



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*E21B 41/02 (2022.01); C12N 7/00 (2022.01)*

(21)(22) Заявка: 2021110749, 16.04.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
16.04.2021

Дата регистрации:  
15.03.2022

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
17.04.2020 IN 202021016688

(45) Опубликовано: 15.03.2022 Бюл. № 8

Адрес для переписки:

107061, г. Москва, ул. Преображенская пл., д.  
6, этаж 1, помещение VIз, ООО "Вахнина и  
Партнеры"

(72) Автор(ы):

**КУМАР, Маной (IN),  
САХУ, Пракаш Чандра (IN),  
ПУРИ, Суреш Кумар (IN),  
РАМАКУМАР, Шанкара Шри Венката (IN)**

(73) Патентообладатель(и):

**Индиан Оил Корпорейшн Лимитед (IN)**

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: US 9650272 B2, 16.05.2017. RU  
2272789 C2, 27.03.2006. US 8585899 B2,  
19.11.2013. WO 2012135427 A1, 04.10.2012. WO  
2002040642 A1, 23.05.2002. US 20190309889 A1,  
10.10.2019. US 8168419 B2, 01.05.2012.

(54) ОБРАБОТКА НЕФТЯНЫХ ТРУБОПРОВОДОВ ОТ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРОЗИИ  
БИОСОСТАВОМ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к способу снижения интенсивности или предотвращения образования коррозионно-активной биопленки на металлической поверхности. Способ включает получение образца с соответствующего участка, идентификацию и культивирование штамма бактерии-мишени, идентификацию и получение бактериофага против микробов на основе вышеуказанного образца, иммобилизацию или инкапсуляцию полученных бактериофагов на наномангнитной частице, нанолигнине и их комбинации, приготовление микробицидного состава для ингибирования коррозии путем добавления, по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов и стабилизатора к комбинированному раствору, содержащему спирт и углеводород, с последующим добавлением иммобилизованных или инкапсулированных

фагов, обработку соответствующего участка микробицидным составом. Культивирование штаммов осуществляют в присутствии микробных антибиотиков в субоптимальной концентрации 1/15 от минимальной ингибирующей концентрации, и при этом бактериофаги избирательно высвобождаются при pH в диапазоне от 6.5 до 4 по месту МБК. Микробицидный состав содержит по крайней мере один спирт, один жидкий углеводород, бактериофаг, иммобилизованный на магнитном нанокompозите, по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов и один стабилизатор. Снижается интенсивность образования биопленки на поверхностях, в результате чего достигается снижение, ослабление или устранение микробной коррозии на внутренней поверхности нефтепроводов. 2 н. и 9 з.п. ф-лы, 4 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*E21B 41/02 (2022.01); C12N 7/00 (2022.01)*

(21)(22) Application: **2021110749, 16.04.2021**

(24) Effective date for property rights:  
**16.04.2021**

Registration date:  
**15.03.2022**

Priority:

(30) Convention priority:  
**17.04.2020 IN 202021016688**

(45) Date of publication: **15.03.2022 Bull. № 8**

Mail address:

**107061, g. Moskva, ul. Preobrazhenskaya pl., d. 6,  
etazh 1, pomeshchenie V1z, OOO "Vakhnina i  
Partnery"**

(72) Inventor(s):

**KUMAR, Manoj (IN),  
SAHOO, Prakash Chandra (IN),  
PURI, Suresh Kumar (IN),  
RAMAKUMAR, Sankara Sri Venkata (IN)**

(73) Proprietor(s):

**Indian Oil Corporation Limited (IN)**

(54) **TREATMENT OF OIL PIPELINES AGAINST MICROBIOLOGICAL CORROSION WITH BIOCOMPOSITION**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: group of inventions relates to a method for reducing intensity or preventing formation of a corrosive biofilm on a metal surface. Method includes obtaining a sample from a corresponding area, identifying and culturing a strain of a target bacterium, identifying and obtaining a bacteriophage against microbes based on said sample, immobilizing or encapsulating the obtained bacteriophages on a nanomagnetic particle, nanolignin and a combination thereof, preparing a microbicide composition for inhibiting corrosion by adding at least one phage release reagent and a stabilizer to a combined solution containing an alcohol and hydrocarbon, with subsequent addition of immobilized or encapsulated phages, treatment of corresponding area with microbicide

composition. Cultivation of the strains is carried out in the presence of microbial antibiotics in suboptimal concentration of 1/15 of the minimum inhibitory concentration, and the bacteriophages are selectively released at pH within range of 6.5 to 4 at the microbiologic corrosion site. Microbicidal composition contains at least one alcohol, one liquid hydrocarbon, a bacteriophage immobilized on a magnetic nanocomposite, at least one phage release reagent and one stabilizer.

EFFECT: reduced intensity of biofilm formation on surfaces, resulting in reduction, attenuation or elimination of microbial corrosion on the inner surface of oil pipelines.

11 cl, 4 tbl

## ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[001] Настоящее изобретение относится к способу снижения интенсивности или предотвращения образования коррозионно-активной биопленки на металлической поверхности. Настоящее изобретение относится также к микробицидному составу, содержащему, по крайней мере, один спирт, один жидкий углеводород, бактериофаг, 5 иммобилизованный на магнитном нанокompозите, по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов и один стабилизатор.

## ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[002] Микробиологическая коррозия (МБК) - это повреждение инженерных 10 материалов и систем переработки, вызываемое живыми организмами. Системы добычи, транспортировки и переработки нефти и газа особенно подвержены риску микробиологической коррозии (МБК), что может привести к коррозии металлического имущества и сопутствующим убыткам.

[003] Основными классами микробов, вызывающих биообрастание, являются 15 сульфатредуцирующие бактерии (SRB), железокисляющие/ редуцирующие бактерии (IRB), микробы, секретирующие органические кислоты (APB), экзополимеры или слизиобразующие бактерии (SPB), метаноген, нитратоснижающие бактерии, бактерии с низкими потребностями питательных веществ и т. д. Эти организмы, в большинстве случаев, сосуществуют в природных биопленках, часто образующих синергетические 20 сообщества, которые могут оказывать влияние на электрохимические процессы посредством совместного метаболизма, как правило, не характерного для индивидуальных организмов. Коррозия, вызываемая микробами, приводит к появлению точечной коррозии на металлической поверхности и вызывает обширные повреждения оборудования для добычи, хранения и транспортировки нефти и газа. Трубопроводные 25 системы, днища резервуаров и другие части нефтедобывающего оборудования могут быстро выйти из строя в случае появления участков с микробной коррозией. Если поврежденный участок находится на стенке трубопровода или на дне резервуара для хранения нефти, то утечка нефти может нанести серьезный урон окружающей среде.

[004] Были описаны различные стратегии для борьбы с МБК, включая использование 30 коррозионностойких металлов, контроль температурного режима, регулирование уровня pH, радиацию, фильтрацию, защитные покрытия с ингибиторами коррозии или другие химические методы контроля, т.е. биоциды, бактериологический контроль, т.е. фаги, конкурентная микрофлора, внутренняя очистка трубопроводов скребком (т.е. механическое удаление отложений и продуктов коррозии), анодная и катодная защита, 35 а также модуляция уровня питательных веществ и т.д. Однако эти способы, как правило, требуют высоких затрат, но при этом недостаточно эффективны, действуют непродолжительное время или требуют многократного повторения.

[005] Механическая очистка скребком в сочетании с дозированным введением биоцидов является наиболее часто используемым подходом для контроля над МБК в 40 трубопроводах, используемых для транспортировки нефти и газа. С помощью скребка с поверхности труб удаляются отложения и биопленка, но обработка биоцидами менее эффективна из-за их плохой проницаемости, что требует частого дозированного введения биоцидов или непрерывной обработки в течение заданного времени. Обычно биоциды дозируются в высокой концентрации и поэтому обладают высокой реакционной 45 способностью, нанося ущерб окружающей среде. Растворимость биоцида в масляной фазе также является проблемой. Таким образом, существует острая необходимость в разработке способа и состава, которые позволят не только преодолеть недостатки существующих составов и способов, но и обеспечивали бы эффективное решение

проблемы снижения и/или ослабления МБК в трубопроводах.

[006] WO 2019/014061 раскрывает составы и способы борьбы с окислением и коррозией, вызываемыми прокариоты, такие как SRP, путем обработки нефтегазовых промышленных сред с использованием недавно открытого бактериального штамма PTA-124262 или путем его введения в составы для обработки в качестве саморазмножающейся 5 целой клетки, продуцирующей анти-SRP бактериоцинов по месту введения. В другом аспекте в способах контроля над нежелательным ростом прокариот в этих средах используется один или несколько токсичных пептидов или выделенных из них белков.

[007] US 2019/0023975 относится к биоцидным составам, рецептурам и способам 10 использования рецептур. US 9732369 описывает многофазный процесс обработки МБК в зависимости от условий, предполагающий оценку существования необходимых условий для обработки поверхности от МБК, оценку степени МБК, а затем проведение обработки против МБК со степенью агрессивности, откорректированной пропорционально степени МБК. Описанная методология частично позволяет 15 осуществлять непрерывный или периодический мониторинг и оценку риска появления МБК в нефтяном оборудовании (например, в трубопроводах) и проводить обработку, соответствующую уровню интенсивности МБК, позволяя подбирать гибкое решение, наиболее подходящее для конкретной ситуации, с наименьшими затратами.

[008] US 10085445 описывает препарат для ингибирования биокоррозии металла, 20 характеризующийся высокой экологической и производственной безопасностью.

