

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 416 725**

51 Int. Cl.:

C12P 7/64 (2006.01)

C12P 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2008** **E 08806359 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.02.2013** **EP 2201124**

54 Título: **Método para producir biodiesel**

30 Prioridad:

21.09.2007 GB 0718490

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

02.08.2013

73 Titular/es:

**STATOIL ASA (100.0%)
Forusbeen 50
4035 Stavanger, NO**

72 Inventor/es:

**KOTLAR, HANS KRISTIAN;
SKARSTAD, ANITA;
MELLEMSAETHER, EVY y
FREDRIKSEN, GEIR REMO**

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 416 725 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN**MÉTODO PARA PRODUCIR BIODIESEL**

[0001] Esta invención hace referencia a un proceso para la producción de biodiésel, en concreto a un proceso para reducir el consumo de hidrógeno durante la formación de biodiésel usando microorganismos de la especie *Geobacillus* o *Acinetobacter* para hidrolizar los glicéridos presentes en el biocomponente.

[0002] Existe una creciente preocupación mundial por el cambio climático y, por tanto, las emisiones de dióxido de carbono. En Europa al menos se están tomando medidas al más alto nivel para tratar de reducir las emisiones de dióxido de carbono en todos los ámbitos de la vida. Esto significa una mayor confianza en las fuentes de energía renovable como la energía solar y eólica, aumentando los impuestos sobre productos ineficientes en términos energéticos y una mayor inversión en aprovechar el poder del mar. Otro campo que se está desarrollando con rapidez es el de los biocombustibles, especialmente para vehículos.

[0003] La directiva de biocombustibles de 2003 (Directiva 2003/30) estableció un objetivo indicativo de cuota de mercado del 5,75% para biocombustibles a finales de 2010. El valor de referencia se basa en el contenido energético del combustible y cada estado miembro debe fijar objetivos nacionales. En el paquete energético y climático y el programa de energía renovable relacionado publicado el 10 de enero de 2007, la Comisión Europea propone alcanzar un objetivo obligatorio mínimo del 10% de biocombustibles para uso de vehículos en la UE para el año 2020.

[0004] El uso de vehículos flexifuel, que funcionan con alcohol, en concreto etanol (y también metanol), ya se conocen bien. El etanol puede producirse a partir de la caña de azúcar y se usa frecuentemente en mezclas con gasolina para formar un biocombustible (E5, E85). Sin embargo, el metanol es tóxico y no es un material ideal para el mercado masivo. Por tanto, su uso se limita actualmente a vehículos de competición.

[0005] Por lo tanto, la industria ha estado considerando formas en las que puedan incorporarse otras biomásas a la gasolina y al diésel.

[0006] Los componentes para el combustible diésel pueden prepararse de varias formas, pero los componentes de diésel principales se fabrican usando procesos de hidrocrqueo suave donde una alimentación de aceite mineral se trata con un catalizador tipo Ni/Mo o Co/Mo (una etapa de hidrotratamiento) antes de someterse a isomerización en presencia de un catalizador de tipo zeolita. Dicho proceso es bien conocido y se lleva a cabo industrialmente en todo el mundo. La etapa de hidrotratamiento está diseñada para eliminar contaminantes como azufre y nitrógeno del aceite y también sirve para hidrogenar determinados compuestos en el aceite mineral, como aromáticos de anillos condensados, que no son aceptables en el combustible final. La etapa de isomerización provoca que los hidrocarburos se reorganicen o craqueen de forma que tantos componentes de hidrocarburo como sea posible tengan un punto de ebullición dentro del intervalo del combustible diésel (normalmente de 221 a 360°C). En algunas situaciones, puede llevarse a cabo solamente la etapa de hidrotratamiento.

[0007] Para introducir un elemento de biodiésel en un combustible diésel, se conoce el proceso de añadir un aceite mineral convencional a un componente de biomasa. Los aceites vegetales, como

aceites de colza, son actualmente la biomasa más común añadida a biocombustibles. En US 2006/0186020 se describe la hidroconversión de una mezcla de aceite vegetal y aceite mineral para formar un material de biodiésel. Se realiza una revelación similar en WO2004/022674. Sin embargo, debe recordarse que los procesos de hidrotratamiento e isomerización descritos en estos y otros documentos del estado de la técnica se optimizaron originalmente para trabajar con alimentaciones de aceite mineral exclusivamente. Los catalizadores usados no estaban destinados a usarse en presencia de biomasa y las condiciones de hidrocraqueo suave han sido optimizadas para tratamiento de aceite mineral.

[0008] Además, a diferencia de las materias primas de aceite mineral, las alimentaciones de biomasa contienen altos niveles de ésteres de ácidos grasos, especialmente glicéridos. Para convertir un glicérido en una forma adecuada para su uso en un motor diésel, como primer paso es necesario para hidrolizar el enlace de éster y eliminar el glicerol restante. Actualmente, esto se logra en una etapa de hidrotratamiento convencional donde, como se ha apuntado arriba, se hidrogena la materia prima. Durante la hidrogenación los enlaces de éster pueden romperse y los materiales resultantes (glicerol y ácidos grasos) pueden reducirse a sus hidrocarburos correspondientes. Sin embargo, la hidrogenación es un proceso caro y de alto consumo energético. Requiere un reactor caro y complejo y utiliza un gas caro y peligroso. Los catalizadores de hidrogenación también son caros y exigen una regeneración regular. Cualquier cosa que puede hacerse para reducir el requisito de hidrogenación, por tanto, tiene consecuencias de seguridad y económicas importantes en la industria.

[0009] Debe reiterarse también que los reactores de hidrotratamiento se diseñan para hidrotratar una alimentación de aceite mineral que no contiene ésteres. Los requisitos de hidrógeno para hidrolizar y después hidrotratar son muy diferentes del hidrotratamiento convencional.

[0010] Yagiz et al., *Chemical Engineering Journal* 134: 262-267 (2007) revela la producción de biodiésel a partir de residuos de aceites de cocina mediante el uso de lipasas.

[0011] Los presentes inventores se han dado cuenta ahora de que para una fuente biológica de combustible como una grasa animal, aceite de pescado o aceite vegetal, la manipulación necesaria de la materia prima en una forma adecuada para su uso en diésel puede empezarse usando determinados microorganismos. El componente primario de biomasa de interés para el formulador de biodiésel son los compuestos de ésteres de ácidos grasos. Los inventores han descubierto que los microorganismos que pueden dirigirse a estos compuestos e hidrolizar los ésteres de los mismos pueden convertir una biomasa con bajo número de cetano en un componente de combustible con un número mayor de cetano con potencial para mezclarse con un componente de aceite mineral directamente, o más comúnmente, con potencial para entrar en un proceso de hidrotratamiento o isomerización convencional.

[0012] El hidrotratamiento de una biomateria prima pretratada enzimáticamente se parecerá por tanto a una operación de la unidad de hidrotratamiento de refinería convencional usando un catalizador de hidrotratamiento disponible en el mercado como se conoce en la técnica. Sin embargo, se cree que la hidrogenación de la materia prima pretratada con enzimas producirá una composición de producto ligeramente diferente dependiendo de la acción del pretratamiento enzimático concreto.

[0013] A diferencia de los procedimientos de hidrogenación usados hoy en día para biodiésel, en algunos casos no se producirá CO, CO₂ o agua puesto que el hidrógeno estará actuando puramente para hidrogenar enlaces dobles y no para hidrolizar ésteres. Esto tendrá efectos favorables en la estabilidad y actividad de catalizadores así como la economía de hidrógeno de la refinería y el tamaño del compresor de hidrógeno de reposición. Además, será fácil de integrar un proceso de pretratamiento en una unidad de hidrotratamiento existente porque no se requiere ningún cambio en el reactor de hidrotratamiento existente. De este modo, puede evitarse una unidad de proceso de hidrotratamiento de bioaceite separada.

[0014] Además, mediante la hidrólisis usando microorganismos, el proceso de la invención no exige elevadas temperaturas ni catalizadores caros para llevar a cabo la hidrólisis, no es necesaria una presión elevada y se evita el uso de hidrógeno caro y peligroso. Esto tiene un impacto económico importante para la industria petroquímica.

[0015] Además, puesto que los microorganismos no son sensibles a la naturaleza de la materia prima, este método permite al fabricante de biodiésel preparar un componente de biodiésel a partir de una mezcla de diferentes fuentes biológicas. Por tanto, es bastante posible que los microorganismos operen en un sustrato formado a partir de una mezcla de fuentes vegetales, animales y/o de pescado de forma simultánea. Dado que para lograr el biocontenido desdado por la UE en el combustible diésel en Europa sería necesario que enormes cantidades de tierra agrícola se dedicaran a preparar biocombustible, cualquier forma de maximizar el biocontenido implica un gran beneficio en cuanto a la minimización del impacto ambiental. El proceso de la invención se llevará a cabo preferiblemente en condiciones termófilas, p.ej., alrededor de 60 °C. Esta temperatura alta es importante para licuar la grasa animal y a esta temperatura se pueden llevar a cabo reacciones enzimáticas de tal forma que se evite la contaminación no deseada y reacciones secundarias.

[0016] Por tanto, visto desde un aspecto, la invención proporciona un proceso para la formación de biodiésel que comprende:

- (I) obtener un bioaceite que contiene al menos un glicérido de ácido graso;
- (II) poner en contacto el bioaceite con al menos un microorganismo de la especie *Geobacillus* o *Acinetobacter* capaz de hidrolizar al menos un enlace de éster de dicho al menos un glicérido para formar un bioaceite hidrolizado;
- (III) usar directa o indirectamente dicho bioaceite hidrolizado en biodiésel.

[0017] Visto desde otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la formación de biodiésel que comprende:

- (I) obtener un bioaceite que contiene al menos un glicérido de ácido graso;
- (II) poner en contacto el bioaceite con al menos un microorganismo de la especie *Geobacillus* o *Acinetobacter* capaz de hidrolizar al menos un enlace de éster de dicho al menos un glicérido para formar un bioaceite hidrolizado;
- (III) hidrotratar dicho bioaceite hidrolizado; opcionalmente
- (IV) isomerizar el bioaceite hidrotratado; y
- (V) usar el producto del paso (III) o, si se lleva a cabo del paso (IV) en el biodiésel.

Definiciones

[0018] Con biodiésel se hace referencia a que el diésel contiene un componente que se deriva de una fuente biológica renovable, p.ej., un aceite vegetal, aceite marino o aceite animal. Preferiblemente, el biodiésel contendrá también un componente de aceite mineral.

5 [0019] Con bioaceite se hace referencia a un aceite derivado de una fuente biológica renovable como una planta, animal o peces. El término bioaceite cubre grasas animales que pueden ser sólidas a temperatura ambiente pero que pueden fundirse con un calentamiento suave. Preferiblemente, el bioaceite no habrá sido refinado.

[0020] Con hidrolizar al menos un enlace de éster de dicho al menos un glicérido para formar un bioaceite hidrolizado se hace referencia a que al menos un enlace de éster del glicérido (preferiblemente todos los enlaces de éster) se hidroliza para dar un ácido graso y glicerol.

