



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201625801 A

(43)公開日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：104117847

(22)申請日：中華民國 104 (2015) 年 06 月 02 日

(51)Int. Cl. : *C12Q3/00 (2006.01)* *C12P7/54 (2006.01)*
C12P7/06 (2006.01)

(30)優先權：2014/07/11 美國 14/329,881

(71)申請人：藍瑟科技紐西蘭有限公司(紐西蘭) LANZATECH NEW ZEALAND LIMITED (NZ)
紐西蘭

(72)發明人：可蕾德 克理司多夫 COLLET, CHRISTOPHE (CH)；華特司 蓋 WATERS, GUY
(NZ)；布朗利 傑森 BROMLEY, JASON (NZ)；楊 賈斯汀 YANG, JUSTIN
(NZ)；威爾森 喬洛 內森 WILSON, JAROD NATHAN (NZ)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：23 項 圖式數：7 共 37 頁

(54)名稱

生物反應器過程之控制

CONTROL OF BIOREACTOR PROCESSES

(57)摘要

本發明揭示用於將 CO 生物轉化為所要最終產物(諸如乙醇)之方法以及相關系統及電腦程式(軟體)產品。用於此等方法之控制方法可有利地導致在實現連續操作之前分批操作或其他初始操作時間段所需之時間減少，所述連續操作可藉由以限定流動速率添加新鮮培養基或藉由另一過程起始目標而分界。所述控制方法可替代性地或以組合形式在此分批操作或其他初始操作時間段期間改良過程效能參數，諸如所述所要最終產物之生產率或細菌生長速率。

Processes, as well as associated systems and computer program (software) products, are disclosed for the biological conversion of CO into desired end products such as ethanol. The control methodologies used for these processes can advantageously result in a reduced time required for a batch operation or other initial operating period, prior to achieving a continuous operation, which may be demarcated either by the addition of fresh culture medium at a defined flow rate or by another process initiation target. The control methodologies may alternatively, or in combination, improve a process performance parameter, such as productivity of the desired end product or bacterial growth rate, during this batch operation or other initial operating period.

指定代表圖：

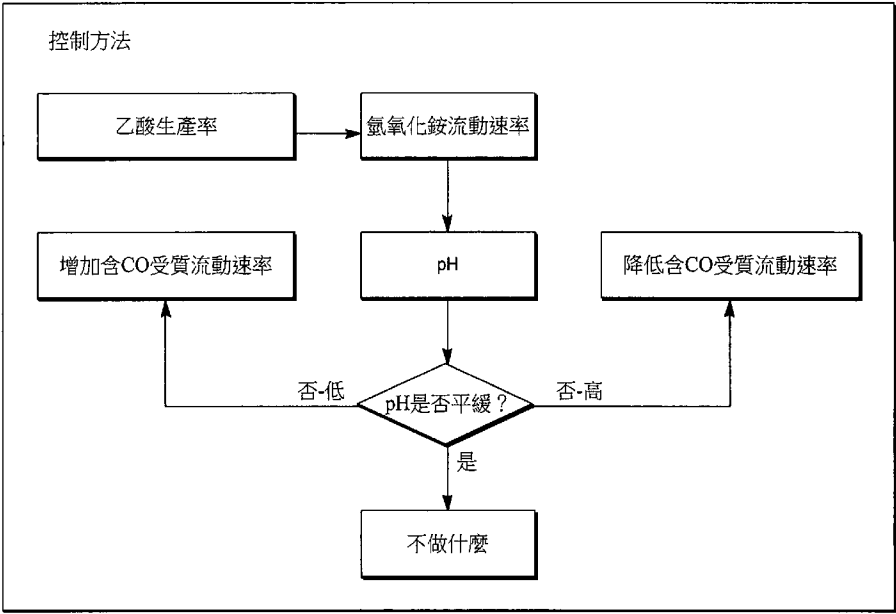


圖 1

發明摘要

※ 申請案號：104117847

※ 申請日：104.6.2

C12Q 3/00 (2006.01)

※IPC 分類：C12P 7/54 (2006.01)

C12P 7/06 (2006.01)

【發明名稱】

生物反應器過程之控制

CONTROL OF BIOREACTOR PROCESSES

【中文】

● 本發明揭示用於將CO生物轉化為所要最終產物（諸如乙醇）之方法以及相關系統及電腦程式（軟體）產品。用於此等方法之控制方法可有利地導致在實現連續操作之前分批操作或其他初始操作時間段所需之時間減少，所述連續操作可藉由以限定流動速率添加新鮮培養基或藉由另一過程起始目標而分界。所述控制方法可替代性地或以組合形式在此分批操作或其他初始操作時間段期間改良過程效能參數，諸如所述所要最終產物之生產率或細菌生長速率。

【英文】

● Processes, as well as associated systems and computer program (software) products, are disclosed for the biological conversion of CO into desired end products such as ethanol. The control methodologies used for these processes can advantageously result in a reduced time required for a batch operation or other initial operating period, prior to achieving a continuous operation, which may be demarcated either by the addition of fresh culture medium at a defined flow rate or by another process initiation target. The control methodologies may alternatively, or in combination, improve a process performance parameter, such as productivity of the desired end product or bacterial growth rate, during this batch operation or other initial operating period.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

生物反應器過程之控制

CONTROL OF BIOREACTOR PROCESSES

【技術領域】

本發明之態樣係關於使含CO受質微生物發酵為乙醇之過程的起始，例如以實現連續且穩態之操作。特定態樣係關於控制操作參數，產生有利結果之方式。

【先前技術】

關於化石燃料溫室氣體（GHG）排放之環境問題已導致對可再生能源之日益重視。因此，乙醇正在全世界迅速變為主要富氫液體運輸燃料。基於歐洲、日本及美國以及若干發展中國家對乙醇生產之日益重視，預期在可預見之未來燃料乙醇工業之全球市場將持續增長。舉例而言，在美國，乙醇用以生產E10，乙醇於汽油中之10%混合物。在E10摻合物中，乙醇組分充當氧合劑，改良燃燒效率且減少空氣污染物產生。在巴西，以摻合於汽油中之氧合劑形式及獨立地以純燃料形式兩者，乙醇滿足約30%之運輸燃料需求。另外，歐盟（EU）對其各成員國對於可持續運輸燃料（諸如生物質來源之乙醇）之消耗已指定目標。

絕大部分燃料乙醇經由傳統基於酵母之發酵過程生產，所述過程使用作物來源之碳水化合物（諸如自甘蔗提取之蔗糖或自穀類作物提取之澱粉）作為主要碳源。然而，此等碳水化合物原料之成本受其在用於競爭性用途之市場中（即作為人類及動物兩者之食物來源）之價值影響。另外，栽培產生澱粉或蔗糖之作物用於乙醇生產並非在所

有地形均為經濟上可持續的，因為此隨當地土地價值及氣候兩者而變。出於此等原因，備受關注的為開發將更低成本及/或更豐富碳資源轉化為燃料乙醇之技術。就此而言，一氧化碳（CO）為有機材料（諸如煤、石油及石油來源之產品）不完全燃燒之主要富能副產物。富CO廢氣由多種工業過程產生。舉例而言，據報導，澳大利亞之鋼鐵工業每年產生且向大氣中釋放超過500,000公噸CO。

最近，用於在工業規模上自CO生產乙醇之基於微生物（細菌）之過程替代方案已變為商業利益及投資之標的。在1903年首次發現微生物培養物在CO為唯一碳源之情況下生長之能力。此特徵後來經確定存在於自營生長之乙醯輔酶A（乙醯CoA）生化路徑（亦稱為伍茲-永達爾（Woods-Ljungdahl）路徑及一氧化碳脫氫酶/乙醯CoA合成酶（CODH/ACS）路徑）之生物使用中。多種厭氧生物（包含一氧化碳營養型、光合、產甲烷及產乙酸生物）自此已顯示可代謝CO。厭氧細菌，諸如來自屬梭菌屬（*Clostridium*）之彼等已知可經由乙醯CoA生化路徑自CO、CO₂及H₂生產乙醇。舉例而言，自氣體生產乙醇之各種永達爾梭菌（*Clostridium ljungdahlii*）菌株描述於WO 00/68407、EP 1117309 A1、US 5,173,429、US 5,593,886、US 6,368,819、WO 98/00558及WO 02/08438中。細菌自產乙醇梭菌種（*Clostridium autoethanogenum* sp）亦已知可自氣體生產乙醇（阿布里尼（Abrini）等人，《微生物學文獻集》（ARCHIVES OF MICROBIOLOGY） 161: 345-351 (1994)）。

因為生物之各酶以基本上完美之選擇性促進其指定生物轉化，所以微生物合成途徑與習知催化途徑相比可在更低能量成本之情況下實現更高產率。舉例而言，自所要產物分離由非選擇性副反應產生之副產物之能量需求可降低。另外，關於歸因於反應介質中之雜質之催化劑中毒的問題減少。

儘管有此等明顯優勢，然而，此項技術必須解決與自CO微生物合成乙醇相關之某些挑戰，尤其就確保生產率可與其他技術競爭而言。當使用CO作為其碳源時，上文所述之厭氧細菌藉由發酵產生乙醇，但其亦產生至少一種代謝物，例如CO₂、H₂、甲烷、正丁醇及/或乙酸。任何此等代謝物之形成具有顯著影響既定過程之生產率及總經濟可行性的可能性，因為可用碳失去給代謝物且所要最終產物之生產效率受損。另外，除非代謝物（例如，乙酸）自身在微生物發酵過程之時間及場所具有價值，否則其可能會造成廢物處置問題。在使含CO氣體厭氧發酵以製造乙醇中解決除所要最終產物外之產物之形成的各種建議論述於WO2007/117157、WO2008/115080及WO2009/022925中。

乙醇生產率為關於既定發酵過程在經濟上是否為吸引人的一種關鍵決定因素，高度取決於管理用於細菌生長之適當條件。舉例而言，自WO2010/093262已知，含CO受質必須以導致最佳微生物生長及/或所要代謝物產生之速率提供給微生物培養物。若提供不充足之受質，則微生物生長減緩且發酵產物產生以乙醇為代價朝乙酸之偏移。若提供過量受質，則可能會導致不良微生物生長及/或細胞死亡。關於此等過程中之操作參數之間的關係之其他資訊見於WO2011/002318中。

操作參數之控制在操作之初始時間段期間特別重要，其中加工目標不僅集中於使細胞培養物生長至充足水準及確立連續操作之其他條件，而且集中於平衡產物與副產物生產率。在連續生物反應器操作之前減少進行分批培養操作所需之時間對於改良過程經濟學具有重大含義。此鑒於以下事實而特別正確，能夠基於含CO氣體生長之微生物一般而言以比用於以糖作為食物來源之競爭性技術中之微生物更慢的速率生長。自操作發酵過程之商業視角出發，微生物群體變得確立⁵

