

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

|                                                                    |                                                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| (22) Data de pedido: <b>2007.04.20</b>                             | (73) Titular(es):<br><b>ECO SOLUTION</b>                                                                                         |           |
| (30) Prioridade(s): <b>2006.04.27 FR 0603792</b>                   | <b>PARC BIOCITECH 102, AVENUE GASTON</b>                                                                                         |           |
| (43) Data de publicação do pedido: <b>2009.01.28</b>               | <b>ROUSSEL 93230 ROMAINVILLE</b>                                                                                                 | <b>FR</b> |
| (45) Data e BPI da concessão: <b>2011.03.02</b><br><b>109/2011</b> | (72) Inventor(es):<br><b>ALEXANDRE DA COSTA</b>                                                                                  | <b>FR</b> |
|                                                                    | (74) Mandatário:<br><b>MANUEL GOMES MONIZ PEREIRA</b><br><b>RUA ARCO DA CONCEIÇÃO, N.º 3, 1º ANDAR 1100-028</b><br><b>LISBOA</b> | <b>PT</b> |

(54) Epígrafe: **NOVO MICRORGANISMO PARA O TRATAMENTO DAS ÁGUAS RESIDUAIS E RESPECTIVO PROCESSO**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A UM NOVO MICRORGANISMO ISOLADO, CARACTERIZADO POR SER CAPAZ DE REALIZAR: I) A TRANSFORMAÇÃO DO AZOTO KJELDAHL, DO AZOTO AMONÍACAL E/OU DOS ÓXIDOS DE AZOTO EM AZOTO GASOSO; E II) A TRANSFORMAÇÃO DA MATÉRIA CARBONADA EM DIÓXIDO DE CARBONO; DECORRENDO AS DUAS TRANSFORMAÇÕES EM AEROBIOSE. A INVENÇÃO REFERE-SE IGUALMENTE A UM PROCESSO DE TRATAMENTO DAS ÁGUAS RESIDUAIS UTILIZANDO O REFERIDO MICRORGANISMO.

## DESCRIÇÃO

### **NOVO MICRORGANISMO PARA O TRATAMENTO DAS ÁGUAS RESIDUAIS E RESPECTIVO PROCESSO**

#### Âmbito da invenção

A presente invenção enquadra-se na despoluição das águas residuais. Refere-se em particular ao isolamento e à caracterização de um novo microrganismo capaz de transformar a matéria carbonada e a matéria azotada em anaerobiose. Este microrganismo é particularmente útil para o tratamento dos efluentes ricos em carbono e azoto por via biológica.

#### Técnica anterior

Actualmente, o tratamento da matéria carbonada e azotada por via biológica passa pela utilização de pelo menos dois tipos de microrganismos, os primeiros especializados no tratamento da matéria carbonada, os segundos especializados no tratamento da matéria azotada.

Com efeito, a despoluição da matéria orgânica produz-se geralmente em tanques com lamas activadas nos quais a matéria carbonada é transformada, em anaerobiose, em biomassa e dióxido de carbono. Em alternativa, a matéria orgânica pode ser transformada em biomassa e em metano, em anaerobiose.

Depois de um ou outro destes tratamentos, a carga azotada dos efluentes em processo de tratamento continua significativa. O tratamento da carga azotada necessita de uma etapa posterior que envolve microrganismos especializados.

Foram, até hoje, explorados diversos processos para transformar o azoto, sob forma amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) ou de oxidada ( $\text{NO}_2^-$ ;  $\text{NO}_3^-$ ), contido nos efluentes aquosos em azoto gasoso ( $\text{N}_2$ ).

O tratamento mais comum actualmente é constituído por uma etapa de nitrificação aeróbia, seguida de uma etapa de desnitrificação anóxica.

A nitrificação consiste na oxidação do azoto amoniacal ( $\text{NH}_3$ ) em nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), graças a bactérias autotróficas, por exemplo, espécies dos géneros *Nitrosomonas*, *Nitrosospira* e *Nitrosococcus*, depois na oxidação dos nitritos produzidos anteriormente em nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), graças a bactérias autotróficas incluindo, por exemplo, espécies dos géneros *Nitrobacter*, *Nitrosococcus* e *Nitrosospira*.

