



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 293 864**

② Número de solicitud: 200703236

⑤ Int. Cl.:
C08J 11/10 (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

⑫ PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑫ Fecha de presentación: **05.12.2007**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.03.2008**

Fecha de la concesión: **26.02.2009**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **01.04.2009**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.04.2009

⑰ Titular/es: **Universidad Politécnica de Madrid
Ramiro de Maeztu, 7
28040 Madrid, ES
Nuclin, S.A.**

⑱ Inventor/es: **Ruibal Villaseñor, Constantino;
García Ruiz, Ana M.;
Moreno Gómez, Diego A. y
Benavides Ruiz, Enrique**

⑳ Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

⑳ Título: **Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos.**

㉑ Resumen:

Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos.

El presente procedimiento de biodegradación consiste en la utilización de un hongo, *Paecilomyces lilacinus* IMI 117109, para la degradación de un triturado comercial heterogéneo de neumáticos usados.

Previo al tratamiento de biodegradación, se realiza el lavado del triturado de neumático para eliminar posibles contaminaciones que puedan interferir con el proceso. Posteriormente se efectúa el cultivo del hongo en presencia del triturado de neumático en medio líquido y condiciones de agitación. En una segunda fase, se elimina el exceso de medio líquido. Tras el periodo de incubación se aprecia el crecimiento del hongo en el material, lo que pone de manifiesto su biodegradación.

Este procedimiento de biodegradación fúngica supone una alternativa a los procesos de degradación de neumáticos usados, permitiendo reducir la acumulación de los mismos y aprovechar los productos de su biodegradación para su reutilización en la industria del neumático o su uso en otros procesos industriales.

ES 2 293 864 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos.

5 Sector técnico al que se refiere la invención

Industria del neumático, Gestión de neumáticos usados, Degradación de neumáticos usados.

Exposición del estado de la técnica

10 Durante los últimos años se han venido desarrollando procedimientos de biorremediación consistentes en la utilización de microorganismos para la recuperación de ambientes contaminados. Los esfuerzos en este campo han estado principalmente encaminados a la restauración de suelos contaminados con productos químicos tóxicos o peligrosos usando microorganismos; de esta forma se ha ido implantando el concepto de biorremediación. Adicionalmente, se
15 han desarrollado en los últimos tiempos procesos de biodegradación aplicados a materiales contaminantes con vistas al posterior aprovechamiento y reutilización de sus componentes, siendo este el objeto del procedimiento que cubre la presente patente.

20 El estudio de la biodegradación del caucho también se viene realizando desde hace años. La mayoría de los trabajos son de investigación básica y suponen fundamentalmente la participación de bacterias, aisladas principalmente de suelos, fuentes termales y restos de neumáticos en descomposición. Los actinomicetos han sido considerados las bacterias más importantes en la degradación de productos de caucho natural y vulcanizado, especialmente *Nocardia*. También se ha descrito, aunque en menor medida, el uso de hongos de podredumbre de la madera y sus enzimas para la descomposición de caucho vulcanizado.

25 El proceso de vulcanización sufrido por el caucho natural en los neumáticos y otros productos da cuenta de sus deseables propiedades mecánicas y térmicas, pero es al mismo tiempo responsable de que su reutilización sea compleja. Mediante este proceso se forman puentes disulfuro entre las cadenas de los polímeros, tanto de cauchos naturales como sintéticos. Se han descrito diversos procesos de desvulcanización química, física y microbiana. Asimismo se
30 han documentado procesos de degradación que suponen únicamente la rotura de las cadenas poliméricas.

35 Como ya se ha dicho, hasta el momento los tratamientos microbiológicos de vulcanizados usados suponen principalmente la utilización de bacterias, lo cual aparece reflejado en varios documentos de patente. Por ejemplo, la patente japonesa JP2004313031 se refiere a la desulfuración de caucho vulcanizado triturado (caucho natural, o cauchos de butadieno) mediante bacilos Gram-positivos aislados del suelo.

