

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 491 965**

21 Número de solicitud: 201330334

51 Int. Cl.:

**C12N 1/20** (2006.01)

**C12N 1/26** (2006.01)

**C12N 1/28** (2006.01)

**C12N 11/00** (2006.01)

**C02F 3/34** (2006.01)

**A62D 3/02** (2007.01)

**C12R 1/01** (2006.01)

**C12R 1/07** (2006.01)

**C12R 1/38** (2006.01)

12

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

R1

22 Fecha de presentación:

**08.03.2013**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**08.09.2014**

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

**11.12.2014**

71 Solicitantes:

**BIO-ILIBERIS RESEARCH & DEVELOPMENT S.L.  
(49.0%)**

**Avda. Cervantes, 12-2º C**

**18008 Granada ES y**

**INGENIERÍA Y ECONOMÍA DEL TRANSPORTE,  
S.A. (51.0%)**

72 Inventor/es:

**NIQUI ARROYO, José Luis;**

**FERNÁNDEZ CIFUENTES, Sonia;**

**ROCA HERNÁNDEZ, Amalia De Arrixaca y**

**SOLANO PARADA, Jennifer**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

54 Título: **PROCEDIMIENTO BIOLÓGICO PARA LA DEGRADACIÓN DE MEZCLAS COMPLEJAS DE HIDROCARBUROS EN FASE ACUOSA**

57 Resumen:

Procedimiento biológico para la degradación de mezclas complejas de hidrocarburos en fase acuosa. El procedimiento biológico para reducir el contenido de hidrocarburos presentes en un medio acuoso que comprende una mezcla de hidrocarburos que contiene, al menos, un alcano alifático; al menos, un hidrocarburo aromático policíclico (HAP); y, al menos, un hidrocarburo aromático seleccionado del grupo formado por benceno, tolueno, etilbenceno, o-xileno, m-xileno, p-xileno y sus combinaciones, comprende poner en contacto dicho medio acuoso contaminado por dicha mezcla de hidrocarburos con una mezcla bacteriana que comprende, al menos, una bacteria que degrada un alcano alifático; al menos una bacteria que degrada un HAP; y, al menos, una bacteria que degrada dicho hidrocarburo aromático. El procedimiento puede incluir un tratamiento químico o fotoquímico previo al biológico del medio acuoso contaminado. Se describen bacterias capaces de degradar dichos hidrocarburos.

ES 2 491 965 R1



21 N.º solicitud: 201330334

22 Fecha de presentación de la solicitud: 08.03.2013

32 Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	SURESH INAKOLLU et al. Biosurfactant enhancement of microbial degradation of varios structural clases of hydrocarbon in mixed waste systems. ENVIROMENTAL ENGINEERING SCIENCE, vol. 21, no. 4, 01.07.2004, páginas 463-469, XP055125565, ISSN: 1092-8758, DOI: 10.1089.1092875041358467. Página 464 y página 465, columna izquierda.	1,2,19,20
Y	Todo el documento.	3-18,21-45
X	WO 2012137220 A2 (INDIAN OIL CORP LTD et al.) 11.10.2012, párrafos [0034],[0038],[0041],[0044],[0047]; reivindicaciones 1,2.	1,2,19,20
Y	Todo el documento.	3-18,21-45
X	EP 2407432 A1 (SOELL GMBH) 18.01.2012, párrafos [0002],[0009],[0016].	1,2,19,20
Y	Todo el documento.	3-18,21-45
X	US 2012178146 A1 (AUFFRET MARC et al.) 12.07.2012, párrafos [0001],[0002],[0011],[0013],[0015],[0016],[0022],[0030]; reivindicación 1.	1,2,19,20
Y	Todo el documento	3-18,21-45
X	WHYTE L G et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic Pseudomonas strains possessing both alkane (alk) and naphthalene (nah) catabolic pathways. Applied and environmental microbiology UNITED STATES Sep 1997 (09.1997) VOL: 63 No: 9 Págs: 3719-3723 ISSN 0099-2240 (Print) Doi: pubmed:9293024. Resumen.	1
X	UTA DEPPE et al. Degradation of crude oil by an arctic microbial consortium. Extremophiles; Life Under Extreme Conditions, 20051201 Springer-Verlag, To 01.12.2005 VOL: 9 No: 6 Págs: 461-470 ISSN 1433-4909 Doi: doi:10.1007.s00792-005-0463-2 . Resumen.	1,19,20
X	DIAZ-RAMIREZ I J et al. Design of bacterial defined mixed cultures for biodegradation of specific crude oil fractions, using population dynamics analysis by DGGE. INTERNATIONAL BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION, 20080701 Elsevier Ltd, GB 01.07.2008 VOL: 62 No: 1 Págs: 21-30 ISSN 0964-8305 Doi: doi:10.1016.j.ibiod.2007.11.001. Resumen.	1,19,20

