

УДК 620.193.8:622.276.012

**ВЛИЯНИЕ РЕАГЕНТОВ-БИОЦИДОВ ФИРМЫ ОАО «НАПОР»
НА ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ КОРРОЗИОННО-ОПАСНЫХ
СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИХ БАКТЕРИЙ**

Ю.В. Андреева, С.В. Улахович, А.Р. Пантелева, С.Ю. Егоров

Аннотация

Изучена эффективность реагентов-биоцидов фирмы ОАО «НАПОР» (г. Казань): СНПХ-1003Р, СНПХ-1004Р, НАПОР-1007. Определение бактерицидных концентраций реагентов проводили на накопительной культуре сульфатвосстанавливающих бактерий (СВБ) выделенной из нефтепромысловой жидкости (Республика Татарстан). Установлено, что накопительная культура СВБ обладает достаточно высокой скоростью роста, выраженной способностью к прикреплению на поверхность металла и способностью повышать скорость коррозии в 1.4–2.4 раза. Показано, что адгезированные СВБ обладают большей устойчивостью к действию бактерицидов, чем планктонные бактерии. Реагенты в исследованных концентрациях обладают биоцидным действием на бактериальные клетки, т. е. полностью разрушают их структуру, что препятствует образованию резистентных к реагентам клеток СВБ.

Введение

Последние исследования российских и зарубежных ученых достоверно доказывают, что наиболее интенсивно процессы коррозии нефтепромыслового оборудования и трубопроводов протекают в условиях микробиологической зараженности промысловых вод. Среди микроорганизмов, содержащихся в нефтепромысловых водах, наиболее коррозионно-опасными являются сульфатвосстанавливающие бактерии (СВБ) [1–4].

Заражение СВБ нефтяных пластов и нефтепромыслового оборудования происходит при использовании неподготовленных, чаще всего, пресных или слабоминерализованных вод в системе поддержания пластового давления, либо при подготовке нефти для ее обезвоживания и обессоливания. Попадая в резервуары и отстойники, бактериальные клетки прикрепляются к металлической поверхности трубопроводных систем и емкостей, формируя колонии. Такие закрепленные на твердой поверхности клетки называются адгезированными формами СВБ. В действующем оборудовании и нефтепроводах каждая колония СВБ покрывается продуктами коррозии, под слоем которых СВБ разрушают металл до язв, питтингов, канавок и сквозных отверстий, что является одной из причин аварии нефтепромысловых трубопроводов и оборудования и связанных с ней негативных последствий – загрязнения окружающей среды.

Сероводород, продуцируемый СВБ в процессе жизнедеятельности, ухудшает качество и состав нефтей, что проявляется, прежде всего, в повышении их удельного веса и вязкости. Но главное осложнение при воздействии на металл

сероводородсодержащих пластовых и сточных вод заключается в образовании при взаимодействии металла с сероводородом осадков сульфида железа. Тонкодисперсные сульфиды железа и вымершие биомассы бактерий являются причиной закупоривания капилляров, снижая проницаемость нефтяного пласта, а также забивают призабойную зону нагнетательных скважин, снижая на 30–40% проницаемость и существенно ухудшая показатели разработки месторождений нефти. Скорость коррозии в присутствии осадков сульфидов железа достигает порядка 5–12 мм/год [5]. С такой коррозией очень трудно бороться, т. к. большинство применяемых средств противокоррозионной защиты (например, ингибиторы коррозии) в этих условиях малоэффективно.

В настоящее время единственно надежным и эффективным средством борьбы с бактериальной микрофлорой нефтепромысловых сред, нефтяного пласта и нефтепромыслового оборудования в нефтедобыче является применение химических веществ - реагентов-биоцидов. Среди многообразия биоцидов, присутствующих на рынке нефтяной промышленности высокоэффективную защиту от коррозии нефтепромыслового оборудования могут обеспечить только реагенты, способные обладать высокой бактерицидной активностью относительно планктонных и, в особенности, адгезированных СВБ. Важной особенностью бактерицидов является способность подавлять жизнедеятельность СВБ при малых дозировках в условиях постоянного дозирования и обеспечивать высокий защитный эффект.

