



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 106574276 B

(45) 授权公告日 2020.11.06

(21) 申请号 201580042314.0

J·C·布罗姆利 J·Y·杨

(22) 申请日 2015.05.06

J·N·威尔森

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106574276 A

(43) 申请公布日 2017.04.19

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 孙占华 张广育

(30) 优先权数据

14/329,881 2014.07.11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2017.02.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/029563 2015.05.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02016/007216 EN 2016.01.14

(73) 专利权人 朗泽科技新西兰有限公司

地址 新西兰奥克兰

(72) 发明人 C·科利特 G·W·沃特斯

(51) Int.Cl.

C12P 7/06 (2006.01)

C12P 1/04 (2006.01)

C12M 1/36 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

G16B 99/00 (2019.01)

(56) 对比文件

CN 102471783 A, 2012.05.23

CN 1444658 A, 2003.09.24

CN 102016052 A, 2011.04.13

审查员 黄炎

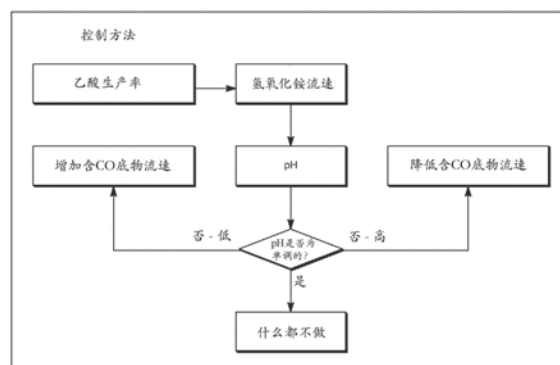
权利要求书3页 说明书13页 附图7页

(54) 发明名称

生物反应器过程的控制

(57) 摘要

公开了用于将CO生物转化为所需最终产物如乙醇的过程,以及相关的系统和计算机程序(软件)产品。用于这些过程的控制方法可以有利地导致在实现连续操作之前的分批操作或其它初始操作期所需的时间减少,所述操作可通过以限定流速添加新鲜培养基或通过另一个过程起始目标来分界。所述控制方法可以可选地或组合地改善过程性能参数,例如在该分批操作或其它初始操作期间的所需最终产物的生产率或细菌生长速率。



1. 一种起始并进行CO向最终产物的转化的方法,所述方法包括:

向包含含有一氧化碳营养细菌的培养基的生物反应器进料含CO底物和碱性中和剂以产生所述最终产物和酸性代谢物,

其中基于所述培养基中的酸性代谢物测量浓度与所述培养基中的酸性代谢物设定点浓度之间的差异来控制所述碱性中和剂流速,其中根据下式确定所述酸性代谢物设定点浓度:

$$A_1 \cdot \text{BIOCONmv} + B_1$$

其中BIOCONmv表示所述培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度,并且 A_1 和 B_1 是根据实验数据凭经验确定的常数;其中

当酸性代谢物测量浓度超过酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速降低;和

当酸性代谢物测量浓度低于酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速增加。

2. 根据权利要求1所述的方法,该方法还包括向生物反应器中加入稀释剂的步骤,其中基于所述培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度来控制向所述生物反应器的稀释剂流速,并且其中根据下式确定稀释剂流速设定点:

$$C_1^{(\text{BIOCONmv})}$$

其中BIOCONmv表示所述培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度,并且其中 C_1 是根据实验数据凭经验确定的常数。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中基于所述培养基的测量pH值来控制含CO底物流速。

4. 一种起始并进行CO向最终产物的转化的方法,所述方法包括:

向含有一氧化碳营养细菌的生物反应器进料含CO底物和碱性中和剂,

其中基于含CO底物测量流速或含CO底物流速设定点来控制碱性中和剂流速;其中碱性中和剂流速设定点随着所述含CO底物测量流速或所述含CO底物流速设定点而线性改变,并且其中根据下式确定所述碱性中和剂流速设定点:

$$Y \cdot \text{COFLOmv} + Z \text{ 或 } Y \cdot \text{COFLOsp} + Z,$$

其中COFLOmv和COFLOsp分别表示所述含CO底物测量流速和所述含CO底物流速设定点,并且其中Y和Z是根据实验数据凭经验确定的常数。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中基于所述含CO底物流速设定点来控制所述碱性中和剂流速。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中根据所述生物反应器中所含的培养基的测量pH值来确定所述含CO底物流速设定点。

7. 根据权利要求1或权利要求4所述的方法,其中 (i) 从选自以下的工业过程获得所述含CO底物: 钢铁制造过程、有色金属产品制造过程、石油精炼过程、生物燃料生产过程、煤气化过程、电力生产过程、炭黑生产过程、氨生产过程、甲醇生产过程、有机物气化、烃的蒸汽重整和焦炭制造过程; (ii) 所述最终产物是乙醇; 并且 (iii) 所述碱性中和剂是氢氧化铵溶液。

8. 一种系统,其包括:

生物反应器,

取样装置,其被配置为从所述生物反应器分离培养基样品,

分析器,其被配置以分析所述样品,和

控制器,其被配置为基于从所述分析器接收的所述培养基的测量特性来控制向所述生物反应器的碱性中和剂流速,

其中所述测量特性为所述培养基中的酸性代谢物测量浓度与所述培养基中的酸性代谢物设定点浓度之间的差异,其中根据下式确定所述酸性代谢物设定点浓度:

$$A_1 \cdot \text{BIOCONmv} + B_1$$

其中BIOCONmv表示所述培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度,并且 A_1 和 B_1 是根据实验数据凭经验确定的常数;

当酸性代谢物测量浓度超过酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速降低;和

当酸性代谢物测量浓度低于酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速增加。

9.一种系统,其包括:

生物反应器,

控制器,其被配置为基于向所述生物反应器的含CO底物测量流速或含CO底物流速设定点来控制向所述生物反应器的碱性中和剂流速;

其中碱性中和剂流速设定点随着所述含CO底物测量流速或所述含CO底物流速设定点而线性改变,并且其中根据下式确定所述碱性中和剂流速设定点:

$$Y \cdot \text{COFLOmv} + Z \text{ 或 } Y \cdot \text{COFLOsp} + Z,$$

其中COFLOmv和COFLOsp分别表示所述含CO底物测量流速和所述含CO底物流速设定点,并且其中Y和Z是根据实验数据凭经验确定的常数;

第二控制器,其被配置以基于测量pH值来控制含CO底物流速;

取样装置,其被配置以从所述生物反应器分离培养基样品,和

分析器,其被配置以分析所述样品并向所述控制器输入所述测量pH值。

10.一种含有计算机程序的装置,其包括上面实施有计算机程序的非临时性计算机可读介质,所述计算机程序包括使处理器执行以下步骤的指令:

从被配置以分析来自生物反应器的培养基样品的分析器接收所述培养基的测量特性,和

向被配置以控制向所述生物反应器的碱性中和剂流速的控制器输入所述培养基的所述测量特性作为控制的基础,

其中所述测量特性为所述培养基中的酸性代谢物测量浓度与所述培养基中的酸性代谢物设定点浓度之间的差异,其中根据下式确定所述酸性代谢物设定点浓度:

$$A_1 \cdot \text{BIOCONmv} + B_1$$

其中BIOCONmv表示所述培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度,并且 A_1 和 B_1 是根据实验数据凭经验确定的常数;

当酸性代谢物测量浓度超过酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速降低;和

当酸性代谢物测量浓度低于酸性代谢物设定点浓度时,碱性中和剂的流速增加。

11.一种含有计算机程序的装置,其包括上面实施有计算机程序的非临时性计算机可读介质,所述计算机程序包括使处理器执行以下步骤的指令:

接收向生物反应器的含CO底物测量流速或含CO底物流速设定点,

向被配置以控制碱性中和剂向所述生物反应器的流速的控制器输入所述含CO底物测量流速或所述含CO底物流速设定点作为控制的基础;

其中碱性中和剂流速设定点随着所述含CO底物测量流速或所述含CO底物流速设定点而线性改变,并且其中根据下式确定所述碱性中和剂流速设定点:

$Y \cdot \text{COFL0mv} + Z$ 或 $Y \cdot \text{COFL0sp} + Z$,

其中COFL0mv和COFL0sp分别表示所述含CO底物测量流速和所述含CO底物流速设定点,并且其中Y和Z是根据实验数据凭经验确定的常数;

从被配置以分析来自所述生物反应器的培养基样品的分析器接收测量pH值,和向被配置为控制含CO底物流速的第二控制器输入所述测量pH值作为控制的基础。

生物反应器过程的控制

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年7月11日提交的美国申请No.14/329,881的权益,该申请的内容特此以引用的方式并入。

技术领域

[0003] 本发明的方面涉及用于将含CO底物微生物发酵成乙醇的过程的起始,例如以实现连续和稳态的操作。具体方面涉及控制操作参数的方式,导致有利的结果。

背景技术

[0004] 对化石燃料温室气体 (GHG) 排放的环境关注导致对可再生能源的日益重视。因此,乙醇正迅速成为世界上主要的富氢液体运输燃料。基于欧洲、日本和美国以及一些发展中国家对乙醇生产的重视增加,预计燃料乙醇工业的全球市场在可预见的未来会持续增长。例如,在美国,乙醇用于生产E10(乙醇在汽油中的10%混合物)。在E10共混物中,乙醇组分充当氧化剂,从而提高燃烧效率并减少空气污染物的产生。在巴西,乙醇作为共混在汽油中的氧化剂,以及作为纯燃料本身,满足运输燃料需求的大约30%。此外,欧盟(EU)已为其每个成员国规定了可持续运输燃料如生物质源乙醇的消耗目标。

