



(12) PATENT

(19) NO

(11) 338105

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.

*C02F 1/50 (2006.01)*  
*C02F 1/58 (2006.01)*  
*C02F 1/68 (2006.01)*  
*A61K 31/11 (2006.01)*  
*A61K 31/275 (2006.01)*

## Patentstyret

|      |                       |                                                                                                                                                                                   |      |                           |                                |
|------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---------------------------|--------------------------------|
| (21) | Søknadsnr             | 20065416                                                                                                                                                                          | (86) | Int.inng.dag og søknadsnr | 2005.04.21<br>PCT/US2005/13594 |
| (22) | Inng.dag              | 2006.11.24                                                                                                                                                                        | (85) | Videreføringsdag          | 2006.11.24                     |
| (24) | Løpedag               | 2005.04.21                                                                                                                                                                        | (30) | Prioritet                 | 2004.04.26, US, 10/832,116     |
| (41) | Alm.tilgj             | 2006.11.24                                                                                                                                                                        |      |                           |                                |
| (45) | Meddelt               | 2016.08.01                                                                                                                                                                        |      |                           |                                |
| (73) | Innehaver             | ConocoPhillips Co, 600 North Dairy Ashford, US-TX77079-1175 HOUSTON, USA                                                                                                          |      |                           |                                |
| (72) | Oppfinner             | UTI Limited Partnership, Suite 130, 3553 31 Street NW, CA-ABT2L2K7 CALGARY, Canada                                                                                                |      |                           |                                |
|      |                       | Gary E Jennemann, 1209 Lariat Drive, US-OK74006 BARTLESVILLE, USA                                                                                                                 |      |                           |                                |
|      |                       | Anne Greene, 410 Jackson Place NW, CA-ABT3B2V3 CALGARY, Canada                                                                                                                    |      |                           |                                |
|      |                       | Gerrit Voordouw, 2436 Capitol Hill Crescent NW, CA-ABT2M4C2 CALGARY, Canada                                                                                                       |      |                           |                                |
| (74) | Fullmektig            | Onsagers AS, Postboks 1813 Vika, 0123 OSLO, Norge                                                                                                                                 |      |                           |                                |
| (54) | Benevnelse            | <b>Fremgangsmåte for å hemme sulfidproduksjon med sulfatreduserende bakterier (SRB) og sammensetning for å effektivt å hindre sulfidproduksjonen med SRB.</b>                     |      |                           |                                |
| (56) | Anførte publikasjoner | REINSEL et.al.: »Control of microbial souring by nitrate, nitrite or glutaraldehyde injection in a sandstone column», Journal of Microbiology 1996, 17, 128-136.<br>JP H0790639 A |      |                           |                                |
| (57) | Sammendrag            |                                                                                                                                                                                   |      |                           |                                |

Fremstillingen av biogene sulfider blir synergistisk hemmet ved å behandle sulfatreduserende bakterier (SRB) med en biocid og en metabolsk inhibitor. Biocidet dreper direkte en første andel av SRB. Den metabolske inhibitoren hemmer den sulfatreduserende veksten av en andre andel av SRB. Behandlingen av SRB med både en biocid og en metabolsk inhibitor gir en effektiv biogenetisk sulfid hemming ved signifikant lavere konsentrasjoner enn de som er nødvendig dersom den biocide og den metabolske inhibitoren ble brukt alene.

Den foreliggende oppfinnelsen angår generelt kontrollen av biogen sulfidfremstilling. Oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for å hemme sulfidproduksjon med sulfatreduserende bakterier (SRB) og en sammensetning for å effektivt hindre sulfidproduksjonen med sulfatreduserende bakterier (SRB) slik den er definert i patentkravene 1-17

Når det her brukes uttrykkene "består vesentlig av", "bestående vesentlig av" og lignende uttrykk utelukker dette ikke tilstedeværelsen av andre steg, elementer eller materialer som er ikke-spesifikt nevnt i denne spesifikasjonen, så lenge slike trinn, elementer eller materialer ikke påvirker de grunnleggende og nyhetsrelaterte egenskaper av oppfinnelsen, i tillegg ekskluderer de ikke urenheter som normalt forbindes med de brukte elementene og materialene.

De ovenfor gitte betegnelse og begrepene skal brukes i områder utenfor US domsmyndigheten. Innen US domsmyndigheten anvendes de ovenfor nevnte betegnelser og begreper slik de er konstruert av US domstol og United States Patent and Trademark Office.

Tilstedeværelsen av sulfider (f.eks.  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$  og  $\text{S}^{2-}$ ) i fluider skaper alvorlige problemer på grunn av deres giftighet, lukt og korrosivitet. Det er kjent at tilstedeværelsen av sulfider i mange fluider er en konsekvens av reduksjonen av sulfater til sulfider gjennom sulfatreduserende bakterier (SRB). SRB blir rutinemessig funnet i vann forbundet med oljeproduksjonssystemer og kan bli funnet i praktisk talt alle industrielle vannprosesser som inkluderer eksempelvis kjølevannsystemer, pulp og papirfremstillingssystemer, kjemisk fremstilling og petroleumsraffinering.

Kravene for aktivitet og vekst av SRB inkluderer et hovedsakelig anaerobt vandig miljø som inneholder adekvate næringsstoffer, en elektrondonor og en elektronakseptor. En typisk elektronakseptor er sulfat som produserer  $\text{H}_2\text{S}$  ved reduksjon. En typisk elektrondonor er en flyktig mettet syre (f.eks. eddiksyre eller fettsyre), og hydrogen kan også fungere som en elektrondonor. Betingelsene i et oljereservoar som utsettes for oversvømmelse med sjøvann er fremragende for å etablere SRB aktivitet. Sjøvann inneholder en betydelig konsentrasjon av sulfat, mens adhesjonsvann eller innlandsvann inneholder flyktige mettede syrer og andre nødvendige sporelementer (f.eks. nitrogen og fosfor). Betingelsene ved industrielle vannsystemer, slik som avløp fra produksjonsdriften eller kjølevannsstrømmer, fører også til SRB aktivitet på grunn av den anaerobe biofilmen som dannes i rør, tanker eller kjelevegger. Det samme er sant for kloakker og andre rør og anlegg assosiert med kommunale avløpshåndtering systemer.

