



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: 2 362 899

(51) Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01) CO2F 3/34 (2006.01)

CO2F 3/12 (2006.01)

(1	2)
\ <u></u>	ン

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

Т3

- 96 Número de solicitud europea: 07731332 .8
- 96 Fecha de presentación : 20.04.2007
- 97 Número de publicación de la solicitud: 2018417 97 Fecha de publicación de la solicitud: 28.01.2009
- (54) Título: Nuevo microorganismo para el tratamiento de aguas residuales y procedimiento.
- (30) Prioridad: **27.04.2006 FR 06 03792**

(73) Titular/es: **ECO SOLUTION** Parc Biocitech 102, avenue Gaston Roussel 93230 Romainville, FR

- (45) Fecha de publicación de la mención BOPI: 14.07.2011
- (72) Inventor/es: Da Costa, Alexandre
- (45) Fecha de la publicación del folleto de la patente: 14.07.2011
- (74) Agente: Elzaburu Márquez, Alberto

ES 2 362 899 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevo Microorganismo para el Tratamiento de Aguas Residuales y Procedimiento.

Sector técnico

La presente invención entra en el marco de la descontaminación de aguas residuales. Se refiere en particular al aislamiento y a la caracterización de un nuevo microorganismo capaz de transformar la materia carbonada y la materia nitrogenada, en aerobiosis. Este microorganismo es particularmente útil para el tratamiento por vía biológica de los efluentes cargados de carbono y nitrógeno.

Técnica anterior

25

30

35

45

50

Actualmente, el tratamiento de la materia carbonada y nitrogenada por vía biológica pasa por la utilización de al menos dos tipos de microorganismos, los primeros especializados en el tratamiento de la materia carbonada, los segundo especializados en el tratamiento de la materia nitrogenada.

En efecto, la descontaminación de la materia orgánica se produce generalmente en los depósitos de lodos activados en los cuales la materia carbonada se transforma, en aerobiosis, en biomasa y dióxido de carbono. Alternativamente, por anaerobiosis, la materia orgánica puede ser transformada en biomasa y en metano.

Según uno u otros de estos tratamientos, la carga nitrogenada de los efluentes en curso de tratamiento sigue siendo importante. El tratamiento de la carga nitrogenada requiere una etapa ulterior que implica microorganismos especializados.

Hasta hoy en día, existen diferentes procedimientos que se explotan para transformar el nitrógeno en forma amoniacal (NH_3) u oxidada $(NO_2$, NO_3) contenido en los efluentes acuosos, en nitrógeno gaseoso (N_2) .

20 El tratamiento más extendido actualmente está constituido por una etapa de nitrificación aerobia seguido de una etapa de desnitrificación anóxica.

La nitrificación consiste en la oxidación del nitrógeno amoniacal (NH_3) en nitritos (NO_2) gracias a bacterias autótrofas que incluyen, por ejemplo, especies de los géneros Nitrosomonas, Nitrosospira y Nitrosococcus, después en la oxidación de los nitritos producidos anteriormente en nitratos (NO_3) gracias a bacterias autótrofas que incluyen, por ejemplo, especies de los géneros Nitrobacter, Nitrococcus y Nitrospira.

La desnitrificación consiste en la reducción de las formas oxidadas del nitrógeno mineral (nitritos (NO_2), nitratos (NO_3)) en compuestos gaseosos (N_2) por una colonia microbiana funcional desnitrificante, la mayoría del tiempo heterótrofa, en presencia de un donante de electrones. Este proceso se realiza por numerosas bacterias incluyendo, por ejemplo, las especies pertenecientes a los géneros Pseudomonas, Bacillus, Paracoccus, Thiobacillus, Alcaligenes. La reducción de las formas oxidadas del nitrógeno está, por tanto, acoplada a la oxidación de un compuesto orgánico. Esto significa que el carbono es un factor limitante de la desnitrificación. En efecto, si la concentración en materia carbonada de los efluentes acuosos a tratar no es suficiente para que las colonias microbianas se mantengan activas frente al tratamiento del nitrógeno, puede resultar necesaria la adición de una fuente de carbono exógeno para el buen funcionamiento de los reactores de desnitrificación. En particular, es el caso de que el efluente a tratar esté poco cargado de carbono (relación carbono/nitrógeno (C/N) < 4, o que sufra una decantación primaria antes de la desnitrificación.