40 En la patente americana US6479558, se utilizan bacterias aisladas de fuentes termales que contienen azufre, para la desvulcanización de caucho, de forma que mejore su aptitud para ser reciclado. Según WO01/74933, dicho biotratamiento puede completarse por un tratamiento con microondas.

45 La patente alemana DE4220623 plantea la desvulcanización de triturado de neumáticos usados con bacterias como *Thiobacillus oxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans* y similares. En la patente española ES2086468 se emplean *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans* y/o *Thiobacillus thioparis*.

50 La patente internacional WO2004/087799 divulga la activación superficial y/o desvulcanización superficial de partículas de caucho, por la acción de bacterias mesófilas o enzimas derivadas de las mismas. Se trata de bacterias que utilizan y/o reducen azufre, en concreto *Desulfuromonas thiophila*, *Desulfuromonas palmitatis*, *Sulfurospirillum deleyianum* o *Desulfuromonas acetoxidans*. US5597851 se refiere a la utilización de microbios tíofilos o enzimas procedentes de los mismos, para la desvulcanización superficial de caucho. Las bacterias se seleccionan entre *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Rhodococcus rhodochrous* y *Sulfolobus acidocaldarius*.

55 En el documento DE19728036 se emplea *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus thioparis*, *Thiobacillus novellus*, *Sulfolobus acidocaldarius*, *Sulfolobus brierley*, *Acidanus acidaus*, *Rhodococcus rhodochrous* o *Pseudomonas putida* para la activación y modificación de la superficie de partículas de caucho vulcanizado.

En la patente JP2003250526 se propone una nueva bacteria (*Enterobacter cloacae* MOE-1) para la descomposición de caucho natural o estireno-butadieno. En JP1096230 se emplea *Xanthomonas* NR-35Y (FERM 9640).

60 En JP2004131643 se plantea la descomposición de productos que contienen caucho natural, como neumáticos usados, mediante actinomicetos del género *Nocardia*. El documento JP2006182952 se refiere a la obtención de polvo de caucho apto para ser reutilizado, que se obtiene por tratamiento de la superficie de caucho triturado con *Nocardia actinomyces* cepa BS-HA1 (FERM P-19378). En JP2006180822 también se describe dicha cepa. En JP2006180794 se describe la cepa *Nocardia* BS-TAI (FERM P-19379) y su utilidad para degradar caucho. De acuerdo con JP11060793, la biodegradación de caucho duro, como el procedente de neumáticos, se lleva a cabo con actinomicetos del género *Nocardia*, preferentemente de la cepa Rd-Cm o una variante, específicamente depositada como FERM P-16338. En
65 US5854058 también se emplea el género *Nocardia*, cepa NR-35A. Esa misma cepa de *Nocardia* y *Rhodococcus* NR-26S, se utilizan en JP61085193 y JP60072934 para degradar polímeros de isopreno, naturales o sintéticos. *Nocardia*

ES 2 293 864 B2

(NR-35A) y *Rhodococcus* también se utilizan en JP2076575 para la descomposición de caucho. JP54055778 propone el uso de *Pseudomonas* cepa AT-S-1 y *Nocardia* cepa AT-S-3.

5 La solicitud europea EP1454942 emplea una cepa WU-YSO5 de *Pseudonocardia* para producir rugosidades en la superficie de caucho pulverizado. Esta bacteria también se emplea en JP2003231118. *Rhodococcus rhodochrous* ATCC 53968 se utiliza en EPO441462 para la ruptura de enlaces carbono-azufre, por ejemplo en el reciclado de caucho. Esa bacteria y/o *Bacillus sphaericus* ATCC 53969 se pueden utilizar según EP0562313 y US5358869, con el mismo fin.

10 La solicitud PCT WO2004/076492 propone utilizar actinomicetos, p. ej. de los géneros *Corynebacterium*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Gordonia*, *Tsukamurella*, *Dietzia* y *Mycobacterium*. En especial, se utiliza *Gordonia desulfuricans* SG213E para biotratamiento de caucho natural o sintético.

