

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042203**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.01.24

(51) Int. Cl. **C09K 8/80** (2006.01)

(21) Номер заявки
201992075

(22) Дата подачи заявки
2018.03.02

(54) **КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИ ПОВЫШЕННОГО
РАСЩЕПЛЕНИЯ ПОЛИМЕРОВ В СКВАЖИНАХ С ГИДРОРАЗРЫВОМ ПЛАСТА**

(31) **62/466,410; 62/528,718**

(32) **2017.03.03; 2017.07.05**

(33) **US**

(43) **2020.01.22**

(86) **PCT/US2018/020706**

(87) **WO 2018/160995 2018.09.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЛОКУС ОЙЛ АЙПИ КОМПАНИ,
ЛЛК (US)**

(56) **US-A1-20160244347**

US-A-5165477

US-A1-20150300139

GUDINA, E.J. et al., "Biosurfactant-producing and oil-degrading Bacillus subtilis strains enhance oil recovery in laboratory sand-pack columns", Journal of Hazardous Materials, 2013, Vol. 261, pp. 106-113, See abstract; and page 107

US-A1-20070151726

(72) Изобретатель:
**Фармер Шон, Алибек Кен, Адамс
Кент, Каратур Картик Н., Мазумдер
Шармиста (US)**

(74) Представитель:
**Тагбергенова М.М., Тагбергенова А.Т.
(KZ)**

(57) В изобретении предложены экологически чистые композиции и способы для разрушения полимеров, используемых в операциях гидроразрыва пласта для увеличения добычи нефти и газа. Конкретно, композиции и способы используют микроорганизмы и/или побочные продукты их жизнедеятельности для разрушения полимеров, таких как PGA, PLA и PAM, используемых в скважинах с гидроразрывом пласта.

B1

042203

042203

B1

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Данная заявка испрашивает приоритет следующих предварительных заявок США: № 62/466410, поданной 3 марта 2017 г., и № 62/528718, поданной 5 июля 2017 г., каждая из которых включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

Уровень техники изобретения

Гидравлический разрыв пласта или "гидроразрыв" земных пластов вокруг ствола скважины - это процесс, используемый для повышения производительности скважины. Стандартные вертикальные скважины подвергаются гидроразрыву во время первоначальной добычи или для стимулирования добычи. Другие применения включают использование горизонтальных скважин, в которых вертикальная скважина пробурена до желаемой глубины, и в этот момент сверло поворачивается, чтобы начать бурение в горизонтальном направлении. Горизонтальная часть этих скважин может простираться на несколько тысяч футов в длину.

После того как бурение произошло, тысячи галлонов жидкости "прокладки", жидкости на масляной или водной основе, закачиваются в пласт при экстремальном давлении. Это приводит к образованию трещин или разрывов на поверхности породы в стволе скважины. Продолжение закачивания жидкости в скважину приводит к увеличению трещин по длине и ширине. После достижения достаточной ширины к жидкости добавляют частицы, называемые "проппантом", которые часто покрыты полимерными материалами для обеспечения надлежащего функционирования в плотных подземных пластах. Кремнеземный песок обычно используется в качестве проппанта при гидроразрыве пласта.

После того как закачивание жидкости прекратилось, жидкость для гидроразрыва вытекает из трещин, позволяя проппанту закрывать стенки трещин. Затем частицы проппанта "удерживают от смыкания" стенки трещин отдельно друг от друга. Поскольку частицы проппанта обычно намного больше, чем частицы пласта, проницаемость жидкости в трещине гидроразрыва, заполненной проппантом, намного выше, чем проницаемость в природном пласте, следовательно, пропускная способность скважины увеличивается. В конце гидравлического разрыва пласта насыщенная проппантом жидкость "вымывается" из ствола скважины в пласт вытесняющей жидкостью без проппанта.

Несмотря на увеличение производительности нефти и газа, связанное с использованием гидроразрыва пласта, могут возникнуть определенные недостатки и осложнения, особенно в отношении использования проппантов. Например, в зависимости от используемого проппанта проппант может влиять на скорость потока жидкости для гидроразрыва и/или проппант может неправильно осаждаться в трещинах или вообще не осаждаться в них. В результате было разработано множество решений для преодоления этих осложнений, таких как покрытие проппанта и химические добавки к жидкости для гидроразрыва пласта.

Теоретические модели обычно показывают, что ширина трещины в стволе скважины увеличивается с эффективной вязкостью закачиваемой в трещину жидкости, скоростью закачивания жидкости и объемом закачиваемой жидкости. Жидкость для гидроразрыва должна быть в состоянии поддерживать высокое давление, необходимое для создания трещин с шириной, которая может принимать проппант. В идеале это делается без использования большого количества жидкости, однако вязкость жидкости для гидроразрыва обычно ограничивается потерей давления, когда жидкость закачивают в ствол скважины. Жидкости для гидроразрыва, которые используются в настоящее время, сводят к минимуму эту потерю давления благодаря использованию растворов полимеров, которые являются существенно неньютоновскими (истончение сдвига). В противном случае потеря давления из-за трения в трубопроводе будет позволять закачивание только при очень малых скоростях. Водорастворимые полимеры могут быть поперечно сшиты для увеличения вязкости, и эта поперечная сшивка иногда замедлена, чтобы уменьшить потерю давления в трубах.

Средства уменьшения трения также могут быть добавлены в жидкости для гидроразрыва для снижения давления трения во время перекачивания. Средства уменьшения трения обычно представляют собой длинноцепочечные высокомолекулярные водорастворимые полимеры. Они работают за счет увеличения ламинарного потока и уменьшения турбулентного потока в воде, когда ее закачивают в ствол скважины, тем самым уменьшая энергию, необходимую для перемещения воды и частиц проппанта вниз по скважине.

Кроме того, деструкторы могут использоваться для снижения вязкости жидкостей для гидроразрыва до того, как жидкость снова поднимется вверх по скважине. После того как проппант смешан или покрыт вязкой жидкостью для гидроразрыва и закачан в скважину для образования трещины, жидкость для гидроразрыва должна быть удалена из проппантной набивки. Цельная жидкость для гидроразрыва, оставшаяся в трещине, может снизить проницаемость проппантной набивки, что приведет к уменьшению обратного потока жидкости и уменьшению добычи нефти и газа. В идеале жидкость для гидроразрыва удаляют без перемещения проппанта из трещины и без нарушения проводимости слоя проппанта. Для этого вязкую жидкость, в которой содержался проппант, можно разбавить до состояния, близкого к воде, с использованием деструкторов, таких как ферменты или окислители.

Обратный поток проппанта из трещин в ствол скважины также может снизить эффективность добычи нефти и газа. Если проппант вытекает из трещины в скважину, ширина трещины уменьшается и

производительность углеводородов снижается. Полимерные волокна, изготовленные, например, из полилактида или полимолочной кислоты (PLA), использовались для предотвращения обратного потока проппанта. Волокна PLA помогают суспендировать проппант в жидкости для гидроразрыва и переносить его вниз по стволу скважины в пласт. Волокна образуют сеть, которая стабилизирует проппантную набивку, которая затем откладывается в трещинах, предотвращая закрепление проппанта на дне трещины. Полилактидные волокна затем растворяются, оставляя "червоточины", через которые газ и нефть могут поступать в скважину. PLA также можно использовать в форме растворимых шаров и/или хлопьев в качестве средства уменьшения трения.

Другим обычно используемым биоразлагаемым полимером в операциях гидравлического разрыва пласта является полигликолид или полигликолевая кислота (PGA) в форме шаров или волокон. Шары для гидроразрыва различного размера часто используются для гидравлического разрыва пласта в зонах многократного гидравлического разрыва пласта. Использование шаров позволяет изолировать необработанные зоны от уже обработанных зон, так что гидравлическое давление разрывает новые зоны, а не просто разрушает уже разорванные зоны. Процесс включает вставку множества муфт ГРП, которые включают скользящую муфту с механическим приводом, соединенную седлом с шаровым клапаном, в необработанную зону. Муфты ГРП могут иметь постепенно уменьшающиеся седла с шаровым клапаном.

Самые маленькие шары для гидроразрыва сначала вставляют в муфты, пропуская через все, кроме последней и самой маленькой муфты ГРП, где они крепятся. Приложенное давление от поверхности заставляет шар для гидроразрыва давить на седло с шаровым клапаном, которое механически соединяется со скользящей муфтой. Давление приводит к механическому сдвигу муфты, открывая множество портов ГРП и воздействуя на пласт. Жидкость для гидроразрыва с высоким давлением закачивают с поверхности, нагнетая жидкость для гидроразрыва в пласт, и зону разрывает. После разрыва зоны второй самый маленький шар для гидроразрыва закачивают в ствол скважины, и он крепится в самой дальней доступной муфте. Указанную зону разрывает, и процесс продолжается с использованием все более крупных шаров для гидроразрыва, причем самый большой шар вставляют последним.

Кроме того, многие операторы скважин используют полиакриламидный (PAM) гель в качестве средства уменьшения трения в количестве от 1 до 2 частей на 1000 галлонов воды, однако после того, как гель находится внизу скважины, он не служит никакой другой цели, легко не разрушается и не может быть легко извлечен на поверхность. Предпринимались неэффективные попытки расщепления геля с использованием хромита натрия или бромида натрия, но часто оставалось значительное количество сохранившегося геля.

Полезность полимерных веществ для гидроразрыва ограничена их способностью разрушаться в условиях температуры и влажности, которые существуют в скважине, а также их способностью извлекаться при извлечении обратно из скважины. Увеличение вязкости жидкостей для гидроразрыва создает даже дополнительные ограничения, так как водорастворимые полимеры, наиболее часто используемые для увеличения вязкости, не разрушаются полностью. Вместо этого они оставляют остаток, который препятствует пропускной способности проппанта, оставшегося в трещине. Кроме того, полимеры, используемые в качестве средств уменьшения трения, деструкторов, сшивающих агентов или других добавок, могут привести к аналогичным трудностям из-за их низкой скорости разрушения.

