

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 779 960**

51 Int. Cl.:

C02F 3/34

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2013 E 19160826 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3514117**

54 Título: **Una composición biocatalítica útil en la fabricación de papel**

30 Prioridad:

29.05.2012 US 201261689077 P

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

20.08.2020

73 Titular/es:

**NEOZYME INTERNATIONAL, INC. (100.0%)
711 W. 17th Street, Suite E-6
Costa Mesa, CA 92627, US**

72 Inventor/es:

**DALE, PARKER y
DALE, PARKER DAVID**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 779 960 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

Una composición biocatalítica útil en la fabricación de papel

5 **Antecedentes de la invención****1. Campo de la invención**

La invención se refiere a una composición biocatalítica útil en la fabricación de papel.

10

2. Descripción de la técnica relacionada.

Desde la aprobación de la Ley de Agua Limpia se ha requerido a muchas industrias que establezcan programas de tratamiento para las aguas residuales que generan antes de que estas aguas se vierten en los desagües públicos y vías fluviales. Estos programas a menudo incluyen procesos de tratamiento de aguas residuales en el sitio, descarga en obras de tratamiento público o ambos.

15

Agua residual es el término utilizado para el agua que se ha cambiado después del uso doméstico, comercial e industrial, en particular el agua que está contaminada y fluye y pasa a los canales de drenaje.

20

El agua residual contiene típicamente una amplia variedad de contaminantes que deben eliminarse antes de la descarga en cursos de agua públicos y tales contaminantes incluyen: material orgánico, como proteínas, carbohidratos y lípidos; productos químicos, como pesticidas, insecticidas, metales pesados y fertilizantes; y aguas residuales. El agua residual se evalúa típicamente en términos de su demanda bioquímica de oxígeno (DBO), sólidos suspendidos totales (SST) y oxígeno disuelto (DO). Otra clase importante de componentes que deben eliminarse de las aguas residuales son los compuestos orgánicos volátiles (COV) que causan o contribuyen al olor de las aguas residuales.

25

Un número de procesos han sido desarrollados que están dirigidos a los contaminantes específicos que se encuentran en las aguas residuales, por ejemplo: oxidasas fenol y peróxido de hidrógeno se han utilizado para decolorar las aguas residuales de pulpa y fábricas de papel (Patente de EE.UU. N° 5,407,577); se han utilizado enzimas de una cepa atípica de *Bacillus stearothermophilus* para degradar las paredes celulares de algas (Patente de EE.UU. N° 5,139,945); se ha utilizado una combinación de bacterias y enzimas para mejorar la calidad del agua de cuerpos de agua en pie (Patente de EE.UU. N° 5,227,067); se han usado celulasas para digerir composiciones de madera/papel (Patente de EE.UU. N° 5,326,477); *Xanthomonas maltophilia* y *Bacillus thuringiensis* se han utilizado para degradar disolventes orgánicos polares (Patente de EE.UU. N° 5,369,031); la levadura se ha utilizado para digerir las aguas residuales que contienen carbohidratos (Patente de EE.UU. N° 5,075,008); se ha utilizado una combinación de beta-glucanasa, alfa-amilasa y proteasas para digerir el limo microbiano (Patente de EE.UU. N° 5,071,765); y se ha utilizado una combinación de amilasa, lipasa y/o proteasas para digerir material coloidal como almidón, grasa y proteína (Patente de EE.UU. N° 5,882,059). Sin embargo, cada una de estas composiciones está dirigida solo a un contaminante específico y no aborda la variedad de contaminantes que generalmente se encuentran en las aguas residuales y otras aguas contaminadas. Una composición descrita en la patente de EE.UU. N° 3,635,797 usó una composición de fermentación de levadura para desodorizar estanques de aguas residuales y degradar desechos orgánicos. Sin embargo, se ha encontrado que esta composición es inestable y produce resultados variables de un lote a otro.

30

35

40

45

Los procesos anteriores se llevan a cabo generalmente en condiciones aeróbicas, es decir, el proceso de tratamiento requiere la presencia de oxígeno, por lo general de aire.

50

Los presentes inventores han inventado una composición líquida que comprende sobrenadante de fermentación de una levadura tal como un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* y un agente surfactante no iónico, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en alquilfenoles etoxilados y/o alcoholes alifáticos de cadena larga. Esta composición líquida en combinación con las enzimas activas, resultante de la fermentación de *Saccharomyces cerevisiae*, se ha utilizado en condiciones aeróbicas, así como en condiciones anaeróbicas para tratar, entre otras aguas residuales, las aguas residuales municipales. (Véanse los números de Patente de EE.UU. 5,820,758; 5,849,566; 5,879,928; 5,885,590 y el número de solicitud de Patente de EE.UU. número 12/586,126.) Se ha descubierto sorprendentemente que un producto que comprende la combinación de un sobrenadante de fermentación de un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*, está libre de enzimas activas y un surfactante no iónico es eficaz en la fabricación de papel. Este descubrimiento se discute con más detalle a continuación.

55

60

El tratamiento biológico de los líquidos contaminados con materiales orgánicos o la purificación de aguas residuales para eliminar contaminantes orgánicos, cuyos contaminantes están contenidos en los líquidos en una forma disuelta, coloidal o finamente dispersa, por la actividad microbiana, por ejemplo, por degradación anaeróbica, genera un gas combustible, conocido como biogás.

65

En general, las aguas residuales se purifican biológicamente en plantas de tratamiento de residuos utilizando los mismos o similares procedimientos que se producen cuando el agua residual se limpia biológicamente en aguas corrientes, es decir, en condiciones aerobias, aunque, de una manera técnicamente más intensiva. En la naturaleza, el proceso anaeróbico de purificación biológica también ocurre, por ejemplo, en el fondo de aguas tranquilas y planas.

Para los fines de describir la presente invención, se entiende que "tratar" significa la conversión de los materiales orgánicos, Es decir, contaminantes, por medio de microorganismos, por ejemplo bacterias, en presencia o ausencia de oxígeno. Durante el proceso de degradación anaeróbica de materiales orgánicos, se produce biogás, Es decir, una mezcla de gases que consiste en metano, principalmente, y dióxido de carbono y trazas de otros ingredientes. El proceso de la invención también se puede llevar a cabo en condiciones aeróbicas para proporcionar productos de fermentación a partir de alimentos celulósicos, etc.

