

әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті

ӘОЖ 556.115:57.083.1

Қолжазба құқығында

ТАПЕШОВА ШАТТЫҚ ЖАНІБЕКҚЫЗЫ

Ақінген кен орны пласт сулары микроорганизмдерінің биологиялық қасиеттері және мұнайсұйылту потенциалы

6D060700-Биология

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертация

Ғылыми кеңесшілері:
биология ғылымдарының кандидаты,
доцент Кайырманова Г.К.
prof., dr.hab. Swiesicka Izabela
(Белосток Университеті, Польша)

Қазақстан Республикасы
Алматы, 2021

МАЗМҰНЫ

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР	4
АНЫҚТАМАЛАР	5
БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	6
КІРІСПЕ	7
1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ	12
1.1 Мұнай кен орындарының жалпы сипаттамасы.....	12
1.2 Мұнай пласттардан мұнай өнімділігін беру тәсілдері.....	16
1.3 Мұнай пласттардан мұнай шығаруды жоғарылату әдістері.....	20
1.4 Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің түрлілігі.....	25
1.5 Микроорганизмдердің мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері.....	29
2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	37
2.1 Зерттеу материалдары.....	37
2.1.1 Мұнай пласт сулары үлгісі.....	37
2.1.2 Қоректік орталар.....	37
2.2 Зерттеу әдістері.....	38
2.2.1 Микробиологиялық әдістер.....	38
2.2.1.1 Мұнай пласт суларының жалпы микробтық санын (ЖМС) анықтау.....	38
2.2.1.2 Перпендикулярлы штрих әдісімен микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін анықтау.....	39
2.2.1.3 Бактериялардың ассоциацияларын құрастыру.....	40
2.2.2 Молекулярлы генетикалық әдісі.....	40
2.2.2.1 Микроорганизмдерді <i>16S rRNA</i> негізінде генетикалық анықтау.....	40
2.2.2.2 Биосурфактант <i>srfA</i> , <i>rhIA</i> , <i>lchAA</i> гендерін анықтау.....	41
2.2.3 Физика – химиялық әдістер.....	43
2.2.3.1 Эмульгирлеу индексі (Купер әдісі).....	43
2.2.3.2 Қалтқы әдісімен газ түзілу.....	43
2.2.3.3 Потенциометриялық әдіс.....	43
2.2.3.4 Электрометриялық әдіс.....	44
2.2.3.5 Титриметриялық әдіс.....	44
2.2.3.6 Комплексонометриялық әдіс.....	44
2.2.3.7 Жалынды-фотометриялық әдіс.....	45
2.2.3.8 Гравиметриялық әдіс.....	45
2.2.3.9 Титрлеу әдісі.....	45
2.2.3.10 Клетканың оптикалық тығыздығын анықтау (спектрофотометриялық әдіс)	45
2.3 Эксперимент схемалары.....	46
2.4 Статистикалық өңдеу.....	49

3	ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ	51
3.1	Ақінген кен орны мұнайпласт суларының микробиологиялық, физика–химиялық сипаттамалары.....	51
3.2	Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің морфология–дақылдық және физиология–биохимиялық қасиеттерін анықтау.....	55
3.3	Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің молекулярлы–генетикалық идентификациясы	61
3.4	Жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттеріне ие микроорганизмдерді іріктеу.....	67
3.5	Микроорганизмдердің мұнайсұйылту гендерін анықтау.....	71
3.6	Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінен антагонистік белсенділік негізінде микроорганизмдер ассоциацияларын құрастыру.....	77
3.7	Құрастырылған микроорганизмдер ассоциацияларының мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерін анықтау.....	80
3.8	Ассоциациялардың биомассасын алу үшін қоректік ортаны таңдау.....	87
	ҚОРЫТЫНДЫ	90
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	92
	ҚОСЫМША А	
	Ғылыми-зерттеу жұмысының нәтижелерін оқу процесіне енгізу туралы актісі.....	108
	ҚОСЫМША Ә	
	Сынама алу актісі.....	110

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Диссертацияда келесі стандарттар мен ережелерге сілтеме жасалды:
МЕМСТ 7.32 – 2001. Ғылыми зерттеу жұмысы туралы есеп. Құрылымы және дайындау ережелері.

МЕМСТ 7.1 – 2003. Библиографиялық жазба, библиографиялық сипаттама. Жалпы талаптар және құрастыру ережелері.

АНЫҚТАМАЛАР

Мұнай пласт сулары – мұнай және газ кен орындарының қарапайым серіктері. Олар мұнай және газ шоғырлары бақыланатын коллектор қабаттарында кездеседі немесе дербес таза сулы қабаттар құрайды.

Мұнай өндірудегі үшіншілік әдістер — түрлі химиялық заттар және микроорганизмдер негізінде мұнайдың физико–химиялық құрылымын жасанды өзгерту арқылы мұнайдың шығаруын жоғарлату.

Мұнай эмульгирлеу белсенділігі – микроорганизмдердің продуценттері беттік белсенді заттардың мұнайды диспергирлеуге қабілеттілігі, яғни ең ұсақ мұнай эмульсиясын түзуге қабілеттілігі, бұл бактериялардың мұнаймен жанасу тиімділігін арттырады.

Беттік – белсенді заттар – фазалар бөлімінің бетінде шоғырлана отырып, беттік керілудің төмендеуін тудыратын химиялық қосылыстар.

Биосурфактанттар – микроорганизмдерден синтезделген биологиялық тектес беттік-белсенді заттар.

Эндогенді эмульгирлеу белсенділігі – микроорганизмдердің жасуша қабықшасымен байланысқан биосурфактанттарды түзуге қабілеттілігі.

Экзогенді эмульгирлеу белсенділігі – микроорганизмдердің экстрацеллюлярлық биосурфактанттарды түзуге қабілеттілігі.

Микроорганизмдердің мұнайсұйылту қасиеті – микроорганизмдердің қышқыл түзілуі және мұнай эмульгирлеу белсенділігі.

Микроорганизмдердің мұнайығыстыру қасиеті – микроорганизмдердің газ түзуі.

Меласса – қант өндірісінің жанама өнімі; өзіне тән иісі бар қара қоңыр түсті сиропты сұйықтық.

Синтетикалық глицерин – көп атомды спирт, жақсы еріткіш, барлық пропорцияда сумен араласады, биоотын өндірісінде мұнай өңдеу өнімі болып табылады.

Консорциум – екі немесе бірнеше микроорганизмдердің бірлестігі.

Колония – бір микробтық жасушадан дамиды микроорганизмдер жиынтығы.

Штамм – микроорганизмдердің таза дақылы.

Дақыл – морфологиялық және биохимиялық қасиеттері бірдей және олардың бірдей қасиеттері бар бір түрдегі микроорганизмдердің жиынтығы.

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТЫЛҒАН СӨЗДЕР

MEOR	microbial enhanced oil recovery (микробиологиялық жолмен мұнайды толық шығару)
КТБ	колония түзу бірлігі
ЖМС	жалпы микроорганизмдер саны
ЕПА	ет-пептонды агар
ЕПС	ет-пептонды сорпа
ББЗ	беттік белсенді заттар
pH	орта қышқылдылығы
t °C	Цельсий бойынша температура
МШЖ	мұнай шығаруды жоғарылату
КСТБ	көмірсутектотықтырғыш бактериялар
СҚКБ	сульфат қалпына келтіруші бактериялар
МТБ	метантүзуші бактериялар
ПТР	полимеразалық тізбекті реакция
МЕМСТ	Мемлекеттік стандарт

КІРІСПЕ

Зерттеу жұмысының жалпы сипаттамасы: Диссертациялық жұмыс «Ақінген» кен орны мұнай пласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің биологиялық (морфология–дақылдық, физиология–биохимиялық) және молекулярлы–генетикалық қасиеттерін олардың филогенетикалық туыстық белгілерін анықтауға және микробтық мұнай шығаруды жоғарылатудың әдістерін (МШЖ) әзірлеу үшін мұнайсұйылту қасиеттерімен байланысты биосурфактанттардың түзілуіне жауапты *lchAA*, *rhlA*, *surfA* гендерін зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі: Әлемде ауыр және тұтқырлығы жоғары мұнайдың қоры шағын және орташа тұтқырлықтағы мұнайдың алынатын қорларының көлемінен 5 есе артық, сондықтан алынуы қиын мұнай әлемдік мұнай өндірудің негізгі қоры болып табылады.

Қазіргі уақытта Қазақстанның мұнай кен орындарының көпшілігі, ірі жобаларды қоспағанда, өндіру шыңынан өтіп үлгерді, соңғы игеру сатысында тұр және мұнайдың жоғары тұтқырлығы мен суландырылуымен сипатталады, бұл олардың қорларын қиын алынатын санатқа жатқызады, яғни Қазақстан мен барлық мұнай өндіруші елдердің проблемасы қорлардың болмауы емес, оларды жер бетіне шығарудың қиындығы болып табылады. Мұнай өндірудің біріншілік және екіншілік әдістерінен кейін жер қойнауында қалатын өнім кен орны пласттың сулану деңгейінің жоғары болуына байланысты 60-70% - ды құрайды.

Қазіргі уақытта ауыр көмірсутек шикізатын алу жөніндегі ғылыми, тәжірибелік және өнеркәсіптік зерттеулер ерекше өзекті болып табылады. Қиын өндірілетін мұнай қорларын экономикалық тұрғыдан тиімді игеру үшін мұнай өндірудің үшінші әдістері жасалады. Осындай тәсілдердің бірі орасан зор потенциалға ие микроорганизмдерді пайдалану болып табылады. пласттардан мұнай шығаруды арттырудың микробтық әдістері мұнай алуды 10-15% - ға арттыруға мүмкіндік береді, бұл жаңа кен орнының ашылуымен салыстыруға болады және ресурс үнемдейтін, экологиялық қауіпсіз технологияларға жатады.

Мұнай пласт суларында микроорганизмдердің тіршілік етуімен қатар мұнай сұйылтатын қосылыстардың пайда болуымен жүреді, бұл суландырылған пласттардан шикізатты алудың микробтық әдістерінің негізі болып табылады. Микроорганизмдердің жоғары биохимиялық белсенділігі олардың өмірлік маңызды өнімдерінің (газдар, беттік – белсенді заттар, қышқылдар, спирттер және т. б.) өнімділігін арттырады, мұнайсұйылтатын және мұнайығыстыратын қасиеттері бар, бұл пласттардағы мұнайдың қозғалғыштығын арттыруға және шикізатты қосымша алуға ықпал етеді.

Зерттеу мақсаты: ҚР Атырау облысында орналасқан Ақінген кен орны пласт сулары микроорганизмдерінің морфология-дақылдық, физиология-биохимиялық және мұнайсұйылту қасиеттерін зерттеу.

Зерттеу жұмысының міндеттері:

1. «Ақінген» кен орнының мұнайпласт суларының физика-химиялық құрамын анықтау (жалпы минералдануы, рН, кермектілігі, негізгі тұздардың мөлшері).

2. «Ақінген» кен орнындағы мұнайласт суларының сандық және сапалық микробиологиялық құрамын анықтау.

3. Мұнай пласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің морфология–дақылдық және физиология–биохимиялық қасиеттерін анықтау.

4. *16S rPHK* нуклеотидтер тізбегінің негізінде микроорганизмдерге филогенетикалық идентификация жүргізу.

5. Мұнай пласттарынан бөлініп алынған микроорганизмдерден мұнай эмульгирлеуде қатысатын биосурфактанттар өнімін түзуге жауапты *lchAA*, *rhlA*, *srfA* гендерінің болуын анықтау.

6. Жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері бар микроорганизмдерді іріктеу.

7. Мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері жоғары микроорганизмдер ассоциацияларын құрастыру.

Зерттеу объектілері: Атырау облысында орналасқан уақытша тоқтатылған «Ақінген» кен орны пласт сулары және олардан бөлініп алынған 31 микроорганизм дақылдары пайдаланылды.

Зерттеу әдістері. Жұмыс барысында дәстүрлі микробиологиялық (Кох әдісі, микроскопия әдістері, перпендикулярлы штрихтау әдісі және т.б.), генетикалық (*16S rPHK* генінің фрагментін секвендеу) және физика-химиялық әдістер (Купер әдісі, потенциометриялық әдіс, спектрофотометриялық әдіс, электрометриялық әдіс, титриметриялық әдіс, комплексонометриялық әдіс, сұйық хроматография) қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы: Алғаш рет «Ақінген» кен орнындағы мұнайпласт суларына сандық және сапалық микробиологиялық сипаттама берілді. Мұнай пласт суларының аэробты микрофлорасы $96,1 \times 10^7$ КТБ/мл құрайды, ал анаэробтардың мөлшері әлдеқайда аз – 14×10^4 КТБ/мл, сапалық құрамы псевдомонадтар мен бациллалармен көрсетілген, сонымен қатар *Bacillus* туысының өкілдері сандық жағынан басым (13×10^3 КТБ/мл). Бактериялардың 31 дақылы бөлініп алынды және идентификацияланды, оның ішінде 17 бацилдер дақылы: *B. subtilis subsp. spizizenii* S1; *Bacillus paramycoides* M1; *B. subtilis* A5; *B. haynesii* S3; *B. safensis* D7X; *Brevibacillus borstelensis* SR3, 9 штамм - *B. licheniformis* (A1, A2 A3, A4, S2, SR1, SR2, CL1, CL2); 2 штамм - *B. pumilus* (M2, D1X).

14 штамм псевдомонадтар - *P. aeruginosa* (D5; D6; D7; D1; D2; D3; D8; T1; T2; T3; T4; T5; T6; D4).

Алғаш рет *GenBank* халықаралық дерекқор базасында «Ақінген» кен орны мұнай пласт суларынан бөлінген бактериялардың 31 дақылының нуклеотидтік геномдарының тізбегі анықталып, жарияланды. Мұнайды эмульгирлеуге

қатысатын биосурфактанттар өніміне жауапты гендердің (*lchAA*, *rhlA*, *srfA*) болуы көрсетілген:

srfA гені – 10 штаммдарында *P. aeruginosa* (D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1, T2, T4, T6);

rhlA гені – 12 штаммдарында *P. aeruginosa* (T2, T3, T4, T5, T6, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1);

lchAA гені – 10 бациллярлы дақылдарында: соның ішінде *B. haynesii* S3, *B. pumilus* M2 және 8 штамм *B. licheniformis* (A1, A3, A4, S2, CL-1, CL-2, SR-1, SR-2).

Алғаш рет «Ақінген» кен орны мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің мұнайсұйылту потенциалы анықталды, соның ішінде, жоғары мұнай эмульгирлейтін қасиеттері бар микроорганизмдер (эмульгирлеу индексі 51% - дан жоғары) іріктеліп алынды және олардың негізінде мұнай шығаруды жоғарылатудың микробтық әдістерін әзірлеу үшін перспективті микробтық ассоциациялар құрастырылды.

Жұмыстың ғылыми – практикалық маңыздылығы:

Мұнай шығаруды жоғарылату әдістерін даярлау үшін «Ақінген» кен орны пласт суларының микроорганизмдері негізінде мұнайсұйылтатын және мұнайығыстыратын қасиеттері жоғары микроорганизмдердің перспективті ассоциациялары құрастырылды.

Бөлініп алынған микроорганизмдердің 31 дақылдары әл - Фараби атындағы ҚазҰУ көмірсутектотықтырғыш микроорганизмдер коллекциясына одан әрі биотехнологияда пайдалану үшін енгізілген.

«Ақінген» кен орны мұнай пласт суларан бөлініп алынған 31 бактерия дақылдары 16S rRNA нуклеотидтік тізбегі *GenBank*-те тіркелген және жарияланған, дақылдарға кіруіне арналған тіркеу нөмірі: *B. subtilis subsp. spizizenii* S1 - MW386842; *B. paramycooides* M1 - MW386841; *B. pumilus* M2 - MW386840; *B. licheniformis* A1 - MW386831; *B. licheniformis* A2 - MW386832; *B. licheniformis* A3 - MW386833; *B. licheniformis* A4 - MW386834; *B. subtilis* A5 - MW386835; *B. licheniformis* S2 - MW386843; *B. haynesii* S3 - MW386844; *B.pumilus* D1X - MW386836; *P. aeruginosa* D5 - MW386837; *B. licheniformis* CL1 - MW600501; *B. licheniformis* CL2 - MW600502; *B. safensis* D7X - MW600506; *B. licheniformis* SR1 - MW600508; *B. licheniformis* SR2 - MW600509; *Brevibacillus borstelensis* SR3 - MW600510; *P. aeruginosa* D8 - MW600507; *P. aeruginosa* D6 - MW386838; *P. aeruginosa* D7 - MW386839; *P. aeruginosa* D1- MW600503; *P. aeruginosa* D2 - MW600504; *P. aeruginosa* D3 - MW600505; *P. aeruginosa* T1 - MW617329; *P. aeruginosa* T2 - MW617330; *P. aeruginosa* T3 - MW617331; *P. aeruginosa* T4 - MW617332; *P. aeruginosa* T5 - MW617334; *P. aeruginosa* T6 - MW617335; *P. aeruginosa* D4 - MW617336.

Ғылыми зерттеу барысында алынған нәтижелер әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің «6M070100-Биотехнология» мамандығының «Экосистеманы қалпына келтірудің микробтық өнімдері және препараттар /

Микробные препараты и продукты восстановления экосистем» пәнінің оқу мазмұнына енгізілді (Қосымша А).

Қорғауға шығарылған негізгі қағидалар:

1. Ақінген кен орны мұнайпласт сулары бактерияларының 31 дақылы бөлініп алынды және фенотиптік, генетикалық қасиеттері негізінде идентификацияланды.

2. Ақінген кен орны мұнай-эмульгирлеуші микроорганизмдердің қасиеттері мұнайды эмульгирлеуге қатысатын биосурфактанттар өніміне жауапты *lchAA*, *rhlA*, *srfA* гендерінің болуымен байланысты.

3. Мұнай пласт суларынан бөлінген 16 микроорганизм дақылдарының, соның ішінде: *B.safensis* D7X, *B. subtilis* A5, *B. subtilis subsp. spizizenii* S1, 2 штамм - *B. pumilus* (D1X, M2), 5 штамм - *Bacillus licheniformis* (S2, SR1, SR2, CL1, CL2) және 6 штамм - *P. aeruginosa* (D5, D6, D7, D8, T2, T3) жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерге ие: эмульгирлеу индексі 51% - дан жоғары және меласса қосылған ортада белсенді газ түзуге және қышқылдандыруға қабілетті.

4. Суландырылған пласттардан қалдық мұнайды шығаруында микробтық әдістерін құрастыру үшін перспективті жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерге ие микроорганизмдер ассоциациялары алынды.

Автордың жеке үлесі. Зерттелетін мәселеге қатысты әдеби деректерге талдау, жұмыстың мақсат міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу, нәтижелерді статистикалық өңдеу және талдау, диссертацияны жазу мен қол жазбаны рәсімдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Жұмыстың мемлекеттік ғылыми зерттеу бағдарламаларымен байланыстылығы. Диссертациялық жұмыс АР 05134797 «Микробиологиялық әдіспен пласттардан мұнайдың шығуын жоғарылатудың технологиялық сызбасын құру» № 188РК00166 (2018-2020 жж) жоба аясында орындалды.

Жұмыстың сыннан өтуі. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері төмендегідей халықаралық ғылыми конференциялар мен симпозиумдарда баяндалды және талқыланды:

- «XXI ғ. Ғылымның дамуы» XXXV Халықаралық ғылыми конференциясы, 16 мамыр 2018 ж, Харьков, Украина;

- Студенттер мен жас ғалымдардың «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференциясы, 2-10 сәуір 2019 ж, Алматы, Қазақстан;

- Қазақстан Республикасының жастар жылына арналған «Биоәртүрлілік және биотехнологиядағы өзекті мәселелер» Халықаралық ғылыми-тәжірибиелік конференциясы, 1 қазан 2019 ж, Нұр-Сұлтан, Қазақстан;

Басылымдар. Диссертацияның негізгі нәтижелері баспадан шыққан 9 ғылыми еңбекте жарияланды, оның ішінде 3 мақала Қазақстан Республикасы Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті ұсынған отандық мерзімді журналдарда; 1 мақала *Scopus* дерекқор қорына енетін жоғары деңгейдегі ғылыми журналда; 4 тезис отандық халықаралық конференция материалдарында; 1 мақала шетелдік халықаралық конференция материалдарында жарияланды.

Диссертациялық жұмыстың құрылымы мен көлемі. Диссертациялық жұмыс 110 мәтіндік бетте жазылды. Оның құрамына нормативтік сілтемелер, анықтамалар, белгілеулер мен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері және оларды талқылау, қорытынды және 200 пайдаланылған әдебиеттер тізімі кіреді. Диссертация құрамында 21 – сурет, 22 – кесте, 2 – қосымша бар.

1 ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

1.1 Мұнай кен орындарының жалпы сипаттамасы

Қазақстан Республикасы әлемдегі ең ірі мұнай шығарушы елдердің ондық қатарына кіреді. Қазіргі уақытта Қазақстан мұнай өндіру жөнінде әлемде 18-орынды (ТМД бойынша 2-орында) иеленіп отыр. Қазақстанда мұнай өндірудің болжамды көлемі 2015 жылы шамамен 100 млн тоннаны құрады.

Алынатын қорлардың негізгі өсімін және көмірсутегі шикізатын өндіруді Каспий теңізінің Қазақстандық секторындағы жаңа кен орындары есебінен күтілуі тиіс. Алайда, Қазақстанның мұнай саласының негізгі міндеттерінің бірі оны игерудің қазіргі кезеңінде игерудің соңғы сатысында тұрған және мұнайдың едәуір қалдық қорларын қамтитын игерілетін және жабдықталған кен орындарында көмірсутегі шикізатын өндіруді қарқындату болып қала береді [1, 2].

Қазақстандағы алғашқы мұнай атқылау фонтаны 1899 жылы Қарашұңғұл барлау учаскесінде пайда болды, содан кейін екі мұнай кен орны – Доссор (1911) және Мақат (1915 ж.) пайдалануға берілді. Барлық үш кен орны Республиканың оңтүстік-батысында Атырау облысында орналасқан [3, 4].

Шикі көмірсутектерінің негізгі қорлары негізінен Батыс Қазақстанның 14 ірі мұнай кен орнында шоғырланған. Олардың қатарында «Теңіз» және «Қарашығанақ» сияқты алыптар, сондай-ақ «Өзен», «Жетібай», «Қарамандыбас», «Қаражанбас» және т.б. бар [4, р. 9; 5, 6].

Мұнай көмірсутектерін іріктеудің әртүрлі дәрежесіне дейін кен орындарында орналасады. Соның ішінде көміртегі мен сутегінің қатынасы мұнайдың ерекшелігі басқа қазба отыннан ерекшелігі болып табылады. Мұнай – әр түрлі өнімдер шығаратын бағалы химиялық шикізат және іштен жану қозғалтқыштары мен майлар үшін сұйық отынның негізгі көздерінің бірі [7].

Әр түрлі кен орындарының мұнайлары әр түрлі құрылымға ие. Мұнайдың экосистеманың ластануын бағалау оның физикалық-химиялық сипаттамалары негізінде жүргізіледі. Мысалы, күкіртті мұнай құрамында уыттылығы жоғары және коррозиялық белсенді меркаптандардың (уыттылығы жоғары органикалық күкіртті бар газдар) басым үлесі бар күкіртті мұнай Қазақстанның батыс бөлігінде Атырау облысының Жылыой мұнай-газ өңірінде, Каспий теңізінің шығыс жағалауынан 15-20 км қашықтықта шоғырланған. Атырау Қазақстанның мұнайлы астанасы деп аталады. Облыстың ең ірі кен орны - 1979 жылы ашылған Теңіз кен орны. Бұл кен орны 3 млрд. тоннадан астам мұнай қоры бар әлемдегі он ірі кен орнының бірі болып табылады. Теңіз кен орнында мұнайдың негізгі көзі тұзды палеозойлық карбонатты мұнай пласттар болып табылады. Мұнай пласттарда Америка мұнай институтының шкаласы бойынша тығыздығы 46 градус мұнай бар, бұл өңдеу процесінде бағалы жеңіл мұнай өнімдерінің жоғары пайызын алуға мүмкіндік береді. Теңізді сәтті игеру Қазақстанға әлемдегі ірі мұнай өндіруші мемлекеттердің қатарына кіруге мүмкіндік берді. Облыстың қалған кен орындарының үлесіне шамамен 150 млн.

тонна тиесілі, оның жартысынан астамы Корольдік (55,1 млн. тонна) және Кенбай (30,9 млн. тонна) кен орындарына тиесілі [8, 9].

«Құлсары» мұнай-газ кен орны Атырау облысы Ембі ауданындағы қаладан оңтүстік-шығыс бағытта 160 км жерде орналасқан.

Конструкция 1934 жылы құрылымдық бұрғылау арқылы құрылды. Іздестіру мақсатында бұрғылау жұмыстары 1935 жылы басталды. Барлау жұмыстары 1937 жылы аяқталды. Кен орнында мұнай өндіру терең сорғылар мен компрессорлардың көмегімен жүзеге асырылды. Сонымен қатар, ілеспе табиғи газ қазандықты жылыту және тұрмыстық қажеттіліктер үшін қолданыла бастады. Бұдан кейін геологиялық-барлау кеңсесі құрылды, оның басты мақсаты шикізат базасын кеңейту болып табылды. Бұл кен орындарында 21 өнімді мұнай пласты бөлінген. Өнімді мұнай пласттар 152-382 м, 190-1265 м, 1149-1256 м тереңдікте орналасқан, мұнай кен орындарының биіктігі тиісінше 2-46 м, 19-70 м, 5-60 м. Мұнай пласттың бастапқы қысымы 1,8-15 МПа, ал температурасы 16-53 °С болды. Мұнайдың күкірттілігі төмен, 0,02-0,35 % құрайды, құрамында 0,57-2,0 % парафин бар. Мұнай пласт сулары С1 және С_а байытылған, тығыздығы 1075-1146 кг/м³ және минералдылығы 112,8-22,3 г/л. Мұнайдың геологиялық қоры 65 мың тоннаға бағаланады [2, р. 6-7; 9, р. 3].

Ақінген мұнай кен орны Батыс Қазақстанның Атырау облысында, Каспий маңы ойпатының оңтүстік-шығыс бөлігінде, Құлсары қаласынан оңтүстік-шығысқа қарай 40 км жерде орналасқан. Кен орны 1980 ж. ашылды. Барлау бұрғылауы 1983 ж. аяқталды. Тектоникалық жағынан қос қанатты тұзды құрылымға орайластырылған. Өнімді горизонттардың шоғырлану тереңдігі 660-682 м, 927 м және 1028-1111 м. Альбтық мұнай шоғырларының биіктігі 10-16 м, Ш неоком горизонты мұнай бөлігінің биіктігі 6 м. Газ шоғырларының биіктігі 11-22 м. ВНК 679-877 м, ГВК 947, С -1090 м белгілерде жүргізіледі. Өнімді қалыңдықтың кесіндісі күрделі терригенді жыныстармен қалыптасқан, коллекторлары жынысты. Мұнайға қаныққан қалыңдығы 3,2-4,9 м, газға қаныққан қалыңдығы 3,3-8,9 м. Коллекторлардың ашық кеуектілігі 27-31 % шегінде ауытқиды, өткізгіштігі 0,091-0,800 мкм². Мұнайға қанығу коэффициенттері 0,52-0,71, газға қанығу коэффициенттері 0,51-0,76. Мұнайдың бастапқы дебиті 27-51 м³/тәул, газ 452,8-716,9 мың м³/тәул. Газ факторы 27,7-119,9 м³. Бастапқы мұнай пласт қысымы 6,2-12,8 МПа, температура 34-47 °С. Мұнайдың тығыздығы 842-905 кг/м³. Аз күкіртті мұнайлар (0,15-0,28 %), аз парафинді мұнайлар - 0,88 %. Бос күйіндегі газдар метаннан (94,2-97,3 %), этаннан (0,95-3,68 %), пропаннан (0,17 %), изобутаннан (0,06-0,2 %), н-бутаннан (0,04-0,19 %), азот (0,98-1,73 %), көмірқышқыл газы 0,25 % тұрады. Мұнай шоғырларының режимі серпімді, газды - серпімді-газды-суағысты. Тығыздығы 1078-1105 кг/м³ және минералдылығы 127,1-162,5 г/л хлоркальцийлі типті мұнай пласт сулар. Кен орны жабылған [10, 11].

Мұнай потенциалы тұрғысынан тағы бір перспективалы өңір Маңғыстау облысы болып табылады. Осы облыстың аумағында өнеркәсіптік санаттағы 725 млн. тонна мұнай қоры шығарылатын 70-тен астам кен орындары ашылды. Кен

орындарының жартысынан азы пайдалануда, олардың көпшілігі игерудің соңғы сатыларында. Қалдық қорлардың басым бөлігі алынуы қиын категорияларға жатқызылады [12].

Жетібай мұнай-газ конденсаты Маңғыстау облысында, Ақтау қаласынан оңтүстік-шығысқа қарай 80 км жерде орналасқан. Оңтүстік Маңғыстау ойпаты аса ірі мұнай-газ конденсаты болып табылады. Құрылым 1952-1956 жылдары анықталды, округтік геологиялық-геофизикалық жұмыстар кезінде іздестіру бойынша бұрғылау 1959 жылы басталды, кен орны 1961 жылы ашылған. Жалпы, өнімді мұнай пласт қалыңдығы 700 м, ал тереңдігі 2500 м құрайды. Мұнай жеңіл, оның құрамындағы смола - 4,53 - 15,5 %, парафин көп (17,2-25 %), күкірт аз (0,2-0,28 %), асфальтен 0,9 - 3,4 %. Мұнай пласт сулары С1 және Са байытылған, тығыздығы 1,01 - 1,08 г/см³, минералдылығы 150 г/л, құрамында йод, бор және бром бар. Жоғарғы мұнай пласттардан төменгі мұнай пласттарға қарай бағытта қанығу тығыздығы, температура, тығыздық (0,77-ден 0,7 г/см³-ке дейін) және мұнайдың тұтқырлығы (3,04-тен 1-ге дейін) сияқты белгілердің төмендеуі байқалады. Мұнайдың геологиялық қоры 345 млн тоннаға, ал мұнайдың қалдық қоры 68 млн тоннаға бағаланады [6, р. 4; 9, р. 7; 11, р. 53].

Жетібай кен орындарына мұнайдың мынадай физикалық-химиялық қасиеттері негізделген:

- мұнайдың құрамында еріген парафин мен асфальт-шайыр компоненттері көп;

- мұнайдың газбен қанығу қысымы құрылымдары мен қабаттың бастапқы қысымы арасындағы айырмашылық аз;

- мұнай пласт сулары температурасының мұнайдың парафинмен қанығу температурасынан төмендеуі және мұнайдың газдан босау температурасынан парафин мұнайдан қатты тұнба түрінде бөлінеді;

- + 300 °С кезінде газсыздандырылған мұнай тығыздалады;

- су-мұнай аймағындағы бастапқы термобариялық жағдайларды зерттеудегі бұзушылық және жалпы кеніштерде мұнайдың тұтқыр-иілгіш белгілерінің пайда болуы, ығыстыру қысымының бастапқы градиенттерінің пайда болуына әкеледі.

Мұнай коллекторлары болып табылатын шөгінді жыныстар негізінен су бассейндерінде қалыптасқан. Сондықтан оларға мұнай кірмей тұрып-ақ жыныс астығының арасындағы кеуекті кеңістік сумен толтырылған. Тау жыныстарының (мұнай және газ коллекторларының) тектоникалық вертикальды орын ауыстыруы процесінде және кейін көмірсутектер мұнай пласттардың жоғары бөліктеріне орын ауыстырады, сұйықтықтар мен газдардың тығыздығына байланысты бөлінуі болған аймақта. Бұл ретте су мұнаймен және газбен толық ығыстырылмайды, себебі құрамында мұнай бар жыныстардың құрамына кіретін негізгі минералдар, гидрофильді, яғни мұнаймен салыстырғанда сумен шайылады. Сондықтан мұнай шоғырларының пайда болу процесінде оны мұнаймен ығыстырған кезде су жартылай

пласттарда жіңішке пленка түрінде құм түйіршігінің бетінде және ұсақ тамшы түрінде жекелеген арасындағы байланыс нүктелерінде ұсталады [13, 14].

Мұнай пласт сулары мұнайдың кәдімгі серігі болып табылады. Судың жынысты суландыру қабілеті бар және сондықтан ол жекелеген түйіршіктерді жұқа пленкамен қаптайды, оның сондай-ақ неғұрлым ұсақ жынысты кеңістіктерді алып жатады. Мұнаймен немесе газбен бірге бір қабатта жатқан су мұнай пласт деп аталады. Мұнайгазды шоғырларда сұйықтықтар мен газдардың бөлінуі олардың тығыздығына сәйкес келеді: пласттың жоғарғы бөлігін бос газ алады, одан төмен қабат суымен жабылатын мұнай жатады. Алайда мұнай және газ шоғырларындағы пласт суы таза су аймағында ғана болмауы мүмкін, сонымен қатар мұнайлы мен газды бірге өнімді шоғыр жыныстарын қанықтыра отырады. Бұл суды байланыстырылған су деп атайды [15, 16].

Мұнай пласт суларының жіктелуі түзілуіне байланысты бірнеше негізгі формаларға бөлінеді:

1) мұнай пласттың бос жерлерінде адсорбцияланған жыныстардың минералды бөлшектерін бұратын қалдық сулар;

2) *седиментациялық сулар* – бұл тұнба шөгілген сәттен бастап пластта жатқан сулар, яғни синхронды уақытта жыныстардың өзінің қалыптасуынан;

3) пласт қысымын ұстап тұру және мұнайды сумен неғұрлым толық ығыстыру үшін пластқа арнайы айдалатын *техникалық* немесе *жасанды сулар*.

Пласт сулары мұнайды ығыстыру процестеріне әсер ететін қасиеттер жиынтығымен сипатталады, өйткені ол көбінесе мұнайды пласттардан ығыстыратын агент болып табылады, сондықтан оның қасиеттері ығыстырылған мұнай мөлшеріне, мұнайдың бетіне көтерілу процестеріне әсер етеді [17].

Жалпы минералдану-судағы еріген заттар мөлшерінің көрсеткіші (бейорганикалық тұздар, органикалық заттар) г/л, мг/л, г/м³, кг/м³ өлшенеді.

Судың минералдану дәрежесі көбінесе олардың тұздылығымен, яғни 100 г ерітіндіге жататын суда еріген тұздардың құрамымен көрінеді. Пласт сулары әдетте өте минералданған. Олардың минералдану дәрежесі тұщы суда 1 м³ бірнеше жүз грамнан 80 кг/м³ дейін және күшті минералданған суларда 300 кг/м³ дейін ауытқиды [18].

Барлық пласт сулары минералдану шамасы бойынша төрт класқа бөлінеді (В.И.Вернадский, 1933):

1) минералдылығы 1 г/л (немесе 1000 мг/л) дейінгі тұщы;

2) тұздылау (әлсіз минерализацияланған) - 1-ден 10 г/л-ге дейін;

3) тұзды (минералдандырылған) 10-нан 50 г/л-ге дейін;

4) өте тұздықтар минералдылығы 50 г/л-ден жоғары [18, р. 23-24; 19].

Мұнай кен орындарының пласт сулары әр түрлі құрамдағы химиялық элементтермен жоғары қанықтылығымен ерекшеленеді, олардың арасында басым Na, K, Mg, Ca, Fe, Al, Si, O, Cl, S, N, H, Br, I. Бұл элементтер суда әртүрлі қышқылдардың еріген тұздары түрінде болады: тұзды (NaCl, KCl,

MgCl₂, CaCl₂), күкіртті (CaSO₄, MgSO₄), көмірлі (NaHCO₃, KHCO₃, CaCO₃, MgCO₃ және т.б.), күкірт сутегі (FeS, CaS).

Су құрамында әрқашан газ тәріздес құрамдас бөліктердің едәуір көлемі еріген, олардың ішінде басты рөл азот (N₂), көмірқышқыл газы (CO₂). Жер асты суларын минерализацияландыру немесе әртүрлі тұздармен және элементтермен олардың тау жыныстарымен өзара ену процесінде, жоғары температуралардың, жыныстардың каталитикалық қасиеттерінің және микробиологиялық процестердің әсері кезінде мұнаймен және газбен қанықтыру [20, 21].

Мұнай кен орындары суларының құрамына, негізінен, натрий, кальций, калий және магний металдарының хлоридтері, бикарбонаттары мен карбонаттары кіреді. Хлорлы натрий құрамы тұздардың жалпы құрамының 90% дейін жетуі мүмкін. Кейде күкірт сутегі және коллоидты темір, алюминий, кремний тотықтары түрінде де кездеседі. Көбінесе йод пен бром қатысады, кейде су оларды өнеркәсіптік өндіру объектісі болуы мүмкін мөлшерде болады. Мұнай кен орындарының сулары беттік сулардан немесе сульфаттардың (SO₄ қосылыстарының) болмауымен ерекшеленеді, немесе олардың әлсіз концентрациясынан. Минералды заттардан басқа мұнай кен орындарының суларында кейбір минералдық заттар, көмірқышқыл, жеңіл көмірсутектер, нафтен және кейбір май қышқылдары болады [22, 23].

Пласт суларының химиялық құрамы мен физикалық қасиеттерінің мұнай мен газ шоғырларын игеруде маңызы зор, өйткені пластағы көптеген процестердің ағымы оларға байланысты [24].

Осылайша, мұнайдың өнеркәсіптік қорлары негізінен 13 ірі кен орындарына (91%), оның ішінде екі алып кен орындарына (69%) - Теңіз және Қашаған шоғырланған, бұл ретте барланған кен орындары республика аумағы бойынша біркелкі бөлінбеген. Мұнайдың барлық ірі кен орындары (ұсақ және орташа кен орындарымен қатар) Қазақстанның батысында орналасқан, ал елдің оңтүстігіндегі кен орындарының басым бөлігі орташа және ұсақ кен орындарына жатады. Мұнай коллекторлары болып табылатын шөгінді жыныстар, негізінен, су бассейндерінде қалыптасқанын, соның салдарынан, мұнай енгенге дейін де, жыныс түйіршіктері арасындағы жыныстық кеңістік пласт суымен толтырылатындығын атап өткен жөн.

1.2 Мұнай пласттардан мұнай өнімділігін беру тәсілдері

Мұнай шығару - қабаттан алынған мұнай мөлшерінің қабаттағы бастапқы қорларға қатынасы. Ағымдағы және соңғы мұнай шығару деп ажыратады. Қазіргі уақытта пласттан алынған мұнай мөлшерінің пластты игеру кезіндегі бастапқы геологиялық қорларға қатынасын ағымдағы мұнай шығару деп түсінеді. Соңғы мұнай шығару - шоғырды игеру соңында жинақталған мұнай өндіру мөлшерінің бастапқы қорларға қатынасы. «Мұнай шығару» терминінің орнына «мұнай шығару коэффициенті» термині де қолданылады. Ағымдағы мұнай шығару уақыт бойынша өзгерген және пласттан алынған мұнай мөлшерінің ұлғаюына қарай өседі. Сондықтан «мұнай шығару коэффициенті»

терминін түпкілікті (соңғы) мұнай беруге қатысты қолдану керек. Ағымдағы мұнай шығару әдетте әр түрлі факторларға тәуелді - су қабатына құйылған су мөлшерін, бұл мөлшердің қабат уақытының көлеміне қатынасын білдіреді, пласттан алынған сұйықтық мөлшерінің пласт уақытының көлеміне, өнімнің сулануына және жай уақытқа қатысты [23, p. 34; 24, p. 37-39].

Энергияға қажеттіліктің артуы және осыған байланысты экологиялық проблемалар пласттың мұнай беруін жоғарылату әдістеріне қызығушылықтың өсуін тудырды. Сондықтан осы әдістердің әлемдік мұнай өндіруді ұлғайтуға қосқан үлесін анықтауға арналған зерттеулер жүргізілді [24, p. 41].

Көмірсутек шикізатын даярлаудың экономикалық тиімділігін ұлғайту, тікелей капитал салымдарын қысқарту мақсатында, сондай-ақ капиталды қайта инвестициялау үшін оңтайлы жағдайлар жасау кен орнын игерудің барлық мерзімі кезінде мұнай беруді арттырудың әртүрлі тәсілдері қолданылады, ол үш негізгі кезеңге бөлінген:

- 1) табиғи режим - фонтанды өндіру, механикаландырылған өндіру;
- 2) екіншілік әдістер-суландыру және гидродинамикалық әдістер;
- 3) үшіншілік әдістер – термиялық әдістер, физикалық-химиялық әдістер, газды әдістер, микробиологиялық әдістер.

Бірінші кезеңде мұнай өндіру үшін мүмкіндігінше кен орнының табиғи энергиясы (пласт қысымы) пайдаланылады. Іс жүзінде табиғи режимде кен орындарын игеру кезінде мұнай беру көлемі 5 % -дан 15 % -ға дейін өзгереді.

Екінші кезеңде 20 % -дан 60 % -ға дейінгі деңгейде мұнай беруді қамтамасыз ететін суды айдау жолымен пласт қысымын ұстап тұру әдістері іске асырылады.

