

Adaptación del biocatalizador como solución de seguimiento de carga

La presente invención hace referencia a una mejora en la estabilización del proceso de metanogénesis biológica mediante biocatalizadores, por ejemplo, Archaea. En particular, la presente invención hace referencia a métodos para adaptar y estabilizar el biocatalizador y el proceso de metanogénesis. Más particularmente, este método proporciona una mejora para las fluctuaciones inestables o excesivas en la carga de energía y durante estas y, por lo tanto, las fluctuaciones con respecto al suministro de gas de alimentación.

La búsqueda de soluciones eficientes de suministro de energía a un menor costo para el medio ambiente es un desafío planteado por los programas de acción climática en todo el mundo. El objetivo final es satisfacer la creciente necesidad de energía sostenible y renovable mientras se contrarresta el cambio climático hacia la transición hacia una economía moderna y equilibrada en CO₂. El metano tiene la mayor densidad de energía por átomo de carbono entre los hidrocarburos volátiles y su potencial de conversión de energía es mucho mayor que cualquier otro gas natural. Por lo tanto, el metano constituye una fuente de energía sostenible y renovable y ya hoy sustituye cada vez más al carbón y otros combustibles fósiles.

A medida que el potencial del metano para la generación de energía se ha vuelto cada vez más relevante, los desarrollos recientes se han centrado en los métodos para producir metano mediante el uso de metanógenos, por ejemplo, Archaea, que son capaces de producir metano renovable muy eficientemente a partir de dióxido de carbono e hidrógeno. Actualmente, los primeros reactores a gran escala que aplican esta tecnología están establecidos y funcionan para enriquecer las composiciones de gas con metano producido mediante el empleo de microorganismos metanogénicos.

Las patentes EP 2661511, EP 3072979 y EP2032709 describen bien el método general, los diseños de reactor adecuados y los microorganismos metanogénicos que pueden usarse para la metanogénesis biológica.

Con el requisito previo de una disponibilidad de sustrato, principalmente el dióxido de carbono y el hidrógeno generado por electrólisis, que pueden usarse como gases de alimentación para los microorganismos metanogénicos empleados, este método de producción de metano puede establecerse en biorreactores/celdas adecuadas en todo el mundo.

5

En 2020, tenemos conocimiento de unas 15 plantas piloto, principalmente no comerciales, en Europa, que utilizan diversos enfoques para explotar microorganismos para generar metano mediante metanogénesis biológica en reactores adecuados.

10 Debido a su potencial prometedor, la utilización a gran escala de biometano está bajo un atento escrutinio político y económico para que la tecnología sea rentable y asequible, y el aprovechamiento del metano se ha identificado como el objetivo a corto plazo más importante para la ingeniería bioquímica.

15 Sin embargo, a pesar de la tremenda flexibilidad y variabilidad de esta metodología, debe entenderse que esta tecnología, que a menudo se etiqueta como «energía a gas», solo puede volverse económica y comercialmente viable cuando la tremenda necesidad de energía para, por ejemplo, la hidrólisis y la generación de hidrógeno puede satisfacerse a partir de fuentes de energía renovables o verdes.

20

La principal desventaja de las fuentes de energía renovables o verdes es su imprevisibilidad y su falta de consistencia. Con una afluencia inconsistente de energía eólica o solar, también la generación de hidrógeno carece de consistencia y hace necesario el almacenamiento de un suministro de hidrógeno, para garantizar el acceso a una cantidad constante y adaptable de
25 hidrógeno como gas de alimentación.

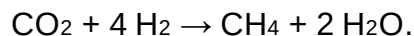
Además, también el segundo gas de alimentación, CO₂, puede proceder de fuentes con una producción variable, por ejemplo, plantas de biogás. El riesgo de cantidades variables de afluencia de CO₂ también tiene un impacto en la estabilidad del proceso de biometanogénesis,
30 en particular en la tasa de crecimiento y producción de metano del biocatalizador, por ejemplo,

los microorganismos metanogénicos.

Si bien a escala de laboratorio tales problemas son prácticamente inexistentes o pueden compensarse fácilmente regulando el caudal de gas de alimentación, en unidades de producción a gran escala suelen causar una caída, un choque o al menos una inconsistencia medible en la producción de metano y la calidad del producto gaseoso. Como consecuencia de tal proceso de producción inestable, el producto gaseoso puede contener una cantidad demasiado alta de gases de alimentación y/o puede no contener la cantidad requerida de metano para una utilización posterior. Esto interrumpe un caudal continuo de producto gaseoso adecuado para la red y requiere el empleo adicional de costosas etapas de enriquecimiento o purificación de gas hasta que el producto gaseoso satisfaga los requisitos típicos de la red. En cualquier caso, la consecuencia es una pérdida de tiempo efectivo de producción y, por tanto, una desventaja económica.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es mejorar la metodología de los procesos de biometanización a gran escala y enseñar modificaciones del proceso que garanticen una producción confiable de metano que satisfaga la red a pesar de cualquier interrupción o variación en la alimentación de gas y/o una interrupción o variación con respecto al suministro de energía.

Las soluciones que se describen en la presente memoria son aplicables para la mejora de procesos de biometanación principalmente a gran escala utilizando metanógenos hidrogenotróficos y en particular arqueas, que pueden usar hidrógeno para reducir componentes orgánicos, por ejemplo, CO₂, formiato, metanol u otros, a metano. Los procesos de biometanización que utilizan metanógenos hidrogenotróficos se describieron en la bibliografía [Martin y cols., 2013; Thauer y cols., 2008]. En particular, el CO₂ puede reducirse de acuerdo con la siguiente ecuación estequiométrica:



En una planta industrial, esta ecuación estequiométrica se implementa mediante un complejo sistema de suministro de energía, que comprende y/o combina:

- una alimentación de gas H_2 , donde el H_2 se genera preferentemente en un reactor de H_2O por medio de una reacción de electrólisis adecuada que utiliza energía eléctrica, dicha energía eléctrica se deriva o genera preferentemente por medio de fuentes de energía renovables;
- una alimentación de gas CO_2 , en la que, por ejemplo, el CO_2 es generado por un reactor de biogás o es un gas residual industrial;
- una reacción de metanación en un medio acuoso, dicha reacción de metanación es llevada a cabo en un reactor adecuado por microorganismos metanogénicos adecuados que, en particular, convierten los gases de alimentación H_2 y CO_2 en una proporción de 4:1 en metano; y
- una unidad de recolección de gas que contiene metano.

La mencionada falta de consistencia en el caudal de energía y/o gas resulta ser un gran problema a la hora de establecer plantas industriales para procesos de biometanización que emplean fuentes de energía renovables y/o gas de alimentación de fuentes naturales o plantas de biogás. Típicamente, esta falta de consistencia conduce a una disminución en la producción de metano por parte del biocatalizador y/o en la calidad del producto gaseoso.

Los datos de la **figura 1** que muestran el impacto de una perturbación típica causada por la falta de consistencia en el caudal de gas de alimentación y el suministro de amoníaco y un marco de tiempo representativo para la recuperación de tales perturbaciones en una planta industrial existente.

