



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2011153546/10, 24.06.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

26.06.2009 US 61/221,007;

29.06.2009 US 61/221,474;

13.10.2009 US 61/278,932

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2013 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 26.01.2012

(86) Заявка РСТ:

US 2010/039873 (24.06.2010)

(87) Публикация заявки РСТ:

WO 2010/151706 (29.12.2010)

Адрес для переписки:

191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(71) Заявитель(и):

КОБАЛЬТ ТЕКНОЛОДЖИЗ, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

УОЛТЕР Дэвид К. (US),**МИРМЭН Хендрик Дж. (US),****БЁРНС-ГАЙДИШ Стэйси М. (US),****УИЛСОН Ричард У. (US),****ХОГГ Иэмон Т. (US),****ЛАЛИ Грегори У. (US),****ЭКЕРТ Роберт (US)****(54) СПОСОБ И КОМПЛЕКСНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОПРОДУКТА****(57) Формула изобретения**

1. Способ получения биопродукта, включающий непрерывное брожение гидролизованного сырья в присутствии микроорганизма; причем указанный микроорганизм иммобилизован на носителе, находящемся в биореакторе; причем указанное сырье представляет собой углеводсодержащий материал; причем указанное гидролизованное сырье получают гидролизом указанного сырья; причем в результате указанного гидролиза образуются молекулы углеводов, которые служат источником углерода для указанного брожения; причем гидролизованное сырье непрерывно подают в биореактор в течение всего периода брожения, а микроорганизм непрерывно превращает гидролизованное сырье в биопродукт.

2. Способ по п.1, в котором сырье непрерывно подвергают гидролизу выше по потоку относительно указанного биореактора, а полученное гидролизованное сырье в течение всего периода брожения непрерывно подают в среду для выращивания микроорганизмов, находящуюся в биореакторе.

3. Способ по п.2, в котором гидролизованное сырье непрерывно подают во множество биореакторов, расположенных параллельно и/или последовательно, причем в указанном множестве биореакторов непрерывно происходит брожение, и во множестве биореакторов находятся одинаковые или различные микроорганизмы.

4. Способ по п.1, в котором указанное сырье представляет собой целлюлозный материал.

5. Способ по п.4, в котором указанное сырье включает целлюлозу и гемицеллюлозу.
6. Способ по п.5, в котором указанное сырье представляет собой лигноцеллюлозный материал.
7. Способ по п.6, в котором указанный лигноцеллюлозный материал представляет собой древесину, выбранную из мягкой древесины, твердой древесины или их сочетания.
8. Способ по п.7, в котором указанный лигноцеллюлозный материал включает древесную щепу, опилки, отходы лесопилок или их сочетание.
9. Способ по п.8, в котором указанный лигноцеллюлозный материал получен из источника сырья, пораженного заболеванием или подвергшегося заражению.
10. Способ по п.8, в котором указанный лигноцеллюлозный материал перед проведением гидролиза подвергают деструкции, причем указанная деструкция включает один или более способов, выбранных из предварительной пропарки, механического измельчения и механического взрыва.
11. Способ по п.8, в котором указанный лигноцеллюлозный материал перед проведением сбора подвергают деструкции, причем указанная деструкция происходит в результате одной или более естественных или преднамеренно вызванных причин, включающих засуху, заражение, огонь или воздействие гербицида.
12. Способ по п.10, в котором указанный лигноцеллюлозный материал подвергают предварительной обработке для удаления экстрактивных веществ, причем указанная предварительная обработка включает прессование, экстракцию водой, экстракцию растворителем, щелочную экстракцию, ферментативную обработку, грибковую обработку, обработку кислородом или сушку на воздухе, причем указанную предварительную обработку производят перед деструкцией или в сочетании с деструкцией.
13. Способ по п.6, в котором указанный гидролиз выполняют посредством обработки одной или более кислотами.
14. Способ по п.13, в котором указанная кислота включает азотную кислоту, муравьиную кислоту, уксусную кислоту, фосфорную кислоту, соляную кислоту или серную кислоту.
15. Способ по п.14, в котором указанный гидролиз выполняют с применением азотной кислоты.
16. Способ по п.15, в котором указанный гидролиз под действием азотной кислоты включает первую стадию и вторую стадию, причем вторую стадию гидролиза проводят при более высокой температуре, чем первую стадию.
17. Способ по п.16, в котором условия проведения первой стадии выбирают таким образом, чтобы подвергнуть гидролизу по меньшей мере приблизительно 70% гемицеллюлозы, находящейся в сырье, а условия проведения второй стадии выбирают таким образом, чтобы подвергнуть гидролизу по меньшей мере приблизительно 40% целлюлозы, находящейся в сырье.
18. Способ по п.16, в котором гидролизаты, полученные на первой и второй стадии, объединяют перед введением в биореактор.
19. Способ по п.16, в котором гидролизаты, полученные на первой и второй стадии, вводят в виде отдельных потоков гидролизованного сырья в разные биореакторы; причем гидролизат, полученный на первой стадии, вводят в первый биореактор, а гидролизат, полученный на второй стадии, вводят во второй биореактор; причем первый и второй биореакторы включают одинаковые или различные микроорганизмы.
20. Способ по п.19, в котором первый биореактор включает первый микроорганизм, а второй биореактор включает второй микроорганизм; причем первый и второй микроорганизмы отличаются друг от друга; причем первый микроорганизм оптимален для роста и/или получения требуемого продукта из гидролизата, полученного на первой

