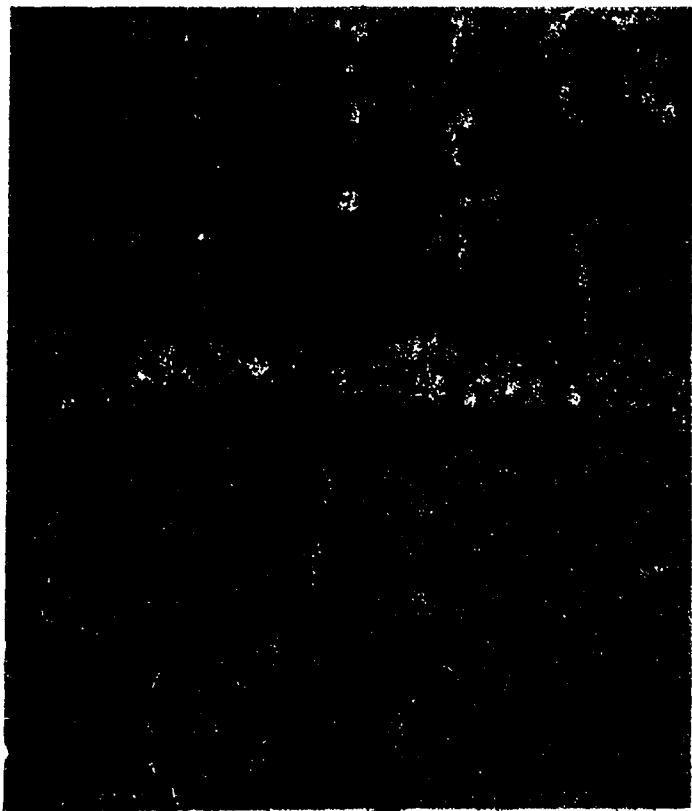


Е. П. РОЗАНОВА, С. И. КУЗНЕЦОВ

*МИКРОФЛОРА
НЕФТЯНЫХ
МЕСТОРОЖДЕНИЙ*



АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

Е. П. РОЗАНОВА, С. И. КУЗНЕЦОВ

*МИКРОФЛОРА
НЕФТЯНЫХ
МЕСТОРОЖДЕНИЙ*

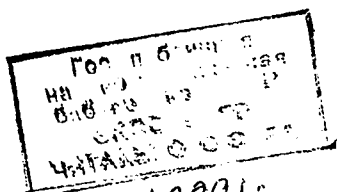


Издательство «Наука»

Москва

1974

ДН
27747



74-18894

Микрофлора нефтяных месторождений. Розанова Е. П.,
Кузнецов С. И. М., «Наука», 1974 г., стр. 1—197.

В книге рассматриваются материалы советских и зарубежных авторов, а также приводятся собственные исследования по распространению и видовому составу микроорганизмов в месторождениях нефти и битумов в связи со степенью водообменности пластов. Впервые широко освещена геохимическая деятельность микроорганизмов в эксплуатирующихся месторождениях. Процессы преобразования нефти и битумов в залежах характеризуются с точки зрения биохимических механизмов окисления углеводородов. Книга рассчитана на широкий круг микробиологов, а также на геологов, геохимиков и нефтяников.

Илл. 29, табл. 46, библи. 19 стр.

Предисловие

Нефтяная микробиология как отрасль общей микробиологии занимается изучением проблем, связанных с преобразованием микроорганизмами углеводов нефтяного ряда.

Одним из самых ранних исследований по обнаружению микроорганизмов в нефтяных пластах является работа Шейко (1901). Начало развития нефтяной микробиологии относится к 30-м годам нашего столетия и приурочивается к появлению работ Гинзбург-Карагичевой (1926) и Бастина (Bastin, 1926), обнаруживших присутствие сульфатовосстанавливающих бактерий в нефтяных пластах. Большой вклад в изучение распространения микроорганизмов в нефтяных месторождениях внесли советские ученые. Среди первых исследователей можно назвать Рейнфельд (1933а, б), Малышка с соавторами (1935), Малиянец (1935), Исаченко (1939). В 40-х годах работы по исследованию роли микроорганизмов в жизни нефтяных пластов развертываются в Америке при участии Зобелла (Zo Bell, 1946а, 1947). С 50-х годов во многих странах расширяется изучение биохимических путей воздействия микроорганизмов на углеводороды. Появляется перспектива промышленного получения ряда ценных продуктов из углеводородов при микробиологическом воздействии. К настоящему времени работы в этой области получили большое распространение. Обзоры этих исследований в хронологическом плане представлены у Бирштехера (1957) и Дэвиса (Davis, 1967). Вопрос о микрофлоре нефтяных месторождений оставался относительно малоизученным.

В последние десятилетия исследования, касающиеся распространения видового состава бактерий месторождений битумов нефтяного ряда и их геохимической деятельности, наиболее широко

проводились в Советском Союзе. Представленная монография имеет целью обобщение этих работ в свете современных достижений биохимии в области окисления углеводов.

Залежи нефти, горючих газов и твердых битумов тесно связаны между собой. Часто все эти компоненты углеводов встречаются в одном и том же месторождении. При выходе нефтяного пласта на дневную поверхность процессы трансформации углеводов и их окисление усиливаются. Таким образом, под месторождениями нефти, газа и битумов мы понимаем не только продуктивный пласт, но и все вышележащие слои осадочных пород, в той или иной мере обогащенные углеводородами. Отсюда следует и более широкое понятие микрофлоры нефтяных месторождений — это микрофлора нефтяного пласта и всей толщи пород, так или иначе с ним связанных.

Подходя к изучению микрофлоры нефтяных месторождений с экологической точки зрения, мы считали необходимым привести не только численность и видовой состав микроорганизмов, но и дать сведения по их физиологии, биохимии и экологической характеристике окружающей среды.

Среда обитания микроорганизмов, развивающихся в углеводородных залежах

Залежи нефти, газа и битумов встречаются в различных геологических условиях начиная с больших глубин и до выхода на дневную поверхность. Также велики различия в солевом составе пластовых вод, аэробности окружающей среды, температуре пород месторождения, водообменности и других условиях, не говоря уже о разнице отдельных компонентов, входящих в состав нефти. Совокупность этих факторов, составляющая экологическую обстановку, влияет на видовой состав микрофлоры и пределы ее распространения в конкретных геологических условиях. Одним из важнейших факторов экологической обстановки служит характер самих углеводородов в залежи.

Происхождение нефти и формирование залежей

Альтовский и соавторы (1958) пишут, что происхождение нефти и образование нефтяных залежей относятся к одной из самых сложных проблем геологии. В самом деле, до сих пор различные исследователи расходятся во мнении по основному принципиальному вопросу о происхождении нефти и прежде всего о ее исходном материале.

Апологет биогенного происхождения нефти Вассоевич (1971) считает, что нефтеобразование, в общих чертах, это длительный и сложный процесс, который начинается еще в самих организмах, синтезирующих предшественников нефтяных углеводородов и другие соединения, входящие в состав нефти. Нефть же представляет собой продукт литогенеза — жидкие гидрофобные продукты фоссилизации органического вещества.

Сторонники биогенного происхождения нефти к нефтепроизводящим свитам относят отложения морских или континентальных осадков. Большинство исследователей за исходное органическое вещество принимают материал морских осадков.

Противоположной точки зрения придерживается Кудрявцев (1971). Он считает, что в условиях очень высокой температуры в мантии Земли из углерода и водорода образуются углеродные ра-

дикалы, подобные CN , CN_2 , CN_3 . Вследствие перепада давления они перемещаются в зоны глубинных разломов, а уже по ним — ближе к поверхности. В менее нагретых участках углеродные радикалы начинают соединяться между собой и с водородом, образуя различные нефтяные углеводороды. К ним присоединяются другие углеводороды, сформировавшиеся из окиси углерода и водорода и из карбидов различных металлов по реакциям, известным в промышленности, что и обуславливает чрезвычайное разнообразие смеси углеводородов, составляющих природную нефть. Образовавшаяся нефть в дальнейшем передвигается вместе с водой и попадает в ловушки, возникающие в проницаемых породах осадочного покрова Земли. В качестве фактов, ставящих под сомнение биогенное происхождение нефти, Кудрявцев приводит наличие нефти в жилах изверженных пород и в горячих фумарольных источниках в кальдере вулкана Узон на Камчатке, встречаемость нефтяных углеводородов в трещинах пород мантии на дне Индийского океана и в кристаллических породах в отдельных рудниках. Кроме того, в пользу неорганической теории происхождения углеводородов, по мнению автора, говорит приуроченность ареалов нефтеносности к тем участкам земной коры, в которых развиты глубинные разломы.

С нашей точки зрения, происхождение основной массы нефтяных углеводородов из органического материала не исключает возможность их химического синтеза в глубинах Земли. Однако в кристаллических породах пока не обнаружено значительных скоплений углеводородов.

Основная масса углеводородов, собранных в залежи, распространена в осадочных отложениях. Наличие глубинных разломов является необходимым условием формирования нефтяных залежей и в случае происхождения нефти из органического материала (Кротова, 1957; Гаврилов, 1970).

Формирование скоплений углеводородов — залежей нефти и газа — вызывается миграцией рассеянных флюидов с током подземных вод в ловушки проницаемых пород осадочного чехла. Согласно Игнатовичу (1945), сохранению и накоплению нефтяных залежей способствовала закрытая циркуляция воды в недрах осадочных отложений, сменявшаяся условиями застойного режима.

Альтовский, Кузнецова и Швец (1958), разработавшие гидрогеологическую гипотезу происхождения нефти из наземной растительности, рассматривают вопрос о том, в каком физическом состоянии мигрируют рассеянные компоненты нефти, и допускают 10 различных вариантов. Они приходят к выводу, что накопление исходных веществ нефти, их превращение и дальнейшая миграция нефти возможны лишь в медленно двигающейся жидкой среде. Физическое состояние отдельных компонентов нефти должно соответствовать температуре и давлению данной геотермической зоны.

Отсюда следует, что газовые компоненты нефти мигрируют главным образом в растворенном, а жидкие — в диспергированном и частично в растворенном состоянии, образуя водную эмульсию.

По мнению указанных авторов, в той или иной части водоносного слоя жидкие и газообразные компоненты нефти образуют неустойчивую эмульсию, которая, как только появятся внешние стимулы, стремится к разделению.

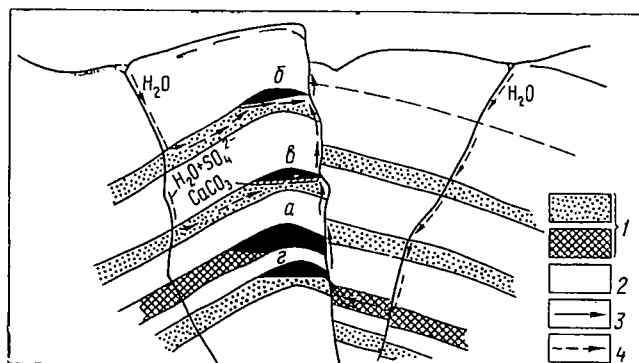


Рис. 1. Залежи нефти разного типа

а — пласт, закупоренный нефтью и газом; *б* — залежь, экранированная водонепроницаемыми породами; *в* — коллектор, запечатанный вторичным кальцитом; *г* — открытая залежь; 1 — нефтепроводящие породы; 2 — водонепроницаемые породы; 3 — ток нефти (черная штриховка — нефтенасыщенные породы); 4 — ток воды

При медленном течении подземных вод нефть и растворенные в ней газы в силу разности удельных весов могут разделяться и отставать от движения подземных вод или даже перемещаться в обратном направлении.

Как считают геологи, одним из наиболее важных факторов, ведущих к образованию нефтяных залежей в куполообразных структурах, являются тектонические складчатые движения, когда гидростатическое давление сменяется гидродинамическим. При этом области повышенных давлений совпадают с крыльями складок, а пониженных — со сводами образующихся структур. Сюда с подземными водами устремляются и водонефтяные эмульсии. Разделению эмульсии способствуют движения пластов, возникающие при образовании складчатости, и понижение давления. При разделении эмульсии происходит выделение газов и нефти, а в дальнейшем падает и насыщенность нефти водой. Когда насыщенность эмульсии близка к 20%, нефть и газ свободно фильтруются в верхнюю часть свода, постепенно образуя все увеличивающиеся в размерах шапки.

В зависимости от мощности пласта и количества выделившихся нефти и газа свод может полностью закупориться. При этом движение всех трех компонентов смеси вблизи нефтяной залежи прекращается. Закупоривание в основном происходит за счет выделившихся газов, образующих в порах породы газовые пробки (рис. 1, а). Закупоривание пласта и связанное с этим отстаивание водонефтяной эмульсии могут происходить в результате и двух других процессов, а именно экранирования и запечатывания кальцитом. Экранирование залежей возникает при смещении пластов в результате дилзьюнктивных нарушений, когда пористые пласты замыкаются глинистыми (рис. 1, б). Изолирование газонефтяной залежи от пластовых вод, продвигающихся по пласту, может происходить в результате отложения вторичного кальцита на границе водонефтяного контакта (рис. 1, в).

Водопроницаемыми породами, служащими коллекторами нефти и газа, являются известняки морских отложений и песчанистые породы терригенных отложений. Проницаемость первых обусловлена степенью их нарушенности, трещиноватостью, кавернозностью. Во втором случае та или иная проницаемость пород связана с их плотностью и пористостью. Водоупорами служат глинистые отложения, гипсоангидритовые и галогенные толщи (Кротова, 1957; Карцев, 1963).

Состав сырой нефти

Одним из важнейших факторов, обуславливающих развитие микроорганизмов в нефтяном месторождении, является органическое вещество самой нефти. В настоящее время стало известно, что все органические вещества разрушаются микроорганизмами при благоприятных условиях более или менее быстро.

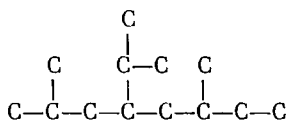
Сырые нефти по своему составу весьма различны, но качественно состоят из углеводородов и гетероциклических соединений, содержащих кислород, серу, азот и микроэлементы. Соотношение отдельных компонентов в нефти приведено у Вассоевича (1971). Углеводороды относятся к парафиновому ряду (алканы), циклопарафинам, или нафтенам и ароматическим углеводородам, или аренам. Например, сырые нефти Пенсильвании состоят почти из одних углеводородов, преимущественно из *n*-парафинов, содержание которых достигает 90—95%. В противоположность этому нефти Калифорнии и Мексики лишь на 50% состоят из углеводородов, а остальные 50% — неуглеводородные компоненты, классифицируемые асфальтенами. Минусинская нефть состоит исключительно из парафинов.

Углеродная цепочка нефтяных парафинов может содержать до 30 углеродных атомов, причем в нефтях парафинового основания — бориславской, грозненской парафинистой — преобладают *n*-парафины или изопарафины с небольшими боковыми ветвями (Сергеевко, 1964). Как указывает Майншейн (Meinschein, 1959),

несмотря на то что теоретически возможны громадные количества изомеров парафиновых углеводородов, в нефти их содержится удивительно мало. Схематически строение разветвленных алканов может быть представлено следующим образом:

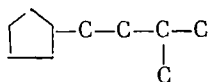


Нормальные парафины

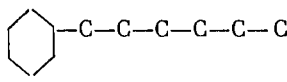


Изопарафины

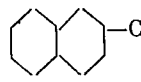
Согласно Сергеенко (1964), степень разветвленности парафинов растет с увеличением молекулярного веса. Больше разветвленных структур обнаруживается в нефтях парафинового основания — эмбенской, небит-дагской. Циклопарафины сырой нефти относятся к рядам циклопентана и циклогексана, а некоторые из них имеют боковые цепи из алкилов. Нафтеновые углеводороды, содержащие более 13 атомов углерода, имеют би- и полициклические ядра. Из низкокипящих фракций сырой нефти Понка-Сити было выделено около 40 гомологов циклопентана и циклогексана. Высококипящие фракции содержали моно-, би- и трициклические циклопарафины с более длинной боковой алкильной цепочкой.



Алкил-циклопентан

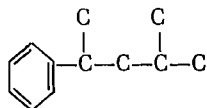


Алкил-циклогексан

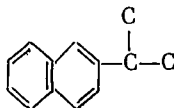


Конденсированный нафтен

Следующий важный тип углеводородов нефти представляют ароматические углеводороды, которые обычно встречаются в меньших количествах, чем алканы и циклопарафины. Примером могут служить бензол, толуол, этилбензол и изомеры ксилола. В бензиновой части нефти доказано присутствие замещенных соединений бензола, содержащих до 10 атомов углерода включительно. В керосиновой части появляются гомологи нафталина. Высококонденсированные ароматические кольца присутствуют в нефтях в очень небольших концентрациях (Сергеенко, 1964). Из сырой нефти Понка-Сити Россини и его сотрудники (Rossini et al., 1953) выделили 36 ароматических углеводородов низко- и среднекипящих фракций. В более высококипящих фракциях были обнаружены гомологи бензола и нафталина.

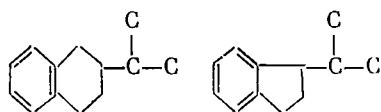


Алкил-бензол



Алкил-нафталин

Как указано у Сергеевко (1964), высокомолекулярные соединения с числом атомов углерода выше 30 представлены в нефти гибридными формами. Эти углеводороды составляют от 20 до 50% нефти. В парафино-нафтеновых нефтях среди углеводородов этого типа преобладают парафин-циклопарафиновые структуры. В нафтеново-ароматических нефтях в состав молекул гибридного типа входят парафиновые цепочки, циклопарафиновые кольца и ароматические ядра. Процентное содержание ароматических и циклопарафиновых колец и алкильных цепей, присоединенных к кольцу, используется для характеристики этих высококипящих соединений.

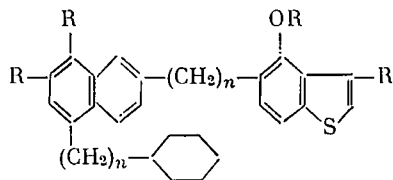


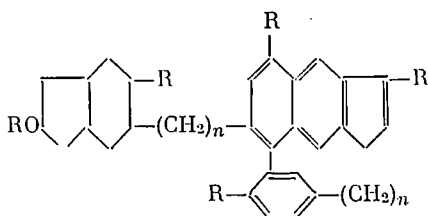
Алкил-тетралин Алкил-декалин

С точки зрения биологического или органического происхождения нефти, к наиболее важным составным частям сырой нефти следует причислить соединения, содержащие кислород, серу, азот, и соединения, обогащенные микроэлементами.

Смолисто-асфальтовые вещества (Сергеевко, 1964) являются неуглеводородными компонентами нефти и наиболее высокомолекулярными. Это гетероорганические соединения, в состав которых как постоянные элементы входят углерод, водород, кислород, часто сера, азот и металлы. Углеродный скелет смол составляет 80—95% молекулы. В строении его решающую роль играют конденсированные циклические структурные системы (ароматические, ароматико-циклопарафиновые и ароматико-циклопарафино-гетероциклические). Структуры наиболее полициклических высокомолекулярных углеводородов нефти и углеводородного скелета молекул смол близки между собой, удельный вес смол близок к единице. Большую часть нефтяных смол составляют химически нейтральные вещества, меньшую — вещества кислого характера. Содержание активных кислородных группировок в смолах мало.

Найдены группировки —C=O и —C—O—C— , карбоксильные группы встречаются редко. Примером молекул смол являются:



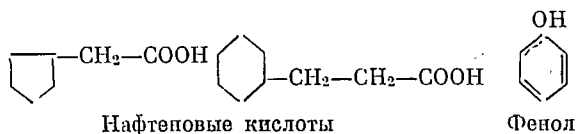


Генетическая связь смол и асфальтенов с углеводородами выражается схемой: углеводороды → смолы → асфальтены. Переход к асфальтенам сопровождается дальнейшим повышением числа атомов углерода ароматической природы и увеличением степени конденсированности циклических систем. Асфальтены находятся в нефтях в виде истинных или коллоидных растворов.

Согласно Наметкину (1955) и Сергеенко (1964), большую часть кислородсодержащих соединений нефти составляют нафтеновые кислоты типа $C_nH_{2n}O_2$. Преобладают кислоты с ядрами циклопентана и циклогексана, карбоксильная группа отделена одной или несколькими группами CH_2 — циклопентануксусная, циклогексанпропионовая и т. д. Так же как и нафтеновые углеводороды, кислоты, содержащие более 13 атомов углерода, имеют би- и полициклические ядра. Содержание нафтеновых кислот в нефти достигает 1—2%. В бакинской нефти найдены жирные кислоты — диэтилкапроновая, изоамилуксусная, а также муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная и др. От общего содержания карбоновых кислот количество жирных кислот составляет 10—15%, иногда их количество может достигать 50%. До 20% могут составлять моно- и диароматические кислоты.

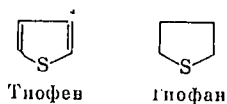
В числе кислородсодержащих соединений нефти фенолы составляют от 3 до 30%.

Циклоалкилкетоны в сырой вильмингтонской нефти найдены Бранденбургом с соавторами (Brandenburg et al., 1964).



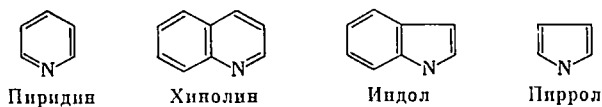
Содержание серы в сырых нефтях колеблется от 0,1% (легкие пенсильванские) до 5% (сырые тяжелые асфальтеновые нефти Калифорнии и Мексики). Ралл с соавторами (Rall et al., 1962) в некоторых сырых нефтях нашли более 7% серы. Нефти Второго Баку содержат 2—3% серусодержащих соединений. Как указывает Наметкин (1955), целый ряд сернистых органических соединений нефти являются аналогами кислородных соединений: RSH — меркаптаны, ROH — спирты, RSR — сульфиды, ROR — эфиры. Представителями циклических соединений, содержащих

серу в кольцах, являются тиофены и тиафаны:



Кроме того, в нефти обнаруживаются сероводород и элементарная сера. Источником серы, по всей вероятности, служит сероводород, образовавшийся за счет деятельности сульфатредуцирующих бактерий в осадках, вмещающих сырую рассеянную нефть.

В сырой нефти были найдены минимальные количества (сотые доли процента, реже 0,3—0,4%) азотсодержащих соединений, которые главным образом состоят из азотных оснований, алкильных производных хиполина и пиридина и небольшого количества неароматических азотных оснований и аминов. Часто азотсодержащие кольца гидрированы (Наметкин, 1955). Нужно добавить, что нахождение порфиринов даже в очень малых количествах представляет интерес с точки зрения происхождения нефти.



Металлоорганические соединения в сырой нефти находятся в очень малых количествах. Из них наиболее распространены соединения ванадия, никеля и железа (Добрянский, 1948), но наибольшее значение придается ванадию и никелю. Они образуют хелатные соединения с порфириновыми кольцами и широко изучались как меченые соединения в связи с исследованиями генезиса нефти.

У Добрянского (1948) указано шесть классов нефтей, причем тип нефти определяется содержанием 50% углеводородов какого-либо одного класса, остальные 50% могут содержать углеводороды других классов:

- | | |
|------------------------|--------------------------------------|
| 1. Метановые | 4. Нафтенново-метаново-ароматические |
| 2. Метаново-нафтеновые | 5. Нафтенново-ароматические |
| 3. Нафтеновые | 6. Ароматические |

Существует также большое разнообразие других классификаций. Нефти различаются по содержанию парафина, смол и степени осерненности. По величине удельного веса различают легкие, средние и тяжелые нефти. Очевидно, состав нефтей влияет на доступность их микробиологическому воздействию.

Закономерности распределения пластовых вод в литосфере и их характеристика

Наличие водной фазы с растворенными в ней солями служит необходимым условием для развития микроорганизмов. Тот или иной состав пластовых вод в разной степени способствует развитию микробиологических процессов в толще земной коры.

Различают следующие типы вод (Толстихин и др., цит. по Карцеву, 1963): пресные — минерализация менее 1 г/л, солоноватые — минерализация от 1 до 10, соленые — минерализация 10—50, рассолы — минерализация выше 50 г/л.

Согласно классификации Сулина (1946), по составу солей пластовые воды делятся на четыре типа: сульфатно-натриевые, гидрокарбонатно-натриевые, хлормагниевого, хлоркальциевого.

Ниже приведены генетические типы вод по Сулину (r — проценты эквивалентов):

Отношение процентов
эквивалентов

Сульфатно-натриевый	$r(\text{Na}^+ - \text{Cl}^-) : r\text{SO}_4^{2-} < 1$
Гидрокарбонатно-натриевый	$r(\text{Na}^+ - \text{Cl}^-) : r\text{SO}_4^{2-} > 1$
Хлормагниевого	$r(\text{Cl}^- - \text{Na}^+) : r\text{Mg}^{2+} < 1$
Хлоркальциевого	$r(\text{Cl}^- - \text{Na}^+) : r\text{Mg}^{2+} > 1$

Представление о главных составных частях воды дает формула Курлова. Формула представляет собой дробь, числитель которой состоит из процентов эквивалентов анионов, а знаменатель — из процентов эквивалентов катионов; проценты эквивалентов и тех и других проставляются в порядке убывающих чисел. Элементы, присутствующие в количестве менее 10% эквивалентов, не проставляются (Резников и др., 1970). Слева от дроби проставляется (в г/л) содержание газов и активных элементов и степень минерализации (M), равная сумме всех ионов и недиссоциированных молекул; справа — температура воды (T) и дебит (D) в гектолитрах в сутки:

$$\text{CO}_2:1,2M3,5 \frac{\text{HCO}_3^-46\text{SO}_4^{2-}37\text{Cl}^-17}{\text{Na}^+57\text{Ca}^{2+}33} T44D800.$$

Коэффициент $r(\text{Na} : \text{Cl})$ характеризует степень метаморфизации воды: более 0,87 — малометаморфизованные, с уменьшением коэффициента степень метаморфизации вод увеличивается (Карцев, 1963). Аналогичную характеристику дает величина коэффициента $r\text{Cl} : r\text{Br}$.

Сулин (1948), суммируя данные геологов и свои наблюдения, пришел к выводу, что проблема образования подземных вод сводится к решению двух основных вопросов: происхождения запасов этих вод и закономерностей формирования их химического состава. Развивая идею гидрогеологической зональности, Сулин

(1948) отмечает, что состав подземных вод в первую очередь зависит от характера взаимосвязи недр с земной поверхностью и от возможностей свободного проникновения поверхностных и атмосферных вод в недра земной коры. Эту взаимосвязь можно характеризовать как степень гидрогеологической раскрытости пласта, содержащего в себе подземные воды. В этом отношении земную кору можно расчленить на следующие зоны:

1. *Верхняя зона свободного водообмена с земной поверхностью.* Сюда относятся водоносные пласты, выходящие на дневную поверхность или располагающиеся выше базиса местной эрозии. Пласт может лежать и ниже базиса эрозии, но тогда необходима значительная разница в абсолютных отметках участков питания и дренажа при наличии хорошей фильтрующей способности слагающих его пород. Этой зоне соответствуют сульфатно-натриевый и гидрокарбонатно-натриевый типы воды невысокой минерализации.

2. *Зона затрудненного водообмена.* Эта зона объединяет водоносные пласты с плохой фильтрующей способностью, большим расстоянием между выходами на дневную поверхность или малой разницей в абсолютных гидрогеологических отметках участков дренажа и бассейна питания. Этой зоне свойственны гидрокарбонатно-натриевый и хлормagneзиевый типы вод.

3. *Зона отсутствия водообмена с земной поверхностью* (застойного, весьма затрудненного водообмена). Сюда входят водоносные горизонты, лишенные возможности разгрузки своих вод на дневную поверхность. Это связано с резкими изменениями в литологическом составе пород пласта, что превращает его в водупор, или с отсутствием окон эрозии.

Глубокие водоносные горизонты могут все же частично разгружать свои воды по тектоническим трещинам при наличии в них гидростатического или газового напора. Зона характеризуется присутствием хлоркальциевых рассолов.

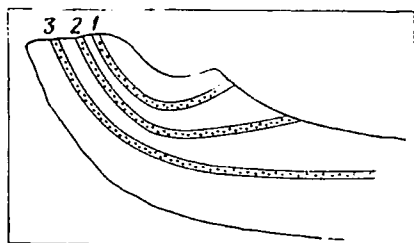
Чаще перечисленные зоны следуют одна за другой по вертикали, т. е. с глубиной увеличивается минерализация и метаморфизация вод. Такое распределение свойственно платформенному типу нефтеносных областей, в частности Русской платформе — с месторождениями Второго Баку и Урало-Эмбенскими. Горноскладчатый тип нефтеносных областей характеризуется обратной — инверсионной гидрохимической зональностью. К этому типу относятся области Апшеронских и Северо-Кавказских месторождений нефти и газа. В последнем случае верхние нефтяные пласты характеризуются более минерализованными и метаморфизованными пластовыми водами, чем нижние, соответственно их гидродинамической обстановке. Инверсия связана с различием условий питания пластов в горных зонах с различным климатом (Карцев, 1963).

Как видно из изложенного выше, Сулин отождествляет гидродинамическую зональность с гидрохимической, так как связь

с поверхностью обуславливает ту или иную скорость водообмена, а соответственно и изменения состава фильтрующейся воды по мере увеличения погружения водоносного пласта. Скорость движения подземных вод зависит от проницаемости пород и от гидравлического уклона. Чем больше проницаемость пород коллектора и меньше их объем, тем скорее в них совершается водообмен. Чем глубже залегает пласт, тем меньше его гидравлический уклон, тем больше расстояние между выходами на поверхность (рис. 2) и меньше водообмен.

Рис. 2. Пласты с разным типом водообмена

- 1 — интенсивный;
- 2 — затрудненный;
- 3 — очень слабый



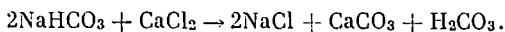
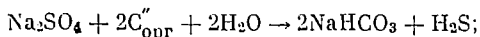
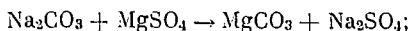
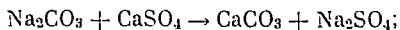
Под циклом водообмена подразумевается период, в течение которого вода успевает пройти по пласту от области питания до области разгрузки. В формировании состава вод в разных гидродинамических зонах участвуют инфильтрационные воды, включающие атмосферные осадки (речные, озерные и морские), фильтрующиеся с поверхности, и седиментационные воды, отжимающиеся в коллекторы из осадочных отложений под влиянием гидростатического давления на глубинах 3000 м и ниже. Седиментационные воды образовались за счет водоемов, в которых происходило накопление осадков (Карцев, 1963). Инфильтрационные воды обогащаются солями в результате взаимодействия со средой. Карцев приводит различные гипотезы механизма этого взаимодействия и формирования — выщелачивание, катионный обмен, диффузия ионов солей и газов, окислительно-восстановительные реакции, фильтрационный эффект, гравитационное дифференцирование, испарение воды из пород. Кроме того, в процессах формирования солевого состава подземных вод могут принимать участие воды, проникающие в пласт по разломам.

По Сулину (1948) при концентрировании вод последовательно выпадают карбонаты кальция и магния, затем сульфаты кальция. Это приводит к накоплению в составе воды хлоридов и сульфатов натрия и магния, т. е. к метаморфизации вод.

Далее в соответствующей обстановке в присутствии нефти возникают процессы восстановления сульфатов.

В результате редукции сульфатов могут формироваться хлоридная, сульфатная, гидрокарбонатно-натриевая и гидрокарбонатно-кальциевая группы вод. В ходе этого процесса, как установил Сулин, при определенной величине минерализации начинается

обмен между водами и породами. Бикарбонат натрия вод заменяется бикарбонатами кальция и магния, а последние за пределом их растворимости в концентрированных водах выпадают в осадок. Таким образом, дальнейшее накопление в водах бикарбонатов натрия прекращается, а содержание хлоридов натрия или кальция возрастает.



Иным путем протекает процесс концентрирования состава подземных вод в окислительной среде. На определенном этапе концентрирования начинаются процессы обмена основаниями между водами и породами. Если редукция сульфатов отсутствует, наличие в водах сульфатного иона при вытеснении кальция натрием из поглощающего комплекса пород приводит к появлению в водах сульфата кальция. Последний выпадает за счет его малой растворимости в концентрированных водах. При этом породы обогащаются сульфатом кальция.

Таким образом, происходит обеднение сульфатами высококонцентрированных вод, лишенных нефтеносности на значительных глубинах.

В качестве примера Сулин приводит наличие резкого загипсовывания разреза продуктивной толщи Азербайджана в районах, лишенных нефтеносности. Данные по химическому составу различных типов пластовых вод представлены в табл. 1.

Связь типа пластовых вод с типом нефтей и степенью разрушения залежей

Существует определенная связь между типом нефти в пласте и типом пластовых вод. Эту связь отмечают Сулин (1948), Успенский с сотрудниками (1961, 1964), Кротова (1957), Карцев (1963) и др. Высокоминерализованным и метаморфизованным хлоркальциевым рассолам соответствуют легкие метановые нефти, залежи имеют газовые шапки. С уменьшением солености воды и переходом к гидрокарбонатно-натриевому типу увеличивается удельный вес нефти, характер нефти приближается к нафтеновому, увеличивается содержание ароматических и смолистых компонентов, растет осерненность. Наблюдаемое соответствие между типами пластовой воды и нефти объясняется гидрологической обстановкой нефтяного пласта. Ранее указывалось, как изменяется состав и минерализация воды в разных гидродинамических условиях. Эти условия влияют и на тип нефти. Закрытые условия недр и весьма затрудненный водообмен или отсутствие его способствуют лучше-

Т а б л и ц а 1. Солевой состав вод нефтяных месторождений

Проба воды	Состав воды						Сумма солей	Тип воды, по Сулину
	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Na ⁺ + K ⁺		
Из заводняемого нефтяного пласта, Пермская обл.	40,91 **	946,45	195,20	399,00	31,85	38,50	1651,92	$\frac{r(\text{Na}^+ - \text{Cl}^-)}{r\text{SO}_4^{2-}} = 0,02$ сульфатно-натриевый
	1,15 ***	19,72	3,20	19,91	2,62	1,54	48,14	
	2,39 ****	40,96	6,65	41,36	5,44	3,20	100	
Рассол нефтяного пласта, Апшеронский полуостров	6598,00	70,00	6771,00	—	—	7038,00	20573,00	$\frac{r(\text{Na}^+ - \text{Cl}^-)}{r\text{SO}_4^{2-}} = 120$ гидрокарбонатно-натриевый
	186,00	100	111,00	6,00	6,00	306,00	624,00	
	29,81	0,16	20,03	0,96	0,96	49,04	100	
Из заводняемого нефтяного пласта, Пермская обл.	121,10	1435,3	305,00	641,50	36,40	83,00	2469,8	$\frac{r(\text{Cl}^- - \text{Na}^+)}{r\text{Mg}^{2+}} = 0,03$ хлормagneзиевый
	3,42	29,90	5,00	32,01	2,99	3,32	76,44	
	4,47	39,01	6,52	41,77	3,90	4,33	100	
Рассол нефтяного пласта, Пермская обл.	162720,00	689,67	122,0	18995,52	4769,64	78384,00	265680,83	$\frac{r(\text{Cl}^- - \text{Na}^+)}{r\text{Mg}^{2+}} = 3,37$ хлоркальциевый
	4589,75	14,37	2,0	947,88	392,24	3266,00	9212,24	
	49,82	0,16	0,02	10,29	4,26	35,45	100	

Калий, как правило, присутствует в водах в незначительном количестве.

В мг/л.

В мг-экв/л.

В %-экв/л.

Т а б л и ц а 2. Характеристика вод (средние значения)

Нефтяная структура	Глубина, м	Тип воды	Показатели		
			Σ солей на 100 г	Na/Cl	$\frac{Cl - Na}{Mg}$
Шугуровская	640	SO ₄ — Na	68	1,40	—
Байтуганская	750	SO ₄ — Na	202	1,09	—
Краснокамская	770	Cl — Ca	750	0,73	3,65
Полтавская	1070	Cl — Ca	761	0,64	3,59

и нефтей среднего карбона (по Кротовой, 1957)

вод, мг-экв			Показатели нефти		
$\frac{Na - Cl}{SO_4}$	$\frac{SO_4 \cdot 100}{Cl}$	Cl Br	удельный вес (d ₄ ²⁰)	содержание серы, %	легкие фракции (до 300°), %
0,63	63,0	Нет св.	0,910	2,89	35,0
0,64	20,4	531	0,901	2,1	40,0
—	0,34	211	0,850	1,0	47,0
—	0,26	145	0,839	0,79	48,0

му сохранению залежи. Чем больше сказывается влияние факторов поверхности на пласт, тем больше видоизменена и окислена нефть — в большей степени осмолена, утяжелена, содержит больше нафтеново-ароматических фракций. Увеличение осерненности, коррелирующее с наличием сероводорода в пластовой воде, исследователи также связывают с разрушением и окислением залежи. В зоне активного водообмена большие скопления нефти встречаются редко, в этом случае нефть обычно тяжелая и окисленная. Над залежами тяжелой нефти в Волго-Уральской нефтеносной области фиксируются жилы асфальтита, как, например, в Садах в верхнепермских отложениях. Здесь же в кунгурских отложениях залегают тяжелая нефть с удельным весом 0,914, содержанием серы 2,75% (Кротова, 1957). Газовые шапки в разрушающихся залежах отсутствуют. Кротова (1957) и Карцев (1963) отмечают, что степень окисления нефти в коллекторе определяется не только современными гидрогеологическими условиями, но и палеогидрогеологической обстановкой.

Согласно наблюдениям Александровой и Барс (1968), уменьшению азотсодержащих органических соединений в воде соответствует увеличение содержания аммония. Соотношение этих величин служит показателем степени окисленности залежи. Разрушающимся залежам свойственно увеличение содержания аммония в пластовой воде при уменьшении органического азота. Влияние водообмена на залежи проявляется в том, что у водонефтяного контакта нефть всегда более окислена и осмолена (Карцев, 1963). Больше или меньше содержание нафтеновых и жирных кислот в пластовой воде также является показателем степени разрушения залежи. Связь типов воды и нефти в месторождениях Волго-Уральской области показана в табл. 2 (по Кротовой, 1957).

Биогенные элементы

Развитие пластовой микрофлоры в значительной мере может лимитироваться отсутствием биогенных элементов. Однако данных по содержанию аммиака, нитратов и фосфатов в пластовых водах очень немного. Имеющиеся данные сведены в табл. 3. Как правило, пластовые воды всегда содержат аммонийные соли около 20 мг/л и больше, при этом их количество, иногда в водах с большой соленостью, превышает 150 мг/л. По-видимому, более вероятно наличие нитратов лишь в водах из области питания водоносного пласта. В пластовых водах нефтяных месторождений и восходящих родников из зон разгрузки нитраты и растворенный кислород отсутствуют (Альтовский и др., 1958, 1962).

Фосфаты практически в нефтяных водах отсутствуют, и это может сильно тормозить развитие бактерий. Обычно фосфаты исчисляются сотыми (реже десятими) долями миллиграмма в 1 л.

Состав газов в пластовых водах нефтяных месторождений

Жизнедеятельность пластовой микрофлоры не только зависит от окислительно-восстановительных условий окружающей среды, но в свою очередь способна изменять ее коренным образом. Так, в пластовых водах в зависимости от гидрогеологических условий могут быть обнаружены кислород, сероводород или сульфиды, молекулярный азот, метан, углекислота, водород и другие газы. Количество их в значительной мере зависит от гидростатического давления и температуры.

Содержание молекулярного кислорода

Окислительный процесс в общей форме сводится к потере электрона веществом, которое подвергается окислению. При переносе электрона от одной окислительной системы к другой выделяется свободная энергия, и чаще всего она сосредоточивается в

Т а б л и ц а 3. Содержание биогенных элементов в пластовых водах

Нефтеносная область	Район отбора проб	Глубина скважины	NH ₃	NO ₃ -
			мг/л	
Грозненская, у Черных гор	Область питания нефтяного пласта	Поверхностные воды из источников	0,8—1,75	0,9—75
Грозненская и Дагестанская	Зона разгрузки нефтяного пласта	210—2123 м	0,7—18,9	0
		Поверхностные воды	0,9—10,0	0
Вест-Бай, США	Подземные воды, нефтяная залежь	—	188	0
Бархилл, США	То же	—	167	64
Полазна, Пермская обл.	»	—	156	—

Т а б л и ц а 4. Окислительно-восстановительные условия и содержание растворенного кислорода в глубинных водах Грозненской нефтеносной области (по Альтовскому и др., 1958)

Область	Родники			Скважины		
	обследовано проб	растворенный O ₂ , мг/л, среднее	rH ₂ , среднее	глубина, м	растворенный O ₂ , мг/л	rH ₂
Питания	11	6,66	24,8	100	0	—
				75	4,8	27,2
Нефтяного месторождения	—	—	—	225	0	9,2
				2097	0	3,0
Разгрузки	15	0	10,3	600	0	10,27
				670	0	11,8
				20	0	14,34

АТФ. Конечным акцептором электрона могут быть различные вещества, в частности молекулярный кислород, обладающий высоким окислительным потенциалом. Поэтому при изучении экологических условий развития пластовой микрофлоры чрезвычайно важно учитывать не только наличие свободного кислорода, но и величину окислительно-восстановительного (Eh) потенциала. Распределение кислорода и величины Eh в грунтовых и глубинных водах сильно зависят от характера водоисточника.

Соответствующие наблюдения были проведены Альтовским и др. (1958) в Грозненской нефтеносной области на ряде скважин и

родников по простираанию водоносного пласта, проходящего через нефтяные месторождения.

Как видно из табл. 4, свободный кислород был обнаружен в ряде родников и скважин лишь в районе питания водоносных пластов и, наоборот, растворенный кислород отсутствовал в водах нефтяных месторождений и в районе разгрузки.

Очевидно, проникновение кислорода в пластовые воды самого нефтяного месторождения возможно при высокой водообменности пласта, например при закачке в пласт поверхностной воды с целью вторичной добычи нефти.

Содержание сероводорода в пластовых водах

Сероводород хорошо растворим в воде, и соотношение его отдельных форм H_2S , HS^- и S^{2-} зависит от активной реакции пластовых вод. Общее содержание сероводорода и сульфидов может достигать 2000—3000 мг/л.

Содержание молекулярного водорода в пластовых водах и подземных газах

Молекулярный водород иногда присутствует в нефтяных газах, а иногда выходит в виде чистых водородных струй. Как указывает В. И. Вернадский (1955), в Исландии, в Рейкьявике, газ из сольфатар содержит 25,19% водорода. При подводных извержениях в Санторино содержание водорода в газе достигало 56,7%, а в газах вулкана Пеле на острове Мартиника — 22,3%.

Водород часто встречается в газах горячих источников, образуя водородно-углекислые струи. Так, например, в газах Намафьялла (Исландия) содержание водорода достигало 54%, в газах грязевых сопок Апшерона — 15,4%.

В нефтяных газах содержание водорода, как пишет Вернадский (1955), в ряде месторождений достигает 1,64—2,35%. Так, по его данным, в нефтяных газах Новоузненского района Куйбышевской области было найдено от 3,4 до 10,6% водорода.

Большинство современных данных анализов газа нефтяных и газовых месторождений указывают на отсутствие свободного водорода. Это и нетрудно понять, так как молекулярный водород очень легко потребляется микроорганизмами в аэробных и в анаэробных условиях.

Сводки данных о распространении свободного водорода в природе можно найти у Вернадского (1955) и Зобелла (Zo Bell, 1946).

Состав углеводородных газов в нефтяных и газовых месторождениях

Природные газы, т. е. газы, выделяющиеся из недр Земли, отличаются большим разнообразием состава. Существуют чисто углеводородные газы, углекислые и азотные источники, и разнообразные смеси этих газов. Здесь будут рассматриваться богатые уг-

углеводородами залежи горючих газов. Один из основных видов такого типа залежей содержит газы, состоящие из метана, углекислоты и азота в разных соотношениях; для них характерно отсутствие водорода и гомологов метана. Газовые залежи указанного типа встречаются в районе Мелитополя, в Крыму, в Ставропольском крае, в Куйбышевской области (Добрянский, 1948). Аналогичные скопления газа обнаружены в верхнем плиоцене в Японии (Sugisaki et al., 1963). Это так называемый сухой газ. Залежи сухого газа встречаются в районах, лишенных нефтеносности. Предположение о биогенной природе газа указанного типа и об участии процессов метанового брожения в его генезисе было высказано советскими исследователями еще в 1937 г. (Белоусов, 1937); Сугизаки с соавторами (Sugisaki et al., 1963) относит залежи сухого газа к болотным. Другим типом являются углеводородные газы, приуроченные к заведомо нефтяным районам. В составе газа помимо метана, углекислоты и азота содержатся этан, пропан, бутан и пары бензина. Происхождение залежей такого типа связано с нефтью.

В условиях закрытых недр нефтяные месторождения имеют газовые шапки, где состав газа близок к таковому в газовых залежах второго типа. Нафтенно-метановые и метаново-нафтенные нефти богаты бензином и содержат наиболее богатые «жирные» газы. Нефтяные газы обычно бедны водородом. Наконец, как указывает Добрянский (1948), третий тип — чисто углеводородные газы, содержащие преимущественно, а в некоторых случаях исключительно метан, по-видимому, имеют химическое происхождение. Среди всех природных газов этот газ наиболее богат водородом.

Подробный анализ гомологов метана в выходящих нефтяных газах был проделан Лптовченко (цит. по Аширову, 1965). Газ отбирался из естественных выходов на Самарской Луке близ Зольного Оврага. Среди гомологов были определены углеводороды парафинового ряда вплоть до гексана, а содержание метана составляло около 82 об. %.

Состав газов (в об. %), отобранных в местах выходов его в прибрежной полосе Волги, приводится ниже:

Плотность газа относительно воздуха	CO ₂	N ₂	CH ₄	C ₂ H ₆	C ₃ H ₈	C ₄ H ₁₀	C ₅ H ₁₂	C ₆ H ₁₄
0,763	4,9	3,7	82,4	1,0	2,0	2,8	1,6	1,6
0,729	4,4	9,9	80,6	0,3	1,1	1,3	1,1	1,3
0,726	2,7	8,2	83,2	0,3	0,8	1,6	1,5	1,7

Поскольку растворимость газов зависит от температуры и давления, то процентный состав отдельных газов, растворенных в нефти и пластовой воде, в действительности может очень резко отличаться от состава газов, выходящих на дневную поверхность при нормальном атмосферном давлении.

Ашировым, Максимовым (1958), Козиним, Мжачих (1958) и другими авторами было показано, что внутриконтурные воды

нефтяных месторождений содержат большие количества метана и его гомологов и что по мере удаления от контура нефтеносности количества их резко падали.

Анализ газов (в об. %), растворенных в пластовых водах нефтяных месторождений, отобранных глубинным пробоотборником (по Аширову, Максимову, 1958), приводится ниже:

Место отбора проб, отложения	Сумма углеводородов	CO ₂	N ₂	H ₂
Зольный Овраг, девон	69	6,1	25,9	0
Покровское, карбон, угленосная свита	46,6	0	53,4	0
Ново-степановское, пермь, калпиновская свита	48,4	0	51,6	0
Мухановское, пермь, кунгурский ярус .	33,09	21,81	42,38	2,72

Из сравнения вышеприведенных данных видно, что содержание углеводородных газов, находящихся в растворенном состоянии в пластовых водах, едва достигает 50% и что газ в значительной степени состоит из свободного азота. В газах, вышедших на дневную поверхность, свободного азота в большинстве случаев значительно меньше, но все же он постоянно присутствует.

*Содержание свободного азота
в газах нефтяных месторождений*

Содержание свободного азота в газах, растворенных в пластовых водах, в ряде случаев превышает 50 об. % (см. выше). Иногда его содержание достигает большой величины и в газах, вышедших на дневную поверхность. Отсюда возник вопрос: происходит ли он из воздуха или имеет глубинное происхождение?

Ниже приводится химический состав некоторых природных газов (в об. %), выходящих на дневную поверхность (по Белоусову, 1937):

Газовое месторождение		CO ₂	CН ₄ +гомологи	N ₂	α
Урало-Эмбенский район					
месторождение	Магат	0,4	94,9	4,7	0,15
»	Сагыз	—	91,2	8,2	0,3
Ухтинский район					
месторождение	Байчунас	2,2	94,5	0,7	1,8
(естественный	выход)	0,5	97,8	1,8	1,4
		0,2	93,7	5,0	0,7
Саратовская область					
Мельниковское	месторождение	0,9	81,1	18,0	0,39
		0,2	50,5	48,8	0,72
		3,9	42,9	53,2	0,70

Как пишут Белоусов (1937) и Козлов (1950), воздушное происхождение азота в нефтяных газах может быть легко установлено по наличию определенного количества аргона. В газах, образую-

щихся за счет распада органического вещества нефти или вообще глубинного происхождения, аргон должен отсутствовать, поскольку он, как инертный газ, не входит в какие-либо органические или минеральные соединения, в то время как воздух содержит 79,0% азота и 0,9325% аргона. Отсюда процентное отношение аргона к азоту воздуха составляет $\frac{Ar \cdot 100}{N_2} = 1,18\%$.

Для уточнения происхождения азота, содержащегося в испытуемом газе, мы можем исходить из следующих соображений.

Возьмем отношение $Ar : N_2$ в испытуемом газе к такому же в воздухе и обозначим его через a .

$$\frac{\frac{Ar}{N_2} \text{ (испытуемый газ)}}{\frac{Ar}{N_2} \text{ (воздух)}} = \frac{\frac{Ar \text{ (газ)} \cdot 100}{N_2 \text{ (газ)}}}{\frac{Ar \text{ (воздух)} \cdot 100}{N_2 \text{ (воздух)}}} = \frac{\frac{Ar \text{ (газ)} \cdot 100}{N_2 \text{ (газ)}}}{1,18} = a.$$

Тогда, если бы испытуемый газ состоял из воздуха, $a = 1,18/1,18 = 1$. Если же в составе газов присутствует азот глубинного или биохимического происхождения, не содержащий аргона, то $a < 1$.

Из данных Белоусова, определявшего отношение аргона к азоту в различных природных газах, видно, что для газов Урало-Эмбенского района, Мельниковского и Ишимбаевского месторождений величина a ниже единицы. Следовательно, в этих газах азот имеет глубинное происхождение. В противоположность этому в месторождениях Байчунас и Ухтинского района величина a больше единицы, и можно думать, что здесь азот воздушного происхождения, поступивший в месторождения с током воды из области питания.

Природа азота, составляющего избыток над воздушным, неясна. Есть основания полагать, что во многих случаях образование свободного азота происходит за счет процессов, имеющих место в самом месторождении. Как правило, газ отбирался из затрубного пространства у устья скважины, поэтому истинное соотношение растворенных в нефти газов может несколько отличаться от вышеприведенного. Но все же интересно отметить значительное количество C_2H_6 и высших гомологов, а также постоянное присутствие свободного азота, в составе которого количество азота невоздушного происхождения чаще всего превышало 80%.

Температурный режим глубинных вод и гидростатическое давление

Развитие микроорганизмов происходит в сравнительно узких температурных пределах, грубо говоря от 1 до 70°. По мере увеличения глубины расположения пластовых вод и нефтяной залежи температура пород или вод повышается. Температурный градиент в значительной мере зависит от геологического строения и интенсивности тектонической деятельности в данном районе.

Покровский (1961) обработал более 5 тыс. измерений температуры воды из скважин Европейской части Советского Союза, нанес соответствующие данные на карту и выделил три геотермические провинции. Каждая из выделенных провинций характеризуется присущими ей геологоструктурными условиями.

Т а б л и ц а 5. Температура пластовых вод нефтяных месторождений третьей провинции

Площадь	Глубина, м	Температура, °С	Площадь	Глубина, м	Температура, °С
Апшерон	848—857	44	Центральное Предкавказье	1680	100
Сураханская складка	395—406	31		1550	100
	610—615	38		2414	100
	728—730	41		2750	100
	961—973	47		Восточное Предкавказье *	2900
О. Песчаный	3200—3300	66	2760		100
	3440	>70	1805		100
			1880	100	
Западное Предкавказье *	2550	100	Причерноморская впадина	1550	100
	2240	100			
	2130	100			
				Прикарпатье	2300

* Здесь и далее по Покровскому (1961).

К первой относится область Балтийского и Украинского кристаллических щитов, а также Курско-Воронежский и Белорусско-Литовский выступы кристаллического фундамента. Здесь даже на глубине 1000 м от поверхности земли температура не превышает 20°, а температура 100° наблюдается на глубине 10—15 км.

Ко второй провинции относятся области докембрийского кристаллического фундамента, покрытые осадочным покровом из палеозойских и мезозойских осадочных пород. Здесь на глубине 1000 м температура колеблется от 20 до 30°, а на глубине 3000—5500 м соответствует 100°.

В третьей провинции температура на глубине 1000 м превышает 30°. Сюда относятся площади молодых альпийских прогибов с глубинным залеганием герцинского складчатого фундамента, а температура 100° встречается уже на глубине 1,5—2,5 км.

Ниже мы приводим некоторые данные по температуре пластовых вод исследованных месторождений (табл. 5).

Из табл. 5 видно, что на площади молодых мезозойских прогибов изотермы 100° находятся на глубинах от 1,5 до 2,9 км. Однако на отдельных небольших участках, представляющих очаги разгрузки глубоких термальных вод, изотерма 100° находится вблизи поверхности земли. Так, у Брагунских термальных источников,

имеющих температуру, близкую к 90°, изотерма 100° находится на глубине 300—400 м.

С погружением в более глубокие слои земли давление повышается. Это повышение происходит не только за счет давления покрывающих пород и вод, но и за счет газового давления. Как пишет Соколов (1948), давление вышележащих слоев будет передаваться на всю глубину отложений, а величина давления будет примерно соответствовать весу отложений.

Если осадочная порода подверглась уплотнению и цементации и представляет собой массивное твердое тело, согнутое в складки, то в некоторых случаях поверхностное давление вышележащих слоев вообще может не передаваться ниже или не будет соответствовать весу вышележащих пород. В этом случае давление в основном будет определяться гидростатическим давлением воды, заполняющей поры.

Некоторые данные о пластовом давлении приводят Козин и Мжачих (1958) по месторождениям Среднего Поволжья:

Месторождение и стратиграфический возраст пласта	Давление в точке отбора, атм	Температура в точке отбора, °C	Газовый фактор, м ³ /м ³
Зольненское, верхний девон, Д ₁ . . .	151,8	46,0	0,469
То же, карбон, угленосная свита, Б ₂ .	106,0	26,0	0,342
Покровское, то же	181,2	46,3	0,283
Яблоневское, пермь, кунгурский ярус	58,8	—	0,331
Мухановское, то же	15,4	—	0,442

Озокерит, происхождение и состав

Озокерит является производным нефти (Храмов, 1953; Барановский, Сухарев, 1959). Генетическая связь озокеритовых месторождений с нефтяными подтверждается приуроченностью их к нефтеносным районам. Озокеритоносные пласты часто содержат нефть в нижних горизонтах. В природе озокерит встречается либо в чистом виде, заполняя трещины и каверны в горных породах, — жильный тип оруднения, либо в рассеянном виде, заполняя мелкие поры в породах, — пластообразный тип оруднения. Основные промышленные месторождения озокерита сосредоточены в Советском Союзе — в Ферганской долине, на Челекене и в Западной Украине. Непромышленные скопления встречаются в Эмбенской и Грозненской нефтеносных областях, на Апшеронском полуострове, в Грузии.

Озокерит состоит из смеси главным образом твердых высших насыщенных углеводородов с большей или меньшей примесью жидких углеводородов и смолистых компонентов. Содержание смолистых компонентов составляет 12—13% в малосмолистых типах озокерита Шор-Су и Западной Украины и увеличивается до 64% в отдельных смолистых образцах Северного Риштана. Озокерит

отличается от материнских нефтей высоким содержанием церезина. В церезин входят высокомолекулярные углеводороды ряда метана — парафины, соответствующие формуле C_nH_{2n+2} и содержащие в среднем 20—35 атомов углерода, а также углеводороды *изо*-строения и гибридного строения — парафино-нафтеновые и парафино-нафтеново-ароматические (Сергеенко, 1964). Последние группы углеводородов являются собственно церезинами, которые отличаются твердостью и высокоплавкостью. Общая формула церезинов колеблется от C_nH_{2n+2} до C_nH_{2n-2} в зависимости от сырья. Масла и смолистые компоненты аналогичны таковым материнских нефтей. (Маслами считаются остатки после отгона углеводородов, кипящих до 350° .)

В составе масел бориславского озокерита найдены нормальные парафины C_{11} — C_{18} , изопарафины (до C_{22} с короткой боковой цепью), парафины и ароматические соединения — моно-, полициклические и с конденсированными кольцами (Kestner et al., 1959).

Таким образом, отличие состава озокерита от материнских нефтей состоит в обедненности первого легкокипящими углеводородами и в количественном соотношении твердых углеводородов масел и смол. Если твердые церезиновые углеводороды присутствуют в нефти в очень небольшом количестве, то в озокеритах они преобладают над другими компонентами.

В настоящее время общепринятой является дегазационная гипотеза происхождения озокерита, которая связывает охлаждение нефтяного раствора и выпадение из него озокерита с адиабатическим расширением газов. Эта гипотеза развита Муратовым (1954). Согласно этой гипотезе, возникновение озокерита связано с появлением тектонических нарушений в кровле нефтяного пласта. Возникновение разломов и трещин в кровле пласта создает возможность выхода нефтяных газов из залежи, что связано с увеличением их объема. Объем смеси нефти и растворенного в ней газа увеличивается, и нефть вытесняется в трещину. Наступающее при этом охлаждение нефти ведет к выпадению из нее высокоплавких углеводородов и отложению их в трещинах и близлежащих породах. Образовавшиеся кристаллы твердых высокоплавких углеводородов адсорбируют некоторое количество жидких и асфальто-смолистых компонентов. Остаточный раствор материнской нефти удаляется под действием газового и гидравлического напора. Материнскими нефтями могут быть лишь легкие, насыщенные газом метановые нефти. Различают несколько зон озокеритообразования в пласте, в разных зонах состав битума озокерита несколько различен. Озокеритовые руды подвергаются выветриванию (охарсаниванию) в поверхностных условиях, в процессе которого происходит изменение соотношения отдельных компонентов озокерита, а также некоторые качественные изменения.

Асфальты, происхождение и состав

Добрянский (1948) пишет, что асфальты представляют собой аморфные вещества, состоящие главным образом из углерода и водорода (С : Н колеблется от 6 до 12) и, кроме того, переменных количеств серы, кислорода и азота. Асфальты различаются по степени плавкости (обычно не выше 100—110°) и твердости, относятся к очень высокомолекулярным и полициклическим соединениям. В составе асфальтов в том или ином количестве постоянно присутствуют углеводородные масла. В химическом строении асфальтов мало ясности.

Связь асфальтов с нефтью выражается сходством геологических условий нахождения, прямой связью с нефтями и переходом некоторых нефтей в асфальты в случае определенной благоприятно сложившейся обстановки. Между жидкой нефтью и асфальтом имеется множество переходных стадий. В зависимости от степени твердости и плавкости различают асфальты и асфальтиты. Переходным типом минералов от нефти к асфальтам служат мальты, имеющие сходство со смолистыми нефтями. Асфальт может встречаться в виде битума, пропитывающего породу, жильных образований, патечных образований, связанных с переходом из жидкого состояния в твердое, растворов в нефти, несущих асфальт в высоких концентрациях, линзовых скоплений в небитуминозных породах. Подобно нефтям, асфальты встречаются во многих геологических системах. Крупные месторождения известны в ряде стран. Встречаются скопления асфальта в виде озер — на Тринидаде, Барбадосе. В СССР асфальт найден во многих местах.

Глава вторая

Распределение бактерий в пластах и достоверность методов анализа

Распределение бактерий между жидкой и твердой фазами

В месторождениях нефти бактерии распространяются между тремя субстратами — нефтью, пластовой водой и твердой фазой в виде горной породы, пропитанной нефтью.

Характер распределения зависит как от свойств самой культуры, так и от ряда физических закономерностей.

Вопрос о перераспределении бактерий между жидкой и твердой фазами имеет предысторию. Худяков (1926), Дианова и Ворошилова (1925), взбалтывая жидкую культуру бактерий с почвой, показали, что до 90% бактерий адсорбируется почвой.

Концентрирование бактерий на твердом субстрате отмечают Зобелл и Андерсен (Zo Bell, Anderson, 1936), считая, что твердый субстрат концентрирует на себе органические вещества и тем привлекает бактерий. Некоторые авторы полагают, что в присутствии твердого субстрата, особенно в его порах, легко создаются анаэробные условия, способствующие развитию анаэробов. Считают, что на поверхности твердого субстрата образуется пленка, обладающая высоким поверхностным натяжением, поэтому бактерии не могут оторваться от твердого субстрата.

Все это указывает, что на твердом субстрате и в нефтяных месторождениях происходит концентрирование тех или иных видов бактерий, учет которых имеет большое значение для характеристики микрофлоры месторождения.

Изучение микрофлоры самого месторождения часто бывает сопряжено с большими трудностями методического характера. Необходимо иметь некоторые гарантии того, что выявленная микрофлора анализируемых образцов действительно относится к изучаемому объекту и является аборигенной, а не была занесена извне при отборе образца. Приведем ряд исследований, касающихся методики изучения образцов кернов, нефти и пластовых вод.

Изучение микрофлоры кернов

Известно, что при бурении скважин используется глинистый раствор, который выносит разбурываемую породу (кern) и создает в забое гидростатическое давление, несколько превышающее пластовое. На глубине 1000 м глинистый раствор создает давление, превышающее 100 атм, и далее на каждые 1000 м давление глинистого раствора увеличивается более чем на 100 атм. Таким образом, kern оmyвается глинистым раствором. Как показали исследования Смирновой (1957), глинистый раствор, применявшийся при бурении на Коробковской и Уметовской площадях, был обогащен разными группами микроорганизмов (табл. 6).

