

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 766 931**

21 Número de solicitud: 201831210

51 Int. Cl.:

C02F 3/02 (2006.01)
C02F 3/08 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
C02F 1/28 (2006.01)
C02F 101/30 (2006.01)
C02F 101/34 (2006.01)
C02F 103/34 (2006.01)
C02F 103/06 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

14.12.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

15.06.2020

71 Solicitantes:

KEPLER, INGENIERÍA Y ECOGESTIÓN, S.L.
(100.0%)
C/ Luis Rodriguez Arango, 30-AT-A
09001 Burgos ES

72 Inventor/es:

NÄGELE BORST, Norbert;
ALCÁNTARA POLLO, Cynthia;
HERNÁNDEZ PÉREZ, Enrique y
ROMERO HERRERA, Juan Pedro Cristian

74 Agente/Representante:

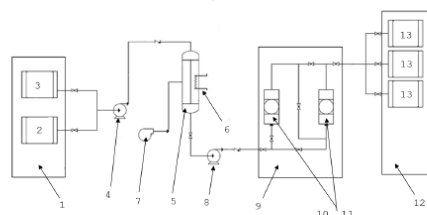
CAPITAN GARCÍA, Nuria

54 Título: **PROCESO Y PLANTA DE TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE CONTAMINANTES BIFENILO Y ÓXIDO DE DIFENILO PROCEDENTES DE ACEITES TÉRMICOS**

57 Resumen:

La invención proporciona un proceso y una planta de tratamiento de aguas contaminadas por HTF, esencialmente bifenilo y óxido de difenilo, que permite obtener un efluente con unas concentraciones de ambos compuestos por debajo de los límites de vertido, siendo dicho proceso aplicable a escala semi-industrial, esto es con altos caudales de tratamiento, de aproximadamente 2 m³/día, mediante un tratamiento esencialmente biológico y con un rendimiento de eliminación de contaminante en el efluente muy inferior a los rendimiento de los procesos ya conocidos, inferior a 0,10 µg/l.

Figura 2



ES 2 766 931 A1

DESCRIPCIÓN

**PROCESO Y PLANTA DE TRATAMIENTO MICROBIOLÓGICO DE
CONTAMINANTES BIFENILO Y ÓXIDO DE DIFENILO PROCEDENTES DE
ACEITES TÉRMICOS**

5

CAMPO Y ANTEDECENTES DE LA INVENCION

10 La invención se engloba en el campo de la industria dedicada a la gestión de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo, por ejemplo la gestión de residuos derivados de la síntesis de plásticos, espumas y otros materiales de desecho de la industrial textil, la construcción y la electrónica, así como en el tratamiento de contaminantes derivados del uso de aceites térmicos en las centrales termosolares.

15 La presente invención se refiere a un proceso de tratamiento microbiológico de los contaminantes bifenilo y óxido de difenilo que constituyen el aceite térmico, denominados comúnmente HTF (por sus siglas en inglés Heat Transfer Fluid), así como a una planta de tratamiento para llevar a cabo dicho proceso.

20 El bifenilo y el óxido de difenilo, al igual que sus derivados polihalogenados, son ampliamente utilizados en la actualidad en numerosas aplicaciones industriales, tales como la síntesis de plásticos, espumas u otros materiales producidos en la industria textil, la construcción y la electrónica (Blanco-Moreno et al., Isolation of bacterial strains able to degrade biphenyl, diphenyl ether and the heat transfer fluid used in
25 thermo-solar plants, Journal of New Biotechnology, 35 (2017) 35-41).

La acumulación de estos contaminantes químicos puede derivar en graves riesgos para la salud y daños al medioambiente. La mezcla eutéctica compuesta por un 26,5% de bifenilo y un 73,5% de difenil éter (óxido de difenilo) se utiliza en la
30 actualidad como aceite térmico o HTF en las Centrales Termosolares (C.T.) para transportar la energía térmica acumulada por los paneles solares hacia un intercambiador de calor, que permitirá transmitir la energía transportada por el fluido térmico a una turbina de vapor, la cual genera energía eléctrica (Vignarooban et al., Heat transfer fluids for concentrating solar power systems – A review, Journal of

Applied Energy, 146 (2015) 383–396).

Este aceite térmico o HTF es un contaminante con una presión de vapor baja, moderadamente volátil según la constante de Henry de ambos compuestos y
5 presenta una clara hidrofobicidad, con una solubilidad en agua muy baja y una adsorción de moderada a fuerte en el suelo.

Los vertidos accidentales de HTF, principalmente debido a fugas en tuberías y válvulas, suponen una alteración en el ecosistema que pone en riesgo tanto la salud
10 humana como la biota del suelo y las aguas subterráneas del emplazamiento afectado. Cuando tiene lugar un vertido en las centrales térmicas, se genera un importante volumen de agua contaminada, ya sea por la lixiviación del HTF a través del suelo hasta el propio agua subterránea de un acuífero de la zona, como por el agua empleada en canalizar el vertido hacia la balsa de almacenamiento de vertidos
15 aceitosos de la central.

Por ello, es necesaria una gestión adecuada de las aguas residuales generadas en las centrales térmicas que sean susceptibles de estar contaminadas por bifenilo y óxido de difenilo y sus productos de degradación, garantizando el cumplimiento de
20 los valores objetivos exigidos por la Confederación Hidrográfica correspondiente antes de su vertido a ríos o lagos.

La presente invención permite eliminar estos contaminantes mediante un proceso de tratamiento microbiológico a escala semi-industrial, esencialmente basado en la
25 depuración de estas aguas contaminadas en un reactor biológico inoculado con un consorcio bacteriano capaz de degradar el bifenilo y el óxido de difenilo hasta concentraciones por debajo de los valores límite de vertido establecidos.

A este respecto, el artículo de Raza et al. “Water Recovery in a Concentrated Solar
30 Power Plant” (AIP Conference Proceedings. 1734 (2016) 160014.1-160014.8) describe un sistema de filtración del agua a través de una membrana. Dicha membrana está formada por una malla de cobre con una nanoestructura inorgánica micro porosa capaz de retener partículas ultra pequeñas y trazas de aceite.