A desnitrificação consiste na redução das formas oxidadas do azoto mineral (nitritos ( $\text{NO}_2^-$ )), (nitratos ( $\text{NO}_3^-$ )) em compostos gasosos ( $\text{N}_2$ ), por uma população microbiana funcional desnitrificante, a maior parte do tempo heterotrófica, na presença de um dador de electrões. Este processo é realizado por numerosas bactérias incluindo, por exemplo, espécies pertencendo aos géneros *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus*, *Thiobacillus*, *Alcaligenes*. A redução das formas oxidadas do azoto está, portanto, acoplada à oxidação de um composto orgânico. Isto significa que o carbono é um factor que limita a desnitrificação. Com efeito, se a concentração em matéria carbonada dos efluentes aquosos a tratar não for suficiente para manter as populações microbianas activas em relação ao tratamento do azoto, pode revelar-se necessária, para o bom funcionamento dos reactores de desnitrificação, a adição de uma fonte de carbono exógeno.

É, em particular, o caso em que o efluente a tratar é pobre em carbono (relação Carbono/Azoto (C/N) < 4) ou o caso em que o efluente sofre uma decantação primária antes da desnitrificação.

A desnitrificação pode realizar-se tratando o efluente recolhido depois da etapa de desnitrificação num tanque de anoxia contendo as bactérias desnitrificantes.

Segundo um outro modo de funcionamento, o tanque de nitrificação pode funcionar periodicamente como um tanque de desnitrificação tornando-o anóxico, por exemplo, fazendo interrupções de entrada de oxigénio e adicionando dadores de electrões, entre os quais o mais frequentemente utilizado é o metanol.

Entre os inconvenientes deste método de nitrificação-desnitrificação, referir-se-á que as estirpes nitrificantes autotróficas possuem uma taxa de crescimento fraca. Esta característica cinética induz tempos de permanência nos tanques consideráveis o que conduz à necessidade tanto de conceber grandes estruturas, como de prolongar a cadeia de tratamento com novas estruturas, o que implica custos de investimento elevados. Além disso, no caso de uma etapa de desnitrificação conduzida num tanque suplementar, é necessário levar uma fonte de carbono orgânico, tal como o metanol, à flora desnitrificante, o que pode gerar custos de funcionamento adicionais.

Um outro processo de tratamento do azoto amoniacal designado Anammox (para Anaerobic Ammonia Oxydation) permite a bioconversão do azoto amoniacal e dos nitritos em azoto gasoso. Esta reacção pode realizar-se tratando o efluente de

nitrificação (contendo nitritos e azoto amoniacal que não reagiram) num tanque separado para produzir azoto gasoso. Segundo um outro modo de funcionamento, o tanque de nitrificação pode funcionar alternando as condições óxicas e anóxicas ou em contínuo segundo as condições de limitação de oxigénio. Nesse caso, o consumo de oxigénio pelas bactérias nitrificantes gera as condições anóxicas do processo Anammox. As bactérias capazes de catalisar a reacção Anammox podem ser obtidas a partir de lamas activadas clássicas, desde que as lamas contenham planctomicetes do tipo *Brocardia anammoxidans*.

O principal inconveniente do processo Anammox é a fraca taxa de crescimento das bactérias planctomicetes, o que conduz a períodos consideráveis de arranque do equipamento. Para mais, as condições de cultura destas bactérias e a sua manutenção em culturas puras continuam difíceis. Por fim, a nitrificação parcial (conversão de 50% do amoníaco em nitritos) tem de ser perfeitamente controlada, o que é difícil de realizar em condições de funcionamento real.

O processo Sharon, aplicado a montante do tratamento Anammox, permite obter uma nitrificação parcial. O processo Sharon baseia-se na diferença que existe entre a taxa de crescimento das bactérias que oxidam o amoníaco e a das bactérias que oxidam os nitritos. Este tratamento funciona com um tempo de retenção hidráulico inferior à taxa de crescimento das bactérias que oxidam os nitritos, mas mais elevado do que a das bactérias que oxidam o amoníaco (perto de um dia). Uma vez que não há retenção de lamas, as bactérias que oxidam os nitritos não se mantêm no reactor e são, portanto, eliminadas.

