



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(52) СПК

*C12P 7/06 (2006.01); C12P 7/065 (2006.01); C12P 3/00 (2006.01); Y02E 50/17 (2006.01)*

(21)(22) Заявка: 2015134217, 11.02.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
11.02.2014Дата регистрации:  
01.08.2018

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
14.02.2013 US 61/764,840;  
09.02.2014 US 14/176,094

(43) Дата публикации заявки: 20.03.2017 Бюл. № 8

(45) Опубликовано: 01.08.2018 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 14.09.2015(86) Заявка РСТ:  
US 2014/015892 (11.02.2014)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2014/126940 (21.08.2014)Адрес для переписки:  
119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,  
"Гоулингз Интернэшил Инк.", Лыу Татьяна  
Нгоковна

(72) Автор(ы):

БЕЛЛ Питер Симпсон (GB),  
ЛИУ Сонг (US)(73) Патентообладатель(и):  
ИНЕОС БИО СА (CH)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: WO02/08438 A2, 31.01.2002.  
WO2009/151342 A1, 17.12.2009. RU 2418070  
C2, 10.05.2011. YOUNESI H. ET AL. Ethanol  
and acetate production from synthesis gas via  
fermentation processes using anaerobic  
bacterium, Clostridium ljungdahlii //  
Biochemical Engineering Journal, 2005, 27, pp.  
110-119. KOPKE M. ET AL. Fermentative  
production of ethanol from (см. прод.)

R U 2 6 6 3 1 0 8 C 2

R U 2 6 6 3 1 0 8 C 2

**(54) СПОСОБ ФЕРМЕНТАЦИИ СОДЕРЖАЩИХ СО ГАЗООБРАЗНЫХ СУБСТРАТОВ**

(57) Реферат:

Предложен способ ферментации содержащего CO субстрата. Способ включает обеспечение содержащего CO субстрата для ферментатора, ферментацию содержащего CO субстрата с клетками ацетогенных бактерий с получением целевой плотности клеток, составляющей от приблизительно 3 г/л до приблизительно 30 г/л, и целевой скорости подачи CO, составляющей от 3,5 до 6 стандартного кубического фута в час на литр, при поддержании концентрации растворенного CO при ферментации,

составляющей от 3,1 до 3,8, или от 2,2 до 3,2, или от 3,1 до 4,1 фунта на квадратный дюйм. При этом концентрацию растворенного CO поддерживают путем снижения целевой скорости подачи CO для ферментации на приблизительно 25% - приблизительно 35% целевой скорости подачи CO с обеспечением первой пониженной скорости подачи CO и поддержания первой пониженной скорости подачи CO в течение от приблизительно 1 до приблизительно 10 минут; последующего повышения первой пониженной

скорости подачи СО для ферментации с обеспечением второй пониженной скорости подачи СО, которая ниже на приблизительно 15% - приблизительно 25% целевой скорости подачи СО, и поддержания второй пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут; затем повышения второй пониженной скорости подачи СО для ферментации с обеспечением третьей пониженной скорости подачи СО, которая ниже на

приблизительно 5% - приблизительно 15% целевой скорости подачи СО, и поддержания третьей пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут и повышения третьей пониженной скорости подачи СО до целевой скорости подачи или больше. Способ является эффективным для обеспечения STY 10 г этанола/(л·день) или больше. 4 з.п. ф-лы, 10 ил., 2 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

**carbon monoxide // Current Opinion In Biotechnology, 2011, 22:320-325.**

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

C12P 7/06 (2006.01); C12P 7/065 (2006.01); C12P 3/00 (2006.01); Y02E 50/17 (2006.01)

(21)(22) Application: 2015134217, 11.02.2014

(24) Effective date for property rights:  
11.02.2014Registration date:  
01.08.2018

Priority:

(30) Convention priority:  
14.02.2013 US 61/764,840;  
09.02.2014 US 14/176,094

(43) Application published: 20.03.2017 Bull. № 8

(45) Date of publication: 01.08.2018 Bull. № 22

(85) Commencement of national phase: 14.09.2015

(86) PCT application:  
US 2014/015892 (11.02.2014)(87) PCT publication:  
WO 2014/126940 (21.08.2014)Mail address:  
119019, Moskva, Gogolevskij b-r, 11, etazh 3,  
"Goulingz Interneshn1 Ink.", Lyu Tatyana Ngokovna

(72) Inventor(s):

BELL Peter Simpson (GB),  
LIU Song (US)

(73) Proprietor(s):

INEOS BIO SA (CH)

R U  
2 6 6 3 1 0 8 C 2

## (54) PROCESS FOR FERMENTING CO-CONTAINING GASEOUS SUBSTRATES

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: process for fermenting a CO-containing substrate is disclosed. Process comprises providing a CO-containing substrate to a fermenter, fermenting the CO-containing substrate with acetogenic bacteria cells to obtain a target cell density of about 3 g/l to about 30 g/l, and a target CO feed rate of 3.5 to 6 standard cubic feet per hour per litre, while maintaining the concentration of dissolved CO during fermentation ranging from 3.1 to 3.8, or from 2.2 to 3.2, or from 3.1 to 4.1 pounds per square inch. Concentration of dissolved CO is maintained by reducing the target CO feed rate for fermentation by

about 25% to about 35% of the target CO feed rate, providing a first reduced CO feed rate and maintaining the first reduced CO feed rate for about 1 to about 10 minutes; subsequent increase in the first reduced CO feed rate for fermentation to provide a second reduced CO feed rate that is lower by about 15% to about 25% of the target CO feed rate, and maintaining a second reduced feed rate for about 1 to about 5 minutes; then raising the second reduced CO feed rate for fermentation to provide a third reduced CO feed rate that is lower by about 5% to about 15% of the target CO feed rate, and maintaining a third reduced feed rate for about 1 to about 5 minutes and increasing the third

R U 2 6 6 3 1 0 8 C 2

reduced CO feed rate to the target feed rate or higher.  
EFFECT: method is effective to provide STY 10 g

ethanol / (l-day) or more.  
5 cl, 10 dwg, 2 tbl, 4 ex

R U 2 6 6 3 1 0 8 C 2

### Область техники

Способ обеспечивает ферментацию содержащих СО газообразных субстратов. Более конкретно, способ включает ферментацию содержащего СО газообразного субстрата для получения целевой плотности клеток и целевой скорости подачи СО, а затем 5 периодическое снижение и повышение скорости подачи СО. Способ является эффективным для поддержания концентрации растворенного СО при ферментации приблизительно 0,25 мМ или меньше.

### Уровень техники

Ацетогенные микроорганизмы могут продуцировать этанол изmonoоксида углерода

10 (СО) посредством ферментации газообразных субстратов. Ферментация с использованием анаэробных микроорганизмов из рода Clostridium дает этанол и другие применимые продукты. Например, в патенте США №5173429 описывается Clostridium ljungdahlii № в ATCC 49587, анаэробный микроорганизм, который продуцирует этанол и ацетат из синтез-газа. В патенте США №5807722 раскрываются способ и устройство 15 для превращения сбросных газов в органические кислоты и спирты с использованием Clostridium ljungdahlii № в ATCC 55380. В патенте США №6136577 раскрываются способ и устройство для превращения сбросных газов в этанол с использованием Clostridium ljungdahlii №№ в ATCC 55988 и 55989.

Способы получения этанола из monoоксида углерода включают культивирование 20 ацетогенных бактерий при повышенных количествах СО в зависимости от времени. Высокие или низкие уровни СО при ферментации могут приводить к снижению производительности. При повышении скоростей подачи СО в ферментатор концентрации растворенного СО в ферментационной среде могут повышаться. Повышение концентрации растворенного СО в ферментационной среде может приводить к СО 25 ингибированию и пониженным уровням производительности.

### Сущность изобретения

Способ обеспечивает высокие уровни производительности по этанолу при ферментации содержащего СО субстрата. Способ контролирует скорости подачи содержащего СО субстрата и плотность клеток во избежание нарушения культуры и СО ингибирования. 30 Способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе с получением целевой скорости подачи СО и поддержания скорости подачи СО в пределах приблизительно семи стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО. Скорость подачи СО является эффективной для поддержания концентрации растворенного СО при ферментации приблизительно 0,25 35 мМ или меньше и STY 10 г общего спирта/(л·день) или больше. Согласно одному аспекту способ включает цикличность скорости подачи СО от целевой скорости подачи СО и приблизительно семи стандартных отклонений до целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО поддерживают в пределах от приблизительно четырех до приблизительно семи стандартных отклонений от целевой скорости подачи 40 СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 20% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО поддерживают в пределах от приблизительно трех до приблизительно пяти стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени 45 ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО поддерживают в пределах от приблизительно одного до приблизительно трех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени

ферментации после достижения целевой скорости подачи СО.

Способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе и ферментацию содержащего СО субстрата с получением целевой плотности клеток и целевой скорости подачи СО. Кроме того, способ включает снижение целевой скорости подачи СО на приблизительно 35% или меньше с обеспечением пониженной скорости подачи СО, поддержание пониженной скорости подачи СО в течение приблизительно 20 минут или меньше и возвращение пониженной скорости подачи СО до целевой скорости подачи СО. Способ является эффективным для обеспечения STY 10 г общего спирта/(л·день) или больше.

Способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе, ферментацию содержащего СО субстрата с получением целевой плотности клеток и целевой скорости подачи СО и поддержание концентрации растворенного СО при ферментации приблизительно 0,25 мМ или меньше. Согласно этому аспекту способ является эффективным для обеспечения STY 10 г этанола/(л·день) или больше. Согласно другому аспекту концентрацию растворенного СО поддерживают путем а) снижения целевой скорости подачи СО для ферментации на приблизительно 25%-приблизительно 35% целевой скорости подачи СО с обеспечением первой пониженной скорости подачи СО и поддержания первой пониженной скорости подачи СО в течение от приблизительно 1 до приблизительно 10 минут; б) повышения первой пониженной скорости подачи СО для ферментации с обеспечением второй пониженной скорости подачи СО, которая ниже на приблизительно 15%-приблизительно 25% целевой скорости подачи СО, и поддержания второй пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут; в) повышения второй пониженной скорости подачи СО для ферментации с обеспечением третьей пониженной скорости подачи СО, которая ниже на приблизительно 5%-приблизительно 15% целевой скорости подачи СО, и поддержания третьей пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут; и д) повышения третьей пониженной скорости подачи СО до целевой скорости подачи или больше. Согласно одному аспекту стадии а)-д) повторяют по меньшей мере приблизительно один раз в час.

Согласно другому аспекту способ во избежание СО ингибиования в ходе ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе и приведение в контакт содержащего СО субстрата с ферментационной средой и ферментацию содержащего СО субстрата. Способ включает определение концентрации растворенного СО в ферментационной среде и поддержания концентрации растворенного СО при ферментации приблизительно 0,25 мМ или меньше. Способ является эффективным для обеспечения STY 10 г этанола/(л·день) или больше.

Согласно другому аспекту способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе и ферментацию содержащего СО субстрата с получением целевой плотности клеток и целевой скорости подачи СО.

Способ включает поддержание превращения Н<sub>2</sub> по меньшей мере приблизительно 25% или больше. Способ является эффективным для обеспечения STY 10 г этанола/(л·день) или больше.

Согласно другому аспекту способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе и ферментацию содержащего СО субстрата с получением целевого превращения Н<sub>2</sub> и целевого поглощения СО.

Способ включает контроль превращения Н<sub>2</sub> и поглощения СО, а также поддержания превращения Н<sub>2</sub> от приблизительно 25% до приблизительно 95% и поглощения СО от

приблизительно 0,001 до приблизительно 10 ммоль/минут/грамм сухих клеток.

Краткое описание чертежей

Вышеупомянутые и другие аспекты, признаки и преимущества некоторых аспектов способа станут более понятными из следующих графических материалов.

<sup>5</sup> На фиг 1А и 1В показаны периодически повторяющиеся паттерны цикличности СО для ферментации.

На фиг 2 проиллюстрированы результаты ферментации с различными скоростями потока газа.

На фиг 3 показан эффект цикличности газа на превращение  $H_2$ .

<sup>10</sup> На фиг 4 проиллюстрировано восстановление превращения  $H_2$  после возобновления цикличности потока газа.

На фиг 5 показаны времена удерживания газа и скорости потока в опытном заводском ферментаторе.

<sup>15</sup> На фиг 6 показаны превращения газа в опытном заводском ферментаторе с 10% и 20% вариациями скорости потока газа.

На фиг 7 проиллюстрировано поглощение субстрата в опытном заводском ферментаторе.

<sup>20</sup> На фиг 8 проиллюстрированы концентрации продукта в опытном заводском ферментаторе.

На фиг 9 проиллюстрирован эффект скоростей цикличности газа на теоретическую продуктивность по этанолу в опытном заводском ферментаторе.

На фиг 10 показана продуктивность по этанолу в опытном заводском ферментаторе.

Подробное описание изобретения

<sup>25</sup> Следующее раскрытие следует рассматривать не как ограничивающее, а исключительно в целях описания основных принципов иллюстративных вариантов осуществления.

Объем настоящего изобретения должен определяться приведенной формулой изобретения.

<sup>30</sup> Ферментации сингаза, проводимый в биореакторах со средой и ацетогенными бактериями, описываемыми в настоящем документе, является эффективным для обеспечения превращений СО в сингаз в спирты и другие продукты. Контроль концентрации СО при ферментации посредством контроля скоростей подачи СО и плотности клеток в ферментационной среде является эффективным для обеспечения высоких уровней продуктивности. Согласно этому аспекту продуктивность может

<sup>35</sup> быть выражена как STY (выход продукта за один проход в единицу времени, выраженный в г общего спирта/(л·день)). Согласно этому аспекту способ является эффективным для обеспечения STY (выхода продукта за один проход в единицу времени) по меньшей мере приблизительно 10 г общего спирта/(л·день). Возможные значения STY включают в себя от приблизительно 10 г общего спирта/(л·день) до приблизительно

<sup>40</sup> 200 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от приблизительно 10 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 160 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от приблизительно 10 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 120 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от приблизительно 10 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 80 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от

<sup>45</sup> приблизительно 20 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 140 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от приблизительно 20 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 100 г общего спирта/(л·день), согласно другому аспекту от

приблизительно 40 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 140 г общего спирта/

(л·день) и согласно другому аспекту от приблизительно 40 г общего спирта/(л·день) до приблизительно 100 г общего спирта/(л·день).

#### Определения

Если не указано иное, следующие термины, используемые по всему описанию

- 5 настоящего раскрытия, определяются следующим образом и могут включать формы либо единственного числа, либо множественного числа.

Термин «приблизительно», модифицирующий какое-либо количество, относится к вариации этого количества, встречающегося в реальных условиях, например, в лаборатории, на опытном заводе или на производственном объекте. Например,

- 10 количество ингредиента или параметра, используемого в смеси, или величина при модификации с помощью «приблизительно» включают в себя вариацию и степень изменения, как правило, используемую при измерении в экспериментальных условиях на промышленном предприятии или в лаборатории. Например, количество компонента продукта при модификации с помощью «приблизительно» включает в себя вариацию  
 15 между партиями в нескольких экспериментах на заводе или в лаборатории и вариацию, свойственную аналитическому методу. Независимо от модификации с помощью «приблизительно» количества включают в себя эквиваленты этих количеств. Любая величина, указанная в настоящем документе и модифицированная с помощью «приблизительно», также может быть использована в настоящем раскрытии как  
 20 количество, не модифицированное с помощью «приблизительно».

Термин «газообразный субстрат» используется в неограничивающем смысле и включает в себя субстраты, содержащие один или несколько газов или полученные из одного или нескольких газов.

Термин «сингаз» или «синтез-газ» означает синтез-газ, который получил свое название

- 25 от смеси газов, которая содержит варьирующие количестваmonoоксида углерода и водорода. Примеры способов получения включают в себя паровой риформинг природного газа или углеводородов для получения водорода, газификацию угля и некоторые типы выработки энергии с использованием отходов в установках газификации. Название происходит от его применения в качестве промежуточных  
 30 соединений в образовании синтезированного природного газа (SNG) и в получении аммиака или метанола. Сингаз является горючим и часто используется как источник топлива или в качестве промежуточного соединения для получения других химических соединений.

Термин «ферментатор» означает устройство для ферментации, состоящее из одного

- 35 или нескольких резервуаров и/или колонн или разводок трубопровода, и включает в себя реактор непрерывного действия с перемешиванием (CSTR), реактор с иммобилизованными клетками (ICR), реактор с орошаемым слоем (TBR), реактор с биопленочным подвижным слоем (MBBR), барботажную колонку, газлифтный ферментер, мембранный реактор, такой как полноволоконный мембранный биореактор (HFMBR), статический смеситель или другой резервуар, или другое устройство, приемлемое для контакта газа с жидкостью.

Термины «ферментация», «процесс ферментации» или «ферментационная реакция» и т.п. охватывают и фазу роста, и фазу биосинтеза продукта способа. Согласно одному аспекту ферментация означает превращение CO в спирт.

- 45 Термин «плотность клеток» означает массу клеток микроорганизма на единицу объема ферментационной питательной среды, например, грамм/литр.