В соответствии с вышеизложенным, целью настоящей работы было определение ингибирующей эффективности реагентов-биоцидов фирмы ОАО «НА-ПОР» (г. Казань) относительно планктонных и адгезированных форм СВБ.

1. Постановка задачи

Объектом исследования явилась накопительная культура СВБ выделенная из нефтепромысловой жидкости добывающей скважины нефтеносного региона Республики Татарстан.

Чистую культуру СВБ получали в чашках Петри на агаризованной среде (2% агара в среде Постгейта) [6]. 1 мл нефтепромысловой воды капали на дно крышки, заливали агаризованной средой и сразу же на поверхность среды ставили дно чашки. Щель между краями дна и крышки, где среда соприкасается с воздухом, заливали стерильным парафином и помещали в термостат при температуре 32°C [7]. Четко очерченные черные колонии СВБ микробиологической петлей переносили во флаконы, заполненные жидкой средой Постгейта.

Динамику роста, образование сероводорода и адгезию бактерий исследовали, выращивая культуру СВБ в стационарных условиях в среде Постгейта и ежедневно контролируя количество бактерий, находящихся в объеме среды и адгезированных на металлической пластине. Для количественного определения СВБ использовался метод предельных разведений. Наиболее вероятное количество клеток бактерий в единице объема суспензии определяли по таблице Мак-Креди. Количественное содержание сероводорода определяли йодометрическим методом [8].

Коррозионную активность сред оценивали гравиметрическим методом [9]. О величине скорости коррозии (ρ) судили по количеству растворенного железа на единицу площади пластины в единицу времени и вычисляли по формуле:

$$\rho = (m_1 - m_2) / (s\tau),$$

где ρ – скорость коррозии ($\text{г/м}^2 \cdot \text{ч}$); m_1 – масса образца до испытания, г; m_2 – масса образца после испытания, г; s – площадь образца, м^2 ; τ – время экспозиции, ч.

На бактерицидную активность исследовали реагенты ингибиторы коррозии-бактерициды СНПХ-1004Р, НАПОР-1007, СНПХ-1003 фирмы ОАО «НАПОР». Определение бактерицидной концентрации реагентов относительно планктонных СВБ проводили во флаконах с моделью исследуемой воды по методике [8].

Определение бактерицидной концентрации реагентов относительно адгезированных на металле СВБ проводили на колонизированных образцах, экспонированных в сосуде со средой Постгейта в течение 10 дней. Пластины, колонизированные бактериями, помещали в сосуды с раствором бактерицидов на 24 ч. Затем подвергнутые воздействию реагентов образцы помещали в сосуды с питательной средой Постгейта и термостатировали при 32°C [10].

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием построения доверительных интервалов ($x \pm 2s$). 95%-ные доверительные интервалы для долей строили, используя биномиальное распределение.

2. Результаты

Исследование бактерицидной активности реагентов наиболее целесообразно проводить, используя накопительную культуру СВБ, клетки которой способны к активному росту, обладают выраженной способностью к адгезии, высокой метаболической активностью. Жизнедеятельность клеток СВБ оказывает существенное влияние на скорость коррозии металла.

В связи с этим, первым этапом работы стало изучение описанных выше характеристик СВБ, выделенных в накопительную культуру. Результаты динамики роста бактерий и образования сероводорода представлены в табл. 1. Данные таблицы показывают, что через сутки культивирования популяция бактерий находится в фазе отмирания роста. Так, при начальном количестве планктонных СВБ, равном $9.5 \cdot 10^1$ кл/мл, через сутки содержание их составило $2.5 \cdot 10^9$ кл/мл. В течение дальнейших 6 суток наблюдается медленное снижение количественного содержания СВБ. Сероводород в культуральной жидкости обнаружен на 2-е сутки и составлял 81.6 мг/л. Максимальное содержание сероводорода (183.6 мг/л) наблюдалось на 3-и сутки на фоне отмирания планктонных бактерий.