Для выяснения вопроса, в какой степени образцы кернов обсеменяются микрофлорой глинистого раствора, Смирнова (1957, 1961) вносила в глинистый раствор специфическую микрофлору — *Bacterium prodigiosum* и *Bac. mycoides* — и анализировала керны в целях обнаружения этих бактерий путем высева разных слоев kern на МПА. Было показано, что проникновение бактерий зависит от литологического состава и нарушенности пород. В плотные ненарушенные породы — мергели, глины, песчаники, известняки, гипсы и др. бактерии из глинистого раствора практически не проникают: толщина слоя обнаружения бактерий не превышает 1—2 (реже 4) мм. Образцы песка, рыхлых и сильно песчаных пород пропитываются глинистым раствором и обсеменяются бактериями полностью. Образцы глин с прослоями и включениями песка приравниваются к рыхлым песчаным породам, бактерии проникают в глубь образцов по песчаным прослоям.

Для определения влияния столба гидростатической жидкости на проникновение бактерий из глинистого раствора в kern (гидростатическое давление соответствует глубине отбора kern) Смирновой (1961) был подсчитан процент зараженности пород одинакового литологического состава, отобранных с различных глубин.

На основании проведенных анализов Смирновой был сделан вывод, что гидростатическое давление столба буровой жидкости существенно не влияет на проникновение бактерий из глинистого раствора в kern.

Таким образом, при микробиологическом анализе kernового материала достоверные данные могут быть получены лишь для плотных непроницаемых пород.

По сообщению В. А. Кузнецовой, первые порции пластовой жидкости, изливающиеся из скважин после бурения нефтеносных толщ девона Волго-Уральской области, содержали нехарактерные сульфатвосстанавливающие бактерии, которые проникли в призабойную зону скважины из бурового раствора. Постепенно, по мере эксплуатации, призабойная зона и труба скважины освобождались от нехарактерных бактериальных форм. В связи с этим анализ проб воды и нефти на наличие пластовой микрофлоры следует

Т а б л и ц а 6. Результаты микробиологического исследования глинистого раствора (по Смирновой, 1957)

Номер скважины	Площадь	Количество проб буровой жидкости	Число проб с наличием групп микроорганизмов								восстановляющих сульфаты	разрушающих клетчатку
			метанооксилюющих	пропанооксилюющих	гетанооксилюющих	водородоксилюющих	образующих					
							СН ₄ из СО ₂ и Н ₂	СН ₄ из жирных кислот	Н ₂			
КБ-6	Коробковская	6	4	0	4	2	1	0	6	6	6	
КБ-7	»	8	1	0	4	2	7	0	8	8	7	
КБ-9	»	4	0	0	0	0	0	0	4	4	4	
КБ-10	»	5	4	0	5	3	1	0	5	5	4	
КБ-26	»	15	7	0	14	0	4	3	15	15	4	
К-1	»	31	18	12	22	14	1	2	24	24	15	
К-2	»	21	16	11	17	16	19	17	21	20	13	
К-3	»	2	2	2	2	2	—	—	—	—	—	
КБ-16	Уметовская	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	
КБ-18	»	1	1	1	1	1	1	1	—	—	—	
КБ-18	»	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Итого проб:		95	55	28	71	42	35	24	85	84	55	
В %:		100	57,8	29,4	74,7	44,2	36,8	25,2	92,4	88,3	57,8	

проводить не ранее, чем через один-два месяца после бурения. Ошибочное обнаружение сульфатовосстанавливающих бактерий в пластовых водах месторождений Волго-Уральской области Кавевым и Саймановой (1959), Кузнецова с соавторами (1963) объясняют вышеуказанным эффектом. По-видимому, при наличии каверн в пластах буровой раствор может проникать в более глубокие зоны и обсеменять пласты посторонней микрофлорой.

Изучение микрофлоры образцов нефти

Некоторые исследователи (Гинзбург-Карагичева, 1947; Рейнфельд, 1933а; Рыбакова, 1957; Колесник, 1955а, б; Спмакова и Ломова, 1958) отмечают относительную редкость обнаружения микрофлоры в образцах слабообводненной или безводной нефти по сравнению с пробами обводненной нефти того же пласта. Чаще в первых образцах микрофлора отсутствует (табл. 7). По данным Экзерцева и Кузнецова (1954), кунгурские залежи нефти, изолированные от пластовых вод, характеризовались исключительно слабой бактериальной заселенностью. В связи с тем что для развития микроорганизмов необходима водная среда, резонно предположить, что в нефтяном пласте развитие микроорганизмов происходит в воде закоптурной зоны, обогащенной растворенным субстратом, и в зоне водонефтяного контакта, где водная фаза соприкасается с субстратом. Здесь нефть и вода представлены в виде водонефтяной эмульсии.

Отметим, что в нефтяном пласте помимо подошвенной пластовой воды имеется погребенная вода, заключенная в самой нефти.

*Т а б л и ц а 7. Исследование пластовых вод из нефтеносных районов Терско-Дагестанской области на наличие бактерий (Колесник, 1955а) **

Район, местность	Исследованные пробы		Пробы с бактериями		Пробы без бактерий	
	безводные	обводненные	безводные	обводненные	безводные	обводненные
Старо-Грозненский	18	18	3	17	15	1
Ташкала	5	4	0	4	5	0
Соленая Балка	6	1	0	1	6	0
Октябрьский	—	10	0	7	0	3
Малгобек	3	6	0	5	3	1
Гора-Горская	1	3	0	3	1	0
Аду-Юрт	—	3	0	1	0	2
Али-Юрт	—	1	0	1	—	—
Берекей	—	1	0	1	—	—

* Тире означает отсутствие проб.

Состав ее несколько отличен от подошвенной (Аширов, 1965). По-видимому, это неотделяющаяся адсорбированная вода, которая присутствует в образцах так называемой безводной нефти.

Отсутствие микрофлоры в образцах безводной нефти из разных месторождений, отмеченное при высевах ее на ряд обычных питательных сред, селективных для сульфатвосстанавливающих, гетеротрофных бактерий, показывает, что реликтовая микрофлора этих групп в нефтяных месторождениях не сохранилась (термин «реликтовая» подразумевает те микроорганизмы, которые могли бы сохраниться в нефти со времен ее генезиса).

Таким образом, отсутствие микрофлоры в образцах безводной нефти и наличие микроорганизмов в обводненной нефти и пластовой воде подтверждают мысль о развитии пластовой микрофлоры в зоне водонефтяного контакта и указывают на вторичный характер этой микрофлоры по отношению к нефти. Распределение бактерий между пластовой водой и нефтью в пласте может зависеть от физиологических свойств бактерий. Хойер (Heuer, 1966) из нефтяных месторождений выделил ряд культур микроорганизмов, которые были способны использовать углеводороды нефти в качестве источника углерода и энергии. Микроскопический контроль показал, что при внесении одного типа бактерий в препарат, состоящий из минеральной среды и капелек нефти, бактерии распределяются на границе нефтяной капли. Окисление идет с поверхности, сами же бактерии находятся в водной фазе.

К другому типу относятся микроорганизмы, которые из водной среды непосредственно через поверхностную пленку проникают в слой нефти и способны там к размножению. Наблюдения под фазово-контрастным устройством показали, что каждая бактерия, проникающая в слой нефти, окружена водной пленкой. Таким образом, и этот тип бактерий имеет непосредственное соприкосновение с водной фазой. В дальнейшем было уточнено (Heuer, Schwartz, 1970), что ко второму типу относятся представители семейства *Mycobacteriaceae* — микобактерии, нокардия, т. е. микроорганизмы, имеющие оболочку, обогащенную липидами — полярными структурами, позволяющими им приходить в соприкосновение с нефтью. Как видно будет из данных, приведенных в разделе экологии микроорганизмов нефтяных месторождений, культуры такого типа практически не встречаются в нефтяных пластах.

К первой группе микроорганизмов Хойером были отнесены сульфатвосстанавливающие бактерии. По-видимому, для первой группы характерны бактерии, не обладающие богатой липидами оболочкой. Именно такие группы (*Pseudomonas*) распространены в нефтяных месторождениях. Изложенное еще раз подтверждает, что распространение микроорганизмов в нефтяных пластах должно быть приурочено к воде или эмульсии водонефтяного контакта. Таким образом, для выявления микрофлоры нефтяного месторождения необходимо анализировать именно обводненные образцы нефти или пластовую воду.

Изучение микрофлоры обводненной нефти и пластовой воды

Исследователи, проводившие количественное изучение микрофлоры подземных вод, дали ряд рекомендаций по отбору проб. Штурм (1950б) было показано, что для анализа микрофлоры нельзя использовать пробы из мерников, где жидкость застаивается. В пробах, отобранных из выкидной трубы нефтяных скважин Сызранского района, общее количество бактерий колебалось от 24 до 50 тыс. в 1 мл, в то время как в пробах, отобранных из мерника, содержалось до 333 тыс. бактерий в 1 мл воды. Неприемлемость для бактериологического анализа проб воды из пьезометрических скважин отмечается Сазаповой (1961). По-видимому, не всегда верно отражают истинную микрофлору пласта анализы бактерий из проб пластовой жидкости, отобранных аппаратами типа желонки.

Изучая влияние действия скважин на микрофлору, З. И. Кузнецова (1957) указывает, что при достаточно высоком дебите скважин — 30—3500 м³/сутки — содержание бактерий в воде не зависит от его величины. При малом дебите — 0,6 м³/сутки (0,007 л/сек) — в пробах вод увеличивается количество сапрофитов до тысяч в 1 мл по сравнению с десятками бактерий в пробах из скважин с более высоким дебитом (Кузнецова, 1966).

З. И. Кузнецовой (1961) также было показано, что в отдельных случаях в пробах из скважин нефтяных месторождений (в районе Махачкалы) с малым дебитом — 2,0—7,5 м³/сутки — большая часть клеток оказывается мертвой.

По-видимому, отмирают главным образом анаэробные формы в результате окисления пробы в трубе скважины при малом дебите воды. Количество сапрофитов — аэробных форм, как показано выше, в пробах малодебитных скважин растет.

На стр. 35 приводятся результаты изменения процентного содержания жизнеспособных бактериальных клеток (подземные воды Дагестанской АССР).

Т а б л и ц а 8. Количество микроорганизмов (клеток в 1 мл) в пробах месторождений

Минерализация, г/л	rH ₂	Анаэробные микроорганизмы	
		сульфатовосстанавливающие	метанобразующие *
42,6—62,6	14,8—16,1	0—355	+
37,4—40,3	19,0—27,1	0—374	+

Насосные
Компрессорные

* Метанобразующие бактерии учитывали по выделению метана, наличие которого

Место взятия пробы	t воды, °C	Дебит, м ³ /сутки	Общее количество бактерий в 1 мл, тыс.	Живых клеток, %	Число проб	Глубина, м
Нефтяное месторождение, Махачкала	42—62	45—17100	10—620	94	6	1200—1900
То же	32	2—7,5	193—212	7	2	1400—1960
То же, газовое	29—41	17—1,1	10—242	98	4	225

По нашим данным, значительно более высокое общее число бактерий и клеток аэробных групп микроорганизмов обнаруживается в пробах воды из аэролифтовых скважин по сравнению с фонтанирующими и насосными (табл. 8). Это объясняется проникновением небольших количеств нагнетаемого воздуха из трубы в призабойную зону скважины, что способствует размножению там аэробных групп бактерий. Следовательно, при учете бактериального населения нефтяного пласта следует избегать анализа проб из аэролифтовых скважин.

Приводим результаты определения количества сульфатовосстанавливающих бактерий и содержания сероводорода в воде заводяемого коллектора Апшерона:

	Скв. 980	Скв. 71+23
Минерализация, г/л	2,83	6,57
Сероводород, мг/л	408,0	17,0
Количество сульфатовосстанавливающих бактерий в 1 мл	Десятки	Сотни тысяч

Как видно из этих результатов, при высоком содержании биогенного сероводорода в воде нефтяных коллекторов количество сульфатовосстанавливающих бактерий, обнаруживающихся в пробах пластовых вод, может быть небольшим и, наоборот, при низком содержании сероводорода выявляемое количество сульфатовосстанавливающих бактерий более значительно.

воды из скважин разного типа продуктивной толщи нефтяных Апшерона

Аэробные микроорганизмы				Общее число в 1 мл, тыс.
типовые	окисляющие нефть	сапрофиты	олигокарбофилы	
скважины				
0	15—200	Десятки — сотни	Единицы — сотни	5,5—6,6
скважины				
0 — сотни	150—6000	1 · 10 ³ —23 · 10 ⁻³	6 · 10 ³ —20 · 10 ³	1024—18665

определяли хроматографически.

Наблюдаемый факт может быть связан с закупоркой пор пласта образующимися сульфидами железа, результатом чего является плохая вымываемость бактерий из пород.

Таким образом, количественный бактериальный анализ пластовых вод не всегда отражает истинное количество микроорганизмов в пластах и интенсивность вызываемых ими биогенных процессов.

Представляет интерес вопрос о длительном сохранении жизнеспособности бактерий при хранении проб пластовой воды с нефтью. По данным В. А. Кузнецовой (1964), сульфатвосстанавливающие бактерии сохраняли жизнеспособность в пробах пластовой воды под слоем нефти в течение четырех месяцев.

Необходимо указать также на трудности подсчета общего количества бактерий на мембранных ультрафильтрах при фильтровании высокоминерализованных вод (Штурм, 1950б; Розанова, 1964). Эти трудности могут вызвать неравномерность подсчета бактерий в одних водах разными исследователями (Розанова, 1964; Осницкая, 1958).

В заключение этой главы укажем, что для достоверного суждения о геологической деятельности микроорганизмов необходимо следующее (Кузнецов, 1961):

1. Провести количественный или, в крайнем случае, качественный анализ данной группы микроорганизмов.

2. Сделать химический анализ вод или проб с учетом наличия ингредиентов, видоизменение которых предполагается в результате деятельности микроорганизмов.

3. Изучить, насколько экологические условия (концентрация солей, rH_2 , O_2 , H_2S , биогены и т. п.) благоприятны для развития данной группы микроорганизмов.

4. Собрать исчерпывающие материалы по геологии и гидрогеологии месторождения, где протекает изучаемый процесс.

5. Получить исчерпывающие сведения по физиологии данной группы организмов и изучить влияние на рост и жизнедеятельность специфических факторов, с которыми микроорганизмы встречаются в естественной обстановке.

6. Поставить опыты в обстановке, максимально приближающейся к природной, в частности с применением высокочувствительного метода радиоактивных изотопов.

7. Проанализировать соотношение стабильных изотопов в исходных и конечных продуктах, подвергшихся предполагаемой геологической деятельности микроорганизмов.

*Экология и физиология микроорганизмов,
встречающихся в глубинных водах
и породах*

Биоценоз микроорганизмов глубинных вод

Наличие бактерий в нефтяной залежи тесно увязывается с ее характером. Среди геологов существовало мнение, высказанное Андреевым (1955), что нефтяные пластовые воды в залежи стерильны. Он считал, что бактерии попадают в пласты с буровым раствором при наличии в коллекторских породах трещин и каверн и размножаются там в благоприятных условиях.

Принимая, согласно Сулину (1948), среднюю скорость притока поверхностной воды до глубины забоя скважины нефтяного месторождения в среднем за 5 м в месяц, Андреев пришел к выводу, что для проникновения поверхностных вод на глубину 1500 м потребуется 25 лет, а это при недостатке органического вещества должно привести к отмиранию бактерий.

В настоящее время накоплен уже достаточно большой фактический материал, который дает основание подойти конкретно к решению этого вопроса.

Прямое доказательство наличия бактерий в глубинных водах и породах было получено Андреевским (1956) на Ухтинском нефтепромысле, где нефть добывается шахтным способом. Специфика шахтной добычи позволяла отобрать пробы воды, нефти и породы асептически из пласта сразу после отпалки породы, т. е. в условиях, исключающих попадание микрофлоры с буровым инструментом, глинистым раствором и т. п.

Другой важный вопрос: концентрируются ли биогенные процессы в местах скопления нефтяного органического материала в недрах земной коры, или распределение микроорганизмов в осадочных отложениях не зависит от этого фактора. Дело в том, что, согласно современным воззрениям, в анаэробных условиях, обычно присущих коллекторам нефти и газа, восстановленный органический материал типа углеводородов устойчив к микробиологическому воздействию. Ответ на этот вопрос был получен Э. И. Кузнецовой, изучавшей распространение различных групп микроорганизмов по падению водоносного пласта от области пи-

танья до области разгрузки (Кузнецова, 1961, 1963; Альтовский и др., 1958, 1962; Кузнецова, Швец, 1970а, б).

Как видно из рис. 3 (Кузнецова, 1966) и табл. 9 (Кузнецова, Швец, 1970а), обогащенность осадочных отложений нефтью и газом при определенных условиях несомненно оказывает влияние на распространение микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности.

При изучении микрофлоры нефтяных и газовых месторождений исследователи обращали внимание на общее количество бак-

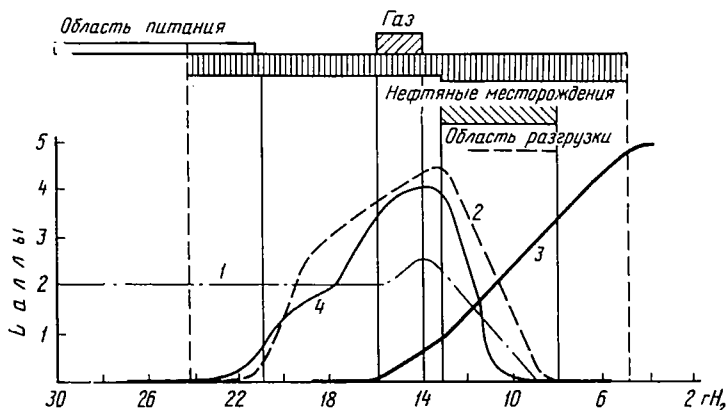


Рис. 3. Интенсивность развития бактерий (в баллах) в подземных водах 1 — бактерии, окисляющие водород; 2 — тионовые, развивающиеся на минеральной среде с гипосульфитом при pH 8,5; 3 — десульфуризирующие; 4 — бактерии, окисляющие гептан

терий в породах и пластовой воде, а также на распространение отдельных групп микроорганизмов.

Были выявлены следующие группы микроорганизмов: аэробные — окисляющие углеводороды, водород, тионовые (развивающиеся в щелочной среде с гипосульфитом), сапрофиты; анаэробные — сульфатвосстанавливающие, тионовые денитрифицирующие, денитрификаторы, развивающиеся на средах с органическим субстратом, разрушающие клетчатку, метанобразующие, пурпурные фотосинтезирующие. По поводу приуроченности этих групп бактерий к подземным водам разного типа З. И. Кузнецова (1963) пишет следующее: сульфатвосстанавливающие, тионовые и метанобразующие бактерии могут быть обнаружены как в пластовых водах нефтяных месторождений, так и в подземных водах районов, не связанных с нефтью. Однако скопления сульфатвосстанавливающих бактерий и сероводород приурочены именно к скоплениям углеводородов. Сапрофиты и гнилостные бактерии, использующие легкодоступное вещество белкового характера, развиваются главным образом в водоносных горизонтах областей питания. Раз-

рушающие клетчатку и денитрифицирующие бактерии развиваются по водоносному пласту от области питания до области разгрузки. Бактерии, окисляющие в аэробных условиях нефть и углеводороды парафинового ряда, являются прямыми показателями нефтегазоносности. В связи с этим развитие выявленных сульфатвосстанавливающих бактерий на гептане, нонане или декане (повидимому, в биоценозе с углеводородокисляющими бактериями) также может служить показателем нефтегазоносности.

Т а б л и ц а 9. Характерный бактериальный биоценоз подземных вод Ферганской нефтегазоносной области (по Кузнецовой, Швецу, 1970а)

Распространение подземных вод	O ₂	H ₂ S	Интенсивность развития бактерий, баллы *				
	мг/л		сульфат-редуцирующие	тионовые	окисляющие		
					гептан	нафталин	водород
Область питания	До 10	0	0	1	0	0	0
Приконтурные воды нефтяных месторождений	0	0 — следы	1	4	2	3	2
То же	0	100	4	1	0	0	0
Область разгрузки	0	0 — следы	0	4	1	0	0

*Высший балл 5.

Воздействие углеводородокисляющих бактерий является первым звеном цепи процессов, приводящих к разрушению нефтяного органического материала. В табл. 10 перечислены микроорганизмы, принимающие участие в окислении углеводородов, сконцентрированных в различных природных биотопах. Прежде чем перейти к рассмотрению особенностей процессов разрушения углеводородов в природных очагах, остановимся на общей характеристике процессов их окисления.

Бактерии, окисляющие углеводороды

Общая характеристика процессов бактериального окисления углеводородов

Материалы по окислению углеводородов разных классов микроорганизмами были обобщены нами в 1967 г. (Розанова, 1967). В связи с тем что данные последнего десятилетия по окислению парафиновых и ароматических углеводородов собраны в обширных обзорах Клюга, Марковца (Klug, Markovetz, 1971) и Дэггли (Dagley, 1971), в представленных здесь материалах основное внимание уделено работам 1970—1973 гг.

Наиболее доступны микробиологическому воздействию алифатические углеводороды. В их разрушении принимают участие микроорганизмы порядков Pseudomonadales, Eubacteriales, Actinomycetales класса шизомицетов, среди которых распространены представители семейств Pseudomonadaceae, Achromobacteriaceae, Micrococcaceae, Brevibacteriaceae, Corynebacteriaceae, Bacillaceae, Mycobacteriaceae, Actinomycetaceae. Перечень этих организмов приведен в обзорах Фухса (Fuhs, 1961) и других авторов (Foster,

Т а б л и ц а 10. Перечень микроорганизмов, использующих углеводороды, выделенных из разных природных образцов

Из воды и пород зоны свободного водообмена над залежами нефти и газа (Могилевский и др., 1970; Славина, 1970, 1971)	Из битуминозных и озокеритовых пород и воды (Штурм, Розанова, 1961, 1963; Розанова, Штурм, 1964, 1965)	Из пластовых нефтегазовых залежей (Воробьева, 1957; Наумова, 1960; Преобразования нефти микроорганизмами, 1970; П'юка, Коматала, 1965а, с. d)
<p>Pseudomonas methanica (разные вариации) Bacterium methanicum Pseudomonas fluorescens Ps. liquefaciens Ps. pantotropha Ps. centrifugans Ps. scissa Ps. pelliculosa Ps. boreophilus Ps. arvilla Bacterium aliphaticum Mycobacterium rubrum var. propanicum M. luteum M. flavum M. lacticolum M. equi Methanomanas methanica Bacterium aliphaticum Proactinomyces actinomorphus Pseudobacterium subluteum</p>	<p>Pseudomonas fluorescens Ps. rathonis Ps. desmolytica Ps. aeruginosa Achromobacter parvulus Mycobacterium mucosum M. globiforme M. coeliacum M. lacticolum M. convolutum Mycococcus ruber Mycoc. albus Proactinomyces corallinus Proact. paraffinae Brevibacterium maris Arthrobacter sp. Candida lipolytica Penicillium notatum Penic. chrizogenum Penic. miczynski</p>	<p>Pseudomonas putida Ps. dacunae Ps. fluorescens Ps. aeruginosa Ps. desmolytica Ps. mycophaga Ps. radiobacter Ps. turcosa Ps. denitrificans Ps. longa Ps. scissa Ps. pelliculosa Ps. stutzeri Ps. putrefaciens Ps. azotovorans Ps. schuykilliensis Ps. nitroreducens Brevibacterium pusillum Brevibact. helvolum Arthrobacter tumescens Micrococcus luteus M. varians Achromobacter deliatus</p>

1962; Розанова, 1967). Кроме того, алифатические углеводороды окисляются многочисленными представителями совершенных и несовершенных грибов и дрожжевыми организмами. Подробное их перечисление можно найти в обзоре Клюга и Марковца (Klug, Markovetz, 1971). В настоящее время обсуждается вопрос о таксономическом значении функции окисления углеводородов. Нинс с соавторами рассматривают эту проблему в отношении грибов (Nyns et al., 1968). Бос и Брюйон (Bos, Bruyn, 1973) считают,

что способность к окислению углеводов у разных штаммов дрожжей может служить характеристикой единства вида и что функция окисления алканов свойственна представителям родов *Candida* и *Torulopsis*.

Использованию олефинов типа алк-1-енов посвящено относительно небольшое число работ, тем не менее теперь уже ясно, что эти соединения могут быть использованы бактериями, дрожжами и грибами (Klug, Markovetz, 1971).

Представляет интерес вопрос о широте спектра используемых углеводов. По-видимому, способность микроорганизмов использовать тот или иной набор углеводов зависит от характера распределения последних в водных средах и от механизма их проникновения в клетку.

Гипотезу проникновения парафинов в клетки дрожжей разработали Рачинский с соавторами (1971), применявшие алканы, меченные по углероду. Они полагают, что начальным этапом проникновения является молекулярная сорбция углеводорода на поверхности клетки, затем следует диффузия его через клеточную стенку и растворение в липидах цитоплазматической мембраны. Как полагают авторы, ферментативная система окисления углеводорода не связана с оболочкой и локализована в цитоплазматической мембране, цитоплазме или иных органеллах протопласта. Гипотеза согласуется с данными, полученными Весталь, Перри (Vestal, Perry, 1971), Малащенко с соавторами (1972) и другими исследователями.

Клюг и Марковец (Klug, Markovetz, 1971) в своем обзоре приводят доказательства того, что парафины различной длины цепи потребляются микроорганизмами в разном состоянии. Жидкие парафины средней длины цепи, содержащие до 10 атомов углерода, используются в состоянии истинной растворимости. Парафины с длиной цепи более 10 атомов, которые, по данным Мак Алифа (Mc Auliffe, 1969), весьма слабо растворимы в воде, потребляются в прямом контакте с клеткой. Эти различия, как предполагают Клюг и Марковец, оказывают влияние на возможность использования парафинов микроорганизмами.

Потребление труднорастворимых парафинов в капельно-жидком состоянии подтверждается материалами по ускорению роста дрожжей при увеличении площади поверхности эмульгированных капель (Mc Lee, Davies, 1972). С другой стороны, появляются сведения, свидетельствующие о возможности потребления парафинов, содержащих более 10 атомов углерода, в растворенном виде (Yoshida et al., 1971; Goma et al., 1972). Это предположение получило теоретическое обоснование в работе Чаркаварти с соавторами (Charkavarty et al., 1972), предложивших гипотезу о переходе твердых углеводов в раствор в присутствии промежуточных продуктов обмена растущих культур.

Так или иначе, существуют микроорганизмы, развивающиеся за счет большого набора алифатических углеводов. Организм

Ооямы и Фостера (Ooyama, Foster, 1965) использовал алканы с числом атомов углерода от 1 до 22. Другие микроорганизмы избирательно использовали углеводороды определенной длины цепи. Эти материалы рассмотрены в опубликованных ранее обзорах (Розанова, 1967; Klug, Markovetz, 1971), где было отмечено, что алканы средней длины цепи — с 5—9 атомами углерода — не используются дрожжами и редко служат субстратом для микобактерий. Дрожжи не развиваются также на газообразных гомологах метана. Псевдомонады могут воздействовать на углеводороды различной длины цепи.

Микроорганизмы, использующие алифатические и иные углеводороды как единственный источник углерода и энергии, развиваются на других органических средах. Исключение составляют так называемые облигатные метилотрофы, не способные расти на каких-либо других соединениях, кроме как на метане и некоторых промежуточных продуктах его окисления. С 1966 г. по предложению Фостера и Дэвиса (Foster, Davis, 1966) группу метанооксиляющих бактерий объединяют под названием «метилотрофы» и в родовое название этих микроорганизмов включают приставку *Methylo*. К облигатным метилотрофам, выделенным разными авторами до 1966 г., относятся *Bacillus methanicus*, *Pseudomonas methanica*, *Methanomonas methanooxidans*, *Ps. methanitificans*, *Methylococcus capsulatus*. Историю их выделения можно найти в обзорах по окислению метана (Ribbons et al., 1970; Quayle, 1972).

Виттенбары с соавторами (Whittenbury et al., 1970), разработав методику выделения облигатных метанооксиляющих бактерий, получили целый ряд чистых культур, относящихся к родам *Methylosinus*, *Methylomonas*, *Methylobacter*, *Methylococcus*. Деление бактерий, использующих метан, на группы (по данным Whittenbury et al., 1970) приводится ниже:

Группа	Покоящаяся стадия	Тип мембранных структур*	Морфология	Образование розеток
<i>Methylosinus</i>	Экзоспоры	II	Палочки или изогнутые клетки	+
<i>Methylocystis</i>	«Липидные» цисты	II	Палочки или вибрионидные клетки	+
<i>Methylomonas</i>	У некоторых незрелые цисты типа азотобактера	I	Палочки	—
<i>Methylobacter</i>	Цисты типа азотобактера	I	»	—
<i>Methylococcus</i>	У некоторых незрелые цисты типа азотобактера	I	Кокки	—

* I тип представлен парными мембранами, протягивающимися через всю клетку или концентрирующимися по периферии. II тип характеризуется связками дисковидных мембранных везикул, распространенными по всей клетке.

Некоторые виды, относящиеся к перечисленным родам, по-видимому, близки к ранее выделенным организмам. Виттенбары удалось обнаружить ряд интересных культуральных особенностей этих организмов — образование экзоспор, цист и др. Новые обли-

гатные метилотрофы были выделены Стоксом с соавторами (Stokes et al., 1972), Малащенко с соавторами (1972) и другими исследователями.

Риббонс с соавторами (Ribbons et al., 1970) ставят под сомнение существование бактерий, способных окислять метан и высшие углеводороды, описанных ранее рядом авторов, однако сведения о существовании таких организмов продолжают поступать (Colby et al., 1973).

Вертлиб и Вишняк (Wertleib, Vishniac, 1967) сообщили о развитии фотосинтезирующего организма *Rhodospseudomonas gelatinosa* за счет метана в анаэробных условиях на свету, а Дэвис (Davies, 1973) описал целый ряд организмов, осуществляющих использование метана в процессе анаэробной денитрификации.

Сведения о микроорганизмах, развивающихся на алициклических (нафтеновых, циклопарафиновых) углеводородах, практически отсутствуют. Об устойчивости декалина и циклогексана к бактериальному воздействию сообщают Пельц, Рем (Pelz, Rehm, 1971), Бим и Перри (Beam, Perry, 1973). Последние авторы отмечают преимущественное соокисление циклопарафинов до соответствующих циклоалканолонов в процессе роста на пропане *Mycobacterium goodii*, *M. vaccae*. В то же время ими наблюдался быстрый рост микроорганизмов на циклоалканах.

В обзоре 1967 г. нами (Розанова) были собраны сведения, позволяющие заключить о возможности использования ароматических углеводородов (бензола, толуола, ксилола) бактериями различных родов — микобактериями, нокардиями, псевдомонадами.

Наиболее часто отмечается использование полициклических углеводородов (нафталина, антрацена, фенантрена), как единственного источника углерода и энергии, представителями рода *Pseudomonas*.

Ито и Дон (Itoch, Doi, 1969) отметили использование нафталина, фенантрена и антрацена дрожжами рода *Trichosporon*. По-видимому, дрожжи и грибы принимают меньшее участие в разрушении ароматических углеводородов, чем бактерии. В то же время дрожжи различных родов и грибы активно расщепляют ароматические кислоты и спирты (Nei et al., 1973; Kumar et al., 1972).

Как было показано выше, в нефтях и битумах нефтяного ряда широко представлены изоалканы и углеводороды гибридного строения. Рассмотрим доступность микробиологическому воздействию алканов, водородные атомы которых замещены алкильными группами. Алканы, состоящие из коротких и длинных углеродных цепей с одной или двумя ответвленными метильными группами, могут служить единственным источником углерода и энергии для микроорганизмов. При этом играет значение расположение этих групп на молекуле алкана. Увеличение числа последовательно ответвляющихся метильных групп уменьшает доступность углеводорода микробиологическому воздействию. Устойчивость алканов

увеличивается при увеличении длины цепи заместителя (Розанова, 1967).

Явление угнетающего влияния заместителей на доступность алканов микроорганизмам в последнее время было подтверждено в работе ван Раавенсваа и ван дер Линдена (van Raawenswaay, van der Linden, 1971), использовавших энзиматические экстракты клеток *Pseudomonas aeruginosa* (табл. 11).

Т а б л и ц а 11. Окисление алканов экстрактами из клеток *Pseudomonas aeruginosa*, адаптированных к *n*-гептану (по van Raawenswaay, van der Linden, 1971)

Субстрат	Кислота	Выход продукта, % от максимального
n-Пентан	Пентановая	45
n-Гексан	Гексановая	80
n-Гептан	Гептановая	80
n-Октан	Октановая	100
n-Нонан	Нонановая	100
n-Декал	Декановая	80
2-Метилгексан	Не опр.	60
3-Метилгексан	То же	40
2,2-Диметилгексан	»	5
2,3-Диметилгексан	»	15
2,4-Диметилгексан	»	30
2,5-Диметилгексан	»	30
3,4-Диметилгексан	»	10
2,2,4-Триметилпентан	»	—

Изучение использования фенилалканов и алкилбензолсульфонатов микроорганизмами выявило ряд закономерностей, связанных с их конфигурацией. Было показано, что соединения со средней длиной алкильной цепи (до восьми атомов углерода) разрушаются почвенной микрофлорой медленнее, чем субстраты с большой длиной алкильной цепи (Haddleston, Allred, 1963). Мак Кенна, Каллио (Mc Kenna, Kallio, 1963), Хаддлестоном и Элредом (Haddleston, Allred, 1963) была установлена зависимость усвояемости этих соединений от положения фенила на углеродном скелете алкила. Из табл. 12 (по Mc Kenna, Kallio, 1963) видно, что по мере продвижения фенила от конца алкильной цепи к середине доступность структур микробиологическому воздействию снижалась. Если к фенильному кольцу алкилбензолсульфонатов были прикреплены два алкила, скорость окисления зависела от расположения обоих радикалов. Отмечали различное отношение микроорганизмов к фенилалканам четных и нечетных алкильных цепей (van Raawenswaay, van der Linden, 1971). Боган и Сойер (Bogan,

Т а б л и ц а 12. Зависимость роста микроорганизмов от расположения фенильной группы на углеродном скелете алкила (McKenna, Kallio, 1963) *

Соединение	Расстояние ** от точки прикрепления фенила до отдаленной конечной метильной группы	Рост микроорганизмов			
		Micrococcus	Pseudomonas	Mycobacterium	Nocardia
1-Ø-Ундекап	10	+	⊕	++	++
2-Ø-Ундекап	9	0	0	+	++
6-Ø-Ундекап	5	0	0	⊕	+
1-Ø-Додекап	11	++	++	++	++
2-Ø-Додекап	10	0	0	++	++
3-Ø-Додекап	8	0	0	+	+
6-Ø-Додекап	6	0	0	+	+

* Условные обозначения: 0 — нет роста; ⊕ — сомнительный рост; + — рост; ++ — хороший рост; Ø — фенильная группа.

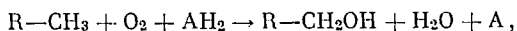
** Расстояние представлено числом атомов углерода.

Sawyer, 1955) утверждали, что алкилбензолсульфонаты с разветвленными алкильными цепями биохимически инертны.

Окисление углеводов микроорганизмами преимущественно осуществляется с помощью индуцируемых ферментов.

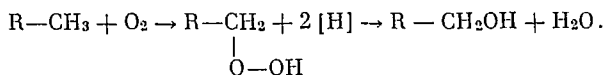
Наиболее интересным моментом при окислении алифатических углеводов является воздействие на терминальную метильную группу с образованием спирта. В настоящее время обсуждаются следующие варианты терминального окисления.

1. С участием оксидаз (или оксигеназ) смешанных функций.



где А — донатор водорода.

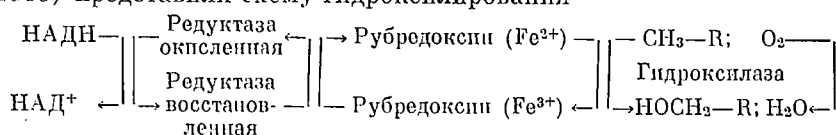
2. С участием оксидаз типа кислород-трансферазы с образованием гидроперекисей в качестве промежуточных продуктов окисления:



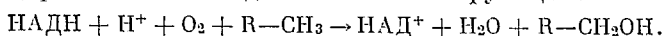
3. При участии дегидрогеназ с образованием в качестве промежуточных продуктов 1-олефинов.

Первые два пути являются аэробными, третий — анаэробный. В работах некоторых исследователей были получены существенные доказательства в пользу окисления метильной группы n-алканов и жирных кислот с участием энзимов типа оксидаз смешанных функций. Выяснено, что при окислении терминальной ме-

тильной группы бесклеточными экстрактами *Ps. oleovorans* вовлекаются три протеиновых комплекса — рубредоксин, НАД-рубредоксинредуктаза и ω -гидроксилаза жирных кислот или алкан-1-гидроксилаза. Петерсон с сотрудниками (Peterson et al., 1969) представили схему гидроксילирования



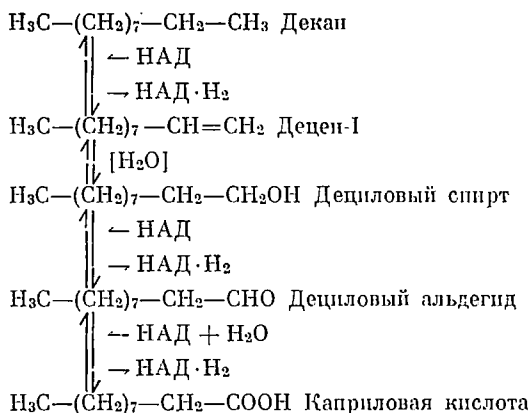
и показали, что энзиматическая система окисления может быть классифицирована как оксидаза смешанных функций:



Подтверждения участия трех энзиматических фракций в окислении углеводорода *Pseudomonas* представлены Мак Кенна, Куном (McKenna, Coop, 1970), ван Айком и Бартельсом (van Eyk, Bartels, 1970). Кузуноза с соавторами (Kusunose et al., 1967) нашли, что для максимального гидроксילирования декана культурой *Ps. denitrificans* необходим ФАД. Предполагают, что возможны иные оксидазы, включающие цитохром P_{450} , флавопротени, цитохром С (Cardini, Jurtschuk, 1968, 1970).

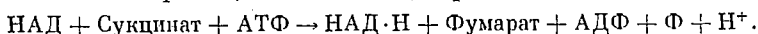
Перекисный механизм окисления углеводородов разрабатывался Ледбеттером и Фостером (Leadbetter, Foster, 1960), однако существенные доказательства в пользу действия этого механизма отсутствуют (Klug, Markovetz, 1971).

Гипотеза дегидрирования получила развитие главным образом благодаря работам французских исследователей группы Азолея, суммированным в статье Либо и Азолея (Lebeault, Azoulay, 1971), и работам группы японских исследователей с участием Идзуки (Iizuka et al., 1968, 1969; Iida, Iizuka, 1971). Обе группы работали с дрожжами *Candida*. Французская группа смогла продемонстрировать НАД-восстанавливающую активность препаратов из клеток дрожжей в присутствии декана и АТФ. Японские исследователи добились получения в анаэробных условиях алк-1-ена из декана при НАД-зависимом дегидрировании энзиматическими препаратами клеток *Candida rugosa*, а также выделили дециловый спирт, альдегид и каприловую кислоту. Схема этих авторов, приведенная ниже, показывает присоединение воды по двойной связи к алкену с образованием спирта. Реакция гидроксילирования протекала в отсутствие НАДН₂. Те же продукты были получены из децена в аэробных условиях. Масс-спектрометрическими исследованиями с применением H_2O^{16} и H_2O^{18} было показано, что кислород ОН-группы в молекуле анаэробно образованного спирта происходит из воды. Таким образом, как полагают указанные авторы, осуществляется гидратация децена, которую катализирует фермент, аналогичный фумаразе. В анаэробных условиях выход спирта был выше, чем в аэробных.



Заслуживает внимания тот факт, что французские исследователи отмечают конститутивный характер дегидрогеназных систем. Эти ферменты локализованы в митохондриях (Lebeault, Azoulay, 1971; Gallo et al., 1971). Энзиматические системы, осуществляющие аэробное окисление алканов, как правило, индуцируются субстратом и, по-видимому, локализованы в цитоплазматической мембране (микросомах) (van Eyk, Bartels, 1970; Liu, Johnson, 1971; Gallo et al., 1971). Создается впечатление, что дрожжи обладают двумя системами окисления углеводов — анаэробной и аэробной, локализованными в разных участках клетки. Это впечатление подтверждается данными Либо и Азолея (Lebeault, Azoulay, 1971) о наличии в клетках дрожжей разных типов алкогольдегидрогеназ — цитоплазматической растворимой, индуцируемой алканом и митохондриальной, конститутивной.

Энергетика НАД-восстановления при дегидрировании алкана неблагоприятна (McKenna, Kallio, 1965). По-видимому, для активации процесса требуется АТФ. Клюг и Марковец (Klug, Markovetz, 1971) ссылаются на Джонсона (Johnson, 1964), предложившего для объяснения механизма дегидрирования алкана обратный поток электронов, найденный для реакции



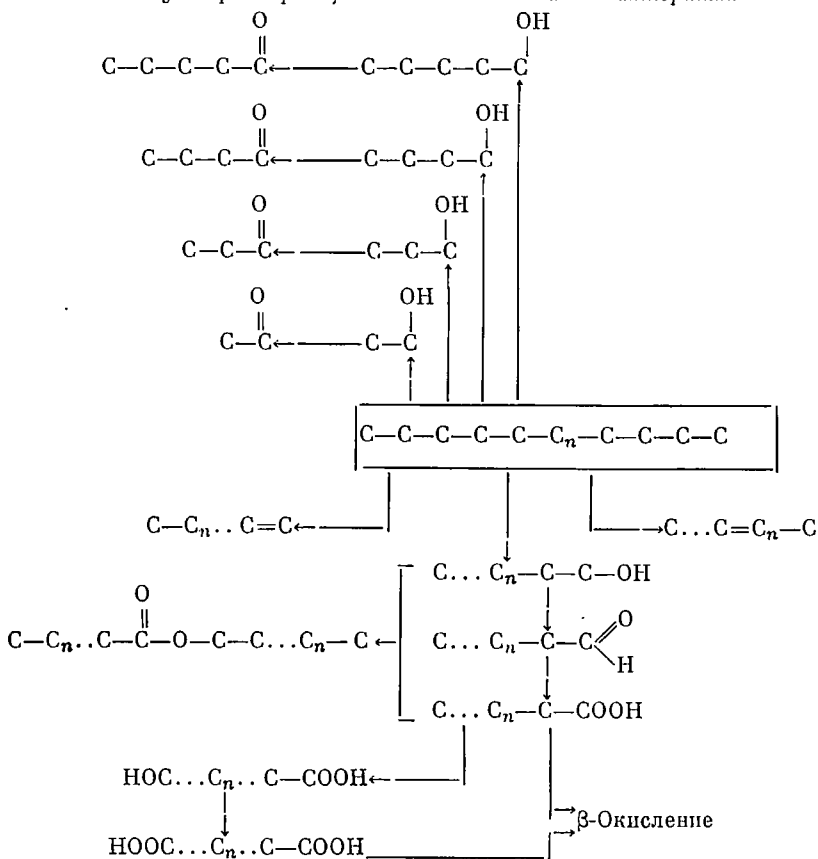
Как следует из изложенного, сведения об анаэробном окислении углеводов пока весьма немногочисленны, чтобы можно было сделать определенное заключение о распространении подобного механизма. Большинство исследователей отмечают наличие лишь аэробных энзимов гидроксилирования углеводов в бактериальных и дрожжевых системах¹. По данным Мэя и Эббота (May, Abbot, 1973), гидроксилирование метильной группы и ко-

¹ К настоящему времени японские исследователи признали ошибочность своих данных, касающихся путей анаэробного окисления парафинов дрожжами.

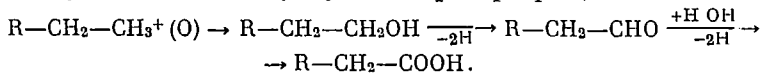
нечной группировки с двойной связью олефина осуществляет одна и та же ферментативная система, включающая молекулярный кислород. Пути окисления n-алканов микроорганизмами, по схемам Клуга и Марковца (Klug, Markovetz, 1971), приведены ниже (см. схемы 1—3). Монотерминальное окисление, по-видимому, один из

Схема 1

Суммарные реакции окисления n-алканов бактериями



основных путей разрушения алканов микроорганизмами. Дальнейшая последовательность реакций метаболизма первичных спиртов, возникающих в процессе монотерминального окисления, протекает по общему биологическому пути: спирт превращается в кислоту:



Эти превращения происходят без участия молекулярного кислорода (Heudeman, Azoulay, 1963). Углеводород является субстратом, индуцирующим энзимы всей этой цепи (Leavitt, 1966).

Схема 2

Суммарные реакции окисления n-алканов дрожжами

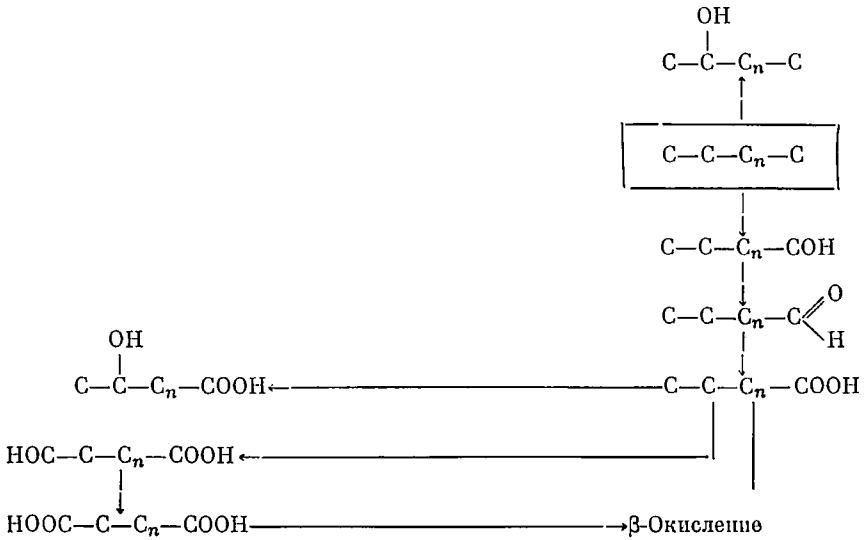
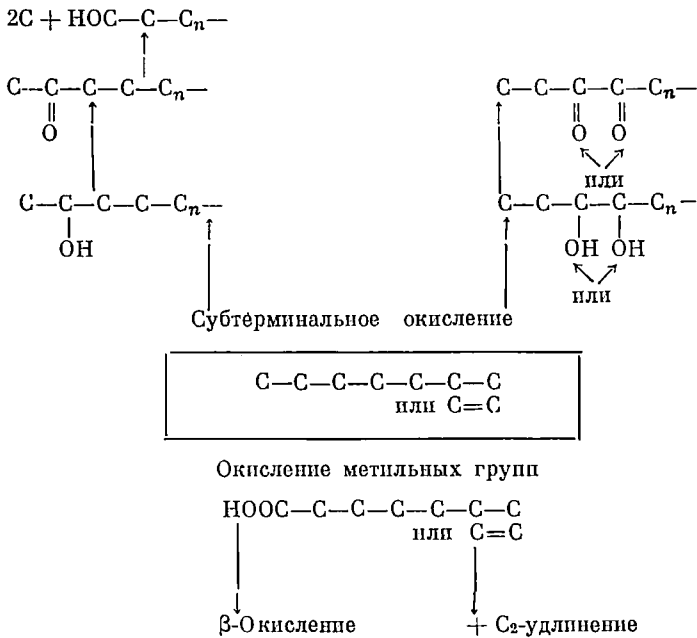
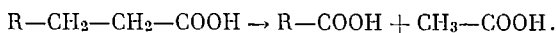


Схема 3

Окислительная атака грибов на алканы и алк-1-ены



Дальнейший механизм усвоения жирных кислот, возникающих при окислении углеводов, протекает путем β -окисления, проявляющегося в последовательном отщеплении двууглеродных радикалов (уксусной кислоты) (Thijsse, van der Linden, 1958):

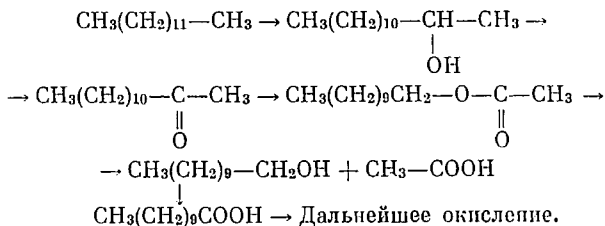


Результатом β -окисления является накопление уксусной кислоты из углеводов четных цепей, уксусной и пропионовой кислот из алканов нечетных цепей.

Изучение продуктов, возникающих при воздействии микроорганизмов на алканы, показало, что помимо спиртов могут быть обнаружены алкены — ненасыщенные соединения с двойной связью на конце или в середине цепи. Происхождение первых обсуждалось выше. Вторые, по-видимому, могут возникать в результате действия механизма аэробной жирнокислотной десатурации, не имеющего отношения к механизму деградации алкана. Примером такого варианта, по мнению Клюга и Марковца (Klug, Markovetz, 1971), служит образование смеси октадец-9-ена и 8, 7, 6, 5-изомеров из н-октадекана покоящимися клетками *Nocardia* (Abbot, Gasida, 1968).

Другим отклонением от монотерминального пути окисления является образование ω -окси- и дикарбоновых кислот (Ali Khan et al., 1964, и др.). Характеристика ферментативных систем, ответственных за ω -окисление жирных кислот, была приведена выше. Ван дер Линден и ван Равенсвей (van der Linden, van Raawenswaay, 1971), изучавшие индуцируемую алканами алкогольдегидрогеназу из клеток *Pseudomonas aeruginosa*, заключают, что ω -оксикислота подвергается действию этого фермента только после истощения первичного спирта, в связи с тем что последний обладает большей степенью сродства к алкогольдегидрогеназе. Поэтому путь дитерминального окисления алканов, по мнению указанных авторов, является побочным.

Следующей вариацией окисления алканов является субтерминальное окисление с образованием метилкетонов и вторичных спиртов. Блевинс и Перри (Blevins, Perry, 1972) представили доказательства ферментативного окисления пропана через ацетон. Форней и Марковец (Forney, Markovetz, 1970) сформулировали путь окисления н-тридекана *Ps. aeruginosa* через вторичный спирт и метилкетон:

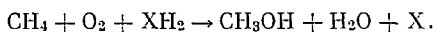


В обзоре Клюга и Марковца (Klug, Markovetz, 1971) приводятся данные, свидетельствующие, что субтерминальное окисление дрожжами метиленовой группы жирных кислот в ω -1-положении происходит при участии молекулярного кислорода. Указанные авторы обсуждают возможность прямого гидроксирования метильной или метиленовой группы с замещением одного из водородов на гидроксил при атаке одной ферментной системы, действие которой подвергается регулированию. Образование внутренних кетонов и спиртов субстратной длины цепи с окисленными 3, 4, 5, 6-атомами углерода при использовании бактериями и грибами алканов длинных цепей (Fredericks, 1967; Pelz, Rehm, 1972) пока не находит удовлетворительного объяснения. Из приведенных схем 1—3 видно, что принципиальных отличий в окислении алканов бактериями, дрожжами и грибами нет.

Рассмотрим отдельно бактериальное окисление метана в связи с некоторой специфичностью метанооксиляющих бактерий. Этот процесс протекает по схеме



Хиггинс, Квайл (Higgins, Quayle, 1970), Риббонс и Хиггинс (Ribbons, Higgins, 1971), исследовавшие бесклеточные экстракты *Methanomonas methanooxidans* и *Methylococcus capsulatus*, установили, что ферментативные системы, катализирующие окисление метана до метанола, можно отнести к монооксигеназам, осуществляющим реакцию



Для окисления метана требовалось присутствие молекулярного кислорода, НАД·Н и фракции частец. Ферментативные препараты *M. capsulatus* окисляли метан, этан и небольшое количество пропана. Отмытые клетки *M. capsulatus* превращали в соответствующие альдегиды кроме метанола этанол и другие спирты вплоть до пентанола (Patel, Hoare, 1971). Таким образом, существенных отличий в механизмах окисления метана и высших углеводов нет.

Фиксация клеточного углерода у метанооксиляющих бактерий происходит, по-видимому, различным образом: через сериновый путь — у *M. methanooxidans* (Lawrence et al., 1970) или через аллюлозофосфатный цикл — у *Ps. methanica* и *M. capsulatus*. Последний обнаружен исключительно у метанооксиляющих бактерий.

Включающийся в цикл углерод окислен до уровня формальдегида (Kemp, Quayle, 1967). Анаэробное фотоокисление метана *Rhodospseudomonas gelatinosa*, по мнению Квайла (Quayle, 1972), не доказано.

Воздействие микроорганизмов на 1-олефины приводит к окислению метильной группы насыщенного конца и к различным превращениям атомов, несущих двойную связь. Приводим пути окисления алк-1-енов по схемам 3—5 Клюга и Марковца (Klug, Markovetz, 1971).

Схема 4

Окисление алк-1-енов бактериями

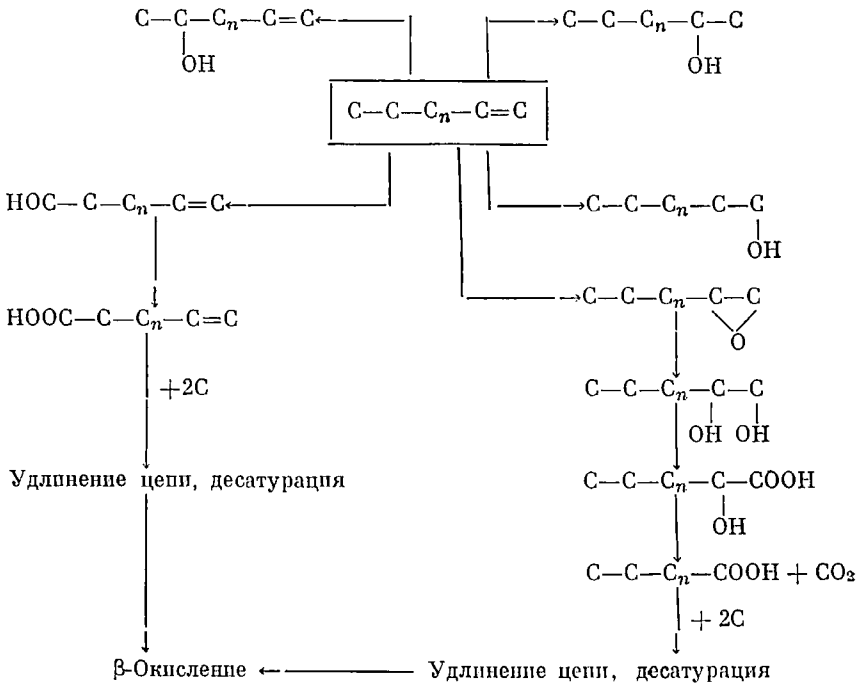
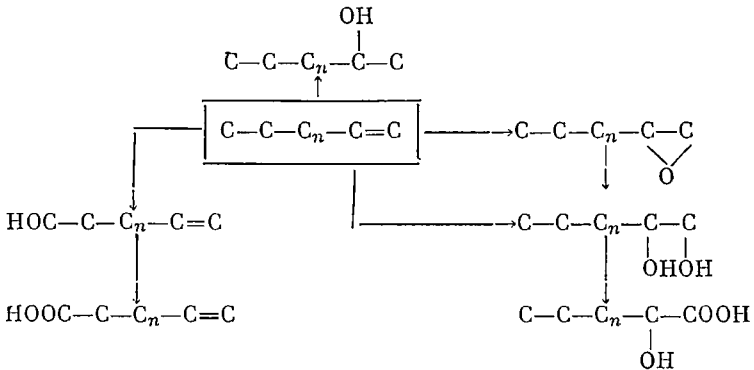


Схема 5

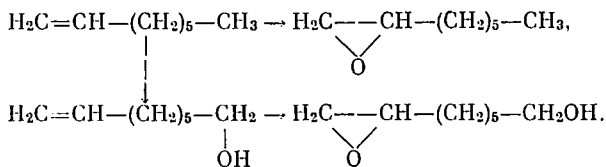
Окисление алк-1-енов дрожжами



Недавно Мэй и Эббот (May, Abbot, 1973) установили, что метильная группа углеводорода и группировка с конечной двойной связью подвергаются воздействию одной и той же гидроксилирующей ферментативной системы, выделенной из *Pseudomonas ole-*

овогаи. Было установлено, что метильная группа превращается в спиртовую, а группировка с двойной связью — в эпоксидную.

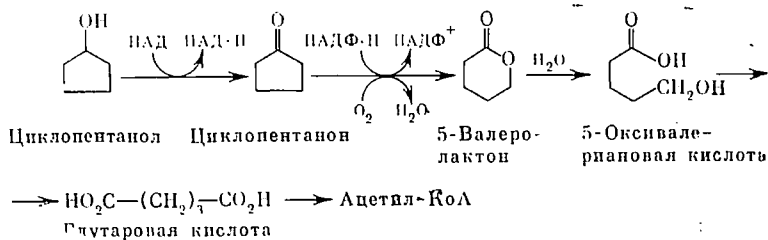
Энзиматическая система состояла из трех энзиматических компонентов, реакция шла с участием НАД·Н и молекулярного кислорода. Таким образом, окт-1-ен превращался в 7-октен-1-ол и 1, 2-эпоксиоктан.



Работами ряда исследователей (Huybregste, van der Linden, 1964; Makula, Finnerty, 1968; Klug, Markovetz, 1967) было установлено, что в результате окисления метильной группы алк-1-ена возникают спирты и кислоты с ненасыщенной группировкой на другом конце цепи. Окисление группировки с двойной связью ведет к образованию эпоксидов, диолов, 2-оксикислот субстратной длины цепи и жирных кислот на один атом углерода короче субстрата. Эти продукты составляют единую последовательность. Образование диолов из эпоксидов связывают с энзиматической гидратацией последних. Кроме того, были обнаружены первичные и вторичные спирты субстратной длины цепи. Их возникновение Клюб, Марковец (Klug, Markovetz, 1971) и Азолей с соавторами (Azoulay et al., 1963) связывают с восстановлением эпоксида, сопровождающимся разрывом связи между кислородом и первым или вторым атомом углерода. Вопрос о том, окисление какого из концов молекулы алк-1-ена ведет к образованию метаболизируемых продуктов, остается открытым. Ван дер Линден, ван Равенсвей (van der Linden, van Raawenswaay, 1971), Мэй и Эббот (May, Abbot, 1973) полагают, что реакции, вовлекающие окисление двойной связи, могут быть побочными.

Данные по механизму окисления циклоалканов позволяют заключить, что микробиологическое окисление алициклических колец протекает последовательно через стадии образования спиртов и кетонов. В экспериментах ван Равенсвей и ван дер Линдена (van Raawenswaay, van der Linden, 1971) энзиматическая система, выделенная из клеток *Pseudomonas aeruginosa*, гидроксильровала метильные группы алканов, алкильных заместителей фенилалканов и циклопарафиновых производных с 5—8 атомами углерода в кольце. Образование кетонов при окислении алициклических колец в присутствии ростового субстрата наблюдали Оояма и Фостер (Ooyama, Foster, 1965). Механизм расщепления циклогексанола и циклопентанола культурами *Nocardia globerulea* и *Pseudomonas* sp. описан в работах Норриса, Трудгилла (Norris, Trudgill, 1972), Гриффина и Трудгилла (Griffin, Trudgill, 1972). Спирты с участием дегидрогеназ превращались в соответствующую

ще кетоны. Из кетонов формировались лактоны под действием оксидазы смешанных функций, требующей НАДФ·Н как донора электронов и вводящей в субстрат молекулярный кислород. Схема окисления циклопентанола по данным Грпффина и Трудгилла приведена ниже:



Представленные выше материалы по окислению микроорганизмами углеводов прямой цепи позволяют сделать следующее обобщение: метильная и субтерминальная метиленовая группы алканов, конечная метиленовая группа алк-1-ена и метиленовые группы циклоалканов могут подвергаться воздействию одной и той же энзиматической системы. Эта гипотеза обосновывается следующими данными: 1) Клюг и Марковец (Klug, Markovetz, 1971), рассмотревшие ряд данных, считают весьма вероятным, что окисление метильной и субтерминальной метиленовой группы алкана катализируется единственной системой; 2) по-видимому, одна и та же система окисляет конечную группу алк-1-ена с двойной связью и метил (May, Abbot, 1973); 3) согласно ван Раавенсвею и ван дер Линдену (van Raawenswaay, van der Linden, 1971), один и тот же энзиматический препарат (возможно, единственная энзиматическая система) окисляет метильную группу n-алкана и гидроксيليрует циклоалкановое кольцо. Данные последних авторов, а также ван Айка и Бартельса (van Eyk, Bartels, 1968) показывают, что циклогексан и циклопентан не могут функционировать как индукторы синтеза энзимов окисления, тем не менее метиленовая группа циклогексана окисляется энзиматической системой, индуцированной алкановым субстратом. Это дает основание рассматривать окисление метиленовой группы других субстратов (алкана, 1-олефина) как своего рода соокисление в процессе преобразования метильных групп той же молекулы. Индуцированные гидроксилазы не обладают узкой специфичностью к окислению метильных групп и соокисляют их аналоги — метиленовые группы. Дальнейшее превращение гидроксильированных метиленовых групп обуславливается специфической активностью других энзимов комплекса, индуцированного субстратом. Алкан, по-видимому, индуцирует энзимы, преобразующие субстрат до кислоты субстратной длины цепи (Leavitt, 1966).

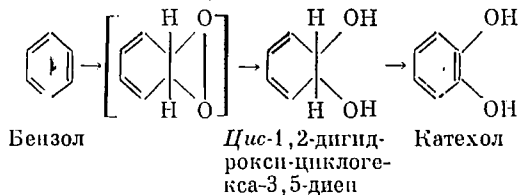
Отсутствие дерепрессорных свойств циклопентана и циклогексана объясняет недоступность их микроорганизмам в качестве

единственного источника углерода и энергии и возможность со-окисления их при наличии ростовых субстратов (Beam, Perry, 1973). Циклоалканоны, возникающие при таком соокислении, по-видимому, способны функционировать как индукторы энзимов расщепления циклопарафинового кольца, поэтому они доступны микроорганизмам в качестве единственного источника углерода и энергии.

