



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112013013408-9 B1



(22) Data do Depósito: 14/11/2011

(45) Data de Concessão: 19/01/2021

(54) Título: PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE UM OU MAIS ALCOÓIS A PARTIR DE SUBSTRATO GASOSO COMPREENDENDO MONÓXIDO DE CARBONO

(51) Int.Cl.: C12P 7/02.

(30) Prioridade Unionista: 03/12/2010 US 61/458,903.

(73) Titular(es): JUPENG BIO (HK) LIMITED.

(72) Inventor(es): RYAN SENARATNE.

(86) Pedido PCT: PCT US2011001900 de 14/11/2011

(87) Publicação PCT: WO 2012/074543 de 07/06/2012

(85) Data do Início da Fase Nacional: 29/05/2013

(57) Resumo: Processos Para a Produção de Um ou Mais Alcoóis a Partir de Substrato Gasoso e de Fermentação de Substrato Gasoso A presente descrição fornece métodos de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar o substrato gasoso em um meio aquoso em um biorreator. Os métodos da presente descrição compreendem medir a densidade celular; ajustar a entrada de substrato gasoso para aumentar a densidade celular; aumentar a captação de CO específica em quantidades predeterminadas.

“PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE UM OU MAIS ALCOÓIS**A PARTIR DE SUBSTRATO GASOSO COMPREENDENDO****MONÓXIDO DE CARBONO”****RELATÓRIO DESCRITIVO**

[0001] A presente descrição compreende métodos de fermentação de um substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono. A presente descrição fornece métodos de fermentação de um substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono para produzir um ou mais álcoois.

ANTECEDENTES

[0002] Métodos para produção de substâncias químicas tais como ácidos orgânicos, por exemplo, ácido acético e álcoois, por exemplo, etanol de fermentação microbiana de substratos gasosos compreendendo monóxido de carbono em meios contendo nutrientes adequados e minerais traços usando certos microrganismos, tais como aqueles do gênero *Clostridium*, foram demonstrados. Por exemplo, a Patente US 5.173.429 de Gaddy e outros descreve *Clostridium ljungdahlii* ATCC No. 49587, um microrganismo anaeróbico que produz etanol e acetato de gás de síntese. Patente US 5.807.722 de Gaddy e outros descreve um método e mecanismo para converter gases residuais em produtos úteis tais como ácidos orgânicos e álcoois usando bactérias anaeróbicas, tais como *Clostridium ljungdahlii* ATCC No. 55380. Patente US 6.136.577 de Gaddy e outros descreve um método de mecanismos para converter gases residuais em produtos úteis tais como ácidos orgânicos e álcoois (particularmente etanol) usando bactérias anaeróbicas, tais como *Clostridium ljungdahlii* ATCC Nos. 55988 e 55989.

[0003] O Pedido de Patente US 20070275447 descreve espécies

bacterianas de *Clostridium* (*Clostridium carboxidivorans*, ATCC BAA-624, “P7”) que é capaz de sintetizar, a partir de gases residuais, produtos que são úteis como biocombustível. A Patente US 7.704.723 descreve uma espécie bacteriana de *Clostridium* (*Clostridium ragsdalei*, ATCC BAA-622, “P11”) que é capaz de sintetizar, a partir de gases residuais, produtos que são úteis como biocombustível.

[0004] WO 2007/117157 descreve o uso de *Clostridium autoethanogenum* (No. de Acesso DSM 10061, DSMZ, Alemanha) para a produção de etanol por fermentação anaeróbica de substratos contendo monóxido de carbono. WO 2009/064200 descreve outras bactérias (*Clostridium autoethanogenum*, No. de Acesso DSM 19630, DSMZ, Alemanha) para a produção de etanol por fermentação anaeróbica de substratos contendo monóxido de carbono.

[0005] Como descrito na técnica, a taxa de produção de substâncias químicas, tal como álcool, depende da densidade da célula no meio de fermentação. A alta densidade celular apropriada no biorreator é requerida para obter e manter uma taxa elevada de produção de substâncias químicas.

[0006] A Patente US 6.136.577 de Gaddy descreve um processo de produção de etanol em um processo de fermentação sendo que o reciclo celular é usado para aumentar a densidade celular.

[0007] A Patente US 7.285.402 de Gaddy e outros descreve um processo de fermentação microbiana anaeróbica para a produção de álcool sendo que um método para aumentar a densidade celular é apresentado durante o início de uma cultura de matéria-prima sendo que houve excesso de H₂ presente.

[0008] O início usando uma batelada de inóculo de cultura de matéria-prima garante um inóculo saudável livre de contaminantes, porém, não é sempre bem-sucedido como procedimento de inoculação por causa da densidade celular muito baixa empregada, especialmente se os parâmetros do método tais como taxa de gás e taxa de agitação são empurrados para cima muito rapidamente somente após a

inoculação.

[0009] Atualmente, há uma necessidade na técnica de métodos melhorados para aumentar a densidade celular em fermentação microbiana de um substrato gasoso. A presente descrição fornece um método para aumentar densidade de célula em uma taxa mais rápida para métodos de fermentação microbiana de um substrato gasoso.

SUMÁRIO

[00010] A presente descrição fornece um processo para a produção de um ou mais álcoois de um substrato gasoso, compreendendo: fermentar um substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono (CO) em um meio aquoso em um biorreator; o referido processo compreendendo aumentar a densidade de célula ajustando-se a captação específica de CO no referido meio aquoso; sendo que a taxa de mudança de captação específica de CO compreende controlar a taxa de entrada de CO; sendo que taxa de mudança de captação específica de CO compreende medir a taxa de entrada de CO; medir a taxa de saída de CO; e medir a massa celular; sendo que adicionalmente compreende mudar a captação específica de CO em quantidades predeterminadas; sendo que as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,001 a cerca de 10,0 mmol min/grama de célula seca; sendo que as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 5,0 mmol min/grama de célula seca; sendo que as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 1,0 mmol/min/grama de célula seca; adicionalmente compreendendo adicionar um fluxo de meio aquoso dentro do biorreator; remover um fluxo de caldo de fermentação do biorreator; compreendendo, além disso, adicionar um fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator; remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator; sendo que o referido meio aquoso compreende um ou mais dos

microrganismos incluindo: microrganismos biologicamente puros, microrganismo de ocorrência natural, microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo de ocorrência não natural produzido por modificação genética, mutante de microrganismo de ocorrência natural, mutante de microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo recombinante, microrganismo construído, microrganismo artificialmente sintetizado; sendo que o referido biorreator compreende um ou mais reatores; sendo que o referido biorreator compreende unidade de reciclo celular; sendo que o referido substrato contendo CO compreende hidrogênio; adicionalmente compreendendo adicionar meio de nutriente ao referido biorreator.

[00011] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar o substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido método selecionar a captação específica de CO alvo; ajustar o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale à referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00012] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido método as etapas de selecionar a captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustar o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale à referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até que obtendo a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00013] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar

substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido método selecionar a captação específica de CO alvo; ajustar o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00014] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustar o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até que obtendo a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00015] A presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono (CO) em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismo; compreendendo o referido método aumentar a densidade de célula ajustando-se a captação específica de CO de um ou mais referido microrganismo no referido meio aquoso; em uma modalidade, a taxa de alteração de captação específica de CO compreende ajustar uma ou mais etapas; em uma modalidade, a taxa de alteração de captação específica de CO compreende controlar a taxa de entrada de CO; em uma modalidade, a taxa de alteração de captação específica de CO compreende medir a taxa de entrada de CO; medir a taxa de entrada de CO; e medir a massa celular; adicionalmente compreende mudar a captação específica de CO em quantidades predeterminadas; em uma modalidade, as referidas quantidades

predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,001 a cerca de 10,0 mmol/min/grama de célula seca; em uma modalidade, as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 5,0 mmol/min/grama de célula seca; em uma modalidade, as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 1,0 mmol/min/grama de célula seca; em uma modalidade, adicionar o fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator; remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator; sendo que repetir as referidas etapas até obter uma desejada produtividade de etanol em uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g/L; em uma modalidade, adicionar fluxo contínuo de meio aquoso em biorreator; remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator; sendo que repetindo as referidas etapas até que obtendo uma concentração de etanol desejada no caldo de fermentação em uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g/L.

