

MÉTODOS PARA PRODUCIR PRODUCTOS HIDROCARBONADOS LÍQUIDOS

DECLARACIÓN RESPECTO DE LA INVESTIGACIÓN O DESARROLLO PATROCINADOS CON FONDOS FEDERALES

Una parte de este trabajo fue financiada por fondos federales según el número de contrato de adjudicación DOE/NETL: DE-FE0001259.

ANTECEDENTES

Campo de la invención

La presente invención se refiere a la producción de combustibles líquidos, específicamente a la conversión in situ o ex situ de carbón a líquido.

Antecedentes de la invención

Los carbones también se pueden convertir en combustibles líquidos como gasolina o diésel por medio de varios procesos diferentes. En un proceso comercial en desarrollo, el carbón se convertía primero en un gas y luego en un líquido, usando el proceso de Fischer-Tropsch (FT). En el proceso FT, una vía indirecta, el carbón primero se gasifica para obtener singás, una mezcla purificada de CO y gas H₂. A continuación, se usan catalizadores de FT para convertir el singás en hidrocarburos livianos como etano, que luego se procesan en combustibles líquidos refinable. Además de crear los combustibles, el singás también se puede convertir en metanol, que se puede usar como un combustible o un aditivo de combustibles.

De modo alternativo, el carbón se puede convertir directamente en combustibles líquidos por medio de procesos de hidrogenación. Por ejemplo, el proceso de Bergius, en el que el carbón se licua mezclándolo con gas hidrógeno y calentando el sistema. Se han desarrollado varios otros procesos de licuefacción directa, tales como los procedimientos de licuefacción del carbón por disolventes (SRC, Solvent Refined Coal, por sus siglas en inglés), que han dado lugar a varias instalaciones de plantas piloto. Además, el carbón pulverizado seco mezclado con aproximadamente el 1% en peso de catalizadores de molibdeno se puede

hidrogenar usando gas de síntesis a alta temperatura y presión producido. Sin embargo, el singás se debe producir en un gasificador separado.

Sin embargo, estos procedimientos de combustible de carbón a líquido implican la extracción del carbón del suelo. Como se documenta, la extracción del carbón es un proceso peligroso, y muchas minas se ven forzadas a cerrar antes de la remoción de todos los productos útiles. Además, esas minas que son operadas de modo seguro olvidan grandes columnas de carbón que sostienen el techo y residuos de carbón en las paredes de la mina. Estas fuentes de carbón representan una cantidad significativa de energía abandonada por operaciones de minería. Además, estos recursos vírgenes se pueden convertir en combustibles líquidos con fines de transporte. Como tales, hay una necesidad en la industria de la remoción de carbón de baja calidad o residual abandonado proveniente de operaciones de minería, para usar en la producción de carbón a líquido.

RESUMEN

En la presente, se divulga un método para obtener un producto hidrocarbonado líquido, que comprende desintegrar una fuente de hidrocarburo; pretratar la fuente de hidrocarburo desintegrada; solubilizar la fuente de hidrocarburo desintegrada para formar una suspensión que comprende una molécula reactiva de la fuente de hidrocarburo; mezclar un licor bioquímico en la suspensión, donde el licor bioquímico comprende al menos una enzima de conversión configurada para facilitar la fotofragmentación selectiva de enlaces de dicha molécula reactiva de la fuente de hidrocarburo, para formar hidrocarburos líquidos por medio de fotofragmentación selectiva de enlaces asistida por enzimas, donde dicha enzima de conversión comprende sitios reactivos configurados para restringir a dicha molécula reactiva de modo tal que la fotofragmentación se dirija favorablemente a un enlace interno preseleccionado de dicha molécula reactiva; separar los hidrocarburos líquidos de la suspensión, donde los contaminantes quedan en la suspensión; y enriquecer los hidrocarburos líquidos para formar un producto hidrocarbonado líquido.

En una realización, la desintegración de la fuente de hidrocarburo comprende la pulverización de la fuente de hidrocarburo. En una realización, la pulverización comprende

molienda. En una realización, la pulverización comprende tratamiento con vapor a alta presión. En una realización, el pretratamiento de la fuente de hidrocarburo desintegrada comprende pretratamiento químico, pretratamiento térmico, oxidación de la fuente de hidrocarburo o una de sus combinaciones.

En una realización, la solubilización de la fuente de hidrocarburo desintegrada comprende el tratamiento de la fuente de hidrocarburo desintegrada con al menos una enzima. En una realización, la mezcla de licor bioquímico comprende la mezcla de al menos una enzima adicional. En una realización, la mezcla de al menos una enzima adicional comprende, además, la mezcla de una enzima para convertir una fuente de hidrocarburo en hidrocarburos de menor peso molecular.

En una realización, la separación de hidrocarburos líquidos comprende un proceso de asentamiento de la suspensión del hidrocarburo líquido. En una realización, la separación de hidrocarburos líquidos comprende el asentamiento de los contaminantes del hidrocarburo líquido. En una realización, el enriquecimiento del hidrocarburo líquido comprende la mezcla del hidrocarburo líquido con al menos una enzima.

En una realización, el licor bioquímico comprende una enzima modificada. En una realización, la enzima modificada comprende una enzima que se modifica genéticamente. En una realización, la enzima modificada comprende una enzima que se modifica químicamente.

En una realización, el método se lleva a cabo in situ en una mina de carbón o ex situ en carbón extraído. En una realización, el enriquecimiento de los hidrocarburos líquidos comprende la mejora de las cualidades del producto hidrocarbonado líquido antes de la destilación. En una realización, el producto hidrocarbonado líquido comprende al menos uno seleccionado del grupo que consiste en gasolina, diésel, querosén y sus destilados. En una realización, la fuente de hidrocarburo comprende al menos uno seleccionado del grupo que consiste en carbón, carbón antracítico, carbón bituminoso, lignito, carbón sub-bituminoso, carbones de bajo rango, coque, arena bituminosa y esquisto bituminoso.

En la presente, también se divulga un método para la conversión in situ de carbón a hidrocarburo líquido, que comprende: ubicar una veta de carbón subterránea; perforar al menos un pozo, el pozo en contacto con la veta de carbón subterránea y con un medio para

reciclar líquidos a través de ella; presurizar la veta de carbón subterránea con vapor; cargar los reactivos a través de la veta de carbón subterránea, donde los reactivos comprenden al menos una enzima, para formar una suspensión; extraer una porción de la suspensión; procesar la suspensión la producir el hidrocarburo líquido; separar el hidrocarburo líquido de la suspensión; y regresar la suspensión a la veta de carbón para ulterior procesamiento.

En una realización, el al menos un pozo está en comunicación de fluido con una corriente de reactivo. En una realización, el al menos un pozo está en comunicación de fluido con una corriente de procesamiento de suspensiones.

En una realización, la carga de los reactivos para formar una suspensión comprende, además, solubilizar el carbón para formar una suspensión; convertir el carbón para formar hidrocarburos líquidos; separar compuestos contaminantes de los hidrocarburos líquidos, donde los compuestos contaminantes comprenden contaminantes; asentar la suspensión de los hidrocarburos líquidos, donde los hidrocarburos líquidos son apropiados para combustibles líquidos; y procesar los hidrocarburos líquidos en combustibles líquidos.

En una realización, la etapa de solubilización del carbón comprende tratar el carbón con al menos una enzima. En una realización, la etapa de conversión del carbón comprende tratar el carbón con al menos una enzima. En una realización, la etapa de separación de compuestos contaminantes comprende tratar los hidrocarburos líquidos con al menos una enzima.

También se divulga un método de uso de una enzima para producir combustibles líquidos, que comprende seleccionar un microorganismo que produce una enzima; modificar un microorganismo genéticamente para incrementar la producción de la enzima; modificar la enzima estructuralmente para alterar la actividad de la enzima, para formar una enzima modificada; recolectar la enzima modificada para formar un licor bioquímico que comprende al menos una enzima modificada; y exponer una fuente de hidrocarburo al licor bioquímico para formar un precursor de combustible líquido.

En una realización, la etapa de selección de un microorganismo comprende seleccionar al menos un microorganismo elegido del grupo que consiste en hipolitos, endolitos, criptolitos, acidófilos, alcalófilos, termófilos, itoautótrofos, halófilos, piezófilos y

combinaciones de ellos. En una realización, la modificación de un microorganismo comprende insertar un vector de ácido nucleico. En una realización, la modificación de un microorganismo genéticamente comprende mutagénesis dirigida. En una realización, la modificación de una enzima comprende cambiar estructuralmente una enzima. En una realización, la exposición del licor bioquímico a la fuente de hidrocarburo comprende, además, fragmentación dirigida por radiación transmitida.

En una realización, un método para obtener un productos hidrocarbonados líquidos, que comprende desintegrar una fuente de hidrocarburo, tratar la fuente de hidrocarburo desintegrada químicamente, solubilizar la fuente de hidrocarburo desintegrada, mezclar un licor bioquímico, donde el licor bioquímico comprende al menos una enzima para formar hidrocarburos líquidos, separar hidrocarburos líquidos y enriquecer los hidrocarburos líquidos para formar un producto hidrocarbonado líquido.

En otra realización, un método para la conversión in situ de carbón en hidrocarburo líquido, que comprende ubicar una veta de carbón subterránea, perforar al menos un pozo, el pozo en contacto con la veta de carbón subterránea; presurizar la veta de carbón subterránea con vapor; cargar los reactivos a través de la veta de carbón subterránea, donde los reactivos comprenden al menos una enzima, para formar una suspensión; extraer una porción de la suspensión; procesar la suspensión, donde el hidrocarburo líquido se separa de la suspensión; y regresar la suspensión a la veta de carbón para ulterior procesamiento.

En otras realizaciones, un método de uso de una enzima para producir combustibles líquidos, que comprende seleccionar un microorganismo que produce una enzima; modificar un microorganismo genéticamente para incrementar la producción de la enzima; modificar la enzima estructuralmente para alterar la actividad de la enzima, para formar una enzima modificada; recolectar la enzima modificada para formar un licor bioquímico que comprende al menos una enzima modificada; y exponer una fuente de hidrocarburo al licor bioquímico para formar un precursor de combustible líquido.

Lo anterior destaca más bien ampliamente las características y ventajas técnicas de la invención, a fin de que la descripción detallada de la invención siguiente se pueda comprender mejor. Las distintas características descritas con anterioridad, así como otras

características, serán obvias para las personas capacitadas en la técnica después de leer la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas y haciendo referencia a los dibujos adjuntos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para una descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención, se hará referencia ahora a los dibujos adjuntos de diversas realizaciones de la invención, en las que:

Figura 1 ilustra un proceso de flujo general esquemático para convertir carbón en líquido.

Figura 2 ilustra una realización de un proceso ex situ para convertir carbón en líquido.

Figura 3 ilustra una realización de un proceso in situ para convertir carbón en líquido.

Figura 4 ilustra un diagrama representativo de un anticuerpo catalítico.

Figura 5 ilustra un diagrama representativo de un anticuerpo catalítico activado.

Figura 6 ilustra un diagrama representativo de una enzima de tipo salvaje.

Figura 7 ilustra un diagrama representativo de un complejo enzimático activado.

Figura 8 ilustra un diagrama representativo de una evolución dirigida de un complejo enzimático activado.

Figura 9 ilustra un diagrama representativo de mutagénesis dirigida a sitio de un complejo enzimático activado.

Figura 10 ilustra un diagrama representativo de mutagénesis dirigida alostérica de un complejo enzimático activado.

Figura 11 ilustra un diagrama representativo de un rediseño de sitio activo de un complejo enzimático activado.

Figura 12 ilustra un diagrama representativo de un diseño racional de sitio activo de un complejo enzimático activado.

Figura 13 ilustra un diagrama representativo de un rediseño de sitio activo dirigido por cofactor de un complejo enzimático activado.

Figura 14 ilustra un esquema de fotofragmentación.

Figura 15 ilustra un esquema de fotofragmentación mediada por láser.

Figura 16 muestra los resultados de la molienda mecánica realizada en el molino reductor de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER 630.

Figura 17 muestra los resultados obtenidos de la molienda de CFS completa.

Figuras 18A-18C son micrografías de producto en agua; 18A con un aumento de 125X; 18B con un aumento de 43 OX; 18C con un aumento de 1000X.

Figura 19A ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 19B ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en solubilización y conversión químicas.

Figura 19C ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19D ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en medio de cultivo O. IX SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19E ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 19F ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en solubilización y conversión químicas.

Figura 19G ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19H ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en medio de cultivo 0.1X SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19I ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 19J ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en solubilización y conversión químicas.

Figura 19K ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19L ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en medio de cultivo 0.1X SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 19M ilustra los resultados del carbón pretratado con H₂O₂ al 30% calentado en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 20A ilustra los resultados del carbón calentado en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 20B ilustra los resultados del carbón calentado en medio de cultivo 0.1X SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 21 A ilustra los resultados del carbón precalentado con agua de la mina en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 21B ilustra los resultados del carbón precalentado con agua de la mina en solubilización y conversión químicas.

Figura 21C ilustra los resultados del carbón precalentado con agua de la mina en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 21D ilustra los resultados del carbón precalentado con agua de la mina en medio de cultivo 0.1X SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 22A ilustra los resultados del carbón pretratado con HNO₃ (pH 1) en solubilización y conversión enzimáticas.

Figura 22B ilustra los resultados del carbón pretratado con FTNO₃ (pH 1) en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 22C ilustra los resultados del carbón pretratado con HNO₃ (pH 1) en medio de cultivo 0.1X SD con contenido de *P. chrysosporium*.

Figura 23 (arte previo) es un diagrama simplificado que muestra la degradación microbiana de fenol.

Figura 24 (arte previo) ilustra espectros UV para la degradación del fenol.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

Se divulga un proceso para convertir carbón en combustibles líquidos. El carbón comprende cualquier carbón hallado o extraído de una mina de carbón, veta o pozo de mina. El carbón también puede comprender carbones antracíticos o el coque de carbón bituminoso. En determinadas instancias, el carbón comprende lignito, carbón sub-bituminoso, otros

carbones de bajo rango y/u otra fuente de hidrocarburos, tales como, sin limitación, arenas bituminosas. De modo alternativo, el carbón comprende, sin limitación, carbón alterado por agentes atmosféricos, envejecido, lixiviado o degradado.

En determinadas instancias, el carbón se convierte en combustibles líquidos por medio de un proceso de dos etapas. El proceso comprende reacciones catalizadas enzimáticamente. La primera etapa, etapa I, comprende el pretratamiento y la conversión de carbón en productos líquidos por enzimas. En realizaciones, la etapa I convierte materias primas de carbón en hidrocarburos líquidos. Las materias primas comprenden carbón que queda en minas de carbón o materias primas in situ. De modo alternativo, las materias primas comprenden carbón fuera de la mina de carbón o materias primas ex situ. En determinadas instancias, la fuente de hidrocarburos puede comprender cualquier fuente tales como arenas bituminosas, no preferidas para otras industrias.

La segunda etapa, etapa II, comprende el enriquecimiento de los productos hidrocarbonados líquidos. El enriquecimiento o la mejora del producto hidrocarbonado líquido comprende, además, reacciones catalizadas enzimáticamente. Además, las reacciones son etapas de procesamiento mediadas por enzimas. La etapa II comprende, además, la mejora de las propiedades del producto líquido para usar en combustibles. La etapa II de los procesos enzimáticamente catalizados cambia el rendimiento del combustible. En instancias ilustrativas, el procesamiento de etapa II puede alterar el índice de cetanos del diésel o el índice de octanos de la gasolina.

En comparación con las técnicas de procesamiento actuales, el proceso de dos etapas mediado enzimáticamente requiere menos energía para el procesamiento. Además, las condiciones de reacción son más moderadas, ya que las enzimas se desarrollan óptimamente en condiciones homeostáticas del microorganismo productor. Además, se pueden implementar enzimas o microorganismos adicionales para secuestrar los contaminantes regulados en los combustibles líquidos. Por ejemplo, se pueden reducir o remover el azufre y el nitrógeno de los combustibles líquidos antes de la destilación del producto final. La temprana remoción de contaminantes hace que el proceso se pueda ajustar al cumplimiento de las regulaciones de emisiones presentes y futuras. Además, el proceso de dos etapas

mediado por enzimas es adaptable a las materias primas previamente inaccesibles, por ejemplo, columnas de carbón en una mina, demasiado peligrosas para quitar retirar por explotación en retirada.

Microorganismos. En el proceso divulgado, las enzimas producidas por microorganismos median la conversión. En realizaciones, los microorganismos comprenden bacterias, algas u hongos. En determinadas instancias, los microorganismos comprenden heterótrofos que secretan enzimas para la digestión catalítica de hidrocarburos. Los microorganismos usan hidrocarburos como una fuente de carbono para los procesos vitales. Los microorganismos se cosechan de esquistos bituminosos, arenas petrolíferas, vetas de alquitrán de hulla o cuevas de carbón, sin limitación. Por ejemplo, los microorganismos se pueden derivar de aquellos hallados en las vetas de hulla de La Brea. Además, los microorganismos se pueden recolectar de fuentes geotérmicas, volcanes de fango, calderas de azufre, fumarolas, géiseres, ollas de barro, o lo similar, sin limitación. Los microorganismos también pueden comprender extremófilos, tales como, pero sin limitación, hipolitos, endolitos, criptolitos, acidófilos, alcalófilos, termófilos, itoautótrofos, halófilos o piezófilos. En realizaciones de ejemplo, los microorganismos comprenden archaebacteria. De modo alternativo, los microorganismos apropiados incluyen aquellos hallados en los géneros *Poria*, *Polyporus*, *Thiobacillus*, *Candida*, *Streptomyces*, *Psuedomonas*, *Penicillium* o *Trichoderma*. Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, se pueden identificar microorganismos alternativos que son apropiados para aplicar en el sistema divulgado, sin mencionarlos específicamente, que no varían en estructura y funcionan de modo significativo. Además, puede preverse que estos microorganismos se proporcionan como medios para alterar, mejorar o modificar la presente divulgación.

En determinadas instancias, los microorganismos se exponen a carbón previamente extraído, residuos de carbón o residuos de carbón menos favorables para la producción de energía, a fin de recolectar las enzimas. En instancias, el microorganismo produce las enzimas de forma natural. Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, la exposición continua al sustrato, como carbón, llevará a una mayor expresión y producción de las enzimas para la producción de hidrocarburos líquidos.

Enzimas. Las enzimas usadas en el proceso revelado se obtienen de microorganismos que producen estas enzimas con altos rendimientos. En otras realizaciones, los microorganismos se alteran genéticamente para producir las enzimas con altos rendimientos. Con preferencia, las enzimas se segregan de modo extracelular y/o liberan las enzimas en su medio ambiente. De modo alternativo, las células se lisan y las enzimas se capturan para usar en el procesamiento de carbón. En realizaciones, las enzimas se separan de los microorganismos antes de usar en el procesamiento de carbón. A fin de reducir la exposición, la liberación o la contaminación ambiental, los microorganismos se separan del procesamiento. Ningún microorganismo está implicado directamente en realización alguna del proceso de producción de combustible líquido. Además, las instalaciones empleadas para criar estos organismos tienen suficientes provisiones para aislar los organismos huésped del ambiente natural.

De modo alternativo, los microorganismos se someten a mutagénesis dirigida a sitio para regular hacia arriba, sobreexpresar y/o incrementar la producción de enzimas. La mutagénesis dirigida a sitio comprende la mutación de una molécula de ADN en una secuencia específica de par de bases de ácido nucleico. La mutagénesis dirigida a sitio se puede producir en el ADN cromosómico o en el ADN extracromosómico, desde un vector. Además, la mutagénesis dirigida a sitio puede comprender la delección/escisión génica, mutagénesis mediada por cebadores, mutagénesis de casete, mutagénesis de adición, mutagénesis por desapareamiento de bases, conversión génica, manipulación topológica, recombinación especializada o mutagénesis mediada por PCR. Además, la mutagénesis y la sobreexpresión de un gen pueden ser inducidas por cualquier mutágeno. Por ejemplo, se pueden usar, sin limitación, radiación por ionización, exposición a UV, desaminación, intercalación, alquilación, inserción analógica, multiplicación de transposones y otras técnicas de biología molecular. En determinadas instancias, la exposición a mutágenos induce a que los microorganismos adquieran un vector, como un plásmido. Además, la mutagénesis puede inducir la incorporación del ADN vector en el ADN cromosómico. A los fines de esta divulgación, se puede implementar la técnica mutagénica dirigida a fin de inducir la

producción adicional de una enzima. Además, la mutagénesis se puede usar para incrementar la actividad de la enzima.

En determinadas instancias, las enzimas se modifican químicamente después de la producción. Las enzimas se pueden modificar antes o después de cosecharlas de los microorganismos. Se puede implementar cualquier proceso conocido por la persona capacitada en la técnica, tales como, pero sin limitación, adición de grupos funcionales, adición de otros péptidos, alteración de la naturaleza química y/o cambios estructurales. Por ejemplo, se prevén procesos tales como acilación, glicosilación, ubiquitinación, desamidación y/o escisión para tener aplicaciones dentro de la presente divulgación, sin limitación.