Разрушение микроорганизмами ароматических соединений происходит путем разрыва кольцевых структур. Расщеплению кольца предшествует образование структур, содержащих не менее двух гидроксильных групп (Dagley, 1971). Если кольцо обогащается одной или двумя последовательно введенными гидроксильными группами, включение их происходит при участии гидроксилаз типа монооксигеназ. Дигидроксилирование колец, по-видимому, осуществляется дигидроксилазами, относящимися к типу диоксигеназ.

Из гидроксилаз к настоящему времени наиболее изучены ферменты, окисляющие *para*-гидроксибензоат. В работах Хоуэлла с соавторами (Howell et al., 1972), Хигаши с соавторами (Higashi et al., 1972) показано, что *para*-гидроксибензоатгидроксилазы микроорганизмов содержат ФАД, зависимы от НАД·Н (ТПН·Н) и включают атом молекулярного кислорода в субстрат, образуя промежуточный энзим-кислород-субстратный комплекс, по-видимому, гидроперекисного типа (Spector, Massey, 1972). Обсуждается возможное участие аниона O_2^- в реакциях гидроксилирования (Kumar et al., 1972).

Примером участия диоксигеназ в окислении ароматического кольца служит дигидроксилирование бензола у микроорганизмов. Включение двух атомов молекулярного кислорода в бензольное кольцо мутантом *Ps. putida* показано Гибсоном с соавторами (Gibson et al., 1970a). Было обнаружено промежуточное соединение — *cis*-1,2,-дигидроксициклогекса-3,5,-диен. Включение двух атомов кислорода и появление соединения *cis*-конфигурации служат доказательством того, что окисление протекает через стадию перекисного соединения, а не эпоксида.

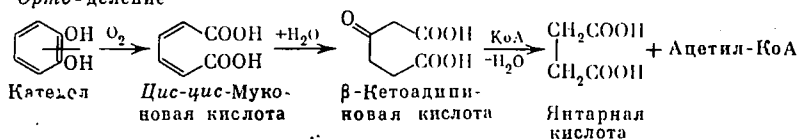


Образование продуктов *cis*-конфигурации было показано при окислении толуола мутантом *Ps. putida* (Gibson et al., 1970) и нафталина при воздействии штамма *Pseudomonas* (Catterall, Williams, 1971), что косвенно указывает на возможность окисления этих соединений через перекись. Не исключается альтернативное окисление нафталина через эпоксид: Гриффитс и Эванс (Griffits,

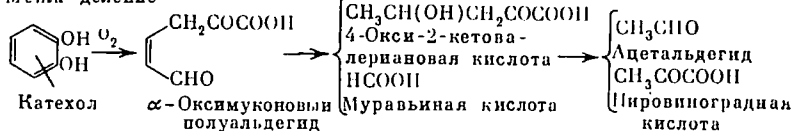
Evans, 1965) нашли продукт *транс*-конфигурации, возникающий из нафталина. В варианте с оксидом лишь один атом молекулы кислорода включается в кольцо.

Дигидроксилированные соединения подвергаются далее воздействию диоксигеназ, которые расщепляют кольцо, вводя два атома молекулярного кислорода. Расщепление может происходить двумя путями: 1) по типу *орто*-деления — между соседними атомами углерода, несущими гидроксильные группы. Энзимом такого типа является протокатехат-3,4-диоксигеназа, выделенная Фуисава и Хайайши (Fujisawa, Haiyaishi, 1968); 2) по типу *мета*-деления — между атомом углерода, несущим гидроксил, и соседним, незамещенным атомом. Примером такого энзима является *мета*-пирокатехаза (Nozaki et al., 1963). Вариацией *мета*-деления ядра является расщепление между атомом углерода, несущим гидроксил, и соседним, связанным с радикалом. Таким образом расщепляет субстрат гомогентизат — диоксигеназа (Adachi et al., 1966). Схемы *орто*- и *мета*-деления катехола, составленные по данным ряда авторов (Розанова, 1967), приводятся ниже:

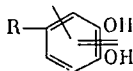
Орто-деление



Мета-деление



Приняв за основу данные по конечным продуктам расщепления катехола и протокатеховой кислоты, схему полного разрыва колец ароматических соединений, подвергающихся расщеплению *орто*-делением, можно представить так:



где *R* — либо водород, либо радикал; две параллельные линии поперек связи означают начальный разрыв, требующий включения молекулярного кислорода, одна линия — последующие разрывы, протекающие без участия O_2 . Таким образом, происходят два расщепления по двойным связям с образованием соединений, в структуре которых принимают участие 2 и 4 атома углерода из кольца. Таков путь расщепления бензола, метилкатехола, бензойной кислоты.

Общая схема полного распада колец, подвергающихся начальному разрыву *мета*-делением, выглядит следующим образом (Gibson et al., 1967):



где R_1 , R_2 , R_3 — либо водород, либо радикалы, как, например, $-\text{CH}_3$; $-\text{CH}_2-\text{COOH}$; $-\text{COOH}$ и др.

Такому распаду подвергаются 3-метилкатехол, возникающий при окислении *мета*- и *орто*-крезола и толуола, 4-метилкатехол, образующийся при окислении *пара*-крезола, и другие соединения (Bauyl et al., 1966; Foggo, 1966). Судя по продуктам распада нафталина, антрацена, фенантрена, можно думать, что полициклы расщепляются сходным образом (схема 6).

Схема 6

Бактериальное окисление нафталина

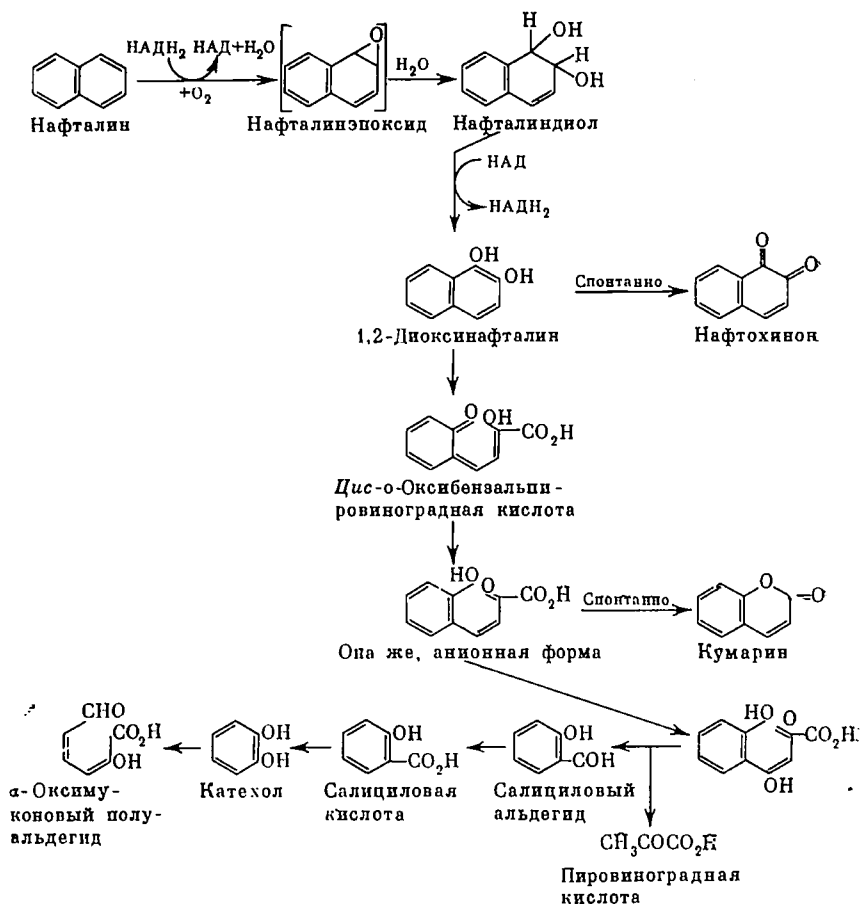
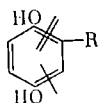


Схема *мета*-деления дигидроксилированного кольца с *пара*-положением групп ОН такова:



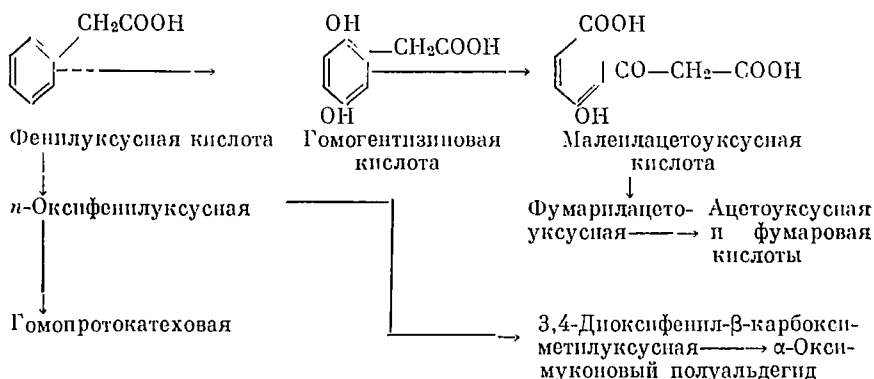
Происходит разрыв в двух местах по двойным связям с образованием продуктов, содержащих 2 и 4 атома углерода из кольца.

По такому пути распадаются гентизиновая и гомогентизиновая кислоты. Микроорганизмы могут обладать потенциальными способностями к выработке энзимов, ответственных за расщепление ароматических колец как по типу *орто*-деления, так и по типу *мета*-деления. Например, Сала-Трепа с соавторами (Sala-Trepa et al., 1972) обнаружили, что у организма *Pseudomonas putida* на среде с бензоатом проявляется активность катехол-1, 2-оксигеназы, а на среде с фенолом — катехол-2,3-оксигеназы. Дэгли (Dagley, 1971) считает, что тот или иной путь окисления, удовлетворяющий ростовым требованиям, будет выбран на основе комбинации двух факторов — механизма депрессии энзимов, необходимых для расщепления субстрата, и субстратной специфичности этих энзимов.

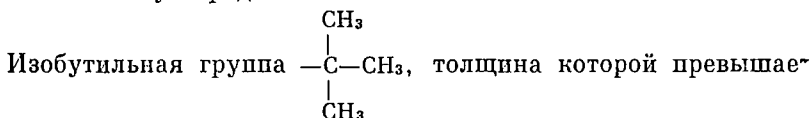
В результате расщепления фенилалканов с длинными боковыми цепями возникают бензойная, фенилпропионовая и фенилуксусная кислоты. Путь аэробной деградациии бензойной кислоты, по-видимому, может несколько варьировать. Наиболее хорошо изучен путь окисления бензойной кислоты через стадию катехола. Другой вариант окисления описан Райнером (Reiner, 1972). Установлен также восстановительный анаэробный распад бензойной кислоты и других ароматических соединений при участии *Rhodospseudomonas palustris* (Dutton, Evans, 1969). Кроме того, анаэробный распад бензойной кислоты происходил в процессе метанового брожения (Nottingham, Hungate, 1969) и денитрификации (Taylor, Heeb, 1972).

Распад фенилуксусной кислоты может протекать различными путями с образованием кислот — ацетоуксусной, фумаровой, гомопротокатеховой, 3, 4-дигидроксифенилуксусной и др. (Chapman, Dagley, 1962; Blakley, 1967). Обобщенная схема распада приведена на стр. 59.

Относительно механизма расщепления алканов изостроения известно очень немного. Исследования Тьисса, ван дер Линдена (Thijssse, van der Linden, 1961), Такахаши и Фостера (Takahashi, Foster, 1966) показали, что микроорганизмы различают метильные группы изоалкана. Боковая метильная группа изоалкана не подвергается микробиологическому воздействию. Эти данные нашли подтверждение в исследованиях ван Раавенсваая и ван дер Линдена (van Raawenswaay, van der Linden, 1971). Для успешного гидроксирования энзиматической системой, выделен-



ной из клеток *Pseudomonas aeruginosa*, изоалкан должен был иметь неразветвленный участок цепи, состоящий не менее чем из 4 атомов углерода. Был получен следующий выход продуктов при окислении серии изоалканов (в % от максимального): 2,2-диметилпентана — 0; 2,2-диметилгексана — 5; 2,2-диметилгептана — 90; 2,2-диметилоктана — 100; 2,2-диметилнонана — 100. Авторы заключили, что глубина щели активного центра фермента составляет около 8 Å, это соответствует длине четырех алифатически связанных атомов углерода.



5 Å, не может быть охвачена этим энзимом, щель которого имеет около 4 Å в ширину. Это обстоятельство объясняет устойчивость соединений с изобутильной группой на концах цепи (Mc Kenna, Kallio, 1963). Пока неясно, какова вариабельность размеров щели активных центров у разных гидроксيليрующих энзимов.

Как полагают указанные выше авторы, гидроксилаза, по-видимому, имеет гидрофобную природу, и способность субстрата к образованию комплекса с энзимом зависит от гидрофобности первого.

Микроорганизмы преобразуют фенилалканы в процессе роста и при соокислении их с ростовым субстратом. Наблюдаются разные варианты преобразования — или окисляется только боковая цепь, или, кроме того, гидроксيليруется и расщепляется ядро.

Если микроорганизм развивается только за счет окисления боковой цепи, длина ее должна быть достаточно велика (Davis, Raymond, 1961). Возможность окисления микроорганизмами алкильной части молекулы фенилалкана в ряде случаев регулируется длиной алкила. Отдельные микроорганизмы, например представители рода *Pseudomonas*, характеризуются относительно меньшей разборчивостью в отношении длины боковой цепи. По

данным ван Раавенсваая и ван дер Линдена (van Raawenswaay, van der Linden, 1971), энзиматическая система *Pseudomonas aeruginosa* окисляла метильный атом боковых цепей изопропилбензола и гомологичного ряда алкилбензолов от толуола до гептилбензола. Другие организмы, развивающиеся на *n*-алканах с длиной цепи, состоящей не менее чем из 9—10 атомов углерода, имеют тенденцию окислять фенилалканы с боковой цепью, содержащей не менее 7 атомов углерода. Примером тому служит *Micrococcus cerificans* (Dours, Frankenfeld, 1968). Возможно, это явление связано с определенным строением и величиной щели активного центра гидроксиллирующих энзимов. Механизм прямого терминального окисления конечной метильной группировки боковой цепи алкилбензолсульфоната, по данным Танабе с соавторами (Tanabe et al., 1971), вовлекает молекулярный кислород. Энзимы β -окисления алкильных цепей алкилбензолсульфонатов из клеток *Bacillus* были сходны с энзимами, разрушающими боковую цепь жирных кислот (Willets, Cain, 1972). β -Окисление алкильных цепей фенилалканов приводит к накоплению бензойной, фенилуксусной, фенилпропионовой, фенилакриловой кислот.

Гидроксилирование кольца фенилалканов может предшествовать окислению боковой цепи, или наоборот, но перед расщеплением кольца алкильная цепь окисляется и укорачивается. Введение кислорода в кольцо, сохраняющее незатронутые алкильные группировки, наблюдали Багги с соавторами (Baggi et al., 1972); использовавшие псевдомонад. Продуктами окисления ароматических колец 2-фенилбутана и 3-фенилпентана (алкильная цепь этих соединений от места прикрепления до отдаленного метила содержала 2—3 атома углерода) были 2,3-дигидро-2,3-дигидроксипроизводные. Был обнаружен также продукт *мета*-деления ядра, сохраняющий боковые группировки.

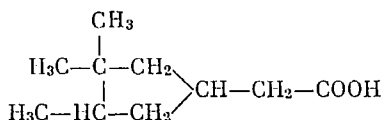
Как правило, перед делением ядра цепь, состоящая более чем из трех атомов углерода, укорачивается (Blakley, 1967), при этом возникают фенилалкановые кислоты. В том случае, когда окислению подвергается метильный заместитель, он превращается в карбоксильную группировку. Такие превращения метильных групп ксилола наблюдали Джемисон с соавторами (Jamison et al., 1969), Омори и Ямада (Omori, Yamada, 1970).

Метил обнаруживается также в неизмененном виде в продуктах деления ядра. Примером служат продукты окисления толуола (Gibson et al., 1970a) и ксилола (Jamison et al., 1969).

При воздействии на алкилциклоалканы микроорганизмы окисляли или только боковые цепи, как в случае с *Nocardia* у Дэвиса и Раймонда (Davis, Raymond, 1961), или ядро, примером чего служит гидроксилирование кольца ряда моноалкилпроизводных циклогексана энзимами *Pseudomonas aeruginosa* (van Raawenswaay, van der Linden, 1971). Наблюдали также окисление кольца и алкильной группировки. Последний вариант был найден Араи и Ямада (Arai, Yamada, 1969), испытывавшими окисление этил-

циклогексана *Alcaligenes faecalis*. Боковая цепь также подвергается процессам β -окисления (Davis, Raymond, 1961).

Способность микроорганизмов развиваться на нефтяных кислотах, очевидно, зависит не только от длины алкильной части кислоты, но и от строения кольца. Можно думать, что кислоты сложного строения с конденсированными и полимеризованными ядрами или с ядрами, несущими ответвления, обычно присутствующие в нефтях, как, например



(Добрянский, 1948), труднее поддаются расщеплению микроорганизмами (или скорее совсем не разрушаются), чем простые кислоты, например циклогексанкарбоновая и циклогексануксусная.

Сравнение скорости окисления ферментативной системой *Pseudomonas aeruginosa* субстратов разного строения позволило ван Равенсвею и ван дер Линдену (van Raawenswaay, van der Linden, 1971) прийти к заключению, что только те соединения подвергаются окислению, которые могут принимать плоскостную структуру. Этот вывод дает объяснение ряду закономерностей специфичности окисления углеводородов. Одна из закономерностей касается окисления дизамещенных ароматических соединений. Скорость окисления *пара*-, *мета*- и *орто*-метилизопропилбензола уменьшалась до нуля от первого к последнему, что соответствовало изменению плоскостной конфигурации структур. Не окислялись фенилалканы с алкилом изобутильного строения, в то время как фенилалканы с изопропильной группировкой (изопропилбензол и изопентилбензол) подвергались окислению в метильном атоме.

Причины устойчивости изобутильной группировки обсуждались выше. Таким образом, в ряде случаев одни и те же структурные особенности боковой цепи фенилалкана и алкана оказывают влияние на доступность субстратов микроорганизмам. Согласно данным указанных авторов, дизамещенные циклоалканы с экваториальным расположением боковых групп должны иметь *транс*-конфигурацию, позволяющую им принимать плоскостную конфигурацию. Из двух 1-изопропил-4-метилциклогексанов ферментативная система окисляла только изомер с *транс*-положением метила. Эта же система вводила гидроксильную группу в экваториальное *транс*-положение ряда моноалкалциклобензолов. Как полагают ван Равенсвей и ван дер Линден, доступность субстратов микробиологическому воздействию обуславливается также степенью их гидрофобности.

В результате биосинтетических реакций в культурах микроорганизмов, развивающихся на углеводородах, были найдены раз-

личные соединения — от полисахаридов (Гречушкина, Розанова, 1971) до нуклеиновых кислот (Fusao, Takeo, 1972).

В настоящее время установлено, что в ряде случаев углеводороды различного строения не могут служить источником углерода и энергии для развития микроорганизмов, но соокисляются в присутствии другого органического соединения, являющегося ростовым субстратом. Вопросы соокисления углеводородов разработаны в обзорах Раймонда с соавторами (Raymond et al., 1971), Скрябина, Головлевой (1972) и Хорвата (Horvath, 1972).

По скорости и механизмам химическое окисление углеводородов значительно отличается от биологического. Работами советских и зарубежных авторов (Семенов, 1954; Wibaut, Strang, 1951, 1952; и др.) было показано, что продуктами окисления углеводородов всех типов являются перекисные соединения. Для начала реакции с кислородом необходимо присутствие углеводородных радикалов или затравочного количества перекисей в среде. Образование радикалов происходит при повышенных температурах и давлении и катализируется некоторыми солями металлов.

Реакции окисления развиваются по цепному механизму. Распад перекисей ведет к образованию активных радикалов, вступающих в различные цепные реакции. При этом формируются новые радикалы и конечные продукты — спирты, кетоны, кислоты и др. Схема распада перекиси с образованием алкокси-радикала и алкильного радикала представлена ниже:



Было установлено, что окисление парафиновых углеводородов происходит с измеримой скоростью лишь при температуре, превышающей температуру точки кипения. Вибо и Стрэнг (Wibaut, Strang, 1951) наблюдали окисление н-декана, например, при 120°. Реактивность углеводородных радикалов в молекулах парафинов увеличивается от первичной ($-CH_3$) к третичной ($-CH$) связи, четвертичный углерод не может быть окислен. Углеводороды более длинной цепи, с большим числом метиленовых групп окисляются быстрее. Разветвленные углеводороды с третичным атомом углерода окисляются легче, чем углеводороды прямой цепи. Окислению подвергаются также боковые метильные группы с образованием спиртов. Молекула парафина при окислении расщепляется. Реакции окисления олефинов сравнимы с соответствующими реакциями парафинов.

Особенности химического окисления ароматических и нефтяных углеводородов обобщены Симаковой с соавторами в книге:

«Преобразование нефтей микроорганизмами» (1970) по данным исследований Черножукова и Крейна (1955) и других авторов. Из обзора Симаковой с соавторами следует, что среди ароматических углеводородов наиболее легко подвергаются окислению соединения с боковыми цепями и полимеризованные структуры. Скелет бензольных ядер мало изменяется. Процесс окисления идет в основном по боковым цепям или по соединительному звену и приводит к различным продуктам уплотнения. Возникают полимеризованные и конденсированные системы со сложнэфирными связями, кроме того, образуются структуры с гидроксильными, карбоксильными и карбонильными группами. Именно ароматические углеводороды и среди них бициклические структуры являются основным источником смолообразования при окислении нефтей.

Нафтеновые углеводороды легче окисляются, чем ароматические. Так же как при окислении последних, наличие боковых цепей увеличивает окисляемость нафтенов, однако окисление часто сопровождается разрывом полиметиленового кольца в месте прикрепления боковой цепи. Основными продуктами окисления являются кислоты и оксикислоты; количество продуктов окислительной конденсации типа смол невелико, и они образуются в результате вторичных процессов.

Таким образом, можно видеть ряд существенных различий в химическом и биогенном окислении углеводородов. Если химическое окисление парафинов кислородом протекает только при высокой температуре (80° —выше 100°) с незначительной скоростью, то для бактериального окисления оптимальной температурой обычно является 30 — 55° . В отличие от химического, спонтанного окисления в биогенных процессах легче подвергаются воздействию парафиновые углеводороды плоскостной структуры (van Raawenswaay, van der Linden, 1971), при этом в первую очередь окисляется терминальная метильная группа или ближайшая к ней метиленовая, ответвленные метильные группы не окисляются. Окисление третичных атомов углерода в биогенных процессах не обнаружено. В противоположность химическому окислению нафтеновые углеводороды устойчивы к микробиологическому воздействию, а ароматическое кольцо успешно расщепляется бактериями.

Все эти закономерности должны накладывать отпечаток на характер биогенного окисления нефтяных углеводородов в залежах:

*Углеводородокисляющие бактерии,
распространенные в месторождениях*

Микроорганизмы, выделенные из нефтяных месторождений (см. табл. 10), принадлежали главным образом к роду *Pseudomonas*.

Это отмечают Наумова (1960), исследовавшая распространение нафталиноокисляющих бактерий, Дутова (1961), Симакова с сотрудниками (Преобразование нефтей микроорганизмами,

1970), В. А. Кузнецова и Горленко (1965а, б), изучавшие слушников сульфатвосстанавливающих бактерий. На преобладание псевдомонад среди организмов, развивающихся на МПА и органических окисленных субстратах, указывают Сазонова (1961), Розанова с соавторами (1971) и Воробьева (1957), изучавшие микрофлору месторождений Куйбышевской области. Горленко и Кузнецова (1966) отмечают, что весь биоценоз сапрофитных факультативно-анаэробных и углеводородокисляющих микроорганизмов, развивающихся в заводняемом нефтяном пласте вместе с сульфатвосстанавливающими бактериями, можно было отнести к *Pseudomonas*. Наумова (1960) полагает, что нафталиноокисляющие *Ps. scissa* и *Ps. pelliculosa* (по Красильникову, 1949, — разновидность *Pseudomonas fluorescens*) можно считать формами, специфичными для нефтяных месторождений.

Идзука с соавторами (Iizuka, Komagata, 1964а, б; 1965а, б, с, d), обследовавшие нефтяные и газовые месторождения Японии, считают организмы рода *Pseudomonas* характерным населением пластовых рассолов; особенно широко были представлены ахромогенные и флуоресцентные формы. Эти бактерии развивались на керосине, *para*-оксибензоате и глутамате.

По данным Симаковой с соавторами (1958, 1961), *Ps. fluorescens denitrificans* — постоянный участник биоценозов с сульфатвосстанавливающими бактериями. Норенкова (1966) выделила из нарушенных структур месторождений Сахалина ряд микробактерий. Полученные ею результаты нельзя считать достоверными, так как пробы анализировали через длительный срок после отбора. Идзука и Комагата (Iizuka, Komagata, 1965а) в отдельных нефтяных пластах Японии обнаружили микрококки, брeвибактерии и ахромобактер. Эти организмы попадались реже, чем бактерии рода *Pseudomonas*. Вполне вероятно, что их распространение связано с заводнением пластов. Эти авторы (Iizuka, Komagata, 1965с) отмечали, что распространение в пластовых водах *Bacillus* может служить показателем проникновения посторонних вод.

По-видимому, приуроченность организмов рода *Pseudomonas* к нефтяным пластам не случайна. Как видно из приведенных выше данных по углеводородокисляющим бактериям, эти организмы в большей степени приспособлены к использованию жидких легкокипящих *n*-алканов ($C_5 - C_{10}$) и ароматических углеводородов, чем дрожжи и микобактерии. Отсутствие роста последних на легких бензиновых фракциях объясняют вредным воздействием этих фракций как растворителей на обогащенные липидами клетки. Вероятно, бензиновые фракции, постоянно присутствующие в нефтях, препятствуют распространению в нефтяных пластах организмов семейства *Mycobacteriaceae*.

Другой причиной преимущественного распространения псевдомонад в нефтяных пластах может быть способность их к существованию в микроаэрофильных и анаэробных условиях. Выделенные из нефтяных пластов организмы рода *Pseudomonas*, по данным

Спмаковой с соавторами (см. Преобразование нефтей микроорганизмами, 1970), Воробьевой (1957), Горленко, Кузнецовой (1966) и Идзуки с соавторами (Iizuka et al., 1965с), являлись факультативными анаэробами. По-видимому, гептанокисляющие, а также нафталинокисляющие бактерии, наиболее часто выявляемые в нефтяных и газоносных пластах (Альтовской и др., 1958; 1962; Кузнецова, 1963; Кузнецова, Швец, 1970б), также относились к роду *Pseudomonas*. Развитие процессов сульфатредукции в средах с углеводородами — пнаном, октаном, гептаном (Дутова, 1961) — свидетельствует в пользу присутствия в биоценозе углеводородокисляющих бактерий. Кузнецова и Швец (1970б) отмечают, что гептанокисляющие бактерии были найдены ими в газовых месторождениях Бухаро-Хивинской нефтегазонасыщенной области либо в контуре газонасыщенности, либо в законтурных водах, куда по направлению движения воды возможна миграция углеводородных газов от газовых залежей.

В негазонасыщенных пластах гептанокисляющие бактерии могли быть обнаружены над газовыми месторождениями только в том случае, если между пластами наблюдалась гидравлическая связь. Нафталинокисляющие бактерии были распространены только в тех пластах, где в близлежащих горизонтах имелись нефтяные залежи (самостоятельные или в виде оторочки к газовым залежам). Таким образом, нафталинокисляющие бактерии можно считать индикаторами именно на нефть.

Метанокисляющие бактерии, встречающиеся в нефтяных и газовых месторождениях, распространены также в областях питания и разгрузки пластов (Кузнецова, 1963). Вопрос о распространении бактерий, развивающихся на нефтяных кислотах, нельзя считать выясненным. По данным Осницкой (1942), процесс окисления нефтяных кислот наблюдается в природе сравнительно редко, что противоречит данным Дутовой (1956). Однако, как полагает З. И. Кузнецова (1963), данные Дутовой недостоверны. Как следует из литературного обзора, нефтяные кислоты являются одним из наиболее стойких компонентов нефти. Согласно З. И. Кузнецовой (1963, 1966; Кузнецова, Швец, 1970б), гептан- и нафталинокисляющие бактерии развиваются в тех пластах, где значения rH_2 колеблются в пределах 14—24 и возможен подток растворенного кислорода (табл. 13). Оптимум rH_2 для гептанокисляющих бактерий близок к 16—14. Эта величина также соответствует оптимуму для развития тионовых бактерий в нефтяных пластах.

Высокая температура нефтяных пластов, по-видимому, не является препятствием для развития углеводородокисляющих бактерий. Кузнецова (Альтовский и др., 1958) обнаруживала эти бактерии в термальных водах, где температура достигала 55—89°. Термотолерантные и термофильные штаммы микобактерий и псевдомонад, окисляющих n-алканы C_1 — C_{10} , выделила Славина (1963а, б) из пластов Краснодарского края и Ставрополя, харак-

теризирующихся температурой 50—80°. Гептанокисляющие бактерии были найдены в нефтяном пласте месторождения Окарем (Западная Туркмения), где пластовая вода имела минерализацию 102,9 г/л (Альтовский и др., 1958).

В грунтовых водах горизонтов, расположенных в зоне диффузии газов из нижележащих нефтяных и газовых месторождений,

Т а б л и ц а 13. Интенсивность развития бактерий в зависимости от окислительно-восстановительных условий среды (среднее по данным нескольких сот анализов). Максимальное развитие — 5 баллов (по Кузнецовой и Швецу, 1970б)

гН ₂	Интенсивность развития бактерий, баллы				
	десульфуризирующие	тионовые	окисляющие		
			водород	гептан	нафталин
27—18	0	2	2	2	—
24—20	0	3	2	2	3
16—14	1	4	2	3	3
15—9	2	2	0	2	1
12—5	5	0*	0	0	0

* В случае закачки в пласт поверхностной воды интенсивность развития тионовых бактерий достигает 5 баллов.

встречаются углеводородокисляющие организмы различных семейств и родов (см. табл. 10). Эти организмы окисляют углеводородные газы растворенным кислородом, диффундирующим с поверхности. Могилевский с соавторами (1970) отмечают, что газообразные углеводороды чаще используются микобактериями, а жидкие, легкокипящие — псевдомонадами. Роль бактерий в окислении углеводородных газов над залежами будет рассматриваться ниже. Здесь отметим, что кроме углеводородов эти бактерии используют большой набор других органических веществ.

В связи с тем что пласты, несущие грунтовые воды, не имеют водоупорной кровли (водоупор залегает в подошве пластов), в эти воды может проникать органическое вещество, фильтрующееся с поверхности. Возникает вопрос: будут ли использоваться углеводороды бактериями в присутствии доступного окисленного органического вещества? По-видимому, разного типа органическое вещество оказывает различное влияние на окисление углеводородов. Известно, что глюкоза является сильнейшим репрессором окисления углеводородов у ряда дрожжевых организмов (Градова и др., 1972; Einsele et al., 1972). Ван Айк и Бартельс (van Euk, Bartels, 1968) продемонстрировали репрессию окисления n-алканов глюкозой и малатом. Слабыми репрессорами являлись также

некоторые аминокислоты. В то же время, по данным Богдановой (1966), культура *Mycobacterium flavum* var. *propanicum* одновременно использовала глюкозу и пропан или пируват и пропан. С другой стороны, известны процессы соокисления углеводов в присутствии углеводородных и других ростовых субстратов.

Ледбеттер и Фостер (Leadbetter, Foster, 1960) наблюдали окисление этана и пропана в присутствии метана культурой *Ps. methanica*. Основным источником углерода и энергии служил метан. В отсутствие метана этан и пропан не окислялись. Клейн с соавторами (Klein et al., 1968) сообщили об образовании *Arthrobacter* 2, 3- и 4-гексадеканов из n-гексадекана при росте на дрожжевом экстракте. Были найдены также соответствующие спирты. Кетоны далее не утилизировались. Не исключена возможность того, что соокисляемый субстрат является поставщиком дополнительной энергии в процессе использования основного субстрата. По-видимому, соокисление может иметь большое значение в природных процессах разрушения углеводов разных классов.

В связи с тем что при окислении углеводов в средах в качестве промежуточных могут накапливаться разнообразные продукты — альдегиды, спирты и др., можно думать, что присутствие ряда аналогичных веществ в грунтовых водах не будет препятствовать использованию углеводов. Отметим, что жирные кислоты при высоком содержании могут быть репрессорами окисления углеводов, так как они являются конечными продуктами цепи энзиматических реакций, вовлекаемых в окисление (Leavitt, 1966; Higgins, Mandelstam, 1972). Окислению углеводов в грунтовых водах может способствовать присутствие бикарбонатов. Известно, что наличие углекислоты благоприятствует использованию углеводов и накоплению биомассы (Quayle, 1961; Уваров и др., 1970). Гетеротрофная фиксация углекислоты может иметь место на этапах конструктивного обмена при конденсации с производными продуктов окисления углеводов типа ацетил-КоА.

В разрушении залежей твердых битумов нефтяного ряда — озокеритов и асфальтов, выходящих на поверхность земли или залегающих вблизи нее, большое участие принимают микроорганизмы семейства *Mycobacteriaceae*, а также *Brevibacterium*, дрожжи и грибы (см. табл. 10) (Розанова, Штурм, 1964, 1965). Выделенные из залежей твердых битумов микобактерии развивались на фракциях масел, парафине, смолах, озокерите и редко использовали лигроиновые или керосиновые фракции. Виды *Pseudomonas*, распространенные главным образом в шахтных водах или в источниках озокеритового карьера, преимущественно использовали лигроин и керосин. Легкая бензиновая фракция метано-нафтенной нефти служила субстратом лишь для организмов родов *Pseudomonas* и *Achromobacter* (Розанова, Штурм, 1964, 1965).

Мак Кенна и Каллио (McKenna, Kallio, 1963) было показано, что микобактерии и покардия более активны в отношении разветвленных парафинов и углеводородов сложного строения, чем бактерии рода *Pseudomonas*. Таким образом, комплекс углеводородов твердых битумов подвергается более полному разрушению, окисляется больший набор углеводородов, чем в недрах Земли в нефтяных месторождениях.

Рассмотрим вопрос о соотношении сапрофитов и углеводород-окисляющих бактерий в пластовых водах. Как известно из приведенных литературных данных, практически все углеводород-окисляющие бактерии, кроме облигатных метилотрофов, способны развиваться на неуглеводородных субстратах и, в частности, расти на МПА. Следовательно, микроорганизмы, обнаруживающиеся как сапрофиты, могут являться углеводородокисляющими. Таким образом, распространение сапрофитов в пластовых водах нефтяных месторождений нельзя объяснять только загрязнением проб.

По нашим данным, в водах нефтяных пластов, эксплуатирующихся без применения вторичных способов заводнения, микрофлора не является случайной, заносной. Количество бактерий, развивающихся на МПА, в парах нефти и в минеральной среде, обогащенной пластовой водой (олигокарбофилы), вполне сопоставимы (Розанова, 1971а). По-видимому, судя по однородности колоний, все они относятся к одному типу.

Данные по распределению микроорганизмов в водах нефтяных пластов Апшерона приведены ниже (в мл):

Номер скважины и свита	Развивающиеся в парах нефти	Олигокарбофилы	Растущие на МПА
1475, Сабунчинская . . .	0	0	0
110, Балаханская . . .	40	Сотни	Сотни
499, Балаханская . . .	15	Сотни	Сотни
91, НКП-1	3	—	10
526, ПК	4	—	2

В заводняемых пластах, на участках призабойных зон нагнетательных скважин, куда проникает пресная вода, количественный перевес на стороне сапрофитных форм (Кузнецова, 1964; Розанова и др., 1971). Здесь развивается богатая микрофлора, проникающая с закачиваемой водой. Часть микроорганизмов этой флоры не использует углеводороды. В этом случае можно говорить о загрязнении воды сапрофитными формами в результате заводнения. С удалением от зон нагнетания в пластах число неспецифических микроорганизмов, развивающихся на МПА и не способных окислять нефть, снижается.

Микроорганизмы, участвующие в восстановлении и окислении соединений серы

Пластовые воды зоны затрудненного водообмена, в которой залегают многие месторождения горючих ископаемых, в большинстве случаев богаты сульфатами. Некоторые нефти содержат также до 5% серы. Таким образом, в нефтяных месторождениях создаются благоприятные условия для развития и деятельности микроорганизмов, связанных с круговоротом серы. Здесь были обнаружены три группы организмов — восстанавливающие сульфаты, фотосинтезирующие пурпурные и тионовые бактерии.

Сульфатвосстанавливающие бактерии, их общая характеристика и особенности культур, распространенных в месторождениях

Сульфатвосстанавливающие бактерии представляют группу облигатных анаэробов, осуществляющих диссимиляторное восстановление сульфата в сульфид. Решающая роль сульфатвосстанавливающих бактерий в образовании сероводорода в природных биотопах в настоящее время не подлежит сомнению. В условиях температурного режима, не превышающего 100°, абиогенное восстановление сульфатов в природе практически не имеет места.

Согласно классификации Постгейта и Кемпбелла, разработанной в 60-х годах (Campbell, Postgate, 1965; Postgate, Campbell, 1966), организмы, осуществляющие процесс восстановления сульфатов, объединены в два рода — *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum* (табл. 14). Специфические особенности и методы выделения культур описаны в упомянутых работах Постгейта и Кемпбелла и в специальной работе Постгейта (Postgate, 1966). К настоящему времени указанная классификация уже не полностью отражает характеристику существующих видов сульфатвосстанавливающих бактерий. Выявлены новые виды — *Desulfotomaculum antarcticum* (Iizuka et al., 1969), отличающийся способностью сбраживать глюкозу и разжижать желатину, и *Desulfovibrio* sp. (Jones, 1971a), представленный тонкими длинными палочками с одним полярным жгутиком. Последняя культура использует для роста лактат, пируват и обладает гидрогеназой. Пересмотрены морфология и физиологические свойства *Desulfovibrio africanus* (Jones, 1971b).

По-видимому, ряд ключевых диагностических характеристик в классификации Постгейта и Кемпбелла нельзя считать надежными. Такими характеристиками являются отношение к различным источникам углерода, присутствие определенных пигментов и цитохромов. Сами авторы классификации, а также Миллер с соавторами (Miller et al., 1968) полагают, что использование различных источников углерода для роста не может служить важным

Т а б л и ц а 14. Диагностические признаки сульфатовостанавливающих бактерий (по Postgate, Campbell, 1966)

Характеристика	Desulfotomaculum				Desulfovibrio			
	nigrificans	orientis	ruminis	desulfuricans	vulgaris	saxilegens	africanus	gigas
	Палочки Перитрих	Искривлен- ные палочки Перитрих	Палочки Перитрих	Вибрион Единственный полярный	Вибрион Единственный полярный	Вибрион Единственный полярный	Стермовидный вибрион Лофотрих	Спиррилла Лофотрих
Форма клетки	+	+	+	—	—	—	—	—
Жгутики	b	b	b	c ₃	c ₃	c ₃	c ₃	c ₃
Спores	—	—	—	+	+	+	+	+
Тип цитохрома	44,7	41,7	45,6	55,3±1	61,2±1	46,1±1	61,2±1	60,2
Десульфовиридин	+	—	+	+	—	—	—	—
Г + Ц, мол. %	+	—	+	+	—	—	+	—
Используют для роста	+	—	+	+	—	—	—	—
пируват без сульфата	—	—	+	+	—	—	+	—
холин » »	—	—	+	+	—	—	—	—
малат с сульфатом	—	—	+	—	—	—	—	—
форминат » »	—	—	—	—	—	—	—	—
ацетат » »	—	—	—	—	—	—	—	—
Требование NaCl	0,25	0,25	1	10—25	2,5	1,000	2,5	2,5
Устойчивость к хлориду, мг/л	+	—	—	—	—	—	—	—
Термофилия	+	—	—	—	—	—	—	—

Примечание. Плюс — положительный результат, минус — отрицательный.

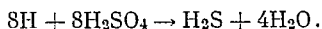
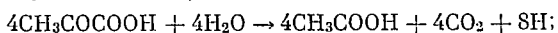
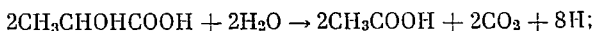
таксономическим признаком. Джонсом (Jones, 1971b) было установлено, что *D. africanus* не развивается в присутствии малата, как считалось ранее. Использование формата, по-видимому, не может быть ключевым признаком, так как формат окисляется только в присутствии других органических веществ (Сорокин, 1966а, б).

Состав цитохромов и пигментов продолжает уточняться (Trudinger, 1970; Jones, 1972). Цитохромы *b*, *c* и *d* найдены у рекласифицированного *D. africanus*. Пики, характерные для цитохрома *d*, обнаружены также у нового вида *Desulfovibrio* (Jones, 1971a). Способность фиксировать газообразный азот, как теперь установлено, свойственна многим видам сульфатовосстанавливающих бактерий (Postgate, 1970), а не отдельным разновидностям. По-видимому, для большинства штаммов различных видов сульфатовосстанавливающих бактерий характерна способность развиваться за счет водорода (Jones, 1971a, b; Сорокин, 1953).

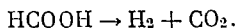
Более надежной видовой характеристикой служит состав ДНК. Состав оснований ДНК у сульфатовосстанавливающих бактерий недавно пересчитан Скайрингом и Джонсом (Skyring, Jones, 1972).

Сульфатовосстанавливающие бактерии характеризуются разнообразием типов энергетического обмена. (Обмен будет рассматриваться для этой группы бактерий в целом.) Можно выделить следующие типы обмена: анаэробное дыхание и анаэробное сбраживание органических субстратов в отсутствие SO_4^{2-} (сопряженное окисление — восстановление).

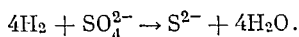
В процессы анаэробного дыхания вовлекаются неорганический субстрат — водород и органические субстраты. Акцептором электронов в этих процессах является сульфат. В некоторых случаях акцепторами могут служить фумаровая кислота и ацетилен (Barton, Peck, 1971; Sekiguchi, Yoshiaki, 1973). Из органических веществ донорами электронов в процессах сульфатредукции могут служить кислоты — молочная, пировиноградная, яблочная, муравьиная, щавелевая и некоторые спирты — этанол, бутанол, глицерин, изобутанол (Postgate, 1959; Campbell et al., 1966; Сорокин, 1966а, б; и др.). Окисление лактата, пирувата, этанола, а также, по-видимому, и других веществ происходит с выходом ацетата. По Сенезу (Senez, 1953):



Изобутанол окисляется до изомасляной кислоты (Mechalis, Rittenberg, 1960), оксамат — до оксалата, который далее превращается в формат (Postgate, 1963). Формат в свою очередь под воздействием гидрогенлиазы расщепляется до водорода и углекислоты:



В ходе окисления формата окисляется выделившийся водород. В процессе восстановления сульфат превращается в сульфид:



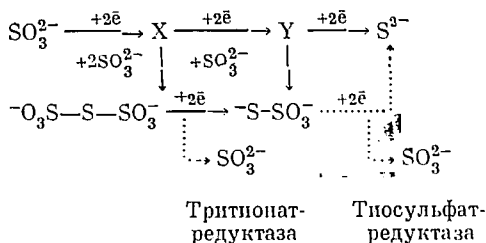
Клетки *Desulfovibrio desulfuricans*, окисляя молекулярный водород, способны превращать в сульфид сульфат, сульфит, тиосульфат, тетрагидрат (Postgate, 1951).

Скайринг и Трудингер (Skyring, Trudinger, 1973) пишут, что в восстановление сульфата вовлекаются по крайней мере три реакции:

- 1) $\text{SO}_4 + \text{АТФ} \rightarrow \text{АФС} + \text{ФФ}$ (пирофосфат) ($\text{ФФ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Ф}_{\text{неорг}}$),
- 2) $\text{АФС} + 2\bar{e} \rightarrow \text{SO}_3^{2-} + \text{АМФ}$,
- 3) Сульфит + $6\bar{e} \rightarrow$ Сульфид,

где АФС — аденозинфосфосульфат.

Биохимию превращения сульфата в сульфит изучал Пек (Pек, 1960). Первая реакция катализируется АТФ-сульфурилизой, вторая — АФС-редуктазой. Пирофосфат расщепляется пирофосфатазой. Для процесса восстановления сульфита *D. vulgaris* Кобаяши с соавторами предложили следующую схему (Kobayashi et al., 1972):



Промежуточными продуктами восстановления сульфита являются тритионат ($\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$) и тиосульфат ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$). Финдлей и Акаги (Findley, Akagi, 1970), использовавшие радиоактивный по сере субстрат, показали, что оба атома серы тиосульфата произошли из сульфита. Внешний атом серы тиосульфата восстанавливается до сульфида, а внутренний рециклизуется через сульфитный цикл (Haschke, Campbell, 1971). Как предполагают Кобаяши с соавторами, у *D. vulgaris* весь путь восстановления сульфита до сульфида катализируется единственной системой сульфитредуктазы, которая является десульфовиридином.

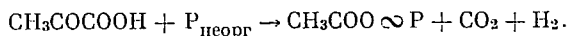
По данным Скайринга и Трудингера (Skyring, Trudinger, 1973), сульфитредуктаза штаммов *Desulfovibrio* (кроме *D. desulfuricans*) была электрофоретически идентична с десульфовириди-

ном, а у штаммов *Desulfotomaculum* — с коричневым протеиновым пигментом. Пигмент П-582 был выделен из клеток *D. nigrificans*, и получены данные, свидетельствующие об участии его в реакциях восстановления сульфита, нитрата и гидроксилamina (Trudinger, Chambers, 1973).

В цепи переноса электронов с субстрата на сульфитредуктазную систему участвуют цитохром c_3 , флаводоксин и др. Последовательность ферментов не уточнена. Поглощение водорода с участием дегидрогеназы, вызывающее восстановление водорода, зависело от цитохрома c_3 (Irie et al., 1973).

Как показал Пек (Pек, 1960), в процессе восстановления сульфата происходит его активация с затратой энергии, которая, по-видимому, покрывается субстратным фосфорилированием в случае окисления водорода (Milchaud, 1956). Выход энергии организмы получают от окислительного фосфорилирования в цепи переноса электронов (Vojan, 1970). Восстановление фумарата лактатом также сопровождается окислительным фосфорилированием (Barton, Pек, 1971).

Анаэробному сбраживанию могут подвергаться холин (*Desulfovibrio desulfuricans*) и пируват (*D. desulfuricans*, *Desulfotomaculum nigrificans*, *D. orientis*, см. диагностическую таблицу). Энергия поступает от фосфокластической реакции (Akagi, 1964)



По-видимому, основным ключевым соединением, участвующим в превращениях конструктивного обмена, служит трехуглеродный компонент типа пирувата. Можно рассматривать следующие варианты обмена:

1) пируват присутствует в среде как субстрат или образуется как промежуточный продукт окисления субстрата — лактата. По данным Сорокина (1966б), при использовании *D. desulfuricans* $\text{CH}_3\text{CHONCOOH}$ 34,6% углерода бактерий было усвоено из цепочки $\text{C} - \text{C} - \text{COOH}$ (вероятно, пирувата);

2) пируват отсутствует, но может синтезироваться в клетке из экзогенного ацетата и бикарбоната. Ацетат образуется в процессе окисления энергетического субстрата. Такими субстратами являются этанол и, по-видимому, некоторые другие спирты и кислоты. Энергетический и конструктивный обмены у сульфатовосстанавливающих бактерий разобщены (Mechalal, Rittenberg, 1960; Сорокин 1966в), поэтому ацетат и уголекислота, образующиеся в процессе энергетического обмена, должны выделиться в среду прежде, чем включиться в конструктивный обмен. По данным Сорокина (1966б), при развитии на этаноле углерод тела строится на 70% из экзогенного ацетата и на 30% из экзогенного бикарбоната. Однако во время роста на этаноле (заражение отмытыми клетками) никаких добавок ацетата извне не требуется. По-видимому, бак-

терпи имеют некоторый исходный запас ацетил-КоА для начала развития;

3) в процессе окисления энергетического субстрата ни пируват, ни ацетат не образуется. Такими субстратами служат молекулярный водород и формат. Для развития бактерий на этих субстратах необходимо внесение в среду ацетата и бикарбоната или органических соединений, в процессе распада которых может образоваться пируват или ацетат. По Сорокину (1966б), органическими соединениями, заменяющими ацетат и пируват, служат маннит, аланин, аспарагин, глюкоза, масляная кислота, дрожжевой экстракт, не являющиеся энергетическими субстратами. Образование ацетата и CO_2 из глюкозы и аминокислот дрожжевого экстракта культурой *D. nigrificans* было показано Акаги и Джексоном (Akagi, Jackson, 1967).

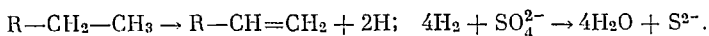
В комплексе с другими организмами сульфатвосстанавливающие бактерии могут использовать большое число разнообразных субстратов. О комменсализме сульфатвосстанавливающих и других гетеротрофных групп бактерий пишет Тезука (Tezuka, 1966).

В связи с широким распространением сульфатвосстанавливающих бактерий в нефтяных пластах вопрос о возможности их развития за счет использования углеводородов нефти является одной из основных проблем нефтяной микробиологии. Этот вопрос имеет большую предысторию. На первом этапе изучения процесса сульфатредукции, когда еще не было точных данных о физиологии организмов, некоторые исследователи писали об использовании углеводородов сульфатвосстанавливающими бактериями (Таусон, Алешина, 1932; Zo Bell, 1946b; и др.). Позднее на основании изучения чистых культур был сделан вывод, что процесс сульфатредукции в присутствии нефти вызывается комплексом микроорганизмов, а не одними сульфатвосстанавливающими бактериями (Штурм, 1951; Updegraff, Wren, 1954; Fuhs, 1961). Кузнецова и Горленко (1965б; Горленко, Кузнецова, 1966), специально исследовавшие этот вопрос, пришли к заключению, что чистые культуры бактерий, восстанавливающих сульфаты, не способны использовать нефть и развиваться на углеводородах. В комплексе с углеводородокисляющими бактериями в микроаэрофильных условиях развитие процессов сульфатредукции было показано неоднократно. Более подробно об этом будет рассказано в следующей главе.

В настоящее время исследователи не оставляют попыток уточнить отношение сульфатвосстанавливающих бактерий к углеводородам. Так, Дэвис и Ярборо (Davis, 1967; Davis, Yarbrough, 1966) провели измерения радиоактивности клеток сульфатвосстанавливающих бактерий, в культуру которых добавляли радиоактивные по углероду метан, этан, октадекан. Во всех случаях была обнаружена радиоактивная углекислота. Клетки бактерий также становились радиоактивными в присутствии метана и этана. Однако рост был очень слабым, радиоактивность клеток была низкой и значительно увеличивалась в присутствии лактата. В этих экспе-

риментах несколько настораживает факт окисления глюкозы клетками использованных авторами культур, который указывает на возможность их загрязнения спутниками. Кроме того, по расчетам Сорокина (1957), использование метана в процессах редукции сульфатов не может иметь места вследствие энергетической невыгодности.

По нашему мнению, перспективным подходом к разрешению вопроса о воздействии сульфатовосстанавливающих бактерий на углеводороды может быть изучение использования последних в смеси с другими органическими соединениями. Основой для такого подхода служит предположение о том, что углеводород может являться для сульфатовосстанавливающих бактерий тем энергетическим субстратом, в процессе разрушения которого не образуются вещества, необходимые для конструктивного обмена. Эти вещества, типа пирувата или ацетата и углекислоты, надо добавлять извне. Окисление же углеводорода может идти только до стадии олефина путем дегидрирования. Отнятый от углеводорода таким путем водород далее участвует в восстановлении сульфата, подобно тому как это наблюдается для формиата:



Восстановление метиленовой сини в присутствии гексадекана и гексадецена и отмытых клеток *Desulfovibrio* наблюдал Розенфельд (Rosenfeld, 1947). Результаты были подтверждены с октадеканом. При добавлении $FeSO_4$ автор отмечал почернение в опытных сосудах, содержащих октадекан и глюкозу, и сделал вывод о дегидрировании углеводородов в процессе дыхания.

Дегидрирование углеводородов, вызываемое углеводородокисляющими бактериями, было рассмотрено выше в соответствующем разделе. Авторы, изучавшие этот процесс, отмечали, что он требует активации с затратой АТФ.

Начальная затрата энергии на окисление субстрата может быть восполнена в ходе дальнейшего переноса электронов и протонов по дыхательной цепи. Теоретические аспекты участия сульфата в качестве акцептора электронов при дегидрировании углеводородов никто ранее не рассматривал.

Пределы параметров окислительно-восстановительных условий и диапазон их колебаний в средах местообитания сульфатовосстанавливающих и других бактерий приводят Баас-Беккинг с соавторами (1963):

Организмы	Пределы рН	Диапазон рН	Пределы Eh , мв	Диапазон Eh , мв
Десульфуризирующие .	4,15—9,92	5,77	+115—450	565
Левитрифицирующие	6,20—10,20	4,00	+665—205	870
Метанобразующие . .	7,0—7,8	0,8	+100—300	400

Постгейт и Кемпбелл (Postgate, Campbell, 1966) указывают, что *Desulfovibrio desulfuricans* требуют для развития начального

$Eh = -100$ мв, а для роста *D. gigas* наиболее благоприятен $Eh = +80$ мв. Последний может развиваться при $Eh = +100$ мв (Postgate, 1966). Сульфатвосстанавливающие бактерии сохраняются на поверхности агаровой среды под слоем бактерий-спутников, поглощающих кислород. Именно этим явлением можно объяснить выживаемость первых на косяках агара (Штурм, 1950а). Клетки сульфатвосстанавливающих бактерий некоторое время сохраняют жизнеспособность, попадая в окислительную обстановку. По нашим данным, жизнеспособные сульфатвосстанавливающие бактерии обнаруживались в пробах воды из аэролитовых скважин (см. табл. 9). Уэйр и Постгейт (Ware, Postgate, 1971) обнаружили свойство неорганической пиррофосфатазы из клеток *Desulfovibrio desulfuricans* активироваться восстановителем после воздействия кислорода. Указанные авторы считают, что этот процесс является частью механизма выживания видов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum* в аэробных условиях, позволяющего им сохранять АТФ. По обобщающим данным З. И. Кузнецовой (1966; Кузнецова, Швец, 1970б), сульфатвосстанавливающие бактерии распространены главным образом в подземных водах, где rH_2 колеблется от 5 до 12 (см. табл. 9). Нами были найдены сульфатвосстанавливающие бактерии в пластах, обогащенных растворенным железом, где $rH_2 = 16,1$ (Розанова, 1971а).

Баас-Беккинг с соавторами указывают, что пределами рН для развития сульфатвосстанавливающих бактерий служат 4,15—9,92. Однако чистые культуры обычно развиваются в границах рН 5,0—9,5 (Jones, 1971а; Slezáček, Rosypalova, 1972). Эксперименты, проведенные В. А. Кузнецовой (1960) с культурами сульфатвосстанавливающих бактерий из нефтяных пластов, показали, что изменение рН среды в пределах 5,7—7,2 не препятствовало процессам десульфуризации в разбавленной пластовой воде.

Данные о влиянии рН на развитие сульфатвосстанавливающих бактерий (инкубация семь суток при 25°) в средах с разным процентом пластовой воды (по В. А. Кузнецовой, 1960) приводятся ниже:

Содержание в средах воды, %		Образование H_2S , мг/л	
пластовой	пресной	при рН 5,75	при рН 7,2
89	11	224	160
66	34	42	7

Согласно сводке Зобелла (Zo Bell, 1958), должны существовать сульфатвосстанавливающие бактерии, способные переносить до 30% солей в средах. К ним относятся обитатели лиманов и эстуарий.

В. А. Кузнецова (1960) обнаружила сульфатвосстанавливающие бактерии в хлоркальциевых пластовых рассолах с минерализацией 250—270 г/л, однако эти бактерии, по-видимому, не были аборигенными и не развивались в пласте. На случайный харак-

тер распространения бактерий указывал рост их в среде с 2% NaCl.

Некоторые исследователи, изучавшие микрофлору пластовых рассолов (Гинзбург-Карагичева, 1936; Колесник, 1955б; Штурм, 1961), отмечали, что максимальной величиной содержания NaCl, допускающей развитие сульфатвосстанавливающих бактерий в питательных средах, являются 18—20%. Пластовые рассолы, по-видимому, оказывают отрицательное влияние на развитие

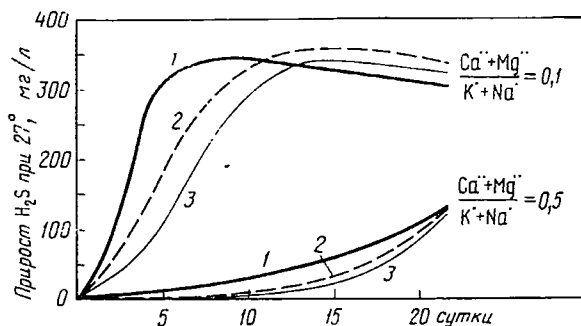


Рис. 4. Влияние катионного состава среды на развитие сульфатвосстанавливающих бактерий при различном содержании хлора (в %-экв)

1 — 5,5; 2 — 6,1; 3 — 6,7

сульфатвосстанавливающих бактерий не только вследствие высокой величины общей минерализации, но также в результате особенностей солевого состава. Ранее указывалось, что с повышением минерализации увеличивается степень метаморфизации пластовых рассолов, растет содержание Ca^{2+} , Mg^{2+} , Br^- , I^- , воды обогащаются ионами различных металлов. В. А. Кузнецова (1960), изучавшая палеозойские отложения Куйбышевской области, пришла к выводу, что при высокой минерализации распространение бактерий в пластовых водах ограничивается высоким содержанием Ca^{++} и Mg^{++} . Сульфатвосстанавливающие бактерии встречались только в тех водах, где значения катионного коэффициента — $\frac{\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}}{\text{K}^+ + \text{Na}^+}$ мг-экв — не превышали 0,36 — 0,40. Как полагает Кузнецова (1960; Кузнецова, Панцхава, 1962), полученные данные подтверждаются результатами лабораторных опытов по развитию культур в средах разного состава (рис. 4). Минеральной основой сред служил набор солей или пластовая вода, разбавленная пресной. Недостатком работы, выполненной Кузнецовой, является то, что (по ее личному сообщению) использованная в опытах культура не являлась аборигеном рассолов.

Культура, выделенная нами из заводняемого пласта башкирского яруса среднего карбона нефтяного месторождения Пермской области, могла слабо развиваться в среде с содержанием солей пластового рассола 200 г/л, где катионный коэффициент ра-

век 0,36 (рис. 5). Эти данные показывают, что влияние катионного коэффициента проявляется лишь при высокой общей минерализации среды (выше 200 г/л).

Отрицательному влиянию высокой концентрации Ca^{2+} и Mg^{2+} на неаборигенные бактерии можно найти объяснение, рассматривая ряды катионов и анионов, составленные Ларсеном (Larsen, 1962). Порядок расположения ионов в этих рядах указывает на ослабление способности заменять Na^+ или Cl^- в средах для Halo-

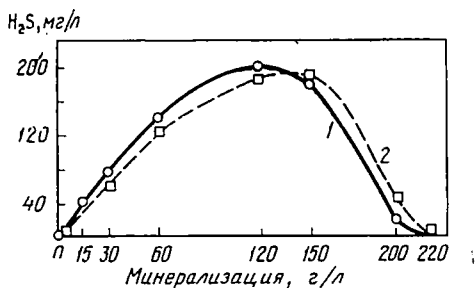


Рис. 5. Развитие галофильной культуры в среде с лактатом натрия при различном содержании

1 — солей рассола,
2 — NaCl

bacterium, развивающихся при 25—30% NaCl. Ионы, расположенные в конце рядов, оказывают вредное лизирующее воздействие.

Анионы: Cl^- , CH_3COO^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , Br^- , ClO_4^- , I^- , CNS^- , CCl_3^- .

Катионы: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} , Li^{2+} , NH_3^+ , Zn^{2+} , Cd^{2+} .

Эти ряды близки к последовательности, отражающей способность связывания ионов белками.

По данным З. И. Кузнецовой (1959а), Колесник (1955а) и Абдуллаева (1969), высокая температура в нефтяных пластах не является препятствием для распространения сульфатвосстанавливающих бактерий. Так, сульфатвосстанавливающие бактерии обнаруживались в пробах вод нефтяных пластов продуктивной толщи Апшерона, где температура достигала 85—91° (Абдуллаев, 1969). Поэтому отсутствие их в пластах ряда месторождений (Кузнецова, 1959а) с высокой температурой объясняется другими причинами.

По данным Колесник (1955а), бактерии, восстанавливающие сульфаты, выделенные из пластов нефтяных месторождений Грозненской области с высокой температурой — до 84—96°, интенсивнее развивались при 60—62°, чем при более низких температурах.

Устойчивость к высокой температуре может быть связана с повышенным давлением в недрах. Согласно Зобеллу (Zo Bell, 1958), одна из культур сульфатвосстанавливающих бактерий образовывала H_2S при 104° и давлении 1000 атм.

Нами были выделены термофильные сульфатвосстанавливающие бактерии из нефтяных пластов месторождений острова Пес-

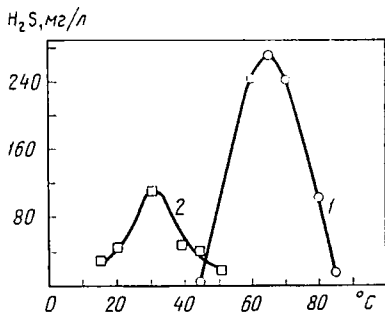
чаного на Апшероне с температурой 80—90°. Образование сероводорода при различных температурах показано на рис. 6.

Описание культуры приводится ниже.