Del documento de solicitud de patente Española P201430655 se conoce un proceso para la depuración de agua contaminada por aceite térmico (mezcla eutéctica de bifenilo y óxido de difenilo) y de recuperación del mismo que comprende una fase de enfriamiento del agua contaminada a una temperatura entre el punto de congelación del aceite térmico y el del agua, seguida de una recuperación de la parte de aceite
5 térmico congelado mediante filtrado mecánico, depurándose el resto de agua contaminada en unos filtros de absorción y unos filtros de adsorción de carbón activo.

En este contexto, los autores han comprobado que el agua filtrada con el sistema descrito por Raza et al. presenta cantidades de HTF inferiores a 70 ppm. Por su
10 parte, la aplicación del proceso descrito en el documento P201430655 resulta en concentraciones de óxido de difenilo y bifenilo (HTF) en el efluente <0,002 ppm, siendo el resultado más desfavorable <0,1 ppm. Si bien este proceso resulta más favorable que el citado anteriormente, lleva asociado un consumo energético
15 elevado.

Desde otro enfoque, también se han desarrollado procesos microbiológicos para el tratamiento de aguas contaminadas con otros tipos de aceites.

Así, por ejemplo en la solicitud de patente JP2001198594A, "Method for treating
20 organic waste liquid", se describe un método para tratar aguas residuales que contienen aceite mineral mediante el cual el aceite mineral residual, tal como el aceite industrial contenido en las aguas residuales industriales, se descompone en un primer tanque de tratamiento que incluye bacterias Bacillus sp y Pseudomonus
25 genus, opcionalmente Enterobacter y Shingomonas, diluidas en agua. El agua tratada así obtenida se introduce entonces en un segundo tanque de tratamiento similar al primero y, posteriormente, el agua obtenida se descarga al exterior. En este documento no se hace referencia al rendimiento del proceso en cuanto al nivel de eliminación del contaminante.

30 La solicitud de patente WO200690859 A1, "Method of recycling water-soluble processed liquid, apparatus for recycling water-soluble processed liquid, method of treating oil-containing wastewater and apparatus for treating oil-containing wastewater", describe una primera etapa de separación mediante adición de un

floculante para la precipitación de aceite mineral, que se retira, y una segunda etapa de filtrado en un filtro de carbón activo impregnado con un consorcio de bacterias GRAM negativas (Pseudomonas, Achromobacter, Pasteurella y Bacillus). No hay referencias en este documento a la concentración del aceite en el efluente o del
5 aceite disuelto a la entrada del filtro de carbón activo.

En la solicitud de patente JP2005199167A, "Oil-containing wastewater treatment method and apparatus", se describe el tratamiento de aguas residuales que contienen aceites, grasas, agua residual de cocina o n-hexano que incluye una etapa
10 de tratamiento biológico de aireación por contacto con un lecho de filtro aeróbico de espuma de uretano y sedimentación, empleándose bacterias Bacillus y Pseudomonas.

En la solicitud de patente JP2001198594 A, "Method and device for treating waste
15 water containing mineral oil", se describe la descomposición bacteriana de un aceite mineral en aguas residuales empleando bacterias Bacillus subtilis y Epistylis.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

20 La presente invención queda establecida y caracterizada en las reivindicaciones independientes, mientras que las reivindicaciones dependientes describen otras características de la misma.

Un objeto de la invención es proporcionar un proceso de tratamiento de aguas
25 contaminadas por HTF, constituido por bifenilo y óxido de difenilo, que permita obtener un efluente con unas concentraciones de ambos compuestos por debajo de los límites de vertido (inferior a 0,10 µg/l), siendo dicho proceso aplicable a escala semi-industrial, esto es con altos caudales de tratamiento, de aproximadamente 2 m³/día, mediante un tratamiento esencialmente biológico y con un rendimiento de
30 eliminación de contaminante en el efluente muy superior a los rendimientos de los procesos ya conocidos. Es igualmente objeto de la invención una planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF según dicho proceso.

A este respecto, los métodos físicos (enfriamiento) requieren un consumo energético

muy elevado, la filtración directa con carbón activo implica la saturación temprana del carbón, por lo que se generan grandes cantidades de carbón activo contaminado que es necesario gestionar como residuo y la centrifugación no es una opción rentable debido a que la densidad del HTF es muy similar a la del agua, lo que hace
5 complicado el retirar el contaminante por diferencia de densidades.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Se complementa la presente memoria descriptiva, con un juego de figuras ilustrativas
10 y no limitativas de la invención.

La figura 1 muestra gráficamente la diversidad bacteriana (OTU) en un agrupamiento por niveles taxonómicos y su abundancia relativa de acuerdo con el ejemplo 2.

15 La figura 2 muestra una vista esquemática de una planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF según un ejemplo de realización de la invención.

La figura 3 muestra un gráfico del rendimiento de eliminación de HTF en el reactor biológico (gris) y en la unidad de filtración (blanco) en dos años de acuerdo con el
20 ejemplo 3.

La figura 4 muestra un gráfico de la evolución de la actividad microbiológica (UFC por ml) en el reactor biológico en dos años según el ejemplo 4.

EXPOSICIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El proceso de tratamiento microbiológico de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo procedentes de aceites térmicos o HTF, de la invención comprende las siguientes etapas:
30

- i) Alimentación de aguas contaminadas con HTF, por ejemplo procedentes de una balsa de almacenamiento de vertidos de una central termosolar, a al menos un primer depósito de almacenamiento, adicionándose a éste una fuente de nitrógeno y fósforo;

- ii) Tratamiento microbiológico aerobio de degradación del bifenilo y óxido de difenilo del HTF con un consorcio bacteriano soportado en un material flotante de alta porosidad en un reactor biológico, consistiendo el consorcio bacteriano en bacterias gram-negativas donde al menos un 50% de dichas bacterias pertenecen al género *Sphingobium*, inyectando en continuo aire en el reactor con el fin de mantener la concentración de oxígeno disuelto en agua y manteniendo la temperatura en un rango entre 19°C y 30°C;
- iii) Filtración de las aguas tratadas mediante filtros de carbón activo para adsorber las trazas de contaminante que puedan quedar en el agua tras su tiempo de residencia en el reactor biológico, así como retener posibles partículas en suspensión; y
- iv) Recogida del efluente tratado en cisternas para su posterior vertido.