[009] US 20160360749 описывает способы ослабления или устранения МБК на металлической поверхности, включая обработку металлической поверхности эффективным количеством жидкого состава с индолом или функционально эквивалентным аналогом или его производным. Приводятся также способы снижения 25 интенсивности или предотвращения образования коррозионно-активной биопленки на металлической поверхности, в том числе обработка металлической поверхности эффективным количеством жидкого состава с индолом или функционально эквивалентным аналогом или его производным.

[0010] US 9464267 описывает процесс устранения бактерий-мишеней, в частности 30 сульфатредуцирующие бактерий (SRB), в водных средах с большим количеством и разнообразием хозяйских бактерий-мишеней путем серийного или стадийного культивирования и лизиса доминирующей бактерии. Устранение сульфатредуцирующие бактерий (SRB) осуществляется путем применения серии бактериофагов, выделенных путем стадийного культивирования и бактериофагового лизиса последовательных 35 аликвотов воды, содержащей множество SRB.

[0011] US 9650272 описывает безопасное, природное и экологически чистое средство борьбы с бактериальным загрязнением, коррозией и окислением в нефтяных и газовых скважинах и резервуарах вследствие наличия в скважине воды, загрязненной бактериями.

[0012] US 9453247 относится к способу снижения риска прерывания технологического 40 процесса при производстве биотоплива путем уменьшения количества нежелательных бактерий в системе производства биотоплива за счет использования эффективного количества одного вида или нескольких видов бактериофагов, вирулентных хотя бы в отношении некоторых штаммов нежелательных бактерий.

[0013] WO 2009076642 описывает способ снижения биокоррозии или образования 45 загрязняющей биопленки путем выявления мишени, по подозрениям содержащей один или несколько биокоррозионных организмов, и доставки к мишени, по подозрениям содержащей биокоррозионные организмы, эффективного количества состава с набором инфекционных вирулентных вирусных агентов, достаточного для снижения количества

биокоррозионных организмов внутри мишени.

[0014] US 9453247 и US 8585899 раскрывают информацию о получении фагового коктейля селективным воздействием на бактериальную группу одного типа. Однако настоящее изобретение преодолевает это ограничение и предлагает состав и способ для ингибирования всех групп микробов.

[0015] US 2014030306A1, US 2016215920A1 раскрывает биоцидные и антимикробные свойства бактериофага. Журнал «Cellulose Chemistry and Technology», 47 (9-10), 727-734 (2013) сообщает о высокой поглощающей способности магнитных наночастиц  $Fe_3O_4$  (МНЧ) в направлении лигнина. Однако ни в одной из существующих публикаций не раскрывается иммобилизация фага на лигнине и магнетите/гематите.

[0016] WO 2009076642A2 описывает водную среду как среду переноса фага. Однако в настоящем изобретении в качестве питательной среды используется углеводородная среда, которая может поставляться по трубопроводу в присутствии жидкости, включающей дизель, гексадекан, спирты, бензин, авиационное топливо для ТРД, нефть и др.

[0017] WO 2009076642A2 и US 9453247 описывают неспецифическое выделение фага. Однако настоящее изобретение раскрывает целенаправленное выделение фага по месту возникновения МБК.

[0018] US 9650272B2 описывает способ борьбы с бактериальным загрязнением, коррозией и окислением в нефтяных и газовых скважинах и резервуарах вследствие наличия в скважине воды, загрязненной бактериями. По одному из аспектов, это процесс устранения окисления в нефтяных резервуарах и угольных пластах посредством добавления в воду, используемую для заводнения и "гидроразрыва" пласта, эффективного количества вирулентных бактериофагов, действующих прицельно в отношении проблемных бактерий.

[0019] Таким образом, можно сделать вывод о том, что существующие решения по устранению МБК в трубопроводах требуют высокой концентрации биоцидов для всех групп возбудителей/ дозировок, такая концентрация реакционноспособна/ опасна для окружающей среды. Кроме того, требуется непрерывное дозирование биоцида и последующее наблюдение, что требует высоких затрат. Микробы также развивают устойчивость к биоцидам. Смесь сырой нефти и биоцидов обрабатывается в процессе снижения МБК в трубопроводах. Поскольку для этого изобретения не требуются никакие химикаты, оно экологически безопасно. В случае обработки на основе фагов, фаги используются против одной конкретной группы микробов, вызывающих МБК, что в результате не дает полного решения проблемы МБК ни на одном участке трубопровода. Фаговый коктейль, разработанный в этом изобретении, эффективен против всех групп микробов вызывающих МБК, присутствующих в любом трубопроводе.

[0020] Основной целью настоящего изобретения является обеспечение способа для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, т.е. на металлической поверхности оборудования для переработки, хранения, транспортировки нефти и природного газа.

[0021] Еще одной целью настоящего изобретения является получение микробицидного состава для снижения активности или устранения биопленок на металлических поверхностях и, как следствие, снижение, ослабление или устранение МБК на внутренней поверхности нефтепроводов.

[0022] Еще одной целью настоящего изобретения является создание коктейля бактериофагов, эффективного для всех групп микроорганизмов, вызывающих МБК,

присутствующих на любом участке трубопровода.

[0023] Еще одной целью настоящего изобретения является разработка иммобилизованных или инкапсулированных бактериофагов, эффективных для снижения интенсивности или предотвращения образования коррозионно-активной биопленки на металлической поверхности нефтепроводов.

### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0024] Настоящее изобретение относится к способу для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, т.е. на металлической поверхности оборудования для переработки, хранения, транспортировки нефти и природного газа. Описываемое изобретение относится также к микробицидному составу, содержащему, по крайней мере, один спирт, один жидкий углеводород, бактериофаг, иммобилизованный на магнитном нанокompозите, по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов и один стабилизатор для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке.

[0025] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке; этапами указанного способа являются:

(i) получение образца с соответствующего участка, идентификация и культивирование штамма бактерии-мишени с использованием известных методов;

(ii) идентификация и получение бактериофага против микробов, вызывающих микробную коррозию, на основе вышеуказанного образца;

(iii) иммобилизация или инкапсуляция полученных бактериофагов на наномангнитной частице, нанолигнине и их комбинации;

(iv) приготовление микробицидного состава для ингибирования коррозии путем добавления, по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов и стабилизатора к комбинированному раствору, содержащему спирт и углеводород, с последующим добавлением иммобилизованных или инкапсулированных фагов;

(v) обработка соответствующего участка микробицидным составом для оказания воздействия с целью уменьшения или устранения микробной коррозии (МБК)

при этом культивирование бактериальных штаммов на этапе (i) осуществляется в присутствии микробных антибиотиков в субоптимальной концентрации 1/15 от минимальной ингибирующей концентрации, и при этом бактериофаги избирательно высвобождаются при рН в диапазоне от 6.5 до 4 по месту МБК.

[0026] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого осуществляется иммобилизация бактериофагов на магнитных наночастицах с помощью связующих веществ, имеющих в своем составе терминальные альдегидные или эпоксидные группы, и в рамках которого связующие вещества выбираются из группы, включающей глутаральдегид и диглицидиловый эфир.

[0027] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого иммобилизация бактериофагов достигается с помощью любого из следующих процессов: ультразвуковая иммобилизация, встряхивание, ковалентная иммобилизация или иммобилизация зарядом.

[0028] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой Способ для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого наномангнитная частица или нанолигнин функционализируется функционализирующим агентом аминной или карбоксильной

группы и имеет углеродную цепь длиной от 3 до 12 атомов;

и в рамках которого функционализирующий агент воздействует на первичный или вторичный амин, аминокислоты, функционализированную амином металлоорганическую каркасную структуру или хитозан или N-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-(диметиламино)пропил) карбодимида гидрохлорид.

[0029] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

спирт для включения в микробицидный состав на этапе (iv) описываемого процесса выбирают из группы, состоящей из этанола, изопропанола, гликоля, этиленгликоля, диэтиленгликоля, 1, 2-пропиленгликоля, дипропиленгликоля, трипропиленгликоля, гликолевого эфира, бутилгликоля, бутил дигликоля, гликолевого эфира, ацетата бутил дигликоля, 2, 2, 4-триметилпентандиола моноизобутирата, полиэтиленгликоля, полипропиленгликоля, бензилового спирта, n-бутилового спирта, бензилового спирта, 2,4-дихлорбензилового спирта и 2-феноксигэтанол, а также их комбинаций.

[0030] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

углеводород в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса выбирается из группы, состоящей из дизеля, бензина, керосина, алкенов, циклогексана и жидкого топлива для нефтепереработки.

[0031] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

реагент для высвобождения фагов в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса, является протической и апротической ионной жидкостью и выбирается из группы, состоящей из 1-Бензил-3-метиллимидазолиевого тетрафторбората ([BzMIM] [BF<sub>4</sub>]), 1-Бутил-3-метилмидазол хлорида ([BMIM] [Cl]), триэтиламония ацетата (TEAA), холиндигидрогенфосфата ([Chol] [DHP]), холин серината ([Chol] [Ser]), этиламмиачной селитры (EAN), тетрабутилфосфония бромид (TBPBr) и их комбинаций.

