



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 114 809**

② Número de solicitud: 9600468

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>: C02F 3/34

//C12N 1/20

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫ Fecha de presentación: **28.02.96**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **01.06.98**

⑬ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**01.06.98**

⑦ Solicitante/s: **Universidad de Salamanca**  
**Patio de Escuelas Menores n° 1**  
**37007 Salamanca, ES**

⑦ Inventor/es: **Costa Pérez, Carlos y**  
**Márquez Moreno, M. Carmen**

⑦ Agente: **Hernández Covarrubias, Arturo**

⑤ Título: **Cepa bacteriana capaz de metabolizar colorantes textiles.**

⑤ Resumen:  
Cepa bacteriana capaz de metabolizar colorantes textiles.

La bacteria fué obtenida en una planta piloto de fangos activos utilizada en el tratamiento de un agua residual textil y seleccionada en medio sólido para su posterior aislamiento e identificación. Las reacciones bioquímicas de identificación (API 20E y pruebas complementarias) indican que la especie seleccionada es *Enterobacter aerogenes*. Su aplicación para la eliminación de colorantes de las aguas residuales textiles permite la degradación de este tipo de moléculas que plantean importantes problemas medioambientales.

ES 2 114 809 A1

## DESCRIPCION

Cepa bacteriana capaz de metabolizar colorantes textiles.

## Breve descripción de la materia objeto de patente

Esta invención se relaciona con la eliminación de colorantes azoicos de las aguas residuales textiles por tratamiento con una bacteria específica capaz de metabolizar y degradar las moléculas de dichos colorantes y evitar así importantes problemas medioambientales.

La invención describe, en primer lugar, las condiciones adecuadas para favorecer el crecimiento de la biomasa sobre un adsorbente (carbón activo) en un proceso continuo en el cual la bacteria ha sido alimentada con un agua residual sintética análoga a un vertido textil en cuanto a DQO y concentración de colorante. El colorante utilizado ha sido Naranja II (C.I.15510), por ser ampliamente utilizado en el teñido de lana y por presentar una estructura molecular básica común a un número elevado de azocolorantes. Una vez obtenida una población bacteriana importante en el proceso en continuo, la cepa fue aislada y transferida a un medio sólido con diversos colorantes como fuentes de carbono y nitrógeno y sales minerales. De esta forma se estudió la degradación de otros colorantes diferentes a Naranja II. Los resultados indican que la población bacteriana obtenida no solamente es capaz de degradar los colorantes con estructura molecular y sustituyentes similares a este colorante, sino que la bacteria aislada degrada colorantes con un peso molecular elevado y unidades moleculares básicas diferentes.

## Estado actual de la técnica

En el tratamiento de las aguas residuales textiles, son los colorantes los que plantean mayores problemas de eliminación, especialmente desde el punto de vista del tratamiento biológico. A diferencia de los procesos utilizados actualmente para su eliminación (floculación y adsorción), el tratamiento biológico de colorantes textiles podría permitir, en una sola etapa, la eliminación de materia orgánica (DQO) y colorante y, por tanto, facilitaría la integración del proceso de descontaminación en el sistema de producción textil, debido a una menor inversión en costes de depuración.

El tratamiento biológico aplicado a la eliminación de colorantes no ha supuesto, hasta el momento, una solución adecuada para la depuración de las aguas residuales de tintado (Weber y col., 1988). Las moléculas de estos compuestos, debido a su elevado peso molecular, no son fácilmente degradadas por las bacterias presentes en los reactores biológicos.

Sin embargo, existen indicios de la posibilidad de eliminación de moléculas complicadas próximas a las estructuras moleculares de los colorantes textiles, como el naftaleno y el pireno, mediante procesos biológicos de fangos activos (Mines y col., 1989).

Por otra parte, se sabe que la biodegradabilidad de un compuesto no debe considerarse como una propiedad intrínseca del mismo, sino que depende esencialmente de la población microbiana a la que se enfrenta (González, 1993). Puede decirse incluso que la posibilidad de que un compuesto sea metabolizado por un determinado microorganismo está influenciada en gran medida por el medio en el que se desarrolle la biomasa, no solamente en cuanto a concentraciones de nutrientes, sino en lo que se refiere a propiedades y características del medio.

Las investigaciones actuales están dirigidas a la búsqueda de los microorganismos capaces de degradar los colorantes textiles. Estos microorganismos han sido obtenidos de las plantas de fangos activos y biopelículas, para su posterior aislamiento y estudio cualitativo de degradación de diversos colorantes. Solamente una pequeña población de bacterias ha podido degradar los azocolorantes en condiciones aerobias y se conoce poco sobre el proceso (Chung & Stevens, 1993).