La fig. 1A representa una variación de ejemplo del caudal de gas a lo largo del tiempo

representada por el caudal de hidrógeno en kg/h. Durante todo el período de tiempo representado en la fig. 1A, la relación estequiométrica de los gases de alimentación (H_2 y CO_2) se mantiene constante. Debido a un factor externo, el caudal de los gases de alimentación aumenta hasta un nivel máximo, luego se reduce con el tiempo y luego se mantiene constante hasta el final del período de tiempo. El impacto de estos cambios de caudal en la composición del producto gaseoso se representa en las fig. 1A, 1B, 1C y 1D. En la fig. 1A, el impacto se ilustra como la fracción volumétrica cambiante de metano en el producto gaseoso durante todo el período de tiempo. Esta medida de la composición del producto gaseoso se utiliza como indicador de referencia del rendimiento del reactor en cada uno de los gráficos de la fig. 1. La fig. 1B representa el valor de pH del medio acuoso, que ilustra la acidificación de los medios del reactor desde un pH de 8,6 al comienzo del período de tiempo por debajo de pH 7,0 y luego la recuperación a un pH superior a 7,0 al final del período de tiempo. Como se muestra en la fig. 1C, no hay cambio en la composición de metano, hidrógeno o CO_2 en el producto gaseoso hasta que el caudal de gas de alimentación de H_2 alcanza los 5 kg/h (que se muestra en la fig. 1A), después de lo cual la composición del producto gaseoso se reduce hasta un 30 % y finalmente se recupera hasta casi el 90 % del producto gaseoso, como se logró para la calidad del producto gaseoso al comienzo del período de tiempo. La variabilidad en la composición del gas, incluida la composición de hidrógeno, metano y CO_2 , durante el cambio de los caudales y la recuperación a una condición estable son ejemplos del impacto de las perturbaciones debido a las fluctuaciones en los caudales de gas o el suministro de energía para la metanización. La fig. 1D ilustra la carga de última generación después de la tasa de alimentación de NH_4OH que se correlaciona con el aumento en los caudales de gas de alimentación. El aumento de la dosificación después del aumento en el caudal de gas claramente no es suficiente para mantener un contenido aceptable de metano en el producto gaseoso, ni la estabilidad del pH cuando se hace referencia cruzada con la fig. 1B.

Por lo general, para lograr una estabilidad aceptable del contenido de metano y disminuir la cantidad de CO_2 y H_2 incluida en el producto gaseoso, el proceso de metanación debe reajustarse, por ejemplo, aumentando los nutrientes disponibles, como el contenido de amonio, ajustando la composición del gas de alimentación y/o ajustando el caudal de gas de

alimentación, recuperando así también el valor de pH, cf. por ejemplo, fig. 1A y B.

Típicamente, el intervalo de tiempo entre la aparición de una perturbación y el restablecimiento de una tasa de producción de metano aceptable puede oscilar entre aproximadamente 2 y aproximadamente 5 horas, por ejemplo, según la extensión de la perturbación. Al menos durante este intervalo de tiempo, el producto gaseoso no puede utilizarse directamente y, por ejemplo, debe purificarse antes de que pueda introducirse en la red de gas.

En el contexto de la presente solicitud, el término «perturbación» hace referencia a cualquier cambio externo o interno a un sistema de suministro de energía para la biometanización, por lo que dicho cambio en la alimentación de gas repercute, por ejemplo, en el contenido de CO₂ y/o H₂. Por ejemplo, el cambio en el sistema de suministro de energía puede dar lugar a un cambio en el contenido de CO₂ y/o H₂ del gas de alimentación, dicho cambio provocará un cambio en la relación estequiométrica dada o cualquier otra y como consecuencia provocará una interrupción de una tasa continua de producción de metano y/o una caída en la calidad del producto gaseoso. En particular, el término «perturbación» hace referencia a cualquier variación en el suministro eléctrico de una planta de biometanización causada por fenómenos naturales, como condiciones climáticas u otras restricciones de suministro. Eventualmente, el término «perturbación» de un proceso de biometanización también se entiende como la interrupción del proceso de producción provocada por el hombre, por ejemplo, con fines de mantenimiento y/o limpieza del reactor.

La presente invención proporciona un método para adaptar el biocatalizador. Los biocatalizadores, por ejemplo, Archaea adaptados de acuerdo con el método de la presente invención resultan ser más resilientes frente a perturbaciones o fluctuaciones en el volumen de alimentación de gas. En particular, el contenido de metano en el producto gaseoso de un proceso de biometanización que utiliza esos biocatalizadores adaptados se ve, si es que lo está, marginalmente afectado por la ocurrencia de perturbaciones o fluctuaciones en la velocidad de alimentación del gas.

De esta manera, los reajustes de este proceso de biometanización son superfluos, ya que este proceso no experimenta una disminución sustancial en el contenido de metano con caudales de gas altos y mantiene un contenido de metano sustancialmente estable y un producto gaseoso con calidad de red, incluso cuando se expone a perturbaciones o fluctuaciones sustanciales en la alimentación de gas.

En particular, el método de la presente invención permite estabilizar la producción de metano y la calidad del producto gaseoso frente a fluctuaciones en el volumen de alimentación de gas del orden del 15-20 % y más. En una planta a escala industrial, tales fluctuaciones pueden ser causadas por una perturbación y, en el caso de los procesos convencionales de biometanización, pueden conducir a una disminución en el contenido de metano en el producto gaseoso que no puede compensarse rápidamente.

En particular, si se espera un cambio, por ejemplo, un aumento o una caída del 20 % o más en el suministro de energía y/o en la alimentación de gas correspondiente, las plantas de biometanización conocidas en la técnica deben ponerse en modo no productivo, por ejemplo, cerrarse hasta que se establezca el contenido de metano en el caudal de gas requerido y el producto gaseoso alcance la calidad de red.

Con el método de la presente invención, tales interrupciones pueden evitarse adaptando el biocatalizador de acuerdo con el método de la presente invención antes del cambio esperado. En particular, un proceso de biometanización que utiliza el método de adaptación del biocatalizador y, en consecuencia, utiliza dicho biocatalizador adaptado puede manejar un aumento en el suministro de energía y/o en la alimentación de gas correspondiente de aproximadamente el 20 %, el 30 %, el 40 %, el 50 %, el 60 % y hasta el 100 %, el 130 %, el 150 % e incluso el 200 %.

En el contexto de la presente invención, la expresión «tasa de producción de metano» o «MPR» se define como la cantidad total de metano producido en el sistema en punto nominal como m³/h (Thema y cols., *Energies* 2019, 12, 1670). Además, de acuerdo con la presente invención,

la expresión «contenido de metano» en el producto gaseoso se mide como una fracción volumétrica del producto gaseoso. Este «contenido de metano» se mantiene estable como una de las principales ventajas del presente método y comprende un contenido de metano de aproximadamente el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de metano o por encima de estos. De esta manera, los reajustes de este proceso de biometanización se vuelven superfluos; porque cuando se aplica el método de la invención, el proceso de metanización no es propenso a ninguna disminución sustancial en el contenido de metano del producto gaseoso incluso con altos caudales de gas y mantiene un contenido de metano sustancialmente estable y un producto gaseoso con calidad de red. En otras palabras, la «estabilidad del contenido de metano» como se describe en la presente memoria no es solo una ventaja, sino un gran interés comercial, ya que incluso con un suministro de energía o gas de alimentación inestable o inconsistente, una planta de biometanización que aplique el método de la presente invención puede evitar o al menos minimizar los tiempos de producción ineficientes o los tiempos de producción donde el producto gaseoso no satisface los requisitos de calidad de red.

Además, en el contexto de la presente invención, la expresión «calidad de red» se define como la calidad del producto gaseoso que se requiere para inyectar gas metano en la red de gas. Los requisitos de calidad los define el operador de la red de gas y, por lo general, incluyen el requisito de contener al menos un 95 % de metano puro en el producto gaseoso.

El método para la adaptación del biocatalizador de acuerdo con la reivindicación 1 enseña un acondicionamiento del biocatalizador (a corto plazo) y/o una adaptación del biocatalizador (a largo plazo) para abordar cualquier alteración del proceso de metanización. La adaptación del biocatalizador puede ser una adaptación física y/o química. El orden para iniciar y/o aplicar la adaptación al biocatalizador, la selección y el orden de los pasos puede variar. Por consiguiente, es posible adaptar el biocatalizador mediante adaptación química o física, así como una combinación de adaptación química y física y viceversa.

Una ventaja del método de acuerdo con la presente invención es que los procesos de biometanización que usan biocatalizadores adaptados antes de una variación en los caudales

de alimentación de gas que también mantengan una proporción de gas de alimentación estable, garanticen un contenido de metano sustancialmente estable y un producto de gas con calidad de red. Una consecuencia interesante desde el punto de vista comercial es que un sistema y/o planta de suministro de energía que lleva a cabo el método de la presente invención tiene una
5 necesidad reducida de sistemas de purificación costosos y adicionales, pero puede usarlos solo para mejoras opcionales o voluntarias, o no usarlos en absoluto.

