

Гринберг, Т.А. Биополимеры, используемые для увеличения нефтеотдачи пластов / Т. А. Гринберг, Т.П. Пирог, А.М. Полищук, Н.В. Краснопевцева // Микробиол. журнал. — 1990. — 52, № 2. — С. 100–112.

УДК 579.69:622.276

Т. А. Гринберг, Т. П. Пирог, А. М. Полищук, Н. В. Краснопевцева

Ин-т микробиологии и вирусологии АН УССР, Киев; ВНИИ нефти, Москва

БИОПОЛИМЕРЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ НЕФТЕОТДАЧИ ПЛАСТОВ

В связи с дефицитом нефти в мире широко разрабатываются микробиологические методы увеличения нефтеотдачи. Первые попытки использования микроорганизмов для закачивания в нефтяные скважины были предприняты в середине 40-х годов [32], однако на протяжении последующих десятилетий микробиологические методы увеличения нефтедобычи не получили широкого распространения. Возрождение интереса к ним обусловлено истощением запасов нефти, увеличением ее стоимости, а также успехами в биотехнологии, связанными с получением новых полимеров микробного происхождения — экзополисахаридов (ЭПС).

На симпозиуме, состоявшемся в 1987 г. в Бартсвилле (штат Оклахома, США), при обсуждении вопросов микробиологических способов увеличения нефтеотдачи было отмечено отсутствие надежных сведений об эффективности микробиологических методов. Отсутствуют четкие полевые экспериментальные данные и модельные эксперименты, адекватно описывающие процессы, протекающие в нефтяном коллекторе. Вместе с тем предполагается, что перспектива извлечения многих миллиардов баррелей нефти и низкая стоимость затрат для добычи позволят отнести микробиологические методы к одним из наиболее перспективных способов повышения нефтеотдачи [40]. К наиболее перспективным микробиологическим способам добычи нефти относятся: использование микробных поверхностно-активных веществ (ПАВ), снижающих поверхностное натяжение на границе раздела нефти и воды; применение водорастворимых биополимеров, увеличивающих вязкость подаваемой в скважину воды; использование вязких или нерастворимых полимеров, способных закупоривать высокопроницаемые слои для управления процессами движения воды и нефти в коллекторе [33].

Применение водорастворимых полимеров для увеличения нефтеотдачи пластов обусловлено достаточно высокой эффективностью метода и его технологичностью. Однако существенными недостатками синтетических полимеров типа полиакриламида является их подверженность окислительной, температурной, механической и биологической деструкции, взаимодействию с солями, приводящему к свертыванию полимера и снижению вязкости его растворов. Более перспективным является использование в нефтедобыче полимеров микробного происхождения, в частности ЭПС, лишенных указанных выше недостатков. Как показывает зарубежный опыт, современная технология получения биополимеров позволяет организовать их производство непосредственно на промыслах [27]. Это может оказать решающее значение при оценке экономической целесообразности применения биополимеров. За рубежом накоплен опыт селекции штаммов — продуцентов ЭПС для задач увеличения нефтеотдачи пластов. В последние годы в СССР также возрос интерес к этой проблеме.

Цель настоящего обзора — систематизировать имеющуюся информацию и определить основные направления исследований по изучению, получению и использованию биополимеров для увеличения нефтеотдачи.

Характеристика полимеров, применяемых в нефтедобыче

Основной предпосылкой применения высокомолекулярных полимеров для заводнения при добыче нефти явилась их способность заметно повышать вязкость воды при добавлении в нее небольших количеств полимеров и еще более существенно снижать подвижность закачиваемой воды, что положительно влияет на вытеснение нефти из пласта. Применение полимерных добавок приводит к улучшению охвата неоднородного пласта вытесняющим агентом, снижению обводненности до-

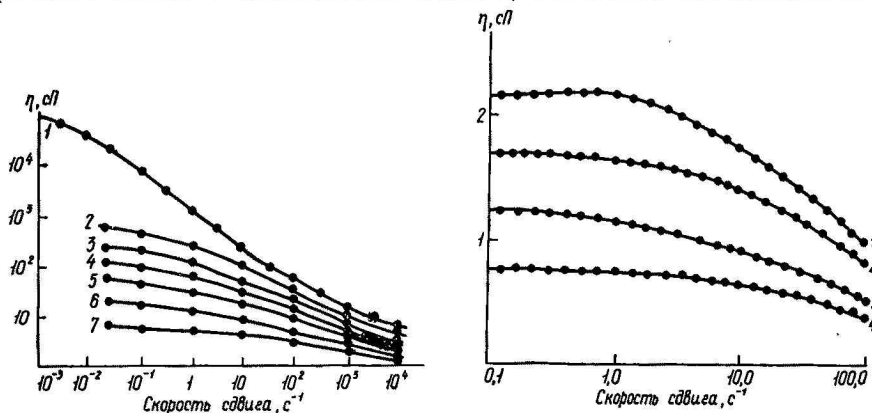


Рис. 1. Влияние солей на вязкость 0,25 %-го раствора полиакриламида при различных скоростях сдвига. 1 — в дистиллированной воде; 2 — в 0,5 %-м NaCl; 3 — в 0,25 %-м MgCl₂; 4 — в 0,25 %-м CaCl₂; 5 — в 0,5 %-м MgCl₂; 6 — в 0,5 %-м CaCl₂; 7 — в 0,25 %-м MgCl₂+0,25 % CaCl₂.

Рис. 2. Зависимость вязкости растворов биополимера *Acinetobacter* sp. от скорости сдвига. Концентрации растворов: 1—0,175 %; 2—0,01661 %; 3—0,008 %; 4—0,0063 %.

бываемой нефти, повышению нефтеотдачи пластов. Критериями оценки пригодности полимера для повышения нефтеотдачи могут служить следующие их физико-химические характеристики: высокая вязкость растворов при низких концентрациях полимеров, зависимость вязкости растворов от скорости сдвига, устойчивость растворов при взаимодействии с солями в широком диапазоне pH и температуры, устойчивость к окислительной, механической и биологической деструкции.

Полиакриламид. Из широкого класса высокомолекулярных соединений наиболее широкое распространение в нефтяной промышленности получил полиакриламид (ПАА). ПАА является линейным полимером с молекулярной массой, достигающей нескольких миллионов. Концентрация применяемых в промышленности растворов ПАА — 0,01—0,1 %.