La desnitrificación se puede realizar tratando el efluente colectado después de la etapa de nitrificación en un depósito de anoxia que contenga las bacterias desnitrificantes.

Según otro modo de funcionamiento, el depósito de nitrificación se puede explotar periódicamente como un depósito de desnitrificación haciéndole anóxico, por ejemplo ejecutando interrupciones de oxígeno y añadiendo donantes de electrones, entre los cuales el metanol es el más frecuentemente utilizado.

Entre los inconvenientes de este método de nitrificación-desnitrificación cabe señalar que las cepas nitrificantes autótrofas poseen una baja tasa de crecimiento. Esta característica cinética da lugar a tiempos de permanencia importantes en los depósitos, lo que conduce a la necesidad de, o bien concebir grandes obras, o bien prolongar la cadena de tratamiento mediante nuevas obras, lo que arrastra elevados costes de inversión. Además, en el caso de una etapa de desnitrificación realizada en un depósito adicional, es necesario aportar a la flora desnitrificante una fuente de carbono orgánica, tal como metanol, lo que puede generar sobrecostes de explotación.

Otro procedimiento para el tratamiento del nitrógeno amoniacal denominado Anammox (por Anaerobic Ammonia Oxidation) permite la bioconversión del nitrógeno amoniacal y de los nitritos en nitrógeno gaseoso. Esta reacción se puede realizar tratando el efluente de nitrificación (que contiene nitritos y amonio que no ha reaccionado) en un depósito separado, para producir nitrógeno gaseoso. Según otro modo de funcionamiento, el depósito de nitrificación se puede conducir alternando condiciones óxicas y anóxicas o, de forma continua, según las condiciones de limitación de oxígeno. En este caso, el consumo de oxígeno por las bacterias nitrificantes genera las condiciones

anóxicas del procedimiento Anammox. Las bacterias capaces de catalizar la reacción Anammox se pueden obtener a partir de lodos clásicos, activados, siempre que estos contengan bacterias planctomycetes del tipo *Brocardia anammoxidans*.

- El principal inconveniente del procedimiento Anammox es la baja tasa de crecimiento de las bacterias plantomycetes utilizadas, lo que lleva consigo importantes fases de parada de las instalaciones. En caso de sobrecrecimiento, las condiciones de cultivo de estas bacterias y su mantenimiento en cultivos puros resultan difíciles. Por último, la nitrificación parcial (conversión de 50% del amoniaco en nitritos) se debe dominar perfectamente, lo que es difícil de realizar en condiciones de explotación real.
- El procedimiento Sharon dispuesto aguas arriba del tratamiento Anammox permite la obtención de una nitrificación parcial. El procedimiento Sharon se basa en la diferencia que existe entre la tasa de crecimiento de las bacterias oxidantes del amoniaco y la de las bacterias oxidantes de los nitritos. Este tratamiento funciona con un tiempo de retención hidráulica inferior a la tasa de crecimiento de las bacterias oxidantes de los nitritos, pero más elevado que la de las bacterias oxidantes del amoniaco (casi un día). Puesto que no hay retención de lodos, las bacterias oxidantes de los nitritos no se mantienen en el reactor y, por tanto, son eliminadas.
- Recientemente, cepas de *Alcaligenes faecalis* fueron identificadas como capaces de realizar la nitrificación y la desnitrificación en aerobiosis. Este es el caso de la cepa *Alcaligenes faecalis* sp. nº 4 descrita en el artículo de Joo *et al.* (Biotechnology Letters (2005) 27: 773-778). Gracias a una cepa de este tipo, el tratamiento del nitrógeno amoniacal se puede realizar en una sola etapa aerobia.
- No obstante, esta bacteria no permite transformar la totalidad del nitrógeno amoniacal en nitrógeno gaseoso. En efecto, se acumulan cantidades no despreciables de productos intermediarios de la desnitrificación. Así, en el mejor de los casos, el tratamiento de grandes contenidos en amonio, basado en la utilización de *Alcaligenes faecalis* sp. nº 4 en aerobiosis, con una relación C/N de 10 conduce a la eliminación de 40-50% de NH₄⁺ por desnitrificación y 90% de los productos de la desnitrificación son nitrógeno gaseoso. Por otra parte, esta bacteria funciona de manera óptima con relaciones C/N elevadas, siendo necesaria una suplementación de carbono del efluente a tratar (Joo *et al.* (2005)).