（亦即，達至足夠高之細胞密度，以便合成經濟上有利水準之產物）所需之時間代表影響總獲利性之關鍵操作成本。例如在分批條件下在初始操作時間段期間增加培養物生長速率及/或生產率，且從而減少達至所要細胞密度及/或產物水準所需之時間的能力為自含CO廢氣生產乙醇之生物過程的商業化之整體成功之重要決定因素。

【發明內容】

本發明之態樣係關於基於可用資料，來控制生物CO轉化過程之起始的方法。通常，在所述過程開始時，以含有一氧化碳營養型細菌（亦即，具有自CO得到能量之能力）之培養基裝入（接種）生物反應器。根據代表性過程，乙醇為所要最終產物，而乙酸酯以乙酸形式作為非所要代謝物產生。如上文所論述，CO必須合理地供應至生物反應器中以滿足競爭性目標。特定言之，CO之供應不足可能會導致以乙醇為代價之過量乙酸酯形成，而CO之供應過多可能會負面地影響細菌生長。鑒於此等考慮因素，基於在分批操作期間之預期細菌生長，結合得自其他過程之資訊，對於CO或含CO氣體之隨時間流動速率，可使用規定概況。

在初始操作時間段（例如，分批操作時間段）期間之首要操作目標為增加培養基中細菌（生物質）之濃度。因此，在分批操作時間段期間之氣體流動概況通常為保守的且力圖避免CO之供應過多。此可能會導致乙酸之大量形成，在一些情況下，超過所要乙醇最終產物之量。因為在整個細菌轉化過程中產生之任何乙酸均降低培養基之pH值，所以可引入鹼性中和劑，諸如氫氧化銨水溶液。中和劑可投加至生物反應器中以維持培養基之適用於細菌生長之pH值（例如，5.0之pH）。

本發明之實施例係針對將CO轉化為所要最終產物（諸如乙醇）之生物發酵方法，其包括將含CO受質及鹼性中和劑（例如，氫氧化

銨水溶液)兩者饋送至包括含有一氧化碳營養型細菌之培養基之生物反應器中。所述方法產生所要最終產物以及酸性代謝物(例如,乙酸)兩者,所述酸性代謝物藉由中和劑轉化(例如,為鹽,諸如乙酸銨),以便避免培養基中之不可接受之pH水準。根據一個代表性實施例,可基於培養基中之一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之量測性質(諸如量測濃度或量測生產率),來控制鹼性中和劑之流動速率。替代性地,若所述量測性質不可獲得,例如若缺乏適合聯機取樣及分析設備,則可基於含CO受質之量測流動速率或另外基於此受質之設定點,來控制鹼性中和劑之流動速率。

本發明之其他實施例係針對系統,其包括生物反應器及控制器,所述控制器經配置以基於如上文所述之培養基之量測性質,或替代性地基於含CO受質之量測流動速率或另外基於此受質之設定點,來控制鹼性中和劑向生物反應器之流動速率。在基於培養基之量測性質來控制之情況下,除了經配置以分析經分離樣品之分析儀之外,系統可進一步包括經配置以自生物反應器分離培養基之樣品以用於分析之必需取樣設備。在以上控制方法替代方案中之任一者中,代表性系統可視情況包括經配置以基於量測pH值來控制含CO受質流動速率之第二控制器、經配置以自生物反應器分離培養基之樣品之取樣設備、及/或經配置以分析樣品且隨後將量測pH值輸入至控制器之分析儀。

本發明之其他實施例係針對電腦程式產品,其包括具有電腦程式實施於其上之非暫時性電腦可讀媒體。此等電腦程式包含使處理器執行實施本文所述之控制方法所需之步驟的指令。此等方法包含接收輸入至經配置以控制鹼性中和劑向生物反應器之流動速率的控制器中之資訊。可以此方式接收且輸入之資訊包含自經配置以分析來自生物反應器之培養基樣品之如上文所述的量測性質之分析儀接收之資訊。替代性地,資訊可為含CO受質之自流動速率感測器或經配置以量測

此流量之量測裝置接收的量測流動速率。所接收的資訊亦可包含含CO受質流動速率設定點。無關於接收且輸入至控制器中之資訊之類型，代表性方法可進一步包括例如自pH測定計或經配置以直接量測培養基或另外量測來自生物反應器之培養基之樣品的pH之其他分析儀接收量測pH值。量測pH值可輸入至經配置以控制含CO受質流動速率之第二控制器中，由此量測pH值為控制之基礎。

關於本發明之此等及其他實施例及態樣自以下實施方式顯而易見。

【圖式簡單說明】

本發明之例示性實施例及其優勢之更完全理解可藉由考慮附圖參考以下描述而獲得。

圖1為控制將含CO受質轉化為乙醇之生物過程之操作參數的代表性方法之流程圖。

圖2為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用習知控制方法，培養基中之乙醇、一氧化碳營養型細菌及乙酸之隨時間量測濃度之圖。

圖3為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用如本文所述之控制方法，培養基中之乙醇、一氧化碳營養型細菌及乙酸之隨時間量測濃度之圖。

圖4為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用習知控制方法與如本文所述之控制方法，含CO受質隨時間流動速率之比較圖。

圖5為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用習知控制方法與如本文所述之控制方法，培養基中之一氧化碳營養型細菌隨時間濃度之比較圖。

圖6為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用如本文所述之代表性控制方法，培養基中之乙醇、一氧化碳營養型細菌及乙酸之

隨時間量測濃度以及新鮮培養基之量測流動速率的圖。

圖7為對於將含CO受質轉化為乙醇之生物過程，使用如本文所述之替代性控制方法，培養基中之乙醇、一氧化碳營養型細菌及乙酸之隨時間量測濃度以及NH₄OH中和劑溶液及含CO受質之量測流動速率的圖。

【實施方式】

本發明係關於生產所要最終產物（諸如乙醇）之方法，其藉由將CO於含CO受質中饋送至包括含有一氧化碳營養型細菌之培養基之生物反應器中。除了所要最終產物之外，代表性方法額外產生非所要或不太為所要之代謝物。除了所要產物（諸如乙醇）之外可產生之酸性代謝物的實例為乙酸酯（例如，呈乙酸形式）。代表性一氧化碳營養型細菌或微生物（亦即，自CO獲得能量及碳之微生物）為來自以下屬之細菌或微生物：穆爾氏菌屬（*Moorella*）、梭菌屬（*Clostridia*）、瘤胃球菌屬（*Ruminococcus*）、醋桿菌屬（*Acetobacterium*）、真桿菌屬（*Eubacterium*）、丁酸桿菌屬（*Butyribacterium*）、產醋桿菌屬（*Oxobacter*）、甲烷八疊球菌屬（*Methanosarcina*）、甲烷八疊球菌屬及脫硫腸狀菌屬（*Desulfotomaculum*）。梭菌屬之細菌之特定實例包含永達爾梭菌（*C. ljundahlii*）、自產乙醇梭菌（*C. autoethanogenum*）、拉氏梭菌（*C. ragsdalei*）及拜氏梭菌（*C. beijerenckei*）。

代表性含CO受質廣泛包含任何含CO氣體或可能液體，其中可使一氧化碳可用於一或多種細菌菌株用於生長及/或發酵。所述含CO受質就污染物可能會對一氧化碳營養型細菌之生長具有不良影響而言較佳不包含所述污染物（例如，一或多種污染物並不以使得在既定條件集下之生長速率與在相同條件下但無污染物之情況下之生長速率相比降低超過10%的濃度或量存在）。代表性氣態含CO受質典型地含有顯

著比例之CO，較佳以體積計至少約5%至約100% CO。所述受質通常以工業過程（諸如鋼鐵製造過程或非亞鐵產品製造過程）之廢棄產物形式產生。產生氣態含CO受質之其他過程包含有機物之氣化，所述有機物諸如甲烷、乙烷、丙烷、煤、天然氣、原油、來自煉油廠之低價值殘餘物（包含石油焦炭或石油焦）、固體城市廢棄物或生物質。生物質包含在食物之提取及加工期間所獲得之副產物，諸如來自甘蔗之糖、或來自玉米或穀物之澱粉、或由林業工業產生之非食物生物質廢棄物。此等含碳材料中之任一者可氣化，亦即在氧氣之情況下部分燃燒以產生合成氣體（合成氣包括大量H₂及CO）。有利地，來自此等過程之氣流可如本文所述而用於有益產生適用最終產物（諸如乙醇）。在其他實施例中，包括CO之受質可來源於烴之蒸汽重整。此等過程更詳細地描述於美國申請公開案第US2013/0045517A1號、第US2013/0210096A1號、第US2013/0203143A1號及第US2013/0316411A1號及美國專利第US 8,383,376號中，以上所有之內容均以全文引用之方式併入。

雖然含CO受質不必需含有任何氫氣，但H₂之存在對所要最終產物之形成通常並非為有害的。在特定實施例中，含CO受質可包括低濃度之H₂，例如小於10體積%、小於5體積%或小於1體積%。含CO受質亦可含有一些CO₂，例如約1體積%至約80體積%、約1體積%至約50體積%或1體積%至約30體積%。任何含CO受質（諸如氣態含CO受質）均可在其用於生物轉化過程中之前經處理以移除任何非所要雜質，諸如粉塵粒子或一般而言可能會對一氧化碳營養型細菌或生物轉化過程有害之任何其他固體、液體或氣態污染物。舉例而言，氣態含CO受質可使用已知方法來過濾或淨化。

在酸性代謝物為乙酸之情況下，術語「乙酸」或「乙酸酯」係指以其陰離子（解離）形式（亦即，呈乙酸根離子或CH₃COO⁻形式）

或以游離分子乙酸（ CH_3COOH ）形式存在於培養基中之總乙酸酯，此等形式之比率取決於系統之pH。術語「生物反應器」包含用於容納一氧化碳營養型細菌之培養物之任何適合容器，其可用以實施本文所述之生物過程（亦可稱為醱酵過程），使得一般而言厭氧地進行生物過程。適合生物反應器可為連續攪拌槽反應器（CSTR）、固定化細胞反應器（ICR）、滴流床反應器（TBR）、移動床生物膜反應器（MBBR）、氣泡柱、氣舉醱酵器、膜反應器（諸如中空纖維膜生物反應器（HFMBR））、靜態混合器，或可包含適用於使含CO受質與細菌培養基接觸（例如，具有有利於執行生物轉化之溶解及傳質動力學）之其他容器或裝置（例如，塔或管路佈置）。

