



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103975056 B

(45) 授权公告日 2016. 05. 11

(21) 申请号 201280032681. 9

代理人 张颖 谢丽娜

(22) 申请日 2012. 05. 31

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

C12N 1/20(2006. 01)

61/571, 564 2011. 06. 30 US

审查员 毛舒燕

61/571, 565 2011. 06. 30 US

61/573, 845 2011. 09. 13 US

13/471, 827 2012. 05. 15 US

13/471, 858 2012. 05. 15 US

13/473, 167 2012. 05. 16 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 12. 30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2012/040327 2012. 05. 31

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/002949 EN 2013. 01. 03

(73) 专利权人 伊内奥斯生物股份公司

地址 瑞士罗勒

(72) 发明人 彼得·辛普森·贝尔 青-焕·辜

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限
责任公司 11219

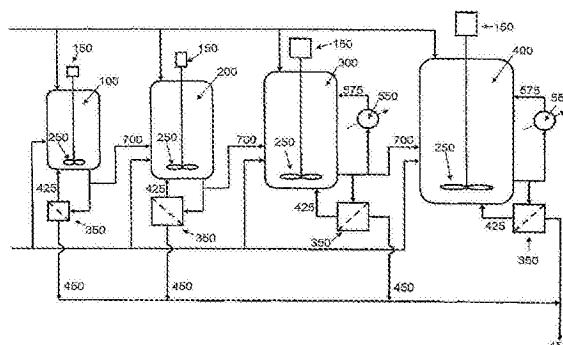
权利要求书2页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

用于合成气发酵的方法

(57) 摘要

本申请提供了一种用于发酵合成气的方法，所述方法有效地减少接种主反应器所需的时间量。所述方法包括繁殖产乙酸细菌的培养物以为主反应器提供接种物，以及在所述主反应器中发酵合成气。



1. 一种用于发酵合成气的方法,所述方法包括繁殖有效地用于接种主反应器的产乙酸细菌培养物,所述繁殖包括:

i) 将产乙酸细菌的第一培养物接种到预反应器中以提供至少0.2克每升的最低活细胞密度,

ii) 在所述预反应器中生长所述产乙酸细菌培养物以提供至少5克每升的预反应器目标细胞密度,

(a) 其中,如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积) $\div$ (主反应器体积乘以(预反应器体积 $\div$ 转移的预反应器体积))大于或等于最低活细胞密度,则将所述预反应器的一定体积转移至所述主反应器,其量有效地在所述主反应器中提供最低活细胞密度,或者

(b) 如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积) $\div$ (主反应器体积乘以(预反应器体积 $\div$ 转移的预反应器体积))小于最低活细胞密度,则将所述预反应器的一定体积转移至随后的预反应器,转移量有效地在随后的预反应器中提供最低活细胞密度,以及

