

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 112**

51 Int. Cl.:

C12P 5/02 (2006.01)
C12M 1/42 (2006.01)
C25B 3/04 (2006.01)
C25B 9/00 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12M 1/107 (2006.01)
C12N 13/00 (2006.01)
C25B 1/02 (2006.01)
C25B 15/02 (2006.01)
C25B 15/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2013 PCT/IB2013/056215**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14016815**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2013 E 13776565 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.09.2017 EP 2877587**

54 Título: **Procedimiento para la producción de metano y aparato adecuado para ello**

30 Prioridad:

27.07.2012 ZA 201205680
14.09.2012 ZA 201206901

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.01.2018

73 Titular/es:

FFGF LIMITED (100.0%)
Sea Meadow House Road Town
Tortola, VG

72 Inventor/es:

WOLFOWITZ, STEVEN ALAN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 651 112 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 metano y aparato adecuado para ello.

Antecedentes de la invención

5 Actualmente, el planeta Tierra está amenazado por dos problemas principales que tienen graves efectos sobre él y sus habitantes, a saber:

- calentamiento global resultante de la producción excesiva de dióxido de carbono; y
- precio excesivamente alto del petróleo crudo y, consiguientemente altos, de la gasolina y del diesel.

Un objeto de esta invención es reducir estos problemas.

10 El aumento en la producción del combustible fósil que utilizan los motores ha dado lugar a una demanda excesiva de petróleo crudo que, a su vez, da como resultado precios excesivamente altos. El consumo de estos combustibles y el de las centrales eléctricas alimentadas con petróleo, gas y carbón, etc., ha aumentado la cantidad del dióxido de carbono producido que ha conducido al calentamiento global. La absorción de dióxido de carbono por los árboles y la consiguiente liberación de oxígeno se han visto debilitadas por la desaparición de extensos bosques. Este desequilibrio ha perturbado y continúa perturbando de forma acumulativa la ecología del mundo.

15 Los esfuerzos por mejorar la eficiencia de los motores y reducir el despilfarro de productos combustibles fósiles tienen poca probabilidad de mejorar la situación debido al crecimiento exponencial de las poblaciones y sus aspiraciones. Se están buscando intensamente otras tecnologías.

Las formas de abordar los problemas anteriormente mencionados incluyen:

- 20 reducción del dióxido de carbono en la atmósfera;
- reducción de la "huella de carbono" (el uso de productos de carbono); y
- reducción de la demanda de petróleo crudo y otros combustibles fósiles (dando como resultado una disminución de sus precios, al encontrar sustitutivos).

Los documentos WO 2011/055322 A y WO 2010/007602 A describen un procedimiento y un aparato para la producción de hidrógeno, oxígeno e hidrocarburos a partir de dióxido de carbono y agua.

25 S.Cheng y col. ("Direct Biological Conversion of Electric Current into Methane by Electromethanogenesis", Environmental Science & Technology, American Chemical Society, vol. 43, n.º 10, 26 de marzo de 2009, páginas 3953-3958), documentos US 2009/317882 A1 y WO 2012/158941 A divulga un procedimiento para producir metano en donde un recipiente ánodo y un recipiente cátodo que comprenden metanógenos se conectan y se aplica corriente eléctrica.

30 El documento WO 2012/158941 A divulga un aparato en forma de una celda combustible microbiana apropiada para la producción de hidrógeno, corriente eléctrica o metano.

35 El documento WO 2012/110257 describe un procedimiento para producir metano por metanogénesis en un recipiente de reacción al poner en contacto metanógenos con una alimentación de gas de entrada que comprende hidrógeno y dióxido de carbono, en donde la fase de producción de metano se efectúa con una relación de presión parcial de hidrógeno frente a la presión parcial de dióxido de carbono dentro del recipiente de reacción que se mantiene 5:1 o superior.

40 El documento US 2011/165667 A divulga un sistema para transformar energía eléctrica en metano, comprendiendo el sistema un reactor que tiene una primera cámara y una segunda cámara separadas por una barrera permeable a protones, comprendiendo la primera cámara un pasillo entre una entrada y una salida que contienen al menos un cátodo poroso eléctricamente conductor, un cultivo que comprende microorganismos metanogénicos vivos y agua, y la segunda cámara que comprende al menos un ánodo, teniendo el reactor un estado de funcionamiento en donde el cultivo es mantenido a una temperatura superior a 50 °C, una fuente de electricidad acoplada al ánodo y al cátodo; y un suministro de dióxido de carbono acoplado a la primera cámara en donde la salida recibe metano desde la primera cámara.

45 El documento WO 2011/003081 A divulga un sistema para transformar energía eléctrica en metano, comprendiendo el sistema: un reactor biológico que tiene al menos una primera cámara que contiene al menos un cátodo, un cultivo que comprende microorganismos metanogénicos y agua, y una segunda cámara que contiene al menos un ánodo, teniendo el reactor biológico un estado de funcionamiento en donde el cultivo es mantenido a una temperatura superior a 50 °C, una fuente de electricidad acoplada al ánodo y al cátodo, un suministro de dióxido de carbono acoplado a la primera cámara; y una salida para recibir metano desde la primera cámara.

50 Un objeto de esta invención es proporcionar un procedimiento y aparato que contribuya a las reducciones anteriores y proporcione además la producción de metano.

Sumario de la invención

- Esta invención se refiere a un procedimiento para producir metano a partir de dióxido de carbono, hidrógeno y metanógeno o metanógenos anaerobios de Archaea proporcionados en un sustrato acuoso de crecimiento y el sustrato acuoso de crecimiento es presurizado a una presión de 5 a 1.000 bar, típicamente de 5 a 500 bar, preferiblemente de 5 a 200 bar, más preferiblemente de 10 a 150 bar, más preferiblemente de 20 a 150 bar, lo más preferiblemente de 40 a 150 bar con un fluido de presurización que consiste en dióxido de carbono líquido o una mezcla de dióxido de carbono líquido e hidrógeno
- Preferiblemente, el procedimiento se lleva a cabo en un recipiente de reacción en el que se proporciona suficiente sustrato acuoso de crecimiento para proporcionar una relación volumétrica de sustrato acuoso de crecimiento frente a espacio de cabeza de 1:1 a 4:1, típicamente una relación volumétrica de 2:1 a 3:1.
- El sustrato acuoso de crecimiento se puede presurizar con una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono que puede estar presente en una relación molar de 4:1 a 1:4, de 2:1 a 1:4, desde mayor que 1:1 a 1:4 o incluso desde 1:2 a 1:4.
- El pH del medio acuoso de crecimiento se mantiene preferiblemente en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente de 6,5 a 7.
- El metanógeno o los metanógenos pueden ser un organismo microbiológico hiperextremófilo hipertermófilo o, psicrófilo/criófilo y/o un exoelectrogénico.
- El procedimiento se lleva a cabo a una temperatura óptima o casi óptima para el crecimiento del metanógeno o metanógenos.
- En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean Archaea anaeróbica hiperextremófila hipertermófila, el recipiente de reacción se puede hacer funcionar a una temperatura de 50 °C a 400 °C, preferiblemente de 80 °C a 200 °C, más preferiblemente de 80 °C a 150 °C.
- En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean una Archaea anaeróbica psicrófila/criófila, el recipiente de reacción se puede hacer funcionar a una temperatura de -50 a 50 °C, preferiblemente de -5 a -20 °C, lo más preferiblemente de aproximadamente -15 °C.
- Preferiblemente, el pH del medio acuoso de crecimiento está controlado.
- El pH del medio acuoso de crecimiento se puede controlar proporcionando un cátodo en el recipiente de reacción y haciendo pasar una corriente a través del medio acuoso de crecimiento para generar hidrógeno y también para controlar el pH con electrolisis.
- Según la invención, se proporciona un procedimiento para la producción de metano a partir de dióxido de carbono, hidrógeno y metanógeno o metanógenos de Archaea anaeróbica que incluye las etapas de:
- a) proporcionar un recipiente de reacción ánodo (14) que contiene un electrodo positivo (ánodo) y un medio electrolítico líquido que comprende agua y material ionizante;
 - b) proporcionar un recipiente de reacción cátodo (12) que contiene un electrodo negativo (cátodo), un sustrato electrolítico acuoso de crecimiento, metanógeno o metanógenos y dióxido de carbono e hidrógeno en donde el recipiente del cátodo (12) y el sustrato acuoso de crecimiento se presurizan a una presión de 5 a 1.000 bar con un fluido de presurización que consiste en dióxido de carbono líquido, o una mezcla de dióxido de carbono líquido e hidrógeno;
 - c) conectar el primer y segundo recipientes de reacción con medios de conexión que permiten el paso de electrones y/o iones entre los medios electrolíticos de los recipientes de reacción ánodo y cátodo;
 - d) aplicar una corriente eléctrica continua al electrodo positivo y al electrodo negativo para:
 - lograr la ionización del hidrógeno en el recipiente de reacción cátodo (12) para producir hidrógeno y también para aumentar el pH del sustrato acuoso electrolítico de crecimiento; y
 - lograr oxígeno ionizado en el primer recipiente de reacción (14), para formar oxígeno,
- en donde la electrolisis se realiza intermitentemente para controlar el pH en el recipiente (12) del cátodo.
- El metano se recupera desde el recipiente de reacción cátodo (12).
- El oxígeno se recupera desde el primer recipiente (14) de reacción.
- Los recipientes (12) y (14) de reacción se hacen funcionar a la misma presión interna, y se pueden hacer funcionar a diferentes temperaturas.

El medio de conexión es preferiblemente un medio electrolítico, en cuyo caso se proporciona una membrana que permite el paso de electrones, y eventualmente algunos iones.

Preferiblemente, el medio de conexión está provisto de una válvula que está aislada del electrolito.

5 Los recipientes de reacción se pueden hacer funcionar en diferentes condiciones, por ejemplo, el recipiente de reacción ánodo (14) se puede hacer funcionar a temperatura ambiente a aproximadamente 25 °C; y el recipiente de reacción cátodo (12) se puede hacer funcionar a una temperatura óptima o casi óptima para el crecimiento del metanógeno o metanógenos.

10 En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean una Archaea anaeróbica hiperextremófila hipertermófila, el recipiente de reacción cátodo (12) se puede hacer funcionar a una temperatura de 50 °C a 400 °C, preferiblemente de 80 °C a 200 °C, más preferiblemente de 80 °C a 150 °C.

En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean una Archaea anaeróbica psicrófila/criófila, el recipiente de reacción cátodo (12) se puede hacer funcionar a una temperatura de -50 a 50 °C, preferiblemente de -5 a -20 °C, lo más preferiblemente aproximadamente de -15 °C.

15 El recipiente de reacción cátodo (12) está presurizado y el recipiente de reacción ánodo (14) se puede presurizar a una presión desde 5 a 1.000 bar, típicamente de 5 a 500 bar, preferiblemente de 5 a 200 bar, más preferiblemente de 10 a 150 bar, más preferiblemente de 20 a 150 bar, lo más preferiblemente de 40 a 150 bar con un fluido de presurización que contiene o comprende dióxido de carbono líquido e hidrógeno.

20 El recipiente de reacción cátodo (12) se puede presurizar con una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono que puede estar presente en una relación molar de 4:1 a 1:4, de 2:1 a 1:4, desde mayor que 1:1 a 1:4 o incluso de 1:2 a 1:4.

Preferiblemente, se proporciona suficiente sustrato acuoso de crecimiento al recipiente de reacción cátodo (12) para proporcionar una relación volumétrica de sustrato acuoso de crecimiento frente a espacio de cabeza de 1:1 a 4:1, típicamente a una relación volumétrica de 2:1 a 3:1.

25 El pH del medio acuoso de crecimiento se mantiene preferiblemente en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente de 6,5 a 7.

La tensión aplicada a través del electrodo positivo y del electrodo negativo puede ser de -0,2 V a -40 V, -2 V a -40 V, -10 V a -40 V, -20 a -40 V, típicamente -25 V a -35 V.

La corriente eléctrica continua que circula a través del electrodo positivo y del electrodo negativo puede ser de aproximadamente 75-125 mA.