Los métodos para el tratamiento biológico de líquidos, que contienen altas cantidades de materiales orgánicos como contaminantes, en condiciones anaeróbicas son conocidos para el tratamiento de aguas residuales de la industria alimentaria, la agricultura, la industria del aceite mineral y también de la fabricación de pulpa. En otras palabras, es posible tratar muchos líquidos pero, en general, tales métodos biológicos conocidos son incapaces de proporcionar una purificación completa o una conversión completa de tales contaminantes orgánicos.

Es otro objeto de la invención usar la composición acuosa descrita en la presente en la fabricación de papel.

Otros objetos de esta invención resultarán evidentes a partir de una lectura de la presente memoria.

Sumario de la invención

De acuerdo con la invención, se proporciona el uso de una composición biocatalítica acuosa en la fabricación de papel, la composición biocatalítica acuosa comprendiendo un sobrenadante de fermentación, que comprende micronutrientes, de un cultivo de levadura que no contiene enzimas activas, y uno o más surfactantes iónicos, en donde la composición biocatalítica carece de enzimas activas, y en donde el cultivo de levadura es un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*.

La invención también proporciona un método para prevenir el crecimiento de película biológica y las manchas de papel y reducir sustancialmente la acumulación de almidón en la fabricación de papel, el método comprendiendo añadir una composición biocatalítica acuosa a un tanque de pulpa, la composición biocatalítica acuosa comprendiendo un sobrenadante de fermentación, que comprende micronutrientes, de un cultivo de levadura que no contiene enzimas activas, y uno o más surfactantes no iónicos, en donde la composición biocatalítica carece de enzimas activas, y en donde el cultivo de levadura es un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*.

Descripción detallada de la invención

Los procesos biológicos y químicos oxidativos en ambientes acuosos están limitados por la baja solubilidad del oxígeno en el agua. Esta limitación física está definida por la Ley de Henry. Establece que cuando la temperatura se mantiene constante, la cantidad de un gas que se disuelve en un líquido es proporcional a la presión ejercida por el gas en el líquido.

La solubilidad del oxígeno en agua pura es sólo aproximadamente 10 partes por millón (ppm) a temperaturas ambiente y en una atmósfera de presión. Se ha observado que la composición de la presente invención aumenta el oxígeno en el agua por encima de los niveles, lo que sería anticipado por la Ley de Henry.

Para la mayoría de bioprocesos aerobios, ya sea un sistema de tratamiento de aguas residuales o una fermentación biotecnológica, el oxígeno disuelto se consume rápidamente de modo que la reposición se convierte en el factor que limita la velocidad del proceso. Por lo tanto, el componente más crítico de un diseño de bioprocesos es el medio para la transferencia masiva de oxígeno a la fase líquida del proceso. Para un cultivo de bacterias de respiración activa a una densidad celular de aproximadamente 10⁹ células/ml, el oxígeno en el medio líquido debe reemplazarse aproximadamente 12 veces por minuto para satisfacer la demanda de oxígeno de las bacterias.

El agua se airea normalmente aumentando las superficies de contacto entre las fases gaseosa y líquida. Esto se puede hacer introduciendo una fuente de oxígeno en una fase líquida a granel o haciendo fluir agua dispersada a través de fases gaseosas (aire) en masa. Independientemente de si las fases gaseosas o líquidas dominan el proceso de oxigenación, la transferencia de masa de oxígeno u otro gas se realiza mediante la introducción de burbujas de gas en la fase líquida. La eficiencia de la transferencia de masa gas-líquido depende en gran medida de las características de las burbujas.

El comportamiento de la burbuja afecta fuertemente los siguientes parámetros de transferencia de masa:

Transferencia de oxígeno desde el interior de la burbuja a la interfaz gas-líquido;
Movimiento de oxígeno a través de la interfaz gas-líquido; y

5 Difusión de oxígeno a través de la película líquida relativamente estancada que rodea la burbuja.

Es de importancia fundamental en el estudio de las burbujas comprender el intercambio de gases a través de la interfaz entre el estado libre dentro de la burbuja y el estado disuelto fuera de la burbuja. En general, se acepta que la propiedad más importante de las burbujas de aire en un bioprocesamiento es su tamaño. Para un volumen
10 dado de gas, se proporciona más área interfacial (a) entre la fase gaseosa y la fase líquida si el gas se dispersa en muchas burbujas pequeñas en lugar de unas pocas grandes. Se ha demostrado que las burbujas pequeñas, de 1 a 3 mm, tienen las siguientes propiedades beneficiosas que no comparten las burbujas más grandes: las burbujas de gas pequeñas aumentan más lentamente que las burbujas grandes, lo que permite más tiempo para que un gas se disuelva en la fase acuosa. Esta propiedad se conoce como retención de gas, las concentraciones de oxígeno en el
15 agua pueden ser más del doble más allá de los límites de solubilidad de la Ley de Henry. Por ejemplo, después de alcanzar un límite de saturación de 10 ppm de oxígeno; al menos otros 10 ppm de oxígeno dentro de pequeñas burbujas estarían disponibles para reponer el oxígeno.

Una vez se ha formado una burbuja, el principal obstáculo para la transferencia de oxígeno a la fase líquida es la película líquida que rodea la burbuja. Los estudios de ingeniería bioquímica han llegado a la conclusión de que el transporte a través de esta película se convierte en el paso limitante de la velocidad en el proceso completo y controla la velocidad general de transferencia de masa. Sin embargo, a medida que las burbujas se hacen más pequeñas, esta película líquida disminuye, de modo que ya no se impide la transferencia de gas a la fase líquida a
20 granel.

Los surfactantes en el agua pueden conducir a la formación de burbujas muy pequeñas, de menos de 1 mm de diámetro. Estas pequeñas burbujas, denominadas microburbujas, son el resultado de la tensión superficial reducida en la interfaz entre la interfaz gas/líquido causada por los surfactantes.

