



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0510331-2 B1



(22) Data do Depósito: 21/04/2005

(45) Data de Concessão: 14/04/2020

(54) Título: MÉTODO DE INIBIÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO POR BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (SRB); E COMPOSIÇÃO

(51) Int.Cl.: A01N 35/02; A01N 43/80; C02F 3/34.

(52) CPC: A01N 35/02; A01N 43/80; C02F 3/34; C02F 3/345.

(30) Prioridade Unionista: 26/04/2004 US 10/832,116.

(73) Titular(es): CONOCOPHILLIPS COMPANY; UTI LIMITED PARTNERSHIP.

(72) Inventor(es): GARY E. JENNEMAN; ANNE GREENE; GERRIT VOORDOUW.

(86) Pedido PCT: PCT US2005013594 de 21/04/2005

(87) Publicação PCT: WO 2005/105116 de 10/11/2005

(85) Data do Início da Fase Nacional: 26/10/2006

(57) Resumo: INIBIÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO BIOGÊNICO VIA BIOCIDA E COMBINAÇÃO DE INIBIDORES METABÓLICOS. A presente invenção refere-se a produção de sulfeto biogênico é sinergisticamente inibida por tratamento de bactérias redutoras de sulfato (SRB) com um biocida e um inibidor metabólico. O biocida elimina diretamente uma primeira porção das SRB. O inibidor metabólico inibe o crescimento redutor de sulfato de uma segunda porção das SRB sem eliminar diretamente a segunda porção das SRB. O tratamento de SRB com um biocida e um inibidor metabólico proporciona inibição eficaz de sulfeto biogênico em concentrações significativamente mais baixas que aquela que seria necessária se o biocida ou o inibidor metabólico fosse usado isolado.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO DE INIBIÇÃO DA PRODUÇÃO DE SULFETO POR BACTÉRIAS REDUTORAS DE SULFATO (SRB) ; E COMPOSIÇÃO"**.

[00001] A presente invenção refere-se de um modo geral ao controle da produção de sulfato biogênico. Em um outro aspecto, a invenção refere-se ao uso de pelo menos um biocida e pelo menos um inibidor metabólico para inibir sinergisticamente a produção de sulfeto por bactérias redutoras de sulfato.

[00002] Quando usadas neste relatório as expressões "consiste essencialmente em", "consistindo essencialmente em" e expressões semelhantes; não excluem a presença de outras etapas, elementos ou materiais que não estejam especificamente mencionados neste relatório, contanto que tais etapas, elementos ou materiais não afetem as características novas e básicas da invenção, e ainda, que não excluem as impurezas normalmente associadas com os elementos e materiais usados.

[00003] Os termos e expressões acima destinam-se ao uso em áreas fora jurisdição dos Estados Unidos. Na jurisdição dos Estados Unidos os termos e expressões acima devem ser aplicados da forma como são interpretados nos tribunais americanos e no Departamento de Patentes dos Estados Unidos.

[00004] A presença de sulfatos (por exemplo, H_2S , HS^- e S^{2-}) em fluidos apresenta problemas sérios devido a sua toxicidade, odor e natureza corrosiva. Sabe-se que a presença de sulfatos em muitos fluidos é uma consequência da redução de sulfatos para sulfetos por bactérias redutoras de sulfato (SRB). As SRB são normalmente encontradas na água associada com sistemas de produção de petróleo e podem ser encontradas em virtualmente todos os processos aquosos industriais que

incluem, por exemplo, sistemas de água de refrigeração, sistemas de fabricação de polpa e papel, produção química e refinação de petróleo.

[00005] As necessidades para a atividade e o crescimento de SRB incluem um ambiente aquoso substancialmente anaeróbico contendo nutrientes adequados, um doador de elétrons e um receptor de elétrons. Um receptor de elétrons típico é sulfato, que produz H_2S mediante redução. Um doador de elétrons típico é um ácido graxa volátil (por exemplo, ácido acético ou propiônico), embora o hidrogênio também possa funcionar como doador de elétrons. As condições em um reservatório de petróleo submetido à inundação com água do mar são excelentes para estabelecer a atividade de SRB. A água do mar contém uma concentração significativa de sulfato, ao passo que a água natural, ou de formação inerente, contém ácidos graxos voláteis e outros nutrientes de traço necessários (por exemplo, nitrogênio e fósforo). As condições nos sistemas de água industriais, tais como correntes de efluente provenientes de operações de produção ou correntes de água de refrigeração, também são úteis para a atividade de SRB devido ao biofilme anaeróbico que se forma no oleoduto, no tanque ou nas paredes do vaso. O mesmo se dá em esgotos e outras tubulações e instalações associadas com sistemas de tratamento de água servida municipal.

[00006] O sulfeto de hidrogênio (H_2S) é corrosivo e reage com superfícies metálicas para formar produtos de corrosão de sulfato de ferro insolúveis. Nas operações em campos petrolíferos, o H_2S se distribui nas fases de água, petróleo e gás natural dos fluidos produzidos e gera inúmeros problemas. Por exemplo, o petróleo e o gás que contêm níveis altos de H_2S têm valor comercial mais baixo que o petróleo e o

gás com baixo teor de sulfato. A remoção de H_2S biogênico de petróleo e gás brutos aumenta o custo desses produtos. Além disso, o H_2S é um gás extremamente tóxico e pode ser letal ser humano o homem mesmo em concentrações pequenas. Sua presença em sistemas de água servida é uma ameaça à segurança do trabalhador. A descarga de águas produzidas contendo altos níveis de H_2S em ambientes aquáticos ou marinhos é perigosa porque o H_2S reage com oxigênio e diminui os níveis de oxigênio dissolvido na água.