Наличие адгезированных бактерий на металлических пластинах в количестве $2.5 \cdot 10^8$ кл/см² установлено на 2-е сутки. К этому времени пластины были полностью покрыты коррозионными отложениями в виде темной корки и рыхлых бугорков. Для подсчета прикрепленных бактерий производили соскоб с пластины, в результате чего учитывались не только СВБ, адгезированные непосредственно на металле, но и бактерии, находящиеся на коррозионных отложениях. По ходу эксперимента количество адгезированных бактерий незначительно снижалось.

Табл. 1

Динамика количественного содержания планктонных и адгезированных на пластинке клеток СВБ, выделенных в накопительную культуру, содержание сероводорода в среде культивирования

Время культивирования	Количество планктонных СВБ, кл/мл	Количество адгезированных СВБ, кл/см ²	Содержание сероводорода, мг/л
начало эксперимента	$9.5 \cdot 10^1$	0	0
1 сутки	$2.5 \cdot 10^9$	не обнаружены	0
2 суток	$9.5 \cdot 10^8$	$2.5 \cdot 10^8$	81.6
3 суток	$2.5 \cdot 10^8$	$2.5 \cdot 10^8$	183.6
4 суток	$9.5 \cdot 10^7$	$4.5 \cdot 10^7$	149.6
5 суток	$1.5 \cdot 10^7$	$2.5 \cdot 10^7$	122.4
6 суток	$1.5 \cdot 10^7$	$2.5 \cdot 10^7$	64.6
7 суток	$4.5 \cdot 10^6$	$2.5 \cdot 10^7$	30.6

Итак, СВБ, выделенные нами в накопительную культуру, обладают достаточно высокой скоростью роста и выраженной способностью к прикреплению к поверхности металла. Последнее обстоятельство очень важно, так как, согласно данным литературы [11, 12], биокоррозия нефтепромыслового оборудования в значительной мере вызывается не планктонными, а прикрепленными к поверхности колониями бактерий, образующих на ней биопленку.

Изучение влияния на скорость коррозии металла выделенных нами бактерий вели в реальных промышленных водах. Анализ полученных данных по изменению массы металлических пластин свидетельствует, что в присутствии СВБ скорость коррозии увеличивалась в 1.4–2.4 раза против контроля (рис. 1).

На 21-е сутки в опытных вариантах было обнаружено некоторое снижение скорости коррозии, что, вероятно связано с появлением на поверхности пластины сплошной сульфидной пленки. Согласно общей теории сульфидной коррозии, данная пленка служит барьером против проникновения атомарного водорода в сталь. Это обусловлено, в первую очередь, ее структурой, которую характеризуют как троилит или пирит. Поэтому во времени скорость коррозии снижается. Под действием продуктов жизнедеятельности СВБ сульфидная пленка с этой структуры переходит в другую – кансит, которая обладает низкими защитными свойствами. Кроме того, бактериальные газы делают осадки FeS рыхлыми, что способствует образованию микрогальванической пары рыхлого кансита с железом, в которой железо является анодом и быстро разрушается. Известно, что толстые, рыхлые слои сульфида железа могут приводить к увеличению скорости коррозии в 10–15 раз [13]. Именно этим объясняется резкое увеличение скорости коррозии в опытных вариантах наблюдаемое на 28-е сутки.

Таким образом, бактерии, выделенные в накопительную культуру, оказывают существенное влияние на скорость коррозии металла и могут быть использованы при изучении бактерицидной эффективности реагентов.

