

Patente de los Estados Unidos [19] [11] **Numero de Patente** 3,963,576
Horsfall, III y otros [45] **Fecha de la Patente:** 15 de junio de 1976]

[54] MÉTODO PARA LA OBTENCIÓN DE BACTERIAS LATENTES Y EL PRODUCTO RESULTANTE OBTENIDO POR DICHO MÉTODO

[75] Inventor: **Frank L. Horsfall, III**, Cleveland,
Barton Gilbert, Universidad *Heights*,
ambos de Ohio

[73] Apoderado: **General Enviromental Science Corporation**, Cleveland, Ohio.

[22] Archivado: **21 de febrero de 1975**

[21] No. Aplicación: **551,702**

[52] U.S. Cl..... **195/59**; 195/96; 195/100; 195/112

[51] Int. Cl.² **C12K 1/00**

[58] Campo de Búsqueda: 195/96, 100,59, 112

[56] Referencias Citadas

DOCUMENTOS DE PATENTES DE ESTADOS UNIDOS

3,880,740 4/1975 Mimura y otros 195/96

Examinador Principal - A. Louis Monacell

Examinador Asistente - Robert J. Warden

Abogado, Agente, o Firma – Fay & Sharpe

[57] **RESUMEN**

Se fundamenta un método para obtener bacterias latentes que incluye los pasos de cultivo de las bacterias bajo condiciones aeróbicas en un medio acuoso de manera que las bacterias así producidas incluyen al menos una especie de bacteria *Pseudomonas* capaz de reducir mediante enzimas nitrato en nitrógeno y una especie de bacteria *Rhodopseudomona* capaz de producir mediante fotosíntesis pigmento de color rojo; disolver una cantidad efectiva de al menos un compuesto seleccionado del grupo integrado por sulfuro de sodio y potasio en las bacterias contenidas en el medio; y exponer al sulfuro contenido en el medio bajo condiciones aeróbicas a la luz por un período de tiempo suficiente para originar pigmento rojo por fotosíntesis a desarrollar en las bacterias *Rhodopseudomona*. El producto resultante es una suspensión de bacterias latentes.

20 Reivindicaciones, Sin Dibujos

MÉTODO PARA OBTENER BACTERIAS LATENTES Y EL PRODUCTO RESULTANTE OBTENIDO POR DICHO MÉTODO

ANTECEDENTES Y CAMPO DE APLICACIÓN

5 La eliminación de residuos, ya sea de origen humano, o provenientes de la preparación de
alimentos, de animales domésticos o de plantas en estado de descomposición y
microorganismos, ha sido tratada en el pasado como un proceso natural que puede ser
realizado de manera efectiva por los organismos presentes en los mismos desechos o por
aquellos con los que estos desechos puedan entrar en contacto eventualmente durante el
proceso de tratamiento natural. Este enfoque resulta suficiente en zonas rurales con baja
10 densidad de población donde las pequeñas cantidades de desechos se exponen a la
descomposición. Sin embargo, cuando los altos niveles de concentración de desechos y el uso
de instalaciones hechas por el hombre se convirtieron en el modo aceptado de tratamiento en
municipalidades, granjas y la consolidación de desechos en retretes abiertos, lagunas o
instalaciones de retención similares se convirtieron en norma para la eliminación de desechos,
15 ni el contacto con organismos del suelo, ni el tiempo suficiente para la descomposición de los
residuos fueron suficientes. Los organismos fecales presentes en excrementos de origen
humano y animal realizan su función en el intestino, pero carecen de utilidad en instalaciones
de tratamiento de desechos. Demasiado pronto, resultó evidente que las instalaciones de
retención y los complejos de tratamiento no funcionaban adecuadamente debido a la presencia
20 de los olores nocivos y que los residuos descompuestos insuficientemente eran descargados
de tales instalaciones.

