

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202491732** (13) **A1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2024.09.17**

(22) Дата подачи заявки  
**2023.01.06**

(51) Int. Cl. *C12P 21/00* (2006.01)  
*C12P 5/02* (2006.01)  
*C12P 7/02* (2006.01)  
*C12M 1/00* (2006.01)  
*C12M 3/00* (2006.01)  
*C12M 1/26* (2006.01)  
*C12P 7/00* (2006.01)  
*C12M 1/107* (2006.01)

---

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЕДИНОГО КЛЕТОЧНОГО БЕЛКА**

---

(31) **22150612.4**

(32) **2022.01.07**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2023/050222**

(87) **WO 2023/131673 2023.07.13**

(71) Заявитель:

**УНИБИО А/С (DK)**

(72) Изобретатель:

**Нанди Субир Кумар, Кристенсен Иб  
(DK)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) Описан способ получения единого клеточного белка, включающий стадии: (a) предоставления газообразного водорода (H<sub>2</sub>); (b) смешения газообразного водорода стадии (a) с источником углерода с получением соединения C1, такого как метан, метанол, формальдегид, муравьиная кислота, метантиол или метансульфоновая кислота, или их производные; (c) добавления или подачи соединения C1, полученного на стадии (b), в петлевой реактор, содержащий один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1, с получением инокулированной ферментационной среды; (d) позволения инокулированной ферментационной среде осуществлять ферментацию в процессе ферментации и конвертирование соединения C1 в материал биомассы; и (e) выделения материала биомассы, полученного на стадии (c), и предоставления единого клеточного белка, где источник углерода представляет собой газообразный монооксид углерода (CO); газообразный диоксид углерода (CO<sub>2</sub>) или и комбинацию, или где первый источник углерода представляет собой водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация.

---

**A1**

**202491732**

**202491732**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 581606EA/061

### СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЕДИНОГО КЛЕТОЧНОГО БЕЛКА

#### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу продуцирования единого клеточного белка (SCP). В частности, настоящее изобретение относится к предоставлению усовершенствованного способа продуцирования единого клеточного белка, который обеспечивает независимость места проведения процесса ферментации (и реактора ферментации) от добычи природного газа; который не зависит от колебаний цен на ископаемое топливо; который оказывает меньшее воздействие на окружающую среду и/или атмосферу; имеет повышенную простоту; повышенную производительность и/или повышенную эффективность.

#### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Вследствие увеличения мировой популяции у людей растет потребность в диете, богатой белком, и животных (домашних или сельскохозяйственных животных) и рыбу все в большей степени кормят богатыми белком рационами, чтобы ускорить рост и развитие, а также для благополучия животных.

Однако существуют убедительные доказательства того, что с ростом мировой популяции и растущей потребностью в белках в животноводстве и индустрии домашних животных сельское хозяйство не сможет удовлетворить эту потребность и что существует серьезный риск нехватки продовольствия.

Промышленное сельское хозяйство характеризуется высоким уровнем водного воздействия, интенсивным землепользованием, разрушением биоразнообразия, общей деградацией окружающей среды, и способствует изменению климата за счет выбросов приблизительно трети всех парниковых газов.

Производство единого клеточного белка (SCP) оказалось очень интересным кандидатом для удовлетворения растущей потребности в белке и для устранения по меньшей мере некоторых из упомянутых недостатков промышленного сельского хозяйства.

Единый клеточный белок (SCP) можно выращивать путем ферментации биомассы посредством выращивания микроорганизмов на углеводородных, азотных и других субстратах. Продуцирование SCP обеспечивает возможность безотказного массового производства продуктов питания, и оно может надежно обеспечивать производство продуктов питания по всему миру и даже в суровых климатических условиях.

Продукт SCP может использоваться непосредственно в продуктах питания или кормах, например, в виде жидкого продукта или продукта, высушенного распылительной сушкой. Альтернативно SCP или биомасса могут быть подвергнуты дальнейшей обработке, например, путем гидролиза и/или разделения для получения специальных фракций, удаления примесей или концентрации компонентов перед использованием в пищевых продуктах или кормах.

Микроорганизмы, традиционно используемые для продуцирования SCP, представляют собой метилотрофные микроорганизмы или метанотрофные микроорганизмы. Эти микроорганизмы усваивают метан, поступающий в виде природного газа (в качестве газа-источника углерода), в присутствии соединений кислорода и азота, и конвертируют его в биомассу, которая в конечном итоге преобразуется в продукт SCP.

Метан является основным компонентом природного газа и составляет около 87% по объему. Основным источником метана является добыча геологических месторождений. Он ассоциирован с другими углеводородными топливами. Как правило, отложения, генерирующие природный газ, залегают глубже и имеют более высокие температуры, чем отложения, содержащие нефть, что может затруднить его добычу. Метан обычно транспортируется большими партиями по трубопроводу в виде природного газа или перевозчиками СПГ в сжиженном виде, или некоторые страны транспортируют метан на грузовиках.

Следовательно, некоторые из проблем предлагаемых в настоящее время способов предоставления SCP заключаются в том, что место проведения процесса может быть ограничено областями, где доступен метан или природный газ. Альтернативно, метан или природный газ должен транспортироваться в ферментер SCP, что увеличивает производственные затраты. Более того, как упоминалось выше, используемый метан традиционно получают из ископаемого топлива, что может быть ограничивающим фактором, а также подвержено большим колебаниям затрат и вредному воздействию на окружающую среду и атмосферу.

Более того, процессы ферментации, основанные на усвоении природного газа, предполагают совместную ферментацию различными типами микроорганизмов, поскольку природный газ содержит незначительные количества различных углеводородов, отличных от метана, которые необходимо переработать, чтобы они не накапливались в ферментационной среде и не вызывали снижение эффективности процесса ферментации или, возможно, даже остановку процесса ферментации, который впоследствии может быть возобновлен.

Таким образом, в промышленности существует потребность в улучшенном способе производства единого клеточного белка, и улучшенный способ, который решает проблемы предшествующего уровня техники, был бы предпочтительным.

В частности, существует потребность в улучшенном процессе, который будет независим от места добычи природного газа и, следовательно, от наличия дешевого метана, и на который не будут влиять колебания цен на ископаемое топливо; предпочтительным является процесс, который является более безопасным в отношении окружающей среды и/или атмосферы, и более простым, более эффективным и/или более надежным.

#### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Таким образом, задачей настоящего изобретения является предоставление

усовершенствованного способа получения единого клеточного белка, и предпочтительным является улучшенный способ, который решает проблемы уровня техники.

В частности, задачей настоящего изобретения является предоставление усовершенствованного способа получения единого клеточного белка, который решает вышеупомянутые проблемы уровня техники, связанные с местом проведения процесса ферментации (и реактора ферментации); колебаниями цен на ископаемое топливо; проблемами окружающей среды и/или атмосферы, простоты, производительности и эффективности.