стадии, а второй микроорганизм оптимален для роста и/или получения требуемого продукта из гидролизата, полученного на второй стадии.

21. Способ по п.16, в котором при проведении указанной первой стадии гидролиза образуются пары вскипания, причем указанные пары вскипания применяют для деструкции указанного сырья перед проведением гидролиза.

22. Способ по п.16, в котором при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания, причем указанные пары вскипания применяют для деструкции указанного сырья перед проведением гидролиза и/или для обеспечения энергией указанной первой стадии гидролиза.

23. Способ по п.16, в котором при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания, причем указанные пары вскипания подвергают повторному сжатию, и указанные повторно сжатые пары применяют для обеспечения энергией указанной первой стадии гидролиза и/или последующего процесса перегонки с целью очистки продукта.

24. Способ по п.16, в котором при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания, причем указанные пары вскипания применяют для обеспечения энергией третьей стадии гидролиза, причем температура на третьей стадии гидролиза ниже температуры на второй стадии гидролиза, и указанная более низкая температура позволяет проводить гидролиз молекул оставшихся олигомерных сахаров с меньшей степенью деструкции, чем при гидролизе, выполняемом при более высокой температуре.

25. Способ по п.16, в котором лигнин извлекают в виде твердого остатка указанной второй стадии гидролиза; причем лигнинсодержащий остаток высушивают до содержания жидкости, составляющего приблизительно 35% или менее; причем лигнинсодержащий остаток используют в качестве источника энергии для обеспечения указанного способа энергией и/или для выработки электричества.

26. Способ по п.1, в котором гидролизованное сырье подвергают кондиционированию перед введением гидролизованного сырья в биореактор для удаления ингибиторов роста микроорганизмов и/или получения биопродукта.

27. Способ по п.26, в котором удаление ингибиторов включает один или более способов, выбранных из обработки избытком щелочи, адсорбции, осаждения и ионного обмена.

28. Способ по п.27, в котором удаление ингибиторов выполняют посредством приведения гидролизованного сырья в контакт с ионообменной смолой в условиях, при которых ингибиторы удерживаются смолой.

29. Способ по п.27, в котором удаление ингибиторов выполняют путем осаждения солью алюминия или железа.

30. Способ по п.1, в котором микроорганизм представляет собой штамм *Clostridium*.

31. Способ по п.30, в котором штамм *Clostridium* получают из вида, выбранного из *Clostridium saccharobutylicum*, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum*, *Clostridium acetobutylicum* и *Clostridium beijerinckii*.

32. Способ по п.30, в котором штамм *Clostridium* представляет собой изолят, выделенный из окружающей среды, или получают из изолята, выделенного из окружающей среды.