30 Según un objeto adicional de la invención, se proporciona un aparato para la producción de metano a partir de dióxido de carbono, hidrógeno y metanógeno o metanógenos de Archaea anaeróbica que comprende:

un recipiente de reacción cátodo (12) para contener dióxido de carbono y agua electrolítica;

un recipiente de reacción ánodo (14) para contener agua electrolítica;

35 un electrodo negativo (cátodo) capaz de soportar metanógenos de Archaea anaeróbica situados dentro del recipiente de reacción cátodo (12);

un electrodo positivo (ánodo) situado dentro del recipiente de reacción ánodo (14); y

40 medios de conexión para conectar agua electrolítica en el recipiente de reacción cátodo (12) y en el recipiente de reacción ánodo (14) para que pueda circular una corriente eléctrica entre los dos, caracterizado por que el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14) están adaptados para ser presurizados a una presión desde 5 a 1.000 bar, el recipiente de reacción cátodo (12) está adaptado para ser presurizado con un fluido de presurización que consiste en dióxido de carbono líquido o una mezcla de dióxido de carbono líquido e hidrógeno, y las superficies internas del recipiente de reacción cátodo (12) y del recipiente de reacción ánodo (14) están fabricadas de materiales no conductores y no corrosivos que aíslan el medio electrolítico del resto del aparato, excepto el cátodo y el ánodo que entran en contacto con el agua electrolítica dentro de los recipientes de reacción, y en donde el aparato comprende medios para controlar el pH.

45 El recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14) están adaptados preferiblemente para ser presurizados a una presión desde 5 a 500 bar, preferiblemente desde 5 a 200 bar, más preferiblemente desde 10 a 150 bar, más preferiblemente desde 20 a 150 bar, lo más preferiblemente desde 40 a 150 bar.

50 El medio de conexión es preferiblemente un conducto que contiene electrolito líquido,

El conducto puede incluir una membrana semipermeable que permite el paso de iones entre el agua electrolítica en el recipiente de reacción ánodo (14) y el recipiente de reacción cátodo (12).

Preferiblemente, el conducto tiene una válvula que no hace contacto eléctrico con el electrolito.

5 El electrodo negativo en el recipiente de reacción cátodo (12) está preferiblemente en forma de una estructura porosa capaz de soportar metanógenos y las biopelículas que pueden generar. Por ejemplo, el electrodo negativo en el segundo recipiente de reacción (12) es un cilindro microporoso hueco que está cerrado en un extremo y que está hecho de una amalgama de Pt, o Pt, o metal del grupo del Platino, o Titanio, o metal del grupo del Platino chapado con Titanio.

El electrodo positivo en el recipiente de reacción ánodo (14) está fabricado preferiblemente de Pt o de metal del grupo del Platino, o de Titanio electrodepositado.

10 Las superficies internas de los recipientes de reacción pueden estar fabricadas de materiales no conductores a alta temperatura, resistentes a altas presiones, por ejemplo, PEEK (poliéter-éter-cetona), y aíslan los medios electrolíticos del resto del aparato, excepto del cátodo y del ánodo que entran en contacto con la solución dentro de los recipientes de reacción.

El recipiente de reacción del cátodo está adaptado para ser presurizado con un fluido de presurización.

15 Preferiblemente, el aparato incluye medios para igualar la presión en el recipiente de reacción cátodo (12) y en el recipiente de reacción ánodo (14).

El medio de igualación de la presión es presurizado mediante el fluido de presurización utilizado para presurizar el recipiente de reacción cátodo (14) que también presuriza simultáneamente el recipiente de reacción ánodo (12).

Preferiblemente, el medio de igualación de la presurización proporciona aislamiento eléctrico entre el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14).

20 Los medios de igualación de la presión pueden comprender un tubo no conductor resistente a la alta tracción y alta temperatura con un pistón situado en el mismo, y un indicador para indicar la posición del pistón dentro del tubo.

Preferiblemente, el aparato incluye medios de control de calor para calentar o enfriar el recipiente de reacción ánodo (12).

Preferiblemente, se proporciona un agitador dentro del recipiente de reacción cátodo (12).

25 El conducto puede estar situado en una barrera no conductora y resistente al calor entre el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14).

Breve descripción de los dibujos

- Figura 1 es una vista lateral de un reactor según una realización de la invención;
- Figura 2 es una vista en sección transversal del reactor mostrado en la Figura 1, a través de la línea 2-2;
- 30 Figura 3 es una vista en sección transversal de un aparato para igualar la presión dentro de los recipientes reactores en el reactor según una realización de la invención;
- Figura 4 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento para determinar la influencia del CO₂ en el pH del sustrato electrolítico acuoso de crecimiento;
- Figura 5 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento para determinar el efecto de la electrolisis sobre el pH de los medios electrolíticos utilizados en la presente invención;
- 35 Figura 6 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. thermolithotrophicus*, 5 bar, 30 V, 65 °C;
- Figura 7 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. thermolithotrophicus*, 5 bar, 12 V, 65 °C;
- 40 Figura 8 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. thermolithotrophicus*, 10 bar, 30 V, 65 °C;
- Figura 9 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. thermolithotrophicus*, 20 bar, 30 V, 65 °C;
- 45 Figura 10 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento para mostrar que se produce oxígeno en el recipiente de reacción ánodo de la invención;
- Figura 11 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *M. kandleri*, 10 bar, 30 V, 97 °C;

- Figura 12 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *M. kandleri*, 20 bar, 30 V, 97 °C;
- Figura 13 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *M. kandleri*, 20 bar, 30 V, 105 °C;
- Figura 14 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. jannaschii* 10 bar, 30 V, 85 °C;
- 5 Figura 15 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. jannaschii* 10 bar, 30 V, 92 °C;
- Figura 16 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. jannaschii* 20 bar, 30 V, 92 °C; y
- Figura 17 es un gráfico que muestra los resultados de un experimento con *Mc. jannaschii* 30 bar, 92 °C.

10 Descripción detallada de la invención

Esta invención se refiere a un procedimiento para producir metano a partir de metanógeno (o metanógenos) Archaea que se cultivan en una solución de sustrato acuoso, en presencia de dióxido de carbono e hidrógeno, a una presión alta mayor o igual a 5 bar y hasta 1.000 bar utilizando un fluido de presurización que contiene o que comprende dióxido de carbono. La invención también se refiere a un aparato para llevar a cabo la reacción de metanogénesis.

15 La reacción de metanogénesis se mantiene en condiciones anaeróbicas.

Con referencia a las Figuras 1 y 2, los metanógenos se cultivan en un reactor indicado, en general, por el número 10. El reactor 10 comprende cámaras de reacción 12 y 14 que están adaptadas para operar a una temperatura hasta o mayor que o igual a 500 °C y a una presión interna mayor o igual a 5 bar y hasta 1.000 bar.

20 Las cámaras de reacción 12 y 14 están definidas en tubos 16 fabricados de un material no conductor capaz de soportar altas temperaturas (en este caso, poliéter-éter-cetona (PEEK)), que está reforzado dentro de una carcasa metálica 18 unida por barras de unión 19 metálicas.

Extendido en la cámara de reacción "ánodo" 14 hay un electrodo positivo (ánodo) 20 fabricado de platino sinterizado o titanio chapado en rodio. Una salida 22 se proporciona para eliminar material de la cámara de reacción ánodo 14, y se proporcionan entradas 24 y 26 para suministrar material a la cámara de reacción ánodo 14.

25 Extendido en el interior de la cámara de reacción "cátodo" 12 hay un electrodo negativo (cátodo) 28 fabricado de platino sinterizado o titanio chapado en rodio, o titanio. El electrodo negativo 28 tiene un núcleo hueco 30, con un disco perforado 32 que está cubierto con una tela de carbono 34 con capacidad para soportar metanógenos y que favorece que los metanógenos formen biopelículas.

30 Una barrera aislante 36, fabricada de un material no conductor, preferiblemente PEEK, separa las cámaras de reacción 12 y 14, que están unidas a través de un conducto 38 que se extiende a través de la barrera 36. El conducto 38 incluye un mecanismo de válvula que es utilizado para abrir y cerrar el conducto 38. La válvula está aislada de los contenidos de las cámaras de reacción 12 y 14 y comprende una varilla lisa seccionada roscada que, cuando se atornilla hacia adentro, permite que la sección de varilla lisa pase a través de una "doble curva" en el conducto para obstruir de forma eficaz la continuidad del electrolito cuando está completamente atornillada. Una membrana está asegurada dentro de un receptáculo de la cavidad dentro del conducto 38. El receptáculo de la cavidad está situado dentro del conducto 38 en el lado del ánodo de la válvula que separa los dos recipientes 12 y 14 para alojar un par de enchufes/casquillos cortos que aseguren la delgada membrana entre ellos. Los enchufes/casquillos están situados y fijados en su posición dentro del receptáculo mediante un anillo de seguridad no conductor.

La distancia entre los electrodos 20 y 28 es preferiblemente de 60 mm o menos. Las superficies internas de las cámaras de reacción 12 y 14, incluidas las superficies de contacto de electrolito y válvula, aíslan los medios electrolíticos dentro de estas cámaras del resto del aparato, a excepción de los electrodos 20 y 28 que entran en contacto con medios electrolíticos dentro de las cámaras 12 y 14.

45 Situado dentro de la cámara de reacción cátodo 12 debajo de la tela de carbono 34 hay una barra 40 de agitador magnético revestida de manera no conductora que es accionada por un mecanismo agitador magnético giratorio 42.

Se proporciona una salida 44 para eliminar material de la cámara de reacción cátodo 12, y se proporcionan entradas 46, 48 y 50 para suministrar material a la cámara de reacción cátodo 12.

50 Las salidas pueden tener válvulas de solenoide activadas eléctrica, neumática o hidráulicamente (no mostradas en los dibujos) que conectan los reactores con los medios de conexión de salida a recipientes externos de recogida o suministro.

Los electrodos 20 y 28 están conectados entre sí y alimentados con energía mediante una fuente de alimentación de CC.

Se proporcionan medios para controlar la presión dentro del recipiente de reacción ánodo 14 e igualar su presión interna con la presión dentro del recipiente de reacción cátodo 12: con referencia a la Figura 3, CO₂ presurizado y/o la mezcla 60 de H₂/CO₂ se suministra directamente a la entrada 50 del recipiente de reacción cátodo. El CO₂ y/o H₂/CO₂ presurizados se conectan al recipiente de reacción ánodo mediante un ecualizador 62 de alta presión que evita que la el CO₂ y/o la mezcla de CO₂/H₂ entre en contacto o reaccione con el contenido del recipiente de reacción ánodo 14. El ecualizador 62 de alta presión comprende una tubería 64 fabricada a partir de un tubo no conductor muy resistente a alta temperatura y está tapado por una carcasa 66 que puede soportar altas presiones de 5 bar y mayores, y hasta 1.000 bar. Situado dentro del tubo 64 hay un pistón 68. El pistón 68 puede moverse a lo largo de la longitud del tubo 66 y sella el CO₂ y/o H₂/CO₂ en el lado del cátodo del tubo 66 del electrolito en el lado ánodo del tubo 64 transmitiendo al mismo tiempo la presión a los contenidos del ánodo. Se proporciona un indicador para indicar la posición del pistón 68 dentro del tubo 64, en este caso, el indicador es una bola 70 de metal magnético situada dentro del pistón 68 que activa diodos emisores de luz (LED, no mostrados) colocados a lo largo de la longitud del tubo 64. Los LED se iluminan cuando entran en contacto con el campo magnético de la bola 70 magnética, y así indican la posición del pistón 68 dentro del tubo 64.

En uso, antes de la puesta en marcha del procedimiento electrolítico, se cierra la válvula en el conducto 38 y el electrolito del ánodo se transfiere al recipiente de reacción ánodo 14 a través de la entrada 26. El electrolito del ánodo comprende una solución acuosa que contiene MgSO₄ 1,25 M.