Se han encontrado especies bacterianas capaces de degradar algunos colorantes (Xian & Yang, 1989), pertenecientes a los géneros *Alteromonas*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acaligenes* y *Corynebacterium*, habiéndose establecido las condiciones óptimas de degradación (temperatura 37°C y pH 7-8). Sin embargo, esta temperatura resulta excesiva para un proceso en continuo en el tratamiento de los vertidos de una industria que utiliza grandes cantidades de agua, como es la industria textil.

Igualmente, Liu & Yang (1991) han utilizado una cepa aislada de una planta de fangos activos (*Pseudomonas*) para la eliminación de tres colorantes azoicos. No obstante, este estudio es fundamentalmente microbiológico, llevado a cabo también en condiciones óptimas de 37°C, que supondrían elevados costes a nivel industrial. Por otra parte, en este trabajo ha sido aislada la enzima azorreductasa responsable de la

degradación de los azocolorantes, habiéndose propuesto una ruta metabólica de uno de los tres colorantes estudiados.

5 Yatome y col. (1991) consideran que la degradación de azocolorantes por cepas bacterianas es microorganismo-específica o colorante-específica, debido no solamente a la presencia de azorreductasa en la célula, sino a la permeabilidad de las moléculas de colorante en el interior de ésta. Este hecho supone una elevada especificidad del microorganismo y, por tanto, una importante dificultad en la degradación de otros colorantes.

10 Recientes estudios han demostrado la posibilidad de utilizar cepas alteradas genéticamente en la degradación de azocolorantes (Govindaswami y col., 1993; Ghorpade & Spencer, 1994). Aunque estas cepas presentan ventajas para la eliminación de ciertas moléculas que no pueden ser metabolizadas por la poblaciones naturales, en general, presentan problemas de reversibilidad a la cepa natural y peligrosidad si se llegaran a utilizar en una planta real de tratamiento de aguas residuales.

15 Todos estos trabajos realizados por otros autores suponen la obtención de los microorganismos capaces de degradar azocolorantes y el estudio cualitativo de su comportamiento frente a varios tipos de estas moléculas. Aunque se ha estudiado la ruta metabólica de degradación de algunos colorantes y las enzimas que participan activamente en el proceso, muy pocos estudios utilizan estas bacterias en procesos continuos similares a los que precisan las plantas de tratamiento biológico. Li & Cui (1993) han descrito la decoloración de un agua de tintado mediante bacterias aerobias inmovilizadas. Li y col. (1993) han utilizado un proceso similar en el tratamiento también de un agua de tintado, estableciendo como condiciones óptimas pH=7.0 y una temperatura de 37°C, habiendo observado la estabilidad del proceso para pH=6.0-8.0 y una temperatura de 25-40°C. Sin embargo, los rendimientos de eliminación del color obtenidos por estos autores se sitúan por debajo del 70-80%. Como inconvenientes de estos trabajos deben citarse nuevamente la elevada temperatura de operación y los rendimientos obtenidos en la eliminación de los colorantes, que resultan bastante escasos para considerar el proceso como adecuado, puesto que la contaminación producida por colorantes es muy espectacular y debe reducirse con eficacias próximas al 100%.

30 A la vista de estos antecedentes, sería deseable poder disponer de una cepa bacteriana natural capaz de metabolizar y degradar los colorantes textiles, principalmente azocolorante, para su aplicación industrial en la eliminación de los mismos de las aguas residuales textiles.

35 De acuerdo con esta invención, se ha obtenido una bacteria en una planta piloto de fangos activos utilizada en el tratamiento de aguas residuales textiles, la cual ha sido seleccionada en un medio sólido para su posterior aislamiento e identificación.

40 Las reacciones bioquímicas de identificación llevadas a cabo han establecido que la especie bacteriana seleccionada es *Enterobacter aerogenes*.

Por tanto, la invención proporciona la especie bacteriana antes identificada para su aplicación industrial en la eliminación de colorantes de las aguas residuales textiles.

45 Como se sabe, las aguas residuales de tintado presentan una concentración baja de colorantes debido a que, por razones económicas, éstos deben agotarse sobre la fibra textil. Este hecho dificulta en gran medida la degradación bacteriana de los mismos, puesto que las bacterias no disponen de una concentración de sustrato suficiente para un adecuado crecimiento.

