

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 714 370**

51 Int. Cl.:

**C12P 5/02** (2006.01)

**C12R 1/145** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.10.2016** **E 16195937 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018** **EP 3162898**

54 Título: **Procedimiento para la producción de biogás a partir de un digerido sólido**

30 Prioridad:

**27.10.2015 IT UB20154915**

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

**28.05.2019**

73 Titular/es:

**TIRSI S.R.L. (100.0%)  
Cascina Gallona di Cascinazza  
27032 Ferrera Erbognone, IT**

72 Inventor/es:

**SCEVOLA, MARIO ERCOLE;  
DELLE CANNE, MARCO GIOACCHINO y  
SPAGNOL, MANUELA**

74 Agente/Representante:

**RUO , Alessandro**

**ES 2 714 370 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 producción de biogás a partir de un digerido sólido

5 **Campo de la invención**

[0001] La presente invención se refiere a un procedimiento para la producción de biogás a partir de la fracción sólida de un digerido residual.

10 [0002] La presente invención se origina en el campo de la producción de biogás.

[0003] Más específicamente, la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento y fermentación de la fracción sólida de un digerido obtenido mediante digestión anaerobia de sustancias orgánicas contenidas en las biomásas.

15 [0004] La invención se refiere también al uso de bacterias seleccionadas de la especie *Clostridium thermocellum* para el tratamiento de un digerido sólido y para la producción de biogás.

20 **Antecedentes de la técnica**

[0005] En décadas recientes, la necesidad creciente de evacuar material de desecho, efluentes de cultivos y biomásas vegetales, junto con la necesidad de fuentes de energía alternativas al petróleo, han dado impulso al desarrollo de tecnologías para la producción de biogás.

25 [0006] Como es bien conocido, el biogás se obtiene como producto de procedimientos de digestión anaerobia de sustancias orgánicas contenidas en una biomasa.

[0007] Más detalladamente, en procedimientos de digestión anaerobia, las biomásas de partida contienen material orgánico que es degradado por microorganismos mesófilos o termófilos en condiciones anaeróbicas en recipientes adecuados denominados digestores o biodigestores. El procedimiento de digestión anaerobia produce biogás y un digerido como productos principales. El primero, el biogás, está formado esencialmente por una mezcla de metano y dióxido de carbono, el segundo, el digerido, comprende dos fracciones o componentes, uno de los cuales es sólido mientras que el otro es líquido.

30 [0008] El líquido o fracción clarificada es aproximadamente un 85-90 % del volumen del digerido y generalmente tiene un contenido de materia seca en el intervalo del 1,5 al 8 %. Los compuestos solubles, tal como el nitrógeno en forma de amoníaco, se recogen en esta fracción y pueden representar hasta un 70-90 % en peso de la cantidad total del nitrógeno presente en el digerido. El alto contenido de nitrógeno en forma de amoníaco hace que un producto sea adecuado para uso agronómico, en particular como fertilizante, por ejemplo, para aplicación en irrigación fertilizante.

35 [0009] El sólido o fracción empujable que generalmente se puede recoger representa aproximadamente un 10-15 % del peso del digerido como tal, y se caracteriza por un contenido de materia seca que normalmente es superior al 20 % en peso. Esta fracción se usa normalmente en el campo agronómico como fertilizante capaz de liberar lentamente los nutrientes.

[0010] La publicación JP 2002 066518A divulga un procedimiento para la producción de biogás que comprende las etapas de:

50 a) poner en contacto una fracción sólida de un digerido en un biodigestor con bacterias hidrolíticas, que producen una digestión anaerobia con lisis y formación de un digerido degradado que contiene azúcares libres y que se reciclará en una planta de producción de gas,

b) añadir el digerido degradado obtenido en la etapa a) a una biomasa para ser sometido a una digestión anaerobia con formación de biogás, en el que dicha fracción sólida del digerido se obtiene mediante separación mecánica de una suspensión acuosa obtenida como producto de plantas de biogás, en la que la fermentación tiene lugar en un biorreactor.

60 [0011] Lu, Y. et al. "Characteristics of hydrogen and methane production from cornstalks by an augmented two- or three stage anaerobic fermentation process" en *Bioresource Technology*, vol. 100, n.º 12, 23.03.2009, páginas 2889-2895, divulgan el uso de bacterias celulolíticas de la especie *Clostridium thermocellum* ATCC 1549 para la digestión anaerobia de un sustrato vegetal sólido basado en fibras celulósicas con formación de azúcares simples, potenciando de este modo la lisis de las fibras celulósicas en la etapa de hidrólisis, con la formación de mayores rendimientos de azúcares libres para el procedimiento de producción de biogás, y el uso de bacterias celulolíticas de la especie *Clostridium thermocellum* ATCC 1549 en la producción de biogás.

65 [0012] La demanda creciente de tecnologías capaces de evacuar o transformar materiales de desecho, aguas

residuales y productos de desecho de la producción agrícola en potenciales fuentes de energía es un factor que ha contribuido al desarrollo de tecnologías para la producción de biogás.

5 [0013] La producción de biogás es promovida además por el hecho de que la energía eléctrica producida a partir de los materiales de desecho se considera una forma de energía limpia, la cual está muy demandada actualmente en el mercado.