[0032] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

стабилизатор в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса выбирается из группы, состоящей из N,N-диметилэтанолamines, таких как (N,N-диметилламиноэтокси) этанол; диметилэтанолamina; триэтанолamina; метилдиэтанолamina; этанолamina; диэтанолamina; других циклических аминов, включая морфолин, морфолин метила, этилморфолин, пиперидин, алкилпиперидины, пиперазин, алкилпиперазины; этиленовых аминов, включая ДЕТА, ТЕТА, ТЕРА и подобные; алкильных аминов, включая метиламин, диметил-амин, алкилметиламины, диметил-алкиламины; метил-аминопропиламинов; диметил-аминопропиламинов; диметил-аминоэтиламина; метил-аминоэтиламина и их комбинаций.

[0033] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

необходимым участком является металлическая поверхность оборудования для переработки, хранения и транспортировки нефти и природного газа.

[0034] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для

снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

этапу (v) процесса, предусматривающему обработку участка микробицидным составом, описываемом в настоящем документе, предшествует многократно повторяющаяся очистка поверхности с помощью щеточного скребка.

[0035] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

штаммом-мишенью является анаэробная бактерия, вызывающая коррозию путем образования бактериальной биопленки на металлической поверхности.

[0036] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

штамм-мишень выбирается из группы, состоящей из сульфатредуцирующих бактерий (SRB), железоокисляющих/ редуцирующих бактерий (IRB), бактерий, секретирующих органические кислоты (APB), экзополимеров или слизиобразующих бактерий (SPB), метаногена, нитратоснижающих бактерий и бактерий с низкими потребностями питательных веществ, а также их комбинаций.

[0037] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

образцом является образец шлама, взятый из Твердых бытовых отходов (ТБО), Канализационных очистных сооружений (КОС) или любых промышленных стоков посредством скребкования.

[0038] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого микробицидный состав, состоящий из бактериофагов в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>; по крайней мере, одного спирта в количестве 50-75% (об/об); углекислого газа в количестве 25-50% (об/об); по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн; стабилизатора в количестве 6-10 ч/млн, эффективен для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке.

[0039] В другом аспекте настоящее изобретение относится к микробицидному составу, предназначенному для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, в состав которого входят следующие компоненты:

- (i) бактериофаги в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>;
- (ii) по крайней мере, один спирт в количестве 50-75% (об/об);
- (iii) углекислый газ в количестве 25-50% (об/об);
- (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн;

и

- (v) стабилизатор в количестве 6-10 ч/млн.

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

[0040] Специалисты в данной области техники знают, что в настоящее изобретение могут быть внесены различные вариации и изменения, помимо тех, которые описаны здесь. Следует понимать, что настоящее изобретение включает в себя все такие возможные вариации и изменения. Описываемое изобретение также включает в себя все этапы процесса и характеристики продукта, упомянутые или указанные в данном описании, как по отдельности, так и совместно, а также любые и все комбинации любых

описанных и дополнительных этапов или характеристик.

[0041] *Определения*

5 [0042] Для удобства перед дальнейшим описанием настоящего изобретения здесь приведены некоторые термины и примеры, использованные в описании. Эти определения следует читать далее по тексту описания изобретения и толковать, как они были бы истолкованы специалистом в данной области техники. Используемые здесь термины имеют общепринятые значения, понятные специалистам в данной области технических знаний, однако для удобства и полноты некоторые термины и их значения приведены ниже.

10 [0043] В английской версии описания артикли «a», «an» и «the» используются для обозначения одного или нескольких (т.е. по крайней мере одного) грамматических объектов, перед которыми употреблен артикль.

[0044] Термины «содержит» и «содержащий» используются в инклюзивном, открытом смысле, это означает, что могут быть включены дополнительные элементы. Этот 15 термин не может толковаться как «состоящий только из».

[0045] По всему тексту описания, если контекст не требует иного, слово «содержит» и все его производные, такие как «содержит» или «содержащий», должны толковаться как подразумевающие включение заявленного элемента или этапа или группы элементов или этапов, но не исключение любого другого элемента или этапа или группы элементов 20 или этапов.

[0046] Термин «включающий» означает «включающий без ограничений». «Включающий» и «включающий без ограничений» используются как взаимозаменяемые выражения.

[0047] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые 25 в описании, имеют общепринятое значение в той технической области, к которой относится данное изобретение. Несмотря на то, что на практике или при проведении испытаний описываемого изобретения могут использоваться любые методы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, что описаны здесь, далее приводится описание предпочтительных методов и материалов. Все упоминаемые в описании 30 публикации считаются включенными в настоящее описание посредством ссылки.

[0048] Настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными здесь вариантами воплощения, которые служат исключительно для целей иллюстрации. Функционально эквивалентные продукты и методы считаются безусловно входящими в объем описываемого изобретения.

35 [0049] В рамках настоящего изобретения представлен способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, т.е. на металлической поверхности оборудования для переработки, хранения, транспортировки нефти и природного газа. Описываемое изобретение также представляет собой микробицидный состав, содержащий, по крайней мере, один спирт, один жидкий углеводород, 40 бактериофаг, иммобилизованный на магнитном нанокompозите, по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов и один стабилизатор для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке.

[0050] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке; этапами 45 указанного способа являются:

(i) получение образца с соответствующего участка, идентификация и культивирование штамма бактерии-мишени с использованием известных методов;

(ii) идентификация и получение бактериофага против микробов, вызывающих

микробную коррозию, на основе вышеуказанного образца;

iii) иммобилизация или инкапсуляция полученных бактериофагов на наномангнитной частице, нанопигменте и их комбинации;

iv) приготовление микробицидного состава для ингибирования коррозии путем добавления, по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов и стабилизатора к комбинированному раствору, содержащему спирт и углеводород, с последующим добавлением иммобилизованных или инкапсулированных фагов;

v) обработка соответствующего участка микробицидным составом для оказания воздействия с целью уменьшения или устранения микробной коррозии (МБК)

при этом культивирование бактериальных штаммов на этапе (i) осуществляется в присутствии микробных антибиотиков в субоптимальной концентрации 1/15 от минимальной ингибирующей концентрации, и при этом бактериофаги избирательно высвобождаются при рН в диапазоне от 6.5 до 4 по месту МБК.

[0051] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого осуществляется иммобилизация бактериофагов на магнитных наночастицах с помощью связующих веществ, имеющих в своем составе терминальные альдегидные или эпоксидные группы, и в рамках которого связующие вещества выбираются из группы, включающей глутаральдегид и диглицидиловый эфир.

[0052] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

иммобилизация бактериофагов достигается с помощью любого из следующих процессов: ультразвуковая иммобилизация, встряхивание, ковалентная иммобилизация или иммобилизация зарядом.

[0053] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

наномангнитная частица или нанопигмент функционализируется функционализирующим агентом аминной или карбоксильной группы, и имеет углеродную цепь длиной от 3 до 12 атомов; и в рамках которого функционализирующий агент воздействует на первичный или вторичный амин, аминокислоты, функционализированную амином металлоорганическую каркасную структуру или хитозан или N-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-(диметиламино)пропил) карбодимида гидрохлорид.

[0054] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

микробицидный состав, состоящий из бактериофагов в количестве не менее  $10^9$  ПФУ  $\text{мл}^{-1}$ ; по крайней мере, одного спирта в количестве 50-75% (об/об); углеводорода в количестве 25-50% (об/об); по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн; стабилизатора в количестве 6-10 ч/млн, эффективен для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке.

[0055] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

спирт для включения в микробицидный состав на этапе (iv) описываемого процесса выбирают из группы, состоящей из этанола, изопропанола, гликоля, этиленгликоля, диэтиленгликоля, 1, 2-пропиленгликоля, дипропиленгликоля, трипропиленгликоля,

гликолевого эфира, бутилгликоля, бутил дигликоля, гликолевого эфира, ацетата бутил дигликоля, 2, 2, 4-триметилпентандиола моноизобутирата, полиэтиленгликоля, полипропиленгликоля, бензилового спирта, н-бутилового спирта, бензилового спирта, 2,4-дихлорбензилового спирта и 2-феноксэтанола, а также их комбинаций.

5 [0056] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

углеводород в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса выбирается из группы, состоящей из дизеля, бензина, керосина, алкенов, циклогексана и жидкого топлива для нефтепереработки.

10 [0057] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

реагент для высвобождения фагов в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса, является протической и аprotической ионной жидкостью и выбирается из группы, состоящей из 1-Бензил-3-метиллимидазолиевого тетрафторбората ([BzMIM] [BF<sub>4</sub>]), 1-Бутил-3-метилмидазол хлорида ([BMIM] [Cl]), триэтиламония ацетата (TEAA), холиндигидрогенфосфата ([Chol] [DHP]), холин серината ([Chol] [Ser]), этиламмиачной селитры (EAN), тетрабутилфосфония бромиды (TBPBr) и их комбинаций.

15 [0058] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

стабилизатор в микробицидном составе на этапе (iv) описываемого процесса выбирается из группы, состоящей из N,N-диметилэтанолamines, таких как (N,N-диметилламиноэтокси) этанол; диметилэтанолamina; триэтанолamina; метилдиэтанолamina; этанолamina; диэтанолamina; других циклических аминов, включая морфолин, морфолин метила, этилморфолин, пиперидин, алкилпиперидины, пиперазин, алкилпиперазины; этиленовых аминов, включая ДЕТА, ТЕТА, ТЕРА и подобные; алкильных аминов, включая метиламин, диметил-амин, алкилметиламины, диметил-алкиламины; метил-аминопропиламинов; диметил-аминопропиламинв; диметил-аминоэтиламина; метил-аминоэтиламина и их комбинаций.

20 [0059] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

35 необходимым участком является металлическая поверхность оборудования для переработки, хранения и транспортировки нефти и природного газа.