用於本文所述之生物過程中之其他適合過程流、操作參數及設備描述於美國專利申請公開案第US2011/0212433號中，其特此以全文引用之方式併入。

本發明更特定而言與將CO轉化為有價值之最終產物（諸如乙醇）之生物過程的發現相關，其中（i）在實現連續操作之前分批操作時間段或其他初始操作時間段所需之時間意外地減少，所述連續操作可藉由以限定流動速率添加新鮮培養基或藉由另一過程起始目標而分界；及/或（ii）在此分批操作時間段或其他初始操作時間段期間所要最終產物之生產率或另一過程效能參數（例如，細菌生長速率）意外地改良。自分批操作向連續操作之轉化可藉由開始添加新鮮培養基至用於所述過程中之生物反應器中而分界。替代性地，若新鮮培養基添加速率逐漸增加而非在精密時間點開始，則自分批向連續操作之轉化可藉由實現向生物反應器添加新鮮培養基之目標速率及/或實現自生物反應器抽出含細菌培養基之目標速率而分界。新鮮培養基添加及/或含細菌培養基抽出之目標速率可為與穩態操作相關之速率，所述穩態操作亦即，在所要最終產物生產之延長時間段（例如，至少約3⁵

天或至少約10天)內保持條件實質上恆定之操作。另外，此等目標速率可為與穩態操作相關之速率的至少約60%、至少約75%或至少約90%。

除新鮮培養基之目標速率以外，可用以使初始操作時間段與穩態或「運轉」操作時間段分界之其他過程起始目標可包含所要產物(例如，乙醇)、一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之培養基濃度。過程起始目標亦可包含所要產物、一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之生產率。過程起始目標可為預先確定的(亦即，自過程開始時確立)且可能用作控制系統(包含電腦程式(軟體)產品)之輸入；用於監測及/或控制生物過程，包含監測及/或控制新鮮培養基之添加。

本發明之特定實施例係基於如下發現，可自動化之某些控制方法可有效地使含CO受質之流動速率與培養基之量測性質匹配。當用於初始操作時間段(例如，分批操作時間段)中時或當一般而言使用時，此等方法有利地提供在乙酸或乙酸酯之產生減少方面之顯著改良平衡，聯合避免CO供應過多。出人意料地，與自開始時確立含CO氣體流動速率概況之習知實踐相比，分批操作時間段或其他初始操作時間段之目標可早得多且在所要最終產物及非所要代謝物兩者之生產率方面亦高效得多地實現。根據一些實施例，整體過程經濟學可由於實現培養基中之允許轉變為連續操作之細菌濃度的啟動時間減少而大大改良。舉例而言，與使用用於控制過程參數之習知實踐實現之結果相比，自接種生物反應器直至實現既定生物質細菌濃度之時間可減少至少約20%(例如，約20%至約80%)，典型地至少約35%(例如，約35%至約75%)，且通常至少約50%(例如，約50%至約70%)。

根據一種特定控制方法，在初始操作時間段(例如，分批操作時間段)期間或在某一其他操作時間段(例如，連續、穩態或正常操作時間段)期間量測之培養基性質用作控制鹼性中和劑(例如，氫氧

化銨水溶液)之流動速率之基礎。代表性性質包含酸性代謝物(例如,乙酸或乙酸酯)之濃度、酸性代謝物之生產率、一氧化碳營養型細菌之濃度、一氧化碳營養型細菌之生產率或所述性質之組合。一般而言,此等性質中之任一者之增加將方向性地導致鹼性中和劑之流動速率增加。在一個特定實施例中,基於培養基中之靶向酸性代謝物濃度,來控制鹼性中和劑流動速率,轉而自一氧化碳營養型細菌之量測濃度測定所述靶向酸性代謝物濃度。以此方式,控制方法導致鹼性中和劑之消耗,及特定言之氮由生長細菌培養物之增加利用。此有利地在啟動(例如,分批操作時間段)期間提供條件,根據使細菌培養物快速生長以具有有利產物產率分佈之目標而具體調整所述條件。

可連續地或間歇地(例如定期)量測細胞培養基之性質,各連續量測之間的時間段一般而言為每0.1秒至每120秒,典型地每0.5秒至每60秒,且通常每秒至每10秒。可藉由對培養基中之一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之濃度進行聯機分析來獲得量測性質。基於濃度(例如,以公克/公升, g/l為單位)之連續量測值,連同連續量測之間的時間間隔,可計算一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之生產率(例如,以公克/公升/天, g/l·天⁻¹為單位)。舉例而言,若以連續時間間隔(指定為時間1及時間2)測定一氧化碳營養型細菌之濃度,則時間2之一氧化碳營養型細菌之生產率可表示如下:(時間2之濃度 - 時間1之濃度) / (時間2 - 時間1)。

一般而言,量測培養基樣品中之由於過濾或膜分離而不含或實質上不含一氧化碳營養型細菌之酸性代謝物濃度。舉例而言,可在取樣系統之樣品線上併入用於移除細菌之具有適合孔隙大小(例如,在0.05 μm至1 μm範圍內)之過濾器,所述取樣系統經配置以自單個反應器抽出不含細胞之培養基,或另外經配置以在不同時間自多個反應器(例如,2至10個反應器,諸如4至6個反應器,其可串聯或平行操

作，或另外獨立地操作）抽出所述液體，以便自動且分開地監測反應器之效能。根據其他實施例，培養基之不含細胞之樣品可以來自膜分離系統之滲透物流形式可用，其中將富細胞滯留物流再循環至生物反應器中。滲透物在不用於分析時通常可流動至第二生物反應器（例如，串聯操作）中。獲自生物反應器的不含細胞之濾液或滲透物可提供用於聯機量測最終產物（例如，乙醇）濃度或酸性代謝物（例如，乙酸或乙酸酯）濃度之性質的代表性樣品。可藉由已知分析方法，諸如層析（例如，高壓液相層析或HPLC）測定此等濃度。

在一氧化碳營養型細菌濃度作為量測性質之情況下，可自生物反應器例如以滲出流形式直接抽出培養基，所述滲出流在不用於分析時通常可流動至第二生物反應器（例如，串聯操作）中。可將來自滲出流或用於抽出細胞培養基之其他流之樣品線流體地連接至用於聯機量測一氧化碳營養型細菌濃度之性質之適合分析裝置。代表性裝置包含量測電磁能量通過樣品之吸收率或透射率（例如，分光光度計）、樣品之某一生物活性（例如，盤讀取器）或樣品在拋棄式或可再用探針（例如，聯機生物質探針）中之另一性質（例如，阻抗/電容）之裝置。來自滲出流或其他流之樣品線可為取樣系統之一部分，所述取樣系統經配置以自單個反應器抽出培養基，或另外經配置以在不同時間自多個反應器（例如，2至10個反應器，諸如4至6個反應器，其可串聯或平行操作，或另外獨立地操作）抽出所述液體，以便自動且分開地監測反應器之效能。

用於聯機分析來自一個或多個生物反應器之培養基之取樣系統將包含適合導管（例如，管道或管路）；閥門；泵；及允許在所要時間對所要反應器進行自動化取樣之致動器；及適用於沖洗（淨化）樣品線以獲得準確結果之裝置。在分析不含細胞之培養基例如以獲得乙醇或乙酸酯之濃度的情況下，可將如上文所述之經過濾液體或膜滲透

物至少間歇地、但較佳連續地饋送（例如，使用蠕動泵泵送）通過經配置用於聯機分析之適合樣品容器。舉例而言，與這種樣品容器（例如，樣品小瓶）流體連通之入口及出口線可連續地將培養基之過濾流引導至樣品容器中且自樣品容器中引導出。根據一些實施例，將培養基連續饋送通過樣品容器將涉及在生物反應器操作之某一時間段內，例如在至少約3分鐘、至少約5分鐘或至少約10分鐘內，使如上文所述之不含細胞之滲透物或濾液流自樣品容器入口流動通過樣品容器至樣品容器出口。根據一特定實施例，舉例而言，可將經過濾之不含細胞之培養基連續地饋送通過樣品容器持續9分鐘，隨後對樣品線上之過濾器進行1分鐘回洗，以便防止過濾器堵塞。未經取樣且流動通過樣品容器出口之過量培養基可以廢棄物形式丟棄。

以此方式，就此含細胞之培養基中之所要最終產物（例如，乙醇）及代謝物（例如，乙酸或乙酸酯）在分析樣品容器中之不含細胞之培養基時的濃度而言，存在於樣品容器中之液體代表生物反應器中之含細胞之培養基。可將樣品線之長度最小化以最小化生物反應器中之最終產物及/或代謝物之實際濃度與樣品容器中之不含細胞之培養基在分析時之量測濃度之間的任何差量。根據一些實施例，最終產物及/或代謝物之實際與量測濃度之間的差量將小於約10%、小於約5%或小於約2%。可因此將不含細胞之培養基之樣品自樣品容器抽出且分析，以便基本上即時測定生物反應器中之最終產物及代謝物之濃度。舉例而言，自動化取樣可涉及以規律時間間隔使用取樣針以刺穿樣品容器頂部上之橡膠密封且抽出不含細胞之培養基之樣品，連續量測之間的時間段如上文所述。自動化取樣設備可包含例如2至10個樣品容器、諸如4至6個樣品容器以便自相同數目之生物反應器對培養基進行取樣，所述樣品容器可串聯或平行操作，或另外獨立地操作。

更一般而言，可使用適合導管（例如，管道或管路）、閥門、泵

及致動器來配置自動化取樣設備，以便在不同時間分析多個反應器（例如，2至10個反應器，諸如4至6個反應器，其可串聯或平行操作，或另外獨立地操作）之如上文所述的細胞培養基及不含細胞之培養基兩者，以便自動且分開地監測反應器之效能。可以規律時間間隔自動地測定培養基之性質，包含代謝物（例如，乙酸或乙酸酯）之濃度及生產率及/或一氧化碳營養型細菌之濃度及生產率，連續量測之間的時間段如上文所述。有利地，使用聯機自動化取樣及分析允許分析結果在無人工干預之情況下直接輸入至相關控制器（例如，用於控制鹼性中和劑之流動速率）中。另外，如本文所述之自動化取樣設備允許基本上即時地監測一種生物反應器培養基或多種生物反應器培養基之性質，而不需要操作者例如藉由對來自多個生物反應器之多個液體樣品執行稀釋及/或吸液來追蹤及處理。可靠性及資料再現性、以及生物反應器之整體操作由此顯著改良。