Como se indica en la etapa i), el agua contaminada con HTF se bombea hacia al menos un primer tanque de almacenamiento.

En una realización preferente, el número de tanques de almacenamiento es de dos para asegurar una alimentación de caudal de forma regular.

Dado que posteriormente, en el reactor biológico, se producirá la degradación microbiológica del bifenilo y del óxido de difenilo contenido en las aguas contaminadas con HTF mediante un consorcio bacteriano, como se muestra en la fórmula 1, es necesaria la presencia de nutrientes para que los microorganismos puedan incorporar a su material celular el carbono orgánico en forma de bifenilo y óxido de difenilo a eliminar del agua.



Por ello, se adiciona(n) en el (los) depósito(s) de almacenamiento una fuente de nitrógeno y fosfato.

Preferentemente, en el proceso de la invención se utiliza una disolución concentrada de urea y fosfato diamónico como fuente de nitrógeno y fósforo con el fin de mantener un ratio C/N/P entre 100/8/0,5 y 100/11/1,5, preferentemente 100/10/1.

Para mantener estos ratios C/N/P, en la unidad de almacenamiento de aguas contaminadas se añade diariamente la dosis de urea y fosfato diamónico $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ requeridas para que tenga lugar la eliminación del HTF en el reactor vía asimilación biológica del contaminante. En una realización preferente, la concentración media de urea y fosfato diamónico en el reactor se mantiene entre 7,8 mg urea/l y 1,7 mg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /l, y 3,9 mg urea/l y 0,9 mg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /l, preferentemente 3,9 mg urea/l y 0,9 mg $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ /l de forma habitual.

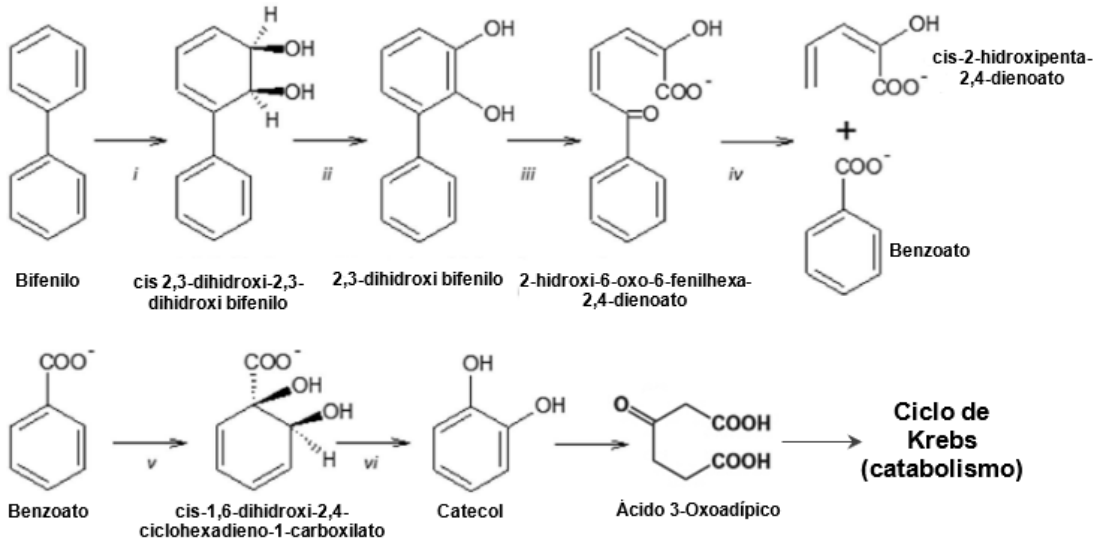
Así, en la etapa ii), el consorcio bacteriano utiliza como fuente de carbono esencialmente bifenilo y óxido de difenilo. A este respecto, las bacterias del género *Sphingobium* destacan por incluir especies con alto potencial y versatilidad para llevar a cabo vías metabólicas que incluyen como fuente de carbono y energía compuestos orgánicos de estructuras complejas, por ejemplo hidrocarburos aromáticos policíclicos (Pinyakong et al., 2003; Balkwill et al., 2006; Zhao et al., 2017), hexaclorociclohexano (Pal et al., 2005), lignina (Abdelaziz et al., 2016) o naftaleno, fenantreno, bifenilo, difenil éter (Kim et al., 2007; Cai et al., 2017) o tolueno, en cuyas reacciones iniciales interviene la enzima dioxigenasa (Zylstra y Kim, 1997; Pinyakong et al., 2003). El estudio realizado por Gibson, 1999 (Beijerinchia sp strain B1: a strain by any other name. *Journal of Industrial Microbiology y Biotechnology*. 23 (1999) 284-293.), describe la existencia de cepas bacterianas como *Sphingobium yanoikuyae* con la capacidad de utilizar el bifenilo como única fuente de carbono.

Preferentemente para el proceso de la invención se utiliza un consorcio bacteriano procedente de un cultivo de suelo contaminado con HTF, ya que en estos suelos las cepas bacterianas de *Sphingobium* (*S. herbicidovorans*, *S. chungtuckensis*, *S. chlorophenolica* o *S. chlorophenolicum*) se encuentran de forma autóctona y en densidades poblacionales relativamente elevadas gracias a la versatilidad metabólica que permite su supervivencia en condiciones tan específicas y desfavorables.