Кен орны сулану мен сарқылудың жоғары дәрежесімен сипатталатын үшінші кезеңде игерудің тиімділігін арттыру үшін мұнай шығаруды жоғарылату (МШЖ) әдістері қолданылады. Дәл осы әдістер пласт суларынан мұнай беру деңгейін 35 % - 75 % -ға арттырады [25, 26, 27].

Пласттардың қалдық мұнайға қанығушылығын бөлу мұнай беруді ұлғайту әдістері пласттардың суландырылған немесе газдалған аймақтарында шашыраған мұнайға тиімді әсер етуін талап етеді. Қалдық қорлардың жай-күйі соншалықты кең болған кезде, сондай-ақ мұнайдың, судың, газдың қасиеттері мен мұнайға қаныққан аймақтардың өткізгіштігі үлкен айырмашылықта мұнай беруді ұлғайтудың бір әмбебап әдісі болмауы тиіс [26, p. 27].

Мұнай шығару мұнайды алу коэффициентімен анықталады және пласт суынан алынған мұнай мөлшерінің пласттағы оның бастапқы қорларына қатынасымен есептеледі. Мұнай шығаруды ұлғайту үшін мұнайды ығыстыруға қабілеті заттарды пайдалануға негізделген екінші және үшінші әдістер пайдаланылады [25, p. 33; 28].

Пласт энергиясының толықтырылуына және мұнайды өндіру ұңғымасына жылжытуға байланысты игеру тәсілдерін 3 классқа бөледі:

- 1) Біріншілік тәсілдер;
- 2) Екіншілік тәсілдер;

3) Үшіншілік тәсілдер.

Әдетте кен орнын игеру жүйесі жүйелі түрде түрленеді: игерудің I сатысындағы біріншілік тәсілдерден II және III сатыларда екінші тәсілдерге және кен орнын игерудің III және IV сатыларында үшінші тәсілдерге ауысады.

Біріншілік тәсілдер - бұл пластың ішкі энергиясының потенциалын пайдалана отырып, мұнайды алуға негізделген даярлау тәсілдері. Мұнай ағыны пластың қысым есебінен қамтамасыз етіледі.

Мұнай шоғырында пласттарда флюидтердің қозғалысына әсер ететін көптеген факторлар бар. Оны даярлау кезінде пористік пластта көрінетін процестерді анықтайтын барлық табиғи және жасанды факторлардың жиынтығын пласт режимі немесе мұнай шоғырын пайдалану режимі деп атайды.

Мұнай өндіру кезінде барлығы 5 режим ажыратылады:

- су тартқыш (қатты су тартқыш);
- серпімді (серпімді су қысымды);
- газ қысымды (газ режимі);
- еріген газ режимі;
- гравитациялық.

Су қысымды – мұнайды ұңғыманың кенжарына жылжытатын негізгі күш пласт суының қысымы болып табылады, бұл кезде пласт суын пластың өнімді бөлігіне жылжыту арқылы сұйықтықты іріктеудің орнын толтыру жүргізіледі. Мұндай режим әдетте шоғырлардың су ағызу кешенінің қоректену салаларына салыстырмалы жақындығы кезінде литологиялық біртекті және төзімді жоғары өткізгіш пласттардың су тартқыш кешендерінде қалыптасады. Мұндай режимде соңғы мұнай беру – 65 – 80 %-ге жетеді.

Серпімді – негізгі күш пласт қысымы төмендеген кезде пласт сұйықтығы мен жыныстың серпінді кеңеюі болып табылады. Бұл режимде сұйықтықты іріктеу контурлық суларды шоғырға қарай толық жылжытумен өтелмейді. Соңғы мұнай беру – 50 – 70 % дейін.

Газ қысымды – негізгі күш газ бөрігінің кеңейтілетін газ қысымы болып табылады, бұл кезде сұйықтықты іріктеуде пласт суын пластың өнімді бөлігіне жылжытумен толық өтелмейді. Соңғы мұнай беру – 40 – 60 % дейін.

Еріген газ режимі – негізгі күш пласт қысымы төмендеген кезде мұнайдан бөлінетін газдың кеңеюі болып табылады. Бұл режимде сұйықтықты іріктеу пласт суды пластың өнімді бөлігіне жылжытумен толық өтелмейді. Пласт қысымының мұнайдың газбен қанығу қысымынан төмен мәндерге дейін төмендеуіне әкелетін сұйықтықты пласттан күшейтілген іріктеу кезінде қалыптасады. Соңғы мұнай беру – 10 – 30 % дейін.

Гравитациялық – негізгі күш мұнайдың өзінің ауырлық күші болып табылады. Мұндай режим шоғырдың сулы бөлігінен толық оқшаулануы кезінде, сондай-ақ газ (бос немесе еріген) болмаған кезде көрінуі мүмкін. Өте сирек режим, әдетте еріген газ режимі кезінде бастапқыда пайдаланылатын

шоғырдағы игерудің соңғы сатысында пайда болады. Соңғы мұнай беру – 10 – 20 % дейін.

Кен орындарын игеру тәжірибесі тек пласт қысымын пайдалану кезінде мұнай өндіру жер қойнауында алынатын мұнайдың айтарлықтай ысырабына әкелетінін көрсетеді. Сондықтан кен орындарын игерудің бастапқы сатыларында пласттың төмендейтін энергиясына әсер етудің екінші немесе үшінші әдістерін қолданады [28, 29, 30, 31].

Екіншілік тәсілдер - бұл мұнайды пласттан шығару су немесе газ айдау есебінен (газ бөрігіне) пласт ішіндегі энергияны ұстап тұру арқылы жүргізілетін өңдеу тәсілдері, яғни екіншілік тәсілдер пласт қысымын жасанды ұстауға негізделген. Екіншілік тәсілдерге жататын әдістер:

1) суды айдау, яғни пласт қысымын суды айдаумен ұстау – бұл жағдайда шоғырды пайдаланудың су тарту режимі іске асырылады;

2) газды айдау, яғни пласттық қысымды газ бөлігіне айдау арқылы ұстау (газ бөлігі бар шоғырлар үшін) – бұл жағдайда газ қысымы режимі іске асырылады [30, р. 11; 32].

Мұнай шығару үшін табиғи газды ығыстырудың екіншілік әдісі ретінде пайдалану өткен ғасырдың 30-жылдарында басталды. Табиғи газды айдау кезінде мұнайды ығыстыру мұнай мен судың тұтқырлығының өзгеруі есебінен жүргізіледі. Мұнайдың тұтқырлығы едәуір дәрежеде азаяды, ал судың тұтқырлығы азғана ұлғаяды (1,2 - 1,3 есе). Бұл мұнай мен су қозғалысының арақатынасының айтарлықтай жақсаруына, пластты қамтудың 5-10% -ға ұлғаюына, мұнай көлемінің 1,2-1,5 есеге артуына әкеледі (оны табиғи газбен байыту есебінен) [33, 34].

Суландыру (суды айдау әдісі) - мұнайды сумен ығыстыру процесі пласт қысымын бір мезгілде ұстап тұру кезінде болатын шоғырға әсер етудің ең кең таралған әдісі [35]. Жұмыс агенті ретінде судың ығыстыру қабілетіне, кең қолжетімділігіне және арзандығына байланысты пайдаланылады. Мұнайдың жылжымалылығын сақтауға жұмыс агентін (суды) өнімді пластқа айдау арқылы қол жеткізіледі, онда пласттың бастапқы термодинамикалық жағдайлары – пласт қысымы мен температурасы сақталады. [36]. Мұнайдың жылжымалылығын арттыру оның тұтқырлығын төмендету, өнімді пласттың кеуекті ортасының өткізгіштігін ұлғайту, жұмыс агентінің ығыстыру қабілетін және айдалатын агенттің (судың және т.б.) шаю қабілетін ұлғайту арқылы жүзеге асырылуы мүмкін [37].

Үшіншілік тәсілдерге–пласт қысымын жасанды ұстап қана қоймай, сонымен қатар пласттағы мұнайды ығыстыру агенттерінің қасиеттері және қасиеттері өзгертін тәсілдер жатады, яғни пласттан мұнайды алу дәрежесінің жоғарылауы қамтамасыз етіледі [38].

Осылайша, пласт энергиясының толықтырылуына байланысты және мұнайды өндіру ұңғымасына жылжыту қамтамасыз етілуіне байланысты игеру тәсілдері 3 классқа бөлінеді. Біріншілік (бастапқы) тәсілдер – бұл пласттың ішкі энергиясының потенциалын пайдалана отырып, мұнайды алуға негізделген

даярлау тәсілдері. Мұнай ағыны пласттың қысым есебінен қамтамасыз етіледі. Екіншілік тәсілдер - бұл мұнайды пласт суларынан шығару су немесе газ айдау есебінен (газ бөлігіне) пласт ішіндегі энергияны ұстап тұру арқылы жүргізілетін даярлау тәсілдері, яғни екіншілік тәсілдер пласт қысымын жасанды ұстауға негізделген. Үшіншілік тәсілдерге – пласт қысымын жасанды ұстап қана қоймай, сонымен қатар пласттағы мұнайды ығыстыру агенттерінің қасиеттері мен қасиеттері өзгертін тәсілдер жатады, яғни пласттан мұнайды алу дәрежесінің жоғарылауы қамтамасыз етіледі.

1.3 Мұнай пласттардан мұнай шығаруды жоғарылату әдістері

Екіншілік тәсілдер кезінде пайдаланылатын мұнайды ығыстырудың жоғары потенциалымен ерекшеленетін агенттерді айдау есебінен ішкі пласттық энергия потенциалын пайдалана отырып, мұнайды алуға негізделген мұнай шығаруды жоғарылатудың әдістері (МШЖ), мұнай берудің үшінші тәсілдеріне жатқызылады.

Қазіргі уақытта мұнай беруді жоғарылату әдістерінің мынадай топтары жеткілікті дәрежеде игерілді және өнеркәсіптік ауқымда қолданылады - жылу, газ, физика-химиялық, гидродинамикалық, микробиологиялық [39].

Жылу әдістері мынадай тәсілдерді қамтиды:

- пластқа бу-жылыту әсері;
- пласт ішіндегі жану;
- мұнайды ыстық сумен ығыстыру;
- ұңғымаларды пароциклдік өңдеу.

Мұнай беруді жоғарылатудың газды әдістеріне:

- пластқа ауа жіберу;
- көмірсутек газымен пластқа әсер ету;
- көміртегінің қос тотығымен пластқа әсер ету;
- азотпен, түгін газдарымен пластқа әсер ету.

Мұнай беруді жоғарылатудың физикалық-химиялық әдістері мынадай тәсілдерді қамтиды:

- мұнайды су ерітінділерімен ығыстыру ББЗ (көбікті жүйелерді қоса алғанда);
- полимерлер ерітінділерімен мұнайды ығыстыру;
- мұнайды сілтілі ерітінділермен ығыстыру;
- химиялық реагенттер композицияларының мұнайды ығыстыруы, оның ішінде мицеллярлы, мицеллярлы полимерлі ерітінділер;
- мұнайды еріткіштермен ығыстыру.

Гидродинамикалық әдістер:

- сүзгілеу ағындарының бағытын өзгерту;
- пайдалануға берілмейтін қорларды әзірлеуге тарту;
- стационарлық емес (циклдік) суландыру;
- сұйықтықты үдемелі іріктеу [40, 41, 42, 43].

Мұнай беруді ұлғайтудың микробиологиялық әдістеріне мыналар жатады:

- био-ББЗ енгізу;
- биополимерлерді енгізу;
- микроорганизмдерді енгізу;
- мелассалық өсіру;
- табиғи микрофлораны қолдау [44].

Мұнай беруді жоғарылатудың микробиологиялық әдістері пластқа бактериялық өнімді енгізу немесе оның тікелей мұнай қабатында пайда болуы салдарынан мұнай өндіруді жоғарылатуды болжайтын үшінші әдістердің бірі болып табылады.

Қазіргі кезде қолданыстағы кен орындарынан мұнай шығаруды ұлғайтудың перспективті бағыттарының бірі - микроорганизмдердің тіршілік ету процесінде әртүрлі метаболиттер түзу қабілетіне негізделген, мұнайдың негізгі жыныстардан ығыстырылуына ықпал ететін мұнай алудың жоғарылауының микробиологиялық әдістері (Microbial enhanced oil recovery - MEOR). MEOR әдісінің түпкі мақсаты экономикалық пайда бір мезгілде ұлғайған кезде саңылаулы ортаға түскен мұнайды алуды жақсарту болып табылады. MEOR мұнай өндірудің үшінші технологиясы болып табылады, ол әдетте мұнайдың қалған үштен екісін ішінара алуға мүмкіндік береді, осылайша мұнай пласттарының қызмет ету мерзімін ұзартады [45].

Микроорганизмдер негізінде мұнай беруді жоғарылатудың әдістері шағын капитал сыйымдылығымен, қоршаған ортаға қауіпсіздігімен тиімділігі назар аудартады. Биотехнологияда қосымша ығыстыру физика-химиялық әдістер кезіндегі механизмдерге негіздейді, бірақ микробтық метаболиттер тікелей пласт шеттерінде пайда болады, бұл олардың әсерінің тиімділігін арттырады [46].

Микробиологиялық әдістер - басқа тәсілдермен алынбайтын қалдық мұнайды алу үшін перспективалы технология. Микроорганизмдердің көмегімен мұнайды қосымша өндіру олардың физиологиялық-биохимиялық ерекшеліктерін мақсатты пайдалануға негізделеді. Оларға микроорганизмдердің температураның, қысымның, сулардың тұздылығының кең ауқымында, аэробтық және анаэробтық жағдайларда өсу қабілеті, өсу және тіршілік ету үшін әртүрлі қоректендіру көздері мен энергияны пайдалану қабілеті жатады: H_2 , CO_2 бастап мұнайға дейін. Бұл ретте олар әр түрлі метаболиттерді түзеді: газдар (CH_4 , CO_2 , N_2 , H_2), органикалық және май қышқылдары, еріткіштер, беттік-белсенді заттар, ферменттер, түрлі полимерлер, оның ішінде полисахаридтер [47, 48, 49].

Әдісті қолданудың негізгі салалары - ұңғымаларды жақсарту, ұңғымаларды парафиннен тазарту, флюидтердің тұтқырлығын өзгерту, пласттағы ауыр мұнайлар мен битумдарды модификацилау, пласттардың мұнай беруін жоғарылату. Мұнай беруді жоғарылатудың болжамды механизмдері микробтық метаболиттердің қасиеттеріне негізделеді, олардың әсерінен жыныстардың, мұнайдың және пласт суларының қасиеттері өзгеруі мүмкін. Осылайша, газдар мұнайдың ісінуіне, оның тұтқырлығын төмендетуге және

пласт қысымының жоғарылауына ықпал етеді. Кальциттерді ерітуге қабілетті органикалық қышқылдар жыныстардың кеуектілігі мен өткізгіштігін арттырады. БиоББЗ және май қышқылдары аралықтағы су-мұнай фазааралық керілуін төмендетуі мүмкін, мицелл түзілуіне ықпал етуі мүмкін [49, р. 2]. Микроорганизмдердің ферменттері ауыр мұнайлар мен битумдардың деструкциясын тудырады және биоББЗ-мен бірге олардың қозғалысын арттырады. Ацетон, метанол, этанол, бутанол түріндегі түзілетін еріткіштер мұнайды ығыстырады. Биополимерлер пласт суларының тұтқырлығын ұлғайта алады, жарықтар мен жарықтарды тығыздай алады. Микробиологиялық әдістер қазіргі уақытта екі бағытта дамуда:

- жер бетінде алынған бактериялық өнімді пластқа енгізу (микроорганизмдер үлкен сыйымдылықтағы ферменттерлерде өсіреді), содан кейін құрамында қажетті метаболиттер бар дақылды сұйықтықты пайдаланады немесе метаболиттерді таза күйінде бөледі және алады;

- мұнайды ығыстыратын өнімдердің микроорганизмдермен тікелей пластта пайда болуы [50].

Гендік-инженерлік әдістермен құрастырылған микроорганизмдерге келетін болсақ, оларды беттікте пайдалану артық, өйткені пластта құнды белгілердің жоғалуын болдырмайтын селективті жағдайлар жасау мүмкін емес немесе өте қиын [51].

Пласттағы микроорганизмдердің метаболиттерді түзуіне негізделген микробиологиялық әдістің мынадай технологиялары жасақталады:

- пластқа микроорганизмдер дақылы немесе дақылдар қауымдастығы қоректік субстратпен бірге, әдетте азот және фосфор тұздары бар мелассамен немесе тұзсыз енгізіледі;

- пластқа аборигендік микрофлораны активациялау үшін азот тұздары бар меласса түріндегі қоректік субстрат қана енгізіледі;

- пластқа пластты микрофлораны активациялау үшін азот және фосфор тұздарының ауаланған ерітіндісі енгізіледі, ол пластты мұнайдың тотығуы есебінен болуы тиіс;

- пластқа азот пен фосфор тұздарының ерітіндісімен және пласттың анаэробтық жағдайларының өсуін қамтамасыз ету үшін катализатормен бірге мұнайда өсуге қабілетті аэробты микроорганизмдер қауымдастығы енгізіледі.

Кез келген технологияны қолданудың алдында кен орнының геологиялық және петрофизикалық ерекшеліктерін зерттеу, оны игеру тарихы, жыныстардың коллекторлық қасиеттерін, мұнайдың, судың құрамы мен қасиеттерін зерттеу, аборигендік микрофлораны зерттеу болуы тиіс [52, 53, 54].

Мұнай беруді жоғарылатудың микробиологиялық әдісінің артықшылықтары:

- мұнай кен орындарының өнімділігін арттыру;

- мұнай өндірудің жиынтық көлемін және ұңғымалар мен кен орындарын тиімді пайдалану мерзімін ұлғайту;

- пластты сұйықтықтағы судың құрамын азайту;

- биомассаның және еритін биополимерлердің, микроорганизмдердің тіршілік ету өнімдерінің есебінен пласт суының тұтқырлығын арттыру;
- мұнай және газ ұңғымалары мен кен орындарындағы күкіртті сутегі құрамының азаюы, оның жабдыққа теріс әсері төмендейді;
- жабдықтың тұрып қалу уақытының азаюы [55].

Мұнай беруді жоғарылатудың микробиологиялық әдісін іске асыру кезінде пластқа енгізілген микроорганизмдер мұнайдың көмірсутектерін метаболиздейді және тіршілік әрекетінің пайдалы өнімдерін бөледі:

- тұтқырлықтың азаюына, мұнайдың жылжу температурасының төмендеуіне әкеп соғатын спирттер, еріткіштер және әлсіз қышқылдар, сондай-ақ парафиндерді және ауыр мұнайдың кеуекті жыныстардан қосылуын алып тастайды, соңғыларының өткізгіштігін ұлғайтады;
- пласттың кеуекті бетімен мұнайды десорбциялауға ықпал ететін биологиялық беттік-белсенді заттар;
- пласт ішіндегі қысымды жоғарылататын газдар, бұл мұнайды ығыстыруға ықпал етеді. Бұдан басқа, өндірілетін мұнайдың сапасы жақсарады:
 - жеңіл алкандарды ұлғайту $<C_{20}$;
 - орташа алкандарының азаюы $C_{20}-C_{40}$;
 - жоғары молекулалы ауыр көмірсутектердің бұзылуы;
 - құрылымдық хош иісті сақиналарды бөлшектеу;
 - құрылымдық фенол сақиналарын бөлшектеу;
 - құрамында күкірт бар органикалық қосылыстарды қалпына келтіру;
 - металл микроэлементтердің концентрациясын азайту;
 - шикі мұнайды эмульгирлеу [56, 57,].

Микробиологиялық әсер пласттардың мұнай беруін жоғарылатудың үшінші әдістеріне жатады. Технология микроорганизмдердің әсерінен сульфаттардан күкіртті сутектің пайда болу механизміне негізделеді. Шығу жолында күкірт сутегіні емес, мұнайды пласттан ығыстыруға ықпал ететін қосылыстарды алу.

Мұнай пласттарына әсер етудің микробиологиялық әдістерін негізгі екі топқа бөлуге болады. Біріншісіне микроорганизмдердің тіршілік ететін өнімдері - ферменттер-өнеркәсіптік қондырғыларда жер бетінен алынған метаболиттер пайдаланылатын технологиялар жатады. Бұл әдістер химиялық әдістерге жақын. Айдалатын судың мұнай ығыстыру қасиеттерін жақсарту бұл жағдайда биоББЗ, биополимерлер, эмульгаторлар сияқты қосылыстар есебінен жүргізіледі [58, 59].

Екінші топ метаболиттерді тікелей пластта алу мақсатында микробиологиялық процестерді дамытуды көздейді. Бұл жағдайда микробиологиялық процесс нәтижесінде мұнай ығыстыратын агенттердің пайда болуы микроорганизмдер мен қоректік заттардың - мелассаның, сүт сарысуының және тамақ немесе химия өнеркәсібінің басқа да қалдықтарының қабатына қосымша енгізу есебінен тікелей пластта жүргізіледі [60].

Микробиологиялық әдістер игеруге тартылатын қорларды 5-7 % - ға ұлғайтуға, ұңғымалардың дебитін 1,5-2 есеге, ал ағымдағы мұнай өндіруді 15-25 % - ға ұлғайтуға мүмкіндік береді. Әдістің тиімділігін нақтылау үшін жүргізілетін техникалық-экономикалық есептеулер энергия тасығыштарға бағаның тұрақты өсуі аясында микробиологиялық әдістердің өзін-өзі ақтауы 1,5-2 жылды құрайтынын көрсетеді [58, р. 41;]. Сондықтан мұнай беруді жоғарылатудың биотехнологиясын даярлауда, пайдалануға болатын микроорганизмдерге қарқынды зерттеулер жүргізілуде. Игерілетін кен орындарындағы мұнай шығаруды жоғарылату жаңа кен орындарын ашумен тең, сондықтан бұл проблема әлемнің барлық мұнай өндіруші елдері үшін, әсіресе Қазақстан үшін өзекті болып табылады [61].

Пластқа микробиологиялық әсер ету технологиясы микроорганизмдердің биомассасын (құрғақ белсенді лай) игерудің орташа және соңғы сатысындағы мұнай кен орындарындағы айдау ұңғымаларына енгізуге негізделген, мұнда суландырудың тиімділігі төмен [62].

Технологиялық процесс құрамында көмірсутек тотықтырғыш бактериялар, оттегі көздері, азот және фосфор бар микробиологиялық ерітіндіні айдау арқылы іске асырылады, сөйтіп айдаудың аяқталуы суландыру бағдарламасына сәйкес жүргізілетін суды айдау циклінің аяқталуымен сәйкес келеді. Пласт жағдайында көмірсутекті тотықтырғыш бактериялар спирттер мен альдегидтер, беткі белсенді әсер ететін май қышқылдары және мұнайдың ығыстырылуын арттыратын газдар сияқты органикалық еріткіштерді синтездеуге қабілетті. Технология тұщы, сондай-ақ минералданған сумен суландырылатын учаскелерде қолданылуы мүмкін, отандық өндірістің қолжетімді реагенттерін пайдаланады, іске асыру үшін күрделі жабдықтарды талап етпейді. Табиғи патогенді емес микроорганизмдерді және табиғатта толық кәдеге жаратылатын реагенттерді қолдану есебінен технология қоршаған орта мен адам үшін қауіпсіз [57, р. 1132; 59, р. 460].

Мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістерін қолдану кезінде мұнайды алу коэффициенті 30-70 % құрайтынын, ал игерудің бастапқы (біріншілік) тәсілдері кезінде орташа есеппен 20-25 %-дан аспайтынын, ал екіншілік тәсілдер кезінде 25-35 % [63, 64].

Осылайша, мұнай шығаруды жоғарылатудың бастапқы әдістерін қолданған кезде мұнайды алу коэффициенті орташа есеппен 20-25% құрайды, мұнай шығаруды жоғарылатудың екінші әдістері кезінде коэффициент 25-35%, ал мұнайды жоғарылатудың үшінші әдістері кезінде коэффициент 30-70% құрайды. Пласттардың мұнай беруін жоғарылатудың үшінші әдістеріне микробиологиялық әдістер жатады. Мұнай беруді жоғарылатудың микробиологиялық әдісінің артықшылықтары: мұнай кен орындарының өнімділігін арттыру; мұнай өндірудің жиынтық көлемін және ұңғымалар мен кен орындарын тиімді пайдалану мерзімін ұлғайту; пласт сұйықтығындағы судың құрамын азайту; биомассаның және ерітін биополимерлердің, микроорганизмдердің тіршілік ету өнімдерінің есебінен қабат суының

тұтқырлығын арттыру; мұнай және газ ұңғымалары мен кен орындарындағы күкіртті сутегі құрамының азаюы, оның жабдыққа теріс әсері төмендейді; жабдықтың тұрып қалу уақытын азайту.

1.4 Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің түрлілігі

Соңғы жылдары мұнай резервуарларындағы мекендеу орындарының микроорганизмдері үлкен назар аудартады. Тереңдіктегі сулы және мұнайлы горизонттарда жұмыс агенттерінің суды және су ерітінділерін бұрғылау немесе айдау кезінде жер үсті ерітінділерімен келіп түсетін микроорганизмдермен қатар аборигендік микрофлораның болуы дәлелденген.

Пласт суларында бактериялардың болуы туралы алғашқы нұсқаулар 1901 ж. Шейко Бакудегі мұнай кәсіпшілігін зерттеу кезінде жасалды. Бастин 1926 жылы анықтады, ал 1930 жылы АҚШ-тың мұнай кен орындарының суларында сульфатредукциялаушы бактерияларды сипаттады. 1926 ж. Гинзбург - Карагичева да Апшерон түбегінің мұнай кен орындарын зерттеу кезінде белсенді микрофлора табылды. Мұнай және газ кен орындарының микрофлораларын зерттеу кезінде көмірсутектерді тотықтыратын микроорганизмдер, тионды (гипосульфитпен сілтілі ортада дамиды), сульфатты қалпына келтіретін, денитрификациялайтын, целлюлозды ыдырататын және метан түзетін бактериялар анықталған. Мұнай кен орындарының өнімді пласттарында бактериялар мұнай пласт суы мен мұнайға сіңген тау жынысы арасында бөлінеді. Кейбір түрлері қатты беткі қабаттарда адсорбциялау қабілетіне ие [18, p. 49-51; 55, p. 15].

Мұнай пласттарында әр түрлі физиологиялық топтардың аэробты және анаэробты микроорганизмдері кең таралғаны белгілі, олардың кейбіреулері тіршілік қабілетін жоғалтып қана қоймай, сондай-ақ пласт жағдайында белсенді болып қалады. [20, p. 689-691; 53, p. 6]. Бактериялардың пласт суы мен мұнай арасында бөлінуі олардың физиологиялық қасиеттеріне едәуір дәрежеде байланысты. Мәселен, Хейер мен Шварц микроорганизмдерді мұнайға қатысты екі топқа бөледі. Бірінші топ - «мұнай оң микроорганизмдер», олар су ортасынан құрамында сусыз көмірсутегі бар ортаға ауысып, онда көбейе алады. Бұл топқа авторлар *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter* туыстарының өкілдерін жатқызады және көрсетілген бос және байланысқан липидтермен байытылған полярлық құрылымдар бар қабықшаның болуымен түсіндіреді. Осыған байланысты бактериялар мұнай тамшыларында даму қабілетіне ие. Екінші топқа «мұнай теріс микроорганизмдер», мұнаймен жанасқан кезде сулы ортадан ауыспайтын және беттік көмірсутектерді тотықтырады. Бұл топқа *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Desulfovibrio* туысының өкілдері жатады [18, p. 33-35; 23, p. 237-238].

Мұнай өнеркәсібінде қолданылатын микроорганизмдер термотолеранттылық, осмофильділік, рН мәнінің өсуі үшін оңтайлы, метаболиттік процестерге көмірсутектердің әртүрлі кластарын және n-алкандар спектрлерін қосу қабілеті сияқты ерекшеліктермен сипатталады.

Мұнай беруді жоғарылату үшін микроорганизмдердің әртүрлі түрлері пайдаланылады. Бұл микроорганизмдерді негізгі типтерге бөлуге болады: КТБ - көмірсутек тотықтыратын бактериялар (аэробтар); АБ - ашыту бактериялары (аэробтар мен анаэробтар); МТБ - метан түзетін бактериялар (анаэробтар); СҚБ - сульфатты қалпына келтіретін бактериялар (аэробтар) [65].

Аэробты микроорганизмдер температурасы 20 – 70 °С және рН 6,0 – 8,4 бір. пласт суларынан табылды. Олар үшін пептоз, глюкоза, сахароза, ашытқы экстрактысы, сұйық көмірсутектер, мұнай, метан субстраттар болып табылады. Аэробты микрофлораға тотығуға мамандандырылған метан (метан тотықтырғыш), сондай-ақ арнайы емес сапротрофтар, көмірсутегі және мұнай тотықтырғыш микроорганизмдер кіреді. Аэробтар құм коллекторлары бар мұнай пласттарында көп болады. Олар айдау ұңғымаларының қазба маңындағы аймақта тіршілік етеді, оған айдалатын сумен ерітілген оттегі түседі.

Аэробты бактериялар *Rhodococcus ruber*, *Clavibacter michiganensis*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *Brevibacillus parabrevis*, *Pseudomonas fluorescent*, *Acinetobacter calcoaceticus* ретінде анықталды. Қауымдастыққа кіретін коринеформалық және спора түзуші бактериялар белгілі мұнай деструкторлары және беттік белсенді заттарды өндірушілер болып табылады [66].

Пласттардың мұнай шығаруды жоғарылатуда қолданылатын микроорганизмдер аэробты, анаэробты және факультативті болып бөлінеді. Аэробты микроорганизмдерге - *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Yarrow*, *Xantomonas*, *Corynebacterium*; анаэробты микроорганизмдер - *Clostridium*, *Desulfovibrio*; факультативті анаэробты - *Bacillus*, *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Leuconostoc* жатады. Олардың негізгі метаболиттері: қышқыл, ББЗ, полимер, спирт, газ болып табылады. Осы микроорганизмдерді: көмірсутектотықтырғыш бактериялар - КСТБ; сульфат қалпына келтіретін бактериялар - СҚКБ; ашыту бактериялары - АБ; метантүзуші бактериялар - МТБ деп негізгі топтарға жіктеуге болады (кесте 1).

Кесте 1 – Оттегіге қатысты мұнай пласт микроорганизмдерінің түрлері

Оттегіге қатысы	Негізгі тобы	Түрлері	Оптималды рН, температура	Субстрат
1	2	3	4	5
аэробты бактериялар	КСТБ	<i>Geobacillus subterraneus</i> gen., <i>Geobacillus uzensis</i> , <i>B.stearothermophilus</i> , <i>B.thermocatenulatus</i>	рН 6,0 – 7,8; температура 40 – 70 °С	пептон, глюкоза, сахароза, метан, мұнай
анаэробты бактериялар	АБ	<i>Thermococcus sibiricus</i> nov. sp., <i>Clostridium byticum</i> , <i>C.acetobutyricum</i>	рН 6,0 – 8,6; температура 20 – 85 °С	пептон, крахмал, сахароза, глюкоза, бензоат.
анаэробты бактериялар	МТБ	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	рН 6,0 – 8,0; температура 18 – 60 °С	этанол, метанол, лактат, глюкоза, пептон, бензоат

1-кестенің жалғасы

анаэробты бактериялар	СҚКБ	<i>Desulfotomaculum desulfuricans, Dv.vulgaris, Dv.pastgatei, Desulfomicrobium apsheronum gen.nov.sp</i>	pH 6,0 – 8,6; температура 18 – 70 °C	этанол, метанол, лактат, глюкоза, пептон, бензоат. фенол, меласса
-----------------------	------	--	--------------------------------------	---

Кесте – 1 де көріп отырғанымыздай, мұнай пласт микроорганизмдері оттегіне қатысты аэробты және анаэробты түрлері кездеседі. Аэробты микроорганизмдер пласттарда pH 6,0-8,4 дейін және температура 20-70°C дейін анықталған. Субстрат ретінде оларға пептон, глюкоза, сахароза, метан, мұнай, сұйық көмірсутектер қолданылады. Аэробты микрофлора өзіне метанды, мұнайды, көмірсутекті тотықтыратын организмдер жатады. КСТБ-көмірсутекті тотықтыратын бактерияларға *Geobacillus subterraneus gen.*, *Geobacillus uzensis*, *B. stearothermophilus*, *B. thermocatenulatus* түрлері жатады. Олар pH 6,0-8,4 дейін және температура 20-70° C дейінгі және тұздылығы 0-5% дейінгі пласттарда анықталған. Сонымен қатар, олар субстрат ретінде пептон, глюкоза, сахароза, метан, мұнайды пайдаланады. Анаэробты бактериялар АБ - ашыту бактерияларына *Thermococcus sibiricus nov. sp.*, *Clostridium butyricum*, *C. acetobutyricum* жатады және олар pH 6,0-8,6; температура 20-85°C пласттарында табылған және субстрат ретінде пептон, крахмал, сахароза, глюкоза, бензоатты пайдаланады. Анаэробты бактериялар МТБ- метан түзуші бактерияларға *Methanobacterium thermoautotrophicum* жатады, олар pH 6,0-8,0; температура 18-60°C дейінгі мұнай пласттарынан анықталған және субстрат ретінде этанол, метанол, лактат, глюкоза, пептон, бензоат пайдаланады. Анаэробты бактериялар СҚКБ - сульфатқалпына келтіретін бактериялар: *Desulfotomaculum desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Dv.pastgatei*, *Desulfomicrobium apsheronum gen.nov.sp*. pH 6,0-8,6; температурасы 18-70°C пласттарда анықталған. Этанол, метанол, лактат, глюкоза, пептон, бензоат, фенол, мелассаны пайдаланады субстрат ретінде қолданады [67, 68, 69].

Бұл аймақта тіршілік ететін көмірсутек тотықтырғыш бактериялар көбінесе спора түзуші болып табылады, бұл оларға қоршаған ортаның өзгермелі жағдайында өмір сүруге мүмкіндік береді. Олар 40 – 70 °C температурада pH 6,0-7,8 аралықта өседі және 0 – 5 % NaCl немесе KCl тұздылықтары форматта өсуге, желатинді гидролиздеуге, метилен қызыл реакциясы бойынша, арабиноздан қышқыл түзуге, нитратты молекулалық азотқа дейін қалпына келтіруге қабілетті болды. Бұл бактериялардың экологиялық жағынан құнды қасиеті жеке көмірсутектер мен мұнайды, төменгі спирттер мен ұшпа қышқылдарды тұтыну қабілеті болды.

Көмірсутекті тотықтыратын бактериялар мұнаймен ластануды тазарту биотехнологиясында қолданылуы мүмкін [70, 71].

Мұнай пласттарындағы анаэробтық жағдайлардың салдарынан кең таралған топ метаболизмнің ашыту типі бар анаэробты органотрофтар болып

табылады [72]. Олар горизонттарда 20-85 °С температурада және рН 6,0 - 8,6 бір. аралықта тіршілік етеді. Субстраттар-пептон, глюкоза, сахароза, крахмал, бензоатболып табылады, ұшпа қышқылдардың, спирттердің пайда болуына байланысты. Ашытылған микрофлора *Bacteroides* және *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. acetobutyricum*, *C. tyrobutyricum*) туыстарының мезофильді бактерияларымен ұсынылған; *Thermoanaerobacter*, *Thermotoga* және *Thermosipho* туыстарының орташа термофильді бактериялары және *Thermococcus* туысының гипертермофильді бактериялары. Бұл бактериялардың ерекшелігі ашыту процесінде қант немесе пептон тұтыну қабілеті болып табылады [73, 74].

Жер асты экожүйелері және мұнай пласттарында, әдетте, оттегі болмайды. Молекулалық оттегі болмаған кезде терминалдық акцепторы ретінде электрондардың, көмірсутектердің микроорганизмдермен ыдырауы нитраты бар, тотықты темірмен, көмір қышқылымен немесе сульфатпен анаэробтық тыныс алу процестерінің есебінен мүмкін екендігі анықталынды. Сондай-ақ, электрондарды тұраралық көшіру биологиялық акцепторларға - метан түзетін немесе сульфатты қалпына келтіретін бактерияларға ықтимал.

Әртүрлі экологиялық жағдайлары бар пласттарда метан түзетін бактериялар (МТБ) немесе метаногендер табылған – минералдылығы 4-84 г/л, сульфаттардың құрамы 0-ден 2,5 г/л және күкіртсутегі 300 мг/л-ге дейін, температура аралығы 18-60 ° С және рН 6,0-8,0 бірлік. Мезофильді метаногендік қауымдастықтар ұшпа қышқылдары, этанол, метанол, лактат, глюкоза, пептон, бензоат бар ортада өскен. Мезофильді литотрофты, метилотрофты және ацекластикалық метаногендер *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanothrix* туыстарына жатады. Метаногендердің ерекшелігі ортада күкіртті сутектің жоғары болуына төзімділік және өсу температурасы болып табылады [75, 76, 77, 78].

Денитрификациялаушы микроорганизмдер (*Proteobacteria* класс астына жататын *Thauera* және *Azoarcus* туыстарынан) толуол, м-ксилол, этилбензол, пропилбензол, p-этилтолуол сияқты ароматты қосылыстар қатарын минералдандыруға қабілетті [79]. Темір редуциялаушы бактериялар (*Geobacter metallireducens*) толуол, фенол, крезол, фенилацетатты тұтынады. Сульфатты қалпына келтіретін бактерияларды алкиндер, алкендер, ароматты субстраттарды тұтынады.

Сульфатты қалпына келтіруші бактериялар (СҚБ) бактериялар 18-70 ° С температурадағы карбонатты және құмды мұнай коллекторларында табылды, рН 6.0 - 8.6 бірлік, ортаның жалпы минералдылығы 7-117 л/г және құрамында 605 мг/л жететін күкіртсутегі бар [80, 81, 82].

Осылайша, мұнай беруді жоғарылату үшін микроорганизмдердің әртүрлі түрлері пайдаланылады. Бұл микроорганизмдерді негізгі түрлерге бөлуге болады: көмірсутек тотықтыратын бактериялар (аэробтар); ашыту бактериялары (аэробтар мен анаэробтар); метан түзетін бактериялар (анаэробтар); сульфатты қалпына келтіретін бактериялар (аэробтар).

1.5 Микроорганизмдердің мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері

Мұнай пласттарының микробтық қоғамдастықтары Жердің ең ежелгі биоценоздарына жатады, олар органикалық қалдықтармен және биогендік лайлы тұнбамен бірге үлкен тереңдіктерге батады. Әсер ету механизмі мұнайдың реологиялық қасиеттерінің, жыныстардың коллекторлық қасиеттерінің өзгеруіне негізделетін мұнай беруді жоғарылатудың микробиологиялық әдістерін қолдану пластқа кешенді әсер етуді қамтамасыз етеді: пласт бойынша судың қозғалысын шайылған аймақтарды микроорганизмдермен бұғаттаумен шектейді, мұнайды олардың тіршілік ету кезеңінде метаболиттік өнімдерімен шаюды қамтамасыз етеді, бұл соңғы нәтижесінде пласттардың мұнай беруін жоғарылатуға әкеледі [83, 84].

К. Зобелл мұнай өнеркәсібінде пайдаланылатын беткі белсенді заттардың, полимерлердің, қышқылдардың, еріткіштер мен газдардың микроорганизмдер түзетін өнімдермен ұқсастығына бірінші болып назар аударды. Пластқа микробтық әсер ету әдістері химиялық заттарды ұңғымаға айдаудан микроорганизмдердің мұнайды ығыстыруға неғұрлым көп әсер ететін пласт тораптарында тіршілік ету мүмкіндігімен ерекшеленеді. 1980- 2010 жылдары Ресей, АҚШ, Қытай және т.б. елдерде мұнай алуды арттырудың бірқатар микробиологиялық әдістері сәтті іске асырылды [20, p. 690; 71, p. 143-145].

Микроорганизмдердің мұнай шығару қасиеттеріне дақылдар жасушаларының газдар, спирттер, қышқылдар, биополимерлер, ББЗ сияқты әртүрлі қосылыстар өнімдері арқылы шөгінді коллекторлардан мұнайды ығыстыру қабілеті жатады. Мұндай метаболиттер қалдық мұнайға оның кеуектілігін, қабат қысымының өткізгіштігін ұлғайтуға қабілетті тұтқырлығын азайта отырып әсер етеді, сондай-ақ мұнай-су шекарасындағы фазааралық керілуді төмендетеді.

Микроорганизмдердің пласттар мен ұңғымалардағы процестерге әсер ететін микробиологиялық метаболиттері мұнайды ығыстыруға бірқатар механизмдер арқылы әсер етеді (кесте 2).