Например, скорость, с которой PLA или PGA разрушаются, важна для успешного применения в подземных установках, таких как описанные выше. Предполагается, что разрушение PLA и PGA происходит главным образом посредством гидролиза, и скорость разрушения сильно зависит от местных условий, например температуры. Эти поперечно сшитые полимеры подвергаются очень высоким температурам в пластах, которые быстро уменьшаются при прокачке жидкости через трубопроводы скважины.

Таким образом, существует потребность в композициях и способах для быстрого разрушения и извлечения PLA, PGA и других полимерных веществ, используемых в качестве средств уменьшения трения, деструкторов и/или других добавок и покрытий для жидкостей для гидроразрыва.

Краткое изложение сущности изобретения

В заявленном изобретении предложены микроорганизмы, а также побочные продукты их жизнедеятельности, такие как био-ПАВ, растворители и/или ферменты. В заявленном изобретении также предложены способы использования этих микроорганизмов и побочных продуктов их жизнедеятельности в операциях гидравлического разрыва пласта для повышения растворения полимерных добавок в жидкости для гидроразрыва и/или проппантных покрытий. Преимущественно способы, согласно настоящему изобретению, являются экологически чистыми, эксплуатационно-дружественными и экономически эффективными.

В предпочтительных вариантах осуществления в заявленном изобретении предложены материалы и способы для улучшения добычи нефти и газа путем обработки нефтегазосодержащего пласта, подвергаемого гидравлическому разрыву пласта с композицией на основе микроорганизмов, способной растворять полимеры, которые применялись как, например, добавки к жидкости для гидроразрыва пласта и/или покрытия проппанта.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложена композиция на основе микроорганизмов для повышения добычи нефти и газа из углеводородсодержащего пласта, причем ком-

позиция содержит микроорганизм и/или побочные продукты его жизнедеятельности. Побочными продуктами жизнедеятельности могут быть, например, био-ПАВ, растворители, ферменты и/или другие метаболиты.

В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой одну или несколько бактерий или дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, или их комбинацию. В одном варианте осуществления композиция на основе микроорганизмов содержит "дрожжи-киллеры", такие как, например, *Wickerhamomyces anomalus* и/или продукты жизнедеятельности этого вида. В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой дрожжи клады *Starmerella*. В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой бактерию клады *Bacillus*.

В одном варианте осуществления композиция на основе микроорганизмов может дополнительно содержать ферменты, которые усиливают разрушение полимеров, такие как, например, протеазы, липазы и/или эстеразы.

В одном варианте осуществления композиция на основе микроорганизмов может дополнительно содержать материалы для повышения роста микроорганизмов во время применения. Эти материалы могут быть, например, питательными веществами и/или усилителями роста. Источники питательных веществ могут включать, например, азот, нитраты, нитриты, фосфор, магний и/или углерод. Усилители роста могут включать, например, L-аланин, L-валин, L-аспарагин и/или марганец в микромолярных количествах.

В некоторых вариантах осуществления композиции по настоящему изобретению имеют преимущества перед, например, одними био-ПАВ, растворителями и/или ферментами, включая одно или несколько из следующих: высокие концентрации маннопротеина как части внешней поверхности клеточной стенки дрожжей; присутствие бета-глюкана в клеточных стенках дрожжей; и наличие био-ПАВ и других метаболитов (например, молочной кислоты, этанола, этилацетата и т.д.) в культуре. Эти метаболиты могут, например, действовать как растворители.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложены продукты ферментации дрожжей, которые можно использовать для расщепления или повышения разрушения полимеров в скважинах с гидроразрывом пласта. Продукт ферментации дрожжей может быть получен путем культивирования дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, таких как, например, *Wickerhamomyces anomalus* (*Pichia anomala*). Ферментационный бульон после 7 дней культивирования при 25-30°C может содержать суспензию дрожжевых клеток и, например, 4 г/л или более био-ПАВ.

Продукт ферментации дрожжей также может быть получен путем культивирования дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, таких как, например, *Starmerella bombicola*. Ферментационный бульон после 5 дней культивирования при 25°C может содержать суспензию дрожжевых клеток и, например, 100 г/л или более био-ПАВ.

В одном варианте осуществления композицию, согласно настоящему изобретению, получают посредством процессов культивирования, варьирующихся от малого до крупного масштаба. Процесс культивирования может представлять собой, например, глубинное культивирование, твердофазную ферментацию (SSF) и/или их комбинацию.

Как показано на фиг. 1 и 2, продукты ферментации дрожжей можно инкубировать с жидкостью для гидроразрыва пласта, содержащей, например, шары PLA в течение 24 ч. Шар PLA после инкубации с продуктом ферментации дрожжей был полностью растворен, тогда как при инкубации в течение того же периода времени только с водой произошло полное растворение только 1% (требуется около одного месяца для полного растворения).

Преимущественно композиции на основе микроорганизмов могут быть использованы для расщепления или повышения разрушения полимеров, например, в скважинах с гидроразрывом пласта. Композиция по настоящему изобретению также может быть полезна в качестве раствора для обратного потока, в котором био-ПАВ и другие побочные продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут эффективно снижать поверхностное натяжение воды до желаемого диапазона, например 28-30 дин/см. Композиции также могут помочь снизить энергозатраты, необходимые для вымывания материалов для гидроразрыва пласта после использования.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложен способ повышения эффективности добычи нефти и газа путем применения композиции, содержащей микроорганизм, продуцирующий био-ПАВ, растворитель и/или фермент, и/или побочный продукт его жизнедеятельности, к нефтяной скважине. Побочный продукт жизнедеятельности может являться любым метаболитом микроорганизма, таким как, например, био-ПАВ, растворитель и/или фермент.

В одном варианте осуществления способ можно использовать для повышения добычи нефти и газа путем применения композиции на основе микроорганизмов к нефтяной скважине, подвергаемой обработке гидравлическим разрывом.

Способ может дополнительно включать добавление материалов для повышения роста и/или развития микроорганизмов во время применения (например, добавление питательных веществ для стимуляции роста микроорганизмов и/или усилителей роста). В одном варианте осуществления, источники питатель-

ных веществ могут включать, например, азот, нитрат, фосфор, магний и/или углерод. В одном варианте осуществления, усилители роста могут включать, например, L-аланин, L-валин, L-аспарагин и/или марганец в микромолярных количествах.

В одном варианте осуществления, способ может дополнительно включать добавление ферментов, разрушающих полимер, к месту для того, чтобы повысить разрушение полимера.

Предпочтительно микроорганизмы из композиции на основе микроорганизмов и/или побочные продукты их жизнедеятельности могут быстро расщеплять полимеры, такие как полимолочную кислоту (PLA) и/или полигликолевую кислоту (PGA). Микроорганизмы могут быть неактивными, живыми (или жизнеспособными) или в форме спор во время применения.

В одном варианте осуществления, микроорганизм является собой дрожжи, например, *Wickerhamomyces anomalus* и/или *Starmerella bombicola*. В одном варианте осуществления, микроорганизм является собой бактерию, такую как, например, бактерия клады вида *Bacillus*. В одном варианте осуществления комбинация микроорганизмов используется в композиции на основе микроорганизмов.

Микроорганизмы могут расти *in situ* и продуцировать активные соединения на месте. Следовательно, высокая концентрация, например, био-ПАВ, растворителя и/или фермента, и микроорганизмов, продуцирующих био-ПАВ, в месте обработки (например, в нефтяной скважине) может быть достигнута легко и непрерывно.

В одном варианте осуществления, в заявленном изобретении предложены способы извлечения полимерных веществ, которые остаются в скважинах с гидроразрывом пласта. Например, био-ПАВ, полученные способами и микроорганизмами по настоящему изобретению, могут снижать межфазное натяжение жидкостей, используемых для поднятия полимерных веществ для гидроразрыва пласта, таких как полиакриламидные (ПАМ) гелевые средства уменьшения трения. В другом варианте осуществления, био-ПАВ могут быть использованы для расщепления ПАМ геля до поднятия.

Заявленное изобретение может быть полезно для освоения скважины, особенно в операциях гидроразрыва пласта, а также для восстановления состояния нефтегазосодержащих пластов. Например, заявленные композиции и способы могут помочь в восстановлении повреждения пласта в районах, окружающих ствол скважины, и могут ремедировать полимеры (например, PLA и PGA) и биополимеры (например, гуаровая камедь и ксантановая камедь), которые остались от предыдущих операций по гидроразрыву пласта. Таким образом, забитые каналы может быть открыты в пластах для обеспечения дальнейшей возможности гидроразрыва пласта.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложены способы производства био-ПАВ, растворителя, метаболита и/или фермента путем культивирования штамма микроорганизма согласно настоящему изобретению в условиях, подходящих для роста и продуцирования ПАВ, растворителя, метаболита и/или фермента, и очистки ПАВ, растворителя, метаболита и/или фермента для последующего применения согласно заявленному изобретению.

Преимущественно настоящее изобретение может быть использовано без выделения больших количеств неорганических соединений в окружающую среду. Кроме того, в композициях и способах используются компоненты, которые являются биоразлагаемыми и токсикологически безопасными. Таким образом, настоящее изобретение может быть использовано во всех возможных операциях добычи нефти и газа в качестве "зеленой" обработки.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 показан шар PLA (слева) и растворенный шар PLA после применения обработки дрожжами (справа).

На фиг. 2 показано расщепление PLA в течение 24-часового периода использования обработки расщепления дрожжами (по середине) в сравнении только с водой (справа). Расщепление дрожжами приводило к полному растворению, тогда как только вода приводила к растворению только около 1%.

Подробное описание изобретения

В заявленном изобретении предложены микроорганизмы, а также побочные продукты их жизнедеятельности, такие как био-ПАВ, растворители и/или ферменты. В заявленном изобретении также предложены способы использования этих микроорганизмов и побочных продуктов их жизнедеятельности в операциях гидравлического разрыва пласта для повышения растворения полимерных добавок в жидкости для гидроразрыва и/или пропантных покрытий. Преимущественно способы, согласно настоящему изобретению, являются экологически чистыми, эксплуатационно-дружественными и экономически эффективными.

