

МРНТИ 34.27.19

**Кайырманова Г.К.<sup>1</sup>, Ерназарова А.К.<sup>2</sup>, Тапешова Ш.Ж.<sup>3</sup>,  
Дарменкулова Ж.Б.<sup>4</sup>, Магмияев Р.Б.<sup>5</sup>, Жубанова А.А.<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>e-mail: kaiyrm@mail.ru

<sup>2</sup>e-mail: aliya.yernazarova@gmail.com

<sup>3</sup>e-mail: tapeshova@bk.ru

<sup>4</sup>НИИ проблем экологии, e-mail: darmenkulova-1993@mail.ru

<sup>5</sup>НИИ проблем экологии, e-mail: ratbek@hotmail.com

<sup>6</sup>e-mail: azhar\_1941@mail.ru

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

## **БИОРАЗНООБРАЗИЕ ТЕРМОФИЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ НЕФТЕПЛАСТОВЫХ ВОД МЕСТОРОЖДЕНИЯ «АКИНГЕН»**

В статье дана количественная и качественная микробиологическая характеристики нефте пластовых вод месторождения «Акинген». Целью настоящей работы является изучение биоразнообразия термофильной микрофлоры пластовых вод. Микроорганизмы нефте пластовых вод, адаптированные к экстремальным условиям нефте пластов, являются перспективными объектами для разработки микробиологических методов увеличения нефтеотдачи пластов, основанных на способности микроорганизмов вытеснять нефть. В работе использованы традиционные микробиологические методы изучения микроорганизмов. В ходе исследований выделены 14 аэробных и анаэробных термофильных культур микроорганизмов и идентифицированы до родовой принадлежности, так 12 культур микроорганизмов отнесены к р. *Pseudomonas* (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7), 1 как представитель р. *Bacillus* (D8) и 1 – к сульфатредуцирующим микроорганизмам (D9). Установлено, что аэробные микроорганизмы данных нефте пластовых вод доминируют над анаэробными микроорганизмами и составляют  $96,1 \times 10^8$  КОЕ/мл, тогда как количество анаэробных микроорганизмов –  $14 \times 10^3$  КОЕ/мл. Выявлено, что в нефте пластовых водах содержатся следующие группы микроорганизмов: псевдомонады, бациллы и сульфатредуцирующие микроорганизмы. Показано, что нефте пластовая вода месторождения «Акинген» имеет показатель pH, равный 6,34. Выделенные микроорганизмы требуют дальнейшего изучения целевых свойств для разработки биотехнологических способов повышения нефтеотдачи пластов.

**Ключевые слова:** месторождение «Акинген», нефте пластовая вода, термофилы, «нефтеотрицательные» микроорганизмы, культуральные свойства.

Kaiyrmanova G.K.<sup>1</sup>, Yernazarova A.K.<sup>2</sup>, Tapeshova Sh.Zh.<sup>3</sup>,  
Darmenkulova Zh.B.<sup>4</sup>, Magmiyev R.B.<sup>5</sup>, Zhubanova A.A.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>e-mail: kaiyrm@mail.ru

<sup>2</sup>e-mail: aliya.yernazarova@gmail.com

<sup>3</sup>e-mail: tapeshova@bk.ru

<sup>4</sup>Scientific Research Institute of Ecology Problems, e-mail: darmenkulova-1993@mail.ru

<sup>5</sup>Scientific Research Institute of Ecology Problems, e-mail: ratbek@hotmail.com

<sup>6</sup>e-mail: azhar\_1941@mail.ru

Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

### **Biodiversity of thermophilic microflora of oil-bearing waters of the Akingen field**

The article provides the quantitative and qualitative microbiological characteristics of the reservoir waters of the Akingen deposit. The purpose of this work is to study the biodiversity of thermophilic microflora of formation waters. Microorganisms of petroleum waters, adapted to the extreme condi-

tions of petroleum plasters, are promising targets for the development of microbiological methods of enhanced oil recovery based on the ability of microorganisms to displace oil. The work used traditional microbiological methods for the study of microorganisms. During the study, 14 aerobic and anaerobic thermophilic cultures of microorganisms with related affiliation were identified and identified; therefore, 12 cultures of microorganisms were classified as Pseudomonas (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7), 1 as a representative of the genus Bacillus (D8) and 1 – sulfate-reducing microorganisms (D9). It has been established that aerobic microorganisms of these reservoir waters dominate over anaerobic microorganisms and constitute  $96.1 \times 10^8$  CFU/ml, whereas the number of anaerobic microorganisms is  $14 \times 10^3$  CFU/ml. It was revealed that the following groups of microorganisms are contained in petroleum waters: pseudomonads, bacilli, and sulphate-reducing microorganisms. It was shown that the oil in the Akingen field has a pH of 6.34. Isolated microorganisms require further study of target properties for the development of biotechnological methods of enhanced oil recovery.

**Key words:** "Akingen" deposits, oil-bearing water, thermophiles, "oil-negative" microorganisms, cultural properties.

Қайырманова Г.К.<sup>1</sup>, Ерназарова А.К.<sup>2</sup>, Тапешова Ш.Ж.<sup>3</sup>,  
Дарменқұлова Ж.Б.<sup>4</sup>, Магмияев Р.Б.<sup>5</sup>, Жұбанова А.А.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>e-mail: kaiyrm@mail.ru

<sup>2</sup>e-mail: aliya.yernazarova@gmail.com

<sup>3</sup>e-mail: tapeshova@bk.ru

<sup>4</sup>Scientific Research Institute of Ecology Problems, e-mail: darmenkulova-1993@mail.ru

<sup>5</sup>Scientific Research Institute of Ecology Problems, e-mail: ratbek@hotmail.com

