

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 129**

51 Int. Cl.:

C02F 3/32 (2006.01)

C12R 1/89 (2006.01)

C12N 1/26 (2006.01)

C02F 101/10 (2006.01)

C02F 101/16 (2006.01)

C02F 103/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.02.2009 E 09250364 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2093197**

54 Título: **Método para eliminar contaminantes de agua de producción**

30 Prioridad:

13.02.2008 BR PI0800141

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.03.2014

73 Titular/es:

**PETRÓLEO BRASILEIRO S.A. PETROBRAS
(100.0%)
AVENIDA REPUBLICA DO CHILE 65
RIO DE JANEIRO, RJ, BR**

72 Inventor/es:

**MENDES, LEONARDO BRANTES BACELLAR;
CUNHA, PAULO CESAR;
MONTES D'OCA, MARCELO GONÇALVES;
ABREU, PAULO CÉSAR y
PRIMEL, EDNEI GILBERTO**

74 Agente/Representante:

GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro

ES 2 450 129 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para eliminar contaminantes de agua de producción.

5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a un método para mejorar la calidad de efluente originario del proceso de la producción industrial de petróleo, que se denomina habitualmente como agua de producción. Más específicamente, esta invención se refiere a un método mediante el cual la concentración de contaminantes en el agua de producción puede reducirse eliminando dichos contaminantes utilizando cultivos de microalgas que están adaptados de forma natural al entorno hostil que representa el agua de producción.

10 FUNDAMENTO DE LA INVENCION

El incremento creciente en el estudio de microorganismos tales como microalgas, algunos hongos (por ejemplo levaduras) y bacterias se debe a su importancia esencial en diversos segmentos de la economía.

15 Durante los últimos años, ha habido un gran interés en el potencial biotecnológico de microalgas, y se han realizado muchas investigaciones a este respecto en diversas áreas tales como nutrición, salud humana y animal, la producción de energía, la producción de compuesto que son útiles en las industrias alimentaria, química y farmacéutica, y en el tratamiento de aguas residuales para destoxificación biológica y la eliminación de metales pesados, por mencionar sólo unos pocos. (Borowitzka, 1993; Certik & Shimizu, 1999; Kirk & Behrens, 1999; Leman, 1997; Bruno, 2001; Grobbelaar, 2004; Richmond, 2004).

20 En el caso específico en el que se usan microalgas para eliminar contaminantes, tal como en el tratamiento de las aguas residuales de muchos procesos industriales, algunos compuestos de beneficio agrícola que son eliminados por las microalgas llegan a formar parte de la biomasa resultante, y ésta también puede usarse como biofertilizante, no solamente en el contexto de la agricultura.

TÉCNICA RELACIONADA

25 Existen, en este momento, diversas aplicaciones que usan microalgas para purificar efluentes domésticos e industriales, que pueden encontrarse en la bibliografía científica internacional. Entre estos, pueden mencionarse:

a) Microalgas usadas en la purificación de efluentes domésticos.

30 Es posible obtener biomasa mixta (microalgas y bacterias) que crece en efluentes domésticos donde existe un efluente orgánico que actúa como una fuente de nutrientes para estos microorganismos. El efluente doméstico es sometido a agitación y es expuesto a la luz del sol durante varios días de modo que tenga lugar el crecimiento de algas adecuado.

35 Al final del este proceso, conocido como tratamiento secundario, el efluente se separa de la biomasa mixta con una baja concentración de materia orgánica y un alto contenido de oxígeno disuelto. Las microalgas usadas para este proceso incluyen los géneros *Scenedesmus sp* y *Chlorella sp* (Borowitzka, M & Borowitzka L. Micro-algal biotechnology, 1989).

b) Microalgas usadas en la purificación de efluentes industriales.

Existen tratamientos de efluentes industriales (tratamiento terciario) en el que el CO₂ y otros compuestos contaminantes son eliminados por microalgas ubicadas en las secciones de centrales generadoras de energía a partir de las cuales escapan contaminantes atmosféricos (por ejemplo, centrales térmicas).