#### 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  
26.11.2014

Examinador  
S. González Peñalba

Página  
1/5

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**C12N1.20** (2006.01)  
**C12N1.26** (2006.01)  
**C12N1.28** (2006.01)  
**C12N11.00** (2006.01)  
**C02F3.34** (2006.01)  
**A62D3.02** (2007.01)  
C12R1.01 (2006.01)  
C12R1.07 (2006.01)  
C12R1.38 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N, C12R, C02F, A62D

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 26.11.2014

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11.1986)</b>	Reivindicaciones 3-18, 21-45	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1, 2, 19, 20	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11.1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-45	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11.1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	SURESH INAKOLLU et al. Biosurfactant enhancement of microbial degradation of varios structural clases of hydrocarbon in mixed waste systems. ENVIROMENTAL ENGINEERING SCIENCE, vol. 21, no. 4, 01.07.2004, páginas 463-469, XP055125565, ISSN: 1092-8758, DOI: 10.1089.1092875041358467. Página 464 y página 465, columna izquierda.	
D02	WO 2012137220 A2 (INDIAN OIL CORP LTD et al.)	11.10.2012
D03	EP 2407432 A1 (SOELL GMBH)	18.01.2012
D04	US 2012178146 A1 (AUFFRET MARC et al.)	12.07.2012
D05	WHYTE L G et al. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic Pseudomonas strains possessing both alkane (alk) and naphthalene (nah) catabolic pathways. Applied and environmental microbiology UNITED STATES Sep 1997 (09.1997) VOL: 63 No: 9 Págs: 3719-3723 ISSN 0099-2240 (Print) Doi: pubmed:9293024. Resumen.	31.08.1997
D06	UTA DEPPE et al. Degradation of crude oil by an arctic microbial consortium. Extremophiles; Life Under Extreme Conditions, 20051201 Springer-Verlag, To 01.12.2005 VOL: 9 No: 6 Págs: 461-470 ISSN 1433-4909 Doi: doi:10.1007.s00792-005-0463-2 . Resumen.	01.12.2005
D07	DIÁZ-RAMÍREZ I J et al. Design of bacterial defined mixed cultures for biodegradation of specific crude oil fractions, using population dynamics analysis by DGGE.INTERNATIONAL BIODETERIORATION AND BIODEGRADATION, 20080701 Elsevier Ltd, GB 01.07.2008 VOL: 62 No: 1 Págs: 21-30 ISSN 0964-8305 Doi: doi:10.1016.j.ibiod.2007.11.001. Resumen.	01.07.2008