[0060] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

40 этапу (v) процесса, предусматривающему обработку участка микробицидным составом, предшествует многократно повторяющаяся очистка поверхности с помощью щеточного скребка.

[0061] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

образцом является образец шлама, взятый из Твердых бытовых отходов (ТБО), Канализационных очистных сооружений (КОС) или любых промышленных стоков посредством скребкования.

[0062] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

штаммом-мишенью является анаэробная бактерия, вызывающая коррозию путем образования бактериальной биопленки на металлической поверхности.

[0063] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке, в рамках которого

штамм-мишень выбирается из группы, состоящей из сульфатредуцирующих бактерий (SRB), железоокисляющих/ редуцирующих бактерий (IRB), бактерий, секретирующих органические кислоты (APB), экзополимеров или слизиобразующих бактерий (SPB), метаногена, нитратоснижающих бактерий и бактерий с низкими потребностями питательных веществ, а также их комбинаций.

[0064] Бактериофаг или фаг - это вирус, поражающий бактерии и архии, и размножающийся внутри них.

[0065] В соответствии с настоящим изобретением для выделения бактериофагового коктейля используется способ, обладающий эффективным действием в отношении всех микробов, который состоит из следующих этапов:

1. Сбор образцов шлама из трубопровода, из ТБО, из КОС или любых образцов промышленных стоков для их обработки против МБК. В случае выделения микробов из образцов шлама, взятых из ТБО, тестировалась их активность против микробов, вызывающих МБК;

2. Инкубирование указанного образца шлама в соответствующей среде в условиях, благоприятных для роста микробов;

3. Добавление микробных антибиотиков в субоптимальной концентрации, т.е. 1/15 от минимальной ингибирующей концентрации;

4. Добавление 10 мл воды из КОС/любых промышленных стоков, таких как очистные сооружения для стоков НПЗ/ или 10 грамм почвы, загрязненной нефтью, в образец шлама, находящийся в питательной среде, после этапа 3;

5. Инкубирование образца после этапа 4 в течение 96 часов в тех же условиях;

6. Повторное добавление 10 мл воды из КОС к образцу после этапа (5) и его инкубирование в течение 48 часов;

7. Выращивание бактериальной культуры, полученной после этапа 6 из образца шлама, в анаэробных и аэробных условиях в течение 24-120 часов и наблюдение за количеством бактерий;

8. При нулевом количестве бактерий сбор и тестирование супернатанта на наличие бактериофага против микробов, вызывающих МБК;

9. Повтор этапов 3-7 с тестированием супернатанта после завершения этапа 7 и добавления свежего образца шлама из трубопровода, подлежащего обработке;

10. Выделенный фаг может быть иммобилизован на материале, включая, без ограничений, лигнин и магнитную частицу.

[0066] В соответствии с настоящим изобретением, питательная среда для фага может содержать 6% ТБО, КОС или любых промышленных стоков в модифицированной селективной среде следующего состава (г/л): Маннитол 1.5-2.5, изопропанол 10.0-12.0, L-глутаминовая кислота 1.0-2.0, сульфат магния, 7H<sub>2</sub>O 0.16-0.19, сульфат марганца, H<sub>2</sub>O 0.31-0.35 мг, фосфат калия, одноосновный 0.02-0.3 мг, сульфат цинка, 7H<sub>2</sub>O 0.55-0.70 мг, сульфат аммония железа, 6H<sub>2</sub>O 0.09мг-1.0 мг, сульфат меди, 5H<sub>2</sub>O 0.01-0.3 мг,

сульфат кальция,  $5\text{H}_2\text{O}$  0.01-0.5мг, фосфорная кислота 0.005-0.007мг, йодид калия 0.000006 -0.000010 мг, конечный pH (при 25°C) 6.0-6.5.

[0067] В соответствии с настоящим изобретением антибиотики, которые могут применяться в субоптимальных условиях, включают пенициллины, тетрациклины, цефалоспорины, хинолоны, линкомицины, макролиды, сульфаниламиды, гликопептиды, аминокликозиды, карбапенемы.

[0068] В соответствии с настоящим изобретением антибиотики, в частности, включают пенициллин, амоксициллин, доксициклин, цефалексин, ципрофлоксацин, клиндамицин, метронидазол, азитромицин.

[0069] В соответствии с настоящим изобретением описываемые здесь бактериофаги устойчивы к спирту в содержании до 100% и способны выживать в 100%-ном бензине, керосине или любых других алкенах, таких как циклогексан или их смеси.

[0070] В соответствии с настоящим изобретением описываемые здесь бактериофаги обладают способностью вытравливать внеклеточные полимерные вещества (ВПВ), образующиеся в процессе роста микробной биопленки, и лишать микробы, вызывающие МБК, устойчивости к фагам, изменяя их клеточную структуру.

[0071] Фаг, описываемый в настоящем изобретении, крайне характерен для микробов МБК, встречающихся в нефтепроводах. Таким образом, отбор бактериофагов должен осуществляться с привязкой к конкретному трубопроводу. Невозможно получить конкретный фаг, способный снижать МБК в разных трубопроводах.

[0072] В воплощении настоящего изобретения описываемый здесь фаг должен быть иммобилизован во вмещающей среде посредством иммобилизации или инкапсуляции.

[0073] В другом варианте воплощения бактериофаги были иммобилизованы на магнитной наночастице с помощью связующих веществ, имеющих в своем составе терминальные альдегидные или эпоксидные группы. Связующие вещества могут включать, без ограничений, глутаральдегид или диглицидиловый эфир.

[0074] В одном варианте воплощения магнитные коллоидные наночастицы могут иметь оболочку с сердечником из любого магнитного материала. Сердечник может содержать магнитные кристаллы оксидов металлов, магнитную жидкость, магнитную квантовую точку или магнитные композиты. В соответствии с настоящим изобретением магнитные материалы могут включать полые сферы из Fe-Co, Fe-Ni, Fe-Pt, Co-Pt, Co-Ni,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , NiO,  $\text{Co}_3\text{O}$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ .

[0075] При воплощении изобретения внешняя оболочка наномангнитной частицы может быть покрыта любым природным или синтетическим полимером. В другом варианте воплощения размер магнитной наночастицы с оболочкой и сердечником перед нанесением покрытия должен быть в пределах 1-50 нм. Описываемая наночастица должна быть стабилизирована в спирте, бензине, керосине или любых других алкенах, таких как циклогексан.

[0076] В другом варианте воплощения магнитная наночастица может быть функционализована агентами аминной или карбоксильной группы. Углеродная цепь функционализирующего агента должна включать от 3 до 12 атомов. В качестве функционализованного материала может использоваться, без ограничений, любое полимерное покрытие, подвергающееся воздействию вторичный амин, аминокислоты, функционализированную амином металлоорганическую каркасную структуру или хитозан или N-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-(диметиламино)пропил) карбодимида гидрохлорид.

[0077] В соответствии с изобретением лигнин может быть получен из любого растительного материала, включая, без ограничений, рисовую шелуху, клевер, початки

кукурузы, пшеничную солому, джут, овсяную солому, ячменную солому, джутовую палочку, эвкалипт, багассу, еловую древесину, бамбук, арахисовую шелуху и скорлупу кокосового ореха. Его функционализирование достигается алкилированием гидроксильной группы при реакции с амином. Аминная функция лигнина может быть активирована при его реакции, по крайней мере, с одним из алкил-аминов, алкил-аминовых сульфатов, алкилен-аминов, таких как метил-амин, N-{3-хлоро-2-гидроксипропил) триметил аммония хлорид, полимерным покрытием, в результате чего оказывается воздействие на первичный или вторичный амин, аминокислоты, функционализированную амином металлоорганическую каркасную структуру или хитозан или N-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-(диметиламино)пропил) карбодимида гидрохлорид.

[0078] В качестве аминного функционализирующего агента для магнитных наночастиц и нанолигнина могут использоваться, без ограничений, прямоцепочечные и разветвленные первичные и вторичные полиамины, такие как полиалкиленамины и полиалкиленполиамины, например, этилендиамин, диэтиленетриамин, триэтилентетрамин, тетраэтиленпентамин, пентаэтиленгексамин и другие, такие как, например, 1, 2 или 1, 3-пропан-педиамин, 1,4-бутандиамин, 1,5-пентанедиамин, 1,3,5-пентанедиамин и другие. Полиалкиленамины, такие как этилендиамин, диэтиленетриамин, триэтилентетрамин и тетраэтиленпентамин, являются полиаминами первого выбора при воплощении данного изобретения. При желании также могут использоваться гомологи (как линейные, так и разветвленные) вышеуказанных полиалкиленаминов. Эти гомологи отличаются от соответствующих полиаминов одной или несколькими единицами  $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}$  и, как правило, являются вторичным продуктом при производстве полиалкиленаминов.

[0079] В воплощении настоящего изобретения связывание бактериофагов может осуществляться с помощью ультразвуковой обработки или встряхивания. В другом варианте воплощения бактериофаги могут быть иммобилизованы на наноманитной частице и нанолигнине путем ковалентной иммобилизации или иммобилизации зарядом. В другом варианте воплощения для иммобилизации бактериофагов может быть использовано сочетание магнитной наночастицы и нанолигнина.

[0080] В воплощении изобретения конечный биоцидный коктейль или микробицидный состав готовился путем смешивания иммобилизованного бактериофага с концентрацией бактериофагов более  $10^9$  ПФУ  $\text{мл}^{-1}$ , 50-75% спирта, 25-50% углеводов, таких как дизель, бензин, керосин или любые другие алкены, такие как циклогексан или жидкое топливо нефтеперерабатывающей промышленности, 1-5 ч/млн реагента для выделения фагов и 6-10 ч/млн стабилизатора.