Durante el proceso de degradación biológica por parte del consorcio bacteriano tanto del bifenilo como del difenil éter se identifican las siguientes reacciones y productos intermedios involucrados en las rutas metabólicas de ambos compuestos:

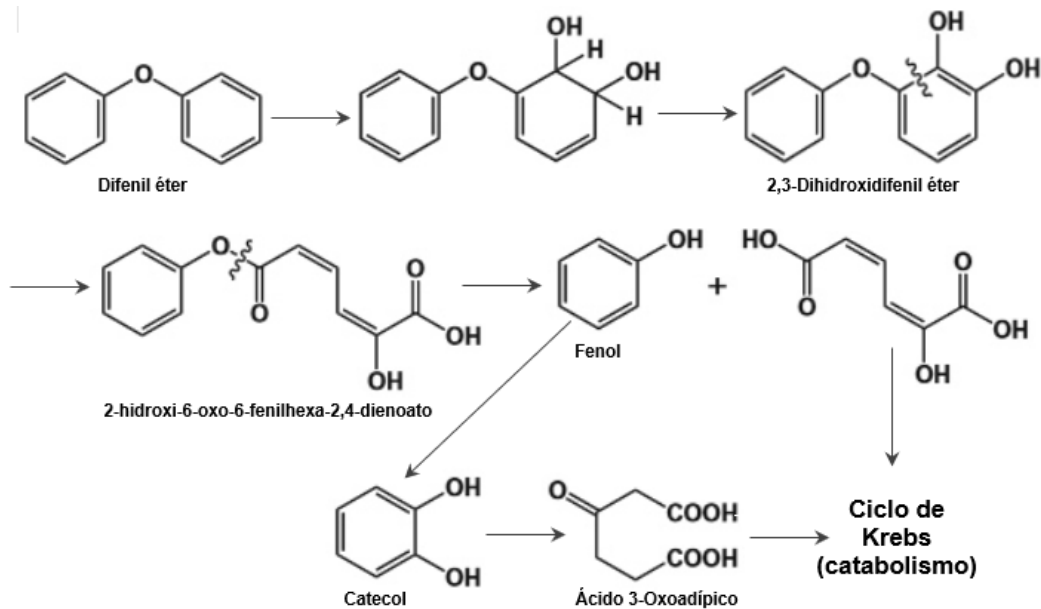
Degradación biológica aerobia del bifenilo

En presencia de oxígeno, el bifenilo es mineralizado biológicamente hasta CO₂ y agua. En la ruta metabólica aparecen como productos intermedios de degradación 2,3-dihidroxibifenilo, benzoato y catecol, según los siguientes esquemas de reacción:



5

Degradación biológica aerobia del difenil éter



10 Las bacterias involucradas en el proceso de degradación del bifenilo y el difenil éter necesitan oxígeno para mineralizar los contaminantes, por lo que en esta etapa se inyecta en continuo aire en el reactor con el fin de mantener la concentración de oxígeno disuelto en agua.

En una realización preferente, la concentración media de oxígeno disuelto en el agua se mantiene entre 8,0 y 8,5, preferentemente 8,3 mg/l, mediante la inyección en continuo de un caudal de aire de 40 m³/h en el reactor.

5

Con el fin de aumentar la superficie específica de contacto entre los microorganismos y el contaminante, en se incorpora al reactor como soporte un material de elevada porosidad sobre el cual crece la biopelícula de microorganismos. De esta forma se evita que el consorcio bacteriano salga del reactor junto con el efluente, aumentando
10 por tanto su tiempo de residencia en el reactor.

En una realización preferente, este material flotante de elevada porosidad es de polietileno granulado.

15 Asimismo, en un segundo aspecto, la invención se refiere a una planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF para la realización del proceso antes descrito, incluyendo la planta:

- Una unidad de almacenamiento de aguas contaminadas con HTF (1)
20 constituida por al menos un depósito de almacenamiento, preferentemente por dos depósitos de almacenamiento (2, 3), en cada caso asociados a una bomba de alimentación (4) a un reactor biológico (5);
- Un reactor biológico (5) conteniendo un material flotante de alta porosidad que soporta un consorcio bacteriano de bacterias gram-negativas donde al menos
25 un 50% de dichas bacterias pertenecen al género Sphingobium, incluyendo el reactor una termo-resistencia (6) y estando dicho reactor (5) asociado a un soplante de aire (7) y a una correspondiente bomba de descarga (8) del reactor hacia una unidad de filtración (9);
- Una unidad de filtración (9) consistente en dos elementos filtrantes de carbón
30 activo (10, 11) instalados en serie y
- Una unidad de recogida (12) del efluente tratado constituida por cisternas flexibles (13), preferentemente tres cisternas flexibles de 50 m³, con una capacidad de almacenamiento total de 150 m³.

Tal como se ha mencionado anteriormente en relación al proceso de la invención, el rango de operación de la termo-resistencia (6) está entre 19 y 30°C, preferentemente ésta mantiene una temperatura constante dentro del reactor de entre 19°C y 20°C.

5 En este contexto, los procesos biológicos se caracterizan por ser sensibles a los cambios en las condiciones de operación a las que están sometidos, de ahí la importancia de poder asegurar un régimen estacionario en el reactor para evitar caídas en el rendimiento de depuración. Si se requiere realizar cambios (por ejemplo, variaciones en el caudal o la carga de contaminante), es necesario hacerlo de forma
10 gradual.

Así, una parte fundamental del desarrollo de la planta descrita es el control y ajuste de las condiciones de operación en el reactor biológico en función de las poblaciones bacterianas que llevan a cabo la depuración del agua (ajuste del rango de
15 temperatura, mg de O₂/l aportado por el soplante, dosificación de nutrientes, control en las variaciones del pH debido a cambios en la composición del agua de entrada, etc.)

Los parámetros más robustos son el pH, la conductividad y el oxígeno disuelto, es
20 decir son necesarios cambios significativos en la composición del agua para modificar el valor medio mantenido durante el proceso de degradación de HTF, por el contrario la temperatura es un parámetro más sensible a los cambios, por lo que es necesario mantener un control más exhaustivo de la misma. Para mantener la temperatura constante en el reactor (especialmente en invierno, cuando el agua de entrada a la
25 unidad de almacenamiento está a unos 5°C), la termo-resistencia (6) se enciende cuando la temperatura del agua alimentada al reactor desciende por debajo de una temperatura de referencia de 19°C. Asimismo, la planta se para automáticamente si la temperatura en el reactor supera 30°C, momento en el que se alimenta al reactor agua fría.

30 En una realización preferente, el soplante de aire (7) mantiene una concentración media de oxígeno disuelto en agua en el reactor (5) de 8-8,5 mg/l, preferentemente de 8,3 mg/l, mediante la inyección en continuo de un caudal de aire de 40 m³/h.