10 [0014] Asimismo, el biogás obtenido mediante digestión de materiales de desecho es particularmente apreciado, ya que se considera una fuente de energía con bajo impacto ambiental.

[0015] Actualmente, existe la necesidad de mejorar la eficacia de los procedimientos de digestión anaerobia a fin de aumentar los rendimientos de la producción de biogás.

15 [0016] Un objeto general de la presente invención, por tanto, es mejorar los rendimientos de la producción de biogás mediante un procedimiento de digestión anaerobia de biomásas.

20 [0017] Un objeto adicional de la invención es proporcionar un procedimiento de digestión anaerobia de una biomasa en el que la producción de biogás sea mayor con respecto a un procedimiento convencional, con la misma cantidad de biomasa de partida.

### Sumario de la invención

25 [0018] De acuerdo con un aspecto general, los inventores han descubierto la posibilidad de aumentar el rendimiento de producción de biogás obtenido de procedimientos convencionales de digestión anaerobia de biomasa mediante un tratamiento de los componentes vegetales contenidos en la fracción sólida del digerido.

30 [0019] El procedimiento de la invención, por tanto, aumenta la eficacia de los procedimientos de producción de biogás mediante la provisión de una etapa adicional de digestión anaerobia específica de la fracción sólida del digerido, en particular de origen vegetal. Esta etapa de tratamiento produce más biogás y más digerido degradado que se puede usar todavía, por ejemplo, en el campo agronómico.

35 [0020] De acuerdo con un aspecto general, se divulga un procedimiento para la producción de biogás, que incluye una etapa en la que la fracción sólida del digerido se pone en contacto con bacterias celulolíticas de la especie *Clostridium thermocellum*, provocando así la lisis de las fibras celulósicas con formación de azúcares libres que se usarán en la producción de biogás.

40 [0021] Microorganismos adecuados para su uso en la presente divulgación son cepas de bacterias celulolíticas que pertenecen al género *Clostridium*, a la especie *Clostridium thermocellum*, que normalmente se pueden aislar y seleccionar a partir de compost verde, madera deteriorada de árboles tales como álamos, aguas pantanosas, aguas procedentes de la maceración del cáñamo. En la presente divulgación, el solicitante ha seleccionado también un número de cepas bacterianas específicas que pertenecen al género *Clostridium* dotadas de una actividad celulolítica considerablemente elevada. Estas cepas celulolíticas seleccionadas se aplican específicamente al procedimiento de la invención, produciendo así la digestión anaerobia del digerido, en particular de origen vegetal, con altos rendimientos.

45 [0022] De acuerdo con un aspecto, la invención proporciona, por tanto, el uso de una mezcla de cepas de *Clostridium thermocellum* celulolítica que tienen los siguientes números de acceso:

- 50 *DSM 32298*, referencia de identificación SCEVOLA\_1  
*DSM 32299*, referencia de identificación SCEVOLA\_2  
*DSM 32310*, referencia de identificación SCEVOLA\_3, en la producción de biogás.

55 [0023] El número de acceso ha sido asignado por la Autoridad internacional de depósito DSMZ, Instituto Leibniz DSMZ - Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares, Inhoffenstr.7 B, D-38124 Braunschweig. Estas cepas fueron depositadas el 20 de mayo de 2016 por el solicitante Tirsi srl, Via Cascina Gallona, 27032 Ferrera Erbognone (PV). Los certificados de depósito de los microorganismos, efectuado de acuerdo con el Tratado de Budapest, se adjuntan y se presentan con la presente solicitud.

60 [0024] Normalmente, en el procedimiento de la invención se usa una mezcla de las tres cepas bacterianas previamente descritas, que comprende a partes iguales los cultivos respectivos en medio de cultivo líquido.

### Descripción de los diagramas, la figura y el esquema

65 [0025] La invención se describirá ahora detalladamente con referencia a los adjuntos, en los que:

El Diagrama 1 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de

incubación para la cepa *DSM 32298*, tal como se explica en el Ejemplo 1 ;

El Diagrama 2 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de incubación para la cepa *DSM 32299*, tal como se explica en el Ejemplo 2;

5 El Diagrama 3 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de incubación para la cepa *DSM 32310*, tal como se explica en el Ejemplo 3;

El Diagrama 4 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de incubación para una mezcla de las tres cepas *DSM 32298*, *DSM 32299* y *DSM 32310*, tal como se explica en el Ejemplo 4;

El Diagrama 5 muestra los valores de presión del biogás, tal como se explica en el Ejemplo 5;

10 La Figura 1 muestra el aparato del sistema inalámbrico de producción de gas Ankom RFS, usado para controlar la presión del biogás;

El Esquema 1 describe el procedimiento para el tratamiento y reciclado del digerido de la producción de biogás.

## 15 Descripción detallada de la invención

[0026] En el contexto de la presente divulgación, los inventores han aislado cepas bacterianas que pertenecen al género *Clostridium* dotadas de una actividad celulolítica particularmente elevada y que, por tanto, se pueden aplicar específicamente a la digestión anaerobia del componente sólido del digerido, en particular de origen vegetal. Se obtiene un producto rico en azúcares, que se puede reciclar al ciclo de producción de biogás, mediante digestión anaerobia del componente sólido del digerido con las cepas celulolíticas seleccionadas usadas en la invención.