Las enzimas producidas y modificadas se utilizan en licor bioquímico. El licor bioquímico comprende una mezcla líquida de proteínas, enzimas, catalizadores inorgánicos y compuestos orgánicos e inorgánicos. El licor bioquímico comprende, además, sales, electrolitos, metales y/u otras moléculas que ayudan, mejoran o alteran las operaciones de un caldo enzimático o licor bioquímico. El licor bioquímico es una mezcla de al menos uno de cada uno de los grupos antes mencionados, sin limitación. El caldo bioquímico se puede suspender en cualquier disolvente conocido; con preferencia, disolventes orgánicos. En realizaciones de ejemplo, el agua es el disolvente.

Proceso. Como se ilustra en la Figura 1, el proceso comprende un flujo de carbón a través de una secuencia de etapas de tratamiento individuales. En la etapa I, el proceso comprende al menos una etapa de pretratamiento. El carbón se somete luego a solubilización, que puede estar incluida en las etapas de pretratamiento. El material carbonado solubilizado pretratado se convierte en hidrocarburos líquidos. Simultánea o secuencialmente, el material se puede someter a conversión de azufre y nitrógeno. La remoción de azufre y nitrógeno del producto mejora el rendimiento del combustible después del procesamiento, como separación. Los diferentes combustibles se separan, de modo tal que los reactivos de la fase acuosa se reciclen, y/o el agua residual se trata para regresar al sistema. En la etapa II, los productos de la fase de los hidrocarburos provenientes de la fase de conversión luego se refinan. El refinado de los productos comprende combustible refinado, enriquecimiento y destilación para mejorar las calidades de los productos.

Pretratamiento. La etapa de pretratamiento comprende una degradación física y química del carbón, para producir un carbón degradado. A fin de incrementar la eficacia del proceso divulgado, es ventajoso aumentar el área superficial del material. El área superficial del carbón se puede incrementar reduciendo el volumen de partículas, como en el proceso de pulverización. Por ejemplo, el carbón de superficie, carbón extraído, desechos de carbón o carbón restante se descompone mecánicamente o se pica en un particulado fino. El carbón restante puede comprender, sin limitación, carbón procedente de cualquier industria que rechazó su uso. El particulado puede comprender, sin limitación, cantos rodados, polvos, sustancias pulverulentas, o lo similar.

En determinadas instancias, el carbón se trata in situ, por ejemplo, en una veta de carbón subterránea, por vapor a alta presión. Los pozos subterráneos, conductos y/u otras tuberías suministran vapor a una mina de carbón. El vapor se puede presurizar, sobrecalentar o combinaciones de ellos, a fin de incrementar la penetración en la veta. El vapor se usa para fracturar el lecho de carbón subterráneo antes del pretratamiento. Además, el vapor a alta presión separa mecánicamente el carbón de las formaciones rocosas circundantes.

Además, el carbón se somete a un tratamiento químico. El tratamiento químico del carbón aumenta la reactividad del carbón. Además, el tratamiento químico se diseña para remover, digerir o eliminar los materiales no carbonáceos de los productos de carbón. Además, el tratamiento químico puede aumentar el área superficial del carbón induciendo la formación de poros, cavidades, corrosiones selectivas, y lo similar. El tratamiento químico puede comprometer a un agente oxidativo. En determinadas realizaciones, se aplican soluciones iónicas suaves, ácidas, básicas o de radicales libres para oxidar el carbón. En una realización, la solución comprende una solución ácida suave. En una realización de ejemplo, el tratamiento químico comprende peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno está en concentraciones de entre aproximadamente el 10% y aproximadamente el 50%; de modo alternativo, entre aproximadamente el 20% y aproximadamente el % y con preferencia, aproximadamente el 30% de peróxido de hidrógeno. Como se analizó con anterioridad, las soluciones se inyectan en minas de carbón con vapor o con agua, por ende, es preferible que

las soluciones sean acuosas. En determinadas instancias, se puede implementar un tratamiento químico inorgánico.

Solubilización. Además, las etapas de pretratamiento comprenden la solubilización del carbón degradado. Una vez mecánicamente desintegrado y químicamente oxidado, se introduce un primer conjunto de enzimas para romper los enlaces reticulados en el carbón. En determinadas instancias, las primeras enzimas se pueden derivar de enzimas halladas, por ejemplo, en los géneros *Peoria*, *Polypore*, *Poria*, *Polyporus*, sin limitación. Las primeras enzimas permiten que las partículas de carbón se disuelvan en el medio líquido. En realizaciones, el medio líquido es el mismo que se usa para suministrar las enzimas. En determinadas instancias, el medio es el licor bioquímico descrito con anterioridad. Además, el medio líquido comprende un medio acuoso. Las partículas solubilizadas de carbón se suspenden en el medio líquido formando una suspensión de carbón; de modo alternativo, una suspensión de carbón, una mezcla de carbón, un coloide de carbón o una solución de carbón, sin limitación. La suspensión de carbón mejora la accesibilidad a las partículas de carbón por las enzimas desde el licor bioquímico. La suspensión de las partículas en el medio puede mejorar la cinética de la reacción durante las posteriores etapas mediadas enzimáticamente. La suspensión de carbón mejora, además, la transferencia del carbón entre las etapas de procesamiento.

Conversión. Después de la solubilización, el carbón se procesa por medio de etapas de conversión. En determinadas instancias, el carbón solubilizado en la suspensión de carbón se convierte en hidrocarburos más pequeños o de menor peso molecular. Los hidrocarburos de menor peso molecular pueden comprender cualquier hidrocarburo, por ejemplo, hidrocarburos que comprenden entre aproximadamente 24 carbonos y aproximadamente 2 carbonos. La segunda enzima o la segunda solución enzimática se mantienen en el caldo bioquímico. La segunda solución enzimática se puede derivar de enzimas producidas por microorganismos para los géneros *Thiobacillus*, *Candida*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Trichoderma*, por ejemplo, sin limitación. La segunda enzima se puede introducir en la suspensión de carbón durante el proceso de conversión. En determinadas instancias, la exposición de la suspensión de carbón a una segunda enzima comprende la

conversión de carbón en fracciones hidrocarbonadas de menor peso molecular. De modo alternativo, la segunda enzima es una enzima de conversión. Las enzimas de conversión son aquellas seleccionadas, manipuladas por ingeniería o modificadas para convertir catalíticamente grandes moléculas de hidrocarburos halladas en el carbón en hidrocarburos de menor peso molecular. Durante la etapa de conversión, los hidrocarburos se someten a saturación y conversión de azufre, nitrógeno y otros contaminantes. La etapa de conversión forma una suspensión de reacción o una suspensión hidrocarbonada con el licor bioquímico.

Las reacciones de conversión enzimática rompen sucesivamente las partículas de carbón nativas, originales o solubilizadas, en moléculas hidrocarbonadas más pequeñas que quedan en la suspensión de reacción. Las reacciones de conversión enzimática convierten los componentes moleculares de alto peso molecular de carbón en mezclas de menor peso molecular de líquidos hidrocarbonados y gases hidrocarbonados.

Durante la conversión, ciertos productos de desecho, contaminantes y potenciales contaminantes se retiran del proceso. En determinadas instancias, la remoción de estos productos es mediada por una tercera enzima añadida a la suspensión de reacción. La tercera enzima o la solución de tercera enzima reaccionan con los productos de conversión catalítica para liberar azufre de los complejos hidrocarbonados y forman una variedad de compuestos con contenido de azufre más simples, que son solubles en la suspensión de reacción. Los compuestos solubles con contenido de azufre se pueden filtrar de la suspensión de reacción y procesar para otros productos.

Además, a fin de remover otros productos de desecho, contaminantes y potenciales contaminantes, se puede añadir una cuarta enzima a la suspensión de reacción. En determinadas instancias, se puede usar cualquier cantidad de enzimas para la remoción de desechos para eliminar, secuestrar o escindir específicamente los compuestos no deseados. En determinadas realizaciones, la solución de cuarta enzima reacciona con los productos de conversión catalítica para liberar nitrógeno y forman una variedad de compuestos con contenido de nitrógeno más simples que son solubles en la suspensión de reacción.

Los desechos procesados pueden comprender gases solubilizados en la suspensión de reacción. Los gases pueden comprender nitrógeno, óxidos de nitrógeno, azufre, óxidos de

azufre, monóxido de carbono, dióxido de carbono y otros gases, sin limitación. Se usan determinados productos de desecho para ulteriores procesos tales como la producción de singás o la síntesis catalizada de combustibles líquidos. Además, las reacciones catalizadas enzimáticamente convierten los compuestos complejados de azufre y nitrógeno hallados en el carbón en formas más simples que se remueven durante la separación del producto.

Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, las propiedades de reacción tales como temperatura, presión, pH y tiempo de permanencia se supervisan y controlan de modo diferencial para optimizar la producción. En determinadas instancias, las propiedades de reacción se controlan para obtener una distribución de pesos moleculares de hidrocarburos en la corriente de producto. Además, cuando la suspensión de reacción comprende el licor bioquímico, la alteración de las condiciones puede optimizar la conversión.

Como se analizó en la presente con anterioridad, el licor bioquímico comprende cualquier cantidad de enzimas. Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, cada enzima tiene condiciones preferidas para una catálisis eficaz. Como tal, se pretenden ciclos de las condiciones de reacción tales como temperatura y presión para maximizar la eficacia de cualquier parte del proceso o la acción de cualquier porción de las enzimas. En otras realizaciones, la etapa de conversión consiste en recipientes de reacción separados para las reacciones de solubilización, craqueo catalítico y conversión de nitrógeno y azufre. Esta disposición permite usar diferentes condiciones operativas en cada recipiente, tales como temperatura y velocidades de reciclado en el reactor individuales, para optimizar las reacciones catalizadas por enzimas.

Separación del producto. Después de la conversión, la mezcla hidrocarbonada se envía a tanques de sedimentación. En realizaciones, el tanque de sedimentación puede ser cualquier recipiente configurado para separar el líquido hidrocarbonado de la suspensión acuosa de carbón. En determinadas instancias, el tanque de sedimentación puede comprender un sedimentador dinámico, donde se introduce una corriente constante de bajo volumen o baja velocidad de la suspensión de reacción para separar las fases acuosa e hidrocarbonada. De modo alternativo, el tanque de sedimentación comprende un sedimentador estático, donde la suspensión de carbón en fase acuosa se sedimenta de los

hidrocarburos más livianos por gravedad. En determinadas realizaciones, los compuestos restantes de azufre y nitrógeno se distribuyen en la fase acuosa. La fase hidrocarbonada se separa sacando la capa de hidrocarburo más liviana de la capa acuosa más densa. De modo alternativo, un conducto retira la fase acuosa de la parte inferior del tanque.

Enriquecimiento del producto. La capa hidrocarbonada, que ya contiene gasolina, querosén, diésel y aceites combustibles se envía a la etapa II, donde luego se actualiza convirtiendo las fracciones de menor valor, nafta, diésel, aceites combustibles, ceras y lo similar en fracciones de mayor valor tales como gasolina o querosén. En realizaciones, el enriquecimiento del producto puede comprender conversión enzimática, fotofragmentación molecular, conversión y conversión por fotofragmentación molecular asistida por enzima. En determinadas instancias, el enriquecimiento del producto comprende una quinta enzima o una solución de quinta enzima introducida en los productos hidrocarbonados provenientes de la etapa de separación. Después del enriquecimiento, la mezcla hidrocarbonada se separa en productos finales por destilación convencional.

Procesamiento ex situ. La Figura 2 ilustra una realización de procesamiento de materias primas de carbón ex situ de modo continuo o un sistema EX 10. En el sistema EX 10, los procesos de pretratamiento, conversión y producción se diseñan para estar en comunicación de fluido. En el sistema EX 10, el carbón se muele primero en pequeñas partículas por medios mecánicos 12. Como se describió previamente, el medio mecánico 12 crea una corriente de producto particulada 14. La corriente de producto particulada se introduce en el sistema de tratamiento químico 16, que comprende, por ejemplo, una solución de ácido débil. En determinadas instancias, el medio mecánico 12 y el sistema de tratamiento químico 16 pueden comprender un recipiente individual o una instalación individual de procesamiento. La solución de carbón y ácido forman una suspensión de carbón donde el carbón se somete a preoxidación. La extensión de la preoxidación se determina por el tiempo de permanencia de la suspensión en el sistema de tratamiento químico 16. Además, en realizaciones combinadas, la oxidación del carbón en la suspensión de carbón se puede controlar, al menos en parte, por el grado de agitación suministrado por los mezcladores 18.

La corriente de producto en suspensión 20 se bombea luego fuera del tanque de alimentación y a la etapa del reactor 22. La etapa del reactor 22 comprende la reacción de solubilización. En determinadas instancias, la corriente de primera enzima 24, con enzimas seleccionadas para solubilizar el carbón, se inyecta en la corriente de producto en suspensión 20. De modo alternativo, la corriente de primera enzima 24 se inyecta directamente en la etapa del reactor 22. Sin desear quedar ligados por la teoría, puede ser beneficioso que la corriente de primera enzima 24 sea introducida en la corriente de suspensión 20 antes de introducirla en la etapa del reactor 22.

La etapa del reactor 22 comprende la reacción de conversión catalítica mediada por enzima. La corriente de segunda enzima 26 se inyecta en la etapa del reactor 22. Las enzimas reaccionan catalíticamente, convierten las moléculas grandes de hidrocarburo y producen la corriente de producto 30. Además, la corriente de tercera enzima 27 para convertir los compuestos de azufre y la corriente de cuarta enzima 28 para convertir los compuestos de nitrógeno se añaden a la etapa del reactor 22. La corriente de tercera enzima 27 y la corriente de cuarta enzima 28 convierten los respectivos contaminantes hallados en la suspensión de carbón 20 en formas hidrosolubles más simples. El efluente de la etapa del reactor 23 se divide continuamente entre una corriente de reciclado 25, que se vuelve a bombear a la etapa del reactor 22 y una corriente de producto 30.

En otras realizaciones, la etapa de reacción 22 consiste en recipientes de reacción separados para las reacciones de solubilización, conversión catalítica y conversión de nitrógeno y azufre. Una disposición de múltiples reactores permite usar diferentes condiciones operativas en cada recipiente, tales como temperatura y tasas de reciclado individuales en el reactor, para optimizar las distintas sucesiones de reacciones.

La corriente de producto 30 se bombea a la etapa de separación 32. La etapa de separación 32 puede comprender purga de gas 33 para extraer los gases y compuestos volátiles liberados durante la separación. En determinadas instancias, la purga de gas 33 saca algunos gases que se disolvieron en la corriente de producto 30. La etapa de separación 32 comprende la etapa en la que la fase acuosa 36 se resuelve bajo la fase de hidrocarburos 34. La etapa de separación 32 comprende un sedimentador o recipiente de sedimentación. De

modo alternativo, la etapa de separación es un filtro u otro aparato para separar las fases acuosa y de hidrocarburos de la corriente de producto 30. La etapa de separación 32 comprende un recipiente de separación de aceites de flujo continuo. La fase acuosa 36 se extrae de la etapa de separación 32 y se dirige por medio de una corriente de reciclado 39 a la etapa del reactor 22. La corriente de reciclado comprende un sistema de tratamiento de aguas residuales. El sistema de tratamiento comprende cualquier sistema configurado como un tratamiento acuoso ácido, configurado para remover el residuo, así como subproductos de nitrógeno y azufre. El agua tratada se vuelve a reciclar a la sección del reactor.

En determinadas instancias, la fase de hidrocarburos 34 se puede retirar de la parte superior del sedimentador como corriente hidrocarbonada 38 para el enriquecimiento y/o la destilación para producir combustibles para transporte. La corriente hidrocarbonada 38 se bombea a un enriquecimiento de la etapa del producto.

Procesamiento in situ. Otra realización implica el procesamiento continuo de carbón in situ o el sistema IN 100, que se ilustra en la Figura 3. En esta realización, el sistema IN 100 comprende un depósito de carbón o veta de carbón subterránea 101 abandonados, colapsados, inaccesibles o difíciles de extraer de otro modo. En realizaciones, al menos un pozo 102 se perfora en la veta de carbón 101. Los pozos 102 se configuran en general para el transporte de líquidos y suspensiones entre la veta de carbón subterránea 101 y el centro de procesamiento 120. Además, los pozos 102 se pueden configurar para la circulación continua de fluidos de proceso en fuera de la veta de carbón subterránea 101. Se puede prever que una pluralidad de pozos 102 mejore el rendimiento del producto, el tiempo de procesamiento y la economía general del sistema IN 101, sin limitación.

El proceso del sistema IN 100 comienza con la inyección de vapor en los conductos del pozo 102 para inducir la fractura de la veta de carbón subterránea 101. Esta etapa de fractura 105 se configura para romper la veta de carbón en partículas, grava de carbón, o lo similar. En determinadas instancias, el uso de vapor a alta presión concuerda con las prácticas convencionales de la industria minera de carbón subterráneo.

Una vez completa la etapa de fractura 105, se extrae el vapor a alta presión. La etapa de oxidación 106 comprende la inyección de una solución ácida para preoxidar el carbón

fracturado. En realizaciones, la solución ácida se recicla de forma continua para formar una corriente de proceso circulante 150, de modo tal que el ácido se bombee al pozo 102A de un lado de la veta, se bombea fuera del pozo 102B al otro lado de la veta. Para completar el ciclo, la solución ácida se transporta de regreso y se bombea al primer pozo 102A. La corriente de proceso circulante 150 se puede repetir hasta lograr el nivel deseado de preoxidación.

Como se describió con anterioridad, la etapa de solubilización 107 puede comprender la introducción de la solución de primera enzima en la veta de carbón subterránea 101. La solución de primera enzima se introduce en la corriente de proceso circulante 150 para solubilizar el carbón expuesto en la solución de proceso circulante.

Una vez logrado un nivel adecuado de carbón soluble, para crear la suspensión de carbón en la corriente de proceso circulante 150, se añaden las enzimas adicionales ya sea secuencial o simultáneamente. En determinadas instancias, las soluciones de segunda enzima 106, tercera enzima 107 y cuarta enzima 108 se añaden a la corriente circulante 150. Como se describió en la presente con anterioridad, la corriente de segunda enzima 106 se selecciona para craquear catalíticamente los hidrocarburos. Las soluciones de tercera enzima 107 y cuarta enzima 108 se seleccionan para remover los compuestos con contenido de azufre y nitrógeno y/o los productos residuales de la corriente de proceso circulante 150. En realizaciones, se pueden inyectar otras corrientes de enzimas en la corriente de proceso circulante 150 para optimizar la solubilización y la conversión del carbón.

Una porción de la corriente de proceso circulante 150 luego se divide y se extrae como una corriente de producto crudo 160 y se envía a una etapa de procesamiento 120. La etapa de procesamiento 120 es similar a una usada en realizaciones ex situ del proceso descrito con anterioridad. El recipiente de separación 162 comprende la etapa en la que la fase acuosa 163 se resuelve bajo la fase de hidrocarburos 164. El recipiente de separación 162 comprende un sedimentador o un recipiente de sedimentación. La fase acuosa 163 se extrae del recipiente de separación 162 y se envía por medio de la corriente de reciclado 170 a la corriente de proceso circulante 150. La corriente de reciclado 170 comprende un sistema de tratamiento de aguas residuales. El sistema de tratamiento comprende cualquier sistema

configurado para tratamiento acuoso ácido, configurado para remover residuo, así como subproductos de nitrógeno y azufre. En determinadas instancias, la fase de hidrocarburos 164 se puede extraer de la parte superior del sedimentador como corriente hidrocarbonada 168 para el enriquecimiento y/o la destilación para producir combustibles de transporte. La corriente hidrocarbonada 38 se bombea a una etapa de enriquecimiento del producto.

Mutagénesis. Los métodos usados para producir enzimas apropiadas para implementar en la etapa II para la mejora de un combustible incluyen el uso de anticuerpos catalíticos. Como se ilustra en la Figura 4, las enzimas biológicas se identifican por los procesos catalíticos deseados. En determinadas instancias, las enzimas biológicas se derivan de los microorganismos analizados con anterioridad en la presente. En otras realizaciones, las enzimas comprenden enzimas “Mother Nature Only” (MNO). Las enzimas MNO son las expresiones fenotípicas de secuencias genéticas no modificadas dentro de los microorganismos. De modo alternativo, las enzimas MNO son enzimas de tipo salvaje. En otras instancias, ilustradas en la Figura 5, las enzimas MNO se seleccionan de aquellas que comprenden una enzima activada. En determinadas instancias, la detección sistemática de las enzimas activadas se lleva a cabo por medio de un ensayo con anticuerpos. De modo alternativo, cualquier método de detección sistemática apropiado puede comprender cualquier protocolo adecuado para identificar las enzimas MNO de tipo salvaje, tal como se ilustra además en las Figuras 6 y 7.