iii) 重复步骤ii,直至将预反应器的一定体积转移至所述主反应器,

其中使用预反应器的25%至75%的体积来接种随后的预反应器或主反应器。

2. 权利要求1的方法,其中所述预反应器体积转移到随后的预反应器体积或主反应器体积的体积比为0.02至0.5。

3. 权利要求1的方法,其中所述合成气具有至少0.75的CO/CO₂摩尔比。

4. 权利要求1的方法,其中所述第一培养物具有6.5或更低的pH以及10克/升或更低的乙酸浓度。

5. 权利要求1的方法,其中所述合成气具有20至100摩尔%的CO。

6. 权利要求1的方法,其中用于繁殖产乙酸细菌的所述合成气基本上是CO。

7. 权利要求1的方法,其中所述产乙酸细菌选自凯伍产乙酸菌(*Acetogenium kivui*)、潮湿厌氧醋菌(*Acetoanaerobium noterae*)、伍氏醋酸杆菌(*Acetobacterium woodii*)、保藏号为ATCC BAA-1772的*Alkalibaculum bacchi* CP11、*Blautia producta*、甲基营养丁酸杆菌(*Butyribacterium methylotrophicum*)、*Caldanaerobacter subterraneus*、*Caldanaerobacter subterraneus pacificus*、*Carboxydotherrmus hydrogenoformans*、醋酸梭菌(*Clostridium aceticum*)、丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)、德国DSMZ保藏号为DSM 19630的丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*) P262、德国DSMZ保藏号为DSM 19630的*Clostridium autoethanogenum*、德国DSMZ保藏号为DSM 10061的*Clostridium autoethanogenum*、德国DSMZ保藏号为DSM 23693的*Clostridium autoethanogenum*、德国DSMZ保藏号为DSM 24138的*Clostridium autoethanogenum*、保藏号为ATCC PTA-7827的食氧化碳梭菌(*Clostridium carboxidivorans*) P7、保藏号为ATCC PTA-10522的*Clostridium coskatii*、*Clostridium drakei*、保藏号为ATCC 49587的李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) PETC、保藏号为ATCC 55380的李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) ERI2、保藏号为ATCC 55988的李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) C-01、保藏号为ATCC 55889的李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) 0-52、*Clostridium magnum*、德国DSMZ保藏号为DSM 525的巴氏梭菌(*Clostridium pasteurianum*)、保藏号为ATCC BAA-622的*Clostridium ragsdali* P11、*Clostridium scatologenes*、嗜热乙酸梭菌(*Clostridium thermoaceticum*)、*Clostridium ultunense*、库氏脱硫肠状菌

(*Desulfotomaculum kuznetsovii*)、粘液真杆菌(*Eubacterium limosum*)、*Geobacter sulfurreducens*、*Methanosarcina acetivorans*、巴氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina barkeri*)、热醋穆尔氏菌(*Morrella thermoacetica*)、*Morrella thermoautotrophica*、*Oxobacter pfennigii*、产生消化链球菌(*Peptostreptococcus productus*)、产生瘤胃球菌(*Ruminococcus productus*)、*Thermoanaerobacter kivui*及其混合物。

用于合成气发酵的方法

[0001] 本申请要求2011年6月30日提交的美国临时申请号61/571,564和61/571,565以及2011年9月13日提交的61/573,845的优先权,所述临时申请以其全部内容通过参考并入本文。

技术领域

[0002] 提供了用于合成气发酵的方法。更具体来说,所述方法包括繁殖可有效地用作主反应器的接种物的培养物,以及在所述主反应器中发酵合成气。

背景技术

[0003] 厌氧微生物可以通过气态底物的发酵从一氧化碳(CO)生产乙醇。使用来自于梭状芽胞杆菌属(*Clostridium*)的厌氧微生物发酵,产生乙醇和其他有用产品。例如,美国专利号5,173,429描述了李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)ATCC No.49587,一种从合成气体生产乙醇和乙酸盐的厌氧微生物。美国专利号5,807,722描述了使用李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)ATCC No.55380将废气转变成有机酸和醇类的方法和装置。美国专利号6,136,577描述了使用李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)ATCC No.55988和55989将废气转变成乙醇的方法和装置。

[0004] CO通常作为采取合成气形式的气态底物的一部分提供给发酵。将含碳材料气化以产生包括一氧化碳和氢的发生气或合成气体或合成气,在本领域中是公知的。这样的气化过程通常包括含碳材料的部分氧化或贫空气氧化,其中向气化过程供应低于化学计算量的氧以促进一氧化碳的生产,如W02009/154788中所述。

[0005] 使用产乙酸细菌的发酵过程可以包括一个或多个种子反应器、一个或多个生长反应器和至少一个主反应器。通常将产乙酸细菌在种子反应器中生长至一定细胞密度。然后使用种子反应器接种生长发酵罐。生长发酵罐通常具有比种子反应器更大的尺寸。然后将生长反应器中的产乙酸细菌生长至所需细胞密度。然后可以使用生长反应器接种另一个更大的生长反应器,或者可用其接种主反应器。主反应器具有比生长反应器更大的尺寸。有鉴于这一过程,从种子反应器开始接种主反应器需要时间。此外,如果生长反应器故障,所述过程需要重新开始,需要甚至更多时间。

[0006] 发明概述

[0007] 提供了一种用于发酵合成气的方法,所述方法有效地减少接种主反应器所需的时间量。在这种情况下,减少了从种子反应器接种到主反应器接种的总时间。所述方法还在反应器故障的情形中提供更快速的重新开始。

[0008] 在一种情况下,提供了一种用于发酵合成气的方法,所述方法包括繁殖可有效地用于接种主反应器的产乙酸细菌培养物。所述繁殖包括:i)将产乙酸细菌的第一培养物接种到预反应器中以提供最低活细胞密度,以及ii)在所述预反应器中生长所述产乙酸细菌培养物,以提供预反应器目标细胞密度。繁殖可以通过下述方程进一步描述:(a)其中,如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积)÷(主反应器体积乘以(预反应器体积÷转移

