

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042293**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.02.01

(21) Номер заявки
202090616

(22) Дата подачи заявки
2018.09.06

(51) Int. Cl. **C12P 5/02** (2006.01)
C12P 7/02 (2006.01)
C12P 7/26 (2006.01)
C12P 7/64 (2006.01)
C12P 13/02 (2006.01)

**(54) СПОСОБЫ И СИСТЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МЕТАБОЛИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ОБОГАЩЕННЫХ ВОДОРОДОМ C1-СОДЕРЖАЩИХ СУБСТРАТОВ**

(31) **62/556,099**

(32) **2017.09.08**

(33) **US**

(43) **2020.06.10**

(86) **PCT/US2018/049723**

(87) **WO 2019/051069 2019.03.14**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЛАНЦАТЕК, ИНК. (US)

(56) US-A1-20150072387
US-A1-20130316424
US-A1-20140370559
US-A1-20130210096
US-A1-20090031615

(72) Изобретатель:
**Конрадо Роберт Джон, Уотерс Гай
Уильям, Пуглиси Мэттью, Конолли
Джошуа Джереми (US)**

(74) Представитель:
**Хмара М.В., Осипов К.В., Ильмер
Е.Г., Пантелеев А.С., Новоселова С.В.,
Липатова И.И., Дощечкина В.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к способу получения одного или нескольких продуктов ферментации посредством многостадийного процесса ферментации, включающего в себя инокуляционный реактор и по меньшей мере один биореактор. В инокуляционный реактор инокуляции подают C1-содержащий газообразный субстрат, содержащий уменьшенное количество водорода. Водород восстанавливают для увеличения содержания CO в C1-содержащем газообразном субстрате, подаваемом в инокуляционный реактор. Инокуляционный реактор ферментирует обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат и производит инокулят, который подают по меньшей мере в один биореактор. Биореактор принимает C1-содержащий газообразный субстрат, который может содержать или не содержать уменьшенные количества водорода, для получения одного или нескольких продуктов ферментации. Благодаря подаче обогащенного CO C1-содержащего газообразного субстрата в инокуляционный реактор, как инокуляционный реактор, так и последующий биореактор(ы) могут иметь повышенную стабильность и селективность по продукту.

B1

042293

042293

B1

Перекрестная ссылка на родственную заявку

Заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62/556,099, поданной 8 сентября 2017 года, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к способу получения одного или нескольких продуктов ферментации посредством многостадийного процесса ферментации газа, включающего в себя инокуляционный реактор и, по меньшей мере, один биореактор. В частности, изобретение относится к способу, посредством которого обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат подают в инокуляционный реактор для получения инокулята.

Уровень техники

На диоксид углерода (СО₂) приходится около 76% глобальных выбросов парниковых газов, выделяющихся в результате деятельности человека, при этом остаток составляют метан (16%), закись азота (6%) и фторированные газы (2%) (Управление по охране окружающей среды США). Сокращение выбросов парниковых газов, в частности СО₂, имеет решающее значение для прекращения развития глобального потепления и сопутствующих изменений климата и погоды.

Уже давно было обнаружено, что каталитические процессы, такие как процесс Фишера-Тропша, можно использовать для превращения газов, содержащих диоксид углерода (СО₂), монооксид углерода (СО) и/или водород (Н₂), таких как промышленный отработавший газ или синтез-газ, в разнообразные топлива и химические вещества. Однако в последнее время ферментация газа стала альтернативной платформой для биологической фиксации таких газов. В частности, было продемонстрировано, что С1-фиксирующие микроорганизмы превращают газы, содержащие СО₂, СО и/или Н₂, в такие продукты, как этанол и 2,3-бутандиол.

Такие газы могут быть получены, например, из промышленных процессов, включая газ из ферментации углеводов, газ от производства цемента, производства целлюлозы и бумаги, производства стали, переработки нефти и связанных процессов, производства нефтехимических продуктов, производства кокса, анаэробного или аэробного сбраживания, синтез-газ (полученный из источников, включая, но не ограничиваясь ими, биомассу, потоки жидких отходов, потоки твердых отходов, муниципальные потоки, ископаемые ресурсы, включая природный газ, уголь и нефть), от добычи природного газа, добычи нефти, металлургических процессов для производства и/или очистки алюминия, меди и/или ферросплавов, геологических коллекторов и каталитических процессов (полученных из источников пара, включая, но не ограничиваясь ими, паровую конверсию метана, паровую конверсию нефти, газификацию нефтяного кокса, регенерацию катализатора - крекинг жидкого катализатора, регенерацию катализатора - риформинг нефти, и сухой риформинг метана).

При определенных промышленных процессах состав газа может быть неидеальным для ферментации. Когда состав газа неидеален, рост клеток, селективность по продукту и стабильность могут быть ниже оптимальных.

Соответственно остается потребность в изобретении, которое оптимизирует состав газа из промышленных процессов, чтобы способствовать росту клеток, селективности продукта и стабильности в последующем процессе ферментации.

Краткое описание изобретения

Изобретение предлагает способ получения одного или нескольких продуктов ферментации, отличающийся тем, что обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат подают в инокуляционный реактор, содержащий жидкую питательную среду, которая содержит культуру одного или нескольких С1-фиксирующих микроорганизмов, где обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат ферментируется для получения инокулята, по меньшей мере, часть инокулята подают в биореакторную систему, причем биореакторная система включает, по меньшей мере, один биореактор, содержащий культуру одного или нескольких С1-фиксирующих микроорганизмов в жидкой питательной среде, обогащенный Н₂ С1-содержащий газообразный субстрат подают в биореакторную систему, где обогащенный Н₂ С1-содержащий газообразный субстрат ферментируют для получения, по меньшей мере, одного продукта ферментации.

В конкретных вариантах реализации изобретения обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит Н₂ в молярном соотношении Н₂:СО менее 1:1.

В некоторых случаях обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит Н₂ в молярном соотношении Н₂:СО менее 0,5:1.

Предпочтительно обогащенный СО С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит Н₂ в молярном соотношении Н₂:СО от 0,02:1 до 1:1. В некоторых вариантах реализации изобретения молярное соотношение Н₂:СО составляет от 0,05:1 до 1:1, или от 0,15:1 до 1:1, или от 0,25:1 до 1:1, или от 0,35:1 до 1:1, или от 0,45:1 до 1:1, или от 0,55:1 до 1:1, или от 0,65:1 до 1:1, или от 0,75:1 до 1:1, или от 0,85:1 до 1:1, или от 0,95:1 до 1:1.

В конкретных вариантах реализации изобретения обогащенный Н₂ С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в биореакторную систему, содержит Н₂ в молярном соотношении Н₂:СО по меньшей мере 1,1:1.

Предпочтительно обогащенный H_2 C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в биореакторную систему, содержит H_2 в молярном соотношении $H_2:CO$ от 1,1:1 до 6:1. В некоторых вариантах реализации изобретения молярное соотношение $H_2:CO$ составляет от 1,5:1 до 6:1, или от 2:1 до 6:1, или от 2,5:1 до 6:1, или от 3:1 до 6:1, или от 3,5:1 до 6:1, или от 4:1 до 6:1, или от 4,5:1 до 6:1, или от 5:1 до 6:1.

По меньшей мере в одном варианте реализации изобретения C1-фиксирующий микроорганизм в инокуляционном реакторе или биореакторной системе или в них обоих представляет собой карбоксидотрофную бактерию.

В тех вариантах реализации, в которых C1-фиксирующий микроорганизм является карбоксидотрофным, карбоксидотрофная бактерия может быть выбрана из группы, включающей *Moorella*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium*, *Butyrifacterium*, *Oxobacter*, *Methanosarcina* и *Desulfotomaculum*.

Предпочтительно карбоксидотрофная бактерия представляет собой *Clostridium autoethanogenum*.

По меньшей мере в одном варианте реализации изобретения биореакторная система содержит один или несколько первичных биореакторов, связанных с одним или несколькими вторичными биореакторами.

Предпочтительно способ предусматривает подачу по меньшей мере части C1-содержащего газообразного субстрата в инокуляционный реактор и по меньшей мере части C1-содержащего газообразного субстрата в биореактор, где C1-содержащий газообразный субстрат в инокуляционном реакторе ферментируется для получения инокулята, где по меньшей мере часть инокулята подается по меньшей мере в один биореактор, где C1-содержащий газообразный субстрат в биореакторе ферментируется для получения по меньшей мере одного продукта ферментации и где C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, подвергается по меньшей мере одному процессу удаления H_2 перед подачей в инокуляционный реактор.

В конкретных вариантах реализации изобретения C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит H_2 в молярном соотношении $H_2:CO$ менее 1:1.

В некоторых случаях C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит H_2 в молярном соотношении $H_2:CO$ менее 0,8:1.

В некоторых случаях C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит H_2 в молярном соотношении $H_2:CO$ менее 0,5:1.

Предпочтительно C1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит H_2 в молярном соотношении $H_2:CO$ от 0,02:1 до 1:1. В некоторых вариантах реализации изобретения молярное соотношение $H_2:CO$ составляет от 0,05:1 до 1:1, или от 0,15:1 до 1:1, или от 0,25:1 до 1:1, или от 0,35:1 до 1:1, или от 0,45:1 до 1:1, или от 0,55:1 до 1:1, или от 0,65:1 до 1:1, или от 0,75:1 до 1:1, или от 0,85:1 до 1:1, или от 0,95:1 до 1:1.

В некоторых вариантах реализации изобретения процесс удаления H_2 включает по меньшей мере один процесс адсорбции при переменном давлении.

В некоторых вариантах реализации изобретения процесс удаления H_2 включает по меньшей мере один модуль мембранного отделения.

Предпочтительно по меньшей мере часть C1-содержащего газообразного субстрата получена из промышленного источника.

В некоторых случаях по меньшей мере часть C1-содержащего газообразного субстрата может быть получена по меньшей мере из одного промышленного источника, выбранного из группы, состоящей из ферментации углеводов, газовой ферментации, производства цемента, производства целлюлозы и бумаги, производства стали, переработки нефти и сопутствующих процессов, производства нефтехимических продуктов, производства кокса, анаэробного или аэробного сбраживания, синтез-газа, добычи природного газа, добычи нефти, металлургических процессов для производства и/или очистки алюминия, меди и/или ферросплавов, геологических коллекторов и каталитических процессов.

Предпочтительно способ дает возможность получить по меньшей мере один продукт ферментации, выбранный из группы, состоящей из этанола, ацетата, бутанола, бутирата, 2,3-бутандиола, 1,3-бутандиола, лактата, бутена, бутадиена, метилэтилкетона, этилена, ацетона, изопропанола, липидов, 3-гидроксипропионата, изопрена, жирных кислот, 2-бутанола, 1,2-пропандиола, 1-пропанола, моноэтиленгликоля, изобутена и C6-C14-спиртов.

