



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(1) Número de publicación: 2 788 668

51 Int. Cl.:

C12P 7/62 (2006.01) C12M 1/00 (2006.01) C12M 1/34 (2006.01) C12P 7/06 (2006.01) C12P 1/04 (2006.01) C12P 7/08 (2006.01) C12P 7/54 (2006.01) C01B 3/38 (2006.01)

12 TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

**T3** 

- (96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 23.10.2008 E 15180627 (0)
   (97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 01.04.2020 EP 2957639
  - (54) Título: Captura de carbono mejorada en fermentación
  - (30) Prioridad:

28.10.2007 NZ 56075707 28.10.2007 US 983199 P 28.10.2007 US 983203 P 13.11.2007 US 987581 P

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: **22.10.2020** 

73) Titular/es:

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

(72) Inventor/es:

SIMPSON, SEAN; COLLET, CHRISTOPHE; FORSTER, RICHARD; COCKREM, MICHAEL y OAKLEY, SIMON

(74) Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

## **DESCRIPCIÓN**

Captura de carbono mejorada en fermentación

#### 5 Campo de la invención

10

30

40

55

60

Esta invención se refiere a sistemas y métodos para mejorar la captura general de carbono y/o mejorar la eficiencia general en procesos que incluyen la fermentación microbiana. En particular, la invención se refiere a mejorar la captura de carbono y/o mejorar la eficiencia en procesos que incluyen la fermentación microbiana de un sustrato que comprende CO derivado de una fuente industrial.

#### Antecedentes de la invención

El etanol se está convirtiendo rápidamente en un importante combustible líquido, rico en hidrógeno, para el transporte en todo el mundo. El consumo mundial de etanol en 2005 fue de aproximadamente 12 200 millones de galones. También se pronostica que el mercado global para la industria del etanol como combustible crecerá tremendamente en el futuro, debido a un mayor interés en el etanol en Europa, Japón, Estados Unidos y varias naciones en desarrollo.

Por ejemplo, en los Estados Unidos, el etanol se usa para producir E10, una mezcla de etanol al 10 % en gasolina. En las mezclas E10, el componente de etanol actúa como un agente oxigenante, que mejora la eficiencia de la combustión y reduce la producción de contaminantes del aire. En Brasil, el etanol satisface aproximadamente el 30 % de la demanda de combustible para el transporte, como agente oxigenante mezclado en gasolina y como combustible puro por derecho propio. Además, en Europa, las preocupaciones ambientales en torno a las consecuencias de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) han sido el estímulo para que la Unión Europea (UE) establezca, para los países miembros, un objetivo obligatorio para el consumo de combustibles sostenibles para el transporte como el etanol derivado de biomasa.

La gran mayoría del etanol combustible se produce a través de procesos tradicionales de fermentación a base de levadura que utilizan carbohidratos derivados de cultivos, como sacarosa extraída de la caña de azúcar o almidón extraído de cultivos de granos, como la principal fuente de carbono. Sin embargo, el coste de estas reservas de carbohidratos depende de su valor como alimento humano o animal, mientras que el cultivo de almidón o cultivos productores de sacarosa para la producción de etanol no es económicamente sostenible en todas las geografías. Por lo tanto, es interesante desarrollar tecnologías para convertir recursos de carbono de menor coste y/o más abundantes en etanol combustible.

El CO es un subproducto importante, libre y rico en energía, de la combustión incompleta de materiales orgánicos como el carbón o el petróleo y productos derivados del petróleo. Por ejemplo, se informa que la industria del acero en Australia produce y libera a la atmósfera más de 500 000 toneladas de CO anualmente.

Los procesos catalíticos pueden usarse para convertir gases que consisten principalmente en CO y/o CO e hidrógeno (H2) en una variedad de combustibles y productos químicos. Los microorganismos también pueden usarse para convertir estos gases en combustibles y productos químicos. Estos procesos biológicos, aunque generalmente son más lentos que las reacciones químicas, tienen varias ventajas sobre los procesos catalíticos, incluida una mayor especificidad, mayores rendimientos, menores costes de energía y una mayor resistencia al envenenamiento.

La capacidad de los microorganismos para crecer en CO como única fuente de carbono se descubrió por primera vez en 1903. Posteriormente se determinó que era una propiedad de los organismos que utilizan la ruta bioquímica de acetil coenzima A (acetil CoA) del crecimiento autotrófico (también conocida como la ruta de Woods-Ljungdahl y la ruta de la deshidrogenasa de monóxido de carbono/acetil CoA sintasa (CODH/ACS)). Se ha demostrado que una gran cantidad de organismos anaerobios, incluidos los organismos carboxidotróficos, fotosintéticos, metanogénicos y acetogénicos, metabolizan el CO a varios productos finales, a saber, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, metano, n-butanol, acetato y etanol. Mientras usan CO como la única fuente de carbono, todos estos organismos producen al menos dos de estos productos finales.

Se ha demostrado que las bacterias anaerobias, como las del género *Clostridium*, producen etanol a partir de CO, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> a través de la vía bioquímica de acetil CoA. Por ejemplo, varias cepas de *Clostridium ljungdahlii* que producen etanol a partir de gases se describen en los documentos WO 00/68407, EP 117309, patentes de Estados Unidos núms. 5,173,429, 5,593,886 y 6,368,819, WO 98/00558 y WO 02/08438. También se sabe que la bacteria *Clostridium autoethanogenum sp* produce etanol a partir de gases (Abrini y otros, Archives of Microbiology 161, pp 345-351 (1994)).

Sin embargo, la producción de etanol por microorganismos por fermentación de gases siempre se asocia con la coproducción de acetato y/o ácido acético. Dado que parte del carbono disponible se convierte en acetato/ácido acético en lugar de etanol, la eficiencia de la producción de etanol mediante el uso de estos procesos de fermentación puede ser inferior a la deseable. Además, a menos que el subproducto acetato/ácido acético pueda usarse para algún otro propósito, puede plantear un problema de eliminación de desechos. Los microorganismos convierten el acetato/ácido acético en metano y, por lo tanto, tienen el potencial de contribuir a las emisiones de GEI.

La fermentación microbiana de CO en presencia de H<sub>2</sub> puede conducir a una transferencia de carbono sustancialmente completa a un alcohol. Sin embargo, en ausencia de suficiente H<sub>2</sub>, parte del CO se convierte en alcohol, mientras que una

porción significativa se convierte en CO2 como se muestra en las siguientes ecuaciones:

 $6CO + 3H_2O \rightarrow C_2H_5OH + 4CO_2$  $12H_2 + 4CO_2 \rightarrow 2C_2H_5OH + 6H_2O$ 

5

La producción de CO<sub>2</sub> representa una ineficiencia en la captura general de carbono y, si se libera, también tiene el potencial de contribuir a las emisiones de gases de efecto invernadero.

El documento WO2007/117157 describe un proceso que produce alcoholes, particularmente etanol, por fermentación

10

anaerobia de gases que contienen monóxido de carbono. El acetato producido como un subproducto del proceso de fermentación se convierte en gas hidrógeno y gas dióxido de carbono, cualquiera de los cuales puede usarse en el proceso de fermentación anaeróbica. El documento WO2008/115080 describe un proceso para la producción de alcohol(es) en múltiples etapas de fermentación. Los subproductos producidos como resultado de la fermentación anaeróbica de gas(es) en un primer biorreactor se pueden usar para producir productos en un segundo biorreactor. Además, los subproductos de la segunda etapa de fermentación pueden reciclarse al primer biorreactor para producir productos.

15

Los documentos US 7,078,201 y WO 02/08438 también describen mejoras de los procesos de fermentación para producir etanol mediante condiciones variables (por ejemplo, pH y potencial redox) del medio nutriente líquido en el que se realiza la fermentación. Como se describe en esas publicaciones, pueden usarse procesos similares para producir otros alcoholes, tales como butanol.

20

El documento US 2003/211585 se refiere a un método para producir etanol a partir de fermentación bacteriana anaeróbica de un sustrato gaseoso.

25

Incluso mejoras menores en un proceso de fermentación para producir uno o más ácidos y/o uno o más alcoholes pueden tener un impacto importante en la eficiencia, y más particularmente, en la viabilidad comercial de dicho proceso.

30

Por ejemplo, independientemente de la fuente utilizada para alimentar la reacción de fermentación, pueden ocurrir problemas cuando hay interrupciones en el suministro de alimento. Más particularmente, estas interrupciones pueden ser perjudiciales para la eficiencia de la producción por parte de los microorganismos utilizados en la reacción y, en algunos casos, pueden ser perjudiciales para ellos. Por ejemplo, cuando el gas CO en una corriente de gas residual industrial puede usarse en reacciones de fermentación para producir ácidos/alcoholes, puede haber momentos en que la corriente no se produce. Durante esos momentos, los microorganismos utilizados en la reacción pueden pasar a un estado inactivo, no productivo o hibernación. Cuando la corriente vuelve a estar disponible, puede haber un retraso antes de que los microorganismos sean completamente productivos para realizar la reacción deseada. En consecuencia, habría un beneficio importante si hubiera un medio para reducir o eliminar este tiempo de retraso.

35

40

45

Como otro ejemplo, en muchos procesos industriales, se utilizan sistemas o aparatos de depuración para reducir la concentración de partículas (como el polvo) y otros componentes que contaminan los gases de escape. Se conocen sistemas de depuración en seco o húmedo. En un sistema de depuración en húmedo, se usa agua u otros líquidos para "depurar" los contaminantes de la corriente de gas. Un sistema típico de depuración en húmedo se encuentra en las fábricas de acero, donde el agua se usa para limpiar los gases de combustión generados en varias etapas de la fabricación del acero: por ejemplo, gases generados por los hornos de coquización, el alto horno, el horno de oxígeno básico o el horno de arco eléctrico. Si bien la depuración tiene el beneficio de reducir el nivel de contaminantes dentro de los gases de escape, de ninguna manera elimina los contaminantes por completo. Las sustancias no deseadas simplemente se eliminan del gas en forma sólida o en polvo o en el agua o líquido del purificador. El agua o el líquido utilizado en el sistema de depuración se convierte así en una corriente residual generada por esta industria. La eliminación de tales residuos representa un peligro ambiental. La necesidad de limpiar y eliminar estos materiales de desecho también representa un

50

55

Si bien los depuradores industriales convencionales (como en las fábricas de acero) eliminan una parte de los contaminantes de las corrientes de gases residuales industriales, se ha aceptado en la técnica que se requieren etapas adicionales de depuración y/o tratamiento en los gases antes de que puedan ser utilizados para alimentar una reacción de fermentación debido a los efectos nocivos percibidos de dichos gases en los microorganismos que se utilizan en la reacción. Ver, por ejemplo, Datar y otros, Fermentation of biomass-generated producer gas to ethanol, 2004, Biotechnology and Bioengineering Vol. 86, pp587-594. El uso de etapas adicionales de depuración y/o tratamiento requiere espacio adicional en una planta industrial, lo que puede ser particularmente problemático cuando el uso de procesos de fermentación se agrega a una planta existente. En consecuencia, existe la necesidad de procesos mejorados en los que no se requiera dicha purificación adicional u otras etapas de tratamiento o al menos se mantengan al mínimo.

60

Un objeto de la presente invención es proporcionar sistema(s) y/o método(s) que superen o mejoren al menos una desventaja conocida en la técnica y proporcionen al público nuevos métodos para la producción mejorada y/o incrementada de una variedad de productos útiles.

65

Resumen de la invención

coste importante para la industria.

La invención proporciona un proceso para producir al menos un producto, el proceso comprende:

- a) mezclar una corriente de gas intermitente que comprende CO con una corriente de gas continua que comprende CO para proporcionar una corriente de gas mezclada;
- b) pasar la corriente de gas mezclada a un biorreactor que comprende un cultivo de uno o más microorganismos, y fermentar la corriente mezclada para producir al menos un producto seleccionado del grupo que consiste en alcoholes y/o ácidos.

Se describe además un método para capturar carbono mediante fermentación microbiana, el método comprende:

- 10 i. recibir corriente(s) de gas residual o de escape que comprende(n) CO de un proceso industrial;
  - ii. hacer pasar la(s) corriente(s) de gas a un biorreactor que contiene un cultivo de uno o más microorganismos; y
  - iii. fermentar el cultivo en el biorreactor para producir uno o más productos.

Se describe que el método comprende capturar al menos una parte del contenido de CO<sub>2</sub>, mediante el uso de un eliminador de CO<sub>2</sub>, de uno o ambos de:

- i. una corriente antes de que la corriente entre en el biorreactor; y
- ii. una corriente después de que la corriente haya salido del biorreactor.
- Se describe que el método comprende una primera etapa de separación de gases, la primera etapa de separación de gases comprende (i) recibir una corriente de gas; (ii) separar sustancialmente al menos una porción de la corriente de gas, en donde la porción comprende uno o más componentes de la corriente de gas; y (iii) hacer pasar al menos parte de la(s) porción(es) separada(s) al biorreactor. En una realización, la al menos parte de la(s) porción(es) separada(s) que pasa al biorreactor comprende CO.

Se describe que el método comprende una segunda etapa de separación de gases, la segunda etapa de separación de gases comprende (i) recibir una corriente de gas; (ii) separar sustancialmente al menos una porción de la corriente de gas, en donde la porción comprende uno o más componentes de la corriente de gas; y (iii) hacer pasar al menos parte de la(s) porción(es) separada(s) al eliminador de CO<sub>2</sub>. En una realización, la etapa de separación de gases separa sustancialmente el CO<sub>2</sub> de la corriente de gas y hace pasar el CO<sub>2</sub> separado al eliminador de CO<sub>2</sub>.

En realizaciones particulares, el método comprende amortiguar una corriente de gas y hacer pasar al menos una porción de esta al biorreactor de manera continua. En una realización, la etapa de amortiguación comprende (i) recibir una corriente de gas intermitente o no continua en los medios de almacenamiento; y (ii) hacer pasar una corriente continua al biorreactor desde los medios de almacenamiento.

Se describe que el método comprende mezclar una o más corrientes de gases con al menos otra corriente.

Se describe que el método comprende agregar aqua de depuración de un proceso industrial al biorreactor.

Se describe además un sistema para capturar carbono mediante fermentación microbiana, el sistema comprende una entrada para recibir gas residual o de escape de un proceso industrial, en donde, durante el uso, el sistema se configura para hacer pasar al menos una porción del gas a un biorreactor para generar productos mediante fermentación microbiana.

Se describe que el sistema comprende un eliminador de CO<sub>2</sub> configurado para, durante el uso, capturar al menos una parte del contenido de CO<sub>2</sub> de uno o ambos de:

- i. una corriente antes de que la corriente entre en el biorreactor; y
- ii. una corriente después de que la corriente haya salido del biorreactor.

Se describe que el sistema comprende un primer separador de gases configurado para, durante su uso: (i) recibir una corriente de gas; (ii) separar sustancialmente al menos una porción de la corriente de gas, en donde la porción comprende uno o más componentes de la corriente de gas; (iii) hacer pasar al menos parte de la porción separada al biorreactor. En una realización, el primer separador de gases está adaptado para, durante el uso, separar sustancialmente el CO de la corriente de gas y hacer pasar el CO separado al biorreactor.

Se describe que el sistema comprende un segundo separador de gases configurado para, durante su uso: (i) recibir una corriente de gas; (ii) separar sustancialmente al menos una porción de la corriente de gas, en donde la porción comprende uno o más componentes de la corriente de gas; y (iii) hacer pasar al menos parte de la porción separada al eliminador de CO<sub>2</sub>. En una realización, el segundo separador de gases está adaptado para separar CO<sub>2</sub> de la corriente de gas y hacer pasar el CO<sub>2</sub> separado al eliminador de CO<sub>2</sub>.

En algunas realizaciones, el sistema comprende medios de amortiguación adaptados para, durante el uso, proporcionar una corriente de sustrato al biorreactor en una corriente continua. En realizaciones particulares, los medios de

4

45

50

55

60

65

30

35

40

amortiguación comprenden un tanque de almacenamiento amortiguador adaptado para usar para:

- i. recibir una corriente de gas/sustrato intermitente o no continua; y
- ii. hacer pasar una corriente continua de gas/sustrato al biorreactor.

5

En ciertas realizaciones, el sistema comprende medios de mezcla adaptados para, durante el uso, combinar una corriente de gas con al menos otra corriente antes de hacer pasar la corriente combinada al biorreactor.

Se describe que el sistema comprende al menos un medio determinante para controlar la composición de al menos una corriente de gas alimentada y/o expulsada del biorreactor. En ciertas realizaciones, el sistema comprende medios de control para dirigir al menos una porción de una o más corrientes de gases/escape a uno o más de:

- i. el biorreactor;
- ii. el eliminador de CO<sub>2</sub>:
- iii. el primer separador de gases;
- iv. el segundo separador de gases;
- v. los medios de amortiguación;
- vi. los medios de mezcla; y
- vii. un medio de escape,

20

15

el (los) destino(s) particular(es) i a vii se seleccionan al menos en parte en función de la determinación realizada por los medios determinantes.

Se describe además un sistema para aumentar la captura general de carbono en un proceso de producción de productos en un biorreactor mediante fermentación microbiana de un sustrato, el sistema incluye un eliminador de CO<sub>2</sub> configurado para capturar al menos una parte de un contenido de CO<sub>2</sub> de uno o ambos de:

- una corriente antes de que la corriente entre en el biorreactor; y
- ii. una corriente después de que la corriente haya salido del biorreactor.

30

Se describe además un sistema para aumentar la eficiencia de los procesos para producir productos mediante fermentación microbiana de gas(es) en donde el suministro de dicho(s) gas(es) es intermitente, el sistema comprende medios de amortiguación adaptados para recibir y almacenar al menos una porción del gas, y un biorreactor adaptado para recibir al menos una porción del gas de los medios de amortiguación.

35

45

Se describe además un sistema para aumentar la eficiencia de los procesos para producir productos mediante fermentación microbiana de gas(es), el sistema comprende un separador de gases configurado para recibir una corriente de gas y para hacer pasar al menos una porción de dicha corriente a un biorreactor.

40 Se describe además una fábrica de acero adaptada para producir alcoholes mediante fermentación microbiana de gas(es) residual(es).

De acuerdo con aspectos particulares, los sistemas y métodos descritos en este documento y el proceso de la invención se adaptan para su uso en un proceso de producción de alcoholes, más particularmente etanol y/o butanol, mediante fermentación anaerobia de gases que contienen monóxido de carbono. Adicional o alternativamente, se pueden producir ácidos, tales como ácido acético o acetato. Sin embargo, la invención no está limitada a estos y está destinada a cubrir otras reacciones de fermentación, incluidas las fermentaciones aeróbicas, aquellas que generan diferentes productos, como el isopropanol.

Las realizaciones de la invención encuentran aplicación particular en la fermentación de un sustrato gaseoso que comprende CO para producir ácidos y/o alcoholes. El sustrato gaseoso puede comprender un gas obtenido como subproducto de un proceso industrial. En ciertas realizaciones, el proceso industrial se selecciona del grupo que consiste en la fabricación de productos de metales ferrosos, fabricación de productos no ferrosos, procesos de refinación de petróleo, gasificación de biomasa, gasificación de carbón, producción de energía eléctrica, producción de negro de carbón, producción de amoníaco, producción de metanol y producción de coque. Con la máxima preferencia, el sustrato gaseoso comprende un gas obtenido de una acería.

En ciertas realizaciones preferidas, el sustrato gaseoso comprende de 20 % de CO a 100 % de CO en volumen, tal como de 50 % de CO a 95 % de CO en volumen, tal como de 50 % a 70 % de CO en volumen. Los sustratos gaseosos que tienen concentraciones más bajas de CO, como 6 %, también pueden ser apropiados, particularmente cuando H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> también están presentes.

En realizaciones preferidas, la reacción de fermentación se lleva a cabo por una o más cepas de bacterias carboxidotróficas.