В предпочтительных вариантах осуществления в заявленном изобретении предложены материалы и способы для улучшения добычи нефти и газа путем обработки нефтегазосодержащего пласта, подвергаемого гидравлическому разрыву пласта с композицией на основе микроорганизмов, способной растворять полимеры, которые применялись как, например, добавки к жидкости для гидроразрыва пласта и/или покрытия пропантанта.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложена композиция на основе микроорганизмов для повышения добычи нефти и газа из углеводородсодержащего пласта, причем композиция содержит микроорганизм и/или побочные продукты его жизнедеятельности. Побочными про-

дуктами жизнедеятельности могут быть, например, био-ПАВ, растворители, ферменты и/или другие метаболиты.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложен способ повышения эффективности добычи нефти и газа путем применения композиции, содержащей микроорганизм, продуцирующий био-ПАВ, растворитель и/или фермент, и/или побочный продукт его жизнедеятельности, к нефтяной скважине. Побочный продукт жизнедеятельности может являться любым метаболитом микроорганизма, таким как, например, био-ПАВ, растворитель и/или фермент.

Выбранные определения

Используемый в данном документе термин "композиция на основе микроорганизмов" означает композицию, которая содержит компоненты, которые были получены в результате жизнедеятельности микроорганизмов или других клеточных культур. Таким образом, композиция на основе микроорганизмов может содержать сами микроорганизмы и/или побочные продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Микроорганизмы могут находиться в вегетативном состоянии, в форме спор, в форме мицелия, в любой другой форме пропагул или их смеси. Микроорганизмы могут быть в форме планктона или в форме биопленки, или в виде смеси обоих. Побочными продуктами жизнедеятельности могут быть, например, метаболиты, компоненты клеточной мембраны, экспрессированные белки и/или другие клеточные компоненты. Микроорганизмы могут быть целыми или лизированными. В предпочтительных вариантах осуществления микробы присутствуют вместе с бульоном, в котором они были выращены, в композиции на основе микроорганизмов. Клетки могут присутствовать, например, в концентрации 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} или 1×10^{11} или более пропагул на 1 мл композиции. Используемый в данном документе термин пропегула означает любую часть микроорганизма, из которой может развиваться новый и/или зрелый организм, включая клетки, споры, конидии, мицелий, почки и семена, но не ограничиваясь ими.

В заявленном изобретении дополнительно предложены "продукты на основе микроорганизмов", которые представляют собой продукты, которые должны применяться на практике для достижения желаемого результата. Продукт на основе микроорганизмов может представлять собой просто композицию на основе микроорганизмов, собранную в процессе культивирования микроорганизмов. Альтернативно, продукт на основе микроорганизмов может содержать дополнительные ингредиенты, которые были добавлены. Указанные дополнительные ингредиенты могут включать, например, стабилизаторы, буферы, подходящие носители, такие как вода, растворы солей или любой другой подходящий носитель, добавленные питательные вещества для поддержки дальнейшей жизнедеятельности микроорганизмов, усилители роста, не являющиеся питательными веществами, такие как гормоны растений, и/или агенты, которые облегчают отслеживание микроорганизмов и/или композиции в среде, в которой они применяются. Продукт на основе микроорганизмов может также содержать смеси композиций на основе микроорганизмов. Продукт на основе микроорганизмов может также содержать один или несколько компонентов композиции на основе микроорганизмов, которые были обработаны каким-либо образом, таким как фильтрация, центрифугирование, лизирование, сушка, очистка и тому подобное, но не ограничиваясь ими.

Используемый в данном документе термин "изолированная" или "очищенная" молекула нуклеиновой кислоты, полинуклеотид, полипептид, белок или органическое соединение, такое как малая молекула (например, те, которые описаны ниже), по существу, не содержит других соединений, таких как клеточный материал, с которым она связана в природном состоянии. Используемый в данном документе термин "изолированный" по отношению к штамму микроорганизма означает, что штамм изолирован из среды, в которой он существует в природном состоянии. Таким образом, выделенный штамм может существовать в виде, например, биологически чистой культуры или в виде спор (или других форм штамма) в сочетании с носителем.

В определенных вариантах осуществления очищенные соединения составляют по меньшей мере 60 мас.% (сухой вес) представляющего интерес соединения. Предпочтительно препарат составляет по меньшей мере 75 мас.%, более предпочтительно по меньшей мере 90 мас.% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99 мас.% представляющего интерес соединения. Например, очищенное соединение представляет собой соединение, которое составляет по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99 или 100 мас.% желаемого соединения по массе. Чистота измерится любым подходящим стандартным методом, например колоночной хроматографией, тонкослойной хроматографией или высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ). Очищенный или выделенный полинуклеотид (рибонуклеиновая кислота (РНК) или дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)) не содержит генов или последовательностей, которые фланкируют его в своем естественном состоянии. Очищенный или выделенный полипептид не содержит аминокислот или последовательностей, которые его фланкируют в своем естественном состоянии.

Используемый в данном документе термин "применение" композиции или продукта относится к контакту с мишенью или участком, так что композиция или продукт могут оказывать влияние на эту мишень или участок. Эффект может быть обусловлен, например, ростом микроорганизмов и/или дейст-

вием био-ПАВ или другого побочного продукта жизнедеятельности. Например, композиции или продукты на основе микроорганизмов могут вводиться в нефтяные скважины и/или трубопроводы, насосы, резервуары и т.д., связанные с нефтяными скважинами.

Используемый в данном документе термин "био пленка" представляет собой сложный агрегат микроорганизмов, таких как бактерии, в котором клетки склеены друг с другом. Клетки в био пленках физиологически отличаются от планктонных клеток одного и того же организма, которые представляют собой отдельные клетки, которые могут плавать на поверхности или плавать в толще в жидкой культуральной среде.

Используемый в данном документе термин "собранный" в контексте ферментации микроорганизмами относится к удалению части или всей композиции на основе микроорганизмов из емкости для выращивания.

Термин "метаболит" относится к любому веществу, продуцируемому в метаболизме, или веществу, необходимому для участия в определенном метаболическом процессе. Метаболит может представлять собой органическое соединение, которое является исходным веществом (например, глюкоза), промежуточным соединением (например, ацетил-КоА) или конечным продуктом (например, н-бутанол) метаболизма. Примеры метаболитов могут включать ферменты, токсины, кислоты, растворители, спирты, белки, углеводы, витамины, минеральные вещества, микроэлементы, аминокислоты, полимеры и био-ПАВ, но не ограничиваются ими.

Используемый в данном документе термин "модулировать" взаимозаменяем с термином изменять (например, увеличивать или уменьшать). Такие изменения обнаруживаются известными в уровне техники стандартными способами, такими как описанные в данном документе.

Используемый в данном документе термин "ПАВ" относится к соединению, которое снижает поверхностное натяжение (или межфазное натяжение) между двумя жидкостями или между жидкостью и твердым веществом. ПАВ действуют как детергенты, смачивающие агенты, эмульгаторы, пенообразователи и/или диспергаторы. ПАВ, продуцируемый микроорганизмами, называют "био-ПАВ".

В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы, используемые в соответствии с заявленным изобретением, являются "сверхпродуцентами ПАВ". Например, штамм может продуцировать по меньшей мере 0,1-10 г/л, например 0,5-1 г/л ПАВ. Например, штамм может продуцировать по меньшей мере 10, 25, 50, 100%, в 2, 5, 7,5, 10, 12, 15 раз или больше ПАВ по сравнению с другими штаммами микроорганизмов для добычи нефти. В одном варианте осуществления, где используется *Bacillus subtilis* согласно заявленному изобретению, *Bacillus subtilis* ATCC 39307 используется в настоящем документе в качестве эталонного штамма.

Представленные в данном документе диапазоны считаются условным обозначением для всех значений в указанном диапазоне. Например, под диапазоном от 1 до 20 понимают любое значение, комбинацию значений или поддиапазон из группы, включающей 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, а также все промежуточные десятичные значения между вышеупомянутыми целыми числами, такие как, например, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 и 1,9. Что касается поддиапазонов, специально предусмотрены "охваченные поддиапазоны", которые находятся в пределах любой конечной точки диапазона. Например, охваченный поддиапазон примерного диапазона от 1 до 50 может содержать от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30 и от 1 до 40 в одном направлении, или от 50 до 40, от 50 до 30, от 50 до 20 и от 50 до 10 в другом направлении.

Используемый в данном документе термин "уменьшает" относится к отрицательному изменению, составляющему по меньшей мере 1, 5, 10, 25, 50, 75 или 100%.

Используемый в данном документе термин "референтный" относится к стандартному или контрольному условию.

Используемый в данном документе термин "добыча нефти и природного газа" относится к любым и всем операциям, связанным с добычей сырой нефти и/или природного газа из земли, переработкой и в дальнейшем ее конечной покупкой и использованием потребителями. Добыча нефти и природного газа может включать бурение, откачку, добычу, гидроразрыв пласта, обводнение скважины, перекачивание, обработку, переработку, транспортировку и хранение нефти и/или газа, но не ограничивается ими.

Используемый в данном документе термин "повышение добычи нефти и газа" означает увеличение или улучшение качества и/или количества нефти и/или газа, извлеченного и в конечном итоге добытого из участка, содержащего нефть и газ.

Используемый в данном документе термин "полимер" относится к любому макромолекулярному соединению, полученному связыванием одной или нескольких одинаковых молекулярных единиц или мономеров вместе. Полимеры включают синтетические и натуральные полимеры. Типичные полимеры включают каучуки, крахмалы, смолы, гуаровую смолу, неопрен, нейлон, ПВХ, силикон, целлюлозу, полистирол, полиэтилен, полипропилен, полиакрилонитрил, полиамины, полисахариды, полинуклеотиды, полибутиленадипаттерефталат (PBAT), полигидроксиалканоаты (PHA), полибитленсукцинат (PBS), поликапролактон (PCL), полиглицолевую кислоту (PGA), полигидроксибутираты (PHB), полиэфир, такие как полимолочную кислоту (PLA), полиакриламиды (PAM) и другие.