<sup>6</sup>e-mail: azhar\_1941@mail.ru

Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

### «Ақінген» мұнай кенорны пласт суларының термофильді микрофлорасының биоалуантурлілігі

Мақалада «Ақінген» мұнай кен орны пласт суларының микробиологиялық сандық және сапалық сипаттамалары берілген. Жұмыстың мақсаты мұнай пласт суларының термофильді микрофлорасының биоалуантурлілігін зерттеу. Пласт суларының экстремальды жағдайларында бейімделген мұнай пласт микроорганизмдері, пласттардан мұнай шығаруды жоғарылатуда микробиологиялық әдістерді өндеуде, микроорганизмдер мұнай шығару негізінде перспективалық объект болып табылады. Жұмыста микроорганизмдерді зерттеудің дәстүрлі микробиологиялық әдістері қолданылды. Зерттеу барысында 14 дақыл аэробты және анаэробты термофильді микроорганизмдері бөлініп алынды және туыска дейін идентификацияланды. 12 дақыл микроорганизмдері Pseudomonas туысына (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7), Bacillus туысына 1 өкіл (D8) және 1 – сульфатредуцирлеуші микроорганизмдеріне жататындығы анықталынды. Бұл мұнай пласт суларында аэробты микроорганизмдер анаэробты микроорганизмдерден басым және  $96,1 \times 10^8$  КТБ/мл болса, анаэробты микроорганизмдер саны  $14 \times 10^3$  КТБ/мл құрайды. Мұнай пласт суларында келесідей микроорганизмдер тобы: псевдомонадтар, бациллалар және сульфатредуцирлеуші микроорганизмдер анықталынды. «Ақінген» мұнай кен орны пласт сүйнің pH көрсеткіші 6,34 болатындығы көрсетілген. Бөлініп алынған микроорганизмдер пласттардан мұнай шығаруды жоғарылатуда биотехнологиялық әдістерін жетілдруде мақсатты зерттеуді одан өрі талап етеді.

**Түйін сөздер:** мұнай кенорны «Ақінген», мұнай пласт сүи, термофильдер, «мұнай теріс» микроорганизмдер, дақылдық қасиеттері.

## Введение

В настоящее время большинство крупных месторождений Казахстана находится на поздней стадии разработки, характеризующейся значительной обводненностью продукции превышающей 80 %. Вместе с тем, большинство месторождений относятся к категории трудно извлекаемых запасов, вследствие сложного геологического строения, низкой проницаемости пластов и повышенной вязкости нефти [1]. Увеличение конечного коэффициента извлечения

нефти только на 1 % сможет обеспечить значительный прирост ежегодной добычи. Поэтому особое значение приобретает возможность прироста запасов нефти за счет внедрения и увеличения новых современных методов нефтедобычи, в частности, методов увеличения нефтеотдачи с применением микроорганизмов [2]. Известно, что микроорганизмы пласта производят газы, кислоты, поверхностно-активные вещества, которые улучшают подвижность нефти [3]. Для разработки микробиологических методов увеличения нефтеотдачи исполь-

зуются представители следующих родов микроорганизмов: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Rhodococcus*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Xanthomonas*, *Alcaligenes*, *Nocardia*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Klebsiella*, *Micrococcus*. [4].

Основные факторы, влияющие на жизнедеятельность микроорганизмов пластовых вод – температура, осмотическое давление (концентрация солей), содержание кислорода и pH окружающей среды [5].

Известно, что продуктивные запасы нефтепластов месторождений Казахстана залегают на глубине 450-3900 м. В связи с наличием потока тепла от ядра Земли к поверхности с глубиной залегания возрастает и температура пластов. Пластовая температура – это температура, под которой находится жидкость или газ, насыщающие породы пласта. Для характеристики пластовой температуры пользуются понятием геометрическая ступень, которая равна 33-34 м глубины и сопровождается повышением температуры на 1°C после каждой геотермической ступени [6].

На месторождении «Акинген» глубина залегания продуктивных горизонтов 660-682 м до 927 м, начальное пластовое давление 6,2 – 12,8 Мпа, температура 40-48° С, с минерализацией пластовых вод – 127,1-162,5 г/л. Таким образом, микроорганизмы разрабатываемых нефтепластовых вод относятся к термофильным микроорганизмам, адаптированным к экстремальным условиям давления и высокой концентрации минеральных веществ. Известно, что термофильные бактерии растут при температуре минимум не ниже 35 – 40° С, выше 42° С, оптимум 55 – 75° С [7]. Облигатные термофилы не растут уже при 37° С, но факультативные формы способны развиваться при 30 – 35° С и даже при более низкой температуре [8].

*Пластовые воды нефтяных месторождений* – это неотъемлемая составная часть продукции добывающих скважин, которая обуславливает значительную долю осложнений при добыче и подготовке нефти на промыслах и представляют собой сложные многокомпонентные системы, состоящие из нефти, сопутствующих вод и закачиваемых технических вод [9].

Известно, что в нефтяных пластах широко распространены аэробные и анаэробные микроорганизмы разных физиологических групп, некоторые из которых не только не теряют жизнеспособности, но и остаются активными в пластовых условиях [10]. Распределение бакте-

рий между пластовой водой и нефтью в значительной степени зависит от их физиологических свойств. Так, Хейер и Шварц выделяют микроорганизмы по их отношению к нефти на две группы. Первая группа «нефтеположительные микроорганизмы», они способны переходить из водной среды в безводную углеводородсодержащую среду и размножаться в ней. К этой группе авторы относят представителей родов *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter* и объясняют указанную способность наличием у них оболочки, содержащей полярные структуры, обогащенные свободными и связанными липидами. Благодаря этому бактерии обладают способностью развиваться в каплях нефти. Ко второй группе относят «нефтеотрицательные микроорганизмы», не переходящие из водной среды при ее контакте с нефтью и окисляющие углеводороды с поверхности. К этой группе отнесены представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Desulfovibrio* [11].