50 Por esta razón, y de acuerdo con la presente invención, se utiliza un adsorbente que permite concentrar el sustrato en la superficie del mismo, favoreciendo el crecimiento del microorganismo para alcanzar elevados rendimientos de eliminación de los colorantes. Con preferencia, el adsorbente es carbón activado.

55 Una característica de la invención es la de establecer las condiciones adecuadas para favorecer el crecimiento de la biomasa sobre el adsorbente en un proceso continuo en el cual la bacteria es alimentada con un agua residual sintética análoga a un vertido textil en cuanto a DQO y concentración de colorante.

60 Otra característica de la invención es el uso de una temperatura más baja en los reactores biológicos de fangos activos que permita el tratamiento de los vertidos textiles a escala industrial sin suponer un gasto excesivo que encarecería enormemente el proceso de depuración.

La temperatura seleccionada para la obtención del microorganismo es de 20°C aproximadamente, en

clara diferenciación con los valores de temperatura descritos por otros autores.

### Descripción detallada de la invención

5 Para la obtención de la bacteria capaz de degradar los azocolorantes textiles se utilizó una planta piloto de fangos activos fabricada en metracrilato y cristal. El sistema consta de un reactor biológico cilíndrico de 3.0 l de capacidad y un decantador también cilíndrico con base cónica conectado al primero mediante un conducto de paso y otro de recirculación. El volumen del decantador es de 2.5 l, por lo que el volumen total de la planta es de 5.5 l. El oxígeno es suministrado a los lodos activos (biomasa) mediante  
10 un sistema de inyección de aire, controlado con un rotámetro, con un difusor en el reactor biológico. Los lodos, separados del agua residual efluente en el decantador, son recirculados al reactor biológico también con aire comprimido (bomba mamut).

El agua residual, cuya composición simula un agua residual textil (Tabla 1), se preparó diariamente  
15 con agua de la red (Tabla 2), almacenándose en un depósito de 25 l de capacidad, desde el cual se impulsaba al reactor biológico por medio de una bomba de membrana. Esta bomba dispone de una regulación del caudal que permitió establecer el tiempo de residencia hidráulico en el reactor: 3.0 h.

La puesta en marcha del sistema tiene como objetivos, en un primer paso, alcanzar una población  
20 mixta de bacterias importante y, en un segundo paso, añadir carbón activado en el reactor biológico para favorecer el crecimiento bacteriano sobre la superficie del mismo. La población mixta de bacterias se alcanzó manteniendo el sistema en circuito cerrado durante 7 días (es decir, conectando la línea de efluente al depósito de alimentación). A partir del octavo día se abrió el circuito y comenzó a alimentarse diariamente.

25 El carbón activo (PANREAC PR), de densidad  $0.46 \text{ g ml}^{-1}$ , fue analizado texturalmente mediante isotermas de adsorción-desorción de  $\text{N}_2$  (77K). Por aplicación de la ecuación de BET se obtuvo un valor de superficie específica de  $736.57 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ , correspondiendo  $448.80 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$  a superficie de microporos (60.9%). El diámetro medio de los poros fue 0.307 nm y el volumen total de los mismos  $0.564 \text{ ml g}^{-1}$ . El  
30 carbón se añadió al reactor biológico después de 15 días de funcionamiento del sistema, utilizándose una concentración de  $0.5 \text{ g l}^{-1}$  y un tamaño medio en partícula de 0.081 mm (0.074-0.088). Estas condiciones fueron establecidas en discontinuo y suponen una adsorción del colorante por encima del 90 % para un tiempo de contacto de 3.0 h (similar al tiempo de residencia hidráulico en el reactor).

35 El sistema en continuo operó con distintos tiempos de retención celulares (obtenidos estableciendo diferentes purgas de lodos), reponiendo diariamente la cantidad de carbón activado eliminada en la purga. De esta forma se alcanzaron distintos valores de concentración de biomasa que resultó ser determinante en el desarrollo del proceso. Como puede apreciarse en la Tabla 3, la eliminación de colorante solamente es importante para tiempos de retención celulares de 6 y 12 d, descendiendo drásticamente para un tiempo  
40 de retención celular de 25 d. La razón de este brusco cambio se debe a la pérdida de las propiedades adsorbentes del carbón activado que, para un valor elevado de concentración de biomasa (tiempo de retención celular de 25 d) es englobado por la estructura de la biomasa o floculo bacteriano. Este hecho no ha sido descrito previamente por otros autores y es la posible causa de intentos infructuosos en la aplicación del proceso de fangos activos con carbón activado (PACT) para la eliminación de compuestos  
45 difíciles, entre los que se encuentra los colorantes textiles (Specchia y col., 1988).

