



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년01월06일
(11) 등록번호 10-2198649
(24) 등록일자 2020년12월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12P 7/06 (2006.01) C12P 3/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12P 7/065 (2013.01)
C12N 1/20 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-7025043
(22) 출원일자(국제) 2014년02월11일
심사청구일자 2019년01월09일
(85) 번역문제출일자 2015년09월11일
(65) 공개번호 10-2015-0119250
(43) 공개일자 2015년10월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/015892
(87) 국제공개번호 WO 2014/126940
국제공개일자 2014년08월21일
(30) 우선권주장
61/764,840 2013년02월14일 미국(US)
14/176,094 2014년02월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20100227377 A1*
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 5 항

(73) 특허권자
주명 바이오 홍콩 리미티드
홍콩 성완 봄햄 스트랜드 68-74 핑 룡 커머셜 빌딩 1층
(72) 발명자
벨 피터 심슨
영국 에프케이15 9비비 퍼트셔 던브레인 킬브라이드 크레센트 세인트 브라이즈
리우 송
미국 72703 아칸소주 페이엣빌 폴로 드라이브 379
(74) 대리인
특허법인코리아나

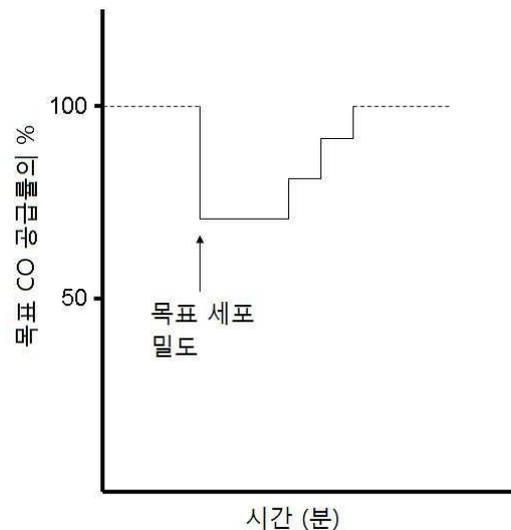
심사관 : 황상필

(54) 발명의 명칭 C O-함유 기체성 기질의 발효 공정

(57) 요약

공정은 CO-함유 기질의 발효 동안 높은 에탄올 생산성 수준을 제공한다. 상기 공정은 CO-기질 공급률 및 세포 밀도를 제어하여 배양물 엷셋 및 CO 저해를 방지한다. 상기 공정은 CO-함유 기체성 기질을 발효시켜 목표 세포 밀도 및 목표 CO 공급률을 얻고, 그 후 CO 공급률을 사이클적으로 감소 및 증가시키는 것을 포함한다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

C12P 3/00 (2013.01)
C12N 2500/02 (2013.01)
Y02E 50/10 (2020.08)

(56) 선행기술조사문헌

W02002008438 A2
W02009151342 A1
JP2011512869 A
W02012074545 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

CO-함유 기질의 발효 방법으로서, 하기를 포함하는 방법:

CO-함유 기질을 발효기에 제공하고;

CO-함유 기질을 초산생성 박테리아와 발효시키고;

CO 공급률이 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 1% 이상 내지 20% 동안 목표 CO 공급률의 4 내지 7 표준 편차 내로 사이클링 되고,

목표 CO 공급률이 4 내지 8 SCFM 이고,

사이클은 시간 당 1 회 이상 CO 공급률의 증가 및 감소를 포함하고,

CO 공급률이 0.25 mM 이하의 발효 배지 중 용존 CO 농도를 유지하고,

상기 방법은 10 g 총 알코올/(L·일) 이상의 STY 를 제공함.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 목표 CO 공급률이 목표 세포 밀도를 제공하는데 효과적인 CO 공급률인 방법.

청구항 3

제 1 항에 있어서, 목표 세포 밀도가 3 g/L 내지 30 g/L 인 방법.

청구항 4

제 1 항에 있어서, 발효기에 제공된 CO-함유 기질이 0.75 이상의 CO/CO₂ 몰비를 갖는 방법.

청구항 5

제 1 항에 있어서, 초산생성 박테리아가 아세트게눔 키부이 (*Acetogenium kivui*), 아세트아나에로비움 노트라에 (*Acetoanaerobium noterae*), 아세트박테리움 우디 (*Acetobacterium woodii*), 알칼리바쿨룸 바치 (*Alkalibaculum bacchi*) CP11 (ATCC BAA-1772), 블라우티아 프로дук타 (*Blautia producta*), 부티리박테리움 메틸로트로피쿰 (*Butyribacterium methylotrophicum*), 칼다나에로박테르 서브테라네우스 (*Caldanaerobacter subterraneus*), 칼다나에로박테르 서브테라네우스 파시피쿠스 (*Caldanaerobacter subterraneus pacificus*), 카르복시도테르무스 히드로게노포르만스 (*Carboxydotherrmus hydrogenoformans*), 클로스트리디움 아세티쿰 (*Clostridium aceticum*), 클로스트리디움 아세토부틸리쿰 (*Clostridium acetobutylicum*), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (*Clostridium autoethanogenum*) (DSMZ Germany 의 DSM 19630), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 10061), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 23693), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 24138), 클로스트리디움 카르복시디보란스 (*Clostridium carboxidivorans*) P7 (ATCC PTA-7827), 클로스트리디움 코스카티 (*Clostridium coskatii*) (ATCC PTA-10522), 클로스트리디움 드라케이 (*Clostridium drakei*), 클로스트리디움 융달리 (*Clostridium ljungdahlii*) PETC (ATCC 49587), 클로스트리디움 융달리 ERI2 (ATCC 55380), 클로스트리디움 융달리 C-01 (ATCC 55988), 클로스트리디움 융달리 O-52 (ATCC 55889), 클로스트리디움 마그눔 (*Clostridium magnum*), 클로스트리디움 파스튜리아눔 (*Clostridium pasteurianum*) (DSMZ Germany 의 DSM 525), 클로스트리디움 라그스달리 (*Clostridium ragsdali*) P11 (ATCC BAA-622), 클로스트리디움 스카톨로게네스 (*Clostridium scatologenes*), 클로스트리디움 테르모아세티쿰 (*Clostridium thermoaceticum*), 클로스트리디움 울투넨세 (*Clostridium ultunense*), 데술포토마쿨룸 쿠즈네초비 (*Desulfotomaculum kuznetsovii*), 유박테리움 리모숨 (*Eubacterium limosum*), 제오박테르 술폰레두센스 (*Geobacter sulfurreducens*), 메타노사르시나 아세티보란스 (*Methanosarcina acetivorans*), 메타노사르시나 바르케리 (*Methanosarcina barkeri*), 무렐라 테르모아세티카 (*Moorella thermoacetica*), 무렐라 테

르모오토트로피카 (*Moorella thermoautotrophica*), 옥소박테르 프펜니지 (*Oxobacter pfennigii*), 펩토스트렙토코쿠스 프로дук투스 (*Peptostreptococcus productus*), 루미노코쿠스 프로дук투스 (*Ruminococcus productus*), 테르모아나에로박테르 키부이 (*Thermoanaerobacter kivui*), 및 그들의 혼합물로 이루어지는 균으로부터 선택되는 방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

- 청구항 21
- 삭제
- 청구항 22
- 삭제
- 청구항 23
- 삭제
- 청구항 24
- 삭제
- 청구항 25
- 삭제
- 청구항 26
- 삭제
- 청구항 27
- 삭제
- 청구항 28
- 삭제
- 청구항 29
- 삭제
- 청구항 30
- 삭제
- 청구항 31
- 삭제
- 청구항 32
- 삭제
- 청구항 33
- 삭제
- 청구항 34
- 삭제
- 청구항 35
- 삭제
- 청구항 36
- 삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] CO-함유 기체성 기질의 발효 공정이 제공된다. 더욱 구체적으로, 상기 공정은 CO-함유 기체성 기질을 발효시켜 목표 세포 밀도 및 목표 CO 공급률을 얻고, 그 후 CO 공급률을 사이클적으로 감소 및 증가시키는 것을 포함한다. 상기 공정은 약 0.25 mM 이하의 발효 배지 중 용존 CO 농도를 유지하는데 효과적이다.

배경 기술

[0002] 초산생성 미생물은 기체성 기질의 발효를 통해 일산화탄소 (CO) 로부터 에탄올을 생산할 수 있다. 클로스트리디움 (*Clostridium*) 속으로부터의 혐기성 미생물을 사용하는 발효는 에탄올 및 기타 유용한 산물을 생산할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,173,429 는 합성 기체로부터 에탄올 및 아세테이트를 생산하는 혐기성 미생물인 클로스트리디움 룡달리이 (*Clostridium ljungdahlii*) ATCC No. 49587 을 기재한다. 미국 특허 번호 5,807,722 는 클로스트리디움 룡달리이 ATCC No. 55380 을 사용하여 폐기 기체를 유기산 및 알코올로 전환하는 공정 및 장비를 기재한다. 미국 특허 번호 6,136,577 은 클로스트리디움 룡달리이 ATCC No. 55988 및 55989 를 사용하여 폐기 기체를 에탄올로 전환시키는 공정 및 장비를 기재한다.

[0003] 일산화탄소로부터 에탄올을 생산하는 공정은 시간의 흐름에 따라 CO 의 양을 증가시키면서 초산생성 박테리아를 배양하는 것을 수반한다. 발효에서 높은 또는 낮은 수준의 CO 는 더 낮은 생산성을 초래할 수 있다. 발효기에 대한 CO 공급률이 증가함에 따라, 발효 배지 중 용존 CO 농도가 증가할 수 있다. 발효 배지 중 용존 CO 농도의 증가는 CO-저해 및 감소된 수준의 생산성을 초래할 수 있다.