Микроорганизмы нефтяного пласта обладают большим биотехнологическим потенциалом как микроорганизмы, адаптированные к экстремальным условиям нефтепластов и являются перспективными объектами для разработки биотехнологий для микробиологических методов увеличения нефтеотдачи пластов, основанные на способности микроорганизмов образовывать в процессе жизнедеятельности различные метаболиты, способствующие вытеснению нефти из вмещающих пород [12].

Целью настоящего исследования явилось изучение биоразнообразия термофильной микрофлоры нефтепластовых вод нефтяного месторождения «Акинген», расположенного в Атырауской области Западного Казахстана.

## Материалы и методы исследования

В качестве исследуемого материала использовался образец нефтепластовой воды, отобранный весной 2018 г. с действующей скважины нефтяного месторождения «Акинген» Западного Казахстана.

Нефтяное месторождение «Акинген» расположено в Атырауской области Западного Казахстана, в 40 км от г. Кульсары. Месторождение открыто в 1980 году, разработка началась 1 сентября 1992 года, на данное время находится в стадии поздней разработки. Глубина залегания продуктивных горизонтов 660-682 м, 927 м,

начальное пластовое давление 6,2 – 12,8 Мпа, температура 40-48° С, плотность нефти 842-905 кг/м<sup>3</sup>, нефти малосернистые (0,15-0,28 %), малопарафинистые – 0,88 %. Пластовые воды относятся к хлоркальциевому типу, плотностью 1078-1105 кг/м<sup>3</sup> и минерализацией 127,1-162,5 г/л [13].

В работе использовались традиционные микробиологические методы исследования микроорганизмов: определение содержание микроорганизмов (метода Кюхса), культивирование в аэробных и анаэробных условиях, морфо-культуральные свойства микроорганизмов (подвижность, спорообразование методом Пешкова, определение клеточной стенки бактерий – окраска по Граму, экспресс-метод). В качестве питательных сред использовались универсальная среда *Meat Infusion Agar* (МПА) и элективные среды для определения различных физиологических групп микроорганизмов [14]. Для выделения энтеробактерий -*Endo Agar, Eijkman Lactose Broth*, для рода *Bacillus- Bacillus Agar Base*, для представителей р. *Pseudomonas- Pseudomonas Isolation Agar*, для рода *Rhodococcus – Actinomycete Isolation Agar* и для клоstrидий – *Reinforced Clostridial Agar*. Питательные среды стерилизовались при 1 атм. 40 мин [15]. Аэробные и анаэробные микроорганизмы культивировались в различных условиях: аэробы – в стационарных условиях на МПА при температуре 42° С в течение 24-48 часов; анаэробы – в контейнере для анаэробного культивирования на 24 чашек Петри (*HiAnaeroBag System*) [16]. Бактериологическая чистота выделенных культур бактерий проверялась методом 3-сегментного посева истощающего штриха [17]. Микроскопическое изучение проведено на световом бинокулярном микроскопе MOTIC B1-220A (Испания) [18]. Идентификацию микроорганизмов проводили

на основании изучения морфологических, тинкториальных и культуральных свойств в соответствии с Определителем бактерий Берджи [19]. Измерение pH среды проводилось потенциометрическим методом на приборе pH-метр C931P [20].

Экспериментальные исследования выполнены на базе акредитованной лаборатории НИИ Проблем Экологии по направлению микробиологические исследования (ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009)

## Результаты исследований и их обсуждение

Основные виды микроорганизмов, используемых в биотехнологиях увеличения нефтеподачи пластов, условно подразделяются на 4 типа: УВОБ – углеводородокисляющие бактерии (аэробы); ББ – бродильные бактерии (аэробы и анаэробы); МОБ – метанобразующие бактерии (анаэробы); СВБ – сульфатвосстанавливающие бактерии (аэробы) [21]. Кислотность среды, в которой обитают микроорганизмы, оказывает на них большое влияние. Это один из наиболее важных факторов, от которых зависит рост и размножение микроорганизмов, так как он определяет доступность для организма различных веществ и неорганических ионов [22]. Для большинства микроорганизмов оптимальное значение pH – около 7. Очень кислая или очень щелочная реакция среды является лимитирующим фактором роста для микроорганизмов [23].

В связи с чем, в исследуемом образце нефтепластовой воды месторождения «Акинген» определен показатель pH и проведена общая визуальная характеристика. В таблице 1 представлена общая характеристика исследуемой нефтепластовой воды месторождения «Акинген».

**Таблица 1 – Характеристика нефтепластовой воды месторождения «Акинген»**

№	Проба	Визуальная характеристика	pH
1	Нефтепластовая вода	Двухфазная жидкость, верхний тонкий (1мм) слой – нефть, коричневого цвета, нижняя – вода	6,34±0,31

Как видно, из табличных данных, показатель pH исследуемой нефтепластовой воды равен 6,34±0,31, что относится к слабокислой, ближе к нейтральной среде (pH=4,0-6,5) [24]. Известно, что для высокоминерализованных пластовых

вод показатель pH изменяется от 6-8, так, нефтепластовые воды месторождений: «Жетыбай» – 6,7 (Казахстан) [25], Арланское – 6,5 (Россия) [26]. Водородный показатель pH характеризует активность ионов водорода, многие виды бакте-

рий растут в относительно узком интервале pH, а большинство из них – при значениях pH, близких к 7 [27].

Далее было проведено количественное и качественное микробиологическое исследование нефтепластовых вод месторождений «Акинген» определено содержание термофильных аэробных и анаэробных микроорганизмов при температуре 42 °С.

В таблице 2 представлены результаты изучения содержание термофильных аэробных и анаэробных микроорганизмов нефтепластовых вод месторождений «Акинген».

