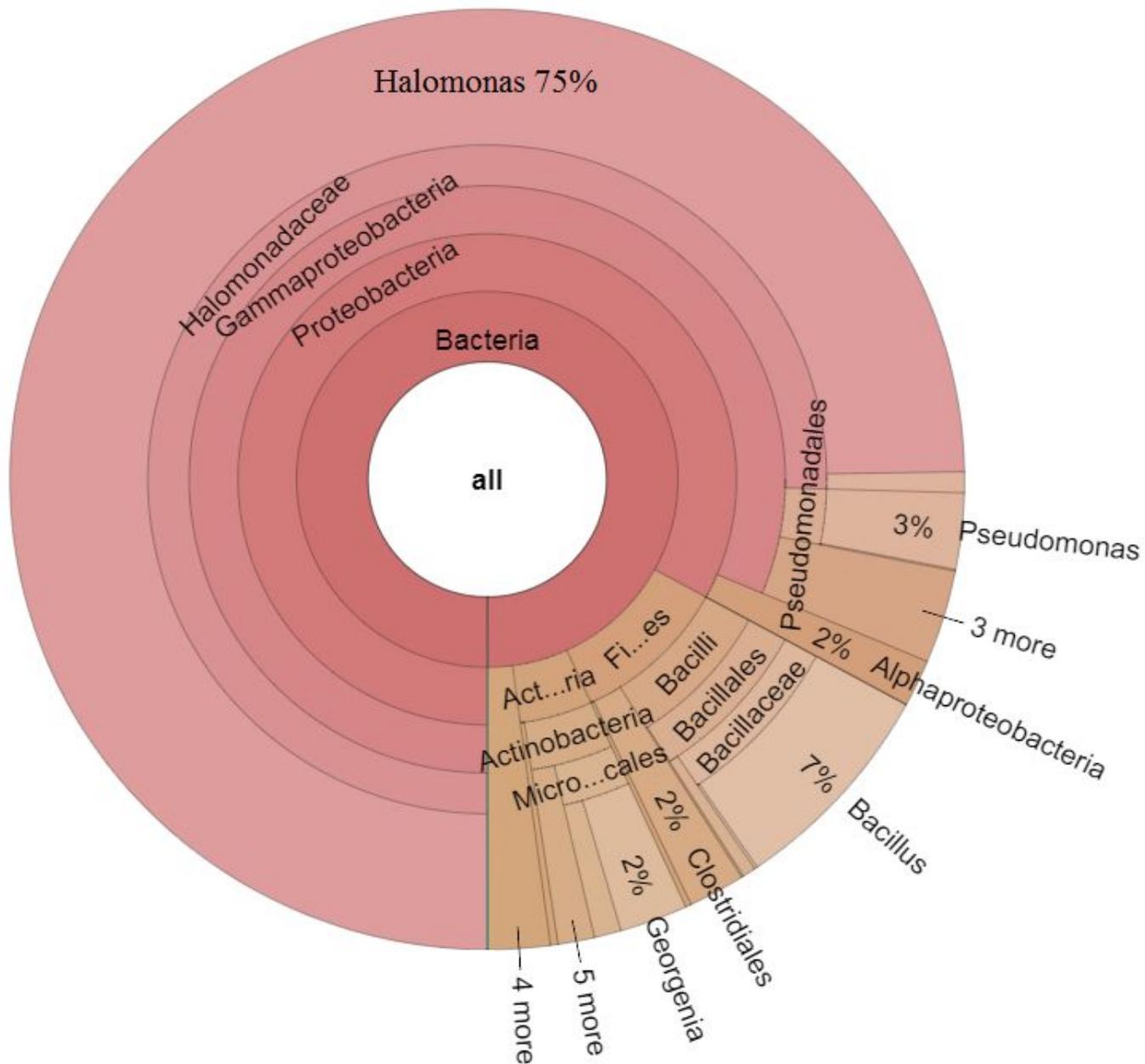
Накопление нитритов сообществами денитрификаторов на разных субстратах