Несмотря на ряд очевидных достоинств, обеспечивших ПАА широкое использование для повышения нефтеотдачи пластов, его практическое применение связано с рядом проблем. К числу основных можно отнести взаимодействие с солями и деструкцию полимера. ПАА относится к группе полиэлектролитов, т. е. полимеров, макромолекулы которых содержат ионогенные боковые группы. Введение в водный раствор такого полимера низкомолекулярных ионов, таких как ионы Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Fe²⁺, Cl⁻, CO₃²⁻, приводит к свертыванию макромолекул полимера и, как следствие, к снижению вязкости растворов. Одной из первых работ, в которой подробно рассмотрен вопрос о влиянии солей на реологические свойства водных растворов ПАА, явилась статья Mungan [34]. Как видно из представленных данных (рис. 1), присутствие хлористого натрия и кальция существенно снижает вязкость растворов ПАА. Следует отметить, что данные результаты получены при относительно невысоком содержании солей, в то время как минерализация пластовых вод может достигать 20 % и выше. Растворы ПАА подвержены химической, термической, механической и биологической деструкции. Для борьбы с химической деструкцией необходимо вводить в раствор добавки, связывающие растворенный кислород (например, бисуль-

фит натрия), либо вакуумировать воду, предназначенную для приготовления полимерного раствора. Все это усложняет и удорожает проведение закачки ПАА. При нагреве растворов ПАА выше 60—70 °С наблюдаются падение фактора остаточного сопротивления и увеличение скорости разложения полимера под действием кислорода [9—11]. Механическая деструкция обусловлена разрывом макромолекул полимера при высоких скоростях, т. е. при движении полимеров по трубам, насосам и в призабойной зоне пласта. Пластовые воды нефтяных месторождений могут содержать микроорганизмы, вызывающие расщепление макромолекулярных цепочек полимера [3, 9, 11].

В настоящее время в СССР ПАА выпускается в основном в виде гелей с концентрацией 4—10 % (ТУ 6-01-1049-76). В зависимости от способа очистки производят ПАА двух типов — известковый и аммиачный. В литературе имеются данные о производстве ПАА в виде эмульсии [34].

Широкий выпуск ПАА налажен за рубежом: в США — Пушер-500, Пушер-700, в Англии — Сепаран Р-10, Р-20, АР-273, магнифлок, эйрфлок, в ФРГ — Д-120, в Канаде — Ретер 423, в Японии — С5-6, РДА-1020 и т. д. Товарная форма этих полимеров представляет собой порошок белого цвета с содержанием ПАА 90—95 %.

Полисахариды микробного происхождения. Отмеченные выше недостатки ПАА привели к поиску биополимеров, синтезируемых микроорганизмами. Микробные ЭПС рекомендованы к использованию в нефтедобыче. Для повышения нефтеотдачи пластов растворы ЭПС применяются в более низких концентрациях (0,07 % — 0,005 %), чем растворы ПАА. Возможно использование для закачки разбавленной культуральной жидкости, полученной после ферментации продуцента. Организация производства биополимеров непосредственно на скважинах может оказаться весьма рентабельной и эффективной, поскольку при этом резко снижаются затраты на транспортировку и хранение, отпадает необходимость в получении сухого продукта и его последующего растворения на промысле, что приводит к экономии затрат на производство биополимеров и, как следствие, к снижению их цены. Создаются условия для организации «безлюдной» технологии. Легко осуществить утилизацию попутно добываемого газа путем использования его для обогрева ферментеров и других технических нужд производства, что влечет за собой резкое снижение энергозатрат и удешевляет производство.

Из большого количества полисахаридов микробного происхождения за рубежом основное внимание уделяется ксантану, склерглюкану и эмульсану.

Ксантан. В настоящее время основной коммерчески ценный полисахарид — ксантан выпускает компания «Kelco» — одна из дочерних организаций фирмы «Merck». Ксантан представляет собой ЭПС, синтезируемый *Xanthomonas campestris*. Этот полимер был впервые описан в работах Jeans с соавт., а также Slonecer и Jeans [22, 52]. Предложен отечественный штамм *Xanthomonas campestris* 8162 — продуцент ксантана [8]. Этот биополимер может быть использован для повышения нефтеотдачи пластов. На сегодняшний день в литературе имеется значительное количество работ, посвященных получению и использованию ксантана [8, 13, 22, 24, 25, 28, 31, 36, 37, 43, 46—48, 51, 52, 54, 56, 65].

Штамм *X. campestris* — продуцент ксантана был выделен в 1961 г. из пораженной капусты [58]. Концентрация используемого источника углерода (глюкоза, крахмал, сахароза, мальтоза, фруктоза, меласса, кукурузная мука) составляет 2—5 %. Увеличение выхода ксантана достигнуто при дробном внесении в среду культивирования глюкозы до концентрации 7 % [77]. Выход ксантана составляет обычно 40—75 %. В качестве источника азота используют органический или аммонийный азот. Введение в среду культивирования *X. campestris* 8162 мелассы позволило исключить дополнительное внесение органического азота [12]. Оптимальная температура синтеза ксантана 28 °С, оптимальный pH —

7,0. В литературе отмечается стимулирующее действие органических кислот (цитрата, сукцината, α -кетоглутарата) на образование ксантана культурой *X. campestris*. Авторы полагают, что действие органических кислот связано с установлением благоприятного для синтеза ксантана значения pH [53]. Аналогичный эффект, очевидно, имеет место при введении в среду культивирования *X. campestris* 8162 фумаровой кислоты [12]. В этом случае наблюдается увеличение содержания ксантана в культуральной жидкости с 6,0 до 9,1 г/л.

Образование ксантана зависит от условий культивирования продуцента [6, 54]. В периодическом процессе культивирования максимальная скорость роста *X. campestris* NRRf B-1459 составляет $0,11 \text{ ч}^{-1}$. Концентрация ксантана в культуральной жидкости достигает 15,3 г/л после 120 ч культивирования продуцента. Синтез ксантана происходит в логарифмической и стационарной фазах роста. В условиях непрерывной ферментации максимальная скорость образования ксантана составляет 0,6 г/л·ч. Выход ксантана возрастает при лимитировании по азоту и низких скоростях разведения [46]. Образование ксантана возможно также в условиях лимитирования роста источником углерода [35].

Разработан многостадийный процесс непрерывного культивирования продуцента ксантана. На первой стадии создают условия, благоприятные для роста продуцента, на второй — для синтеза ЭПС, например добавляют источник углеродного питания в отсутствие питательного вещества, требуемого для роста (азота) [62, 67]. При существовании такого способа культивирования значительно уменьшается потребность в кислороде в период, когда наблюдается высокая вязкость, что сводит к минимуму проблемы, связанные с трудностями массопереноса высоковязкой культуральной жидкости.

Известен двухстадийный процесс получения свободного от клеток ксантана: на первой стадии проводится непрерывное культивирование продуцента с целью получения внеклеточного полимеризующего фермента, на второй — непосредственная полимеризация субстрата [74]. Полимеризация происходит под действием экзоферментов и клеточных лизатов, полученных на первой стадии культивирования [76]. В этом случае вряд ли возможно получение свободного от клеток ксантана, так как полимеризация осуществляется также внутриклеточными ферментами.

В начале 80-х годов появились первые сообщения о возможности получения микробных ЭПС, в том числе и ксантана, с помощью клеток, иммобилизованных на крупнопористых носителях [70]. Известно использование полиэтилена для иммобилизации клеток *X. campestris* [17]. В последнем случае количество синтезированного ксантана достигает 60 г/л.