Originalmente, la mayoría de las soluciones ofrecían resolver el problema de control del
olor, sobrecargando los desechos orgánicos en las instalaciones existentes o realizando
tratamientos de desechos especiales, todos los cuales simplemente requerían de la ampliación
25 de las instalaciones existentes. Con el tiempo, se consideró que un método más simple y
efectivo consistía en introducir bacterias de funciones conocidas en las instalaciones existentes
para de este modo acentuar la descomposición de los residuos. En la actualidad, muchos
productos en el mercado afirman que ayudan o aceleran la descomposición de los desechos.
Generalmente, estos productos son enzimas, bacterias liofilizadas, hongos o productos
30 químicos.

De estas técnicas, el uso de bacterias liofilizadas es especialmente atrayente debido al
hecho de que minimizan la cantidad de sustancias extrañas que deben ser agregadas al
sistema de tratamiento. Sin embargo, es bien conocido que muchas bacterias mueren
rápidamente si permanecen latentes en una suspensión diluida o forman esporas que requieren
35 de tiempo para germinar antes de que puedan funcionar metabólicamente. Por ejemplo, se
conoce que cuando las bacterias liofilizadas se reactivan, alrededor del 95% o más de las
bacterias originales mueren y por consiguiente, no resultan de gran ayuda en la
descomposición de los productos de desechos que estén siendo tratados. Por lo tanto, se
concibió un método para reactivar y mantener la viabilidad bacterial en suspensión diluida por
40 largos períodos de tiempo. La presente invención proporciona una técnica cuyas ventajas
resultarán obvias a los expertos en esta materia.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención está relacionada con un método que permite obtener bacterias
latentes y con el producto resultante obtenido por dicho método. Más específicamente, la
45 presente invención se refiere a un método para proporcionar una suspensión acuosa de
bacterias latentes, cuyo método comprende (a) el cultivo de bacterias bajo condiciones

aeróbicas en un medio acuoso, de tal manera que la bacterias así producidas incluyan al menos una especie de bacteria *pseudomonas* la cual es capaz de reducir por medio de enzimas el nitrato en hidrógeno, y una especie de bacteria *Rhodopseudomonas*, capaz de formar pigmento de color rojo, (b) disolver una cantidad efectiva de al menos un compuesto seleccionado de un grupo consistente de sulfuro de sodio, potasio y sus mezclas, en relación con las referidas bacterias contenidas en el medio, (c) exponer el sulfuro de contenido en el medio bajo condiciones aeróbicas a la luz por un período de tiempo suficiente para generar el pigmento rojo mediante fotosíntesis a desarrollar en las bacterias *Rhodopseudomonas*. La presente invención también concierne al producto que se obtenga mediante la práctica del método anterior.

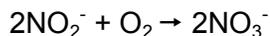
Existen innumerables problemas asociados al tratamiento de residuales. Por ejemplo, desde el punto de vista químico, los olores nocivos presentes en instalaciones de tratamiento de aguas residuales se originan por la generación de gas amoniacal y de gas de sulfuro de hidrógeno así como por la metabolización anaeróbica de los desechos proteicos. Una vez que se ha formado el NH_3 (amoníaco), el pH del sistema comienza a crecer y los organismos sensibles al pH alto y a la presencia de NH_3 , un veneno metabólico, mueren. Entonces, una vez que la oxidación del amoníaco ha agotado el oxígeno local suministrado, los organismos capaces de producir sulfuro florecen, creando un problema real con el olor. Un método para resolver este problema anterior, consiste en disminuir o eliminar la producción de amoníaco libre. En este respecto, existen dos bacterias, las *nitrosomonas* y las *nitrobacterias* que contribuyen a la conversión de amoníaco (NH_3) en nitrato (NO_3). Aunque una vez formado, el nitrato limitará su propia producción. Adicionalmente, se crea ácido durante el proceso de oxidación del amoníaco. En el suelo, la vegetación utiliza el nitrato producido como resultado de la oxidación del amoníaco. En una solución acuosa, las plantas y las algas utilizan el nitrato como fuente de nitrógeno para crecer. Existen bacterias desnitrificadotas que convierten el NO_3 en gas nitrógeno (N_2), removiendo así el nitrógeno del agua o de las instalaciones de tratamiento de residuales. Por consiguiente, se puede establecer un ciclo en el cual el NH_3 se convierte en N_2 a través del nitrato, el pH del sistema se incrementará y en lugar de hacerse más ácido a través del proceso anterior de oxidación del amoníaco y el nocivo compuesto, NH_3 será convertido en el inocuo N_2 . Asimismo, el nitrato sirve como aceptador de electrones en ausencia de oxígeno y durante la reducción del nitrato en nitrógeno, sustancias tales como el sulfuro se pueden convertir a sulfato para su ulterior adición como componente reductor en compuestos que generan olores.