Таким образом, один аспект изобретения относится к процессу предоставления первого продукта реакции посредством первого процесса ферментации, проводимого в первом петлевом реакторе, при этом способ включает стадии:

(i) добавление инокулята, содержащего один или несколько метаногенных микроорганизмов, в первый петлевой реактор, в котором предоставлена первая инокулированная ферментационная среда;

(ii) добавление газообразного водорода ( $H_2$ ) в первую инокулированную ферментационную среду;

(iii) добавление первого источника газообразного углерода, такого как газообразный монооксид углерода ( $CO$ ); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ) или их комбинация, в первую инокулированную ферментационную среду или добавление не газообразного источника углерода, такого как водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация;

(iv) позволение протекать ферментации первой ферментационной среды с получением первого продукта реакции; и

(v) выделение первого продукта реакции, полученного на стадии (iv).

Следующий 2-й аспект настоящего изобретения относится к способу продуцированию единого клеточного белка, включающему стадии:

(a) предоставление газообразного водорода ( $H_2$ );

(b) смешение газообразного водорода стадии (a) с газообразным источником углерода (газообразный монооксид углерода ( $CO$ ); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ); или их комбинация, или где первый источник углерода представляет собой водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинацию) с получением соединения C1;

(c) добавление или подача соединения C1, полученного на стадии (b), в петлевой реактор, содержащий один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1, с получением инокулированной ферментационной среды;

(d) позволение второй инокулированной ферментационной среде осуществлять ферментацию в процессе ферментации и конвертирование соединения C1 в материал биомассы, и

(e) выделение материала биомассы, полученного на стадии (c), и предоставление

единого клеточного белка.

Следующий 3-й аспект настоящего изобретения относится к петлевому реактору, содержащему петлевую часть и верхний резервуар, причем указанная петлевая часть содержит часть нисходящего потока, соединенную с частью восходящего потока через U-образную часть, при этом петлевая часть содержит по меньшей мере один вход для впуска газообразного водорода ( $H_2$ )

Следующий 4-й аспект настоящего изобретения относится к композиции единого клеточного белка, содержащей первый единый клеточный белок, подробно описанный ниже, и второй единый клеточный белок, подробно описанный ниже.

Кроме того, 5-й аспект настоящего изобретения относится к использованию композиции единого клеточного белка согласно настоящему изобретению в качестве ингредиента кормового продукта для животных.

Далее настоящее изобретение описано более подробно.

### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Авторы настоящего изобретения обнаружили, что доступные в настоящее время способы получения единого клеточного белка (SCP) имеют ряд нежелательных ограничений, нежелательных недостатков и проблем, которые отрицательно влияют на использование технологии и производительность процесса продуцирования единого клеточного белка (SCP). Таким образом, авторы настоящего изобретения неожиданно нашли способ разобщения процесса от места, где имеется доступный источник углерода (например, метан), который также оказался более безопасным для окружающей среды и/или атмосферы и который является более простым и/или более эффективным.

#### 1-й аспект изобретения

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу предоставления первого продукта реакции посредством первого процесса ферментации, проведенного в первом петлевом реакторе, причем способ включает стадии:

(i) добавление инокулята, содержащего один или несколько метаногенных микроорганизмов, в первый петлевой реактор, в котором предоставлена первая инокулированная ферментационная среда;

(ii) добавление газообразного водорода ( $H_2$ ) в первую инокулированную ферментационную среду;

(iii) добавление первого источника газообразного углерода, такого как газообразный монооксид углерода (CO); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ) или их комбинация, в первую инокулированную ферментационную среду;

(iv) позволение протекать ферментации первой ферментационной среды с получением первого продукта реакции; и

(v) выделение первого продукта реакции, полученного на стадии (iv).

В контексте настоящего изобретения термин "петлевой" относится к петлевому реактору, содержащему петлевую часть и верхний резервуар (резервуар для разделения газа и жидкости). Верхний резервуар может содержать вентиляционную трубку для

выпуска отходящих газов из верхнего резервуара. Петлевая часть может содержать по существу вертикальную часть нисходящего потока, соединенную с по существу вертикальной частью восходящего потока через горизонтальную часть или U-образную часть.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения петлевая часть содержит циркуляционный насос для циркуляции ферментационной среды, когда она присутствует в ферментере.

В следующем варианте осуществления настоящего изобретения петлевая часть имеет длину, которая может быть больше, предпочтительно существенно больше, чем длина и/или высота верхнего резервуара.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения верхний резервуар имеет объем, превышающий объем петлевой части. Предпочтительно ферментационный реактор содержит петлевую часть, длина которой может быть больше, предпочтительно существенно больше, чем длина и/или высота верхнего резервуара, а верхний резервуар имеет объем, который больше, чем объем петлевой части.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения петлевая часть по настоящему изобретению может относиться по меньшей мере к одной части нисходящего потока, по меньшей мере к одной части восходящего потока, а также по меньшей мере к одной соединительной части.

В настоящем контексте термин "U-образная часть" относится к изгибу, предусмотренному в нижней части ферментационного реактора или петлевого реактора, соединяющему нижние концы части восходящего потока и части нисходящего потока.

Предпочтительно, чтобы одна или несколько часть(ей) восходящего потока и одна или несколько часть(ей) нисходящего потока были вертикальными или по существу вертикальными.

Петлевой реактор согласно настоящему изобретению может быть сконструирован как вертикальный петлевой реактор, горизонтальный петлевой реактор или как "наклонный" петлевой реактор. Как правило, горизонтальные петлевые реакторы характеризуются наличием практически одинакового гидростатического давления во всех частях петли, тогда как вертикальные или наклонные петлевые реакторы имеют профиль давления с различным гидростатическим давлением в разных частях реактора.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения ферментационный реактор может представлять собой вертикальный петлевой реактор. Вертикальный петлевой реактор может относиться к петлевому реактору, имеющему основную часть в виде U-образной части в вертикальном или по существу вертикальном положении относительно горизонтального положения. В одном варианте осуществления настоящего изобретения ферментационный реактор содержит основную часть в виде U-образной части в вертикальном или по существу вертикальном положении.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения ферментационный реактор может представлять собой горизонтальный петлевой реактор. Горизонтальный

петлевой реактор может относиться к петлевому реактору, имеющему основную часть в виде U-образной части в горизонтальном или по существу горизонтальном положении относительно вертикального положения. В одном варианте осуществления настоящего изобретения ферментационный реактор содержит основную часть в виде U-образной части в горизонтальном или по существу горизонтальном положении.

Предпочтительно ферментационный реактор может быть выполнен в виде вертикального или по меньшей мере наклонного петлевого реактора.

В контексте настоящего изобретения термин "основная часть" относится по меньшей мере к 51% (об./об.) U-образной части, имеющей желаемое положение; например по меньшей мере 55% (об./об.); например по меньшей мере 60% (об./об.); например, по меньшей мере 65% (об./об.); например по меньшей мере 70% (об./об.); например по меньшей мере 75% (об./об.); например по меньшей мере 80% (об./об.); например по меньшей мере 85% (об./об.); например по меньшей мере 90% (об./об.); например, по меньшей мере 95% (об./об.); например по меньшей мере 98% (об./об.).

