

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 926 336**

51 Int. Cl.:

|                   |                             |           |
|-------------------|-----------------------------|-----------|
| <b>C12P 5/02</b>  | (2006.01) <b>C12R 1/145</b> | (2006.01) |
| <b>C12P 7/02</b>  | (2006.01) <b>A23K 10/16</b> | (2006.01) |
| <b>C12P 7/26</b>  | (2006.01) <b>C12N 1/20</b>  | (2006.01) |
| <b>C12P 7/64</b>  | (2012.01) <b>C12N 1/30</b>  | (2006.01) |
| <b>C12P 13/02</b> | (2006.01) <b>C12P 7/00</b>  | (2006.01) |
| <b>A23K 10/12</b> | (2006.01) <b>C12P 7/10</b>  | (2006.01) |
| <b>C12P 7/08</b>  | (2006.01) <b>C12P 7/06</b>  | (2006.01) |
| <b>C12P 7/14</b>  | (2006.01) <b>C12P 7/54</b>  | (2006.01) |
| <b>C12P 7/16</b>  | (2006.01)                   |           |
| <b>C12R 1/02</b>  | (2006.01)                   |           |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2018 PCT/US2018/049723**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.03.2019 WO19051069**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2018 E 18853740 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2022 EP 3679149**

54 Título: **Proceso para la producción de metabolitos utilizando sustratos que contienen C1 ricos en hidrógeno**

30 Prioridad:

**08.09.2017 US 201762556099 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**25.10.2022**

73 Titular/es:

**LANZATECH, INC. (100.0%)  
8045 Lamon Avenue, Suite 400  
Skokie, Illinois 60077, US**

72 Inventor/es:

**CONRADO, ROBERT JOHN;  
WATERS, GUY WILLIAM;  
PUGLISI, MATTHEW y  
CONOLLY, JOSHUA JEREMY**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 926 336 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Proceso para la producción de metabolitos utilizando sustratos que contienen C1 ricos en hidrógeno

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un proceso para producir uno o más productos de fermentación a través de un proceso de fermentación de gas de múltiples etapas que incluye un reactor de inoculación y al menos un biorreactor. En particular, la invención se refiere a un proceso mediante el cual se alimenta un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO al reactor de inoculación para producir un inóculo.

**Antecedentes de la invención**

El dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supone aproximadamente un 76 % de las emisiones de gases de efecto invernadero globales de las actividades humanas, donde el metano (16 %), el óxido nitroso (6 %) y los gases fluorados (2 %) representan el resto (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos). La reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, en particular CO<sub>2</sub>, es crítica para detener la progresión del calentamiento global y los cambios que lo acompañan en el clima y la meteorología.

Se ha reconocido desde hace mucho tiempo que los procesos catalíticos, tales como el proceso de Fischer-Tropsch, se pueden utilizar para convertir gases que contienen dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), monóxido de carbono (CO) y/o hidrógeno (H<sub>2</sub>), tales como gas de deshecho industrial o gas de síntesis, en diversos combustibles y productos químicos. Recientemente, sin embargo, la fermentación de gases ha surgido como una plataforma alternativa para la fijación biológica de tales gases. En particular, se ha demostrado que los microorganismos fijadores de C1 convierten gases que contienen CO<sub>2</sub>, CO y/o H<sub>2</sub> en productos tales como etanol y 2,3-butanodiol.

Dichos gases pueden proceder, por ejemplo, de procesos industriales, incluyendo gas de la fermentación de hidratos de carbono, gas de la fabricación de cemento, fabricación de pulpa y papel, fabricación de acero, refinado de petróleo y procesos asociados, producción petroquímica, producción de coque, digestión anaerobia o aerobia, gas de síntesis (derivado de fuentes que incluyen, aunque no de forma limitativa, biomasa), corrientes de residuos líquidos, corrientes de residuos sólidos, corrientes municipales, recursos fósiles que incluyen gas natural, carbón y petróleo), extracción de gas natural, extracción de petróleo, procesos metalúrgicos, para la producción y/o el refinado de aluminio, cobre y/o ferroaleaciones, yacimientos geológicos y procesos catalíticos (derivados de fuentes de vapor, aunque no de forma limitativa, reformado de metano con vapor, reformado de nafta con vapor, gasificación de coque de petróleo, regeneración de catalizadores - craqueo de catalizadores fluidos, regeneración de catalizadores-reformado de nafta, y reformado seco de metano).

Con procesos industriales particulares, la composición del gas puede no ser ideal para la fermentación. Cuando la composición del gas no es ideal, el crecimiento celular, la selectividad del producto y la estabilidad pueden no ser óptimos.

Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad de una invención que optimice la composición del gas procedente de procesos industriales para promover el crecimiento celular, la selectividad del producto y la estabilidad en un proceso de fermentación aguas abajo.

El documento US 2017/218404 A1 proporciona esquemas para la integración de un proceso de fermentación, con un proceso de electrólisis, y un proceso industrial generador de C1. En particular, se proporciona un proceso para utilizar productos de electrólisis, por ejemplo, H<sub>2</sub> y/u O<sub>2</sub>, para mejorar la eficiencia del proceso de al menos uno de los procesos de fermentación o el proceso industrial de producción de C1.

El documento WO 2016/065217 A1 proporciona procesos y sistemas biológicos de múltiples etapas para convertir una fuente de carbono C1 en productos finales deseados. Los procesos comprenden dividir un sustrato gaseoso que contiene C1, en paralelo, entre múltiples etapas del biorreactor. Los productos líquidos se alimentan sucesivamente, en serie, desde una primera etapa del biorreactor hasta las etapas aguas abajo del biorreactor.

El documento WO 2015/002552 A1 proporciona un sistema de biorreactor para la fermentación continua de un sustrato gaseoso, comprendiendo dicho sistema dos o más biorreactores primarios y uno o más biorreactores secundarios conectados por una línea de purga central. Además se proporciona un proceso para inocular múltiples biorreactores utilizando una línea de purga central, comprendiendo dicho proceso pasar caldo de fermentación desde un primer biorreactor primario hasta otros biorreactores primarios y/o biorreactores secundarios a través de una línea de purga central. Además se proporciona un proceso para mantener estable la fermentación de un sustrato gaseoso a través de múltiples biorreactores, comprendiendo dicho proceso proporcionar caldo de fermentación desde uno o más biorreactores primarios operativos a uno o más biorreactores secundarios a través de una línea de purga central.

65

**Breve resumen de la invención**

La invención proporciona un proceso para producir uno o más productos de fermentación, comprendiendo el proceso:  
 a. proporcionar un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO a un reactor de inoculación que comprende un medio nutritivo líquido que contiene un cultivo de uno o más microorganismos fijadores de C1; b. fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO para producir un inóculo; c. pasar al menos una parte del inóculo a un sistema de biorreactor, comprendiendo el sistema de biorreactor al menos un biorreactor que contiene un cultivo de uno o más microorganismos fijadores de C1 en un medio nutritivo líquido; d. pasar un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> al sistema de biorreactor; y e. fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> para producir al menos un producto de fermentación, en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO comprende H<sub>2</sub> con una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 1:1, y el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> comprende H<sub>2</sub> en una relación molar de H<sub>2</sub>:CO de al menos 1,1:1.

El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO que pasa al reactor de inoculación puede comprender H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,5:1.

Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO que pasa al reactor de inoculación comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 0,02:1 y menos de 1:1. La relación molar H<sub>2</sub>:CO puede estar entre 0,05:1 y menos de 1:1, o 0,15:1 y menos de 1:1, o 0,25:1 y menos de 1:1, o 0,35:1 y menos de 1:1, o 0,45:1 y menos de 1:1, o 0,55:1 y menos de 1:1, o 0,65:1 y menos de 1:1, o 0,75:1 y menos de 1:1, o 0,85:1 y menos de 1:1, o 0,95:1 y menos de 1:1.

El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> que pasa al sistema de biorreactor comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de al menos 1,1:1.

Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> que pasa al sistema de biorreactor comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 1,1:1 y 6:1. La relación molar H<sub>2</sub>:CO puede ser entre 1,5:1 y 6:1, o 2:1 y 6:1, o 2,5:1 y 6:1, o 3:1 y 6:1, o 3,5:1 y 6:1, o 4:1 y 6:1, o 4,5:1 y 6:1, o 5:1 y 6:1.

El microorganismo fijador de C1 en uno, o ambos, del reactor de inoculación o el sistema de biorreactor puede ser una bacteria carboxidotrófica.

Cuando el microorganismo fijador de C1 es carboxidotrófico, la bacteria carboxidotrófica puede seleccionarse del grupo que consiste en *Moorella*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium*, *Butyribacterium*, *Oxobacter*, *Methanosarcina* y *Desulfotomaculum*.

Preferentemente, la bacteria carboxidotrófica es *Clostridium autoethanogenum*.

El sistema de biorreactores puede comprender uno o más biorreactores primarios conectados a uno o más biorreactores secundarios.

Preferentemente, el proceso prevé el paso de al menos una parte de un sustrato gaseoso que contiene C1 a un reactor de inoculación y al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 a un biorreactor, en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 en el reactor de inoculación se fermenta para producir un inóculo, donde al menos una parte del inóculo se pasa a al menos un biorreactor donde el sustrato gaseoso que contiene C1 en el biorreactor se fermenta para producir al menos un producto de fermentación, y en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación se somete al menos a un proceso de eliminación de H<sub>2</sub> previo a su paso al reactor de inoculación.

El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 1:1.

El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación puede comprender H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,8:1.

El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación puede comprender H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,5:1.

Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 0,02:1 y menos de 1:1. La relación molar H<sub>2</sub>:CO puede estar entre 0,05:1 y menos de 1:1, o 0,15:1 y menos de 1:1, o 0,25:1 y menos de 1:1, o 0,35:1 y menos de 1:1, o 0,45:1 y menos de 1:1, o 0,55:1 y menos de 1:1, o 0,65:1 y menos de 1:1, o 0,75:1 y menos de 1:1, o 0,85:1 y menos de 1:1, o 0,95:1 y menos de 1:1.

El proceso de eliminación de H<sub>2</sub> puede comprender al menos un proceso de adsorción por oscilación de presión.

El proceso de eliminación de H<sub>2</sub> puede comprender al menos un módulo de separación por membrana.

Preferentemente, al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 se deriva de una fuente industrial.

Al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 puede derivarse de al menos una fuente industrial seleccionada del grupo que consiste en fermentación de hidratos de carbono, fermentación de gases, fabricación de cemento, fabricación de pulpa y papel, fabricación de acero, refinado de petróleo y procesos asociados, producción petroquímica, producción de coque, digestión anaerobia o aerobia, gas de síntesis, extracción de gas natural, extracción de petróleo, procesos metalúrgicos, para la producción y/o el refinado de aluminio, cobre y/o ferroaleaciones, yacimientos geológicos y procesos catalíticos.

Preferentemente, el proceso produce al menos un producto de fermentación seleccionado del grupo que consiste en: etanol, acetato, butanol, butirato, 2,3-butanodiol, 1,3-butanodiol, lactato, buteno, butadieno, metil etil cetona, etileno, acetona, isopropanol, lípidos, 3-hidroxiacetato, isopreno, ácidos grasos, 2-butanol, 1,2-propanodiol, 1-propanol, monoetilenglicol, isobuteno y alcoholes C6-C14.

El uno o más productos de fermentación se pueden convertir adicionalmente en al menos un componente de combustible diésel, combustible para reactores, gasolina, propileno, nailon 6-6, caucho y/o resinas.