발명의 내용

[0004] 공정은 CO-함유 기질의 발효 동안 높은 에탄올 생산성 수준을 제공한다. 상기 공정은 CO-기질 공급률 및 세포 밀도를 제어하여 배양물 업셋 (culture upset) 및 CO 저해를 방지한다.

[0005] CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하여 목표 CO 공급률을 얻고, CO 공급률을 목표 CO 공급률의 약 7 표준 편차 내에서 유지하는 것을 포함한다. 상기 CO 공급률은 약 0.25 mM 이하의 발효 배지 중 용존 CO 농도 및 10 g 총 알코올/(L·일) 이상의 STY 를 유지하는데 효과적이다. 하나의 양상에서, 상기 공정은 CO 공급률을 목표 CO 공급률과 목표 CO 공급률로부터 약 7 표준 편차 사이에서 사이클링 (cycling) 하는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 20% 동안 목표 CO 공급률의 약 4 내지 약 7 표준 편차 내에서 유지된다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10% 동안 목표 CO 공급률의 약 3 내지 약 5 표준 편차 내에서 유지된다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10% 동안 목표 CO 공급률의 약 1 내지 약 3 표준 편차 내에서 유지된다.

[0006] CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하고, CO-함유 기질을 발효시켜 목표 세포 밀도 및 목표 CO 공급률을 얻는 것을 포함한다. 상기 공정은 목표 CO 공급률을 약 35% 이하 만큼 감소시켜 감소된 CO 공급률을 제공하고, 감소된 CO 공급률을 약 20 분 이하 동안 유지하고, 감소된 CO 공급률을 목표 CO 공급률로 복귀시키는 것을 추가로 포함한다. 상기 공정은 10 g 총 알코올/(L·일) 이상의 STY 를 제공하는데 효과적이다.

[0007] CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하고, CO-함유 기질을 발효시켜 목표 세포 밀도 및 목표 CO 공급률을 얻고; 약 0.25 mM 이하의 발효 배지 중 용존 CO 농도를 유지하는 것을 포함한다. 이러한 양상에서, 상기 공정은 10 g 에탄올/(L·일) 이상의 STY 를 제공하는데 효과적이다. 또다른 양상에서, 용존 CO 농도는 하기에 의해 유지된다: a) 발효 배지에 대한 목표 CO 공급률을 목표 CO 공급률의 약 25% 내지 약 35% 만큼 감소시켜 제 1 감소된 CO 공급률을 제공하고, 제 1 감소된 CO 공급률을 약 1 내지 약 10 분 동안 유지하는 단계; b) 발효 배지에 대한 제 1 감소된 CO 공급률을 증가시켜 목표 CO 공급률의 약 15 내지 약 25% 만큼 감소된 제 2 감소된 CO 공급률을 제공하고, 제 2 감소된 CO 공급률을 약 1 내지 약 5 분 동안 유지하는 단계; c) 발효 배지에 대한 제 2 감소된 CO 공급률을 증가시켜 목표 CO 공급률의 약 5% 내지 약 15% 만큼 감소된 제 3 감소된 CO 공급률을 제공하고, 제 3 감소된 CO 공급률을 약 1 내지 약 5 분 동안 유지하는 단계; 및 d) 제 3 감소된 CO 공급률을 목표 공급률 이상으로 증가시키는 단계. 하나의 양상에서, 단계 a) 내지 d) 는 시간 당 약 1 회 이상 반복된다.

[0008] 또다른 양상에서, CO-함유 기질의 발효 동안 CO 저해를 방지하는 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하고, CO-함유 기질을 발효 배지와 접촉시키고, CO-함유 기질을 발효시키는 것을 포함한다. 상기 공정은 발효 배지 중 용존 CO 농도를 확인하고, 약 0.25 mM 이하의 발효 배지 중 용존 CO 농도를 유지하는 것을 포함한다. 상기 공정은 10 g 에탄올/(L·일) 이상의 STY 를 제공하는데 효과적이다.

[0009] 또다른 양상에서, CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하고, CO-함유 기질을 발효시켜 목표 세포 밀도 및 목표 CO 공급률을 얻는 것을 포함한다. 상기 공정은 약 25% 이상의 H₂ 전환율을 유지하는 것을 포함한다. 상기 공정은 10 g 에탄올/(L·일) 이상의 STY 를 제공하는데 효과적이다.

[0010] 또다른 양상에서, CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하고, CO-함유 기질을 발효시켜 목표 H₂ 전환율 및 목표 CO 흡수율을 얻는 것을 포함한다. 상기 공정은 H₂ 전환율 및 CO 흡수율을 모니터링하고, 약 25% 내지 약 95% 의 H₂ 전환율 및 약 0.001 내지 약 10 mmole/분/건조 세포의 그램의 CO 흡수율을 유지하는 것을 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0011] 상기 및 기타 양상에서, 본 발명의 방법의 여러 양상의 특색 및 이점은 하기 도면으로부터 더욱 명백해질 것이다.

도 1a 및 1b 는 발효 배지에 대한 CO 의 사이클링의 반복적 패턴을 보여준다.

도 2 는 다양한 기체 흐름률에 따른 발효 결과를 나타낸다.

도 3 은 H₂ 전환율에 대한 기체 사이클링의 효과를 보여준다.

도 4 는 기체 흐름 사이클링을 재개한 후 H₂ 전환율의 회복을 나타낸다.

도 5 는 실험 공장 발효기에서의 기체 체류 시간 (gas retention time) (GRT) 및 흐름률을 보여준다.

도 6 은 10% 및 20% 기체 흐름률 변화에 따른 실험 공장 발효기에서의 기체 전환율을 보여준다.

도 7 은 실험 공장 발효기에서의 기질 흡수율을 나타낸다.

도 8 은 실험 공장 발효기에서의 산물 농도를 나타낸다.

도 9 는 실험 공장 발효기에서의 이론적 에탄올 생산성에 대한 기체 사이클링 속도의 효과를 나타낸다.

도 10 은 실험 공장 발효기에서의 에탄올 생산성을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 하기 설명은 제한적인 의미로 여겨지면 안되고, 단지 예시적 구현예의 일반적 원리를 설명하기 위한 것이다. 본 발명의 범위는 청구항을 참조하여 확인될 것이다.

[0013] 본원에 기재된 배지 및 초산생성 박테리아를 사용하여 생물반응기에서 수행되는 합성기체 발효는 합성기체 중 CO 의 알코올 및 기타 산물로의 전환을 제공하는데 효과적이다. CO 공급률 및 발효 배지 중 세포 밀도의 제어를 통한 발효 배지 중 CO 농도의 제어는 높은 생산성 수준을 제공하는데 효과적이다. 이러한 양상에서, 생산성은 STY (공간 시간 수율 (space time yield), g 총 알코올/(L·일) 로서 표현됨) 로서 표현될 수 있다.

이러한 양상에서, 상기 공정은 약 10 g 총 알코올/(L·일) 이상의 STY (공간 시간 수율) 을 제공하는데 효과적이다. 가능한 STY 값은 약 10 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 200 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 10 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 160 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 10 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 120 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 10 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 80 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 20 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 140 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 20 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 100 g 총 알코올/(L·일), 또다른 양상에서, 약 40 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 140 g 총 알코올/(L·일), 및 또다른 양상에서, 약 40 g 총 알코올/(L·일) 내지 약 100 g 총 알코올/(L·일) 을 포함한다.

[0014] 정의

[0015] 다르게 정의되지 않으면, 본 공개의 이 명세서 전체에서 사용되는 하기 용어들은 다음과 같이 정의되고, 아래

규정된 정의의 단수형 또는 복수형을 포함할 수 있다.