[0005] 绝大多数的燃料乙醇是通过传统的基于酵母的发酵过程产生的,所述过程使用作物源碳水化合物,例如从甘蔗提取的蔗糖或从谷物作物提取的淀粉,作为主要碳源。然而,这些碳水化合物原料的成本受到它们在竞争用途(即作为人和动物的食物来源)市场中的价值的影响。此外,用于乙醇生产的淀粉或蔗糖生产作物的栽培在所有地区都不是经济上可持续的,因为这随当地土地价值和气候而变。出于这些原因,开发将较低成本和/或更丰富的碳资源转化为燃料乙醇的技术是特别有意义的。在这方面,一氧化碳(CO)是有机材料如煤、油和油衍生产品的不完全燃烧的主要的富含能量的副产物。富含CO的废气由多种工业过程产生。例如,据报道澳大利亚的钢铁工业每年生产和释放到大气中的CO超过500,000吨。

[0006] 最近,在工业规模上从CO生产乙醇的基于微生物(细菌)的方法替代方案已经成为商业兴趣和投资的主体。在1903年首次发现了微生物培养的生长能力,其中CO是唯一的碳源。该特征后来被确定为在于生物体使用自养生长的乙酰辅酶A(乙酰CoA)生化途径(也称为Woods-Ljungdahl途径和一氧化碳脱氢酶/乙酰CoA合酶(CODH/ACS)途径)。包括一氧化碳营养、光合、产甲烷和产乙酸生物的大量厌氧生物体已经被证明代谢CO。已知厌氧细菌如来自梭菌(Clostridium)属的细菌通过乙酰CoA生化途径从CO、CO₂和H₂产生乙醇。例如,WO 00/68407、EP 1117309 A1、US 5,173,429、US 5,593,886、US 6,368,819、WO 98/00558和WO 02/08438中描述了从气体产生乙醇的各种扬氏梭菌(Clostridium ljungdahlii)菌株。还已知细菌产乙醇梭菌(Clostridium autoethanogenum)从气体产生乙醇(Abrini等,《微生物学年鉴(ARCHIVES OF MICROBIOLOGY)》,161:345-351(1994))。

[0007] 因为生物体的每种酶以基本上完全选择性促进其指定的生物转化,所以与常规催

化途径相比,微生物合成途径能够以更低能量成本实现更高的产率。例如,可以减少从所需产物分离由非选择性副反应产生的副产物的能量需求。此外,由于反应介质中的杂质,对催化剂中毒的关注减少。

[0008] 然而,尽管有这些明显的优点,但是本领域必须解决与从CO微生物合成乙醇相关的某些挑战,特别是在确保生产率与其它技术具竞争性方面。当使用CO作为其碳源时,上述厌氧细菌通过发酵产生乙醇,但它们还产生至少一种代谢物,例如CO₂、H₂、甲烷、正丁醇和/或乙酸。这些代谢物中任何一种的形成具有显著影响给定过程的生产率和总体经济可行性的可能,因为可用的碳损失到代谢物中并且所需最终产物的生产效率受损。此外,除非代谢物(例如乙酸)本身在微生物发酵过程的时间和地点具有价值,否则可能造成废物处理问题。在W02007/117157、W02008/115080和W02009/022925中讨论了用于解决在含CO气体的厌氧发酵以制备乙醇中除所需最终产物之外的产物形成的各种提议。

[0009] 乙醇生产率是关于给定发酵过程是否具有经济吸引力的关键决定因素,其高度依赖于管理细菌生长的适当条件。例如,从W02010/093262中已知含CO的底物必须以导致最佳微生物生长和/或所需代谢物产生的速率提供给微生物培养物。如果提供的底物不足,则微生物生长减慢并且发酵产物产率以牺牲乙醇产生为代价转向乙酸。如果提供的底物过多,则可能导致不良的微生物生长和/或细胞死亡。关于这些过程中的操作参数之间的关系的其它信息见于W02011/002318中。

[0010] 在初始操作期间,操作参数的控制是特别重要的,其中处理目的不仅集中在使细胞培养物生长到足够的水平并建立用于连续操作的其它条件,而且还平衡产物和副产物生产率。在连续生物反应器操作之前,减少进行分批培养操作所需的时间对于改进过程经济性具有重要意义。由如下事实看来尤其如此:能够在含CO气体上生长的微生物通常相比于在利用糖类作为食物来源的竞争技术中使用的微生物这样做的速率更慢。从操作发酵过程的商业角度来看,建立微生物群体、即达到足够高的细胞密度以合成经济上有利的产物水平所需的时间,代表影响总体获利能力的关键操作成本。在初始操作期间(例如在分批条件下)增强培养物生长速率和/或生产率并且从而减少达到所需细胞密度和/或产物水平所需的时间的能力,是从含CO废气生产乙醇的生物过程商业化中的整体成功的重要决定因素。

发明内容

[0011] 本发明的方面涉及基于可用数据控制生物CO转化过程的起始的方法。通常,在这些过程开始时,向生物反应器装入(接种)含有一氧化碳营养细菌(即,具有从CO获得能量的能力)的培养基。根据代表性过程,乙醇是所需的最终产物,而乙酸盐作为不希望的代谢物以乙酸形式产生。如上文所讨论,CO必须审慎地供应到生物反应器以满足竞争目的。特别是,CO的供应不足可以导致以牺牲乙醇形成为代价而形成过量的乙酸盐,而CO的过量供应可以负面地影响细菌生长。鉴于这些考虑,可基于在分批操作期间所期望的细菌生长,结合从其它过程得到的信息,使用CO或含CO气体随时间的流速的指定曲线。

[0012] 在初始操作期(例如分批操作期)内的首要操作目标是增加培养基中细菌(生物质)的浓度。因此,在分批操作期间的气体流量曲线通常是保守的并且试图避免CO的过量供应。这可导致显著量的乙酸形成,在一些情况下超过所需乙醇最终产物的形成。因为在整个细菌转化过程中产生的任何乙酸会降低培养基的pH值,所以可引入碱性中和剂如氢氧化铵

水溶液。可将所述中和剂计量加入生物反应器以维持适于细菌生长的培养基的pH值(例如pH 5.0)。

[0013] 本发明的实施方案涉及用于将CO₂转化为所需最终产物如乙醇的生物发酵过程,其包括将含CO₂的底物和碱性中和剂(例如氢氧化铵水溶液)两者进料至包含含有一氧化碳营养细菌的培养基的生物反应器。所述过程产生所需最终产物以及酸性代谢物(例如乙酸),其被中和剂转化(例如,转化为盐如乙酸铵),以避免培养基中不可接受的pH水平。根据一个代表性实施方案,可基于测量特性,例如培养基中的一氧化碳营养细菌或酸性代谢物的测量浓度或测量生产率,来控制碱性中和剂的流速。可选地,如果这种测量特性不可用,例如,如果缺乏合适的在线取样和分析设备,则可基于含CO₂底物的测量流速或者基于这种底物的设定点来控制碱性中和剂的流速。

[0014] 本发明的其它实施方案涉及包括生物反应器和控制器的系统,所述控制器被配置为基于如上所述的培养基的测量特性或者可选地基于含CO₂底物的测量流速或者基于该底物的设定点,来控制碱性中和剂向所述生物反应器的流速。在基于培养基的测量特性进行控制的情况下,除了被配置来分析分离样品的分析器之外,所述系统还可包括必要的取样装置,其被配置来从生物反应器分离培养基样品以供分析。在上述控制方法替代方案的任一者中,代表性系统可任选地包括第二控制器,其被配置为基于测量pH值来控制含CO₂底物的流速;取样装置,其被配置为从生物反应器分离培养基样品;和/或分析器,其被配置为分析样品并且然后将测量pH值输入到所述控制器。

[0015] 本发明的其它实施方案涉及计算机程序产品,其包括上面实施有计算机程序的非临时性计算机可读介质。这些计算机程序包括用于使处理器执行进行本文所述的控制过程所需的步骤的指令。这些过程包括接收输入到控制器的信息,该控制器被配置为控制碱性中和剂到生物反应器的流速。以这种方式可接收和输入的信息包括从分析器接收的信息,所述分析器被配置为对来自生物反应器的培养基样品分析如上所述的测量特性。可选地,所述信息可以是配置来测量该流量的流速传感器或测量装置接收的含CO₂底物的测量流速。接收的信息还可包括含CO₂底物流速设定点。不管接收和输入到控制器的信息的类型如何,代表性过程还可包括例如从pH计或其它分析器接收测量pH值,所述pH计或其它分析器被配置为直接测量培养基的pH或以其它方式测量来自生物反应器的培养基的样品。测量pH值可输入到被配置为控制含CO₂底物流速的第二控制器,由此测量pH值是控制的基础。

[0016] 涉及本发明的这些和其它实施方案和方面根据以下详细描述是显而易见的。

附图说明

[0017] 通过参考以下结合附图的描述,可获得对本发明的示例性实施方案及其优点的更完整的理解。

[0018] 图1是用于控制用于将含CO₂底物转化为乙醇的生物过程的操作参数的代表性方法的流程图。

[0019] 图2是使用常规控制方法将含CO₂底物转化为乙醇的生物过程的乙醇、一氧化碳营养细菌和乙酸在培养基中的测量浓度随时间变化的图。

[0020] 图3是使用如本文所述的控制方法将含CO₂底物转化为乙醇的生物过程的乙醇、一氧化碳营养细菌和乙酸在培养基中的测量浓度随时间变化的图。

[0021] 图4是使用常规控制方法和如本文所述的控制方法将含CO底物转化为乙醇的生物过程的含CO底物流速随时间变化的比较图。

[0022] 图5是使用常规控制方法和如本文所述的控制方法将含CO底物转化为乙醇的生物过程的一氧化碳营养细菌在培养基中的浓度随时间变化的比较图。

[0023] 图6是使用如本文所述的代表性控制方法将含CO底物转化为乙醇的生物过程的乙醇、一氧化碳营养细菌和乙酸在培养基中的测量浓度随时间变化以及新鲜培养基的测量流速的图。

[0024] 图7是使用如本文所述的替代控制方法将含CO底物转化为乙醇的生物过程的乙醇、一氧化碳营养细菌和乙酸在培养基中的测量浓度随时间变化以及NH₄OH中和剂溶液和含CO底物的测量流速的图。