Hydrogen sulfid ( $\text{H}_2\text{S}$ ) er korrosiv og reagerer med metalloverflater for å danne uløselig jernsulfidkorrosjonsprodukter. I oljefeltsprosesser deles  $\text{H}_2\text{S}$  opp i faser av vann, olje og naturgass av fremstilte fluider og gir flere problemer. Olje og gass som har et høyt nivå av  $\text{H}_2\text{S}$  har en lavere kommersiell verdi enn olje og gass med

lave sulfid mengder. Ved å fjerne biogen  $H_2S$  fra sur olje og gass øker kostnadene for disse produktene. I tillegg er  $H_2S$  en ekstremt giftig gass og kan være dødelig for mennesker selv i små konsentrasjoner. Dens tilstedeværelse i avløpssystemer er en trussel for arbeidernes sikkerhet. Tømmingen av fremstilt vann med høye konsentrasjoner av  $H_2S$  i vandige eller marine omgivelser er risikofyllt siden  $H_2S$  reagerer med oksygen og senker nivået av løst oksygen i vann.

Korrosjon som er forårsaket av SRB fremstilt  $H_2S$  resulterer ofte i utstrakte skader. Rørsystemer, tankbunner og andre deler av utstyr kan raskt svikte dersom de har områder med mikrobiell korrosjon. Dersom det oppstår en svikt i en rørledning eller en bunn av en lagringstank, kan det frigjorte fluidet føre til alvorlige miljøkonsekvenser. Dersom svikten skjer i en høytrykksvann- eller gassledning, kan konsekvensene være at arbeiderne skades eller dør. Alle slike svikt gir kostnader med reparasjoner eller erstatninger.

Før har det vært to hovedsakelige tilnærminger for å redusere nivået av sulfider i industrielle fluider. En tilnærming involverer å fjerne sulfidene fra fluidene etter deres dannelse. Denne fjerningen etter dannelsen tilnærmingen har derimot vært uøkonomisk eller upraktisk spesielt for oljefelt driften. Den andre tilnærmingen har vært å behandle fluidene som inneholder SRB med biocider og metabolske inhibitorer for derved å drepe eller hindre veksten av SRB før en signifikant dannelse av biogene sulfider. I mange tilfeller krever dette derimot høye konsentrasjoner av biocider og metabolske hemmere for å effektivt hindre sulfid produksjonen. Kostnadene forbundet med anvendelsen av biocider eller metabolske hemmere i slike konsentrasjoner kan være uoverkommelige.

Det er derfor ønskelig å tilveiebringe en fremgangsmåte og sammensetning for å mer effektiv og økonomisk hindre dannelsen av biogene sulfider.

Det er ønskelig å tilveiebringe en sammensetning som er effektiv for å hindre sulfid produksjonen av SRB med relativt lave konsentrasjoner av sammensetningen ifølge oppfinnelsen.

Det må forstås at de ovenfor oppførte ønskene er kun eksemplarisk. Andre hensikter og fordeler med den foreliggende oppfinnelsen vil være synlige fra den detaljerte beskrivelsen av de fortrukne utførelsesformer, kravene og figurene.

JPH 0790639 angår et rustforebyggendemiddel til vannbehandling som inneholder glutaraldehyd og en metabolsk inhibitorkomponent i form av for eksempel molybdat. Sammensetningen er ikke angitt å være spesielt egnet ved hemming av sulfiddannelse.

Reinsel et.al.: "Control of microbial souring by nitrate, nitrite or glutaraldehyde injection in a sandstone column", Journal of Microbiology 1996, 17, 128-136 viser fremgangsmåter for å hemme sulfiddannelse med SRB i et oljeproduksjonssystem ved tilsats av nitritt som metabolsk inhibitorkomponent. Det er omtalt en

forbehandling med først tilsats av en biocid komponent i form av et aldehyd (glutaraldehyd) og deretter tilsats av nitritt.

5 Et trekk av den foreliggende oppfinnelsen angår en fremgangsmåte for å hemme sulfidproduksjonen av SRB. Fremgangsmåten omfatter stegene: (a) bringe SRB i kontakt med en første konsentrasjon av en biocid komponent hvorved den første konsentrasjonen er mindre enn omtrent 90 % av den minimale inhibitor-konsentrasjonen (MIC) av biocidkomponenten; og (b) bringe SRB i kontakt med en andre konsentrasjon av en metabolsk inhibitor-komponent, hvorved den andre konsentrasjonen er mindre enn omtrent 90 % av MIC av den metabolske inhibitor-komponenten.

10 Et annet trekk av den foreliggende oppfinnelsen angår en fremgangsmåte som omfatter å bringe SRB i kontakt med et behandlet medium som omfatter et aldehyd og en metabolsk inhibitor. Den metabolske inhibitoren er valgt fra gruppen bestående av nitritt, molybdat og kombinasjoner derav. Aldehydet og den metabolske inhibitoren er tilstede i det behandlede mediet i et aldehyd til metabolsk inhibitor molarforhold i størrelsesorden fra omtrent 50:1 til omtrent 1:50.