較佳，如本文所述之控制方法為自動化的，涉及使用具有處理器將必需訊號傳輸至用於執行此等控制方法之控制器的適當指令之電腦程式。根據一特定控制方法，培養基之量測性質用作控制鹼性中和劑（例如，氫氧化物化合物，諸如氫氧化銨水溶液或其他無機或有機鹼）之流動速率之基礎。與習知控制方法相比，這種控制方法可有利地減少例如在穩態或連續操作之時間段之前初始操作時間段（例如，分批操作時間段）之時間，所述穩態或連續操作可藉由抽出所要最終產物（例如，乙醇）之限定速率或其他限定操作參數而分界。在不受理論束縛之情況下，時間減少可至少部分歸因於以下事實，一氧化碳營養型細菌利用或消耗鹼性中和劑（例如，利用鹼性中和劑中之氮）。因此，一般而言，如本文所述之控制方法在生物反應器過程中為特別有利的，其中朝向培養基之至少兩個饋送流（例如，含CO受質及鹼性中和劑兩者）由其中所含有之細菌消耗、代謝或另外利用。

在其他實施例中，本文所述之控制方法可用於分批操作時間段及連續操作時間段兩者，或僅用於連續操作時間段。

代表性性質包含酸性代謝物（例如，乙酸或乙酸酯）或一氧化碳營養型細菌之量測濃度（亦即，以質量/體積，諸如公克/公升或公克·公升⁻¹為單位）或量測生產率（亦即，以質量/(體積·時間)，諸如公克/(公升·天)或公克·公升⁻¹天⁻¹為單位）。根據較佳實施例，量測性質為酸性代謝物之量測濃度或量測生產率。可在初始操作時間段（例如，分批操作時間段）或其他時間段期間，使用如上文所述之量測頻率及取樣技術連續地或間歇地（例如，定期）量測以上性質中之任一者。舉例而言，可使用HPLC來分析不含細胞或至少實質上不含細胞之滲透物流之樣品中的其酸性代謝物濃度。

鹼性中和劑之流動速率之控制可更具體而言基於培養基之如上文所述之量測性質中的任一者與其相應設定點之間的差異。舉例而言，若酸性代謝物量測濃度為控制之基礎，則可基於培養基中酸性代謝物量測濃度與酸性代謝物設定點濃度之間的差異，來控制鹼性中和劑流動速率。同樣，若酸性代謝物量測生產率、一氧化碳營養型細菌量測濃度或一氧化碳營養型細菌量測生產率為控制之基礎，則可基於（i）酸性代謝物量測生產率與酸性代謝物設定點生產率、（ii）一氧化碳營養型細菌量測濃度與一氧化碳營養型細菌設定點濃度或（iii）一氧化碳營養型細菌量測生產率與一氧化碳營養型細菌設定點生產率之間的差異，來控制鹼性中和劑流動速率。

在酸性代謝物設定點濃度確定之情況下，例如若酸性代謝物量測濃度超過此設定點（或目標）濃度，則控制方法可方向性地導致鹼性中和劑之流動速率降低。此將最終降低培養基中之酸性代謝物之濃度，因為鹼性中和劑之流動速率降低將導致培養基之pH降低。根據較佳實施例，可基於培養基之量測pH值（例如，使用聯機pH測定計⁵

獲得)，來控制含CO受質流動速率。因此，量測pH值之降低（例如，至低於pH值設定點或目標，諸如4.0、4.5、5.0、5.5或6.0）可導致含CO受質流動速率增加。當培養基變得隨含CO受質之流量增加而供應時，酸性代謝物生產率降低，有利於乙醇生產率，導致酸性代謝物濃度例如朝酸性代謝物設定點濃度方向性地降低，且導致pH值增加。相反地，若酸性代謝物量測濃度下降至低於確定的設定點（或目標）濃度，則控制方法可方向性地導致鹼性中和劑之流動速率增加。此將最終增加培養基中之酸性代謝物之濃度，因為鹼性中和劑之流動速率增加將導致培養基之pH增加。可基於培養基之如上文所述之量測pH值（例如，使用聯機pH測定計獲得），來控制含CO受質流動速率。因此，量測pH值之增加（例如，至高於pH值設定點或目標，諸如4.2、4.7、5.2、5.7或6.2）可導致含CO受質流動速率降低。當培養基變得隨含CO受質之流量減少而供應時，酸性代謝物生產率以乙醇生產率為代價而增加，導致酸性代謝物濃度例如朝酸性代謝物設定點濃度方向性地增加，且導致pH值降低。

藉由根據培養基之如上文所述之其他量測性質來控制鹼性中和劑之流量，類似控制方法為可能的。舉例而言，(i) 若酸性代謝物量測生產率超過相應設定點（或目標）生產率，則控制方法可方向性地導致鹼性中和劑之流動速率降低，(ii) 若一氧化碳營養型細菌量測濃度超過相應設定點（或目標）濃度，則控制方法可方向性地導致鹼性中和劑之流動速率增加，或(iii) 若一氧化碳營養型細菌量測生產率超過相應設定點（或目標）濃度，則控制方法可方向性地導致鹼性中和劑之流動速率增加。圖1描繪代表性控制方法，其中鹼性中和劑氫氧化銨水溶液（ NH_4OH ）之流動速率係基於酸性代謝物乙酸之量測生產率。 NH_4OH 流動速率轉而影響培養基之pH。若對 NH_4OH 流動速率之任何變化的響應為培養基pH之維持（亦即，pH為「平緩的」），

則含CO受質之流動速率保持無變化。然而，若這種響應使培養基pH增加至高於其設定點（亦即，pH為「高的」），則減少含CO受質之流量，增加乙酸生產率且使pH回至其設定點。若這種響應使培養基pH降低至低於其設定點（亦即，pH為「低的」），則增加含CO受質之流量，降低乙酸生產率且使pH回至其設定點。

轉而可基於生物反應器過程之一或多種其他量測操作參數（例如，量測流動速率、濃度及/或生產率或pH），來確定培養基之性質之設定點（例如，酸性代謝物設定點濃度、酸性代謝物設定點生產率、一氧化碳營養型細菌設定點濃度或一氧化碳營養型細菌設定點生產率）中的任一者。舉例而言，一氧化碳營養型細菌量測濃度或一氧化碳營養型細菌量測生產率可用以確定設定點。根據一特定實施例且基於關於本發明之某些發現，設定點可與一氧化碳營養型細菌量測濃度或一氧化碳營養型細菌量測生產率成比例。可例如藉由下式獨立地確定酸性代謝物設定點生產率：

$$A_1 \cdot \text{BIOCON}_{mv} + B_1 \text{ 或 } A_2 \cdot \text{BIOPROD}_{mv} + B_2$$

其中 A_1 及 A_2 分別表示設定點與一氧化碳營養型細菌量測濃度（ BIOCON_{mv} ）或一氧化碳營養型細菌量測生產率（ BIOPROD_{mv} ）之間的比例常數，且 B_1 及 B_2 表示差量。可憑經驗自實驗資料，例如使用相同生物反應器獲得或另外使用含有用於執行相同轉化過程（例如，CO向乙醇之轉化）之微生物培養物之生物反應器獲得的先前資料，確定常數 A_1 及 B_1 或 A_2 及 B_2 。更具體而言，可藉由對所述先前資料進行線性回歸分析來獲得此等常數。在確定 BIOCON_{mv} 或 BIOPROD_{mv} 之情況下，可如上文所述執行取樣及分析以測定一氧化碳營養型細菌濃度。

因此，在一例示性實施例中，可使用聯機生物質探針或其他取樣裝置及樣品分析儀，來獲得一氧化碳營養型細菌量測濃度⁵

(BIOCON_{mv}) 或一氧化碳營養型細菌量測生產率 (BIOPROD_{mv})。自 BIOCON_{mv} 或 BIOPROD_{mv} 之值，可例如根據以上給出之式確定酸性代謝物設定點濃度（或目標濃度）或酸性代謝物設定點生產率（或目標生產率）。

通常添加稀釋劑（諸如新鮮培養基）至生物反應器中，若不在最初添加，則在生物轉化過程期間之某一稍後時間點添加。可在最初引入稀釋劑，亦即，在最初引入一或多種其他進料（例如，含CO受質及/或鹼性中和劑）至生物反應器中之同時使稀釋劑流動開始。另外，可在最初引入一或多種其他進料（例如，含CO受質及/或鹼性中和劑）至生物反應器中之後某一時間（例如，之後至少約2小時、之後至少約6小時或之後至少約12小時）首次引入稀釋劑。可在實現適合培養基開始目標之後使新鮮培養基流動開始，所述目標可與如上文所述之過程起始目標中之任一者相同。這種目標可包含例如一氧化碳營養型細菌或酸性代謝物之預先確定的濃度或生產率。一般而言，以既定質量流動速率或體積流動速率添加稀釋劑（諸如新鮮培養基）伴隨（例如，同時）有以相當質量流動速率或體積流動速率抽出包含所要最終產物及任何代謝物之培養基。抽出之培養基可（i）不含或實質上不含一氧化碳營養型細菌（例如，在藉由過濾或膜分離而分離之情況下），或（ii）以與生物反應器中含有之培養基中相同或實質上相同濃度含有一氧化碳營養型細菌（例如，在抽出而不分離之情況下）。在一些情況下，抽出之培養基可包含（i）及（ii）兩者之部分（例如，分開之流）。在任何情況下，可將（i）及（ii）之任一者或兩者饋送至用於執行相同生物CO向乙醇轉化過程之第二生物反應器（例如，藉由與第一生物反應器串聯操作）中。

較佳，在如本文所定義之分批操作時間段的全部或一部分期間逐漸增加稀釋劑之流動速率。然而，不需要在此時間段期間添加任何

稀釋劑流量，使得僅在稍後（例如，連續）操作時間段期間添加稀釋劑流量；或使得稀釋劑向生物反應器中之引入用以使自分批操作時間段向連續操作時間段之轉變分界。

如同鹼性中和劑流動速率，可基於培養基之量測性質中之任一者且使用如上文所述之控制方法中之任一者，來控制稀釋劑流動速率。根據特定實施例，基於培養基中之一氧化碳營養型細菌量測濃度或一氧化碳營養型細菌量測生產率，來控制稀釋劑向生物反應器之流動速率。基於關於本發明之某些發現，可根據指數函數確定稀釋劑流動速率設定點，量測濃度或量測生產率為指數。舉例而言，可根據下式中之任一者確定稀釋劑流動速率設定點：

$$C_1^{(\text{BIOCON}_{mv})} \text{ 或 } C_2^{(\text{BIOPROD}_{mv})}$$

其中 BIOCON_{mv} 及 BIOPROD_{mv} 分別表示分別一氧化碳營養型細菌量測濃度及一氧化碳營養型細菌量測生產率，且 C_1 及 C_2 為常數。可憑經驗自實驗資料，例如自使用相同生物反應器獲得或另外使用含有用於執行相同轉化過程（例如，CO向乙醇之轉化）之微生物培養物之生物反應器獲得的先前資料，確定常數 C_1 及 C_2 。在確定 BIOCON_{mv} 或 BIOPROD_{mv} 之情況下，可如上文所述執行取樣及分析以測定一氧化碳營養型細菌濃度。