Кесте 2 – Мұнайпласттар мен ұңғымалардағы процестерге әсер ететін микробиологиялық метаболиттер

№	Метаболиттер	Әсер ету механизмі
1	2	3
1	қышқылдар	жыныстардың коллекторлық қасиеттерінің өзгеруі: кеуектілік пен өткізгіштікті арттырады, CO ₂ бөлумен карбонаттармен реакция
2	биомасса	көмірсутектерге әртүрлі адгезия салдарынан іріктеп немесе таңдамайтын бітеу, эмульгирлеу немесе деэмульгирлеу, жыныстардың сулануының өзгеруі

2-кестенің жалғасы

3	газдар (CO ₂ , CH ₄)	мұнайдың тұтқырлығының төмендеуіне және пласт қысымының ұлғаюына әкеледі;
4	еріткіштер	фазааралық керілуді төмендететін және мұнайдың ығыстырылуын арттырады, мұнай сұйылту
5	биоББЗ	мұнайды эмульгирлеу, оның тұтқырлығын және мұнай-су шекарасында фазааралық тартылуын төмендететін;
6	биополимерлер	Пласттық сұйықтықтардың қозғалысын бақылау, мұнай сұйылту

Пласттық жағдайларда микрофлораны ынталандыру үшін минералды (азот және фосфор тұздары) немесе органикалық субстраттар (меласса – қант өндірісінің қалдығы, сүт сарысуы және т.б.) қолданылады. Тәсілдердің бірі қоректік субстраттары және биореагенті бар целлюлоза бар материалды су ерітіндісін қабатқа біртіндеп айдау. Сонымен қатар қабаттық немесе енгізілетін көмірсутекті қышқылдайтын микрофлораны ынталандыру үшін қоректік субстраттар ретінде фосфор мен азот тұздары қызмет етеді, биореагент ретінде – құрамында целлюлоза бар материалдар мен қоректік заттарды суда араластыру жолымен дайындалған шөгінді сұйықтық қолданылады. Қосымша қоректік заттар ретінде «Белвитамил» қара моносльфитті, қызылша мелассасын немесе ақуыз витаминді концентратты қолданады [85, 86].

Мұнай шығаруды жоғарылатудың экологиялық қауіпсіз микробиологиялық әдістері негізінен суландыру көмегімен игерілетін кен орындарында қолданылады. Су фазасының болуы пластты микрофлораның бай және алуан түрлі дамуына жағдай жасайды.

Мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістері екі бағыт бойынша әзірленеді:

- біріншісі - жерүсті жағдайында мұнайдың жылжымалылығын арттыратын микробиологиялық синтез өнімдерін алу;
- екіншісі - мұнайды коллектордан ығыстыруға ықпал ететін метаболиттерді алу мақсатында тікелей мұнай пласты жағдайында микробиологиялық процестерді дамыту.

Бұл әдістер микробтық метаболиттердің көмегімен айдалатын судың мұнай шығару қасиеттерін жақсартады: биоББЗ, полисахаридтер, еріткіштер және т.б. [87, 88].

Мұнай пласт сулары микроорганизмдері үлкен биотехнологиялық потенциалға ие. Газдардан басқа олар бірқатар басқа да мұнай шығаратын метаболиттерді - беттік-белсенді заттарды (ББЗ), экзополисахаридтерді, еріткіштерді, қышқылдарды, олардың пайда болуы мұнайдың аэробты-анаэробты деградациямен байланысты. Мұнай шығаруды жоғарылатудың биоәдістері пласттың кенжар маңындағы аймағында табиғи/жасанды

микрофлораны құруға немесе белсендірілуге және оны мұнайы бар пластта тұщы сумен жылжытуға негізделген.

Мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістері шағын капитал сыйымдылығы және жоғары тиімділігімен, қоршаған ортаның қауіпсіздігімен назар аудартады. Биотехнологияларда мұнайды ығыстыру физика-химиялық әдістер кезіндегі механизмдерге байланысты болады, бірақ микробтық метаболиттер тікелей пласт пораларында пайда болады, бұл олардың әсер ету тиімділігін арттырады. Микроорганизмдер әр түрлі көмірсутек түрлерін әр түрлі жылдамдықпен сіңіреді [89, 90].

Мұнай пласттарында әсер етудің барлық микробиологиялық әдістерін негізгі екі топқа бөлуге болады:

1 топ - жер бетінде (өнеркәсіптік қондырғылар-ферменттерде) алынған микроорганизмдердің тіршілік ету өнімдері (метаболиттер) пайдаланылады;

2 топ - метаболиттерді тікелей пластта алу мақсатында микробиологиялық процестерді дамыту. Бұл әдістерді мұнай пласттың физикалық-химиялық және микробиологиялық жағдайын білместен әзірлеу мүмкін емес. Екінші топтың микробиологиялық әдістерін микроорганизмдерді пластқа енгізу және олар үшін қоректендіру тәсілі бойынша екі негізгі кіші топқа бөлуге болады. Бірінші кіші топ биотехнологиясына жататындар, оларда пласттың табиғи микрофлорасы қоректендіруді бетінен айдау жолымен белсендіріледі, ал екінші биотехнологияларында, онда пластқа қоректік заттармен бірге микроорганизмдер дақылдары енгізіледі. Кәсіптік практикада негізінен екінші топтың биотехнологиясы пайдаланылады. Әдістердің негізгі айырмашылықтары микроорганизмдер мен қоректік заттарды енгізу тәсілдерінен тұрады. Қоректік зат ретінде негізінен меласса қолданылады. Ол қант қызылшасынан қант өндірудің оңай қол жетімді және арзан жанама өнімі, яғни жаңартылатын өсімдік массасынан жасалған реагент болып табылады. мелассаны қолдана отырып микробиологиялық әсер ету процесінің өзі мелассалық суландыру деп аталады [91, 92].

Микробиологиялық әсер етудің жиі қолданылатын технологиялары - бұл жекелеген өндіруші ұңғымаларды циклдік микробиологиялық өңдеу және микробиологиялық суландыру. Өндіруші ұңғымаларды циклдік микробиологиялық өңдеу – бұл микроорганизмдердің өсуі және метаболиттердің жинақталуы үшін бірнеше күннен бірнеше айға дейінгі ұңғымалардың жабылу кезеңімен үйлесетін қоректік субстраттар, биокатализаторлар мен микроорганизмдер қабатына айдау. Ұңғыманы жабу кезеңінен кейін пайдалану кезеңі өтеді және ұңғымада мұнай өндіру едәуір төмендеген кезде цикл қайталанатын [93, 94].

Микробтарды дайындау тәсілі бойынша микробиологиялық әдістер екі түрге жіктеледі: беттік қабатта (extrasitium) және тікелей пластта (insitu). Бірінші жағдайда микробтарды ферменттерлерде зауыт жағдайында немесе ұңғымалардағы мобильді қондырғыларда дайындайды, содан кейін су ерітінділері түрінде пластқа айдайды. Биополимерлер мен биоББЗ сияқты

бактериялар метаболизмінің өнімдері кеңінен таралды. Екінші жағдайда жергілікті немесе енгізілген микрофлора белсендіріледі, кейін пласт бойынша жылжытылады, құрылған микробтық қауымдастықтар мен олардың қоректену өнімдері жүреді. Пласт суларында микробтық қауымдастықтың құрамына сульфатредукциялайтын, қалпына келтіретін тиосульфат пен элементарлық күкірт, ашыту бактериялары, көмірсутегі және мұнай тотықтырғыш бактериялар, ацетогендер мен метаногендер кіреді [95, 96, 97]. 1-кестеде мұнай беруді жоғарылатудың әдістерінде қолданылатын микроорганизмдер және олардың негізгі метаболиттер өнімдері берілген (кесте 3) [85, р. 56].

Кесте 3 – Микроорганизмдер және олардың негізгі метаболит өнімдері

№	Микроорганизмнің түрі және оттегіге қатынасы	Негізгі метаболиттер
1	<i>Clostridium</i> , анаэробтылар	Газдар, қышқылдар, спирттер, ББЗ
2	<i>Bacillus</i> , факультативті анаэробтылар	Қышқылдар, ББЗ, полимерлер
3	<i>Pseudomonas, Rodococcus</i> , аэробтар	ББЗ, полимерлер, қышқылдар
4	<i>Xantomonas</i> , аэробтылар	Полимерлер
5	<i>Leuconostoc</i> , факультативті анаэробтылар	Полимерлер
6	<i>Desulfovibrio</i> , анаэробтылар	Қышқылдар, газдар
7	<i>Arthrobacter</i> , факультативті анаэробтар	ББЗ, спирттер
8	<i>Corynebacterium</i> , аэробтар	ББЗ, газдар, қышқылдар
9	<i>Enterobacter</i> , факультативті анаэробтылар	ББЗ, газдар, қышқылдар

Мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдісі кезінде мынадай метаболиттердің маңызы зор:

1) қышқылдар – жыныстардың коллекторлық қасиеттерінің өзгеруі: кеуектілік пен өткізгіштіктің артуы, CO₂ бөлінетін карбонаттармен реакция;

2) биомасса - көмірсутектерге әртүрлі адгезия салдарынан эмульгирлеу немесе деэмульгирлеу, жыныстардың сулануының өзгеруі;

3) газдар (SO₂, SN₄, N₂) - қабат қысымын жергілікті қалпына келтіру, мұнайдың ісінуі, тұтқырлықтың азаюы;

4) еріткіштер - мұнайды еріту;

5) биополимерлер - пласт сұйықтықтарының қозғалысын бақылау [74, р. 596; 85, р. 631].

Өнеркәсіптік микробиологиялық технологияларда *Clostridium* және *Bacillus* туыстарының микроорганизмдері пайдаланылады. Бұл туыстардың өкілдері мұнай пласттарына әсер ету процестерінде, оның ішінде олардың спора түзуге қабілеттілігінің салдарынан пайдалану үшін айтарлықтай потенциалға ие. Споралар микроорганизмдердің вегетативтік формаларымен салыстырғанда кішкене көлемге ие, бұл пластты неғұрлым тиімді, терең микробиологиялық өңдеуге ықпал етеді. Олар сыртқы жағдайлардың стресстік өзгерістеріне неғұрлым төзімді, олар микроорганизмдерді беткі қабаттан мұнай пласттарына айдау кезінде болады. *Clostridium* туыстарының өкілдері ББЗ, газдарды, спирттер мен қышқылдарды, ал *Bacillus* туыстары - ББЗ, қышқылдар мен биополимерлерді өндіреді. *Clostridium* туысының микроорганизмдері неғұрлым перспективалы болып табылады, олар таза дақылдар түрінде де, *Bacillus* туысының бактериялармен бірге де пайдаланылады [74, p 608; 75, p.79].

Мелассаның *Clostridium* туысының микроорганизмдермен ашу кезінде мұнайды ығыстыру мынадай механизмдердің есебінен жүреді:

- газдардың мол пайда болуы пласттағы қысымның өсуіне әкеледі;
- органикалық және минералдық қышқылдардың пайда болуы, олар газдардың шығуын жоғарлата отырып, карбонаттарымен жыныстар әсер етеді;
- мұнай-су шекарасында фазааралық керілуді төмендететін әртүрлі ББЗ пайда болуы [98, 99].

Суландырумен бірге мелассаны және микроорганизмдерді айдау кезінде газдар немесе органикалық қышқылдар ғана емес, ББЗ, полимерлер негізгі мұнай шығарушы агенттер болып табылса экономикалық жағынан тиімді.

Оның үстіне мұнайды ығыстыру қаншалықты көп карбонат болса және ашыту процесінде қаншалықты көп қышқыл пайда болса, соншалықты жоғары болады [100].

Сонымен қатар, мұнайды шығарудың микробиологиялық әдісінде кеңінен қолданылатын биосурфактанттар болып табылады.

Биосурфактанттар – бактериялық өнімнің шығуы беттік-белсенді заттар. Олар эмульгирлеудің тиімділігі бойынша синтетикалық сурфактанттардан кем емес. Синтетикалық сурфактанттардан айырмашылығы биодеградабельділік және уыттылықтың жоқтығы сияқты артықшылықтарға ие. Микробтық биосурфактанттар құрамына май қышқылдары, пептидтер, гликолипидтер, фосфолипидтер, гликопептидтер кіретін күрделі полисахаридтер немесе полисахарид-пептидо-липидті кешендер болуы мүмкін. Сурфактанттардың екі класы бар - химиялық синтезделген сурфактанттар және микроорганизмдер түзетін биосурфактанттар (биологиялық беттік белсенді қосылыстар, биоПАВ). Биосурфактанттар су ерітінділерінде де, көмірсутек қосылыстарында да беттің кернеуі мен бөлу шекарасын төмендетеді, бұл эмульсияның бөлшектену процестері және мұнайдың шығуын жоғарылату үшін потенциалды кандидаттар. Микроорганизмдердің биосурфактанттарының физиологиялық рөлі субстратқа адгезиядан және қоректік компоненттерді эмульгирлеуден тұрады [101].

Биосурфактанттар құрамына амин қышқылы немесе пептидті аниондардан немесе катиондардан тұратын гидрофильді бөлігі, моно-, ди- немесе полисахаридтер және қаныққан немесе қанықпаған май қышқылдарынан тұратын гидрофобты компоненттер кіреді. Сондықтан химиялық табиғатына сәйкес биосурфактанттар келесі топтарға бөлінеді:

1) гликолипидтер, соның ішінде: рамнолипидтер – *Pseudomonas aeruginosa*; трегалозо-липидтер – *Rhodococcus erythropolis*, *Nocardia Rhodochrous*, *N. erythropolis*, *Mycobacterium phlei*; софорозолипидтер – *Torulopsis bombicola*, *T. ampicola*, *T. petrophilum*;

2) липобелоктар и липопептидтер, соның ішінде: лихенизин – *Bacillus licheniformis*; субтилизин – *B. subtilis*; циркулоциндер – *B. circularis*; полимиксиндер – *B. subtilis*; вискозин – *Pseudomonas fluorescens*; эмульсан – *Phormidium sp.*; липозан – *Candida lipolytica*;

3) полисахаридтер, соның ішінде: эмульсандар – *Arthrobacter sp.*, *A. calcoaceticus*; *Phormidium sp.*; ксантан – *Xanthomonas campestris*;

4) май қышқылдары – *Candida spp.*, *C. lepus*;

5) фосфолипидтер – *Tiobacillus thiooxidans*; *Corynebacterium sp.*; *Candida sp.*

ББЗ өндіруші микроорганизмдер биосурфактанттардың ортадағы көміртегі көзіне әсеріне байланысты үш топқа бөлінеді:

- н-алкандарға әсерлі биоББЗ шығаратын микроорганизмдер – *Corynebacterium sp.*, *Arthrobacter sp.*;

- суда еритін көміртек көздеріне әсерлі биоББЗ шығаратын микроорганизмдер – *Bacillus sp.*;

- н-алкандар мен суда еритін көміртек қосылыстарына әсерлі биоББЗ шығаратын микроорганизмдер – *Pseudomonas sp.* [97, p. 341-343; 101, p. 315-318].

Сондай-ақ микроорганизмдердің мұнай шығаратын қасиеттеріне - жыныстардың кеуектілігінің өзгеруі жатады. Тау жынысының кеуектілігі деп онда кеннің бос жерлердің пайда болуымен түсіндіріледі. Кеуектілік тау жынысының сұйықтықтар мен газдарды сыйдыру қабілетін сипаттайды [102]. Кеуектіліктің үш түрін ажыратады: жалпы (физикалық), ашық және тиімді. Жалпы кеуектілік–қатынасатын және оқшауланған көлемі–әр түрлі радиустардың қатынас формасы мен дәрежесін қамтиды. Ашық кеуектілік – вакуумда жыныс қаныққан кезде сұйық немесе газ тәріздес флюидпен толтырылатын өзара қатынас көлемі; ол оқшауланған көлеміне жалпы кеуектіліктен аз. Тиімді кеуектілік көлемнің жылжымалы флюидпен (мұнаймен, газбен) қамтылған бөлігін сипаттайды; ол байланысқан (қалдық) флюидтердің көлеміне ашық кеуектіліктен аз [103].

Тәжірибелі-өнеркәсіптік жұмыстар алғаш рет АҚШ, Солтүстік Каролина штатында 1954 жылы «Лисбон» кен орнында жүргізілді. Мұнай микробиологиясы ғылым саласы ретінде 80 жыл бұрын құрылғанына

карамастан, мұнай пласт микрофлорасы туралы мәліметтер әлі күнге дейін фрагментті болып қала береді [17, p.45-49].

MEOR технологиясын «TitanOilRecovery Inc.», «Glori Energy Statoil», «Total», «Du Pont BP», «Chevron» сияқты компаниялар қолданады. Бұл ретте мұнай беруді ұлғайтудың осы әдістерін қолдану географиясы кең: АҚШ, Канада, Бразилия, Болгария, Әзірбайжан, Румыния, Германия, Ресей және т. б. Сондай-ақ Шығыс Азияда Қытайда, Малайзияда, Үндістанда және Индонезияда тәжірибелік өнеркәсіптік сынақтар тіркелген [18, p.154-158; 22, p. 194-195]. Бұл әдісті тәжірибелік-өнеркәсіптік сынау кезінде «Бондюж» мұнай кен орны учаскелерінің бірінде («Татнефть» ААК) сынақ басталғаннан бастап 5 жыл ішінде қосымша 47000 т мұнай алынды, бұл аталған уақыт кезеңінде осы учаскіде жалпы мұнай өндірудің 30% жуығын құрады. Басқа мұнай кен орындарында («Ромашкин», «Сергеев», «Быстрин», «Солкин», «Локбатан») сынақтар осы кен орындарының пилоттық учаскелерінде оның жалпы өндірісінен қосымша 29-35 % дейін мұнай алуға мүмкіндік берді [68, p.11; 69, 778-779].

Мелассалық технология бойынша пластқа метан мен көмірқышқылдың пайда болуымен ақырында көмірсутекті субстраттарды (меласса) ашытуға қабілетті микроорганизмдерді енгізуге негізделеді. Меласса-қант қызылшасын қайта өңдеу қалдығы, құрамында 50 % сахароза, ақуыз және минералды элементтер бар. Альтернативті реагенттер ретінде, мысалы, Әзірбайжанда «Апшерон» сарқылған кен орындарында мынадай биореагенттер – сүт сарысуы, артық белсенді ил, ашытқы бражкасы қолданылды. Алайда, түрлі физиологиялық топтардың микроорганизмдерінің алуан түрлілігінің көзі ретінде белсенді ил ерекше қызығушылық тудырды. Белсенді тұнбаны мұнай қабатына айдай отырып, қысқа уақыт ішінде онда биофилтёр жасауға болады [16, p. 25; 37, p.138].

Мелассаны пайдаланатын технологиялар АҚШ, Қытай, Румыния, Венгрия, Польша, Германия және қант өндірісі дамыған басқа да елдерде қолданылады. Әдісті сәтті сынаудың мысалы болып Фуйу (Қытай) кен орнында меласса технологиясын қолдана отырып карбонатты коллекторларға әсер ету нәтижелері табылады, онда 2001 жылы 236 т мелассалар айдалды және алғашқы 6 айда қосымша 2700 т мұнай алынды. Технология негізінде *Clostridium*, *Bacillus* туыстарының сахаролитикалық микроорганизмдердің құрамында кемінде 40% қант бар мелассаны сіңіру, биомассаны тез жинау және ферментативті көмірсутекті қышқылдандыру белсенділігін арттыру қабілеті жатыр [65, p. 640-642]. Мұнай қабатының жағдайында мелассаны ашыту кезінде қабаттық судың, мұнайдың, газдың, жыныстың қасиеттерін өзгертетін және қалдық мұнайды ығыстыру процесін ынталандыратын метаболиттердің (CO₂, май қышқылдары, спирттер және т. б.) көп мөлшері пайда болады [104].

Осылайша, көмірсутектердің өсіру ортасында болуына жауап ретінде мұнай тотықтыратын микроорганизмдер беттік-белсенді заттарды синтездейді. Дақылдық сұйықтықтың эмульгирлейтін белсенділігі ББЗ продуцент ретіндегі

штамдардың маңызды сипаттамасы болып табылатыны белгілі. Биосурфактанттардың химиялық сурфактанттар алдында бірқатар артықшылықтары бар, оның ішінде уыттылығы төмен, биодеградабельділігі жоғары, қоршаған ортамен жақсы үйлесімділігі, селективтілігі және жоғары температураға, рН және тұздарға ерекше белсенділігі бар. Сондықтан биосурфактанттардың потенциалды тұтынушыларының бірі мұнай өнеркәсібі болып табылады. Химиялық сурфактанттармен салыстырғанда олар аз мөлшерде талап етіледі, өте селективті, мұнай мен резервуар жағдайының кең ауқымында тиімді және экологиялық қауіпті емес.

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

2.1 Зерттеу материалдары

2.1.1 Мұнайпласт сулары үлгісі

Зерттелетін материал ретінде Батыс Қазақстанның «Ақінген» мұнай кен орнының ұңғымасынан көктем мезгілінде 2018 ж. және 2019 ж. мұнай пласт суларының үлгісі алынды (Қосымша Ә). Зерттеу материалы сынама алғыш арқылы алынды; $+4^{\circ}$ - $+6^{\circ}$ °C температураларда 5–10 сағат уақыт аралықта тасымалданып, үлгілерге микробиологиялық талдау жүргізілді.

Ақінген мұнай кен орны Батыс Қазақстанның Атырау облысында (сурет – 1), Құлсары қаласынан 40 км жерде орналасқан. Кен орны 1980 жылы ашылды, игеру жұмыстары 1992 жылдың 1 қыркүйегінде басталды. Екіншілік әдістері мұнай шоғырларының режимі серпімді сунапорлы жүргізілген. Қазіргі уақытта Ақінген мұнай кен орны жабылған. Өнімді горизонттардың орналасу тереңдігі 660 – 682 м. Бастапқы пласт қысымы 6,2 – 12,8 МПа, температура 34 – 47 °C. Мұнайдың тығыздығы 842 – 905 кг/м³. Мұнай аз күкіртті (0,15 – 0,28 %), аз парафинді – 0,88 %. Пласт сулары хлоркальцийлі типті, тығыздығы 1078 – 1105 кг/м³ және минералдылығы 127,1 – 162,5 г/л [10, р. 72].



Сурет 1 – Ақінген мұнай кен орнының орналасуы

Ескерту – Автормен дереккөз негізінде жасаған [10, р. 71].

2.1.2 Қоректік орталар

Қоректік орта ретінде және микроорганизмдердің биологиялық қасиеттерін зерттеу үшін *Meat Infusion Agar* (МПА) *Nutrient Agar* *Nutrient Broth* эмбебап ортасы және микроорганизмдердің әртүрлі физиологиялық топтарын анықтау үшін селективті орталар пайдаланылды: *Pseudomonas Isolation Agar*,

Actinomycete Isolation Agar, Bacillus cereus Agar base, Eijkman Lactose Broth, Endo Agar, Sulphate Reducing Medium, Reinforced Clostridial Agar, Sabouraud Dextrose Agar (HiMedia Laboratories, Mumbai, India), ЕПЖ (ет пептонды желатин), Эшби ортасы.

Зерттеу жұмысында HIMEDIA компаниясының дайын қоректік ортасы қолданылды. Дайын ұнтақты дистилденген суда араластырып, ыстық күйінде шыны колбаларға құю, 121 °С 15 мин кезінде автоклавта залалсыздандырылды. Дайын қоректік ортаның балқуы 96-100 °С, қату температурасы шамамен 40 °С. Ыстық орта 45 – 50 °С-қа дейін суытылды, стерильді Петри табақшаларына құйылып және 18 – 25 °С-та 15 – 20 мин бойы салқындатылып қату үшін қалдырылды [105].

Синтетикалық E8 бактерияларды өсіруге арналған орта (ең аз минералды фон)г/л: KH_2PO_4 – 0,7; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 1,5; MgSO_4 – 0,8; NaCl – 0,5; pH=6,6 – 6,7; тұздар мен фосфаттарды бір бірінен бөлек дайындалады, орта 0,75 атм. 20 мин. залалсыздандырылады [106, 107].

Микроорганизмдермен мұнай ығыстыратын метаболиттердің бөлінуін анықтау бойынша эксперименттерде қоректік орта көлемінің 10 % -ы меласса қосылған E8 ортасы пайдаланылды. **Меласса** - азықтық сірне, қант өндірісінің жанама өнімі; құрамында 20 – 25 % су, 9 % азотты қосылыстар (көбінесе амидтер), 58 – 60 % көмірсулар және 7 – 10 % күл, ерекше иісі бар қара қоңыр түсті шәрбат тәрізді сұйықтық [108].

Микроорганизмдердің мұнай эмульгирлеу белсенділігін анықтау кезінде синтетикалық глицерин мен «Қаратон» кен орнының шикі мұнайын пайдаланды. **Синтетикалық глицерин** – көп атомды спирт, жақсы еріткіш, барлық пропорцияларда сумен араласады, биоотын өндірісі кезінде мұнайды қайта өңдеу өнімі болып табылады [109]. **Шикі мұнай** – құрамында еріген газ, су, минералды тұздар, механикалық қоспалар бар кең физикалық – химиялық құрамдағы көмірсутектердің сұйық табиғи қазба қоспасы және сұйық энергия көздерін (бензин, керосин, дизель отыны, мазут), майлау майларын, битумдар мен коксты өндіру үшін негізгі шикізат болып табылады [110].

Зерттеу жұмысы әл – Фараби атындағы ҚазҰУ, Экология мәселелері ҒЗИ аккредиттелген зертханасының базасында микробиологиялық зерттеулер бағыты бойынша орындалды (ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009)

2.2 Зерттеу әдістері

2.2.1 Микробиологиялық әдістер

2.2.1.1 Мұнай пласт суларының жалпы микробтық санын (ЖМС) анықтау

Зерттеу жұмыстарында микроорганизмдерді аэробтық және анаэробтық жағдайларда өсірудің дәстүрлі микробиологиялық әдістері пайдаланылды: тығыз ортаға егудің беткі әдісі, сұйық ортаға егу, микроорганизмдердің жалпы санын анықтау әдісі (Кох әдісі), микробиологиялық препараттарды дайындау [111, 112]. Бөлініп алынған микроорганизмдер штаммдарының тазалығын

жалпы қабылданған әдістері бойынша 3–4 сегменттік штрихтап егу әдісімен бақыланды [113].

Микроскопия әдістері

Микроскопиялық зерттеу MOTIC B1 – 220A (Испания) жарық бинокулярлы микроскопында жүргізілді. Препараттар жалпы қабылданған әдістеме бойынша дайындалды [114].

Микроорганизмдерді аэробтық және анаэробтық жағдайларда өсіру

Микроорганизмдерді өсіру аэробты және анаэробты жағдайларда 40 °C температурада жүргізілді. Аэробтар стационарлық жағдайда өсірілді, анаэробтық жағдайлар жасау үшін резеңке төсемі бар герметикалық жабылатын қақпағы бар металл цилиндр болып табылатын К70 (591) анаэростаты қолданылды. Қақпақта манометр және вакуумдық сорғыны пайдалана отырып ауаны соруға арналған крандар орналастырылған, анаэробтық жағдайлар атм 0,6 бірлік қысымымен ұсталды [115].

Микроорганизмдер штамдарының морфология–дақылдық және физиология–биохимиялық қасиеттерін анықтау.

Микроорганизмдер штамдарын анықтау үшін жалпы қабылданған әдістер қолданылды. Морфология – дақылдық қасиеттері: макро-, микроморфология, спора түзу, қозғалғыштығы, Грам бойынша бояу. Физиология – биохимиялық қасиеттері: газдың түзілуін анықтау, желатинді еріту, крахмалды гидролиздеу, Эшби азотсыз ортада өсуі, оттегіге қатынасы, оксидазды белсенділік, каталазды белсенділігі анықталды. Микроорганизмдерді идентификациялауда дәстүрлі зерттеулер дақылдардың туыстық белгілеріне дейін анықталуын және Берджи анықтаушысы арқылы жүргізілді [116].

2.2.1.2 Перпендикулярлы штрих әдісімен микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін анықтау

Перпендикулярлы штрихтар әдісін пайдаланған кезде Петри табақшасында агар қосылған ортаның бетіне антибактериалды затты өнімдейтін зерттелетін микробты антагонист штрихпен егіледі. Егу шыны табақшалардың диаметрі бойынша жасалады, содан кейін өсу үшін оңтайлы температурада термостатқа орналастырылады. Өсіру ұзақтығы антагонистің өсу жылдамдығымен анықталады. Өнімнің өсуі мен диффузиясы аяқталғаннан кейін өскен штрихқа перпендикуляр болатын агарланған ортаға табақшаның шетінен бастап тест-дақыл штрихтарымен себіледі. Табақшалар 24 сағатқа термостатқа қойылады. Егер зерттелетін микроорганизм-антагонист тест-дақылдарға қатысты микробқа қарсы әсері бар ортаға таралатын зат түзсе, онда соңғыларының өсуі антагонистің өсуінен белгілі бір қашықтықта басталады. Бұл қашықтық неғұрлым үлкен болса, тест дақылы өндірілген антибиотикалық затқа сезімтал болады. Сезімтал емес микроорганизмдер штрихқа жақын жерде дамиды болады. Өсуді басу аймағының диаметрін миллиметрлік сызғышпен өлшейді.

Біздің тәжірибелерімізде өсудің тежелу аймақтарын (ӨТА) есепке алу 24 және 48 сағат бойы 30 °C температурада өсіруден кейін жүргізілді. Егер өсудің

тежелу аймағы 2 – 10 мм болса, антагонизмнің әлсіз деңгейі, 10 – 20 мм – орташа, 20 мм үлкен болса – жоғары болып есептелінді [117, 118].

Егер антибиотик осы тест дақылдың дамуын тежемесе, өсу аймақтары байқалынбайды [119].

2.2.1.3 Бактериялардың ассоциацияларын құрастыру

Қауымдастықты құрастыру үшін жоғары мұнай ығыстыратын және мұнай сұйылтатын қасиеттері бар микроорганизмдердің 5 штамдары қолданылды. Бактериялардың суспензиясы ЕПС да 24 – 48 сағат өсірілді. 2 дақылды қолданған жағдайда қауымдастық алу үшін микробтар 1:1 есебінен араластырылды; 3 дақылды қолдану кезінде - 1:1:1 және т.б. Содан кейін алынған қауымдастықтарды қоректік орта көлемінен 10 % мөлшерінде инокулят ретінде пайдаланылды.

2.2.2 Молекулярлы генетикалық әдісі

2.2.2.1 Микроорганизмдердің *16S rRNA* негізінде генетикалық анықтау

16S rRNA гендер фрагментін секвенирлеу негізінде микроорганизмдердің идентификациясы.

Микроорганизмдердің түрлілігін анықтау үшін геннің *16S rRNA* фрагментінің тікелей нуклеотидтік тізбегін талдау негізінде бактерияларды генетикалық сәйкестендіру жүргізіліп, Gene Bank халықаралық дерекқорында сақталған дәйектемелермен нуклеотидтік сәйкестік айқындалды. Талдау «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» РМК жүргізілді, Нұр-Сұлтан.

Бактериялық дақылдардан геномдық ДНҚ К. Wilson әдісі бойынша бөлініп алынды [120]. ДНҚ бөлу үшін бактериялық дақылдардың тәуліктік окшауланған колониялары пайдаланылды. Сынамаларды 10 минут ішінде 13 000 айн/мин кезінде центрифугаланып, алынған тұнбаны лизоцимі (10 мг/мл) бар TE буферінде ресуспендирлеп, үлгілерді мұқият араластырып, 1 сағат ішінде 37 °С температурада инкубациялады. Содан кейін 10 % SDS және протеиназа (10 мг/мл) қосылды. 2 сағат 37 °С температурада инкубацияланды. Жасуша қабырғасының фрагменттерін, қалдық ақуыздарды және полисахаридтерді алып тастау үшін 100 мкл 5М NaCl қосылды. Мұқият араластырып, 0,73М NaCl ерітілген 10 % СТАВ ерітінді қосылды. 10 минутта 65 °С инкубацияланды. Соңғы тазарту 24:1 қатынасында хлороформ/изоамил спирті қоспасын қосып, 10 минут ішінде 10 000 айн/мин центрифугаланды. Сулы фазасы таза түтіктерге ауыстырылды. Процедура бірнеше рет қайталанды. ДНҚ-ны изопропанолмен преципитациялады, жіп тәріздес ДНҚ тізбектері көрінетін массаны түзгенге дейін аудару арқылы абайлап араластырды, минус 20 °С мұздатқышқа 30-60 минут қойылады. 10 минут ішінде 13 000 айн/мин центрифугаланды. ДНҚ тұнбасын 70 % этил спиртімен жуады. Тазартылған үлгілерді TE буферінде ерітіп, - 20 °С температурада сақталды.

ДНҚ сандық талдауы толқын ұзындығы 260 нм болатын NanoDrop ND 2000 спектрофотометрді қолдану арқылы жүргізілді, сонымен қатар 1 % агарозды геледе электрофоретикалық әдіспен ДНҚ-ны сапалы бағалау жүргізілді.

16S rRNA геннің нуклеотидтік реттілігін анықтау үшін әмбебап праймерлерді пайдаланылды: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5' GGACTACCAGGGTATСТААТ-3') [121].

ПТР реакциясы жалпы 20 µl көлемінде жүргізілді. ПТР қоспасында 150 г ДНҚ, 5U Taq ДНҚ полимераза, әр dNTPs 0,2 mM, 10 x реакция буфері Taq (ThermoFisher, АҚШ), 2,5 mM MgCl₂, әр праймердің 10 pmol болды. ПТР амплификациясын GeneAmp PCR System 9700 (Bio-Rad, АҚШ) амплификаторында жүргізілді. ПТР температуралық режимі: кезең 1 – 5 мин. 95 °C – 1 цикл; кезең 2 – 30 сек. 95 °C, 40 сек., 55 °C, 50 сек. 72 °C – 30 цикл; кезең 3 – 10 мин. 72 °C – 1 цикл. ПТР тиімділігін бағалау үшін амплификация өнімдері этидийді бромидпен боялған 1% агарозды геледе визуальді шолу жасалып, гельдокументтеуші жүйені (BioRad, АҚШ) пайдалана отырып талданды.

Алынған өнімді ферментативті әдіспен 0,5 бірлік сілтілі фосфатазамен (ShrimpAlkaline Phosphatase, Fermentas) және 37 °C температурада 30 мин ішінде экзонуклеазамен (Fermentas) тазартылды және ферментті одан әрі 10 мин бойы 85 °C ысыту арқылы инактивациялады [122].

Секвенирлеу реакциясы v 3.1 BigDye® және праймерлерді пайдалана отырып жүргізілді. Реакциялық қоспаны байланыспаған компоненттерден тазарту ацетат-спирт қоспасымен жүргізілді.

Ген фрагменттерін бөлу автоматты генетикалық анализатордың көмегімен жүргізілді. Алынған нуклеотидтік тізбекті халықаралық GenBank деректер базасының нуклеотидтік тізбектерімен салыстырылды [123].

Секвенирлеу нәтижелерін SeqA (Applied Biosystems) бағдарламасында өңделді. 16S rRNA гендерінің гомологиялық нуклеотидтік тізбегін іздеу АҚШ Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығының Gene Bank халықаралық деректер базасында (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) бағдарламасының көмегімен жүзеге асырылды.

Бағдарламалық қамтамасыз етуді пайдалана отырып, филогенетикалық ағаштарды құру MegaX [124], нуклеотидтік тізбектерді теңестіруді ClustalW алгоритмін пайдалана отырып, филогенетикалық ағаштарды құруды Neighbor-Joining NJ әдісін пайдалана отырып жүргізілді.

2.2.2.2 Биосурфактант *srfA*, *rhlA*, *lchAA* гендерін анықтау

Биосурфактант өнімдерін түзуге қатысатын гендерді srfA(сурфактин), rhlA (рамнолипид), lchAA (лихенизин) гендерін анықтау

Праймерлерді таңдау ПТР әдісімен геннің белгілі бір фрагменттерін скринингілеу кезінде негізгі элемент болып табылады.

ПТР реакциясы 12 µl қоспасының жалпы көлемінде жүргізілді. StartWarm HS-PCR Mix ыстық ПТР бастау үшін дайын қоспасы.

Сурфактин, рамнолипид, лихенизин биосурфактант гендерін *srfA*, *rhlA*, *lchAA* анықтау үшін келесідей праймерлер пайдаланылды (кесте 4):

Кесте 4 – Мақсатты гендер және ПТР өнім ұзындығы

№	Мақсатты гендер	Праймерлер реттілігі	ПТР-өнімнің ұзындығы (ж.н.)	Дереккөз
1	<i>srfA</i>	Psa-srfA-F 5'-TACACCCGGCGCACAGGCAGGAC-3' Psa-srfA-R 5'-TCAGTCTTCCTGGCGCAGATCGC-3'	209 bp	[125]
2	<i>rhlA</i>	Psa-rhlA-F 5'-ATGCGGCGCGAAAGTCTGTTGGTA-3' Psa-rhlA-R 5'-TCAGGCGTAGCCGATGGCCAT-3'	887 bp	[126, 127]
3	<i>lchAA</i>	Bl-lchAA-F 5'-CCCGGCACAAGTGTTCAAATTTGAGC-3' Bl-lchAA-R 5'-GCCTTTTGGACGGCCCGTTGTCCCGG-3'	1490 bp	[128]

ПТР амплификацияны (Applied Biosystems™ Veriti™ 96-Well Thermal Cycler, США) амплификаторында жүргізілді. ПТР температура режимі: кезең 1 – 5 мин. 95°C – 1 цикл; кезең 2 – 1 мин. 95 °C, 1 мин. 70 °C, 1 мин. при 72 °C – 30 цикл; кезең 3 – 4 мин. при 72 °C – 1 цикл, 4 мин- ∞.

ПТР өнімін (2 мкл) 1 % агарозды гельмен Bio-Rad гель-электрофорез әдісімен талданды. Электродты буфер ретінде 1xTBE-буфер пайдаланылды. ПТР өнімді тазалау үшін *EPPiC FAST Enzymatic Post – PCR immediate Cleanup* реагенттің көмегімен тазартылды (A&A BIOTECHNOLOGY, Poland).

EPPiC Fast ферменттері ПТР-да пайдаланылатын стандартты буферлерде 37 °C кезінде белсен және 80 °C инкубация кезінде 1 минут ішінде толығымен термиялық активтендіріледі. Бактериялардың генінің 16S rRNA фрагменттерін жүйелеу өндірушінің хаттамасына сәйкес ExTerminator Nucleotide dye terminators removal kit for DNA cycle sequencing reaction samples version 1117 (A&A BIOTECHNOLOGY, Poland) жиынтықты қолдану арқылы жүргізілді. Секвенирлеу өнімдерін тазалау үшін өндірушінің хаттамасына сәйкес A&A BIOTECHNOLOGY ExTerminator Nucleotide dye terminators removal kit жиынтық пайдаланылды. Оң клондарды секвенирлеу Сангер әдісімен 8-капиллярлы секвенсорды 3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) пайдалана отырып жүзеге асырылды.

2.2.3 Физика – химиялық әдістер

2.2.3.1 Эмульгирлеу индексі (Купер әдісі)

Эмульгаторлық белсенділіктің екі түрі бар. Экзогенді эмульгирлеуші белсенділік–микроорганизмдердің экстрацеллюлярлы биосурфактанттардың түзілу қабілеті. Эндогендік эмульгирлеуші белсенділік–микроорганизмдердің жасушамен байланысқан биосурфактанттар түзуге қабілеттілігі. Бұған дейін Батыс Қазақстан кен орындарының жер асты мұнай пласт суларынан бөлініп алынған микроорганизм дақылдары үшін эндогендік эмульгаторлық белсенділіктің болуы және экзогендік эмульгаторлық белсенділіктің болмауы көрсетілген.

Эндогендік эмульгирлеу белсенділігін анықтау

Бактериялық дақылдар тәулігіне 48 сағат бойы Е8 сұйық минималды ортада көміртегі мен энергияның жалғыз көзі ретінде 2 % көмірсутекті субстрат – глицерин қосып өсірілді. Эмульгаторлық белсенділікті бағалау үшін дақылдық орта центрифугаланбаған. Содан кейін бактериалды жасушалары бар дақылдық орта 3:2 қатынасында мұнаймен араластырылды және тұрақты эмульсия алу үшін 20 минут ішінде 250 айн/мин зертханалық шайқағышпен қарқынды араластырылды. Осыдан кейін шыны түтікшелерді бөлме температурасында вертикальды күйінде қалады.

Эмульгирлеу белсенділігі пайызбен көрсетілді, оны эмульсиялық қабаттың биіктігінің пробиркадағы сұйықтықтың жалпы биіктігіне қатынасы ретінде есептеп, пайызбен есептелді, есептеу формула бойынша жүргізілді (1):

$$E_{24} (\%) = (V_e/V_n) \times 100 \quad (1)$$

мұндағы V_e -эмульсия көлемі, V_n - көмірсутекті фаза-мұнай көлемін қоса отырып, су фазасының көлемін (микроорганизмдер жасушаларының суспензиясы) қамтитын сұйықтықтың толық көлемі және пайда болған эмульсия көлемін қосу (Купер әдісі) [129].

2.2.3.2 «Қалтқы» әдісімен газ түзілу

Сұйық ортада микроорганизмдерден газ түзілуді анықтаудың дәстүрлі әдісі «қалтқы» әдісі. Қалтқы–уақыт бірлігі ішінде (температура мен қысымның тұрақтылығы жағдайында) газ түзілу қарқындылығын анықтау үшін қолданылатын құрал. Бактериялардағы көмірсулардың ашытуын анықтау үшін шыны қалтқылар (бір ұшынан дәнекерленген қысқа шыны түтіктер) қолданылады. Микроорганизмдердің қышқыл мен газ түзе отырып, көмірсуларды ферменттеу қабілеті орта микроорганизмдерді ферменттеу процесінде оларды газбен толтырғаннан кейін қалқып шығатын шыны қалтқыларды ортасы бар ыдыстарға енгізу арқылы анықталады [130].