[0081] В другом варианте воплощения спирты включают, без ограничений, этанол и изопропанол, гликоль, например, этиленгликоль, диэтиленгликоль, 1, 2-пропиленгликоль, дипропиленгликоль и трипропиленгликоль, гликолевый эфир, например, бутилгликоль и бутил дигликоль, гликолевый эфир, например, бутил дигликол ацетат или 2, 2, 4-триметилпентандиол моноизобутират, полиэтиленгликоль, полипропиленгликоль, бензиловый спирт, н-бутиловый спирт, бензиловый спирт, 2,4-дихлорбензиловый спирт, 2-феноксидэтанол и их комбинации.

[0082] В другом воплощении, в качестве реагента для выделения фагов могут использоваться протические и апротические ионные жидкости. Реагентом может быть, без ограничений, 1-Бензил-3-метиллимидазолиевый тетрафторборат ([BzMIM] [BF<sub>4</sub>]), 1-Бутил-3-метилмидазол хлорид ([BMIM] [Cl]), триэтиламония ацетат (TEAA), холиндигидрогенфосфат ([Chol] [DHP]), холин серинат ([Chol] [Ser]), этиламмиачная

селитра (EAN), тетрабутилфосфония бромид (ТВРВr) и их комбинации.

[0083] Стабилизатором могут быть, без ограничений, N,N-диметилэтанолamines, такие как (N,N-диметилламиноэтокси) этанол; диметилэтаноламин; триэтаноламин; метилдиэтанол амин; этаноламин; диэтаноламин; другие циклические амины, включая морфолин, морфолин метила, этилморфолин, пиперидин, алкилпиперидины, пиперазин, алкилпиперазины; этиленовые амины, включая ДЕТА, ТЕТА, ТЕРА и подобные; алкильные амины, включая метиламин, диметил-амин, алкилметиламины, диметил-алкиламины; метил-аминопропиламины; диметил-аминопропиламины; диметил-аминоэтиламин; метил-аминоэтиламин и их комбинации.

[0084] Настоящее изобретение также представляет собой способ для снижения, ослабления или устранения МБК на внутренней поверхности нефтепроводов. В одном из аспектов изобретение относится к способу уменьшения или устранения микробной коррозии металлической поверхности, суть которого состоит в обработке металлической поверхности микробицидным составом, описанным в рамках настоящего изобретения.

[0085] Подлежащие обработке трубопроводы сначала несколько раз очищаются с помощью щеточного скребка. После очистки трубопровода начинается дозированное введение микробицидов. Перед дозированным введением микробицидного состава с помощью скребка Vi-Di создается пробка, и вводится первая доза микробицидного состава через камеру запуска скребка. Последующие дозы микробицидов вводятся аналогичным образом, и после введения последней дозы биоцида биоцидная пробка закрывается путем помещения в трубопровод еще одного скребка. По окончании введения микробицидного состава производится двукратный прогон скребка для удаления любых засоров, если таковые имеются. В результате обработки достигается снижение числа микробов или полное уничтожение микробов в образце шлама после прогона скребка.

[0086] При воплощении изобретения трубопровод сначала прочищается скребком. Очистка скребком позволяет физически удалить биопленку, а также нарушить её целостность и тем самым повысить её проницаемость, в результате чего достигается более высокая эффективность микробицидной обработки. Основными этапами формирования биоцидной пробки являются:

1. Запуск 1-го скребка Vi-Di (с датчиком) после отвода газов и дренажа камеры запуска;

2. Впрыск сырой нефти через линию запуска скребка в магистральный трубопровод, ККЗ (клапан камеры запуска) и КЛЗ (клапан линии запуска) находятся в полностью открытом состоянии, а магистральный клапан (МК) закрыт.

3. Отвод газов и дренаж камеры запуска должны производиться таким образом, чтобы было обеспечено полное удаление любых следов паров и нефти из камеры, а давление внутри камеры стало равным нулю;

4. После правильного закрытия заслонки камеры производится введение второй дозы микробицидов в камеру в максимально полной степени, при открытых клапанах ККЗ и КЛЗ и закрытом МК.

5. Работа бустерных насосов и впрыск сырой нефти для проталкивания введенной дозы биоцида в магистральную линию в течение примерно 10 минут;

6. Шаг 2-5 можно повторить несколько раз или можно обойтись без повторения;

7. Второй скребок Vi-Di (с датчиком) вводится после отвода газов и дренажа камеры запуска;

8. Как только скребок начинает движение, его движения отслеживаются с помощью сигнализатора/ устройства отслеживания перемещений скребка, и возобновляется

работа магистральных насосных агрегатов;

9. Открывается МК, после чего закрываются ККЗ и КЛЗ.

[0087] Минимальная ингибирующая концентрация, смертельная доза и время действия микробицидного состава определяется по стандартному методу в соответствии с текущим уровнем техники. В другом воплощении селективное выделение фага начиналось при pH от 6.5 до 4 по месту МБК.

[0088] В другом аспекте настоящее изобретение описывает микробицидный состав, предназначенный для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, в состав которого входят следующие компоненты:

- (i) бактериофаги в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>;
  - (ii) по крайней мере один спирт в количестве 50-75% (об./об.);
  - (iii) один углеводород в количестве 25-50% (об./об.);
  - (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн;
- и
- (v) один стабилизатор в количестве 6-10 ч/млн.

[0089] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, включающий следующие элементы:

- (i) бактериофаги в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>;
  - (ii) по крайней мере один спирт в количестве 50-75% (об./об.);
  - (iii) один углеводород в количестве 25-50% (об./об.);
  - (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн;
- и
- (v) один стабилизатор в количестве 6-10 ч/млн.

при этом бактериофаги иммобилизуются или инкапсулируются на наномангнитной частице.

[0090] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, включающий следующие элементы:

- (i) бактериофаги в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>;
  - (ii) по крайней мере один спирт в количестве 50-75% (об./об.);
  - (iii) один углеводород в количестве 25-50% (об./об.);
  - (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн;
- и
- (v) один стабилизатор в количестве 6-10 ч/млн.

при этом бактериофаги иммобилизуются или инкапсулируются на частице нанолигнина.

[0091] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, состоящий из следующих элементов:

- (i) бактериофаги в количестве не менее  $10^9$  ПФУ мл<sup>-1</sup>;
  - (ii) по крайней мере один спирт в количестве 50-75% (об./об.);
  - (iii) один углеводород в количестве 25-50% (об./об.);
  - (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч/млн;
- и
- (v) один стабилизатор в количестве 6-10 ч/млн.

при этом бактериофаги иммобилизуются или инкапсулируются на наномангнитной

частице, нанолигнине и их комбинации;

[0092] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, спирт для приготовления которого может быть выбран из группы, состоящей из этанола, изопропанола, гликоля, этиленгликоля, диэтиленгликоля, 1, 2-пропиленгликоля, дипропиленгликоля, трипропиленгликоля, гликолевого эфира, бутилгликоля, бутил дигликоля, гликолевого эфира, ацетата бутил дигликоля, 2, 2, 4-триметилпентандиола моноизобутирата, полиэтиленгликоля, полипропиленгликоля, бензилового спирта, н-бутилового спирта, бензилового спирта, 2,4-дихлорбензилового спирта, 2-феноксизанола, а также их комбинаций.

[0093] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, углерод для приготовления которого может быть выбран из группы, состоящей из дизеля, бензина, керосина, алкенов, циклогексана и жидкого топлива для нефтепереработки.

[0094] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, при приготовлении которого в качестве реагента для выделения фагов могут использоваться протические и апротические ионные жидкости.

[0095] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, при приготовлении которого реагент для выделения фагов выбирается из группы, состоящей из 1-Бензил-3-метиллимидазолиевого тетрафторбората ([BzMIM] [BF<sub>4</sub>]), 1-Бутил-3-метилмидазол хлорида ([BMIM] [Cl]), триэтиламония ацетата (TEAA), холиндигидрогенфосфата ([Chol] [DHP]), холин серината ([Chol] [Ser]), этиламмиачной селитры (EAN), тетрабутилфосфония бромиды (TBPBr) и их комбинаций.

[0096] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, для приготовления которого стабилизатор выбирается из группы, состоящей из N,N-диметилэтанолamines, таких как (N,N-диметилламиноэтокси) этанол; диметилэтанолamina; триэтанолamina; метилдиэтанол амина; этанолamina; диэтанолamina; других циклических аминов, включая морфолин, морфолин метила, этилморфолин, пиперидин, алкилпиперидины, пиперазин, алкилпиперазины; этиленовых аминов, включая ДЕТА, ТЕТА, ТЕРА и подобные; алкильных аминов, включая метиламин, диметил-амин, алкилметиламины, диметил-алкиламины; метил-аминопропиламинов; диметил-аминопропиламинов; диметил-аминоэтиламина; метил-аминоэтиламина и их комбинаций.

[0097] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, с помощью которого селективно выделяются бактериофаги при рН от 6.5 до 4 по месту МБК.

[0098] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, с помощью которого бактериофаги иммобилизуются или инкапсулируются на наномангнитной частице, нанолигнине и их комбинации.

[0099] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии

(МБК) на необходимом участке, с помощью которого наномангнитная частица или нанолигнин функционализируется функционализирующим агентом аминной или карбоксильной группы.