Ejemplos

Ejemplo 1

5 Se diseñó un proceso y una planta de tratamiento correspondiente para el
tratamiento de aguas contaminadas con HTF tal como se describen anteriormente y
se evaluó el rendimiento de eliminación del contaminante en comparación con dos
procesos ya conocidos, el descrito en la patente P201430655 y el desarrollado por
Raza et al. "Water Recovery in a Concentrated Solar Power Plant" (AIP Conference
10 Proceedings. 1734 (2016) 160014.1-160014.8) con un sistema de filtración a través
de membrana (véase *supra*). Los resultados se muestran en la siguiente tabla 1:

Tabla 1

Concentración de HTF en el efluente tratado en cada una de las técnicas

	Concentración HTF en efluente (µg/l)
P201430655	2
Raza et al., 2016	70.000
Proceso/planta de la invención	< 0,10

15 Como se puede observar a partir de estos datos, el proceso de la invención presenta
el mayor rendimiento de eliminación de HTF del agua, obteniendo una concentración
de contaminante en el efluente 20 veces inferior a la tecnología por enfriamiento de la
P201430655 y 700.000 veces inferior a la tecnología publicada por Raza et al.

20 Ejemplo 2

Se analizó periódicamente tanto el agua contaminada alimentada al reactor, como el
agua que sale del mismo hacia la unidad de filtración para controlar que la
concentración de los nutrientes presentes en el propio agua residual sea suficiente
25 para permitir la degradación del HTF vía asimilación biótica del contaminante.

En este contexto, los microorganismos necesitan, principalmente, nitrógeno y fósforo
para poder incorporar a su material celular el contaminante como fuente de carbono
para formar nuevas células.

30

Para evitar que cambios en la temperatura ambiente pudieran afectar al rendimiento de degradación microbiológico del contaminante, se mantuvo el cultivo a una temperatura media de $22,0 \pm 3,0^{\circ}\text{C}$.

- 5 Durante dos años de tratamiento, con el objetivo de maximizar el rendimiento de eliminación en el reactor biológico, se ajustaron las condiciones de operación y la especificidad del cultivo microbiológico.

10 En la siguiente tabla 2 se muestran los valores medios mantenidos durante los dos años de operación que permiten obtener una concentración de HTF (bifenilo más óxido de difenilo) en el agua tratada por debajo de los límites de vertido establecidos (bifenilo $\leq 10 \mu\text{g/l}$; óxido de difenilo $\leq 10 \mu\text{g/l}$).

Tabla 2

CONDICIONES DE OPERACIÓN DE LA PLANTA DE TRATAMIENTO	Valor promedio en dos años
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$22,0 \pm 3,0$
pH	$8,3 \pm 0,2$
Oxígeno disuelto ($\text{mg O}_2/\text{l}$)	$7,2 \pm 1,6$
Conductividad ($\mu\text{s/cm}$)	$664,6 \pm 86,4$

15

Como parte del desarrollo del tratamiento microbiológico del agua contaminada con HTF, se cultivó inicialmente a escala laboratorio un consorcio bacteriano obtenido de una muestra de suelo contaminado con HTF. Este inóculo autóctono fue mantenido en el laboratorio en un medio mineral enriquecido en nutrientes y alimentado repetidamente con HTF. Se obtuvo así un consorcio con una elevada avidez por el contaminante. A medida que la densidad celular del cultivo aumentaba se transfería a un reactor más grande hasta que finalmente se cultivaron 3 m^3 de inóculo, con los que se arrancó inicialmente el reactor biológico en la planta de tratamiento.

25 Así mismo, se analizó la diversidad bacteriana en el reactor biológico mediante la técnica DNA metabarcoding, con el objetivo de identificar aquellos géneros dominantes que ofrecen una mayor resistencia a los cambios en las condiciones de operación y, por tanto, contribuyen en mayor grado a ofrecer un mayor rendimiento de eliminación de HTF en el reactor.

Esta técnica se basa en la identificación de las familias, géneros y/o especies bacterianas presentes en el reactor biológico a través de la secuenciación del gen 16S rRNA haciendo uso de técnicas de secuenciación masiva de nueva generación.

5 El análisis de DNA metabarcoding de la muestra de agua generó un total de 17.644 secuencias de la región genómica 16S. Las secuencias de 16S idénticas (100% de similitud) identificadas en la muestra de agua del reactor biológico fueron agrupadas en Unidades Taxonómicas Operativas (OTU), obteniéndose un total de 63 OTU pertenecientes a 9 clases, 20 familias y, al menos, 24 géneros diferentes. Dichas
10 secuencias fueron comparadas con las bases de datos de referencia para su asignación taxonómica. En los casos en los que no es posible llegar a nivel de especie, el algoritmo de asignación taxonómica lleva a cabo la asignación a un nivel taxonómico superior (género o familia). Para la mayoría de las OTU no se ha podido identificar la especie o incluso el género ya que no pertenecen a bacterias descritas
15 formalmente. En estos casos la información taxonómica asignada fue “bacteria no cultivable” o “metagenoma”. En la Figura 1 se representa gráficamente la diversidad de OTU, agrupadas por niveles taxonómicos, y su abundancia relativa en la muestra utilizando el paquete Krona (Ondov 2011, Bioinformatics 12:385).

20 Los resultados confirman que el género dominante en el consorcio bacteriano utilizado para llevar a cabo la degradación del HTF en el reactor biológico según el proceso de la invención es el de la bacteria *Sphingobium*, con una abundancia del 55%.

25 Ejemplo 3

Con el objetivo de evaluar el rendimiento de depuración de la planta de tratamiento de la invención, desde su puesta en marcha se llevó a cabo un seguimiento analítico de forma quincenal durante 24 meses de operación para caracterizar la composición
30 del agua contaminada en los siguientes puntos del proceso:

- Muestra tomada en los depósitos de almacenamiento del agua contaminada con HTF;
- Muestra tomada a la salida del reactor biológico;
- Muestra tomada a la salida de la unidad de filtración;

- Muestra tomada de la unidad de recogida.

Concentración de HTF en el agua contaminada

5 Durante dos años de operación, la concentración media de HTF en el agua contaminada cargada en la unidad de almacenamiento fue de $20.012 \pm 14.947 \mu\text{g/l}$.

Los datos de análisis del efluente recogido en las 3 cisternas (13) de 50 m^3 de capacidad dispuestas en paralelo (CF1, CF2, CF3) a lo largo de dos años de
 10 operación se muestran en la siguiente tabla 3. En negrita se indican los valores por debajo del límite de cuantificación del laboratorio. En el caso concreto del HTF, dichos valores son 100 veces inferiores a la concentración admisible para vertido fijada por la Administración competente.