Las MNOs seleccionadas se forman por evolución dirigida, tal como se ilustra en la Figura 8. Las MNOs seleccionadas se someten a mutagénesis dirigida a sitio y aleatoria en toda la enzima, no únicamente restringida al sitio activo. En determinadas instancias, las enzimas también se someten a mutagénesis en sitios alostéricos y en sitios remotos de los sitios activos y/o alostéricos. La mutagénesis en múltiples sitios comprende un medio tanto para promover como para restringir potenciales productos tal como se ilustra en Figuras 9 y 10. En determinadas instancias, la mutagénesis incluye el rediseño químico de sitio activo como se muestra en la Figura 11. Con preferencia, los resultados incluyen un diseño racional de enzima o estructura enzimática.

La estructura se sintetiza, se diseña por computadora, con motivos unidos con soportes enzimáticos. Como las enzimas son más bien moléculas grandes, con cientos de aminoácidos, decenas de kilo Daltons (Kds) y miles de angstroms cúbicos, se pueden considerar espacialmente ineficaces. En cierta instancia, las moléculas de enzimas grandes comprenden pequeños sitios activos. Los sitios reactivos enzimáticos son bastante pequeños en comparación y los otros aminoácidos plegados sirven como un soporte para crear el volumen de sitio reactivo. Estos "otros" aminoácidos pueden estar, hablando de forma relativa, bastante lejos del sitio activo de la enzima tal como se ilustra en la Figura 12. Además, las enzimas pueden incluir rediseños de sitio para unión con el cofactor, mostrados en la Figura 13. A fin de inducir rediseños de sitio para unión con el cofactor, la implementación de mutagénesis dirigida a sitio se repite según se analizó en la presente con anterioridad, por ejemplo, el punto 21.

Como se diagrama en la Figura 14, un pulso láser de femtosegundo IR puede incidir sobre el complejo enzimático para inducir la fragmentación del reactivo. Además, puede preverse que cualquier radiación incidente particular, conocida por la persona capacitada en la técnica, pueda ser capaz de la misma fragmentación del reactivo, sin limitación. El pulso láser para la fragmentación dirigida de reactivos/conversión en productos puede ayudar a la formación de productos reactivos. Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, se pueden formar múltiples productos reactivos de fragmentación. En determinadas instancias, los múltiples productos de fragmentación pueden ser ventajosos para la formación de un rango de fragmentos reactivos. De modo alternativo, los pulsos láser de femtosegundo IR junto con las técnicas enzimáticas antes mencionadas ayudan a la fragmentación selectiva de reactivos en sitios activos enzimáticos, sitios alostéricos y sitios alejados de la ligación o sitios alostéricos como se muestran en la Figura 15. Como comprenderá la persona capacitada en la técnica, la ligación con el reactivo, hidrocarburo, molecular con el sitio reactivo enzimático puede comprender un enlace covalente, no covalente, de hidrógeno, iónico, de Van der Waals u otro enlace, interacción, acoplamiento o asociación, sin limitación. Además, el sitio reactivo enzimático se configura para restringir a la molécula reactiva y su rango de movimiento. Además, el sitio reactivo restringe los grados internos de liberación, para dirigir

favorablemente los pulsos láser de femtosegundo al enlace interno preseleccionado. En determinadas instancias, el sitio reactivo enzimático amortigua los grados internos de libertad, de modo tal que se evita un reordenamiento interno de vibraciones (IVR) y la energía láser se enfoca al enlace interno preseleccionado.

Conversión del carbón en hidrocarburos líquidos. En una realización, un proceso de conversión de carbón en hidrocarburos líquidos comprende el pretratamiento mecánico y/o el pretratamiento químico, la solubilización y la conversión (de carbón en hidrocarburos líquidos). El pretratamiento mecánico incluye molienda con molino de martillos o molienda con molino de chorro. En ciertos casos, la molienda con molino de chorro es capaz de triturar el carbón en partículas con tamaños de 5 μm o menos. Por ejemplo, se puede usar un molino de reducción de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER-630.

En una realización, la solubilización y la conversión se llevan a cabo en varios carbones pretratados. En algunos casos, el carbón se pretrata por medio de un proceso enzimático, por ejemplo, usando lacasa extracelular y peroxidasa de manganeso (MnP). En algunos casos, el carbón se pretrata por medio de un proceso químico, por ejemplo, usando tartrato de amonio y peroxidasa de manganeso. En algunos casos, el carbón se pretrata por medio de un proceso enzimático, por ejemplo, usando organismos vivos de *Phanerochaete chrysosporium*.

EJEMPLO

Reseña. El carbón se descompone con tres diferentes enfoques (1) un proceso enzimático - usando lacasa extracelular y peroxidasa de manganeso (MnP); (2) un proceso químico - usando tartrato de amonio y peroxidasa de manganeso; y (3) un proceso enzimático - usando organismos vivos de *Phanerochaete chrysosporium*. Se usó análisis espectral para determinar cuán efectivo es cada uno de estos métodos en la descomposición de carbón bituminoso. Después del análisis de los resultados y otras consideraciones, como impactos de costos y medio ambiente, se determinó que los enfoques enzimáticos, contrariamente a los enfoques químicos usando agentes quelantes, eran más efectivos en la descomposición de carbón. Los

resultados de los experimentos con lacasa/MnP y los experimentos con *Phanerochaete chrysosporium* se presentan y se comparan.

Los espectros de ambos métodos enzimáticos muestran picos de absorción en la región de 240 nm a 300 nm. Estos picos corresponden a intermediarios aromáticos formados cuando se desintegra la estructura del carbón. Los picos se reducen luego en absorbancia con el paso del tiempo, correspondiente al consumo de intermediarios aromático cuando se someten a escisión del anillo. Los resultados muestran que este proceso ocurre en el lapso de una 1 hora cuando se usan enzimas extracelulares, pero toma varios días cuando se usan organismos vivos. Además, los organismos vivos requieren condiciones de cultivo específicas, control de contaminantes y fungicidas a fin de producir efectivamente enzimas extracelulares que degraden el carbón. En consecuencia, cuando se comparan los dos métodos enzimáticos, los resultados muestran que el proceso de uso de enzimas extracelulares que degradan la lignina, tales como lacasa y peroxidasa de manganeso, parece ser un método más eficaz de descomposición de carbón bituminoso.

Pretratamiento mecánico. El proceso de pretratamiento mecánico implica la molienda de partículas de carbón a un menor tamaño antes del pretratamiento químico y la experimentación. Este proceso proporciona una mayor área superficial tanto para el pretratamiento químico de carbón como una mayor área superficial para la posterior conversión enzimática de carbón en hidrocarburos líquidos.

Se usó carbón bituminoso, Lower Kittanning Seam, high vol - No. 5, de Rosebud Mining Company, Kittanning, PA.

En Q1, se usaron tres moliendas diferentes de carbón: partículas de 1 mm, 400 μ m y 40 μ m de tamaño. Estas tres moliendas se llevaron a cabo usando molienda con molino de martillos. Las partículas de 1 mm provenían de Rosebud Coal, Kittanning, PA. Las partículas de 400 μ m y 40 μ m provenían de Pulva Corporation, Valencia, PA (a pesar de que el material de partida para las moliendas de tamaño micrónico también era Rosebud Coal de 1 mm). El proceso de pretratamiento mecánico en Q2 se cambió de molienda con molino de martillos a molienda con molino de chorro. Esto fue llevado a cabo por Fluid Energy, Inc., Telford, PA. El equipo usado era un sistema de reducción de tamaño JET-O-MIZER. La molienda real se

realizó en condiciones selladas, excluyendo oxígeno o aire. Esto se realizó por razones de seguridad, para prevenir cualquier ignición o explosión espontánea. Se llevó a cabo otro trabajo de molienda mecánica en Q3 usando un molino de reducción Fluid Energy (p.ej., molino de reducción de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER 630). El molino de reducción de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER 630 tina partículas de carbón de 3 mm para el aporte. Este tamaño de partícula ya es asequible de los productores de carbón. Con un consumo de energía específico de aproximadamente 1.000 kWh/t, usando vapor como el gas motor, se obtienen tamaños de partícula medios de menos de 5 micrones.

Resultados y análisis. La Figura 16 muestra los resultados de la molienda mecánica realizada en el molino de reducción de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER 630. Como se observa de esta figura, el 25% de las partículas son inferiores a 1,7 micrones y el 50% son inferiores a 4 micrones. El diámetro medio de Sauter, $D(3,2)$, es solo de 2.128 micrones y el área superficial específica supera los 28000 cm² por cm³. Estos pequeños tamaños de partícula resultan en una mayor área superficial, lo cual significa un incremento de la cantidad de grupos funcionales de carbón que se exponen a enzimas durante el proceso de solubilización y conversión del hidrocarburo (ver la siguiente Tabla 1).

El molino de ensayo Model 0101 JET-O-MIZER CFS se abrevia como "molino CFS", que estaba equipado con una interfaz de vapor con el molinillo. Las dimensiones del molino CFS son de aproximadamente 7 X 6 X 3 pies. Detrás del panel de control a la derecha, hay 2 calentadores de vapor. Una tolva de carbón alimenta carbón en la sección de molienda (cubo con camisa a la izquierda de la tolva). El producto de carbón molido se alimenta en un recipiente detrás del molinillo con camisa.

Tabla 1

COULTER®		LS Particle Size Analyzer		Page 1	
		13:25			
		Fluid Energy Aljet			
File name:	CL 10327.\$03	Group ID:	CL 10327		
Sample ID:	COAL FUELS; COAL; RUN 3				
Operator:	YP	Run number:	79		
Comments:	PSI-100 N2:F/R-3#H-R				
	JCM0101				
Optical model:	Fraunhofer				
LS 230	Small Volume Module				
Start Time:	13:21	Run length:	60 Seconds		
Obscuration:	7%				
PIDS Obscur:	54%				
Fluid:	2-Propanol				
Software:	2.09	Firmware:	2.02 2.02		

La Figura 17 muestra los resultados finales obtenidos del molino CFS completo. Las estadísticas del producto de carbón se toman de un producto líquido. Estos resultados provienen de un analizador de rango estándar MICROTRAC (SRA 150). Como se observa en la Figura 17, la molienda en el molino CFS se realiza a una tasa de alimentación de carbón de 27 libras por hora. El vapor motor está a 450 OF y 110 PSIG. El rango de partículas de carbón es aproximadamente de 0,5 micrones a 25 micrones. El valor medio es de 5,769 micrones.

Además de los resultados estadísticos, el carbón del molino CFS se examinó bajo un microscopio. En las siguientes micrografías, eran evidentes una cantidad de características de la molienda y las partículas de carbón.

La Figura 18A es una micrografía de producto en agua. La amplificación es de 125X. El portaobjetos reticulado del microscopio se divide en décimos (0.1 mm) de un milímetro, como puede verse en las divisiones de 0 a 0,5. Las divisiones de 0,1 mm se vuelven a subdividir en décimos (0,01 mm) en la subdivisión de 0,0 a 0,1 mm. Las divisiones de 0,01 mm parecen "cuerdas de guitarra". La partícula grande en el medio de las "cuerdas de la guitarra" tiene un diámetro de aproximadamente 30 micrones. Es la partícula más grande en el campo visible. Algunas partículas son mucho menores que lo que se puede verse en las siguientes 2 micrografías.

La Figura 18B está con un aumento 430X. Las cuerdas de la guitarra son divisiones de 10-5 m. Como puede observarse entre las cuerdas y alrededor del campo central, hay partículas 0,1 de las divisiones de cuerda o de aproximadamente 1 micrón. La Figura 18C es una micrografía del mismo campo central que las Figuras 18A-18B. La amplificación es de 1000X. Con esta amplificación, observar la partícula con círculo anaranjado. Tiene un diámetro de aproximadamente 10 micrones. Naturalmente, hay una difracción de luz visible alrededor de las partículas de este tamaño. Sin embargo, observar que aparece cierta transparencia hacia el centro de la partícula. Este fenómeno también es obvio en otras partículas en este portaobjetos, así como en otras micrografías no mostradas.

Se usaron algunos enfoques diferentes para el pretratamiento mecánico en este ejemplo. Por último, se decidió acerca del uso de molienda con molino de chorro

(contrariamente a la molienda con molino de martillos) que es capaz de moler las partículas de carbón hasta un tamaño de 5 μ o menos. Como se observa en los resultados, un molino de reducción de tamaño Fluid Energy Model 0101 JET-O-MIZER 630 es capaz de realizar las especificaciones requeridas y moler las partículas de carbón hasta tamaños de 5 μ m o menos. El proceso de molienda de carbón es extremadamente importante porque, a tamaños de partícula de 5 μ m o menos, el área superficial drásticamente incrementada proporciona una exposición adicional de grupos funcionales que luego se exponen a enzimas. Esto es beneficioso porque las mayores tasas de reacción volúmenes de producto son muy dependientes de estos grupos funcionales después del acceso o la exposición.

Los tamaños de partícula y la dispersión de partículas de carbón limitan con la definición de "solubilidad". Las partículas están en el orden de los 800-1200 anillos benceno. Son tamaños bastante favorables para "alimentar" a la serie de enzimas para producir combustibles líquidos.

Solubilización y conversión. Se usó carbón bituminoso (Lower Kittanning Seam, high vol - No. 5, de Rosebud Mining Company, Kittanning, PA). Se usó un molinillo mecánico para moler el carbón antes de correr los experimentos. Como se mencionó en la sección de pretratamiento mecánico, se usaron algunos tamaños de partícula diferentes, pero la mayoría de los experimentos se realizaron usando partículas de carbón de aproximadamente 5 μ m. Los resultados analizados proceden de los experimentos usando las partículas de carbón de 5 μ m de tamaño.

El pretratamiento químico se usa para desgastar u oxidar el carbón que, a su vez, ayuda a la solubilidad del carbón en el proceso de conversión enzimática. Se usaron varios pretratamientos distintos en los experimentos, incluyendo: peróxido de hidrógeno, H₂O₂ (3% pH 5, 15% pH 4.5 y 30% pH 4), PBS Mine H₂O (Somerset, PA pH 2.2), ácido nítrico, HNO₃ (pH 1, pH 2, pH 3, pH 4 y 15 M), H₂O destilada y carbón precalentado, en donde el carbón de 5 μ m se precalentó a una temperatura de 120 °C durante aproximadamente 36 horas. Todas las muestras pretratadas se secaron antes de usar el carbón para los experimentos.

Además de realizar los experimentos con los diferentes tipos de carbón pretratado, también se llevaron a cabo experimentos con carbón no tratado. Los resultados de los

experimentos de carbón pretratado se analizaron para determinar los pretratamientos más efectivos. A partir de estos resultados, se determinó que los pretratamientos más efectivos eran peróxido de hidrógeno (3%>, 15%> y 30%), carbón calentado, agua de mina y ácido nítrico. Se analizan los resultados de los experimentos usando estas muestras de carbón pretratadas específicas.

Enfoque enzimático: lacasa y peroxidasa de manganeso

Los experimentos enzimáticos en este ejemplo se realizaron usando lacasa de *Trametes versicolor* y peroxidasa de manganeso (MnP) de *Phanerochaete chrysosporium*, ambos adquiridos de Sigma-Aldrich. La lacasa y MnP son enzimas extracelulares producidas por hongos de podredumbre blanca. Se consideran dos de los mayores grupos de las enzimas ligninolíticas y son capaces de degradar la lignina de forma eficaz. La lacasa se usó para la primera etapa del proceso, solubilización enzimática y la MnP se usó en la segunda etapa del proceso, conversión en hidrocarburo. El procedimiento experimental detallado para este enfoque se muestra más abajo.

Procedimiento de lacasa y MnP

Etapas 1: lacasa

Soluciones:

- tampón de lacasa - 100 mM de ácido cítrico – 100 mM tampón de fosfato de sodio, pH 4,5
- solución de lacasa - lacasa (*T. versicolor*) se disolvió en tampón de lacasa

Procedimiento

- 1) 0,1 g de carbón pretratado seco se combinó con 3 ml de tampón de lacasa en un tubo de ensayo
- 2) 2 ml de solución de lacasa se añadió a cada tubo de ensayo que contenía el carbón y el tampón de lacasa
- 3) Cada tubo de ensayo se agitó en un agitador Lab Line Orbital Shaker durante la noche.
- 4) Los productos de los experimentos se midieron usando el espectrofotómetro Genesis 10 UV-VIS (rango 190 nm – 1100 nm), adquirido de Fisher Scientific. Las

concentraciones de producto (cantidad de gotas) medidas en el espectrofotómetro se ajustaron de modo tal que las intensidades de absorción fueran relativamente iguales.

Etapas 2: peroxidasa de manganeso (MnP)

Soluciones

- tampón de MnP – 160 mM de solución de ácido malónico, pH 4,5
- solución de MnP – solución de oxidante de MnP se mezcló en tampón de MnP para formar el complejo de malonato de Mn (complejo descrito en el procedimiento de ensayo)

Procedimiento

- 1) 2,5 mL de solución de MnP se añadieron a la cubeta del espectrofotómetro
- 2) Se añadieron algunas gotas de cada producto de los experimentos de lacasa (producto de la Etapa 1) a la cubeta para realizar la conversión de hidrocarburo. Las concentraciones (cantidad de gotas) se ajustaron de modo tal que las intensidades de absorción fueran relativamente iguales.
- 3) Los productos de los experimentos se midieron de inmediato y luego cada 15 minutos (hasta 1 hora) usando el espectrofotómetro Genesis 10 UV-VIS (rango de 190 nm – 1100 nm), adquirido de Fisher Scientific.

Enfoque químico: Agentes quelantes

Un enfoque químico que usa agentes quelantes también se empleó en este ejemplo. Los agentes quelantes actúan removiendo los iones complejos de la estructura del carbón para solubilizar el carbón. Se usaron tres agentes quelantes distintos, sin embargo, el tartrato de amonio pareció ser el agente quelante más eficaz. Para los experimentos, se usó tartrato de amonio en la etapa de solubilización del proceso y luego se usó MnP en la etapa de conversión en hidrocarburo del proceso. Se muestra a continuación un procedimiento más detallado para este enfoque.

Procedimiento de agente quelante

Etapas 1: tartrato de amonio

Solución

- Solución de agente quelante – 1,00 g de tartrato de amonio se mezcló con 250 ml de H₂O

Procedimiento

- 1) Carbón – 0,10 g de cada muestra de carbón secada pretratada se usaron para cada experimento
- 2) 0,1 g de carbón combinados con 10 ml de solución de agente quelante en cada tubo de ensayo
- 3) Cada tubo de ensayo se agitó en un agitador Lab Line Orbital Shaker durante la noche
- 4) Los productos de experimentos se usaron usando el espectrofotómetro Genesis 10 UV-VIS (rango 190 nm – 1100 nm), adquirido de Fisher Scientific. Las concentraciones de producto (cantidad de gotas) medidas en el espectrofotómetro se ajustaron de modo tal que las intensidades de absorción fueran relativamente iguales.

Etapas 2: peroxidasa de manganeso

Soluciones

- tampón de MnP - 160 mM de solución de ácido malónico, pH 4,5
- solución de MnP – la solución oxidante de MnP se mezcló en tampón de MnP para formar el complejo de malonato de Mn (complejo descrito en el procedimiento de ensayo)

Procedimiento

- 1) 2,5 mL de solución de MnP se añadieron a la cubeta del espectrofotómetro
- 2) Algunas gotas de cada producto de los experimentos de tartrato (producto de la Etapa 1) se añadieron a la cubeta para realizar la conversión en hidrocarburo. Las concentraciones (cantidad de gotas) se ajustaron de modo tal que las intensidades de absorción fueran relativamente iguales.
- 3) Los productos de los experimentos se midieron de inmediato y luego cada 15 minutos (hasta 1 hora) usando el espectrofotómetro Genesis 10 UV-VIS (rango 190 nm – 1100 nm), adquirido de Fisher Scientific

Enfoque enzimático: *Phanerochaete chrysosporium*

Además de usar enzimas extracelulares, se realizaron experimentos usando organismos vivos conocidos por producir enzimas degradantes de lignina. Estos experimentos se diseñaron para proporcionar un ambiente para que el organismo vivo segregue tales enzimas extracelulares para degradar el carbón precalentado. El organismo usado, *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*), es un hongo de la podredumbre blanca que segrega enzimas extracelulares para degradar la lignina. Este organismo fue adquirido de ATCC (ATCC #24725). Dos diferentes medios de crecimiento se usaron para cultivar el *P. chrysosporium*: dextrosa de papa (PD) y dextrosa de Sabouraud (SD). Abajo se muestra un procedimiento experimental más detallado para este enfoque.

Procedimiento de *P. chrysosporium*

- 1) 0,2 g de carbón precalentado seco se pesó y se colocó en un matraz de Erlenmeyer de 50 ml
- 2) 30 ml de calcio de medio de cultivo (inoculado con *P. chrysosporium*) se añadieron al carbón en los matraces
- 3) Cada matraz se agitó en un agitador Lab Line Orbital Shaker de modo constante durante 14 días
- 4) Se tomaron muestras de cada matraz después de las primeras 2 horas para una lectura inicial, así como una vez por día los días 1-7, día 10 y día 14. Estas muestras se usaron usando el espectrofotómetro Genesis 10 UV-VIS (rango 190 nm – 1100 nm), adquirido de Fisher Scientific.