[00016] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismo; compreendendo o referido método selecionar a captação específica de CO alvo; ajustar o fluxo do substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00017] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar a captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a

referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00018] A presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método medir a densidade de célula; ajustar a entrada de substrato gasoso para aumentar a densidade de célula; alterar a captação específica de CO em quantidades predeterminadas em uma faixa de cerca de 0,001 a cerca de 10,0 mmol/min/grama de célula seca.

[00019] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método selecionar a captação específica de CO alvo; ajustar o fluxo do substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00020] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar a captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a

cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00021] Como modalidades do método da presente descrição sendo que: o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas biologicamente puras; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência natural; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais dentre bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por modificação genética usando bactérias acetogênicas anaeróbicas como organismos hospedeiros; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por inserção de genes de bactérias acetogênicas anaeróbicas em um organismo hospedeiro.

[00022] Como modalidade, o referido microrganismo da presente descrição compreende um ou mais dos microrganismos incluindo: microrganismos biologicamente puros, microrganismo de ocorrência natural, microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo de ocorrência não natural produzido por modificação genética, mutante de microrganismo de ocorrência natural, mutante de microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo recombinante, microrganismo construído, microrganismo artificialmente sintetizado; sendo que o referido microrganismo compreende a seleção de *Acetogenium kivui*, *Acetobacterium woodii*, *Acetoanaerobium noterae*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Caldanaerobacter subterraneus*, *Caldanaerobacter subterraneus pacificus*, *Carboxydotherrmus hydrogennioformans*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium autoethanogenum* (DSM 23693), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 19630 de DSMZ Alemanha), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061 de DSMZ Alemanha), *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*,

Clostridium ljungdahlii PETC (ATCC 49587), *Clostridium ljungdahlii* ERI2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium ljungdahlii* 0-52 (ATCC 55889), *Clostridium ultunense*, *Clostridium ragsdali* P11 (ATCC BAA-622), *Alkalibaculum bacchi* CPU (ATCC BAA-1772), *Clostridium coskatii*, *Clostridium carboxidivorans* P7 (ATCC PTA-7827), *Geobacter sulfurreducens*, *Morrella thermacetica*, *Peptostreptococcus productus*, *Clostridium drakei*, microrganismo recombinante (DSM 24138), e misturas dos mesmos.

[00023] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais cepas de *Clostridium ljundahlii*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium ragsdalei*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium carboxidivorans*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium autoethanogenum*.

[00024] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção de um ou mais genes selecionados em organismo hospedeiro selecionado de qualquer cepa de *Clostridium ljundahlii*, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei*, ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans*, ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00025] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção em qualquer organismo hospedeiro um ou mais genes de qualquer cepa de *Clostridium ljundahlii*, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei*, ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans*, ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00026] Como modalidades do método da presente descrição: sendo que o referido biorreator compreende um ou mais reatores; sendo que o referido biorreator compreende a unidade de reciclo celular; sendo que o referido substrato contendo CO compreende hidrogênio.

[00027] Como modalidade, adicionalmente compreende adicionar

meio de nutriente ao referido biorreator.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[00028] A **FIG. 1** compreende um diagrama esquemático ilustrando uma modalidade do processo de fermentação microbiana de um substrato gasoso.

DEFINIÇÕES

[00029] A menos que de outro modo definido, os seguintes termos como usados em todo este Relatório Descritivo para presente descrição são definidos como segue e podem incluir a forma singular ou plural de definições abaixo definidas:

[00030] O termo “cerca de” modificando qualquer quantidade se refere à variação pelo fato de que a quantidade encontrada em condições reais de manter a cultura de microrganismo, por exemplo, no laboratório, planta piloto, ou facilidade de produção. Por exemplo, uma quantidade de um ingrediente ou medição empregada em uma mistura ou quantidade quando modificada por “cerca de” inclui a variação e grau de cuidado tipicamente empregado na medição em uma condição experimental na produção de planta ou laboratório. Por exemplo, a quantidade de um componente de um produto quando modificada por “cerca de” inclui a variação entre bateladas em múltiplos experimentos na planta ou laboratório e a variação inerente no método analítico. Se ou não modificado por “cerca de”, as quantidades incluem equivalentes à essas quantidades. Qualquer quantidade declarada aqui e modificada por “cerca de” pode também ser empregada na presente descrição como a quantidade não modificada por “cerca de”.

[00031] O termo “acetogênio” ou “acetogênico” se refere a uma bactéria que gera acetato como um produto de respiração anaeróbica. Esses organismos são também referidos como bactérias acetogênicas, uma vez que todos acetogênios conhecidos são bactérias. Acetogênios

são encontrados em uma variedade de habitats, geralmente aqueles que são anaeróbicos (falta de oxigênio). Os acetogênios podem usar uma variedade de compostos como fontes de energia e carbono; a forma mais bem estudada de metabolismo acetogênico envolve o uso de dióxido de carbono como uma fonte de carbono e hidrogênio como uma fonte de energia.

[00032] Os termos “biorreator”, “reator” ou “ biorreator de fermentação”, incluem um dispositivo de fermentação consistindo em um ou mais recipientes e/ou torres ou disposição de tubulação, que inclui o Reator de Tanque Agitado Contínuo (CSTR), Coluna de Bolha, Fermentador de Elevação de Gás, Misturador Estático, ou outro dispositivo adequado para o contato de gás-líquido. Para o método desta descrição, o biorreator de fermentação pode compreender um reator de crescimento que alimenta o caldo de fermentação para um segundo biorreator de fermentação, no qual a maioria do produto, etanol, é produzido.

[00033] O termo “densidade de célula” significa massa celular de microrganismo por volume e unidade de caldo de fermentação, por exemplo, g/litro.

[00034] O termo “reciclo de célula” significa a disposição de separação de líquido (permeado) das células de microrganismo sólidas em um caldo de fermentação e retornando todas ou parte das referidas células de microrganismo sólido separadas de volta para o fermentador que produziu o referido caldo de fermentação usando o referido microrganismo. Geralmente um dispositivo de filtração é usado para realizar a referida separação. Uma corrente de microrganismo sólido livre de corrente de permeado e uma corrente de microrganismo sólido concentrado são produzidas do dispositivo de filtração. A corrente de permeado livre de sólido pode conter partículas sólidas menores do que um tamanho de partícula especificado.

[00035] O termo “conversão” significa uma fração de quantidade de entrada que é convertida no produto(s); isto é denotado na seguinte

equação: (quantidade de entrada – quantidade de saída)/(quantidade de entrada). O termo “produtividade de etanol” significa a quantidade de etanol produzido por unidade de volume de fermentador por dia. O volume de fermentador é o volume eficaz ou volume líquido no fermentador.

[00036] O termo “fermentação” significa a fermentação de CO para álcoois e acetato. Várias bactérias são conhecidas por serem capazes de realizar a fermentação de CO para álcoois, incluindo butanol e etanol, e ácido acético, e são adequados para uso no processo da presente descrição. Os exemplos de tais bactérias que são adequadas para uso na descrição incluem aqueles do gênero *Clostridium*, tais como cepas de *Clostridium ljungdahlii*, incluindo aquelas descritas em WO 2000/68407, EP 117309, Patentes dos Estados Unidos Nos. 5.173.429, 5.593.886 e 6.368.819, WO 1998/00558 e WO 2002/08438, cepas de *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061 e DSM 19630 de DSMZ, Alemanha) incluindo aquelas descritas em WO 2007/117157 & WO 2009/151342 e *Clostridium ragsdalei* (PI1, ATCC BAA-622) incluindo aquelas descritas respectivamente na Patente US 7.704.723 e “*Biofuels and Bioproducts from Biomass-Generated Synthesis Gas*”, Hasan Atiyeh, apresentado em Oklahoma EPSCoR Annual State Conference, 29 de abril de 2010 e *Clostridium carboxidivorans* (ATCC BAA-624) descrito no Pedido de Patente US 20070275447. Outras bactérias adequadas incluem aquelas do gênero *Moorella*, incluindo *Moorella sp* HUC22-1, e aquelas do gênero *Carboxydotherrmus*. As descrições de cada dessas publicações são completamente incorporadas aqui por referência. Além disso, outras bactérias podem ser selecionadas para uso no processo da descrição por uma pessoa de experiência na técnica. Também será apreciado que uma cultura misturada de duas ou mais bactérias possa ser usada nos processos da presente descrição. Um microrganismo adequado para uso na presente descrição é *Clostridium autoethanogenum*. A fermentação pode ser realizada em qualquer biorreator adequado, tal como um reator de tanque agitado contínuo

(CTSR), um reator de coluna de bolha (BCR) ou um reator de leito de gotejamento (TBR). Além disso, em algumas modalidades preferidas da descrição, o biorreator pode compreender um primeiro, reator de crescimento no qual os microrganismos são cultivados, e um segundo, reator de fermentação, pelo qual o caldo de fermentação do reator de crescimento é alimentado e no qual a maioria dos produtos de fermentação (etanol e acetato) é produzida.