具体实施方式

[0025] 本发明涉及通过将含CO底物中的CO进料到包含含有一氧化碳营养细菌的培养基的生物反应器来生产所需最终产物如乙醇的过程。除了所需最终产物之外,代表性过程还产生不希望的或不太希望的代谢物。除了所需产物(例如乙醇)之外可产生的酸性代谢物的实例是乙酸盐(例如,呈乙酸形式)。代表性一氧化碳营养细菌或微生物(即从CO获得能量和碳的微生物)是来自以下的那些:穆尔氏菌属(Moorella)、梭菌属(Clostridia)、瘤胃球菌属(Ruminococcus)、醋杆菌属(Acetobacterium)、真杆菌属(Eubacterium)、丁酸杆菌属(Butyribacterium)、产醋杆菌属(Oxobacter)、甲烷八叠球菌属(Methanosarcina)、甲烷八叠球菌属和脱硫肠状菌属(Desulfotomaculum)。梭菌属细菌的具体实例包括扬氏梭菌(C.ljundahlia)、产乙醇梭菌(C.autoethanogenum)、拉氏梭菌(C.ragsdalei)和拜氏梭菌(C.beijerinckii)。

[0026] 代表性含CO底物广泛地包括任何含CO气体或可能是液体,其中一氧化碳可用于一种或多种细菌菌株以进行生长和/或发酵。这些含CO底物优选不在使得污染物可能对一氧化碳营养细菌的生长具有不利影响的程度上包括所述污染物(例如,一种或多种污染物以不使得在给定的一组条件下的生长速率相比于在相同条件但不存在污染物下的生长速率相比减少10%以上的浓度或量存在)。代表性气态含CO底物通常含有显著比例的CO,优选地至少5体积%至100体积%CO。所述底物通常作为工业过程如钢铁制造过程或有色金属产品制造过程的废物产生。产生气态含CO底物的其它过程包括有机物如甲烷、乙烷、丙烷、煤、天然气、原油、来自炼油厂的低价值残渣(包括石油焦炭或石油焦)、固体城市垃圾或生物质的气化。生物质包括在食品的提取和加工过程中获得的副产物,例如来自甘蔗的糖,或来自玉米或谷物的淀粉,或者由林业工业产生的非食物生物质废物。这些含碳物质中的任一种可以被气化,即部分与氧气燃烧,以产生合成气(包含显著量的H₂和CO的合成气)。有利地,来自这些过程的气流可如本文所述用于有益地生产有用的最终产物如乙醇。在其它实施方案中,包含CO的底物可源自烃的蒸汽重整。这些过程更详细地描述于美国申请公开No.US2013/0045517A1;US2013/0210096A1;US2013/0203143A1和US2013/0316411A1以及美国专利No.US 8,383,376中,所有文件的内容以全文引用的方式并入。

[0027] 虽然含CO底物未必含有任何氢,但是H₂的存在通常不会对所需最终产物的形成有害。在具体实施方案中,含CO底物可包含低浓度的H₂,例如小于10体积%、小于5体积%或小

于1体积%。含C0底物还可含有一些CO₂，例如，1体积%至80体积%、1体积%至50体积%、或1体积%至30体积%。任何含C0底物，例如气态含C0底物，可在其用于生物转化过程之前被处理以除去任何不希望的杂质，例如灰尘颗粒或者任何其它可能对一氧化碳营养细菌或一般生物转化过程有害的固态、液态或气态污染物。例如，可使用已知方法过滤或洗涤气态含C0底物。

[0028] 在酸性代谢物为乙酸的上下文中，术语“乙酸”或“乙酸盐”是指培养基中以其阴离子(解离)形式(即乙酸根离子或CH₃COO⁻形式)或游离的分子乙酸(CH₃COOH)形式存在的总乙酸，其中这些形式的比率取决于系统的pH。术语“生物反应器”包括用于容纳可用于进行本文所述的生物过程(其也可被称为发酵过程，其程度为它们通常在厌氧条件下进行)的一氧化碳营养细菌培养物的任何合适的容器。合适的生物反应器可为连续搅拌槽反应器(CSTR)、固定化细胞反应器(ICR)、涓流床反应器(TBR)、移动床生物膜反应器(MBBR)、气泡塔、气体提升发酵器、膜反应器如中空纤维膜生物反应器(HFMBR)、静态混合器，或者可包括适于使含C0底物与细菌培养基接触(例如，具有有利于进行生物转化的溶解和质量传动力学)的其它容器或装置(例如，塔或管道布置)。

[0029] 用于本文所述的生物过程中的其它合适的过程流、操作参数和设备描述于美国专利申请公开No.US2011/0212433中，所述文件特此以全文引用的方式并入。

[0030] 本发明更特别地涉及用于将C0转化为有价值的最终产物如乙醇的生物过程的发现，其中(i)在实现连续操作之前的分批操作期或其它初始操作期(其可通过以限定的流速添加新鲜培养基或通过另一个过程起始目标来分界)所需的时间出乎意料地减少，和/或(ii)在该分批操作期或其它初始操作期间的所需最终产物的生产率或另一个过程性能参数(例如，细菌生长速率)出乎意料地改进。从分批操作到连续操作的转化可通过开始向过程中使用的生物反应器添加新鲜培养基来分界。可选地，如果新鲜培养基的添加速率逐渐增加，而不是在谨慎的时间点开始，则可通过达到新鲜培养基向生物反应器的目标添加速率和/或达到含细菌培养基从生物反应器的目标抽取速率来分界从分批到连续操作的转化。新鲜培养基添加和/或含细菌培养基抽取的目标速率可为与稳态操作(即在所述条件下在生产所需最终产物的一段延长时期(例如，至少3天或至少10天)内保持基本上恒定的操作)相关的速率。否则，这些目标速率可为与稳态操作相关的速率的至少60%、至少75%或至少90%。

[0031] 除了新鲜培养基的目标速率之外，可用于将初始操作期与稳态或“在流(on-stream)”操作期分界的其它过程起始目标可以包括所需产物(例如乙醇)、一氧化碳营养细菌或酸性代谢物的培养基浓度。过程起始目标还可包括所需产物、一氧化碳营养细菌或酸性代谢物的生产率。过程起始目标可以是预定的，即从过程的开始建立并且可能用作用于监测和/或控制生物过程(包括监测和/或控制新鲜培养基添加)的控制系统(包括计算机程序(软件)产品)的输入。

[0032] 本发明的具体实施方案是基于如下发现：可以自动化的某些控制方法可以有效地将含C0底物的流速与培养基的测量特性相匹配。这些方法当用于初始操作期(例如分批操作期)中时或当一般性使用时在乙酸或乙酸盐产生减少方面有利地提供显著改善的平衡，以及避免过量供应C0。令人惊奇的是，与从开始建立含C0气体流速的常规实践相比，分批操作期或其它初始操作期的目标可以在所需最终产物和不希望的代谢物的生产率方面更快

地以及更有效地实现。根据一些实施方案,由于培养基中达到允许转变为连续操作的细菌浓度的启动时间减少,可极大地改善总体过程经济性。例如,相比于使用常规实践来控制过程参数所实现的结果,从生物反应器接种直至达到给定生物质细菌浓度的时间可减少至少20%(例如,20%至80%),通常减少至少35%(例如,35%至75%),并且通常减少至少50%(例如,50%至70%)。

[0033] 根据一种特定的控制方法,在初始操作期(例如分批操作期)内或在一些其它操作期(例如,连续、稳态或正常操作期)内测量的培养基特性被用作控制碱性中和剂(例如,氢氧化铵水溶液)的流速的基础。代表性特性包括酸性代谢物(例如乙酸或乙酸盐)的浓度、酸性代谢物的生产率、一氧化碳营养细菌的浓度、一氧化碳营养细菌的生产率或这些特性的组合。一般来说,任何这些特性的增加将定向导致碱性中和剂的流速的增加。在一个具体实施方案中,基于培养基中的目标酸性代谢物浓度来控制碱性中和剂流速,而所述目标酸性代谢物浓度又由一氧化碳营养细菌的测量浓度确定。以这种方式,控制方法通过生长的细菌培养物引起碱性中和剂的消耗,特别是氮利用增加。这有利地提供了在启动期间(例如分批操作期间)特别适合于以有利的产物产率分布使细菌培养物快速生长的目标的条件。

[0034] 细胞培养基的特性可以连续地或间歇地测量,例如周期性测量,其中每次连续测量之间的时间段通常是每0.1秒至每120秒,通常是每0.5秒至每60秒,并且通常是每秒至每10秒。测量特性可通过一氧化碳营养细菌或酸性代谢物在培养基中的浓度的在线分析获得。基于浓度(例如,以克/升、g/l计)的连续测量,以及连续测量之间的时间间隔,可以计算一氧化碳营养细菌或酸性代谢物的生产率(例如,以每天每升的克数、g/l·d⁻¹计)。例如,如果在连续的时间间隔(指定为时间1和时间2)下测定一氧化碳营养细菌的浓度,则在时间2的一氧化碳营养细菌的生产率可表示如下:(时间2的浓度-时间1的浓度)/(时间2-时间1)。

[0035] 通常,在由于过滤或膜分离而不含或基本上不含一氧化碳营养细菌的培养基样品中测量酸性代谢物浓度。例如,用于除去细菌的具有合适孔径(例如,在0.05μm至1μm范围内)的过滤器可结合在取样系统的样品管线上,所述取样系统被配置为从单个反应器抽取无细胞培养基,或者被配置为在不同时间从多个反应器(例如,2至10个反应器,例如4至6个反应器,其可串联或并联操作,或者以其它方式独立操作)抽取这种液体,以便自动和独立地监测反应器的性能。根据其它实施方案,无细胞培养基样品可作为来自膜分离系统的渗透物流获得,其中富含细胞的滞留物流再循环到生物反应器。如果不用于分析,则渗透物通常可流到第二生物反应器(例如,串联操作)。从生物反应器获得的无细胞滤液或渗透物可以提供用于在线测量最终产物(例如乙醇)浓度或酸性代谢物(例如乙酸或乙酸盐)浓度的特性的代表性样品。这些浓度可通过已知的分析方法如色谱法(例如高压液相色谱法或HPLC)测定。

