

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 553**

51 Int. Cl.:

C12P 5/02 (2006.01)

C12P 7/04 (2006.01)

C12N 1/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.02.2009** **E 09715546 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015** **EP 2252695**

54 Título: **Procedimiento para la fermentación de biomasa**

30 Prioridad:

25.02.2008 AT 3112008

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

19.02.2016

73 Titular/es:

ROTH, HERMANN (100.0%)
Bachhöller Weg 5
65346 Eltville, DE

72 Inventor/es:

ROTH, HERMANN

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 560 553 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

Procedimiento para la fermentación de biomasa

La invención se refiere a un procedimiento para la fermentación de biomasa, especialmente un procedimiento para la fermentación de biomasa para la obtención de portadores de energía, por ejemplo biogas, carburantes biogénicos, etc..

La generación de energía, es decir corriente eléctrica, biogas tal como, por ejemplo, metano, carburantes biogénicos, respectivamente aditivos para carburantes tales como, por ejemplo, butanol o etanol, a partir de materias primas renovables tiene mundialmente un alto significado político y económico y prioridad económica en muchos países, los cuales disponen de materias primas procedentes de la economía agraria, de la economía forestal o de la economía de los residuos. En la Unión europea, en Norteamérica así como en el Brasil se concede prioridad legal el empleo de biocombustible como componente de mezcla al combustible convencional, y la adición de etanol o biodiesel al carburante convencional está legalmente indicada. La energía procedente del viento y del sol, así como de la fermentación de biomasa y la subsiguiente conversión en corriente eléctrica se incorpora en los sistemas energéticos. Además, el biogas se puede purificar y utilizar después en las redes de distribución de gas natural existentes para la generación de calor o corriente o para el funcionamiento de vehículos de motor.

En la fermentación de sustratos vegetales tales como cereales, granos, hierbas, materiales fibrosos tales como materiales de madera, y sus componentes tales como albúmina, almidón, sustancias de extracción exentas de nitrógeno, celulosa, grasas, etc., de residuos descomponibles que contienen biomasa, tales como lodo de depuradora, basura orgánica o restos de comida, o procedentes de abonos de origen animal tales como estiércol líquido, excrementos o purines, determinados microorganismos, como por ejemplo bacterias u hongos y sus enzimas, descomponen en medio aerobio o anaerobio esta biomasa a compuestos de cadenas cortas. Otros microorganismos (por ejemplo bacterias *Metanobacter*) están en condiciones entonces de sintetizar, por ejemplo a partir de ácidos grasos/ácidos carboxílicos de cadena corta tales como ácido acético, gases ricos en energía tales como metano, o alcoholes tales como etanol o butanol, etc.. Estos microorganismos se presentan en el caso ideal como cultivo puro en el fermentador. Sin embargo, en la práctica van siempre acompañados de una flora bacteriana desfavorable, que limita la eficacia de la microflora favorable. Algunos de estos gérmenes no deseados, en el caso más desfavorable pueden llegar a aniquilar incluso toda la fermentación por rechazo o envenenamiento de la flora deseada y llevar a un fallo total del proceso.

Por lo tanto, existen intentos de mejorar la eficacia del proceso de fermentación por adecuadas medidas. Por ejemplo, por intervención en la alimentación de los microorganismos se puede fomentar la deseada flora bacteriana en el fermentador, se puede estimular su eficacia y minimizar a un mínimo el efecto perjudicial y la presencia de gérmenes no deseados.

Sing S. et al., *Bioresource Technology*, vol. 78 (2001): 313-316 describe la utilización de estimulantes en la fermentación a biogas. Como estimulantes se emplean los productos "Aquasan" o "Teresan". En este caso se trata de preparados de origen vegetal que contienen ésteres esteroideos.

En cada proceso biológico también hay bacterias, levaduras y unicelulares no deseados que como nutrientes necesitan productos de degradación de los aminoácidos, las denominadas aminas biogénicas, las cuales las obtienen por descarboxilación enzimática de aminoácidos tales como, por ejemplo, cadaverina por descarboxilación de lisina o indol, respectivamente escatol por descarboxilación de triptófano o fenilalanina. Estas aminas son sustancias venenosas, las cuales igualmente influyen negativamente sobre la deseada biología del fermentador o que incluso la pueden envenenar y llevar así a un rechazo de la flora de microorganismos deseada en el fermentador. Por lo tanto, es importante contrarrestar por adecuadas intervenciones en la fermentación o en su medio el efecto de tales organismos no deseados o inactivos en el fermentador sus descarboxilasas por adecuados inhibidores e interrumpir así la formación de aminas biogénicas ya al principio de esta cascada.