В настоящем контексте термин "верхний резервуар" относится к контейнеру, расположенному в верхней части ферментационного реактора и отвечающему за удаление отходящего газа из ферментационной жидкости. Предпочтительно, чтобы верхний резервуар во время работы/ферментации заполнялся ферментационной жидкостью только частично. В одном варианте осуществления настоящего изобретения термин "частично заполненный ферментационной жидкостью" относится к соотношению 90:10 между ферментационной жидкостью и газом; например, соотношению 80:20; например, соотношению 70:30; например, соотношению 60:40; например, 50:50; например, соотношению 40:60; например, соотношению 30:70; например, соотношению 20:80; например, соотношению 10:90.

В предпочтительных вариантах удаление отходящего газа может предусматривать, что CO и/или CO<sub>2</sub> улавливается и впускается в часть петлевого реактора, где может происходить реакция с H<sub>2</sub>, см. детали ниже.

В контексте настоящего изобретения "средство визуального контроля" относится к одному или нескольким средствам, позволяющим специалисту в данной области получать непосредственную информацию, например, о текучести и/или характеристиках пенообразования, в верхнем баке и/или в петлевой части.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения непосредственная информация может представлять собой информацию в реальном времени о характеристиках пенообразования в верхнем резервуаре.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения первый источник углерода может представлять собой первый источник газообразного углерода или первый источник жидкого углерода. Предпочтительно, первый источник углерода представляет собой первый источник газообразного углерода.

Первый источник газообразного углерода может представлять собой газообразный монооксид углерода (CO); газообразный диоксид углерода (CO<sub>2</sub>) или их комбинацию. В

качестве альтернативы, первый источник углерода может представлять собой водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация; иными словами, в этих случаях углекислый газ растворен в воде и находится в равновесии с угольной кислотой и ее депротонированными ионами.

Добавление или поток:

- газообразного водорода ( $H_2$ ) и/или

- первого газообразного источника углерода, например, газообразного монооксида углерода ( $CO$ ); газообразного диоксида углерода ( $CO_2$ ); или их комбинации, или водного раствора диоксида углерода, такого как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинации,

к первой инокулированной ферментационной среде, присутствующей в первом петлевом реакторе, можно контролировать по потребности в водороде ( $H_2$ ), необходимом для оптимизированного продуцирования, и/или потреблению водорода ( $H_2$ ) одним или несколькими метаногенными микроорганизмами. Как обсуждается ниже, первый источник углерода в форме (необязательно растворенного)  $CO$  и/или  $CO_2$  может подаваться из процесса, в котором соединение  $C1$  метаболизируется в биомассу метанотрофными или метилотрофными микроорганизмами.

Культивирование и ферментация метаногенных микроорганизмов обычно известны специалисту в данной области.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения газообразный водород ( $H_2$ ) и/или первый источник газообразного углерода, такой как газообразный монооксид углерода ( $CO$ ); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ) или их комбинация, или водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация, могут непрерывно добавляться в первую инокулированную ферментационную среду во время процесса ферментации.

В контексте настоящего изобретения термин "водород" относится к химическому соединению диводороду ( $H_2$ ). Водород ( $H_2$ ) может быть предоставлен в газообразной форме.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения газообразный водород может быть предоставлен посредством электролиза воды; получен из природных источников, таких как геологические резервы; может быть продуцирован микроорганизмами или произведен химическим путем.

Электролиз воды приводит к разложению молекул воды на кислород и водород в результате прохождения электрического тока. Источник электроэнергии постоянного тока, подключенный к двум электродам или двум пластинам (обычно изготовленным из какого-либо инертного металла, такого как платина или иридий), может быть помещен в воду, и газообразный водород может быть без труда собран с катода.

Электролиз предпочтительно представляет собой электролиз природной воды, например, морской воды, с использованием электрического тока, генерируемого из пополняемых источников энергии, таких как энергия ветра, энергия волн, энергия

приливов, солнечная энергия, геотермальная энергия и гидроэнергетика. Некоторые из них являются "непостоянными" в том смысле, что выход энергии зависит от обстоятельств (например, скорость ветра или высота волн на море), и известной общей проблемой является утилизация избыточной энергии из таких источников энергии во время перепроизводства. Хранение энергии в форме водорода является известным решением этой проблемы хранения, и настоящее изобретение предлагает привлекательную область использования такого хранимого водорода.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первый газообразный источник углерода, такой как газообразный монооксид углерода (CO) и/или газообразный диоксид углерода (CO<sub>2</sub>), и/или водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация могут быть получены в результате процесса улавливания углерода или химического процесса, ферментативного процесса или микробного процесса.

Метаногенный микроорганизм может представлять собой метаногенную архею, метаногенную бактерию, метаногенные дрожжи, метаногенный гриб или их комбинацию.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения метаногенный микроорганизм может представлять собой прокариотический организм. Предпочтительно, метаногенный микроорганизм может представлять собой метаногенную археобактерию.

Метаногенная археобактерия предпочтительно может быть выбрана из группы, состоящей из *Methanobacterium bryantii*; *Methanobacterium formicicum*; *Methanobacterium thermoalcaliphium*; *Methanothermobacter wolfeii*; *Methanobrevibacter smithii*; *Methanobrevibacter ruminantium*; *Methanococcus voltae*; *Methanomicrobium mobile*; *Methanolacinia paynteri*; *Methanospirillum hungatei*; *Methanosarcina acetivorans*; *Methanosarcina barkeri*; *Methanosarcina mazei*; *Methanosarcina thermophila*; *Methanococcoides methylutens*; *Methanosaeta concilii* (*soehngenii*) и *Methanosaeta thermophila*.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения процесс ферментации может представлять собой периодическую ферментацию, периодическую ферментацию с подпиткой или непрерывную ферментацию. Предпочтительным процессом ферментации может быть непрерывный.

Для коммерческого производства, например, SCP, процесс ферментации может включать 3 стадии ферментации:

- периодическая ферментация, которая представляет собой первоначальное увеличение в количестве организмов, при котором все необходимые материалы, кроме организмов, заранее обеззараживаются автоклавированием, а затем загружаются в реактор вместе с организмами, и процесс начинается. Используемый организм проходит через все фазы роста (лаг-фаза, логарифмическая или экспоненциальная фаза и стационарная фаза). В этом режиме работы условия постоянно меняются с течением времени в нестационарной системе, и он требует большого труда и участия.

- Периодическая ферментация с подпиткой; представляет собой

биотехнологический рабочий процесс, при котором одно или несколько питательных веществ подаются в биореактор во время культивирования и при котором продукт(ы) остается в биореакторе до конца цикла. Периодическая ферментация с подпиткой традиционно может следовать за периодической ферментацией и может быть предназначена для достижения очень высоких концентраций клеток организма перед переходом процесса в непрерывную ферментацию, поскольку периодическая ферментация потребовала бы ингибиторных высоких концентраций питательных веществ и, следовательно, была бы очень трудной или даже невозможной. Периодическую ферментацию с подпиткой можно использовать для подготовки клеточной культуры к непрерывной ферментации.