根據第二特定控制方法，不需要量測培養基之性質。確切而言，先前資料可用以確立一氧化碳營養型細菌濃度及生產率之變數、及將提供酸性代謝物之靶向生產率的既定組成之含CO氣體（或受質）之相應流量、以及將維持培養基之pH之鹼性中和劑的流量之間的關係。可例如使用相同生物反應器或另外使用含有用於執行相同轉化過程（例如，CO向乙醇之轉化）之微生物培養物之生物反應器，獲得先前資料。藉由使用來自其他生物CO向乙醇轉化過程之資訊，除了含CO受質之相應流動速率之外，包含一氧化碳營養型細菌濃度⁵

及生產率，可針對所要酸性代謝物生產率，估算鹼性中和劑之流動速率。此外，使用所述資訊，可估算含CO受質之流動速率，以供應既定一氧化碳營養型細菌濃度且實現所要酸性代謝物生產率。

過程變數之間的特定關係可例如基於以下方程式：

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

其中BIOPROD、METPROD、NEUTFLO及COFLO分別表示一氧化碳營養型細菌生產率、酸性代謝物生產率、鹼性中和劑向生物反應器之流動速率及含CO受質向生物反應器之流動速率，且W、X、Y及Z為如上文所述憑經驗基於先前資料確定之常數。更具體而言，可藉由對所述先前資料進行線性回歸分析來獲得此等常數。可如上文所述（例如，在一氧化碳營養型細菌濃度或生產率之情況下使用分光光度計、盤讀取器或生物質探針，及/或在酸性代謝物濃度或生產率之情況下使用HPLC）量測生產率。

因此，根據特定實施例，在將含CO受質及鹼性中和劑兩者饋送至生物反應器中之分批操作時間段或其他操作時間段期間，基於含CO受質之流動速率，來控制鹼性中和劑流動速率。舉例而言，可基於量測值（亦即，含CO受質量測流動速率）或另外設定點值（亦即，含CO受質流動速率設定點），來控制鹼性中和劑流動速率。即，可根據這種量測值或設定點值，來確定鹼性中和劑流動速率之設定點。根據某些實施例，如自上文闡述之過程變數關係顯而易見，鹼性中和劑流動速率設定點可隨含CO受質量測流動速率或含CO受質流動速率設定點線性變化。再更具體而言，可根據下式確定鹼性中和劑流動速率設定點：

$$Y \cdot \text{COFLO}_{mv} + Z \quad \text{或} \quad Y \cdot \text{COFLO}_{sp} + Z$$

其中COFLO_{mv}及COFLO_{sp}分別表示含CO受質量測流動速率及含CO受質流動速率設定點。Y及Z表示常數，即在Y之情況下，為COFLO_{mv}

或COFLO_{sp}與鹼性中和劑流動速率設定點之間的比例常數；且在Z之情況下，為差量。

在此等控制方法之特定類型中，轉而可基於培養基之pH值，來控制含CO受質之流動速率。舉例而言，若培養基之pH量測值下降至低於pH設定點（例如，上文指定之特定pH值中之一者），則培養基已變得酸性過大，且作為響應，增加含CO受質流動速率（例如，藉由自動地增加含CO受質入口線上之控制閥門之開放百分比），以供應更多CO至細菌培養物中且降低酸代謝物之生產率。相反地，若培養基之pH量測值上升至高於此pH設定點，則培養基已變得鹼性過大，且作為響應，降低含CO受質流動速率（例如，藉由自動地降低含CO受質入口線上之控制閥門之開放百分比），以供應更少CO至細菌培養物中且增加酸代謝物之生產率。

替代性地，可自培養基之量測pH值確定含CO受質流動速率設定點，此設定點代表與含CO受質流動速率量測值之偏差。鑒於此等考慮因素，可能的為，除了對於鹼性中和劑之流動速率之外，培養基之量測pH值對於含CO受質之流動速率產生設定點。然而，一般而言較佳的為，含CO受質量測流動速率，此量測流動速率（與流動速率設定點相對）用以確定鹼性中和劑流動速率之設定點。可使用例如聯機pH分析儀連續地或間歇地（例如，以規律時間間隔定期）量測培養基pH值。另外，可手動量測此pH值。

實例

以下實例作為本發明之代表闡述。此等實例並不應理解為限制本發明之範疇，因為此等及其他等效實施例鑒於本發明及所附申請專利範圍將顯而易見。

實例1

習知「基於時間之」啟動與本發明「自動化」啟動之比較

5

藉由用含有永達爾梭菌之培養基接種生物反應器，使將CO轉化為乙醇之生物過程開始。培養基之pH隨產生乙酸而開始下降。當培養基之pH達至5.0時，開始使含CO受質及氫氧化銨進料進入生物反應器中。在啟動期間含CO受質之流動速率由習知之預先確定的基於時間之概況決定，其中避免CO供應過多為主要目標。出於比較目的，使用如本文所述之控制方法開始相同過程，其中基於培養基中之乙酸酯（呈乙酸形式）的藉由HPLC自動且定期地量測之濃度，來控制氫氧化銨之流動速率。此等比較啟動之進展展示於圖2及3中，其提供在兩天之時間段內培養基中之乙醇、細菌及乙酸之濃度。根據本發明之一代表性實施例，在習知之基於時間的啟動（圖2-「基於時間之控制」）之情況下及在自動化啟動（圖3-「自動化控制」）之情況下提供此資訊。

如自圖2與3之比較顯而易見，所要產物乙醇之濃度在基於時間之啟動之第1天小於2公克/公升（g/l），而此濃度在自動化啟動之此時間點已經為接近8 g/l。另外，如圖4中所說明，顯而易見，與基於時間之啟動相比，自動化啟動導致含CO受質流動速率快得多地增加。此係由於向細菌培養物連續供應所需量之CO用於乙醇生產，而不存在對細菌生長有害之供應過多。在基於時間之概況之情況下，含CO受質之流動速率在特徵上為保守的，以便確保避免CO供應過多。因此，然而，CO供應不足為不可避免的，且乙酸而非乙醇為主要產物。圖5比較使用此等兩種控制方法時此等啟動過程的細菌之隨時間濃度。如所顯而易見，即使在自動化啟動之情況下在更高CO流動速率之情況下，微生物生長亦未受抑制，且實際上其得到增強。

基於此等結果，如本文所述之控制方法可提供顯著過程益處，特別就減少實現既定過程目標（諸如所要乙酸濃度或細菌濃度）所需之時間而言。所述目標可與初始啟動時間段（諸如分批操作時間段）

之完成相關，在所述情況下可更快速且高效地實現向連續操作之轉變。此產生重要商業益處，包含材料消耗降低及總操作成本降低。在用配備有細胞再循環系統之兩個反應器操作的過程之情況下，可能直接自反應器對不含細胞之滲透物取樣且將此等樣品未經任何進一步處理地（亦即，未經樣品過濾或離心地）饋送至自動化HPLC中。相比之下，習知樣品製備方法在注射至HPLC中之前需要添加特定酸或鹼，隨後進行離心或過濾。此包括手動吸液，此增添複雜性且導致結果之誤差更大。

實例2

自動化啟動-基於量測濃度控制NH₄OH流量

藉由用含有永達爾梭菌之培養基接種生物反應器，使將CO轉化為乙醇之生物過程開始。培養基之pH隨產生乙酸而開始下降。當培養基之pH達至5.0時，開始使含CO受質及氫氧化銨進料進入生物反應器中。基於生物反應器中之量測細菌濃度，根據以下方程式確定乙酸酯（乙酸）目標濃度及稀釋劑流動速率：

$$\text{乙酸酯目標濃度} = A_1 \cdot \text{BIOCON}_{mv} + B_1$$

$$\text{稀釋劑流動速率} = C_1 (\text{BIOCON}_{mv})$$

其中憑經驗自先前過程中所獲得之資訊確定A₁、B₁及C₁。基於使用聯機HPLC量測之乙酸濃度，自動地調節氫氧化銨之流動速率，亦即，增加以便增加細菌之乙酸產生，或降低以便減少乙酸產生。自動地增加或降低氣態含CO受質之流量，以便將培養基之pH維持在目標pH=5.0下。除了稀釋劑之流動速率之外，圖6中展示乙醇、細菌及乙酸之隨時間濃度。

實例3

自動化啟動-僅基於量測pH及含CO受質流量

基於生物過程之先前啟動資料，如實例1中所述，其中將CO藉由⁵

將其饋送至含有永達爾梭菌之培養基中而轉化為乙醇，確立反應器中之既定細菌濃度、得到目標乙酸生產率所需的既定組成之含CO受質之相應流動速率、及將培養基pH維持在既定目標下所需之所需氫氧化銨流動速率之間的關係。此等關係如下：

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

其中BIOPROD、METPROD、NEUTFLO及COFLO分別表示細菌（生物質）生產率、乙酸（乙酸酯）生產率、NH₄OH向生物反應器之流動速率及含CO受質向生物反應器之流動速率。憑經驗（使用線性回歸）自先前過程中所獲得之資訊確定係數W、X、Y及Z，其中細菌生產率量測值係基於以連續時間間隔量測之濃度。即，如下計算量測細菌生產率：(時間2之細菌濃度 - 時間1之細菌濃度) / (時間2 - 時間1)。在此等先前過程中，使用分光光度計或盤讀取器或生物質探針量測細菌濃度，且如下計算量測乙酸生產率：(時間2之乙酸濃度 - 時間1之乙酸濃度) / (時間2 - 時間1)。藉由HPLC量測乙酸及乙醇濃度。根據自此等先前過程產生之資料，確定以下係數：W=1.2，X=1.5，Y=1.46，且Z=3.21。

由此，用於自動化啟動之關係為NEUTFLO = 1.46 • COFLO + 3.21。藉由使用PID控制器自動地調節含CO受質之流量，將培養基之pH維持在5.0下。基於含CO受質之量測流動速率，將以上關係用以設定氫氧化銨流動速率。

除了氫氧化銨及含CO受質之流動速率之外，圖7中展示乙醇、細菌及乙酸之隨時間濃度。有利地，細菌生長在第一天內為高的，為約2.9公克/(公升·天)，且乙酸生產率為低的，為約2.8公克/(公升·天)。最大化乙醇生產率及濃度。此等觀測結果與生物CO轉化過程之成功啟動一致，其在確立連續過程之前為關鍵的。重要地，生物反應器中之細菌及乙酸之量測濃度未直接用於此控制方法中。確切而言，僅就