De acuerdo con la invención, el biocatalizador puede exponerse y obligarse a adaptarse administrando al menos un potenciador metabólico seleccionado al medio de cultivo acuoso.
10 En particular, el biocatalizador puede ser desafiado y obligado a adaptarse agregando un potenciador metabólico al medio de cultivo acuoso. En el contexto de la presente invención, esta adición del potenciador metabólico también se denomina «**adaptación química**». De acuerdo con algunas modalidades, la adaptación química del biocatalizador comprende una dosificación individual o repetida del potenciador metabólico en el medio de cultivo acuoso.

15 Para comprender esta invención es importante distinguir la adaptación química de cualquier aumento de la biomasa descrito anteriormente. Si bien se sabe que el aumento de nitrógeno disponible en el recipiente de reacción puede inducir un aumento en la concentración de biomasa, el método de la presente invención no conduce a un aumento en la biomasa, sino
20 todo lo contrario, aumenta solo la actividad metabólica del biocatalizador sin aumentar la tasa de crecimiento o la producción de biomasa. Además, y contra la presunción de que la cantidad de biomasa está correlacionada con la MPR, los inventores descubrieron que con el método de adaptación química como se describe en la presente memoria, el metabolismo del biocatalizador y, por lo tanto, la producción de metano puede estimularse sin aumentar la
25 biomasa según lo medido y controlable por la OD en el recipiente de reacción.

De acuerdo con la presente invención, el método de adaptación química se aplica a un recipiente de reacción, que ya está en modo operativo de producción de metano y que necesita adaptarse a una perturbación esperada del gas de alimentación. Típicamente, en un modo de
30 producción de metano, la cantidad de N en el recipiente de cultivo se puede mantener alrededor

de 200-750 mg/l N; no se recomienda ninguna inversión adicional de N u otras fuentes de amonio, ya que un aumento de la fuente de N disponible conducirá a un aumento de la biomasa, lo que no es deseado y podría causar inestabilidad hasta que se haya adaptado nuevamente la cantidad de biocatalizador y la tasa de alimentación de todos los nutrientes necesarios.

5

Por consiguiente, en modalidades adicionales de la presente invención, la densidad óptica del biocatalizador en el recipiente de reacción medido en OD₆₁₀ es preferentemente alrededor de OD 20-50. Sin embargo, el biocatalizador también se puede cultivar a una OD₆₁₀ más baja, a saber, una OD 10-20 o incluso una OD₆₁₀ por encima de una OD 50 y hasta una OD 80.

10

Preferentemente, la densidad óptica del biocatalizador es estable y permanece invariable antes de la precarga, durante la precarga e incluso horas después de la precarga y del aumento del gas de alimentación.

15

Sin embargo, y en contra de tales expectativas, la presente invención muestra que una dosificación adicional de un potenciador metabólico, donde esta dosificación se lleva a cabo antes de una perturbación esperada del suministro de gas de alimentación, puede estabilizar la producción de metano incluso si el suministro de gas de alimentación se modula irregularmente hacia arriba y/o abajo.

20

En otras palabras, el método de adaptación química es una precarga con un potenciador metabólico. Como el tiempo de reacción del biocatalizador a los nutrientes, por ejemplo, al potenciador metabólico, es muy rápido, la dosificación, por ejemplo, la precarga con el potenciador metabólico es eficaz cuando se aplica segundos o minutos antes de una perturbación del gas de alimentación. Se cree que el efecto del potenciador metabólico es una inducción metabólica y puede analizarse fácilmente midiendo y siguiendo el contenido de metano en el producto gaseoso, por ejemplo, la dependencia del tiempo de este. En particular, el contenido de metano en el producto gaseoso permanecerá estable y sustancialmente sin perturbaciones a lo largo del tiempo, por ejemplo, a pesar de la perturbación, por ejemplo, en la alimentación de gas.

25

30

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la precarga con uno o más potenciadores metabólicos en el medio de cultivo acuoso en el reactor de metanización se inicia antes de la perturbación. Por ejemplo, la precarga puede iniciarse y/o realizarse al menos segundos antes de la perturbación, pero también minutos u horas antes de la perturbación. Por ejemplo, la precarga de acuerdo con la invención se puede iniciar al menos 1 hora, 30 min, 15 min, 10 min, 5 min o 1 min antes de la perturbación esperada.

De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, la precarga con el potenciador metabólico puede comenzar varias horas antes de la alteración esperada. Por ejemplo, la precarga de acuerdo con la invención se puede iniciar al menos 3 horas, 2 horas, 1 hora o 0,5 horas antes de la perturbación esperada.

De acuerdo con la invención y adecuada con cualquiera de las modalidades descritas anteriormente, la dosificación se puede aplicar en una sola dosis o, alternativamente, en una pluralidad de dosis.

De acuerdo con la presente invención, los potenciadores metabólicos adecuados se seleccionan del grupo de sustancias químicas redox activas que comprenden aminoácidos tales como, por ejemplo, cisteína, que tiene un potencial redox de -0,22 V, soluciones de carbonato, soluciones que cambian el pH, tales como ácidos y bases, y preferentemente Na_2S , NH_4OH , así como combinaciones de cualquiera o varios de estos.

Como se describe en el Ejemplo 1 para la precarga con NH_4OH , la precarga puede comenzar 0,5 horas antes de la perturbación. En particular, la precarga puede realizarse introduciendo una pluralidad de dosis de NH_4OH , introduciéndose cada dosis de esta pluralidad de dosis en un momento respectivo en el medio de cultivo acuoso. Además, en el ejemplo 1

En última instancia, de acuerdo con el método de la invención, ya sea una dosis única inyectada o la pluralidad de dosis de NH_4OH , normalmente puede sumar una adición de aproximadamente 5 a 25 mol-N, que debe entenderse como adicionalmente disponible como concentración

objetivo en el medio de cultivo. Alternativamente, en otras modalidades, la cantidad adicional de nitrógeno disponible en el medio de cultivo puede ser de 8 a 20 mol-N, más de 5 a 10 mol-N, más de 5 a 21 mol-N, más de 8 a 21 mol-N, más de 8 a 25 mol -N, más de 10 a 25 mol -N, más de 10 a 21 mol -N, o más de 5 a 15 mol -N.

5

Alternativamente, por ejemplo, en el caso de una ventana de tiempo menor entre la detección de la perturbación esperada y la ocurrencia de dicha perturbación, la precarga puede realizarse introduciendo una dosis única de NH_4OH en el medio de cultivo acuoso poco antes de la perturbación. En particular, en una modalidad en la que se prefiere una dosis única, esta dosis

10 única de NH_4OH puede suponer una adición de 1,5 a 21 mol-N en el medio de cultivo. Estos números absolutos se miden para un sistema de 1 MW, es decir, un reactor que tiene una capacidad de producción de metano de 1 MW (megavatio).

15

Como se ilustra en el ejemplo 1, la precarga con nitrógeno de acuerdo con la invención no sigue al aumento de CO_2 , sino que se da antes del aumento de gas y por lo tanto anticipa un aumento de CO_2 .

20

Mientras que, en el reactor de la técnica anterior, la carga que sigue a las dosis de, por ejemplo, NH_4OH o cualquier otro equivalente de nitrógeno depende de la afluencia de CO_2 en Nm^3 que ingresa al sistema, y normalmente se agrega una cantidad de Y ml NH_4OH para una afluencia de X Nm^3 CO_2 , de acuerdo con el método de la presente invención, la cantidad relevante de Y NH_4OH o cualquier equivalente de nitrógeno comparable se precarga antes de X Nm^3 CO_2 . Las cantidades Y y X dependen del biocatalizador en uso en una planta y normalmente se ajustan con respecto al volumen del reactor y la tasa de metanización del biocatalizador, no deben

25 entenderse como valores absolutos. Además, cabe señalar que los números absolutos de adición de nitrógeno indicados anteriormente pueden variar o aumentarán con el aumento del tamaño del sistema de producción de metano, por ejemplo, cualquier sistema de 10 MW, 100 MW o 200 MW de capacidad de producción. Como consecuencia, la cantidad real y el momento de la precarga se pueden ajustar en función de otros parámetros operativos del sistema, incluida

30 la energía de mezcla, el pH, el potencial oxidativo-reductor, la temperatura, la presión, la fuerza

iónica del medio o el caudal de gas.