Expertos en la materia saben que la degradación de almidón en el fermentador tiene lugar de forma relativamente rápida, especialmente cuando se trata de granos de almidón de patata o de cereales. Por el contrario, los granos de almidón del maíz se degradan por fermentación a los ácidos grasos/ácidos carboxílicos de cadenas cortas de manera ya claramente más lenta. Para que un fermentador funcione lo más eficientemente posible el objetivo debe ser, sin embargo, optimizar la velocidad de la fermentación para que en un tiempo dado, en el volumen existente del fermentador, transformar a ser posible mucha biomasa en sustancias energéticas. Por ello, para el aprovechamiento de la planta es decisiva especialmente la velocidad de fermentación y que debería ser maximizada.

La degradación de sustancias de extracción exentas de N (NfE), de sustancias fibrosas tales como celulosa o fibra bruta, o la degradación de materiales de madera tales como lignina a productos de degradación ricos en energía, los cuales están a disposición después, por ejemplo para la síntesis de metano, transcurre por el contrario de manera más lenta en comparación con la degradación de otros componentes de la biomasa, y determina el tiempo de permanencia del sustrato orgánico en el fermentador y, con ello, el aprovechamiento de toda la planta técnica.

- Sin embargo, estas sustancias degradadas lentamente son, especialmente como carbohidratos de almidón, la parte determinante de la biomasa de tallos y hierbas suministradora de energía, y determinan así el tiempo de permanencia total del sustrato en el fermentador. Ralentizan por lo tanto el proceso de fermentación y hacen necesarios volúmenes técnicos más amplios que lo que por motivos biológicos fuera necesario. Por otro lado, en la
- 5 producción de biogas precisamente a partir de estas sustancias se produce el deseado producto intermedio acetato, el cual es transformado después eficientemente en metano. La velocidad de degradación de estas sustancias de almidón a acetato es, por consiguiente, en muchos casos el factor limitante del rendimiento global en metano de un fermentador o de otros productos finales ricos en energía tales como butanol o etanol, en una unidad de tiempo previamente dada.
- 10 Junto a la velocidad de degradación de estos carbohidratos de almidón, la cual es una medida de la eficacia de la planta por tiempo, juega también un importante papel la degradación total de estos carbohidratos de almidón, es decir la parte de carbohidratos de almidón que ha sido degradada al final de la fermentación en comparación con el resto, no fermentado, de sustancias de almidón que existe aún intacto
- 15 Por lo tanto, por adecuadas intervenciones en la fermentación o por adición de sustancias que estimulan la fermentación de las sustancias de almidón, se tiene que acelerar por un lado la velocidad de degradación de los carbohidratos de almidón y, por otro lado, se tiene que aumentar su degradación global, la cual también es una medida del rendimiento en productos finales ricos en energía, en relación a la carga de carbohidratos de almidón, introducida
- 20 La presente invención propone un procedimiento para la fermentación de biomasa. El procedimiento se caracteriza conforme a la invención por que como inductor de la fermentación se añade al menos un alcaloide isoquinolínico.
- Conforme a una forma de ejecución de la invención, se ha previsto un procedimiento para la producción de biogas por fermentación de biomasa, en el cual como inductor de fermentación se añade al menos un alcaloide isoquinolínico.
- 25 Conforme a otra forma de ejecución de la invención se ha previsto un procedimiento para la producción de combustible biogénico o aditivo de combustible por fermentación de biomasa, en el cual como inductor de fermentación se añade al menos un alcaloide isoquinolínico.
- Es una ventaja de la invención que en las plantas agrícolas, comunales o industriales para la generación de biogas o de combustibles biogénicos o aditivos de combustibles por fermentación de biomasa se puedan acelerar y estabilizar los transcurso de la fermentación.
- 30 En los procedimientos citados anteriormente se puede emplear, además, como inductor de fermentación una levadura viva, preferentemente *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126. Las levaduras vivas tales como *Saccharomyces cerevisiae* fomentan en sistemas anaerobios la degradación del ácido láctico e impiden así una caída del valor del pH, que podría aniquilar la fermentación. Además, transforman el oxígeno no deseado en dióxido de carbono y aseguran así las condiciones anaerobias, de manera que se fomentan las bacterias anaerobias que
- 35 determinan la fermentación, y el proceso deseado se estabiliza y se estimula.
- La dosificación de levadura viva puede variar en un amplio intervalo. Por ejemplo, bajo circunstancias desfavorables, es decir circunstancias enemigas de la reproducción de la levadura viva, se utiliza una dosis elevada. La dosificación se sitúa preferentemente en el intervalo de 1 a 500 g por tonelada de sustancia seca de la biomasa utilizada.
- 40 La levadura viva, por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 00112, se puede presentar en forma de polvo, como líquido o como pasta. Se dispone en el recinto de fermentación al mismo tiempo que la biomasa o separado de ella.
- Conforme a la invención, los alcaloides isoquinolínicos añadidos para fomentar la fermentación se seleccionan preferentemente de alcaloides de protopina, alcaloides de benzofenantridina o sus mezclas. Los alcaloides pueden ser de origen natural y/o sintético. Se pueden utilizar en forma de componentes vegetales o de zumo prensado de
- 45 vegetales. Los alcaloides se pueden utilizar también como extractos de materiales vegetales. Los extractos utilizables en el procedimiento conforme a la invención se pueden preparar por cualquier procedimiento conocido, y se pueden emplear, por ejemplo, extractos acuosos y/o alcohólicos y/o extractos de CO₂. Los alcaloides se pueden utilizar también en forma de sales.
- Los alcaloides utilizados como fomentadores de fermentación pueden proceder por ejemplo de Papaveraceae.
- 50 Como ejemplos de Papaveraceae adecuadas se pueden citar *Macleaya cordata*, *Sanguinaria canadensis*, *Chelidonium majus*, etc.. Como ejemplos de alcaloides adecuados se pueden citar sanguinarina, sus formas hidroxiladas, quelitrina y sus formas hidroxiladas, quelidonina, quelirubina, sanguirubina, quelilutina, sanguilutina, protopina, α-alocriptopina, etc..

