

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 759 927**

51 Int. Cl.:

<b>C12M 1/00</b>	(2006.01)
<b>C12M 1/24</b>	(2006.01)
<b>C12P 7/16</b>	(2006.01)
<b>C12M 1/21</b>	(2006.01)
<b>C12M 1/34</b>	(2006.01)
<b>C12P 7/06</b>	(2006.01)
<b>C12P 7/54</b>	(2006.01)
<b>C12P 7/18</b>	(2006.01)

12

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.07.2014 PCT/NZ2014/000154**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2015 WO15016722**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2014 E 14831213 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2019 EP 3027726**

54 Título: **Fermentación mejorada de sustratos gaseosos**

30 Prioridad:

**29.07.2013 US 201361859768 P**

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

**12.05.2020**

73 Titular/es:

**LANZATECH NEW ZEALAND LIMITED (100.0%)  
24 Balfour Road  
Parnell, Auckland 1052, NZ**

72 Inventor/es:

**LI, XUELIANG;  
TREVETHICK, SIMON y  
COSSEY, BENJAMIN JAMES**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**ES 2 759 927 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**

Fermentación mejorada de sustratos gaseosos

**5 Campo de la invención**

Esta invención se refiere a sistemas y métodos para mejorar un reactor de bucle externo con circulación forzada. En particular, la invención introduce un bucle secundario en un reactor de bucle externo con circulación forzada que regula la retención de gas en el reactor y permite un mejor control de la espuma.

10

**Antecedentes de la invención**

Los combustibles y productos químicos producidos a partir de gas de síntesis (sintegás) o un gas de escape industrial que contiene CO representan una alternativa excelente a los combustibles fósiles y los productos químicos derivados de los mismos. La conversión química catalítica de estos gases en combustibles o productos químicos es costosa o poco atractiva comercialmente. Sin embargo, la conversión biológica de estos gases en combustibles y productos químicos (conocida como fermentación de gas) presenta varias ventajas con respecto a los procesos catalíticos, incluyendo una mayor especificidad, mayores rendimientos, menores costes energéticos y una mayor resistencia al envenenamiento.

15

20

La eficacia de la fermentación de gas es conocida por estar limitada principalmente por una baja velocidad de transferencia de masa gas-líquido debido a la baja solubilidad de los sustratos gaseosos (por ejemplo CO y H<sub>2</sub>) en líquidos. La eficacia de la transferencia de masa, o coeficiente volumétrico de transferencia de masa, se proporciona tal como sigue:

25

$$-\frac{dN}{V_R \cdot dt} = k_L a (C^* - C_L)$$

en la que  $-\frac{dN}{dt}$  es la velocidad a la que se transfiere el sustrato gaseoso a la fase líquida;  $k_L a$  es el coeficiente volumétrico de transferencia de masa, que consiste en el coeficiente de transferencia de masa en el lado del líquido  $k_L$  y el área superficial específica de transferencia de masa,  $a$ .  $C^*$  es la concentración de saturación del gas en el líquido (es decir, la solubilidad) que es proporcional a la presión parcial del sustrato gaseoso y  $C_L$  es la concentración real de gas en el líquido, la diferencia entre los dos, es decir,  $(C^* - C_L)$  es la fuerza impulsora de la transferencia de masa. En condiciones limitadas de transferencia de masa pura,  $C_L \approx 0$ .  $V_R$  es el volumen húmedo del reactor y es la suma del volumen del gas y el volumen del líquido.

30

35

Así, a fin de mejorar la eficacia de la transferencia de masa, es necesario aumentar  $k_L a$  o la fuerza impulsora. La fuerza impulsora se puede potenciar usando una presión mayor; no obstante, tales métodos son de alto coste ya que se requiere la compresión del gas. Generalmente es más preferente aumentar  $k_L$  y/o  $a$ . Mientras que  $k_L$  es una propiedad intrínseca del líquido y el gas, lo que significa que es difícil de modificar,  $a$  tiene una proporción simple con la retención de gas,  $\epsilon_G$ , y el radio de burbuja promedio,  $r_b$ , parámetros ambos que se pueden manipular fácilmente.

40

La proporción es la siguiente:

$$a = \frac{3\epsilon_G}{r_b}$$

La ecuación anterior dicta que el área específica de transferencia de masa se puede incrementar mediante un aumento de la retención de gas,  $\epsilon_G$ , o una disminución del tamaño de burbuja,  $r_b$ , o una combinación de ambos. Lamentablemente, la mayoría de tales métodos tienden a generar una gran cantidad de espuma que puede bloquear las tuberías aguas abajo del biorreactor. Así, cuando se toman medidas para aumentar el área superficial de transferencia de masa, se ha de prestar especial atención al control de la espuma.

45

50

Por lo general es deseable un alto coeficiente de transferencia de masa para la fermentación de gas. Sin embargo, el proceso puede sufrir la inhibición del sustrato si el coeficiente de transferencia de masa es mayor que la velocidad de reacción máxima que puede ser proporcionada por los microorganismos. Por ejemplo, una alta concentración de CO disuelto conlleva un crecimiento lento de los microorganismos y un captura lenta de H<sub>2</sub>, y si tales condiciones se mantienen durante un periodo de tiempo prolongado, el cultivo puede morir lentamente ("Design of Bioreactors for Coal Synthesis Gas Fermentations", J.L. Vega, E.C., Clausen y J.L. Gaddy, 1990, *Resources, Conservation and Recycling*, Vol. 3, Páginas 149-160; "Effect of CO partial pressure on cell-recycled continuous CO fermentation by Eubacterium limosum KIST612", I.S. Chang, B.H. Kim, R.W. Lovitt, J.S. Bang, 2001, *Process Biochemistry*, Vol. 37, Páginas 411-421). Tales condiciones de "sobrecarga" pueden ocurrir globalmente en un reactor bien mezclado a pequeña escala, aunque pueden ocurrir también localmente en un reactor a gran escala en el que hay una alta concentración local de CO disuelto, normalmente en la parte inferior en la que se introduce el gas y la presión parcial de CO es elevada.

55

60

Por tanto, un reactor a escala comercial para la fermentación de gas ha de proporcionar un alto coeficiente de

transferencia de masa gas-líquido, aunque también ha de ser flexible para poder regular el coeficiente de transferencia de masa cuando sea necesario. También requiere un control eficaz de la espuma.

5 Una fermentación de gas a escala de laboratorio se lleva a cabo normalmente en reactores continuos de tanque agitado (CSTR). Sin embargo, estos no son adecuados para una aplicación a escala comercial debido a que los reactores de bucle son un tipo de reactor de columna de burbujas en el que se fuerza al líquido a circular entre una columna principal (el ascendente) y un bucle externo (el descendente) mediante una bomba, denominada en el presente documento "bomba del bucle".

10 En configuraciones de reactor de bucle con circulación forzada, la velocidad de la bomba del bucle tiene dos efectos principales sobre la hidrodinámica y la transferencia de masa del sistema: (a) un aumento de la velocidad de la bomba del bucle potencia el arrastre de gas desde el ascendente al descendente, lo que tiende a aumentar la retención del ascendente y el descendente, mejorando de este modo la transferencia de masa; (b) un aumento de la velocidad de la bomba del bucle aumenta la velocidad del líquido en el ascendente, lo que tiende a eliminar las burbujas de gas en el ascendente rápidamente y disminuye la retención de gas y reduce el tiempo de residencia del gas. Por el contrario, si se reduce la velocidad de la bomba del bucle, las burbujas de gas en el ascendente pueden permanecer durante un periodo de tiempo más largo, si bien el arrastre de gas en el descendente será sustancialmente inferior, lo que reduce la velocidad de reacción en el descendente y el rendimiento global del reactor. Además, puesto que el gas introducido por la parte inferior del ascendente tiene un alto contenido de CO<sub>2</sub>, una menor velocidad de la bomba del bucle en un reactor profundo agrava la inhibición del sustrato.

15 Así pues, una bomba del bucle no es eficaz en términos de regulación de la transferencia de masa debido a sus efectos contrapuestos sobre el arrastre de gas y la velocidad del líquido en el ascendente. Un objeto de la presente invención es proporcionar un medio para separar los dos efectos contrapuestos de la bomba del bucle y proporcionar una regulación más eficaz de la transferencia de masa en la misma, así como un mayor control de la espuma y un menor consumo energético global. Asimismo, la presente invención supera las desventajas conocidas en la técnica y proporciona al público nuevos métodos para la producción óptima de una variedad de productos útiles. Mejoras incluso menores en un proceso o sistema de fermentación de gas para producir uno o más productos pueden tener un impacto significativo sobre la eficacia y, más en particular, la viabilidad comercial, de tal proceso o sistema.

20 El documento US 2013/0005011 A1 divulga un biorreactor que incluye un reactor principal que tiene una configuración seleccionada entre el grupo que consiste en un reactor de tanque agitado o no agitado, un reactor de lecho percolador (TBR), un contactor a contracorriente (CCC), un reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR) y un reactor de columna de burbujas. El biorreactor incluye también un reactor de crecimiento continuo con el reactor principal y que tiene una configuración seleccionada entre el grupo que consiste en un reactor de tanque agitado o no agitado, un reactor de lecho percolador (TBR), un contactor a contracorriente (CCC), un reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR) y un reactor de columna de burbujas. Se proporciona igualmente un método en el que se ponen en contacto las bacterias acetogénicas con el sintegás en una sección del fermentador de crecimiento de un vaso del reactor que es continua con una sección del fermentador principal de un vaso del reactor.

### Sumario de la invención

45 En un primer aspecto, se proporciona un sistema reactor para la fermentación de un sustrato gaseoso, comprendiendo el sistema:

(a) un vaso de fermentación que comprende una sección ascendente en la que se hacen fluir un caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia arriba y una sección descendente en la que se hacen fluir el caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia abajo, estando dichas secciones ascendente y descendente conectadas por secciones esencialmente horizontales y configuradas de modo que el caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso se hacen circular, usando medios de bombeo, en un bucle principal desde un punto próximo a la parte inferior de la sección descendente a través del ascendente hasta un punto de entrada en la parte superior de la sección descendente;

50 (b) un bucle secundario que comprende una salida situada en un punto próximo a la parte inferior de la sección ascendente, medios de conducción por tuberías para conectar la salida desde la parte inferior del ascendente a una entrada en la parte superior del ascendente y medios de bombeo situados entre el punto de salida y el punto de entrada de modo que el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso se hacen circular desde la parte inferior del descendente hasta la parte superior de la sección ascendente;

55 (c) al menos una entrada de gas, configurada para dirigir el sustrato gaseoso a la sección ascendente; y

60 (d) al menos una salida de gas, configurada para dejar salir el gas de la sección ascendente.

En realizaciones particulares del primer aspecto, el biorreactor se configura para la fermentación de un sustrato gaseoso a fin de obtener productos que comprenden al menos un ácido o un alcohol o una mezcla de los mismos. En realizaciones particulares, el sustrato gaseoso comprende CO<sub>2</sub> y, opcionalmente, H<sub>2</sub>. En otras realizaciones alternativas, el sustrato gaseoso comprende CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>.

En realizaciones particulares del primer aspecto, el reactor comprende un bucle principal, compuesto a su vez por una sección ascendente y una sección descendente, y un bucle secundario. En realizaciones particulares, el bucle secundario retira caldo de fermentación de la sección descendente del vaso de fermentación. En realizaciones particulares, el bucle secundario retira caldo de fermentación aguas abajo de la bomba del bucle principal. En realizaciones particulares, se retira caldo de fermentación aguas abajo de la bomba del bucle principal por medio de una bomba secundaria.

En realizaciones alternativas, la sección descendente del vaso de fermentación comprende una válvula de compuerta situada aguas arriba de la salida del bucle secundario. En esta realización, el caldo de fermentación se puede retirar desde la sección descendente al bucle secundario mediante una restricción del flujo del bucle principal usando la válvula de compuerta. Ajustando la apertura de la válvula de compuerta, la presión aguas abajo de la bomba del bucle pero aguas arriba de la válvula de compuerta se puede regular para proporcionar un caudal deseado del bucle secundario. En determinadas realizaciones, la presión del descendente es monitorizada mediante un manómetro. Esta configuración elimina la necesidad de una bomba del bucle secundario.

En realizaciones particulares, se hace circular caldo de fermentación retirado de la sección descendente mediante el bucle secundario hasta la parte superior del vaso de fermentación. En realizaciones particulares, se hace circular el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso mediante el bucle secundario desde la parte inferior de la sección descendente hasta la parte superior de la sección ascendente. En realizaciones particulares, el caldo de fermentación sale del bucle secundario desde al menos una boquilla en la parte superior del vaso de fermentación. Durante el uso, la al menos una boquilla pulveriza en el espacio libre del vaso de fermentación el caldo de fermentación que se ha puesto en circulación. En realizaciones particulares, el caldo de fermentación que se ha puesto en circulación se pulveriza en el espacio libre mediante múltiples boquillas. En realizaciones particulares, la al menos una boquilla es un cabezal de ducha. En realizaciones particulares, la velocidad del chorro o chorros de líquido que salen de la boquilla o boquillas puede variar de aproximadamente 0,5 m/s o a aproximadamente 5 m/s. Durante el uso, el chorro o chorros de líquido cubren al menos una porción del área transversal del espacio libre. En condiciones de fermentación normales existe una capa de espuma en el espacio libre del vaso de fermentación. En determinadas realizaciones, el caldo de fermentación que se ha puesto en circulación se pulveriza en el espacio libre a fin de romper las burbujas más grandes de la espuma. Este proceso da como resultado burbujas más pequeñas que pueden ser arrastradas de forma más eficaz a la sección descendente, lo que aumenta la retención de gas en la sección descendente.

En una realización particular, el bucle secundario está integrado con un sistema de reciclado de células. En esta realización, la fuerza impulsora para el bucle secundario procede de la bomba de reciclado de células. En una realización particular, el caldo de fermentación es retirado al bucle secundario aguas abajo del módulo de reciclado de células. En realizaciones particulares, el caudal del bucle secundario y la presión del sistema de reciclado de células son regulados por al menos una válvula de control aguas arriba del módulo de reciclado de células.