20

[0027] En algunas realizaciones, la fracción sólida del digerido se obtiene mediante separación mecánica, mediante filtración de una suspensión acuosa residual en instalaciones de biogás.

25

[0028] De acuerdo con un aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento y el reciclado del digerido de la producción de biogás, que comprende las etapas de:

a) Poner en contacto una fracción sólida de un digerido, que contiene celulosa y/o hemicelulosa en un biodigestor con una mezcla de las cepas celulolíticas de *Clostridium thermocellum DSM 32298*, *DSM 32299* y *DSM 32310* que producen una digestión anaerobia con lisis de la celulosa y/o la hemicelulosa y la formación de un digerido degradado que contiene azúcares libres y que se reciclará a una planta de producción de gas,

30

b) Añadir el digerido degradado obtenido en la etapa a) a una biomasa que se va a someter a digestión anaerobia con formación de biogás.

35

[0029] De forma ventajosa, la adición del digerido previamente tratado con las cepas bacterianas celulolíticas en el biorreactor provoca una reducción de la biomasa que se va a someter a digestión anaerobia, con el mismo rendimiento de producción de biogás.

40 [0030] En la presente invención, el término "biogás" significa una mezcla de gases basada en metano (CH<sub>4</sub>) y dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), producida normalmente mediante digestión anaerobia de un ingerido en una planta de producción de biogás.

[0031] Dentro del alcance de la invención, los términos "ingerido" y "biomasa" significan el material de partida de un procedimiento de digestión anaerobia. El ingerido puede comprender uno o más materiales de desecho urbanos y no urbanos, residuos de granjas de animales, materiales de desecho de la producción agrícola y biomásas.

45

[0032] Un ingerido adecuado para las aplicaciones de la invención incluye residuos orgánicos de origen vegetal y/o animal y, en particular, que contienen fibras celulósicas.

50

[0033] La biomasa particularmente adecuada puede tener diferentes orígenes y normalmente puede ser un residuo de la industria agrícola, tal como maíz, tritical, sorgo u otros cereales triturados, residuos o sobras de la industria alimentaria, tales como harina residual o productos caducados de origen vegetal, animal o residuos de ganado.

55 [0034] Normalmente, la fracción sólida del digerido contiene celulosa y/o hemicelulosa, por ejemplo, ensilado de maíz.

[0035] Un estudio analítico fisicoquímico de la fracción sólida del digerido, realizado en muestras tomadas en diferentes condiciones de operación y estacionales relativas a la recogida del ingerido, tal como el ensilado de maíz, ha demostrado que esta fracción sólida tiene un contenido apreciable de celulosa y hemicelulosa.

60

[0036] En particular, en aquellos casos en los que la cantidad de biogás que se está produciendo tiende a disminuir durante el procedimiento, se puede observar un aumento del contenido de celulosa y hemicelulosa no metabolizada en el digerido sólido, lo que hace que su reciclado tras el tratamiento sea aún más conveniente.

65

[0037] En una realización del procedimiento de la presente invención, el digerido sólido se somete a la acción de la

mezcla de los microorganismos anaerobios termófilos que tienen una actividad celulolítica elevada capaz de hidrolizar los componentes celulósicos todavía presentes en la fracción sólida del digerido, es decir, la mezcla de las cepas de *Clostridium thermocellum* DSM 32298, DSM 32299 y DSM 32310, con formación de azúcares libres, principalmente glucosa, normalmente a una temperatura que varía de 30 °C a 50 °C, preferentemente de 38 °C a 48 °C.

**[0038]** La adición de la suspensión digerida previamente tratada con cepas bacterianas celulolíticas en el biorreactor para la metanogénesis, de acuerdo con una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente, que contiene, por tanto, azúcares libres, permite una reducción de hasta el 50 % de la cantidad de ingerido (ensilado de maíz) con el mismo rendimiento de producción de biogás.

**[0039]** En el procedimiento de acuerdo con la presente invención, se usa una mezcla de las tres cepas bacterianas DSM 32298, DSM 32299 y DSM 32310 de la especie *Clostridium thermocellum*. De forma sorprendente, se ha observado que la mezcla de estas tres cepas de microorganismos posee una actividad celulolítica mayor que la de cada una de ellas por separado, lo que demuestra una mayor actividad enzimática tal como se informa en los ejemplos mostrados a continuación.

**[0040]** La solución de azúcares sencillos obtenida de la lisis de las fibras celulósicas añadidas al biodigestor ha demostrado que proporciona un rendimiento en la producción de biogás (metano 52-56 % + dióxido de carbono 30-35 %) igual al del ensayo testigo que contiene una cantidad doble del ingerido (ensilado de maíz). Se divulga además el uso de una mezcla de cepas bacterianas DSM 32298, DSM 32299 y DSM 32310, de la especie *Clostridium thermocellum*, en el tratamiento de un digerido sólido basado en fibras celulósicas el cual, reciclado al biodigestor de una planta de producción de biogás, causa la producción de metano con el consiguiente ahorro de ingerido.