Naturalmente, se pueden utilizar mezclas arbitrarias de alcaloides sintéticos, alcaloides de origen natural, extractos de materiales vegetales, sales de alcaloides, materiales vegetales que contienen alcaloides y los zumos exprimidos de vegetales que contienen alcaloides.

- 5 Los alcaloides se pueden presentar en diferentes preparados, por ejemplo como líquido, como preparado pulverulento, como granulado o como gel. El preparado que contiene alcaloide se añade a la biomasa respectivamente en forma adecuada, de manera que se garantice una mezcladura homogénea.

La cantidad de alcaloide empleada está limitada hacia abajo únicamente por la eficacia de los alcaloides. La cantidad total de alcaloide referida a la sustancia seca de la biomasa se sitúa preferentemente en el intervalo de 0,1 a 500 ppm (= 0,1 a 500 g de alcaloide por tonelada de masa seca del sustrato de fermentación).

- 10 En el procedimiento citado anteriormente se puede emplear, además, como fomentador de fermentación un complejo enzimático que contenga al menos una polisacaridasa. Como ejemplos de polisacaridasas se pueden citar β -glucanasa, celulasa, xilanasa, amilasa, glucosidasa, galactosidasa, pectinasa, quitinasa, lisozima, alginato-liasas, amiloglucosidasa, arabinasa, hemicelulasa, etc.. El complejo enzimático puede contener, además, por ejemplo proteasas y lipasas. Un ejemplo particularmente preferido de un complejo enzimático de este tipo contiene β -glucanasa, así como proteasas y lipasas.

Las polisacaridasas contenidas en este fomentador de fermentación pueden ser producidas por diferentes bacterias y levaduras. Como ejemplo, se pueden citar levaduras del género *Thermomyces lanuginosus*. Las polisacaridasas pueden ser producidas también por microorganismos modificados por técnicas genéticas.

- 20 La dosificación del complejo enzimático que contiene polisacaridasa puede variar en un amplio intervalo. La cantidad de polisacaridasa se sitúa preferentemente en el intervalo de 1 a 500 g por cada tonelada de sustancia seca de biomasa.

El complejo enzimático que contiene polisacaridasa se puede presentar en forma de polvo, como líquido o como pasta. Se dispone en el recinto de descomposición al mismo tiempo que la biomasa aportada o separado de ella.

- 25 A la fermentación se puede añadir una combinación de una levadura viva, preferentemente *Sacharomyces cerevisiae* NCAIM 001126, un complejo enzimático que contenga al menos una polisacaridasa y al menos un alcaloide de protopina y/o un alcaloide de benzofenantridina. Un complejo enzimático particularmente preferido contiene β -glucanasa y celulasa, así como proteasas y lipasas. En una forma de ejecución preferida de la fermentación de biomasa la combinación fomentadora de la fermentación se añade en una cantidad en el intervalo de 1 a 500 ppm, referida a la sustancia seca de biomasa.

- 30 Los fomentadores de la fermentación utilizados conforme a la invención se emplean preferentemente para fermentaciones en un intervalo de temperaturas de 15 a 80°C.

- 35 La biomasa utilizable como sustrato en el procedimiento conforme a la invención puede estar constituida por productos agrícolas, respectivamente por vegetales energéticos cultivados de forma preestablecida tales como cereales, hierbas, trebol, alfalfa, ensilado de maíz, centeno verde, nabos, colza, paja, pulpa de madera, etc.. o por residuos descomponibles que contengan biomasa tales como lodo de depuradora, desperdicios industriales, residuos biológicos, restos de comida, etc., y abonos de origen animal tales como estiércol líquido, excrementos, purines, etc.. Se pueden utilizar mezclas de diferentes materiales de partida.