En un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método de obtención de productos mediante fermentación de un sustrato gaseoso de acuerdo con la reivindicación 6.

En realizaciones particulares de los aspectos segundo, tercero y cuarto, el reactor está configurado tal como se describe en el primer aspecto. En realizaciones particulares, el método permite un aumento de la transferencia de masa de un gas a una fase líquida en un proceso de fermentación de gas. En realizaciones particulares, la adición de un bucle secundario a un reactor de bucle de circulación aumenta sustancialmente la transferencia de masa.

En realizaciones particulares, se hacen circular el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso a través de una sección ascendente y una sección descendente de un reactor de bucle de circulación. En realizaciones particulares, la corriente de gas se introduce por la parte inferior de la sección ascendente del reactor. En realizaciones alternativas, el gas se introduce en múltiples sitios a lo largo de la sección ascendente del reactor. En realizaciones alternativas, el gas se introduce en múltiples sitios a lo largo de la sección descendente del reactor.

En realizaciones particulares, una porción del caldo de fermentación se retira de una zona próxima a la parte inferior de la sección descendente del reactor y se hace circular hasta el espacio libre de la sección ascendente del reactor. En realizaciones particulares, la porción del caldo de fermentación retirada del descendente se pulveriza en el espacio libre del ascendente mediante un cabezal de ducha o una boquilla perforada. En determinadas realizaciones, el líquido pulverizado en el espacio libre reduce la capa de espuma en la parte superior del líquido contenido en el ascendente. En realizaciones adicionales, el líquido pulverizado en el espacio libre rompe las burbujas de espuma y arrastra el gas al caldo de fermentación del bucle principal del reactor.

En realizaciones particulares, uno o más microorganismos fermentan un sustrato que contiene carbono para obtener productos que incluyen un ácido o ácidos y un alcohol o alcoholes. En realizaciones particulares, el uno o más microorganismos producen uno o más productos mediante fermentación de un sustrato gaseoso que comprende CO. En realizaciones particulares, la fermentación es una fermentación anaerobia. En realizaciones particulares, el uno o más cultivos de microorganismos convierten el CO y, opcionalmente, el H<sub>2</sub> a productos que incluyen un ácido o ácidos y un alcohol o alcoholes. En realizaciones particulares, los productos se seleccionan entre el grupo que

consiste en etanol, ácido acético, 2,3-butanodiol, butanol, lactato, succinato, metil etil cetona (MEK), propanodiol, 2-propanol, isopropanol, acetoína, iso-butanol, citramalato, butadieno, ácido poliláctico, isobutileno, 3-hidroxiopropionato (3HP), acetona, ácidos grasos y mezclas de los mismos.

5 En diversas realizaciones, la fermentación se lleva a cabo usando un cultivo de microorganismos que comprende una o más cepas de bacterias carboxidotróficas. En diversas realizaciones, las bacterias carboxidotróficas se seleccionan entre *Clostridium*, *Moorella*, *Oxobacter*, *Peptostreptococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium*, o *Butyribacterium*. En una realización, la bacteria carboxidotrófica es *Clostridium autoethanogenum*. En una  
10 realización particular, la bacteria tiene las características identificativas del número de acceso DSMZ10061 o DSMZ23693.

El sustrato gaseoso puede comprender un gas obtenido como subproducto de un proceso industrial. En determinadas realizaciones, el proceso industrial se selecciona entre el grupo que consiste en la fabricación de  
15 productos metálicos de hierro, la fabricación de productos no de hierro, procesos de refinación, procesos de refinación del petróleo, la gasificación de biomasa, la gasificación de carbón, la producción de energía eléctrica, la producción de negro de carbón, la producción de amoníaco, la producción de metanol y la fabricación de coque. Como alternativa, el sustrato gaseoso es una fuente de gas reformado que incluye gas natural, gas de esquisto, gas asociado al petróleo y biogás. En realizaciones alternativas, el gas se obtiene mediante gasificación de biomasa o residuos  
20 sólidos urbanos. En una realización de la invención, el sustrato gaseoso es sintegás. En una realización, el sustrato gaseoso comprende un gas obtenido de una acería.

### Breve descripción de los dibujos

La invención se describirá ahora detalladamente con referencia a las figuras adjuntas, en las que:

25 La Figura 1 muestra un diagrama esquemático de una realización de un reactor de bucle de circulación que comprende un bucle secundario.

30 La Figura 2 muestra un diagrama esquemático de una realización alternativa del reactor de bucle de circulación que comprende una válvula de compuerta, que elimina la necesidad de una bomba secundaria.

35 La Figura 3 muestra un diagrama esquemático de una realización alternativa del reactor de bucle de circulación que comprende un sistema de reciclado de células integrado, que elimina la necesidad de una bomba secundaria.

La Figura 5 es un gráfico que muestra el efecto del caudal del bucle secundario sobre la retención del ascendente basado en resultados experimentales en un reactor de 6 metros de altura.

40 La Figura 6 es un gráfico que muestra el efecto del bucle secundario sobre la conversión de CO basado en resultados experimentales en un reactor de 6 metros de altura.

La Figura 7 es un gráfico que muestra el efecto del bucle secundario sobre la retención del ascendente basado en resultados experimentales de un reactor de 3 metros de altura.

45 La Figura 8 es un gráfico que muestra el efecto de la velocidad de la bomba del bucle secundario sobre la retención del ascendente y el descendente basado en resultados experimentales en un reactor de 10 metros de altura.

50 La Figura 9 es un gráfico que muestra el efecto de la velocidad de la bomba del bucle secundario sobre la conversión de CO basado en resultados experimentales en un reactor de 10 metros de altura.

### Descripción detallada de la invención

#### Definiciones

55 A menos que se definan de otro modo, los siguientes términos y expresiones usados a lo largo de la presente memoria descriptiva se definen tal como sigue a continuación:

60 La expresión "sustrato gaseoso" incluye cualquier gas que contiene un compuesto o elemento usado por un microorganismo como fuente de carbono y, opcionalmente, como fuente de energía en la fermentación. El sustrato gaseoso contendrá normalmente una proporción significativa de CO, preferentemente de al menos aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 100 % de CO en volumen.

65 Aunque no es necesario que el sustrato contenga hidrógeno, la presencia de H<sub>2</sub> no debe ser perjudicial para la formación de producto de acuerdo con los métodos de la invención. En realizaciones particulares, la presencia de hidrógeno da como resultado una mejora de la eficacia global de la producción de alcohol. Por ejemplo, en

- realizaciones particulares, el sustrato puede comprender una proporción de aproximadamente 2:1, o 1:1, o una proporción 1:2 de H<sub>2</sub>:CO. En realizaciones particulares, el sustrato puede comprender una proporción de entre 2:1 y 1:2 de H<sub>2</sub>:CO. En una realización, el sustrato comprende aproximadamente un 30 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen, un 20 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen, aproximadamente un 15 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen o aproximadamente un 10 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen. En otras realizaciones, la corriente de sustrato comprende bajas concentraciones de H<sub>2</sub>, por ejemplo inferiores a un 5 %, o inferiores a un 4 %, o inferiores a un 3 %, o inferiores a un 2 %, o inferiores a un 1 %, o carece sustancialmente de hidrógeno. El sustrato puede comprender también cierta cantidad de CO<sub>2</sub>, por ejemplo, tal como de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 80 % de CO<sub>2</sub> en volumen, o de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 30 % de CO<sub>2</sub> en volumen. En una realización, el sustrato comprende una cantidad inferior o igual a aproximadamente un 20 % de CO<sub>2</sub> en volumen. En realizaciones particulares, el sustrato comprende una cantidad inferior o igual a aproximadamente un 15 % de CO<sub>2</sub> en volumen, inferior o igual a aproximadamente un 10 % de CO<sub>2</sub> en volumen, inferior o igual a aproximadamente un 5 % de CO<sub>2</sub> en volumen o no contiene sustancialmente CO<sub>2</sub>.
- 15 La expresión "medios nutrientes líquidos" incluye un medio líquido que comprende nutrientes adecuados para la fermentación de uno o más microorganismos. Los medios nutrientes líquidos contendrán vitaminas y/o minerales suficientes para permitir el crecimiento del microorganismo o microorganismos usados. Los medios anaerobios adecuados para la fermentación que emplea CO son conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describen medios adecuados en Beibel (*Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* (2001) 27, 18-26).
- 20 El término "ácido", tal como se usa en el presente documento, incluye tanto ácidos carboxílicos como el anión carboxilato asociado, tal como la mezcla de ácido acético libre y acetato presente en un caldo de fermentación descrito en el presente documento. La proporción de ácido molecular con respecto al carboxilato en el caldo de fermentación depende del pH del sistema. Asimismo, el término "acetato" incluye tanto la sal acetato sola como una
- 25 mezcla de ácido acético molecular o libre y sal acetato, tal como la mezcla de sal acetato y ácido acético libre presente en un caldo de fermentación descrito en el presente documento.
- Los términos y expresiones "vaso de fermentación", "reactor" y "biorreactor" incluyen dispositivos y vasos para el contacto gas/líquido, adecuados para llevar a cabo una fermentación deseada.
- 30 Un "reactor de bucle externo con circulación forzada" y/o "el reactor de bucle de circulación" comprenden un vaso que tiene normalmente dos cilindros verticales con conexiones horizontales entre ellos, cuyo contenido, que normalmente es un líquido más un sustrato gaseoso, es forzado a circular hacia arriba desde un cilindro vertical (ascendente) a través de una conexión horizontal y después hacia abajo a través del otro cilindro vertical (descendente) y después a través de una conexión horizontal más baja del reactor mediante un impulsor o una bomba de un tipo apropiado para completar el bucle.
- 35 El término "ascendente" comprende una sección de un reactor en la que el contenido de líquido/gas se mueve simultáneamente hacia arriba.
- 40 El término "descendente" comprende una sección de un reactor en la que el contenido de líquido/gas se mueve simultáneamente hacia abajo.
- El término "separador" incluye la parte de un reactor en el que al menos una porción del gas se separa de la mezcla de dos fases gas-líquido al permitir que las burbujas suban a la superficie del líquido.
- 45 El "espacio libre" incluye la parte de un reactor por encima del separador definido previamente.
- La expresión "bomba del bucle" comprende una bomba que se usa para hacer fluir el medio líquido en el reactor. El medio líquido puede contener una cierta porción de burbujas de gas o gas disuelto. En una realización particular, este puede incluir una bomba de flujo axial instalada en la parte inferior del descendente.
- 50 El término "burbujeador" y/o la expresión "distribuidor de gas" comprenden un dispositivo de introducción de gas en un líquido para agitarlo o para disolver el gas en el líquido. En una realización particular, el burbujeador puede ser una placa perforada, vidrio sinterizado, acero sinterizado, un tubo de caucho poroso, un tubo de metal poroso, cerámica porosa o acero inoxidable. El burbujeador puede ser de diversas calidades (es decir, porosidades) para proporcionar una "burbuja" de tamaño específico.
- 55 El término "boquilla" y/o la expresión "cabezal de ducha" comprenden un dispositivo que divide un flujo líquido en múltiples chorros de líquido. En una realización particular, la boquilla es un tubo perforado con poros hacia abajo.
- 60 Tal como se denomina en el presente documento, "espuma" es una masa de burbujas de gas en una matriz de películas de líquido. La fracción volumétrica de gas en la espuma es preferentemente superior al 70 %.
- 65 La "conversión" de un sustrato es la proporción de un sustrato que ha reaccionado durante una reacción con respecto a la cantidad total del sustrato suministrado al reactor.

La expresión "retención de gas" incluye la fracción volumétrica de gas en una mezcla de dos fases gas-líquido.

5 La expresión "transferencia de masa" usada en el presente documento significa principalmente la transferencia de sustratos gaseosos al medio líquido en el que se encuentra el microorganismo.

Las expresiones "eficacia de la transferencia de masa", "eficacia de la transferencia de masa volumétrica" y similares se refieren a la velocidad de la disolución de un sustrato gaseoso en el medio líquido por unidad de tiempo y por unidad de volumen del reactor.

10 Las expresiones "aumentar la eficacia", "eficacia aumentada" y similares, cuando se usan con relación a un proceso de transferencia de masa, se refieren a una mayor velocidad de disolución del sustrato gaseoso en el medio líquido.

15 A menos que el contexto requiera otra cosa, las expresiones "que fermenta", "proceso de fermentación" o "reacción de fermentación" y similares, tal como se usan en el presente documento, pretenden abarcar tanto la fase de crecimiento como la fase de biosíntesis de productos del proceso.

20 La fermentación eficaz de sustratos gaseosos para obtener productos requiere el control de la cantidad de sustrato transferido a un caldo de fermentación a fin de asegurar tasas elevadas de producción de los productos deseados y de evitar la inhibición. Además, a fin de maximizar la captura de carbono, la cantidad de un sustrato transferido a un caldo de fermentación, de modo que este pueda ser convertido en productos por uno o más microorganismos, se debe mantener en un nivel elevado. Asimismo, a fin de mantener la eficacia global, el sustrato debe ser transferido a la solución de modo que se minimice la entrada de potencia a lo largo del sistema.

25 De acuerdo con la invención, se proporciona un sistema para mejorar la fermentación de un sustrato gaseoso mediante la introducción de un bucle secundario en un reactor de bucle externo con circulación forzada convencional. El reactor comprende un bucle principal a través del cual un caldo de fermentación que comprende un sustrato gaseoso se hace circular por un segmento ascendente y una sección descendente por medio de una bomba del bucle. Aguas abajo de la bomba del bucle se retira una porción del caldo de fermentación desde la sección descendente y se dirige hacia la parte superior del reactor mediante un bucle secundario. En realizaciones particulares, la porción del caldo de fermentación retirada del bucle principal se pulveriza desde el bucle secundario mediante una boquilla.