В ходе изучения общего количества термофильных микроорганизмов нефтепластовых вод месторождений «Акинген» выявлено, что общее количество аэробных и анаэробных микроорганизмов (ОМЧ) составило  $96,1 \times 10^8$  КОЕ/мл и  $14 \times 10^3$  КОЕ/мл, соответственно. В процессах превращения веществ (кругово-

рот) экологическое значение имеют только те микроорганизмы, которые многочисленны и проявляют активную жизнедеятельность [28]. Для бактерий в качестве условного критерия численности принята величина не менее 1 млн. на 1 г субстрата, т.е. только при такой численности они могут иметь существенное экологическое значение [29]. Изучение общего количества клеток аэробных и анаэробных микроорганизмов нефтепластовых вод месторождения «Акинген» четко показывает, что аэробные микроорганизмы ( $96,1 \times 10^8$  КОЕ/мл) этой экосистемы имеют существенное экологическое значение для данной экосистемы, т.е. многочисленны (превышают 1 млн. на 1 мл субстрата) и проявляют активную жизнедеятельность. Известно, в разрабатываемых нефтяных пластах анаэробные процессы протекают медленно, более существенна аэробно-анаэробная трансформация нефти [30].

**Таблица 2** – Содержание термофильных аэробных и анаэробных микроорганизмов нефтепластовых вод месторождений «Акинген», КОЕ/мл

№	Проба	Содержание микроорганизмов, КОЕ/мл	
		Аэроны	Анаэроны
1	Нефтепластовые воды	$96,1 \times 10^8 \pm 4,1 \times 10^8$	$14 \times 10^3 \pm 0,6 \times 10^3$

Распределение углеводородокисляющих микроорганизмов, разных таксонов между водой и нефтью зависит от их особенностей, так, в силу различной степени гидрофобности клеточных стенок «нефтеотрицательные микроорганизмы», обладая более гидрофильной клеточной стенкой приурочены в основном к водной фазе, т.е. развитие микроорганизмов в пласте происходит в зоне водонефтяного контакта, где водная фаза соприкасается с углеводородным субстратом.

Далее, для образца нефтепластовой воды проведены исследования на наличие представителей следующих родов микроорганизмов: *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* и сульфатредуцирующих микроорганизмов. Следует отметить, что физиологическая группа микроорганизмов – это объединение микроорганизмов в одну группу по одному физиологическому признаку, но они могут иметь различное происхождение [31]. В таблице 3 представлены результаты качественной микробиологической характеристики нефтепластовых вод.

Как видно, из табличных данных, в исследуемый пробе в аэробных и анаэробных условиях определены представители следующих «нефтеотрицательных» групп микроорганизмов: *Pseudomonas*, *Bacillus* и сульфатредуцирующих микроорганизмов. Максимальное количество микроорганизмов представлены псевдомонадами ( $10 \times 10^6$  КОЕ/мл), значительно меньше содержание клеток *Bacillus* ( $1,3 \times 10^1$  КОЕ/мл) и сульфатредуцирующих микроорганизмов ( $1,9 \times 10^1$  КОЕ/мл). Известно, что в разрабатываемых нефтяных пластах присутствуют аллохтонные бактерии, поступающие с нагнетаемой водой и аборигенная микрофлора [32]. В нашем случае, присутствие в большом количестве аэробных псевдомонад показывает об активном газообмене пластов с поверхностью.

В результате проведенных исследований нефтепластовой воды месторождения «Акинген» выделены, даны названия и изучены морфологические, тинкториальные и культуральные свойства 14-и культур микроорганизмов (таблица 4).

**Таблица 3** – Качественная микробиологическая характеристика нефтепластовых вод месторождений «Акинген», КОЕ/мл

№	Физиологические группы микроорганизмов	Содержание термофильных микроорганизмов, КОЕ/мл
1	<i>Rhodococcus</i>	Не выявлены
2	<i>Pseudomonas</i>	$10 \times 10^6 \pm$
3	<i>Bacillus</i>	$1,3 \times 10^1 \pm$
4	<i>Enterobacter</i>	Не выявлены
5	Сульфатредуцирующие микроорганизмы	$1,9 \times 10^1 \pm$
6	<i>Clostridium</i>	Не выявлены

**Таблица 4** – Морфо-культуральное изучение микрофлоры нефтепластовой воды месторождения «Акинген»

№	Название микроорганизмов	Условия культивирования, t 42 °C	Форма и соединение клеток	Окраска по Граму	Грам Экспресс	Подвижность	Спорообразование	Выделение пигмента в среду
1	T1	аэробы	моно-, диплобактерии	Г-	Г-	+	-	сине-зеленый
2	T2	аэробы	монобактерии	Г-	Г-	+	-	зеленый
3	T3	аэробы	моно-, диплобактерии	Г-	Г-	+	-	зеленый
4	T4	аэробы	моно-, диплобактерии	Г-	Г-	+	-	зеленый
5	T5	аэробы	моно-, диплобактерии	Г-	Г-	+	-	Зеленый
6	T6	аэробы	моно-, диплобактерии	Г-	Г-	+	-	Зеленый
7	D1	аэробы	монобактерии	Г-	Г-	+	-	-
8	D2	аэробы	монобактерии	Г-	Г-	+	-	-
9	D4	аэробы	диплобактерии	Г-	Г-	+	-	-
10	D5	аэробы	диплобактерии	Г-	Г-	+	-	Зеленый
11	D6	аэробы	монобактерии	Г-	Г-	+	-	Зеленый
12	D7	аэробы	монобактерии	Г-	Г-	+	-	-
13	D8	анаэробы	моно-, диплобактерии	Г+	Г+	+	+	-
14	D9	анаэробы	моно-, диплобактерии	Г+	Г+	+	-	-