Un efecto ventajoso de la precarga con el potenciador metabólico es que el biocatalizador es estimulado a un metabolismo más alto y, por lo tanto, es capaz de reaccionar mucho más rápido a un aumento repentino de nutrientes como los gases reactivos y, finalmente, usar el gas reactivo provisto de manera más eficiente para construir metano. Como subproducto, un cultivo de metanización que ha sido tratado de acuerdo con el método de la invención y, por ejemplo, precargado con un producto químico redox activo parece ser menos sensible a las variaciones del valor de pH del medio de cultivo acuoso.

10

Curiosamente, se ha descubierto que la estabilidad del valor de pH también es un indicador adicional para la adaptación exitosa del biocatalizador. En otras palabras, después de aplicar el método de la presente invención y, por lo tanto, después de la adaptación del biocatalizador, la estabilidad del valor de pH, a pesar del aumento sustancial del gas reactivo CO₂, es un claro indicador de una adaptación exitosa y la adquisición adicional potencial para permitir aumentar inmediatamente la producción de metano por parte del biocatalizador.

15

Como consecuencia, es posible medir una producción de metano estable antes, durante y después de la perturbación, que, en particular, puede ser una reducción o un aumento en el suministro de energía, lo cual provoca un cambio o aumento correspondiente en el suministro de gas de alimentación.

20

Además de la adaptación química, el biocatalizador también puede adaptarse a un evento perturbador, por ejemplo, una reducción o un aumento en el suministro de energía y cambios correlacionados en el suministro de gas de alimentación, mediante la llamada «**adaptación física**».

25

De acuerdo con la presente invención, adaptar físicamente el biocatalizador puede comprender o consistir en exponer al biocatalizador mediante cambios forzados en la alimentación de gas antes de una perturbación esperada. De acuerdo con la presente invención, adaptar físicamente

30

el biocatalizador puede comprender incrementar gradualmente el caudal del gas de alimentación y/o forzar el caudal del gas de alimentación.

5 Además, o junto con lo anterior, la adaptación física del biocatalizador puede comprender el uso de uno o más medios físicos para aumentar la cantidad de gases reactivos disueltos en el medio de cultivo. En particular, adaptar físicamente el biocatalizador comprende aumentar la presión del reactor y la afluencia de gas y/o aumentar la actividad de agitación en el reactor.

10 «Incrementar gradualmente» el caudal del gas de alimentación y/o «forzar» el caudal del gas de alimentación puede entenderse en el contexto de la presente invención como un aumento del caudal del gas de alimentación o una disminución rápida del caudal del gas de alimentación. De acuerdo con algunas modalidades, aumentar el caudal del gas de alimentación puede comprender, por ejemplo, consistir en un aumento lineal y/o gradual del caudal del gas de alimentación. Además, aumentar el caudal del gas de alimentación puede ser un aumento
15 predeterminado, por ejemplo, aumentar el caudal del gas de alimentación desde un primer valor dado hasta un segundo valor dado en una cantidad de tiempo predeterminada.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, un cambio forzado en la alimentación de gas puede ser un solo intervalo de «encendido/apagado», es decir, un solo pico o pulso del
20 gas de alimentación al que reaccionará el biocatalizador con una estimulación metabólica, que se considera ya el primer paso de la adaptación.

De acuerdo con la presente invención, este pico único, y también una repetición de picos individuales, se consideran pasos individuales de adaptación física del biocatalizador y pueden
25 llevarse a cabo antes de la perturbación esperada. Esto puede comenzar 5 h, 4 h, 3 h o 2 h, y preferentemente alrededor de 1 h o 0,5 h antes de la perturbación esperada y/o aumento deseado en el gas de alimentación.

De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, forzar el caudal del gas de
30 alimentación comienza si la cantidad de metano en el producto gaseoso cae por debajo de un

valor umbral, por ejemplo, un 95 %, y se detiene cuando la cantidad de metano en el producto gaseoso excede el valor límite.

De acuerdo con una modalidad adicional de la presente invención, forzar el caudal de gas de alimentación comprende:

- i) aumentar el caudal del gas de alimentación desde un primer valor del caudal de gas de alimentación hasta un segundo valor del caudal de gas de alimentación;
- ii) mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el segundo valor del caudal de gas de alimentación durante una primera cantidad de tiempo; y
- iii) después de mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el segundo valor del caudal de gas de alimentación, disminuir el caudal del gas de alimentación a un tercer valor del caudal de gas de alimentación.

En particular, el tercer valor del caudal de gas de alimentación es mayor o igual al primer valor del caudal de gas de alimentación.

El tercer valor del caudal de gas de alimentación puede ser sustancialmente igual al primer valor del caudal de gas de alimentación. Por ejemplo, el primer valor del caudal de gas de alimentación y/o el tercer valor del caudal de gas de alimentación están comprendidos entre A1 y A2, en particular entre A3 y A4, más particularmente entre A5 y A6. Además, el segundo valor del caudal de gas de alimentación puede estar comprendido entre B1 y B2, en particular entre B3 y B4, más particularmente entre B5 y B6.

En particular, el segundo valor del caudal de gas de alimentación puede depender, por ejemplo, ser proporcional al primer valor del caudal de gas de alimentación. Por ejemplo, el segundo valor, V_2 , del caudal de gas de alimentación puede ser proporcional al primer valor, V_1 , del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_2 = \bar{k} \times V_1$. La constante de proporcionalidad, $\bar{k}$, puede estar comprendida entre 1,13 y 1,25, en particular entre 1,15 y 1,23 y, más particularmente, entre 1,18 y 1,21. En particular, dicha constante de proporcionalidad puede ser

igual a 1,20.

En particular, el paso ii) se lleva a cabo después, por ejemplo, inmediatamente después del paso i). Alternativamente, o junto con lo anterior, el paso iii) puede llevarse a cabo inmediatamente después del paso ii).

El aumento del caudal del gas de alimentación desde el primer valor hasta el segundo valor puede llevarse a cabo aumentando linealmente o por etapas el caudal del gas de alimentación en una quinta cantidad de tiempo. Alternativamente, o junto con lo anterior, la disminución del caudal del gas de alimentación al tercer valor puede llevarse a cabo mediante la disminución lineal o escalonada del caudal del gas de alimentación, por ejemplo, del segundo valor al tercer valor. La quinta cantidad de tiempo y/o la sexta cantidad de tiempo pueden ser mucho menores que la primera cantidad de tiempo. Por ejemplo, la quinta cantidad de tiempo y/o la sexta cantidad de tiempo son menores o iguales a una décima, una centésima y/o una milésima parte de la primera cantidad de tiempo.

En algunas modalidades del método de la presente invención, forzar el caudal del gas de alimentación comprende, además:

- iv) mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el tercer valor del caudal de gas de alimentación durante una segunda cantidad de tiempo;
- v) después de mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el tercer valor, aumentar el caudal del gas de alimentación a un cuarto valor del caudal del gas de alimentación;
- vi) mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el cuarto valor del caudal de gas de alimentación durante una tercera cantidad de tiempo; y
- vii) después de mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el cuarto valor, disminuir el caudal del gas de alimentación a un quinto valor del caudal del gas de alimentación.

En particular, el quinto valor del caudal de gas de alimentación es mayor o igual al tercer valor del caudal de gas de alimentación, el cuarto valor del caudal de gas de alimentación es mayor o igual al segundo valor del caudal de gas de alimentación, y/o la tercera cantidad de tiempo es mayor o igual a la primera cantidad de tiempo.