40 Recientemente se han aislado cianobacterias que son capaces de promover la eliminación del CO₂ presente en gases de combustión industriales a temperaturas de aproximadamente 50°C. Existen tratamientos de efluentes industriales que usan la capacidad de microalgas para realizar intercambio iónico para concentrar compuestos metálicos en solución en agua, separando la biomasa contaminada del efluente líquido purificado al final del proceso. (Derner, R.B., Ohse, S., Villela, M. De Carvalho, S.M. & Fett, R. Ciência Rural, v 36 no. 6, diciembre de 2006).

45 El documento JP 2004/194567 desvela un método que comprende someter a una *chlorella* de tipo silvestre a tratamiento de variación y seleccionar la variante que tiene capacidad de asimilación de hidrocarburos. El documento US 6.416.993 desvela un método para tratar un sistema de agua, poniéndola en contacto secuencialmente con microorganismos procariotas. El documento US 2003/0211594 desvela una cepa de microalgas útil para la remediación de aguas residuales.

A continuación se mencionan procedimientos de tratamiento terciario convencionales sin un componente biológico:

- Burbujeo con gas (separación o "stripping")
- Intercambio iónico
- Filtración con membrana
- 5 - Adsorción en carbón activado
- Adsorción en zeolitas sintéticas.

10 Sin embargo, en el contexto de la industria petrolífera, existe una necesidad del tratamiento de efluente industrial originario de la producción de petróleo, normalmente denominado como agua de producción, cuyo tratamiento normalmente implica el uso de instalaciones y reactivos adecuados para eliminar los contaminantes presentes que, además de en los costes operativos inherentes también incurre en los costes de los suministros químicos que son necesarios para su funcionamiento.

Esta invención se refiere a un método económico y eficaz para eliminar contaminantes de agua de producción, además de representar un avance en procesos industriales en lo que respecta a aspectos medioambientales.

RESUMEN DE LA INVENCION

15 Esta invención proporciona el uso de microalgas originarias de cultivos de algas que han pasado a través de un proceso de selección natural que las adapta al entorno del agua de producción procedente de un proceso para la producción de petróleo en un método para la eliminación de contaminantes de dicha agua de producción.

20 La innovación se basa en el descubrimiento de que existen microalgas capaces de crecer y desarrollarse en condiciones severas - tales como aquellas que se obtienen en agua de producción - lo que normalmente limita el crecimiento de un cultivo de microalgas, en el que dichas condiciones severas se caracterizan por la presencia de compuestos químicos de toxicidad conocida (por ejemplo sulfuros, fosfatos, amoníaco, hidrocarburos poliaromáticos) en este tipo de efluente industrial.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

25 La **figura 1** es un gráfico que muestra la disminución de la concentración de amoníaco en agua de producción de control frente al tiempo (en días). Esto proporciona pruebas de la bioasimilación de amoníaco por las microalgas.

La **figura 2** es un gráfico que muestra la disminución de la concentración de fosfato en agua de producción entrante frente al tiempo (en días).

Las **figuras 3, 4 y 5** muestran gráficos que ilustran la disminución de la concentración de fosfato en agua de producción frente al tiempo (en días) para muestras que contienen **Cyanobium sp.**

30 DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Esta invención se refiere al aislamiento de cepas de microalgas cuyo desarrollo ya ha pasado a través de un proceso de selección natural en el entorno en el que se encuentran, y esto hace posible que sean usadas para el tratamiento de agua de producción.

En una realización, los contaminantes eliminados del agua de producción son contaminantes de amoníaco y fosfato.

35 Después de estas algas han crecido durante un periodo de tiempo específico, tiene lugar una caída de los contaminantes en el agua de producción debido a los procesos metabólicos de las algas (por ejemplo fotosíntesis), lo que proporciona una mejora sustancial de la calidad del agua de producción, en particular en lo que atañe a su toxicidad.

40 Después de que la biomasa de las microalgas presentes ha sido eliminada (mediante procesos de separación), el agua de producción tratada de esta manera es de mejor calidad desde el punto de vista medioambiental.