Como grandes concentraciones de gas se introducen en una solución tal como por una reacción química u otro mecanismo, la fase líquida puede llegar a ser sobresaturada si los centros de nucleación para la formación de burbujas están ausentes. En este punto, las microburbujas pueden formarse espontáneamente, formando una gran burbuja de nucleación y barriendo los gases disueltos de la solución hasta que vuelva a ocurrir una saturación excesiva. En presencia de surfactantes, es probable que una porción más grande de gas permanezca en la solución
30 como burbujas estables. Las microburbujas expuestas a una dispersión de gas en un líquido muestran propiedades coloidales y se denominan aforas de gas coloidal (CGA). Las CGA difieren de las burbujas de gas ordinarias en que contienen una capa de cubierta distintiva que consiste en una baja concentración de un surfactante.

La composición como se usa en la presente invención muestra propiedades deseables asociadas con microburbujas de surfactante. Sin embargo, las microburbujas formadas con la composición de la presente invención parecen aumentar la transferencia de masa de oxígeno en líquidos. Sin estar limitado por la teoría científica, existen varias explicaciones posibles para esta diferencia:
40 las microburbujas de surfactante descritas anteriormente involucraron el uso de surfactantes sintéticos puros que eran aniónicos o catiónicos. Los surfactantes formulados en la composición de la presente invención son no iónicos y se mezclan con biosurfactantes que alteran significativamente las propiedades del comportamiento de la burbuja.

La composición como se usa en la presente invención requiere una concentración mucho menor de surfactantes para la formación de microburbujas. Se ha sugerido que las concentraciones de surfactante deben aproximarse a la concentración crítica de micelas (CMS) de un sistema de surfactante. En la composición de la
50 presente invención, las microburbujas se forman por debajo de las CMC estimadas para los surfactantes utilizados. Esto sugiere que la composición de las microburbujas de la presente invención es el resultado de agregados de moléculas de surfactante con un empaquetamiento molecular suelto más favorable a las características de transferencia de masa de gas. Una superficie que tenga menos moléculas sería más permeable a los gases que una micela bien organizada que contenga gas.

Además de los surfactantes, la composición de la presente invención contiene catalizadores derivados biológicamente. Ambos de estos componentes tienden a ser anfífilos, es decir que han pronunciado propiedades hidrófobas e hidrófilas. Las moléculas anfífilas tienden a agruparse en el agua para formarse y permiten
60 agregados de peso molecular que (a medida que aumentan las concentraciones de surfactante) dan como resultado la formación de micelas en concentraciones que oscilan entre 10^{-2} y 10^{14} M. Los agregados de estas moléculas anfífilas son los núcleos para la formación de microburbujas.

La composición usada en la presente invención parece aumentar los niveles de oxígeno en los fluidos.

65 Sin limitarse a la teoría científica, se cree que este efecto puede explicarse por uno o por dos mecanismos:

el aumento de la transferencia de masa de gases como resultado de las interacciones de los surfactantes no iónicos y otros componentes de la composición de la presente invención; y retraso en la liberación de gases de las microburbujas para que el oxígeno pueda dispersarse a través de un líquido en lugar de solo en el punto de introducción.

5 Con cualquiera de los mecanismos, es probable que la tendencia de la composición de la presente invención se organiza en grupos, agregados, o burbujas rellenas de gas proporciona una plataforma para reacciones que se produzcan mediante el aumento de las concentraciones localizadas de reactivos, disminuyendo la transición de energía requerida para que ocurra una reacción catalítica, o algún otro mecanismo que aún no se haya descrito.
10 Se ha establecido que los surfactantes no iónicos utilizados en la composición de la presente invención son compatibles y potencian las reacciones enzimáticas. La composición de la presente invención tiene actividades catalíticas que son más parecidas a las actividades catalíticas de los surfactantes funcionalizados que los sistemas enzimáticos convencionales.

15 La composición usada en la presente invención comprende un sobrenadante de fermentación de levadura y un agente surfactante no iónico, en ausencia de enzimas activas y agentes surfactantes aniónicos o catiónicos.

Los surfactantes no iónicos adecuados para su uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a surfactantes iónicos, poliéter no comprenden alcoholes grasos, alquil fenoles, ácidos grasos y aminas grasas que han sido etoxilados; polihidroxilo no iónico (polioles) que comprenden típicamente ésteres de sacarosa, ésteres de sorbital, alquil glucósidos y ésteres de poliglicerol que pueden o no estar etoxilados. En una realización de la presente invención, un surfactante de las fórmulas generales:
20 y, en particular, se utiliza un octil fenol etoxilado que se vende con el nombre comercial IGEPAL CA-630. El surfactante no iónico actúa de forma sinérgica para mejorar la acción del sobrenadante de fermentación de levadura.

25 Estas micro-burbujas y sus capacidades de transferencia de oxígeno altamente reactivas de este modo actúan como un facilitador de amplio espectro de reacciones biológicas y químicas muy aceleradas, in situ, dentro de agua, aguas residuales, y los sólidos orgánicos, muy por encima de la velocidad y la magnitud reacciones bacterianas de tipos enzimáticos disponibles a través de enzimas activas, cultivos bacterianos cultivados o productos surfactantes existentes.
30

La nueva composición "surfactante funcionalizado" produce microburbujas que son mucho más pequeñas que las burbujas de aire producidas mecánicamente por sistemas de aireación. El elemento más crítico para degradar biológicamente los contaminantes orgánicos en los sistemas de aguas residuales o agua purificadora, es el suministro de oxígeno que reside en la columna de agua que soporta los procesos biológicos, o reacciones de oxidación de los productos químicos de purificación.
35

El mecanismo de acción es doble:

40 Uno, la formación de microburbujas del "surfactante funcionalizado: con sus cubiertas de burbujas altamente reactivas, permite que se acumule un depósito de oxígeno disuelto en la columna de agua que excede el nivel normal de acuerdo con la Ley de Henry del oxígeno disuelto disponible a través de sistemas de aireación mecánica.

45 Dos, las capas de burbujas de membrana altamente reactivas de las microburbujas de "agente surfactante funcionalizado" permiten una capacidad de transferencia de oxígeno muy mejorada que excede las micro burbujas formadas por los agentes surfactantes combinados de la composición.