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11.1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente solicitud de patente hace referencia, tal y como ha sido presentada, a un procedimiento biológico para reducir el contenido de hidrocarburos presentes en un medio acuoso que comprende una mezcla de hidrocarburos que comprende una alcano alifático, un hidrocarburo aromático policíclico (HAP) y un hidrocarburo aromático (BTEX). Dicho medio acuoso contaminado por dicha mezcla de hidrocarburos se pone en contacto con una mezcla bacteriana que comprende, al menos una bacteria que degrada alcano alifático, al menos una bacteria que degrada un HAP y al menos una bacteria que degrada un hidrocarburo aromático (BTEX) (reivindicación 1). Dicha mezcla bacteriana comprende al menos una bacteria del genero *Rhodococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* que degrada dodecano, *Pseudomonas* que degrada hexadecano, *Acinetobacter*, *Pseudoxanthomonas* y una bacteria que incorpora el plásmido TOL (reivindicaciones 2-18). Además, dicha mezcla bacteriana es un consorcio bacteriano (reivindicaciones 19-22). Dichas bacterias están adheridas a un soporte sólido inerte formando un biofilm bacteriano (reivindicaciones 23-24). Dicho medio acuoso que comprende la mezcla de hidrocarburos se somete a un tratamiento fisicoquímico previo al tratamiento biológico (reivindicaciones 25-28). Se reivindica también la bacteria del género *Rhodococcus* con número de acceso CECT 8211 (reivindicación 29), del género *Bacillus* con número de acceso CECT 8210 (reivindicación 30), del género *Pseudomonas* con números de acceso CECT 8212 y 8213 (reivindicaciones 31 y 32), del género *Acinetobacter* con número de acceso CECT 8214 (reivindicación 33), del género *Pseudoxanthomonas* con número de acceso CECT 7607 (reivindicación 34). Dichas bacterias tiene capacidad para desarrollar mecanismos de adhesión a la superficie de un material con densidad inferior a la del agua (reivindicación 35). Se reivindica también un cultivo puro de una de dichas bacterias (reivindicación 36), o un cultivo que comprende una mezcla de dichas bacterias (reivindicaciones 37-42). Se reivindica un consorcio bacteriano (reivindicaciones 43 y 44) y por último un soporte sólido activo que comprende un soporte sólido inerte y un biofilm bacteriano (reivindicación 45).

**NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA ARTS. 6 Y 8 DE LA LP**

El documento D01 se refiere a un estudio que examina el efecto de dos biotensioactivos ramnolípidos sobre la constante de velocidad de degradación para un consorcio microbial que crece en una mezcla de hidrocarburos formada por cuatro tipos de hidrocarburos. Se determinó, de este modo, la constante de velocidad de degradación del hexadecano, dodecano, benceno, tolueno, naftaleno, etc, en presencia y ausencia de biotensioactivos ramnolípidos (véase página 464). Los microorganismos utilizados en este estudio son un consorcio formado por una mezcla de *Pseudomonas aeruginosa*, *Rhodococcus*, y una cepa de *Pseudomonas* que produce ramnolípidos (véase página 465, columna izquierda).

El documento D02 hace referencia a un consorcio microbioal para la degradación de hidrocarburos en fase acuosa que comprende bacterias de género *Bacillus* (*Bacillus* sp) (véase párrafo [0034], [0038], reivindicaciones 1 y 2). El consorcio comprende cinco cepas de *Bacillus* capaces de degradar diferentes hidrocarburos (véase párrafos [0041] y [0044]). Entre los hidrocarburos tratados se encuentran, por ejemplo, hexadecano (véase párrafo [0047])

El documento D03 describe un método y una composición para el tratamiento en medio acuoso del agua contaminada debido a los derrames del petróleo (véase párrafos [0002] y [0009]). La composición está formada por una mezcla de microorganismos compuesta, entre otros, por microorganismos del género de *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc (véase párrafo [0016]).

El documento D04 divulga un procedimiento para el tratamiento de mezclas de hidrocarburos acuosas con una mezcla de bacterias tales como *Rhodococcus wratislaviensis* y *Rhodococcus aetherivorans* en condiciones aerobias (véase párrafos [0001], [0002], [0011] y [0013] y reivindicación 1). La mezcla de hidrocarburos está formada por alcanos, hidrocarburos monoaromáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, éteres o nitratos (véase párrafo [0015]). Preferiblemente compuestos tales como, octano, hexadecano, benceno, tolueno, m-xileno, p-xileno, o-xileno, naftaleno, entre otros (véase párrafo [0016]).

El consorcio bacteriano formado por las dos bacterias anteriores se puede suplementar con una tercera bacteria denominada *Pseudomonas cepacia* (*Aquicola tertiarycarbonis*) (véase párrafo [0022]). Las bacterias pueden adherirse a un soporte mineral u orgánico y ser tratado en presencia de aire u oxígeno (véase párrafo [0030]).