По меньшей мере в одном варианте реализации изобретения один или несколько продуктов ферментации дополнительно превращают по меньшей мере в один компонент дизельного топлива, реактивного топлива, бензина, пропилена, нейлона 6-6, резины и/или смол.

В конкретных вариантах реализации изобретения по меньшей мере один продукт ферментации представляет собой микробную биомассу. В некоторых случаях эта микробная биомасса может быть дополнительно обработана для получения по меньшей мере одного компонента корма для животных.

Краткое описание фигур

Фиг. 1 представляет собой блок-схему, изображающую интеграцию процесса удаления водорода, инокуляционного реактора и биореакторной системы.

Фиг. 2 представляет собой блок-схему, изображающую интеграцию процесса удаления водорода, инокуляционного реактора и биореакторной системы, где процесс удаления водорода находится выше по

потоку как от инокуляционного реактора, так и от биореакторной системы, в соответствии с одним аспектом изобретения.

Фиг. 3 представляет собой блок-схему, дополнительно изображающую два процесса конверсии вода-газ и процесс адсорбции при переменном давлении выше по потоку от биореакторной системы, где один процесс конверсии вода-газ пропускается в соответствии с одним аспектом изобретения.

Фиг. 4 представляет собой блок-схему, дополнительно изображающую два процесса конверсии вода-газ и процесс адсорбции при переменном давлении выше по потоку от биореакторной системы в соответствии с одним аспектом изобретения.

Фиг. 5 представляет собой блок-схему, дополнительно изображающую дополнительные процессы удаления водорода выше по потоку от инокуляционного реактора в соответствии с одним аспектом изобретения.

На фиг. 6a и b представлены графики, показывающие выработку метаболита и поглощение газа в первом биореакторе в соответствии с примером 1.

На фиг. 7a и b представлены графики, показывающие выработку метаболита и поглощение газа во втором биореакторе в соответствии с примером 1.

На фиг. 8a и b представлены графики, показывающие выработку метаболита и поглощение газа в первом биореакторе в соответствии с примером 2.

На фиг. 9a и b представлены графики, показывающие выработку метаболита и поглощение газа во втором биореакторе в соответствии с примером 2.

Подробное описание изобретения

Авторы изобретения установили, что путем оптимизации состава газового потока, подаваемого в инокуляционный реактор, рост клеток, селективность по продукту и стабильность оптимизируются как в инокуляционном реакторе, так и в последующей биореакторной системе. В частности, авторы изобретения обнаружили оптимальный рост клеток, селективность по продукту и стабильность, когда поток газа, подаваемый в инокуляционный реактор, содержит уменьшенное количество водорода.

Определения

Если не указано иное, следующие термины, используемые в данном описании, имеют приведенные ниже значения.

"C1" относится к одноуглеродной молекуле, например CO, CO₂, CH₄ или CH₃OH. "C1-оксигенат" относится к одноуглеродной молекуле, которая также содержит по меньшей мере один атом кислорода, например, CO, CO₂ или CH₃OH. "Источник C1-углерода" относится к одноуглеродной молекуле, которая служит частичным или единственным источником углерода для микроорганизма согласно настоящему изобретению. Так, например, источник C1-углерода может содержать одно или несколько соединений, выбранных из CO, CO₂, CH₄, CH₃OH или CH₂O₂. Источник C1-углерода предпочтительно содержит одно или оба соединения CO и CO₂. "C1-фиксирующий микроорганизм" представляет собой микроорганизм, способный продуцировать один или несколько продуктов из источника C1-углерода. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой C1-фиксирующий микроорганизм.

"C1-содержащие газообразные субстраты" включают любой газ, выходящий из промышленного процесса, включающий C1. В различных случаях C1-содержащий газообразный субстрат содержит CO, H₂, CO₂ или их комбинации. Газообразный субстрат обычно содержит значительную долю CO, предпочтительно, по меньшей мере, от около 5% до около 100 об.% CO. Газообразный субстрат может содержать значительную долю водорода. Так, например, в конкретных вариантах реализации изобретения субстрат может содержать H₂ и CO в соотношении около 2:1, или 1:1, или 1:2. В одном варианте реализации изобретения субстрат содержит около 30 об.% H₂ или менее, около 20 об.% H₂ или менее, около 15 об.% H₂ или менее или около 10 об.% H₂ или менее. Субстрат также может содержать некоторое количество CO₂, например, от около 1 об.% до около 80 об.% CO₂ или от 1 об.% до около 30 об.% CO₂. В одном варианте реализации изобретения субстрат содержит менее или около 20 об.% CO₂. В конкретных вариантах реализации изобретения субстрат содержит менее или около 15 об.% CO₂, менее или около 10 об.% CO₂, менее или около 5 об.% CO₂ или практически не содержит CO₂. Кроме того, C1-содержащий газообразный субстрат может содержать один или несколько элементов, выбранных из кислорода (O₂), азота (N₂) и/или метана (CH₄).

Хотя обычно субстрат является газообразным, он также может быть представлен в альтернативных формах. Так, например, субстрат можно растворить в жидкости, насыщенной CO-содержащим газом, с помощью дисперсионного генератора микропузырьков. В качестве дополнительного примера субстрат может быть адсорбирован на твердой подложке.

Термин "со-субстрат" относится к веществу, которое, хотя и не обязательно является первичным источником энергии и материала для синтеза продукта, однако может быть использовано для синтеза продукта при добавлении к другому субстрату, такому как первичный субстрат.

Субстрат и/или источник C1-углерода может представлять собой отработавший газ, полученный в виде побочного продукта промышленного процесса или из какого-либо другого источника, такого как выхлопные газы автомобилей или газификация биомассы. В некоторых вариантах реализации изобретения промышленный процесс выбран из группы, состоящей из выбросов газа от ферментации углеводов,

газовой ферментации, выбросов газа от производства цемента, производства целлюлозы и бумаги, производства стали, переработки нефти и связанных процессов, производства нефтехимических продуктов, производства кокса, анаэробного или аэробного сбраживания, синтез-газа (полученного из источников, включая, но не ограничиваясь ими, биомассу, потоки жидких отходов, потоки твердых отходов, муниципальные потоки, ископаемые ресурсы, включая природный газ, уголь и нефть), добычи природного газа, добычи нефти, металлургических процессов для производства и/или очистки алюминия, меди и/или ферросплавов, геологических коллекторов и каталитических процессов (полученных из источников пара, включая, но не ограничиваясь ими, паровую конверсию метана, паровую конверсию нефти, газификацию нефтяного кокса, регенерацию катализатора - крекинг жидкого катализатора, регенерацию катализатора - риформинг нефти и сухой риформинг метана). Согласно таким вариантам реализации изобретения субстрат и/или источник C1-углерода можно извлечь из промышленного процесса перед его выбросом в атмосферу с использованием любого удобного способа.

"Газовый поток" относится к любому потоку субстрата, который можно подавать, например, из одного модуля в другой, из одного модуля в биореактор, из одного модуля в инокуляционный реактор, из одного процесса в другой и/или из одного модуля в устройство улавливания углерода.

Используемый в данном документе термин "улавливание углерода" относится к улавливанию соединений углерода, включая CO₂ и/или CO, из потока, содержащего CO₂ и/или CO, и либо превращению CO₂ и/или CO в продукты; либо превращению CO₂ и/или CO в вещество, пригодное для долгосрочного хранения; или улавливанию CO₂ и/или CO в веществах, подходящих для долгосрочного хранения; или комбинации этих процессов.

Используемые в настоящем описании "реагенты" относятся к веществу, которое принимает участие и подвергается изменению во время химической реакции. В конкретных вариантах реализации изобретения реагенты включают, но не ограничиваются ими, CO и/или H₂.

"Процесс удаления водорода" и тому подобное включает в себя технологии, которые способны удалять и/или отделять водород от C1-содержащего газообразного субстрата. В конкретных вариантах реализации изобретения процесс адсорбции при переменном давлении и/или процесс мембранного отделения используют в качестве процесса удаления водорода.

Термин "биореактор", "биореакторная система" и тому подобное включает устройство для ферментации, состоящее из одного или нескольких сосудов и/или конструкций башенного типа или трубопроводов, которое включает в себя реактор непрерывного действия с перемешиванием (CSTR), реактор с иммобилизованными клетками (ICR), реактор с орошаемым слоем (TBR), барботажную колонну, газ-лифтный ферментер, статический смеситель, циркуляционный петлевой реактор, мембранный реактор, такой как мембранный биореактор с полыми волокнами (HFMBR), или другой аппарат или другое устройство, подходящее для контакта газ-жидкость. Биореактор предпочтительно приспособлен для получения газообразного субстрата, содержащего CO, или CO₂, или H₂, или их смеси. Биореактор может содержать несколько реакторов (ступеней) либо параллельно, либо последовательно. Предпочтительно биореактор сконфигурирован для приема инокулята из пускового реактора. Предпочтительно биореактор выполнен в виде производственного реактора, где производится большая часть продуктов ферментации.

Термины "инокуляционный реактор", "инокулятор", "затравочный реактор" и тому подобное включают ферментационное устройство для установления и стимулирования роста клеток. Инокуляционный реактор предпочтительно приспособлен для приема газообразного субстрата, содержащего CO, или CO₂, или H₂, или их смеси. Предпочтительно инокуляционный реактор представляет собой реактор, в котором изначально начинается рост клеток. В различных вариантах реализации изобретения в инокуляционном реакторе оживляют ранее выращенные клетки. В различных вариантах реализации изобретения инокулятор инициирует клеточный рост одного или нескольких микроорганизмов для получения инокулята, который затем может быть передан в биореакторную систему, где каждый биореактор выполненный с возможностью способствовать производству одного или нескольких продуктов ферментации. В некоторых случаях инокулятор имеет уменьшенный объем по сравнению с последующим одним или несколькими биореакторами.

"Питательные среды" или "питательная среда" используется для описания среды бактериального роста. Как правило, этот термин относится к среде, содержащей питательные вещества и другие компоненты, подходящие для роста микробной культуры. Термин "питательное вещество" включает в себя любое вещество, которое может быть использовано в метаболическом пути микроорганизма. Типичные питательные вещества включают калий, витамины группы B, следы металлов и аминокислоты.

Термин "ферментационный бульон" или "бульон" охватывает смесь компонентов, включая питательную среду и культуру или один или несколько микроорганизмов. Следует отметить, что термин микроорганизм и термин бактерии используются взаимозаменяемо по всему документу.

Термин "инокулят" охватывает ферментационный бульон, первоначально выращенный в инокуляционном реакторе, который затем подается в один или несколько последующих биореакторов для затравки одного или нескольких последующих биореакторов. Предпочтительно инокулят используется одним или несколькими биореакторами для производства одного или нескольких продуктов ферментации.

