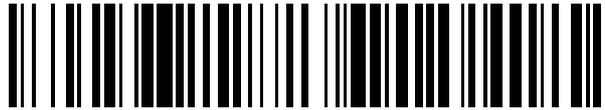


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 705 751**

51 Int. Cl.:

B09C 1/10 (2006.01)
C02F 3/34 (2006.01)
A62D 3/02 (2007.01)
B09C 1/00 (2006.01)
B09C 1/08 (2006.01)
C05F 11/02 (2006.01)
C02F 101/00 (2006.01)
C02F 101/20 (2006.01)
C02F 101/32 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.02.2015 PCT/IB2015/051013**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.08.2015 WO15121798**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.02.2015 E 15711834 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2018 EP 3104988**

54 Título: **Composición biocatalítica para el tratamiento de sustratos**

30 Prioridad:

11.02.2014 IT RM20140058

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.03.2019

73 Titular/es:

**BIOMA SA (100.0%)
Via Luserte SUD 8
6572 Quartino , CH**

72 Inventor/es:

BORTOLI, ELIO FABIO

74 Agente/Representante:

TORNER LASALLE, Elisabet

ES 2 705 751 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

Composición biocatalítica para el tratamiento de sustratos

5 Campo técnico

La presente invención se refiere al campo de composiciones biocatalíticas. Más detalladamente, la presente invención se refiere a una composición biocatalítica adaptada para transformar sustratos orgánicos, con los cuales reacciona, en compuestos orgánicos no contaminantes listos para un uso posterior. Dicha composición biocatalítica se aplica en el campo medioambiental y en particular en los campos de la agricultura, zootécnico y de recuperación medioambiental.

Estado de la técnica

15 El uso de nitrógeno y sustancias nitrogenadas como fertilizantes en el campo agrícola se conoce desde hace mucho tiempo. De hecho, el nitrógeno controla la formación de tejidos vegetales y su expansión, así como la potenciación de la absorción de elementos nutricionales. Sin embargo, la mayoría de los organismos vivos no pueden usar el nitrógeno atmosférico, dependiendo por tanto de la cantidad de nitrógeno contenido en los minerales del suelo. El nitrógeno está presente en pequeñas cantidades en las estructuras orgánicas del suelo, o en todo caso en formas disponibles de manera lenta y escasa para los cultivos. Estas formas de nitrógeno pasan a estar disponibles para los cultivos sólo tras mineralizarse por la microflora presente en el suelo, en primer lugar, en forma de amoníaco y luego en forma nítrica, que son las formas en las que se absorben por las raíces de las plantas. Su deficiencia en el suelo es el factor limitante principal para el crecimiento de las plantas. El proceso mediante el cual el nitrógeno se desplaza a través de los organismos vivos se denomina "ciclo del nitrógeno". Las etapas del ciclo del nitrógeno son: 20 amonificación; nitrificación; y asimilación. A pesar de que el ciclo del nitrógeno parece completo y autosuficiente, en realidad los nitratos se pierden completamente en el suelo y por tanto se eliminan del ciclo. Además, se pierden nitratos tras las actividades de algunas bacterias que viven en el suelo que, en ausencia de oxígeno, escinden los nitratos liberando de ese modo nitrógeno que regresa a la atmósfera.

30 Este proceso se denomina "desnitrificación". Ente los fertilizantes usados para enriquecer el suelo de nitrógeno, la urea es el más ampliamente adoptado. La urea, que es una molécula estructuralmente sencilla constituida por dos grupos amino NH_2 y uno cetónico CO , en presencia de la enzima ureasa, puede descomponerse desprendiendo agua y dióxido de carbono y producir amoníaco acuoso.

35 Otras fuentes de nitrógeno usadas como fertilizantes son: sulfato de amonio; nitrato de amonio; y nitrato de calcio. Desafortunadamente, la producción sustancial de compuestos nitrogenados en estado sólido, líquido y/o gaseoso, tales como los amoníacos, nitritos y nitratos líquidos y gaseosos, también representa una de las causas de contaminación atmosférica y contaminaciones del suelo, de las vías fluviales y de los acuíferos.

40 En la actualidad se conocen diversos procedimientos para el tratamiento de sustratos tales como fertilizante líquido y aguas residuales, que usan cultivos bacterianos, enzimas y levaduras con el fin de reducir la producción de amoníaco, y su olor. En particular, estas composiciones contienen bacterias tales como: *Bacillus subtilis*; enzimas tales como: amilasa; y levaduras tales como: *Saccharomyces cerevisiae*, tal como se describe en el documento FR 2.658.071. Sin embargo, las composiciones conocidas para el tratamiento de residuos orgánicos tales como excrementos, no permiten la conversión de nitrógeno inorgánico, es decir, nitrógeno en forma de NH_4^+ , NO_2 y NO_3 y uratos, en aminoácidos y proteínas, es decir, en compuestos nitrogenados orgánicos, sino que sólo permiten una reducción en el desarrollo de amoníaco mediante procesos de absorción y solubilización.

50 En vista de esto, muchos estudios se han dirigido a la identificación de un método eficaz para el tratamiento de los productos de desecho o residuos de origen biológico concernidos, así como a la identificación de una combinación biocatalítica que permitiría la conversión de dichos sustratos en compuestos nitrogenados orgánicos no contaminantes.

55 Todo esto con el fin de evitar la contaminación y reintroducir los residuos en el circuito anabólico. Un ejemplo de dicho tratamiento se describe en el documento US6025187. El documento concernido se refiere a una composición que comprende complejos bacterianos y otras sustancias, que pueden promover la descomposición y transformación de residuos de naturaleza biológica en compuestos orgánicos no contaminantes.

60 El documento WO2014163471 describe una formulación de biofertilizante basada en una cepa de *Azospirillum* particular que puede fijar nitrógeno. La solicitud CN 1631849 describe una formulación que comprende un biocatalizador constituido por un complejo de enzima-bacteria; la enzima necesaria se extrae del hígado de animales.