5 [00100] В своем воплощении настоящее изобретение представляет собой микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, т.е. на металлической поверхности оборудования для переработки, хранения, транспортировки нефти и природного газа.

10 [00101] Несмотря на то, что суть изобретения была описана достаточно детально со ссылкой на определенные предпочтительные варианты его воплощения, возможны также другие варианты его воплощения.

[00102] После описания основных аспектов настоящего изобретения, ниже приводятся неисчерпывающие примеры, иллюстрирующие конкретные варианты воплощения.

### **ПРИМЕРЫ**

15 [00103] Далее изобретение будет проиллюстрировано примерами из практики, цель которых показать применение изобретения на практике, но ни в коем случае не ограничить объем настоящего изобретения. Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые далее, имеют общепринятое значение в той области техники, к которой относится данное изобретение. Несмотря на то, что на практике или при проведении испытаний описываемого изобретения могут использоваться любые 20 методы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, что описаны здесь, далее приводится описание предпочтительных методов и материалов. Следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными методами и описанными экспериментальными условиями, поскольку такие методы и условия могут варьироваться.

#### **ПРИМЕР 1 - Выделение бактериофага**

25 [00104] Настоящее изобретение предусматривает выделение/обогащение фагов, которые эффективны против всех микробов в любом сегменте трубопровода. Источником фагов будут либо почва, загрязненная углеводородами, вода из Канализационных очистных сооружений (КОС), шлам из КОС, вода из очистных 30 сооружений для стоков НПЗ, либо любой другой источник, где обычно встречаются фаги. Источник фагов будет инкубирован с образцом шлама, и фаги будут выращиваться на бактериях, присутствующих в образце шлама путем обеспечения оптимальных условий для такого роста. Фаги, присутствующие в образце шлама, также будут размножаться. Полученный обогащенный раствор фагов будет отделен способом в 35 соответствии с текущим уровнем техники и будет использован для уничтожения микробов, присутствующих в пробе шлама на трубопроводах, подлежащих обработке. Для этой же цели образец шлама будет подвергаться воздействию обогащенных фагов, и будет проводиться мониторинг количества микробов в образце, подвергающемся и не подвергающемся воздействию фагов. Если воздействие фагов снижает количество 40 микробов, то раствор фагов будет иммобилизован и взвешен как настоящее изобретение, и будет использоваться для обработки соответствующего трубопровода. Если количество микроорганизмов в образце шлама не уменьшится более чем на 20% без обработки фагами, обогащение будет производиться еще в течение двух-шести циклов с одним и тем же образцом шлама и источником фагов. После 2-6 циклов концентрация 45 фагов всегда достаточна для снижения количества микробов до >20% в образце шлама.

[00105] Для выделения бактериофагов и микроорганизмов, вызывающих МБК, образцы шлама в количестве 100 граммов были асептически взяты на станции Баласоре из нефтепровода Парадип-Халдия-Барауни (PHBPL) компании Indian Oil Corporation

Ltd., во время работ по очистке трубопровода скребкованием. Трубопровод начинается в порту Парадип, округ Джагадингпур, Одиша, и заканчивается на нефтеперерабатывающем заводе IOCL в Барауни, Бихар.

[00106] 10 граммов собранного шлама были введены асептически в каждую из сред объемом 100 мл, т.е. в среду постгейта Е для сульфатредуцирующих бактерий (SRB), среду для бактерий, секретирующих органические кислоты (APB), среду для железоокисляющих бактерий (IRB), среду для аэробных гетеротрофных бактерий и для слизиобразующих бактерий (SFB).

[00107] Среда постгейта Е, состоящая из (г/л)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0.5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 1;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  - 0.1;  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 1;  $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 2, лактата натрия - 3.5; дрожжевого экстракта - 1; аскорбиновой кислоты - 0.2; тиогликолевой кислоты - 0.2 и сульфата железа - 0.5 г. Среда для бактерий APB состояла из (г/л)  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0.2;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - 2.0;  $\text{MgSO}_4$  - 0.24;  $\text{KCl}$  - 0.10; дрожжевого экстракта - 0,10; глюкозы - 2.0 и фенола красного в качестве индикатора. Среда для железоокисляющих бактерий (IRB) состоит из (г/л)  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 1.0; сульфата аммония - 0.15; хлористого калия - 0.05;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0.5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0.05 и нитрата кальция - 0.01. Среда для аэробных гетеротрофных бактерий (HAB) состояла из дрожжевого экстракта - 10; пептона - 10; хлорида натрия - 05; дибазического фосфата калия - 2.5 и глюкозы - 2.5. Среда для слизиобразующих бактерий (SFB) состояла из (г/л) дрожжевого экстракта - 0.1; пептона - 0.5;  $\text{MgCl}_2$  - 0.2 and  $\text{NaCl}$  - 1.6. Среду для бактерий SRB инкубировали анаэробно в течение 96 часов, а другие среды инкубировали в условиях встряхивания при 200 об/мин в течение 48 часов. Все среды с образцом шлама инкубировали при 30°C.

[00108] После указанного инкубационного периода все содержимое смешивали в контейнере в атмосфере азота и содержали в микроаэрофильных условиях (MixVac-A).

[00109] 10 граммов почвы с участка, загрязненного углеводородами, были асептически собраны и помещены в резервуар, куда также были добавлены 100 мл среды SM.

[00110] Среда SM (состоящая из (г/л)): Маннитол - 1.5, изопропанол - 10.0, L-глутаминовая кислота - 1.0, сульфат магния,  $7\text{H}_2\text{O}$  - 0.16, сульфат марганца,  $\text{H}_2\text{O}$  0.31-0.35 мг, фосфат калия, одноосновный - 0.02-0.3 мг, сульфат цинка,  $7\text{H}_2\text{O}$  - 0.55 мг, сульфат аммония железа,  $6\text{H}_2\text{O}$  - 0.09мг, сульфат меди,  $5\text{H}_2\text{O}$  - 0.01 мг, сульфат кальция,  $5\text{H}_2\text{O}$  - 0.01-0.5мг, фосфорная кислота - 0.005мг, йодид калия - 0.000006мг, конечный pH (при 25°C) 6.0-6.5. Полученный образец аккуратно вращали в гомогенизаторе в течение 2 часов непрерывно, а затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин. Супернатант был собран и отцентрифугирован при 5000 об/мин в течение 20 минут в охлаждаемой центрифуге. Затем супернатант был отфильтрован через фильтры ультратонкой фильтрации 0.45 мкм. Полученный фильтрат вводили в контейнер с образцом шлама с различными средами при микроаэрофильных условиях (MixVac-A) и инкубировали при 200 об/мин при 30°C в течение 96 часов. Через 96 часов супернатант собирали и вводили в смесь MixVac-A, это было повторено еще 3 раза. Затем смесь использовалась для выделения фагов.

[00111] Фаги были выделены из вышеуказанной смеси с помощью стандартного метода обогащения фагов в соответствии с текущим уровнем техники. Хлороформ добавляли к 0.1% от объема образца, а бактериальный клеточный дебрис удаляли, совмещая центрифугирование и фильтрацию с помощью фильтра с размером пор 0.22 мм. Слои агара готовились путем смешивания 10 граммов шлама с верхним слоем агара 0.7 г/л, в результате получали 10  $\mu\text{l}$  капель обогащенных фагов. Очищение наблюдали

после семидневной инкубации при температуре 37°C. Концентрацию фагов в образце определяли по известному методу с помощью последовательного разбавления фагового концентрата с верхним агаровым слоем образца шлама/ бактериальных агаровых пластинок хозяйской суспензии.

5 **Пример 2: Иммобилизация бактериофагов на модифицированных магнитных наночастицах**

**А. Синтез функционализированной наночастицы**

[00112] 10 ммоль хлористого железа и 1 грамм ПВС смешивали в 100 мл раствора этанола/воды (1:1). 10 ммоль хлористого железа растворяли в 5 мл воды и добавляли  
10 капельно в раствор. Раствор перемешивали с капельным добавлением 4.5 мл 30% гидроксида аммония и перемешивали при температуре 70°C в течение 1 часа. Полученные частицы отделяли с помощью магнита. Размер коллоида составлял ~60-100 нм при рассеянии света.

[00113] К 10 мл наночастицы (10 мг/мл) добавляли при комнатной температуре 0.1  
15 М буфер тетраметиленамина (ТЕМЕД) (рН 5) и 0.2 г 1-этил-3-(диметиламинопропил) гидрохлорида карбодимида, после чего добавлялось 0.5 мл 1.2 этилендиамида. Раствор после перемешивания центрифугировали и трижды промывали в деионизированной воде.

**В. Иммобилизация бактериофагов на модифицированных магнитных частицах**

20 [00114] Иммобилизацию бактериофагов на модифицированных магнитных частицах осуществляли ночной инкубацией 1 мл 10<sup>9</sup> ПФУ/мл вирусов с 5 мл модифицированных магнитных микроносителей (10 мг/мл), с легким встряхиванием при комнатной температуре на орбитальном ротаторе в течение 3 часов. Несвязанные бактериофаги удаляли путем шестикратной промывки магнитных частиц фосфатным солевым буфером  
25 с раствором Твин 20 (0.5 мМ) (ФСБТ).

[00115] Бактериофаги, привязанные к магнитным частицам, собирали с помощью постоянного магнита, повторно взвешивали в 1 мл буфера ФСБТ 0.5 мМ и хранили при температуре 4°C вплоть до момента использования.

30 [00116] Количество бактериофагов пересчитывали в исходном растворе, супернатантом/промывочном растворе, а количество фагов, иммобилизованных на магнитных частицах, оценивали с помощью вычитания.