Una solución acuosa de sustrato de metanógenos se transfiere al recipiente de reacción cátodo 12 a través de la entrada 48. La solución acuosa de sustrato comprende una combinación de minerales (principalmente cloruro, sulfato y carbonato así como minerales de Wolfe, y vitaminas de metanógenos tales como vitaminas de Wolf con capacidad para soportar los metanógenos. La solución tiene un pH en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente 6,5 a 7. La solución es inoculada con células de metanógeno o metanógenos en condiciones anaeróbicas y luego transferida al recipiente de reacción cátodo a través de una entrada 46. Se transfiere suficiente solución acuosa de sustrato de metanógenos al recipiente de reacción cátodo 12 para dejar un espacio de cabeza anaeróbico. La relación entre el volumen del espacio de cabeza y el volumen de la solución es típicamente de 1:1 a 1:3.

La entrada 26 del recipiente de reacción ánodo 14 está conectada al ecualizador 62 de la presión. Se bombea CO₂ al recipiente de reacción cátodo 12 a través de la entrada 48 para purgar el espacio de aire, que incluye oxígeno, que sale a través de la salida 44. Las entradas 24, 48 y 46 y también las salidas 22 y 44 son cerradas y el recipiente de reacción cátodo 12 es presurizado con CO₂ líquido. Cuando la presión dentro de los recipientes de reacción 12 y 14 es la misma, la válvula en el conducto 38 es abierta y se mantiene igual presión dentro de los recipientes de reacción 12 y 14 haciendo uso del ecualizador 62 de alta presión. La presión en los recipientes de reacción 12 y 14 puede mantenerse de 5 bar a 1.000 bar. Se ha encontrado que el aumento de la presión de CO₂ puede conducir a la disminución del pH de la solución acuosa de sustrato de metanógenos. Esto es un problema cuando el pH llega a 5,5 o menos. Lo ideal es que el pH se mantenga en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente de 6,5 a 7.

Las temperaturas dentro de los recipientes de reacción 12 y 14 pueden ser la misma, o pueden calentarse o enfriarse por separado calentando o enfriando materiales reciclados en los recipientes. La temperatura dentro del recipiente de reacción 12 puede controlarse calentando un material aislado 51 de cobre o conductor del calor por medio de un cartucho o elemento o elementos de calefacción cerca de él.

El metanógeno o los metanógenos pueden ser Archaea anaeróbica, que puede ser un organismo microbiológico hipertermófilo, hiperextremófilo o psicrófilo/criófilo y/o exoelectrogénico.

Ejemplos de los metanógenos incluyen *Methanobacterium alcaliphilum*, *Methanobacterium bryantii*, *Methanobacterium congolense*, *Methanobacterium defluvii*, *Methanobacterium espanolae*, *Methanobacterium formicum*, *Methanobacterium ivanovii*, *Methanobacterium palustre*, *Methanobacterium thermaggregans*, *Methanobacterium uliginosum*, *Methanobrevibacter acididurans*, *Methanobrevibacter arbor iphilicus*, *Methanobrevibacter gottschalkii*, *Methanobrevibacter olleyae*, *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobrevibacter smithii*, *Methanobrevibacter woesei*, *Methanobrevibacter wolinii*, *Methanothermobacter marburgensis*, *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, *Methanobacterium thermoautotrophicus*, *Methanothermobacter thermoflexus*, *Methanothermobacter thermophilus*, *Methanothermobacter wolfeii*, *Methanothermus sociabilis*, *Methanocorpusculum bavaricum*, *Methanocorpusculum parvum*, *Methanoculieus chikuoensis*, *Methanoculleus submarinus*, *Methanogenium frigidum*, *Methanogenium liminatans*, *Methanogenium marinum*, *Methanosarcina acetivorans*, *Methanosarcina barken*, *Methanosarcina mazei*, *Methanosarcina thermophila*, *Methanomicrobium mobile*, *Methanocaldococcus jannaschii*, *Methanococcus aeolicus*, *Methanococcus maripaludis*, *Methanococcus vannielii*, *Methanococcus voltaei*, *Methanothermococcus thermolithotrophicus*.

En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean una Archaea anaeróbica hiperextremófila hipertermófila, el recipiente de reacción cátodo (12) se puede hacer funcionar a una temperatura de 50 °C a 400 °C, preferiblemente de 80 °C a 200 °C, más preferiblemente de 80 °C a 150 °C. En el caso de que el metanógeno o los metanógenos sean Archaea anaeróbica psicrófila/criófila, el recipiente de reacción cátodo (12) se puede hacer

funcionar a una temperatura de -50 a 50 °C, preferiblemente -5 a -20 °C, lo más preferiblemente aproximadamente a -15 °C.

Además de CO₂, se puede suministrar H₂ a la cámara de reacción cátodo 12 a través de la entrada 50 respectivamente, de modo que la cámara de reacción cátodo se presuriza con una mezcla de CO₂/H₂. El H₂ y el CO₂ pueden agregarse en una relación molar de 4:1 a 1:4, de 2:1 a 1:4, de 1:1 a 1:4 o incluso de 1:2 a 1:4. Las concentraciones de CO₂ y H₂ se maximizan excluyendo otros materiales para la presurización de manera que el volumen máximo del sistema reactor se pueda utilizar para la transformación a CH₄.

Según la presente invención, los metanógenos típicos son archaea metanogénica termófila, por ejemplo:

de la clase Metanococci, a saber, *Methanocaldococcus jannaschii* (anteriormente *Methanococcus jannaschii*), la temperatura preferida de es de 85 °C, del género Methanopyrus, a saber, *Methanopyrus kandleri*; la temperatura preferida es de 105 °C, y del género *Methanothermococcus*, a saber, *Methanothermococcus thermolithotrophicus*, la temperatura preferida es de 65 °C.

Se inicia una reacción de electrolisis aplicando un voltaje directo de -0,2 hasta -35 V, típicamente de -20 a -35 V, a través del electrodo positivo 20 y del electrodo negativo 28. La intensidad de la corriente eléctrica continua que circula a través del electrodo positivo y del electrodo negativo puede ser de aproximadamente 75-125 mA, típicamente de aproximadamente 100 mA. La carga aplicada ioniza los átomos en los medios electrolíticos en los recipientes de reacción. El inicio del procedimiento de electrolisis hace que se formen iones de hidrógeno naciente (ionizado) a partir del H₂O presente en el medio electrolítico. Según la presente invención, la reacción de electrolisis no solo produce hidrógeno, sino que también aumenta el pH de la solución acuosa de sustrato y puede usarse para controlar el pH de la solución hasta un pH superior a 5,5 al que los metanógenos no solo pueden producir metano sino que también pueden crecer (es decir, reproducirse), en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente de 6,5 a 7. Según un procedimiento según la presente invención, el pH de la solución acuosa de sustrato se proporciona inicialmente en el intervalo correcto de 6 a 7,5 por los electrolitos en el medio. La presurización con CO₂ aumenta la acidez y, con ello, el pH disminuye. Si el pH baja demasiado, la electrolisis se realiza de forma intermitente para aumentar la alcalinidad y llevar el pH hasta el intervalo requerido.

El metano puede recuperarse de la salida 44. En el recipiente de reacción ánodo 14, el flujo de electrones provoca que los iones de oxígeno que están cargados negativamente sean atraídos hacia el electrodo 20 cargado positivamente en su interior, liberando así las moléculas de oxígeno en el electrodo. El producto oxígeno se puede recuperar desde la salida 22.

El conducto 38, que puede tener propiedades de catión de flujo unidireccional, es necesario que permita la transferencia de electrones y mantenga el oxígeno liberado en el recipiente de reacción 14 alejado del recipiente de reacción 12 para evitar en él la recombinación con carbono y/o hidrógeno allí y la contaminación con oxígeno de la Archaea anaeróbica. La barrera 36 también sirve para reducir la transferencia de conducción del calor de modo que puedan mantenerse diferentes condiciones de temperatura en los recipientes de reacción 12 y 14 para mejorar y facilitar las diferentes reacciones que se producen en los mismos y ahorrar costes de energía.

Si es necesario, se pueden suministrar metanógenos a la cámara de reacción 12 a través del núcleo hueco 30 del electrodo 28, y estos se asientan sobre la tela de carbono 34 que proporciona un refugio para que los metanógenos desarrollen biopelículas y realicen la metanogénesis.

La polarización de carga sirve para separar entre sí el oxígeno y el metano producidos durante otro período corto suficiente para que los metanógenos realicen su trabajo de transformación y también mejoren el procedimiento mediante una electrolisis mejorada. Durante este procedimiento, el oxígeno se produce en el ánodo 20, lejos del cátodo cargado negativamente 28, donde se produce la reacción de metanogénesis que proporciona condiciones suficientemente anaeróbicas en las cercanías del cátodo mientras la corriente circula a través del circuito.

La corriente de salida se puede reciclar después de la separación del metano producido a partir de materiales sin reaccionar, se consigue la eliminación de los metanógenos muertos o inactivos, y el procedimiento se puede repetir continuamente.

Según un aspecto adicional de la invención, se ha encontrado que la reacción de metanogénesis puede mejorarse a presiones más altas añadiendo hidrógeno al espacio de cabeza del recipiente de reacción cátodo 14.

Según una realización de la invención, se desarrolló un procedimiento estándar, y las condiciones estándar fueron:
Cátodo: 100 ml de espacio de cabeza, 300 ml de medio; Inóculo con 0,5 g de células congeladas.
Ánodo: completamente lleno con solución de MgSO₄ 1,25 M (~100 ml)
Voltaje: 30 V

Procedimiento: Inoculación a temperatura ambiente, la electrolisis se inicia automáticamente durante la noche. La primera medición del espacio de cabeza es al día siguiente por la mañana. Si el contenido de hidrógeno es >50 % en vol., la electrolisis se detiene. Luego se inicia el calentamiento a la temperatura adecuada. Se continúan haciendo

varias medidas en el espacio de cabeza (~3 h de incubación, 6 h de incubación, al día siguiente por la mañana) hasta que el hidrógeno producido se haya transformado (completamente) en metano.

- Se llevaron a cabo experimentos utilizando el aparato ilustrado en las Figuras 1-3 y descrito anteriormente utilizando tres cepas de metanógenos hipertermófilos: *Methanocaldococcus jannaschii* (anteriormente *Methanococcus jannaschii*), *Methanopyrus kandleri*, la temperatura preferida es 105 °C, y *Methanothermococcus thermolithotrophicus*. Las tres cepas se han ensayado según este procedimiento.

Se llevaron a cabo los siguientes experimentos:

1. *Mc. thermolithotrophicus*, 10 bar, 30 V, 65 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
2. *Mc. thermolithotrophicus*, 20 bar, 30 V, 65 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
- 10 3. *M. kandleri*, 10 bar, 30 V, 97 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
4. *M. kandleri*, 20 bar, 30 V, 97 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
5. *M. kandleri*, 20 bar, 30 V, 105 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
6. *Mc. jannaschii* 10 bar, 30 V, 85 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
7. *Mc. jannaschii* 10 bar, 30 V, 92 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.
- 15 8. *Mc. jannaschii* 20 bar, 30 V, 92 °C, 300 ml de electrolito/100 ml de espacio de cabeza.

Se proporciona un resumen de los resultados de los ensayos en la Tabla 1 siguiente:

Tabla 1

	TEMPERATURA DEL ORGANISMO [°C]	EJEMPLO	DURACIÓN [h]	PORCENTAJE DE LA COMPOSICIÓN DE METANO EN EL ESPACIO DE CABEZA	CH ₄ PRODUCIDO EN TOTAL [ml]	CH ₄ PRODUCIDO POR ML DE CULTIVO [ml/ml]	TASA DE PRODUCCIÓN DE CH ₄ [ml/h]
1. 10 bar de CO ₂ y 30 V	<i>Mc thermolithotrophicus</i> 65	Ejemplo 6	45,75 en total 29 con calentamiento	18	184	0,6	4/6,3
2. 20 bar de CO ₂ y 30 V	<i>Mc. thermolithotrophicus</i> 65	Ejemplo 7	69 en total 51,5 con calentamiento	22,5	399	1,3	5,8/7,7
3. 10 bar de CO ₂ y 30 V	<i>M. kandleri</i> 97	Ejemplo 9	41 en total 24 con calentamiento	15	120	0,4	5
4. 20 bar de CO ₂ y 30 V	<i>M. kandleri</i> 97	Ejemplo 10	47 en total 40,5 con calentamiento	25	400	1,3	9,9
5. 20 bar de CO ₂ y 30 V	<i>M. kandleri</i> 105	Ejemplo 11	48,5 en total y 29,5 con calentamiento	19	285	0,95	9,7
6. 10 bar de CO ₂ y 30 V	<i>Mc. jannaschii</i> 85	Ejemplo 12	41 en total y 22,5 con calentamiento	30,5	244	0,8	10,8
7. 10 bar de CO ₂ y 30 V	<i>Mc. jannaschii</i> 92	Ejemplo 13	41,5 en total y 16 con calentamiento	19,5	195	0,65	12,2
8. 20 bar de CO ₂ y 30 V	<i>Mc. jannaschii</i> 92	Ejemplo 14	41,5 en total y 22 con calentamiento	31	465	1,55	21,1

Los resultados reflejados en la Tabla 1 indican que la tasa de producción de metano y el % en volumen total de metano aumenta con el aumento de las presiones y las temperaturas de los ensayos. La temperatura de incubación para el organismo respectivo debe ser aproximadamente su temperatura óptima.