[0036] 在一氧化碳营养细菌浓度作为测量特性的情况下,如果不用于分析,则可以直接从生物反应器抽取培养基,例如作为可正常流到第二生物反应器(例如,串联操作)的排出流。来自排出流或用于抽取细胞培养基的其它流的样品管线可流体连接到用于在线测量一氧化碳营养细菌浓度特性的合适的分析装置。代表性装置包括以一次性或可重复使用的探针(例如,在线生物质探针)测量通过样品的电磁能量的吸光度或透射率(例如,分光光度计)、样品的某些生物活性(例如,板读取器)或样品的另一种特性(例如,阻抗/电容)的那些。来自排出流或其它流的样品管线可以是取样系统的一部分,所述取样系统被配置为从

单个反应器抽取培养基,或者以其它方式配置为在不同时间从多个反应器(例如,2至10个反应器,例如4至6个反应器,其可串联或并联操作,或以其它方式独立操作)抽取这种液体,以便自动和独立地监测反应器的性能。

[0037] 用于在线分析来自一个或多个生物反应器的培养基的取样系统将包括合适的管道(例如,管系或管路)阀、泵和致动器以允许在所需时间对所需反应器进行自动取样,和适用于冲洗(吹扫)样品管线以获得精确结果的装置。在分析无细胞培养基的情况下,例如为了获得乙醇或乙酸盐的浓度,可将如上所述的过滤液体或膜渗透物至少间歇地、但优选连续地进料(例如,使用蠕动泵泵送),通过被配置用于在线分析的合适的样品容器。例如,与这种样品容器(例如样品瓶)流体连通的入口和出口管线可连续地将过滤的培养基流导入和导出样品容器。根据一些实施方案,培养基通过样品容器的连续进料将涉及在生物反应器的一些操作时期内、例如在至少3分钟、至少5分钟或至少10分钟内,使如上所述的无细胞渗透物或滤液流从样品容器入口流动通过样品容器并到达样品容器出口。根据一个具体的实施方案,例如,可将过滤的无细胞培养基连续地进料通过样品容器达9分钟,接着1分钟在样品管线上反冲洗过滤器,以防止过滤器堵塞。未被取样并且流过样品容器出口的过量培养基可作为废物丢弃。

[0038] 以这种方式,在分析样品容器中的无细胞培养基时在该含细胞培养基中的所需最终产物(例如乙醇)和代谢物(例如乙酸或乙酸盐)的浓度方面,存在于样品容器中的液体代表生物反应器中的含细胞培养基。样品管线的长度可以被最小化以在分析时最小化生物反应器中的最终产物和/或代谢物的实际浓度与样品容器中的无细胞培养基的测量浓度之间的任何偏差。根据一些实施方案,最终产物和/或代谢物的实际浓度与测量浓度之间的偏差将小于10%,小于5%或小于2%。因此可从样品容器抽取无细胞培养基样品并分析,以基本上实时确定生物反应器中的最终产物和代谢物的浓度。例如,自动取样可涉及以固定时间间隔使用取样针刺穿样品容器顶部上的橡胶密封并抽取无细胞培养基样品,其中连续测量之间的时段如上所述。自动取样装置可包括例如2至10个样品容器,例如4至6个样品容器,用于从可串联或并联操作或者以其它方式独立操作的相同数目的生物反应器对培养基取样。

[0039] 更一般地,可使用合适的管道(例如,管系或管路)阀、泵和致动器来配置自动取样装置,用于在不同时间分析多个反应器(例如,2至10个反应器,例如4至6个反应器,其可串联或并联操作,或者以其它方式独立操作)的如上所述的细胞培养基和无细胞培养基,以便自动和独立地监测所述反应器的性能。可在固定时间间隔下自动测定培养基的特性,包括代谢物(例如,乙酸或乙酸盐)的浓度和生产率和/或一氧化碳营养细菌的浓度和生产率,其中连续测量之间的时段如上所述。有利地,使用在线自动化取样和分析允许将分析结果直接输入到相关控制器(例如,用于控制碱性中和剂的流速),而无需人为干预。此外,如本文所述的自动取样装置允许基本上实时地监测一个生物反应器培养基或多个生物反应器培养基的特性,而无需操作者例如通过对来自多个生物反应器的多个液体样品进行稀释和/或移液来跟踪和处理。从而显著改善可靠性和数据再现性,以及生物反应器的整体操作。

[0040] 优选地,如本文所述的控制方法是自动的,包括利用适当指令使用计算机程序以使处理器向控制器发送必要的信号以执行这些控制方法。根据特定的控制方法,培养基的测量特性被用作控制碱性中和剂(例如,氢氧化物化合物,例如氢氧化铵水溶液或其它无机

或有机碱)的流速的基础。与常规控制方法相比,这种控制方法可以有利地减少例如在稳态或连续操作时期之前的初始操作期(例如分批操作期)的时间,所述操作期可通过所需最终产物(例如乙醇)的限定抽取速率或其它限定操作参数来分界。不受理论约束,时间的减少可至少部分地归因于如下事实:一氧化碳营养细菌利用或消耗碱性中和剂(例如,利用碱性中和剂中的氮)。因此,一般来说,如本文所述的控制方法在生物反应器过程中是特别有利的,在所述生物反应器过程中培养基的至少两个进料流(例如,含C0底物和碱性中和剂)被其中所含的细菌消耗、代谢或以其他方式利用。在其它实施方案中,本文所述的控制方法可用于分批操作期与连续操作期,或者仅用于连续操作期。

[0041] 代表性特性包括酸性代谢物(例如乙酸或乙酸盐)或一氧化碳营养细菌的测量浓度(即以质量/体积如克/升或克·升⁻¹为单位)或测量生产率(即以质量/(体积·时间)如克/(升·天)或克·升⁻¹·天⁻¹为单位)。根据优选实施方案,所述测量特性是酸性代谢物的测量浓度或测量生产率。可在初始操作期(例如分批操作期)或其它时期内,利用测量频率并使用如上所述的取样技术来连续地或间歇地(例如周期性地)测量任何上述特性。例如,可使用HPLC对无细胞或至少基本上无细胞的渗透物流样品分析其酸性代谢物浓度。

[0042] 碱性中和剂的流速的控制可更具体地基于如上所述的培养基的任何测量特性与其相应的设定点之间的差异。例如,如果酸性代谢物测量浓度是控制的基础,则可基于培养基中的酸性代谢物测量浓度与酸性代谢物设定点浓度之间的差异来控制碱性中和剂流速。同样,如果酸性代谢物测量生产率、一氧化碳营养细菌测量浓度或一氧化碳营养细菌测量生产率是控制的基础,则可基于如下两者之间的差异来控制碱性中和剂流速:(i)酸性代谢物测量生产率与酸性代谢物设定点生产率,(ii)一氧化碳营养细菌测量浓度与一氧化碳营养细菌设定点浓度,或(iii)一氧化碳营养细菌测量生产率与一氧化碳营养细菌设定点生产率。

[0043] 在确定酸性代谢物设定点浓度的情况下,例如,如果酸性代谢物测量浓度超过该设定点(或目标)浓度,则控制方法可导致定向降低碱性中和剂的流速。这将最终降低培养基中的酸性代谢物的浓度,因为碱性中和剂的流速降低将导致培养基的pH降低。根据优选实施方案,可基于培养基的测量pH值(例如,使用在线pH计获得)来控制含C0底物流速。因此,测量pH值的降低(例如,降至低于pH值设定点或目标,例如4.0、4.5、5.0、5.5或6.0)可造成含C0底物流速增加。当培养基被供给增加流量的含C0底物时,酸性代谢物生产率降低有利于乙醇生产率,导致酸性代谢物浓度降低,例如定向朝向酸性代谢物设定点浓度,并且pH值增加。相反,如果酸性代谢物测量浓度低于所确定的设定点(或目标)浓度,则控制方法可导致定向增加碱性中和剂的流速。这将最终增加培养基中的酸性代谢物的浓度,因为碱性中和剂的流速增加将导致培养基的pH增加。如上所述,可基于培养基的测量pH值(例如,使用在线pH计获得)来控制含C0底物流速。因此,测量pH值增加(例如,增加至高于pH值设定点或目标,例如4.2、4.7、5.2、5.7或6.2)可导致含C0底物流速降低。当培养基被供给降低流量的含C0底物时,以乙醇生产率降低为代价,酸性代谢物生产率增加,导致酸性代谢物浓度增加,例如,定向朝向酸性代谢物设定点浓度,并且pH值降低。

[0044] 如上所述,通过根据培养基的其它测量特性来控制碱性中和剂的流量,类似的控制方法是可能的。例如,(i)如果酸性代谢物测量生产率超过相应的设定点(或目标)生产率,则所述控制方法可导致定向降低碱性中和剂的流速,(ii)如果一氧化碳营养细菌测量

浓度超过相应的设定点(或目标)浓度,则所述控制方法可导致定向增加碱性中和剂的流速,或(iii)如果一氧化碳营养细菌测量生产率超过相应的设定点(或目标)浓度,则所述控制方法可导致定向增加碱性中和剂的流速。图1描绘了代表性控制方法,其中碱性中和剂氢氧化铵(NH₄OH)水溶液的流速是基于酸性代谢物乙酸的测量生产率。而NH₄OH流速又影响培养基的pH。如果对于NH₄OH流速的任何变化的响应是维持培养基pH(即,pH是“单调的”),则含CO底物的流速保持不变。然而,如果这种响应使培养基pH增加至高于其设定点(即,pH“高”),则含CO底物的流量降低,从而增加乙酸生产率并使pH恢复至其设定点。如果这种响应使培养基pH降至低于其设定点(即,pH“低”),则含CO底物的流量增加,从而降低乙酸生产率并使pH恢复至其设定点。

[0045] 培养基特性的任何设定点(例如,酸性代谢物设定点浓度、酸性代谢物设定点生产率、一氧化碳营养细菌设定点浓度或一氧化碳营养细菌设定点生产率)又可基于生物反应器过程的一种或多种其它测量操作参数(例如,测量流速、浓度和/或生产率、或pH)来确定。例如,一氧化碳营养细菌测量浓度或一氧化碳营养细菌测量生产率可用于确定设定点。根据一个具体实施方案,并且基于与本发明有关的某些发现,所述设定点可与一氧化碳营养细菌测量浓度或一氧化碳营养细菌测量生产率成比例。例如,酸性代谢物设定点生产率可通过下式独立确定:

$$[0046] \quad A_1 \cdot \text{BIOCONmv} + B_1 \text{ 或 } A_2 \cdot \text{BIOPRODmv} + B_2$$