El documento US5248329 da a conocer el uso de un medio de crecimiento de extracto de patata (PEGM) en un

procedimiento para recuperar metales de menas y también para biorremediar suelos contaminados con metales no deseados. Los microbios que pueden usarse en el procedimiento son *Bacillus sp.* reductores de manganeso, o mutantes de los mismos que conservan las propiedades de recuperación de metales del microbio original.

5 Elise A. Asquith y otros, "Comparative Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil by Biostimulation, Bioaugmentation and Surfactant Addition", Journal of Environmental Science and Engineering A 1 (2012) páginas 637-650, dan a conocer una comparación entre diferentes técnicas para potenciar la biorremediación de hidrocarburos del petróleo en un suelo contaminado de manera crónica. Este documento da a conocer que la estimulación de microbios nativos de un suelo contaminado es más favorable que la bioaugmentación, es decir
10 complementar el suelo con cepas que degradan contaminantes, preparaciones consorcio o enzimáticas.

El documento US5766929 da a conocer una composición para la biorremediación que consiste esencialmente en derivados de hierro, sales de sulfato, sedimentos glaciares, extractos de levadura, compuestos de fósforo, compuestos de nitrógeno y donadores de electrones. El documento US5766929 da a conocer que, una vez
15 formuladas las composiciones de biorremediación, se introducen en el sitio contaminado, de modo que las composiciones de biorremediación estimulan eficazmente la población bacteriana indígena a que se expanda y degrade los contaminantes halogenados en etano y/o etano.

El documento US5413624 da a conocer un procedimiento para recuperar metales a partir de mena de sulfuro, concretamente para la extracción de metales útiles a partir de menas. El procedimiento del documento US5413624 utiliza las propiedades de biorremediación de microbios para liberar metales deseados a partir de menas. En el
20 procedimiento del documento US5413624 se usan microbios que existen de manera natural en la mena que va a procesarse.

El documento EP0962492A1 da a conocer el uso de quitina y/o derivados de la misma como biocatalizadores y en la remediación de suelos y fluidos contaminados. El documento EP0962492A1 da a conocer que la quitina y/o
25 derivados de la misma actúan como bioestimuladores que promueven la actividad de biodegradación de microorganismos nativos en suelos contaminados.

Iwona Zawierucha y otros, "Bioremediation of Contaminated Soils: Effects of Bioaugmentation and Biostimulation on Enhancing Biodegradation of Oil Hydrocarbons", en "Bioaugmentation, Biostimulation and Biocontrol"; 1 de enero de 2011, Springer Berlín Heidelberg, Berlín, Heidelberg, vol.: 108, páginas: 187 - 201, dan a conocer que el parámetro clave para seleccionar la estrategia de biorremediación apropiada incluye el número y la actividad del
30 microorganismo; los tipos, las concentraciones y la biodisponibilidad de contaminantes; el suministro de oxígeno y nutrientes, y las características del suelo.

El documento AU2007209830A1 da a conocer una composición de fertilizante derivada mediante digestión microbiana al menos parcial, antes de su aplicación a un área que va a fertilizarse, de una mezcla de componentes biológicos ajustados en proporción para lograr un estímulo y análisis deseados para hacer crecer la biota del suelo.
40 La composición incluye una fuente química de nutrientes vegetales, microorganismos, una fuente de carbono para sostener el crecimiento de microorganismos que producen digestión y un material adsorbente.

Sumario de la invención

45 El objeto de la presente solicitud para invención industrial, descrita a continuación en el presente documento en detalle, es proporcionar una composición biocatalítica novedosa adaptada para transformar sustratos sobre los que se aplica, en sustancias no contaminantes y/o sustancias reutilizables y útiles en campos de aplicación específicos y, en particular, en el campo agrícola, zootécnico y medioambiental. Los sustratos sobre los que se aplica la composición son sustancias y productos desecho y residuos, o productos potencialmente contaminantes si se
50 liberan en el medio ambiente tal como están. Los ejemplos de sustratos útiles para la presente invención son: aguas residuales zootécnicas sólidas y líquidas que se convierten en abono y/o recientes, fertilizantes químicos, tierras de cultivo preparadas, tierras de cultivo con residuo orgánico en exceso o residuos de fertilizantes químicos, suelos contaminados por hidrocarburos, metales pesados y/o metales radiogénicos, aguas negras, aguas contaminadas por hidrocarburos, metales pesados y/o metales radiogénicos, lodos de depuradora, residuos biológicos urbanos,
55 vertederos, residuos biológicos de la industria alimentaria (tal como por ejemplo suero lácteo), compost verde.

Por tanto, un objeto de la presente invención es una composición biocatalítica según la reivindicación 1.

La composición biocatalítica de la invención comprende al menos un componente (a) que incluye sustancias con actividad coenzimática, al menos un componente (b) que incluye sustancias con actividad enzimática microbiana y al
60 menos un componente (c) que incluye sustancias ácidas orgánicas con función reguladora del pH, dicha composición biocatalítica se caracteriza porque los componentes (a-c) están separados unos de otros hasta su uso y porque

el componente con actividad coenzimática (componente a) comprende vitamina A, vitamina B1, vitamina D3, vitamina E, galato de propilo, *E. Faecium*, betaina, colina, lactosa y proteínas sin procesar y grasas sin procesar de leche de vaca; el componente con actividad enzimática microbiana (componente b) comprende una porción de microorganismos (b1) que incluyen *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. SPP*, *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, y una porción enzimática (b2) que incluye amilasa, proteasa, lipasa, celulasa;

el tercer componente (componente c) para la regulación del pH comprende ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, vitamina A, vitamina D3, vitamina PP, *Arthrospira maxima*.

Los componentes (a) y (b) están en forma en polvo, en donde los microorganismos están preferiblemente liofilizados, el componente (c) está en una forma líquida. En la siguiente descripción mediante el término composición biocatalítica quiere decirse la suma de los tres componentes (a)-(c) notificados anteriormente.

