

[54] **GEL A BASE DE POLÍMEROS Y BACTERIAS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES**

[75] Inventores: **John M. Wong, Thomas J. Lowe, ambos de Lakewood, Therese J. Schleiden, Richfield, todos de Ohio**

[73] Apoderado: **General Environmental Science, Ohio.**

[21] No. Aplicación: **811,539**

[22] Archivado: **20 de diciembre de 1991**

[51] Int. Cl.⁵**C02F 3/00**; C02F 3/02; C12N 11/00; C12N 11/10

[52] U.S. Cl.....**210/606**; 210/610; 210/611; 210/620; 435/174; 435/175; 435/176; 435/ 178; 435/182; 435/262.5; 435/288

[58] Campo de Búsqueda: **435/174**, 176, 177, 178, 435/180, 182, 262.5, 175, 288; 210/606, 610, 611, 620

[56] Referencias Citadas

DOCUMENTOS DE PATENTES DE ESTADOS UNIDOS

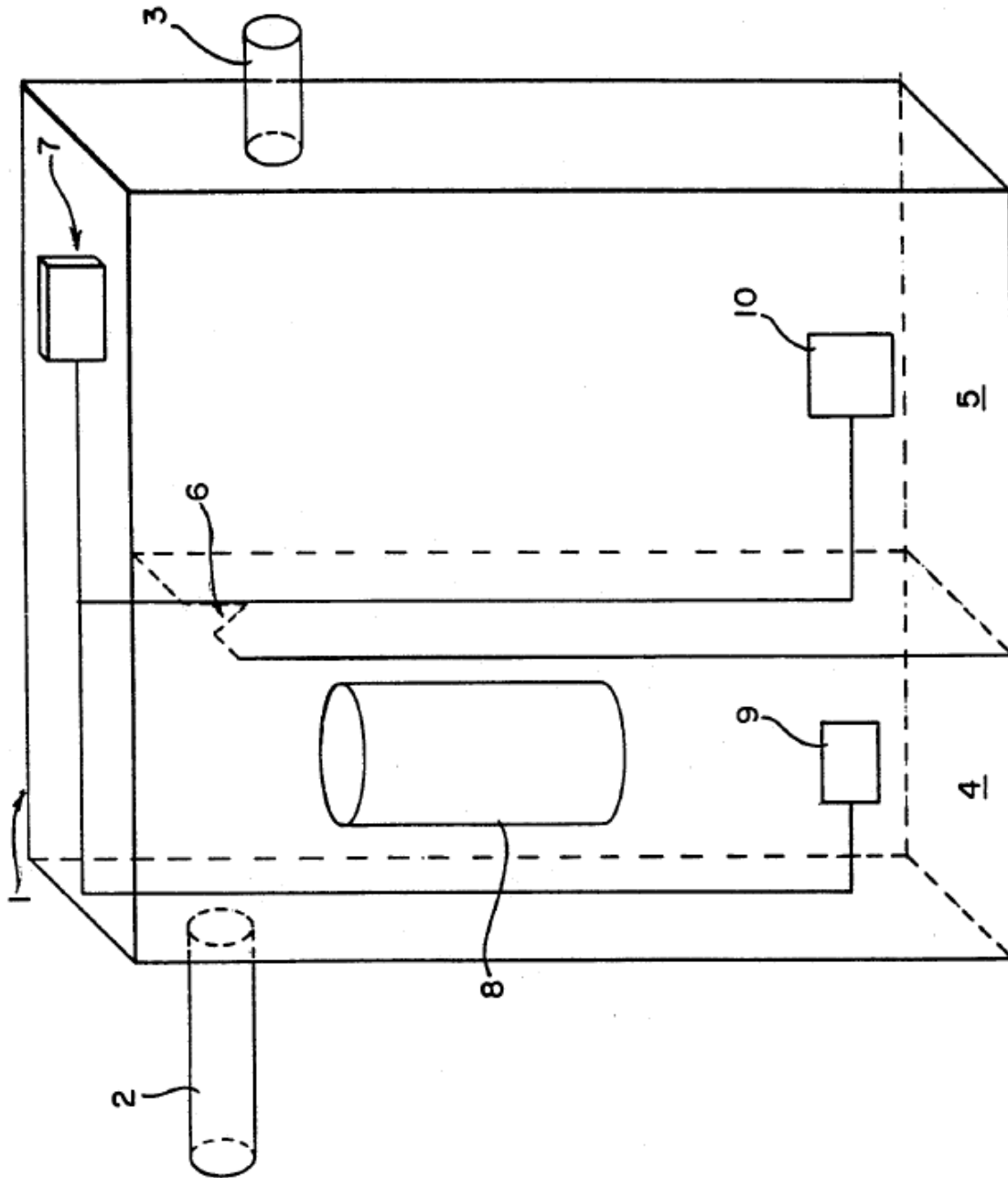
3,767,790	10/1973	Gutttag	435/ 182 X
3,963,576	6/ 1976	Horsfall, Ill otros.....	195/59
4,321,141	3/1982	Messing.....	210/603
4,416,993	11/1983	McKeown.....	435/243
4,634,672	1/1987	Baumgarten y otros.....	435/180 X
4,673,505	6/1987	Wong y otros.....	210/611
4,746,435	5/1988	Onishi y otros	210/615
4,810,385	3/1989	Hater y otros	210/606
4,882,059	11/1989	Wong y otros.....	210/606
4,885,094	12/1989	Srinivasan et al.....	210/610
4,925,564	5/1990	Francis	210/608
4,929,484	S/1990	Basse	428/53
4,940,539	7/1990	Weber	210/149