La población bacteriana obtenida en el proceso de fangos activos con carbón activado es responsable de la degradación de materia orgánica (DQO) y colorante. Puesto que el objetivo es obtener una cepa bacteriana capaz de metabolizar el colorante, es necesario seleccionar dicha cepa frente a las restantes  
50 que constituyen la población mixta del reactor. Esto se llevó a cabo sembrando un inóculo procedente del reactor biológico en medio sólido con el colorante como única fuente de carbono y nitrógeno (Tabla 4). Las bacterias que se desarrollaron en ese medio fueron aisladas e identificadas. El aislamiento de las colonias se llevó a cabo en medio Hugh-Leifson, puesto que visualmente se observó la presencia de más de una especie responsable de la degradación del colorante. En este medio fueron sembradas las colonias con  
55 diluciones de hasta  $10^{10}$  ml, observándose las distintas coloraciones en función del grado de utilización de glucosa.

La identificación de la especie bacteriana se llevó a cabo mediante API 20E y pruebas complementarias, que confirmaron algunas pruebas dudosas del API. Los resultados obtenidos, reflejados en la Tabla  
60 5, suponen que la especie capaz de degradar el colorante Naranja II es *Enterobacter aerogenes*, de acuerdo con las tablas de identificación correspondientes (Velázquez y col., 1990; Williams & Wilkins, 1983). Esta especie ha sido descrita con anterioridad en las plantas de tratamiento de aguas residuales textiles (Xian

& Yang, 1989; Liu & Yang, 1991).

La especie bacteriana, obtenida en el proceso en continuo, puede ser utilizada para la degradación de otros colorantes diferentes a Naranja II, como se ha demostrado y se expondrá en los ejemplos siguientes. Este hecho está en desacuerdo con la consideración de que la degradación de azocolorantes es microorganismo-específica o colorante-específica (Yatome y col., 1991).

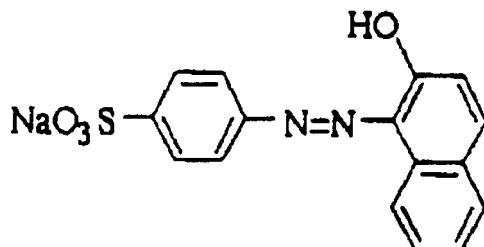
El valor fundamental de la presente invención radica en la posibilidad de utilizar dicha cepa bacteriana para degradar distintos colorantes textiles que, dependiendo de las condiciones requeridas (caudal del vertido, concentración de contaminante, etc...), podrán utilizarse en diferentes tipos de reactores biológicos. Además, *E. aerogenes* podrá incluso utilizarse en sistemas facultativos. Especialmente en el caso de vertidos textiles y debido a las bajas concentraciones de colorantes, puede que sea preciso concentrar los mismos mediante la utilización de un adsorbente (por ejemplo, carbón activado) sobre el que crezca el microorganismo inoculado.

Es importante señalar que, aunque la especie ha sido identificada, no todas las cepas de la especie descrita son capaces de degradar el colorante Naranja II. La cepa seleccionada ha desarrollado las enzimas necesarias gracias a su adaptación en el sistema en continuo. Lo que sí es cierto es que esta especie es capaz de producir las enzimas que precisan para romper estas moléculas, siempre en unas condiciones de adaptación adecuadas.

A continuación va a exponerse una serie de ejemplos que muestran el comportamiento de la especie bacteriana descritas frente a diversos colorantes, para estudiar si es posible o no su degradación. Los experimentos fueron realizados a 20°C en medio sólido (placas Petri) con la composición del medio especificada en la Tabla 4. El crecimiento en medio sólido del cultivo puro fue comparado con un blanco que disponía de la misma composición del medio excepto el colorante.

#### Ejemplo 1

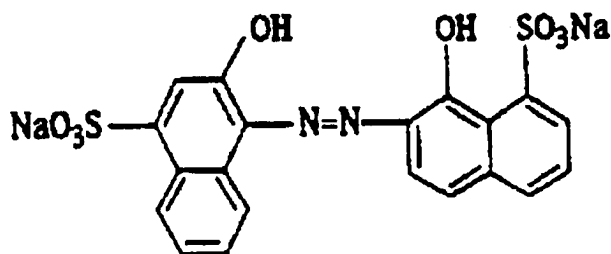
Colorante Naranja II (CI 15510):



Puesto que éste fue el colorante en el que se desarrolló la bacteria en el medio continuo, el crecimiento de la especie *E. aerogenes* es importante y rápido: 24 horas.

