



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107075531 A

(43)申请公布日 2017.08.18

(21)申请号 201480057301.6

(22)申请日 2014.10.16

(30)优先权数据

61/892,405 2013.10.17 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.04.18

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/060980 2014.10.16

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/058011 EN 2015.04.23

(71)申请人 朗泽科技新西兰有限公司

地址 新西兰奥克兰

(72)发明人 J·H·蒂泽德 P·A·西克里斯特

(74)专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司 11285

代理人 张广育 孙占华

(51)Int.Cl.

C12P 7/06(2006.01)

C12P 7/16(2006.01)

C12P 7/18(2006.01)

C12P 7/54(2006.01)

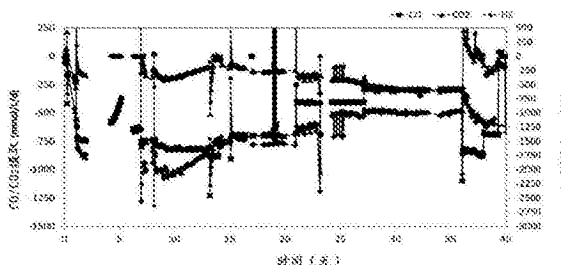
权利要求书2页 说明书15页 附图7页

(54)发明名称

改进的发酵中碳捕捉

(57)摘要

本发明提供在包含氢气(H₂)和二氧化碳(CO₂)的气态底物的发酵中利用CO₂的工艺和方法。特别是,本发明允许气态底物中的至少一部分CO₂转化成一种或多种产物,例如乙醇、乙酸盐和/或2,3-丁二醇。



1. 一种用于改进气体发酵中的碳捕捉的工艺,所述工艺包括向液体营养培养基中的细菌培养物提供包含 H_2 和 CO_2 的气态底物并使所述培养物发酵,其中所述气态底物中的至少一部分 CO_2 被所述培养物转化成一种或多种产物。

2. 如权利要求1所述的工艺,其中所述培养物消耗的 CO_2 量超过或等于所述培养物产生的 CO_2 量。

3. 如权利要求1所述的工艺,其中所述气态底物还包含CO。

4. 如权利要求3所述的工艺,其中所述气态底物中的 $H_2:CO$ 比率是至少1.5:1。

5. 如权利要求3所述的工艺,其中所述气态底物中的 $H_2:CO$ 比率是至少2:1。

6. 如权利要求3所述的工艺,其中所述气态底物中的 $H_2:CO_2:CO$ 比率是至少2:1:1。

7. 如权利要求3所述的工艺,其中所述培养物对 H_2 的特异性摄取超过所述培养物对CO的特异性摄取。

8. 如权利要求7所述的工艺,其中所述培养物对 $H_2:CO$ 的特异性摄取比率是至少1.4:1。

9. 如权利要求7所述的工艺,其中所述培养物对 $H_2:CO$ 的特异性摄取比率是至少2:1。

10. 如权利要求1所述的工艺,其中所述产物包含醇和酸中的一种或多种。

11. 如权利要求1所述的工艺,其中所述产物包含乙醇、乙酸盐和2,3-丁二醇中的一种或多种。

12. 如权利要求1所述的工艺,其中所述细菌是一氧化碳营养型的。

13. 如权利要求12所述的工艺,其中所述细菌包含梭菌、穆尔氏菌、产醋杆菌、消化链球菌、醋酸杆菌、真杆菌或丁酸杆菌中的一种或多种。

14. 如权利要求13所述的工艺,其中所述细菌包含产乙醇梭菌或杨氏梭菌。

15. 如权利要求14所述的工艺,其中所述细菌包含以DSMZ保藏号DSM23693保存的产乙醇梭菌或源自其的细菌。

16. 如权利要求1所述的工艺,其中所述工艺还包括回收所述一种或多种产物。

17. 一种通过气体发酵产生一种或多种产物的方法,所述方法包括向液体营养培养基中的细菌培养物提供包含 H_2 和 CO_2 的气态底物并使所述培养物发酵,其中所述气态底物中的至少一部分 CO_2 被所述培养物转化成一种或多种产物。

18. 如权利要求17所述的方法,其中所述培养物消耗的 CO_2 量超过或等于所述培养物产生的 CO_2 量。

19. 如权利要求17所述的方法,其中所述气态底物还包含CO。

20. 如权利要求19所述的方法,其中所述气态底物中的 $H_2:CO$ 比率是至少1.5:1。

21. 如权利要求19所述的方法,其中所述气态底物中的 $H_2:CO$ 比率是至少2:1。

22. 如权利要求19所述的方法,其中所述气态底物中的 $H_2:CO_2:CO$ 比率是至少2:1:1。

23. 如权利要求19所述的方法,其中所述培养物对 H_2 的特异性摄取超过所述培养物对CO的特异性摄取。

24. 如权利要求23所述的方法,其中所述培养物对 $H_2:CO$ 的特异性摄取比率是至少1.4:1。

25. 如权利要求23所述的方法,其中所述培养物对 $H_2:CO$ 的特异性摄取比率是至少2:1。

26. 如权利要求17所述的方法,其中所述产物包含醇和酸中的一种或多种。

27. 如权利要求17所述的方法,其中所述产物包含乙醇、乙酸盐和2,3-丁二醇中的一种

或多种。

28. 如权利要求17所述的方法,其中所述细菌是一氧化碳营养型的。

29. 如权利要求28所述的方法,其中所述细菌包含梭菌、穆尔氏菌、产醋杆菌、消化链球菌、醋酸杆菌、真杆菌或丁酸杆菌中的一种或多种。

30. 如权利要求29所述的工艺,其中所述细菌包含产乙醇梭菌或杨氏梭菌。

31. 如权利要求30所述的方法,其中所述细菌包含以DSMZ保藏号DSM23693保存的产乙醇梭菌或源自其的细菌。

32. 如权利要求17所述的方法,其中所述方法还包括回收所述一种或多种产物。

改进的发酵中碳捕捉

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 0001本申请要求2013年10月17日提交的美国临时专利申请61/892,405的权益,所述临时专利申请的全部内容以引用的方式并入本文中。

技术领域

[0003] 0002本发明涉及气体的微生物发酵领域,特别是涉及在气态底物的厌氧发酵中利用二氧化碳的新型工艺。

背景技术

[0004] 0003乙醇正迅速成为全球主要的富氢液体运输燃料。2013年,仅美国的乙醇消费量据估计为131.8亿加仑。由于欧洲、日本、美国和多个发展中国家对乙醇的需求增长,也已经预计燃料乙醇工业的全球市场在未来会急剧增长。

[0005] 0004例如,在美国,乙醇被用于生产E10(含有10%乙醇的汽油混合物)。在E10掺合物中,乙醇组分充当补氧剂(oxygenating agent),从而提高燃烧效率并降低空气污染物的产生。在巴西,乙醇作为汽油中掺合的补氧剂以及单独作为纯燃料满足了约30%的运输燃料需求。此外,在欧洲,围绕温室气体(GHG)排放后果的环境方面的关注已促使欧盟(EU)对其成员国制订了消费可持续运输燃料例如生物质源乙醇的强制性目标。

[0006] 0005绝大多数燃料乙醇通过传统的基于酵母的发酵工艺生产,所述工艺使用作物来源的碳水化合物(例如从甘蔗提取的蔗糖或从谷物提取的淀粉)作为主要碳源。然而,这些碳水化合物原料的成本受其作为人类粮食或动物饲料的价格影响,同时种植产淀粉或产蔗糖作物用于生产乙醇并非在所有地域都是经济上可持续的。因此,需要开发将低成本和/或更丰富的碳资源转化成燃料乙醇的技术。

[0007] 0006催化工艺可用于将主要由CO和/或CO₂和H₂组成的气体转化为多种燃料和化学品。也可以用微生物将这些气体转化为燃料和化学品。这些生物工艺虽然通常比化学反应慢,但与催化工艺相比具有多种优势,包括更高的特异性、更高的产率、更低的能量成本和更大的耐毒性。

[0008] 0007微生物以CO作为唯一碳源生长的能力于1903年首次被发现。这后来被确定为采用自养生长的乙酰辅酶A(乙酰CoA)生物化学途径(也称为Woods-Ljungdahl途径和一氧化碳脱氢酶/乙酰辅酶A合成酶(CODH/ACS)途径)的生物体的一种特性。已经表明,大量的厌氧生物体,包括一氧化碳营养型生物体、光合作用生物体、产甲烷生物体和产乙酸生物体,都将CO代谢成多种最终产物,即CO₂、H₂、甲烷、正丁醇、乙酸盐和乙醇。当使用CO作为唯一碳源时,所有此类生物体都产生至少两种此类最终产物。

[0009] 0008已证实厌氧细菌(例如梭菌属细菌)通过乙酰CoA生物化学途径从CO、CO₂和H₂生成乙醇。例如,从气体生成乙醇的杨氏梭菌(*Clostridium ljungdahlii*)的多种菌株在WO 1998/00558、WO 2000/068407、WO 2002/008438、美国专利5,173,429、美国专利5,593,886和美国专利6,368,819中有所描述。此外已知细菌产乙醇梭菌(*Clostridium*

autoethanogenum) 从气体生成乙醇 (Abrini, 微生物年鉴 (Arch Microbiol), 161:345-351, 1994)。

[0010] 0009关于气体发酵的研究已证实,CO是被一氧化碳营养型微生物用于生产乙醇的主要碳源,而CO₂在很大程度上未被微生物利用。因此,强烈需要将气态底物中的一部分CO₂转化成有用的产品如醇和/或酸的改进的气体发酵工艺。

发明内容

[0011] 0010本发明提供通过向将气态底物中的至少一部分CO₂转化成一种或多种产物的细菌培养物提供包含H₂和CO₂的气态底物来改进气体发酵中的碳捕捉的工艺。本发明还提供通过向将气态底物中的至少一部分CO₂转化成一种或多种产物的细菌培养物提供包含H₂和CO₂的气态底物来进行气体发酵以产生一种或多种产物的方法。理想的是,培养物所消耗的CO₂量超过或等于培养物所产生的CO₂量。