Tal como se mencionó, el componente (a) comprende proteínas y grasas sin procesar de leche de vaca: mediante el término "proteínas y grasas sin procesar de leche de vaca" quiere decirse proteínas y grasas que pueden obtenerse de leche de vaca de un modo conocido en la técnica sin aislarse o purificarse.

Las proteínas y grasas sin procesar de leche de vaca están disponibles comercialmente como productos Solmiko MPC 80 de la empresa Glanbia Nutritionals y Anhydrous Milk Fat de la empresa United Dairy Ltd. Se conoce en la técnica cómo obtener proteínas y grasas de leche de vaca, por ejemplo, a partir de la publicación J. L. MAUBOIS. Separation, extraction and fractionation of milk protein components. Le Lait, 1984, 64 (645-646), págs. 485-495. Un ejemplo de proteínas lácteas son caseína, lactoalbúminas y lactoglobulinas. Un ejemplo de grasas lácteas son, principalmente, triglicéridos pero también diglicéridos, fosfolípidos, glicosfingolípidos y esteroides.

En la siguiente descripción, los términos proteínas sin procesar y grasas sin procesar se usarán con el fin de simplificar para indicar los productos identificados anteriormente, tal como pueden obtenerse a partir de leche de vaca; se incluyen en el fin de la invención proteínas y grasas sin procesar que pueden obtenerse mediante otros medios, y equivalentes a las proteínas y grasas identificadas anteriormente. Tales proteínas y grasas sin procesar presentes en el componente (a) son importantes ya que confieren a los microorganismos, en el momento de la rehidratación, las sustancias nutricionales y enzimáticas necesarias para su reactivación metabólica óptima.

Un objetivo adicional de la invención es un método para aplicar la composición de la invención, según la reivindicación 9. Objetos adicionales de la invención son el uso de la composición según las reivindicaciones 14 a 17.

La composición biocatalítica de la invención es particularmente eficaz y versátil: de hecho, dicha composición se presta por sí misma a promover no sólo la transformación de las sustancias contaminantes que se derivan de los campos mencionados en agentes no perjudiciales y reutilizables en el campo agrícola como fertilizantes, sino también al tratamiento de aguas residuales contaminantes.

Una ventaja adicional sorprendente de la invención es que podría actuar como fertilizante en cantidades reducidas drásticamente en comparación con las necesarias para un fertilizante normal. De hecho, la cantidad de composición aplicada al suelo está comprendida en el intervalo entre 1,35 y 2,85 kg/ha (kilogramos por hectárea), preferiblemente en el intervalo entre 1,65 y 2,45 kg/ha, más preferiblemente 1,9-2,25 kg/ha. La cantidad de composición mencionada anteriormente se refiere a la composición total, es decir (a)+(b)+(c), antes de su dilución en agua.

En el caso de aplicación a un sustrato en el campo zootécnico y biorremediación, la cantidad de composición mencionada anteriormente indicada anteriormente se aplica en una cantidad de sustrato comprendida entre 50 y 100 m² (metros cuadrados); en el caso de un sustrato que contiene metales radiogénicos, la cantidad de sustrato también puede disminuirse hasta 10 m², por tanto, en un intervalo de 10-100 m².

También se determinó que el componente (c) de la composición de la invención, tal como se define por ejemplo en las reivindicaciones 1 y 4, puede usarse ventajosamente para la fertilización de suelos o fertilización de hojas, incluso solo, así como en combinación con los componentes (a) y (b).

También se determinó que, en agricultura, los mejores resultados en cuanto a las cantidades y las cualidades organolépticas se obtienen a través del uso de la combinación de (a), (b) y (c) para preparar la composición de la invención, seguido por el uso del componente (c) como fertilizante de hojas y posteriormente por el componente (c) como fertilizante de hojas de nuevo.

La composición de la invención puede usarse en agricultura tanto al nivel del suelo y las hojas como de arbusto.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a una composición biocatalítica novedosa adaptada para promover la transformación de sustancias contaminantes en compuestos no perjudiciales y/o reutilizables para el medio ambiente. Más específicamente, la presente invención se refiere a una composición biocatalítica aplicada en los campos agrícolas, zootécnico y medioambiental, para la degradación y transformación de sustancias contaminantes contenidas en el suelo y/o depósitos de agua, que se derivan de los procesos de degradación de algunos residuos orgánicos de plantas y/o preparación agrícola, así como cadáveres de animales y/o hidrocarburos y/o metales pesados y/o metales con una ligera carga radiogénica. La composición biocatalítica en cuestión es una composición que comprende sustancialmente tres componentes, en la que cada uno de dichos componentes desempeña un papel clave en la eficacia y especificidad del tratamiento requerido. Cada componente es un subconjunto de sustancias que realizan una actividad coenzimática, enzimática y fermentativa. En particular, la composición concernida, que comprende al menos un componente con actividad coenzimática, al menos un componente con actividad enzimática y al menos un componente adaptado para optimizar las condiciones de reacción que regulan el pH, incluye: enzimas, coenzimas y cepas microbianas que permiten que se produzca el proceso fermentativo muy rápidamente. Todo esto gracias también a la presencia de otras sustancias ácidas (por ejemplo, ácidos húmicos en general) que potencian y aceleran la evolución de la transformación optimizando el pH y las condiciones de reacción.

Más en detalle, la composición biocatalítica en cuestión es un subconjunto de cultivos seleccionados hongos y bacterias vivos, aerobios, anaerobios y opcionalmente anaerobios, y catalizadores orgánicos hidrolíticos (C.O.I.) en alta concentración. Dicha composición comprende cultivos primarios seleccionados, por ejemplo, de las siguientes bacterias y hongos: *Bacillus subtilis*, *Aspergillus Oryzae*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus thuringiensis*, *Aspergillus Niger*, - *Bacillus spp*, etc. que se cultivan por separado y posteriormente se mezclan entre sí. Los microorganismos de la composición en cuestión se presentan en una forma liofilizada y/o en polvo: las células se secan, deteniendo por tanto su actividad pero dejándolas sin cambios y vivas y capaces de reanudar su actividad y multiplicarse si se ponen de nuevo en condiciones de suficiente humedad y temperatura.