Важные проблемы, связанные с производством ксантана, — это организация стерильного производства, а также тенденция чистой культуры ревертировать к дикому типу, что сказывается на выходе и качестве полимера [13, 54]. В состав ксантана входят остатки Д-глюкозы, Д-маннозы, Д-глюкуроновой кислоты в соотношении 2,8 : 2,0 : 2,0 соответственно. Кроме того, ЭПС содержит около 4,7 % О-ацетильных групп и около 3 % остатков пировиноградной кислоты, связанных с остатками глюкозы в боковых цепях в виде циклического кетала [13]. В литературе отмечается, что при изменении условий культивирования продуцентов ЭПС основная часть полимера чаще всего остается неизменной, а наибольшие изменения претерпевают боковые цепочки (их длина, состав, число разветвлений, а также природа и состав заместителей — ацильных остатков, остатков пировиноградной кислоты, оксикислот и т. д.). Так, исследования химического состава ксантана, полученного при непрерывном культивировании в условиях шести различных вариантов лимитирования роста, показали, что соотношение моносахаридов в ЭПС не изменяется [28]. В то же время содержание пирувата в составе ксантана может варьировать практически от 0 до 7,5 % [13, 28, 36, 38, 46, 47, 51, 61]. При концентрации $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ в среде 0,1 % и

аэрации 0,25 л на 1 л среды в 1 мин содержание остатков пировиноградной кислоты составляет около 2 %. Введение в среду K_2HPO_4 и увеличение аэрации до 1,5 л на 1 л среды в 1 мин сопровождаются синтезом высоковязкого ксантана, содержащего 4 % пирувата и более. Выход ксантана от заданного субстрата в обоих случаях был одинаковым и составлял 50—60 % [28].

Согласно мнению некоторых исследователей, ксантан с низким содержанием пирувата обладает преимуществами при его использовании в нефтедобыче, так как он не осаждается и не блокирует поры нефтеносной породы. К недостаткам такого полимера следует отнести резкое снижение вязкости его растворов при 70 °С [64]. Джармен с соавт. разработали способ получения ксантана с низким содержанием пирувата (цит. по [28]). Это достигается культивированием продуцента в непрерывном процессе на простой минеральной среде без добавления микроэлементов. Содержание пирувата составляет 0,1—1,0 %. Применение такого ксантана считают эффективным для вторичной добычи нефти.

С другой стороны, известно, что реологические свойства ксантана в значительной степени определяются содержанием пирувата в его составе [48]. Вязкость растворов ксантана увеличивается с повышением количества остатков пировиноградной кислоты. Разработан способ стабилизации содержания пирувата в ксантане, применяемого в нефтедобыче [66]. Для этого проводят тепловую обработку солевого раствора полимера при рН 6,0—9,5. Солевой раствор ксантана нагревают до 110 °С и выдерживают в течение 20—30 мин. Такой обработке может быть подвергнута и культуральная жидкость, полученная после ферментации продуцента. После добавления биоцида она может быть использована для закачки в пласт.

Существенные колебания содержания ацетата и величины молекулярной массы отмечены у коммерческих препаратов ксантана [47, 48, 51].

Из литературы известно, что в некоторых случаях продуценты ЭПС синтезируют внеклеточные ферменты, расщепляющие свой «собственный» полисахарид (например, альгинат и пуллулан) [28]. Ксантан также может являться субстратом для лизазных ферментов, выделенных из многих бактерий, в том числе родов *Bacillus*, *Clostridium* и *Corynebacterium* [55]. Таким образом, снижение вязкости ксантана возможно в случае инфицированности процесса микроорганизмами — представителями указанных родов. Получение высоковязкого продукта предполагает строгое соблюдение стерильных условий культивирования. Вместе с тем, несмотря на необходимость соблюдения стерильности процесса, на длительность культивирования и естественную изменчивость продуцента, по мнению ряда зарубежных авторов, ксантан остается основным промышленно ценным микробным ЭПС благодаря своим уникальным свойствам.

Первичная структура ксантана была изучена как классическими методами химии полисахаридов [29], так и современными физико-химическими методами, в частности ЯМР-спектроскопией [18]. Совокупность полученных данных позволяет считать, что ксантан является разветвленным гетерополисахаридом [21]. Изучение конформации молекул ксантана показало, что независимо от температуры, концентрации солей и полимера в растворе существуют две характерные конформации — случайная и упорядоченная. Сделано предположение, что гидродинамический объем обеих конформаций примерно одинаков в диапазоне температур 12—80 °С [30]. Morris считает [31], что упорядоченная конформация отвечает жесткой, стержнеобразной структуре молекул. При этом наличие солей приводит к стабилизации этой структуры за счет подавления электростатического отталкивания между различными участками цепи. Другие исследователи полагают, что макромолекулы природного ксантана образуют структуру в виде правосторонней двойной или тройной спирали [20]. При упорядоченной конформа-

ции макромолекул ксантан проявляет большую устойчивость к механической деструкции [14].

Уже в одной из первых работ, посвященных исследованию свойств ксантана, отмечено существенное изменение его вязкости в зависимости от скорости сдвига [22]. Более детальные исследования [59] также свидетельствуют о том, что растворы ксантана обладают типичными псевдопластическими свойствами. Изучение реологических свойств ксантана в присутствии различных катионов показало, что взаимодействие полимера с неорганическими солями носит довольно сложный характер [22]. Так, в частности, влияние катионов калия, натрия, аммония, лития и кальция на вязкость растворов ксантана определяется как концентрацией ЭПС, так и концентрацией катионов. Неравномерное увеличение вязкости растворов ксантана с повышением концентрации указанных катионов объясняется наличием процессов гелеобразования в растворе. Вязкость растворов ксантана существенно увеличивается в присутствии хлористого алюминия, ацетата кальция и фосфатов калия. Следует отметить, что в данном случае одним из факторов, определяющих реологические свойства ксантана, является изменение значения pH раствора при внесении солей. Эти результаты позволили сделать вывод о том, что можно достичь повышения вязкости растворов ксантана в присутствии любого из одно-, двух- и даже трехвалентного катиона при соответствующем подборе pH среды.

Исследование реологических свойств ксантана «Flocon 4800» с повышенным содержанием пирувата в растворах с высокой минерализацией и сложным ионным составом показало, что с увеличением концентрации ионов вязкость растворов заметно увеличивается [28]. Приведенная вязкость растворов ксантана увеличивается с повышением температуры растворов [42]. В литературе указывается на сложный характер зависимости вязкости растворов ксантана от температуры [14]. В дистиллированной воде вязкость возрастает с повышением температуры до 60 °С, затем она снижается. Как отмечают авторы, влияние температуры на вязкость ксантана определяется концентрацией полимера в растворе и наличием определенных катионов.

Анализ данных литературы показал, что основной причиной деструкции биополимеров, в частности ксантана, является биоразрушение. Наиболее полно этот процесс освещен в работе Rehage [41]. Эффективными биоцидами, позволяющими предотвратить биоразлагаемость ксантана, оказались формальдегид и азид натрия.