- Непрерывная ферментация; является производственной моделью процесса ферментации, в которой к микроорганизмам подается стерильная ферментационная среда, используемая для культивирования организмов, и в то же время удаляется часть ферментационной среды, включающей биомассу, из системы. Это обеспечивает уникальную особенность непрерывной подачи биомассы, которую можно использовать в виде единого клеточного белка или фракционировать на разные фракции.

Режим производства способа по настоящему изобретению предпочтительно может осуществляться как процесс непрерывной ферментации. Предпочтительно, процесс непрерывной ферментации следует за периодической ферментацией и/или периодической ферментацией с подпиткой, начинающихся с добавления воды, необходимых питательных солей и микроорганизмов в ферментационный реактор, с получением первой инокулированной ферментационной среды, после чего может начинаться процесс периодической ферментации и/или периодической ферментации с подпиткой. После достижения достаточного содержания биомассы можно начинаться процесс непрерывной ферментации.

По финансовым причинам в промышленности может возникнуть заинтересованность и стремление начать непрерывную и устойчивую ферментацию как можно быстрее, чтобы сэкономить время и затраты и обеспечить более быструю и выгодную поставку продукта SCP на рынок, а также дать возможность определить отношения между условиями окружающей среды и поведением микроорганизмов, включая как генетическое, так и фенотипическое проявление.

Первой инокулированной ферментационной среде можно позволить ферментироваться во время периодической ферментации и/или периодической ферментации с подпиткой в течение периода в диапазоне от 6 часов до 6 суток; например, в течение периода от 12 часов до 5 суток; например, в течение периода 1-4 суток, например, в течение периода 2-3 суток.

Первая инокулированная ферментационная среда может циркулировать в первом ферментационном реакторе, предпочтительно с помощью первого устройства регулирования давления, и может быть инициировано добавление субстратов, таких как газообразный водород ( $H_2$ ) и источник углерода, и может быть начат первый процесс

ферментации. Когда плотность микроорганизмов достигает концентрации примерно 0,5-10%, и предпочтительно 1-5% (в расчете на сухой вес), первый процесс ферментации может быть переведен в процесс непрерывной ферментации, при котором первая инокулированная ферментационная среда может непрерывно извлекаться из первого ферментационного реактора, например, из верхнего резервуара и/или из U-образной части и подвергаться последующей обработке с получением желаемых первых продуктов реакции. Одновременно с непрерывным отбором первой инокулированной ферментационной среды из первого ферментационного реактора можно добавлять субстрат, содержащий воду, соли и питательные вещества.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первой инокулированной ферментационной среде можно позволять ферментироваться в ходе непрерывной ферментации в течение периода по меньшей мере 3 суток, например, в течение по меньшей мере 6 суток, например в течение по меньшей мере 2 недель, например, по меньшей мере 4 недель, например в течение по меньшей мере 1½ месяца, например, по меньшей мере 2 месяцев, например, по меньшей мере 3 месяцев.

Первая инокулированная ферментационная среда может ферментироваться во время непрерывной ферментации до тех пор, пока культивирование не будет прекращено принудительно или вручную из-за необходимости технического обслуживания; микробного загрязнения; химического загрязнения; проблем с субстратами и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первой инокулированной ферментационной среде можно позволять ферментироваться при температуре в диапазоне 25-60°C; например, в диапазоне 30-50°C; например, в диапазоне 35-45°C; например, в диапазоне 40-43°C.

Первый процесс ферментации относится к ферментации метаногенного микроорганизма и обеспечивает первый продукт реакции.

В контексте настоящего изобретения термин "первый продукт реакции" относится к одному или нескольким продукту(ам), полученным в результате первого процесса ферментации под действием метаногенного микроорганизма.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первый продукт реакции, полученный на стадии (v), может представлять собой первый материал биомассы; первый единый клеточный белок; соединение C1 или их комбинацию.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения первый продукт реакции включает единый клеточный белок.

Первый материал биомассы и/или первый единый клеточный белок может содержать один или несколько метаногенных микроорганизм(ов).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения соединение C1 может представлять собой метан, метанол, формальдегид, муравьиную кислоту, метантиол и метансульфоновую кислоту или их производные. Как правило, когда речь идет о соединениях C1 в настоящем описании, это их предпочтительные варианты осуществления; предпочтительно соединение C1 представляет собой метан.

Предпочтительно, в результате первого процесса ферментации может быть получено несколько продуктов первой реакции.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первый продукт реакции, полученный на стадии (v), может содержать комбинацию первого единого клеточного белка и соединения C1.

Первый продукт реакции может содержать соединение C1, и соединение C1 (как определено выше) может быть добавлено во второй петлевой реактор, причем второй петлевой реактор содержит вторую инокулированную ферментационную среду, при этом вторая инокулированная ферментационная среда содержит один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1 и конвертировать соединение C1 во второй продукт реакции посредством второго процесса ферментации.

Альтернативно, соединение C1 подвергается реакции в первом петлевом реакторе, который также включает вторую инокулированную ферментационную среду, причем вторая инокулированная ферментационная среда содержит один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1 и конвертировать соединение C1 во второй продукт реакции посредством второго процесса ферментации. Это можно быть осуществлено в отделении или зоне первого петлевого реактора, отличном от отделения или зоны, где происходит процесс получения соединения C1 (это особенно актуально, если процесс является непрерывным). Это также может быть осуществлено в отдельном последующем временном цикле после проведения процесса получения соединения C1; следовательно, для конвертирования соединения C1 требуется повторная калибровки всего петлевого реактора.

В рамках настоящего изобретения термин "второй продукт реакции" относится к одному или нескольким продукту(ам), полученному в результате второго процесса ферментации под действием одного или нескольких микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1.

Второй продукт реакции может представлять собой второй единый клеточный белок, второй материал биомассы, CO<sub>2</sub> или их комбинацию.

Второй продукт реакции может представлять собой второй единый клеточный белок, второй материал биомассы или их фракцию.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения второй продукт реакции может представлять собой комбинацию CO<sub>2</sub>, единого клеточного белка или фракции единого клеточного белка.

Фракция единого клеточного белка или фракция продукта биомассы может быть получена способом, описанным в WO 2018/115042, а также посредством последующей обработки первого и/или второго продуктов реакции, которая может быть выполнена в соответствии со способом, описанным в WO 2018/115042.