Estos cultivos, producidos a partir de cultivos silvestres y libres de cualquier forma de manipulación genética, no son patógenos, están libres de *Salmonella*, son inocuos para los seres humanos, animales y peces.

La composición en cuestión también comprende, tal como se mencionó, un componente que realiza una actividad catalítica, es decir, un conjunto de catalizadores orgánicos hidrolíticos que son macromoléculas orgánicas complejas de origen proteico producidas por células bacterianas. Estas sustancias promueven y aceleran la velocidad de reacciones redox que degradan los compuestos orgánicos, no se destruyen en el proceso reactivo sino que permanecen activas a lo largo del tiempo.

Los catalizadores orgánicos hidrolíticos de la composición objeto de la presente descripción son relativamente sensibles a las condiciones medioambientales de temperatura y pH. La temperatura óptima para el C.O.I. está comprendida entre 40°C y 50°C. Cada desviación de 10°C centígrados por debajo de la temperatura óptima reduce la actividad del C.O.I. de la composición en un 30%, por tanto, aproximadamente, alrededor de 10°C no excede el 10 - 15 % de la potencialidad máxima. De todos modos la actividad cesa a alrededor de 3º centígrados. Los C.O.I. concernidos son: amilasas que hidrolizan, licúan, digieren sustratos que contienen almidones, transformándolos en azúcares más sencillos y más solubles. Tienen una actividad similar a alfa y beta amilasas, diastasa, isoamilasa, pululanasa, amiloglicosidasa, glucoamilasa. etc. Las proteasas hidrolizan, descomponen y solubilizan proteínas que se acumulan y determinan la rotura de los enlaces que unen los diversos aminoácidos entre sí, formando cadenas más o menos largas (polipéptidos y proteínas). Tienen una actividad similar a proteasas, proteinasas, peptidasas, etc.

Las lipasas solubles en agua y dispersables en agua hidrolizan, degradan grasas animales, aceites vegetales, grasas alimentarias, eliminando los obstáculos y obstrucciones provocados por las mismas. No son activas sobre hidrocarburos y aceites minerales. Aunque las lipasas actúan en profundidad cuando a los productos en los que están contenidas se les añade un tensioactivo que mejora la emulsión de aceites y grasas, aumentando por tanto la superficie de ataque.

En resumen, dichas tres categorías anteriores de catalizadores orgánicos hidrolíticos son activas acelerando la hidrólisis, concretamente la digestión y descomposición progresivas de almidones y proteínas, lípidos animales y vegetales, que son los constituyentes orgánicos principales de los desechos de explotaciones ganaderas, industrias alimentarias, centros de compostaje, purificadoras y otros. Un proceso hidrolítico de este tipo implica en consecuencia la reducción del tamaño de las moléculas y por tanto la fluidización de masas orgánicas. Más claramente, la acción de los cultivos bacterianos (sistemas de catalizador orgánico), conduce a la licuefacción de materiales sólidos de manera continua restaurando y reforzando la microflora útil en plantas para el tratamiento biológico y la depuración de residuos orgánicos. Los componentes microbianos-enzimáticos de la composición biocatalítica objeto de la presente invención, tras su estado de latencia producido por liofilización o pulverización, se activan mediante elementos coenzimáticos, lipoproteínas, vitaminas, azúcares, aminoácidos etc., que dan lugar a la acción metabólica de degradación compleja alimentando al microorganismo que se despierta de su propia estasis.

Más en detalle, el fin de la presente invención es proporcionar un sistema de sustancias que, convenientemente combinadas, pueden restaurar, activar y reequilibrar la bioquímica del sustrato con el que interaccionan, es decir una tierra de cultivo y/o sustrato orgánico en descomposición y/o sustrato terroso o acuoso. Todo esto aplicando convenientemente sustancias específicas, y en particular mezclas bacterianas - enzimáticas - fúngicas específicas.

El resultado de una aplicación de este tipo es: en el campo zootécnico y agrícola, obtener sustancias con propiedades fertilizantes del suelo; y en el campo medioambiental, específicamente para el tratamiento de agua contaminada tal como aguas residuales, lixiviados de vertedero y similares, obtener aguas no contaminantes y/o incluso reutilizables en el campo agrícola, por ejemplo para la irrigación de tierras de cultivo y para la recuperación medioambiental de suelo contaminado por hidrocarburos y/o metales pesados y/o metales con baja carga radiogénica. El tratamiento permite el uso posterior de estos suelos para uso civil o cultivos con el fin de producir bioenergía.

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una composición biocatalítica novedosa adaptada para transformar sustratos de naturaleza orgánica en fertilizantes útiles en el campo agrícola y/o transformar sustratos contaminados y/o contaminantes en productos no tóxicos para el medio ambiente y, en última instancia, reutilizables en el campo agrícola. Los campos a los que pertenecen los sustratos, a los que la composición en cuestión se aplica convenientemente, son: el de tierras de cultivo; el zootécnico, lo que significa establos, pocilgas, entornos pesqueros, gallineros, etc.; el de aguas residuales, el de depósitos de agua contaminados y el de suelos contaminados.

Más en detalle, la composición biocatalítica en cuestión es una mezcla de sustancias, de naturaleza bacteriana - enzimática - fúngica, que convenientemente combinada y activada en condiciones de temperatura y humedad específicas, permiten transformar sustratos con los que interaccionan en sustancias no tóxicas a nivel medioambiental y/o con propiedades fertilizantes.

