

**[54] SOLUBILIZACIÓN DE MATERIALES ORGÁNICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

[75] Inventor: **John M. Wong; Thomas J. Lowe**, ambos de Lakewood, Ohio  
 [73] Apoderado: **General Enviromental Science**, Beachwood, Ohio.  
 [21] No. Aplicación: **125,388**  
 [22] Archivado: **25 de Noviembre de 1987**  
 [51] Int. Cl.<sup>4</sup> ..... **C02F 3/34**  
 [52] U.S. Cl. .... **210/606; 210/610; 210/632**  
 [58] Campo de Búsqueda: 210/606, 610, 611, 620, 210/632

**[56] Referencias Citadas**

**DOCUMENTOS DE PATENTES DE ESTADOS UNIDOS**

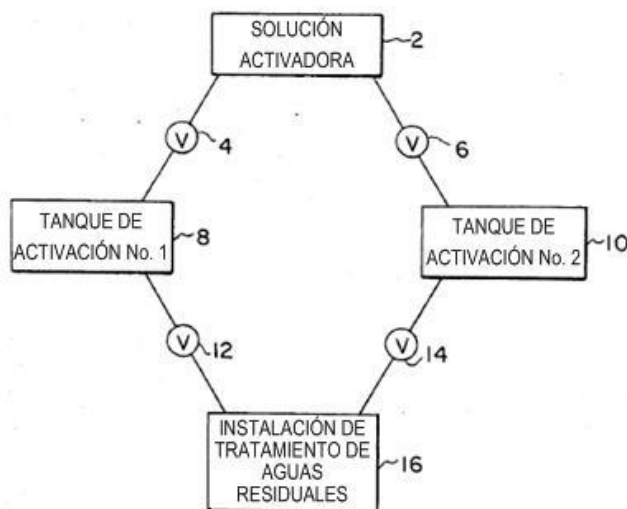
3,801,499	4/1974	Luck .....	210/606
3,961,078	6/1976	Stitt .....	210/610 X
4,018,650	4/1977	Busta y otros.....	210/611 X
4,081,367	3/1978	Hulls y otros.....	210/610
4,332,904	6/1982	Kurane y otros l.....	210/611 X

*Examinador Principal* - Tom Wyse

*Abogado, Agente, o Firma* - Birch, Stewart, Kolasch & Birch

**[57] RESUMEN**

Un método para solubilizar material particulado o coloidal en el tratamiento de aguas residuales que comprende los pasos de cultivo de las bacterias aeróbicas en presencia de oxígeno en una solución activadora que contiene la fuente de alimento hasta que el nivel de la fuente de alimento caiga por debajo de 50 mg/l de la demanda química soluble de oxígeno (DQOs) y dichas bacterias empiecen a producir cantidades acentuadas de enzimas que solubilizan el material particulado o coloidal, y de esta manera, producir bacterias activadas y después, hacer que hagan contacto dichas bacterias activadas o enzimas con dicho material particulado o coloidal bajo condiciones que solubilizan dicho material particulado o coloidal. El método es particularmente útil para solubilizar material particulado y(o) coloidal que contiene almidones insolubles, grasas, y proteínas con enzimas tales como amilasa, lipasa y proteasa.