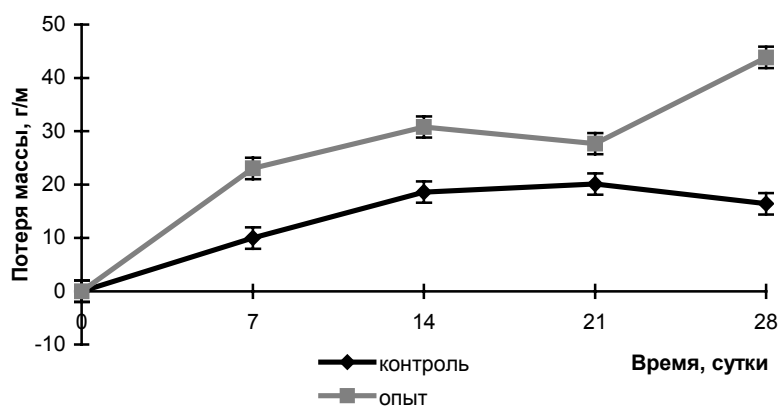


Рис. 1. Изменение потери массы пластинки в нефтепромысловой воде с бактериями (опыт) и без бактерий (контроль)

Концентрации бактерицидов СНПХ-1004Р, СНПХ-1003Р, НАПОР-1007 подавляющие жизнедеятельность планктонных и адгезированных форм СВБ представлены в табл. 2.

Табл. 2

Определение бактерицидных концентраций реагентов относительно планктонных и адгезированных форм СВБ

Наименование реагента	Концентрация реагента, вызывающая 100%-ное подавление клеток СВБ, мг/л	
	Планктонные СВБ	Адгезированные СВБ
1. СНПХ-1004Р	25	400
2. СНПХ-1003Р	50	700
3. НАПОР-1007	75	1200

Результаты эксперимента указывают, что адгезированные на пластине СВБ обладают большей устойчивостью к действию бактерицидов, чем планктонные бактерии. Так, реагент СНПХ-1004Р полностью подавляет жизнедеятельность планктонных клеток СВБ при концентрации 25 мг/л, а адгезированных СВБ – при 400 мг/л. Бактерицидный эффект СНПХ-1003Р на планктонные и адгезированные формы СВБ проявляется в дозировках 50 мг/л и 700 мг/л соответственно. Реагент НАПОР-1007 эффективен для планктонных форм при концентрациях 75 мг/л и для адгезированных – при 1200 мг/л.

Известно, что воздействие бактерицидов на микроорганизмы может быть как биоцидным, когда бактериальная клетка полностью разрушается, так и биостатным – угнетающим рост микроорганизмов [14]. Применяемые в промышленных условиях реагенты должны обладать именно биоцидным характером воздействия на бактериальные клетки. При использовании реагентов-биостатов возможно появление новых форм и штаммов микроорганизмов, резистентных к действию бактерицидов.

Учитывая вышесказанное, проводили эксперимент на определение биоцидных и биостатических свойств реагентов. С этой целью бактерии, подвергнутые воздействию биоцидов, пропускали через мембранные фильтры для отделения бактериальных клеток от молекул реагента. Имобилизованные на фильтре клетки помещали в чашку Петри, заливали агаризованной средой Постгейта и термостатировали при 32°C. О характере воздействия бактерицидов судили по наличию или отсутствию черных колоний СВБ.

Полученные результаты показали, что реагенты СНПХ-1004Р, СНПХ-1003Р и НАПОР-1007 в исследованных концентрациях обладают биоцидным действием на бактериальные клетки, т. е. полностью разрушают структуру бактериальной клетки, что препятствует образованию резистентных к реагентам клеток СВБ.

При обобщении экспериментальных данных можно сделать вывод, что в условиях микробиологической зараженности нефтепромысловых систем применение исследуемых реагентов фирмы ОАО «НАПОР» позволит существенно снизить коррозионную агрессивность нефтепромысловых вод.