[00007] A corrosão causada por H_2S produzido por SRB resulta frequentemente em grandes danos. Os sistemas de tubulação, o fundo de tanques e outras partes do equipamento podem falhar rapidamente se tiverem áreas em que ocorra corrosão microbiana. Se ocorrer uma falha em um oleoduto ou no fundo de um tanque de armazenamento, o fluido liberado poderá trazer sérias consequências ambientais. Se ocorrer uma falha em um encanamento de água ou de gás de alta pressão, as consequências poderão ser ferimentos ou morte do operário.

[00008] No passado haviam dois métodos principais para reduzir o nível de sulfatos nos fluidos industriais. Um método envolvia remover os sulfetos dos fluidos depois de sua formação. Este método de remoção pós formação, no entanto, era frequentemente dispendioso ou impraticável, especialmente em operações em campos petrolíferos. O outro método era tratar os fluidos contendo SRB com biocidas ou inibidores metabólicos para assim eliminar ou inibir o crescimento das SRB antes de formação significativa de sulfeto biogênico. No entanto, em muitos casos são necessárias altas concentrações de biocidas ou inibidores metabólicos para inibir efetivamente a produção de sulfeto pelas SRB. Os custos associados com o emprego de

biocidas ou inibidores metabólicos nessas concentrações altas podem ser abusivos.

[00009] É portanto desejável fornecer um método e uma composição para inibir de forma mais eficaz e econômica a produção de sulfeto biogênico.

[00010] Mais uma vez é desejável fornecer uma composição que seja eficaz para inibir a produção de sulfato por SRB em concentrações relativamente baixas da composição inventiva.

[00011] Deve ficar entendido que as expectativas acima são apenas exemplificativas. Outros objetivos e vantagens da presente invenção tornar-se-ão evidentes a partir da descrição detalhada da modalidade preferida, das reivindicações e das figuras.

[00012] Por conseguinte, um aspecto da presente invenção refere-se a um método de inibição da produção de sulfato por SRB. O método compreende as etapas de: (a) colocar as SRB em contato com uma primeira concentração de um componente biocida, onde a primeira concentração é menor que cerca de 90% da concentração inibitória mínima (MIC) do componente biocida; e (b) colocar as SRB em contato com uma segunda concentração de um componente inibidor metabólico, onde a segunda concentração é menor que cerca de 90% da MIC do componente inibidor metabólico.

[00013] Um outro aspecto da presente invenção refere-se a um método que compreende colocar as SRB em contato com um meio tratado compreendendo um aldeído e um inibidor metabólico. O inibidor metabólico é selecionado do grupo que consiste em nitrito, molibdato e combinações dos mesmos. O aldeído e o inibidor metabólico estão presentes no meio tratado em uma

proporção molar de aldeído para inibidor metabólico na faixa de cerca de 50:1 a cerca de 1 :50.

[00014] Ainda um outro aspecto da presente invenção refere-se a uma composição para inibir eficazmente a produção de sulfato por SRB. A composição compreende: (a) um componente biocida capaz de eliminar diretamente uma primeira porção das SRB; e (b) um componente inibidor metabólico capaz de inibir o crescimento redutor de sulfato de uma segunda porção das SRB sem eliminar diretamente a segunda porção das SRB. O componente biocida está presente na composição em uma primeira concentração que é menor que cerca de 90% da MIC do componente biocida. O componente inibidor metabólico está presente na composição em uma primeira concentração que é menor que cerca de 90% da MIC do componente biocida.

[00015] Um outro aspecto da presente invenção refere-se a uma composição compreendendo um aldeído e um inibidor metabólico selecionado do grupo que consiste em nitrito, molibdato e combinações dos mesmos. O aldeído e o inibidor metabólico estão presentes na composição em uma proporção molar de aldeído para inibidor metabólico na faixa de cerca de 50:1 a cerca de 1:50.

[00016] Descobrimos que a produção de sulfato por bactérias redutoras de sulfato (SRB) pode ser inibida de forma mais eficaz e econômica tratando-se as SRB com determinadas combinações sinérgicas de inibidores de sulfato biogênico (BSIs). Conforme aqui usado, "bactérias redutoras de sulfato" ou "SRB" significa um ou mais tipos de bactéria capaz de facilitar a redução de sulfatos para sulfetos. Conforme aqui usado, "inibidor de sulfato biogênico" ou "BSI" será usado como um termo genérico para representar qualquer composto que iniba eficazmente a produção de sulfeto por pelo menos um tipo

de bactéria redutora de sulfato. BSIs de particular importância na presente invenção incluem biocidas e inibidores metabólicos. Conforme aqui usado, "biocida" significa um composto que elimina diretamente pelo menos um tipo de bactéria redutora de sulfato via contato com a mesma. Conforme aqui usado, "inibidor metabólico" significa um composto que inibe eficazmente a atividade redutora de sulfato de pelo menos um tipo de bactéria redutora de sulfato, sem eliminar diretamente a bactéria redutora de sulfato inibida mediante contato com a mesma. Os inibidores metabólicos eliminam das SRB a capacidade de produzir ATP e, como resultado, as células ficam incapazes de crescer e/ou dividir. Esta incapacidade de crescer ou dividir pode eventualmente causar a morte de algumas SRB; no entanto, a morte celular não é um resultado direto da exposição aos inibidores metabólicos como é o caso com biocidas.