35 La principal etapa limitante de la velocidad en la fermentación de gas es la transferencia de masa gas-líquido. Medios conocidos para aumentar la transferencia de masa son mediante la agitación de la mezcla gas-líquido, tal como la agitación mecánica del caldo. Sin embargo, estos métodos conocidos para aumentar la transferencia de masa requieren una gran entrada de potencia, lo que hace que no sean eficaces y/o rentables a medida que aumenta la escala.

40 El reactor de la presente invención se configura para mejorar significativamente la transferencia de masa de una fase gaseosa a una fase líquida. En realizaciones particulares, se retira una porción del flujo líquido de la descarga de la bomba del bucle en la sección descendente y, por tanto, el caudal volumétrico del líquido en la sección ascendente es menor que el de la sección descendente. En determinadas realizaciones, la retirada de una porción del caldo de fermentación de la sección descendente da como resultado un aumento de la retención de gas y de la transferencia de masa en la sección ascendente del reactor.

50 En una realización particular de un aparato de la invención, el reactor consiste en una sección ascendente y una sección descendente. El ascendente y el descendente están conectados por dos secciones horizontales en cada extremo para formar un bucle principal, y un flujo líquido/gas se impulsa a través del bucle principal, al menos parcialmente, por medio de una bomba en la parte inferior del descendente. En realizaciones particulares, se introduce el gas en el sistema mediante un tipo de burbujeador apropiado. En realizaciones particulares, un conducto del bucle secundario conecta la parte inferior del descendente y la parte superior del reactor para formar un bucle secundario. En realizaciones particulares, el conducto del bucle secundario está conectado al descendente aguas abajo de la bomba del bucle principal aunque antes del ascendente. En realizaciones particulares, el conducto del bucle secundario retira una corriente de líquido desde la descarga de la bomba del bucle por medio de una bomba secundaria. En realizaciones particulares, se hace pasar una corriente de líquido a la parte superior del reactor mediante un conducto del bucle secundario, en la que el líquido se pulveriza en el espacio libre del reactor mediante al menos una boquilla. En determinadas realizaciones, la al menos una boquilla es un cabezal de ducha.

60 En realizaciones de la invención, el sistema tiene aplicación en la fermentación de sustratos gaseosos a uno o más productos, incluyendo dichos productos ácidos, alcoholes y dioles. En particular, se producen etanol, ácido acético y 2,3-butanodiol mediante fermentación de un sustrato gaseoso que comprende CO. Productos alternativos incluyen butanol, lactato, succinato, metil etil cetona (MEK), propanodiol, 2-propanol, isopropanol, acetoina, iso-butanol, citramalato, butadieno, ácido poliláctico, isobutileno, 3-hidroxipropionato (3HP), acetona, ácidos grasos y mezclas de los mismos.

65

Normalmente, el espacio libre de la sección ascendente del reactor comprende una capa de espuma procedente del gas que sube y de la agitación del caldo. La presente invención permite que el caldo de fermentación usado en el proceso de fermentación del reactor sea pulverizado sobre la capa de espuma, en el que la pulverización tiene el efecto de romper las burbujas grandes de gas de la espuma. Las burbujas de gas más grandes suben con mayor velocidad a través del líquido y, por tanto, tienen un menor tiempo de residencia en el ascendente, con una menor transferencia de masa del gas contenido. Al romper las burbujas de gas más grandes, las burbujas más pequeñas son arrastradas de vuelta a la sección descendente del reactor, lo que proporciona otra oportunidad para la transferencia de masa. En una realización adicional, la llovizna se pulveriza sobre la capa de espuma en el espacio libre hasta colapsar eficazmente la espuma, a fin de que esta no se acumule y bloquee las tuberías aguas abajo del reactor.

En una realización adicional, la llovizna convierte la capa de espuma en un contactor a contracorriente gas-líquido en el que el líquido fluye hacia abajo y el gas fluye hacia arriba. La eficacia de la transferencia de masa en este flujo a contracorriente es por sí misma elevada debido a la acción a contracorriente y al alto contenido de gas. Aunque la concentración del sustrato gaseoso en la fase gaseosa puede ser pequeña, esta parte del reactor contribuirá en una cantidad significativa a la captura del sustrato. Cuando hay fluctuaciones en el suministro de gas, la altura de la capa de espuma se puede ajustar adecuadamente a fin de mantener una tasa de producción estable.

La fermentación se puede llevar a cabo en un biorreactor adecuado, tal como un reactor de células inmovilizadas, un reactor con inyección de gas, un reactor de columna de burbujas (BCR), un reactor de membrana tal como un biorreactor de membrana de fibra hueca (HFM BR) o un reactor de lecho percolador (TBR). Asimismo, en algunas realizaciones de la invención, el biorreactor puede comprender un primer reactor de crecimiento en el que se cultivan los microorganismos, y uno o más reactores de producción de fermentación, configurados en serie o en paralelo, en los que se puede alimentar el caldo de fermentación desde el reactor de crecimiento y en los que se puede producir la mayor parte del producto de fermentación (por ejemplo, etanol y acetato). El biorreactor de la presente invención está adaptado para recibir un sustrato que contiene CO y/o H<sub>2</sub>, o CO<sub>2</sub> y/o H<sub>2</sub>.

En realizaciones particulares, la entrada de gas está situada en la parte inferior de la sección ascendente del reactor. Los inventores han identificado que un exceso de CO en el área próxima a la entrada de gas (es decir, en la parte inferior del ascendente) da como resultado la inhibición del microorganismo. Sin embargo, este problema se supera de forma sorprendente mediante la presente invención. En realizaciones particulares, el gas arrastrado al espacio libre de la sección ascendente del reactor comprende un contenido de CO menor que el gas nuevo de entrada en la parte inferior del ascendente. Cuando el gas arrastrado es reciclado finalmente a través del descendente para volver a la parte inferior del ascendente, el gas arrastrado se mezcla con el gas nuevo de entrada y reduce la concentración del CO disuelto en la parte inferior del ascendente, reduciendo eficazmente las posibilidades de inhibición del sustrato y mejorando la conversión global del CO. El mismo problema se puede resolver también dividiendo el gas alimentado en varias corrientes e inyectándolas en múltiples sitios del ascendente y el descendente del reactor. Este último método, sin embargo, no mejora significativamente la conversión del CO.

De acuerdo con realizaciones particulares, el coeficiente de transferencia de masa del sustrato gaseoso para el cultivo de microorganismo se puede controlar de modo que el cultivo de microorganismo se suministre con el sustrato a o hacia una velocidad de suministro óptima. En los reactores, el coeficiente de transferencia de masa se puede controlar controlando la presión parcial del sustrato gaseoso y/o controlando el caudal del líquido o la retención de gas. En realizaciones particulares, la transferencia de masa se monitoriza controlando la velocidad a la que se bombea el caldo de fermentación a través del bucle principal y el bucle secundario del reactor.

En realizaciones particulares, el gas nuevo se introduce en el vaso por una o más entradas de gas. Normalmente se puede conseguir una alta transferencia de masa mediante la introducción del sustrato gaseoso en forma de burbujas finas. Los expertos en la técnica valorarán los medios para introducir el sustrato gaseoso tales como burbujeadores. En realizaciones particulares, el gas se introduce en el vaso mediante difusores de burbujas finas u otro tipo de generadores de burbujas finas.

Al considerar la presente divulgación, los expertos en la técnica valorarán el tamaño y el tipo de las bombas requeridas para hacer circular el caldo de fermentación que comprende uno o más microorganismos alrededor del bucle principal y el bucle secundario. Cabe señalar que cuanto mayor es el gas retenido en el líquido, menos denso es el líquido, de modo que la bomba se ha de configurar para hacer circular líquidos de densidades variables puesto que la composición de la suspensión gas/líquido varía. A modo de ejemplo no limitante, se pueden usar una o más bombas multifase configuradas para bombear la suspensión caldo de fermentación/gas a fin de hacer circular líquidos de una sola fase y elevar la presión de descarga de un fluido. Usando un propulsor rotatorio, el líquido entra en la bomba a lo largo del eje de rotación del motor y acelera el líquido radialmente hacia afuera a través de una cámara difusora. Las bombas centrífugas pueden operar también con menores retenciones de gas en las dos fases sin cavitación (uno de los puntos débiles de las bombas centrífugas), manteniendo una adecuada altura de aspiración positiva neta. Los expertos en la técnica entenderán que hay soluciones de bombeo multifase disponibles para aplicaciones a gran escala.

En realizaciones alternativas, la sección descendente del vaso de fermentación comprende una válvula de

compuerta situada aguas arriba de la salida del bucle secundario. En esta realización, el caldo de fermentación se puede retirar del descendente al bucle secundario mediante una restricción del flujo del bucle principal usando la válvula de compuerta. Ajustando la apertura de la válvula de compuerta, se puede regular la presión aguas abajo de la bomba del bucle, aunque aguas arriba de la válvula de compuerta, a fin de proporcionar un caudal del bucle secundario deseado. En determinadas realizaciones, la presión en el descendente es monitorizada mediante un manómetro. Esta configuración elimina la necesidad de una bomba del bucle secundario.

En realizaciones particulares, el bucle secundario está integrado con un sistema de reciclado de células. El sistema de reciclado de células proporciona un medio para separar microorganismos del permeado a fin de que los microorganismos vuelvan al reactor para una fermentación posterior. Un módulo de reciclado de células extrae continuamente permeado de caldo, mientras retiene las células. Los expertos en la técnica entenderán que los miembros de reciclado de células pueden incluir, si bien no se limitan a los mismos, membranas de reciclado de células o separadores centrífugos de discos. En realizaciones preferentes, las células son retenidas en el caldo de fermentación usando ultrafiltración. En determinadas realizaciones, la fuerza impulsora para el bucle secundario procede de la bomba de reciclado de células. En realizaciones preferentes, la bomba de reciclado de células es mucho mayor que las bombas del bucle secundario descritas anteriormente. En una realización particular, el caldo de fermentación se retira al bucle secundario aguas abajo del módulo de reciclado de células. En realizaciones particulares, el caudal del bucle secundario y la presión del sistema de reciclado de células son regulados por al menos una válvula de control aguas arriba del módulo de reciclado de células. En realizaciones particulares, el caudal del bucle secundario es regulado por dos válvulas de control aguas arriba del módulo de reciclado de células. La primera válvula de control regula el flujo a la parte superior del reactor mediante el conducto del bucle secundario. La segunda válvula de control regula el flujo a un conducto separado que devuelve el caldo de fermentación al descendente. En determinadas realizaciones, a fin de aumentar el caudal del bucle secundario, se incrementa el flujo a través de la primera válvula de control y se limita el flujo a través de la segunda válvula de control. A fin de disminuir el caudal del bucle secundario, se limita el flujo a través de la primera válvula de control y se incrementa el flujo a través de la segunda válvula de control. A fin de cumplir los requisitos de flujo del reciclado de células, las dos válvulas de control se configuran para mantener un caudal constante a través del módulo de reciclado de células.

El reactor de la presente invención puede incluir adicionalmente un amplio rango de módulos de contacto gas/líquido adecuados que pueden proporcionar una transferencia de masa eficaz de un sustrato gaseoso necesaria para mejorar la eficacia de las fermentaciones microbianas. Un módulo de contacto proporciona un entorno geométrico único que permite mezclar exhaustivamente el gas y el líquido a lo largo de una línea de corriente determinada, provocando que el gas arrastrado se disuelva en el líquido más uniformemente. A modo de ejemplo, estos módulos de contacto incluyen, si bien no se limitan a los mismos, una matriz de un relleno de metal corrugado estructurado, un relleno al azar, placas perforadas y mezcladoras estáticas, todos los cuales tienen un rango de tipos y densidades bien conocido y están ampliamente disponibles en el mercado.

En las figuras adjuntas se describen varias realizaciones de sistemas de la invención.

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una realización de un reactor de bucle de circulación que comprende un bucle secundario. El reactor consiste en un ascendente (2) en el que la mezcla de líquido y gas (3) fluye simultáneamente hacia arriba, y un descendente (8) en el que la mezcla de líquido y gas fluye simultáneamente hacia abajo. El ascendente (2) y el descendente (8) están conectados por dos secciones horizontales en cada extremo, y el flujo de dos fases es impulsado, al menos parcialmente, por medio de una bomba (9) en la parte inferior del descendente (8). El gas se introduce en el sistema mediante uno o más tipos de burbujeadores (1) apropiados. Una porción del gas es transportada al descendente (8) por el flujo líquido en el separador gas/líquido (4), y esta porción de gas se denomina en el presente documento "gas arrastrado" o "gas reciclado". El gas no arrastrado deja el sistema mediante una válvula de control (7), después de atravesar el espacio libre (6). Normalmente, hay una capa de espuma (5) de determinada altura por encima del nivel de líquido en el espacio libre (6). En este diagrama se puede observar que la mezcla de líquido y gas fluye desde el ascendente (2) hasta el descendente (8) y vuelta formando un bucle (es decir, el bucle principal).

El bucle secundario hace circular el caldo de fermentación (3) desde la parte inferior del descendente (8) hasta la parte superior del reactor. Aguas abajo de la bomba del bucle principal (9), aunque antes del ascendente (2), se retira una corriente de líquido desde la descarga de la bomba del bucle (9) por medio de una bomba secundaria (11). La corriente se hace pasar a la parte superior del reactor mediante un conducto del bucle secundario (12), en la que el líquido se pulveriza en el espacio libre (6) mediante una boquilla de pulverización o un cabezal de ducha (10) adecuados. El líquido se pulveriza sobre la superficie de la capa de espuma (5) a una velocidad de aproximadamente 0,5 m/s o a aproximadamente 5 m/s a fin de romper la espuma. El caudal de líquido del bucle secundario se mide y se monitoriza mediante un caudalímetro (13).