[0047] 其中A₁和A₂分别表示设定点与一氧化碳营养细菌测量浓度(BIOCONmv)或一氧化碳营养细菌测量生产率(BIOPRODmv)之间的比例常数,并且B₁和B₂表示偏差。常数A₁和B₁或者A₂和B₂可根据实验数据,例如使用相同生物反应器获得或者使用含有微生物培养物以进行相同转化过程(例如,CO转化为乙醇)的生物反应器以其它方式获得的先验数据,凭经验确定。更具体地,这些常数可通过对这种先验数据进行线性回归分析来获得。在确定BIOCONmv或BIOPRODmv的情况下,可如上所述进行取样和分析以确定一氧化碳营养细菌浓度。

[0048] 因此,在一个示例性实施方案中,可使用在线生物探针或其它取样装置和样品分析器来获得一氧化碳营养细菌测量浓度(BIOCONmv)或一氧化碳营养细菌测量生产率(BIOPRODmv)。根据BIOCONmv或BIOPRODmv的值,例如可根据上文给出的公式确定酸性代谢物设定点浓度(或目标浓度)或酸性代谢物设定点生产率(或目标生产率)。

[0049] 通常将稀释剂如新鲜培养基添加到生物反应器,如果不是最初,则是在生物转化过程期间的某个稍后的时间点。在首先向生物反应器引入一种或多种其它进料(例如,含CO底物和/或碱性中和剂)的同时,可首先引入稀释剂,即稀释剂流开始。否则,可在向生物反应器首先引入一种或多种其它进料(例如,含CO底物和/或碱性中和剂)后(例如,至少2小时后、至少6小时后或至少12小时后)的某个时间首先引入稀释剂。可在达到合适的培养基开始目标后开始新鲜培养基流,其可以与如上所述的任何过程起始目标相同。这种目标可包括例如一氧化碳营养细菌或酸性代谢物的预定浓度或生产率。通常,在给定的质量流速或体积流速下添加稀释剂(例如新鲜培养基)伴随着(例如同时进行)包括所需最终产物和任何代谢物的培养基在相应的质量流速或体积流速下的抽取。抽取的培养基可能(i)不含或基本上不含一氧化碳营养细菌(例如,在通过过滤或膜分离进行分离的情况下),或(ii)含有与生物反应器中所含的培养基相同或基本上相同浓度的一氧化碳营养细菌(例如,在未分离而抽取的情况下)。在一些情况下,抽取的培养基可包括(i)和(ii)的部分(例如,独立

流)。在任何情况下, (i) 和(ii) 中的任一者或两者可进料到第二生物反应器以用于进行相同的生物CO向乙醇的转化过程(例如, 通过与第一生物反应物串联操作)。

[0050] 优选地, 在如本文所定义的分批操作期的全部或部分期间, 稀释剂的流速逐渐增加。然而, 在此期间无需添加任何稀释剂流, 使得仅在稍后(例如连续) 操作期间添加稀释剂流, 或使得将稀释剂引入生物反应器被用于分界从分批操作期到连续操作期的转换。

[0051] 与碱性中和剂流速一样, 可基于培养基的任何测量特性并使用如上所述的任何控制方法来控制稀释剂流速。根据具体实施方案, 基于培养基中的一氧化碳营养细菌测量浓度或一氧化碳营养细菌测量生产率来控制稀释剂向生物反应器的流速。基于与本发明有关的某些发现, 可根据指数函数来确定稀释剂流速设定点, 其中测量浓度或测量生产率是指数。例如, 可根据下式之一来确定稀释剂流速设定点:

$$[0052] \quad C_1^{(BIOCONmv)} \text{ 或 } C_2^{(BIOPRODMv)}$$

[0053] 其中BIOCONmv和BIOPRODMv分别表示一氧化碳营养细菌测量浓度和一氧化碳营养细菌测量生产率, 并且 C_1 和 C_2 是常数。常数 C_1 和 C_2 可根据实验数据, 例如使用相同生物反应器获得或者使用含有微生物培养物以进行相同转化过程(例如, CO转化为乙醇)的生物反应器以其它方式获得的先验数据, 凭经验确定。在确定BIOCONmv或BIOPRODMv的情况下, 可如上所述进行取样和确定一氧化碳营养细菌浓度的分析。

[0054] 根据第二特定控制方法, 无需测量培养基的特性。相反, 可使用先验数据来建立一氧化碳营养细菌浓度和生产率的变量之间的关系, 并且给定组成的含CO气体(或底物)的相应流量将提供酸性代谢物的目标生产率, 以及碱性中和剂流量将维持培养基的pH。例如可使用相同生物反应器或以其它方式使用含有微生物培养物以进行相同转化过程(例如, CO转化为乙醇)的生物反应器来获得先验数据。通过使用来自其它生物CO向乙醇转化过程的信息, 包括一氧化碳营养细菌浓度和生产率, 除了含CO底物的相应流速之外, 可对于所需酸性代谢物生产率估计碱性中和剂的流速。此外, 使用这种信息, 可估计含CO底物的流速以供应给定的一氧化碳营养细菌浓度并达到所需的酸性代谢物生产率。

[0055] 过程变量之间的具体关系例如可基于下面的等式:

$$[0056] \quad W \cdot BIOPROD + X \cdot METPROD = NEUTFLO = Y \cdot COFLO + Z$$

[0057] 其中BIOPROD、METPROD、NEUTFLO和COFLO分别表示一氧化碳营养细菌生产率、酸性代谢物生产率、碱性中和剂向生物反应器的流速和含CO底物向生物反应器的流速, 并且W、X、Y和Z是基于如上所述的先验数据凭经验确定的常数。更具体地, 这些常数可通过对所述先验数据进行线性回归分析来获得。可如上所述测量生产率(例如, 在一氧化碳营养细菌浓度或生产率的情况下使用分光光度计、板读取器或生物质探针, 和/或在酸性代谢物浓度或生产率的情况下使用HPLC)。

[0058] 因此, 根据具体实施方案, 在将含CO底物和碱性中和剂进料到生物反应器的分批操作期或其它操作期间, 基于含CO底物的流速来控制碱性中和剂流速。例如, 可基于测量值(即含CO底物测量流速)或者设定点值(即含CO底物流速设定点)来控制碱性中和剂流速。也就是说, 可根据这种测量值或设定点值来确定碱性中和剂流速的设定点。根据某些实施方案, 如从上述过程变量关系显而易见的是, 碱性中和剂流速设定点可随着含CO底物测量流速或含CO底物流速设定点而线性改变。更具体地, 可根据下式确定碱性中和剂流速设定点:

$$[0059] \quad Y \cdot COFLO_{mv} + Z \text{ 或 } Y \cdot COFLO_{sp} + Z$$

[0060] 其中COFL0mv和COFL0sp分别表示含C0底物测量流速和含C0底物流速设定点。Y和Z表示常数,即在Y的情况下表示COFL0mv或COFL0sp与碱性中和剂流速设定点之间的比例常数,并且在Z的情况下表示偏差。

[0061] 在这些控制方法的特定类型中,含C0底物的流速又可基于培养基的pH值来控制。例如,如果培养基的pH测量值低于pH设定点(例如,上文指出的具体pH值之一),则培养基变得过于酸性,并且作为响应,含C0底物流速增加(例如,通过自动增加含C0底物入口管线上的控制阀的开口百分比)以向细菌培养物供应更多的C0并降低酸代谢物的生产率。相反,如果培养基的pH测量值上升到高于该pH设定点,则培养基变得过于碱性,并且作为响应,含C0底物流速降低(例如,通过自动降低含C0底物入口管线上的控制阀的开口百分比)以向细菌培养物供应较少的C0并增加酸代谢物的生产率。

[0062] 可选地,可从培养基的测量pH值来确定含C0流速设定点,其中该设定点表示与含C0流速测量值的偏差。鉴于这些考虑,对于培养基的测量pH值,除了碱性中和剂的流速之外,还可产生含C0底物流速的设定点。然而,通常优选的是含C0底物测量流速,使用该测量流速(相对于流速设定点)来确定碱性中和剂流速的设定点。可使用例如在线pH分析器连续地或间歇地(例如,在固定时间间隔下周期性地)测量培养基pH值。否则,可手动测量该pH值。

[0063] 实施例

[0064] 提出以下实施例作为本发明的代表。这些实施例不应被解释为限制本发明的范围,因为鉴于本公开和所附权利要求,这些和其它等效实施方案将是显而易见的。

[0065] 实施例1

[0066] 常规“基于时间”的启动与本发明的“自动”启动的比较

[0067] 通过用含有扬氏梭菌的培养基接种生物反应器来起始C0转化为乙醇的生物过程。培养基的pH随着乙酸产生开始下降。当培养基的pH达到5.0时,开始向生物反应器进料含C0底物和氢氧化铵。通过常规的预定的基于时间的曲线来控制含C0底物在启动时的流速,其中避免C0过量供应是主要目的。为了比较的目的,使用如本文所述的控制方法来起始相同的过程,其中基于通过HPLC自动且周期性地测量的培养基中的乙酸盐(呈乙酸形式)的浓度来控制氢氧化铵的流速。这些比较性启动的进程示于图2和图3中,其提供在两天时期内的乙醇、细菌和乙酸在培养基中的浓度。根据本发明的代表性实施方案,在常规的基于时间的启动的情况下(图2—“基于时间的控制”)和在自动启动的情况下(图3—“自动控制”),提供该信息。