[00017] De acordo com uma modalidade da presente invenção, as SRB são colocadas em contato com um meio tratado contendo mais de um BSI para assim inibir sinergisticamente a produção de sulfeto biogênico. De preferência, o meio tratado compreende pelo menos um biocida e pelo menos um inibidor metabólico. Biocidas adequados para uso na presente invenção incluem biocidas oxidantes e biocidas não-oxidantes. De preferência, empregam-se biocidas não-oxidantes. Biocidas não-oxidantes adequados incluem, por exemplo, aldeídos (por exemplo, formaldeído, glutaraldeído e acroleína), compostos tipo amina (por exemplo compostos de amina quaternária e cocodiamina), compostos halogenados (por exemplo, bronopol e 2-2-dibromo-3-nitrilopropionamida (DBNPA)), compostos de enxofre (por exemplo, isotiazolona, carbamatos e metronidazol) e sais de fosfônio quaternário (por exemplo, sulfato de

tetracis (hidroximetil) fosfônio (THPS)). Inibidores metabólicos adequados para uso na presente invenção incluem, por exemplo, nitrito, molibdato, tungstato, selenato e antraquinona. Pode ser que existam outros inibidores metabólicos equivalentes para SRB, mas estes não eram conhecidos nem previsíveis quando do depósito desta invenção.

[00018] O efeito inibitório sinérgico resultante do uso combinado de mais de um BSI (por exemplo, um biocida e um inibidor metabólico) pode ser demonstrado por comparação do efeito inibitório dos BSIs combinados com o efeito inibitório de cada BSI individual, quando usado isolado. Este efeito inibitório sinérgico pode ser quantificado por comparação das concentrações dos BSIs combinados necessárias para proporcionar inibição eficaz de sulfato biogênico com as concentrações de cada BSI individual necessárias para proporcionar inibição eficaz de sulfato quando cada BSI individual é usado isolado.

[00019] A concentração de um BSI individual necessária para inibir eficazmente a produção de sulfeto por SRB pode ser expressa como concentração inibitória mínima (MIC). Conforme aqui usado, "concentração inibitória mínima" ou "MIC" significa a concentração mínima de um BSI individual necessária para impedir a produção de sulfeto por SRB por 30 dias após iniciado o contato com as SRB. Cada BSI tem uma MIC única. Por exemplo, verificamos que em certas condições de teste, uma concentração de 5 mM (milimolar) de glutaraldeído (biocida) em um determinado meio tratado é a concentração mínima de glutaraldeído necessária para impedir a produção de sulfato por certas SRB por 30 dias após do primeiro contato do meio tratado com as SRB. Portanto, nas condições deste teste, a MIC de glutaraldeído é 5 mM.

[00020] Esta patente usa a MIC de vários BSIs como referência para demonstrar que a inibição sinérgica de sulfato biogênico pode ser obtida quando certas combinações de BSIs são empregadas em concentrações que são substancialmente inferiores à MIC de cada BSI individual. Assim, a quantidade ou concentração de um BSI particular usado para tratar as SRB pode ser expressa como uma percentagem da MIC daquele BSI particular. Deve-se observar, no entanto, que a MIC de um BSI particular pode variar, dependendo de numerosos fatores tais como, por exemplo, o tipo de SRB tratadas, a composição do meio tratado e a temperatura à qual as SRB e o meio tratado são mantidos. Portanto, quando SRB são tratadas com uma quantidade de um BSI particular que é expressa como uma percentagem da MIC para aquele BSI, presume-se que a MIC para aquele BSI foi determinada nas mesmas condições em que as SRB estão sendo tratadas no momento. Por exemplo, se um determinado meio tratado compreendendo glutaraldeído e nitrito for usado para tratar certas SRB em determinadas condições e o meio tratado contiver glutaraldeído a 50% (em mol) da MIC de glutaraldeído, então a concentração de glutaraldeído no meio tratado será metade da concentração de glutaraldeído isolado (i.e., sem nitrito) no meio tratado que seria necessária para impedir a produção de sulfato pelas SRB por 30 dias nas mesmas condições.

[00021] Uma modalidade da presente invenção pode ser realizada colocando-se as SRB em contato com pelo menos um biocida e pelo menos um inibidor metabólico de forma simultânea ou sequencial. De preferência, o biocida e o inibidor metabólico componentes são simultaneamente colocados em contato com as SRB primeiro combinando-se o biocida (e/ou um precursor do biocida) e o inibidor metabólico (e/ou um

precursor do inibidor metabólico) em um meio tratado e colocando-se as SRB em contato com o meio tratado. Nitrato é um exemplo de um precursor de nitrito. A composição específica do meio tratado pode variar bastante, dependendo da aplicação particular em que se busca inibição de sulfato biogênico. Assim, o meio tratado pode ser qualquer meio adequado para transportar o biocida e o inibidor metabólico componentes. De preferência, o meio tratado é um meio à base de água, mais preferivelmente o meio tratado compreende pelo menos cerca de 2% em peso de água, mais preferivelmente pelo menos cerca de 50% em peso de água, e ainda mais preferivelmente pelo menos 90% em peso de água. As SRB com as quais o meio tratado é colocado em contato podem residir no próprio meio tratado ou em uma superfície (por exemplo, a superfície de uma formação subterrânea ou a superfície interna de uma tubulação ou vaso) com a qual o meio tratado entra em contato. Em uma aplicação, o meio tratado é salmoura (por exemplo, salmoura de campo petrolífero) que contém sulfatos, SRB, um biocida e um inibidor metabólico. Em alguns casos, o biocida pode estar presente como parte dos produtos químicos convencionais de campos petrolíferos, tais como inibidores de corrosão. Por conseguinte, pode ser preferível empregar biocidas que apresentem outras propriedades vantajosas tal como inibição de corrosão. Por exemplo, aminas quaternárias são bons biocidas e inibidores de corrosão.