La Figura 2 muestra un diagrama esquemático de una realización alternativa del reactor de bucle de circulación que comprende una válvula de compuerta (14). Se han eliminado de la figura otros componentes del reactor con fines de claridad. Ajustando la apertura de la válvula de compuerta, se puede regular la presión aguas abajo de la bomba del bucle, aunque aguas arriba de la válvula de compuerta a fin de proporcionar un caudal del bucle secundario deseado. La presión es monitorizada mediante un manómetro (15). Esta configuración elimina la necesidad de una

bomba del bucle secundario.

La Figura 3 muestra un diagrama esquemático de una realización alternativa del reactor de bucle de circulación que comprende un sistema de reciclado de células integrado. Se han eliminado de la figura otros componentes del reactor con fines de claridad. En esta realización, el bucle secundario es retirado aguas abajo de un módulo de reciclado de células (19), en el que la fuerza impulsora para el bucle secundario procede de la bomba de reciclado de células (16). En realizaciones preferentes, la bomba de reciclado de células es mucho mayor que las bombas del bucle secundario descritas anteriormente. En realizaciones particulares, el módulo de reciclado de células separa las células del permeado usando ultrafiltración u otros medios de separación tales como membranas. Solamente una porción del caldo de fermentación proporcionado al módulo de reciclado de células se hace pasar a la parte superior del reactor y, por tanto, el caudal del bucle secundario y la presión del sistema de reciclado de células son regulados por dos válvulas de control (17, 18) aguas abajo del módulo de reciclado de células (19). La primera válvula de control (17) regula el flujo a la parte superior del reactor mediante el conducto del bucle secundario. La segunda válvula de control (18) regula el flujo a un conducto separado que devuelve el caldo de fermentación al descendente. En determinadas realizaciones, a fin de aumentar el caudal del bucle secundario, se incrementa el flujo a través de la primera válvula de control (17) y se limita el flujo a través de la segunda válvula de control (18). A fin de disminuir el caudal del bucle secundario, se limita el flujo a través de la primera válvula de control (17) y se incrementa el flujo a través de la segunda válvula de control (18). A fin de cumplir los requisitos de flujo del reciclado de células, las dos válvulas de control (17, 18) se configuran para mantener un caudal constante a través del módulo de reciclado de células (19).

Cabe señalar que diversos cambios y modificaciones de las realizaciones preferentes actualmente descritas en el presente documento serán evidentes para los expertos en la técnica. Dichos cambios y modificaciones se pueden realizar sin alejarse del espíritu y el alcance de la invención y sin disminuir sus ventajas asociadas. Por tanto, se pretende que tales cambios y modificaciones estén incluidos en el alcance de la invención.

#### Fermentación

Los procesos para la producción de etanol y otros alcoholes a partir de sustratos gaseosos (tales como los descritos en la sección de antecedentes previa) son conocidos. Procesos ilustrativos incluyen aquellos descritos, por ejemplo, en los documentos WO 2007/117157 y WO 2008/115080, así como en las patentes de Estados Unidos con n.ºs 6 340 581, 6 136 577, 5 593 886, 5 807 722 y 5 821 111.

Se sabe que una serie de bacterias anaerobias son capaces de llevar a cabo la fermentación de CO a alcoholes, que incluyen *n*-butanol y etanol, y ácido acético, y son adecuadas para su uso en el proceso de la presente invención. Ejemplos de tales bacterias que son adecuadas para su uso en la invención incluyen las del género *Clostridium*, tales como cepas de *Clostridium ljungdahlii*, que incluyen las descritas en los documentos WO 00/68407, EP 117309, las patentes de Estados Unidos con n.ºs 5 173 429, 5 593 886 y 6 368 819, los documentos WO 98/00558 y WO 02/08438, *Clostridium carboxydvorans* (Liou *et al.*, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 33: págs. 2085-2091) y *Clostridium autoethanogenum* (Abrini *et al.*, *Archives of Microbiology* 161: págs. 345-351). Otras bacterias adecuadas incluyen las del género *Moorella*, que incluyen *Moorella sp* HUC22-1, (Sakai *et al.*, *Biotechnology Letters* 29: págs. 1607-1612), y las del género *Carboxydotherrmus* (Svetlichny, V.A., *et al.* (1991), *Systematic and Applied Microbiology* 14: 254-260). Además, otras bacterias anaerobias carboxidotróficas pueden ser usadas en los procesos de la invención por un experto en la técnica. Se entenderá también, al considerar la presente divulgación, que se puede usar un cultivo mixto de dos o más bacterias en los procesos de la presente invención.

El cultivo de las bacterias usadas en un método de la invención se puede llevar a cabo usando una serie de procesos conocidos en la técnica para cultivar y fermentar sustratos usando bacterias anaerobias. Se proporcionan técnicas ilustrativas en la sección "Ejemplos" de más adelante. A modo de ejemplo adicional, se pueden usar los procesos descritos generalmente en los siguientes artículos que emplean sustratos gaseosos para la fermentación: (i) K. T. Klasson, *et al.* (1991). "Bioreactors for synthesis gas fermentations resources". *Conservation and Recycling*, 5: 145-165; (ii) K. T. Klasson, *et al.* (1991). "Bioreactor design for synthesis gas fermentations". *Fuel*. 70. 605-614; (iii) K. T. Klasson, *et al.* (1992). "Bioconversion of synthesis gas into liquid or gaseous fuels". *Enzyme and Microbial Technology*. 14: 602-608; (iv) J. L. Vega, *et al.* (1989). "Study of Gaseous Substrate Fermentation: Carbon Monoxide Conversion to Acetate. 2. Continuous Culture". *Biotech. Bioeng.* 34. 6. 785-793; (vi) J. L. Vega, *et al.* (1989). "Study of gaseous substrate fermentations: Carbon monoxide conversion to acetate. 1. Batch culture". *Biotechnology and Bioengineering*. 34. 6. 774-784; (vii) J. L. Vega, *et al.* (1990). "Design of Bioreactor for Coal Synthesis Gas Fermentations". *Resources, Conservation and Recycling*. 3. 149-160.

En una realización, el microorganismo se selecciona entre el grupo de las bacterias *Clostridium* carboxidotróficas que comprenden *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii*, *Clostridium ragsdalei*, *Clostridium carboxydvorans*, *Clostridium drakei*, *Clostridium scatologenes*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum*, *Clostridium magnum*. En una realización adicional, el microorganismo es del conjunto de las bacterias *Clostridium* carboxidotróficas que comprenden las especies *C. autoethanogenum*, *C. ljungdahlii* y *C. ragsdalei* y aislados relacionados. Estas incluyen, si bien no se limitan a las mismas, las cepas *C. autoethanogenum* JAI-1T (DSM10061)

(Abrini, Naveau, & Nyns, 1994), *C. autoethanogenum* LBS1560 (DSM19630) (WO/2009/064200), *C. autoethanogenum* LBS1561 (DSM23693), *C. ljungdahlii* PETCT (DSM13528 = ATCC 55383) (Tanner, Miller, & Yang, 1993), *C. ljungdahlii* ERI-2 (ATCC 55380) (patente US 5 593 886), *C. ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988) (patente US 6 368 819), *C. ljungdahlii* O-52 (ATCC 55989) (patente US 6 368 819), *C. ragsdalei* P11T (ATCC BAA-622) (WO 2008/028055), aislados relacionados tales como "*C. coskatii*" (US 20110229947) y "*Clostridium* sp." (Tyurin & Kiriukhin, 2012), o cepas mutadas tales como *C. ljungdahlii* OTA-1 (Tirado-Acevedo O. "Production of Bioethanol from Synthesis Gas Using *Clostridium ljungdahlii*". Tesis doctoral, Universidad de Carolina del Norte, 2010). Estas cepas forman un subconjunto dentro del conjunto I de ARNr de *Clostridium* y su gen 16S ARNr es idéntico en más de un 99 % con un contenido bajo de GC similar de aproximadamente un 30 %. Sin embargo, experimentos de reasociación de ADN-ADN y de huella dactilar de ADN mostraron que estas cepas pertenecen a especies diferentes (WO 2008/028055).

Todas las especies del conjunto anteriormente mencionado tienen una morfología y un tamaño y similares (las células en crecimiento logarítmico son de 0,5-0,7 x 3-5 mm), son mesófilas (temperatura de crecimiento óptimo de 30-37 °C) y estrictamente anaerobias (Abrini *et al.*, 1994; Tanner *et al.*, 1993) (WO 2008/028055). Sin embargo, todas ellas comparten las mismas características filogenéticas principales, tales como un mismo intervalo de pH (pH 4-7,5, con un pH inicial óptimo de 5,5-6), un crecimiento autótrofo fuerte en gases que contienen CO con velocidades de crecimiento similares y un perfil metabólico similar con etanol y ácido acético como producto final de la fermentación principal, con pequeñas cantidades de 2,3-butanodiol y ácido láctico formados en determinadas condiciones (Abrini *et al.*, 1994; Kopke *et al.*, 2011; Tanner *et al.*, 1993) (WO 2008/028055). Se observó también la producción de indol con las tres especies. Sin embargo, las especies se diferencian en el uso de sustratos de diversos azúcares (ramnosa, arabinosa, por ejemplo), ácidos (gluconato, citrato, por ejemplo), aminoácidos (arginina, histidina, por ejemplo), u otros sustratos (betaína, butanol, por ejemplo). Además, se encontró que algunas de las especies eran auxótrofas para determinadas vitaminas (tiamina, biotina, por ejemplo) mientras que otras no lo eran. La organización y el número de genes de la ruta Wood-Ljungdahl, responsables de la captura de gas, se ha descubierto que son los mismos en todas las especies, a pesar de las diferencias en las secuencias nucleicas y de aminoácidos (Kopke *et al.*, 2011). Asimismo, se ha demostrado la reducción de ácidos carboxílicos a sus correspondientes alcoholes en una variedad de estos organismos (Perez, Richter, Loftus, y Angenent, 2012). Estas características, por tanto, no son específicas de un organismo como la *C. autoethanogenum* o la *C. ljungdahlii*, sino que son más bien características generales para bacterias *Clostridium* carboxidotróficas que sintetizan etanol y se puede anticipar que el mecanismo es similar en todas estas cepas, si bien puede haber diferencias en el rendimiento (Perez *et al.*, 2012).

Un microorganismo ilustrativo adecuado para su uso en la presente invención es *Clostridium autoethanogenum*. En una realización, la *Clostridium autoethanogenum* es una *Clostridium autoethanogenum* que tiene las características identificativas de la cepa depositada en el Centro alemán de recursos para material biológico (DSMZ) con el número de depósito identificativo 19630. En otra realización, la *Clostridium autoethanogenum* es una *Clostridium autoethanogenum* que tiene las características identificativas de la cepa depositada en el DSMZ con el número de depósito DSM 10061.

La fermentación se puede llevar a cabo en cualquier biorreactor adecuado. En algunas realizaciones de la invención, el biorreactor puede comprender un primer reactor de crecimiento en el que se cultivan los microorganismos, y uno o más reactores de producción de fermentación posterior, configurados en serie o en paralelo, en los que se alimenta el caldo de fermentación desde el reactor de crecimiento y en los que se produce la mayor parte del producto de fermentación (por ejemplo, etanol y acetato).

De acuerdo con varias realizaciones de la invención, la fuente de carbono para la reacción de fermentación es un sustrato gaseoso que contiene CO. El sustrato gaseoso puede ser un gas residual que contiene CO obtenido como subproducto de un proceso industrial, o proceder de otra fuente tal como los gases de escape de automóviles. En determinadas realizaciones, el proceso industrial se selecciona entre el grupo que consiste en la fabricación de productos metálicos de hierro, tal como se efectúa en una acería, la fabricación de productos no de hierro, procesos de refinado del petróleo, la gasificación de carbón, la producción de energía eléctrica, la producción de negro de carbón, la producción de amoníaco, la producción de metanol y la fabricación de coque. En estas realizaciones, el gas que contiene CO puede ser capturado en el proceso industrial antes de ser emitido a la atmósfera, usando cualquier método conveniente. Como alternativa, el sustrato gaseoso es una fuente de gas reformado que incluye gas natural, gas de esquisto, gas asociado al petróleo y biogás. Dependiendo de la composición del sustrato gaseoso que contiene CO, puede ser deseable también tratar este a fin de eliminar cualquier impureza indeseada, tal como partículas de polvo, antes de introducirlo en la fermentación. Por ejemplo, el sustrato gaseoso se puede filtrar o depurar usando métodos conocidos.

El sustrato gaseoso que contiene CO contendrá idealmente una proporción significativa de CO, tal como de al menos un 5 % a aproximadamente un 100 % de CO en volumen, o de un 20 % a un 95 % de CO en volumen, o de un 40 % a un 95 % de CO en volumen, o de un 60 % a un 90 % de CO en volumen, o de un 70 % a un 90 % de CO en volumen. Asimismo también pueden ser adecuados sustratos gaseosos que tienen menores concentraciones de CO, tal como de un 6 %, particularmente cuando están presentes también H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.

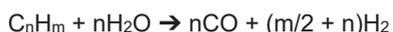
Aunque no es necesario que el sustrato gaseoso contenga hidrógeno, la presencia de hidrógeno no será generalmente perjudicial para la formación de producto de acuerdo con los métodos de la invención. Sin embargo, en determinadas realizaciones de la invención, el sustrato gaseoso carece sustancialmente de hidrógeno (menos de un 1 %). El sustrato gaseoso puede contener también cierta cantidad de CO<sub>2</sub>, tal como de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 30 % en volumen, o de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 10 % de CO<sub>2</sub>.

Tal como se ha indicado previamente, la presencia de hidrógeno en la corriente de sustrato puede llevar a una mejora de la eficacia de la captura global de carbono y/o la productividad de etanol. Por ejemplo, el documento WO0208438 describe la producción de etanol usando corrientes de gas con varias composiciones.

De acuerdo con ello, puede ser necesario modificar la composición de la corriente de sustrato a fin de mejorar la producción de alcohol y/o la captura global de carbono. Adicionalmente o alternativamente, se puede modificar la composición (es decir, ajustar los niveles de CO, CO<sub>2</sub> y/o H<sub>2</sub>) para optimizar la eficacia de la reacción de fermentación y mejorar finalmente la producción de alcohol y/o la captura global de carbono.