65

60

Preferentemente, la bacteria carboxidotrófica se selecciona de Clostridium, Moorella y Carboxydothermus. Con la máxima

preferencia, la bacteria carboxidotrófica es Clostridium autoethanogenum.

Breve descripción de las figuras

- 5 La invención se describirá ahora en detalle con referencia a las figuras adjuntas en las que:
  - Figura 1: es una representación esquemática de un sistema que incluye un eliminador de CO<sub>2</sub> aguas abajo de un biorreactor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 2: es una representación esquemática de un sistema que incluye un eliminador de CO<sub>2</sub> aguas arriba de un biorreactor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 3: es una representación esquemática de un sistema que incluye un eliminador de CO<sub>2</sub> aguas abajo de un biorreactor y medios para devolver una corriente de sustrato al biorreactor.
  - Figura 4: es una representación esquemática de un sistema que incluye un separador de gases aguas arriba de un biorreactor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 5: es una representación esquemática de un sistema que incluye un separador de gases aguas abajo de un biorreactor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 6: es una representación esquemática de un sistema que incluye dos separadores de gases: un separador de gases aguas arriba de un biorreactor y un separador de gases aguas abajo de un biorreactor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 7: es una representación esquemática de un sistema que incluye un tanque de almacenamiento amortiguador de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 8: es una representación esquemática de un sistema que incluye un tanque de almacenamiento amortiguador opcional de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 9: es una representación esquemática de un sistema que incluye un compresor de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 10a: es una representación esquemática de un sistema que incluye múltiples fuentes de corrientes de sustrato y un tanque de almacenamiento amortiquador de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 10b: es una representación esquemática de un sistema que incluye múltiples fuentes de corrientes de sustrato y un tanque de almacenamiento amortiguador de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 11: es una representación esquemática de un sistema que incluye un tanque de almacenamiento amortiguador, un separador de gases y un eliminador de CO<sub>2</sub> de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 12: es una representación esquemática de un sistema adaptado para capturar carbono de una corriente residual de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
- Figura 13: es una representación esquemática de un sistema que incluye un medio de mezcla, de acuerdo con ciertas realizaciones de la invención.
  - Figura 14: ilustra el crecimiento microbiano con el tiempo cuando se utilizan gases de acerías como recurso; y
  - Figura 15: ilustra la síntesis de productos, específicamente la producción de acetato, con el tiempo cuando se utilizan gases de acerías como recurso.
  - Figura 16: ilustra el crecimiento bacteriano y la síntesis de productos con el tiempo en medios de laboratorio; y,
- Figura 17: ilustra el crecimiento bacteriano y la síntesis de productos con el tiempo mediante el uso de medios de laboratorio mezclados con agua de depuración de acerías en una proporción de 1:1.

Descripción detallada de la invención

- De acuerdo con ciertos métodos descritos en este documento y el proceso de la invención, los gases residuales o de escape de un proceso industrial pueden usarse para complementar y/o apoyar las reacciones de fermentación con un mínimo de procesamiento adicional o etapas de tratamiento en los gases antes de pasarlos al biorreactor en el que se realiza el proceso de fermentación. Esto es particularmente sorprendente, porque comúnmente se cree que los gases residuales o de escape contienen contaminantes que serían perjudiciales para el crecimiento y/o la supervivencia de los microorganismos utilizados en la fermentación. La invención tiene una aplicabilidad particular en los gases residuales o de escape producidos durante los procesos de fabricación de acero que contienen CO, que se utilizan para producir alcoholes (por ejemplo, etanol, butanol, isopropanol) y/o ácidos (por ejemplo, ácido butírico, ácido acético y/o acetato) y opcionalmente hidrógeno. Si bien hay una variedad de diferentes microorganismos capaces de realizar tales procesos, la invención tiene una aplicabilidad particular a los procesos de fermentación que implican el uso de *Clostridium*
- invención tiene una aplicabilidad particular a los procesos de fermentación que implican el uso de *Clostridiun* 55 autoethanogenum.

Este aspecto de la invención tiene un valor importante porque reduce el número o elimina las etapas de preprocesamiento realizadas en los gases residuales antes de su uso en una reacción de fermentación. Por lo tanto, la invención proporciona una idoneidad y/o aplicabilidad más amplias de tales procesos de fermentación, particularmente en plantas industriales establecidas donde puede estar disponible una cantidad limitada y predeterminada de espacio para agregar equipos para realizar fermentaciones. Además, debido a que no se realizan procesos de depuración y/o pretratamiento en los gases residuales, o estos son limitados, las realizaciones de la invención también pueden mejorar o reducir los desechos de los procesos industriales debido a que no hay necesidad de procesar los desechos o contaminantes resultantes de la depuración y/o procesos de pretratamiento.

65

60

Los gases residuales de procesos industriales distintos de la fabricación de acero pueden usarse de manera similar en

los métodos descritos en el presente documento y el proceso de la invención. La invención puede aplicarse fácilmente a reacciones de fermentación que producen alcoholes distintos al etanol, y/o que utilizan microorganismos distintos al *Clostridium autoethanogenum.* 

- Los sustratos adecuados para su uso en procesos de fermentación a menudo también contienen CO<sub>2</sub>. Además, en muchas reacciones de fermentación, por ejemplo, cuando el CO se convierte en productos que incluyen ácidos y/o alcoholes, se pueden producir volúmenes significativos de CO<sub>2</sub>. La presente invención se refiere a métodos, sistemas y procesos para mejorar la captura general de carbono en tales reacciones de fermentación.
- De acuerdo con los métodos descritos en el presente documento y el proceso de la invención, la remoción de CO<sub>2</sub> (u otros gases) de una corriente de sustrato aumentará la concentración de CO (o presión parcial de CO en un sustrato gaseoso) y aumentará la eficiencia de las reacciones de fermentación donde El CO es un sustrato. El aumento de la presión parcial de CO en un sustrato gaseoso aumenta la transferencia de masa de CO a un medio de fermentación. Además, la composición de las corrientes de gases utilizadas para alimentar una reacción de fermentación puede tener un impacto importante en la eficiencia y/o los costes de esa reacción. Por ejemplo, el O<sub>2</sub> puede reducir la eficiencia de un proceso de fermentación anaerobia. Además, el procesamiento de gases no deseados o innecesarios en etapas de un proceso de fermentación antes o después de la fermentación puede aumentar la carga en tales etapas (por ejemplo, cuando la corriente de gas se comprime antes de ingresar a un biorreactor, se puede usar energía innecesaria para comprimir gases que no son necesarios en la fermentación). Además, o alternativamente, el componente de CO<sub>2</sub> de una corriente de sustrato particular puede ser de mayor valor si se usa en otra reacción, incluida otra reacción de fermentación.
  - Además, de acuerdo con los métodos descritos en este documento y el proceso de la invención, aumentar la concentración de CO<sub>2</sub> en una corriente, por ejemplo, aumentar la presión parcial de CO<sub>2</sub> en una corriente gaseosa, aumentará la eficiencia de los procesos que utilizan CO<sub>2</sub>, como la fermentación. Los ejemplos de procesos que utilizan CO<sub>2</sub>, como las fermentaciones, son bien conocidos en la técnica. Ejemplos de algunos de estos procesos se describen en detalle en el documento WO2006/108532.
- Ciertos aspectos de la invención generalmente se refieren a un proceso como se define en el presente documento para mejorar la captura general de carbono en procesos que incluyen la fermentación microbiana. En realizaciones particulares, la invención se refiere a la captura de CO<sub>2</sub> de las corrientes de sustrato proporcionadas a una reacción de fermentación. Alternativamente, o además, la invención se refiere a la captura de CO<sub>2</sub> de las corrientes de escape después de que la corriente haya salido del biorreactor. En el proceso de la invención, el sustrato proporcionado a la reacción de fermentación comprende CO.

25

60

- Además, puede ser conveniente eliminar y/o capturar componentes que contienen carbono, como CO<sub>2</sub> y/o CH<sub>4</sub>, para mejorar la captura general de carbono del proceso como se describió anteriormente. Además, o alternativamente, los componentes de un gas particular pueden ser de mayor valor si se usan en otro lugar que no sea en la reacción de fermentación (por ejemplo, el H<sub>2</sub> tiene un valor considerable para usarse como combustible).
- Ciertos aspectos de la invención generalmente se refieren a un proceso como se define en la presente descripción para mejorar la eficiencia de los procesos de producción de productos mediante fermentación microbiana de gases, particularmente mediante el uso de al menos un proceso de separación de gases de la corriente de gas utilizada para alimentar la fermentación y/o La corriente de gas producida como resultado de la fermentación. En una realización, un separador de gases está configurado para separar sustancialmente al menos una porción de la corriente de gas, en donde la porción comprende uno o más componentes. Por ejemplo, el separador de gases puede separar el CO<sub>2</sub> de una corriente de gas que comprende los siguientes componentes: CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, en donde el CO<sub>2</sub> puede pasar a un eliminador de CO<sub>2</sub> y el resto de la corriente de gas (que comprende CO y H<sub>2</sub>) puede pasar a un biorreactor.
- Las corrientes de gases generadas durante los procesos industriales, como el procesamiento discontinuo de acero a partir de hierro en una acería, pueden ser de naturaleza intermitente, lo que puede no ser conveniente cuando dichos gases se utilizan para la bioconversión. Además, la naturaleza de las corrientes puede ser tal que la composición del gas varíe de forma cíclica durante varias fases de un proceso industrial particular. Por ejemplo, en el proceso de fabricación de acero, durante los períodos en que se generan gases esencialmente libres de oxígeno, las concentraciones de CO son más altas. Por el contrario, cuando los gases están en gran parte libres de CO, pueden estar presentes niveles significativos de O<sub>2</sub>. Muchas reacciones de fermentación requieren altas concentraciones de CO que están esencialmente libres de O<sub>2</sub>, como las que involucran bacterias anaerobias, particularmente bacterias carboxidotróficas.
  - Ciertos aspectos de la invención generalmente se relacionan con un proceso como se define en la presente descripción para mejorar la eficiencia de los procesos para producir productos mediante fermentación microbiana de gases donde las corrientes de gases (u otras fuentes tales como gases disueltos y/o carbohidratos) que se utilizan para alimentar la reacción de fermentación tienen una naturaleza intermitente. Se describen realizaciones particulares de la invención en el contexto de la industria de fabricación de acero, con bacterias carboxidotróficas que se usan para producir ácidos y/o alcoholes, particularmente etanol o butanol. Ciertos aspectos de la invención generalmente se refieren a un proceso como se define en la presente descripción para mejorar la eficiencia de los procesos para producir productos y/o capturar carbono mediante fermentación microbiana de corrientes de sustrato en donde las corrientes de sustrato se mezclan con corrientes adicionales para optimizar la composición para la fermentación microbiana.

Sorprendentemente, cuando el agua del purificador del proceso de fabricación de acero de oxígeno básico o la corriente de gas de escape del horno de oxígeno básico de una acería se mezcla con un medio de cultivo microbiano estándar en una reacción de fermentación que utiliza gas que contiene monóxido de carbono para producir etanol de acuerdo con los métodos de la invención, se mejora el crecimiento de *Clostridium autoethanogenum*, así como su capacidad para producir etanol. Esto es particularmente sorprendente, ya que se esperaba que el agua contuviera contaminantes que serían perjudiciales para el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos.

Este hallazgo tiene un valor importante para mejorar o reducir los desechos de los procesos industriales, aumentar la eficiencia de las reacciones de fermentación, reducir el nivel de medios necesarios para soportar las reacciones de fermentación y, en consecuencia, reducir los costes operativos. La invención puede así servir para disminuir el nivel de subproducto de acetato formado durante tales reacciones de fermentación. Esto puede ser beneficioso en situaciones en las que el acetato no se usa y de lo contrario se desecharía, lo que aumenta los costes para la industria y plantea un problema ambiental.

Los resultados obtenidos permiten el uso de agua del purificador como materia prima principal para las reacciones de fermentación. El agua del purificador de procesos industriales distintos de la fabricación de acero se puede utilizar de manera similar. Además, la invención puede aplicarse fácilmente a reacciones de fermentación que producen alcoholes distintos al etanol, y/o que utilizan microorganismos distintos al *Clostridium autoethanogenum*.

Una o más características de cada uno de dos o más de los aspectos antes mencionados pueden combinarse y usarse dentro del mismo sistema con las ventajas correspondientes de estos.

#### 25 Definiciones

A menos que se defina de cualquier otra manera, los siguientes términos, como se utilizan en esta memoria descriptiva, se definen de la siguiente manera: El término "captura de carbono", como se usa en el presente documento, se refiere al secuestro de compuestos de carbono que incluyen CO<sub>2</sub> y/o CO de una corriente que comprende CO<sub>2</sub> y/o CO y:

30

20

- convertir el CO<sub>2</sub> y/o CO en productos; o
- convertir el CO<sub>2</sub> y/o CO en sustancias adecuadas para su almacenamiento a largo plazo; o
- atrapar el CO<sub>2</sub> y/o CO en sustancias adecuadas para su almacenamiento a largo plazo; o una combinación de estos procesos.

35

Debe entenderse que el término "sustrato que comprende monóxido de carbono" y términos similares incluyen cualquier sustrato en el que el monóxido de carbono esté disponible para una o más cepas de bacterias para su crecimiento y/o fermentación, por ejemplo.

- Los "sustratos gaseosos que comprenden monóxido de carbono" incluyen cualquier gas que contenga monóxido de carbono. El sustrato gaseoso típicamente contendrá una proporción significativa de CO, preferentemente al menos aproximadamente 5 % a aproximadamente 100 % de CO en volumen.
- El término "biorreactor" incluye un dispositivo de fermentación que consiste en uno o más recipientes y/o torres o disposiciones de tuberías, que incluye el Reactor continuo de tanque agitado (CSTR), Reactor de células inmovilizadas (ICR), Reactor de lecho de goteo (TBR), Columna de burbujeo, Fermentador de tipo Gas Lift, Reactor de membrana como Biorreactor de membrana de fibra hueca (HFMBR), Mezclador estático u otro recipiente u otro dispositivo adecuado para el contacto gas-líquido.
- El término "co-sustrato" se refiere a una sustancia que, aunque no es necesariamente la fuente primaria de energía o de material para la síntesis de productos, puede utilizarse para la síntesis de productos cuando se agrega a otro sustrato, como el sustrato primario.
- El término "ácido" 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 como se describe en el presente documento. La relación de ácido molecular a carboxilato en el caldo de fermentación depende del pH del sistema. Además, el término "acetato" incluye tanto la sal de acetato sola como una mezcla de ácido acético molecular o libre y sal de acetato, tal como la mezcla de sal de acetato y ácido acético libre presente en un caldo de fermentación como se describe en la presente descripción.

60

- El término "concentración limitante" significa una concentración inicial de un componente dado en un medio de fermentación microbiana que es suficientemente baja para asegurar que se agote en alguna etapa de la fermentación.
- El término "corriente intermitente" se refiere no solo a corrientes que no están disponibles continuamente, sino también a corrientes que no tienen continuamente una composición deseada.

El término "agua del purificador" se refiere al agua u otros líquidos resultantes de la limpieza de las corrientes de gases generadas durante los procesos industriales, como la fabricación de productos de metales ferrosos, la fabricación de productos no ferrosos, los procesos de refinación de petróleo, la gasificación de carbón, la gasificación de biomasa, la producción de energía eléctrica, la producción de negro de carbón y fabricación de coque.

5

El término "directamente", como se usa en relación con el paso de gases industriales residuales o de escape a un biorreactor, se usa para significar que no se realizan etapas de tratamiento o procesamiento o que éstas son mínimas, tales como enfriamiento y eliminación de partículas en los gases antes de que entren al biorreactor (nota: puede ser necesario un paso de eliminación de oxígeno para la fermentación anaerobia).

10

El término "composición deseada" se usa para referirse al nivel deseado y los tipos de componentes en una sustancia, como, por ejemplo, una corriente de gas. Más particularmente, se considera que un gas tiene una "composición deseada" si contiene un componente particular (por ejemplo, CO y/o CO<sub>2</sub>) y/o contiene un componente particular a un nivel particular y/o no contiene un componente particular (por ejemplo, un contaminante dañino para los microorganismos) y/o no contiene un componente particular a un nivel particular. Se puede considerar más de un componente cuando se determina si una corriente de gas tiene una composición deseada.

15

20

El término "corriente" se usa para referirse a un flujo de material hacia, a través, y de salida de una o más etapas de un proceso, por ejemplo, el material que se introduce a un biorreactor y/o un eliminador de CO<sub>2</sub> opcional. La composición de la corriente puede variar a medida que pasa por etapas particulares. Por ejemplo, cuando una corriente pasa a través del biorreactor, el contenido de CO de la corriente puede disminuir, mientras que el contenido de CO<sub>2</sub> puede aumentar. Del mismo modo, a medida que la corriente pasa por la etapa de remoción de CO<sub>2</sub>, el contenido de CO<sub>2</sub> disminuirá.

25

A menos que el contexto requiera lo contrario, las frases "fermentar", "proceso de fermentación" o "reacción de fermentación" y similares, como se usan en el presente documento, pretenden abarcar tanto la fase de crecimiento como la fase de biosíntesis de producto del proceso.

30

Los términos "aumentar la eficiencia", "eficiencia aumentada" y similares, cuando se usan en relación con un proceso de fermentación, incluyen, pero no se limitan a, aumentar uno o más de: la tasa de crecimiento de microorganismos en la fermentación, el volumen o la masa del producto deseado (como los alcoholes) producidos por volumen o masa de sustrato (como el monóxido de carbono) consumido, la tasa de producción o el nivel de producción del producto deseado, y la proporción relativa del producto deseado producido en comparación con otros subproductos de la fermentación, y además puede reflejar el valor (que puede ser positivo o negativo) de cualquier subproducto generado durante el proceso.

35

En un aspecto, la invención se refiere a un proceso tal como se define en el presente documento para aumentar la captura general de carbono en procesos de producción de productos mediante fermentación microbiana de sustratos, dichos sistemas y métodos incluyen al menos un proceso de remoción de CO2 realizado en sustratos y/o corrientes antes (es decir, aguas arriba) o después (es decir, aguas abajo) de la reacción de fermentación. En ciertas realizaciones de la invención, el sustrato comprende CO. Típicamente, el sustrato será gaseoso; sin embargo, la invención no está limitada a ellos

40

En un aspecto, la invención se refiere a un proceso como se define en la presente descripción para aumentar la eficiencia de los procesos de producción de productos mediante fermentación microbiana de gases, dichos sistemas y métodos incluyen al menos un proceso de separación de gases que se lleva a cabo en los gases antes (es decir, aguas arriba) o después (es decir, aguas abajo) de la reacción de fermentación. Como se señaló anteriormente, el gas de sustrato utilizado en la fermentación microbiana comprende CO.

45

La invención se refiere a un proceso como se define en la presente descripción para aumentar la eficiencia de los procesos de producción de productos mediante fermentación microbiana de gases, particularmente donde el suministro de los gases es de naturaleza intermitente. El sustrato gaseoso utilizado en la fermentación microbiana comprende CO.

50

La invención proporciona además un proceso como se define en la presente descripción para la producción de alcohol mediante el uso de fermentación microbiana. Este proceso implica el uso de gases residuales de un proceso industrial, como la fabricación de acero, en la reacción de fermentación, en donde no se realizan etapas de procesamiento adicionales o solo se realizan etapas mínimas en los gases antes de dicho uso. En ciertas realizaciones, los gases residuales de uno o más procesos industriales y/o fuentes alternativas se combinan o mezclan para proporcionar una corriente con una composición conveniente u optimizada para la reacción de fermentación.

60

55

La invención proporciona, además, un proceso como se define en el presente documento para optimizar la composición de una corriente de sustrato que comprende CO derivado, al menos en parte, de un proceso industrial tal como la fabricación de acero.

65

La invención proporciona, además, un proceso como se define en la presente descripción para la producción de alcohol mediante el uso de fermentación microbiana y métodos para aumentar la eficiencia de la producción de alcohol mediante el uso de fermentación microbiana. En una realización, estos métodos implican utilizar agua del purificador de un proceso industrial en la reacción de fermentación.