Por ejemplo, en el campo agrícola, el inóculo de la composición biocatalítica en cuestión optimiza la cinética de reacciones fundamentales de biocatálisis, activa y estimula la actividad microbiana y la actividad metabólica respectiva en el suelo, activando la mineralización de la sustancia orgánica (OS) y transformándola en sustancias asimilables y optimizando la transferencia de elementos nutricionales en la cadena alimentaria de la planta. Más específicamente, la composición consiste en una mezcla bacteriana - enzimática - fúngica (micetos antagonistas seleccionados), sustratos de sílice y carbónicos, microalgas, ácidos orgánicos húmicos y fúlvicos, y se presenta inicialmente en una forma liofilizada. Tal como ya se mencionó, las enzimas combinadas con los microorganismos presentes en la composición son de naturaleza hidrolítica, es decir catalizadores orgánicos hidrolíticos, en el presente documento indicados como C.O.I.

Las lipoproteínas, azúcares, vitaminas y otras coenzimas activan la actividad de microorganismos y enzimas que constituyen la composición, cuya actividad se potencia gracias a la presencia de un componente oligomérico líquido representado por sustancias que contienen cadenas relativamente largas de átomos de carbono.

En particular, cuando se inoculan en el suelo o en las hojas y en la parte de arbusto de las plantas, los micetos incluidos en la composición en cuestión, en particular *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma spp*, que funcionan de manera sinérgica como BCA (agentes de control biológico), cuya actividad y eficacia aumenta adicionalmente por la presencia específica de otros microorganismos incluidos en la composición, promueven una acción antagonista expresada por metabolitos secundarios biológicamente activos contra una muy amplia serie de parásitos y hongos patógenos. La sustancia activa es 6-pentil-alfa-pirona (6PAP), producida por la interacción de los diversos *Trichoderma* presentes que bloquea totalmente la germinación de los conidios del parásito, las esporas producidas asexualmente en hongos ascomicetos, basidiomicetos y deuteromicetos, destinadas a dispersarse en el aire para dar lugar a un nuevo micelio. El uso de mezclas basadas en hongos endofíticos y, en particular, el uso de sus metabolitos secundarios considerados tóxicos para el patógeno, permite reducir la posibilidad de usar metales tales como el cobre, cuyo efecto negativo sobre el suelo se conoce cuando están presentes en este último en una concentración relativamente alta. Los micetos de tipo micorriza ectotrófica permanecen fuera de las células corticales que forman una superficie similar a un manto, mientras que las endotróficas penetran dentro de la corteza radical de las plantas sin alterar la viabilidad. Varios microorganismos de la composición concernida desempeñan una acción inhibitoria contra la actividad perjudicial de metales presentes en el suelo, desempeñando una acción quelante frente a estos. En particular, cuando se inoculan en el suelo o en las hojas y en la parte de arbusto de las plantas, los microorganismos comprendidos en la composición en cuestión, en particular *Bacillus thuringiensis* y *Aspergillus Oryzae*, que funcionan de manera sinérgica como BCA (agentes de control biológico), cuya actividad y eficacia aumenta por la presencia específica de los otros microorganismos comprendidos en la composición, promueven una acción antagonista expresada por metabolitos secundarios biológicamente activos contra una muy amplia serie de insectos parásitos. Las sustancias activas son endotoxinas en forma de cristaloides, tales como delta-endotoxinas producidas por *B. thuringiensis*, que, cuando se ingieren, provocan la lisis de células del sistema digestivo tanto en larvas como en insectos adultos. La composición en cuestión también comprende un componente

de naturaleza oligomérica, que presenta una cadena relativamente larga de átomos de carbono, adaptado para potenciar la propia actividad de la composición: es un componente orgánico que comprende ácido húmico, ácido fúlvico, ácido crénico, que se combinan y asocian con elementos que fijan nitrógeno "N", carbono orgánico "C", fósforo orgánico "P", potasio orgánico "K", magnesio, calcio y otros minerales. Dependiendo del tipo de sustrato, la composición en cuestión también proporciona la adición de un componente adicional con acción fitoestimulante que comprende vitaminas, fitoproteínas, flavonoides, aminoácidos, macro y micronutrientes, algas tales como *Arthrospira maxima* y *Ascophyllum nodosum*, y otras sustancias de naturaleza orgánica que potencian el equilibrio de la actividad fotosintética. Cuando se aplica a sustratos que pertenecen al campo agrícola y zootécnico, la composición en cuestión promueve una acción fertilizante. La acción fertilizante, según regulaciones actuales en el campo de aplicación de la invención, no sólo se proporciona mediante la contribución nutricional, tal como en el caso de la preparación, sino también mediante degradación, digestión y transformación de la sustancia orgánica, OS, durante los procesos de mineralización y humidificación.

A continuación, en el presente documento se notifica una lista que incluye los componentes presentes en la composición en cuestión en función del uso previsto de dicha composición. Más claramente, la lista a continuación muestra los componentes de la composición para su uso en el campo agrícola, zootécnico y medioambiental, lo que significa el uso, para este último campo, de la composición para el tratamiento de aguas residuales, acuíferos y lixiviados contaminantes y/o contaminados y suelo contaminado.

Según la presente invención, la composición tiene siempre, para todas las aplicaciones, una formulación de base que comprende al menos un componente (a) que incluye sustancias con actividad coenzimática, al menos un componente (b) que incluye sustancias con actividad enzimática y al menos un componente (c) que incluye sustancias ácidas orgánicas con función reguladora del pH. Los componentes (ac) están preferiblemente separados unos de otros antes de su uso y, en particular, los componentes a y b están preferiblemente en una forma en polvo que contiene microorganismos liofilizados, y el componente c está en forma líquida.

En las realizaciones preferidas de la invención, el componente con actividad coenzimática (a) comprende vitamina A, vitamina B1, vitamina D3, vitamina E, galato de propilo, *E. Faecium spp*, betaína, colina, lactosa, proteínas sin procesar y grasas sin procesar de leche de vaca; el componente con actividad enzimática (b) comprende una porción de microorganismos (b1) que incluyen *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. SPP*, *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus* y una porción enzimática (b2) que incluye amilasa, proteasa, lipasa, celulasa; el componente (c) para la regulación del pH comprende ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, vitamina A, vitamina D3, vitamina PP, *Arthrospira maxima*.