En algunas realizaciones, el sustrato gaseoso que contiene CO puede proceder de la gasificación de materia orgánica tal como metano, etano, propano, carbón, gas natural, petróleo crudo, residuos de bajo valor de refinerías de petróleo (que incluyen coque de petróleo o *petcoke*), residuos sólidos urbanos o biomasa. La biomasa incluye subproductos obtenidos durante la extracción y el procesamiento de alimentos tales como azúcar de caña, o almidón de maíz o cereales, o residuos de biomasa no alimentaria generada por la industria forestal. Cualquiera de estos materiales carbonosos se puede gasificar, es decir, se puede someter a una combustión parcial con oxígeno para producir gas de síntesis (sintegás que comprende cantidades significativas de H<sub>2</sub> y CO). Los procesos de gasificación producen normalmente un gas de síntesis con una proporción molar de H<sub>2</sub> con respecto al CO de aproximadamente 0,4:1, o 1,2:1, junto con cantidades menores de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, metano y otras sustancias inertes. La proporción de gas producido se puede variar mediante métodos conocidos en la técnica y que se describen con detalle en el documento WO200701616. Sin embargo, a modo de ejemplo, se pueden variar las condiciones de gasificación siguientes para ajustar la proporción de producto CO:H<sub>2</sub> y composición de la materia prima (particularmente la proporción C:H), la presión de operación, el perfil de temperatura (que influye en el enfriamiento de la mezcla de productos) y el oxidante empleado (aire, aire enriquecido con oxígeno, O<sub>2</sub> puro o vapor; en el que el vapor tiende a dar lugar a mayores proporciones CO:H<sub>2</sub>). De acuerdo con ello, las condiciones de operación del gasificador se pueden ajustar para proporcionar una corriente de sustrato con una composición deseable para la fermentación o la mezcla con una o más corrientes para dar una composición optimizada o deseable a fin de incrementar la productividad de alcohol y/o la captura global de carbono en un proceso de fermentación.

En otras realizaciones, el sustrato que comprende CO puede proceder del reformado con vapor de hidrocarburos. Los hidrocarburos, tales como los hidrocarburos del gas natural, se pueden reformar a alta temperatura para dar CO y H<sub>2</sub> de acuerdo con la reacción siguiente:



A modo de ejemplo, el reformado con vapor del metano implica hacer reaccionar el vapor con metano para producir CO y H<sub>2</sub> a temperatura elevada (700-1100 °C) en presencia de un catalizador de níquel. La corriente resultante (que comprende 1 mol de CO y 3 moles de H<sub>2</sub> por cada mol de CH<sub>4</sub> convertido) se puede hacer pasar directamente al fermentador o se puede mezclar con una corriente de sustrato procedente de otra fuente a fin de aumentar la productividad de alcohol y/o la captura global de carbono en un proceso de fermentación. Se pueden reformar también alcoholes tales como el metanol para producir CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> que se pueden usar de una forma similar.

En otra realización, el sustrato que comprende CO procede del proceso de fabricación del acero. En el proceso de fabricación del acero, el mineral de hierro se tritura y se pulveriza, se somete a tratamientos previos tales como una sinterización o una peletización y después se hace pasar a un alto horno (*blast furnace* o BF), donde se funde. En el proceso de fundición, el coque sirve como fuente de carbono, el cual actúa como agente reductor para reducir el mineral de hierro. El coque actúa como fuente de calor para calentar y fundir los materiales. El metal caliente se descarburar en un horno de revestimiento básico con soplado de oxígeno (*basic oxygen furnace* o BOF) inyectando una corriente de oxígeno puro a alta velocidad contra la superficie del metal caliente. El oxígeno reacciona directamente con el carbono del metal caliente para producir monóxido de carbono (CO). Así pues, del BOF sale una corriente de gas con un elevado contenido de CO. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, esta corriente se emplea para alimentar una o más reacciones de fermentación. No obstante, como es aparente para el experto en la técnica, el CO puede ser producido en otra parte dentro del procedimiento de fabricación del acero y, de acuerdo con varias realizaciones de la invención, se pueden emplear tales fuentes alternativas en lugar de los gases de escape procedentes del BOF, o en combinación con los mismos. Dependiendo de la fuente (es decir, de la etapa particular del procedimiento de fabricación del acero), el contenido de CO de los gases que salen puede variar de este modo. Asimismo, puede haber períodos en los que haya suspensiones en una o más de tales corrientes, en particular en instalaciones de procesamiento discontinuo.

Normalmente, las corrientes que salen de un proceso de descarburación en una acería comprenden una alta concentración de CO y bajas concentraciones de H<sub>2</sub>. Aunque tales corrientes se pueden hacer pasar directamente al

biorreactor con muy poco o ningún tratamiento adicional, puede ser deseable optimizar la composición de la corriente de sustrato a fin de conseguir una mayor eficacia de la producción del alcohol y/o de la captura de carbono global. Por ejemplo, la concentración de H<sub>2</sub> en la corriente de sustrato se puede incrementar antes de hacer pasar la corriente al biorreactor.

5 De acuerdo con realizaciones particulares de la invención, se pueden combinar y/o mezclar corrientes de dos o más fuentes para producir una corriente de sustrato deseable y/u optimizada. Por ejemplo, una corriente que comprende una alta concentración de CO, tal como el gas de escape de un convertidor de una acería, se puede combinar con una corriente que comprende altas concentraciones de H<sub>2</sub>, tal como el gas de escape procedente de un horno de coque de una acería.

15 Adicionalmente o alternativamente, una corriente intermitente que comprende CO, tal como una corriente de salida del convertidor, se puede combinar y/o mezclar con una corriente sustancialmente continua que comprende CO y, opcionalmente, H<sub>2</sub> tal como un sintegás producido en un proceso de gasificación descrito previamente. En determinadas realizaciones, esto mantendría el suministro de sustrato sustancialmente continua al biorreactor. En una realización particular, la corriente producida por el gasificador se puede incrementar y/o reducir de acuerdo con la producción intermitente de CO a partir de una fuente industrial a fin de mantener una corriente de sustrato sustancialmente continua con una composición optimizada o deseable. En otra realización, se pueden modificar las condiciones del gasificador tal como se ha descrito previamente para aumentar o disminuir la proporción CO:H<sub>2</sub>, de acuerdo con la producción intermitente de CO a partir de una fuente industrial, a fin de mantener una corriente de sustrato sustancialmente continua con una composición de CO y H<sub>2</sub> optimizada o deseable.

25 Normalmente, las corrientes de sustrato usadas en la invención serán gaseosas; sin embargo, la invención no se limita a las mismas. Por ejemplo, el monóxido de carbono se puede suministrar a un biorreactor en un líquido. Por ejemplo, se puede saturar un líquido con un gas que contiene monóxido de carbono y añadir después ese líquido a un biorreactor. Esto se puede conseguir usando una metodología convencional. A modo de ejemplo, se podría usar para este fin un generador de dispersiones de microburbujas (Hensirisak *et al.*, "Scale-up of micro-bubble dispersion generator for aerobic fermentation"; *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Volumen 101, Número 3, Octubre, 2002).

30 Se entenderá que para que se produzca el crecimiento de las bacterias y la fermentación del CO a etanol, además del gas sustrato que contiene CO, será necesario alimentar al biorreactor un medio nutriente líquido adecuado. Un medio nutriente contendrá vitaminas y minerales suficientes para permitir el crecimiento del microorganismo usado. Son conocidos en la técnica medios anaerobios adecuados para la fermentación de etanol usando CO como única fuente de carbono. Por ejemplo, se describen medios adecuados en las patentes de Estados Unidos con n.ºs 5 173 429 y 5 593 886 y en los documentos WO 02/08438, WO2007/115157 y WO2008/115080, indicados previamente. Los Ejemplos del presente documento proporcionan otros medios ilustrativos.

40 La fermentación se debe llevar a cabo en las condiciones apropiadas para que se produzca la fermentación deseada (por ejemplo, de CO a alcohol). Las condiciones de reacción que se han de tener en cuenta incluyen, presión, temperatura, caudal del gas, caudal del líquido, pH del medio, potencial de oxidación-reducción del medio, velocidad de agitación (si se usa un reactor continuo de tanque agitado), nivel de inóculo, concentraciones máximas de sustrato gaseoso para asegurar que el CO en la fase líquida no llega a ser limitante y concentraciones máximas de producto para evitar la inhibición del producto.

45 Las condiciones de reacción óptimas dependerán parcialmente del microorganismo particular usado. Sin embargo, es preferente en general que la fermentación se lleve a cabo a una presión superior a la presión ambiente. El operar a presiones mayores permite un incremento significativo de la tasa de transferencia de CO de la fase gaseosa a la fase líquida en donde puede ser capturado por los microorganismos como fuente de carbono para la producción de etanol. Esto a su vez significa que el tiempo de retención (definido como el volumen de líquido en el biorreactor dividido por el caudal de entrada del gas) se puede reducir cuando los biorreactores se mantienen a presión elevada en vez de a presión ambiente.

50 Asimismo, puesto que una velocidad de conversión de CO a etanol dada es, en parte, función del tiempo de retención del sustrato, y puesto que alcanzar un tiempo de retención deseado dicta a su vez el volumen necesario de un biorreactor, el uso de sistemas presurizados puede reducir considerablemente el volumen del biorreactor necesario y, por tanto, el coste de capital del equipo de fermentación. Según los ejemplos dados en la patente de Estados Unidos n.º 5 593 886, el volumen del reactor se puede reducir en proporción lineal a los aumentos de presión de operación del reactor, es decir, los biorreactores que funcionan a 10 atmósferas de presión han tener solamente una décima parte del volumen de los que funcionan a 1 atmósfera de presión.

55 Los beneficios de realizar una fermentación de gas a etanol a presiones elevadas también se han descrito en otros documentos. El documento WO 02/08438, por ejemplo, describe fermentaciones de gas a etanol realizadas a presiones de 206,84 kPa (30 psig) y 517,11 kPa (75 psig), dando productividades de etanol de 150 g/l/día a 369 g/l/día, respectivamente. Sin embargo, se encontró que fermentaciones ilustrativas, realizadas usando medios y

composiciones de gas de entrada similares a presión atmosférica, producen entre 10 y 20 veces menos etanol por litro al día.

- 5 También es deseable que la velocidad de introducción del sustrato gaseoso que contiene CO sea tal que asegure que la concentración de CO en la fase líquida no llegue a ser limitante. Esto es debido a que una consecuencia de las condiciones limitadas de CO puede ser que el producto de etanol sea consumido por el cultivo.

*Recuperación del producto*

- 10 Los productos de la reacción de fermentación se pueden recuperar usando métodos conocidos. Métodos ilustrativos incluyen aquellos descritos en los documentos WO2007/117157, WO2008/115080 y las patentes de Estados Unidos con n.ºs 6 340 581, 6 136 577, 5 593 886, 5 807 722 y 5 821 111. No obstante, brevemente y a modo de ejemplo solamente, el etanol puede ser recuperado del caldo de fermentación por métodos tales como la evaporación o la destilación fraccionada, y la fermentación extractiva.

- 15 La destilación de etanol a partir del caldo de fermentación da una mezcla azeotrópica de etanol y agua (es decir, un 95 % de etanol y un 5 % de agua). El etanol anhidrido se puede obtener posteriormente mediante el uso de tecnología de deshidratación de etanol con tamices moleculares, que también es bien conocida en la técnica.

- 20 Los procedimientos de fermentación extractiva suponen el uso de un disolvente miscible con agua que presenta un bajo riesgo de toxicidad para el organismo de fermentación, a fin de recuperar el etanol del caldo de fermentación diluido. Por ejemplo, el alcohol oleílico es un disolvente que se puede usar en este tipo de proceso de extracción. En este proceso, el alcohol oleílico se introduce de forma continua en un fermentador, tras lo cual este disolvente sube formando una capa en la parte superior del fermentador, la cual es extraída de forma continua y alimentada a una centrífuga. El agua y las células se separan entonces fácilmente del alcohol oleílico y se devuelven al fermentador mientras el disolvente cargado de etanol se alimenta a una unidad de vaporización ultrarrápida. La mayor parte del etanol se vaporiza y se condensa mientras el alcohol oleílico no volátil es recuperado para su reutilización en la fermentación.

- 30 También se puede recuperar acetato del caldo de fermentación usando métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un sistema de adsorción que implica un filtro de carbón activo. En este caso, las células microbianas se eliminan normalmente en primer lugar del caldo de fermentación usando una unidad de separación adecuada. Se conocen en la técnica numerosos métodos basados en una filtración para la generación de un caldo de fermentación sin células para la recuperación del producto. El permeado que contiene etanol sin células - y acetato - se hace pasar después a través de una columna que contiene carbón activo para adsorber el acetato. El acetato en forma de ácido (ácido acético) en vez de en forma de sal (acetato) es adsorbido más fácilmente por el carbón activo. Es preferente, por tanto, que el pH del caldo de fermentación se reduzca a un valor inferior a aproximadamente 3 antes de hacerlo pasar a través de la columna de carbón activo, a fin de convertir la mayor parte del acetato a la forma de ácido acético.

- 40 Los productos de la reacción de fermentación (etanol y acetato, por ejemplo) se pueden recuperar del caldo de fermentación eliminando de forma continua una parte del caldo del biorreactor de fermentación, separando las células microbianas del caldo (convenientemente mediante filtración), y recuperando uno o más productos del caldo de forma simultánea o secuencial. El etanol se puede recuperar convenientemente mediante destilación, y el acetato se puede recuperar mediante adsorción sobre carbón activo, usando los métodos descritos anteriormente. Las células microbianas separadas pueden ser devueltas al biorreactor de fermentación. El permeado sin células que queda una vez eliminados el etanol y el acetato puede ser devuelto también al biorreactor de fermentación. Se pueden añadir nutrientes adicionales (tales como vitaminas B) al permeado sin células para reponer el medio nutriente antes de devolverlo al biorreactor. Además, si el pH del caldo se había ajustado tal como se ha descrito anteriormente a fin de mejorar la adsorción de ácido acético sobre el carbón activo, el pH se debe ajustar de nuevo a un pH similar al del caldo en el biorreactor de fermentación, antes de ser devuelto al biorreactor.