З. И. Кузнецовой была выявлена взаимосвязь наличия растворенного органического вещества в пластовой воде и распространения сульфатовосстанавливающих бактерий (Альтовский и др., 1958, 1962; Кузнецова, 1959а; 1963). На нефтяных месторожде-

Рис. 6. Развитие культур сульфатовосстанавливающих бактерий при разных температурах за семь суток

- 1 — термофильная в среде с лактатом натрия и 0,5% NaCl;
2 — галофильная в среде с лактатом натрия и 12% солей рассола



ниях Грозненско-Дагестанской нефтеносной области развитие сульфатовосстанавливающих бактерий наблюдалось Кузнецовой при среднем содержании органического углерода в пластовой воде от 9 до 33 мг/л. В водах, содержащих меньшее количество органического вещества, бактерии не были обнаружены. Растворенное органическое вещество может иметь разную природу. Оно состоит из углеводов, масел, азотсодержащих веществ, кислородсодержащих соединений типа нефтяных, жирных кислот, смол, гуматов. Наличие в пластовых водах растворенных углеводов и других компонентов зависит от типа нефти и от состояния ее окисленности. Окисленное органическое вещество может не только способствовать развитию сульфатовосстанавливающих бактерий, т. е. служить субстратом, но и быть продуктом преобразования нефти бактериальным биоценозом.

В благоприятной экологической обстановке нефтяных и газовых месторождений развитие сульфатовосстанавливающих бактерий обуславливается присутствием сульфатов. Отсутствие сульфатов ограничивает развитие сульфатовосстанавливающих бактерий в нефтяных пластах (Альтовский и др., 1958, 1962; Мехтиева, 1962; Розанова, 1971а). Наличие даже незначительных количеств сульфатов (табл. 15) ведет к распространению сульфатовосстанавливающих бактерий (Розанова, 1971а; Колесник, 1955а). В этих случаях число сульфатовосстанавливающих бактерий бывает невелико. Отсутствие сульфатов в воде может быть вызвано их потреблением по мере поступления из пород или из нагнетаемой воды. При этом число присутствующих в водах бактерий может быть большим. В табл. 16 приводятся данные, указывающие на

потребление сульфатов, поступающих с пластовой водой, в процессе бактериальной сульфатредукции.

Из известняковых коллекторов нефти Зобелл (Zo Bell, 1946b) выделил два вида сульфатредуцирующих бактерий, которые он считал вариантами *Desulfovibrio desulfuricans*. Оба вида, по его данным, могли использовать нефть в качестве источника органи-

Т а б л и ц а 15. Наличие сульфатов и распространение сульфатвосстанавливающих бактерий в нефтяных пластах месторождений Аншера (сероводород отсутствует)

Свита	Пласт	Скважина	Температура пласта, °С	Минерализация, г/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л	Количество сульфатвосстанавливающих бактерий в 1 мл
Сураханская	С	653	31	143,5	0	0
Сабунчинская	II	508	38	127,1	0	0
	IV	766	41	126,2	0	0
	IVб	615	42	113,1	0	0
	IVд	1475	44	70,0	0,5	194
	IVе	1184	44	117,5	0	0
Балаханская	V	1285	45	62,6	0,5	0
	VI	110	45	42,6	4,8	52
	VII	499	47	43,7	0,5	355
НКП-1	—	91	66	11,5	2102,0	55

ческого вещества. Бактерии получили названия *Desulfovibrio hydrocarbonoclasticus* и *D. halohydrocarbonoclasticus*, по-видимому, культуры содержали спутников, окисляющих углеводороды.

Попытка определить видовой состав сульфатредуцирующих бактерий из месторождений нефти была проведена Штурм (1952). Культура *Desulfovibrio desulfuricans*, полученная ею из нижнекаменноугольных отложений, морфологически отличалась от культуры, выделенной из третичных отложений, по своей способности давать более длинные, нитевидные, слабоизогнутые формы, длинные спирали со многими витками. Подобные формы Штурм наблюдала и при непосредственном микрокопировании пластовой воды из нижнепермских отложений. Культура была ею идентифицирована как *Desulfovibrio desulfuricans* var. *granularis*. Изучение роста культуры этого организма в питательной среде показало, что она дает нитевидные формы, образующие завитки и клубки нитей разного размера. Внутри нитей были обнаружены черные включения. Подобные морфологические формы Штурм (1950б) обнаружила в сероводородных пластовых водах Сызранского, Краснокамского и Ишимбаевского месторождений. Штурм

(1957) показала способность культуры *D. desulfuricans*, выделенной из нефтяных пластов, расти за счет окисления водорода. В. А. Кузнецова (1965) выделила чистую культуру *Desulfovibrio desulfuricans* var. *aestuarii* из заводняемого девонского нефтяного пласта Ромашкинского месторождения.

Нами были выделены культуры сульфатовосстанавливающих бактерий, распространенных в заводняемых пластах Бинагадинской складки Апшерона. Для их выделения мы использовали сре-

Т а б л и ц а 16. Потребление сульфатов в процессах сульфатредукции в заводняемом пласте Сураханской складки Апшерона

Исследованная проба воды	Минерализация, °Ве	SO ₄ ²⁻ , мг/л	Количество сульфатовосстанавливающих бактерий в 1 мл	H ₂ S, мг/л
Закачиваемая	1,45	3360	1 · 10 ²	0
Пластовая	13,20	0	0	0
Разбавленная пластовая	2,83	0	1 · 10 ¹	408
	3,33	0	1 · 10 ⁵	68
	6,82	0	1 · 10 ¹	25

ду Сорокина с молочнокислым кальцием (Кузнецов, Романенко, 1963). Культивирование сульфатовосстанавливающих бактерий проводили на средах Постгейта, В, С (Postgate, 1966). Бактерии выделяли из проб воды продуктивной толщи подкирмакинской свиты. Температура пласта не превышала 34°. Исходная пластовая вода свиты относилась к гидрокарбонатно-натриевому типу с минерализацией 23 г/л. Нагнетаемая в пласты вода из озера Бююк-Шор была сульфатно-натриевого типа и содержала 40—50 г/л солей в разные сезоны года. Одна из культур (штамм 2198) была выделена из пластовой воды, не содержащей примеси озерной воды. Эта культура, по-видимому, явилась аборигеном пласта и определена как *Desulfovibrio desulfuricans* (Postgate, Campbell, 1966). От типового штамма *Desulfovibrio desulfuricans* культура отличается несколько меньшими размерами клеток: 1,5—2,0 × 0,6—0,75 мк (рис. 7).

Использование субстратов описываемой культурой (штамм 2198) дано ниже:

Субстрат	Прирост биомассы сульфатовосстанавливающих бактерий, мг/л		Субстрат	Прирост биомассы сульфатовосстанавливающих бактерий, мг/л	
	штамм 2372	штамм 2198		штамм 2372	штамм 2198
Лактат Na .	174,2	160,4	Малат Na . .	13,2	16,7
Пируват Na	88,4	75,8	Бутанол . .	13,2	15,2
Этанол . . .	18,5	20,4	Формиат NH ₄	4,0	10,0

На среде с шпурватом без сульфата рост отсутствовал, что не характерно для *D. desulfuricans*. Использование малата культурой позволило все же отнести ее к разновидности вида *Desulfovibrio desulfuricans*. Оптимальный рост наблюдался при температуре 20° (рис. 8) и солености 2‰ (рис. 9).

Другая культура (штамм 2372) была выделена из пробы, представляющей смесь вод — пластовой и нагнетаемой озерной, с соленостью 37 г/л. Морфологически сходные культуры наблю-



Рис. 7. Микрофотография сульфатвосстанавливающих бактерий *D. desulfuricans*, выделенных из нефтяных пластов. Фазовый контраст, $\times 1300$

дались в озере Бейюк-Шор. Поэтому культура из нефтяного пласта, видимо, была заносной. По форме клеток культура близка к *Desulfovibrio africanus* (Postgate, Campbell, 1966). Однако полного сходства нет, тем более что типовая культура *D. africanus* была пересмотрена Джонсом (Jones, 1971b).

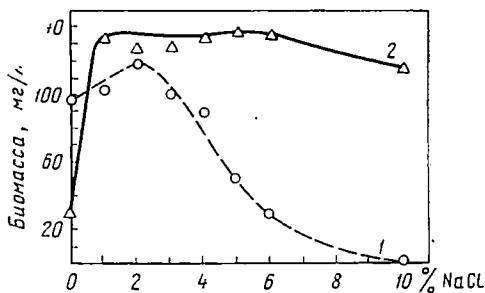
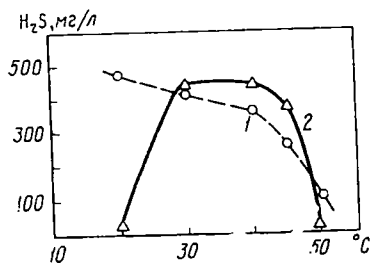


Рис. 8. Развитие культур *D. desulfuricans* var. *aestuarii* (1) и варианта *D. africanus* (2) в средах при различной температуре

Рис. 9. Накопление биомассы (по сухому весу) культурами *D. desulfuricans* var. *aestuarii* (1) и варианта *D. africanus* (2) в средах с различной соленостью

Изученная нами культура (штамм 2372) красится по Граму отрицательно, клетки в массе сигмовидные, реже серповидные (рис. 10, 11), величиной $3-5 \times 0,6-0,75$ мк. Встречаются удлиненные клетки до 10 мк. Культура склонна к образованию нитей, не расчлененных на клетки, длиной 15—20 мк и более (рис. 10). Нити, как правило, группируются у частичек осадка. Клетки не-

сут жгутик. Примерно на сотню клеток с одним жгутиком встречается одна клетка с двумя жгутиками (рис. 11).

Культура способна развиваться в средах без дрожжевого автолизата или витаминов при пяти и более пересевах в присутствии сульфатов и солей кислот — молочной, пировиноградной, яблоч-

Рис. 10. Микрофотография сульфатовосстанавливающих бактерий варианта *D. africanus*, выделенных из нефтяных пластов. Фазовый контраст, $\times 1300$



ной, а также этанола или бутанола, накапливая за неделю 13—180 мг биомассы по сухому весу в 1 л среды (см. стр. 81, штамм 2372). Незначительный прирост клеток (4 мг/л) наблюдался в присутствии формата. Рост отсутствовал, если в качестве субстратов использовали глюкозу, лактозу, соли уксусной, пропионовой, масляной и щавелевой кислот.

Бактерии использовали водород, развиваясь на минеральной среде Сорокина в атмосфере $\text{CO}_2 + \text{H}_2$. При внесении 1 мл культуры со среды Постгейта С (~130 мкг биомассы) в 10 мл МПБ в пробирках с ватными пробками через 4—5 дней обнаруживалось равномерное помутнение МПБ и образование осадка. Бактерии способны быстро развиваться в средах при pH 7,0 с аскорбатом в качестве восстановителя.

Культура солетолерантна: в присутствии 1—10% NaCl выход клеток за неделю составлял 116—139 мг в 1 л среды по сухому весу. В отсутствие NaCl биомасса снижалась до 30 мг/л (см. рис. 9).

Развитие культуры наблюдалось при 30—45° и отсутствовало при 20 и 50°. Оптимальное развитие этих сульфатовосстанавливающих бактерий было при 30—40° (рис. 8).

По видимому, штамм 2372 можно рассматривать как один из новых видов *Desulfovibrio*, переходных от видов с морфологией типа *D. desulfuricans* к видам *D. africanus* и *D. gigas*. Характерно, что физиологические свойства обеих выделенных культур соответствуют особенностям экологической обстановки среды обитания в разных участках нефтяного пласта.

Кроме того, нами были выделены еще две чистые культуры сульфатовосстанавливающих бактерий.

Штамм 91 (УППН), представляющий галофильную культуру, выделен из пластового рассола карбонатного коллектора



Ярино-Каменположского месторождения Пермской области. Коллектор относится к пласту башкирского яруса среднего карбона, хлоркальциевый пластовый рассол содержал 260—270 г/л солей. Температура пласта не превышала 30°. Катонный коэффициент составлял 0,36—0,40. Культура представлена подвижными палочками варьирующей длины, шириной 0,7 мк, споры отсутствуют (рис. 12). Клетки в парах также имеют разную длину. Бактерии могли развиваться на среде с лактатом в присутствии 180 г/л солей рассола (для опытов пластовую воду разводили водопроводной водой и добавляли K_2HPO_4 —0,5 г/л; $(NH_4)_2SO_4$ —4 г/л; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ —1 г/л; лактат Na—3 г/л, а также восстановитель в виде Na_2S). Оптимальной являлась среда, содержащая 120 г/л солей рассола. Близкие результаты получены в средах с NaCl (см. рис. 5). Оптимальная температура для развития бактерий составляла 30° (см. рис. 6). Помимо лактата культура может развиваться в присутствии сульфатов на пирувате, а также формате и водороде при наличии дрожжевого автолизата.

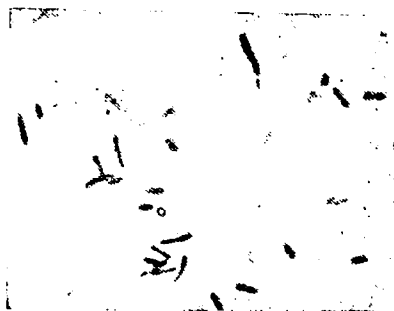
Термофильная культура штамм 7 выделена из воды незадояемого пласта НКП-свиты продуктивной толщи месторождения острова Песчаного на Апшероне. Температура пласта достигала 80—90°. Соленость воды гидрокарбонатно-натриевого типа составляла 15 г/л. При микроскопировании культуры обнаруживаются подвижные палочки разной длины—1,4—2,4×0,5—0,6 мк, попадаются клетки почти округлой формы (рис. 13). Округлые клетки часто сдвоены.

Встречаются цепочки из нескольких клеток, причем в одной цепочке можно обнаружить клетки разной длины. Такая картина возникает, по-видимому, в результате неравномерного деления. Между клетками видны протоплазменные

Рис. 11. Клетки культуры, относящейся к варианту *D. africanus*. Электронный микроскоп, а, б—×8000, в—×3000

тяги. Клетки несут один жгутик. В разных условиях культивирования споры не были найдены. Культура развивается при 50—85°, оптимальной является температура 65° (см. рис. 6). Очень медленный рост происходил при 45°. Рост культуры ускоряется при добавке к средам пластовой воды 3—5 мл/л, или 0,5—1,0% NaCl. Культура развивается в средах с сульфатами, обогащенных лакта-

Рис. 12. Клетки галофильной культуры сульфатвосстанавливающих бактерий из нефтяных пластов. Микрофотография. Фазовый контраст, $\times 4000$



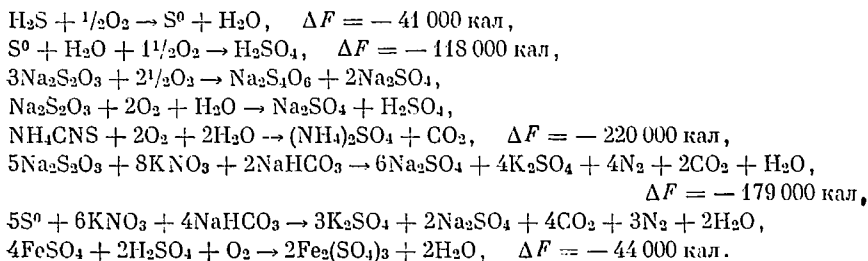
том, пируватом, формнатом и водородом. В последних двух случаях добавляли ацетат из расчета 100 мг/л. Культура отнесена к новому виду *Desulfovibrio thermophilus* n. sp.



Рис. 13. Клетки термофильной культуры сульфатвосстанавливающих бактерий из нефтяных пластов. Электронный микроскоп, $\times 20\ 800$

*Тионовые бактерии, их физиология
и распространение в глубинных водах*

Среди микроорганизмов, окисляющих соединения серы, в нефтяных пластах наиболее вероятно распространение тионовых бактерий, использующих энергию этого окисления для жизнедеятельности. Реакции, приводящие к выделению энергии, показаны ниже:



Группа тионовых бактерий представлена родом *Thiobacillus*, внутри которого характерные морфологические признаки культур сходны с таковыми семейства *Pseudomonadaceae*, а также недавно открытыми новыми видами типа спирилл (Куенен, Veldkamp, 1972). Единой общепринятой систематики тионовых бактерий в настоящее время не существует (Каравайко и др., 1972; Заварзин, 1972; Hutchinson et al., 1966). Разная выживаемость клеток при различных значениях рН позволяет разделить тионовые бактерии на две группы — развивающиеся в нейтральной и щелочной средах и развивающиеся в кислой среде. Воды месторождений битумов нефтяного ряда относятся главным образом к гидрокарбонатно-натриевому, хлормagneиевому или хлоркальциевому типу, где рН колеблется от 10 до 5, в связи с чем в этих водах можно ожидать распространение видов, развивающихся в нейтральной и щелочной средах. Среди них различают строго автотрофные бактерии и бактерии, способные использовать органические вещества.

Приводим ключ Заварзина (1972) к определению видов *Thiobacillus*, развивающихся в нейтральной и щелочной средах.

А. Строго автотрофные

1. Способные к денитрификации с образованием свободного азота «*T. denitrificans*»
2. Не способные к денитрификации с образованием свободного азота
 - а. Снижают рН среды не ниже 3,5 *T. thioparvus*
 - б. Снижают рН среды до 2,8. *T. neapolitanus*

Б. Способные к использованию органических веществ

1. Способные к денитрификации с образованием свободного азота «*T. denitrificans*», *Thiobacillus* A-2
2. Не способные к денитрификации с образованием свободного азота
 - а. Миксотрофные, растут и на органических и на неорганических средах, кислотоустойчивые *T. novellus*
 - б. Литогетеротрофные, конечные значения рН сред 2,8. При этой кислотности культуры могут отмирать. Потребность в органическом веществе при росте на тиосульфате облигатная (*T. perometabolis*) или же органическое вещество значительно усиливает рост на средах с тиосульфатом (*T. intermedius*)

В раздел А2а можно отнести новый организм — *Thiomicrospira pelophila* gen. n., sp. n. (Kuenen, Veldkamp, 1972), характеризующийся морфологией спириллы и термофилней. Близок к *T. thioararus* *T. thiocyanoxidans*, использующий тиоцианат. По поводу таксономического положения последнего нет единого мнения (Заварзин, 1972; Каравайко и др., 1972; Hutchinson et al., 1965).

Как видно из приведенных ключевых данных, существуют разные организмы под одним названием «*T. denitrificans*» — автотрофные и способные к использованию органических веществ. Облигатно-хемолитотрофный *T. denitrificans* был вновь выделен недавно Тейлором и Хоаром (Taylor, Hoare, 1971), изучившими его физиологию.

Существуют гетеротрофные бактерии типа *T. trautweinii*, окисляющие неорганический субстрат в ходе побочной реакции. Такой же обмен свойствен, по-видимому, *Pseudomonas* sp., выделенному Каравайко (Каравайко и др., 1972) из биоценоза, осуществляющего денитрификацию на средах с тиосульфатом, *Pseudomonas stutzeri* и другим подобным организмам (Hutchinson et al., 1965). Характеристика отдельных видов дана у Каравайко с соавторами (1972). Тейлором и Хибом (Taylor, Heeb, 1972) обнаружены факультативно-автотрофные *Thiobacillus*, расщепляющие ядро ароматических кислот — *para*-оксипбензойной и протокатеховой.

Способность к включению небольшого количества некоторых органических веществ в состав тела показана и у литоавтотрофных (облигатно-автотрофных) тионовых бактерий (Johnson, Vishniak, 1970; Taylor, Hoare, 1971, и др.). При этом доля этих веществ в углеродном балансе тела невелика и включаемые вещества типа аминокислот практически не подвергаются превращению.

Обзор организмов, развивающихся при нейтральной и щелочной реакциях среды, показывает, что для бактерий разных видов условия культивирования могут совпадать. В книге Каравайко и соавторов (1972) показано, какие виды тионовых бактерий раз-

виваются на обычно применяющихся средах Бейеринка и Баалсруда.

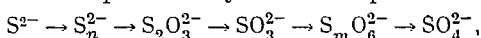
Ниже дается характеристика основных групп тионовых бактерий, развивающихся на средах Бейеринка и Баалсруда (по Каравайко и др., 1972):

	Характеристика основных групп	Видовой состав групп
Среды Бейеринка, Баалсруда и др. в аэробных условиях	Окисляющие восстановленные соединения серы при начальной нейтральной и слабощелочной реакциях среды	<i>Thiobacillus thioparus</i> , <i>T. neapolitanus</i> , <i>T. thiooxydans</i> , <i>T. denitrificans</i> , <i>T. perometabolis</i> , <i>T. intermedius</i> и др.
Среда Баалсруда в анаэробных условиях	Окисляющие восстановленные соединения серы за счет кислорода нитратов	<i>Th. denitrificans</i> (автотроф) и группа факультативно-автотрофных тионовых бактерий, способных к денитрификации

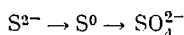
Вышеуказанные авторы считают, что делать заключение о развитии того или иного вида в природной среде можно, только выделяя и изучая чистые культуры.

Среди тионовых бактерий встречаются галофильные (Исаченко, Салпмовская, 1928; Заславский, 1952) и термофильные (Кузнецов, 1955; Заварзин, Жилина, 1964) виды.

Биохимия соединений серы тионовыми бактериями недостаточно изучена. Трудности изучения связаны с химическим преобразованием продуктов обмена, реагирующих с субстратами и конечными продуктами. Процессы химического превращения соединений серы в нейтральных условиях протекают по схеме

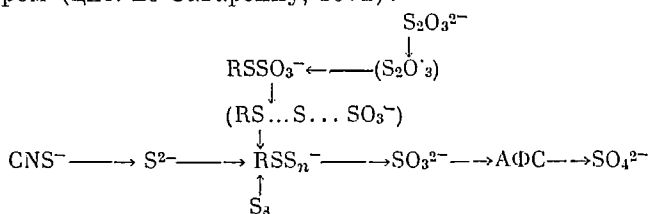


где n — от 2 до 5, а m — от 2 до 6. В кислых условиях реакции химического окисления соответствуют схеме



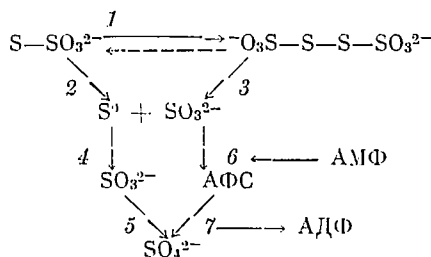
(Лпстова, Бондаренко, 1969). Пути химического окисления еще недостаточно выяснены.

Конечным продуктом биогенного превращения соединений серы является сульфат. К наиболее важным продуктам обмена относятся сульфид (S^{2-}), тиосульфат ($S_2O_3^{2-}$), тетратрионат ($S_4O_6^{2-}$), сульфат (SO_4^{2-}). Предшественником сульфата, по-видимому, является сульфит (SO_3^{2-}), который служит первым стабильным продуктом окисления элементарной серы. Обобщенная схема обмена соединений серы у тионовых бактерий предложена Трудингером (цит. по Заварзину, 1972):



Вещество RSS_n^- может представлять полисульфид глутатиона. Сорокин (1970) отмечает, что *T. thioaragus* не используют сульфиды. Сульфиды натрия и кальция химическим путем окисляются до $S_2O_3^{2-}$, который окисляется до серы, подвергающейся затем микробиологическому воздействию. Эти выводы требуют подтверждения.

Схема бактериального окисления тиосульфата, разработанная японскими исследователями, приведена Заварзиным (1972),



где АФС — аденозинфосфосульфат. Отдельные реакции этой схемы, выполняемые энзиматическими системами, выявлены у разных микроорганизмов. Приводим описание процессов приведенной схемы по книге Заварзина (1972).

При низкой концентрации тиосульфата идет прямое расщепление его до серы и сульфита (путь 2); возможно участие роданазы в этом процессе. При высоком содержании тиосульфата может идти образование тетрагидротетратионата (путь 1). Последний гидролизует с восстановлением в тиосульфат, серу и сульфит (путь 3). Сера превращается в сульфит (путь 4), по-видимому, образуя полисульфид глутатиона. Продуктом окисления серы был сульфит; кроме того, вероятно, может происходить побочная химическая и биогенная конденсация сульфита и серы с образованием тиосульфата.

Сульфит превращается в сульфат двумя путями — посредством цитохром-С-оксидоредуктазы (путь 5) или при участии АФС-редуктазы, сходной с аналогичным ферментом сульфатвосстанавливающих бактерий (пути 6—7). Оба фермента присутствуют у *T. thioaragus*. В процессах переноса электронов по дыхательной цепи к кислороду и нитрату участвуют НАД·Н, флавопротеиды, цитохромы *b*, *c*, *a*, *o*. Ассимиляция углекислоты обеспечивается обратным АТФ-зависимым переносом электронов для формирования НАДН (Aleem, 1969). Фиксация углекислоты протекает путем рибулозодифосфатного цикла. Кроме того, у *T. thiooxidans* 10—30% ее фиксируется при карбоксилировании трехуглеродного соединения — фосфоенолпирииноградной кислоты.

В нефтяных пластах, где развивается сульфатредукция, вода может быть обогащена соединениями серы разной степени вос-

становленности, как это следует из приведенного выше механизма сульфатредукции. Среди этих соединений могут встречаться сульфиды и сероводород, полицитронаты, тиосульфат, сульфит. Все эти продукты используются тионовыми бактериями при наличии растворенного кислорода или нитратов. Последние обычно в глубинных пластовых водах отсутствуют (см. главу I). Кислород при определенных условиях (главы IV, V) проникает в пласты и может сосуществовать с сероводородом при невысоких концентрациях последнего (Стащук, 1968). Обычно поступающий кислород поглощается и практически определить его присутствие или поступление не удается. Исследования показывают, что наличие тионовых бактерий, развивающихся на среде Бейеринка в аэробных условиях, может служить индикатором повышенного водообмена, способствующего проникновению кислорода в коллекторы (Соколова, 1961; Кузнецова, 1963). В месторождениях, расположенных в зонах затрудненного и застойного водообмена (Волго-Уральская область, девонские и каменноугольные отложения), тионовые бактерии, *Th. thioragus*, появляются там, где в пласты закачивается пресная вода (Соколова, 1961; табл. 17). В высокоминерализованных хлоркальциевых рассолах с удельным весом 1,17—1,18 тионовые бактерии обнаруживаются редко. В пластах, расположенных в зонах более активного водообмена — на месторождениях Западной Туркмении, Грузии, Ферганы, Грозненской и Дагестанской областей, бактерии, развивающиеся в минеральных средах с тиосульфатом, в аэробных условиях встречаются чаще. При этом их распространение приурочено к нефтяным месторождениям и зонам разгрузки, в зоне областей питания они, как правило, не встречаются (Альтовский и др., 1958, 1962; Кузнецова, Швед, 1970а). В пластовых водах месторождений указанных областей сероводород может отсутствовать; тем не менее сульфатвосстанавливающие и тионовые бактерии обнаруживаются. Это указывает на возможность микроразнообразия сероводорода в пластах, потребляющегося тионовыми бактериями.

З. И. Кузнецова (1963) отмечает более высокое содержание сульфатов в воде тех родников областей разгрузки Копет-Дага, где присутствуют тионовые бактерии. Мы наблюдали развитие тионовых бактерий на среде Бейеринка при внесении воды заводняемых пластов месторождений Апшерона.

В табл. 13 приведены данные Кузнецовой и Швеца (1970б) по интенсивности развития тионовых бактерий в зависимости от окислительно-восстановительных условий в пластах. Из таблицы видно, что максимальная интенсивность наблюдается в тех зонах, где величина γ_{H_2} составляет 14—16, т. е. при условиях, совпадающих с оптимальными для развития чистых культур *T. thioragus* (Соколова, Каравайко, 1964).

Соколовой (1961) из заводняемых нефтяных пластов месторождений Волго-Уральской области были выделены облигатно-галофильные культуры *T. thioragus*, способные выдерживать

Т а б л и ц а 17. Распространение *Thiobacillus thioaragus* в пластмассовых водах нефтяных месторождений (по Соколовой 1961)*

Тип месторождения	Месторождение	Стратиграфический горизонт	Средний удельный вес воды	Содержание H ₂ S, мг/л	pH	Число отобранных проб	Обнаружен <i>Th. thioaragus</i> в числе проб
Открытый, с закачкой воды	Калиновское	P ₂	1,090	224—1264	7,5	34	16
	Новостепановское	P ₂	1,008	700	—	2	2
	Зольный Овраг	C ₁ (B ₂)	1,170	+	—	2	1
	Яблоновый Овраг	C ₁ (B ₂)	1,169	12—168	6	3	0
	Сызранское	C ₁ (B ₁ и B ₂)	1,090	204—332	6,2—6,9	6	2
	Новостепановское	C ₁	—	699	7,6	1	0
	Мухановское	C ₁	1,186	—	—	1	1
Яблоновый Овраг	Д ₁ —Д ₃	1,175	0	6	6	0	
Открытый, без закачки воды	Радаевское	C ₁ (B ₂)	1,159	19—100	6,0—6,4	3	3**
	Покровское	C ₁ (B ₂)	1,134	325—348	6,0—6,2	2	0
	Мухановское	Д ₁	1,175	0	6	1	0
	Садкинское	Д ₃	1,173	0	6	1	0
Запечатанный, с закачкой воды	Покровское	C ₁ (A ₁)	1,028	43—74	7,0—7,5	2	2
	Яблоневское	P ₁	1,115	25—100	6,2—6,5	7	5
Запечатанный, без закачки воды	Яблоневское	P ₁	1,184	+	6,8	4	0
	Красноярское	C ₁	1,196	+	—	2	0
	Зольный Овраг	Д ₁	1,173	0	6	7	0

* Плюс — сероводород присутствует; минус — определения не проводили.

** Отбор желтокой.

до 150 г/л NaCl, что, по мнению автора, свидетельствует о развитии их в пласте. Минерализация пробы воды, откуда была выделена культура, составляла 76 г/л, а исходный рассол содержал 270—280 г/л солей. Тионовые бактерии, развивающиеся на среде с тиосульфатом в аэробных условиях, З. И. Кузнецова выделила из пластов нефтяных месторождений Западной Туркмении с температурой 55° (Альтовский и др., 1962). Ценность работ Кузнецовой по распространению тионовых бактерий несколько снижается в связи с тем, что автор не определяла их видовой состав. Выше было показано, что функцию окисления тиосульфата выполняют не только тионовые, но и гетеротрофные бактерии.

Распространение в нефтяных пластовых водах группы тионовых бактерий, развивающихся на средах с тиосульфатом без доступа воздуха в присутствии нитратов, изучали Дутова (1964), Померанц (1966) и другие авторы. Определенных выводов о распространении *T. denitrificans* на основании этих работ сделать нельзя. В книге Каравайко с соавторами (1972) приводится пример, когда образование азота и потребление гипосульфата на среде Баалсруда происходили под воздействием комплекса организмов и денитрификацию осуществлял гетеротроф, близкий к *Pseudomonas denitrificans*. По-видимому, функция денитрификации, распространенная у гетеротрофных бактерий, среди которых встречаются углеводородокисляющие (см. работу Кузнецовой, 1969), не проявляется в пластовых водах, где нитраты отсутствуют (глава I). Таким образом, денитрификация часто является комплексным процессом. Организмы типа автотрофных *T. denitrificans*, способные расти в аэробных условиях, в глубинных пластовых водах при отсутствии нитратов могут развиваться за счет растворенного молекулярного кислорода. Аналогичные выводы можно сделать относительно всей группы денитрификаторов, выявленных на органических средах из пластовых вод (Гинзбург-Карагичева, 1936; Крамаренко, 1956; Альтовский и др., 1962, и др.).

Пурпурные бактерии, их физиология и распространение

Из фотосинтезирующих микроорганизмов в нефтяных пластах могут быть распространены те формы, которые способны развиваться в темноте. В настоящее время установлено, что такими свойствами обладают представители несерных пурпурных бактерий.

В 1972 г. Ханзеном и ван Джемерденем (Hansen, van Gemerden, 1972) было установлено, что так называемые несерные пурпурные бактерии — *Rhodospseudomonas capsulata*, *Rh. sphaeroides*, *Rh. palustris*, *Rhodospirillum rubrum* — окисляют сульфид, однако в значительно меньших концентрациях, чем серные пурпурные. При этом вышеперечисленные организмы, кроме *Rh. palustris*,

окислиают сульфид до внеклеточной элементарной серы, а последний — до серной кислоты без промежуточного образования серы. Сделано предположение, что сульфид используется как донор электронов при фотосинтезе. Отметим, что окисление тиосульфата *Rh. palustris* было известно ранее (Rolls, Lindstrom, 1967; Hashwa, Pfennig, 1972). Кроме того, установлено, что использование органических соединений как доноров восстановителя, а также в качестве источников углерода свойственно многим так называемым серным пурпурным бактериям (Thiele, 1968, и др.).

Таким образом, основные качественные различия между серными и несерными пурпурными бактериями исчезают. В 1971 г. Пфеннингом и Трюпером (Pfennig, Truper, 1971) предложена новая классификация фототрофных бактерий. Согласно этому предложению, пурпурные бактерии должны быть включены в подпорядок *Rhodospirillinae* и разделены на два семейства — *Rhodospirillaceae* и *Chromatiaceae*, включающие в качестве типовых родов *Rhodospirillum* и *Chromatium*.

Ряд пурпурных бактерий, которые ранее рассматривали как несерные (Bergey's Manual, 1957), способны использовать органические вещества в темноте, окисляя их молекулярным кислородом для извлечения энергии. Таким образом в темноте они переключаются на процессы дыхания. К числу таких факультативных аэробов относятся *Rhodospirillum rubrum*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rh. capsulata*, *Rh. sphaeroides*, *Rh. acidophila* и некоторые другие организмы (Кондратьева, 1972). При этом разные виды развиваются при различных концентрациях кислорода — от 0,3 до 3 мг/л (Гусев и др., 1970). *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* — организм, относящийся к серным пурпурным бактериям, способный переключаться на органические вещества, также может расти в темноте в микроаэрофильных условиях (Успенская, Кондратьева, 1972). Кроме того, в последнее время показано, что некоторые пурпурные бактерии могут развиваться в темноте в анаэробных условиях. *Rhodospirillum rubrum* растет за счет сбраживания пирувата или фруктозы (Schön, Beiderman, 1973). К медленному росту в темноте на пептонном агаре с дрожжевым экстрактом способны *Rh. palustris*, *Rh. viridis*, *Rh. sphaeroides*, *Rh. rubrum*, рост стимулировался добавлением этилового спирта, ацетата или пирувата (Uffen et al., 1971).

Разнообразие путей обмена у пурпурных фотосинтезирующих бактерий позволяет предположить возможность переключения их на процессы дыхания в темноте при окислении восстановленных соединений серы. Ферментная система, способная окислять тиосульфат за счет кислорода, обнаружена Кнобломом (Knobloch, 1972).

В 1935 г. Володин и Малышек с соавторами (Володин, 1935; Малышек и др., 1935) выявили пурпурные бактерии в розовой пластовой воде, извлеченной эксплуатационными скважинами из НКП-свиты Сураханской нефтеносной складки Апшерона. Вода

Т а б л и ц а 18. Характеристика гидрохимического состава, воды, содержащих

Номер скважины	Расстояние по радиусу от нагнетательных скважин, м	Пласт, глубина забоя, м	Минерализация, г/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л	pH	гН ₂
Сураханская складка, IX горизонт балаханской свиты, пласт						
726	—	1130	39,8	254	7,5	27
Балахано-Сабунчино-Рамашинская складка, подкирмакинская свита,						
1524	450	Верхний, 2283	22,4	1562	7,8	22,6
2788	1500	Верхний, 2125	18,8	564	7,5	21,8
2096	2000	Верхний, 2087	17,9	215	8,2	—
1328	2100	Нижний, 2480	16,8	109	8,2	23,0

* Плюс означает развитие бактерий, наблюдающееся в виде образования пурпурного

с розовой окраской была распространена в сводовой части складки, там, где присутствовала нефть. Соленость розовой пластовой воды составляла 4,4—5,1° Ве, вода была обогащена сульфатами. Позднее Исаченко (1939) отнес выделенные из розовой воды культуры к *Chromatium* и *Rhodopseudomonas*. В дальнейшем одну из культур исследовала Осишкая (1954), описавшая ее как новый вид *Rhodopseudomonas issatchenkoi*. В конце 60-х годов в воде одной из скважин нефтяного пласта той же Сураханской складки пурпурные бактерии были обнаружены нами (Розанова, Худякова, 1970). Вода принадлежала IX горизонту балаханской свиты продуктивной толщи. В нижележащем пласте надкирмакинской песчаной свиты (НКП-1), где в 1932 г. происходило массовое развитие пурпурных бактерий, они найдены не были. Кроме того, пурпурные бактерии были выделены в пластовой воде из ряда скважин нефтеносной ПК-свиты Балахано-Сабунчино-Рамашинской складки, куда нагнетали смеси морской, пластовой и поверхностной воды. Вода обеих свит относилась к щелочному гидрокарбонатно-натриевому типу и была обогащена сульфатами, что является исключением среди пластовых вод свит продуктивной толщи. Пластам свойственна относительно невысокая температура (30—40°). Гидрохимическая и бактериологическая характеристики этих вод приведены в табл. 18. Пурпурные бактерии обнаруживались в пробах воды, извлеченной именно компрессорными аэролифтовыми скважинами. Несерные пурпурные бактерии были найдены нами

физико-химических условий и бактериального населения проб пурпурные бактерии

Число бактерий в 1 мл воды							
сульфат-редуцирующих	углеводородокисляющих	олигокарбофилов	гетеротрофов (на МПА)	тионовых	пурпурных фотосинтезирующих, на средах		
					плотной органической	плотной минеральной	пластовой воде с нефтью
не подвергается заводнению, скважины компрессорные							
277	8000	—	15 200	Сотни	Десятки	Единицы	0
пласты подвергались заводнению, скважины компрессорные							
8 360	Тысячи	64 000	3 600	Десятки	Сотни	0	+ *
19 600	»	9 800	17 800	»	0	0	+
1 088	Сотни	—	69 000	»	0	0	+
676	»	—	40 000	»	0	0	+

налета и взвеси в пробирках на свету, минус — определения не проводились.

в близлежащем озере Бейок-Шор. На основании полученных результатов мы составили схему распространения пурпурных бактерий в пластах, согласно которой они проникают с закачиваемой водой или буровым раствором и развиваются в призабойных зонах аэролифтовых скважин, куда при перепадах давления, возможно, проникает кислород. Аналогичное объяснение можно привести для распространения пурпурных бактерий в НКП-свите Сураханской складки в 1933 г. Очевидно, развитие пурпурных бактерий происходило в пласте НКП-свиты после ее разбуривания, так как первые обводненные порции воды, извлекаемые из эксплуатационных скважин вместе с нефтью, в 1932 г. не были розовыми. Окрашенные воды появились в 1933 г. О проникновении бурового раствора по пустотам в пласты упоминают Володин (1935) и Малышек с сотрудниками (1935).

Определение морфологии и некоторых физиологических свойств выделенных нами пурпурных бактерий показало, что одна из культур принадлежит к виду *Rhodopseudomonas palustris* (Bergey's Manual, 1957). Клетки этой культуры (рис. 14) имеют характерные выросты, описанные Виттенбери и Мак Лп (Whittenbury, McLee, 1967), свидетельствующие о почковании, а также образуют мшцелевидные структуры в старой культуре. Другая культура, не определенная до вида, имеет вибрионную форму клеток, реже — спириллоидную, размер вибрионов 2,3—2,5×0,7—0,8 мк. Клетки несут пучок жгутиков, скрученных во вторичную спираль



Рис. 14. Клетки культуры *Rhodopseudomonas palustris*, выделенной из нефтяного пласта. а — с — последовательные стадии почкования. Электронный микроскоп, $\times 12\,000$

(рис. 15). Культуры описаны в работе Розановой (1971б). Организмы способны развиваться фотогетеротрофно на средах с бикарбонатом натрия и органическими кислотами (уксусной, яблочной, янтарной) в анаэробных условиях при pH 6,6—8,0, а также в присутствии воздуха в темноте. Организм рода *Pseudomonas* мог расти при атмосферном давлении кислорода, организм типа спирилл являлся микроаэрофильным. Развитие культур наблюдалось в средах как без NaCl, так и в присутствии 1—3% NaCl. Культура *Rh. palustris* не требовала добавок витаминов к органическим средам. Рост спирилл происходил только в присутствии смеси витаминов. Абсорбционные спектры указывали на наличие в клетках бактериохлорофилла *a* и каротиноидов группы спириллоксантина. Добавление к средам с органическими кислотами тиосульфата способствовало увеличению скорости роста и накоплению клеточного материала, что согласуется с наблюдениями других авторов. В средах минерального состава с сульфидом натрия или тиосульфатом в концентрации 1 г/л, бикарбонатом и витаминными добавками (или небольшим количеством дрожжевого экстракта) рост в осадке был очень медленным и слабым, практически неизмеримым. Отложений серы внутри или вне клеток не наблюдалось. Возможно, что испытанные концентрации сульфида высоки для изученных культур (Hansen, van Gemerden, 1972). Этим объясняется отсутствие измеримого роста. Выделенная нами культура спирилл во всех отношениях близка к культуре Осницкой *Rh. isatchenkoi* (1954).

Мы полагаем, что изученный нами организм типа спирилл нельзя отнести к роду *Ectothiorhodospira*. Скорее он является одним из представителей *Athiorhodaceae* или того типа бактерий, которые не развиваются в присутствии высокой концентрации сульфида.

Возможно, что в нефтяных пластах изученные организмы развиваются за счет продуктов неполного окисления углеводов

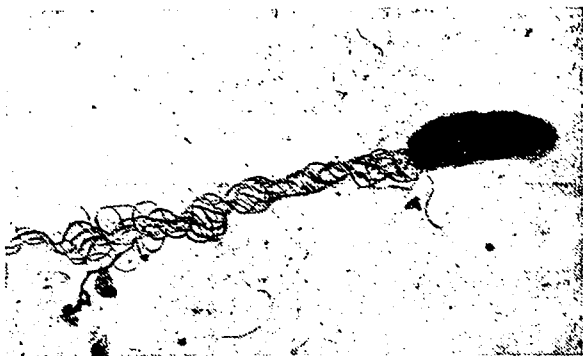


Рис. 15. Клетки культуры *Rhodospirillum* sp., выделенной из нефтяных пластов. Электронный микроскоп, $\times 12\,000$

типа жирных спиртов и кислот, продуцируемых углеводородокисляющими бактериями в призабойных зонах аэролифтовых скважин. Органическим субстратом для *Rh. palustris* могут служить некоторые ароматические кислоты — *para*-оксибензоат и протокатехат, окисляющиеся этим организмом в аэробных условиях (Dutton, Evans, 1969). Интересно, что пурпурные бактерии распространены именно в тех нефтяных пластах, где воды обогащены сульфатами. Сульфаты могут служить донорами серы для построения белка пурпурных бактерий (Кондратьева, 1972). Наличие сульфатвосстанавливающих бактерий в этих же пробах вод указывает на присутствие в пластах восстановленных соединений серы, возможно оказывающих влияние на распространение пурпурных бактерий. Исходные культуры накопления пурпурных бактерий были получены нами в пробирках, доверху заполненных пластовой водой и нефтью и выдержанных при дневном свете. Пересев чистых культур в минеральную среду Пфеннига с нефтью и витаминами не дал роста этих бактерий. Таким образом, развитие бактерий в исходных культурах накопления, по-видимому, происходило в биоценозе с другими организмами за счет веществ, растворенных в пластовой воде.

Метанобразующие бактерии, их физиология и распространение

Бактерии образуют метан для получения энергии, используемой на конструктивные нужды. Известные в настоящее время чистые культуры этих организмов указаны в табл. 19 (Wolfe, 1971). В процессах образования метана в качестве субстратов они используют главным образом водород и углекислоту и отдельные их виды — формиат, метанол и ацетат. В дополнение к перечисленным видам приводим недавно открытый новый термофильный орга-

Таблица 19. Типы метановых бактерий, имеющихся в чистой культуре на 1970 г. (по Wolfe, 1971)

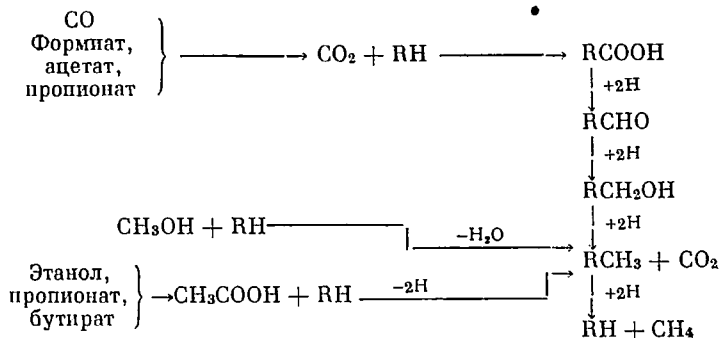
Организм	Источник выделения	Морфология	Реакции по Граму	Субстрат	Необходимые компоненты питательной среды*	
					витамины	другие
<i>Methanobacterium thurmanii</i>	Рубец	Кокки до коротких палочек, в цепочках	+	$H_2 + CO_2$, форминат	Ростовые факторы из жидкости рубца	Ацетат, 2-меркаптоэтанол
То же	Грязь	То же	+	То же	Витамины группы В стимулируют	Ацетат
<i>Methanobacterium</i> шт. М. О. Н.	Культура <i>Methanobacillus omeiensis</i>	Неправильно изогнутые палочки	Варьирует	$H_2 + CO_2$	То же	Ацетат стимулирует
<i>Methanobacterium formicicum</i>	Ил, грязь	То же	»	$H_2 + CO_2$, форминат	—	—
<i>Methanobacterium mobilis</i>	Рубец	Короткие палочки, подвижные	—	То же	Ростовые факторы из жидкости рубца	—
<i>Methanosarcina barkerii</i>	Ил, грязь	Сарцина	+	$H_2 + CO_2$, метанол, ацетат	Нет	Нет
<i>Methanococcus vannielii</i>	Ил	Подвижные кокки	+	$H_2 + CO_2$, форминат	»	»
<i>Methanospirillum</i> sp.	Грязь	Спириллы	+	То же	—	—
<i>Methanococcus</i> sp.	»	Кокки	+	»	—	—

* В качестве источника азота везде был необходим аммиак.

низм — *Methanobacterium thermoautotrophicus* (Zeikus, Wolfe, 1972), бесклеточные экстракты которого образовывали метан только из H_2 и CO_2 . Описана также новая термофильная культура метанобразующих бактерий, развивающаяся на метаноле. При воздействии бесклеточных экстрактов на метанол образованию метана предшествовал синтез уксусной кислоты (Панцхава и др., 1973).

В книге Заварзина (1972) перечислены неочищенные культуры метанобразующих бактерий, которые могли использовать другие кислоты и спирты: *Methanobacterium propionicum* — пропионовую; *Methanobacterium suboxidans* — ряд жирных кислот с четным и нечетным числом атомов углерода — масляную, валериановую и др.; *Methanosarcina methanica* и *Methanococcus mazei* — кроме водорода и углекислоты — уксусную кислоту. Культура *Methanobacillus omelianskii*, использующая водород и углекислоту, а также этанол, оказалась смесью двух организмов, из которых один окисляет этанол до ацетата и водорода, другой — метанобразующий — использует водород (Bryant et al., 1967). Исследователи предполагают, что использование спиртов и кислот иных, чем метанол, формиат и ацетат, в культурах неочищенных метанобразующих бактерий осуществляется при участии спутников.

Механизм образования метана недостаточно выяснен. Определенное экспериментальное подтверждение нашла схема Баркера (Barker, 1956), согласно которой последовательному восстановлению в клетке подвергаются продукты, связанные с ферментами-переносчиками:

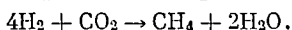


В этой схеме восстановителем является газообразный водород или водород органического субстрата.

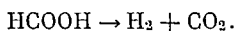
Экспериментально установлено взаимопревращение производных уровня формиата, формальдегида и метанола при участии производных тетрагидрофолатов (Wolfe et al., 1966). (Не совсем ясно, участвуют ли эти реакции в синтезе метана). Переносчиком метильной группы являются производные витамина B_{12} , в частности метилкобаламин (Blaylock, Stadtman, 1966). Все реакции требуют затрат АТФ. Энзиматический механизм образования АТФ у этих

бактерий неизвестен. Помимо перечисленных производных в число субстратов, из которых образуется метан под действием клеточных экстрактов, входят пируват (карбоксильный углерод \rightarrow CH_4), серин, формиат, формальдегид, метанол (Wolfe, 1971).

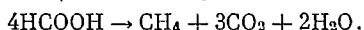
Окисление водорода протекает по реакции



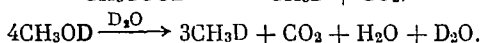
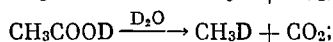
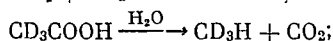
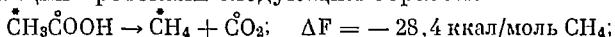
Формиат превращается в углекислоту и молекулярный водород:



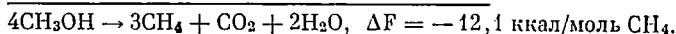
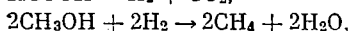
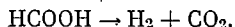
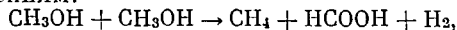
Общее уравнение окисления формиата у *Methanobacterium mobilis* (Painter, Hungate, 1968) соответствует



При использовании метанола и ацетата метильные группы превращаются в метан. Согласно Пайну и Баркеру (Pine, Barker, 1956), реакции протекали следующим образом:



Пайн и Вишняк (Pine, Vishniac, 1957) полагают, что последовательность реакций при использовании метанола соответствует уравнениям:



Заварзин (1972) приводит следующие сведения относительно конструктивного обмена метанобразующих бактерий (по данным ряда авторов). Рибулосодифосфатный цикл, по-видимому, не принимает участия в конструктивном обмене. Продуктами фиксации меченой углекислоты являются меченые органические кислоты и аминокислоты. Обнаружено, что углеродные скелеты ряда аминокислот *Methanobacillus omelianskii* образовались из пирувата, возникающего путем C_1 — C_2 -конденсации; 3% углерода биомассы произошли из углекислоты. Заварзин предполагает, что некоторые метанобразующие бактерии осуществляют литогетеротрофный обмен, подобно сульфатовосстанавливающим. Это предположение подтверждается наличием у метанобразующих бактерий пируватсинтазы и необходимостью присутствия в средах ацетата для развития многих видов бактерий (табл. 19).

Оптимальными условиями для роста известных метанобразующих бактерий являются соленость среды не выше 4 г/л (Barker, 1956), pH от 6,4 до 7,2. В среде, где значения pH ниже 6 и выше 8,

скорость роста метанобразующих бактерий снижается; для видов, развивающихся на формате, оптимальной является величина рН 8,9 (Barker, 1956; Pfeffer, 1966); начальный потенциал от —300 до —400 мв (Mc Carty, 1963); азот в среде — аммонийный, но некоторые виды фиксируют газообразный азот (Barker, 1956). Метанобразующие бактерии развиваются при температуре от 0 до 55° (Barker, 1956); для термофильного штамма *Methanobacterium thermoautotrophicus* оптимум культивирования составляет 65—70° (Zeikus, Wolfe, 1972).

На примере изучения нефтяных и газовых месторождений Дагестана, Грозненской области З. И. Кузнецовой было выяснено (Альтовский и др., 1958; Кузнецова, 1963), что метанобразующие бактерии, использующие водород и углекислоту, распространены в разных областях водоносного пласта: в зоне инфильтрации, содержащей органические вещества поверхностного происхождения, в глубинных зонах, обогащенных углеводородами, а также в областях разгрузки нефтяных пластов. Метанобразующие бактерии, использующие ацетат кальция, не были обнаружены в упомянутых выше газовых месторождениях и слабо развивались в нефтяных пластах. Вместе с тем Голубович с соавторами (1970) нашли, что метанобразующие бактерии, выделяемые на среде Баркера с этиловым спиртом из вод месторождений Бухаро-Хивинской нефтегазоносной провинции (Газли), характерны для подземных вод исключительно в контуре газоносности. Ниже приведена средняя интенсивность развития метанобразующих бактерий (в баллах) в подземных водах этой области. З. И. Кузнецова (1963) отмечает влияние рН воды на распространение группы бактерий, образующих метан из H_2 и CO_2 . Так, если в водах Грозненско-Дагестанской области при рН 6,9—7,9 метанобразующие бактерии развивались с интенсивностью до двух баллов, то в Подмосковном бассейне при более щелочной реакции воды, рН 7,6—8,0, интенсивность развития падала до одного балла, а в Восточной Грузии при величине рН, достигающей 9,6, эти бактерии не развивались совсем.

Область распространения подземных вод	На среде с этанолом	На среде с H_2+CO_2	Примечание. Приведены данные развития бактерий, обнаруженных более чем в 50% исследованных проб. Основанием для оценки служило время появления заметных признаков развития в накопительных культурах (Кузнецова, 1963):	
			Время появления признаков развития бактерий, дни	Интенсивность, баллы
Нисходящие родники области питания	—	—		
Подземные воды в контуре готовых месторождений . .	4	3		
То же, за контуром	0	3	До 5	5
Подземные воды негазоносных пластов на газовых месторождениях .	0	2	6—10	4
			10—20	3
			21—30	2
			31—60	1
Подземные воды «пустых структур»	0	2		

Метанобразующие бактерии влияют на газовый состав пластовой воды. З. И. Кузнецова (Альтовский и др., 1962) отмечает, что в воде восходящих родников области разгрузки нефтяных пластов в районе Копет-Дага (Западная Туркмения) увеличение интенсивности развития метанобразующих бактерий коррелирует с повышенным содержанием метана. Согласно тем же авторам, в водах нисходящих родников зоны инфильтрации, являющейся областью питания подземных горизонтов Западной Туркмении, были выявлены строго анаэробные метанобразующие бактерии, требующие для развития потенциала —400, —500 мв (McCarty, 1963), и аэробные метанокисляющие микроорганизмы. Содержание метана в

Т а б л и ц а 20. Влияние микрофлоры осадочных пород на распад природной нефти до газообразных продуктов (по Экзерцеву, Кузнецову, 1954)

Геологический возраст вмещающих пород	Нефть без керна			Нефть с керном		
	обследовано образцов	число образцов, выделивших газ	%	обследовано образцов	число образцов, выделивших газ	%
Пермь	9	4	44,4	12	11	91,7
Карбон	28	13	46,4	32	25	79,1
Девон	11	8	72,7	12	11	91,7
Всего образцов	48	25	52,1	56	47	83,9

пластовой воде зависело от преимущественного развития той или иной группы. Отметим, что сочетание аэробных и анаэробных организмов в пробах воды, извлекаемых из пластов, не является случайным. Это явление распространено и, по-видимому, объясняется микрозональным развитием отдельных представителей биоценоза в породах пластов, пропитанных пластовой жидкостью. Мы выявили разнообразных представителей в пробах вод из насосных и даже аэролифтовых скважин нефтяных пластов Апшерона, где сочетались анаэробные бактерии, образующие метан из H_2 и CO_2 , сульфатвосстанавливающие и аэробные — углеводородокисляющие, сапрофитные, тионовые бактерии (см. табл. 9 и работу Розановой, 1971а).

В нефтяных пластах девона, карбона и перми Волго-Уральской области метанобразующие бактерии, развивающиеся на H_2 , CO_2 и ацетате, были выявлены Экзерцевым и Кузнецовым (1954). Данные анализ этих авторов (Экзерцев, 1958, 1960) показывают, что обогащенность газами нефтяных пластов может быть связана с распространением анаэробных процессов преобразования нефти до газообразных продуктов— CH_4 , N_2 , CO_2 . Приводим табл. 20 по данным этих авторов, где показано распространение бактерий, образу-

ющих газ из нефти, в пластах Волго-Уральской области, относящихся к разным стратиграфическим горизонтам. В нефтяных пластах с высокой температурой, по-видимому, могут развиваться термофильные метанобразующие бактерии. Образование метана из H_2 и CO_2 было обнаружено при внесении в минеральную среду Баркера воды из Октябрьского нефтяного месторождения Грозненской области с температурой пластов 55—69°. Метанобразующие бактерии были найдены также в пластовой воде месторождения Тернар Дагестанской области с температурой пласта 60° (Альтовский и др., 1962).

По данным З. И. Кузнецовой (1959б), приведенным ниже, накопительные культуры метанобразующих бактерий, выделенные из пластовых нефтеносных районов Челекена с повышенной температурой, развивалась более интенсивно при 45°, чем при 20°.

Место отбора пробы	Интенсивность развития в баллах * при температуре опыта		Температура воды в скважине, °С
	20°	45°	
	Кизил-Тепе	1	
Бакульджа	0	1	42
Большой Солончак	0	2	42
Дагаджик	4	4	20

* См. примечание на стр. 101.

Не ясно, существуют ли галофильные формы метанобразующих бактерий. В литературе упоминание о таких видах не встречается. Тем не менее нет оснований думать, что галофильные виды не могут развиваться в природе. Как видно из изложенного материала по экологии и физиологии метанобразующих и сульфатвосстанавливающих бактерий, обе группы занимают сходные экологические ниши, где являются конкурентами за субстрат. Возможно, что при высоком содержании сульфатов в пластовых водах сульфатвосстанавливающие бактерии получают преимущество в связи с большей устойчивостью к сероводороду. По данным Викена (Wiken, 1957), 80—90 мг/л H_2S угнетают рост метанобразующих бактерий в средах, где $pH = 6, 8$; при этом влияние оказывает недиссоциированная молекула H_2S . При более высоких значениях $pH = 7,6—7,8$ —в забуференной среде (1,0—1,5% K_2HPO_4) наличие 78—118 мг/л сероводорода не оказывало тормозящего действия.

*Использование углеводов микроорганизмами
в искусственно заводняемых нефтяных пластах
и в лабораторных экспериментах*

*Развитие биогенных процессов
в нефтяных пластах,
подвергающихся искусственному заводнению*

В этом разделе будут описаны те нефтяные месторождения, в которых процессы окисления нефти и сульфатредукция отсутствовали до заводнения из-за неблагоприятного состава вод (Волго-Уральская область) или вследствие бедности их сульфатами (Апшерон).

В нефтяных пластах, подвергающихся искусственному заводнению, биогенные процессы развиваются в двух направлениях. Первое направление — преимущественное распространение анаэробного восстановления сульфатов, второе — преобладание аэробных процессов окисления нефти. Развитие того или иного направления зависит от скорости водообмена, которая обусловливается определенной проницаемостью пластов, объемом закачиваемой воды, интенсивностью эксплуатации.

Рассмотрим распространение процессов, приводящих к сульфатредукции. Намечаются два варианта развития сульфатредукции; проявляющейся в нефтяных коллекторах разного типа. В коллекторах терригенного типа, свободных от сероводорода, на первых этапах в окислении нефти участвует аэробный биоценоз, использующий кислород, растворенный в закачиваемой воде. Изучение заводняемых терригенных нефтяных пластов девона Д₁ Ромашкинского месторождения было предпринято В. И. Кузнецовой с соавторами (Кузнецова, Панцхава, 1962; Кузнецова и др., 1963; Ли, Кузнецова, 1963; Кузнецова, 1964; Кузнецова, Ли, 1964). Высокоминерализованные рассолы этого пласта не содержали ни сероводорода, ни сульфатвосстанавливающих бактерий, отсутствовали также аэробные бактерии. Общая минерализация воды достигала 250—270 г/л. Вода характеризовалась кислой реакцией (рН=5,2—6,3) и небольшим содержанием сульфатов, не выше 24 мг/л (Кузнецова и др., 1963).

В месторождение посредством внутриконтурных и законтурных нагнетательных скважин закачивали пресную речную воду, обога-

ценную сульфатами в количестве 100—300 мг/л. В воде присутствовали сульфатвосстанавливающие бактерии, сапрофиты, развивающиеся на МПА, и углеводородокисляющие бактерии, относящиеся к роду *Pseudomonas*. Вместе с нагнетаемой водой микрофлора проникала в пласт. Процесс сульфатредукции начинал проявляться по прошествии определенного срока заводнения в призабойных зонах внутриконтурных нагнетательных скважин и отсутствовал в призабойных зонах законтурных нагнетательных скважин.

Данные о распространении сероводорода в пластовой воде из призабойных зон нагнетательных скважин разного типа приводятся ниже:

Скважина	Общее число обследованных скважин	Число скважин, в которых обнаружен сероводород
Внутриконтурная	137	110
Законтурная	15	0
Всего	152	110

Изучение опресненной воды, извлеченной самоизливающимися внутриконтурными нагнетательными скважинами, показало, что в пласте развивается биоценоз аэробных углеводородокисляющих и анаэробных сульфатвосстанавливающих бактерий (рис. 16). Развитие подобного биоценоза было обнаружено также нами в яснополянской терригенной толще визейского яруса, в каменноугольных отложениях Троельжанского месторождения Пермской области (Розанова и др., 1971). В дальнейшем В. А. Кузнецовой и В. М. Горленко (1965а, б; Горленко, Кузнецова, 1966) была разработана гипотеза механизма последовательного развития биогенных процессов в призабойных зонах нагнетательных скважин заводняемых нефтяных пластов. Согласно этой гипотезе, начальное воздействие на углеводороды нефти оказывают аэробные углеводородокисляющие бактерии, использующие молекулярный кислород, поступающий с закачиваемой водой. При этом образуются промежуточные продукты неполного окисления, которые могут потребляться далее в анаэробных условиях сульфатвосстанавливающими бактериями. Кроме того, использование молекулярного водорода углеводородокисляющими бактериями способствует развитию сульфатредукции в пластах вследствие снижения окислительно-восстановительного потенциала.

Гипотеза была подтверждена лабораторными экспериментами по окислению нефти биоценозом микроорганизмов, выделенным из заводняемого нефтяного пласта (рис. 17). Было показано, что развитию сульфатвосстанавливающих бактерий и появлению сероводорода действительно предшествовало развитие биоценоза углеводородокисляющих бактерий, причем максимальное образование сероводорода наблюдалось в условиях ограниченного доступа кислорода. Результаты могут быть объяснены тем, что именно при недостатке кислорода в культурах углеводородокисляющих бакте-

рий накапливаются промежуточные окисленные продукты типа спиртов и кислот (см. главу III). Эти продукты являются субстратами, доступными сульфатвосстанавливающим бактериям.