En realizaciones a modo de ejemplo, los componentes tienen las siguientes composiciones en peso basándose en el peso de cada componente:

para el componente (a): vitamina A el 1,5-3%, vitamina B1 el 0,1-1,0%, vitamina D3 el 0,5-3,0%, vitamina E el 0,1-1,0%, galato de propilo el 5-15%, *E. Faecium SPP* 10^6 - 10^9 UFC/kg; betaína el 0,1-1,0%, colina el 0,1-1,05, lactosa el 30-40%, proteínas sin procesar el 18-25%, grasas sin procesar el 15-20%;

para el componente (b): *B. licheniformis* el 10-20%, *B. subtilis* el 15-35%, *B. thuringiensis* el 5-15%, *B. SPP* el 5-15%, *Aspergillus Oryzae* el 15-30%, *Aspergillus Niger* el 5-15%, *Lactobacillus bifidus* el 2-8%, *Lactobacillus acidophilus* el 5-15%, amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, estando cada una presente en un intervalo del 1-11%, estando su suma (b2) comprendida entre el 10 y el 15% en peso;

para el componente (c): ácidos húmicos y ácidos fúlvicos cada uno estando presentes en un intervalo del 1-38%, estando su suma comprendida entre el 27 y el 39% en peso, vitamina A el 2-6%, vitamina D3 el 8-14%, vitamina PP el 10-15%, *Arthrospira maxima* el 26-53%.

Dependiendo del uso de la composición de la invención, las formulaciones pueden completarse con componentes adicionales.

Más en detalle, para la aplicación en el campo agrícola de la composición de la invención, el componente (b) comprende además un componente adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Bacillus cereus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Pichia pastoris*; *Nitrobacter winogradskyi*; *Nitrosomonas europaea*; *Azomonas*; *Thiobacillus*; *Paenibacillus*; *Rhizobium*; *Azospirillum*; *Frankia*; *Burkholderia*; *Agrobacterium*; *Arthrobacter*; *Streptomyces griseus*; *Azotobacter*; *Pseudomonas chlororaphis*; *Bacillus megaterium*; *Cellulomonas biazotea*; *Nitrobacter SPP*; *Agrobacterium radiobacter*; *Trichoderma viride*; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma atroviride*; *Clonostachys rosea*; *Beauveria SPP*; *Metarhizium anisopliae*; *Paecilomyces lilacinus*; *Ulocladium SPP*; *Glomus caledonium*; *Glomus coronatum*; *Glomus intraradices*; *Glomus mosseae*; *Glomus viscosum*;

en la que la cantidad de dicho componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en

peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso, y la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).

5 En la composición notificada anteriormente, para uso agrícola, el tercer componente (c) comprende además hasta el 15% en peso de ácidos crénico y/o apocrénico y hasta el 35% en peso de *Ascophyllum nodosum* y/o *Arthrospira Platensis*.

10 Para uso en el campo zootécnico, la composición tiene un componente (b) adicional que comprende un componente adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Bacillus cereus*; *Pichia pastoris*; preferiblemente, la cantidad de dicho componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso y la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).

15 Preferiblemente, en la composición para aplicación zootécnica ilustrada anteriormente, el tercer componente (c) comprende además desde el 25 hasta el 35% en peso de *Arthrospira Platensis*.

20 La composición de la invención también puede usarse en el campo de la biorremediación medioambiental. Para ese fin, en una formulación preferida de la composición, el componente (b) comprende además un componente adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Bacillus cereus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Streptomyces SPP*; *Pseudomonas denitrificans*; *Pseudomonas putida*; *Bacillus amiloliquefaciens*; *Aspergillus app*; *Deinococcus radiodurans*; *Geobacter*; *Acinetobacter*; *Agrobacterium radiobacter*.

25 En particular, la cantidad de componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso y la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).

30 En una posible realización de la invención, las cantidades de componentes (expresadas en gramos) se distribuyen tal como sigue: componente (a) entre 350 y 450 gramos, preferiblemente 400 gramos; componente (b) entre 550 y 800 gramos, preferiblemente entre 600 y 750 gramos; componente (c) aproximadamente 1 litro (aproximadamente 1000 gramos). En particular, el componente (c) contiene aproximadamente el 99% de agua.

35 El método de preparación de la composición de la invención para su uso comprende las etapas de mezclado de los componentes (a) y (b) en una proporción prefijada con respecto al total de la composición biocatalítica; más en particular, el porcentaje es del 15-25% para el componente (a) y del 30-40% para el componente (b), con respecto al total de a+b+c.

40 Los dos componentes (a) y (b) se mezclan y se dispersan en una cantidad de agua a una temperatura de entre 30 y 40°C correspondiente al 690% - 2200% en peso de los componentes (a) y (b) añadidos juntos y mantenidos a una temperatura de este tipo durante un periodo de tiempo comprendido entre 30 minutos y 1 hora y 20 minutos.

45 Por ejemplo, se mezclan 400 g (a) y 600 g (b) con 10 litros de agua y se mantienen a 35°C durante 1 hora.

50 Posteriormente, la mezcla acuosa así obtenida se diluye adicionalmente en agua de un modo tal que el total de la composición catalítica, es decir el total de los componentes (a)-(c), está presente en una cantidad comprendida entre el 0,15% y el 1,5% en peso con respecto a la disolución/dispersión final. El componente (c) se añade en una etapa de dilución final de este tipo en una proporción del 35-50% en peso con respecto al total de la composición biocatalítica (a+b+c).

55 Por tanto, la composición diluida así obtenida se aplica a un sustrato que va a tratarse.

Debe indicarse que, en un proceso preferido, el agua usada es agua no clorada y de todos modos libre de cloro o agentes que contienen cloro o sustancias biocidas tales como las usadas en instalaciones de abastecimiento de agua.