*Gas de escape industrial como recurso para fermentación*

- 55 De acuerdo con otros aspectos de la invención, se emplean gases industriales residuales en una reacción de fermentación sin depuración adicional, o solamente mínima, o en etapas de tratamiento previo efectuadas para hacer que los gases sean adecuados para la misma.

- 60 Los gases residuales pueden proceder de una serie de procedimientos industriales. La invención tiene una aplicabilidad particular para apoyar la producción de etanol a partir de sustratos gaseosos tales como efluentes gaseosos industriales que contienen un elevado volumen de CO. Ejemplos de los mismos incluyen gases producidos durante la fabricación de productos metálicos de hierro, la fabricación de productos no de hierro, procesos de refinería, procesos de refinado del petróleo, la gasificación de carbón, la gasificación de biomasa, la producción de energía eléctrica, la producción de negro de carbón, la producción de amoníaco, la producción de metanol y la fabricación de coque. En determinadas realizaciones, el sustrato que contiene CO procede de la gasificación de biomasa o de residuos sólidos urbanos. En una realización particular de la invención, los gases residuales son

generados durante un proceso de fabricación de acero. Por ejemplo, los expertos en la técnica entenderán que los gases residuales producidos durante diversas fases del proceso de fabricación del acero tienen concentraciones elevadas de CO y/o CO<sub>2</sub>. En particular, los gases residuales producidos durante la descarburación del acero en diversos métodos de fabricación del acero, tal como en un convertidor de oxígeno (por ejemplo, BOF o KOBM), tienen un alto contenido de CO y un bajo contenido de O<sub>2</sub> lo que los convierte en un sustrato adecuado para la fermentación anaerobia carboxidotrófica.

Los gases residuales producidos durante la carburación del acero se hacen pasar opcionalmente a través de agua para eliminar partículas de materia antes de pasar a un conducto o chimenea para dirigir el gas residual a la atmósfera. Normalmente, los gases son conducidos a la chimenea con uno o varios ventiladores.

En realizaciones particulares de la invención, al menos una porción del gas residual producido durante la descarburación del acero se desvía a un sistema de fermentación mediante medios de conducción adecuados. A modo de ejemplo, se pueden conectar medios de conducción por tuberías u otros medios de transferencia a la chimenea de gases residuales desde una acería para desviar al menos una porción del gas residual a un sistema de fermentación. Se pueden usar igualmente uno o más ventiladores para desviar al menos una porción del gas residual al sistema de fermentación. En realizaciones particulares de la invención, el medio de conducción se adapta para proporcionar al menos una porción del gas residual producido durante la descarburación del acero a un sistema de fermentación. El control de la alimentación de los gases a un biorreactor y los medios para la misma serán inmediatamente evidentes para los expertos habituales de la técnica relacionada con la invención.

Aunque las acerías pueden estar adaptadas para producir acero de forma sustancialmente continua y seguidamente gases residuales, aspectos particulares de la invención pueden ser intermitentes. Normalmente la descarburación del acero es un proceso discontinuo que dura de varios minutos a varias horas. Como tales, los medios de conducción pueden estar adaptados para desviar al menos una porción del gas residual, tal como el gas producido durante la descarburación del acero, al sistema de fermentación si se determina que el gas residual tiene una concentración deseable.

El pH del contenido del biorreactor usado en el proceso de fermentación se puede ajustar según sea necesario. El pH apropiado dependerá de las condiciones requeridas para una particular reacción de fermentación con respecto a los medios nutrientes y los microorganismos empleados, tal como apreciarán los expertos habituales de la técnica relacionada con la invención. En una realización preferente, en la fermentación de un sustrato gaseoso que contiene CO usando *Clostridium autoethanogenum*, el pH se puede ajustar a un valor de aproximadamente 5,5 a 6,5, siendo lo más preferente de aproximadamente 5,5. Ejemplos adicionales incluyen un pH de 5,5 a 6,5 usando *Moorella thermoacetica* para la producción de ácido acético, un pH de 4,5 a 6,5 usando *Clostridium acetobutylicum* para la producción de butanol, y un pH de 7 usando *Carboxydotherrmus hygrogeniformans* para la producción de hidrógeno. Los expertos en la técnica estarán al tanto de los medios adecuados para mantener el biorreactor al pH requerido. Sin embargo, a modo de ejemplo, se pueden usar bases acuosas tales como NaOH y ácidos acuosos tales como H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para elevar o reducir el pH del medio de fermentación y mantener el pH deseado.

Un beneficio adicional de la invención es que, debido a que no hay una depuración adicional, o solamente mínima, y/u otros procesos de tratamiento realizados a los gases residuales antes de su uso en una reacción de fermentación, los gases contendrán material adicional procedente del proceso industrial, material adicional que se puede usar, al menos en parte, como materia prima para la reacción de fermentación.

## Ejemplos

### Materiales y métodos

**Tabla 1: Composición de los medios**

Componente	Concentración final mM/l
KCl	25
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	2
NaCl	2
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	5
Solución de metales traza [Tabla 2]	20 ml
Solución de vitaminas [Tabla 3]	20 ml

**Tabla 2: Solución de metales traza**

Metal	Concentración solución madre mM/l
FeCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	20
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	0,4
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1,0
ZnCl <sub>2</sub>	1,0
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1,0
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,4
NiCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,4
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0,4
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,4

**Tabla 3: Solución de vitaminas**

Vitamina	Concentración solución madre mg/l (x 100)
Clorhidrato de tiamina (Vitamina B1)	50
Riboflavina (Vitamina B2)	50
Ácido nicotínico (Niacina o Vitamina B3)	50
Ácido pantoténico (Vitamina B5)	50
Clorhidrato de piridoxina (Vitamina B6)	10
Biotina (Vitamina B7)	20
Ácido fólico (Vitamina B9)	20
Ácido 4-aminobenzoico (PABA o Vitamina B10)	50
Cianocobalamina (Vitamina B12)	50
Ácido lipoico (Ácido tióctico)	50

5 **Bacterias:** La *Clostridium autoethanogenum* usada es la cepa depositada en el Centro alemán de recursos para material biológico (DSMZ) que tiene asignado el número de acceso DSMZ 19630.

10 **Fermentación:** Se prepararon los medios de acuerdo con la composición descrita en la Tablas 1-3 a un volumen de 1,5 l y se añadieron 1,5 ml de resazurina. La solución se calentó y se agitó mientras se purgaba con N<sub>2</sub>. Se inició un goteo de ANa<sub>2</sub>S a una velocidad de 0,1 ml/h y se ajustó la temperatura del biorreactor a 37 °C. El pH se ajustó a 5,0 con NH<sub>4</sub>OH y se añadió cromo para ajustar el ORP a -200 mV. A continuación se suministró al biorreactor RMG (43 % de CO, 20 % de CO<sub>2</sub>, 2,5 % de H<sub>2</sub> y 33 % de N<sub>2</sub>).

### 15 **Experimento 1: Efecto del bucle secundario sobre el caudal del líquido, la retención de gas y la conversión de CO**

El reactor comprendía un ascendente con un diámetro de 0,254 m y un descendente con un diámetro de 0,138 m. El reactor comprendía un bucle secundario de 0,043 m de diámetro que retiraba caldo desde la parte inferior del descendente y hacía circular el caldo usando una bomba mecánica hasta la parte superior del ascendente, en la que el caldo entraba en el espacio libre del reactor mediante un cabezal de ducha. La altura del reactor era de 6 m. El reactor se ensayó durante la fermentación continua de *Clostridium autoethanogenum*.

25 Durante el ensayo, el caudal de líquido en el descendente,  $Q_{L,0}$ , era de 30 m<sup>3</sup>/h y el caudal de líquido en el bucle secundario,  $Q_{L,2}$ , era de 5,5 m<sup>3</sup>/h. Aproximadamente el día 20,02, el bucle secundario se desconectó y se observó una reducción inmediata de la retención de gas de un 11 % a un 5 %, tal como se muestra en la Figura 4. Se incrementó la velocidad de la bomba del bucle de un 30 % a un 50 % durante este periodo aunque se puede observar que esto no mejoró significativamente la retención de gas, debido a los dos efectos contrapuestos de la velocidad de la bomba del bucle sobre la retención del ascendente. El día 20,8, el bucle secundario se reactivó y la retención del ascendente mejoró inmediatamente, incluso a una menor velocidad de la bomba del bucle.

30 El efecto del bucle secundario sobre la conversión del CO durante el mismo periodo de ensayo se muestra en la Figura 5. Se observó una bajada inmediata de la conversión del CO después de desactivar el bucle secundario, debido a una reducción de la retención de gas en el ascendente y, por tanto, una reducción del área de transferencia de masa. Esta situación mejoró ligeramente al aumentar continuamente la bomba del bucle lo que elevó la retención del descendente. Este planteamiento, sin embargo, era mucho menos eficaz que la reactivación del bucle secundario el día 20,8.

35 Se investigó también el efecto del bucle secundario sobre la retención del ascendente a diferentes caudales de

entrada del gas en un reactor más pequeño, con un ascendente que tenía un diámetro de 7,62 cm (3 in) y una altura de 1,1 m. El separador de este reactor pequeño tenía un diámetro de 15,24 cm (6 in) y una altura eficaz de 270 mm. El diámetro del descendente era de 3,81 cm (1,5 in) y el diámetro del bucle secundario era de 1,27 cm (0,5 in). Los resultados de la Figura 6 muestran que, con el bucle secundario, la retención del ascendente aumentaba significativamente, especialmente a menores caudales superficiales de gas. Parece haber un límite superior de la retención del ascendente a aproximadamente un 15 %, que está relacionado con los cambios del régimen de flujo en tal reactor pequeño. No obstante, persisten los efectos de retención positivos del bucle secundario.

## Experimento 2: Efecto del bucle secundario sobre la retención de gas y la conversión de CO a una escala mayor

Se efectuaron experimentos hidrodinámicos similares que investigaban el efecto del bucle secundario en reactores más grandes con una altura de 10 m, que tenían un diámetro del ascendente de 1 m y un diámetro del descendente de 0,5 m. El diámetro del bucle secundario era de 5,08 cm (2 in). Tal como se muestra en las Figuras 7 y 8, los resultados eran similares. En la Figura 7 se puede observar que las retenciones del ascendente y del descendente aumentaban linealmente al aumentar la velocidad de la bomba del bucle, en los que la transferencia de masa debía mejorar consiguientemente. La Figura 8 muestra el efecto del bucle secundario sobre la conversión del CO a partir de otro ensayo en un reactor del mismo tamaño.

### General

Las realizaciones de la invención se describen a modo de ejemplo. Sin embargo, se debe entender que las etapas o fases particulares necesarias en una realización pueden no ser necesarias en otra. A la inversa, etapas o fases incluidas en la descripción de una realización particular se pueden usar opcionalmente de forma ventajosa en realizaciones en las que no se mencionan específicamente.

Aunque la invención se describe extensamente con referencia a cualquier tipo de corriente que se puede mover a través o alrededor del sistema o sistemas mediante cualquier medio de transferencia, en determinadas realizaciones las corrientes de sustrato y/o de salida son gaseosas. Los expertos en la técnica entenderán que se pueden acoplar fases particulares mediante medios de conducción adecuados o similares, que se pueden configurar para recibir o hacer pasar corrientes a través de un sistema. Se puede proporcionar una bomba o compresor para facilitar el suministro de las corrientes a fases particulares. Asimismo, se puede usar un compresor para aumentar la presión del gas suministrado a una o más fases, por ejemplo el biorreactor. Tal como se ha comentado anteriormente, la presión de los gases en el biorreactor puede influir en la eficacia de la reacción de fermentación efectuada en el mismo. Así pues, la presión se puede ajustar para mejorar la eficacia de la fermentación. Las presiones adecuadas para las reacciones comunes son conocidas en la técnica.

Además, los sistemas o procesos de la invención pueden incluir opcionalmente medios para regular y/o controlar otros parámetros a fin de mejorar la eficacia global del proceso. Se pueden incorporar uno o más procesadores al sistema a fin de regular y/o controlar parámetros particulares del proceso. Por ejemplo, realizaciones particulares pueden incluir medios de cálculo para monitorizar la composición de la corriente o corrientes de sustrato y/o de salida. Adicionalmente, realizaciones particulares pueden incluir un medio para controlar el suministro de la corriente o corrientes de sustrato a fases o elementos particulares dentro de un sistema particular si el medio de cálculo determina que la corriente tiene una composición adecuada para una fase particular. Por ejemplo, en casos en los que una corriente de sustrato gaseoso contiene bajos niveles de CO o altos niveles de O<sub>2</sub> que pueden ser perjudiciales para una reacción de fermentación, la corriente de sustrato se puede desviar del biorreactor. En realizaciones particulares de la invención, el sistema incluye medios para monitorizar y controlar el destino de una corriente de sustrato y/o el caudal, de modo que se puede suministrar tal corriente con una composición deseada o adecuada a una fase particular.

Asimismo, puede ser necesario calentar o enfriar componentes particulares del sistema o la corriente o corrientes de sustrato antes o durante una o más fases del proceso. En tales casos, se pueden usar medios de calentamiento o enfriamiento conocidos. Por ejemplo, se pueden emplear intercambiadores de calor para calentar o enfriar las corrientes de sustrato.

Igualmente, el sistema puede incluir una o más etapas de tratamiento previo o posterior para mejorar la operación o la eficacia de una fase particular. Por ejemplo, una etapa de tratamiento previo puede incluir medios para eliminar partículas de materia y/o hidrocarburos de cadena larga o alquitranes de una corriente de sustrato gaseoso. Otras operaciones previas o posteriores que se pueden realizar incluyen la separación del producto o productos deseados de fase particulares tales como, por ejemplo, la fase de producción del biorreactor (la eliminación del etanol mediante destilación, por ejemplo).