Las ecuaciones que describen estas reacciones se describen a continuación:

Oxidación del amoníaco en nitrito:



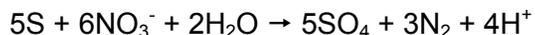
Oxidación del nitrito en nitrato:



Reducción del nitrato en nitrógeno:



Reducción del nitrato con oxidación del sulfuro:



Se puede observar que la oxidación del sulfuro ocurre sin oxígeno molecular. Tales

oxidaciones asociadas a la reducción de nitrato no están limitadas a compuestos inorgánicos. El acetato, por ejemplo, puede también oxidarse a dióxido de carbono conjuntamente con la oxidación de nitrato. Esta ecuación da la estequiometría siguiente:



5 Nuevamente, no se consume oxígeno.

Todas las técnicas empleadas anteriormente para lograr lo anterior han tenido un éxito limitado. Como se señaló antes, todas aquellas técnicas que utilizan bacterias en estado latente (por ejemplo, las liofilizadas) adolecen del hecho que la mayor parte de las bacterias mueren durante el proceso de inactivación.

10 Por consiguiente, este es un objeto de la presente invención, o sea, proveer un método para obtener bacterias latentes sin que se afecte significativamente su capacidad para posteriormente ser reactivadas.

Otros objetos de la invención resultarán obvios a expertos en la materia, al leer la presente especificación y las reivindicaciones.

15 DESCRIPCIÓN DE LAS REPRESENTACIONES PREFERENTES DE LA INVENCION

La práctica preferente de la presente inversión concierne a un método único para crear bacterias latentes y al producto resultante obtenido por este medio. Expresado a grandes rasgos, el método de la invención comprende los pasos para (a) el cultivo de las bacterias bajo condiciones aeróbicas en un medio acuoso de tal manera que la bacterias así producidas incluyen al menos una especie de bacteria *pseudomonas* la cual es capaz de reducir por medio de enzimas el nitrato en hidrógeno, y una especie de bacteria *Rhodopseudomonas*, capaz de formar pigmento de color rojo, (b) disolver una cantidad efectiva de al menos un compuesto seleccionado de un grupo consistente de sulfuro de sodio, potasio y sus mezclas, en relación con las referidas bacterias contenidas en el medio, (c) exponer, el sulfuro de contenido en el medio bajo condiciones aeróbicas, a la luz por un período de tiempo suficiente para generar el pigmento rojo mediante fotosíntesis a desarrollar en las bacterias *Rhodopseudomonas*.

En la práctica de la presente invención, bacterias vivas de diferentes cepas se hacen crecer en una suspensión acuosa. En un ejemplo específico la suspensión se prepara haciendo crecer las bacterias juntas en una tina o en una olla usando los siguientes ingredientes (nutrientes) los cuales son esterilizados antes de su inoculación con las bacterias.