Resultados. Como se describió previamente, se hicieron tres diferentes enfoques al realizar los experimentos de solubilización y conversión: (1) lacasa y MnP, (2) tartrato de amonio y MnP y (3) *P. chrysosporium* vivos usando dos diferentes medios de cultivo. Los dos primeros enfoques incluían una etapa de solubilización, usando tanto enzimas como agentes quelantes, para descomponer inicialmente la estructura del carbón; el carbón descompuesto se pasa a una etapa de conversión en hidrocarburo, usando enzimas adicionales, para luego craquear las moléculas hidrocarbonadas en moléculas hidrocarbonadas más pequeñas. En el enfoque de organismos vivos, se usó *P. chrysosporium* para segregar una cantidad de enzimas extracelulares tanto para descomponer como para luego craquear la estructura del carbón.

Después de la experimentación con enzimas y agentes quelantes en el segundo y el tercer cuarto, se determinó que el enfoque enzimático era más efectivo para degradar el carbón bituminoso que el enfoque químico (agente quelante). Además, los agentes quelantes son caros y ejercen impactos ambientales potencialmente adversos. A partir de estos resultados experimentales y consideraciones ambientales, se determinó que el enfoque de agentes quelantes no era óptimo.

Los experimentos con *P. chrysosporium* vivos se realizaron usando diferentes tipos de medios de crecimiento. Los resultados de estos experimentos mostraron que las condiciones de crecimiento óptimas eran el medio de cultivo PD y el medio de cultivo SD, ambos con la mínima cantidad de peptona añadida.

Los resultados exitosos de la degradación de carbón se obtuvieron tanto del enfoque enzimático (lacasa y MnP) como del enfoque con organismos vivos (*P. chrysosporium*). En consecuencia, solo se presentan y analizan los resultados espectrales de estos enfoques. Las Figuras 19A a 22C muestran los resultados de estos experimentos.

Cada curva muestra la longitud de onda (nm) vs. absorbancia relativa (A), donde la absorbancia relativa (A) se refiere a la transmitancia (T): $A = \log_{10} (1/T)$. Las leyendas en los gráficos se deben leer de izquierda a derecha, lo que muestra el orden en el que se midieron las muestras.

Los resultados se dividen en secciones de acuerdo con el tipo de pretratamiento usado. Solo se presentan los resultados espectrales de los pretratamientos más efectivos. Estos pretratamientos son pretratamientos de peróxido de hidrógeno (3%, 15% y 30%), carbón calentado, agua de mina y ácido nítrico (pH 1). Después de una comparación de estos resultados, se determinará el mejor enfoque general para la degradación de carbón bituminoso.

Carbón pretratado con H₂O₂ al 3%

La Figura 19A ilustra los resultados de experimentos con carbón pretratado con H₂O₂ al 3% usando las soluciones de lacasa y MnP. El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de aproximadamente 215 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,0A (curva roja). Este espectro se puede comparar con el espectro del

carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 215 nm y una absorbancia de aproximadamente 2,0A (curva azul).

Estos dos espectros muestran que el pretratamiento con H₂O₂ al 3% tiene cierto efecto sobre la solubilización del carbón, pero la lacasa trabaja para seguir oxidándolo y solubilizándolo. Los espectros en la Figura 19A también ilustran un desplazamiento en los picos de 215 nm a aproximadamente 244 nm y una reducción en la absorbancia de 2,0A a 1,74A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadió a la solución de MnP (curva verde – 0 min). La absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose con el tiempo a aproximadamente 1,45A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 19B muestra los resultados de los experimentos de carbón pretratado con H₂O₂ al 3%. El espectro para el carbón no tratado en solución de tartrato no exhibe ningún pico de absorbancia fuerte en los espectros (curva roja). Sin embargo, el carbón pretratado en solución de tartrato muestra un pico de aproximadamente 225 nm y una absorbancia de aproximadamente 0,634A (curva azul). Esto muestra que el pretratamiento tiene un efecto muy fuerte sobre la solubilización química del carbón usando solución de tartrato. Los espectros en la Figura 19B también ilustran un desplazamiento en los picos de 225 nm a aproximadamente 243 nm, que se produce cuando el producto de tartrato se añadió a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 0,286A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris – 1 hr).

La Figura 19C ilustra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones de crecimiento muestra inicialmente un pico de aproximadamente 245 nm con una absorbancia de aproximadamente 1,30A y un pico de aproximadamente 290 nm con una absorbancia de aproximadamente 2,10A (curva roja). Estos picos no se desplazan en longitud de onda (nm) en el tiempo, pero la absorbancia (A) tiende cada día a cambiar ligeramente. El día 1, la absorbancia se reduce a aproximadamente 0,52A a 245 nm y 1,60A a 290 nm (curva azul), pero se incrementa a aproximadamente

1,45A a 245 nm y 2,20A a 290 nm el día 2 (curva verde). Después del día 2, la absorbancia vuelve a reducirse el día 3 a 1,28A a 245 nm y 1,35A a 290 nm (curva rosa). La absorbancia continúa incrementándose luego para los demás días. Día 4: 1,36A a 245 nm y 1,58A a 290 nm (curva turquesa); día 5: 1,51A a 245 nm y 2,02A a 290 nm (curva amarilla); día 6: 1,56A a 245 nm y 2,48 nm a 290 nm (curva gris); día 7: 1,52A a 245 nm y 2,63A a 290 nm (curva negra).

La Figura 19D muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 3% en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1 X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones de crecimiento muestra inicialmente un pico de aproximadamente 245 nm y una absorbancia de 2,73A (curva roja). Este pico a 245 nm no se desplaza en longitud de onda y no se incrementa o reduce significativamente en absorbancia del día 1 al día 10. Día 1: 2,52A (curva azul); día 2: 2,57A (curva verde); día 3: 2,42A (curva rosa), día 4: 2,39A (curva turquesa); día 5: 2,71A (curva amarilla); día 6: 2,66A (curva gris); día 7: 2,52A (curva negra); día 10: 2,60A (curva anaranjada). La absorbancia a 245 nm se reduce luego el día 14 a 2,02A (curva beige).

Carbón pretratado con H₂O₂ al 15%

La Figura 19E muestra los resultados de los experimentos con carbón pretratado con H₂O₂ al 15%. El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de aproximadamente 230 nm y una absorbancia de solo aproximadamente 0,877A (curva roja). Este espectro se puede comparar con el espectro del carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 224 nm y una absorbancia de aproximadamente 3,20A (curva azul). Al comparar estos espectros, se puede ver que el pretratamiento no tiene un impacto sobre la solubilización del carbón, pero la lacasa es necesaria para una ulterior solubilización. Los espectros en la Figura 2.05 también ilustran un desplazamiento en los picos de 224 nm a aproximadamente 249 nm y una reducción en la absorbancia de 3,20A a 1,99A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 1,63 A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 19F muestra los resultados de experimentos de carbón pretratado con H₂O₂ al 15%. El espectro para el carbón no tratado en solución de tartrato no exhibe ningún pico de absorbancia fuerte en los espectros (curva roja). Sin embargo, el carbón pretratado en solución de tartrato muestra un pico de aproximadamente 227 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,21 A (curva azul). Esto indica que el pretratamiento tiene un impacto muy fuerte sobre la solubilización química del carbón en solución de tartrato. Los espectros en la Figura 19F también ilustran un desplazamiento en los picos de 227 nm a aproximadamente 245 nm y una leve caída en la absorbancia de 1,21A a 1,14A, que se produce cuando el producto de tartrato se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde – 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 0,52A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris – 1 hr).

La Figura 19G muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro (curva roja) para el carbón pretratado en estas condiciones muestra inicialmente dos picos: un pico a una longitud de onda de 245 nm con una absorbancia de 1,00A y un pico a una longitud de onda de 290 nm con una absorbancia de 2,20A. Los picos en la Figura 19G no aparecen para desplazarse en longitud de onda, pero muestran cambios en la absorbancia día a día. Después del primer día, la absorbancia pico se reduce desde el pico inicial hasta aproximadamente 0,69A a 245 nm y 1,80A a 290 nm (curva azul). Esta absorbancia se incrementa luego el día 2 a 1,56A a 245 nm y 2,30A a 290 nm (curva verde) y se reduce el día 3 a 1,31A a 245 nm y 1,35A a 290 nm (curva rosa). Después del día 3, las curvas se incrementan luego en absorbancia para los demás días. Día 4: 1,38A a 245 nm y 1,58A a 290 nm (curva turquesa); día 5: 1,53A a 245 nm y 2,13A a 290 nm (curva amarilla); día 6: 1,62A a 245 nm y 2,22A a 290 nm (curva gris); día 7: 1,74A a 245 nm y 2,69A a 290 nm (curva negra); día 10: 1,75A a 245 nm y 2,76A a 290 nm (curva anaranjada).

La Figura 19H muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 15% en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1 X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones de

crecimiento muestra inicialmente un pico de aproximadamente 245 nm y una absorbancia de 2,78A (curva roja). Este pico a 245 nm no se desplaza en longitud de onda pero se reduce ligeramente en la absorbancia del día 1 al día 14. Día 1: 2,64A (curva azul); día 2: 2,45A (curva verde); día 3: 2,38A (curva rosa), día 4: 2,39A (curva turquesa); día 5: 2,02A (curva amarilla); día 6: 2,09A (curva gris); día 7: 2,12A (curva negra); día 10: 2,13A (curva anaranjada); día 14: 1,50A (curva beige).

Carbón pretratado con H₂O₂ al 30%

La Figura 19I muestra los resultados de los experimentos de carbón pretratado con H₂O₂ al 30%. El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de aproximadamente 224 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,99A (curva roja). Este espectro se puede comparar con el espectro del carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 211 nm y una absorbancia de aproximadamente 2,58A (curva azul). La comparación de estos espectros ilustra que el pretratamiento al 30% en sí es casi tanto efectivo como la lacasa para solubilizar el carbón. Los espectros en la Figura 19I también ilustran un desplazamiento en los picos de 211 nm a aproximadamente 249 nm y una reducción en la absorbancia de 2,58A a 1,77A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde). Esta absorbancia (curva verde) también continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 1,13A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 19J muestra los resultados de los experimentos de carbón pretratado con H₂O₂ al 30%. El espectro para el carbón no tratado en solución de tartrato no exhibe ningún pico de absorbancia fuerte en los espectros (curva roja). Sin embargo, el carbón pretratado en solución de tartrato muestra un pico de aproximadamente 228 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,52A (curva azul). La diferencia en estos picos muestra que el pretratamiento es necesario para solubilizar químicamente el carbón en solución de tartrato. Los espectros en la Figura 19J también ilustran un desplazamiento en los picos de 228 nm a aproximadamente 245 nm y una caída de la absorbancia de 1,52A a 1,18A, que se produce cuando el producto de tartrato se añadía a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente

0,87A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 19K muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para este carbón pretratado particular muestra inicialmente un pico de aproximadamente 245 nm con una absorbancia de aproximadamente 0,86A y un pico de aproximadamente 295 nm con una absorbancia de 1,89A (curva roja). Después del primer día, la absorbancia cae a aproximadamente 0,59A a 245 nm, pero queda a aproximadamente 0,86A a 295 nm (curva azul). Del día 2 al día 5, la absorbancia a 245 nm no cambia de modo significativo, mientras que el pico a 295 nm cambia ligeramente cada día. Día 2: 1,54A a 245 nm y 2,56A a 295 nm (curva verde); día 3: 1,38A a 245 nm y 2,22A a 295 nm (curva rosa); día 4: 1,57A a 245 nm y 2,26A a 295 nm (curva turquesa); día 5: 1,76A a 245 nm y 2,83A a 295 nm (curva amarilla). El día 6, la absorbancia aumenta tanto en los picos a aproximadamente 2,29A a 245 nm como 3,46A a 295 nm (curva gris).

La Figura 19L muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con H₂O₂ al 30% en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1 X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones de crecimiento muestra inicialmente un pico de aproximadamente 243 nm y una absorbancia de 1,56A (curva roja). Este pico a 245 nm no se desplaza en longitud de onda pero se reduce en la absorbancia del día 1 al día 7, excepto los días 3 y 10 que aumentan en la absorbancia. Día 1: 1,47A (curva azul); día 2: 1,39A (curva verde); día 3: 2,09A (curva rosa), día 4: 1,30A (curva turquesa); día 5: 1,07A (curva amarilla); día 6: 0,93A (curva gris); día 7: 0,93A (curva negra). El día 10, la absorbancia a 245 nm aumenta a 2,58A (curva anaranjada).

Pretratamiento de carbón calentado

La Figura 19M muestra los resultados de los experimentos de carbón pretratado calentado con H₂O₂ al 30%. El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de aproximadamente 237 nm y una absorbancia de solo aproximadamente 1,41A (curva roja). Este espectro se puede comparar con el espectro del carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 227 nm y una absorbancia de

aproximadamente 3,09A (curva azul). La comparación de estos espectros muestra que el pretratamiento tiene cierto efecto sobre la solubilización del carbón, pero la lacasa también oxida el carbón para la solubilización. Los espectros en la Figura 19M también ilustran un desplazamiento en los picos de 227 nm a aproximadamente 247 nm y una reducción en absorbancia de 3,09A a 2,31A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta curva también continúa cambiando en el tiempo (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 20A muestra los resultados del experimento de carbón calentado. El espectro para este pretratamiento en medio de cultivo PD con *P. chrysosporium* no muestra inicialmente un pico fuerte el día 0 (curva roja) o el día 1 (curva azul). Luego comienza a formarse un pico el día 2 a aproximadamente 240 nm con una absorbancia de 1,39A (curva verde). Este pico a 240 nm se reduce luego en absorbancia el día 3 a 0,68A (curva rosa) y el día 4 a 0,23A (curva turquesa). Finalmente, el pico aumenta en la absorbancia a 240 nm durante los últimos 2 días. Día 5: 1,39A a 245 nm (curva amarilla) y día 6: 1,93A a 240 nm (curva gris).

La Figura 20B muestra los resultados del experimento de carbón calentado en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones muestra inicialmente un pico a aproximadamente 240 nm y una absorbancia de 0,61A (curva roja). Este pico a 240 nm se incrementa luego en la absorbancia a aproximadamente 0,78A el día 1 (curva azul). Del día 2 al día 5, la absorbancia a esta longitud de onda continúa cambiando. Día 2: 0,73A (curva verde); día 3: 0,56A (curva rosa); día 4: 0,78A (curva turquesa); día 5: 0,44A (curva amarilla). El día 6, la longitud de onda parece desplazarse hasta aproximadamente 260 nm y queda a esta longitud de onda el día 7 y día 10. Día 6: 0,66A (curva gris); día 7: 0,55A (curva negra) y día 10: 0,95A (curva anaranjada).

Carbón pretratado con agua de mina

La Figura 21 A ilustra los resultados de los experimentos de carbón pretratado con agua de mina. El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de

aproximadamente 245 nm y una absorbancia de aproximadamente 0,71 A (curva roja). Este espectro se puede comparar con el espectro del carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 217 nm y una absorbancia de aproximadamente 2,34A (curva azul). La comparación de estos espectros muestra que este pretratamiento ayuda a oxidar inicial y descomponer el carbón, pero la lacasa es necesaria para posterior descomposición. Los espectros en la Figura 21 A también ilustran un desplazamiento en los picos de 217 nm a aproximadamente 249 nm y una leve reducción en la absorbancia de 2,58A a 2,25A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 1,83 A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 21B muestra los resultados de los experimentos de carbón pretratado con agua de mina. El espectro para el carbón no tratado en solución de tartrato no exhibe ningún pico de absorbancia fuerte en los espectros (curva roja). Sin embargo, el carbón pretratado en solución de tartrato muestra un pico de aproximadamente 228 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,43 A (curva azul). La comparación de estas dos curvas muestra que el pretratamiento es necesario para solubilizar químicamente el carbón en solución de tartrato. Los espectros en la Figura 21B también ilustran un desplazamiento en los picos de 228 nm a aproximadamente 245 nm, que se produce cuando el producto de tartrato se añadía a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 0,87A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 21C ilustra los resultados del experimento de carbón pretratado con agua de mina en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado muestra 2 picos: un pico de aproximadamente 245 nm y un pico de aproximadamente 305 nm. El pico a 245 nm tiene inicialmente una absorbancia de 1,17A (curva roja) y queda a 1,17A después del día 1 (curva azul). El pico a 245 nm se incrementa luego en la absorbancia el día 2 a aproximadamente 2,00A (curva verde) y solo cambia ligeramente en la absorbancia en los demás días. Día 4: 1,84A (curva rosa); día 5: 1,89A

(curva turquesa); día 6: 1,87A (curva amarilla); día 7: 1,78A (curva gris); día 10: 1,82A (curva negra). El pico a 305 nm tiene una absorbancia inicial de 2,97A (curva roja) y también cambia muy levemente con el tiempo. Día 1: 3,06A (curva azul); día 2: 3,51A (curva verde); día 4: 3,49A (curva rosa); día 5: 3,12A (curva turquesa); día 6: 3,31A (curva amarilla); día 7: 3,24A (curva gris); día 10: 3,06A (curva negra).

La Figura 21D muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con agua de amina en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1 X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones muestra inicialmente un pico amplio a aproximadamente 297 nm con una absorbancia de aproximadamente 3,94A (curva roja). Los espectros para el día 1 al día 5 quedan relativamente sin cambios a 297 nm. Día 1: 3,95A (curva azul); día 2: 3,96A (curva verde); día 3: 3,89A (curva rosa); día 4: 3,97A (curva turquesa); día 5: 3,82A (curva amarilla). El día 6 la absorbancia comienza a reducirse ligeramente a 297 nm y continúa reduciéndose ligeramente el día 7 y día 10. Día 6: 3,70A (curva gris); día 7: 3,60A (curva negra); día 10: 3,45A (curva anaranjada). El día 14, la absorbancia aumenta a 3,76A (curva beige).

Carbón pretratado con HNO₃ (pH 1)

La Figura 22A muestra los resultados de experimentos de carbón pretratado con HNO₃ (pH 1). El espectro para el carbón pretratado en tampón de lacasa muestra un pico de aproximadamente 210 nm y una absorbancia de solo aproximadamente 0,47A (curva roja) y se puede comparar con el espectro para el carbón pretratado en solución de lacasa, que muestra un pico de aproximadamente 213 nm y una absorbancia de aproximadamente 1,68A (curva azul). La comparación de estas curvas indica que el pretratamiento no tiene un efecto sobre la solubilización del carbón, pero que la solución de lacasa trabaja para seguir oxidando y descomponiendo el carbón. Los espectros en la Figura 22A también ilustran un desplazamiento en los picos de 213 nm a aproximadamente 244 nm y una reducción en la absorbancia de 1,68A a 1,35A, que se produce cuando el producto de lacasa se añadía inicialmente a la solución de MnP (curva verde - 0 min). Esta absorbancia (curva verde - 0 min) continúa reduciéndose en el tiempo a aproximadamente 0,99A (curva rosa - 15 min, curva turquesa - 30 min, curva amarilla - 45 min, curva gris - 1 hr).

La Figura 22B muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con HNO₃ (pH 1) en medio de cultivo PD con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para este experimento muestra inicialmente un pico de aproximadamente 260 nm con una absorbancia relativa de -0,52A (curva roja). Esta absorbancia a 260 nm se incrementa en la absorbancia a -0,32A el día 1 (curva azul). El día 2, el pico se desplaza y comienza a formarse a 240 nm con una absorbancia de 0,794A (curva verde). Este pico a 240 nm se reduce ligeramente el día 3 a 0,93A (curva rosa), pero luego continúa reduciéndose en la absorbancia del día 4 al día 7. Día 4: 0,80A (curva turquesa); día 5: 0,49A (curva amarilla); día 6: 0,44A (curva gris); día 7: 0,003A (curva negra).

La Figura 22C muestra los resultados del experimento de carbón pretratado con HNO₃ (pH 1) en medio de cultivo SD, con un décimo de la cantidad de peptona (0,1X), con contenido de *P. chrysosporium*. El espectro para el carbón pretratado en estas condiciones muestra inicialmente una absorbancia de -0,23A a aproximadamente 235 nm (curva roja). La absorbancia a esta longitud de onda continúa reduciéndose luego el día 1 al día 7. Día 1: -0,35A (curva azul); día 2: -0,44A (curva verde); día 3: -0,34A (curva rosa); día 4: -0,33A (curva turquesa); día 5: -0,55A (curva amarilla); día 6: -0,70A (curva gris); día 7: -0,78A (curva negra). Finalmente, el día 10, la absorbancia a 235 nm se incrementa a aproximadamente -0,30A (curva anaranjada).