Si bien ciertas realizaciones de la invención, a saber, aquellas que incluyen la producción de etanol mediante fermentación anaeróbica mediante el uso de CO como sustrato primario, se reconocen fácilmente como mejoras valiosas para la tecnología de gran interés hoy en día, debe apreciarse que la invención es aplicable a la producción de productos alternativos tales como otros alcoholes y el uso de sustratos alternativos, particularmente sustratos gaseosos, como conocerán los expertos en la técnica a la que se refiere la invención al considerar la presente descripción. Por ejemplo, se pueden usar sustratos gaseosos que contienen dióxido de carbono e hidrógeno en realizaciones particulares de la invención. Además, la invención puede ser aplicable a fermentaciones para producir acetato, butirato, propionato, caproato, etanol, propanol y butanol. A modo de ejemplo, estos productos pueden producirse por fermentación mediante el uso de microorganismos del género *Moorella, Clostridia, Ruminococcus, Acetobacterium, Eubacterium, Butyribacterium, Oxobacter, Methanosarcina, Methanosarcina y Desulfotomaculum.* 

Ciertas realizaciones de la invención están adaptadas para usar corrientes de gases producidas por uno o más procesos industriales. Tales procesos incluyen procesos de fabricación de acero, particularmente procesos que producen una corriente de gas que tiene un alto contenido de CO o un contenido de CO por encima de un nivel predeterminado (es decir, 5 %). De acuerdo con tales realizaciones, las bacterias carboxidotróficas se usan preferentemente para producir ácidos y/o alcoholes, particularmente etanol o butanol, dentro de uno o más biorreactores. Los expertos en la técnica sabrán, al considerar la presente descripción, que la invención puede aplicarse a diversas industrias o corrientes de gases residuales, incluidas las de vehículos con un motor de combustión interna. Además, los expertos en la técnica sabrán, al considerar la presente descripción, que la invención se puede aplicar a otras reacciones de fermentación, incluidas las que usan los mismos o diferentes microorganismos. La fuente de la corriente de gas no es limitante, aparte de que al menos un componente de esta se puede utilizar para alimentar una reacción de fermentación. La invención tiene aplicabilidad particular para mejorar la captura global de carbono y/o la producción de etanol y otros alcoholes a partir de sustratos gaseosos tales como gases de escape de automóviles y gases de combustión industriales que contienen CO en volumen alto.

#### Fermentación

5

10

15

20

25

50

55

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

Se sabe que varias bacterias anaerobias son capaces de llevar a cabo la fermentación de CO a alcoholes, incluidos nbutanol y etanol, y ácido acético, y son adecuadas para su uso en el proceso de la presente invención. Los ejemplos de
tales bacterias que son adecuadas para usar en la invención incluyen las del género *Clostridium*, tales como las cepas de *Clostridium ljungdahlii*, incluidas las descritas en los documentos WO 00/68407, EP 117309, Patentes de los Estados
Unidos núms. 5,173,429, 5,593,886 y 6,368,819, WO 98/00558 y WO 02/08438, *Clostridium carboxydivorans* (Liou y otros,
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 33: pp 2085-2091) y *Clostridium autoethanogenum*(Abrini y otros, Archives of Microbiology 161: pp 345-351). Otras bacterias adecuadas incluyen las del género *Moorella*,
incluidas *Moorella sp* HUC22-1 (Sakai y otros, Biotechnology Letters 29: pp 1607-1612), y las del género *Carboxydothermus* (Svetlichny, V.A., y otros(1991), Systematic and Applied Microbiology 14: 254-260). Además, una
persona experta en la técnica puede usar otras bacterias anaerobias carboxidotróficas en los procesos de la invención.
También se apreciará al considerar la presente descripción 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 puede realizarse mediante el uso de cualquier número de procesos conocidos en la técnica para cultivar y fermentar sustratos mediante el uso de bacterias anaerobias. Se proporcionan técnicas ilustrativas en la sección de "Ejemplos" más abajo. A modo de ejemplo adicional, se pueden utilizar aquellos procesos generalmente descritos en los siguientes artículos que usan sustratos gaseosos para la fermentación: (i) K.T. Klasson, y otros (1991) Bioreactors for synthesis gas fermentations resources. Conservation and Recycling, 5; 145-165; (ii) K. T. Klasson, y otros(1991). Bioreactor design for synthesis gas fermentations. Fuel. 70. 605-614; (iii) K. T. Klasson, y otros(1992). Bioconversion of synthesis gas into liquid or gaseous fuels. Enzyme and Microbial Technology. 14; 602-608; (iv) J. L. Vega, y otros (1989). Study of Gaseous Substrate Fermentation: Carbon Monoxide Conversion to Acetate. 2. Continuous Culture. Biotech. Bioeng. 34. 6. 785-793; (vi) J. L. Vega, y otros(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, y otros (1990). Design of Bioreactors for Coal Synthesis Gas Fermentations. Resources, Conservation and Recycling. 3. 149-160.

Un microorganismo ilustrativo adecuado para su uso en la presente invención es *Clostridium autoethanogenum*. En una realización, el *Clostridium autoethanogenum* es un *Clostridium autoethanogenum que* tiene las características de identificación de la cepa depositada en el Centro Alemán de Recursos para Material Biológico (DSMZ) con el número de depósito de identificación 19630. En otra realización, el *Clostridium autoethanogenum* es un *Clostridium autoethanogenum* que tiene las características de identificación del número de depósito DSMZ 10061.

La fermentación puede llevarse 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 un segundo reactor de fermentación, al que se introduce el caldo de fermentación desde el reactor de crecimiento y en el que se produce la mayor parte del producto de fermentación (por ejemplo, etanol y acetato).

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 un subproducto de un proceso industrial, o de alguna otra fuente, como los gases de escape de automóviles. En ciertas realizaciones, el proceso industrial se selecciona del grupo que consiste en la fabricación de productos de metales ferrosos, tal como se realiza en una fábrica de acero, fabricación de productos no ferrosos, procesos de refinación de petróleo, gasificación de carbón, producción de energía eléctrica, producción de negro de carbón, producción de amoníaco, producción de metanol y fabricación de coque. En estas realizaciones, el gas que contiene CO puede capturarse del proceso industrial antes de ser emitido a la atmósfera, mediante el uso de cualquier método conveniente. Según la composición del sustrato gaseoso que contiene CO, también puede ser conveniente tratarlo para eliminar cualquier impureza no deseada, como partículas de polvo, antes de introducirlo en la fermentación. Por ejemplo, el sustrato gaseoso puede filtrarse o purificarse mediante el uso de métodos conocidos.

El sustrato gaseoso que contiene CO idealmente contendrá una proporción significativa de CO, como por lo menos 5 % a aproximadamente 100 % de CO en volumen, o de 20 % a 95 % de CO en volumen, o de 40 % a 95 % de CO en volumen, o del 60 % al 90 % de CO en volumen o del 70 % al 90 % de CO en volumen. Los sustratos gaseosos que tienen concentraciones más bajas de CO, como 6 %, también pueden ser apropiados, particularmente cuando también hay presencia de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>.

Si bien no es necesario que el sustrato gaseoso contenga hidrógeno, la presencia de hidrógeno generalmente no será perjudicial para la formación de productos de acuerdo con los métodos de la invención. Sin embargo, en ciertas realizaciones de la invención, el sustrato gaseoso está sustancialmente libre de hidrógeno (menos del 1 %). El sustrato gaseoso puede contener, además, algo de CO<sub>2</sub>, tal como aproximadamente 1 % a aproximadamente 30 % en volumen, o tal como aproximadamente 5 % a aproximadamente 10 % de CO<sub>2</sub>.

Como se señaló anteriormente, la presencia de hidrógeno en la corriente de sustrato puede conducir a una mejora en la eficiencia de la captura general de carbono y/o la productividad de etanol. Por ejemplo, el documento WO0208438 describe la producción de etanol mediante el uso de corrientes de gases de diversas composiciones. En una realización preferida, se proporcionó una corriente de sustrato que comprendió 63 % de H<sub>2</sub>, 32 % de CO y 5 % de CH<sub>4</sub> a un cultivo de *C.ljungdahlii* en un biorreactor para promover el crecimiento microbiano y la producción de etanol. Cuando el cultivo alcanzó un estado estable y el crecimiento microbiano ya no era el objetivo principal, la corriente de sustrato se cambió a 15,8 % de H<sub>2</sub>, 36,5 % de CO, 38,4 % de N<sub>2</sub> y 9,3 % de CO<sub>2</sub> para proporcionar CO en un ligero exceso y promover la producción de etanol. Este documento describe, además, corrientes de gases con concentraciones de CO y H<sub>2</sub> más altas y más bajas.

En consecuencia, puede ser necesario alterar la composición de la corriente de sustrato para mejorar la producción de 40 alcohol y/o la captura general de carbono. Adicional o alternativamente, la composición puede ser alterada (es decir, ajustar los niveles de CO, CO<sub>2</sub> y/o H<sub>2</sub>) para optimizar la eficiencia de la reacción de fermentación y, en última instancia, mejorar la producción de alcohol y/o la captura general de carbono.

En algunas realizaciones, el sustrato gaseoso que contiene CO puede obtenerse de la gasificación de materia orgánica como metano, etano, propano, carbón, gas natural, petróleo crudo, residuos de bajo valor de la refinería de petróleo (incluido coque de petróleo o petcoke), residuos sólidos municipales o biomasa. La biomasa incluye subproductos obtenidos durante la extracción y el procesamiento de alimentos, como el azúcar de la caña de azúcar, el almidón del maíz o los granos, o los desechos de biomasa no alimenticia generados por la industria forestal. Cualquiera de estos materiales carbonosos puede ser gasificado, es decir, parcialmente quemado con oxígeno, para producir gas de síntesis (gas de síntesis que comprende cantidades importantes de H<sub>2</sub> y CO). Los procesos de gasificación típicamente producen un gas de síntesis con una relación molar de H<sub>2</sub> a CO de aproximadamente 0,4:1 a 1,2:1, junto con cantidades menores de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, metano y otras sustancias inertes. La relación del gas producido se puede variar por medios conocidos en la técnica y se describen en detalle en el documento WO200701616. Sin embargo, a modo de ejemplo, las siguientes condiciones del gasificador pueden alterarse para ajustar la relación de productos CO:H₂: composición de la materia prima (particularmente la relación C:H), presión de funcionamiento, perfil de temperatura (que influye en la inactivación de la mezcla de productos) y el oxidante empleado (aire, aire enriquecido con oxígeno, O2 puro o vapor; en donde el vapor tiende a dar como resultado relaciones más altas de CO:H2). En consecuencia, las condiciones de funcionamiento del gasificador se pueden ajustar para proporcionar una corriente de sustrato con una composición conveniente para la fermentación o mezclar con una o más de otras corrientes para proporcionar una composición optimizada o conveniente para aumentar la productividad de alcohol y/o la captura general de carbono en un proceso de fermentación.

En otras realizaciones, el sustrato que comprende CO puede derivarse del reformado de hidrocarburos con vapor. Los hidrocarburos, como los hidrocarburos de gas natural, pueden reformarse a alta temperatura para producir CO y H<sub>2</sub> de acuerdo con lo siguiente:

20

25

45

50

55

 $C_nH_m + {}_nH_2O \rightarrow nCO + (m/2 + n)H_2$ 

30

35

40

45

50

55

60

65

A modo de ejemplo, el reformado de metano y vapor implica hacer reaccionar el vapor con metano para producir CO y  $H_2$  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  $H_2$  por cada mol de CH $_4$  convertido) puede pasarse directamente al fermentador o mezclarse con una corriente de sustrato de otra fuente para aumentar la productividad de etanol y/o la captura general de carbono en un proceso de fermentación. Los alcoholes como el metanol también se pueden reformar para producir CO $_2$  y  $H_2$  que se pueden usar de manera similar.

- 10 En otra realización, el sustrato que comprende CO se deriva del proceso de fabricación de acero. En el proceso de fabricación de acero, el mineral de hierro se tritura y pulveriza, se somete a pretratamientos como sinterización o granulación, y después se pasa a un alto horno (BF), donde se funde. En el proceso de fundición, el coque sirve como fuente de carbono, que funciona como un 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 descarbura en un horno de oxígeno básico (BOF) 15 mediante la inyección de un chorro de oxígeno puro a alta velocidad contra la superficie del metal caliente. El oxígeno reacciona directamente con el carbono en el metal caliente para producir monóxido de carbono (CO). Por lo tanto, una corriente de gas con un alto contenido de CO es expulsada del BOF. De acuerdo con ciertas realizaciones de la invención, esta corriente se usa para alimentar una o más reacciones de fermentación. Sin embargo, como será evidente para un experto en la técnica, el CO se puede producir en otro lugar dentro del proceso de fabricación de acero, y de acuerdo con 20 diversas realizaciones de la invención, tales fuentes alternativas se pueden usar en lugar de o en combinación con los gases de escape del BOF. Según la fuente (es decir, la etapa particular dentro del proceso de fabricación de acero), el contenido de CO de los gases agotados puede variar. Además, puede haber períodos en los que haya interrupciones en una o más de tales corrientes, particularmente en plantas de procesamiento discontinuo.
- Típicamente, las corrientes expulsadas del proceso de descarburación de la acería comprenden una alta concentración de CO y bajas concentraciones de H<sub>2</sub>. Si bien dichas corrientes se pueden pasar directamente al biorreactor con poco o ningún tratamiento adicional, puede ser conveniente optimizar la composición de la corriente de sustrato para lograr una mayor eficiencia en la producción de alcohol y/o la captura general de carbono. Por ejemplo, la concentración de H<sub>2</sub> en la corriente de sustrato puede aumentarse antes de que la corriente pase al biorreactor.

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

Una etapa temprana del proceso de fabricación de acero generalmente implica la reducción del mineral de hierro mediante el uso de coque. El coque es una fuente de combustible de carbono sólido que se utiliza para fundir y reducir el mineral de hierro y, por lo general, se produce in situ en una acería. En el proceso de fabricación de coque, el carbón bituminoso se introduce a una serie de hornos, que se sellan y calientan a altas temperaturas en ausencia de oxígeno, típicamente en ciclos que duran de 14 a 36 horas. El carbono sólido que queda en el horno es coque. Se lleva a la torre de enfriamiento, donde se enfría con un rociado acuoso o al hacer circular un gas inerte (nitrógeno), después se tamiza y se envía al alto horno.

Los compuestos volátiles producidos durante este proceso generalmente se procesan para eliminar alquitrán, amoníaco, naftaleno, fenol, aceites ligeros y azufre antes de que el gas se use como combustible para calentar los hornos. El gas producido como resultado de la producción de coque típicamente tiene un alto contenido de H<sub>2</sub> (composición típica: 55 % de H<sub>2</sub>, 25 % de CH<sub>4</sub>, 6 % de CO, 3 % de N<sub>2</sub>, 2 % de otros hidrocarburos). Como tal, al menos una parte del gas del horno de coque puede desviarse al proceso de fermentación para mezclarlo con una corriente que comprende CO, para mejorar la productividad de alcohol y/o la captura general de carbono. Puede ser necesario tratar el gas del horno de coque antes de pasarlo al fermentador para eliminar los subproductos que pueden ser tóxicos para el cultivo.

En el proceso de la invención, una corriente intermitente que comprende CO, tal como una corriente de escape del convertidor, puede combinarse y/o mezclarse con una corriente continua que comprende CO y opcionalmente H<sub>2</sub>, tal como gas de síntesis producido en un proceso de gasificación como se describió previamente. En ciertas realizaciones, esto mantendría la provisión de una corriente de sustrato sustancialmente continua al biorreactor. En una realización particular, la corriente producida por el gasificador puede aumentarse y/o disminuirse de acuerdo con la producción intermitente de CO a partir de una fuente industrial para mantener una corriente de sustrato sustancialmente continua con una composición conveniente u optimizada. En otra realización, las condiciones del gasificador pueden alterarse como se describió anteriormente para aumentar o disminuir la relación CO:H<sub>2</sub>, de acuerdo con la producción intermitente de CO a partir de una fuente industrial, para mantener una corriente de sustrato sustancialmente continua con una composición de CO y H<sub>2</sub> conveniente u optimizada.

Las corrientes de sustrato utilizadas en la invención son gaseosas. Se apreciará que para que se produzca el crecimiento de las bacterias y la fermentación de CO a etanol, además del gas de sustrato que contiene CO, será necesario introducir un medio nutriente líquido adecuado al biorreactor. Un medio nutriente contendrá vitaminas y minerales suficientes para permitir el crecimiento del microorganismo utilizado. Los medios anaeróbicos adecuados para la fermentación de etanol

mediante el uso de CO como única fuente de carbono son conocidos en la técnica. Por ejemplo, los medios adecuados se describen en las patentes de Estados Unidos números 5,173,429 y 5,593,886 y los documentos WO 02/08438, WO2007/115157 y WO2008/115080, mencionados anteriormente. Los "Ejemplos" en el presente documento proporcionan otros medios ilustrativos.

5

10

La fermentación debería llevarse a cabo convenientemente en condiciones apropiadas para que se produzca la fermentación deseada (por ejemplo, CO a alcohol). Las condiciones de reacción que deben considerarse incluyen presión, temperatura, velocidad de flujo de gas, velocidad de flujo de líquido, pH del medio, potencial redox 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 se vuelva limitante, y las concentraciones máximas del producto para evitar la inhibición del producto.

15

Las condiciones óptimas de reacción dependerán en parte del microorganismo particular utilizado. Sin embargo, en general, puede ser preferible que la fermentación se realice a una presión superior a la presión ambiental. Operar a presiones aumentadas permite un aumento significativo en la velocidad de transferencia de CO desde la fase gaseosa a la fase líquida, donde puede ser absorbido por el microorganismo 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 la velocidad de flujo del gas de entrada) se puede reducir cuando los biorreactores se mantienen a presión elevada en lugar de presión atmosférica.

20

Además, debido a que una tasa de conversión de CO a etanol dada es en parte una función del tiempo de retención del sustrato, y lograr un tiempo de retención deseado a su vez dicta el volumen requerido de un biorreactor, el uso de sistemas presurizados puede reducir en gran medida el volumen del biorreactor requerido y, en consecuencia, el coste de capital del equipo de fermentación. De acuerdo con los ejemplos dados en la patente de EE.UU. núm. 5,593,886, el volumen del reactor puede reducirse en proporción lineal a los aumentos en la presión de funcionamiento del reactor, es decir, los biorreactores que funcionan a 10 atmósferas de presión solo necesitan tener una décima parte del volumen de los que funcionan a 1 atmósfera de presión.

25

Los beneficios de realizar una fermentación de gas a etanol a presiones elevadas también se han descrito en otra parte. Por ejemplo, el documento WO 02/08438 describe fermentaciones de gas a etanol realizadas a presiones de 30 psig y 75 psig, que dan productividades de etanol de 150 g/l/día y 369 g/l/día respectivamente. Sin embargo, se encontró que las fermentaciones ilustrativas realizadas con medios similares y composiciones de gases de entrada a presión atmosférica producen entre 10 y 20 veces menos etanol por litro por día.

35

30

También es conveniente que la velocidad de introducción del sustrato gaseoso que contiene CO sea tal que garantice que la concentración de CO en la fase líquida no se vuelva limitante. Esto se debe a que una consecuencia de las condiciones limitadas por CO puede ser que el cultivo consume el producto de etanol.

40

## Recuperación de productos

45

Los productos de la reacción de fermentación pueden recuperarse mediante el uso de métodos conocidos. Los métodos ilustrativos incluyen los descritos en los documentos núms. WO2007/117157, WO2008/115080 y las patentes de los Estados Unidos núms. 6,340,581, 6,136,577, 5,593,886, 5,807,722 y 5,821,111. Sin embargo, brevemente y solo a modo de ejemplo, el etanol puede recuperarse del caldo de fermentación mediante métodos tales como destilación fraccionada o evaporación, y fermentación extractiva.