Состав денитрифицирующего сообщества 245Д



Состав денитрифицирующего сообщества 5452

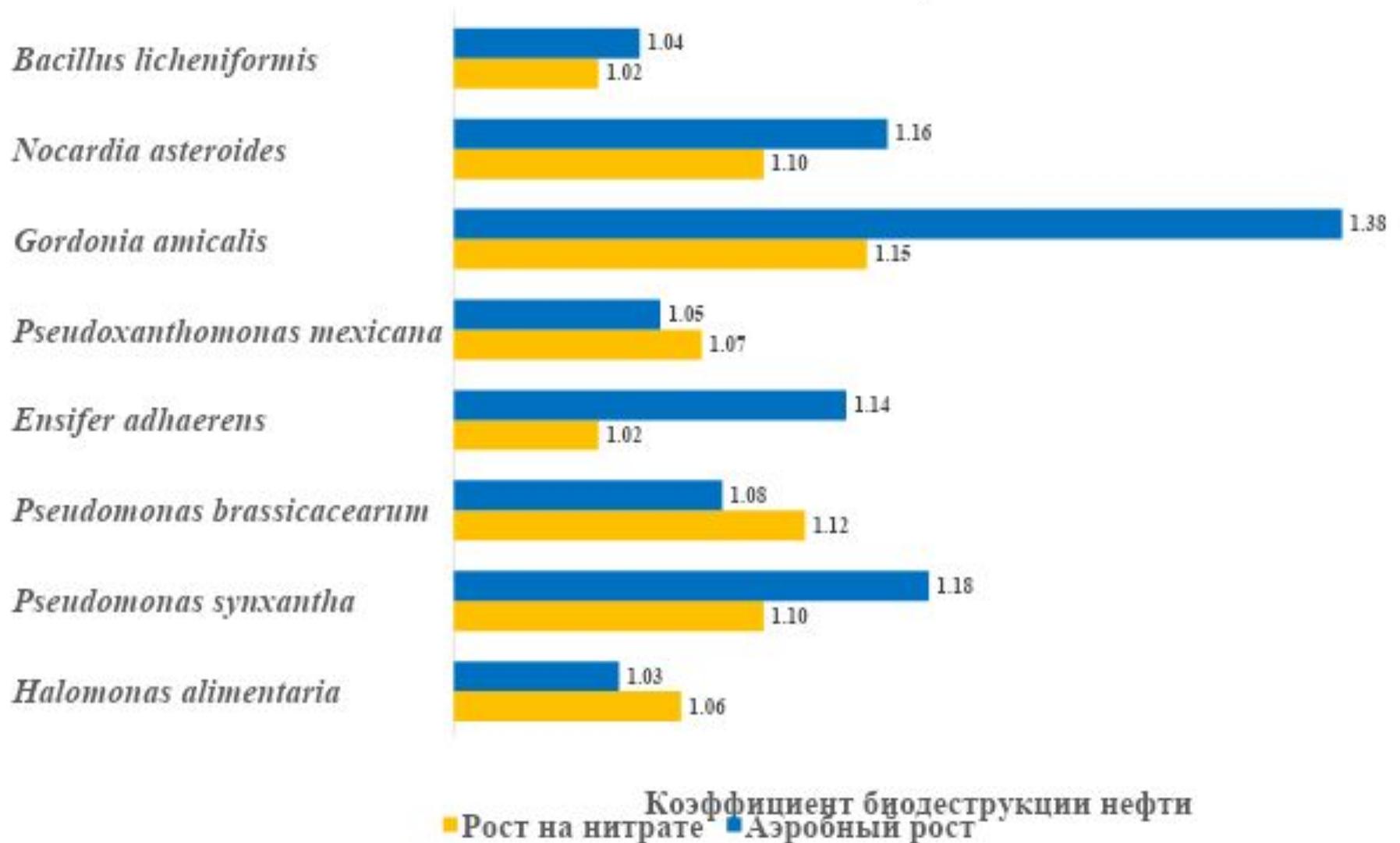


Чистые культуры денитрифицирующих бактерий

| Штамм | Ближайший вид | Сходство генов 16S рРНК, % | Скважина |
|--------|-----------------------------------|----------------------------|--------------|
| НО-А7 | <i>Bacillus licheniformis</i> | 99.3 | 245Д (доб.) |
| НО-А12 | <i>Nocardia asteroides</i> | 99.3 | 5600 (нагн.) |
| НО-А13 | <i>Gordonia amicalis</i> | 100.0 | 5600 (нагн.) |
| НО-А21 | <i>Pseudoxanthomonas mexicana</i> | 99.6 | 5600 (нагн.) |
| НО-А22 | <i>Ensifer adhaerens</i> | 98.4 | 5600 (нагн.) |
| НО-А23 | <i>Pseudomonas brassicacearum</i> | 99.4 | 1010 (нагн.) |
| НО-А24 | <i>Pseudomonas synxantha</i> | 98.4 | 1010 (нагн.) |
| НО-А25 | <i>Halomonas alimentaria</i> | 97.5 | 5452 (доб.) |

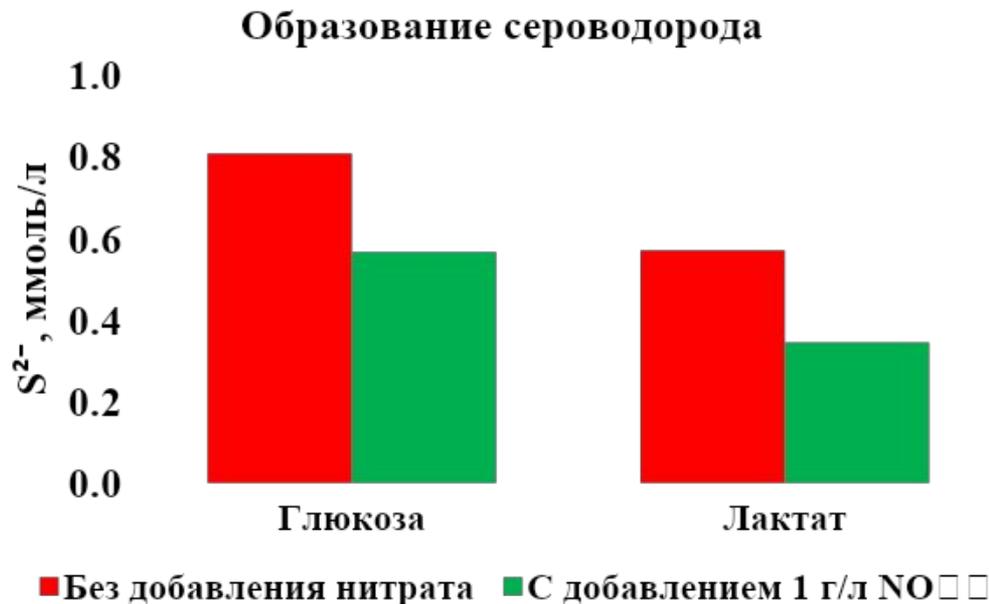
Рост чистых культур денитрифицирующих бактерий на нефти

Использование *n*-алканов нефти



Подавление роста сульфатредуцирующих бактерий продуктами денитрификации

- Пробы нагнетаемой воды высевали на селективную среду для сульфатредуцирующих бактерий и измеряли количество образующегося сероводорода.
- В контрольном варианте нитраты отсутствовали, в опытный вариант вносили 1 г/л нитрат-иона.



- Культивировали 7 суток
- Количество сероводорода по сравнению с контролем уменьшалось на 30%

Выводы

- Показано присутствие в нагнетаемых и пластовых водах нефтяных месторождений Республики Татарстан денитрифицирующих бактерий, способных использовать *n*-алканы нефти, и образовывать биосурфактанты, снижающие межфазное натяжение среды, что может способствовать дополнительному извлечению нефти из пласта.
- Рост денитрифицирующих микробных сообществ на сырой нефти и ряде органических субстратов сопровождается восстановлением нитратов до нитритов, что свидетельствует о возможности их активации в пласте для подавления роста сульфатредуцирующих прокариот.
- Выделены 8 штаммов денитрифицирующих бактерий, способных использовать *n*-алканы нефти в аэробных условиях и анаэробно в присутствии нитратов.
- Стимуляция денитрифицирующих бактерий сопровождается снижением образования сероводорода и может использоваться в биотехнологии для предотвращения коррозии нефтепромыслового оборудования и улучшения качества добываемой нефти.

Спасибо за внимание!

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 16-14-00028).