En una realización, el uso de acuerdo con esta invención comprende:

a) aislar e identificar cepas de microalgas de la región en investigación que son capaces de crecer en el medio presente

45 b) realizar bioensayos estáticos o pruebas de crecimiento para proporcionar pruebas del crecimiento de microalgas en el medio o en un medio que contiene otro medio de cultivo y el medio, y

c) llevar a cabo análisis químicos que proporcionan pruebas de la eliminación de contaminantes (por ejemplo amoníaco y fosfato) presentes en el medio.

El bioensayo o la prueba de crecimiento pueden realizarse en un laboratorio o fuera de línea.

De acuerdo con esta invención, en investigaciones realizadas en agua de producción a través del aislamiento de cepas de microalgas (originarias de la región nororiental de Brasil) que ya han experimentado un proceso de selección natural, ha sido posible obtener tasas de crecimiento específicas para los géneros *Phormidium sp* y *Cyanobium sp* del mismo orden de magnitud que las obtenidas en medio de cultivo convencional, y éste es un hecho que aún no se ha descrito clara y objetivamente en la bibliografía científica internacional.

Por consiguiente, en una realización, las microalgas comprenden aquellas del género *Cyanobacterium sp* y/o *Phormidium sp*.

Es importante señalar que el método descrito por esta invención tiene un amplio espectro de aplicación, y puede usarse para otros géneros de microalgas adaptadas (por ejemplo *Pseudoanabaena sp*, *Amphora sp*, *Monoraphidium sp*, *Chlorella sp*, entre otros) y en otras regiones donde el agua de producción tiene diferentes características (por ejemplo salinidad, temperatura, pH) que la mencionada en este documento.

Por consiguiente, en otra realización, las microalgas comprenden aquellas de uno o más de de los géneros *Pseudoanabaena sp*, *Amphora sp*, *Monoraphidium sp*, *Chlorella sp*.

Los expertos en la materia serán capaces de llevar a cabo investigaciones para adaptar diversos géneros de algas a las características específicas del efluente que requiere tratamiento, y realizar cambios, adaptaciones y elecciones con respecto al los géneros de microalgas que son los más apropiados para el agua de producción en cuestión.

EJEMPLO REPRESENTATIVO

Tal como se ha mencionado anteriormente, las investigaciones llevadas a cabo que implican el aislamiento de cepas de microalgas que han experimentado un proceso de selección natural (originarias de la región nororiental de Brasil) han hecho posible obtener tasas de crecimiento específicas para los géneros *Phormidium sp* y *Cyanobium sp* en agua de producción que, sorprendentemente, son del mismo orden de magnitud que las obtenidas en medio de cultivo convencional, lo que indica que están completamente adaptadas al medio.

Esto ha hecho posible eliminar compuestos que contienen fosfato y que contiene nitrógeno de toxicidad conocida (por ejemplo amoníaco) del agua de producción, entre otros contaminantes, reduciendo sus concentraciones a niveles que son considerados permisibles por la actual legislación brasileña, después de varios días de tratamiento.

La composición típica del agua de producción mencionada ha sido descrita por Oliveira, R.C. & Oliveira, M.C., 2000, Boletim técnico PETROBRAS, Río de Janeiro 43(2): 129-136.

Los datos incluidos en las tablas 1 y 2 ilustran la caída de la concentración de amoníaco en agua de producción obtenida mediante el uso de la técnica mencionada. En ambos experimentos se producía crecimiento de microalgas en aquellos entornos, lo que sugiere que los géneros mencionados están adaptados al medio, tal como puede verse a través del incremento de biomasa seca, también mostrado en las tablas 1 y 2.

Para llevar a cabo los bioensayos, la temperatura de los cultivos se mantuvo a 25°C, y el fotoperiodo usado era de 12 horas con una intensidad de la luz de 170 µE/m².s y 12 horas en la oscuridad.