- 40 El sustrato se desintegra en una primera fase del proceso de fermentación, la cual se denomina también hidrólisis. A esto le sigue la descomposición por los microorganismos designados como "fermentos", especialmente bacterias (por ejemplo bacterias que escinden las grasas, bacterias acidogénicas, bacterias acetogénicas) que facultativamente son anaerobias. Los productos técnicamente relevantes de esta descomposición son sobre todo alcoholes (por ejemplo metanol, etanol, 1,3-propanodiol) y ácidos (por ejemplo ácido acético, ácido láctico, ácido butírico, ácido propiónico). El alcohol obtenido, especialmente el denominado bioetanol, se puede utilizar por ejemplo como carburante o aditivo de carburante.

- 45 A la descomposición puede seguir otra etapa que obligatoriamente es anaerobia, y en la cual a partir de los sustratos metanogénicos obtenidos en una primera etapa de descomposición, con ayuda de microorganismos (por ejemplo bacterias acetogénicas, formadoras de metano) se obtiene como producto final el biogas, metano.

- 50 El procedimiento para la fermentación de biomasa bajo adición de los fomentadores de la fermentación conforme a la presente invención se puede llevar a cabo tanto en plantas de alimentación discontinua (por ejemplo, procedimientos por lotes o procedimientos con cambio de recipientes) como también en plantas con alimentación casi continua o continua (por ejemplo procedimientos de flujo, procedimientos de almacenamiento o procedimientos combinados de flujo-almacenamiento), así como, por ejemplo, procedimientos de descomposición en seco, procedimientos de contenedor, procedimiento de flujo de pistón (plug flow), fermentadores de cajas, etc..

En todos los casos, las ventajas del procedimiento conforme a la invención se encuentran en que se acelere tanto la velocidad de fermentación de la biomasa y, así, la capacidad de un fermentador, como que también aumente significativamente la degradación total de la sustancia orgánica para dar el producto de fermentación. El procedimiento conforme a la invención conduce a que,

- 5 a) mejora la composición de la población de microorganismos a favor de la flora de microorganismos deseada para la respectiva fermentación,
b) se incrementa claramente la producción del deseado acetato,
c) se incrementa significativamente el rendimiento total en producto final (biogas, tal como metano, alcohol tal como etanol, butanol, etc.),
- 10 d) se reduce la degradación de aminoácidos del material de fermentación a aminas biogénicas enemigas de la fermentación, no deseadas,
e) estimula la flora bacteriana deseada en el fermentador y disminuye la flora bacteriana no deseada,
f) se puede influir de forma preestablecida sobre el proceso de fermentación, de manera que se optimicen las condiciones del medio (valor del pH, contenido de sal, abastecimiento de nutrientes, etc.) para los microorganismos que participan en la conversión,
- 15 g) influye positivamente sobre la velocidad de fermentación de almidón y materiales fibrosos e incrementa así la capacidad y aprovechamiento del fermentador,
h) sube el rendimiento total en gas rico en energía o en productos líquidos por unidad de sustrato aportada respectivamente,
- 20 i) por la fermentación más homogénea a lo largo del eje del tiempo se estabiliza también el valor del pH en el fermentador y el rendimiento en producto se incrementa y su transcurso a lo largo del tiempo es más estable, es decir tiene lugar sin grandes oscilaciones,
j) con ello, la planta para la generación de energía (máquina dinámica) pueda funcionar con mayor aprovechamiento o/y de forma más homogénea y rentable,
- 25 k) con ello, el funcionamiento de las plantas de biogas o plantas para la producción fermentativa de fuentes de energía líquidas tales como etanol, butanol, etc. tienen razón de ser también bajo puntos de vista más críticos o de rentabilidad.

A continuación, con ayuda de ejemplos se expondrá con más detalle la invención.

EJEMPLOS

30 Ejemplo 1:

Utilización de alcaloides isoquinolínicos como fomentadores de fermentación

- 35 Los ensayos llevados a cabo por el inventor de la presente invención para la obtención de biogas, respectivamente alcoholes, por fermentación de biomasa en los denominados fermentadores de pistón han puesto de manifiesto que la adición de alcaloides isoquinolínicos, especialmente alcaloides de protopina y/o alcaloides de benzofenantridina, estimulan la población de bacterias para la fermentación a favor de los microorganismos deseados. Los alcaloides disminuyen la producción de microorganismos formadores de ácido butírico, no deseado, y estabilizan así el proceso de fermentación, lo que redunda de nuevo positivamente sobre la actividad de los formadores de acetato y metano. Esto lleva a una degradación global, incrementada, de la masa orgánica empleada como sustrato a ácidos grasos/ácidos carboxílicos de cadena corta ricos en energía, los cuales después, por ejemplo en la planta de biogas,
- 40 están disponibles para la generación de metano. Con ello se obtiene en total un rendimiento energético incrementado.

En función de la dosis de los alcaloides se consiguió la siguiente mejora del rendimiento en gas:

Condiciones de ensayo:

- 45 Incubación en el fermentador de pistón, armario térmico con mecanismo de agitación continua. 3 dosificaciones, 3 repeticiones por dosificación. Rendimiento específico en gas en Nm³/kg de oTS (oTS = sustancia orgánica seca).