[00022] A inibição sinérgica fornecida pelos componentes combinados biocida e inibidor metabólico do meio tratado possibilita a inibição eficaz de sulfato biogênico em concentrações substancialmente menores que as concentrações inibitórias mínimas (MICs) dos componentes individuais. Por conseguinte, prefere-se que as concentrações do biocida e do

inibidor metabólico componentes do meio tratado seja menor que as MICs dos componentes individuais biocida e inibidor metabólico. Mais preferivelmente, as concentrações tanto do biocida como do inibidor metabólico são menores que cerca de 90% de suas respectivas MICs. Ainda mais preferivelmente, as concentrações do biocida ou do inibidor metabólico ou de ambos são menores que cerca de 75% de suas respectivas MICs. Mais preferivelmente ainda, as concentrações do biocida ou do inibidor metabólico ou de ambos são menores que cerca de 50% de suas respectivas MICs. Ainda mais preferivelmente, as concentrações do biocida ou do inibidor metabólico ou de ambos são menores que cerca de 35% de suas respectivas MICs. Mais preferivelmente, as concentrações do biocida ou do inibidor metabólico ou de ambos são menores que cerca de 25% de suas respectivas MICs.

[00023] Em uma modalidade preferida da presente invenção, o biocida é um aldeído e o inibidor metabólico é nitrito e/ou molibdato. Quando o biocida é um aldeído e o inibidor metabólico é nitrito e/ou molibdato, é preferível que o meio tratado tenha uma proporção molar de biocida para inibidor metabólico na faixa de cerca de 50:1 a cerca de 1:50, mais preferivelmente cerca de 20:1 a cerca de 1:20, ainda mais preferivelmente cerca de 10:1 a cerca de 1:10, e ainda mais preferivelmente 5:1 a 1:5. Além disso, quando o biocida for um aldeído, é preferível que a concentração do biocida no meio tratado esteja na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 5 mM (milimolar), mais preferivelmente cerca de 0,1 a cerca de 3 mM, e ainda mais preferivelmente 0,1 a 2 mM. Quando o inibidor metabólico for nitrito e/ou molibdato, é preferível que a concentração do inibidor metabólico no meio tratado esteja na faixa de cerca de 0,1 a cerca de 5 mM, mais preferivelmente

cerca de 0,1 a cerca de 3 mM, e ainda mais preferivelmente 0,1 a 2 mM. Em uma modalidade particularmente preferida da presente invenção, o componente biocida contatado com as SRB consiste essencialmente em glutaraldeído e o componente inibidor metabólico contatado com as SRB consiste essencialmente em nitrito.

[00024] O meio tratado e as SRB podem ser colocados em contato de forma intermitente (isto é batelada) ou contínua. De preferência, a presente invenção é realizada de maneira substancialmente contínua. Em qualquer caso, as concentrações do biocida e do inibidor metabólico componentes, descritas acima, estão expressas como concentrações médias no tempo. Por exemplo, se as SRB forem colocadas em contato com um meio tratado de forma intermitente tendo a frequência de uma vez a cada 24 horas (1440 minutos), uma duração de 14,4 minutos, e uma concentração intermitente de 100 mM, a concentração média seria igual a 1 mM (i.e., $100 \text{ mM} \times 14,4 \text{ min} / 1440 \text{ min}$). O exemplo a seguir serve para ilustrar a presente invenção e ensinar ao versado na técnica como fazer e usar a invenção. Este exemplo não é limitativo da invenção de forma alguma.

EXEMPLO

[00025] Neste exemplo, o efeito de várias combinações de biocida e inibidor metabólico foi investigado para determinar seu efeito combinado sobre a produção de sulfeto por SRB.

[00026] A colônia de bactérias redutoras de sulfato (SRB) usada neste estudo foi enriquecido da água produzida obtida no campo petrolífero de Coleville perto de Kindersely, Sadkatchewan, Canadá. O enriquecimento seriado em meio Postgate C salino (SPGC) resultou em uma colônia de SRB estável que foi conservada por mais de um ano até o início das

experiências de exposição a biocida e inibidor metabólico, descritas acima. A colônia de SRB foi mantida por transferência semanal em meio sPGC, e incubada a 30°C. O meio Postgate C salino (sPGC) é uma modificação do meio e descrito por Postgate, J. R. *The Sulfate-Reducing Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press, págs. 30-34 (1984). O sPGC continha os seguintes componentes por 1 litro de água destilada: 7 g de NaCl, 1,2 g de $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g de KH_2PO_4 , 1 g de NH_4Cl , 4,5 g de Na_2SO_4 , 0,042 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,03 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,004 g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,28 g de citrato de sódio, 10 g de lactato de sódio a 60%; 1 g de extrato de levedura e uma quantidade de traço de rezazurina.