В патентной литературе имеются сведения, касающиеся улучшения, модификации и стабилизации свойств ксантана для применения в нефтедобывающей промышленности [62, 64, 66, 68, 69, 71, 72]. Предложены различные способы очистки растворов биополимеров. Так, известна обработка культуральной жидкости, содержащей ксантан и бактериальные клетки продуцента, протеазами, которая приводит к тому, что растворы полимера становятся прозрачными [69]. Для улучшения фильтрационных характеристик водных растворов ксантана проводят их обработку ферментом полисахаразой [71] или двумя ферментами различного типа — полисахаразой и протеазой [72]. Разработан способ очистки растворов ксантана, содержащих бактериальные клетки. Для этого к раствору добавляют протеазу, повышают pH среды до 10—11 и вносят твердые кремниевые вещества, характеризующиеся хорошими адсорбционными свойствами. Кремниевые частицы с адсорбированными на их поверхности дезинтегрированными бактериальными клетками отделяют фильтрованием [62].

Рекомендуется применение в нефтедобыче ксантана, модифицированного путем нагревания до 82—110 °С водного раствора полимера в присутствии NaOH или KOH при pH 12,0 [73]. Раствор полимера выдерживают при этой температуре до тех пор, пока не происходит его осветление.

В последующие годы был селекционирован штамм *X. campestris*, синтезирующий новый полисахарид S-657 [57], в состав которого вхо-

Лет глюконовая кислота (20%), рамноза и глюкоза в молярном соотношении 2:1. Полисахарид содержит также О-ацильный компонент. В низкой концентрации ЭПС значительно повышает вязкость водных растворов, обладает высокой эмульгирующей способностью и термостабильностью. Эти свойства полисахарида дают основание считать его перспективным для повышения вязкости нефтотолда.

Склерглюкан. Продукентами склерглюкана являются различные представители рода *Sclerotium* — *Sclerotium rofsii*, *S. glaucum*, *Sclerotium* sp. и др. Изучение склерглюкана, как и кантагана, было начато в 60-х годах. Однако на сегодняшний день сведения о культивировании *Sclerotium* немногочисленны [15, 23, 50, 51].

Для получения склерглюкана используют углеводсодержащие среды с органическими источниками азота (например, содержащие дрожжевой экстракт). Образование полимера связано с ростом продуцента. Максимальная скорость образования склерглюкана наблюдается в логарифмической фазе роста продуцента, затем скорость быстро снижается [15]. Расход воздуха составляет объем на объем среды в 1 мин, скорость перемешивания — 300 об/мин. Культивирование продуцента осуществляют при pH 1,5—3,0, что позволяет вести процесс без инфильтрации. Выход склерглюкана составляет 50% от использованного субстрата. Отделение клеток от культуральной жидкости, содержащей ЭПС, не представляет особых трудностей. Однако при осаждении склерглюкана спиртом образуются труднорастворимые агрегаты. Поэтому в нефтелобъемные эффективнее использовать бесклеточную культуру глянца и везикуляте и исключают дорозовую стадию выделения и сушки биополимера, а также позволяет получить склерглюкан непосредственно на промыслах [37].

Склерглюкан — нейтральный гомополисахарид, в котором остатки глюкозы связаны β-(1,3)-связями. К каждому третьему остатку глюкозы основной цепи в положении C₆ присоединяется еще один остаток глюкозы [23]. Склерглюкан впервые описан в шестидесятых годах. В водном растворе конформация молекул склерглюкана представляет собой тройную спираль и вследствие этого образует маломолекулярные стержни с большим гидродинамическим радиусом [15, 37]. Склерглюкан легко растворяется в воде, образуя псевдопластичные растворы, имеющие большую толерантность в широком диапазоне температуры, pH и концентрации солей. Так, по данным Ребаге [41], в присутствии одно- и двухвалентных катионов вязкость растворов склерглюкана не изменяется. Однако трехвалентные катионы (Cr³⁺, Al³⁺, Fe³⁺) могут вызывать гелеобразование. Нечувствительность склерглюкана к действию одно- и двухвалентных катионов отмечена также в работе Lesotier с соавт. [26]. Склерглюкан термостабилен, чем кантаган. Как и кантаган, склерглюкан подвержен только биологической деструкции. Для стабилизации его растворов рекомендуется применять формалин. Склерглюкан для нефтелобъемной промышленности выпускают японская фирма «Халибара Байокемикел Лэбретриз», американская фирма «Литлбери Компани», а фирма «Меро-Раселло-Сатина» будет производить промышленный склерглюкан в ближайшие годы [15].

Эмульсан. В конце 70-х годов появились первые сообщения об этом экзополисахариде, синтезируемом *Acinetobacter calcoaceticus* РАG-1 [44, 45, 60]. В 1984 г. фирмой «Пероферм» (США) проведены исследования по промышленному получению эмульсана. Фирмами «Дайно Индастриз» (США), «Кемтек» (Англия), «Биотекнологджи АГ» (Австрия) приобретены лицензии на применение эмульсана в нефтелобъемной промышленности.

Эмульсан, получаемый в промышленном масштабе на основе этанола, называется α-эмульсаном. Он представляет собой внеклеточный липополисахарид, ассоциированный с белком. α-Эмульсан состоит в основном из N- и O-ацетилованных остатков Д-галактозамина и аминоуроновой кислоты. В О-ацетилованную часть эмульсана входит от 5 до 19%

(всего 7—14%) остатков жирных кислот, содержащих 10—18 атомов углерода, причем более 50% жирных кислот составляет 2-оксидодекановая и 3-оксидодекановая кислоты [19, 75, 78]. Содержание белка в α -эмульсане составляет 5—15%. Депротеинизацией α -эмульсана получают апо- α -эмульсан, который фракционным осаждением сульфатом аммония удается разделить на кислый и нейтральный компоненты. Кислый компонент составляет около 35% от веса суммарной фракции. Апо- α -эмульсан состоит (в % от сухого веса полимера) из остатков Д-галактозамина (30%), аминокислоты (33,3%), Д-глюкозы (5,2%), жирных кислот (15%); зольность препарата составляет 3,5%, влажность — 13% [13, 75]. Молекулярная масса эмульсана, вычисленная на основании характеристической вязкости, составляет $9,88 \cdot 10^5$. Для апо- α -эмульсана константа диффузии составляет $5,26 \times 10^{-8}$ см²/с, константа седиментации — 6,06 S. Относительно высокая внутренняя вязкость, низкие константы диффузии и седиментации апо- α -эмульсана указывают на то, что структура его несимметрична [75].