Biomasa fermentada: cereales, maíz, estiércol líquido y excrementos del ganado

Microorganismos: se utilizó la flora mixta de un reactor de biogas de funcionamiento óptimo, la cual se compone de aproximadamente 200 cepas microbianas individuales, protozoos, bacterias, levaduras y hongos.

Alcaloides: sanguinarina y queleritrina. Concentración global de los alcaloides en la mezcla previa de alcaloides empleada como fomentador de fermentación: 3%.

Condiciones de la fermentación: anaerobia, 40°C, presión normal del aire.

Días de fermentación	1	5	10	15	20	25	30	35
Rendimiento en gas con alcaloides de benzo-fenantridina	0,05	0,31	0,52	0,59	0,63	0,64	0,65	0,66
Rendimiento en gas control	0,05	0,27	0,45	0,55	0,6	0,61	0,62	0,63
Diferencia absoluta	0	0,04	0,07	0,04	0,03	0,03	0,03	0,03
Diferencia en %	0	15%	16%	7%	5%	5%	5%	5%

- 5 Se aprecia que la adición de alcaloides de benzofenantridina en forma de una mezcla previa al 3% con la dosificación de la mezcla previa de 1, 10 y 100 ppm incrementa respectivamente el rendimiento en gas en los primeros 15 días en 10 a 15% en comparación con el medio de control y en el día 20 se alcanza ya el máximo rendimiento rentable en gas. El grupo de control no alcanza nunca este rendimiento en gas en el transcurso del ensayo. La diferencia a favor del fomentador de fermentación que contiene alcaloides conforme a la invención, es hasta el final del ensayo 5%. La duración del ensayo corresponde aproximadamente al marco temporal de la fermentación en grandes fermentadores prácticos. Por lo tanto, estos resultados son relevantes en la práctica y factibles.

- 15 Por lo tanto, por la adición de alcaloides de benzofenantridina se puede incrementar el rendimiento global en gas al final del transcurso de la fermentación en al menos 5%, el rendimiento en los 15 primeros días era incluso 15 a 16% mayor, lo que apunta a una estimulación de la velocidad de fermentación por una actividad bacteriana más eficiente. Pero también se puede reducir el tiempo de permanencia del sustrato en el fermentador en 30% del tiempo, y ciertamente con igual rendimiento en productos de degradación ricos en energía, tales como acetato o biogas o etanol, etc., es decir que se puede aportar al fermentador en el mismo espacio de tiempo 30% más de masa orgánica y transformarla a productos deseados e incrementar así la masa fermentada y el rendimiento en productos en los primeros 18 días de fermentación en 30% o, en caso de una inversión nueva, planificar el fermentador un 30% más pequeño y, aún así, transformar la misma cantidad de biomasa en producto (= metano rico en energía) e incrementar así drásticamente la eficiencia de la inversión.

Ensayo análogos con otros alcaloides de protopina y/o de benzofenantridina proporcionaron resultados comparables.

25 Ejemplo 2 (ejemplo comparativo):

Utilización de un complejo enzimático que contiene al menos una polisacaridasa como fomentador de fermentación

- 30 Los procesos de fermentación son procesos multifuncionales y en el proceso intervienen los factores más diferentes, especialmente en el proceso de la fermentación de componentes fibrosos. Puesto que la flora bacteriana del fermentador está expuesta a continuas oscilaciones en cuanto a su composición, clase, densidad en el medio (KBE/g = unidades de colonias que lo forman/g) etc., su producción de enzimas para la degradación del sustrato orgánico está sujeta también a oscilaciones diarias, anuales o climáticas. Por este motivo, el fermentador, en virtud de su producción microbiana de enzimas degradantes de fibra continuamente subóptima, no puede ser aprovechado nunca hasta su límite de capacidad. Los fallos y las oscilaciones en el aporte del sustrato tienen igualmente una gran influencia. Esto puede afectar la calidad del sustrato, la temperatura, la hora del día, pero también las sustancias extrañas, sustancias nocivas, contenido de agua, etc..

- 35 Por lo tanto, como fomentador de la fermentación se añade un complejo enzimático para la desintegración preestablecida de los componentes fibrosos. En este caso se consideran especialmente las enzimas que mejoran la degradación de sustratos difícilmente degradables tal como es sobre todo la fracción de lignina y fibras en bruto del sustrato. Por ello, se puede incrementar el rendimiento global del deseado gas o de los líquidos ricos en energía, y el transcurso de la fermentación se puede hacer más constante y elevarla a un nivel más efectivo.