的预反应器体积))大于或等于最低活细胞密度,则将所述预反应器的一定体积转移到所述主反应器,转移量有效地在所述主反应器中提供最低活细胞密度,或者(b)如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积) $\div$ (主反应器体积乘以(预反应器体积 $\div$ 转移的预反应器体积))小于最低活细胞密度,则将所述预反应器的一定体积转移到随后的预反应器,转移量有效地在所述随后的预反应器中提供最低活细胞密度。将步骤ii重复,直至将预反应器的一定体积转移到所述主反应器。然后在所述主反应器中进行合成气的发酵。

[0009] 在一种情况下,提供了一种用于发酵合成气的方法,所述方法包括繁殖可有效地用于接种主反应器的产乙酸细菌培养物。所述繁殖包括:i)将产乙酸细菌的第一培养物接种到预反应器中以提供最低活细胞密度,以及ii)在所述预反应器中生长所述产乙酸细菌培养物,以提供预反应器目标细胞密度。繁殖可以通过下述方程进一步描述:(a)其中,如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积) $\div$ (主反应器体积乘以(预反应器体积 $\div$ 转移的预反应器体积))大于或等于最低活细胞密度,则将所述预反应器的一定体积转移到所述主反应器,转移量有效地在所述主反应器中提供最低活细胞密度,或者(b)如果(预反应器目标细胞密度乘以预反应器体积) $\div$ (主反应器体积乘以(预反应器体积 $\div$ 转移的预反应器体积))小于最低活细胞密度,则调节所述主反应器的体积并将所述预反应器的一定体积转移到所述主反应器,转移量有效地在所述主反应器中提供最低活细胞密度,并且在维持最低活细胞密度的同时增加所述主反应器的体积。然后在所述主反应器中进行合成气的发酵。

[0010] 在另一种情况下,提供了一种用于启动合成气发酵的主发酵罐的方法。所述方法包括将产乙酸细菌的第一培养物接种到种子反应器中,以在所述种子反应器中提供至少约0.2克/升的最低初始活细胞密度。使用合成气生长所述产乙酸细菌培养物,以在所述种子反应器中提供至少约5克/升的细胞密度。使用来自于所述种子反应器的接种物接种第一生长反应器,接种量有效地在所述生长反应器中提供至少约0.2克/升的细胞密度。使用合成气生长所述培养物,以在所述第一生长反应器中提供至少约5克/升的细胞密度。使用来自于所述第一生长反应器的接种物接种第二生长反应器,接种量有效地在所述生长反应器中提供至少约0.2克/升的细胞密度。使用合成气生长所述培养物,以在所述第二生长反应器中提供至少约5克/升的细胞密度。使用来自于所述第二生长反应器的接种物接种主发酵罐,接种量有效地在所述主反应器中提供至少约0.2克/升的细胞密度。

[0011] 附图简述

[0012] 从下面的图中,所述方法的几种情况的上述和其他方面、特点和优点将更加明显。

[0013] 图1示出了发酵合成气的方法。

[0014] 在整个附图的几张视图中,相应的参考符号指示相应的组件。专业技术人员将会认识到,图中的元件被简单明了地图示,并且不一定是按比例绘制的。例如,图中某些元件的尺寸相对于其他元件可能被扩大,以帮助增强对本发明方法和装置的各种不同方面的理解。此外,在商业上可行的情况下有用或必需的共同但公知的元件没有被示出,以便于更少阻碍地示出这些各种不同方面。

[0015] 详细描述

[0016] 下面的描述不应以限制的意义看待,而仅仅是出于描述示例性实施方式的一般性原理的目的做出。本发明的范围应该参考权利要求书来确定。

[0017] 提供了一系列一个或多个预反应器,其可有效地用于向主反应器快速提供接种物。所述一个或多个预反应器和主反应器可操作连接以允许培养物的转移。所述一个或多个预反应器中的每个被接种成具有最低活细胞密度,然后生长以提供目标细胞密度,用于随后的接种。将任何预反应器的约25%至约75%的体积转移到随后的反应器。剩余的体积被维持,并且可以在任何随后的反应器故障时用于重新接种。

[0018] 定义

[0019] 除非另有定义,否则在整个本公开的说明书中使用的下列术语如下所定义,并且可以包括下面所确定的定义的单数或复数形式:

[0020] 修饰任何量的术语“约”是指在真实世界条件中,例如在实验室、中试厂或生产厂中所遇到的量的变差。例如,在混合物或数量中使用的成分或测量值的量,当用“约”修饰时,包括在生产厂或实验室中的实验条件下,在测量中通常使用的变差和照管程度。例如,产物组分的量当用“约”修饰时,包括在工厂或实验室的多批实验中不同批次之间的变差,以及分析方法所固有的变差。不论是否用“约”修饰,量包括所述量的等同物。本文中陈述并用“约”修饰的任何数量,也可以作为没有用“约”修饰的量使用在本公开中。

[0021] 当在本文中使用时,“含碳材料”是指富含碳的材料例如煤和石化产品。然而,在本说明书中,含碳材料包括无论采取固态、液态、气态还是等离子态的任何碳材料。在可以被当作含碳材料的大量物品中,本公开设想了:含碳材料,含碳液体产物,含碳工业液体回收利用物,含碳市政固体废物(MSW或msw),含碳城市废物,含碳农业材料,含碳林业材料,含碳木材废物,含碳建筑材料,含碳植物材料,含碳工业废物,含碳发酵废物,含碳石化联产物,含碳醇类生产联产物,半无烟煤,轮胎,塑料,废塑料,焦炉焦油,软纤维(fibersoft),木质素,黑液,聚合物,废聚合物,聚对苯二甲酸乙二酯(PETA),聚苯乙烯(PS),污水污泥,动物废物,作物残留物,能源作物,林业加工残留物,木材加工残留物,家畜粪便,家禽粪便,食品加工残留物,发酵过程废物,乙醇联产物,酒糟,废微生物或其组合。

[0022] 术语“软纤维”(fibersoft或Fibersoft或fibrosoft或fibrousoft)是指作为各种物质的软化和浓缩的结果而产生的一种类型的含碳材料;在一个实例中,含碳材料通过各种物质的蒸气压热处理来生产。在另一个实例中,软纤维可以包括市政、工业、商业和医疗废物的蒸气压热处理产生的纤维状糊状材料。

[0023] 术语“市政固体废物”或“MSW”或“msw”是指可以包括家庭、商业、工业和/或残余废物的废物。

[0024] 术语“合成气”或“合成气体”是指用于称呼含有不同量一氧化碳和氢的气体混合物的合成气体。生产方法的实例包括天然气或烃类的水蒸气重整以产生氢,煤的气化以及在某些类型的废物产能气化设施中。该名称来自于它们在产生合成天然气(SNG)中作为中间体和用于生产氨或甲醇。合成气的用途包括在通过Fischer-Tropsch合成生产用作燃料或润滑剂的合成石油以及以前的Mobil甲醇制汽油过程中作为中间体。合成气主要由氢、一氧化碳和一些二氧化碳构成,并具有不到一半的天然气的能量密度(即BTU含量)。合成气是可燃烧的,并且通常被用作燃料源或作为中间体用于其他化学品的生产。

[0025] 术语“发酵”、“发酵过程”或“发酵反应”等打算涵盖所述过程的生长阶段和产物生物合成阶段两者。在一种情况下,发酵是指将CO转变成醇类。

[0026] 预反应器设计

[0027] 根据所述方法,将产乙酸细菌培养物接种在预反应器中以提供最低细胞密度。在这种情况下,预反应器可以是一个或多个种子反应器和一个或多个生长反应器。种子反应器的体积可以为约500升或更小,在另一种情况下约400升或更小,在另一种情况下约300升或更小,在另一种情况下约200升或更小,在另一种情况下约100升或更小,并且在另一种情况下约50升或更小。生长反应器的体积可以为约250,000升或更小,在另一种情况下约150,000升或更小,在另一种情况下约100,000升或更小,在另一种情况下约50,000升或更小,在另一种情况下约10,000升或更小,并且在另一种情况下约1,000升或更小。当在本文中使用时,“体积”是指未通气的液体工作体积。

[0028] 种子反应器可以用合成气供应,包括例如罐装合成气。在这种情况下,使用体积为500升或更小的种子反应器允许用罐装合成气供应种子反应器。如果来自于气化过程的合成气供应不可用时,罐装合成气的使用可能是重要的。有用的合成气组成在本文中描述。在一种情况下,可以用从主反应器回收利用的气体供应预反应器。