[00037] O termo “caldo de fermentação” significa: a composição do meio de fermentação compreende qualquer coisa que termine no caldo de fermentação incluindo: substratos brutos, produtos de fermentação, microrganismo(s) e componentes derivados, aditivos químicos, nutrientes, gases. Todas as três fases principais; sólido, líquido e gases estão presentes no caldo de fermentação e suas possíveis interações.

[00038] O termo “gene” significa um segmento de DNA; pode incluir regiões precedentes e seguintes a codificação de DNA bem como íntrons entre os exons; pode ser uma unidade de hereditariedade; nesta descrição o termo “gene” inclui um segmento de DNA que contribui com fenótipo/função; os segmentos de DNA que as células transcrevem em RNA e transladam, pelo menos em parte, em proteínas; uma sequência (uma série) de bases feita de combinações de A, T, C, e G. Geralmente, como fornecido nesta descrição, a definição pode se referir aos significados singulares ou plurais.

[00039] O termo “microrganismo” ou “micróbio” inclui bactérias, fungos, levedura, arqueias e protistas; plantas microscópicas (chamadas algas verdes); e animais tais como plâncton, a planária e a amoeba. Alguns também incluem vírus, porém, outros consideram esses como não vivos. Os microrganismos vivem em todas as partes da biosfera onde há água líquida, incluindo o solo, nascentes de águas quentes, fundo do oceano, no alto da atmosfera e profundidade dentro das rochas na crosta terrestre. Os microrganismos são críticos para a reciclagem de nutrientes nos ecossistemas uma vez que eles agem como decompositores. Os micróbios são também explorados por pessoas na

biotecnologia, tanto no alimento tradicional quanto na preparação de bebida, e em tecnologias modernas com base em construção genética. Está previsto que microrganismos de cepa misturada, que podem ou não conter cepas de vários microrganismos, serão utilizados na presente descrição. Além disso, é previsto que a evolução direcionada pode seletivamente avaliar os microrganismos que podem ser utilizados na presente descrição. Está também previsto que a tecnologia de DNA recombinante pode criar microrganismos usando a seleção de cepas de microrganismos existentes. Também a tecnologia de mutagênese química (mutação de DNA bacteriano usando várias substâncias químicas) pode criar microrganismos usando a seleção de cepas de microrganismos existentes. É considerado que as bactérias que são capazes de converter CO e água ou H₂ e CO₂ em produtos de etanol e ácido acético serão utilizadas na presente descrição. Alguns exemplos de bactérias úteis incluem *Acetogenium kivui*, *Acetobacterium woodii*, *Acetoanaerobium noterae*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Caldanaerobacter subterraneus*, *Caldanaerobacter subterraneus pacificus*, *Carboxydotherrmus hidrogênioformans*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium autoethanogenum* (DSM 23693), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 19630 de DSMZ Alemanha), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061 de DSMZ Alemanha), *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*, *Clostridium ljungdahlii* PETC (ATCC 49587), *Clostridium ljungdahlii* ERI2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium ljungdahlii* 0-52 (ATCC 55889), *Clostridium ultunense*, *Clostridium ragsdali* P11 (ATCC BAA-622), *Alkalibaculum bacchi* CPU (ATCC BAA-1772), *Clostridium coskatii*, *Clostridium carboxidivorans* P7 (ATCC PTA-7827), *Geobacter sulfurreducens*, *Morrella thermacetica*, *Peptostreptococcus productus*, *Clostridium drakei*, microrganismo recombinante (DSM 24138J), e misturas dos mesmos. Outras bactérias podem ser selecionadas para uso nesses métodos por alguém de experiência na técnica. Geralmente, como fornecido nesta descrição, a

definição pode se referir aos significados singulares ou plurais.

[00040] O termo “meio de nutriente” compreende meio de crescimento de microrganismo que pode conter um ou mais de vitaminas e minerais que permitem o crescimento de microrganismo selecionado. Os componentes de uma variedade de meios de nutriente adequados para o uso desta invenção são conhecidos e reportados nas publicações anteriores tais como Pedido de Patente Internacional No. WO 2008/00558, Patente US 7.285.402, Patente US 5.807.722; Patente US 5.593.886, e Patente US 5.821.111.

[00041] O termo “captação específica de CO” significa a quantidade de CO em m-moles consumida por unidade de massa celulares de microrganismo (g) por unidade de tempo em minuto, isto é, m-mole/g/min.

[00042] O termo “substrato” significa uma substância que é posta em prática por uma enzima ou microrganismo para produzir o produto de fermentação. Por exemplo, açúcar em fermentação de açúcar por enzimas para produzir etanol, um ou mais de CO, CO₂ e H₂ em fermentação de gás de síntese por microrganismo para produzir um ou mais de ácido carboxílico e álcool.

[00043] O termo “syngas” ou “gás de síntese” significa gás de síntese que é o nome dado a uma mistura de gás que contém quantidades variadas de monóxido de carbono e hidrogênio. Os exemplos de métodos de produção incluem reforma a vapor do gás natural ou hidrocarbonetos para produzir hidrogênio, a gasificação de carvão e em alguns tipos de instalações de gasificação de resíduo em energia. O nome vem de seu uso como intermediários na criação de gás natural sintético (SNG) e para produzir amônia e metanol. O gás de síntese é também usado como intermediário na produção de petróleo sintético para uso como um combustível ou lubrificante através de síntese de Fischer-Tropsch e previamente o metanol Mobil para processos de gasolina. O gás de síntese consiste principalmente em hidrogênio, monóxido de carbono, e muitas vezes um pouco de dióxido de carbono.

DESCRIBÃO DETALHADA

[00044] A presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono (CO) em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método aumentar a densidade de célula ajustando-se a captação específica de CO de um ou mais do referido microrganismo no referido meio aquoso; sendo que a taxa de alteração de captação específica de CO compreende ajustar e/ou controlar uma ou mais das seguintes etapas: controlar a taxa de entrada de CO; medir a taxa de entrada de CO; medir a taxa de saída de CO; medir a massa celular; também compreende alterar a captação específica de CO em quantidades predeterminadas; sendo que as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,001 a cerca de 10,0 mmol/min/grama de célula seca; opcionalmente em uma modalidade, as referidas quantidades predeterminadas compreendem uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 5,0 mmol/min/grama de célula seca e/ou uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 1,0 mmol/min/grama de célula seca; uma modalidade opcionalmente compreende adicionar fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator; remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator; sendo que repetindo as referidas etapas até obter uma desejada produtividade de etanol em uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g/L; uma modalidade, opcionalmente compreende adicionar fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator; remover o fluxo de caldo de fermentação do biorreator; sendo que repetindo as referidas etapas até obter uma desejada concentração de etanol no caldo de fermentação uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g/L.

[00045] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio

aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método selecionar a captação específica de CO alvo; ajustar o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00046] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00047] A presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método medir a densidade de célula; ajustar a entrada de substrato gasoso para aumentar a densidade de célula; alterar a captação específica de CO em quantidades predeterminadas em uma faixa de cerca de 0,001 a cerca de 10,0 mmol/min/grama de célula seca.

[00048] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método selecionar a

captação específica de CO alvo; ajustando fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca.

[00049] Como modalidade, a presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter a desejada densidade de célula em uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 15 g/L; ao obter a referida desejada densidade de célula converter para o modo contínuo de operação.