33. Способ по п.1, в котором материал носителя, на котором иммобилизован микроорганизм, выбран из костяного угля, полипропилена, стали, диатомовой земли, цеолита, керамики, специально разработанного термореактивного полимера, глиняного кирпича, бетона, вулканической породы, древесной щепы, полиэфирного волокна, стеклянных гранул, тефлона, полиэфирэфиркетона и полиэтилена.

34. Способ по п.1, в котором иммобилизованный микроорганизм включает биопленку.

35. Способ по п.1, в котором биореактор представляет собой реактор с уплотненным слоем, с разрыхленным слоем или с псевдоожиженным слоем.

36. Способ по п.1, в котором биопродукт включает биотопливо, выбранное из бутанола, ацетона, этанола или их сочетания.

37. Способ по п.36, в котором биотопливо включает бутанол.

38. Способ по п.37, в котором микроорганизм представляет собой штамм *Clostridium*.

39. Способ по п.38, в котором штамм *Clostridium* обладает одной или более фенотипическими характеристиками, выбранными из толерантности к бутанолу, толерантности к ингибиторам брожения, низкого накопления кислоты, стабильности при непрерывном брожении, высокого титра бутанола, получения биотоплива с высоким отношением количества бутанола к количеству ацетона, повышенного выхода бутанола на единичную массу сырья, повышенного выхода бутанола на единичную массу клеточной биомассы, повышенной толерантности к кислороду, повышенной способности закрепляться на твердом носителе и пониженной способности образовывать споры по сравнению со штаммом дикого типа или родительским штаммом, из которого получен штамм *Clostridium* или *Clostridium saccharobutylicum* B643, *Clostridium saccharobutylicum* P262, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4, *Clostridium acetobutylicum* 824 или *Clostridium beijerinckii* 8524, выращенным в идентичных условиях.

40. Способ по п.1, дополнительно включающий извлечение биопродукта из сбраживаемой среды.

41. Способ по п.40, в котором способ извлечения выполняют непрерывно в течение всего периода брожения.

42. Способ по п.37, дополнительно включающий извлечение бутанола из сбраживаемой среды, причем указанное извлечение включает перегонку для отделения бутанола от других компонентов сбраживаемой среды.

43. Способ по п.42, в котором масляную кислоту извлекают при проведении указанной перегонки; причем указанную масляную кислоту добавляют в сбраживаемую среду, находящуюся в указанном биореакторе; причем указанный микроорганизм превращает указанную масляную кислоту в бутанол.

44. Способ по п.42, в котором во время гидролиза сырья образуются пары вскипания, и указанные пары вскипания обеспечивают энергией указанную перегонку.

45. Система для получения биопродукта, включающая установку для гидролиза сырья и биореактор, в которой углеродсодержащее сырье подвергают гидролизу в указанной установке гидролиза, и гидролизованное сырье непрерывно подают в биореактор; причем указанный биореактор включает иммобилизованный на носителе микроорганизм, вызывающий брожение; причем в результате указанного гидролиза сырья получают молекулы углеводов, которые служат источником углерода для указанного брожения; причем микроорганизм непрерывно превращает гидролизованное сырье в биопродукт.

46. Система по п.45, в которой указанная установка для гидролиза сырья и указанный биореактор гидравлически сообщаются; причем указанная установка гидролиза находится выше по потоку относительно указанного биореактора; причем сырье непрерывно подвергают гидролизу и непрерывно подают в биореактор в течение всего периода брожения.

47. Система по п.46, включающая множество биореакторов, расположенных параллельно, в которой указанное множество биореакторов гидравлически сообщается с указанной установкой гидролиза; причем гидролизованное сырье непрерывно подают в указанные биореакторы; причем в указанных биореакторах происходит непрерывное брожение под действием микроорганизма; причем множество биореакторов включают одинаковые или различные микроорганизмы.