**10 Reivindicaciones, 2 Hojas de Dibujos**

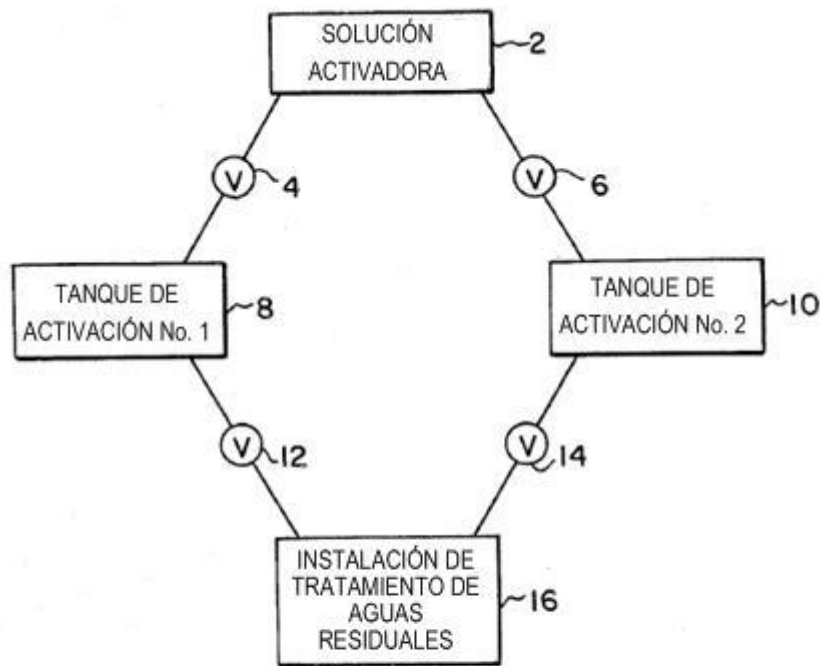
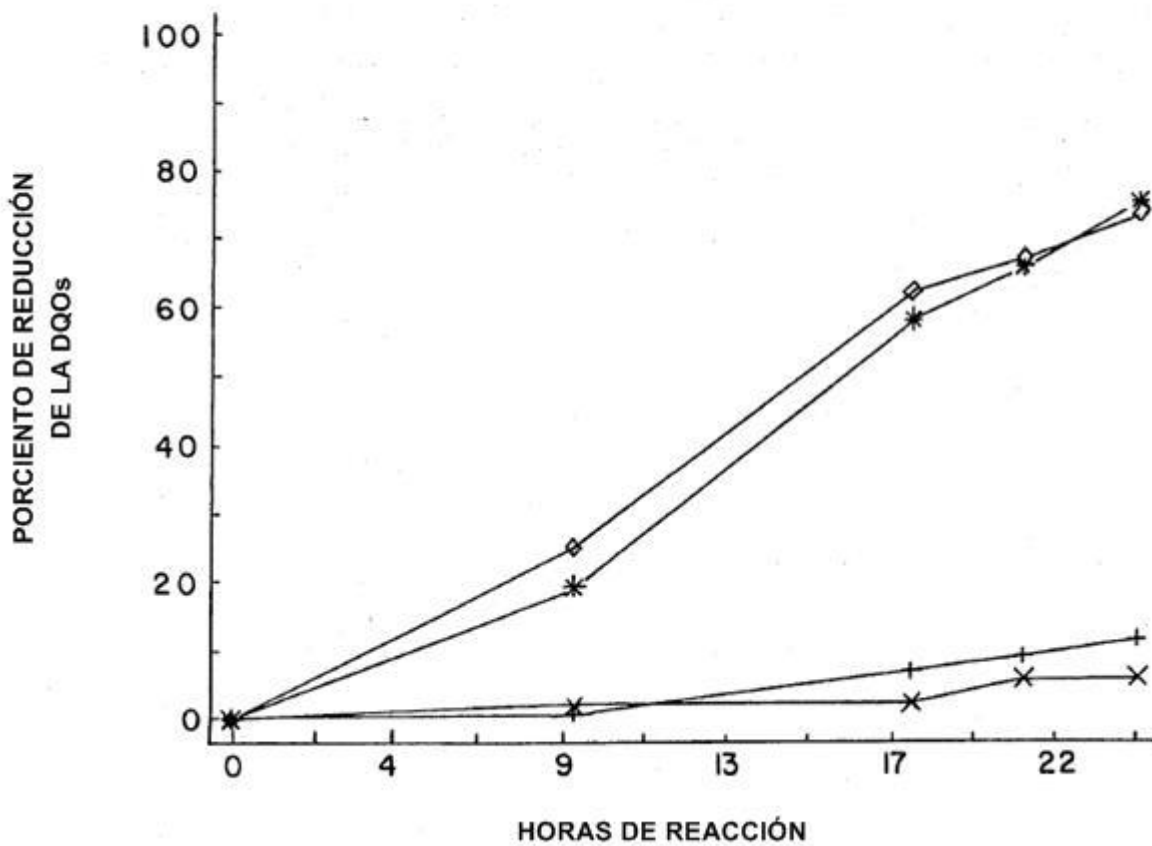