- [0016] 어떠한 양을 수식하는 용어 "약" 은 현실 조건에서, 예를 들어, 실험실, 실험 공장, 또는 생산 시설에서 부딪히는 양의 변화를 언급한다. 예를 들어, 혼합물 또는 양에서 이용되는 성분 또는 측정의 양은 "약" 으로 수식되었을 때 생산 공장 또는 실험실에서의 실험 조건에서 측정할 때 전형적으로 이용되는 관리의 변화 및 정도를 포함한다. 예를 들어, 산물의 성분의 양은 "약" 으로 수식되었을 때 공장 또는 실험실에서의 복수의 실험에서 뱃치 사이의 변화 및 분석 방법에 내재하는 변화를 포함한다. "약" 으로 수식되는지 여부에 관계없이, 그 양은 그 양에 대한 등가물을 포함한다. "약" 으로 수식된 본원에서 언급된 임의의 양은 본 공개에서 "약" 으로 수식되지 않은 양으로서도 이용될 수 있다.
- [0017] 용어 "기체성 기질" 은 하나 이상의 기체를 함유하거나 그로부터 유래하는 기질을 포함하는 비제한적 의미로 사용된다.
- [0018] 용어 "합성기체" 또는 "합성 기체" 는 다양한 양의 일산화탄소 및 수소를 함유하는 기체 혼합물에 부여된 명칭인 합성 기체를 의미한다. 생산 방법의 예는 수소를 생산하는 천연 기체 또는 탄화수소의 증기 개질, 석탄의 기체화 및 일부 유형의 폐기물-에서-에너지로의 기체화 시설을 포함한다. 상기 명칭은 합성 천연 기체(SNG)의 생성에서 및 암모니아 또는 메탄올의 생산 동안 중간체로서의 용도에서 비롯된다. 합성기체는 자연성이고, 연료 공급원으로서 또는 기타 화학물질의 생산을 위한 중간체로서 흔히 사용된다.
- [0019] 용어 "발효기" 는 연속 교반 탱크 반응기 (Continuous Stirred Tank Reactor) (CSTR), 고정화 세포 반응기 (Immobilized Cell Reactor) (ICR), 살수층 반응기 (Trickle Bed Reactor) (TBR), 이동상 생물막 반응기 (Moving Bed Biofilm Reactor) (MBBR), 버블 칼럼 (Bubble Column), 기체 리프트 발효기 (Gas Lift Fermenter), 막 반응기 (Membrane Reactor) 예컨대 중공 섬유 막 생물반응기 (Hollow Fibre Membrane Bioreactor) (HFMBR), 정적 믹서 (Static Mixer), 또는 기체-액체 접촉에 적합한 기타 용기 또는 기타 장치를 포함하는, 하나 이상의 용기 및/또는 탑 또는 관 배열로 이루어지는 발효 장치를 포함한다.
- [0020] 용어 "발효", "발효 공정" 또는 "발효 반응" 등은 공정의 성장기 및 산물 생합성기를 둘다 포함하는 것으로 의도된다. 하나의 양상에서, 발효는 CO의 알코올로의 전환을 언급한다.
- [0021] 용어 "세포 밀도" 는 발효 브로쓰의 단위 부피 당 미생물 세포의 질량, 예를 들어, 그램/리터를 의미한다.
- [0022] 용어 "효율의 증가", "증가된 효율" 등은, 발효 공정과 관련하여 사용될 때 발효에서의 미생물의 성장률, 소비되는 기질 (예컨대 일산화탄소)의 부피 또는 질량 당 생산되는 원하는 산물 (예컨대 알코올)의 부피 또는 질량, 원하는 산물의 생산율 또는 생산 수준, 및 발효의 기타 부산물과 비교되는 생산되는 원하는 산물의 상대적 비율 중 하나 이상의 증가를 포함한다.
- [0023] 본원에서 사용되는 "총 알코올" 은 에탄올, 부탄올, 프로판올 및 메탄올을 포함한다. 하나의 양상에서, 총 알코올은 약 75 중량% 이상의 에탄올, 또다른 양상에서, 약 80 중량% 이상의 에탄올, 또다른 양상에서, 약 85 중량% 이상의 에탄올, 또다른 양상에서, 약 90 중량% 이상의 에탄올, 및 또다른 양상에서, 약 95 중량% 이상의 에탄올을 포함할 수 있다. 또다른 양상에서, 총 알코올은 약 25 중량% 이하의 부탄올을 포함할 수 있다.
- [0024] 용어 "비 CO 흡수율" 은 단위 시간 (단위: 분) 당 미생물 세포의 단위 질량 (g) 에 의해 소비되는 CO의 양 (단위: mmoles), 즉 mmole/그램/분 을 의미한다.
- [0025] CO-함유 기질
- [0026] CO-함유 기질은 CO를 포함하는 임의의 기체를 포함할 수 있다. 이러한 양상에서, CO-함유 기체는 합성기체, 산업용 기체, 및 그들의 혼합물을 포함할 수 있다.
- [0027] 합성기체는 임의의 알려진 공급원으로부터 제공될 수 있다. 하나의 양상에서, 합성기체는 탄소질 재료의 기체화로부터 공급될 수 있다. 기체화는 산소의 제한된 공급에서 바이오매스의 일부 연소를 수반한다. 결과적인 기체는 주로 CO 및 H₂를 포함한다. 이러한 양상에서, 합성기체는 약 10 mole% 이상의 CO, 하나의 양상에서 약 20 mole% 이상의 CO, 하나의 양상에서 약 10 내지 약 100 mole%의 CO, 또다른 양상에서 약 20 내지 약 100 mole%의 CO, 또다른 양상에서 약 30 내지 약 90 mole%의 CO, 또다른 양상에서 약 40 내지 약 80 mole%의 CO, 및 또다른 양상에서 약 50 내지 약 70 mole%의 CO를 함유할 것이다. 적합한 기체화 방법 및 장비의 일부 예가 미국 일련 번호 61/516,667, 61/516,704 및 61/516,646 (모두 2011년 4월 6일에 제출됨), 및 미국 일련 번호 13/427,144, 13/427,193 및 13/427,247 (모두 2012년 3월 22일에 제출됨)에 제공되어

있으며, 상기 문헌들은 모두 본원에 참조로 포함된다.

- [0028] 또다른 양상에서, 상기 공정은 기체성 기질 예컨대 높은 부피 CO-함유 산업 연도 기체로부터 알코올의 생산을 지지하는데 적용가능하다. 일부 양상에서, CO 를 포함하는 기체는 탄소 함유 폐기물, 예를 들어, 산업 폐기 기체로부터 또는 기타 폐기물의 기체화로부터 유래된다. 그와 같이, 상기 공정은 그렇지 않은 경우 환경으로 배출될 탄소를 포획하는데 효과적인 공정에 해당한다. 산업 연도 기체의 예는 철 금속 제품 제조, 비-철 제품 제조, 석유 정제 공정, 석탄의 기체화, 바이오매스의 기체화, 전력 생산, 카본 블랙 생산, 암모니아 생산, 메탄올 생산 및 코크스 제조 동안 생성되는 기체를 포함한다.
- [0029] CO-함유 기질의 조성에 따라, CO-함유 기질은 발효 공정에 직접 제공될 수 있고 또는 적당한 H₂ 대 CO 몰비를 포함하도록 추가로 개질될 수 있다. 하나의 양상에서, 발효기에 제공된 CO-함유 기질은 약 0.2 이상, 또다른 양상에서 약 0.25 이상, 및 또다른 양상에서 약 0.5 이상의 H₂ 대 CO 몰비를 갖는다. 또다른 양상에서, 발효기에 제공된 CO-함유 기질은 약 40 mole% 이상의 CO + H₂ 및 약 30 mole% 이하의 CO, 또다른 양상에서 약 50 mole% 이상의 CO + H₂ 및 약 35 mole% 이하의 CO, 및 또다른 양상에서 약 80 mole% 이상의 CO + H₂ 및 약 20 mole% 이하의 CO 를 포함할 수 있다.
- [0030] 하나의 양상에서, CO-함유 기질은 주로 CO 및 H₂ 를 포함한다. 이러한 양상에서, CO-함유 기질은 약 10 mole% 이상의 CO, 하나의 양상에서 약 20 mole% 이상의 CO, 하나의 양상에서 약 10 내지 약 100 mole% 의 CO, 또다른 양상에서 약 20 내지 약 100 mole% 의 CO, 또다른 양상에서 약 30 내지 약 90 mole% 의 CO, 또다른 양상에서 약 40 내지 약 80 mole% 의 CO, 및 또다른 양상에서 약 50 내지 약 70 mole% 의 CO 를 함유할 것이다. CO-함유 기질은 약 0.75 이상, 또다른 양상에서 약 1.0 이상, 및 또다른 양상에서 약 1.5 이상의 CO/CO₂ 비율을 가질 것이다.
- [0031] 하나의 양상에서, 기체 분리기는 기체 스트림의 하나 이상의 부분을 실질적으로 분리하도록 구성되며, 여기에서 부분은 하나 이상의 성분을 포함한다. 예를 들어, 기체 분리기는 하기 성분을 포함하는 기체 스트림으로부터 CO₂ 를 분리할 수 있다: CO, CO₂, H₂, 여기에서 CO₂ 는 CO₂ 제거기로 보내질 수 있고, 기체 스트림의 나머지 (CO 및 H₂ 를 포함함) 는 생물반응기로 보내질 수 있다. 당업계에 알려진 임의의 기체 분리기가 이용될 수 있다. 이러한 양상에서, 발효기에 제공된 합성기체는 약 10 mole% 이하의 CO₂, 또다른 양상에서 약 1 mole% 이하의 CO₂, 및 또다른 양상에서 약 0.1 mole% 이하의 CO₂ 를 가질 것이다.
- [0032] 특정 기체 스트림은 높은 농도의 CO 및 낮은 농도의 H₂ 를 포함할 수 있다. 하나의 양상에서, 더 높은 효율의 알코올 생산 및/또는 전체 탄소 포획을 달성하기 위해 기질 스트림의 조성을 최적화하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 스트림이 생물반응기에 보내지기 전에 기질 스트림 중 H₂ 의 농도가 증가될 수 있다.
- [0033] 본 발명의 특정 양상에 따르면, 2 이상의 공급원으로부터의 스트림이 조합 및/또는 블렌드되어 바람직한 및/또는 최적화된 기질 스트림을 생성할 수 있다. 예를 들어, 높은 농도의 CO 를 포함하는 스트림, 예컨대 제강 공장 컨버터로부터의 배기기체는, 높은 농도의 H₂ 를 포함하는 스트림, 예컨대 제강 공장 코크스 오븐으로부터의 오프-기체 (off-gas) 와 조합될 수 있다.
- [0034] 기체성 CO-함유 기질의 조성에 따라, 그것을 발효에 도입하기 전에 처리하여 임의의 바람직하지 않은 불순물, 예컨대 먼지 입자를 제거하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 기체성 기질은 알려진 방법을 사용하여 여과 또는 스크럽 (scrub) 될 수 있다.
- [0035] 생물반응기 디자인 및 작업
- [0036] 발효기 디자인의 설명이 미국 일련 번호 13/471,827 및 13/471,858 (둘다 2012 년 5 월 15 일자에 제출됨), 및 미국 일련 번호 13/473,167 (2012 년 5 월 16 일자에 제출됨) 에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 모두 본원에 참조로 포함된다.
- [0037] 하나의 양상에 따르면, 발효 공정은 반응기 용기에 배지를 첨가하는 것으로 시작된다. 배지 조성의 일부 예가 미국 일련 번호 61/650,098 및 61/650,093 (2012 년 5 월 22 일자에 제출됨), 미국 특허 번호 7,285,402 (2011 년 6 월 23 일자에 제출됨) 에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 모두 본원에 참조로 포함된다. 배지는 멸균되어 바람직하지 않은 미생물이 제거될 수 있고, 반응기에 원하는 미생물이 접종된다. 멸균이 항상 요

구되는 것은 아닐 수 있다.