Один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1, могут представлять собой один или несколько аэробных микроорганизмов.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько

аэробных микроорганизмов могут представлять собой один или несколько аэробных метанотрофных микроорганизмов и/или один или несколько аэробных метилотрофных микроорганизмов. Предпочтительно, один или несколько аэробных метанотрофных микроорганизмов или один или несколько аэробных метилотрофных микроорганизмов могут представлять собой одну или несколько аэробных метанотрофных бактерий и/или одну или несколько аэробных метилотрофных бактерий, соответственно.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение С1, могут не быть рекомбинантным микроорганизмом.

В контексте настоящего изобретения термин "рекомбинантный микроорганизм" относится к генетически модифицированному организму (GMO), генетический материал которого был изменен с использованием методов геной инженерии. Рекомбинантный микроорганизм можно рассматривать как противоположность генетическим изменениям, которые происходят в микроорганизме естественным образом, например путем спаривания и/или естественной рекомбинации.

Предпочтительно, один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение С1, могут представлять собой один или несколько встречающихся в природе микроорганизмов.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение С1, могут представлять собой бактерию, такую как метанотрофная или метилотропная бактерия; дрожжевой организм, такой как метанотрофные или метилотропные дрожжи; гриб, такой как метанотрофный или метилотропный гриб; или их комбинацию.

В контексте настоящего изобретения термин "встречающийся в природе микроорганизм" относится к микроорганизму, генетический материал которого не был изменен с использованием способов геной инженерии. Естественные модификации или изменения генетического материала микроорганизма могут охватываться термином "встречающийся в природе микроорганизм".

В одном варианте осуществления настоящего изобретения одна или несколько аэробных метанотрофных бактерий могут представлять собой метилококк. Предпочтительно метилококк представляет собой *M. capsulatus*, более предпочтительно, *M. capsulatus* может представлять собой *M. capsulatus* (Bath); еще более предпочтительно *M. capsulatus* (Bath), идентифицированный под номером NCIMB 11132.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение С1, могут быть предоставлены в комбинации с другим микроорганизмом (как при совместной ферментации).

Другой микроорганизм, участвующий в совместной ферментации, может быть выбран в зависимости от возможных примесей, таких как соединения углерода, отличные от С1, которые не метаболизуются и не усваиваются одним или несколькими

микроорганизмами, способными метаболизировать С1, согласно настоящему изобретению, и, таким образом, могут накапливаться во второй инокулированной ферментационной среде во время второго процесса ферментации.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения совместная ферментация может предусматриваться в качестве комбинации одного или нескольких микроорганизмов, способных метаболизировать С1, предпочтительно *M. capsulatus*, в комбинации с одним или несколькими микроорганизмами, выбранными из *Ralstonia sp.*; *Bacillus brevis*; *Brevibacillus agri*; *Alcaligenes acidovorans*; *Aneurinibacillus danicus* и *Bacillus firmus*.

В частности, совместная ферментация в соответствии с настоящим изобретением может относиться к совместной ферментации, включающей комбинацию *M. capsulatus* (предпочтительно, NCIMB 11132); *A. acidovorans* (предпочтительно NCIMB 13287); *B. firmus* (предпочтительно NCIMB 13289) и *A. danicus* (предпочтительно NCIMB 13288).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения дрожжи могут быть метанотрофными или метилотропными дрожжами. Предпочтительно дрожжи могут быть выбраны из *Pichia Pastoris*; *Komagataella phaffii*; *Komagataella pastoris* и/или *Komagataella pseudopastoris*.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения второй материал биомассы и/или второй единый клеточный белок могут содержать один или несколько метанотрофных микроорганизмов и/или один или несколько метилотрофных микроорганизмов.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения первый единый клеточный белок и второй единый клеточный белок можно смешивать, получая комбинированный единый клеточный белок.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения второй инокулированной ферментационной среде можно позволить ферментироваться во время периодической ферментации в течение периода в диапазоне от 6 часов до 6 суток; например, в течение периода от 12 часов до 5 суток; например, в течение периода 1-4 суток, например, в течение периода 2-3 суток.

В режиме производства второй процесс ферментации согласно настоящему изобретению предпочтительно может осуществляться как процесс непрерывной ферментации. Предпочтительно, процесс непрерывной ферментации второй инокулированной ферментационной среды следует после процесса периодической ферментации и/или процесса периодической ферментации с подпиткой, начинающихся с добавления воды, необходимых питательных солей и микроорганизмов (включая один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать С1) во второй реактор ферментации с получением второй инокулированной ферментационной среды, после чего может быть начат периодический процесс ферментации и/или периодический процесс ферментации с подпиткой.

Вторая инокулированная ферментационная среда может циркулировать в

ферментационном реакторе, предпочтительно с помощью первого устройства регулирования давления, и может быть инициировано добавлением субстратов, таких как газообразное соединение C1, и может быть начата ферментация. Когда плотность микроорганизмов во втором ферментационном реакторе достигает концентрации примерно 0,5-10%, и, предпочтительно, 1-5% (в расчете на сухой вес), второй процесс ферментации может быть переведен в процесс непрерывной ферментации, где вторая инокулированная ферментационная среда может непрерывно выводиться из второго ферментационного реактора, например из верхнего резервуара и/или из U-образной части и подвергаться последующей обработке с получением желаемых вторых продуктов реакции. Одновременно с непрерывным отбором второй инокулированной ферментационной среды из ферментационного реактора можно добавлять субстрат, содержащий воду, соли и питательные вещества.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения можно позволять второй инокулированной ферментационной среде ферментироваться в ходе непрерывной ферментации в течение по меньшей мере 3 суток, например, в течение по меньшей мере 6 суток, например, в течение по меньшей мере 2 недель, например, в течение по меньшей мере 4 недель, например, в течение по меньшей мере 1½ месяца, например, в течение по меньшей мере 2 месяцев, например, в течение по меньшей мере 3 месяцев.

Вторая инокулированная ферментационная среда может ферментироваться в ходе непрерывной ферментации до тех пор, пока культивирование не будет прекращено принудительно или вручную из-за необходимости технического обслуживания; микробного загрязнения; химического загрязнения; проблем с субстратами и т.п.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения второй инокулированной ферментационной среде можно позволять ферментироваться при температуре в диапазоне 25-60°C; например, в диапазоне 30-50°C; например, в диапазоне 35-45°C; например, в диапазоне 40-43°C.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения второй процесс ферментации может включать добавление диоксида углерода (CO<sub>2</sub>) во вторую инокулированную ферментационную среду.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения один или несколько метанотрофных микроорганизмов и/или один или несколько метилотрофных микроорганизмов согласно настоящему изобретению могут быть добавлены к первой инокулированной ферментационной среде, обеспечивая совместную ферментацию одним или несколькими метаногенными микроорганизмами; и одним или несколькими метанотрофными микроорганизмами и/или одним или несколькими метилотрофными микроорганизмами. Один или несколько метанотрофных микроорганизмов и/или один или несколько метилотрофных микроорганизмов могут затем концентрировать соединение C1, образовавшееся в результате первого процесса ферментации, непосредственно из первой инокулированной ферментационной среды перед стадией выделения (v).