[00050] Como modalidades do método da presente descrição sendo que: o referido microrganismo compreende uma ou mais das bactérias acetogênicas anaeróbicas biologicamente puras; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência natural; sendo que o referido microrganismo compreende um ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por modificação genética usando bactérias acetogênicas anaeróbicas como organismo hospedeiro; sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por inserção de genes de bactérias acetogênicas anaeróbicas em um organismo hospedeiro.

[00051] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais bactérias

selecionadas de *Acetogenium kivui*, *Acetobacterium woodii*, *Acetoanaerobium noterae*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Caldanaerobacter subterraneus*, *Caldanaerobacter subterraneus pacificus*, *Carboxydotherrmus hidrogênioformans*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium autoethanogenum* (T)SM 23693 , *Clostridium autoethanogenum* (DSM 19630 de DSMZ Alemanha), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061 de DSMZ Alemanha), *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*, *Clostridium ljungdahlii* PETC (ATCC 49587), *Clostridium ljungdahlii* ERI2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium ljungdahlii* 0-52 (ATCC 55889), *Clostridium ultunense*, *Clostridium ragsdali* P11 (ATCC BAA-622), *Alkalibaculum bacchi* CPU (ATCC BAA-1772), *Clostridium coskatii*, *Clostridium carboxidivorans* P7 (ATCC PTA-7827), *Geobacter sulfurreducens*, *Morrella thermacetica*, *Peptostreptococcus productus*, *Clostridium drakei*, microrganismo recombinante (DSM 24138) e misturas dos mesmos.

[00052] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende uma ou mais cepas de *Clostridium ljundahlii*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium ragsdalei*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium carboxidivorans*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium autoethanogenum*.

[00053] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção de um ou mais genes selecionados em organismo hospedeiro selecionado de qualquer cepa de *Clostridium ljundahlii*, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei*, ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans*, ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00054] Como modalidade o método da presente descrição sendo que o referido microrganismo compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção em qualquer organismo hospedeiro um ou mais genes de qualquer cepa de

Clostridium ljundahlii, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei* ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans* ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00055] Como modalidades do método da presente descrição: sendo que o referido biorreator compreende um ou mais reatores; sendo que o referido biorreator compreende unidade de reciclo celular; sendo que o referido substrato contendo CO compreende hidrogênio.

[00056] Como modalidade, compreende, além disso, adicionar o meio de nutriente ao referido biorreator. A Figura 1 apresenta um processo para a produção de substância química, tal como mistura de produto de álcool, de um substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono (CO), tal como gás de síntese por fermentação com bactérias, sendo que o processo compreende um biorreator (100) contendo caldo de fermentação compreendendo as referidas células bacterianas e um meio de fermentação. Uma corrente gasosa compreendendo substrato gasoso compreendendo CO (101) pode ser alimentada no biorreator junto com uma corrente de meio de fermentação (102). Uma corrente de caldo de fermentação (110) compreendendo as referidas células bacterianas e as referidas substâncias químicas do produto podem ser removidas do referido biorreator. Uma corrente de fermentador sem gás (120) compreendendo a parte não utilizada da referida corrente gasosa compreendendo substrato gasoso é eliminada do biorreator. Em uma modalidade a corrente do caldo fermentador (110) flui para um mecanismo de reciclo de célula (200) sendo que as células são concentradas e retornadas (220) para o biorreator. Uma corrente permeada (210) do referido mecanismo de reciclo de célula é direcionada para o processo de recuperação da referida substância química(s). Em uma modalidade pelo menos uma parte da corrente de caldo fermentador (110) é direcionada para o processo de recuperação da referida mistura de produto de álcool. Em uma modalidade pelo menos uma parte da corrente do caldo fermentador (210) é direcionada para o processo de recuperação da referida mistura de produto de

álcool.

[00057] Em uma modalidade, o biorreator (100) é equipado com um agitador (105) para fornecer agitação para facilitar o contato da corrente gasosa compreendendo substrato gasoso e aumentar a transferência de massa de substrato gasoso com meio de fermentação de líquido. É desejável ter boa taxa de transferência de massa e desse modo adequada agitação no biorreator durante todo o processo de fermentação.

[00058] Há disposições para coletar amostras de corrente gasosa compreendendo substrato gasoso introduzido no biorreator (101) e biorreator de saída isento de gás (120) (não mostrado na Figura 1). Há disposição para coletar amostras de caldo de fermentação de biorreator (não mostrado na Figura 1). As referidas amostras de gás e líquido são coletadas em intervalos e analisadas quanto ao consumo ou produção de vários componentes de gás, produção de vários produtos e a densidade óptica do caldo de fermentação.

[00059] Esses valores medidos podem ser usados para calcular a captação de monóxido de carbono (CO) específica (SCU) e densidade de célula no caldo de fermentação no biorreator usando as seguintes equações:

$$\text{Captação de CO, mmol/min} = (\text{mmol/min de entrada de CO}) - (\text{mmol/min de saída de CO})$$

(1)

$$\text{Densidade de célula, g/L} =$$

$$(\text{densidade óptica}) \cdot (\text{Fator de diluição}) \cdot (\text{Constante de massa celular})$$

(2)

$$\text{Massa celular, g} = (\text{Densidade de célula}) \cdot (\text{Volume de biorreator})$$

(3)

$$\text{Captação de CO específica, mmol/min/g} = (\text{captação de CO}) / (\text{Massa celular})$$

(4)

Densidade de célula é massa celular por unidade de volume de caldo fermentador. O volume de biorreator é o volume líquido no biorreator quando a agitação é desligada. Constante de massa celular é massa (g) de células bacterianas secas por litro de caldo de fermentação com densidade óptica de um (1). A densidade óptica é densidade óptica de uma amostra obtida após a diluição do caldo fermentador com um solvente adequado tal como salina.

[00060] O microrganismo usado no método desta descrição pode compreender uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas biologicamente puras.

[00061] O microrganismo usado no método desta descrição: pode compreender uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência natural; pode compreender uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural; pode compreender uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por modificação genética usando bactérias acetogênicas anaeróbicas como organismo hospedeiro; pode compreender uma ou mais de bactérias acetogênicas anaeróbicas de ocorrência não natural produzidas por inserção de genes de bactérias acetogênicas anaeróbicas em um organismo hospedeiro.

[00062] O microrganismo usado no método desta descrição pode compreender uma ou mais bactérias selecionadas de *Acetogenium kivui*, *Acetobacterium woodii*, *Acetoanaerobium noterae*, *Butyribacterium methylotrophicum*, *Caldanaerobacter subterraneus*, *Caldanaerobacter subterraneus pacificus*, *Carboxydotherrmus hydrogenioformans*, *Clostridium aceticum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium autoethanogenum* (DSM 23693J), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 19630 de DSMZ Alemanha), *Clostridium autoethanogenum* (DSM 10061 de DSMZ Alemanha), *Clostridium thermoaceticum*, *Eubacterium limosum*, *Clostridium ljungdahlii* PETC (ATCC 49587), *Clostridium ljungdahlii* ERI2 (ATCC 55380), *Clostridium ljungdahlii* C-01 (ATCC 55988), *Clostridium*

ljundahlia 0-52 (ATCC 55889), *Clostridium ultunense*, *Clostridium ragsdali* P11 (ATCC BAA-622), *Alkalibaculum bacchi* CPU (ATCC BAA-1772), *Clostridium coskatii*, *Clostridium carboxidivorans* P7 (ATCC PTA-7827), *Geobacter sulfurreducens*, *Morrella thermacetica*, *Peptostreptococcus productus*, *Clostridium drakei*, microrganismo recombinante (DSM 24138J, e misturas dos mesmos.

[00063] Em uma modalidade, o microrganismo usado no método desta descrição compreende uma ou mais cepas de *Clostridium ljundahlia*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium ragsdalei*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium carboxidivorans*, ou uma ou mais cepas de *Clostridium autoethanogenum*.