La destilación de etanol de un caldo de fermentación produce una mezcla azeotrópica de etanol y agua (es decir, 95 % de etanol y 5 % de agua). El etanol anhidro se puede obtener posteriormente mediante el uso de tecnología de deshidratación de etanol por tamiz molecular, que también es bien conocida en la técnica.

50

Los procedimientos de fermentación extractiva implican el uso de un solvente miscible en agua que presenta un bajo riesgo de toxicidad para el organismo de fermentación, para recuperar el etanol del caldo de fermentación diluido. Por ejemplo, el alcohol oleílico es un disolvente que puede usarse en este tipo de proceso de extracción. En este proceso, el alcohol oleílico se introduce continuamente en un fermentador, después de lo cual este disolvente se eleva formando una capa en la parte superior del fermentador que se extrae continuamente y se introduce a través de una centrífuga. Después, el agua y las células se separan fácilmente del alcohol oleílico y se devuelven al fermentador mientras el disolvente cargado de etanol se introduce a una unidad de vaporización instantánea. La mayor parte del etanol se vaporiza y condensa, mientras que el alcohol oleílico no volátil se recupera para su reutilización en la fermentación.

55

60

65

El acetato también se puede recuperar del caldo de fermentación mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar un sistema de adsorción que involucra un filtro de carbón activado. En este caso, las células microbianas generalmente se eliminan primero del caldo de fermentación mediante el uso de un método de separación adecuado. En la técnica se conocen numerosos métodos basados en filtración para generar un caldo de fermentación libre de células para la recuperación del producto. El permeado que contiene acetato y etanol libre de células, se hace pasar a través de una columna que contiene carbón activado para adsorber el acetato. El acetato en forma de ácido (ácido acético) en lugar de la forma de sal (acetato) es adsorbido más fácilmente por el carbón activado. Por lo tanto, se prefiere

que el pH del caldo de fermentación se reduzca a menos de aproximadamente 3 antes de que pase a través de la columna de carbón activado, para convertir la mayoría del acetato a la forma de ácido acético.

- El ácido acético adsorbido al carbón activado puede recuperarse por elución mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, se puede usar etanol para eluir el acetato unido. En ciertas realizaciones, el etanol producido por el proceso de fermentación en sí mismo puede usarse para eluir el acetato. Debido a que el punto de ebullición del etanol es 78,8 oC y el del ácido acético es 107 oC, el etanol y el acetato pueden separarse fácilmente entre sí mediante el uso de un método basado en la volatilidad como la destilación.
- Otros métodos para recuperar acetato de un caldo de fermentación son conocidos en la técnica y pueden usarse en los 10 procesos de la presente invención. Por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núms. 6,368,819 y 6,753,170 describen un sistema de disolvente y codisolvente que puede usarse para la extracción de ácido acético de caldos de fermentación. Al igual que con el sistema basado en alcohol oleílico descrito anteriormente para la fermentación extractiva de etanol, los sistemas descritos en las patentes de Estados Unidos núms. 6,368,819 y 6,753,170 describen un solvente/codisolvente 15 inmiscible en agua que se puede mezclar con el caldo de fermentación en presencia o ausencia de microorganismos fermentados para extraer el ácido acético. El disolvente/codisolvente que contiene el ácido acético se separa después del caldo por destilación. Después se puede usar una segunda etapa de destilación para purificar el ácido acético del sistema disolvente/codisolvente.
- 20 Los productos de la reacción de fermentación (por ejemplo, etanol y acetato) pueden recuperarse del caldo de fermentación al retirar continuamente una porción del caldo del biorreactor de fermentación, separar las células microbianas del caldo (convenientemente por filtración) y recuperar uno o más productos del caldo simultánea o secuencialmente. El etanol puede recuperarse convenientemente por destilación, y el acetato puede recuperarse por adsorción en carbón activado, mediante el uso de los métodos descritos anteriormente. Las células microbianas 25 separadas pueden devolverse al biorreactor de fermentación. El permeado libre de células que queda después de haber eliminado el etanol y el acetato también puede devolverse al biorreactor de fermentación. Se pueden agregar nutrientes adicionales (como vitaminas B) al permeado libre de células para reponer el medio nutriente antes de devolverlo al biorreactor. Además, si el pH del caldo se ajustó como se describió anteriormente para mejorar la adsorción de ácido acético al carbón activado, el pH debe reajustarse a un pH similar al del caldo en el biorreactor de fermentación, antes de 30 regresar al biorreactor

5

50

55

Eliminación de CO<sub>2</sub>

- El sistema utilizado para la eliminación de CO<sub>2</sub> incluye un medio para separar selectivamente el CO<sub>2</sub> de una corriente mixta y un medio para convertir el CO2 en productos y/o preparar el CO2 para su almacenamiento o uso posterior. 35 Alternativamente, el proceso incluye un medio para convertir el CO2 en una corriente directamente a productos y/o sustancias adecuadas para su almacenamiento o uso posterior. El CO<sub>2</sub> se separa selectivamente de una corriente de gas mixta mediante el uso de cualquier medio de separación conocido en la técnica, tal como los métodos ilustrativos proporcionados a continuación. Otros métodos de separación de CO2 que pueden usarse en realizaciones de la invención 40 incluyen la extracción con un óxido metálico, tal como CaO, y el uso de carbón poroso o extracción selectiva con disolventes, tal como extracción con amina.
- Las aminas como la monoetanolamina acuosa (MEA), la diglicolamina (DGA), la dietanolamina (DEA), la diisopropanolamina (DIPA) y la metildietanolamina (MDEA) se usan ampliamente en la industria para eliminar CO2 y sulfuro de hidrógeno de las corrientes de gas natural y las corrientes de procesos de refinería. 45
  - El CO<sub>2</sub> separado en tales procesos puede almacenarse permanentemente. En la técnica se conocen muchos ejemplos de almacenamiento permanente de CO2, como el almacenamiento geológico (geo-secuestro), el almacenamiento en el océano y el almacenamiento de minerales (por ejemplo, conversión a carbonatos metálicos).
  - El almacenamiento geológico implica inyectar dióxido de carbono, generalmente en forma supercrítica, directamente en formaciones geológicas subterráneas. Se han sugerido campos de petróleo, campos de gas, formaciones salinas, vetas de carbón que no pueden extraerse por minas y formaciones de basalto llenas de solución salina como sitios de almacenamiento. Se pueden utilizar diversos mecanismos de captura física (por ejemplo, roca sello altamente impermeable) y geoquímica para evitar que el CO2 escape a la superficie. Para sitios de almacenamiento geológico bien seleccionados, diseñados y administrados, el Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático estima que el CO2 podría quedar atrapado durante millones de años, y es probable que los sitios retengan más del 99 % del CO2 inyectado durante 1000 años.
- Se han propuesto varias opciones para el almacenamiento en el océano: (i) inyección de CO2 de 'disolución' por barco o 60 tubería en el agua a profundidades de 1000 m o más, y el CO2 se disuelve posteriormente; (ii) la deposición "lacustre" de CO<sub>2</sub> directamente sobre el fondo del mar a profundidades superiores a 3000 m, donde el CO<sub>2</sub> es más denso que el agua y se espera que forme un "lago" que retrasaría la disolución del CO2 en el medio ambiente; (iii) conversión del CO2 en bicarbonatos (mediante el uso de piedra caliza); y (iv) almacenamiento del CO2 en hidratos de clatrato sólidos ya existentes 65 en el fondo del océano, o uso en el crecimiento de clatrato más sólido.

En el almacenamiento de minerales, el CO<sub>2</sub> se hace reaccionar exotérmicamente con óxidos metálicos abundantemente disponibles para producir carbonatos estables. Este proceso ocurre naturalmente durante muchos años y es responsable de gran parte de la piedra caliza superficial. La velocidad de reacción se puede hacer más rápida, por ejemplo, al reaccionar a temperaturas y/o presiones más altas, o mediante un tratamiento previo de los minerales, aunque este método puede requerir energía adicional.

Alternativamente, el CO<sub>2</sub> separado se puede usar para obtener productos, como la conversión directa o indirecta a hidrocarburos. Un proceso bien conocido para producir un hidrocarburo es el proceso para producir metanol a partir de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>. La disociación catalítica o electroquímica del agua para producir iones de oxígeno e hidrógeno, en donde los iones de hidrógeno pueden usarse para convertir CO<sub>2</sub> en hidrocarburos, también se conoce en la técnica. Si el CO<sub>2</sub> se calienta a 2400 °C, se divide en monóxido de carbono y oxígeno. El proceso Fischer-Tropsch se puede utilizar para convertir el CO en hidrocarburos. En tales procesos, el CO puede ser devuelto al proceso de fermentación. A modo de ejemplo, la temperatura requerida se puede lograr mediante el uso de una cámara que contiene un espejo para enfocar la luz solar en el gas. Alternativamente, el CO<sub>2</sub> separado puede usarse en otra(s) fermentación(es) para producir productos. Los expertos en la técnica apreciarán que hay muchos ejemplos de reacciones de fermentación microbiana que convierten el CO<sub>2</sub> en productos. Por ejemplo, el CO<sub>2</sub> puede convertirse en metano por fermentación anaerobia mediante el uso de microbios metanogénicos. Ejemplos de este y otros procesos de fermentación relacionados se describen en el documento WO2006/108532 mencionado anteriormente. En los documentos WO2007/117157 y WO2008/115080 mencionados anteriormente se proporcionan ejemplos adicionales de reacciones de fermentación que usan CO<sub>2</sub> para producir productos.

El CO<sub>2</sub> también es una materia prima conveniente en la producción de gas de síntesis. Se puede suministrar CO<sub>2</sub> al reformador (gasificador) para reducir el consumo de metano y mejorar/aumentar la relación H<sub>2</sub>:CO. Por consiguiente, en una realización, al menos una porción del CO<sub>2</sub> separado se puede suministrar a un gasificador integrado en el proceso de fermentación.

En otra realización de la invención, el CO<sub>2</sub> separado puede convertirse en productos tales como cemento de hormigón. En un proceso que imita el cemento marino producido por el coral al hacer sus conchas y arrecifes, el magnesio y/o el calcio se pueden combinar con CO<sub>2</sub> para producir carbonatos.

El CO<sub>2</sub> también es fácilmente absorbido por las algas en un proceso fotosintético, que puede usarse para capturar carbono de las corrientes residuales. Las algas crecen rápidamente en presencia de CO<sub>2</sub> y luz solar y pueden cosecharse y convertirse en productos como biodiesel y/o alcohol.

Alternativamente, el CO<sub>2</sub> puede capturarse directamente de una corriente sin la necesidad de una etapa de separación adicional. Por ejemplo, en una realización particular, una corriente, preferentemente una corriente gaseosa, que comprende CO<sub>2</sub> puede pasar a través de un segundo proceso de fermentación para convertir CO<sub>2</sub> en productos.

## Separación de gases

10

15

20

25

30

40

45

50

55

60

65

El proceso utilizado para la separación de gases comprende una o más etapas de fraccionamiento criogénico, tamizado molecular, adsorción, adsorción por oscilación de presión o absorción. Cualquiera que sea el proceso utilizado, la separación de gases se puede realizar para aislar al menos una porción de uno o más de los siguientes componentes: H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y CO, de la corriente de gas. Además, o alternativamente, la separación de gases de acuerdo con las realizaciones de la invención puede usarse para eliminar una o más porciones de la corriente de gas (por ejemplo, N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>) de manera que el resto pueda usarse de manera más eficiente, tal como en el biorreactor.

La adsorción es la acumulación de gases, líquidos o solutos en la superficie de un sólido o líquido. La absorción es el proceso por el cual una sustancia, como un sólido o líquido, toma otra sustancia, como un líquido o gas, a través de pequeños poros o espacios entre sus moléculas.

La adsorción por oscilación de presión (PSA) es un proceso adiabático que puede usarse para la purificación de gases para eliminar las impurezas acompañantes mediante adsorción a través de adsorbentes adecuados en lechos fijos contenidos en recipientes a alta presión. La regeneración de los adsorbentes se logra mediante la despresurización a contracorriente y mediante la purga a baja presión con gas de calidad de producto cercano previamente recuperado. Para obtener un flujo continuo de producto, se proporcionan preferentemente al menos dos adsorbentes, de modo que al menos un adsorbente reciba una corriente de gas (tal como una corriente de gas de desecho/escape/biogás) y realmente produzca un producto de la pureza deseada. Simultáneamente, las etapas subsiguientes de despresurización, purga y represurización de regreso a la presión de adsorción son ejecutadas por el (los) otro(s) adsorbente(s). Los adsorbentes comunes pueden ser seleccionados fácilmente por un experto en la técnica, según el tipo de impureza que se adsorberá y eliminará. Los adsorbentes adecuados incluyen tamices moleculares zeolíticos, carbón activado, gel de sílice o alúmina activada. Se pueden usar combinaciones de lechos adsorbentes uno encima del otro, dividiendo así el contenido de adsorbente en varias zonas distintas. La adsorción por oscilación de presión implica una oscilación pendular en parámetros tales como presión, temperatura, flujo y composición de la fase gaseosa y adsorbida.

La purificación o separación de gases mediante el uso de PSA normalmente tiene lugar a temperaturas del gas de

alimentación cercanas a la temperatura ambiente, por lo que los componentes que se eliminarán se adsorben selectivamente. Idealmente, la adsorción debería ser suficientemente reversible para permitir la regeneración de adsorbentes a temperatura ambiente similar. La PSA puede usarse para el tratamiento y/o la purificación de los gases más comunes, incluidos CO, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>. Ejemplos de técnicas de adsorción por oscilación de presión se describen en detalle en Ruthven, Douglas M. y otros, 1993 Pressure Swing Adsorption, John Wiley and Sons.

Un tamiz molecular es un material que contiene poros diminutos de un tamaño preciso y uniforme que se utiliza como adsorbente para gases y líquidos. Las moléculas que son lo suficientemente pequeñas como para pasar a través de los poros se adsorben, mientras que las moléculas más grandes no. Un tamiz molecular es similar a un filtro común, pero funciona a nivel molecular. Los tamices moleculares a menudo consisten en minerales de aluminosilicato, arcillas, vidrios porosos, carbones microporosos, zeolitas, carbonos activos o compuestos sintéticos que tienen estructuras abiertas a través de las cuales pueden difundirse moléculas pequeñas, como el nitrógeno y el agua. Los métodos para la regeneración de tamices moleculares incluyen cambio de presión (por ejemplo, en concentradores de oxígeno) y calentamiento y purga con un gas portador.

Las membranas pueden usarse, por ejemplo, para separar hidrógeno de gases como nitrógeno y metano, para recuperar hidrógeno, para separar metano del biogás o para eliminar vapor de agua, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S o líquidos orgánicos volátiles. Se pueden seleccionar diferentes membranas, que incluyen membranas porosas y no porosas, para cumplir el propósito deseado, como será evidente para un experto en la técnica al considerar la presente descripción. Por ejemplo, una membrana de paladio permite el transporte únicamente de H<sub>2</sub>. En una realización particular, el CO<sub>2</sub> puede separarse de una corriente, mediante el uso de una membrana permeable al CO<sub>2</sub>. El CO<sub>2</sub> separado de la corriente se puede pasar a un eliminador de CO<sub>2</sub>, como el gasificador analizado anteriormente.

El fraccionamiento criogénico implica comprimir la corriente de gas y enfriarla a una temperatura lo suficientemente baja como para permitir la separación por destilación. Se puede usar, por ejemplo, para eliminar CO<sub>2</sub>. Ciertos componentes (por ejemplo, agua) se eliminan típicamente de la corriente antes de realizar el fraccionamiento criogénico.

Las mismas técnicas también se pueden utilizar para eliminar el oxígeno de una corriente gaseosa para producir corrientes anaeróbicas ricas en CO y/o CO<sub>2</sub>. Además, el oxígeno puede eliminarse biológicamente, por ejemplo, pasando el gas de escape de la combustión a un fermentador sellado que contiene microorganismos aeróbicos facultativos, un sustrato de carbono reducido y los nutrientes necesarios para los microorganismos. Los microorganismos aeróbicos facultativos pueden consumir oxígeno para crear corrientes anaeróbicas ricas en CO y/o CO<sub>2</sub>.

Los métodos alternativos para separar o eliminar O<sub>2</sub> de una corriente gaseosa también son bien conocidos en la técnica. Sin embargo, a modo de ejemplo, el oxígeno puede simplemente reducirse y/o eliminarse mediante el uso de cobre caliente o un convertidor catalítico.

Adaptar el proceso de separación de gases a una fuente particular de gas puede hacer que un proceso de bioconversión no comercialmente viable sea comercialmente viable. Por ejemplo, con la separación adecuada de CO de la corriente de escape de un automóvil, se puede obtener una fuente de energía utilizable de la corriente y se pueden reducir las emisiones de gases no deseadas. De acuerdo con una realización de la invención, el sustrato gaseoso comprende gas de síntesis (Syngas) que contiene CO y H<sub>2</sub>, y la separación de gases se realiza para eliminar el hidrógeno de la corriente para que pueda aislarse y usarse como combustible fuera del proceso de fermentación. El CO puede usarse para alimentar la reacción de fermentación.

# Corrientes de gases intermitentes

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

De acuerdo con diversos aspectos de la invención, el sustrato de fermentación se deriva de una fuente industrial. Típicamente, los sustratos derivados de fuentes industriales son gaseosos y tales gases pueden variar en composición y/o presión y en algunos casos pueden ser de naturaleza intermitente. En ciertas realizaciones, la invención proporciona medios para mejorar o "alisar" el suministro de un sustrato gaseoso a un biorreactor para la fermentación para producir productos, en los casos en que el suministro de sustrato es de naturaleza intermitente o no continua. Puede usarse cualquier medio conocido para mejorar la continuidad o el "alisado" de una corriente de sustrato gaseoso; sin embargo, las realizaciones particulares de la invención incluyen procesos o sistemas que incluyen al menos un medio de amortiguación adaptado para recibir una corriente de sustrato intermitente y para suministrar una corriente de sustrato sustancialmente continua a un biorreactor.

En realizaciones particulares, los medios de amortiguación incluyen un tanque de almacenamiento adaptado para recibir corrientes de gases intermitentes. La corriente intermitente puede comprimirse antes de ingresar al tanque de almacenamiento; alternativamente, el tanque de almacenamiento puede configurarse para expandirse a medida que recibe la corriente de sustrato. Por ejemplo, el tanque de almacenamiento amortiguador puede incluir un "techo flotante" adaptado para subir y bajar para acomodar un sustrato gaseoso. Los tanques de almacenamiento tipo techo flotante son conocidos en la técnica, como los utilizados para acomodar las fluctuaciones de la oferta y la demanda en el suministro de gas. El tanque de almacenamiento puede adaptarse para suministrar una corriente de sustrato sustancialmente continua a un biorreactor de fermentación, y como tal puede incluir un medio para controlar la velocidad de flujo de la corriente que sale del tanque.

En tales realizaciones, el tanque de almacenamiento sirve como un depósito de sustrato. Sin embargo, de acuerdo con una realización alternativa, el tanque de almacenamiento amortiguador se puede sustituir por una forma alternativa de almacenamiento que realiza la misma función. Por ejemplo, las formas alternativas pueden incluir una o más de absorción, adsorción y cambios de presión y/o temperatura. Adicional o alternativamente, el sustrato puede disolverse en un líquido en el depósito o mantenerse en una matriz, como un material sólido poroso, hasta que se requiera. En realizaciones particulares de la invención, el sustrato puede disolverse en un líquido en el tanque de almacenamiento y entregarse directamente al biorreactor en solución cuando sea necesario.

Alternativamente, el biorreactor en sí mismo puede configurarse de modo que el espacio superior sobre un medio nutriente líquido de fermentación actúe como un amortiguador para la corriente intermitente. Por ejemplo, el sistema puede incluir un medio para comprimir la corriente de sustrato gaseoso (cuando esté disponible) y pasarla al biorreactor. La presión en el espacio superior en el biorreactor aumentará cuando se proporcione sustrato adicional. Por lo tanto, el sustrato está continuamente disponible para la conversión a productos mediante fermentación microbiana.