FIG. 1

FIG. 2



## **SOLUBILIZACIÓN DE MATERIALES ORGÁNICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

### **CAMPO DE LA INVENCIÓN**

5 La presente invención está relacionada con la solubilización de material particulado y(o) coloidal y particularmente, con el tratamiento de aguas residuales.

### **ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

10 La mayoría del tratamiento de aguas residuales a nivel municipal e industrial se realiza por medios biológicos. El tratamiento biológico aeróbico de aguas residuales constituye un proceso en el cual una suspensión aeróbica de microorganismos remueve la materia orgánica contenida en el agua residual. Los microorganismos son después separados del agua residual tratada, generalmente, por sedimentación. Las aguas residuales municipales y la mayoría de las industriales contienen materia orgánica tanto soluble como insoluble. La eliminación de los componentes solubles la realizan en primer lugar las bacterias. Las dimensiones de las bacterias oscilan entre 0.5 y 10 micrones de diámetro, estando rodeadas por una pared celular que les da integridad estructural. La pared celular funciona como una barrera semipermeable que permite el paso de componentes solubles mientras que evita que la traspasen moléculas de peso molecular aproximado igual o mayor de 5,000 gramos/gramos mole. Por consiguiente, las bacterias son incapaces de consumir directamente orgánicos coloidales e insolubles. Por lo tanto, la eliminación de material coloidal insoluble constituye un problema en el tratamiento de aguas residuales. Una vía para eliminar estos materiales consiste en su tratamiento físico, o sea en la adición de un agente floculante a las aguas residuales para provocar la aglutinación del material coloidal insoluble y su sedimentación. Otro método consiste en solubilizar los materiales al adicionar enzimas y(o) bacterias que producen enzimas que solubilizan dichos materiales. Sin embargo, resulta difícil disolver todos los materiales orgánicos insolubles y por lo tanto, existe la necesidad de un proceso perfeccionado que solubilice los materiales orgánicos insolubles durante el tratamiento de aguas residuales.

### **RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

30 La presente invención está relacionada con un método para solubilizar material particulado o coloidal durante el tratamiento de aguas residuales el cual comprende los pasos de cultivo de las bacterias aeróbicas en presencia de oxígeno en una solución activadora que contiene la fuente de alimento hasta que el nivel de la fuente de alimento descienda lo suficiente para hacer que dichas bacterias empiecen a producir cantidades acentuadas de enzimas que solubilizan el material particulado o coloidal, y de esta manera, producir bacterias activadas y hacer contactar dichas bacterias o enzimas con dicho material particulado o coloidal bajo condiciones que solubilizan dicho material particulado o coloidal. Cuando los nutrientes solubles se ha consumidos, las bacterias comienzan a producir cantidades acentuadas de enzimas extracelulares que solubilizan sustancias orgánicas insolubles tales como almidones, grasas y(o) proteínas convirtiendo de esta forma las sustancias orgánicas insolubles en componentes solubles que pueden ser usados como fuente de alimento por las bacterias. Si las sustancias orgánicas insolubles no están presentes en el dispositivo activador, las bacterias continuarán muriendo de inanición y las enzimas extracelulares se acumularán en el dispositivo activador. El método es particularmente útil para el tratamiento de aguas residuales que contengan material particulado y(o) coloidal y para la limpieza de conductos que tengan grasas depositadas en su interior.