[0012] 0011除了H₂和CO₂之外,所述气态底物还可包含CO。气态底物中的组分气体的比率(例如,H₂:CO₂或H₂:CO₂:CO)可改变。另外,气态底物中的组分气体的摄取或特异性摄取的比率(例如,H₂:CO₂)可改变。在一个实施方案中,培养物对H₂的特异性摄取超过培养物对CO的特异性摄取。

[0013] 0012发酵产物可包括例如醇和/或酸。在一个实施方案中,所述产物包含乙醇、乙酸盐和2,3-丁二醇中的一种或多种。

[0014] 0013所述细菌可以是能够使包含H₂、CO₂和/或CO的气态底物发酵的任何细菌。所述细菌可以是一氧化碳营养型的,例如源自梭菌(Clostridium)、穆尔氏菌(Moorella)、产醋杆菌(Oxobacter)、消化链球菌(Peptostreptococcus)、醋酸杆菌(Acetobacterium)、真杆菌(Eubacterium)或丁酸杆菌(Butyribacterium)中的一种或多种的细菌。特别地,所述细菌可包含产乙醇梭菌或杨氏梭菌,例如以DSMZ保藏号DSM23693保存的产乙醇梭菌或源自其的细菌。

[0015] 0014所述工艺或方法还可包括回收一种或多种产物。

附图说明

[0016] 0015图1是示出第一反应器中所含的培养物对CO、CO₂和H₂的摄取的变化响应于进料气体组成的变化的图。

[0017] 0016图2是示出第二反应器中所含的培养物对CO、CO₂和H₂的摄取的变化响应于进料气体组成的变化的图。

[0018] 0017图3是示出第三反应器中所含的培养物对CO、CO₂和H₂的摄取的变化响应于进料气体组成的变化的图。

[0019] 0018图4是示出第三反应器中所含的培养物对CO、CO₂和H₂的摄取的变化响应于进料气体组成的变化的图。

[0020] 0019图5是示出培养物对CO₂的净消耗的图。

[0021] 0020图6是示出发酵培养的代谢产物的图。

[0022] 0021图7是示出反应的H₂/CO比率对产物产生的影响的图。

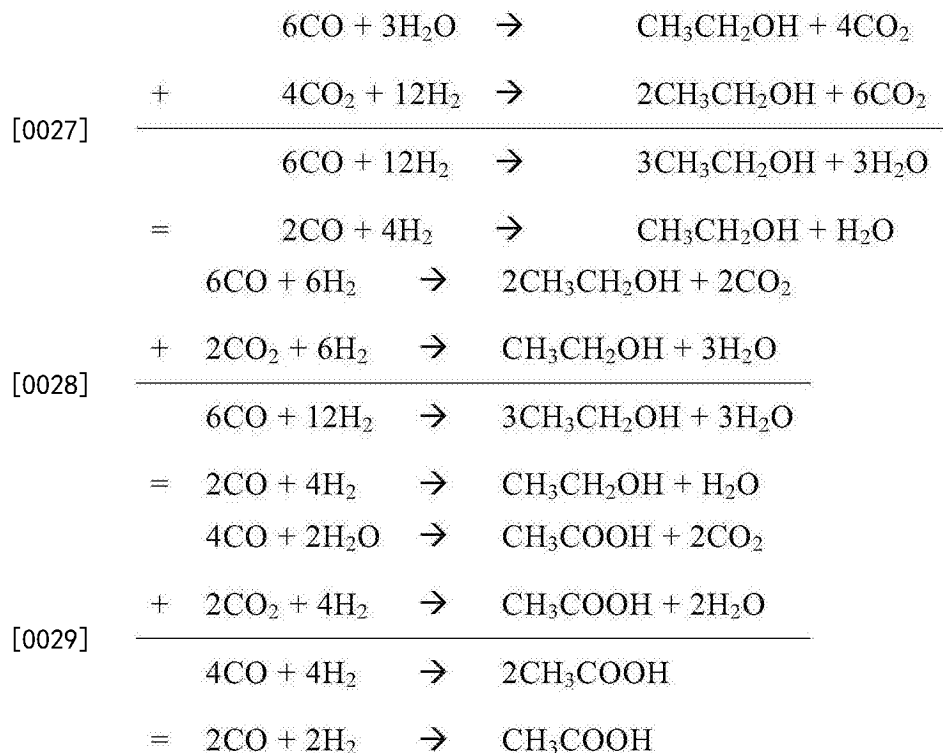
具体实施方式

[0023] 0022本发明提供通过向将气态底物中的至少一部分CO₂转化成一种或多种产物的细菌培养物提供包含H₂和CO₂的气态底物来改进气体发酵中的碳捕捉的工艺。本发明还提供通过向将气态底物中的至少一部分CO₂转化成一种或多种产物的细菌培养物提供包含H₂和CO₂的气态底物来进行气体发酵以产生一种或多种产物的方法。

[0024] 0023厌氧细菌已经被证实通过乙酰基-CoA生物化学途径从H₂和CO产生乙醇和乙酸盐,所述生物化学途径可能涉及多个不同的反应,这取决于反应条件以及底物和产物的浓度。例如,可从H₂和CO的1:1摄取产生乙酸盐:2CO+2H₂→CH₃COOH。可从H₂和CO的1:1摄取产生乙醇和CO₂:3CO+3H₂→CH₃CH₂OH+CO₂。可从H₂和CO的2:1摄取产生乙醇:2CO+4H₂→CH₃CH₂OH+H₂O。可从CO而无H₂的消耗产生乙酸盐:4CO+2H₂O→CH₃COOH+2CO₂。可从CO而无H₂的消耗产生乙醇:6CO+3H₂O→CH₃CH₂OH+4CO₂。

[0025] 0024另外,厌氧细菌可利用CO₂来生成产物。例如,可从H₂和CO₂的2:1摄取形成乙酸盐:2CO₂+4H₂→CH₃COOH+2H₂O。可从H₂和CO₂的3:1摄取形成乙醇:2CO₂+6H₂→CH₃CH₂OH+3H₂O。

[0026] 0025生成CO₂的反应,例如涉及CO和H₂的特异性摄取的那些,并且可组合消耗CO₂的反应以平衡至零净CO₂流量:



[0030] 0026理想的是,培养物所消耗的CO₂量超过或等于培养物所产生的CO₂量。换句话说,发酵可导致净碳捕捉。

[0031] 0027气态底物(“气体”或“进料气体”或“发酵气体”或“底物”)可以是含有被微生物用作发酵中的碳和/或能量源的化合物或元素的任何气体。所述气态底物通常将含有显著比例的H₂、CO₂和/或CO,并且可另外含有N₂或其他气体。在一个优选的实施方案中,所述气态底物包含H₂和CO₂,而没有CO。在另一个优选的实施方案中,所述气态底物包含H₂、CO₂和CO。在厌氧发酵中,所述气态底物通常不含或基本上不含O₂。

[0032] 0028 气态底物的组成可改变。特别是,气态底物中的 H_2 、 CO_2 和/或 CO 的比率可改变。例如,气态底物中的 $H_2:CO$ 的比率可为至少0.1:1、至少0.5:1、至少1:1、至少1.5:1、至少2:1、至少3:1、至少5:1或至少10:1。气态底物可包含例如5-40% CO_2 、10-25% CO_2 、20-50% CO_2 或30-60% CO_2 。气态底物可包含 CO 和 CO_2 ,例如,比率为1:1。气态底物中的 CO_2 量可为气态底物中的 CO 量的1.5-4倍。

[0033] 0029 气态底物可包含或被调节以包含过量 H_2 。例如,气态底物可包含约30-90% H_2 或约60-90% H_2 。气态底物可含有相比于 CO_2 和 CO 基本上更高体积的 H_2 。例如,气态底物中的 $H_2:CO_2:CO$ 比率可为至少2:1:1、或至少3:1:1、或至少5:1:1。气态底物中的 H_2 量可为气态底物中的 CO 量的1.5-5倍。气体流或气体源可被补充以 H_2 (或 CO_2 或 CO) 以获得具有所需组成的气态底物。

[0034] 0030 气态底物可源自工业过程。特别是,气态底物可以是由如下工业过程产生的废气,例如黑色金属产品制造(例如,钢铁制造)、有色金属产品制造、石油炼制、煤气化、电力生产、炭黑生产、氨生产、甲醇生产或焦炭制造。在一个优选的实施方案中,气态底物源自钢铁制造气体。

[0035] 0031 气态底物可源自有机物质如甲烷、乙烷、丙烷、煤、天然气、原油、来自炼油厂的低价值残余物(包括石油焦炭或石油焦)、固体生活垃圾或生物质的气化。生物质包括在食品的提取和加工期间获得的副产品,例如来自蔗糖的糖,或来自玉米或谷物的淀粉,或由林业产业产生的非食品生物质废物。任何这些含碳材料可被气化,即,与氧气部分燃烧,产生合成气体(合成气)。合成气通常主要包含 CO 、 H_2 和/或 CO_2 并且可另外含有一定量的甲烷、乙烯、乙烷或其他气体。气化器的操作条件可以被调节以提供具有所需组成的底物流,其用于发酵或与一种或多种其他流掺合以提供优化或所需组成,以增加发酵过程中的醇生产率和/或总碳捕捉。