Gramos/litros	Por ciento	
1.0 gm/litro	(0.1%)	Cloruro de Amonio (NH ₄ Cl
1.0 gm/litro	(0.1%)	Fosfato de Potasio Monobásico (KH ₂ PO ₄)
0.5 gm/litro	(0.05%)	Sulfato de Magnesio (MgSO ₄ .7H ₂ O
2.0 gm/litro	(0.2%)	Acetato de Sodio (NaC ₂ H ₃ O ₂ .7H ₂ O)
1.0 gm/litro	(0.1%)	Extracto de Levadura

Los porcentos anteriores, tal y como han sido descritos en este documento, se han tomado como un peso del compuesto por el volumen de la solución usada para disolverlo. Los ingredientes anteriores se disuelven en agua destilada o desionizada a la cual se ha añadido un 10% de agua de grifo para proporcionar elementos de traza. La esterilización se hace durante una hora a 125°C.

35

Se inicia el cultivo introduciendo seis especies de bacterias, una de *Bacillus* (bastoncillos formados por esporas granpositivas), una *Rhodopseudomonas* (bastoncillos sin esporas púrpuras grannegativas no sulfurosos fotosintéticos) y cuatro *Pseudomonas* (bastoncillos sin formar esporas grannegativas). Las bacterias se cultivan a 25° - 30°, bajo condiciones vigorosas de aeración y por 24 - 48 horas, durante cuyo tiempo su concentración total alcanza 2 - 5 x10⁶ células por mililitro.

Después que se completa el cultivo aeróbico, se toma una muestra de la suspensión bacterial para suministrar una inoculación fresca al siguiente ciclo de crecimiento. Se adicionan 1000 gramos de sulfuro de sodio (Na₂S.9H₂O) a 100 litros de la suspensión (haciendo una concentración de sulfuro de sodio de 1.0 gramos/litro). Esta suspensión a continuación se deposita en varios recipientes translúcidos de polietileno, los cuales se mantienen en condiciones de iluminación (fluorescente) por 24 horas adicionales. Durante este tiempo se desarrolla el pigmento rojo de la fotosíntesis en las *Rhodopseudomonas*. Las bacterias fueron conservadas en condiciones anaeróbicas por 24 horas durante cuyo tiempo cantidades significativas de *Rhodopseudomonas* se tornaron de color rojo. La suspensión producida y tratada de esta forma se colocó en cajas de cartón y se almacenaron antes de su uso. No se requiere ninguna precaución adicional excepto asegurarse de que no se congelen y que su temperatura no exceda los 50°C por un período de tiempo extenso.

El ejemplo anterior es simplemente ilustrativo de la práctica y de la invención reivindicada. Obviamente, se pueden hacer diferentes partidas del procedimiento antes descrito sin desviarse del espíritu y alcance de la invención. Por ejemplo, otros sistemas pueden ser utilizados para hacer crecer las bacterias deseadas y como estos sistemas son bien conocidos por aquellos que son expertos en la materia, estos no se analizarán en detalle en este documento.

Así mismo el tipo de bacteria que se hace crecer no es crítico, excepto que debe contener al menos una especie de bacteria *Pseudomonas* que sea capaz de reducir mediante enzimas el nitrato en nitrógeno y una especie de *Rhodopseudomonas* que sea capaz de formar el pigmento de color rojo. Es necesario señalar que mientras en el ejemplo anterior se usan cuatro especies de *pseudomonas*, solo se requiere de la presencia de una especie para obtener los beneficios de la presente invención.

Además, aunque se prefiere crecer las referidas bacterias bajo condiciones establecidas, está bien, dentro del ámbito de la presente invención, variar estos parámetros. Por ejemplo, generalmente se desea hacer crecer las referidas bacterias en un rango de temperaturas de 15° hasta alrededor de 35°C para una concentración de células de al menos 1 x 10⁶ células por milímetro.