El trabajo para este ejemplo se enfocaba en la conversión de carbón bituminoso en combustibles líquidos. Este proceso implica las mismas etapas tomadas por los microorganismos naturales para romper las estructuras moleculares halladas en el carbón en formas útiles que pueden ingresar en sus vías metabólicas para la liberación de carbón y energía. Un ejemplo de tal vía es la digestión de fenol, dado en la Figura 23.

Los fenoles representan una clase importante de grupos funcionales dado que el 40-75% del carbón en el carbón bituminoso es aromático y los fenoles y restos fenólicos representan el punto de entrada preferido para la escisión microbiana del anillo aromático.

La apertura de las estructuras de los anillos aromáticos también es una primera etapa necesaria en la conversión de carbón en combustibles líquidos en el proceso CFS. Para referencia, se da una serie de espectros UV en el tiempo para la degradación del fenol en la

Figura 24. Si bien estos resultados no se obtuvieron de un sistema biológico, proporcionan una medida cualitativa de las transiciones en los espectros UV que se pueden esperar de la vía de reacciones mostrada con anterioridad.

Como muestra el gráfico, la absorbancia en el extremo frontal de los espectros UV aumenta durante las etapas iniciales de la degradación correspondientes a la formación de los intermediarios aromáticos. Como se forman más intermediarios, la concentración de fenol se reduce, mostrada por la reducción de la absorbancia para el fenol a 268 nm. Ambos picos comienzan luego a reducirse, cuando se consume el fenol y los intermediarios aromáticos se someten a escisión del anillo. Eventualmente, los enfoques de absorbancia cero como los intermediarios aromáticos escindidos se convierten en ácidos orgánicos.

Los espectros presentados en este ejemplo muestran que los métodos usados en este ejemplo producen el mismo tipo de degradación como se muestra en los espectros UV para la degradación del fenol. También queda claro que el grado en que el carbón se somete a una conversión varía de modo significativo con el modo en que se pretrata el carbón.

Como se describió previamente, se usaron tres diferentes enfoques para degradar el carbón bituminoso: (1) lacasa y MnP, (2) tartrato y MnP y (3) *P. chrysosporium* vivo, usando dos diferentes medios de cultivo. Los resultados de los experimentos de lacasa y MnP y los experimentos con *P. chrysosporium* vivo muestran los mejores resultados y se comparan.

Estos espectros se muestran en las Figuras 19A a 22C. Como se observa en las Figuras 19A a 22C, los espectros para estos enfoques usando diversos pretratamientos de carbón muestran picos en la región de 240 nm a 300 nm. Estos picos corresponden a los intermediarios de anillo aromático más pequeños y ácidos orgánicos formados a partir de la degradación de carbón bituminoso. A partir de estos espectros, es obvio que los dos métodos trabajan para degradar el carbón.

Los primeros experimentos de solubilización y conversión enzimática se realizaron usando lacasa y MnP, mostrados en las Figuras 19A, 19E, 19I, 19M, 21A y 22A. Los espectros muestran picos a aproximadamente 245 nm - 250 nm. Los picos en estos espectros comienzan a reducir la absorbancia durante un período de una hora, correspondiente al consumo de los intermediarios aromáticos cuando se someten a escisión del anillo.

Se usaron *P. chrysosporium* vivos como otro método para degradar el carbón bituminoso. Se cultivaron en dos diferentes medios de cultivo para proporcionar suficientes condiciones de crecimiento para que el organismo segregue enzimas extracelulares para degradar el carbón. Los espectros del medio de cultivo de dextrosa de papa (PD) con contenido de *P. chrysosporium* muestran picos en la región de 240 nm a 300 nm, mostrados en las Figuras 19C, 19G, 19K, 20A, 21C y 22B. Se muestra que la absorbancia pico se reduce durante un período de 7 a 10 días en estos experimentos.

También se cultivó *P. chrysosporium* en un medio de cultivo de dextrosa de Sabouraud (SD). Los espectros correspondientes a estos experimentos se muestran en las Figuras 19D, 19H, 19L, 20B, 21D y 22C. La mayoría de los picos en los espectros se observan a aproximadamente 235 nm a 245 nm. Se puede apreciar una reducción en la absorbancia pico durante un período de 10 a 14 días.

Los parámetros principales comparados entre los espectros UV-VIS para los dos diferentes métodos enzimáticos eran la ubicación de los picos (nm) y la reducción de la absorbancia pico (A). Como se mencionó, los picos de los experimentos caen en el rango de 240 nm a 300 nm, que corresponden a los intermediarios aromáticos formados cuando se rompe la estructura del carbón. Los picos de los experimentos de lacasa + MnP y *P. chrysosporium* en el medio de cultivo S.D. muestran similares picos en la región de 235 nm a 250 nm. Los picos de *P. chrysosporium* en el medio de cultivo P.D. muestran dos diferentes picos, en la región de 245 nm y en la región de 290 nm.

Cuando se comparan las reducciones en la absorbancia pico, se puede ver que los experimentos realizados con lacasa y los experimentos con MnP se reducen en la absorbancia durante el período de 1 hora. Sin embargo, en los experimentos con *P. chrysosporium* vivos, la reducción en la absorbancia pico se ve en un período de 10 a 14 días. Esta es una diferencia significativa en el tiempo que tardan los intermediarios aromáticos para formarse y para que se produzca la escisión del anillo e ilustra una de las mayores diferencias al usar enzimas extracelulares y organismos vivos.

Cuando se comparan los espectros entre los diferentes tipos de pretratamiento, se puede ver que los resultados más consistentes se observan en los pretratamientos con

peróxido de hidrógeno al 3%, 15% y 30%. Estos espectros muestran picos en la región de 235 nm a 240 nm para todas las muestras de carbón pretratado. En los espectros para el carbón calentado, los picos para los experimentos usando *P. chrysosporium* vivos no son tan consistentes como los picos para los experimentos que usan enzimas extracelulares. En el carbón pretratado con agua de mina, los picos no se reducen en la absorbancia en el tiempo en los experimentos que usan *P. chrysosporium* vivo como cuando lo hacen en los experimentos que usan enzimas extracelulares. Finalmente, los espectros para el carbón pretratado con ácido nítrico muestran una absorbancia negativa en los experimentos que usan *P. chrysosporium* vivo, que no es consistente con los picos obtenidos usando enzimas extracelulares.

En este ejemplo, se mostró que tanto las enzimas extracelulares como los organismos vivos se pueden usar para descomponer el carbón bituminoso. Los espectros de estos experimentos muestran picos en la región de 240 nm a 300 nm, correspondiente a los intermediarios de anillo aromático menores y ácidos orgánicos formados a partir de la degradación del carbón. Sin embargo, cuando se comparan estos métodos diferentes, resulta obvio que la manera más eficaz de atacar la estructura del carbón es con enzimas. Este proceso tiene algunas ventajas respecto del uso de organismos vivos.

Una de las principales ventajas de usar enzimas extracelulares en vez de organismos vivos es el tiempo necesario para la descomposición. Como se observa en los espectros, los resultados de los experimentos que usan lacasa y peroxidasa de manganeso mostraban una reducción en la absorbancia dentro de la primera hora de experimentación. También se ven similares reducciones en la absorbancia en los resultados de *P. chrysosporium*. Sin embargo, estos resultados se registraron con el peso de los días más que minutos. Obviamente toma un tiempo más largo que el organismo vivo segregue las enzimas extracelulares apropiadas para degradar el carbón.

Además, como se mencionó con anterioridad, el trabajo con organismos es difícil porque están vivos y la cantidad de incógnitas es numerosa. Esto incluye mantener las condiciones de cultivo ideales para el organismo y también controlar los contaminantes y los

subproductos fungicidas que pueden evitar que el organismo crezca o segregue enzimas extracelulares para degradar el carbón.

También se pueden usar otras enzimas ligninolíticas tales como peroxidasa de lignina para degradar el carbón bituminoso. Además, se pueden cultivar otros tipos de hongos de podredumbre blanca como *Trametes Versicolor*, y se pueden exponer a carbón bituminoso. Diferentes condiciones de cultivo también pueden afectar la forma en que los organismos segregan enzimas extracelulares para degradar el carbón.

Si bien las realizaciones preferidas de la invención se mostraron y describieron, las personas capacitadas en la técnica pueden hacer modificaciones de ellas sin apartarse del espíritu y las enseñanzas de la invención. Las realizaciones descritas y los ejemplos proporcionados en la presente son solo a modo de ejemplo y no pretenden ser limitativos. Son posibles muchas variaciones y modificaciones de la invención reveladas en la presente y están dentro del alcance de la invención. De acuerdo con esto, el alcance de la protección no está limitado por la descripción establecida con anterioridad, sino solo está limitado por las reivindicaciones siguientes, donde el alcance incluye todos los equivalentes del objeto de las reivindicaciones.

MÉTODOS PARA PRODUCIR PRODUCTOS HIDROCARBONADOS LÍQUIDOS

RESUMEN

En la presente, se divulga un método para obtener un producto hidrocarbonado líquido, que comprende desintegrar una fuente de hidrocarburo; pretratar la fuente de hidrocarburo desintegrada; solubilizar la fuente de hidrocarburo desintegrada para formar una suspensión que comprende una molécula reactiva de la fuente de hidrocarburo; mezclar un licor bioquímico en la suspensión, donde el licor bioquímico comprende al menos una enzima de conversión configurada para facilitar la fotofragmentación selectiva de enlaces de dicha molécula reactiva de la fuente de hidrocarburo, para formar hidrocarburos líquidos por medio de fotofragmentación selectiva de enlaces asistida por enzimas, donde dicha enzima de conversión comprende sitios reactivos configurados para restringir a dicha molécula reactiva de modo tal que la fotofragmentación se dirija favorablemente a un enlace interno preseleccionado de dicha molécula reactiva; separar los hidrocarburos líquidos de la suspensión, donde los contaminantes quedan en la suspensión; y enriquecer los hidrocarburos líquidos para formar un producto hidrocarbonado líquido. También se analizan diversos aspectos de tal método/proceso.

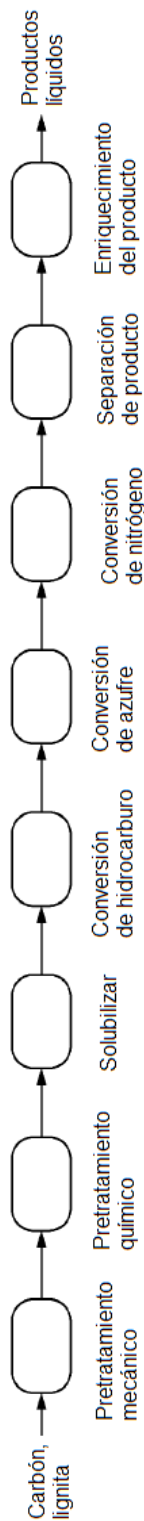


FIG. 1

1/26

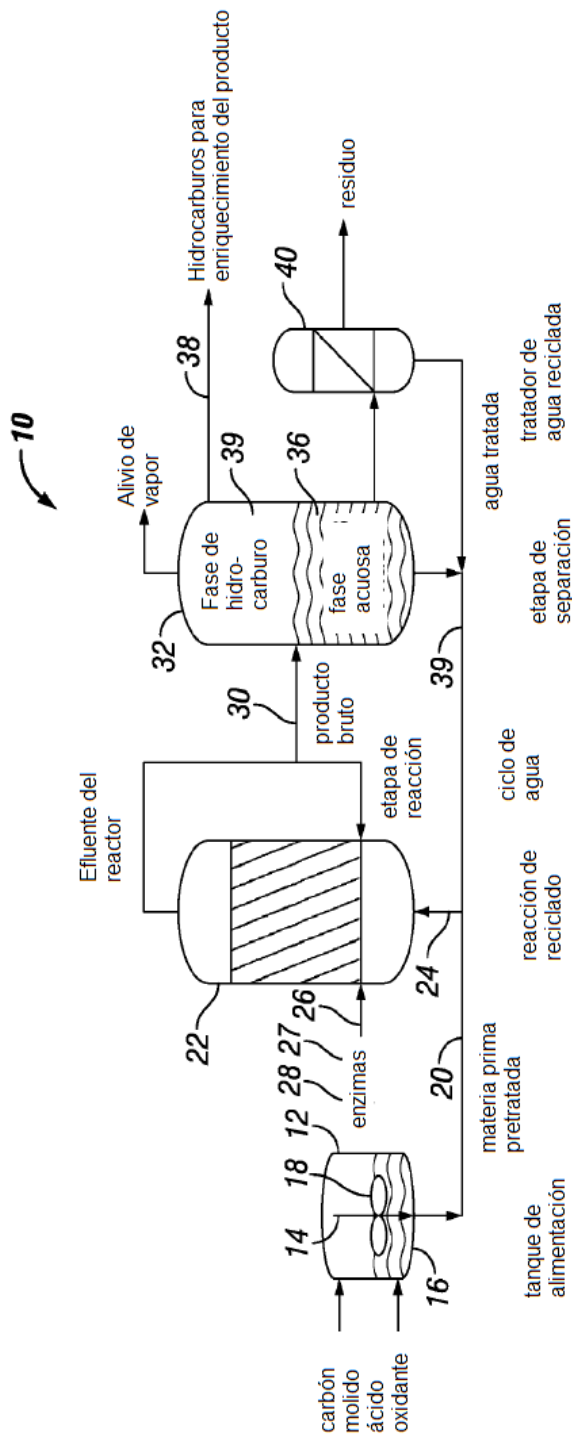


FIG. 2

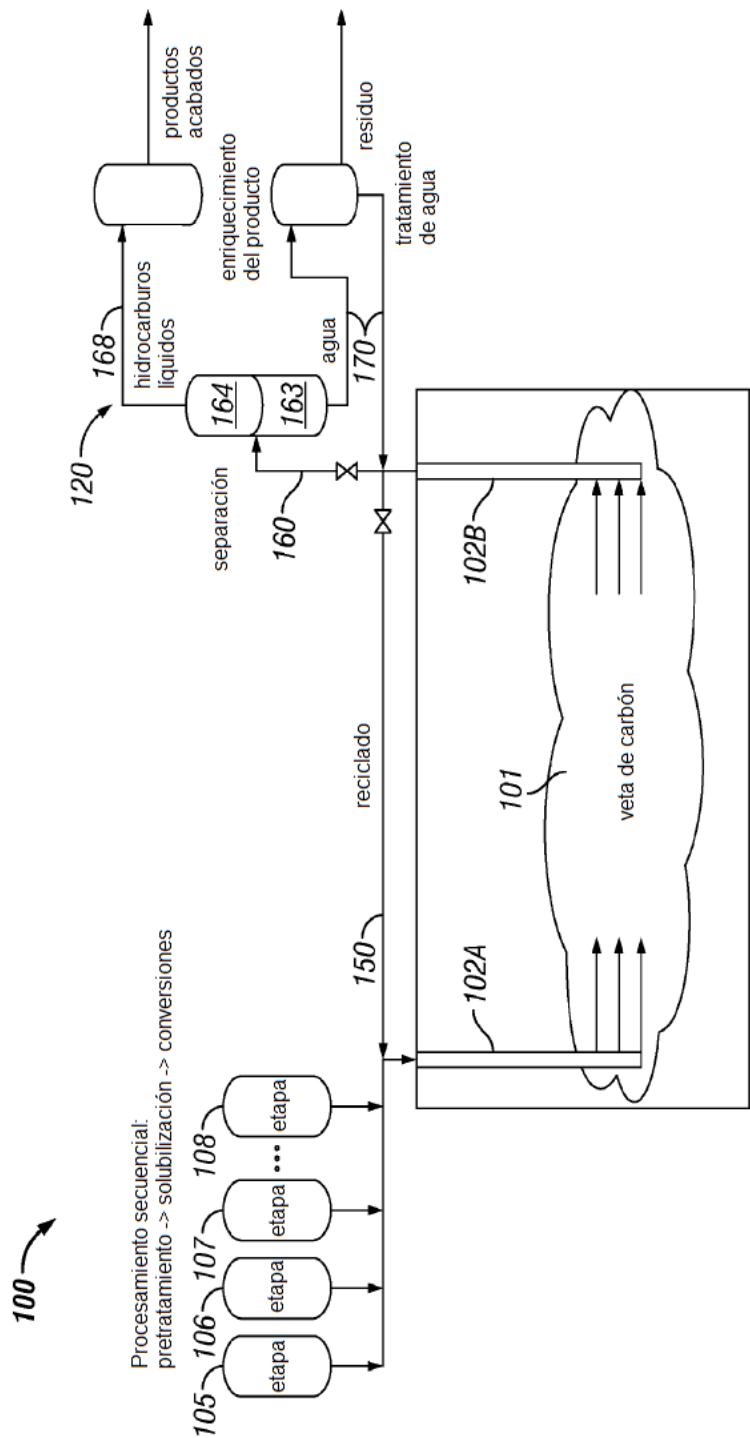


FIG. 3

3/26

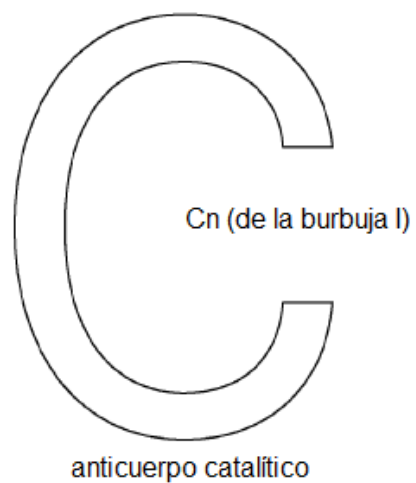


FIG. 4

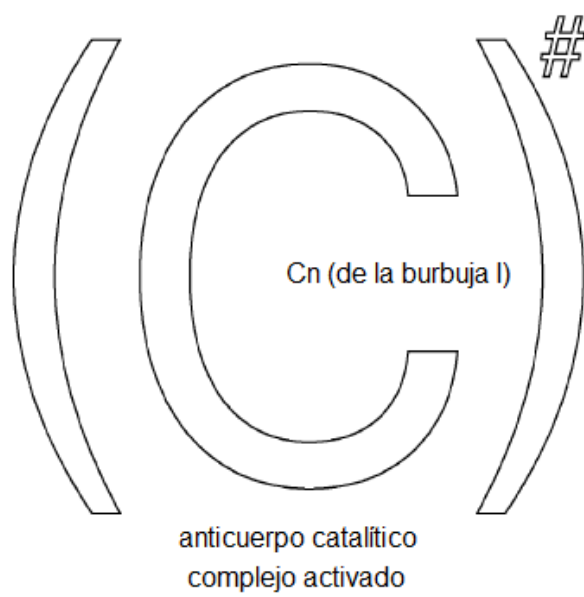


FIG. 5

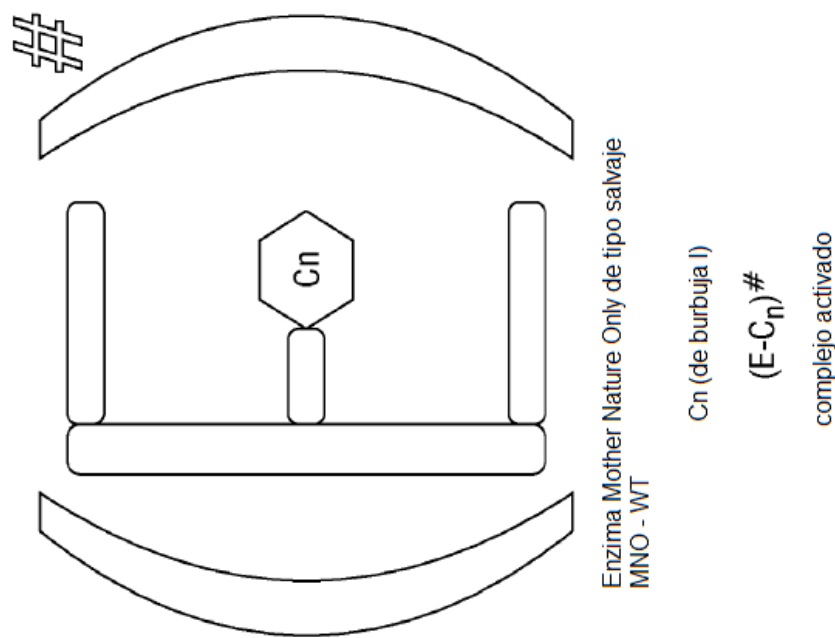


FIG. 7

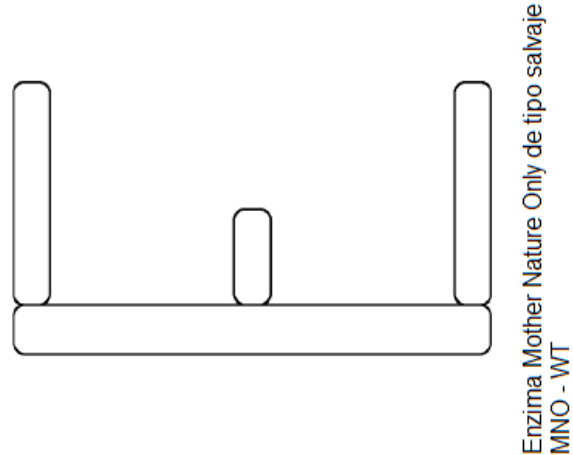
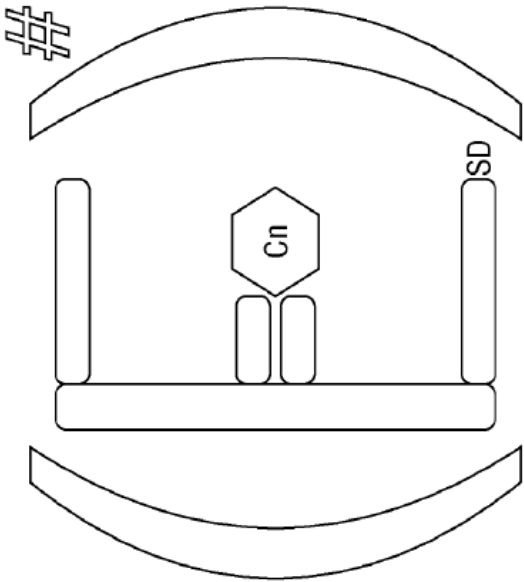