15 Et annet trekk av den foreliggende oppfinnelsen angår sammensetningen for effektiv hemming av sulfidfremstilling ved SRB. Sammensetningen omfatter: (a) en biocidkomponent i stand til direkte dreping av en første andel av SRB; og (b) en metabolsk inhibitor-komponent i stand til å hemme den sulfatreduserende veksten av en annen andel av SRB uten direkte dreping av den andre andelen av SRB. Biocidkomponenten er tilstede i sammensetningen i en første konsentrasjon som er mindre enn omtrent 90 % av MIC av biocidkomponenten. Den metabolske inhibitor-komponenten er tilstede i sammensetningen i en første konsentrasjon som er mindre enn omtrent 90 % av MIC av biocidkomponenten.

20 Et videre trekk av den foreliggende oppfinnelsen angår sammensetningen som omfatter et aldehyd og en metabolsk inhibitor valgt fra gruppen bestående av nitritt, molybdat og kombinasjoner derav. Aldehydet og den metabolske inhibitoren er tilstede i sammensetningen i et aldehyd til metabolsk inhibitor molarforhold i størrelsesorden fra omtrent 50:1 til omtrent 1:50.

30 Vi har oppdaget at sulfidproduksjonen av sulfatreduserende bakterier (SRB) kan bli hemmet mer effektivt og økonomisk ved å behandle SRB med bestemte synergistiske kombinasjoner av de biogene sulfidinhibitorene (BSIs). Termen "sulfatreduserende bakterier" eller "SRB" angir én eller flere typer av bakterier som er i stand til å gjøre reduksjonen av sulfatene til sulfider lettere. Termen "biogen sulfid inhibitor" eller "BSI" brukes som et generisk begrep for å angi enhver forbindelse som effektivt hemmer sulfidproduksjonen ved minst én type av sulfatreduserende bakterier. BSIs av spesiell betydning i den foreliggende oppfinnelsen inkluderer biocider og metabolske inhibitorer. Termen "biocid" angir en forbindelse som direkte dreper minst én type av sulfatreduserende bakterier via

kontakt dermed. Termen "metabolsk inhibitor" betegner en forbindelse som hemmer effektivt den sulfatreduserende aktiviteten av minst én type av sulfatreduserende bakterier uten direkte dreping av de hemmede sulfatreduserende bakteriene som kommer i kontakt med dem. Metabolske inhibitorer berører SRB evnen å produsere ATP og derfor er cellene ikke i stand til å vokse og/eller dele seg. Denne manglende evnen å vokse og dele seg kan eventuelt forårsake døden av en del av SRB; allikevel er celledøden ikke et direkte resultat av eksponeringen til de metabolske inhibitorene som det ville ha vært for biocidene.

I samsvar med én utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen kontaktes SRB med det behandlede mediet som omfatter mer enn én BSI for derved å hindre synergistisk den biogene sulfidproduksjonen. Foretrukket omfatter det behandlede mediet minst én biocid og minst én metabolsk inhibitor. Biocidene egnet for bruk i den foreliggende oppfinnelsen inkluderer så vel oksiderende og ikke-oksiderende biocider. Foretrukket anvendes ikke-oksiderende biocider. Egnede ikke-oksiderende biocider inkluderer f.eks. aldehyder (f.eks. formaldehyd, glutaraldehyd og akrolein), amintype-forbindelser (f.eks. kvaternære aminforbindelser og kokodiaminer), halogenerte forbindelser (f.eks. bronopol og 2-2-dibrom-3-nitrilopropionamid (DBNPA)), svovelforbindelser (f.eks. isotiazolon, karbamater og metronidazol) og kvaternære fosforsalter (f.eks. tetrakis (hydroksymetyl) fosfoniumsulfater (THPS)). Metabolske inhibitorer egnet for bruken i den foreliggende oppfinnelsen inkluderer f.eks. nitritt, molybdat, tungstat, selenat og antrokinon. Andre tilsvarende metabolske inhibitorer for SRB kan finnes, men er ikke kjent eller predikerbart på tidspunktet av patentinnleveringen.

Den synergistiske inhibitoreffekten som kommer fra den kombinerte bruken av mer enn én BSI (f.eks. en biocid og en metabolsk inhibitor) kan bli demonstrert ved å sammenligne inhibitoreffekten av kombinerte BSIs med inhibitoreffekten av hver individuell BSI når den brukes alene. Denne synergistiske inhibitoreffekten kan bli kvantifisert ved å sammenligne konsentrasjonene av kombinerte BSIs nødvendig for å tilveiebringe en effektiv biogen sulfidhemming med konsentrasjonene av hver individuell BSI som er nødvendig for å tilveiebringe en effektiv sulfidhemming når hver individuell BSI er brukt alene.

Konsentrasjonen av en individuell BSI som er nødvendig for å hemme effektiv sulfidproduksjonen av SRB kan bli uttrykt som en minimum inhibitorkonsentrasjon (MIC). Termen "minimum inhibitorkonsentrasjon" eller "MIC" betegner minimumskonsentrasjonen av en individuell BSI som er nødvendig for å forebygge sulfidproduksjon av SRB for 30 dager når kontakten med SRB er innledet. Hver BSI har en unik MIC. F.eks. blir det funnet at under visse testbetingelser en 5 mM (millimolar) konsentrasjon av glutaraldehyd (biocid) i et bestemt behandlet mediet er minimumskonsentrasjonen av glutaraldehyd som er nødvendig for å forebygge sulfidproduksjonen med bestemte SRB etter 30 dager etter at det behandlede mediet

er først kontaktet med SRB. Derved er MIC av glutaraldehyd 5 mM som betingelse for denne testen.