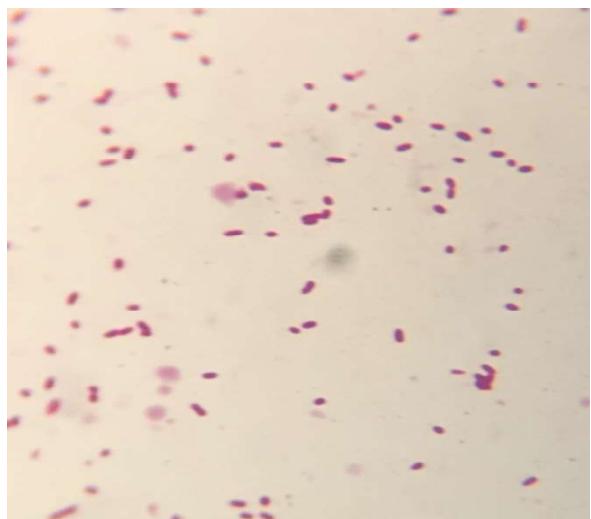
**Примечание:** «+»- признак присутствует, «-»-признак отсутствует,  
«Г+» – Грамположительный; «Г-» – Грамотрицательный

Как видно, из 14-и термофильных культур микроорганизмов, выделенных из нефтепластовых вод месторождения «Акинген»: 12 культур – грамотрицательные бактерии, выделенные в аэробных (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7) и 2 – грамположительные культуры в строгих анаэробных условиях (D8, D9). Клетки всех культур подвижны, споры не образуют, кроме клеток культуры D8.

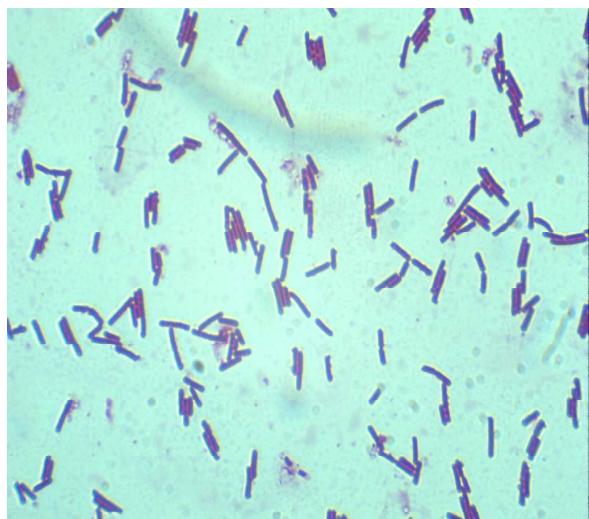
Микроскопическое изучение клеточного строения культур показало, что все культуры бактерий представлены моно- и диплобактериями. На рисунке 1 показаны микрофотографии

клеток культур Т6 и D8, как видно, клетки культуры Т6 представлены, в основном, одиночными редко попарно расположеными грамотрицательными палочками, тогда как, клеточное строение D8 представлено грамположительными, в большинстве, дипло- реже монобактериями.

Следует отметить, что характерной особенностью 8-и из 14-и культур при культивировании на различных средах (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D5, D6) является выделение в среду флуоресцирующих сине-зеленых и зеленых пигментов (Рис. 2).



T6 ( $\Gamma^-$ )



D8 ( $\Gamma^+$ )

Рисунок 1 – T6 ( $\Gamma^-$ ) грамотрицательные и D8 ( $\Gamma^+$ ) грамположительные микроорганизмы нефтепластовых вод

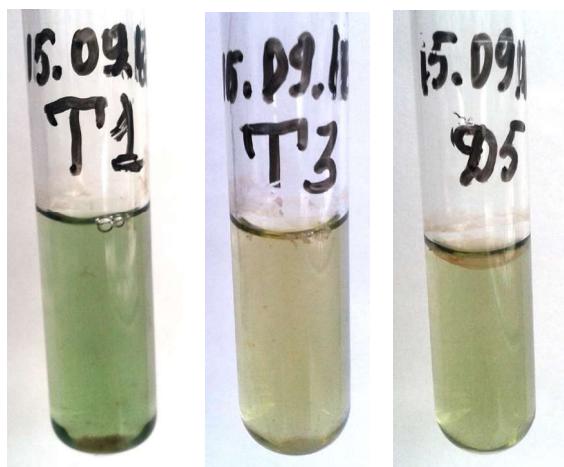


Рисунок 2 – Рост микроорганизмов (T1, T3, D5) в жидкой среде МПБ и образование пигментов

Известно, что клетки *P.aeruginosa* могут продуцировать водорастворимые пигменты, в том числе, такие как сине-зеленый (пиоцианин) и флюoresцин (пиовердин) зеленого цвета [33].

Таким образом, результаты изучения основных морфолого-культуральных признаков 14-и микроорганизмов, выделенных из нефтепластовых вод месторождения «Акинген», позволили нам идентифицировать их до родовой принадлежности, так, 12 культур микроорганизмов отнесены к р. *Pseudomonas* (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7), 1 как представитель р. *Bacillus* (D8) и 1 – к сульфатредуцирующим микроорганизмам (D9).

## Заключение

В результате проведенных микробиологических исследований нефтепластовых вод производственной скважины нефтяного месторождения «Акинген», расположенного в Атырауской области Западного Казахстана сделаны следующие выводы:

Показано, что нефтепластовые воды действующей скважины месторождения «Акинген» имеют слабокислый ближе к нейтральному показатель pH равный  $6,34 \pm 0,31$  единиц;

Выявлено, что в нефтепластовых водах содержатся следующие «нефтеотрицательные» группы микроорганизмов: псевдомонады, бациллы и сульфатредуцирующие микроорганизмы;

Выделены 14 термофильных культур микроорганизмов;

Результаты изучения основных морфолого-культуральных признаков 14-и микроорганизмов, выделенных из нефтепластовых вод, позволили нам идентифицировать их до родовой принадлежности, так, 12 культур микроорганизмов отнесены к р. *Pseudomonas* (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D2, D4, D5, D6, D7), 1 как представитель р. *Bacillus* (D8) и 1 – к сульфатредуцирующим микроорганизмам (D9).