Термин «повышение эффективности», «повышенная эффективность» и т.п. при использовании в отношении процесса ферментации включает повышение одного или

нескольких из скорости роста микроорганизмов при ферментации, объема или массы желаемого продукта (такого как спирты), полученного на потребляемые объем или массу субстрата (такого как моноксид углерода), скорости продуцирования или уровень продуцирования желаемого продукта и относительной доли желаемого

5 продукта, получаемого с другими побочными продуктами ферментации.

Используемый в настоящем документе термин «общий спирт» включает в себя этианол, бутанол, пропанол и метанол. Согласно одному аспекту общий спирт может включать в себя по меньшей мере приблизительно 75 весовых процентов или больше этианола, согласно другому аспекту от приблизительно 80 весовых процентов или больше

10 этианола, согласно другому аспекту от приблизительно 85 весовых процентов или больше этианола, согласно другому аспекту от приблизительно 90 весовых процентов или больше этианола и согласно другому аспекту от приблизительно 95 весовых процентов или больше этианола. Согласно другому аспекту общий спирт может включать в себя приблизительно 25 весовых процентов или меньше бутанола.

15 Термин «специфическое поглощение CO» означает количество CO в ммолях, потребляемое единицей массы клеток микроорганизма (г) на единицу времени в минутах, т.е. ммоль/грамм/минута.

Содержащий CO субстрат

20 Содержащий CO субстрат может включать в себя любой газ, который включает в себя CO. Согласно этому аспекту содержащий CO газ может включать в себя сингаз, промышленные газы и их смеси.

Сингаз может быть обеспечен из любого известного источника. Согласно одному аспекту сингаз может быть получен при газификации содержащих углерод материалов. Газификация включает частичное сжигание биомассы при ограниченной подаче

25 кислорода. Полученный в результате газ преимущественно содержит CO и H<sub>2</sub>. Согласно этому аспекту сингаз будет содержать по меньшей мере приблизительно 10 мол. % CO, согласно одному аспекту по меньшей мере приблизительно 20 мол. %, согласно одному аспекту от приблизительно 10 до приблизительно 100 мол. %, согласно другому аспекту от

30 приблизительно 20 до приблизительно 100 мол. % CO, согласно другому аспекту от приблизительно 30 до приблизительно 90 мол. % CO, согласно другому аспекту от приблизительно 40 до приблизительно 80 мол. % CO и согласно другому аспекту от приблизительно 50 до приблизительно 70 мол. % CO. Некоторые примеры приемлемых

35 способов газификации и устройство представлены в патентных документах США с серийными номерами 61/516667, 61/516704 и 61/516646, все из которых поданы 6 апреля 2011 г., и в патентных документах США с серийными номерами 13/427144, 13/427193 и 13/427247, все из которых поданы 22 марта 2012 г., и все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно другому аспекту способ применяется для обеспечения получения спирта из газообразных субстратов, таких как содержащие высокий объем CO промышленные дымовые газы. Согласно некоторым аспектам газ, который включает в себя CO, получают из содержащих углерод отходов, например, промышленных сбросных газов, или из газификации других отходов. Соответственно, способы являются эффективными способами улавливания углерода, который в противном случае был бы выброшен в окружающую среду. Примеры промышленных дымовых газов включают в себя газы, полученные при изготовлении продуктов из черного металла, изготовлении продуктов из цветных металлов, при способах переработки нефти, газификации угля, газификации биомассы, получении электрической энергии, получении черного угля, получении аммиака, получении метанола и изготовлении кокса.

В зависимости от композиции содержащего CO субстрата содержащий CO субстрат может быть обеспечен непосредственно для процесса ферментации или может быть дополнительно модифицирован для включения в себя соответствующего молярного отношения H<sub>2</sub> к CO. Согласно одному аспекту содержащий CO субстрат, обеспеченный для ферментатора, имеет молярное отношение H<sub>2</sub> к CO приблизительно 0,2 или больше, согласно другому аспекту приблизительно 0,25 или больше и согласно другому аспекту приблизительно 0,5 или больше. Согласно другому аспекту содержащий CO субстрат, обеспеченный для ферментатора, может включать в себя приблизительно 40 мол. 5 процентов или больше CO плюс H<sub>2</sub> и приблизительно 30 мол. процентов или меньше CO, согласно другому аспекту приблизительно 50 мол. процентов или больше CO плюс H<sub>2</sub> и приблизительно 35 мол. процентов или меньше CO и согласно другому аспекту приблизительно 80 мол. процентов или больше CO плюс H<sub>2</sub>, а также приблизительно 10 10 мол. процентов или меньше CO.

Согласно одному аспекту содержащий CO субстрат преимущественно включает в себя CO и H<sub>2</sub>. Согласно этому аспекту содержащий CO субстрат будет содержать по меньшей мере приблизительно 10 мол. % CO, согласно одному аспекту по меньшей мере приблизительно 20 мол. %, согласно одному аспекту от приблизительно 10 до 20 20 мол. %, согласно другому аспекту от приблизительно 20 до приблизительно 100 мол. % CO, согласно другому аспекту от приблизительно 30 до приблизительно 90 мол. % CO, согласно другому аспекту от приблизительно 40 до приблизительно 80 мол. % CO и согласно другому аспекту от приблизительно 50 до приблизительно 70 мол. % CO. Содержащий CO субстрат будет иметь отношение CO/CO<sub>2</sub> по меньшей мере приблизительно 0,75, согласно другому аспекту по меньшей мере 25 приблизительно 1,0 и согласно другому аспекту по меньшей мере приблизительно 1,5.

Согласно одному аспекту газовый сепаратор выполнен с возможностью по существу отделять по меньшей мере одну часть потока газа, при этом часть включает в себя один или несколько компонентов. Например, газовый сепаратор может отделять CO<sub>2</sub> из 30 потока газа, содержащего следующие компоненты: CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, при этом CO<sub>2</sub> может поступать в устройство для удаления CO<sub>2</sub>, а остальная часть потока газа (включающего CO и H<sub>2</sub>) может поступать в биореактор. Может быть использован любой газовый 35 сепаратор, известный в уровне техники. Согласно этому аспекту сингаз, обеспеченный для ферментатора, будет содержать приблизительно 10 мол. % или меньше CO<sub>2</sub>, согласно другому аспекту приблизительно 1 мол. % или меньше CO<sub>2</sub> и согласно другому аспекту приблизительно 0,1 мол. % или меньше CO<sub>2</sub>.

Определенные потоки газа могут иметь высокую концентрацию CO и низкие 40 концентрации H<sub>2</sub>. Согласно одному аспекту может быть желательной оптимизация композиции потока субстрата для достижения более высокой эффективности получения спирта и/или полного улавливания углерода. Например, концентрация H<sub>2</sub> в потоке субстрата может быть повышена перед прохождением потока в биореактор.

Согласно конкретным аспектам настоящего изобретения потоки из двух или более 45 источников могут быть объединены и/или смешаны с получением желаемого и/или оптимизированного потока субстрата. Например, поток, содержащий высокую концентрацию CO, такой как выброс из сталеплавильного конвертера, может быть объединен с потоком, содержащим высокие концентрации H<sub>2</sub>, таким как отходящий

газ из коксовой печи сталеплавильного завода.

В зависимости от композиции газообразного содержащего СО субстрата также может быть желательно обрабатывать его для удаления каких-либо нежелательных примесей, таких как частицы пыли, перед введение его в ферментацию. Например, 5 газообразный субстрат может быть профильтрован или очищен с использованием известных способов.

#### Конструкция и функционирование биореактора

Описания конструкций ферментатора раскрываются в патентных документах США с серийными номерами 13/471827 и 13/471858, поданных 15 мая 2012 г., и в патентном 10 документе США с серийным номером 13/473167, поданном 15 мая 2012 г., все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно одному аспекту процесс ферментации начинают путем добавления среды в резервуар реактора. Некоторые примеры композиции среды описываются в патентных документах США с серийными номерами 61/650098 и 61/650093, поданных 22 мая 2012 15 г., и в патенте США №7285402, поданном 23 июля 2001 г., все из которых включены в настоящий документ посредством ссылки. Среда может быть стерилизованной для удаления нежелательных микроорганизмов, и реактор инокулируют желаемыми микроорганизмами. Стерилизация не всегда необходима.

Согласно одному аспекту используемые микроорганизмы включают в себя

20 ацетогенные бактерии. Примеры применимых ацетогенных бактерий включают в себя представителей рода Clostridium, таких как штаммы Clostridium Ijungdahlii, в том числе описываемые в WO 2000/68407, европейском патенте №117309, патентах США №№5173429, 5593886 и 6368819, WO 1998/00558 и WO 2002/08438, штаммы Clostridium autoethanogenum (DSM 10061 и DSM 19630 из DSMZ, Germany), в том числе описываемые 25 в WO 2007/117157 и WO 2009/151342, Clostridium ragsdalei (P11, ATCC BAA-622) и Alkalibaculum bacchi (CP11, ATCC BAA-1772), в том числе описываемые, соответственно, в патенте США №7704723 и в "Biofuels and Bioproducts from Biomass-Generated Synthesis Gas", Hasan Atiyeh, представленной в Oklahoma EPSCoR Annual State Conference, April 29, 2010, и Clostridium carboxidivorans (ATCC PTA-7827), описываемый в заявке на выдачу 30 патента США №2007/0276447. Другие приемлемые микроорганизмы включает в себя представителей рода Moorella, в том числе Moorella sp. HUC22-1, а также представителей рода Carboxydothermus. Каждая из этих ссылок включена в настоящий документ посредством ссылки. Можно использовать смешанные культуры двух или более микроорганизмов.

