

УДК 579.695

А.Ш. Насыбуллина¹, e-mail: nasybullina.a.sh@neftpx.ru; А.Н. Москалева¹, e-mail: moskaleva.a.n@neftpx.ru;Д.Р. Фазулина¹, e-mail: dilyara.fazullin@mail.ru; А.Я. Муромцев², e-mail: AYMuromtsev@rosneft.ru¹ АО «Научно-исследовательский институт по нефтепромысловый химии» (АО «НИИнефтепромхим») (Казань, Республика Татарстан, Россия).² ООО «РН-Уватнефтегаз» (Тюмень, Россия).

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАРАЖЕННОСТИ ПОДТОВАРНОЙ ВОДЫ С ЦПС ТЯМКИНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ ООО «РН-УВАТНЕФТЕГАЗ» И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ БАКТЕРИЦИДА СНПХ-1517А

Заводнение нефтяных пластов с использованием пресной воды приводит к появлению коррозионно-агрессивной микрофлоры. В статье представлены результаты исследований по изучению микрофлоры подтоварной воды Тямкинского месторождения ООО «РН-Уватнефтегаз». Выявлены пять видов микроорганизмов: сульфатвосстанавливающие, углеводородокисляющие, денитрифицирующие, тионовые и бродильные. Для каждого вида бактерий подсчитаны индекс активности и количество микроорганизмов. На планктонных и адгезированных формах сульфатвосстанавливающих бактерий определены эффективные дозировки бактерицида СНПХ-1517А.

Ключевые слова: сульфатвосстанавливающие бактерии, тионовые бактерии, бродильные бактерии, денитрифицирующие бактерии, углеводородокисляющие бактерии, бактерицидная эффективность.

В настоящее время на большинстве нефтяных месторождений в системе поддержания пластового давления (ППД) применяется вода. Для снижения рисков заражения нефтяных продуктивных пластов микроорганизмами целесообразно использовать пластовую и/или подтоварную воду. Но по многим причинам ее зачастую не хватает, и тогда постоянно или периодически производят подкачку пресной воды из открытых водоемов. Это не только изменяет минеральный состав закачиваемой в систему ППД воды, но и приводит к появлению нежелательной микрофлоры.

Жизнедеятельностью микробных сообществ, которые формируются в условиях нефтяного месторожде-

ния, может быть обусловлена значительная часть коррозионных повреждений нефтепромыслового оборудования и коммуникаций. К отрицательным последствиям жизнедеятельности бактерий относятся также бактериальная закупорка и снижение проницаемости пород. Наиболее интенсивное функционирование микробных сообществ наблюдается в системе подготовки и утилизации воды – отстойники, резервуары, трубопроводы системы поддержания пластового давления, а также в радиусе 3–5 м призабойной зоны пласта нагнетательных скважин [1]. Оптимальными условиями для развития микробных сообществ являются невысокая минерализа-

ция (плотность минерализованной воды не выше 1100 г/дм³), температура 30–40 °С, рН = 6–8, наличие в воде органических и неорганических веществ, которые являются питательными субстратами для микроорганизмов.

Если рост бактерий не регулируется, практически на всех поверхностях системы сбора и подготовки нефти начинается процесс формирования биопленок. Это связано со способностью микроорганизмов выделять полисахариды, характеризующиеся высокой степенью адгезии к металлической поверхности, что обуславливает способность бактерий закрепляться на поверхности и образовывать сообщества. Рост адгезированных (при-

крепленных к поверхности) клеток происходит гораздо быстрее, чем планктонных (свободноплавающих). Слой полисахаридной слизи способствует адгезии как бактерий, так и питательных веществ, а также защищает от внешнего воздействия, в том числе химического. Образование биопленок успешнее всего происходит в застойных зонах резервуаров, нижних направляющих водоводах, т. е. там, где скорость движения жидкости минимальна.

В пределах биопленки создаются благоприятные условия для развития анаэробных бактерий, в частности сульфатвосстанавливающих (СВБ), в процессе жизнедеятельности продуцирующих сероводород, который значительно увеличивает скорость коррозии металлического оборудования [2].