Al menos un producto de fermentación puede ser biomasa microbiana. Esta biomasa microbiana puede procesarse adicionalmente para producir al menos un componente de alimento para animales.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un diagrama de flujo esquemático que representa la integración de un proceso de eliminación de hidrógeno, un reactor de inoculación y un sistema de biorreactor.

La figura 2 es un diagrama de flujo esquemático que representa la integración de un proceso de eliminación de hidrógeno, un reactor de inoculación y un sistema de biorreactor, donde el proceso de eliminación de hidrógeno está aguas arriba tanto del reactor de inoculación como del sistema de biorreactor.

La figura 3 es un diagrama de flujo esquemático que representa además dos procesos de cambio agua-gas y un proceso de adsorción por oscilación de presión corriente arriba del sistema de biorreactor, donde se omite un proceso de cambio de agua-gas, de acuerdo con un aspecto de la invención.

La figura 4 es un diagrama de flujo esquemático que representa además dos procesos de cambio agua-gas y un proceso de adsorción por oscilación de presión corriente arriba del sistema de biorreactor, de acuerdo con un aspecto de la invención.

La figura 5 es un diagrama de flujo esquemático que representa además procesos de eliminación de hidrógeno adicionales corriente arriba del reactor de inoculación, de acuerdo con un aspecto de la invención.

Las figuras 6a y 6b son gráficos que muestran la producción de metabolitos y la absorción de gas en un primer biorreactor de acuerdo con el ejemplo 1.

Las figuras 7a y 7b son gráficos que muestran la producción de metabolitos y la absorción de gas en un segundo biorreactor de acuerdo con el ejemplo 1.

Las figuras 8a y 8b son gráficos que muestran la producción de metabolitos y la absorción de gas en un primer biorreactor de acuerdo con el ejemplo 2.

Las figuras 9a y 9b son gráficos que muestran la producción de metabolitos y la absorción de gas en un segundo biorreactor de acuerdo con el ejemplo 2.

### Descripción detallada de la invención

Los inventores han identificado que al optimizar la composición de una corriente de gas que se alimenta al reactor de inoculación, el crecimiento celular, la selectividad del producto y la estabilidad se optimizan tanto en el reactor de inoculación como en el sistema de biorreactor posterior. En particular, los inventores han descubierto un crecimiento celular, selectividad del producto y estabilidad óptimos cuando la corriente de gas que se alimenta al reactor de inoculación comprende una cantidad reducida de hidrógeno.

### Definiciones

A menos que se defina de otro modo, los siguientes términos y las expresiones que se usan a lo largo de la presente memoria descriptiva se definen de la siguiente manera:

"C1" se refiere a una molécula de un carbono, por ejemplo, CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> o CH<sub>3</sub>OH. "C1-oxigenado" se refiere a una molécula de un carbono que también comprende al menos un átomo de oxígeno, por ejemplo, CO, CO<sub>2</sub> o CH<sub>3</sub>OH. "Fuente de carbono C1" se refiere a una molécula de carbono que sirve como fuente de carbono parcial o única para

el microorganismo de la invención. Por ejemplo, una fuente de carbono C1 puede comprender uno o más de CO, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>OH o CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Preferentemente, la fuente de carbono C1 comprende uno o ambos de CO o CO<sub>2</sub>. Un "microorganismo fijador de C1" es un microorganismo que tiene la capacidad de producir uno o más productos a partir de una fuente de carbono C1. El microorganismo de la invención es un microorganismo fijador de C1.

5 Los "sustratos gaseosos que contienen C1" incluyen cualquier gas que sale del proceso industrial que comprende C1. El sustrato gaseoso que contiene C1 puede comprender CO, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, o combinaciones de los mismos. El sustrato gaseoso contendrá normalmente una proporción significativa de CO, preferentemente, al menos del 5 % al 100 % de CO en volumen. El sustrato gaseoso puede contener una proporción significativa de hidrógeno. Por ejemplo, el sustrato  
10 puede comprender una relación H<sub>2</sub>:CO de aproximadamente 2:1, o 1:1, o 1:2. El sustrato puede comprender 30 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen, 20 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen, 15 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen o 10 % o menos de H<sub>2</sub> en volumen. El sustrato también puede contener algo de CO<sub>2</sub> por ejemplo, tal como del 1 % al 80 % de CO<sub>2</sub> en volumen, o del 1 % al 30 % de CO<sub>2</sub> en volumen. El sustrato puede comprender menos de o igual al 20 % de CO<sub>2</sub> en volumen. El sustrato puede comprender menos de o igual al 15 % de CO<sub>2</sub> en volumen, menos de o igual al 10 % de  
15 CO<sub>2</sub> en volumen, menos de o igual al 5 % de CO<sub>2</sub> en volumen o sustancialmente nada de CO<sub>2</sub>. Adicionalmente, el sustrato gaseoso que contiene C1 puede contener uno o más de oxígeno (O<sub>2</sub>), nitrógeno (N<sub>2</sub>), y/o metano (CH<sub>4</sub>).

Aunque el sustrato es gaseoso, este se puede proporcionar en formas alternativas. Por ejemplo, el sustrato se puede disolver en un líquido saturado con un gas que contiene CO usando un generador de dispersión de microburbujas. A modo de ejemplo adicional, el sustrato puede adsorberse sobre un soporte sólido.  
20

El término "cosustrato" se refiere a una sustancia que, si bien no es necesariamente la fuente primaria de energía y material para la síntesis del producto, puede utilizarse para la síntesis del producto cuando se agrega a otro sustrato, como el sustrato primario.  
25

El sustrato y/o la fuente de carbono C1 puede ser un gas residual obtenido como un subproducto de un proceso industrial o de alguna otra fuente, tal como los de los gases de escape de los automóviles o la gasificación de biomasa. El proceso industrial puede seleccionarse del grupo que consiste en emisiones de gases de la fermentación de hidratos de carbono, fermentación de gases, emisiones de gases de la fabricación de cemento, fabricación de pulpa y papel, fabricación de acero, refinado de petróleo y procesos asociados, producción petroquímica, producción de coque, digestión anaerobia o aerobia, gas de síntesis (derivado de fuentes que incluyen, aunque no de forma limitativa, biomasa), corrientes de residuos líquidos, corrientes de residuos sólidos, corrientes municipales, recursos fósiles que incluyen gas natural, carbón y petróleo), extracción de gas natural, extracción de petróleo, procesos metalúrgicos, para la producción y/o el refinado de aluminio, cobre y/o ferroaleaciones, yacimientos geológicos y procesos catalíticos (derivados de las fuentes de vapor, aunque no de forma limitativa, reformado de metano con vapor, reformado de nafta con vapor, gasificación de coque de petróleo, regeneración de catalizadores - craqueo de catalizadores fluidos, regeneración de catalizadores-reformado de nafta, y reformado seco de metano). El sustrato y/o la fuente de carbono C1 puede capturarse a partir del proceso industrial antes de ser emitido a la atmósfera, usando cualquier método conveniente.  
30  
35  
40

"Corriente de gas" se refiere a cualquier corriente de sustrato que pueda pasar, por ejemplo, de un módulo a otro, de un módulo a un biorreactor, de un módulo a un reactor de inoculación, de un proceso a otro proceso, y/o de un módulo a un medio de captura de carbono.

45 La expresión "captura de carbono" como se utiliza 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 o bien:

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

"Reactantes" como se utiliza en el presente documento se refiere a una sustancia que participa y experimenta cambios durante una reacción química. Los reactantes pueden incluir, pero sin limitación, CO y/o H<sub>2</sub>.  
55

El "proceso de eliminación de hidrógeno" y similares incluye tecnologías que son capaces de eliminar y/o separar hidrógeno del sustrato gaseoso que contiene C1. Se puede usar un proceso de adsorción por oscilación de presión y/o un proceso de separación por membrana como proceso de eliminación del hidrógeno.

60 El término "biorreactor" y la expresión "sistema de biorreactor" y similares incluye un dispositivo de fermentación que consiste en uno o más recipientes y/o torres o disposiciones de tuberías, que incluye el reactor de tanque agitado de flujo continuo (CSTR), un reactor de células inmovilizadas (ICR), un reactor de lecho percolador (TBR), una columna de burbujas, un fermentador de elevación de gases, un mezclador estático, un reactor de circuito circulante, un reactor de membrana, tal como un biorreactor de membrana de fibra hueca (HFM BR) u otro recipiente u otro dispositivo  
65 adecuado para el contacto gas-líquido. El biorreactor se adapta preferentemente para recibir un sustrato gaseoso que comprende CO o CO<sub>2</sub> o H<sub>2</sub> o mezclas de los mismos. El biorreactor puede comprender múltiples reactores (etapas),

ya sea en paralelo o en serie. Preferentemente, el biorreactor se configura para recibir un inóculo de un reactor de invocación. Preferentemente, el biorreactor se configura como un reactor de producción, donde se producen la mayoría de los productos de fermentación.

5 La expresión "reactor de inoculación", el término "inoculador", "reactor de siembra" y similares incluye un dispositivo de fermentación para establecer y promover el crecimiento celular. El reactor de inoculación está preferentemente adaptado para recibir un sustrato gaseoso que comprende CO o CO<sub>2</sub> o H<sub>2</sub> o mezclas de los mismos. Preferentemente, el reactor de inoculación es un reactor donde primero se inicia el crecimiento celular. El reactor de inoculación puede ser donde se reviven las células que crecieron previamente. El inoculador puede iniciar el crecimiento celular de uno o más microorganismos para producir un inóculo, que a continuación puede transferirse al sistema de biorreactor donde cada biorreactor está configurado para promover la producción de uno o más productos de fermentación. El inoculador puede tener un volumen reducido en comparación con uno o más biorreactores posteriores.

15 "Medios nutritivos" o "Medio nutritivo" se utiliza para describir los medios de crecimiento bacteriano. Generalmente, esta expresión se refiere a un medio que contiene nutrientes y otros componentes apropiados para el crecimiento de un cultivo microbiano. El término "nutriente" incluye cualquier sustancia que pueda utilizarse en una ruta metabólica de un microorganismo. Como ejemplos de nutrientes se incluyen potasio, las vitaminas B, metales traza y aminoácidos.

20 La expresión "caldo de fermentación" o el término "caldo" pretende abarcar la mezcla de componentes que incluyen medios nutritivos y un cultivo de uno o más microorganismos. Cabe señalar que el término microorganismo y el término bacteria se usan indistintamente a lo largo del documento.

25 El término "inóculo" pretende abarcar el caldo de fermentación desarrollado inicialmente en el reactor de inoculación que a continuación se pasa a uno o más biorreactores posteriores para sembrar el uno o más biorreactores posteriores. Preferentemente, el inóculo es utilizado por uno o más biorreactores para producir uno o más productos de fermentación.

30 La expresión "composición deseada" se usa para referirse al nivel deseado y tipos de componentes en una sustancia, tal como, por ejemplo, de una corriente de gas. Más particularmente, se considera que un gas tiene una "composición deseada" si contiene un componente particular (por ejemplo, CO, H<sub>2</sub>, y/o CO<sub>2</sub>) y/o contiene un componente particular en una proporción particular y/o no contiene un componente particular (por ejemplo, un constituyente dañino para los microorganismos) y/o no contiene un componente particular en una proporción particular. Se puede considerar más de un componente al determinar si una corriente de gas tiene la composición deseada. La "composición deseada" del sustrato gaseoso que contiene C1 se define en términos de una relación molar H<sub>2</sub>:CO. La composición deseada del sustrato gaseoso que contiene C1 que se pasa al reactor de inoculación difiere de la composición deseada del sustrato gaseoso que contiene C1 que se pasa al sistema de biorreactor.