Накопление связывающихся йодом веществ было показано при развитии бактерий, использующих нефть в микроаэрофильных

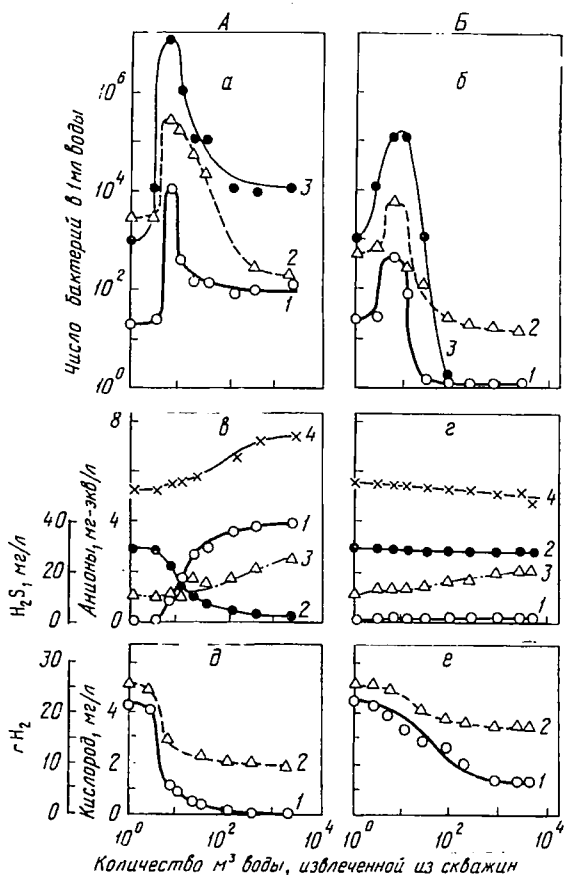


Рис. 16. Изменение солености среды, показателей активности бактерий и их содержания в процессе излива из нагнетательных скважин воды, побывавшей в пласте (по Кузнецовой, Ли, 1964)

А — внутриконтурная скважина; Б — законтурная скважина; а, б: 1 — сульфатвосстанавливающие бактерии, 2 — аэробы на МПА, 3 — углеводородокисляющие бактерии; в, г: 1 — H_2S , 2 — SO_4^{2-} , 3 — Cl^- , 4 — HCO_3^- ; д, е: 1 — O_2 , 2 — γH_2

условиях. Кузнецова и Горленко (1965б) считали, что в опытных колбах соблюдался анаэробизм, однако повышенные величины Ен с +40 до +270 мв в конце опыта в контрольных колбах без нефти указывало на проникновение воздуха.

Развитие биоценоза микроорганизмов с участием аэробных бактерий в призабойных зонах нагнетательных скважин является одним из вариантов начального этапа распространения сульфат-редукции в нефтяных пластах. Другой вариант обнаружен нами (Розанова, Быков и др., 1972, 1973а) в карбонатных коллекторах

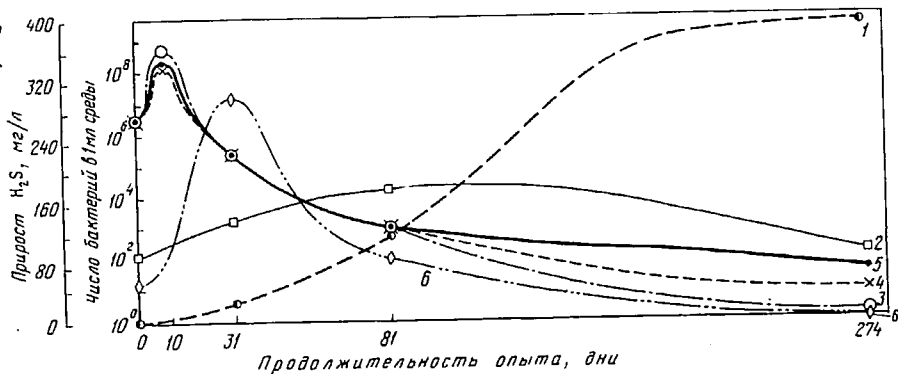


Рис. 17. Развитие различных групп микроорганизмов в комплексе, окисляющем нефть, с образованием сероводорода

1 — прирост H_2S в среде; 2 — сульфатредуцирующие бактерии; 3 — углеводородокисляющие бактерии; 4 — бактерии из рода *Pseudomonas*; 5 — сапрофиты на МПА; 6 — организмы, развивающиеся на лактате кальция в анаэробных условиях

башкирского яруса каменноугольных отложений Пермской области, содержащих рассолы, обогащенные сероводородом. Бактерии в рассолах не развивались, и сероводород этот рассматривался как реликтовый.

При нагнетании пресной воды внутрь контура нефтеносности в призабойных зонах пластов быстро распространялась биогенная сульфатредукция. Аэробный биоценоз, по-видимому, не принимал участия в окислении нефти, поскольку в воде, извлеченной из призабойной нагнетательной скважины карбонатного коллектора Ярино-Каменноложского месторождения, эти микроорганизмы отсутствовали. В пробах воды из самоизливающихся нагнетательных скважин терригенных коллекторов яснополянской толщи визейского яруса того же месторождения помимо сульфатвосстанавливающих бактерий присутствовали аэробные бактерии, окисляющие нефть и развивающиеся на МПА.

Основным отличительным фактором пластовых рассолов карбонатных коллекторов являлся сероводород, отсутствующий в воде терригенной яснополянской толщи. На этом основании было сделано предположение, что в карбонатных коллекторах растворенный кислород, поступающий с закачиваемой водой, поглощается сероводородом. Это обстоятельство способствует понижению окислительно-восстановительного потенциала и развитию сульфатредукции. Таким образом, необходимость участия аэробного

биоценоза в окислении нефти для снижения потенциала здесь отпадает. В призабойной зоне нагнетательной скважины карбонатного коллектора величина γH_2 близка к 11 и является значительно более низкой, чем в терригенной толще, где $\gamma\text{H}_2 \sim 21$.

Предположение о роли исходного реликтового сероводорода в снижении потенциала в зонах нагнетания подтвердилось при исследовании пробы воды, извлеченной нагнетательными скважинами разного типа из карбонатных коллекторов.

Характеристика воды, извлеченной из призабойных зон различных нагнетательных скважин карбонатной толщии Ярино-Каменноложского месторождения, приведена ниже:

	Тип и номер скважины		
	I-536	II-447	II-380
Минерализация, г/л	2,74	1,19	1,87
SO_4^{2-} , мг/л	1348,1	746,5	1175,2
Исходный H_2S , мг/л	16,0	0,92	0,7
Прирост H_2S в сутки (в изолированной пробе), мг/л*	0,023	0	0,082
Eh в исходной пробе, мв	-25	+325	+235
Количество бактерий исходной пробы в 1 мл			
сульфатовосстанавливающих на средах с 2% солей рассола	Сотни	Сотни	Тысячи
окисляющих нефть, $\times 10^3$	0	1,30	17,0
растущих на МПА, $\times 10^3$	0	4,10	1,20

Прирост H_2S измеряли по радиоактивности сульфидной серы в изолированных пробах пластовой воды, куда добавляли $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$. В пробы из скважин 447 и 380 вносили Na_2S из расчета 50 мг/л.

Внутриконтурная скважина первого типа — скв. 536 — служила для нагнетания воды в обводненную рассолом часть пласта. Внутриконтурные скважины второго типа — скв. 447 и 380 — использовали для нагнетания воды непосредственно в нефтегазо-насыщенные зоны. Отбор проб из скважин производился через сутки самоизлива. (Проба из скв. 380 была отобрана после трех месяцев самоизлива.) Анализы показали, что, несмотря на присутствие сульфатовосстанавливающих бактерий во всех исследованных пробах, сероводород обнаруживался только в пробе воды из скв. 536 в количестве 16 мг/л. Этот сероводород являлся вторичным, образовавшимся в результате современных биогенных процессов.

Сопоставление типов исследованных скважин позволило прийти к заключению, что развитию сульфатредукции в призабойных зонах способствовало смешение закачиваемой воды с пластовым рассолом в контуре нефтеносности, как это имело место в зоне

скв. 536. Именно здесь вода характеризовалась низкой величиной окислительно-восстановительного потенциала. В изолированной пробе этой воды с добавлением $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ был обнаружен прирост H_2S в количестве 0,023 мг/л в сутки. Полученные данные дают возможность рассмотреть механизм развития сульфатредукции с новой точки зрения.

При отсутствии аэробного биоценоза большое количество окисленного органического вещества не может появиться в пластах. Как было показано выше, химическое окисление углеводородов затруднено. Результаты наших исследований позволили предположить, что сульфатвосстанавливающие бактерии, развиваясь в нефтяных пластах, могут довольствоваться небольшим количеством окисленного органического вещества. Возможно, что при этом оно используется на построение тела, а в энергетическом процессе потребляется водород, извлекаемый при дегидрировании углеводородов (см. главу III, стр. 75). Небольшие количества окисленного органического вещества, по-видимому, все же могут возникать при каталитическом окислении углеводородов кислородом воздуха с участием металлов, растворенных в пластовой воде (глава III, стр. 62).

Другим возможным вариантом появления добавочного количества окисленного органического вещества в пластовой воде при искусственном заводнении является вымывание его из пород коллектора, а также подстилающих водоупоров. Известно, что вмещающие породы всегда содержат некоторое количество первичного fossilized органического вещества (Зобелл, 1972). Согласно современным теориям образования залежей, нефть мигрирует в ловушки коллекторских пород и является, таким образом, вторичным органическим веществом по отношению к вмещающим породам. Коллекторскими породами изученных нами пластов башкирского яруса служат органогенные известняки. В раковинах органические вещества типа аминокислот могут сохраняться в течение длительного времени. По устному сообщению Барс, многократная водная экстракция коллекторских пород и глин способствует вымыванию значительного количества окисленного органического вещества (до 100 мг/кг). Извлечение окисленного органического вещества из горных пород слабоминерализованной водой наблюдали Альтовский с соавторами (1962).

Предложенный нами механизм использования углеводородов в комплексе с окисленной органикой, несомненно, нуждается в проверке. Однако на правах гипотезы его можно применить для объяснения сульфатредукции на участках заводняемых пластов, удаленных от зон нагнетания.

Некоторыми авторами (Гасанов, 1961; Сазонова и др., 1965) показано, что сероводород постепенно распространяется от зон нагнетания в глубь пластов. Кузнецова и Ли (1964) считали, что сероводород, обнаруживающийся на участках с эксплуатационны-

Рис. 18. Изменение интенсивности процессов сульфатредукции в нефтяном пласте Ашшеронского полуострова по мере проникновения озерной воды и коррозии металлического оборудования

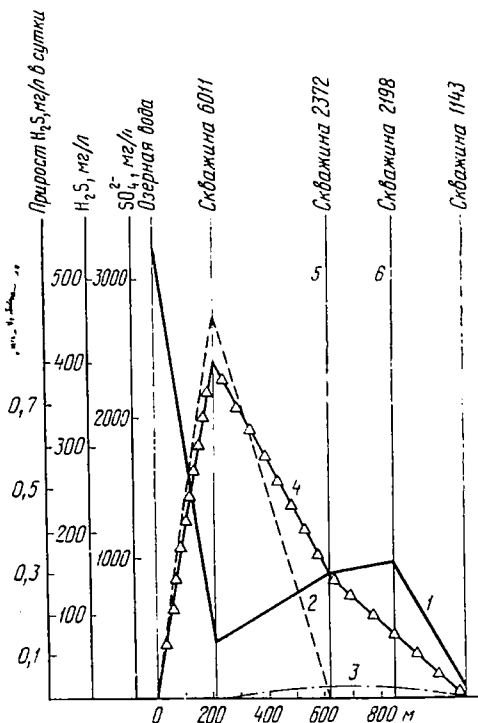
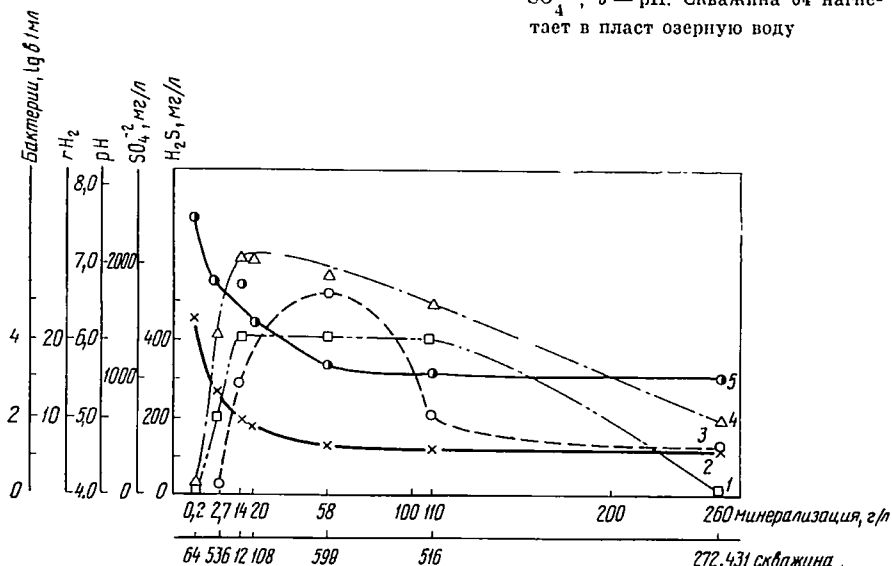


Рис. 19. Изменение гидрохимического состава и содержания бактерий в воде заводяемого нефтяного пласта по мере увеличения минерализации

1 — сульфатовосстанавливающие бактерии; 2 — rH_2 ; 3 — H_2S ; 4 — SO_4^{2-} ; 5 — pH. Скважина 64 нагнетает в пласт озерную воду

1 — сульфатовосстанавливающие бактерии; 2 — rH_2 ; 3 — H_2S ; 4 — SO_4^{2-} ; 5 — pH. Скважина 64 нагнетает в пласт озерную воду



ми скважинами, является миграционным. Можно было предполагать, что окисленное органическое вещество, образующееся в зонах нагнетания, здесь и потребляется в процессе сульфатредукции. Однако наши исследования показали, что в тех зонах месторождения, где расположены эксплуатационные скважины, H_2S образуется на месте. Доказательством служил $H_2^{35}S$, обнаруживающийся при внесении в изолированные пробы пластовой воды

Т а б л и ц а 21. Характеристика воды разной минерализации, извлеченной эксплуатационными скважинами из карбонатных толщ

Скважина	Минерализация, г/л	H_2S , мг/л	Количество сульфатовосстанавливающих бактерий в 1 мл на средах с солями рассола		Прирост $H_2^{35}S$, мг.л		
			2%	8—12%	в сутки	максимальный (30 суток)	максимальный в присутствии лактата (30 суток)
64	18,49	9,5	Сотни	0	0,158	—	249
25	31,25	49,9	Сотни тысяч	Десятки	0,130	0,312	221
74 *	55,11	90,0	Десятки	0	0,138	4,575	275
599 **	57,30	517,7	—	Десятки тысяч	0,150	—	—
68	72,20	67,2	Сотни	То же	0,146	0,292	149
516 **	109,20	207,1	—	»	0	—	—
38	285,96	21,2	0	0	0	0	0
91 **	252,22	149,80	0	Сотни	0	—	—

* Скважина Полазненского месторождения, где вода отличается малым содержанием бактерий вследствие влияния недавней соляно-кислотной обработки призабойной зоны.

** Скважина Ярино-Каменноложского месторождения, остальные — Полазненского месторождения.

$Na_2^{35}SO_4$ (Розанова и др., 1969). По мере удаления от зон нагнетания суточный прирост H_2S падал, оставаясь величиной порядка десятых долей миллиграмма на литр (рис. 18, табл. 21). Отметим, что повышенная соленость проб воды не препятствовала развитию сульфатовосстанавливающих бактерий в исследованных пластах Апшерона и Пермской области (Розанова, Худякова, 1973; Розанова, Быков и др., 1973; Розанова, Талыблы, Лебедева, 1973), так как здесь были распространены галофильные и солетолерантные формы этих микроорганизмов (глава III, стр. 84). Закономерности развития биогенной сульфатредукции в разных зонах заводняемого пласта башкирского яруса Ярино-Каменноложского месторождения, обогащенного исходным реликтовым сероводородом, показаны на рис. 19. Ниже даны содержание рассола и состав

сероводорода в воде разных зон заводняемого нефтяного пласта башкирского яруса:

Скважина	Минерализация воды, г/л	Исходный рассол, %	Общий H_2S , мг/л	Доля исходного H_2S из рассола, мг/л
64	0,2	0	0	0
536	2,7	1	16,0	1,5
12	13,8	5	291,1	7,3
108	20,8	—	222,6	—
599	57,3	30	517,8	49,0
516	109,2	41	207,1	60,2
272	256,2	100	114,5	114,5
431	261,9	100	146,9	146,9

Биоценоз аэробных углеводородокисляющих бактерий здесь отсутствовал.

Развитие сульфатредукции в зонах эксплуатационных скважин может быть объяснено неполным потреблением окисленного органического вещества в зонах нагнетания и миграцией части его вместе с водой по пласту. Кроме того, как было указано выше, возможно вымывание органических компонентов пород.

Известно, что сульфатвосстанавливающие бактерии могут использовать водород в качестве энергетического субстрата (глава III, стр. 74). Однако в исследованных пластах водород в составе газа отсутствует. Количество ионного водорода, образующегося в результате катодной деполяризации на металлическом оборудовании скважин, по-видимому, не столь велико, чтобы вызывать массовое развитие сульфатвосстанавливающих бактерий в заводняемых пластах. Есть данные, что водород не используется на энергетические нужды, если в среде присутствует доступный окисленный органический субстрат (Chosrovi et al., 1971).

Итак, мы рассмотрели развитие биогенных процессов, приводящих к сульфатредукции в заводняемых пластах. Перейдем к описанию другого типа биогенных процессов, где преобладает аэроб-

ное окисление нефти. Этот тип процессов был изучен в заводняемом коллекторе подкирмакинской свиты продуктивной толщи открытой Чагнагларской структуры Апшерона. Данные представлены в табл. 22.

Пласты сложены песчаниками и характеризуются высокой проницаемостью пород. На отдельных участках пластов закачиваемая озерная вода практически полностью вытеснила пластовую. Однако нам удалось найти эксплуатационные скважины, извлекающие нефть с водой разной минерализации, соответствующей смесям закачиваемой и пластовой вод. Вода характеризовалась высоким окислительно-восстановительным потенциалом, сероводород отсутствовал.

В пробах в большом количестве присутствовали аэробные углеводородокисляющие сапрофитные и тионовые бактерии, а также анаэробные сульфатвосстанавливающие. Общее количество бактерий исчислялось десятками миллионов клеток в 1 мл. В изолированной пробе воды (из скв. 963) в присутствии восстановителя (20 мг/л Na_2S) прирост сероводорода за восемь суток инкубации составил 47 мг/л.

При добавлении Na_2S и Na_2SO_4 к пробе той же пластовой воды выход H_2S увеличился незначительно. В присутствии тех же добавок и 0,5 г/л лактата натрия выход H_2S составил 102 мг/л. Полученные данные показывают, что вследствие высокого водообмена в пласте присутствует растворенный кислород, обуславливающий высокий потенциал извлекаемой воды. Это способствует распространению процессов биогенного окисления нефти. С закачиваемой водой в пласт поступают сульфаты, тем не менее сероводород в воде не накапливается вследствие высокого потенциала среды. Прирост H_2S в изолированной пробе показывает, что сульфатредукция, по-видимому, все же развивается в отдельных микрizonaх пласта, поставляя восстановленные соединения серы для развития тионовых бактерий.

Т а б л и ц а 22. Характеристика воды из заводняемого

Проба воды, номер скважины	Минерализация, °Be	Тип воды	SO_4^{2-} , мг/л	pH	$гН_2$
Закачиваемая (озерная)	5,07	Сульфатно-натриевый	1115	8,6	19,2
Из пласта, на участке, где пластовая вода замещена озерной, 963	5,54	То же	3648	7,7	18,8
Из пласта, смесь озерной и законтурной вод, 1293	2,63	Гидрокарбонатно-натриевый	1248	7,7	18,1

нефтяного пласта Чагнаглар (Апшерон)

	Число бактерий в 1 мл					
	сульфатвосстанавливающих	окисляющих нефть	развивающихся на МПА	олигокарбонатов	тионовых на среде Бейеринка	общее число, млн. в 1 мл
Десятки		860	1960	400	Единицы	12
Сотни		430	630	1000	Десятки тысяч	22
Тысячи		9860	26 000	200	Тысячи	33

Преобразование нефтей микроорганизмами в лабораторных экспериментах

Преобразование нефтей разного типа биоценозами микроорганизмов, выделенными из залежей, изучали Симакова с соавторами (Преобразование нефтей микроорганизмами, 1970). В составе биоценозов имп были обнаружены бактерии рода *Pseudomonas* — *Ps. fluorescens*, *Ps. desmolyticum*, *Ps. scissa* и др., а также организмы рода *Bacterium* — *Bact. aliphaticum*, *Achromobacter agile*.

Т а б л и ц а 23. Элементарный состав осадков, выделенных из культуральной среды с нефтью, окисленной микроорганизмами (в %)

Тип нефти	Выделено из	Зола	С	Н	N	S	O
Высокопарафинистая, метановая	Эмульсии	14,47	57,25	8,63	6,91	2,29	24,87
Метаново-нафтеновая	Эмульсии среды	21,48	46,89	7,45	9,21	3,11	33,34
		—	44,29	7,01	6,82	0,46	41,42
Нафтеновая	То же	18,03	47,92	7,56	8,58	3,03	32,81
		—	47,03	7,76	5,69	1,31	38,21
Нафтеново-ароматическая	»	18,33	50,51	7,21	10,17	3,48	28,92
		—	44,08	6,96	8,04	1,98	38,94

Кроме того, в биоценозах окисленных разрушающихся нефтей сахалинских месторождений были обнаружены микобактерии — *Mycobacterium mucosum*, *Mb. rubrum*, *Mb. luteum* и др. В опытах по разрушению нефти в так называемых анаэробных условиях наряду с описанными выше микроорганизмами принимали участие сульфатвосстанавливающие бактерии. Для создания анаэробных условий в опытных бутылках, на две трети заполненных средой с нефтью и закрытых резиновыми пробками, воздух удаляли вытеснением, путем длительного продувания азота, пропущенного через щелочной раствор пирогаллола. Ясно, что условия в опытах скорее соответствовали микроаэрофильным, чем анаэробным. Поэтому при дальнейшем изложении материала этого раздела вместо термина «анаэробные» будет применяться термин «микроаэрофильные условия». Авторы получили сходные изменения среды при микроаэрофильном и аэробном бактериальном распаде, в последнем варианте эти изменения были выражены значительно сильнее.

В экспериментах использовали следующие типы нефти: а — метановые, высокопарафинистые, б — метаново-нафтеновую, в — нафтеновую, г — нафтеново-ароматическую.

Т а б л и ц а 24. Изменение нефтей разного типа под воздействием микроорганизмов (по книге «Преобразование нефти микроорганизмами», 1970)

Тип нефти, месторождение	Условия опыта	Удельный вес (d_4^{20})	Кинематическая вязкость, ст/сек при 70°	Потери нефти, % к весу взятой в опыт	Смоли и асфальтены		Характеристика маркусоновских масел из нефти, мг КОН на 1 г		
					% к нефти	новообразование, %	кислотное число	эфирное число	число омыления
Метановая, высокопарафинистая, Озексуат	Анаэробные *	0,8524	5,42	9,9	3,07	—	0,23	0,10	0,33
	контроль опыт	0,8523	4,40	17,1	3,08	0	0,26	0,18	0,44
	Аэробные	0,8579	7,3	8,7	4,41	—	0	0,16	0,16
	контроль опыт	0,9101	33,2	58,7	8,87	0	0	2,77	2,77
Нафтоново-ароматическая, Эхаби	Анаэробные *	0,9375	18,87	—	15,82	—	0,40	0,33	0,43
	контроль опыт	0,9377	19,10	2,1	15,91	0	0,28	Нет	0,28
	Аэробные	0,9481	18,29	5,4	18,43	—	0,09	0,29	0,38
	контроль опыт	0,9919	186,63	35,8	30,20	14,21	3,02	1,05	4,07

* По нашему мнению, условия в опытах соответствуют микроаэрофильным. Объяснения в тексте.

Использование нефти бактериями приводило к накоплению белково-углеводной массы, водорастворимых веществ и изменению состава нефти.

Белково-углеводная масса, представляющая, по-видимому, бактериальные тела, по элементарному составу была сходна во всех вариантах опытов (табл. 23). В аэробных условиях в культуральной среде были обнаружены аминокислоты и оксикислоты.

Т а б л и ц а 25. Изменение содержания метановых углеводородов в высокопарафинистых нефтях после воздействия микроорганизмов (по книге «Преобразование нефтей микроорганизмами», 1970)

Условия опыта и образец	Твердые парафины		Углеводороды нормального строения		Углеводороды изостроения	
	% к нефти	температура плавления, °С	% к нефти	температура плавления, °С	% к нефти	температура плавления, °С
Месторождение Зимняя Ставка						
Анаэробные *						
контроль	24,3	55,5	34,3	56,1	9,7	39,7
опыт	19,3	56,0	33,1	54,9	7,4	—
Месторождение Озексуат						
Аэробные						
контроль	26,0	54,0	32,1	44,2	9,9	—
опыт	16,5	64,5	2,9	65,5	12,3	46,2

* По нашему мнению, при недостатке кислорода. Объяснения в тексте.

По нашим данным, после развития микроорганизмов на нефти в гидролизованных культуральных средах, отфильтрованных от бактерий, были обнаружены цистин, лизин, гистидин, аргинин, серин, гликокол, треонин, аланин, пролин, тирозин и другие аминокислоты, составляющие белок биомассы (Розанова, Штурм, 1960). Растворенные жирные кислоты и нейтральные соединения в культуральных средах были обнаружены в опытах Симаковой с соавторами (Преобразование нефтей микроорганизмами, 1970) в ничтожных количествах. Напомним, что при окислении индивидуальных углеводородов микроорганизмами в средах могут накапливаться самые разнообразные продукты окисления и синтеза (глава III).

Изменения качества и состава нефтей разного типа, по данным Симаковой с соавторами, проявлялись прежде всего в повышении их удельного веса, вязкости, содержания асфальтово-смолистых веществ (табл. 24, рис. 20). При окислении всех типов нефтей использовались метановые углеводороды. Указанные авторы наблюдали также потребление метановых углеводородов изостроения

при использовании нефтей определенного типа (табл. 25). Как полагают эти авторы, доступность изометановых углеводородов бактериальному воздействию зависела от их строения.

При окислении нефтеновой и нефтеново-ароматической нефтей уменьшалось количество нефтеновых углеводородов.

Изменение группового углеводородного состава нефтеново-ароматической нефти месторождения Эхаби под воздействием микро-

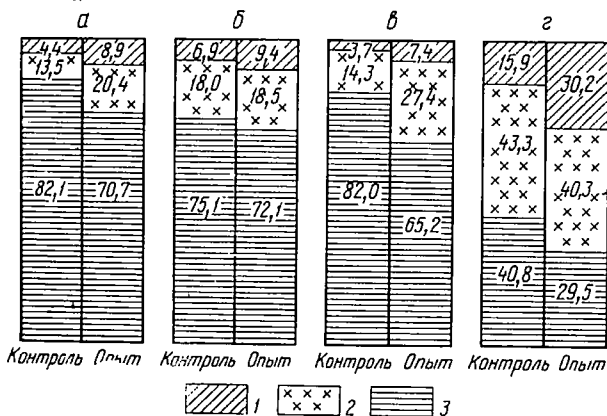


Рис. 20. Изменение группового химического состава нефти под влиянием биогенного фактора (в %)

а — высокопарафинистая метановая нефть (Озексуат); *б* — метано-нафтеновая (Ташкала); *в* — нафтеновая (Доссор); *г* — нафтеново-ароматическая нефть (восточное Эхаби); 1 — асфальтово-смолистые компоненты; 2 — ароматические; 3 — метановые и нафтеновые углеводороды

организмов в аэробных условиях (в вес. % на нефть, отбензиненную при 200°) выражалось таким образом:

Углеводороды	Исходная нефть	Контроль	Опыт
Фракция 200—350°			
ароматические	13,8	12,5	7,1
нафтеновые	24,9	22,7	11,5
метановые	1,7	2,1	Нет
Масла, кипящие выше 350°			
ароматические	29,5	—	33,2
нафтеновые и метановые	14,2	—	18,0
Нефтяные			
ароматические	43,3	—	40,3
нафтеновые и метановые	40,8	—	29,5
смолы и асфальтены	15,9	18,4	30,2

Ароматические углеводороды нефтей активно окислялись микроорганизмами. Количество их в составе керосиновых фракций ме-

тановой, метаново-нафтенной и нафтенно-ароматической нефтей уменьшалось, а в той же фракции нафтенной нефти увеличилось. Последнее Симакова с соавторами связывают с перераспределением в содержании ароматических углеводородов при окислении с образованием более легкой ароматики. Такое перераспределение было выявлено при анализе ароматических углеводородов, входящих в состав масел нафтенной нефти. В маслах этой нефти после бактериального воздействия было отмечено повышение содержания моноциклической и полициклической ароматики и снижение бициклической.

Изменение группового углеводородного состава масел, кипящих выше 350°, доссорской нафтенной нефти под действием микроорганизмов (в вес.%) (по книге «Преобразование нефтей микроорганизмами», 1970) следующее:

Компоненты масел	Опыт	Контроль
Метаново-нафтенные углеводороды .	63,3	82,4
Фракции ароматических углеводородов:		
моноциклическая ароматика с n_d^{20}		
от 1,48 до 1,54	7,8	4,7
бициклическая ароматика с n_d^{20} от		
1,54 до 1,59	2,9	4,7
сумма тяжелой полициклической		
ароматики с $n_d^{20} > 1,59$ и смол . .	26,0	8,2

Авторы объяснили это явление бактериальным окислением бициклических ароматических углеводородов с конденсацией их в тяжелые полициклические углеводороды и смолы. Кроме того, основываясь на увеличении не только относительного, но и абсолютного содержания моноциклических ароматических углеводородов, эти авторы предполагают, что это может быть вызвано раскрытием одного кольца бициклических соединений или окислительным дегидрированием нафтенных колец. Однако, как видно из данных, изложенных в главе III, раскрытие колец би- и полициклических ароматических углеводородов ведет к образованию окисленных продуктов типа ароматических спиртов и кислот, а не углеводородов. При окислении нафтенно-ароматической нефти Симаковой с сотрудниками наблюдалось обратное явление — уменьшение количества моноциклической ароматики и увеличение би- и полициклической. По-видимому, избирательное воздействие микроорганизмов на ароматические соединения той или иной группы зависит от конфигурации этих соединений и состава бактериального биоценоза. Наряду с изменением углеводородного состава изменялся качественный и количественный состав асфальто-смолистых компонентов. Осмоление высокопарафинистой нефти произошло за счет остаточного накопления асфальто-смолистых веществ. В нефтях метаново-нафтенной, нафтенной и нафтенно-

ароматической, при использовании которой микроорганизмы окисляли не только парафиновые, но также нафтеновые и ароматические углеводороды, получено новообразование асфальто-смолистых веществ (стр. 115, табл. 24). В элементарном составе смол и асфальтенов нефтей всех типов уменьшилось содержание углерода, повысилось содержание кислорода (табл. 26), увеличилось количество кислот после омыления (табл. 24). Инфракрасные

Т а б л и ц а 26. Изменение элементарного состава (в %) асфальто-смолистых веществ метаново-нафтеновой нефти в анаэробных * условиях под воздействием микроорганизмов (по книге «Преобразование нефтей микроорганизмами», 1970)

Условия опыта	Смоли бензолные				Смоли спирто-бен- золные				Асфальтены			
	C	H	S	N+O	C	H	S	NO	C	H	S	N+O
Контроль	86,43	10,39	0,89	2,29	83,16	10,32	3,0	3,52	87,07	8,34	0,88	3,71
Опыт с биоцено- зом микроорганиз- мов при участии сульфатовосстанав- ливающих бакте- рий	83,38	9,83	0,87	5,92	81,85	9,79	3,26	5,10	85,15	7,94	1,10	5,83
Опыт с чистой культурой <i>Pseu- domonas fluores- cens</i>	84,84	10,16	1,02	3,98	81,30	9,75	2,90	6,05	83,43	7,68	0,85	8,04

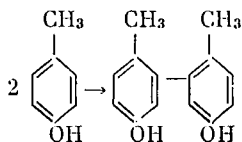
* По нашему мнению, при недостатке кислорода. Объяснения в тексте.

спектры поглощения показали увеличение содержания алифатических эфиров и уменьшение доли ароматических структур фракций асфальто-смолистых веществ. В составе асфальто-смолистых соединений обнаружены карбоновые кислоты, в том числе ароматические, предполагается наличие структур фенольного типа. В ряде фракций асфальто-смолистых компонентов в результате жизнедеятельности бактерий понизилась концентрация ароматических соединений. Новообразование смол происходило, как полагают Симакова с соавторами, за счет окислительной конденсации бициклических и полициклических ароматических углеводородов.

Мы предполагаем, что микроорганизмы могут способствовать процессам взаимопревращения углеводородов и смолообразованию следующим образом. Известно, что при бактериальном воздействии на парафины образуются олефины (глава III). Несмотря на то что Симакова с соавторами не наблюдали образования непредельных углеводородов при бактериальном окислении нефтей, соединения такого типа, вероятно, могли возникать на

определенных этапах окисления и затем преобразовываться в другие. Тенденцию олефинов к циклизации отмечают Успенский с соавторами (1961). Установлено также, что продуктам дегидрирования углеводородов свойственно образование углеродных связей С—С. Таким образом, углеводороды типа олефинов, по-видимому, могут служить субстратом при образовании нафтенов или полимеризованных соединений.

Одним из биогенных механизмов уплотнения молекул окисляемых углеводородов может быть полимеризация с участием пероксидаз. По данным Мезона (Mason, 1957), активность ферментов такого типа вызывает полимеризацию производных *n*-крезола.



Уплотнение может также иметь место при формировании сложных эфиров из продуктов преобразования циклоалканов и фенилалканов, окисляющихся в алифатических цепях.

Затем смолообразованию может способствовать накопление кислород-, азот- и серусодержащих соединений, образующихся в процессах биогенного окисления нефти.

Из данных рис. 20, где показано изменение группового химического состава нефтей под влиянием биогенного фактора по Симаковой с соавторами, видно, что преобразование нефтей любого типа приводит к уменьшению доли в первую очередь метановых и затем нафтеновых углеводородов и накоплению асфальтово-смолистых соединений. Сравнение данных, полученных в экспериментах бактериального окисления нефтей, с данными химических превращений углеводородов (глава III) позволяет отметить соответствие общего направления этих процессов. Однако для химического окисления требуются высокие температура и давление. Поэтому в условиях залежей нефти, где температура ниже 70—80°, большее значение в процессах окисления должно иметь биогенное окисление. Тем не менее не исключается возможность того, что окисление нефтей при доступе молекулярного кислорода является комплексным процессом, где принимают участие биогенный и химический факторы. При этом бактериальные процессы могут играть роль инициаторов ряда химических превращений. Отметим, что при совпадении общего направления химического и биогенного окисления нефти имеют место определенные отличия, указанные в главе III.

По данным Симаковой с соавторами, асфальтово-смолистые соединения, новообразующиеся в процессах биогенного окисления нефтей, отличаются от таковых, содержащихся в неокисленных нефтях, большей обогащенностью кислородом. На этом основании указанные авторы считают, что одним из характерных признаков

окисленности нефти в залежи является наличие кислородсодержащих соединений. Характер этих соединений зависит от типа окисляемой нефти. При окислении высокопарафинистых нефтей образуются кислородсодержащие соединения, за счет которых повышается только эфирное число. Если биогенному окислению подвергается нефть нафтенового типа, увеличивается только кислотное число. Можно предполагать, что в первом случае эффект связан с появлением алифатических эфиров, которые как раз и были обнаружены, а во втором — с нафтеновыми кислотами. При окислении нафтеново-ароматической нефти число омыления возрастает за счет как кислотного, так и эфирного числа. Вторым признаком окисленности может служить повышенное содержание кислорода и меньшее содержание углерода в асфальтово-смолистой части, третьим — наличие растворенных в пластовых водах оксикислот и аминокислот.

Рассмотренные в этом разделе материалы вместе с данными, представленными в разделе главы III по окислению индивидуальных углеводородов микроорганизмами, позволяют наметить пути преобразования одних нефтей в другие и превращения нефтей в асфальты. Преимущественное использование парафиновых структур в микробиологических процессах окисления и возможность преобразования парафинов в нафтены должны привести к накоплению нафтеново-ароматических соединений. Остаток парафиновой части будет состоять главным образом из разветвленных структур с четвертичными атомами углерода (изобутильные группировки). Такие же структуры будут преобладать в остатке от использованных фенилалканов и циклоалканов. Нафтеновые углеводороды трудно поддаются окислению и должны накапливаться. Часть нафтенов в процессе окисления с парафинами превратится в нафтеновые кислоты или продукты окисления колец — спирты и кетоны. Из ароматических соединений в остатке будут концентрироваться соединения с *орто*-расположением заместителей и *цис*-структуры. Накопление и преобразование смол приведут к превращению малосмолистой нефти в смолистую, а образование сероводорода в процессе сульфатредукции вызовет осернение нефти. Общая схема комплексного превращения нефтей при участии биологических, химических и физико-химических факторов, по нашему мнению, должна выглядеть следующим образом:

Метаново-нафтеновая, малосернистая, малосмолистая нефть → Нафтеново-ароматическая, сернистая, смолистая нефть → Разнообразные вариации асфальтов

Успенский с соавторами (1961) считают, что преобразование углеводородов в природе идет по схеме:

Масла (углеводороды с температурой кипения T выше 500°) → Бензолные смолы → Спиртобензолные смолы (соединения кислого характера) → Асфальтены → Карбонды → Карбены → Гумус

Изменение состава озокерита под воздействием микроорганизмов

Для исследования возможности участия микроорганизмов в разложении озокерита были проведены опыты в лабораторных условиях. С этой целью использовали бориславский жильный озокерит, состоящий из твердых углеводов и смолистых компонентов. Озокерит полностью растворялся в петролейном эфире с температурой кипения 70—100°. Образцы озокерита, помещенные в перколаторы с минеральной средой, заражали культурами

Т а б л и ц а 27. Использование озокерита микроорганизмами
(средние данные двух анализов)

Образец озокерита	Начальная навеска, г (100%)	Остаток		Убыль		Осадок из петролейно-эфирного раствора	
		г	%	г	%	г	%
Исходный	1,0038	1,0013	99,75	0,0025	0,25	—	—
Контрольный	1,0510	0,9351	88,97	0,1159	11,03	—	—
Подвергавшийся воздействию микроорганизмов							
<i>Candida</i> sp.	1,1763	0,5258	44,70	0,6505	55,30	0,0433	3,60
<i>Brevibact. maris</i>	1,0892	0,3704	34,00	0,7188	66,00	0,0442	4,06
<i>Mycobact. mucosum</i>	1,1964	0,3810	31,85	0,8154	68,15	0,0462	3,87
<i>Proactin., corallinus</i>	1,2141	0,3356	27,64	0,8785	72,36	0,0380	3,13

Proactinomyces corallinus, *Mycobacterium mucosum*, *Brevibacterium maris*, *Candida* sp., выделенными из озокеритовых месторождений Борислава и Шор-Су. Каждую культуру вносили в два параллельных перколатора. Один из контрольных перколаторов оставался стерильным. Опыт длился год.

Остатки озокерита анализировали методом хроматографического разделения на силикагелевой колонке (Павлова и др., 1955). Результаты представлены в табл. 27 и на рис. 21.

После воздействия микроорганизмов оставалось 27—44% от начального веса озокерита (с учетом убыли в контроле). Наиболее активной оказалась культура *Proactin. corallinus*, в результате воздействия которой было окислено 73% озокерита. Культуры *Mycobact. mucosum* и *Brevibact. maris* использовали 69 и 66% озокерита соответственно. Наименее активны были дрожжи, они использовали 56% озокерита (табл. 27). Убыль в контроле, возникающая в ходе извлечения озокерита, составляла 11%.

В образцах остаточного озокерита изменилось абсолютное содержание углеводов различных классов. Под воздействием микроорганизмов содержание парафино-нафтеновых углеводов

озокерита уменьшалось на 52—72%. Чем активнее культура (т. е. чем больше общая убыль озокерита), тем меньше остается парафино-нафтеновых углеводородов. Количества углеводородов смешанного строения и ароматических углеводородов в сумме остаются близкими к количеству их в исходном образце. Содержание смол не изменяется за исключением образца, подвергнувшегося воздействию культуры *Proactin. corallinus*, где количество смол в остатке увеличилось на 2% (рис. 21, Б).

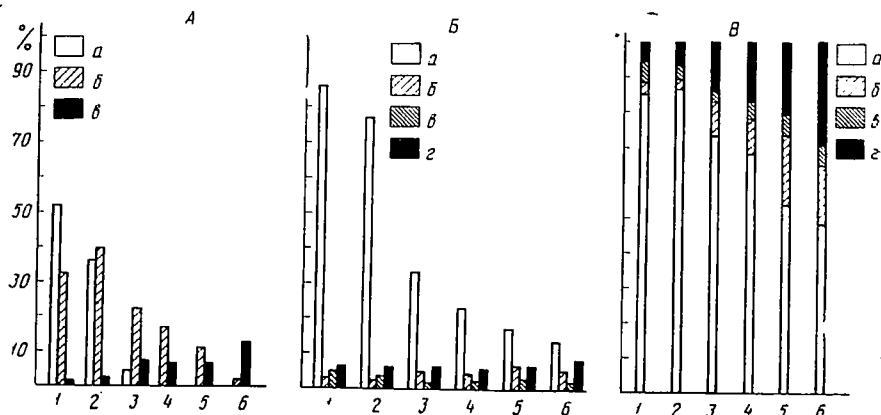


Рис. 21. Воздействие микроорганизмов на озокерит

А — изменение состава парафино-нафтеновых компонентов озокерита: а — $n_d^{20} = 1,4500—1,4600$; б — $n_d^{20} = 1,4600—1,4700$; в — $n_d^{20} = 1,4700—1,4800$; Б — изменение компонентного состава озокерита: а — парафино-нафтеновые углеводороды, б — углеводороды смешанного строения, в — углеводороды ароматического строения, г — смолы; В — состав остатков озокерита, подвергнувшегося воздействию микроорганизмов (сумма компонентов остатка принята за 100%). Обозначения а—г — те же, что для Б. 1 — исходный образец; 2 — контрольный образец; 3—6 — образцы озокерита, подвергнувшиеся воздействию микроорганизмов: 3 — *Candida* sp.; 4 — *Brevibact. maris*; 5 — *Mycobact. mocosum*; 6 — *Proactin. corallinus*

В составе отдельных фракций парафино-нафтеновых углеводородов также наблюдаются определенные изменения, которые проявляются в следующем: резко падает содержание углеводородов, характеризующихся коэффициентами преломления 1,4500—1,4700. Чем активнее культура, тем меньше остается этих фракций. Это показывает, что в первую очередь разрушаются, по-видимому, сравнительно низкомолекулярные углеводороды прямой цепи. Наряду с этим во всех образцах остаточного озокерита возрастает содержание фракций с коэффициентами преломления 1,4700—1,4800, характеризующими главным образом углеводороды парафинового ряда изостроения, смешанного строения и полинафтены (рис. 21, А).

Если принять общую сумму компонентов остаточного озокерита за 100%, то процентное содержание отдельных компонентов бу-

дет различаться от содержания их в исходном образце тем сильнее, чем меньше остаток (рис. 21, В). За счет потребления парафино-нафтеновых компонентов содержание смолистых компонентов возрастает с 6 до 13—29%. Несколько увеличивается также содержание промежуточных парафино-нафтеново-ароматических фракций (рис. 21, В).

Потребление озокерита сопровождается накоплением тел микроорганизмов и веществ неуглеводородного характера, нерастворимых в петролейном эфире. Они состоят из 53,89% С, 8,27% Н, 0,42% S, 8,63% N и 28,87% О. Эти вещества могли возникнуть при автолизе бактериальных тел, а также как продукты взаимодействия первых с промежуточными продуктами окисления углеводородов. Таким образом, при воздействии микроорганизмов общее количество озокерита уменьшается, изменяется состав углеводородной части, происходит осмоление остатка и накопление окисленных азотсодержащих веществ.

Биогенное образование горючих газов и азота

Образование метана, как было показано в главе III, может происходить за счет использования водорода и углекислоты, метанола, формиата, ацетата. Бесклеточные экстракты метанобразующих бактерий восстанавливали до метана также карбоксильную группу пирувата. В нефтяных пластах эти соединения могут быть образованы при использовании углеводородов окисляющими их аэробными бактериями. Вполне возможно, что при проникновении кислорода в пластовых водах нефтяных месторождений может происходить комплексное использование углеводородов с участием метанобразующих бактерий на конечных этапах. Однако некоторые авторы показали биогенное образование метана в лабораторных экспериментах, в процессе анаэробного разложения нефти (Бюкова, 1953; Экзерцев, 1958, 1960; Богданова, 1961). При окислении нефти в микроаэрофильных условиях образование метана и его гомологов вплоть до пентана наблюдали Симакова с соавторами (Преобразование нефтей микроорганизмами, 1970). Появление газообразных гомологов метана при разложении органического вещества в биогенных процессах отмечали также Дэвис и Родни (Davis, Rodney, 1954). Состав газа, образовавшегося при разложении нефти в минеральной среде Баркера в опытах Экзерцева (1958, 1960), приведен в табл. 28.

Из культур накопления Экзерцев (1958) выделил чистые культуры бактерий, которые были способны образовывать газ при развитии в среде Баркера с нефтью, среди них — *Methanococcus mazei*, *Sarcina methanica* и несколько видов *Bacillus*. Отметим, что газ, полученный в опытах Экзерцева (см. табл. 28), по составу близок к газу, растворенному в пластовых водах ряда месторождений (стр. 23).

Если принять за реальность существование анаэробного бактериального превращения нефти с образованием метана, то нужно признать действие неких механизмов анаэробного распада углеводов. Единственным, определенно выявленным этапом этого распада в настоящее время является дегидрирование парафинов (гл. III). Учитывая это обстоятельство, можно предположить с некоторой долей вероятности, что метанообразующие бактерии осуществляют процесс дегидрирования, используя отщепленный водород для восстановления углекислоты. Энергетические аспекты процесса дегидрирования обсуждались в главе III при описании физиологии и экологии углеводородокисляющих и

Т а б л и ц а 28. Химический анализ газов (в об. %), образовавшихся при бактериальном распаде нефти (по Экзерцеву, 1958)

Место отбора пробы нефти	Условия опыта	CH ₄	H ₂	CO ₂	N ₂
Соколова гора	Культура накопления бактерий	35	0	3,0	62
	То же	32,5	0	2,8	64,7
	Чистая культура	20,6	0	2,9	76,5
	То же	23,5	0	1,9	74,6
Новостепановское	Культура накопления бактерий	33,4	0	2,3	64,3
	Чистая культура	27,0	0	4,9	68,1
Арчеда	Культура накопления бактерий	35,0	0	3,2	61,8
Елшанка	Чистая культура	25,1	0	2,3	72,6
	То же	20,0	5,0	5,0	70,0

сульфатовосстанавливающих бактерий. Отмеченная Экзерцевым стимуляция бактериального образования метана в присутствии нефти и кенового материала может быть вызвана либо обогащением среды бактериями из кенов, либо поступлением окисленного органического вещества, используемого на нужды конструктивного обмена. Необходимость добавления ацетата при образовании метана в присутствии водорода и углекислоты излагалась в главе III (см. стр. 100).

Выделение метана при анаэробном распаде нефти может происходить в процессах комплексного анаэробного использования ароматических кислот, бензойной в частности, о чем также сообщалось в главе III.

В процессах образования метана из окисленных органических соединений могут принимать участие сульфатовосстанавливающие бактерии и гнилостные. Постгейт (Postgate, 1966) сообщил о синтезе небольших количеств метана экстрактами *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Clostridium pasteurianum* из пирувата. Предшественником метана является метильная группа (Wolfe, 1971). Мак Брайд (цит. по Wolfe, 1971) полагает, что метан может вы-

деляться в результате взаимодействия между активированными метильными группами и SH-группами экстрактов сульфатовосстанавливающих бактерий. По-видимому, аналогичный механизм действует в случае гнилостного брожения белковых сред с образованием метана (Никитин, 1968).

В экспериментах Боковой, Богдановой, Экзерцева по разложению нефти с образованием метана в составе газов всегда присутствовали азот, углекислота и иногда водород.

Т а б л и ц а 29. Образование метана и азота при метановом брожении различных субстратов (средние данные из трех определений)

Субстрат	Добавление источников азота и бикарбоната	Содержание газов в мл на 1 мл пробы		N ₂ , % от CH ₄ по объему
		CH ₄	N ₂	
Бензоат	NH ₄ Cl	0,3096	0,0262	8,46
Ацетат	NH ₄ Cl, NaHCO ₃	0,2886	0,0171	5,92
	NH ₄ Cl	0,3525	0,0110	3,14
Гистидин	—	0,4188	0,0218	5,25
	NH ₄ Cl	0,3709	0,0295	7,94
Серин	NH ₄ Cl, NaHCO ₃	0,2750	0,0268	9,76
	—	0,4785	0,0108	2,25
	NH ₄ Cl, NaHCO ₃	0,3864	0,0214	5,53

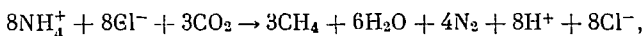
На основании лабораторных экспериментов Кузнецовым (1957) было сделано предположение, что биогенный азот в нефтяных месторождениях образуется в процессах метанового брожения. Выделение биогенного азота в нефтяных пластах действительно имеет место. Увеличение его содержания наблюдала Белякова (1956) в заводняемых нефтяных пластах на участках проникновения нагнетаемой воды, где развивались биогенные процессы.

Известно, что все азотсодержащие органические соединения распадаются с образованием аммиака (Баркер, 1963). Мы наблюдали образование метана и прирост свободного азота при развитии накопительной культуры метанобразующих бактерий на среде Баркера с органическими веществами в виде бензойной кислоты или ацетата, не содержащими иного источника азота, кроме NH₄Cl (Розанова, Кузнецов, 1972; табл. 29). Количество азота по отношению к метану колебалось в среднем от 2 до 9%. В качестве рабочей гипотезы мы предположили вариант происхождения газообразного азота из аммонийного, а в случае аминокислот — из аминного. Количество обнаруживающегося газообразного азота было большим, чем могло бы образоваться в результате распада биомассы. Было сделано предположение, что газообразный азот образуется из аммонийного в процессе метанового брожения. Выделение азота за счет процессов прямой или косвенной денитрификации исключалось, так как нитраты в питательной среде

отсутствовали, и процесс образования газа подавлялся полностью при добавлении к средам 0,5 г/л KNO_3 . Сульфатовосстанавливающие бактерии, присутствующие в составе биоценоза, не могли участвовать в образовании газов вследствие отсутствия сульфатов, необходимых для их жизнедеятельности. Общее количество азота, содержащегося в образовавшемся газе в средах с бензоатом и гистидином, в ряде случаев было близким или превышало максимальное количество газообразного азота, которое могло бы быть растворено во всем первоначальном объеме среды (объем среды 17 мл; объем образовавшегося газа 10 мл). Газ анализировали на хроматографе ХЛ-4 с наполнителем NaX, в токе гелия.

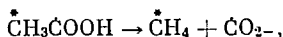
Рассмотрение путей высвобождения азота из аммонийных солей в процессе метанового брожения показывает следующее.

Использование аммонийного водорода в энергетическом процессе восстановления углекислоты до метана невозможно вследствие того, что сопровождалось бы большим поглощением энергии:

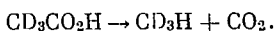


$$\Delta F = + 107 \text{ ккал/моль.}$$

Можно предположить прямое или косвенное участие водорода аммония в образовании метана из органических субстратов или даже из H_2 и CO_2 . Робертон и Вольф (Roberton, Wolfe, 1970) показали, что на 1 моль метана, образованного *Methanobacterium formicicum* из CO_2 , потреблялось только около 3,8 моля водорода. При использовании такого субстрата, как уксусная кислота, водород присутствует в самом субстрате. Как показано в главе III,



при этом



Одним из предположительных путей может быть использование водорода аммония с освобождением свободного азота в процессах формирования донаторов водорода в конструктивном обмене, если допустить, что водород аммиака восстанавливает углекислоту до клеточного уровня. Это допущение позволило бы объяснить образование больших количеств свободного азота в процессах метанового брожения.

Однако Миллер с соавторами (1973), использовавшие культуру метаносарцины с сульфатовосстанавливающим спутником, развивающуюся на метаноле в присутствии $^{15}\text{NH}_4^+$, не обнаружили прироста газообразного азота с тяжелым изотопом.

Таким образом, происхождение газообразного азота, обнаруживающегося вместе с метаном в накопительных культурах метанобразующих бактерий, нельзя считать выясненным.

*Роль микроорганизмов
в преобразовании вмещающих пород
и подземных вод*

Принцип комплексного исследования подземных вод вытекает из учения В. И. Вернадского о подземных водах как о химически и физически чрезвычайно активном теле, меняющемся при соприкосновении с окружающей средой. Вернадский (1933) писал: «То, что явления водной жизни не входят обычно в характеристику природных вод... изучаемых с точки зрения их химического состава, основано не на каких-нибудь объективных основаниях, а на привычке к научной рутине».

Из учения Вернадского вытекал принцип широкого изучения подземных вод с точки зрения химии, физики, геологии, микробиологии и других наук. В результате проведенных исследований был получен большой фактический материал, который позволил сделать ряд обобщений. Большую роль в преобразовании состава подземных вод играют биохимические реакции окисления и восстановления, приводящие к частичной перегруппировке атомов, к появлению новых соединений. Широко распространенным процессом является восстановление сульфатов, за счет которого образуется сероводород. Генезис сероводорода в нефтяных месторождениях оставался спорным. Многие из геологов допускали возможность химических процессов восстановления сульфатов пластовых вод путем их взаимодействия с органическими веществами нефти. Известно, однако, что химическое восстановление сульфатов может происходить только при температуре, значительно превышающей 100°C . В нефтяных пластах температура выше 100° встречается редко.

Вопрос происхождения сероводорода был окончательно решен Ивановым (1964) в пользу биологического восстановления сульфата. В пластовую воду вносили меченный по сере сульфат натрия $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$, воду инкубировали в замкнутом объеме при температуре пласта от одних до нескольких суток и по радиоактивности образовавшегося сульфида определяли интенсивность процесса редукции сульфатов за счет естественной микрофлоры самого месторождения.

Опыты Иванова и Горленко (1966) с внесением антисептика показали, что химического восстановления сульфата в пластовой воде не происходит.

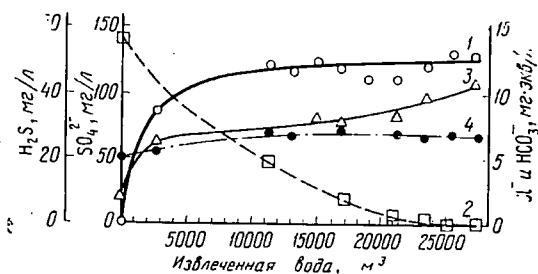
В процессе образования сероводорода по мере использования растворенных сульфат-ионов в раствор должны переходить новые их порции из сульфатсодержащих пород, при этом сульфатные минералы будут растворяться. Такое явление имеет место в нефтяных месторождениях, как будет видно из следующей главы. Растворение гипса в процессе сульфатредукции в экспериментах было показано неоднократно. Гипс используется в промышленных установках для получения серы. Путем биогенной сульфатредук-

ции из гипса получают сероводород, а последний окисляют до серы (Corrick et al., 1970).

Сульфатвосстанавливающие бактерии используют самые разнообразные сульфатные минералы, участвуя в их преобразовании, — гипс, целестин, барит, потребляются сульфат железа, цинка, меди (Römer, Schwartz, 1965). Если в пластовой воде имеются ионы тяжелых металлов, они осаждаются с образованием соответствующих сульфидов (Silverman, Ehrlich, 1964). Черный осадок сульфидов железа наблюдался нами в пробах воды заводняемых пластов Апшерона. Вода извлекалась из тех зон, где происходило

Рис. 22. Изменение содержания сероводорода, сульфатов, бикарбонатов и хлоридов в воде самоизливающейся нагнетательной скважины

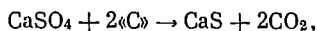
1 — H_2S ; 2 — SO_4^{2-} ; 3 — Cl^- ;
4 — HCO_3^-



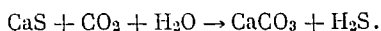
смещение закачиваемой воды с пластовой, обогащенной железом, и сульфатредукция только начинала проявляться (см. рис. 19). Образующийся аморфный сульфид, по-видимому, является гидротроиллитом, который постепенно уплотняется и кристаллизуется с образованием пирита, отлагающегося во вмещающих породах. В том случае, когда в пластах активно развиваются тионовые бактерии, содержание сульфатов в пластовой воде может повышаться. Таким образом, сульфатредукция приводит к преобразованию вмещающих пород, растворяя сульфатные минералы и осаждая сульфиды.

В главе III показано, что в процессах биогенного окисления углеводороды разрушаются до углекислоты и воды или промежуточных продуктов и превращаются в вещества микробной биомассы. Промежуточные продукты окисления, используемые в процессах восстановления сульфатов, в свою очередь окисляются до углекислоты. Таким образом, бактериальная жизнедеятельность в нефтяных пластах должна приводить к выделению углекислоты. Накопление бикарбонатов было показано Ли и Кузнецовой (1963) в призабойной зоне нагнетательной скважины, где развивался биоценоз углеводородоокисляющих и сульфатвосстанавливающих бактерий (рис. 22).

Если пластовые воды богаты сульфатами кальция, то использование этих сульфатов в процессе редукции протекает согласно следующему упрощенному уравнению:



где «С» условно обозначает органическое вещество нефти. При этом CaS, реагируя с более сильной угольной кислотой, может выпадать в виде вторичного кальцита, который запечатывает нефтяную залежь:



Направление реакции в сторону осаждения или растворения карбоната кальция может быть определено на основании уравнения Кольтгофа (Kolthoff, 1922), которое имеет следующий вид:

$$\frac{\alpha^2 [\text{Ca}^{2+}] [\text{HCO}_3^-]^2}{[\text{CO}_2]} = K = 1,13 \cdot 10^{-4},$$

где концентрации $[\text{Ca}^{2+}]$ и $[\text{HCO}_3^-]$ выражены в г-эquiv, а $[\text{CO}_2]$ — в г-мол.; α — степень диссоциации, близкая к единице. Если для исследуемых пластовых вод константа $K_{\text{эксп}}$ меньше константы

Таблица 30. Условия карбонатного равновесия в пластовых водах Шор-Су и Гаурдака (по Иванову, 1964)

Место отбора проб, степень минерализации воды	CO ₂	HCO ₃ ⁻	Сумма	K _{эксп}	$\frac{K_{\text{эксп}}}{K_{\text{Кольтг}}}$
	мг-эquiv на 1 л				
Шор-Су					
слабоминерализованная	1,0	5,4	218,8	$6,5 \cdot 10^{-4}$	5,75
сильноминерализованная	2,37	7,0	2298,2	$16,82 \cdot 10^{-4}$	14,9
Гаурдак					
сильноминерализованная	2,50	3,2	7789,8	$62,81 \cdot 10^{-4}$	55,6

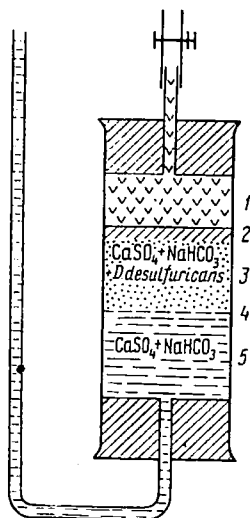
Кольтгофа $K = 1,13 \cdot 10^{-4}$, то раствор содержит агрессивную углекислоту и при соприкосновении с кальцитом будет его растворять. Если же $K_{\text{эксп}}$ больше K Кольтгофа, то данный раствор пересыщен карбонатом кальция и склонен к осаждению вторичного кальцита. В данном случае поступление в раствор углекислоты за счет биогенных процессов при активной реакции пластовых вод, близкой к рН = 7, только повышает концентрацию HCO₃⁻ и способствует осаждению вторичного кальцита. Особенно энергично этот процесс происходит, если пластовые воды богаты сульфатами или хлоридами кальция. Из табл. 30 видно, что в нефтяных водах Шор-Су и Гаурдака соотношения таковы, что благоприятствуют выпадению вторичного кальцита.

Для подтверждения биогенной природы вторичного кальцита Ашировым и Сазоновой (1962; Аширов, 1961) были проведены соответствующие лабораторные исследования. Опыты проводили в стеклянных трубках диаметром 4 см, с обеих сторон закрытых

пробками с отводными стеклянными трубками (рис. 23). В середине трубки была впаяна дырчатая стеклянная пластинка, на которую помещался керн песчаника, обработанный 10%-ной соляной кислотой, промытый водой до нейтральной реакции и насыщенный нефтью. Трубки заливались минеральной средой Таусона для сульфатредуцирующих бактерий с добавкой сульфатов кальция и бикарбоната натрия. В ряд опытных трубок вносилась культура накопления сульфатредуцирующих бактерий. Температура опыта составляла 25—27°, продолжительность — 80 дней. В остальных опытах в качестве донаторов водорода в среду Таусона добавлялся лактат или над нефтью создавалась атмосфера из молекулярного водорода. Просмотр под микроскопом выпавшего осадка (табл. 31)

Рис. 23. Схема постановки опыта по образованию вторичного кальцита в процессе сульфатредукции

- | | |
|-------------------------|-------------|
| 1 — нефть; | |
| 2 — кристаллы кальцита; | |
| 3 — песок; | |
| 4 — кварцевая | проницаемая |
| перегородка; | |
| 5 — жидкая | минеральная |
| | среда |

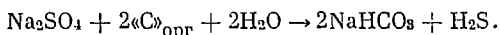


показал, что он состоит из мелких призматических кристаллов кальцита с размерами частиц 0,001 мм и меньше. Кристаллы были идентичны тем, которые обнаруживаются в подошве нефтяных залежей с карбонатными коллекторами.