En otra realización, el sistema puede adaptarse para recibir corrientes de sustrato gaseoso de múltiples fuentes intermitentes. Tal sistema puede incluir medios para combinar y/o cambiar entre corrientes para proporcionar una corriente de sustrato sustancialmente continua al biorreactor.

Los microorganismos utilizados en la reacción de fermentación suelen tener un intervalo de temperatura permisible, por encima o por debajo del cual la velocidad de reacción disminuye significativamente. Como tal, el sistema puede incluir medios de enfriamiento, en los que cuando la disponibilidad de la corriente de sustrato es limitada, los medios en el biorreactor pueden enfriarse para ralentizar la reacción de fermentación y reducir la demanda del sustrato. Por el contrario, cuando aumenta la disponibilidad de la corriente de sustrato, la temperatura dentro del biorreactor se puede aumentar hacia el extremo superior del intervalo de temperatura para aumentar la velocidad de reacción.

Alternativa o adicionalmente, se puede configurar un medio de enfriamiento para igualar la carga de enfriamiento a fin de reducir la carga máxima de enfriamiento en un sistema de fermentación. Por ejemplo, suponga que la carga de enfriamiento requerida para hacer frente al calor dentro de una corriente de alimentación de gas y/o una exotermia de fermentación en un período predeterminado (mientras se procesa el gas) es de 2MW. Para mantener el contenido del tanque de fermentación a una temperatura constante durante este período, se debe eliminar el calor a esta velocidad para mantener una temperatura constante dentro del tanque. Por el contrario, durante los períodos en que no se procesa gas y la exotermia esencialmente cesa, la carga de enfriamiento será cero. Por lo tanto, particularmente para aplicaciones industriales a gran escala, habrá períodos en los que la carga de enfriamiento es muy alta, lo que impone restricciones significativas al sistema. Al nivelar la carga de enfriamiento, se reduce la velocidad de enfriamiento máxima requerida. Por lo tanto, es posible operar con un sistema de enfriamiento de menor escala, aunque de forma continua (o más continua).

Usando los parámetros del ejemplo anterior, pero suponiendo que los períodos en los que se procesa el gas, y aquellos en los que no se procesa el gas, son de igual duración, entonces se puede eliminar el calor del tanque de fermentación continuamente a 1 MW. En estas condiciones, la tasa de eliminación de calor cuando se procesa el gas no seguirá el ritmo de la entrada/generación de calor, y la temperatura dentro del tanque de fermentación aumentará. Cuando se detiene el gas, pero el enfriamiento continúa, la temperatura dentro del tanque de fermentación disminuirá. De esta manera, se requiere un sistema de enfriamiento dimensionado para una carga continua de 1MW en lugar de un sistema dimensionado para una carga de 2MW que solo funciona la mitad del tiempo. Sin embargo, el aumento de temperatura y la caída posterior deben limitarse para mantener la temperatura dentro del tanque dentro del intervalo permitido para los microorganismos. Por lo tanto, de acuerdo con realizaciones particulares, aunque no es constante, la carga de enfriamiento puede "alisarse", de modo que las variaciones en ella puedan ser más graduales y/o más limitadas, en el sentido de que hay una diferencia menor entre las cargas de enfriamiento máxima y mínima.

El gas de escape industrial como recurso para la fermentación

15

30

35

40

45

50

55

60

65

De acuerdo con otros aspectos de la invención, los gases residuales industriales se usan en una reacción de fermentación sin o con solo etapas mínimas de depuración o pretratamiento adicionales para hacer que los gases sean adecuados para esta

Los gases residuales pueden resultar de cualquier serie de procesos industriales. La invención tiene una aplicabilidad particular para apoyar la producción de etanol a partir de sustratos gaseosos tales como gases de combustión industriales que contienen CO de alto volumen. Los ejemplos incluyen gases producidos durante la fabricación de productos de metales ferrosos, fabricación de productos no ferrosos, procesos de refinación de petróleo, gasificación de carbón, gasificación de biomasa, producción de energía eléctrica, producción de negro de carbón, producción de amoníaco, producción de metanol y fabricación de coque. En una realización particular de la invención, los gases residuales se generan durante un proceso para fabricar acero. Por ejemplo, los expertos en la técnica apreciarán que los gases residuales producidos durante varias etapas del proceso de fabricación de acero tienen altas concentraciones de CO y/o CO<sub>2</sub>. En particular, el gas residual producido durante la descarburación del acero en varios métodos de fabricación de acero, como en un convertidor de oxígeno (por ejemplo, BOF o KOBM), tiene un alto contenido de CO y un bajo contenido

de O2, lo que lo convierte en un sustrato adecuado para la fermentación carboxidotrófica anaeróbica.

Los gases residuales producidos durante la carburación del acero se pasan opcionalmente a través de agua para eliminar partículas antes de pasar a un tubo de evacuación o cañón para dirigir el gas residual a la atmósfera. Típicamente, los gases son conducidos al tubo de evacuación con uno o más 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 por medios de conducción adecuados. A modo de ejemplo, las tuberías u otros medios de transferencia se pueden conectar al tubo de gas residual desde una fábrica de acero para desviar al menos una parte del gas residual a un sistema de fermentación. Nuevamente, se pueden usar uno o más ventiladores para desviar al menos una parte del gas residual al sistema de fermentación. En realizaciones particulares de la invención, los medios de conducción están adaptados para proporcionar al menos una porción del gas residual producido durante la descarburación del acero a un sistema de fermentación. El control y los medios para introducir gases a un biorreactor serán muy evidentes para los expertos en la técnica a la que se refiere la invención.

Si bien las fábricas de acero se pueden adaptar para producir acero de manera sustancialmente continua y, posteriormente, gases residuales, aspectos particulares del proceso pueden ser intermitentes. Típicamente, la descarburación del acero es un proceso discontinuo que dura de varios minutos a varias horas. Como tal, los medios de conducción pueden adaptarse para desviar al menos una parte del gas residual, como el gas producido durante la descarburación del acero, al sistema de fermentación si se determina que el gas residual tiene una composición conveniente.

El pH del contenido del biorreactor utilizado en el proceso de fermentación se puede ajustar según sea necesario. El pH apropiado dependerá de las condiciones requeridas para una reacción de fermentación particular teniendo en cuenta los medios nutritivos y los microorganismos utilizados, como apreciarán las personas con conocimientos en la técnica a la que se refiere la invención. En una realización preferida, en la fermentación de un sustrato gaseoso que contiene CO que utiliza *Clostridium autoethanogenum*, el pH puede ajustarse a aproximadamente 5,5 a 6,5, con la máxima preferencia a aproximadamente 5,5. Otros ejemplos incluyen pH 5,5 a 6,5 con el uso de *Moorella thermoacetica* para la producción de ácido acético, pH 4,5 a 6,5 con el uso de *Clostridium acetobutylicum* para la producción de butanol y pH 7 con el uso de *Carboxydothermus hygrogenaformans* para la producción de hidrógeno. Los expertos en la técnica conocerán los medios adecuados para mantener el biorreactor al pH requerido. Sin embargo, a modo de ejemplo, se pueden usar bases acuosas como NaOH y ácidos acuosos como H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para aumentar y disminuir el pH del medio de fermentación y mantener el pH deseado.

Un beneficio adicional de la invención es que, debido a que no se realizan, o solo se realiza un mínimo de procesos de depuración y/u otros tratamientos en los gases residuales antes de su uso en una reacción de fermentación, los gases contendrán material adicional que es resultado del proceso industrial, dicho material adicional se puede usar, al menos en parte, como materia prima para la reacción de fermentación.

## 40 Mezcla de corrientes

10

15

20

25

30

45

50

55

Como se señaló anteriormente, puede ser conveniente mezclar una corriente residual industriales con una o más corrientes adicionales para mejorar la eficiencia, la producción de alcohol y/o la captura general de carbono de la reacción de fermentación. Sin desear limitarse a la teoría, en algunas realizaciones de la presente invención, las bacterias carboxidotróficas convierten el CO en etanol de acuerdo con lo siguiente:

$$6CO + 12H_2 + 3H_2O \rightarrow C_2H_5OH + 4CO_2$$

Sin embargo, en presencia de H2, la conversión general es la siguiente:

$$6CO + 12H_2 + 3H_2O \rightarrow 3C_2H_5OH$$

En consecuencia, cuando las corrientes industriales tienen un alto contenido de CO, pero incluyen un mínimo de  $H_2$  o ninguno, puede ser conveniente mezclar una o más corrientes que comprenden  $H_2$  con la corriente residual que comprende CO, antes de proporcionar la corriente de sustrato mezclado al fermentador. La eficiencia general, la productividad de alcohol y/o la captura general de carbono de la fermentación dependerán de la estequiometría del CO y  $H_2$  en la corriente mezclada. Sin embargo, en realizaciones particulares, la corriente mezclada puede comprender sustancialmente CO y  $H_2$  en las siguientes relaciones molares: 20:1, 10:1, 5:1, 3:1, 2:1, 1:1 o 1:2.

Además, puede ser conveniente proporcionar CO y H<sub>2</sub> en proporciones particulares en diferentes etapas de la fermentación. Por ejemplo, las corrientes de sustrato con un contenido relativamente alto de H2 (como CO:H<sub>2</sub> 1:2) pueden ser proporcionadas a la etapa de fermentación durante el inicio y/o las fases de rápido crecimiento microbiano. Sin embargo, cuando la fase de crecimiento se ralentiza, de modo que el cultivo se mantiene a una densidad microbiana sustancialmente constante, el contenido de CO puede aumentar (como al menos 1:1 o 2:1 o más, en donde la concentración de H<sub>2</sub> puede ser mayor o igual a cero).

La mezcla de corrientes también puede tener otras ventajas, particularmente en los casos en que una corriente residual que comprende CO es de naturaleza intermitente. En el proceso de la invención, una corriente residual intermitente que comprende CO se mezcla con una corriente continua que comprende CO y opcionalmente  $H_2$  y se proporciona al fermentador. En realizaciones particulares de la invención, la composición y la velocidad de flujo de la corriente sustancialmente continua pueden variarse de acuerdo con la corriente intermitente para mantener la provisión de una corriente de sustrato de composición y velocidad de flujo sustancialmente continuas al fermentador.

La combinación de dos o más corrientes para lograr una composición conveniente puede implicar tasas de flujo variables de todas las corrientes, o una o más de las corrientes pueden mantenerse constantes mientras que otra(s) corriente(s) se varían para "recortar" u optimizar la corriente de sustrato a la composición deseada. Para las corrientes que se procesan continuamente, puede ser necesario poco o ningún tratamiento adicional (como la amortiguación) y la corriente se puede proporcionar directamente al fermentador. Sin embargo, puede ser necesario proporcionar almacenamiento de amortiguador para las corrientes, donde una o más están disponibles de manera intermitente, y/o donde las corrientes están disponibles continuamente, pero se usan y/o producen a velocidades variables.

15

20

5

10

Los expertos en la técnica apreciarán que será necesario controlar la composición y las velocidades de flujo de las corrientes antes de mezclar. El control de la composición de la corriente mezclada se puede lograr al variar las proporciones de las corrientes constituyentes para lograr una composición objetivo o conveniente. Por ejemplo, una corriente de gas de carga base puede ser predominantemente CO, y una corriente de gas secundaria que comprende una alta concentración de H2 puede mezclarse para lograr una relación H2: CO especificada. La composición y la velocidad de flujo de la corriente mezclada se pueden controlar por cualquier medio conocido en la técnica. La velocidad de flujo de la corriente mezclada puede controlarse independientemente de la operación de mezcla; sin embargo, las velocidades a las que se pueden extraer las corrientes constituyentes individuales deben controlarse dentro de los límites. Por ejemplo, una corriente producida intermitentemente, extraída continuamente del almacenamiento del amortiguador, debe extraerse a una velocidad tal que la capacidad de almacenamiento del amortiguador no se agote ni se llene hasta su capacidad.

25

En el punto de mezcla, los gases constituyentes individuales entrarán en una cámara de mezcla, que típicamente será un recipiente pequeño o una sección de tubería. En tales casos, el recipiente o la tubería pueden estar provistos de dispositivos de mezcla estáticos, como deflectores, dispuestos para promover la turbulencia y la rápida homogeneización de los componentes individuales.

30 de los co

El almacenamiento del amortiguador de la corriente mezclada también se puede proporcionar si es necesario, para mantener la provisión de una corriente de sustrato sustancialmente continua al biorreactor.

35

40

Un procesador adaptado para controlar la composición y las velocidades de flujo de las corrientes constituyentes y controlar la mezcla de las corrientes en proporciones apropiadas, para lograr la mezcla requerida o conveniente, puede incorporarse opcionalmente al sistema. Por ejemplo, se pueden proporcionar componentes particulares de la manera requerida o disponible para optimizar la eficiencia de la productividad de alcohol y/o la captura general de carbono.

Puede que no sea posible o rentable proporcionar CO y H<sub>2</sub> en una proporción particular todo el tiempo. Como tal, un

45

sistema adaptado para mezclar dos o más corrientes como se describió anteriormente puede adaptarse para optimizar la relación con los recursos disponibles. Por ejemplo, en los casos en que está disponible un suministro inadecuado de H<sub>2</sub>, el sistema puede incluir medios para desviar el exceso de CO del sistema a fin de proporcionar una corriente optimizada y lograr una mayor eficiencia en la producción de alcohol y/o la captura general de carbono. En ciertas realizaciones de la invención, el sistema está adaptado para controlar continuamente las velocidades de flujo y composiciones de al menos dos corrientes y combinarlas para producir una única corriente de sustrato mezclada de composición óptima, y medios para hacer pasar la corriente de sustrato optimizada al fermentador. En realizaciones particulares que emplean microbios carboxidotróficos para producir alcohol, la composición óptima de la corriente de sustrato comprende al menos 0 % de H<sub>2</sub> y hasta aproximadamente 1:2 de CO:H<sub>2</sub>.

50

A modo de ejemplo no limitante, realizaciones particulares de la invención implican la utilización de gas convertidor a partir de la descarburación del acero como fuente de CO. Típicamente, tales corrientes contienen poco o nada de H<sub>2</sub>, por lo tanto, puede ser conveniente combinar la corriente que comprende CO con una corriente que comprende H<sub>2</sub> para lograr una relación CO:H<sub>2</sub> más conveniente. El H<sub>2</sub> a menudo se produce en grandes cantidades en una fábrica de acero en el horno de coque. En consecuencia, una corriente residual del horno de coque que comprende H<sub>2</sub> puede mezclarse con una corriente residual de convertidor que comprende CO para lograr una composición conveniente.

55

60

65

Además, o alternativamente, se puede proporcionar un gasificador para producir CO y H<sub>2</sub> a partir de una variedad de fuentes. La corriente producida por el gasificador puede mezclarse con una corriente que comprende CO para lograr una composición conveniente. Los expertos en la técnica apreciarán que las condiciones del gasificador se pueden controlar para lograr una relación particular de CO:H<sub>2</sub>. Además, el gasificador se puede subir y bajar para aumentar y disminuir la velocidad de flujo de la corriente que comprende CO y H<sub>2</sub> producida por el gasificador. Por consiguiente, una corriente de un gasificador puede mezclarse con una corriente de sustrato que comprende CO para optimizar la relación CO:H<sub>2</sub> para aumentar la productividad de alcohol y/o la captura general de carbono. Además, el gasificador se puede subir y bajar para proporcionar una corriente de flujo y/o composición variables que se puede mezclar con una corriente intermitente que comprende CO para lograr una corriente sustancialmente continua de composición conveniente.

Otras fuentes de CO y/o H2 que pueden mezclarse con una corriente de sustrato que comprende CO incluyen la reforma de hidrocarburos, tales como gas natural y/o metano y la reforma de metanol.

Adición de agua del purificador

De acuerdo con la invención, se puede utilizar agua del purificador en la reacción de fermentación para aumentar la eficiencia del crecimiento y la producción del producto.

- El aqua del purificador puede ser de cualquier fuente industrial apropiada, como se describió anteriormente en este 10 documento. En una realización particular de la invención, el aqua del purificador se obtiene del proceso de limpieza de uno o más gases de escape generados durante la fabricación de acero. A modo de ejemplo, el agua del purificador se obtiene al limpiar los gases de los hornos de coquización, el alto horno, el horno de oxígeno básico y/o el horno de arco eléctrico.
  - En ciertas realizaciones, el agua del purificador se obtiene del mismo proceso industrial del que se obtiene el sustrato de fermentación (gaseoso); por ejemplo, tanto el agua del purificador como el sustrato (gases de escape que contienen CO) se derivan de la misma acería.
- 20 El agua del purificador puede usarse en forma cruda directamente desde el sistema o aparato de purificación del proceso industrial. Sin embargo, el agua del purificador puede procesarse para eliminar o al menos reducir el nivel de partículas residuales en ella. Los expertos en la técnica a la que se refiere la invención apreciarán los métodos para procesar el agua del purificador. Sin embargo, a modo de ejemplo, el agua del purificador se puede filtrar, centrifugar o dejar sedimentar antes de la introducción en el fermentador.
- Como se analizó anteriormente, el pH del agua del purificador puede ajustarse antes de su uso. El pH apropiado dependerá de las condiciones requeridas para una reacción de fermentación particular teniendo en cuenta los medios nutritivos y los microorganismos utilizados, como apreciarán las personas con conocimientos en la técnica a la que se refiere la invención. En una realización preferida, en la fermentación de un sustrato gaseoso que contiene CO mediante 30 el uso de Clostridium autoethanogenum, el pH puede ajustarse a aproximadamente 5,5 a 6,5, con la máxima preferencia aproximadamente 5,5. Otros ejemplos incluyen, pH 5,5 a 6,5 con el uso de Moorella thermoacetica para la producción de ácido acético, pH 4,5 a 6,5 con el uso de Clostridium acetobutylicum para la producción de butanol y pH 7 con el uso de Carboxydothermus hygrogenaformans para la producción de hidrógeno.
- El agua del purificador se puede agregar a la reacción de fermentación mediante el uso de cualquier medio apropiado. A 35 modo de ejemplo, puede alimentarse directamente desde un aparato de purificación a un biorreactor en el que ocurre o va a ocurrir la fermentación. Alternativamente, puede recogerse de un aparato de purificación y almacenarse en una cámara apropiada que alimenta el biorreactor, o puede recogerse de un aparato de purificación, almacenarse y alimentarse manualmente al biorreactor. La adición del agua del purificador al biorreactor puede ser continua, o el agua 40 del purificador se puede agregar en ciertos puntos de tiempo en la reacción de fermentación, o a demanda, según lo requieran las circunstancias.
- En una realización de la invención, el aqua del purificador se mezcla con medios nutrientes para usar en la reacción de fermentación y después se agrega al biorreactor por cualquiera de los medios anteriores. En consecuencia, la invención 45 proporciona, además, una composición que comprende una mezcla de un medio nutriente apropiado y agua del purificador. Los expertos en la técnica a la que se refiere la invención apreciarán los medios nutrientes apropiados para su uso en la fermentación microbiana. Sin embargo, a modo de ejemplo, dichos medios pueden contener fuentes de nitrógeno, fosfato, potasio, sodio, azufre, una variedad de iones metálicos y vitaminas B, y similares. Más adelante se proporciona un medio ilustrativo en la sección titulada "Ejemplos".
  - El agua del purificador se puede usar en una cantidad de hasta aproximadamente 1:9 del medio nutriente al agua del depurador. En una realización preferida de la invención, el agua del purificador se usa en una proporción de aproximadamente 1:1 del medio nutriente al agua del purificador.
- 55 Como se apreciará, el aqua del purificador que es el resultado de procesos particulares puede contener componentes que son tóxicos o dañinos para microorganismos particulares. Por lo tanto, la invención no excluye todos los procesos de pretratamiento, pero evita dichos procesos adicionales si es posible. Alternativamente o además, la proporción del contenido de agua del purificador en un biorreactor puede controlarse de modo que los componentes potencialmente tóxicos o dañinos se mantengan por debajo de las concentraciones aceptables.