[00064] Em uma modalidade, o microrganismo usado no método desta descrição compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção de um ou mais genes selecionados em organismos hospedeiros selecionados de qualquer cepa de *Clostridium ljundahlia*, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei*, ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans*, ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00065] Em uma modalidade, o microrganismo usado no método desta descrição compreende um ou mais microrganismos geneticamente modificados produzidos por inserção em qualquer organismo hospedeiro de um ou mais genes de qualquer cepa de *Clostridium ljundahlia*, ou qualquer cepa de *Clostridium ragsdalei*, ou qualquer cepa de *Clostridium carboxidivorans*, ou qualquer cepa de *Clostridium autoethanogenum*.

[00066] Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e aumento da densidade de célula ajustando-se a entrada de substrato gasoso aumentando-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e aumentar a densidade de célula ajustando-se a entrada de substrato gasoso diminuindo-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, o

método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e gradualmente aumentar a densidade de célula para a desejada densidade de célula ajustando-se a entrada de substrato gasoso aumentando-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e gradualmente medir a densidade de célula para a desejada densidade de célula ajustando-se a entrada de substrato gasoso diminuindo-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e aumentar a densidade de célula gradualmente aumentando-se a captação específica de CO para a desejada captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula e aumentar a densidade de célula gradualmente diminuindo-se a captação específica de CO para a desejada captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula, aumentar a densidade de célula e gradualmente aumentar a produtividade de álcool para a desejada produtividade de álcool aumentando-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, o método da presente descrição compreende medir a densidade de célula, aumentar a densidade de célula e gradualmente aumentar a produtividade de álcool para a desejada produtividade de álcool aumentando-se a captação específica de CO. Em uma modalidade, a alteração de captação específica de CO compreende aumentos nas etapas de magnitude predeterminada. Em uma modalidade, a alteração de captação específica de CO compreende diminuições nas etapas de magnitude predeterminada. Em uma modalidade, as etapas de magnitude predeterminada compreendem etapas de magnitude igual. Em uma modalidade, as etapas de magnitude predeterminada compreendem etapas de magnitude diferente.

[00067] Em uma modalidade, se a densidade de célula é menor do que uma densidade de célula alvo, o método compreende selecionar

uma captação específica de CO alvo e ajustar o fluxo de corrente gasosa compreendendo substrato gasoso até que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo.

[00068] Em uma modalidade, se a densidade de célula for menor do que uma densidade de célula alvo, o método compreenderá a seleção de uma captação específica de CO alvo e ajustará o fluxo de corrente gasosa compreendendo o substrato gasoso até que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; e repetir a seleção de uma captação específica de CO alvo e ajustar o fluxo de corrente gasosa compreendendo o substrato gasoso até que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo.

[00069] O valor da referida captação específica de CO alvo pode compreender uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 10,0 mmol de CO por minuto por grama de microrganismo seco. O valor da referida desejada captação específica de CO pode compreender uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 10 mmol/min/g.

[00070] O valor da referida densidade de célula alvo pode compreender uma faixa de cerca de 0,1 a cerca de 50 g/L. O valor da referida desejada densidade de célula pode compreender uma faixa de 0,5 a 50 g/L.

[00071] O valor da referida desejada produtividade de etanol compreende uma faixa de 1 a 50 g/L/dia.

[00072] O valor da referida desejada concentração de etanol no caldo de fermentação compreende uma faixa de 1 a 20 g/L.

[00073] Tipicamente em um biorreator de escala de laboratório tal como biorreator New Brunswick Bioflow I, a velocidade do agitador na faixa de 300-900 revoluções por minuto (rpm) fornece agitação adequada para taxa de transferência de massa desejável. Em uma modalidade, a velocidade do agitador na faixa de 500-700 rpm é usada. Em uma modalidade, a velocidade do agitador na faixa de 550-650 rpm é usada. Em uma modalidade, a velocidade do agitador de cerca de 600 rpm é usada.

[00074] Em uma modalidade, para um biorreator de escala maior tal como um biorreator de cerca de 100 a 500 litros de tamanho, a velocidade do agitador na faixa de cerca de 50 a cerca de 500 rpm é usada para agitação. Em uma modalidade, para um biorreator de escala comercial de cerca de 100.000 a cerca de 1.000.000 litros de tamanho, a velocidade do agitador na faixa de cerca de 1 a cerca de 50 rpm é usada para agitação. Em várias modalidades, um biorreator maior requer menor rpm comparado com um biorreator menor.

[00075] Como modalidade, a presente descrição fornece controle de temperatura no biorreator na faixa de 25 a 50°C.

[00076] Em uma modalidade do método da presente descrição, o referido biorreator compreende um reator. Em uma modalidade do método da presente descrição, o referido biorreator compreende dois ou mais reatores.

[00077] Em uma modalidade do método da presente descrição, o referido biorreator compreende a unidade de reciclo celular.

[00078] Em uma modalidade do método da presente descrição, a referida corrente gasosa compreendendo substrato gasoso compreendendo CO também compreende hidrogênio. Em uma modalidade, a referida corrente gasosa compreendendo substrato gasoso compreendendo CO, compreende gás de síntese. Em uma modalidade, a referida corrente gasosa compreendendo substrato gasoso compreendendo CO, compreende moinho de aço isento de gás. Em uma modalidade, a referida corrente gasosa compreendendo substrato gasoso compreendendo CO, compreende gás de síntese obtido por gaseificação de material carbonáceo compreendendo biomassa.

[00079] Em uma modalidade um ou mais fermentadores de crescimento ou semente fornecem o fornecimento inicial de inóculo de células bacterianas. Em uma modalidade um ou mais fermentadores de crescimento ou semente continuam a fornecer células bacterianas para o biorreator em conjunto com o método desta descrição. Em uma modalidade da presente descrição, o processo compreende reciclo de

célula.

[00080] Um método para produção de uma mistura de produto de álcool compreendendo:

adicionar o substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter a desejada captação específica de CO em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca; adicionalmente compreendendo adicionar o fluxo contínuo de meio aquoso no biorreator;

remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator.

[00081] Um método para a produção de uma mistura de produto de compreendendo:

adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapa até obter uma desejada produtividade de etanol em uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g/L; adicionalmente compreendendo adicionar o fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator;

remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator.

[00082] Um método para produzir uma mistura de produto de álcool compreendendo:

adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método as etapas de selecionar captação específica de CO alvo em uma faixa de cerca de 0,01 a cerca de 10 mmol/min/grama de célula seca, ajustando o fluxo de substrato gasoso tal que a captação específica de CO se iguale a referida captação específica de CO alvo; repetir as referidas etapas até obter uma concentração de etanol desejada no caldo de fermentação uma faixa de cerca de 1 a cerca de 50 g L; adicionalmente compreendendo adicionar o fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator;

remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator.

[00083] Está sendo considerado que o método da presente descrição incorpore: um processo de batelada, um processo de semibatelada, um processo de batelada alimentada, transição de para um processo contínuo, processo contínuo.

[00084] A presente descrição fornece um método de fermentação de substrato gasoso compreendendo: adicionar substrato gasoso compreendendo monóxido de carbono (CO) em um meio aquoso em um biorreator; compreendendo o referido meio aquoso um ou mais microrganismos; compreendendo o referido método medir a densidade de célula; medir a taxa de entrada de CO e taxa de saída de CO; determinar a captação específica de CO; ajustar a taxa de entrada de CO para aumentar a densidade de célula de um modo que a captação

específica de CO altere em quantidades predeterminadas; opcionalmente repetindo essas ações.

[00085] O meio de nutriente compreende meio de crescimento de microrganismo que pode conter uma ou mais de vitaminas e minerais que permitem o crescimento de microrganismo selecionado. Tabela 1 fornece uma modalidade do meio de nutriente como contemplado pela presente descrição. Outro meio de nutriente adequado para a presente descrição é conhecido na técnica.

[00086] Além disso, o meio de nutriente que não é descrito na técnica, porém, derivado de vários componentes descritos na Tabela 1 pode ser utilizado pela presente invenção. A presente descrição fornece composições melhoradas de meio de nutriente.