45 De manera preferente, la presente invención está dirigida a métodos continuos de

solubilización de material particulado o coloidal en el tratamiento de aguas residuales, comprendiendo los pasos de (a) cultivo de bacterias aeróbicas en un primer tanque de activación en presencia de oxígeno en una solución activadora que contiene una fuente de alimentación para una cantidad dada de tiempo hasta que el nivel de alimento caiga lo suficiente para ocasionar que dichas bacterias comiencen a producir cantidades acentuadas de enzimas que solubilizan el material particulado o coloidal y de esta forma, producir bacterias activadas; (b) después cultivar las bacterias aeróbicas en un segundo tanque de activación, bajo las mismas condiciones y por la misma cantidad de tiempo que las bacterias en dicho primer tanque de activación, mientras continuamente se introducen dichas bacterias activadas y(o) enzimas en dicho primer tanque de activación a la zona de tratamiento de residuos haciendo contactar continuamente dichas bacteria activadas y(o) enzimas con dicho material particulado o coloidal en dicha zona de tratamiento de residuos bajo condiciones que solubilizan el material particulado o coloidal; (c) posteriormente, continuar introduciendo dichas bacterias activadas en y(o) enzimas en dicho segundo tanque de activación hacia dicha zona de tratamiento de residuales, haciendo contactar continuamente dichas bacteria activadas y(o) enzimas con dicho material particulado o coloidal en dicha zona de tratamiento de residuos bajo condiciones que solubilizan dicho material particulado o coloidal, mientras de manera simultánea continúan activándose bacterias aeróbicas adicionales en dicho primer tanque de activación; y (d) repetir los pasos (b) y (c) según sea necesario para de esta forma continuar entregando bacterias activadas y(o) enzimas a dicha zona de tratamiento de residuales. Este proceso continuo puede emplear más de dos tanques de activación, si se desea, con el objetivo de enviar continuamente bacterias activadas y(o) enzimas a dicha zona de reacción.

El material particulado y coloidal que puede ser solubilizado incluye materias tales como grasas, almidones y proteínas. Esta invención está especialmente relacionada con la solubilización de material particulado y coloidal que no puede pasar a través de la pared celular de las bacterias aeróbicas, particularmente, aquellas que tienen un peso molecular aproximadamente igual o mayor de 5,000 gramos/gramos mole, y más específicamente, con aquellas que tienen un peso molecular aproximado de al menos 10,000 gramos/gramos mole.

Las bacterias aeróbicas que son aprovechables son aquellas que producen enzimas extracelulares que solubilizan dicho material particulado o coloidal y que producen cantidades acentuadas de enzimas extracelulares cuando están en estado de inanición, es decir, cuando son cultivadas en una solución nutriente y después que la fuente de alimentación soluble ha sido consumida. Las enzimas que son útiles para este propósito incluyen la lipasa que solubiliza las grasas, la amilasa que solubiliza los almidones y la proteasa que solubiliza las proteínas. Entre las bacterias aeróbicas adecuadas se incluyen las *Pseudomonas* que producen lipasa, las *Bacillus* que producen amilasa y(o) proteasa. Las bacterias se pueden usar individualmente o combinadas.

Las bacterias son activadas al ser cultivadas en un ambiente aeróbico y en presencia de una solución activadora, lográndose así la multiplicación bacterial. Las bacterias se cultivan en la solución activadora hasta que la fuente primaria soluble de alimento, como el azúcar en el medio nutriente, se consuma. La cantidad de fuente de alimento soluble, nutrientes, medio de cultivo y bacterias, preferentemente, se deben seleccionar de manera que la fuente de alimentación se consuma en alrededor de 8 a 40 horas, preferiblemente de 16 a 32 horas, mejor aún inclusive, en 24 horas. La demanda química soluble de oxígeno (DQOs) de la solución activadora es usualmente al menos aproximadamente de 50 miligramos por litro (mg/l), generalmente, de 50 a 1000 mg/l, preferiblemente de 100 a 300 mg/l, mejor aún inclusive, de 150 mg/l.