Examinador Principal - David M. Naff

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

[57] **RESUMEN**

Se proporciona un gel a base de dos componentes poliméricos y bacterias para solubilizar el material orgánico particulado o coloidal en aguas residuales. El gel contiene una menor cantidad de un componente polimérico que resulta difícil de solubilizar por las bacterias contenidas en el gel y una mayor cantidad de otro componente polimérico que es más fácil de solubilizar por las bacterias en el gel. El gel contiene bacterias para el material solubilizante presente en aguas residuales y para solubilizar el gel y los nutrientes para las bacterias. El gel también contiene un inhibidor bacterial, tal como sulfuro de sodio o azida de sodio, el cual se puede propagar fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua para permitir que se disuelva el gel al nivel de dicha interfaz, al mismo tiempo que se preserva de disolverse prematuramente una región interna de este gel. El gel se coloca en un recipiente a través del cual circula el agua residual haciendo contacto con el mismo. El inhibidor se difunde fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua y las bacterias disuelven el gel en la interfaz para liberar las bacterias que producen enzimas extracelulares para disolver el material contenido en el agua residual.



GEL A BASE DE POLÍMEROS Y BACTERIAS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

1. Campo de la Invención

5 La presente invención está relacionada con un sistema y un método para mejorar la solubilización del material orgánico particulado y coloidal en aguas residuales. La presente invención constituye un sistema conveniente y efectivo de preparación y distribución de bacterias y enzimas extracelulares hidrolíticas para el mejoramiento del tratamiento de aguas residuales. El uso de esta invención redundará en el incremento de los índices de solubilización de las partículas y de los compuestos coloidales orgánicos. Esta invención representa un sistema de liberación lenta basado en un gel que puede funcionar de manera efectiva durante 10 30 días sin atención de un operador.

2. Descripción de la Técnica Relacionada

15 En la patente de EE.UU. No. 4,882,059 se da a conocer un método para la preparación de bacterias aeróbicas y facultativas tales como aquellas que producen el incremento de enzimas extracelulares y por consiguiente, mejoran la solubilización de compuestos orgánicos en el tratamiento de aguas residuales. El proceso (referido como un proceso de activación) requiere ya sea de la atención diaria de un operador o de un alto grado de automatización del proceso. Existen muchas instalaciones de tratamiento de aguas residuales que requieren mejorar la 20 solubilización de los materiales orgánicos, pero no pueden emplear de manera efectiva el método descrito en la Patente de EE.UU. No. 4,882,059.

Por ejemplo, muchas villas, zonas para casas móviles, complejos de apartamentos, etc. poseen pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) las cuales procesan menos de 100,000 galones por día (gpd) de aguas residuales. Con frecuencia estas 25 instalaciones no pueden emplear sistemas de control de procesos automatizados y están dotadas de personal solo por una hora o por un día, de manera que los métodos de tratamiento de aguas residuales que requieran de la atención de un operador no pueden ser empleados. Otros ejemplos de sistemas de tratamiento menos sofisticados incluyen trampas de grasa en restaurantes, tanques sépticos, estaciones de bombeo en sistemas colectores de PTAR.

30 Por consiguiente, se desea desarrollar un sistema para el tratamiento de aguas residuales y un método que consideren un control de proceso automatizado reducido y la atención mínima de un operador.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

35 La presente invención está relacionada con un sistema y un método para la solubilización de material orgánico particulado y coloidal en sistemas de tratamiento de aguas residuales. El sistema incluye un gel con contenido de bacterias las cuales pueden producir enzimas extracelulares capaces de solubilizar material orgánico particulado y coloidal, nutrientes que contribuyen al crecimiento de dichas bacterias, al menos una masa formada por gel que contiene dichas bacterias y los nutrientes, al menos un inhibidor bacteriano contenido en dicho 40 gel para evitar que una porción interior del mismo se disuelva y un recipiente que proporciona un medio aeróbico y acuoso para dicho sistema con el fin de inducir la producción de bacterias activadas y la síntesis de enzimas extracelulares.

La presente invención también comprende un método para solubilizar el material particulado y coloidal en sistemas de tratamiento de aguas residuales, el cual incluye los pasos

para proveer las bacterias contenidas en el gel, las cuales pueden producir las enzimas extracelulares que solubilizan el material orgánico particulado y coloidal, los nutrientes para facilitar el crecimiento de dichas bacterias, al menos una masa formada por el gel, la cual contiene dichas bacterias y nutrientes, y al menos un inhibidor bacterial contenido en dicho gel para prevenir que una porción interior de dicho gel se disuelva, en el que dichas bacterias cerca de la superficie del sistema compuesto por dicho gel se liberan hacia el medio acuoso bajo condiciones en las cuales dichas bacterias activadas producen una cantidad acentuada de enzimas extracelulares que solubilizan el material orgánico particulado y coloidal, y hacen contacto las bacterias activadas o las enzimas con el material orgánico particulado y coloidal bajo condiciones en las que se solubiliza el material orgánico particulado y coloidal.