[00027] As culturas usadas neste estudo foram cultivadas em 100 ml de meio de salmoura sintética de Coleville modificado (mCSB) em frascos de soro de 160 ml, com uma folga de fechamento de 5% H_2 , 10% CO_2 , equilíbrio N_2 . O mCSB está descrito em Nemati M., Jenneman G. E., Voordouw G. A mechanistic study on microbial control of souring in oil reservoirs. *Biotech-nol. Bioeng.* 74:424-434 (2001). O mCSB continha os seguintes componentes por 950 mililitros de água destilada: 7 g de NaCl, 0,027 g de KH_2PO_4 , 0,02 g de NH_4Cl , 0,024 g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,68 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,68 g de acetato de sódio, 5,6 g de xarope de lactato de sódio (60% v/v); 1,9 g de NaHCO_3 e 50 ml de solução de micronutrientes. A solução de micronutrientes continha os seguintes componentes por 990 ml de água destilada: 2 g de ácido nitrilotriacético, 0,006 g de FeCl_3 , 1,2 g de $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 2 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,16 g de NaCl, 1,4 g de Na_2HPO_4 , 0,72 KH_2PO_4 e 10 ml de solução de elementos de traço. Os 10 ml de solução de elementos de traço continham os seguintes componentes: 0,5 ml de H_2SO_4 , 2,28 g de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0,5 g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 g de

H₃BO₃, 0,025 g de CuSO₄ 5H₂O, 0,025 g de NaMoO₄ 2H₂O e 0,045 g de CoCl₂ 6H₂O.

[00028] Foi usado em todos os casos um inóculo a 2% de enriquecimento de SRB de Coleville recém-cultivado. Depois da inoculação, as culturas foram incubadas por uma noite a 30°C, até que o sulfeto produzido nas culturas fosse aproximadamente igual 5 milimolar (mM) (a concentração máxima de sulfato produzido nestas culturas é de aproximadamente 12 mM). Neste ponto, foram adicionadas as combinações de biocida/inibidor metabólico. As culturas foram incubadas por 1 mês depois da adição do biocida e do inibidor metabólico. Se a redução de sulfato e a produção de sulfeto continuassem durante o período de incubação de 1 mês, considerava-se a inibição sem sucesso.

[00029] O sulfato foi medido usando o método turbidimétrico descrito em American Public Health Association, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Washington, DC: American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, págs. 439-440 (1992) modificado pelo método descrito em Nemati M., Jenneman G. E., Voordouw G. A mechanistic study on microbial control of souring in oil reservoirs. Biotechnol. Bioeng. 74:424-434 (2001). O sulfeto foi analisado pelo método colorimétrico descrito em Cord-Ruwisch, R., A quick method for determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria, J. Microbiol. Meth. 4:33-36 (1985). O nitrito foi avaliado pelo método colorimétrico descrito em Nemati M., Jenneman G. E., Voordouw G. A mechanistic study on microbial control of souring in oil reservoirs. Biotechnol. Bioeng. 74:424-434 (2001). O crescimento de células não foi monitorado; a densidade ótica e a cor de várias culturas foram significativamente alteradas mediante adição de alguns

biocidas ou inibidores, o que interferiu nas leituras da densidade ótica.

[00030] Foram testadas várias combinações de biocidas e inibidores metabólicos. Para este exemplo, biocidas são definidos como agentes que eliminam diretamente os microorganismos. Os dois inibidores metabólicos testados são ambos específicos para SRB e sabe-se que interferem em diferentes estágios da redução de sulfato para sulfeto. A inibição da redução de sulfato elimina das SRB a capacidade de produzir ATP (a circulação de energia celular), e assim as células ficam incapazes de crescer ou dividir e podem eventualmente morrer, no entanto, a morte celular não é necessariamente resultado da exposição a esses compostos, particularmente em concentrações baixas onde a produção de energia pode ser reduzida mas não completamente inibida.

[00031] Para cada biocida e inibidor metabólico testado, foi determinada a concentração inibitória mínima (MIC, a quantidade mínima de biocida necessária para inibir a redução de sulfato e a produção de sulfeto na cultura de SRB por um mês). Combinações de pares de biocidas foram testadas em várias concentrações para determinar as MICs de várias concentrações de cada quando misturados. Foi avaliada a eficácia das várias combinações de biocidas. Os efeitos das combinações de biocidas foram separados em cinco categorias: antagonístico (um biocida tinha um efeito negativo sobre o outro de modo que mais que a MIC para um biocida isolado mais o segundo biocida em qualquer quantidade foi necessária para inibição), aditivo (por exemplo, a inibição requer 25% da MIC de um biocida e 75% do outro, ou vice-versa), indiferente, menor que o aditivo (mais que uma quantidade aditiva do par de biocidas, porém menos que a MIC de cada, foi necessária para

inibição) ou sinérgica (menos que uma quantidade aditiva do par de biocidas foi necessária para inibição).

[00032] Os inibidores metabólicos avaliados foram molibdato e nitrito. Seis biocidas não-oxidantes foram avaliados isolados e em combinação com nitrito ou molibdato (biocidas oxidantes não foram considerados neste estudo). Tanto o glutaraldeído como o formaldeído são biocidas tipo aldeído. Cloreto de benzalcônio é representativa de um grupo de biocidas tipo amina quaternária. Combinações de biocidas tipo amina quaternária e glutaraldeído encontram-se comercialmente disponíveis para uso em campos petrolíferos e outras situações. Cocodiaminas são do grupo de biocidas tipo amina e diamina. O biocida cocodiamina usado neste estudo foi T-397, produzido por Brenntag Canada. Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) é um biocida halogenado. Sulfato de tetrakis(hidroximetil)fosfônio (THPS) é um sal de fosfônio quaternário. Biocidas de vários grupos comumente usados em situações de campos petrolíferos foram intencionalmente escolhidos para permitir uma avaliação geral da eficácia de cada grupo quando combinados com inibidores metabólicos específicos.