La **Tabla 1** a continuación muestra el resultado obtenido cuando se inoculó *Cyanobium sp* en efluente de agua de producción (concentración: 95% de agua de producción + 5% de medio de cultivo H 2)

TABLA 1		
Concentración inicial de amoníaco en el efluente (mg/l)	Concentración final de amoníaco en el efluente después de 9 días (mg/l)	Eliminación de amoníaco del efluente después de 9 días (%)
0,62	0,05	91,9
Incremento de la biomasa seca de microalgas durante el experimento: 146 mg/l.		

La Tabla 2 muestra el resultado obtenido con la inoculación de *Phormidium sp* en efluente de agua de producción (concentración: 95% de agua de producción + 5% de medio de cultivo H 2)

TABLA 2		
Concentración inicial de amoníaco en el efluente (mg/l)	Concentración final de amoníaco en el efluente después de 9 días (mg/l)	Eliminación de amoníaco del efluente después de 9 días (%)
0,62	0,13	79,0
Incremento de la biomasa seca de microalgas durante el experimento: 111 mg/l.		

5 En este momento, de acuerdo con la actual legislación brasileña (CONAMA, Decisión no. 357 de marzo de 2005) el límite máximo para nitrógeno amoniacal aceptable para vertido en zonas costeras es de 0,40 mg/l, dada la elevada toxicidad que tiene este compuesto para organismos marinos. Se observará, por lo tanto, que el crecimiento de las microalgas puede rebajar la concentración de amoníaco en el agua de producción a niveles que son significativamente inferiores a los límites de vertido de efluente permitidos por la actual legislación brasileña.

10 Con la intención de proporcionar una evaluación adicional del comportamiento de microalgas para el tratamiento avanzado de efluentes industriales que contienen altas concentraciones de amoníaco, se llevaron a cabo bioensayos con agua de producción cargada con amoníaco que se añadió deliberadamente en una concentración mucho más elevada (en aproximadamente dos órdenes de magnitud) que la recomendada como el límite máximo permitido por la legislación brasileña para vertido en entornos de agua salada.

15 Los datos obtenidos se muestran en el gráfico en la figura 1, que muestra la disminución de la concentración de amoníaco en agua de producción de control (agua de producción después de la separación por flotación - (UTPF-S) - agua de salida) cargada con amoníaco en una prueba sin la adición de microalgas y en una prueba en una muestra que contiene *Phormidium sp* (concentración: 95% en volumen de agua de producción + 5% en volumen de medio de cultivo H 2) y una prueba para una muestra que contiene *Cyanobium sp* (concentración: 95% en volumen de agua de producción + 5% en volumen de medio de cultivo H 2).

20 A partir de los resultados obtenidos, se observará que se producía la bioasimilación de amoníaco por las microalgas. Este proceso elimina una cantidad de amoníaco mayor (más del 110% mayor) que la observada en la muestra de control (UTPF-S) durante el mismo periodo de tiempo (7 días). Este hecho es indicativo del enorme potencial de las microalgas para aplicaciones tecnológicas de esta naturaleza.

25 Para evaluar la posibilidad de usar microalgas para el tratamiento avanzado de efluentes industriales que contienen concentraciones de fosfato por encima de las permitidas por la legislación brasileña para el vertido en entornos de agua salada, que es de 0,062 mg/l de fósforo libre para aguas saladas de clase I, se realizaron ensayos adicionales usando agua de producción que contenía fosfato añadido deliberadamente en concentraciones mucho mayores (en dos órdenes de magnitud) que el límite máximo permitido.

30 Los datos obtenidos en este experimento están incluidos en la Tabla 3, que muestra el resultado obtenido inoculando agua de producción cargada con fosfato (concentración: 95% de agua de producción + 5% de medio de cultivo H 2) con *Cyanobium sp*, y en la figura 2, que ilustra la caída de la concentración de fosfato añadido al agua de producción obtenida usando la técnica descrita con la inoculación de *Cyanobium sp* en agua de producción, para la muestra de control (agua de producción antes de la separación por flotación - (UTPF-E) - agua de entrada) y para muestras que contenían *Cyanobium sp* (concentración: 95% en volumen de agua de producción + 5% en volumen de medio de cultivo H 2). Se verá, a partir del incremento de la concentración de clorofila en el medio, que se produjo un crecimiento de las microalgas.