Por lo tanto, las microburbujas resultantes del uso de las composiciones de esta invención proporcionan una base para la mejora de reacciones biológicas y químicas:
50 La disponibilidad de oxígeno disuelto en el agua es un factor limitante crítico en la respiración requerida por los microorganismos en el consumo de contaminantes orgánicos a través de reducciones de oxidación biológica. La velocidad de las reducciones biológicas es una parte crítica del diseño, la carga hidráulica, la calidad de las descargas y la eficiencia operativa de cualquier sistema de tratamiento de aguas residuales.
55

Los aspectos gemelos de las microburbujas de la invención; el aumento de los depósitos de oxígeno disuelto, y la transferencia de oxígeno mejorada a través de las barreras de membrana, funcionan de forma sinérgica para permitir una expansión positiva sustancial de la disponibilidad de oxígeno disuelto a los microorganismos en su consumo de contaminantes orgánicos. El resultado es una eficiencia mucho mayor de los procesos de tratamiento biológico de aguas residuales o la capacidad oxidativa de diversos agentes químicos de oxidación, como el cloro, el hipoclorito de sodio, el cloruro férrico, el peróxido, etc.
60

Se usan ampliamente sustancias químicas oxidativas para desinfectar el agua contaminada de los contaminantes orgánicos para prevenir crecimiento biológico a partir de tales compuestos orgánicos dentro del agua.
65 Mejorar la transferencia de oxígeno y el oxígeno disuelto dentro de la columna de agua permitirá una eficiencia

mucho mayor de los procesos químicos necesarios para desinfectar el agua, lo que resulta en un menor consumo de la sustancia química oxidante en el proceso.

5 Además de la mejora de los procesos biológicos y químicos utilizados en la purificación del agua y tratamiento de aguas residuales, los mismos mecanismos de acción han demostrado la capacidad para aumentar la velocidad de las reducciones biológicas en compostaje de residuos sólidos orgánicos y la tasa de remediación de hidrocarburos de petróleo contaminantes.

10 La aceleración de las tasas de compostaje y remediación es debido a la transferencia de oxígeno mejorada través de las membranas celulares de los sólidos orgánicos. La eficacia de la nueva composición aumenta cuando se combina con una neutralización inmediata de compuestos orgánicos volátiles (COV), a menudo caracterizados por perfiles de olor nocivo.

15 Un atributo corolario de transferencia de oxígeno mejorada es la solubilización eficiente de los componentes de los desechos orgánicos insolubles, tales como grasas, aceites, y grasas.

20 La capacidad de las composiciones usadas en la presente invención para escindir enlaces éster de grasas, aceites y grasas reside en la capacidad para permitir una transferencia de gas a través de las barreras de membrana de la estructura molecular que de ese modo provoca una ruptura de los enlaces éster que une glicerol y ácidos grasos. Esta es una forma de hidrólisis que tiene un pH neutro, en lugar de un pH muy alto, o agentes de pH muy bajo, o enzimas de lipasa.

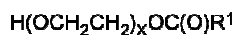
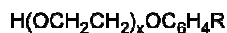
25 Las lipasas son el grupo específico de enzimas generalmente atribuidas a la escisión de los enlaces éster, sin embargo, las composiciones de la presente invención inicia el mismo mecanismo de clivaje de romper los enlaces éster, a modo de mecanismo de transferencia de oxígeno, es decir; beta-oxidación.

30 Esta capacidad de efectuar una solubilización de estas moléculas orgánicas insolubles, liberando de este modo los componentes orgánicos en una forma más fácilmente digerible para su consumo por los microorganismos, funciona de nuevo de forma sinérgica con los beneficios conferidos por el aumento de la disponibilidad de oxígeno, que ayuda a la reducción biológica de la respiración requerida en procesos biológicos aerobios.

Pulpa y papel:

35 Cuando se utiliza en la fabricación de papel, se hace posible una sustitución de agentes químicos de desinfección de tipo biocida en los tanques de fabricación de pasta, que se utilizan tradicionalmente para prevenir crecimiento de la película biológica y manchas en la fabricación de papel. Se reducen los recuentos de colonias de bacterias y patógenos, se elimina el crecimiento de la película biológica y se eliminan las manchas. Además, la acumulación de almidones en los rodillos se reduce sustancialmente a medida que la estructura molecular de los almidones es solubilizada por la composición.

40 Los surfactantes no iónicos adecuados para su uso en la presente invención incluyen, pero no se limitan a surfactantes iónicos, poliéter no comprenden alcoholes grasos, alquil fenoles, ácidos grasos y aminas grasas que han sido etoxilados; polihidroxilo no iónico (polioles) que comprenden típicamente ésteres de sacarosa, ésteres de sorbital, alquil glucósidos y ésteres de poliglicerol que pueden o no estar etoxilados. En una realización de la presente invención, el surfactante no iónico está representado por una de las fórmulas generales, a continuación:



55 en donde x representa el número de moles de óxido de etileno añadido a un alquil fenol y/o un alcohol graso o un ácido graso, R representa un grupo alquilo de cadena larga, por ejemplo un grupo C₇ - C₁₀ alquilo normal y, R₁ representa un grupo alifático de cadena larga, por ejemplo un grupo C₁₂-C₂₀ alifático, en particular, el surfactante no iónico es un octilfenol etoxilado o una dodecilaalcohol o tridecílico etoxilado. El surfactante no iónico actúa de forma sinérgica para mejorar la acción del sobrenadante de fermentación de levadura.