Recentemente, identificaram-se estirpes de *Alcaligenes faecalis* como sendo capazes de realizar a nitrificação e a

desnitrificação em aerobiose. É o caso da estirpe *Alcaligenes faecallis* sp. N.º 4 descrita no artigo de Joo et al. (Biotechnology Letters (2005) 27: 773-778). Graças a essa estirpe, o tratamento do azoto amoniacal pode ser realizado numa única etapa aeróbia.

No entanto, esta bactéria não permite transformar a totalidade do azoto amoniacal em azoto gasoso. Com efeito, acumulam-se quantidades não negligenciáveis de produtos intermédios. Assim, no melhor dos casos, o tratamento de grandes teores em amoníaco com base na utilização de *Alcaligenes faecallis* sp. N.º 4 em aerobiose, com uma relação C/N de 10, conduz à eliminação de 40-50% de  $\text{NH}_4^+$  por desnitrificação e 90% dos produtos de desnitrificação são azoto gasoso. Por outro lado, esta bactéria funciona de maneira ideal com relações C/N elevadas, necessitando de um enriquecimento em carbono do efluente a tratar (Joo et al. (2005)).

Por consequência, a melhoria dos desempenhos do tratamento do azoto amoniacal nas águas residuais passa, actualmente, por acrescentar ao equipamento existente tratamentos específicos, ditos tratamentos terciários, com lamas activadas ou com bio-filtros. Os equipamentos e as estruturas necessárias para realizar estes tratamentos representam consequentes investimentos e geram igualmente custos de funcionamento consideráveis quando se torna necessário adicionar substratos carbonados, por exemplo aquando da desnitrificação.

A presente invenção visa minimizar os inconvenientes da técnica anterior e descreve um modo de tratamento da matéria carbonada e do azoto sob forma Kjeldahl, amoniacal ou oxidada por via biológica numa única etapa aeróbia, por

microrganismos heterotróficos que possuem uma rapidez de crescimento considerável, o que permite conceber estruturas de tratamento de dimensão reduzida.

A invenção visa igualmente obter uma redução dos custos de funcionamento das estações de tratamento, nomeadamente das que utilizam tanques de desnitrificação colocados a jusante dos tanques de nitrificação. Com efeito, uma vez que o azoto amoniacal é transformado em azoto gasoso nos tanques de arejamento, os tanques de desnitrificação anóxicos colocados a jusante deixam de ter utilidade.

Por esta razão, a economia gerada provem por um lado da supressão da adição de substrato carbonado orgânico (tipo metanol) e, por outro lado, da redução da produção de lamas através da eliminação da etapa de tratamento anóxico.

A invenção permite portanto tirar o máximo partido do equipamento de tratamento das águas existente, sem necessitar de etapas de tratamento complementares.

#### Descrição da invenção

Neste contexto, o requerente isolou um novo microrganismo capaz de transformar a matéria carbonada e a matéria azotada em aerobiose, o que o torna particularmente útil no tratamento das águas residuais.

A matéria azotada transformada pelo microrganismo de acordo com a invenção pode ser azoto Kjeldahl, azoto amoniacal e/ou óxidos de azoto.

O azoto Kjeldahl compreende o azoto sob forma orgânica e sob forma amoniacal, com excepção das formas nitrosas (nitritos, nitratos).

Assim, a invenção refere-se a um novo microrganismo isolado, caracterizado por ser capaz de realizar:

- i) a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso; e
- ii) a transformação da matéria carbonada em dióxido de carbono;

decorrendo as duas transformações em aerobiose.

A invenção tem portanto como objecto primordial um microrganismo isolado, caracterizado por se tratar da estirpe CNCM I-3448 de *Alcaligenes faecalis*, capaz de realizar:

- i) a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso; e
- ii) a transformação da matéria carbonada em dióxido de carbono;

decorrendo as duas transformações em aerobiose.