TABLA 3		
Concentración inicial de fosfato en el efluente cargado (mg/l)	Concentración final de fosfato en el efluente después de 4 días (mg/l)	Eliminación de fosfato del efluente después de 4 días (%)
2,37	0,37	84,4
Incremento de la concentración de clorofila durante el experimento: 282,4 µg/l.		

40 Se llevaron a cabo pruebas usando el género más apropiado para el medio, usando agua de producción de entrada (agua de producción antes de la separación por flotación) y agua de producción de salida (agua de producción

después de la separación por flotación) para muestras que contenían *Cyanobium sp*, cuyos resultados se presentan en las Tablas 4, 5 y 6 a continuación, y se ilustran en los gráficos en las figuras 3, 4 y 5.

5

La **Tabla 4** muestra la concentración de fosfato en agua de producción que contiene medio de cultivo H 2 (5% en volumen) con *Cyanobium sp*.

TABLA 4					
Concentración de fosfato (mg/l)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Eliminación de fosfato (%)
Agua de entrada	0,17	0,15	0,15	0,15	11,8
Agua de salida	0,17	0,16	0,15	0,13	23,6

La **Tabla 5** muestra la concentración de fosfato en agua de producción que contiene medio de cultivo H 2 (25% en volumen) con *Cyanobium sp*.

TABLA 5					
Concentración de fosfato (mg/l)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Eliminación de fosfato (%)
Agua de entrada	1,12	1,08	0,2	0,15	86,6
Agua de salida	1,03	0,59	0,23	0,15	85,4

10

La **Tabla 6** muestra la concentración de fosfato en agua de producción que contiene medio de cultivo H 2 (50% en volumen) con *Cyanobium sp*.

TABLA 6					
Concentración de fosfato (mg/l)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Eliminación de fosfato (%)
Agua de entrada	2,1	2,1	1,6	0,15	92,9
Agua de salida	2,0	1,36	1,05	0,12	94,0

15

A partir de los resultados mostrados en las Tablas y revelados en los gráficos correspondientes en las figuras 3, 4 y 5, donde la figura 3 muestra la caída de la concentración de fosfato en agua de producción de entrada (agua de producción antes de la separación por flotación) y agua de producción de salida (después de la separación por flotación - (UTPF-S)) para muestras que contienen *Cyanobium sp* (concentración 95% en volumen de agua de producción + 5% en volumen de medio de cultivo H 2).

20

La **figura 4** es un gráfico que muestra la caída de concentración de fosfato en agua de producción de entrada (agua de producción antes de la separación por flotación) y agua de producción de salida (después de la separación por flotación (UTPF-S)) para muestras que contienen *Cyanobium sp* (concentración 75% en volumen de agua de producción + 25% en volumen de medio de cultivo H 2).

-25

La **figura 5** es un gráfico que muestra la caída de concentración de fosfato en agua de producción de entrada (agua de producción antes de la separación por flotación UTPF-E) y agua de producción de salida (después de la separación por flotación) para muestras que contienen *Cyanobium sp* (concentración 50% en volumen de agua de producción + 50% en volumen de medio de cultivo H 2).

30

Se observará que la adición de microalgas del género *Cyanobium sp* produjo un efecto bastante marcado en la eliminación porcentual de amoníaco y fosfato presentes en el agua de producción, un efecto que se incrementa a medida que el periodo para actividad de las microalgas se incrementa, con el resultado de que puede usarse como un método para eliminar estos contaminantes del agua de producción en general.

Las pruebas llevadas a cabo para amoníaco y fosfato, presentados en el presente documento y considerados como contaminantes presentes en agua de producción para los fines de esta invención, representan solamente un grupo de contaminantes considerados en las pruebas, lo que puede extenderse a otras especies químicas de elementos o compuestos contaminantes.

5 Se entenderá que pruebas específicas, tanto en el contexto de adaptar cultivos de algas a medios específicos, y sus capacidades específicas para eliminar contaminantes que son relevantes en el contexto del agua de producción en cuestión, pueden extenderse y llevarse a cabo por los expertos en la materia con el objeto de recoger datos experimentales más específicos en relación con la reducción de niveles de contaminantes deseados, que están cubiertos por el espíritu y el alcance de esta invención.