[0021] Con bioaceite hidrolizado se hace referencia a uno en el que el al menos un enlace de éster del al menos un glicérido ha sido hidrolizado a sus residuos de glicerol y ácido graso constituyentes.

Bioaceite

15 [0022] El bioaceite de uso en la invención puede obtenerse a partir de cualquier fuente conveniente pero una que contenga al menos un glicérido. El bioaceite puede derivarse de una planta, animal o pescado.

[0023] Los aceites vegetales útiles incluyen aceite de soja, aceite de semillas de colza, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de colza, aceite de canola, aceite de cáñamo, aceite de linaza, aceite de mostaza, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de ricino y aceite de coco.

20 [0024] Los aceites animales útiles (término que incluye grasas animales) incluyen aceite de sebo y manteca.

[0025] Los aceites de pescado son aquellos aceites que se derivan de fuentes marinas como pescado, organismos micromarinos (krill y similares) o mamíferos marinos como focas. Aunque se prefiere que el aceite de pescado se derive de un organismo basado en el mar, en esta invención, el término aceite de pescado pretende cubrir fuentes de agua dulce de aceites de pescado.

[0026] También en el término bioaceite se encuentran aceites reciclados, por ejemplo, aquellos usados en la industria alimentaria y similares.

[0027] En un modo de realización muy preferido, el bioaceite comprende aceite de pescado.

30 [0028] También se encuentra dentro del alcance de la invención una mezcla de bioaceites a usar, p.ej., una mezcla de aceite vegetal y aceite marino.

[0029] Los bioaceites a menudo se caracterizan por su contenido de ácidos grasos libres (FFA, por sus siglas en inglés). Los aceites con FFA de menos de 1,5% se consideran refinados y aquellos con un FFA de más del 20% se consideran materiales con alto FFA, normalmente grasas animales. La presente invención resulta de especial utilidad con aceites que tienen un FFA de al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%.

[0030] El bioaceite preferiblemente no es uno que ha sufrido refinación. Muchos aceites vegetales y de pescado son refinados para proporcionar una fuente para ácidos grasos que supuestamente mejoran la salud como omega-3. Dichos aceites de pescado refinados tienen poco interés en esta invención puesto que el coste del aceite refinado es demasiado alto para su uso en la gran cantidad

necesaria para fabricar una cantidad útil de biodiésel. Por lo tanto, el aceite utilizado debería ser preferiblemente no refinado y usado esencialmente en la forma que está aislado de la fuente natural. El aceite marino, especialmente aceite de pescado, es un producto de desecho conocido de la industria del pescado y este producto de desecho, en estado no refinado, proporciona el material de
5 partida ideal para el proceso de la invención.

[0031] Sin embargo, algunos bioaceites pueden contener compuestos que pueden considerarse veneno para los catalizadores implicados en los procesos de hidrotreatmento e isomerización. Por lo tanto, puede ser necesario eliminar dichos compuestos. Los aceites vegetales, por ejemplo, pueden necesitar desgomado.

10 **Glicérido**

[0032] El bioaceite contendrá al menos un éster de ácido graso en forma de un glicérido. El glicérido será típicamente un triglicérido aunque podría ser también un monoglicérido o diglicérido. La parte de ácido graso del glicérido puede ser, independientemente de la fórmula (I):



15 donde n, y s son números enteros, p.ej., de 1 a 10 y m es de 0 a 10. Preferiblemente, el número de átomos de carbono en el componente de ácido graso será al menos 10, p.ej., de 12 a 40.

[0033] Se apreciará que la mayoría de fuentes de bioaceite naturales contendrán una variedad de diferentes glicéridos con diferentes partes de ácido grado. Por tanto, preferiblemente el bioaceite contiene una pluralidad de glicéridos de ácido graso que pueden ser hidrolizados por los
20 microorganismos.

Microorganismos

[0034] El microorganismo de uso en la invención es uno de la especie Geobacillus o Acinetobacter, que es capaz de hidrolizar al menos un enlace de éster en un compuesto de glicérido de forma que produzca glicerol (o un glicérido reducido) y ácido graso. Preferiblemente, el microorganismo
25 hidrolizará todos los enlaces de éster presentes para reducir el glicérido a ácidos grasos y glicerol.

[0035] Dichos microorganismo puede ser capaz de hidrogenar enlaces dobles en las cadenas de ácido graso del glicérido. Muchos glicéridos de origen natural contienen enlaces dobles a lo largo de la longitud de la estructura principal de carbono y se prefiere si estos enlaces pueden saturarse usando el microorganismo. Esto reduce en mayor medida la necesidad de hidrógeno del proceso de
30 formación de biodiésel general.

[0036] Dicho microorganismo puede ser capaz de craquear las cadenas de hidrocarburo de los ácidos grasos para hacer cadenas más pequeñas que mejorarán el número de cetano del biodiésel.

[0037] Incluso más preferiblemente, dicho microorganismo puede ser capaz de reducir los compuestos de ácido graso formados en aldehídos, alcoholes o en un hidrocarburo. Sin embargo, se
35 apreciará que también puede producirse cierta reducción de grupos ácidos durante la hidrogenación.

[0038] Para asegurar que la hidrólisis necesaria de enlaces de éster en el glicérido (y reducción opcional de ácidos resultantes) tiene lugar, se prefiere, sin embargo, usar una mezcla de microorganismos diferentes. Preferiblemente, la composición de microorganismos contendrá al menos 2 y preferiblemente al menos 3 microorganismos diferentes. En algunos modos de
40 realización, puede haber al menos 5, p.ej., al menos 10, preferiblemente al menos 20, especialmente

al menos 100 microorganismos añadidos al bioaceite.

[0039] Con microorganismos diferentes se hace referencia a que hay al menos dos microorganismos distinguibles presentes. Puede haber microorganismos de diferentes géneros, diferentes especies, diferentes cepas o incluso diferentes cepas mutantes de microorganismos. Las diferencias en microorganismos pueden detectarse usando técnicas genéticas como análisis del ARN ribosómico.

[0040] Preferiblemente, todos los microorganismos se seleccionan del grupo compuesto por *Bacillus* sp., *Thermus* sp., *Pseudomonas* sp., *Geobacillus* sp., *Arthrobacter* sp., *Sphingomonas* sp., *Mycobacterium* sp., *Burkholderia* sp., *Acinetobacter* sp., *Thermovirga* sp., *Archaeoglobus* sp., *Thermosiphon* sp., *Symbiobacterium* sp., *Methanosaeta* sp., *Epsilon proteobacterium* sp., *Syntrophus* sp., *Nocardioideis* sp., *Deferribacter* sp., y *Chloroflexi* sp., en los cuales al menos uno se elige de *Geobacillus* sp. o *Acinetobacter* sp.

[0041] En otro modo de realización preferido, el microorganismo puede ser capaz también de o está mezclado con otro microorganismo capaz de acortar la cadena de alcanos.

[0042] Los ejemplos de microorganismos capaces de acortar la cadena de alcanos incluyen *Bacillus* sp., *Geobacillus* sp., *Acinetobacter* sp., *Methanosaeta* sp. y en concreto *Acinetobacter venetianus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus aeolis* y *Geobacillus thermodenitrificans*. El uso de *Pseudomonas* sp. resultará en la degradación de n-alcano y viscosidad reducida, p.ej., *Pseudomonas aeruginosa*. Además, *Thermus brockii* es capaz de degradar hexadecano (véase Geitkenhauer et al., *Water Sci Technol* 47: 123-130(2003)).

[0043] Los microorganismos altamente preferidos para su uso en la invención incluyen *Acinetobacter venetianus* y en particular cepa 6A2 (DSM17874) y mutantes del mismo (TMT1, TMT2, TMT3, WT y MAV1), *Geobacillus pallidus*, *Geobacillus kaustrophilus*, *Geobacillus toebli* y *Geobacillus thermoglucosidasius*. Se ha descubierto que el *Acinetobacter venetianus* no solo hidroliza los enlaces de éster en una molécula de glicérido, sino que también reduce la longitud de la cadena de alcano lo que lo hace un microorganismo ideal para su uso en esta invención. La cepa DSM17874 ha sido depositada en la DSMZ (colección alemana de microorganismos y cultivos celulares) tanto en la colección abierta (depósito número DSM17874 por Mimmi Throne-Holst) y en conformidad con las condiciones del Tratado de Budapest del 20 de junio de 2007, por Statoil ASA, bajo el número de acceso DSM19446.

[0044] Por lo tanto, visto desde otro aspecto, la invención proporciona un proceso para la producción de biodiésel que comprende:

(I) obtener un bioaceite que contiene al menos un glicérido de ácido graso;

(II) poner en contacto el bioaceite con *Acinetobacter venetianus* para formar un bioaceite hidrolizado;

(III) usar directa o indirectamente dicho bioaceite hidrolizado en biodiésel.

[0045] Se prefiere especialmente que el bioaceite se ponga en contacto con microorganismos seleccionados de las especies *Bacillus thermoleovorans*, *Thermus brockii*, *Acinetobacter venetianus*, *Deferribacter desulfuricans*, *Thermosiphon geolei*, *Thermosiphon africanus*, *Symbiobacterium thermophilium*, *Thermovirga lienii*, *Sphingomonas stygia*, *Sphingomonas aromaticivorans*, *Sphingomonas subterranean*, *Sphingomonas yanoikuyae*, *Pseudomonas putida*,

Burholderia sp. y *Archaeoglobus fulgidus*, en lo cual se elige al menos uno de las especies Geobacillus o Acinetobacter. Las cepas concretas depositadas que pueden usarse incluyen *Bacillus thermoleovorans* AB034902 (Genbank), *Bacillus aeolis* AY603079 (Genbank), *Pseudomonas aeruginosa* AM087130(Genbank), *Geobacillus thermodenitrificans* DQ243788(Genbank), *Geobacillus subterraneus* DQ355385(Genbank), *Sphingomonas stygia* DSMZ12445, *Sphingomonas sp* DSMZ 7526, *Sphingomonas sp* DSMZ 11094, *Sphingomonas aromaticivorans* DSMZ 12444, *Sphingomonas subterranean* DSMZ 12447, *Sphingomonas yanoikuyae* DSMZ 6900, *Pseudomonas putida* NCIMB 9815, *Pseudomonas putida* NCIMB 9816, *Pseudomonas putida* NCIMB 10015, *Methanosaeta sp.* AJ 133791, *Epsilonproteobacteria* AY 570641, *Syntrophus aciditrophicus* CP 000252, *Nocardioides sp.* D 87974, *Deferribacter desulfuricans* AB 086060, *Chlorflexi sp.* AB 074961, *Thermovirga lienii* DQ 071273, *Archaeoglobus fulgidus* DQ 131905, *Thermosiphon geolei* AJ 272022, *Acinetobacter venetianus* ATCC 31012 y *Symbiobacterium sp.* AB 052392.