La invención se ha descrito en el presente documento con referencia a determinadas realizaciones preferentes, a fin de permitir al lector la práctica de la invención sin una experimentación excesiva. Los expertos en la técnica entenderán que la invención se puede llevar a la práctica con un gran número de variaciones y modificaciones diferentes a las descritas específicamente. Se ha de entender que la invención incluye todas esas variaciones y

modificaciones. Asimismo, se proporcionan títulos, encabezados o similares para ayudar al lector a la comprensión del presente documento, y no se debe interpretar que limitan el alcance de la presente invención.

5 Más en particular, tal como entenderá el experto en la técnica, implementaciones de las realizaciones de la invención pueden incluir uno o más elementos adicionales. Solamente aquellos elementos necesarios para comprender la invención en sus diversos aspectos se pueden haber mostrado en un ejemplo particular o en la descripción. Sin embargo, el alcance de la invención no se limita a las realizaciones descritas.

10 La referencia a cualquier técnica anterior en la presente memoria descriptiva no se considera, ni se debe considerar, un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que la técnica anterior forma parte del conocimiento común general en el campo de acción en ningún país.

15 A lo largo de esta memoria descriptiva y cualquier reivindicación que sigue, a menos que el contexto requiera otra cosa, los términos o expresiones "comprender", "que comprende" y similares, se han de interpretar en un sentido inclusivo en oposición a un sentido exclusivo, es decir, en el sentido de "que incluye, si bien no se limita a".

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema reactor para la fermentación de un sustrato gaseoso, comprendiendo el sistema:
  - 5 a. un vaso de fermentación que comprende una sección ascendente en la que se hacen fluir un caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia arriba y una sección descendente en la que se hacen fluir el caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia abajo, estando dichas secciones ascendente y descendente conectadas por secciones esencialmente horizontales y configuradas de modo que el caldo de fermentación líquido y el sustrato gaseoso se hacen circular, usando medios de bombeo,
    - 10 en un bucle principal desde un punto próximo a la parte inferior de la sección descendente a través del ascendente hasta un punto de entrada en la parte superior de la sección descendente;
    - b. un bucle secundario que comprende una salida situada en un punto próximo a la parte inferior de la sección ascendente, medios de conducción por tuberías para conectar la salida desde la parte inferior del ascendente a una entrada en la parte superior del ascendente y medios de bombeo situados entre el punto de salida y el punto
      - 15 de entrada de modo que el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso se hacen circular desde la parte inferior del descendente hasta la parte superior de la sección ascendente;
      - c. al menos una entrada de gas, configurada para dirigir el sustrato gaseoso a la sección ascendente; y
      - d. al menos una salida de gas, configurada para dejar salir el gas de la sección ascendente.
  - 20 2. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el medio de bombeo de (a) está situado en la sección horizontal que conecta la parte inferior de la sección descendente a la parte inferior de la sección ascendente y la salida de la salida del bucle secundario está situada aguas abajo del medio de bombeo.
  3. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente al menos una válvula de compuerta
    - 25 situada aguas abajo del medio de bombeo de (a), funcionando la válvula de compuerta en condiciones para regular la presión dentro del vaso de fermentación y para proporcionar un caudal del bucle secundario deseado.
    4. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente al menos una boquilla conectada a la entrada del bucle secundario en la parte superior de la sección ascendente.
    5. El sistema de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el bucle secundario comprende adicionalmente un bucle de reciclado de células que comprende un módulo de reciclado de células que comprende una bomba de reciclado de células, actuando la bomba de reciclado de células como medio de bombeo de (b).
  - 35 6. Un método de obtención de productos mediante fermentación de un sustrato gaseoso, comprendiendo el método:
    - a. proporcionar el sustrato gaseoso a un vaso de fermentación que contiene un caldo de fermentación que comprende un medio nutriente líquido y un cultivo de uno o más microorganismos, en el que el vaso de fermentación comprende un bucle principal y un bucle secundario, comprendiendo el bucle principal al menos (i)
      - 40 una sección ascendente en la que se hacen fluir el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia arriba y (ii) una sección descendente en la que se hacen fluir el caldo de fermentación y el sustrato gaseoso simultáneamente hacia abajo, y comprendiendo el bucle secundario un punto salida situado en una porción inferior de la sección descendente y un punto de entrada situado en un espacio libre de una parte superior de la sección ascendente;
      - 45 b. fermentar el sustrato gaseoso para obtener al menos un producto;
      - c. hacer circular el caldo de fermentación a través de la sección ascendente y la sección descendente del bucle principal; y
      - d. retirar al menos una porción del caldo de fermentación desde la parte inferior de la sección descendente y hacer circular el caldo de fermentación hasta un espacio libre de la parte superior de la sección ascendente
        - 50 mediante el bucle secundario.
    7. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el caldo de fermentación que entra en el espacio libre reduce la espuma presente dentro del vaso de fermentación.
    8. El método de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende adicionalmente pulverizar el caldo de fermentación en el espacio libre de la sección ascendente para arrastrar el sustrato gaseoso al caldo de fermentación contenido en el bucle principal.
    9. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el caldo de fermentación que entra en el espacio libre incrementa un coeficiente de transferencia de masa de la fermentación.
    10. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el caldo de fermentación se pulveriza en el espacio libre de la sección ascendente mediante al menos una boquilla.
    - 65 11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la al menos una boquilla es un cabezal de ducha.

12. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el microorganismo se selecciona entre el grupo que consiste en *Clostridium*, *Moorella*, *Oxobacter*, *Peptostreptococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium* y *Butyribacterium*.
- 5 13. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que al menos un producto se selecciona entre el grupo que consiste en etanol, ácido acético, 2,3-butanodiol, butanol, lactato, succinato, metil etil cetona, propanodiol, 2-propanol, isopropanol, acetoína, iso-butanol, citramalato, butadieno, ácido poliláctico, isobutileno, 3-hidroxiopropionato, acetona, ácidos grasos y mezclas de los mismos.
- 10 14. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el sustrato gaseoso se selecciona entre el grupo que consiste en CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> y mezclas de los mismos.
- 15 15. El método de acuerdo con la reivindicación 6, en el que el vaso de fermentación comprende al menos un medio de bombeo para hacer circular el caldo de fermentación a través de la sección ascendente y la sección descendente del vaso fermentación; y el bucle secundario comprende al menos uno de un medio de bombeo secundario; y una membrana de reciclado de células.

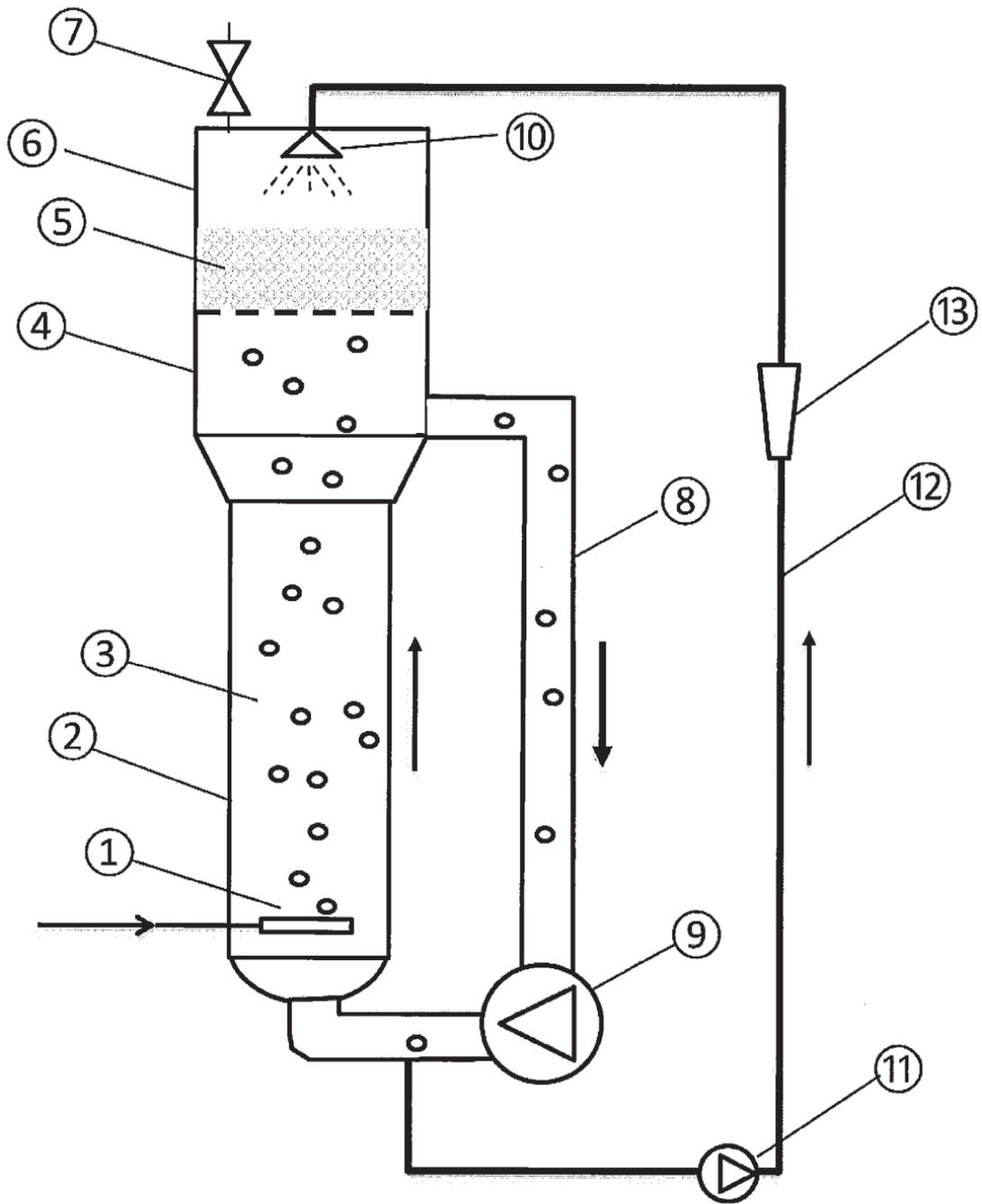
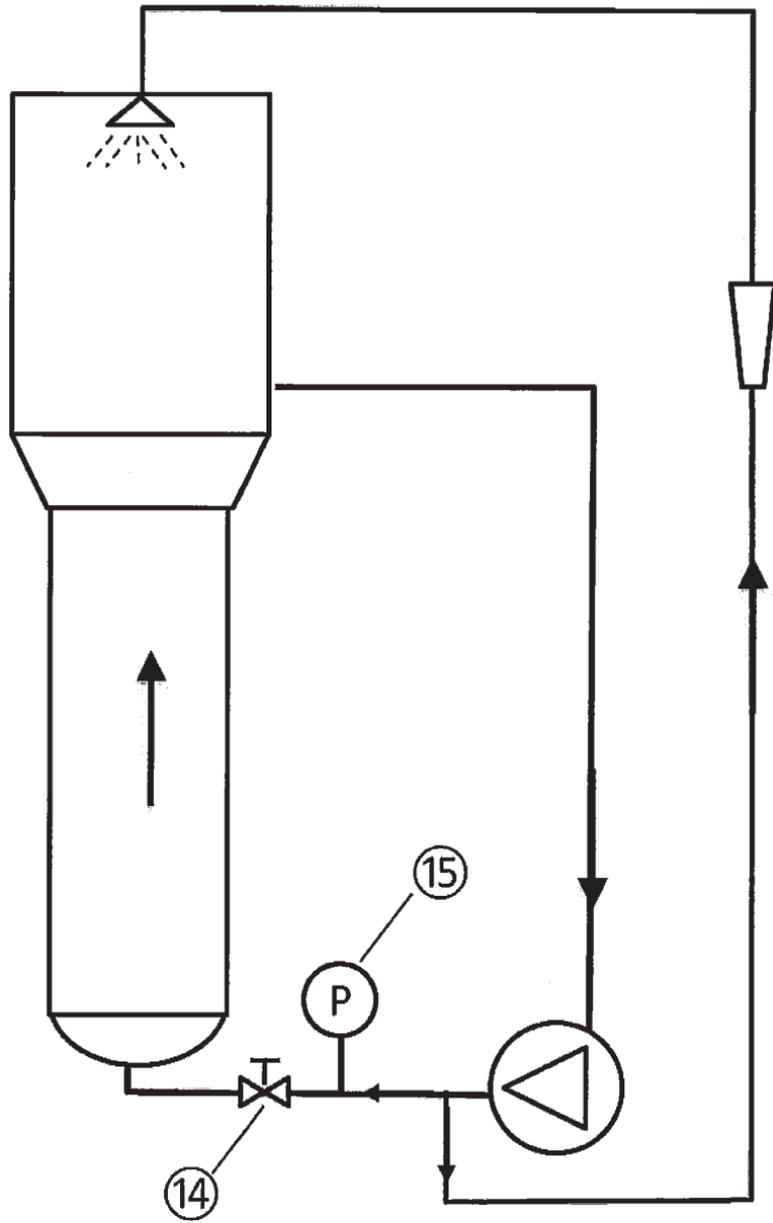