FIG. 6



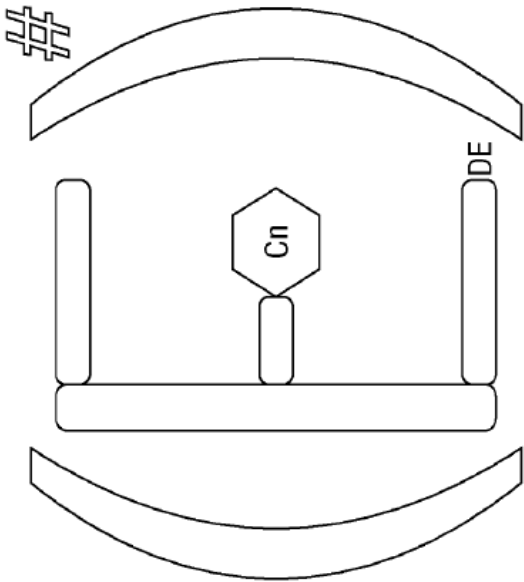
Mutagénesis dirigida a sitio

Cn (de burbuja I)

(E_{SD}-C_n)[#]

complejo activado

FIG. 9



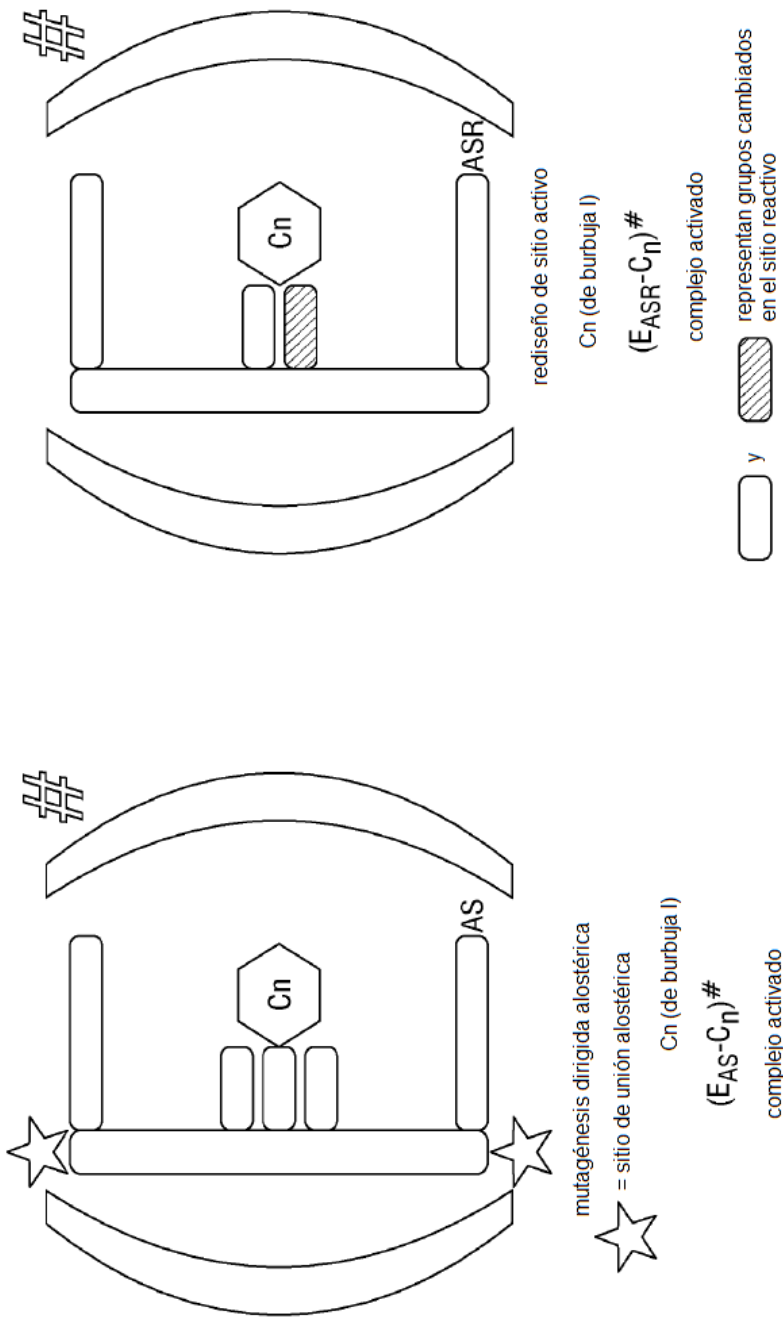
Enzima Mother Nature Only de tipo salvaje
MNO - WT

Cn (de burbuja I)

(E_{SD}-C_n)[#]

complejo activado

FIG. 8



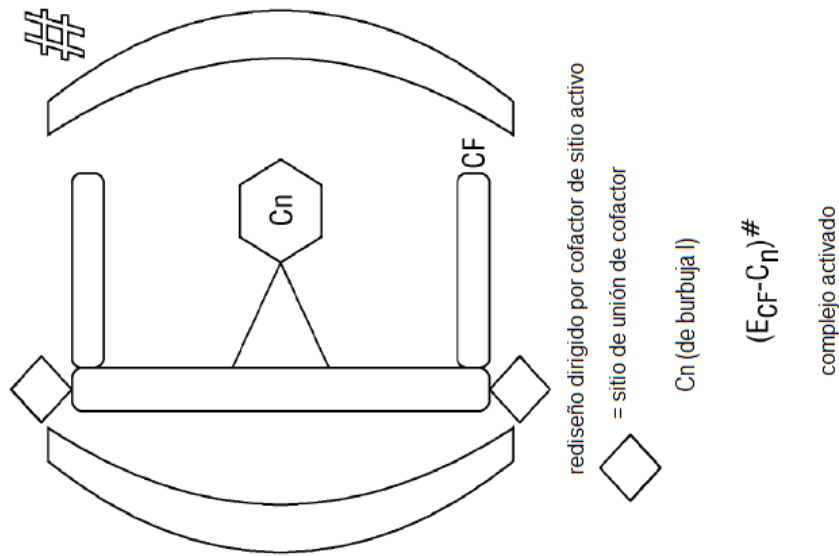


FIG. 12

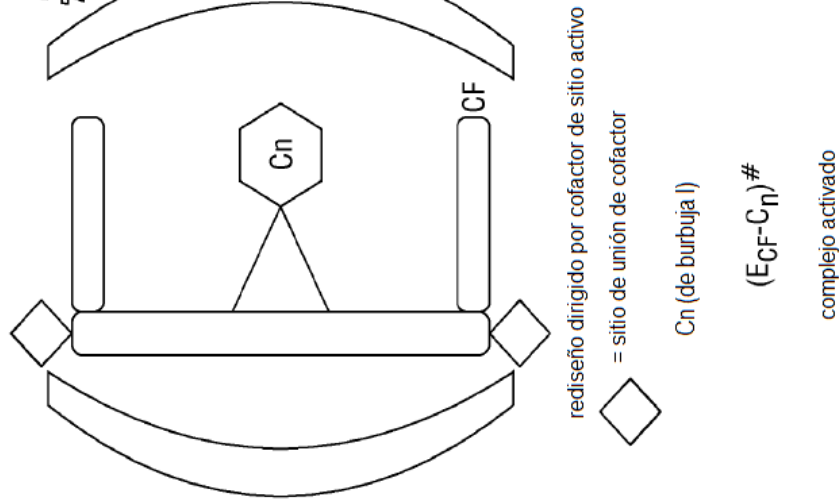
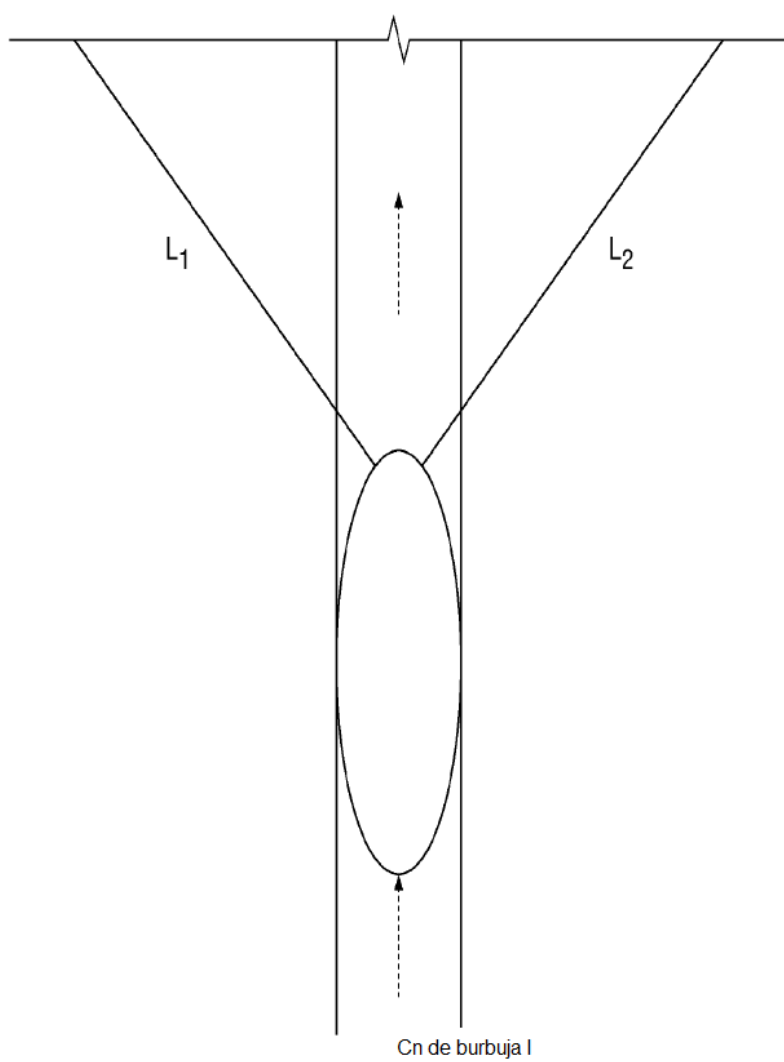


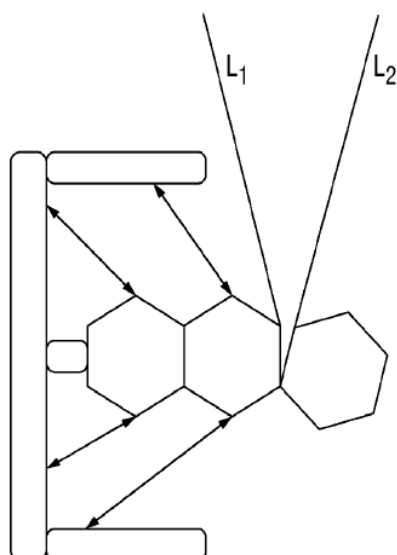
FIG. 13

8/26

Fragmentación láser sin asistencia enzimática
distribución de fragmentos que favorecen
la producción de gasolina, querosén y
combustibles diésel

**FIG. 14**

9/26



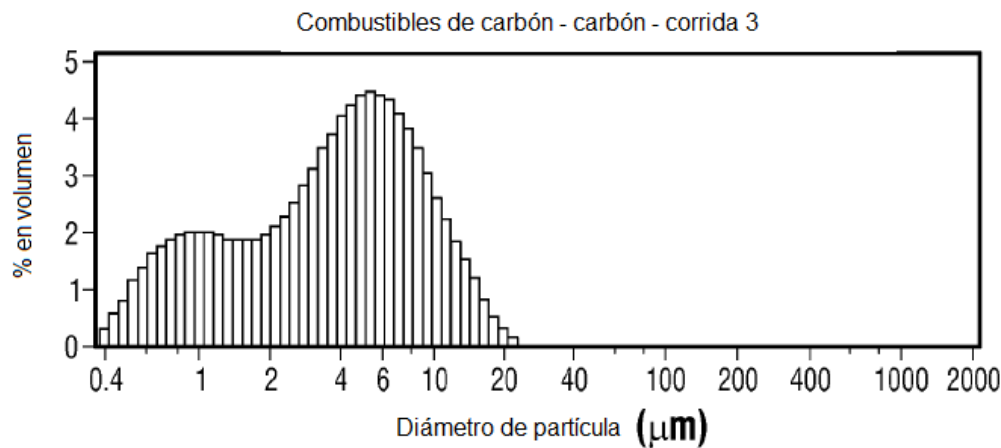
Pulsos láser de femtosegundos IR para fragmentación dirigida en enlaces selectivos enzimáticamente forzados dentro de reactivos Cn de la burbuja I



representan enlaces no covalentes entre enzimas / estructuras de tipo enzimas y reactivos Cn de la burbuja I. Reactivos Cn representados como estructuras anulares sólo con fines ilustrativos

FIG. 15

10/26



Estadísticas de volumen (aritméticas)

d10327.303

Cálculos a partir de 0,375 µm a 2000 µm

Volumen:	100.0%				
Media:	4.832 µm	S.D.:	3.66 µm		
Mediana:	3.983 µm	C.V.:	80%		
D(3,2):	2.128 µm	Asimetría:	1.22	sesgado a la derecha	
Modo:	5.355 µm	Curtosis:	1.43	leptocúrtico	
Área superficial específica:	28196 cm ² /ml				
% <	3	25	50	95	100
Tamaño: µm	0.551	1.661	3.953	12.67	27.38