**[0041]** Se dan a continuación las realizaciones ilustrativas de la presente invención proporcionadas por medio de ejemplos ilustrativos.

## Ejemplos

### Ejemplo 1

#### Aislamiento de la cepa DSM 32298

**[0042]** La cepa DSM 32298 se aisló en otoño a partir de residuos de troncos de álamos deteriorados por sucesivos trasplantes en medios de cultivo sólidos (agar) y medios de cultivo líquidos (por ejemplo dextrosa de patata).

#### Ensayo de hidrólisis con la cepa DSM 32298

**[0043]** Hidrólisis de fibras celulósicas residuales usando una muestra de digerido sólido representativa tomada en una planta industrial alimentada con ingerido de biogás que consiste en maíz verde desfibrado con un contenido promedio de un 32 % s.s. y hemicelulosa un 15 % s.s. En tres recipientes de vidrio herméticos se dispusieron 100 g de digerido sólido suspendido en 100 ml de tampón fosfato 0,1 M con pH 6,4 y se sembraron con 100 ml de caldo de cultivo de *Clostridium* denominado DSM 32298. Todos los recipientes se purgaron con nitrógeno a fin de asegurar un medio anaerobio. Después de tomar una muestra para determinar la posible presencia de azúcares libres, los recipientes se sellaron herméticamente y se colocaron en un termostato con agitación a 40 °C durante 15 días.

**[0044]** Como control (testigo) de la referencia de ensayo se configuraron igual número de recipientes idénticos en paralelo sustituyendo la siembra con caldo de cultivo de la cepa con actividad fibrinolítica DSM 32298 con un volumen igual de 100 ml de medio de cultivo no inoculado. Estos recipientes de control se sometieron a condiciones anaerobias con nitrógeno y se incubaron de idéntico modo que los del ensayo.

**[0045]** Al final del periodo de incubación, el contenido de cada recipiente se filtró a través de una malla y se llevó a cabo la determinación, mediante el método analítico de Bailey, de los azúcares libres presentes en las fracciones líquidas.

**[0046]** El Diagrama 1 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de incubación, que muestra que la cepa DSM 32298 (*Clos.1A*) degrada un 18 % menos de las fibras celulósicas que la mezcla de las 3 cepas de *Clostridium* (véase el Ejemplo 4).

### Ejemplo 2

#### Aislamiento de la cepa DSM 32299

**[0047]** La cepa DSM 32299 se aisló a partir de muestras de compost verde maduro usando la misma técnica que en el Ejemplo 1.

Ensayo de hidrólisis con la cepa *DSM 32299*

**[0048]** Se ensayó la actividad celulolítica de la segunda cepa de *Clostridium* denominada *DSM 32299* de un modo totalmente análogo al dado en el Ejemplo 1.

**[0049]** El Diagrama 2 muestra los valores promedio de los azúcares libres encontrados como una función del tiempo de incubación, que muestra que la cepa *DSM 32299* (*Clos.2B*) degrada un 16 % menos de las fibras celulósicas que la mezcla de las 3 cepas de *Clostridium* (véase el Ejemplo 4).

Ejemplo 3

Aislamiento de la cepa *DSM 32310*

**[0050]** La cepa *DSM 32310* se aisló a partir de agua de pantano usando la misma técnica que en el Ejemplo 1.

Ensayo de hidrólisis con la cepa *DSM 32310*

**[0051]** Usando la cepa de *Clostridium* denominada *DSM 32310* (*Clos.3C*) (Diagrama 3), se ensayó la actividad celulolítica del mismo modo que el descrito en el Ejemplo 1, con el resultado de que la cepa *DSM 32310* degrada un 12 % menos en comparación con la mezcla de las 3 cepas de *Clostridium* (véase el Ejemplo 4).

Ejemplo 4

**[0052]** Operando de un modo similar al descrito en el Ejemplo 1, aunque usando una mezcla a partes iguales de las tres cepas *DSM 32298* - *DSM 32299* - *DSM 32310* en un caldo de cultivo como siembra, se encontró que el contenido de azúcares libres aumentó en un promedio de un 15 % con respecto al encontrado en los ensayos con cepas bacterianas individuales (Diagrama 4).

Ejemplo 5

**[0053]** Ensayo de producción de biogás usando la solución de azúcares libres obtenida en el Ejemplo 4.

**[0054]** Para los ensayos de metanogénesis se usó el equipo del sistema inalámbrico de producción de gas Ankom RFS (Figura 1), que permite controlar la presión del biogás a lo largo del tiempo (Diagrama 5). Se dispusieron 100 g del caldo de cultivo procedente de una planta industrial de biogás en cada recipiente y después se preparó el ensayo tal como sigue:

- a) Recipiente N.º 1 considerado el ensayo testigo: 12,5 g de ensilado de maíz (correspondientes a un 100 % del suministro) y 100 ml de tampón fosfato 0,1 M con pH 6,4.
- b) Recipientes N.º 2 y N.º 3, ensayos de producción de biogás por duplicado: 6 g de ensilado (correspondientes a un 50 % del suministro) con 100 ml de la fracción líquida del digerido tratado con la mezcla de microorganismos celulolíticos.
- c) Recipiente N.º 4, ensayo de control: 6 g de ensilado y 100 ml de tampón fosfato 0,1 M con pH 6,4.
- d) Recipiente N.º 5, control del tratamiento: 6 g de ensilado + 6 g de digerido sólido no tratado y 100 ml de tampón fosfato 0,1 M con pH 6,4.