Los sulfuros de sodio o de potasio o sus combinaciones, incluyendo, pero no limitándose a Na₂S, K₂S, NaHS y KHS, son igualmente efectivos en la práctica de la presente invención. Sin embargo, generalmente se da preferencia al sulfuro de sodio debido al hecho de que es el menos caro de estos compuestos. La cantidad exacta del compuesto de sulfuro a ser utilizado puede variar en dependencia de las circunstancias concurrentes. En la práctica, todo lo que se requiere es que se utilice una cantidad efectiva del compuesto de sulfuro. O sea, se debe emplear suficiente cantidad de compuesto de sulfuro para garantizar que las bacterias pasen a estado latente, pero con capacidad para ser reactivadas sin destruir un porcentaje significativo de ellas. Sin embargo, generalmente se prefiere utilizar una cantidad dada del compuesto de sulfuro con una concentración basada en el contenido de sulfuro (azufre) del compuesto en un rango de 0.07 a cerca de 0.3 gramos/litro. Obviamente, la cantidad exacta de sulfuro a ser

utilizada variará en dependencia del compuesto específico empleado. Por ejemplo, en el caso de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, se prefiere utilizar una cantidad dentro del rango de 0.5 a cerca de 2.0 gramos de $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ por litro de suspensión.

5 Las bacterias tratadas de esta forma se exponen a la luz por un período de tiempo suficiente para producir pigmento rojo por fotosíntesis a desarrollar en las bacterias *Rhodopseudomonas*. Obviamente, la duración de tal exposición puede variar en dependencia de las circunstancias concurrentes, tales como la temperatura de crecimiento y los tipos específicos de bacterias cultivadas.

10 En la práctica de la presente invención, el sulfuro sirve para disminuir el potencial electroquímico suficientemente para inducir el desarrollo del pigmento de la fotosíntesis. Además, se proporciona un entorno que permite a las *pseudomonas* que son capaces de reducir el nitrato en nitrógeno o a gases de óxido nitroso de sobrevivir por un período de tiempo indefinido. Estas *pseudomonas* se extinguirán en la mitad de la vida de un mes en suspensiones a las que no se le haya añadido sulfuro. Las *Rhodopseudomonas* se extinguirán
15 en un período más largo que la mitad de la vida, mientras que los *Bacillus* parecen no extinguirse, producirán esporas en suspensiones que no contengan sulfuros.

Todas las reacciones que las bacterias tratadas, según la presente invención, pueden realizar no se analizarán porque muchas de ellas son conocidas. Es muy posible que nuestro entendimiento acerca de cómo el olor del amoníaco y del hidrógeno se elimina sea incompleto.
20 Sin embargo, funcionalmente, es evidente que el control del olor y de otras muchas reacciones orgánicas que pueden controlar el olor están teniendo lugar como resultado directo de la presencia de bacterias que han sido convertidas en latentes por la técnica descrita en este documento y posteriormente reactivadas en uso.

25 Es notorio que una muestra de 3.8 litros de bacteria producida como se ha descrito anteriormente haya sido guardada alrededor de 12 meses para posteriormente comprobar su eficacia, demostrándose que más del 90% de las bacterias originales aún eran viables al ser reactivadas. Este resultado contrasta con el porcentaje de viabilidad de cerca del 0.1% de bacterias similares que no fueron tratadas de acuerdo con la técnica de la presente invención.

30 Las bacterias producidas como se describe en este documento han sido y pueden ser usadas en los siguientes casos:

1. Fosos y bóvedas de cemento de Sanitarios,
2. Plantas de tratamiento de aguas residuales,
3. Sistemas sépticos y campos de drenaje para viviendas, granjas y múltiples lugares de residencia,
- 35 4. Trampas de grasas
5. Estanques y lagunas, tanto para aguas residuales como recreativas,
6. Acuarios tanto privados como comerciales,
7. Sistemas de depósito de excrementos de perros,
8. Tanques de conservación de desechos en aviones, vehículos de recreación y de
40 campistas, y botes.
9. Líneas de drenaje y conductos de descarga en todos los tipos de edificaciones.