[0038] 하나의 양상에서, 이용되는 미생물은 초산생성 박테리아를 포함한다. 유용한 초산생성 박테리아의 예는 클로스트리디움 (*Clostridium*) 속의 것들, 예컨대 WO 2000/68407, EP 117309, 미국 특허 번호 5,173,429, 5,593,886 및 6,368,819, WO 1998/00558 및 WO 2002/08438 에 기재된 것들을 포함하는 클로스트리디움 룡달리이 (*Clostridium ljungdahlii*) 의 균주, WO 2007/117157 및 WO 2009/151342 에 기재된 것들을 포함하는 클로스트리디움 오토에타노게눔 (*Clostridium autoethanogenum*) 의 균주 (DSMZ, Germany 의 DSM 10061 및 DSM 19630) 및 각각 미국 특허 번호 7,704,723 및 Oklahoma EPSCoR Annual State Conference (2010 년 4 월 29 일) 에 제시된 "Biofuels and Bioproducts from Biomass-Generated Synthesis Gas", Hasan Atiyeh 에 기재된 것들을 포함하는 클로스트리디움 라그스달레이 (*Clostridium ragsdalei*) (P11, ATCC BAA-622) 및 알칼리바쿨룸 바치 (*Alkalibaculum bacchi*) (CP11, ATCC BAA-1772), 및 미국 특허 출원 번호 2007/0276447 에 기재된 클로스트리디움 카르복시디보란스 (*Clostridium carboxidivorans*) (ATCC PTA-7827) 를 포함한다. 기타 적합한 미생물은 무렐라 (*Moorella*) 중 HUC22-1 을 포함하는 무렐라 속의 것들, 및 카르복시도테르무스 (*Carboxydotherrmus*) 속의 것들을 포함한다. 이들 참고문헌은 각각 본원에 참조로 포함된다. 둘 이상의 미생물의 혼합 배양물이 사용될 수 있다.

[0039] 유용한 박테리아의 일부 예는 아세토게눔 키부이 (*Acetogenium kivui*), 아세토아나에로비움 노트라에 (*Acetoanaerobium noterae*), 아세토박테리움 우디 (*Acetobacterium woodii*), 알칼리바쿨룸 바치 (*Alkalibaculum bacchi*) CP11 (ATCC BAA-1772), 블라우티아 프로дук타 (*Blautia producta*), 부티리박테리움 메틸로트로피쿰 (*Butyribacterium methylotrophicum*), 칼다나에로박테르 서브테라네우스 (*Caldanaerobacter subterraneus*), 칼다나에로박테르 서브테라네우스 파시피쿠스 (*Caldanaerobacter subterraneus pacificus*), 카르복시도테르무스 히드로게노포르만스 (*Carboxydotherrmus hydrogenoformans*), 클로스트리디움 아세티쿰 (*Clostridium aceticum*), 클로스트리디움 아세토부틸리쿰 (*Clostridium acetobutylicum*), 클로스트리디움 아세토부틸리쿰 P262 (DSMZ Germany 의 DSM 19630), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (*Clostridium autoethanogenum*) (DSMZ Germany 의 DSM 19630), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 10061), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 23693), 클로스트리디움 오토에타노게눔 (DSMZ Germany 의 DSM 24138), 클로스트리디움 카르복시디보란스 (*Clostridium carboxidivorans*) P7 (ATCC PTA-7827), 클로스트리디움 코스카티 (*Clostridium coskatii*) (ATCC PTA-10522), 클로스트리디움 드라케이 (*Clostridium drakei*), 클로스트리디움 룡달리 (*Clostridium ljungdahlii*) PETC (ATCC 49587), 클로스트리디움 룡달리 ERI2 (ATCC 55380), 클로스트리디움 룡달리 C-01 (ATCC 55988), 클로스트리디움 룡달리 O-52 (ATCC 55889), 클로스트리디움 마그눔 (*Clostridium magnum*), 클로스트리디움 파스투리아눔 (*Clostridium pasteurianum*) (DSMZ Germany 의 DSM 525), 클로스트리디움 라그스달리 (*Clostridium ragsdali*) P11 (ATCC BAA-622), 클로스트리디움 스카톨로게네스 (*Clostridium scatologenes*), 클로스트리디움 테르모아세티쿰 (*Clostridium thermoaceticum*), 클로스트리디움 울투넨세 (*Clostridium ultunense*), 데술포토마쿨룸 쿠즈네초비 (*Desulfotomaculum kuznetsovii*), 유박테리움 리모숨 (*Eubacterium limosum*), 제오박테르 숄푸레두센스 (*Geobacter sulfurreducens*), 메타노사르시나 아세티보란스 (*Methanosarcina acetivorans*), 메타노사르시나 바르케리 (*Methanosarcina barkeri*), 무렐라 테르모아세티카 (*Moorella thermoacetica*), 무렐라 테르모오토트로피카 (*Moorella thermoautotrophica*), 옥소박테르 프펜니지 (*Oxobacter pfennigii*), 펩토스트렙토코쿠스 프로дук투스 (*Peptostreptococcus productus*), 루미노코쿠스 프로дук투스 (*Ruminococcus productus*), 테르모아나에로박테르 키부이 (*Thermoanaerobacter kivui*), 및 그들의 혼합물을 포함한다.

[0040] 발효는 바람직하게는 일어나기를 원하는 발효 (예를 들어 CO-에서-에탄올로) 에 적절한 조건 하에 수행될 것이다. 고려되어야 하는 반응 조건은 압력, 온도, 기체 흐름률, 액체 흐름률, 배지 pH, 배지 산화환원 전위, 교반율 (연속 교반 탱크 반응기를 사용하는 경우), 집종물 수준, 액체상 중의 CO 가 제한적으로 되지 않는 것을 보장하는 최대 기체 기질 농도, 및 산물 저해를 방지하는 최대 산물 농도를 포함한다.

[0041] 본 발명의 방법은 미생물 배양물의 생활력을 유지하는데 사용될 수 있으며, 여기에서 미생물 배양물은 CO 가 제한되고, 따라서 용액 내로의 CO 의 전달율은 배양물의 흡수율보다 낮다. 그러한 상황은 CO 를 포함하는 기질이 미생물 배양물에 연속적으로 제공되지 않을 때; 물질 이동률이 낮을 때; 또는 기질 스트림 중의 CO 가 최적 온도에서 배양물 생명력을 유지하기에 불충분할 때 발생할 수 있다. 그러한 구현예에서, 추가의 기질이 충분히 빠르게 제공될 수 없으므로 미생물 배양물은 액체 영양소 배지에 용해된 CO 를 신속히 고갈시키고 기질 제한될 것이다.

[0042] 스타트업 (startup): 집종시, 초기 공급 기체 공급률은 미생물의 초기 집단을 공급하는데 효과적이도록 확립된

다. 배출 기체를 분석하여 배출 기체의 함량을 확인한다. 기체 분석의 결과를 사용하여 공급 기체 공급률을 제어한다. 이러한 양상에서, 상기 공정은 약 0.5 내지 약 0.9, 또다른 양상에서 약 0.6 내지 약 0.8, 또다른 양상에서 약 0.5 내지 약 0.7, 및 또다른 양상에서 약 0.5 내지 약 0.6 의 계산된 CO 농도 대 초기 세포 밀도 비율을 제공한다.

[0043] 또다른 양상에서, 발효 공정은 합성기체를 발효 배지에 약 0.15 mM 내지 약 0.70 mM, 또다른 양상에서 약 0.15 mM 내지 약 0.50 mM, 또다른 양상에서 약 0.15 mM 내지 약 0.35 mM, 또다른 양상에서 약 0.20 mM 내지 약 0.30 mM, 및 또다른 양상에서 약 0.23 mM 내지 약 0.27 mM 의 발효 배지 중 초기 계산된 CO 농도를 제공하는데 효과적인 양으로 제공하는 것을 포함한다. 상기 공정은 출발 세포 밀도에 비해 세포 밀도를 증가시키는데 효과적이다.

[0044] 스타트업 후 (Post-startup): 원하는 수준에 도달시, 액체상 및 세포성 재료를 반응기로부터 철수시키고 배지를 보충한다. 상기 공정은 세포 밀도를 약 2.0 그램/리터 이상, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 30 그램/리터, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 25 그램/리터, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 20 그램/리터, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 10 그램/리터, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 8 그램/리터, 또다른 양상에서 약 3 내지 약 30 그램/리터, 또다른 양상에서 약 3 내지 약 6 그램/리터, 및 또다른 양상에서 약 4 내지 약 5 그램/리터로 증가시키는데 효과적이다.