Den foreliggende oppfinnelsen bruker MIC av forskjellige BSIs som referanse for å vise at den synergistiske biogene sulfidhemmingen kan bli oppnådd når bestemte kombinasjoner av BSIs er brukt at konsentrasjoner som er grunnleggende mindre enn MIC av hver individuell BSI. Dermed kan mengden eller konsentrasjonen av en bestemt BSI brukt for å behandle SRB bli uttrykt som prosentandel av MIC av denne bestemte BSI. Det må også anmerkes at MIC av en bestemt BSI kan variere avhengig av flere faktorer slik som f.eks. typen av den behandlede SRB, sammensetning av det behandlede mediet og temperaturen ved hvilken SRB eller det behandlede mediet holdes.. Når SRB blir behandlet med en mengde av en bestemt BSI som er uttrykt som en prosentandel av MIC for denne BSI kan det antas at MIC for denne BSI blir bestemt ved de samme betingelsene under hvilke SRB har nå blitt behandlet. Dersom f.eks. et bestemt behandlet medium som omfatter glutaraldehyd og nitritt er brukt for å behandle et bestemt SRB under bestemte betingelser og det behandlede mediet inneholder glutaraldehyd med 50 % (på molbasis) av MIC av glutaraldehyd, er konsentrasjonen av glutaraldehyd i det behandlede mediet en halvpart av konsentrasjonen av glutaraldehyd alene (f.eks. uten nitritt) i det behandlede mediet som ville være nødvendig for å hindre sulfidproduksjonen av SRB for 30 dager under de samme betingelsene.

En utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen kan bli utført ved å bringe SRB i kontakt med minst én biocid og minst én metabolsk inhibitor enten samtidig eller på en oppdelt måte. Foretrukket blir de biocide og metabolske inhibitorkomponentene kontaktet samtidig med SRB ved å først kombinere den biocide (og/eller en forløper av biocidet) og den metabolske inhibitoren (og/eller en forløper av den metabolske inhibitoren) i et behandlet medium og å kontakte SRB med det behandlede mediet. Nitrat er et ett eksempel av en forløper til nitritt. Den spesifikke sammensetningen av det behandlede mediet kan variere stort avhengig av den spesifikke anvendelsen for hvilken en biogen sulfidhemming er ønsket. Dermed kan det behandlede mediet være ethvert medium som er egnet for å bære de biocide og metabolske inhibitorkomponentene. Foretrukket er det behandlede mediet et vannbasert medium, mer foretrukket omfatter det behandlede mediet minst 2 vekt % vann, mer foretrukket minst omtrent 50 vekt% vann og mest foretrukket minst 90 vekt% vann. SRB med hvilket det behandlede mediet er kontaktet kan forbli i det behandlede mediet selv eller på en overflate (f.eks. overflaten av en underjordisk formasjon eller den indre overflaten av et rør eller beholder) med hvilket det behandlede mediet kommer i kontakt. I én anvendelse er det behandlede mediet en saltløsning (f.eks. ved saltløsnings oljefelt) som inneholder sulfater, SRB, en biocid og en metabolsk inhibitor. I bestemte tilfeller kan biocidet være tilstede som del av de konvensjonelle oljefeltskjemikaliene slik som korrosjonsinhibitorer. Derfor kan det være foretrukket å anvende biocider som har andre fordelaktige egenskaper slik

som korrosjonshemming. Eksempelvis er kvaternære aminer gode biocider og korrosjonshemmere.

Den synergistiske hemmingen oppnådd av de kombinerte biocider og metabolske inhibitorer av det behandlede mediet tillater en effektiv biogen sulfidhemming med konsentrasjoner vesentlig mindre enn de minimale inhibitorer konsentrasjonene (MICs) av de individuelle komponentene. Derfor er det foretrukket for konsentrasjonene av biocidene og de metabolske inhibitorer komponentene av det behandlede mediet å være mindre enn de for MICs av de individuelle biocider og metabolske inhibitorer komponentene. Mer foretrukket er konsentrasjonen av så vel den biocid og den metabolske inhibitorer mindre enn omtrent 90 % av deres respektive MICs. Enda mer foretrukket er konsentrasjonen av én eller begge av de biocider og de metabolske inhibitorer mindre enn omtrent 75 % av deres respektive MICs. Enda mer foretrukket er konsentrasjonene av én eller begge av biocidene og av den metabolske inhibitorer mindre enn omtrent 50 % av deres respektive MICs. Enda mer foretrukket er konsentrasjonen av én eller begge av biocidene og de metabolske inhibitorer mindre enn omtrent 50 % av deres respektive MICs. Enda mer foretrukket er konsentrasjonene av én eller begge av biocid og metabolsk inhibitor mindre enn omtrent 35 % av deres respektive MICs. Aller mest foretrukket er konsentrasjonene av én eller begge av biocid og metabolsk inhibitor mindre enn 25 % av deres respektive MICs.

I en foretrukket utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen er biocidet et aldehyd og den metabolske inhibitorer er nitritt og/eller molybdat. Når biocidet er et aldehyd og den metabolske inhibitorer er nitritt og/eller molybdat er det foretrukket for det behandlede mediet å ha et biocid til metabolsk inhibitor molarforhold i størrelsesorden fra omtrent 50:1 til omtrent 1:50, mer foretrukket omtrent 20:1 til omtrent 1:20, enda mer foretrukket omtrent 10:1 til omtrent 1:10 og aller mest foretrukket 5:1 til 1:5. Når biocidet i tillegg er et aldehyd, er det foretrukket at konsentrasjonen av biocidet i det behandlede mediet er i størrelsesorden fra omtrent 0,1 til omtrent 5 mM (millimolar), mer foretrukket omtrent 0,1 til omtrent 3 mM og mest foretrukket 0,1 til 2 mM. Når den metabolske inhibitorer er nitritt og/eller molybdat er det foretrukket at konsentrasjonen av den metabolske inhibitorer i det behandlede mediet er i størrelsesorden fra omtrent 0,1 til omtrent 5 mM, mer foretrukket omtrent 0,1 til omtrent 3 mM og mest foretrukket 0,1 til 2 mM. I en spesielt foretrukket utførelsesform av den foreliggende oppfinnelsen består biocidkomponenten i kontakt med SRB hovedsakelig av glutaraldehyd og den metabolske inhibitorer komponenten i kontakt med SRB består hovedsakelig av nitritt.