35 Некоторые примеры применимых бактерий включают в себя Acetogenium kivui, Acetoanaerobium noterae, Acetobacterium woodii, Alkalibaculum bacchi CP11 (ATCC BAA-1772), Blautia producta, Butyribacterium methylotrophicum, Caldanaerobacter subterraneus, Caldanaerobacter subterraneus pacificus, Carboxydothermus hydrogenoformans, Clostridium aceticum, Clostridium acetobutylicum, Clostridium acetobutylicum P262 (DSM 19630 из DSMZ, 40 Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 19630 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 10061 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 23693 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 24138 из DSMZ, Germany), Clostridium carboxidivorans P7 (ATCC PTA-7827), Clostridium coskatii (ATCC PTA-10522), Clostridium drakei, Clostridium Ijungdahlii PETC (ATCC 49587), Clostridium Ijungdahlii ERI2 45 (ATCC 55380), Clostridium Ijungdahlii C-01 (ATCC 55988), Clostridium Ijungdahlii O-52 (ATCC 55889), Clostridium magnum, Clostridium pasteurianum (DSM 525 из DSMZ, Germany), Clostridium ragsdali P11 (ATCC BAA-622), Clostridium scatologenes, Clostridium thermoaceticum, Clostridium ultunense, Desulfotomaculum kuznetsovii, Eubacterium limosum,

*Geobacter sulfurreducens*, *Methanosarcina acetivorans*, *Methanosarcina barkeri*, *Morrella thermoacetica*, *Morrella thermoautotrophica*, *Oxobacter pfennigii*, *Peptostreptococcus productus*, *Ruminococcus productus*, *Thermoanaerobacter kivui*, а также их смеси.

Ферментацию желательно выполнять при соответствующих условиях протекания 5 желаемой ферментации (например, СО в этанол). Реакционные условия, которые следует учитывать, включают в себя давление, температуру, скорость потока газа, скорость потока жидкости, pH среды, окислительно-восстановительный потенциал Среды, скорость перемешивания (если используется реактор непрерывного действия с перемешиванием), уровень инокулята, максимальные концентрации газа в субстрате, 10 для гарантии того, что СО в жидкой фазе не станет ограничивающим фактором, и максимальные концентрации во избежание ингибирования продукта.

Способы в соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы для поддерживания жизнеспособности микробиальной культуры, при этом микробиальную культуру ограничивают в СО так, что скорость переноса СО в раствор меньше скорости 15 поглощения культурой. Такие ситуации могут возникать, если микробиальная культура не обеспечивается субстратом, содержащим СО, непрерывно; скорость переноса массы низкая, или недостаточно СО в потоке субстрата для поддерживания жизнеспособности культуры при оптимальной температуре. В соответствии с такими вариантами осуществления микробиальная культура будет быстро использовать СО, растворенный 20 в жидкой питательной среде, и субстрат будет ограниченным, поскольку дополнительный субстрат не будет подаваться достаточно быстро.

Начальные действия: При инокуляции начальную скорость подачи подаваемого газа устанавливают эффективной для обеспечения начальной популяции 25 микроорганизмов. Отходящий газ анализируют для определения состава отходящего газа. Результаты анализа газа используют для контроля скоростей подаваемого газа. Согласно этому аспекту способ включает отношение рассчитанной концентрации СО к начальной плотности клеток от приблизительно 0,5 до приблизительно 0,9, согласно другому аспекту от приблизительно 0,6 до приблизительно 0,8, согласно другому аспекту от приблизительно 0,5 до приблизительно 0,7 и согласно другому аспекту от 30 приблизительно 0,5 до приблизительно 0,6.

Согласно другому аспекту процесс ферментации включает обеспечение сингаза в ферментационной среде в количестве, эффективном для обеспечения начальной рассчитанной концентрации СО в ферментационной среде от приблизительно 0,15 mM до приблизительно 0,70 mM, согласно другому аспекту от приблизительно 0,15 mM до 35 приблизительно 0,50 mM, согласно другому аспекту от приблизительно 0,15 mM до приблизительно 0,35 mM, согласно другому аспекту от приблизительно 0,20 mM до приблизительно 0,30 mM и согласно другому аспекту от приблизительно 0,23 mM до приблизительно 0,27 mM. Способ является эффективным для повышения плотности клеток по сравнению с исходной плотностью клеток.

Последующие действия: При достижении желаемых уровней жидкую фазу и 40 клеточный материал удаляют из реактора и пополняют среду. Способ является эффективным для повышения плотности клеток до приблизительно 2,0 грамма/литр или больше, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 30 грамм/литр, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 25 грамм/литр, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 20 грамм/литр, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 10 грамм/литр, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 8 грамм/литр, согласно другому аспекту от приблизительно 3 до приблизительно 30 грамм/литр,

согласно другому аспекту от приблизительно 3 до приблизительно 6 грамм/литр и согласно другому аспекту от приблизительно 4 до приблизительно 5 грамм/литр.

Согласно одному аспекту способ ферментации содержащего СО субстрата включает обеспечение содержащего СО субстрата в ферментаторе с получением целевой скорости подачи СО и поддержания скорости подачи СО в пределах приблизительно семи

- 5 стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту способ включает поддержание скорости подачи СО в пределах приблизительно шести стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО, согласно другому аспекту в пределах приблизительно пяти стандартных отклонений от целевой скорости подачи
- 10 СО, согласно другому аспекту в пределах приблизительно четырех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО, согласно другому аспекту в пределах приблизительно трех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО, согласно другому аспекту в пределах приблизительно двух стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО и согласно другому аспекту в пределах приблизительно одного
- 15 стандартного отклонения целевой скорости подачи СО.

Согласно одному аспекту способ включает цикличность скорости подачи СО от целевой скорости подачи СО до приблизительно семи стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО находится в пределах от приблизительно четырех до приблизительно семи стандартных отклонений

- 20 от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 20% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО находится в пределах от приблизительно 4,5 до приблизительно 6,5 стандартного отклонения целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 3% до приблизительно 15%
- 25 общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО находится в пределах от приблизительно шести до приблизительно 6,5 стандартного отклонения целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 5% до приблизительно 12% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО и согласно другому аспекту
- 30 от приблизительно 6% до приблизительно 12% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО.

Согласно другому аспекту способ включает цикличность скорости подачи СО от целевой скорости подачи СО и находится в пределах от приблизительно трех до приблизительно пяти стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение

- 35 по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО находится в пределах от приблизительно трех до приблизительно четырех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени ферментации
- 40 после достижения целевой скорости подачи СО, согласно другому аспекту от приблизительно 1% до приблизительно 7% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО и согласно другому аспекту от приблизительно 1% до приблизительно 5% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО.

- 45 Согласно другому аспекту способ включает цикличность скорости подачи СО от целевой скорости подачи СО и находится в пределах от приблизительно одного до приблизительно трех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени

ферментации после достижения целевой скорости подачи СО. Согласно другому аспекту скорость подачи СО находится в пределах от приблизительно двух до приблизительно трех стандартных отклонений от целевой скорости подачи СО в течение по меньшей мере от приблизительно 1% до приблизительно 10% общего времени ферментации

5       после достижения целевой скорости подачи СО, согласно другому аспекту от приблизительно 1% до приблизительно 6% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО и согласно другому аспекту от приблизительно 1% до приблизительно 5% общего времени ферментации после достижения целевой скорости подачи СО.

10     Согласно родственному аспекту по достижении целевой скорости подачи контролируют фактические скорости подачи СО. Среднюю скорость подачи СО определяют путем измерения скоростей подачи СО по меньшей мере 3 раза, при этом скорость подачи СО находится в диапазоне целевой скорости подачи СО. Измерения скоростей подачи СО можно выполнять 3 или более раз, согласно другому аспекту 15 любое число раз, так например, любое число измерений от приблизительно 4 до приблизительно 50. Затем можно вычислять стандартное отклонение на основе средней скорости подачи СО.