A. calcoaceticus синтезирует внеклеточный полимер при культивировании на минеральной среде, содержащей в качестве источника углерода для этанола, углеводороды, жирные кислоты. Количество этанола в среде культивирования составляет 1,25—3,0% об. При выращивании штамма на среде образуются α -эмульсаны, содержащие максимумное количество остатков жирных кислот в составе полимера. Для образования эмульсана необходимо наличие в среде азотсодержащих компонентов (сульфата аммония, хлорида аммония, нитратов, мочевины) в количествах, превышающих удельную потребность культуры, так как синтезируемый полимер состоит в основном из аминокислот. В качестве источника фосфата используются одно- и двухзамещенные фосфаты. Для приготовления питательной среды может быть использована морская или водопроводная вода. При применении дистиллированной воды необходимо добавлять в среду соли Mg²⁺, Ca²⁺ и Mn²⁺ в количестве 1—100 ммоль. Температура культивирования 30°C, pH среды 6,2—6,7. Независимо от используемых источников углеродного питания синтез эмульсана начинается с первых часов культивирования, т. е. идет параллельно росту, и продолжается в стационарной фазе после прекращения роста культуры. Биосинтез эмульсана блокируется в анаэробных условиях. При использовании в качестве источника углерода этанола количество синтезированного эмульсана составляет 4—5 г/л. Обработкой культуры N-метил-N-нитрозогуанидином были получены мутанты *A. calcoaceticus* RA-G-1, устойчивые к петаблону в концентрации 10 мкг/мл и характеризующиеся повышенным образованием эмульсана [49]. Мутанты раньше начинают синтезировать эмульсан и накапливают его с большей скоростью по сравнению с родителем штаммом. По мнению авторов, это связано с генетическими изменениями у мутантов.

Эмульсан является поверхностно-активным веществом и обладает ярко выраженными эмульгирующими свойствами, особенно при образовании эмульсий вода/углеводород [19, 44, 45, 60, 75, 78], что и предопределило его использование в нефтяной промышленности, в частности для повышения нефтеотдачи. Так, например, применение эмульсана позволяет увеличить отмывание нефти из песка с 10—12 до 89—92%, из известняка — с 14 до 89% [75, 78]. Перспективы применения микробных ПАВ, в том числе и эмульсана, изложены в обзоре Галткевича [2]. Благодаря своим физико-химическим свойствам, способностям действовать в присутствии высоких концентраций солей и не адсорбироваться на известняках и песчанках эмульсан в смеси с другими (например, неионогенными) ПАВ может являться эффективным средством повышения кинетики нефтяных процессов.

Экзополисахарид *Actinobacter* sp. [4]. Штамм *Actinobacter* sp. выделен из активного ила станции биологической очистки сточных вод нефтеперерабатывающего завода [4]. Для культивирования штамма с целью получения ЭПС использовали среду Кодама [77] с 1,5—2% об.

этанола в качестве источника углерода и энергии. Культивирование штамма осуществляют периодическим способом в течение 30—48 ч при температуре 30 °С, pH среды 7,0, 700 об/мин мешалки, расходе воздуха 3,2 л/мин, начальной концентрации растворенного кислорода, не превышающей 20 % от насыщенной воздухом. Максимальная скорость роста культуры 0,42 ч⁻¹, максимальная скорость синтеза ЭПС — 0,16 ч⁻¹. Выход ЭПС от заданного субстрата составляет 50—60 %, количество синтезированного ЭПС — 10,0—15,0 г/л. Отделение клеток от культурыальной жидкой среды возможно с помощью ультрафильтрации. Представленная перспективна использованием вязкой культурыальной жидкости для применения в нефтедобыче.

ЭПС *Actinobacter* sp. представляет собой кислый гетерополисахарид с мол. м. $8 \cdot 10^5$ — $2 \cdot 10^6$, в состав которого входят остатки глюкозы, галактозы, маннозы и рамнозы (в соотношении 10 : 4 : 8 : 2), этериципированные жирными кислотами. Кислые группы ЭПС представляются остатками пировиноградной кислоты. Наличие остатков жирных кислот и пирватических групп в составе биополимера обуславливает зависимость реологических свойств водных растворов этого полисахарида от состава и концентрации солей в растворе. Растворы ЭПС *Actinobacter* sp. обладают высокой вязкостью, которая повышается в присутствии одно- и двухвалентных катионов. На рис. 2 приведены зависимости вязкости от скорости сдвига для раствора очищенного полимера *Actinobacter* sp. Все измерения проводили при 20 °С, растворителем служила дистиллированная вода. Из приведенных данных видно, что в области пластовых скоростей сдвига (0,1—1 с⁻¹) раствор проявляет свойства ньютоновской жидкости. Псевдопластический характер течения реализуется при скоростях сдвига, превышающих 1 с⁻¹.

Следует отметить, что наблюдаемое увеличение вязкости для таких малых концентраций довольно существенно, что предопределяет большой интерес к описываемому полимеру, как нефтевытесняющему агенту. Важным моментом также является существование разницы в абсолютных значениях вязкости, полученных при малых и больших скоростях сдвига. Так, при измерениях на обычных капиллярных вискозиметрах типа «Оствальд», реализуются скорости сдвига порядка 100 ÷ ÷ 300 с⁻¹. Оценка вязкостных характеристик с помощью таких измерений (см. рис. 2) может на десятки процентов отличаться от данных при пластовых (низких) скоростях сдвига.

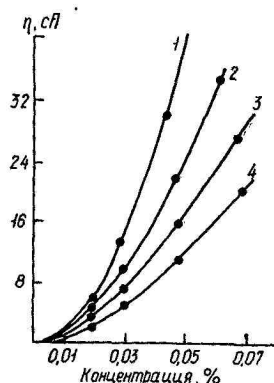
Для сравнения вязкостных свойств *Actinobacter* sp. и кантатана фирмы «Sigma» построены графики зависимости вязкости полимера в растворе от его концентрации при разных скоростях сдвига (рис. 3). При малых концентрациях полимеров существенно различия между кантатаном и ЭПС *Actinobacter* sp. устанавливаться не удалось. Однако при концентрации 0,05 % данные, полученные при 10 с⁻¹, достаточно хорошо совпали. Однако при более низких скоростях сдвига, которые, собственно, и представляли для нас наибольший интерес, загущающие способности ЭПС *Actinobacter* sp. оказались гораздо выше. Особенно это хорошо проявилось при скорости сдвига 0,1 с⁻¹. Вязкость полимера того раствора *Actinobacter* sp. с концентрацией 0,05 % более чем в два раза выше, чем у идентичного раствора кантатана.

Таким образом, растворы полисахаридов микробного происхождения (кантатана, склеритюкана, амилсана и ЭПС *Actinobacter* sp.) по сравнению с растворами полиакриламида обладают менее выраженной тенденцией к снижению вязкости в присутствии солей, при изменении pH среды и температуры. Микробные ЭПС, в частности кантатан, легко молифицируются различными соединениями, что позволяет целенаправленно изменять их физико-химические свойства для применения в нефтедобыче. Важным свойством биополимеров является устойчивость к различным видам деградации. Основная трудность при использовании биополимеров в нефтедобыче заключается в подборе эффективных био-ингибиторов, предотвращающих биоразлагаемость полисахаридов различными

микроорганизмами. Растворы микробных ЭПС являются жидкостями со сложным реологическим поведением. Способность ЭПС *Acinetobacter* sp. существенно увеличивать вязкость при малых скоростях сдвига и низких концентрациях в растворе позволяет отнести этот биополимер к перспективным для использования в качестве нефтewытесняющего агента.