Det behandlede mediet og SRB kan kontakte de på enten på en avbrutt (f.eks. batch) eller på en kontinuerlig måte. Foretrukket utføres den foreliggende oppfinnelse på en hovedsakelig kontinuerlig måte. I begge tilfellene blir konsentrasjonene av de biocider og metabolske inhibitorer komponentene som beskrevet ovenfor uttrykt som

- tidsgjennomsnittlige konsentrasjoner. F.eks. dersom SRB er i kontakt med det behandlede mediet i en batch-utførelse med en frekvens på én gang hver 24 timer (1440 min.), med en varighet av 14,4 min. og med en batch-konsentrasjon av 100 mM vil den gjennomsnittlige konsentrasjonen være 1 mM (f.eks. 100 mM x 14,4 min./1440 min.). Det følgende eksemplet er ment å være illustrativt for den foreliggende oppfinnelsen og skal lære opp personer kjent med dagens teknikk til å lage og bruke oppfinnelsen. Dette eksemplet er ikke ment å være begrensende for oppfinnelsen på noen måte.

#### EKSEMPEL

- 10 I dette eksemplet blir effekten av forskjellige biocide og metabolske inhibitorkombinasjoner og konsentrasjoner undersøkt for å bestemme deres kombinerte effekt på sulfidproduksjonen gjennom SRB.

- Konsortiumet av sulfatreduserende bakterier (SRB) som ble brukt i denne studien ble beriket med produsert vann oppnådd fra Coleville oljefelt nær Kindersely, Sadkatchewan, Canada. En serieberikelse i saltverket Postgate C medium (sPGC) resulterte i et stabilt SRB-konsortium som ble opprettholdt for mer enn 1 år før fortsettelsen av de biocide og metabolske inhibitoreksponeringseksperimentene som beskrives nedenfor. SRB-konsortiumet ble opprettholdt ved ukentlig overføring i sPGC-mediet og inkubert ved 30°C. Saline Postgate C medium (sPGC) er en modifikasjon av mediet C beskrevet i Postgate, J.R. *The Sulfate-Reducing Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press, sider 30-34 (1984). Den sPGC inneholdt de følgende komponentene pr. 1 liter av destillert vann: 7 g NaCl, 1,2 g MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O, 0,5 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 g NH<sub>4</sub>Cl, 4,5 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,042 g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 0,03 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,004 g FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,28 g natriumsitrat, 10 g 60 %-natriumlaktat, 1 g gjærekstrakt og en spormengde av rezazurin.

- Kulturene som brukes i denne studien ble dyrket i 100 ml av modifisert Coleville syntetisk saltmedium (mCSB) i 160-ml serumflasker med en headspace av 5 % H<sub>2</sub>, 10 % CO<sub>2</sub> balansert N<sub>2</sub>. Den mCSB er beskrevet i Nemati M., Jenneman G. E., Voordouw G. *A mechanistic study on microbial control of souring in oil reservoirs*. Biotechnol. Bioeng. 74: 424-434 (2001). Den mCSB inneholdt de følgende komponentene pr. 950 ml av destillert vann: 7 g NaCl, 0,027 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,02 g NH<sub>4</sub>Cl, 0,24 g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 0,68 g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,68 g natriumacetat, 5,6 g natriumlaktatsirup (60 % volum/volum), 1,9 g NaHCO<sub>3</sub> og 50 ml mikronæringsrikløsning. Den mikronæringsrike løsningen inneholdt de følgende komponentene pr. 990 ml av destillert vann: 2 g nitrilotrieddiksyre, 0,006 g FeCl<sub>3</sub>, 1,2 g CaSO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O, 2 g MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O, 0,16 g NaCl, 1,4 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,72 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, og 10 ml sporelementløsning. 10 ml sporelementløsning inneholdt de følgende komponentene: 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2,28 g MnSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O, 0,5 g ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0,5 g H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,025 g CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O, 0,025 g NaMoO<sub>4</sub> 2 H<sub>2</sub>O og 0,045 g CoCl<sub>2</sub> 6 H<sub>2</sub>O.



En 2 %-inokulum av fersk dyrket Coleville SRB innberikelse ble brukt i alle tilfeller. Etter inokulering ble alle kulturene dyrket over natten ved 30°C inntil det produserte sulfidet i kulturene var omtrent 5 millimolar (mM) (maksimal konsentrasjon av fremstilt sulfid i disse kulturene er omtrent 12 mM). Ved dette tidspunktet ble biocide/metabolske inhibitorkombinasjoner tilsatt. Kulturene ble dyrket for 1 måned etter tilsats av den biocide og metabolske inhibitoren. Dersom sulfatreduksjonen og sulfidproduksjonen ble gjenopptatt under den 1 måned lange inkubasjonsperioden ble inhibisjonen evaluert til å være mislykket.

Sulfatet ble målt ved bruk av den turbidimetriske metoden beskrevet i: American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, DC: American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, sider 439-440 (1992) som modifisert av metoden beskrevet i Nemati M., Jenneman G.E., Voordouw G., *A mechanistic study of microbial control of souring in oil reservoirs*, Biotechnol. Bioeng. 74:424-434 (2001). Sulfidene ble analysert ved den kolorimetriske metoden beskrevet i Cord-Ruwisch, R., *A quick method for determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria*, J. Microbiol. Meth. 4:44-36 (1985). Nitritt ble valgt av den kolorimetriske metoden beskrevet i Nemati M., Jenneman G.E., Voordouw G., *A mechanistic study on microbial control of souring in oil reservoirs*, Biotechnol. Bioeng. 74:424-434 (2001). Celleveksten ble ikke overvåket; den optiske tettheten og fargen av forskjellige kulturer endret seg signifikant ved tilsats av noen biocider eller inhibitorer som forstyrret den optiske avlesingen av tettheten.

