

Министерство образования и науки Российской Федерации  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ  
МИКРООРГАНИЗМОВ В ОБЕССЕРИВАНИИ НЕФТИ**

АВТОРЕФЕРАТ

Студента 4 курса 421 группы  
Направления 06.03.01 Биология  
Биологического факультета  
Терскова Андрея Витальевича

Научный руководитель

доцент, канд.биол.наук, доцент \_\_\_\_\_ О.Ю. Ксенофонтова

Зав. кафедрой

профессор, д-р биол.наук, профессор \_\_\_\_\_ С.А. Степанов

Саратов 2017

## Введение

**Актуальность темы.** Высокая сернистость российской нефти является одной из основных причин снижения конкурентоспособности, а вследствие и стоимости по сравнению с легкими арабскими сортами, которые составляют значительную конкуренцию российской нефти на биржах.

Сера, представленная в нефтях и нефтепродуктах различными сераорганическими соединениями, обуславливает целый ряд отрицательных явлений, наблюдаемых при добыче и переработке сернистых нефтей.

Многие страны эффективно перерабатывают нефть и повышают её качество, убирая все примеси, включая серу. Качественные нефтепродукты имеют настолько высокую цену, что это во многом покрывает расходы на переработку. Так, до настоящего времени наша нефтеперерабатывающая промышленность не располагает процессом обессеривания нефтей, хотя, имея такой процесс, можно было бы фундаментально решить вопрос о получении из высокосернистых высокосмолистых нефтей качественных мазутов и других нефтепродуктов.

Существуют физические и химические методы очистки нефти от примесей серы (экстракционный метод, щелочная очистка), но в основном такие методы требуют много времени и большого количества реагентов, что отрицательно сказывается на качестве нефти. Наиболее целесообразней использовать микроорганизмы, использующие серу и ее соединения в своем метаболизме.

Для многих микроорганизмов сера и ее соединения являются донорами и акцепторами электронов. Такие бактерии как тионовые, фотосинтезирующие зеленые и пурпурные, сульфатредуцирующие участвуют в круговороте серы и могут быть использованы в процессах обессеривания нефти.

Среди известных штаммов микроорганизмов, отобранных в процессе поисков, есть перспективные культуры, которые можно использовать в промышленном масштабе по очистке нефти от серы. Существуют патенты,

использующие аэробные микроорганизмы, но аэробное бактериальное окисление, используемое в известных способах, требует подачи в систему кислорода, который сам по себе окисляет нефть, т. е. разрушает ее. В некоторых методах для удаления из углеводородов серы предлагалось использовать аэробные бактерии, например бактерии родов *Bacillus*, *Achromobacter*, не являющиеся специфичными серобактериями. У данных бактерий и у подобных им бактерий удаление серы из молекул углеводородов является побочным процессом в разрушении (окислении) углеводородов и происходит вместе с данным разрушением. Поэтому целесообразней использовать факультативно - анаэробные бактерии. Преимущества анаэробного бактериального обессеривания углеводородов в том, что оно, в отличие от аэробного бактериального обессеривания, протекает без полного разрушения углеводородов до простых неорганических соединений и, соответственно, без полного разрушения нефти (или ее части).

Анализ имеющихся литературных источников по обессериванию нефти показал, что данная тема мало изучена и требует более расширенного исследования.

**Цель и задачи исследования.** Целью данной работы являлось поиск и выделение факультативно-анаэробных бактерий, способных снижать концентрацию серы в нефти.

Для выполнения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Выделить факультативно-анаэробные сульфатредуцирующие бактерии.
2. Изучить жизнеспособность сульфатредуцирующих бактерий в сырой нефти и отобрать устойчивые штаммы.
3. Изучить способность полученных штаммов использовать нефть в качестве единственного источника углерода.
4. Получить чистые культуры, определить их биологические свойства с целью идентификации.

5. Определить количество серы до и после внесения микроорганизмов в нефть.

**Материал и методы исследования.** Выделение сульфатредуцирующих бактерий производили из субстратов, предположительно содержащих сульфатредуцирующие микроорганизмы: донный ил пруда Андреевский, буровой шлам и нефть из скважины, глубиной 2,5 км (15 Альпийская, Самарская область). Поиск сульфатредуцирующих микроорганизмов производили на железосодержащем сульфитном агаре. Положительным результатом считалось рост черных колоний в глубине агара вследствие образования сульфида железа в процессе восстановления сульфата.

В дальнейшей работе мы осуществляли получение накопительной культуры сульфатредуцирующих бактерий, способных расти в сырой нефти. Для этого мы производили посев суточной культуры в количестве 1 мл взвеси, приготовленной по стандарту мутности на 5 ед. в колбы с 50 мл неразбавленной нефтью и культивировали при 28 градусов в течение 10 дней с последующим высевом на ЖСА. Полученные культуры использовали в дальнейшей работе.