5

El quinto valor del caudal de gas de alimentación puede ser sustancialmente igual al tercer valor del caudal de gas de alimentación y/o el cuarto valor del caudal de gas de alimentación puede ser sustancialmente igual al segundo valor del caudal de gas de alimentación. Por ejemplo, el quinto valor del caudal de gas de alimentación está comprendido entre A1 y A2, en particular entre A3 y A4, más particularmente entre A5 y A6. Además, el cuarto valor del caudal de gas de alimentación puede estar comprendido entre B1 y B2, en particular entre B3 y B4, más particularmente entre B5 y B6.

10

En particular, el cuarto valor del caudal de gas de alimentación puede depender, por ejemplo, ser proporcional al primer valor del caudal de gas de alimentación. Por ejemplo, el cuarto valor, V_4 , del caudal de gas de alimentación puede ser igual al producto entre la constante de proporcionalidad antes mencionada, $\bar{k}$, y el tercer valor, V_3 , del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_4 = \bar{k} \times V_3$.

15

La tercera cantidad de tiempo puede ser sustancialmente igual a la primera cantidad de tiempo. Por ejemplo, la tercera cantidad de tiempo y/o la primera cantidad de tiempo son mayores o iguales a C1 e inferiores o iguales a C2, en particular mayores o iguales a C3 y menores o iguales a C4, más particularmente mayores o igual a C5 y menores o iguales a C6.

20

En particular, el paso iv) se lleva a cabo después (por ejemplo, inmediatamente después) del paso iii), el paso v) se lleva a cabo inmediatamente después del paso iv), el paso vi) se lleva a cabo después (por ejemplo, inmediatamente después) del paso v), y /o el paso vii) se lleva a cabo inmediatamente después del paso vi).

25

El aumento del caudal del gas de alimentación al cuarto valor puede llevarse a cabo

30

aumentando de forma lineal o gradual el caudal de alimentación en una séptima cantidad de tiempo, por ejemplo, desde el tercer valor hasta el cuarto valor del caudal de gas de alimentación. Alternativamente, o junto con lo anterior, la disminución del caudal del gas de alimentación al quinto valor puede llevarse a cabo mediante la disminución de forma lineal o gradual del caudal del gas de alimentación en una octava cantidad de tiempo, por ejemplo, desde el cuarto valor hasta el quinto valor del caudal de gas de alimentación. La séptima cantidad de tiempo y/o la octava cantidad de tiempo pueden ser mucho menores que la tercera cantidad de tiempo. Por ejemplo, la séptima cantidad de tiempo y/o la octava cantidad de tiempo son menores o iguales a una décima, una centésima y/o una milésima parte de la tercera cantidad de tiempo.

De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, forzar el caudal de gas de alimentación comprende:

- viii) mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el quinto valor del caudal de gas de alimentación durante una cuarta cantidad de tiempo; y
- ix) después de mantener el caudal del gas de alimentación en sustancialmente el quinto valor, aumentar el caudal del gas de alimentación a un sexto valor del caudal del gas de alimentación.

En particular, el sexto valor del caudal de gas de alimentación es mayor o igual al cuarto valor del caudal de gas de alimentación y/o la cuarta cantidad de tiempo es menor o igual a la segunda cantidad de tiempo.

El cuarto valor del caudal de gas de alimentación es sustancialmente igual al sexto valor del caudal de gas de alimentación. El sexto valor del caudal de gas de alimentación puede estar comprendido entre B1 y B2, en particular entre B3 y B4, más particularmente entre B5 y B6.

El sexto valor del caudal de gas de alimentación puede depender del quinto valor del caudal de gas de alimentación. Por ejemplo, el sexto valor, V_6 , del caudal de gas de alimentación puede

ser igual al producto entre la constante de proporcionalidad antes mencionada, $\bar{k}$, y el quinto valor, V_5 , del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_6 = \bar{k} \times V_5$.

La cuarta cantidad de tiempo puede ser sustancialmente igual a la segunda cantidad de tiempo.

- 5 Por ejemplo, la cuarta cantidad de tiempo y/o la segunda cantidad de tiempo son mayores o iguales a C1 e inferiores o iguales a C2, en particular mayores o iguales a C3 y menores o iguales a C4, más particularmente mayores o igual a C5 y menores o iguales a C6.

- 10 En particular, el paso viii) se lleva a cabo después, por ejemplo, inmediatamente después del paso vii). Alternativamente, o junto con lo anterior, el paso ix) puede llevarse a cabo inmediatamente después del paso viii).

- 15 El aumento del caudal del gas de alimentación al sexto valor puede llevarse a cabo aumentando de forma lineal o gradual el caudal de alimentación en una novena cantidad de tiempo, por ejemplo, desde el quinto valor hasta el sexto valor del caudal de gas de alimentación. La novena cantidad de tiempo puede ser mucho menor que la cuarta cantidad de tiempo. Por ejemplo, la novena cantidad de tiempo es menor o igual a una décima, una centésima y/o una milésima parte de la cuarta cantidad de tiempo.

- 20 En algunas modalidades de la presente invención, la primera cantidad de tiempo, la segunda cantidad de tiempo, la tercera cantidad y/o la cuarta cantidad de tiempo son mayores o iguales a una cantidad mínima de tiempo. En particular, la cantidad mínima de tiempo puede ser igual al tiempo promedio que le toma a una molécula sin reaccionar, por ejemplo, H_2 , viajar a través del reactor y alcanzar un analizador de gases para analizar el producto gaseoso. El tiempo
- 25 mínimo puede estar comprendido entre H1 y H2, en particular entre H3 y H4 y, más particularmente, entre H5 y H6.

- De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, incrementar gradualmente el caudal del gas de alimentación comprende, por ejemplo, consiste en aumentar el caudal del
- 30 gas de alimentación desde un séptimo valor del caudal del gas de alimentación hasta un octavo

valor del caudal del gas de alimentación en una décima cantidad de tiempo. En particular, el séptimo valor y/o el octavo valor pueden ser valores predeterminados del caudal del gas de alimentación. Alternativamente, o junto con lo anterior, el décimo intervalo de tiempo puede ser un intervalo de tiempo predeterminado.

5

Por ejemplo, el séptimo valor del caudal de gas de alimentación está comprendido entre D1 y D2, en particular entre D3 y D4, más particularmente entre D5 y D6. Además, el octavo valor del caudal de gas de alimentación puede estar comprendido entre E1 y E2, en particular entre E3 y E4, más particularmente entre E5 y E6. Por ejemplo, la décima cantidad de tiempo es mayor o igual a F1 y menor o igual a F2, en particular mayor o igual a F3 y menor o igual a F4, más particularmente mayor o igual a F5 y menor que o igual a F6.

La **figura 4A** representa esquemáticamente la dependencia del tiempo (línea continua 410) del caudal del gas de alimentación durante el refuerzo de acuerdo con una primera modalidad del método de la presente invención. En particular, el refuerzo de acuerdo con la primera modalidad de la invención comprende los pasos i) a ix) descritas anteriormente. En particular, los pasos i) a iii) conducen a un primer pico 411 en la dependencia de tiempo 410 del caudal del gas de alimentación y los pasos v) a vii) conducen a un segundo pico 412 en la dependencia de tiempo 410 del caudal del gas alimentación de gases. En esta figura, V_i es el valor i^{th} del caudal de gas de alimentación ($i = 1, 2, 3, 4, 5, 6$) y Δt_j es la cantidad de tiempo j^{th} ($j = 1, 2, 3, 4$). El quinto valor V_5 del caudal de gas de alimentación es mayor que el tercer valor V_3 del caudal de gas de alimentación que, a su vez, es mayor que el tercer valor V_1 del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_5 > V_3 > V_1$. Asimismo, el sexto valor V_6 del caudal de gas de alimentación es mayor que el cuarto valor V_4 del caudal de gas de alimentación que, a su vez, es mayor que el segundo valor V_2 del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_6 > V_4 > V_2$.

La segunda cantidad de tiempo Δt_2 es mayor que la cuarta cantidad de tiempo Δt_4 , es decir, $\Delta t_2 > \Delta t_4$, y la tercera cantidad de tiempo Δt_3 es mayor que la primera cantidad de tiempo Δt_1 , es decir $\Delta t_3 > \Delta t_1$.