[00033] Os resultados dos testes para combinações de vários biocidas com os inibidores metabólicos (nitrito ou molibdato) estão mostrados nas figuras 1-10. Nas figuras 1-10, os triângulos vazios (Δ) representam concentrações que não obtiveram sucesso para inibir a produção de sulfato por todo um mês, ao passo que os losangos cheios (\blacklozenge) representam concentrações que obtiveram sucesso para inibir a produção de sulfato por todo um mês. A linha diagonal em cada gráfico representa quais seriam as concentrações inibitórias se o biocida e o inibidor metabólico tivessem efeito puramente

aditivo. Portanto, os dados de inibição bem-sucedida (isto é, losangos cheios) na parte esquerda inferior das linhas diagonais indicam um efeito sinérgico do biocida/inibidor metabólico. As combinações de vários biocidas com nitrito ou molibdato resultaram em efeitos inibitórios sinérgicos. Em particular, nitrito mais glutaraldeído (figura 1) ou cloreto de benzalcônio (figura 2) e molibdato mais glutaraldeído (figura 6) mostraram um forte efeito sinérgico. Nitrito mais bronopol (figura 3) produzir um efeito sinérgico menor. Nitrito mais cocodiamina (figura 4) e molibdato mais cloreto de benzalcônio (figura 7), cocodiamina (figura 9) ou bronopol (figura 8) produzir o menor efeito sinérgico. Nitrito mais THPS (figura 5) e molibdato mais THPS (figura 10) mostraram um efeito menor que o aditivo. Este efeito menor que o aditivo com THPS pode ser um fenômeno isolado para as SRB particulares e as condições empregadas neste estudo. Nenhuma das combinações testadas produziu efeitos indiferentes ou antagonísticos. Por conseguinte, todas as combinações exceto aquelas com THPS resultaram em efeitos inibitórios melhores que o efeito aditivo.

[00034] As formas preferidas da invenção descritas acima são usadas apenas como ilustração, e não devem ser usadas no sentido limitativo para interpretar o escopo da presente invenção. Modificações óbvias das modalidades exemplificativas, apresentadas acima, poderão ser facilmente feitas pelos versados na técnica sem sair do espírito da presente invenção.

[00035] Os inventores declaram sua intenção de se ater à Doutrina dos Equivalentes para determinar e classificar o escopo razoavelmente amplo da presente invenção uma vez que se refere a qualquer aparelho que não se afaste materialmente mas

que esteja fora do escopo literal da invenção descrita nas reivindicações a seguir.

REIVINDICAÇÕES

1. Método de inibição da produção de sulfeto por bactérias redutoras de sulfato (SRB), o referido método **caracterizado por** compreender as etapas de colocar em contato a SRB com as combinações de:

(a) uma primeira concentração de um componente biocida não oxidante selecionado de um grupo consistindo em nitrito ou molibdato, onde a referida primeira concentração é menor que 90% da concentração inibitória mínima (MIC) do componente biocida; e

(b) uma segunda concentração de um componente inibidor metabólico selecionado de um grupo consistindo em glutaraldeído, cloreto de benzalcônio, broponol ou cocodiamina, onde a referida segunda concentração é menor que 90% da MIC do componente inibidor metabólico,

produzindo assim um efeito sinérgico na inibição da produção de sulfeto por SRB, em comparação com qualquer componente sozinho.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 50% de sua MIC.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** as referidas primeira e segunda concentrações serem ambas menores que 75% de suas respectivas MICs.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 25% de sua MIC.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado por** as referidas primeira e segunda concentrações serem ambas menores que 50% de suas respectivas MICs.

6. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 20% de sua MIC.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizado por** as referidas primeira e segunda concentrações serem ambas menores que 35% de suas respectivas MICs.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** a referida segunda concentração estar na faixa de 0,1 mM a 5 mM.

9. Método, de acordo com a reivindicação 8, **caracterizado por** a referida primeira concentração ser menor que 50% da MIC do componente biocida.

10. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o referido componente biocida não compreender sulfato de tetrakis hidroximetil fosfônio (THPS).

11. Método, de acordo com a reivindicação 1,

caracterizado por o referido componente biocida consistir em glutaraldeído e o referido componente inibidor metabólico consistir em nitrito.

12. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** o componente (a) eliminar diretamente uma primeira porção das SRB e o componente (b) inibir o crescimento redutor de sulfato de uma segunda porção das SRB sem eliminar diretamente a segunda porção das SRB.

13. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** os componentes (a) e (b) serem administrados de forma contínua e a primeira e a segunda concentrações serem concentrações médias no tempo.

14. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** os componentes (a) e (b) serem administrados de forma intermitente e a primeira e a segunda concentrações serem concentrações médias no tempo.

15. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** compreender ainda a etapa de:

antes de administrar os componentes (a) e (b), combinar o componente biocida ou um precursor do componente biocida e o componente inibidor metabólico ou um precursor do componente inibidor metabólico em um meio tratado.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** a administração dos componentes (a) e (b) incluir colocar as SRB em contato com o meio tratado.

17. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o referido meio tratado ser um meio à base de água.

18. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o referido meio tratado compreender pelo menos 50% em peso de água.

19. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o referido meio tratado compreender na faixa de 0,1 mM a 5 mM de nitrito.

20. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado por** o referido meio tratado compreender na faixa de 0,1 mM a 5 mM de glutaraldeído.

21. Método como definido na reivindicação 1 **caracterizado por** compreender colocar bactérias redutoras de sulfato (SRB) em contato com um meio tratado compreendendo uma combinação de glutaraldeído e um inibidor metabólico selecionado do grupo que consiste em nitrito, molibdato e combinações dos mesmos, produzindo assim um efeito sinérgico na inibição da produção de sulfeto pela SRB, onde o referido glutaraldeído e o referido inibidor metabólico estão presentes no meio tratado em uma proporção molar de glutaraldeído para inibidor metabólico na faixa de 50:1 a 1:50.