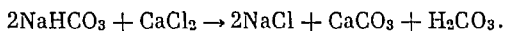
Опыты Аширова и Сазоновой показали, что выпадение вторичного кальцита является следствием процесса восстановления сульфатов в среде в присутствии нефти. Нами было отмечено (Розанова и др., 1969), что отложение вторичного кальцита на фильтрах скважины в заводняемом нефтяном пласте Апшерона проявлялось в тех зонах, где активно начинала развиваться сульфатредукция и появлялся сероводород, связывающийся ионами железа с образованием сульфида. Таким образом, нам удалось наблюдать реальное проявление процесса выпадения кальцита в нефтяном пласте в связи с биогенным восстановлением сульфатов.

Преобразование вмещающих пород под влиянием биогенных процессов сопровождается изменением состава пластовых вод.

Последовательность протекающих при этом процессов представлена Сулиным (1948). Сульфаты натрия при участии *Desulfovibrio aestuarii* или другого вида сульфатредуцирующих бактерий восстанавливаются до сульфидов. При этом образуется бикарбонат натрия:



Бикарбонаты натрия взаимодействуют со щелочноземельными солями сильных кислот. При этом карбонаты кальция и магния выпадают из воды и обогащают породы, а хлорид натрия накапливается в воде



Тип воды из сульфатно-хлоридно-кальциевого превращается в гидрокарбонатно-хлоридно-натриевый. Подобные реакции будут продолжаться до тех пор, пока не будут израсходованы сульфаты и хлориды щелочных земель. В случае вод хлоридно-магниевых типа морского происхождения, содержащих хлориды натрия и магния и сульфаты магния и кальция, в процессе редукции сульфатов последние выпадают в виде карбонатов кальция и магния и эти воды переходят в тип хлоридно-натриевых.

Т а б л и ц а 31. Бактериальное образование карбоната кальция культурой сульфатредуцирующих бактерий (по Аширову, Сазоновой, 1962)

Вариант опыта (донатор водорода)	При постановке опыта		При снятии опыта		Вес образовавшегося CaCO_3 , г
	pH	внесение культуры	pH	наличие сульфатредуцирующих бактерий	
Газообразный водород	7,9	+	7,75	++	0,5043
	8,35	—	8,30	—	0,0788
Нефть	8,09	+	7,83	+++	0,4665
	8,19	—	8,09	—	0,0889
Лактат и ацетат Ca	7,29	+	7,32	++	0,4253
	7,62	—	7,40	—	0

Помимо исчезновения ионов кальция и сульфатов из раствора в результате биогенной сульфатредукции удаляются тяжелые металлы, связывающиеся сероводородом. Ионы закисного железа в значительных количествах присутствуют в воде терригенных нефтяных коллекторов, свободных от сероводорода. По мере заводнения этих коллекторов и образования сероводорода железо исчезает из воды. Эта закономерность прослежена нами для заводняемого пласта Бинагадинской складки Апшерона (Розанова и др., 1969) и других нефтяных пластов. Несомненно, биохими-

ческие процессы должны оказывать влияние на содержание биогенных элементов в пластовых водах.

Данные об образовании сероводорода, содержании растворенного железа и окислительно-восстановительный потенциал в воде разных зон заводняемого нефтяного пласта Бинагадинской скважины приводятся ниже:

H ₂ S, мг/л	Fe _{общ.} , мг/л	Eh, мв
0	37,69	—
9*	8,14	—10
17*	11,61	—50
37	5,56	—
680	1,16	—120

*Высвобождающийся из сульфидов.

Полученные нами данные по изменению содержания сероводорода, фосфатов, аммонийного азота, углекислоты в заводняемом карбонатном коллекторе, где протекают биогенные процессы восстановления.

Таблица 32. Изменение гидрохимических параметров в пласте по мере разбавления рассола закачиваемой водой (Полазненское месторождение)

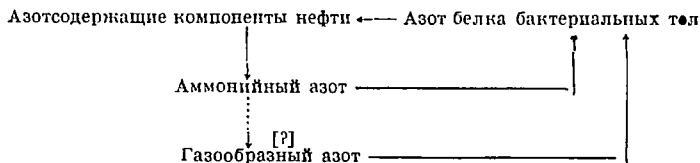
Проба воды, номер скважины	Минерализация, г/л	H ₂ S, мг/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л	HPO ₄ ²⁻ , мг/л	NH ₄ ⁺ , мг/л	CO ₂ , своб., мг/л	Сульфат-восстанавливающие бактерии, в 1 мл
Закачиваемая	0,3	0	108	0,16	0,32	45,9	Единицы
Из пласта							
66	10,0	1,5	816	0,24	18,0	—	Десятки
64	19,4	26,0	1136	0,21	14,4	60,5	Десятки тысяч
74	45,4	147,1	1732	0,35	36,0	193,1	Сотни
25	53,9	62,7	473	0,48	43,2	73,0	Десятки
26	62,4	195,6	1763	0,47	32,4	197,7	—
38	260,5	168,2*	555	0,33	122,4	36,3	0

Сероводород реликтовый, в остальных пробах — примесь современного, биогенного.

становления сульфатов, дают представление об изменении состава биогенов (табл. 32).

Имеющиеся в литературе данные об уменьшении количества азотсодержащих соединений нефти с одновременным увеличением аммонийного азота в воде разрушающихся нефтяных месторождений (Александрова, Барс, 1968; глава I), а также данные об увеличении биогенного азота в составе газов заводняемых нефтяных пластов (Белякова, 1956) позволяют наметить следующую схему круговорота соединений азота в нефтяных месторождениях

с участием биогенных процессов:

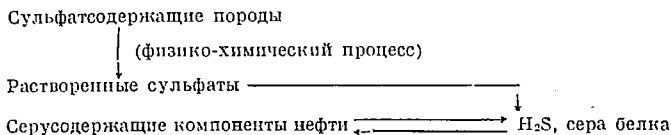


Т а б л и ц а 33. Физико-химическая характеристика и изотопный состав нефтей и твердых битумов месторождений Куйбышевского Поволжья (по Аширову, 1965)

Месторождение	Ярус или горизонт, индекс пласта	Удельный вес	Содержание, вес. %				Содержание дейтерия, %
			сера общая	смолы	асфальтены	парафины	
Покровское	Верейский, А ₂	0,815	0,57	2,45	0,25	4,13	0,0254
	Башкирский, А ₄	0,805	0,56	3,73	0,17	3,65	0,0250
	Окский, О ₂	0,873	1,63	9,08	0,96	4,80	0,0250
	Тулский, Б ₂	0,851	0,94	6,23	0,63	6,38	0,0247
	Бобриковский, Б ₂	0,855	1,07	6,80	2,39	5,47	0,0247
	Кизеловский, В ₁	0,824	0,58	3,07	0,78	5,41	0,0254
	Ушнинский, В ₃	0,834	0,67	3,25	0,85	7,24	0,0250
	Данково-Лебедянский, ДЛ	0,863	1,08	6,75	2,01	7,15	0,0254
Зольненское	Батский битум	—	4,41	—	38,11	—	0,0225
	Верейский, А ₂	0,865	1,19	—	—	2,0	0,0235
	Бобриковский, Б ₂	0,839	1,38	4,34	0,52	4,65	0,0235
	Турнейский, В ₁	0,837	1,31	4,58	0,55	5,00	0,0235
	Данково-Лебедянский, ДЛ	0,802	0,73	3,20	0,29	3,40	0,0230
	Пашийский, Д _I	0,812	0,60	2,52	0,37	3,50	0,0230
	Пашийский, Д _{II}	0,807	0,52	8,36	0,86	2,49	0,0235
Мухановское	Бобриковский, I	0,844	1,69	8,03	0,84	7,52	0,0235
	Турнейский, I	0,863	1,61	5,07	0,95	8,75	0,0235
	Турнейский, IV	0,865	1,68	8,24	1,71	7,85	0,0225
	Живетский, Д _{III}	0,818	0,38	3,48	0,06	5,90	0,0225
Калиновское	Калиновский, КС	0,887	3,29	11,40	1,87	3,86	0,0235
	Турнейский, В ₁	0,881	1,95	—	—	—	0,0230
Яблоневское	Кунгурский, II	0,859	2,40	10,61	1,21	2,03	0,0240
Якуткинское	Бобриковский, Б ₂	0,825	2,82	13,80	1,10	6,80	0,0242
Радаевское	То же	0,897	3,05	11,44	2,69	7,90	0,0265
Садкинское	Пермь, асфальт жильный	—	7,08	10—22,7	51,9—68,5	—	0,0242

Фосфаты по мере заводнения (см. табл. 32) и увеличения водообмена, по-видимому, так же как и сульфаты, вымываются из пород коллектора и далее используются в биогенных процессах. Вымывание сульфатов из пород при заводнении нефтяного пласта пресной поверхностной водой можно видеть на рис. 19. Прирост биогенного сероводорода в нефтяных пластах, очевидно, может происходить не только за счет восстановления сульфатов, но и при использовании серы серосодержащих компонентов нефти — тиофена, 1-бутантиола (Kuruta et al., 1971).

Общая схема биогенного преобразования соединений серы при увеличении водообмена в нефтяных пластах представляется следующим образом:



*Геохимическая деятельность микроорганизмов
в месторождениях
битумов нефтяного ряда*

Вопрос о происхождении месторождений нефти, как было показано в главе I, остается спорным. Гипотезы участия микроорганизмов в процессах формирования нефтей из органического материала были рассмотрены ранее (Бирштейнер, 1957; Кузнецов и др., 1963; Davis, 1967). Вклад в проблему происхождения газовых месторождений внесли исследования изотопного состава углерода метана. Данные этих исследований освещены Алексеевым с соавторами (1973). В бактериальных процессах превращения — органическое вещество \longrightarrow CO_2 \longrightarrow метан — избирательно используются молекулы с легким изотопом ^{12}C . Химическое превращение CO_2 в метан идет лишь в термokatалитических условиях, значительно меньше способствующих фракционированию углерода, чем биогенное превращение. На этом основании степень обогащенности углерода метана тяжелым изотопом C^{13} ($\delta^{13}\text{C}$, ‰) используется в качестве критерия для определения генезиса месторождений газа. Установлено, что метан горячих источников, фуларол, магматических пород характеризуются величинами $\delta^{13}\text{C}$ (—0,5) — (—3,0) ‰; метан нефтегазовых месторождений имеет эти величины порядка (—3,0) — (—5,5) ‰; для метана биохимического происхождения величины $\delta^{13}\text{C}$ соответствуют (—5,0) — (—9,7) ‰. Указанные выше авторы полагают, что залежи азотно-метановых и углекисло-метановых газов, не содержащих гомологов метана, залегающие в неоген-палеогеновых и четвертичных отложениях, имеют биохимический генезис. Примером служат газовые месторождения Японии и хадумских отложений Северо-Ставрополья. $\delta^{13}\text{C}$ метана в таком газе колеблется в пределах (—5,0) — (—9,7) ‰. В более глубоких зонах, где возможны и биохимические и начальные термokatалитические процессы, возникают чисто газовые месторождения, где $\delta^{13}\text{C}$ метана составляет (—5,8) — (—7,0) ‰. Такой двусторонний метаморфизм растительного органического вещества, как полагают Алексеев с соавторами (1973), происходил при формировании залежей газа сеноманских отложений Западной Сибири. В погруженных осадках

термокаталитической зоны формировались основные нефтегазовые и нефтяные месторождения, где $\delta^{13}\text{C}$ метана ($-3,0$) — ($-5,5$)‰.

Деятельность микроорганизмов в месторождениях нефти и газа

Если принять гипотезу биогенного происхождения нефти, то нужно согласиться с тем, что преобразование захороненных органических соединений происходило за счет комплекса биологических и физико-химических процессов.

После того как произошло захоронение нефтематеринского органического вещества в слабопроницаемых окремнелых глинисто-карбонатных породах, можно допустить, что до момента отдачи этими породами нефти, т. е. до появления в них условий для водообмена, бактериальная жизнь в них должна была затухнуть. Аширов (1965) считает, что условия для новой вспышки жизни в материнских осадках, как и во всем разрезе осадочных пород, могли возникнуть лишь при следующей интенсивной фазе тектогенеза. Например, когда в нефтеносном районе Среднего Поволжья в породах палеозоя, в том числе и в нефтеобразующих породах, появились разветвленная сеть трещин и разломов, области стока и разгрузки, а следовательно, возник водообмен, вызвавший вспышку жизнедеятельности микрофлоры глубинных недр. В результате этой жизнедеятельности происходило относительно быстрое залечивание кальцитом трещин и разломов, прекращение водообмена и повторное отмирание микрофлоры. Иными словами, мы должны допустить, что жизнедеятельность пластовой микрофлоры характеризуется цикличностью, строго соответствующей циклам крупных фаз тектогенеза.

Как видно из табл. 33, нефти разных залежей значительно различаются по составу. Для выяснения вопроса о том, идут ли изменения состава нефти после того, как произошло формирование нефтяной залежи, необходимо было рассмотреть характер нефтей тех месторождений, которые образовались из одной нефтематеринской свиты. К нефтеносным районам, обогащенным нефтями такого типа, Аширов относит Среднее Поволжье.

Идентичность происхождения нефтей разных месторождений палеозоя подтверждается данными по споровому анализу и данными Каримова (1955) и других авторов, основанных на близости состава циклических и ароматических углеводородов разновозрастных нефтей. Одним из важных критериев является также изотопный состав водорода нефтей и битумов.

Оказалось, что в многопластовых месторождениях Куйбышевской области (см. табл. 33), Зольненского, Мухановского, Покровского и Калиновского районов (Мжачих, Аширов, 1961), содержание дейтерия в нефтях и твердых битумах не зависит от стратиграфического возраста вмещающих пород, что подтверждает их генетическую связь. Приведенные цифры указывают на единство

исходных нефтей и, следовательно, на единую для всех месторождений нефтеобразующую толщу. Различное содержание дейтерия в нефтях различных месторождений отражает, по-видимому, некоторые фацпальные различия нефтеобразующих осадков вследствие разных условий их седimentации. Разница в содержании серы силикагельных смол асфальтенов и парафинов в нефтях единого

Т а б л и ц а 34. Общее количество бактерий в пластовых водах и породах нефтяных месторождений Волго-Уральской области

Система, ярус	Месторождение	Бактерии		Автор
		в воде, тыс. на 1 см ³	в кернах, тыс. на г	
Пермская кунгурский	В районе Саратова — Бугуруслана	—	151 200	Кузнецов, 1950
	артшский	125	—	Штурм, 1950б
	нижняя пермь	42	—	То же
Каменноугольная намюрский	В районе Саратова — Бугуруслана	25	—	»
	визейский, серпуховской надгорпозонт	8	—	Кузнецов, 1950б
	визейский, угленосная свита	15	—	То же
	»	—	237 600	»
	»	24—333	—	Штурм, 1950б
	»	313	—	То же
турпейский	В районе Саратова — Бугуруслана	—	86 400	Кузнецов, 1950в
	Ардатовское	606	—	Штурм, 1950б
Девонская средний девон	В районе Саратова — Бугуруслана	—	129 600	Кузнецов, 1950

происхождения указывает на наличие процессов преобразования нефти уже в сформировавшейся залежи.

Материалы, изложенные в главе IV, показывают, что биогенное окисление нефтей может служить одним из основных факторов преобразования залежей. Проявлением процессов окисления и разрушения залежей можно считать накопление биогенных газов — азота, сероводорода, углекислоты, метана, изменение катионного и анионного состава вод с накоплением хлоридов натрия, осернение и осмоление нефти, отложение кальцита и пирита во вмещающих породах. Бактериальная деятельность в нефтяных пластах зависит от наличия окислителей — растворенного в воде кислорода и суль-

фатов. Изучение искусственно заводняемых нефтяных пластов, которые можно рассматривать как модели коллекторов с нарушенной изоляцией, показало, что активность поступления окислителей в пласты тесно связана с величиной водообмена. Эти данные позволяют заключить, что основным фактором, обуславливающим тот или иной уровень жизнедеятельности микроорганизмов в нефтяных пластах, является активность водообмена. Участие микроорганизмов в преобразовании нефти в месторождениях подтверждается данными прямого подсчета количества бактерий в пластовых водах и породах.

Штурм (1950б) и Кузнецовым (1950) были обнаружены десятки и сотни тысяч бактерий в водах и сотни миллионов клеток в кернах из нефтяных пластов месторождений Волго-Уральской области (табл. 34). Экзерцев и Кузнецов (1954), исследовавшие распространение бактерий в кернах, отмечают приуроченность бактериальной микрофлоры к продуктивным толщам.

Рассмотрим несколько примеров, наглядно демонстрирующих влияние водообмена на состояние нефти в залежах.

Выявлено, что в пластах одного возраста наиболее утяжеленные и осерненные нефти приурочены к наиболее высокорасположенным структурам по сравнению с другими в одном и том же районе. Районом с подобным распределением залежей является Пермская область, изученная Пьянковым (1966).

Некоторые исследователи отмечают увеличение окисленности нефти к водонефтяному контакту. Подтверждение увеличения содержания углекислоты в зоне контакта нефти с водой получено Козиным и Мжачих (1958). Данные этих авторов об изменении газового фактора и содержания CO_2 в разных зонах нефтяного пласта приведены ниже:

	Девон	Карбон, Б.
<i>В контуре нефтеносности</i>		
газовый фактор, $\text{м}^3/\text{м}^3$	0,469	1,633—1,738
содержание CO_2 , об. %	6,1—13,1	7,5—11,2
<i>В законтурной зоне</i>		
газовый фактор, $\text{м}^3/\text{м}^3$	0,298	0,248—0,392
содержание CO_2 , об. %	4,9	3,36—4,2

Установлено, что окисленность нефти в залежи определяется объемом нефти, приходящимся на единицу площади водонефтяного контакта. При детальном изучении тектоники пластов девона Зольненского месторождения Волго-Уральской области Аширов (1965) установил, что залежи пласта D_2 , относящиеся к отложениям единого пашийского горизонта и сформированные за счет единой нефтеобразующей толщи, не монолитны, а образуют поля, приуроченные к изолированным тектоническим блокам.

Залежь пласта D_2 одного из блоков (скв. 104) на половину своей площади подстилается водой, а исключительно маломощная

залежь другого блока (скв. 79) полностью плавающая. Оказалось, что нефть в залежах разных блоков различается. Ашировым был сделан вывод, что бóльшая активность водообмена в мало мощной залежи по сравнению с мощной обусловила бóльшую скорость процессов разрушения нефти. Сопоставление общей характеристики этих нефтей, представленное ниже, дало возможность Аширову (1965) проследить, в каком направлении шел процесс распада нефти непосредственно в открытом нефтяном пласте Д₂ месторождения Зольного Оврага.

Показатели нефти	Маломощный участок, скв. 79	Мощный участок, скв. 104	Показатели нефти	Маломощный участок, скв. 79	Мощный участок, скв. 104
Плотность, г/см ³	0,86	0,81	<i>Фракционный состав</i>		
Содержание, %			Начало кипения, °С . . .	40,0	34,0
смола акцизных	22	8,00	до 150	22,2	28,4
серы	1,45	0,85	до 200	31,5	39,2
парафина	3,5	3,2			
Кинетическая вязкость при 20°, сст	9,2	3,1	до 250	41,8	51,2
			до 300	61,0	63,5

Из этих данных видно, что разрушение нефтяной залежи в блоке пласта, вскрытого в скв. 79, происходило в основном за счет фракций, кипящих ниже 250° включительно, т. е. за счет легких компонентов нефти. Характерно, что в геохимически более разрушенной залежи нефти по сравнению с нефтью основной залежи содержалось смол в 3 раза больше, серы в 1,7 раза больше и вязкость нефти была выше в 3 раза.

На примере залежи участка скв. 79 можно было проследить и направление изменений группового углеводородного состава нефти при ее разрушении. Данные по содержанию углеводородов разных классов в дистиллятной части нефти, выкипающей до 550°, представлены ниже (по Аширову, 1965):

Содержание углеводородов, %	В основной залежи пласта Д ₂ (мощная)	В залежи из скв. 79 (маломощная)
Ароматических	23,3	27,0
Нафтенowych	9,1	17,5
Метановых	67,6	55,5

Таким образом, при разрушении нефти окислялись углеводороды легкой фракции, главным образом метановые углеводороды, за счет чего и возрастало содержание ароматических и нафтеновых углеводородов.

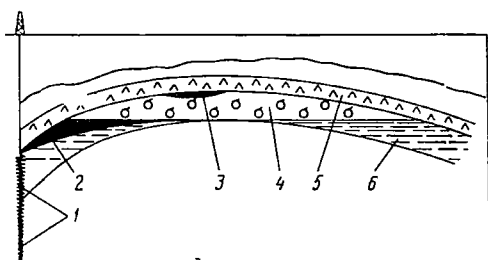
Ряд исследователей (Белякова, 1956; Митгарц, 1956) отмечают, что наибольшие концентрации таких биогенных газов, как сероводород и углекислота, приурочены к приконтурной зоне. Этому факту можно найти объяснение, исходя из данных развития биоген-

ных процессов в заводняемых пластах. В главе II было показано, что наибольшая активность биохимических процессов сосредоточивается в том участке залежей, куда поступает вода, несущая окислители. В пластах с ненарушенной изоляцией таким участком можно считать приконтактную зону со стороны области питания.

В главе III указывалось, что Экзерцевым и Кузнецовым (1954; Экзерцев, 1958, 1960) было обнаружено распространение метанобразующих бактерий в воде и породах нефтеносной Волго-Уральской области. Изучение месторождений показало, что анаэробный

Рис. 24. Схематический поперечный профиль Калиновско - Новостепановского месторождения нефти

- 1 — нефтяная залежь;
- 2 — нефтенасыщение по крутому крылу;
- 3 — нефтяной останец;
- 4 — газовая залежь;
- 5 — ангидридная пачка;
- 6 — подошвенная вода



распад нефти с выделением метана принимает участие в процессах разрушения нефтяных залежей. Как полагает Аширов (1965), такие процессы имели место в Калиновском месторождении Волго-Уральской области. Образование этого месторождения нефти (Аширов, 1965) произошло благодаря тому, что в своде структурного купола калиновской свиты создались благоприятные условия для скопления нефти. Впоследствии, в связи с благоприятной обстановкой для развития пластовой микрофлоры, в осадках верхней перми нефть начала подвергаться разрушению до газообразных продуктов, выделяющийся газ стал отжимать нефть по направлению к южному крылу. Нефть, отступая, смачивала коллектор и оставляла ряд запечатанных останцов, как это видно на рис. 24. Состав отдельных фракций нефти (в %) в разных районах Калиновского месторождения (по Аширову, 1965) приводим ниже.

Место отбора образца для анализа	Легкие фракции	Смолистые фракции	Асфальтены
Нефть свободных останцев	80	10	—
Нефтяная залежь . . .	60—70	20—30	—
Приконтурный слой нефти	30—40	60—70	3

Из этих данных видно, что в запечатанных останцах, где не было микрофлоры, нефть оставалась легкой. В нефтяной залежи, подвергшейся воздействию микрофлоры, смолистость возросла до

Т а б л и ц а 35. Гидрохимические, газовые параметры и распространение Волго-Уральской

Группа вод	Ярус, свита, горизонт	Система	Минерализация, г/л	pH	SO ₄ ²⁻ , мг/л	NH ₄ ⁺ , мг/л	H ₂ S, мг/л
I	Уфимская *	Пермь	133,8	7,6	3000	—	0
	Кунгурский + артинский	»	258	6,1	200	—	0
	Яснополянский	Карбон	269	5,5	604	—	0
	Панпийская	Девон	233	4,0	9,6	1000,4	0
II	Кунгурский + артинский	Пермь	230	8,6	650	34,8	397,2
	Башкирский	Карбон	92	6,0	3360	21,3	7,5
	»	»	49	7,2	9120	20,7	196,8
	»	»	266	5,7	680	—	147
	Яснополянский	»	264	6,0	256	126	16,5
	Углепосная	»	284 ***	—	—	—	308
III	Казанский	Пермь	8,0	7,3	25 000	45	4200,0
	»	»	98	7,3	7000	9,6	922,7
	Уфимская *	»	134	7,8	5000	11,0	891
	Кунгурский + артинский	»	76	7,0	4991	54	400
	Башкирский	Карбон	47	7,4	9700	10,4	373,8
	»	»	16—108	—	—	—	63—379
Яснополянский	»	159—162	—	—	—	135—264	

* Газовые залежи.

** Аэробные гетеротрофные и углеводородокисляющие бактерии не обнаружены.

*** Вода с низким катионным коэффициентом.

сульфатовосстанавливающих бактерий в водах нефтяных месторождений области

Нафтовые кислоты, мг/л	Состав растворенных газов, об. %						Сульфатовосстанавливающие бактерии в 1 мл **	Автор
	CO ₂	H ₂ S	CH ₄	высшие углеводороды	N ₂			
					общий	биогенный, % от общего		
—	0,8	3,8	21,2	57,8	63,0	76,3	0	Крамаренко, 1956
0	—	—	72,8	9,6	17,6	44,7	0	То же
—	—	—	—	—	—	—	0	Розанова и др., 1971
0	1,5	0	48,7	8,4	46,4	93,4	0	Крамаренко, 1956
0	1,9	12,5	19,7	60,3	5,7	62,5	0	То же
0	3,7	2,0	8,5	3,1	82,7	89,1	0	»
0,5	2,4	1,0	7,6	19,0	63,8	78,1	0	»
—	—	—	—	—	—	—	0	Розанова, Быков и др., 1973
—	—	—	—	—	—	—	0	Наши данные
—	—	—	—	—	—	—	+	Кузнецова, 1960
8,0	9,0	6,4	60,8	5,5	18,1	87,7	+	Крамаренко, 1956
1,6	13,3	13,2	23,5	43,8	6,1	72,6	+	То же
1,1	0,6	—	17,9	4,7	78,8	59,6	+	»
—	—	—	—	—	—	—	+	Наши данные
3,1	25,7	10,4	12,3	21,8	29,8	65,8	+	Крамаренко, 1956
—	—	—	—	—	—	—	+	Кузнецова, 1960
—	—	—	—	—	—	—	+	То же

20—30%. Наиболее разрушена была нефть в приконтурном слое, где смолистость ее достигала 60—70% и в составе нефти было обнаружено 3% асфальтенов. Газ из месторождения длительно использовался для производства сажи на сажевом заводе, и, несмотря на то что количество газа, извлеченного из месторождения, далеко превосходило величину расчетных запасов, он продолжал выделяться. Это также служило косвенным указанием на наличие процессов распада калиновской нефти с образованием горючих газов. Как видно из анализов Аширова (см. выше), в самом месторождении при большой водообменности в первую очередь распаду подвергались более легкие фракции нефти, иными словами, в раскрытом

месторождении происходило преобразование легких нефтей в смолистые, более тяжелые.

Все рассмотренные примеры изменения нефтей в условиях активного водообмена несомненно связаны с деятельностью пластовой микрофлоры, поскольку химическое окисление нефтей могло происходить лишь в термокаталитических условиях. В залежах Волго-Уральской области пластовая температура вполне благоприятствует биогенному окислению углеводородов.

Перейдем к рассмотрению конкретных данных по распределению микроорганизмов в месторождениях, различающихся активностью водообмена.

По распределению микрофлоры выделяются три типа нефтяных залежей: 1) залежи, где микроорганизмы, как правило, отсутствуют, минерализация пластовых рассолов в них превышает 200 г/л; 2) залежи, где развиваются сульфатовосстанавливающие бактерии; пластовые воды этих коллекторов с минерализацией менее 200 г/л в случае обогащения сульфатами могут содержать H_2S ; 3) залежи, где распространены аэробные и анаэробные микроорганизмы; минерализация вод в пластах этих залежей колеблется, чаще составляя менее 10 г/л, вода также может быть обогащена H_2S . По-видимому, такое деление залежей по распространению микрофлоры в значительной мере соответствует делению по степени активности водообмена. Насколько нам известно, в геологии четкие критерии для определения степени активности водообмена не выработаны.

Чрезвычайно затрудненным водообменом характеризуется ряд месторождений Волго-Уральской области, Ферганы, Предкарпатья.

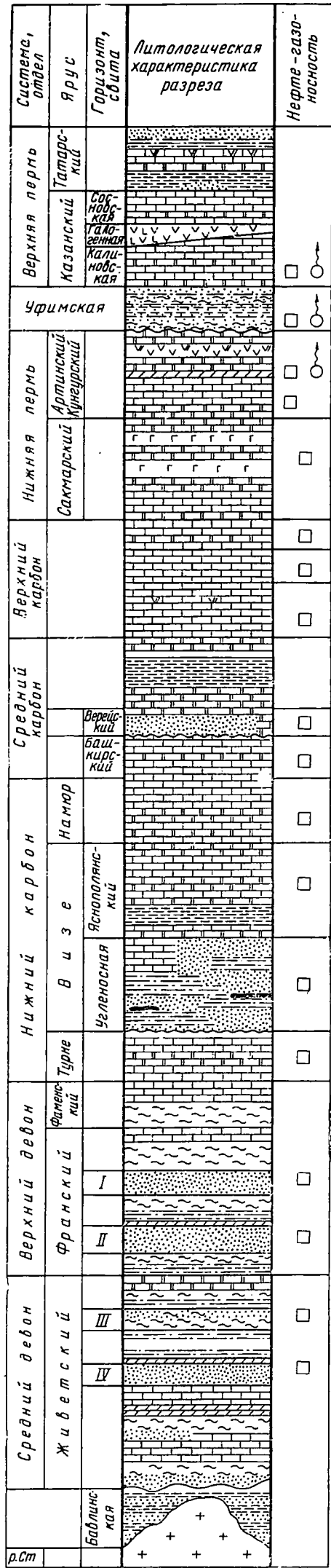
Распространение нефтеносности в пределах Волго-Уральской области обусловлено наличием регионального водоупорного пласта в разрезе палеозоя, обеспечивающего закрытость недр (Кротова, 1957). Таким пластом служит гипсово-ангидритовая толща кунгура, а на юге области — галогенная толща казанского яруса верхней перми.

Разрез толщи палеозойских отложений области показан на рис. 25. Материалы гидрохимических и микробиологических исследований представлены в табл. 35. Гипсово-ангидритовые породы приобретают водоупорные свойства, будучи погружены на глубину более 200 м, и обеспечивают низкий водообмен и хорошую сохранность залежей в девонских, каменноугольных и пермских отложениях ряда структур.

Там, где гипсово-ангидритовая толща отсутствует полностью, разрушена или подходит близко к дневной поверхности, залежи нефти в недрах не сохранились или в значительной степени окислены вследствие активного водообмена в недрах этих районов.

Распространением высокоминерализованных хлоркальциевых рассолов с соленостью, превышающей 200 г/л (Кротова, 1957), чаще всего характеризуются отложения каменноугольной и девонской систем (см. рис. 25, табл. 35, I и II группы вод).

Во многих пробах рассолов сульфатовосстанавливающие бактерии отсутствуют. Указанные отложения практически можно рассматривать как зону весьма затрудненного водообмена, не подвергающуюся в настоящее время процессам биохимического окисления. В эту зону включаются также пласты с меньшей минерализацией вод, не содержащие сульфатовосстанавливающих бактерий, и минерализованные рассолы пермской системы. Однако месторождения этой зоны характеризуются наличием тех или иных признаков окисления и разрушения. Более ярко выражены эти признаки в залежах, пластовые воды которых отнесены в табл. 35 ко II группе. Этим водам свойственна обогащенность



- 1 — кристаллический фундамент;
- 2 — известняки;
- 3 — доломиты;
- 4 — доломитизированные известняки;
- 5 — сланцы;
- 6 — песчаники;
- 7 — глины;
- 8 — аргиллиты;
- 9 — алевролиты;
- 10 — гипс, ангидрит;
- 11 — каменная соль;
- 12 — мергель;
- 13 — уголь;
- 14 — сульфатизация пород;
- 15 — нефтеносность;
- 16 — газосность

Рис. 25. Схематический разрез палеозоя Второго Баку (Самарская Лука) (по Беляковой, 1956)

сероводородом, биогенным азотом, углекислотой, аммонийными солями, нефтяными кислотами.

Как указывает Белякова (1956), перечисленные признаки окисления наиболее часто встречаются в карбонатных коллекторах турнейского и башкирского ярусов и нижнеуртинского подъяруса, подвергавшихся размыву, или в коллекторах угленосной свиты и уфимского яруса, сложенных обломочными терригенными осадками. Аширов (1965) связывает накопление сероводорода в нефтяных пластах с периодами тектогенеза. Таким образом, прослеживается связь между наличием признаков окисленности и разрушенности залежи и характером палеогидрогеологической обстановки, обуславливающей активизацию водообмена и соответственно биохимических процессов окисления. По мере накопления вышележащих отложений активный гидродинамический режим сменялся застойным и замедленным. В результате процессов метаморфизации состав вод менялся в направлении, неблагоприятном для жизнедеятельности бактерий, приобретая современный облик.

Некоторые отложения нижней зоны, не содержащие бактерий в пластовых водах, характеризуются отсутствием сероводорода и большей части других признаков разрушения залежи. Пластовые воды этих отложений выделяются в первую группу, представленную главным образом рассолами терригенных коллекторов девона (см. табл. 35). Отдельные признаки окисленности проявляются в залежах, где распространены рассолы I группы. Нефти девона обогащены биогенным азотом (наиболее стойким продуктом к действию разрушающих факторов), в водах много аммония. В породах рассеяны вторичные кристаллы пирита. По нашим наблюдениям, пирит часто попадает в кернах яснополянской терригенной толщи. Пластовые воды терригенных коллекторов обычно обогащены растворенным железом, которое связывает сероводород. По-видимому, геохимическая обстановка менее способствовала сохранению признаков окисления в терригенных коллекторах, чем в карбонатных.

Таким образом, признавая отсутствие биогенных процессов в настоящее время в нефтяных пластах, характеризующихся распространением вод II и I групп (см. табл. 35), мы приходим к выводу, что все признаки разрушения и окисления залежей, которые наблюдаются в этих пластах, являются реликтовыми, сохранившимися до наших дней.

Как было указано выше, в ряде месторождений со II группой вод зоны весьма затрудненного водообмена обнаруживается сероводород. Коллекторы, пластовые воды и газ которых содержат H_2S , как правило, характеризуются наличием вторичного кальцита. Вторичный кальцит откладывается в подошве залежей и может полностью изолировать ее от пластовых вод. Такие залежи называют запечатанными. Запечатанные залежи встречаются в трещиноватых карбонатных коллекторах башкирского яруса

Покровского месторождения и ряда месторождений Пермской области, а также в пласте калиновской свиты Калиновского месторождения. Описание этих коллекторов приведено Ашировым (1965), который наблюдал также вкрапления вторичного кальцита в кернах терригенных коллекторов, обогащенных сероводородом.

Т а б л и ц а 36. Общее количество бактерий в пластовых водах запечатанных и открытых нефтяных месторождений Волго-Уральской области (по Мешкову, 1958)

Система отложений и месторождение	Глубина залегания нефти, м	Характеристика месторождения	Общее число бактерий, тыс/мл
<i>Пермская</i> Красноярское	354—380	Запечатанное	172
	362—366		316
<i>Яблоневское</i>	522—533	Открытое	158
	532—561		217
	567—582		88
<i>Калиновское</i>	241—255	Открытое	288
	238—248		334
<i>Каменноугольная</i> Красноярское	1601—1604	Запечатанное	39
	1600—1611		64
	1589—1607		165
	1604—1611		113
<i>Султангуловское</i>	1615—1630	Открытое	558
	1630—1640		263
<i>Девонская</i> Красноярское	2315—2320	Запечатанное	72
	2256—2265		74
<i>Султангуловское</i>	2290—2296	Открытое	271
	2285—2290		239
	2265—2280		441

Результаты модельных опытов по использованию нефти в процессах сульфатредукции, приведенные в главе IV, позволили связать отложение кальцита в нефтяных коллекторах с процессами биогенного восстановления сульфатов, обусловившими нарушение карбонатного равновесия в пластовых водах. В настоящее время высокая минерализация пластовых вод запечатанных коллекторов неблагоприятна для жизнедеятельности микроорганизмов. Как показали исследования общего количества бактерий в пластовых водах, проведенные Мешковым (1958), микрофлора в запечатанной залежи значительно беднее, чем в открытой (табл. 36). Сульфатвосстанавливающие и другие группы бактерий

не обнаруживаются (Розанова и др., 1972). Выявляемые в отдельных пробах сульфатвосстанавливающие бактерии являются заносными.

Аширов (1965) относит образование сероводорода и вторично-го кальцита к периодам благоприятной палеогидрогеологической обстановки, обусловленной активизацией тектонической деятельности. В это время образовывались трещины в кровле и подошве пород, поверхностные воды приходили в контакт с глубинными, нефть обсеменялась поверхностной микрофлорой. Сульфатредукция, в процессе которой использовались органические вещества нефти, развивалась на контакте нефти с водой, в трещинах кровли и в самом коллекторе. Вторичный кальцит залечивал трещины и изолировал залежь от пластовых вод. Снижение водообмена обусловило повышение минерализации пластовых вод и затухание бактериальной жизни.

Таким образом, сероводород запечатанных карбонатных коллекторов является реликтовым. Среди геологов распространено мнение, что реликтовый сероводород нефтяных залежей не может служить признаком процессов преобразования соединений серы, происходящих в нефтяных и газовых залежах, а является глубинным, мигрирующим из недр по разломам земной коры. В связи с этим представляется интересным рассмотреть вопрос об изотопном составе соединений серы в нефтегазовых месторождениях. Известно, что в процессах превращения сульфатов до серы происходит избирательное использование изотопа S^{32} и остаточный сульфат обогащается S^{34} . Фракционирование изотопов серы подчиняется законам термодинамики и свойственно как химическим, так и биологическим процессам. Однако химические процессы восстановления сульфатов протекают лишь при высоких температурах.

Одним из принятых выражений изотопного состава серы является величина δS^{34} , обозначающая отклонение изотопного состава образца (в промиллях) от изотопного состава стандартов.

$$\delta S^{34} = \frac{S^{32}/S^{34}_{\text{стандарта}} - S^{32}/S^{34}_{\text{образца}}}{S^{32}/S^{34}_{\text{стандарта}}} \times 1000.$$

δS^{34} со знаком (+) обозначает обогащение образца S^{34} , со знаком (-) — обогащение S^{32} по отношению к стандарту. S^{32}/S^{34} стандарта равно 22,2.

Закономерности фракционирования изотопов серы с участием биогенных процессов рассмотрены у Иванова (1964), Мехтиевой с соавторами (1964), Цуру и Караскевича (Tsuru, Karasiewicz, 1969). Одной из этих закономерностей является утяжеление серы H_2S при ограниченном доступе сульфатов в связи с тем, что практически весь SO_4^{2-} переходит в S^{2-} .

По данным Белого и Виноградова (1972), изучавших изотопный состав серы различных соединений в месторождениях

Т а б л и ц а 37. Распределение изотопного состава серы в сульфатах и сероводороде из пластов нефтегазоносных областей

Месторождение	Возраст отложения	SO ₄ ²⁻ из пластовой воды, δS ³⁴ , ‰	H ₂ S, δS ³⁴ , ‰	Минерализация, г/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л	H ₂ S, мг/л	Автор
Газли	Верхний мел	+15,6	+14,4	—	—	—	Белый, Виноградов, 1972
Амударьинская нефтегазоносная область *	Оксфорд	(+10,1) (+25,4)	(+13,4) (+18,2)	—	—	—	То же
Пермская область, Ярино-Каменное	Башкир	+15,7	+11,7 **	266,91	619	173	Наши данные
Осинское	Башкир	+21,6	+14,8 **	271,02	743	199	То же

* Интервал отбора проб 420—2604 м.

** Сероводород осажден из пластовой воды. В анализах Белого и Виноградова исследован сероводород, присутствовавший в составе газа.

нефтегазоносной Амударьинской области, величины δS^{34} сульфатов пластовых вод близки к таковым сульфатных минералов вмещающих пород и колеблются от +10,1 до +25,1‰, чаще всего составляя около +15‰, а δS^{34} концентрированных сероводородных нефтяных газов изменяется в пределах (+13) — (+18,2)‰, при наиболее частой встречаемости величин (+12) — (+14)‰. Отдельные данные этих авторов приведены в табл. 37. Величины δS^{34} сероводорода биогенного происхождения в приро-

Т а б л и ц а 38. Изотопный состав серы нефтей, газов и сульфатов вод Волго-Уральской области (по Панкиной, Мехтневой, 1964)

Месторождение	δS^{34} , ‰			Содержание SO_4^{2-} , мг/л
	нефть	H_2S , растворенный в нефти	SO_4^{2-} пластовых вод	
Карлово-Сытовское	+4,7	+5,6	—	Следы
Яблонный Овраг	—	+2,0	+27,8	613
Зольный Овраг	+5,5	+5,3	+12,9	Следы
Красный Яр	+4,3	—5,8	—	1265
Белозерское	—	—6,4	+20	1003
Мухановское	+5,3	—2,0	—	1286
Радаевское	+3,5	—5,5	—	94
Тарханское	+5,8	—1,5	—	134

де колеблются в больших масштабах (Иванов, 1964). Изменения δS^{34} сероводорода газов Амударьинской области остаются в пределах δS^{34} сульфатов. Основываясь на этом, Белый и Виноградов делают вывод, что сероводород образовался в процессе растворения и последующего восстановления сульфатов за счет органического вещества, т. е. является эпигенным. Верхняя граница δS^{34} сероводорода понижена по сравнению с сульфатами, что указывает на наличие процессов фракционирования, однако большого сдвига в сторону облегчения серы H_2S нет. Поэтому Белый и Виноградов полагают, что наиболее вероятный режим восстановления приближался к условиям «ограниченного запаса» сульфатов, т. е. к условиям, когда скорость восстановления сульфата превышала скорость его растворения. Указанные авторы предполагают, что отмеченные ими особенности изотопного состава серы для Амударьинской нефтегазоносной области могут оказаться типичными для высококонцентрированных газов.

Изучение изотопного состава серы H_2S попутных газов в пластах бобриковского горизонта нефтяных месторождений Волго-Уральской области провели Панкина и Мехтнева (1964) (табл. 38). К сожалению, эти авторы не указывают, какие воды отбирали для анализа сульфатов. Наличие больших количеств

сульфатов — более 1000 мг в 1 л — позволяет заключить, что ряд проб был отобран из пластов, подвергающихся искусственному заводнению. Таким образом, пробы вполне могли представлять разбавленные воды, где сероводород образуется в настоящее время явно биогенным путем (глава IV). К тому же терригенные коллекторы бобриковского горизонта, как правило, не содержат реликтового сероводорода. По данным Панкиной и Мехтевой, сероводород нефтяных газов всюду был менее обогащен изотопом S^{34} , чем сульфаты и сера нефти, что свидетельствовало о фракционировании серы в процессах превращения серы нефти и сульфатов в серу сероводорода (см. табл. 38).

Обогащение сероводорода S^{34} менялось в зависимости от содержания сульфатов в пластовых водах. Данные этих авторов подтверждают известные закономерности фракционирования, связанные с условиями поступления сульфатов.

Нами были собраны образцы пластовых рассолов башкирского яруса среднего карбона из нефтяных месторождений Пермской области. Данные изотопного состава серы сульфатов и реликтового сероводорода из этих образцов, полученные в лаборатории М. В. Иванова (Институт физиологии и биохимии микроорганизмов АН СССР), представлены в табл. 37. Из таблицы следует, что изотопный состав сульфатов и сероводорода наших образцов близок таковому, определенному Белым и Виноградовым в газах. Мы полагаем, что реликтовый сероводород, обнаруживающийся в нефтяных газах и пластовых водах, является эпигенным, а не глубинным и имеет биологическую природу, т. е. образовался в условиях температур, не превышающих 80° . Как было показано в главе IV, H_2S активно образуется в настоящее время в разбавленных водах пластов, возникших в результате искусственного заводнения.

Таким образом, мы приходим к выводу, что высокоминерализованные рассолы каменноугольной и девонской систем Волго-Уральской области, характерные для месторождений зоны чрезвычайно затрудненного водообмена, даже в случае обогащения их сероводородом, как правило, не содержат бактерий. Однако Штурм (1950б), Экзерцев, Кузнецов (1954), В. А. Кузнецова (1960) и Колесник (1955б) обнаружили сульфатовосстанавливающие и другие бактерии в пластовых рассолах и ядрах месторождений каменноугольных и девонских отложений района Жигулевской дислокации в пределах Самарской Луки — Сызранском, Губинском, Стрельном Овраге, Березовском, Яблоновом Овраге, Зольном Овраге (табл. 39).

Рассолы некоторых из этих структур при общей высокой минерализации содержали значительно меньше ионов кальция и магния, чем обычно (Кузнецова, 1960). Этот факт является показателем подтока посторонних вод в пласты. Кротова (1957) отмечает, что многие геологи признают наличие глубокого тектонического разрыва в области крутого купола Жигулевского вала.

Ряд данных свидетельствует о том, что в структурах Самарской Луки имеет место разгрузка минерализованных вод нижележащих горизонтов в вышележащие и переток более опресненных вод в структуры из вышележащих горизонтов через нарушения, располагающиеся в крутых крыльях (рис. 26). При эксплуатации подток вод из других горизонтов через нарушения,

Т а б л и ц а 39. Распространение бактерий в пробах пластовой воды и обводненной нефти из нефтяных месторождений Самарской Луки

Месторождение	Отложения, индекс пласта	Минерализация, г/л	H ₂ S, мг/л	Сульфатвосстанавливающие бактерии		Автор
				проанализировано проб	в которых обнаружены бактерии	
Сызранское	Карбон, Б ₁	137—230	Есть	3	2	Кузнецова, 1960
	Карбон	—	—	3	3	Колесник, 1955б
	Карбон, Б ₂	120—126	214—422	3	2	Кузнецова, 1960
	Карбон, Б ₀ , Б ₁ , Б ₂	—	—	4	3	Экзерцев, Кузнецов, 1954
Губинское	Карбон, Б ₂	159—165	135—264	3	3	Кузнецова, 1960
Стрельный Овраг	»	239	Есть	2	1	Тот же
Зольный Овраг	»	249—271	195—434	8	8	»
	Карбон	—	—	2	2	Колесник, 1955б
	Девон	—	—	3	1	Тот же
Березовское	Карбон	—	—	3	3	»
Яблонный Овраг	»	—	—	1	1	»
	Девон	—	—	4	2	»

имеющиеся в структурах, увеличивается, способствуя проникновению бактерий.

Эти данные позволяют сделать вывод, что обнаруживающиеся в рассолах месторождений Жигулевского вала сульфатвосстанавливающие бактерии являются заносными. Вывод подтверждается исследованиями Колесник (1955б), обнаружившей, что сульфатвосстанавливающие бактерии развивались в среде с содержанием NaCl не более 3—5%.

Таким образом, результаты микробиологических анализов могут служить показателем внешнего подтока вод в пласты. Мы также обнаружили сульфатвосстанавливающие бактерии в отдельных пробах рассола с минерализацией 260—270 г/л из обводнившихся участков пластов башкирского яруса месторожде-

ний Пермской области. Эти факты объясняются проникновением микрофлоры из других пластов в результате усиления эксплуатации (Розанова, Быков и др., 1973).

К зоне с чрезвычайно затрудненным водообменом нами отнесены нефтяные залежи озокеритоносной Бориславской складки Предкарпатья. Нефтью обогащен ряд пластов третичного возраста — соленосная формация, поляницкая, менилитовая, попельская и пероглифовая свиты, бориславский песчаник (верхний и

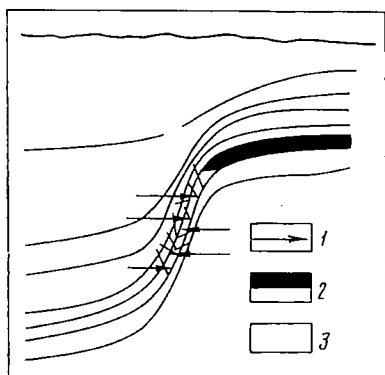


Рис. 26. Возможные пути водообмена через крутое крыло структуры (по Кротовой, 1957)

1 — пути водообмена; 2 — нефтяной коллектор; 3 — перекрывающие и подстилающие пласты

нижний эоцен), а также ямненский песчаник мелового возраста (рис. 27). Нефти всех слоев сходны по химическому составу и относятся к типу малосернистых, высокосмолистых, высокопарафиновых со средним удельным весом 0,84. Пластовые воды принадлежат к типу высокоминерализованных хлоркальциевых рассолов хлоридной группы натриевой подгруппы. В пробах с глубины 900—1620 м, с минерализацией 208—320 г/л и величинами рН 5,45—6,10, содержащих 197—309 мг/л сульфатов, сульфатвосстанавливающие, углеводородокисляющие и гетеротрофные микроорганизмы не были нами обнаружены (Розанова, 1964). Величины коэффициента $(Ca^{2+} + Mg^{2+}) / (K^{+} + Na^{+})$ (в мг-экв) в этих водах колебались от 0,22 до 0,38.

Данные Митгарц (1956), Крамаренко (1956), Кузнецовой и Швеца (1970а, б), изучавших контурные воды нефтеносных палеогеновых и меловых отложений Ферганы, позволяют считать, что закрытые нефтеносные структуры, залегающие на глубинах 500—700 м, характеризуются чрезвычайно затрудненным водообменом. Ряд пластов этих структур экранирован сбросами (рис. 28). Эти структуры отличаются высокой минерализацией пластовых вод (100—200 г/л), высокими величинами отношения $Ne:Ag$ в водах (это отношение находится в прямой зависимости от степени закрытости недр) и низкими значениями показателей окисления и разрушения залежей. К последним относится содержание нефтяных кислот, биогенных газов — H_2S , CO_2 , а

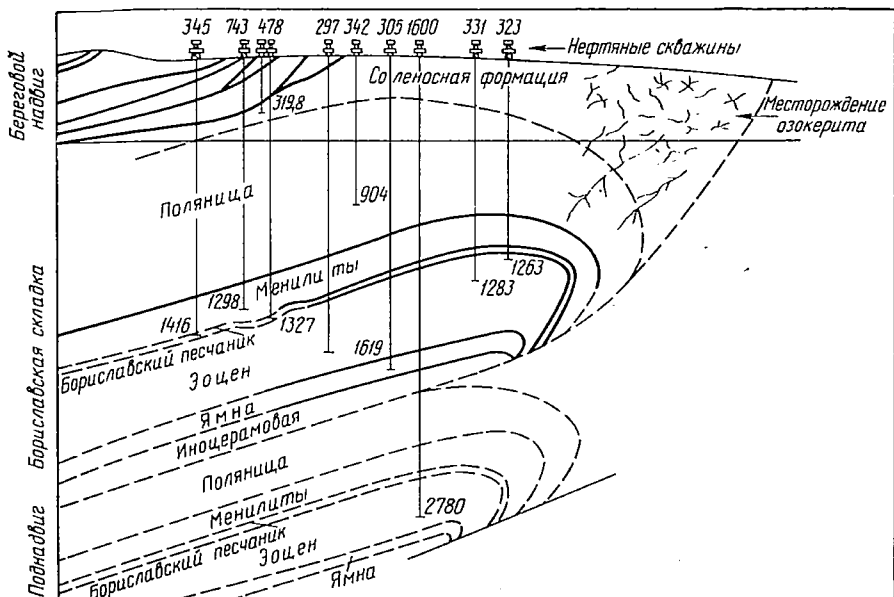


Рис. 27. Поперечный разрез Бориславской складки

также величины отношения $\%$ -эквивалентов SO_4^{2-} и суммы $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}$ к сумме $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$. Залежи закрытых структур наиболее обогащены метановыми углеводородами (Митгарц, 1956; табл. 40). Закрытой структурой является месторождение Палванташ. Рассолы III, V и VII пластов этого месторождения содержат 105—246 г/л

Таблица 40. Солевой и газовый состав подошвенных вод нефтеносных структур Ферганы (средние данные, по Митгарц, 1956)

Геохимические показатели	Тип структуры		
	открытая	полузакрытая	закрытая
Минерализация, г/л	10,9	79,8	202,8
$(\text{Cl}^- - \text{Na}^+) : \text{Mg}^{2+}$	0,73	2,39	2,7
He : Ar	0,0065	0,0039	0,108
Нафтеновые кислоты, мг/л	3,6	0,5	Не обн.
$(\text{SO}_4^{2-}) \%$ экв. : $\sum \text{C}_n\text{H}_{2n+2}$, об. %	0,12	0,0014	0,0012
$(\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}) : \sum \text{C}_n\text{H}_{2n+2}$, об. %	1,76	0,18	0,007
SO_4^{2-} , %-экв	2,74	0,08	0,12
$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}$, об. %	41,81	10,46	0,66
Бактерии, образующие H_2S	Есть	Есть	Не обн.

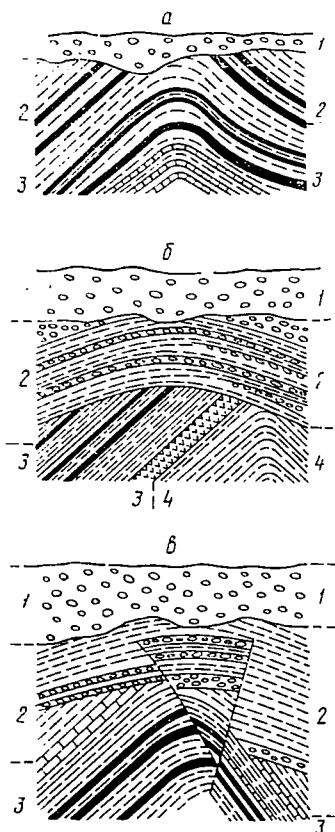


Рис. 28. Типы нефтеносных структур Ферганы по степени их гидрогеологической раскрытости (по Митгард, 1956)

a — открытая, *б* — полузакрытая, *в* — закрытая; 1 — четвертичные отложения, 2 — неогеновые, 3 — палеогеновые, 4 — меловые

солей. Микроорганизмы в этих водах не обнаруживаются (табл. 41).

Перейдем к характеристике залежей, относящихся к зоне слабого (затрудненного) водообмена.

В Волго-Уральской области к этой зоне относятся нефтеносные пласты пермских отложений (III группа вод, табл. 35). В этих водах распространены главным образом сульфатвосстанавливающие бактерии; аэробные углеводородокисляющие бактерии, гетеротрофные, использующие жирные кислоты, а также анаэробные денитрифицирующие бактерии в проанализированных образцах воды отсутствовали. Месторождения пермских отложений характеризуются наличием больших количеств сероводорода, биогенного азота, углекислоты в составе газов, а в водном растворе — аммонийных солей, а также растворенного органического вещества типа нафтенных кислот, что свидетельствует о процессах микробиологического разрушения нефти. Таким образом, наличие перечисленных показателей вместе с распространением бактерий позволяет заключить, что в пермских отложениях биогенные процессы развиваются и в настоящее время. Нефть месторождений с соответствующими показателями окисления утяжелены, осмолены и обогащены серой.

В Фергане к зоне слабого водообмена можно отнести полузакрытые структуры (см. рис. 28). В полузакрытых структурах глубина залегания нефтеносного комплекса находится в пределах 400—500 м, палеогеновые

породы перекрыты толщей песчано-глинистых пород палеоген-четвертичного возраста, откуда возможно проникновение вод в продуктивные горизонты. Данные табл. 40 показывают, что в пластовых водах полузакрытых структур по сравнению с закрытыми уменьшается минерализация, снижаются величины отношения гелия к аргону, параллельно этому растут величины показателей окисления и разрушения залежей, падает содержание метановых углеводородов. В полузакрытых структурах, где наиболее

активно протекают процессы биогенного восстановления сульфатов, содержание этих понов наименьшее. Изменение показателей окисления и разрушения в залежах разного типа соответствует данным об активности микрофлоры. Основной группой микроорганизмов, распространенных в водах полузакрытых структур, являются сульфатвосстанавливающие бактерии (табл. 41).

Т а б л и ц а 41. Микрофлора приконтурных вод нефтяных месторождений Ферганы (по Кузнецовой и Швецу, 1970а)

Месторождение, пласт	Минерализация, г/л	Сорг, мг/л	H ₂ S, мг/л	Интенсивность развития бактерий, баллы *			
				сульфат-восста-навли-вающих	тионо-вых	гептан-окисляю-щих	нафта-лин-окисляю-щих
Открытые структуры							
Андижан и Южный Аламышик, XXI и XXII	20—45	3—9	0	0	4—3	1—5	4
Избаскент, V, VII Чангырташ, V	30—60	17—45	0—10	1	4	2	3
	13	35	Много	3	0	1	0
Полузакрытые структуры							
Андижан, V, VII	100—120	8—18	До 1500	4	1	0	0
Закрытые структуры							
Палванташ, III, V, VII	105—246	6—12	0 *	0	0	0	0

Высший балл — 5; основанием для оценки развития в баллах служили сроки появления характерных признаков (см. Кузнецова, 1963).

К группе залежей со слабым водообменом можно отнести нефтеносный пласт «п» IV антиклинали Шор-Су (табл. 42), обследованный Ивановым (1964). Нефть в пласте парафинистая, мало-сернистая, в воде обнаруживаются сульфатвосстанавливающие бактерии и H₂S. Общая минерализация воды хлоркальциевого типа близка к 110 г/л, содержание сульфатов составляет 118 мг/л. Интенсивность образования H₂S в изолированной пробе составила 0,027 мг/л в сутки. Величина интенсивности образования H₂S, по-видимому, может служить лишь показателем наличия того или иного количества доступного сульфатвосстанавливающим бактериям органического вещества и не отражает скорость процессов сульфатредукции в залежи. В породах пласта микроорганизмы распределяются микрizonaльно, поэтому интенсивность процесса, очевидно, будет ниже, чем в пробе воды.

К зоне слабого водообмена приурочиваются нефтеносные толщи третичных отложений Апшеронского полуострова с инверсион-

ным типом зональности пластовых вод. Изучением микрофлоры месторождений Апшеронского полуострова занимались Гинзбург-Карагичева (1926, 1936), Рейнфельд (1935а, б), Малышек с соавторами (1935), Рыбакова (1957), Абдуллаев (1971) и Гасанов (1961).

Нами было исследовано распространение бактерий в пластовых водах структур Сураханской и острова Песчаного (Розанова, 1971а). Данные представлены в табл. 43, 44. Структуры входят

Таблица 42. Состав пластовых вод и интенсивность образования H_2S в изолированных пробах воды из IV антиклинали Шор-Су (по Иванову, 1964)

Горизонт, ярус	Минерализация, г/л	SO_4^{2-} , мг/л	H_2S , мг/л	HCO_3^- , мг/л	рН	$гH_2$	Бактерии в 1 мл		Интенсивность образования H_2S , мг/л в сутки	Нефть в пласте
							сульфат-восстанавливающие	тионовые		
п, Рипштанский	110,10	118	95	593	7,2	9,9	Единицы	10	0,027	Легкая, парафинистая, малосернистая, малосмолистая
l, Алайский	114,64	543	972	942	6,8	7,6	»	0	0,179	Тяжелая, сернистая, смолистая

в единую систему складок полуострова (рис. 29). Сураханская структура представляет собой брахиантиклиналь. Складка сложена породами третичного возраста. Нефть залегает в песчаниках продуктивной толщи третичных отложений, состоящей из ряда чередующихся нефтеносных свит.