Согласно одному аспекту способ включает циклы понижения и повышения скоростей подачи СО любым способом, эффективным для обеспечения желаемых концентраций 20 СО, превращений  $H_2$  или поглощения СО. Согласно одному аспекту способ включает снижение целевой скорости подачи СО на приблизительно 35% или меньше в течение приблизительно 20 минут или меньше. Согласно другому аспекту способ включает снижение целевой скорости подачи СО для ферментации на приблизительно 25%-приблизительно 35%, согласно другому аспекту на приблизительно 26%-приблизительно 25% 34% и согласно другому аспекту на приблизительно 28%-приблизительно 32% с 30 обеспечением первой пониженной скорости подачи СО. Первую пониженную скорость подачи СО поддерживают в течение от приблизительно 1 до приблизительно 10 минут, согласно другому аспекту от приблизительно 2 до приблизительно 8 минут, согласно другому аспекту от приблизительно 3 до приблизительно 7 минут и согласно другому аспекту от приблизительно 4 до приблизительно 6 минут.

Согласно другому аспекту способ включает повышение первой пониженной скорости подачи СО с обеспечением второй пониженной скорости подачи СО, которая ниже на приблизительно 15%-приблизительно 25%, согласно другому аспекту на приблизительно 17%-приблизительно 23% и согласно другому аспекту на приблизительно 18%-35% приблизительно 22% целевой скорости подачи СО. Кроме того, способ включает поддержание второй пониженной скорости подачи СО в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут, согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 4 минут и согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 3 минут.

40     Согласно другому аспекту способ включает повышение второй пониженной скорости подачи СО с обеспечением третьей пониженной скорости подачи СО, которая ниже на приблизительно 5%-приблизительно 15%, согласно другому аспекту на приблизительно 7%-приблизительно 13% и согласно другому аспекту на приблизительно 8%-приблизительно 12% целевой скорости подачи СО. Кроме того, способ включает 45 поддержание третьей пониженной скорости подачи СО в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут, согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 4 минут и согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 3 минут. Способ может дополнительно включать повышение третьей

пониженной скорости подачи СО до целевой скорости подачи или до превышающей целевую скорость подачи. Циклы повышения и понижения скоростей подачи СО можно повторять по меньшей мере приблизительно один раз в час, а согласно другому аспекту любой число раз, варьирующее от 1 до 20 циклов в час. Циклы повышения и понижения скоростей подачи СО могут продолжаться до конца ферментации.

На фиг. 1А и 1В показаны два примера вариаций периодически повторяющихся паттернов цикличности СО для ферментации. На двух графиках, показанных на фиг. 1А и 1В, по оси х отложено время, а по оси у - % снижения целевой скорости подачи СО. На фиг. 1А показан прямоступенчатый паттерн, при котором скорости потока регулируются быстро. На фиг. 1В показан плавноступенчатый паттерн, при котором скорости потока регулируются постепенно. Периодически повторяющиеся паттерны не ограничиваются показанными на фиг. 1А и 1В и могут включать в себя любой тип паттерна, обеспечивающий цикличность скоростей потока СО.

Скорости подачи СО могут быть выражены стандартным кубическим футом в минуту

15 (SCFM) или стандартным кубическим футом в час на литр. Согласно этому аспекту стандартный кубический фут в час на литр может находиться в диапазоне от приблизительно 0,9 до приблизительно 2,0, а согласно другому аспекту от приблизительно 1,25 до приблизительно 1,75 SCFM. Согласно другому аспекту средней скоростью подачи СО является скорость подачи СО, эффективная для поддержания

20 отношения скорости подачи СО в ферментатор к объему ферментатора от приблизительно 0,016:1 до приблизительно 0,04:1, согласно другому аспекту от приблизительно 0,02:1 до приблизительно 0,04:1, согласно другому аспекту от приблизительно 0,02:1 до приблизительно 0,035:1, согласно другому аспекту от приблизительно 0,025:1 до приблизительно 0,035:1 и согласно другому аспекту от

25 приблизительно 0,025:1 до приблизительно 0,03:1.

Согласно другому аспекту способ включает контроль превращения Н<sub>2</sub> и поддержание превращения Н<sub>2</sub> на уровне приблизительно 25% или больше, согласно другому аспекту от приблизительно 25% до приблизительно 95%, согласно другому аспекту от приблизительно 30% до приблизительно 90%, согласно другому аспекту от приблизительно 35% до приблизительно 85%, согласно другому аспекту от приблизительно 40% до приблизительно 80%, согласно другому аспекту от приблизительно 40% до приблизительно 70%, согласно другому аспекту от приблизительно 40% до приблизительно 60% и согласно другому аспекту от приблизительно 40% до приблизительно 50%. Способ может дополнительно включать контроль поглощения СО и поддержание поглощения СО на уровне от приблизительно 0,001 до приблизительно 10 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,001 до приблизительно 5 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,001 до приблизительно 4 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,001 до приблизительно 3 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,001 до приблизительно 2 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,001 до приблизительно 1 ммоля/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 9 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 5 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 4 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 3 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 2 ммоль/минут/грамм

сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 0,05 до приблизительно 1 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 8 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 5 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно

5 другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 4 ммоль/минут/грамм сухих клеток, согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 3 ммоль/минут/грамм сухих клеток и согласно другому аспекту от приблизительно 1 до приблизительно 2 ммоль/минут/грамм сухих клеток.

Согласно другому аспекту способ является эффективным для поддержания

10 рассчитанного отношения концентрации CO (мМ) к плотности клеток (грамм/литр) от приблизительно 0,001 до приблизительно 1,0. Согласно другому аспекту рассчитанного отношения концентрации CO к плотности клеток от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,9, согласно другому аспекту от приблизительно 0,01 до приблизительно 0,8, согласно другому аспекту от приблизительно 0,02 до

15 приблизительно 0,8, согласно другому аспекту от приблизительно 0,02 до приблизительно 0,75, согласно другому аспекту от приблизительно 0,03 до приблизительно 0,75 и согласно другому аспекту от приблизительно 0,03 до приблизительно 0,5.

Определение концентраций CO - рассчитанное значение

20 Концентрацию растворенного CO рассчитывали по следующей формуле:

$$P_{co}^L = \frac{CO_{in} - CO_{out}}{\ln(CO_{in}/CO_{out})} * (P_{101} + 14,7) - \frac{q_{co}}{V \cdot K_L \alpha} \times 1200 \times 14,7.$$

При уменьшении газа растворенный CO будет уменьшаться, а также из-за снижения 25 парциального давления CO в отходящем газе и снижения  $K_L$  (коэффициент переноса массы). Когда отсутствует цикличность газа, растворенный CO остается относительно стабильным.

Способ является эффективным для поддержания концентрации растворенного CO приблизительно 0,25 мМ или меньше, согласно другому аспекту приблизительно 0,20 30 мМ или меньше, согласно другому аспекту приблизительно 0,15 мМ или меньше, согласно другому аспекту приблизительно 0,10 мМ или меньше, согласно другому аспекту приблизительно 0,08 мМ или меньше и согласно другому аспекту приблизительно 0,06 мМ или меньше. Согласно другому аспекту концентрация растворенного CO может быть настолько низкой, что доходить до предела выявления CO и по сути может равняться нулю.

## ПРИМЕРЫ

Пример 1: Цикличность газа

Ферментацию проводили с Clostridium ljungdahlii. После начальных действий нарушали ход испытуемого действия ферментации, о чем сигнализировало уменьшение 40 превращения H<sub>2</sub>. Газовый цикл осуществляли в час 126, когда превращение H<sub>2</sub> составляло 23,5%.

Цикличность газа осуществляли следующим образом: пониженная скорость потока газа на 30% в течение 5 минут → обратное изменение от -30% до -20% еще в течение 2 минут → обратное изменение от -20% до -10% еще в течение 2 минут → обратное 45 изменение до начальной скорости потока; повторение этого способа каждый 1 час.

Результаты ферментации иллюстрируются на фиг. 2. Поглощение H<sub>2</sub> продолжалось до угасания в ходе воздействия на газовый цикл, а превращение H<sub>2</sub> заканчивалось на час 160 при 15,6%. Превращение H<sub>2</sub> развивалось в обратном направлении, повышалось,

достигало пика на час 237 и сохранялось в течение следующих 30 часов. Газовый цикл преднамеренно останавливали на час 270 для а) снижения потенциального риска высокой концентрации кислоты и б) подтверждения того, что превращение  $H_2$  будет угасать, и для обеспечения возможности повторного теста газового цикла. И этанол, и кислота начинали снижаться через день (на час 296), при этом превращение водорода имело тенденцию к понижению. Превращение  $H_2$  ускоренно падало в течение периода времени от 308 до 316. Газовый цикл возобновляли, когда превращение  $H_2$  достигало 24% в час 319. Растворенный CO в ходе цикличности газа находился в диапазоне от 3,1 до 3,8 фунта на квадратный дюйм (абсолютное давление).