Используемый в данном документе термин "разрушение" полимера может использоваться взаимно-

заменяемо с "растворением", "расщеплением" и "ремедиацией" и относится к распаду или деполимеризации полимера в более растворимые в воде молекулы с более низкой молекулярной массой, способные вытекать из трещины ствола скважины. Разрушение может происходить любыми способами, включая фотоиндуцированное разрушение, термическое разрушение, химическое разрушение, такое как озонлиз, гидролиз или окисление и биоразложение, но не ограничиваясь ими.

Используемый в данном документе термин "фермент, разрушающий полимер" относится к любому ферменту, способному разрушать или усиливать разрушение или растворение полимера. Неограничивающие примеры ферментов, разрушающих полимер, включают протеазы (или протеиназы, или протеиназные ферменты), эстеразы и липазы. Было показано, что ферменты протеазы ускоряют гидролиз или разрушение PLA. Эстеразы и липазы могут также подходить для других разрушаемых полимеров, таких как поли(гидроксibuтираты) или алифатические полиэфиры. Как правило, эти ферменты выделяют из растений, животных, бактерий и грибов, а также они могут быть получены коммерчески.

Переходный термин "содержащий", который является синонимом слова "включающий" или "вмещающий", является включающим или открытым, и не исключает дополнительных неучтенных элементов или стадий способа. Напротив, переходная фраза "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанные в формуле изобретения. Переходная фраза "состоящий по существу из" ограничивает объем формулы изобретения указанными материалами или стадиями "и теми, которые не оказывают существенного влияния на основную и новую характеристику (и)" заявленного изобретения.

Если специально не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "или" понимается как включающий. Если специально не указано или не очевидно из контекста, используемые в данном документе термины в единственном числе также подразумевают и множественное число.

Если специально не указано или не очевидно из контекста, используемый в данном документе термин "примерно" понимают как находящийся в диапазоне нормальных допусков в данной области техники, например, в пределах 2 стандартных отклонений от среднего значения. Термин "примерно" можно понимать как находящийся в пределах 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0,5, 0,1, 0,05 или 0,01% от указанного значения. Если иное не ясно из контекста, все числовые значения, приведенные в данном документе, дополнены термином "примерно".

Изложение перечня химических групп в любом определении переменной в данном документе включает определения этой переменной как любой отдельной группы или комбинации указанных в перечне групп. Изложение варианта осуществления для переменной или аспекта в данном документе включает этот вариант осуществления в качестве любого отдельного варианта осуществления или в сочетании с любыми другими вариантами осуществления или их частями.

Любые композиции или способы, представленные в настоящем документе, можно комбинировать с одной или несколькими любыми другими композициями и способами, представленными в настоящем документе.

Другие признаки и преимущества данного изобретения будут очевидны из последующего описания его предпочтительных вариантов осуществления и из формулы изобретения. Все ссылки, цитируемые в данном документе, включены в него посредством ссылки.

Штаммы микроорганизмов, выращенные в соответствии с настоящим изобретением.

Микроорганизмами, выращенными в соответствии с системами и способами по настоящему изобретению, могут быть, например, бактерии, дрожжи и/или грибы. Эти микроорганизмы могут быть природными или генетически модифицированными микроорганизмами. Например, микроорганизмы могут быть трансформированы специфическими генами для проявления специфических характеристик. Микроорганизмы также могут быть мутантами желаемого штамма. Используемый в данном документе термин "мутант" означает штамм, генетический вариант или подтип эталонного микроорганизма, причем мутант имеет одну или несколько генетических вариаций (например, точечную мутацию, миссенс-мутацию, нонсенс-мутацию, делецию, дупликацию, мутацию со сдвигом рамки или экспансию повторов) по сравнению с эталонным микроорганизмом. Процедуры получения мутантов хорошо известны в области микробиологии. Например, УФ-мутагенез и нитрозогуанидин широко используются для этой цели.

В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой дрожжи или грибы. Виды дрожжей и грибов, пригодные для использования согласно настоящему изобретению, включают *Candida*, *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. boulardii sequela*, *S. torula*), *Issatchenkia*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Wickerhamomyces* (например, *W. anomalus*), *Starmerella* (например, *S. bombicola*), *Mycorrhiza*, *Mortierella*, *Phycomyces*, *Blakeslea*, *Thraustochytrium*, *Phythium*, *Entomophthora*, *Aureobasidium pullulans*, *Pseudozyma aphidis*, *Fusarium venenatum*, *Aspergillus*, *Trichoderma* (например, *T. reesei*, *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*) и/или *Rhizopus spp.*

В одном варианте осуществления дрожжи являются дрожжами-киллерами. Используемый в данном документе термин "дрожжи-киллеры" означает штамм дрожжей, характеризующийся секретацией токсических белков или гликопротеинов, против которого сам штамм является невосприимчивым. Экзотоксины, выделяемые дрожжами-киллерами, способны убивать другие штаммы дрожжей, грибов или бактерий. Например, микроорганизмы, с которыми можно бороться дрожжами-киллерами, включают *Fusarium*

и другие нитчатые грибы. Примерами дрожжей-киллеров в соответствии с настоящим изобретением являются те, которые можно безопасно использовать в пищевой промышленности и ферментации, например, в пивоварении, виноделии и в хлебопечении; те, которые могут быть использованы для борьбы с другими микроорганизмами, которые могут загрязнять такие производственные процессы; те, которые могут быть использованы в биоборьбе для сохранения пищевых продуктов; те, которые могут быть использованы для лечения грибных инфекций у людей и растений; и те, которые могут быть использованы в технологии рекомбинантных ДНК. Такие дрожжи могут включать *Wickerhamomyces*, *Pichia* (например, *P. anomala*, *P. guilliermondii*, *P. kudriavzevii*, *P. occidentalis*), *Hansenula*, *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, (например, *H. uvarum*), *Ustilago maydis*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Torulopsis*, *Ustilago*, *Williopsis*, *Zygosaccharomyces* (например, *Z. bailii*), и другие, но не ограничиваются ими.

В определенных вариантах осуществления штамм микроорганизма представляет собой дрожжи *Pichia*, выбранные из *Pichia anomala* (*Wickerhamomyces anomalus*), *Pichia guilliermondii* и *Pichia kudriavzevii*. *Wickerhamomyces anomalus*, в частности, является эффективным продуцентом различных растворителей, ферментов, токсинов-киллеров, а также софоролипидных био-ПАВ.

В одном варианте осуществления штамм микроорганизма выбран из клady *Starmerella*. Культура микроорганизма *Starmerella* полезна в соответствии с заявленным изобретением, *Starmerella bombicola*, может быть получена из Американской коллекции типовых культур (ATCC), 10801 Университетский бул., Манассас, Ва. 20110-2209 США. Депозиту присвоен депозитарный номер ATCC 22214 депозитарием.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложено использование штамма дрожжей ATCC 22214 и его мутантов. Этот штамм является эффективным продуцентом софоролипидных био-ПАВ.

В предпочтительном варианте осуществления микроорганизмы представляют собой бактерии, включая грамположительные и грамотрицательные бактерии. Бактерии могут быть, например, *Bacillus* (например, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. firmus*, *B. laterosporus*, *B. megaterium*, *B. amyloliquifaciens*), *Clostridium* (*C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*, *C. acetobutyricum*, *Clostridium NIPER 7* и *C. beijerinckii*), *Azobacter* (*A. vinelandii*, *A. chroococcum*), *Pseudomonas* (*P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* (Kluyver), *P. aeruginosa*), *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Ralstonia eulorpha*, и/или *Rhodospirillum rubrum*.

В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой штамм *B. subtilis*, такой как, например, *B. subtilis* var. *locuses* B1 или B2, которые являются эффективными продуцентами, например, сурфактина и других био-ПАВ, а также биополимеров. В данное описание включена международная публикация WO 2017/044953 A1 в качестве ссылки в той степени, в которой она соответствует раскрытию данной заявки. В другом варианте осуществления микроорганизм представляет собой штамм *Bacillus licheniformis*, который является эффективным продуцентом био-ПАВ, а также биополимеров, таких как леван.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении используют штаммы *Bacillus subtilis* с повышенной продукцией био-ПАВ по сравнению с диким типом *Bacillus subtilis*, а также по сравнению с другими микроорганизмами, используемыми при добыче нефти. Такие *Bacillus subtilis* были названы членами серии В, включая B1, B2 и B3, но не ограничиваясь ими.

В предпочтительных вариантах осуществления такие штаммы характеризуются повышенной продукцией био-ПАВ по сравнению со штаммами дикого типа *Bacillus subtilis*. В определенных вариантах осуществления штаммы *Bacillus subtilis* увеличивают производство биополимерного растворителя и/или фермента.

Штамм серии В *Bacillus subtilis* продуцирует больше био-ПАВ по сравнению с эталонными штаммами *Bacillus subtilis*. Кроме того, штаммы *Bacillus subtilis* выживают в условиях высокого содержания соли и анаэробных условиях лучше, чем другие известные *Bacillus* strains. Штаммы также способны расти в анаэробных условиях.

Штаммы *Bacillus subtilis* серии В также могут быть использованы для продуцирования ферментов, которые разрушают или метаболизируют нефть или другие нефтепродукты.

В определенных вариантах осуществления штаммы *Bacillus subtilis* являются солеустойчивыми. Солеустойчивость может быть по отношению к любой одной или нескольким солям. Например, соль может быть одновалентной солью, такой как соль натрия или калия, например NaCl или KCl, или двухвалентной солью, такой как соль магния или кальция, например MgCl₂ или CaCl₂, или трехвалентной солью.

В некоторых вариантах осуществления штаммы *Bacillus subtilis* способны активно расти в условиях низкого содержания кислорода.

Другие штаммы микроорганизмов, включая, например, штаммы, способные накапливать значительные количества, например гликолипид-био-ПАВ, могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением. Другие побочные продукты жизнедеятельности микроорганизмов, применимые в соответствии с настоящим изобретением, включают маннопротеин, бета-глюкан и другие метаболиты,

которые обладают биоэмульгирующими свойствами и способствуют снижению поверхностно-го/межфазного натяжения.

Культивирование микроорганизмов в соответствии с заявленным изобретением.