[0046] En lugar de producir una composición de inoculación de microorganismos mediante la mezcla de microorganismos individuales in situ, es posible y de hecho preferible usar cócteles de microorganismos a partir de o desarrollados a partir de comunidades de microorganismos de origen natural, p.ej., comunidades de microorganismos de yacimientos de hidrocarburos subterráneos, de esquistos bituminosos, fuentes de betún y asfalto, tratamiento de aguas residuales, sedimentos de tierra o arena especialmente contaminada con aceite. Los cócteles de microorganismos de origen natural comprenden al menos uno de *Geobacillus pallidus*, *Geobacillus kaustrophilus*, *Geobacillus toebli* y *Geobacillus thermoglucosidasius* son especialmente preferidos.

[0047] Por supuesto, también pueden producirse microorganismos apropiados mediante mutagénesis o mediante ingeniería genética.

[0048] La temperatura a la que deberían inocularse los microorganismos y el sustrato puede variar sobre un amplio límite, p.ej., de 10 a 100°C. Preferiblemente el proceso debería tener lugar a una temperatura de entre 20 y 80 °C. Sin embargo, en algunos modos de realización los microorganismos pueden exigir trabajar a temperaturas mayores que la temperatura ambiente, p.ej., a temperaturas de al menos 50°C para asegurar que el sustrato de bioaceite se encuentre en forma líquida. Algunas grasas animales son sólidas hasta que se acercan a esta temperatura y, por lo tanto, puede ser necesario trabajar a temperaturas ligeramente elevadas para garantizar que el bioaceite sea un líquido. Por lo tanto, en otro modo de realización preferido la reacción de hidrólisis (etapa (II)) tiene lugar a una temperatura de al menos 30°C, preferiblemente al menos 40°C, especialmente al menos 50°C, más especialmente al menos 55°C.

[0049] Idealmente, los microorganismos trabajaran en un ambiente aeróbico, pero, por supuesto, es posible que trabajen de forma anaeróbica si es necesario para maximizar la función del microorganismo.

[0050] Se prefiere que la mezcla de sustrato y microorganismos sea agitada (p.ej., removido, revuelto o sometido a sonicación) para maximizar el potencial de hidrólisis.

[0051] El bioaceite puede exponerse a los microorganismos durante un periodo de tiempo amplio típicamente del orden de 1 día a dos semanas, p.ej., 7 días. Sin embargo, puede llevarse a cabo un proceso industrial de forma continua y ajustada para que tenga un tiempo de permanencia apropiado.

[0052] También puede ser necesario añadir al sustrato de bioaceite alguna forma de medio mineral que proporciona a los microorganismos los nutrientes esenciales para su crecimiento. La adición de dicho medio es bien conocida en la técnica.

5 **[0053]** Las combinaciones de microorganismos concretos pueden diseñarse para tratar un sustrato de bioaceite de interés. La naturaleza de los compuestos en cada sustrato es ligeramente diferente y algunos microorganismos pueden actuar mejor en sustratos de grasa animal que en sustratos vegetales, etc. Identificar una combinación de microorganismos concreta puede lograrse fácilmente mediante un proceso de exploración simple.

10 **[0054]** Se ha descubierto que *A. venetianus* 6A2 y mutantes de la misma (TMT1, TMT2, TMT3, WT y MAV1) son especialmente útiles en la hidrólisis de enlaces de glicéridos en aceites animales y de pescado.

15 **[0055]** Una vez que los microorganismos han hidrolizado los glicéridos en el bioaceite, el glicerol puede eliminarse en un lavado acuoso y la fase de aceite resultante puede usarse directamente en biodiésel. Sin embargo, preferiblemente será normal que la mezcla de fase de aceite se transfiriera a un equipo de hidrotatamiento convencional para una mayor manipulación en un combustible diésel.

20 **[0056]** El proceso de hidrotatamiento no puede funcionar si el aceite se añade a la unidad hidrotadora en forma sólida. Por tanto, se requiere que si el material hidrolizado es sólido, que el aceite se funda antes de añadirse al craqueador. La mayoría de bioaceites, por supuesto, se encontrarán en forma líquida en su estado natural pero algunos, en especial aceites animales, pueden presentarse como sólidos y necesitar que se fundan. Se puede lograr que se derritan simplemente mediante calentamiento del aceite a una temperatura mayor que su punto de fusión, normalmente 60°C.

25 **[0057]** El componente de bioaceite hidrolizado se añadirá típicamente al aparato de hidrotatamiento junto con un componente de aceite mineral, es decir, el hidrotador no funcionará simplemente con fuentes biológicas, también hidrotará aceites minerales, como se conoce en la técnica. De este modo, el bioaceite puede mezclarse con un aceite mineral y añadirse junto con el aceite mineral al hidrotador o podría producirse la mezcla en el propio reactor y, por tanto, el aceite mineral y bioaceites podrían añadirse a través de puntos de adición separados. También se apreciará que es probable que el proceso de la invención se lleve a cabo de forma continua en cuanto a que se añadirá
30 nueva alimentación a un reactor en el que ya se está produciendo una reacción de hidrotatamiento. Esto también recae dentro del ámbito de la invención.

35 **[0058]** Las cantidades relativas de bioaceite añadido en relación con la alimentación de aceite mineral pueden variar a lo largo de un amplio rango siempre que el producto de biodiésel resultante pueda funcionar con éxito en el motor de combustión. Sin embargo, preferiblemente las cantidades oscilan entre 0,5 y 50% en peso de bioaceite, preferiblemente de 1 a 20% en peso de bioaceite, especialmente de 3 a 15 % en peso de bioaceite, p.ej., de 5 a 10% en peso de bioaceite.

40 **[0059]** Con el componente de aceite mineral (también llamado la materia prima de hidrocarburo aquí) se hace referencia a un componente que se deriva del crudo. La materia prima de hidrocarburo/aceite mineral sobre la que opera el proceso anterior puede ser cualquier alimentación adecuada, p.ej., cualquier aceite destilado. Sin embargo, la alimentación comprende preferiblemente gasóleos

pesados y/o ligeros, (especialmente gasóleos ligeros o pesados de primera destilación de crudo), destilados obtenidos a vacío, gasóleo de vacío, gasóleo de coque, aceite de ciclo ligero y materiales que se producen durante la coquización, p.ej., coquización retardada o craqueo catalítico en lecho fluidizado. En el uso de gasóleo ligero o gasóleo pesado, se prefiere especialmente gasóleo ligero de
5 primera destilación o gasóleo pesado de primera destilación.

[0060] El punto de ebullición de la materia prima de hidrocarburo puede encontrarse en el intervalo de 150 a 550°C, en especial de 250 a 450°C, preferiblemente de 280 a 410°C. La densidad de la materia prima de hidrocarburo puede ser mayor de 845 kg/m³, p.ej., mayor de 860 kg/m³.

[0061] El contenido de azufre de la materia prima de hidrocarburo puede ser al menos 500 ppm, preferiblemente al menos 750 ppm, especialmente al menos 1000 ppm (por peso).
10

[0062] El contenido de nitrógeno de la materia prima de hidrocarburo puede ser al menos 150 ppm, preferiblemente al menos 200 ppm (por peso).

[0063] El índice de cetano inicial (D4737/90) para la materia prima de hidrocarburo puede ser de 45 a 51.

[0064] La materia prima de hidrocarburo puede comprender al menos un 20% aromáticos, p.ej., al menos 25% aromáticos, como del 25 a un 70% en peso aromáticos, p.ej., al menos 28% en peso aromáticos, como al menos un 35% aromáticos. La materia prima de hidrocarburo puede comprender hasta un 20% en peso de monoaromáticos, hasta un 10% en peso de diaromáticos y hasta un 5% en peso de triaromáticos.
15

[0065] Una vez mezclado con el bioaceite, la alimentación mezclada puede tener una densidad de al menos 0,860 kg/l, preferiblemente al menos 0,865 kg/L. El número de cetano puede encontrarse en el intervalo de 45 a 50. De este modo, la mezcla de aceite marino y aceite mineral tiene un número de cetano inferior pero una densidad superior que el aceite mineral solo.
20

[0066] El proceso de la invención puede llevarse a cabo en una organización de proceso de hidrot ratamiento convencional. El proceso puede producirse en una sola etapa, es decir, la hidrogenación, desulfurización e isomerización de la materia prima puede producirse todo en la misma etapa de reacción o podría llevarse a cabo en más de una etapa.
25

[0067] El sistema catalizador de hidrot ratamiento puede estar presente en un solo lecho o múltiples lechos. En otro modo de realización, el sistema catalizador de zeolita puede estar presente en un lecho con un catalizador de hidrot ratamiento presente en un lecho separado preferiblemente previo. Aquellos expertos en la técnica podrán manipular la configuración del reactor para adaptarlo a sus necesidades.
30

[0068] Se añade hidrógeno a la etapa de hidrot ratamiento para efectuar la hidrogenación y desulfurización de la materia prima de hidrocarburo.

[0069] Una configuración de reactor ideal podría implicar la adición del aceite marino y la materia prima de hidrocarburo con gas tratado rico en hidrógeno al reactor, es decir, se prefiere que la adición del hidrógeno y la materia prima se produzca a través de la misma entrada del reactor. Aunque sería posible cargarlos de forma separada, se prefiere mezclarlos. En otro modo de realización preferido, la alimentación o alimentaciones al reactor se precalientan, preferiblemente a una temperatura similar a la del reactor en el punto de entrada. De este modo, si la temperatura del reactor es de 350°C en el
40

punto de entrada, entonces la alimentación debería calentarse a aproximadamente esta temperatura antes de su adición al reactor.

[0070] El precalentamiento de la alimentación puede lograrse usando una fuente de calor externa, pero de forma ideal se efectuaría mediante intercambio de calor con los efluentes del reactor. En caso de que el intercambio de calor no caliente la alimentación lo suficiente, pueden usarse medios de calentamiento externos para complementar el proceso de precalentamiento.

[0071] Puesto que la alimentación del reactor pasa por el reactor y, por tanto, por el catalizador en el reactor, se prefiere que la temperatura aumente a lo largo del reactor, es decir, desde la entrada hasta la salida. El incremento de temperatura a través del reactor puede ser al menos de 20°C, p.ej., al menos 30°C.

[0072] Cuando el reactor contiene una pluralidad de lechos de catalizadores, es decir, la alimentación pasa por más de un lecho de catalizador entre la entrada y la salida del reactor, es posible enfriar el reactor entre lechos mediante la introducción de un gas de enfriamiento, normalmente hidrógeno. Esto no solo enfría el reactor, sino que proporciona más hidrógeno para la hidrogenación.

[0073] El catalizador de hidrotratamiento utilizado puede ser uno que sea convencional en la técnica, p.ej., uno basado en metales de los grupos VIB y VIII. Las combinaciones preferidas se basan en Ni o Co con Mo o W. Se prefieren especialmente NiMo o CoMo.

[0074] También se conocen en la técnica los catalizadores de zeolita adecuados para su uso en el estado de isomerización usándose comúnmente zeolitas beta.