60 El producto sobrenadante de la fermentación que se utiliza en el procedimiento de la presente invención se pueden preparar de una manera similar a la descrita en la patente de los Estados Unidos. N° 3,635,797 de Battistoni et al. Brevemente, la levadura, por ejemplo, Saccharomyces cerevisiae, se cultiva en un medio que comprende: una fuente de azúcar, tal como sacarosa de melaza, azúcar crudo, soja o mezclas de los mismos. Una concentración de azúcar de aproximadamente 10 a aproximadamente 30%, en peso; malta tal como la malta diastática en una concentración de aproximadamente 7 a aproximadamente 12%, en peso; una sal, tal como una sal de magnesio, y,

en particular, sulfato de magnesio, en una concentración de aproximadamente 1 a aproximadamente 3%, en peso, y levadura se agrega al medio para obtener una concentración final de aproximadamente 1 a aproximadamente 5% en peso de levadura en la mezcla de cultivo final. La mezcla se incuba a aproximadamente de 26 grados a aproximadamente 42 grados C hasta que se completa la fermentación, Es decir, hasta que la efervescencia de la mezcla haya cesado, generalmente de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 días, dependiendo de la temperatura de fermentación. Al final de la fermentación, la composición de fermentación de levadura se centrifuga para eliminar los "lodos" formados durante la fermentación. El sobrenadante (aproximadamente 98,59% en peso) se puede mezclar con un sistema conservante o estabilizador, como el benzoato de sodio (aproximadamente 1% en peso), imidazolidinil urea (aproximadamente 0,01% en peso), diazolidinil urea (aproximadamente 0,15%, en peso), cloruro de calcio (aproximadamente 0,25%, en peso) para formar un intermedio de fermentación. El pH se ajusta de aproximadamente 3,7 a aproximadamente 4,2 con ácido fosfórico. La composición del intermedio de fermentación se describe en la Tabla I. (Tenga en cuenta que el sobrenadante de levadura se trata para eliminar cualquier bacteria y/o enzima activa antes de usar en el proceso de la invención

TABLA I
Fermentación intermedia

Componente	%, en peso
Sobrenadante de fermentación	98,59
Na benzoato	1
Imidazolidinil urea	0,01
Diazolidinil urea	0,15
Cloruro de calcio	0,25
Ajustar el PHa aproximadamente 3,7 a aproximadamente 4,2 con ácido fosfórico	

El intermedio de fermentación se puede preparar rellenando una caldera de mezcla con camisa con la cantidad deseada del sobrenadante de fermentación. Con agitación moderada, el pH se ajusta de aproximadamente 3,7 a aproximadamente 4,2 con ácido fosfórico. Con agitación continua, se agregan benzoato de sodio, imidazolidinil urea, diazolidinil urea y cloruro de calcio. La temperatura de la mezcla se eleva lentamente a aproximadamente 40 grados C y la mezcla se agita continuamente. La temperatura se mantiene a aproximadamente 40 grados C durante aproximadamente una hora para garantizar que todos los componentes de la mezcla se disuelvan. La mezcla se enfría luego desde aproximadamente 20 grados a aproximadamente 25 grados C.

El intermedio de fermentación luego se seca por pulverización mediante métodos conocidos en la técnica para proporcionar un producto de fermentación sobrenadante como un polvo seco a partir de los *Saccharomyces cerevisiae* de cultivo. Es importante destacar que dicho polvo seco, a diferencia del líquido sobrenadante de fermentación preparado por el método descrito en la Patente de EE.UU. 3,635,797 está libre de bacterias y las enzimas activas encontradas en el producto líquido de la Patente de EE.UU. 3,635,797

El intermedio de fermentación (el producto sobrenadante de la fermentación líquida) puede formularse en la composición de la presente invención (composición final) al mezclar la intermedio de fermentación secado por pulverización (aproximadamente 20,24%, en peso, de la composición final) con conservantes tales como benzoato de sodio, imidazolidinilurea, diazolidinilurea, imidazolidinilurea, diazolidinilurea y mezclas de los mismos (aproximadamente 0,16%, en peso, de la composición final), un surfactante no iónico como etilfenol etoxilado o etoxilato de dodecil o tridecilalcohol (aproximadamente el 9% en peso de la composición final) y la composición se lleva al 100% mediante la adición de agua. En una realización preferida de la presente invención, la composición comprende aproximadamente 20,24% en peso, producto intermedio de fermentación, aproximadamente 0,1% en peso, benzoato de sodio, aproximadamente 0,01% en peso, imidazolidinilurea, aproximadamente 0,15% en peso, diazolidinilurea, aproximadamente el 9%, en peso, octilfenol etoxilado o etoxilato de alcohol tridecílico (véase la Tabla II).

TABLA II
Composición final

Componente	% por peso
Benzoato de sodio	0,1
Imidazolidinil urea	0,01
Diazolidinil urea	0,15
Fenol de octilo etoxilado o alcohol tridecílico	9,00
Intermedio de fermentación	20,24

El método para preparar la composición final es la siguiente: Una caldera de mezcla se carga con el volumen deseado de agua a aproximadamente 20 grados a aproximadamente 25 grados C. Se añaden benzoato de

sodio, imidazolidinil urea y diazolidinil urea mientras que la solución es agitada. La mezcla se agita hasta que los sólidos se dispersan. Luego se agrega octilfenol etoxilado o alcohol dodecílico o tridecílico y se continúa la agitación. El intermedio de fermentación se agrega luego con agitación suave. El pH se ajusta a aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,0 con ácido fosfórico.

Después de la mezcla y el ajuste del pH, la concentración final de los componentes en la composición final se resume en la Tabla III.

TABLA III
Composición final

Componente	%, en peso
Benzoato Na	0,3
Imidazolidinilurea	0,012
Diazolidinilurea	0,18
Octilo fenol etoxilado o alcohol dodecílico o tridecílico	9,0
Cloruro de calcio	0,05
Sobrenadante de fermentación	20 (aclorado)
Ajuste el pH a aproximadamente 3,5 a 4,0 con ácido fosfórico	

La composición final se diluye para su uso en una zona para el tratamiento de materiales orgánicos en las aguas residuales como se describe a continuación.

Alternativamente, un polvo de levadura está disponible de fuentes comerciales y dicho polvo de levadura se pueden combinar con un surfactante no iónico para proporcionar una composición adecuada para practicar el proceso de esta invención. Por ejemplo, TASTONE 154 (TT154-50) puede formularse con el surfactante no iónico para proporcionar una composición similar a la composición de la Tabla III.