30

La **figura 4B** representa esquemáticamente la dependencia del tiempo (línea continua 420) del caudal del gas de alimentación durante el refuerzo de acuerdo con una segunda modalidad del método de la presente invención. El refuerzo de acuerdo con esta modalidad comprende los pasos i) a ix) mencionados anteriormente. Los pasos i) a iii) conducen a un primer pico 421 en la dependencia de tiempo 420 del caudal del gas de alimentación y los pasos v) a vii) conducen a un segundo pico 422 en la dependencia de tiempo 420 del caudal del gas alimentación de gases.

En este caso, el primer valor V_1 del caudal de gas de alimentación es igual al tercer y quinto valor del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_1 = V_3 = V_5 \equiv V_D$. El segundo valor V_2 del caudal de gas de alimentación es igual al valor cuarto y sexto del caudal de gas de alimentación, es decir, $V_2 = V_4 = V_6 \equiv V_U$.

La segunda cantidad de tiempo Δt_2 es mayor que la cuarta cantidad de tiempo Δt_4 y la tercera cantidad de tiempo $\Delta t_1 \Delta t_3$ es mayor que la primera cantidad de tiempo.

La **figura 4C** representa esquemáticamente la dependencia del tiempo (línea continua 430) del caudal del gas de alimentación durante el refuerzo de acuerdo con una tercera modalidad de la invención, dicha tensión comprende los pasos i) a ix) descritos anteriormente. Los pasos i) a iii) conducen a un primer pico 431 en la dependencia de tiempo 430 del caudal del gas de alimentación y los pasos v) a vii) conducen a un segundo pico 432 en la dependencia de tiempo 430 del caudal del gas alimentación de gases.

El primer valor V_1 del caudal de gas de alimentación es igual al tercer V_3 y quinto V_5 valor del caudal de gas de alimentación y el segundo valor V_2 del caudal de gas de alimentación es igual al cuarto V_4 y sexto valor V_6 del caudal de gas de alimentación. Además, la primera cantidad de tiempo es igual a la segunda, la tercera y la cuarta cantidad de tiempo, es decir, $\Delta t_1 = \Delta t_2 = \Delta t_3 = \Delta t_4 \equiv \Delta t$.

Debe entenderse que el método de la presente invención para adaptar el biocatalizador puede

comprender cada uno de los procesos de adaptación individualmente o puede combinar los pasos de adaptación descritos anteriormente, por ejemplo, precargar el medio de cultivo acuoso con uno o más potenciadores metabólicos, incrementar gradualmente el caudal del gas de alimentación, y/o aumentar el caudal del gas de alimentación en pasos o uno o más intervalos de un aumento definido con respecto al caudal del gas de alimentación, descrito anteriormente como refuerzo.

En el contexto de la presente invención, el término «biocatalizador» se define y comprende cualquier metanógeno hidrogenotrófico adecuado para ser utilizado solo o en cocultivo en un proceso de biometanización. En particular, un biocatalizador adecuado para adaptarse de acuerdo con el presente método pertenece y se selecciona del grupo de Archaea que comprende las clases de *Methanobacteria*, *Methanococci*, *Methanomicrobia*, *Methanonatronarchaei* y *Methanopyri*, cada una de estas clases que comprende varios géneros, en donde cada género se divide en familias, cada familia abarca un gran número de especies conocidas y ampliamente estudiadas, en el sentido de clasificadas, y desconocidas, en el sentido de no clasificadas.

De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, *Methanothermobacter*, y *Methanothermobacter thermoautotrophicus* adicional, *Methanothermobacter marburgensis* y/o mezclas de estos, y/o derivados de estos, se revelaron particularmente fáciles de adaptar de acuerdo con el método de la presente invención.

Además, de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, *Methanothermus fervidus*, *Methanobrevibacter arboriphilicus*, *Methanococcus* y *Methanocaldococcus* sp., y *Methanocaldococcus bathoardescens* adicional, *Methanocaldococcus fervens*, *Methanocaldococcus indicus*, *Methanocaldococcus infernus*, *Methanocaldococcus jannaschii*, *Methanocal Meocaldococcus villosdocus* y mezclas de estos, y/o derivados de estos son particularmente adecuados para ser adaptados por el método de la presente invención.

Como debe entenderse a partir de la descripción anterior, el presente método se aplica

principalmente y es más adecuado para mejorar y estabilizar la metanogénesis en una planta de biometanización, que depende de los recursos naturales para el suministro de energía. Es particularmente importante e interesante desde el punto de vista comercial estabilizar el biocatalizador desplegado en el contexto de un suministro inconsistente o variable de recursos naturales, como la energía solar o la energía eólica.

También es importante proporcionar un método para estabilizar el biocatalizador en otras circunstancias, por ejemplo, provocadas por el hombre que conducen a un suministro inconsistente o variable de nutrientes o gas de alimentación. Por ejemplo, tales circunstancias ocurren cuando una planta de biometanización necesita ser reiniciada después de haber sido cerrada para limpieza y/o mantenimiento. Reiniciar una planta de biometanización utilizando biocatalizadores no adaptados suele tardar unas 24 horas.

El método inventivo de adaptación del biocatalizador permite un reinicio sustancialmente más rápido y permite alcanzar un contenido de metano sustancialmente estable en el producto gaseoso justo después del reinicio. Como se muestra en la fig. 7, en un reactor con un biocatalizador adaptado, un reinicio después de unas 8 horas no conducirá a una producción de metano inestable, pero en menos de 10 minutos alcanzará una producción de metano con calidad de red.

La fig. 7 también es interesante ya que la producción de metano después de la interrupción es inmediatamente alta y proporciona una calidad de red, es decir, un contenido de metano del 95 % en el producto gaseoso.

Breve descripción de las figuras

La **figura 1** muestra los impactos en la composición del producto gaseoso, incluido el contenido de metano, de una planta industrial existente durante una perturbación.

La fig. 1A ilustra el caudal de gas de alimentación de hidrógeno, con A = gas de alimentación (H_2 [kg/h]), y el contenido de gas de salida (fracción del total) de metano, con C = metano[%] de

la mezcla total de gases]; la fig. 1B representa el valor de pH correspondiente, con $B = \text{pH}$, $C =$ contenido de CH_4 [% de la mezcla total de gases]; la fig. 1C muestra las consecuencias de la perturbación en la tasa de contenido de metano y el contenido total de producto gaseoso, con $C = \text{CH}_4$ [% de la mezcla total de gases], $E = \text{H}_2$ [% de la mezcla total de gases], $F = \text{CO}_2$ [% de la mezcla total de gases]; la fig. 1D ilustra la incapacidad de la estrategia de dosificación estándar y denominada de seguimiento de la carga para la recuperación mediante la dosificación de NH_4OH , con $C = \text{CH}_4$ [% de la mezcla total de gases], $D = \text{NH}_4\text{OH}$ [L/h].

La **figura 2** muestra un experimento de carga previa como se describe en el ejemplo 1, en el que el cultivo se carga previamente con dosis repetitivas de un químico redox activo, en este caso NH_4OH , antes de un aumento sustancial en los gases reactivos. En el ejemplo 1, se muestra que el contenido de metano en el producto gaseoso y también el valor de pH son estables a pesar de un aumento gradual en los gases de alimentación. ($y_1 = \text{CH}_4$ [% de la mezcla total de gases] y NH_4OH [l/h], $A = \text{CH}_4$, $B = \text{NH}_4\text{OH}$; $y_2 = \text{pH}$ y caudal de H_2 [kg/h], $C = \text{H}_2$ gas de alimentación, $D =$ valor de pH; y_2 ; $x =$ tiempo de ejecución [min])

La **figura 3** muestra que el aumento repentino del gas de alimentación provoca un colapso de la producción de metano y luego, después de un breve cierre de aproximadamente 30 minutos, un aumento cuidadoso de pulsos y pasos del caudal del gas de alimentación permite un inicio rápido de una adaptación, que después de solo 1,5 horas permite una entrada aún mayor de gas de alimentación al cultivo ahora adaptado. ($y_1 =$ caudal de pH y H_2 [kg/h], $A =$ gas de alimentación de H_2 ; $B =$ valor de pH; $y_2 = \text{CH}_4$ [% de la mezcla total de gases], $C = \text{CH}_4$; $x =$ tiempo de ejecución [min]).