[0075] Una vez se ha producido la desulfurización, hidrogenación e isomerización, el efluente del reactor puede enfriarse y mezclarse con agua de lavado antes de un mayor enfriamiento, p.ej., mediante refrigerador de aire u otro intercambio de calor, hasta la temperatura del separador requerida. En el separador, se puede separar agua ácida, materia prima reaccionada y gas. El agua ácida puede enviarse de nuevo al sistema de agua ácida, el gas (hidrógeno) puede ser reciclado al reactor y la materia prima reaccionada se envía a un stripper de producto donde los productos ligeros, como gases de hidrocarburo y nafta, se envían a la cabeza y el producto de gasóleo se extrae como el producto de fondo.

[0076] Normalmente, el gas es enviado a recuperación de H₂S, la nafta se envía a continuar con el procesamiento o al depósito de producto y el producto de gasóleo se envía al depósito de producto para su uso posterior en combustible diésel.

[0077] El proceso de la invención se lleva a cabo bajo condiciones especialmente suaves y esto es otro aspecto de la invención. En concreto, pueden usarse presiones bajas. Las bajas presiones significan un proceso más económico y son altamente deseables. El proceso de la invención preferiblemente ocurre a una temperatura entre 250 y 500°C, preferiblemente entre 300 y 450°C, especialmente entre 300 y 400°C. La presión es inferior a 100 barg pero preferiblemente al menos 10 barg, p.ej., de 40 a 100 barg, como de 45 a 60 barg. Barg es la presión del manómetro, es decir, la presión medida en bares en el manómetro (por tanto, relativa a la presión atmosférica).

[0078] Las proporciones de hidrógeno y materia prima adecuadas pueden ser al menos 75 NI/l, p.ej., de 100 a 1500 NI/l, preferiblemente de 150 a 500 NI/l. (La unidad NI/l representa un litro normal de hidrógeno a 0°C y 1 atm de presión por litro de materia prima). La velocidad espacial líquida por hora

(LHSV, en inglés) puede ser de entre 0,3 y 5/h, p.ej., de 0,5 a 2/h.

[0079] El catalizador puede regenerarse mediante técnicas convencionales, p.ej., quemando el coque que se forma en la composición de catalizador.

5 **[0080]** El producto del proceso como se ha definido anteriormente tiene un contenido de azufre muy disminuido en relación con la materia prima. Los contenidos de azufre en el producto de hidrocarburo que sale del reactor de apertura de anillo pueden ser inferiores de 50 ppm, p.ej., menos de 20 ppm, especialmente menos de 10 ppm. La cantidad de azufre presente en el producto de hidrocarburo puede reducirse en mayor medida mediante el aumento de la temperatura de funcionamiento.

10 **[0081]** La invención también lleva a cabo la desnitrógenación de la materia prima. Pueden lograrse niveles de menos de 10 ppm en el producto, p.ej., menos de 2 ppm. Para HGO (gasóleo pesado) de primera destilación, por ejemplo, los niveles de nitrógeno en la materia prima pueden ser del orden de 250 ppm que se reduce a menos de 2 ppm tras el hidrot ratamiento.

15 **[0082]** Tras el proceso de la invención, el punto de ebullición de la mayoría (es decir, al menos 50% en peso) del producto de hidrocarburo, es decir, la materia prima con apertura de anillo, debería encontrarse en el intervalo de 150 a 360°C, preferiblemente al menos 60% en peso. Preferiblemente, al menos un 90% del producto, especialmente el 95% del producto se forma a partir de hidrocarburos que tienen un punto de ebullición por debajo de 395°C, preferiblemente por debajo de 380°C, especialmente por debajo de 360°C.

20 **[0083]** La cantidad de componente de nafta (es decir, componentes líquidos con punto de ebullición por debajo de 150°C) producida durante el proceso debería ser inferior al 40% en peso, preferiblemente inferior al 30% en peso, especialmente inferior al 15% en peso, más especialmente inferior al 10% en peso del producto. Dicha nafta puede, por supuesto, ser aislada y utilizarse como se conoce en la técnica.

25 **[0084]** La cantidad de gas hidrocarburo producido (es decir, fracción C1-C4) también se disminuye, p.ej., a menos del 5% en peso. De nuevo, estos productos gaseosos pueden ser aislados y utilizarse como se conoce en la técnica. Sorprendentemente, los inventores han descubierto que la adición de aceite marino a un proceso de hidrot ratamiento produce niveles mucho más altos de propano que los que se registran con alimentaciones de aceite mineral solo. El propano no es un componente del diésel por lo que tiene que ser aislado (mediante técnicas de separación convencionales conocidas)

30 de la fracción de diésel pero puede usarse en numerosos procesos industriales bien como combustible, diluyente o para producir propeno.

35 **[0085]** La reducción de densidad lograda usando el proceso de la invención desde la materia prima hasta el producto con apertura de anillo es preferiblemente de 0,10 kg/L. Esta reducción se logra preferiblemente en comparación con el producto formado incluso después de eliminar las fracciones de gas y nafta.

[0086] Sorprendentemente, a pesar de que la combinación de bioaceite y aceite mineral tiene un densidad mayor que el aceite mineral solo, la materia prima tratada resultante puede tener una densidad inferior que aquella del aceite mineral tratado de forma similar. Por lo tanto, la reducción de densidad general es mucho más marcada para la alimentación mezclada de la invención.

40 **[0087]** La densidad del producto de hidrocarburo es preferiblemente inferior de 855 kg/m³,

especialmente inferior de 852 kg/m³. Aunque la densidad puede reducirse en mayor medida aumentando la temperatura del proceso, esto también resulta en una producción aumentada de nafta.

[0088] La cantidad de monoaromáticos en el flujo de producto puede reducirse a menos del 15% en peso, la cantidad de diaromáticos a menos de 2% en peso y la cantidad de triaromáticos a menos de 0,5 % en peso usando el proceso de la invención, especialmente para una materia prima de gasóleo pesado. El contenido aromático total puede reducirse, por tanto, a menos del 17,5 % en peso.

[0089] Además, el contenido de naftenos del producto (es decir, contenido de hidrocarburo alifático cíclico) puede ser superior del 45% en peso.

[0090] El número de cetano del producto de craqueo es preferiblemente superior a 51, especialmente superior a 53. De forma sorprendente, los inventores han descubierto que la adición del aceite marino al aceite mineral da lugar a un componente diésel con un mayor índice de cetano que el producido usando solo aceite mineral. Esto ocurre a pesar de que la alimentación de aceite mineral tenga un mayor índice que la alimentación mezclada. Puesto que un mayor índice de cetano significa un combustible más limpio, y por tanto menos emisiones, la invención presenta el beneficio doble de usar biomasa renovable como fuente de combustible y formar un combustible de quemado más limpio.

[0091] El producto puede fraccionarse o pasarse por más reactores para un mayor tratamiento si así se desea. También es posible reciclar fracciones pesadas de nuevo en el hidrocraqueador. Sin embargo, preferiblemente el flujo de producto de hidrocarburo, tras la eliminación de gas y nafta, es adecuado para su uso directo en diésel de automoción.

[0092] También se prevé que la reacción de hidrólisis de éster descrita aquí podría usarse para permitir la inclusión de un componente de bioaceite en gasolina u otro biocombustible.

[0093] La invención se describirá ahora en relación con los siguientes ejemplos y figuras no limitativos.

La Figura 1a muestra la LC-MS para un aceite de pescado de control no sometido al tratamiento de microorganismos.

La Figura 1b muestra la LC-MS para el mismo aceite de pescado tras el tratamiento con *A. venetianus* 6A2 (TMT3) durante 7 días a 30°C.

La Figura 2 muestra un gráfico de puntuación (*score plot*) en 3-D de niveles de triglicéridos en aceite de pescado no refinado tratado con inóculo de mezcla de la placa matriz L002 (rojo), L004 (verde), L018 (azul) y L019 (amarillo) durante 7 días a 60°C. Para cada una de las pruebas se llevó a cabo un control negativo sin inóculo de forma simultánea. Esto se representa mediante los puntos negros.

La Figura 3 muestra una LC-MS en 3-D de niveles de ácido graso en aceite de pescado no refinado tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

La Figura 4 muestra un gráfico de puntuación en 3-D de niveles de triglicéridos en aceite de pescado refinado tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

La Figura 5 muestra una LC-MS en 3-D de niveles de ácido graso en aceite de pescado refinado tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

La Figura 6 muestra un gráfico de puntuación en 3-D de niveles de triglicérido en aceite de

animal (grande) tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

La Figura 7 muestra una LC-MS en 3-D de niveles de ácido graso en animal tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

5 La Figura 8 muestra un gráfico de puntuación en 3-D de niveles de triglicérido en aceite de soja tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

La Figura 9 muestra una LC-MS en 3-D de niveles de ácido graso en aceite de soja tratado con inóculo como se describe en la figura 2.

Ejemplos

10 **[0094]** Los cultivos de placas matrices y *Acinetobacter venetianus* 6A2 (incluyendo mutantes) se prepararon según los siguientes protocolos:

Ejemplo 1:

Protocolo

15 **[0095]** *A. venetianus* 6A2 (DSM19446) y mutantes del mismo (TMT1, TMT2, TMT3 y MAVI) se cultivaron de forma aeróbica a 30°C en caldo Luria (LB, en inglés) con antibióticos según proceda (canamicina 25 mg/L, apramicina 50 mg/L, cloranfenicol 30 mg/L). Finalmente, las bacterias se recogieron mediante centrifugación, se lavaron con medio mineral (MM) y resuspendieron en MM a una concentración final de 1 O.D. El último fue designado inóculo.

Ejemplo 2:

Protocolos de la Placa Matriz

20 **[0096]** Se cultivaron cuatro placas matrices diferentes de forma aeróbica en una mezcla de medio mineral (MM), extracto de levadura (YE) y acetato (Ac) durante 48 horas a 60°C. Finalmente, se recogieron las bacterias mediante centrifugación, se lavaron con MM y se resuspendieron en MM a una concentración final de 1 O.D., el último designado inóculo.

[0097] Se describen las placas matrices en la tabla 1

Tabla 1

	Placa de 96 pocillos	Fuente	Tipo de muestra	
5	Placa Matriz MM Ac YE L002	1. Muestras de Creta 2. Muestras de compost de Trondheim	1. Arena /sedimentos contaminados con combustible/aceite usado 2. Compost de jardín común, Trondheim	No se encontraron organismos anaeróbicos facultativos entre los aislados de la placa
10	Placa Matriz MM Ac YE L004	1. Planta de tratamiento de agua NL 2. Arenas alquitranadas, Canada	1. Muestras de agua 2. Arena petrolífera 3. Muestras de carreteras de asfalto viejas 4. Diversas muestras de sedimentos	Un total de 11,5% de los organismos son organismos anaeróbicos facultativos, estos son aislados de muestras de agua – NL (constituyen 64% de los organismos anaeróbicos facultativos en L004) y el Golfo de Mexico (constituyen 36 % de los organismos anaeróbicos facultativos en L004)
15		3. Muestras de carretera, N.Trl. 4. Golfo de Mexico 5. Tepee Butte, USA	5. Muestras de sedimentos, arcilla y agua	
	Placa Matriz MM Ac YE L018	Planta de tratamiento de agua NL	Muestras de agua	47 % de los aislados son organismos anaeróbicos facultativos
20	Placa Matriz MM Ac YE L019	1. Arenas alquitranadas; Canada 2. Plantas de tratamiento de agua, Mongstad 3. Australia	1. Arena petrolífera 2. Bio barro	6 % de los aislados son organismos anaeróbicos facultativos 100 % de los aislados son esporógenos (aislados tras ebullición del cultivo de enriquecimiento) 50 % de los aislados son aislados de enriquecimientos con aceite de Zuata como única fuente de C
25			3. Muestras de sedimento, arena recogidas cerca de una refinería de petróleo	
30	Placa Matriz L002 contiene <i>Geobacillus pallidus</i> , Placa Matriz L004 contiene <i>Geobacillus pallidus</i> , <i>Geobacillus kaustrophilus</i> y <i>Geobacillus toebli</i> Placa Matriz L018 contiene <i>Geobacillus thermoglucosidasius</i> .			