40 Las expresiones "que aumenta la eficacia", "eficacia aumentada" y similares, cuando se utilizan en relación a un proceso de fermentación, incluyen, pero sin limitación, aumentar uno o más de la tasa de crecimiento de microorganismos que catalizan la fermentación, la tasa de crecimiento y/o producción del producto a concentraciones elevadas del producto, el volumen del producto deseado producido por volumen de sustrato 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.

45 Salvo que el contexto requiera otra cosa, las expresiones "fermentación", "proceso de fermentación" o "reacción de fermentación" y similares, como se utiliza en el presente documento, pretenden abarcar tanto la fase de crecimiento como la fase de biosíntesis de producto del sustrato gaseoso.

50 Un "microorganismo" es un organismo microscópico, especialmente una bacteria, arquea, virus u hongos. El microorganismo de la invención es normalmente una bacteria. Como se utiliza en el presente documento, la referencia a "microorganismo" debe considerarse que abarca "bacteria".

55 Un "microorganismo parental" es un microorganismo usado para generar un microorganismo de la invención. El microorganismo parental puede ser un microorganismo de origen natural (por ejemplo, un microorganismo de tipo silvestre) o un microorganismo que se ha modificado previamente (por ejemplo, un microorganismo mutante o recombinante). El microorganismo de la invención puede modificarse para expresar o sobreexpresar una o más enzimas que no se expresaban o sobreexpresaban en el microorganismo parental. De manera similar, el microorganismo de la invención puede modificarse para que contenga uno o más genes que no se encontraban en el microorganismo parental. El microorganismo de la invención puede modificarse también para no expresar o para expresar cantidades menores de una o más enzimas que se expresaban en el microorganismo parental. El microorganismo parental puede ser *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* o *Clostridium ragsdalei*. Preferentemente, el microorganismo parental es *Clostridium autoethanogenum* LZ1561, que se depositó el 7 de junio de 2010, en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), situada en Inhoffenstraße 7B, D-38124 Braunschweig, Alemania, el 7 de junio de 2010, según los términos del Tratado de Budapest y el número de registro asignado DSM23693. Esta cepa se describe en la solicitud de patente internacional n.º PCT/NZ2011/000144, que se publicó como documento WO 2012/015317.

La expresión "derivado de" indica que un ácido nucleico, proteína o microorganismo se modifica o adapta a partir de un ácido nucleico, proteína o microorganismo (por ejemplo, un parental o tipo silvestre) diferente, para producir un nuevo ácido nucleico, proteína o microorganismo. Tales modificaciones o adaptaciones generalmente incluyen inserción, delección, mutación o sustitución de ácidos nucleicos o genes. Generalmente, el microorganismo de la invención se deriva de un microorganismo parental. El microorganismo de la invención puede seleccionarse de *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* o *Clostridium ragsdalei*. Preferentemente, el microorganismo de la invención puede ser *Clostridium autoethanogenum* LZ1561, que se deposita con el número de registro de DSMZ DSM23693.

"Wood-Ljungdahl" se refiere a la ruta de fijación de carbono de Wood-Ljungdahl como se describe, es decir, por Ragsdale, *Biochim Biophys Acta*, 1784: 1873-1898, 2008. "Microorganismos Wood-Ljungdahl" se refiere, predicablemente, a microorganismos que contienen la ruta de Wood-Ljungdahl. Generalmente, el microorganismo de la invención contiene una ruta de Wood-Ljungdahl natural. En el presente documento, una ruta de Wood-Ljungdahl puede ser una ruta de Wood-Ljungdahl natural, no modificada o puede ser una ruta de Wood-Ljungdahl con cierto grado de modificación genética (por ejemplo, sobreexpresión, expresión heteróloga, desactivación, etc), siempre que siga manteniendo la función de convertir CO, CO<sub>2</sub> y/o CH<sub>2</sub> en acetil-CoA.

Un "anaerobio" es un microorganismo que no requiere oxígeno para el crecimiento. Un anaerobio puede reaccionar negativamente o incluso morir si el oxígeno está presente por encima de un cierto umbral. Sin embargo, algunos anaerobios son capaces de tolerar niveles bajos de oxígeno (por ejemplo, 0,000001-5 % en vol. de oxígeno). Normalmente, el microorganismo de la invención es un anaerobio.

Los "acetógenos" son bacterias anaerobias obligadas que utilizan la ruta de Wood-Ljungdahl como su mecanismo principal para la conservación de energía y para la síntesis de acetil-CoA y productos derivados de acetil-CoA, tales como acetato (Ragsdale, *Biochim Biophys Acta*, 1784: 1873-1898, 2008). En particular, los acetógenos utilizan la ruta de Wood-Ljungdahl como un (1) mecanismo para la síntesis reductora de acetil-CoA a partir de CO<sub>2</sub>, (2) proceso terminal de conservación de energía que acepta electrones, (3) mecanismo para la fijación (asimilación) de CO<sub>2</sub> en la síntesis de carbono celular (Drake, *Acetogenic Prokaryotes*, En: *The Prokaryotes*, 3<sup>a</sup> edición, pág. 354, Nueva York, Nueva York, 2006). Todos los acetógenos de origen natural son fijadores de C1, anaeróbicos, autótrofos y no metanótrofos. Normalmente, el microorganismo de la invención es un acetógeno.

Un "etanológico" es un microorganismo que produce o es capaz de producir etanol. Normalmente, el microorganismo de la invención es un etanológico.

Un "autótrofo" es un microorganismo capaz de crecer en ausencia de carbono orgánico. En cambio, los autótrofos utilizan fuentes de carbono inorgánico, tal como CO y/o CO<sub>2</sub>. Normalmente, el microorganismo de la invención es un autótrofo.

Un "carboxidótrofo" es un microorganismo capaz de utilizar CO como única fuente de carbono y energía. Normalmente, el microorganismo de la invención es un carboxidótrofo.

El microorganismo de la invención se cultiva con la corriente de gas para producir uno o más productos. Por ejemplo, el microorganismo de la invención puede producirse o manipularse para producir etanol (documento WO 2007/117157), acetato (documento WO 2007/117157), butanol (documento WO 2008/115080 y documento WO 2012/053905), butirato (documento WO 2008/115080), 2,3-butanodiol (documentos WO 2009/151342 y WO 2016/094334), lactato (documento WO 2011/112103), buteno (documento WO 2012/024522), butadieno (documento WO 2012/024522), metil etil cetona (2-butanona) (documentos WO 2012/024522 y WO 2013/185123), etileno (documento WO 2012/026833), acetona (documento WO 2012/115527), isopropanol (documento WO 2012/115527), lípidos (documento WO 2013/036147), 3-hidroxiopropionato (3-HP) (documento WO 2013/180581), terpenos, incluyendo isopreno (documento WO 2013/180584), ácidos grasos (documento WO 2013/191567), 2-butanol (documento WO 2013/185123), 1,2-propanodiol (documento WO 2014/036152), 1-propanol (documento WO 2014/0369152), productos derivados de corismato (documento WO 2016/191625), 3-hidroxiobutirato (documento WO 2017/066498), y 1,3-butanodiol (documento WO 2017/0066498). Además de uno o más productos diana, el microorganismo de la invención también puede producir etanol, acetato y/o 2,3-butanodiol. La biomasa microbiana en sí puede considerarse un producto. Estos productos pueden convertirse aún más para producir al menos un componente de diésel, combustible para reactores y/o gasolina. Adicionalmente, la biomasa microbiana puede procesarse adicionalmente para producir una proteína unicelular (SCP).

Una "proteína unicelular" (SCP) se refiere a una biomasa microbiana que puede usarse en alimentos ricos en proteínas para humanos y/o animales, reemplazando a menudo las fuentes convencionales de suplementos de proteínas, como la harina de soja o la harina de pescado. Para producir una proteína unicelular u otro producto, el proceso puede comprender etapas adicionales de separación, procesamiento o tratamiento. Por ejemplo, el método puede comprender esterilizar la biomasa microbiana, centrifugar la biomasa microbiana y/o secar la biomasa microbiana. La biomasa microbiana se puede secar mediante secado por pulverización o secado por paletas. El método también puede comprender reducir el contenido de ácido nucleico de la biomasa microbiana usando cualquier método conocido

en la técnica, ya que la ingesta de una dieta con alto contenido de ácido nucleico puede dar como resultado la acumulación de productos de degradación de ácido nucleico y/o malestar gastrointestinal. La proteína unicelular puede ser adecuada para la alimentación de animales, tales como ganado o mascotas. En particular, el alimento para animales puede ser adecuado para alimentar a uno o más de ganado vacuno de carne, ganado vacuno lechero, cerdos, ovejas, cabras, caballos, mulas, burros, ciervos, búfalos/bisontes, llamas, alpacas, reno, camellos, bantengs, gayales, yaks, pollos, pavos, patos, gansos, codorniz, pintada, pichones/palomas, peces, camarón, crustáceos, gatos, perros y roedores. La composición del alimento para animales se puede adaptar a los requisitos nutricionales de diferentes animales. Por otra parte, el proceso puede comprender mezclar o combinar la biomasa microbiana con uno o más excipientes.

Un "excipiente" puede referirse a cualquier sustancia que pueda agregarse a la biomasa microbiana para mejorar o alterar la forma, las propiedades o el contenido nutricional del alimento para animales. Por ejemplo, el excipiente puede comprender uno o más de un hidrato de carbono, fibra, grasa, proteína, vitamina, mineral, agua, aroma, edulcorante, antioxidante, enzima, conservante, probiótico o antibiótico. El excipiente puede ser heno, paja, ensilaje, granos, aceites o grasas, u otro material vegetal. El excipiente puede ser cualquier ingrediente alimentario identificado en Chiba, Sección 18: Formulación de dietas e ingredientes comunes de piensos, Manual de Nutrición Animal, 3ª revisión, páginas 575-633, 2014.

Un "producto natural" es un producto producido por un microorganismo sin modificar genéticamente. Por ejemplo, etanol, acetato y 2,3-butanodiol son productos naturales de *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* y *Clostridium ragsdalei*. Un "producto no natural" es un producto que es producido por un microorganismo modificado genéticamente pero no es producido por un microorganismo no modificado genéticamente del cual se deriva el microorganismo modificado genéticamente.

"Selectividad" se refiere a la relación de la producción de un producto diana respecto a la producción de todos los productos de fermentación producidos por un microorganismo. El microorganismo de la invención puede manipularse para producir productos con una cierta selectividad o con una selectividad mínima. Un producto diana puede representar al menos el 5 % en peso, el 10 % en peso, el 15 % en peso, el 20 % en peso, el 30 % en peso, el 50 % en peso, el 75 % o el 90 % de todos los productos de fermentación producidos por el microorganismo de la invención. El producto diana puede representar al menos el 10 % de todos los productos de fermentación producidos por el microorganismo de la invención, de modo que el microorganismo de la invención tiene una selectividad para el producto diana de al menos el 10 %. El producto diana puede representar al menos el 30 % de todos los productos de fermentación producidos por el microorganismo de la invención, de modo que el microorganismo de la invención tiene una selectividad para el producto diana de al menos el 30 %. El producto diana puede representar al menos el 90 % de todos los productos de fermentación producidos por los microorganismos, de modo que el microorganismo de la invención tiene una selectividad para el producto diana de al menos el 90 %.