En sistemas donde los excrementos humanos están también presentes o son tratados, el olor común del amoníaco o del sulfuro de hidrógeno no estaría presente si esos sistemas son tratados con el material producido por la presente invención. Además, durante el tratamiento de los residuos, el nitrato no se acumula y los desperdicios sólidos orgánicos se reducen sustancialmente (30 – 50%) con respecto a situaciones similares en las que no se usa el material de la presente invención. Durante la absorción anaeróbica de los sólidos y de los sedimentos residuales en tanques de aeración primarios o de sedimentos residuales activados para el tratamiento de aguas residuales, se produce un mayor porcentaje de metano que de dióxido de carbono, si el material de la invención se adiciona al digestor anaeróbico. Finalmente, el total de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) en el efluente de las plantas de tratamiento de aguas residuales se reduce en las instalaciones que usan el material de la presente invención al compararlo con instalaciones similares que no lo usan.

En situaciones donde el tipo de desechos no es de origen excretorio, grasas, lípidos, cebos y sangre como los que pueden originarse en restaurantes y mataderos, estos desechos se descomponen de manera efectiva por el material de la presente invención. La descomposición ocurrirá en conductos así como en trampas de grasas y tanques de retención usados en estas instalaciones.

En estanques y lagunas ubicados en instalaciones de recreación y en granjas, los tipos de actividades que se observan al adicionar el material de la presente invención son similares a aquellos descritos para fosas de retretes y plantas de tratamiento de residuales. Dado que las bacterias tratadas de acuerdo a la presente invención son capaces de crecer sobre los residuos y metabolizar esos residuos, es posible tratar un millón de veces el volumen del material adicionado. De hecho, esta dosis es la recomendada, más usada en circunstancias inusuales o cuando se desea obtener resultados rápidamente.

Al adicionar el material de la presente invención a un acuario, se puede disminuir la cantidad de desechos sólidos que se acumulan en el fondo del tanque, se incrementa el tiempo entre sustituciones de filtros, se mejora la claridad del agua al limitar el crecimiento de algas, se proporciona una población bacteriana más diversa en el tanque lo cual es más saludable, se proporciona alimento para los protozoos y otros invertebrados de los cuales se alimentan los peces.

En instalaciones de retención se requieren dosis más fuertes del material de la invención, ya que se desea obtener resultados rápidamente. Principalmente, el objetivo es prevenir la emanación de olores durante un vuelo o entre el uso y vaciado de los tanques de retención. Esta es una situación inusual en que los usos previos del producto de la invención involucran un ciclo de tratamiento terminado y abierto. Sin embargo, las pruebas hasta la fecha claramente indican que el material de la presente invención es efectivo para tal propósito.

Aunque lo que ha sido descrito en este documento en la actualidad se consideran las representaciones preferentes de la invención, resulta obvio para aquellos que son expertos en la materia que se pueden hacer varios cambios y modificaciones sin partir desde el espíritu y alcance de la invención como se reivindica a continuación.

¿Qué se reivindica?

1. Un método para transformar una suspensión acuosa de bacterias latentes el cual comprende,
 - a. el cultivo de las bacterias bajo condiciones aeróbicas en un medio acuoso de tal manera que la bacterias así producidas incluyan al menos una especie de bacteria

pseudomonas la cual es capaz de reducir por medio de enzimas el nitrato en hidrógeno, y una especie de bacteria *Rhodopseudomonas*, capaz de formar pigmento de color rojo,