Por consiguiente, la mejora de la eficacia del tratamiento del nitrógeno amoniacal en las aguas residuales pasa hoy día por la adición a las instalaciones existentes de tratamientos específicos denominados tratamientos terciarios, con lodos activados o biofiltros. Los equipamientos y obras necesarias para ejecutar estos tratamientos representan inversiones consecuentes y generan igualmente costes de explotación significativos cuando se hace necesario añadir sustratos carbonados, por ejemplo durante la desnitrificación.

La presente invención tiene por objeto paliar los inconvenientes de la técnica anterior y describe un modo de tratamiento de la materia carbonada y del nitrógeno en forma Kjeldahl, amoniacal u oxidado, por vía biológica, en el seno de una única etapa aerobia, por medio de microorganismos heterótrofos que poseen una velocidad de crecimiento importante, que permite concebir obras de depuración de tamaño reducido.

- La invención tiene igualmente por objeto obtener una reducción de los costes de explotación de las plantas de depuración, especialmente las que utilizan depósitos de desnitrificación dispuestos aguas abajo de los depósitos de nitrificación. En efecto, puesto que el nitrógeno amoniacal es transformado en nitrógeno gaseoso en los depósitos de aeración, los depósitos de desnitrificación anóxicos dispuestos aguas abajo ya no tienen utilidad.
- Por este hecho, el ahorro generado procede de una parte porque se suprime la adición de un sustrato carbonado orgánico (tipo metanol) y, de otra parte, porque se reduce la producción de lodos por la eliminación de la etapa de tratamiento anóxico.

Por tanto, la invención permite una explotación óptima de las instalaciones de tratamiento de aguas, existentes, sin necesitar etapas de tratamientos complementarios.

Descripción de la invención

30

45 En este contexto, el solicitante ha aislado un nuevo microorganismo capaz de transformar la materia carbonada y la materia nitrogenada, en aerobiosis, que lo hace particularmente útil en el tratamiento de aguas residuales.

La materia nitrogenada transformada por el microorganismo según la invención puede ser nitrógeno Kjeldahl, nitrógeno amoniacal y/u óxidos de nitrógeno.

El nitrógeno Kjeldahl comprende nitrógeno en forma orgánica y en forma amoniacal con exclusión de las formas nitrosas (nitritos, nitratos).

Así, la invención se refiere a un microorganismo aislado, caracterizado por que es capaz de realizar:

 i) la transformación de nitrógeno Kjeldahl, de nitrógeno amoniacal y/o de óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso; y ii) la transformación de la materia carbonada en dióxido de carbono; desarrollándose las dos transformaciones en aerobiosis.

Por tanto, la invención tiene por primer objeto un microorganismo aislado caracterizado por que se trata de la cepa CNCM I-3448 de *Alcaligenes faecalis* capaz de realizar:

- i) la transformación de nitrógeno Kjeldahl, de nitrógeno amoniacal y/o de óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso; y
- ii) la transformación de la materia carbonada en dióxido de carbono; desarrollándose las dos transformaciones en aerobiosis.

De manera preferida, el microorganismo según la invención es capaz de transformar el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso acumulando menos de 1% de óxidos de nitrógeno.

De manera más preferida, el microorganismo según la invención es capaz de efectuar la transformación del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso acumulando menos de 1% de óxidos de nitrógeno, siendo óptima esta transformación cuando la relación C/N del medio es inferior a 4, de preferencia inferior a 3, de preferencia del orden de 1,5.

El microorganismo según la invención es capaz de efectuar la transformación del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso en condiciones de carga másica aplicada (CMA) inferior a 0,2 kg DB0,5/kg MVS/d.

Se prefiere más particularmente un microorganismo aislado, tal como el descrito anteriormente, caracterizado por que transforma el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno en condiciones de carga másica aplicada (CMA) superior o igual a 0,2 kg DB0,5/kg MVS/d, de preferencia superior a 0,5 kg DB0,5/kg MVS/d.