60 Los siguientes ejemplos ilustran posibles composiciones en diferentes campos de aplicación.

Ejemplo 1 - Campo agrícola:

Componente (a): Nutri-polvo.

ES 2 705 751 T3

- Vitamina A, vitamina D3, vitamina E, galato de propilo,
 - grasas sin procesar y proteínas sin procesar de leche de vaca
- 5 - *E. Faecium spp* preferiblemente seleccionado de Cernelle 68 y M74 NCIMB 11181.

Componente (b), microorganismos-enzimas-polvo:

- 10 - *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus spp*, *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Bacillus cereus*
- 15 - *Ruminococcus albus*,
- *Pseudomonas fluorescens*,
- amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, gumasa, lipidasa,
- *Pichia pastoris*, *Agrobacterium radiobacter*,
- 20 - *Nitrobacter winogradskyi*, *Azomonas*, *Thiobacillus*, *Paenibacillus*, *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Frankia*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Streptomyces griseus*, *Azotobacter*, *P. chlororaphis*, *Bacillus megaterium*, *Cellulomonas biazotea*, *Nitrobacter SPP*,
- hongos saprofíticos tales como:
- 25 - *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma atroviride*, *Clonostachys rosea*, *Beauveria SPP*, *Metarhizium anisopliae*,
- *Paecilomyces lilacinus*, *Ulocladium SPP*
- 30 - Hongos simbióticos tales como:
- *Glomus caledonium*, *Glomus coronatum*, *Glomus intraradices*,
- 35 - *Glomus mosseae*, *Glomus viscosum*.

Componente (c), líquido oligomérico:

- 40 - ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácidos crénicos, ácidos apocrénicos,
- vitamina A, vitamina D3, vitamina PP,
- *Arthrospira maxima*, *Ascophyllum nodosum*

45 Ejemplo 2 - campo zootécnico:

Componente (a), Nutri-polvo:

- 50 - vitamina A, vitamina D3, vitamina E,
- galato de propilo,
- grasas sin procesar y proteínas sin procesar de leche de vaca
- 55 - *E. Faecium* preferiblemente seleccionado de Cernelle 68 y M74 NCIMB 11181.

Componente (b), microorganismos-enzimas-polvo:

- 60 - *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus spp*, *Bacillus cereus*
- *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*,
- *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*,

ES 2 705 751 T3

- *Ruminococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*,
- amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, gumasa, lipidasa,

5 - *Pichia pastoris*.

Componente (c), Líquido oligomérico:

- ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácidos crénicos, ácidos apocrénicos,
- 10 - vitamina A, vitamina D3, vitamina PP,
- *Arthrospira maxima*, *Arthrospira Platensis*

15 Ejemplo 3 - Campo medioambiental:

Componente (a), Nutri-polvo:

- vitamina A, vitamina D3, vitamina E,
- 20 - galato de propilo,
- grasas sin procesar y proteínas sin procesar de leche de vaca
- 25 - *E. Faecium*, tal como se describió anteriormente.

Componente (b), microorganismos-enzimas-polvo:

- *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus spp*, *Bacillus cereus*
- 30 - *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*,
- *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*,
- 35 - *Ruminococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*,
- amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, gumasa,
- *Streptomyces SPP*, *Pseudomonas denitrificans*, *Pseudomonas putida*,
- 40 - *Bacillus amiloliquefaciens*, *Aspergillus Wije*, *Deinococcus radiodurans*,
- *Geobacter*, *E. coli*, *Acinetobacter*, *Agrobacterium radiobacter*.

45 *Componente (c), Líquido oligomérico:*

- ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, ácidos crénicos, ácidos apocrénicos,
- vitamina A, vitamina D3, vitamina PP
- 50 - *Arthrospira maxima*