Los productos diana pueden separarse o purificarse a partir de un caldo de fermentación utilizando cualquier método o combinación de métodos conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, destilación fraccionada, evaporación, pervaporación, extracción de gas, separación de fases y fermentación extractiva, incluyendo, por ejemplo, extracción líquido-líquido. Los productos diana pueden recuperarse del caldo de fermentación eliminando continuamente una parte del caldo del biorreactor, separando las células microbianas del caldo (convenientemente por filtración) y recuperando uno o más productos diana del caldo. Los alcoholes y/o acetona puede(n) recuperarse, por ejemplo, mediante destilación. Los ácidos pueden recuperarse, por ejemplo, por adsorción sobre carbón activado. Las células microbianas separadas se devuelven preferentemente al biorreactor. El permeado sin células que queda después de que se hayan eliminado los productos diana preferentemente se devuelve también al biorreactor. Se pueden añadir nutrientes adicionales (tales como vitaminas B) al permeado sin células para reponer el medio nutritivo antes de que se devuelva al biorreactor.

Es deseable que el cultivo/fermentación se lleve a cabo en condiciones apropiadas para la producción del producto diana. Normalmente, el cultivo/fermentación se realiza en condiciones anaerobias. Las condiciones de reacción a considerar incluyen presión (o presión parcial), temperatura, caudal de gas, caudal de líquido, pH de los medios, potencial redox de los medios, velocidad de agitación (en caso de utilizar un reactor de tanque agitado de flujo continuo), nivel de inóculo, concentraciones máximas de sustrato gaseoso para garantizar que el gas en la fase líquida no se vuelve limitante y concentraciones máximas del producto para evitar la inhibición del producto. En particular, la tasa de introducción del sustrato puede controlarse para asegurar que la concentración de gas en la fase líquida no se vuelva limitante, dado que los productos pueden consumirse por el cultivo en condiciones limitadas de gas.

La operación de un biorreactor a presiones elevadas permite una tasa aumentada de transferencia de masa de gas de la fase gaseosa a la fase líquida. Por consiguiente, generalmente es preferible realizar el cultivo/fermentación a presiones mayores que la presión atmosférica. También, dado que una tasa de conversión de gas dada es, en parte, una función del tiempo de retención del sustrato y el tiempo de retención dicta el volumen requerido de un biorreactor, el uso de sistemas presurizados puede reducir en gran medida el volumen del biorreactor necesario y, en consecuencia, el gasto de capital del equipo de cultivo/fermentación. Esto, a su vez, significa que el tiempo de retención, definido como el volumen líquido en el biorreactor dividido por la tasa de flujo de gas aportado, puede reducirse cuando los biorreactores se mantienen a presión elevada, en vez de a presión atmosférica. Las condiciones

de reacción óptimas dependerán en parte del microorganismo particular utilizado. Sin embargo, en general, es preferible operar la fermentación a presiones mayores que la presión atmosférica. También, dado que una tasa de conversión de gas 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 necesario de un biorreactor, el uso de sistemas presurizados puede reducir en gran medida el volumen necesario del biorreactor y en consecuencia, el coste de capital del equipo de fermentación.

### **Descripción**

Se ha observado que controlar la composición del sustrato gaseoso que contiene C1 que se alimenta a un inoculador y/o un biorreactor es particularmente útil para promover el crecimiento celular, la selectividad del producto y la estabilidad tanto en el reactor de inoculación como en los biorreactores posteriores. Preferentemente, se controla la composición del sustrato que contiene C1 antes de alimentarlo a un reactor de inoculación, para producir un inóculo para alimentar uno o más reactores aguas abajo. El reactor de inoculación comprende un cultivo de uno o más microorganismos fijadores de C1 en un medio nutritivo líquido y es capaz de recibir el sustrato gaseoso que contiene C1 de composición controlada para producir un inóculo mediante fermentación.

Los inventores han descubierto que cuando se usa para la fermentación un sustrato gaseoso que contiene C1 que es rico en hidrógeno, el proceso de fermentación a menudo carece de selectividad y estabilidad del producto a largo plazo. Sorprendentemente, los inventores han descubierto que cuando se opera un proceso de fermentación en condiciones ricas en hidrógeno, al proporcionar una corriente alternativa que contiene C1 rica en monóxido de carbono (CO) al reactor de inoculación, se produce no solo un aumento en el crecimiento de la biomasa y la tasa de crecimiento de la biomasa, sino que también da como resultado una mayor selectividad para el etanol y una mejor estabilidad en los biorreactores aguas abajo.

Esta invención tiene una aplicabilidad particular a los procesos de fermentación que utilizan corrientes de gas industrial que comprenden H<sub>2</sub> en una relación molar de H<sub>2</sub>:CO de al menos 3:1, sin embargo se considera que la invención también es beneficiosa para las corrientes industriales que comprenden composiciones con menor contenido de H<sub>2</sub>, tales como corrientes de gases que tienen relaciones molares de H<sub>2</sub>:CO de 2:1 o 1,5:1, o 1,1:1. Preferentemente, el proceso para producir uno o más productos de fermentación comprende: (a) pasar al menos una parte de un sustrato gaseoso que contiene C1 a un reactor de inoculación y al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 a un biorreactor; (b) fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 en el reactor de inoculación para producir un inóculo; (c) pasar al menos una parte del inóculo a al menos un biorreactor; y (d) fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 en el biorreactor para producir al menos un producto de fermentación; en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación se somete al menos a un proceso de eliminación de H<sub>2</sub> previo a su paso al reactor de inoculación.

El biorreactor puede comprender uno o más reactores primarios conectados a uno o más reactores secundarios. El o los reactores primarios pueden operar en condiciones para promover la producción de biomasa, y el o los reactores secundarios pueden operar en condiciones para promover la producción de metabolitos. El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> proporcionado a los reactores primario y secundario puede ser de la misma fuente industrial y puede tener sustancialmente la misma composición.

El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO y el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> pueden derivar de la misma fuente industrial. Al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> puede pasarse a un proceso de eliminación de hidrógeno, antes de proporcionarlo al reactor de inoculación, estando configurado el proceso de eliminación de hidrógeno para separar al menos una parte del hidrógeno del sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> para producir el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO. La zona de tratamiento puede comprender un módulo de separación por membrana de H<sub>2</sub>/o un proceso de adsorción por oscilación de presión (PSA). Preferentemente, el proceso de eliminación de hidrógeno comprende un módulo de separación por membrana.

El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> puede derivar de un proceso industrial.

El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO puede comprender una corriente de gas CO embotellada. El gas CO embotellado se puede mezclar con uno o más componentes gaseosos como nitrógeno y/o dióxido de carbono. El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO puede ser una corriente gaseosa rica en CO derivada de una fuente diferente a la del sustrato gaseoso rico en H<sub>2</sub>. El sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO puede derivarse de un proceso de electrólisis de CO<sub>2</sub>.

### **Separación de hidrógeno**

El volumen de gas necesario puede, en algunos casos, hacer prohibitivo el uso de gas embotellado debido al costo. Por lo tanto, se prefiere que el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> se trate para eliminar al menos una parte del hidrógeno del sustrato y producir un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO. Métodos adecuados para el tratamiento de un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> pueden incluir, pero sin limitación, tecnologías de separación por membrana y tecnologías de adsorción por oscilación de presión.

Los módulos de separación por membrana proporcionan una forma relativamente simple y de bajo costo para eliminar al menos una parte del hidrógeno de un sustrato gaseoso. Por ejemplo, un gas de síntesis de reformador con una composición de 72 % en vol. de H<sub>2</sub>, 14 % en vol. de CO, 7 % en vol. de CO<sub>2</sub> y 7 % en vol. de CH<sub>4</sub> a una presión de 25 bara que pasa a través de un módulo de separación por membrana de demostración produce una corriente rica en CO de alta presión y una corriente rica en H<sub>2</sub> de baja presión. La corriente rica en CO de alta presión sigue a 25 bara y contiene 50 % en vol. de CO,

16 % en vol. de H<sub>2</sub>, 25 % en vol. de CH<sub>4</sub>, y 9 % en vol. de CO<sub>2</sub>. La corriente rica en H<sub>2</sub> de baja presión se reduce hasta 1 bara y contiene 92 % en vol. de H<sub>2</sub>, 6 % en vol. de CO<sub>2</sub>, y 1 % en vol. de cada uno de CO y CH<sub>4</sub>. La corriente rica en CO de alta presión se puede proporcionar al inoculador como un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO. La corriente rica en CO de alta presión proporciona el beneficio adicional de no requerir más compresión, evitando así el costo de capital asociado con una unidad compresora adicional para el reactor de inoculación.

Las tecnologías de proceso de adsorción por oscilación de presión son una forma más complicada pero efectiva de eliminar al menos una parte del hidrógeno de un sustrato gaseoso. Cuando se utiliza un proceso de adsorción por oscilación de presión, la corriente rica en CO resultante es de baja presión. Si bien el uso de un proceso de adsorción por oscilación de presión es factible, es posible que sea necesario comprimir el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO antes de proporcionarlo al reactor de inoculación o a cualquier biorreactor, aumentando de este modo el costo de capital asociado con el reactor de inoculación. Esto puede compensarse al menos parcialmente, sin embargo, si se considera el hecho de que la corriente de hidrógeno producida por el proceso de adsorción por oscilación de presión está a alta presión y puede venderse como un producto.

#### Electrólisis de CO<sub>2</sub>

Un método alternativo para proporcionar un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO es mediante el uso de electrólisis del CO<sub>2</sub>. Los procesos de electrólisis del CO<sub>2</sub> convierten una materia prima de CO<sub>2</sub> en CO y O<sub>2</sub>. El uso de un proceso de electrólisis del CO<sub>2</sub> para proporcionar una corriente rica en CO para el inoculador puede ser de interés en centros industriales que comprenden una corriente rica en CO<sub>2</sub> además de una corriente rica en O<sub>2</sub>. Adicionalmente, se considera además que el gas de cola del reactor de inoculación y/o del sistema de biorreactor, que es rico en CO<sub>2</sub> se puede utilizar como materia prima para las unidades de electrolisis del CO<sub>2</sub>.

La Figura 1 muestra un diagrama de flujo esquemático de una realización de la invención. Una parte de un sustrato gaseoso que contiene C1 se pasa a través de medios de tubería 110 a un reactor de inoculación 130 donde el sustrato que contiene C1 se fermenta para producir un inóculo. Al menos una parte del inóculo pasa a través de medios de tubería 131 al sistema de biorreactor 140, 150 donde una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 también pasa a través de medios de tubería 110 para ser fermentado y producir al menos un producto 141, 151. El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 130 se somete a al menos un proceso de eliminación de hidrógeno 120 antes de enviarse al reactor de inoculación 130. El proceso de eliminación de hidrógeno 120 recibe el sustrato gaseoso que contiene C1 a través de medios de tubería 110 y elimina al menos una parte del hidrógeno 121 del sustrato gaseoso que contiene C1 para producir un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO, que se alimenta al reactor de inoculación 130 a través de medios de tubería 122.

El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 130 comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 1:1. El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 130 puede comprender H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,8:1. Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 130 comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 0,02:1 y 1:1. El proceso de eliminación de hidrógeno 120 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de al menos un módulo de separación por membrana. El proceso de eliminación de hidrógeno 120 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de al menos un proceso de adsorción por oscilación de presión. El proceso de eliminación de hidrógeno 120 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de un módulo de separación por membrana y un proceso de adsorción por oscilación de presión.

El sustrato gaseoso que contiene C1 que se alimenta al reactor de inoculación 130 y al sistema de biorreactor 140, 150 puede derivarse al menos en parte de una fuente industrial. Preferentemente, la fuente industrial se selecciona del grupo que consiste en fermentación de hidratos de carbono, fermentación de gases, fabricación de cemento, fabricación de pulpa y papel, fabricación de acero, refinado de petróleo y procesos asociados, producción petroquímica, producción de coque, digestión anaerobia o aerobia, gas de síntesis, extracción de gas natural, extracción de petróleo, procesos metalúrgicos, para la producción y/o el refinado de aluminio, cobre y/o ferroaleaciones, yacimientos geológicos y procesos catalíticos.