48. Система по п.46, включающая множество биореакторов, расположенных последовательно, в которой первый биореактор последовательно гидравлически сообщается с установкой гидролиза и с биореактором, расположенным ниже по потоку; причем каждый следующий биореактор последовательности, расположенный ниже по потоку относительно первого биореактора, гидравлически сообщается с предыдущим биореактором последовательности, расположенным выше по потоку; причем гидролизованное сырье непрерывно подают в первый биореактор последовательности; причем выходной поток из каждого биореактора подают в следующий биореактор последовательности, расположенный ниже по потоку.

49. Система по п.45, в которой указанное сырье представляет собой целлюлозный материал.

50. Система по п.49, в которой указанное сырье представляет собой лигноцеллюлозный материал.

51. Система по п.50, в которой указанный лигноцеллюлозный материал включает древесную щепу, опилки, отходы лесопилок или их сочетание.

52. Система по п.51, в которой указанный лигноцеллюлозный материал подвергают деструкции перед проведением гидролиза, причем способ указанной деструкции включает один или более способов, выбранных из предварительной пропарки, механического измельчения, механического взрыва или их сочетания.

53. Система по п.52, в которой указанный лигноцеллюлозный материал подвергают предварительной обработке для удаления экстрактивных веществ, причем указанная предварительная обработка включает прессование, экстракцию водой, экстракцию растворителем, щелочную экстракцию, ферментативную обработку, грибковую обработку, обработку кислородом или сушку на воздухе, причем указанную предварительную обработку проводят перед деструкцией или в сочетании с деструкцией.

54. Система по п.45, в которой указанный гидролиз выполняют путем обработки одной или более кислотами.

55. Система по п.54, в которой указанная кислота включает азотную кислоту, муравьиную кислоту, уксусную кислоту, фосфорную кислоту, соляную кислоту или серную кислоту.

56. Система по п.55, в которой указанный гидролиз выполняют с применением азотной кислоты.

57. Система по п.56, в которой указанная установка гидролиза включает первый модуль гидролиза и второй модуль гидролиза; причем гидролиз под действием азотной кислоты включает первую стадию в первом модуле гидролиза и вторую стадию во втором модуле гидролиза; причем температура азотной кислоты в первом модуле гидролиза выше температуры азотной кислоты во втором модуле гидролиза.

58. Система по п.57, в которой потоки продуктов гидролиза из первого и второго модулей гидролиза объединяют перед введением в биореактор.

59. Система по п.57, в которой потоки продуктов гидролиза из первого и второго модулей гидролиза вводят в виде отдельных потоков гидролизованного сырья в отдельные биореакторы; причем гидролизат, полученный на первой стадии, вводят в первый биореактор, а гидролизат, полученный на второй стадии, вводят во второй биореактор; причем первый и второй биореакторы включают одинаковые или различные микроорганизмы.

60. Система по п.59, в которой первый биореактор включает первый микроорганизм, а второй биореактор включает второй микроорганизм; причем первый и второй микроорганизмы отличаются друг от друга; причем первый микроорганизм оптимален для роста и/или получения биопродукта из гидролизата, полученного на первой стадии, а второй микроорганизм оптимален для роста и/или получения биопродукта из

гидролизата, полученного на второй стадии.

61. Система по п.57, в которой при проведении указанной первой стадии гидролиза образуются пары вскипания, и указанные пары вскипания направляют в сырье для деструкции указанного сырья перед проведением гидролиза.

62. Система по п.57, в которой при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания, и указанные пары вскипания направляют в сырье для деструкции указанного сырья перед проведением гидролиза и/или в указанный первый модуль гидролиза для обеспечения энергией указанной первой стадии гидролиза.

63. Система по п.57, в которой при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания; причем указанные пары вскипания подвергают повторному сжатию, и указанные повторно сжатые пары направляют в указанный первый модуль гидролиза для обеспечения энергией указанной первой стадии гидролиза и/или последующего процесса перегонки для очистки продукта.

64. Система по п.57, в которой при проведении указанной второй стадии гидролиза образуются пары вскипания; причем указанные пары вскипания направляют в третий модуль гидролиза для обеспечения энергией третьей стадии гидролиза; причем температура в третьем модуле гидролиза ниже температуры во втором модуле гидролиза; причем указанная более низкая температура позволяет проводить гидролиз молекул оставшихся олигомерных сахаров с меньшей степенью деструкции, чем при гидролизе, выполняемом при более высокой температуре.