Agua del purificador como materia prima primaria

También se describen realizaciones en las que la reacción de fermentación se lleva a cabo mediante el uso de solo agua del purificador como materia prima. En otras palabras, el agua del purificador es la principal fuente de carbono para la reacción de fermentación. En esta realización, la reacción de fermentación puede llevarse a cabo sustancialmente como se describió anteriormente en el presente documento, pero no es necesario proporcionar o capturar gases que contienen

60

65

50

15

CO o proporcionar una fuente de carbono alternativa.

El agua del purificador puede introducirse a un biorreactor en el que se producirá la fermentación como se describió anteriormente en el presente documento. En una realización, se introduce directa y continuamente a un biorreactor desde un sistema o aparato de purificación a un nivel apropiado para mantener las condiciones óptimas para la reacción de fermentación.

En una realización relacionada, el agua del purificador se almacena y después se introduce al biorreactor en momentos en que una materia prima o sustrato alternativo no está disponible. Por ejemplo, los gases de escape generados en ciertos procesos de fabricación de acero no son constantes sino intermitentes. Cuando estos gases no están disponibles para alimentar la reacción de fermentación, el agua del purificador se introduce al biorreactor para mantener la producción de alcohol y aumentar la eficiencia general de la reacción. Tal proceso, mediante el cual el agua del purificador se complementa con medios de fermentación y se introduce a un biorreactor, se puede llevar a cabo mediante el uso de un sistema de retención celular (por ejemplo, filtración por membrana de flujo cruzado, centrifugación continua o un sistema celular inmovilizado). En esta realización, la mezcla de agua del purificador y medios de fermentación pueden fluir a través del reactor, lo que proporciona nutrición a las bacterias. Una ventaja de este sistema es que el agua del purificador contiene altos niveles de monóxido de carbono disuelto. Debido a que un coste principal del funcionamiento del proceso asociado con el uso de sustratos gaseosos para la fermentación es la compra y funcionamiento de equipos que permiten la transferencia de masa de gas CO desde la fase gaseosa a la fase líquida, el uso de corrientes líquidas que ya contienen CO reducirá significativamente este coste.

## General

10

15

20

25

30

35

40

45

60

65

Si bien la invención se describe ampliamente con referencia a cualquier tipo de corriente que pueda moverse a través o alrededor del (de los) sistema(s) mediante cualquier medio de transferencia conocido, el sustrato y opcionalmente las corrientes de escape son gaseosas. Los expertos en la técnica apreciarán que las etapas particulares se pueden acoplar por medios de conducción adecuados o similares, configurables para recibir o pasar corrientes a través de un sistema. Se puede proporcionar una bomba o compresor para facilitar el suministro de las corrientes a etapas particulares. Además, se puede usar un compresor para aumentar la presión del gas proporcionado a una o más etapas, por ejemplo, el biorreactor. Como se analizó anteriormente, la presión de los gases dentro de un biorreactor puede afectar la eficiencia de la reacción de fermentación que se realiza allí. Por lo tanto, la presión se puede ajustar para mejorar la eficiencia de la fermentación. Las presiones adecuadas para reacciones comunes son conocidas en la técnica.

Además, el proceso de la invención puede incluir opcionalmente medios para regular y/o controlar otros parámetros para mejorar la eficiencia general del proceso. Se pueden incorporar uno o más procesadores al sistema para regular y/o controlar parámetros particulares del proceso. Por ejemplo, realizaciones particulares pueden incluir medios de determinación para controlar la composición de sustrato y/o corriente(s) de escape. Además, realizaciones particulares pueden incluir un medio para controlar el suministro de la(s) corriente(s) de sustrato a etapas o elementos particulares dentro de un sistema particular si los medios determinantes determinan que la corriente tiene una composición adecuada para una etapa particular. Por ejemplo, en los casos en que una corriente de sustrato gaseoso contiene bajos niveles de CO o altos niveles de O2 que pueden ser perjudiciales para una reacción de fermentación, la corriente de sustrato puede desviarse del biorreactor. En realizaciones particulares de la invención, el sistema incluye medios para monitorear y controlar el destino de una corriente de sustrato y/o la velocidad de flujo, de modo que una corriente con una composición deseada o adecuada se pueda administrar a una etapa particular.

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

Además, el sistema puede incluir una o más etapas de tratamiento previo/posterior para mejorar el funcionamiento o la eficiencia de una etapa particular. Por ejemplo, una etapa de pretratamiento puede incluir medios para eliminar material particulado y/o hidrocarburos de cadena larga o alquitranes de una corriente de sustrato gaseoso. Otras operaciones previas o posteriores que pueden realizarse incluyen la separación del (de los) producto(s) deseado(s) de etapas particulares, como, por ejemplo, la etapa de producción del biorreactor (por ejemplo, eliminación de etanol por destilación).

En las figuras adjuntas se describen diversas realizaciones de sistemas de la invención. Las realizaciones alternativas descritas en las Figuras 1-13 comprenden características en común entre sí y se han usado los mismos números de referencia para denotar características iguales o similares en las diversas figuras. Solo se describen las nuevas características (con relación a la Figura 1) de las Figuras 2 a 13, por lo que estas Figuras deben considerarse junto con la descripción de la Figura 1.

La Figura 1 es una representación esquemática de un sistema 101 de acuerdo con una realización de la invención. La corriente de sustrato de entrada 1 ingresa al sistema 101 a través de un conducto adecuado. La corriente de sustrato de entrada 1 comprende CO y opcionalmente CO<sub>2</sub> y, en ciertas realizaciones, la corriente de sustrato es una corriente de gas residual de un proceso industrial, tal como el liberado durante la carburación del acero en un horno de oxígeno básico. Los niveles de componentes dentro de la corriente de gas 1 pueden fluctuar. Se puede incluir la válvula opcional 2 para

desviar la corriente 1 a otra parte (indicado por la corriente 3) si se determina que la corriente 1 no tiene una composición deseada. Por ejemplo, cuando se desea obtener CO de la corriente 1, se puede establecer un contenido mínimo de CO para la corriente 1, por lo que la corriente se desvía de un procesamiento posterior en el sistema 101 si no se alcanza el contenido mínimo de CO. Dicho umbral puede establecerse para evitar el procesamiento no rentable o no viable de una corriente. Se puede usar cualquier medio conocido para determinar si un gas tiene una composición conveniente. Además, "composición conveniente" se refiere no solo a las sustancias que se desean incluir en la corriente 1, sino también a componentes no deseados. Por ejemplo, la corriente 1 puede desviarse si un contaminante particular está presente en la corriente 1.

10 Como apreciará un experto en la técnica, la válvula 2 puede colocarse en otro lugar dentro del sistema 101. Por ejemplo, se puede colocar después del procesamiento por el biorreactor 5.

15

35

40

45

60

65

Si se determina que la corriente 1 tiene una composición deseada, se pasa al pretratamiento opcional 4. El pretratamiento 4 puede usarse para controlar varios aspectos de la corriente, incluida la temperatura y los niveles de contaminantes u otros componentes o constituyentes no deseados. También se puede usar para agregar componentes a la corriente. Esto dependerá de la fuente particular de la corriente de gas 1 y/o la reacción de fermentación particular y/o los microorganismos seleccionados para ello.

El pretratamiento 4 se puede colocar en otro lugar dentro del sistema 101 o se puede omitir, o se pueden proporcionar múltiples pretratamientos 4 en varios puntos del sistema 101. Esto dependerá de la fuente particular de la corriente de gas 1 y/o la reacción de fermentación particular y/o los microorganismos seleccionados para ello. Por ejemplo, se pueden proporcionar pretratamiento(s) adicional(es) aguas arriba del eliminador de CO<sub>2</sub> 8 para controlar aspectos de la corriente que ingresa al eliminador de CO<sub>2</sub> 8.

Después del pretratamiento opcional, la corriente puede pasar al biorreactor 5 por cualquier medio de transferencia conocido. Por ejemplo, la corriente puede ser conducida a través del sistema con uno o más ventiladores y/o bombas. El biorreactor 5 se configura para que se lleve a cabo la reacción de fermentación deseada para producir productos. De acuerdo con ciertas realizaciones, el biorreactor 5 se configura para procesar un sustrato que contiene CO para producir uno o más ácidos y/o uno o más alcoholes. En una realización particular, el biorreactor 5 se usa para producir etanol y/o butanol. El biorreactor 5 puede comprender más de un tanque, cada tanque se configura para realizar la misma reacción y/o diferentes etapas dentro de un proceso de fermentación particular y/o diferentes reacciones, incluidas diferentes reacciones para diferentes procesos de fermentación que pueden incluir una o más etapas comunes.

El biorreactor 5 puede estar provisto de medios de enfriamiento para controlar la temperatura dentro de los límites aceptables para los microorganismos utilizados en la reacción de fermentación particular a realizar.

Los productos producidos en el biorreactor 5 pueden recuperarse mediante cualquier proceso de recuperación conocido en la técnica. Sin embargo, en algunas realizaciones de la invención, al menos una porción del producto puede salir del biorreactor 5 en una corriente 7, que comprende componentes tales como CO<sub>2</sub> y opcionalmente CO no convertido. Dichas corrientes pueden tratarse opcionalmente en el eliminador de producto 6 para retirar cualquier producto antes de que la corriente 7 sustancialmente libre de producto pase al eliminador de CO<sub>2</sub> 8.

El eliminador de CO<sub>2</sub> 8 se configura para recibir la corriente 7, en donde al menos una porción de CO<sub>2</sub> presente en la corriente 7 se elimina de esta, lo que deja una corriente residual restante 9. En ciertas realizaciones, el eliminador de CO<sub>2</sub> 8 se configura para separar al menos una porción del componente de CO<sub>2</sub> de la corriente 7 y se adapta para capturar el CO<sub>2</sub> separado y/o convertirlo en productos adecuados para su uso o almacenamiento adicional. Alternativamente, el eliminador de CO<sub>2</sub> 8 puede configurarse para capturar CO<sub>2</sub> directamente y/o convertirlo en productos, a partir de la corriente 7.

Cuando el biorreactor 5 comprende una pluralidad de etapas o tanques separados, las corrientes de al menos un subconjunto de las etapas pueden ser recibidas por el eliminador de CO<sub>2</sub> 8. Además, se puede proporcionar más de un eliminador de CO<sub>2</sub> 8 aguas abajo para que la misma corriente se someta a una pluralidad de etapas de remoción de CO<sub>2</sub>, o se puede realizar una etapa de eliminación igual o diferente en las corrientes de diferentes etapas de fermentación o tanques.

De acuerdo con una realización alternativa representada en la Figura 2, el eliminador de  $CO_2$  8 se coloca aguas arriba del biorreactor 5 (c.f. aguas abajo en la Figura 1). Por lo tanto, de acuerdo con la realización de la Figura 2, el eliminador de  $CO_2$  8 puede usarse para capturar  $CO_2$  de la corriente de sustrato antes de que pase al biorreactor 5. La válvula opcional 2 puede configurarse de modo que, si se determina que el contenido de  $CO_2$  es demasiado bajo para una captura eficiente y/o efectiva de  $CO_2$ , la corriente puede pasar directamente al biorreactor 5. Alternativamente, la corriente 3 puede desviarse completamente del sistema, por ejemplo, en circunstancias en las que una corriente no es adecuada para la eliminación de  $CO_2$  o la fermentación.

De acuerdo con la realización de la Figura 3, el eliminador de CO<sub>2</sub> 8 se proporciona aguas abajo del biorreactor 5 y la válvula 10 se configura para dirigir la corriente 9 de vuelta al biorreactor 5 si se determina que queda suficiente CO en la corriente 9 para una fermentación adicional a productos. Sin embargo, si se determina que el contenido de CO de la

corriente está por debajo de un nivel deseado, la corriente se puede dirigir a otra parte (como lo indica la corriente 11). La realización de la Figura 3 también incluye las ventajas concomitantes tanto de la realización de la Figura 1 como de la Figura 2.

- La Figura 4 es una representación esquemática de un sistema 104 de acuerdo con una realización adicional de la invención. La corriente de gas de entrada 1 ingresa al sistema 104 a través de un conducto adecuado. La corriente de gas de entrada 1 puede ser una corriente de gas residual de un proceso industrial, como el que se libera durante la carburación del acero en un horno de oxígeno básico. La corriente de gas de entrada 1 comprende CO y opcionalmente CO2. Los niveles de componentes dentro de la corriente de gas 1 pueden fluctuar. Se puede incluir una válvula opcional 2 para desviar la corriente 1 a otra parte si se determina que la corriente 1 no tiene una composición deseada (como se indica por la corriente 3). Por ejemplo, cuando se desea obtener CO de la corriente 1, se puede establecer un contenido mínimo de CO para la corriente 1, por lo que la corriente se desvía de un procesamiento adicional en el sistema 104 si no se cumple el contenido mínimo. Dicho umbral puede establecerse para evitar el procesamiento no rentable o no viable de una corriente. Se puede usar cualquier medio conocido para determinar si un gas tiene una composición conveniente. Como se señaló anteriormente, "composición conveniente" puede referirse no solo a las sustancias que se desean incluir en la corriente 1, sino también a componentes no deseados. Por ejemplo, la corriente 1 puede desviarse si un contaminante particular está presente en la corriente 1.
- Como apreciará un experto en la técnica al considerar la presente descripción, la válvula 2 puede colocarse en otro lugar dentro del sistema 104. Por ejemplo, se puede colocar en el sistema después del procesamiento por el separador de gases 13.
- Si se determina que la corriente 1 tiene una composición deseada, se pasa al separador de gases 13. Al menos un primer componente de la corriente de gas 1 se separa de ella, dejando un componente restante. El al menos un primer componente o el componente restante pueden desviarse como corriente 12, y el otro componente pasa al pretratamiento opcional 4 y al biorreactor 5. Por lo tanto, cuando se requiere CO en una corriente de gas para alimentar una reacción de fermentación, el CO puede separarse del resto de la corriente, y solo el CO (o una corriente enriquecida con CO) pasa al biorreactor 5. Alternativamente, uno o más componentes de la corriente (por ejemplo, O<sub>2</sub> y/o H<sub>2</sub>) se pueden separar de modo que se eliminen al menos parcialmente, y el resto de la corriente pasa al biorreactor 5.

30

35

40

45

50

55

- Como será evidente para un experto en la técnica al considerar la presente descripción, el separador de gases 13 puede comprender una o una pluralidad de etapas o unidades separadas, donde se separan uno o más gases en cada etapa.
- A continuación, se proporciona una descripción adicional de los procesos y disposiciones para la separación de gases.
- Como se indicó anteriormente, el pretratamiento 4 se puede colocar en otro lugar dentro del sistema 104 o se puede omitir, o se pueden proporcionar múltiples pretratamientos 4 en varios puntos del sistema 104. El uso del pretratamiento 4 puede depender de la fuente particular de la corriente de gas 1 y/o la reacción de fermentación particular y/o los microorganismos seleccionados para ello.
- El biorreactor 5 se configura para realizar la reacción de fermentación deseada. De acuerdo con ciertas realizaciones, el biorreactor 5 se configura para procesar un sustrato que contiene CO para producir uno o más ácidos y/o uno o más alcoholes. En realizaciones particulares, el biorreactor 5 se usa para producir etanol y/o butanol. El biorreactor 5 puede comprender más de un tanque, cada tanque se configura para realizar la misma reacción y/o diferentes etapas dentro de un proceso de fermentación particular y/o diferentes reacciones, incluidas diferentes reacciones para diferentes procesos de fermentación que pueden incluir una o más etapas comunes.
- El biorreactor 5 puede estar provisto de medios de enfriamiento para controlar la temperatura dentro de los límites aceptables para los microorganismos utilizados en la reacción de fermentación particular a realizar.
- De acuerdo con la realización alternativa de la Figura 5, el separador de gases 13 se coloca aguas abajo del biorreactor 5 (c.f. aguas arriba en la Figura 4). Por lo tanto, de acuerdo con la realización de la Figura 5, el separador de gases 13 puede usarse para separar uno o más componentes de los gases producidos por la reacción de fermentación en el biorreactor 5, y/o para separar gases que se han introducido pero no se han usado en el biorreactor 5. Cuando el biorreactor 5 comprende una pluralidad de etapas o tanques separados, los gases de al menos un subconjunto de las etapas pueden ser recibidos por el separador de gases 13. Además, se puede proporcionar más de un separador de gases aguas abajo 13, de modo que la misma corriente de gas experimente una pluralidad de separaciones, o se puede realizar una separación igual o diferente en las corrientes de gases provenientes de diferentes etapas de fermentación o tanques
  - De acuerdo con la realización de la Figura 6, los separadores de gases 13 se proporcionan aguas arriba y aguas abajo del biorreactor 5 con las ventajas correspondientes tanto de la realización de la Figura 4 como de la Figura 5.
- Se puede proporcionar una bomba o compresor (no mostrado) aguas arriba del biorreactor 5 para aumentar la presión del gas dentro del biorreactor 5. Como se analizó anteriormente, la presión de los gases dentro de un biorreactor puede afectar la eficiencia de la reacción de fermentación que se realiza allí. Por lo tanto, la presión se puede ajustar para mejorar

la eficiencia de la fermentación. Las presiones adecuadas para reacciones comunes son conocidas en la técnica.

10

15

20

25

30

35

40

65

La corriente de gas 1 puede comprender una pluralidad de corrientes diferentes. Se pueden proporcionar elementos de procesamiento separados para diferentes corrientes, donde solo un subconjunto de los elementos es común. Por ejemplo, un primer separador de gases puede recibir una primera corriente y un segundo separador puede recibir una segunda corriente. Las salidas del primer y el segundo separadores pueden pasar a un biorreactor común. Otros grupos de características en común o diferencias se incluyen dentro del alcance de la invención.

La Figura 7 es una representación esquemática de un sistema 107 de acuerdo con una realización de la invención. La corriente de gas residual 14 ingresa al sistema 107 a través de un conducto adecuado derivada de un proceso industrial (por ejemplo, carburación de acero en un BOF). La corriente 14 es de naturaleza intermitente como lo indica la línea discontinua. La corriente 14 puede ser una corriente constante en el sentido de que se suministra constantemente, pero el contenido de gases particulares dentro de la corriente puede variar con el tiempo. Por ejemplo, el CO dentro de la corriente 14 puede variar entre niveles altos y bajos con el tiempo. Independientemente de si la corriente 14 se produce de manera constante o intermitente, durante los momentos en que los niveles de un gas deseado son demasiado bajos para soportar una reacción de fermentación (o los niveles de un gas no deseado (por ejemplo, O2) son demasiado altos), la válvula 2 puede usarse para desviar la corriente 14 a otra parte, incluso a la atmósfera (como lo indica la corriente 3). En momentos en que la corriente 14 comprende un gas deseado a una concentración deseada, la válvula 2 pasa la corriente resultante 15 al tanque de almacenamiento amortiguador 16. La corriente 15 también se muestra en línea discontinua debido a su naturaleza posiblemente intermitente.

El tanque de almacenamiento del amortiguar 16 actúa como un depósito que introduce gas al biorreactor 5 después de cualquier tratamiento previo del gas en el pretratamiento 4. El pretratamiento 4 puede colocarse en otro lugar dentro del sistema 1 o incluso omitirse, según la fuente particular de la corriente de gas 14 y/o la reacción de fermentación particular y/o los microorganismos seleccionados para ello.