Ejemplo 3

Inoculación con bioaceite

[0098] Se añadió MM, aceite animal o vegetal e inóculo a frascos de agitación de 250 ml con placas deflectoras a 48 ml, 12 ml y 1 ml, respectivamente. El MM contiene un mínimo de minerales, metales y vitaminas esenciales para la supervivencia bacteriana. La fuente de carbono se proporciona mediante triglicéridos de aceite animal o vegetal. Para acostumbrarse a las grasas animales y vegetales como única fuente de carbono, las bacterias fueron inducidas con aceite 2%. Tras 48 horas el contenido de aceite se elevó hasta el 20%. Como referencia, se incluyó un control negativo que carecía de inóculo en cada serie experimental.

[0099] Todos los experimentos se llevaron a cabo en una incubadora de agitación a 150 rpm, 60% de humedad y temperatura apropiada (30 o 60 °C) según las propiedades bacterianas.

[0100] La fase acuosa y la fase de aceite se recogieron al séptimo día y se prepararon para LCMS y análisis del punto de fluidez. Los resultados se presentan en las figuras adjuntas.

5 **Análisis**

[0101]

La Figura 1a muestra la LC-MS para un aceite de pescado de control no sometido al tratamiento de microorganismos.

10 La Figura 1b muestra la LC-MS para el mismo aceite de pescado tras el tratamiento con *A. venetianus* 6A2 (TMT3) durante 7 días a 30°C. En la Figura 1b puede verse que el triglicérido se ha bioconvertido en diglicéridos y monoglicéridos. Por tanto, se han generado ácidos grasos y/o ésteres de ácido graso.

15 La Figura 2 es un gráfico de puntuación en 3-D de la bioconversión de aceite de pescado crudo y muestra las diferencias en triglicéridos tras el tratamiento en comparación con un control. En las figuras, los inóculos correspondientes a L002 son rojos, L004 son verdes, L018 son azules y L019 son naranjas. Los inóculos de la placa matriz L019 y L004 dan el cambio más grande en niveles de triglicéridos comparados con el control.

20 La Figura 3 es un espectro de LC-MS con ionización negativa que muestra los cambios en la composición de ácido graso. Los inóculos correspondientes a la placa matriz L019 y L004 demostraron provocar los efectos más altos.

25 La Figura 4 es un gráfico de puntuación en 3-D de la bioconversión de aceite de pescado refinado y muestra la diferencia en composición de triglicéridos de aceite de pescado refinado bioconvertido en comparación con un control. Se observa la mayor conversión con inóculos correspondientes a L004, L018 y L019. El espectro de LC-MS de ácidos grasos muestra el correspondiente efecto en la figura 5.

La Figura 6 es un gráfico de puntuación 3-D de la bioconversión de grasa animal. Los resultados indican diferencias relativamente pequeñas entre los inoculados y los controles con respecto a la grasa animal.

30 La Figura 7 es un espectro de LC-MS con ionización negativa, que muestra diferencias en ácidos grasos. En contraste con la figura 6, hay un cambio en el ácido graso entre las muestras inoculadas y el control. El inóculo A09 (L002) da más ácido graso.

35 La Figura 8 muestra la bioconversión de aceite de soja. El inóculo correspondiente a la placa matriz L002 provoca el mayor efecto en la composición de triglicéridos. Los resultados correspondientes en la figura 9 en los ácidos grasos formados reflejan este resultado aunque se observan también algunos cambios con inóculo F10 (L004).

40 **[0102]** De este modo, la placa matriz L002 ha demostrado alterar la composición de ácido graso de un aceite animal indicando que algunos o todos los microorganismos en la placa matriz L002 están actuando para escindir el enlace de éster en la molécula de glicérido que forma ácidos grasos. Los glicéridos en el aceite de pescado crudo se convierten rápidamente en ácidos grasos mediante la exposición a la placa matriz L019 y placa matriz L004. Los glicéridos de aceite de pescado refinado son bioconvertidos mediante la placa matriz L004, placa matriz L018 y placa matriz L019. Los

glicéridos de aceite de soja son bioconvertidos mediante la placa matriz L002.

[0103] Por tanto, uno o más microorganismos en las cuatro placas matrices diferentes bioconvierte triglicéridos de una variedad de fuentes de materia prima diferentes. Las pruebas iniciales sugieren que los microorganismos *Geobacillus* pueden ser decisivos en esta degradación. De forma importante, los ejemplos también muestran que puede usarse una mezcla de diferentes alimentaciones de bioaceites a la vez y, así, el biocombustible final puede contener una variedad de fuentes de materia prima diferentes.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la formación de biodiésel que comprende las etapas de:
 - (I.) obtener un bioaceite que contiene al menos un glicérido de ácido graso;
 - (II.) poner en contacto el bioaceite con al menos un microorganismo de la especie *Geobacillus* o *Acinetobacter* capaz de hidrolizar al menos un enlace de éster de dicho al menos un glicérido para formar un bioaceite hidrolizado; y
 - (III.) directamente o indirectamente usar dicho bioaceite hidrolizado en biodiésel.
2. Un proceso según la reivindicación 1, en el que dicho al menos un microorganismo es *Acinetobacter venetianus*, *Geobacillus pallidus*, *Geobacillus kaustrophilus*, *Geobacillus toebli* o *Geobacillus thermoglucosidasius*.
3. Un proceso según la reivindicación 1 ó 2, en el que la etapa (II) tiene lugar a una temperatura superior a 30 grados C.
4. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicho microorganismos es *A. venetianus*.
5. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que dicho microorganismo es la cepa *A. venetianus* depositada conforme al Tratado de Budapest como DSM19446.
6. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que al menos un glicérido de ácido graso se deriva de una fuente animal o de pescado.
7. Un proceso para la formación de biodiésel reivindicado en cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la etapa (III) comprende:
 - a. hidrotreatar dicho bioaceite hidrolizado; opcionalmente
 - b. isomerizar el bioaceite hidrotreatado; y
 - c. usar el producto resultante de la etapa (a) o, si se lleva a cabo, etapa (b) en biodiésel.