В заявленном изобретении используют способы культивирования микроорганизмов и продуцирования микробных метаболитов и/или других побочных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Настоящее изобретение дополнительно использует процессы культивирования, которые подходят для культивирования микроорганизмов и получения метаболитов микроорганизмов в желаемом масштабе. Указанные процессы культивирования включают глубинную ферментацию, твердофазную ферментацию (SSF) и их комбинации, но не ограничиваются ими.

Системы культивирования микроорганизмов обычно используют глубинное культивирование культур; тем не менее, поверхностные культуры и гибридные системы также могут быть использованы. Используемый в данном документе термин "культивирование" относится к выращиванию клеток в контролируемых условиях. Культивирование может быть аэробным или анаэробным.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложены материалы и методы для производства биомассы (например, жизнеспособного клеточного материала), внеклеточных метаболитов (например, небольших молекул и выделенных белков), остаточных питательных веществ и/или внутриклеточных компонентов (например, ферментов и других белков).

Емкость для выращивания микроорганизмов, используемый в соответствии с настоящим изобретением, может представлять собой любой ферментер или реактор для культивирования для промышленного использования. В одном варианте осуществления емкость может иметь функциональные элементы управления/датчики или может быть связана с функциональными элементами управления/датчиками для измерения важных факторов в процессе культивирования, таких как pH, кислород, давление, температура, мощность на валу мешалки, влажность, вязкость и/или плотность микроорганизмов и/или концентрация метаболитов.

В дополнительном варианте осуществления емкость также может быть способна контролировать рост микроорганизмов внутри емкости (например, измерение количества клеток и фаз роста). Альтернативно, суточный образец может быть взят из емкости и подвергнут подсчету методами, известными в данной области техники, такими как посев методом разведения. Посев методом разведения - это простой метод, используемый для подсчета количества бактерий в образце. Указанным методом также можно рассчитать индекс, по которому можно сравнивать различные среды или методы обработки.

В одном варианте осуществления способ включает дополнение культивирования источником азота. Источником азота может быть, например, нитрат калия, нитрат аммония, сульфат аммония, фосфат аммония, аммиак, мочевины и/или хлорид аммония. Указанные источники азота могут использоваться независимо или в комбинации двух или более.

Способ культивирования может обеспечить оксигенацию растущей культуры. В одном варианте осуществления используется медленное движение воздуха для удаления воздуха с низким содержанием кислорода и введения насыщенного кислородом воздуха. Насыщенный кислородом воздух может быть окружающим воздухом, ежедневно пополняемым через механизмы, включающие в себя турбинные мешалки для механического перемешивания жидкости и распределители воздуха для подачи пузырьков газа в жидкость для растворения кислорода в жидкости.

Способ может дополнительно включать дополнение культивирования источником углерода. Источником углерода обычно является углевод, такой как глюкоза, сахароза, лактоза, фруктоза, трегалоза, манноза, маннит и/или мальтоза; органические кислоты, такие как уксусная кислота, фумаровая кислота, лимонная кислота, пропионовая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота и/или пировиноградная кислота; спирты, такие как этанол, пропанол, бутанол, пентанол, гексанол, изобутанол и/или глицерин; жиры и масла, такие как соевое масло, масло канолы, масло рисовых отрубей, оливковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и/или льняное масло; и т.п. Указанные источники углерода могут использоваться независимо или в комбинации двух или более.

В одном варианте осуществления факторы роста и микроэлементы для микроорганизмов включены в питательную среду. Это особенно предпочтительно при культивировании микроорганизмов, которые не способны вырабатывать все необходимые им витамины. Неорганические питательные вещества, включая микроэлементы, такие как железо, цинк, медь, марганец, молибден и/или кобальт, также могут быть включены в питательную среду. Кроме того, источники витаминов, незаменимых аминокислот и микроэлементов могут быть включены, например, в форме муки или муки крупного помола, таких как кукурузная мука, или в форме экстрактов, таких как дрожжевой экстракт, экстракт картофеля, экстракт говядины, экстракт соевых бобов, экстракт банановой кожуры и тому подобное или в очищенных формах. Аминокислоты, такие как, например, те, которые полезны для биосинтеза белков, также могут быть включены, например L-аланин.

В одном варианте осуществления также могут быть включены неорганические соли. Пригодными неорганическими солями могут быть дигидрофосфат калия, гидрофосфат дикалия, гидрофосфат натрия, сульфат магния, хлорид магния, сульфат железа, хлорид железа, сульфат марганца, хлорид марганца, сульфат цинка, хлорид свинца, сульфат меди, хлорид кальция, карбонат кальция и/или карбонат на-

трия. Указанные неорганические соли могут использоваться независимо или в комбинации двух или более.

В некоторых вариантах осуществления способ культивирования может дополнительно включать добавление дополнительных кислот и/или противомикробных препаратов в жидкую питательную среду перед и/или во время процесса культивирования. Антимикробные агенты или антибиотики используются для защиты культуры от загрязнения. Кроме того, могут быть добавлены пеногасители для предотвращения образования и/или накопления пены, когда газ образуется во время культивирования.

Значение pH смеси должно соответствовать интересующему микроорганизму. Буферы и регуляторы pH, такие как карбонаты и фосфаты, могут быть использованы для стабилизации pH примерно предпочтительного значения. Когда ионы металлов присутствуют в высоких концентрациях, может потребоваться использование хелатирующего агента в жидкой питательной среде.

Способ и оборудование для культивирования микроорганизмов и получения микробных побочных продуктов жизнедеятельности могут быть выполнены в периодическом, полунепрерывном процессе или непрерывном процессе культивирования.

Микроорганизмы могут быть выращены в планктонной форме или в виде биопленки. В случае биопленки в емкости может быть субстрат, на котором можно выращивать микроорганизмы в состоянии биопленки. Система также может иметь, например, возможность применять стимулы (такие как механическое раздражение), которые стимулируют и/или улучшают характеристики роста биопленки.

В одном варианте осуществления способ культивирования микроорганизмов осуществляют при температуре от примерно 5 до примерно 100°C, предпочтительно от 15 до 60°C, более предпочтительно от 25 до 50°C. В дополнительном варианте осуществления культивирование может проводиться непрерывно при постоянной температуре. В другом варианте культивирование может подвергаться изменению температуры.

В одном варианте осуществления оборудование, используемое в способе и процессе культивирования, является стерильным. Оборудование для культивирования, такое как реактор/емкость, может быть отделено от стерилизационного устройства, например от автоклава, но подключено к нему. Оборудование для культивирования также может иметь стерилизационный блок, который стерилизует *in situ* перед началом инокуляции. Воздух можно стерилизовать способами, известными в данной области техники. Например, окружающий воздух может проходить по меньшей мере через один фильтр, прежде чем упадет в емкость. В других вариантах осуществления питательная среда может быть пастеризована или, необязательно, вообще не нагреваться, причем может быть использовано низкая активность воды и низкий pH для борьбы с ростом бактерий.

Содержание биомассы в ферментационном бульоне может составлять, например, от 5 до 180 г/л или более. В одном варианте осуществления содержание твердых веществ в бульоне составляет от 10 до 150 г/л.

Побочный продукт жизнедеятельности микроорганизмов, продуцируемый микроорганизмами, представляемыми интересом, может удерживаться в микроорганизмах или секретироваться в жидкую ростовую среду. В другом варианте осуществления способ получения побочного продукта жизнедеятельности микроорганизмов может дополнительно включать стадии концентрирования и очистки побочного продукта жизнедеятельности микроорганизмов, представляющего интерес. В дополнительном варианте осуществления ростовая среда может содержать соединения, которые стабилизируют активность побочного продукта жизнедеятельности микроорганизмов.

В одном варианте осуществления метаболиты получают путем культивирования штамма микроорганизма по заявленному изобретению в условиях, подходящих для роста и продуцирования метаболитов; и, необязательно, очистки метаболитов. Метаболит может быть любым био-ПАВ, ферментом, растворителем, белком, кислотой, токсином или другим соединением, образующимся в результате роста микроорганизма.

В одном варианте осуществления всю композицию для культивирования микроорганизмов удаляют по завершении культивирования (например, после достижения желаемой плотности клеток или плотности указанного метаболита в бульоне). В указанном периодическом режиме культивирования совершенно новая партия начинается после получения первой партии.

В другом варианте осуществления только часть продукта ферментации удаляется одновременно. В этом варианте осуществления биомасса с жизнеспособными клетками остается в сосуде в качестве инокулянта для новой партии культивирования. Композиция, которая удаляется, может представлять собой бульон, не содержащий клеток, или может содержать клетки. Таким образом, создают полунепрерывную систему.

Композиции на основе микроорганизмов.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложена композиция на основе микроорганизмов для повышения добычи нефти и газа из углеводородсодержащего пласта, причем композиция содержит микроорганизм и/или побочные продукты его жизнедеятельности. Побочными продуктами жизнедеятельности могут быть, например, био-ПАВ, растворители, ферменты и/или другие ме-

таболиты.

Композицию по настоящему изобретению можно использовать для разрушения или повышения разрушения полимерных добавок в скважинах с гидравлическим разрывом пласта. Композиция может быть использована для эффективного расщепления полимолочной кислоты (PLA), используемой в качестве средства уменьшения трения, деструктора или другой добавки для жидкости для гидроразрыва.

Композиция может быть использована для расщепления, например, волокон, шаров или хлопьев PLA. Композиция также может быть использована для эффективного расщепления полигликолида (PGA), например, в форме волокон или шаров для гидроразрыва. Композиция может быть дополнительно использована для повышения добычи нефти и/или газа.

Преимущественно композиции на основе микроорганизмов могут быть использованы для расщепления или повышения разрушения полимеров, например, в скважинах с гидроразрывом пласта. Композиция по настоящему изобретению также может быть полезна в качестве раствора для обратного потока, в котором био-ПАВ и другие побочные продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут эффективно снижать поверхностное натяжение воды до желаемого диапазона, например 28-30 дин/см. Композиции также могут помочь снизить энергозатраты, необходимые для вымывания материалов для гидроразрыва пласта после использования.

