## Биохимия и биотехнология Biochemistry and biotechnology

УДК 579.66+663.18 https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-6-508-516 EDN FPPYBU



НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

# Повышение эффективности работы биореактора для культивирования метанокисляющих бактерий за счет снижения концентрации углекислого газа в культуральной жидкости

В.М. Кочетков , И.С. Гаганов, Д.В. Толкин, В.В. Кочетков, П.А. Нюньков

ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ», Москва, 119571 Россия

<sup>™</sup> Автор для переписки, e-mail: kwm@bk.ru

### Аннотация

**Цели.** Разработать конструкцию биореактора, позволяющую включить в свой состав узел удаления углекислого газа из газовой фазы аппарата, функционирующий без использования дополнительного компрессионного оборудования; провести испытания разработанного оборудования с целью увеличения его производительности по биомассе; определить основные параметры работы ферментационной системы, при которых достигается максимальная продуктивность биореактора в условиях извлечения углекислого газа из газовой фазы аппарата.

**Методы.** Проведена серия испытаний ферментационной установки с осуществлением контроля содержания кислорода и углекислого газа в газовой фазе биореактора поточным газонализатором с электрохимическими сенсорами. Контрольное определение содержания в газовой фазе кислорода и углекислоты проводилось методом газовой хроматографии. Расход газовых компонентов (кислорода и природного газа) измерялся с помощью теплового электронного регулятора расхода с терморезистивными элементами. Содержание растворенного в культуральной жидкости кислорода определялось оптическим датчиком кислорода со встроенным преобразователем. Уровень рН в биореакторе контролировался и поддерживался с помощью электрохимического рН-датчика.

**Результаты.** Разработан и испытан биореактор струйного типа. За счет использования внутренних рециркуляционных потоков в ферментационную систему интегрирован узел удаления углекислого газа без применения дополнительного компрессионного оборудования. В процессе испытаний системы с включенным в конструкцию узлом извлечения углекислого газа достигнута увеличенная на 64% продуктивность биореактора и снижен на 18% расход кислорода, как компонента газового питания.

Выводы. Определены технологические параметры работы биореактора, при которых проходит стабильный процесс непрерывного культивирования бактерий.

### Ключевые слова

биореактор, ферментер, ферментация, биомасса, белок, углекислый газ, эжектор, метаноокисляющие бактерии, *Methylococcus capsulatus* 

 Поступила:
 22.05.2024

 Доработана:
 25.07.2024

 Принята в печать:
 18.10.2024

### Для цитирования

Кочетков В.М., Гаганов И.С., Толкин Д.В., Кочетков В.В., Нюньков П.А. Повышение эффективности работы биореактора для культивирования метанокисляющих бактерий за счет снижения концентрации углекислого газа в культуральной жидкости. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(6):508–516. https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-6-508-516

### RESEARCH ARTICLE

# Increasing the efficiency of bioreactor operation for cultivation of methane-oxidizing bacteria under conditions of decreasing carbon dioxide concentration in the cultural liquid

Vladimir M. Kochetkov , Ivan S. Gaganov, Dmitry V. Tolkin, Vladimir V. Kochetkov, Pavel A. Nyunkov

Giprobiosintez, Moscow, 119571 Russia

<sup>™</sup> Corresponding author, e-mail: kwm@bk.ru

### **Abstract**

Objectives. The work set out to develop a bioreactor that incorporates a carbon dioxide removal unit within the apparatus gas phase, which is capable of operating without the need for supplementary compression apparatus. As part of testing the developed equipment in order to ascertain its capacity for enhanced biomass production, the principal fermentation system parameters that facilitate the optimal bioreactor productivity in conditions of carbon dioxide removal from the apparatus gas phase were identified.

Methods. A series of tests were conducted on the fermentation unit with the objective of controlling the oxygen and carbon dioxide content in the gas phase of the bioreactor. This was achieved using an in-line gas analyzer fitted with electrochemical sensors. The oxygen and carbon dioxide content in the gas phase was determined by means of gas chromatography. The oxygen and natural gas flow rates were determined using a thermal electronic flow controller equipped with thermoresistive elements. The oxygen content of the cultural liquid was determined by means of an optical oxygen sensor with integrated transducer. The pH level in the bioreactor was monitored and maintained using an electrochemical pH sensor.