15

Tabla 3

CISTERNAS ANALIZADAS (50 m ³ /CISTERNA)		Bifenilo (µg/l)	Difenil éter (µg/l)	HTF (suma) (µg/l)
Valores admisibles de vertido		≤ 10	≤ 10	≤ 10
CF1	27/09/2016	< 0,025	0,07	0,07
CF2	27/10/2016	< 0,025	< 0,025	< 0,025
CF3	20/12/2016	< 0,025	< 0,025	< 0,025
CF1 (II)	12/01/2017	< 0,025	< 0,025	< 0,025
CF2 (II)	15/02/2017	< 0,025	0,048	0,048
CF1 (III)	15/03/2017	< 0,025	< 0,025	< 0,025
CF3 (II)	15/03/2017	< 0,025	0,15	0,15
CF2 (III)	04/05/2017	< 0,025	< 0,025	< 0,025
CF3 (III)	18/05/2017	< 0,025	0,24	0,24
CF2 (IV)	06/07/2017	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF1 (IV)	02/08/2017	< 0,10	0,4	0,4
CF3 (IV)	09/08/2017	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF2 (V)	06/09/2017	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF1 (V)	21/09/2017	< 0,10	0,33	0,33
CF3 (V)	06/11/2017	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF1 (VI)	25/01/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF2 (VI)	21/02/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF3 (VI)	14/03/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF1 (VII)	16/04/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF2 (VII)	09/05/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10
CF1	21/06/2018	< 0,10	0,15	0,15
CF3 (VII)	21/06/2018	< 0,10	< 0,10	< 0,10

A la vista de los rendimientos de depuración mostrados en la figura 3, el

proceso/planta de la invención resulta en una eliminación media de HTF del $99,50 \pm 0,56\%$ en el reactor biológico desde enero de 2.017, poniendo de manifiesto el potencial de esta biotecnología en la depuración de aguas contaminadas con aceite térmico.

5

Así, la contribución media del reactor biológico en la eliminación de HTF durante dos años de operación ha sido de un $84,4 \pm 22,1\%$, correspondiendo por ende un porcentaje medio de HTF eliminado en las unidades de filtración de tan solo un $15,6 \pm 22,1\%$ (Figura 3).

10

Esto supone que, durante 25 meses de operación, se ha conseguido eliminar el $99,98 \pm 0,09\%$ del bifenilo y óxido de bifenilo presente en el agua contaminada inicialmente.

15 Ejemplo 4

También se llevó a cabo una monitorización de la actividad microbiológica en el reactor biológico para detectar posibles inhibiciones sobre la población bacteriana durante el desarrollo del proceso. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura

20 4. Como puede observarse de dichos datos, la actividad microbiológica potencial alcanzó un estado estacionario a partir del primer trimestre de operación, presentando una actividad microbiológica estable a partir de enero de 2017 (momento en que se maximizó el rendimiento de operación en el reactor).

25 Por tanto, los resultados obtenidos durante dos años de operación ponen de manifiesto el éxito del proceso y de la planta de tratamiento de la invención para eliminar la presencia de bifenilo y óxido de difenilo de aguas contaminadas por HTF.

REIVINDICACIONES

1.-Proceso de tratamiento microbiológico de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo procedentes de aceites térmicos, que comprende las siguientes etapas:

- 5 i) Alimentación de aguas contaminadas con aceite térmico a al menos un primer depósito de almacenamiento (2,3), adicionándose a éste una fuente de nitrógeno y fósforo;
- 10 ii) Tratamiento microbiológico aerobio de degradación del bifenilo y óxido de difenilo del aceite térmico con un consorcio bacteriano soportado en un material flotante de alta porosidad en un reactor biológico (5), consistiendo el consorcio bacteriano en bacterias gram-negativas donde al menos un 50% de dichas bacterias pertenecen al género *Sphingobium*, inyectando en continuo aire en el reactor con el fin de mantener la concentración de oxígeno disuelto en agua y manteniendo la temperatura en un rango entre 19°C y 30°C;
- 15 iii) Filtración mediante filtros de carbón activo (10,11) para adsorber las trazas de contaminante que puedan quedar en el agua tras su tiempo de residencia en el reactor biológico (5), así como retener posibles partículas en suspensión; y
- 20 iv) Recogida del efluente tratado en cisternas (13) para su posterior vertido.

2.-Proceso de tratamiento microbiológico de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo según la reivindicación 1, donde, como fuente de nitrógeno y fósforo, se utiliza una disolución concentrada de urea y fosfato diamónico.

25

3.-Proceso de tratamiento microbiológico de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo según la reivindicación 1, donde la concentración media de oxígeno disuelto en el agua se mantiene entre 8,0 y 8,5 mg/l mediante la inyección en continuo de un caudal de aire de 40 m³/h en el reactor.

30

4.-Proceso de tratamiento microbiológico de contaminantes bifenilo y óxido de difenilo según la reivindicación 3, donde la concentración media de oxígeno disuelto en el agua se mantiene en 8,3 mg/l.

5.-Planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF para la realización del proceso según las reivindicaciones anteriores, incluyendo la planta:

- 5 • Una unidad de almacenamiento de aguas contaminadas con HTF (1) constituida por al menos un depósito de almacenamiento, preferentemente por dos depósitos de almacenamiento (2, 3), en cada caso asociados a una bomba de alimentación (4) a un reactor biológico (5);
- 10 • Un reactor biológico (5) conteniendo un material flotante de alta porosidad que soporta un consorcio bacteriano de bacterias gram-negativas donde al menos un 50% de dichas bacterias pertenecen al género Sphingobium, incluyendo el reactor una termo-resistencia (6) y estando dicho reactor (5) asociado a un soplante de aire (7) y a una correspondiente bomba de descarga (8) del reactor hacia una unidad de filtración (9);
- 15 • Una unidad de filtración (9) consistente en dos elementos filtrantes de carbón activo (10, 11) instalados en serie y
- Una unidad de recogida (12) del efluente tratado constituida por cisternas flexibles (13).