Tabela 1 - Componente do Meio e suas Concentrações

Componente/Ferro	Adicionado como	Concentração em ppm
NH ₄ *	NH ₄ Cl (NH ₄) ₂ HPO ₄	≤838
Fe	FeCl ₂ · 4H ₂ O	≤17
Ni	NiCl ₂ · 6H ₂ O	≤0,2
Co	CoCl ₂ · 6H ₂ O	≤1,0
Se	Na ₂ SeO ₃	≤0,1
Zn	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	≤0,5
Mo	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	≤0,3
Mn	MnCl ₂ · 4H ₂ O	≤0,2
B	H ₃ Bo ₃	≤1,1
Cu	CuCl ₂ · 2H ₂ O	≤0,15
W	Na ₂ WO ₄ · 2H ₂ O	≤1,2
K	KCl	≤79
Mg	MgCl ₂ · 6H ₂ O	≤60
Na	NaCl	≤80*
Ca	CaCl ₂ · 2H ₂ O	≤55
HCl de cisteína	HCl de cisteína	≤250
PO ₄ ⁻²	H ₃ PO ₄ (NH ₄) ₂ HPO ₄	≤820
Ácido Pantotênico	Ácido Pantotênico	≤0,04
Biotina	Biotina	≤0,02
Tiamina	Tiamina	≤0,05

* concentração de Na é de NaCl somente. Não inclui Na dos outros componentes tais como Na₂WO₄ 2H₂O.

** Concentração de Ca⁺² não inclui cálcio de ácido pantotênico, sal de cálcio (isto é, d-Pantotenato de Cálcio).

EXEMPLOS

[00087] Os Exemplos Comparativos (ver Exemplo 11 em US

7.285.402) para preparar as culturas de matéria-prima para a inoculação do reator, as culturas de *Clostridium ljungdahlii*, cepa C-01 (ATCC No. de Acesso 55988) foram crescidas em garrafas de soro de 150 mL em CO, CO₂ e H₂ em um meio rico contendo 1 g/L de extrato de levedura e 1 g/L de tripticase, em sais e vitaminas. A concentração de vitamina empregada foi 0,4 mL/L de meio de uma solução aquosa contendo 50,5 mg/L de pantotenato de cálcio, 20,6 mg/L de d-biotina e 50,6 mg/L de HCl de tiamina. As garrafas foram incubadas a 37°C em uma incubadora. As culturas foram crescidas para a fase de crescimento exponencial, como determinado por inspeção visual. Com cada inoculação, aproximadamente 90 mL de cultura de matéria-prima foram transferidos das garrafas de soro para 1 litro de meio, representando 9% em volume de inoculação. Uma inoculação bem-sucedida é descrita abaixo. O procedimento descrito pode ser repetido várias vezes para obter uma inoculação bem-sucedida.

[00088] Ao obter uma inoculação bem-sucedida, 90 mL L de inóculo foram adicionados a uma batelada de 1 litro de meio basal contendo 0,4 mL/L de vitaminas e sais (t=0). A taxa de agitação foi 240 rpm, o pH foi 5,3, a temperatura foi 38,5°C e o tempo de retenção de gás (luxo de gás contínuo) foi 110 minutos. O alimento de gás conteve 62% de H₂, 31% de CO e 7% de C₂H₆. Após 13 h (t=13 hr) alguma conversão de CO foi notada, e em t=23 h a taxa de agitação aumentou de 240 rpm para 300 rpm. O tempo de retenção de gás foi diminuído para 100 minutos em t=27 h, e uma diminuição adicional no tempo de retenção de gás foi feita em t=46 h. A taxa de agitação foi também aumentada em incrementos de 100 rpm em t=28 h, 59 h, 72 h e 85 h.

[00089] Por t=110 h, o sistema ficou operando com um tempo de retenção de gás de 80 minutos e uma taxa de agitação de 600 rpm. A concentração celular foi 0,5 g/L e a conversão de CO foi 35%. Ainda não houve nenhuma conversão de H₂, porém, pequenas quantidades de etanol e acetato (cerca de 0,1 g/L cada) se acumularam no caldo de cultura de batelada. Os esforços até este momento enfatizaram o

crescimento celular no reator.

[00090] O fluxo do meio usando as mesmas concentrações como em meio basal foi iniciado em uma taxa de 0,4 ml/min em t=120 h. Um programa de aumentos nominais na taxa de gás, taxa de agitação e taxa do meio foi então iniciado ao mesmo tempo em que cuidadosamente mantendo o sistema em excesso de H₂. Por t=210 h, a concentração de etanol foi 17 g/L, a concentração de acetato foi 1 g/L, a concentração celular foi 1,6 g/L, a conversão de CO foi quase 100% e a conversão de H₂ foi 90%. A produtividade de etanol alcançou 11,4 g/L-dia.

[00091] Um programa de aumentos de taxa de gás gradual foi novamente iniciado. Aumentos de vitamina correntes foram feitos para levar a vitamina para além da taxa de 0,7 ml/L de meio. Por t=610 h, o reator ficou produzindo 20 g/L de etanol e cerca de 2 g/L de acetato. A conversão de CO foi quase 100% e a conversão de H₂ foi 85%. A produtividade de etanol alcançou 14 g/L-dia.

[00092] O meio de fermentação para os exemplos 1-5, compreende um ou mais componentes selecionados daqueles apresentados na Tabela 1.

Exemplo 1: *Clostridium ljungdahlii* PETC; iniciando um Reator Usando Monóxido de Carbono Específico como um Guia Para Aumentar o Gás

[00093] Novo reator biofluxo I Brunswick contendo Meio de Fermentação foi iniciado com 0,32 g/L de cepa de *Clostridium ljungdahlii* PETC ativamente crescente. A taxa de agitação do reator foi ajustada para 600 rpm no início do experimento. Esta taxa de agitação foi mantida durante todo o experimento. A Temperatura no biorreator foi mantida na faixa de cerca de 38,5 a cerca de 39°C durante todo o experimento. As amostras de alimento de gás de síntese no biorreator e isenção de gás do biorreator e caldo de fermentação no biorreator, foram tomadas em intervalos, por exemplo, gás de alimentação, isenção de gás e caldo de fermentação, foi amostrado aproximadamente

diariamente, uma vez a cada duas horas, e uma vez a cada quatro horas respectivamente. As amostras acima foram analisadas quanto ao consumo ou produção de vários componentes de gás, concentração de ácido acético no caldo, concentração de etanol no caldo, e a densidade óptica (densidade de célula) da cultura. O volume não excitado do reator foi mantido entre 1300 a 1400 mL durante todo o experimento.

[00094] Desse modo a captação específica de CO (SCU) foi determinada usando as equações (1) - (4) descritas acima.

[00095] Neste exemplo particular o valor de SCU alvejado foi ajustado entre 0,75 e 0,89 mmol/min/g (de células). Além disso, a taxa de fluxo de gás para o reator não foi aumentada se a cultura não estava utilizando 80% do CO fornecido para o reator e, um determinado ponto.

[00096] Neste experimento particular um sistema de reciclo de célula (CRS) foi preso ao reator antes do início do experimento. 18,6 horas após a inoculação, 60 mL do meio de crescimento foram diretamente adicionados ao meio e em seguida o fluxo do meio para o reator foi iniciado em 0,41 mL/min. 21,5 horas após a inoculação, a taxa de fluxo de nutrientes para o reator foi aumentada para 1,1 mL/min e através do sistema de reciclo de célula 1 mL/min de permeado foi extraído do reator. A etapa acima foi tomada para prevenir o acúmulo de quantidades inibidoras de ácido acético e etanol na cultura e também para fornecer quantidades adequadas de nutrientes à cultura.

[00097] A densidade de célula do reator aumentou com o passar do tempo e alcançou 3 g/L de células em 45 horas após a inoculação do reator. Neste ponto a cultura estava produzindo mais do que 6 g/L de etanol e cerca de 8 g/L de ácido acético.

[00098] Neste experimento particular o pH da cultura foi mantido entre 4,69 e 4,71 durante todo o experimento.