El microorganismo según la invención pertenece al género Alcaligenes, en particular a la especia Alcaligenes faecalis.

El microorganismo según la invención está representado por la cepa *Alcaligenes faecalis* depositada el 10 de junio 2005 en la Collection Nationale de Cultures de Microorganismes del Institut Pasteur (CNCM) bajo la referencia CNCM I-3448.

La invención describe los microorganismos derivados de la cepa CNCM I-3448 que tienen la capacidad de transformar la materia carbonada y la materia nitrogenada, en aerobiosis.

Por microorganismo derivado, se entiende cualquier microorganismo procedente de la cepa CNCM l-3448 que pudiera resultar, por ejemplo, de una etapa de cultivo, por mutación, por transformación de la cepa CNCM l-3448 o incluso por su crecimiento con otro microorganismo y que habría conservado las características esenciales de la cepa CNCM l-3448.

Otro objeto de la invención es la utilización del microorganismo según la invención para el tratamiento de aguas residuales.

La utilización preferida del microorganismo según la invención se refiere a la transformación del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno, contenidos en las aguas residuales, en nitrógeno gaseoso, en aerobiosis.

Según un aspecto de la utilización según la invención, se acumulan menos de 1% de óxidos de nitrógeno (NO_3^-, NO_2^-) .

De manera aún más preferida, la utilización del microorganismo según la invención se refiere a los tratamientos combinados del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno y de la materia carbonada, contenidos en las aguas residuales, en aerobiosis.

En particular, durante la utilización según la invención, el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno se transforman en nitrógeno gaseoso y la materia carbonada se transforma en dióxido de carbono.

La utilización según la invención se puede efectuar en condiciones en las que la carga másica aplicada (CMA) del medio sea inferior a 0,2 kg DB0,5/kg MVS/d.

4

5

10

15

20

25

30

35

40

45

De preferencia, la utilización según la invención se efectúa en condiciones en las que la carga másica aplicada (CMA) es superior a 0,2 kg $_{\text{DB0,5}}$ /kg $_{\text{MVS}}$ /d, de manera aún más preferida, superior a 0,5 kg $_{\text{DB0,5}}$ /kg $_{\text{MVS}}$ /d.

Según un modo de realización preferido de la utilización según la invención, no se añade ninguna fuente carbonada externa a las aguas residuales a tratar.

Una de las características preferidas de la utilización según la invención consiste en que los tratamientos combinados del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno y de la materia carbonada, contenidos en las aguas residuales se desarrollan en un único depósito de lodos activados libres.

Alternativamente, la utilización según la invención se caracteriza por el hecho de que los tratamientos combinados del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno y de la materia carbonada, contenidos en las aguas residuales, se desarrollan en un dispositivo con cultivos fijados sobre un soporte.

Según otro aspecto, la invención se refiere a la utilización de un microorganismo según la invención, previamente producido por cultivo continuo. De preferencia, dicho cultivo continuo se realiza en condiciones estériles. De manera aún más preferida, dicho cultivo continuo se realiza bajo presión de selección y durante tiempos indefinidos.

Otro objeto de la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento de las aguas residuales, caracterizado por que emplea un microorganismo según la invención.

Según un aspecto de la invención, el procedimiento para el tratamiento de aguas residuales comprende las etapas siguientes:

- i) el cultivo del microorganismo según la invención;
- ii) la alimentación automática de un dispositivo de tratamiento que contiene las aguas residuales a tratar, por aportes repetitivos del cultivo producido en la etapa i); y
- iii) el tratamiento biológico de las materias carbonadas y nitrogenadas contenidas en las aguas residuales, en el seno del dispositivo de tratamiento, en aerobiosis.

Según un aspecto de la invención, el tratamiento biológico de la materia carbonada y el tratamiento biológico de la materia nitrogenada de la etapa iii) se desarrollan simultáneamente.

De manera preferida, el dispositivo de tratamiento de las aguas residuales mencionado en las etapas ii) e iii) es un depósito de aireación.

La invención tiene igualmente por objeto el control de la eficacia de la descontaminación biológica de las aguas residuales, de manera a optimizar el tratamiento de los efluentes en función de las circunstancias, por ejemplo el aumento de carga carbonada y/o nitrogenada.