De maneira preferida, o microrganismo de acordo com a invenção é capaz de transformar o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto em azoto gasoso, acumulando menos de 1% de óxidos de azoto.

De maneira ainda mais preferida, o microrganismo de acordo com a invenção é capaz de efectuar a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em

azoto gasoso, acumulando menos de 1% de óxidos de azoto, sendo a referida transformação óptima quando a relação C/N do meio é inferior a 4, de preferência inferior a 3, de preferência da ordem de 1,5.

O microrganismo de acordo com a invenção é capaz de efectuar a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso, em condições de carga máxima aplicada (CMA) inferior a 0,2 kg  $\text{DBO}_5/\text{kg MVS/j}$ .

Prefere-se em particular um microrganismo isolado, tal como descrito anteriormente, caracterizado por transformar o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto em azoto gasoso, em condições de carga máxima aplicada (CMA) superior ou igual a 0,2 kg  $\text{DBO}_5/\text{kg MVS/j}$ , de preferência superior a 0,5 kg  $\text{DBO}_5/\text{kg MVS/j}$ .

O microrganismo de acordo com a invenção pertence ao género *Alcaligenes*, em particular à espécie *Alcaligenes faecallis*.

O microrganismo de acordo com a invenção é representado pela estirpe *Alcaligenes faecallis* depositada a 10 de Junho de 2005 na Collection National de Cultures de Microorganismes, junto ao Instituto Pasteur (CNCM), sob a referência CNCM I-3448.

A invenção descreve microrganismos derivados da estirpe CNCM I-3448 que têm a capacidade de transformar a matéria carbonada e a matéria azotada em aerobiose.

Por microrganismo derivado, entende-se todo o microrganismo oriundo da estirpe CNCM I-3448 que possa resultar, por exemplo, de uma etapa de cultura, de mutação, de

transformação da estirpe CNCM I-3448 ou mesmo do seu cruzamento com um outro microrganismo e que tenha conservado as características essenciais da estirpe CNCM I-3448.

Um outro objecto da invenção é a utilização do microrganismo de acordo com a invenção para o tratamento das águas residuais.

A utilização preferida do microrganismo de acordo com a invenção refere-se à transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto, nas águas residuais, em azoto gasoso, em aerobiose.

Segundo um aspecto da utilização de acordo com a invenção, acumulam-se menos de 1% de óxidos de azoto ( $\text{NO}_3^-$ ;  $\text{NO}_2^-$ ).

De maneira ainda mais preferida, a utilização do microrganismo de acordo com a invenção refere-se aos tratamentos combinados do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto e da matéria carbonada contidos nas águas residuais, em aerobiose.

Em particular, aquando da utilização de acordo com a invenção, o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto são transformados em azoto gasoso e a matéria carbonada é transformada em dióxido de carbono.

A utilização de acordo com a invenção pode efectuar-se em condições em que a carga máxima aplicada (CMA) do meio é inferior a 0,2 kg  $\text{DBO}_5/\text{kg MVS}/\text{j}$ .

De preferência, a utilização de acordo com a invenção efectua-se em condições em que a carga máxima aplicada (CMA)

é superior a 0,2 kg  $DBO_5$ /kg  $MVS$ /j, de maneira ainda mais preferida superior a 0,5 kg  $DBO_5$ /kg  $MVS$ /j.

Segundo um modo de realização preferido da utilização de acordo com a invenção, não se adiciona, às águas residuais a tratar, nenhuma fonte de carbono externa.

Uma das características preferidas da utilização de acordo com a invenção consiste em que os tratamentos combinados do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto e da matéria carbonada, contidos nas águas residuais, decorrem num único tanque de lamas activadas livres.

Em alternativa, a utilização de acordo com a invenção caracteriza-se pelo facto dos tratamentos combinados do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto e da matéria carbonada, contidos nas águas residuais, decorrerem num dispositivo de culturas fixadas num suporte.