El método para preparar esta composición es el siguiente: Una caldera de mezcla se carga con el volumen deseado de agua a aproximadamente 20 grados a aproximadamente 25 grados C. Se añade Tastona 154 mientras que se agita la solución. La mezcla se agita hasta que la mezcla sea uniforme. En los pasos secuenciales, se añaden Tergitol 15-S-7, Tergitol 15-S-5, Dowfax 2A1, Triton H66 e Integra 44 con la mezcla resultante agitada, después de cada adición, hasta que sea uniforme. El pH se ajusta a 6 +/- 0,5 con ácido fosfórico. (Tergitol 15-S-7 y Tergitol 15-S-5 son surfactantes no iónicos. Dowfax 2A1 y Triton H66 son surfactantes aniónicos. Integra 44 es un biocida).

Después de la mezcla y el ajuste del pH, la concentración final de los componentes en la composición final se resume en la Tabla IV.

TABLA IV
Composición final

Componente	%, en peso
Agua	87,238
Tastone 154	0,762
Tergitol 15-S-7	3,750
Tergitol 15-S-5	3,750
Dowfax 2A1	1,500
TritonH66	2,500
Integra 44	0,500
Ajuste el pH a aproximadamente 6,0 +/- 0,5 con ácido fosfórico	

Para el uso en el tratamiento de aguas residuales, la composición final, es decir, la composición de la Tabla III o IV, se diluye a hasta partes por millón. Para otros usos, puede ser deseable diluir la composición final tan solo como 1 en 10, Los expertos en la técnica saben que se pueden usar diluciones de tales composiciones y que la dilución excesiva para un propósito particular puede resultar en una disminución de la velocidad de la digestión y que la dilución insuficiente para un propósito particular aumenta el costo sin aumentar la tasa de degradación. Idealmente, la composición final se diluye para optimizar la tasa de degradación de un residuo en particular y para minimizar los costos.

En uso, la composición de la presente invención degrada contaminantes, mediante la mejora de la actividad de las bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas de tratamiento de aguas residuales e, inesperadamente, aumenta la cantidad de biogás generado, mientras que la disminución de los compuestos olorosos volátiles (COV) y el volumen y peso del efluente de la zona de tratamiento.

En un proceso aeróbico, en el que el surfactante anterior y la composición sobrenadante de fermentación de levadura se utiliza para degradar los contaminantes en la presencia de bacterias, DO es disminuido como las bacterias metabolizan el oxígeno disponible. El surfactante no iónico y el producto sobrenadante de fermentación de levadura actúan de forma sinérgica para mejorar la velocidad de degradación y aumentar el DO. En dicho proceso aeróbico, el surfactante, solo, o el sobrenadante de fermentación de la levadura, solo, no produce la actividad aumentada observada cuando se combinan.

Se ha encontrado sorprendentemente que las composiciones de la presente invención, a pesar de que carecen de cualesquiera enzimas activas o bacterias, aumentar los niveles de oxígeno disuelto y la transferencia de oxígeno. Las composiciones de la presente invención proporcionan niveles aumentados de oxígeno disuelto en cuerpos de agua, por encima de los niveles obtenidos a través de medios mecánicos obtenidos con aireadores y sistemas de difusión de aire, reduciendo así los contaminantes orgánicos en dicho cuerpo de agua.

Por otra parte, como veremos a continuación, la concentración de bio-nutrientes altamente concentrada de las composiciones de la presente invención proporciona la estimulación de los organismos microbiológicos presentes en dicha masa de agua.

La combinación del surfactante no iónico y los bio-nutrientes en las composiciones de la presente invención resulta en una reducción sinérgica en la tasa de eliminación de contaminantes orgánicos de la masa de agua que se trata con la composición usada en la presente invención.

Los mecanismos de acción de las composiciones usadas en la presente invención están dirigidos en dos aspectos sinérgicos y complementarios de funcionalidad; aceleración de la biocatálisis de las estructuras moleculares de los desechos orgánicos, en particular los lípidos más refractarios y la transferencia de oxígeno mejorada al agua.

Estos mecanismos individuales trabajan juntos para superar los factores limitantes encontrados en todas las aplicaciones de tratamiento de aguas residuales y de agua donde el oxígeno, a través de la aireación, se utiliza como la energía requerida por los procesos biológicos para reducir los contaminantes orgánicos. Estos mecanismos gemelos también son relevantes para proporcionar de manera efectiva un modelo alternativo al ensuciamiento biológico y el crecimiento de biopelículas en sistemas de transferencia de calor de agua en circuito cerrado, procesamiento de pulpa y papel, sistemas de recolección de aguas residuales, líneas de drenaje y cualquier sistema de tratamiento de agua que utilice un biocida para someter formación de incrustaciones biológicas y contaminación.

En un proceso anaeróbico se obtienen ventajas similares, mediante el tratamiento del material de desecho orgánico con la combinación de la composición sobrenadante surfactante y fermentación de la levadura descrita anteriormente. Además, al igual que el proceso aeróbico, la degradación mejorada observada en el uso de la composición final, en un proceso anaeróbico es proporcional al tiempo en que la composición final está en contacto con el agua residual a tratar. Por lo tanto, es deseable que la composición final se agregue a las aguas residuales lo antes posible. Preferiblemente, la composición final se agrega aguas arriba de la zona anaeróbica o aeróbica de la planta de tratamiento de aguas residuales. La composición final se puede agregar al agua residual mediante el bombeo continuo de la composición final al agua residual o se puede agregar en lotes, según se desee, para alcanzar la dilución deseada de la composición final en la zona anaeróbica o aeróbica.

Si bien no se desea estar ligado por la teoría, se cree que la corriente de agua residual a tratar se beneficia de bio-nutrientes presentes en el sobrenadante de fermentación de levadura por la alimentación de las bacterias ya presente en el agua residual para aumentar así la concentración de dichas bacterias y/o aumentar la actividad de dichas bacterias al aumentar la cantidad de enzima generada por las bacterias ya presentes. Por lo tanto, el sobrenadante de fermentación de levadura no requiere la presencia de enzima activa para llevar a cabo el proceso de la presente invención, sino que la enzima activa de interés se genera in situ.