В предпочтительных вариантах осуществления композиция на основе микроорганизмов содержит микроорганизмы и/или их побочные продукты. В одном варианте осуществления микроорганизмами, используемыми в способах по настоящему изобретению, являются одна или несколько бактерий или дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, или их комбинацию. В одном варианте осуществления композиция на основе микроорганизмов содержит "дрожжи-киллеры", такие как, например, *Wickerhamomyces anomalus* и/или продукты жизнедеятельности этого вида. В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой дрожжи клады *Starmerella*. В одном варианте осуществления микроорганизм представляет собой бактерию клады *Bacillus*.

Композиция на основе микроорганизмов может содержать ферментационную среду, содержащую живую культуру и/или метаболиты микроорганизмов, продуцируемые микроорганизмом, и/или любые остаточные питательные вещества. Продукт ферментации может быть использован непосредственно без экстракции или очистки. При желании экстракция и очистка могут быть легко достигнуты с использованием стандартных методов или методик экстракции и/или очистки, описанных в литературе.

Композиция на основе микроорганизмов может содержать бульон или среду, в которой были выращены микроорганизмы. Продукт может представлять собой, например, по меньшей мере 1, 5, 10, 25, 50, 75 или 100 мас.% бульона. Количество биомассы в продукте может составлять, например, от 0 до 100 мас.%, включая все процентные значения в диапазоне между ними.

Содержание биомассы в ферментационном бульоне может составлять, например, от 5 до 180 г/л или более. В одном варианте осуществления содержание твердых веществ в бульоне составляет от 10 до 150 г/л.

Дополнительные компоненты могут быть добавлены к композиции на основе микроорганизмов, например буферные агенты, носители, другие композиции на основе микроорганизмов, производимые в той же или другой установке, модификаторы вязкости, консерванты, питательные вещества для роста микроорганизмов, агенты для отслеживания, биоциды, другие микроорганизмы, ПАВ, эмульгаторы, смазывающие вещества, агенты, регулирующие растворимость, агенты, регулирующие pH, консерванты, стабилизаторы и устойчивые к ультрафиолету агенты.

В одном варианте осуществления в композицию на основе микроорганизмов могут быть включены ферменты, разрушающие полимеры. Ферменты, используемые в соответствии с настоящим изобретением, могут включать, например, протеиназы, эстеразы, липазы, оксидоредуктазы, гидролазы, лиазы, целлюлазы, гемицеллюлазы, пектиназы, ксантаназу, маннаназу, α -галактозидазу, амилазу и их смеси, которые способны разрушать полимерные субстраты при уровнях pH, обнаруженных в подземных пластах. В одном варианте осуществления фермент представляет собой проназу. В другом варианте осуществления фермент представляет собой протеиназу K.

В некоторых вариантах осуществления ферменты могут быть высушены распылением, высушены сублимацией или тому подобное. В определенных вариантах осуществления ферменты композиций могут быть предоставлены, *inter alia*, в очищенной форме, в частично очищенной форме, в виде цельных клеток, в виде лизатов цельных клеток или любой их комбинации. Концентрация ферментов должна быть в количестве, эффективном для ускорения гидролиза разрушаемого полимера в стволе скважины до желаемой степени в данных условиях. Например, если желательна относительно более высокая скорость гидролиза, тогда может быть включена более высокая концентрация выбранного фермента или смеси ферментов. Фактическое количество будет зависеть, в частности, от температуры в стволе скважины, концентрации разрушаемого полимера, конкретного выбранного фермента и желаемой скорости гидролиза.

В одном варианте осуществления композиция на основе микроорганизмов может дополнительно содержать материалы для повышения роста микроорганизмов во время применения. Эти материалы могут быть, например, питательными веществами и/или усилителями роста. Источники питательных ве-

ществ могут включать, например, азот, нитраты, нитриты, фосфор, магний и/или углерод или любой другой источник питательных веществ, который можно использовать для культивирования микроорганизмов, как предусмотрено в данном описании. Усилители роста могут включать, например, L-аланин, L-валин, L-аспарагин и/или марганец в микромолярных количествах.

В одном варианте осуществления композиция может дополнительно содержать буферные агенты, включая органические кислоты и аминокислоты или их соли для стабилизации pH около предпочтительного значения. Подходящие буферы включают цитрат, глюконат, тартрат, малат, ацетат, лактат, оксалат, аспартат, малонат, глюкогептонат, пируват, галактарат, глюкарат, тартронат, глутамат, глицин, лизин, глутамин, метионин, цистеин, аргинин и их смеси, но не ограничиваются ими. Фосфорная и фосфористая кислоты или их соли также могут быть использованы. Синтетические буферы пригодны для использования, но предпочтительно использовать природные буферы, такие как органические кислоты и аминокислоты или их соли.

В дополнительном варианте осуществления регуляторы pH включают гидроксид калия, гидроксид аммония, карбонат или бикарбонат калия, соляную кислоту, азотную кислоту, серную кислоту или их смеси.

Значение pH композиции на основе микроорганизмов должно соответствовать интересующему микроорганизму. В предпочтительном варианте осуществления pH композиции на основе микроорганизмов находится в диапазоне 7,0-7,5.

В одном варианте осуществления в композицию на основе микроорганизмов могут быть включены дополнительные компоненты, такие как водный препарат соли, такой как бикарбонат или карбонат натрия, сульфат натрия, фосфат натрия или бифосфат натрия.

В некоторых вариантах осуществления композиции по настоящему изобретению имеют преимущества перед, например, только био-ПАВ или ферментами, включая одно или несколько из следующих: высокие концентрации маннопротеина (биоэмульгатора) в качестве части внешней поверхности клеточной стенки дрожжей; наличие биополимера бета-глюкана (эмульгатора) в клеточных стенках дрожжей; присутствие в культуре био-ПАВ, способных снижать поверхностное и межфазное натяжение; и присутствие растворителей и/или метаболитов (например, молочной кислоты, этанола, этилацетата и т.д.).

Приготовление продуктов на основе микроорганизмов.

Одним из продуктов на основе микроорганизмов по настоящему изобретению является просто ферментационный бульон, содержащий микроорганизм и/или метаболиты микроорганизмов, продуцируемые микроорганизмом, и/или любые остаточные питательные вещества. Продукт ферментации может быть использован непосредственно без экстракции или очистки. Например, микроорганизмы и/или бульон, полученный в результате роста микроорганизмов, могут быть удалены из емкости для выращивания и перенесены, например, через трубопровод для немедленного использования.

При желании экстракция и очистка могут быть легко достигнуты с использованием стандартных методов или методик экстракции и/или очистки, описанных в литературе.

После получения композиции на основе микроорганизмов из емкости для выращивания можно добавлять дополнительные компоненты, когда полученный продукт помещают в контейнеры и/или доставляют по трубам (или иным образом транспортируют для использования). Добавками могут быть, например, буферы, носители, другие композиции на основе микроорганизмов, производимые в той же или другой установке, модификаторы вязкости, консерванты, питательные вещества для роста микроорганизмов, усилители роста и тому подобное.

В одном варианте осуществления композиция (микроорганизмы, бульон или микроорганизмы и бульон) может быть помещена в контейнеры соответствующего размера, принимая во внимание, например, предполагаемое использование, предполагаемый способ применения, размер ферментационной емкости и любой способ транспортировки от установки для выращивания микроорганизма до места использования. Таким образом, контейнеры, в которые помещена композиция на основе микроорганизмов, могут иметь объем, например, от 1 до 1000 галлонов или более. В других вариантах осуществления контейнеры имеют объем 2, 5, 25 галлонов или больше.

Другие штаммы микроорганизмов, включая, например, другие штаммы грибов, способные расщеплять полимеры, такие как PLA, или накапливать значительные количества, например, гликолипид-био-ПАВ, и/или растворителей и/или ферментов могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением. Био-ПАВ и растворители, которые полезны в соответствии с настоящим изобретением, включают маннопротеин, бета-глюкан, этанол, молочную кислоту и другие метаболиты, которые обладают, например, биоэмульгирующими свойствами и способствуют снижению поверхностного/межфазного натяжения. Ферменты, используемые в соответствии с настоящим изобретением, включают ферменты, разрушающие полимеры, которые способны разрушать полимерные вещества в условиях (например, pH и температура), присутствующих в подземном пласте.

Другие подходящие добавки, которые могут содержаться в составах согласно настоящему изобретению, включают вещества, которые обычно используются для таких препаратов. Примеры таких добавок включают поверхностно-активные вещества, эмульгаторы, смазывающие вещества, буферные агенты, агенты, регулирующие растворимость, агенты, регулирующие pH, консерванты, стабилизаторы и

агенты, устойчивые к ультрафиолетовому излучению.

В одном варианте осуществления композиция может дополнительно содержать буферные агенты, включая органические кислоты и аминокислоты или их соли. Подходящие буферы включают цитрат, глюконат, тартрат, малат, ацетат, лактат, оксалат, аспарат, малонат, глюкогептонат, пируват, галактарат, глюкарат, тартронат, глутамат, глицин, лизин, глутамин, метионин, цистеин, аргинин и их смеси. Фосфорная и фосфористая кислоты или их соли также могут быть использованы. Синтетические буферы пригодны для использования, но предпочтительно использовать природные буферы, такие как органические кислоты и аминокислоты или их соли, перечисленные выше.

В дополнительном варианте осуществления регуляторы pH включают гидроксид калия, гидроксид аммония, карбонат или бикарбонат калия, соляную кислоту, азотную кислоту, серную кислоту или их смесь.

В одном варианте осуществления в состав могут быть включены дополнительные компоненты, такие как водный препарат соли в виде полипротоновой кислоты, такой как бикарбонат или карбонат натрия, сульфат натрия, фосфат натрия, бифосфат натрия.

Преимущественно в соответствии с заявленным изобретением продукт на основе микроорганизмов может содержать бульон, в котором были выращены микроорганизмы. Продукт может представлять собой, например, по меньшей мере 1, 5, 10, 25, 50, 75 или 100 мас.% бульона. Количество биомассы в продукте может составлять, например, от 0 до 100 мас.%, включая все процентные значения в диапазоне между ними.