Термин "желаемый состав" используется для обозначения желаемого уровня и типов компонентов в веществе, таком как, например, газовый поток. В частности, считается, что газ имеет "желаемый состав", если он содержит определенный компонент (например, CO, H₂ и/или CO₂) и/или содержит конкретный компонент в определенной пропорции и/или не содержит конкретный компонент (например, компонент, вредный для микроорганизмов) и/или не содержит конкретный компонент в определенной пропорции. При определении того, имеет ли газовый поток желаемый состав, может быть рассмотрен более чем один компонент. В одном или более вариантах реализации изобретения "желаемый состав" C1-содержащего газообразного субстрата определяется, исходя из молярного соотношения H₂:CO. В различных вариантах реализации изобретения желаемый состав C1-содержащего газообразного субстрата, который подают в инокуляционный реактор, отличается от желаемого состава C1-содержащего газообразного субстрата, который подают в биореакторную систему.

Термины "повышение эффективности", "повышенная эффективность" и тому подобное, когда они используются в отношении процесса ферментации, включают, но не ограничиваются ими, увеличение одной или нескольких скоростей роста микроорганизмов, катализирующих ферментацию, рост и/или скорость производства продукта при повышенных концентрациях продукта, объем желаемого продукта, произведенного на объем потребляемого субстрата, скорость производства или уровень производства желаемого продукта и относительную пропорцию желаемого продукта, произведенного по сравнению с другими побочными продуктами ферментации.

Если контекст не требует иного, фразы "ферментация", "процесс ферментации" или "реакция ферментации" и тому подобное, используемые в данном документе, охватывают как фазы роста, так и фазы биосинтеза продукта газообразного субстрата.

"Микроорганизм" представляет собой микроскопический организм, в частности, бактерию, архею, вирус или грибок. Микроорганизм согласно настоящему изобретению обычно представляет собой бактерию. В данном документе следует считать, что термин "микроорганизм" охватывает "бактерию".

"Родительский микроорганизм" представляет собой микроорганизм, используемый для получения микроорганизма согласно настоящему изобретению. Родительский микроорганизм может представлять собой встречающийся в природе микроорганизм (например, микроорганизм дикого типа) или микроорганизм, который был предварительно модифицирован (например, мутантный или рекомбинантный микроорганизм). Микроорганизм согласно настоящему изобретению может быть модифицирован для экспрессии или сверхэкспрессии одного или нескольких ферментов, которые не были экспрессированы или сверхэкспрессированы в родительском микроорганизме. Подобным образом микроорганизм согласно изобретению может быть модифицирован, чтобы содержать один или несколько генов, которые не содержались в родительском микроорганизме. Микроорганизм согласно изобретению также может быть модифицирован, чтобы не экспрессировать или экспрессировать более низкие количества одного или нескольких ферментов, которые были экспрессированы в родительском микроорганизме. В одном варианте реализации изобретения родительский микроорганизм представляет собой *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* или *Clostridium ragsdalei*. В предпочтительном варианте реализации изобретения родительский микроорганизм представляет собой *Clostridium autoethanogenum* LZ1561, который был депонирован 7 июня 2010 года Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSMZ)), расположенной по адресу Inhofenstraße 7B, D-38124 Braunschweig, Германия, в соответствии с условиями Будапештского договора и присвоенным регистрационным номером DSMZ23693. Этот штамм описан в международной заявке на патент № PCT/NZ2011/000144, опубликованной как WO 2012/015317.

Термин "происходит от" означает, что нуклеиновая кислота, белок или микроорганизм модифицированы или адаптированы, исходя из другой (например, родительской или дикого типа) нуклеиновой кислоты, белка или микроорганизма, с целью получения новой нуклеиновой кислоты, белка или микроорганизма. Такие модификации или адаптации обычно включают вставку, делецию, мутацию или замену нуклеиновых кислот или генов. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению происходит от родительского микроорганизма. В одном варианте реализации изобретения микроорганизм согласно настоящему изобретению происходит от *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* или *Clostridium ragsdalei*. В предпочтительном варианте реализации изобретения микроорганизм согласно настоящему изобретению происходит от *Clostridium autoethanogenum* LZ1561, который депонирован под регистрационным номером DSMZ DSM23693.

"Вуд-Льонгдал" относится к описанному пути углеродной фиксации Вуда-Льонгдала, как, например, Ragsdale, *Biochim Biophys Acta*, 1784: 1873-1898, 2008. "Микроорганизмы Вуда-Льонгдала", как и ожидалось, относятся к микроорганизмам, содержащим путь Вуда-Льонгдала. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению содержит нативный путь Вуда-Льонгдала. В данном случае путь Вуда-Льонгдала может быть нативным, немодифицированным путем Вуда-Льонгдала или может быть путем Вуда-Льонгдала с некоторой степенью генетической модификации (например, сверхэкспрессия, гетерологичная экспрессия, нокаут и т.д.), пока он используется для преобразования CO, CO₂ и/или H₂ в ацетил-КоА.

"Анаэроб" представляет собой микроорганизм, не требующий кислород для роста. Анаэроб может

реагировать негативно или даже умереть при наличии кислорода выше определенного порога. Однако некоторые анаэробы способны переносить низкие уровни кислорода (например, 0,000001-5 об.% кислорода). Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой анаэроб.

Как правило, "ацетогены" представляют собой облигатно-анаэробные бактерии, использующие путь Вуда-Льюнгадала в качестве их основного механизма для сохранения энергии и синтеза ацетил-КоА и продуктов, полученных из ацетил-КоА, таких как ацетат (Ragsdale, *Biochim Biophys Acta*, 1784: 1873-1898, 2008). В частности, ацетогены используют путь Вуда-Льюнгадала как (1) механизм для восстановительного синтеза ацетил-КоА из CO₂, (2) терминальный электроноакцепторный, энергосберегающий процесс, (3) механизм для фиксации (ассимиляции) CO₂ при синтезе клеточного углерода (Drake, *Acetogenic Prokaryotes*, In: *The Prokaryotes*, 3rd edition, p. 354, New York, NY, 2006). Все встречающиеся в природе ацетогены являются C1-фиксирующими, анаэробными, автотрофными и неметанотрофными организмами. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой ацетоген.

"Этанологен" представляет собой микроорганизм, который продуцирует или способен продуцировать этанол. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой этанологен.

"Автотроф" представляет собой микроорганизм, способный расти в отсутствие органического углерода. Вместо этого автотрофы используют неорганические источники углерода, такие как СО и/или СО₂. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой автотроф.

"Карбоксидотроф" представляет собой микроорганизм, способный использовать СО в качестве единственного источника углерода и энергии. Как правило, микроорганизм согласно настоящему изобретению представляет собой карбоксидотроф.

Микроорганизм согласно настоящему изобретению можно культивировать с потоком газа для получения одного или нескольких продуктов. Так, например, микроорганизм согласно настоящему изобретению может продуцировать или может быть генетически сконструирован для продуцирования этанола (WO 2007/117157), ацетата (WO 2007/117157), бутанола (WO 2008/115080 и WO 2012/053905), бутирата (WO 2008/115080), 2,3-бутандиола (WO 2009/151342 и WO 2016/094334), лактата (WO 2011/112103), бутена (WO 2012/024522), бутадиена (WO 2012/024522), метилэтилкетона (2-бутанола) (WO 2012/024522 и WO 2013/185123), этилена (WO 2012/026833), ацетона (WO 2012/115527), изопропанола (WO 2012/115527), липидов (WO 2013/036147), 3-гидроксипропионата (3-HP) (WO 2013/180581), терпенов, включая изопрен (WO 2013/180584), жирных кислот (WO 2013/191567), 2-бутанола (WO 2013/185123), 1,2-пропандиола (WO 2014/0369152), 1-пропанола (WO 2014/0369152), продуктов, полученных из хоризмата (WO 2016/191625), 3-гидроксibuтирата (WO 2017/066498) и 1,3-бутандиола (WO 2017/0066498). Наряду с одним или несколькими целевыми продуктами микроорганизм согласно настоящему изобретению также может продуцировать этанол, ацетат и/или 2,3-бутандиол. В некоторых вариантах реализации изобретения саму микробную биомассу можно рассматривать как продукт. Эти продукты могут быть дополнительно преобразованы для производства по меньшей мере одного компонента дизельного топлива, реактивного топлива и/или бензина. Кроме того, микробная биомасса может быть подвергнута дальнейшей переработке для получения белка одноклеточных (SCP).

"Белок одноклеточных" (SCP) относится к микробной биомассе, которая может быть использована в богатых белками кормах для людей и/или животных, часто заменяя традиционные источники белковых добавок, такие как соевая мука или рыбная мука. Для получения белка одноклеточных или другого продукта способ может включать дополнительные стадии разделения, переработки или обработки. Так, например, способ может включать стерилизацию микробной биомассы, центрифугирование микробной биомассы и/или сушку микробной биомассы. В некоторых вариантах реализации изобретения микробную биомассу сушат с использованием распылительной сушки или лопастной сушки. Способ также может включать уменьшение содержания нуклеиновой кислоты в микробной биомассе с использованием любого способа, известного в данной области техники, поскольку потребление рациона с высоким содержанием нуклеиновой кислоты может привести к накоплению продуктов распада нуклеиновой кислоты и/или желудочно-кишечному расстройству. Белок одноклеточных может быть подходящим для кормления животных, таких как домашний скот или домашние животные. В частности, корм для животных может быть подходящим для кормления одного или нескольких мясных животных, молочного скота, свиней, овец, коз, лошадей, мулов, ослов, оленей, буйволов/бизонов, лам, альпак, северных оленей, верблюдов, бантенгов, гаялов, яки, курей, индюков, уток, гусей, перепелов, цесарок, сквобов/голубей, рыбы, креветок, ракообразных, котлов, собак и грызунов. Композиция корма для животных может быть адаптирована к потребностям в питании различных животных. Кроме того, способ может включать смешивание или комбинирование микробной биомассы с одним или несколькими наполнителями.

"Наполнитель" может относиться к любому веществу, которое может быть добавлено в микробную биомассу для улучшения или изменения формы, свойств или питательной ценности корма для животных. Так, например, наполнитель может содержать один или более углеводов, клетчатки, жиров, белков, витаминов, минералов, воды, вкусовых добавок, подсластителей, антиоксидантов, ферментов, консервантов, пробиотиков или антибиотиков. В некоторых вариантах реализации изобретения наполнителем может быть сено, солома, силос, злаки, масла или жиры или другой растительный материал. Наполнителем

может быть любой кормовой ингредиент, указанный в Chiba, Section 18: Diet Formulation and Common Feed Ingredients, Animal Nutrition Handbook, 3rd revision, pages 575-633, 2014.

"Нативный продукт" представляет собой продукт, продуцируемый генетически немодифицированным микроорганизмом. Так, например, этанол, ацетат и 2,3-бутандиол являются нативными продуктами *Clostridium autoethanogenum*, *Clostridium ljungdahlii* и *Clostridium ragsdalei*. "Ненативный продукт" представляет собой продукт, продуцируемый генетически модифицированным микроорганизмом, однако он не продуцируется генетически немодифицированным микроорганизмом, из которого получают генетически модифицированный микроорганизм.