**[0055]** Se purgó con nitrógeno cada recipiente durante 3 minutos a fin de crear un medio anaerobio. Los recipientes así preparados se incubaron a 40 °C con agitación orbital lenta (40-70 r.p.m.).

**[0056]** Posteriormente se analizó la calidad del biogás producido mediante un cromatógrafo de gases portátil (MICRO GC 490) con una columna Molsieve 5A y Sil 5 CB para diferenciar los gases principales producidos por la reacción de metanogénesis que incluyen metano y dióxido de carbono.

**[0057]** Se encontró en los ensayos la misma composición cualitativa del biogás: metano que consistía en un 52-56 % y un 30-35 % de dióxido de carbono. El diagrama obtenido mediante el sistema inalámbrico de producción de gas Ankom RFS (Diagrama 5) muestra la misma cantidad de biogás producido en el ensayo reduciendo a la mitad la cantidad de ensilado con la adición de la fracción líquida del digerido, tras lo cual se sometió a la acción de la mezcla de las bacterias celulolíticas.

**[0058]** A partir de la descripción detallada y de los Ejemplos proporcionados anteriormente, son evidentes las ventajas logradas mediante el procedimiento de la presente invención. En particular, este método ha demostrado ser sorprendentemente adecuado para obtener un rendimiento en la producción de biogás igual al del ensayo testigo que contiene doble cantidad de ingerido (ensilado de maíz).

**EJEMPLO 6**

## ES 2 714 370 T3

**[0059]** En el Esquema 1 se ilustran un procedimiento para el tratamiento y el reciclado del digerido de la producción de biogás y una planta para su realización.

5 **[0060]** Se carga inicialmente un biorreactor denominado VF con fracción sólida del digerido que contiene celulosa y/o hemicelulosa. Se añade una mezcla de cepas bacterianas celulolíticas de *Clostridium sp DSM 32298*, *DSM 32299* y *DSM 32310* produciendo una fermentación con lisis de la celulosa y/o hemicelulosa contenidas en el digerido y la formación de un digerido degradado que contiene azúcares libres.

10 **[0061]** El digerido degradado se recicla a través de la línea 3 a un digestor primario (DGP) en el que se produce la degradación anaerobia. El producto obtenido de la digestión anaerobia se transfiere después a un digestor secundario (DGS) en el que progresa la digestión anaerobia. El producto resultante de la fermentación se transfiere después a un tanque de almacenamiento (VS) desde donde se puede transferir a un tanque fermentación VF o se puede reciclar al digestor primario DGP a través de la línea 2.

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para la producción de biogás, que comprende las etapas de:

- 5 a) poner en contacto una fracción sólida de un digerido que contiene celulosa y/o hemicelulosa en un biodigestor con bacterias celulolíticas de la especie *Clostridium thermocellum* que producen una digestión anaerobia con lisis de la celulosa y/o la hemicelulosa y la formación de un digerido degradado que contiene azúcares libres y que se reciclará a una planta de producción de gas,  
10 b) añadir el digerido degradado obtenido en la etapa a) a una biomasa para ser sometido a una digestión anaerobia con formación de biogás, en la que las bacterias celulolíticas son una mezcla de las cepas *DSM 32298*, *DSM 32299* y *DSM 32310*.

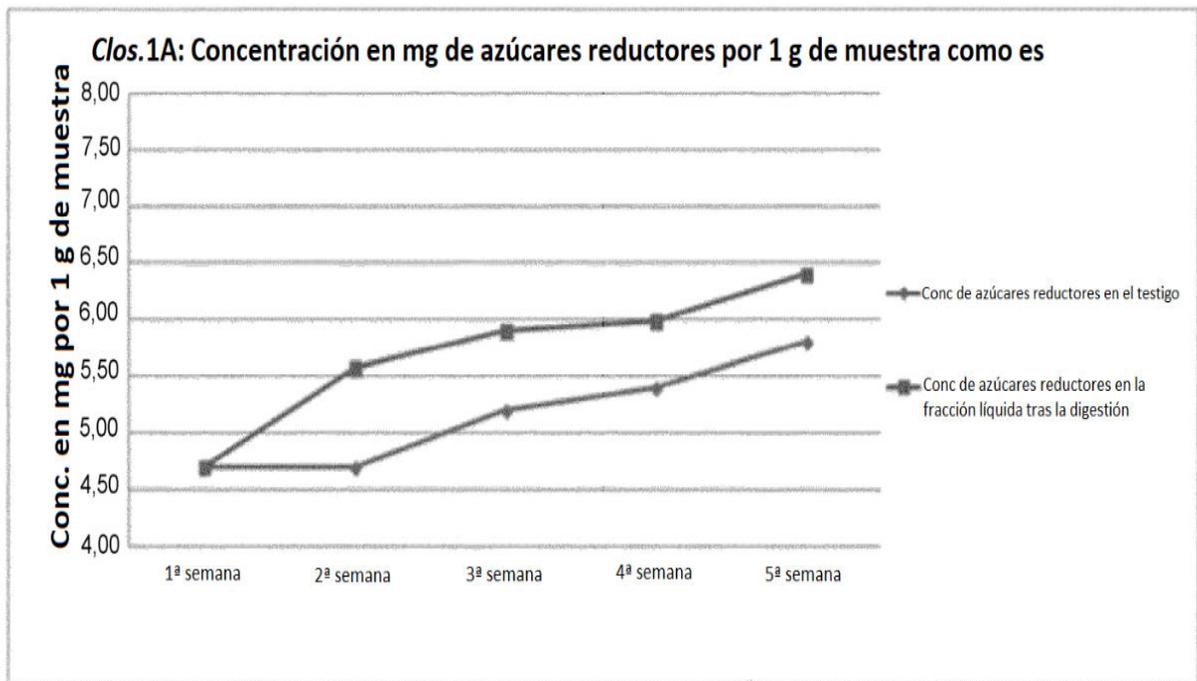
2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la fracción sólida del digerido contiene celulosa y/o hemicelulosa.