- 5 b. disolver una cantidad efectiva de al menos un compuesto seleccionado de un grupo consistente de sulfuro de sodio, potasio y sus mezclas, en relación con las referidas bacterias contenidas en el medio y
- c. exponer dicho sulfuro contenido en el medio bajo condiciones aeróbicas a la luz por un período de tiempo suficiente para generar el pigmento rojo mediante fotosíntesis a desarrollar en las bacterias *Rhodopseudomonas*.
- 10 2. El método de la reivindicación 1, en la que la concentración del compuesto de sulfuro, basado en el contenido de sulfuro (azufre) de dicho compuesto está en el rango de 0.07 a cerca de 0.3 gramos por litro.
3. El método de la reivindicación 2, en la que dicho compuesto es sulfuro de sodio.
4. El método de la reivindicación 3, en la que dichas bacterias crecen usando un sistema de nutrientes comprendido por:
- 15 a. cloruro de amonio,
b. fosfato de potasio monobásico,
c. sulfato de magnesio,
d. acetato de sodio y
e. extracto de levadura
- 20 5. El método de la reivindicación 4, en la que el crecimiento de bacterias además incluye bacterias *Bacillus* y *Pseudomonas*.
6. El método de la reivindicación 1, en la que la concentración de las células cultivadas en el paso (a) es al menos de 1×10^6 células por mililitros de la solución.
- 25 7. El método de la reivindicación 5, en la que dichas bacterias se cultivan a una temperatura que está en el rango de 25° hasta cerca de 30°, por un período de 18 - 24 horas, por medio del cual la concentración total de células de bacterias está en el rango de cerca 2 hasta aproximadamente 5 millones de células por mililitro de la solución.
8. El método de la reivindicación 7, en la que la cantidad de sulfuro de sodio es de cerca de 1.0 gramos por litro.
- 30 9. El método de la reivindicación 1, en la que el paso (c) se continúa por un período de tiempo suficiente para hacer a las *Rhodopseudomonas* desarrollar el pigmento rojo de fotosíntesis.
10. El método de la reivindicación 9, en la que el paso (c) se continúa por un período de cerca de 24 horas.
- 35 11. Una suspensión acuosa de bacterias latentes obtenidas por:
- a. cultivo de las bacterias bajo condiciones aeróbicas en un medio acuoso de tal manera que la bacterias así producidas incluyan al menos una especie de bacteria *pseudomonas* la cual es capaz de reducir por medio de enzimas el nitrato en hidrógeno, y una especie de bacteria *Rhodopseudomonas*, capaz de formar pigmento de color rojo,

- b. disolviendo una cantidad efectiva de al menos un compuesto seleccionado de un grupo consistente de sulfuro de sodio, potasio y sus mezclas, en relación con las referidas bacterias contenidas en el medio y
 - c. exponiendo dicho sulfuro contenido en el medio bajo condiciones aeróbicas a la luz por un período de tiempo suficiente para generar el pigmento rojo mediante fotosíntesis y desarrollar las bacterias *Rhodopseudomonas*.
12. La suspensión acuosa de la reivindicación 11, en la que la concentración del compuesto de sulfuro, basado en el contenido de sulfuro (azufre) de dicho compuesto está en el rango de 0.07 a cerca de 0.3 gramos por litro.
13. La suspensión acuosa de la reivindicación 12, en la que dicho compuesto es sulfuro de sodio.
14. La suspensión acuosa de la reivindicación 13, en la que dichas bacterias crecen usando un sistema de nutrientes comprendido por:
- a. cloruro de amonio,
 - b. fosfato de potasio monobásico,
 - c. sulfato de magnesio,
 - d. acetato de sodio y
 - e. extracto de levadura
15. La suspensión acuosa de la reivindicación 14, en la que el crecimiento de bacterias además incluye bacterias *Bacillus* y *Pseudomonas*.
16. La suspensión acuosa de la reivindicación 11, en la que la concentración de las células cultivadas en el paso (a) es al menos de 1×10^6 células por mililitros de la solución.
17. La suspensión acuosa de la reivindicación 15, en la que dichas bacterias se cultivan a una temperatura que está en el rango de 25° hasta cerca de 30°, por un período de 18 - 24 horas, por medio del cual la concentración total de células de bacterias está en el rango de cerca 2 hasta aproximadamente 5 millones de células por mililitro de la solución.
18. La suspensión acuosa de la reivindicación 17, en la que la cantidad de sulfuro de sodio es de cerca de 1.0 gramos por litro.
19. La suspensión acuosa de la reivindicación 11, en la que el paso (c) se continúa por un período de tiempo suficiente para hacer a las *Rhodopseudomonas* desarrollar el pigmento rojo de fotosíntesis.
20. La suspensión acuosa de la reivindicación 19, en la que el paso (c) se continúa por un período de cerca de 24 horas.

* * * * *