Установлено, что деятельность бактерий, осуществляющих превращение серы (сульфатвосстанавливающих и тионовых), является причиной снижения pH добываемой продукции и, следовательно, увеличения ее коррозионной агрессивности. СВБ восстанавливают серу и ее окисленные соединения до сероводорода (анаэробный процесс), а тионовые бактерии (ТБ) окисляют соединения серы до серной кислоты (аэробный процесс). Процесс закисления среды может идти до $\text{pH} = 2$. Присутствие денитрифицирующих бактерий (ДНБ) приводит к восстановлению нитратов до нитритов и далее до молекулярного азота, что, в свою очередь, также является причиной снижения pH среды и увеличения скорости коррозии металла.

Развитию СВБ предшествует формирование биоценоза углеводородокисляющих и бродильных бактерий. Углеводородокисляющие бактерии (УОБ) относятся к аэробным, они используют растворенный в воде кислород для окисления углеводородов нефти и попутного газа до продуктов неполного окисления (спиртов, альдегидов и кислот), которые далее в анаэробных



Рис. 1. Флаконы с СВБ

условиях биопленок потребляются сульфатвосстанавливающими бактериями. Бродильные бактерии (ББ) также в анаэробных условиях в процессе своей жизнедеятельности продуцируют вещества, являющиеся питательными для СВБ [3]. В данной работе приведены результаты лабораторных исследований по оценке бактериальной зараженности подтоварной воды с центрального пункта сбора нефти (ЦПС) Тямкинского месторождения ООО «РН-Уватнефтегаз». В исследуемой воде определяли наличие пяти физиологических групп бактерий: сульфатвосстанавливающих, углеводородокисляющих, тионовых, денитрифицирующих и бродильных.

Для обнаружения и культивирования указанных микроорганизмов из подтоварной воды с ЦПС Тямкин-

ского месторождения были использованы селективные питательные среды, при приготовлении которых учитывались биологические особенности каждой конкретной группы бактерий:

- среда Постгейта В – для сульфатвосстанавливающих бактерий;
- среда Раймонда – для углеводородокисляющих бактерий;
- среда Бейеринка – для тионовых бактерий;
- среда Гильтая – для денитрифицирующих бактерий;
- среда Емцева – для бродильных бактерий.

Данные селективные среды содержат все необходимые для размножения микроорганизмов вещества в легкоусвояемой форме, имеют оптимальную вязкость и pH.

Для микробиологических исследований в лабораторных усло-

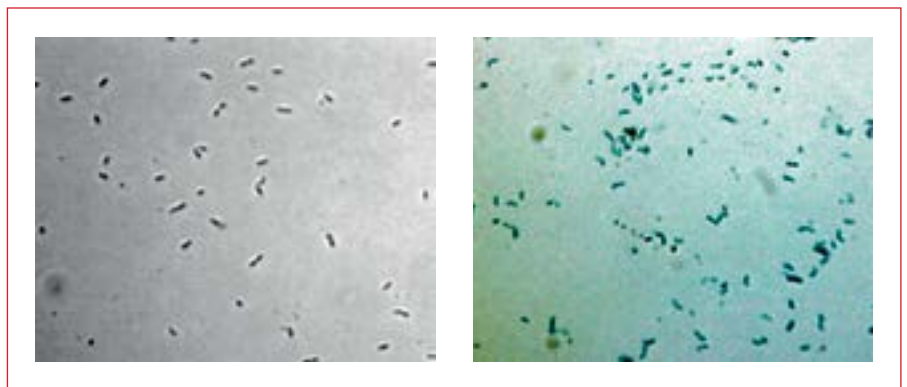


Рис. 2. Фото СВБ, полученное методом микроскопирования



Рис. 3. Флаконы с УОБ

виях пробу подтоварной воды с ЦПС Тямкинского месторождения высевали в питательную среду и инкубировали при температуре 30–35 °С в течение 15 сут. Микроскопические исследования выполняли на микроскопе «Микромед-3» с увеличением 1000 крат.

ПРИСУТСТВИЕ СВБ УСТАНОВЛИВАЛИ ПО РАЗВИТИЮ ПРОЦЕССА СУЛЬФАТРЕДУКЦИИ В ЗАРАЖЕННОЙ СРЕДЕ.

Критерием зараженности СВБ является появление черного осадка сульфида железа, образовавшегося в результате взаимодействия

сероводорода (продукта жизнедеятельности СВБ) с ионами двухвалентного железа, содержащегося в питательной среде (рис. 1).

На рис. 2 представлена фотография сульфатвосстанавливающих бактерий, полученная методом микроскопирования.