Таким образом, приведенные в обзоре материалы показывают, что методu повышения нефтеотдачи с помощью биополимеров уделяют больше внимание. В настоящее время наиболее перспективными считают выпускаемые в промышленном масштабе за рубежом три биополимера — ксантан, склерглюкан, эмульсан. Однако поиски и выделение новых продуцентов продолжаютсЯ. Для успешного и бесперебойного получения ЭПС для нефтедобывающей промышленности необходимо создать банк альтернативных

Рис. 3. Зависимость вязкости растворов биополимера *Acinetobacter* sp. (1, 2) и ксантана (3, 4) от их концентрации при различных скоростях сдвига. 1, 3 — скорость сдвига 10^{-1} с^{-1} ; 2, 4 — скорость сдвига 10 с^{-1} .



культур — продуцентов биополимеров с заданными свойствами. Физико-химические свойства ЭПС, полученные путем микробного синтеза, и реологические свойства их растворов различаются в зависимости от применяемого продуцента и условий его культивирования. Основной предпосылкой применения полимерных растворов для повышения эффективности извлечения нефти из пласта являются загущение воды и улучшение соотношения вязкостей вытесняющей жидкости и нефти. При низких значениях отношения вязкости воды к вязкости нефти происходит ранний прорыв закачиваемого агента в нагнетательные скважины и для реальных условий нельзя получить высокий коэффициент нефтеотдачи. Поэтому важной характеристикой полимерных растворов является абсолютное значение вязкости при данной концентрации полимерного вещества. Чем меньше полимера необходимо для достижения одного и того же уровня вязкости, тем выше экономический эффект от его применения.

Изучение особенностей применения растворов биополимеров для повышения нефтеотдачи пластов тесно связано с исследованием такой реологической характеристики раствора, как зависимость вязкости от скорости сдвига. Вид этой зависимости во многом может определять нефтewытесняющие свойства жидкостей. Так, наибольшую ценность представляют растворы, проявляющие дилатантные свойства (возрастание вязкости с ростом скорости сдвига). При фильтрации таких растворов в неоднородной по проницаемости пористой среде опережающее движение полимера в высокопроницаемых участках будет сопровождаться увеличением вязкости раствора и, следовательно, сопротивлением движению жидкости в этом участке пласта (замедлением ее движения). Это обеспечит равномерное продвижение фронта вытеснения и, как следствие, увеличение нефтеотдачи пласта.

При проведении реологических исследований различных систем применительно к процессам нефтеизвлечения центральным моментом является получение данных в области низких скоростей сдвига ($0,1$ — 1 с^{-1}), соответствующих пластовым скоростям фильтрации. Именно исследования в этом диапазоне параметров представляют наибольший интерес и позволяют более точно прогнозировать поведение полимерных растворов в пористой среде.

Важным свойством биополимеров является их повышенная стойкость к различным видам деструкции. Реологические свойства водных растворов, изученных и рекомендованных для применения в нефтедо-

быче ЭПС, показало, что они проявляют псевдопластические свойства; в области пластовых скоростей сдвига вязкость слабо зависит от скорости деформации. Чувствительность растворов биополимеров к действию солей и изменению рН меньше, чем таковая полиакриламида. Эти факторы могут оказывать заметное влияние на вязкость и фильтрационные характеристики биополимеров. Существенно, что направленное воздействие позволяет изменять свойства биополимеров в нужном направлении. Разработка экономически выгодных процессов производства микробных ЭПС является одной из актуальных задач микробиологической и нефтедобывающей промышленности. В связи с дефицитом углеводсодержащего сырья в настоящее время одной из основных тенденций развития промышленного производства ЭПС являются поиск и использование штаммов микроорганизмов, образующих биополимеры на основе непищевых субстратов.

В настоящее время эмульсан является единственным в мире полисахаридом, получаемым в промышленном масштабе на основе непищевых сырья — этанола. В ближайшем будущем именно это обстоятельство сможет оказаться решающим при использовании полимера в нефтедобыче, так как возрастающие потребности нефтяной промышленности в биополимерах (по данным Нефтяного совета США потребность к 2000-му году составит 1—4 млн тонн в год) вряд ли будут удовлетворены за счет полисахаридов, получаемых на основе пищевых субстратов (глюкозы, сахарозы, крахмала). Микробные ЭПС имеют высокую себестоимость из-за значительных затрат на научные исследования, которые направлены на поиски новых продуцентов, новых технологических решений, из-за значительной стоимости используемых субстратов, энергии и рабочей силы. Поэтому предполагается, что в ближайшем будущем микробиологическая промышленность будет производить лишь незначительное количество наименований биополимеров [39]. Тем не менее на состоявшейся в Бартсвилле конференции, собравшей представителей основных нефтяных фирм США, директор «NIPER» James Deterding призвал к увеличению капиталовложений в развитие технологий микробиологического увеличения нефтеотдачи [16]. По представленным в литературе данным, получение высоковязкого биополимера непосредственно в полевых условиях и использование его для повышения нефтедобычи позволят повысить экономичность метода. С целью получения обоснованных данных для оценки эффективности применения биополимеров необходимо проведение широкого комплекса лабораторных и опытно-промышленных исследований.

1. Богомолов Г. В., Герасимов В. Г., Зайдаль М. И. и др. Гидрогеология Волго-Уральской нефтегазоносной области.— М.: Недра, 1967.— 422 с.
2. Ганиткевич Я. В. Поверхностно-активные вещества микробного происхождения // Биотехнология.— 1968.— 4, № 5.— С. 575—583.
3. Гарейшина А. З., Яус Л. И., Газизов А. Ш. и др. Биологическая деструкция полимерных растворов, применяемых для повышения нефтеотдачи пласта // Нефтепромысловое дело и транспорт нефти.— 1984.— № 8.— С. 17—19.
4. Гринберг Т. А., Дерябин В. В., Краснопевецова Н. В. и др. Некоторые свойства полисахарида, синтезируемого культурой *Acinetobacter species* // Микробиол. журн.— 1987.— 49, № 4.— С. 24—30.
5. Дорохов Ю. О., Полищук А. М., Усачева О. П. Влияние температуры на фактор остаточного сопротивления для растворов полиакриламида // Нефтепромысловое дело и транспорт нефти.— 1984.— № 8.— С. 1—3.
6. Елинов Н. П. Некоторые микробные полисахариды и их практическое применение.— Успехи микробиологии.— 1982.— 17.— С. 158—177.
7. Кодама Т., Пакахара Т., Омари Т. и др. Образование внеклеточных полисахаридов водородными и метаниспользующими бактериями // Рост микроорганизмов на С₂-соединениях: Тез. докл. симпоз. (12—16 сент. 1977 г., Пущино).— Пущино: НЦБИ АН СССР, 1977.— С. 213—215.
8. Матвишевская М. С., Гвоздяк Р. И., Майко И. И. и др. Биополимер, продуцируемый бактериями рода *Xanthomonas* и его использование в нефтяной промышленности // Микробиол. журн.— 1979.— 41, № 1.— С. 88—92.
9. Перевалов В. Г., Алексеева В. А. Очистка сточных вод нефтепромыслов.— М.: Недра, 1969.— 224 с.
10. Пик И. Д. Влияние деструкции водорастворимых полимеров на процесс заводнения нефтяных пластов: Автореф. ... канд. техн. наук.— М., 1988.— 28 с.