Preferentemente, el producto de fermentación 141, 151 producido por el sistema de biorreactor 140, 150 se selecciona del grupo que consiste en: etanol, acetato, butanol, butirato, 2,3-butanodiol, 1,3-butanodiol, lactato, buteno, butadieno, metil etil cetona, etileno, acetona, isopropanol, lípidos, 3-hidroxipropionato, isopreno, ácidos grasos, 2-butanol, 1,2-propanodiol, 1-propanol, monoetilenglicol, isobuteno y alcoholes C6-C14. Al menos una parte del producto 141, 151 puede convertirse adicionalmente en al menos un componente de combustible diésel, combustible para reactores, gasolina, propileno, nailon 6-6, caucho y/o resinas. Al menos un producto de fermentación 141, 151 puede ser biomasa

microbiana. Esta biomasa microbiana puede, en algunos casos, procesarse adicionalmente para producir al menos un componente de alimento para animales.

5 El caldo de fermentación de un biorreactor 140 puede pasarse a otro biorreactor 150 dentro del sistema de biorreactor 140, 150 a través de medios de tubería 142.

10 La Figura 2 muestra un diagrama de flujo esquemático de un proceso que también se divulga en el presente documento. Una parte de un sustrato gaseoso que contiene C1 se pasa a través de medios de tubería 210 a un reactor de inoculación 230 donde el sustrato que contiene C1 se fermenta para producir un inóculo. Al menos una parte del inóculo pasa a través de medios de tubería 231 al sistema de biorreactor 240, 250 donde una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 también pasa a través de medios de tubería 210 para ser fermentado y producir al menos un producto 241, 251. El sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 230 y al sistema de biorreactor 140, 150 se somete a al menos un proceso de eliminación de hidrógeno 220 antes de enviarse al reactor de inoculación 230. El proceso de eliminación de hidrógeno 220 recibe el sustrato gaseoso que contiene C1 a través de medios de tubería 210 y elimina al menos una parte del hidrógeno 221 del sustrato gaseoso que contiene C1 para producir un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO, que se alimenta al reactor de inoculación 230 a través de medios de tubería 222 y al sistema de biorreactor, 140, 150 a través de medios de tubería 223.

20 Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 230 y al sistema de biorreactor 240, 250 comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 1:1. En el proceso divulgado, el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 230 y al sistema de biorreactor 240, 250 puede comprender H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,8:1. Preferentemente, el sustrato gaseoso que contiene C1 que pasa al reactor de inoculación 230 y al sistema de biorreactor 240, 250 comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 0,02:1 y 1:1. En el proceso divulgado, el proceso de eliminación de hidrógeno 220 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de al menos un módulo de separación por membrana. En el proceso divulgado, el proceso de eliminación de hidrógeno 220 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de al menos un proceso de adsorción por oscilación de presión. En el proceso divulgado, el proceso de eliminación de hidrógeno 220 puede eliminar al menos una parte del hidrógeno mediante el uso de un módulo de separación por membrana y un proceso de adsorción por oscilación de presión.

30 En el proceso divulgado, el sustrato gaseoso que contiene C1 que se alimenta al reactor de inoculación 230 y al sistema de biorreactor 240, 250 puede derivarse al menos en parte de una fuente industrial. Preferentemente, la fuente industrial se selecciona del grupo que consiste en fermentación de hidratos de carbono, fermentación de gases, fabricación de cemento, fabricación de pulpa y papel, fabricación de acero, refinado de petróleo y procesos asociados, producción petroquímica, producción de coque, digestión anaerobia o aerobia, gas de síntesis, extracción de gas natural, extracción de petróleo, procesos metalúrgicos, para la producción y/o el refinado de aluminio, cobre y/o ferroaleaciones, yacimientos geológicos y procesos catalíticos.

40 Preferentemente, el producto de fermentación 241, 251 producido por el sistema de biorreactor 240, 250 se selecciona del grupo que consiste en: etanol, acetato, butanol, butirato, 2,3-butanodiol, 1,3-butanodiol, lactato, buteno, butadieno, metil etil cetona, etileno, acetona, isopropanol, lípidos, 3-hidroxiopropionato, isopreno, ácidos grasos, 2-butanol, 1,2-propanodiol, 1-propanol, monoetilenglicol, isobuteno y alcoholes C6-C14. En el proceso divulgado, al menos una parte del producto 241, 251 puede convertirse adicionalmente en al menos un componente de combustible diésel, combustible para reactores, gasolina, propileno, nailon 6-6, caucho y/o resinas. En el proceso divulgado, al menos un producto de fermentación 241, 251 puede ser biomasa microbiana. Esta biomasa microbiana puede, en algunos casos, procesarse adicionalmente para producir al menos un componente de alimento para animales.

50 En el proceso divulgado, el caldo de fermentación de un biorreactor 240 puede pasarse a otro biorreactor 250 dentro del sistema de biorreactor 240, 250 a través de medios de tubería 242.

Las Figuras 3, 4 y 5 representan varias realizaciones de la invención, que usan un proceso de producción de hidrógeno de una operación de refinado como fuente industrial del sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub>. Un proceso de producción de hidrógeno típico, como se muestra en la Fig. 3, la Fig. 4 y la Fig. 5, contiene las siguientes fases: (i) un proceso de reformado en donde una materia prima que contiene CH<sub>4</sub> se convierte en una corriente de gas de síntesis que comprende CO y H<sub>2</sub>; (ii) al menos una etapa de cambio de agua-gas, en donde una parte del CO reacciona con agua para producir H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>; y (iii) un módulo de adsorción por oscilación de presión (PSA), adaptado para recuperar hidrógeno de la corriente de gas.

60 La Fig. 3 muestra una realización de la invención que utiliza un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> procedente de un proceso de reformado 310. Al menos una parte del sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> se hace fluir a un módulo de separación por membrana 350 a través de medios de tubería 312. El módulo de separación por membrana 350 separa el sustrato gaseoso que contiene C1 en una corriente rica en CO de alta presión y una corriente rica en H<sub>2</sub> de baja presión. Al menos una parte de la corriente rica en CO de baja presión se pasa a un reactor de inoculación 370 a través de medios de tubería 352. Al menos una parte de la corriente rica en H<sub>2</sub> de baja presión se pasa a un proceso de adsorción por oscilación de presión 360 a través de medios de tubería 351. El sustrato gaseoso puede pasar a un compresor antes de pasar al proceso de adsorción por oscilación de presión 360. La corriente rica

65

en CO puede comprender al menos un 40 % de CO, o al menos un 50 % CO, o al menos un 60 % de CO. La presión de la corriente que contiene C1 rica en CO puede ser de al menos 15 bar, o al menos 20 bar, o al menos 25 bar.

5 El proceso puede incluir múltiples procesos de cambio de agua-gas 320, 330 y/o múltiples procesos de eliminación de hidrógeno 350, 340, 360. Como se muestra en la figura 3, el sustrato gaseoso que contiene C1 puede pasar primero de un proceso de reformado 310 a un proceso de cambio agua-gas 320 a través de medios de tubería 311 para convertir al menos una parte del CH<sub>4</sub> en una corriente de gas de síntesis que comprende CO y H<sub>2</sub>. Esta corriente de gas puede opcionalmente evitar uno o más procesos adicionales de cambio de agua-gas 330 a través de medios de tubería 321 y alimentarse al uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 340 para separar al menos una parte del hidrógeno 341 de la corriente de gas. Esta corriente se puede pasar a continuación a uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 360 adicionales a través de medios de tubería 342. La corriente del uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 360 adicionales se puede enviar al biorreactor 380 a través de medios de tubería 361 para fermentación. Al menos una parte del sustrato que no se envía al biorreactor se puede enviar opcionalmente al proceso de reformado 310 a través de medios de tubería 362. El biorreactor 380 recibe el sustrato gaseoso y produce uno o más productos de fermentación 381. Opcionalmente, el gas de cola del reactor de inoculación 370 y del biorreactor 380 pueden volver al proceso de reformado 310 a través de medios de tubería separados 372, 382 y/o de una corriente combinada 378.

20 El reactor de inoculación 370 y el biorreactor 380 están configurados de manera escalonada, por lo que el reactor de inoculación 370 fermenta un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO para producir un inóculo, que a continuación se alimenta al biorreactor 380 a través de medios de tubería 371. Al utilizar este inóculo en el biorreactor 380, se mejora la selectividad del producto y la estabilidad del proceso de fermentación.

25 Como se muestra en la figura 4, una corriente que contiene C1 rica en H<sub>2</sub> de un proceso de reformado 410 puede fluir al proceso de adsorción por oscilación de presión 450 a través de medios de tubería 412 proporcionados aguas arriba del reactor de inoculación 470. El proceso de adsorción por oscilación de presión 450 separa la corriente que contiene C1 en una corriente rica en H<sub>2</sub> y una corriente rica en CO de baja presión. La corriente rica en CO de baja presión puede pasar a un compresor antes de pasar al reactor de inoculación 470 a través de medios de tubería 452. La corriente rica en CO que pasa al reactor de inoculación 470 puede comprender al menos 30 % de CO o al menos 40 % de CO, o al menos 50 % de CO, o al menos 60 % de CO. El hidrógeno separado puede pasar del proceso de adsorción por oscilación de presión 450 a otro proceso de adsorción por oscilación de presión 460 a través de medios de tubería 451. El proceso puede incluir múltiples procesos de cambio de agua-gas 420, 430 y/o múltiples procesos de eliminación de hidrógeno 450, 440, 460.

35 Como se muestra en la figura 4, el sustrato gaseoso que contiene C1 puede pasar primero de un proceso de reformado 410 a un proceso de cambio agua-gas 420 a través de medios de tubería 411 para convertir al menos una parte del CH<sub>4</sub> en una corriente de gas de síntesis que comprende CO y H<sub>2</sub>. Esta corriente de gas puede a continuación pasar a uno o más procesos de cambio agua-gas 430 adicionales a través de medios de tubería 421 y alimentarse al uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 440 a través de medios de tubería 431 para separar al menos una parte del hidrógeno 441 de la corriente de gas. Esta corriente se puede pasar a continuación a uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 460 adicionales a través de medios de tubería 442. La corriente del uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 460 adicionales se puede enviar al biorreactor 480 a través de medios de tubería 461 para fermentación. Al menos una parte del sustrato que no se envía al biorreactor se puede enviar opcionalmente al proceso de reformado 410 a través de medios de tubería 462. El biorreactor 480 recibe el sustrato gaseoso y produce uno o más productos de fermentación 481. Opcionalmente, el gas de cola del reactor de inoculación 470 y del biorreactor 480 pueden volver al proceso de reformado 410 a través de medios de tubería separados 472, 482 y/o de una corriente combinada 478.

50 El reactor de inoculación 470 y el biorreactor 480 están configurados de manera escalonada, por lo que el reactor de inoculación 470 fermenta un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO para producir un inóculo, que a continuación se alimenta al biorreactor 480 a través de medios de tubería 471. Al utilizar este inóculo en el biorreactor 480, se mejora la selectividad del producto y la estabilidad del proceso de fermentación.

55 Como se muestra en la Fig. 5, la corriente que contiene C1 del proceso de reformado 510 puede enviarse a múltiples procesos de eliminación de hidrógeno 540, 550, 560, 590 antes de enviarse al reactor de inoculación 570 y/o al biorreactor 580. La corriente que contiene C1 puede enviarse a un compresor antes y/o entre un proceso de eliminación de hidrógeno. Al enviar la corriente que contiene C1 a múltiples procesos de eliminación de hidrógeno, la composición de CO en la corriente que contiene C1 puede enriquecerse aún más.