ПРИСУТСТВИЕ УОБ В ИССЛЕДУЕМОЙ ВОДЕ ОПРЕДЕЛЯЛИ ПО СЛЕДУЮЩИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ:

- помутнение среды в посевах флаконах (образование равномерной неоседаемой мути, которое вызывается накоплением бакте-

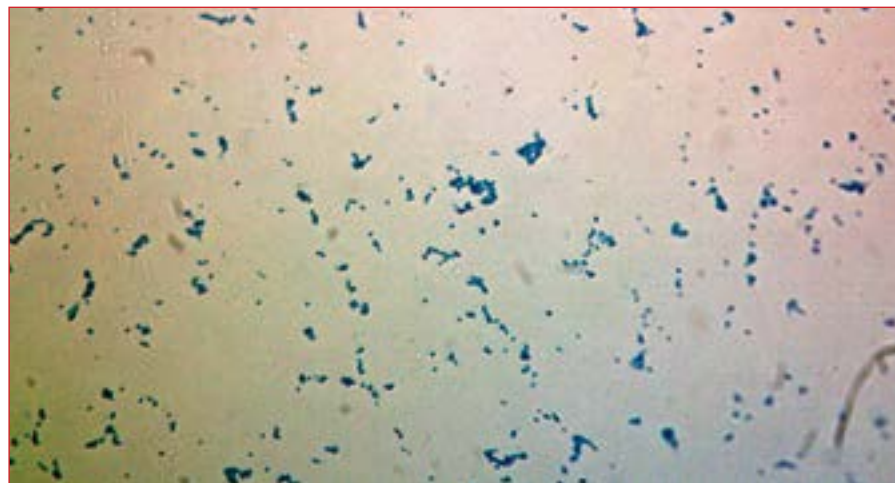


Рис. 4. Фото УОБ, полученное методом микроскопирования

риальных клеток во всем объеме питательной среды (рис. 3);

- наличие живых форм УОБ методом микроскопирования (рис. 4);
- степень деградации нефти.

ПРИСУТСТВИЕ ТИОНОВЫХ БАКТЕРИЙ, ОКИСЛЯЮЩИХ СОЕДИНЕНИЯ СЕРЫ ДО СЕРНОЙ КИСЛОТЫ В ИССЛЕДУЕМЫХ ВОДАХ, ОТМЕЧАЛИ ПО СЛЕДУЮЩИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ:

- помутнение питательной среды в посевах флаконах, которое вызывается накоплением бактериальных клеток, взвешенных во всем объеме питательной среды;
- наличие живых форм тионовых бактерий методом микроскопирования.

ПРИСУТСТВИЕ ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ИССЛЕДУЕМОЙ СРЕДЕ ОПРЕДЕЛЯЛИ ПО СЛЕДУЮЩИМ ПРИЗНАКАМ:

- помутнение питательной среды и изменение цвета от зеленой окраски до голубой в посевах флаконах (рис. 5);
- наличие газов (CO_2 и NO_2);
- наличие живых форм ДНБ (методом микроскопирования) (рис. 6).

ПРИСУТСТВИЕ БРОДИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ ОТМЕЧАЛИ ПО ФАКТОРАМ:

- помутнение питательной среды в посевах флаконах;
- наличие живых форм бродильных бактерий (методом микроскопирования) (рис. 7);
- наличие газов (CO_2).

Для подсчета бактерий были использованы два способа количественной оценки наличия бактерий: ориентировочный и уточненный. Ориентировочная оценка определения – по индексу активности, уточненная – методом предельных разведений.

ИНДЕКС АКТИВНОСТИ ОПРЕДЕЛЯЛИ ПО ПРИЗНАКАМ:

- для сульфатвосстанавливающих бактерий – по скорости образова-

Расчет индекса активности и количества микроорганизмов в подтоварной воде с ЦПС Тямкинского месторождения ООО «РН-Уватнефтегаз»

Исследуемые бактерии	Индекс активности, ед.	Количество микроорганизмов, кл/см ³
СВБ	33	10 ⁴
ТБ	25	10 ²
УОБ	25	10 ²
ДНБ	25	10 ²
ББ	25	10 ²

ния сульфида железа в посевной склянке;

- для тионовых, углеводородокисляющих, бродильных и денитрифицирующих бактерий – по скорости образования бактериальной мути. При образовании сульфида железа или бактериальной мути в посевном флаконе за 1 сут индекс активности принимали за 100 ед., за 2 сут – 50 ед. и т. д. Расчет индекса активности производили по формуле:

$$J = \frac{100}{a},$$

где а – время (сут) появления черного осадка, бактериальной мути или изменения цвета среды с момента посева пробы.