"Селективность" касается отношения производства целевого продукта к производству всех продуктов ферментации, продуцируемых микроорганизмом. Микроорганизм согласно настоящему изобретению может быть сконструирован для получения продуктов с определенной селективностью или с минимальной селективностью. В одном варианте реализации изобретения целевой продукт составляет по меньшей мере около 5 вес.%, 10 вес.%, 15 вес.%, 20 вес.%, 30 вес.%, 50 вес.%, 75 вес.% или 90 вес.% всех продуктов ферментации, продуцируемых микроорганизмом согласно настоящему изобретению. В одном варианте реализации изобретения целевой продукт составляет по меньшей мере 10 вес.% всех продуктов ферментации, продуцируемых микроорганизмом согласно настоящему изобретению, так что микроорганизм согласно изобретению обладает селективностью по отношению к целевому продукту по меньшей мере 10 вес.%. В другом варианте реализации изобретения целевой продукт составляет по меньшей мере 30 вес.% всех продуктов ферментации, продуцируемых микроорганизмом согласно настоящему изобретению, так что микроорганизм согласно изобретению обладает селективностью по отношению к целевому продукту по меньшей мере 30 вес.%. В одном варианте реализации изобретения целевой продукт составляет, по меньшей мере, 90 вес.% всех продуктов ферментации, продуцируемых микроорганизмами, так что микроорганизм согласно изобретению обладает селективностью по отношению к целевому продукту по меньшей мере 90 вес.%.

Целевые продукты можно отделить или очистить от ферментативного бульона, используя любой метод или комбинацию методов, известных в данной области техники, в том числе, например, фракционную перегонку, испарение, диффузионное испарение, отгонку газом, разделение фаз и экстрактивную ферментацию, включая, например, жидкость-жидкостную экстракцию. В некоторых вариантах реализации изобретения целевые продукты извлекают из ферментативного бульона путем непрерывного удаления из биореактора части бульона, отделения от бульона микробных клеток (обычно путем фильтрации) и извлечения из бульона одного или нескольких целевых продуктов. Спирты и/или ацетон можно извлекать, например, путем перегонки. Кислоты можно извлечь, например, путем адсорбции на активированном угле. Отделенные микробные клетки предпочтительно возвращают в биореактор. Бесклеточный пермеат, оставшийся после удаления целевых продуктов, также предпочтительно возвращают в биореактор. Для восполнения среды перед ее возвратом в биореактор к бесклеточному пермеату можно добавить дополнительные питательные вещества (например, витамины группы В).

Для получения целевого продукта культивирование/ферментацию желательно проводить в соответствующих условиях. Как правило, культивирование/ферментацию проводят в анаэробных условиях. Условия реакции, которые следует учитывать, включают давление (или парциальное давление), температуру, скорость потока газа, скорость потока жидкости, pH среды, окислительно-восстановительный потенциал среды, скорость перемешивания (при применении реактора непрерывного действия с перемешиванием), уровень инокулята, максимальные концентрации газового субстрата, которые гарантирует, что газ в жидкой фазе не станет ограничивающим фактором, и максимальные концентрации продукта во избежание ингибирования продукта. В частности, можно контролировать скорость введения субстрата для обеспечения того, что концентрация газа в жидкой фазе не станет ограничивающим фактором, поскольку в условиях ограниченного количества газа продукты могут потребляться культурой.

Эксплуатация биореактора при повышенных давлениях позволяет повысить скорость массопереноса газа из газовой фазы в жидкую фазу. Соответственно в общем случае предпочтительно осуществлять культивирование/ферментацию при давлениях выше атмосферного давления. Кроме того, поскольку заданная скорость превращения газа частично зависит от времени удерживания субстрата, при этом время удерживания диктует необходимый объем биореактора, использование систем под давлением может значительно уменьшить требуемый объем биореактора и, следовательно, капитальные затраты на оборудование для культивирования/ферментации. Это, в свою очередь, означает, что при поддержании биореакторов при повышенном давлении, а не при атмосферном давлении, можно уменьшить время удерживания, определяемое как объем жидкости в биореакторе, деленный на скорость потока нагнетаемого газа. Оптимальные условия реакции будут частично зависеть от конкретного используемого микроорганизма. Однако в общем случае предпочтительно проводить ферментацию при давлении выше атмосферного давления. Кроме того, поскольку заданная скорость превращения газа частично зависит от времени удерживания субстрата, а достижение желаемого времени удерживания, в свою очередь, диктует необходимый объем биореактора, использование систем под давлением может значительно уменьшить требуемый объем биореактора и, следовательно, капитальные затраты на оборудование для культивирования/ферментации.

Описание

Было обнаружено, что контролирование состава C1-содержащего газообразного субстрата, подаваемого в инокулятор и/или биореактор, особенно полезно для стимулирования роста клеток, селективности по продукту и стабильности как в инокуляционном реакторе, так и в последующих биореакторах. Предпочтительно состав C1-содержащего субстрата контролируют перед подачей в инокуляционный реактор, чтобы получить инокулят для загрузки в один или несколько последующих реакторов. Предпочтительно инокуляционный реактор содержит культуру одного или нескольких C1-фиксирующих микроорганизмов в жидкой питательной среде и может принимать C1-содержащий газообразный субстрат контролируемого состава для получения инокулята путем ферментации.

Авторы изобретения обнаружили, что при использовании для ферментации C1-содержащего газообразного субстрата, который обогащен водородом, процессу ферментации часто не хватает долгосрочной селективности и стабильности продукта. Неожиданным образом авторы настоящего изобретения обнаружили, что при осуществлении процесса ферментации в обогащенных водородом условиях, подача потока, содержащего альтернативный C1-содержащий оксид углерода (CO), в инокуляционный реактор приводит не только к увеличению роста биомассы и скорости роста биомассы, но и к повышенной селективности по этанолу и улучшенной стабильности в последующих биореакторах.

Данное изобретение особенно применимо к процессам ферментации с использованием потоков промышленного газа, содержащих H₂, при молярном соотношении H₂:CO, по меньшей мере, 3:1, однако считается, что изобретение также предпочтительно для промышленных потоков, содержащих композиции с более низким содержанием H₂, такие как газовые потоки, имеющие молярное соотношение H₂:CO 2:1, или 1,5:1 или 1,1:1. В одном варианте реализации настоящее изобретение относится к способу получения одного или нескольких продуктов ферментации, включающему: (а) подачу по меньшей мере части C1-содержащего газообразного субстрата в инокуляционный реактор и, по меньшей мере, части C1-содержащего газообразного субстрата в биореактор; (b) ферментацию C1-содержащего газообразного субстрата в инокуляционном реакторе с получением инокулята; (c) подачу по меньшей мере части инокулята, по меньшей мере, в один биореактор; и (d) ферментацию C1-содержащего газообразного субстрата в биореакторе с получением по меньшей мере одного продукта ферментации; где C1-содержащий газообразный субстрат, который подают в инокуляционный реактор, подвергают по меньшей мере одному процессу удаления H₂ перед подачей в инокуляционный реактор.

В конкретных вариантах реализации изобретения биореактор содержит один или несколько первичных реакторов, связанных с одним или несколькими вторичными реакторами. В некоторых вариантах реализации изобретения первичный реактор(ы) работает в условиях, способствующих получению биомассы, а вторичный реактор(ы) работает в условиях, способствующих получению метаболита. В различных вариантах реализации изобретения обогащенный H₂ C1-содержащий газообразный субстрат, который подают в первичный и вторичный реакторы, получен из одного и того же промышленного источника и имеет практически одинаковый состав.

В одном варианте реализации изобретения обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат и обогащенный H₂ C1-содержащий газообразный субстрат получают из одного и того же промышленного источника. В различных вариантах реализации изобретения по меньшей мере часть обогащенного H₂ C1-содержащего газообразного субстрата перед подачей в инокуляционный реактор подвергают процессу удаления водорода, причем процесс удаления водорода выполнен с возможностью отделения, по меньшей мере, части водорода от обогащенного H₂ C1-содержащего газообразного субстрата для получения обогащенного CO C1-содержащего газообразного субстрата. В конкретных вариантах реализации изобретения зона обработки включает модуль мембранной сепарации H₂ и/или процесс адсорбции при переменном давлении (PSA). Предпочтительно процесс удаления водорода включает модуль мембранной сепарации.

В одном или нескольких вариантах реализации изобретения обогащенный H₂ C1-содержащий газообразный субстрат получают в результате промышленного процесса.

В альтернативных вариантах реализации изобретения обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат содержит поток баллонного газа CO. В одном варианте реализации изобретения баллонный газ CO смешивают с одним или несколькими газообразными компонентами, такими как азот и/или диоксид углерода. В других вариантах реализации изобретения обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат представляет собой обогащенный CO газовый поток, полученный из источника, отличающегося от источника обогащенного H₂ C1-содержащего газообразного субстрата. В одном варианте реализации изобретения обогащенный CO C1-газообразный субстрат получают из процесса электролиза CO₂.

Удаление водорода

Необходимый объем газа в некоторых случаях может сделать использование баллонного газа невозможным из-за его стоимости. Таким образом, предпочтительной является обработка обогащенного H₂ C1-содержащего газообразного субстрата для удаления по меньшей мере части водорода из субстрата и получения обогащенного CO C1-содержащего газообразного субстрата. Подходящие способы обработки обогащенного H₂ C1-содержащего газообразного субстрата могут включать в себя, но не ограничиваются ими, технологии мембранного отделения и технологии адсорбции при переменном давлении.

Модули мембранной сепарации обеспечивают недорогой, относительно простой способ удаления, по меньшей мере, части водорода из газообразного субстрата. Так, например, установка для риформинга синтез-газа с составом 72 об.% H_2 , 14 об.% CO , 7 об.% CO_2 и 7 об.% CH_4 при давлении 25 бар, проходящая через демонстрационный модуль мембранного отделения, приводит к получению обогащенного CO потока высокого давления и обогащенного H_2 потока низкого давления. Обогащенный CO поток высокого давления сохраняет давление 25 бар и содержит 50 об.% CO , 16 об.% H_2 , 25 об.% CH_4 и 9 об.% CO_2 . В обогащенном H_2 потоке низкого давления давление уменьшается до 1 бар и он содержит 92 об.% H_2 , 6 об.% CO_2 и 1 об.% CO и CH_4 соответственно. Обогащенный CO поток высокого давления может быть подан в инокулятор как обогащенный CO $C1$ -содержащий газообразный субстрат. Обогащенный CO поток высокого давления обеспечивает дополнительное преимущество, так как не требует дополнительного сжатия, что позволяет избежать капитальных затрат, связанных с установкой дополнительного компрессора для инокуляционного реактора.