6.-Planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF según la reivindicación 5, donde la termo-resistencia (6) presenta un rango de operación entre 19 y 30°C, preferentemente ésta mantiene una temperatura constante dentro del reactor de entre 19°C y 20°C.

7.-Planta de tratamiento de aguas contaminadas con HTF según la reivindicación 5, donde el soplante de aire (7) mantiene una concentración media de oxígeno disuelto en agua en el reactor (5) de 8-8,5 mg/l, preferentemente de 8,3 mg/l, mediante la inyección en continuo de un caudal de aire de 40 m³/h.

Figura 2

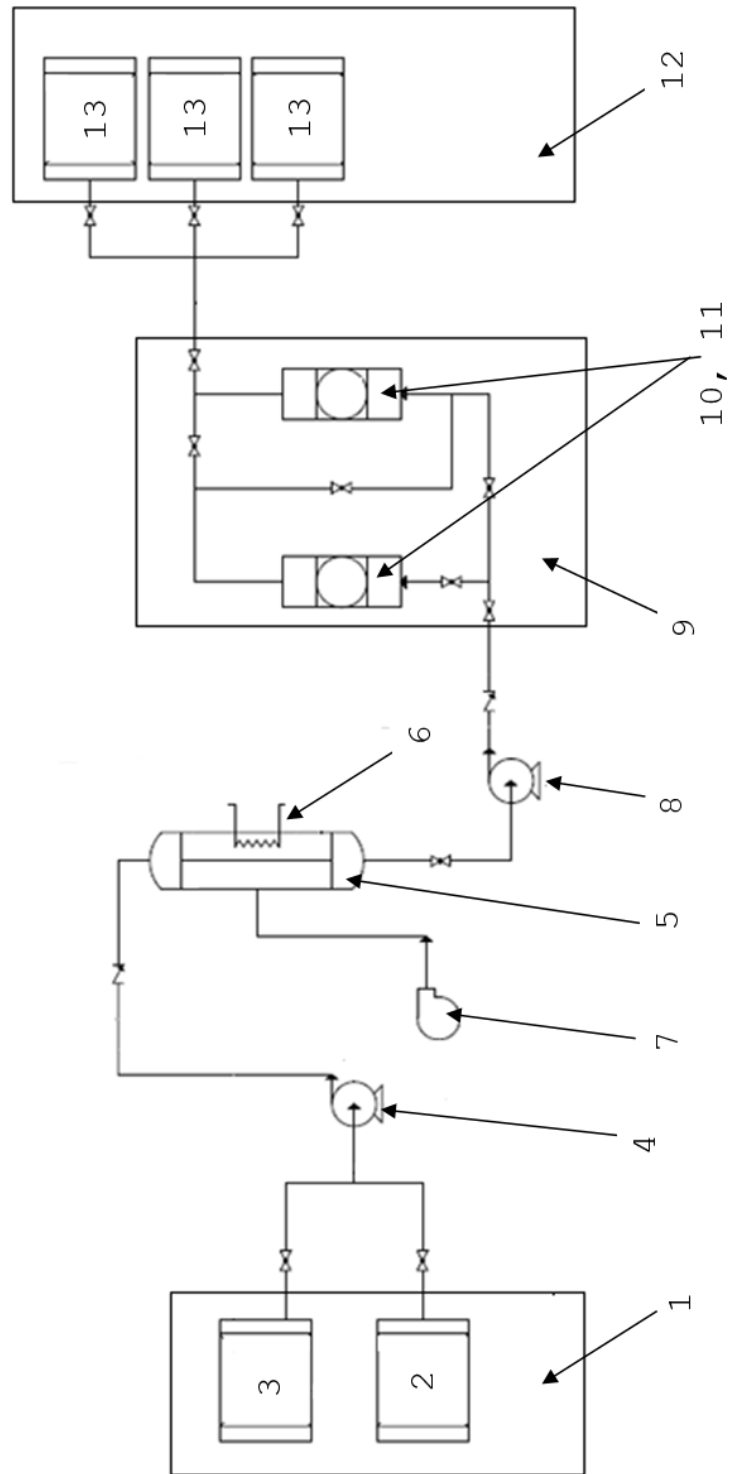


Figura 3

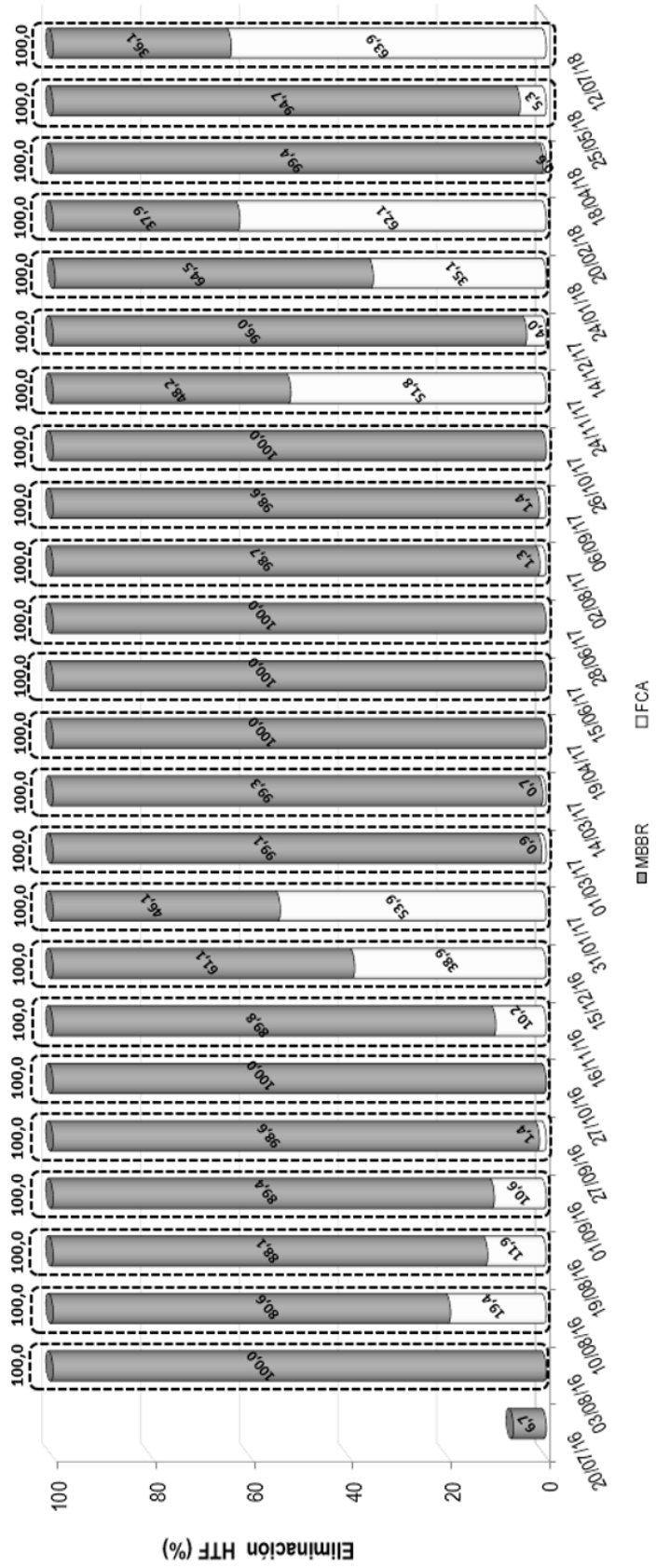
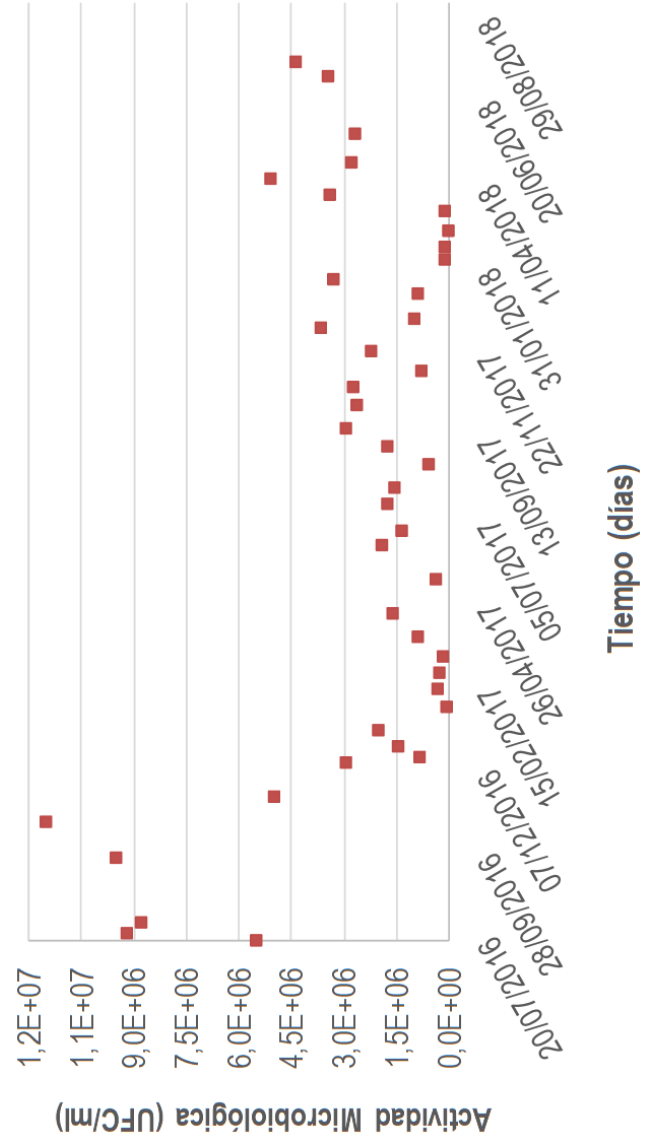


Figura 4





- ②① N.º solicitud: 201831210
②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.12.2018
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 4755296 A (YING WEI-CHI et al.) 05/07/1988 Columna 1, líneas 9-21, línea 55-columna 2, línea 36; ejemplos 1 y 2; tabla 1.	1, 5
A	WO 2014036732 A1 (GEN ELECTRIC et al.) 13/03/2014, Párrafos 5, 14-16, 18-21, 24, 26, figura 1; reivindicaciones.	1, 5
A	HU JINXING et al. <i>Sphingobium fuliginis</i> HC3: A Novel and Robust Isolated Biphenyl- and Polychlorinated Biphenyls-Degrading Bacterium without Dead-End Intermediates Accumulation. PLoS, 2015, vol. 10 (4), páginas 1-17, Article No.: e0122740, ISSN 1932-6203(print) ISSN 1932-6203(electronic), DOI: doi:10.1371/journal.pone.0122740.	1, 5