При отсутствии осадка сульфида железа, бактериальной мути, изменения цвета среды в посевной склянке за время инкубации свыше 15 сут считали, что изучаемые бактерии в подтоварной воде с ЦПС Тямкинского месторождения ООО «РН-Уватнефтегаз» отсутствуют.

Для разведения и посева отбирали 1 мл анализируемой воды стерильным шприцем и вводили в склянку с питательной средой. Содержимое перемешивали и новым стерильным шприцем отбирали из этой склянки 1 мл пробы и вводили в следующую склянку с питательной средой – разведение 1:10. Таким же образом готовили и последующие разведения: 1:100, 1:1000, 1:10000 и т. д. После посева все склянки инкубировали при температуре 32 °С и наблюдали в течение 15 сут. В таблице представлены результаты по расчету индекса активности и количества микроорганизмов различных видов бактерий.

Учитывая, что среди микроорганизмов, инициирующих процессы коррозии в нефтепромысловых средах, доминирующая роль принадлежит сульфатвосстанавливающим бактериям, была проведена оценка эффективности разработанного в АО «НИИнефтепромхим» бактерицида СНПХ-1517А, направленного на подавление жизнедеятельности СВБ, гибель которых приведет к нарушению биоценоза всех видов бактерий и, следовательно, к снижению их отрицательного воздействия.

Испытания проводили на планктонных и адгезированных формах СВБ.

В ходе оценки эффективности в отношении планктонных форм СВБ бактерицид СНПХ-1517А был испытан в диапазоне дозировок 50–300 г/м³. При проведении испытаний в маркированные флаконы наливали по 10 мл стерилизованной модели подтоварной воды

и по 1,0 мл накопительной культуры СВБ. Во флаконы добавляли биоцид в заданной дозировке и выдерживали при комнатной температуре 24 ч, после чего из них отбирали по 1 мл жидкости и вводили во флаконы с питательной средой Постгейта В. Флаконы на 14 сут помещали в инкубатор с температурой 34 °С. О прорастании или отсутствии бактерий судили по появлению черного осадка сульфида железа.

В результате исследований выявлено, что бактерицид СНПХ-1517А подавляет развитие планктонных форм СВБ в дозировке 175 г/м³.

Для оценки бактерицидной эффективности реагентов относительно адгезированных форм СВБ подготовленные металлические образцы с площадью поверхности 2 см² помещали в пенициллиновые флаконы с питательной средой Постгейта В, вносили двухсуточную культуру СВБ в количестве



Рис. 5. Флаконы с ДНБ

10 % от объема среды, закрывали герметично пробкой и помещали в термостат при температуре 32–34 °С на 7 сут для формирования биопленки. По истечении этого времени в маркированные стерильные флаконы заливали определенный объем стерилизованной модели подтоварной воды и вводили дозированное количество испытуемого реагента. Образцы со сформировавшейся на них биопленкой стерильным пинцетом помещали во флаконы с реагентом и герметично закрывали резиновой пробкой. Пробы выдерживали при комнатной температуре 24 ч.

Выдержанные в реагенте образцы с адгезированными клетками вносили во флаконы с питательной средой Постгейта В и инкубировали в термостате 14 сут при температуре 32–34 °С.

О росте и развитии СВБ судили по образованию черного осадка сульфида железа во флаконе. Отсутствие черного осадка свидетельствует о полном подавлении роста адгезированных СВБ. Образец, не бывший в контакте с реагентом, служил для контроля роста бактерий.

В результате исследований выявлено полное подавление развития адгезированных форм СВБ при дозировке бактерицида СНПХ-1517А – 600 г/м³.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРОВЕДЕННЫХ ИСПЫТАНИЙ БЫЛИ ОПРЕДЕЛЕНА ДВЕ ЭФФЕКТИВНЫЕ ДОЗИРОВКИ БАКТЕРИЦИДА СНПХ-1517А:

- для подавления планктонных форм концентрация СВБ = 175 г/м³;
 - для подавления адгезированных форм концентрация СВБ = 600 г/м³.
- Значительное превышение дозировки для подавления адгезированных форм бактерий связано с