El tanque de almacenamiento amortiguador 16 libera preferentemente una corriente constante 17 de gas, que pasa al pretratamiento 4 y después al biorreactor 5 como una corriente constante 18. Las corrientes 17 y 18 se muestran como una línea continua para reflejar su naturaleza sustancialmente continua. El gas puede comprimirse dentro del tanque de almacenamiento amortiguador 16 para reducir el espacio requerido para este. Se puede usar una válvula (no mostrada) u otro medio para establecer la velocidad de flujo de gas desde el tanque de almacenamiento amortiguador 16. La velocidad es preferentemente constante y se selecciona de modo que el tanque de almacenamiento amortiguador 16 siempre tenga un suministro de gas y no se agote. De acuerdo con una realización, los medios de control (no mostrados) pueden controlar la válvula para variar la velocidad de flujo del gas 15 según la cantidad de gas contenido allí. Más particularmente, cuando el gas almacenado en el tanque de almacenamiento amortiguador 16 cae por debajo de un nivel predeterminado, la tasa de flujo de gas desde el tanque de almacenamiento amortiguador 16 puede reducirse de modo que, mientras no pasen niveles óptimos de gas al biorreactor 5, se proporcionan niveles reducidos, lo que puede al menos mitigar los efectos sobre la productividad del biorreactor 5 al proporcionar condiciones mejoradas para los microorganismos dentro del biorreactor 5.

Por lo tanto, la naturaleza intermitente de la corriente 14 se mitiga en la realización mostrada en la Figura 7 debido a la amortiguación de gas en el tanque de almacenamiento 16.

Como será evidente para un experto en la técnica al considerar la presente descripción, el tanque de almacenamiento amortiguador 16 incluye preferentemente un puerto de escape para eliminar los gases residuales del proceso de fermentación. El biorreactor 5 también puede estar provisto de medios de enfriamiento para controlar la temperatura dentro de los límites aceptables para los microorganismos.

De acuerdo con una realización alternativa del sistema 107, el tanque de almacenamiento amortiguador 16 se sustituye por una forma alternativa de almacenamiento que realiza la misma función o una función similar. Estas pueden incluir una o más de absorción, adsorción y cambios de presión y/o temperatura. De acuerdo con una realización, el gas se almacena en solución y después la solución se introduce al biorreactor 5. Tal disposición puede reducir el tiempo de procesamiento dentro del biorreactor 5, porque los gases requeridos ya están disueltos antes de que lleguen al biorreactor 5.

En la disposición que se muestra en la Figura 8, el tanque de almacenamiento amortiguador 16 es opcional, como lo indica la línea discontinua. En realizaciones que omiten el tanque de almacenamiento amortiguador 16, la corriente 14 pasa al biorreactor 5 cuando esté disponible y tenga una composición aceptable, lo que da como resultado que las corrientes 19 y 20 sean de naturaleza intermitente. Como se mencionó anteriormente, esto puede no ser ideal para microorganismos o procesos particulares. Cuando se incluye el tanque de almacenamiento amortiguador 16, una parte de la corriente 15 puede desviarse hacia él, de modo que cuando la corriente 15 esté disponible, el gas pase tanto al biorreactor 5 como al tanque de almacenamiento amortiguador 16. El gas que pasó al tanque de almacenamiento amortiguador 16 puede almacenamiento sen que la corriente 15 no esté disponible. Al menos una corriente de gas de bajo nivel puede pasar del tanque de almacenamiento amortiguador 16 al biorreactor 5.

Como será evidente para un experto en la técnica, la corriente de gas residual 14 de un proceso industrial puede estar a una temperatura alta. Los intervalos de temperatura permisibles para los microorganismos varían, pero son del orden de

30 °C a 50 °C para las bacterias anaerobias que se usan típicamente para producir alcoholes como el etanol. La corriente de gas 14 puede hacer que la temperatura dentro del biorreactor 5 aumente, lo que se ve exacerbado por la naturaleza exotérmica de los procesos de fermentación, lo que da como resultado la necesidad de incluir medidas de enfriamiento dentro del sistema. De acuerdo con una realización, la naturaleza intermitente de la corriente 14 se tiene en cuenta al configurar los medios de enfriamiento para el biorreactor 5. Más particularmente, durante los momentos en que la corriente 14 no está disponible o no tiene la composición deseada, la temperatura dentro del biorreactor 5 puede reducirse a la del extremo inferior del intervalo de temperatura permisible para los microorganismos utilizados (por ejemplo, hacia los 30 °C). Después, cuando la corriente de gas 14 está disponible con la composición deseada, se permite un aumento de temperatura dentro del biorreactor 5, que reduce así los requisitos de los medios de enfriamiento que se proporcionan cuando el gas se introduce al biorreactor 5. Por lo tanto, para las bacterias anaerobias típicamente utilizadas para producir alcoholes como el etanol, se puede permitir que la temperatura dentro del biorreactor 5 se acerque a 50 °C. De acuerdo con una realización, en el caso en que el biorreactor 5 se acerque a una temperatura máxima permitida, se puede inhibir la entrada de la corriente de gas 14 al biorreactor 5 incluso si está disponible en la composición deseada, para permitir que la temperatura dentro del biorreactor 5 pueda controlarse más fácilmente. En tales casos, el gas puede almacenarse para su uso posterior o desviarse a otro lugar, donde puede someterse a etapas de procesamiento adicionales como será evidente para un experto en la técnica al considerar la presente descripción. Las realizaciones particulares de la invención proporcionan la nivelación de la carga de enfriamiento.

10

15

La Figura 9 es una representación esquemática de un sistema 109 de acuerdo con otra realización de la invención. El compresor 22 sirve para comprimir la corriente intermitente 21, cuando está disponible, para entregar la corriente comprimida 23 al biorreactor 5. Por lo tanto, de acuerdo con la realización de la Figura 9, el biorreactor 5 funciona efectivamente tanto como un tanque de fermentación como un tanque de almacenamiento al retener el gas a una presión elevada cuando la corriente 14 está disponible y tiene la composición deseada. Durante los descansos en la corriente 14 o cuando la corriente 14 no tiene la composición deseada, los gases residuales pueden ser extraídos lentamente del biorreactor 5 de tal manera que la presión del gas dentro del biorreactor 5 caiga, pero de manera que se mantengan niveles suficientes de los gases deseados de manera continua o suficientemente bien mantenidos para evitar períodos de tiempo significativos durante los cuales los microorganismos estén privados de los gases.

Las Figuras 10a y 10b son representaciones esquemáticas de los sistemas 110a y 110b de acuerdo con otra realización de la invención en la que se usan múltiples corrientes de gases intermitentes 14a y 14b para alimentar la reacción de fermentación dentro del biorreactor 5. Por lo tanto, cuando la corriente 14a no está disponible o no tiene la composición deseada, el biorreactor 5 puede alimentarse alternativamente por la corriente 14b. Como será evidente para un experto en la técnica, pueden estar disponibles más de dos fuentes de corrientes de gases. Además, la cantidad de características comunes entre las etapas de procesamiento de las corrientes puede variar según las composiciones particulares de cada corriente. La disposición mostrada en las Figuras 10a y 10b puede implementarse en una fábrica de acero con diferentes corrientes que se originan en diferentes etapas del proceso de fabricación de acero. Adicional o alternativamente, se pueden usar otras fuentes de gas. Por ejemplo, en fermentaciones que usan bacterias anaerobias para producir alcoholes como el etanol, se pueden usar fuentes convencionales para proporcionar la corriente (por ejemplo, biomasa).

La Figura 11 es una representación esquemática de un sistema 111 de acuerdo con otra realización de la invención, que incorpora varias de las etapas descritas anteriormente en este documento. La corriente intermitente 14 se convierte en una corriente sustancialmente continua 17 como se describió previamente con referencia a la Figura 7. La corriente 17 sustancialmente continua pasa al separador de gases 13, que está adaptado para separar el CO<sub>2</sub> de otros componentes de la corriente de sustrato, como el CO. La corriente separada 12 que comprende CO<sub>2</sub>, pasa al eliminador de CO<sub>2</sub> 8, donde puede convertirse en productos adecuados para su uso posterior o almacenarse. El resto de la corriente que comprende CO pasa al pretratamiento opcional 4 y después al biorreactor 5. Se puede proporcionar un conducto opcional 24 para el paso de una corriente que comprende CO<sub>2</sub> que sale del biorreactor 5 de vuelta al eliminador de CO<sub>2</sub> 8, donde se puede convertir en productos adecuados para su uso posterior o almacenarse.

La Figura 12 es una representación esquemática de un sistema 112 de acuerdo con otra realización de la invención. El horno de oxígeno soplado 25 puede ser parte de un proceso industrial tal como la descarburación del acero y produce una corriente residual 1. La corriente residual 1 comprende CO y opcionalmente CO<sub>2</sub>. La corriente residual 1 se pasa a través del pretratamiento opcional 4a. Típicamente, el pretratamiento 4a será un purificador o baño de agua adaptado para eliminar las partículas de la corriente 1. La válvula 2a está adaptada para desviar al menos una porción de la corriente 1 al tubo de evacuación 26 cuando se determina que la corriente no tiene la composición deseada. La corriente desviada está representada por la flecha 3a. Típicamente, la corriente desviada hacia el tubo de evacuación 26 saldrá a la atmósfera como se representa por la flecha 27. Típicamente, la corriente es gaseosa y puede ser conducida al tubo de evacuación y opcionalmente a través del sistema 113 por uno o más ventiladores y/o bombas.

Si se determina que la corriente 1 tiene una composición deseada, puede desviarse al intercambiador de calor opcional 28a como corriente 14. Típicamente, la corriente 14 será de naturaleza intermitente y puede necesitar enfriamiento. El intercambiador de calor 28a puede ser cualquier medio de intercambio de calor conocido en la técnica. Sin embargo, a modo de ejemplo, es un intercambiador de calor de carcasa y tubos. El pretratamiento opcional 4b puede usarse para eliminar partículas residuales de la corriente si es necesario. A modo de ejemplo, se puede usar un filtro de membrana para eliminar las partículas residuales de la corriente. El pretratamiento 4b también puede incluir medios para eliminar el aqua condensada de la corriente opcionalmente enfriada, tal como un separador vapor-líquido u otros medios adecuados

de recolección de humedad conocidos en la técnica.

La corriente se puede presurizar por cualquier medio adecuado, como el compresor de gas 22, antes de pasar a la etapa de eliminación de oxígeno 29. Puede usarse cualquier medio adecuado para la eliminación de oxígeno, sin embargo, a modo de ejemplo; la etapa de eliminación de oxígeno 29 incluye un catalizador de cobre caliente o un convertidor catalítico. La corriente se puede enfriar mediante el uso del intercambiador de calor opcional 28b, antes de pasar al tubo de retención 30. El tubo de retención 30 tiene una longitud suficiente para que la composición de la corriente se pueda determinar por cualquier medio de determinación apropiado (no mostrado) antes de que la corriente llegue a la válvula 2b. Si se determina que la corriente tiene una composición conveniente, se puede desviar a los medios de almacenamiento del tampón 16 mediante la válvula 2b. Si la composición no es adecuada para la fermentación, por ejemplo, el contenido de oxígeno es demasiado alto, la válvula 2b puede desviar la corriente hacia el tubo de evacuación 26 (como se representa con la flecha 3b). Los medios de amortiguación 16 pasan la corriente de sustrato sustancialmente continua 17 al biorreactor 5, a través del pretratamiento opcional 4c. El pretratamiento opcional 4c se puede usar para eliminar contaminantes no deseados, como los microbios, de la corriente 17. A modo de ejemplo, se puede usar un filtro o membrana de esterilización para eliminar las bacterias no deseadas de la corriente. La corriente residual 3c que sale del biorreactor 5 también se puede pasar al tubo de evacuación 26.

Los medios para determinar la composición de la corriente pueden incluirse opcionalmente en cualquier etapa del sistema. A modo de ejemplo, se pueden incluir medios para determinar la composición de O<sub>2</sub>, CO y/o CO<sub>2</sub> aguas arriba de la válvula 2a, aguas arriba del tubo de retención 30 o la válvula 2b y/o aguas arriba del biorreactor 5. Además, debido a la naturaleza potencialmente inflamable de las corrientes, también se pueden incluir equipos de seguridad como los parallamas en cualquier etapa del sistema.

La Figura 13 es una representación esquemática de un sistema 113 de acuerdo con otra realización de la invención. La corriente residual 1 y la corriente 31, una de las cuales o ambas pueden ser intermitentes, se dirigen al mezclador 32. El mezclador 32 se adapta para controlar el flujo de al menos dos corrientes (como la corriente 1 y 31) y mezclar las corrientes para lograr una corriente con una composición deseada (corriente 33). Las corrientes no deseadas, como las corrientes con una composición indeseable, pueden desviarse del sistema 113 como lo indica la flecha 3, mientras que las corrientes con una composición conveniente 33 pueden dirigirse al amortiguador opcional 16, al pretratamiento opcional 4 y después al biorreactor 5 para la conversión a productos. La composición y las velocidades de flujo de las corrientes 1, 3, 31 y 33 pueden controlarse de forma continua o de otro modo por cualquier medio conocido en la técnica.

La corriente 1 y/o la corriente 31 pueden desviarse adicional o alternativamente del mezclador 32 antes de entrar en él en función de sus composiciones individuales. Tal disposición permite usar una de las corrientes 1, 31 donde solo una tiene una composición indeseable.

En realizaciones particulares, el mezclador 32 incluye una cámara de mezcla que típicamente comprenderá un recipiente pequeño o una sección de tubería. En tales casos, el recipiente o la tubería pueden estar provistos de medios de mezcla, tales como deflectores, adaptados para promover la turbulencia y la rápida homogeneización de los componentes individuales.

En ciertas realizaciones de la invención, el mezclador 32 incluye medios para controlar la combinación de dos o más corrientes para lograr una corriente de sustrato 33 optimizada conveniente. Por ejemplo, el mezclador 32 puede incluir medios para controlar las velocidades de flujo de cada una de las corrientes 1 y 31 que entran en el mezclador 32 de manera que se logra una composición conveniente de la corriente 33 (por ejemplo, relación CO:H<sub>2</sub> conveniente). El mezclador también incluye preferentemente medios de monitorización (continuos o no) aguas abajo de la cámara de mezcla. En realizaciones particulares, el mezclador incluye un procesador adaptado para controlar las velocidades de flujo y/o composiciones de las diversas corrientes como resultado de la retroalimentación de los medios de monitorización.

## 50 **EJEMPLOS**

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

Los medios y soluciones utilizados en las fermentaciones descritas en estos ejemplos contienen los siguientes componentes, a menos que se indique de cualquier otra manera.

## Medios:

60

10

15

35

40

45

Tabla 1: Composición de los medios LM23 y LM33

Concentración por 1,0 I de medios Concentración por 1,0 I de medios Componente de los medios (LM23) (LM33)  $MgCI_{2}.6H_{2}O$ 0,5 g 0,5 g NaCl 0,2 g 0,2 g CaCl<sub>2</sub> 0,2 g 0,2 g 160 ml Tampón de fosfato de sodio 100 mM (pH 6,0)\* NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2,04 g NH<sub>4</sub>CI 0,6 g 2,5 g 0,05 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 85 % KCI 0,15 g 0,15 g Solución compuesta de trazas 10 ml 10 ml metálicas (LSO6) 10 ml 10 ml Solución compuesta de vitamina B (LS03) Resazurina (reserva 1000 mg/L) 1 ml 2 ml FeCl<sub>3</sub> 0,0025 g 0,01 g Monohidrato de cisteína HCl 0,75 g 0,5 g Agarosa (opcional) 15 g 15 g Agua destilada Hasta 1 litro Hasta 1 litro Combinar NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (13,2 g) y Na<sub>2</sub>HPO<sub>2</sub>.7H<sub>2</sub>O (1,1 g) en H<sub>2</sub>O (1 l).

Tabla 2: Composición de solución vitamínica (LS03) y solución de trazas de metal (LS06)

Solución compuesta de vitamina B (LS03)	por L de reserva	Solución compuesta de trazas metálicas (LSO6)	por L de reserva 1,5 g	
Biotina	20,0 mg	Ácido nitrilotriacético		
Ácido fólico	20,0 mg	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3,0 g	
Clorhidrato de piridoxina	10,0 mg	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,5 g	
Tiamina HCI	50,0 mg	NaCl	1,0 g	
Riboflavina	50,0 mg	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,1 g	
Ácido nicotínico	50,0 mg	Fe(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,8 g	
D-(*)-pantotenato de calcio	50,0 mg	CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,2 g	
Vitamina B12	50,0 mg	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,2 g	
ácido p-aminobenzoico	50,0 mg	CuCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,02 g	
Ácido tioctico	50,0 mg	AIK(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> .12H <sub>2</sub> O	0,02 g	
Agua destilada	Hasta 1 litro	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,30 g	
		NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,03 g	
		Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0,02 g	
		NiCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0,02 g	
		Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,02 g	
		Agua destilada	Hasta 1 litro	

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

## Metodología

#### Medios

15

25

Las soluciones de los medios LM23 y LM33 se prepararon a pH 5,5 de la siguiente manera. Todos los ingredientes con la excepción de cisteína HCL se mezclaron en 400 ml de dH<sub>2</sub>O. Esta solución se hizo anaeróbica calentándola hasta ebullición y permitiendo que se enfriara a temperatura ambiente bajo un flujo constante de gas con 95 % de CO<sub>2</sub>. Una vez fría, se añadió cisteína HCL y el pH de la solución se ajustó a 5,5 antes de aumentar el volumen hasta 1000 ml (por ejemplo 1) o 500 ml (por ejemplo 2). La anaerobicidad se mantuvo a lo largo de los experimentos.

Gas de escape de una acería

El gas de escape de una acería se obtuvo de las instalaciones de New Zealand Steel Glenbrook en Glenbrook, Nueva Zelanda. Más particularmente, fue capturado y almacenado en bolsas impermeables al gas o presurizado en cilindros de acero para gas a 100-130 bar. Se accedió a los gases de escape de una acería almacenados dentro de las bolsas a través de un tabique de goma de butilo impermeable al gas. La composición del gas de la acería varía con el tiempo según la etapa de producción del acero. Sin embargo, el gas se recogió durante el proceso de descarburación y dichos gases contienen típicamente CO: 43-50 %; CO<sub>2</sub>: 17-20 %; H<sub>2</sub>: 2-3 %; N<sub>2</sub>: 27-34 %.

20 Purificador de agua de la acería

El agua, utilizada para purificar (limpiar) la corriente de gas de escape del KOBM en las instalaciones de New Zealand Steel Glenbrook en Glen-brook, Nueva Zelanda, se filtró una vez mediante el uso de un embudo Buchner y una línea de vacío a través de papel de filtro S95. El pH del agua filtrada se ajustó a 5,5 y se burbujeó gas con 95 % de CO, 5 % de CO<sub>2</sub> durante 45 minutos antes de su uso posterior.

#### **Bacterias**

Clostridium autoethanogenum se obtuvo del Centro Alemán de Recursos para Material Biológico (DSMZ). El número de acceso dado a la bacteria es DSMZ 10061. Alternativamente, el Clostridium autoethanogenum utilizado es el que se depositó en el Centro Alemán de Recursos para Material Biológico (DSMZ) y se le asignó el número de acceso 19630.

Muestreo y procedimientos analíticos

35 Se tomaron muestras de medios a intervalos durante un período de 5 días. Cada vez que se tomaron muestras de los medios, se tuvo cuidado de garantizar que no se permitiera la entrada o salida de gas de los reactores/botellas de suero.

Todas las muestras se usaron para establecer la absorbancia a 600 nm (espectrofotómetro) para determinar la densidad celular y el nivel de sustratos y productos se determinó por HPLC y GC. La HPLC se usó habitualmente para cuantificar el nivel de acetato, etanol. Se usó GC para cuantificar el porcentaje de gas (v/v) de monóxido de carbono, hidrógeno y nitrógeno.

**HPLC** 

45 Sistema HPLC Agilent serie 1100. Fase móvil: ácido sulfúrico 0,0025 N. Flujo y presión: 0,800 mL/min. Columna: Alltech IOA; Catálogo # 9648, 150 x 6,5 mm, tamaño de partícula 5 μm. Temperatura de la columna: 60 °C. Detector: índice de refracción. Temperatura del detector: 45 °C.