La presente invención puede llegar a ser mejor comprendida a partir de la descripción detallada dada a continuación y de los dibujos adjuntos los cuales se incluyen solo como ilustración, siendo por tanto, no limitativos a la presente invención.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LOS DIBUJOS

La única FIGURA es una vista esquemática de la representación del sistema bacterial automatizado de inyección de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tanto el sistema como el método de la presente invención requieren de los cinco siguientes componentes:

1. Las bacterias que producen las enzimas extracelulares que hidrolizan (solubilizan) el material orgánico particulado y coloidal.
2. Los nutrientes que facilitan el crecimiento de las bacterias incorporadas en el sistema y el método de la presente invención.
3. Un gel que mantiene las bacterias y los nutrientes.
4. Un inhibidor bacterial que se adiciona al gel para prevenir que las bacterias disuelvan el gel en su porción interior.
5. Un recipiente o "Inyector Bacterial Automatizado" (IBA) que proporciona el entorno aeróbico, acuoso y el tiempo de retención hidráulica necesaria para inducir un alto grado de síntesis de enzimas extracelulares en el sistema descrito anteriormente y conformado por gel y bacterias.

Las enzimas extracelulares que producen las bacterias se integran dentro del gel. Las bacterias incluyen al menos una especie capaz de solubilizar el gel. Un inhibidor bacterial tal como sulfuro de sodio o azida de sodio, como se describe en las patentes de EE.U. con números 3,963,576 y 4,673,505 respectivamente, incluidos en este documento como referencia, se adicionan al gel para evitar que este se disuelva rápidamente. El gel se coloca en un tanque aireado (IBA) que posee una entrada de agua y otra salida igual. El volumen del tanque es de una a dos veces el flujo diario de agua, proporcionando un tiempo de permanencia en el tanque de uno a dos días. Las bacterias, los nutrientes y el inhibidor se colocan dentro del tanque de aeración. El inhibidor al nivel de la interfaz gel-agua se esparce dentro del agua. Las bacterias cerca de la interfaz agua-gel están en una región de concentración reducida del inhibidor, por lo que estas bacterias se convierten en activas y comienzan a disolver el gel. En la medida que el gel se disuelve se liberan hacia el agua bacterias y nutrientes, mientras que el interior del gel permanece intacto.

Un aspecto significativo asociado al sistema y método de la presente invención radica en formular las bacterias, los nutrientes el inhibidor y el gel base de tal manera que una vez liberadas, las bacterias son sometidas a las condiciones apropiadas de activación descritas, por ejemplo en la patente de EE.UU. No. 4,882,059 que se incorpora a este documento como referencia, donde las bacterias producen cantidades acentuadas de enzimas extracelulares. Por ejemplo, las bacterias son sometidas a condiciones tales que el nivel de la fuente de alimento nutriente cae por debajo de 50 mg/l de la demanda química soluble de oxígeno (DQOs) y las bacterias comienzan a producir cantidades acentuadas de enzimas las cuales solubilizan el material particulado y coloidal produciendo así bacterias activadas. En lo sucesivo, las bacterias activadas o enzimas hacen contacto con el material particulado y coloidal bajo condiciones en que estos materiales son solubilizados. Las cantidades de fuente de alimento soluble, nutrientes, gel, inhibidor bacterial, medio de cultivo y bacterias son seleccionadas preferentemente de manera que la fuente de alimento sea usada por las bacterias en 8-40 horas, preferiblemente de 16-32 horas, aún mejor, cerca de 24 horas. La demanda química soluble de oxígeno (DQOs) del entorno es usualmente de alrededor de 50 miligramos por litro (mg/l), generalmente de 50 a 1000 mg/l, preferiblemente de 100 a 300 mg/l, aún más conveniente cerca de 150 mg/l.

También resulta significativo formular este sistema de manera que se requieran varios días para que el gel se disuelva completamente. El gel debe ser sustituido después de su agotamiento. Para que el sistema pueda ser usado en instalaciones de tratamiento de aguas residuales con un mínimo de fuerza laboral, el gel debe durar al menos varios días, preferiblemente de dos a cuatro semanas o más tiempo.

A continuación se realiza una descripción detallada de cada uno de los cinco componentes empleados en el sistema y método de la presente invención, seguido de los detalles de varios ejemplos correspondientes a la presente invención.

A. BACTERIAS

1. Requisitos Funcionales

Las bacterias empleadas en el sistema y método de la presente invención deben ser capaces de producir enzimas extracelulares. Las enzimas extracelulares deben ser capaces de degradar los ingredientes más comunes del agua: proteínas, almidones, grasas, y celulosa. (Publicación *Journal Water Pollution Control Federation* (Federación de Control de la Contaminación del Agua), Vol. 57, Número 7, paginas 805-816).

2. Características

Muchas bacterias son conocidas por producir enzimas extracelulares las cuales solubilizan estas macromoléculas. Por ejemplo, *Bacillus subtilis* es conocido por producir amilasa y proteasa (Publicación "*Bacteriological Review*" (Revisión Bacteriológica), Septiembre 1977, Vol. 41, No. 3, paginas 711-753), el *Bacillus licheniformis* produce lipasa (Publicación "*Journal Applied Bacteriology*" (Bacteriología Aplicada), Vol. 37, 571-581), mientras que las *Cellulomonas* son generalmente conocidas por hidrolizar la celulosa.

En la presente invención, las bacterias y los nutrientes son inmovilizados en el gel. Para proporcionar un tiempo de liberación de estas bacterias y nutrientes hacia el entorno aeróbico acuoso del IBA (en el cual las bacterias y los nutrientes contenidos en el gel se depositan), es favorable, aunque no necesario, incluir al menos una especie de bacteria que pueda solubilizar el gel.