5 Con referencia al Ejemplo 13 - experimento con *Methanocaldococcus jannaschii* a 30 V, 92 °C y 10 bar:
Aproximadamente 57 % en volumen de H₂ se obtuvo a partir de electrolisis a 30 V (espacio de cabeza inicial). Los metanógenos transformaron el hidrógeno completamente en 19 % en volumen de CH₄ a una temperatura constante de 92 °C. El porcentaje de volumen final de H₂ en el espacio de cabeza fue 1 % en volumen.
La tasa de transformación de H₂ a CH₄ fue de 98,2 %.

10 La tasa de producción de CH₄ fue de 12,1 ml/h.

Con referencia al Ejemplo 14 - experimento con *Methanocaldococcus jannaschii* a 30 V, 92 °C y 20 bar:

Se produjo 65,5 % en volumen de H₂ a partir de electrolisis (espacio de cabeza inicial).

Los metanógenos transformaron el hidrógeno completamente en 31 % en volumen de CH₄ a una temperatura constante de 92 °C. El porcentaje de volumen final de H₂ en el espacio de cabeza fue de 0,4 % vol.

15 La tasa de transformación de H₂ a CH₄ fue de 99,4 %.

La tasa de producción de CH₄ fue de 21,1 ml/h.

Estos dos experimentos son comparables porque la temperatura, el electrolito, la relación entre el espacio de cabeza y el medio, el procedimiento de inoculación y el voltaje permanecieron constantes. No se ha agregado hidrógeno externo.

20 Estos dos experimentos respaldan las siguientes conclusiones:

1. Que el aumento de la presión aumenta la eficiencia y la tasa de producción biológica de CH₄ a partir de H₂ (producido a partir de la electrolisis de H₂O) y de CO₂. La tasa de transformación en el experimento de 20 bar fue mayor que en el experimento de 10 bar.

25 2. Los metanógenos consumieron todo el hidrógeno producido a partir de la producción de metano debido a la metanogénesis.

3. La producción biológica de metano (metanogénesis) utilizando el procedimiento de esta invención no requiere necesariamente una relación de H₂:CO₂ de 4:1. Cuando el CO₂ está en exceso, se puede favorecer el consumo completo de hidrógeno (en comparación con una relación 4:1 de hidrógeno:CO₂).

1 atm = 101,325 kPa

30 1 bar = 100 kPa

La invención se describirá ahora con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplo 1

En los ejemplos, se ensayaron tres metanógenos, *M. kandleri*, *M. thermolithotrophicus* y *M. jannaschii* para la producción de metano.

35 Se utilizaron las siguientes soluciones de sustrato acuoso de crecimiento (medio de crecimiento) en los Ejemplos:

Medio MJ - para el *M. jannaschii*

Aditivo	Cantidad
NaCl	30,0 g
NaHCO ₃	1,00 g
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	4,10 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	3,40 g
KCl	0,33 g
NH ₄ Cl	0,25 g
K ₂ HPO ₄	0,14 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,14 g
(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ x 6 H ₂ O	0,01 g
NiCl ₂ x 6 H ₂ O	0,5 mg
Na ₂ SeO ₄	0,5 mg
Minerales de Wolfe 10x/pH 1,0/neu-T	1,0 ml
Vitaminas de Wolfe 10x	1,0 ml
Resazurina, 0,1% ig	1,0 ml
Na ₂ S x 7-9 H ₂ O	0,5 g

alternativa:	
Na ₂ S x 2 H ₂ O	0,25 g
H ₂ O, ad	1.000,0 ml

Minerales de Wolfe		
Aditivo	Cantidad	Concentración
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	30,0 g	121,70 mM
MnSO ₄ x H ₂ O	5,00 g	29,60 mM
NaCl	10,00 g	171,10 mM
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	1,00 g	3,60 mM
CoCl ₂ x 6 H ₂ O	1,00 g	7,57 mM
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1,00 g	6,80 mM
ZnSO ₄ x 7 H ₂ O	1,80 g	6,30 mM
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,10 g	0,40 mM
KAl(SO ₄) ₂ x 12 H ₂ O	0,18 g	0,38 mM
H ₃ BO ₃	0,10 mg	1,62 mM
Na ₂ MoO ₄ x 2 H ₂ O	0,10 mg	0,41 mM
(NH ₄) ₂ Ni(SO ₄) ₂ x 6 H ₂ O	2,80 ml	7,09 mM
Na ₂ WO ₄ x 2 H ₂ O	0,10 ml	0,30 mM
Na ₂ SeO ₄	0,10 ml	0,53 mM
H ₂ O, ad	1.000,0 ml	

Vitaminas de Wolfe		
Aditivo	Cantidad	Concentración
Biotina	20 mg	81,9 µM
Ácido fólico	20 mg	45,3 µM
Dihidrocloruro de piridoxamina = Vit. B6	100 mg	386,0 µM
Dihidrocloruro de triamina = Vit. B1	50 mg	148,0 µM
Riboflavina = Vit. B2	50 mg	133,0 µM
Ácido nicotínico	50 mg	406,0 µM
DL-pantotenato de calcio	50 mg	105,0 µM
Cianocobalamina = Vit. B12	1 mg	0,74 µM
Ácido p-aminobenzoico = PABA	50 mg	365,0 µM
Ácido lipoico	50 mg	242,0 µM
H ₂ O bidestil., ad	1.000 ml	

Medio SME (agua de mar sintética) - para *M. kandleri*

Aditivo	Cantidad
solución patrón de SME	1.000,0 ml
KH ₂ PO ₄	0,5 g
NH ₄ Cl	0,5 g
Minerales de Wolfe/10x/pH 1,0/neu-T	1,0 ml
Resazurina, 0,1 % ig	1,0 ml
Na ₂ S x 7-9 H ₂ O	0,5 g
alternativa:	
Na ₂ S x 2 H ₂ O	0,25 g

Solución patrón de SME		
Aditivo	Cantidad	Concentración
NaCl	27,7 g	473,99 mM
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	7,0 g	28,4 mM
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	5,5 g	27,1 mM
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,75 g	5,1 mM

Solución patrón de SME		
Aditivo	Cantidad	Concentración
KCl	0,65 g	8,7 mM
NaBr	0,1 g	0,97 mM
H ₃ BO ₃	0,03 g	0,49 mM
SrCl ₂ x 6 H ₂ O	0,015 g	0,056 mM
KJ-Lsg., 0,1 % ig	0,1 ml	0,30 µM
H ₂ O, ad	1.000,0 ml	

Medio MGG - para *M. thermolithotrophicus*

Aditivo	Cantidad
NaCl	18,00 g
NaHCO ₃	5,50 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	3,40 g
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	4,30 g
KCl	0,35 g
K ₂ HPO ₄ 3 H ₂ O	0,14
NH ₄ Cl	0,25 g
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,14 g
(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂ x 6 H ₂ O	0,002 g
Minerales de Wolfe 10x/pH 1,0/neu -T	1,0 ml
Resazurina, 0,1% ig	1,0 ml
Na ₂ S x 7-9 H ₂ O	0,5 g
alternativa:	
Na ₂ S x 2 H ₂ O	0,25 g
H ₂ O, ad	1.000,0 ml

Ejemplo 2 - CO₂ - Experimento a 50 bar sin electrolisis

Este experimento se realizó para determinar la influencia de CO₂ en el valor del pH del electrolito.

- 5 La prueba se inició a 65 °C con 50 bar de CO₂. El electrolito en la cámara cátodo era SME, pH 7. El cambio de pH se supervisó cada 15 minutos. Los resultados de los Experimentos se muestran en la Tabla 2 siguiente.

Tabla 2

FECHA	TIEMPO	PRESIÓN	TEMPERATURA	pH EN EL CÁTODO
12.05.12	11:00	atmosférica	65 °C	7
12.05.12	13:50	50 bar de CO ₂	65 °C	7
12.05.12	14:05	50 bar de CO ₂	65 °C	6,5
12.05.12	14:20	50 bar de CO ₂	65 °C	5,5
12.05.12	14:35	50 bar de CO ₂	65 °C	5,5
12.05.12	14:50	50 bar de CO ₂	65 °C	5,5
12.05.12	14:02	80 bar de CO ₂	65 °C	presurizado hasta 80 bar
12.05.12	14:17	80 bar de CO ₂	65 °C	5,5

La influencia del CO₂ sobre el pH se muestra en la Figura 4.

Conclusión: a una presión de 50 bares de CO₂, el pH cayó desde 7 a 5,5 y se mantuvo constante a este valor. Un pH de 5,5 es el pH mínimo que los metanógenos pueden tolerar.

Ejemplo 3 - Experimento de electrolisis a 65 °C y presión atmosférica (sin presencia de CO₂)

- 5 Este experimento se realizó para determinar el efecto de la reacción de electrolisis sobre el pH cuando no está presente el CO₂.
 Electrolito: SME (cátodo), SME sin cloruros (ánodo)
 Voltaje: 31,5 V, constante
 Fase gaseosa: aire

- 10 Los resultados de los Experimentos se muestran en la Tabla 3 y en la Figura 5.

Tabla 3

	Al principio (a 65 °C)	Después de 15 min	Después de 30 min	Después de 45 min	Después de 1 h	Después de 2 h
Corriente	220 mA	250 mA	320 mA	300 mA	320 mA	300 mA
pH en el ánodo	6,5	5,5	3,5	2,5	2	2
pH en el cátodo	8	9	10	11	11	11

El pH en el cátodo aumentó de 8 a 11 y se mantuvo constante a 11. El pH en el ánodo se volvió ácido y cayó de 6,5 a 2.

- 15 Conclusión: debido a la electrolisis, el electrolito en el cátodo se volvió alcalino y el entorno de reacción del ánodo se volvió ácido. Un pH de 11 en el cátodo es demasiado alto para los metanógenos. Su intervalo de pH es de 5,5 a 8 con un óptimo de aproximadamente 7. La reacción de electrolisis puede usarse para controlar el pH de la solución.

Ejemplo 4

- 20 Reacción de FFGF con *Mc. thermolithotrophicus* a 5 bar de CO₂ y 30 V
 Electrolito del cátodo: 280 ml de SME, pH 6,5
 Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M
 Inóculo: 0,8 g de células congeladas y 20 ml de precultivo líquido
 Fase gaseosa CO₂ a 5 bar
 25 Comenzar la electrolisis inmediatamente después de la inoculación; cuando hay suficiente hidrógeno, calentar hasta la temperatura final.
 Voltaje 30 V

Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 6.

- 30 En este experimento, solo había CO₂ en la fase de cabeza y no había hidrógeno adicional. El hidrógeno se produjo solo a partir de la electrolisis, que comenzó inmediatamente después de la inoculación. A una concentración del 45 % de hidrógeno se activó el calentamiento para activar los metanógenos. La electrolisis se ejecutó durante otras ~3,5 h hasta que se detuvo. Durante la noche, los metanógenos produjeron ~15 % de metano a partir de CO₂ e hidrógeno. La última medición mostró que el espacio de cabeza contiene ~25 % de metano. Después del experimento, se observó que las células congeladas estaban sobre la parte superior del cátodo y no se volvían a suspender en el medio. Luego, precultivos de líquido en los siguientes experimentos.