FIG. 1



**FIG. 2**

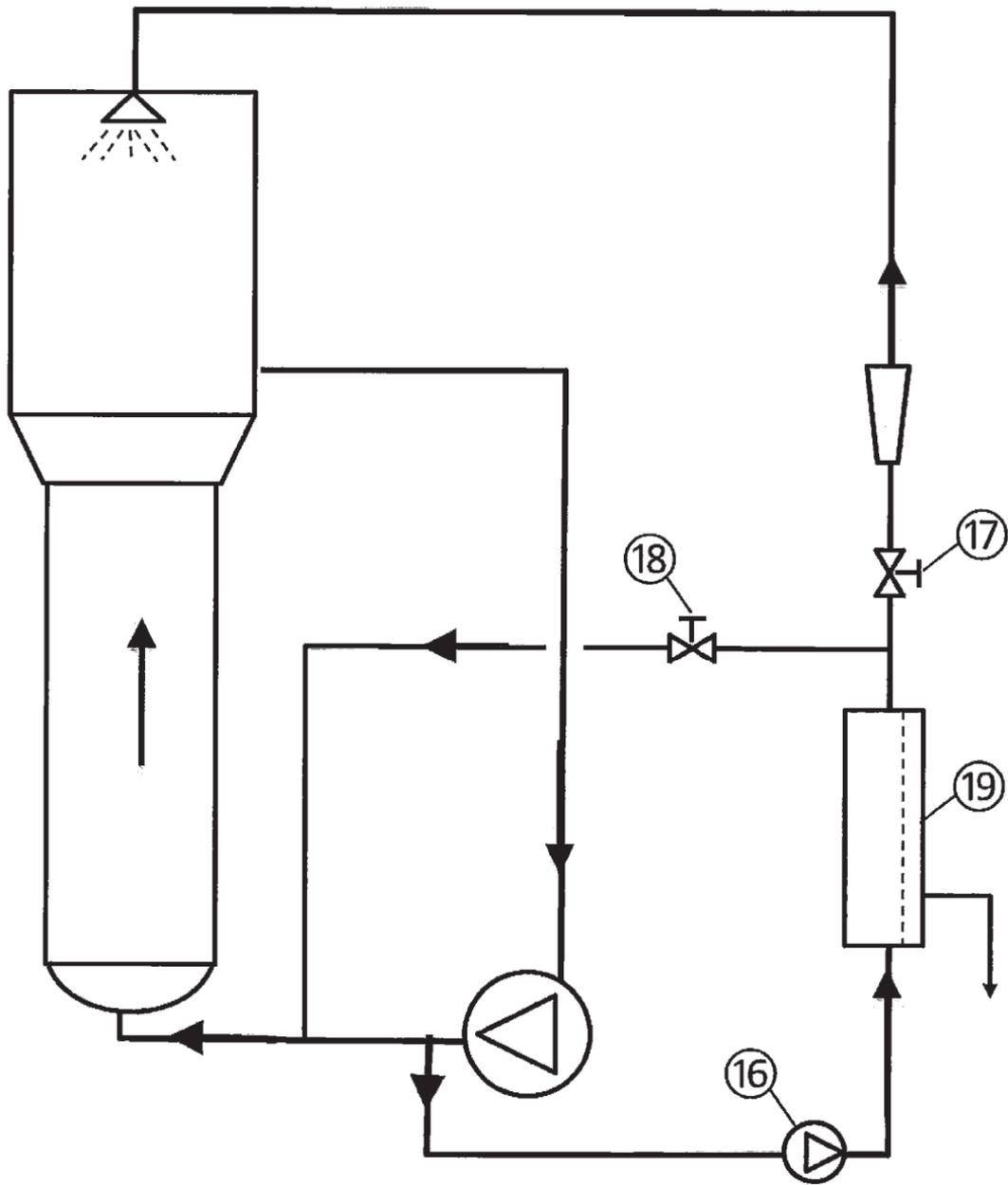


FIG. 3

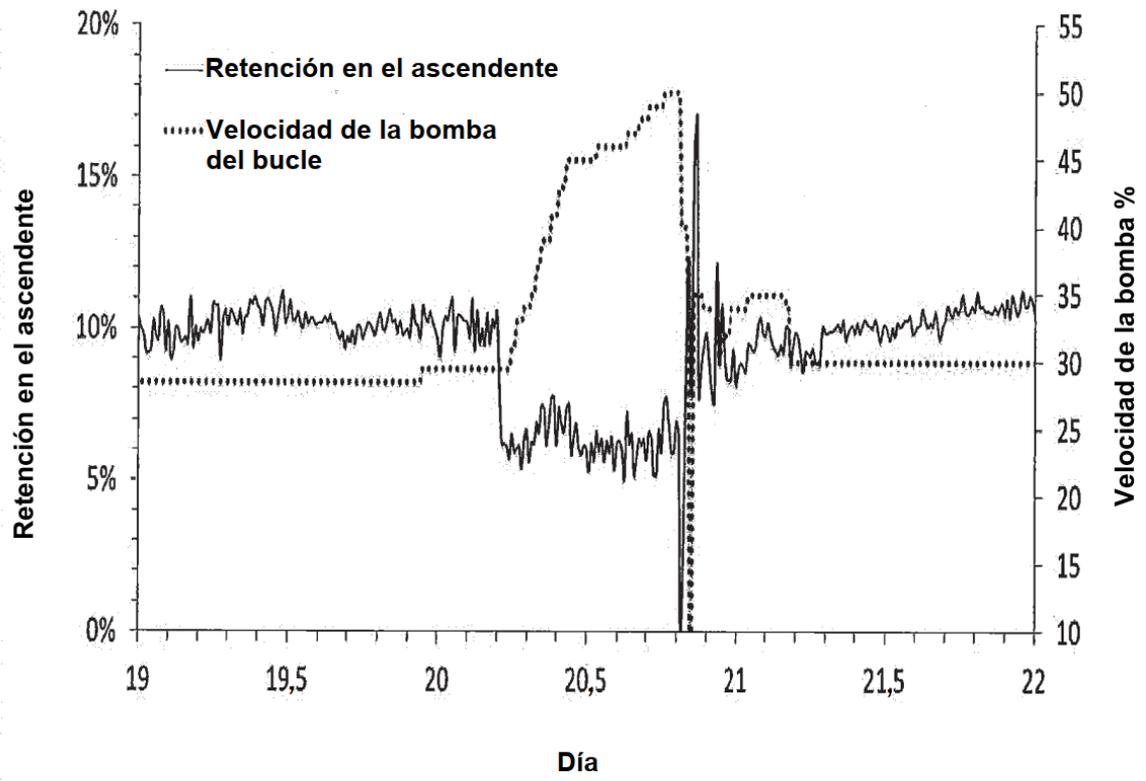


FIG. 4

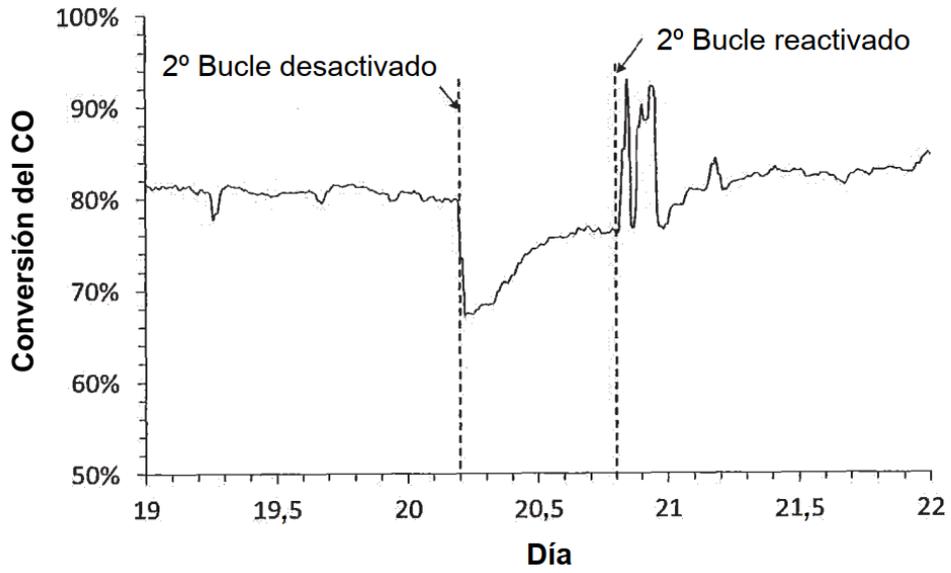


FIG. 5

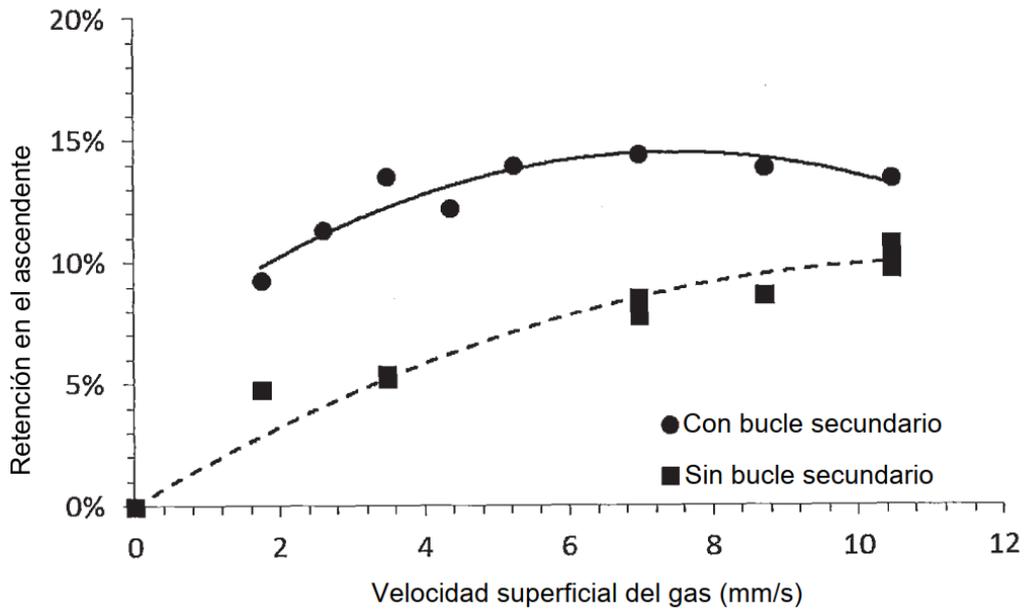


FIG. 6

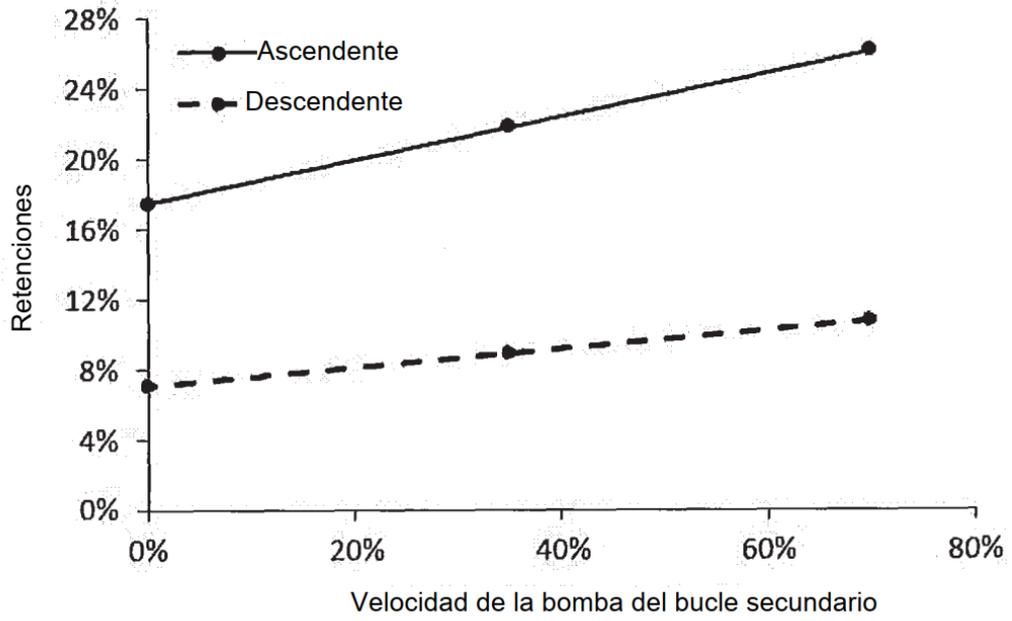


FIG. 7

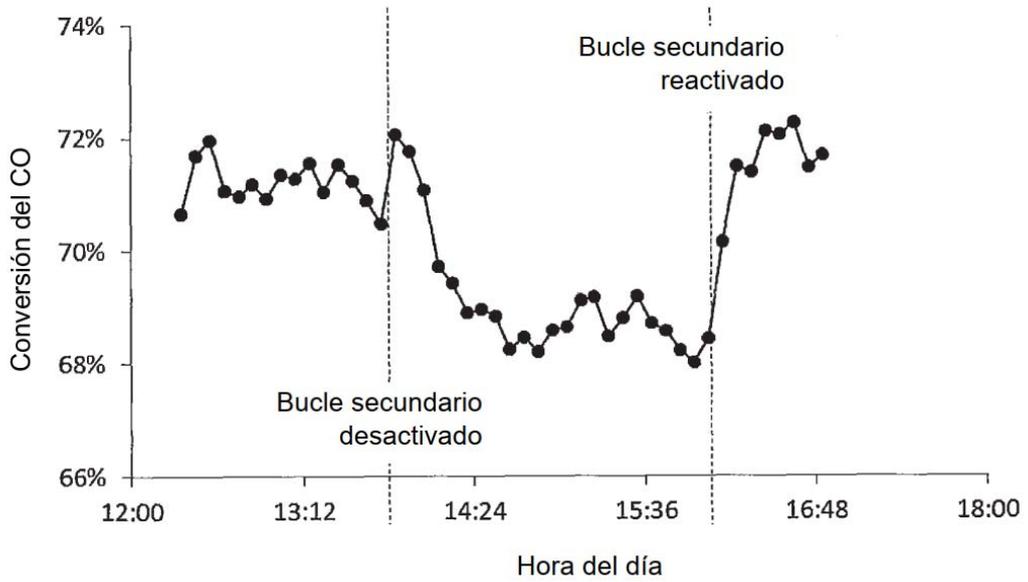


FIG. 8