Cuando la DQOs de la fuente de alimento soluble cae por debajo de 50 mg/l, las bacterias se convierten en activas y comienzan a producir cantidades acentuadas de enzimas extracelulares. Las bacterias son después cultivadas bajo condiciones de inanición hasta que se alcance el nivel deseado de producción de enzimas extracelulares. El cultivo continua bajo estas condiciones de inanición por alrededor de 12 a 96 horas, preferiblemente cerca de 16 a 72 horas, mejor aún inclusive, durante aproximadamente 24 a 48 horas. La solución activadora que contiene las enzimas, y preferiblemente también conteniendo las bacterias activadas, hace contacto posteriormente con el material particulado o coloidal para solubizarlo de manera convencional.

La solución activadora contiene preferiblemente una fuente primaria y soluble de alimentación tales como azúcares, ácidos orgánicos, extracto de levadura y aminoácidos, así como micronutrientes esenciales tales como sales minerales básicas. Las sales minerales que frecuentemente están presentes, incluyen  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{MgSO}_4$ . Las células de levaduras autodisueeltas son especialmente útiles para proporcionar la fuente de alimentación.

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 constituye un diagrama de flujo que representa un sistema preferente para realizar el proceso de la presente invención en el cual se utilizan dos tanques de activación y,

La FIG. 2 es un gráfico donde se muestra el porciento de la DQOs contra el tiempo reportado por los experimentos en el ejemplo.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tal y como se muestra en la FIG. 1, la solución activadora depositada en el tanque de almacenamiento **2** puede ser de manera alterna enviada por las válvulas **4** y **5** hacia los tanques aireados de activación **8** y **10**. Las bacterias activadas pueden ser suministradas desde los tanques **8** y **10**, a través de las válvulas **12** y **14**, hacia el área donde tendrá lugar la solubilización, como por ejemplo, la instalación de tratamiento de aguas residuales **16**.

En una representación preferida, la solución activadora y las bacterias se introducen en el tanque **8** para formar una DQOs inicial de cerca de 120 mg/l. Se realiza el cultivo por cerca de 24 horas en el tanque **8**, mientras se oxigena la solución hasta que el nivel de la DQO soluble alcance los 50 mg/l. En este momento, el tanque **10** se llena con solución activadora y bacterias de la misma manera que se hizo con el tanque **8** en el instante de tiempo cero. Durante las próximas 24 horas se continúa con el cultivo en el tanque **10** sin descargarlo, mientras que el tanque **8** se va descargando continuamente hacia la instalación de tratamiento de aguas residuales **16**. Entonces, en ese instante de tiempo ( $t=48$  horas), el tanque **8** se reabastece y comienza la descarga del tanque **10** hacia la instalación de tratamiento de aguas residuales **16**. De esta manera, las bacterias activadas pueden ser enviadas hacia la instalación de tratamiento de aguas residuales **16** con un ciclo continuo al alternar el suministro de bacterias hacia la instalación desde los tanques **8** y **10** cada 24 horas.

### EJEMPLO

Los siguientes experimentos se realizaron para demostrar la capacidad superior que representa el proceso de activación para la degradación de macromoléculas.

## II. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN Y CULTIVO

### A. *Bacillus* de Pura Cepa que Produce Amilasa y Proteasa

5 Se obtuvo *Bacillus amyloliquefaciens* de la *American Type Culture Collection* (ATCC) (Colección de Cultivos Tipo de EE.UU.). El número de la cepa del ATCC fue 23842. Esta bacterias fueron cultivadas de manera aeróbica en suspensión líquida (véase Medio de Crecimiento Bacterial, parte C, más adelante) y se preservaron para uso futuro de acuerdo con los métodos de la patente de EE.UU, No. 3,963,576, la cual ha sido incluida aquí como referencia.