2.2.3.3 Потенциометриялық әдіс

Потенциометриялық әдіс индикаторлық электродтан және салыстыру электродынан тұратын электродты жүйенің электр қозғалтқыш күшін өлшеуге негізделген. Электрод дегеніміз-ерітіндіге батырылған металл бар жүйе, металл мен ерітінді арасындағы шекарадағы потенциалдың секірісі электрод потенциалы деп аталады. Электродтық потенциалдың мөлшері металдың табиғатына, температураға және белгілі бір типтегі иондардың белсенді концентрациясына байланысты.

Зерттеу жұмысында рН-метр С931Р пайдаланылды, мұнда рН анықтау үшін шыны электрод - қабырғасы өте жіңішке арнайы шыныдан жасалған шармен аяқталатын түтікше пайдаланылады. Шардың ішінде оған батырылған металл электродпен буферлік ерітінді бар, шыны электрод шармен сыналатын ерітіндіге түседі. рН-метр аспабындағы ортаның рН өлшеу - 0,01 бірлікке дейін ортаның сутегі көрсеткішін анықтауға мүмкіндік береді [131, 132].

2.2.3.4 Электрометриялық әдіс

Кез келген талдаудың нәтижелері су сынамасын дұрыс алу және оларды өңдеуге байланысты болады. МЕМСТ 26449.1-85, п.4 Тұздалған суларды химиялық талдау әдістері. Электрометриялық әдіспен зерттелетін ерітіндіде сутегі иондарының болуы шыны электродтан, салыстыру электродынан, зерттелетін ерітіндісі бар өлшеу ұяшығынан және зертханалық рН-метр немесе иономерден тұратын тізбектің электр қозғалтқыш күшін (ЭҚК) өзгертеді. рН мәнінің бірлікке өзгеруі 20 °С температурада 58,1 мВ-қа өзгеруіне әкеледі. Анықталатын рН мәндерінің ауқымы - 1,00-ден 12,00-ге дейін.

2.2.3.5 Титриметриялық әдіс

МЕМСТ 26449.1-85, п.5 Зерттелетін ерітіндідегі органикалық заттар қайнаған кезде марганец қышқылды калий ерітіндісімен тотықтырылады. Титрленген ерітіндінің артық мөлшері йодометриялық анықталатын бастапқы енгізілген көлемнің кемінде 40% -ын құрауы тиіс. Зерттелетін ерітінді көлеміндегі органикалық заттардың массасын титрлеу нәтижелері бойынша алынған оған баламалы оттегі массасы арқылы білдіреді.

2.2.3.6 Комплексометриялық әдіс

МЕМСТ 26449.1-85, п.11.1 Кальцийдің кешенді әдісі сілтілі ортада (12 рН) Б трилонының мурексидті индикаторы бар ерітіндісімен титрленеді. Темір, алюминий, мыс, мырыш, никель, марганец, карбонаттар мен гидрокарбонаттардың әсерін жою. Әдіс 20 мг/дм және одан астам кальцийдің массалық концентрациясын анықтау кезінде қолданылады. Табудың төменгі шегі 3,0 мг/дм құрайды.

МЕМСТ 26449.1-85, п.12 Кальцийдің қатысуымен магнийді анықтаудың кешенді әдісі. Кальций және магний сомасын қара хромоген индикаторы бар аммоний-аммиак буферлік ерітіндісінің (9-10 рН) қатысуымен Б трилонының

ерітіндісімен титрлейді. Нәтижелерді өңдеу кезінде кальцийді анықтауға жұмсалған Б трилонының ерітіндісінің көлемі ескеріледі.

2.2.3.7 Жалынды-фотометриялық әдіс

1800 °С және одан жоғары температурада натрий атомдарының жалынды фотометр жанарғысының жалынында болуы сәулеленуді тудырады, оның есебінен фотоэлементтің электр схемасы тізбегінде электр тогы пайда болады. Ток күші зерттелетін ерітіндідегі натрийдің салмақтық концентрациясына пропорционалды.

МЕМСТ 26449.1-85, п.17.1 Натрийді анықтау әдістері. Әдісті 4 мг/дм және одан астам натрийдің массалық концентрациясын анықтау кезінде қолданады. Табудың төменгі шегі 0,7 мг/дм құрайды.

МЕМСТ 26449.1-85, п.п.18.1; Калийді анықтау әдістері. Калий атомдарының иондану әсерін зерттелетін ерітіндіге хлорлы натрий қосу арқылы жояды. Әдісті калийдің массалық концентрациясын 5-тен 50 мг/дм дейін анықтау кезінде қолданады. Табудың төменгі шегі 4 мг/дм құрайды.

2.2.3.8 Гравиметриялық әдіс

ҚР СТ 1015-2000 Су. Сульфаттардың концентрациясын анықтаудың гравиметрлік әдісі. Әдіс тұз қышқылды ортада күкірт қышқылды барий түріндегі хлорлы бариймен сульфат-ионды тұндыруға негізделген. 10-100 см³ көлемінен анықтау жүргізуге мүмкіндік беретін сульфат-ионның оңтайлы құрамы 30-300 мг/дм³ құрайды. Өлшенген, коллоидты және гумустық заттардың, темірдің (+ 3), сульфидтердің, хромның кедергі келтіретін әсерін талдау барысында жояды. Сульфат-ионды анықтаудың төменгі шегі - 20 мг/дм³. Әдіс сертификаттау мақсатында қолданылады.

2.2.3.9 Титрлеу әдісі

ҚР СТ ИСО 9297-2008 Су сапасы. Хлоридтің құрамын анықтау. Хроматикалық индикаторы бар күміс нитратымен титрлеу (Мор әдісі). Стандарт суда еріген хлоридтің құрамын анықтау үшін титрлеу әдісін белгілейді. Бұл әдіс еріген хлоридтің құрамын 5-тен 150 мг/л дейін концентрацияларда тікелей анықтау үшін қолданылуы мүмкін. Жұмыс диапазоны сыйымдылығы үлкен бюретканы пайдалану жолымен немесе сынаманы өсіру жолымен 400 мг/л дейін кеңейтілуі мүмкін [133, 134, 135, 136, 137].

2.2.3.10 Клетканың оптикалық тығыздығын анықтау (спектрофотометриялық әдіс)

Биомассаны анықтау толқын ұзындығы 600 нм және кювет көлемі 10x10x45 мм, сыйымдылығы 1 мл «ApeIPD – 303» (Жапония) спектрофотометрін пайдалана отырып, микроорганизмдер жасушаларының оптикалық тығыздығын анықтау жолымен жүргізілді.

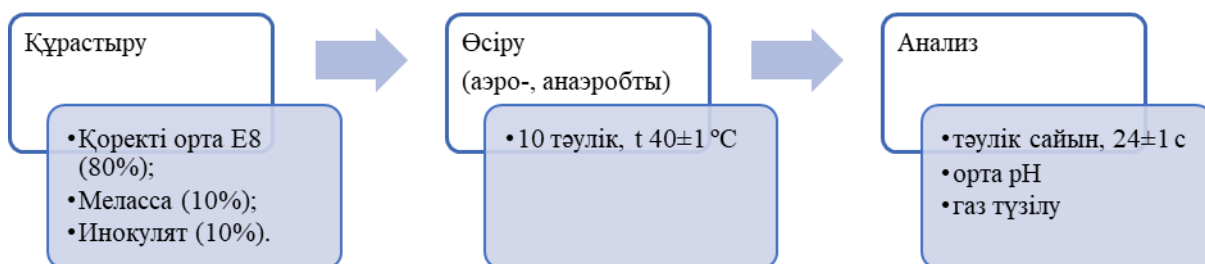
Жасуша дақылы оның күйін, тығыздығын және т.б. анықтайтын белгілі бір оптикалық қасиеттерге ие. Бактериалды немесе эукариотты жасуша дақылы жағдайында 600 нм өлшенген оптикалық тығыздық ортадағы жасушалардың концентрациясын көрсетеді. 600 нм-де дақылдардың оптикалық тығыздығы жарықтың таралу әсерін анықтайды; жарықтың таралуы, өз кезегінде, ортадағы жасушалардың концентрациясына тура пропорционал. Сондай-ақ зерттеу міндеттеріне байланысты толқын ұзындығының басқа мәндері (260 нм, 280 нм және т.б.) кезінде жасушалар суспензиясының жарық сіңіретін сипаттамаларын өлшеуге болады [138, 139].

2.3 Эксперимент схемалары

Мұнай шығаруды жоғарылату әдісін даярлауда перспективалы микроорганизмдерді іріктеу үшін мұнайпласт сулары микроорганизмінің қышқылдарды, мұнай-биосурфактанттарды және биогазды жанама әдістермен өндіруге қабілеттілігі зерттелді: қышқыл түзу – микроорганизмдерді өсіру кезінде ортаның рН өзгеру динамикасын анықтау, мұнай-биосурфактанттар өнімі - микробтық жасушалардың мұнай эмульгирлеу белсенділігін анықтау.

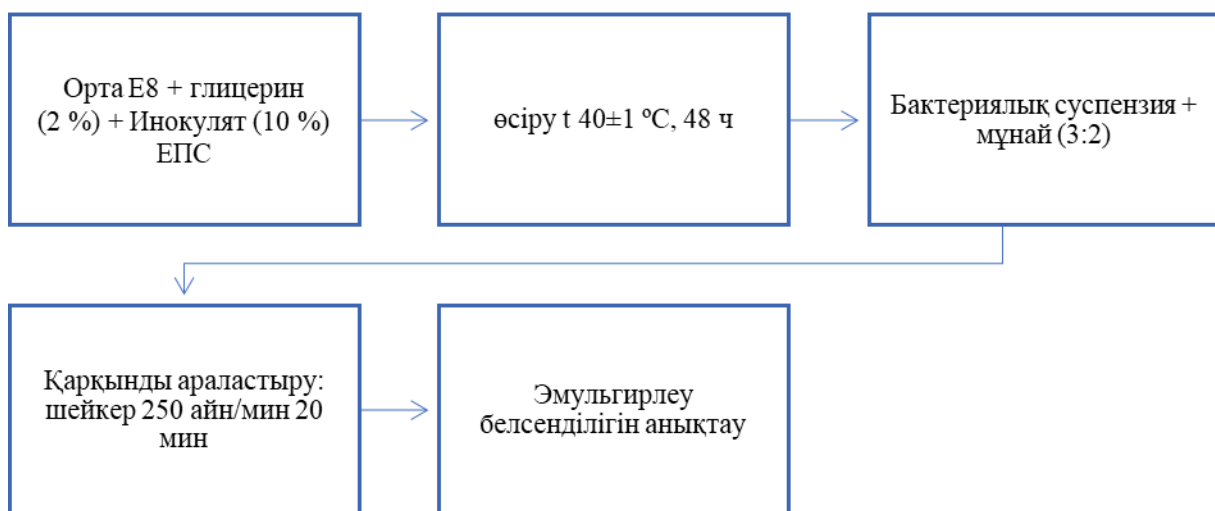
Мұнай шығаруды жоғарылату биотехнологиясын арзандату мүмкіндігі үшін тамақ өнеркәсібі қалдықтарының мелассасын қоса отырып, микроорганизмдерді минимальды минералдық ортада өсіру кезінде қышқылдардың мұнай ығыстыратын метаболиттері мен биогаздың өнімдеріне зерттеу жүргізілді.

Микроорганизмдердің монодақылдары ЕПА агарында белсендірілді, содан кейін ЕПС сұйық ортасына ауыстырылды және 24 – 48 сағат ішінде сұйықтықта 40 °С температурада өсірілді (инокулят). Содан кейін микроорганизмдер жасушалары (10 % көлемі) меласса қосылған Е8 ортасына егілді, өсіру 10 тәулік ішінде жүргізілді. Тәулік сайын ферменттелетін ортаның рН көрсеткіштері потенциометриялық әдіспен анықталынды, газ түзілуі «қалтқы» әдісін пайдалана отырып, визуальді анықталынды (сурет 2).



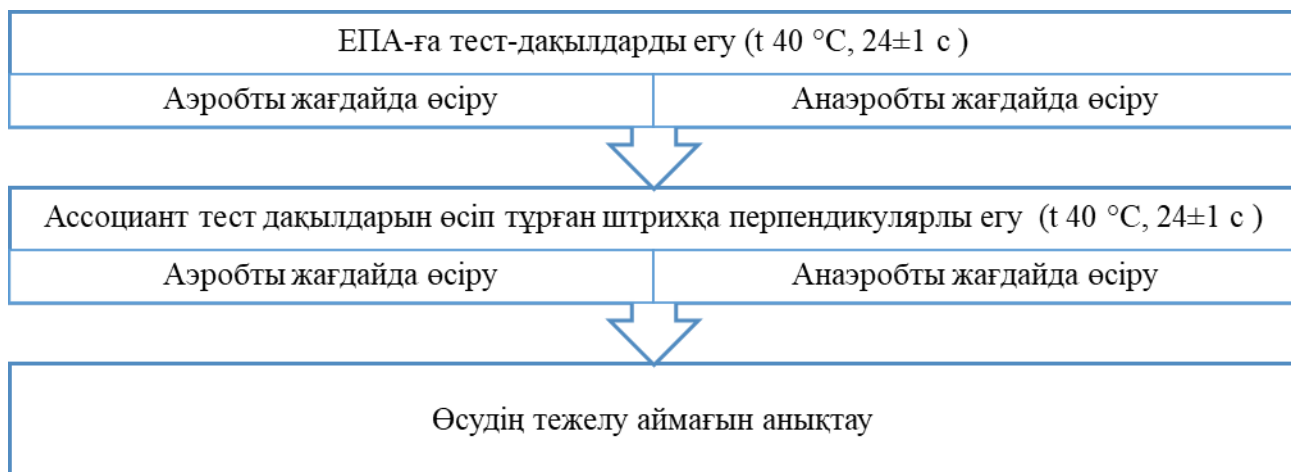
Сурет 2 – Мелассасы бар ортада микроорганизмдердің қышқыл және газ түзілуін анықтау схемасы

Микроорганизмдердің мұнай эмульгирлеу белсенділігінің негізі мұнайды ұсақ дисперсияларға диспергирлеу қабілетті заттар - мұнай биосурфактанттарын өнімдеу болып табылады, нәтижесінде, мұнай аэробты – анаэробты биодеструкция үшін биоқолжетімді болады. Эндогенді эмульгирлеу белсенділігін анықтау үшін бактериялық дақылдар көміртегі және энергия көзі ретінде 2 % көлемінде глицерин қосылған E8 сұйық минералды ортада 48 сағат бойы өсірілді. Эмульгирлеу белсенділігін бағалау үшін дақылдық орта центрифугаланбаған. Содан кейін бактериалды жасушалары бар дақылды орта 3:2 қатынасында мұнаймен араластырылды және тұрақты эмульсия алу үшін 20 минут ішінде 250 айн/мин зертханалық шайқағышта қарқынды араластырылды (Купер әдісі). Осыдан кейін пробиркалар бөлме температурасында вертикальды күйінде қалдырып, эмульгаторлық белсенділікті 24 (E₂₄) және 48 (E₄₈) сағаттан кейін өлшенді (сурет 3).



Сурет 3 – Глицерин қосылған E8 синтетикалық ортасында микроорганизмдердің мұнай эмульгирлеу белсенділігін анықтау схемасы

Микроорганизмдердің белсенді ассоциацияларын алу үшін аралас дақылдарды құрастырудың қажетті кезеңі қауымдастыққа кандидаттардың микроорганизмдерінің штаммаралық антагонистік әсерлесуін зерттеу табылады. Штаммаралық антагонистік өзара әсерлесуін анықтау аэробтық және анаэробтық жағдайларда перпендикулярлы штрих әдісімен жүргізілді. Өсірудің аэробты және анаэробтық жағдайларында микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін зерттеу схемасы ұсынылған (сурет 4).



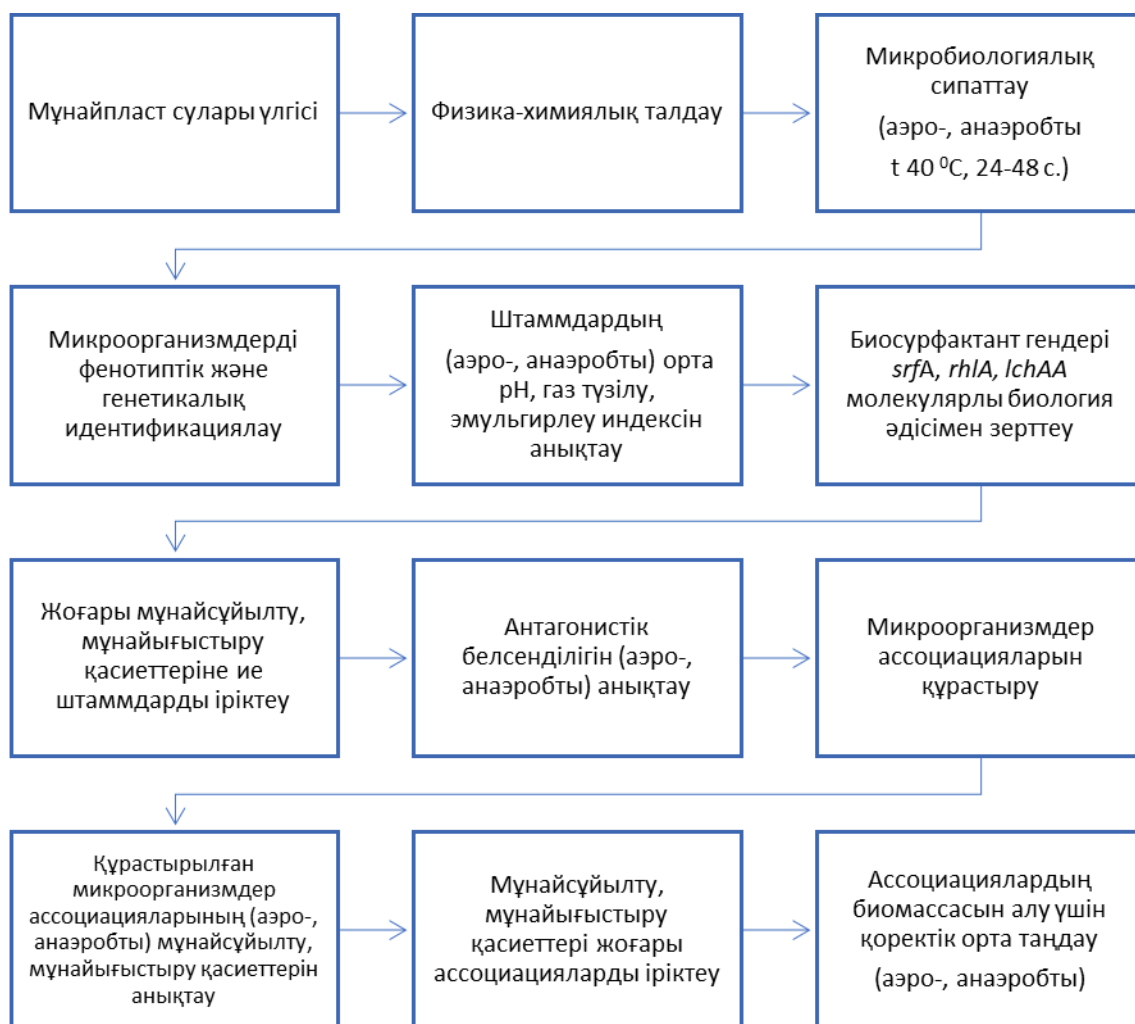
Сурет 4 – Аэробты және анаэробты өсіру жағдайындағы антагонистік белсенділікті зерттеу схемасы

Микроорганизмдер қауымдастықтарын (ассоциациясын) алу үшін бактериялардың монодақылдары 24 – 48 сағат ішінде ЕПС – да белсендірілді, содан кейін дақылдардан 2 монодақылды қолданған жағдайда 1:1 есебімен, 3 дақылды қолданған жағдайда 1:1:1 есебімен араластырылды және т. б. Содан кейін алынған қауымдастық қоректік орта көлемінің 10 % мөлшерінде инокулят ретінде пайдаланылды.

Алынған микроорганизмдер қауымдастықтарының мұнайығыстыру және мұнайсұйылту қасиеттері (қышқыл түзілуі, мұнай эмульгирлеу белсенділігі, газ түзу) монодақылдарда қолданылған әдістері бойынша анықталды.

Микроорганизмдер ассоциацияларының биомассасын алу үшін 10 %, 20 % және 40 % концентрациясында меласса қосылған Е8 синтетикалық ортасы пайдаланылды, өйткені сұйылтылмаған мелассада көмірсулардың концентрациясы 60 – 65 % құрайды. Алынған қоректік ортаға инокулят қауымдастығы 10 % көлемінде енгізілді, ассоциацияларды өсіру 10 тәулік ішінде аэробты және анаэробты жағдайда 32 °С кезінде жүргізілді.

Мұнай шығаруды жоғарылату әдісін даярлау үшін перспективалы микроорганизм ассоциацияларын құрастыруда Ақінген кен орны мұнай пласт суларының микробиологиялық бағалауы, физика-химиялық зерттеулер, дақылдардың биологиялық қасиеттері, дәстүрлі және молекулярлы генетикалық идентификациясы, биосурфактанттар түзуге қатысатын *srfA*, *rhIA*, *lchAA* гендерін зерттеу, жоғары мұнайсұйылту, мұнайығыстыру қасиеттеріне ие дақылдарды анықтау және іріктеу, құрастырылған ассоциациялардың мұнайсұйылту, мұнайығыстыру қасиеттерін зертеу және іріктеу, биомассаларын алу үшін орта таңдауда жүргізілген зерттеудің жалпы эксперимент сызбанұсқасы келтірілген (сурет 5).



Сурет 5 – Жалпы зерттеу жұмысының эксперимент схемасы

2.4 Статистикалық өңдеу

Алынған нәтижелер статистикалық түрде өңделді. орташа квадраттық ауытқу σ формула бойынша есептелді (2):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\alpha}{n-1}}, \quad (2)$$

мұндағы n – опциялар саны; α - орталық ауытқулардың квадраттарының қосындысы, формула бойынша есептелген (3):

$$\alpha = \sum (v_i - M)^2 \quad (3)$$

қайталанатын нұсқасы болмаған жағдайда пайдаланылатын, мұндағы v_i – нұсқалар; M - орташа арифметикалық.

Кестелерде формула бойынша есептелген орташа арифметикалық орташа қатені көрсете отырып, орташа арифметикалық мәндері келтірілген(4):

$$m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}, \quad (4)$$

мұндағы σ - орташа квадраттық ауытқу; n – нұсқа саны.

Әр түрлі тәжірибе топтарындағы көрсеткіштер айырмашылығының дұрыстығын есептеу нұсқасы аз қатарлар үшін пайдаланылатын Стьюдент коэффициентін қолдана отырып жүргізілді. Формула бойынша есептелген дәйектілік коэффициенті (5):

$$t_d = (M_1 - M_2) \times \sqrt{\mu_1^2 - \mu_2^2}, \quad (5)$$

мұнда M_1, M_2 – салыстырылатын топтардың орташа арифметикасы; μ_1, μ_2 - орташа арифметикалық қателері Стьюденттің пайыздық бөлу нүктелерінің кестесіндегі мәнмен салыстырылды. Осылайша есептелген айырмашылықтардың сенімділігі маңыздылық деңгейі 5 % - ға дейін сенімді болды, бұл жоғары сенімділікті көрсетеді [140, 141].

Алынған нәтижелер Excel (MS Office 2010) көмегімен қолданбалы бағдарламаларды пайдалана отырып, компьютерде вариациялық-статистикалық өңдеуден өтті.

3 ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ТАЛҚЫЛАУ

3.1 Ақінген кен орны мұнайпласт суларының микробиологиялық, физика – химиялық сипаттамалары

Өңделген мұнай пласттары аэробтық-анаэробтық жағдайлармен, үлкен қысыммен, жоғары температурамен және тұздылықпен сипатталатын экстремалды жер асты экожүйелері болып табылады. Терең сулы және мұнайлы горизонттарда су мен жұмыс агенттерінің су ерітінділерін бұрғылау немесе айдау кезінде беткі ерітінділермен бірге келетін микроорганизмдермен қатар аборигендік микрофлораның болуы дәлелденген [17, р. 92-93]. Айдалатын беттік сулар – әр түрлі физиологиялық топтардағы микроорганизмдердің өміршең жасушаларының өнімді қабатына түсу көзі [22, р 193-195].

Мұнай шығаруда микробиологиялық әдістерінің табыстылығын анықтайтын фактор микроорганизмдердің тіршілік әрекеті болып табылады. Мұнай пласттарын соңғы сатыда игеруде суландыру кезінде өңдеудің ерекшелігі бірінші кезекте қоректік заттармен және пласттардың минералдану дәрежесімен шектелген қалыптасқан биоценоздың болуы болып табылады. Мұндай объектілерде микробиологиялық әдістерді қолдану белгілі бір қиындықтарды тудырады, өйткені биоценоздың өмірлік белсенділігін (қоректік заттармен қамтамасыз ету) және суды циклдік айдау режимдерін үйлестіру қажет. Тереңдіктегі сулы және мұнайлы горизонттарда жұмыс агенттерінің суды және су ерітінділерін бұрғылау немесе айдау кезінде жер үсті ерітінділерімен келіп түсетін микроорганизмдермен қатар аборигендік микрофлораның болуы дәлелденді. Мұнай пласттарында әр түрлі физиологиялық топтардың аэробты және анаэробты микроорганизмдері кең таралғаны белгілі, олардың кейбіреулері тіршілік қабілетін жоғалтып қана қоймай, сондай-ақ пластжағдайында белсенді болып қалады [80, р. 92-97; 142].

Зерттеулерімізде Ақінген кен орны мұнайпласт суларының физикалық-химиялық сипаттамалары анықталынды.

Өңделген мұнай кен орны қоршаған ортаның жер асты жалпы экстремальды экожүйелеріне жатады. Ақінген мұнай кен орны Батыс Қазақстанның Атырау облысында, Каспий маңы ойпатының оңтүстік-шығыс бөлігінде, Құлсары қаласынан оңтүстік-шығысқа қарай 40 км жерде орналасқан. Өнімді горизонттардың шоғырлану тереңдігі 660 – 682 м. Бастапқы мұнай пласт қысымы 6,2 – 12,8 МПа, температура 34 – 47 °С. Мұнайдың тығыздығы 842 – 905 кг/м³, аз күкіртті (0,15-0,28 %), аз парафинді – 0,88 %. Минералдылығы 127,1 – 162,5 г/л хлоркальцийлі типті мұнай пласт сулар [10, р. 4; 11, р.12-13].

Микроорганизмдер тіршілігіне маңызды факторлардың бірі ортаның қышқылдығы. Бұл микроорганизмдердің өсуі мен көбеюіне байланысты маңызды факторлардың бірі, өйткені ол организм үшін әртүрлі заттар мен бейорганикалық иондардың қолжетімділігін анықтайды [143]. Микроорганизмдердің көпшілігі үшін рН оңтайлы мәні - 7-ге жуық. Ортаның

өте қышқыл немесе өте сілтілі реакциясы микроорганизмдер үшін өсуді шектейтін фактор болып табылады [144].

Қоршаған ортаның микробиологиялық сипаттамасы ортаның абиотикалық факторларына тәуелді. Осыған байланысты, «Ақінген» кен орнының зерттелетін мұнай пласт суының үлгісінде рН көрсеткіші анықталып, жалпы визуалды сипаттамасы жүргізілді (кесте 5).

Кесте 5 – Ақінген кен орны мұнайпласт суларының сипаттамасы

№	Үлгі	Визуалды сипаттама	рН
1	Ақінген мұнайпласт сулары	Екі фазалы сұйықтық, жоғарғы беті жұқа (1мм) қабат – мұнай, төменгі қабаты – қоңыр түсті су	6,34±0,31

Кестелік деректерден көрініп тұрғандай, зерттелетін мұнайпласт суларының рН көрсеткіші $6,34 \pm 0,31$ тең, бұл әлсіз қышқылды, бейтарап ортаға жақын (рН=4,0-6,5) болып келеді [145]. Жоғары минералданған пласт сулары үшін рН көрсеткіші 6-8 дейін өзгеретіні белгілі, мысалы, Жетібай - 6,7 (Қазақстан) [146], Арлан-6,5 (Ресей) [87, р. 168]. Сутегі көрсеткіші рН сутегі иондарының белсенділігін сипаттайды, бактериялардың көптеген түрлері салыстырмалы түрде тар аралықта өседі, ал олардың көпшілігі - рН мәнінде 7 жақын [147].

Бұдан әрі Ақінген кен орны мұнайпласт суларының физика-химиялық параметрлеріне талдау жүргізілді (кесте 6). «ҚАЗЭКОЛОГИЯ» Республикалық ғылыми-өндірістік және ақпараттық орталығының сынақ зертханасында жасалды.

Кесте 6 – Ақінген кен орны мұнайпласт суларының физикалық – химиялық сипаттамасы

№	Көрсеткіштердің атауы, өлшем бірлігі	Сынақ әдісіне арналған нормативтік құжаттар	Пласт сулары
1	2	3	4
1	Жалпы минералдану г/м ³	ГОСТ 18164-72	187,01±8,35
2	Жалпы кермектілігі, мг-экв/л	СТ РК 1514-2006	330,03±16,05
3	Тығыздығы, г/см ³	СТ РК 1514-2006	1,113±0,351
4	Сульфат-ион, мг/л	СТ РК 1015-2000	0,96±0,47
5	Хлорид-ион, мг/л	СТ РК ИСО 9297-2008	90,08±0,44
6	Гидрокарбонаттар, мг/л	ГОСТ 26449.1-85, п.5	0,39±0,01
7	Калий, мг/л	ГОСТ 26449.1-85, п.18.1	0,21±0,01
8	Кальций, мг/л	ГОСТ 26449.1-85, п.11.1	3,447±0,16
9	Магний, мг/л	ГОСТ 26449.1-85, п.12	1,920±0,091
10	Натрий, мг/л	ГОСТ 26449.1-85, п.17.1.	52,632±2,53
11	Сутектік көрсеткіш, рН	ГОСТ 26449.1-85, п.4	6,34±0,28

Зерттелген мұнай пласт суларын белгілі бір түрге жатқызу үшін жеті негізгі компонентті зерттеу кезінде Ақінген кен орнының мұнай пласт суларында натрий мен хлор иондары басым екендігі анықталды. Ақінген кен орнының сынамаларындағы натрий мен хлорид-ионның құрамы тиісінше $90,08 \pm 0,44$ мг/л және $52,632 \pm 2,53$ мг/л-ге тең. Алынған сипаттамаларға сүйене отырып, Ақінген кен орнының мұнай пласт сулары натрий-хлорға жатады деп қорытындылауға болады.

Мұнай кен орындарының пласт сулары әртүрлі минералдануға ие және геологиялық жасына, пайдаланылатын горизонттың стратиграфиясына және т. б. байланысты тұз құрамы бойынша ерекшеленеді. Минералдану дәрежесі бойынша пласт сулары тұщы (тығыз қалдығы 1-ден 6 г/л-ге дейін), тұздылы (6-дан 150 г/л-ге дейін) және өте тұздылы (150-ден 250 г/л-ге дейін) болып бөлінеді [17, р. 85; 18, р. 36]. Талдау нәтижесінде минералдану дәрежесі бойынша Ақінген кен орны пласт сулары өте тұздылығы жататыны анықталды (минералдану 187 г/л-ге тең).

Мұнай пласт суларының тығыздығы минералдануға, яғни еріген тұздардың құрамына өте тәуелді [17, р. 91]. Ақінген кен орны мұнайпласт суларының тығыздығы $1,113 \pm 0,351$ г/см³-ке тең екені анықталды.

20 °С температурада Ақінген мұнайының кинематикалық тұтқырлығы 6,02 Ст, ал 50 °С температурада 2,48 Ст.

Микроорганизмдердің қарқынды өсуі ортаның қышқылдығы (рН) және мұнай пласт суының минералдылығы жатады, олар өсу жылдамдығына, биомассаның шығуына, метаболизмге және бактериялардың химиялық құрамына әсер етеді [20, р. 691]. Сутегі көрсеткіші рН сутегі иондарының белсенділігін сипаттайды, бактериялардың көптеген түрлері салыстырмалы түрде бейтарап аралықта өседі, ал олардың көпшілігі рН мәнінде 7-ге жақын. Зерттеу нәтижесі бойынша Ақінген кен орнының рН шамасы 6,34-ге тең.

Зерттеудің келесі сатысында «Ақінген» кен орны мұнай пласт суларына сандық және сапалық микробиологиялық зерттеу жүргізілді; 40 °С температурада аэробты және анаэробты микроорганизмдердің саны анықталды (Кесте 7).

Кесте 7 – Ақінген кен орны мұнайпласт суларының аэробты және анаэробты микроорганизмдерінің саны, КТБ / мл

№	Үлгі	Жалпы микроорганизмдердің саны, КТБ/мл	
		Аэробты	Анаэробты
1	Мұнайпласт сулары	$96,1 \times 10^7 \pm 4,8 \times 10^7$	$14 \times 10^4 \pm 0,7 \times 10^4$

Ақінген кен орны мұнайласт суларының микроорганизмдерінің жалпы санын зерттеу барысында аэробты және анаэробты микроорганизмдердің

(ЖМС) жалпы саны тиісінше $96,1 \times 10^7 \pm 4,8 \times 10^7$ КТБ/мл және $14 \times 10^4 \pm 0,7 \times 10^4$ КТБ/мл құрағандығы анықталды [148]. Заттардың айналу процестерінде (айналым) көптеген және белсенді тіршілік ететін микроорганизмдердің ғана экологиялық маңызы бар Бактериялар үшін санның шартты өлшемі ретінде 1 г субстратқа 1 млн. кем емес шама қабылданған, яғни тек осындай сан кезінде ғана олардың айтарлықтай экологиялық мәні болуы мүмкін [149]. Ақінген кен орнының аэробты және анаэробты микроорганизмдер жасушаларының жалпы санын зерттеу осы экожүйенің аэробты микроорганизмдерінің ($96,1 \times 10^7$ КТБ/мл) осы экожүйеге экологиялық мәнді екендігін, яғни көптеген (1 мл – ге 1 млн – нан асатындығын) көрсетеді. Өңделіп жатқан мұнай пласттарында анаэробтық процестер баяу жүретіні белгілі, мұнайдың аэробтық – анаэробтық трансформациясы айтарлықтай маңызды [150]. Ақінген кен орындарының мұнай пласттарының суларындағы аэробты микроорганизмдер жасушаларының жалпы санын зерттеу осы экожүйелердің аэробтары осы экожүйелер үшін айтарлықтай экологиялық маңызы бар екенін, яғни санының көптігін және белсенді тіршілік әрекетін көрсететіндігін айқын көрсетеді.

Мұнай пласттарында әр түрлі физиологиялық топтардың аэробты және анаэробты микроорганизмдері кең таралғаны белгілі, олардың кейбіреулері тіршілік қабілетін жоғалтып қана қоймай, сондай-ақ пласт жағдайында белсенді болып қалады. Бактериялардың пласт суы мен мұнай арасында бөлінуі олардың физиологиялық қасиеттеріне едәуір дәрежеде байланысты. Микроорганизмдерді мұнайға қатысты екі топқа бөледі. Бірінші топ - «мұнай оң микроорганизмдер», олар су ортасынан құрамында сусыз көмірсутегі бар ортаға ауысып, онда көбейе алады. *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter* туыстарының өкілдерін жатқызады және көрсетілген бос және байланысқан липидтермен байытылған полярлық құрылымдар бар қабықшаның болуымен түсіндіреді. Осыған байланысты бактериялар мұнай тамшыларында даму қабілетіне ие. Екінші топқа «мұнай теріс микроорганизмдер», мұнаймен жанасқан кезде сулы ортадан ауыспайтын және беттік көмірсутектерді тотықтырады. Бұл топқа *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Desulfovibrio* туысының өкілдері жатады. Соңғы мұнай өндіру кезеңіндегі көптеген мұнай кен орындарының пласт суларында осы аталған *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Desulfovibrio* микроорганизмдері жиі кездеседі [18, p. 33-35; 23, p. 237-238].

Бұдан әрі, мұнайпласт сулары үлгісі үшін *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* және сульфатредуцирлеуші микроорганизмдер туыстарының болуына зерттеулер жүргізілді (кесте 8). Микроорганизмдердің физиологиялық тобы–микроорганизмдердің бір физиологиялық белгісі бойынша бір топқа бірігуі, бірақ олардың әртүрлі шығу тегі болуы мүмкін [146, p. 109].

Кесте 8 – Ақінген кен орны мұнайпласт суларының сапалық микробиологиялық сипаттамасы, КТБ/мл

№	Микроорганизмдердің физиологиялық топтары	Микроорганизмдердің саны, КТБ /мл
1	2	3
1	<i>Rhodococcus</i>	0
2	<i>Pseudomonas</i>	$10 \times 10^4 \pm 0,5 \times 10^4$
3	<i>Bacillus</i>	$13 \times 10^3 \pm 0,6 \times 10^3$
4	<i>Enterobacter</i>	0
5	Сульфатредуцирлеуші микроорганизмдер	0
6	<i>Clostridium</i>	0

Кестелік деректерден көрініп тұрғандай, зерттелген мұнайпласт суларының аэробтық және анаэробтық жағдайларында келесідей микроорганизмдердің топтары: *Pseudomonas*, *Bacillus* туыстары анықталды, сондайақ *Rhodococcus*, *Enterobacter*, *Enterobacter*, *Clostridium*, Сульфатредуцирлеуші микроорганизмдерінің өсуі байқалынбады. *Pseudomonas* ($10 \times 10^4 \pm 0,5 \times 10^4$ КТБ/мл) жасуша құрамы едәуір аз, микроорганизмдердің саны басым тобы *Bacillus* ($13 \times 10^3 \pm 0,6 \times 10^3$ КТБ/мл). Өңделетін мұнай пласттарында айдалатын сумен келіп түсетін аллохтондық бактериялар және аборигендік микрофлора бар екені белгілі [151]. Зерттеуде аэробты бациллалардың саны көп болуы беткі қабатпен пласттардың белсенді газ алмасуын көрсетеді.

Осылайша, Ақінген мұнай кен орны мұнайпласт суларының физика-химиялық қасиеттерін зерттеуде мұнайпласт суларының жоғары минералданған, натрий-хлорлы, рН бейтарапқа жақын екені анықталынды. Ақінген кен орнының мұнайпласт суларының аэробты микроорганизмдерінің жалпы санын зерттеу үшін осы экожүйеде аэробтардың айтарлықтай экологиялық маңызы бар екенін анық көрсетеді, яғни олар көп, сондықтан олар белсенді өмір сүруді көрсетеді – $96,1 \times 10^7 \pm 4,8 \times 10^7$ КТБ/мл, сәйкесінше, ал мұнай пласт суларында анаэробтардың мөлшері әлдеқайда аз – $14 \times 10^4 \pm 0,7 \times 10^4$ КТБ/мл. Зерттелген үлгіде микроорганизмдердің келесідей топтары анықталды: *Bacillus* және *Pseudomonas* туысына жататын микроорганизмдер, алайда микроорганизмдердің басым тобы *Bacillus* $13 \times 10^3 \pm 0,6 \times 10^3$ сәйкесінше.

3.2 Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің морфология–дақылдық және физиология–биохимиялық қасиеттерін анықтау

Мұнайпласт суларының микроорганизмдері мұнай пласттың экстремалды жағдайларына бейімделген микроорганизмдер ретінде үлкен биотехнологиялық потенциалға ие. Мұнайпласт суларында әр түрлі физиологиялық топтардың аэробты және анаэробты микроорганизмдері кең таралғаны белгілі, олардың кейбіреулері тіршілік қабілетін жоғалтып қана қоймай, сондай-ақ пласт жағдайында белсенді өмір сүруге қабілетті болып қалады.

Ақінген кен орнының мұнайпласт суларынан аэробты және анаэробты жағдайларда бөлініп алынған 31 микроорганизм дақылдарына атаулар және морфологиялық – дақылдық белгілері зерттелінді (кесте 9) [151, р. 86-90].