15 Las patentes que se refieren a la utilización de hongos para el tratamiento de cauchos, naturales o vulcanizados, son mucho más escasas. Sólo JP2004099738 propone tratar caucho vulcanizado natural o sintético con hongos de la podredumbre de la madera, como p. ej. *Ceriporiopsis subvermispora* (FP 90081) y *Dichomitus squalens* (CBS 482.84). Por otra parte, JP2006152237 y JP2005232347 utilizan enzimas aisladas de hongos de la podredumbre de la madera, para la descomposición de caucho vulcanizado.

20 Con el procedimiento que se presenta en esta patente se consigue la biodegradación de un triturado heterogéneo de neumáticos comerciales usados por medio del hongo *Paecilomyces lilacinus* IMI 117109.

Explicación de la invención

25 Para llevar a cabo la degradación citada anteriormente del triturado de neumático usado se ha ideado un procedimiento de biodegradación en el cual se cultiva el hongo en un medio líquido de sales minerales en el que el material triturado constituye la única fuente de carbono para el microorganismo.

30 Previamente a la incubación del triturado de neumático con el hongo, se lleva a cabo un lavado del triturado en unas determinadas condiciones de relación peso de triturado/volumen de agua estéril utilizada, temperatura, agitación y tiempo. Este lavado permite la eliminación de restos orgánicos y microorganismos contaminantes que pudieran interferir o desplazar la reacción de biodegradación.

35 A continuación se realizan cultivos del hongo en un medio líquido de sales minerales y sin fuentes de carbono. De esta manera se asegura que los únicos nutrientes que pueden ser metabolizados por el hongo son los compuestos poliméricos que forman mayoritariamente el triturado de neumático.

40 El cultivo del hongo en el triturado de neumático con el medio de sales minerales se realiza en dos fases: en la primera se realiza un cultivo en medio líquido, con un exceso de medio y agitación. Esta fase es necesaria para la activación y correcta distribución del hongo en el triturado. En la segunda fase se retira el exceso de medio líquido, quedando un cultivo sólido-húmedo estático, en el que continúa desarrollándose el hongo sobre el triturado.

45 El desarrollo fúngico es una señal inequívoca del proceso de biodegradación que está teniendo lugar en el triturado de neumático.

El procedimiento descrito también puede ser eventualmente aplicado a otros microorganismos, como otros hongos e incluso bacterias siempre que posean las capacidades metabólicas necesarias para la degradación del triturado de neumático, y adaptando las condiciones del proceso a la fisiología particular de los microorganismos a considerar.

50 Exposición detallada de al menos un modo de realización de la invención

El triturado de neumático utilizado para la realización de este procedimiento es de granulometría $3 < x < 4$ mm, procedente de diversos neumáticos usados de composición comercial, todos ellos basados en una matriz polimérica de caucho natural o sintético entrecruzada por puentes disulfuro en su vulcanización.

55 La primera parte del procedimiento consiste en la preparación del triturado de neumático que se usará como sustrato de la biodegradación. Se lleva a cabo un lavado del triturado en las siguientes condiciones: relación peso de triturado/volumen de agua estéril utilizada de 0,25 (50 g de triturado por cada 200 mL de agua) en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Estos se incuban a 50°C y 140 rpm durante 24 h en un agitador orbital (Lab-Line® Orbit Environ-Shaker. Lab-Line Instruments, Inc., Melrose Park, ILL, USA). Se lleva a cabo este proceso dos veces.

60 Por medio de este procedimiento se realizan cultivos en matraces Erlenmeyer de 250 mL. El medio de cultivo utilizado es MSB (Mineral Salts Broth; Zaborski y cols., 2006, Polimery, 51 (7-8): 534-538). Como inóculo se utilizan 6 tacos extraídos con Tranfertubes® (Spectrum Laboratories, Inc., Rancho Domínguez, CA, USA) de una placa Petri con el hongo crecido durante 4 semanas. La relación peso de triturado/volumen de medio utilizada es de 0,4 (10 g de triturado de neumático por cada 25 mL de medio).