#### Ejemplo 2

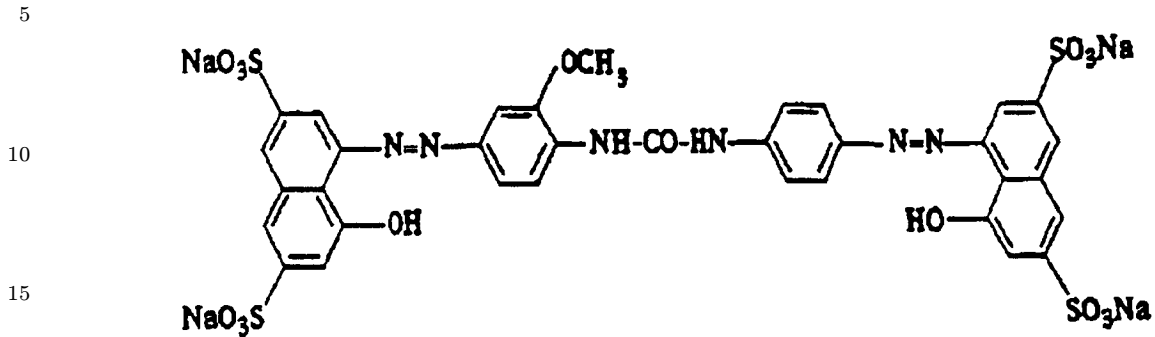
Colorante Azul Neolán (CI 14880):



El crecimiento de *E. aerogenes* en este caso se observó en 96 h, tiempo bastante superior al del colorante Naranja II, puesto que fue preciso un periodo de adaptación más largo.

Ejemplo 3

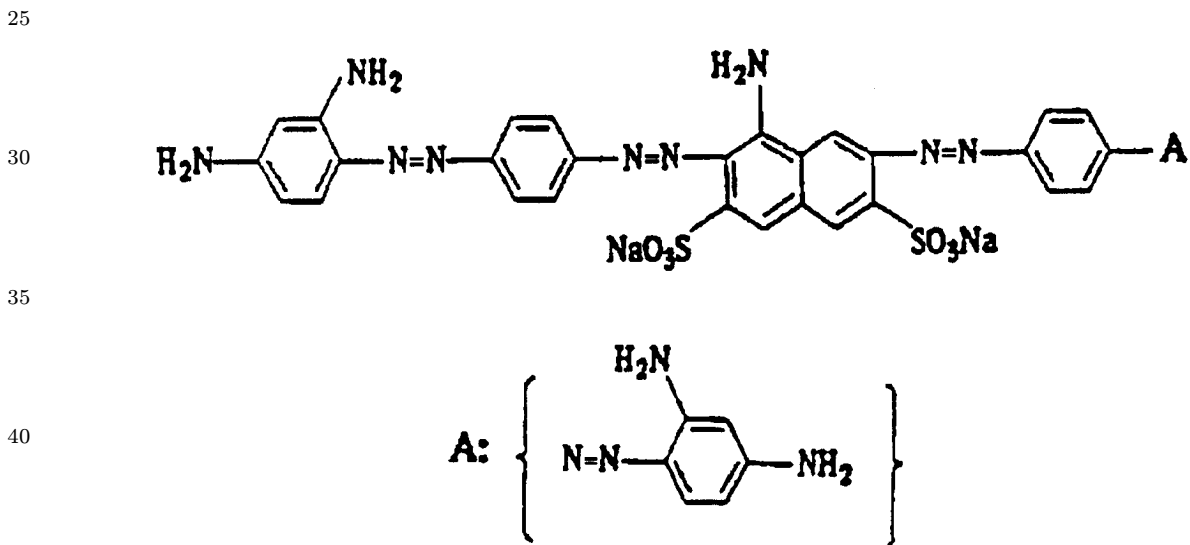
Colorante Rojo Sirius (CI 29065):



A diferencia de lo que en un principio podría pensarse, estas grandes moléculas también son degradadas por la bacteria *E. aerogenes*, la cual mostró un crecimiento medio en 96 h.