- 40 El complejo enzimático añadido como fomentador de la fermentación contiene al menos una polisacaridasa. Por ello, mejora significativamente la digestibilidad y el grado de aprovechamiento global de los carbohidratos de almacén tales como celulosa, lignina o NfE (sustancias de extracción exentas de N). Puesto que en las plantas de fermentación para la producción de biogas o carburantes biogénicos estos carbohidratos son habitualmente un componente esencial de la biomasa empleada, es importante un aprovechamiento eficiente de estos materiales fibrosos para que estas plantas funcionen de forma rentable y para optimizar el aprovechamiento de estas materias primas.

Ensayos del inventor de la presente invención con un fermentador para la generación de biogas utilizando un complejo enzimático que contiene al menos una polisacaridasa mostraron efectos acusadamente positivos en cuanto a que la degradación global de los carbohidratos de armazón y la velocidad de la degradación de estos sustratos mejoraron significativamente.

5 Condiciones del ensayo:

Incubación en el fermentador de pistón. 3 dosificaciones, 3 repeticiones por dosificación. Rendimiento específico en gas en Nm³/kg de oTS (oTS = sustancia orgánica seca).

Biomasa fermentada: cereales, heno, hierba, maíz, estiércol líquido.

10 Microorganismos: población mixta habitual de un fermentador de biogas. Se utilizó la flora mixta de un fermentador con funcionamiento óptimo, la cual se compone de aproximadamente 200 cepas microbianas individuales, protozoos, bacterias, levaduras y hongos.

Fomentadores de fermentación: el complejo enzimático añadido, el cual se debe designar aquí como fermento Rumi contiene β -glucanasa y celulasa, así como proteasas y lipasas.

Condiciones de la fermentación: anaerobia, 40°C, presión normal del aire.

Días de fermentación	1	5	10	15	20	25	30	35
Rendimiento en gas con complejo enzimático	0,05	0,3	0,52	0,6	0,64	0,65	0,66	0,66
Control del rendimiento en gas	0,05	0,25	0,45	0,55	0,6	0,62	0,62	0,63
Diferencia absoluta	0	0,05	0,07	0,05	0,04	0,03	0,04	0,03
Diferencia en %	0	20%	16%	9%	6%	5%	6%	5%

15 Con la adición del complejo enzimático que contiene polisacaridasa se pudo modificar positivamente tanto la generación de gas en los primeros 15 días de fermentación como también se pudo incrementar significativamente el rendimiento global en biomasa, a saber en 5%. La polisacaridasa mejora por lo tanto significativamente el aprovechamiento de los carbohidratos de armazón tales como celulasa o fibra de madera, lo que provoca una mayor formación de acetato, el cual se puede transformar después por los productores de metano en el deseado biogas metano.

20 Esto tiene la mayor utilidad económica especialmente en todas las plantas que utilizan como sustrato material vegetal rico en fibras tal como ensilado de maíz, ensilado de plantas enteras (GPS) de cereal, ensilado de hierba, pulpa de nabos, remolacha azucarera, paja de todo tipo, materiales de madera, carrizal, residuos de materiales verdes procedentes de cortes de césped o de prados.

25 Ejemplo 3 (ejemplo comparativo):

Utilización de levaduras vivas como fomentador de fermentación en el ejemplo de *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126

30 La fermentación de biomasa a ácidos grasos/ácidos carboxílicos de cadena corta, disponibles después para la metanogénesis, funciona tanto más eficientemente cuanto más óptimo sea el valor del pH en el sistema y cuanto mejor alejado del sistema se pueda mantener el oxígeno del aire.

Sin embargo, por el aporte diario de biomasa en el fermentador, con la voluminosa biomasa y su entremezclado en el mezclador de entrada, se introduce día a día mucho oxígeno nuevo en la fermentación, lo que puede llevar a descomposiciones defectuosas y al desarrollo de gérmenes no deseados.

35 Por el aporte de carbohidratos de fácil digestión, tales como cereales o ensilado de maíz o ensilado de mazorcas de maíz se introduce una considerable cantidad de ácido láctico (lactato) que podría reducir el valor del pH drásticamente y, así, llegar a aniquilar la fermentación. Células de levaduras vivas fomentan y estimulan de forma conocida el metabolismo del ácido láctico por bacterias tales como *Streptococcus bovis* para dar hidrógeno y carbono y evitan así que el ácido láctico, enriquecido como ácido de efecto fuerte, disminuya peligrosamente el valor del pH.

40 Además, las células de levaduras vivas necesitan oxígeno y pueden liberar dióxido de carbono. En un ensayo llevado a cabo por el inventor de la presente invención se añadió por lo tanto a la fermentación una cepa seleccionada de una levadura viva, a saber *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126. Se puso de manifiesto que esta clase, por su consumo continuo de oxígeno y la degradación del ácido láctico fomentado por ella, estabilizan el valor del pH en el fermentador y estabilizan y mejoran la fermentación.

Condiciones de ensayo:

Incubación en el fermentador de pistón. 3 dosificaciones, 3 repeticiones por dosificación. Rendimiento específico en gas en Nm³/kg de oTS (oTS = sustancia orgánica seca).