60 El proceso puede incluir múltiples procesos de cambio agua-gas 520, 530 en combinación con múltiples procesos de eliminación de hidrógeno 540, 550, 560. Como se muestra en la figura 5, el sustrato gaseoso que contiene C1 puede pasar primero de un proceso de reformado 510 a un proceso de cambio agua-gas 520 a través de medios de tubería 511 para convertir al menos una parte del CH<sub>4</sub> en una corriente de gas de síntesis que comprende CO y H<sub>2</sub>. Esta corriente de gas puede a continuación pasar a un proceso de cambio agua-gas 530 adicional a través de medios de tubería 521 y alimentarse al uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 540 a través de medios de tubería 531 para separar al menos una parte del hidrógeno 541 de la corriente de gas. Esta corriente se puede pasar a continuación

a uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 560 adicionales a través de medios de tubería 542. La corriente del uno o más procesos de eliminación de hidrógeno 560 adicionales se puede enviar al biorreactor 580 a través de medios de tubería 561 para fermentación. Al menos una parte del sustrato que no se envía al biorreactor puede enviarse opcionalmente a un proceso de eliminación de hidrógeno 550 posterior a través de medios de tubería 562 y, opcionalmente, a un proceso de eliminación de hidrógeno adicional 590 a través de medios de tubería 551, que por último puede enviarse al reactor de inoculación 570, a través de medios de tubería 591, para producir un inóculo.

El biorreactor 580 recibe el sustrato gaseoso y produce uno o más productos de fermentación 581. Opcionalmente, el gas de cola del reactor de inoculación 570 y del biorreactor 580 pueden volver al proceso de reformado 510 a través de medios de tubería separados 572, 582 y/o de una corriente combinada 578.

El reactor de inoculación 570 y el biorreactor 580 están configurados de manera escalonada, por lo que el reactor de inoculación 570 fermenta un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO para producir un inóculo, que a continuación se alimenta al biorreactor 580 a través de medios de tubería 571. Al utilizar este inóculo en el biorreactor 580, se mejora la selectividad del producto y la estabilidad del proceso de fermentación.

Debe entenderse, que aunque la Fig. 3, la Fig. 4 y la Fig. 5 son representaciones de una integración con un proceso de producción de hidrógeno, la aplicación actual no debe limitarse a la integración con un proceso de producción de hidrógeno.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención pero, por supuesto, no debe interpretarse como una limitación de su alcance de ninguna manera. Se incluyen algunos ejemplos que quedan fuera del alcance de la protección de las reivindicaciones a modo de referencia.

#### *Ejemplo 1*

Este ejemplo demuestra el rendimiento comparativo de dos reactores provistos de un sustrato gaseoso que compre 68 % en vol. de H<sub>2</sub>, 3,8 % en vol. de CO, 26 % en vol. de CO<sub>2</sub> y 1 % en vol. de N<sub>2</sub>, y una relación molar de H<sub>2</sub>:CO de 18:1. La única diferencia en los parámetros operativos de los dos reactores fueron las condiciones bajo las cuales se produjo el inóculo para cada reactor. La Fig. 6a y la Fig. 6b muestran los perfiles de metabolitos y gases en un primer biorreactor que recibió inóculo producido en condiciones ricas en CO. La Fig. 7a y la Fig. 7b muestran los perfiles de metabolitos y gases en un segundo biorreactor que recibió inóculo producido en condiciones ricas en H<sub>2</sub>. Ambos reactores consumen H<sub>2</sub>, CO y CO<sub>2</sub> con eficacia similar, pero el reactor que recibió un inóculo de un reactor de inoculación rico en H<sub>2</sub> (Fig. 7a) tiene una selectividad reducida para el etanol.

#### *Ejemplo 2*

Este ejemplo demuestra el rendimiento comparativo de reactores provistos de inóculo de reactores de inoculación operados bajo diferentes condiciones de gas. La Fig. 8a y la Fig. 8b muestran los perfiles de metabolitos y gases de una fermentación inoculada con un cultivo recibido de una inoculación producida con la siguiente composición de gas: 48 % en vol. de H<sub>2</sub>, 40 % en vol. de CO, 2 % en vol. de CO<sub>2</sub> y 10 % en vol. de N<sub>2</sub>. La Fig. 9a y la Fig. 9b ilustran los perfiles de metabolitos y gases de una fermentación inoculada con un cultivo recibido de una inoculación producida en condiciones ricas en CO. La selectividad para el etanol demostrada por el reactor alimentado por el reactor de inoculación de gas rico en CO (Fig. 9a) es mucho mayor que la del reactor que recibió un inóculo de un reactor de inoculación rico en H<sub>2</sub> (Fig. 8a).

**REIVINDICACIONES**

1. Un proceso para producir uno o más productos de fermentación, comprendiendo el proceso;
  - 5 a. proporcionar un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO a un reactor de inoculación que comprende un medio nutritivo líquido que contiene un cultivo de uno o más microorganismos fijadores de C1;
  - b. fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO para producir un inóculo;
  - c. pasar al menos una parte del inóculo a un sistema de biorreactor, comprendiendo el sistema de biorreactor al menos un biorreactor que contiene un cultivo de uno o más microorganismos fijadores de C1 en un medio nutritivo
  - 10 líquido;
  - d. pasar un sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> al sistema de biorreactor; y
  - e. fermentar el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> para producir al menos un producto de fermentación; en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 1:1, y
  - 15 el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de al menos 1,1:1.
2. El proceso de la reivindicación 1, en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO de menos de 0,5:1.
- 20 3. El proceso de la reivindicación 1, en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en CO comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 0,02:1 y menos de 1:1.
4. El proceso de la reivindicación 1, en donde el sustrato gaseoso que contiene C1 rico en H<sub>2</sub> comprende H<sub>2</sub> en una relación molar H<sub>2</sub>:CO entre 1,1:1 y 6:1.
- 25 5. El proceso de la reivindicación 1, en donde el microorganismo fijador de C1 es una bacteria carboxidotrófica.
6. El proceso de la reivindicación 5, en donde la bacteria carboxidotrófica se selecciona del grupo que consiste en *Moorella*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium*, *Butyribacterium*, *Oxobacter*, *Methanosarcina* y
- 30 *Desulfotomaculum*.
7. El proceso de la reivindicación 5, en donde la bacteria carboxidotrófica es *Clostridium autoethanogenum*.
8. El proceso de la reivindicación 1, en donde el sistema de biorreactor comprende uno o más biorreactores primarios
- 35 conectados a uno o más biorreactores secundarios.