Forskjellige kombinasjoner av biocide og metabolske inhibitorer ble testet. I dette eksempelet er biocidene definert som stoffer som dreper mikroorganismer direkte. De to metabolske inhibitorene som ble testet er begge spesifikke for SRB og er kjent for å forstyrre forskjellige stadier ved sulfatreduksjonen til sulfid. Hemmingen av sulfatreduksjonen berører SRB evnen til å produsere ATP (det cellulære energiømløpet), derfor er cellene ikke i stand til å vokse eller dele seg og kan eventuelt dø, allikevel er celledød ikke nødvendigvis et resultat for eksponeringen til slike forbindelser spesielt ved lave konsentrasjoner, der energiproduksjonen kan ha avtatt men er ikke komplett hemmet.

For hver undersøkt biocid og metabolsk inhibitor ble den minimale inhibitorkonsentrasjonen (MIC; den minimale mengden av biocid nødvendig for å hemme sulfatreduksjonen og sulfidproduksjonen i SRB-kulturen for 1 måned) bestemt. Kombinasjonene av par av biocider ble testet ved forskjellige konsentrasjoner for å bestemme MICs av flere konsentrasjoner av hver når blandet. Effektiviteten av forskjellige biocidkombinasjoner ble evaluert. Den biocide kombinasjonseffekten ble delt opp i fem kategorier: antagonistisk (ett biocid har en negativ effekt på et annet slik at mer enn MIC av det ene biocidet alene pluss det andre biocidet ved enhver mengde var nødvendig for hemmingen), additiv (f.eks.

inhibisjonen krever 25 % av MIC av ett biocid og 75 % av en annen eller omvendt), uviktig, mindre enn additiv (mer enn en additiv mengde av biocider paret, men mindre enn MIC av hver er krevd for hemmingen) eller synergistisk (mindre enn en additiv mengde av begge biocidene er nødvendig for hemmingen).

- 5 De metabolske inhibitorene som ble evaluert var molybdat og nitritt. Seks ikke-oksiderende biocider ble evaluert alene og i kombinasjon med nitritt eller molybdat (oksiderende biocider ble ikke undersøkt i denne studien). Både glutaraldehyd og formaldehyd er aldehydtype biocider. Benzalkoniumklorid er en representant for de kvaternære amingruppene av gruppen av biocidene. Kombinasjonene av kvaternære
- 10 aminbiocider og glutaraldehyder er kommersielt tilgjengelige for bruk i oljefelt og i andre situasjoner. Kokodiaminer er fra amin og diamin biocidgruppen. Det kokodiaminbiocidet brukt i denne studien var T-397, levert fra Brenntag Canada. Bronopol (2-brono-2-nitropropan-1,3-diol) er en halogenert biocid. Tetrakis(hydroksymetyl)fosfoniumsulfat (THPS) er et kvaternært fosfoniumsalt.
- 15 Biocider fra flere grupper som vanligvis er brukt i oljefeltsituasjoner ble med hensikt valgt for å tillate en generell evaluering av effektiviteten av hver gruppe i kombinasjon med spesifikke metabolske inhibitorer.

- Testresultatene for kombinasjonene av forskjellige biocider med den metabolske inhibitoren (nitritt eller molybdat) blir vist i fig. 1-10. I fig. 1-10 representerer åpne
- 20 triangler ( $\Delta$ ) konsentrasjoner som ikke ga nok hemming av sulfidproduksjonen for 1 måned mens den fylte diamanten ( $\blacklozenge$ ) representerer konsentrasjoner som lykkes med å hemme sulfidproduksjonen for en full måned. Den diagonale linjen i hvert plott representerer den inhibitorkonsentrasjonen når den biocid og metabolske inhibitoren hadde en ren additiv effekt. Dermed indikeres den suksessrike
- 25 hemmingen med datapunktene (f.eks. faste diamanter) på den nedre venstre siden av de diagonale linjene som en synergistisk biocid/metabolsk inhibitoreffekt. Kombinasjonene av flere biocider med nitritt eller molybdat resulterer i en synergistisk inhibitoreffekt. Spesielt viser nitritt pluss glutaraldehyd (fig. 1) eller benzalkoniumklorid (fig. 2) og molybdat pluss glutaraldehyd (fig. 6) en sterk
- 30 synergistisk effekt. Nitritt pluss bronopol (fig. 3) førte til en mindre synergistisk effekt. Nitritt pluss kokodiamin (fig. 4) og molybdat pluss benzalkoniumklorid (fig. 7), kokodiamin (fig. 9) eller bronopol (fig. 8) førte til den minste synergistiske effekten. Nitritt pluss THPS (fig. 5) og molybdat pluss THPS (fig. 10) viste mindre enn additiv effekt. Denne mindre enn additive effekten med THPS kan være et
- 35 isolert fenomen for denne bestemte SRB og for betingelsene valgt i denne studien. Ingen kombinasjoner som var testet viste en uvesentlig eller antagonistisk effekt. Dermed resulterte alle kombinasjoner unntatt de med THPS i en bedre enn additiv hemmingseffekt.

Den foretrukne formen av oppfinnelsen beskrevet ovenfor kan bare bli brukt som illustrasjon og skal ikke bli brukt på en begrensende måte for å tolke omfanget av den foreliggende oppfinnelsen.

- 5 Oppfinnerne vil hermed erklære at deres intensjon er å stole på Doktrinen av Ekvivalenter for å bestemme og besitte den rimelige rettferdige hensikten av den foreliggende oppfinnelsen siden den ikke inneholder noen anordninger som avviker materielt fra de på utsiden av den ordrette hensikten av oppfinnelsen som gitt av de etterfølgende krav.

## PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte for hemming av sulfidproduksjonen med sulfatreduserende bakterier (SRB),  
 5 k a r a k t e r i s e r t v e d at den gitte metoden omfatter stegene av å bringe SRB i kontakt med en kombinasjon av:
  - (a) en første konsentrasjon av en ikke-oksiderende biocid komponent, hvori nevnte biocid komponent er valgt fra gruppen bestående av formaldehyd, glutaraldehyd, akrolein, kvaternære aminforbindelser, kokodiamin, bronopol, 2,2-dibrom-3-nitrilo-propionamid (DBNPA), isotiazolon, karbamater, metronidazol, og  
 10 kombinasjoner av én eller flere derav, hvorved den første konsentrasjonen er mindre enn omtrent 90 % av den minimale inhibitorkonsentrasjonen (MIC) av den ikke-oksiderende biocidkomponenten; og
  - (b) en andre konsentrasjon av en metabolsk inhibitorkomponent valgt fra gruppen bestående av nitritt, molybdat, tungstat, selenat og antrokinon og  
 15 kombinasjoner av én eller flere derav hvorved den gitte andre konsentrasjon er mindre enn omtrent 90 % av MIC av den metabolske inhibitorkomponenten, for derved å gi en synergistisk effekt ved hemming av sulfidproduksjon ved SRB sammenlignet med enhver av komponentene benyttet alene.
2. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
 20 k a r a k t e r i s e r t v e d at minst én av de gitte første og andre konsentrasjoner er mindre enn omtrent 50 % av sin MIC; eller hvorved den gitte første og andre konsentrasjon er begge mindre enn omtrent 75 % av deres respektive MICs.
3. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
 25 k a r a k t e r i s e r t v e d at minst én av de gitte første og andre konsentrasjoner er mindre enn omtrent 25 % av sin MIC, eller der den gitte første og andre konsentrasjonen begge er mindre enn omtrent 50 % av deres respektive MICs.
4. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at den gitte ikke-oksiderende biocidkomponenten omfatter hovedsakelig ingen tetrakishydroksymetylfosforsulfat (THPS).
- 30 5. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
 k a r a k t e r i s e r t v e d at stegene (a) og (b) blir gjennomført hovedsakelig kontinuerlig og gitte første og andre konsentrasjoner er  
 gjennomsnittskonsentrasjoner over tid; eller hvor stegene (a) og (b) blir gjennomført  
 intermitterende og gitte første og andre konsentrasjon er  
 35 gjennomsnittskonsentrasjoner over tid; og hvorvidt stegene (a) og (b) blir utført samtidig.

6. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
karakterisert ved at den omfatter steget:
- (c) foran steg (a) og (b) som kombinerer den ikke-oksiderende biocidkomponenten eller et forstadium av biocidkomponenten og den metabolske inhibitorkomponenten eller en forløper av den metabolske inhibitorkomponenten i et behandlet medium, spesielt hvorved stegene (a) og (b) inkluderer å bringe SRB i kontakt med det behandlede mediet hvorved det gitte behandlede mediet omfatter i størrelsesorden av fra omtrent 0,1 mM til omtrent 2 mM nitritt, og fra omtrent 0,1 mM til omtrent 2 mM glutaraldehyd.
7. Fremgangsmåte ifølge krav 1,  
karakterisert ved at den omfatter å bringe sulfatreduserende bakterier (SRB) i kontakt med et behandlet medium som omfatter et aldehyd og en metabolsk inhibitor valgt fra gruppen bestående av nitritt, molybdat og kombinasjoner derav, hvorved det gitte aldehydet og den gitte metabolske inhibitoren er til stede i det behandlede mediet i et aldehyd til metabolske inhibitorer molarforhold i størrelsesorden av fra omtrent 50:1 til omtrent 1:50.
8. Fremgangsmåte ifølge krav 8,  
karakterisert ved at den gitte metabolske inhibitoren omfatter nitritt, og det gitte ikke-oksiderende biocidet omfatter glutaraldehyd.
9. Fremgangsmåte ifølge krav 8,  
karakterisert ved at den gitte metabolske inhibitoren består hovedsakelig av nitritt og hvorved det gitte ikke-oksiderende biocidet består hovedsakelig av glutaraldehyd, hver i størrelsesorden fra omtrent 0,1 mM til omtrent 2 mM.
10. Fremgangsmåte ifølge krav 8,  
karakterisert ved at når minst én av den gitte første og andre konsentrasjonen er mindre enn omtrent 35 % av sin MIC, og hvorved den gitte aldehydet består hovedsakelig av glutaraldehyd og den gitte metabolske inhibitoren består hovedsakelig av nitritt.
11. En sammensetning for å effektivt hindre sulfidproduksjonen med sulfatreduserende bakterier (SRB),  
karakterisert ved at sammensetningen omfatter en synergistisk kombinasjon av:
- (a) en ikke-oksiderende biocidkomponent som er i stand til direkte å drepe en første andel av SRB, hvori nevnte biocid komponent er valgt fra gruppen bestående av formaldehyd, glutaraldehyd, akrolein, kvaternære aminforbindelser, kokodiamin, bronopol, 2,2-dibrom-3-nitrilo-propionamid (DBNPA), isotiazolon, karbamater, metronidazol, og kombinasjoner av én eller flere derav, hvorved den

gitte biocidkomponenten er til stede i sammensetningen i en første konsentrasjon som er mindre enn omtrent 90 % av den minimale inhibitorkonsentrasjonen (MIC) av biocidkomponenten; og

- 5 (b) en metabolsk inhibitorkomponent som er i stand til å hemme  
sulfatreduserende vekst av en andre andel av SRB uten direkte å drepe den andre  
andelen av SRB hvorved den gitte metabolske inhibitorkomponenten er til stede i  
sammensetningen i en annen konsentrasjon som er mindre enn omtrent 90 % av  
MIC av den metabolske inhibitorkomponenten, der nevnte metabolske  
inhibitorkomponent er valgt fra gruppen bestående av nitritt, molybdat, tungstat,  
10 selenat og antrokinon og kombinasjoner av én eller flere derav .