El sobrenadante de la fermentación puede comprender los siguientes bio-nutrientes en las cantidades siguientes:

Vitaminas mg/100g

	Preferido	Intervalo
Biotina	0,1	0,01-1
Ácido fólico	5,6	1,0-10,0
Niacina	54,1	10,0-90,0
Inositol	130	10,0-250
Ácido pantoténico	7,3	1,0-10,0
Piridoxina HCl	5,6	1,0-10,0
Riboflavina	12	1,0-20,0
Tiamina	8,3	1,0-20,0

Minerales mg/100g

5	Ca	141
	Cr	0,4
	Cu	0,2
	Fe	8,5
	Mg	208
10	P	1770
	K	3790
	Na	2660
	Zn	1380

Aminoácidos mg/100 g

15	Alanina	3980
	Arginina	2640
	Ácido aspártico	5800
20	Cistina	5687
	Ácido glutámico	520
	Glicina	2800
	Lisina	4570
	Metionina	964
25	Fenilalanina	2450
	Prolina	2180
	Serina	2840
	Treonina	2730

30 Por lo tanto, las composiciones utilizadas en el procedimiento de esta invención comprende un producto de fermentación sobrenadante libre de enzima a partir de un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*, en combinación con un surfactante no iónico, en donde dicho producto sobrenadante comprende suficientes tipos y cantidades de nutrientes biológicos para generar las bacterias necesarias para tratar la corriente de agua residual in situ. Por ejemplo, dicha composición puede comprender:

Tabla V

40	Ingrediente	% en peso
	Surfactante no iónico, por ejemplo, octilfenol etoxilado o alcohol dodecílico o tridecílico	1,0-15,0
	Producto de sobrenadante de fermentación de un cultivo de levadura, por ejemplo, un cultivo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5,0-35,0
45	Agua hasta 100% en peso	

Preferiblemente, dicha composición puede comprender:

Tabla VI

50	Componente	%, en peso
	Na benzoato	0,3
	Imidazolidinilurea	0,01
55	Diazolidinilurea	0,15
	Octilfenol etoxilado o alcohol dodecílico o tridecílico	9,0
	Cloruro de calcio	0,05
	Fermentación sobrenadante de la Tabla III	20

60

65

Tabla VII

Componente	%, en peso
Levadura en polvo disponible como Tastone 154	0,5-1,5
Dodecil etoxilado o alcohol tridecílico	5-10
Tensoactivo aniónico	2-6
Biocida	0,1-1,0
Agua hasta el 100% en peso	

El producto de fermentación sobrenadante anteriormente, es decir, el polvo secado por pulverización a partir de los cultivos *Saccharomyces cerevisiae* de la TABLA III o Tastone 154 puede comprender vitaminas, minerales y aminoácidos como sigue:

Vitaminas	Minerales	Aminoácidos
Biotina	Ca	Alanina
Ácido fólico	Cr	Arginina
Niacina	Cu	Ácido aspártico
Insotil	Fe	Cistina
Ácido Pantoténico	Mg	Ácido glutámico
Piroxina HCl	P	Glicina
Riboflavina	K	Lisina
Tiamina	Na	Metionina
	Zn	Fenilalanina
		Prolina
		Serina
		Treonina

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que son ilustrativos de un modo específico de practicar la invención y no pretenden limitar el alcance de las reivindicaciones.

EJEMPLO Comparativo 1

El proceso puede ejemplificarse por el tratamiento de la descarga de una planta de fabricación de alimentos. Dos biorreactores anaeróbicos secuenciales están en línea después del (de los) pocillo(s) húmedo(s) influyente(s) donde se recolecta la descarga de la fabricación de alimentos.

La velocidad de flujo es de 2,84 millones de litros (0,75 millones de galones) por día. En los biorreactores anaeróbicos, el flujo de los pocillos húmedos se pone en contacto con la composición descrita en la Tabla III, más arriba. La relación del flujo de agua residual y la composición de la Tabla III varía de 0,0000667% a 0,0002667%. Después del tratamiento en la zona anaeróbica, el efluente líquido de los biorreactores se lleva a una o más lagunas de aireación para un tratamiento adicional. El efluente gaseoso de los biorreactores se recolecta y se quema o se recicla (y se puede tratar, por ejemplo, para aumentar su valor de BTU, antes del reciclado) para usarlo para proporcionar calor a los biorreactores y/o la caldera de procesamiento de alimentos utilizada para generar vapor de calor para el proceso de manufactura.

Se encontró que el tratamiento del afluente al biorreactor con la composición de la Tabla III aumenta la cantidad de biogás, es decir, biometano, producido. Este es un resultado sorprendente porque la composición de la Tabla III carece de enzima activa. Además se reduce el volumen de lodos del efluente.

EJEMPLO Comparativo 2

En un ejemplo separado del proceso, el agua residual de una planta de fabricación de queso grande es tratado en una zona de digestión anaerobia con la composición de la Tabla III, anteriormente, en una proporción de desde 0,0220 hasta 0,1484 composición de la Tabla III influyente. El tiempo de residencia promedio en la zona anaeróbica es de 2,72 a 4,28 Día depende de los flujos de afluentes. La temperatura durante dicho tratamiento es de aproximadamente 34 a aproximadamente 39 grados Celsius (de aproximadamente 94 a aproximadamente 102 grados F. En este ensayo, la tasa de eliminación del TCOd aumenta. Este aumento es sorprendente porque la composición de la Tabla III carece de enzima activa.

EJEMPLO Comparativo 3

El proceso también se utiliza en el tratamiento de lodos de aguas residuales de una fuente municipal. En

ES 2 779 960 T3

este ensayo, el afluente a la zona anaeróbica de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales se pone en contacto con la composición de la Tabla III, arriba, en una proporción de 0,103 a 0,462 EPS litros/379 litros (.0271 a 122 ESP Gals/100 gal de Lodo de Alimentación Primaria y una temperatura de 33 a 39 grados Celsius (92 a 102^o F). Este tiempo de residencia de la mezcla de lodos de depuradora y la composición final en la zona anaeróbica es de 15 a 18 días dependiendo de la carga de alimentación primaria de Influyente en el digestor anaeróbico. Una instalación de tratamiento de aguas residuales municipales típica procesa 3785 litros (1000 galones) por día de aguas residuales por cada persona atendida. Aproximadamente 1,0 pie cúbico (ft³) de gas de digestión se produce por un digestor anaeróbico por persona por día. El valor de calentamiento del biogás producido por digestores anaerobios es de aproximadamente 600 unidades térmicas británicas por pie cúbico (Btu/ft³)

En el presente ejemplo, se obtienen los siguientes resultados:

- Las tasas de eliminación de TS se incrementan.
- Las tasas de eliminación de TVS aumentan.
- Los volúmenes de lodos se reducen.
- La producción real de biogás se incrementa.