Улучшенное превращение водорода наблюдали через 6 часов после возобновления газового цикла, и превращение водорода улучшалось до 32% за 20 часов. Газовый цикл сохраняли на прежнем уровне посредством отсутствия изменений ферментации.

**Пример 2: Восстановление превращения  $H_2$  с использованием цикличности газа**

Ферментацию проводили с *Clostridium ljungdahlii*. Как показано на фиг. 3, ферментация характеризовалась низким превращением водорода на протяжении прогона. Цикличность газа осуществляли при тенденции к понижению превращения водорода с возможностью восстановления превращения. Когда цикличность газа прекращали в способе, превращение водорода угасало. Растворенный CO в ходе цикличности газа находился в диапазоне от 3,1 до 4,1 фунта на квадратный дюйм (абсолютное давление).

**Пример 3: Восстановление превращения  $H_2$  с использованием цикличности газа**

Ферментацию проводили с *Clostridium ljungdahlii*. Как показано на фиг. 4, до часа 480 газовый цикл осуществляли, как описано, затем прекращали от часа 480 до 600, когда ферментатор прогоняли при низкой плотности клеток. В час 624 ферментатор запускали сначала, однако, газовый цикл прекращали в час 722 времени способа. Превращение водорода уменьшалось от 50% (и выше) до 40% при постоянной скорости потока газа. Превращение  $H_2$  восстанавливалось обратно до выше 40 после восстановления цикличности. Растворенный CO в ходе цикличности газа находился в диапазоне от 2,2 до 3,2 фунта на квадратный дюйм (абсолютное давление).

**Пример 4: Цикличность газа на опытном заводском ферментаторе**

Опытный заводской главный ферментатор эксплуатировали согласно следующим условиям до начала какой-либо цикличности газа:

объем реактора: 245 литров,

скорость подачи газа: 6 SCFM,

композиция газа: 15%  $H_2$ , 10%  $CO_2$ , 30% CO и 45%  $N_2$ .

Перемешивание поддерживали при 38 Гц или 355 оборотах в минуту.

Эксплуатационное давление в ферментаторе составляло 45 фунтов на квадратный дюйм (манометрическое давление) при 50% наполнении жидкостью рубашки для регулирования температуры.

Теоретическая продуктивность по этанолу (с предположением, что весь превращаемый газ идет на получение этанола) составляла приблизительно 125 г/(л день) с включенной системой рециркуляции воды.

Превращения CO и  $H_2$  составляли приблизительно 77% и 42%.

Концентрация этанола и ацетила составляла 23 и 2,3 г/л.

Время удерживания клеток составляло 19 часов, и время удерживания жидкости составляло 4,4 часа.

Цикличность газа осуществляли следующим образом. Скорость потока газа

повышали на 10% за первые 10 минут каждого часа, а затем возвращали обратно до исходной скорости подачи в течение 50 минут. В течение следующего часа скорость потока газа снижали на 10% в течение 10 минут, затем снова возвращали до исходной скорости подачи газа в течение 50 минут.

- 5 Ферментатор эксплуатировали при исходной скорости подачи газа 6 SCFM в течение приблизительно одного дня. Скорость газа снижали до 5,4 SCFM путем снижения скорости подачи газа на 0,1 SCFM каждые 2 часа. Затем скорость подачи газа поддерживали при 5,4 SCFM еще в течение 54 часов. Цикличность газа изменяли, повышая и понижая до 20% в течение 15 минут. Ферментатор функционировал при
- 10 20% цикличности еще в течение 76 часов без какого-либо затруднения. Затем величину цикличности повышали до 50% с длительностью до 4 часов и временем цикла до 8 часов. Характеристика величины цикличности 10% и 20% показана на фиг. 5-10. На фиг. 5 показаны скорость подачи газа и время удерживания газа за прогон. Скорость подачи газа основывается на основной скорости подачи газа, а время удерживания
- 15 газа основывается на скорости подачи газа, регистрируемой при почасовой выборке. Данные измеряли один раз в час. На фиг. 5 показано время удерживания газа после стабилизации цикличности на ровной линии с некоторыми колебаниями постоянной величины и частоты при измерении в течение периода цикличности. Величина колебаний была выше при 20% цикличности газа, чем при 10% цикличности при измерении в
- 20 течение цикличности.

На фиг. 6 показано превращение  $H_2$  и CO. На фиг. представлена пятидневная выборка перед цикличностью. Превращение CO было более беспорядочным перед цикличностью по сравнению с таковым после цикличности. Превращение  $H_2$  перед цикличностью было существенно более нестабильным, зигзаг по величине был шире, а частота была неравномерной. После цикличности газа превращение  $H_2$  стабилизировалось на уровне около 44% с регулярными колебаниями.

Превращение, показанное на фиг. 7, подобно таковому, показанному на фиг. 5, за исключением того, что оно также включает в себя эффект скорости подачи газа. Поглощение CO перед цикличностью было выше, чем после цикличности по причине более высоких скоростей подачи. Поглощение  $H_2$  было выше после цикличности.

На фиг. 8 показана концентрация продукта перед цикличностью и после цикличности. В целом, концентрация этанола повышалась, а концентрация уксусной кислоты снижалась после цикличности.

На фиг. 9 показана теоретическая продуктивность перед цикличностью газа и после цикличности газа. Теоретическая продуктивность предполагает, что весь потребляемый сингаз идет на получение этанола.

На фиг. 10 показана фактическая продуктивность, которая основывается на измерении концентрации жидкого продукта и скорости потока жидкости, а не на расчетах поглощения газа.

Другой способ реализации преимущества цикличности газа основывается на среднем той же рабочей зоне. В таблице 1 представлены среднее превращения и поглощения CO и  $H_2$ , а также теоретическая продуктивность цикличности газа по сравнению с отсутствием цикличности газа. В таблице 2 представлены средние концентраций продукта и концентрации клеток на протяжении одного и того же периода. 10% цикличность скорости подачи сингаза около 6 SCFM повышала превращение  $H_2$  от диапазона 39-42% до 44,5%, но только немного влияла на превращение CO. Это может немного повышать теоретическую продуктивность. Не наблюдалась тенденция к повышению

превращения  $H_2$  и снижению превращения CO после нарушения хода действия. Если учитывать только последние несколько часов перед цикличностью газа, превращение CO было очень близким, 76,45% по сравнению с 76,33%. На основании двух 13-часовых периодов отсутствия цикличности, 6 SCFM прогонов, среднее превращение  $H_2$  составляло 38,92%, а превращение CO составляло 77,98%. 10% цикличность снижала на 1,65% превращение CO, но повышала на приблизительно 5,56% превращение  $H_2$ . Теоретическая продуктивность слегка повышалась от 128,06 до 133,12 г/(л день). Средняя концентрация этанола и уксусной кислоты без цикличности составляла 23,65 и 2,23 г/л. Цикличность повышала концентрацию этанола до 24,31 г/л, а концентрацию уксусной кислоты до 2,83 г/л.

Преимущество было более очевидно при цикличности около 5,4 SCFM. Не только среднее превращение  $H_2$  было выше, 44-45% по сравнению с 33-42%, но также и теоретическая продуктивность была выше, 124-125 г/(л день) по сравнению с 112,5-114 г/(л день).

Изменение величины цикличности от 10 до 20% только слегка влияло на средние превращение и продуктивность. Превращение CO повышалось на приблизительно 0,85%, а превращение  $H_2$  снижалось на приблизительно 0,75%. Средняя концентрация этанола слегка повышалась от 24,72 до 25,92 г/л, а концентрация уксусной кислоты понижалась от 2,73 до 2,23 г/л.

Таблица 1. Средние превращений газов, поглощение и теоретическая продуктивность

Длительность, часы	Основной газ, SCFM	Цикличность, %	Превращение CO, %	Превращение $H_2$ , %	Теоретич. STY, г/(л день)	Поглощение CO, ммоль/мин	Поглощение $H_2$ , ммоль/мин
17	5,4	0	77,55	41,81	114,09	1,406	0,404
31,5	5,4	0	78,68	32,65	112,49	1,404	0,318
13	6,0	0	78,25	39,37	134,98	1,607	0,433
42	6,3	0	79,34	28,72	131,79	1,690	0,330
58	6,1	0	78,85	34,31	121,77	1,633	0,375
1*	3,5-> 5	0	89,28	76,07	75,28	1,065	0,477
2*	5,0 -> 6,0	0	79,64	35,46	106,58	1,432	0,340
13	6,0	0	77,71	38,46	121,13	1,578	0,412
6#	6,0	0	76,76	41,85	127,61	1,558	0,447
3#	6,0	0	76,45	42,81	131,00	1,552	0,456
1#	6,0	0	76,34	42,16	131,61	1,547	0,448
14	6,0	10%	76,33	44,48	133,12	1,549	0,480
10	6,0 -> 5,4	10%	77,74	47,13	130,24	1,493	0,475
54	5,4	10%	78,57	44,88	123,88	1,433	0,434
76	5,4	20%	79,43	44,12	124,98	1,451	0,425

\*Нарушение переноса газа. Скорость подачи газа снижали до 3,5 SCFM, а затем обратно повышали до 5,0 SCFM в течение одного часа. Скорость потока газа медленно повышали до 6,0 SCFM в течение следующих двух часов.