По желанию, продукт может храниться до использования. Время хранения предпочтительно короткое. Так, время хранения может составлять менее 60, 45, 30, 20, 15, 10, 7, 5, 3, 2, 1 дня или 12 ч. В предпочтительном варианте осуществления, если в продукте присутствуют живые клетки, продукт хранят при прохладной температуре, такой как, например, менее 20, 15, 10 или 5°C. С другой стороны, композицию био-ПВА обычно можно хранить при температуре окружающей среды.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложены продукты ферментации дрожжей, которые можно использовать для расщепления или повышения разрушения полимеров в скважинах с гидроразрывом пласта. Продукт ферментации дрожжей может быть получен путем культивирования дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, таких как, например, *Wickerhamomycetes anomalus* (*Pichia anomala*). Ферментационный бульон после 7 дней культивирования при 25-30°C может содержать суспензию дрожжевых клеток и, например, 4 г/л или более био-ПАВ.

Продукт ферментации дрожжей также может быть получен путем культивирования дрожжей, продуцирующих био-ПАВ, растворитель и/или фермент, таких как, например, *Starmerella bombicola*. Ферментационный бульон после 5 дней культивирования при 25°C может содержать суспензию дрожжевых клеток и, например, 100 г/л или более био-ПАВ.

В одном варианте осуществления композицию, согласно настоящему изобретению, получают посредством процессов культивирования, варьирующихся от малого до крупного масштаба. Процесс культивирования может представлять собой, например, глубинное культивирование, твердофазную ферментацию (SSF) и/или их комбинацию.

Микроорганизмы в композиции на основе микроорганизмов могут находиться в активной или неактивной форме. Микроорганизмы могут быть в вегетативной форме, в форме спор или в любой другой форме пропагул микроорганизмов или их комбинаций. Продукты на основе микроорганизмов могут использоваться без дальнейшей стабилизации, консервации и хранения. Преимущественно прямое использование этих продуктов на основе микроорганизмов сохраняет высокую жизнеспособность микроорганизмов, уменьшает возможность загрязнения посторонними агентами и нежелательными микроорганизмами и поддерживает активность побочных продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Местное производство продуктов на основе микроорганизмов.

В предпочтительных вариантах осуществления данного изобретения установка для выращивания микроорганизмов продуцирует новые микроорганизмы с высокой плотностью и/или побочные продукты жизнедеятельности микроорганизмов, представляющие интерес, в желаемом масштабе. Установка для выращивания микроорганизмов может быть расположена в месте применения или рядом с ним. Предприятие производит микробные композиции с высокой плотностью при периодическом, полунепрерывном или непрерывном культивировании.

Распределенные установки для выращивания микроорганизмов по настоящему изобретению могут быть расположены в месте, где будет использоваться продукт на основе микроорганизмов (например, в месторождении) или рядом с местом использования. Например, средство для выращивания микроорганизмов может находиться менее чем примерно в 483 км (300 милях), 402 км (250 милях), 322 км (200 милях), 241 км (150 милях), 161 км (100 милях), 122 км (75 милях), 80,5 км (50 милях), 40,2 км (25 милях), 24,1 км (15 милях), 16,1 км (10 милях), 8,0 км (5 милях), 4,8 км (3 милях) или 1,6 км (1 милье) от места использования.

Поскольку продукт на основе микроорганизмов производится локально, не прибегая к процессам стабилизации, сохранения, хранения и транспортировки микроорганизмов при обычном производстве

микроорганизмов, может быть получена значительно более высокая плотность живых микроорганизмов в вегетативном состоянии или состоянии спор, тем самым требуется меньший объем продукта на основе микроорганизмов для использования на месте применения или который позволяет применять микроорганизмы с гораздо более высокой плотностью, где это необходимо для достижения желаемой эффективности. Это позволяет использовать биореактор уменьшенного размера (например, меньший резервуар для брожения; меньшие запасы исходного материала, питательных веществ, агентов для регулирования pH и пеногасителей и т.д.) без необходимости стабилизировать клетки или отделять их от культурального бульона, что делает систему эффективной и облегчает транспортабельность продукта.

Локальное получение продукта на основе микроорганизмов также способствует включению в продукт ростового бульона. Бульон может содержать агенты, образующиеся во время ферментации, которые особенно хорошо подходят для местного применения.

Произведенные локально высокоплотные и устойчивые культуры микроорганизмов более эффективны в полевых условиях, чем те, которые подверглись вегетативной стабилизации клеток или некоторое время находились в цепочке поставок. Продукты на основе микроорганизмов по настоящему изобретению особенно выгодны по сравнению с традиционными продуктами, в которых клетки были отделены от метаболитов и питательных веществ, присутствующих в ферментационной питательной среде. Сокращение сроков транспортировки позволяет производить и доставлять новые партии микроорганизмов и/или их метаболитов в определенное время и в объеме, как этого требует местный спрос.

Установки для выращивания микроорганизмов по настоящему изобретению производят новые композиции на основе микроорганизмов, содержащие сами микроорганизмы, метаболиты микроорганизмов и/или другие компоненты бульона, в котором выращиваются микроорганизмы. При желании композиции могут иметь высокую плотность вегетативных клеток или смесь вегетативных клеток, репродуктивных спор, конидий и/или мицелия.

Преимущественно композиции могут быть адаптированы для использования в указанном месте. В одном варианте осуществления установка для выращивания микроорганизмов расположена на участке или вблизи него, где будут использоваться продукты на основе микроорганизмов.

Преимущественно указанные установки для выращивания микроорганизмов обеспечивают решение текущей проблемы, заключающейся в том, чтобы полагаться на крупных промышленных производителей, чье качество продукции страдает из-за задержек в процессе переработки, затруднений в цепочке поставок, неправильного хранения и других непредвиденных обстоятельств, которые препятствуют своевременной доставке и применению, например, жизнеспособного продукта с высоким содержанием клеток и связанных с ним бульона и метаболитов, в котором первоначально выращивались клетки.

Преимущественно в предпочтительных вариантах осуществления системы по настоящему изобретению используют возможности природных микроорганизмов и их побочных продуктов их метаболизма для улучшения добычи нефти. Установки для выращивания микроорганизмов обеспечивают универсальность производства за счет способности адаптировать продукты на основе микроорганизмов для улучшения синергии с географическими точками назначения. Местные микроорганизмы могут быть идентифицированы на основании, например, солеустойчивости и способности расти при высоких температурах.

Время культивирования для отдельных емкостей может составлять, например, от 1 до 7 дней или дольше. Продукт культивирования можно получать любым из множества способов.

Местное производство и доставка в течение, например, 24 ч после ферментации приводит к чистым композициям с высокой плотностью клеток и существенно снижает стоимость доставки. Учитывая перспективы быстрого продвижения в разработке более эффективных и мощных микроорганизмов для инокуляции, потребители получают большую выгоду от этой способности быстро доставлять продукты на основе микроорганизмов.

В одном варианте осуществления композицию, согласно настоящему изобретению, получают посредством процессов культивирования, варьирующихся от небольших (например, лабораторных условий) до крупных (например, промышленных условий) масштабов. Указанные процессы культивирования включают глубинное культивирование/ферментацию, твердофазную ферментацию (SSF) и их комбинации, но не ограничиваются ими.

Преимущественно продукты на основе микроорганизмов можно производить в удаленных местах. Средства для выращивания микроорганизмов могут работать вне сети с использованием, например, солнечной, ветровой и/или гидроэнергетики.

Повышение добычи нефти и газа и повышение разрушения и извлечения полимера.

В одном варианте осуществления в настоящем изобретении предложен способ улучшения производительности нефтяных и газовых скважин, или повышения добычи нефти и газа, путем повышения разрушения полимерных добавок, используемых в жидкостях для гидроразрыва, таких как покрытие пропантанта, или в шарах для ГРП.

Способ также может быть полезен для освоения скважины, особенно в операциях гидроразрыва пласта, а также для восстановления состояния нефтегазосодержащих пластов (т.е. восстановление пластов, ранее подвергшихся гидроразрыву). Например, заявленные композиции и способы могут помочь в

восстановлении повреждения пласта в районах, окружающих ствол скважины, и могут ремедировать полимеры (например, PLA и PGA) и биополимеры (например, гуаровая камедь и ксантановая камедь), которые остались от предыдущих операций по гидроразрыву пласта. Таким образом, забитые каналы может быть открыты в пластах для обеспечения дальнейшей возможности гидроразрыва пласта.

В одном варианте осуществления способ включает применение композиции, содержащей один или несколько штаммов микроорганизмов и/или побочного продукта их жизнедеятельности к нефтяной скважине, которая подвергается обработке гидравлическим разрывом. Побочный продукт жизнедеятельности может являться любым метаболитом микроорганизма, таким как, например, био-ПАВ, растворитель и/или фермент. Этот способ может быть применен к вертикальным скважинам, а также к горизонтальным скважинам.

Предпочтительно микроорганизмы из композиции на основе микроорганизмов и/или побочные продукты их жизнедеятельности могут быстро расщеплять полимеры, такие как, например, PLA или PGA, таким образом, способ может улучшать способность извлекать углеводородные ресурсы путем уменьшения накопления PLA, PGA, или других полимеров и/или смол в трещинах и стволах скважинах с гидроразрывом пласта.

В одном варианте осуществления, микроорганизм является собой дрожжи, например, *Wickerhamomyces anomalus* и/или *Starmerella bombicola*. В одном варианте осуществления, микроорганизм является собой бактерию, такую как, например, бактерия кланды вида *Bacillus*. В одном варианте осуществления комбинация микроорганизмов используется в композиции на основе микроорганизмов. На момент применения микроорганизм может быть живым (или жизнеспособным) или в форме споры. Микроорганизмы могут расти *in situ* и продуцировать активные соединения на месте. Следовательно, высокая концентрация, например, био-ПАВ, растворителя и/или фермента, и микроорганизмов, продуцирующих био-ПАВ, в месте обработки (например, в нефтяной скважине) может быть достигнута легко и непрерывно.