[00099] Após as bactérias terem iniciado o crescimento ativamente no reator (quando a densidade de célula do reator alcança cerca de 50% a mais do que a densidade de célula inicial) a cultura foi suplementada

com a composição de vitaminas (além das vitaminas já no meio) se a concentração de ácido acético do caldo de cultura está abaixo de um valor predeterminado. Os critérios usados para adicionar coquetel de vitaminas à cultura foi como segue: Se o ácido acético do caldo de cultura for menor do que cerca de 2,5g /L, cerca de 0,34 mL de vitaminas por litro de cultura foi adicionado, se o ácido acético de caldo de cultura for menor do que cerca de 2 g /L, cerca de 0,67 mL de vitaminas por litro da cultura foi adicionado, se o ácido acético d caldo de cultura for menor do que cerca de 1,5g/L, cerca de 1 mL de vitaminas por litro foi adicionado. A composição de vitaminas usada nestes experimentos foi como segue:

Biotina	0,08-1 µM
HCl de tiamina	0,12-1,5 µM
d-Pantotenato de cálcio	0,15-2 µM

[000100] O suplemento de vitamina ATCC (catálogo No. MD-VS) foi adicionado ao exemplo de PETC para a concentração final de 1% (de meio de fermentação) além da Biotina, Tiamina e pantotenato de cálcio.

Exemplo 2: *Clostridium ljungdahlii* C-01

[000101] O novo biorreator Brunswick Bioflow I contendo cerca de 1,5 litros (por exemplo, na faixa de 1,45 a 1,65 litros) de Meio de Fermentação foi iniciado com cerca de 0,3 g/L de cepa de *Clostridium ljungdahlii* C-01 ativamente crescente. No início do experimento, a taxa de agitação no biorreator foi ajustada para 600 rpm. Esta taxa de agitação foi mantida durante todo o experimento. A temperatura no biorreator foi mantida na faixa de cerca de 36 a cerca de 37,5°C durante todo o experimento. As amostras dos seguintes foram tomadas e analisadas em diferentes intervalos (por exemplo, intervalo de 1 a 4 horas): o alimento de gás de síntese no biorreator; isenção de gás do

biorreator; caldo de fermentação no biorreator. A análise da amostra forneceu: consumo de vários componentes gasosos, produção de vários componentes gasosos, concentração de ácido acético, concentração de etanol e densidade óptica do caldo de fermentação.

[000102] Desse modo, a captação específica de CO (SCU) foi determinada usando as equações (1) - (4) descritas acima.

[000103] Inicialmente, um valor de entrada do gás de síntese foi calculado usando as equações acima correspondendo ao valor de SCU de cerca de 1,4 mmol/min/g e fluxo de gás de síntese foi mantido neste valor calculado até que a densidade de célula aumentasse e alcançasse um valor de cerca de 1,5 g L.

[000104] Uma vez que a densidade de célula do reator alcançou cerca de 1,5 g/L o valor de SCU ajustado para predizer o gás foi reduzido para cerca de 1,2 mmol/min/g. Por conseguinte, uma vez que a massa da célula do reator alcançou cerca de 2,5 g/L o valor de SCU ajustado para predizer o gás foi reduzido para cerca de 1,0 mmol/min/g. A massa celular aumentou com o passar do tempo e alcançou a massa celular esperada de cerca de 2,8 g/L em cerca de 79 horas após a inoculação do reator. Neste ponto a cultura estava produzindo mais do que cerca de 20 g/L de etanol.

[000105] Cerca de 13,97 horas depois, o fluxo do meio de inoculação para o reator foi iniciado em cerca de 0,2 ml/min (tempo de retenção celular aproximado: cerca de 125 horas). Cerca de 28,08 horas depois, o fluxo de meio de inoculação para o reator foi aumentado para cerca de 0,5 ml min (tempo de retenção aproximado: cerca de 52 horas). Durante o experimento o pH foi mantido em cerca de 4,5.

[000106] A redução gradual do SCU ajustado durante todo o início do procedimento é para facilitar a transformação gradual da cultura para manter SCU baixo (entre cerca de 0,7 a cerca de 0,9 mmol min/g) durante o modo de produção (estado estável) do reator.

[000107] O processo mencionado acima leva menos do que cerca de 80 horas para alcançar o objetivo estabelecido de massa celular (cerca

de 2,8 g/L) do reator.

Exemplo 3: *Clostridium autoethanogenum*

[000108] O novo biorreator Brunswick Bioflow I contendo cerca de 1,5 litros (por exemplo, na faixa de cerca de 1,45 a cerca de 1,65 litros) do Meio de Fermentação foi iniciado com cerca de 0,47 g/L de *Clostridium autoethanogenum* ativamente crescente. No início do experimento, a taxa de agitação no biorreator foi ajustada em cerca de 600 rpm. Esta taxa de agitação foi mantida durante todo o experimento. A temperatura no biorreator foi mantida na faixa de cerca de 36 a cerca de 37,5°C durante todo o experimento. As amostras dos seguintes foram tomadas e analisadas em diferentes intervalos (por exemplo, intervalo de cerca de 1 a cerca de 4 horas): o alimento de gás de síntese no biorreator; isenção de gás do biorreator; caldo de fermentação no biorreator. A análise da amostra forneceu: consumo de vários componentes gasosos, produção de vários componentes gasosos, concentração de ácido acético, concentração de etanol e densidade óptica do caldo de fermentação.

[000109] Desse modo, a captação específica de CO (SCU) foi determinada usando as equações (1) - (4) descritas acima.

[000110] Inicialmente, um valor de entrada de gás de síntese foi calculado usando as equações acima correspondendo ao valor de SCU de cerca de 0,4 mmol/min/g e o fluxo de gás de síntese foi mantido neste valor calculado até que a densidade de célula aumentasse. O fluxo de gás correspondendo ao valor de SCU alvo de cerca de 0,4 mmol/min/g foi mantido durante cerca de 19 horas. Entre o período de 19 e 21 horas após a inoculação o valor de SCU alvejado foi cerca de 0,5 mmol/min/g. O valor de SCU alvejado foi ajustado em cerca de 0,6 em cerca de 21 horas após a inoculação. A densidade de célula aumentou com o tempo e alcançou cerca de 3 g/L em cerca de 79 horas após a inoculação do reator. Neste ponto a cultura estava produzindo mais do

que cerca de 15 g/L de etanol. Cerca de 26 horas depois o fluxo do meio de inoculação para o reator foi iniciado em cerca de 0,1 ml/min (tempo de retenção aproximado: cerca de 240 horas). Cerca de 50 horas após o fluxo do meio de inoculação para o reator foi aumentado em cerca de 0,2 ml/min (tempo de retenção aproximado: cerca de 119 horas). Cerca de 71 horas após o fluxo do meio de inoculação para o reator foi aumentado em cerca de 0,5 ml/min (tempo de retenção aproximado: cerca de 50 horas). Durante o experimento o pH foi mantido em cerca de 4,5.

Exemplo 4: *Clostridium autoethanogenum*

[000111] O novo biorreator Brunswick Bioflow I contendo cerca de 1,5 litro (por exemplo, na faixa de cerca de 1,45 a cerca de 1,65 litros) de Meio de Fermentação foi iniciado com aproximadamente cerca de 0,47 g/L de *Clostridium autoethanogenum* ativamente crescente. No início do experimento a taxa de agitação no biorreator foi ajustada em cerca de 600 rpm. Esta taxa de agitação foi mantida durante todo o experimento. A temperatura no biorreator foi mantida na faixa de cerca de 36 a cerca de 37,5°C durante todo o experimento. As amostras dos seguintes foram tomadas e analisadas em diferentes intervalos (por exemplo, intervalo de 1 a 4 horas): o alimento de gás de síntese no biorreator; isenção de gás do biorreator; caldo de fermentação no biorreator. A análise da amostra forneceu: consumo de vários componentes gasosos, produção de vários componentes gasosos, concentração de ácido acético, concentração de etanol e densidade óptica do caldo de fermentação.

[000112] Desse modo, a captação específica de CO (SCU) foi determinada usando as equações (1) - (4) descritas acima.

[000113] Inicialmente, um valor de entrada de gás de síntese foi calculado usando as equações acima correspondendo ao valor de SCU de cerca de 0,6 mmol/min/g e o fluxo de gás de síntese foi mantido

neste valor calculado até que a densidade de célula aumentasse. O valor de SCU alvejado foi ajustado em cerca de 0,7 em cerca de 26 horas após a inoculação. A massa celular aumentou com o tempo e alcançou cerca de 2,97 g/L de massa celular em 64 horas após a inoculação do reator. Neste ponto a cultura estava produzindo mais do que cerca de 18 g/L de etanol. Cerca de 18,3 horas depois, o fluxo do meio de inoculação para o reator foi iniciado em cerca de 0,1 ml/min (tempo de retenção aproximado: cerca de 242 horas). Cerca de 41,6 horas depois, o fluxo do meio de inoculação para o reator foi aumentado para cerca de 0,2 ml/min (tempo de retenção aproximado: cerca de 121 horas). Durante o experimento o pH foi mantido em cerca de 4,5.