15 3. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicha fracción sólida del digerido se obtiene mediante separación mecánica, preferentemente mediante filtración, de una suspensión acuosa obtenida como producto de plantas de biogás.

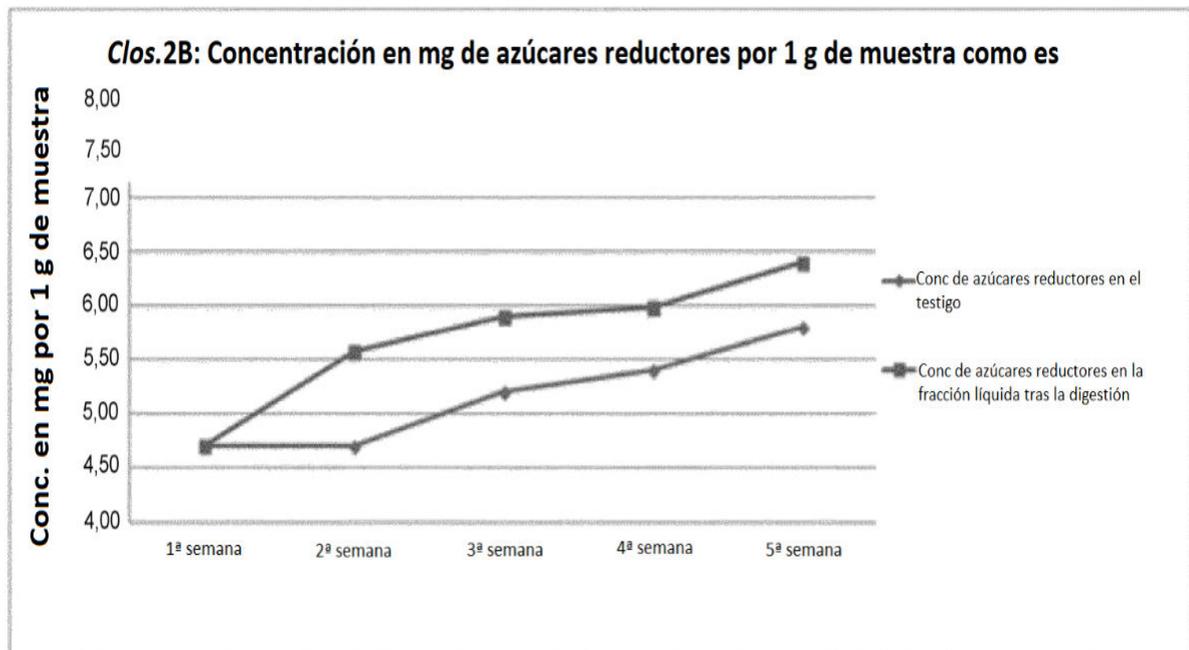
20 4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la fermentación se produce en un biorreactor, preferentemente en un medio anaerobio a una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C.

25 5. Uso de la mezcla de cepas de *Clostridium thermocellum DSM 32298*, *DSM 32299* y *DSM 32310* celulolíticas en la producción de biogás.