Поперечные и продольные ступенчатые разломы — сбросы и взбросы — делят складку на отдельные тектонические поля — блоки, где нефтяные пласты ограничены линиями разломов (Овнатанов, 1962). Мы обследовали насосные скважины, подающие нефть с водой из сураханской, сабунчинской и балаханской свит верхнего отдела продуктивной толщи центрального и сброшенного тектонических полей. Последнее отличается значительной трещиноватостью пластов. Залежи указанных свит располагаются в сводовой и присводовой частях складки. Нефть в исследованных пластах мало различается, ее можно охарактеризовать как легкую, с удельным весом 0,763—0,879, малосмолистую (смола содержится не более 8%), малосернистую, парафинистую, с содержанием до 4,4% парафина и до 35% бензина. В составе газа преобладают метан и углекислота, азот и водород отсутствуют. Пластовые воды изменяются с глубиной. Все пласты в результате длительной эксплуатации обводнены законтурной водой, которая, однако, не отличается по гидрохимическому составу от исходной. Нефтяные залежи складки начали эксплуатировать с 20—30-х годов нашего столетия. Исследованные горизонты центрального и сброшенного

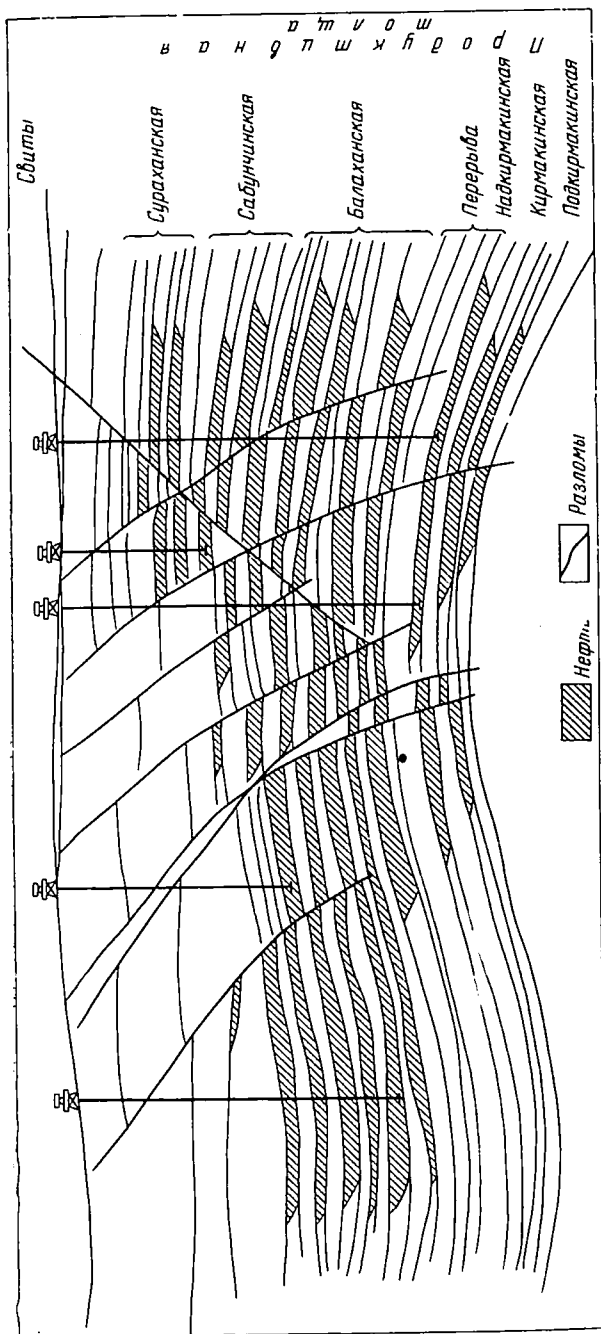


Рис. 29. Профиль Сураханской складки

Таблица 43. Гидрохимический состав вод и физико-химические условия в нефтяных пластах исследованных структур Апшерона (Рованова, 1971а)

Свита и номер скважины	Пласт	Тип воды и глубина забоя, м	Температура пластов, °С	Минерализация, г/л	SO ₄ ²⁻ , мг/л	H ₂ S, мг/л	Fe общее, мг/л	pH	гН ₂
Сураханская складка									
Сураханская, 653	C	Жесткая 395—406	31	143,5	0	0	41	6,1	15,3
Сабунчинская									
508	II	610—615	38	127,1	0	0	—	6,0	14,7
1173	II	639—641	39	126,8	0	0	41	6,4	16,6
766	IV	728—730	41	126,2	0	0	153	6,3	15,3
645	IVв	750—753	42	113,1	0	0	222	6,3	14,1
1475	IVд	844—880	44	70,0	0,5	0	45	6,4	—
1184	IVе	848—857	44	117,5	0	0	—	6,3	—
Балаханская		Гидрокарбонатно-натриеван							
1285	V	886—889	45	62,6	0,5	0	111	6,9	14,8
410	VI	900—905	45	42,6	4,8	0	20	7,4	14,9
499	VII	961—973	47	43,7	0,5	0	10	7,4	18,6
Морская структура острова Песчаный									
НКП-1, 91		3100	70	11,5	2102,0	0	—	7,3	15,9
ПК, 7		3221	До 85	21,1	531,0	54	—	8,0	8,4

Таблица 44. Распространение микрорганизмов в водах нефтяных пластов структура Аншерица (Розанова, 1971а)

Сквита и номер скважины	Содержание анаэробов в 1 мл		Содержание аэробов в 1 мл				Общее число микрорган-низмов в 1 мл
	сульфатредуцирующих	на среде с лактатом	метанообразую-щих на среде с $H_2 + CO_2$	развивающихся в парах нефти	олигокарбо-филов	растущих на МПА	
Сураханская сквадка							
Сураханская, 653	0	0	0	0	0	0	$12,1 \cdot 10^3$
Сабунынская							
508	0	0	0	0	0	0	$< 1 \cdot 10^3$
1173	0	0	0	0	0	0	$6,2 \cdot 10^3$
766	0	0	0	0	0	2	$< 1 \cdot 10^3$
615	0	0	0	0	0	0	$< 1 \cdot 10^3$
1475	$+H_2S$	194	0	0	0	0	$470 \cdot 10^3$
1184	0	0	$+CH_4$	0	0	0	$< 1 \cdot 10^3$
Балаханская							
1285	0	0	0	200	Единицы Сотни	Десятки Сотни	$5,5 \cdot 10^3$
110	$+H_2S$	52	$+CH_4$	40	»	»	$1,6 \cdot 10^3$
499	$+H_2S$	355	$+CH_4$	15	»	»	—
Морская структура острова Песчаный							
НКП-1, 91	—	55	—	8	—	Десятки Сотни	—
ПК, 526	—	20	0	4	—	—	—

* Наличие метана определяли хроматографически.

тектонических блоков искусственному заводнению не подвергались.

Морскую нефтяную структуру острова Песчаного начали эксплуатировать несколько лет назад. Здесь были обследованы пластовые воды из надкирмакинской песчаной свиты (НКП) и подкирмакинской свиты (ПК) нижнего отдела продуктивной толщи, образцы вод взяты из фонтанирующей и газолифтовой скважин (в трубу последней нагнетают газ, выделяющийся из тех же пластов).

В сураханской и сабунчинской свитах воды жесткие, бессульфатные, содержат значительные количества железа (скв. 653, 1173, 508, 615, 1475 — центрального поля и скв. 1184 — сброшенного). Сверху вниз по пластам жесткость вод уменьшается, минерализация в исследованных горизонтах снижается с 143 до 70 г/л солей. Воды характеризуются слабокислой реакцией, рН 6,1 — 6,4. Величины окислительно-восстановительного потенциала, соответствующие значениям $r_{H_2} = 14,1 - 16,6$, относительно высоки, что объясняется наличием в воде больших количеств железа. Кислород, сероводород и сульфиды в воде отсутствуют, азотистые соединения представлены аммонийными солями. Температура пластов 31—44,5° (см. табл. 43).

Гидрохимический состав и минерализация, а также физико-химические условия в жесткой воде сураханской и сабунчинской свит не являются ограничительными для развития бактерий. Отсутствие аэробных и анаэробных бактерий (см. табл. 44) связано, по-видимому, с низким водообменом в пластах. Отсутствие сульфатвосстанавливающих бактерий обуславливается недостатком сульфатов, однако даже небольшое количество сульфатов способствует распространению первых, как это видно из данных анализа воды из скв. 1475.

В более глубоких пластах Сураханской складки с менее минерализованной щелочной водой, где водообмен более активен, условия способствуют распространению аэробных форм. Скважины 1285 и 710 расположены на трещиноватом сброшенном поле, где возможен увеличенный водообмен в пластах за счет подтока вод по трещинам, о чем свидетельствует присутствие следов сульфатов в пробах. Несомненно, водообмен несколько активизировался в толще отложений Сураханской складки и в результате длительной эксплуатации. Небольшие величины общего количества микроорганизмов в водах свидетельствуют об относительно слабой активности микрофлоры.

Интересно отметить, что на больших глубинах в нефтяных пластах структуры острова Песчаного, где температура достигала 90°, были найдены сероводород и термофильные сульфатвосстанавливающие бактерии (см. табл. 44). Приспособленность бактерий к высокой температуре позволяет считать их аборигенами пластов. Гидрокарбонатно-натриевые воды этих пластов обогащены сульфатами (см. табл. 43), что и привело к развитию

сульфатредукции. Однако малое содержание сероводорода показывает, что сульфатредукция здесь развивается слабо.

К зоне со слабым водообменом нами отнесены нефтяные месторождения шамимской группы Западной Сибири. Подробная геологическая характеристика этих месторождений приведена в книге Нестерова с соавторами (1971).

В Шамимском районе нефтеносность приурочена к песчанкам терригенных отложений вогулкинской толщи (пласт «П») верхней юры, а местами также к тюменской свите и коре выветривания фундамента, гидродинамически связанным с вогулкинской толщей.

Водонефтеносный комплекс разобран на отдельные поля выступами глинистых сланцев. На большей части территории Шамимского района в нефтеносных структурах распространены гидрокарбонатно-натриевые воды, на отдельных участках встречены воды хлоркальциевого типа.

Минерализация вод по району повышается в восточном и юго-восточном направлениях от 10—15 до 19—29 г/л. Воды обеднены сульфатами, в отдельных пробах несколько большее количество сульфатов (до нескольких десятков миллиграмм на литр) содержится в хлоркальциевых водах, сероводород отсутствует. Гидрокарбонатно-натриевые воды обогащены ионом HCO_3^- . Газонасыщенность этих вод выше по сравнению с хлоркальциевыми и достигает в отдельных случаях 12 500—18 000 $\text{см}^3/\text{л}$. Растворенный газ — углекислый. С ростом концентрации углекислоты содержание метана и тяжелых углеводородов падает до 77%. Температура пластов 76—87°.

В отдельных пробах пластовых вод разного типа с глубины около 1600 м нами были обнаружены термофильные бактерии (единицы — десятки в 1 мл), развивающиеся при 60°, при 40° роста не было. Мы полагаем, что наличие двух типов вод может быть связано с переходом хлоркальциевых вод в гидрокарбонатно-натриевые в результате процессов биогенной сульфатредукции, происходивших в благоприятной палеогидрогеологической обстановке. Это обусловило исчезновение сульфатов и накопление гидрокарбонатов. Сероводород мог связаться железом, которое, как правило, в избытке содержится в водах терригенных коллекторов. В пользу этой гипотезы свидетельствует присутствие аборигенных сульфатовосстанавливающих бактерий.

Область активного водообмена включает ряд месторождений палеозоя Волго-Уральской нефтеносной области, Ферганы и Грузши.

В целом по разрезу толщ палеозоя Волго-Уральской области минерализация пластовых вод резко снижается под гипсово-ангидритовой толщей кунгура. Однако там, где эта толща разрушена, наблюдается аномально глубокое распространение относительно слабоминерализованных сульфатно-натриевых вод вплоть до башкирского яруса среднего карбона. Такое явление имеет место в

структурах Татарского и Банкирского сводов. В сохранившихся залежах нефти водообмен активизирован, и залежи пережпвают стадию своего разрушения. Типичным примером служит нефтяной пласт башкирского яруса месторождения Байтуган, где минерализация сульфатно-натриевой пластовой воды составляет всего 151—290 мг-экв на 100 г. Вода обогащена сероводородом. Нефть в залежи тяжелая, смолистая (табл. 45).

В среднем карбоне газы состоят из 33—44% азота, 34—42% (по объему) метана и тяжелых углеводородов, 13—32% H_2S и CO_2 .

Т а б л и ц а 45. Характеристика воды и нефти в пластах месторождения Байтуган (по данным Кротовой, 1957)

Отложения, горизонт	Вода				Нефть		
	Σ солей, мг экв на 100 г	Na^+ / Cl^-	$\frac{SO_4^{2-} \cdot 100}{Cl^-}$	Br^- , мг/л	удельный вес	содержание серы, %	легкие фракции, %
Башкирский ярус, C^2	202	1,09	21,0	72	0,910	2,46	41
Угленосная свита, C_1^{2h}	630	0,91	0,7	316	0,892	2,26	44
Турнейский ярус	510	0,84	2,4	240	0,839	2,15	44

В составе газа из ряда скважин обнаружено 0,2—2,4% кислорода. В породах найдены вкрапления кальцита. В структуре тяжелые нефти встречаются не только в карбоне, но и в девоне. В пробах обводненных нефтей из карбона месторождений Шугурова, Байтугана, Радаевки, Серноводска, расположенных на Татарском своде и в прилегающих районах, Симактовой, Ломовой (1958) и Колесник (1955б) найдены разнообразные группы бактерий — сульфатвосстанавливающие, денитрифицирующие, расщепляющие жирные кислоты, развивающиеся на нефти и белковых средах. Характеристика месторождения Байтуган, составленная по данным Кротовой (1957), приведена в табл. 45. Эти данные показывают, что в разрушении залежей нефти Татарского свода принимают участие микроорганизмы.

Нарушенность гипсово-ангидритовой толщи кувгурских отложений в ряде структур Татарского свода может быть результатом биогенных процессов сульфатредукции. В главе III было показано, что бактериальное восстановление сульфатов вызывает растворение гипса. На примере Радаевской структуры Татарского свода видно, что нефть залегает в угленосной свите нижнего карбона и в девоне. Купольная часть структуры совпадает с наиболее высокой частью плато и является местной областью питания (Кротова, 1957). Нефти в пластах вязкие, сернистые, в составе газа обнаруживается (в % по объему): сероводород — 0,4, углекислый

газ — 3, кислород — 1,2, азот — 52,6. Микробиологическими анализами в пластовых водах нижнего карбона Радаевской структуры Татарского свода выявлены сульфатовосстанавливающие, денитрифицирующие, расщепляющие жирные кислоты, окисляющие нефть группы бактерий (Симакова, Ломова, 1957; Колесник, 1955б). Приведенные данные позволяют предположить, что отсутствие нефтей в вышележащих отложениях каменноугольной и пермской систем рассматриваемой структуры связано с их разрушением. В настоящее время активность водообмена в пределах Радаевской структуры высока, соответственно пластовые воды слабоминерализованные и относятся к сульфатно-натриевому типу.

Таким образом, нарушение гипсово-ангидритовой толщи и отсутствие залежей нефти в пермских отложениях структур Татарского свода можно рассматривать как взаимосвязанные явления, обусловленные влиянием биогенных факторов.

Открытые структуры Ферганы (см. рис. 28) залегают на глубине 200—300 м, нефтеносные породы палеогенового возраста здесь выходит на поверхность или залегают под водопроницаемой толщей четвертичных отложений. Пластовые воды открытых структур характеризуются относительно невысокой минерализацией и наиболее высокими показателями окисленности (см. табл. 40). Сероводород в большинстве вод отсутствует, и в составе микрофлоры преобладают аэробные микроорганизмы (см. табл. 41). Типовые бактерии, по-видимому, окисляют сероводород, образующийся сульфатовосстанавливающими бактериями в отдельных микрозонах пластов, поэтому H_2S не накапливается. Эти залежи переживают стадию накопления окисленного органического вещества, продуцируемого углеводородокисляющими бактериями. В пробах воды месторождения Избаскент было обнаружено до 1400 мг/л жирных кислот (Кузнецова, Швец, 1970а). В отдельных пластах, где вода обогащена сероводородом, преобладают сульфатовосстанавливающие бактерии. Здесь стадия накопления окисленного органического вещества перешла в стадию его потребления сульфатовосстанавливающими бактериями, что вызвало прирост биогенного сероводорода.

Активным водообменом характеризуется также изученный Ивановым (1964) пласт *l* IV антиклинали Шор-Су, отличающийся высоким содержанием сульфатов и сероводорода в составе вод и тяжелой окисленной, осерненной и осмоленной нефтью (см. табл. 42). По данным Иванова (1964), интенсивность процессов сульфатредукции в изолированной пробе воды из пласта *l* высока и составляет 0,179 мг/л H_2S в сутки. Водообмен повышен в пласте *l* за счет подтока сульфатных вод из вышележащих горизонтов.

Типичным примером нефтяных горизонтов, где преобладают процессы окисления без сколько-нибудь значительного участия процессов сульфатредукции, являются пласты структур Норю и

Мирзаани в восточной Грузии. По данным Альтовского с соавторами (1962), эти структуры относятся к раскрытым, продуктивные отложения выходят на поверхность земли и питание атмосферными осадками осуществляется в районе самих месторождений. Здесь будут рассмотрены горизонты ширакской толщи среднего миоцена структуры Мирзаани и среднего миоцена третичных отложений месторождения Норно. Продуктивные песчаники этих толщ характеризуются хорошими коллекторскими свойствами: в ширакской толще средняя пористость пород составляет 20%, повышаясь максимально до 40%.

Характеристика пластовой воды и растворенного газа нефтяных месторождений Восточной Грузии (по Альтовскому и др., 1962) дана ниже:

Характерные показатели	Месторождение Норно, скв. 17, средний миоцен	Месторождение Мирзаани, скв. 18, ширакская толща, XI—XII
Глубина, м	1000	949
Минерализация, г/л	35,0	0,8—1,1
SO ₄ ²⁻ , мг/л	9,0	1,0
Содержание растворенного газа, мл/л		
O ₂	0	1,25
CO ₂	93,0	0
H ₂	0,5	1,38
CH ₄	2,88	16,88
N ₂	0	13,0

Пластовая вода горизонтов ширакской толщи имеет хлоридно-гидрокарбонатно-натриево-кальциевый состав и соленость 0,8—1 г/л, в среднем миоцене вода имеет хлоридно-натриевый состав и минерализацию около 35 г/л. Сульфатов в этих водах нет или их содержание очень мало. В составе растворенного газа ширакской толщи присутствует кислород, чему соответствует высокий окислительно-восстановительный потенциал воды. Газ, растворенный в пластовой воде среднего миоцена, обогащен углекислотой.

В газах обеих толщ присутствует метан и небольшое количество водорода.

Данные, представленные выше, показывают, что распространение в водах бактерий разных групп полностью соответствует окислительно-восстановительной обстановке, обусловленной составом растворенного газа.

Бактериальный состав пластовых вод нефтяных месторождений Восточной Грузии (по Альтовскому и др., 1962) приводится ниже:

Характерные показатели	Месторожде- ние Норпо, скв. 17	Месторожде- ние Мирза- ани, скв. 18
pH	7,4— 7,7	7,0—8,0
rH ₂	8,9—13,7	21,0
Общее количество бактерий на 1 мл воды, тыс.	41,3	49,0
Живые клетки, %	77	99
Количество клеток сапрофитов в 1 мл	88	2337
Интенсивность развития бактерий, баллы*		
денитрифицирующие	5	5
десульфуризирующие	2	0
клетчатковые	5	5
тионовые	4	5
метанобразующие	1	0
окисляющие		
H ₂	0	3
нафталин	5	3
толуол, бензол	3	0
гептан	2	3

* Расшифровка баллов дана Э. Н. Кузнецовой (1963). Оптимальная интен-
сивность — 5 баллов.

Большое распространение в пластах получили группы аэробных бактерий, окисляющих углеводороды. Анаэробные сульфатвосстанавливающие и метанобразующие бактерии, использующие водород, найдены только в пластах среднего миоцена структуры Норпо, где свободный кислород в воде не обнаруживается и присутствуют следы сульфатов. Интенсивно развивающиеся тионовые бактерии, по-видимому, потребляют восстановленные соединения серы, микроразнообразно образующиеся в процессах сульфатредукции. В приконтурных водах указанных толщ найдено большое количество нафтеновых кислот — в среднем 1230 мг/л. Среднее содержание органического углерода в воде соответствует 50 мг/л, отношение $S_{орг}$ к $N_{орг}$ составляет 319,2. В 65% проб воды структуры Мирзани и 30% проб Норпо встречены кислые смолы. Растворенные углеводороды найдены только в половине проб приконтурных вод ширакской толщи и отсутствуют в таковых среднего миоцена. Все эти данные показывают, что нефть в структурах Мирзани и Норпо активно разрушается с участием биогенных окислительных процессов.

Представляет интерес вопрос о том, насколько отличается активность микрофлоры в газовых месторождениях от активности в нефтяных месторождениях. Голубович, Латушкин и Швец (1970) исследовали микрофлору глубинных вод нефтегазонасыщенной Бухаро-Хивинской области. Они представили данные анализов микрофлоры, относящейся к газонефтяной и газовой залежам XII и XI горизонтов нижнего мела месторождения Газли с глубины 1080—

1150 м. Пласты характеризуются высокой температурой — до 70°, однако, как указывалось в главе III, такая температура не препятствует жизнедеятельности бактерий. Характеристика внутриконтурных вод отложений нижнего мела газового месторождения Газли (по Голубович и др., 1970) дана ниже:

Характерные показатели	Газонефтяной горизонт, XII, t 60–70°	Газовый горизонт, XI, t 68°
pH	7,0	7,7
гН ₂	—	14,5
Минерализация воды, г/л	31,1	16,2
Н ₂ S, мг/л	10	0
SO ₄ ²⁻ , мг/л	670	460
Интенсивность развития бактерий баллы*		
сульфатовосстанавливающие, среда с Н ₂ + СО ₂	—	3
метанобразующие, среда Н ₂ + СО ₂	5	2
типовые	2	1
денитрифицирующие	3	3
окисляющие		
гептан	4	2
водород	1	0
Число клеток сапрофитов в 1 мл	30	1
Общее количество бактерий в 1 мл, тыс.	—	368

* Высший балл 5.

В обоих горизонтах распространены анаэробные и аэробные бактерии разных групп. Кузнецова и Швец (1970б) отмечают, что сульфатовосстанавливающие бактерии реже встречаются в газовых месторождениях, чем в нефтяных. По данным Голубович с соавторами (1970), газонефтяной горизонт месторождения Газли в отличие от газового обогащен сероводородом, однако сульфатовосстанавливающие бактерии распространены в обоих случаях. Газ последованных залежей относится к числу жирных, т. е. обогащен метаном и высшими углеводородами, и его происхождение связано с нефтью. В месторождениях газа такого плана распространение и активность жизнедеятельности микрофлоры, по-видимому, будут обуславливаться теми же причинами, что и в нефтяном. Окисление газовых месторождений не должно сопровождаться накоплением новообразованных асфальто-смолистых соединений, поскольку газ практически не содержит циклических углеводородов, которые могут преобразовываться в смолы. В настоящее время нет данных относительно активности микрофлоры в залежах «сухого газа», где гомологи метана отсутствуют. В связи с большей устойчивостью метана к микробиологическому воздействию можно предполагать

об пных закономерностях распространения мкробиологических процессов в залежах последнего типа.

Нами были обнаружены термофильные сульфатовосстанавливающие бактерии в пластовой воде Игрмского газового месторождения Западной Сибири с глубины 1600 м. Месторождение приурочено к пласту «П» вогулкинской песчаной толщии верхней юры. Пластовые воды хлоркальциевого типа содержали 14—15 г/л солей; сульфаты и сероводород отсутствовали. Газ на 90—97% обогащен метаном, остальная доля приходится на высшие углеводороды, N_2 , CO_2 . Отмечается присутствие в газе долей процента H_2 (Нестеров и др., 1971). Небольшая примесь конденсата состоит из бензиновой фракции метановых и нефтяных углеводородов. Температура в пласте 59°. Мы полагаем, что бессульфатность вод может быть последствием деятельности сульфатовосстанавливающих бактерий.

Окисление углеводородных газов в подпочвенных отложениях зоны свободного водообмена

Многочисленными исследованиями Могилевского с соавторами (1958, 1964; Могилевский и др., 1970; и др.) было установлено, что грунтовые воды и подпочвенные отложения ряда районов обогащены углеводородными газами различного происхождения. Метан активно генерируется почвенной микрофлорой из продуктов распада органического материала. Высшие углеводороды в районах, лишенных нефтеносности, как правило, отсутствуют.

Другим источником углеводородных газов поверхностных отложений являются нефтяные и газовые месторождения. В углеводородных залежах газ в значительной мере растворен в нефти и воде, поскольку пластовое давление достигает нескольких сот атмосфер. Свободная миграция газа может происходить лишь при условии пересыщения глубинных вод растворенным газом и при сильном перепаде пластового давления. В этих случаях газ стремится диффундировать из области большего давления к земной поверхности по трещинам и тектоническим разломам осадочного чехла. Одной из форм проявления современной миграции газов из газонефтяных месторождений служат многочисленные так называемые газовые аномалии, обнаруживающиеся в грунтовых водах и подпочвенных горизонтах над залежами. Влияние залежей сказывается в увеличении числа компонентов в составе углеводородных газов, их концентрации и в увеличении доли тяжелых углеводородов по сравнению с метаном в направлении от периферии к центру продуктивных площадей. В пробах грунтовых вод, отобранных над Леляковским нефтяным месторождением в Белоруссии, метана было в 2 раза, этана в 8 раз и пропана в 1,8 раза больше, чем в пробах из периферийных скважин.

Концентрация углеводородных газов в воздухе в надпочвенных слоях над нефтяным месторождением обычно не превышает 0,001%. В более глубоких пластах над месторождением количество углеводородных газов обычно увеличивается неравномерно и зависит от интенсивности его диффузии через осадочные породы. Некоторое представление о величине рассеяния газов из месторождения за счет процессов диффузии дает Соколов (1948). На основании обработки большого количества газовых анализов подпочвенного воздуха нефтяных месторождений и проведения соответствующих расчетов он приходит к выводу, что всякое скопление газа, обладающее давлением, близким к гидростатическому, на глубине его залегания теряет за 1 млн. лет с площади 1 км² количество газа порядка 100 тыс. т. Иными словами, над нефтяными месторождениями ежегодно с 1 км² диффундирует около 100 кг, или 150 м³ углеводородных газов в пересчете на метан. Отсутствие заметных количеств углеводородных газов в воздухе, таким образом, должно быть вызвано их потреблением. В подпочвенных отложениях зоны свободного водообмена, куда проникает растворенный кислород, активными потребителями углеводородных газов являются микроорганизмы.

Могилевским с соавторами (1970) подобраны многочисленные факты, свидетельствующие о том, что количество и состав микрофлоры, обнаруживающейся в грунтовых водах подпочвенных отложений, коррелируют с количеством и составом содержащихся газов. Подпочвенные отложения продуктивных (по нефти и газу) и непродуктивных площадей характеризуются различным комплексом углеводородной микрофлоры. Наибольшая встречаемость микрофлоры, окисляющей этан, пропан, бутан, наблюдается в контуре газонефтяных залежей. В подземных водах величины отношений интенсивности развития бактерий, окисляющих метан, к бактериям, окисляющим бутан и пропан, распределяются аналогично газам: они меньше в контуре, чем за контуром обследованных месторождений. Зоны распространения бактерий, утилизирующих гексан и гептан, приурочены к площади над нефтяным месторождением.

По водоисточникам над Леляковским месторождением нефти наилучшая корреляция была выявлена между содержанием тяжелых углеводородов и развитием бактерий, окисляющих гексан и пентан: коэффициент корреляции составлял соответственно 0,51 и 0,43.

По скважинам над этой площадью тесная корреляция обнаружилась для суммы тяжелых углеводородов и гептанокисляющих бактерий. Отмечено также, что показателем нефтеносности служит повышенная встречаемость октан-, нонан- и деканокисляющих бактерий. Газоносные районы отличаются от нефтеносных меньшим содержанием пропан- и бутанокисляющих бактерий. Для Ефремовского газового месторождения наилучшая корреляция была установлена для метана и метанокисляющих бактерий. Таким

образом, между углеводородными газами и микрофлорой в пределах контура газонефтеносности месторождений отмечалась достаточно тесная корреляция, чего не наблюдалось за его пределами.

Корреляция между количеством и составом газов в подпочвенных отложениях и микрофлорой служит доказательством непосредственного участия микроорганизмов в окислении газообразных углеводородов. Как полагает Славина (1970), микроорганизмы

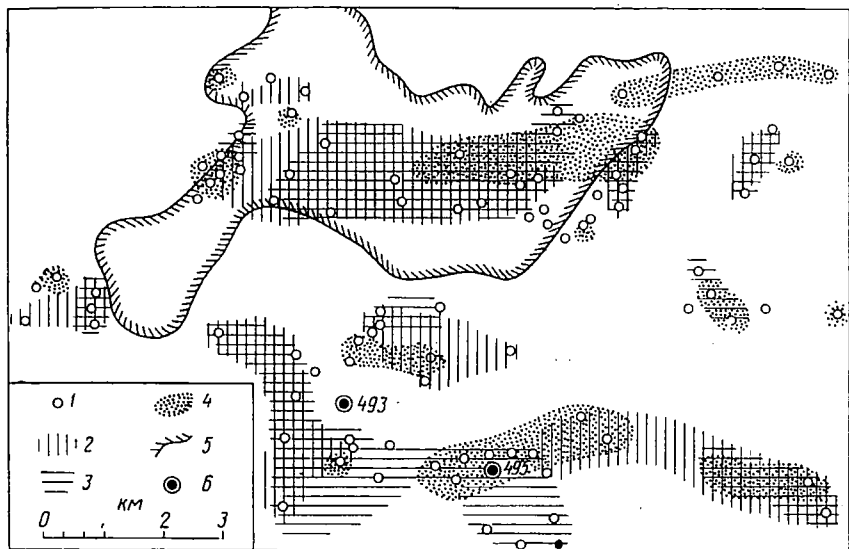


Рис. 30. Диффузия нефтяных газов из месторождения и окисление их бактериями в почвах и водах над Серафимовским нефтяным месторождением, расположенным в верхнепермских горизонтах (по Могилевскому, 1961)

1 — обследованные водопункты; 2 — распространение пропанокисляющих бактерий; 3 — то же, метанокисляющих; 4 — зона распространения углеводородных газов; 5 — контур нефтеносности; 6 — скважины, вскрывающие новую нефтяную залежь в девоне

участвуют также в окислении диффундирующих ароматических углеводородов, насчитывающих на некоторых газонефтяных месторождениях 15—20% от общего углеводородного состава.

Данные Могилевского (1961) по апробации распределения газов и углеводородокисляющих бактерий в Серафимовском районе на территории западной Башкирии приведены на рис. 30. На схеме представлены контуры нефтеносности по пласту Д₁, а различной штриховкой — распределение газов и бактерий, окисляющих газообразные углеводороды в поверхностных водах.

Участие микроорганизмов в процессах окисления углеводородов в подпочвенной зоне активного водообмена подтверждается модельными опытами с естественными образцами грунтов и почв

(табл. 46), через которые пропускали углеводородные газы (Кузнецов и др., 1947; Могилевский и др., 1970). Могилевским с соавторами (1970) были вычислены эквивалентные соотношения между интенсивностью развития бактерий и концентрацией газов. Их значения колебались от 2×10^{-3} до 3×10^{-4} см³/л метана на одну условную единицу (одна условная единица соответствовала наименьшей интенсивности развития бактерий) для водных проб и от $1,2 \times 10^{-4}$ до 4×10^{-5} см³/дм³ метана на одну условную единицу для

Т а б л и ц а 46. Использование минимальных концентраций метана и пропана углеводородокисляющими бактериями (по Кузнецову и др., 1947)

Протягивание воздуха через	Содержание, об. %		Длительность опыта, час	Содержание бактерий в 1 г почвы или 1 мл среды, млн.	
	метан	пропан		начало опыта	конец опыта
Почву, обогащенную культурой <i>Bact. methanicum</i>	0,0099	—	72	0,1	10
То же	0,0443	—	30	0,1	10
Жидкую культуру пропан-окисляющих бактерий	—	0	72	6	7,0
То же	—	0,0007	72	8	17,2
»	—	0,04	72	8	191,5

грунтов. Для пропана эквивалентные соотношения были на один порядок ниже.

Распространение процессов биогенного окисления углеводородных газов в подпочвенных отложениях находит подтверждение в изотопном составе метана, обогащенного ¹³C (Алексеев и др., 1973).

На основе указанных корреляций в Советском Союзе разработан микробиологический метод разведки на нефть и газ. Сводка иностранных работ по микробиологическим методам разведки нефти приведена у Дэвиса (Davis, 1967).

Приведенные выше расчеты Соколова позволяют увидеть значительную геохимическую роль микроорганизмов в окислении углеводородных газов, диффундирующих к поверхностным слоям из глубинных залежей. В зоне свободного водообмена и на поверхности земли микробиологическому окислению подвергаются углеводороды, выработанные тканями высших организмов и микроорганизмов (Jones, Williams, 1968).

*Роль микроорганизмов
в образовании озокеритоподобных битумов
и окислении залежей озокерита*

В некоторых районах на обнажениях нефтеносных пород встречаются натечные образования, описанные под разными названиями. В прибрежной равнине Мексиканского залива и на других месторождениях Северной Америки в местах выходов горючих газов найдены скопления в виде желто-бурой роговидной массы, названные «парафиновая земля». Дэвис (Davis, 1952, 1967) и другие авторы считали их смесью продуктов окисления газов и накопления биомассы бактерий.

Сходные натечные массы, названные альгаритоподобными веществами, закириваниями или озокеритоподобными битумами, встречаются в различных районах Советского Союза. Успенский с соавторами (1947, 1961, 1964) предполагали, что образование подобных битумов связано с разложением парафиновых нефтей в анаэробных условиях при участии сульфатредуцирующих бактерий и последующим синтезом веществ углеводно-белкового характера. Работами Соколовой с соавторами (1962а, б), Штурм и Розановой (1961; Штурм, 1961) было показано, что озокеритоподобные битумы Минусы, встречающиеся в виде примазок к скальным породам, приурочены к выходам минусинской парафиновой нефти. Их можно отнести к разновидности мумиё. Обогащение разностей неуглеводородными компонентами — кислородом, азотом, серой — связано с преобразованием углеводородов микроорганизмами на поверхности земли.

Изучение озокеритовых залежей, генетически связанных с нефтяными, имело целью выяснить возможность участия микробиологических процессов в происхождении и преобразовании озокерита. Материалы приведены в работах Розановой (1964), Розановой и Штурм (1964, 1965, 1966; Штурм, Розанова, 1963).

Известно, что верхние пласты озокеритовых залежей, выходящие на поверхность, обычно представлены выветренными разностями озокеритоносных пород — харсанами. Харсаны обеднены озокеритом, отличающимся повышенной смолистостью (Петрова, Касаткина, 1951).

Исследования проводили на двух месторождениях озокерита — Бориславском (западная Украина, северо-восточные отроги Карпат) и Шор-Суйском (Ферганская депрессия, система гор Алайского хребта). Бориславское месторождение изолировано от поверхности 50-метровой толщей четвертичных отложений и разрабатывается шахтным способом. Озокеритоносные пласты месторождения Шор-Су выходят на поверхность. Верхние слои были представлены харсанами, которые к настоящему времени выработаны. Залежь разрабатывается открытым способом в карьере.

Изучение микрофлоры озокеритоносных пластов Бориславского месторождения озокерита показало, что обогащенные озокери-

том породы различного литологического состава, жильный озокерит и мазеобразная нефть не содержат десульфуризирующих и денитрифицирующих микроорганизмов. Микроорганизмы, окисляющие компоненты нефти и озокерита, встречаются редко и главным образом в образцах пород из старых загрязненных выработок. На МПА вырастает не более 180 колоний из 1 г породы, чаще микроорганизмы не встречаются. Отсутствуют микроорганизмы и в линзах высокоминерализованной воды с нефтью, запечатанных в породах, представляющих собой остатки материала материнского нефтяного пласта. Микроорганизмы проникают в залежь в результате нарушения изоляции ее разработками. Распространение микроорганизмов в залежи ограничивается участками, куда проникают грунтовые воды из поверхностных слоев. Поэтому микрофлору залежи следует считать вторичной. Наиболее часто встречаются *Mycobacterium mucosum*, *M. lacticolum*, *Brevibacterium maris*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida lipolytica* (см. табл. 10).

В нефтеносных слоях Бориславской складки, залегающих ниже месторождения озокерита (см. рис. 27), однотипных по составу вод и нефтей с линзовой водой и нефтью, десульфуризирующие и углеводородокисляющие микроорганизмы также не были найдены. Характеристика нефтей и пластовых вод Бориславской складки была приведена в главе V (стр. 152).

Все показатели химического состава и физико-химического состояния линзовой воды помещаются внутри параметров, характеризующих пластовые воды Бориславской складки. Экологические условия этих вод неблагоприятны для развития микроорганизмов, и отсутствие в них бактерий указывает на то, что в процессах выпадения озокерита из нефти в Бориславской складке микроорганизмы не принимали участия.

В месторождении Шор-Су озокерит залегает в пласте «m». Характер озокерита соответствует типу нефти горизонта «m» соседней нефтеносной антиклинали. Насыщенные озокеритом известняки пласта «m» — «горючий» и «восковой» камни — содержат сотни и тысячи микроорганизмов в 1 г породы. Наибольшее количество микроорганизмов приурочено к скоплениям углеводородного субстрата — примазкам и прожилкам озокерита. Содержание углеводородокисляющих микроорганизмов в примазках озокерита достигало 1 млн. в 1 г.

Биоценоз микроорганизмов, распространенных в озокеритовой залежи Шор-Су, представлен микобактериями, бревибактериями и организмами рода *Pseudomonas*. Наиболее распространены *Brevibacterium maris*. Эксперименты показали, что мико- и бревибактерии активно окисляют озокерит (глава IV). Организмы рода *Pseudomonas* использовали жидкие ароматические фракции и не развивались на твердых парафинах озокерита. Таким образом, в разрушении озокерита основное участие принимали мико- и бревибактерии. Данные анализа остатков озокерита, подвергавшихся воздействию этих микроорганизмов, показали, что окисление озо-

керита под влиянием микрофлоры приводит к разрушению его, осмолению остатка и накоплению окисленных веществ (глава IV). Эти преобразования соответствуют направлению изменений, возникающих в составе озокерита при выветривании озокеритовых залежей в природе, ведущих к образованию харсанов. Соотношение компонентов (в %) в озокерите и харсане из различных образцов пород Ферганского месторождения, по данным Петровой и Касаткиной (1951), приведено ниже:

	Выход битума, % на породу	Твердые углеводороды	Жидкие углеводороды	Асфальтово-смолистые вещества
Озокерит из песчаника	6,1	37,9	34,8	27,3
То же, из охарсаненного песчаника	2,1	9,5	4,2	86,3

Вещества, обогащенные серой, азотом и кислородом, были получены из нерастворимых в петролейном эфире осадков, извлеченных из культуральных сред с озокеритом, подвергавшимся воздействию микроорганизмов. Элементарный состав этих осадков следующий (в %): углерод — 62,57; водород — 9,3; сера — 0,53; азот — 4,70 и кислород — 22,81.

Полученные результаты позволили сделать вывод об участии микробиологических процессов окисления в преобразовании озокерита в харсан в залежах, выходящих на поверхность земли.

Роль микроорганизмов в генезисе месторождений асфальтов

В главе I сообщалось, что асфальтовые битумы имеют разный характер залегания. Изучение отложений гудронистых песчаников, асфальтитов и других разновидностей асфальтов Волго-Уральской области показало, что их происхождение несомненно связано с преобразованием материнских месторождений нефти, залегающих в зоне окисления (Кротова, 1957; Апиоров, 1965). Роль микроорганизмов в генезисе месторождений асфальта заключается в том, что их деятельность способствует накоплению асфальтово-смолистых веществ в исходных материнских нефтях в условиях окислительной обстановки. В главе IV были представлены материалы, показывающие, что микроорганизмы участвуют не только в накоплении, но и в новообразовании асфальтово-смолистых компонентов.

Изучением микрофлоры, разрушающей асфальт, занимались Тракслер с соавторами (Traxler et al., 1965, 1966; Traxler, 1966). Ими было установлено, что на асфальты могут воздействовать микроорганизмы различных родов — *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus* и др. Наиболее активно разрушали асфальты *Mycobacterium* и *Nocardia*, за неделю уничтожая до 25% субстрата. Вязкость остаточного асфальта увеличивалась.

Микроорганизмы использовали петролены — фракцию, растворимую в пентане, и не развивались на асфальтенах, тем самым способствуя накоплению последних.

Рассмотрим условия залегания битумов в толщах палеозоя Волго-Уральской нефтеносной области. В начале этой главы упоминалось, что на значительной части Татарского, Башкирского, Жигулевско-Пугачевского сводов и в Мелекесской впадине водупорная гипсово-ангидритовая толща кунгурского яруса или отсутствует, или сильно разрушена. Это обстоятельство обусловило высокий водообмен и распространение окислительных процессов на большую глубину в толще нефтеносных палеозойских отложений. В пределах указанных структур в перми и верхней части карбона значительные залежи нефти не сохранились, однако указанные толщи обогащены окисленными битумами. В ряде структур Татарского свода в уфимской свите имеются залежи гудронистых песчаников или песчаников, насыщенных густой, смолистой нефтью. Такие же проявления имеются в казанских отложениях, где песчаники, содержащие битум резко окисленного характера, выходят на поверхность. В Байтугане и Камышлине наблюдаются многочисленные поверхностные выходы гудронистых песчаников уфимской свиты и жидкого битума с удельным весом 0,967 и содержанием серы 2,44% и парафина 2,57%. Обильные битумопроявления отложений нижней перми и верхнего карбона вдоль южного края Самарской Луки — гудронистые песчаники, асфальтиты, гарь, серно-асфальтовые месторождения, как считают геологи (Кротова, 1957), имеют общее происхождение. Их генезис связан с миграцией нефти по разломам в горизонты верхней перми и преобразованием в зоне окисления. Предполагают, что жила асфальтита в Садках, залегающая в верхнепермских отложениях, генетически связана с тяжелыми окисленными нефтями кунгурских отложений с удельным весом 0,914 и содержанием серы 2,75%.

По-видимому, в преобразовании жильных залежей большое значение принадлежит физико-химическим процессам, обуславливающим выпадение асфальтовых компонентов из мигрирующей по трещинам нефти.

Заключение

Нефтяную микробиологию можно рассматривать как одну из ветвей геохимии или, правильнее, биогеохимии. Основоположителем этой науки у нас в стране был В. И. Вернадский. Он придавал большое значение живым организмам во всех геохимических процессах. С его точки зрения живые организмы не являются случайным фактором в химической организованности земной коры, а образуют ее наиболее существенную и неотделимую часть. Они неразрывно связаны с косной материей земной коры, с минералами и горными породами.

В. И. Вернадский упрекал биологов в том, что они в своих работах не учитывали неразрывной связи, существующей между окружающей средой и живым организмом. «Ясно сознавая структуру и функции организма, они совершенно не учитывают среды, в которой живет организм, т. е. биосферы. Эта среда представляется им инертной, от организма не зависимой — «космической». Так, изучая организм, они изучают не природное тело, а идеальный продукт своей мысли» (Вернадский В. И. Очерки геохимии, 1934, стр. 38).

В. И. Вернадский считал, что понятие жизнедеятельность микроорганизма в природе возможно только при одновременном изучении среды его местообитания. На этом принципе был основан наш подход к изучению микроорганизмов нефтяных месторождений. Мы полагаем, что такой подход способствует реальному решению вопросов о роли микроорганизмов в преобразовании месторождений нефти и битумов.

Проблема происхождения горючих ископаемых до сих пор остается дискуссионной. Поэтому мы не остановились на вопросах участия микроорганизмов в образовании нефти и газа. Более конкретные материалы о бактериях и их деятельности относятся к сформировавшимся месторождениям. Мы сосредоточили наше внимание на тех процессах, которые протекали в толще нефтеносных недр ранее и распространены в настоящее время.

Мы пытались показать на примере различных месторождений, что развитие отдельных видов микроорганизмов и интенсивность их жизнедеятельности в полной мере зависят от экологических условий окружающей среды. Определяющими факторами экологических условий в залежах являются состав углеводородов нефти, солевой состав пластовых вод, температура, но, пожалуй, главный фактор — интенсивность водообмена в условиях пласта. С последней тесно связан и химический состав пластовых вод. Как показали многочисленные исследования, в большинстве случаев наиболее легкие нефти залегают в месторождениях зоны чрезвычайно затрудненного водообмена, где пластовые воды, в основном хлоркальциевые, высокоминерализованные. Практически в таких

месторождениях биологические процессы в настоящее время отсутствуют и геохимического изменения нефтей и вмещающих пород не происходит.

Как показали исследования стабильных изотопов, реликтовый сероводород запечатанных месторождений более обогащен легким изотопом серы (S^{32}) по сравнению с сульфатами вмещающих пород, что говорит о его биологическом происхождении, возможно, в период формирования месторождения.

В месторождениях с затрудненным или слабым водообменом, характеризующихся строго анаэробными условиями, пластовые воды зачастую содержат большее или меньшее количество сульфатов и сероводорода. Здесь встречаются почти исключительно сульфатредуцирующие и метанобразующие бактерии. Опыты с использованием радиоактивных изотопов серы показали, что процессы редукции сульфатов идут здесь и в настоящее время. В пластах зоны слабого водообмена с высокой температурой были обнаружены аборигенные термофильные сульфатвосстанавливающие бактерии нового вида. Общая численность бактерий в пластовых водах месторождений зоны слабого водообмена не превышает 10—40 тыс. в 1 мл.

Наиболее активно процессы преобразования нефти и редукции сульфатов идут в открытых месторождениях с большой водообменностью. Однако и здесь признаки окисленности накапливаются медленно — за геологические периоды времени. Моделью пластов с нарушенной изоляцией служат искусственно заводняемые нефтяные коллекторы. Общее число бактерий здесь возрастает до нескольких миллионов в 1 мл. На примере искусственно заводняемых нефтяных пластов разобран механизм комплексного использования углеводов биогенным аэробным и анаэробным микроорганизмом. Сопоставление данных о видовом составе микроорганизмов, встречающихся в нефтяных пластах, с их физиологией и изменением химического состава ингредиентов, происходящим в пластовых водах при закачке поверхностной воды в пласт, позволило решить ряд вопросов о динамике биологических процессов, протекающих в заводняемом месторождении.

Различные искусственно заводняемые нефтяные пласты и их участки характеризуются разной скоростью водообмена. Это обстоятельство позволило нам провести аналогию между направленностью и интенсивностью биогенных процессов в заводняемых нефтяных пластах и в месторождениях нефти, залегающих в естественных условиях в зонах с различной активностью водообмена.

Проведенные исследования дают возможность прогнозировать сроки и интенсивность развития биогенной сульфатредукции и связанных с ней процессов коррозии нефтепромыслового оборудования в заводняемых пластах.

Изучение углеводородокисляющей микрофлоры грунтовых вод привело к разработке методов газо-бактериальной разведки нефтяных и газовых месторождений.

Так, в изученной области нефтяной микробиологии стали возможными практические решения, основу которых составили теоретические исследования.

Из изложенного материала следует, что микроорганизмы, окисляющие углеводороды нефти, участвуют в образовании генетического ряда нефтей разного типа и асфальтов.

Микроорганизмы, развивающиеся в зоне свободного водообмена, разрушают твердые углеводороды озокерита и окисляют газы, диффундирующие по разломам из нефтяных и газовых месторождений. Как правило, массовое развитие бактерий, окисляющих газы, бывает приурочено к контурам нефтяного или газового месторождения.

Таким образом, мы пытались показать, что все процессы преобразования углеводородного материала в недрах земной коры связаны с жизнедеятельностью микроорганизмов.

Литература

- Абдуллаев А. З.* 1969. Микробиологическая характеристика нефтяных месторождений Апшерона. Автореф. канд. дисс., Баку.
- Абдуллаев А. З.* 1971. Микробиологический анализ Бинагадинских месторождений нефти. Сообщение 2.— Учебн. зап. Азерб. ун-та, серия биол. наук, № 4, 31.
- Александрова Т. П., Барс Е. А.* 1968. Гидрогеологические условия Азово-Кубанского нефтегазопосного бассейна. В сб. «Гидрогеологические и палеогидрогеологические обстановки нефтегазопосных областей». М., «Наука».
- Алексеев Ф. А., Лебедев В. С., Овсянников В. М.* 1973. Изотопный состав углерода газов биохимического происхождения. М., «Недра».
- Альтовский М. Е., Кузнецова З. П., Швец В. М.* 1958. Образование нефти и формирование ее залежей. М., Гостоптехиздат.
- Альтовский М. Е., Быкова Е. Л., Кузнецова З. И., Швец В. М.* 1962. Органические вещества и микрофлора подземных вод и их значение в процессах нефтегазообразования. М., Гостоптехиздат.
- Андреев П. Ф.* 1955. К вопросу о бактериальной гипотезе генезиса типов нефтей.— Труды Всес. нефт. геол.-развед. ин-та, вып. 83, 140.
- Андреевский И. Л.* 1956. Перспективы бактериальной обработки нефтяных пластов. Автореф. канд. дисс., Ухта, Коми АССР.
- Аширов К. Б.* 1961. Жизнедеятельность пластовой микрофлоры как индикатор геологических условий и процессов, протекающих в нефтяных пластах.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 9, 111.
- Аширов К. Б.* 1965. Геологическая обстановка формирования нефтяных и нефтегазовых месторождений Среднего Поволжья.— Труды ин-та Гипровостокнефть, вып. 8.
- Аширов К. Б., Максимов С. П.* 1958. Условия газопосности месторождений Куйбышевского Поволжья.— Геология нефти, № 2, 40.
- Аширов К. Б., Сазонова И. В.* 1962. О механизме биогенного запечатывания нефтяных залежей, приуроченных к карбонатным коллекторам.— Микробиология, 31, 860.
- Барановский Н. Ф., Сухарев М. Ф.* 1959. Озокерит. М., Гостоптехиздат.
- Баас-Бекинз Л. Г. М., Каплан И. Р., Мур Д.* 1963. Пределы колебаний pH и окислительно-восстановительных потенциалов природных сред. В сб. «Геохимия литогенеза». М., ИЛ.
- Баркер Х.* 1963. Брожение азотистых органических соединений. В сб. «Метаболизм бактерий». М., ИЛ.
- Белоусов В. В.* 1937. Очерк геохимии природных газов. ОНТИ.
- Белый В. М., Виноградов В. И.* 1972. Изотопный состав серы и вопросы генезиса высококонцентрированных сероводородных газов нефтепосных областей.— Геология нефти и газа, № 7, 37.
- Белякова Е. Е.* 1956. Нефтепосковое значение подземных вод и растворенных в воде газов по данным исследований в районе Самаро-Камского междуречья Волго-Уральской нефтепосной области. В сб. «Вопросы нефтепосковской гидрогеологии».— Материалы ВСЕГЕИ, нов. серия, вып. 18, 8.

- Бирштейн Э.* 1957. Нефтяная микробиология. Л., Гостоптехиздат.
- Богданова В. М.* 1961. Использование микроорганизмами азотистых соединений нефти в анаэробных условиях.— Микробиология, 30, 299.
- Богданова В. М.* 1966. Физиологические свойства микроорганизмов, выделенных в атмосфере метана и пропана.— Микробиология, 35, 234.
- Бокова Е. Н.* 1953. Образование метана при микробном разложении нефти. В сб. «Полевая и промысловая геохимия».— Труды ВНИИЯГТ, вып. 2, 25.
- Бокова Е. Н., Кузнецова В. А., Кузнецов С. И.* 1947. Окисление газообразных углеводородов бактериями как основа микробиологической разведки на нефть.— Докл. АН СССР, 56, 755.
- Вассоевич Н. Б.* 1971. Источник нефти — биогенное углеродистое вещество.— Природа, № 3, 58.
- Вернадский В. И.* 1933. История минералов земной коры, т. II. История природных вод, ч. 1. Л., Госхимтехиздат.
- Вернадский В. И.* 1955. Опыт описательной минералогии. Газообразные элементы. Избранные сочинения, т. II. М., Изд-во АН СССР.
- Володин Н. А.* 1935. Буровые воды промысла им. Орджоникидзе, окрашенные в розовый цвет.— Азерб. нефт. хоз-во, № 6, 20.
- Воробьева Г. И.* 1957. К изучению роли бактерий из рода *Pseudomonas* в нефтяной микробиологии.— Докл. АН СССР, 112, 763.
- Гаврилов В. Л.* 1970. Глубинные разломы и залежи углеводородов.— Природа, № 11, 64.
- Гасанов М. В.* 1961. Биогенное восстановление сульфатов в пластовых условиях при заводнении нефтяных месторождений морской водой.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 9, 105.
- Гинзбург-Карагичева Т. Л.* 1926. Микробиологическое исследование серносолевых вод Апшерона.— Азерб. нефт. хоз-во, № 6, 30.
- Гинзбург-Карагичева Т. Л.* 1936. Очерки микробиологии нефти. М.— Л., ОНТИ НКГП СССР, Главное изд-во горно-топливной лит-ры.
- Гинзбург-Карагичева Т. Л.* 1947. Происхождение живой микрофлоры в нефтеносных и газопосных толщах. В сб. «Происхождение нефти и природного газа». М.
- Голубович В. Н., Латушкин В. Д., Швец В. М.* 1970. Органические вещества и микрофлора в подземных водах Бухаро-Хивинской нефтеносной области. В сб. «Органические вещества и микрофлора подземных вод и их нефтепоисковое значение».— Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 26, 70.
- Горленко В. М., Кузнецова В. А.* 1966. Бактериальное восстановление сульфатов при совместном культивировании *Desulfovibrio desulfuricans* и углеводородокисляющих бактерий на минеральной среде с нефтью.— Прикладн. биохимия и микробиол., 2, 264.
- Градова Н. Б., Иванова М. В., Давидова Е. Д., Шубина Л. Н., Гелагова Т. И.* 1972. Изучение роста дрожжей на средах, содержащих углеводы и углеводороды.— Микробиол. промышленность, № 3, 13.
- Гречушкина Н. Н., Розанова Л. И.* 1971. Биосинтез влеклеточных полисахаридов некоторыми микобактериями на среде с жидкими n-алканами.— Микробиология, 40, 820.
- Гусев М. В., Шендерова Л. В., Кондратьева Е. Н.* 1970. Влияние концентраций кислорода на рост и выживаемость фотосинтезирующих бактерий.— Микробиология, 39, № 4, 562.
- Дианова Е. В., Ворошилова А. А.* 1925. Поглощение бактерий почвой и влияние его на микробиологическую деятельность.— Научно-агрном. журн., № 11.
- Добринский А. Ф.* 1948. Геохимия нефти. М., Гостоптехиздат.
- Дутова Е. Н.* 1956. О бактериях, разрушающих нефтяные кислоты, и их распространении в подземных водах. В сб. «Вопросы нефтепоисковой гидрогеологии».— Материалы ВСЕГЕИ, нов. серия, вып. 18.
- Дутова Е. Н.* 1961. О значении сульфатвосстанавливающих бактерий для поисков нефти на примере изучения подземных вод Средней Азии.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 9, 101.

- Дугова Е. Н.* 1964. Биогеохимические особенности микроорганизмов из подземных вод газонефтяных месторождений Средней Азии. В сб. «Новые данные по геологии западной части Средней Азии». — Материалы ВСЕГЕИ, вып. 14, 367.
- Заварзин Г. А.* 1972. Литотрофные микроорганизмы. М., «Наука».
- Заварзин Г. А., Жилина Т. Н.* 1964. Тионовые бактерии из термальных источников. — Микробиология, 33, 844.
- Заславский А. С.* 1952. О солелюбивых тионовокислых бактериях соляных водоемов. — Микробиология, 21, 31.
- Зобелл К. Е.* 1972. Микробная биогеохимия кислорода. — Изв. АН СССР, серия биол., № 1, 23.
- Иванов М. В.* 1964. Роль микробиологических процессов в генезисе месторождений самородной серы. М., «Наука».
- Иванов М. В., Горленко В. М.* 1966. Изучение микробиологического образования сероводорода в нефтяных месторождениях с применением $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$. — Микробиология, 35, 146.
- Игнатович Н. К.* 1945. О региональных гидрогеологических закономерностях в связи с оценкой условий нефтеносности. — Советская геология, № 6, 69.
- Исаченко Б. Л.* 1939. Пурпурные серобактерии с нижних границ биосферы. В сб. «Президенту АН СССР акад. В. Л. Комарову к семидесятилетию со дня рождения и сорокалетию научной деятельности». М., Изд-во АН СССР.
- Исаченко Б. Л., Салимовская А. Г.* 1928. К морфологии и физиологии тионовокислых бактерий. В кн. «Избранные труды», 2, 176, 1951. М., Изд-во АН СССР.
- Кавеев М. С., Сайманова Р. А.* 1959. Микробиологическая характеристика подземных вод юго-востока Татарской АССР. — Изв. Казахск. фил. АН СССР, серия геол., № 7, 389.
- Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И.* 1972. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М., «Наука».
- Каримов А. К.* 1955. Исследование ароматических углеводородов серпистых нефтей Второго Баку. В сб. «Об условиях образования нефти». — Труды ВНИГРИ, нов. серия, вып. 82.
- Карцев А. А.* 1963. Гидрогеология нефтяных и газовых месторождений. М., Гостоптехиздат.
- Козин А. Н., Мжачих К. И.* 1958. Состав газов пластовых вод нефтяных месторождений Куйбышевской области. В сб. «Геология и разработка нефтяных месторождений». — Труды ин-та Гипровостокнефть, вып. 1, 94.
- Козлов А. Л.* 1950. Проблемы геохимии природных газов. М., Гостоптехиздат.
- Колесник З. А.* 1955а. Микрофлора нефтяных месторождений Терско-Дагестанской нефтеносной области. Геологический сб., № 1. — Труды ВНИГРИ, нов. серия, вып. 83, 511.
- Колесник З. А.* 1955б. Микрофлора вод и нефтей районов Второго Баку. В сб. «Об условиях образования нефти». — Труды ВНИГРИ, нов. серия, вып. 82, 175.
- Кондратьева Е. Н.* 1972. Фотосинтезирующие бактерии и бактериальный фотосинтез. Изд-во МГУ.
- Крамаренко Л. Е.* 1956. Состав и распределение микроорганизмов в подземных водах и их поисковое значение. В сб. «Вопросы нефтепоисковой гидрогеологии». — Материалы ВСЕГЕИ, вып. 18, 93.
- Красильников Н. А.* 1949. Определитель бактерий и актиномицетов. М. — Л., Изд-во АН СССР.
- Кротова В. А.* 1957. Роль гидрогеологических факторов в образовании, сохранении и разрушении нефтяных залежей. Л., Гостоптехиздат.
- Кудрявцев Н. А.* 1971. Нефть — абиогенна. — Природа, № 3, 70.
- Кузнецов С. И.* 1950. Изучение возможности современного образования метана в газонефтеносных фациях района Саратова и Бугуруслана. — Микробиология, 19, 193.
- Кузнецов С. И.* 1955. Микроорганизмы горячих ключей Камчатка. — Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 4, 130.