[0045] 하나의 양상에서, CO-함유 기질의 발효 공정은 CO-함유 기질을 발효기에 제공하여 목표 CO 공급률을 얻고, CO 공급률을 목표 CO 공급률의 약 7 표준 편차 내에서 유지하는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, 상기 공정은 CO 공급률을 목표 CO 공급률의 약 6 표준 편차 내에서, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률의 약 5 표준 편차 내에서, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률의 약 4 표준 편차 내에서, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률의 약 3 표준 편차 내에서, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률의 약 2 표준 편차 내에서, 및 또다른 양상에서 목표 CO 공급률의 약 1 표준 편차 내에서 유지하는 것을 포함한다.

[0046] 하나의 양상에서, 상기 공정은 CO 공급률을 목표 CO 공급률과 목표 CO 공급률로부터 약 7 표준 편차 사이에서 사이클링하는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 20% 동안 목표 CO 공급률의 약 4 내지 약 7 표준 편차 내이다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 3% 이상 내지 약 15% 동안 목표 CO 공급률의 약 4.5 내지 약 6.5 표준 편차 내이다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 5% 이상 내지 약 12%, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 6% 내지 약 12% 동안 목표 CO 공급률의 약 6 내지 약 6.5 표준 편차 내이다.

[0047] 또다른 양상에서, 상기 공정은 목표 CO 공급률과 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10% 동안 목표 CO 공급률의 약 3 내지 약 5 표준 편차 내 사이에서 CO 공급률을 사이클링하는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10%, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 내지 약 7%, 및 또다른 양상에서 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 내지 약 5% 동안 목표 CO 공급률의 약 3 내지 약 4 표준 편차 내이다.

[0048] 또다른 양상에서, 상기 공정은 목표 CO 공급률과 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10% 동안 목표 CO 공급률의 약 1 내지 약 3 표준 편차 내 사이에서 CO 공급률을 사이클링하는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, CO 공급률은 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 이상 내지 약 10%, 또다른 양상에서 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 내지 약 6%, 및 또다른 양상에서 목표 CO 공급률을 달성한 후에 총 발효 시간의 약 1% 내지 약 5% 동안 목표 CO 공급률의 약 2 내지 약 3 표준 편차 내이다.

[0049] 관련된 양상에서, 일단 목표 공급률이 달성되면, 실제 CO 공급률이 모니터링된다. 평균 CO 공급률은 CO 공급률이 목표 CO 공급률 범위 내에 있는 동안 CO 공급률을 3 회 이상 측정함으로써 확인된다. CO 공급률의 측정은 3 회 이상, 또다른 양상에서 임의의 회수로, 예컨대 예를 들어 약 4 내지 약 50 의 임의의 측정 회수로 실시될 수 있다. 그 후 평균 CO 공급률에 기초하여 표준 편차가 계산될 수 있다.

[0050] 하나의 양상에서, 상기 공정은 원하는 CO 농도, H₂ 전환율, 또는 CO 흡수율을 제공하는데 효과적인 임의의 방식으로 CO 공급률을 감소 및 증가시키는 사이클을 포함한다. 하나의 양상에서, 상기 공정은 목표 CO 공급률을 약 20 분 이하 동안 약 35% 이하 만큼 감소시키는 것을 포함한다. 또다른 양상에서, 상기 공정은 발효 배지

에 대한 목표 CO 공급률을 약 25% 내지 약 35%, 또다른 양상에서 약 26% 내지 약 34%, 및 또다른 양상에서 약 28% 내지 약 32% 만큼 감소시켜, 제 1 감소된 CO 공급률을 제공하는 것을 포함한다. 제 1 감소된 CO 공급률은 약 1 내지 약 10 분, 또다른 양상에서 약 2 내지 약 8 분, 또다른 양상에서 약 3 내지 약 7 분, 및 또다른 양상에서 약 4 내지 약 6 분 동안 유지된다.

[0051] 공정의 또다른 양상에 따르면, 공정은 제 1 감소된 CO 공급률을 증가시켜 목표 CO 공급률의 약 15% 내지 약 25%, 또다른 양상에서 약 17% 내지 약 23%, 및 또다른 양상에서 약 18% 내지 약 22% 만큼 감소된 제 2 감소된 CO 공급률을 제공하는 것을 포함한다. 상기 공정은 제 2 감소된 CO 공급률을 약 1 내지 약 5 분, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 4 분, 및 또다른 양상에서 약 1 내지 약 3 분 동안 유지하는 것을 추가로 포함한다.

[0052] 공정의 또다른 양상에 따르면, 공정은 제 2 감소된 CO 공급률을 증가시켜 목표 CO 공급률의 약 5% 내지 약 15%, 또다른 양상에서 약 7% 내지 약 13%, 및 또다른 양상에서 약 8% 내지 약 12% 만큼 감소된 제 3 감소된 CO 공급률을 제공하는 것을 포함한다. 상기 공정은 제 3 감소된 CO 공급률을 약 1 내지 약 5 분, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 4 분, 및 또다른 양상에서 약 1 내지 약 3 분 동안 유지하는 것을 추가로 포함한다. 상기 공정은 제 3 감소된 CO 공급률을 목표 공급률로 또는 목표 공급률 초과로 증가시키는 단계를 추가로 포함할 수 있다. CO 공급률의 증가 및 감소 사이클은 시간 당 약 1 회 이상, 및 또다른 양상에서 시간 당 1 내지 20 사이클 범위의 임의의 회수로 반복될 수 있다. CO 공급률의 증가 및 감소 사이클은 발효의 종료 전까지 계속될 수 있다.

[0053] 도 1(a) 및 1(b) 는 발효 배지에 대한 CO 사이클링의 반복적 패턴의 변화의 2 가지 예를 보여준다. 도 1(a) 및 1(b) 에 제시된 2 개의 그래프에서, x-축은 시간이고, y-축은 목표 CO 공급률의 % 감소이다. 도 1(a) 는 흐름률이 빠르게 조정되는 직선 단계 패턴을 나타낸다. 도 1(b) 는 흐름률이 더욱 점진적으로 조정되는 점진적 단계 패턴을 보여준다. 반복적 패턴은 도 1(a) 및 1(b) 에 제시된 것들에 제한되지 않고, CO 흐름률의 사이클링을 허용하는 임의의 유형의 패턴을 포함할 수 있다.

[0054] CO 공급률은 분 당 표준 입방 피트 (standard cubic feet per minute) (SCFM) 로 또는 시간 당 리터 당 표준 입방 피트로 표현될 수 있다. 이러한 양상에서, 시간 당 리터 당 표준 입방 피트는 약 0.9 내지 약 2.0, 및 또다른 양상에서 약 1.25 내지 약 1.75 SCFM 범위일 수 있다. 또다른 양상에서, 평균 CO 공급률은 약 0.016:1 내지 약 0.04:1, 또다른 양상에서 약 0.02:1 내지 약 0.04:1, 또다른 양상에서 약 0.02:1 내지 약 0.035:1, 또다른 양상에서 약 0.025:1 내지 약 0.035:1, 및 또다른 양상에서 약 0.025:1 내지 약 0.03:1 의 발효기에 대한 CO 공급률 대 발효기 부피의 비율을 유지하는데 효과적인 CO 공급률이다.

[0055] 또다른 양상에서, 상기 공정은 H₂ 전환율을 모니터링하고, 약 25% 이상, 또다른 양상에서 약 25% 내지 약 95%, 또다른 양상에서 약 30% 내지 약 90%, 또다른 양상에서 약 35% 내지 약 85%, 또다른 양상에서 약 40% 내지 약 80%, 또다른 양상에서 약 40% 내지 약 70%, 또다른 양상에서 약 40% 내지 약 60%, 및 또다른 양상에서 약 40% 내지 약 50% 의 H₂ 전환율을 유지하는 것을 포함한다. 상기 공정은 CO 흡수율을 모니터링하고, 약 0.001 내지 약 10 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.001 내지 약 5 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.001 내지 약 4 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.001 내지 약 3 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.001 내지 약 2 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.001 내지 약 1 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 9 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 5 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 4 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 3 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 2 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 0.05 내지 약 1 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 8 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 5 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 4 mmole/분/건조 세포의 그래프, 또다른 양상에서 약 1 내지 약 3 mmole/분/건조 세포의 그래프, 및 또다른 양상에서 약 1 내지 약 2 mmole/분/건조 세포의 그래프의 CO 흡수율을 유지하는 것을 추가로 포함할 수 있다.

[0056] 또다른 양상에서, 공정은 약 0.001 내지 약 1.0 의 계산된 CO 농도 (mM) 대 세포 밀도 (그램/리터) 비율, 또다른 양상에서 약 0.01 내지 약 0.9, 또다른 양상에서 약 0.01 내지 약 0.8, 또다른 양상에서 약 0.02 내지 약 0.8, 또다른 양상에서 약 0.02 내지 약 0.75, 또다른 양상에서 약 0.03 내지 약 0.75, 및 또다른 양상에서 약 0.03 내지 약 0.5 의 계산된 CO 농도 대 세포 밀도 비율을 유지하는데 효과적이다.

[0057] CO 농도 - 계산된 값의 확인

[0058] 용존 CO 농도를 하기 식에 따라 계산했다.

$$P_{CO}^L = \frac{CO_{in} - CO_{out}}{\ln(CO_{in} / CO_{out})} * (P_{101} + 14.7) - \frac{q_{CO}}{V \cdot K_L \alpha} \times 1200 \times 14.7$$

[0060] 기체 감소시, 오프 기체 내 감소된 CO 분압 및 감소된 $K_L a$ (물질 전달 계수) 로 인해 용존 CO 도 또한 감소될 것이다. 기체 사이클링이 없었던 경우에, 용존 CO 는 비교적 안정적으로 유지되었다.