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения газообразный кислород ( $O_2$ ) может быть добавлен во вторую инокулированную ферментационную среду.

Как упоминалось ранее в отношении первого процесса ферментации, водород ( $H_2$ ) добавляется в первый реактор ферментации, и водород ( $H_2$ ) может быть получен в результате электролиза воды, которая разлагается на газообразный кислород ( $O_2$ ) и газообразный водород ( $H_2$ ) вследствие прохождения электрического тока.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения газообразный кислород ( $O_2$ ) получают в результате гидролиза воды, в результате чего образуется газообразный водород ( $H_2$ ), при этом газообразный водород ( $H_2$ ) может быть добавлен к первой инокулированной ферментационной среде, а газообразный кислород ( $O_2$ ) может быть добавлен ко второй инокулированной ферментационной среде.

Когда газообразный водород получают посредством электролиза воды, также получают кислород. Полученный кислород можно использовать во втором процессе ферментации для получения второго продукта реакции, например второго единого клеточного белка, включающего метанотрофный микроорганизм или метилотрофный микроорганизм.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения  $CO_2$ , продуцированный во втором процессе ферментации, может быть рециркулирован в первую инокулированную ферментационную среду и/или во вторую инокулированную ферментационную среду.

#### *2-й аспект изобретения*

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к способу получения второго единого клеточного белка, включающему стадии:

(а) предоставление газообразного водорода ( $H_2$ );

(b) смешение газообразного водорода стадии (а) с первым источником углерода, как подробно описано выше в отношении первого аспекта изобретения и его вариантов осуществления, с получением соединения  $C1$ , как подробно описано в отношении первого аспекта изобретения и его вариантов осуществления;

(с) добавление или подача соединения  $C1$ , полученного на стадии (b), в петлевой реактор, содержащий один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение  $C1$ , с получением инокулированной ферментационной среды;

(d) позволение второй инокулированной ферментационной среде осуществлять ферментацию в процессе ферментации и конвертирование соединения  $C1$  в материал биомассы, и

(е) выделение материала биомассы, предоставленного на стадии (с), и предоставление единого клеточного белка.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения соединение  $C1$ , предоставленное на стадии (b), может быть получено в соответствии с первым процессом ферментации, описанным выше, а также в любой бесклеточной реакции между  $H_2$  и

первым источником углерода, или в любом процессе, включающем ферментацию живых клеток, таких как метаногенные бактерии. Таким образом, в этих вариантах осуществления конкретный способ получения соединения C1 не ограничивается получением в петлевом реакторе, и, тем более, получением с использованием ферментации.

Примерами бесклеточных реакций может служить реакция Сабатье  $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ , которая первоначально проводилась с использованием никелевого катализатора. Специалисту доступны и другие катализаторы: хорошо известными примерами являются рутений, оксид алюминия и никель. Также известно, что ферменты катализируют полезные реакции: формиатдегидрогеназа и редуктаза диоксида углерода являются ферментами, способными облегчать образование формиата из  $\text{CO}_2$ . Полезный обзор доступных реакций может быть найден в Porosoff M.D. et al. 2016, *Energy & Environmental Science*, Issue 1: doi.org/10.1039/C5EE02657A.

Полезный обзор возможных ферментативно катализируемых реакций между  $\text{H}_2$ ,  $\text{CO}_2$  и CO представлен в Shi J et al. 2015, *Chemical Society Reviews*, issue 17: "Enzymatic conversion of carbon dioxide", doi.org/10.1039/C5CS00182J.

Одним простым способом повышения общей эффективности описанных в настоящем описании способов является подача CO и/или  $\text{CO}_2$ , образовавшихся в процессе, обратно в процесс, описанный выше, для реакции источника углерода с  $\text{H}_2$ .

В целях экономии все стадии (a)-(e) можно проводить в одном и том же петлевом реакторе. Это может быть осуществлено с помощью петлевого реактора, содержащего разные отделения или зоны для проведения стадии b и стадии d; или петлевой реактор работает в разделенных во времени циклах, которые включают по меньшей мере один цикл этапа b и по меньшей мере один цикл этапа d.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения газообразный водород ( $\text{H}_2$ ), предоставляемый на этапе (a), может быть получен путем воздействия на воду вызывающей разложение обработки, приводящей к расщеплению молекул воды ( $\text{H}_2\text{O}$ ) на фракцию газообразного водорода ( $\text{H}_2$ ) и фракцию газообразного кислорода ( $\text{O}_2$ ), см. выше.

Предпочтительно вызывающая разложение воды обработка может быть электролизом.

Электролиз представляет собой процесс, при котором источник электрической энергии подключается к двум электродам или двум пластинам (обычно изготовленным из какого-либо инертного металла, например платины или иридия), которые помещают в воду. Когда источник электрической энергии активируется, водород ( $\text{H}_2$ ) появляется на катоде (где электроны попадают в воду), а на аноде появляется кислород. Если предположить идеальную фарадеевскую эффективность, то количество образующегося водорода в два раза превышает количество кислорода, и оба пропорциональны общему электрическому заряду, проводимому раствором.

Во время электролиза воды на аноде появляется кислород, который можно

выделить и добавить во вторую инокулированную ферментационную среду.

Углекислый газ ( $\text{CO}_2$ ), образующийся в результате второго процесса ферментации, может быть рециркулирован, см. обсуждение в настоящем описании.

### 3-й аспект изобретения

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к петлевому реактору, содержащему петлевую часть и верхний резервуар, причем указанная петлевая часть содержит часть нисходящего потока, соединенную с частью восходящего потока через горизонтальную часть, по существу горизонтальную часть или U-образную часть, при этом петлевая часть содержит по меньшей мере одно входное отверстие для впуска газообразного водорода ( $\text{H}_2$ )

В одном варианте осуществления настоящего изобретения петлевая часть может дополнительно содержать по меньшей мере одно впускное отверстие для впуска газообразного монооксида углерода ( $\text{CO}$ ); газообразного диоксида углерода ( $\text{CO}_2$ ) или их комбинации, или, альтернативно, вход для водного раствора диоксида углерода, такого как угольная кислота или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация. В частности, петлевой реактор дополнительно включает систему для впуска  $\text{CO}_2$  и/или  $\text{CO}$ , чтобы позволить им реагировать с  $\text{H}_2$ , и при этом петлевой реактор предпочтительно включает отделение или зону для реакции  $\text{H}_2$  с  $\text{CO}_2$  и/или  $\text{CO}$ , где указанное отделение необязательно содержит по меньшей мере один катализатор, такой как фермент, который катализирует реакцию; для подробного описания ферментов и катализаторов см. выше. Катализатор или фермент можно сделать доступным для реакции несколькими способами. Как правило поверхность покрывают слоем катализатора или фермента, и такая поверхность может иметь любую удобную форму: поверхности волокон и трубок (внутренние и внешние, поверхности микросфер и т.д.).