10 Aunque esta invención se ha descrito en relación con sus realizaciones preferidas y ejemplos representativos, el carácter innovador del principal concepto de la invención del uso de microalgas para la eliminación de contaminantes de agua de producción persiste, aunque los expertos en la materia pueden diseñar y aplicar variaciones, modificaciones, cambios, adaptaciones y similares que son necesarias y compatibles con el entorno de trabajo en cuestión sin ir más allá, sin embargo, más allá del alcance de esta invención, que están representadas por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de microalgas originarias de cultivos de algas que han pasado a través de un proceso de selección natural que las adapta al entorno de agua de producción procedente de un proceso para la producción de petróleo en un método para la eliminación de contaminantes de dicha agua de producción.
2. El uso de microalgas de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los contaminantes eliminados de dicha agua de producción son contaminantes de amoníaco y fosfato.
- 10 3. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que las microalgas comprenden aquellas del género *Cyanobium sp* y/o *Phormidium sp*.
- 15 4. Un uso de acuerdo con la reivindicación 1 ó 3, en el que las microalgas comprenden aquellas de uno o más de los géneros *Pseudoanabaena sp*, *Amphora sp*, *Monoraphidium sp* y *Chlorella sp*.
- 20 5. Un uso de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, que comprende las etapas de:
- a) aislar e identificar cepas de microalgas de la región en investigación que son capaces de crecer en el medio presente,
 - b) realizar un bioensayo estático o prueba de crecimiento para proporcionar pruebas del crecimiento de microalgas en el medio o en un medio que contiene el medio y otro medio de cultivo, y
 - c) llevar a cabo un análisis químico que proporciona pruebas de la eliminación de contaminantes del medio.
- 25 6. Un uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el bioensayo o la prueba de crecimiento se realiza en un laboratorio o de otra forma fuera de línea.