Кесте 9 – Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің морфологиялық және дақылдық қасиеттері

№	Штаммдар	Өсіру жағдайы, оттегіге қатынасы t 40 °С	Клетка формасы және байланысуы	Грам бойынша боялуы	Спора түзу	Қозғалғыштық	Колония морфологиясы
1	M1	аэробты	Ұзын таяқшалы, дипло	Г+	+	-	Пішіні дөңгелек, беті тегіс, жазық, жылтыр, түсі ақ, жиегі тегіс, 10 мм
2	M2	аэробты	Ұзын және жіңішке таяқшалар, моно	Г+	+	+	Колониялардың жиегі тегіс, дөңгелек, түсі ақ, жылтыр, жоғары жағы тегіс, 3мм
3	A1	аэробты	Ұзын таяқшалар, моно, дипло, стрепто	Г+	+	+	Колонияның жиегі резондты, ақшыл сары түсті, шырышты, дөңес беті, 10 мм
4	A2	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно	Г+	+	-	Дөңгелек колония, түсі сары реңді ақ, колонияның жиегі тегіс, беті тегіс, жылтыр, 3 мм
5	A3	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно, дипло	Г+	+	-	Жиегі дұрыс емес колония, түсі ақшыл қоңыр, беті тегіс емес, шырышты түзеді, 7 мм
6	A4	аэробты	Ұзын таяқшалар, моно	Г+	+	+	Жиектері дұрыс емес колония, түсі ақ, беті тегіс, 5 мм
7	A5	аэробты	Ұзын таяқшалар, моно	Г+	+	-	Дөңгелек колония, жиектері тегіс, түсі ақ, беті тегіс, 8 мм
8	S1	аэробты	Ұзын таяқшалар, дипло, стрепто	Г+	+	-	Колониялардың жиегі тегіс емес, толқынды, беті бұдырлы, жылтыр емес, 4 мм
9	S2	аэробты	Ұзын таяқшалар, моно,	Г+	+	-	Жиектері дұрыс емес дөңгелек колония, беті тегіс, жылтыр колония, 4 мм
10	S3	аэробты	Ұзын таяқшалар, моно,	Г+	+	-	Колониялардың шеттері толқынды, жылтыр емес, түсі ақ, беті тегіс, 6 мм
11	D1X	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно, дипло	Г+	+	-	Дөңгелек пішінді, беті қатпарлы, жылтыр емес, шырышты, жиегі толқынды, 3 мм
12	D7X	аэробты	Қысқа таяқшалар, дипло, стрепто	Г+	+	+	Дөңгелек пішінді, беті қатпарлы, жылтыр емес, шырышты, жиегі толқынды, 3-4 мм
13	D1	аэробты	Моно,- диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колония, жиегі толқынды, беті жазық, шырышты, жылтыр, 3 мм

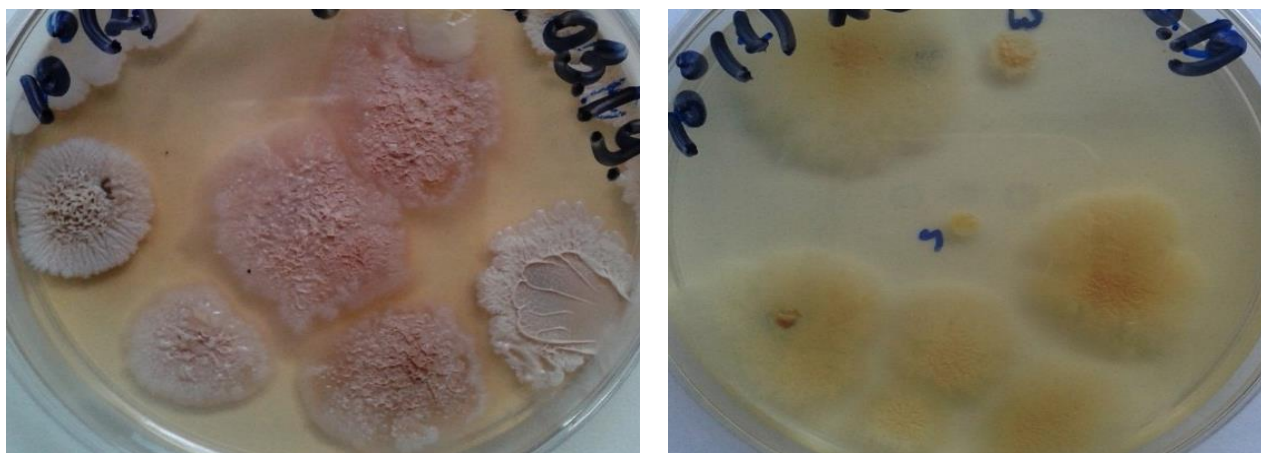
9-кестенің жалғасы

14	D2	аэробты	Моно,- диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колониялы, жиектері толқынды, үстіңгі беті жазық, шырышты, жылтыр, 2 мм, жасыл пигмент түзілген
15	D3	аэробты	Монобактериялар	Г-	-	+	колония дөңгелек пішінді, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3-4 мм
16	D4	аэробты	Диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колониялы, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3 мм, жасыл пигмент түзілген
17	D5	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно,- дипло	Г-	-	+	колония пішіні дұрыс емес, жоғарғы беті дөңес, жылтыр, шырышты, көк жасыл пигменті бар колониялар, 2 мм
18	D6	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно	Г-	-	+	колониялар дұрыс формалы емес, жоғарғы беті дөңес, жылтыр, шырышты колониялар 2-3 мм
19	D7	аэробты	Қысқа таяқшалар, моно	Г-	-	+	колония дұрыс емес, жоғарғы беті дөңес, жылтыр, шырышты, көк жасыл пигменті бар колониялар, 2 мм
20	D8	аэробты	Монобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек пішінді колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3-4 мм
21	T1	аэробты	Моно, - диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек пішінді колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3 мм, көк жасыл пигмент түзілген
22	T2	аэробты	Диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колониялы, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 2 мм, жасыл пигмент түзілген
23	T3	аэробты	Диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3-4 мм, сарғыш жасыл пигментті
24	T4	аэробты	Моно, - диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 2-3 мм, көк жасыл пигментті
25	T5	аэробты	Монобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, 3 мм, көк жасыл пигментті
26	T6	аэробты	Моно, - диплобактериялар	Г-	-	+	Дөңгелек колония, шеттері толқынды, беті жазық, шырышты, жылтыр, 4 мм, сарғыш жасыл пигментті

9- кестенің жалғасы

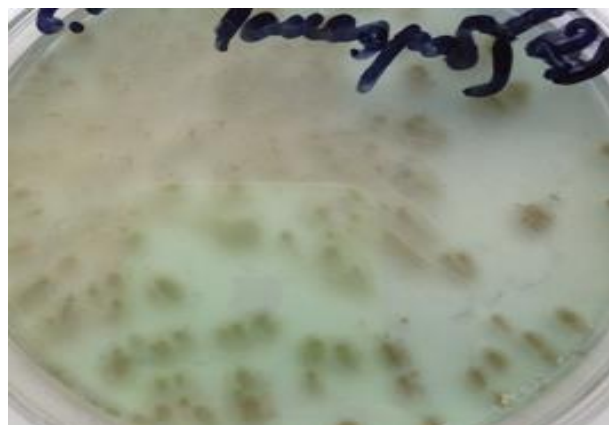
27	SR1	анаэробты	Моно, - диплобактериялар	Г+	+	+	Дөңгелек колония, колонияның жиегі толқынды, беті бұдырлы, құрғақ, 5 мм, түсі ақшыл қоңыр
28	SR2	анаэробты	Дипло, - стрептобактериялар	Г+	+	-	Пішіні дұрыс емес колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті бұдырлы, консистенциясы шырышты, 4 мм, түсі ақшыл сұр
29	SR3	анаэробты	Моно, -дипло- стрептобактериялар	Г+	+	-	колония дөңгелек пішінді, түсі ақ, жиектері тегіс, жоғарғы беті дөңес, жылтыр, шырышты, 3 мм
30	CL1	анаэробты	Моно, - диплобактериялар	Г+	+	+	Дөңгелек, жиектері толқынды, дөңес, шырышты, жартылай мөлдір қабықты, ылғалды, 3-4 мм, түсі ақшыл
31	CL2	анаэробты	Дипло, - стрептобактериялар	Г+	+	-	Пішіні дұрыс емес колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті рельефті, құрғақ, 3 мм ақшыл түсті
Ескерту: «+» - белгісі бар, «-»-белгісі жоқ							

Кестеде көрсетілген зерттеу нәтижелері бойынша Ақінген кен орны мұнай пласт суларынан 31 микроорганизм дақылы бөлініп алынды. Макроморфологиялық зерттеулерге сәйкес микроорганизм дақылдары S1, S3, CL2 колониялардың жиегі тегіс емес, толқынды, жоғарғы беті тегіс емес, құрғақ, ақшыл түсті, 3 – 4 мм болып табылады. M1, M2, A2, A5 Колониялардың жиегі тегіс, дөңгелек, түсі ақ, жылтыр, жоғарғы жағы тегіс. A1 колониясының жиегі резидты, ақшыл сары түсті, шырышты, дөңес беті. S2, A4 жиектері дұрыс емес дөңгелек колония, беті тегіс, жылтыр колония. D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6 дөңгелек пішінді колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті жазық, шырышты, жылтыр, көк жасыл пигмент түзілген (сурет 6).



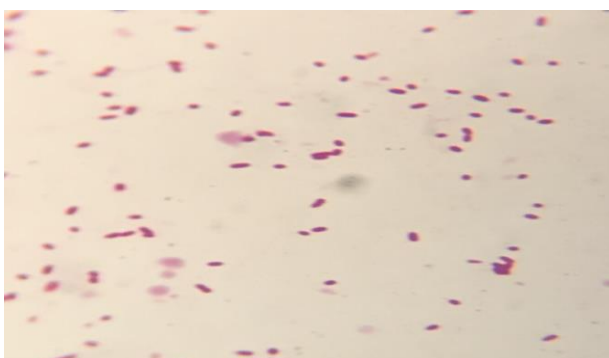
Сурет 6 – Аэробты микроорганизмдер колониясының макроморфологиясы (EPA қоректік ортасы)

SR3 колония дөңгелек пішінді, түсі ақ, жиектері тегіс, жоғарғы беті дөңес, жылтыр, шырышты, 3 мм. А3 колония жиегі дұрыс емес, түсі ақшыл қоңыр, беті тегіс емес, шырышты түзеді. SR2 пішіні дұрыс емес колония, жиектері толқынды, жоғарғы беті бұдырлы, консистенциясы шырышты, 4 мм, түсі ақшыл сұр. SR1 Дөңгелек колониялы, колонияның жиегі толқынды, беті бұдырлы, құрғақ, 5 мм, түсі ақшыл қоңыр. CL1 дөңгелек колониялы, жиектері толқынды, беті дөңес, шырышты, жартылай мөлдір қабықты, ылғалды, 3-4 мм, түсі ақшыл. D1X, D7X дөңгелек пішінді, жиегі толқынды, жоғарғы беті қатпарлы, жылтыр емес, шырышты (сурет 7).



Сурет 7 – Анаэробты микроорганизмдер колониясының макроморфологиясы (*Bacillus Agar* қоректік орта)

Микроморфологиялық зерттеулерге сәйкес микроорганизм дақылдарының жасушалық құрылымы Грам бойынша жіктелінді (сурет 8). Ақінген кен орнының мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің дақылдары моно-, дипло-, стрептобактериялар екендігі көрсетілді, сондай – ақ Т6 дақылдарының жасушалық құрылымы сирек жұптасқан Грамтеріс таяқшалар, ал D7X Грамоң, көп жағдайда дипло -, сирек монобактериялар.



Грамтеріс Т6 штамм

Грамоң D7X штамм

Сурет 8 – Мұнай пласт сулары бактерияларының микроморфологиясы, 1000x

Ақінген кен орны мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің 31 дақылдарын идентификациялауда маңызды физиологиялық және биохимиялық белгілерді анықтау нәтижелері келтірілген (кесте 10) [151, р. 94-95].

Кесте 10 – Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің физиологиялық және биохимиялық қасиеттері

№	Белгілер	Қағалаза белсенділігі	Оксидаза белсенділігі	Протеолитикалық белсенділік	Амилолитикалық Белсенділік, мм	Липолитикалық белсенділік	молекулярлы азотты қолданылу	Ортаға пигмент бөлу
	Штаммдар							
1	2	4	5	6	7	8	9	10
1	D1	+	+	+	-	+	+	-
2	D2	+	+	+	-	-	+	жасыл
3	D3	+	+	+	-	-	-	-
4	D4	+	+	+	-	+	-	жасыл
5	D5	+	+	+	-	+	+	көк – жасыл
6	D6	+	+	+	-	+	+	
7	D7	+	+	+	-	+	+	көк – жасыл
8	D8	+	+	+	-	-	-	-
9	T1	+	+	+	-	+	-	көк – жасыл
10	T2	+	+	+	-	-	-	жасыл
11	T3	+	+	+	-	-	+	сары – жасыл
12	T4	+	+	+	-	-	+	көк – жасыл
13	T5	+	+	+	-	+	-	жасыл
14	T6	+	+	+	-	+	+	сары – жасыл
15	D1X	+	-	+	4	+	+	-
16	D7X	+	-	+	5	+	-	-
17	M1	+	-	+	3	-	-	-
18	M2	+	-	-	7	-	-	-
19	A1	+	-	-	3	-	+	-
20	A2	+	-	+	7	-	-	-
21	A3	+	-	+	3	-	-	-
22	A4	+	-	-	5	-	+	-
23	A5	+	-	+	7	-	+	-
24	S1	+	-	-	3	-	-	-
25	S2	+	-	-	1	-	+	-
26	S3	+	-	-	7	-	-	-
27	SR1	+	-	+	3	-	-	-
28	SR2	+	-	-	-	+	-	-
29	SR3	+	-	-	-	+	-	-
30	CL1	+	-	+	4	-	-	-
31	CL2	+	-	-	-	+	-	-

Ескерту: «+» - белгісі бар, «-»-белгісі жоқ

Микроорганизмдердің физиология – биохимиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері бойынша, 31 аэробты және факультативті анаэробты дақылдар - каталаза оң, 17 штаммдар оксидаза теріс (D1X, D7X, A1, A2, A3, A4, A5, M1, M2, S1, S2, S3, SR1, SR2, SR3, CL1, CL2), 14 оксидазаның оң штаммдары (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6), 9 штаммда протеолитикалық белсенділік табылған жоқ (M2, A1, A4, S1, S2, S3, SR2, SR3, CL2), қалған 22 штамм анықталды (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1X, D7X, A2, A3, A5, M1, SR1, CL2), крахмал гидролизі 14 штаммда анықталды, гидролиз аймақтары 1 мм – 7 мм аралығында болды. дақылдардың амилолитикалық белсенділігі M2, A5, A2, S3 (7 мм). Липолитикалық белсенділік 13 штаммда (D1, D4, D5, D6, D7, T1, T5, T6 D1X, D7X, SR2, SR3, CL2,) анықталды, 18 штаммдарында белгісі байқалынбады. Эшби ортасында 13 штаммда (D1, D2, D5, D6, D7, T3, T4, T6, D1X, A1, A4, A5, S2) молекулалық азотты қолданып өсуі жақсы. Қалған 18 микроб дақылдарында белгісі байқалынбады. Айта кету керек, ортада (T1, T2, T3, T4, T5, T6, D4, D5, D7, D2) өсіру кезінде 31 штаммның 10-на тән ерекшелігі ортаға флуоресцирлеуші көк-жасыл және жасыл пигменттерді бөлу болып табылады.

P. aeruginosa жасушалары суда еритін пигменттерді, оның ішінде көк-жасыл (пиоцианин) және жасыл түсті флуоресцин (пиовердин) сияқты пигменттерді өндіре алатыны белгілі [152].

Осылайша, Ақінген кен орны мұнайпласт суларынан аэробты және анаэробты жағдайларда 31 микроорганизм дақылдары бөлінді және морфологиялық, дақылдық, физиологиялық және биохимиялық қасиеттерін анықтау нәтижелері оларды туыстық белгілерге дейін идентификациялауға мүмкіндік берді, сондай – ақ микроорганизмдердің 14 штаммдары *Pseudomonas sp.* (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6) туысына, 17 штамм (D1X, D7X, M1, M2, A1, A2, A3, A4, A5, S1, S2, S3, SR1, SR2, SR3, CL1, CL2) *Bacillus sp.* туысына жататындығы анықталды.

3.3 Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің молекулярлы–генетикалық идентификациясы

Батыс Қазақстанның «Ақінген» кен орны мұнай пласт суларынан бөлініп алынған 31 штаммды идентификациялау ген фрагментінің *16S rRNA* тікелей нуклеотидтік бірізділігін анықтау әдісімен жүзеге асырылды, кейіннен Gene Bank халықаралық дерекқорында сақталған дәйектіліктермен нуклеотидтік сәйкестікті айқындау жүргізілді.

Әдеби дереккөздерге сүйенсек, мұнай пласт суларының микрофлорасында әр түрлі физиологиялық топтардағы аэробты және анаэробты микроорганизмдердің кең таралғаны белгілі. Бұл топқа *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chromobacterium*, *Micrococcus*, *Desulfovibrio* туысының өкілдері жатады. Аэробты микроорганизмдерге – *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Yarrow*, *Xantomonas*, *Corynebacterium*; анаэробты микроорганизмдер – *Clostridium*, *Desulfovibrio*;

факультативті анаэробты – *Bacillus*, *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Leuconostoc* жатады [20, p. 691-695; 53, p. 7].

16S rRNA ген фрагментінің амплификациясы

16S rRNA геннің нуклеотидтік реттілігін анықтау үшін әмбебап праймерлерді пайдаланылды: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 806R (5' GGACTACCAGGGTATCTAAT-3').

Микроорганизмдер идентификациясы нәтижелері және *16S pPHK* негізіндегі BLAST көмегімен гомологияға талданды. BLAST нәтижелері бойынша 16 штамм *Bacillus sp.* өкілдері: *Bacillus pumilus*, *Bacillus paramycoides*, *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus safensis*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacillus borstelensis*, 14 штамм *Pseudomonas aeruginosa* ретінде идентификацияланып анықталынды. Байланысу (доступ) нөмірі (кесте 11) келтірілген және осы зерттеудің филогенетикалық ағашы көрсетілген (суреттер 10, 11, 12).

Кесте 11 – BLAST <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> көмегімен *16S rRNA* генінің нуклеотидтер тізбегін талдау әдісімен идентификациялау нәтижелері

№	Штаммдар атауы	Жақын таксон (GenBank-тегі кіру нөмірі)	Сәйкестендіру пайызы %	Идентификациясы
1	D1	MT107139.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
2	D2	NR_117678.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
3	D3	NR_117678.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	D4	NR_117678.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
5	D5	MT107139.1	98	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6	D6	NR_117678.1	97	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
7	D7	NR_117678.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
8	D7X	NR_041794.1	99	<i>Bacillus safensis</i>
9	T1	NR_117678.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10	T2	NR_117678.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
11	T3	NR_117678.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
12	T4	NR_117678.1	100	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
13	T5	NR_117678.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
14	T6	NR_117678.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15	M1	NR_157734.1	92	<i>Bacillus paramycoides</i>
16	M2	NR_148786.1	97	<i>Bacillus pumilus</i>
17	A1	NR_118996.1	99	<i>Bacillus licheniformis</i>
18	A2	NR_118996.1	100	<i>Bacillus licheniformis</i>
19	A3	NR_157609.1	98	<i>Bacillus licheniformis</i>
20	A4	NR_116023.1	99	<i>Bacillus licheniformis</i>
21	A5	NR_118383.1	100	<i>Bacillus subtilis</i>
22	S1	NR_112686.1	99	<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>
23	S2	NR_116023.1	98	<i>Bacillus licheniformis</i>

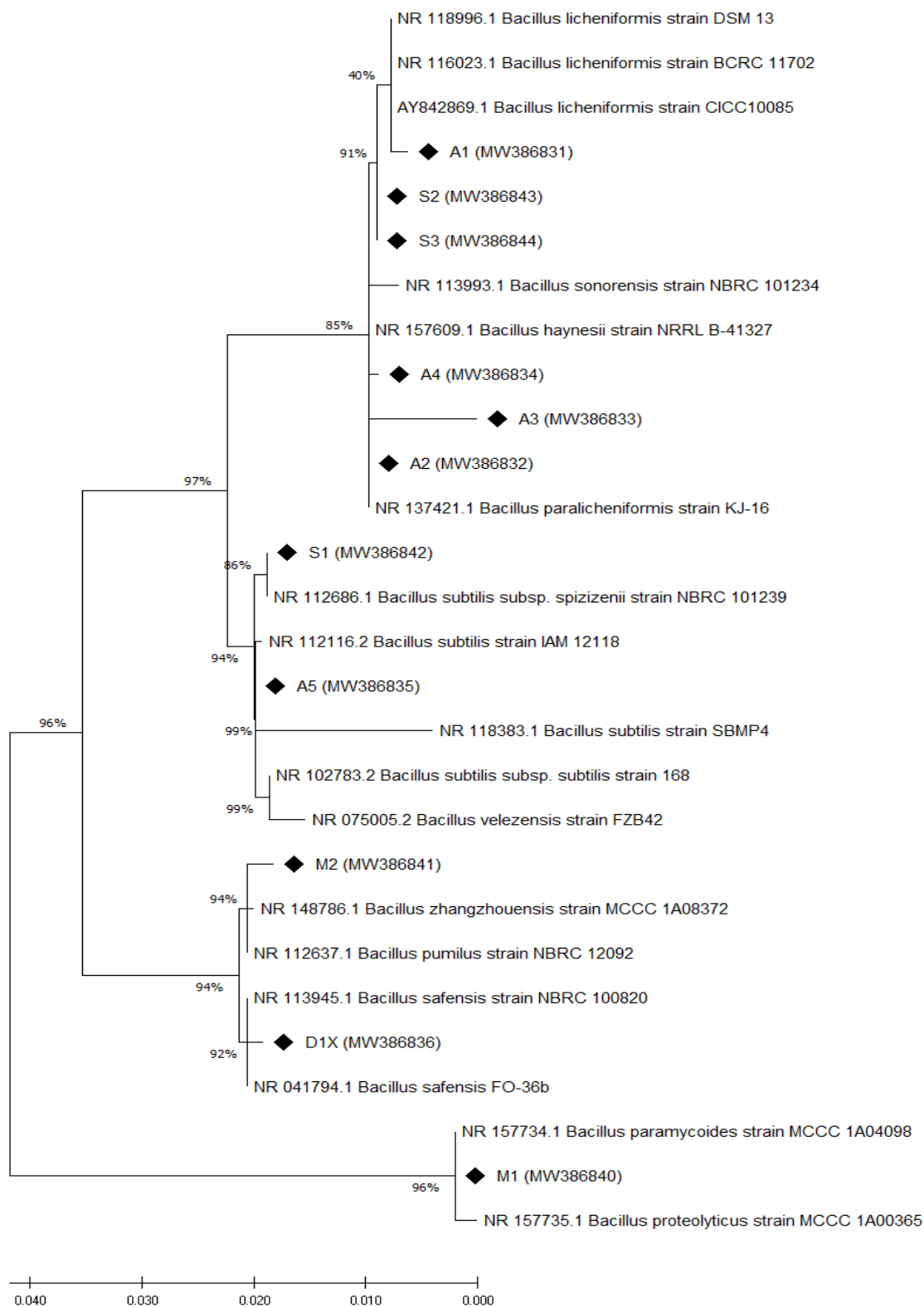
11- кестенің жалғасы

24	S3	NR_157609.1	99	<i>Bacillus haynesii</i>
25	D8	NR_113599.1	99	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
26	SR-1	AY842869.1	99	<i>Bacillus licheniformis</i>
27	SR-2	NR_118996.1	95	<i>Bacillus licheniformis</i>
28	SR-3	NR_113799.1	90	<i>Brevibacillus borstelensis</i>
29	CL-1	NR_116023.1	100	<i>Bacillus licheniformis</i>
30	CL-2	NR_118996.1	96	<i>Bacillus licheniformis</i>
31	D1X	NR_112637.1	99	<i>Bacillus pumilus</i>

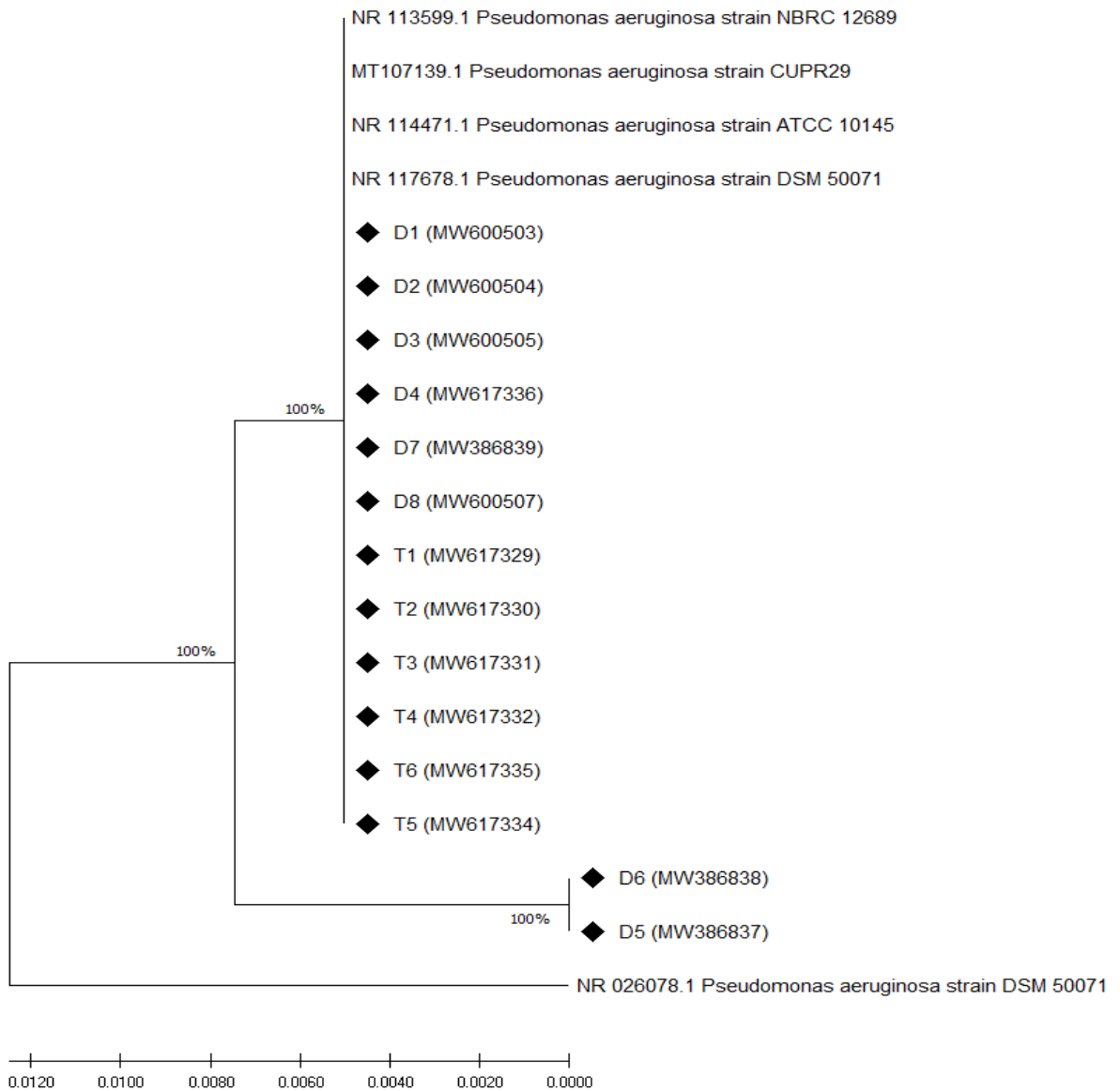
Кесте деректерінен көріп отырғаныңыздай, мұнайпласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің 16S рРНК тізбегінің негізінде 31 штамм микроорганизмдерден 14 штамм *P. aeruginosa* (97 - 100%) - D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6; 17 бацилдер дақылдары *B. subtilis subsp. spizizenii* (99 %) - S1; *B. paramycooides*(92 %) - M1; *B. subtilis* (100 %) - A5; *B. haynesii* (99 %) - S3; *B.safensis* (99 %) - D7X; *Brevibacillus borstelensis* (90 %) - SR3, *B. pumilus* (97-99 %)- M2, D1X; 9 штамм *B. licheniformis* (98-100 %) A1, A2, A3, A4, S2, SR1, CL1, CL2, SR2 идентификацияланды.

16S rRNA нуклеотидтер тізбегі GenBank дерекқорына тіркеу нөмірлерімен енгізілді: *B. subtilis subsp. spizizenii* S1 - MW386842; *B. paramycooides* M1 - MW386841; *B. pumilus* M2 - MW386840; *B. licheniformis* A1 - MW386831; *B. licheniformis* A2 - MW386832; *B. licheniformis* A3 - MW386833; *B. licheniformis* A4 - MW386834; *B. subtilis* A5 - MW386835; *B. licheniformis* S2 - MW386843; *B. haynesii* S3 - MW386844; *B.pumilus* D1X - MW386836; *P. aeruginosa* D5 - MW386837; *B. licheniformis* CL1 - MW600501; *B. licheniformis* CL2 - MW600502; *B. safensis* D7X - MW600506; *B. licheniformis* SR1 - MW600508; *B. licheniformis* SR2 - MW600509; *Brevibacillus borstelensis* SR3 - MW600510; *P. aeruginosa* D8 - MW600507; *P. aeruginosa* D6 - MW386838; *P. aeruginosa* D7 - MW386839; *P. aeruginosa* D1- MW600503; *P. aeruginosa* D2 - MW600504; *P. aeruginosa* D3 - MW600505; *P. aeruginosa* T1 - MW617329; *P. aeruginosa* T2 - MW617330; *P. aeruginosa* T3 - MW617331; *P. aeruginosa* T4 - MW617332; *P. aeruginosa* T5 - MW617334; *P. aeruginosa* T6 - MW617335; *P. aeruginosa* D4 - MW617336.

Bacillus және *Brevibacillus* тұқымдасының туыстық тізбектері арасында бөлінген штаммдардың 16S rRNA нуклеотидтік тізбектерін талдау негізінде құралған филогенетикалық ағашы келтірілген (суреттер 9, 10).



Сурет 9 - *Bacillus* туысы тізбектер арасында бөлініп алынған микроорганизмдердің нуклеотидтер тізбегінің орнын көрсететін филогенетикалық ағаш



Сурет 11 – *Pseudomonas aeruginosa* штамдарының нуклеотидтер тізбегінің орнын көрсететін филогенетикалық ағаш

Шетелдік әдебиет дереккөздерінде келтірілгендей, мұнай пласт суларында аэробты және анаэробты микробтардың таралуы анықталынған. Солардың ішінде *Pseudomonas* туысының аэробты бактериялары екіншілік әдісте қолданылған беттік айдалған сулары арқылы келіп түсетіндігі және жиі кездесетін пласт суларының тұрақты мекендеушілері болып табылады. Мұнай пласт суларының *Bacillus* туысы бактериялары жоғары гидростатикалық қысым кезінде жоғары температуралардың әсеріне, сыртқы жағдайлардың стресстік өзгерістеріне төзімді, сондай – ақ *Bacillus* туысы бактерияларының спора түзу қабілетіне байланысты сипатталған [22, p. 194-197; 26, p. 34-36; 44, p.29-20]. *Brevibacillus borstelensis*

штамдары мұнай пласт суларында сирек кездесетін микроорганизмдер. Микроорганизмдердің бұл түрі көміртектің жалғыз көзі ретінде полиэтиленді ыдыратуға және пайдалануға қабілетті термофильді штамм болып табылады. *Brevibacillus borstelensis* штаммының полиэтилен санын 30 % - ға (50 °C кезінде) төмендететіні зерттелген [153].

Осылайша, мұнайпласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің 16S рРНК тізбегінің негізінде 31 штамм микроорганизмдерден 14 штамм *P. aeruginosa* (97 - 100%) - D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6; 17 бацилдер дақылдары *B. subtilis subsp. spizizenii* (99 %) - S1; *B. paramycooides*(92 %) - M1; *B. subtilis* (100 %) - A5; *B. haynesii* (99 %) - S3; *B.safensis* (99 %) - D7X; *Brevibacillus borstelensis* (90 %) - SR3, *B. pumilus* (97-99 %)- M2, D1X; 9 штамм *B. licheniformis* (98-100 %) A1, A2, A3, A4, S2, SR1, CL1, CL2, SR2 идентификацияланды. 16S rRNA нуклеотидтер тізбегі GenBank дерекқорына тіркеу нөмірлерімен енгізілді.

3.4 Жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттеріне ие микроорганизмдерді іріктеу

Өңделген мұнайпласт суларының микроорганизмдері биологиялық мұнай шығаруды жоғарылатуды (МШЖ) өндеу үшін үлкен биотехнологиялық потенциалға ие, мұнай пласттарының экстремалды жер асты жағдайларында биоББЗ, газдар, қышқылдар, еріткіштер, экзополисахаридтер және т. б. бірқатар мұнайсұйылту және мұнайығыстырушы метаболиттерді түзеді [154, 155].

Микроорганизмдердің мұнайсұйылтатын қасиеттеріне микроорганизмдердің қышқыл түзуі және мұнай эмульгирлеу белсенділігі жатады, ол ББЗ (биосурфактанттардың) өндіруші микроорганизмдердің мұнайды ыдырату қабілетімен, яғни бактериялардың мұнаймен байланысу тиімділігін арттыратын ұсақ мұнай эмульсиясының пайда болуымен анықталады [156, 47, p. 709-711].

Зерттеудің осы кезеңінде мұнайпласт суларынан бөлініп алынған 31 микроорганизм штамдарының мұнайығыстыру және мұнайсұйылту қасиеттері (бұдан әрі – мақсатты қасиеттері) зерттелді: мұнай эмульгирлеу белсенділігі; қышқыл түзу (ортаның рН өзгеру динамикасын өлшеу негізінде) және E8 синтетикалық ортасында газдың түзілуі, онда ортаға көміртегі көзі ретінде қоректік ортаның жалпы көлемінен 10 % концентрациясында меласса қолданылды. Микроорганизмдердің беттік-белсенді заттардың түзілу қабілеті «сұйық-гидрофобты субстрат» фазаларының шекарасында ең кішкентай эмульсияларды қалыптастыру үшін әртүрлі микробты беттік-белсенді заттардың қасиеттеріне негізделген эмульгирлеу индексінің көрсеткіші бойынша бағаланды. Эмульгирлеу индексін анықтау маңызды болып табылады, микроорганизмдер штамдары ББЗ продуценттері ретінде сипаттайды. БиоББЗ мұнайды сұйылтады, оны жылжымалы етеді және мұнай мен коллектор арасындағы кернеуді азайтады [109, p. 137]. Гидрофобты фаза ретінде эмульгирлеуді анықтау үшін мұнай пайдаланылды. Эмульгирлеу индексінің

өзгеруі 48 сағаттан кейін эмульсиялық қабат биіктігінің пробиркадағы сұйықтықтың жалпы биіктігіне қатынасы ретінде анықталды және пайызбен көрсетілді [110, р. 127]. Бақылау ретінде микроорганизмдерсіз нұсқа пайдаланылды.

Микроорганизмдерді өсіру процесінде газ түзілуін анықтау батырылған қалтқылар негізінде анықталды. Биогаз түзілу деңгейі қалтқылардың ішіндегі сұйықтықтың ығысуымен қарастырылды. Қалтқының толық газбен толуы–белсенді, жартылай толымдылығы–орташа және газ көпіршіктерінің аз түзілуі әлсіз газ түзілуіне сәйкес келді.

Микроорганизмдерді дақылдаудың соңғы 10–шы тәулікте орта рН (бастапқы 7 бір.) және газ түзілу, сонымен қатар 48 сағат мұнаймен байланыста болғаннан микроорганизмдердің эмульгирлеу индексі нәтижелері келтірілген (кесте 12).

Кесте 12 – Микроорганизмдердің мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерін зерттеу

№	Микроорганизмдер	Эмульгирлеу индексі (E_{48} %)	Ортаның рН эксперименттің 10 тәулігінде, бір.	Газ түзілуі
1	2	3	4	5
1	<i>P.aeruginosa D1</i>	51 ± 1,4	4,4±0,2	++
2	<i>P.aeruginosa D2</i>	51 ± 1,4	4,4±0,2	++
3	<i>P.aeruginosa D3</i>	51 ± 1,4	4,4±0,2	+
4	<i>P.aeruginosa D4</i>	50 ± 1,3	4,4±0,2	+
5	<i>P.aeruginosa D5</i>	67± 3,3	3,8±0,1	+++
6	<i>P.aeruginosa D6</i>	65± 3,2	3,8±0,1	+++
7	<i>P.aeruginosa D7</i>	61± 3,0	4,1±0,2	+++
8	<i>P.aeruginosa D8</i>	53± 2,6	4,1±0,2	+++
9	<i>P.aeruginosa T1</i>	51 ± 1,6	4,2±0,2	++
10	<i>P.aeruginosa T2</i>	51 ± 2,5	4,1±0,2	+++
11	<i>P.aeruginosa T3</i>	54 ± 2,7	4,1±0,2	++
12	<i>P.aeruginosa T4</i>	45 ± 1,7	4,3±0,2	+++
13	<i>P.aeruginosa T5</i>	42 ± 1,6	4,3±0,2	++
14	<i>P.aeruginosa T6</i>	48 ± 2,0	4,2±0,2	+
15	<i>B. pumilus D1X</i>	65 ± 3,2	3,8±0,1	+++
16	<i>B.safensis D7X</i>	59 ± 2,9	4,1±0,2	+
17	<i>B. paramycoides M1</i>	38 ± 1,9	4,4±0,2	++
18	<i>B. pumilus M2</i>	55± 2,7	4,1±0,2	++
19	<i>B. licheniformis A1</i>	45 ± 2,2	4,2±0,2	+++
20	<i>B. licheniformis A2</i>	41 ± 2,0	4,2±0,2	+++
21	<i>B. licheniformis A3</i>	43 ± 1,6	4,3±0,2	+
22	<i>B. licheniformis A4</i>	48 ± 1,4	4,5±0,2	+++
23	<i>B. subtilis A5</i>	52 ± 2,6	4,1±0,2	+
24	<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii S1</i>	53 ± 2,6	4,1±0,2	++

12-кестенің жалғасы

25	<i>B. licheniformis</i> S2	58 ± 2,9	3,9±0,1	+++
26	<i>B. haynesii</i> S3	46 ± 1,8	4,3±0,2	++
27	<i>B. licheniformis</i> SR-1	63 ± 3,1	3,8±0,1	+++
28	<i>Bacillus licheniformis</i> SR-2	54 ± 2,7	4,1±0,2	+
29	<i>Brevibacillus borstelensis</i> SR-3	25 ± 1,2	4,5±0,2	-
30	<i>B. licheniformis</i> CL-1	61 ± 3,0	3,8±0,1	+++
31	<i>B. licheniformis</i> CL-2	57± 2,8	3,9±0,1	+++
32	Бақылау	0	7.0±0,3	-

Ескерту: «+» - әлсіз газ түзілуі; «+ +» - орташа газ түзілуі; «+ + +» - белсенді газ түзілуі

Ақінген кен орны мұнайпласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің зерттелген 31 штаммынан кем дегенде екі мақсатты қасиетіне сәйкес (мұнай эмульсиясы, қышқыл түзілуі, газ түзілуі) микроорганизмдердің келесідей 16 дақылдары іріктелді. Іріктелген дақылдардың органикалық қышқылдардың бөлінуі анықталынды. Эксперимент 10 тәулік жүргізілді (кесте 13). Мұнай сұйылту қасиеттері жоғары микроорганизмдерден: 6 штамм *P. aeruginosa* – D5, D6, D7, T2, T3; D8; 10 штамм бациллдер: *B. subtilis* subsp. *spizizenii* - S1; *B. subtilis* - A5; *B.safensis* - D7X; 2 штамм *B. pumilus* - M2, D1X; 3 штамм *B. licheniformis* - S2, SR1, CL1, CL2, SR2 [184].