[0068] 从图2和图3的比较显而易见的是,在基于时间的启动的第1天,所需产物乙醇的浓度小于2克/升(g/l),而在自动启动中此时的这个浓度已经接近8g/l。此外,如图4中所示,显然,相比于基于时间的启动,自动启动导致含C0底物流速增加快得多。这是由于为生产乙醇向细菌培养物连续供应所需量的C0,而没有对细菌生长有害的过量供应。在基于时间的曲线的情况下,含C0底物的流速在特征上是保守的,以确保避免C0过量供应。然而,结果,C0供应不足是不可避免的,并且乙酸是主要产物,而不是乙醇。图5比较了使用这两种控制方法的这些启动过程的细菌随时间变化的浓度。显然,即使在自动启动的情况下具有较高的C0流速,微生物生长也不被抑制,并且实际上其得以增强。

[0069] 基于这些结果,如本文所述的控制方法可以提供显著的过程益处,特别是在减少

实现给定过程目标(例如所需的乙酸浓度或细菌浓度)所需的时间方面。该目标可能与初始启动期(例如分批操作期)的完成相关,在这种情况下,可以更快速地和有效地实现到连续操作的转换。这导致重要的商业益处,包括减少材料消耗和降低总体操作成本。在利用配备有细胞再循环系统的两个反应器操作的过程的情况下,可直接从反应器对无细胞渗透物取样并且将这些样品进料到自动HPLC而无需任何进一步处理,即无需样品过滤或离心。相比之下,在注入到HPLC之前,常规样品制备方法需要添加特定的酸或碱,接着离心或过滤。这涉及手动移液,增加了复杂性并导致结果的更大误差。

[0070] 实施例2

[0071] 自动启动—基于测量浓度控制NH₄OH流量

[0072] 通过用含有扬氏梭菌的培养基接种生物反应器来起始C₀转化为乙醇的生物过程。培养基的pH随着乙酸产生开始下降。当培养基的pH达到5.0时,开始向生物反应器进料含C₀底物和氢氧化铵。基于生物反应器中的测量细菌浓度,根据以下等式确定乙酸盐(乙酸)目标浓度和稀释剂流速:

[0073] 乙酸盐目标浓度 = $A_1 \cdot \text{BIOCON}_{mv} + B_1$

[0074] 稀释剂流速 = $C_1^{(\text{BIOCON}_{mv})}$

[0075] 其中从先前过程中获得的信息凭经验确定 A_1 、 B_1 和 C_1 。基于使用在线HPLC测量的乙酸浓度,自动调节,即增加氢氧化铵的流速以增加细菌的乙酸产生,或降低氢氧化铵的流速以降低乙酸产生。气态含C₀底物的流量自动增加或降低以维持培养基的pH在目标pH=5.0。除了稀释剂的流速之外,乙醇、细菌和乙酸随时间变化的浓度示于图6中。

[0076] 实施例3

[0077] 自动启动—仅基于测量pH和含C₀底物流量

[0078] 基于如实施例1中所述的生物过程的先前启动数据,其中通过将C₀进料到含有扬氏梭菌的培养基而将其转化为乙醇,在反应器中的给定细菌浓度、得到目标乙酸生产率所需的给定组成的含C₀底物的相应流速和将培养基pH维持在给定目标所需要的所需氢氧化铵流速之间建立关系。这些关系如下:

[0079] $W \cdot \text{BIOPROD} + X \cdot \text{METPROD} = \text{NEUTFLO} = Y \cdot \text{COFLO} + Z$

[0080] 其中BIOPROD、METPROD、NEUTFLO和COFLO分别表示细菌(生物质)生产率、乙酸(乙酸盐)生产率、NH₄OH向生物反应器的流速和含C₀底物向生物反应器的流速。根据在先前过程中获得的信息凭经验(使用线性回归)确定因子W、X、Y和Z,其中细菌生产率测量是基于在连续时间间隔下测量的浓度。也就是说,测量细菌生产率被计算为(时间2的细菌浓度-时间1的细菌浓度)/(时间2-时间1)。在这些先前过程中,使用分光光度计或板读取器或生物质探针来测量细菌浓度,并且测量乙酸生产率计算为(时间2的乙酸浓度-时间1的乙酸浓度)/(时间2-时间1)。通过HPLC测量乙酸和乙醇浓度。根据从这些先前过程产生的数据,确定以下因子:W=1.2,X=1.5,Y=1.46和Z=3.21。

[0081] 因此,用于自动启动的关系是 $\text{NEUTFLO} = 1.46 \cdot \text{COFLO} + 3.21$ 。通过使用PID控制器自动调节含C₀底物的流量将培养基的pH维持在5.0。基于含C₀底物的测量流速,将上文的关系用于设定氢氧化铵流速。

[0082] 除了氢氧化铵和含C₀底物的流速之外,乙醇、细菌和乙酸随时间变化的浓度示于图7中。有利地,第一天的细菌生长较高,为2.9克/(升·天),并且乙酸生产率较低,为2.8

克/(升·天)。将乙醇生产率和浓度最大化。这些观测结果与生物CO₂转化过程的成功启动一致,这在建立连续过程之前是关键。重要的是,生物反应器中的细菌和乙酸的测量浓度不直接用于该控制方法。相反,监测这些浓度,仅在一定程度上确认操作的进程,但没有反馈到自动化中。

[0083] 总的来说,本发明的方面涉及用于生物发酵过程的控制方法,在所述过程中使用含CO₂底物来产生更高价值的产物如乙醇。所述控制方法可有利地缩短这些过程的起始或启动,以使得在接种生物反应器后相比于使用常规控制方法(例如,含CO₂底物流量的基于时间的曲线)所需的时段更短的时段内达到连续生产(例如,在达到给定过程起始目标后)。这些控制方法可以可选地或另外在起始或启动期间改进所需最终产物的生产率和/或改进细菌的生长速率。本领域技术人员利用从本公开获得的知识将认识到,可以在不脱离本发明的范围的情况下对控制方法、系统和计算机程序产品进行各种改变。