[0036] 0032 气态底物可源自变压吸附(PSA)系统。例如,除了来自甲烷蒸汽重整器中的水-气变换反应器的 CO 和 CO_2 之外,PSA尾气可含有约10-12%的从甲烷蒸汽重整器进入PSA的 H_2 。离开初级甲烷重整器的气体中的 CO (在约 $3H_2/CO$ 下)可使用水-气变换反应器(高温和低温)与水反应以形成 H_2 和 CO_2 。反应条件可进行定制以控制PSA尾气中存在的 CO 量相对于PSA尾气中存在的 CO_2 量。也可能希望允许一些 H_2 留在PSA尾气中,或将 H_2 添加回PSA尾气,以达到所希望的 $H_2/CO/CO_2$ 比率。例如, $H_2:CO$ 比率可为约2:1和/或 $H_2:CO_2$ 比率可为约3:1。通常,所述PSA将得到非常高纯度的 H_2 产物。 H_2 回收率主要受到进料气体压力与尾气压力比率影响。在最小压力下操作尾气得到最高 H_2 回收率。由于尾气通常被传送到燃料气体集气器(被用于炼油厂中的任何地方),因此它可能处在约15psig的压力下。如果它在初级重整器中的专用燃烧器中燃烧,则它可能处在低至5psig的压力下。如果使用PSA尾气作为发酵罐的进料气体源,则尾气的压力可被调节至30-45psig以避免气体压缩的需要。

[0037] 0033 气态底物可通过任何合适的导管装置被整体或部分地引导至发酵。例如,管道或其他传递装置可连接到炼钢厂的废气烟囱以将至少一部分废气转移到发酵系统。可使用一个或多个风扇来将至少一部分废气转移到发酵系统中。虽然炼钢厂可以适于基本上连续地生产钢(和其后的废气),但所述工艺的特定方面可能是间歇的。通常,钢的脱碳是持续几分钟到几个小时的批量过程。如果确定废气具有所希望的组成,则导管装置可能适于将至少一部分废气转移到发酵系统。

[0038] 0034可能需要在气态底物被用于发酵中之前对其进行过滤、净化或以其他方式预处理以除去化学或物理杂质或污染物。例如,源气体可通过水或以其他方式过滤以除去颗粒物、长链烃或焦油。然而,并不总是需要这种过滤或预处理。有时可能将未过滤、未处理的气态底物直接提供至发酵培养物。

[0039] 0035气态底物的组成可被改变以提高发酵效率、产品生产和/或总碳捕捉。特别是,气态底物可被改变以通过组合或掺合来自两个或更多个来源的流而含有较高或较低量的 H_2 、 CO_2 和/或 CO 。例如,包含高浓度的 CO_2 的流(例如来自炼钢厂转炉的废气)可与包含高浓度的 H_2 和 CO 的流(例如来自炼钢厂焦炉的废气)组合或掺合。可选地或另外,包含 CO_2 的间歇流(例如来自炼钢厂转炉的废气流)可与包含 CO 、 CO_2 和 H_2 的基本上连续流(例如在气化过程中产生的合成气)组合或掺合。例如,由气化器产生的流可能根据来自工业来源的 CO_2 的间隙生产而增加和/或降低,以维持具有所需或优化的组成的基本上连续的底物流。

[0040] 0036所述底物流通常将是气态的,但也可能是液态或固态。例如, CO_2 可以液体形式或 CO_2 饱和液体形式提供到反应器。举例来说,可使用微泡分散发生器,例如Hensirisak,应用生物化学与生物技术(Appl Biochem Biotechnol),101:211-227,2002中所述者。

[0041] 0037气体发酵是使用气态底物作为用于生产乙醇或其他产品或化学品的碳和/或能量源的代谢过程。如本文所用,术语“发酵”涵盖所述过程的生长阶段和产物生物合成阶段。通过微生物、通常是细菌进行气体发酵。

[0042] 0038所述细菌可以是能够使包含 H_2 、 CO_2 和/或 CO 的气态底物发酵的任何细菌。所述细菌可以是一氧化碳营养型的,例如源自梭菌、穆尔氏菌、产醋杆菌、消化链球菌、醋酸杆菌、真杆菌或丁酸杆菌的细菌。特别是,所述细菌可能是产乙醇梭菌、杨氏梭菌、食一氧化碳梭菌(*Clostridium carboxidivorans*)、德雷克氏梭菌(*Clostridium drakei*)、粪味梭菌(*Clostridium scatologenes*)、醋酸梭菌(*Clostridium aceticum*)、蚁酸醋酸梭菌(*Clostridium formicoaceticum*)、大梭菌(*Clostridium magnum*)、食甲基丁酸杆菌(*Butyribacterium methylotrophicum*)、伍氏醋酸杆菌(*Acetobacterium woodii*)、巴奇嗜碱菌(*Alkalibaculum bacchi*)、延长布劳特氏菌(*Blautia producta*)、粘液真杆菌(*Eubacterium limosum*)、热醋穆尔氏菌(*Moorella thermoacetica*)、卵形鼠孢菌(*Sporomusa ovata*)、银醋鼠孢菌(*Sporomusa silvacetica*)、球形鼠孢菌(*Sporomusa sphaeroides*)、普氏醋菌(*Oxobacter pfennigii*)和凯伍热厌氧菌(*Thermoanaerobacter kiuvi*)。所述细菌也可以是源自任何前述属或种的菌株。

[0043] 0039所述细菌可能源自一氧化碳营养型梭菌簇,其包含物种产乙醇梭菌、杨氏梭菌、拉格利梭菌(*C.ragsdalei*)和相关分离株。这些包括(但不限于)菌株产乙醇梭菌JAI-1T(DSM10061)(Abrini,微生物年鉴(Arch Microbiol),161:345-351,1994)、产乙醇梭菌LBS1560(DSM19630)(W02009/064200)、产乙醇梭菌LBS1561(DSM23693)、杨氏梭菌PETCT(DSM13528=ATCC 55383)(Tanner,国际系统细菌学杂志(Int J Syst Bacteriol),43:232-236,1993)、杨氏梭菌ERI-2(ATCC 55380)(美国专利5,593,886)、杨氏梭菌C-01(ATCC 55988)(美国专利6,368,819)、杨氏梭菌O-52(ATCC 55989)(美国专利6,368,819)、拉格利梭菌P11T(ATCC BAA-622)(W0 2008/028055)、相关分离株如“科斯卡塔梭菌(*C.coskatii*)”(美国公开2011/0229947)和“梭菌属”(Berzin,应用生物化学与生物技术(Appl Biochem Biotechnol),167:338-347,2012),或突变菌株如杨氏梭菌OTA-1(Tirado-Acevedo,

Production of Bioethanol from Synthesis Gas Using *Clostridium ljungdahlii*, 博士论文, 北卡罗莱纳州立大学 (North Carolina State University), 2010)。这些菌株形成 I 簇菌株 rRNA 内的子簇, 并且其 16S rRNA 基因的同源性大于 99%, 具有约 30% 的相似低 GC 含量。然而, DNA-DNA 再结合和 DNA 指纹实验表明, 这些菌株属于不同物种 (WO 2008/028055)。

[0044] 0040 上文提及的簇的所有物种都具有类似的形态和尺寸 (对数生长的细胞为 $0.5-0.7 \times 3-5 \mu\text{m}$), 是嗜中温的 (最佳生长温度是 $30-37^\circ\text{C}$), 并且是严格厌氧的 (Abrini, 微生物年鉴 (Arch Microbiol), 161:345-351, 1994; Tanner, 国际系统细胞学杂志 (Int J Syst Bacteriol), 43:232-236, 1993; 和 WO 2008/028055)。此外, 它们都共有相同的主要系统发育特性, 例如相同的 pH 范围 (pH 4-7.5, 其中最佳初始 pH 是 5.5-6), 在含 CO 气体上的强烈自养生长具有相似的生长速率, 和具有乙醇和乙酸作为主要发酵最终产物的类似代谢分布, 和在特定条件下形成的少量的 2,3-丁二醇和乳酸 (Abrini, 微生物年鉴 (Arch Microbiol), 161:345-351, 1994; Köpke, 生物技术当年述评 (Curr Opin Biotechnol), 22:320-325, 2011; Tanner, 国际系统细菌学杂志 (Int J Syst Bacteriol), 43:232-236, 1993; 和 WO 2008/028055)。利用所有三种物种也观测到吡啶产生。然而, 物种在各种糖 (例如鼠李糖、阿拉伯糖)、酸 (例如葡糖酸盐、柠檬酸盐)、氨基酸 (例如精氨酸、组氨酸) 或其他底物 (例如甜菜碱、丁醇) 的底物利用上不同。此外, 发现一些物种对某些维生素 (例如硫胺素、生物素) 具营养缺陷, 而其他没有。已发现负责气体摄取的 Wood-Ljungdahl 途径基因的组织数目在所有物种中是相同的, 但核酸和氨基酸序列不同 (Köpke, 生物技术当年述评 (Curr Opin Biotechnol), 22:320-325, 2011)。此外已经在多种这些微生物中显示羧酸还原成其相应的醇 (Perez, 生物技术与生物工程 (Biotechnol Bioeng), 110:1066-1077, 2012)。因此这些特性对一种生物体如产乙醇梭菌或杨氏梭菌不具特异性, 而是一氧化碳营养型乙醇合成梭菌的一般特性, 并且可以预测在这些菌株之间机制类似地工作, 但性能可能存在差异 (Perez, 生物技术与生物工程 (Biotechnol Bioeng), 110:1066-1077, 2012)。

[0045] 0041 在一个优选的实施方案中, 所述细菌是产乙醇梭菌或杨氏梭菌。在另一个实施方案中, 所述细菌是产乙醇梭菌, 其具有以德国生物材料资源中心 (German Resource Centre for Biological Material) (DSMZ) 保藏号 DSM10061 或 DSM23693 保存的菌株的鉴别特征。在另一个优选的实施方案中, 所述细菌是以 DSMZ 保藏号 DSM10061 或 DSM23693 保存的产乙醇梭菌, 或源自以 DSMZ 保藏号 DSM10061 或 DSM23693 保存的产乙醇梭菌的细菌。