Технологии процесса адсорбции при переменном давлении представляют собой более сложный, но эффективный способ удаления, по меньшей мере, части водорода из газообразного субстрата. При использовании процесса адсорбции при переменном давлении получаемый обогащенный CO поток имеет низкое давление. Хотя использование процесса адсорбции при переменном давлении является целесообразным, может потребоваться сжатие обогащенного CO $C1$ -содержащего газообразного субстрата перед подачей в инокуляционный реактор или любой биореактор, тем самым увеличивая капитальные затраты, связанные с инокуляционным реактором. Однако это может быть, по меньшей мере, частично компенсировано, если учесть тот факт, что поток водорода, получаемый в процессе адсорбции при переменном давлении, находится под высоким давлением и может продаваться в качестве продукта.

Электролиз CO_2

Альтернативным способом получения обогащенного CO $C1$ -содержащего газообразного субстрата является использование электролиза CO_2 . Процессы электролиза CO_2 превращают исходное сырье CO_2 в CO и O_2 . Использование процесса электролиза CO_2 для получения обогащенного CO потока для инокулятора может представлять интерес на промышленных объектах, содержащих обогащенный CO_2 поток в дополнении к обогащенному O_2 потоку. Кроме того, считается также, что остаточный газ из инокуляционного реактора и/или биореакторной системы, обогащенный CO_2 , может быть использован в качестве сырья для установок электролиза CO_2 .

На фиг. 1 показана блок-схема одного варианта реализации изобретения. Часть $C1$ -содержащего газообразного субстрата пропускают через трубопроводное устройство 110 в инокуляционный реактор 130, где $C1$ -содержащий субстрат ферментируется для получения инокулята. По меньшей мере часть инокулята пропускают через трубопроводное устройство 131 в биореакторную систему 140, 150, где часть $C1$ -содержащего газообразного субстрата также пропускают через трубопроводное устройство 110 для ферментации с получением по меньшей мере одного продукта 141, 151. $C1$ -содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 130, подвергают по меньшей мере одному процессу удаления водорода 120 перед подачей в инокуляционный реактор 130. Процесс удаления водорода 120 получает $C1$ -содержащий газообразный субстрат через трубопроводное устройство 110 и удаляет по меньшей мере часть водорода 121 из $C1$ -содержащего газообразного субстрата для получения обогащенного CO $C1$ -содержащего газообразного субстрата, который подают в инокуляционный реактор 130 через трубопроводное устройство 122.

Предпочтительно $C1$ -содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 130, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ менее 1:1. В некоторых вариантах реализации изобретения $C1$ -содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 130, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ менее 0,8:1. Предпочтительно $C1$ -содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 130, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ от 0,02:1 до 1:1. В различных случаях в результате осуществления процесса удаления водорода 120 удаляется, по меньшей мере, часть водорода посредством использования, по меньшей мере, одного модуля мембранного отделения. В различных случаях в результате осуществления процесса удаления водорода 120 удаляется по меньшей мере часть водорода посредством использования по меньшей мере одного процесса адсорбции при переменном давлении. В различных вариантах реализации изобретения в результате осуществления процесса удаления водорода 120 удаляется по меньшей мере часть водорода посредством использования как модуля мембранного отделения, так и процесса адсорбции при переменном давлении.

В некоторых случаях $C1$ -содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 130 и биореакторную систему 140, 150, по меньшей мере, частично получен из промышленного источника. Предпочтительно промышленный источник выбирают из группы, состоящей из ферментации углеводов, газовой ферментации, производства цемента, целлюлозы и бумаги, производства стали, нефтепереработки и связанных процессов, производства нефтехимических продуктов, производства кокса, анаэробного или аэробного сбраживания, синтез-газа, добычи природного газа, добычи нефти, металлургических процессов для производства и/или очистки алюминия, меди и/или ферросплавов, геологических коллекторов и каталитических процессов.

Предпочтительно продукт ферментации 141, 151, полученный биореакторной системой 140, 150, выбирают из группы, состоящей из этанола, ацетата, бутанола, бутирата, 2,3-бутандиола, 1,3-бутандиола, лактата, бутена, бутадиена, метилэтилкетона, этилена, ацетона, изопропанола, липидов, 3-гидроксипропионата, изопрена, жирных кислот, 2-бутанола, 1,2-пропандиола, 1-пропанола, моноэтиленгликоля, изобутена и С6-С14-спиртов. В различных случаях, по меньшей мере, часть продукта 141, 151 дополнительно превращается, по меньшей мере, в один компонент дизельного топлива, реактивного топлива, бензина, пропилена, нейлона 6-6, резины и/или смол. В различных случаях, по меньшей мере, один продукт ферментации 141, 151 представляет собой микробную биомассу. Эта микробная биомасса может в некоторых случаях подвергаться дальнейшей обработке для получения, по меньшей мере, одного компонента корма для животных.

В различных вариантах реализации изобретения ферментационный бульон из одного биореактора 140 может быть подан в другой биореактор 150 в биореакторной системе 140, 150 через трубопроводное устройство 142.

На фиг. 2 показана блок-схема одного варианта реализации изобретения. Часть С1-содержащего газообразного субстрата пропускают через трубопроводное устройство 210 в инокуляционный реактор 230, где С1-содержащий субстрат ферментируется для получения инокулята. По меньшей мере, часть инокулята пропускают через трубопроводное устройство 231 в биореакторную систему 240, 250, где часть С1-содержащего газообразного субстрата также пропускают через трубопроводное устройство 210 для ферментации с получением по меньшей мере одного продукта 241, 251. С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 230 и биореакторную систему 140, 150, подвергают по меньшей мере одному процессу удаления водорода 220 перед подачей в инокуляционный реактор 230. Процесс удаления водорода 220 получает С1-содержащий газообразный субстрат через трубопроводное устройство 210 и удаляет, по меньшей мере, часть водорода 221 из С1-содержащего газообразного субстрата для получения обогащенного СО С1-содержащего газообразного субстрата, который подают в инокуляционный реактор 230 через трубопроводное устройство 222 и в биореакторную систему 140, 150 через трубопроводное устройство 223.

Предпочтительно С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 230 и биореакторную систему 240, 250, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ менее 1:1. В некоторых вариантах реализации изобретения С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 230 и биореакторную систему 240, 250, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ менее 0,8:1. Предпочтительно С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 230 и биореакторную систему 240, 250, содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ от 0,02:1 до 1:1. В различных случаях в результате осуществления процесса удаления водорода 220 удаляется, по меньшей мере, часть водорода посредством использования по меньшей мере одного модуля мембранного отделения. В различных случаях в результате осуществления процесса удаления водорода 220 удаляется по меньшей мере часть водорода посредством использования по меньшей мере одного процесса адсорбции при переменном давлении. В различных вариантах реализации изобретения в результате осуществления процесса удаления водорода 220 удаляется по меньшей мере часть водорода посредством использования как модуля мембранного отделения, так и процесса адсорбции при переменном давлении.

В некоторых случаях С1-содержащий газообразный субстрат, подаваемый в инокуляционный реактор 230 и биореакторную систему 240, 250, по меньшей мере, частично получен из промышленного источника. Предпочтительно промышленный источник выбирают из группы, состоящей из ферментации углеводов, газовой ферментации, производства цемента, производства целлюлозы и бумаги, производства стали, нефтепереработки и связанных процессов, производства нефтехимических продуктов, производства кокса, анаэробного или аэробного сбраживания, синтез-газа, добычи природного газа, добычи нефти, металлургических процессов для производства и/или очистки алюминия, меди и/или ферросплавов, геологических коллекторов и каталитических процессов.

Предпочтительно продукт ферментации 241, 251, полученный биореакторной системой 240, 250, выбирают из группы, состоящей из этанола, ацетата, бутанола, бутирата, 2,3-бутандиола, 1,3-бутандиола, лактата, бутена, бутадиена, метилэтилкетона, этилена, ацетона, изопропанола, липидов, 3-гидроксипропионата, изопрена, жирных кислот, 2-бутанола, 1,2-пропандиола, 1-пропанола, моноэтиленгликоля, изобутена и С6-С14-спиртов. В различных случаях, по меньшей мере, часть продукта 241, 251 дополнительно превращается, по меньшей мере, в один компонент дизельного топлива, реактивного топлива, бензина, пропилена, нейлона 6-6, резины и/или смол. В различных случаях, по меньшей мере, один продукт ферментации 241, 251 представляет собой микробную биомассу. Эта микробная биомасса может в некоторых случаях подвергаться дальнейшей обработке для получения, по меньшей мере, одного компонента корма для животных.

В различных вариантах реализации изобретения ферментационный бульон из одного биореактора 240 может быть подан в другой биореактор 250 в биореакторной системе 240, 250 через трубопроводное устройство 242.

На фиг. 3, 4 и 5 изображены различные варианты реализации изобретения с использованием про-

цесса получения водорода в процессе очистки в качестве промышленного источника обогащенного H_2 C1-содержащего газообразного субстрата. Типичный процесс получения водорода, как изображено на фиг. 3, 4 и 5, включает следующие стадии: (i) процесс риформинга, в котором сырье, содержащее CH_4 , превращают в поток синтез-газа, содержащий CO и H_2 ; (ii) по меньшей мере одну стадию конверсии водяного газа, при которой часть CO реагирует с водой с образованием H_2 и CO_2 ; и (iii) модуль адсорбции при переменном давлении (PSA), предназначенный для извлечения водорода из газового потока.

Фиг. 3 демонстрирует один вариант реализации настоящего изобретения с использованием обогащенного H_2 C1-содержащего газообразного субстрата из процесса риформинга 310. По меньшей мере часть обогащенного H_2 C1-содержащего газообразного субстрата подают в модуль мембранного отделения 350 через трубопроводное устройство 312. Модуль мембранной сепарации 350 разделяет C1-содержащий газообразный субстрат на обогащенный CO поток высокого давления и обогащенный поток H_2 поток низкого давления. По меньшей мере часть обогащенного CO потока низкого давления подают в инокуляционный реактор 370 через трубопроводное устройство 352. По меньшей мере часть обогащенного H_2 потока низкого давления подают в процесс адсорбции при переменном давлении 360 через трубопроводное устройство 351. По меньшей мере в одном варианте реализации изобретения газообразный субстрат подают в компрессор перед его подачей в процесс адсорбции при переменном давлении 360. В одном варианте реализации изобретения обогащенный CO поток содержит по меньшей мере 40% CO, или по меньшей мере 50% CO, или по меньшей мере 60% CO. В одном варианте реализации изобретения давление обогащенного CO C1-содержащего потока составляет по меньшей мере 15 бар, или по меньшей мере 20 бар, или по меньшей мере 25 бар.