[0029] 将种子反应器中的培养物生长至预反应器目标细胞密度,并使用种子反应器的一定体积接种体积比种子反应器更大的随后的预反应器。在这种情况下,第二预反应器可以是一个或多个生长反应器。在一种重要情况下,方法利用至少两个生长反应器,在另一种情况下至少三个生长反应器,并且在另一种情况下至少四个生长反应器。

[0030] 在图1中一般性示出了用于发酵合成气的方法的一种情况。在这种情况下,方法包括种子反应器100、第一生长反应器200、第二生长反应器300和主反应器400。每个反应器可以通过气体供应源500用合成气供应。营养物可以通过营养物供应源600供应到每个反应器。每个反应器可以包括搅拌机150和至少一个叶轮250。来自于每个反应器的培养基可以被送往冷却器/热交换器550,并且冷却的培养基可以被循环回到反应器容器。来自于一个反应器的培养基可以通过转移管线700转移到下一个反应器。

[0031] 来自于每个反应器的培养基可以被送往循环过滤器350。浓缩的细胞425可以被返回到反应器容器,并且透过液450可以被送去进行进一步处理。进一步处理可以包括所需产物例如乙醇、乙酸和丁醇的分离。

[0032] 预反应器运行

[0033] 预反应器运行允许主反应器接种的快速启动。在这种情况下,从第一预反应器的接种到主反应器的接种的时间为约20天或更短,在另一种情况下约15天或更短,并且在另一种情况下约10天或更短。如果有任何预反应器故障,方法还允许更快地恢复。

[0034] 根据所述方法,将产乙酸细菌培养物接种到预反应器或种子反应器中,以提供最低细胞密度。当在本文中使用时,“最低细胞密度”是指至少约0.1克/升、在另一种情况下至少约0.2克/升、在另一种情况下至少约0.3克/升、在另一种情况下至少约0.4克/升、并且在另一种情况下至少约0.5克/升的活细胞密度。最低细胞密度不超过约1.2克/升。在另一种情况下,用于接种预反应器或种子反应器的第一培养物具有6.5或更低,在另一种情况下4.5或更低,并且在另一种情况下约4.0至约4.5的pH。用于接种预反应器或种子反应器的第一培养物具有约10克/升或更低,在另一种情况下约1至约10克/升,在另一种情况下约1至约5克/升,在另一种情况下约1至约3克/升,并且在另一种情况下约2克/升的乙酸浓度。

[0035] 将产乙酸细菌在预反应器中生长,直至达到目标细胞密度。当在本文中使用时,“预反应器目标细胞密度”是指至少约5克/升、在另一种情况下至少约10克/升、在另一种情

况下至少约15克/升、并且在另一种情况下至少约20克/升的活细胞密度。预反应器目标细胞密度一般不超过约50克/升。在另一种情况下,预反应器目标细胞密度为约12至约15克/升,并且在另一种情况下约20至约24克/升。

[0036] 在一种情况下,每个随后的预反应器具有比其前面的预反应器更大的体积。根据这种方法,转移到随后的预反应器或主反应器的预反应器体积的体积比为约0.02至约0.5,并且在另一种情况下约0.02至约0.2。在另一种情况下,使用预反应器的约20至约75%的体积来接种随后的预反应器或主反应器。可以转移的其他反应器体积包括约30至约70%、约40至约60%和约45至约55%。在这种情况下,维持一定体积允许在随后的反应器故障时更快地恢复。当在本文中使用时,“反应器故障”是指没有气体转化发生并且在显微镜评估后细胞看起来死亡的状况。在这种情况下,一旦发生反应器故障,可以在24小时内重新接种反应器。

[0037] 在预反应器中达到目标细胞密度后,方法中的后续步骤可以描述如下:

[0038]

$$\text{如果 } \frac{(\text{预反应器目标细胞密度}) \times (\text{预反应器体积})}{(\text{主反应器体积}) \times \left[\frac{(\text{预反应器体积})}{(\text{转移的预反应器体积})} \right]} \geq \text{最低活细胞密度}$$

[0039] 则以有效地在主反应器中提供最低细胞密度的量将预反应器的一定体积转移到主反应器;或者

$$\text{如果 } \frac{(\text{预反应器目标细胞密度}) \times (\text{预反应器体积})}{(\text{主反应器体积}) \times \left[\frac{\text{预反应器体积}}{(\text{转移的预反应器体积})} \right]} \leq \text{最低活细胞密度}$$