#Только с использованием данных последних нескольких часов перед цикличностью газа.

Таблица 2. Средняя концентрация продуктов и клеток

Длительность, часы	Основной газ, SCFM	Цикличность, %	Концентрация клеток, г/л	Концентрация ЕТОН, г/л	Концентрация НАс, г/л	Концентрация ВТОН, г/л
17	5,4	0	9,626	26,70	1,39	0,34
31,5	5,4	0	7,243	21,04	2,60	0,68
13	6,0	0	8,832	23,95	2,20	0,13
42	6,3	0	9,044	24,605	1,879	0,050
58	6,1	0	9,064	24,560	2,460	0,041
1*	3,5-> 5	0	8,413	22,17	3,35	0,18
2*	5,0 -> 6,0	0	8,446	22,365	2,975	0,1
13	6,0	0	9,35	23,355	2,255	0,028
6#	6,0	0	9,663	23,225	2,405	0,025
3#	6,0	0	9,728	23,16	2,50	0,02
14	6,0	10%	10,329	24,307	2,830	0,031
10	6,0 -> 5,4	10%	10,306	24,144	2,878	0,030
54	5,4	10%	8,80	24,724	2,729	0,040
76	5,4	20%	8,934	25,924	2,228	0,042

\*Нарушение переноса газа. Скорость подачи газа снижали до 3,5 SCFM, а затем обратно повышали до 5,0 SCFM в течение одного часа. Скорость потока газа медленно повышали до 6,0 SCFM в течение следующих двух часов.

#Только с использованием данных последних нескольких часов перед цикличностью газа.

Несмотря на то что настояще изобретение, раскрываемое в настоящем документе, было описано посредством конкретных вариантов осуществления, примеров и их применений, специалисты в данной области смогут выполнить многочисленные модификации и вариации без отступления от объема настоящего изобретения, определяемого формулой изобретения.

#### (57) Формула изобретения

1. Способ ферментации содержащего CO субстрата, включающий:  
обеспечение содержащего CO субстрата для ферментатора;

ферментацию содержащего CO субстрата с клетками ацетогенных бактерий с получением целевой плотности клеток, составляющей от приблизительно 3 г/л до приблизительно 30 г/л, и целевой скорости подачи CO, составляющей от 3,5 до 6 стандартного кубического фута в час на литр, при поддержании концентрации растворенного CO при ферментации, составляющей от 3,1 до 3,8, или от 2,2 до 3,2, или от 3,1 до 4,1 фунта на квадратный дюйм,

причем концентрацию растворенного CO поддерживают путем:

а) снижения целевой скорости подачи CO для ферментации на приблизительно 25% - приблизительно 35% целевой скорости подачи CO с обеспечением первой пониженной скорости подачи CO и поддержания первой пониженной скорости подачи CO в течение от приблизительно 1 до приблизительно 10 минут;

б) повышения первой пониженной скорости подачи CO для ферментации с обеспечением второй пониженной скорости подачи CO, которая ниже на приблизительно 15% - приблизительно 25% целевой скорости подачи CO, и поддержания второй

пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут;

с) повышения второй пониженной скорости подачи СО для ферментации с обеспечением третьей пониженной скорости подачи СО, которая ниже на

5 приблизительно 5% - приблизительно 15% целевой скорости подачи СО, и поддержания третьей пониженной скорости подачи в течение от приблизительно 1 до приблизительно 5 минут и

10 д) повышения третьей пониженной скорости подачи СО до целевой скорости подачи или больше,

10 при этом способ явается эффективным для обеспечения STY 10 г этанола/(л·день) или больше.

2. Способ по п. 1, при котором стадии а)-д) повторяют по меньшей мере приблизительно один раз в час.

3. Способ по п. 1, при котором целевой скоростью подачи СО является скорость

15 подачи СО, эффективная для обеспечения целевой плотности клеток.

4. Способ по п. 1, при котором содержащий СО субстрат, обеспеченный для ферментатора, характеризуется молярным отношением CO/CO<sub>2</sub> приблизительно 0,75 или больше.

5. Способ по п. 1, при котором ацетогенные бактерии выбраны из группы, состоящей

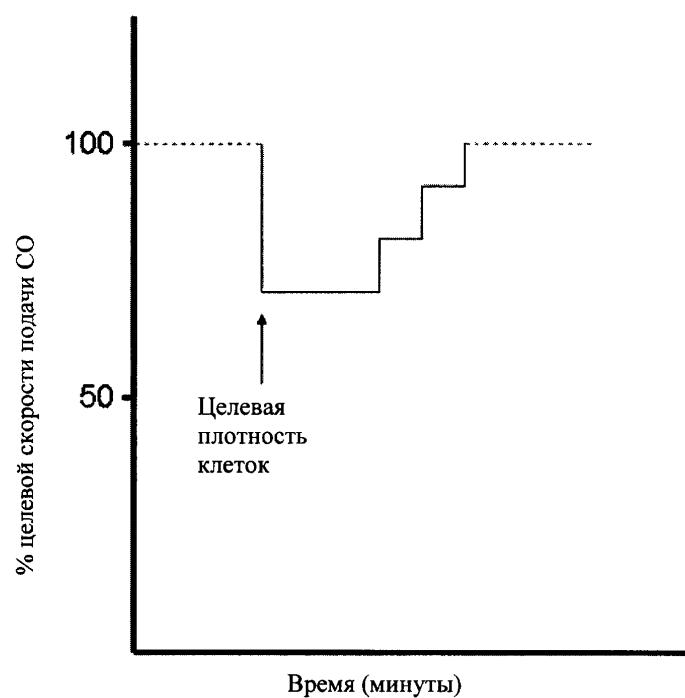
20 из Acetogenium kivui, Acetonaerobium noterae, Acetobacterium woodii, Alkalibaculum bacchi CP11 (ATCC BAA-1772), Blautia producta, Butyribacterium methylotrophicum, Caldanaerobacter subterraneus, Caldanaerobacter subterraneus pacificus, Carboxydothermus hydrogenoformans, Clostridium aceticum, Clostridium acetobutylicum, Clostridium acetobutylicum P262 (DSM 19630 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 19630 из DSMZ, Germany),

25 Clostridium autoethanogenum (DSM 10061 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 23693 из DSMZ, Germany), Clostridium autoethanogenum (DSM 24138 из DSMZ, Germany), Clostridium carboxidivorans P7 (ATCC PTA-7827), Clostridium coskatii (ATCC PTA-10522), Clostridium drakei, Clostridium ljungdahlii PETC (ATCC 49587), Clostridium ljungdahlii ERI2 (ATCC 55380), Clostridium ljungdahlii C-01 (ATCC 55988), Clostridium

30 ljungdahlii O-52 (ATCC 55889), Clostridium magnum, Clostridium pasteurianum (DSM 525 из DSMZ, Germany), Clostridium ragsdali P11 (ATCC BAA-622), Clostridium scatologenes, Clostridium thermoaceticum, Clostridium ultunense, Desulfotomaculum kuznetsovii, Eubacterium limosum, Geobacter sulfurreducens, Methanosaerina acetivorans, Methanosaerina barkeri, Morrella thermoacetica, Morrella thermoautotrophica, Oxobacter pfennigii, Peptostreptococcus productus,

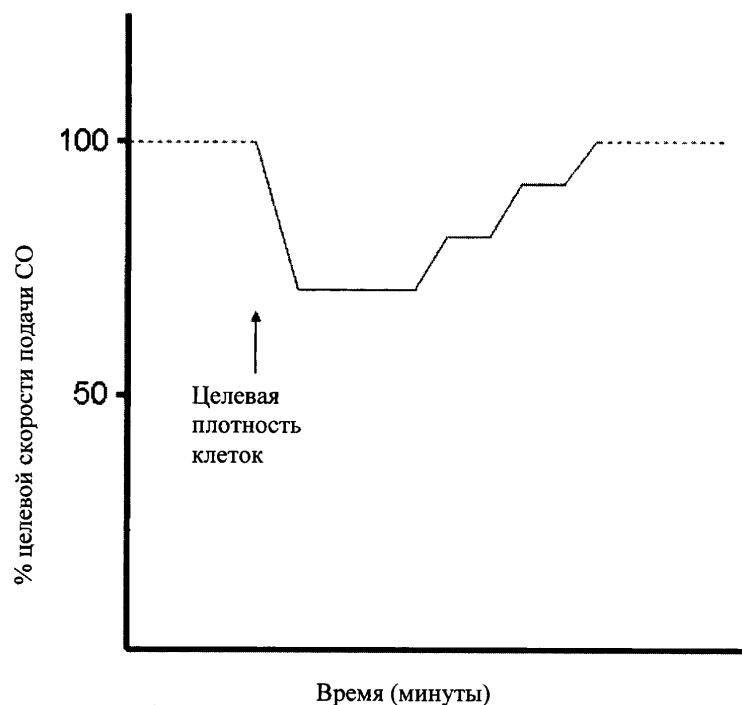
35 Ruminococcus productus, Thermoanaerobacter kivui, а также их смесей.