В различных вариантах реализации изобретения процесс может включать в себя несколько процессов смены водяного газа 320, 330 и/или несколько процессов удаления водорода 350, 340, 360. Как показано на фиг. 3, C1-содержащий газообразный субстрат может сначала быть подан из процесса риформинга 310 в процесс конверсии водяного газа 320 через трубопроводное устройство 311 для преобразования, по меньшей мере, части CH_4 в поток синтез-газа, содержащий CO и H_2 . Этот газовый поток может необязательно обходить один или несколько дополнительных процессов конверсии водяного газа 330 через трубопроводное устройство 321 и быть подан в один или несколько процессов удаления водорода 340, чтобы отделить, по меньшей мере, часть водорода 341 от газового потока. Этот поток затем может быть подан в один или несколько дополнительных процессов удаления водорода 360 через трубопроводное устройство 342. Поток из одного или нескольких дополнительных процессов удаления водорода 360 может быть направлен в биореактор 380 через трубопроводное устройство 361 для ферментации. По меньшей мере, часть субстрата, не отправленная в биореактор, может быть дополнительно отправлена в процесс риформинга 310 через трубопроводное устройство 362. В различных случаях биореактор 380 получает газообразный субстрат и производит один или несколько продуктов ферментации 381. Необязательно остаточный газ как из инокуляционного реактора 370, так и из биореактора 380 может быть возвращен обратно в процесс риформинга 310 через отдельные трубопроводные устройства 372, 382 и/или смешанный поток 378.

В различных вариантах реализации изобретения инокуляционный реактор 370 и биореактор 380 выполнены ступенчатым образом, в результате чего инокуляционный реактор 370 ферментирует обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат для получения инокулята, который затем подают в биореактор 380 через трубопроводное устройство 371. Благодаря использованию этого инокулята в биореакторе 380 повышается селективность по продукту и стабильность процесса ферментации.

В другом варианте реализации изобретения, как показано на фиг. 4, обогащенный H_2 C1-содержащий поток из процесса риформинга 410 подают в процесс адсорбции при переменном давлении 450 через трубопроводное устройство 412, расположенное выше по потоку от инокуляционного реактора 470. Процесс адсорбции при переменном давлении 450 разделяет C1-содержащий поток на обогащенный H_2 поток высокого давления и обогащенный CO поток низкого давления. Обогащенный CO поток низкого давления может быть подан в компрессор перед его подачей в инокуляционный реактор 470 через трубопроводное устройство 452. В одном варианте реализации изобретения обогащенный CO поток, подаваемый в инокуляционный реактор 470, содержит по меньшей мере 30% CO, или по меньшей мере 40% CO, или по меньшей мере 50% CO или по меньшей мере 60% CO. Отделенный водород может быть передан из процесса адсорбции при переменном давлении 450 в другой процесс адсорбции при переменном давлении 460 через трубопроводное устройство 451. В различных вариантах реализации изобретения этот процесс может включать в себя несколько процессов смены водяного газа 420, 430 и/или несколько процессов удаления водорода 450, 440, 460.

Как показано на фиг. 4, C1-содержащий газообразный субстрат может сначала быть подан из процесса риформинга 410 в процесс конверсии водяного газа 420 через трубопроводное устройство 411 для преобразования по меньшей мере части CH_4 в поток синтез-газа, содержащий CO и H_2 . Этот газовый поток может необязательно обходить один или несколько дополнительных процессов конверсии водяного газа 430 через трубопроводное устройство 421 и подаваться в один или несколько процессов удаления водорода 440 через трубопроводное устройство 431 для отделения, по меньшей мере, части водорода 441 от газового потока. Этот поток затем может быть подан в один или несколько дополнительных процес-

сов удаления водорода 460 через трубопроводное устройство 442. Поток из одного или нескольких дополнительных процессов удаления водорода 460 может быть направлен в биореактор 480 через трубопроводное устройство 461 для ферментации. По меньшей мере, часть субстрата, не отправленная в биореактор, может быть необязательно отправлена в процесс риформинга 410 через трубопроводное устройство 462. В различных случаях биореактор 480 получает газообразный субстрат и производит один или несколько продуктов ферментации 481. Необязательно остаточный газ как из инокуляционного реактора 470, так и из биореактора 480 может быть возвращен обратно в процесс риформинга 410 через отдельные трубопроводные устройства 472, 482 и/или смешанный поток 478.

В различных вариантах реализации изобретения инокуляционный реактор 470 и биореактор 480 выполнены ступенчатым образом, в результате чего инокуляционный реактор 470 ферментирует обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат для получения инокулята, который затем подают в биореактор 480 через трубопроводное устройство 471. Благодаря использованию этого инокулята в биореакторе 480 повышается селективность по продукту и стабильность процесса ферментации.

В другом варианте реализации изобретения, как показано на фиг. 5, C1-содержащий поток из процесса риформинга 510 может быть подан в несколько процессов удаления водорода 540, 550, 560, 590 перед подачей в инокуляционный реактор 570 и/или биореактор 580. В различных случаях C1-содержащий поток может быть подан в компрессор перед и/или между процессом удаления водорода. Подавая C1-содержащий поток в несколько процессов удаления водорода, состав CO в C1-содержащем потоке может быть дополнительно обогащен.

В различных вариантах реализации изобретения процесс может включать в себя несколько процессов конверсии водяного газа 520, 530 в сочетании с несколькими процессами удаления водорода 540, 550, 560. Как показано на фиг. 5, C1-содержащий газообразный субстрат может сначала быть подан из процесса риформинга 510 в процесс конверсии водяного газа 520 через трубопроводное устройство 511 для преобразования, по меньшей мере, части CH₄ в поток синтез-газа, содержащий CO и H₂. Этот газовый поток затем может быть подан в один или несколько дополнительных процессов конверсии водяного газа 530 через трубопроводное устройство 521 и направлен в один или несколько процессов удаления водорода 540 через трубопроводное устройство 531, чтобы отделить по меньшей мере часть водорода 541 от газового потока. Затем этот поток может быть подан в один или несколько дополнительных процессов удаления водорода 560 через трубопроводное устройство 542. Поток из одного или нескольких дополнительных процессов удаления водорода 560 может быть направлен в биореактор 580 через трубопроводное устройство 561 для ферментации. По меньшей мере часть субстрата, не отправленного в биореактор, может быть необязательно подана в последующий процесс удаления водорода 550 через трубопроводное устройство 562 и необязательно в дополнительный процесс удаления водорода 590 через трубопроводное устройство 551, который в конечном итоге может быть отправлен в инокуляционный реактор 570 через трубопроводное устройство 591 для получения инокулята.

В различных случаях биореактор 580 получает газообразный субстрат и производит один или несколько продуктов ферментации 581. Необязательно остаточный газ как из инокуляционного реактора 570, так и из биореактора 580 может быть возвращен обратно в процесс риформинга 510 через отдельные трубопроводные устройства 572, 582 и/или смешанный поток 578.

В различных вариантах реализации изобретения инокуляционный реактор 570 и биореактор 580 выполнены ступенчатым образом, в результате чего инокуляционный реактор 570 ферментирует обогащенный CO C1-содержащий газообразный субстрат для получения инокулята, который затем подают в биореактор 580 через трубопроводное устройство 571. Благодаря использованию этого инокулята в биореакторе 580 повышается селективность по продукту и стабильность процесса ферментации.

Следует понимать, что хотя фиг. 3, 4 и 5 являются представлениями интеграции с процессом получения водорода, текущее применение не должно быть ограничено интеграцией с процессом получения водорода.

Примеры

Следующие примеры дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение, но, разумеется, никоим образом не должны рассматриваться как ограничивающие его объем.

Пример 1.

Этот пример демонстрирует сравнительные характеристики двух реакторов, в которые был подан газообразный субстрат, содержащий 68 об.% H₂, 3,8 об.% CO, 26 об.% CO₂ и 1 об.% N₂ при молярном соотношении H₂:CO 18:1. Единственным различием в рабочих параметрах двух реакторов были условиями, в которых был получен инокулят для каждого реактора. На фиг. 6a и 6b показаны профили метаболитов и газов в первом биореакторе, в который был подан инокулят, полученный в обогащенных CO условиях. На фиг. 7a и 7b показаны профили метаболитов и газов во втором биореакторе, в который был подан инокулят, полученный в обогащенных H₂ условиях. Оба реактора потребляют H₂, CO и CO₂ с одинаковой эффективностью, но реактор, в который был подан инокулят из обогащенного H₂ инокуляционного реактора (фиг. 7a), имеет сниженную селективность по этанолу.

Пример 2.

Этот пример демонстрирует сравнительные характеристики реакторов, в которые был подан иноку-

лят из инокуляционных реакторов, работающих в различных газовых условиях. На фиг. 8a и 8b показаны профили метаболитов и газов ферментации, инокулированной культурой, полученной при инокуляции со следующим составом газа: 48 об.% H_2 , 40 об.% CO , 2 об.% CO_2 и 10 об.% N_2 . На фиг. 9a и 9b показаны профили метаболитов и газов ферментации, инокулированных культурой, полученной при инокуляции в обогащенных CO условиях. Селективность по этанолу, продемонстрированная в реакторе, в который подают инокулят из обогащенного CO газового инокуляционного реактора (фиг. 9a), значительно выше, чем в реакторе, в который подают инокулята из обогащенного H_2 инокуляционного реактора (фиг. 8a).

Все ссылки, включая публикации, заявки на патенты и патенты, цитированные в данном документе, включены в настоящее описание посредством ссылки в той же степени, как если бы каждая ссылка была индивидуально и конкретно указана для включения посредством ссылки и была изложена в данном документе во всей ее полноте. В настоящем описании ссылка на любой известный уровень техники не является и не должна рассматриваться как признание того, что такой известный уровень техники является частью общедоступных известных знаний в области деятельности в любой стране.

Следует считать, что применение терминов в единственном числе и аналогичных ссылок в контексте описания настоящего изобретения (особенно в контексте приведенной ниже формулы изобретения) включает как единственное, так и множественное число, если только в настоящем документе не указано иное или это явно не противоречит контексту. Термины "состоящий из", "имеющий", "включающий" и "содержащий" следует рассматривать как неограничивающие термины (то есть означающие "в том числе, но не ограничиваясь ими"), если не указано иное. Термин "в основном состоящий из" ограничивает объем композиции, процесса или способа указанными материалами или этапами или теми, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики композиции, процесса или способа. Использование альтернативы (например, "или") следует понимать как означающее либо одну, обе, либо любую их комбинацию альтернатив. Используемый в данном документе термин "около" означает $\pm 20\%$ указанного диапазона, значения или структуры, если не указано иное.

Перечисление диапазонов значений в данном документе просто предназначено для использования в качестве сокращенного способа индивидуальной ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в этот диапазон, если в данном документе не указано иное, при этом каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было отдельно приведено в данном документе. Так, например, любой диапазон концентрации, процентный диапазон, диапазон соотношений, диапазон целых чисел, диапазон размеров или диапазон толщин следует понимать как включающий в себя значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, его доли (например, одна десятая и одна сотая целого числа), если не указано иное.

Все способы, описанные в данном документе, могут быть выполнены в любом подходящем порядке, если в данном документе не указано иное или иное явно не противоречит контексту. Использование любых и всех примеров или вводных слов (например, "такой как"), приведенных в данном документе, предназначено просто для лучшего освещения настоящего изобретения и не налагает ограничения на объем изобретения, если не заявлено иное. Ни одно выражение, приведенное в данном описании, не следует толковать как указание на какой-либо незаявленный элемент как существенный для практической реализации настоящего изобретения.