Para proporcionar el mayor uso práctico, las bacterias incluidas no deben ser patógenas. Si el gel seleccionado requiere ser calentado antes de su formación, es más conveniente usar bacterias capaces de sobrevivir a temperaturas por encima de 80°C, tales como el *Bacillus* en esporas.

5 Las bacterias preferentes que pueden ser usadas para cumplir con las características funcionales y generales anteriores son las siguientes:

a. *Bacillus subtilis*

El *Bacillus subtilis* es conocido por producir amilasa y proteasa. También produce enzimas que degradan la gelatina. El *Bacillus subtilis* produce cantidades acentuadas de estas enzimas cuando se somete a condiciones de crecimiento en fase estacionaria o de muerte.

b. *Bacillus licheniformis*

El *Bacillus licheniformis* es conocido por producir lipasa en cantidades acentuadas bajo condiciones de crecimiento en fase estacionaria o de muerte.

c. *Cellulomonas sp*

15 La *Cellulomonas* degradan la celulosa que es bien conocida por los expertos en la técnica en ser el componente mayoritario de las aguas residuales.

d. *Acinetobacter lwoffii*

La *Acinetobacter lwoffii* produce cantidades acentuadas de lipasa bajo condiciones de crecimiento en fase estacionaria o de muerte.

20 Cada una de las bacterias anteriores no son patógenas y producen cantidades acentuadas de enzimas extracelulares bajo condiciones de crecimiento en fase estacionaria o de muerte.

Colectivamente, ellas son efectivas para acelerar la solubilización de los componentes macromoleculares de las aguas residuales municipales: almidones, proteínas, lípidos y celulosa.

25 B. NUTRIENTES

1. Requisitos Funcionales

Los nutrientes se consideran aquellos elementos atrapados en la matriz del gel al igual que el propio gel. Los nutrientes deben suministrarse para el rápido crecimiento de las bacterias de manera que las condiciones apropiadas de activación, como aquellas descritas en la patente de EE.UU. No. 4,882,059, puedan lograrse.

2. Características

Los nutrientes deben proporcionar carbono orgánico, amoníaco, aminoácidos, ortofosfato y micronutrientes. Las fuentes de carbono orgánico comúnmente usadas para promover el crecimiento bacteriano incluyen extracto de levadura, peptona, extracto de carne, *tryptone* y ácidos carboxílicos tales como ácido acético y ácido cítrico.

Los químicos inorgánicos pueden incluir cloruro de amonio, sulfato de amonio, potasio, fosfato de sodio y sulfato de magnesio. Una lista no exhaustiva de los nutrientes preferidos que cumplen con los requisitos listados incluye: extracto de levadura, acetato de sodio, cloruro de amonio, fosfato de potasio y sulfato de magnesio.

C. FORMULACIÓN DEL GEL

1. Requisitos Funcionales

El propósito del gel consiste en inmovilizar las bacterias y los nutrientes de manera que cada cual sea liberado lentamente al ser sometido al ambiente acuoso aeróbico del sistema de aplicación (IBA). El gel debe ser suficientemente estable como para proporcionar una tasa de liberación apropiada para las bacterias y los nutrientes. Ya que el propósito de la presente invención consiste en garantizar que las condiciones de activación apropiadas, tales como aquellas dadas a conocer en la patente de EE.UU. No. 4,882,059, se logren, la tasa de liberación de las bacterias y los nutrientes debe ser ni muy rápida, ni demasiado lenta.

2. Características

La liberación controlada de las bacterias y de los nutrientes del gel depende de la hidrólisis bacteriana del gel en la interfaz gel-agua, es decir, de la difusión de los nutrientes contenidos dentro del gel cerca de la interfaz en el agua, mientras que el uso de un inhibidor bacteriano previene la hidrólisis bacteriana del gel en su interior. Por consiguiente, el gel debe ser firme y estable, incluso debe ser de una composición química tal que al menos una bacteria en el gel pueda solubilizarlo.

Una forma de cumplir con estos requisitos consiste en usar un gel de dos componentes. Una pequeña fracción del gel puede estar constituida por un polímero que sea difícil de ser degradado el cual proporcionaría la integridad estructural de la matriz de gel. La mayor parte del gel puede estar formada por una sustancia que sea más fácil de degradar que el polímero.

Una lista no exhaustiva de los materiales del gel que son difíciles de degradar y proporcionan integridad estructural incluye agar bacteriano, gel de sílice, y *gellan gum*. Ejemplos no limitativos de materiales de gel que son más fáciles de degradar incluyen gelatina, goma xantana (*xanthum gum*) y goma garrofin (*locus bean gum*). Un gel adecuado que puede ser usado en correspondencia con la presente invención se forma usando una combinación de agar bacteriano y gelatina.

D. INHIBIDOR BACTERIAL

Un rasgo distintivo del sistema y del método de la presente invención es que el gel bacteriano con todos sus componentes cargados, debe durar un período de tiempo significativo antes que se disuelva completamente. Aunque resulta conveniente que las bacterias disuelvan el gel en la interfaz gel-agua, el interior de la masa del gel no debe disolverse. Para prevenir la disolución prematura del gel debido a la hidrólisis bacteriana en su masa interior, se agrega un inhibidor a dicho gel.