**Пример 3 - Иммобилизация бактериофагов на наночастице модифицированного лигнина**

**А. Синтез наночастицы лигнина**

35 [00117] Наночастицу лигнина готовили методом соляного ацидолиза с последующей стабилизацией. Приготовили раствор 5 масс. % лигнина в этиленгликоле и перемешивали его в течение 2 часов при 45°C, затем отдельно добавляли соляную кислоту (0.2 М) и HNO<sub>3</sub> (0.2 М) в растворы лигнина со скоростью 5 капель/мин до достижения заданного значения рН 2.

40 [00118] В качестве стабилизатора в раствор капельно добавили 0.02 М бис-(2-этилгексил)-сульфосукцинат натрия. Реакцию поддерживали еще в течение 2 часов, а затем отфильтровывали для удаления нерастворимых примесей из лигнина.

[00119] Затем раствор диализировали с использованием деионизированной воды в течение 24 часов и получали конечный рН 7.0.

45 [00120] Для функционализации наночастицы лигнина 0.02 мМ триэтилететрамина перемешивали в течение 30 минут при 50°C. К раствору лигнин-триэтилететрамина добавляли раствор формальдегида (0.02 мМ) со скоростью 0.1 г/мин.

[00121] Частицу промывали в фосфатном буфере (0.5 мМ) и хранили при 4°C для иммобилизации бактериофагов.

**В. Иммунизация бактериофагов на наночастице модифицированного лигнина**

[00122] Иммунизацию бактериофагов на наночастицах лигнина осуществляли ночной инкубацией 1 мл  $10^9$  ПФУ/мл вирусов с 5 мл модифицированных магнитных микроносителей (10 мг/мл), с легким встряхиванием при комнатной температуре на орбитальном ротаторе в течение 3 часов. Несвязанные бактериофаги удаляли путем шестикратной промывки наночастиц лигнина фосфатным солевым буфером с раствором Твин 20 (0.5 мМ) (ФСБТ).

[00123] Бактериофаги, привязанные к наночастицам лигнина, собирали с помощью центрифугирования со скоростью 6000 об./мин., повторно взвешивали в 1 мл буфера ФСБТ 0.5 мМ и хранили при температуре 4°C вплоть до момента использования.

[00124] Количество бактериофагов пересчитывали в исходном растворе, супернатантном/промывочном растворе, а количество фагов, иммобилизованных на магнитных частицах, оценивали с помощью вычитания.

**Пример 4: Иммунизация бактериофагов на модифицированных магнитных частицах лигнина****А. Синтез модифицированных магнитных частиц лигнина**

[00125] 10 ммоль хлорида железа и 0.1 грамм лигнина смешивали в 100 мл водного раствора. 10 ммоль хлористого железа растворяли в 5 мл воды и добавляли капельно в раствор. Раствор перемешивали с капельным добавлением 4.5 мл 30% гидроксида аммония и перемешивали при температуре 70°C в течение 1 часа. Полученные частицы отделяли с помощью магнита. Размер коллоида составлял ~60-100 нм при рассеянии света.

[00126] К 10 мл наночастицы (10 мг/мл) добавляли при комнатной температуре 0.1 М буфер тетраметиленамина (ТЕМЕД) (рН 5) и 0.2 г 1-этил-3-(диметиламинопропил) гидрохлорида карбодимида, после чего добавлялось 0.5 мл 1.2 этилендиамида. Раствор после перемешивания центрифугировали и трижды промывали в деионизированной воде.

**В. Иммунизация бактериофагов на модифицированных магнитных частицах лигнина**

[00127] Иммунизацию бактериофагов на модифицированных магнитных частицах лигнина осуществляли ночной инкубацией 1 мл  $10^9$  ПФУ/мл вирусов с 5 мл модифицированных магнитных микроносителей (10 мг/мл), с легким встряхиванием при комнатной температуре на орбитальном ротаторе в течение 3 часов. Несвязанные бактериофаги удаляли путем шестикратной промывки модифицированных магнитных частиц лигнина фосфатным солевым буфером с раствором Твин 20 (0.5 мМ) (ФСБТ).

[00128] Бактериофаги, привязанные к модифицированным магнитным частицам лигнина, собирали с помощью постоянного магнита, повторно взвешивали в 1 мл буфера ФСБТ 0.5 мМ и хранили при температуре 4°C вплоть до момента использования.

[00129] Бактериофаги пересчитывали в исходном растворе, супернатантном/промывочном растворе, а количество фагов, иммобилизованных на модифицированных магнитных частицах лигнина, оценивали с помощью вычитания.

**Пример 5: Подготовка микробицидного ингибитора коррозии**

[00130] Ингибитор коррозии был подготовлен в соответствии со следующей процедурой:

1. К раствору диэтиленгликоля объемом 75 мл добавили 25 мл дизельного топлива.
2. В этот же раствор в качестве стабилизатора добавили 1 ч/млн 1-Бутил-3-метилимидазола хлорида, затем 10 ч/млн диметил-аминопропиламина. Раствор хорошо перемешивали в агитаторе на скорости 220 об/мин в течение 1 часа.

3. После этого приготовили ингибитор коррозии, добавив 0.025 г модифицированных магнитных частиц лигнина с концентрацией бактериофагов выше  $10^9$  ПФУ мл-1 и перемешивали на скорости 300 об/мин в течение 2 часов.

[00131] Проведение испытаний в колбе, корректировка pH, фаги добавляли извне, через 4 часа производился подсчет. Подробно процесс высвобождения фагов при различном pH отражен ниже в таблице 1.

pH	Количество микробов (КОЕ/мл)
8	$2.8 \times 10^4$
7	$2.2 \times 10^5$
6.5	Ноль
6	Ноль
4	Ноль

Таблица 1 - Высвобождения фагов при разном уровне pH

**Пример 6: Изучения эффективности снижения МБК**

[00132] Для изучения активности микробов, вызывающих МБК, было собрано 500 грамм образца шлама, и проведено его инокулирование в среде, имеющей следующий состав (г/л):  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0.5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  - 1;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  - 0.1;  $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  - 1;  $\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 2, лактат натрия - 3.5; дрожжевой экстракт - 1; аскорбиновая кислота - 0.2; тиогликолевая кислота - 0.2 и сульфат железа - 0.5 гм. Через 72 часа было зафиксировано общее количество микробов и добавлен биоцид на основе фагов, описанный на этапе 3. Через 24 часа брали пробу, центрифугировали при скорости 10 000 об/мин и анализировали на количество микробов. В Таблице 2 приводится количество микробов перед добавлением и после добавления микробицидного состава на основе фагов. Как видно из таблицы 2 ниже, при использовании отдельных компонентов микробицидного состава на основе фагов значительного сокращения МБК не наблюдалось. Однако после добавления состава со всеми компонентами наблюдалось полное устранение МБК. Это свидетельствует о том, что все компоненты микробицидного состава на основе фагов работают синергитически для эффективного снижения МБК.

8. № п/п	Тип бактерии	Количество микробов (КОЕ/г)							
		Перед добавлением состава	После добавления состава						
			Контроль	Магнитная наночастица (А)	Наночастица лигнина (В)	Бактериофаги (С)	А+С	А+В	В+С
1.	SRB	$6.9 \times 10^7$	$7.2 \times 10^7$	$2.2 \times 10^4$	$2.2 \times 10^2$	$2.28 \times 10^2$	$2.9 \times 10^7$	Ноль	Ноль
2.	IRB	$7.2 \times 10^8$	$4.6 \times 10^8$	$2.2 \times 10^4$	$8.3 \times 10^2$	$5.6 \times 10^2$	$2.0 \times 10^4$	Ноль	Ноль
3.	НAB	$4.2 \times 10^{11}$	$2.3 \times 10^{11}$	$1.2 \times 10^5$	$1.4 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	$3.2 \times 10^5$	Ноль	Ноль
4.	SFB	$2.8 \times 10^7$	$4.8 \times 10^7$	$5.5 \times 10^4$	$3.5 \times 10^5$	$6.2 \times 10^5$	$2.5 \times 10^4$	Ноль	Ноль
5.	APB	$4.5 \times 10^4$	$6.3 \times 10^4$	$4.3 \times 10^5$	$5.3 \times 10^2$	$4.1 \times 10^2$	$2.3 \times 10^5$	Ноль	Ноль

Таблица 2: Количество микробов перед добавлением и после добавления микробицидного состава на основе фагов

[00133] Ингибирование МБК фагами, выделенными с использованием описанного Способа в сравнении с традиционным Способом, показано в таблице 3 ниже:

Условия для выделения фагов/Условия испытания	Ингибирование МБК фагами (милов в год)	Количество микробов (КОЕ/мл)
Описанный Способ	0.53 миллов в год	Ноль
Традиционный Способ	4.56 миллов в год	$2.3 \times 10^4$

Контроль	7.4 миллов в год	$\times 10^{12}$
----------	------------------	------------------

Таблица 3: Ингибирование МБК выделенными фагами с использованием текущего Способа.