[0061] 공정은 약 0.25 mM 이하, 또다른 양상에서 약 0.20 mM 이하, 또다른 양상에서 약 0.15 mM 이하, 또다른 양상에서 약 0.10 mM 이하, 또다른 양상에서 약 0.08 mM 이하, 및 또다른 양상에서 약 0.06 mM 이하의 용존 CO 농도를 유지하는데 효과적이다. 또다른 양상에서, 용존 CO 농도는 CO 의 탐지 한계 만큼 낮을 수 있고, 본질적으로 제로일 수 있다.

[0062] 실시예

[0063] **실시예 1:** 기체 사이클링

[0064] 발효를 클로스트리디움 룡달리이를 이용하여 수행했다. 초기 스타트업 후에, 발효는 하락하는 H_2 전환율로 시사되는 성능 업셋을 경험했다. 기체 사이클을 126 시에 H_2 전환율이 23.5% 였을 때 실행했다.

[0065] 기체 사이클링을 다음과 같이 수행했다: 기체 흐름률을 5 분 동안 30% 만큼 감소시킨다 → 추가 2 분 동안 -30% 로부터 -20% 로 다시 증가시킨다 → 추가 2 분 동안 -20% 로부터 -10% 로 다시 증가시킨다 → 원래의 흐름률로 다시 증가시킨다; 이 공정을 1 시간 마다 반복한다.

[0066] 발효 결과가 도 2 에 나타나 있다. H_2 흡수율은 기체 사이클 처리 동안 계속 하락했고, H_2 전환율은 160 시에 15.6% 에서 바닥이었다. H_2 전환율은 추세를 역전시켜 증가했고, 237 시에 피크였고, 다음 30 시간 동안 유지되었다. 기체 사이클을 270 시에 의도적으로 중단시켜: a) 높은 산의 위험을 잠재적으로 감소시키고; b) H_2 전환율이 하락할 것임을 확인하고, 기체 사이클 재시험을 가능하게 했다. 에탄올 및 산은 둘다 하루 뒤에 (296 시에) 내려오기 시작했으며, 수소 전환율은 하강 추세였다. 308 내지 316 시간 동안 H_2 전환율 하락이 가속되었다. 기체 사이클을 319 시에 H_2 전환율이 24% 에 이르렀을 때 재개했다. 기체 사이클링 동안 용존 CO 는 3.1 내지 3.8 범위였다.

[0067] 기체-사이클을 재개한지 6 시간 후에 개선된 수소 전환율이 관찰되었고, 수소 전환율은 20 시간 내에 32% 로 개선되었다. 기체 사이클을 나머지 발효 동안 유지했다.

[0068] **실시예 2:** 기체 사이클링을 사용하는 H_2 전환율의 회복

[0069] 발효를 클로스트리디움 룡달리이를 이용하여 수행했다. 도 3 에 나타난 바와 같이, 발효는 실행 전체 동안 낮은 수소 전환율을 가졌다. 기체 사이클링은 수소 전환율의 하강 추세 동안 실행되었고, 전환율을 회복할 수 있었다. 기체 사이클링이 공정으로부터 제거되었을 때, 수소 전환율이 하락했다. 기체 사이클링 동안 용존 CO 는 3.1 내지 4.1 psia 범위였다.

[0070] **실시예 3:** 기체 사이클링을 사용하는 H_2 전환율의 회복

[0071] 발효를 클로스트리디움 룡달리이를 이용하여 수행했다. 도 4 에 나타난 바와 같이, 480 시 전에, 기체 사이클을 기재된 바와 같이 실행했고, 그 후 480-600 시간에 중단했으며, 이때 발효기는 낮은 세포 밀도에서 실행되었다. 624 시에, 발효기는 다시 증가되었으나, 기체 사이클은 722 시간 공정 시간 전까지 중단되었다. 수소 전환율은 일정한 기체 흐름률 하에 50% (이상) 로부터 40% 로 하락했다. H_2 전환율은 기체 사이클링이 회복된 후에 다시 더 위의 40s 로 복귀되었다. 기체 사이클링 동안 용존 CO 는 2.2 - 3.2 psia 범위였다.

[0072] **실시예 4:** 실험 공장 발효기를 이용하는 기체 사이클링

[0073] 실험 공장 메인 발효기를 임의의 기체 사이클링을 시작하기 전에 하기 조건에 따라 조작했다.

[0074] 반응기 부피: 245 리터

[0075] 기체 공급률: 6 SCFM

- [0076] 기체 조성: 15% H₂, 10% CO₂, 30% CO, 및 45% N₂
- [0077] 교반을 38 Hz 또는 355 rpm 에서 유지했다.
- [0078] 발효기는 조작 압력이 45 psig 였고, 액체로 50% 채워졌고, 온도 제어되는 자켓이 있었다.
- [0079] 이론적 에탄올 생산성 (모든 전환된 기체가 에탄올을 생성한다고 추정함) 은 약 125 g/L · 일 이었으며, 물 리사이클 시스템의 전원을 켜다.
- [0080] CO 및 H₂ 전환율은 약 77% 및 42% 였다.
- [0081] 에탄올 및 아세트산 농도는 23 및 2.3 g/L 였다.
- [0082] 세포 체류 시간은 19 시간이었고, 액체 체류 시간은 4.4 시간이었다.
- [0083] 기체 사이클링은 다음과 같았다: 기체 흐름물을 1 시간 마다 처음 10 분 내에 10% 증가시켰고, 그 후 50 분 동안 출발 기체 공급물로 다시 복귀시켰다. 다음 시간 내에, 기체 흐름물을 10 분 동안 10% 감소시키고, 그 후 50 분 동안 출발 기체 공급물로 다시 복귀시켰다.
- [0084] 발효기를 약 1 일 동안 6 SCFM 의 출발 기체 공급물 하에 조작했다. 기체 공급물을 2 시간 마다 0.1 SCFM 감소시킴으로써 기체 공급물을 5.4 SCFM 로 감소시켰다. 그 후 기체 공급물을 또다른 54 시간 동안 5.4 SCFM 에서 유지했다. 기체 사이클링을 15 분 지속시간 동안 20% 증가 및 감소로 변화시켰다. 발효기를 어려움 없이 또다른 76 시간 동안 20% 사이클링 하에 조작했다. 그 후 지속시간을 4 시간으로 사이클 시간을 8 시간으로 연장하여 사이클링 규모를 50% 로 증가시켰다.
- [0085] 10% 및 20% 규모 사이클링의 성능이 도 5 내지 10 에 나타나 있다. 도 5 는 실행에서의 기체 공급물 및 기체 체류 시간을 보여준다. 기체 공급물은 베이스 기체 공급물에 기초하고, 기체 체류 시간은 매시간 샘플링 동안 기록된 기체 공급물에 기초한다. 측정된 데이터는 시간 당 1 회이다. 도 5 에 나타난 바와 같이, 사이클링 후의 기체 체류 시간 (gas retention time) 은 평평한 선 위에서 안정적이고, 사이클링 기간 동안 측정했을 때 일정한 규모 및 진동수로 약간 진동한다. 진동 규모는 사이클링 동안 측정했을 때 10% 기체 사이클링보다 20% 기체 사이클링 동안 더 높다.
- [0086] 도 6 은 H₂ 및 CO 전환율을 보여준다. 도 6 은 사이클링 전의 5 일의 샘플링을 포함한다. CO 전환율은 사이클링 후에 비해 사이클링 전에 더욱 불규칙적이었다. 사이클링 전의 H₂ 전환율은 유의하게 더욱 불안정적이었고, 지그재그의 규모는 더 넓었고, 진동수는 불규칙적이었다. 기체 사이클링 후에, H₂ 전환율은 약 44% 로 안정적이었고, 규칙적으로 진동했다.
- [0087] 도 7 은 기체 공급물로부터의 효과를 또한 포함하는 것을 제외하면 도 5 에 나타난 전환과 유사하다. 사이클링 전의 CO 흡수율은 더 높은 기체 공급물로 인해 사이클링 후보다 더 높았다. H₂ 흡수율은 사이클링 후에 더 높았다.
- [0088] 도 8 은 사이클링 전 및 후의 생성물 농도를 보여준다. 일반적으로 사이클링 후에 에탄올 농도는 증가했고, 아세트산 농도는 감소했다.
- [0089] 도 9 는 기체 사이클링 전 및 후의 이론적 생산성을 보여준다. 이론적 생산성은 소비된 합성기체가 전부 에탄올 생산에 기여한다고 추정한다.
- [0090] 도 10 은 기체 흡수 계산으로부터가 아니라, 측정된 액체 산물 농도 및 액체 흐름물에 기초하는 실제 생산성을 보여준다.
- [0091] 기체 사이클링의 이점을 실현하는 또다른 방법은 동일한 작업 구역의 평균에 기초한다. 표 1 은 기체 사이클링 vs. 기체 사이클링 부재 동안 평균 CO 및 H₂ 전환율 및 흡수율 뿐만 아니라 이론적 생산성을 열거한다. 표 2 는 동일한 기간 동안의 평균 생성물 농도 및 세포 농도를 열거한다. 합성기체 공급물 약 6 SCFM 의 10% 사이클링은 H₂ 전환율을 39 - 42% 범위로부터 44.5% 로 증가시켰으나, CO 전환율에는 오직 약간 영향을 미쳤다. 이는 이론적 생산성을 약간 향상시킬 것이다. 업셋 후에 H₂ 전환율의 증가 및 CO 전환율의 감소 추세가 있었다. 기체 사이클링 전의 오직 마지막 몇 시간을 계산에 넣는 경우, H₂ 전환율은 약 42.8% 였으며, 이는 사이클링 후의 44.5 % 의 평균보다 여전히 더 낮다. CO 전환율은 76.45% vs. 76.33% 로 매우 근

사했다. 2 회의 13 시간의 사이클링 부재, 6 SCFM 실행에 기초하는 경우, 평균 H₂ 전환율은 38.92% 였고, CO 전환율은 77.98% 였다. 10% 사이클링은 CO 전환율을 1.65% 감소시켰으나, H₂ 전환율을 약 5.56% 증가시켰다. 이론적 생산성은 128.06 으로부터 133.12 g/L·일 로 약간 증가했다. 사이클링 부재시 평균 에탄올 및 아세트산 농도는 23.65 및 2.23 g/L 였다. 사이클링은 에탄올 농도를 24.31 g/L 로, 아세트산 농도를 2.83 g/L 로 증가시켰다.