1. Requisitos Funcionales

El inhibidor bacteriano debe ser capaz de inhibir de manera reversible las bacterias contenidas en el gel. El inhibidor debe ser efectivo por encima de una concentración umbral y por debajo del cual las bacterias puedan convertirse en activas. El Inhibidor debe ser completamente soluble en agua y de suficiente bajo peso molecular para que pueda ser fácilmente difundido fuera del gel a nivel de la interfaz gel –agua, en lugar de ser retenido por la matriz del gel.

2. Características

Dos inhibidores bacterianos que pueden cumplir los requisitos anteriores son el sulfato de sodio y el azida de sodio, tal y como se da a conocer en las patentes de EE.U. 3,963,576 y

4,673,505 respectivamente. Cada uno se puede incorporar al gel para que las bacterias contenidas en este no puedan solubilizar la masa interior del gel.

Un inhibidor que cumple todos los requisitos anteriores y a la vez no compromete la integridad del gel es el azida de sodio. Este componente puede ser empleado en la presente invención en correspondencia con la descripción de los métodos dados a conocer en la patente de EE.UU. No. 4,673,505.

E. RECIPIENTE DEL INYECTOR BACTERIAL AUTOMATIZADO (IBA)

El IBA constituye un recipiente a través de la cual fluye el agua aireada y en la cual se han depositado el gel cargado con la bacterias y los nutrientes. La combinación de las dimensiones del recipiente IBA, del caudal de salida del agua y la formulación del gel, permiten obtener condiciones apropiadas de activación tales como las divulgadas en la patente de EE.UU. No. 4,882,059.

1. Requisitos Funcionales

El recipiente IBA está destinado para proporcionar un flujo continuo a través del medio aeróbico acuoso. La FIGURA ilustra una representación preferida del sistema IBA en correspondencia con las presente invención. El sistema incluye un recipiente 1 que tiene una primera 4 y una segunda cámara 5 a través de las cuales fluye el agua. El agua se suministra a través de un conducto de entrada 2 y se drena mediante el conducto de descarga 3. La primera cámara 4 contiene la masa del gel con las bacterias y los nutrientes. Si el recipiente se construye para una capacidad de seis galones, es preferible que la segunda cámara 5 sea aproximadamente un 50% más grande que la primera, o sea, volúmenes de 3.6 y 2.4 galones respectivamente. Una bomba de aire o un dispositivo de aireación 7 suministran aire a través de los dos difusores 9 y 10, similares a los de un acuario, hacia las cámaras 4 y 5. Entre las cámaras se ubica un deflector 6.

El recipiente del IBA 1 ilustrado en la FIGURA posee una toma de agua continua y ya que la cámara del IBA tiene un volumen fijo, debe existir una descarga continua igual al caudal de entrada. La masa del gel está completamente sumergida en la primera cámara 4. La descarga del recipiente del IBA contiene las bacterias y las enzimas producidas mediante las condiciones apropiadas de activación tal y como se describe en la patente de EE.UU. No. 4,882,059 y esta descarga fluye directamente hacia las aguas residuales a ser tratadas.

2. Características

Las características generales del recipiente del IBA incluyen su volumen relativo al caudal de agua, su medio aeróbico y el número de cámaras en serie.

Para lograr las condiciones de crecimiento en fase estacionaria y de muerte requeridas para inducir un alto índice de síntesis de enzimas extracelulares y asumiendo que el gel está liberando bacterias y nutrientes de manera apropiada, el recipiente del IBA debe proporcionar alrededor de 24 a 48 horas de tiempo de retención hidráulico en sus cámaras aeróbicas. Por ejemplo, asumiendo que el caudal de entrada de agua sea de 6 galones por día, el volumen de las cámaras aeróbicas en el recipiente del IBA sería de 3 a 6 galones.

La aeración del recipiente del IBA es necesaria para lograr las fases de crecimiento deseadas para la producción acentuada de enzimas extracelulares. Todo lo que se requiere es suficiente oxígeno disuelto para facilitar el rápido crecimiento de las bacterias aeróbicas o facultativas.

Una cámara aeróbica simple es suficiente para proporcionar las condiciones deseadas en el IBA. Sin embargo, los reactores de una sola etapa generalmente suelen ser ineficientes en la producción de metabólicos bacteriales. Dado el mismo volumen total de reacción, varias etapas inducirán una tasa mayor de producción de enzimas extracelulares que en una cámara IBA simple (*J. App. Chem. Biotechnol.* 1972, 22, páginas 405-416).

Para un caudal de entrada de agua de seis galones por día, el IBA debe ser una unidad de de dos cámaras con seis galones de volumen de reacción aeróbica acuosa. El agua a la entrada fluye directamente hacia la primera cámara y pasa a continuación sobre un deflector hacia la segunda cámara. El agua pasaría a través de la segunda cámara para ser descargada hacia el agua residual a ser tratada. Sobre la base de un caudal de seis galones por día y un volumen combinado de de seis galones en la cámaras 4 y 5, el tiempo total de retención hidráulica sería de 24 horas. Para un volumen fijo en el IBA, el caudal de agua podría cortarse a la mitad de la capacidad, o sea, 3 galones por día, lográndose así in tiempo de retención hidráulica de 48 horas.