Las **figuras 4A, 4B y 4C** ilustran esquemáticamente la dependencia del tiempo del caudal del gas de alimentación durante el refuerzo de acuerdo con las modalidades y los protocolos adicionales de la presente invención, respectivamente.

La **figura 4D** ilustra la dependencia del tiempo del caudal del gas de alimentación durante el refuerzo de acuerdo con otra modalidad y protocolo de la presente invención. En la figura 4D,

la primera ordenada 470 hace referencia a la dependencia de tiempo 460 del valor de pH ya la dependencia de tiempo 440 del caudal del gas de alimentación, esta última dependencia de tiempo se expresa en kg/h. La segunda ordenada 480 hace referencia a la dependencia de tiempo 450 de la cantidad relativa de metano en el producto gaseoso. (y1 (470) = pH y caudal de H₂ [kg/h], 440-444 = gas de alimentación de H₂; 460 = valor de pH; 480 = CH₄ [% de la mezcla total de gases], 450 = CH₄; x = tiempo de ejecución [min])

La **figura 5A** muestra un protocolo de caudal siguiendo un perfil de viento simulado y, por lo tanto, una perturbación en el suministro de energía. A pesar de tales perturbaciones, que normalmente provocarían una caída en el contenido de metano debido a mayores caudales de gas de alimentación, en este protocolo de caudal el biocatalizador ya se ha adaptado de acuerdo con el método de la presente invención. Por lo tanto, la figura 5A muestra que, durante la perturbación, el contenido de metano en el producto gaseoso es sorprendentemente estable y proporciona constantemente más del 95 % de metano en el producto gaseoso. (y1 = caudal de pH y H₂ [kg/h], A = gas de alimentación de H₂; B = valor de pH; y2 = CH₄ [% de la mezcla total de gases], C = CH₄; x = tiempo de ejecución [min])

La **figura 5B** muestra el mismo efecto sorprendente del método de la invención, pero con una exposición extrema para el sistema. El biocatalizador adaptado y estimulado mantiene estable el contenido de metano por encima del 95 %, a pesar de las variaciones repentinas del caudal de alimentación del gas de alimentación que varía repetidamente entre 0 kg/h y 6,5 kg/h. (y1 = pH y caudal de H₂ [kg/h], A = gas de alimentación de H₂, B = pH; y2 = CH₄ [% de la mezcla total de gases], C = CH₄; x = tiempo de ejecución [min]).

La **figura 6** muestra una caída del contenido de metano en un reactor que emplea un biocatalizador no adaptado, así como el intento de aumentar la dosificación de NH₄OH inmediatamente después de la caída. Sin embargo, como puede verse en el diagrama de flujo, ni la adición de NH₄OH ni la interrupción del caudal de gas de alimentación pueden recuperar el sistema rápidamente. Una estabilización lenta se puede ver más temprano después de unos 1000 minutos. (y1 = pH y caudal de H₂ [kg/h], A = H₂ gas de alimentación; B = valor de pH; y2

= CH₄ [% de la mezcla total de gases] y NH₄OH [L/h], C = CH₄, D = NH₄OH, x = tiempo de ejecución [min]).

La **figura 7** muestra el protocolo de caudal de una parada de mantenimiento en un reactor con un biocatalizador adaptado, así como el reinicio exitoso e inmediato después de aproximadamente 9 horas.

Ejemplos

- Los siguientes ejemplos ilustran formas viables de llevar a cabo el método descrito según lo previsto, sin la intención de limitar la invención a dichos ejemplos.

Todos los ejemplos siguientes se han llevado a cabo elaborados en una planta de metanización no comercial de tamaño industrial. Los presentes ejemplos se han llevado a cabo en un Reactor de Tanque de Agitación Continuo (CSTR, por sus siglas en inglés) que contiene hasta un volumen de al menos 3,200 litros de medio de cultivo celular adecuado. Esta elección del tipo de reactor de metanación, sin embargo, no es limitativa y pueden usarse otros tipos de reactores de metanación para llevar a cabo los siguientes ejemplos. El medio comprende un biocatalizador, normalmente un metanógeno hidrogenotrófico, perteneciente a las arqueas. Los gases reactivos H₂ y CO₂ se mezclan y opcionalmente se comprimen y precalientan antes de mezclarlos con el medio de cultivo en el reactor.

En todas las figuras que presentan resultados solo se indica el caudal de H₂, que sin embargo representa la entrada de los gases de alimentación que incluyen H₂ y CO₂ en condiciones de producción ideales y no limitantes. Por tanto, en este caso el reactor de metanización se alimenta entre 5,0 y 5,5 kg/h de H₂ y unos 27,8 kg/h de CO₂. Del mismo modo, en estas condiciones de producción ideales y no limitantes, la cantidad nominal de la fuente de nitrógeno se mantiene en aproximadamente 0,4 g/L NH₄OH.

- Cualquier perturbación de tales condiciones ideales conduce a una pérdida en el contenido de

metano. En particular, las figuras 1A a 1D muestran cómo la falta de consistencia (por ejemplo, un aumento repentino) en la entrada de gas de alimentación (cf. fig.1A) conduce a un contenido de metano muy inestable (fig.1C). En particular, el metano producido en el reactor representa solo alrededor del 30 % del producto gaseoso. Además, como se muestra en la fig. 1B, la inestabilidad en el caudal de entrada del gas de alimentación conduce a una inestabilidad del valor de pH del medio de cultivo.

La presente invención proporciona métodos para adaptar el biocatalizador a variaciones esperadas o inesperadas en el caudal de entrada de gas de alimentación y/o en la disponibilidad de suministro de energía y proporciona o garantiza un contenido de metano estable a pesar de tales inconsistencias.

Ejemplo 1: Precarga

En este ejemplo se muestra cómo una adaptación química del biocatalizador mejora la estabilidad del proceso de metanización y el contenido de metano. Para ello, se adapta el biocatalizador precargando el medio de cultivo con un potenciador metabólico, a saber, NH_4OH .

La precarga con NH_4OH comenzó poco antes o alrededor de 0,5 horas antes de un aumento planificado en el gas de alimentación. En particular, la precarga se realizó introduciendo una pluralidad de dosis de NH_4OH en el medio de cultivo acuoso del reactor de metanización. Cada dosis de la pluralidad de dosis se introdujo en el medio de cultivo en un momento respectivo. Estos puntos en el tiempo se distribuyeron de manera sustancialmente homogénea. En particular, en este ejemplo, la dosificación se realizó aproximadamente cada 60 minutos y la dosis individual de NH_4OH fue de aproximadamente 0,97 mol-N. En definitiva, dicha pluralidad de dosis de NH_4^+ sí sumaron 5,03 mol-N en el medio de cultivo

El caudal de alimentación del gas de alimentación se aumentó siempre poco después de la dosificación con NH_4OH , en este ejemplo 30 min después de la dosificación. En total, el caudal de alimentación del gas de alimentación se incrementó desde un valor inicial de 5,5 kg/h un

valor de 8,5 kg/h durante un período de 7 horas, sin disminuciones ni caídas en la tasa de producción de metano.

Como se puede observar en la fig. 2, el contenido de metano se mantuvo estable a pesar del aumento relativamente rápido en el caudal de alimentación del caudal de entrada de gas de alimentación. En particular, también el valor del pH permaneció sustancialmente estable. Como se mencionó anteriormente, la estabilidad del valor de pH proporciona una indicación adicional de la capacidad del biocatalizador para compensar completamente la mayor cantidad de gas reactivo y convertir completamente dicho gas en metano.

Ejemplo 2: Intensificación

En este ejemplo, se muestra cómo «incrementar gradualmente» el caudal de gas desencadena la adaptación física del biocatalizador, mejorando así la estabilidad del proceso de metanación y aumentando la producción de metano con un alto contenido de metano en el producto gaseoso.