## Diagrama 1



## Diagrama 2



### Diagrama 3

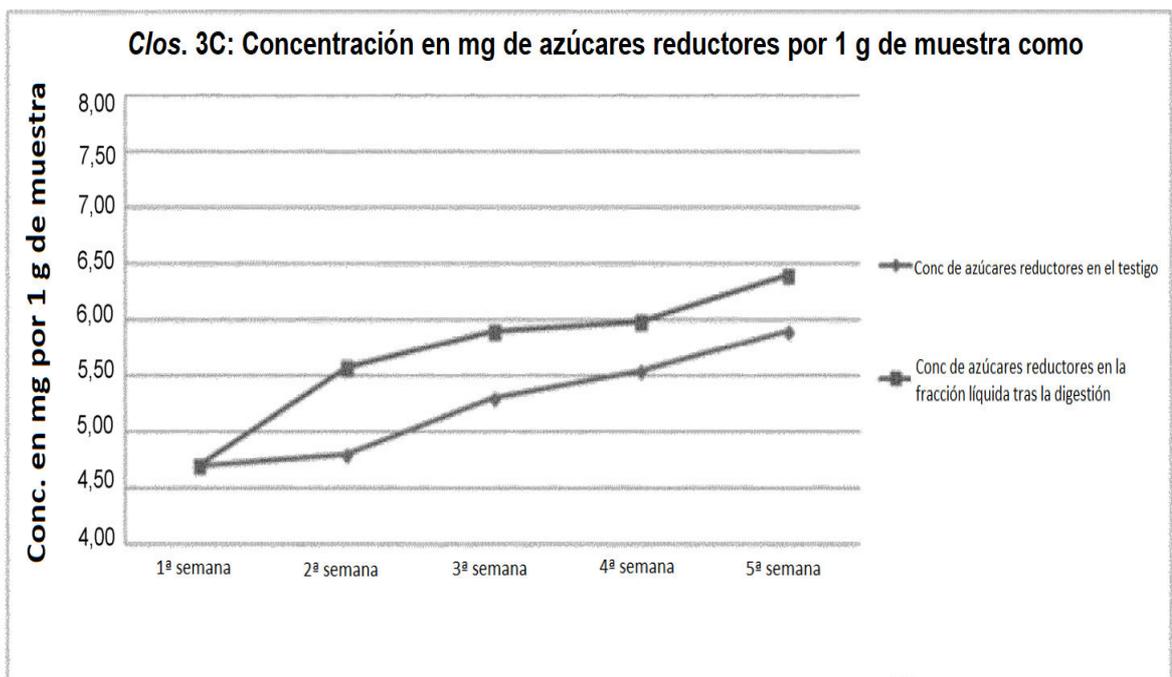
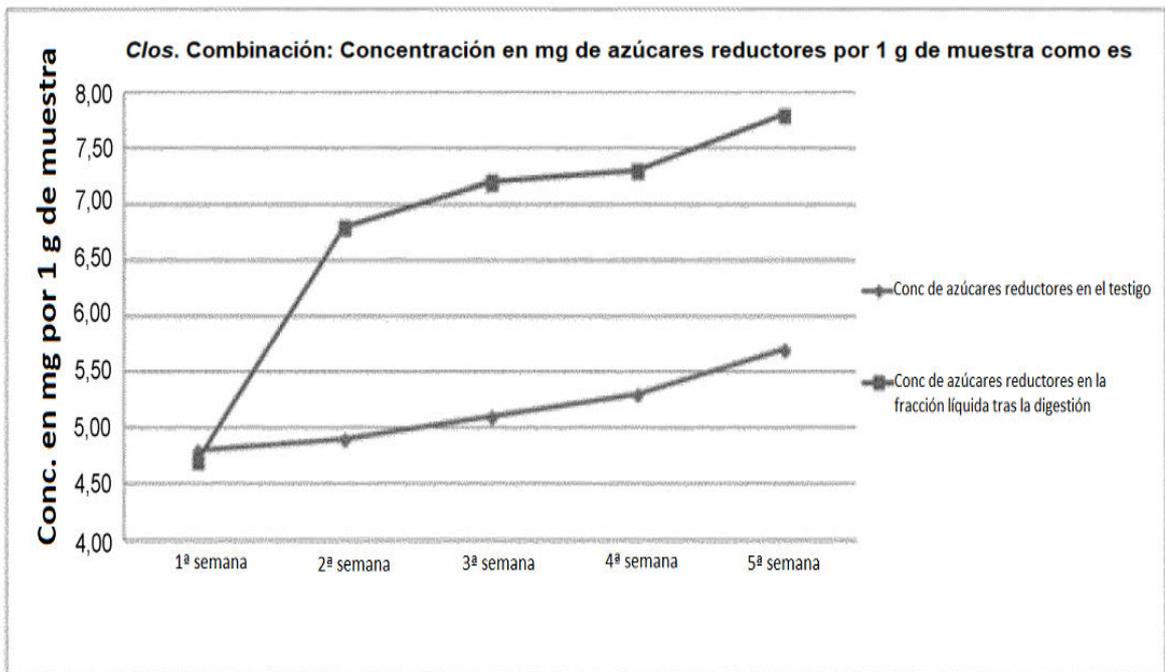
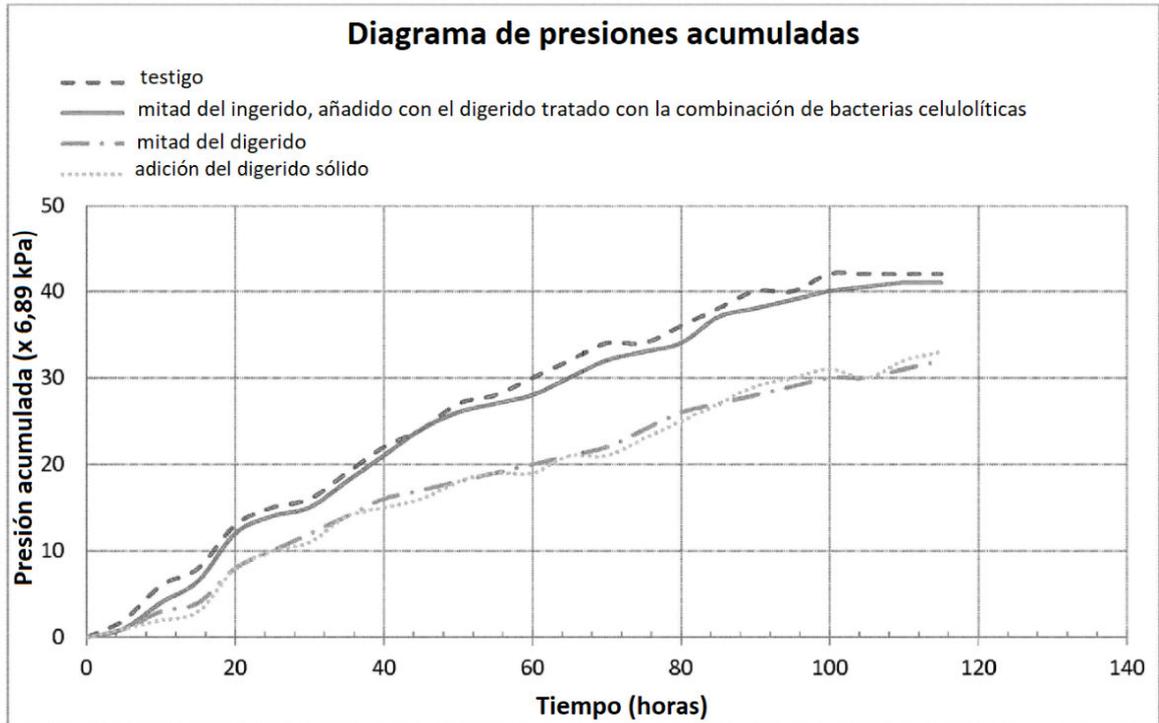