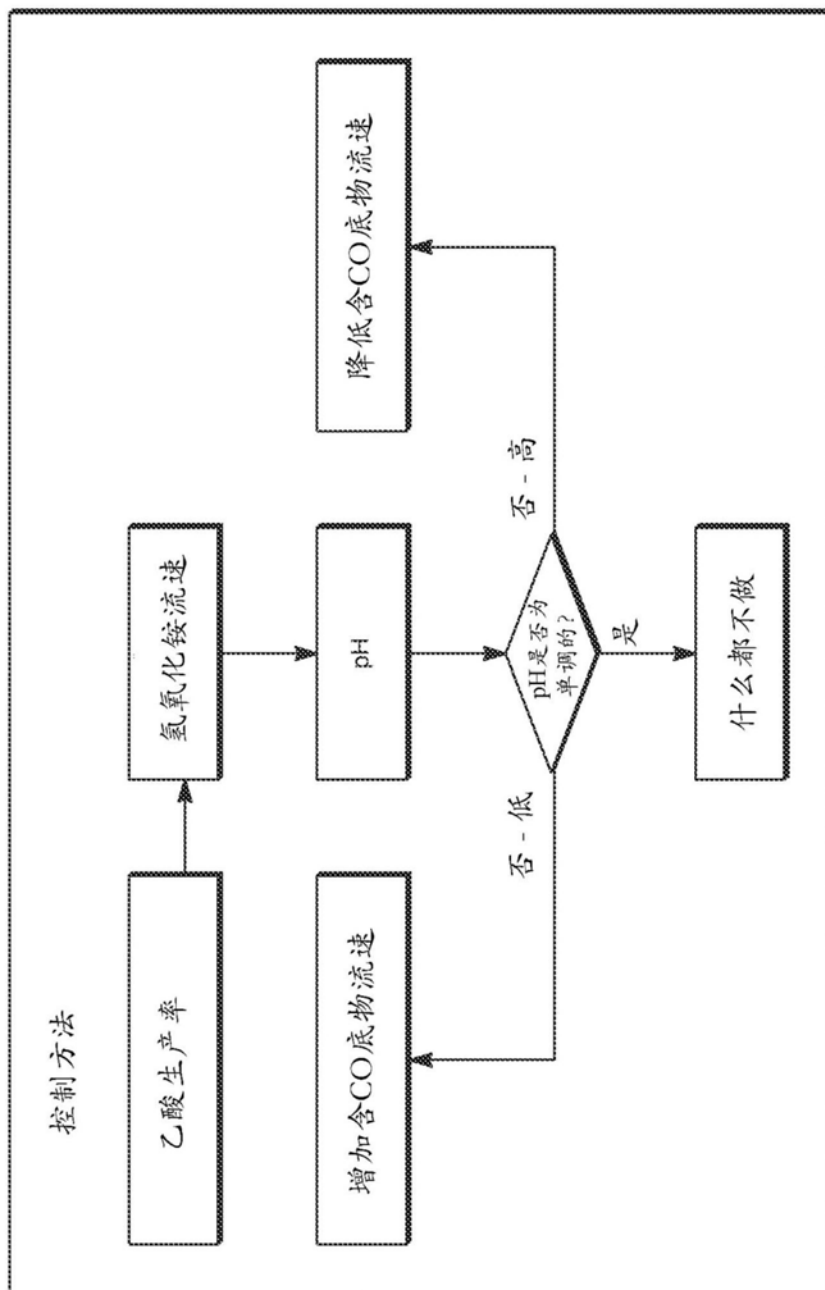


图1

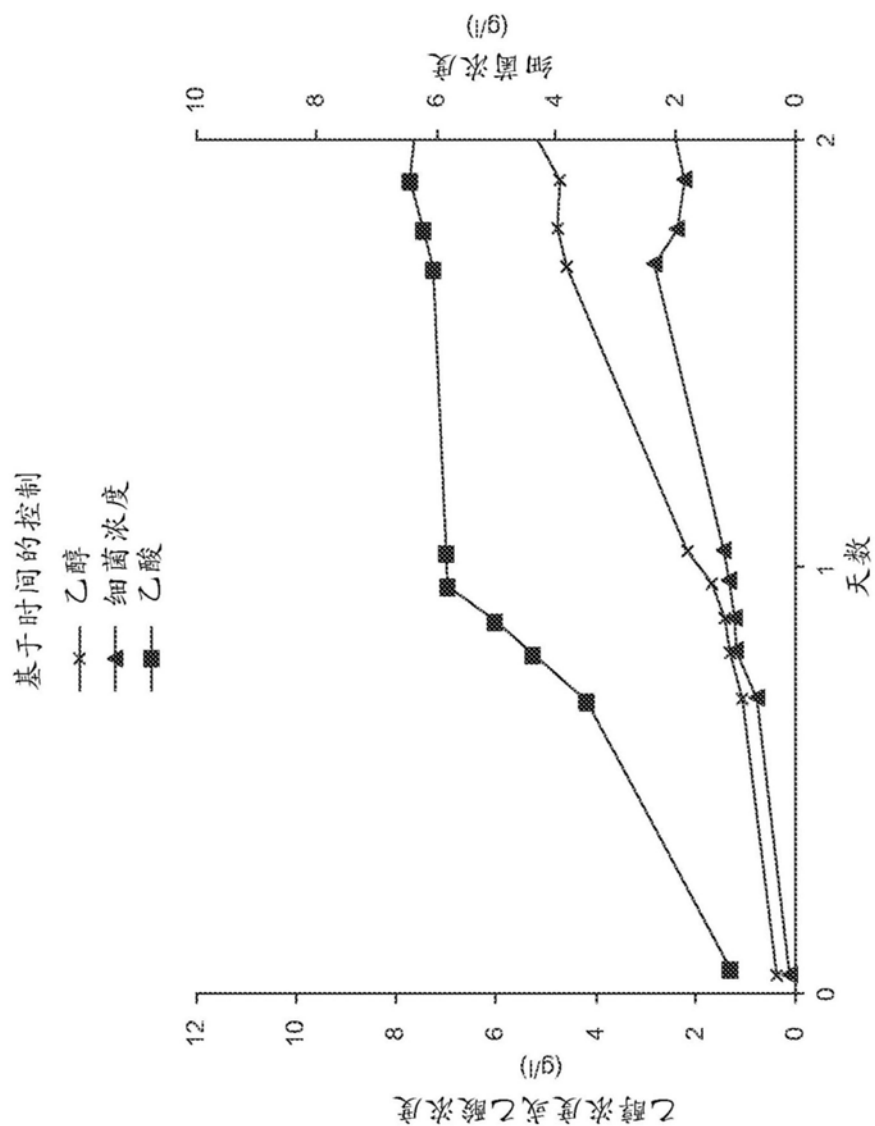


图2

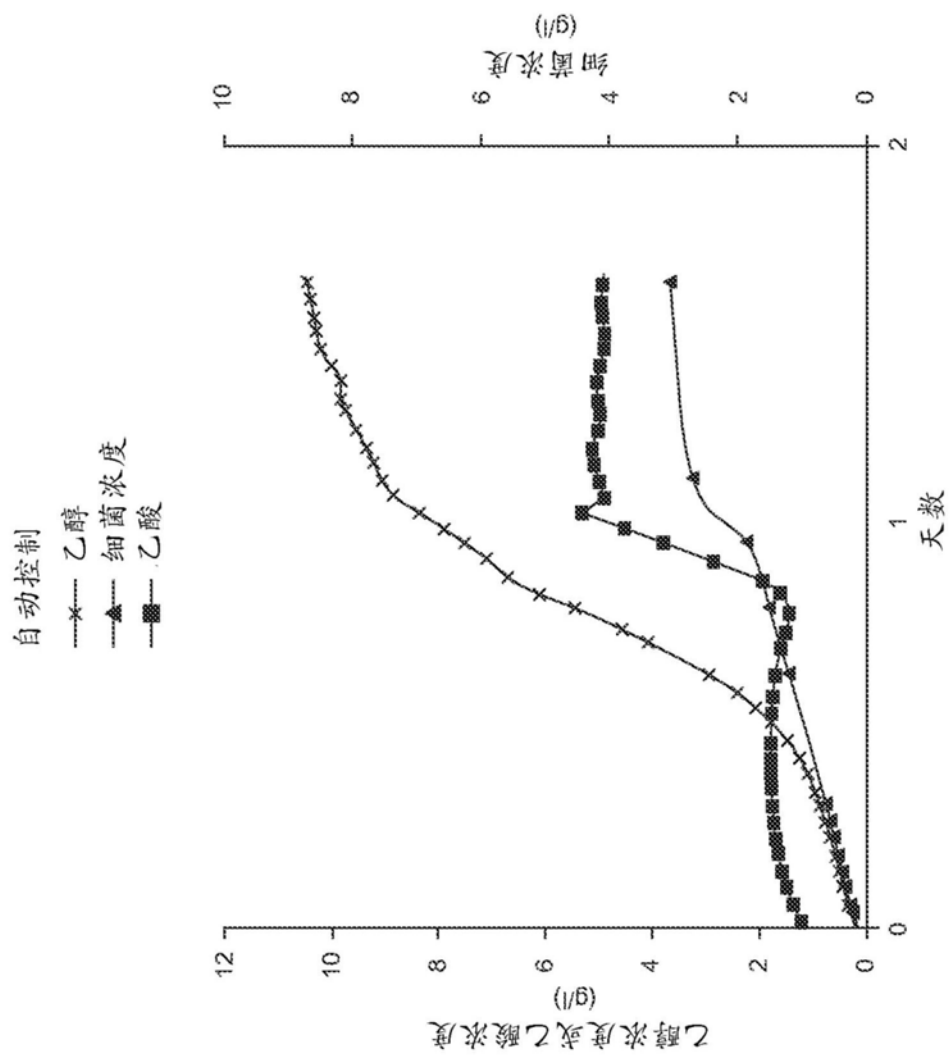


图3

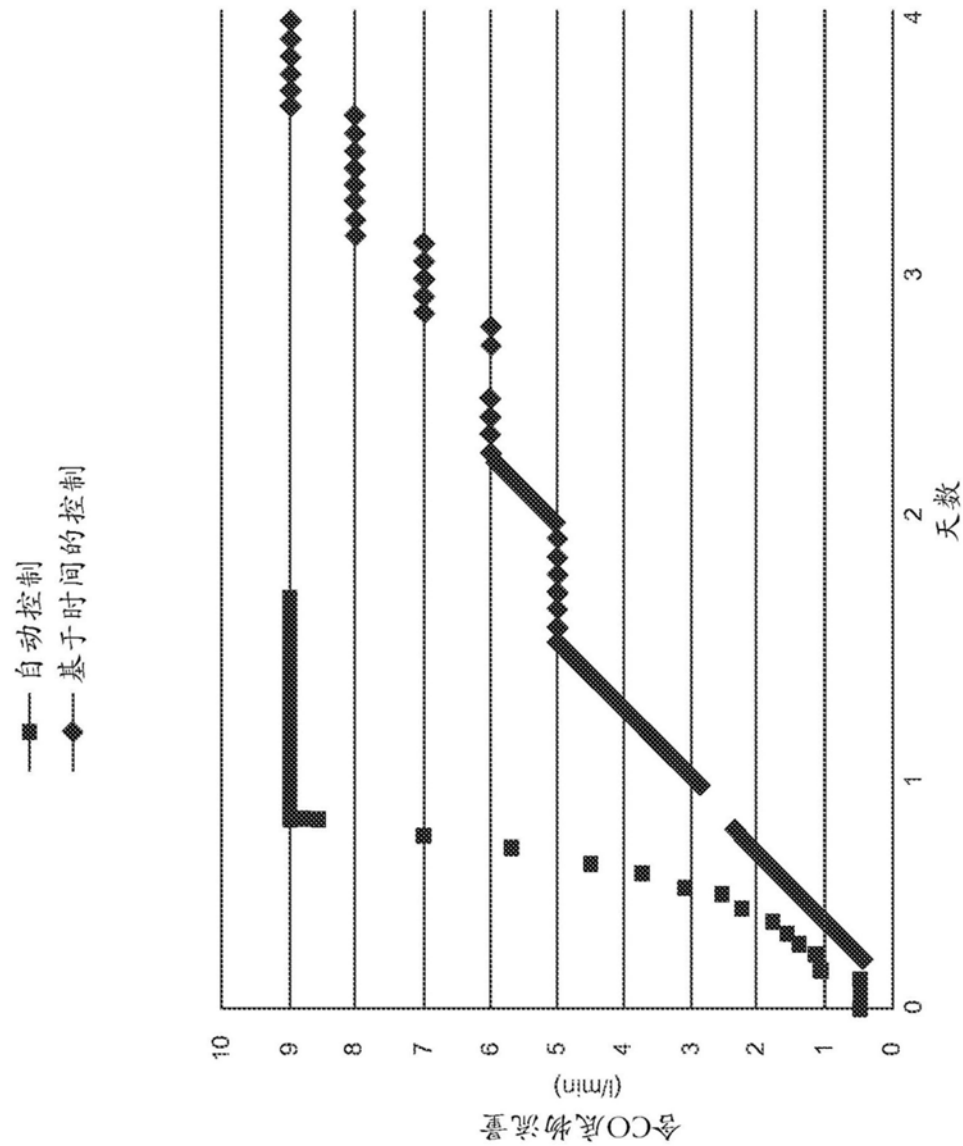