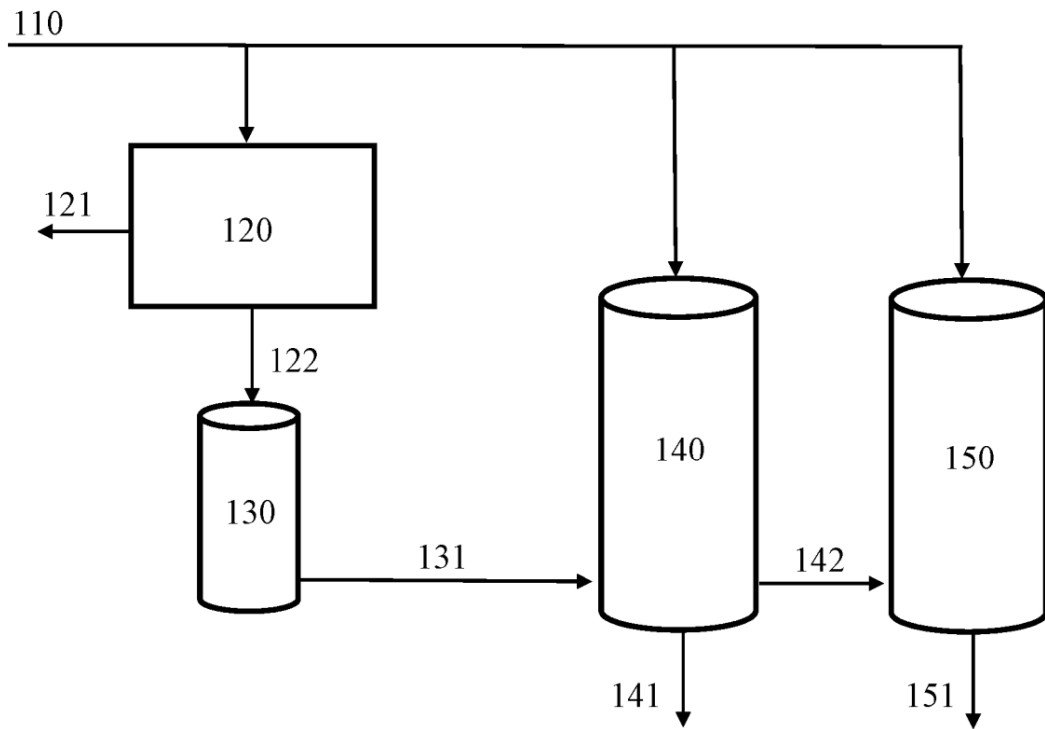


FIG. 1

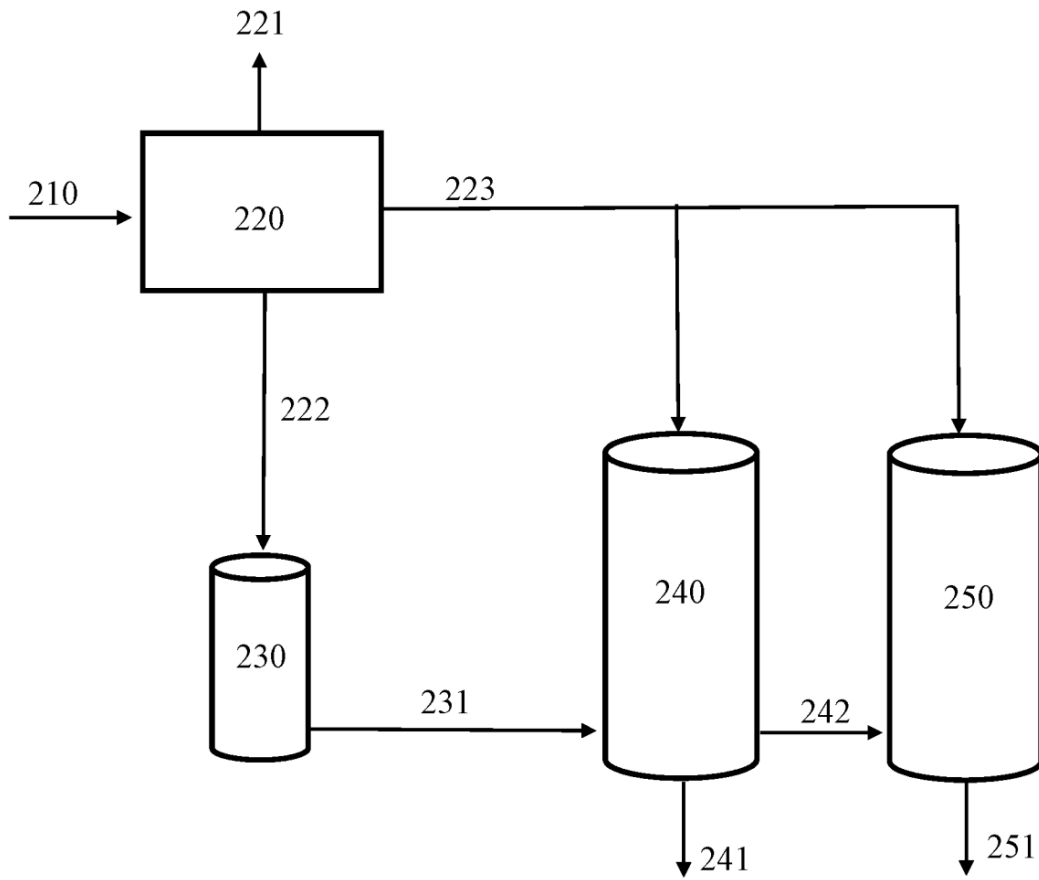


FIG. 2

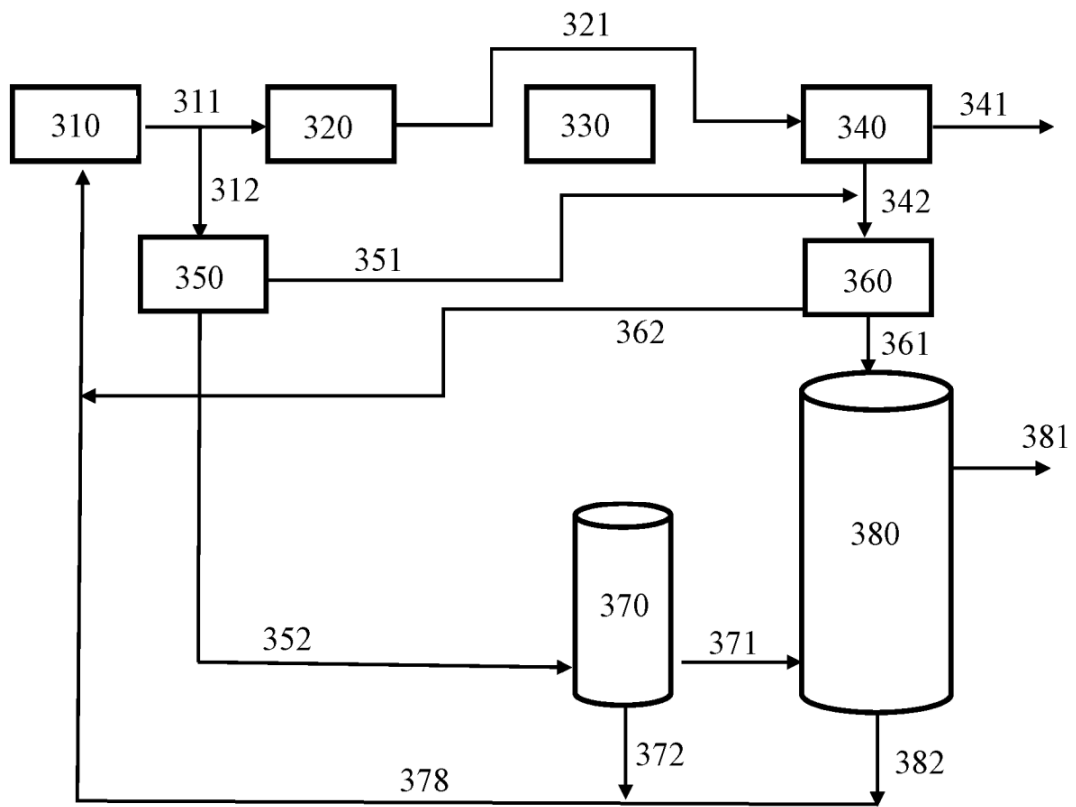


FIG. 3

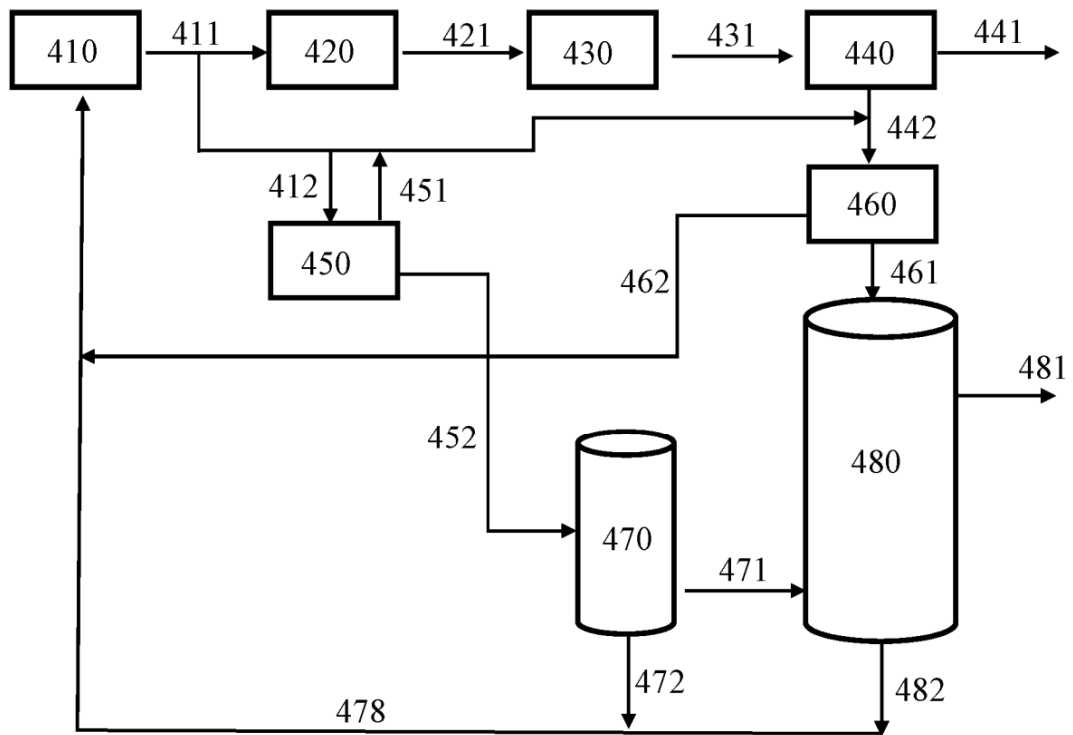


FIG. 4

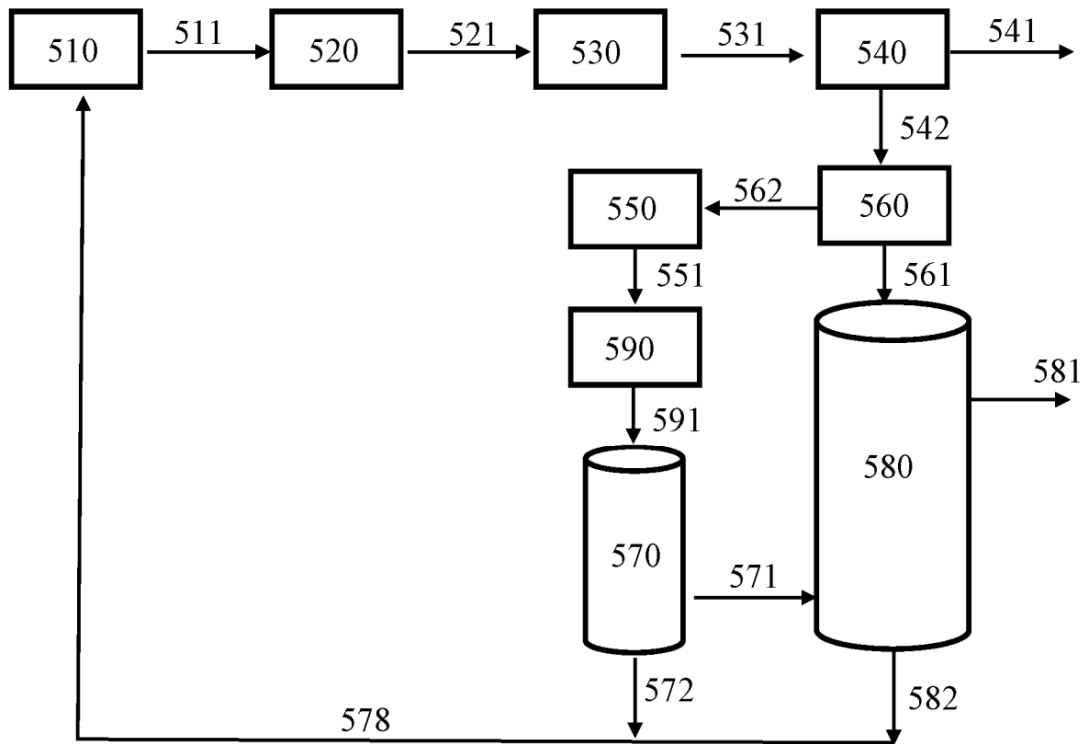


FIG. 5

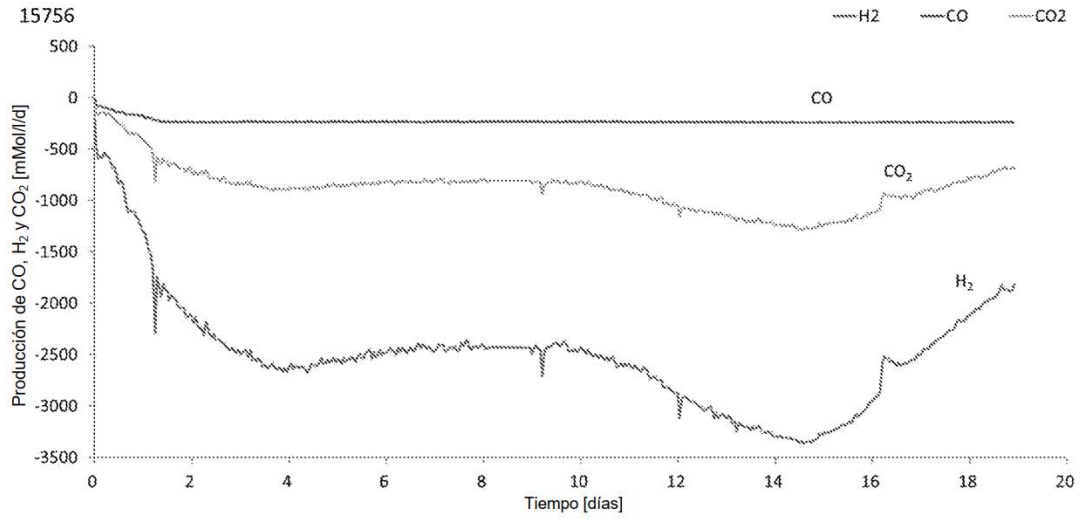


FIG. 6a

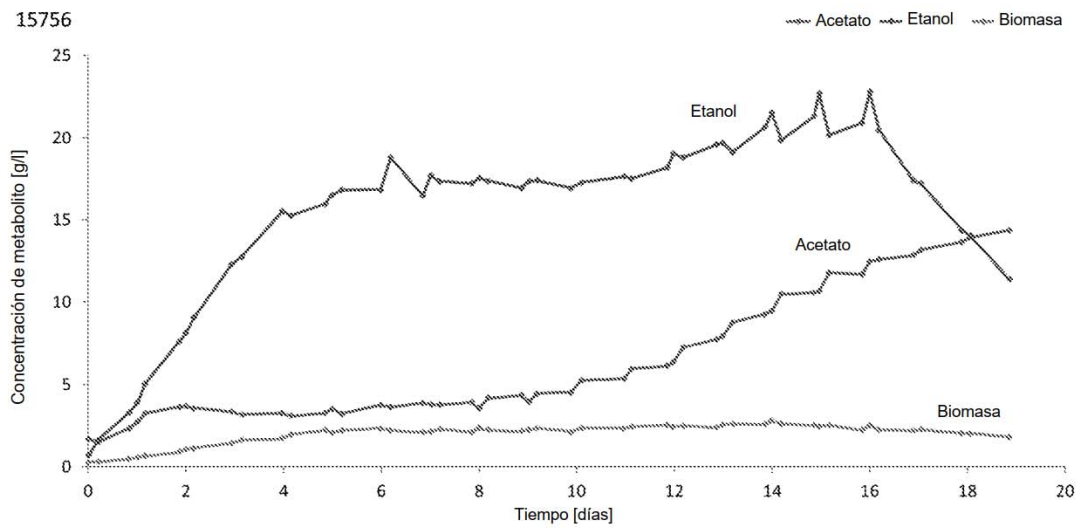