Предпочтительно петлевой реактор содержит циркуляционный насос.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения первое устройство регулирования давления может быть предоставлено в петлевой части петлевого реактора. Предпочтительно циркуляционный насос может действовать как первое устройство регулирования давления.

Первое устройство регулирования давления может быть предоставлено в верхней части нисходящей части петлевой части петлевого реактора.

После первого устройства регулирования давления может быть предоставлено второе устройство регулирования давления. Предпочтительно второе устройство регулирования давления предоставлено в верхней части восходящей части.

Второе устройство регулирования давления может быть выбрано из группы, состоящей из сужающего диаметр/поперечное сечение участка верхней части восходящей части; пластины с отверстиями; форсунок; насадок; клапана; гидроциклона или насоса (например, пропеллерный насос, кулачковый насос или турбинный насос).

Первое устройство регулирования давления может перекачивать ферментационную среду по направлению к второму устройству регулирования давления, которое создает

повышенное давление на ферментационную среду между первым устройством регулирования давления и вторым устройством регулирования давления. Это повышенное давление может увеличить перенос массы газа из нерастворенного состояния в растворенное и обеспечить доступность для потребления микробами.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения петлевой реактор может содержать по меньшей мере один неактивный смеситель и/или по меньшей мере один активный смеситель.

Верхняя емкость петлевого реактора может содержать:

(i) первое выпускное отверстие, соединяющее верхний резервуар с частью нисходящего потока петлевой части и позволяющее ферментационной жидкости, присутствующей в верхнем резервуаре, течь из верхнего резервуара в петлевую часть;

(ii) первый вход, соединяющий верхний резервуар с частью восходящего потока петлевой части, позволяющий ферментационной жидкости, присутствующей в петлевой части, течь из петлевой части в верхний резервуар; и

верхний резервуар может дополнительно содержать вентиляционную трубку для выпуска отходящих газов из верхнего резервуара.

Верхний резервуар или другие соответствующие части петлевого реактора могут дополнительно содержать систему улавливания CO и/или CO<sub>2</sub>, образовавшихся в реакторе, причем указанная система соединена с системой для впуска CO и/или CO<sub>2</sub>, образовавшихся в реакторе, чтобы позволить им вступить в реакцию с H<sub>2</sub>. Таким образом, это обеспечивает практическую реализацию обсуждавшегося выше рециклирования CO<sub>2</sub>.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения верхний резервуар дополнительно содержит средство визуального контроля.

В дополнительном варианте осуществления настоящего изобретения петлевая часть содержит средство визуального контроля.

В петлевой части могут быть предусмотрены средства визуального контроля, чтобы контролировать поток ферментационной среды и/или турбулентность ферментационной среды в петлевой части, чтобы гарантировать оптимизированную ферментацию и повышенную производительность процесса ферментации.

В верхнем резервуаре могут быть предусмотрены средства визуального контроля для контроля вспенивания и/или турбулентности ферментационной жидкости в верхнем резервуаре, чтобы гарантировать оптимальную дегазацию отходящих газов и, следовательно, улучшенную производительность процесса ферментации.

Предпочтительно средство визуального контроля может быть размещено с возможностью горизонтального или по существу горизонтального обзора в верхнем резервуаре.

Средства визуального контроля могут быть размещены сбоку от верхнего резервуара, обеспечивая комбинированный обзор над поверхностью ферментационной жидкости и под поверхностью ферментационной жидкости.

Предпочтительно средство визуального контроля может быть размещено в конце

верхнего резервуара.

Предпочтительно, средство визуального контроля может быть размещено в конце верхнего резервуара, обеспечивая вид от первого впускного отверстия (или части восходящего потока) к первому выпускному отверстию (или части нисходящего потока).

В одном варианте осуществления настоящего изобретения средство визуального контроля согласно настоящему изобретению может представлять собой смотровое отверстие, камеру или комбинацию смотрового отверстия и камеры, такой как встроенная камера.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения смотровое отверстие может представлять собой смотровое стекло.

Петлевой реактор может содержать по меньшей мере один датчик водорода (H<sub>2</sub>). Датчик водорода может предоставлять информацию о количестве растворенного и/или нерастворенного водорода (H<sub>2</sub>) в первой инокулированной ферментационной среде. Таким образом, возможно оптимизировать первый процесс ферментации согласно настоящему изобретению.

Дополнительные детали подходящих модификаций петлевого реактора, и особенностей эксплуатации такого петлевого реактора, и переработки полученной биомассы могут быть такими, как описано в WO 2010/069313; WO 2000/70014; WO 2003/016460; WO 2018/158319; WO 2018/158322; WO 2018/115042 и WO 2017/080987, все из которых включены в качестве ссылок.

#### *4-й аспект изобретения*

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к комбинированной композиции единого клеточного белка, содержащей первый единый клеточный белок согласно настоящему изобретению и второй единый клеточный белок согласно настоящему изобретению.

Предпочтительно, первый единый клеточный белок включает один или несколько метаногенных микроорганизмов.

Предпочтительно второй единый клеточный белок включает один или несколько метанотрофных микроорганизмов или метилотрофных микроорганизмов.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения комбинированный единый клеточный белок содержит комбинацию

- одного или нескольких метаногенных микроорганизмов; и
- одного или нескольких метанотрофных микроорганизмов или одного или нескольких метилотрофных микроорганизмов.

#### *5-й аспект изобретения*

Предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения относится к использованию комбинированной композиции единого клеточного белка согласно настоящему изобретению в качестве ингредиента в кормовом продукте для животного или в пищевом продукте для человека.

Кормовой продукт может представлять собой корм для жвачных животных, корм

для рыб, корм для свиней или корм для птицы.

В настоящем описании основное внимание уделяется технологии петлевого реактора. Однако следует понимать, что варианты осуществления изобретения, в которых объединяется получение соединения С1 (любым удобным способом) с последующим продуцированием биомассы (такой как единый клеточный белок) посредством ферментации, не обязательно должны быть реализованы в петлевом реакторе. Можно использовать любой формат ферментационного реактора, хотя петлевые реакторы являются предпочтительными. Кроме того, можно использовать системы, включающие комбинацию реакционных камер и ферментационных реакторов, в частности, в тех случаях, когда реакция  $H_2$  и  $CO_2$  осуществляется в независимой от клеток/бесклеточной системе. Таким образом, в широких вариантах осуществления настоящего изобретения реактор для проведения ферментации представляет собой просто ферментационный резервуар любой возможной конфигурации, тогда как реакция  $H_2$  и  $CO_2$  может происходить в любой удобной реакционной емкости при условии, что эти два процесса связаны таким образом, что соединение С1, полученное в результате реакции между  $H_2$  и  $CO_2$ , впоследствии используется при ферментации в качестве исходного продукта для ферментации.

Следует отметить, что варианты осуществления и признаки, описанные в контексте одного из аспектов настоящего изобретения, также применимы к другим аспектам изобретения.