11. *Tager A. A.* Физико-химия полимеров.— М.: Химия, 1978.— 544 с.
12. А. с. 811844 СССР, МКИ³ С12 № 1/20. Питательная среда для выращивания штамма *Xanthomonas campestris* 8162 — продуцента экзополисахаридов / М. С. Матышевская, Р. И. Гвоздяк, И. И. Майко и др.— Опубл. 30.01.82, Бюл. № 4.
13. *Cadmus M. C., Rogovin S. P., Burton K. A. et al.* Colonial variation in *Xanthomonas campestris* NRRL-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain // *Can. J. Microbiol.*— 1976.— 22.— P. 942—948.
14. *Chen C. S. H., Sheppard E. W.* Conformation and shear stability of xanthan gum in solution // *Polymer Engin. Sci.*— 1980.— 20, N 7.— P. 512—516.
15. *Compere A. L., Griffith W. L.* Scleroglucan biopolymers production properties and economies // *Adv. Biotechnol. Proc. 6th Int. Ferment. Symp. (London(Canada), 20—25 July 1980).*— Toronto etc., 1981.— Vol. 3.— P. 441—446.
16. *Enhanc.* Energy Recov. News.— NIPER/DOE conference «Applications of microorganisms to petroleum technology» // 1987.— 11, N 2.— P. 1.
17. *Exploit* transport limitations for polysaccharide production // *Bioprocess. Technol.*— 1988.— 10, N 2.— P. 2.
18. *Gorin P. A. T.* Carbon 13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of polysaccharides // *Adv. carbohydr. chem. biochem.*— 1981.— 38.— P. 13—104.
19. *Gutnick D. L.* The emulsan polymer: perspectives on a microbial capsule as an industrial product // *Biopolymers.*— 1987.— 26, Suppl.— P. 229—240.
20. *Holzwarth G., Presting E.* Multistranded helix in xanthan polysaccharide // *Science.*— 1977.— 197, N 5.— P. 757.
21. *Jansson P. E., Kenne Z., Zindber B.* Structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris* // *Carbohydr. Res.*— 1975.— 45.— P. 275—282.
22. *Jeans A., Pittsley J. E., Senty Fr.* Polysaccharide B-1459; a new hydrocolloid polyelectrolyte produced from Gluco by bacteria fermentation // *J. Appl. Polym. Sci.*— 1961.— 5.— P. 519.
23. *Johnson I. I. Jr., Kirkwood S., Misaki A. et al.* Structure of a new glucan // *Chem. and Ind.*— 1963.— P. 820—822.
24. *Kennedy J. F., Bradshaw I. J.* Production, properties and applications of xanthan // *Progr. Microbiol.*— 1984.— 19.— P. 319—371.
25. *Kenne L., Lindberg B.* Bacterial polysaccharides. Polysaccharides.— New York; London: Acad. press, 1983.— Vol. 2.— P. 287—363.
26. *Lecourtier J., Noik C., Chauveteau G.* Semirigid polysaccharides for polymer flooding in high salinity reservoirs // 4 th Eur. Symp. Enhanc. Oil Recov. (27—29 October, 1987, Hamburg). Hamburg Proc.— Hamburg, 1987.— P. 105—116.
27. *Littman W., Westerkamp A.* Xanthan-biopolymer flooding in a North-german oilfield // Eur. Symp. Enhanc. Oil Recov. (27—29 October, 1987, Hamburg). Hamburg proc.— Hamburg, 1987.— P. 67—90.
28. *Margaritis A., Pace G. W.* Microbial polysaccharides // *Comprehens. biotechnol.*— New York; London: Pergamon press, 1985.— Vol. 3.— P. 1005—1044.
29. *Melton L. D., Mindt L., Rees D. A., Sanderson J.* Covalent structure of the extracellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*: evidence from partial hydrolysis studies // *Carbohydr. Res.*— 1976.— 46, N 2.— P. 245—254.
30. *Milas M., Rinaudo M.* Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan // *Carbohydr. Res.*— 1979.— 76.— P. 189—196.
31. *Morris E. R.* Extracellular microbial polysaccharides // *ACS Symp. Series.*— 1977.— 45.— P. 81.
32. *Moses V.* The microbial dimension in enhanced oil recovery // *Eur. Symp. Enhanc. Oil Recov. (Edinburgh, 1978):*— Edinburgh, 1979.— P. 271—277.
33. *Moses V.* Microbes and oil recovery // *Microbiol. Sci.*— 1987.— 4, N 10.— P. 306—309.
34. *Mungan N.* Shear viscosities of ionic polyacrylamide solutions // *SPEJ*, Dec. 1972.
35. *Pace G. W., Righellato R. C.* Production of extracellular microbial polysaccharides // *Adv. Biochem. Eng.*— 1980.— 15, N 12.— P. 41—70.
36. *Pace G. W.* Microbial polysaccharides // *Adv. Biotechnol. (Proc. Int. Ferment. Symp.).*— 1981.— 3.— P. 433—439.
37. *Paul F., Morin A., Monsan P.* Microbial polysaccharides with actual potential industrial applications // *Biotechnol. Adv.*— 1986.— 4.— P. 245—259.
38. *Phillips J. C., Miller J. W., Wernan W. C. et al.* A high-pyruvate xanthan for EOR // *SPEJ*, August 1985.— P. 594—602.
39. *Prigent J. R.* Les aspects industriels dans la production des polysaccharides microbiens // *Petrole et techn.*— 1988.— N 342.— C. 35—38.
40. *Progress* very slow in microbial EOR // *Oil and Ras J.*— 1987.— 85, N 4.— P. 24.
41. *Rehage D. G., Blok H., Wehrhann A. K.* Physicochemical investigations on polymer-flood media // Part 5 of DGMK-Project 295 Basic Investigations for the selection and preparation of field application of tertiary oil recovery by chemical flooding (Hamburg, October 1987)— Hamburg, 1987.— P. 96.
42. *Rinaudo M., Milas M.* Polyelectrolyte behaviour of bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris*: comparison with carboxymethyl-cellulose // *Biopolymers.*— 1978.— 17, N 17.— P. 2663—2678.
43. *Rogovin S. P., Anderson R. F., Cadmus M. S.* Production of polysaccharide with *Xanthomonas campestris* // *J. Biochem. Microbiol. Technol. Eng.*— 1961.— N 3.— P. 51—63.
44. *Rosenberg E., Zuckerberg A., Rubinovitz C., Gutnick D. L.* Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1; isolation and emulsifying properties // *Appl. Environ. Microbiol.*— 1973.— 37, N 3.— P. 402—408.
45. *Rosenberg E., Perry A., Gibson D. T., Gutnick D. L.* Emulsifier of *Arthrobacter*