[0040]

[0041] 则以有效地在主反应器中提供最低细胞密度的量将预反应器的一定体积转移到随后的预反应器。这个从一个预反应器转移到另一个预反应器的步骤可以重复,直至转移到主反应器。

[0042] 在另一种情况下,在预反应器中达到目标细胞密度后,方法中的后续步骤可以描述如下:

$$\text{如果 } \frac{(\text{预反应器目标细胞密度}) \times (\text{预反应器体积})}{(\text{主反应器体积}) \times \left[\frac{(\text{预反应器体积})}{(\text{转移的预反应器体积})} \right]} \geq \text{最低活细胞密度}$$

[0043]

[0044] 则以有效地在主反应器中提供最低细胞密度的量将预反应器的一定体积转移到主反应器;或者

$$\text{如果 } \frac{(\text{预反应器目标细胞密度}) \times (\text{预反应器体积})}{(\text{主反应器体积}) \times \left[\frac{(\text{预反应器体积})}{(\text{转移的预反应器体积})} \right]} \leq \text{最低活细胞密度}$$

[0045]

[0046] 则可以调整主反应器的体积,并以有效地在主反应器中提供最低细胞密度的量转移预反应器的一定体积。然后将主反应器的体积随时间增加到所需体积,同时维持最低活细胞密度。

[0047] 每个反应器可以有效地最大化细胞生长并维持培养物健康的方式运行。在一种情况下,在每个反应器中使用的培养基可以相同或不同。适合的培养基的实例包括在美国专利号7,285,402、PCT/US2009/001522和均于2010年12月3日提交的美国临时申请号61/458,899、61/458,903和61/458,976中所描述的,所有这些参考文献以其全部内容通过参考并入本文。在生长阶段中可以使用更高浓度水平的一种或多种维生素。

[0048] 在一种情况下,种子反应器可以约0.3至约0.7克细胞/升接种。合成气可以约0.5至约2.0升/分钟、在另一种情况下约0.75至约1.25升/分钟的速率喷射到种子反应器中。初始搅拌以完全搅拌功率的约10至约40%进行。搅拌速率可以在1小时内增加到完全功率。例如,对于较小反应器来说搅拌速率可以从约100增加至约1000rpm,并且对于较大反应器来说所述增加可以相应地较小。

[0049] 产乙酸细菌

[0050] 在一种情况下,所利用的微生物包括产乙酸细菌。有用的产乙酸细菌的实例包括梭状芽胞杆菌属(*Clostridium*)的细菌,例如李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)菌株,包括在W02000/68407、EP117309、美国专利号5,173,429、5,593,886和6,368,819、W01998/00558和W02002/08438中所描述的,*Clostridium autoethanogenum*菌株(德国DSMZ的DSM10061和DSM19630),包括在W02007/117157和W02009/151342中所描述的,以及*Clostridium ragsdalei*(P11,ATCC BAA-622)和*Alkalibaculum bacchi*(CP11,ATCC BAA-1772),包括分别在美国专利号7,704,723和“来自于生物质产生的合成气体的生物燃料和生物产品”(Biofuels and Bioproducts from Biomass-Generated Synthesis Gas,Hasan Atiyeh,在Oklahoma EPSCoR Annual State Conference中,April29,2010)中所描述的,以及在美国专利申请号2007/0276447中所描述的食氧化碳梭菌(*Clostridium carboxidivorans*)(ATCC PTA-7827)。其他适合的微生物包括穆尔氏菌属(*Moorella*)的微生物包括*Moorella* sp.HUC22-1,以及*Carboxydotherrmus*属的微生物。这些参考文献每个通过参考并入本文。可以使用两种或更多种微生物的混合培养物。