65. Система по п.57, в которой лигнин извлекают в виде твердого остатка указанной второй стадии гидролиза; причем лигнинсодержащий остаток высушивают до содержания жидкости, составляющего приблизительно 35% или менее; причем лигнинсодержащий остаток используют в качестве источника энергии для обеспечения указанного способа энергией и/или для выработки электричества.

66. Система по п.57, дополнительно включающая установку кондиционирования, в которой указанная установка кондиционирования гидравлически сообщается как с установкой гидролиза, так и с биореактором; причем указанная установка кондиционирования расположена ниже по потоку относительно установки гидролиза и выше по потоку относительно биореактора; причем гидролизованное сырье подвергают кондиционированию в установке кондиционирования для удаления ингибиторов роста микроорганизмов и/или получения биопродуктов перед введением гидролизованного сырья в биореактор.

67. Система по п.66, в которой процессы гидролиза и кондиционирования происходят непрерывно в течение всего периода брожения.

68. Система по п.66, в которой удаление ингибиторов включает один или более способов, выбранных из обработки избытком щелочи, адсорбции и ионного обмена.

69. Система по п.68, в которой указанная установка кондиционирования включает ионообменную смолу, причем удаление ингибиторов выполняют посредством приведения гидролизованного сырья в контакт с ионообменной смолой в условиях, при которых ингибиторы удерживаются смолой.

70. Система по п.68, в которой удаление ингибиторов выполняют путем осаждения солью алюминия или железа.

71. Система по п.45, в которой брожение проводят в анаэробных условиях.

72. Система по п.71, в которой микроорганизм представляет собой штамм *Clostridium*.

73. Система по п.45, в которой материал носителя, на котором иммобилизован микроорганизм, выбран из костяного угля, полипропилена, стали, диатомовой земли, цеолита, керамики, специально разработанного термореактивного полимера, глиняного кирпича, бетона, вулканической породы, древесной щепы, полиэфирного волокна, стеклянных гранул, тефлона, полиэфирэфиркетона и полиэтилена.

74. Система по п.45, в которой иммобилизованный микроорганизм включает биопленку.

75. Система по п.45, в которой биореактор включает реактор с уплотненным слоем, с разрыхленным слоем или с псевдоожиженным слоем.

76. Система по п.45, в которой биопродукт включает биотопливо, выбранное из бутанола, ацетона, этанола или их сочетания.

77. Система по п.76, в которой биотопливо включает бутанол.

78. Система по п.45, дополнительно включающая установку извлечения для извлечения биопродукта из сбраживаемой среды.

79. Система по п.78, в которой установка извлечения гидравлически сообщается с биореактором и расположена ниже по потоку относительно биореактора; причем процесс извлечения проводят непрерывно в течение всего периода брожения.

80. Система по п.78, в которой установка извлечения включает концентрационный модуль для концентрирования биопродукта.

81. Система по п.80, в которой установка извлечения включает дистилляционный модуль для отделения биопродукта от других компонентов сбраживаемой среды, причем дистилляционный модуль гидравлически сообщается с концентрационным модулем и расположен ниже по потоку относительно концентрационного модуля.

82. Система по п.77, дополнительно включающая установку извлечения для извлечения бутанола из сбраживаемой среды; причем указанное извлечение включает перегонку для отделения бутанола от других компонентов сбраживаемой среды.

83. Система по п.82, в которой масляную кислоту извлекают при проведении указанной перегонки; причем указанную масляную кислоту добавляют в сбраживаемую среду, находящуюся в указанном биореакторе; причем указанный микроорганизм превращает указанную масляную кислоту в бутанол.

84. Система по п.82, в которой во время гидролиза сырья образуются пары вскипания, и указанные пары вскипания обеспечивают энергией указанную перегонку.

85. Система по п.45, в которой биореактор работает под давлением, чтобы сжать газ, находящийся в биореакторе.