Segundo um outro aspecto, a invenção refere-se à utilização de um microrganismo de acordo com a invenção, previamente produzido por cultura contínua. De preferência, realiza-se a referida cultura contínua em condições de esterilidade. De maneira ainda mais preferida, realiza-se a referida cultura contínua sob pressão selectiva e em períodos de tempo indefinidos.

Um outro objecto da invenção refere-se a um processo de tratamento das águas residuais, caracterizado por utilizar um microrganismo de acordo com a invenção.

Segundo um outro aspecto da invenção, o processo de tratamento das águas residuais compreende as seguintes etapas:

- i) a cultura do microrganismo de acordo com a invenção;
- ii) a alimentação automática de um dispositivo de tratamento contendo as águas residuais a tratar por entradas recorrentes da cultura produzida na etapa i); e
- iii) o tratamento biológico das matérias carbonada e azotada, contidas nas águas residuais, no seio de um dispositivo de tratamento, em aerobiose.

Segundo um aspecto da invenção, o tratamento biológico da matéria carbonada e o tratamento biológico da matéria azotada da etapa iii) decorrem simultaneamente.

De maneira preferida, o dispositivo de tratamento das águas residuais, mencionado nas etapas ii) e iii), é um tanque de arejamento.

A invenção tem igualmente por objecto o controlo da eficácia da despoluição das águas residuais, de maneira a otimizar o tratamento dos efluentes em função dos constrangimentos, por exemplo, o aumento de carga carbonada ou azotada.

Igualmente, de maneira ainda mais preferida, a actividade do microrganismo de acordo com a invenção presente no seio das lamas activadas livres do tanque de arejamento, segundo um dos processos acima descritos, é avaliada por transferências regulares de amostras para um dispositivo de cultura, depois comparada com uma cultura do referido microrganismo mantida sob pressão selectiva.

Segundo um outro modo de realização, o processo de acordo com a invenção compreende, em paralelo, transformações aeróbias do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto e da matéria carbonada pelo microrganismo de acordo com

a invenção no dispositivo de tratamento, a cultura contínua do microrganismo de acordo com a invenção num meio contendo nutrientes (fonte de carbono, fonte de azoto ...) necessários ao crescimento microbiano, a fim de inocular periodicamente o dispositivo de tratamento com o referido microrganismo.

Preferivelmente, o crescimento microbiano realiza-se num dispositivo que permite cultivar o microrganismo de acordo com a invenção em condições de cultura estéril. Mais particularmente, realiza-se esta cultura sob pressão selectiva e em períodos de tempo indefinidos.

Segundo o modo particular de realização da invenção, esta cultura paralela é utilizada para inseminar regularmente um reactor de ampliação, com um volume de algumas centenas de metros cúbicos, no qual se produz uma cultura do microrganismo de acordo com a invenção, sem esterilização, numa quantidade considerável. O meio de cultura pode ser sintético ou consistir num efluente a tratar e deve ser suficientemente selectivo para favorecer a considerável produção do referido microrganismo. As recorrentes entradas desta cultura poderão ser realizadas automaticamente, segundo uma frequência definida, para o dispositivo de tratamento das águas residuais, por exemplo, o tanque de arejamento com lamas activadas livres. Não se adiciona nenhum substrato orgânico, como por exemplo o metanol, ao dispositivo de tratamento para favorecer a manutenção do microrganismo de acordo com a invenção, dado que este utiliza como fonte de carbono a matéria orgânica presente nas águas residuais a tratar.

Alternativamente e com vantagem, o dispositivo de tratamento das águas residuais mencionado nas etapas ii) e iii) é um dispositivo de culturas fixadas num suporte.

Segundo um outro aspecto do processo de acordo com a invenção, o referido processo comporta, a montante do dispositivo de tratamento, uma etapa de avaliação da toxicidade das águas residuais que entram em relação ao microrganismo. A etapa de avaliação da toxicidade pode basear-se, em particular, na medição do crescimento do referido microrganismo nas referidas águas residuais.

Um efluente tóxico para o microrganismo, e portanto prejudicial para a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso, poderia então ser orientado para um tanque de segurança para um posterior tratamento.

Segundo um outro aspecto da invenção, o microrganismo é fixado a um suporte.