Кесте 13 – Мақсатты қасиеттері жоғары микроорганизм дақылдары

№	Микроорганизмдер	Эмульгир леу индексі (E ₄₈ %)	Ортаның рН эксперименттің 10 тәулігінде бір.	Органикалық қышқылдар, мг/дм ³			Газ түзілуі
				Сірке қышқылы	Пропион қышқылы	Май қышқылы	
1	<i>P.aeruginosa</i> D5	67± 3,3	3,8±0,1	2,921±0,136	1,911±0,005	0,185±0,002	+++
2	<i>P.aeruginosa</i> D6	65± 3,2	3,8±0,1	2,659±0,11	1,832±0,01	0,645±0,06	+++
3	<i>P.aeruginosa</i> D7	61±3,0	4,1±0,2	1,632±0,08	1,334±0,01	0,080±0,004	+++
4	<i>P.aeruginosa</i> D8	53± 2,6	4,1±0,2	2,114±0,10	1,012±0,05	0,245±0,06	+++
5	<i>P.aeruginosa</i> T2	51 ± 2,5	4,1±0,2	1,521±0,07	1,111±0,005	0,062±0,003	+++
6	<i>P.aeruginosa</i> T3	54 ± 2,7	4,1±0,2	1,013±0,05	1,536±0,02	0,0442±0,002	++
7	<i>B. pumilus</i> D1X	65 ± 3,2	3,8±0,1	3,561±1,05	1,651±0,02	0,098±0,002	+++
8	<i>B.safensis</i> D7X	59 ± 2,9	4,1±0,2	1,622±0,08	0,109±0,005	0,050±0,002	+
9	<i>B. pumilus</i> M2	55± 2,7	4,1±0,2	1,011±0,05	0,501±0,02	0,0411±0,002	++
10	<i>B. subtilis</i> A5	52 ± 2,6	4,1±0,2	1,023±0,05	0,527±0,02	0,0421±0,002	+
11	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> S1	53 ± 2,6	4,1±0,2	2,127±0,10	1,025±0,05	1,225±0,06	++
12	<i>B. licheniformis</i> S2	58 ± 2,9	3,9±0,1	2,323±0,10	1,527±0,02	0,242±0,002	+++
13	<i>B. licheniformis</i> SR-1	63 ± 3,1	3,8±0,1	3,695±1,05	1,418±0,02	0,156±0,002	+++
14	<i>B. licheniformis</i> SR-2	54 ± 2,7	4,1±0,2	1,721±0,08	1,111±0,005	0,050±0,002	+
15	<i>B. licheniformis</i> CL-1	61 ± 3,0	3,8±0,1	3,053±0,15	1,270±0,06	1,584±0,02	+++
16	<i>B. licheniformis</i> CL-2	57± 2,8	3,9±0,1	2,992±0,04	1,624±0,01	0,081±0,004	+++
17	Бақылау	0	7.0±0,3	0,419±0,02	0,061±0,003	0,068±0,003	-

Ескерту: «+» - әлсіз газ түзілуі; «+ +» - орташа газ түзілуі; «+ + +» - белсенді газ түзілуі

Кестелік деректерден көрініп тұрғандай, ортаның рН - ның бастапқы 7,0 бірліктен 3,8-4,1 бірлікке дейін барынша төмендеуі 16 дақыл (D5, D6, D7, D8, T2, T3, D1X, D7X, M2, A5, S1, S2, SR1, SR2, CL1, CL2) үшін байқалынды (сурет 12). Қышқылды орта түзушілерге барлық 16 дақылда анықталынды (D5, D6, D7, D8, T2, T3, D1X, D7X, SR1, SR2, CL1, CL2, M2, A5, S1, S2), сәйкесінше ортаның рН 3,8-4,1 бірлікке дейін төмендеді [158]. Сутегі иондарының рН концентрациясы сулы ерітінділердің қышқыл немесе сілтілі ортасын көрсететіні белгілі. Тәжірибеде рН 7 топқа жіктеледі: 1) $0 < 3$ өте қышқылды; 2) 3 – 5 қышқылды; 3) 5 – 6,5 әлсіз қышқылды; 4) 6,5 – 7,5 бейтарап; 5) 7,5 – 8,5 әлсіз сілтілі; 6) 8,5 – 9,5 сілтілі; 7) 9,5 -14 өте сілтілі [159]. Микроорганизмдердің жасушалары көп мөлшерде сірке қышқылын, содан кейін пропионды және аз мөлшерде май қышқылын өндіретіндігі анықталынды. Сірке қышқылының ең белсенді өнімдері *Bacillus sp* болып табылады. 10-шы тәуліктің соңына қарай бұл көрсеткіштер *B. licheniformis* SR-1 – 3,695 мг/дм³, *B. pumilus* D1X - 3,561 мг/дм³, *B. licheniformis* CL-1– 3,053 мг/дм³ құрады, ал бақылауда бұл көрсеткіш 0,419 мг/дм³ сәйкесінше.

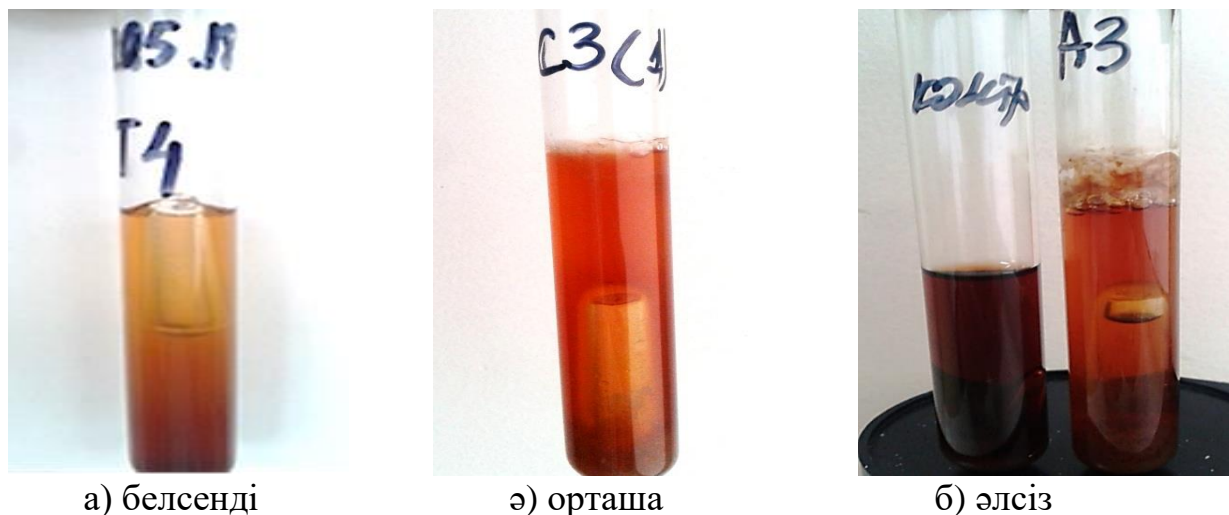


Сурет 12 – Ортаның рН өзгеру динамикасын анықтау

Іріктелініп алынған 16 микроорганизм дақылдарының ішінде ең жоғары мұнай эмульгирлеуші белсенділік 7 дақылда D1X, D5, D6, D7, D7X, SR1, CL1 анықталды, эмульгирлеу индексі 61–67 % құрады. Орташа мұнай эмульгирлеу 9 дақылда (T3, M2, A5, S1, S2, T2, SR1, SR2, CL2) байқалынды және бұл көрсеткіш 51–58 % аралығын құрады. Әдебиет деректері бойынша эмульгирлеу индексі 50 % – дан асқан микроорганизмдердің мұнай өнеркәсібі

биотехнологиясын даярлауда беттік-белсенді заттардың перспективалы өнімдері болып есептелетіні белгілі [160].

Газдың түзілуі 10 дақылда (D1X, D5, D6, D7, D8, T2, S2, SR1, CL1, CL2) белсенді; 3 дақылда (T3, M2, S1) орташа; 3 дақылда (D7X, A5, SR2) әлсіз газ түзілуі байқалынды (сурет 13).



Сурет 13 – Мелассасы бар E8 минимальды ортада мұнайпласт сулары микроорганизмдерінің газ түзу қабілеті

Осылайша, Ақінген кен орны пласт суларының зерттелген 31 штамм микроорганизмдерінен жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттеріне ие, кем дегенде екі мақсатты қасиетіне сәйкес (мұнай эмульсиясы, қышқыл түзілуі, газ түзілуі) микроорганизмдердің 16 дақылдары (D5, D6, D7, D8, T2, T3, D1X, D7X, M2, A5, S1, S2, SR1, SR2, CL1, CL2) іріктелінді. Қышқылды орта түзушілерге барлық 16 дақылда (D5, D6, D7, D8, T2, T3, D1X, D7X, SR1, SR2, CL1, CL2, M2, A5, S1, S2) анықталынды, сәйкесінше ортаның рН 3,8 – 4,1 бірлікке дейін төмендеді. Іріктелеген 16 микроорганизм дақылдарынан сірке, пропион, май қышқылдарының бөлінуін анықтау нәтижесінде, ортада микроорганизмдерден сірке қышқылының көп өнім шығарылғаны анықталды. Ортада сірке қышқылының белсенді өнімдері *B. licheniformis* SR-1, *B. pumilus* D1X дақылдарының жасушалары, бұл ретте өнімнің шығымы тиісінше 3.695 мг/дм³ және 3,561 мг/дм³ құрайтындығы анықталды. Іріктелген 16 микроорганизм дақылдарының ішінде ең жоғары мұнай эмульгирлеу белсенділігі 7 дақылда D1X, D5, D6, D7, D7X, SR1, CL1 анықталды, эмульгирлеу индексі 61 – 67 % құрады. Белсенді газдың түзілуі 10 дақылда (D1X, D5, D6, D7, D8, T2, S2, SR1, CL1, CL2) байқалынды.

3.5 Микроорганизмдердің мұнайсұйылту гендерін анықтау

Микробтық мұнай шығаруды жоғарылатуда, микроорганизмдердің мұнайсұйылту қасиеттерінің бірі мұнай эмульсиясын түзу болып табылады.

Микроорганизмдерде мұнай эмульгирлеу белсенділігі тұрақты қасиеттерінің бірі. Мұнай эмульгирлеудің негізі биосурфактанттарды бөлу. Биосурфактанттарды өндіруге қатысатын келесідей *lchAA*, *rhlA*, *srfa* гендер анықталынды.

Биосурфактанттарды өндіруге қатысатын lchAA, rhlA, srfa гендерін молекулалық биология әдісімен анықтау

Батыс Қазақстанның «Ақінген» кен орны мұнай пласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің 31 штамдарында биосурфактанттар өндіретін *srfa*, *rhlA* және *lchAA* гендеріне скрининг жүргізілді.

Биологиялық беттік – белсенді заттар немесе «биосурфактанттар» - екі бірдей немесе әртүрлі фазалар (сұйық, газды және қатты) арасындағы беттік немесе фазааралық керілуді төмендете алатын қосылыстар [161]. Микроорганизмдер биосурфактант өнімдерін шығарады, бірақ биосурфактанттың табиғаты мен типі өнім шығаратын штамдарға байланысты [162]. Биосурфактанттар бірегей биохимиялық қасиеттері бар құнды микробты табиғи өнімдердің тобын білдіреді [163, 164].

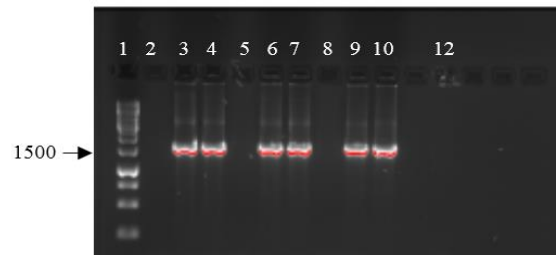
Зерттелген микроорганизмдерде *rhlA* және *srfa*, *lchAA* гендерінің болуын анықтау үшін ПТР скринингінен өтті. *lchAA* Геннің амплификацияланған өнімі 1500 bp болып табылды, себебі ол ДНК-маркермен салыстырылып, молекулалық салмағы 1 kb. ПТР нәтижелері *lchAA* генінің таралуы Грам оң бактерияларында n=10 (32 %) болғанын көрсетті. *rhlA* генінің амплифицирленген өнімі 1000 bp болды, *rhlA* генінің таралуы n=12 (38 %) және *srfa* гені 200 bp болды, ал *srfa* генінің таралуы Грам теріс бактериялар арасында n=10 (32 %) анықталынды (суреттер 14, 15, 16). Нәтижелер көрсетіп отырғандай, мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің Грам теріс бактерияларында биосурфактант өнімдерін өндіруге қатысатын *rhlA* (рамнолипид) және *srfa* (сурфактин) гендері *Pseudomonas aeruginosa* дақылдарында, ал *lchAA* (лихенизин) гені *Bacillus* туысына жататын дақылдарында кездесетіндігі анықталынды.

lchAA 70 C (2) 12.11.19



А)

lchAA 70 C (3) 12.11.19

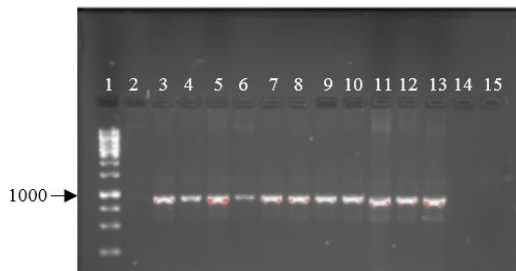


Ә)

А) Линия 1: 1 kb Ladder ДНК-маркері, линия 2–10: штаммдардың атауы (2-А1, 3-С1, 4-С2, 5-С3, 6-М1, 7-М2, 8-Д1Х, 9-Д7Х), линия 12 – бақылау; Ә) Линия 1: 1 kb Ladder ДНК-маркері, линия 2–10: штаммдардың атауы (2-А2, 3-А3, 4-А4, 5-А5, 6-СR1, 7-СR2, 8-СR3, 9-СL1, 10-СL2), линия 12 – бақылау

Сурет 14 – ПТР электрофореграммасы *lchAA* ген өнімі

68C rhLA(1) 6.11



А)

68C rhLA(3) 6.11



Ә)

А) Линия 1: 1 kb Ladder ДНК-маркері, линия 2–14: штаммдар атауы (2-Т1, 3-Т2, 4-Т3, 5-Т4, 6-Т5, 7-Т6, 8-Д2, 9-Д3, 10-Д4, 11-Д5, 12-Д6, 13-Д7, 14- Д8), линия 15 – бақылау; Ә) Линия 1: 1 kb Ladder ДНК-маркері, линия 2–11: штаммдардың атауы (2-А1, 3-С1, 4-С2, 5-С3, 6-М1, 7-М2, 8-Д1Х, 9-Д7Х, 10-Д1, 11-Д8), линия 12 – бақылау

Сурет 15 – ПТР Электрофореграммасы *rhLA* ген өнімі

srfA 70 C (1) 6.11.19



А)

А) Линия 1: 1 kb Ladder ДНК-маркері, линия 2–13: штаммдар атауы (2-Т1, 3-Т2, 4-Д1, 5-Т4, 6-Т5, 7-Т6, 8-Д2, 9Д3, 10-Д4, 11-Д5, 12-Д6, 13-Д7, 14-Т3), линия 15 – бақылау

Сурет 16 – ПТР Электрофореграммасы *srfA* ген өнімі

Ақінген кен орны мұнайпласт сулары микроорганизмдерінің 31 штаммдарында *srfA*, *lchAA*, және *rhlA* гендерінің анықталуы BLAST көмегімен гомологияға талданды. *lchAA*, *rhlA* және *srfA* мақсатты гендерінің зерттеу нәтижелері келтірілген (кесте 14).

Кесте 14 – Биосурфактант өнімдеріне қатысатын *lchAA*, *rhlA*, *srfA* гендерін зерттеу

№	Дақылдар	Биосурфактант гендері		
		<i>lchAA</i>	<i>rhlA</i>	<i>srfA</i>
1	<i>P.aeruginosa</i> D1	-	+	+
2	<i>P.aeruginosa</i> D2	-	+	+
3	<i>P.aeruginosa</i> D3	-	+	+
4	<i>P.aeruginosa</i> D4	-	+	+
5	<i>P.aeruginosa</i> D5	-	+	+
6	<i>P.aeruginosa</i> D6	-	+	+
7	<i>P.aeruginosa</i> D7	-	+	+
8	<i>B.safensis</i> D7X	-	-	-
9	<i>P.aeruginosa</i> T1	-	-	-
10	<i>P.aeruginosa</i> T2	-	+	+
11	<i>P.aeruginosa</i> T3	-	+	-
12	<i>P.aeruginosa</i> T4	-	+	+
13	<i>P.aeruginosa</i> T5	-	+	-
14	<i>P.aeruginosa</i> T6	-	+	+
15	<i>Bacillus paramycooides</i> M1	-	-	-
16	<i>B. pumilus</i> M2	+	-	-
17	<i>B. licheniformis</i> A1	+	-	-
18	<i>B. licheniformis</i> A2	-	-	-

14- кестенің жалғасы

19	<i>B. licheniformis</i> A3	+	-	-
20	<i>B. licheniformis</i> A4	+	-	-
21	<i>B. subtilis</i> A5	-	-	-
22	<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i> S1	-	-	-
23	<i>B. licheniformis</i> S2	+	-	-
24	<i>B. haynesii</i> S3	+	-	-
25	<i>P.aeruginosa</i> D8	-	-	-
26	<i>B. licheniformis</i> SR-1	+	-	-
27	<i>B. licheniformis</i> SR-2	+	-	-
28	<i>Brevibacillus borstelensis</i> SR-3	-	-	-
29	<i>B.licheniformis</i> CL-1	+	-	-
30	<i>B. licheniformis</i> CL-2	+	-	-
31	<i>B. pumilus</i> D1X	-	-	-
Ескерту: (+) -ген бар, (-) - ген жоқ				

Кесте деректерінен көріп отырғаныңыздай, пласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің зерттелген 31 штаммдарының 10 дақылында *srfa* гені *Pseudomonas aeruginosa* -D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1, T2, T4, T6 бар екендігі, *rhlA* гені 12 дақыл *Pseudomonas aeruginosa* - T2, T3, T4, T5, T6, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1 және *lchAA* гені 10 дақылдан, оның ішінде 8 дақыл *Bacillus licheniformis* -A1, A3, A4, S2, SR-1, SR-2, CL-1, CL-2 және *B. haynesii* - S3, *B. pumilus* - M2 анықталынды. Бактериялардың бұл штаммдарында рамнолипид, сурфактин, лихенизин биосурфактанттарын түзуге жауап беретін гендері бар екендігі анықталды. Бактериялардың бұл штаммдары мұнай шығаруын арттыру үшін қолдануға перспективті болып табылады.

Bacillus туысының көптеген штаммдары беттік белсенділігі жоғары липопептидті биосурфактанттарды шығаратыны белгілі. Көптеген зерттеушілерде *Bacillus licheniformis* штаммдарымен өндірілетін липопептидтер (лихенизин) көрсетілген [125, p. 1078; 153]. *Bacillus subtilis* штаммдары беттік керілуді төмендететін сурфактин шығарады [165]. Сурфактиннен басқа, гликолипидтерге жататын биосурфактанттардың тағы бір танымал класы - рамнолипидтер. *Pseudomonas* тұқымдасына жататын бактериалды түрлер-*Pseudomonas aeruginosa* рамнолипидінің ең ірі өндірушісі – 1 – рамнозаның бір немесе екі гидрофильді молекулаларынан тұратын гликолипидті биосурфактанттар (сәйкесінше моно- және дирамнолипидтер) және май қышқылдарының гидрофобты тобынан тұратын рамнолипидтер шығарады [166, 167, 168]. Рамнолипид *rhlAB* – кодталатын рамнозилтрансферазамен синтезделеді. Рамнолипид – бұл тек *P. aeruginosa* шығаратын биосурфактант. Рамнолипидтердің биосинтез жолының бөлігі болып табылатын рамнозил трансфераза I (*rhlB*) гені *P. aeruginosa* үшін ерекше [169, 153, p. 213].

Bacillus туысының өкілдерді болуы өңделген және өңделмеген мұнай пласт суларында көрсетілген, бұл олардың факультативтік анаэробтар мен аэробтар

болуына байланысты. *Bacillus* түрлері сурфактин, лихенизин, полипептид сияқты көптеген биосурфактанттарды шығара алады [170, 171]. *B. licheniformis*, атап айтқанда, MEOR процесінде потенциалды пайдалы көптеген биохимиялық заттарды өндіру қабілетімен жақсы танымал. Көптеген зерттеушілер бұған дейін *B. licheniformis* мұнай резервуарларында биосурфактант өндіретіні туралы айтылған болатын [172, 173, 174].

Зерттеу нәтижелері бойынша Ақінген кен орны мұнай пласт суларынан бөлінген *Bacillus* туысы және *Bacillus licheniformis* 10 штаммынан лихенизин, липопептидті биосурфактант өндірісіне жауап беретін *lchAA* гені табылды. Бұл түр анаэробтық және аэробтық жағдайларда, сондай – ақ жоғары тұздылық және жоғары температура жағдайында өсуі және биосурфактант өндіруі мүмкін [175]. *B. licheniformis* MEOR процесінде қолдануға болатын потенциалды бактериялардың тізіміне енгізілген, әсіресе оның өсу және жоғары температурада өндіру қабілеті арқасында, бұл мұнай резервуарының орнында қолдану үшін қажет [176]. Біздің зерттеуімізге сәйкес *lchAA* гені 10 дақылдан табылды: оның ішінде 2 дақыл SR – 2, CL – 2 - *Bacillus licheniformis*, 8 дақыл *Bacillus sp.* A1, S2, S3, M2, A3, A4, SR – 1, CL – 1.

Әдеби деректерге сүйенсек, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus cereus* штаммдары биосурфактант – сурфактинді бірлесіп шығарады. Ген сурфактин-синтезаның түзілуіне жауап береді. Ген *urfA* сурфактин-синтезаның түзілуіне жауап береді [177, 154, p. 109-111; 149, p. 380].

Біздің зерттеулерімізде грамтеріс штаммдарда да сурфактин *urfA* генінің болуы анықталды. 16S rRNA секвенирлеу негізінде, штаммдар *Pseudomonas aeruginosa* ретінде идентификацияланды.

Шетелдік әдеби деректер бойынша гені Пакистан елі, «Fimkassar» мұнай кені орны микроорганизмдер биосурфактанттарын зерттеуші Afshan Hina және басқада да авторлар бірлескен ғылыми еңбектерінде *Pseudomonas aeruginosa* бактерияларында сурфактиннің *urfA* гені анықталынғандығы дәлелденген. Осындай *urfA* гені біздің зерттеулерімізде *Pseudomonas aeruginosa* бактерияларында да болатындығы анықталынды. Ал *Pseudomonas aeruginosa* бактерияларында биосурфактант өнімдері рамнолипидтер түзетіндігі әдеби дереккөз зерттеулерде келтірілген [178, 179, 180]. Осылайша, сурфактин өнімін түзуге қатысатын *urfA* гені *Pseudomonas aeruginosa* - D7, D5, D6, D1, D2, D3, D4, T2, T4, T6 анықталды.

Зерттеулерімізде грамтеріс штаммдарда *rhlA* рамнолипид генінің болуы анықталды. 16S rRNA секвенирлеу негізінде штаммдар *Pseudomonas aeruginosa* ретінде идентификацияланды және *rhlA* гені 12 дақыл *P. aeruginosa* – D7, D6, D5, D4, D3, D2, D1, T2, T3, T4, T5, T6 табылды.

Pseudomonas aeruginosa штамдары рамнолипидтердің, гликолипидтердің танымал өндірушілері болып табылады [171, p. 20669-20670]. Әдеби деректердегі зерттеулерге сүйенсек, *rhlA* гені рамнолипидтердің түзілуіне жауап беретіні белгілі [181, 182]. *Pseudomonas* штамдары шығаратын рамнолипидтердің көп бөлігі биоремедиация және антимикробтық белсенділік

үшін пайдаланылды [183, 184]. Мұнай алу үшін рамнолипидтерді пайдалану туралы бірнеше зерттеулерде бар [185, 162 p. 2338].

Бұл зерттеуде биосурфактанттар өнімін түзуге қатысатын *rhlA*, *srfA* және *lchAA* гендерінің *P. aeruginosa* және *Bacillus sp.* штаммдарында анықталуы мұнай шығаруды жоғарылату әдістерін даярлау үшін перспективті микроорганизмдер ассоциациясын құрастыруға кандидат ретінде сипатталады [186, 187, 153, p. 25]. Демек, зерттелген штаммдар өңделген мұнай пласттарынан мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістерін даярлау үшін жоғары потенциалға ие.

Осылайша, Ақінген кен орны мұнайпласт суларынан бөлініп алынған микроорганизмдердің 10 дақылында *srfA* гені *Pseudomonas aeruginosa* -D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1, T2, T4, T6 бар екендігі, *rhlA* гені 12 дақыл *Pseudomonas aeruginosa* - T2, T3, T4, T5, T6, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1 және *lchAA* гені 10 дақылдан, оның ішінде 8 дақыл *Bacillus licheniformis* -A1, A3, A4, S2, SR-1, SR-2, CL-1, CL-2 және *B. haynesii* - S3, *B. pumilus* - M2 анықталынды. Нәтижелер көрсетіп отырғандай, мұнай пласт сулары микроорганизмдерінің *rhlA* гені n=12 (38 %) рамнолипид биосурфактанттарын түзуге жауап беретін гендер бар екендігі анықталынды. Бактериялардың бұл штаммдары мұнай шығаруды арттыру үшін қолдануға перспективті болып табылады.

3.6 Мұнай пласт сулары микроорганизмдерінен антагонистік белсенділік негізінде микроорганизмдер ассоциацияларын құрастыру

Микроорганизмдердің белсенді қауымдастықтарын алу үшін аралас дақылдарды құрастырудың қажетті кезеңі қауымдастыққа кандидат микроорганизмдердің штаммаралық антагонистік өзара әсерін зерттеу болып табылады. Микробқа қарсы белсенділікті анықтау перпендикулярлы штрих әдісімен жүргізілді: сыналатын штамм (доминант) диаметрі бойынша штрих түрінде егілді, инкубациядан кейін 2 – 3 тәулік бойы штамдарға тест – объектілер (ассоцианттар) перпендикулярлы түрде егілді. Агардың қалыңдығына таралатын антимикробтық заттар оларға сезімтал микроорганизмдердің өсуін тежейді, бұл микробтардың өсуі жоқ аймақтардың (мм) қалыптасуында көрінді. Жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері бар іріктелген 16 микроорганизм штаммдарының бір – біріне қатысты антагонистік белсенділігі зерттелді (кесте 15).

Кесте 15 – Ассоциацияға іріктелген микроорганизмдердің антагонистік белсенділігін анықтау

№	Штаммдар атауы		Өсудің тежелу аймақтары, мм															
	Доминант	Ассоциант	<i>B. pumilus</i> D1X	<i>P. aeruginosa</i> D5	<i>P. aeruginosa</i> D6	<i>P. aeruginosa</i> D7	<i>P. aeruginosa</i> T2	<i>P. aeruginosa</i> T3	<i>B. pumilus</i> M2	<i>B. subtilis</i> A5	<i>B. subtilis</i> ssp.spizizenii S1	<i>B. licheniformis</i> S2	<i>B. safensis</i> D7X	<i>P. aeruginosa</i> D8	<i>B. licheniformis</i> .SR1	<i>B. licheniformis</i> . SR2	<i>B. licheniformis</i> .CL1	<i>B. licheniformis</i> CL2
1	<i>B. pumilus</i> D1X	-	12±0,5	-	15±0,6	23±1,0	10±0,5	-	5±0,2	22±0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	<i>P. aeruginosa</i> D5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<i>P. aeruginosa</i> D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>P. aeruginosa</i> D7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	<i>P. aeruginosa</i> T2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<i>P. aeruginosa</i> T3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	<i>B. pumilus</i> M2	-	13±0,6	-	9±0,4	20±1,0	10±0,5	-	5±0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<i>B. subtilis</i> A5	-	14±0,7	3±0,2	10±0,5	22±1,0	15±0,7	5	-	-	-	-	-	5±0,2	-	-	-	-
9	<i>B. subtilis</i> ssp.spizizenii S1	-	14±0,7	3±0,2	11±0,5	24±1,0	13±0,6	-	7±0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	<i>B. licheniformis</i> S2	-	13±0,6	-	10±0,5	24±1,0	10±0,5	-	-	2±0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
11	<i>B. safensis</i> D7X	-	-	-	5±0,2	5±0,2	5±0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	<i>P. aeruginosa</i> D8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	<i>B. licheniformis</i> SR1	-	8±0,4	-	10±0,5	8±0,4	12±0,5	-	-	6±0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
14	<i>B. licheniformis</i> SR2	-	10±0,5	-	12±0,5	8±0,4	5±0,2	-	-	5±0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
15	<i>B. licheniformis</i> CL1	-	10±0,5	-	12±0,5	6±0,3	10±0,5	-	-	5±0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
16	<i>B. licheniformis</i> CL2	-	10±0,5	-	10±0,5	5±0,2	8±0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ескерту:
тігінен-доминант, тексерілетін дақыл
көлдененінен-ассоциант
«-»- ассоциацияның өсуін басу жоқ
X мм - ассоциантқа антагонистік әсер ету аймағы

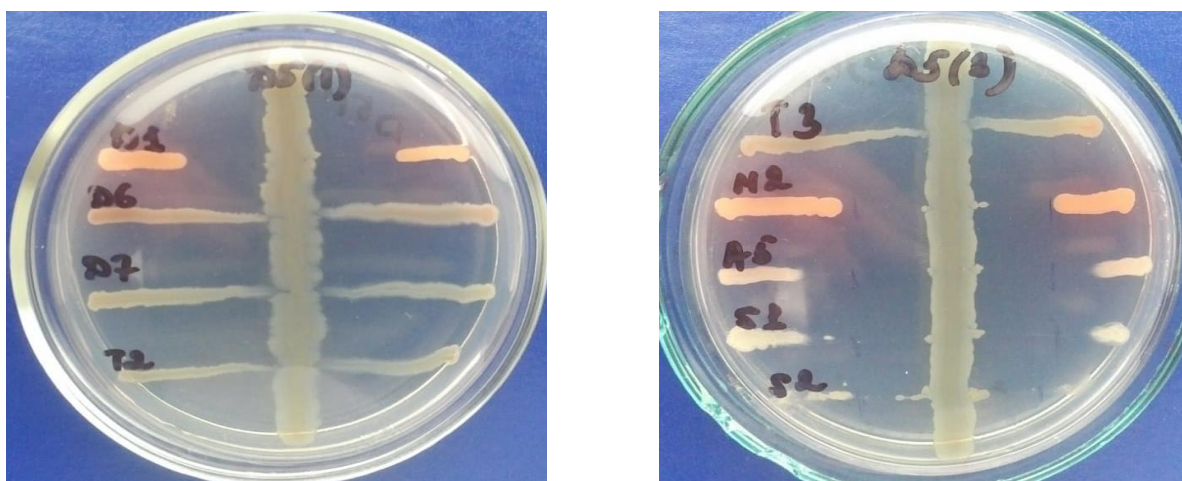
Көріп отырғанымыздай, зерттелген микроорганизмдердің 16 штаммынан 8 штамм, атап айтқанда, барлық 5 штамм *P. aeruginosa* (D5, D6, D7, T2, T3) және бацилл өкілдері: *B. subtilis* A5, *B. subtilis* ssp.spizizenii S1, *B. licheniformis* SR1 зерттелген штамдарға қатысты әртүрлі антагонистік белсенділікке ие, алайда, бұл дақылдар псевдомонадтардың барлық зерттелген штамдарына антагонистік белсенділік танытпады [188]. Осыған байланысты, болашақта біз тек ұсынылған бациллярларға қатысты антагонистік белсенділікті қарастырдық.

Өсудің тежелу аймақтарын (ӨТА) есепке алу 24 және 48 сағаттан кейін 30 °C кезінде жүргізілді. Егер ӨТА 2 – 10 мм болса, антагонизмнің әлсіз деңгейі байқалады деп есептеледі, 10 – 20 мм - орташа, 20 мм жоғары болса –

антагонизмнің жоғары деңгейі [189, 190]. *P. aeruginosa* T2 жасушалары 5 бацилл штамдарына: *B. pumilus* D1X, *B. pumilus* M2, *B. subtilis* A5, *B. subtilis ssp.spizizenii* S1, *B. licheniformis* S2 – өсудің тежелу аймағы 22 – 24 мм болды; 3 штамм *P. aeruginosa* D5, D7 және T3 бацилл жасушаларына қатысты орташа антагонистік белсенділікке ие болды, сондайақ *P. aeruginosa* – D5 8 штамм бациллге қатысы, *P. aeruginosa* – D7 9 штаммға қатысы, *P. aeruginosa* – T3 7 штаммға қатысты жоғары антагонистік белсенділікті көрсетті.

Псевдомонадтардың барлық 5 штаммдары әлсіз антагонистік белсенділікті көрсетті, *P. aeruginosa* D5, *P. aeruginosa* D6, *P. aeruginosa* D7 – әрқайсысы бациллдің 2 штаммына қатысты; *P. aeruginosa* T2 6 штаммға *P. aeruginosa* T3 4 штаммға, сондай-ақ келесі 3 штамм бациллге: *B. subtilis* A5 үш штаммға қатысты, *B. subtilis ssp.spizizenii* S1 алты және *B. licheniformis* SR1 бір бацилл штаммына. Бациллдің қалған 8 штаммы зерттелген 16 микроорганизмдердің ешқайсысына антагонистік белсенділік танытпады (сурет 17).

Pseudomonas aeruginosa суда еритін пигмент - пиоцианин өндіретіні белгілі. Бұл зат феназинді қосылыстарға жатады және Грамоң, Грамтеріс микроорганизмдер мен микромицеттерге қарсы антибиотикалық белсенділікке ие [191, 192].



А) *B. pumilus* D1X және *P. aeruginosa* T2, D6, D7 – ге *P. aeruginosa* D5 антагонистік белсенділігі

Ә) *B. pumilus* M2, *B. subtilis* A5, *B. licheniformis* S2, *B. subtilis ssp.spizizenii* S1 және *P. aeruginosa* T3 – ке *P. aeruginosa* D5 антагонистік белсенділігі

Сурет 17– *P. aeruginosa* D5 антагонистік белсенділігін зерттеу

Көріп отырғандай, *P. aeruginosa* D5 жасушалары бациллдің 5 штаммына қатысты жоғары антагонистік белсенділікті көрсетті: *B. pumilus* D1X, *B. pumilus* M2, *B. subtilis* A5, *B. licheniformis* S2, *B. subtilis ssp.spizizenii* S1 – өсудің тежелу аймағы 22 – 24 мм.

Осыған байланысты, өңделген мұнай пластта әртүрлі мұнай көмірсутектерінің көп компонентті қоспасы болғандықтан, аралас

микроорганизмдер дақылдарының метаболиттік потенциалын ассоциацияларда пайдалану монодақылдарымен салыстырғанда тиімдірек. Алайда, қауымдастықты құрайтын микроорганизмдердің көбірек санын пайдалану алдын ала кезеңде ассоциацияларды алу үшін микроорганизмдердің биомассасын әзірлеуді дайындау үшін жабдықтардың қосымша саны мен энергия шығымының қажеттілігі есебінен әзірленетін биотехнологияның қымбаттауына әкелуі мүмкін. Осыған байланысты микроорганизмдердің мақсатты қасиеттері мен антагонистік қатынастарын зерттеу негізінде микроорганизмдердің 5 штаммы, олардың ішінде псевдомонадтардың 2 штаммы - *P. aeruginosa* D5, *P. aeruginosa* D6 – аэробтар және 3 штамм бацилл – *B. pumilus* D1X, *B. licheniformis* SR1, *B. licheniformis* CL1 – факультативті анаэробтар, МШЖ әдістерін жасауға арналған ассоциацияларды құрастыруға кандидаттар ретінде іріктеп алынды [193].

Осылайша, жоғары мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттері бар 16 микроорганизм дақылдарының штамаралық антагонистік өзара әсерлесуін зерттеу негізінде микроорганизмдердің 5 штаммысы іріктеп алынды: *P. aeruginosa* D5 – мұнай эмульгаторы, қышқыл түзгіш, газ түзгіш, *P. aeruginosa* D6 – мұнай эмульгаторы, қышқыл түзгіш, газ түзгіш, *B. pumilus* D1X – мұнай эмульгаторы, газ түзгіш, *B. licheniformis* SR1 – қышқыл түзгіш, газ түзгіш (анаэробтық жағдайларда) және *B. licheniformis* CL1 – қышқыл түзгіш, газ түзгіш (анаэробтық жағдайларда).

3.7 Құрастырылған микроорганизмдер ассоциацияларының мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерін анықтау

Қазіргі уақытта мұнай өнеркәсібінде аралас биопрепараттар сұранысқа ие, өйткені мұнай әртүрлі молекулалық салмақтағы көмірсутектер мен басқа да химиялық қосылыстардың көп компонентті қоспасы болып табылады. Биологиялық өнімге кіретін бактериялардың штаммдары өңделген мұнай пласт жағдайында (минералды тұздардың жоғары концентрациясы, қысым, оттегі тапшылығы) мұнайығыстыру және мұнайсұйылту метаболиттерді өндіруге биологиялық белсенділік бойынша бір-бірін толықтыратын немесе күшейтетін етіп штаммдардың әртүрлі биологиялық белсенді заттарды өндіру қабілеті бойынша консорциумға біріктіріледі.

Бұдан әрі, келесідей таңдалған 5 микроорганизм штаммдар негізінде ассоциацияларды құрастыру нұсқалары және теріс антагонистік өзара әсерлесулер байқалған ассоциацияларды қоспағанда, микроорганизмдердің аралас дақылдарындағы мақсатты қасиеттерді одан әрі зерттеу үшін ассоциацияларды іріктеу. Көріп отырғанымыздай, микроорганизмдер арасындағы антагонизмнің әлсіз және орташа деңгейлерін қоспағанда, 25 қауымдастықтан 12 микроорганизмдер қауымдастығы олардың ішінде: 2 монодақылдан тұратын 7 ассоциация; 3 монодақылдан 4 ассоциация және 4 монодақылдан бір ассоциация одан әрі зерттеу үшін қалдырылды (кесте 16). Қауымдастықтарды құрастыру кезінде бактериялардың монодақылдары 48

сағат ішінде ЕПС – да белсендірілді, содан кейін екі дақыл қолданылған жағдайда 1:1 қатынасында 1:1:1 және 1:1:1:1 – үш дақыл мен төрт дақыл қолданылған кезде сәйкесінше араластырылды. Алынған микроорганизмдер қауымдастығы (иннокулят) қоректік орта көлемінен ортаға 10 % мөлшерінде енгізілді.

Кесте 16 – Микроорганизмдердің антагонистік қасиеттері негізінде микроорганизмдер ассоциациясын құрастыру

№	Микроорганизмдер ассоциацияларының нұсқалары	Ассоциациялардағы антагонизм	Ассоциациялардағы мақсатты қасиеттерді одан әрі зерттеу
I.	2 монодақыл		
1	D5: D6	жоқ	+
2	D5:SR-1	әлсіз	–
3	D5:CL-1	әлсіз	–
4	D5: D1X	орташа	–
5	D6:SR-1	жоқ	+
6	D6: CL-1	жоқ	+
7	D6: D1X	жоқ	+
8	SR-1: CL-1	жоқ	+
9	SR-1: D1X	жоқ	+
10	CL-1: D1X	жоқ	+
II.	3 монодақыл		
11	D5: D6: SR-1	әлсіз	–
12	D5: D6: CL-1	орташа	–
13	D5: D6: D1X	орташа	–
14	D5: CL-1: D1X	орташа	–
15	D5: SR-1: D1X	орташа	–
16	D6: SR-1: CL-1	жоқ	+
17	D6: SR-1: D1X	жоқ	+
18	D6: CL-1: D1X	жоқ	+
18	SR-1: CL-1:D1X	жоқ	+
III.	4 монодақыл		
20	D5:D6: SR-1: CL-1	орташа	–
21	D5:D6: SR-1: D1X	орташа	–
22	D5:D6: CL-1:D1X	орташа	–
23	D5: SR-1: CL-1: D1X	орташа	–
24	D6: SR-1: CL-1: D1X	жоқ	+
IV.	5 монодақыл		
25	D5: D6: SR-1: CL-1: D1X	орташа	–

Өңделген мұнай пласттардан мұнай шығаруды жоғарылату үшін биотехнологиядағы негізгі міндет мұнай тұтқырлығын азайту және мұнайығыстыру, мұнайсұйылту қасиеттері бар микроорганизмдерді және олардың метаболиттерін пайдалана отырып, пластта қысымды арттыру болып

табылады [194]. Осыған байланысты, мұнай әртүрлі мұнай көмірсутектерінің поликомпоненттік қоспасы болғандықтан, биотехнологияда мұнай шығаруды жоғарылату үшін микроорганизмдер қауымдастықтарын пайдаланған жөн, өйткені аралас дақылдар бірқатар әртүрлі мұнай шығаратын метаболиттерді биоББЗ, газдар, қышқылдарды түзеді, пласт жүйесінде пайда болуы мұнайдың аэробты – анаэробты деградациясына байланысты. Мұнай пластта мұнайдың аэробты – анаэробты деградациясы мұнай өндірудің екіншілік әдістерін қолдана отырып, ұңғыманың бетінен жасанды су басуымен байланысты [195, 196]. Осыған байланысты микроорганизмдердің құрастырылған қауымдастықтарының мақсатты белсенділігін зерттеу аэробты және анаэробты өсіру жағдайларында жүргізілді.

Одан әрі зерттеу нәтижесінде аэробты және анаэробты жағдайларда өсіру кезінде микроорганизмдер қауымдастықтарының тәуліктік және екі тәуліктік эмульгирлеу индексі анықталынды (кесте 17).