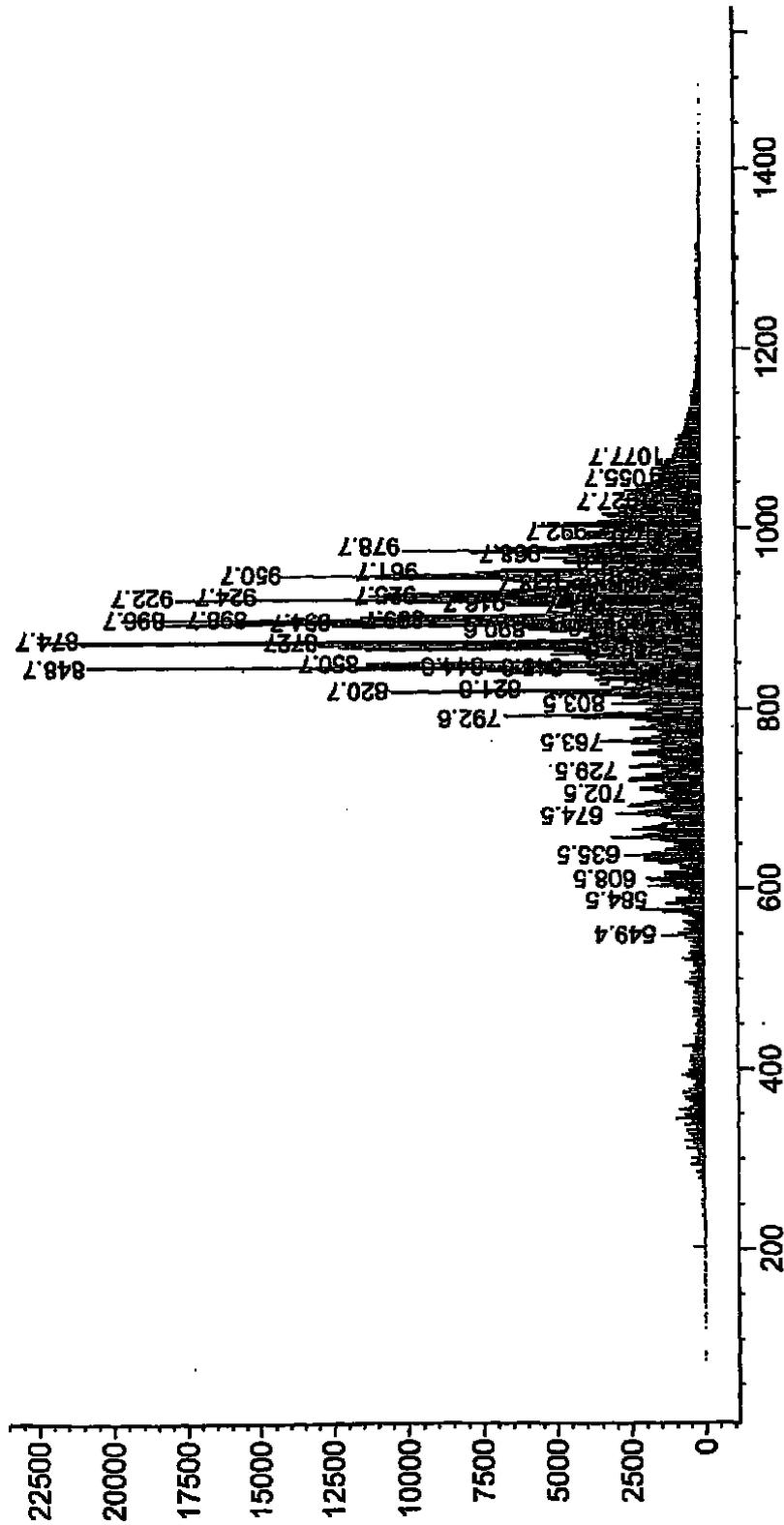


FIG. 1a

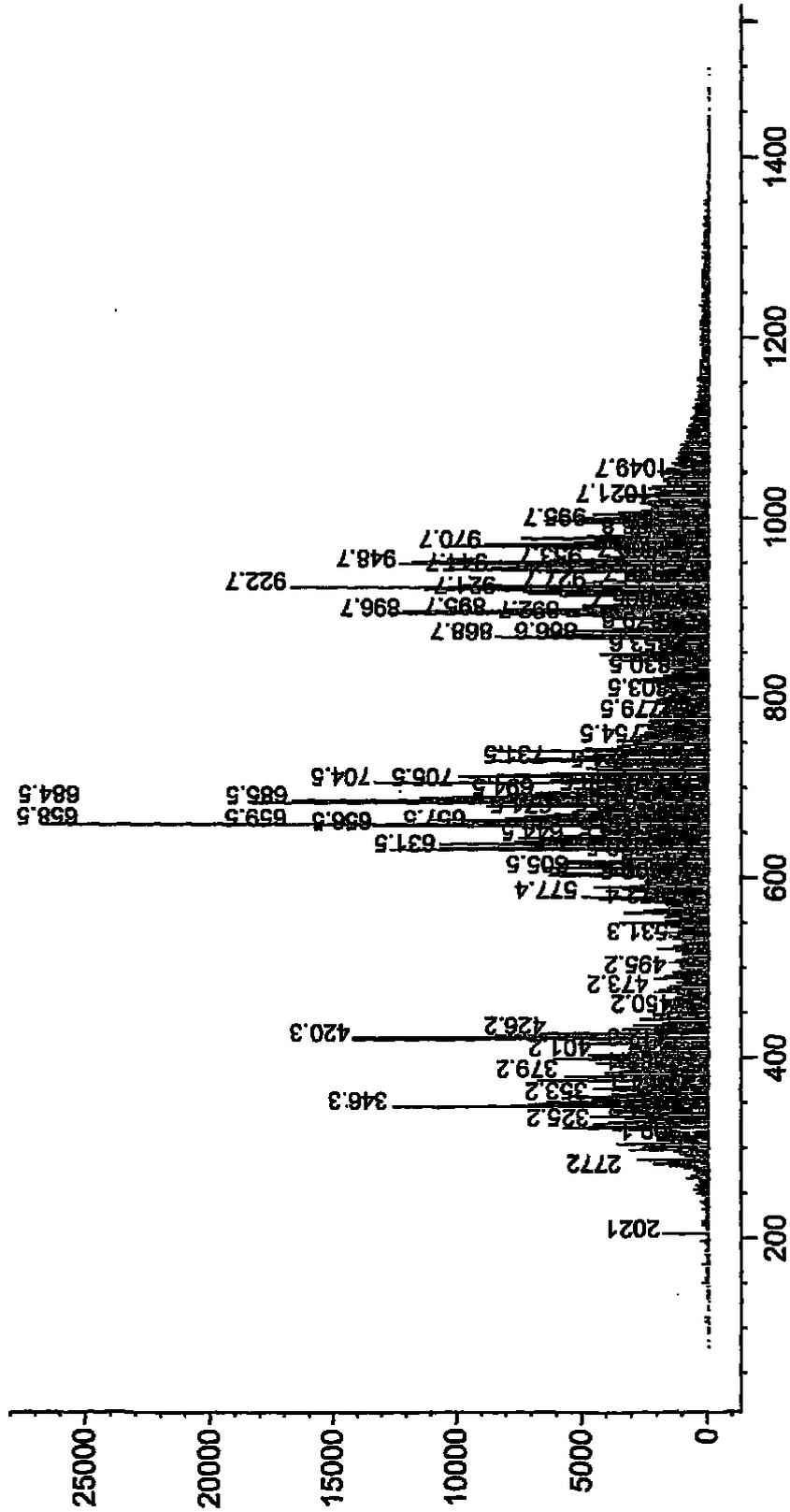


FIG. 1b

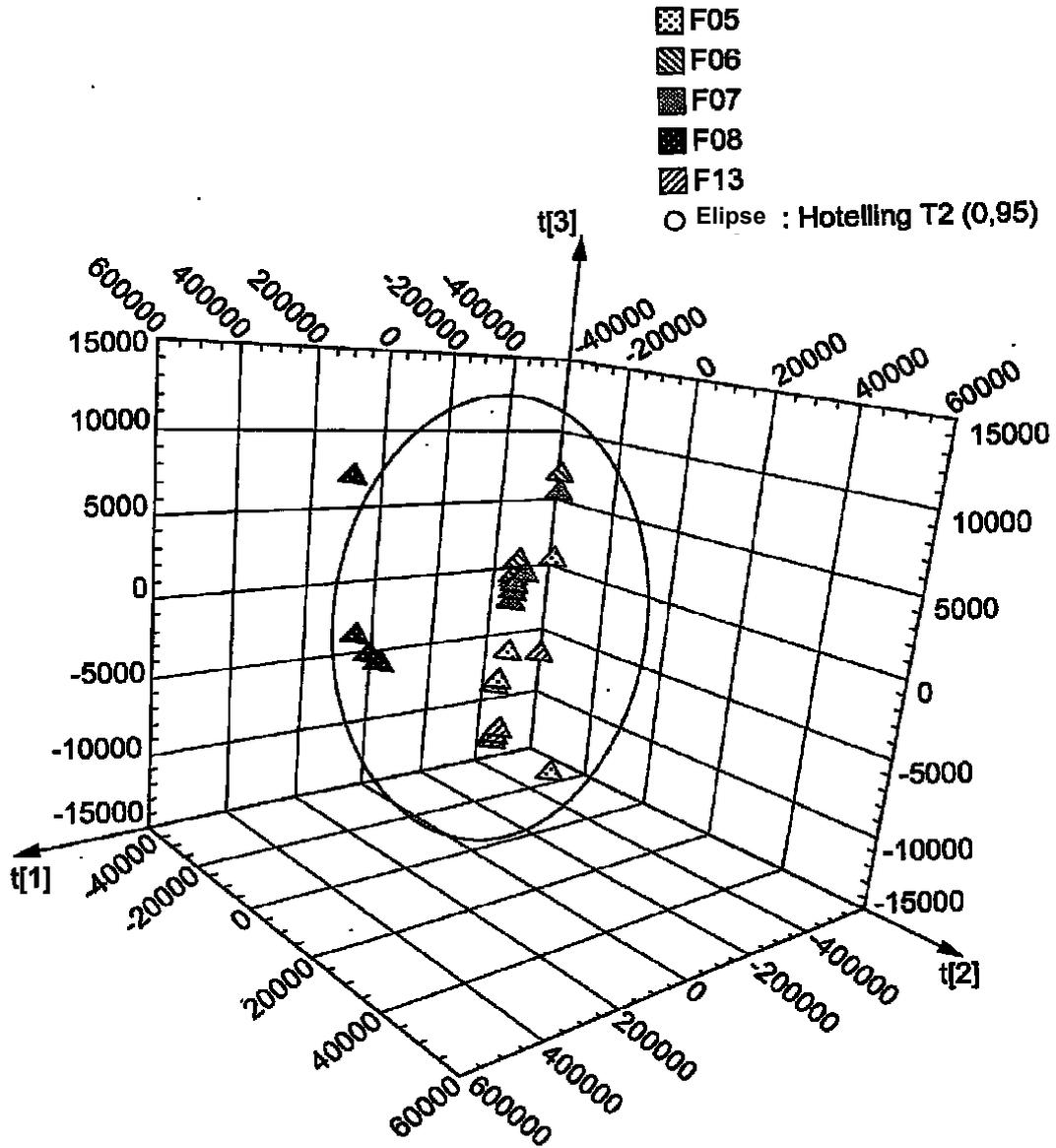


FIG. 2