REIVINDICACIONES

1. Composición biocatalítica que comprende al menos un componente (a) que incluye sustancias con actividad coenzimática, al menos un componente (b) que incluye sustancias con actividad enzimática microbiana y al menos un componente (c) que incluye sustancias ácidas orgánicas con función reguladora del pH, caracterizándose dicha composición biocatalítica porque dichos componentes (a-c) están separados unos de otros hasta su uso y porque:
- dicho componente con actividad coenzimática (a) comprende vitamina A, vitamina B1, vitamina D3, vitamina E, galato de propilo, *E. Faecium*, betaína, colina, lactosa y proteínas sin procesar y grasas sin procesar que pueden obtenerse de leche de vaca;
- dicho componente con actividad enzimática microbiana (b) comprende una porción (b1) de microorganismos que incluyen *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. SPP*, *Aspergillus Oryzae*, *Aspergillus Niger*, *Lactobacillus bifidus*, *Lactobacillus acidophilus*, y una porción enzimática (b2) que incluye amilasa, proteasa, lipasa, celulasa;
- dicho componente (c) para la regulación del pH comprende ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, vitamina A, vitamina D3, vitamina PP, *Arthrospira maxima*.
2. Composición biocatalítica según la reivindicación anterior, en la que dichos componentes tienen las siguientes composiciones en peso basándose en el peso de cada componente:
- para el componente (a): vitamina A el 1,5-3%, vitamina B1 el 0,1-1,0%, vitamina D3 el 0,5-3,0%, vitamina E el 0,1-1,0%, galato de propilo el 5-15%, *E. Faecium* (M74, NCIMB 11181) 10^6 - 10^9 UFC/kg; betaína el 0,1-1,0%, colina el 0,1-1,05, lactosa el 30-40%, proteínas sin procesar el 18-25%, grasas sin procesar el 15-20%;
- para el componente (b): *B. licheniformis* el 10-20%, *B. subtilis* el 15-35%, *B. thuringiensis* el 5-15%, *B. SPP* el 5-15%, *Aspergillus Oryzae* el 15-30%, *Aspergillus Niger* el 5-15%, *Lactobacillus bifidus* el 2-8%, *Lactobacillus acidophilus* el 5-15%, amilasa, proteasa, lipasa, celulasa, estando cada una presente en un intervalo del 1-11%, estando su suma (b2) comprendida entre el 10 y el 15% en peso;
- para el componente (c): los ácidos húmicos y ácidos fúlvicos cada uno están presentes en un intervalo del 1-38%, estando su suma comprendida entre el 27 y el 39% en peso, vitamina A el 2-6%, vitamina D3 el 8-14%, vitamina PP el 10-15%, *Arthrospira maxima* el 26-53%.
3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que dicho componente (b) comprende además un componente adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Bacillus cereus*; *Pichia pastoris*; *Nitrobacter winogradskyi*; *Nitrosomonas europea*; *Azomonas*; *Thiobacillus*; *Paenibacillus*; *Rhizobium*; *Azospirillum*; *Frankia*; *Burkholderia*; *Agrobacterium*; *Arthrobacter*; *Streptomyces griseus*; *Azotobacter*; *Pseudomonas chlororaphis*; *Bacillus megaterium*; *Cellulomonas biazotea*; *Nitrobacter SPP*; *Agrobacterium radiobacter*; *Trichoderma viride*; *Trichoderma harzianum*; *Trichoderma atroviride*; *Clonostachys rosea*; *Beauveria SPP*; *Metarhizium anisopliae*; *Paecilomyces lilacinus*; *Ulocladium SPP*; *Glomus caledonium*; *Glomus coronatum*; *Glomus intraradices*; *Glomus mosseae*; *Glomus viscosum*
- en la que la cantidad de dicho componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso y en la que la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).
4. Composición según la reivindicación 3, en la que dicho tercer componente (c) comprende además ácidos crénico y/o apocrénico hasta el 15% en peso y *Ascophyllum nodosum* y/o *Arthrospira Platensis* hasta el 35% en peso.
5. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho componente (b) comprende además un componente adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Bacillus cereus*; *Pichia pastoris*;
- en la que la cantidad de dicho componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso y en la que la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).
6. Composición según la reivindicación 5, en la que dicho tercer componente (c) comprende además desde el 25 hasta el 35% en peso de *Arthrospira Platensis*.
7. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que dicho componente (b) comprende además un componente

adicional (b3) que consiste en uno o más de los siguientes microorganismos: *Lactobacillus lactis*; *Ruminococcus albus*; *Pseudomonas fluorescens*; *Streptomyces SPP*; *Bacillus cereus*; *Pseudomonas denitrificans*; *Pseudomonas putida*; *Bacillus amiloliquefaciens*; *Aspergillus app*; *Deinococcus radiodurans*; *Geobacter*; *Acinetobacter*; *Agrobacterium radiobacter*;

5 en la que la cantidad de dicho componente adicional (b3) está comprendida en el intervalo entre el 15 y el 55% en peso de componente (b), la suma de la cantidad de amilasa, proteasa, lipasa, celulasa (b2) está en el intervalo entre el 10 y el 15% en peso y en la que la cantidad en peso de dicha porción de microorganismos (b1) está comprendida en el intervalo entre el 35 y el 70% basándose en el peso total de componente (b).

10 8. Composición biocatalítica según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho componente (a) y dicho componente (b) están en una forma en polvo, preferiblemente liofilizada, y dicho componente (c) está en una forma líquida.

15 9. Método para preparar y aplicar una composición biocatalítica en agricultura, zootecnia o biorremediación medioambiental, caracterizado porque comprende las etapas de mezclar dichos componentes (a) y (b) en una proporción del 15-25% para el componente (a) y del 30-40% para el componente (b) con respecto al total de la composición biocatalítica (a+b+c), en una cantidad de agua a una temperatura de entre 30 y 40°C, correspondiente al 690% - 2200% en peso de los componentes (a) y (b) añadidos juntos durante un periodo comprendido entre 30 minutos y 1 hora y 20 minutos; diluir dicha mezcla en agua con una dilución comprendida entre el 0,15% y el 1,5% de la composición biocatalítica total (a+b+c), añadir dicho componente (c) en una proporción del 35-50% con respecto al total (a+b+c) de la composición biocatalítica y aplicar la composición así obtenida a un sustrato que va a tratarse.

25 10. Método según la reivindicación 9, en el que dicho sustrato que va a tratarse se selecciona de residuos orgánicos, tanques de decantación de aguas residuales municipales o zootécnicas, suelo o agua.

30 11. Método según la reivindicación 9, en el que dicho sustrato son desechos biológicos de la producción industrial de alimentos.

35 12. Método según la reivindicación 9, en el que dicho sustrato se selecciona de una tierra de cultivo y las plantas de un cultivo, caracterizado por aplicar una composición biocatalítica según una de las reivindicaciones 1 a 4 a dicho sustrato, estando la cantidad de composición aplicada al suelo y/o sobre las hojas y a la parte de arbusto comprendida en el intervalo entre 1,35 y 2,85 kg/ha de la composición según la reivindicación 1.

40 13. Método según la reivindicación 12, en la que dicha cantidad de composición usada está comprendida en el intervalo entre 1,65 y 2,45 kg/ha, preferiblemente 1,9-2,25 kg/ha.

45 14. Uso de la composición biocatalítica según la reivindicación 5 ó 6 en el campo zootécnico para el tratamiento de sustratos de origen animal que comprende excrementos y/o cadáveres de animales.

15. Uso de la composición biocatalítica según la reivindicación 7 para el tratamiento de aguas contaminadas y/o contaminantes.

16. Uso de la composición biocatalítica de naturaleza bacteriana - enzimática - fúngica según la reivindicación 7 para el tratamiento de suelos contaminados y/o contaminantes.

17. Uso de la composición biocatalítica según una de las reivindicaciones 3 ó 4 para la fertilización de suelos o fertilización de hojas.