[0046] 0042 细菌培养物对气态底物的摄取 (“消耗”) 和特异性摄取 (“特异性消耗”) 可改变。摄取通常以每单位时间 (例如, 天) 的发酵液单位 (例如, 发酵液的 L) 消耗的组分气体单位 (例如, H_2 、 CO_2 或 CO 的 mmol) 描述, 例如 mmol/L/d。培养物可能摄取例如至少 1000 mmol/L/d 的 H_2 、至少 2000 mmol/L/d 的 H_2 、至少 4000 mmol/L/d 的 H_2 或至少 6000 mmol/L/d 的 H_2 。另外, 培养物可能摄取例如至少 500 mmol/L/d 的 CO_2 、至少 1000 mmol/L/d 的 CO_2 、至少 2000 mmol/L/d 的 CO_2 或至少 3000 mmol/L/d 的 CO_2 。特异性摄取通常以每单位时间 (例如, 分钟) 的微生物单位 (例如, 细菌细胞的克数) 消耗的组分气体单位 (例如, H_2 、 CO_2 或 CO 的 mmol) 描述, 例如 mmol/g/min。在一个优选的实施方案中, 培养物对 H_2 的特异性摄取超过培养物对 CO 的特异性摄取。例如, 培养物对 H_2 :CO 的特异性摄取比率可为至少 1.1:1、至少 1.4:1、至少 1.6:1、至少 2:1、至少 3.1:1、至少 5:1 或至少 10:1。

[0047] 0043 当发酵液中的乙醇和/或乙酸盐浓度较高或至少高于特定阈值时, H_2 和/或 CO_2

摄取可能会被削弱。例如,当乙酸盐浓度超过约10g/L或约20g/L时,H₂摄取可能会被削弱。为了降低H₂摄取削弱程度,可从反应器或发酵液连续地除去由细菌培养物产生的产物。可能需要足够高的细胞密度来达到培养物对H₂的有效消耗。CO₂的摄取可能受到不良生物质、气体过度供应、高乙醇浓度和/或污染物存在的抑制。

[0048] 0044细菌培养物可在向培养物提供足够资源的任何液体营养培养基中生长。所述液体营养培养基可含有例如维生素、矿物质和水。合适的液体营养培养基的实例是本领域中已知的,包括适合使乙醇或其他产物发酵的厌氧培养基(参见例如美国专利5,173,429、美国专利5,593,886和WO 2002/08438)。

[0049] 0045所述细菌培养物可包含在反应器(生物反应器)中。所述反应器可以是用于使细菌培养物生长的具有一个或多个容器和/或塔或管道排列的任何发酵装置。所述反应器可以是例如固定化细胞反应器、气升式反应器、鼓泡塔反应器(BCR)、循环式环流反应器、膜反应器如中空纤维膜生物反应器(HFM BR)、连续流动搅拌槽反应器(CSTR)或喷淋床反应器(TBR)。所述反应器优选适于接收包含H₂、CO₂和/或CO的气态底物。所述反应器可包含并联或串联的多个反应器(阶段)。例如,反应器可包含培养细菌的第一生长反应器;和第二发酵反应器,可向所述第二发酵反应器中馈入来自所述生长反应器的发酵液并且可在其中产生大部分的发产物。

[0050] 0046以举例的方式描述本发明的实施方案。然而,在一个实施方案中必要的特定步骤或阶段可能在另一个实施方案中不是必要的。相反,包括在特定实施方案的描述中的步骤或阶段可任选地有利地用在未明确提及它们的实施方案中。

[0051] 0047虽然关于可通过任何已知传递装置穿过或围绕发酵系统移动的任何类型的流广泛描述了本发明,但在某些实施方案中,底物和/或废气流是气态的。特定阶段可通过合适的导管装置耦合或可配置以接收或传递整个系统内的流。可提供泵或压缩机来促进流递送至特定阶段。此外,可使用压缩机来增加提供至一个或多个阶段的气体的压力。

[0052] 0048另外,本发明的系统或工艺可任选地包括用于调节和/或控制其他参数以改进所述工艺的总效率的构件。可在所述系统中并入一个或多个处理器以调节和/或控制所述工艺的特定参数。例如,所述系统可包括测定构件来监测底物和/或废气流的组成。另外,如果所述测定构件测定所述流具有适合特定阶段的组成,则特定实施方案可包括用于控制底物流向特定系统内的特定阶段或元件的递送的构件。例如,在气态底物流含有可能对发酵反应有害的低水平的CO₂或H₂或高水平的O₂的情况下,所述底物流可被转移远离生物反应器。所述系统还可包括用于监测和控制底物流的终点和/或流速的构件,以使得具有所需或合适组成的流可递送至特定阶段。

[0053] 0049此外,可能需要在所述工艺的一个或多个阶段之前或期间加热或冷却特定系统组件或底物流。在这样的情况下,可使用任何已知加热或冷却构件。例如,可使用热交换器来加热或冷却底物流。

[0054] 0050可监测并调节反应条件以优化反应器中的细菌生长速率和/或产物产生。发酵应理想地在适于发生所需发酵(例如,CO₂发酵成醇)的条件下进行。这样的反应条件包括压力、温度、气体流速、液体流速、培养基pH、培养基氧化还原电位、搅拌速率(如果使用连续搅拌槽反应器的话)、接种物水平、底物浓度(以确保液相中的H₂、CO₂和/或CO不会变成限制)和产物浓度(以避免产物抑制)。

[0055] 0051培养厌氧细菌的一般方法是本领域中众所周知的。示例性技术提供于：(i) Klasson, 资源、保护与重复利用 (Resour Conserv Recycl), 5:145-165, 1991; (ii) Klasson, 燃料 (Fuel), 70:605-614, 1991; (iii) Klasson, 酶与微生物技术 (Enzyme Microbial Technol), 14:602-608, 1992; (iv) Vega, 生物技术与生物工程 (Biotech Bioeng), 34:785-793, 1989; (vi) Vega, 生物技术与生物工程 (Biotech Bioeng), 34:774-784, 1989; (vii) Vega, 资源、保护与重复利用 (Resour Conserv Recycl), 3:149-160, 1990。此外, 从气态底物产生乙醇和其他醇的工艺是本领域中众所周知的。示例性工艺包括例如 WO 2007/117157、WO 2008/115080、美国专利6,340,581、美国专利6,136,577、美国专利5,593,886、美国专利5,807,722和美国专利5,821,111中描述的那些。

[0056] 0052可按需要调节反应器的内含物的pH。考虑到所用的液体营养培养基和细菌, 适当pH将取决于特定发酵反应所需的条件。在涉及通过产乙醇梭菌使含有H₂、CO₂和CO的气态底物发酵的一个优选实施方案中, 可将pH调节至约4.5至6.5, 最优选调节至约5至5.5。其他实例包括使用热醋穆尔氏菌来生产乙酸的pH 5.5至6.5, 使用丙酮丁醇梭菌 (*Clostridium acetobutylicum*) 来生产丁醇的pH 4.5至6.5, 和使用生氢氧化碳嗜热菌 (*Carboxydothemus hydrogeniformans*) 来生产氢气的pH 7。用于调节和维持反应器的pH的手段是本领域中众所周知的。这样的手段可包括使用碱水溶液如NaOH或NH₄OH, 和酸水溶液如H₂SO₄。

[0057] 0053优选地, 反应器被配置以提供足够的质量传递以允许细菌接近气态底物, 特别是气态底物中的H₂。长的气体滞留时间产生细菌的高气体摄取。在特定实施方案中, 反应器是包含提升器区段和下导管区段的循环式环流反应器, 气态底物和液体营养培养基循环通过所述反应器。所述反应器可另外包括广泛多种可提供有效质量传递的合适的气体/液体接触模块。接触模块可提供允许气体和液体沿着设定流动路径充分混合的独特几何环境, 从而造成夹带的气体更均匀地溶解在液体中。举例来说, 这种接触模块可包括(但不限于) 结构化波纹金属填料、散堆填料、筛板和/或静态混合器的基体。

[0058] 0054可控制气态底物向细菌培养物的质量传递速率, 以使得在最佳供应速率下或接近最佳供应速率向细菌培养物供应气态底物。可通过控制气态底物的分压和/或通过控制液体流速或气体滞留率来控制质量传递速率。可监测气态底物的引入速率以确保液相中的H₂、CO₂和/或CO的浓度不会变成限制。在特定实施方案中, 通过控制进入反应器的气态底物的分压来控制质量传递。

[0059] 0055可能优选在高压下(即在高于环境压力的压力下)进行发酵。在增加的压力下操作允许H₂、CO₂和/或CO从气相转变至液相的速率显著增加, 在液相中它可被细菌摄取作为生产产品如乙醇的碳源。当反应器被保持在高压而非大气压下时, 滞留时间(生物反应器中的液体体积除以输入气体流速)可能降低。此外, 因为给定的CO/CO₂/H₂向乙醇的转化率在某种程度上随底物滞留时间而改变, 并且达到所需的滞留时间又决定了生物反应器的所需体积, 所以加压系统的使用可以极大地降低所需生物反应物的体积, 以及因此发酵设备的资金成本。根据美国专利5,593,886中给出的实例, 反应器体积可以线性成比例地降低以增加反应器操作压力。例如, 在10个大气压力下操作的反应器只需要是在1个大气压力下操作的反应器体积的十分之一。其他地方也已经描述了在高压下进行气体-乙醇发酵的益处。例如, WO 2002/08438描述了在30psig和75psig的压力下进行的气体-乙醇发酵, 分别得到

150g/L/d和369g/L/d的乙醇生产率。然而,发现在大气压下使用相似的培养基和输入气体组成进行的示例性发酵每天每升的乙醇产量小10至20倍。

[0060] 0056所述细菌培养物可产生一种或多种产物。气态原料中的至少一部分CO₂被转化成产物,因此产物中的至少一部分碳是源自气态底物中的CO₂的碳。例如,产物中的至少1%、至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%或至少90%的碳可源自气态底物中的CO₂中的碳。在另一个实施方案中,离开反应器的气体中的CO₂量低于进入反应器的气体中的CO₂量(即,低于气态底物中的CO₂量)。例如,离开反应器的气体中的CO₂量可能相比于进入反应器的气体中的CO₂量低至少0.5%、至少1%、至少3%、至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少75%或至少90%。