ES 2 293 864 B2

Los matraces se incuban durante una semana en un agitador orbital a 25°C y con una agitación de 100 rpm. Una vez transcurrido este tiempo, se retira el exceso de medio y, en condiciones estériles, se coloca el triturado húmedo en placas Petri. Estas placas se sellan con cinta de parafina (Parafilm®. Pechiney Plastic Packaging, Menasha, WI, USA) y se incuban a 25°C durante 1 semana. Una vez transcurrido este tiempo se observa visualmente un claro desarrollo del micelio del hongo sobre el triturado de neumático húmedo, en el que son claramente apreciables, por microscopía electrónica de barrido a baja temperatura, los surcos sobre la superficie del material y las galerías en su interior, creados por las hifas del hongo en su crecimiento.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos, **caracterizado** porque comprende dos fases o etapas de incubación de al menos un hongo degradativo: en la primera se realiza un cultivo en agitación con al menos un medio líquido de sales minerales, y en la segunda fase se retira el exceso de medio líquido, quedando un cultivo sólido-húmedo estático donde continúa el desarrollo del hongo sobre el triturado.

10 2. Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos según la reivindicación 1, **caracterizado** porque previamente a las dos fases se realiza un lavado en agitación con agua estéril en caliente.

15 3. Procedimiento de biodegradación fúngica de triturado de neumáticos según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** porque el hongo degradativo empleado es *Paecilomyces lilacinus* IMI 117109.

20 4. Uso del procedimiento definido según las reivindicaciones 1 a 3 para la degradación de triturados de neumáticos y posterior aprovechamiento de los productos de biodegradación obtenidos.

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 293 864

② Nº de solicitud: 200703236

③ Fecha de presentación de la solicitud: 05.12.2007

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C08J 11/10** (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ROY, R.V. et al. Comparative studies on rubber biodegradation through solid-state and submerged fermentation. Process Biochemistry. 2006. Vol. 41, Nº 1, páginas 181-186.	1,2,4
Y		3
Y	Biodeteriogens. CABI Strain Microbial properties. CABI Bioscience. 24.11.2005 [en línea] [Recuperado el 25.02.2008] Recuperado de internet: < http://www.cabi-bioscience.org/microbialproperties.asp >	3
X	WALLSTRÖM, S. et al. Development and comparison of test methods for evaluating formation of biofilms on silicones. Polymer Degradation and Stability. 2002. Vol. 78, páginas 257-262.	1,2
A		3,4
X	EP 1454942 A1 (BRIDGESTONE CORP.) 08.09.2004, páginas 1-5.	1,3,4
A	SATO, S. et al. Microbial Scission of Sulfide Linkages in Vulcanized Natural Rubber by a White Rot Basidiomycete, Ceriporiopsis subvermispota. Biomacromolecules. Marzo-Abril 2004. Vol. 5, Nº 2, páginas 511-515. ISSN 1525-7797.	1,2,4
A	BREDBERG, K. et al. Microbial detoxification of waste rubber material by wood-rotting fungi. Bioresource Technology. Julio, 2002. Vol. 83, Nº 3, páginas 221-224. ISSN 0960-8524.	1,4
A	JP 2004099738 A (SUMITOMO RUBBER IND.) 02.04.2004 (resumen) [en línea] [Recuperado el 25.02.2008] Recuperado de: EPO WPI Database.	1,3,4
A	JP 6322263 A (KURAKAY CO.) 22.11.1994, (resumen) [en línea] [Recuperado el 25.02.2008] Recuperado de: EPO EPODOC Database.	1,4

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.02.2008

Examinador
E. Ulloa Calvo

Página
1/2



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 293 864

② Nº de solicitud: 200703236

③ Fecha de presentación de la solicitud: **05.12.2007**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C08J 11/10** (2006.01)
C12N 1/14 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	LUGAUSKAS, A. et al. Physical and chemical aspects of long-term biodeterioration of some polymers and composites. Environmental Toxicology. Vol. 19, Nº 4. Agosto, 2004 (resumen) [en línea] [Recuperado el 25.02.2008] Recuperado de: EPO BIOSIS Database.	1

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
25.02.2008

Examinador
E. Ulloa Calvo

Página
2/2