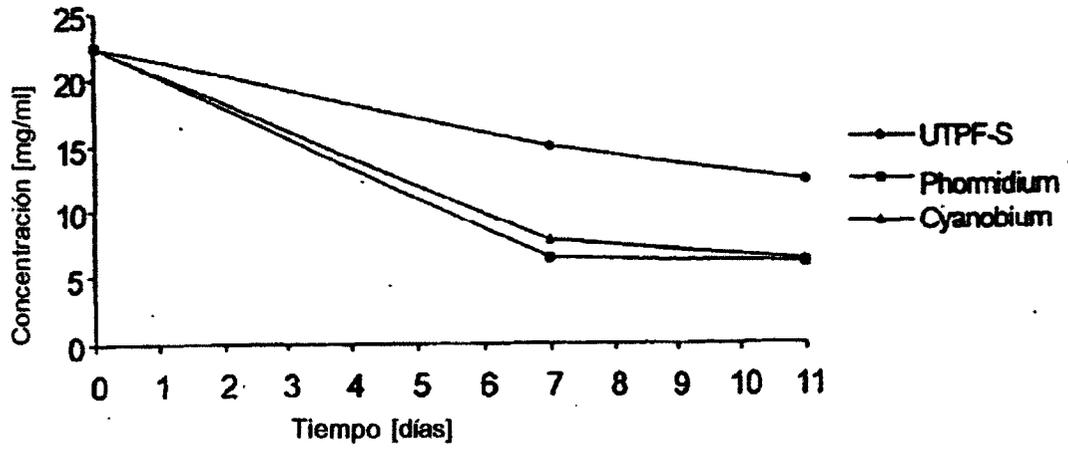


FIG. 1

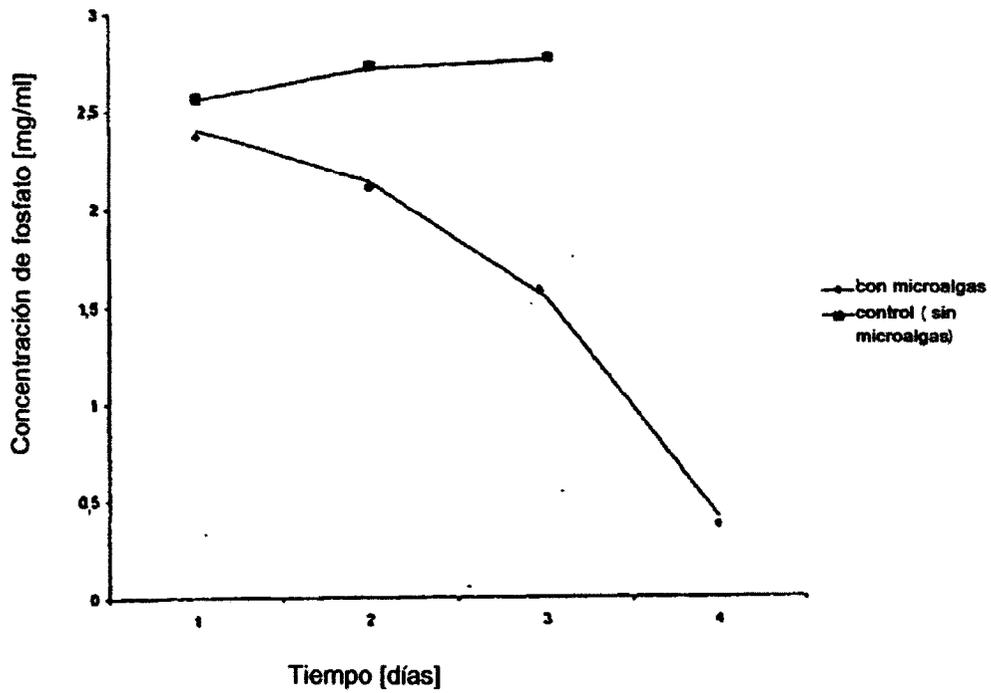


FIG. 2

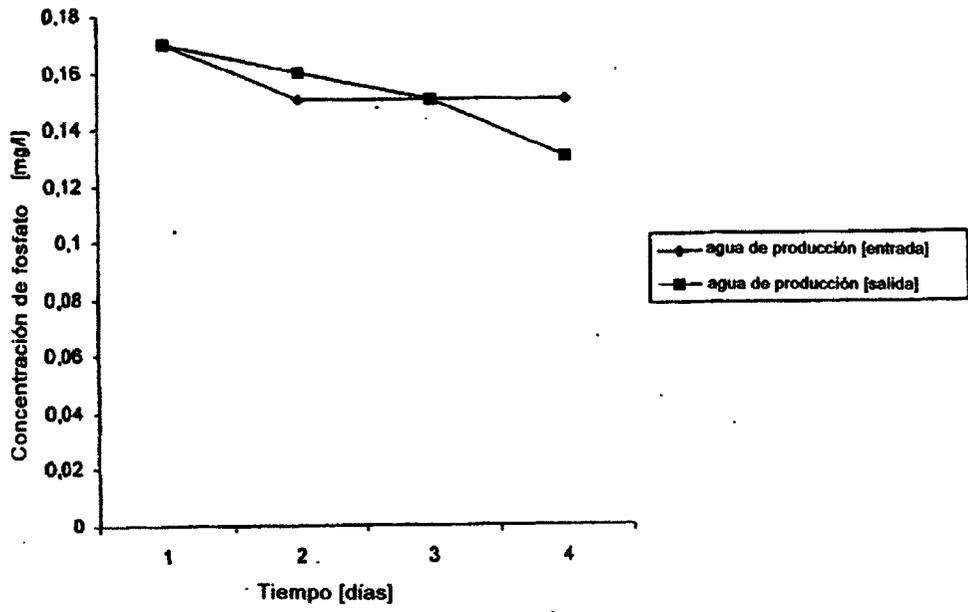