Para un gel bacterial dado, si el caudal de agua es demasiado rápido, de manera que no se puedan lograr las condiciones de la fase estacionaria o de muerte, entonces las bacterias no producirían enzimas extracelulares en un alto grado. En la medida que el tiempo total de retención hidráulica se incrementa, la amilasa y proteasa serán las enzimas producidas en mayor cantidad. Según el tiempo de retención hidráulica se incrementa adicionalmente, la lipasa y la celulasa serán producidas con preferencia. Por tanto, el caudal de agua puede ser regulado para una formulación típica de gel para producir cantidades relativamente grandes de amilasa y proteasa o de lipasa o celulasa.

REPRESENTACIONES PREFERIDAS

El alcance adicional de la aplicabilidad de la presente invención podrá resultar evidente a partir de la descripción detallada dada a partir de este momento. Sin embargo, se debe entender que la descripción detallada y los ejemplos específicos aunque indican representaciones preferidas de la invención, están dados solo a manera de ilustración y varios cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la invención podrán resultar obvios a quien sea experto en la técnica a partir de esta descripción detallada.

EJEMPLO 1

Para formular una representación preferente de la invención, se producen las cepas bacteriales deseadas. Estas bacterias se incorporan al gel bacterial, se prepara un gel cargado de nutrientes pero libre de bacterias y tanto los nutrientes como el gel bacterial se depositan en un recipiente IBA

Producción de Suspensiones Bacteriales

Se preparó un medio de crecimiento acuoso usando los siguientes materiales:

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

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

5 Cuatro frascos de 1 litro, conteniendo 750 ml cada uno de la solución anterior, fueron inoculados con una de las siguientes bacterias

- a. *Bacillus subtilis*
- b. *Bacillus licheniformis*
- c. *Cellulomonas sp.*
- d. *Acinetobacter lwoffii*

10 Usando procedimientos estériles estandarizados, cada frasco fue colocado en un agitador orbital a 150 rpm permitiendo el crecimiento durante 48 horas. Al final de las 48 horas, se adicionaron 0.5 gramos de azida de sodio a cada frasco.

15 Para terminar la preparación del gel bacterial, se calentaron 313 ml de agua desionizada a 80°C y se adicionaron 15 gramos de agar a esta mezcla, la cual fue esterilizada en autoclave a 15 libras de presión de vapor durante 15 minutos. Se calentaron lentamente hasta 80°C 125 ml de suspensiones de *Bacillus subtilis* y *licheniformis*. En este momento las suspensiones de *Bacillus* estaban en forma de esporas por lo que no fueron dañadas por el calentamiento a 80°C. Una vez que las suspensiones estaban a 80°C, se adicionaron lentamente 120 gramos de gelatina a la mezcla.

20 Tanto el Agar como la gelatina contenida en las mezclas fueron enfriadas a 40°C, y una vez que se habían enfriado, ambas mezclas se combinaron con 125 ml de suspensiones de *Cellumonas* y *Acinetobacter*. La mezcla resultante fue vertida en un molde cilíndrico (de 3 pulgadas de diámetro), permitiendo que se enfriara hasta 5°C.

25 Para preparar el gel nutriente, se aplicó la siguiente técnica. Se combinaron y calentaron hasta 80°C 600 ml de agua desionizada, 50 ml de agua de grifo, 5 gramos de cada uno de los componentes K_2HPO_4 , $MgSO_4$, NH_4Cl CH_3COONa y 200 gramos de extracto de levadura. Una vez calentados a 80°C, se agregaron 120 gramos de gelatina y 15 gramos de agar con agitador. La mezcla se esterilizó en autoclave a 15 libras de presión de vapor durante 15 minutos, se enfrió hasta 40°C, se vertió en un molde cilíndrico (de pulgadas de diámetro) y se refrigeró a 5°C.

30 Tanto el gel bacterial como el nutriente se solidificaron en 2 horas. Los gels se cortaron en longitudes de pulgadas de manera que cada gel bacterial o nutriente era un cilindro de 3 pulgadas de diámetro y 7 de longitud. El sistema IBA requiere tanto del gel nutriente como bacterial. El sistema IBA funciona mejor cuando los nutrientes se separan de las bacterias, aunque se puede lograr una producción reducida de enzimas con sistemas combinados bacteriales/nutrientes.

35 La combinación de un gel nutriente y de uno bacterial puede denominarse como un "GelPac". Los GelPac fueron usados en los ensayos que a continuación se describen de conjunto con unidades IBA para reducir la producción de sedimento residual en pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales. Cada unidad IBA usó un GelPac por mes.

40

EJEMPLO 2

Para demostrar la eficacia del sistema IBA y del método de la presente invención para reducir el sedimento residual, se instaló una unidad IBA con capacidad para 18 galones, similar a la ilustrada en la FIGURA y descrita anteriormente, en dos de las pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales operadas por la Autoridad Sanitaria del Condado Cuyahoga en Ohio. Las capacidades de las diez plantas están entre 25,00 y 200,000 galones por día de aguas residuales tratadas. Una unidad IBA se instaló en una planta de tratamiento de menos de 100,000 galones por día. Las restantes plantas se usaron como sistemas de control.

Se usó un período de tiempo de 17 meses, desde enero de 1990 hasta mayo del 1991, para determinar la cantidad promedio de sedimento producido en las 8 plantas de control y en las dos plantas de prueba. Se definió que la producción de sedimento fuera igual a total de libras de sedimento residual activado más el total de libras de sólidos suspendidos en el efluente.