O referido suporte pode conter um revestimento, de tipo estruturado ou outro, que permita otimizar a implantação da população cultivada do microrganismo de acordo com a invenção, a sua fixação e o seu desenvolvimento em condições favoráveis. Este revestimento pode ser de diferentes tipos e de diferentes materiais conhecidos do perito.

Em particular, o microrganismo de acordo com a invenção é fixado sozinho ou em co-cultura com um ou vários microrganismos especializados no tratamento da poluição carbonada.

A distribuição do microrganismo de acordo com a invenção pela superfície do suporte deve ser a melhor possível e o bom funcionamento do processo depende das transferências entre os microrganismos e o efluente a tratar. Em termos de arejamento, a instalação deve ser concebida para que a transferência de oxigénio para os microrganismos depuradores fixados no suporte seja a mais eficaz possível. Por outro lado, é necessária uma boa transferência do efluente para os microrganismos fixados no suporte, no que respeita aos poluentes a tratar (nomeadamente, o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto e as matérias carbonadas) e, em sentido inverso, no que respeita aos produtos do metabolismo dos microrganismos (nomeadamente, o dióxido de carbono e o azoto gasoso).

De acordo com a invenção, as águas residuais a tratar incluem qualquer água usada quer seja municipal, industrial, agrícola ou de qualquer outra origem, que contenha valores significativos de azoto amoniacal. O teor em azoto Kjeldahl ou amoniacal do efluente a tratar é de, por exemplo, 50 mg/l, nomeadamente 1 g/l, particularmente 30 g/l. As águas residuais a tratar podem igualmente provir da água utilizada para depurar gases contendo azoto amoniacal.

O processo de acordo com a invenção é particularmente adequado ao tratamento das águas residuais contendo mais de 30 g/l de azoto Kjeldahl ou de azoto amoniacal.

As águas residuais a tratar contêm igualmente valores significativos de carbono orgânico. Os teores em carbono orgânico total podem ser, por exemplo, de 80 mg/l, nomeadamente 1 g/l, particularmente 80 g/l ou 95 g/l.

Segundo um outro aspecto, o processo de acordo com a invenção faz-se acompanhar da acumulação de menos de 1% de óxidos de azoto ( $\text{NO}_2^-$ ;  $\text{NO}_3^-$ ).

Os exemplos que se seguem ilustram a invenção, mas não podem ser considerados como limitativos.

#### Exemplo 1: Bioconversão de um efluente sintético urbano

Alimenta-se, em contínuo, um fermentador com uma capacidade útil de 1 litro com um efluente sintético recuperando a composição média de águas residuais de origem urbana. A composição deste efluente é a seguinte: 53 mg/l de N-NH<sub>3</sub> sob a forma de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 82 mg/l de carbono orgânico total (COT) sob a forma de acetato de sódio, 0,1 g/l de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> e micro-elementos conhecidos do perito por favorecerem o crescimento desses microrganismos. Ajusta-se o pH da solução para 8 com HCl/NaOH se necessário.

O fermentador contém uma cultura pura da estirpe *Alcaligenes faecalis* CNCM-I-3448.

Mantém-se o regime contínuo fixando uma carga volúmica aplicada de 1,9 g NH<sub>3</sub>/m<sup>3</sup>/j e 2,6 g C/m<sup>3</sup>/j.

Este modo de realização corresponde a condições em que a carga mássica aplicada (CMA) é de 0,27 kg <sub>DBO5</sub>/kg <sub>MVS</sub>/j e a relação C/N do meio é de 1,5.

Assegura-se o arejamento da cultura por borbulhamento de ar comprimido (concentração em oxigénio dissolvido superior a 3 mg/l). Liga-se a única saída de ar a um borbulhador contendo 2 litros de água purificada por osmose, a pH 5. O objectivo

desta montagem é garantir que o amoníaco não seja purgado pelo arejamento aquando da biodegradação em contínuo do efluente.

Quando se atinge a estabilização do regime, a concentração em amoníaco no borbulhador (pH 5) é nula, a concentração média em matéria seca é de 0,7 g/l, 90% do carbono (COT) que entra é convertido quer em biomassa, quer em dióxido de carbono.