Кесте 17 - Аэробты және анаэробты жағдайларда микроорганизмдердің құрастырылған ассоциацияларының эмульгирлеу индексі анықтау

№	Ассоциация нұсқалары	Эмульгирлеу индексі			
		E ₂₄ , %		E ₄₈ , %	
		Аэробты жағдайда	Анаэробты жағдайда	Аэробты жағдайда	Анаэробты жағдайда
2 монодақылдан тұратын ассоциациялар					
	Бакылау	0	0	0	0
1	D5: D6	60±0,1	3±0,1	67±0,1	40±0,1
2	D6 : SR 1	59±0,1	36,0±0,1	63±0,1	39,0±0,1
3	D6 : CL1	60±0,5	55,3±0,1	60±0,5	55,3±0,1
4	D6 : D1X	59±0,4	53±0,1	65±0,4	50±0,3
5	SR1 : CL1	53±0,1	33,0±0,1	55±0,1	43,0±0,1
6	SR1 : D1X	50±0,1	48,0±0,1	53±0,1	50,0±0,3
7	CL1: D1X	53±0,1	46,0±0,1	58±0,1	57,0±0,2
3 монодақылдан тұратын ассоциациялар					
8	D6 : SR1 : CL1	56±0,3	53,0±0,1	65±0,3	60,0±0,1
9	D6 : SR1 : D1X	53±0,1	50,0±0,2	60±0,1	53,0±0,3
10	D6 : CL1: D1X	49±0,3	50,0±0,2	61±0,3	56,0±0,3
11	SR1 : CL1: D1X	50±0,3	53,0±0,3	58±0,3	55,1±0,3
4 монодақылдан тұратын ассоциациялар					
12	D6:SR1: CL1 : D1X	57±0,3	48,0±0,1	60±0,3	58±0,3

Көріп отырғанымыздай, микроорганизмдердің құрастырылған 12 ассоциациясының эмульгирлеу индексі барлық қауымдастықтар үшін байқалынды, сонымен қатар микроорганизмдер қауымдастықтарының мұнаймен өзара әрекеттесуі 48 сағаттан кейін бұл көрсеткіш 10 ассоциация үшін жоғары болды және екі ассоциация үшін (D6:CL1 және SR1:D1X), 24 сағатта максималды мәнге жетті, 48 сағаттан кейін өзгеріссіз қалды немесе

аздаған өзгерістер байқалынды. Аэробты жағдайда ассоциациялардың эмульгирлеу индексі анаэробты жағдайға қарағанда жоғары екендігі анықталынды, сондайақ 12 қауымдастық үшін E₄₈ эмульгирлеудің максималды индексі 60-67 % құрады, керісінше, анаэробты жағдайда өсірілген қауымдастықтарда бұл көрсеткіш едәуір төмен, сондықтан E₄₈ максималды мәні 9 қауымдастық үшін көрсетілген және 50-60% аралығында болды. Айта кету керек, мұндай нәтижелер қауымдастықтарды құрастыру кезінде жоғары мұнай эмульгирлеу белсенділігі бар псевдомоналардың екі дақылы таңдалғанына байланысты, өйткені псевдомоналар аэробтар болып табылады, содан кейін аэробты жағдайда олармен асоциацияларда мұнай эмульгирлеу белсенділігінің жоғары мәні байқалынды. Ал, *V. pumilus* D1X қауымдастыққа зерттелген 7 бацилланың (65 %) арасында мұнай эмульгирлеу максималды белсенділігін көрсететін штамм ретінде енгізілді және аэробты өсіру жағдайында бөлінген. *V. pumilus* D1X штаммы үшін мұнай эмульгатор биосурфактанттарын максималды өндіру үшін қолайлы орта аэробты орта болып табылады деп болжауға болады, осыған байланысты ассоциацияларда анаэробты жағдайда ол аз мұнай эмульгирлеу белсенділігін көрсетті, өйткені ол факультативті аэробты болып табылады.

Әдебиет деректері бойынша эмульгирлеу индексі 50 % -дан асқан микроорганизмдердің мұнай өнеркәсібі биотехнологиясын даярлауда беттік-белсенді заттардың перспективалы өнімдері болып есептелетіні белгілі [157, р. 49-53].

Микроорганизмдер ассоциациясының газ түзілу динамикасын анықтау үшін мелассасы бар синтетикалық ортада өсірілді (кесте 18).

Кесте 18 – Меласса бар синтетикалық ортада микроорганизмдер ассоциацияларының газ түзілу динамикасы

№	Өсіру кезеңі, тәулік/ нұсқалар	Газ түзілу										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
аэробты өсіру жағдайлары												
1	Бакылау	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	D1X : D6	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
3	D6 : SR 1	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	D6 : CL1	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
5	D5: D6	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
6	SR1 : CL1	-	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	SR1 : D1X	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
8	CL1: D1X	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	D6 : SR1 : CL1	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10	D6 : SR1 : D1X	-	-	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

11	D6 : CL1: D1X	-	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++
12	SR1 :CL1: D1X	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
13	D6 : SR1: CL1 D1X	-	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
анаэробты өсіру жағдайлары												
1	Бакылау	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	D1X : D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	D6 : SR 1	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4	D6 : CL1	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
5	D5: D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	SR1 : CL1	-	-	-	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	SR1 : D1X	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	CL1: D1X	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	D6 : SR1 :CL1	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	D6 : SR1 : D1X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	D6 : CL1: D1X	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
12	SR1 :CL1: D1X	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
13	D6 : SR1: CL1 : D1X	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Ескерту: газ түзілу қабілеті – «+» - әлсіз, «++» - орташа, «+ + +»- белсенді												

Кестеде көрініп тұрғандай, аэробты жағдайда белсенді газ түзілуі 5 микроорганизмдер қауымдастығы үшін байқалынды, олардың ішінде 2 монодақылдан тұратын 3 ассоциация бар: D6:SR1; SR1:CL1; CL1:D1X және 3 монодақылдан тұратын бір ассоциация D6:SR1:D1X; және 4 монокультурадан тұратын бір ассоциация D6:SR1:CL1:D1X. Қалған жеті ассоциация, өсіру нәтижелері бойынша, әлсіз және орташа газ түзушілерге жатады.

Анаэробты жағдайда 9 ассоциация үшін белсенді газ түзілуі байқалынды:

- D1X:SR 1;
- D1X:CL1;
- D6:CL1;
- D6:SR1;
- SR1:CL1;
- D1X:CL1:SR1;
- D6:CL1:SR1;
- D1X:D6:CL1;
- D1X:D6: CL1:SR1;

Орташа газ түзілуі D1X:D6:SR1 ассоциациясы үшін байқалынды және екі ассоциацияда газ түзілуі болмады: D5: D6 және D6:D1X.

Өңделген мұнайпласттардың мұнай шығаруын жоғарылату үшін пласттарда қысымды арттыру қажет, себебі пласттан қорлардың 25–35 % -дан астамын іріктеу кезінде мұнай пластта қысым азаяды, демек, мұнай шығаруды жоғарылатудың биотехнологиясын даярлау кезінде газ түзілу қасиеті перспективалы микроорганизмдер үшін маңызды белгі болып табылады [197].

Ортаның рН өзгеруін анықтау үшін 10 тәулік ішінде аэробты және анаэробты жағдайда меласса қосылған синтетикалық ортада микроорганизмдер қауымдастығы өсірілді (кесте 19).

Кесте 19 – Меласса қосылған синтетикалық ортада микроорганизмдер ассоциациясын өсіру кезінде ортаның рН өзгеру динамикасы

№	Өсіру кезеңі, тәулік/ нұсқалар	рН, бір.										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
аэробты өсіру жағдайлары												
1	Бақылау	7,0±0,3	6,9±0,3	6,8±0,3	6,7±0,3	6,6±0,3	6,7±0,3	6,6±0,3	6,6±0,3	6,7±0,3	6,7±0,3	6,8±0,3
2	D1X:D6	7,0±0,3	7,5±0,3	6,7±0,3	6,0±0,3	5,8±0,2	5,1±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2	4,5±0,2	4,3±0,2	4,2±0,2
3	D6:SR1	7,0±0,3	6,8±0,3	6,6±0,3	6,2±0,3	5,9±0,3	5,4±0,2	5,1±0,2	4,8±0,2	4,6±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2
4	D6:CL1	7,0±0,3	6,7±0,3	6,0±0,3	6,5±0,3	6,1±0,3	5,3±0,2	4,1±0,2	4,2±0,2	4,3±0,2	4,8±0,2	4,1±0,2
5	D5: D6	7,0±0,3	7,5±0,3	7,0±0,3	6,8±0,3	6,3±0,3	5,4±0,2	4,4±0,2	4,5±0,2	4,7±0,2	5,2±0,2	4,4±0,2
6	SR1:CL1	7,0±0,3	6,5±0,3	6,2±0,3	6,0±0,3	5,9±0,3	5,5±0,3	5,3±0,2	5,1±0,3	5,0±0,3	4,8±0,2	4,8±0,3
7	SR1:D1X	7,0±0,3	6,5±0,3	6,0±0,3	5,8±0,3	5,7±0,2	5,7±0,2	5,3±0,2	5,0±0,3	4,8±0,3	4,7±0,3	4,6±0,3
8	CL1:D1	7,0±0,3	6,5±0,3	6,4±0,3	7,2±0,3	4,8±0,2	4,5±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2	4,6±0,2	4,9±0,2	4,9±0,2
9	D6:SR1 :CL1	7,0±0,3	6,5±0,3	6,3±0,3	5,8±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,2±0,2	4,2±0,2	4,2±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2
10	D6:SR1: D1X	7,0±0,3	6,5±0,3	5,8±0,2	5,8±0,2	4,6±0,2	4,4±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2	4,3±0,2
11	D6:CL1: D1X	7,0±0,3	6,8±0,3	6,5±0,3	5,9±0,2	4,5±0,2	4,4±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2
12	SR1:CL1:D1X	7,0±0,3	6,6±0,3	6,4±0,3	6,2±0,3	6,0±0,3	5,7±0,3	5,6±0,3	5,4±0,3	5,3±0,3	5,1±0,3	5,1±0,3
13	D6:SR1:CL1: D1X	7,0±0,3	6,5±0,3	6,0±0,3	5,5±0,2	4,3±0,2	4,3±0,2	4,1±0,2	4,0±0,2	4,0±0,2	4,1±0,2	4,0±0,2
анаэробты өсіру жағдайлары												
1	Бақылау	7,0±0,3	6,8±0,3	6,7±0,3	7,1±0,3	6,9±0,3	6,9±0,3	7,0±0,3	6,7±0,3	6,7±0,3	6,8±0,3	6,8±0,3
2	D1X:D6	7,0±0,3	6,8±0,3	6,7±0,3	6,0±0,3	5,8±0,2	5,6±0,2	5,4±0,2	5,2±0,2	5,1±0,2	4,9±0,2	4,9±0,2
3	D6:SR 1	7,0±0,3	6,5±0,3	6,1±0,3	6,0±0,3	5,5±0,3	5,0±0,2	4,7±0,2	4,6±0,2	4,6±0,2	4,6±0,2	4,6±0,2
4	D6:CL1	7,0±0,3	6,5±0,3	6,0±0,3	5,7±0,3	5,5±0,3	4,8±0,2	4,5±0,2	4,5±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2
5	D5:D6	7,0±0,3	7,0±0,3	6,8±0,3	6,7±0,3	6,7±0,3	6,6±0,2	6,4±0,2	6,2±0,2	6,3±0,2	6,2±0,2	6,2±0,2
6	SR1:CL1	7,0±0,3	6,6±0,3	6,3±0,3	6,1±0,3	5,9±0,3	5,9±0,3	5,6±0,2	5,2±0,3	5,0±0,3	4,9±0,2	4,9±0,2
7	SR1:D1X	7,0±0,3	6,5±0,3	6,0±0,3	5,8±0,3	5,7±0,2	5,7±0,2	5,3±0,2	5,0±0,3	4,8±0,3	4,7±0,3	4,7±0,3
8	CL1: D1X	7,0±0,3	6,4±0,3	6,2±0,3	6,0±0,3	5,8±0,2	5,5±0,2	5,1±0,2	5,0±0,2	4,9±0,2	4,9±0,2	4,8±0,2
9	D6:SR1:CL1	7,0±0,3	6,5±0,3	5,7±0,3	5,7±0,2	5,3±0,2	5,0±0,2	4,8±0,2	4,6±0,2	4,5±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2
10	D6:SR1:D1	7,0±0,3	6,5±0,3	5,8±0,2	5,4±0,2	5,1±0,2	5,0±0,2	4,8±0,2	4,9±0,2	4,9±0,2	4,8±0,2	4,8±0,2
11	D6:CL1:D1	7,0±0,3	6,6±0,3	6,2±0,3	5,9±0,2	5,5±0,2	5,2±0,2	4,9±0,2	4,7±0,2	4,6±0,2	4,6±0,2	4,6±0,2
12	SR1:CL1:D1X	7,0±0,3	6,5±0,3	6,3±0,3	6,1±0,3	5,8±0,3	5,6±0,3	5,3±0,3	5,0±0,3	4,8±0,3	4,7±0,3	4,7±0,3
13	D6:SR1: CL1: D1X	7,0±0,3	6,3±0,3	6,2±0,3	5,9±0,2	5,5±0,2	5,3±0,2	5,1±0,2	4,6±0,2	4,5±0,2	4,4±0,2	4,4±0,2

Кестелік мәліметтерден көрініп тұрғандай, аэробты жағдайда микроорганизмдердің аралас дақылдарын бірлесіп өсіру кезінде белсенді қышқыл түзілуі жүреді, сондайақ эксперименттің соңына қарай ортаның рН – ның максималды төмендеуі 7 бірліктен 4,0 – 4,4 бірлікке дейін 8 қауымдастықта байқалынды:

- D6:D1X (4,2 бір.);
- D6:CL1 (4,1 бір.);

- D6:SR1 (4,4 бір.);
- D5: D6 (4,4 бір.);
- D6:SR1:CL1 (4,3 бір.);
- D6:SR1:D1X (4,3 бір.);
- D6:CL1: D1X (4,3 бір.);
- D6:SR1:CL1:D1X (4,0 бір.).

Анаэробты жағдайда эксперимент соңында рН ортаның максималды төмендеуі 7 бірліктен 4,4 бірлікке дейін 3 қауымдастықта байқалынды:

- D6:CL1 (4,4 бір.);
- D6:SR1:CL1 (4,4 бір.);
- D6:SR1:CL1:D1X (4,4 бір.).

Микроорганизмдердің көпшілігі H^+ және OH^- иондарының концентрациясы шамамен бірдей болған кезде жақсы өседі және бұл мән ортаның бейтарап рН мәндеріне жақын. Микроорганизмдердің қарқынды даму аймағында пласттық сұйықтықтағы рН оптималдық мәнін ұстап тұру, ең алдымен қышқыл шығаратын бактериялар үшін маңызды (қоршаған ортаның рН-ны төмендетеді), бірақ өздері оларға тұрақтылық танытпайды. Мұндай микроорганизмдерге, мысалы, өңделген мұнай пласттың аэробты аймағындағы микроорганизмдердің жетекші тобы псевдомонадтар жатады [82, р. 34; 14, р. 18]. Өңделген мұнай пласттарынан бөлініп алынған псевдомонадтардың бұл штамдары әдеттегі штамдарға қарағанда қышқылға төзімді деп болжауға болады.

Bacillus тұқымдасының өкілдері мұнай пласттарына әсер ету процестерінде, оның ішінде олардың спора түзу қабілетіне байланысты пайдалану үшін айтарлықтай потенциалға ие. Олар сыртқы жағдайлардың стресстік өзгерістеріне неғұрлым төзімді. Ортаның рН олардың пласт бойынша жылжуына, метаболизмге және өмір сүруіне әсер етеді [198].

Бұдан әрі микроағзалардың құрастырылған ассоциацияларының мұнайығыстыру (газ түзілу) және мұнайсұйылту (қышқыл түзілу, мұнай эмульгирлеу белсенділігі) нәтижелері талданды (кесте 20).

Кесте 20 – Микроорганизмдердің құрастырылған ассоциацияларының мұнайсұйылту және мұнайығыстыру қасиеттерін талдау

№	Ассоциация нұсқалары	Эмульгирлеу индексі E_{48} , %		Эксперименттің 10 тәулігінде орта рН, бір.		Газ түзілу	
		аэробты жағдай	анаэробты жағдай	аэробты жағдай	анаэробты жағдай	аэробты жағдай	анаэробты жағдай
1	D1X : D6	65±0,4	50±0,3	4,2±0,2	4,9±0,1	++	-
2	D6 : SR 1	63±0,1	39,0±0,1	4,0±0,2	4,1±0,1	+++	+++
3	D6 : CL1	60±0,5	55,3±0,1	4,1±0,2	4,1±0,1	++	+++
4	D5 : D6	67±0,1	4±0,1	4,1±0,2	5,2±0,1	++	-
5	SR1 : CL1	55±0,1	43,0±0,1	4,8±0,3	4,3±0,1	+++	+++
6	SR1 : D1X	53±0,1	50,0±0,3	4,6±0,3	4,7±0,1	++	+++
7	CL1: D1X	58±0,1	57,0±0,2	4,3±0,2	4,3±0,1	+++	+++

8	D6 : SR1 : CL1	65±0,3	60,0±0,1	4,0±0,2	4,1±0,1	++	+++
9	D6 : SR1 : D1X	60±0,1	53,0±0,3	4,3±0,2	4,1±0,1	+++	-
10	D6 : CL1 : D1X	61±0,3	56,0±0,3	4,0±0,2	4,1±0,1	++	+++
11	SR1 : CL1 : D1X	58±0,3	55,1±0,3	4,8±0,3	4,0±0,1	++	+++
12	D6 : SR1 : CL1 : D1X	60±0,3	58±0,3	3,8±0,2	4,0±0,1	+++	+++
Ескерту: «+» - әлсіз газ түзілу; «+ +» - орташа газ түзілу; «+ + +» - белсенді газ түзілу							

Кестеде көрсетілгендей, зерттелген 12 құрастырылған микроорганизмдер ассоциацияларынан 6 мақсатты қасиеттердің (мұнай эмульгирлеу, қышқыл түзілу, газ түзілудің аэробты және анаэробты жағдайда) кем дегенде 4 көрсеткіштерінің сәйкес келуі бойынша келесідей 5 микроорганизмдер ассоциациясы таңдалынды, олардың ішінде: 2 монокультурадан тұратын 2 ассоциация – D6:SR1; D6:CL1; 3 монокультурадан тұратын 2 ассоциация – D6:SR1:CL1; D6:CL1:D1 және 4 монокультурадан тұратын 1 ассоциация – D6:SR1:CL1:D1X.

Осылайша, 12 құрастырылған микроорганизмдер ассоциацияларының мұнайығыстыру және мұнайсұйылту қасиеттерін зерттеу нәтижесінде аэробты және анаэробты өсіру жағдайларында жоғары мақсатты сипаттамалары бар 5 микроорганизмдер ассоциациясы іріктелінді, олардың ішінде: 2 монокультурадан тұратын 2 ассоциация – D6:SR1; D6:CL1; 3 монокультурадан тұратын 2 ассоциация – D6:SR1:CL1; D6:CL1:D1X және 4 монокультурадан тұратын 1 ассоциация – D6:SR1:CL1:D1X.

3.8 Ассоциациялардың биомассасын алу үшін қоректік ортаны таңдау

Микробиологиялық әдістердің табыстылығын анықтайтын фактор микроорганизмдердің тіршілік әрекеті болып табылады, ол қоректік заттарды таңдау және өсіру режимдерімен айқындалады. Коллектор жеңіл көмірсутектермен қоректенетін игерудің соңғы сатысындағы мұнайпласттардың суландырылған учаскелері үшін, енгізілген микроорганизмдерді белсенді дамыту үшін қосымша «жеңіл» көміртек, фосфор және азот көздері қажет. Айта кету керек, айдалатын жер үсті сулары мұнайпластына оттегінің көзі болып табылады, бұл өңделген мұнайпласттарындағы аэробты – анаэробты жағдайлар туралы айтуға мүмкіндік береді [198, 199]. Қоректік орта ретінде әр түрлі меласса концентрациялары қосылған E8 минималды минералды фоны пайдаланылды (10 %, 20 %, 40 %) көміртек, азот және фосфор көзі ретінде. Меласса – қант өндірісінің жанама өнімі, ерекше иісі бар қара қоңыр түсті сироп тәрізді сұйықтық. Құрамында 20 – 25 % су, шамамен 9 % азотты қосылыстар (көбінесе амидтер), 58 – 60 % көмірсулар (негізінен қант) бар.

Биомассаны анықтау үшін жасуша суспензиясының лайлылығын, дақылдау сұйықтықтығының оптикалық тығыздығын өлшеудің

спектрофотометриялық әдісі қолданылды. Аэробты жағдайларда құрамында мелассасы әртүрлі ортада өсіру кезінде микроорганизмдердің оптикалық тығыздығының өзгеруі анықталынды (кесте 21).

Кесте 21 – Аэробты жағдайларда құрамында мелассасы әртүрлі ортада өсіру кезінде микроорганизмдердің оптикалық тығыздығының өзгеру динамикасы

№	Нұсқалар		Оптикалық тығыздығы, d, бір.			
			0 тәулік	5 тәулік	7 тәулік	10 тәулік
1	Бақылау		0	0	0	0
2	10%	D6 : C11	0,787±0,033	0,894±0,032	0,934±0,036	1,173±032
		D6 : SR1	0,753±0,032	0,808±0,031	0,931±0,036	1,167±032
3		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,866±0,041	0,981±0,047	1,165±032
4		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,896±0,042	1,053±0,031	1,134±032
5		D6 : SR1 : CL1 : D1X	0,768±0,033	0,907±0,035	1,196±0,036	1,171±032
6	20%	D6 : CL1	0,787±0,031	0,802±0,036	0,849±0,030	0,956±032
		D6 : SR1	0,753±0,032	0,836±0,036	0,893±0,032	0,929±032
7		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,834±0,036	0,841±0,035	0,972±032
8		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,845±0,036	0,861±0,031	0,891±032
9		D6 : SR1 : CL1 : D1X	0,768±0,033	0,792±0,036	0,892±0,036	0,956±032
10	40%	D6 : CL1	0,787±0,031	0,796±0,032	0,811±0,034	0,847±032
		D6 : SR1	0,753±0,032	0,784±0,030	0,812±0,031	0,876±032
11		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,799±0,032	0,853±0,034	0,891±0,036
12		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,804±0,030	0,869±0,031	0,812±0,035
13		D6 : SR1 : C11 : D1X	0,768±0,033	0,781±0,032	0,825±0,034	0,842±0,036

Көріп отырғаныңыздай, аэробты жағдайда барлық ассоциацияларда жақсы көбейеді, сондықтан құрамында әр түрлі мелассасы бар барлық нұсқаларда оптикалық тығыздық жоғарылайды, алайда эксперименттің соңына қарай биомассаның максималды жинақталуы 10 % мелассасы бар ортада өсірілген кезде байқалынды, оптикалық тығыздық 1,134 – 1,173 бірл. құрады және төмендейтін 20 % мелассаға өсіру кезінде – 0,891 - 0,972 бірл. және ортада ең аз жинақталу 40 % мелассадан 0,812 – 0,847 бірл. құрады.

Одан әрі анаэробтық жағдайда құрамында 10 %, 20 % және 40 % мелассасы бар E8 синтетикалық ортада өсіру кезінде микроорганизмдердің оптикалық тығыздығының өзгерістері анықталынды (кесте 22).

Кесте 22 – Анаэробтық жағдайларда құрамында мелассасы әртүрлі ортада өсіру кезінде микроорганизмдердің оптикалық тығыздығының өзгеру динамикасы

№	Нұсқалар		Оптикалық тығыздығы, d, бір			
			0 тәулік	5 тәулік	7 тәулік	әулік
1	Бақылау		0	0	0	0
2	10%	D6 : C11	0,787±0,031	0,849±0,036	1,614±0,036	1,667±0,036
		D6 : SR1	0,753±0,032	1,428±0,036	1,631±0,036	1,659±0,036

3		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,966±0,041	1,581±0,047	1,673±0,045
4		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,896±0,042	1,643±0,046	1,666±0,046
5		D6 : SR1 : CL1 : D1X	0,768±0,033	0,907±0,035	1,896±0,042	1,683±0,046
6	20%	D6 : CL1	0,787±±0,031	0,802±0,036	0,849±0,036	1,458±0,036
		D6 : SR1	0,753±0,032	0,736±0,036	0,833±0,036	1,424±0,036
7		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,8342±0,036	0,941±0,036	1,438±0,036
8		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,7616±0,036	0,851±0,036	1,464±0,036
9		D6 : SR1 : CL1 : D1X	0,768±0,033	0,792±0,036	0,892±0,036	1,418±0,036
10	40%	D6 : CL1	0,787±0,031	0,816±0,032	0,933±0,034	1,071±0,036
		D6 : SR1	0,753±0,032	0,804±0,030	0,901±0,031	1,073±0,035
11		D6 : SR1 : CL1	0,781±0,034	0,816±0,032	0,933±0,034	1,041±0,036
12		D6 : CL1 : D1X	0,797±0,035	0,804±0,030	0,901±0,031	1,125±0,035
13		D6 : SR1 : CL1 : D1X	0,768±0,033	0,816±0,032	0,933±0,034	1,071±0,036

Көріп отырғанымыздай, анаэробты жағдайда микроорганизмдердің аэробты ортаға қарағанда белсенді көбеюі байқалады, алайда қоректік ортадағы мелассаның оптимальды концентрациясы аэробты жағдаймен бірдей, сондықтан эксперименттің соңында барлық 5 ассоциация үшін жасуша массасының максималды жинақталуы 1,659–1,683 бірл. құрады және таңдалған қауымдастықтардың биомассасының ең аз жинақталуы 20 % мелассада 1,071–1,683 бірл. құрады. Мелассаның ферменттелуі әдетте көп мөлшерде метаболиттер (90 %) және аз мөлшерде биомассалар (10 %) береді [200].

10% мелассасы бар ортада микроорганизмдер ассоциациясы жасушаларының көбеюінің мұндай көрсеткіштерін микроорганизмдердің осы аралас дақылдарының көміртегі, азот және фосфор биогендік элементтерінің өміршеңдігі үшін эмпирикалық таңдалған оптимальды арақатынаспен байланыстыруға болады.

Осылайша, құрамында 10 %, 20 % және 40 % мелассасы бар қоректік ортада жоғары мақсатты сипаттамалары бар микроорганизмдер қауымдастығының биомассасын алу бойынша жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде жалпы көлемнің 10 % -ы меласса қосылған E8 синтетикалық ортасы оптимальды қоректік орта болып табылады.

ҚОРЫТЫНДЫ

Жұмыста алынған нәтижелер келесі қорытынды жасауға мүмкіндік береді:

1. Ақінген кен орны мұнайласт сулары жоғары минералданған, натрий және хлор иондары басым, пласт суларының рН 6,34 және натрий-хлорлы түріне жатады.

2. Ақінген кен орны мұнайласт суларының аэробты микрофлорасы $96,1 \times 10^7$ КТБ/мл құрайды, ал анаэробтардың құрамы едәуір аз – 14×10^4 КТБ/мл, сапалық құрамы псевдомонадтар мен бациллалармен көрсетілген, сонымен қатар *Bacillus* туысының өкілдері сандық жағынан басым (13×10^3 КТБ/мл).

3. Ақінген кен орны мұнайласт суларының 31 микроб дақылы бөлініп алынды және морфология–дақылдық, физиология–биохимиялық қасиеттері және *16S pPHK* ген нуклеотидтік тізбегі негізінде идентификацияланды, соның ішінде 14 штамм *P. aeruginosa* (D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, T1, T2, T3, T4, T5, T6); 17 бацилдер дақылдары – *B. subtilis subsp. spizizenii* S1; *B. paramycoides* M1; *B. subtilis* A5; *B. haynesii* S3; *B. safensis* D7X; *Brevibacillus borstelensis* SR3, *B. pumilus* (M2, D1X); 9 штамм *B. licheniformis* (A1, A2, A3, A4, S2, SR1, CL1, CL2, SR2).

Мұнай пласт суларынан бөлініп алынған 31 бактерия дақылдары 16S rRNA нуклеотидтік тізбегі *GenBank*-те тіркелген және жарияланған, дақылдарға кіруіне арналған тіркеу нөмірі: *B. subtilis subsp. spizizenii* S1 - MW386842; *B. paramycoides* M1 - MW386841; *B. pumilus* M2 - MW386840; *B. licheniformis* A1 - MW386831; *B. licheniformis* A2 - MW386832; *B. licheniformis* A3 - MW386833; *B. licheniformis* A4 - MW386834; *B. subtilis* A5 - MW386835; *B. licheniformis* S2 - MW386843; *B. haynesii* S3 - MW386844; *B. pumilus* D1X - MW386836; *P. aeruginosa* D5 - MW386837; *B. licheniformis* CL1 - MW600501; *B. licheniformis* CL2 - MW600502; *B. safensis* D7X - MW600506; *B. licheniformis* SR1 - MW600508; *B. licheniformis* SR2 - MW600509; *Brevibacillus borstelensis* SR3 - MW600510; *P. aeruginosa* D8 - MW600507; *P. aeruginosa* D6 - MW386838; *P. aeruginosa* D7 - MW386839; *P. aeruginosa* D1 - MW600503; *P. aeruginosa* D2 - MW600504; *P. aeruginosa* D3 - MW600505; *P. aeruginosa* T1 - MW617329; *P. aeruginosa* T2 - MW617330; *P. aeruginosa* T3 - MW617331; *P. aeruginosa* T4 - MW617332; *P. aeruginosa* T5 - MW617334; *P. aeruginosa* T6 - MW617335; *P. aeruginosa* D4 - MW617336.

4. Бактериялардың мұнай эмульгирлеу қасиеттеріне жауапты гендердің бар екені анықталды: *srfA* гені – *Pseudomonas aeruginosa* (D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1, T2, T4, T6) 10 штаммдарында; *rhlA* гені – *Pseudomonas aeruginosa* (T2, T3, T4, T5, T6, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D1) 12 штаммдарында; *lchAA* гені 10 бациллярды бактерия дақылдарында: *B. haynesii* S3 *B. pumilus* M2 және 8 штамм *B. licheniformis* (A1, A3, A4, S2, SR1, SR2, CL1, CL2).

5. Меласса қосылған Е8 ортасында жоғары мақсатты белсенділікке ие микроорганизмдердің 16 дақылы іріктелді: эмульгирлеу индексі 51 % - дан жоғары, белсенді газ түзілуіне және ортаны қышқылдандыруға қабілетті.

6. Белсенділігі жоғары микроорганизмдер ассоциацияларын құрастыру үшін 16 дақылдың антагонистік қарым-қатынастарын зерттеу негізінде микроорганизмдердің 5 дақылы іріктелді: *P. aeruginosa* D5 – мұнайэмульгирлеуші, қышқыл түзгіш, газ түзгіш, *P. aeruginosa* D6 – мұнайэмульгирлеуші, қышқыл түзгіш, газ түзгіш, *Bacillus sp.* D1X – мұнайэмульгирлеуші, газ түзгіш, *B. licheniformis* SR1 –қышқыл түзгіш, газ түзгіш және *B. licheniformis* CL1 –қышқыл түзгіш, газ түзгіш.

7. Зерттелген 12 микроорганизм ассоциацияларынан 6 мақсатты қасиеттердің 4 көрсеткіші сәйкес болуы – мұнайэмульгирлеу, қышқыл- және газ түзілуі аэробты және анаэробты жағдайда микроорганизмдердің келесі 5 ассоциациясы іріктелінді, соның ішінде: 2 монодақылдан тұратын 2 ассоциация - D6: SR1; D6:CL1; 3 монодақылдан тұратын 2 ассоциациясы – D6:SR1:CL1; D6:CL1:D1X және 4 монодақылдан тұратын 1 ассоциация – D6:SR1:CL1:D1X.

Диссертацияда алға қойылған міндеттердің барлығы орындалды.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Сериков Т. П., Дубинский Г. С., Сиранов Р. К., Куангалиев З. А. Разработка и эксплуатация нефтегазовых месторождений. 1 Том / Изд. «Ер-Төстік», Атырау, - 2009. – 202 с.
- 2 Кан С. М., Берстенов С. В. К технологии извлечение лития из пластовых вод месторождений нефти и газа южного Мангышлака // Вестник Национальной Академии Наук. – 2017. - № 5. – С. 149-155.
- 3 Кольцов В. Темпы и пропорции развития промышленности Казахстана: Издательство «Казахстан», Алма-Ата, 1970. 175 с.
- 4 Мурзагалиев Р. С. Геологическая модель Каражанбаского месторождения высоковязкой нефти и современные геотехнологии ее извлечение. Автореферат дис. Канд. геол.- мин. наук. Москва, 2009. 26 с.
- 5 Соколова Д. Ш., Семенова Е. М., Груздев Д. С., Ершов А. П., Биджиева С. Х., Иванова А. Е., Бабич Т. Л., Сисенбаева М. Р., Бисенова М. А., Назина Т. Н. Микробное разнообразие и потенциальные продуценты сероводорода в нефтяном месторождении Каражанбас (Казахстан) // Микробиология. – 2020. – Т. 89, №4. – С. 462-473.
- 6 Елеманов Б.Д. Основные проблемы разработки нефтяных месторождений, осложненной коррозией, отложениями парафина и солей (на примере месторождений Республики Казахстан: «Тенгиз», «Карачаганак», «Узень» и «Жетыбай»): Диссертация на соискание ученой степени доктора технических наук: учеб. Пособие. - М.: РГУ нефти и газа им.И.М.Губкина, 2003.
- 7 Нуршаханова Л.К. Анализ методов воздействия и оценка изменения свойств нефти в процессе разработки месторождения «Узень»: Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук: учеб. Пособие. - М.: РГУ нефти и газа им.И.М.Губкина, 2005.
- 8 Айдосов Г.А., Айдосова Ж.А. Исследования развития нефтяного сектора Республики Казахстан: учеб. Пособие. Алматы: – 2005. – 158 с.
- 9 Yernazarova A., Kayirmanova G., Baubekova A., Zhubanova A. Microbial enhanced oil recovery. Book “Enhanced oil recovery”. Edited by Laura Romero-Zerón University of New Brunswick, Canada. ISBN 978-953-51-2700. – 2016.–25 p.
- 10 Нефтяная энциклопедия Казахстана, Алматы – 2005. – С. 237.
- 11 Ерназарова А.К., Қайырманова Г.Қ., Дәрменқұлова Ж.Б., Жабасова Г. «Жетібай» мұнай кен орнының мұнай пласт суларының физика-химиялық және микробиологиялық сипаттамасы. Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии». – 2017. – 53 с.
- 12 Yernazarova A., Kaiyirmanova G., Zhubanova A. Microorganisms in Oil Reservoirs of West Kazakhstan. // International journal of resent technology and engineering. – 2018. – Vol. 7, – P. 70-72.

13 Курбанбаев М.И., Мирошников В.Я., Толоконский С.И. Повышение нефтеотдачи пласта на месторождениях Казахстана // III Международный научный симпозиум "Теория и практика применения методов увеличения нефтеотдачи пластов", - 2011 г. Москва. - 243 с.

14 Исмаилов А. А., Смаилова Г. Ж., Исмаилова Д. А. Состав и физико-химические свойства пластовой воды // ВЕСТНИК Казахстанско-Британского Технического Университета. Алматы – 2012. - № 1. – С. 20 – 23.

15 Баймаханов Г.А., Кайдаров А. Применение микроорганизмов для увеличения нефтеотдачи (обзор) // Сборник научных трудов Международной научно- практической конференции Геологоразведочное и нефтегазовое дело в XXI веке: Технологии, науки, образование. 9-13 ноября, Алматы. – 2016. 386 стр. С. 378 -379.

16 Мамедьянов М.А., Исмаилов Н.М. Разработка и применение микробиологических методов повышения нефтеотдачи в Азербайджане // Нефтегазовые технологии. – 2011. – №11. – С. 23-27.

17 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.

18 Исмаилов Н. М. Биотехнология нефтедобычи. Принципы и применение: монография / Н.М. Исмаилов. – Москва: ИНФРА-М, 2018. – 169 с. - (Научная мысль). - www.dx.doi.org/10.12737/22259. - ISBN 978-5-16-012427-8. - Текст: электронный. - URL: <https://znanium.com/catalog/product/933860> (дата обращения: 28.03.2021).

19 Коронелли Т. В. Принципы и методы интенсификации биологического разрушения углеводов в окружающей среде (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – 32, № 6 – С. 579-585.

20 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.

21 Бейсеков С.С. Вторичная разработка выработанных нефтяных месторождений Шубаркудык и Жаксымай. Нефть и Газ. – 2014. № 4, - С. 92.

22 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.

23 Овсянникова В.С «Влияние микробиологического воздействия на углеводородный состав нефтей при увеличении нефтеотдачи пластов нефтевытесняющими композициями с регулируемой щелочностью» // «Нефтехимия» - 2008. – Т. 48, № 3. – С. 235-239.

24 Рузин Л. М. Методы повышения нефтеотдачи пластов (теория и практика): учеб. пособие / Л. М. Рузин, О. А. Морозюк. – Ухта: УГТУ, 2014. – 127 с.

- 25 Муслимов Р. Х. Нефтеотдача: прошлое, настоящее, будущее (оптимизация добычи, максимизация КИН). – Казань: Изд-во «ФЭН» АН РТ, 2014. – 750 с.
- 26 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.
- 27 Загидуллина Л.Н. Создание, разработка и внедрение ресурсосберегающих биотехнологий повышения эффективности нефтеизвлечения // Автореф. дис. д-ра техн. наук. – Уфа, - 2002. – 34 с.
- 28 Beggar I., Petrisor I.G., Yen T. E. Microbial enhanced oil recovery (MEOR). Oil Science and Technology. – 2007. – Vol. 25, №11-12. – P. 1353-1366.
- 29 Сургучев М. Л., Горбунов А. Т., Забродин Д. П., и др. Методы извлечения остаточной нефти / М.: Недра, 1991. – 347 с.
- 30 Исмаилов Н.М. Опыт разработки и внедрения биотехнологий повышения нефтеотдачи в Азербайджане // Ж. Нефтегазовые технологии. М. – 2011. - №11. – С. 23-27.
- 31 Ибатуллин Р.Р. и др. Увеличение нефтеотдачи на поздней стадии разработки месторождений. Теория. Методика. Практика. - М.: Недра. – 2004. – 292 с.
- 32 Ramkrishna S. Biotechnology in petroleum recovery: The microbial EOR. Prog. Energy Comb. Sci. - 2008. – Vol. 34. – P. 714– 724.
- 33 Tanner R.S., Undegbunam E.O., McInemey M.J., Knapp RM. Microbially Enhanced Oil Recovery from Carbonate Reservoirs // Geomicrobiology J. – 1991. – Vol. 9, №4. – P. 69-195.
- 34 Гаричев С.Н., Еремин Н.А. Технология управления в реальном времени: учеб. пособие. В 2 ч. – М.: МФТИ, - 2015. – Ч. 2. – 304 с.
- 35 Bryant R.S. et al. Microbial Enhanced Water flooding: Mink Unit Project / SPE Reservoir Engineering. – 1990. – Vol. 5, №1. – P. 9-13.
- 36 Турбанов Р.А., Бургалов Б.Б. К проблемам внедрения современных методов увеличения нефтеотдачи пластов на месторождениях суши Азербайджана // АНХ. – 2000. № 1. – С. 1-6.
- 37 Исмаилов Н.М., Мамедьяров М.А., Нариманов А.А. Формирование нового научного направления в нефтедобывающей промышленности Азербайджана - экологической биотехнологии // Ж. Геолог Азербайджана. Баку. – 2014. № 14. – С. 132-145.
- 38 Сафонов В.Г. и др. Применение новых методов увеличения нефтеотдачи на месторождениях Башкортостана // Нефтяное хозяйство России. – 2000. № 4. – С. 38.
- 39 Назина Т.Н. и др. Результаты пилотных испытаний биогеотехнологии повышения нефтеотдачи на высокотемпературном нефтяном месторождении Даган (КНР) // Материалы 3-го Московского международного конгресса «Биотехнология», М., сек. 7. – 2005. – С. 240.

40 Антониади, Д. Г. Увеличение нефтеотдачи пластов газовыми и парогазовыми методами / Краснодар: Советская Кубань, 2000. – 464 с.

41 Закиров С.Н., Индрупский И.М., Закиров Э.С. и др. Новые принципы и технологии разработки месторождений нефти и газа. Ч. 2. – М.-Ижевск: Институт компьютерных исследований, НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2009. – 484 с.

42 Алтунина Л.К., Кувшинов В.А. Физико-химические методы увеличения нефтеотдачи пластов // Вестн.С.-Петерб. ун-та. – 2013. – Сер. 4, №2. – С. 46-76.

43 Малофеев, Г. Е. Нагнетание в пласт теплоносителей для интенсификации добычи нефти и увеличения нефтеотдачи: учеб. пособие / Г. Е. Малофеев, О. М. Мирсаатов, И. Д. Чоловская. – М.- Ижевск: Институт компьютерных исследований, - 2008. – 224 с.

44 Исмаилов Ф. С., Гасымлы А. М., Абдуллаева Ф. Я. и др. Некоторые результаты внедрения микробиологического метода на месторождениях суши Азербайджана // Азербайджанское нефтяное хозяйство. – 2014. - №7-8. - С. 28-31.

45 Khire J. M., Khan M. I. Microbially Enhanced Oil Recovery (MEOR). Part I. Importance and mechanism of MEOR // Enzyme Microb Technol. – 1994. - № 16. – P. 170-172.

46 Гоготов И.И. и др. Биосурфактанты: продуценты, свойства и практическое использование // Материалы 3-й Межд. конф. «Международное сотрудничество в биотехнологии: ожидания и реальность». - Пущино: ИЦ «Биоресурсы и экология», 2006. - С. 104-111.

47 Nakiki F., Maharsi D.A. Marhaendrajana T. Surfactant-Polymer Coreflood Simulation and Uncertainty Analysis Derived from Laboratory Study. // Journal of Engineering and Technological Sciences. – 2016. – Vol. 47, №6. – P. 706-725.

48 Primeia S, Inoue C, Chien M-F. Potential of Biosurfactants' Production on Degrading Heavy Oil by Bacterial Consortia Obtained from Tsunami-Induced Oil-Spilled Beach Areas in Miyagi // Japan. Journal of Marine Science and Engineering. – 2020. – Vol. 8, № 8. – P. 577.

49 Microbial technology increases by 26% the recovery of hydrocarbons in oil wells (2016, January 26) retrieved 16 April 2021 from <https://phys.org/news/2016-01-microbial-technology-recoveryhydrocarbons-oil.html>

50 Lazar I. G., Petrisor T. E., Yen. Microbial enhanced oil recovery (MEOR) // Petroleum Science and Technology. – 2007. – Vol. 25, №11-12. – P. 1353-1366.