В данном документе описаны предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения. Вариации таких предпочтительных вариантов реализации могут стать очевидными для специалистов в данной области техники после прочтения приведенного выше описания. Авторы настоящего изобретения ожидают, что квалифицированные специалисты будут использовать такие варианты, исходя из конкретных условий, при этом авторы настоящего изобретения предполагают, что оно будет реализовано на практике иначе, чем конкретно описано в данном документе. Соответственно, настоящее изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта изобретения, приведенного ниже в формуле изобретения, как это установлено действующим законодательством. Кроме того, любая комбинация описанных выше элементов во всех их возможных вариациях включена в настоящее изобретение, если в данном документе не указано иное или иное явно не противоречит контексту.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения одного или нескольких продуктов ферментации, включающий
 - a) подачу обогащенного CO $C1$ -содержащего газообразного субстрата в инокуляционный реактор, содержащий жидкую питательную среду, содержащую культуру одного или нескольких $C1$ -фиксирующих микроорганизмов;
 - b) ферментирование обогащенного CO $C1$ -содержащего газообразного субстрата для получения инокулята;
 - c) подачу по меньшей мере части инокулята в биореакторную систему, причем биореакторная система содержит по меньшей мере один биореактор, содержащий культуру одного или нескольких $C1$ -фиксирующих микроорганизмов в жидкой питательной среде;
 - d) подачу обогащенного H_2 $C1$ -содержащего газообразного субстрата в биореакторную систему; и

е) ферментирование обогащенного H_2 C_1 -содержащего газообразного субстрата для получения по меньшей мере одного продукта ферментации;

где молярное соотношение $H_2:CO$ в обогащенном CO C_1 -содержащем газообразном субстрате составляет менее 1 к 1 и где молярное соотношение $H_2:CO$ в обогащенном H_2 C_1 -содержащем газообразном субстрате составляет по меньшей мере 1,1 к 1.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что обогащенный CO C_1 -содержащий газообразный субстрат содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ менее 0,5:1.

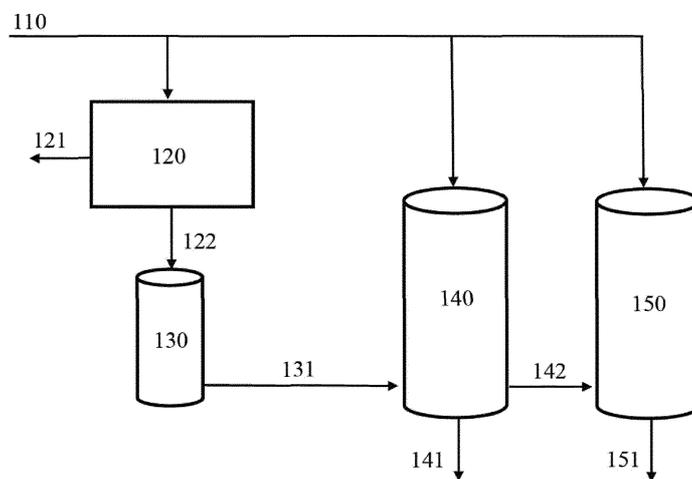
3. Способ по п.1, отличающийся тем, что обогащенный CO C_1 -содержащий газообразный субстрат содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ от 0,02:1 до 1:1.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что обогащенный H_2 C_1 -содержащий газообразный субстрат содержит H_2 при молярном соотношении $H_2:CO$ от 1,1:1 до 6:1.

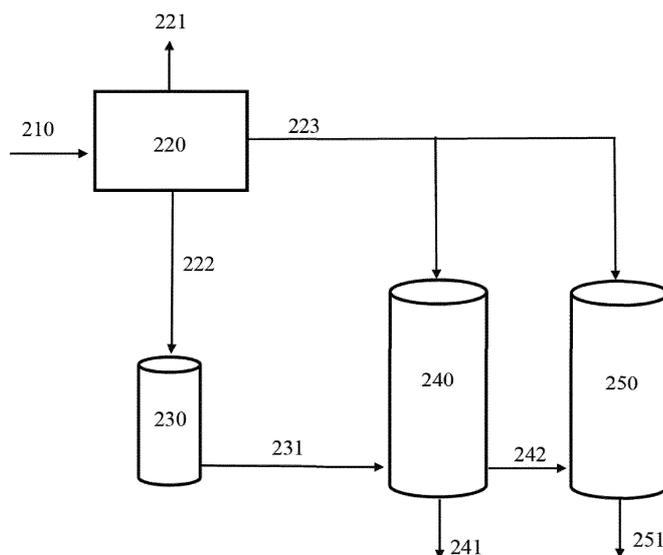
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что C_1 -фиксирующий микроорганизм представляет собой карбоксидотрофную бактерию.

6. Способ по п.5, отличающийся тем, что карбоксидотрофная бактерия выбрана из группы, состоящей из *Moorella*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Acetobacterium*, *Eubacterium*, *Butyribacterium*, *Oxobacter*, *Methanosarcina* и *Desulfotomaculum*.

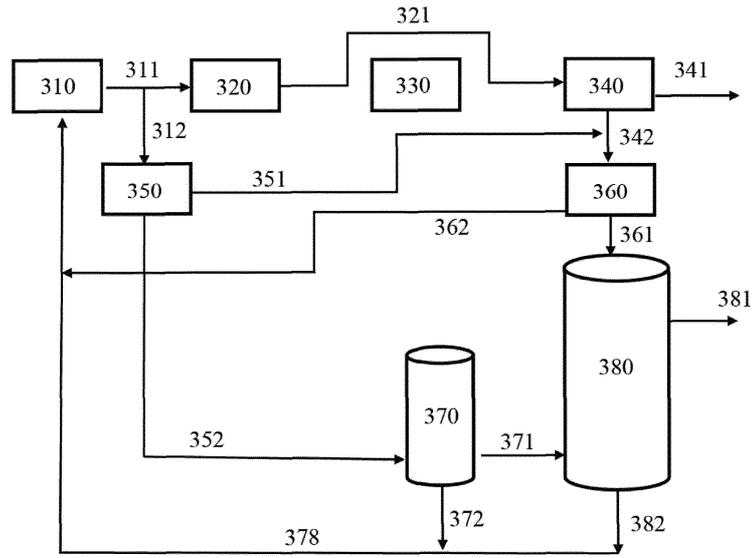
7. Способ по п.5, отличающийся тем, что карбоксидотрофная бактерия представляет собой *Clostridium autoethanogenum*.