A	CAI, S. et al. Degradation of Diphenyl Ether in <i>Sphingobium phenoxybenzoativorans</i> SC_3 Is Initiated by a Novel Ring Cleavage Dioxygenase. Applied and Environmental microbiology, 2017, vol. 83 (10), páginas 1-16, ISSN 0099-2240(print) ISSN 1098-5336(electronic), DOI: doi:10.1128/AEM.00104-17	1, 5
A	BLANCO-MORENO R. et al. Isolation of bacterial strains able to degrade biphenyl, diphenyl ether and the heat transfer fluid used in thermo-solar plants. New Biotechnology, 2017, vol. 35, páginas 35-41, ISSN 1871-6784(print) ISSN 1876-4347(electronic), DOI: doi:10.1016/j.nbt.2016.11.003	1, 5
A	WO 9111396 A1 (KALDNES MILJOETEKNOLOGI A S) 08/08/1991, Páginas 1-6.	1, 5
A	ES 2550396 A1 (PGMA S L P) 06/11/2015, Reivindicaciones 1 y 2, página 6, líneas 12-25.	1, 5

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
22.03.2019

Examinador
A. I. Polo Diez

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C02F3/02 (2006.01)

C02F3/08 (2006.01)

C02F3/34 (2006.01)

C02F1/28 (2006.01)

C02F101/30 (2006.01)

C02F101/34 (2006.01)

C02F103/34 (2006.01)

C02F103/06 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C02F

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INTERNET, CAPLUS, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, NPL, BD-TXTE