Procedimiento para la preparación de la muestra: 400 µl de muestra + 50 µl de ZnSO<sub>4</sub> 0,15 M + 50 µl de Ba(OH)<sub>2</sub> 0,15 M en un tubo Eppendorf. Centrifugar 10 min a 12 000 rpm, 4 °C. Transferir 200 ml de sobrenadante a un frasco de HPLC e inyectar 5 µl en el instrumento de HPLC.

Cromatografía de gases

Se usó un cromatógrafo de gases CP-4900 Micro-GC, de doble canal: CP-4900 channel Molecular Sieve 5A PLOT, 10 m, 0,25 mm ID, retrolavado de 4,2 segundos, temperatura de la columna e inyector 70 C, gas portador de argón 200 kPa, inyección de 40 milisegundos. CP-4900 channel PoraPLOT Q, 10 m, 0,25 mm ID, temperatura del inyector 70 C y temperatura de la columna 90 C, gas portador de helio 150 kPa, inyección de 40 milisegundos. Tiempo de muestreo de 20 segundos. Tiempo de ejecución del método de 2 minutos. La línea de muestra se calentó a 70 °C y se unió con un secador de Nafion.

Ejemplo 1 Fermentación con el uso de gas de escape de una acería

Ejemplo 1a (botella de suero)

La incubación se realizó en botellas de suero selladas de 250 ml, cada una de las cuales contenía 50 ml de los medios. El espacio superior de cada botella de suero se enjuagó primero tres veces con CO<sub>2</sub>, antes de ser evacuado y llenado con gas de escape recolectado de la acería a una presión final de 25 psig. Cada botella se inoculó con 1 ml de un cultivo de *Clostridium autoethanogenum*. Se usó una incubadora con agitación y la temperatura de reacción se mantuvo a 37 °C.

Se tomaron muestras de medios a intervalos durante un período de 15 días. En cada momento se tomaron muestras de los medios. Se tuvo cuidado para asegurar que no entrara ni saliera gas de la botella de suero.

Todas las muestras se usaron para establecer la densidad celular y el nivel de acetato.

Como se puede ver en las Figuras 14 y 15, el crecimiento celular y la producción de acetato aumentaron durante los primeros 10 días antes de disminuir lentamente. Por lo tanto, el crecimiento celular y la producción de acetato se mantuvieron fácilmente con el uso del gas de escape de la acería a pesar de que no se realizaron etapas de tratamiento adicionales en el gas antes de su uso en la reacción de fermentación.

Eiemplo 1b (botella de suero)

La incubación se realizó en botellas de suero selladas de 234 ml, cada una de las cuales contenía 50 ml del medio LM33. El espacio superior de 184 ml de cada botella de suero se enjuagó primero tres veces con gas de escape de la acería, antes de evacuarse y llenarse a una sobrepresión de 30 psig. Cada botella se inoculó con 2 ml de un cultivo de *Clostridium autoethanogenum*. Se usó una incubadora con agitación y la temperatura de reacción se mantuvo a 37 °C. Los resultados de los experimentos se proporcionan en la Tabla 3.

Tabla 3: Botella de suero (30 psig; 50 % de CO; 18 % de CO<sub>2</sub>; 3 % de H<sub>2</sub>; 29 % de N<sub>2</sub>)

Día	0	1	2
Biomasa (g/L)	0,08	0,22	0,19
Acetato (g/L)	0,4	1,4	3,2
Etanol (g/L)	0	0	0,3
Sobrepresión (psig)	30	28	18

Ejemplo 1c (Reactor continuo de tanque agitado de 10 I)

Un biorreactor Bioflo 3000 se llenó con 5 l del medio LM33 sin solución de cisteína ni vitaminas (LS03) y se esterilizó en autoclave durante 30 minutos a 121 °C. Mientras se enfriaba, los medios se rociaron con N2 y se añadieron la solución LS03 y Cisteína. El gas se cambió a gas de escape de la acería antes de la inoculación con 150 ml de un cultivo de *Clostridium autoethanogenum*. El biorreactor se mantuvo a 37 °C y se agitó a 200 rpm al comienzo del cultivo con un flujo de gas de 60 ml/min. Durante la fase de crecimiento, la agitación se incrementó a 400 rpm y el flujo de gas se ajustó a 100 ml/min. El pH se ajustó a 5,5 y se mantuvo mediante la adición automática de NaOH 5 M. Los resultados de este experimento, incluido el consumo de gas, se proporcionan en la Tabla 4.

45

5

10

15

20

25

30

35

40

50

55

60

Tabla 4: Fermentación en CSTR suministrado con gas de acería

Día	1	2	3	4	5
Biomasa (g/L)	0,05	0,08	0,30	0,28	0,20
Acetato (g/L)	0,40	0,78	2,76	3,10	4,03
Etanol (g/L)	0,00	0,00	0,00	0,48	0,71
Flujo de entrada de gas (ml/min)	60	60	100	100	100
CO [%]entrada de gas	49,5	49,5	49,5	49,5	49,5
CO2 [%]entrada de gas	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
H2 [%]entrada de gas	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9
N2 [%]entrada de gas	27,7	27,7	27,7	27,7	27,7
Flujo de salida de gas (ml/min)	55	55	73	94	92
CO [%]salida de gas	49,2	35,8	16,4	46,1	45,5
CO2 [%]salida de gas	16,9	30,6	44,6	21,1	21,1
H2 [%]salida de gas	3,2	3,2	1,1	3,2	3,2
N2 [%]salida de gas	30,4	30,4	37,8	29,5	30,2

Ejemplo 1d (Reactor de tipo Gas Lift de 50 I)

Un reactor de tipo gas-lift de 50 l (2900 mm de altura x 150 mm de diámetro y tubo de aspiración de 2000 mm de altura x 95 mm de diámetro) se llenó con 37 l de medio LM33 esterilizado en filtro a través de un filtro con poros de 0,2 micrómetros (filtro Pall KA2 DFL P2). El medio se roció durante 18 h con nitrógeno antes de cambiarse a gas de escape de la acería previo a la inoculación con 5 l de un cultivo de *Clostridium autoethanogenum*. El reactor de tipo Gas-Lift se mantuvo a 37 °C y la mezcla se logró recirculando el gas del espacio superior a 15 l/min. El flujo de gas en el reactor era de 500 ml/min al comienzo. La sobrepresión del espacio superior se mantuvo a 8 psig. Durante la fase de crecimiento, el flujo de gas en el reactor se incrementó a 1000 ml/min. El pH se ajustó a 5,5 y se mantuvo mediante la adición automática de NaOH 5 M. Los resultados de este experimento, incluido el consumo de gas, se proporcionan en la Tabla 5.

Tabla 5: Fermentación en reactor de tipo Gas-Lift suministrado con gas de acería

Día	1	2	3	4	5
Biomasa (g/L)	0,15	-	-	0,36	0,36
Acetato (g/L)	0,87	3,93	7,90	9,44	10,86
Etanol (g/L)	0,00	0,00	0,21	0,38	0,48
Flujo de entrada de gas (ml/min)	500	500	1000	1000	1000
CO [%]entrada de gas	43,6	43,6	43,6	44,3	44,3
CO2 [%]entrada de gas	19,7	19,7	19,7	20,0	20,0
H2 [%]entrada de gas	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
N2 [%]entrada de gas	33,9	33,9	33,9	32,8	32,8
Flujo de salida de gas (ml/min)	341	-	-	690	716
CO [%]salida de gas	29,1	-	-	33,1	41,3
CO2 [%]salida de gas	29,5	-	-	28,5	22,7
H2 [%]salida de gas	2,9	-	-	3,0	2,6
N2 [%]salida de gas	38,4	-	-	34,8	33,5

Las realizaciones particulares de la invención aumentan la aplicabilidad de las reacciones de fermentación microbiana mediante el uso de gases residuales industriales, particularmente para la producción de etanol por *Clostridium autoethanogenum*. Los gases residuales que comprenden CO obtenido directamente de procesos industriales pueden usarse como sustrato en reacciones de fermentación para producir productos tales como acetato y/o etanol. Esto dará como resultado la captura de carbono en los gases residuales, lo que mejorará o reducirá los desechos producidos por los procesos industriales, en particular la fabricación de acero, y reducirá los costes asociados con las reacciones de fermentación operativas.

## Ejemplo 2: Fermentación con agua del purificador

Bajo un flujo continuo de gas de 95 % de CO, 5 % de CO<sub>2</sub>, se dispensaron 25 ml de medio LM23 en botellas de suero de 250 ml y se mezclaron con 25 ml de dH<sub>2</sub>O (botellas de control) o 25 ml de agua del purificador anaeróbico con pH ajustado (botellas experimentales). Todas las botellas se detuvieron con tabiques de goma de butilo impermeables al gas y se sellaron antes de esterilizar en autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

Una vez que se enfriaron, todas las botellas de suero se inocularon con 1 ml de un cultivo de *Clostridium autoethanogenum* que estaba creciendo activamente en 95 % de CO, 5 % de CO<sub>2</sub>. El gas del espacio superior se presurizó a 35 psig con 95 % de CO, 5 % de CO<sub>2</sub>. Una muestra inicial de los medios se tomó asépticamente de cada botella. Las botellas se colocaron en una incubadora con agitación a 37 °C.

Se tomaron muestras de medios a intervalos regulares durante un período de 15 días. Cada vez que se tomaron muestras de los medios, el espacio superior de cada botella se enjuagó tres veces con 95 % de CO, 5 % de gas  $CO_2$  antes de presurizar con este gas a 35 psig.

25 Todas las muestras se usaron para establecer la concentración celular más el nivel de etanol y acetato en cada cultivo.

#### Resultados

5

10

15

20

30

Como se puede observar en las Figuras 16 y 17, el impacto de agregar 50 % de agua del purificador a los medios incluyó:

- 1. Niveles más bajos de producción de acetato;
- 2. 45 % de aumento en la densidad bacteriana final; y
- 3. 44 % de aumento en el nivel de producción de etanol
- Como tal, las realizaciones particulares de la invención aumentan la eficacia del crecimiento y la producción de alcohol en las reacciones de fermentación, particularmente la producción de etanol por *Clostridium autoethanogenum*. El material residual de los procesos industriales se puede utilizar para complementar los medios nutrientes utilizados en las reacciones de fermentación. En particular, el agua del purificador se puede usar como una materia prima primaria alternativa o sustrato para las reacciones de fermentación microbiana. Esto dará como resultado una mejora o reducción de los desechos producidos por los procesos industriales, particularmente la fabricación de acero, la reducción del nivel de medios necesarios para sustentar las reacciones de fermentación y la reducción del nivel de subproducto de acetato en la producción de etanol por fermentación, mejorando así la eficiencia general de las reacciones de fermentación y la reducción de los costes asociados con la realización de tales reacciones.
- La referencia a cualquier técnica anterior en esta memoria descriptiva no es, y no debe tomarse como un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que esa técnica anterior forme parte del conocimiento general común en el campo del esfuerzo en cualquier país.
- A lo largo de esta descripción y de cualquier reivindicación a continuación, a menos que el contexto requiera lo contrario, las palabras "comprender", "que comprende" y similares, deben interpretarse en un sentido inclusivo en lugar de un sentido exclusivo, es decir, en el sentido de "que incluye, pero no se limita a".

55

60

## REIVINDICACIONES

1. Un proceso para producir al menos un producto, el proceso comprende:

5

10

35

40

- a) mezclar una corriente de gas intermitente que comprende CO con una corriente de gas continua que comprende CO para proporcionar una corriente de gas mezclada;
- b) pasar la corriente de gas mezclada a un biorreactor que comprende un cultivo de uno o más microorganismos, y fermentar la corriente mezclada para producir al menos un producto seleccionado del grupo que consiste en alcoholes y/o ácidos.
- 2. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la corriente intermitente es una corriente residual de un proceso de descarburación de acero.
- 15 3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 donde la corriente continua es una corriente de un proceso seleccionado de gasificación de materia orgánica, reformado de hidrocarburos, producción de coque de acero y mezclas de estos.
- 4. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la composición y la velocidad de flujo de la corriente continua se varían para proporcionar una corriente de sustrato de composición y velocidad de flujo continuos al fermentador.
- 5. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la corriente de gas intermitente que comprende CO se proporciona a un medio de almacenamiento amortiguador antes de mezclar con la corriente de gas continua que comprende CO.
  - 6. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la corriente mezclada comprende CO y H<sub>2</sub> en una relación de 20:1 a 1:2.
- 30 7. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el uno o más microorganismos se seleccionan del género Clostridium.
  - 8. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el producto se selecciona del grupo que consiste en alcoholes y/o ácidos.
    - 9. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el alcohol es etanol y el ácido es ácido acético.
  - Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la corriente de gas mezclada comprende de 20 % de CO a 100 % de CO.

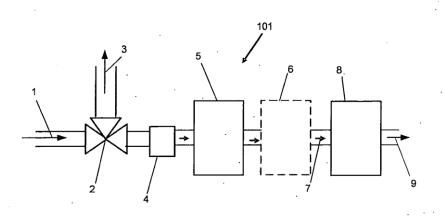


FIGURA 1

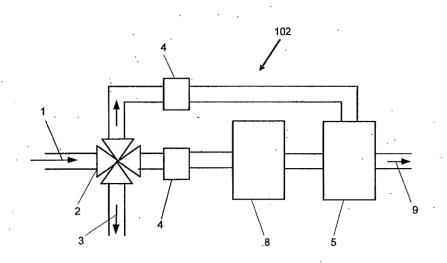


FIGURA 2

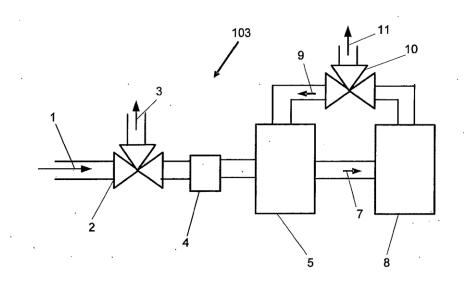


FIGURA 3

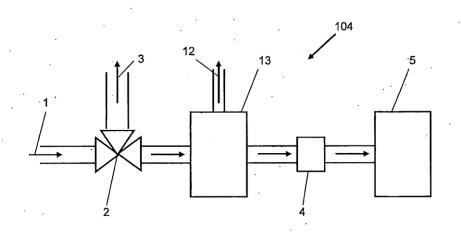


FIGURA 4

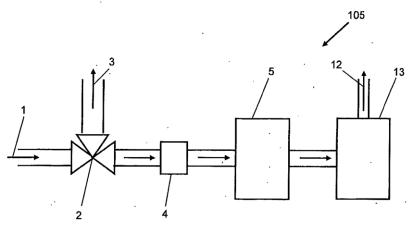


FIGURA 5

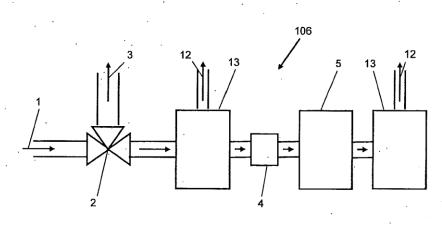


FIGURA 6

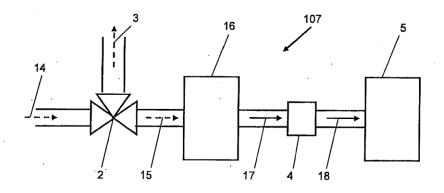


FIGURA 7

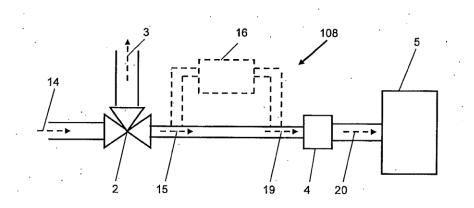


FIGURA 8

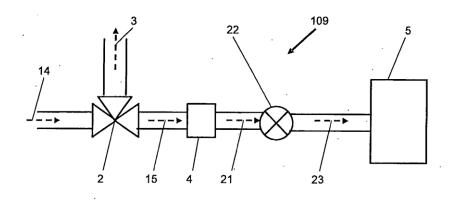


FIGURA 9

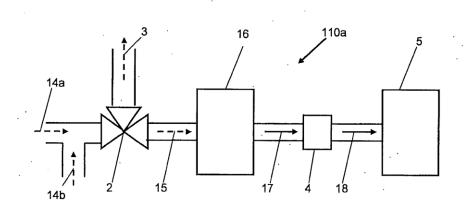


FIGURA 10a

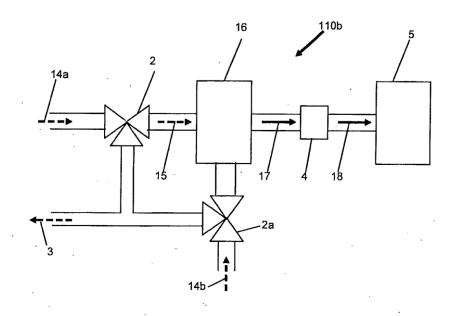


FIGURA 10b

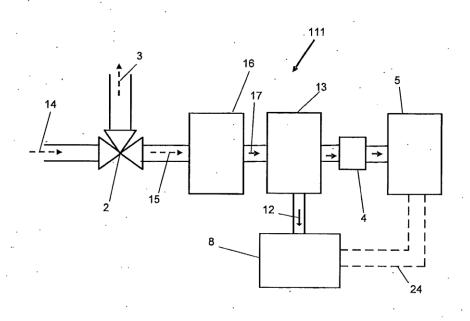


FIGURA 11

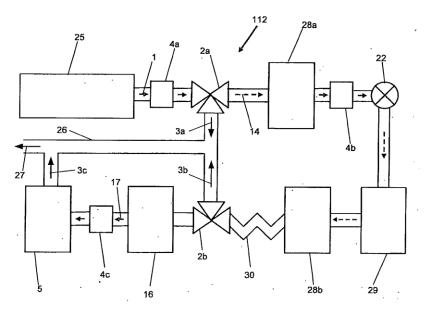
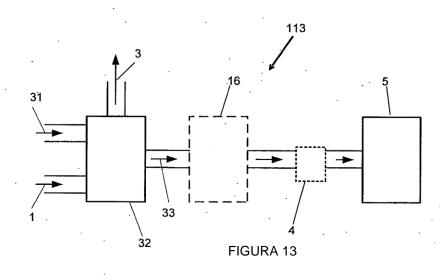


FIGURA 12



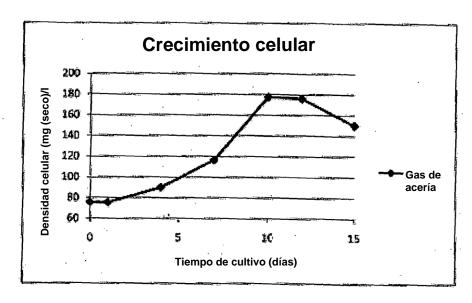


Figura 14

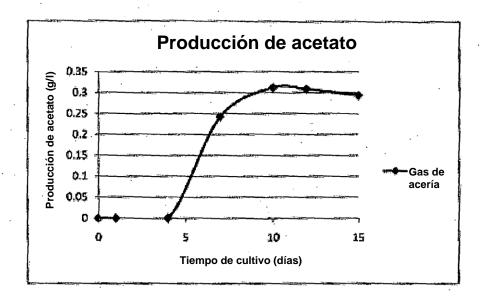


Figura 15

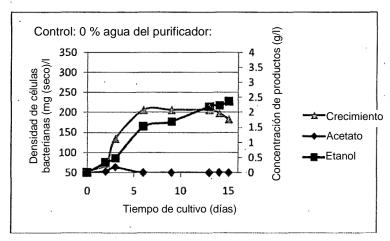


Figura 16

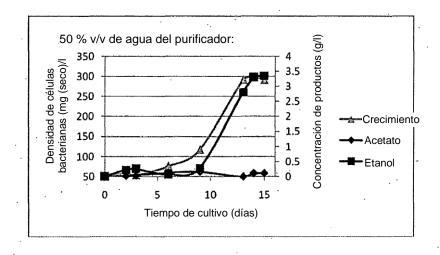


Figura 17