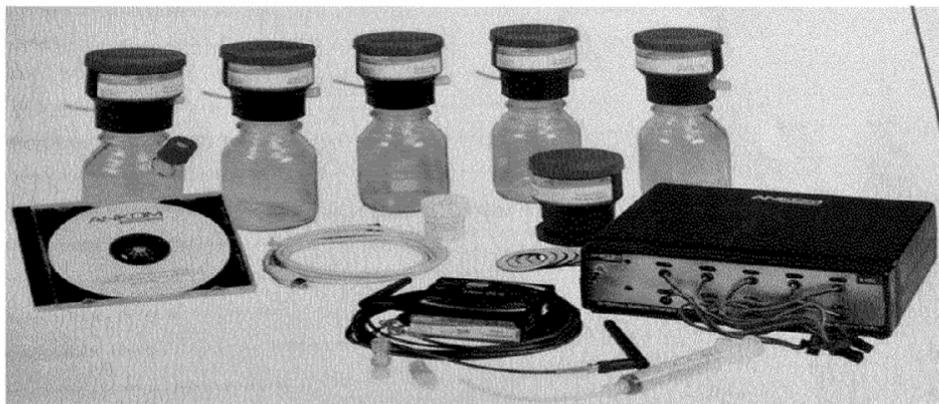
Diagrama 4



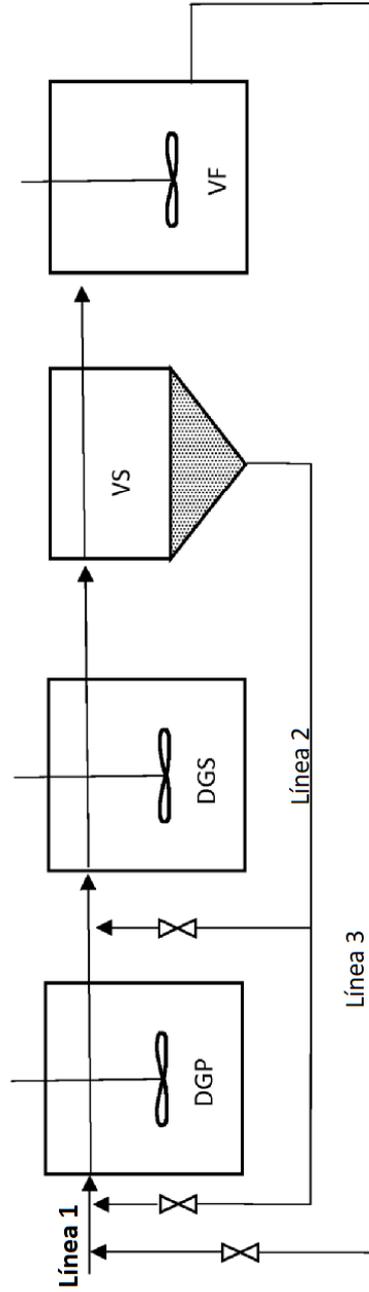
**Diagrama 5**



**Figura 1**



# Esquema 1



**Leyenda**  
 DGP = Digestor primario  
 DGS = Digestor secundario  
 VS = Tanque de almacenamiento  
 VF = Tanque de fermentación con mezcla

**Significado de las líneas/conductos**  
 Línea 1 = conductos asignados al suministro primario  
 Línea 2 = conductos asignados al suministro de material orgánico  
 Línea 3 = conductos asignados al suministro de material digerido por la combinación microbiana