FIG. 16

11/26

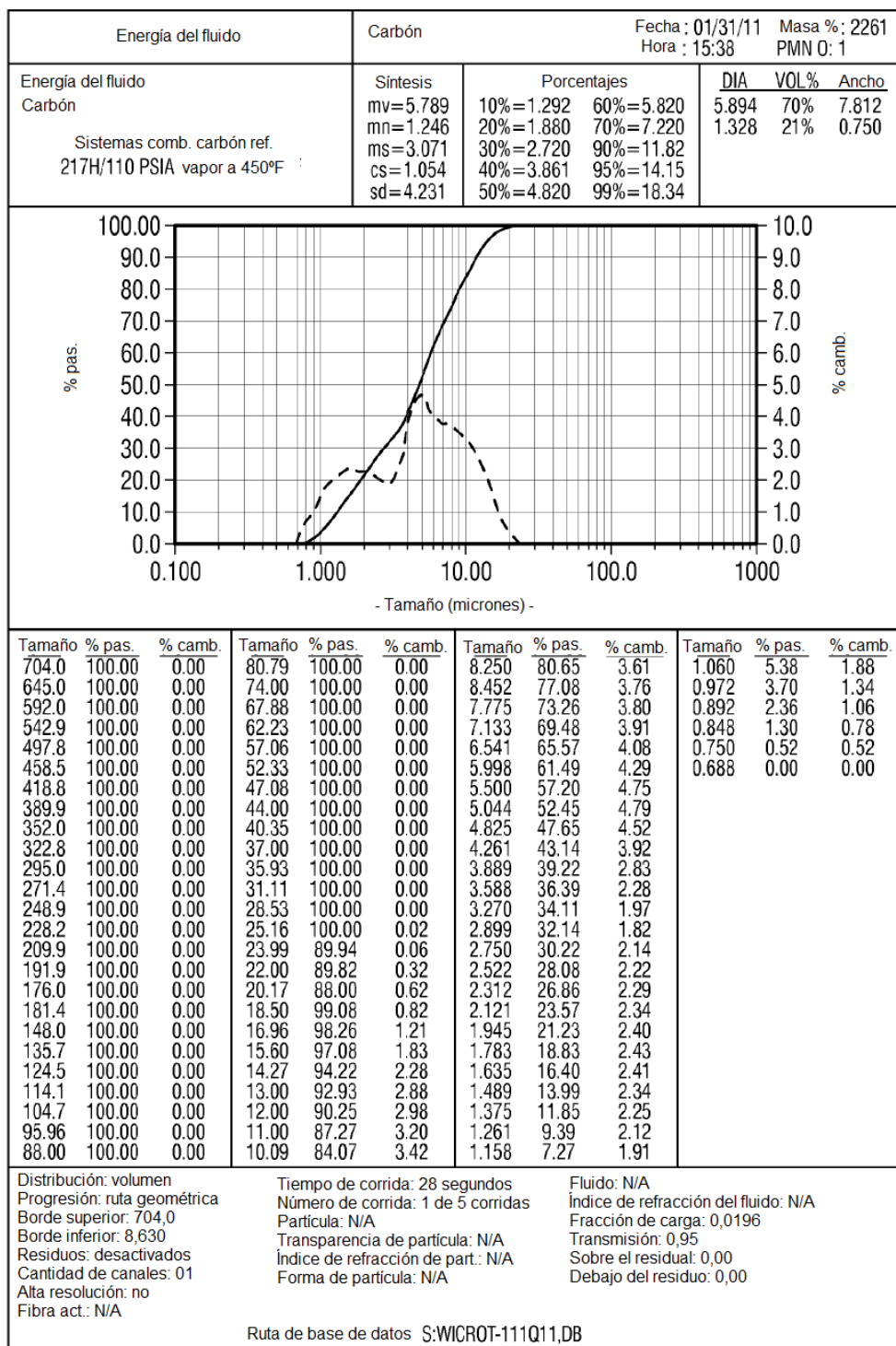


FIG. 17

12/26

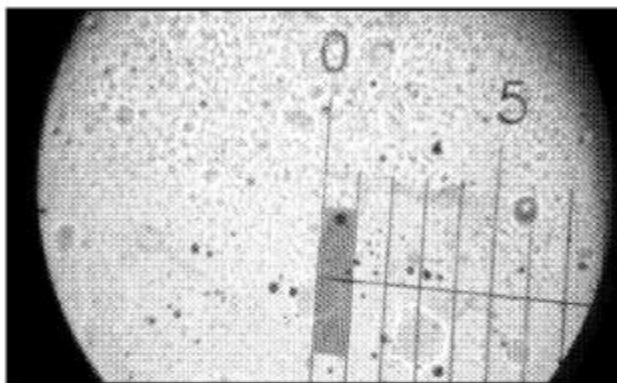


FIG. 18A

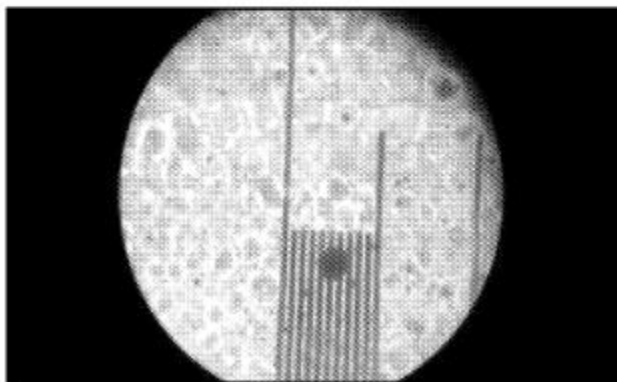


FIG. 18B

13/26

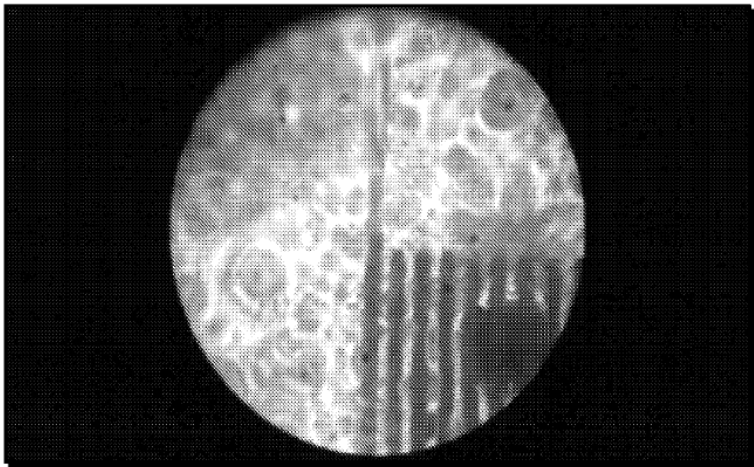


FIG. 18C

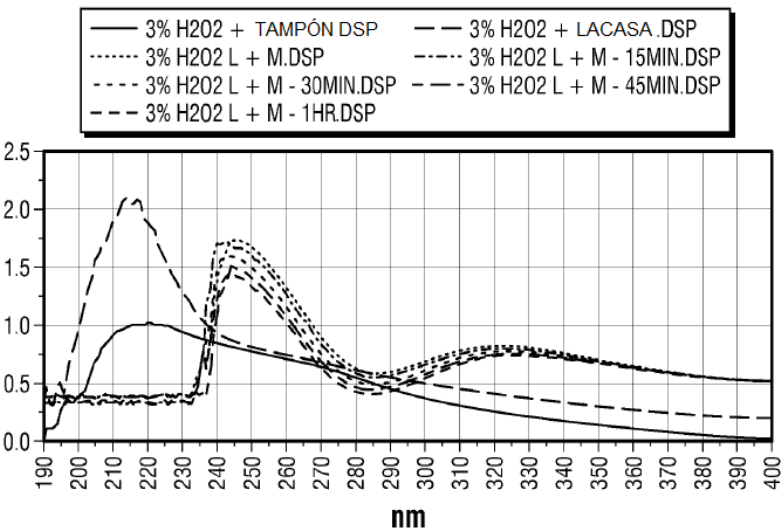


FIG. 19A

14/26

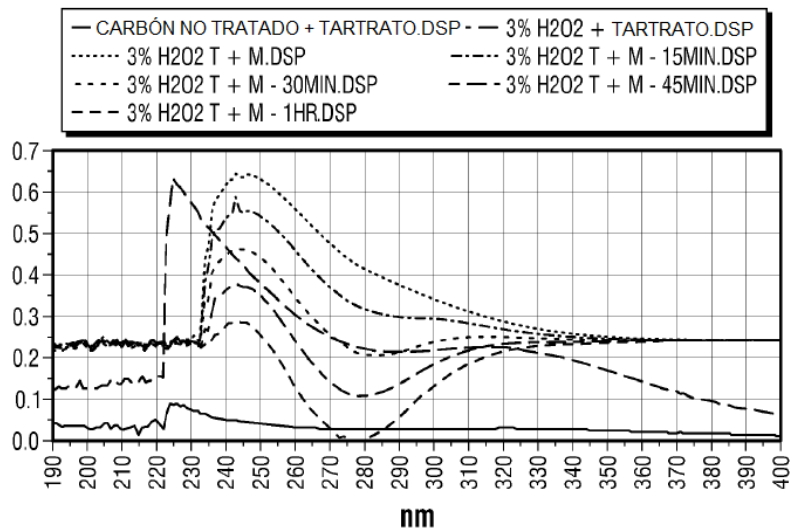


FIG. 19B

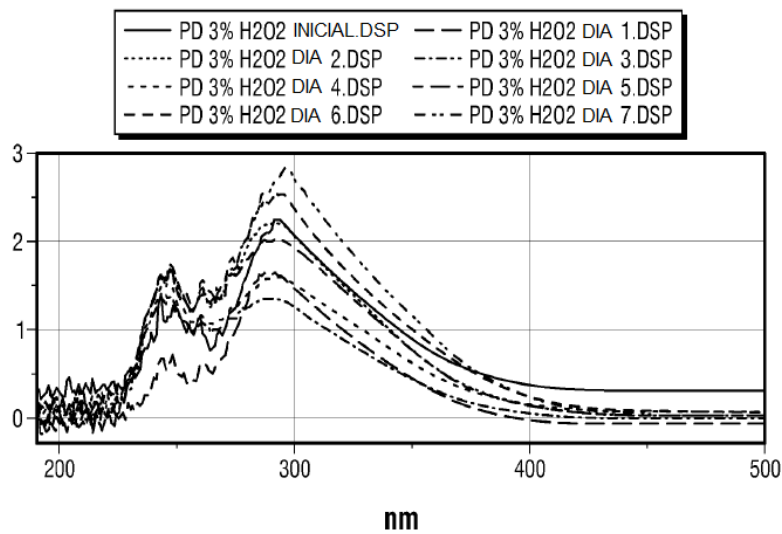


FIG. 19C

15/26

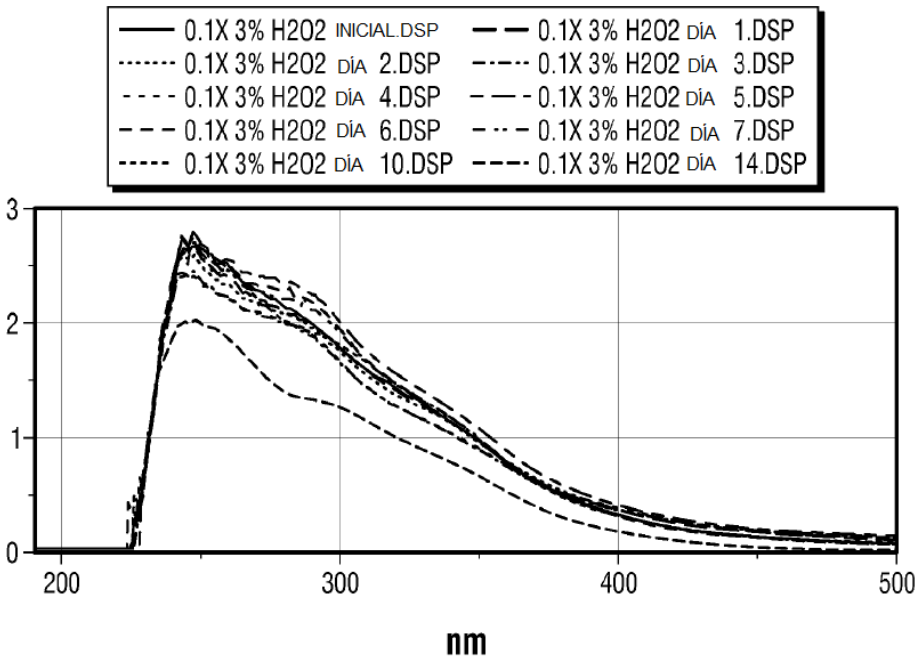


FIG. 19D

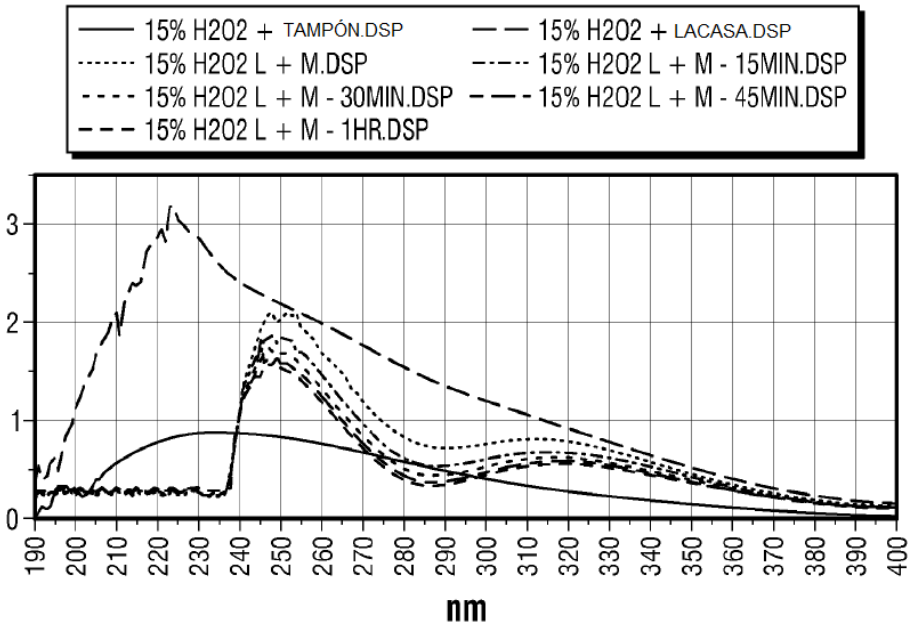


FIG. 19E

16/26

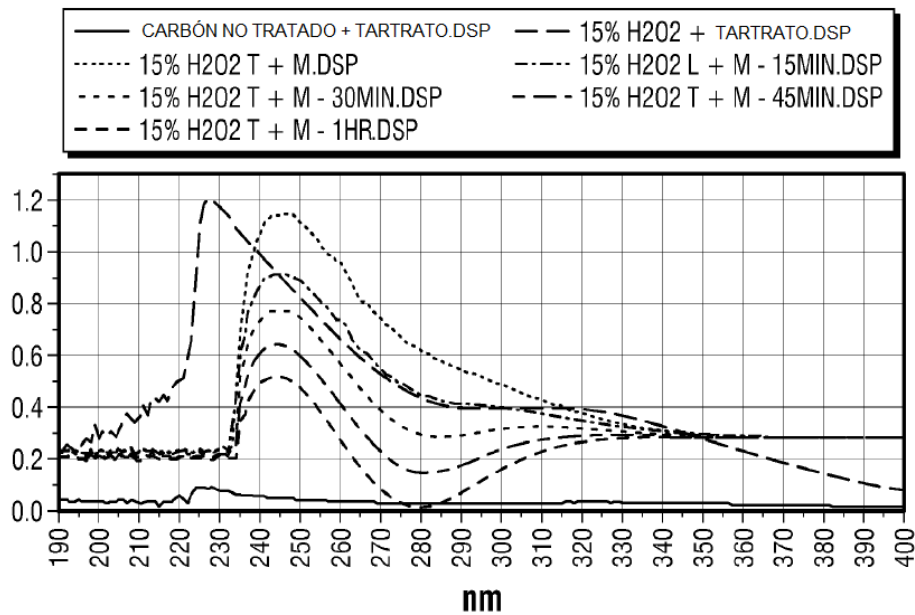


FIG. 19F

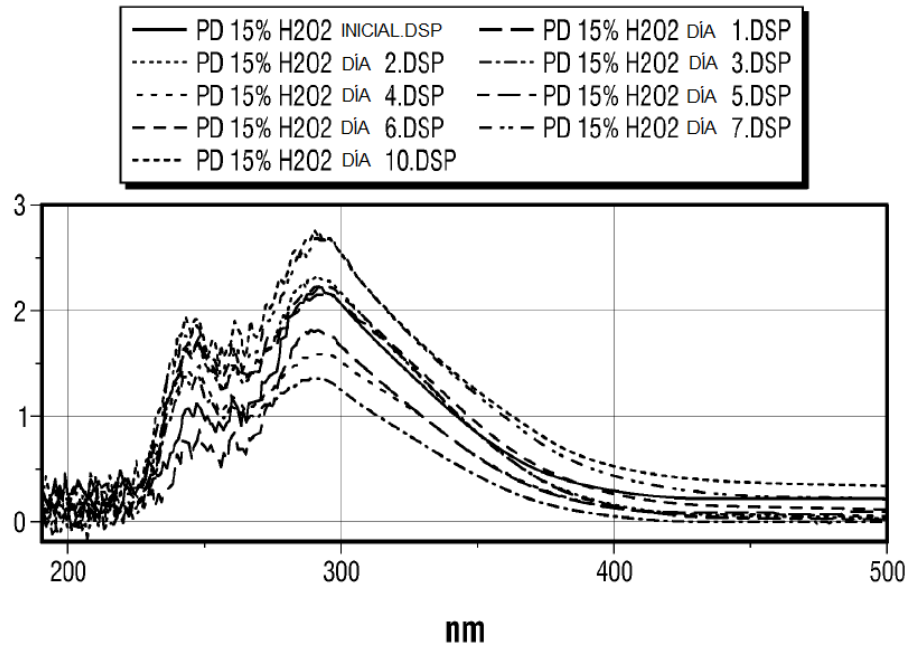


FIG. 19G

17/26

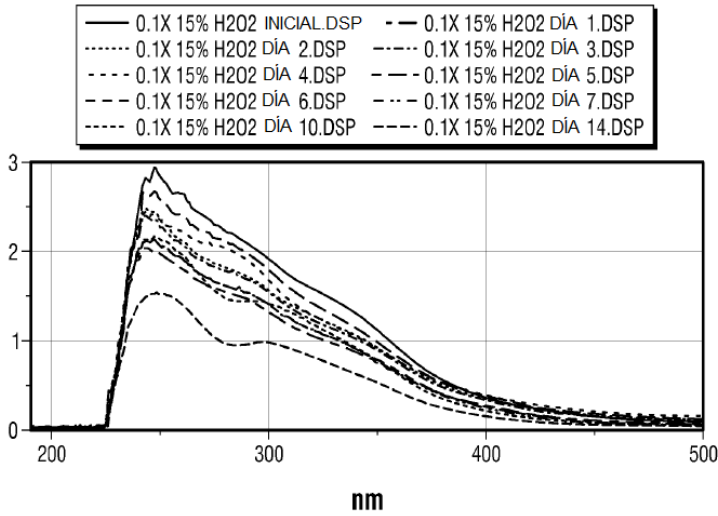


FIG. 19H

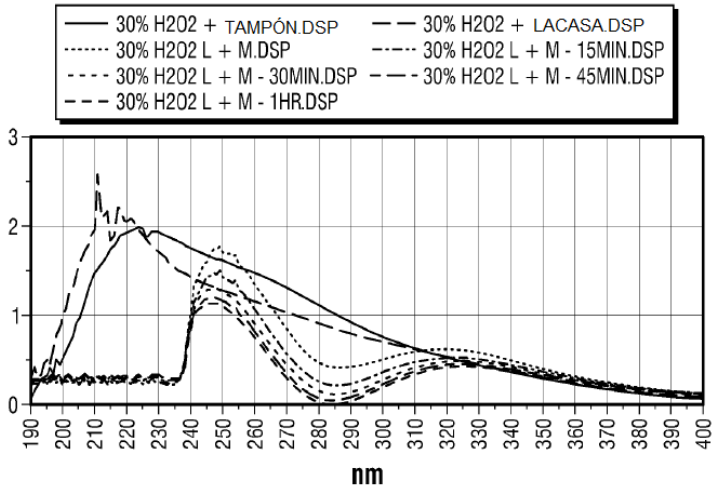


FIG. 19I

18/26

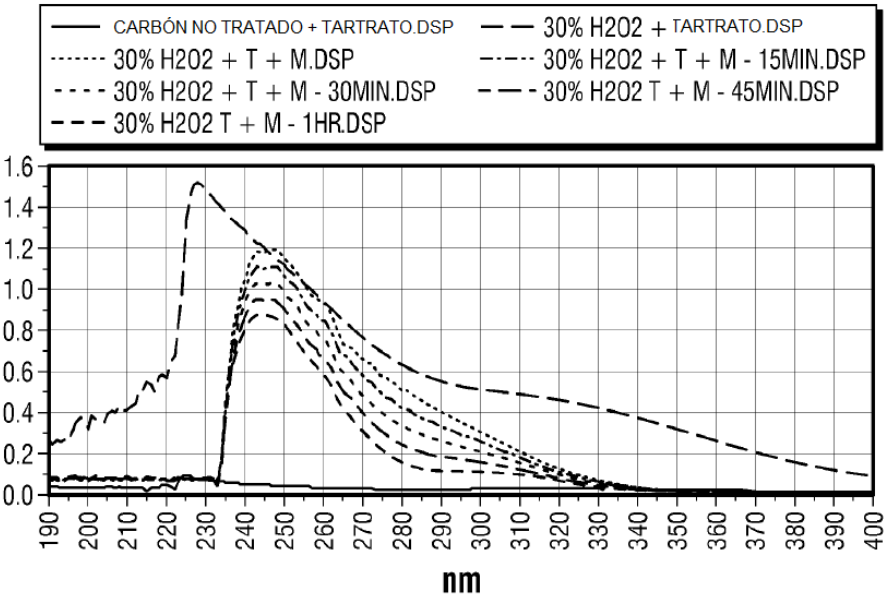


FIG. 19J