35 Ejemplo 5

- Reacción de FFGF con *Mc. thermolithotrophicus* a 5 bar de CO₂ y 12 V
 Electrolito del cátodo: 240 ml SME, pH 6,5
 Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M
 Inóculo: 60 ml de precultivo líquido
 40 Fase gaseosa 5 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis inmediatamente después de la inoculación; cuando hay suficiente hidrógeno, calentar hasta la temperatura final

Voltaje 12 V

5 ml de muestra de gas descartados, 10 ml de muestra de gas analizados

5 Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 7.

En las mismas condiciones que en el Ejemplo 4, pero con electrolisis a 12 V, llevó más tiempo producir cantidades similares de hidrógeno a partir de la electrolisis (8 h y >33 % de H₂ frente a 2,5 h y 45 % de H₂). La electrolisis se detuvo durante la noche. Por la mañana, los metanógenos habían transformado el hidrógeno y el CO₂ en ~6 % de metano. La electrolisis se reinició para investigar si se producía más metano y ese fue el caso: se alcanzó una concentración final de ~8 % de CH₄. El rendimiento es tres veces menor en comparación con el experimento a 5 bar descrito en el Ejemplo 4 con 30 V. Se concluyó que se puede producir más metano con mayor voltaje.

10

Ejemplo 6

Reacción de FFGF con *Mc. thermolithotrophicus* a 10 bar de CO₂ y 30 V

Electrolito del cátodo: 240 ml SME, pH 7

15 Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M

Inóculo: 60 ml de precultivo líquido

Fase gaseosa 10 bar de CO₂

Voltaje 30 V

Los resultados de este experimento se proporcionan en la Figura 8.

20 Este experimento se realizó a 10 bar de CO₂ sin hidrógeno adicional. El hidrógeno se produjo a partir de la electrolisis a 30 V que se había iniciado automáticamente a medianoche. En esta etapa, el reactor estaba a temperatura ambiente. Por la mañana, cuando se ejecutó la electrolisis durante 8,5 h, se midió ~70 % de H₂ en la fase gaseosa. El reactor se calentó para llevar los metanógenos a un modo activo (véase la Fig. 8). La electrolisis se inició durante ~3,5 h. Al día siguiente se pudo detectar metano con una concentración final de ~18 %.

25 Ejemplo 7

Reacción de FFGF con *Mc. thermolithotrophicus* a 20 bar de CO₂ y 30 V

Electrolito del cátodo: 240 ml SME, pH 7

Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M

Inóculo: 60 ml de precultivo líquido

30 Fase gaseosa 20 bar de CO₂

Un temporizador controlaba el comienzo automático de la electrolisis a las 22:00

Voltaje 30 V

Los resultados de este experimento se proporcionan en la Figura 9.

35 Este experimento se realizó a 20 bar de CO₂ sin hidrógeno adicional. El hidrógeno se produjo por electrolisis a 30 V, que se había iniciado automáticamente por la noche a las 22.00 horas. En esta etapa, el reactor estaba a temperatura ambiente. Por la mañana, cuando se ejecutó la electrolisis durante 10 h y 25 minutos, se midió ~63 % de H₂ en la fase gaseosa. El calentamiento se inició para activar los metanógenos (véase la Fig. 9). La concentración final de metano fue de ~22,5 %.

Ejemplo 8

40 Se tomaron muestras del gas en el ánodo y se analizaron en el CG. Con el equipo de CG es posible la detección de oxígeno (pero no la cuantificación, ya que el nitrógeno como gas portador no es adecuado para la cuantificación de oxígeno). Pero, para estimar aproximadamente la cantidad de oxígeno producido en el ánodo, se realizó una "curva de calibrado" con dos patrones (oxígeno 100 % puro y aire con ~21 % de O₂). Los picos resultantes tenían diferentes áreas (en el mismo tiempo de retención). Al trazar el área, que es directamente proporcional a la cantidad de gas inyectado, frente al porcentaje de volumen se obtuvo la "curva de calibrado" (véase la Fig. 10). Después de la inyección de la muestra del "ánodo" con una composición desconocida, se pudo estimar aproximadamente el porcentaje de volumen de oxígeno que correspondió a ~30 % (téngase en cuenta que en este caso la electrolisis se ejecutó durante ~13 h a 30 V). Aunque una curva de calibrado con solo dos puntos de medición y bajo condiciones dadas (gas nitrógeno como portador) es poco precisa para una cuantificación exacta, se puede decir que la cantidad

45

de oxígeno en el ánodo es mayor que la del aire. Por lo tanto, se demuestra que el oxígeno se está produciendo en el reactor ánodo.

Ejemplo 9

M. kandleri (97 °C) a 10 bar de CO₂ y 30 V, Inóculo con células congeladas

5 Electrolito del cátodo: 280 ml SME, pH 6

Electrolito del ánodo: MgSO₄ 1,25 M

Inóculo: 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml de SME en condiciones anaeróbicas

Fase gaseosa 10 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) a temperatura ambiente por la noche mediante temporizador durante 6 h

10 Comenzar a calentar por la mañana cuando haya suficiente hidrógeno presente

Tomar 15 ml de muestra gaseosa, descartar 5 ml (volumen muerto), utilizar 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 11.

15 Este experimento de 10 bar de CO₂ con *M. kandleri* sí produjo metano. Se usaron células congeladas como inóculo y este fue un enfoque que tuvo éxito. La electrolisis comenzó a temperatura ambiente y produjo ~85 % de hidrógeno en 6 h. En un día de incubación a 97 °C, los metanógenos produjeron 15 % en vol. de CH₄. Se decidió el uso de células de *M. kandleri* congeladas para los experimentos posteriores.

Ejemplo 10

M. kandleri (97 °C) a 20 bar de CO₂ y 30 V, inoculación con células congeladas

20 Electrolito del cátodo: 280 ml SME, pH 6

Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M

Inóculo: 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml de SME en condiciones anaeróbicas

Fase gaseosa 20 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) inmediatamente después de la inoculación

25 Comenzar a calentar cuando se produzca suficiente hidrógeno a partir de la electrolisis

Los resultados de este experimento se proporcionan en la Figura 12.

30 En este experimento con 20 bar de CO₂ se inocularon células congeladas resuspendidas e inmediatamente se inició la electrolisis a temperatura ambiente. Se detuvo la electrolisis por la tarde después de ~7 h y se calentó el reactor (50 % de H₂ presente). Durante la noche, *M. kandleri* transformó en H₂ y CO₂ en ~25 % de metano. Luego se reinició la electrolisis, pero la corriente disminuyó rápidamente a 0,07-0,01 A. Después de liberar el gas producido en el reactor ánodo (>200 ml), el flujo de corriente aumentó inmediatamente, pero solo durante un corto tiempo. Curiosamente, los porcentajes de H₂ y CH₄ en el espacio de cabeza del cátodo también disminuyeron después de la liberación del gas del ánodo. Como el flujo de corriente era bajo, no se pudo producir más H₂. El H₂ restante (~6 % por la tarde) fue transformado completamente en metano durante la noche por los metanógenos activos.

35 Ejemplo 11

M. kandleri (105,5 °C) a 20 bar de CO₂ y 30 V, Inoculación con células congeladas

Electrolito del cátodo: 280 ml SME, pH 6

Electrolito del ánodo: Mg₂SO₄, 1,25 M

Inóculo: 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml de SME en condiciones anaeróbicas

40 Fase gaseosa 20 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) a temperatura ambiente por la noche mediante temporizador durante 6 h

Comenzar a calentar por la mañana cuando haya suficiente hidrógeno presente.

Se tomaron 15 ml de muestra gaseosa, se descartaron 5 ml (volumen muerto), se utilizaron 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

45 Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 13.

En este experimento, la electrolisis se inició a temperatura ambiente. En 8 h, ~60 % de hidrógeno se produjo a partir de la electrolisis (a 20 bar iniciales de CO₂) que es suficiente para apoyar el crecimiento de los metanógenos. El calentamiento comenzó a las 10:00, inmediatamente los metanógenos comenzaron a producir metano de modo que se pudo medir 2 % de CH₄ por la tarde (véase la Fig. 13). En 24 h, los metanógenos transformaron todo el hidrógeno en metano hasta una concentración final del 19 %. Si hubiera habido más hidrógeno presente, probablemente los metanógenos habrían producido aún más metano.

Ejemplo 12

Mc. jannaschii a 10 bar de CO₂, 30 V y 85 °C

Electrolito del cátodo: 240 ml de medio, pH 6,5 y 60 ml de precultivo líquido

10 Electrolito del ánodo: Mg₂SO₄, 1,25 M

Fase gaseosa inicial 10 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) a temperatura ambiente por la noche mediante temporizador durante 8 h

15 Medir el contenido de hidrógeno por la mañana y añadir hidrógeno adicional, si es necesario; luego comenzar a calentar Se tomaron 15 ml de muestra, se descartaron 5 ml (volumen muerto), se utilizaron 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

Los resultados de este experimento se proporcionan en la Figura 14.

Se inocularon precultivos líquidos y se comenzó con 10 bar de CO₂. La electrolisis se ejecutó durante 8 horas a 30 V. Después de 22,5 h de incubación a la temperatura final (85 °C), la concentración de metano fue de ~30 % en vol. que corresponde a 244 ml de metano en total. Luego se liberó el gas y se agregó hidrógeno externo.

20 Ejemplo 13

Mc. jannaschii a 10 bar de CO₂, 30 V y 92 °C

Electrolito del cátodo: 280 ml de medio, pH 6,5 y 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml en condiciones anaeróbicas

Electrolito del ánodo: Mg₂SO₄, 1,25 M

25 Fase gaseosa inicial 20 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) a temperatura ambiente por la noche con temporizador

Medir el contenido de hidrógeno por la mañana y añadir hidrógeno adicional, si es necesario; luego comenzar a calentar Se tomaron 15 ml de muestra, se descartaron 5 ml (volumen muerto), se utilizaron 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

30 Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 15.

Esta prueba produjo 19,5 % en vol. en total sin adición de hidrógeno externo (véase la Fig. 15). En 41,5 h de tiempo de incubación total, los metanógenos transformaron todo el hidrógeno presente en metano.

Ejemplo 14

Mc. jannaschii a 20 bar de CO₂, 30 V y 92 °C

35 Electrolito del cátodo: 280 ml de medio, pH 6,5 y 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml en condiciones anaeróbicas

Electrolito del ánodo: MgSO₄, 1,25 M

Fase gaseosa inicial 20 bar de CO₂

Comenzar la electrolisis (30 V) a temperatura ambiente por la noche con temporizador

40 Medir el contenido de hidrógeno por la mañana y agregar hidrógeno adicional, si es necesario; luego comenzar a calentar

Se tomaron 15 ml de muestra, se descartaron 5 ml (volumen muerto), se utilizaron 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

Los resultados de este experimento se muestran en la Figura 16.

45 Este ensayo produjo 31 % en vol. de metano que corresponde a 465 ml de metano gaseoso (véase la Fig. 16). No se agregó hidrógeno externo. Todo el hidrógeno presente se produjo a partir de la electrolisis y había sido utilizado por los metanógenos para la síntesis de metano.

Ejemplo 15

Mc. jannaschii a 92 °C con adición de hidrógeno externo a 30 bar H₂/CO₂

Electrolito del cátodo: 280 ml de medio, pH 6,5 y 0,5 g de células congeladas, resuspendidas en 20 ml en condiciones anaeróbicas

5 Electrolito del ánodo: Mg₂SO₄, 1,25 M

Fase gaseosa inicial 15 bar de CO₂ y 15 bar de hidrógeno externo => 30 bar

Fase gaseosa de H₂/CO₂ con ~70/30 (v/v) de H₂/CO₂

sin electrolisis

10 Se tomaron 15 ml de muestra, se descartaron 5 ml (volumen muerto), se utilizaron 10 ml para el análisis de 200 µl por duplicado

Determinación del tiempo necesario para transformar todo el hidrógeno en metano

Determinación de la tasa de producción de CH₄

Los resultados de este experimento se proporcionan en la Figura 17.