Данные культуры требуют дальнейшего изучения как перспективные объекты для разработки микробиологических методов повышения нефтеотдачи разработанных нефтепластов.

### Литература

- 1 Кан С.М., Берстенов С.В. К технологии извлечения лития из пластовых вод месторождений нефти и газа южного Мангышлака // Вестник Национальной Академии Наук.– 2017. – Т. 5. – С. 149-155
- 2 Беляев С.С., Борзенков И.А., Назина Т.Н., Розанова Е.П., Ибатуллин Р.Р. Использование микроорганизмов в биотехнологии повышения нефтеизвлечения // Микробиология. – 2004. – Т. 73 (№5). – С. 687-697
- 3 Назина Т.Н., Павлова Н.К., Татаркин Ю.В., Шестакова Н.М., Бабич Т.Л. Микроорганизмы карбонатной нефтяной залежи 302 Ромашкинского месторождения и их биотехнологической потенциал // Микробиология. 2013. Т. 82, №2. с 191-202.
- 4 Nilsen R.K., Beeder J., Thorstenson T., Torsvik T., Distribution of thermophilic marine sulfate reducers in North Sea oil field water and oil reservoirs // Appl. and Environ. Microbiol. – 1996. – Vol. 62. – P. 1793-1798.
- 5 Odam J.M. The sulfate-reducing bacteria: contemporary Perspectives. – Springer-Verlag: New-York Inc., 1993. – Vol. 16. – 290 p.
- 6 Ягудеев Р.Ш. Опытно-промышленное испытание новой расширяющейся добавки// Новости науки Казахстана, – 2009. – Т. 2. – С. 33-87.
- 7 Beggar, I., Petrisor I.G., Yen T. E. Microbial enhanced oil recovery (MEOR). Oil Science and Technology. – 2007. – Т. 25. – P.1353-1366
- 8 Yim K.J., Song H.S., Choi J.C., Roh S.W. Thermoproteus thermophiles sp.nov., a hyperthermophilic crenarchaeon isolated from solfataric soil // Int.J. Syst. Evol. Microbiol. – 2015. – Vol. 65. – P.2507-2510
- 9 Ismaylov N. M. Mamedyarov M.A. Experience in the development and implementation of ecology biotechnology for enhanced oil recovery in Azerbaijan // Petromicrobiology -2010 All-union Congress, China, July, 28-30, Dalian.
- 10 Francy D.S. Thomas J.M., Raymond R.L., Ward C.H. Emulsification of hydrocarbons by subsurface bacteria // J. Ind. Microbiol. – 1991. – Vol. 8. – P. 237-246.
- 11 Nazina T. N., Sokolova D. S., Grigoryan A. A. et al., Geobacillus jurassicus sp. nov., a new thermophilic bacterium isolated from a high-temperature petroleum reservoir, and the validation of the Geobacillusspecies // Systematic and Applied Microbiology.– 2005. – Vol. 28. – P. 43-53.
- 12 Havemann G.D., Clement B.G., Kozicki K.M., Meling T., Beeder J., Sunde E. New Microbial Method Shows Promise in EOR // JPT – 2015. – March. – P. 32-35.
- 13 Нефтяная энциклопедия Казахстана, Алматы – 2005. С. 237
- 14 Muslimov R., Kandaurova G., Wagner M. et al. Microbial Improved Oil Recovery in Carbonate Reservoirs – Preparation of Pilot Project in the Oil Field Romashkino, Republic of Tatarstan (CIS) / -Proc. of VII European Symposium on Enhanced Oil Recovery. -Moscow, – 1993. – P. 496-506.
- 15 Venkata R. K., Chaiyulu N.C., Karanth N.I. Mathematical Model for the Production of Bio-surfactants by Pseudomonas aeruginosa CFTR-6: Production of Biomass // J. of Chemical Technology and Biotechnology. -1991. -Vol. 51. -№ 4. – P. 525-538.
- 16 Watanabe Y. Review on microbial ecology in the deep subterranean environment // Quart. Abstr. / Cent. Res. Inst. Elec. Power Ind. – 1997. –Vol. 77. –P. 11-12.
- 17 Практикум по микробиологии / Под ред. А.И. Нетрусов – М.: Академия, 2005. -603с.
- 18 Соколова Д.Ш., Бабич Т.Л. Образование поверхностно-активных веществ аэробными бактериями, выделенными из нефтяных пластов // Актуальные аспекты современной микробиологии: VIII молодежная школа-конференция с международным участием, Инс-т микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, 29-31 окт. 2012 г.: тезисы. – М.: МАКСПресс, 2012. С.160-163.
- 19 Определитель бактерий Берджи: в 2 томах / под.ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. – 9е издание. – М.: Мир, 1997. – 652 с.78.
- 20 Tanner R.S., Undegunam E.O., Mcnemey M.J., Knapp RM. Microbially Enhanced Oil Recovery from Carbonate Reservoirs / Geomicrobiology J., 1991. – Vol. 9. – №4. – p.69-195.
- 21 Киреева Н.А. Микробиологические процессы в нефте-загрязнённых почвах. Дисс. д-ра.биол.наук /. Башкирский гос. ун-т. Уфа, 1996. – 329 с. 72-93.
- 22 Pelger J.W. Microbial Enhanced Oil Recovery Treatment and Wellbore Stimulation Using Microorganisms to Control Paraffin, Emulsion, Corrosion and Scale Formation / Microbial Enhanc. Oil Recov. -Recent Adv.: Proc. Int. Conf., Norman., Okla., 1990. – Amsterdam, 1991. – p. 451-466.
- 23 Коронелли Т.В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводородов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология .-1996- Т.32, № 6- С.579-585.
- 24 Bryant R.S. et al. Microbial Enhanced Waterflooding: Mink Unit Project / SPE Reservoir Engineering.- 1990, 2. -Vol.5. – №1. – P. 9-13
- 25 Кайырманова Г.К., Мустапаева Ж.О., Ерназарова А.К., Амангаликызы А. Эколо- – функциональные свойства аборигенных микроорганизмов нефтепластов // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal) Biologia-2016. – Vol. 7. – P. 145-149.
- 26 Еремин Н. А., Золотухин А.В., Назарова Л.К., Черников О. А., Выбор метода воздействия на нефтяную залежь / Под ред. Мищенко ИТ. -Учебн. Пособие. – М.: ГАНГ, 1995-190 с. 83-91 стр.
- 27 Cusack F., Lappin-Scott H.M., Costerton J.W. Bacteria Can Plug Waterflood injection wells / Oil and Gas J., 1987. – № 45. – p. 59-64.