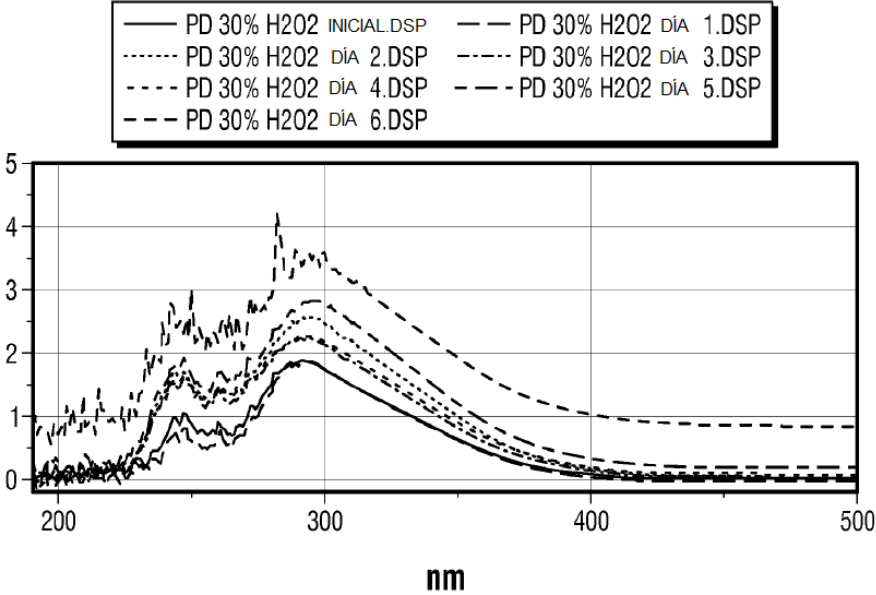


FIG. 19K

19/26

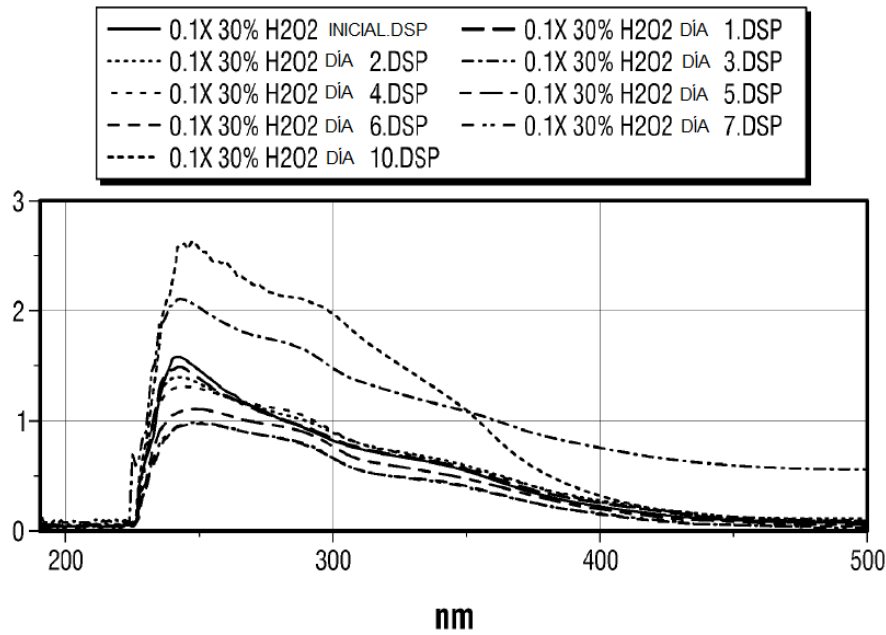


FIG. 19L

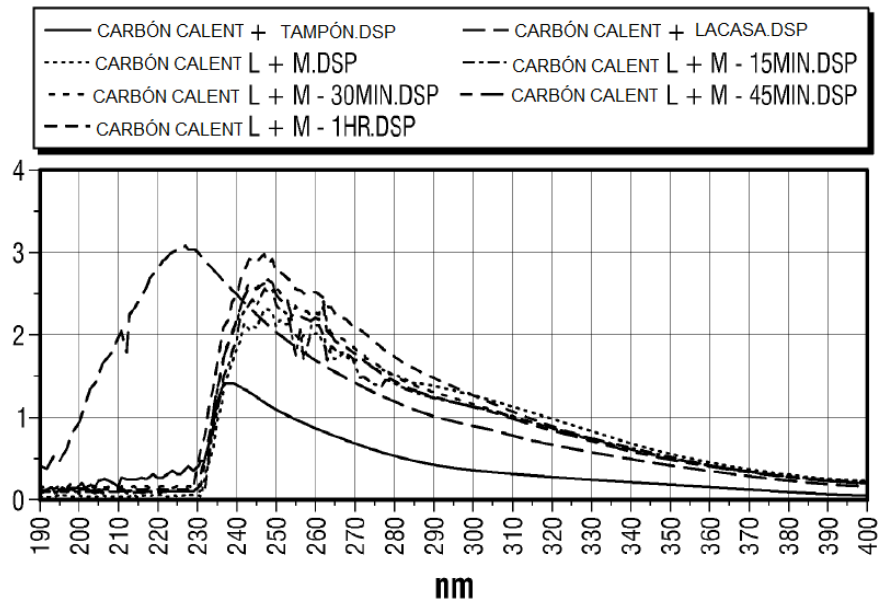


FIG. 19M

20/26

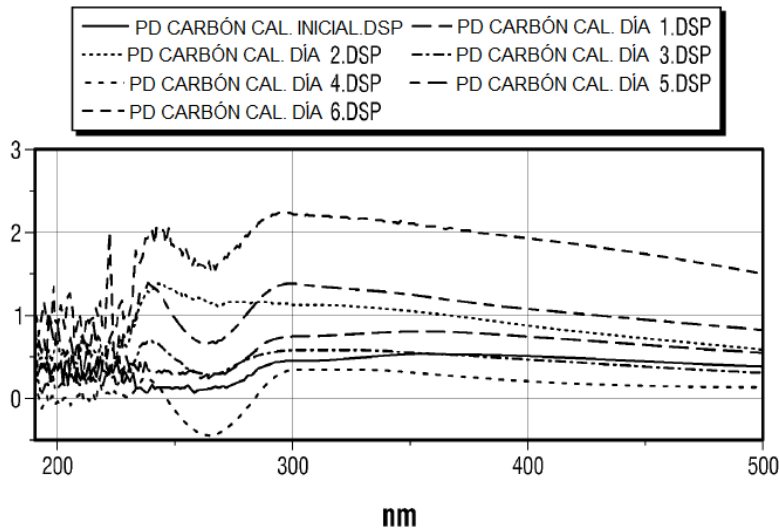


FIG. 20A

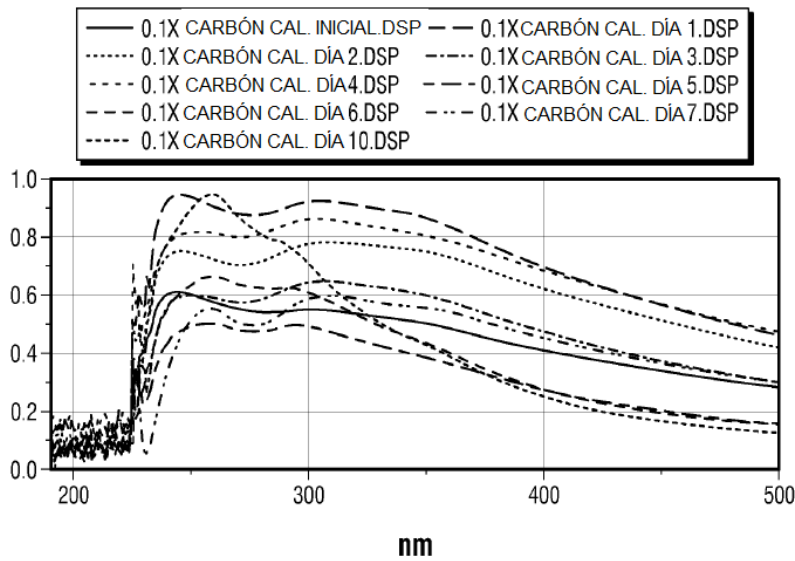


FIG. 20B

21/26

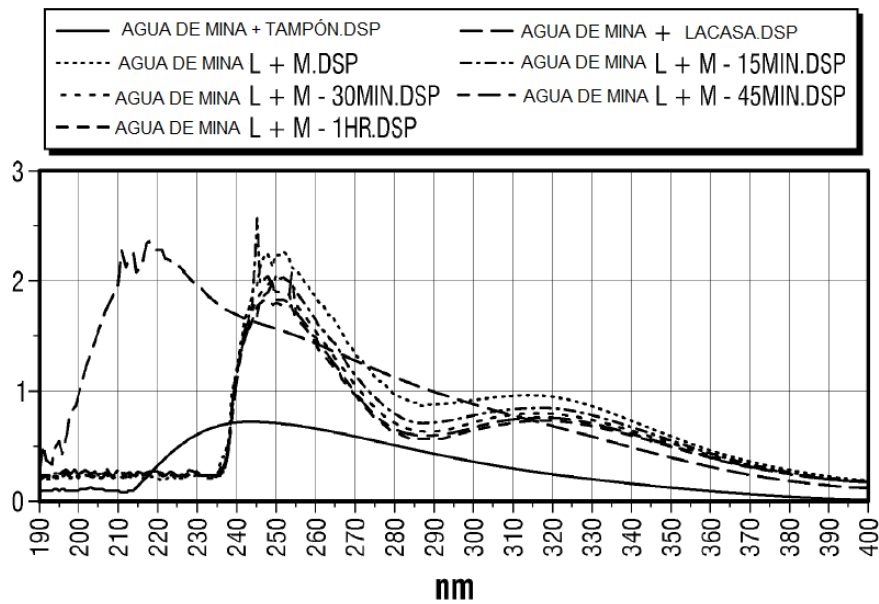


FIG. 21A

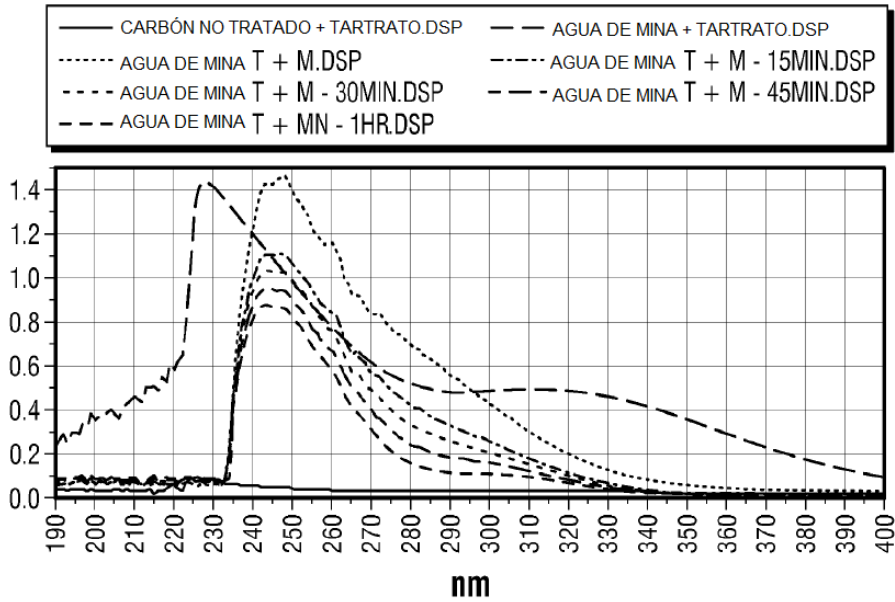


FIG. 21B

22/26

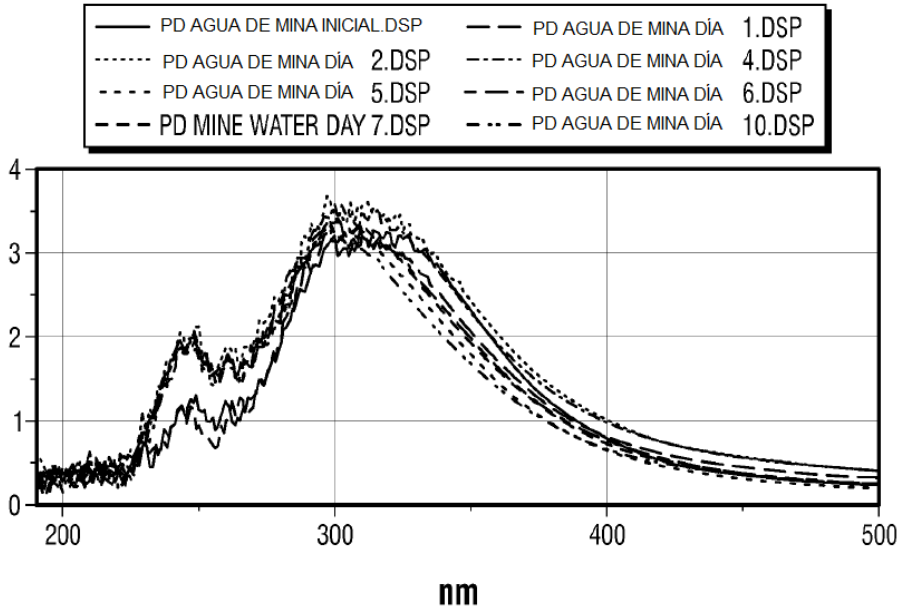


FIG. 21C

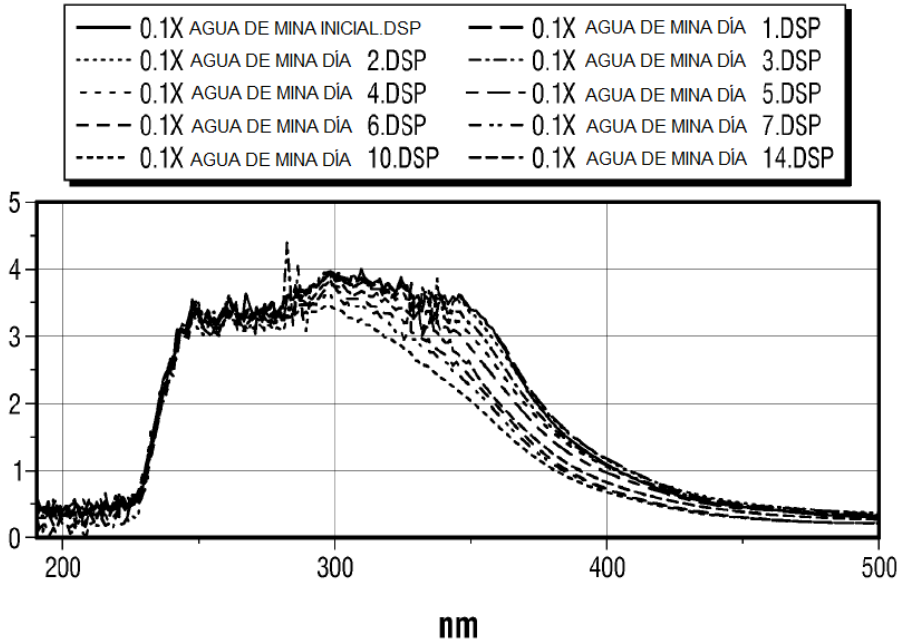


FIG. 21D

23/26

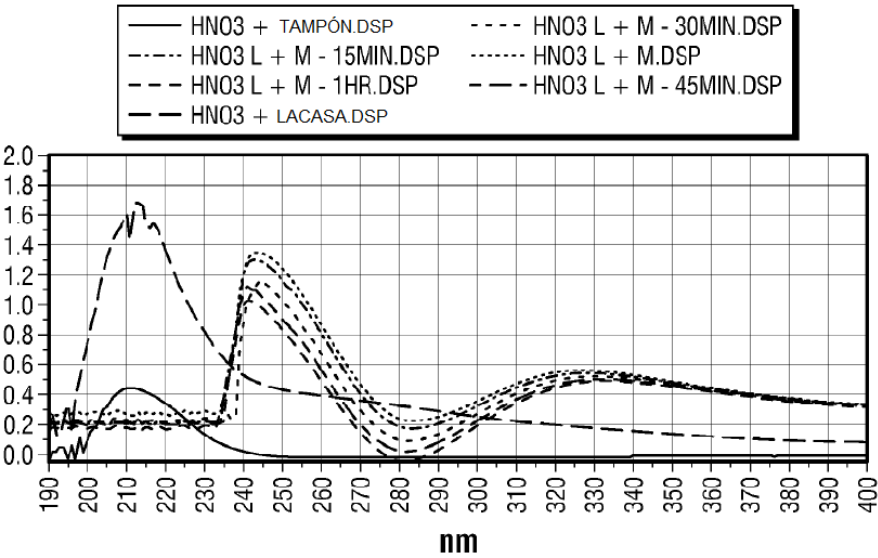


FIG. 22A

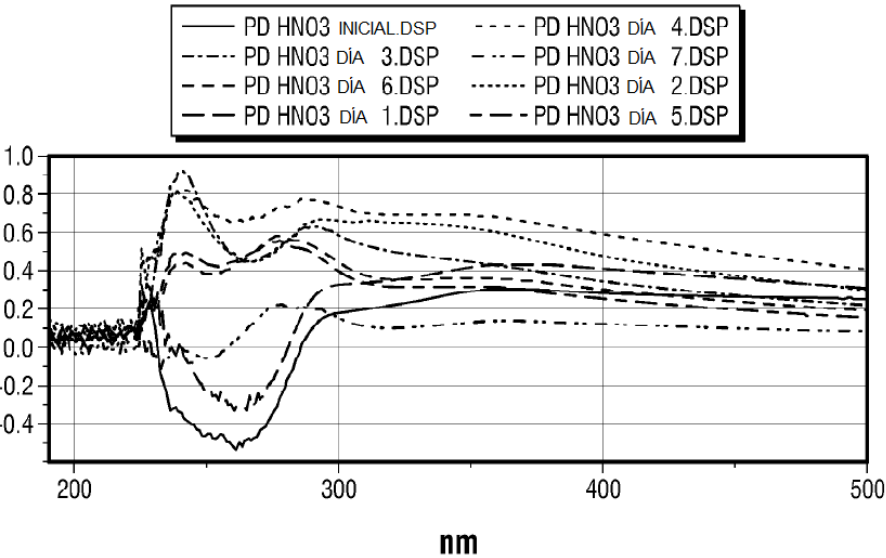


FIG. 22B

24/26

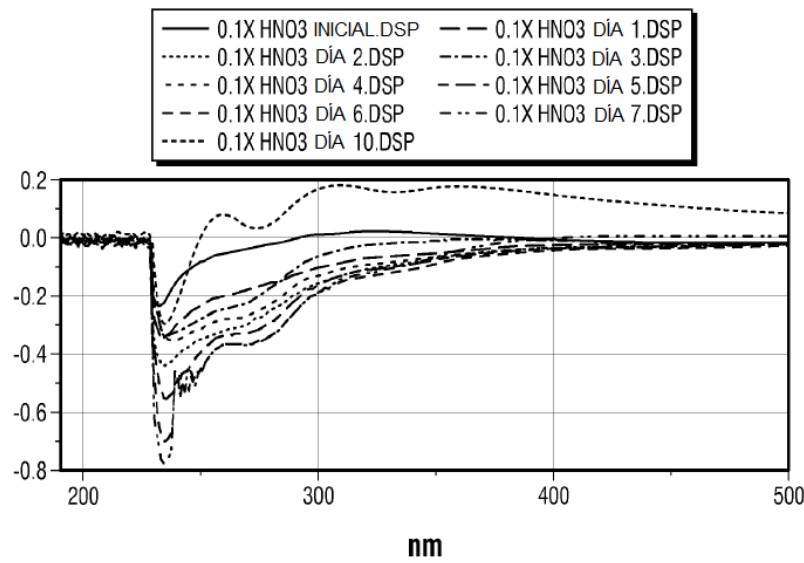


FIG. 22C

25/26

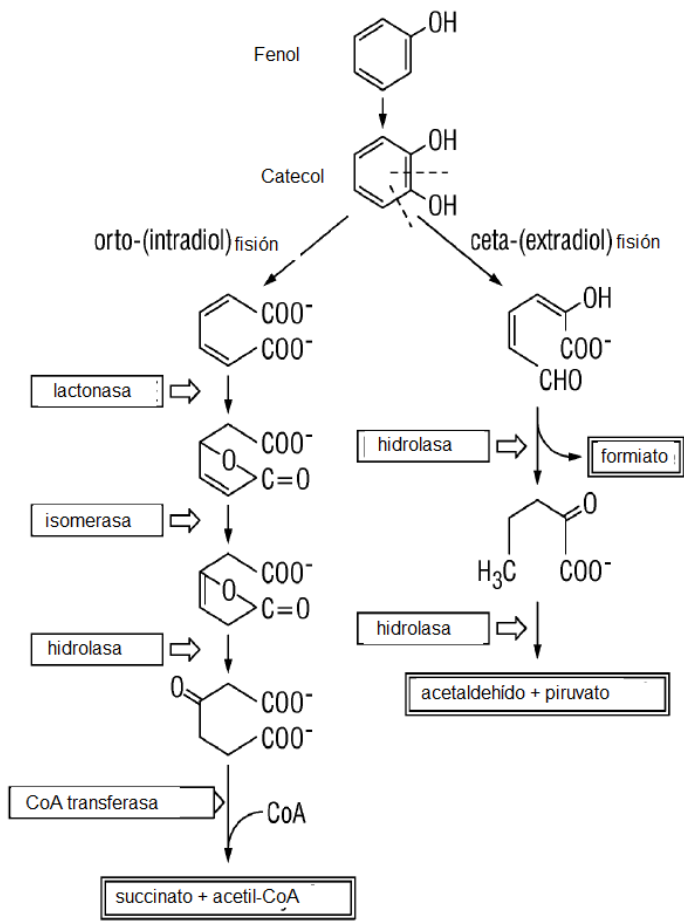


FIG. 23
(arte previo)

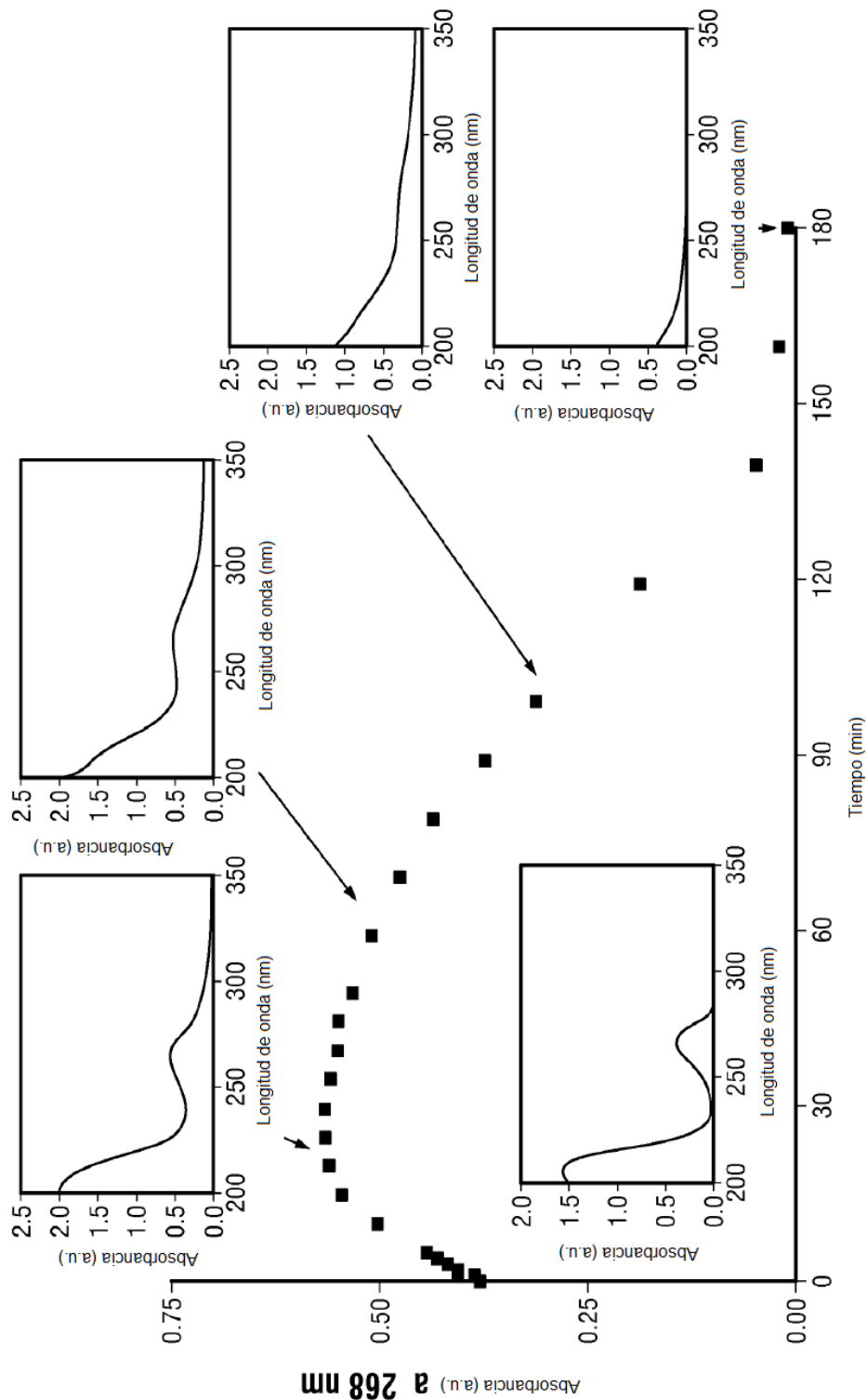


FIG. 24
(Arte previo)