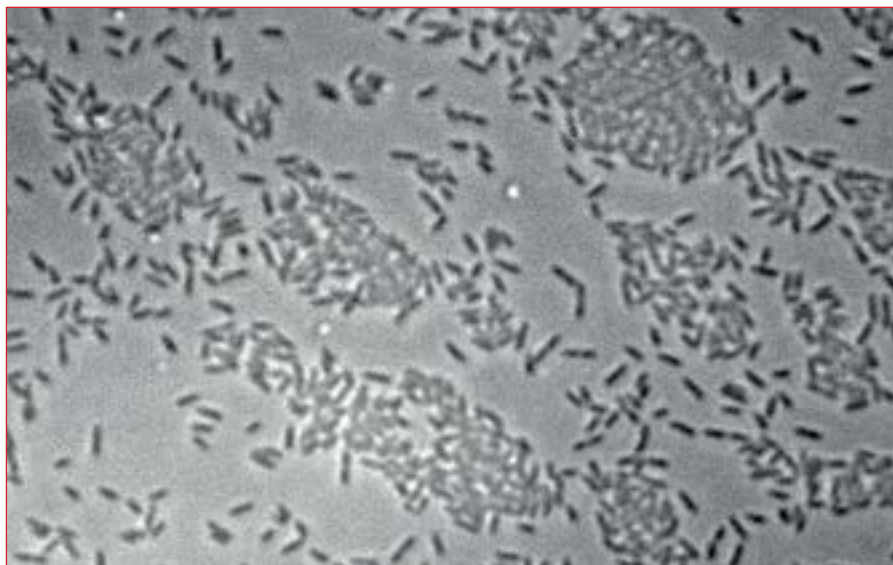


Рис. 6. Фото ДНБ, полученное методом микроскопирования

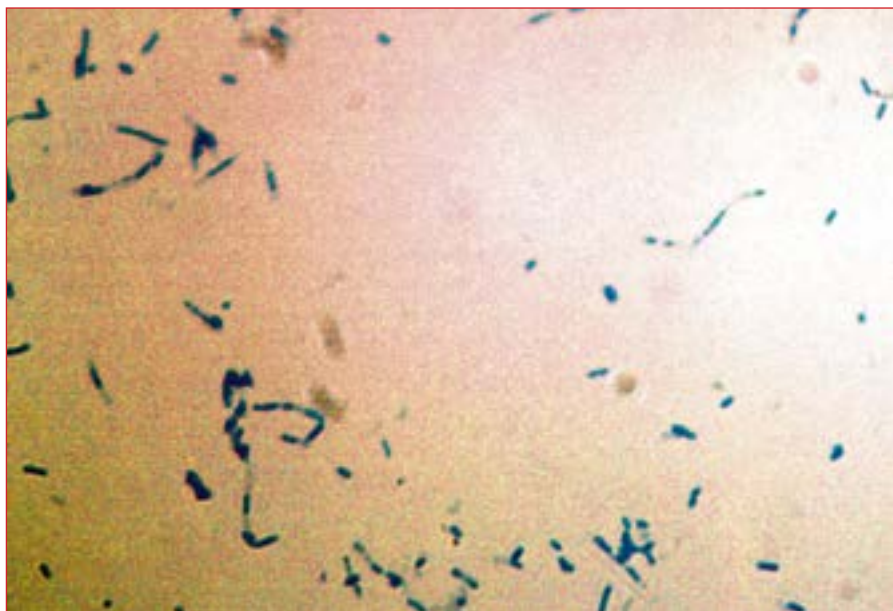


Рис. 7. Фото ББ, полученное методом микроскопирования

наличием биопленки, защищающей бактерии от влияния негативных внешних факторов.

Таким образом, в результате проведенного анализа микробиологической зараженности подтоварной воды с центрального пункта сбора нефти Тямкинского месторождения ООО «РН-Уватнефтегаз» выявлены

пять видов бактерий: сульфатовосстанавливающие, тионовые, углеводородокисляющие, денитрифицирующие, бродильные. Наиболее активными из них являются СВБ. Кроме того, определены эффективные дозировки бактерицида СНПХ-1517А относительно планктонных и адгезированных форм СВБ.

Литература:

1. Каменщиков Ф.А., Черных Н.Л. Борьба с сульфатовосстанавливающими бактериями на нефтяных месторождениях. М. – Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2007.
2. Андreyuk E.И., Билай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и ее возбудители. Киев: Наукова думка, 1980.
3. Розанова Е.П., Кузнецов С.И. Микрофлора нефтяных месторождений. М.: Наука, 1974.