Exemplo 5: *Butyribacterium methylotrophicum* (ATCC 33266); Iniciando um Reator Usando o Monóxido de Carbono Específico como Guia Para Aumentar o Gás

[000114] Neste experimento o método de início de captação de monóxido de carbono específico foi testado com um acetogênio não clostridial.

[000115] Este experimento foi iniciado em um reator New Brunswick Bioflow I contendo 1,31 g/L de *Butyribacterium Methylotrophicum* ativamente crescente no meio de fermentação previamente mencionado. A taxa de agitação do reator foi ajustada para 700 rpm no início do experimento. Esta taxa de agitação foi mantida durante todo o experimento. A temperatura no biorreator foi mantida entre 38,5 a 38,6°C durante todo o experimento.

[000116] As amostras de alimento de gás de síntese no biorreator e isenção de gás do biorreator e caldo de fermentação no biorreator foram tomadas em intervalos, por exemplo, o alimento de gás, isenção de gás e caldo de fermentação foram amostrados aproximadamente diariamente, uma vez a cada duas horas e uma vez a cada quatro horas respectivamente. As amostras acima foram analisadas quanto ao

consumo ou produção de vários componentes de gás, concentração de ácido acético no caldo, concentração de etanol no caldo e a densidade óptica (densidade de célula) da cultura. O volume não excitado do reator foi mantido entre 1150 a 1100 mL durante todo o experimento.

[000117] Desse modo, a captação específica de CO (SCU) foi determinada usando as equações (1)-(4) descritas acima.

[000118] Neste exemplo particular, o valor de SCU alvejado foi ajustado para 0,8 mmol/min/g (de células).

[000119] Para manter a estabilidade da cultura, a taxa de fluxo de gás para o reator não foi aumentada se a cultura não estava utilizando 80% do CO fornecido para o reator em qualquer determinado ponto.

[000120] Neste experimento, um Sistema de Reciclo de Célula (CRS) foi preso ao reator antes do início do experimento. O fluxo do meio de fermentação (nutriente) para o reator foi iniciado a uma taxa de 1 mL/min e através do CRS, 0,9 mL/min de permeado foi extraído do reator.

[000121] A densidade de células do reator aumentou com o passar do tempo e alcançou 5,27 g/L de células em 24 horas após a inoculação do reator. Neste ponto a cultura estava produzindo mais do que 15 g/L de etanol, 0,3 g/L de butanol, e mais do que 2 g/L de ácido acético.

[000122] Neste experimento particular o pH da cultura foi mantido entre 4,67 e 4,71 durante todo o experimento.

[000123] As numerosas modificações e variações da presente descrição podem ser feitas por aqueles versados na técnica sem afastar-se do escopo da presente descrição incluído nas específicas modalidades, exemplos, Reivindicações, Pedidos etc. dos mesmos. Todos os documentos publicados estão incorporados aqui por referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Compreendendo Monóxido de Carbono, caracterizado por que o processo compreende:

fermentar um substrato gasoso que inclui monóxido de carbono (CO) num meio aquoso num biorreator;

medir uma taxa de entrada de CO;

medir uma taxa de saída de CO;

medir massa celular;

determinar uma captação específica de CO; e

ajustar gradualmente uma taxa de entrada de CO em etapas para manter a captação específica dentro de CO de 0,1 a 1,4 mmol/minuto/grama de célula seca até atingir uma densidade celular de 0,1 a 15 g/L e uma produtividade de etanol de 1 a 50 g/L/dia.

2. Processo Para a Produção de Um ou Mais Alcoóis a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que compreende ainda adicionar um fluxo do meio aquoso dentro do biorreator e remover um fluxo do caldo de fermentação do biorreator.

3. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que compreende ainda adicionar um fluxo contínuo de meio aquoso dentro do biorreator e remover um fluxo contínuo de caldo de fermentação do biorreator.

4. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de

Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que o referido meio aquoso compreende um ou mais dos microrganismos incluindo: microrganismo biologicamente puro, microrganismo de ocorrência natural, microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo de ocorrência não natural produzido por modificação genética, mutante de microrganismo de ocorrência natural, mutante de microrganismo de ocorrência não natural, microrganismo recombinante, microrganismo construído, microrganismo artificialmente sintetizado.

5. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que o referido biorreator compreende um ou mais biorreatores.

6. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que o biorreator inclui uma unidade de reciclo celular.

7. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que o substrato contendo CO inclui hidrogênio.

8. Processo Para a Produção de Um ou Mais Álcoois a Partir de Substrato Gasoso Monóxido de Carbono, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado** por que compreende ainda adicionar o meio de nutriente ao biorreator.

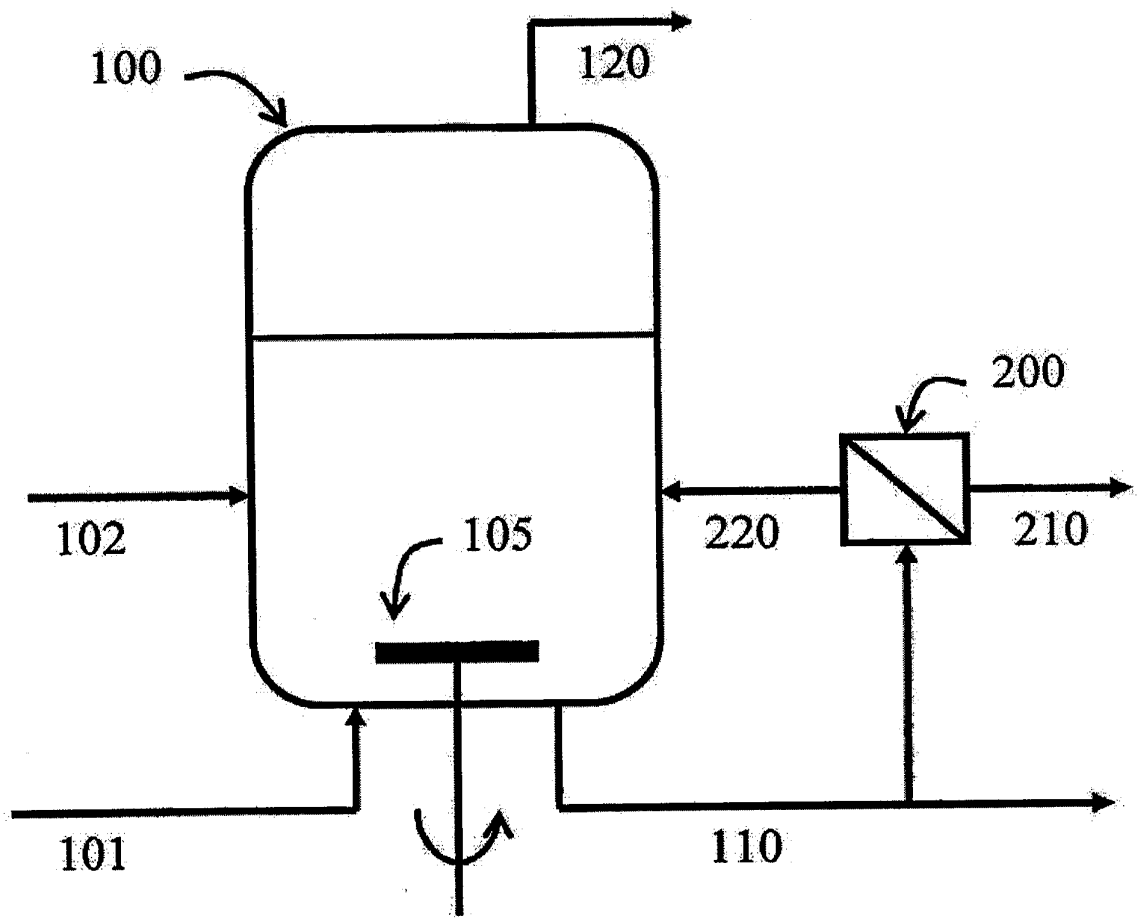


Figura 1