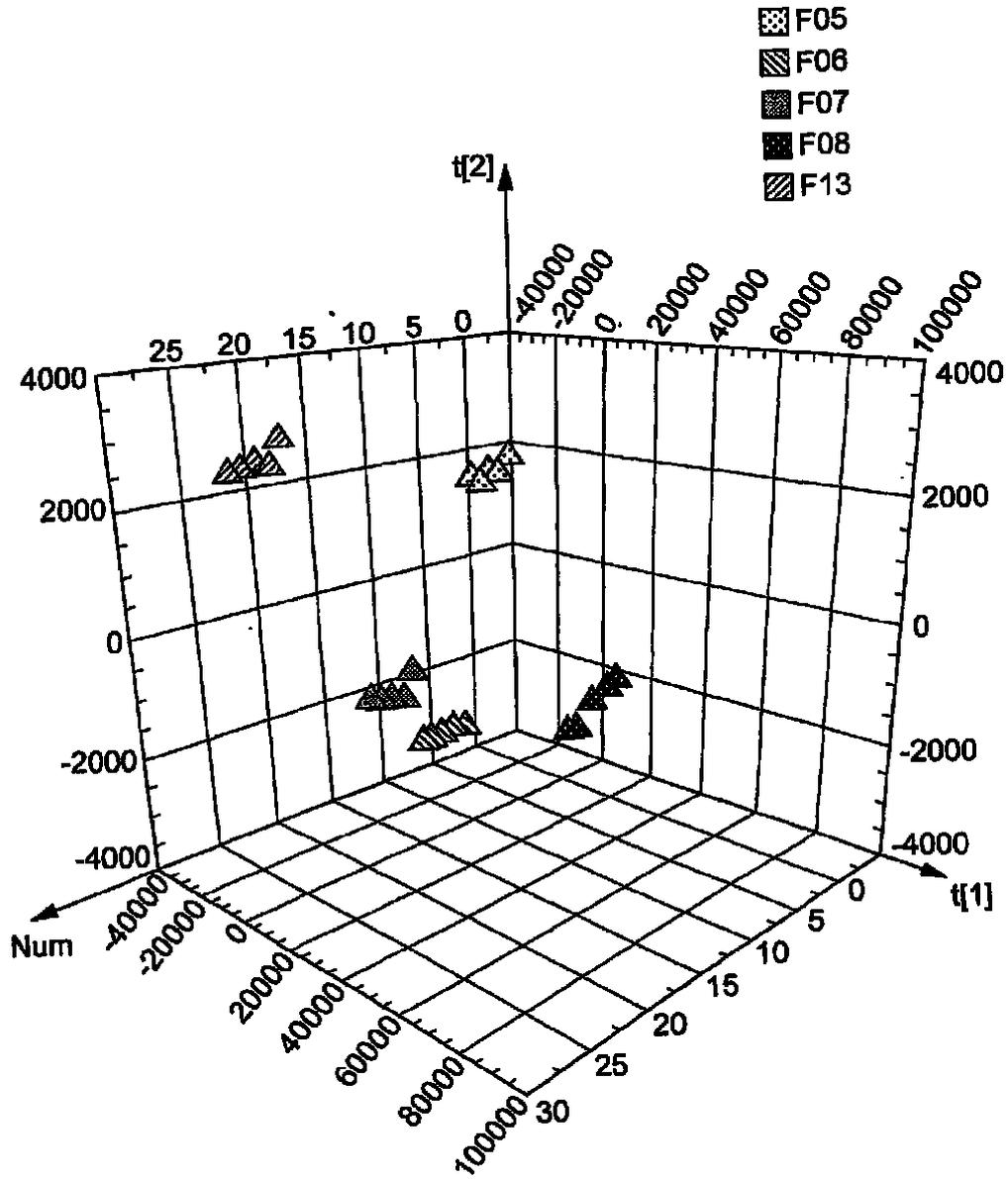


FIG. 3

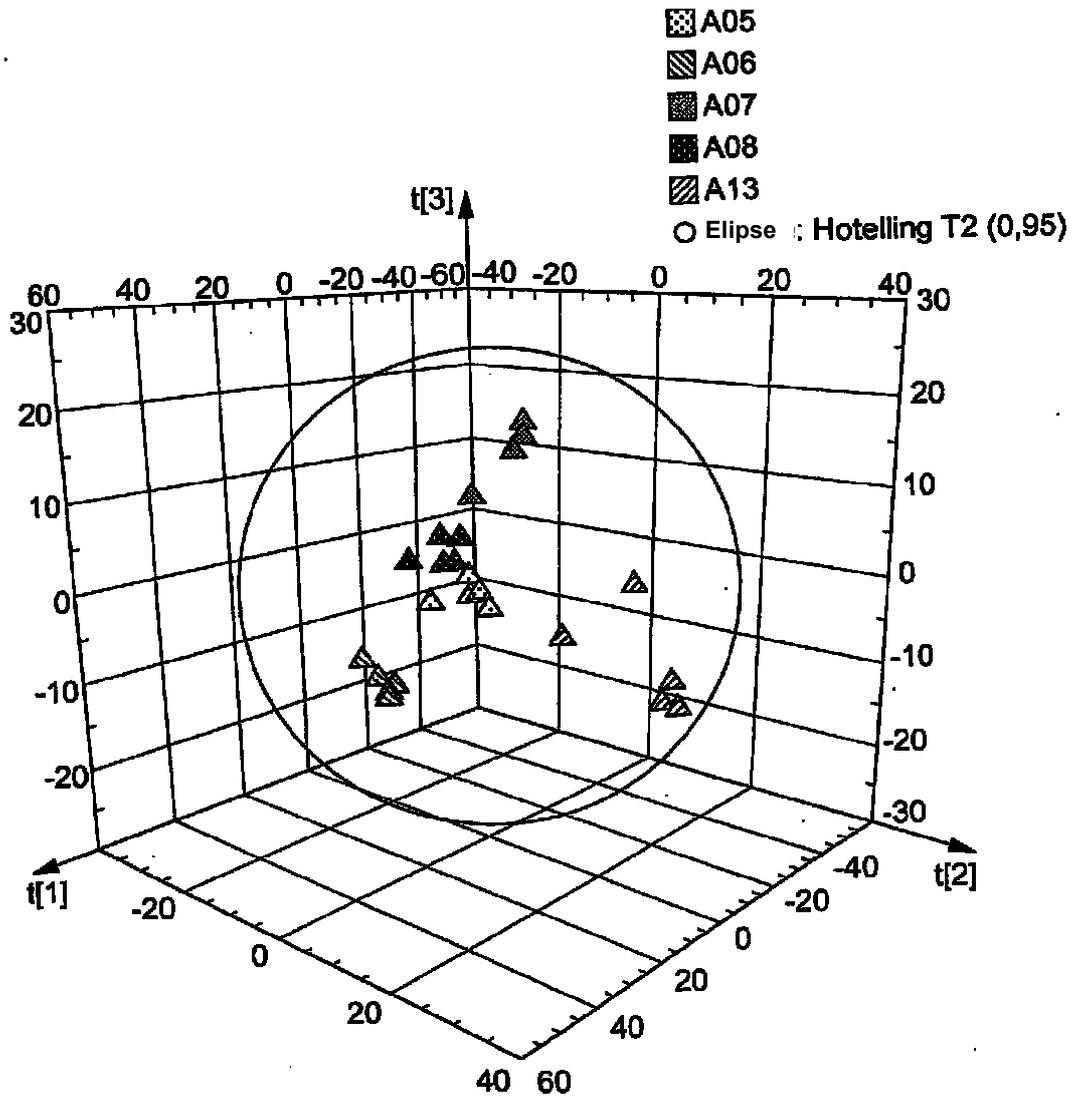


FIG. 4

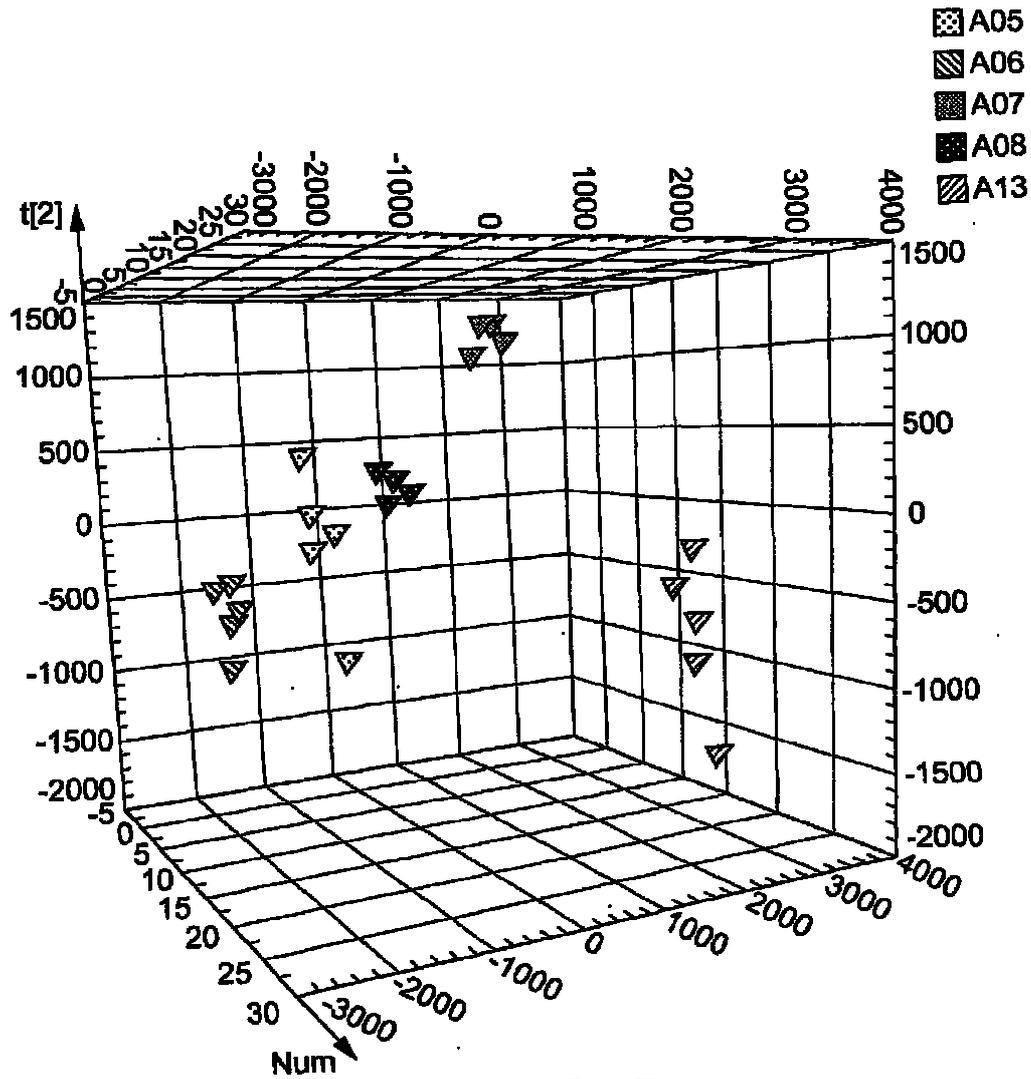


FIG. 5

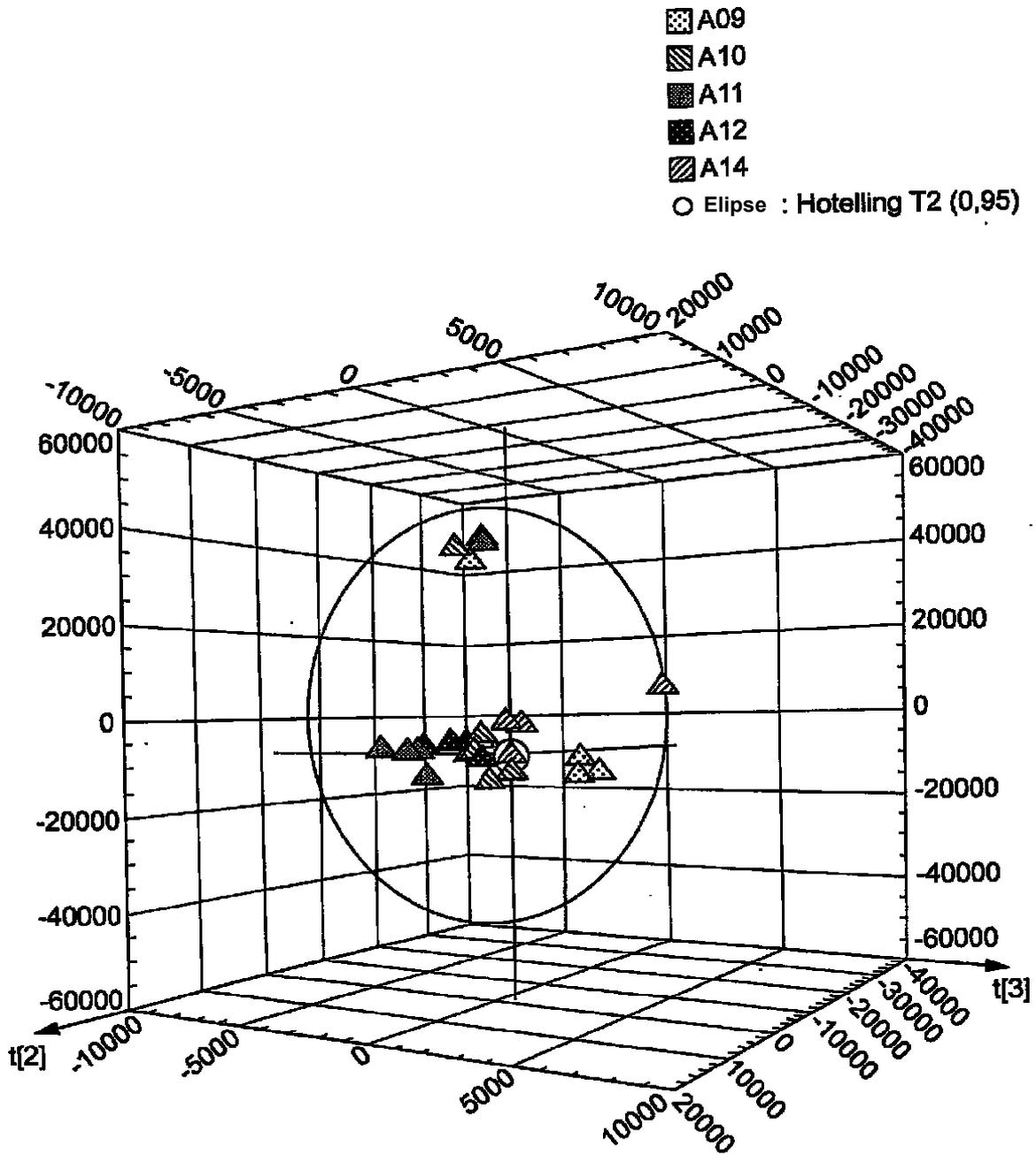