Все патентные и непатентные ссылки, цитированные в настоящей заявке, включены в настоящее описание в качестве ссылок в полном объеме.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Способ получения единого клеточного белка, включающий стадии:

(a) предоставление газообразного водорода ( $H_2$ );

(b) смешение газообразного водорода стадии (a) с источником углерода с получением соединения C1, такого как метан, метанол, формальдегид, муравьиная кислота, метантиол или метансульфоновая кислота, или их производные;

(c) добавление или подача соединения C1, полученного на стадии (b), в петлевой реактор, содержащий один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1, с получением инокулированной ферментационной среды;

(d) позволение инокулированной ферментационной среде осуществлять ферментацию в процессе ферментации и конвертирование соединения C1 в материал биомассы, и

(e) выделение материала биомассы, полученного на стадии (c), и предоставление единого клеточного белка.

где источник углерода представляет собой газообразный монооксид углерода (CO); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ) или и комбинацию, или где первый источник углерода представляет собой водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация.

2. Способ по п.1, где получение соединения C1 проводят

I) в бесклеточной реакции между  $H_2$  и первым источником углерода, или

II) в процессе, включающем ферментацию живых клеток, таких как метаногенные бактерии.

3. Способ по п.1 или 2, где CO и/или  $CO_2$ , образовавшиеся в процессе, подаются обратно в процесс, определенный как стадия b.

4. Способ по любому из предшествующих пп., где все стадии проводят в одном и том же петлевом реакторе.

5. Способ по п.4, где один и тот же петлевой реактор включает разные отделения или зоны для проведения стадии b и стадии d.

6. Способ по п.4 или 5, где один и тот же петлевой реактор работает циклами, которые включают по меньшей мере цикл проведения стадии b и по меньшей мере один цикл проведения стадии d.

7. Способ по любому из предшествующих пп., где  $H_2$  является продуктом электролиза или продуктом месторождений природного газа.

8. Способ по п.7, где электролиз представляет собой электролиз природной воды, например, морской воды, с использованием электрического тока, генерируемого из пополняемых источников энергии, таких как энергия ветра, энергия волн, энергия приливов, солнечная энергия, геотермальная энергия и гидроэнергетика.

9. Способ получения первого продукта реакции посредством первого процесса ферментации, проведенного в первом петлевом реакторе, причем способ включает стадии:

(i) добавление инокулята, содержащего один или несколько метаногенных

микроорганизмов, в первый петлевой реактор, в котором предоставлена первая инокулированная ферментационная среда;

(ii) добавление газообразного водорода ( $H_2$ ) в первую инокулированную ферментационную среду;

(iii) добавление первого источника углерода в первую инокулированную ферментационную среду;

(iv) позволение протекать ферментации первой ферментационной среды с получением первого продукта реакции; и

(v) выделение первого продукта реакции, полученного на стадии (iv).

10. Способ по п.9, где первый источник углерода представляет собой газообразный монооксид углерода (CO); газообразный диоксид углерода ( $CO_2$ ) или и комбинацию, или где первый источник углерода представляет собой водный раствор диоксида углерода, такой как угольная кислота, или ион гидрокарбоната или карбоната, или их комбинация.

11. Способ по п.9 или 10, где первый продукт реакции, предоставленный на стадии (v), представляет собой первый материал биомассы; первый единый клеточный белок; соединение C1 или их комбинацию.

12. Способ по п.11, где соединение C1 представляет собой метан, метанол, формальдегид, муравьиную кислоту, метантиол или метансульфоновую кислоту, или их производные.

13. Способ по любому из пп. 9-12, где первый продукт реакции содержит соединение C1, такое как соединение C1, как определено в п.12, и

i) где соединение C1 добавляют во второй петлевой реактор, причем второй петлевой реактор содержит вторую инокулированную ферментационную среду, при этом вторая инокулированная ферментационная среда содержит один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1 и конвертировать соединение C1 во второй продукт реакции посредством второго процесса ферментации, или

ii) где соединение C1 подвергают реакции в первом петлевом реакторе, который также содержит вторую инокулированную ферментационную среду, причем вторая инокулированная ферментационная среда содержит один или несколько микроорганизмов, способных метаболизировать соединение C1 и конвертировать соединение C1 во второй продукт реакции посредством второго процесса ферментации.

14. Способ по п.13, где ii) проводят в отделении или зоне первого петлевого реактора, отличающихся от отделения или зоны, где проводят способ по любому из пп. 9-12.

15. Способ по п.14, где ii) проводят в отдельном последующем временном цикле после проведения способа по любому из пп. 9-12.

16. Способ по любому из пп. 9-15, где CO и/или  $CO_2$ , образовавшиеся в процессе, подаются обратно в процесс, как определено в любом из пп. 9-12.

17. Способ по любому из пп. 9-16, где  $H_2$  является продуктом электролиза или

продуктом месторождений природного газа.

18. Способ по п.17, где электролиз представляет собой электролиз природной воды, например, морской воды, с использованием электрического тока, генерируемого из пополняемых источников энергии, таких как энергия ветра, энергия волн, энергия приливов, солнечная энергия, геотермальная энергия и гидроэнергетика.

19. Петлевой реактор, содержащий петлевую часть и верхний резервуар, причем указанная петлевая часть может содержать часть нисходящего потока, соединенную с частью восходящего потока через U-образную часть, где петлевая часть содержит по меньшей мере один вход для впуска газообразного водорода ( $H_2$ ).

20. Петлевой реактор по п.19, где верхний резервуар дополнительно содержит средство визуального контроля и/или где петлевая часть содержит средство визуального контроля.

21. Петлевой реактор по п.19 или 20, который дополнительно содержит систему для впуска  $CO_2$  и/или  $CO$ , чтобы позволить им реагировать с  $H_2$ , и где петлевой реактор предпочтительно содержит отделение или зону для реакции  $H_2$  с  $CO_2$  и/или  $CO$ , где указанное отделение необязательно содержит по меньшей мере один катализатор, такой как фермент, который катализирует реакцию.

22. Петлевой реактор по любому из пп. 19-21, который дополнительно содержит систему для улавливания  $CO$  и/или  $CO_2$ , образовавшихся в реакторе, которая соединена с системой для впуска  $CO$  и/или  $CO_2$ , образовавшихся в реакторе, чтобы позволить им реагировать с  $H_2$ .

23. Композиция единого клеточного белка, содержащая первый единый клеточный белок, получаемый ферментацией метаногенных бактерий, и второй единый клеточный белок, получаемый ферментацией метанотрофных бактерий, где указанные первый и второй единый клеточный белок могут быть получены путем выделения белка из продукта способом по любому из предшествующих пп.

24. Композиция единого клеточного белка по п.23, где композиция единого клеточного белка содержит:

- один или несколько метаногенный микроорганизм(ов); и
- один или несколько метанотрофный микроорганизм(ов) или один или несколько метилотрофный микроорганизм(ов).

25. Применение композиции единого клеточного белка по любому из пп. 23-24 в качестве ингредиента в кормовом продукте для животного.