[0051] 有用的细菌的一些实例包括凯伍产乙酸菌(*Acetogenium kivui*)、潮湿厌氧醋菌(*Acetoanaerobium noterae*)、伍氏醋酸杆菌(*Acetobacterium woodii*)、*Alkalibaculum bacchi* CP11(ATCC BAA-1772)、*Blautia producta*、甲基营养丁酸杆菌(*Butyribacterium methylotrophicum*)、*Caldanaerobacter subterraneus*、*Caldanaerobacter subterraneus pacificus*、*Carboxydotherrmus hydrogenoformans*、醋酸梭菌(*Clostridium aceticum*)、丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)、丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)P262(德国DSMZ保藏号DSM19630)、*Clostridium autoethanogenum*(德国DSMZ保藏号DSM19630)、*Clostridium autoethanogenum*(德国DSMZ保藏号DSM10061)、*Clostridium autoethanogenum*(德国DSMZ保藏号DSM23693)、*Clostridium autoethanogenum*(德国DSMZ保藏号DSM24138)、食氧化碳梭菌(*Clostridium carboxidivorans*)P7(ATCC PTA-7827)、*Clostridium coskatii*(ATCC PTA-10522)、*Clostridium drakei*、李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)PETC(ATCC49587)、李氏梭菌

(*Clostridium ljungdahlii*) ERI2(ATCC55380)、李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) C-01(ATCC55988)、李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*) 0-52(ATCC55889)、*Clostridium magnum*、巴氏梭菌(*Clostridium pasteurianum*) (德国DSMZ保藏号DSM525)、*Clostridium ragsdali* P11(ATCC BAA-622)、*Clostridium scatologenes*、嗜热乙酸梭菌(*Clostridium thermoaceticum*)、*Clostridium ultunense*、库氏脱硫肠状菌(*Desulfotomaculum kuznetsovii*)、粘液真杆菌(*Eubacterium limosum*)、*Geobacter sulfurreducens*、*Methanosarcina acetivorans*、巴氏甲烷八叠球菌(*Methanosarcina barkeri*)、热醋穆尔氏菌(*Morrella thermoacetica*)、*Morrella thermoautotrophica*、*Oxobacter pfennigii*、产生消化链球菌(*Peptostreptococcus productus*)、产生瘤胃球菌(*Ruminococcus productus*)、*Thermoanaerobacter kivui*及其混合物。

[0052] 合成气

[0053] 合成气可以从任何已知来源提供。在一种情况下,合成气可以源自于含碳材料的气化。气化包括生物质在受限的氧供应中的部分燃烧。得到的气体主要包括CO和H₂。在这种情况下,合成气含有至少约10摩尔%CO,在一种情况下至少约20摩尔%CO,在一种情况下约10至约100摩尔%CO,在一种情况下约20至约100摩尔%CO,在一种情况下约30至约90摩尔%CO,在一种情况下约40至约80摩尔%CO,并且在一种情况下约50至约70摩尔%CO。合成气具有至少约0.75的CO/CO₂摩尔比。适合的气化方法和装置的一些实例提供在美国系列号61/516,667、61/516,704和61/516,646中,所有这些申请都在2011年4月6日提交,并且全都通过参考并入本文。

[0054] 在另一种情况下,用于繁殖产乙酸细菌的合成气可以基本上是CO。当在本文中使用,“基本上CO”是指至少约50摩尔%CO,在另一种情况下至少约60摩尔%CO,在另一种情况下至少约70摩尔%CO,在另一种情况下至少约80摩尔%CO,并且在另一种情况下至少约90摩尔%CO。

[0055] 实施例1:使用两个生长反应器的启动

[0056] 将种子发酵罐(90升)用李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)接种。对合成气进行发酵,直至获得约12克/升的细胞密度。使用一半的种子发酵罐(约45升)接种第一生长反应器,以在第一生长反应器中提供约1390升的总体积和约0.38克/升的起始细胞密度。从接种时间起将合成气发酵140小时,以提供约12克/升的细胞密度。使用来自于第一生长反应器的培养物(约703升)接种第二生长反应器,以在第二生长反应器中提供约22200升的总体积和约0.38克/升的细胞密度。从接种时间起将合成气发酵140小时,以提供约12克/升的细胞密度。使用来自于第二生长反应器的培养物(约12,000升)接种主反应器,以在主反应器中提供约350,000至400,000升的总体积和约0.40克/升的细胞密度。从第一生长反应器的接种到主反应器的接种的经过时间是11.7天。

[0057] 实施例2:使用种子反应器和一个生长反应器的启动

[0058] 将种子发酵罐(约1600升)用李氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)接种。对合成气进行发酵,直至获得约12克/升的细胞密度。使用一半的种子发酵罐(约700升)接种第一生长反应器,以在第一生长反应器中提供约2250升的总体积和约0.38克/升的起始细胞密度。从接种时间起将合成气发酵140小时,以提供约12克/升的细胞密度。使用来自于第一生长反应器的培养物(约11,000升)接种主反应器,以在主反应器中提供约350,000至约400,