### B. *Aerobacter aerogenes* de Pura Cepa

10 Los *aerobacter aerogenes* que no producen enzimas extracelulares (ATCC 13906) fueron transferidos a un Medio de Crecimiento Bacterial, se cultivaron de manera aeróbica y se preservaron de acuerdo con los métodos de la patente de EE.UU, No. 3,963,576,

### C. Medio de Crecimiento Bacterial

15 Todos los cultivos ATCC descritos en este documento fueron cultivados a partir de muestras liofilizadas suministrados por ATCC en suspensiones bacteriales acuosas usando los siguientes medios de crecimiento:

Formulación de Medio de Crecimiento Bacterial

Químicos	Concentración (mg/l)
NH <sub>4</sub> Cl	200
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	200
MgSO <sub>4</sub>	50
CH <sub>3</sub> COONa	750
Extracto de Levadura	750

20 Los materiales anteriores fueron disueltos en 90% de agua desionizada y 10% de agua de grifo (para suministrar micronutrientes), además fueron esterilizados en autoclave durante 30 minutos y a 15 libras de presión de vapor.

### D. Compuesto Activador

Se preparó un stock de compuesto activador como se describe a continuación:

Químicos	Concentración (mg/l)
Extracto de Levadura	15
NH <sub>4</sub> Cl	4
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	4
MgSO <sub>4</sub>	4
Agua destilada	1 litro

### E. Medio Macromolecular

25 Se preparó una solución conteniendo una macromolécula orgánica como fuente de carbono primario tal y como se describe a continuación:

Químicos	Concentración (mg/l)
Caseína	150
Almidón soluble	150
MgSO <sub>4</sub>	10
NH <sub>4</sub> Cl	50
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10
Extracto de Levadura	10
CH <sub>3</sub> COONa	10

Los materiales anteriores fueron disueltos en 90% de agua desionizada y 10% de agua de grifo (para suministrar micronutrientes), además fueron esterilizados en autoclave durante 30 minutos y a 15 libras de presión de vapor.

## 5 F. Estandarización de las Suspensiones Bacteriales

Las suspensiones bacteriales acuosas (de las partes A y B) fueron colocadas en placas de recuento estandarizadas para determinar la población bacteriana viable. Después, se añadió agua desionizada esterilizada en autoclave a cada suspensión para ajustar la concentración de células viables a  $1 \times 10^8$  células/cc.

## 10 II. ENSAYO INICIAL DE DEGRADACIÓN MACROMOLECULAR

### A. Introducción

15 Las suspensiones de *Bacillus* y *Aerobacter* fueron reaccionadas aeróbicamente con el medio macromolecular. Tanto la caseína como el almidón soluble poseen un peso molecular mayor de 10,000 gramos/gramos mole. Para que las bacterias crezcan en caseína y almidón soluble, los compuestos de alto peso molecular deben ser solubilizados a compuestos de bajo peso molecular, de manera que estos compuestos puedan pasar a través de la pared celular bacteriana.

20 Asumiendo que ocurra la solubilización, las bacterias absorberán los aminoácidos, péptidos y azúcares que son liberados por la solubilización. A continuación se usa un filtro de 0.45 micrones para separar las bacterias del medio de crecimiento, hasta que todos los restantes componentes del medio inicial de crecimiento pasen a través del filtro de 0.45 micrones. Definiendo el DQO (DQOs) como DQO del filtrado, el DQO de la mezcla de reacción debe cambiar durante el curso del crecimiento aeróbico. Si las bacterias producen amilasa y proteasa que originan la solubilización de las macromoléculas, las bacterias absorberán los compuestos de bajo peso molecular lo que resulta en hidrólisis enzimática haciendo decrecer el DQO en el tiempo. Si las bacterias no producen las enzimas extracelulares adecuadas, el DQO no cambiará al pasar el tiempo.

### B. Procedimiento

Las siguientes mezclas de reacción fueron preparadas como se describe a continuación:

	Recipiente de Reacción A	Recipiente de Reacción B
Medio macromolecular	990 ml	990 ml
Suspensión de <i>Bacillus</i>	10 ml	--
Suspensión de <i>Aerobacter</i>	--	10 ml
Recuento bacteriano inicial	$1 \times 10^6$ células/cc	$1 \times 10^6$ células/cc



4,882,059

Cada recipiente de reacción fue oxigenado y se realizaron mediciones en el tiempo de la DQOs, de la densidad óptica (D.O.) y del recuento de células.