證實操作之進展而言監測此等濃度，而不將其回饋至自動化中。

總體而言，本發明之態樣係針對用於其中含CO受質用以生產更高價值產品（諸如乙醇）之生物發酵過程的控制方法。所述控制方法可有利地縮短此等過程之起始或啟動，以便與使用習知控制方法（例如，對於含CO受質之流量，為基於時間之概況）所需之時間段相比，在接種生物反應器之後更短時間段中實現連續生產（例如，在達至既定過程起始目標後）。此等控制方法可替代性地或另外在起始或啟動期間改良所要最終產物之生產率及/或改良細菌之生長速率。熟習此項技術者通過獲自本發明之知識將認識到，可在不偏離本發明之範疇之情況下對控制方法、系統及電腦程式產品作出各種改變。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種起始且執行CO向最終產物之轉化的方法，所述方法包括：

將含CO受質及鹼性中和劑兩者饋送至包括含有一氧化碳營養型細菌之培養基之生物反應器中，以產生所述最終產物及酸性代謝物，

其中基於所述培養基之性質，來控制鹼性中和劑流動速率，所述性質由以下所構成之族群中選出：酸性代謝物量測濃度、酸性代謝物量測生產率、一氧化碳營養型細菌量測濃度、一氧化碳營養型細菌量測生產率或其組合。

2. 如請求項1之方法，其中基於所述培養基中之所述酸性代謝物量測濃度或所述培養基中之所述酸性代謝物量測生產率，來控制所述鹼性中和劑流動速率。
3. 如請求項2之方法，其中基於所述培養基中之所述酸性代謝物量測濃度，來控制所述鹼性中和劑流動速率。
4. 如請求項3之方法，其中在分批操作時間段期間間歇地或連續地測定所述酸性代謝物量測濃度。
5. 如請求項3之方法，其中基於所述培養基中之所述酸性代謝物量測濃度與所述培養基中之酸性代謝物設定點濃度之間的差異，來控制所述鹼性中和劑流動速率。
6. 如請求項5之方法，其中根據下式確定所述酸性代謝物設定點濃度：

$$A_1 \cdot \text{BIOCON}_{mv} + B_1$$

其中 BIOCON_{mv} 表示所述培養基中之一氧化碳營養型細菌量測濃度，且 A_1 及 B_1 為常數。

7. 如請求項6之方法，其中憑經驗自實驗資料確定所述常數A及B。 S

8. 如請求項6之方法，其中間歇地或連續地測定所述一氧化碳營養型細菌量測濃度。
9. 如請求項3之方法，其中基於所述培養基中之一氧化碳營養型細菌量測濃度，來控制稀釋劑向所述生物反應器之流動速率。
10. 如請求項9之方法，其中根據下式確定稀釋劑流動速率設定點：

$$C_1^{(BIOCON_{mv})}$$

其中BIOCON_{mv}表示所述培養基中之一氧化碳營養型細菌量測濃度，且其中C₁為憑經驗自實驗資料確定之常數。

11. 如請求項1之方法，其中基於所述培養基之量測pH值，來控制含CO受質流動速率。
12. 一種起始且執行CO向最終產物之轉化的方法，所述方法包括：
將含CO受質及鹼性中和劑兩者饋送至含有一氧化碳營養型細菌之生物反應器中，
其中基於含CO受質量測流動速率或含CO受質流動速率設定點，來控制鹼性中和劑流動速率。
13. 如請求項12之方法，其中鹼性中和劑流動速率設定點隨所述含CO受質量測流動速率或所述含CO受質流動速率設定點線性變化。
14. 如請求項13之方法，其中根據下式確定所述鹼性中和劑流動速率設定點：

$$Y \cdot COFLO_{mv} + Z \quad \text{或} \quad Y \cdot COFLO_{sp} + Z,$$

其中COFLO_{mv}及COFLO_{sp}分別表示所述含CO受質量測流動速率及所述含CO受質流動速率設定點，且其中Y及Z為憑經驗自實驗資料確定之常數。

15. 如請求項12之方法，其中基於所述含CO受質流動速率設定點，來控制所述鹼性中和劑流動速率。

16. 如請求項15之方法，其中自所述生物反應器中含有之培養基之量測pH值確定所述含CO受質流動速率設定點。
17. 如請求項12之方法，其中基於所述含CO受質量測流動速率，來控制所述鹼性中和劑流動速率。
18. 如請求項1之方法，其中在分批操作時間段期間執行所述方法。
19. 如請求項18之方法，其進一步包括在實現連續過程起始目標之後，添加新鮮培養基至所述生物反應器中且將所述最終產物自所述生物反應器抽出。
20. 如請求項1之方法，其中所述含CO受質獲自由以下所構成之族群中選出的工業過程：鋼鐵製造過程、非亞鐵產品製造過程、石油精煉過程、生物燃料生產過程、煤氣化過程、電力生產過程、碳黑生產過程、氨水生產過程、甲醇生產過程、有機物之氣化、烴之蒸汽重整及焦炭製造過程。
21. 如請求項1之方法，其中所述酸性代謝物為乙酸。
22. 如請求項1之方法，其中所述最終產物為乙醇。
23. 如請求項1之方法，其中所述鹼性中和劑為氫氧化銨溶液。