También, de manera aún más preferida, la actividad del microorganismo según la invención, presente en el seno de los lodos activados libres del depósito de aireación según uno de los procedimientos descritos anteriormente, se evalúa por medio de transferencias regulares de tomas sustraídas hacia un dispositivo de cultivo, después se compara con un cultivo de dicho microorganismo mantenido bajo presión de selección.

Según otro modo de realización, el procedimiento según la invención comprende, en paralelo, transformaciones aerobias del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno y de la materia carbonada, por el microorganismo según la invención en el dispositivo de tratamiento, el cultivo en continuo del microorganismo según la invención en un medio que contiene nutrientes (fuente de carbono, fuente de nitrógeno..) necesarios para el crecimiento microbiano, con el fin de inocular periódicamente el dispositivo de tratamiento con dicho microorganismo.

Preferentemente, el crecimiento microbiano se realiza en un dispositivo que permite cultivar el microorganismo según la invención en condiciones de cultivo estéril. Más particularmente, este cultivo se realiza bajo presión de selección y durante tiempos indefinidos.

Según un modo particular de realización de la invención, este cultivo paralelo se utiliza para sembrar regularmente un reactor de amplificación, que tiene un volumen desde algunos centenares de litros a algunos metros cúbicos, en el cual se produce un cultivo no estéril del microorganismo según la invención, en cantidad importante. El medio de cultivo puede ser sintético o consistir en un efluente a tratar, y debe ser lo suficientemente selectivo para favorecer una producción importante de dicho microorganismo. Los aportes repetitivos de este cultivo se podrán realizar automáticamente según una frecuencia definida a un

20

5

10

15

25

30

35

40

45

50

dispositivo de tratamiento de aguas residuales, por ejemplo al depósito de aireación de lodos activados libres. Al dispositivo de tratamiento no se añade ningún sustrato orgánico como, por ejemplo, metanol, para favorecer el mantenimiento del microorganismo según la invención, puesto que éste utiliza como fuente de carbono la materia orgánica presente en las aguas residuales a tratar.

Alternativamente, de manera ventajosa, el dispositivo de tratamiento de las aguas residuales mencionado en las etapas ii) e iii) es un dispositivo de cultivos fijados sobre un soporte.

Según otro aspecto del procedimiento según la invención, dicho procedimiento comprende, aguas arriba del dispositivo de tratamiento, una etapa de evaluación de la toxicidad frente al microorganismo de las aguas residuales entrantes. La etapa de evaluación de la toxicidad se puede basar, en particular, en la medición del crecimiento de dicho microorganismo en dichas aguas residuales.

Un efluente tóxico para el microorganismo y, por tanto, nefasto para la transformación del nitrógeno Kjeldahl, del nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso, podría ser dirigido entonces hacia un depósito de seguridad para un tratamiento ulterior.

Según otro aspecto de la invención, el microorganismo está fijado sobre un soporte.

10

15

20

25

30

35

40

45

Dicho soporte puede contener una guarnición de tipo estructurado o de otro tipo, que permita optimizar la implantación de la colonia cultivada del microorganismo según la invención, su fijación y su desarrollo en condiciones favorables. Esta guarnición puede ser de diferentes tipos y de diferentes materiales conocidos por el experto en la materia.

En particular, el microorganismo según la invención está fijado solo o en co-cultivo con uno o varios microorganismos especializados en el tratamiento de la contaminación carbonada.

El reparto del microorganismo según la invención en la superficie del soporte debe ser el mejor posible y el buen desarrollo del procedimiento depende de las transferencias entre los microorganismos y el efluente a tratar. En términos de aireación, la instalación debe estar concebida para que la transferencia de oxígeno sea lo más eficaz posible para los microorganismos depuradores fijados sobre el soporte. Por otra parte, hace falta una buena transferencia del efluente hacia los microorganismos fijados en lo que se refiere a los contaminantes a tratar (especialmente el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno y las materias carbonadas) y, en sentido inverso, para los productos del metabolismo de los microorganismos (especialmente el dióxido de carbono y el nitrógeno gaseoso).