Estos resultados son sorprendentes porque la composición de la Tabla III carece de enzima activa. Los procesos descritos en los Ejemplos 1 a 3 anteriores, pueden repetirse con la Composición de la TABLA IV y se obtienen resultados similares.

REIVINDICACIONES

1. El uso de una composición biocatalítica acuosa en la fabricación de papel, la composición biocatalítica acuosa comprendiendo un sobrenadante de fermentación, que comprende micronutrientes, de un cultivo de levadura que no contiene enzimas activas, y uno o más surfactantes no iónicos, en donde la composición bio-catalítica carece de enzimas activas, y en donde el cultivo de levadura es un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el surfactante no iónico comprende un surfactante no iónico de poliéter que comprende alcoholes grasos, alquilfenoles, ácidos grasos y aminas grasas que se han etoxilado; un surfactante no iónico de polihidroxilo (polioles) que comprende ésteres de sacarosa, ésteres de sorbital, alquil glucósidos y ésteres de poliglicerol que pueden estar o no etoxilados.
3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el surfactante no iónico tiene la fórmula general de $\text{HH}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OC}_6\text{H}_4\text{R}$, $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OR}^1$, o $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$, en donde x representa el número de moles de óxido de etileno añadidos a un alquilfenol y/o un alcohol graso o un ácido graso, R representa un grupo alquilo de cadena larga y, R^1 representa un grupo alifático de cadena larga.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el surfactante no iónico es un octilfenol etoxilado o un etoxilato de alcohol dodecílico o tridecílico.
5. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el surfactante no iónico se selecciona del grupo que consiste de alquil polisacáridos, alquilamina etoxilatos, óxidos de amina, copolímeros de bloque, etoxilatos de aceite de ricino, etoxilatos de alcohol cetoleílico, etoxilatos de alcohol cetosteárico, etoxilatos de alcohol decílico, dodecildecanol etoxilado y tridecildecanol etoxilado, y otros etoxilatos de alcoholes alifáticos secundarios $\text{C}_{12}\text{-C}_{14}$, o el surfactante no iónico puede ser un aducto de nonil u octil fenol que comprende de 20 a 40 moles de óxido de etileno, por ejemplo, aproximadamente 30 moles de óxido de etileno.
6. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende del 5,0% al 35,0% en peso del sobrenadante de fermentación libre de enzimas, del 1,0% al 15,0% en peso de surfactante no iónico y agua al 100%.
7. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende:
- del 0,5% al 1,5% en peso del sobrenadante de fermentación libre de enzimas, disponible como Tastone 154, del 5% al 10% en peso de alcohol dodecílico etoxilado o alcohol tridecílico etoxilado, del 2% al 6% en peso de un surfactante aniónico, del 0,1% al 1,0% en peso de un biocida, y agua al 100%.
8. El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde se reducen los recuentos de colonias de patógenos, se elimina el crecimiento de película biológica, se eliminan las manchas de papel y se reduce sustancialmente la acumulación de almidón.
9. Un método para prevenir el crecimiento de la película biológica y las manchas de papel y reducir sustancialmente la acumulación de almidón en la fabricación de papel, el método comprendiendo añadir una composición biocatalítica acuosa a un tanque de pulpa, la composición biocatalítica acuosa comprendiendo un sobrenadante de fermentación, que comprende micronutrientes, de un cultivo de levadura que no contiene enzimas activas, y uno o más surfactantes no iónicos, en donde la composición biocatalítica carece de enzimas activas, y en donde el cultivo de levadura es un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae*.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el surfactante no iónico comprende un surfactante no iónico de poliéter que comprende alcoholes grasos, alquilfenoles, ácidos grasos y aminas grasas que se han etoxilado; un surfactante no iónico de polihidroxilo (polioles) que comprende ésteres de sacarosa, ésteres de sorbital, alquil glucósidos y ésteres de poliglicerol que pueden estar o no etoxilados.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el surfactante no iónico tiene la fórmula general de $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OC}_6\text{H}_4\text{R}$, $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OR}^1$, o $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$, en donde x representa el número de moles de óxido de etileno añadido a un alquilfenol y/o un alcohol graso o un ácido graso, R representa un grupo alquilo de cadena larga y, R^1 representa un grupo alifático de cadena larga.
12. El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el surfactante no iónico es un octilfenol etoxilado o un etoxilato de alcohol dodecílico o tridecílico.

5 **13.** El método de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el surfactante no iónico se selecciona del grupo que consiste de alquil polisacáridos, alquilamina etoxilatos, óxidos de amina, copolímeros en bloque, etoxilatos de aceite de ricino, etoxilatos de alcohol cetooleílico, etoxilatos de alcohol cetoestearílico, etoxilatos de alcohol decílico, dodecildecanol etoxilado y tridecildecanol etoxilado, y otros etoxilatos de alcoholes alifáticos secundarios C₁₂-C₁₄, o el surfactante no iónico puede ser un aducto de nonil u octil fenol que comprende de 20 a 40 moles de óxido de etileno, por ejemplo, aproximadamente 30 moles de óxido de etileno.

10 **14.** El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9-13, que comprende del 5,0% al 35,0% en peso del sobrenadante de fermentación libre de enzimas, del 1,0% al 15,0% en peso de surfactante no iónico y agua al 100%.

15. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9-13, que comprende:

15 del 0,5% al 1,5% en peso del sobrenadante de fermentación libre de enzimas, disponible como Tastone 154, del 5% al 10% en peso de alcohol dodecílico etoxilado o alcohol tridecílico etoxilado, del 2% al 6% en peso de un surfactante aniónico, del 0,1% al 1,0% en peso de un biocida, y agua al 100%.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65