圖式

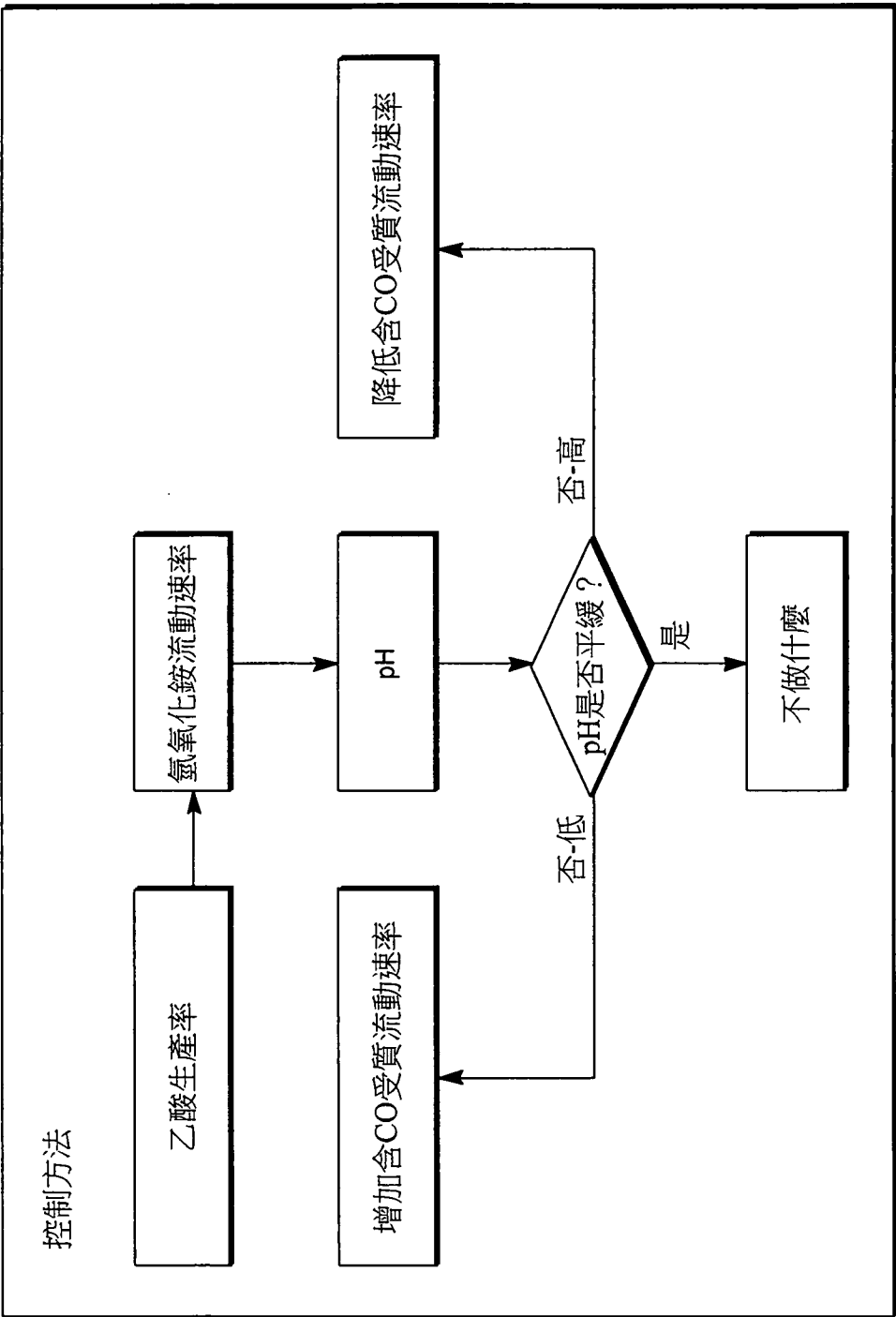


圖 1

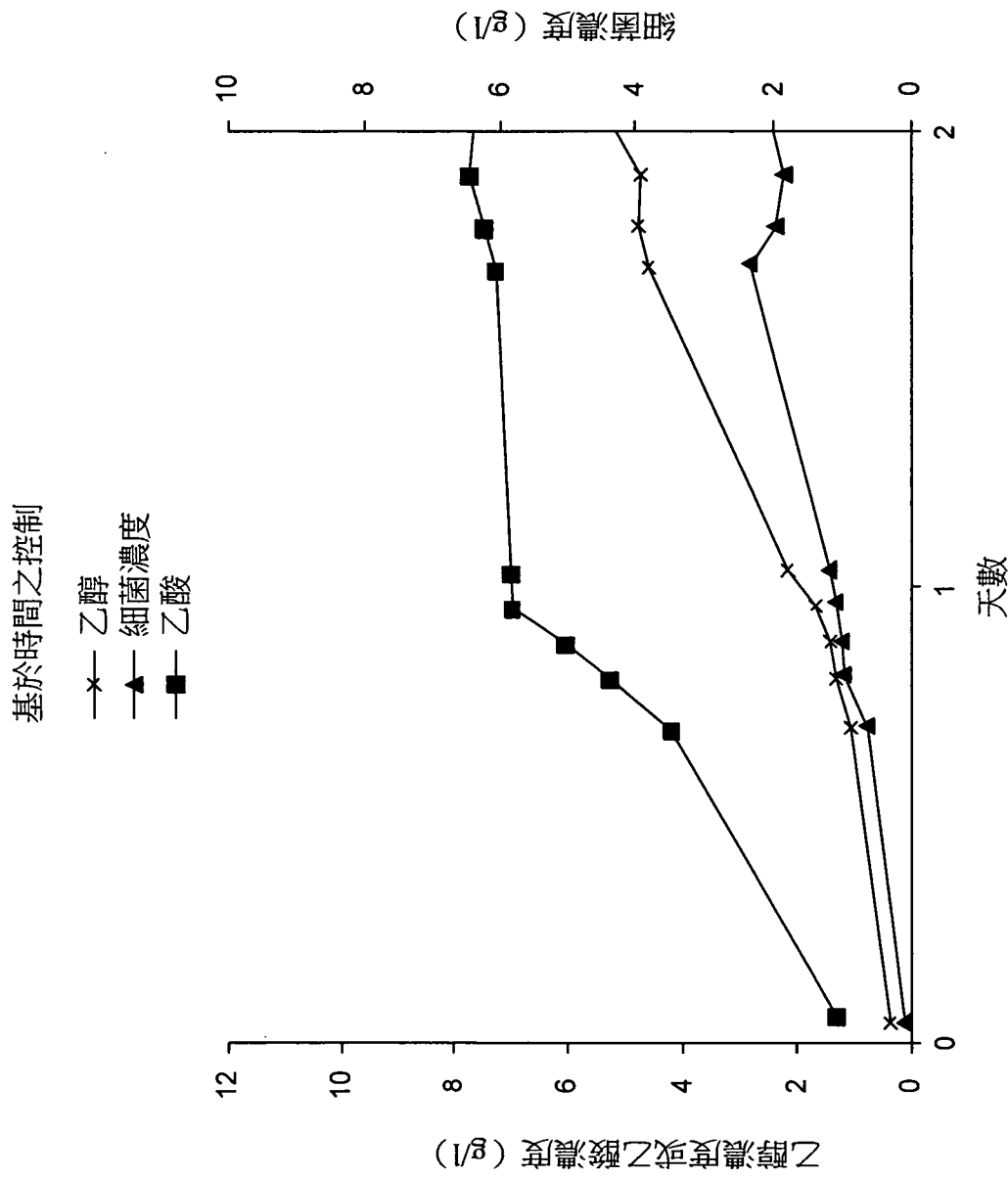
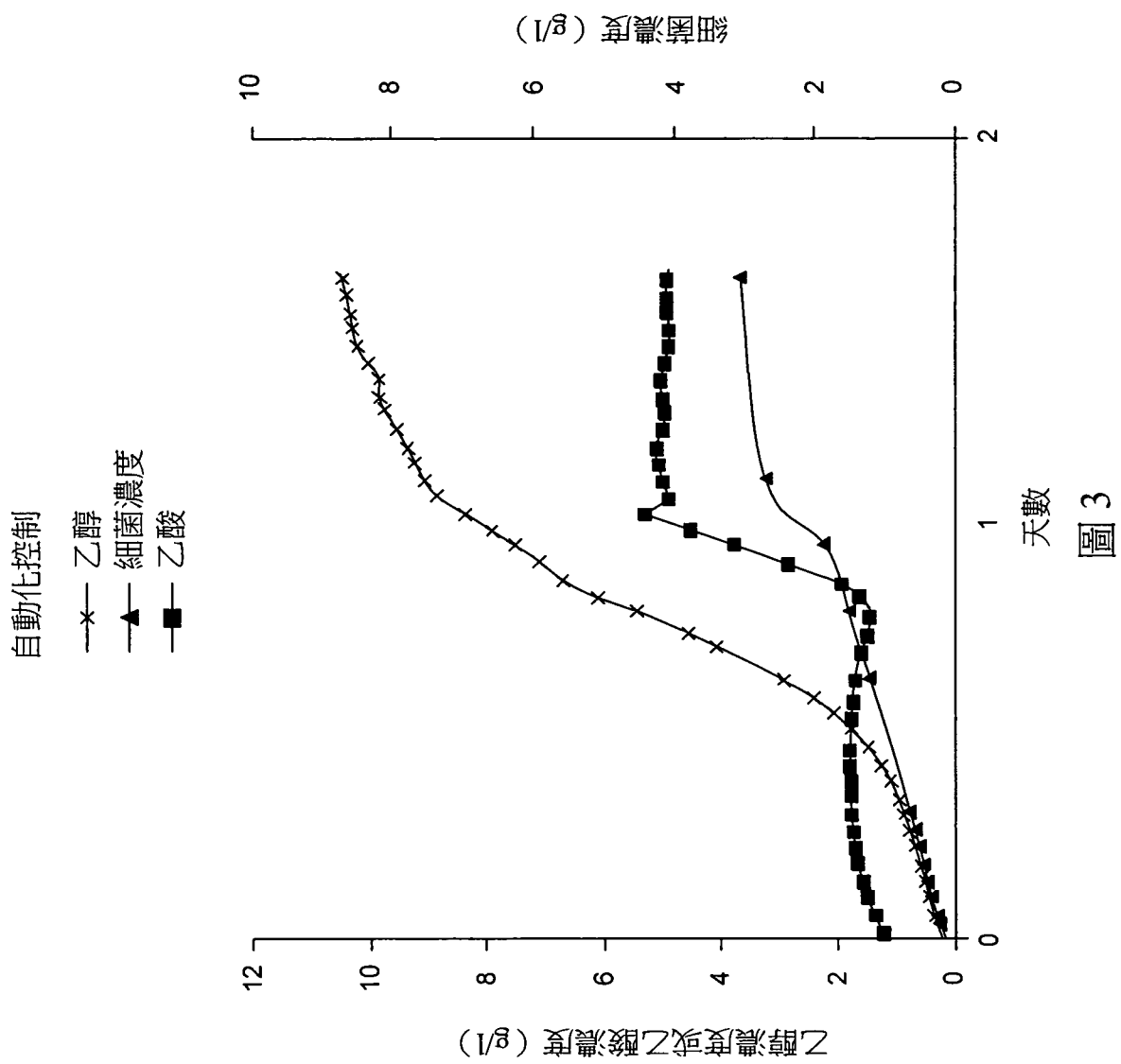