000升的总体积和约0.38克/升的细胞密度。从第一生长反应器的接种到主反应器的接种的经过时间是9.2天。

[0059] 尽管已利用具体实施方式、实例及其应用对本文公开的发明进行了描述,但本领域技术人员可以对其做出大量修改和改变而不背离权利要求书中提出的本发明的范围。

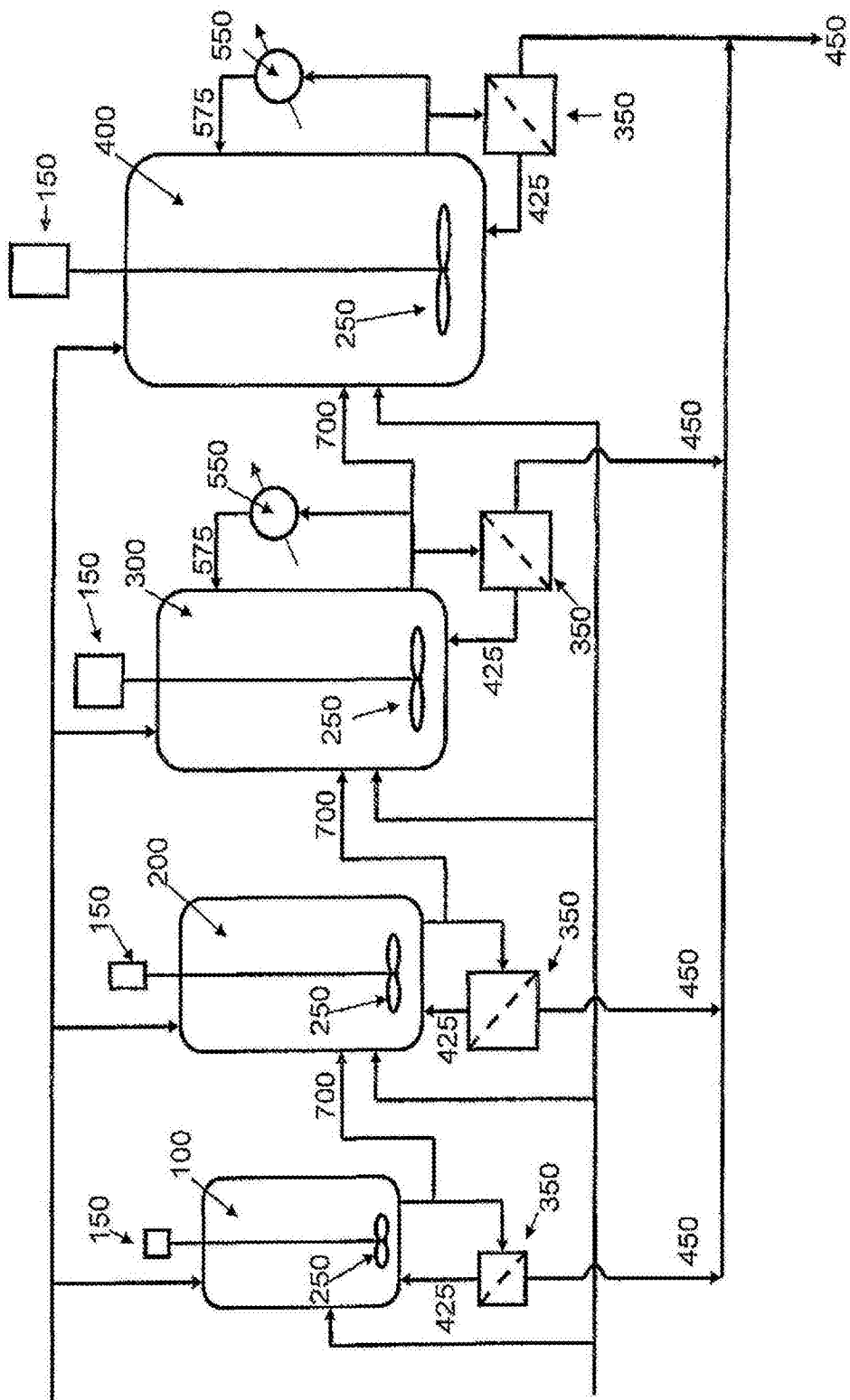


图1