Так как для обессеривания нефти целесообразней использовать бактерии, не способные к разложению углеводов, то на следующем этапе мы изучили возможность использования нефти микроорганизмами. Изучение проводили на среде М9 с добавлением нефти, как единственного источника углерода и ТТХ, для обнаружения дегидрогеназной активности. Контролем служила среда м9 с ТТХ с добавлением 1% углевода в качестве доступного источника углерода. Положительным результатом служило образование красных колоний на агаре вследствие восстановления ТТХ дегидрогеназой.

Идентификацию выделенных культур проводили на основании морфолого-культурально-биохимических тестов.

Для завершающего исследования мы приготовили 3 мл взвеси чистой культуры микроорганизмов по стандарту мутности (5ед.) и 100 мл неразбавленной нефти разлитой в 2 колбы по 50 мл. В первую колбу мы поместили 1 мл взвеси, вторую оставили без изменений, так как она являлась контролем. Колбу с нефтью и микроорганизмами культивировали в течение 14 дней в термостате.

Количественное определение серы в нефти определяли в лаборатории нефтехимии института химии СНИГУ им. Н.Г. Чернышевского с помощью установки для сжигания серы в трубке.

### **Основное содержание работы**

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о микроорганизмах, участвующих в круговороте серы. Была описана их характеристика, среда обитания и выделение.

В главе «Результаты исследования» представлены экспериментально полученные данные о снижении концентрации серы в нефти.

В ходе проведенных экспериментов и анализа результатов посевов из исследуемых субстратов были выделены сульфатредуцирующие микроорганизмы только из донного ила. Содержание их составило  $10^3$  КОЕ/мл. В нефти и буровом шламе сульфатредуцирующие микроорганизмы отсутствовали.

Выделенные культуры высевали в неразбавленную нефть для получения накопительной культуры устойчивых штаммов к нефти. В результате нескольких пассажей культуры в нефти в течение 10 суток были получены устойчивые штаммы сульфатредуцирующих бактерий.

Так как для обессеривания нефти целесообразней использовать микроорганизмы, не способные к разложению углеводов, то на следующем этапе мы провели отбор штаммов, не способных использовать углеводороды нефти.

Для дальнейшей работы был отобран только один штамм сульфатредуцирующих бактерий, способный к росту в сырой нефти и не

способный к деградации самой нефти, а, следовательно, может быть использован для обессеривания нефти.

Выделенные сульфатредуцирующие бактерии представляют собой Г-одиночные палочки, которые в аэробных условиях используют кислород, а в анаэробных переходят к сульфатному дыханию. Диаметр клеток 0,5-1,0 мкм. Результаты по изучению биохимических свойств представлены в таблице 1.

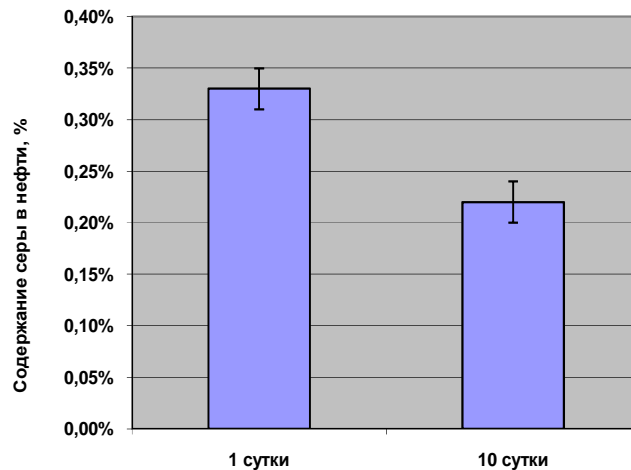
Таблица 1 - Изучение биохимических свойств у сульфатредуцирующих бактерий

<b>Тест</b>	<b>Результат</b>
Разложение глюкозы (аэробно)	+
Разложение глюкозы (анаэробно)	+
Разложение маннита	+
Разложение сахарозы	-
Разложение лактозы	+
Гидролиз желатины	+
Редукция нитратов	+
Использование цитрата натрия	+
Выделение сероводорода	+

По результатам всех проведенных тестов мы отнесли выделенный штамм к роду *Pseudomonas*.

Изучение концентрации серы в нефти после культивирования с сульфатредуцирующими микроорганизмами показал снижение серы на 0,1% в течение 10 дней, что свидетельствует об использовании серы данным микроорганизмом.

Таким образом, полученный нами штамм бактерий может быть рекомендован при обессеривании нефти.



### Выводы

1. Факультативно-анаэробные сульфатредуцирующие бактерии отсутствуют в нефти и буровом шламе, но присутствуют в донном иле пруда Андреевский в количестве 1000 КОЕ/мл.

2. Факультативно-анаэробным сульфатредуцирующим штаммом, адаптированным к росту в нефти и не использующим углеводороды нефти явился изолят из донного ила пруда *Pseudomonas sp.*

3. Штамм сульфатредуцирующих бактерий *Pseudomonas sp.* за 10 суток снижает содержание серы в нефти на 33 %.