Comenzando en enero de 1991 y terminado seis meses más tarde, en noviembre de 1991, se adicionaron GelPac de dimensiones apropiadas a cada una de las dos unidades IBA previamente instaladas, a razón de una vez por mes. Las operaciones de las ocho plantas de control se mantuvieron sin cambios. En la tabla siguiente se resume la producción promedio de sedimentos para ambas plantas a prueba (con unidades IBA y GelPac en correspondencia con la presente invención) y de las plantas de control para ambos períodos, el de línea base y de evaluación, de enero a mayo de 1991 y de junio a noviembre de 1991:

Total de Sedimentos Producidos = WAS + Efluente SS		
(Todos los datos en libras/mes)		
	Promedio en Plantas sin Tratamiento	Promedio en Plantas con Tratamiento
Periodo Base	1134	1095
Período de Evaluación	1110	731

La producción de sedimentos en las plantas sin tratamiento prácticamente no cambió durante el período de evaluación al compararse el periodo base. El GelPac mostró un 35% de reducción en el total de la producción de sedimentos durante el período de evaluación al compararse con la línea base.

Las pruebas anteriores ejemplifican los resultados que se logran en reducción de sedimentos con el uso del sistema IBA y del método de la presente invención en pequeñas plantas de tratamiento de aguas residuales. Son posibles muchos otros usos de la presente invención e incluyen, por ejemplo:

1. la reducción del contenido de sólidos en lagunas agrícolas;
2. la digestión de grasas en trampas de grasas;
3. la remoción de grasas del interior de conductos y
4. otras aplicaciones relacionadas con el tratamiento de aguas residuales donde se requiere la solubilización de material particulado y coloidal.

Resulta obvio, a partir de la invención descrita, que la misma puede ser variada de múltiples maneras. Tales variaciones no fueron consideradas como partida en el espíritu y alcance de la invención, ya que las mismas, como resulta obvio a quien sea experto en la técnica, se pretende que sean incluidas dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

Lo que se reivindica es:

1. Un sistema de solubilización para producir bacterias y enzimas activadas para solubilizar material particulado y coloidal en el tratamiento de aguas residuales, incluyendo:

5 a. Un gel a base de dos componentes poliméricos y bacterias que incluye una menor cantidad de un polímero que es difícil de solubilizar por las bacterias contenidas en el gel el cual proporciona integridad estructural al gel y una cantidad mayor de otro polímero que es más fácil de solubilizar por las bacterias del gel, dicho gel conteniendo bacterias que pueden producir enzimas extracelulares que solubilizan el material orgánico particulado y coloidal,

10 al menos una bacteria que solubiliza el gel, los nutrientes que facilitan el crecimiento de dichas bacterias,

un inhibidor soluble en agua de bacterias reversible de suficiente bajo peso molecular que pueda ser fácilmente difundido fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua mientras se previene que una parte interna de dicho gel se disuelva prematuramente, y

15 un recipiente que proporciona un medio acuoso aeróbico para dichas bacterias contenidas en el gel para inducir producción y liberar bacterias activadas y enzimas extracelulares para solubilizar material particulado y coloidal en aguas residuales.

2. El sistema de solubilización de la reivindicación 1, en la que dichas bacterias se seleccionan de un grupo al que pertenecen *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*,
20 *Celulomonas sp.* y *Acinetobacter lwoffii*.

3. El sistema de solubilización de la reivindicación 1, en el que los nutrientes se seleccionan de un grupo al que pertenecen extracto de levadura, peptona, extracto de carne, tryptone, ácido acético, ácido cítrico, acetato de sodio, cloruro de amonio, fosfato de potasio, sulfato de magnesio y sus combinaciones.

25 4. El sistema de solubilización de la reivindicación 1, donde dicho inhibidor de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

5. El sistema de solubilización de la reivindicación 1, en el que el dicho recipiente comprende varias cámaras y al menos una de ellas con el gel conteniendo las bacterias, un conducto de toma de agua para dichas cámaras, un conducto de drenaje para descargar el
30 agua conteniendo las bacterias activadas y las enzimas producidas por dichas bacterias contenidas en el gel desde dichas cámaras y un dispositivo de aeración para suministrar oxígeno hacia dichas cámaras.

6. Un método para solubilizar material particulado y coloidal que incluye los pasos para:

35 proporcionar un gel a base de dos componentes poliméricos y bacterias que incluye una menor cantidad de un polímero que es difícil de solubilizar por las bacterias contenidas en el gel el cual proporciona integridad estructural al gel y una cantidad mayor de otro polímero que es más fácil de solubilizar por las bacterias del gel, dicho gel conteniendo

las bacterias que pueden producir enzimas extracelulares que solubilizan el material orgánico particulado y coloidal,

40 al menos una bacteria que solubiliza el gel, los nutrientes que facilitan el crecimiento de dichas bacterias,

un inhibidor soluble en agua de bacterias reversible de suficiente bajo peso molecular que pueda ser fácilmente difundido fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua mientras se evita que una parte interna de dicho gel se disuelva prematuramente, y

5 hace contacto dicho gel con las aguas residuales que contienen dicho material particulado y coloidal por lo cual las bacterias en el gel solubilizan dicho gel para liberar bacterias activadas y enzimas extracelulares que solubilizan dicho material particulado y coloidal.

7. El método de la reivindicación 6, en el que dichas bacterias se seleccionan de un grupo al que pertenecen *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Celulomonas sp.* y *Acinetobacter lwoffii*.