Regista-se uma redução de 99,9% no azoto amoniacal que é convertido quer em biomassa, quer em azoto gasoso. O rendimento da bioconversão em relação ao azoto obtido é, portanto, superior a 99,9%.

Além disso, não se regista acumulação de nitritos e de nitratos no meio, nem no efluente à saída.

#### Exemplo 2: Bioconversão de efluentes industriais com elevada concentração de azoto orgânico

Alimenta-se, em contínuo, um fermentador com uma capacidade útil de 7,5 litros com águas residuais compreendendo essencialmente solventes azotados (como o acetonitrilo ou a dimetilformamida) oriundos da produção de péptidos.

A análise do efluente revela uma concentração em carbono orgânico total (COT) de 95 g/l e uma concentração em azoto Kjeldahl de 34 g/l (proveniente essencialmente do acetonitrilo).

O fermentador contém uma cultura pura da estirpe *Alcaligenes faecalis* CNCM-I-3448.

Mantém-se o regime contínuo fixando uma carga volúmica aplicada de 1,2 kg N/m<sup>3</sup>/j e 3,2 kg C/m<sup>3</sup>/j.

Este modo de realização corresponde a condições em que a carga mássica aplicada (CMA) é de 0,96 kg <sub>DBO5</sub>/kg <sub>MVS</sub>/j e a relação C/N do meio é de 2,8.

O ar que entra na cultura (8 l/min) passa por um humidificador. Liga-se a única saída de ar a um borbulhador contendo 2 litros de água purificada por osmose, a pH 5. O objectivo desta montagem é garantir que o azoto Kjeldahl não seja purgado pelo arejamento aquando da biodegradação em contínuo do efluente. Observa-se que o fluxo de azoto Kjeldahl nos afluentes gasosos representa um décimo do fluxo que entra.

Quando se atinge a estabilização do regime, a concentração em azoto Kjeldahl no borbulhador (pH 5) é nula, a concentração média em matéria seca é de 10 g/l, 98% do carbono (COT) que entra é convertido quer em biomassa, quer em dióxido de carbono.

Regista-se uma redução de 99,9% no azoto Kjeldahl que é convertido quer em biomassa, quer em azoto gasoso.

Além disso, a acumulação no meio e no efluente de saída de formas oxidadas do azoto (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) é inferior a 1% e temporária (< 12 h).

O rendimento da bioconversão em relação ao azoto Kjeldahl obtido é, portanto, superior a 99%.

01-06-2011

## REIVINDICAÇÕES

1. Microrganismo isolado, caracterizado por se tratar da estirpe CNCM I-3448 de *Alcaligenes faecalis* capaz de realizar:

- i) a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso; e
- ii) a transformação da matéria carbonada em dióxido de carbono;

decorrendo as duas transformações em aerobiose.

2. Microrganismo isolado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por transformar o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto em condições de carga máxima aplicada (CMA) superior ou igual a 0,2 kg  $_{DBO5}$ /kg  $_{MVS}$ /j, preferencialmente superior a 0,5 kg  $_{DBO5}$ /kg  $_{MVS}$ /j.

3. Microrganismo, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 ou 2, caracterizado por transformar o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto em azoto gasoso, acumulando menos de 1% de óxidos de azoto.

4. Microrganismo, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado por transformar o azoto Kjeldahl, o azoto amoniacal e/ou os óxidos de azoto em azoto gasoso de maneira ideal quando a relação C/N no meio é inferior a 4, de preferência inferior a 3, de maneira ainda mais preferida da ordem de 1,5.

5. Utilização do microrganismo, de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4, para o tratamento das águas residuais.

6. Utilização, de acordo com a reivindicação 5, caracterizada por a carga máxima aplicada (CMA) ser superior a 0,2 kg  $_{DBO5}$ /kg  $_{MVS}$ /j, de preferência superior a 0,5 kg  $_{DBO5}$ /kg  $_{MVS}$ /j.