1/8



**Фиг. 1А**

2/8



Фиг. 1В

3/8



Фиг. 2

4/8

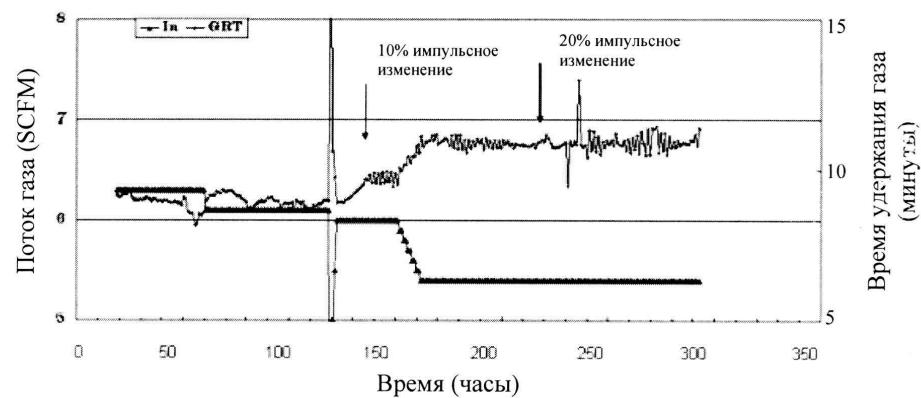
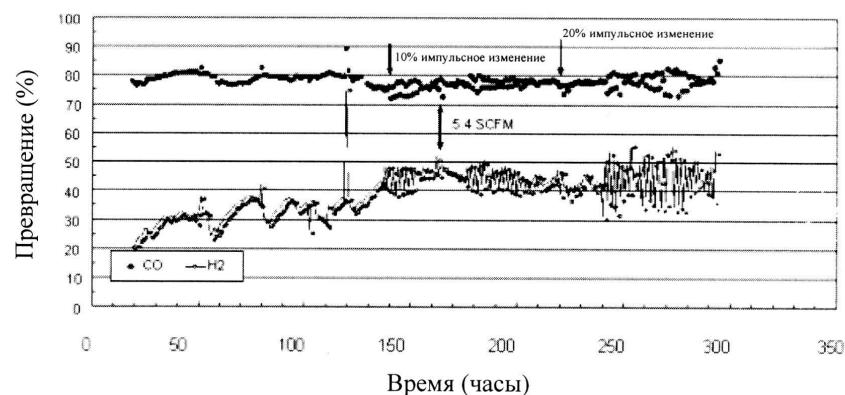
**Фиг. 3**

5/8

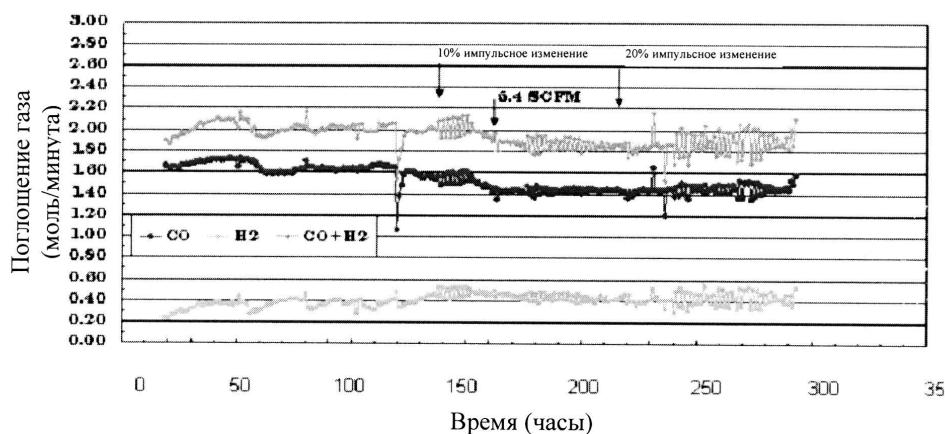


Фиг. 4

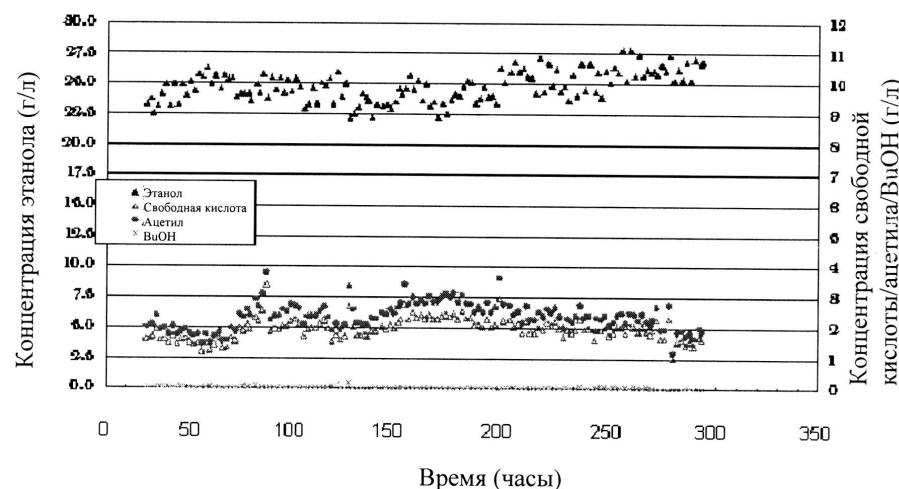
6/8

**Фиг. 5****Фиг. 6**

7/8

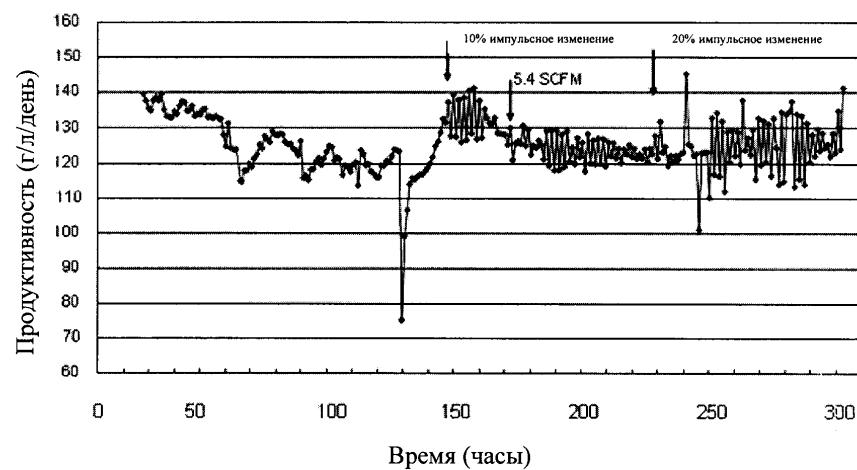


Фиг. 7

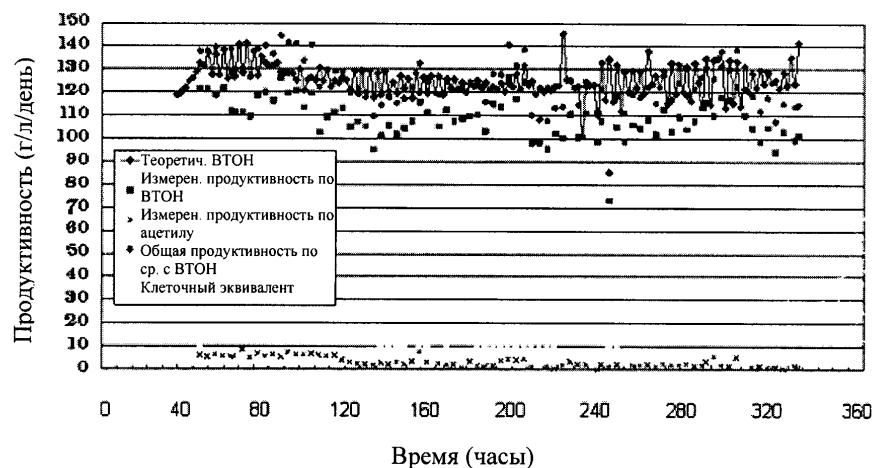


Фиг. 8

8/8



Фиг. 9



Фиг. 10