20  
Ejemplo 4

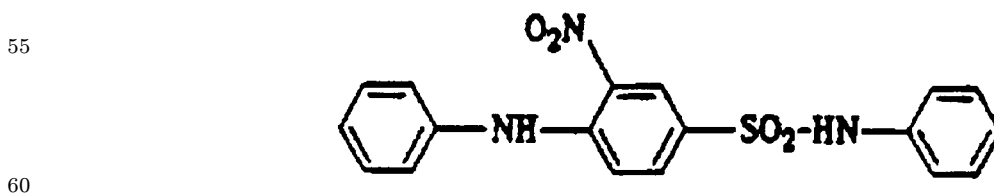
Colorante Negro Solar (CI 35255):



Este poliazocolorante también es degradado por *E. aerogenes* que presentó un crecimiento medio en 144 h. Se observa un mayor tiempo de adaptación al aumentar el tamaño de la molécula de colorante.

50  
Ejemplo 5

Colorante Amarillo Forón (CI 10338):



En este caso se obtuvo un crecimiento medio en 144 h con *E. aerogenes*. Aunque la molécula de este colorante no es muy grande, el mayor tiempo de adaptación respecto al Naranja II es debido que éste es

un colorante no azoico.

*Conclusiones referentes a la degradación de diversos colorantes*

5 La cepa bacteriana *E. aerogenes* está especialmente adaptada a la degradación del colorante Naranja II (ejemplo 1), así como otros colorantes con diferentes estructuras moleculares.

Parece ser que la estructura molecular básica del colorante no es un factor que incida decisivamente en su degradación, como en un principio podría pensarse, Así, monoazocolorantes de estructura molecular diferente a Naranja II, como Azul Neolán (ejemplo 2) son fácilmente degradados por *E. aerogenes*.  
10 También es degradado por esta bacteria el colorante no azoico Amarillo Forón (ejemplo 5), lo cual prueba la posibilidad de tratamiento de otros colorantes que no presentan enlace azo.

Las grandes moléculas del disazocolorante Rojo Sirius (ejemplo 3) y del poliazocolorante Negro Solar  
15 (ejemplo 4) también son degradadas por *E. aerogenes*. El primer colorante tiene una estructura molecular básica similar a Naranja II, mientras que Negro Solar presenta una fórmula lineal bastante diferente.

La posibilidad, por tanto, de aplicar la cepa bacteriana aislada *E. aerogenes* en la degradación de  
20 diversos monoazocolorantes, poliazocolorantes, e incluso colorantes no azoicos, permite su extensión al tratamiento biológico de aguas residuales textiles. Por otra parte, esta cepa puede ser transferida a diferentes medios de acuerdo con los requerimientos necesarios: en fase líquida o sobre una superficie sólida (adsorbente) que favorezca el crecimiento. Asimismo, podrá ser utilizada como inóculo en distintos tipos de reactores en función de las características del agua residual a tratar y resultados a obtener.

25 La cepa bacteriana *E. aerogenes* capaz de degradar colorantes descrita en esta invención ha sido depositada en la *Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) de la Universidad de Valencia* con el número de depósito CECT 4613.

TABLA 1

30 *Composición y parámetros contaminantes del agua residual sintética utilizada en la experimentación*

Componente	Concentración (mg l <sup>-1</sup> )
Peptona	160
Extracto de carne	110
Urea	30
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	28
NaCl	7
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2
Naranja II (CI 15510)	20

45 DQO = 250 ± 30 mg O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>; DQO/DBO = 1.44; pH = 7.3

TABLA 2

50 *Composición y características del agua de la red utilizada para la preparación del agua residual sintética*

Parámetro	Concentración
Cloro (mg l <sup>-1</sup> )	0.81
Cloruros (mg Cl <sup>-</sup> l <sup>-1</sup> )	7.0
Sulfatos (mg SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> l <sup>-1</sup> )	12.7
Nitratos (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> l <sup>-1</sup> )	1.15
Nitritos (mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> l <sup>-1</sup> )	< 0.001
Amonio (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> l <sup>-1</sup> )	< 0.04

# ES 2 114 809 A1

TABLA 2 (Continuación)