Según la invención, las aguas residuales a tratar incluyen cualquier agua residual que sea municipal, industrial, agrícola o de cualquier otro origen, que contengan valores significativos de nitrógeno amoniacal. El contenido en nitrógeno Kjeldahl o amoniacal del efluente a tratar es de, por ejemplo, 50 mg/l, especialmente 1 g/l, particularmente 30 g/l. Las aguas residuales a tratar pueden proceder igualmente del agua utilizada para depurar gases que contengan nitrógeno amoniacal.

El procedimiento según la invención está particularmente adaptado para el tratamiento de las aguas residuales que contienen más de 30 q/l de nitrógeno Kieldahl o de nitrógeno amoniacal.

Las aguas residuales a tratar contienen igualmente valores significativos de carbono orgánico. Los contenidos de carbono orgánico total pueden ser, por ejemplo, de 80 mg/l, especialmente 1 g/l, particularmente 80 g/l o 95 g/l.

Según otro aspecto, el procedimiento según la invención va acompañado de la acumulación de al menos 1% de óxidos de nitrógeno (NO₂-, NO₃-).

Los ejemplos siguientes ilustran la invención, pero éstos no deberán ser considerados como limitativos.

Ejemplo 1: bioconversión de un efluente sintético urbano

Una fermentadora de 1 litro útil es alimentada en continuo con un efluente sintético que recoge la composición media de las aguas residuales de origen urbano.

La composición de este efluente es la siguiente: 53 mg/l de N-NH₃ en forma de (NH₄)₂SO₄, 82 mg/l de carbono orgánico total (COT) en forma de acetato de sodio, 0,1 g/l de K₂HPO₄ y microelementos conocidos por el experto en la materia para favorecer el crecimiento de estos microorganismos. Si fuera necesario, el pH de la solución se ajusta a 8 con HCl / NaOH.

La fermentadora contiene un cultivo puro de la cepa Alcaligenes faecalis CNCM I-3448.

50 El régimen continuo se mantiene fijando una carga volúmica aplicada de 1,9 g de $NH_3/m^3/d$ y 2,6 g de $C/m^3/d$.

Este modo de realización corresponde a unas condiciones en las que la carga másica aplicada (CMA) es de $0.27 \text{ kg}_{DB0.5}/\text{kg}_{MVS}/\text{d}$ y la relación C/N del medio es 1.5.

La aireación del cultivo está asegurada por borboteo de aire comprimido (concentración de oxígeno disuelto superior a 3 mg/l). La única salida de aire está unida a un borboteador que contiene 2 litros de agua osmotizada a pH 5. El objeto de este montaje es asegurar que el amoniaco no sea evacuado por aireación durante la biodegradación en continuo del efluente.

Cuando se alcanza el régimen estabilizado, la concentración de amoniaco en el borboteador (pH 5) es nula, la concentración media de materia seca es de 0,7 g/l y 90% del carbono (COT) entrante, o bien se convierte en biomasa, o bien en dióxido de carbono.

Se mide una caída de 99,9% del nitrógeno amoniacal, que se convierte, o bien en biomasa o bien en nitrógeno gaseoso. El rendimiento de bioconversión sobre el nitrógeno obtenido es por tanto superior a 99,9%.

Además, no se mide acumulación de nitritos y de nitratos en el medio, ni en el efluente de salida.

Ejemplo 2: bioconversión de efluentes industriales concentrados en nitrógeno orgánico

Una fermentadora de 7,5 litros útiles se alimenta en continuo con aguas residuales que contienen esencialmente disolventes nitrogenados (como acetonitrilo o dimetilformamida) procedentes de la producción de péptidos.

El análisis del efluente revela una concentración de carbono orgánico total (COT) de 95 g/l y una concentración de nitrógeno Kjeldahl de 34 g/l (procedente esencialmente del acetonitrilo).

La fermentadora contiene un cultivo puro de la cepa *Alcaligenes faecalis* CNCM I-3448.

5

10

25

30

El régimen continuo se mantiene fijando una carga volúmica aplicada de 1,2 kg de $N/m^3/d$ y 3,2 kg de $C/m^3/d$.

Este modo de realización corresponde a unas condiciones en las que la carga másica aplicada (CMA) es de 0,96 kg _{DB0,5}/kg _{MVS}/d y la relación C/N del medio es 2,8.