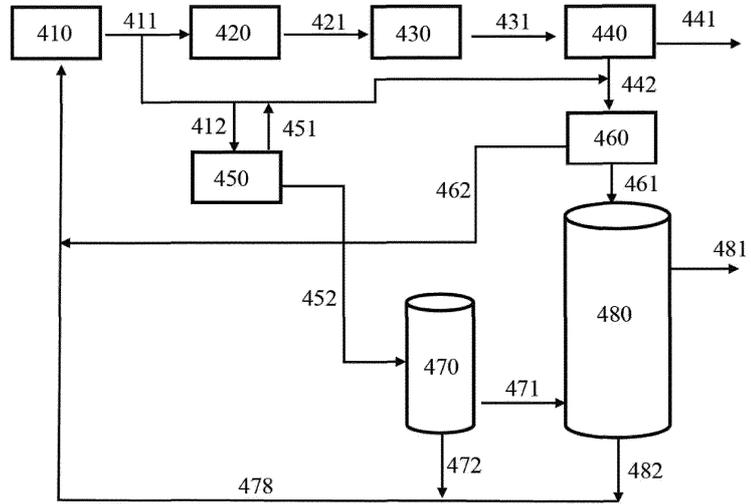
Фиг. 1



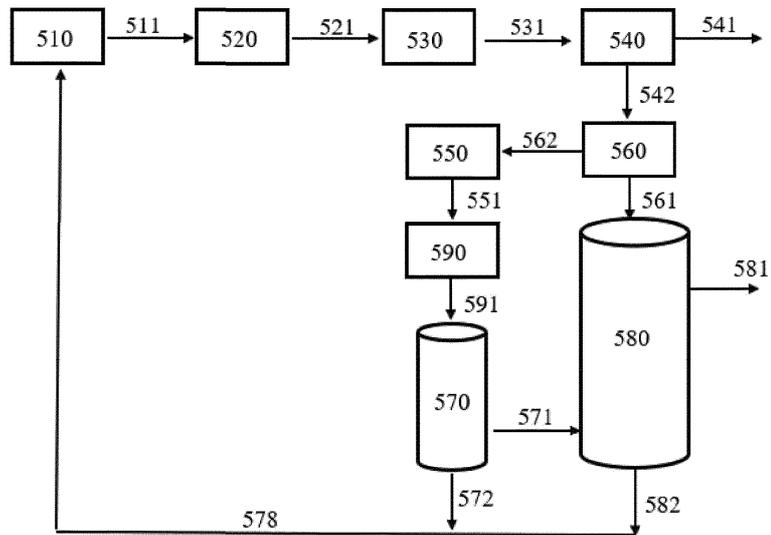
Фиг. 2



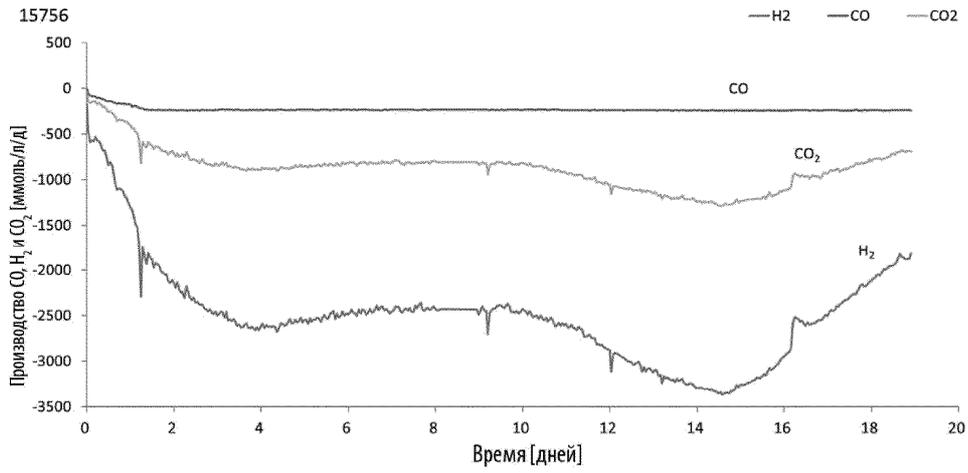
Фиг. 3



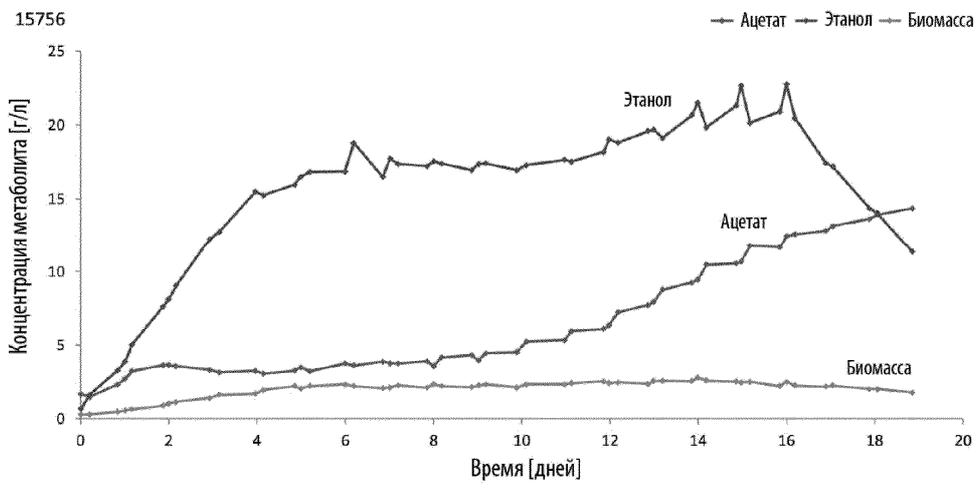
Фиг. 4



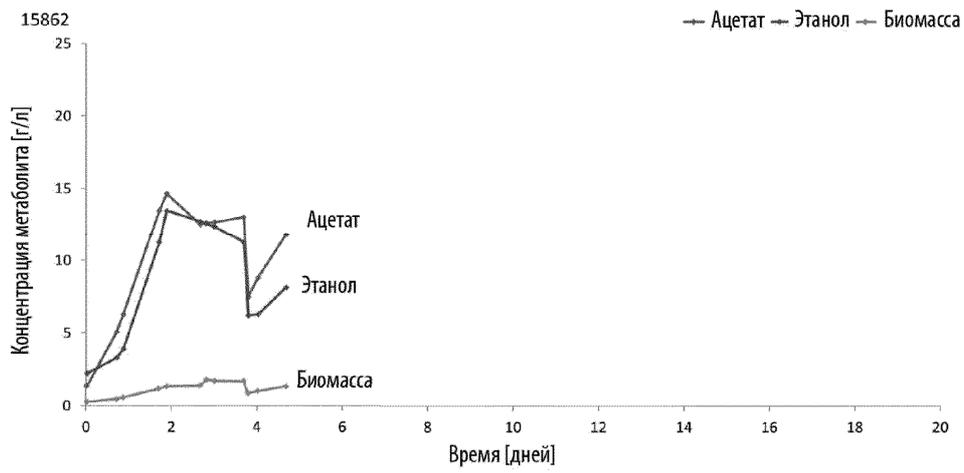
Фиг. 5



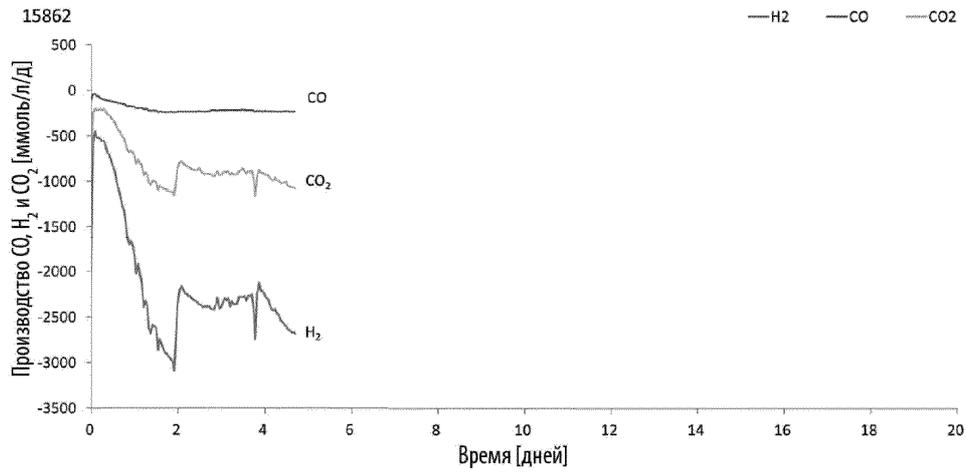
Фиг. 6а



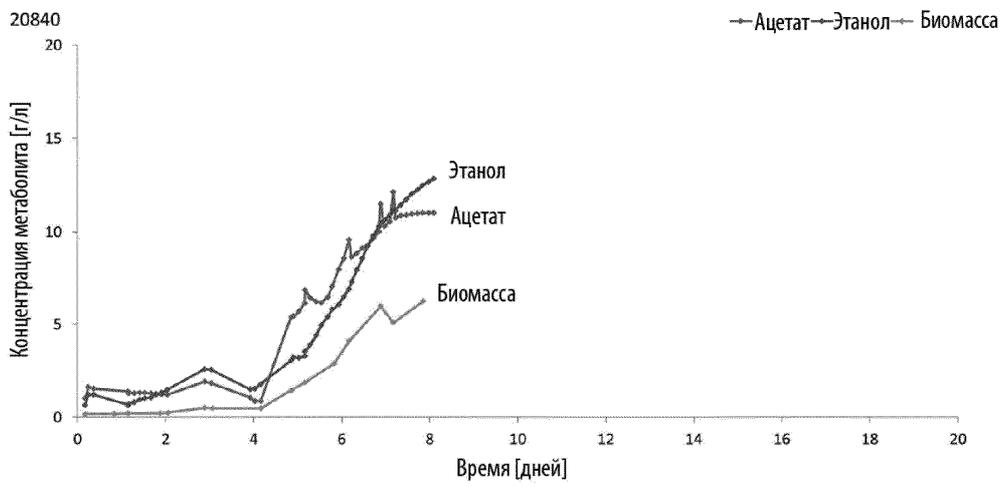
Фиг. 6б



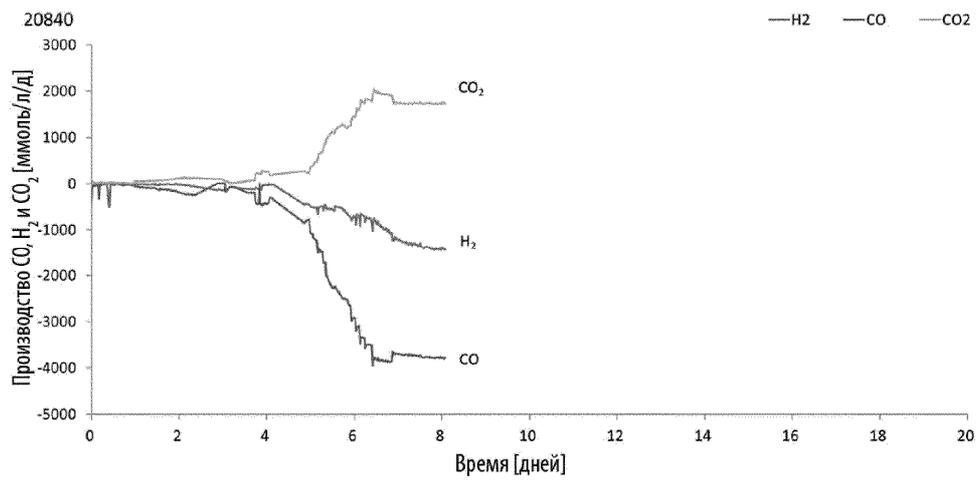
Фиг. 7а



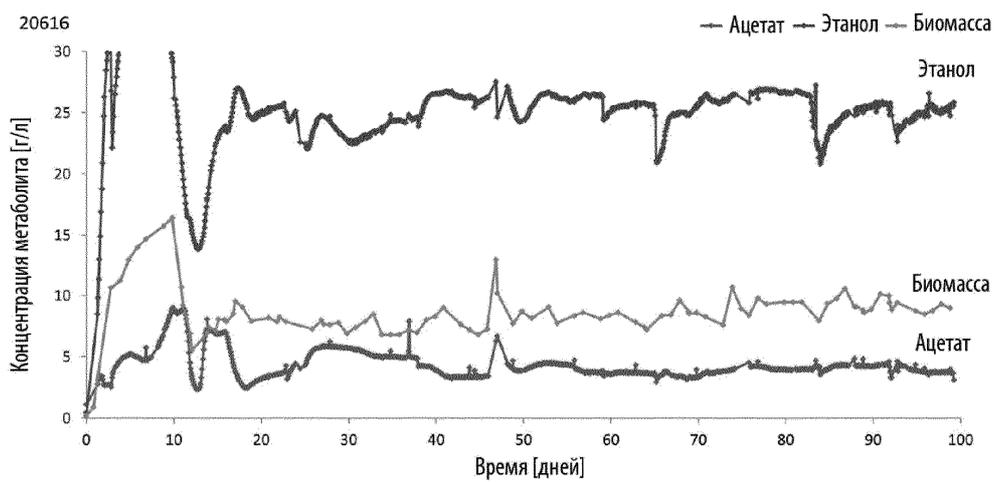
Фиг. 7b



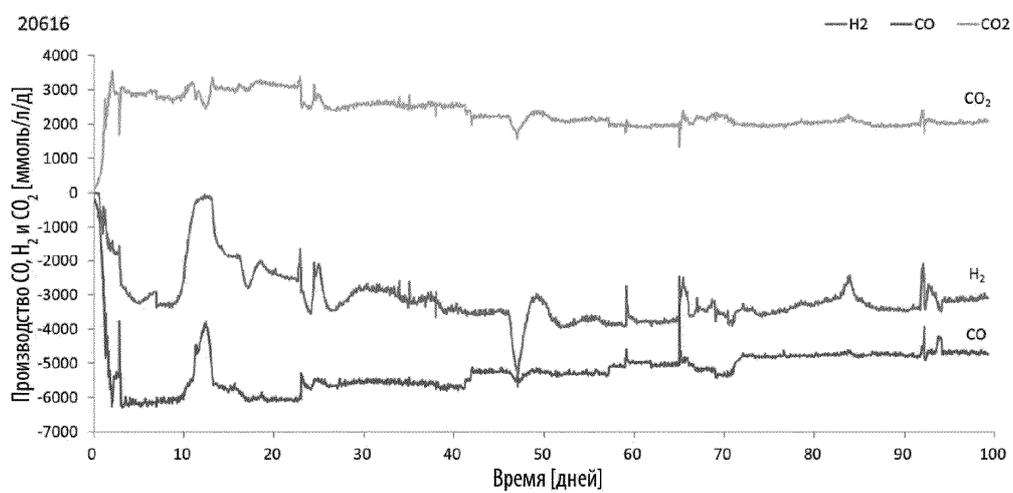
Фиг. 8a



Фиг. 8b



Фиг. 9а



Фиг. 9б