7. Utilização, de acordo com uma qualquer das reivindicações 5 ou 6, caracterizada por não se adicionar nenhuma fonte carbonada externa às águas residuais a tratar.

8. Processo de tratamento das águas residuais, caracterizado por utilizar um microrganismo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 4.

9. Processo de tratamento das águas residuais, de acordo com a reivindicação 8, compreendendo as seguintes etapas:

- i) a cultura do microrganismo de acordo com uma qualquer das reivindicações 1 a 5;
- ii) a alimentação automática de um dispositivo de tratamento contendo as águas residuais a tratar por entradas recorrentes da cultura produzida na etapa i); e
- iii) o tratamento biológico das matérias carbonada e azotada contidas nas águas residuais, no seio de um dispositivo de tratamento, em aerobiose.

10. Processo de tratamento das águas residuais, de acordo com a reivindicação 9, no qual o tratamento biológico da matéria carbonada e o tratamento biológico da matéria azotada da etapa iii) decorrerem simultaneamente.

11. Processo, de acordo com uma qualquer das reivindicações 9 ou 10, no qual o dispositivo de tratamento das águas residuais é um tanque de arejamento com lamas activadas livres.

12. Processo, de acordo com uma qualquer das reivindicações 9 ou 10, no qual o dispositivo de tratamento das águas residuais é um dispositivo com culturas fixadas num suporte.

13. Processo, de acordo com uma das reivindicações 8 a 12, no qual as águas residuais a tratar contêm mais de 30 g/l de azoto Kjeldahl ou de azoto amoniacal.

01-06-2011

## RESUMO

### **NOVO MICRORGANISMO PARA O TRATAMENTO DAS ÁGUAS RESIDUAIS E RESPECTIVO PROCESSO**

A invenção refere-se a um novo microrganismo isolado, caracterizado por ser capaz de realizar:

- i) a transformação do azoto Kjeldahl, do azoto amoniacal e/ou dos óxidos de azoto em azoto gasoso; e
- ii) a transformação da matéria carbonada em dióxido de carbono;

decorrendo as duas transformações em aerobiose.

A invenção refere-se igualmente a um processo de tratamento das águas residuais utilizando o referido microrganismo.



**CG (Marseille)**  
Office européen des brevets  
80298 MUNICH  
ALLEMAGNE  
Tel. +49 (0)89 2399 - 0  
Fax +49 (0)89 2399 - 4465



Galup, Cédric Olivier Nicolas  
Santarelli  
14 Avenue de la Grande Amée  
BP 237  
75822 Paris 17  
FRANCE



**SAISI LE**  
**- 7 FEB. 2011**

Pour toutes questions sur  
cette communication :  
Tel. : +31 (0)70 340 45 00

|          |
|----------|
| Date     |
| 03.02.11 |

|                                       |                                                         |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Référence<br>BIF116964EPA/CG          | Demande n°. / Brevet N°.<br>07731332.8 - 2401 / 2018417 |
| Demandeur / Titulaire<br>Eco Solution |                                                         |

#### Décision relative à la délivrance d'un brevet européen en application de l'article 97(1) CBE

La demande de brevet européen No. 07731332.8 ayant été dûment examinée, il est procédé, pour l'ensemble des Etats contractants désignés à la délivrance d'un brevet européen ayant pour titre celui qui figure dans la notification en date du 20.09.10 émise en application de la règle 71(3) CBE et dans la version conforme aux documents indiqués dans cette notification.

No de brevet : 2018417  
Date de dépôt : 20.04.07  
Priorité revendiquée : 27.04.06/FRA 0603792

Les Etats contractants et  
le(s) Titulaire(s) du brevet

AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU  
LV MC MT NL PL PT RO SE SI SK TR  
Eco Solution  
Parc Biocitech  
102, avenue Gaston Roussel  
93230 Romainville/FR

La décision prend effet au jour de la publication au Bulletin européen des brevets de la mention de la délivrance (art. 97(3) CBE).

Date de publication de cette mention au Bulletin européen des Brevets No 11/09 du 02.03.11.

Division d'examen

Loubradou-Bourges N

Landré J

Halle F