圖 2



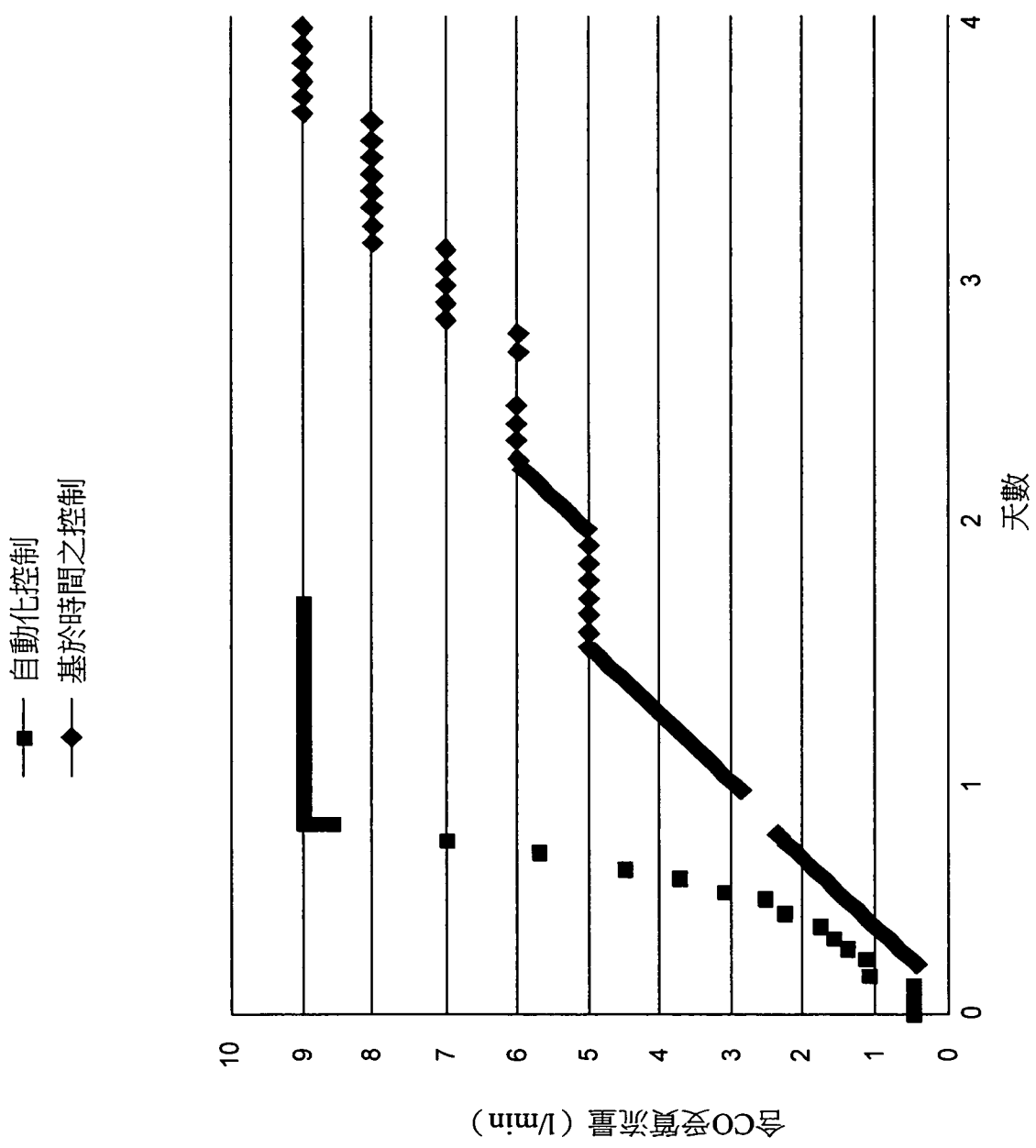


圖 4



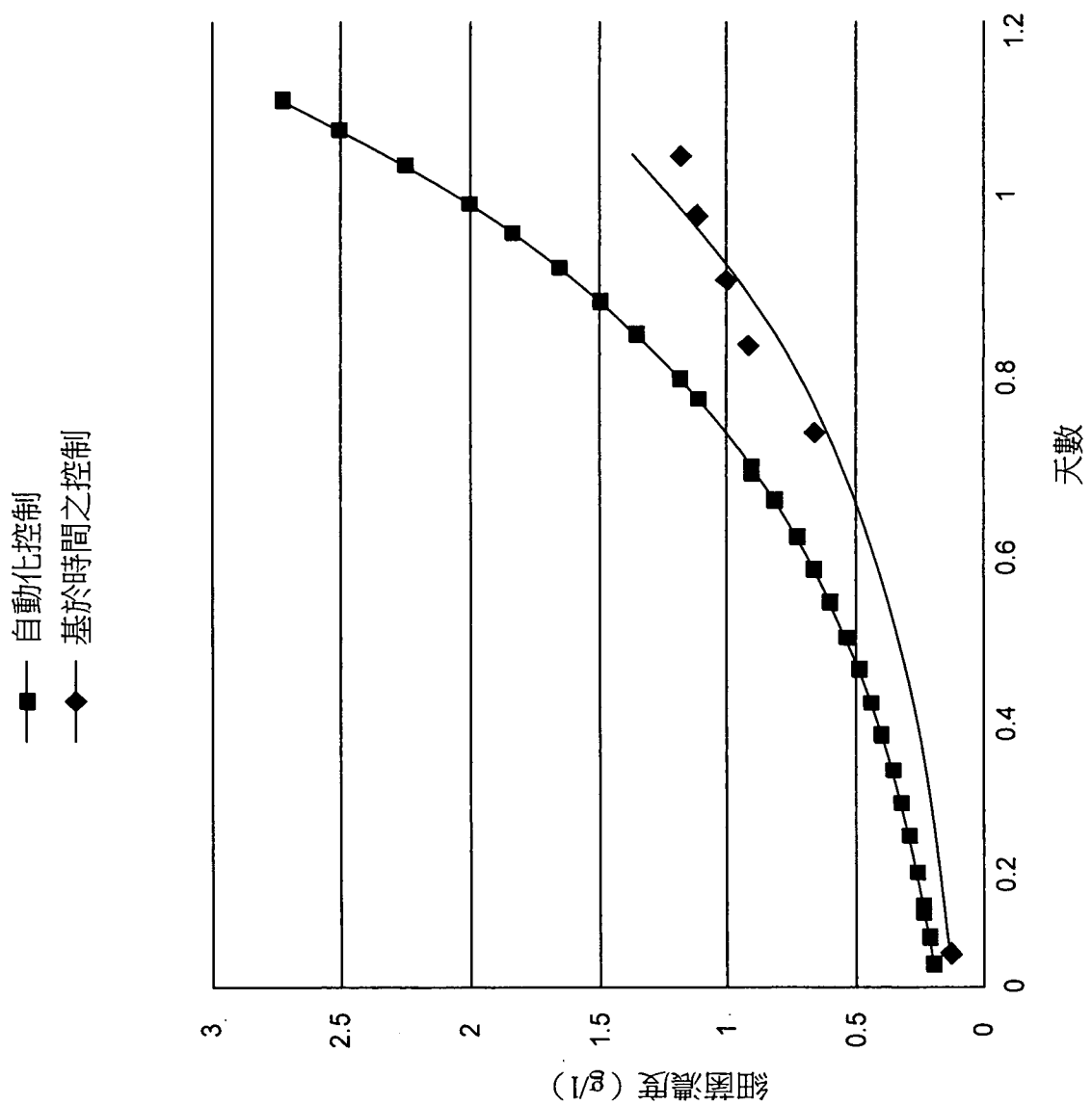


圖 5

自動化控制-基於量測細菌濃度及乙酸濃度

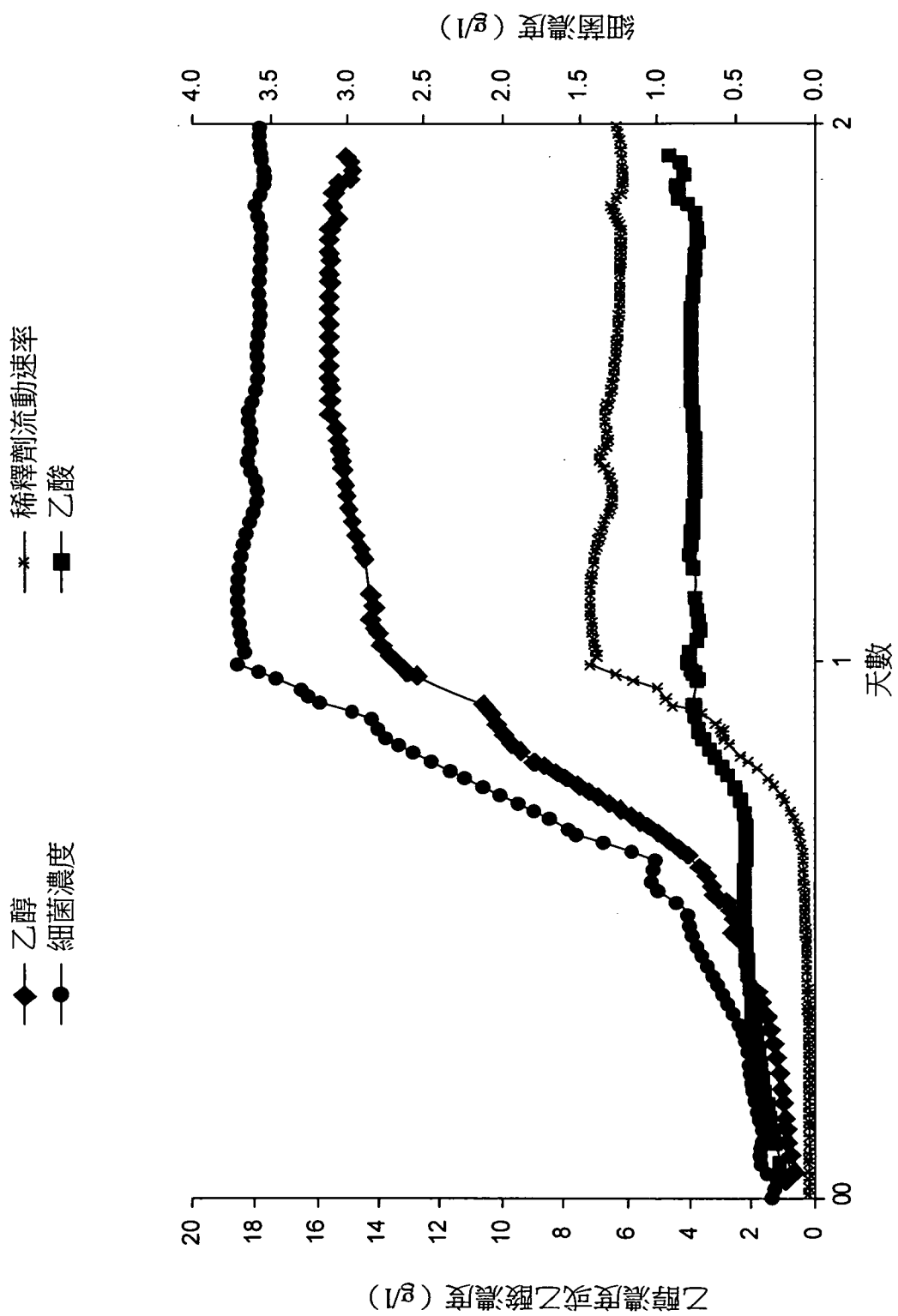


圖6



自動化控制-基於量測pH及含CO受質流動速率

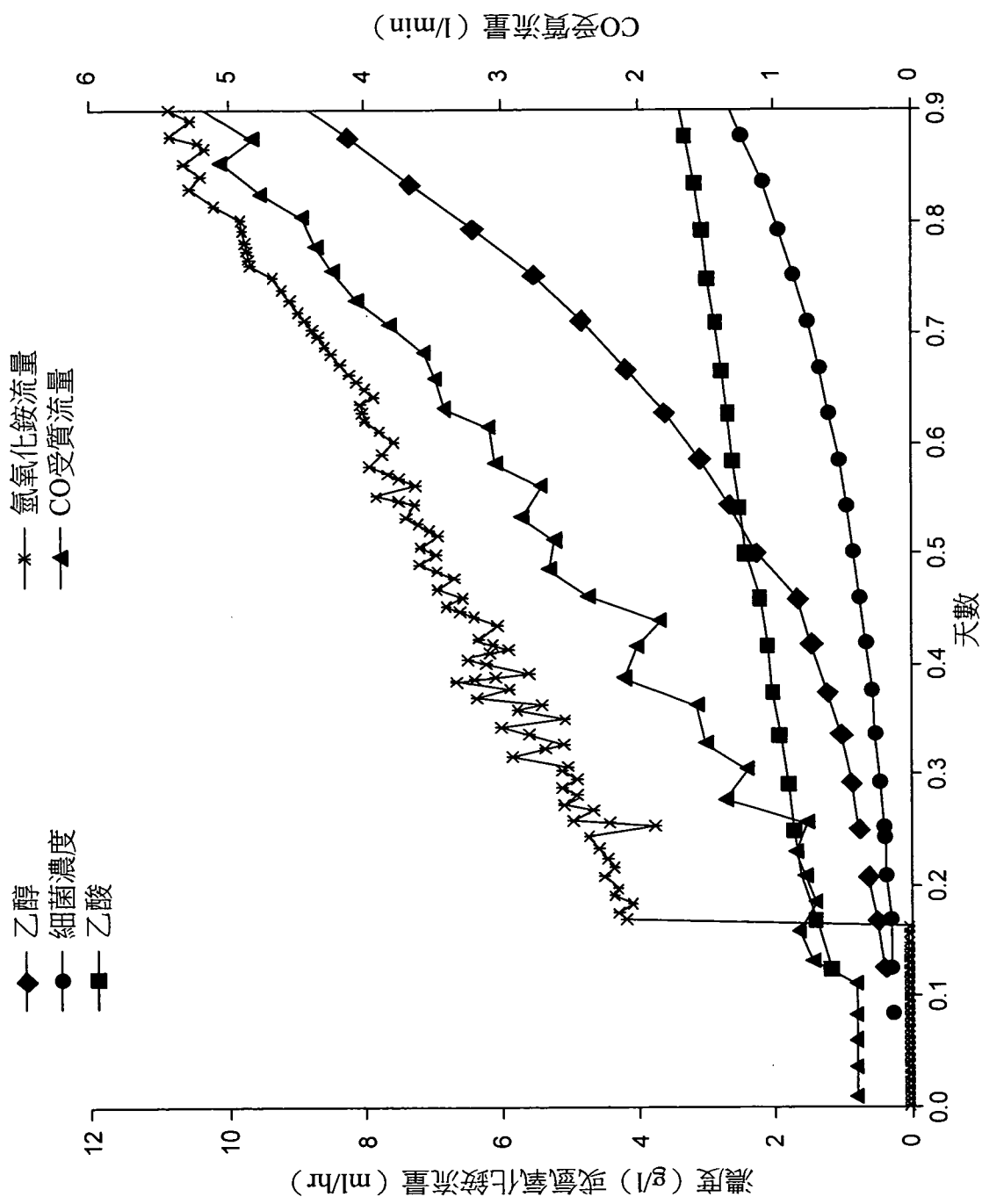


圖 7