[0061] 0057产物可包括醇、酸或其他化学品。这些产物还可包括由发酵过程产生的气体。特别是,培养可产生乙醇、乙酸(或乙酸盐)、2,3-丁二醇、丁醇、异丙醇、乳酸盐、琥珀酸盐、甲基乙基酮(MEK)、丙二醇、2-丙醇、3-羟基丁酮、异丁醇、柠檬酸盐、丁二烯、聚乳酸、异丁烯、3-羟基丙酸盐(3HP)、丙酮和脂肪酸中的一种或多种。本发明人首次证实在气体发酵中通过CO₂的消耗实现高乙醇产量。在一个优选的实施方案中,培养产生乙醇、乙酸盐和2,3-丁二醇中的一种或多种。

[0062] 0058培养可产生不同量的乙醇和乙酸盐。例如,培养可产生比率为约1:1的乙醇和乙酸盐。在优选实施方案中,培养产生比率为至少1.5:1、至少2:1、至少3:1或至少5:1的乙醇和乙酸盐。培养可产生浓度为至少10g/L或至少15g/L的乙醇。培养可产生浓度为20g/L或更小或10g/L或更小的乙酸盐或乙酸。

[0063] 0059所述工艺或方法可包括使用本领域中已知的任何手段回收一种或多种产物。示例性方法描述于WO 2007/117157、WO 2008/115080、美国专利6,340,581、美国专利6,136,577、美国专利5,821,111、美国专利5,807,722和美国专利5,593,886中。

[0064] 0060可例如通过例如分馏或蒸发或萃取发酵的方法从发酵液回收乙醇。从发酵液蒸馏乙醇得到乙醇和水的共沸混合物(例如,95%乙醇和5%水)。随后可通过使用本领域中熟知的分子筛乙醇脱水技术来获得无水乙醇。萃取发酵涉及使用对发酵微生物呈现低毒性风险的水混溶性溶剂以从稀释发酵液回收乙醇。例如,油醇可用作萃取发酵中的溶剂。当油醇被连续地引入发酵罐中时,其上升以在发酵液顶部形成一层。这个层然后可被提取并馈送通过离心机。然后容易将水和细胞与油醇分离并返回到发酵罐,而负载乙醇的溶剂被馈送到闪蒸单元中。大部分乙醇被蒸发并冷凝,而非挥发性油醇被回收以再次用于发酵中。

[0065] 0061也可使用本领域中已知的方法从发酵液回收乙酸盐。例如,可使用涉及活性炭过滤器的吸附系统。在这种情况下,通常首先使用合适的分离方法从发酵液中除去微生物细胞。产生不含细胞的发酵液用于产物回收的众多基于过滤的方法是本领域中已知的。然后使含有乙醇和乙酸盐的不含细胞的渗透液通过含有活性炭的柱以吸收乙酸盐。呈酸形式(乙酸)而非盐(乙酸盐)形式的乙酸盐更容易被活性炭吸收。因此优选使发酵液的pH降至小于约3,然后使其通过活性炭柱以将大多数乙酸盐转化成乙酸形式。

[0066] 0062可通过从发酵生物反应器连续地除去一部分发酵液,将微生物细胞与所述发酵液分离,并且同时或依序从发酵液回收一种或多种产物,而从发酵液回收发酵反应的产物。可使分离的微生物细胞返回到发酵反应器。在已经除去乙醇和乙酸盐后剩余的不含细

胞的渗透液也可返回到发酵反应器。可添加其他营养素如维生素B来补充不含细胞的渗透液,然后使其返回反应器。如果调节发酵液的pH以增强乙酸向活性炭的吸附,则也可能需要再次调节不含细胞的渗透液的pH。

[0067] 0063所述反应器可与细胞再循环系统整合,所述细胞再循环系统提供用于从渗透液分离细菌的构件,以使得所述细菌可返回到反应器用于进一步发酵。细胞再循环模块可连续地抽吸渗透液,同时保留细胞。所述细胞再循环系统可包括(但不限于)细胞再循环膜和碟式堆叠离心分离器。

[0068] 实施例

[0069] 0064以下实施例进一步说明本发明,而当然不应理解为以任何方式限制其范围。

[0070] 实施例1

[0071] 0065本实施例显示四个生物反应器(反应器1-4)的制备、接种和发酵。

[0072] 0066向2L生物反应器中添加以下组分以得到1.5L的工作体积:1450ml H₂O、37.5ml的1M KCl、3ml的1M NaCl、3ml的1M MgCl₂、3ml的1M CaCl₂、0.6ml的85% H₃PO₄、1.5ml 刃天青(2g/L)、7.5ml的痕量金属溶液和30ml维生素B储备溶液。

[0073]

培养基	浓度 (mM/L)
MgCl ₂ 6H ₂ O	2
NaCl	2
CaCl ₂ 6H ₂ O	2
KCl	25
H ₃ PO ₄ 85%	0.375mL
痕量金属溶液	5mL (1×)
维生素B溶液	20mL (2×)

[0074]

痕量金属溶液	培养基中的最终浓度 ($\mu\text{mol/L}$) 1×	200×储备溶液中的浓度 (mM/L)
FeCl ₂ 4 H ₂ O	100	20
CoCl ₂ 6 H ₂ O	5	1
ZnCl ₂	5	1
H ₃ BO ₃	2	0.4
MnCl ₂ 4 H ₂ O	2	0.4
Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O	2	0.4
NiCl ₂ 6 H ₂ O	2	0.4
Na ₂ WO ₄ 2 H ₂ O	2	0.4
Na ₂ SeO ₃	2	0.4

[0075]

维生素 B 储备溶液	培养基中的最终浓度 (mg/L) 2×	100×储备溶液中的浓度 (mg/L)
盐酸硫胺素(B1)	1	50
核黄素(B2)	1	50
盐酸(B3)	1	50
泛酸(B5)	1	50
盐酸吡哆醇(B6)	0.2	10
生物素(B7)	0.4	20
叶酸(B9)	0.2	10
4-氨基苯甲酸 (PABA 或 B10)	1	50
氰钴胺素(B12)	1	50
硫辛酸 (Lipoic acid/thiotic acid)	1	50

[0076] 0067打开300rpm搅拌,并且将反应器加热至37℃。在200ml/min下喷射N₂至少1小时。然后在300rpm下将入口气体切换为50ml/min RMG。Na₂S滴注以0.3ml/h开始。将ORP调节在-150mV至-250mV范围内。按需要使用Cr(II)来调节ORP以维持值在确定范围内。使用NH₄OH(5M)作为碱补偿。

[0077] 0068然后用200ml的活性生长的产乙醇梭菌培养物接种反应器。所述培养物包含产乙醇梭菌株DSMZ23693。

[0078] 0069然后如下所述使反应器1-4发酵。所列出的值是近似值,允许GC测量结果之间的约+/-0.5%偏移。

[0079] 反应器1

[0080]

天	注释	气体
0	启动进料气体组成	56.5% H ₂ 、4.7% N ₂ 、7.63% CO 和 30.92% CO ₂
2.0	气体进料中的氢气被交换成氮气	1.1% H ₂ 、72.6% N ₂ 、18.1% CO 和 6.0% CO ₂
7.01	气体进料中的氮气被切换回氢	68.4% H ₂ 、11.5% N ₂ 、21.1% CO 和 6.9% CO ₂

[0081]

	气	
15	培养基泵送速率增加至 2.4 RPM ; 调节气体进料以替换工厂气体	59.8% H ₂ 、12.1% N ₂ 、18.2% CO 和 13.7% CO ₂
21	CO 降低至目标 CO 10%	59.6% H ₂ 、20.6% N ₂ 、10.7% CO 和 14.1% CO ₂
27	CO 降低至目标 CO 7%	48.1% H ₂ 、23.8% N ₂ 、7.6% CO 和 16.8% CO ₂

[0082] 图1示出在反应器1中被培养物消耗的CO、CO₂和H₂的量。

[0083] 反应器2

[0084]

天	注释	气体
0	启动进料气体组成 : RMG	3.3% H ₂ 、27.2% N ₂ 、48.8% CO 和 15.1% CO ₂
5.2	高氢掺合物	69.8% H ₂ 、9.9% N ₂ 、18.6% CO 和 6.0% CO ₂
8.3		71.3% H ₂ 、3.4% N ₂ 、6.1% CO 和 20.7% CO ₂
12.3		44.4% H ₂ 、33.3% N ₂ 、4.75% CO 和 16.5% CO ₂
19.2	气体进料变成工厂气体 , 培养基泵送增加至 30% 并且渗透液渗出率降至 0.7 ml/min ; 气体速率从 100 ml/min 加倍至 200 ml/min	3.2% H ₂ 、26.5% N ₂ 、50.6% CO 和 15.3% CO ₂
22.4	气体速率降低并且气体组成改变以包含比率为 4:1 的 H ₂ :CO	52.2% H ₂ 、7.3% N ₂ 、14.4% CO、23.6% CO ₂
27.2	气体进料中的氢气被换成氮气	0.9% H ₂ 、56.8% N ₂ 、13.9% CO 和 22.2% CO ₂
29.04	气体进料变回工厂气体掺合物	52.0% H ₂ 、3.2% N ₂ 、18.6% CO 和 25.7% CO ₂
29.9	轻微调节 H ₂ :CO 入口比率	54.6% H ₂ 、2.8% N ₂ 、16.1% CO 和 25.9% CO ₂
33.0	将氢气切换为氮气	0.36% H ₂ 、52.95% N ₂ 、16.1% CO 和 23.8% CO ₂

[0085] 图2示出在反应器2中被培养物消耗的CO、CO₂和H₂的量。

[0086] 反应器3

[0087]