- 28 Мамедьянов М.А., Исмаилов Н.М. Разработка и применение микробиологических методов повышения нефтеотдачи в Азербайджане // Нефтегазовые технологии. – 2011. – Т.11. – С. 23-27.
- 29 Громов Б. В. Экология бактерий. Л.: Изд-во ЛГУ, 1989 – 246 стр. с.47-49
- 30 Милехина Е.И., Борзенков И.А., Звягинцева И.С. Свойства углеводородокисляющей бактерии *Rhodococcus erythropolis*, изолированной из нефтяного месторождения // Микробиология. – 1998. – Т.67. – №3. – С. 328-332.
- 31 Боронин П.А., Севастьянов А.А., Тюменский Государственный Нефтегазовый университет, Использование модели дикстра и парсона для оценки эффективности волнового воздействия на пласт. – М.: Изд-во «Нефть и газ», 2014. – С. 34-36.
- 32 Chang Hong Gao Abdulrazag Zekri, Khaled El-Tarabily. Microbes enhance oil recovery through various mechanisms // Oil and Gas Journal. – 2009. – № 17.– Р.39-43.
- 33 Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. под ред. Широбокова В.П; Винница, 2015. – с.83

#### References

- 1 Beggar I., Petrisor I.G., Yen T.E. (2007) Microbial enhanced oil recovery (MEOR). Oil Science and Technology, vol 25, pp. 1353-1366
- 2 Beliaev S.S., Borzenkov I.A., Nazina T.N., Rozanova E.P., Ibatullin R.R (2004). Ispolzovanie mikroorganizmov v biotekhnologii povysheniia nefteizvlechenii [The use of microorganisms in biotechnology to improve oil recovery] // Mikrobiologiya. vol. 73, no.5, pp. 687-697
- 3 Boronin P. A., Sevastianov A. A. (2014) Using model Dykstra and Parsons to assess the efficiency of wave stimulation [Ispolzovanie modeli dikstra i parsonsa dlia osenky effectivnosti volnovogo vozdeistvia na plast]. Izd-vo «Neft i gas», pp. 34 – 36.
- 4 Bryant R.S (1990) et al. Microbial Enhanced Water flooding: Mink Unit Project / SPE Reservoir Engineering, Vol.5, no 1. – pp. 9-13
- 5 Chang Hong Gao Abdulrazag Zekri, Khaled El-Tarabily. (2009). Microbes enhance oil recovery through various mechanisms // Oil and Gas Journal. vol. 17 – August. – pp.39-43.
- 6 Cusack F., Lappin-Scott H.M., Costerton J.W. (1987) Bacteria Can Plug Water flood injection wells / Oil and Gas J. vol. 45. pp. 59-64.
- 7 Edited by Shirobokov V.P. (2015) Medical Microbiology, Virology and Immunology [Pod redaktsiei Shirobokova V.P. Meditsinskaia mikrobiologija, virusologija i immunologija] Vinnitsa: 856 p.83
- 8 Eremin N. A., Zolotukhin A.V., Nazarova L.K., Chernikov O. A., (1995) Vybor metoda vozdeistviia na neftianuiu zalezh [The choice of method of influence on the oil reservoir] / Pod red. Mishchenko IT. -Uchebn. Posobie. – M.: GANG, p 190. pp. 83-91
- 9 Francy D.S. Thomas J.M., Raymond R.L., Ward C.H. (1991) Emulsification of hydrocarbons by subsurface bacteria // J. Ind. Microbiol. vol 8, pp. 237-246.
- 10 Gromov B. V. (1989) Ekologija bakterii.[ Bacteria Ecology] L.: Izd-vo LGU, 246 .pp. 47-49
- 11 Havemann G.D., Clement B.G., Kozicki K.M., Meling T., Beeder J., Sunde E. (2015) New Microbial Method Shows Promise in EOR // JPT March. vol 5, pp. 32-35.
- 12 Jagudeev R.Sh. (2009) Opytno-promyshlennoe ispytanie novoi rasshiriaiushchiesia dobavki [Pilot test of new expanding additive] // Novosti nauki Kazakhstana, vol 2, pp 33-87.
- 13 Ismaylov N. M., Mamedyarov M.A. (2010) Experience in the development and implementation of ecology biotechnology for enhanced oil recovery in Azerbaijan // Petromicrobiology All-union Congress, China, July, 28-30, Dalian
- 14 Kan S.M., Berstenov S.V. (2017) K tekhnologii izvlechenie litia iz plastovykh vod mestorozhdenii nefti i gaza iuzhnogo Mangyshlaka [To technology extraction of lithium from the reservoir waters of oil and gas fields of the southern Mangyshlak] // Vestnik Natsionalnoi Akademii Nauk. vol.5. pp. 149-155
- 15 Kayyrmanova GK, Mustapaeva ZH.O., Yernazarova AK, Amankaligzy A. (2016) Ecological – functional properties of aboriginal microorganisms of petroleum plastics [Ekologo – funktsionalnye svoistva aborigennykh mikroorganizmov nefteplastov] // Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal) Biologia-Vol.7. pp 145-149.
- 16 Kireeva H.A. (1996) Mikrobiologicheskie protsessy v nefte-zagiaznennykh pochvakh [Microbiological processes in oil-polluted soils] Diss. d-ra.biol.nauk / Bashkirskii gos. un-t. Ufa. 329. p 72-93
- 17 Koronelli T.V. (1996) Printsipy i metody intensifikatsii biologicheskogo razrusheniia uglevodorodov v okruzhaiushchei srede (obzor) [Principles and methods of intensifying the biological destruction of hydrocarbons in the environment] // Prikladnaia biokhimia i mikrobiologija—vol 32, no 6, pp.579-585.
- 18 Mamedianov M.A., Ismailov N.M. (2011) Razrabotka i primenie mikrobiologicheskikh metodov povysheniia nefteotdachi v Azerbaidzhane [The development and application of microbiological methods of enhanced oil recovery in Azerbaijan] // Neftegazovye tekhnologii – vol.11, pp. 23-27
- 19 Milekhina E.I., Borzenkov I.A., Zviagintseva I.S. (1998) Svoistva uglevodorodokislaiushchei bakterii *Rhodococcus erythropolis*, izolirovannoi iz neftianogo mestorozhdenii [Properties of the hydrocarbon-oxidizing bacterium *Rhodococcus erythropolis* isolated from an oil field] // Mikrobiologija. – Vol.67, no 3. pp. 328-332.
- 20 Muslimov R., Kandaurova G., Wagner M. (1993) et ai. Microbial Improved Oil Recovery in Carbonate Reservoirs – Preparation of Pilot Project in the Oil Field Romashkino, Republic of Tatarstan (CIS) / -Proc. of VII European Symposium on Enhanced Oil Recovery. -Moscow. -pp. 496-506.
- 21 Nazina T. N., Sokolova D. S., Grigoryan A. A. (2005) “*Geobacillus jurassicus* sp. nov., a new thermophilic bacterium isolated from a high temperature petroleum reservoir, and the validation of the *Geobacillus* species. Systematic and Applied Microbiology, vol. 28, pp. 43-53.