[0092] 약 5.4 SCFM 사이클링에서 이점이 더욱 명백했다. 평균 H₂ 전환율이 44-45% vs. 33-42% 로 더 높았을 뿐만 아니라, 이론적 생산성이 124-125 g/L·일 vs. 112.5-114 g/L·일 로 더 높았다.

[0093] 10% 로부터 20% 로 사이클링 규모의 변화는 평균 전환율 및 생산성에 오직 약간 영향을 미친다. CO 전환율은 약 0.85% 증가했고, H₂ 전환율은 약 0.75% 감소했다. 평균 에탄올 농도는 24.72 로부터 25.92 g/L 로 약간 증가했고, 아세트산 농도는 2.73 으로부터 2.23 g/L 로 감소했다.

[0094] 표 1. 평균 기체 전환율, 흡수율 및 이론적 생산성.

지속 시간, 시간	베이스 기체, SCFM	사이클링 %	CO 전환율, %	H ₂ 전환율, %	이론적 STY, g/L·일	CO 흡수율, mmole/분	H ₂ 흡수율, mmole/분
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

[0095]

[0096] * 기체 전달의 업셋. 기체 공급률은 3.5 SCFM 로 하락했고, 그 후 1 시간 내에 다시 5.0 SCFM 로 증가했다. 기체 흐름률은 다음 2 시간 내에 6.0 SCFM 로 약간 증가했다.

[0097] #오직 기체 사이클링 전의 마지막 몇 시간 데이터만 사용함.

[0098] 표 2. 평균 생성물 및 세포 농도

지속 시간, 시간	베이스 기체, SCFM	사이클링 %	세포 농도, g/L	ETOH 농도, g/L	HAc 농도, g/L	BTOH 농도, g/L
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

[0099]

[0100]

* 기체 전달의 업셋. 기체 공급률은 3.5 SCFM 로 하락했고, 그 후 1 시간 내에 다시 5.0 SCFM 로 증가했다. 기체 흐름률은 다음 2 시간 내에 6.0 SCFM 로 서서히 증가했다.

[0101]

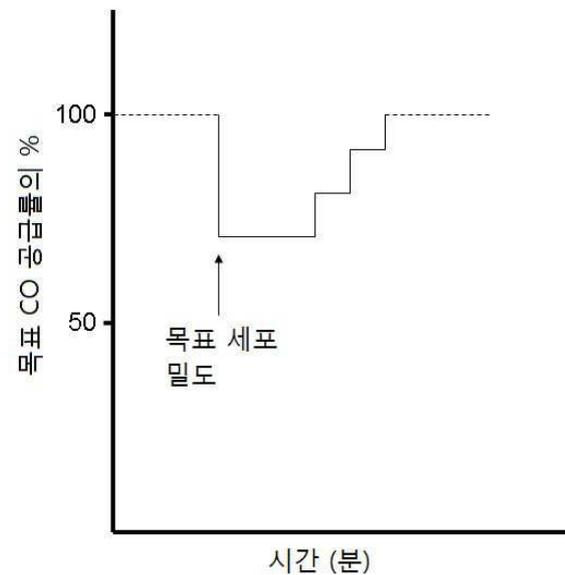
#오직 기체 사이클링 전의 마지막 몇 시간 데이터만 사용함.

[0102]

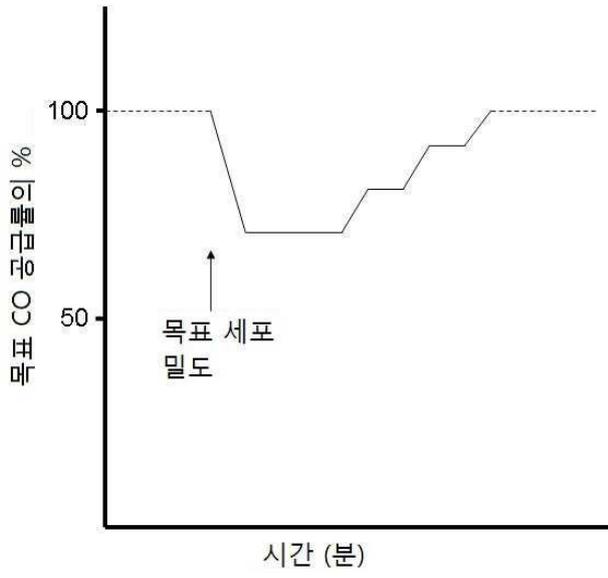
본원에 공개된 발명은 구체적 구현예, 실시예 및 적용물을 이용하여 기재되었지만, 거기에 청구항에 제시된 발명의 범위에서 벗어나지 않으면서 당업자에 의해 수많은 변형 및 변화가 가해질 수 있다.