- Кузнецов С. И.* 1957. Основные итоги по исследованию микрофлоры нефтяных месторождений.— *Микробиология*, 26, 651.
- Кузнецов С. И.* 1958. Значение бактерий, восстанавливающих сульфаты, при коррозии металлического оборудования. В сб. «Труды совещания по подземной коррозии». М.
- Кузнецов С. И.* 1961. Основные направления исследований геологической деятельности микроорганизмов.— *Труды Ин-та микробиол. АН СССР*, 9, 5.
- Кузнецов С. И.* 1967. Роль микроорганизмов в преобразовании и разрушении месторождений нефти.— *Изв. АН СССР, серия биол.*, № 6, 803.
- Кузнецов С. И., Иванов М. В., Ляликова Н. Н.* 1963. Введение в геологическую микробиологию. М., Изд-во АН СССР.
- Кузнецов С. И., Кузнецова В. А., Смирнова З. С.* 1947. Изучение процессов бактериального окисления углеводородных газов в условиях их диффузии через осадочные породы.— *Изв. Главн. упр. геол. фондов, вып. 3*.
- Кузнецов С. И., Панцхава Е. С.* 1961. Влияние метанобразующих бактерий на усиление электрохимической коррозии металлов.— *Докл. АН СССР*, 139, 478.
- Кузнецов С. И., Романенко В. И.* 1963. Микробиологическое изучение внутренних водоемов. М.— Л., Изд-во АН СССР.
- Кузнецова В. А.* 1960. Распространение сульфатовосстанавливающих бактерий в нефтяных месторождениях Куйбышевской области в связи с солевым составом пластовых вод.— *Микробиология*, 29, 408.
- Кузнецова В. А.* 1964. Опреснение нефтеносных пластов девона как один из факторов, стимулирующих процесс сульфатредукции.— *Микробиология*, 33, 1003.
- Кузнецова В. А.* 1965. Роль бактерий в процессе редукции сульфатов в нефтяных месторождениях. Автореф. канд. дисс., М.
- Кузнецова В. А., Горленко В. М.* 1965а. Развитие углеводородокисляющих бактерий в анаэробных условиях.— *Прикладн. биохимия и микробиол.*, 1, 623.
- Кузнецова В. А., Горленко В. М.* 1965б. Влияние температуры на развитие микроорганизмов из заводняемых пластов Ромашкинского нефтяного месторождения.— *Микробиология*, 34, 329.
- Кузнецова В. А., Ли А. Д.* 1964. Закономерности развития сульфатовосстанавливающих бактерий в нефтяных пластах Д₁* Ромашкинского месторождения при их заводнении.— *Микробиология*, 33, 314.
- Кузнецова В. А., Ли А. Д., Тифорова Н. Н.* 1963. Определение источников заражения сульфатовосстанавливающими бактериями нефтеносных пластов Д₁ Ромашкинского месторождения.— *Микробиология*, 32, 683.
- Кузнецова В. А., Панцхава Е. С.* 1962. Влияние опреснения пластовых вод на развитие галофильных сульфатовосстанавливающих бактерий.— *Микробиология*, 31, 129.
- Кузнецова З. И.* 1957. Изучение количественного содержания бактерий в подземных водах нефтяных месторождений.— *Микробиология*, 26, 189.
- Кузнецова З. И.* 1959а. Распределение десульфуризирующих бактерий по падению водоносного пласта (Терско-Дагестанская нефтеносная провинция). В сб. «Вопросы гидрогеологии и инженерной геологии».— *Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 18, 51*.
- Кузнецова З. И.* 1959б. Изучение влияния сульфатредуцирующих и метанобразующих бактерий на газовый и химический состав подземных вод п-ова Челекен. В сб. «Вопросы гидрогеологии и инженерной геологии».— *Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 18, 59*.
- Кузнецова З. И.* 1961. Распространение и экология микроорганизмов в глубинных подземных водах некоторых территорий СССР.— *Труды Ин-та микробиол. АН СССР*, 9, 124.
- Кузнецова З. И.* 1963. Распространение бактерий в подземных водах и использование микробиологических данных для оценки нефтеносности. М., ВСЕГИНГЕО.
- Кузнецова З. И.* 1966. Распространение бактерий в подземных водах в зави-

- симости от окислительно-восстановительных условий среды.— Микробиология, 35, 894.
- Кузнецова З. И. 1969. Роль денитрифицирующих бактерий в образовании биогенного азота в подземных водах. В сб. «Вопросы геохимии подземных вод».— Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 20, 146.
- Кузнецова З. И., Швец В. М. 1970а. Органические вещества и микрофлора в подземных водах Ферганы. В сб. «Органические вещества и микрофлора подземных вод и их нефтепоисковое значение».— Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 26, 70.
- Кузнецова З. И., Швец В. М. 1970б. Особенности распространения и нефтепоисковое значение органических веществ и микрофлора в подземных водах Ферганской и Бухаро-Хивинской нефтегазоносных областей. В сб. «Органические вещества и микрофлора подземных вод и их нефтепоисковое значение».— Труды ВСЕГИНГЕО, вып. 26, 105.
- Ли А. Д., Кузнецова В. А. 1963. Факторы, влияющие на образование сероводорода в нефтяных пластах Ромашкинского месторождения.— Нефтепромысл. дело, № 9, 9.
- Листова Л. П., Бондаренко Г. П. 1969. Растворение сульфидов свинца, цинка и меди в окислительных условиях. М., «Наука».
- Малашенко Ю. Р., Романовская В. А., Квасников Е. И. 1972. О систематическом положении бактерий, использующих газообразные углеводороды.— Микробиология, 41, 871.
- Малияну А. А. 1935. Очистка нефти от серы микробиологическим путем.— Азерб. нефт. хоз-во, № 6, 89.
- Малышек В. Т., Малияну А. А., Рейнфельд Э. А. 1935. Наличие серобактерий в пластовых «розовых» водах Сураханского нефтяного месторождения и геологическое значение этого фактора.— Азерб. нефт. хоз-во, № 7—8, 39.
- Мезгиева В. Л. 1962. Распространение микроорганизмов в пластовых водах Куйбышевского Поволжья.— Геохимия, № 8, 708.
- Мезгиева В. Л., Кондратьев Р. М., Чурмантева М. Н. 1964. Фракционирование стабильных изотопов серы в процессе бактериальных окислительно-восстановительных реакций.— Труды геохим. конф. на тему «Химия земной коры», посвящ. столетию со дня рождения В. И. Вернадского, т. II, 601.
- Мешков А. Н. 1958. Применение метода прямого счета для изучения микрофлоры нефти.— Микробиология, 27, 390.
- Мжачих К. И. 1959. Некоторые вопросы метаморфизма нефти в пластовых условиях. В сб. «Геология и разработка нефтяных месторождений».— Труды пп-та Гипровостокнефть, вып. 2, 178.
- Мжачих К. И., Аширов К. Б. 1961. К геохимии дейтерия в нефтях и битумах нефтяного ряда.— Советская геология, № 6.
- Миллер Ю. М., Капустин О. А., Жилина Т. Н., Заварзин Г. А. 1973. Отсутствие выделения азота метаносарциной.— Микробиология, 42, 549.
- Митгарц Б. Б. 1956. Нефтепоисковое значение состава подземных вод по данным исследований в Фергане. В сб. «Вопросы нефтепоисковой гидрогеологии». Материалы ВСЕГЕИ, нов. серия, вып. 18, 58.
- Могилевский Г. А. 1958. О природе и рациональной методике выявления геохимических аномалий. В сб. «Геохимические методы поисков нефтяных и газовых месторождений».— Труды совещ. по геохимическим методам. М., Изд-во АН СССР.
- Могилевский Г. А. 1961. Некоторые закономерности в распределении природных газов и микроорганизмов в зоне нефтяных и газовых месторождений.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, вып. 9, 46.
- Могилевский Г. А. 1964. Совместная интерпретация данных газовых и микробиологических исследований. В сб. «Прямые методы поисков нефти и газа». М., «Недра».
- Могилевский Г. А., Богданова В. М., Кичатова Е. Н., Славина Г. П., Телегина З. П., Филиппова А. А., Черкинская В. С. 1970. Бактериальный

- фильтр в зоне нефтяных и газовых месторождений, его особенности и методы изучения.— Труды ВНИИЯГГ, вып. 8, 211.
- Муратов В. Н.* 1954. Образование озокерита и формирование его залежей. М., Гостоптехиздат.
- Наметкин С. С.* 1955. Собрание трудов, т. III. М., Изд-во АН СССР.
- Наумова Р. П.* 1960. Сравнительное изучение нафталинокисляющих бактерий в подземных водах.— Микробиология, 29, 415.
- Нестеров И. И., Салманов Ф. К., Шпильман К. А.* 1971. Нефтяные и газовые месторождения Западной Сибири. М., «Недра».
- Никитин Г. О.* 1968. Метановое брожение на сложных средах.— Микробиол. ж., 30, 8.
- Норенкова И. К.* 1966. Микробактерии, выделенные из пластовых вод нефтяных месторождений северо-восточного Сахалина.— Микробиология, 35, 890.
- Ованатов С. Т.* 1962. Геология и нефтегазоносность Фатьман-Зыхской антиклинальной зоны Апшеронского полуострова. Баку, «Азернешр».
- Осницкая Л. К.* 1942. Превращение нафтеновых кислот микроорганизмами.— Микробиология, 11, 81.
- Осницкая Л. К.* 1954. Новый вид пурпурной бактерии из пластовых вод нефтяного месторождения (*Rhodopseudomonas issatchenkoi* n. sp.).— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, вып. 3, 5.
- Осницкая Л. К.* 1958. Микробиологическое исследование пластовых вод нефтяных месторождений Восточно-Карпатской области.— Микробиология, 27, 478.
- Павлова С. Н., Дрицкая З. В., Гофман П. С.* 1955. Методы исследования нефтей и нефтепродуктов. М., Гостоптехиздат.
- Панкина Р. Г., Мехтиева В. Л.* 1964. Изотопный состав серы H_2S попутных газов бобринковского горизонта Волго-Уральской области.— Геохимия, 9, 866.
- Панцова Е. С., Пчелкина В. В., Букин В. Н.* 1973. Образование метана п уксусной кислоты из метилкобаламина бесклеточными экстрактами *Methanobacillus kuznesceovii*.— Биохимия, 38, 507.
- Петрова Ю. Н., Касаткина Н. Ф.* 1951. Сравнительное изучение твердых углеводородов озокеритов и парафинистых нефтей.— Геохим. сб., № 2-3, 22.
- Покровский В. А.* 1961. О нижней границе биосферы на территории Европейской части СССР по данным региональных геотермических исследований.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 9, 70.
- Померанц Л. Б.* 1966. Факультативно-автотрофные тионовые бактерии, выделенные из подземных вод нефтяных и серных месторождений.— Микробиология, 35, 350.
- Преобразование нефтей микроорганизмами. 1970.— Труды ВНИГРИ, вып. 281. Л., ОНТИ.
- Пьянков Н. А.* 1966. Закономерности изменения свойств нефтей и газов Пермской области. В сб. «Новые данные о геологическом строении и нефтегазоносности Пермского Прикамья».— Труды Камского филиала ВНИГРИ, вып. 57, 380.
- Рачинский В. В., Давидова Е. Г., Лапотышкина А. И.* 1971. Механизм транспорта n-парафинов в клетки дрожжей.— Докл. АН СССР, 201, 717.
- Резников А. А., Муликовская Е. П., Соколов И. Ю.* 1970. Методы анализа природных вод. М., «Недра».
- Рейнфельд Э. А.* 1933а. Микробиологическое исследование фонтанной нефти и воды, ее сопровождающей.— Труды Азерб. научно-исслед. ин-та, вып. 21, 1.
- Рейнфельд Э. А.* 1933б. Денитрифицирующие бактерии некоторых нефтяных районов. Баку, Азнефтыиздат.
- Розанова Е. П.* 1964. Микробиологическое исследование нефтей и пластовых вод Бориславской сквадки в связи с выяснением роли микроорганизмов в генезисе озокерита.— Микробиология, 33, 692.

- Розанова Е. П. 1967. Использование углеводов микроорганизмами.— Успехи микробиологии, 4, 61.
- Розанова Е. П. 1971а. Распространение микрофлоры в длительно эксплуатирующихся нефтяных пластах.— Микробиология, 40, 363.
- Розанова Е. П. 1971б. Морфология и некоторые физиологические свойства пурпурных бактерий из нефтяных пластов.— Микробиология, 40, 152.
- Розанова Е. П., Балдина А. Л., Быков В. Н., Косогорова Т. А. 1971. Влияние закачки пресных вод в нефтяные пласты Пермского Прикамья на распространение в них микрофлоры.— Микробиология, 40, 718.
- Розанова Е. П., Балдина А. Л., Быков В. Н., Косогорова Т. А. 1972. Образование сероводорода в заводняемых нефтяных коллекторах разного типа.— Микробиология, 41, 362.
- Розанова Е. П., Быков В. Н., Балдина А. Л., Косогорова Т. А. 1973. Закономерность развития сульфатредукции в карбонатном нефтяном коллекторе.— Микробиология 42, 347.
- Розанова Е. П., Жилина Т. Н. 1973. Влияние компрессорного способа извлечения нефти на микрофлору нефтяных пластов. В сб. «Геохимическая деятельность микроорганизмов в озерах и месторождениях полезных ископаемых». М.
- Розанова Е. П., Кузнецов С. И. 1972. Образование газообразного азота из аммонийного в процессе метанового брожения.— Микробиология, 41, 744.
- Розанова Е. П., Мехтиева Н. А., Алиева Н. Ш. 1969. Микробиологические процессы и коррозии металлического оборудования в заводняемом нефтяном пласте.— Микробиология, 38, 860.
- Розанова Е. П., Талыблы А., Лебедева Е. В. 1973. Развитие сульфатредукции в разных зонах заводняемого нефтяного пласта Апшерона. В сб. «Геохимическая деятельность микроорганизмов в озерах и месторождениях полезных ископаемых». М.
- Розанова Е. П., Худякова А. И. 1970. Пурпурные бактерии в нефтяных пластах Апшеронского полуострова.— Микробиология, 39, 372.
- Розанова Е. П., Худякова А. И. 1973. Сульфатвосстанавливающие бактерии из нефтяных пластов Апшерона.— Микробиология, 42 (1), 136.
- Розанова Е. П., Штурм Л. Д. 1960. Изучение аминокислот, поступающих в среду при развитии микроорганизмов на нефти, в связи с генезисом озокеритоподобных битумов.— Микробиология, 29, 710.
- Розанова Е. П., Штурм Л. Д. 1964. Видовой состав микроорганизмов, выделенных из бориславского озокеритового месторождения, и их отношение к компонентам нефти и озокерита.— Микробиология, 33, 126.
- Розанова Е. П., Штурм Л. Д. 1965. Характеристика микрофлоры месторождения озокерита в Шор-Су.— Микробиология, 34, 888.
- Розанова Е. П., Штурм Л. Д. 1966. Изменение состава озокерита под действием микроорганизмов.— Микробиология, 35, 138.
- Рыбакова С. Г. 1957. Микрофлора глубинных нефтей третичного возраста Апшеронского полуострова. — Докл. АН СССР, 115, 813.
- Сафонова И. В. 1961. Результаты изучения пластовой микрофлоры нефтяных месторождений Куйбышевской области.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, 9, 121.
- Сафонова И. В., Паршина В. П., Шарыгина Н. Ф. 1965. Влияние закачки пресной воды в нефтяной пласт на развитие пластовой микрофлоры. В сб. «Геология и разработка нефтяных месторождений».— Труды Ин-та Гипростокнефть, вып. 9, 341.
- Семенов Н. Н. 1954. Развитие цепной теории окисления углеводов. В сб. «Проблемы окисления углеводов». М., Изд-во АН СССР.
- Сергеев С. Г. 1964. Высокомолекулярные соединения нефти. М., Гостоптехиздат.
- Симакова Т. Л., Горская А. И., Колесник З. А., Болотская О. П., Шмонова Н. И., Стригалева Н. В. 1959. Характер изменения нефтей в анаэробных условиях под влиянием биогенного фактора. В сб. «Вопросы образования нефти».— Труды ВНИГРИ, вып. 128, 315.

- Симакова Т. Л., Колесник З. А.* 1962. Бактерии пластовых вод нефтей и пород. Л., Гостоптехиздат.
- Симакова Т. Л., Ломова М. А.* 1958. К изучению микрофлоры нефтяных месторождений Второго Баку. В сб. «О происхождении нефти в каменноугольных и пермских отложениях Волго-Уральской области».— Труды ВНИГРИ, вып. 117, 213.
- Симакова Т. Л., Стригалева Н. В., Колесник З. А., Воронова И. К., Герасюто З. И., Шмонова Н. И.* 1961. Роль бактерий в преобразовании углеводородной части и асфальтово-смолистых компонентов парафинистой нефти в анаэробных условиях. Геохим. сб., № 3.— Труды ВНИГРИ, вып. 174, 77.
- Скрябин Г. К., Головлева Л. А.* 1972. Микробиологическая трансформация органических соединений в соокислительных условиях.— Изв. АН СССР, серия. биол., № 2, 232.
- Славина Г. П.* 1963а. Деканокисляющие бактерии, изолированные из глубинных вод Северного Предкавказья.— Микробиология, 32, 403.
- Славина Г. П.* 1963б. Термоустойчивые бактерии, окисляющие газообразные и жидкие углеводороды.— Микробиология, 32, 121.
- Славина Г. П.* 1965. Нафталинокисляющие бактерии в подземных водах нефтяных месторождений.— Микробиология, 34, 128.
- Славина Г. П.* 1970. Бактерии, использующие ароматические углеводороды. В сб. «Геохимические методы поисков нефти и газа и вопросы ядерной геологии».— Труды ВНИИЯГГ, вып. 8, 247.
- Славина Г. П.* 1971. Физиологические свойства и видовая принадлежность метанокисляющих микроорганизмов, выделенных в районах Белоруссии, Кавказа и Урало-Поволжья. В сб. «Результаты разработки и опробования прямых, геохимических методов поисков месторождений нефти и газа».— Труды ВНИИЯГГ, вып. 10, 10.
- Смирнова З. С.* 1957. Определение градицы проприковенция бактерий из глинистого раствора в керны различных пород.— Микробиология, 26, 745.
- Смирнова З. С.* 1961. Контрольный метод для микробиологического исследования глубинных пород.— Геология нефти и газа, № 12, 49.
- Соколов В. А.* 1948. Очерки генезиса нефти. М., Гостоптехиздат.
- Соколова Г. А.* 1961. Распространение *Thiobacillus thioaragus* в сероводородных подземных водах.— Микробиология, 30, 503. •
- Соколова Г. А., Каравайко Г. И.* 1964. Физиология и геохимическая деятельность тионовых бактерий. М., «Наука».
- Соколова М. Н., Миронов С. И., Никитина Л. М.* 1958. Нефти и битумы Минусинской котловины. В сб. «Нефти и битумы Сибири». М., Изд-во АН СССР.
- Соколова М. Н., Капелюшникова Л. М., Миронов С. И.* 1962а. О природе азотистых соединений в битумах девона Минусинской котловины. В сб. «Геохимия каустобиолитов и их месторождений». М., Изд-во АН СССР.
- Соколова М. Н., Миронов С. И., Штурм Л. Д.* 1962б. Биохимическое окисление парафинов и парафинистых нефтей Минусинской котловины. В сб. «Геохимия нефти и нефтяных месторождений». М., Изд-во АН СССР.
- Сорокин Ю. И.* 1953. Баланс углерода при автотрофном питании бактерий, восстанавливающих сульфаты молекулярным водородом.— Докл. АН СССР, 90, 897.
- Сорокин Ю. И.* 1957. К вопросу о способности сульфатвосстанавливающих бактерий использовать метан для восстановления сульфатов до сероводорода.— Докл. АН СССР, 115, 816.
- Сорокин Ю. И.* 1966а. Источники энергии и углерода для биосинтеза у сульфатвосстанавливающих бактерий.— Микробиология, 35, 761.
- Сорокин Ю. И.* 1966б. Исследование конструктивного обмена сульфатредуцирующих бактерий с помощью C^{14} .— Микробиология, 35, 967.
- Сорокин Ю. И.* 1966в. О роли углекислоты и ацетата в биосинтезе у сульфатредуцирующих бактерий.— Докл. АН СССР, 168, 199.

- Сорокин Ю. И.* 1970. О механизме химического и биологического окисления сульфидов натрия, кальция и железа.— *Микробиология*, 39, 253.
- Стацук М. Ф.* 1968. Проблема окислительно-восстановительного потенциала в геологии. М., «Недра».
- Сулин В. А.* 1946. Воды нефтяных месторождений в системе природных вод. М., Гостоптехиздат.
- Сулин В. А.* 1948. Гидрогеология нефтяных месторождений. М., Гостоптехиздат.
- Таусон В. О.* 1939. Окисление парафина дрожжевыми и дрожжеподобными организмами.— *Микробиология*, 8, 828.
- Таусон В. О.* 1950. Основные положения растительной биоэнергетики. М., Изд-во АН СССР.
- Таусон В. О., Алешина В. И.* 1932. О восстановлении сульфатов бактериями в присутствии углеводов.— *Микробиология*, 1, 229.
- Таусон В. О., Шапиро С. Л.* 1934. Общее направление процесса окисления нефти бактериями.— *Микробиология*, 3, 79.
- Телегина З. П.* 1961. Распространение и видовой состав бактерий, окисляющих газообразные углеводороды в подземных водах газовых месторождений Азово-Кубанской впадины.— *Труды Ин-та микробиол. АН СССР*, вып. 9, 131.
- Телегина З. П., Смирнова З. С.* 1959. Влияние органических веществ на интенсивность окисления пропана у *Mycobacterium lacticolum* и *Pseudomonas* sp.— *Труды Ин-та микробиол. АН СССР*, вып. 6, 110.
- Телегина З. П., Черкинская Б. С.* 1971. Возможность образования непредельных углеводородов при окислении предельных углеводородов микроорганизмами. В сб. «Результаты разработки и опробования прямых геохимических методов поисков месторождений нефти и газа».— *Труды ВНИИЯГГ*, вып. 10, 61.
- Уваров И. П., Давидов Е. Р., Гололобов А. Д., Рачинский В. В.* 1970. Фиксация CO₂ при культивировании дрожжей на октадекане и глюкозе.— *Прикладн. биохимия и микробиол.*, 6, 502.
- Успенская В. Э., Кондратьева Е. Н.* 1972. Рост фотосинтезирующих бактерий *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* в темноте в аэробных условиях.— *Микробиология*, 41, 449.
- Успенский В. А., Горская А. И., Карпова И. П.* 1947. Генезис альгаритов и процессы анаэробного окисления нефтей.— *Изв. АН СССР*, серия геол., 4, 89.
- Успенский В. А., Радченко О. А., Глебовская Е. А., Горская А. И., Шишкова А. П., Парпарова Г. М., Кологова Л. Ф., Мельцанская Т. Н.* 1964. Основы генетической классификации битумов. Л., «Недра».
- Успенский В. А., Радченко О. А., Глебовская Е. А., Шишкова А. П., Мельцанская Т. Н., Инденбом Ф. Б.* 1961. Основные пути преобразования битумов в природе и их классификации. Л., ВНИГРИ.
- Храмов Н. А.* 1953. Озокеритовые месторождения СССР. М., Гостоптехиздат.
- Худяков Н. Н.* 1926. Адсорбция бактерий почвой и ее влияние на микробиологические процессы в почве.— *Почвоведение*, № 2.
- Черножуков Н. И., Крейн С. Э.* 1955. Окисляемость минеральных масел. М., Гостоптехиздат.
- Чертков Я. Б.* 1964. Неуглеводородные соединения в нефтепродуктах. М., «Химия».
- Швец В. М., Селецкий Ю. Б., Голубович В. Н.* 1969. Содержание и особенности распространения органических веществ и микрофлоры в подземных водах южной части Западно-Сибирской низменности. В сб. «Вопросы геохимии подземных вод».— *Труды ВСЕГИНГЕО*, вып. 20, 182.
- Шейко В.* 1901. Опыт бактериологического исследования нефти.— *Нефтяное дело*, 7, 401.
- Штурм Л. Д.* 1950а. Некоторые наблюдения над развитием *Vibrio desulfuricans* в аэробных условиях.— *Микробиология*, 19, 289.
- Штурм Л. Д.* 1950б. Материалы по микробиологическому исследованию неф-

- тяных месторождений Второго Баку.— Труды Ин-та нефти АН СССР, т. III, 97.
- Штурм Л. Д.* 1951. Роль сульфатовосстанавливающих бактерий в жизни и истории нефтяных месторождений. В сб. «Памяти акад. М. И. Губкина». М., Изд-во АН СССР.
- Штурм Л. Д.* 1952. Морфологические особенности сульфатовосстанавливающих бактерий, встречающихся в нефтяных месторождениях.— Труды Ин-та микробиол. АН СССР, вып. 2, 3.
- Штурм Л. Д.* 1957. Об использовании молекулярного водорода сульфатовосстанавливающими бактериями нефтяных месторождений.— Микробиология, 26, 710.
- Штурм Л. Д.* 1961. Роль микроорганизмов в образовании озокеритоподобных битумов. — Изв. АН СССР, серия биол., № 2, 278.
- Штурм Л. Д., Розанова Е. П.* 1961. Изучение микроорганизмов Минусинской котловины в связи с генезисом озокеритоподобных битумов.— Микробиология, 30, 122.
- Штурм Л. Д., Розанова Е. П.* 1963. Изучение дрожжей из рода *Candida*, развивающихся на углеводородах, выделенных из озокеритового месторождения.— Микробиология, 32, 1013.
- Экзерцев В. А.* 1958. Изучение процесса разрушения нефти микроорганизмами в анаэробных условиях.— Микробиология, 27, 626.
- Экзерцев В. А.* 1960. Образование метана микроорганизмами в нефтяных месторождениях.— Геохимия, № 4, 363.
- Экзерцев В. А., Кузнецов С. И.* 1954. Исследования микрофлоры нефтеносных месторождений Второго Баку.— Микробиология, 23, 3.
- Abbot B. J., Casida L. E.* 1968. Oxidation of alkanes to internal monoalkenes by a *Nocardia*.— J. Bacteriol., 96, 925.
- Adachi K., Iwayama Y., Tanioka H., Takeda Y.* 1966. Purification and properties of homogentisate oxygenase from *Pseudomonas fluorescens*.— Biochim. et biophys. acta, 118, 88.
- Akagi J. M.* 1964. Phosphoroclastic reaction of *Clostridium nigrificans*.— J. Bacteriol., 88, 813.
- Akagi J. M., Jackson G.* 1967. Degradation of glucose by proliferating cells of *Desulfotomaculum nigrificans*.— Appl. Microbiol., 15, 1427.
- Aleem M. T. H.* 1969. Generation of reducing power in chemosynthesis. VI. Energy-linked reactions in the chemoautotroph *Thiobacillus neapolitanus*.— Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol., 35, 379.
- Ali Khan M. J., Hall A. N., Robinson D. S.* 1964. Products of the oxidation of selected alkanes by a gram-negative bacterium.— Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. and Serol., 30, 417.
- Allen J. E., Markovetz A. T.* 1970. Oxidation of n-tetradecane and 1-tetradecene by Fungi.— J. Bacteriol., 103, 426.
- Arai Y., Yamada K.* 1969. Studies on the utilization of hydrocarbons by microorganisms. Part XII. Screening of alicyclic hydrocarbon-assimilating microorganisms and trans-4-ethylcyclohexanol formation from ethylcyclohexane.— Agric. and Biol. Chem., 33, 63.
- Azoulay E., Chouteau T., Davidovics G.* 1963. Isolement et caractérisation des enzymes responsables de l'oxydation des hydrocarbures.— Biochim. et biophys. acta., 77, 554.
- Baggi G., Catelani D., Galli E., Treccani V.* 1972. The microbial degradation of phenylalkanes, 2-phenylbutane, 3-phenylpentane, 3-phenyldodecane and 4-phenylheptane.— Biochem. J., 126, 1091.
- Barker H. A.* 1956. Biological formation of methane.— Industr. and Engng. Chem., 48, 11, 1443.
- Barton L. L., Peck H. D.* 1971. Phosphorylation coupled to electron transfer between lactate and fumarate in cell-free extracts of the sulfate-reducing anaerobe *Desulfovibrio gigas*.— Bacteriol. Proc., p. 149.
- Bastin E.* 1926. The presence of sulfate-reducing bacteria in oil field waters.— Science, 63, 21.

- Bayly R., Dagley S., Gibson D. T. 1966. The metabolism of cresols by species of *Pseudomonas*.— *Biochem. J.*, 101, 293.
- Beam H. W., Perry J. J. 1973. Co-metabolism as a factor in microbial degradation of cycloparaffinic hydrocarbons.— *Arch. Mikrobiol.*, 91, 87.
- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 1957 Breed R. S., Murray E. G. D., Smith N. R (Eds). 7 Ed. Baltimore, Williams, Wilkins Co.
- Blakley E. R. 1967. The metabolism of aromatic compounds with different side chains by a *Pseudomonas*.— *Canad. J. Microbiol.*, 13, 761.
- Blaylock B. A., Stadtman T. C. 1966. Methane biosynthesis by *Methanosarcina barkerii*. Properties of the soluble enzyme system.— *Arch. Biochem. and Biophys.*, 116, 138.
- Blevins W. T., Perry J. J. 1972. Metabolism of propane, n-propylamine and propionate by hydrocarbon-utilizing bacteria.— *J. Bacteriol.*, 112, 513.
- Bogan R. H., Sawyer C. N. 1955. Biochemical degradation of synthetic detergents. II. Studies on the relation between chemical structure and biochemical oxidation.— *Sewage and Insudtr. Wastes*, 27, 917.
- Bos P., Bruyn de J. C. 1973. The significance of hydrocarbon assimilation in yeast identification.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 39, 99.
- Brandenburg C. F., Latham D. R., Cook G. L., Haines W. E. 1964. Identification of cycloalkyl ketone in Wilmington petroleum through use of chromatography and spectroscopy.— *J. Chem. Engn. Data*, 9, 463.
- Bryant M. P., Wolin E. A., Wolin M. T., Wolfe R. S. 1967. *Methanobacillus omelianskii* — a symbiotic association of two species of bacteria.— *Arch. Mikrobiol.*, 59, 20.
- Campbell L., Kasprzycki M. A., Postgate J. R. 1966. *Desulfovibrio africanus* sp. n.— a new dissimilatory sulfate-reducing bacterium.— *J. Bacteriol.*, 92, 1122.
- Campbell L., Postgate J. R. 1965. Classification of the spore-forming sulfate-reducing bacteria.— *Bacteriol. Revs*, 29, 359.
- Cardini G., Jurtshuk P. 1968. Cytochrome P-450 involvement in the oxidation of n-octane by cell-free extracts of *Corynebacterium* sp. strain ZEPC.— *J. Biol. Chem.*, 243, 6070.
- Cardini G., Jurtshuk P. 1970. The enzymatic hydroxylation of n-octane by *Corynebacterium* sp. st. 7E1C.— *J. Biol. Chem.*, 245, 2789.
- Catterall F. A., Williams P. A. 1971. Some properties of the naphthalene-oxygenase from *Pseudomonas* sp. NCIB 9816.— *J. Gen. Microbiol.*, 67, 117.
- Chapman R. J., Dagley S. 1962. Oxidation of homogentisic acid by cell-free extracts of a vibrio.— *J. Gen. Microbiol.*, 28, 251.
- Charkavarty M., Amin P. M., Singh H. D., Baruach J. N., Ijengar M. S. 1972. A kinetic model for microbial growth on solid hydrocarbons.— *Biotechnol. and bioengng*, 14, 61.
- Chosrovi B., Macpherson R., Miller I. D. A. 1971. Some observation on growth and hydrogen uptake by *Desulfovibrio vulgaris*.— *Arch. Mikrobiol.*, 80, 324.
- Corrick J. D., Rose M. J., Sutton J. A., Carosella J. M. 1970. Microbial conversion of hydrous calcium sulfate to hydrogen sulfide.— Bureau Mines Rept Investigations US Dept Interior, № 7355, 622. 06175.
- Dagley S. 1971. Catabolism of aromatic compounds by microorganisms.— *Adv. Microbial Physiol.*, 6, 1.
- Davies T. R. 1973. Isolation of bacteria capable of utilizing methane as a hydrogen-donor in the process of denitrification.— *Water Res.*, 7, 575.
- Davis J. B. 1952. Studies of soil samples from paraffine dirt bed.— *Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geologists*, 36, 2186.
- Davis J. B. 1967. *Petroleum microbiology*. Amsterdam, London, N. Y., Elsevier Publ. Co.
- Davis J. B., Raymond R. L. 1961. Oxidation of alkyl-substituted cyclic hydrocarbons by a *Nocardia* during growth on n-alkanes.— *Appl. Microbiol.*, 9, 383.
- Davis J. B., Rodney M. S. 1954. Detection of microbially produced gaseous hydrocarbons other than methane.— *Science*, 119, 381.

- Davis J. B., Updegraff D.* 1954. Microbiology in the petroleum industry.— *Bacteriol. Revs.*, 18, 215.
- Davis J. B., Yarbrough H. F.* 1966. Anaerobic oxidation of hydrocarbons by *Desulfovibrio desulfuricans*.— *Chem. Geol.*, 2, 137.
- Douros T. D., Frankenfeld J. W.* 1968. Oxidation of alkylbenzenes by a strain of *Micrococcus cerificans* growing on n-paraffins.— *Appl. Microbiol.*, 16, 532.
- Dutton P. L., Evans W. C.* 1969. The metabolism of aromatic compounds by *Rhodopseudomonas palustris*. A new reductive method of aromatic ring metabolism.— *Biochem. J.*, 113, 525.
- Einsele A., Fiechter A., Knöpfel H. P.* 1972. Respiratory activity of *Candida tropicalis* during growth on hexadecane and on glucose.— *Arch. Mikrobiol.*, 82, 247.
- Eyk van J., Bartels T. J.* 1968. Paraffin oxidation in *Pseudomonas aeruginosa*. I. Induction of paraffin oxidation.— *J. Bacteriol.*, 96, 706.
- Eyk J. van., Bartels T. J.* 1970. Paraffin oxidation in *Ps. aeruginosa*. II. Gross fractionation of the enzyme system into soluble and particulate components.— *J. Bacteriol.*, 104, 1065.
- Findley J. E., Akagi J. M.* 1970. Role of thiosulfate in bisulfite reduction as catalyzed by *Desulfovibrio vulgaris*.— *J. Bacteriol.*, 103, 741.
- Forney F. W., Markovetz A. J.* 1970. Subterminal oxidation of aliphatic hydrocarbons.— *J. Bacteriol.*, 102, 281.
- Forro J. R.* 1966. Microbial oxidation of toluene.— *Dissert. abstracts*, 26, 6305.
- Foster J. W.* 1962. Hydrocarbons as substrates for microorganisms.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 28, 241.
- Foster J. W., Davis R. H.* 1966. A methane-dependent Coccus with notes on classification and nomenclature of obligate, methane-utilizing bacteria.— *J. Bacteriol.*, 91, 1924.
- Fredericks R. M.* 1967. Products of the oxidation of n-decane by *Pseudomonas aeruginosa* and *Mycobacterium rodochrous*.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 33, 41.
- Fuhs C. W.* 1961. Der mikrobielle Abbau Kohlenwasserstoffen.— *Arch. Mikrobiol.*, 39, 374.
- Fujisawa H., Hayashi O.* 1968. Protocatechuate — 3,4-dioxygenase. I. Crystallization and characterization.— *J. Biol. Chem.*, 243, 2673.
- Fusao T., Takeo S.* 1972. Extracellular accumulation of DNA by hydrocarbon-utilizing bacteria.— *Agric. and Biol. Chem.*, 36, 133.
- Gallo M., Bertrand J. C., Azoulay S.* 1971. Participation du cytochrome P₄₅₀ dans l'oxydation des alcanes chez *Candida tropicalis*.— *FEBS Letters*, 19, 45.
- Gibson D. T., Cardini G. E., Maseles F. C., Kallio K. E.* 1970a. Incorporation of oxygen-18 into benzene by *Ps. putida*.— *Biochemistry*, 9, 1631.
- Gibson D. T., Hensley M., Yoshioka H., Mabry T. J.* 1970b. Formation of (+) cis-2,3-dihydroxy-1-methylcyclohexa-4,6-diene from toluene by *Pseudomonas putida*.— *Biochemistry*, 9, 1626.
- Gibson D. T., Wood J. M., Chapman P. J., Dagley S.* 1967. Bacterial degradation of aromatic compounds.— *Biotechnol. and Bioengng*, 9, 33.
- Goma G., Pareilleux A., Durand G.* 1972. Fermentation sur n-alcanes: variation de la solubilité des hydrocarbures au cours de la croissance de *Candida lipolytica*.— *C. r. Acad. sci.*, 7, 873.
- Griffin M., Trudgill P. W.* 1972. The metabolism of cyclopentanol by *Pseudomonas NCIB 9872*.— *Biochem. J.*, 129, 595.
- Griffits E., Evans W. C.* 1965. A ceel-free perhydroxylase system from soil pseudomonads, with activity on aromatic hydrocarbons.— *Biochem. J.*, 95, 51.
- Haddleston R. L., Allred R. C.* 1963. Microbial oxidation of sulfonated alkylbenzenes.— *Developm. Industr. Microbiol.*, 4, 24.
- Hansen T. A., van Gernerden H.* 1972. Sulfide utilization by purple nonsulfur bacteria.— *Arch. Mikrobiol.*, 86, 49.
- Haschke K. H., Campbell L. L.* 1971. Thiosulfate-reductase of *Desulfovibrio vulgaris*.— *J. Bacteriol.*, 106, 603.

- Hashwa F., Pfennig N. 1972. The reductive enzymatic cleavage of thiosulfate methods and applications.— Arch. Mikrobiol., 81, 36.
- Heydeman M. T., Azoulay E. 1963. Extraction and properties of aldehydedehydrogenase from *Pseudomonas aeruginosa*.— Biochim. et biophys. acta, 77, 545.
- Heyer J. 1966. Beobachtungen über das Wachstum von Bakterien in nicht-wässrigen Medien.— Vorträge der Internat. Sympos. «Erdölmikrobiologie», Brno CSSR, 1964. Berlin, Akademie-Verlag.
- Heyer J., Schwartz W. 1970. Untersuchungen zur Erdölmikrobiologie. V. Leben in nicht wässrigen Medien. 1— Verhalten von Mikroorganismen im Kontakt mit Mineralöl. Z. allgem. Mikrobiol., 10, 545.
- Higgins S. J., Mandelstam J. 1972. Regulation of pathways degrading aromatic substrates in *Pseudomonas putida*. Enzymic response to binary mixtures of substrates.— Biochem. J., 126, 901.
- Higgins I. J., Quayle J. R. 1970. Oxydation of methane by methane-grown *Ps. methanica* and *Methanomonas methanica*.— Biochem. J., 118, 201.
- Horvath R. S. 1972. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature.— Bacteriol. Revs, 36, 146.
- Howell L. G., Spector T., Mossey V. 1972. Purification and properties of p-hydroxybenzoate hydroxylase from *Pseudomonas fluorescens*.— J. Biol. Chem., 247, 4340.
- Hutchinson M., Johnston K. J., White D. 1965. The taxonomy of certain thiobacilli.— J. Gen. Microbiol., 41, 357.
- Hutchinson M., Johnston K. J., White D. 1966. Taxonomy of acidophilic thiobacilli.— J. Gen. Microbiol., 44, 373.
- Hutchinson M., Johnston K. J., White D. 1967. Taxonomy of anaerobic thiobacilli.— J. Gen. Microbiol., 47, 17.
- Huybregste R., Van der Linden A. C. 1964. The oxidation of α -olefins by a *Pseudomonas*.— Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol., 30, 185.
- Hygashi N., Shoun H., Yano J., Arima K. 1972. A new enzyme species of p-hydroxybenzoate hydroxylase during oxygenating process observed by the stopped-flow method.— Agric. and Biol. Chem., 36, 1081.
- Iida M., Iizuka H. 1971. Enzymatic conversion of 1-decene to decyl alcohol by *Candida rugosa* JF 101.— Z. allgem. Mikrobiol., 11, 301.
- Iizuka H., Iida M., Fujuta S. 1969. Formation of n-decene-1 from n-decane by resting cells of *Candida rugosa*.— Z. allgem. Mikrobiol., 9, 223.
- Iizuka H., Iida M., Unami Y., Hoshio Y. 1968. n-Decane dehydrogenation by a cell-free extract of *Candida rugosa*.— Z. allgem. Mikrobiol., 8, 145.
- Iizuka H., Komagata K. 1964a. Microbiological studies on petroleum and natural gas. I. Determination of hydrocarbon-utilizing bacteria.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 10, 207.
- Iizuka H., Komagata K. 1964b. Microbiological studies on petroleum and natural gas. II. Determination of *Pseudomonas* isolated from oil-brines and related materials.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 10, 223.
- Iizuka H., Komagata K. 1965a. Microbiological studies on petroleum and natural gas. III. Determination of *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Alcaligenes* and *Achromobacter*, isolated from oil-brines in Japan.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 10, 207.
- Iizuka H., Komagata K. 1965b. Microbiological studies on petroleum and natural gas. IV. Microflora of Higashiyama oil mining field.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 11, 15.
- Iizuka H., Komagata K. 1965c. Microbiological studies on petroleum and natural gas. V. Microflora of Yabase and Nishiyama oil field in Japan.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 11, 91.
- Iizuka H., Komagata K. 1965d. Microbiological studies on petroleum and natural gas. VI. Microflora of Niigata and Mobara gas-field in Japan.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 11, 103.
- Iizuka H., Okazaki H., Seto N. 1969. A new sulfate-reducing bacterium isolated from Antarctica.— J. Gen. and Appl. Microbiol., 15, 11.

- Irie K., Kobayashi K., Kobayashi M., Ishimoto M. 1973. Biochemical studies on sulfate-reducing bacteria. XII. Some properties of flavodoxin from *Desulfovibrio vulgaris*.— *J. Biochem.*, 73, 353.
- Itoch M., Doi S. 1969. Taxonomic studies on the aromatic hydrocarbon-utilizing yeasts.— *J. Ferment. Technol.*, 47, 161.
- Jamison V. W., Raymond R. L., Hudson J. O. 1969. Microbial hydrocarbon co-oxidation. III. Isolation and characterization of an α , α' -dimethyl-cis, cis-muconic acid-producing strain of *Nocardia corallina*.— *Appl. Microbiol.*, 17, 853.
- Johnson C. L., Vishniak W. 1970. Growth inhibition in *Thiobacillus neapolitanus* by histidine, methionine, phenylalanine and threonine.— *J. Bacteriol.*, 104, 1145.
- Jones H. E. 1971a. Sulfate-reducing bacterium with unusual morphology and pigment content.— *J. Bacteriol.*, 106, 339.
- Jones H. E. 1971b. A re-examination of *Desulfovibrio africanus*.— *Arch. Mikrobiol.*, 80, 78.
- Jones H. E. 1972. Cytochromes and other pigments of dissimilatory sulphate-reducing bacteria.— *Arch. Mikrobiol.*, 84, 207.
- Jones J. G., Williams A. 1968. Hydrocarbon biogenesis. Microbiology.— Proceedings of a conference held in London, 1967. Heppele P. (Ed.) London, Inst. Petrol.
- Kemp M. B., Quayle J. R. 1967. Microbial growth on C₁-compounds. Uptake of (¹⁴C) formaldehyde and (¹⁴C) formate by methane grown *Pseudomonas methanica* and determination of the hexose labelling pattern after brief incubation with (¹⁴C) methanol.— *Biochem. J.*, 102, 94.
- Kestner D., Moos J., Schultze G. R. 1959. Über die Zusammensetzung des polnischen rohen Ozokerits.— *Erdöl und Kohle*, 12, 77.
- Klein D. A., Davis J. B., Casida L. E. 1968. Formation of ketones from long-chain alkanes by a soil *Arthrobacter* sp.— *Bacteriol. Proc.*, p. 52.
- Klug M. J., Markovetz A. J. 1967. Degradation of hydrocarbons by member of the genus *Candida*. II. Oxidation of n-alkanes and 1-alkenes by *Candida lipolytica*.— *J. Bacteriol.*, 93, 1847.
- Klug M. J., Markovetz A. J. 1971. Utilization of aliphatic hydrocarbons by microorganisms.— *Adv. Microbial. Physiol.* 5, 1.
- Knobloch K. 1972. Der respiratorische Elektrontransport in Chromatophor-freien Enzymsystem aus *Rhodospseudomonas palustris*.— *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 353, 1538.
- Kobayashi K., Takahashi E., Ishimoto M. 1972. Biochemical studies on sulfate-reducing bacteria. XI. Purification and properties of sulfite-reductase, desulfoviridin.— *J. Biochem.*, 72, 879.
- Kollhoff I. 1922. Über die aggressive Kohlensäure und die Wasserstoffion-Konzentration bei der Wasseruntersuchungen.— *Z. Untersuch. Nahr- und Genussmitt.*, N 43.
- Kuenen J. G., Veldkamp H. 1972. *Thiomicrospira pelophila* gen. n., sp. n., a new obligately chemolithotrophic colourless sulfur bacterium.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Mikrobiol. and Serol.*, 38, 241.
- Kumar R. P., Ravindranath S. D., Vaidyanathan C. S., Rao N. A. 1972. Mechanism of hydroxylation of aromatic compounds. II. Evidence for the involvement of superoxide anions in enzymatic hydroxylations.— *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 49, 1422.
- Kuruta S., Endo T., Nakamura K., Yagi T., Tamiya N. 1971. Decomposition of some organic sulfur compounds in petroleum by anaerobic bacteria.— *J. Gen. and Appl. Microbiol.*, 17, 185.
- Kusunose K., Ichihara S., Kusunose J., Nozaka J., Matsumoto K. 1967. The possible role of flavin in the hydroxylation of hydrocarbon by bacterial enzyme system.— *Agric. and Biol. Chem.*, 31, 990.
- Larsen H. 1962. Halophilism. In «The Bacteria». Gunsalus I. C., Stanier R. Y. (Eds) N. Y., London, Acad. Press.
- Lawrence A. J., Kemp M. B., Quayle T. R. 1970. Synthesis of cell constituents by

- methane-grown *Methylococcus capsulatus* and *Methanomonas methanoxidans*.— *Biochem. J.*, 116, 631.
- Leadbetter E. R., Foster J. W.* 1960. Bacterial oxidation of gaseous alkanes.— *Arch. Mikrobiol.*, 35, 92.
- Leavitt R. J.* 1966. Enzyme oxidation of n-decane by a species of *Achromobacter*.— *Bacteriol. Proc.*, 7.
- Lebeault J. M., Azoulay E.* 1971. Metabolism of alkane by yeast.— *Lipids*, 6, 441.
- Linden A. C. van der, van Raawenswaay T. C.* 1971. Hydrophobic enzymes in hydrocarbon-degradation.— *Lipids*, 6, 437.
- Liu C.-M., Johnson M. J.* 1971. Alkane oxidation by a particulate preparation from *Candida*.— *J. Bacteriol.*, 106, 830.
- Makula R., Finnerty W. R.* 1968. Microbial assimilation of hydrocarbons. II. Fatty acids derived from 1-alkenes.— *J. Bacteriol.*, 95, 2108.
- Mason H. S.* 1957. Mechanisms of oxygen metabolism.— *Adv. Enzymol.*, 19, 79.
- May S. W., Abbot B. J.* 1973. Enzymic epoxidation. II. Comparison between the epoxidation and hydroxylation reactions, catalized by the ω -hydroxylation system of *Pseudomonas oleovorans*.— *J. Biol. Chem.*, 248, 1725.
- Mc Auliffe C.* 1969. Solubility in water of normal C₉ and C₁₀ alkane hydrocarbons.— *Science*, 163, 478.
- Mc Carty L.* 1963. The methane fermentation. In «Principles and Applications in Aquatic Microbiology». Heukelekian H. and Dondero C. (Eds.) N. Y., London, Sydney, Wiley a. Sons. Inc.
- Mc Kenna E. J., Kallio R. E.* 1963. Hydrocarbon structure: its effect on bacterial utilization of alkanes. In «Principles and Applications in Aquatic Microbiology». Heukelekian H. and Dondero C. (Eds.). N. Y., London, Sydney, Wiley a. Sons Inc.
- Mc Kenna E. J., Kallio R. E.* 1965. The biology of hydrocarbons.— *Annual Rev. Microbiol.*, 19, 183.
- Mc Kenna E., Coon M. J.* 1970. Enzymatic ω -oxidation. IV. Purification and properties of the ω -hydroxylase of *Pseudomonas oleovorans*.— *J. Biol. Chem.*, 245, 3882.
- Mc Lee A. G., Davies S. L.* 1972. Linear growth of a *Torulopsis* sp. on n-alkanes.— *Canad. J. Microbiol.*, 18, 315.
- Mechals B. J., Rittenberg S. C.* 1960. Energy coupling in *Desulfovibrio desulfuricans*.— *J. Bacteriol.*, 80, 501.
- Meinschein W. C.* 1959. Origin of petroleum.— *Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geologists*, 43, 925.
- Milhaud G.* 1956. Phosphorylation et production d'hydrogène sulfure. La biochimie du soufre. Paris, CNRS.
- Miller T. D. A., Hughes J., Saunders G. F., Campbell L. L.* 1968. Physiological and biochemical characteristic of some strains of sulfate-reducing bacteria.— *J. Gen. Microbiol.*, 52, 137.
- Millner H. B.* 1925. Paraffin dirt, its nature, origin mode of occurrence and significance as an indication of petroleum.— *Mining Mag.*, 73.
- Nei N., Enatsu T., Terui G.* 1973. Microbial decomposition of phenols. IV. Oxidation of aromatic compounds by phenol-utilizing yeasts.— *J. Ferment. Technol.*, 51, 1.
- Norris D. B., Trudgill P. W.* 1972. The purification and properties of cyclohexanone oxygenase from *Nocardia globerula*.— *Biochem. J.*, 130, 30.
- Nottingham P. M., Hungate R. E.* 1969. Methanogenic fermentation of benzoate.— *J. Bacteriol.*, 98, 1170.
- Nyns E. J., Auquierie J. P., Wiaux A. I.* 1968. Taxonomic value of the property of fungi to assimilate hydrocarbons.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 34, 441.
- Omori T., Yamada K.* 1970. Studies on the utilization of hydrocarbons by microorganisms. XVI. Detection of metabolic intermediates of xylene and pseudocumene.— *Agric. and Biol. Chem.*, 34, 659.

- Ooyama J., Foster J. W.* 1965. Bacterial oxidation of cycloparaffinic hydrocarbons.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 31, 45.
- Painter M. T., Hungate R. E.* 1968. Characterization of *Methanobacterium mobilis* sp. n. isolated from the bovin rumen.— *J. Bacteriol.*, 95, 1943.
- Patel R. N., Hoare D. S.* 1971. Physiological studies of methani and methanol-oxidizing bacteria: oxidation of C-1 compounds by *Methylococcus capsulatus*.— *J. Bacteriol.*, 107, 187.
- Peck H. D. jr.* 1960. Evidence for oxidative phosphorylation during the reduction of sulphate with hydrogen by *Desulfovibrio desulfuricans*.— *J. Biol. Chem.*, 235, 2734.
- Pelz B., Rehm H. J.* 1971. Die Resistenz von Dekalin gegenüber mikrobiellen Abbau.— *Arch. Mikrobiol.*, 77, 288.
- Pelz B. F., Rehm H. J.* 1972. Degradation of n-alkanes by molds.— *Naturwissenschaften*, 59, 573.
- Peterson J. A., Mc Kenna E. J., Estabroock R. W., Coon M. T.* 1969. Enzymatic ω -oxidation. Stoichiometry of the ω -oxidation of fatty acids.— *Arch. Biochem. and Biophys.*, 131, 245.
- Pfeffer T.* 1966. Application in the anaerobic process to waste water treatment.— *Developm. Industr. Microbiol.*, 7, 134.
- Pfennig N., Trüper H. G.* 1971. Higher taxa of the phototrophic bacteria.— *Internat. J. System. Bacteriol.*, 21, 17.
- Pine M. J., Barker H. A.* 1956. Studies on the methane fermentation. XII. The pathway of hydrogen in the acetate fermentation.— *J. Bacteriol.*, 71, 644.
- Pine M. J., Vishniac W.* 1957. The methane fermentations of acetate and methanol.— *J. Bacteriol.*, 73, 736.
- Postgate J. R.* 1951. The reduction of sulphur compounds by *Desulfovibrio desulfuricans*.— *J. Gen. Microbiol.*, 5, 725.
- Postgate J. R.* 1959. Sulphate reduction by bacteria.— *Annual Rev. Microbiol.*, 13, 505.
- Postgate J. R.* 1963. A strain of *Desulfovibrio* able to oxidize oxamate.— *Arch. Mikrobiol.*, 46, 287.
- Postgate J. R.* 1966. Media for sulfur bacteria.— *Lab. Practice*, 15, 1240.
- Postgate J. R.* 1970. Nitrogen fixation by sporulating sulfate-reducing bacteria including rumen strains.— *J. Gen. Microbiol.*, 63, 137.
- Postgate J. R., Campbell L. L.* 1966. Classification of *Desulfovibrio* species, the nonsporulating sulfate-reducing bacteria.— *Bacteriol. Rev.*, 30, 732.
- Quyale J. R.* 1961. Metabolism of C₁-compounds in autotrophic and heterotrophic microorganisms.— *Annual Rev. Microbiol.*, 15, 119.
- Quyale J. R.* 1972. The metabolism of one-carbon compounds by microorganisms.— *Adv. Microbial. Physiol.*, 7, 119.
- Raawenswaay van T. C., Van der Linden C. A. C.* 1971. Substrate specificity of the paraffin hydroxylase of *Pseudomonas aeruginosa*.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 37, 339.
- Rall H. T., Thompson C. J., Coloman H. J., Hopkins R. L.* 1962. Sulfur compounds in petroleum.— *Proc. Amer. Petrol. Inst., Sect. VIII*, 42, 19.
- Raymond R. L., Jamison V. W., Hudson J. O.* 1971. Hydrocarbon co-oxidation in microbial systems.— *Lipids*, 6, 453.
- Reiner A. M.* 1972. Metabolism of benzoic acid by bacteria: 3,5-cyclohexadiene-1,2-diol-carboxylic acid as an intermediate in the formation of catechol.— *J. Bacteriol.*, 108, 89.
- Ribbons D. W., Harrison J. E., Wadzinski A. M.* 1970. Metabolism of single carbon compounds.— *Annual Rev. Microbiol.*, 24, 135.
- Ribbons D. W., Higgins I. J.* 1971. Enzymatic oxidation of methane by particles from *Methylococcus capsulatus*.— *Bacteriol. Proc.*, p. 141.
- Robertson A. M., Wolfe R. S.* 1970. Adenosine triphosphate pools in *Methanobacterium*.— *J. Bacteriol.*, 102, 43.
- Rolls J. P., Lindstrom E. S.* 1967. Effect of thiosulfate on the photosynthetic growth of *Rhodospseudomonas palustris*.— *J. Bacteriol.*, 94, 860.
- Römer R., Schwartz W.* 1965. Geomicrobiologische Untersuchungen. V. Verwer-

- tung von Sulfatmineralien und Schwermetall-Toleranz bei Desulfurizierern.— Z. allgem. Mikrobiol., 5, 122.
- Rosenfeld W. D. 1947. Anaerobic oxidation of hydrocarbons by sulfate-reducing bacteria.— J. Bacteriol., 54, 664.
- Rossini F. D., Mair B. J., Streiff A. J. 1953. Hydrocarbon in petroleum. N. Y. Reinhold.
- Sala-Trepa J. M., Murray R., Williams P. A. 1972. The metabolic divergence in the meta cleavage of catechols by *Pseudomonas putida* NCIB 10015. Physiological significance and evolutionary implications.— Europ. J. Biochem., 28, 347.
- Schön G., Beiderman M. 1973. Growth and adaptive hydrogen production of *Rhodospirillum rubrum* (F₁) in anaerobic dark cultures.— Biochim. et biophys. acta, 304, 65.
- Sekiguchi T., Yoshiaki N. 1973. Pyruvate-supported acetylene and sulfate-reduction by cell-free extracts of *Desulfovibrio desulfuricans*.— Biochem. and Biophys. Res. Commun., 51, 331.
- Senez J. C. 1953. Sur l'activité et la croissance des bactéries anaérobies sulfato-réductrices en cultures sémi-autotrophes.— Ann. Inst. Pasteur, 84, 595.
- Silverman M. P., Ehrlich H. L. 1964. Microbial formation and degradation of minerals.— Adv. Appl. Microbiol., 6, 153.
- Skyring G. W., Trudinger P. A. 1973. A comparison of the electrophoretic properties of the ATP-sulfurylases, ATP-reductases and sulfite-reductases from cultures of dissimilatory sulfate-reducing bacteria.— Canad. J. Microbiol., 19, 375.
- Skyring G. W., Jones H. E. 1972. Guanine plus cytosine contents of deoxyribonucleic acids in some sulfate-reducing bacteria: a reassessment.— J. Bacteriol., 109, 1298.
- Slezáček A., Rospalova A. 1972. Study of growth qualities of *Desulfovibrio desulfuricans*.— Scripta Fac. sci. natur. UTEP. Brun. Biol., 1, 55.
- Smith P. H. 1966. The microbial ecology of sludge methanogenesis.— Developm. Industr. Microbiol., 7, 156.
- Spector T., Massey V. 1972. p-Hydroxybenzoate hydroxylase from *Pseudomonas fluorescens*. Reactivity with oxygen.— J. Biol. Chem., 247, 7123.
- Stokes D. J., Metha R. J., Hoare D. S. 1972. New obligate methylotroph.— J. Bacteriol., 109, 916.
- Sugisaki R., Yoshimoto T., Kato K., Sugiura T. 1963. Geochemical study of the southern Kanto gas production region on the relationship between the gas components and the types of gas accumulation.— Chishitsugaku Zasshi, 69, 67.
- Takahashi J., Foster J. W. 1966. Bacterial oxidation of methyl-branched alkanes.— Bacteriol. Proc., p. 86.
- Tanabe M., Dehn R. L., Kuo M. H. 1971. Microbial oxidation of p-diethylbenzene.— Biochemistry, 10, 1087.
- Taylor B. F., Heeb M. T. 1972. The anaerobic degradation of aromatic compounds by a denitrifying bacterium. Radioisotope and mutant studies.— Arch. Mikrobiol., 83, 165.
- Taylor B. F., Hoare D. S. 1969. New facultative *Thiobacillus* and reevaluation of the heterotrophic potential of *Thiobacillus novellus*.— J. Bacteriol., 100, 487.
- Taylor B. F., Hoare D. S. 1971. *Thiobacillus denitrificans* as an obligate chemolithotroph. II. Cell suspension and enzymatic studies.— Arch. Mikrobiol., 80, 262.
- Tezuka Y. 1966. A commensalism between the sulfate-reducing bacteria *Desulfovibrio desulfuricans* and other heterotrophic bacteria.— Bot. Mag., 79, 174.
- Thiele H. H. 1968. Die Verwertung ein facher organischer Substrate durch Thiorhodaceae.— Arch. Mikrobiol., 60, 124.
- Thijsse G. J. E., van der Linden A. C. 1958. n-Alkane oxidation by a *Pseudomonas*. Studies on the intermediate metabolism.— Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol., 24, 298.
- Thijsse G. J. E., van der Linden A. C. 1961. Iso-alkane oxidation by a *Pseudomonas*.

- nas. Part I. Metabolism of 2-methylhexane.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 27, 171.
- Traxler R. W.* 1966. Bitumen attack by microorganisms.— *Industr. and Engr. Chem.*, 58, 59.
- Traxler R. W., Proteau P. R., Traxler R. N.* 1965. Action of microorganisms on bituminous materials. I. Effect of bacteria on asphalt viscosity.— *Appl. Microbiol.*, 13, 838.
- Traxler R. W., Robinson J. A., Wetmore D. E., Traxler R. N.* 1966. Action of microorganisms on bituminous materials. II. Composition of low molecular weight asphaltic fractions determined by microbial action and infra-red analyses.— *J. Appl. Chem.*, 16, 266.
- Trudinger P. A.* 1970. Carbon monoxid-reacting pigment from *Desulfotomaculum nigrificans* and its possible relevance to sulfite reduction.— *J. Bacteriol.*, 104, 158.
- Trudinger P. A., Chambers L. A.* 1973. Reactions of P-582 from *Desulfotomaculum nigrificans* with substrates, reducing agents and carbon monoxide.— *Biochim. et biophys. acta*, 293, 26.
- Tsuru S., Karaskiewicz J.* 1969. Change of isotopic composition of oil sulfur by microorganisms.— *J. Ferment. Technol.*, 47, 438.
- Uffen R. L., Sybesma C., Wolfe R. S.* 1971. Mutant strains of *Rhodospirillum rubrum* obtained after long-term dark, anaerobic growth.— *Bacteriol. Proc.*, p. 155.
- Uppergaff D. M., Wren G. B.* 1954. The release of oil from petroleum-bearing materials by sulfate-reducing bacteria.— *Appl. Microbiol.*, 2, 309.
- Vestal J. R., Perry J. J.* 1971. Effect of substrate on the lipids of the hydrocarbon utilizing *Mycobacterium vaccae*.— *Canad. J. Microbiol.*, 17, 445.
- Vojan J. H.* 1970. ATP — generation by electron transport in *Desulfovibrio desulfuricans*.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 36, 584.
- Ware D. A., Postgate J. R.* 1971. Physiological and chemical properties of a reductant activated inorganic pyrophosphatase from *Desulfovibrio desulfuricans*.— *J. Gen. Microbiol.*, 67, 145.
- Werteib D., Vishniac W.* 1967. Methane utilization by a strain of *Rhodopseudomonas gelatinosa*.— *J. Bacteriol.*, 93, 1722.
- Whittenbury R., Mc Lee A. G.* 1967. *Rhodopseudomonas palustris* and *Rhodopseudomonas viridis* — photosynthetic budding bacteria.— *Arch. Mikrobiol.*, 59, 324.
- Whittenbury R., Phillips K. C., Wilkinson J. F.* 1970. Enrichment isolation and some properties of methane-utilizing bacteria.— *J. Gen. Microbiol.*, 61, 205.
- Wibaut J. P., Strang A.* 1951. Autooxidation of saturated hydrocarbons in the liquid phase. First communication. II.— *Proc. Koninkl. nederl. Acad. wet. B*, 54, 229.
- Wibaut J. P., Strang A.* 1952. Autooxidation of saturated hydrocarbons in the liquid phase. Second communication.— *Proc. Koninkl. nederl. Acad. wet. B*, 55, 207.
- Wiken T. O.* 1957. Über den Mechanismus des anaeroben bakteriellen Abbau von Kohlehydrat, Eiweiss und Fett in Faulräumen.— *Schweiz. Z. Hydrol.*, 19, 428.
- Willets A. J., Cain R. B.* 1972. Microbial metabolism of alkylbenzene sulfonates. Enzyme system of a *Bacillus* species responsible for β -oxidation of the alkyl side chain of alkylbenzene sulfonates.— *Antonie van Leeuwenhoek. J. Microbiol. and Serol.*, 38, 543.
- Wodzinski R. S., Bertolini D.* 1972. Physical state in which naphtalene and hibenzyll utilized by bacteria.— *Appl. Microbiol.*, 23, 1077.
- Wolfe R. S.* 1971. Microbial formation of methan.— *Adv. Microbiol. Physiol.*, 6, 107.
- Wolfe R. S., Wolin E. A., Wolin M. J., Allam A. M., Wood J. M.* 1966. Biochemistry of methane formation in *Methanobacillus omelianskii*.— *Developm. Industr. Microbiol.*, 7, 162.
- Yoshida F., Yamane T., Yagi H.* 1971. Mechanism of uptake of liquid hydrocarbons by microorganisms.— *Biotechnol. and Bioengng*, 13, 215.

- Zeikus J. G., Wolfe R. S.* 1972. *Methanobacterium thermoautotrophicus* sp. n. an anaerobic, autotrophic extreme thermophile.— *J. Bacteriol.*, **109**, 707.
- Zo Bell C. E.* 1943. Bacteria as geological agent with particular reference to petroleum.— *Petrol. World*, **40**, 30.
- Zo Bell C. E.* 1946a. Function of bacteria in the formation and accumulation of petroleum.— *Oil Weekly*, **120**, 30.
- Zo Bell C. E.* 1946b. Bacteriological process for treatment of fluid-bearing earth formations. U. S. Patent N 2431278. Assigned to the American Petroleum Institute.
- Zo Bell C. E.* 1947. Bacterial release of oil from oil bearing materials.— *World Oil*, I, 126, 36; II, 127, 35.
- Zo Bell C. E.* 1958. Ecology of sulfate-reducing bacteria.— *Producer's Monthly*, **22**, 12.
- Zo Bell C. E., Anderson D. Q.* 1936. Vertical distribution of bacteria in marine sediments.— *Bull. Amer. Assoc. Petrol. Geologists*, **20**, 258.

Оглавление

Предисловие	3
-----------------------	---

Глава первая

Среда обитания микроорганизмов, развивающихся в углеводородных залежах

Происхождение нефти и формирование залежей	5
Состав сырой нефти	8
Закономерности распределения пластовых вод в литосфере и их характеристика	13
Связь типа пластовых вод с типом нефтей и степенью разрушения залежей	16
Биогенные элементы	19
Состав газов в пластовых водах нефтяных месторождений	19
Температурный режим глубинных вод и гидростатическое давление	24
Озокерит, происхождение и состав	26
Асфальты, происхождение и состав	28

Глава вторая

Распределение бактерий в пластах и достоверность методов анализа

Распределение бактерий между жидкой и твердой фазами	29
Изучение микрофлоры кернов	30
Изучение микрофлоры образцов нефти	32
Изучение микрофлоры обводненной нефти и пластовой воды	34

Глава третья

Экология и физиология микроорганизмов, встречающихся в глубинных водах и породах

Биоценоз микроорганизмов глубинных вод	37
Бактерии, окисляющие углеводороды	39
Микроорганизмы, участвующие в восстановлении и окислении соединений серы	69

Глава четвертая

Использование углеводов микроорганизмами в искусственно заводняемых нефтяных пластах и в лабораторных экспериментах

Развитие биогенных процессов в нефтяных пластах, подвергающихся искусственному заводнению	104
Преобразование нефтей микроорганизмами в лабораторных экспериментах	114
Изменение состава озокерита под воздействием микроорганизмов	122
Биогенное образование горючих газов и азота	124
Роль микроорганизмов в преобразовании вмещающих пород и подземных вод	128

Глава пятая

Геохимическая деятельность микроорганизмов в месторождениях битумов нефтяного ряда

Деятельность микроорганизмов в месторождениях нефти и газа	137
Окисление углеводородных газов в подпочвенных отложениях зоны свободного водообмена	167
Роль микроорганизмов в образовании озокеритоподобных битумов и окислении залежей озокерита	171
Роль микроорганизмов в генезисе месторождений асфальтов	173
Заключение	175
Литература	178

Елена Петровна Розанова,
Сергей Иванович Кузнецов
Микрофлора нефтяных месторождений

*Утверждено к печати
Институтом микробиологии
Академии наук СССР*

Редактор издательства *Т. А. Матвеевко*
Художник *В. С. Комаров*
Художественный редактор *Т. П. Поленова*
Технические редакторы *Ю. В. Рылина,*
Е. Н. Егтянова

Сдано в набор 26/XII 1973 г.
Подписано к печати 10/IV 1974 г.
Формат 60×90^{1/16}. Бумага типографская № 2.
Усл. печ. л. 12,63. Уч.-пзд. л. 13,4.
Тираж 1100 экз. Т-08102. Тип. зак. 3320.
Цена 1 р. 20 к.

Издательство «Наука».
103717 ГСП, Москва, К-62, Подсосенский пер., 21
2-я типография издательства «Наука».
121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

ИСПРАВЛЕНИЯ

Страница	Строка	Напечатано	Должно быть
105	13 ст.	водорода	кислорода
121	18 ст.	окисления	соокисления
130	9 ст.	α	α^3

2р-3

1 р. 20 к.

1 42549.

Б4

27747



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»