FIG. 3

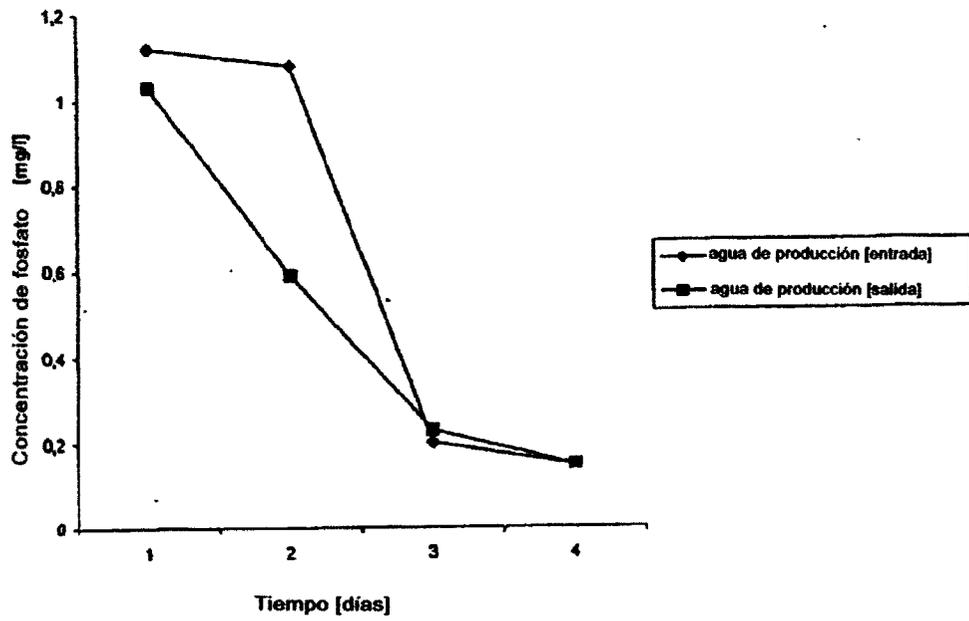


FIG. 4

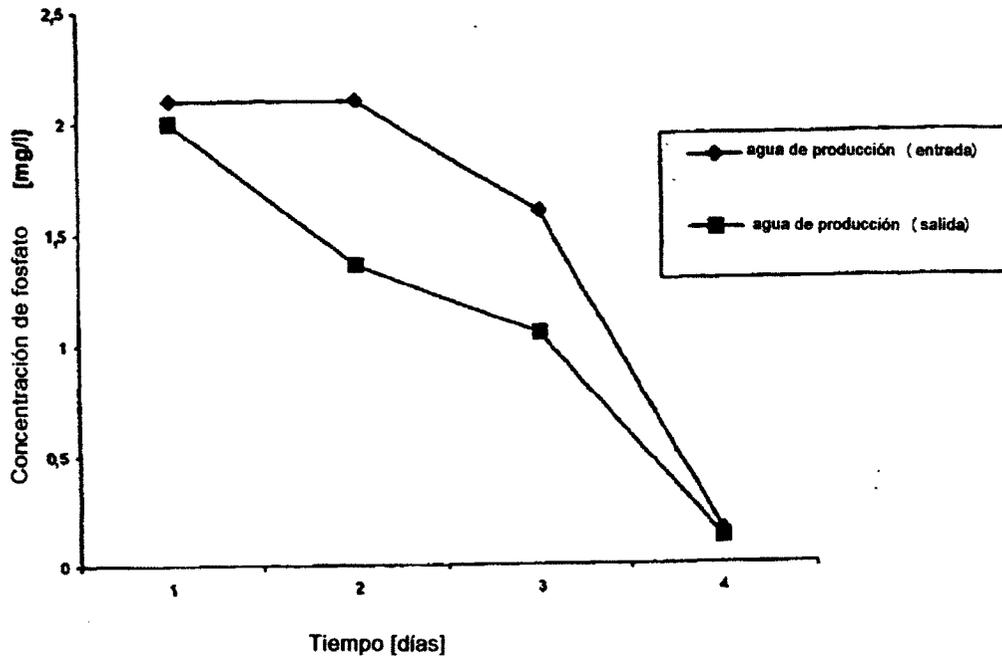


FIG. 5