天	注释	气体
0	启动进料气体组成：RMG	3.12% H ₂ 、26.6% N ₂ 、50.5% CO 和 15.13% CO ₂
0.18		56.6% H ₂ 、2.54% N ₂ 、19.5% CO、22.3% CO ₂
6.0	将氢气切换为氮气	0.28% H ₂ 、55.5% N ₂ 、18.6% CO 和 20.3% CO ₂

[0088]

10.9	将氮气切换回 H ₂	57.3% H ₂ 、2.96% N ₂ 、19.5% CO 和 22.2% CO ₂
17.2		68.1% H ₂ 、2.82% N ₂ 、19.1% CO 和 14.4% CO ₂
19.1	气体进料中的工厂气体被换成完全合成气混合物	59.9% H ₂ 、10.3% N ₂ 、18.9% CO 和 12.3% CO ₂
25	进料气体变成目标 CO 10%	50.7% H ₂ 、20.6% N ₂ 、9.9% CO 和 15.8% CO ₂
31.2	进料气体变成目标 CO 7%	49.8% H ₂ 、23.4% N ₂ 7.1% CO 和 15.6% CO ₂
40.1		56.7% H ₂ 、4.8% N ₂ 、19.3% CO 和 14.9% CO ₂

[0089] 图3示出在反应器3中被培养物消耗的CO、CO₂和H₂的量。

[0090] 反应器4

[0091]

天	注释	气体
0	启动进料气体组成	55.9% H ₂ 、6.6% N ₂ 、23.2% CO 和 8.9% CO ₂
1.1	用每天 1.18 反应器体积的稀释率起始连续培养	
5.2	调节气体掺合物	59.5% H ₂ 、7.2% N ₂ 、17.5% CO 和 10.2% CO ₂
7.1	稀释率降至每天 0.6 反应器体积	
7.94	培养基进料变成钼标准量的 1/10	
13.2	钼恢复成正常浓度	
15.5	调节其他掺合物	51.7% H ₂ 、3.1% N ₂ 、20.2% CO 和 21.6% CO ₂
19	起始细胞再循环，其中 D _{废物} 为每天 0.06 反应器体积	
20	细胞再循环放松至 D _{废物} 为每天 0.15 反应器体积	

[0092] 图4示出在反应器4中被培养物消耗的CO、CO₂和H₂的量。[0093] 0070在所有四个反应器中，当气体进料组成改变以包含过量氢气时，证实CO₂消

耗。在反应器3中,所消耗的CO₂量大于在进料气体中的CO体积降低后消耗的CO量。这表明,当底物中过量H₂可用时,利用CO₂作为主要碳源。

[0094] 实施例2

[0095] 0071本实施例证实H₂与CO₂在宽泛范围内反应。

[0096] 0072使用标准方法测量产乙醇梭菌培养的H₂、CO和CO₂消耗。特别是,使用质量流量控制器测量反应器入口和出口气体的流速并且使用气相色谱法(GC)测量反应器入口和出口气体的组成。根据出口气体流量计算以每天每L发酵液的mmol数为单位表示的H₂、CO和CO₂的消耗率。N₂未被培养物消耗,因此入口气体中的N₂等于出口气体中的N₂。培养物可能消耗入口(进料)气体中可用的CO₂和/或由培养物产生的CO₂。

[0097] 0073图5示出以给定比率与H₂反应的CO₂,并且培养物不仅消耗通过CO反应产生的CO₂,而且消耗在进料气体中提供的CO₂,只要H₂可用即可。图5证实达到CO₂的净消耗。通过将CO₂的净消耗(负数)或产生(正数)除以CO的消耗(负数)并将比率转换成百分比值来计算图5的y轴。图5的x轴计算为H₂消耗率相对于CO消耗率的分数比率。

[0098] 实施例3

[0099] 0074本实施例证实增加气态底物中的H₂百分比可增加通过发酵培养产生的乙醇:2,3-丁二醇(BDO)的比率。

[0100] 0075图6示出产乙醇梭菌的发酵培养的代谢产物。在第20天,进料气体中的H₂从5%增加至34%并且进料气体中的CO从26%降至20%。BDO产生从4.3g/L降至0.9g/L并且乙醇:BDO的比率增加。H₂利用率从15%增加至58%。在D_{废物}为0.7下,生物质减少。

[0101] 0076当CO利用率较高时,即当溶解的CO较低时,进料气体中的H₂可在较大程度上(>50%)被消耗。使用ATP平衡,预测当H₂与CO是共底物时,细胞生长速率将更慢。已观测到,直接由于发酵液中溶解的CO₂浓度,BDO产生率降低,并且发酵液中溶解的CO₂与CO₂分压线性相关(或与固定大气操作压力下的出口CO₂浓度线性相关),因此BDO产生率与CO₂消耗反向相关。可调节D_{废物}(细菌在反应器中的滞留时间)以将反应器中的细菌浓度维持在最佳值。随着更多H₂被消耗,可通过经由细胞膜泵送更多发酵液来降低D_{废物}。

[0102] 实施例4

[0103] 0077本实施例证实反应的H₂/CO比率影响产物产生。特别是,本实施例证实,随着进料气体中的H₂:CO比率增大,生物质和BDO减少。

[0104] 0078图7示出与实施例3中所述实验类似的一系列实验的数据点。y轴是碳变成生物质和BDO的转化率相对于H₂和CO消耗率的比率。如果产物产生不受H₂/CO消耗比率影响,则趋势将不会随着反应的H₂/CO增加而降低(即,将观测到水平趋势线)。

[0105] 0079本文引用的所有参考文献,包括公开、专利申请和专利,特此以引用的方式并入,其引用程度就好像每个参考文献单独且明确地以引用的方式并入一样,并且以其全部内容阐述于本文中。在本说明书中对任何现有技术的提及不是且不应被理解为承认所述现有技术构成任何国家努力领域中的公知常识的一部分。

[0106] 0080除非在本文中另外说明或上下文明显相矛盾,否则在描述本发明的上下文中(尤其是在以下权利要求书的上下文中),术语“一”和“所述”和类似所指物的使用应理解为涵盖单数和复数。除非另外指明,否则术语“包含”、“具有”、“包括”和“含有”应理解为开放式术语(即,意味着“包括(但不限于)”)。除非在本文中另外说明,否则本文中对数值范围的

叙述仅旨在充当单独提及落在所述范围内的每个单独值的简写方法,并且每个单独值被并入本说明书中,就好像它在本文中被单独叙述一样。除非在本文中另外说明或者上下文明显相矛盾,否则本文描述的所有方法可以任何适当次序进行。除非另外要求,否则本文提供的任何和所有实例或示例性语言(例如,“诸如”)的使用仅旨在更好地说明本发明,而不会对本发明的范围造成限制。本说明书中的任何语言不应被解释为指示任何非要求保护的要素对本发明的实践是必不可少的。

[0107] 0081本文描述了本发明的优选实施方案,包括本发明人已知进行本发明的最佳模式。在阅读了前面的描述后,那些优选实施方案的变化对于本领域的普通技术人员可变成显而易见的。本发明人希望熟练技术人员在适当时使用这些变化,并且本发明人希望本发明以不同于本文明确描述的方式来实施。因此,本发明包括在如由适用法律所允许的其所附权利要求书中叙述的主题的所有修改和等效物。此外,除非在本文中另外说明或者上下文明显相矛盾,否则本发明涵盖其所有可能变化中的上述要素的任何组合。