图4

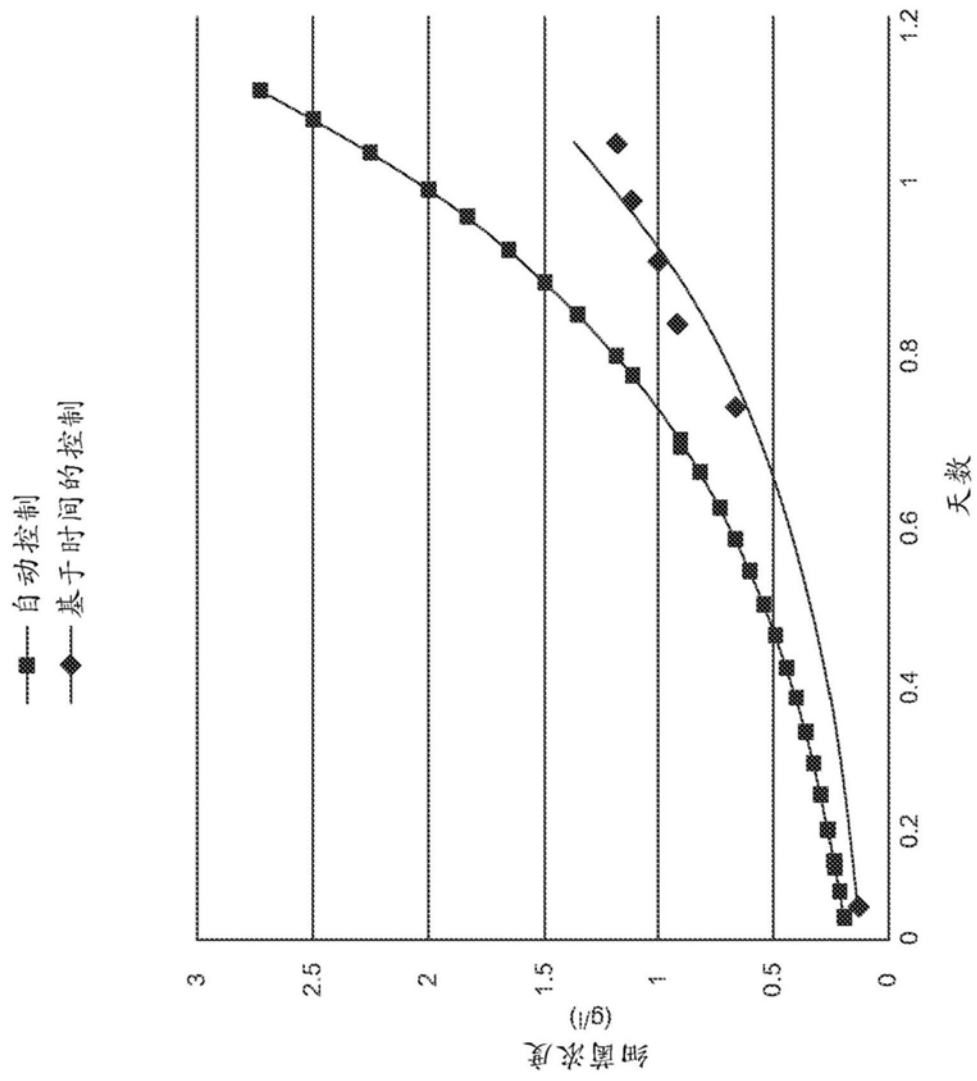


图5

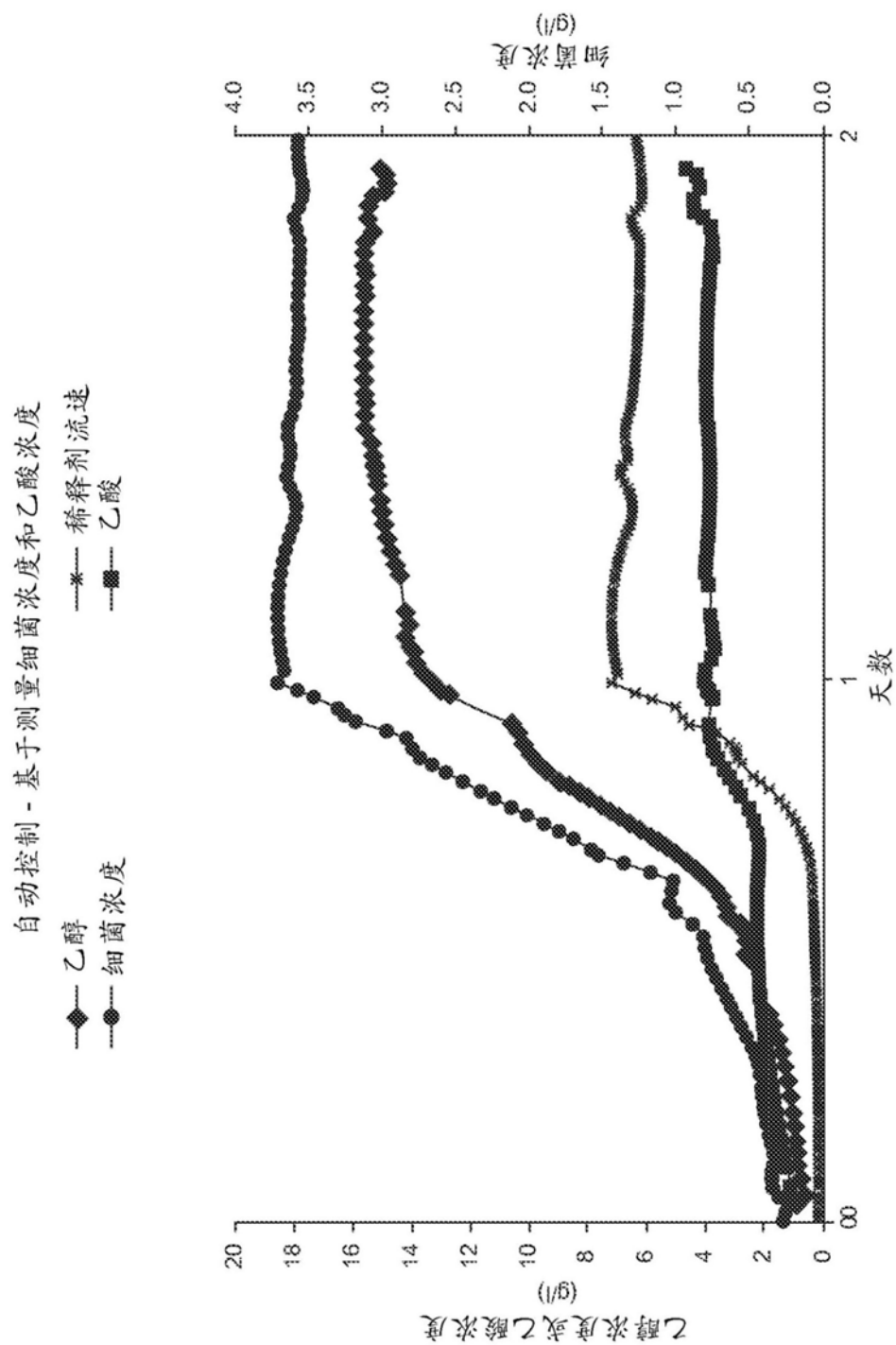


图6

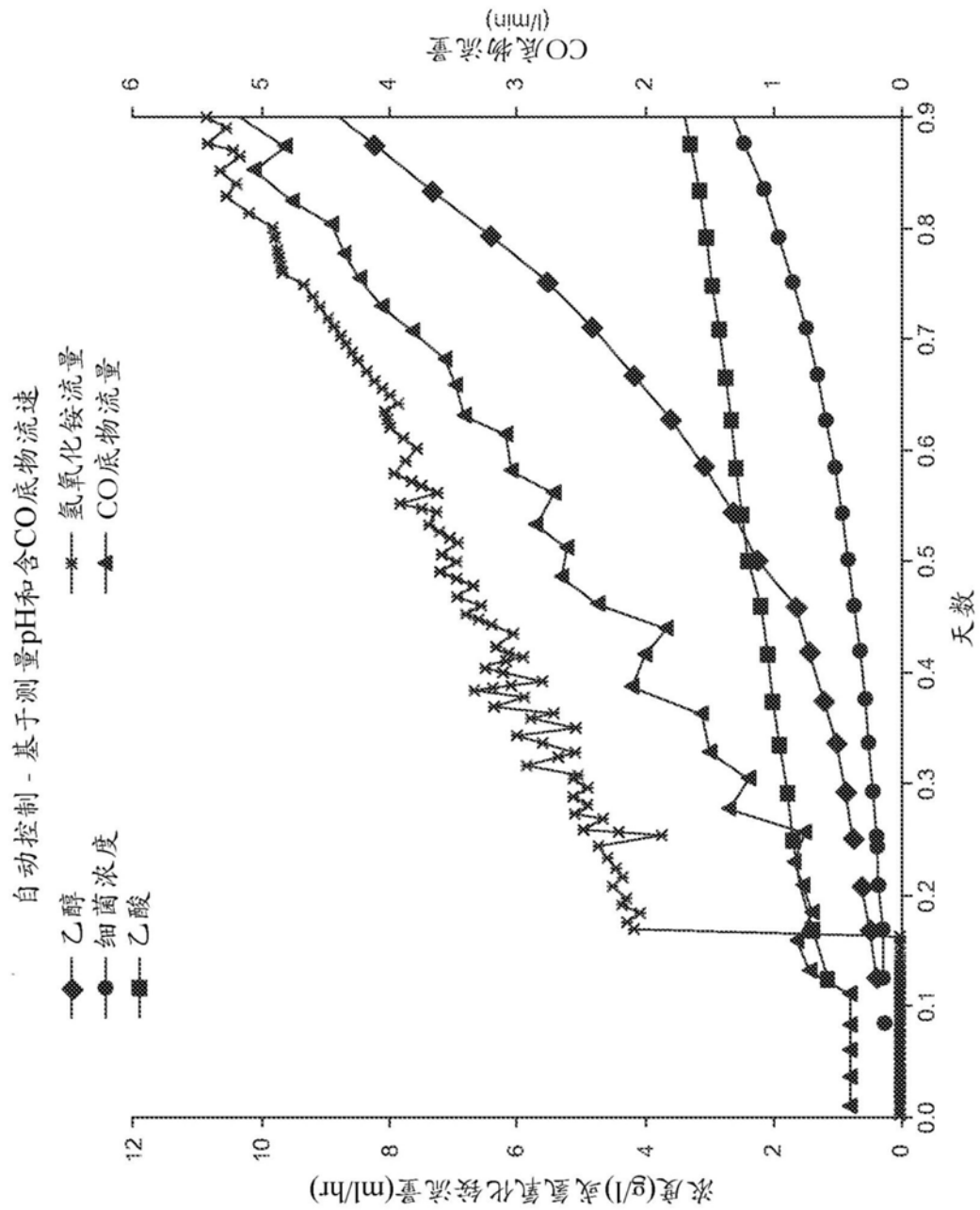


图7