El documento D05 trata sobre la identificación y aislamiento de tres cepas que degradan hidrocarburos. Dos de estas cepas fueron identificadas como *Pseudomonas* y degradaban alcanos, tolueno y naftaleno y poseían tanto la vía catabólica para biodegradación de alcanos, como la vía catabólica para la biodegradación de hidrocarburos aromáticos polinucleares. Y una de estas cepas contenía un plásmido (véase resumen).

El documento D06 describe la capacidad de un consorcio microbioal para degradar petróleo crudo. Se ensayó la capacidad para degradar diferentes hidrocarburos, tales como alcanos de cadena larga, naftalenos y xilenos. Excepto o-xileno y metilnaftalenos todos los compuestos ensayados se metabolizaron bajo las condiciones típicas de aguas marinas contaminadas. En el consorcio se pudieron identificar nueve cepas identificadas con los siguientes géneros *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Marinobacter*, *Psychrobacter* y *Agreia* (véase resumen).

El documento D07 trata sobre el diseño de cultivos de mezclas de bacterias definidos para la biodegradación de fracciones de petróleo crudo específicas (véase resumen).

Por lo tanto, a partir de los documentos citados del estado de la técnica, se puede decir que la presente solicitud de patente, tal y como ha sido presenta, parece carecer de novedad y de actividad inventiva en algunas reivindicaciones, y de actividad inventiva en otras, ya que se han encontrado documentos que hacen referencia a procedimientos biológicos para reducir el contenido de hidrocarburos presentes en el medio acuoso, tales como alcanos alifáticos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) e hidrocarburos aromáticos (BTEX) y en los que dichos procedimientos utilizan mezclas bacterias formadas por al menos bacterias que degradan alcanos alifáticos o HAP o BTEX. Existen una gran cantidad de documentos que describen el uso de bacterias del género *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, etc para la biodegradación de hidrocarburos. Por otro lado, el hecho de que se indique que la mezcla bacteriana comprenda al menos una bacteria, quiere decir, en primer lugar, con el término comprenda, que puede contener esa bacteria especificada y además otras, y en segundo lugar, con el término al menos, se indica que es suficiente con que tenga una de esas bacterias (no todas), por lo que según se encuentra redactada la reivindicación 1 carecería de novedad y de actividad inventiva ya que se han encontrado documentos que utilizan al menos una bacteria de dichos géneros que degrada al menos uno de dichos hidrocarburos (véase documentos D01-D07). La reivindicación 2, carece también de novedad y actividad inventiva porque se han encontrado documentos (véase documento D01) en el que se degradan hidrocarburos tales como dodecano, entre otros, por una mezcla bacteriana formada por *Pseudomonas* y *Rhodococcus*, entre otras. Las reivindicaciones 3-18 carecerían de actividad inventiva por ser dependientes directa o indirectamente de la reivindicación 1, la reivindicación 19 carecería de novedad y actividad inventiva ya que existen documentos en los que la mezcla bacteriana es un consorcio (véase documentos D01, D04, D06 y D07). La reivindicación 20 carecería de novedad y actividad por los mismos motivos que la reivindicación 1, las reivindicaciones 21 y 22 parecen tener novedad ya que no se han encontrado las cepas especificadas concretas, pero carecerían de actividad inventiva ya que ese tipo de bacterias han sido utilizadas en el estado de la técnica para la degradación de tales hidrocarburos, por lo que cepas del mismo género no parece que produzcan un efecto sorprendente y, además, sería evidente para el experto en la materia la utilización de dichas cepas, para conseguir dichos resultados. Y las reivindicaciones 23-45 carecerían igualmente de actividad inventiva por los mismos razonamientos anteriores. Por todo ello, las reivindicaciones 1, 2, 19 y 20 carecen de novedad y actividad inventiva, mientras que las reivindicaciones 3-18, 21-45 tendrían novedad pero carecerían de actividad inventiva según los artículos 6 y 8 de la LP.