### C. Resultados

Horas de Reacción	Recipiente de Reacción A			Recipiente de Reacción B		
	D.O.	DQOs	Recuento de células	D.O.	DQOs	Recuento de células
0	0.04	425	$1 \times 10^6$ /cc	0.03	425	$1 \times 10^6$ /cc
4	0.04	410	--	0.05	420	--
8	0.04	400	--	0.05	420	--
12	0.08	360	--	0.04	420	--
16	0.10	320	--	0.04	420	--
20	0.12	280	--	0.04	410	--
24	0.15	250	--	0.04	410	--
30	0.22	150	--	0.03	400	--
36	0.32	40	$3 \times 10^6$ /cc	0.02	400	$0.2 \times 10^6$ /cc

5 Estos datos muestran que el *Bacillus* que produce proteasa y amilasa degradó el medio macromolecular, mientras que el *Aerobacter* sin producción de enzimas extracelulares no lo hizo.

### III. PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN BACTERIAL ACTIVADA

Las suspensiones bacteriales fueron preparadas como sigue:

Agua de grifo	931 ml
Compuesto activador	9 ml
Suspensión de <i>Aerobacter</i>	--
Suspensión de <i>Bacillus</i>	60 ml

10 La suspensión fue oxigenada. Los cambios que ocurrieron durante la reacción fueron los que siguen:

Horas de Oxigenación	DQOs (mg/l)	Recuento de células Viables
0	150	$6 \times 10^6$
4	120	--
8	50	--
12	30	--
18	35	--
24	25	--
30	40	--
36	35	$2 \times 10^6$

15 La activación se define como el proceso de aireación de bacterias que producen exoenzimas en un caldo nutriente hasta el momento en que dichas bacterias comienzan la producción de un alto nivel de exoenzimas. Una suspensión bacteriana activada se define como aquella que ha sido cultivada aeróbicamente hasta que la DQOs ha descendido hasta 50 mg/l o menos. Se tomaron muestras de esta suspensión a 2, 4 y 24 horas de su activación y fueron usadas en los ensayos de degradación macromolecular que siguen.

#### IV. USO DE LA SUSPENSIÓN BACTERIAL ACTIVADA PARA ACELERAR LA DEGRADACIÓN MACROMOLECULAR

Se prepararon los siguientes recipientes de reacción para comprobar la capacidad de bajas dosis de suspensión bacteriana activada para acelerar la degradación macromolecular:

	A	B	C	D
Suspensión de <i>Aerobacter</i>	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
Suspensión de <i>Bacillus</i>	--	--	--	--
Muestreada a:				
a. 2 horas de aireación	--	0.01 ml	--	--
b. 8 horas de aireación	--	--	0.01 ml	--
c. 24 horas de aireación	--	--	--	0.01 ml
Volumen del Medio Macromolecular (ml)	990	990	990	990

- 5 Los cambios en la DQOs de los recipientes anteriores durante el curso de la reacción aeróbica se dan a continuación:

Horas de la Reacción Aeróbica	DQOs Restante en los Recipientes en Reacción			
	A	B	C	D
0	425	425	425	425
9	420	420	345	320
18	420	400	180	165
21	405	390	150	145
24	405	380	110	120

La FIG. 2 es un resumen de los resultados en el cual se muestra el porcentaje de reducción de la DQOs contra el tiempo para los cuatro recipientes de reacción.

El gráfico muestra que:

- 10 1. La adición de *Aerobacter* solo no reduce la DQOs.
2. La adición de 10 ppm de *Bacillus* activado por cuatro horas (antes que la DQOs en el tanque de activación fuera agotada) mejoró la reducción de la DQOs cerca del 5% en 24 horas.
- 15 3. Tanto para 8 horas como para 24, el *Bacillus* activado, cada uno de los cuales tenía la DQOs menor de 50 mg/l cuando fueron tomadas las muestras del tanque de activación, mejoraron la reducción de la DQOs en alrededor del 70%.