15 El experimento se inició con una relación inicial de 80/20 (v/v) de H₂/CO₂ (véase la Fig. 17). Se dedicaron 22,5 h de incubación a la temperatura final para *Mc. jannaschii* para (casi) consumir todo el hidrógeno presente. La cantidad total de metano fue de ~48 % en vol. que corresponde a 1.425 ml de metano. La tasa de producción de metano para este experimento fue de 63 ml/h. El pH se mantuvo constante en 6,5.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para la producción de metano a partir de dióxido de carbono, hidrógeno y metanógeno o metanógenos de Archaea anaeróbica que incluye las etapas de:
- 5 a) proporcionar un recipiente de reacción ánodo (14) que contiene un electrodo positivo (ánodo) y un medio electrolítico líquido que comprende agua y material ionizante;
- 10 b) proporcionar un recipiente de reacción cátodo (12) que contiene un electrodo negativo (cátodo), un sustrato electrolítico acuoso de crecimiento, metanógeno o metanógenos, dióxido de carbono e hidrógeno, en donde el recipiente del cátodo (12) y el sustrato acuoso de crecimiento se presuriza hasta una presión desde 5 a 1.000 bar con un fluido de presurización que consiste en dióxido de carbono líquido, o una mezcla de dióxido de carbono líquido e hidrógeno;
- c) conectar los recipientes de reacción primero y segundo con medios de conexión que permiten a los electrones y/o iones pasar entre los medios electrolíticos de los recipientes de reacción ánodo y cátodo;
- 15 d) aplicar una corriente eléctrica continua al electrodo positivo y al electrodo negativo para:
- lograr la ionización del hidrógeno en el recipiente de reacción cátodo (12) para producir hidrógeno y también para aumentar el pH del sustrato electrolítico acuoso de crecimiento; y
 - lograr oxígeno ionizado en el primer recipiente de reacción (14) para formar oxígeno, en donde la electrolisis se realiza de forma intermitentemente para controlar el pH en el recipiente de reacción cátodo (12).
- 20 2. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde los recipientes de reacción (12) y (14) se hacen funcionar a la misma presión interna.
3. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde el medio de conexión es un medio electrolítico, se proporciona una membrana que permite el paso de electrones a su través, y eventualmente algunos iones, y el medio de conexión está provisto de una válvula que está aislada del electrolito.
- 25 4. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde los recipientes de reacción se hacen funcionar a diferente temperatura.
5. El procedimiento según la reivindicación 4, en donde el recipiente de reacción ánodo (14) se hace funcionar a temperatura ambiente; y el recipiente de reacción cátodo (12) se hace funcionar a una temperatura óptima o casi la óptima para el crecimiento del metanógeno o metanógenos.
- 30 6. El procedimiento según la reivindicación 5, en donde el metanógeno o metanógenos son una Archaea anaeróbica hiperextremófila hipertermófila, y en donde la reacción se lleva a cabo a una temperatura de 50 °C a 400 °C, preferiblemente de 80 °C a 200 °C, más preferiblemente de 80 °C a 150 °C.
- 35 7. El procedimiento según la reivindicación 5, en donde el metanógeno o metanógenos son una Archaea anaeróbica psicrófila/criófila, y en donde la reacción se lleva a cabo a una temperatura de -50 a 50 °C, preferiblemente de -5 a -20 °C.
8. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14) están presurizados a una presión de 5 a 500 bar, preferiblemente de 5 a 200 bar, más preferiblemente de 10 a 150 bar, más preferiblemente de 20 a 150 bar, lo más preferiblemente de 40 a 150 bar.
- 40 9. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde el recipiente de reacción cátodo (12) se presuriza con un fluido de presurización que consiste en una mezcla de hidrógeno y dióxido de carbono.
10. El procedimiento según la reivindicación 9, en donde el hidrógeno y el dióxido de carbono están presentes en una relación molar de 4:1 a 1:4, preferiblemente 2:1 a 1:4, más preferiblemente 1:1 a 1:4, lo más preferiblemente 1:2 a 1:4.
- 45 11. El procedimiento según la reivindicación 10, en donde se proporciona suficiente sustrato acuoso de crecimiento en el recipiente de reacción cátodo (12) para proporcionar una relación volumétrica sustrato acuoso de crecimiento frente a espacio de cabeza de 1:1 a 4:1, preferiblemente de 2:1 a 3:1.
12. El procedimiento según la reivindicación 1, en donde el pH del medio acuoso de crecimiento se mantiene en el intervalo de 6 a 7,5, preferiblemente de 6,5 a 7.
- 50 13. Aparato para la producción de metano a partir de dióxido de carbono, hidrógeno y metanógeno o metanógenos de Archaea anaeróbica que comprende:

un recipiente de reacción cátodo (12) para contener dióxido de carbono y agua electrolítica;

un recipiente de reacción ánodo (14) para contener agua electrolítica;

un electrodo negativo (cátodo) con capacidad para soportar metanógenos de Archaea anaeróbica situados dentro del recipiente de reacción cátodo (12);

5 un electrodo positivo (ánodo) situado dentro del recipiente de reacción ánodo (14); y

medio de conexión para conectar agua electrolítica en el recipiente de reacción cátodo (12) y en el recipiente de reacción ánodo (14) para que una corriente eléctrica continua pueda fluir entre los dos,

10 caracterizado por que el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14) están adaptados para ser presurizados a una presión desde 5 a 1.000 bar, el recipiente de reacción cátodo (12) está adaptado para ser presurizado con un fluido de presurización que consiste de dióxido de carbono líquido o una mezcla de dióxido de carbono líquido e hidrógeno, y las superficies internas del recipiente de reacción cátodo (12) y del recipiente de reacción ánodo (14) están fabricadas de materiales no conductores y no corrosivos que aíslan el medio electrolítico del resto del aparato, a excepción del cátodo y del ánodo que sí entran en contacto con el agua electrolítica dentro de los recipientes de reacción, y en donde el
15 aparato comprende medios para controlar el pH.

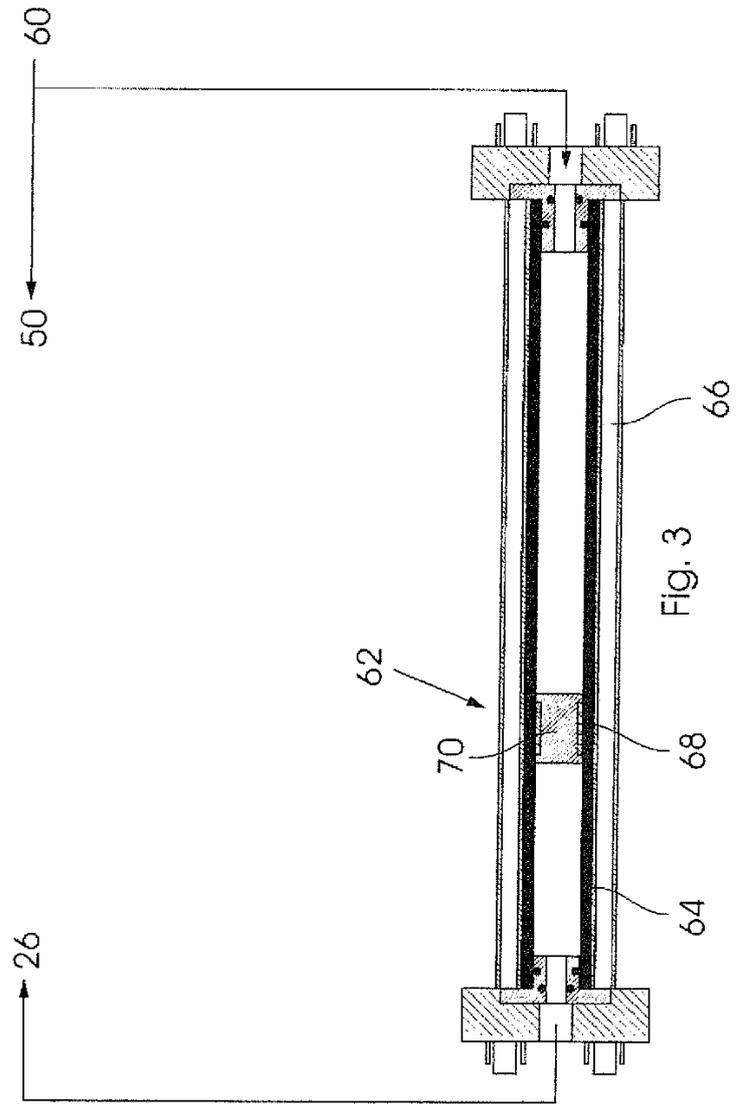
14. El aparato según la reivindicación 13, en donde el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14) están adaptados para ser presurizados a una presión de 5 a 500 bar, preferiblemente de 5 a 200 bar, más preferiblemente de 10 a 150 bar, más preferiblemente de 20 a 150 bar, lo más preferiblemente de 40 a 150 bar.

20 15. El aparato según la reivindicación 13, en donde el medio de conexión es un conducto que contiene electrolito líquido, el conducto incluye una membrana semipermeable que permite el paso de iones entre el agua electrolítica en el recipiente de reacción cátodo (12) y en el recipiente de reacción ánodo (14) y el conducto tiene una válvula que no hace contacto eléctrico con el electrolito.

25 16. El aparato según la reivindicación 13, que incluye medios para igualar la presión en el recipiente de reacción cátodo (12) y en el recipiente de reacción ánodo (14), en donde el medio de igualación de la presión es presurizado por la presión del fluido utilizado para presurizar el recipiente de reacción cátodo (14), que también presuriza simultáneamente el recipiente de reacción ánodo (12), y en donde el medio de igualación de la presión proporciona aislamiento eléctrico entre el recipiente de reacción cátodo (12) y el recipiente de reacción ánodo (14).

17. El aparato según la reivindicación 16, en donde el medio de igualación de la presión comprende un tubo no conductor con un pistón situado en el mismo, y un indicador para indicar la posición del pistón dentro del tubo.