- RAG-1: specificity of hydrocarbon substrate // Appl. Environ. Microbiol.—1979.—37, N 3.—P. 409—413.
46. Sandford P. A. Microbial polysaccharides // Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.—1979.—36.—P. 265—313.
 47. Sandford P. A. Industrial utilization of polysaccharides. Polysaccharides.—New York; London: Acad. press, 1983.—Vol. 2.—P. 411—490.
 48. Sandford P. A., Cottrell I. W., Pettitt D. J. Microbial polysaccharides: new products and their commercial application // Pure App. Chem.—1984.—56, N 7.—P. 879—892.
 49. Shabtai Y., Gutnick D. L. Enhanced emulsan production in mutants of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 selected for resistance to cetyltrimethylammonium bromide // Appl. Environ. Microbiol.—1986.—52, N 1.—P. 146—151.
 50. Slodki M. E., Wickerman L. J. Extracellular polysaccharides and classification of the genus *Lipomyces* // J. Gen. Microbiol.—1966.—42, N 3.—P. 381—385.
 51. Slodki M. E., Cadmus M. C. Production of microbial polysaccharides // Adv. Appl. Microbiol.—1978.—23.—P. 19—54.
 52. Stoner J. H., Jeanes A. Exocellular bacterial polysaccharide from *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 // Can. J. Microbiol.—1962.—40, N 8.—P. 2066—2071.
 53. Souw P. The effect of citrate and other organic acids in xanthan production // Adv. Biotechnol. Proc. 6th Int. Ferment. Symp., London (Canada), 20—25 July 1980.—Toronto, 1981.—Vol. 3.—P. 447—453.
 54. Sutherland I. W., Ellwood D. C. Microbial exopolysaccharides—industrial polymers of current and future potential // Microbiol. Technol. Curr. State Future Prospects: 29 Symp. Soc. Gen. Microbiol.—Cambridge, 1979.—P. 107—150.
 55. Sutherland I. W. A lyase enzyme acting on polysaccharides (Xanthans) from *Xanthomonas* spp. // Abstr. Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol., 86th Annu. Meet (Washington, 23—28 March. 1986).—Washington.—1986.—P. 272.
 56. Sutherland I. W. Industrially useful microbial polysaccharides // Microbiol. Sci.—1986.—3, N 1.—P. 5—9.
 57. Veeder G. T., Kang K. S. Heteropolysaccharide S-657—a new industrial and vil field viscosifier // Abstr. Annu. Meet. Amer. Soc. Microbiol., 86th Annu. Meet (Washington, 23—28 March, 1986).—Washington.—1986.—P. 272.
 58. Walker I. C., Gallegly M. E. Plant nutrition in relation to disease development. 6. Black rot of cabbage and ring rot of tomato // Amer. J. Bot.—1951.—38, N 5.
 59. Whitcomb P. J. Rheology of xanthan gum // J. Rheol.—1978.—22, N 5.—P. 493—505.
 60. Zuckerberg A., Divor A., Perry A. et al. Emulsifier of *Arthrobacter* RAG-1: chemical and physical properties // Appl. Environ. Microbiol.—1979.—37, N 3.—C. 414.
 61. Pat. 1512536 Britain, IC² C12 D 13/04. Production of bacterial polysaccharides.—Publ. 01.06.78.
 62. Pat. 1598594 Britain, IC³ C12P 19/04. Clarification of a non-proteinaceous microbially-produced polymer solution.—Publ. 23.09.81.
 63. Pat. 2090847 Britain, IC³ C12 P 19/04. A two-stage continuous process for the production of gelable exopolysaccharide.—Publ. 21.07.82.
 64. Pat. 0066961 Eur. Pat., IC³ C12 P 19/06. Production of xanthan having a low pyruvate content.—Publ. 15.12.82.
 65. Pat. 0078621 Eur. Pat., IC³ C 12 P 19/06. Treatment of xanthan gum solution.—Publ. 11.05.83.
 66. Pat. 0103483 Eur. Pat., IC³ C 12 P 19/06. A method of preparing modified heteropolysaccharides in buttered brine and their use for vil recovery.—Publ. 21.03.84.
 67. Pat 0112661 Eur. Pat., IC³ C 12 P 19/04. Fermentation process for the production of polysaccharide.—Publ. 04.07.84.
 68. Pat. 3224547 FRG, IC⁴ C12 P 19/06. Verbessertes Verfahren zur Herstellung von exozellulären Biopolymeren.—Publ. 05.01.84.
 69. Pat. 2391277 France, IC² C12 D 13/04. Clarification d'une solution de polymère produite de manière microbienne / Scott L. Wellington.—Publ. 15.12.78.
 70. Pat. 2488909 France, IC³ C 12 P 19/04. Production de polysaccharides microbiens.—Publ. 26.02.82.
 71. Pat. 2491494 France, IC³ C 12 P 19/06. Procédé enzymatique de clarification de gommes xanthanes permettant d'améliorer leur injectivité et leur filtrabilité / M. Rinaudo, M. Milas, N. Kohler.—Publ. 09.04.82.
 72. Pat. 2506328 France, IC³ C 12 P 19/06. Procédé enzymatique de traitement de gommes xanthanes en vue d'améliorer la filtration de leurs solutions aqueuses / M. Rinaudo, M. Milas, N. Kohler.—Publ. 26.11.82.
 73. Pat. 3964972 USA, IC² C12 D 13/04. Modified heteropolysaccharides / J. Patton.—Publ. 22.06.76.
 74. Pat. 4218538 USA, IC³ C12 P 19/04. Two staged continuous fermentation process for production of heteropolysaccharide.—Publ. 19.08.80.
 75. Pat. 4234689 USA, IC² C12 P 19/04. Production of α -emulsans / D. L. Gutnick, E. Rosenberg, I. Scabtai.—Publ. 18.11.80.
 76. Pat. 4251633 USA, IC³ C 12 M 1/40. Multistage continuous system for production of polysaccharides.—Publ. 17.02.81.
 77. Pat. 4282321 USA, IC³ C 12 P 19/06. Fermentation process for production of xanthan.—Publ. 04.08.81.
 78. Pat. 4395353 USA, IC³ B 01 F 17/30. Polyanionic heteropolysaccharide biopolymers / D. L. Gutnick, E. Rosenberg, I. Belasky, Z. Sava.—Publ. 26.07.83.

Получено 12.07.89