20 Es importante hacer notar que 10,000 ppm de *Bacillus* inactivo originó una reducción de la DQOs en aproximadamente un 40% en 24 horas (según se analiza en el Ejemplo de la Sección II, parte C), mientras que el 70% de reducción se logró en 24 horas con la adición de solo 10 ppm de *Bacillus* activado.

25 Por último, existen otros beneficios asociados a la mejora de la solubilización de coloides y partículas. Estos beneficios resultarán obvios a aquellos que son expertos en la materia, incluyendo el incremento de la capacidad de carga orgánica aparente de ciertas plantas de aguas residuales, la reducción de la generación de sedimentos, especialmente cuando los sedimentos (antes del tratamiento con la presente invención) sustancialmente están integrados por compuestos orgánicos coloidales y particulados de baja gradación.

## Reivindicaciones:

1. Un método para la solubilización de material particulado o coloidal durante el tratamiento de aguas residuales, que comprende los pasos de:
  - 5 cultivo de las bacterias aeróbicas en presencia de oxígeno en una solución activadora que contiene una fuente de alimento hasta que el nivel de la fuente de alimento se haga demasiado bajo para hacer que dichas bacterias empiecen a producir cantidades acentuadas de enzimas que solubilizan el material particulado o coloidal, y de esta manera, producir bacterias activadas y
  - 10 hacer que hagan contacto dichas bacterias activadas o dichas enzimas con dicho material particulado o coloidal bajo condiciones que solubilicen dicho material particulado o coloidal.
2. El método de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias son cultivadas en dicha solución activadora hasta que la DQO soluble en dicha solución cae por debajo e 50 mg/l.
3. El método de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias activadas y enzimas hacen  
15 contacto con las aguas residuales que contienen dicho material particulado o coloidal.
4. El método de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias activadas y enzimas se introducen en un conducto que contiene grasas como dicho material particulado o coloidal.
5. El método de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias producen amilasa y(o) proteasa.
- 20 6. El método de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias producen lipasa.
7. El método continuo para solubilizar material particulado o coloidal durante el tratamiento de aguas residuales que comprende los pasos de
  - 25 (a) cultivo de bacterias aeróbicas en un primer tanque de activación en presencia de oxígeno en una solución activadora que contiene una fuente de alimentación para una cantidad dada de tiempo hasta que el nivel de alimento caiga lo suficiente para ocasionar que dichas bacterias comiencen a producir cantidades acentuadas de enzimas que solubilizan el material particulado o coloidal y de esta forma, producir bacterias activadas;
  - 30 (b) después cultivar las bacterias aeróbicas en un segundo tanque de activación, bajo las mismas condiciones y por la misma cantidad de tiempo que las bacterias en dicho primer tanque de activación, mientras continuamente se introducen dichas bacterias activadas y(o) enzimas en dicho primer tanque de activación a la zona de tratamiento de residuos haciendo contactar continuamente dichas bacteria activadas y(o) enzimas con dicho material particulado o coloidal en dicha zona de tratamiento de residuos bajo  
35 condiciones que solubilizan el material particulado o coloidal;
  - (c) posteriormente, continuar introduciendo dichas bacterias activadas en y(o) enzimas en dicho segundo tanque de activación hacia dicha zona de tratamiento de residuales, haciendo contactar continuamente dichas bacteria activadas y(o) enzimas con dicho material particulado o coloidal en dicha zona de tratamiento de residuos bajo  
40 condiciones que solubilizan dicho material particulado o coloidal, mientras de manera simultánea continúan activándose bacterias aeróbicas adicionales en dicho primer tanque de activación; y

4,882,059

(d) repetir los pasos (b) y (c) según sea necesario para de esta forma continuar entregando bacterias activadas y(o) enzimas a dicha zona de tratamiento de residuales.

8. El método de la reivindicación 7, en la que la cantidad de tiempo dada es de 8 a 40 horas.

5 9. El método de la reivindicación 7, en la que la cantidad de tiempo dada es de 16 a 32 horas.

10. El método de la reivindicación 7, en la que cantidad de tiempo dada es de 24 horas.

\* \* \* \* \*