Parámetro	Concentración
Calcio (mg Ca <sup>2+</sup> l <sup>-1</sup> )	6.8
Magnesio (mg Mg <sup>2+</sup> l <sup>-1</sup> )	1.9
Sodio (mg Na <sup>+</sup> l <sup>-1</sup> )	10.6
Potasio (mg K <sup>+</sup> l <sup>-1</sup> )	1.4
Fósforo (mg P l <sup>-1</sup> )	8.5
Hierro ( $\mu\text{g Fe l}^{-1}$ )	< 10
Aluminio ( $\mu\text{g Al}^{3+} \text{ l}^{-1}$ )	60.0
Manganeso ( $\mu\text{g Mn l}^{-1}$ )	7.6
Zinc ( $\mu\text{g Zn l}^{-1}$ )	< 2.5
Cobre ( $\mu\text{g Cu l}^{-1}$ )	1.0
Cromo ( $\mu\text{g Cr l}^{-1}$ )	< 5
Plomo ( $\mu\text{g Pb l}^{-1}$ )	6.6
Arsénico ( $\mu\text{g As l}^{-1}$ )	< 5
Cadmio ( $\mu\text{g Cd l}^{-1}$ )	< 0.2
Cianuros ( $\mu\text{g CN}^{-} \text{ l}^{-1}$ )	< 10
Antimonio ( $\mu\text{g Sb l}^{-1}$ )	< 0.5
pH	6.99
Conductividad ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	108.0
Materia orgánica (mg O <sub>2</sub> l <sup>-1</sup> )	0.62
Detergentes ( $\mu\text{g Lauril sulfato l}^{-1}$ )	63.0

TABLA 3

*Parámetros óptimos de funcionamiento del sistema para distintos tiempos de retención celulares*

Tiempo de Retención Celular (d)	Concentración de Biomasa (mg l <sup>-1</sup> )	Temperatura (°C)	Concentración de Oxígeno (mg l <sup>-1</sup> )	Eliminación de Colorante (%)	Eliminación de DQO (%)
6	1005 ± 63	20.3 ± 2.1	6.9 ± 0.8	97.0 ± 1.1	63.9 ± 1.4
12	2380 ± 347	19.9 ± 1.9	6.8 ± 0.6	97.1 ± 1.5	75.6 ± 4.2
25	2908 ± 280	21.0 ± 1.7	7.3 ± 1.5	1.7 ± 1.2	68.5 ± 3.0

TABLA 4

*Composición del medio sólido en el que se llevaron a cabo ensayos de degradación de diversos colorantes*

Componente	Concentración
NaCl	7
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	4
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	28
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	28
Colorante	5000
Agar	30000



TABLA 5

Resultados de las pruebas bioquímicas de identificación de la especie bacteriana que degrada los colorantes: (+) positivo, (-) negativo, (w) débil, (?) incierto

Prueba Bioquímica	Especie Bacteriana <i>E. aerogenes</i>
<u>API 20 E</u>	
ONPG	+
<u>ADH</u>	-
<u>LDC</u>	+
<u>ODC</u>	+
<u>CIT</u>	+
<u>H<sub>2</sub>S</u>	-
<u>URE</u>	-
TDA	-
IND	-
<u>VP</u>	+
<u>GEL</u>	-
GLU	+
MAN	+
INO	-
SOR	+
RHA	-
SAC	+
MEL	+
AMY	+
ARA	+
OX	?
NO <sub>2</sub>	+
<u>Pruebas complementarias</u>	
Tinción de Gram	-
Glucosa	+
Kligler →   Lactosa	-
SH <sub>2</sub>	-
Aerobiosis/anaerobiosis	anaerobia facultativa
Oxidasa	-

#### Bibliografía

- Chung, K. T.; Stevens, S. E.: "Degradation of azo dyes by environmental microorganisms and helminths". *Environ. Toxicol. Chem.*, 12, 2121-2132 (1993).
- Ghorpade, A. K.; Spencer, H. T.: "Azo dyes' metabolism by *Pseudomonas putida*". *Proc. Ind. Waste Conf. 1993*, 48 th, 699-714 (1994).
- González, V.: "Estudios de biodegradabilidad de efluentes industriales". *Ing. Quim.*, 291, 97-101 (1993).
- Govindaswami, M.; Schmidt, T.; White, D. C.; Loper, J. C.: "Phylogenetic analysis of a bacterial aerobic degradation of azo dyes". *J. Bacteriol.*, 175, 6062-6066 (1993).
- Li, L.; Cui, S.: "Textile dyeing wastewater treatment with immobilized bacteria". *Water Treat.*, 8, 218-224 (1993).

## ES 2 114 809 A1

Liu, Z.; Yang, H.: "Decolorization and biodegradation metabolism of azo dyes by *Pseudomonas*". *J. Environ. Sci. (China)*, 3, 89-102 (1991).