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** a referida proporção molar de

glutaraldeído para inibidor metabólico estar na faixa de 20:1 a 1:20.

23. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** a referida proporção molar de glutaraldeído para inibidor metabólico estar na faixa de 10:1 a 1:10, onde o referido inibidor metabólico consiste em nitrito.

24. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** o referido glutaraldeído e o referido inibidor metabólico estarem cada um presentes no meio tratado em uma concentração na faixa de 0,1 mM a 5 mM.

25. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** a etapa de colocar a SRB com o meio tratado ser realizada de forma contínua e as referidas concentrações de glutaraldeído e inibidor metabólico no meio tratado serem concentrações médias no tempo.

26. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** a etapa de colocar a SRB com o meio tratado ser realizada de forma intermitente, e as referidas concentrações de glutaraldeído e inibidor metabólico no meio tratado serem concentrações médias no tempo.

27. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** o referido glutaraldeído e o referido inibidor metabólico estarem cada um presentes no meio tratado em uma concentração na faixa de 0,1 mM a 2 mM.

28. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** o referido glutaraldeído estar presente na mistura tratada em uma primeira concentração que é menor que 90% da concentração inibitória mínima (MIC) do glutaraldeído, e o referido inibidor metabólico estar presente na mistura tratada em uma segunda concentração que é menor que 90% da MIC do inibidor metabólico.

29. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 35% de sua MIC.

30. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** o referido glutaraldeído estar presente na mistura tratada em uma primeira concentração que é menor que 50% da concentração inibitória mínima (MIC) do glutaraldeído, e o referido inibidor metabólico estar presente na mistura tratada em uma segunda concentração que é menor que 50% da MIC do inibidor metabólico.

31. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 25% de sua MIC.

32. Composição sinérgica obtida por meio do método definido na reivindicação 1 **caracterizada por** inibir a produção de sulfato por bactérias redutoras de sulfato (SRB) em comparação com qualquer componente sozinho, em que a referida composição compreende:

(a) um componente biocida capaz de eliminar diretamente uma primeira porção das SRB, onde o referido componente biocida é selecionado de um grupo consistindo em nitrito ou molibdato, e está presente na composição em uma primeira concentração que é menor que 90% da concentração inibitória mínima (MIC) do componente biocida; e

(b) um componente inibidor metabólico capaz de inibir o crescimento redutor de sulfato de uma segunda porção das SRB sem eliminar diretamente a segunda porção das SRB, onde o referido componente inibidor metabólico é selecionado de um grupo consistindo em glutaraldeído, cloreto de benzalcônio, broponol ou cocodiamina, e está presente na composição em uma primeira concentração que é menor que 90% da MIC do componente inibidor metabólico.

33. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 35% de sua MIC.

34. Composição, de acordo com a reivindicação 33, **caracterizada por** as referidas primeira e segunda concentrações serem ambas menores que 50% de suas respectivas MICs.

35. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** pelo menos uma das referidas primeira e segunda concentrações ser menor que 25% de sua MIC.

36. Composição, de acordo com a reivindicação 32,

caracterizada por as referidas primeira e segunda concentrações serem ambas menores que 35% de suas respectivas MICs.

37. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** o referido componente biocida ser uma combinação de mais de um biocida individual e/ou o referido componente inibidor metabólico ser uma combinação de mais de um inibidor metabólico individual.

38. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** o referido componente biocida não compreender sulfato de tetrakis hidroximetil fosfônio (THPS).

39. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** o referido componente biocida consistir em glutaraldeído e o referido componente inibidor metabólico consistir em nitrito.

40. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** compreender ainda pelo menos 2% em peso de água.

41. Composição, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizada por** compreender ainda pelo menos 50% em peso de água.

42. Composição sinérgica obtida por meio do método definido na reivindicação 1 **caracterizada por** compreender:

(a) glutaraldeído; e

(b) um inibidor metabólico selecionado do grupo que consiste em nitrito, molibdato e combinações dos mesmos, onde o referido glutaraldeído e o referido inibidor metabólico estão presentes na composição em uma proporção molar de glutaraldeído para inibidor metabólico na faixa de 50:1 a 1:50,

de tal forma que um efeito sinérgico na inibição da produção de sulfeto pela SRB é produzido em comparação com qualquer componente sozinho.

43. Composição, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada por** a referida proporção molar de glutaraldeído para inibidor metabólico na faixa de 20:1 a 1:20.

44. Composição, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada por** a referida proporção molar de glutaraldeído para inibidor metabólico estar na faixa de 10:1 a 1:10, onde o referido inibidor metabólico consiste em nitrito.

45. Composição, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada por** o referido glutaraldeído e o referido inibidor metabólico estarem cada um presentes na composição em uma concentração na faixa de 0,1 mM a 5 mM.

46. Composição, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizada por** o referido glutaraldeído e o referido

inibidor metabólico estarem cada um presentes na composição em uma concentração na faixa de 0,1 mM a 2 mM.