Способ может дополнительно включать добавление материалов для повышения роста и/или развития микроорганизмов во время применения (например, добавление питательных веществ для стимуляции роста микроорганизмов и/или усилителей роста). В одном варианте осуществления, источники питательных веществ могут включать, например, азот, нитрат, фосфор, магний и/или углерод. В одном варианте осуществления, усилители роста могут включать, например, L-аланин, L-валин, L-аспарагин и/или марганец в микромолярных количествах.

В одном варианте осуществления, способ может дополнительно включать добавление ферментов, разрушающих полимер, к месту для того, чтобы повысить разрушение полимера.

Способ может быть осуществлен *in situ* путем применения композиции и необязательных питательных веществ и/или других агентов непосредственно к нефтяному пласту или к жидкости для гидроразрыва пласта.

В одном варианте осуществления, обработка может быть применена к обсадной колонне скважины с использованием стандартного перекачивания насосом и/или колонны гибких труб. Насос на поверхности скважины направляет жидкость с композицией в пласт, и трубопровод помогает изолировать различные зоны разрыва так, что все зоны внутри скважины можно достать. В некоторых скважинах может быть до 20 и более различных зон разрыва.

В одном варианте осуществления, количество и концентрация композиции на основе микроорганизмов, применяемой к скважине, определяется длиной зоны разрыва и глубиной скважины. Например, объем применяемой обработки может варьировать от 300 до 3000 галлонов или более.

В одном варианте осуществления, обработка применяется после завершения первичного гидроразрыва пласта, например, через пять или более лет после него. В другом варианте осуществления, обработка применяется, когда скважина начинает терять добычу из-за накопления полимера. В другом варианте осуществления, обработка применяется сразу после завершения гидроразрыва пласта.

В одном варианте осуществления, способ может дополнительно включать стадию применения тепла к обработке для гидроразрыва пласта для дополнительного ускорения разрушения полимера.

В одном варианте осуществления, в заявленном изобретении предложены способы получения фермента, разрушающего полимер, путем культивирования штамма микроорганизма по настоящему изобретению в условиях, подходящих для роста и продукции ферментов; и, дополнительно, очистки фермента.

Способы по настоящему изобретению могут быть использованы для разрушения различных полимеров, особенно тех, которые используются в качестве добавок в жидкостях для гидравлического разрыва. Неограничивающие примеры полимеров включают полимолочную кислоту, или поли(молочную кислоту), или полилактид (PLA), другие полиэфиры, добавки на основе гуаровой смолы, крахмалы, полибутиленадипаттерефталат (PBAT), полигидроксиалканоаты (PHA), полиакриламид (PAM), полибитленсукцинат (PBS), поликапролактон (PCL), полигликолевую кислоту (PGA), полигидроксибутираты (PHB) и/или смеси этих материалов. Свойства, включая время разрушения в выбранных условиях, таких полимеров могут зависеть от распределения по молекулярному весу, степени кристаллизации, сополимеров и добавок.

В предпочтительных вариантах осуществления, настоящее изобретение может быть использовано для разрушения полимолочной кислоты или PLA. PLA является биоразлагаемым термопластичным по-

лиэфиром с температурой плавления около 150°C. Она была использована, например, для изготовления безопасных пищевых контейнеров, формованных деталей, пленок, пен, волокон и как материалов для 3D печати. В нефтегазовой отрасли, PLA используется в качестве добавки при гидравлическом разрыве пласта для увеличения производительности скважинах с гидроразрывом пласта. Например, волокна PLA используются для предотвращения оттока проппанта, а PLA хлопья и шары используются как средства уменьшения трения и деструкторы.

В дополнительных вариантах осуществления, настоящее изобретение может быть использовано для разрушения полигликолевой кислоты или PGA. PGA также является биоразлагаемым термопластичным полиэфиром с температурой плавления около 200°C. Она была использована, например, для изготовления медицинских имплантатов и носителей для доставки лекарств, а также в рассасывающихся нитях. В нефтегазовой отрасли, PGA используется в качестве агентов медленного высвобождения для ингибиторов коррозии, диспергаторов, ингибиторов разложения для смазочных материалов в движущемся оборудовании, закупоривающего агента или для растворения осадений и предотвращения коррозии, или в форме шаров для ГПП, чтобы обеспечить возможность гидроразрыва пласта в зоне.

PLA и PGA могут быть получены химическим синтезом или из возобновляемых ресурсов, например, от ферментации сахаров или кукурузного крахмала. PLA также может быть получена из нефти. Из-за химических свойств PLA и PGA, эти конкретные полимеры могут разрушаться днями или даже месяцами с использованием, например, только воды или другие природных процессов.

Таким образом, настоящее изобретение выгодно тем, что в нем предложены композиции и способы для разрушения или повышения разрушения полимеров, таких как PLA или PGA, которые могут накапливаться в скважинах с гидроразрывом пласта и снижать продуктивность скважин. Как используется в данном документе, "повышение разрушения" относится к снижению времени, требуемому для разрушения.

В одном варианте осуществления, в заявленном изобретении предложены способы извлечения или выведение на поверхность полимерных веществ, которые остаются в скважинах с гидроразрывом пласта. Например, био-ПАВ, полученные способами и микроорганизмами по настоящему изобретению, могут уменьшать межфазное натяжение жидкостей. Таким образом, затем жидкости могут быть использованы для поднятия полимерных веществ для гидроразрыва, таких как полиакриламидные (ПАМ) гелевые средства уменьшения трения, с большей легкостью и меньшими затратами энергии. В другом варианте осуществления, био-ПАВ могут быть использованы для расщепления ПАМ геля.

В другом варианте осуществления, продукты и композиции на основе микроорганизмов по заявленному изобретению могут использоваться в скважинах, подвергающихся гидроразрыву с жидкостью на кислотной основе. При гидроразрыве с жидкостью на кислотной основе, кислоты, такие как соляная кислота, муравьиная кислота и уксусная кислота, используются для протравливания каналов в скважине в горной породе. Закупоривающие агенты используются для создания барьеров в определенных перфорациях в пласте, таким образом направляя кислоту в другие желаемые области.

В одном варианте осуществления предложены способы для ремедиации, т.е. разрушение, кислоты и другие закупоривающие агенты используются при гидроразрыве с жидкостью на кислотной основе с использованием композиций на основе микроорганизмов по настоящему изобретению. В частности, предложен способ ремедиации закупоривающего агента бензойной кислоты, включающий применение композиций на основе микроорганизмов по настоящему изобретению к скважине, подвергающейся гидроразрыву с жидкостью на кислотной основе.

Хлопья или порошок бензойной кислоты растворимы в толуоле, ксилоле, спирте и некоторых конденсатных жидкостях, но они очень медленно растворяются в воде или газе. Бензойная кислота часто используется в качестве закупоривающего агента, потому что она растворима в жидкостях, обычно встречающихся в скважинах; тем не менее, если она плохо диспергирована или смешана, перфорации закроются. Когда такая закупорка происходит, она не может быть быстро растворена из-за снижения потока жидкости. Например, закупоркам бензойной кислоты может потребоваться шесть месяцев или больше, чтобы вернуться к нормальной производительности после обработки бензойной кислотой.

Примеры

Более глубокое понимание настоящего изобретения и его многочисленных преимуществ можно получить из следующих примеров, приведенных в качестве иллюстрации. Следующие примеры иллюстрируют некоторые способы, применения, варианты осуществления и варианты настоящего изобретения. Они не должны рассматриваться как ограничивающие изобретение. Многочисленные изменения и модификации могут быть сделаны в отношении изобретения.

Пример 1. Культивирование дрожжевых продуктов *Wickerhamomyces anomalus* и *Starmerella bombicola*.

Посевную культуру поддерживают путем посева штрихом свежей жидкой культуры на чашку с картофельным агаром с декстрозой и выращивают посевную культуру при 30°C на протяжении 3 дней. Потом чашки с посевной культурой можно хранить при 4°C на протяжении максимум 2 недель.

Для культивирования дрожжей использовали среду YGSU. Для *W. anomalus* начальный pH корректировали до 5,5. Посевную культуру переносили из чашки с агаром в 1-л колбу с рабочим объемом

200 мл. Культуру культивировали на качалке при 30°C со скоростью перемешивания 200 об/мин. Через 7 дней био-ПАВ наблюдались в виде коричневого слоя осадка с концентрацией около 4 г/л.

В случае *S. bombicola* ферментационный бульон через 5 дней культивирования при 25°C может содержать суспензию дрожжевых клеток и, например, 100 г/л или более био-ПАВ.

Пример 2. Обработка шаров PLA дрожжевым продуктом.

Как показано на фиг. 1 и 2, продукты ферментации дрожжей можно инкубировать с жидкостью для гидроразрыва пласта, содержащей, например, шары PLA в течение 24 ч. Шар PLA после инкубации с продуктом ферментации дрожжей был полностью растворен, тогда как при инкубации в течение того же периода времени только с водой произошло полное растворение только 1% (требуется около 1 месяца для полного растворения).

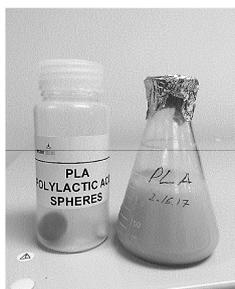
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ для разрушения полимолочной кислоты (PLA) и/или полигликолиевой кислоты (PGA) в скважине с гидроразрывом пласта, отличающийся тем, что включает применение к скважине композиции, содержащей один или несколько микроорганизмов и/или побочный продукт их жизнедеятельности, причем один или несколько микроорганизмов выбраны из *Starmerella bombicola* и *Wickerhamomyces anomalus*, и разрушение полимеров с помощью композиции в скважине.

2. Способ по п.1, в котором стадия применения композиции включает закачивание композиции в ствол скважины.

3. Способ по п.1, дополнительно включающий введение фермента, разрушающего полимер, выбранного из проназы и протеиназы К.

4. Применение способа по п.1 для увеличения добычи нефти из скважины с гидроразрывом пласта путем улучшения передачи через трубопровод, резервуар, обсадную колонну, насосно-компрессорную трубу, стержень, насос и/или ствол скважины на нефтепромысле.



Фиг. 1



Фиг. 2