#### Пример 7: Обработка МБК

[00134] Для обработки МБК в трубопроводе проба шлама была взята в Вадинаре, штат Гуджарат, Индия, из трубопровода Салайя-Матхура (SMPL) индийской компании Indian Oil Corporation Ltd., Индия. В качестве источника фагов использовалась вода из резервуаров аэрации очистных сооружений нефтеперерабатывающего завода в городе Панипат, Харьяна, Индия. Фаги были обогащены с использованием процедуры, приведенной в примере выше. Бактериофаги присутствовали в количестве  $10^{10}$  ПФУ  $\text{мл}^{-1}$  в растворе, состоящем из 50% этанола и 50% дизельного топлива, а также ацетата триэтиламония в концентрации 1 ч/млн; и диэтаноламина в концентрации 8 ч/млн. Полученный фаговый коктейль использовался для ингибирования микробов, вызывающих МБК, в образце шлама, с помощью стандартных микробиологических испытаний и оценки коррозии.

[00135] Антикоррозийная эффективность фагового коктейля оценивалась в присутствии и отсутствии шлама из трубопровода с микробиологической коррозией (МБК), а также в осложненных статических и динамических лабораторных условиях. Пластины из низкоуглеродистой стали полировали и промывали водой и ацетоном. Определялись диаметр и толщина каждой пластины. Статическое испытание проводилось в мензурках, а динамическое испытание проводилось с помощью динамического «Испытания на обкатном станке». Антикоррозийная эффективность фагового коктейля сначала оценивалась посредством статического испытания, а затем - динамического испытания. Статическое испытание проводилось в течение примерно 60 дней, а динамическое - в течение 30 дней. Эксперименты были завершены после удаления пластин, они были промыты нейтрализованной кислотой для удаления продуктов коррозии, ополоснуты стерильной дистиллированной водой, а затем высушены. Был зафиксирован конечный вес пластин в каждой системе, а скорость коррозии металлических пластин рассчитывалась по следующей формуле:

$$\text{Степень коррозии} = (K \times W) / (A \times T \times D)$$

где  $K = 3450000$  (константа, используемая для определения скорости коррозии в милах в год (м/год));  $T$  = время воздействия (ч);  $W$  = потеря в весе (г);  $D$  = плотность ( $\text{г}/\text{см}^3$ );  $A$  = площадь поверхности ( $\text{см}^2$ ).

При проведении испытаний на обкатном станке, пластина, о которой говорилось выше, содержалась в разных условиях, в частности, в присутствии только образца шлама или в присутствии образца шлама и фагового коктейля. Результаты испытаний на обкатном станке, полученные через 45 дней, приведены в Таблице 4 ниже.

[00136] Таблица 4 Образец шлама: число  $8.0 \times 10^8$  КОЕ/г; скорость: 12-16 об./мин.; Температура: 38-400°C; фаговый коктейль:  $10^9$  ПФУ мл, где  $A^*$ : 125 мл дизельного топлива с 2% воды, с содержанием 70 ч/млн хлорида в форме HCl и пластина, подвергающаяся воздействию коррозии.

№ п/п	Условие испытания	Степень коррозии (миллов в год)
1	$A^*$	6.4
2	$A^*$ + шлам	8.2
3	$A^*$ + шлам + фаговый коктейль	0.7

Таблица 4: Степень коррозии (милов в год) по результатам испытаний на обкатном станке через 45 дней.

Таким образом, фаговый коктейль, заявленный как настоящее изобретение, эффективен для ингибирования коррозии интенсивностью 0.7 милов в год, и  
5 обеспечивает защиту от коррозии.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ для снижения или устранения микробной коррозии (МБК) на необходимом участке; этапами указанного способа являются:

10 (i) получение образца с соответствующего участка, идентификация и культивирование штамма бактерий-мишени;

(ii) идентификация и получение бактериофага против микробов, вызывающих МБК, на основе вышеуказанного образца;

15 (iii) иммобилизация или инкапсуляция полученных бактериофагов на наномангнитной частице, нанолигнине и их комбинации;

(iv) приготовление микробицидного состава для ингибирования коррозии путем добавления, по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов и стабилизатора к комбинированному раствору, содержащему спирт и углеводород, с последующим добавлением иммобилизованных или инкапсулированных фагов;

20 (v) обработка соответствующего участка микробицидным составом для оказания воздействия с целью уменьшения или устранения микробной коррозии (МБК),

при этом культивирование бактериальных штаммов на этапе (i) осуществляют в присутствии микробных антибиотиков в субоптимальной концентрации 1/15 от минимальной ингибирующей концентрации, и при этом бактериофаги избирательно  
25 высвобождаются при рН в диапазоне от 6.5 до 4 по месту МБК.

2. Способ по п. 1, в котором осуществляют иммобилизацию бактериофагов на магнитных наночастицах с помощью связующих веществ, имеющих в своем составе терминальные альдегидные или эпоксидные группы, и в рамках которого связующие вещества выбраны из группы, включающей глутаральдегид и диглицидиловый эфир.

30 3. Способ по п. 1, в котором иммобилизацию бактериофагов достигают с помощью любого из следующих процессов: ультразвуковая иммобилизация, встряхивание, ковалентная иммобилизация или иммобилизация зарядом.

4. Способ по п. 1, в котором наномангнитную частицу или нанолигнин функционализируют функционализирующим агентом аминной или карбоксильной  
35 группы и имеющим углеродную цепь длиной от 3 до 12 атомов; и в рамках которого функционализирующий агент воздействует на первичный или вторичный амин, аминокислоты, функционализированную амином металлоорганическую каркасную структуру или хитозан или N-гидроксисукцинимид, 1-этил-3-(3-(диметиламино)пропил) карбодиимида гидрохлорид.

40 5. Способ по п. 1, в котором спирт в микробицидном составе на этапе (iv) процесса выбирают из группы, состоящей из этанола, изопропанола, гликоля, этиленгликоля, диэтиленгликоля, 1, 2-пропиленгликоля, дипропиленгликоля, трипропиленгликоля, гликолевого эфира, бутилгликоля, бутилдиггликоля, гликолевого эфира, ацетата бутил диггликоля, 2, 2, 4-триметилпентандиола моноизобутирата, полиэтиленгликоля,  
45 полипропиленгликоля, бензилового спирта, n-бутилового спирта, бензилового спирта, 2, 4-дихлорбензилового спирта и 2-феноксипропанола, а также их комбинаций; где углеводород в микробицидном составе на этапе (iv) процесса выбран из группы, состоящей из дизеля, бензина, керосина, алкенов, циклогексана и жидкого топлива для

нефтепереработки; где

реагент для высвобождения фагов в микробицидном составе на этапе (iv) процесса является протической и апротической ионной жидкостью и выбран из группы, состоящей из 1-Бензил-3-метилимидазолиевого тетрафторбората ([BzMIM] [BF<sub>4</sub>]), 1-Бутил-3-метилмидазол хлорида ([BMIM] [Cl]), триэтиламония ацетата (TEAA), холиндигидрогенфосфата ([Chol] [DHP]), холин серината ([Chol] [Ser]), этиламмиачной селитры (EAN), тетрабутилфосфония бромид (TBPBr) и их комбинаций; и где

стабилизатор в микробицидном составе на этапе (iv) процесса выбран из группы, состоящей из N,N-диметилэтанолamines, таких как (N,N-диметилламиноэтокси) этанол; диметилэтанолamina; триэтанолamina; метилдиэтанол амина; этанолamina; диэтанолamina; других циклических аминов, включая морфолин, морфолин метила, этилморфолин, пиперидин, алкилпиперидины, пиперазин, алкилпиперазины; этиленовых аминов, включая ДЕТА, ТЕТА, ТЕРА и подобные; алкильных аминов, включая метиламин, диметиламин, алкилметиламины, диметил-алкиламины; метиламинопропиламинов; диметиламинопропиламинов; диметиламиноэтиламина; метиламиноэтиламина и их комбинаций.

6. Способ по п. 1, где этапу (v) процесса обработки участка микробицидным составом предшествует многократно повторяющаяся очистка поверхности с помощью щеточного скребка, с помощью чистящей щетки.

7. Способ по п. 1, в котором штаммом-мишенью является анаэробная бактерия, вызывающая коррозию путем образования бактериальной биопленки на металлической поверхности, и в котором штамм-мишень выбран из группы, состоящей из сульфатредуцирующих бактерий (SRB), железоокисляющих/редуцирующих бактерий (IRB), бактерий, секретирующих органические кислоты (APB), экзополимеров или слизиобразующих микробов (SPB), метаногена, нитратоснижающих бактерий и бактерий с низкими потребностями питательных веществ, а также их комбинаций.

8. Способ по п. 1, в котором необходимым участком является металлическая поверхность оборудования для переработки, хранения и транспортировки нефти и природного газа.

9. Способ по п. 1, в котором образцом является образец шлама, взятый из Твердых бытовых отходов (ТБО), Канализационных очистных сооружений (КОС) или любых промышленных стоков посредством скребкования.

10. Способ по п. 1, в котором микробицидный состав, состоящий из бактериофагов в количестве не менее 10<sup>9</sup> ПФУ мл<sup>-1</sup>; по крайней мере, одного спирта в количестве 50-75% (об./об.); углеводорода в количестве 25-50% (об./об.); по крайней мере, одного реагента для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч./млн; стабилизатора в количестве 6-10 ч./млн, эффективен для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке.

11. Микробицидный состав для снижения или устранения микробиологической коррозии (МБК) на необходимом участке, включающий следующие элементы:

- (i) бактериофаги в количестве не менее 10<sup>9</sup> ПФУ мл<sup>-1</sup>;
  - (ii) по крайней мере, один спирт в количестве 50-75% (об./об.);
  - (iii) углеводород в количестве 25-50% (об./об.);
  - (iv) по крайней мере, один реагент для высвобождения фагов в количестве 1-5 ч./млн;
- и
- (v) стабилизатор в количестве 6-10 ч./млн.