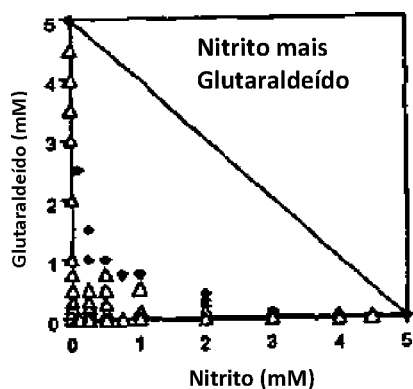


FIG. 1

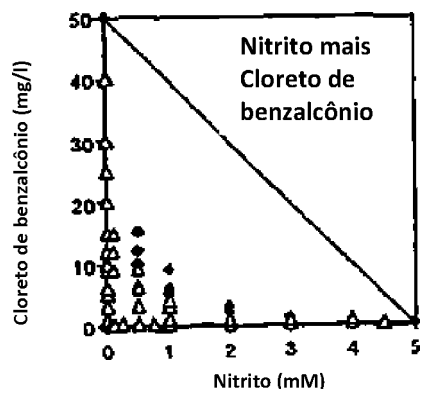


FIG. 2

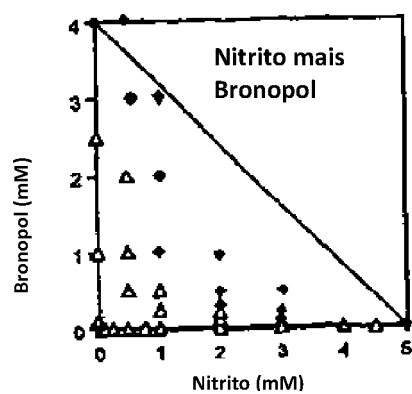


FIG. 3

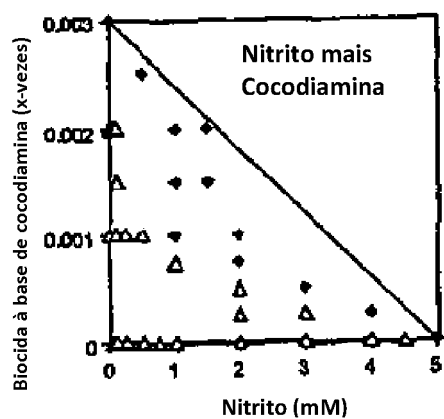


FIG. 4

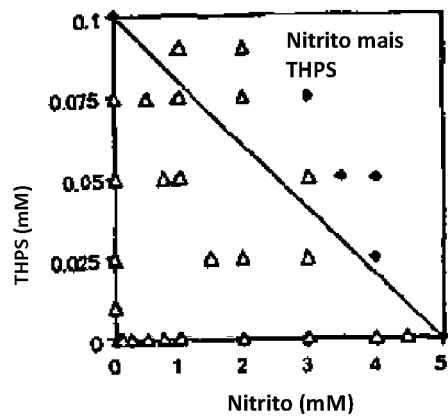


FIG. 5

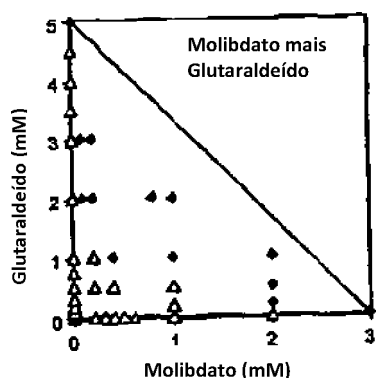


FIG. 6

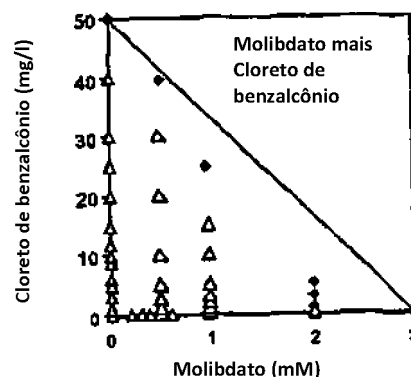


FIG. 7

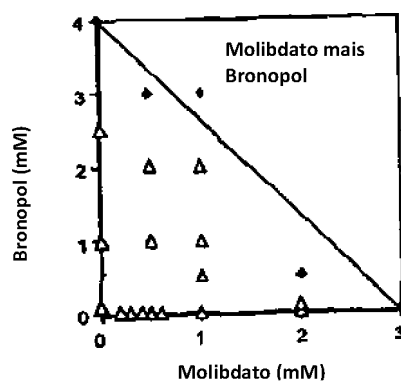


FIG. 8

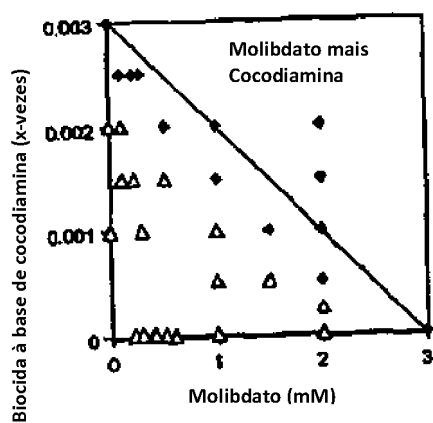


FIG. 9

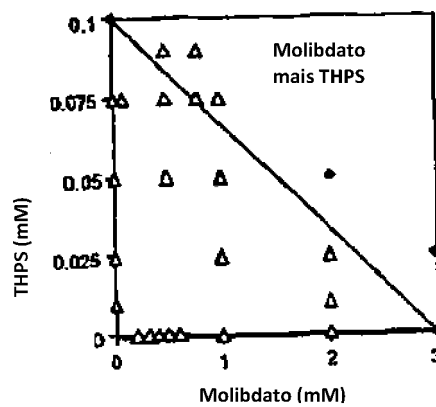


FIG. 10