도면

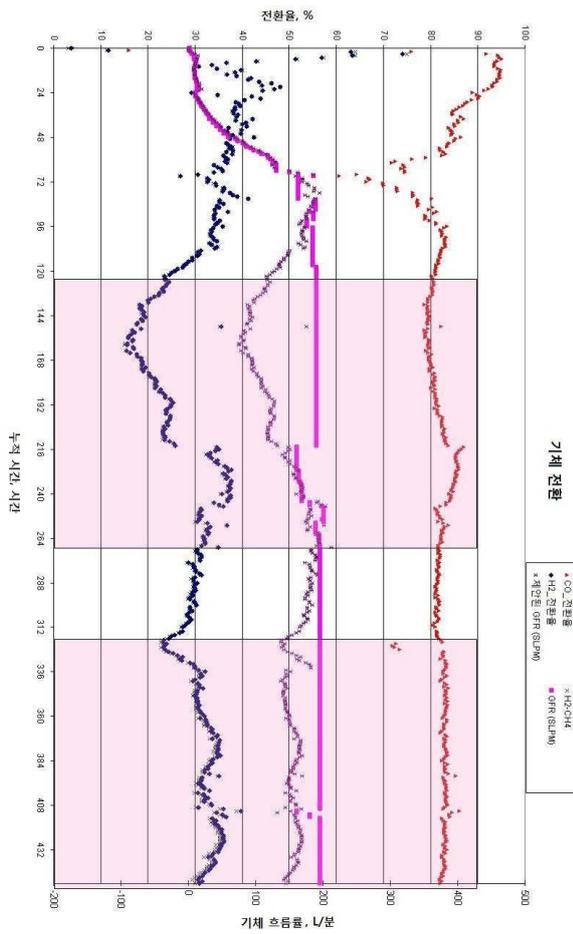
도면1a



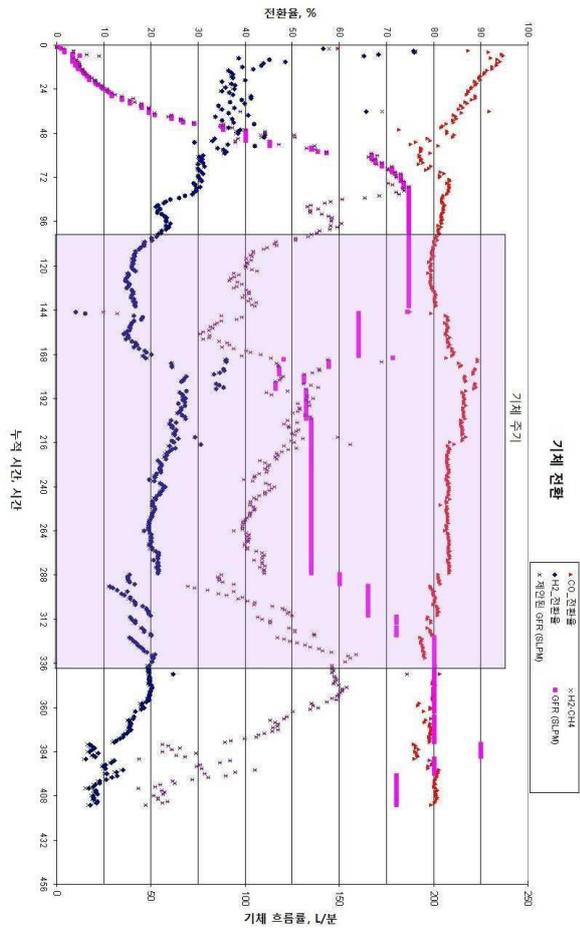
도면1b



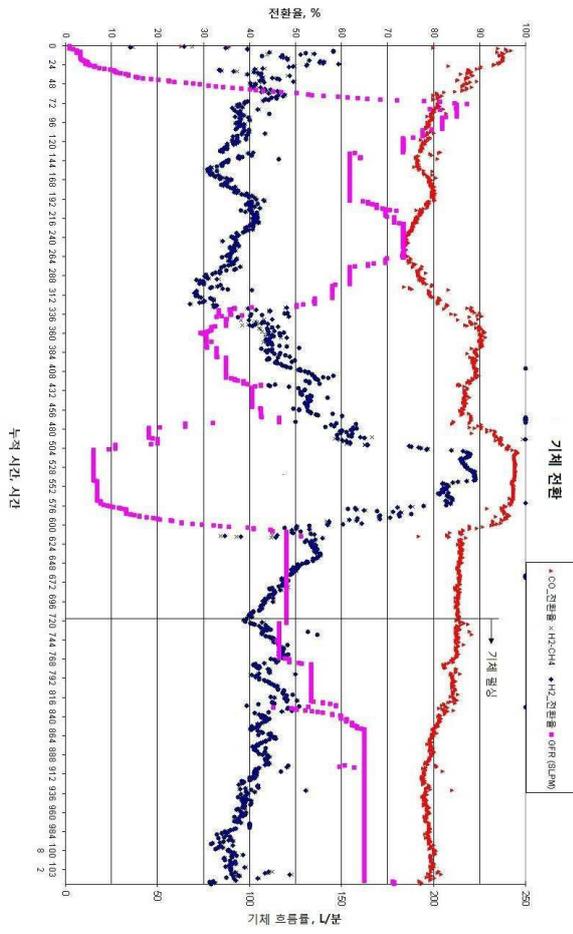
도면2



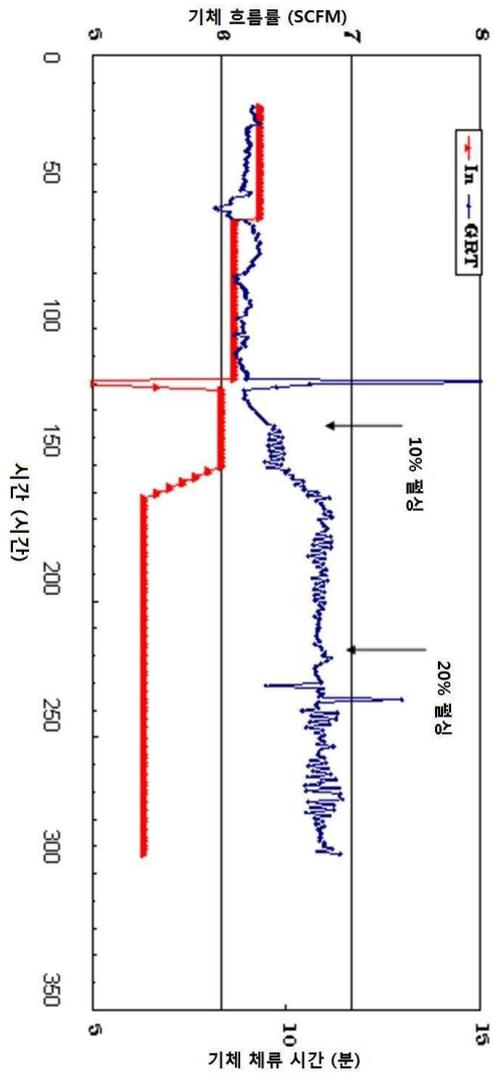
도면3



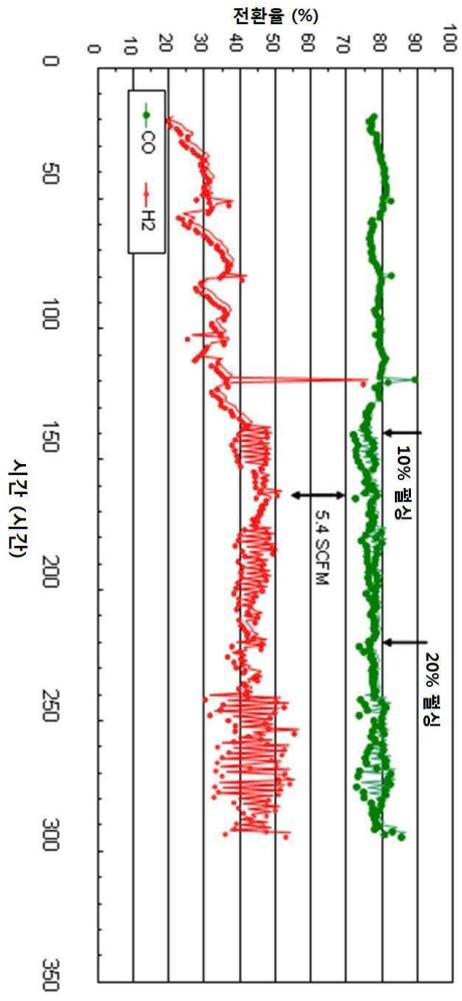
도면4



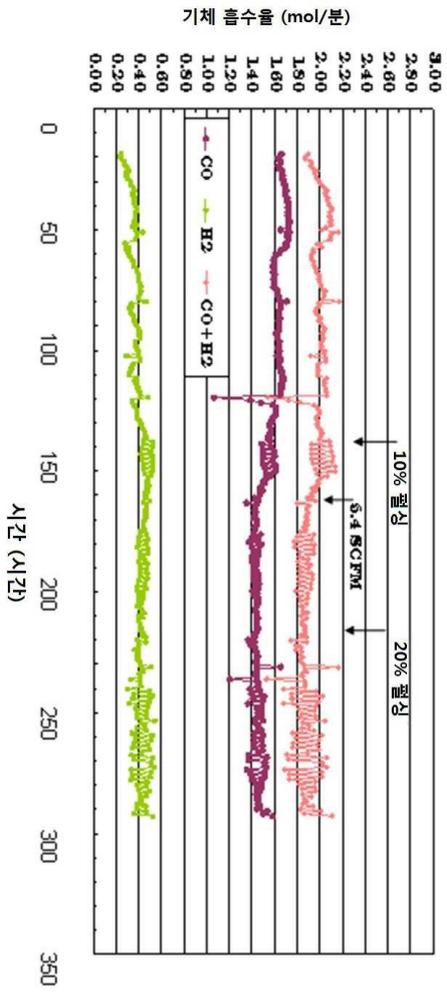
도면5



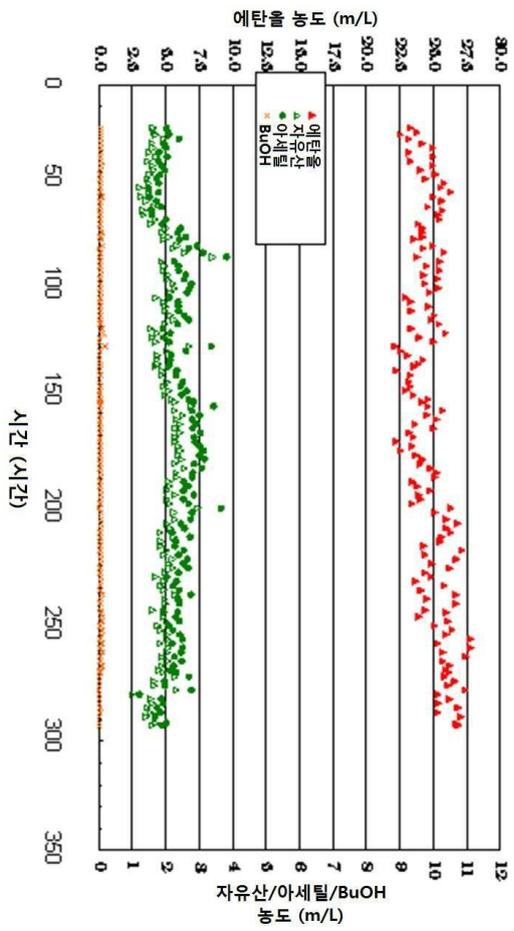
도면6



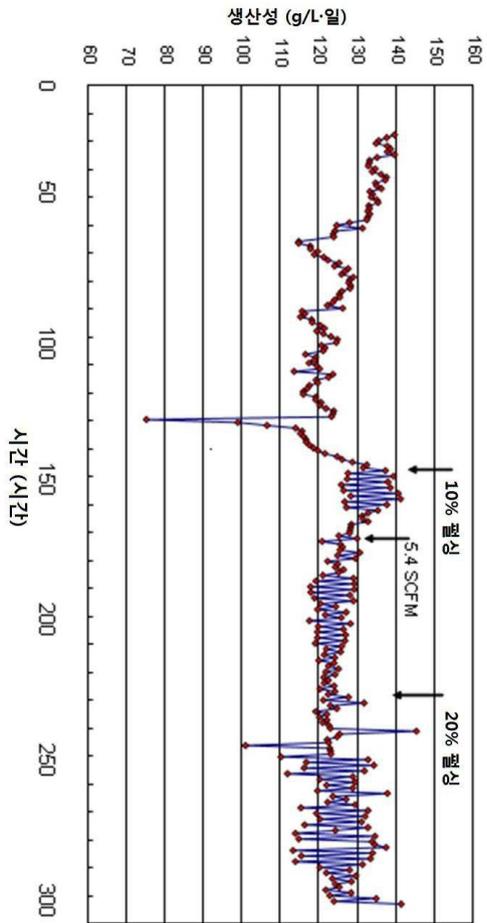
도면7



도면8



도면9



도면10