En este ejemplo, se aplicó un aumento gradual del caudal de alimentación del caudal de gas de alimentación a un sistema que colapsó debido a una gran entrada inesperada de gas de alimentación en un cultivo de biocatalizador no adaptado. Como se muestra en la figura 3, el aumento repentino del gas de alimentación causó una disminución del contenido de metano en el gas del producto y luego, después de un breve cierre de aproximadamente 30 min, un aumento pulsante, gradual y cuidadoso del caudal de alimentación del gas de alimentación. El gas permitió un inicio rápido de una adaptación que, después de solo 1,5 horas, permitió una entrada aún mayor de gas de alimentación al cultivo ahora adaptado.

Curiosamente, la OD610 del respectivo recipiente de reacción del biocatalizador fue antes de la precarga, durante la precarga e incluso horas después del aumento en el gas de alimentación en este ejemplo, alrededor de OD45.

Ejemplo 3: Refuerzo

En este ejemplo, se demuestra cómo forzar el caudal de alimentación del gas de alimentación conduce a un biocatalizador adaptado y, por lo tanto, mejora la estabilidad del contenido de metano en el producto gaseoso.

Desafortunadamente, a menudo se descubre que un aumento repentino del gas de alimentación generalmente provoca un bloqueo del sistema, que luego puede recuperarse agregando nutrientes y/o reduciendo la entrada de gas de alimentación (cf. fig. 6). Después de una entrada repentina de gas de alimentación de alrededor de 7,5 kg/h, los sistemas colapsaron y el gas de alimentación se redujo a la entrada normal de 5 kg/h.

En este ejemplo, los inventores demostraron que, como respuesta a un aumento tan repentino o a un colapso del sistema que provoca una reducción sustancial en el contenido de metano en el producto gaseoso, el refuerzo del caudal de alimentación del gas de alimentación inicia la adaptación del biocatalizador y estabiliza la producción de metano.

La figura 4D representa la dependencia del tiempo (línea discontinua 440) del caudal del gas de alimentación después de la disminución, durante el refuerzo. Esta figura muestra también el efecto del refuerzo en la dependencia de tiempo (línea discontinua 450) de la cantidad de metano en el producto gaseoso y en la dependencia de tiempo (línea continua 460) del valor de pH del medio de cultivo. En la figura 4D, la primera ordenada 470 hace referencia a la dependencia de tiempo 460 del valor de pH ya la dependencia de tiempo 440 del caudal del gas de alimentación, esta última dependencia de tiempo se expresa en kg/h. La segunda ordenada 480 hace referencia a la dependencia de tiempo 450 de la cantidad relativa de metano en el producto gaseoso.

El refuerzo comprendió los pasos i) a iii) descritos anteriormente que condujeron al primer pico 441, en el que el caudal del gas de alimentación se incrementó de aproximadamente 5 kg/h a aproximadamente 7 kg/h y se mantuvo en aproximadamente 7 kg/h. durante 30 min. Como se

muestra en la figura 4D, el primer pico 441 ya conduce a un aumento en la cantidad de metano en el producto gaseoso. El refuerzo comprendió también los pasos v) a vii) que condujeron al segundo pico 442 que, como se muestra en la figura 4D, tiene una forma similar al primero. Después del segundo pico 442, la producción de metano está a la altura de la calidad de red y, por lo tanto, más de la cantidad de metano en el producto gaseoso está por encima del 95 %. El refuerzo condujo a dos picos adicionales 443, 444 de la figura 4D, que estabilizan aún más el contenido de metano en caudales de gas de alimentación más altos. Después de aproximadamente 250 min, el caudal del gas de alimentación se incrementó a 7,5 kg/h, es decir, a la cantidad que conduce a la falla del biocatalizador no adaptado. Como se muestra en la figura 4D, el refuerzo permite un aumento repentino del caudal del gas de alimentación de al menos un 50 %, en este caso de 5 kg/h a 7,5 kg/h.

Se han probado múltiples protocolos de refuerzo y se descubrió que conducían a un resultado similar. Estos protocolos difieren entre sí en la duración, en la cantidad, en la frecuencia y/o en la amplitud de los picos y conducen a una adaptación del biocatalizador. Las dependencias de tiempo de ejemplo de dichos protocolos alternativos se ilustran esquemáticamente en las figuras 4A-C.

Ejemplo 4: Simulaciones con biocatalizadores adaptados

Un cultivo de biocatalizador, que ha sido adaptado y/o estimulado como en los ejemplos 1 a 3, mantiene un contenido de metano estable en el producto gaseoso incluso en situaciones desafiantes y cambiantes de caudal de gas. Tales situaciones desafiantes han sido simuladas para el protocolo de caudal que se muestra en la figura 5A, que ilustra la disponibilidad de energía volátil y, por lo tanto, la disponibilidad de salto de H_2 en un perfil de viento típico. En particular, se muestra que un cultivo de biocatalizador adaptado conduce a una producción de metano sustancialmente estable y que el biocatalizador estimulado mantiene alto el contenido de metano en el gas del producto y también convierte el gas de alimentación provisto lo suficientemente rápido como para ni siquiera causar un cambio en el valor de pH.

La figura 5B muestra los mismos efectos sorprendente del método de la invención, pero con una exposición extrema para el sistema. El biocatalizador adaptado y estimulado mantiene alta la producción de metano y de forma estable por encima del 95 %, a pesar de las variaciones repentinas del caudal de alimentación del gas de alimentación que varía repetidamente entre 0 kg/h y 6,5 kg/h.

Ejemplo 5: Combinación de la estrategia de precarga y refuerzo

En este ejemplo, intentamos con éxito aumentar el caudal de gas inesperado hasta un 200 % por encima del caudal inicial, provocado, por ejemplo, por un exceso de electricidad del 200 %.

Para ello, se adaptó el cultivo de biocatalizador establecido, en primer lugar, precargando el cultivo con NH_4OH durante los 5 pasos de dosificación, cada dosificación de NH_4OH se realizó 60 minutos después, seguido de un aumento del gas de alimentación del 20 %. Después de una breve ventana para medir la estabilidad del contenido de metano y confirmar la calidad de red, es decir, un contenido de metano de al menos el 95 % en el producto gaseoso, se inició una segunda ronda de adaptación.

Esta segunda ronda fue un protocolo de tensión con picos de gas de alimentación, que aumentó el volumen en un 20 % durante 10 minutos, seguido de un período de 10 minutos de reducción de la alimentación de gas al nivel más bajo. El protocolo de tensión se selecciona de los protocolos que se muestran en la figura 4A o 4B. Después de 3 picos, el gas de alimentación se mantuvo estable en el nivel elevado (+20 %) durante un período breve para medir la estabilidad del contenido de metano y confirmar la calidad de red, es decir, un contenido de metano de al menos el 95 % en el producto gaseoso. Por lo general, las ventanas de control son de aproximadamente 1 hora.

A partir de entonces, se inició la siguiente ronda de adaptación y nuevamente se usó un protocolo de tensión con picos de gas de alimentación, que aumentó el volumen en un 20 % durante 10 minutos, seguido de un período de 10 min de reducción de la alimentación de gas a

un nivel más bajo. El protocolo de tensión se selecciona de los protocolos que se muestran en la fig. 4A o 4B.

Después de 3 picos, el gas de alimentación se mantuvo estable en el nivel elevado (+20 % adicional) durante un período breve para medir la estabilidad del contenido de metano en el producto gaseoso y confirmar la calidad de red, es decir, un contenido de metano de al menos el 95 % en el producto gaseoso. Este protocolo de tensión se repitió 5 veces hasta que el biocatalizador adaptado fue capaz de transformar el 200 % adicional de la electricidad (es decir, como entrada de gas de alimentación adicional) en metano y durante todo el tiempo produjo sustancialmente un producto gaseoso con un contenido de metano de aproximadamente el 95 % o por encima de este.

Referencias

- Thauer y cols., 2008, *Nature review Microbiology*, Vol. 6, págs. 579-591
- 15 Matin y cols., 2013, *Archaea*, artículo ID 157529, 11 páginas
- Thema y cols., 2019, *Energies* 2019, 12, 1670