Biomasa fermentada: como en el ejemplo 1, respectivamente 2

- 5 Microorganismos: se utilizó la flora mixta de un reactor de biogas de funcionamiento óptimo, la cual se compone de aproximadamente 200 cepas microbianas individuales, protozoos, bacterias, levaduras y hongos.

Condiciones de la fermentación: anaerobia, 40°C, presión normal del aire.

Días de fermentación	1	3	5	8	10
Rendimiento en gas con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,05	0,22	0,30	0,48	0,50
Control del rendimiento en gas	0,05	0,20	0,26	0,40	0,46
Diferencia absoluta	0	0,02	0,04	0,08	0,04
Diferencia en %	0	10%	15%	20%	9%

- 10 El ensayo se llevó a cabo en un sistema estacionario (fermentador de pistón) al cual solo al comienzo del ensayo se aportó oxígeno y que a continuación se cerró de forma estanca al oxígeno. Así se pudo simular el consumo de oxígeno por la levadura directamente después del aporte de la biomasa y mostrar la actividad de la generación de gas.

- 15 Se pudo mostrar que la cepa especialmente seleccionada *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126 incrementa significativamente tanto la velocidad de la fermentación como también el rendimiento global de producto en forma de gas. Se puede utilizar naturalmente cualquier otra cepa de levadura cuya propiedad característica sea el consumo de oxígeno y/o el fomentar la degradación del ácido láctico.

Ejemplo 4:

Adición de una combinación de alcaloides de benzofenatridina + complejo enzimático que contiene polisacaridasa + *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126

- 20 Para examinar los efectos sinérgicos de la adición de varios fomentadores de fermentación, se empleó la siguiente combinación:

- sanguinarina y quelitrina, concentración global de los alcaloides en la mezcla previa de alcaloides: 3%.
- β-glucanasa y celulasa, así como proteasas y lipasas,
- *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126.

- 25 En un funcionamiento práctico se aplicó el siguiente ensayo:

Al comienzo del ensayo el fermentador estaba repleto con sustrato estándar sin la mencionada combinación para fomentar la fermentación. El sustrato estándar era una mezcla de biomasa de ensilado de maíz, excrementos, ensilado de hierba, cereales, etc.

- 30 La combinación para fomentar la fermentación se dosificó más alta en la primera semana para que el fermentador (2 veces respectivamente 1206 metros cúbicos de digestor) alcanzara rápidamente una concentración deseada de los productos deseados por metro cúbico.

- 35 Como dosificación de los respectivos productos se eligió aquella que en los ensayos en el fermentador de pistón había obtenido los mejores resultados. Esta era 30 g de la mezcla previa de alcaloides por tonelada de masa seca, 50 g del complejo enzimático y 50 g de la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126. Después de un tiempo de 8 semanas se optimizó la relación de mezcladura según puntos de vista económicos.

- 40 La planta tuvo un excelente rendimiento. Así, la producción de energía a partir de biomasa por tonelada de masa seca de biomasa se sitúa aproximadamente 30% más alta que el valor teórico según datos técnicos y a un nivel máximo de 98 a 99% de aprovechamiento de la dinamo eléctrica. Por lo tanto, no cabía esperar aquí ningún incremento más por la combinación utilizada conforme a la invención. Sin embargo, puesto que los costes de la biomasa constituyen más del 80% de los costes de la planta, sería deseable económicamente si con menos entrada de biomasa se pudiese producir aún la misma cantidad de gas, respectivamente de corriente eléctrica.

Ejemplo 5:

Procedimiento de ensayo de práctica en una planta de biogas de 500 –kw el.:

Planta de biogas:

Contenedor de descomposición 2 x 1206 m³

5 Tipo: procedimiento de flujo

1 contenedor de descomposición posterior de 2280 m³

Dinamo eléctrica : 2 x 250 kw el.

Zona de temperatura: mesófila, 43°C

Empleo de sustrato al comienzo:

Sustrato	Masa fresca [en t]	Masa seca [en %]
Ensilado de maíz	21	30
Estiércol líquido vacuno	1,4	28
Cereal Triticale, de rechazo	0,5	86

10

Fomentador de la fermentación:

Una combinación de 50 g de la mezcla previa de alcaloides utilizada en el Ejemplo 4, 50 g del complejo enzimático utilizado en el Ejemplo 4 y 30 g de la cepa de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126 por tonelada de masa seca de biomasa a fermentar.

15 Aplicación:

1 semana con dosificación elevada como tiempo previo: 1,5 g de la mezcla de ensayo por cada Kw de potencia eléctrica y día

1 semana de tiempo de adaptación: 1,5 g

12 semanas de tiempo de ensayo: 1 g de la mezcla de ensayo por cada Kw de potencia eléctrica y día

20 La combinación utilizada proporcionó los siguientes resultados en la planta que ya con anterioridad funcionaba de forma óptima:

La mezcla de ensayo se empleó a partir del 3^{er} mes. El 2º mes sirvió como magnitud comparativa para la evaluación.