- 22 Nazina T.N., Pavlova N.K., Tatarkin Iu.V., Shestakova N.M., Babich T.L.(2013) Mikroorganizmy karbonatnoi neftianoi zalezhi 302 Romashkinskogo mestorozhdeniya i ikh biotekhnologicheskoi potentsial [Microorganisms of carbonate oil deposits of the 302 Romashkinskoye field and their biotechnological potential] // Mikrobiologiya. vol 82, no 2, pp.191-202
- 23 Neftianaia entsiklopediiia Kazakhstana, (2005). Almaty, p. 237
- 24 Nilsen R.K., Beeder J., Thorstenson T., Torsvik T., (1996) Distribution of thermophilic marine sulfate reducers in North Sea oil field water and oil reservoirs // Appl. and Environ. Microbiology. vol 5, pp. 1793-1798.
- 25 Odam J.M. (1993) The sulfate – reducing bacteria: contemporary Perspectives. – Springer- Verlag: New-York Inc., vol. 16, p.290
- 26 Opredelitel bakterii Berdzhi: v 2 tomakh [Detector bacteria Burgi] / pod.red. Dzh. Khoulta, N. Kriga, P. Snita i dr. (1997) 9e izdanie. – M.: Mir,-652 p.78.
- 27 Pelger J.W. (1991) Microbial Enhanced Oil Recovery Treatment and Wellbore Stimulation Using Microorganisms to Control Paraffin, Emulsion, Corrosion and Scale Formation / Microbial Enhanc. Oil Recov. -Recent Adv.: Proc. Int. Conf., Norman., Okla.,-Amsterdam., -p. 451-466.
- 28 Praktikum po mikrobiologii (2005) / Pod red.A.I. Netrusov – M.: Akademiiia, P.603
- 29 Sokolova D.Sh., Babich T.L. (2012) Obrazovanie poverkhnostno-aktivnykh veshchestv aerobnymi bakteriami, vydelenymi iz neftiannykh plastov [The formation of surfactants by aerobic bacteria isolated from oil reservoirs] // Aktualnye aspekty sovremennoi mikrobiologii: VIII molodeznaia shkola- konferentsiiia s mezhdunarodnym uchastiem, Inst. mikrobiologii im. S.N. Vinogradskogo RAN, Moskva, 29-31 okt. : tezisy- M.: MAKSPress, pp.160-163.
- 30 Tanner R.S., Undegunam E.O., McInemey M.J., Knapp RM. (1991) Microbially Enhanced Oil Recovery from Carbonate Reservoirs / Geomicrobiology J. -Vol. 9, no 4, pp.69-195.
- 31 Venkata R. K., Chaiyulu N.C., Karanth N.I. (1991) Mathematical Model for the Production of Bio-surfactants by Pseudomonas aeruginosa CFTR-6: Production of Biomass // J. of Chemical Technology and Biotechnology,. -Vol. 51, no 4, pp. 525-538.
- 32 Watanabe Y. (1997) Review on microbial ecology in the deep subterranean environment // Quart. Abstr. / Cent. Res. Inst. Elec. Power Ind. – No 77. – P. 11-12.
- 33 Yim K.J., Song H.S., Choi J.C., Roh S.W. (2015) Thermoproteus thermophiles sp.nov., a hyperthermophilic crenarchaeon isolated from sulfataric soil // Int. J. Syst. Evol. Microbiol.– vol.65, pp. 2507-2510