Summary

Y.V. Andreeva, C.V. Ulahovich, A.R. Panteleeva. The JSC “NAPOR” biocides influence on the sulphate reducing bacteria viability.

Bactericidal efficiency of reagents-biocides of JSC “NAPOR” (Kazan, Russia) SNPH-1003R, SNPH-1004R, SNPH-1007 has been investigated. Definition of bactericidal concentration of reagents researched on memory culture of sulphate reducing bacteria (SRB) extracted from an oil-field liquid. It has been established, that memory culture of SRB possesses sufficiently high growth rate expressed by ability to an attachment to a surface of metal and ability to increase speed of corrosion in 1.4–2.4 times. It is shown, that adsorption on plate planktonic bacteria possess greater stability to action of biocides. Reagents in the investigated concentration possess biocide action on bacterial cells, i.e. completely destroy structure of a bacterial cell that interferes formation of resistant to reagents action cells of SRB.

Литература

1. *Beech Parlwona B.* La corrosion microbienne // Biofutur. – 1999. – No 186. – С. 36–41.
2. *Busalmen J.P., Valcarce M.B., De Sanchez S.R.* Importance of surface chemistry in bacterial adhesion to metals and biocorrosion // Corrosion. – 2004. – V. 22. – P. 277–305.
3. *Вигдорович В.И., Рязанов А.В., Завершинский А.Н.* Закономерности коррозии углеродистой стали в присутствии сульфатредуцирующих бактерий и ее ингибирование // Коррозия: материалы, защита. – 2004. – № 8. – С. 35–43.
4. *Гоник А.А., Журавлев Г.В., Белоусов В.А.* Микробиологические аспекты проявления наиболее разрушительных форм сероводородной коррозии металлического оборудования и трубопроводов и ее эффективное предотвращение при разработке нефтяных месторождений // Практика противокоррозионной защиты. – 2004. – № 3. – С. 8–15.
5. *Гоник А.А.* Динамика и предупреждение нарастания коррозивности сульфатсодержащей пластовой жидкости в ходе разработки нефтяных месторождений // Защита металлов. – 1998. – Т. 34, № 6. – С. 656–660.
6. *Сайманова Р.А., Захарова Н.Г.* Выделение чистых культур бактерий и их идентификация. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 1980. – 23 с.

7. Методические указания к выполнению лабораторных работ по теме методы культивирования анаэробов. – Казань, 1987. – 38 с.
8. Оценка зараженности нефтепромысловых сред и бактерицидного действия реагентов относительно сульфатовосстанавливающих бактерий. РД 03-00147275-067-2001. – Уфа. – 17 с.
9. Определение защитного действия гравиметрическим методом. № 61106-2005. – Казань. – 12 с.
10. Оценка бактерицидной эффективности реагентов относительно адгезированных клеток сульфатовосстанавливающих бактерий при лабораторных испытаниях. РД 39-0147103-350-89.
11. *Азизов Р.Э., Ефременко Е.Н., Махлис Т.А. и др.* Исследование формирования коррозионных биопленок биоллюминесцентным методом. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 2004. – 8 с.
12. *Моисеева Л.С., Кондрова О.В.* Биокоррозия нефтепромыслового оборудования и химические методы ее подавления // Защита металлов. – 2005. – Т. 41, № 4. – С. 417–426.
13. Микробиологическая коррозия и методы ее предотвращения. – М., 1991. – 46 с.
14. *Гусев М. В., Минеева Л.А.* Микробиология. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1992. – 350 с.

Поступила в редакцию
21.11.06

Андреева Юлия Валерьевна – аспирант кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: napor@inbox.ksu.ru

Улахович Светлана Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник фирмы ОАО «НАПОР», г. Казань.

Пантелеева Альбина Романовна – кандидат химических наук, директор фирмы ОАО «НАПОР», г. Казань.

Егоров Сергей Юрьевич – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: Sergey.Egorov@ksu.ru