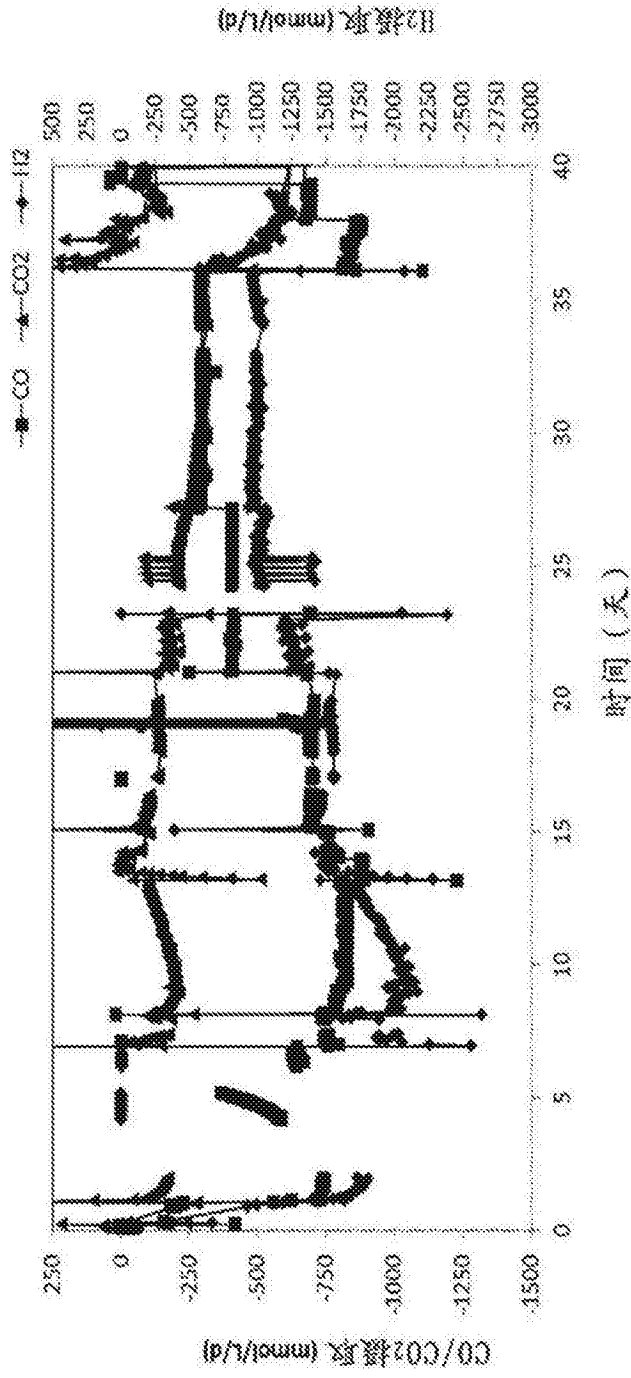


图1

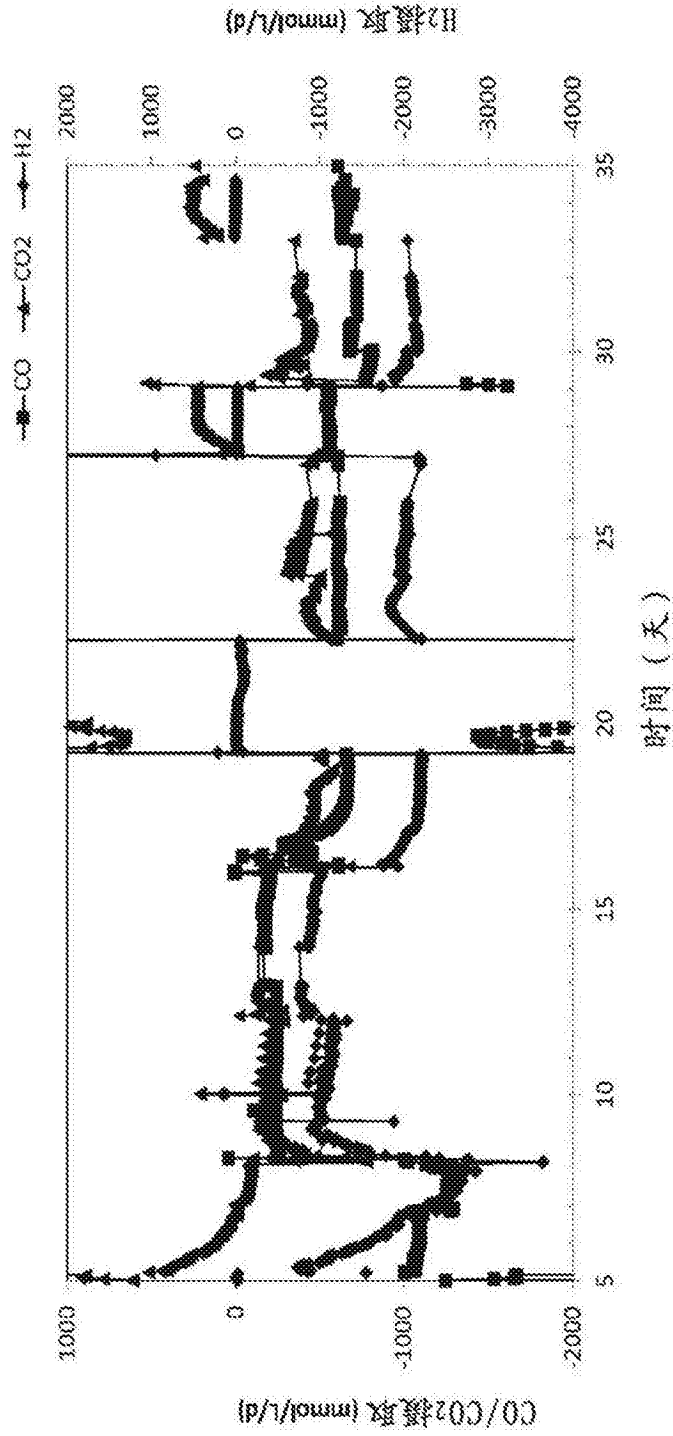


图2

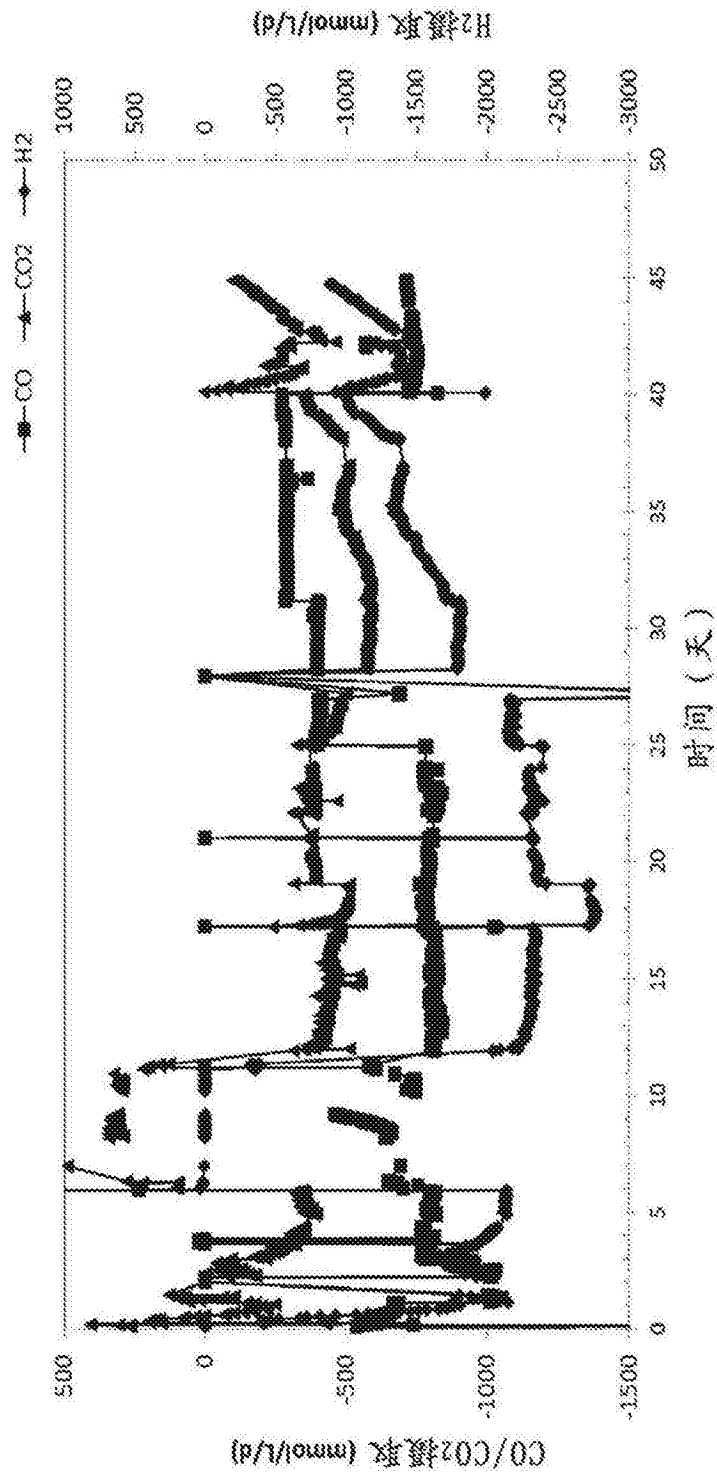


图3

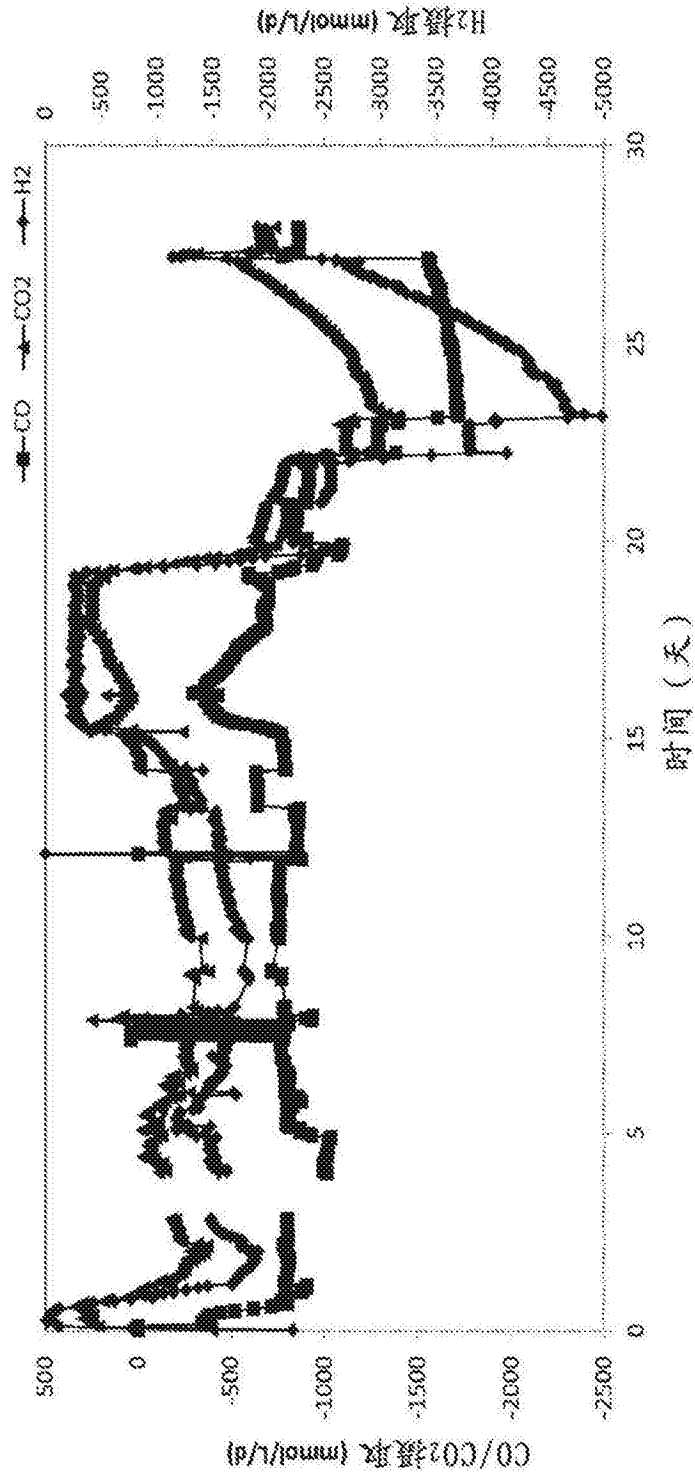