5 Liu, Z.; Yang, H.; Jia, S.: "Studies on decolorization of dyeing wastewater by mixed bacterial cells immobilized in poly(vinyl alcohol)". *Water Treat.*, 8, 203-214 (1993).

Mines, R. O.; Silverstein, J. A.; Sherrard, J. H.; Kennedy, M. S.; Weber, A. S.: "Activated sludge". *J. Water Pollut. Control Fed.*, 61, 799-807 (1989).

10 Specchia, V.; Ruggeri, B.; Gianetto, A.: "Mechanisms of Activated Carbon Bioremoval". *Chem. Eng. Comm.*, 68, 99 -117 (1988).

Velázquez, E.; Mateos, P.; Monte, E.; Tejedor, C.: "Tablas de identificación de microorganismo". Ed. Universidad de Salamanca, I.U.C.E., Salamanca, pp. 33-49 (1990).

15 Weber, A. S.; Silverstein, J. A.; Sherrard, J. H.; Mines, R. O.; Kennedy, M. S.: "Activated sludge". *J. Water Pollut. Control Fed.*, 60, 816-824 (1988).

20 Williams & Wilkins: "Bergey's manual of systematic bacteriology". Baltimore, U.S.A., pp. 163-199 (1983).

Xian, H.; Yang, H.: "Study on the decolorization of dyes by microorganisms". *J. Environ. Sci. (China)*, 1, 60-68 (1989).

25 Yatome, C.; Ogawa, T.; Hayashi, H.; Ogawa, T.: "Microbial reduction of azo dyes by several strains". *J. Environ. Sci. Health, Part A*, A 26, 471-485 (1991).

30

35

40

45

50

55

60

**REIVINDICACIONES**

1. Aplicación del microorganismo adaptado a la degradación de azocolorantes: *Enterobacter aerogenes* (CECT No. 4613), en el tratamiento de aguas residuales textiles.

5

2. Aplicación del microorganismo *Enterobacter aerogenes* (CECT No. 4613) en el proceso de adsorción-degradación, utilizando carbón activado y otro tipo de adsorbente que concentre el sustrato y favorezca el desarrollo del microorganismo.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>: C02F 3/34 // C12N 1/20

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BASE DE DATOS CA en STN. AN 113:102685; XIAN, H y YANG, H. Study on the decolorization of dyes by microorganisms. J. Environ. Sci. (China) 1989. Vol. 1 (2), páginas 60-68	1
A	CHUNG, K-T y STEVENS S.E. Degradation of azo dyes by environmental microorganisms and helminths. Environ. Toxicol. Chem. 1993. Vol. 12, páginas 2121-2132	1
A	YATOME, C et al. Microbial reduction of azo dyes by several strains. J. Environ. Sci. Health. 1991. A 26 (4), páginas 471-485	1
A	BASE DE DATOS CA en STN. AN 115:189097; LIU, Z y YANG, H. Decolorization and biodegradation metabolism of azo dyes by Pseudomonas S-42. J. Environ. Sci. (China). 1991. Vol. 3 (2), páginas 89-102	1
A	BASE DE DATOS CA en STN. AN 114:128314; RAKMI, A.R et al. Biodegradation of azo dyes by an acclimated culture in a continuous process. Inst. Chem. Eng. Symp. Ser. 1990, 11C (Effluent Treat. Waste disposal), páginas 301-310	1
A	US-4918018-A (WASKOVSKY) 17.04.90 * Resumen; ejemplo 2; columna 2, líneas 6-18 *	1
A	US-5091089-A (SHEN et al.) 25.02.92 * Resumen; columna 1, líneas 37-58; columna 3 *	1

**Categoría de los documentos citados**

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

**El presente informe ha sido realizado**

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

**Fecha de realización del informe**

22.04.98

**Examinador**

A. Polo Díez

**Página**

1/2



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA

- ① ES 2 114 809  
② N.º solicitud: 9600468  
③ Fecha de presentación de la solicitud: 28.02.96  
④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.<sup>6</sup>: C02F 3/34 // C12N 1/20

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	CH-612655-A (CIBA-GEIGY) 15.08.79	1,2
A	LI L. y CUI S. Textile dyeing wastewater treatment with immobilized bacteria. Water Treatment. 1993. Vol. 8, páginas 215-224	1,2

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe  
22.04.98

Examinador  
A. Polo Díez

Página  
2/2