30



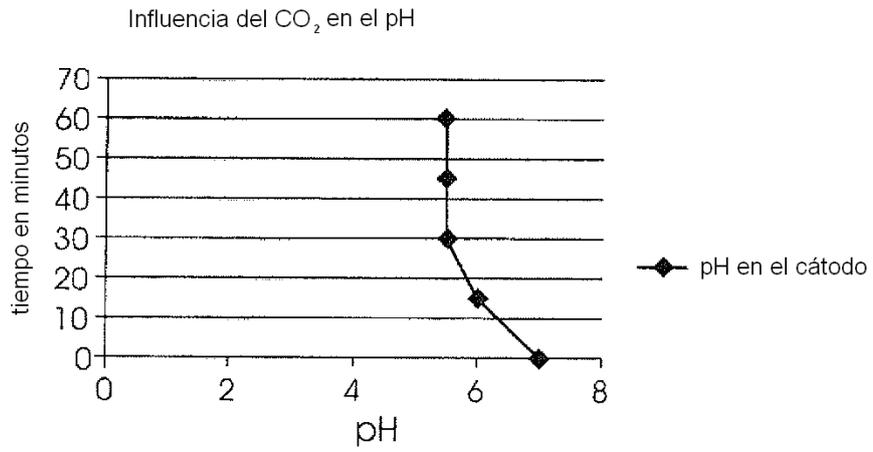


Fig. 4

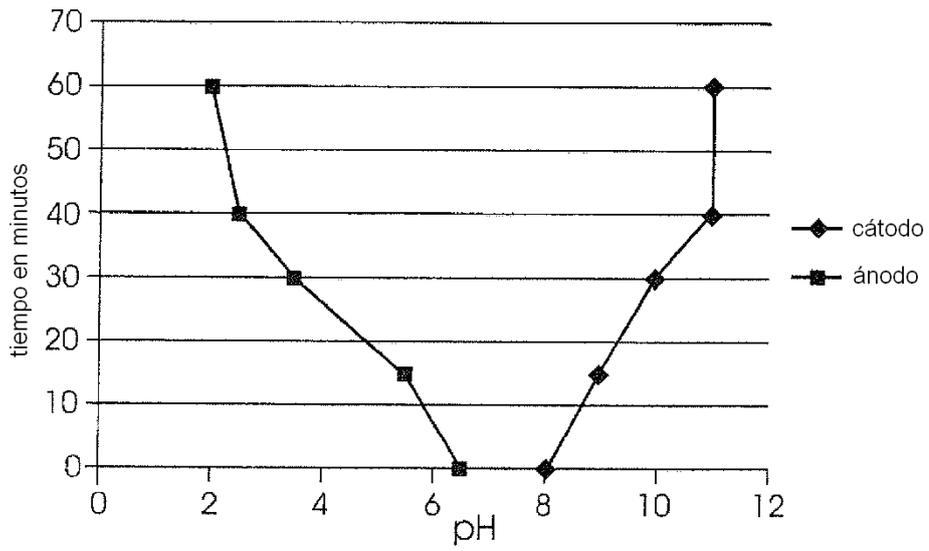


Fig. 5

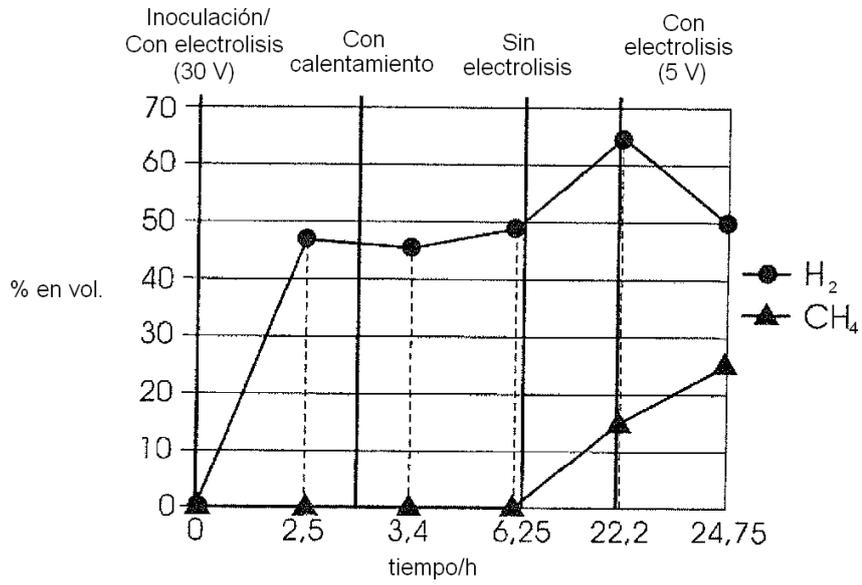


Fig. 6

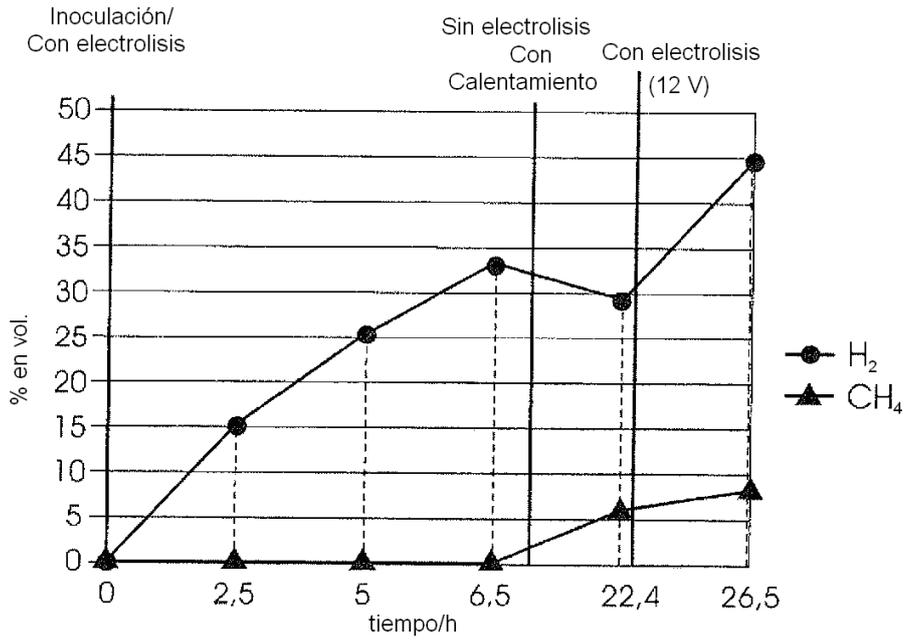


Fig. 7

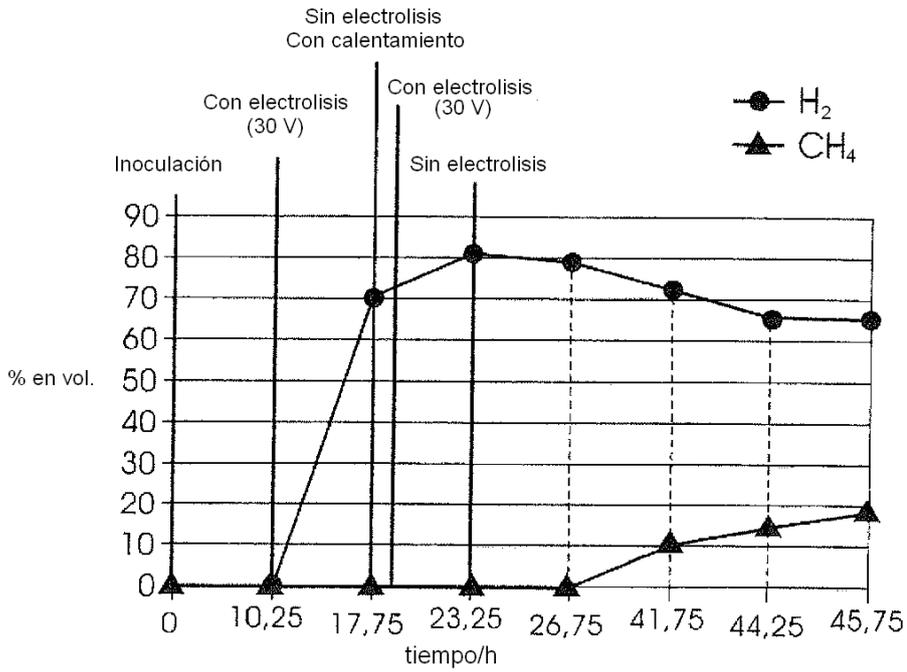


Fig. 8

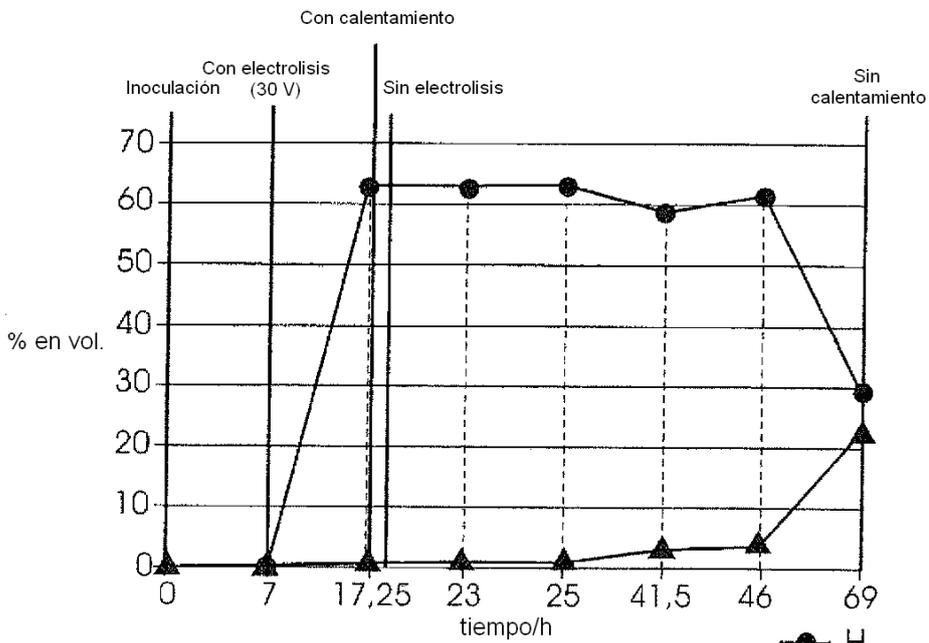


Fig. 9

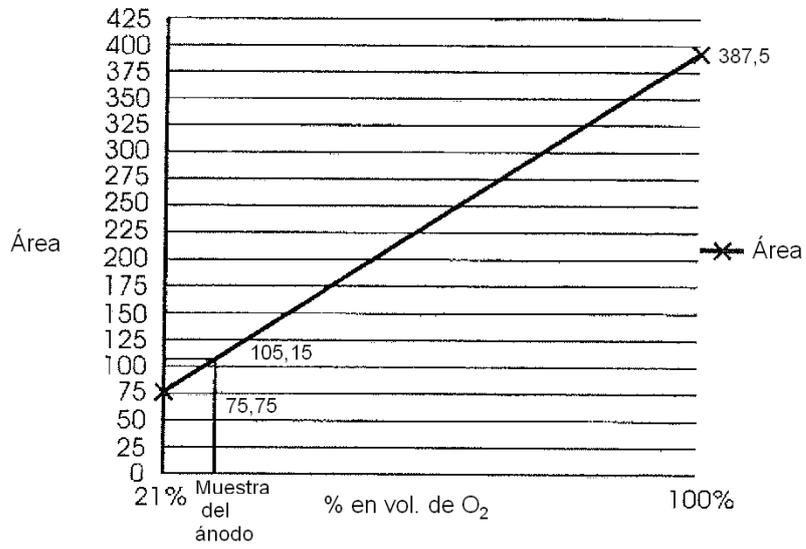


Fig. 10