51 Ибатуллин Р. Р., Хисамов Р. С., Беляев С. С., Борзенков И. А., Назина Т. Н. Разработка и применение микробных биотехнологий увеличения нефтеотдачи пластов // Нефтяное хозяйство. – 2005. – № 7. – С. 42-45.

52 Cheraghian, Goshtasp et al. Adsorption polymer on reservoir rock and role of the nanoparticles, clay and SiO₂ // International Nano Letters. – 2014. – Vol.4, №3. – P. 1–8.

53 Исмаилов Н. М., Алиева С. Р. Экологически чистые микробные технологии повышения нефтеотдачи пластов // Актуальные вопросы

биоэкологии. Сб. мат. II Межд. научно-практической конференции. Москва, 26-28 октября, 2010. – 5-6.

54 Шарауова А. Б., Нуршаханова Л. К., Тулешева Г. Применение микробиологических методов для повышения нефтеотдачи и интенсификации нефтедобычи // Молодой ученый. — 2014. — №8. — С. 307-309.

55 Nazina T, Sokolova D, Grouzdev D, Semenova E, Babich T, Bidzhieva S, Serdukov D, Volkov D, Bugaev K, Ershov A, Khisametdinov M, Borzenkov I. The Potential Application of Microorganisms for Sustainable Petroleum Recovery from Heavy Oil Reservoirs // Sustainability. – 2020. – Vol.12(1). – P.15.

56 Конесев С. Г., Хазиева Р. Т., Хлюпин П. А., Кондратьев Э. Ю. Анализ динамики патентования методов и устройств регулирования реологических свойств высоковязкой нефти // Нефтегазовое дело. – 2013. - № 5. – С. 13-17.

57 Jeong M. S., Lee Y. W., Lee H. S., Lee K. S. Simulation-Based Optimization of Microbial Enhanced Oil Recovery with a Model Integrating Temperature, Pressure, and Salinity Effects // Energies. – 2021. – Vol. 14(4). – P.1131.

58 Бейсеков С. С. Извлечение остаточной нефти из выработанных месторождений // Журнал Petroleum – 2015. - № 3, - С. 41.

59 Awan, A. R., Teigland R., Kleppe J. A survey of North Sea enhanced-oil-recovery projects initiated during the years 1975 to 2005 // Spe Reservoir Evaluation & Engineering, - 2008. - Vol.11, № 3. – P. 497-512.

60 Назина Т. Н., Иванова А. Е., Вагнер М., Циран Б., Ибатуллин Р. Р., Кандаурова Г. Ф., Миллер Ю. М., Беляев С. С., Иванов М. В. Интродукция *Clostridium tyrobutyricum* и мелассы в нефтяной пласт Ромашкинского месторождение и влияние ее на развитие микробиологических процессов в пласте. Микробиология. – 1996. – Т. 65. №3, - С. 403-408.

61 Бейсеков С. С., Курбанов Р. Р. Повышение коэффициента извлечения нефти. Журнал ОАО «ВНИИОЭНГ», серия – Строительство нефтяных и газовых скважин на суше и на море. – 2015. - № 8, - С. 39-40.

62 Котенев Ю. А., Загидуллина Л. Н., Микробиологический метод увеличения нефтеотдачи пластов на основе активного ила биологических очистных сооружений. // Нефтяное хозяйство. –2004. – №4. – С. 48-50.

63 Хусаинов В. М. Увеличение извлекаемых запасов нефти на поздней стадии разработки крупного нефтяного месторождения (теория, геологические основы, практика): Автореф. дис. ... техн. наук. – Москва, 2011. – 50 с.

64 Закиров С. Н., Закиров Э. С., Индупринский И. М., Анিকেев Д. П., Лобанов О. А., Муслимов Р. Х., Кимельман С. А. Критерии эффективности и рациональности в нефтегазовом недропользовании (в порядке обсуждения) // Нефтяное хозяйство. – 2016. – № 3. – С. 74–78.

65 Назина Т. Н., Фенг Ц., Кострюкова Н. К., Шестакова Н. М., Бабич Т. Л., Ни Ф., Ванг Дж., Мин Л., Иванов М. В. Микробиологические и продукционные характеристики высокотемпературного месторождения тяжелой нефти Даган (Блок №1) в процессе испытаний биотехнологии повышения нефтеизвлечения // Микробиология. – 2017. –Т. 86, № 5. – С. 636-650.

66 Григорьян А. А., Назина Т. Н., Беляев С. С. Микроорганизмы высокотемпературных нефтяных пластов и их биотехнологический потенциал // Материалы 2-го Межд. конгр. «Биотехнология - состояние и перспективы». - М. 10-14 ноября 2003 г., ч. 2, с. 250.

67 Кайырманова Г. К., Мустапаева Ж. О., Ерназарова А. К., Амангалиқызы А. Эколога - функциональные свойства аборигенных микроорганизмов нефтепластов // *Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe (East European Scientific Journal) Biologia*. - 2016. - Vol.7, - P. 145-149.

68 Беляев С. С., Борзенков И. А., Назина Т. Н., Иванова А. Е., Ибатуллин Р. Р., Иванов М. В. Современные микробные биотехнологии повышения нефтеизвлечения // Международная научная конференция «Микроорганизмы и биосфера». Москва, 19-20 ноября. – 2007. – С. 10-11.

69 Nazina T. N., Sokolova D. Sh., Babich T. L., Semenova E. M., Ershov A. P., Bidzhieva S. Kh., Borzenkov I. A., Poltarau A. B., Khisametdinov M. R., Tourova T. P. Microorganisms of low temperature heavy oil reservoirs (Russia) and their possible application for enhanced oil recovery // *Microbiology (Moscow)*. – 2017. – Vol. 86, - P. 773-785.

70 Бутаев А. М., Кабыш Н. Ф. О роли углеводородокисляющих микроорганизмов в процессах самоочищения прибрежных вод дагестанского побережья Каспийского моря от нефтяного загрязнения. // Вестник Дагест. науч. центра. – 2002. – Т 13. – С. 69-77.

71 Youssef N., Elshahed M. S., McInerney M. J. Microbial processes in oil fields: culprits, problems and opportunities // *Advances in Applied Microbiology / Eds. Laskin A. I., Sariaslani S., Gadd G. M. Burlington: Academic Press. – 2009. – Vol. 66. – P. 141-251.*

72 Беляев С. С., Борзенков И. А., Назина Т. Н., Розанова Е. П., Глумов И. Ф., Ибатуллин Р. Р., Иванов М. В. Использование микроорганизмов в биотехнологии повышения нефтеизвлечения // *Микробиология*. – 2004. - Т. 73, № 5. – С. 687- 697.

73 Cai M., Chan Yu. C., Wang R., Si Y., Masakorala K., Yuan H., Yao J., Zhang J. Effects of oxygen injection on oil biodegradation and biodiversity of reservoir microorganisms in Dagang oil field, China // *Int. Biodeter. Biodeg.* – 2015. – Vol. 98. – P. 59-65.

74 Marsh, T. L., Zhang, X., McInerney, M. J., Sharma, P. K., Jackson, B. E. Mechanisms of microbial oil recovery by *Clostridium acetobutylicum* and *Bacillus* strain JF-2 // proceedings from the 5th International Conference on Microbial Enhanced Oil Recovery and Related Biotechnology for Solving Environmental Problems. – 1995. P. 593-610.

75 Elumalai P., Parthipan P., Narenkumar J., Anandakumar B., Madhavan J., Oh B. – T., Rajasekar A. Role of thermophilic bacteria (*Bacillus* and *Geobacillus*) on crude oil degradation and biocorrosion in oil reservoir environment // *3 Biotech.* – 2019. – Vol. 9. Article 79.

76 Gray N. D., Sherry A., Hubert C., Dolfing J., Head I. M. Methanogenic degradation of petroleum hydrocarbons in subsurface environments remediation, heavy oil formation, and energy recovery // *Adv. Appl. Microbiol.* – 2010. – Vol. 72. – P. 137-161.

77 Pornsunthorntawe O., Wongpanit P., Chavadej S., Abe M., Rujiravanit R. Structural and physicochemical characterization of crude biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* SP4 isolated from petroleum-contaminated soil // *Bioresource Tech.* – 2008. – Vol.99, № 6. – P. 1589–1595.

78 Aullo T., Ranchou – Peyruse A., Ollivier B., Magot M. *Desulfotomaculum* spp. and related gram – positive sulfate – reducing bacteria in deep subsurface environments // *Front. Microbiol.* – 2013. – Vol. 4. Article 362.

79 Li X. X., Mbadinga S. M., Liu J. F., Zhou L., Yang S. Z., Gu J. D., Mu B. Z. Microbiota and their affiliation with physiochemical characteristics of different subsurface petroleum reservoirs // *Int. Biodeterior. Biodegr.* – 2017. – Vol. 120. – P. 170-185.

80 Квасников Е. И. Микроорганизмы - деструкторы нефти в водных бассейнах / Е. И. Квасников, Т. М. Ключникова. Киев: Наукова думка, 1981. - 131 с.

81 Семенова Е. М., Ершов А. П., Соколова Д. Ш., Турова Т. П., Назина Т. Н. Разнообразие и биотехнологический потенциал нитратредуцирующих бактерий из месторождений тяжелой нефти (Россия) // *Микробиология.* – 2020. – Т. 89, № 6. – С. 675-687.

82 Magot M, Ollivier B., Patel V. K. Microbiology of petroleum reservoirs // *Antonie van Leeuwenhoek.* – 2000. – Vol. 77, - P. 103-116.

83 Алтунина Л. К., Сваровская Л. И., Гэрэлма Т. Комплексный физико-химический и микробиологический метод увеличения нефтеотдачи вязких нефтей низкотемпературных залежей Монголии // *Нефтехимия.* – 2013. – Т. 53, № 2. – С. 101–106.

84 Юлбарисов Э. М. Применение биогеотехнологии увеличения нефтеотдачи в высокотемпературных пластах ЗападноСибирской плиты / Э.М. Юлбарисов, Р.Г. Рамазанов, К.Х. Рахмангулов, В.А. Жуков // *Интервал.* - 2000.- № 4-5. С. 16-18.

85 Еремин Н. А., Ибатулин Р. Р., Назина Т. Н., Ситников А. А. Биометоды увеличения нефтеотдачи: учеб. Пособие.– Москва: -2003. - 125 с.

86 Юлбарисов Э. М. Геологические основы применения микробиологического метода повышения нефтеотдачи пласта с высоковязкой нефтью (на примере Арланского месторождения) / Э. М. Юлбарисов. - Уфа: УИТиС АНК «Башнефть».- 2002.- 167 с.

87 Жизнь микробов в экстремальных условиях. Пер с англ. / Под. Ред. Д. Кашнера. – М: Мир, 1981. – 521 с.

88 Леонов В. В., Загидуллина Л. Н., Фахретдинов Р. Н. и др. О механизме повышения нефтеотдачи при микробиологическом воздействии на пласт.

Окислительно-восстановительные процессы в нефтепромысловых водах // Нефтепромысловое дело. - 1998. - №2. - С. 20-23.

89 Иванова А. Е., Соколова Д. Ш., Канатьева А. Ю. Биодegradация углеводородов и образование поверхностно – активных соединений ацидофильными микобактериями // Микробиология. – 2016. – Т. 85, № 3. - С. 300-308.

90 Алтунина Л., Кувшинов В., Кувшинов И. Композиции ПАВ для эффективного паротеплового воздействия на пласт // Oil&Gas Journal Russia. – 2010. – № 6. – С.68–75.

91 Baito K., Imai S., Matsushita M., Otani M., Sato Y., Kimura H. Biogas production using anaerobic groundwater containing a subterranean microbial community associated with the accretionary prism // Microb. Biotechnol. – 2014. – Vol. 8. № 5, - P. 837 – 845.

92 Назина Т. Н., Иванова А. Е, Вагнер М., Циран Б., Ибатуллин Р. Р., Кандаурова Г. Ф, Миллер Ю. М., Беляев С. С., Иванов М. В. Интродукция *Clostridium tyrobutyricum* и мелассы в нефтяной пласт Ромашкинского месторождения и влияние ее на развитие микробиологических процессов в пласте // Микробиология. – 1996. –Т. 65, № 3. – С. 403-408.

93 Altunina L. K., Kuvshinov V. A., Stasyeva L. A. Effect of in situ generated CO₂ and alkaline buffers on rheological properties of high viscosity oils // Progress in Mining and Oil Field Chem. Advances in Incremental Petroleum Production / Ed. by I. Lakatos. Akademiai Kiado. Budapest, - 2003. - Vol. 5, P. 123–132.

94 Беккер Р. Х., Гуторов Ю. А, Гареев А. М. Перспективы применения микробиологических методов повышения нефтеотдачи в условиях продуктивных коллекторов Урало-Поволжья // Нефтегазовое дело. – 2012. – Т 10, № 3, - С. 34-39.

95 Abass A. Olajire Review of ASP EOR (alkaline surfactant polymer enhanced oil recovery) technology in the petroleum industry: Prospects and challenges // Energy. – 2014. – Vol. 77. – P. 963-982.

96 Nazina T. N., Sokolova D. S., Grigoryan A. A. *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. – 2005. – Vol. 28. – P. 43-53.

97 Kumar A., Saw R. K., Mandal A. RSM optimization of oil-in-water microemulsion stabilized by synthesized zwitterionic surfactant and its properties evaluation for application in enhanced oil recovery // Chemical Engineering Research and Design. - 2019. - Vol. 147, No. 6. - P. 399-411.

98 Le J., Wu X., Wang R., Zhang J., Bai L., Hou Z. Progress in pilot testing of microbial-enhanced oil recovery in the Daqing oilfield of north China // International Biodeterioration & Biodegradation. - 2015. - Vol. 97. - P. 188-194.

99 Zhu X., Cui J., Feng Y. et al. Metabolic adaption of ethanol-tolerant *Clostridium thermocellum* // PLoS ONE. – 2013. – V. 8, - P. E70631.

- 100 Joshi S., Yadav S., Nerurkar A. et al. Biosurfactant production using molasses and whey under thermophilic conditions // J Microbiol Biotech. – 2007. - №17. - P. 313-319.
- 101 Rodrigues L. R., Teixeira J. A., Oliveira R. Low-cost fermentative medium for biosurfactant production by probiotic bacteria // Biochem Eng J. – 2006. - №32. – P. 135-142.
- 102 Makkar R. S., Cameotra S. S. Biosurfactant production by microorganisms on unconventional carbon sources // Journal of Surfactant and Detergent. – 1999. - №2. - P. 237-241.
- 103 Ибрагимов Р. К., Молодцов С. Д., Зиннурова О. В., Баранов Д. В., Ибрагимова Д. А., Валиуллин А. Э., Петрова А. Н. Микробиологические методы увеличения добычи нефти // Вестник технологического университета. – 2016. – Т.19, №24. – С. 34-39.
- 104 Сабахова Г. И., Рафикова К. Р., Хисаметдинов М. Р., Нуриев Д. В., Зарипов А. Т. Зарубежный опыт применения методов увеличения нефтеотдачи // Нефть. Газ. Новации. – 2015. – № 4. – С. 24–30.
- 105 Практикум по микробиологии / Под. ред. А. И. Нетрусов. – М.: Академия, 2005. – 604 с.
- 106 Gao C. H., Zekri A. Applications of Microbial-Enhanced Oil Recovery Technology in the Past Decade // Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects. – 2011. – Vol. 33, №10. – P. 972-989.
- 107 Градова Н. Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии. – М.: ДеЛи принт, 2004. – 144 с.
- 108 Донченко Л. В., Фирсов Г. Г. Пектин основные свойства, производство и применение. – Москва: ДеЛи принт, 2007. – 276 с.
- 109 Химическая энциклопедия. Том 1. М.: Изд-во «Большая Российская энциклопедия», 1992. - 21
- 110 Алябьев В. Н. Нефть. – М.:1989. – 154 с.
- 111 Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под. ред. Н.С. Егоров. – М.: МГУ, 1995. — 224 с.
- 112 Веслополова Е. Ф. Микрометод определения численности колониеобразующих микроорганизмов // Микробиология. 1995. Т. 64. №2. С. 279–284.
- 113 Практикум по микробиологии / Под. ред. Н.С. Егоров– М.: Изд-во Моск. ун-та, 1976. – 307 с.
- 114 Грицкевич Е. Р. и др. Лабораторный практикум по микробиологии. – Минск: ИВЦ Минфина, 2017. – 113 с.
- 115 Практикум по микробиологии / Под. ред. Е. З. Теппер– М.: Изд. «Дрофа», 2004. – 256 с.
- 116 Определитель бактерий Берджи: В 2 т. / Под ред. Хоулта Дж. и др. – М.: Мир, – 1997. – 305 с.
- 117 Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ, Наука, 2004. – 528 с.

118 Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований / Под. ред. А. С. Лабинская. Санкт-Петербург: Лань, 2021. – 588 с.

119 Ланчини Д., Паренти Ф. Антибиотики. – М.: Мир, 1985. – 272 с.

120 Wilson, K. Preparation of Genomic DNA from Bacteria // Current Protocols in Molecular Biology. – 2001. – Vol. 56, № 1. – P. 2.4.1–2.4.5.

121 Clayton R. A., Sutton G., Hinkle P. S., Bult Jr. C., Fields C. Intraspecific variation in small-subunit rRNA sequences in GenBank: why single sequences may not adequately represent prokaryotic taxa // International Journal of Systematic Bacteriology. – 1995. – Vol. 45. – P.595–599.

122 Zhang Q., Kennon R., Koza M. A., Hulten K., Clarridge III J. E. Pseudoepidemic due to a unique strain of *Mycobacterium szulgai*: genotypic, phenotypic, and epidemiological analysis // Journal of Clinical Microbiology. – 2002. – Vol. 40. – P. 1134–1139.

123 Clarridge III J. E. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases // Clinical Microbiology Reviews. – 2004. – Vol. 17. – P. 840–862.

124 Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Mol Biol Evol. – 2018. – Vol. 35, №6. – P.1547-1549.

125 Afshan Hina et. al. Isolation and Molecular Characterization of Biosurfactant-Producing Bacterial Diversity of Fimkassar Oil Field, Pakistan // Arab J Sci Eng. – 2017. – Vol. 42. – P. 2349–2359.

126 Alexis Bazire, Alain Dufour. The *Pseudomonas aeruginosa rhlG* and *rhlAB* genes are inversely regulated and *RhlG* is not required for rhamnolipid synthesis // - 2014. – Vol. 14, №1. – P.160.

127 Roger A. et. al. Detection of *rhlAB*, *rhlR* and *rhlR* genes in *Pseudomonas aeruginosa* natives overproducers of rhamnolipids // Revista peruana de biología. – 2017. – Vol. 24, №3. – P. 293 – 302.

128 Madslie E. H., Rønning H. T., Lindbäck T., Hassel B., Andersson M. A., Granum P. E. Lichenysin is produced by most *Bacillus licheniformis* strains // J. Appl. Microbiol. – 2013. – Vol.115, №4. – P.1068-1080.

129 Cooper D. G., Goldenberg B. G. Surface-active agent from two *Bacillus* species. // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – Vol. 53, № 2. – P. 224-229.

130 Hayward A.C. Detection of gas production from glucose by heterofermentative lactic acid bacteria // J Gen Microbiol. – 1957. – Vol. 16, №1. – P. 9-15.

131 Электроаналитические методы. Теория и практика: Пер. с англ. / Под ред. Ф. Шольца. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. — 326 с.

132 Almeida VR, Szpoganicz B, Bonneville S. Potentiometric titration and out-of-equilibrium pH response of the biotite water system // J Braz Chem Soc. – 2015. – Vol. 26, №9. – P. 1848-1860.

133 <https://docs.cntd.ru/document/1200019501>

- 134 <https://docs.cntd.ru/document/1200012556>
- 135 <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293739/4293739488.pdf>
- 136 <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293739/4293739431.htm>
- 137 <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293739/4293739357.htm>
- 138 Практикум по дисциплине «Физико-химические методы исследования» – Физико-химические методы исследования / сост. А.И. Гончаров. – М.: ФГБОУ ВПО «РЭУ им. Г. В. Плеханова», 2012. – 55 с.
- 139 Характеристика цифровой спектрофотометрии. <https://enciklopediya-tehniki.ru/cifrovoy-spektrofotometr.html> (дата обращения: 28.03.2021)
- 140 Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк., 1968. – 287 с.
- 141 Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. – М.: Высш. шк., 1973. – 320 с.
- 142 Лебедев Н.А. и др. Перспективы развития микробиологических технологий в XXI веке // Нефтяное хозяйство России. - 2000. - № 11. -С. 7-11.
- 143 Назина Т. М., Турова Т. П., Полтараус А. Б., Новикова Е. В., Иванова А. Е., Григорян А. А., Лысенко А. М., Беляев С. С. Физиологическое и филогенетическое разнообразие термофильных спорообразующих углеводородокисляющих бактерий из нефтяных пластов // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 1. – С. 113-119.
- 144 Назина Т. М., Иванова А. Е., Ивойлов В.С., Миллер Ю. М., Ибатуллин Р. Р., Беляев С. С. Микробиологическое и геохимическое характеристика карбонатных нефтяных коллекторов Татарии // Микробиология. – 1998. – Т. 67, №5. – С. 694-700.
- 145 Кайырманова Г. К., Дарменкулова Ж. Б., Тапешова Ш. Ж. Изучение микрофлоры нефтепластовых вод месторождения «Акинген» Западного Казахстана // XXXV Международной конференции «Развитие науки в XXI веке» г.Харьков, Украина. 16 мая, - 2018. 2ч. - с.44-48.
- 146 Кайырманова Г. К., Дарменкулова Ж. Б., Жубанова А. А., Ерназарова А.К., Жабасова Г. К., Тапешова Ш. Ж. Изучение микрофлоры нефтепластовых вод месторождений Западного Казахстана // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2017. – №3 (72). – С. 104-113.
- 147 Дәрменқұлова Ж.Б., Қайырманова Г.Қ., Ерназарова А.К Жабасова Г. «Жетібай» мұнай кен орнының мұнай пласт суларының физика-химиялық және микробиологиялық сипаттамасы // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биотехнологии, экологии и физико-химической биологии». Алматы, «Қазақ университеті». – 2017. – С. 53.
- 148 Тапешова Ш. Ж., Магмияев Р. Б. Маханова Г.С. Микробиологическая характеристика нефтепластовых вод // «Фараби әлемі» VI Халықаралық ғылыми конференция материалдары. 2-10 сәуір, 2019 ж. – Б. 276-277.
- 149 Громов Б. В. Экология бактерий. Л.: Изд-во ЛГУ, 1989. – 246 с.
- 150 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, Yuly, 28-30, Dalian.

151 Кайырманова Г. К., Ерназарова А. К., Тапешова Ш. Ж., Дарменкулова Ж. Б., Магмияев Р. Б., Жубанова А. А. Биоразнообразие термофильной микрофлоры нефтепластовых вод месторождения «Акинген» // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2018. - №4 (77). – С. 86-95.

152 Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / В. П. Широбокова Под редакцией. – Винница: Нова Книга, 2015. – 856 стр. С. 83.34

153 Amjad B. Khalil, N. Sivakumar, Muhammad Arslan, Hamna Saleem, Sami Qarawi. Insights into *Brevibacillus borstelensis* AK1 through Whole Genome Sequencing: A Thermophilic Bacterium Isolated from a Hot Spring in Saudi Arabia // BioMed Research International. – 2018. – Vol. 5. – P. 2-9.

154 Hosseininoosheri P, Lashgari H, Sepehrnoori K. A novel method to model and characterize in-situ bio-surfactant production in microbial enhanced oil recovery // Fuel. – 2016. – Vol. 183. – P. 501-511. Geize 2018

155 Sandra I, Sandra R. Global oil reserves – recovery factors leave vast target for EOR technologies // Oil and Gas Journal. – 2007. – Vol. 105, №41. – P. 44–47.

156 Симаев Ю. М. Использование биореагента для увеличения нефтеотдачи пластов // Интервал. – 2000. – Т. 4-5, №15-16. – С 4.

157 Kaiyrmanova G. K, Swiecicka I, Tapeshova Sh. Zh, Magmiyev R. B., Shaimerdenova U.T, Satayeva K.N, Yernazarova A. K. Screening of microorganisms with oil-liquefying and oil-displacing properties // Вестника КазНУ, серия экологическая. – 2020. - №2 (63). – С. 14-20.

158 Шаймерденова Ұ.Т., Магмияев Р. Б., Тапешова Ш. Ж., Ерназарова А.К., Кайырманова Г.К. Өндірістік пласт суларынан бөлініп алынған псевдомонадтардың мұнайэмульсиясықбелсенділігін зерттеу // Биоәртүрлілік және биотехнологиядағы өзекті мәселелер» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибиелік конференциясының материалдары. 1 қазан 2019 ж, - Б. 51-52.

159 Paula Yurkaris Bruice. Essential Organic Chemistry / Almaty – 2013. – 424. P 63-64.

160 Тапешова Ш. Ж., Магмияев Р. Б., Шаймерденова Ұ.Т., Ерназарова А.К., Кайырманова Г.К. Өңделген мұнай пласт суларының факультативті анаэробты микроорганизмдерінің мұнай ығыстырушы белсенділігін зерттеу // Биоәртүрлілік және биотехнологиядағы өзекті мәселелер» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибиелік конференциясының материалдары. 1 қазан 2019 ж, - Б. 54-55.

161 Amani H, Sarrafzadeh M, Haghghi M, Mehrnia M. Comparative study of biosurfactant producing bacteria in MEOR applications // Journal of Petroleum Science and Engineering. – 2010. – Vol. 75, №1-2. – P. 209-214.

162 Al-Sulaimani H, Al-Wahaibi Y, Al-Bahry S, Elshafie A, Al-Bemani A, Joshi S, Zargari S. Experimental investigation of biosurfactants produced by *Bacillus* species and their potential for MEOR in Omani oil field // SPE EOR Conference at Oil and Gas West Asia, OGWA - EOR Challenges, Experiences and Opportunities in the Middle East.: - 2010. № 11-13. – P. 378-386.

163 Wu Q, Zhang R, Peng S, Xu Y. Transcriptional characteristics associated with lichenysin biosynthesis in *Bacillus licheniformis* from Chinese Maotai-flavor liquor making // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2015. – Vol. 63, №3. – C. 888-893.

164 Desai J, Banat I. Microbial production of surfactants and their commercial potential // Microbiology and molecular biology reviews. MMBR. – 1997. – Vol. 61, №1. – P. 47-64.

165 Geetha, S.J., Banat, I.M., and Joshi, S.J. Biosurfactants: Production and potential applications in Microbial enhanced oil recovery (MEOR) // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. – 2018. – Vol. 14, – P. 23–32.

166 Gudiña E, Pereira J, Costa R, Coutinho J, Teixeira J, Rodrigues L. Biosurfactant-producing and oil-degrading *Bacillus subtilis* strains enhance oil recovery in laboratory sand-pack columns // Journal of Hazardous Materials. – 2013. – Vol. 261. – P.106-113.

167 Câmara J, Sousa M, Barros Neto E, Oliveira M. Application of rhamnolipid biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* in microbial-enhanced oil recovery (MEOR) // Journal of Petroleum Exploration and Production Technology. – 2019. – Vol. 9. – P. 2333–41.

168 Astuti D, Purwasena I, Putri R, Amaniyah M, Sugai Y. Screening and characterization of biosurfactant produced by *Pseudoxanthomonas* sp. G3 and its applicability for enhanced oil recovery // Journal of Petroleum Exploration and Production Technology. – 2019. – Vol. 9, №3. – P. 2279-2289.

169 Tavares L, Silva P, Junqueira M, Mariano D, Nogueira F, Domont G, Freire D, Neves B. Characterization of rhamnolipids produced by wild-type and engineered *Burkholderia kururiensis* // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2013. – Vol. 97, №5. – P. 1909-1921.

170 Abdel-Mawgoud A, Lépine F, Déziel E. Rhamnolipids: Diversity of structures, microbial origins and roles // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2010. – Vol. 86, №5. – P. 1323-36.

171 Alvarez V, Jurelevicius D, Marques J, de Souza P, de Araújo L, Barros T, de Souza R, Freire D, Seldin L. *Bacillus amyloliquefaciens* TSBSO 3.8, a biosurfactant-producing strain with biotechnological potential for microbial enhanced oil recovery // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. – 2015. – Vol. 136. – P. 14-21.

172 Phetcharat T, Dawkrajai P, Chitov T, Mhuantong W, Champreda V, Bovonsombut S. Biosurfactant-Producing Capability and Prediction of Functional Genes Potentially Beneficial to Microbial Enhanced Oil Recovery in Indigenous Bacterial Communities of an Onshore Oil Reservoir // Current Microbiology. – 2019. – Vol. 76, №3. – P. 382-391.

173 Zhu C, Xiao F, Qiu Y, Wang Q, He Z, Chen S. Lichenysin production is improved in codY null *Bacillus licheniformis* by addition of precursor amino acids // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2017. – Vol. 101, №16. – P. 6375-6383.

174 El-Sheshtawy H, Aiad I, Osman M, Abo-ELnasr A, Kobisy A. Production of biosurfactant from *Bacillus licheniformis* for microbial enhanced oil recovery and

inhibition the growth of sulfate reducing bacteria // Egyptian Journal of Petroleum. – 2015. – Vol. 24, №2. – P. 155-162.

175 Purwasena I, Astuti D, Syukron M, Amaniyah M, Sugai Y. Stability test of biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* DS1 using experimental design and its application for MEOR // Journal of Petroleum Science and Engineering. – 2019. – Vol. 183. – P.106383.

176 Liang X, Shi R, Radosevich M, Zhao F, Zhang Y, Han S, Zhang Y. Anaerobic lipopeptide biosurfactant production by an engineered bacterial strain for in situ microbial enhanced oil recovery // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7(33). – P. 20667-20676.

177 Qiu Y, Xiao F, Wei X, Wen Z, Chen S. Improvement of lichenysin production in *Bacillus licheniformis* by replacement of native promoter of lichenysin biosynthesis operon and medium optimization // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2014. – Vol. 98(21). – P. 8895-8903.

178 Jahanbani Veshareh, M., Ganji Azad, E., Deihimi, T., Niazi, A., & Ayatollahi, S. Isolation and screening of *Bacillus subtilis* MJ01 for MEOR application: biosurfactant characterization, production optimization and wetting effect on carbonate surfaces // Journal of Petroleum Exploration and Production Technology. – 2019. – Vol. 9, (1). – P. 233-245.

179 Al-Bahry S, Elshafie A, Al-Wahaibi Y, Al-Bemani A, Joshi S, Al-Lawati A. Isolation and Characterization of Biosurfactant/Biopolymer Producing Spore Forming Bacteria from Oil Contaminated Sites and Oil Field of Oman // APCBEE Procedia. – 2013. – Vol. 5. – P. 242-246.

180 Henkel M, Geissler M, Weggenmann F, Hausmann R. Production of microbial biosurfactants: Status quo of rhamnolipid and surfactin towards large-scale production // Biotechnology Journal. – 2017. – Vol. 12 (7).

181 Sabturani N, Latif J, Radiman S, Hamzah A. Analisis spektroskopik rhamnolipid yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* UKMP14T // Malaysian Journal of Analytical Science. – 2016. – Vol. 20(1). – P. 31-43.

182 Sharma R, Singh J, Verma N. Optimization of rhamnolipid production from *Pseudomonas aeruginosa* PBS towards application for microbial enhanced oil recovery // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 20.

183 Müller, M.M.; Hausmann, R. Regulatory and metabolic network of rhamnolipid biosynthesis: traditional and advanced engineering towards biotechnological production // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – Vol. 91. – P. 251–264.

184 Cui Q, Sun S, Luo Y, Yu L, Zhang Z. Comparison of in-situ and ex-situ microbial enhanced oil recovery by strain *Pseudomonas aeruginosa* WJ-1 in laboratory sand-pack columns // Petroleum. Science and Technology. – 2017. – Vol. 35(21). – P. 2044-2050.

185 Zhao F, Li P, Guo C, Shi R, Zhang Y. Bioaugmentation of oil reservoir indigenous *Pseudomonas aeruginosa* to enhance oil recovery through in-situ

biosurfactant production without air injection // *Bioresource Technology*. – 2018. – Vol. 251. – P. 295-302.

186 Zhao F, Shi R, Cui Q, Han S, Dong H, Zhang Y. Biosurfactant production under diverse conditions by two kinds of biosurfactant-producing bacteria for microbial enhanced oil recovery // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. – 2017. – Vol. 157. – P.124-130.

187 Fernandes P. L, Rodrigues E. M, Paiva F. R et al. Biosurfactant, solvents and polymer production by *Bacillus subtilis* RI4914 and their application for enhanced oil recovery // *Fuel*. – 2016. – Vol. 180. – P. 551–557.

188 Магмияев Р.Б., Ерназарова А.К., Кайырманова Г.К., Тапешова Ш.Ж., Шаймерденова Ұ.Т., Сатаева К.Н. Антагонистические свойства бактерий р. *Pseudomonas*, выделенные из производственных нефтепластовых вод // «Биоәртүрлілік және биотехнологиядағы өзекті мәселелер» атты Халықаралық ғылыми-тәжірибиелік конференциясының материалдары. 1 қазан 2019 ж, - Б. 57-58.

189 Lertcanawanichakul, M., Sawangnop, S. A. Comparison of Two Methods Used for Measuring the Antagonistic Activity of Bacillus Species // *Walailak J Sci & Tech*. – 2008. – Vol. 5, №2. P. 161-71.

190 Жданова О. С., Красноженов Е. П., Соснин Э. А., Гудкова Л. В., Грицута А. В., Протас И. М., Ефиц А. В. Антибиотикорезистентность штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с разной способностью к синтезу пиоцианина // *Альманах клинической медицины*. – 2013. - № 28. – С. 13-17.

191 Веремеенко Е.Г., Максимова Н.П. Механизмы устойчивости бактерий *Pseudomonas aeruginosa* – продуцентов феназиновых антибиотиков к собственным феназином // *Труды Белорусского Государственного Университета*. – 2009. – Т. 4. – № 1. – С. 161-167.

192 Rabaey K., Boon N., Hofte M., Yverstraete W. Microbial phenazine production enhances electron transfer in biofuel cells // *Environ. Sci. Technol*. – 2005. – V. 39. – P. 3401–3408.

193 Kayirmanova G., Shaimerdenova U., Tapeshova Sh., Magmiyaev R., Yernazarova A. Biological effectiveness of constructed consortia in MEOR // *Journal of Environmental Management and Tourism*. – 2020. – Vol. 11, N. 5 (45). – P. 1222-1230.

194 Dhanarajan G, Rangarajan V, Bandi C, Dixit A, Das S, Ale K, Sen R. Biosurfactant-biopolymer driven microbial enhanced oil recovery (MEOR) and its optimization by an ANN-GA hybrid technique // *Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol. 256. – P. 46-56.

195 Halim A, Shapiro A, Lantz AE, Nielsen SM. Experimental study of bacterial penetration into chalk rock: mechanisms and effect on permeability // *Transp Porous Media*. – 2014. – Vol. 101(1). – P. 1–15.

196 Gao P, Li G, Dai X, Dai L, Wang H, Zhao L, Chen Y, Ma T. Nutrients and oxygen alter reservoir biochemical characters and enhance oil recovery during

biostimulation // World J Microbiol Biotechnol. – 2013. – Vol. 29(11), – P. 2045–2054.

197 Shibulal B., Al – Bahry S. N., Al – Wahaibi Y. M., Elshafie A. E., Al – Bemani A. S., Joshi S. J. Microbial enhanced heavy oil recovery by the aid of inhabitant spore- forming bacteria: an insight review // Sci. World J. – 2014. – Vol. 12. – P. 342-356.

198 da Silva M, Soares H, Furigo A, Schmidell W, Corseuil H. Effects of Nitrate Injection on Microbial Enhanced Oil Recovery and Oilfield Reservoir Souring // Applied Biochemistry and Biotechnology – 2014. – Vol. 174(5). – P. 1810-1821.

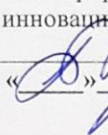
199 Borah D, Yadav R. Bioremediation of petroleum based contaminants with biosurfactant produced by a newly isolated petroleum oil degrading bacterial strain // Egyptian Journal of Petroleum. – 2017. – Vol. 26(1). – P. 81-188.

200 Wagner M, Lungershausen D, Murtada H, Rosenthal G. Development and application of a new biotechnology of the molasses in-situ method; detailed evaluation for selected wells in the Romashkino carbonate reservoir // In: Proceeding of Fifth International Conference on Microbial Enhanced Oil Recovery and Related Biotechnology for Solving Environmental Problems, BDM-Oklahoma, Tulsa, - 1995. – P. 153–173.

ҚОСЫМША А


МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АЛЬ-ФАРАБИ

СОГЛАСОВАНО

И. о. проректора по научно -
инновационной деятельности
Рамазанов Т.С.
«» 2020 г.



ТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе,
Президент комиссии
Хикметов А.К.
«» 2020 г.

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы в учебный процесс

Комиссия Казахского национального университета имени аль-Фараби в составе: председатель: Хикметов А.К. - проректор по учебной работе; члены: директор департамента по академическим вопросам Мухитдинова Т.М., директор департамента по науке и инновационной деятельности Мухамбетжанов С.К., декан факультета биологии и биотехнологии Заядан Б.К., председатель методбюро факультета биологии и биотехнологии Юрикова О. Ю., заведующий кафедрой биотехнологии Кистаубаева А.С. составили настоящий акт о том, что в 2019/2020 учебном году на кафедре биотехнологии внедрены результаты научно-исследовательской работы к.б.н., доцентов каф. биотехнологии - Г.К. Кайырмановой, А.К. Ерназаровой и PhD докторанта Ш.Ж. Тапешовой по теме диссертации «Биологические свойства и нефтеразжижающий потенциал микроорганизмов пластовых вод месторождения «Акинген» в учебный процесс. Научные результаты выполнены в рамках проекта АР 05134797 «Создание технологической схемы проведения повышения нефтеотдачи пластов микробиологическим методом» (№ госрегистрации 188РК00166), целью которого явилось создание биотехнологии повышения нефтеотдачи пластов на основе нефтеразжижающих и нефтewытесняющих свойств микроорганизмов.

№ п/п	Форма внедрения (наименование нового курса, спецкурса, раздела лекций, лаб. Работы, установки, учебные пособия и т.п.); курс, специальность	Объем внедрения (количество работ, лекционных и лабораторных часов)	Краткое содержание внедренной работы
1	Внедрение в курс: «Микробные препараты и продукты восстановления экосистем», 2 курс по специальности «6М070100-Биотехнология» результатов исследования по теме диссертации «Биологические свойства и нефтеразжижающий	Модуль 1. Лекция 3. Загрязнение окружающей среды антропогенного происхождения (1 час). Модуль 2. Практическое занятие 4. Состав и свойства нефти и ее фракций (1 час). Лекция 6. Самоочищение природной среды (1 час).	Рассмотрены антропогенные виды загрязнения окружающей среды, образующиеся при современных способах нефтедобычи, виды отходов нефтедобычи – буровые растворы, нефтешламы. Внедрены полученные научные результаты изучения

	потенциал микроорганизмов пластовых месторождения «Акинген»	вод	Практическое занятие 7. Микроорганизмы-деструкторы для процессов биоремедиации (1 час).	биологических свойств аборигенных микроорганизмов нефтепластов, в частности рассмотрены нефтевытесняющие и нефтеразжижающие свойства микроорганизмов.
--	---	-----	---	---

Материалы к настоящему акту рассмотрены на заседании методического бюро факультета биологии и биотехнологии (протокол № 9 от 30 октября 2020 г.)

Члены комиссии:

директор департамента по академическим вопросам

Мухитдинова Т.М.

директор департамента по науке и инновационной деятельности

Мухамбетжанов С.К.

декан факультета биологии и биотехнологии

Заядан Б.К.

председатель методического бюро факультета биологии и биотехнологии

Юрикова О. Ю.

заведующий кафедрой биотехнологии

Кистаубаева А.С.

ҚОСЫМША Ә

Сынама алу

АКТІСІ

микробиологиялық көрсеткіштерді анықтау үшін

Мұнай пласт сулары сынама үлгісі ретінде «Ақінген» мұнай кен орнынан (Атырау облысы, Құлсары қаласы) мұнай пласт сулары үлгісі алынды (26.02.2018 ж).

Құлсары қаласынан 40 км қашықтықта орналасқан «Ақінген» мұнай кен орнының мұнай пласт сулары кен орны бұрғылауынан 660-682 м және 927 м тереңдіктен стерильденген ыдысқа 5000 мл. көлемінде алынды.

Үлгілер шағын салқындатқыш камерада +4⁰С +6⁰С сақталып, тасымалданды.

№ р/н	Сынама алу мерзімі	Пласт сулары	Көлемі, л
1	26.02.2018 ж.	Мұнай пласт сулары	5

Үлгі алғандар:

Главный геолог ТОО «Атыраумунай»



Бекарыстанов К

Х. Досмұхамедов атындағы

Атырау мемлекеттік университеті

Биология және ауылшаруашылық пәндер

кафедрасының аға оқытушысы, б.ғ.к

Г.Б. Аталихова

әл-Фараби атындағы ҚазҰУ

6D060700-Биология мамандығының

1 курс докторанты



Ш.Ж. Тапешова

<i>Г.Б. Аталихованың</i>	
КОЛДАРЫН РАСТАЙМЫН	
Персоналды басқару және дамыту бөлімінің	
бастығы	<i>А. Кафты</i>
«28» 03	2018ж.