图4

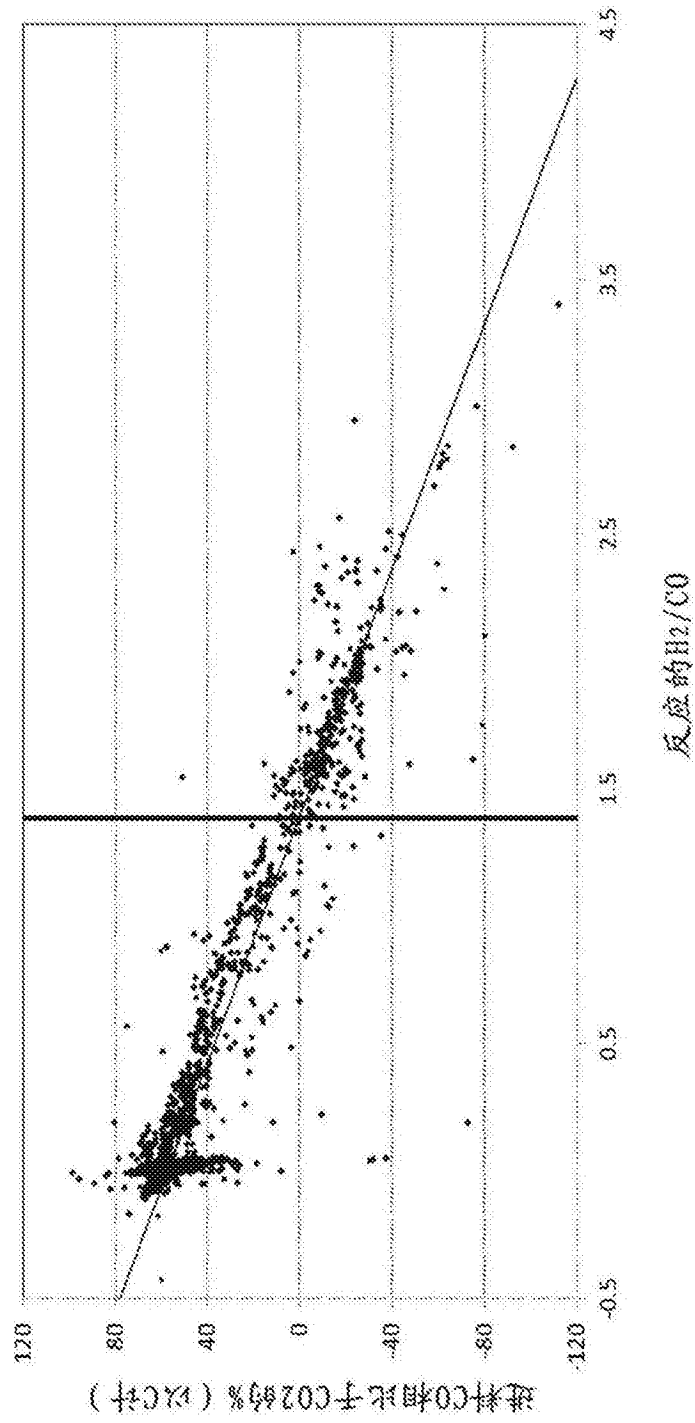


图5

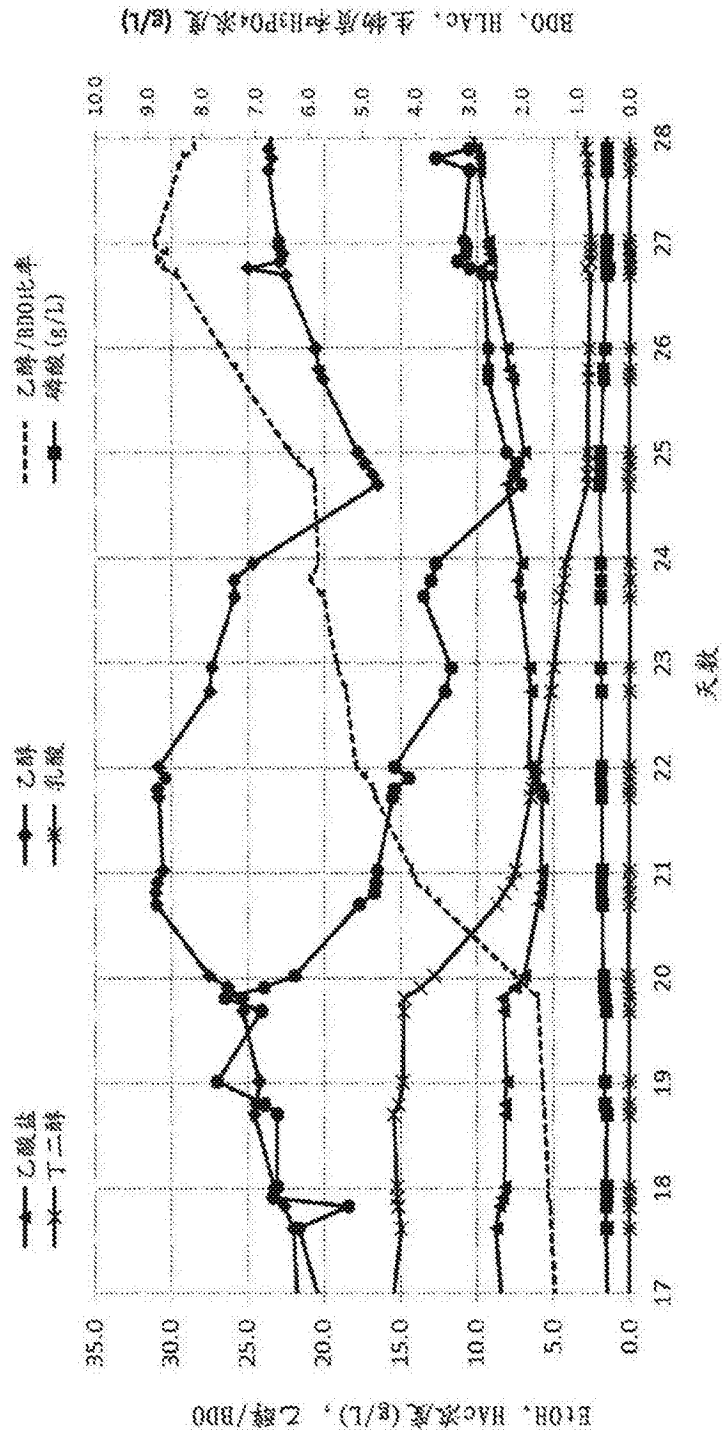


图6

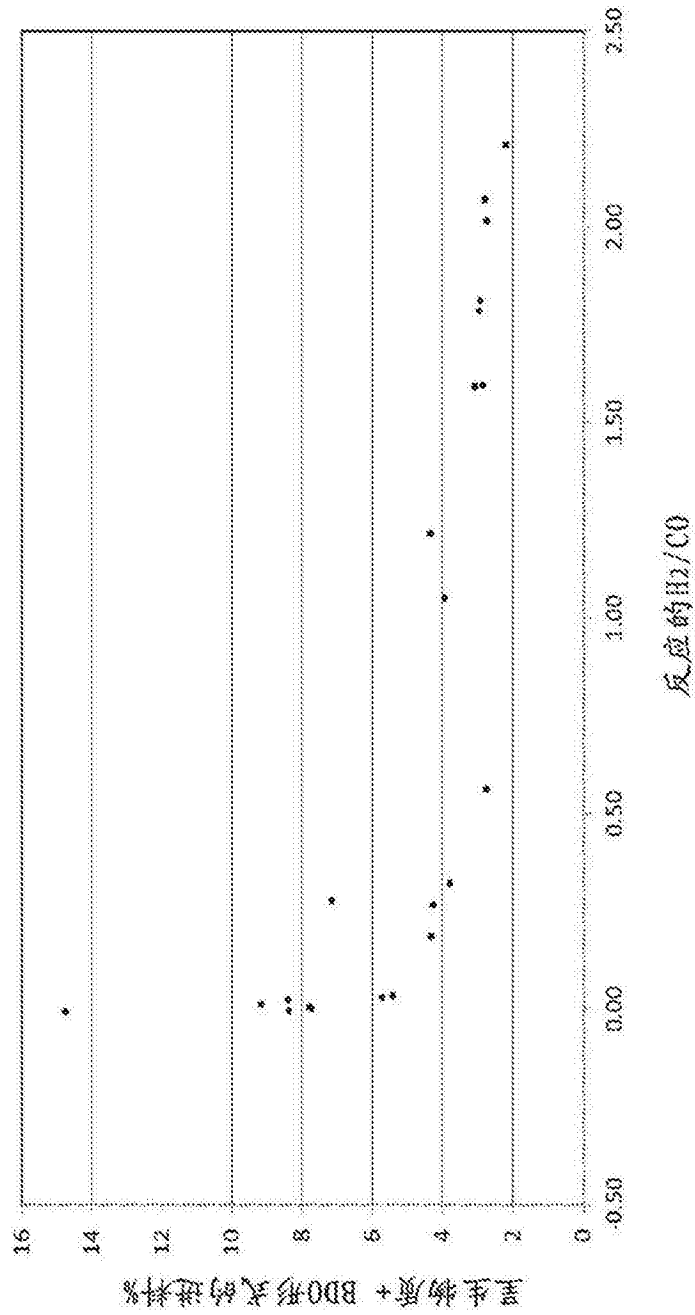


图7