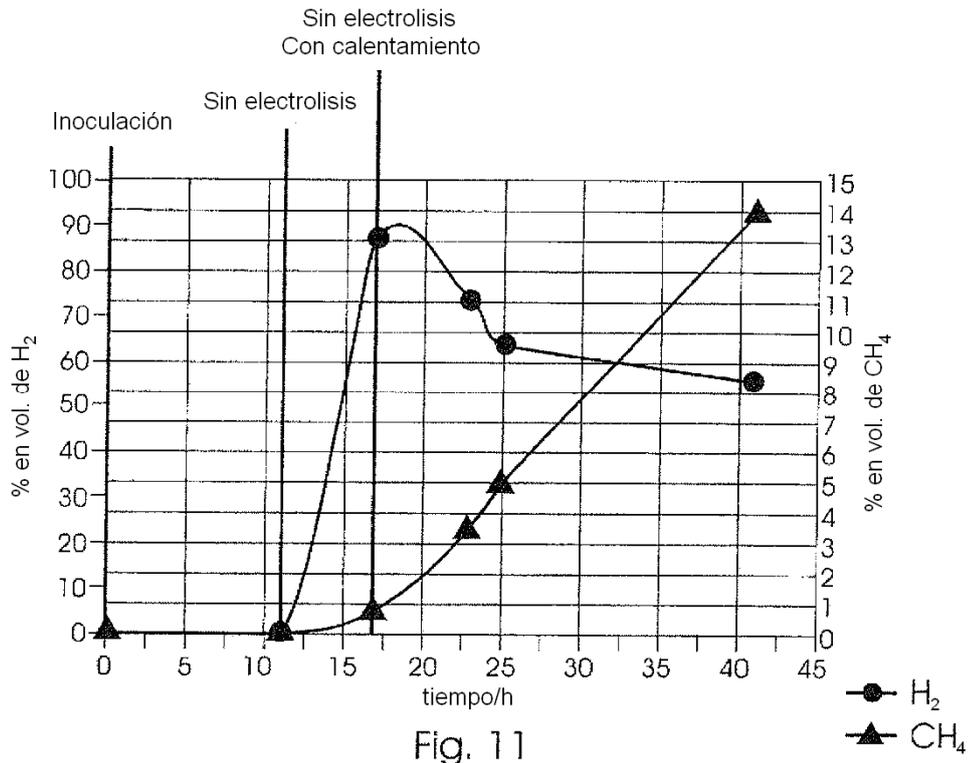


Fig. 11

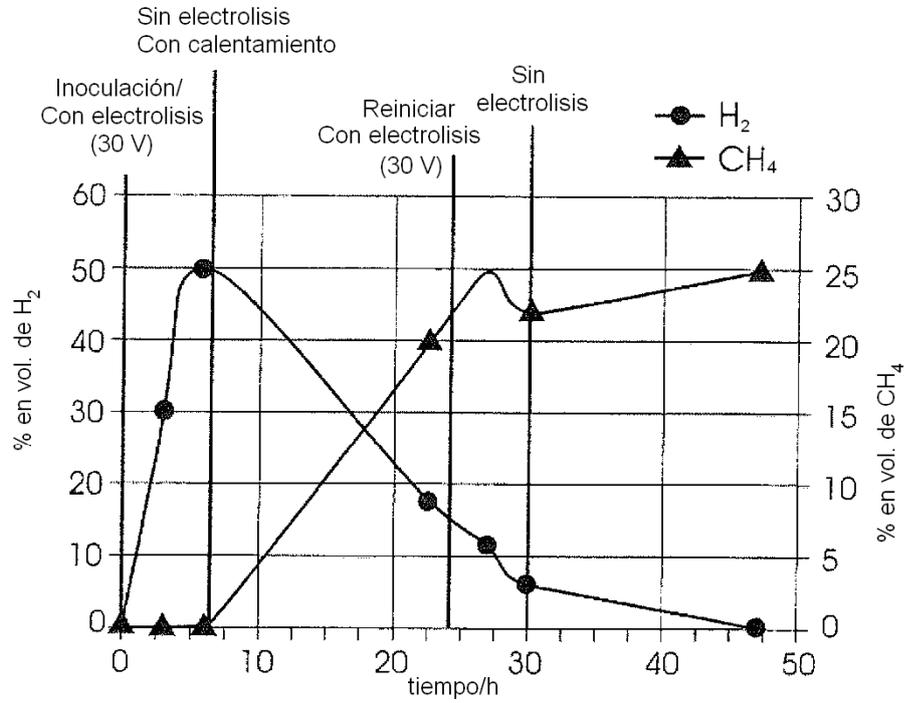


Fig. 12

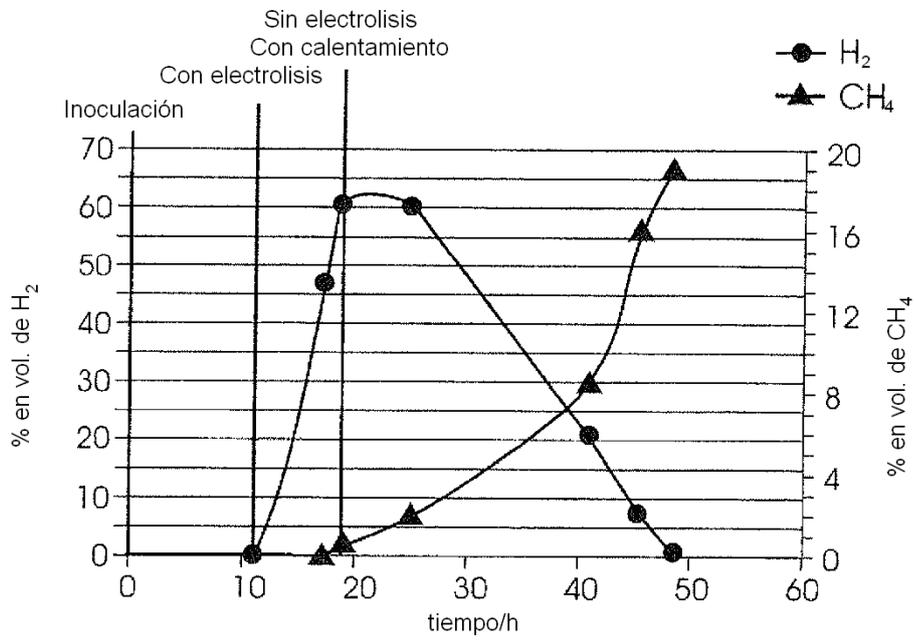


Fig. 13

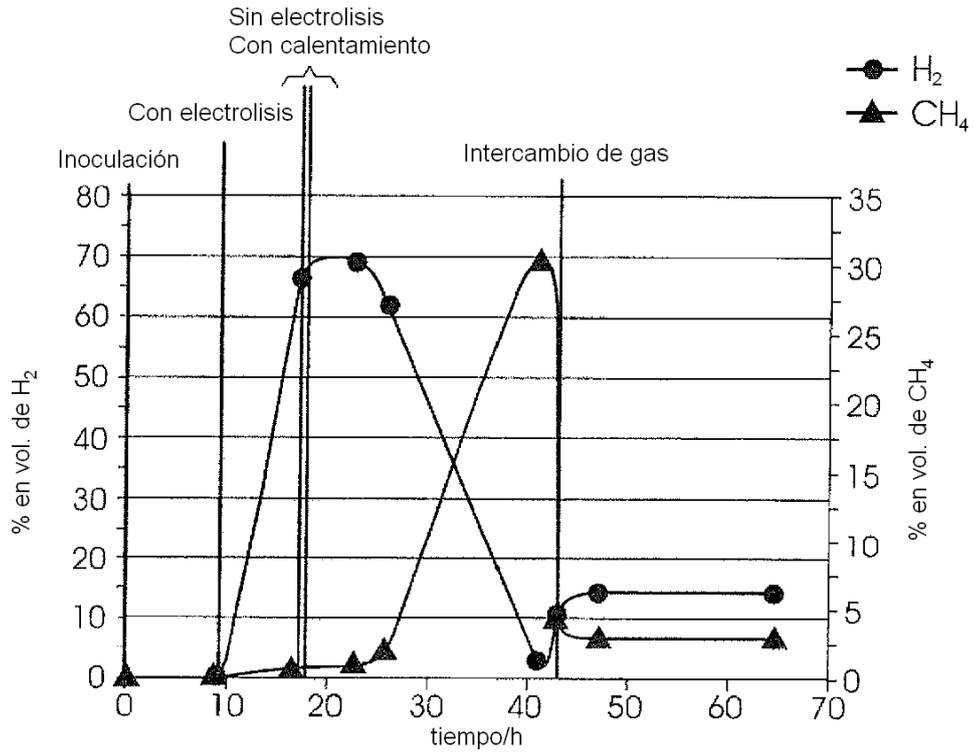


Fig. 14

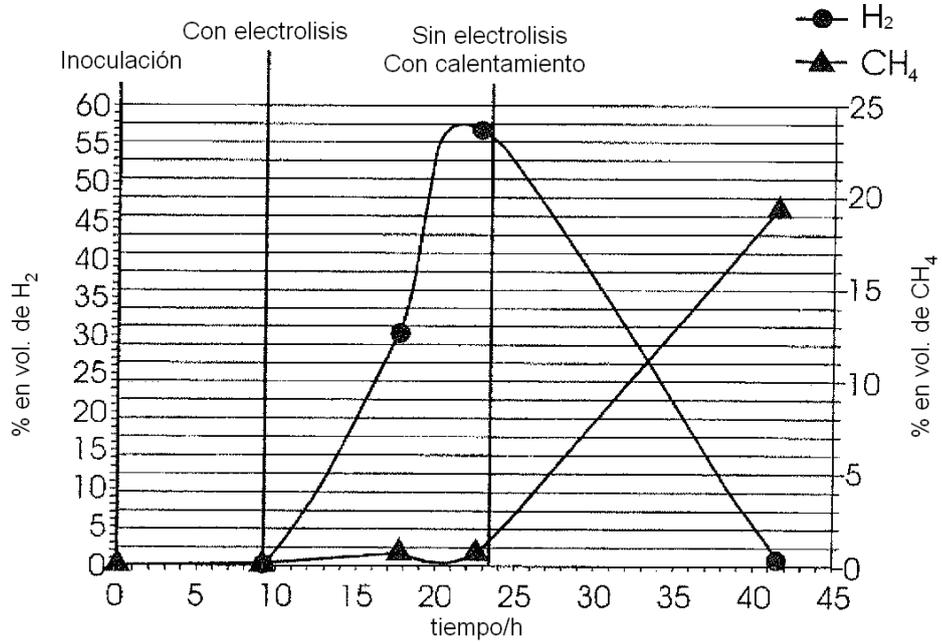


Fig. 15

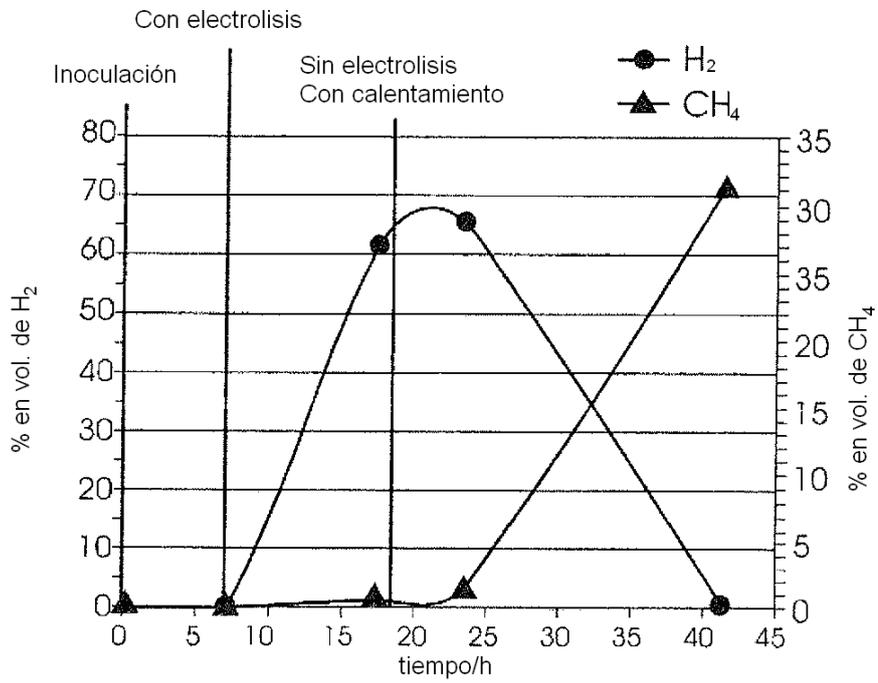


Fig. 16

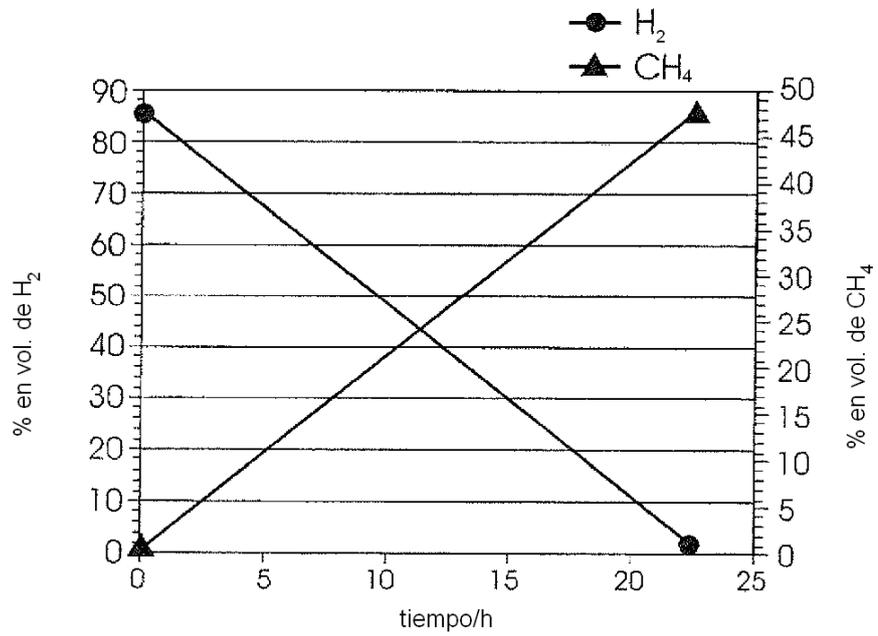


Fig. 17