10 8. El método de la reivindicación 6, en el que los nutrientes se seleccionan de un grupo al que pertenecen extracto de levadura, peptona, extracto de carne, tryptone, ácido acético, ácido cítrico, acetato de sodio, cloruro de amonio, fosfato de potasio, sulfato de magnesio y sus combinaciones.

15 9. El método de la reivindicación 6, en el que dicho inhibidor de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

20 10. El método de la reivindicación 6, en el que el dicho gel que contiene las bacterias se deposita en un recipiente que comprende varias cámaras y al menos una de ellas con el gel conteniendo las bacterias, un conducto de toma de agua para dichas cámaras, un conducto de drenaje para descargar el agua conteniendo las bacterias activadas y las enzimas producidas por dichas bacterias contenidas en el gel desde dichas cámaras y un dispositivo de aeración para suministrar oxígeno hacia dichas cámaras.

11. El sistema de solubilización de la reivindicación 2, en el que dicho inhibidor de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

25 12. El método de la reivindicación 7, en el que dicho inhibidor de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

13. Un sistema de solubilización para producir bacterias activadas y enzimas para solubilizar el material particulado y coloidal en sistemas de tratamiento de aguas residuales que incluye:

30 un gel a base de dos componentes poliméricos y bacterias con una menor cantidad de un polímero que es difícil de solubilizar por las bacterias contenidas en el gel el cual proporciona integridad estructural al gel y una cantidad mayor de otro polímero que es más fácil de solubilizar por las bacterias del gel, dicho gel conteniendo

las bacterias que pueden producir enzimas extracelulares que solubilizan el material orgánico particulado y coloidal,

35 al menos una bacteria que solubiliza el gel, los nutrientes que facilitan el crecimiento de dichas bacterias,

un inhibidor soluble en agua de bacterias reversible de suficiente bajo peso molecular que pueda ser fácilmente difundido fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua mientras se evita que una parte interna de dicho gel se disuelva prematuramente,

40 un recipiente que proporciona un medio acuoso aeróbico para dichas bacterias contenidas en el gel para inducir producción y liberar bacterias activadas y enzimas extracelulares para solubilizar material particulado y coloidal en aguas residuales;

5 en el que dichas bacterias se seleccionan de un grupo al que pertenecen *Bacillus subtilis*,
5 *Bacillus licheniformis*, *Celulomonas* sp. y *Acinetobacter lwoffii*; en el que los nutrientes
se seleccionan de un grupo al que pertenecen extracto de levadura, peptona, extracto
de carne, tryptone, ácido acético, ácido cítrico, acetato de sodio, cloruro de amonio,
fosfato de potasio, sulfato de magnesio y sus combinaciones; y en que dicho inhibidor
de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

10 14. El sistema de solubilización de la reivindicación 13, en el que dicho recipiente
comprende varias cámaras y al menos una de ellas con el gel conteniendo las bacterias, un
conducto de toma de agua para dichas cámaras, un conducto de drenaje para descargar el
agua conteniendo las bacterias activadas y las enzimas producidas por dichas bacterias
contenidas en el gel desde dichas cámaras y un dispositivo de aeración para suministrar
oxígeno hacia dichas cámaras.

15 15. Un método para solubilizar material particulado y coloidal en tratamiento de aguas
residuales que incluye los pasos para:

15 proporcionar un gel a base de dos componentes poliméricos y bacterias que incluye una
menor cantidad de un polímero que es difícil de solubilizar por las bacterias contenidas
en el gel el cual proporciona integridad estructural al gel y una cantidad mayor de otro
polímero que es más fácil de solubilizar por las bacterias del gel, dicho gel conteniendo

20 las bacterias que pueden producir enzimas extracelulares que

solubilizan el material orgánico particulado y coloidal,

al menos una bacteria que solubiliza el gel, los nutrientes que facilitan el crecimiento de
dichas bacterias,

25 un inhibidor soluble en agua de bacterias reversible de suficiente bajo peso molecular que
pueda ser fácilmente difundido fuera del gel al nivel de la interfaz gel-agua mientras se
evita que una parte interna de dicho gel se disuelva prematuramente, y

haciendo contacto dicho gel con las aguas residuales que contienen dicho material
particulado y coloidal por lo cual las bacterias en el gel solubilizan dicho gel para liberar
bacterias activadas y enzimas extracelulares que solubilizan dicho material particulado y
coloidal.

30 en el que dichas bacterias se seleccionan de un grupo al que pertenecen *Bacillus subtilis*,
Bacillus licheniformis, *Celulomonas* sp. y *Acinetobacter lwoffii*; en el que los nutrientes
se seleccionan de un grupo al que pertenecen extracto de levadura, peptona, extracto
de carne, tryptone, ácido acético, ácido cítrico, acetato de sodio, cloruro de amonio,
fosfato de potasio, sulfato de magnesio y sus combinaciones; y en que dicho inhibidor
35 de bacterias es sulfato de sodio o azida de sodio.

40 16. El método de la reivindicación 15, en el que dicho recipiente comprende varias cámaras
y al menos una de ellas con el gel conteniendo las bacterias, un conducto de toma de agua
para dichas cámaras, un conducto de drenaje para descargar el agua conteniendo las bacterias
activadas y las enzimas producidas por dichas bacterias contenidas en el gel desde dichas
cámaras y un dispositivo de aeración para suministrar oxígeno hacia dichas cámaras.