Kilovatio de energía eléctrica suministrada por día					
	KTBL nominal	Real	Mayor rendimiento	de la invención	Acetato mg/ml
de la biomasa aportada					
Mes 1, día 1	8500	10900	1400	no empleado	1500
Mes 1, día 15	8500	10000	1500	no empleado	1400
Mes 2 día 1	8500	10900	2400	no empleado	1500
Mes 2	8200	10700	2500	no empleado	1500

Comienzo del empleo de la mezcla de ensayo					
Mes 3, 1ª mitad	8200	11500	3300	+ 700	1300
Mes 3, 2ª mitad	8000	11000	3000	+ 400	1500
Mes 4, 1ª mitad	8000	11000	3000	+ 400	1800
Mes 4, 2ª mitad	8000	11500	3500	+ 900	2000

La tabla muestra que la planta de ensayo ofrece un excelente rendimiento, el cual al comienzo del ensayo se sitúa en 32% por encima del rendimiento de plantas comparables para la misma masa de biomasa. Con ayuda de la combinación utilizada es incluso posible ampliar aún más este mayor rendimiento a 38% de mayor rendimiento (3000 hasta 3500 Kw/d) en comparación con el funcionamiento estándar KTBL (Asociación para Tecnología y Estructuras en la Agricultura).

La fermentación de biomasa para la generación de biogas en forma de metano depende fuertemente de una suficiente producción de acetato, el cual se forma por la fermentación de la biomasa por bacterias formadoras de acetato. Pero en este caso también el valor del pH del sistema global juega un papel esencial.

Por la combinación utilizada se pudo incrementar un 20 a 30% la producción de acetato después de que la flora de microorganismos se hubo adaptado a esta combinación, lo que de nuevo es la premisa fundamental para una mayor generación de metano.

La adición de la combinación empleada, constituida por una mezcla de alcaloides de benzofenatridina + complejo enzimático que contiene polisacaridasa + *Saccharomyces cerevisiae* NCAIM 001126, para la fermentación de biomasa tiene la ventaja de que

- la velocidad de la fermentación de la biomasa a gases o líquidos ricos en energía se fomenta precisamente en los primeros días de la fermentación,
- el tiempo requerido para una explotación rentable de la biomasa se reduce en 30%,
- el parámetro de fermentación esencial, acetato, se incrementa en 20 a 30%,
- se mejora el aprovechamiento de los carbohidratos orgánicamente ligados,
- se pueden ahorrar 5% de biomasa para el mismo rendimiento,
- con el mismo aporte de biomasa se pueden obtener 8 a 10% más de energía aprovechable (biogas tal como metano, electricidad, carburantes biogénicos tales como alcoholes, calor, etc.),
- mejora la rentabilidad de las plantas de biofermentación,
- se puede aportar una elevada contribución para desactivar a la competencia por la utilización de la biomasa entre la producción de alimentos y la producción de energía.

A las plantas de biogas hay que contar tanto las plantas que funcionan según la EEG vigente (ley para las energías renovables) como también las plantas que no funcionan según la EEG vigente. Junto a esto, el procedimiento conforme a la invención se puede emplear también para la producción a gran escala de carburantes biogénicos, respectivamente aditivos para carburantes tales como etanol, butanol u otros con la misma finalidad.

Junto al empleo en plantas para la producción de biogas, respectivamente carburantes biogénicos /aditivos para carburantes, el procedimiento conforme a la invención se puede aplicar también en plantas depuradoras de aguas residuales, así como en plantas para el tratamiento de residuos.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la obtención de portadores de energía a partir de biomasa en un proceso de fermentación, **caracterizado por que** para fomentar la fermentación se añade al menos un alcaloide isoquinolínico.
- 5 2. Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado por que** los alcaloides isoquinolínicos se seleccionan de los alcaloides de protopina, alcaloides de benzofenantridina o sus mezclas.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** los alcaloides son de origen natural y/o sintético.
- 10 4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** los alcaloides se añaden en forma de componentes de plantas, zumo de plantas, extractos de materiales vegetales, en forma de sus sales, como alcaloides sintéticos o de mezclas de estos.
5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** los alcaloides proceden de Papaveraceae.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** la cantidad global de alcaloides se sitúa en el intervalo de 0,1 a 500 ppm, referido a la sustancia seca de la biomasa utilizada.
- 15 7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** el portador de energía obtenido es biogas.
8. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** el portador de energía obtenido es un carburante biogénico líquido o un aditivo para carburante.
- 20 9. Utilización de al menos un alcaloide isoquinolínico como aditivo de fermentación, inductor de la fermentación, en el caso de la fermentación de biomasa para la obtención de portadores de energía.
10. Utilización según la reivindicación 9, **caracterizado por que** el alcaloide isoquinolínico se selecciona de los alcaloides de benzofenantridina, alcaloides de protopina y sus mezclas.