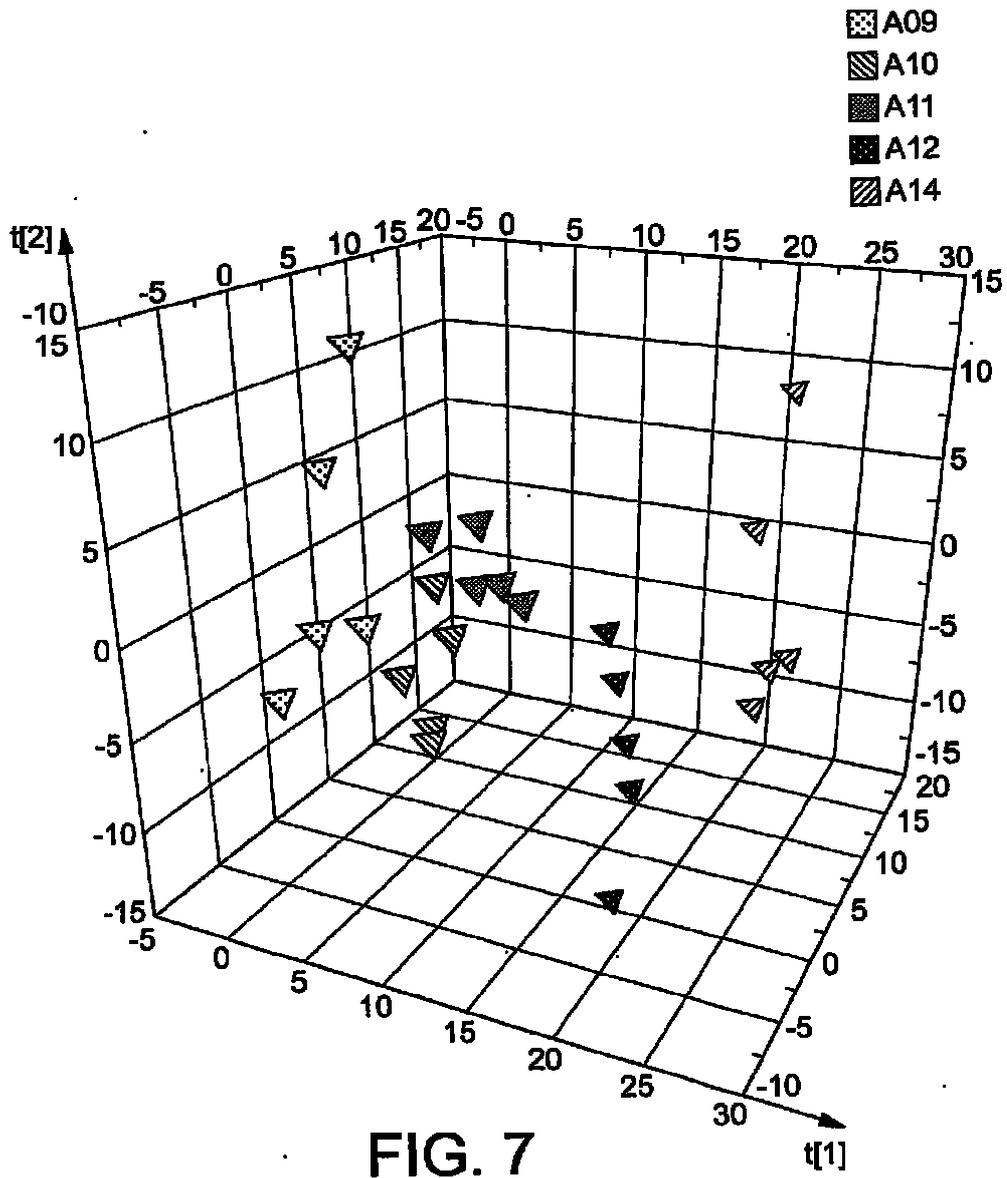


FIG. 6



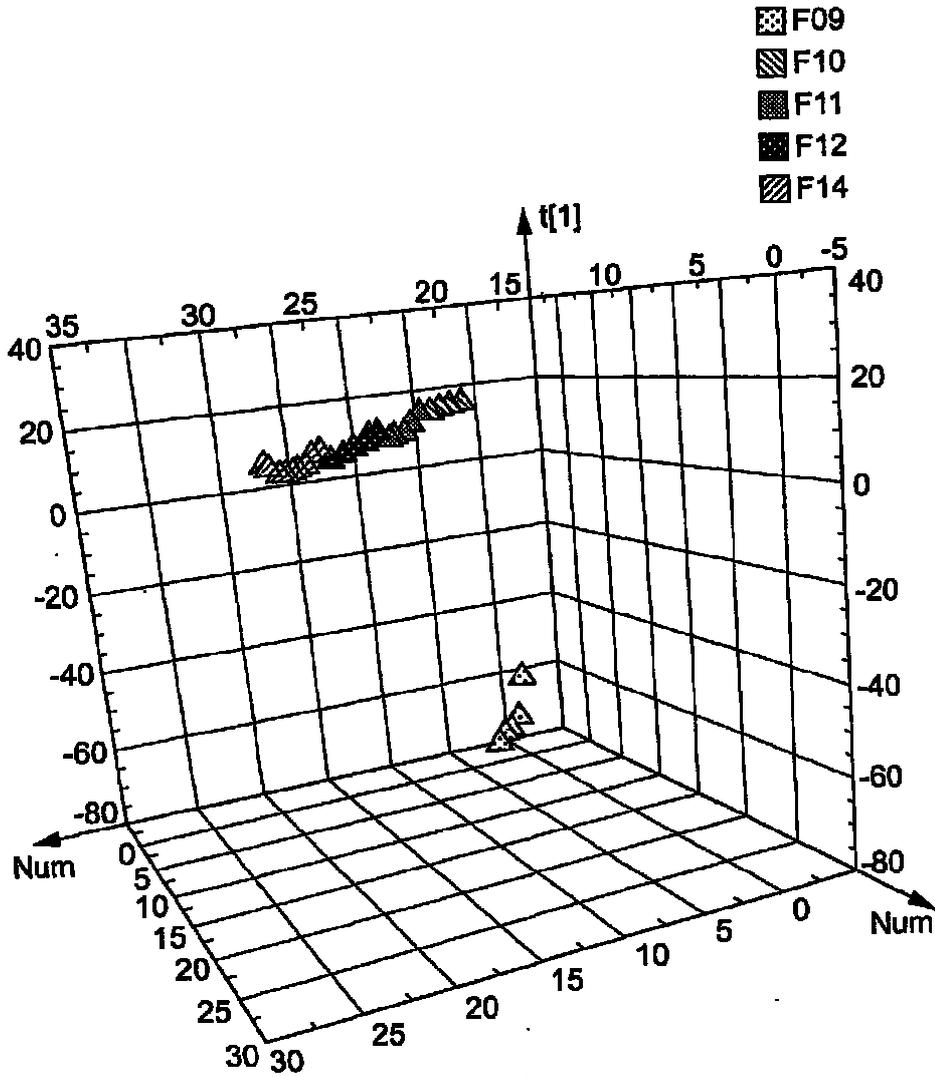


FIG. 8

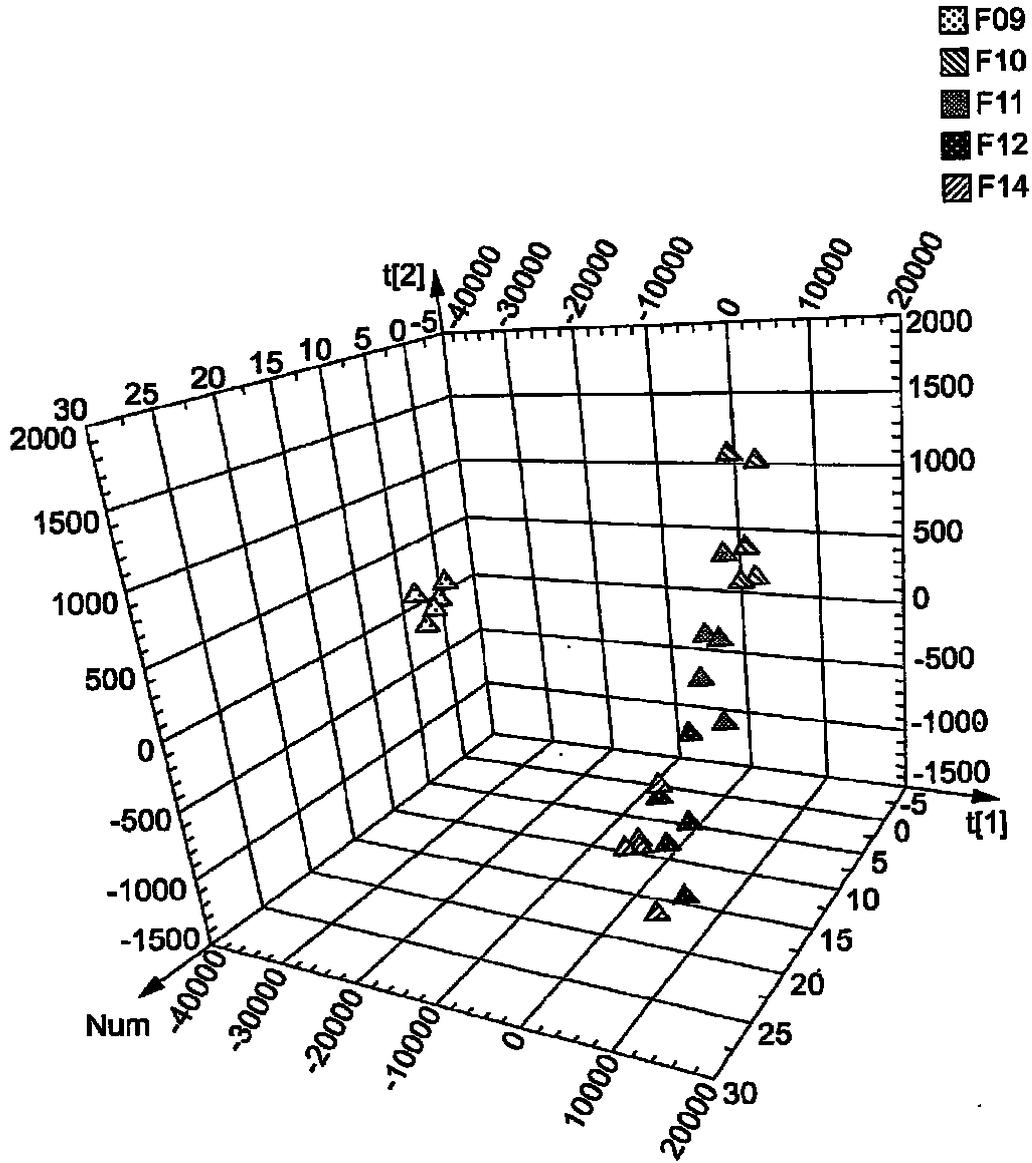


FIG. 9