El aire que entra en el cultivo (8 l/min) pasa por un humidificador. La única salida de aire está unida a un borboteador que contiene 2 litros de agua osmotizada a pH 5. El objeto de este montaje es asegurar que el amoniaco Kjeldahl no sea evacuado por aireación durante la biodegradación en continuo del efluente. Se observa que el flujo de nitrógeno Kjeldahl en los efluentes gaseosos representa la décima parte del flujo entrante.

Cuando se alcanza el régimen estabilizado, la concentración de amoniaco Kjeldahl en el borboteador (pH 5) es nula, la concentración media de materia seca es de 10 g/l y 98% del carbono (COT) entrante, o bien se convierte en biomasa, o bien en dióxido de carbono.

Se mide una caída de 99,9% del nitrógeno Kjeldahl, que se convierte, o bien en biomasa o bien en nitrógeno gaseoso.

Además, la acumulación de las formas oxidadas del nitrógeno (NO₂-, NO₃-) en el medio y en el efluente de salida es inferior a 1% y temporal (< 12 h).

El rendimiento de bioconversión en cuanto al nitrógeno Kjeldahl obtenido es por tanto superior a 99%.

REIVINDICACIONES

- 1. Microorganismo aislado, caracterizado por que se trata de la cepa CNCM I-3448 de *Alcaligenes faecalis* capaz de realizar:
 - i) la transformación de nitrógeno Kjeldahl, de nitrógeno amoniacal y/o de los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso; y
 - ii) la transformación de la materia carbonada en dióxido de carbono; desarrollándose las dos transformaciones en aerobiosis.
- 2. Microorganismo aislado según la reivindicación 1, caracterizado por que transforma el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/u los óxidos de nitrógeno en condiciones de carga másica aplicada (CMA) superior o igual a 0,2 kg DB0,5/kg MVS/d, preferentemente superior a. 0,5 kg DB0,5/kg MVS/d.

5

30

- 3. Microorganismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado por que transforma el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso acumulando menos de 1% de óxidos de nitrógeno.
- 4. Microorganismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por que transforma el nitrógeno Kjeldahl, el nitrógeno amoniacal y/o los óxidos de nitrógeno en nitrógeno gaseoso de manera óptima cuando la relación C/N en el medio es inferior a 4, preferentemente inferior a 3 y, de manera aún más preferida, del orden de 1,5.
- 5. Utilización del microorganismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el tratamiento de aguas residuales.
 - **6**. Utilización según la reivindicación 5, caracterizada por que la carga másica aplicada (CMA) es superior a 0,2 kg _{DB0,5}/kg _{MVS}/d, preferentemente superior a 0,5 kg _{DB0,5}/kg _{MVS}/d.
 - 7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, caracterizada por que a las aguas residuales a tratar no se añade ninguna fuente carbonada externa.
- 25 8. Procedimiento para el tratamiento de aguas residuales, caracterizado por que emplea un microorganismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.
 - 9. Procedimiento para el tratamiento de aguas residuales según la reivindicación 8, que comprende las etapas siguientes:
 - i) el cultivo del microorganismo según una de las reivindicaciones 1 a 5;
 - ii) la alimentación automática de un dispositivo de tratamiento que contiene las aguas residuales a tratar, por aportes repetitivos del cultivo producido en la etapa i); y
 - iii) el tratamiento biológico de las materias carbonadas y nitrogenadas contenidas en las aguas residuales, en el seno del dispositivo de tratamiento, en aerobiosis.
- 10. Procedimiento para el tratamiento de agua residuales según la reivindicación 9, en el cual el tratamiento biológico de la materia carbonada y el tratamiento biológico de la materia nitrogenada de la etapa iii) se desarrollan simultáneamente.
 - 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, en el cual el dispositivo para el tratamiento de las aguas residuales es un depósito de aireación de lodos activados libres.
- 12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, en el cual el dispositivo para el tratamiento de las aguas residuales es un dispositivo con cultivos fijados sobre un soporte.
 - **13**. Procedimiento según una de las reivindicaciones 8 a 12, en el cual las aguas residuales a tratar contienen más de 30 g/l de nitrógeno Kjeldahl o de nitrógeno amoniacal.