FIG. 6b

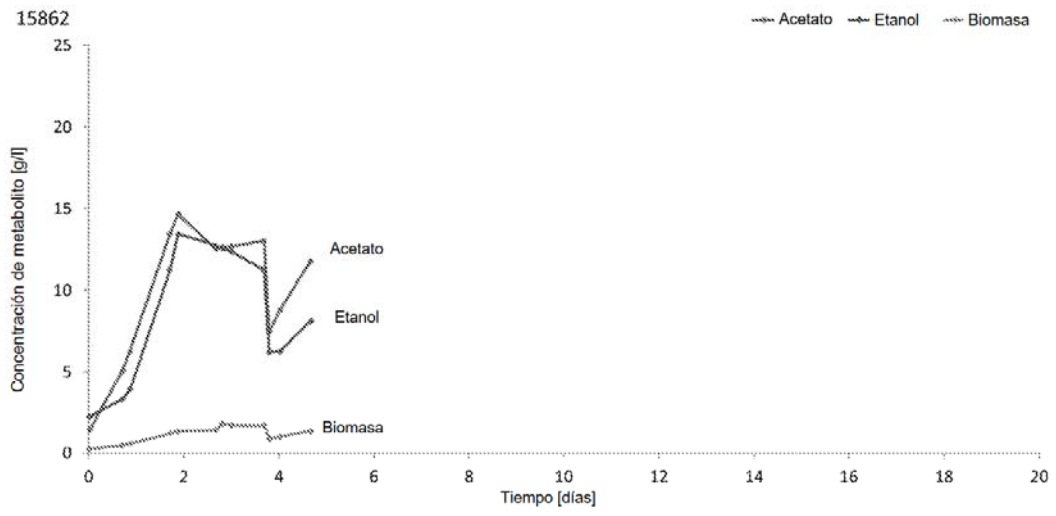


FIG. 7a

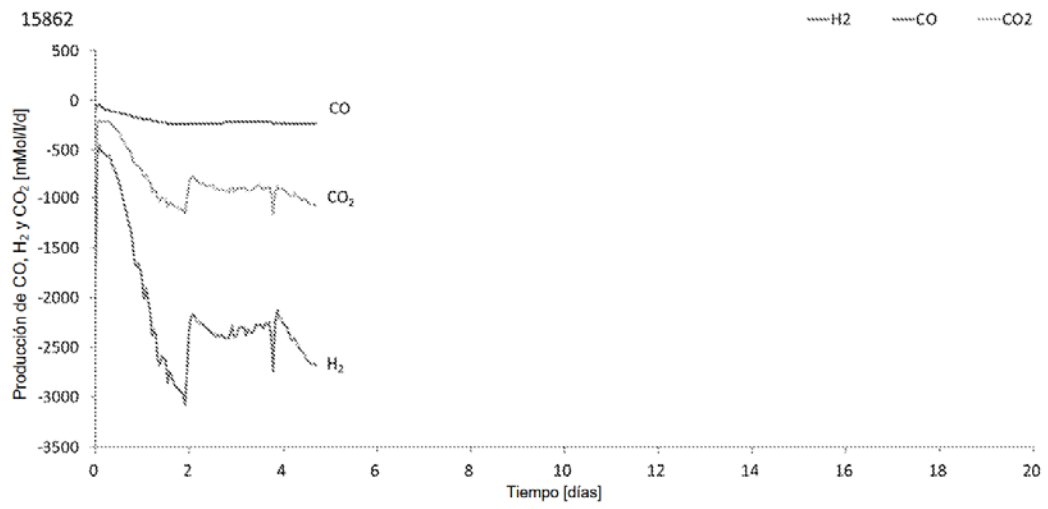


FIG. 7b

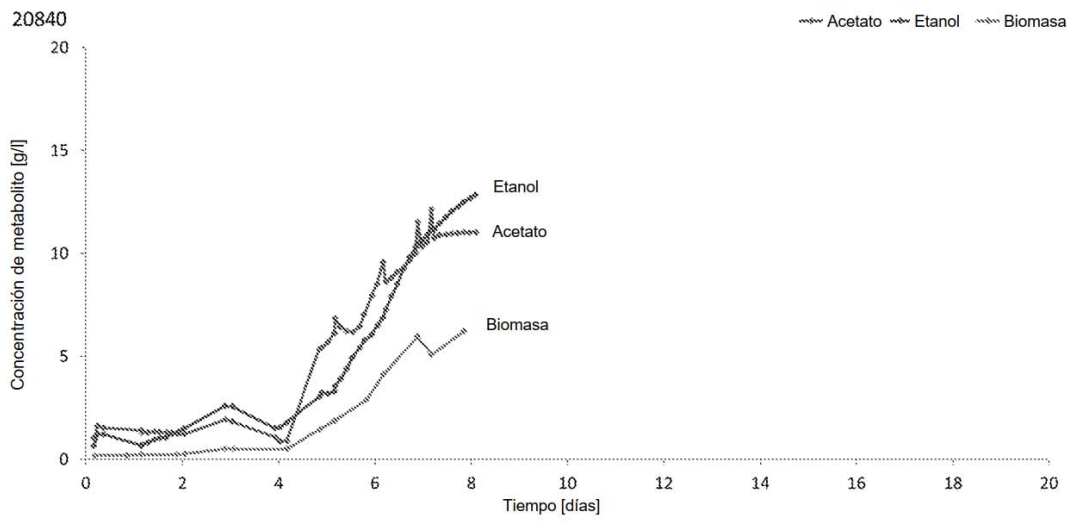


FIG. 8a

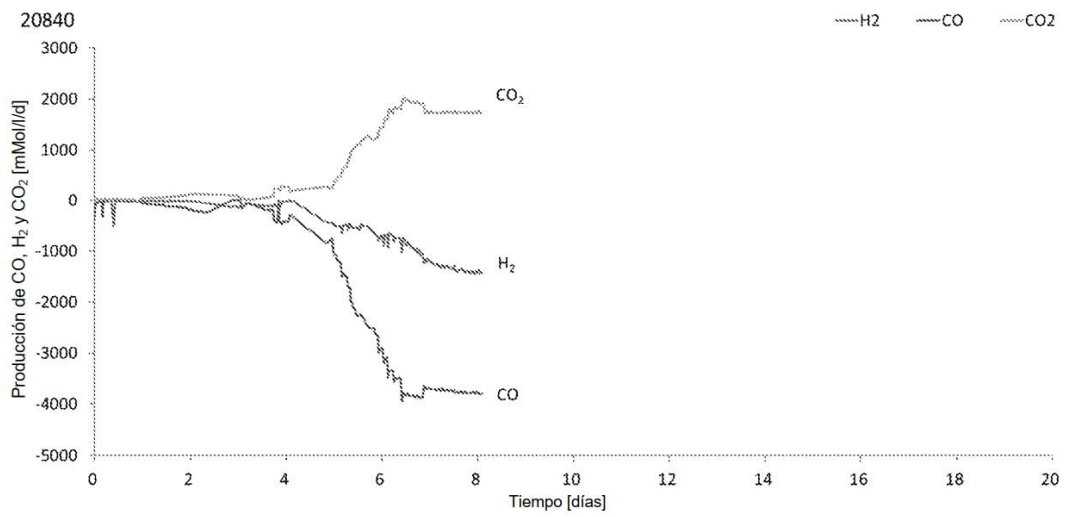


FIG. 8b

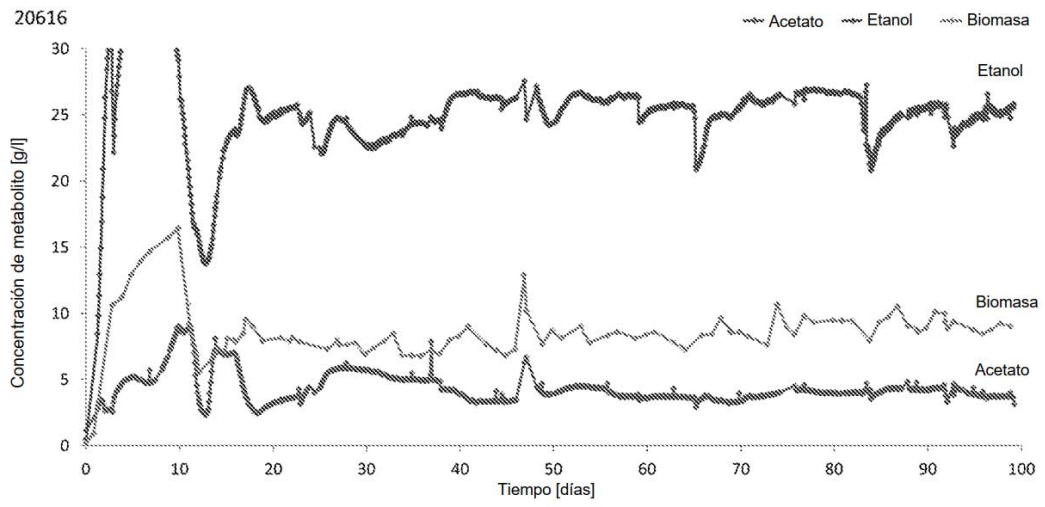


FIG. 9a

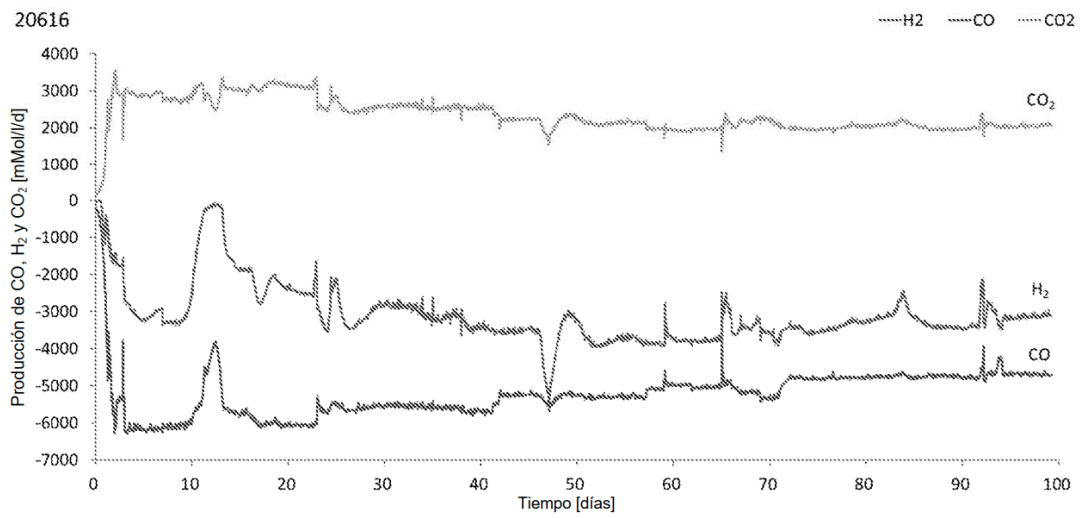


FIG. 9b