12. Sammensetning ifølge krav 11,

k a r a k t e r i s e r t v e d at minst ett av de gitte første og andre konsentrasjoner  
er mindre enn omtrent 35 % av sin MIC, eller den gitte første og andre  
konsentrasjonen er begge mindre enn omtrent 50 % av deres henholdsvis MICs.

- 15 13. Sammensetning ifølge krav 11,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den gitte biocidkomponenten og den gitte  
metabolske inhibitorkomponenten er slik som definert i krav 4 eller 5.

14. Sammensetning ifølge krav 11,

- 20 k a r a k t e r i s e r t v e d at den omfatter i tillegg minst omtrent 2 vekt% vann,  
eller minst 50 vekt% vann.

15. Sammensetning ifølge krav 11

k a r a k t e r i s e r t v e d at (a) nevnte ikke-oksiderende biocid er et aldehyd;  
og

- 25 (b) nevnte metabolske inhibitor er valgt fra gruppen bestående av nitritt,  
molybdat og kombinasjoner derav, hvorved det gitte aldehydet og gitte metabolske  
inhibitoren er til stede i sammensetningen i et aldehyd til metabolsk inhibitor  
molarforhold i størrelsesorden av fra omtrent 50:1 til omtrent 1:50, og hver av  
nevnte aldehyd og nevnte metabolske inhibitor foreligger ved mindre enn omtrent  
90 % av deres respektive minimale inhibitorkonsentrasjoner (MIC).

- 30 16. Sammensetning ifølge krav 15,

k a r a k t e r i s e r t v e d at den gitte metabolske inhibitoren omfatter nitritt, og  
hvorved det gitte aldehydet omfatter glutaraldehyd.

17. Sammensetning ifølge krav 15,

- 35 k a r a k t e r i s e r t v e d at den gitte aldehydet og den gitte metabolske  
inhibitoren er begge til stede i sammensetning i en konsentrasjon i størrelsesorden  
av fra omtrent 0,1 mM til omtrent 2 mM.

1/2

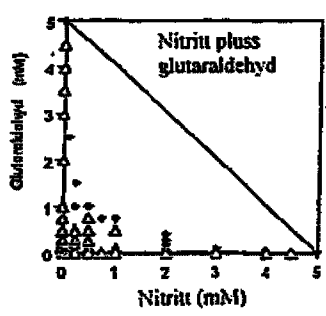


FIG. 1

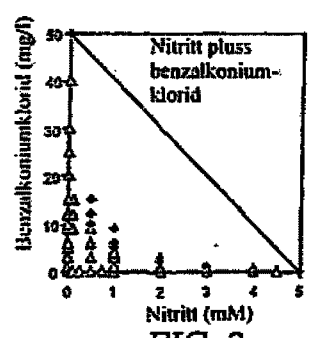


FIG. 2

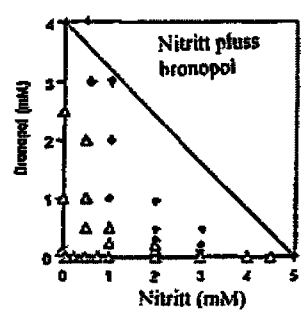


FIG. 3

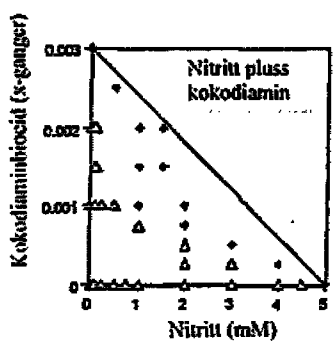


FIG. 4

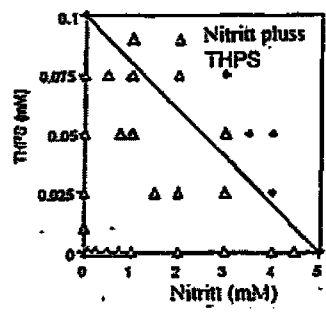


FIG. 5

2/2

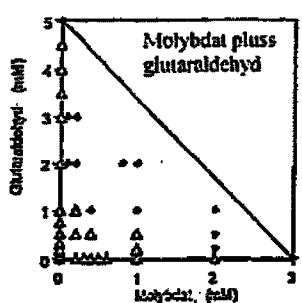


FIG. 6

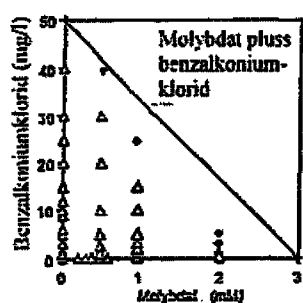


FIG. 7

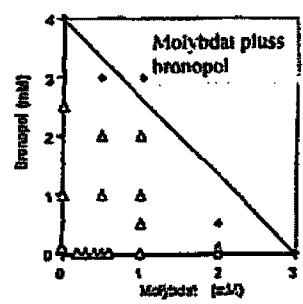


FIG. 8

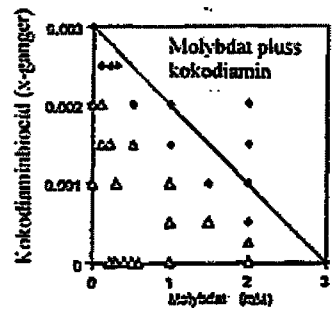


FIG. 9

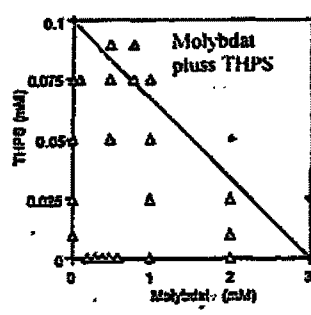


FIG. 10