Results. The efficacy of the newly devised jet-type bioreactor design, which permits the incorporation of a carbon dioxide removal unit into the fermentation system without requiring supplementary compression apparatus, was evaluated through experimentation. The system was tested with the carbon dioxide removal unit included in the design, resulting in a 64% increase in bioreactor productivity and a 18% reduction in oxygen consumption as a component of the gas supply.

Conclusions. The operational parameters of a technological bioreactor that facilitate a stable continuous process of bacterial cultivation were identified.

### **Keywords**

bioreactor, fermenter, fermentation, biomass, protein, carbon dioxide, ejector, methane-oxidizing bacteria, Methylococcus capsulatus

### **Revised:** 25.07.2024 **Accepted: 18.10.2024**

### For citation

Kochetkov V.M., Gaganov I.S., Tolkin D.V., Kochetkov V.V., Nyunkov P.A. Increasing the efficiency of bioreactor operation for cultivation of methane-oxidizing bacteria under conditions of decreasing carbon dioxide concentration in the cultural liquid. Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol. 2024;19(6):508-516. https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-6-508-516

### **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время процесс получения бактериальной биомассы из природного газа активно рассматривается не только научно-исследовательскими организациями [1], которые изучают свойства метанокисляющих бактерий, но и отраслевыми технологическими компаниями [2-3]. При реализации важной задачи по созданию российских производств белково-витаминных концентратов следует уделить особенное внимание аппаратурному оформлению процесса, который в конечном счете и позволит обеспечить заданные объемы синтеза кормового белка, а также определит пределы масштабируемости процесса.

Submitted: 22.05.2024

В технологической линии производства белка из природного газа используется как типовое технологическое оборудование — центробежные и дозировочные насосы, емкостное оборудование, так и специальное пищевое оборудование — центробежные сепараторы, распылительные сушилки, системы высокотемпературной обработки продукта, похожие по принципу работы на пастеризатор. Однако наиболее значимым оборудованием в технологической цепочке производства биопротеина является биореактор.

Процесс культивирования метанокисляющих бактерий осуществляется на газовом субстрате, что оказывает существенное влияние на конструкцию биореактора. Основные особенности конструкций ферментационного оборудования, а также обзор большинства известных моделей биореакторов для получения белка из природного газа приведены в работе [4]. Кроме этого, необходимо рассмотреть вопрос, связанный с наличием в газовой фазе ферментера углекислого газа, выделяемого метанокисляющими микроорганизмами.

Влияние диоксида углерода на рост бактерий привлекало внимание исследователей с начала XX века [5]. Впоследствии, по мере накопления и обобщения материала, были выделены два основных направления, в которых данный вопрос имеет первостепенное значение: консервация пищевых продуктов и управление микробиологическими процессами [6]. С практической точки зрения ингибирующее влияние углекислого газа на рост бактерий наиболее применимо к вопросу консервации пищевых продуктов [7]. Однако развитие и углубление направления разработки биотехнологических процессов значительно расширяет круг стоящих перед исследователями задач. Так, в работе [8] рассмотрены вопросы, связанные с наличием в биореакторах углекислого газа не только с точки зрения влияния его на микроорганизмы, но и с точки зрения растворимости и диффузии в водной среде. В связи с этим разработка ферментационного оборудования для технологических процессов, в которых происходит выделение в рабочий объем углекислого газа, образующегося в результате процесса жизнедеятельности микроорганизмов, для процесса культивирования метанокисляющих бактерий приобретает важное значение. Это связано, в первую очередь с необходимостью обеспечения растворимости как кислородсодержащего, так и природного газа при наличии в культуральной жидкости (КЖ) углекислого газа, непрерывно выделяемого бактериями.

В работе В.В. Лалова<sup>1</sup> отмечается, что данные по влиянию углекислого газа на рост метанотрофов противоречивы, и вопрос ингибирования роста бактериальных культур данным компонентом газовой фазы требует дальнейшей проработки. Наиболее интересные результаты представлены в работе Р.Р. Гаязова<sup>2</sup>,

в которой изучено влияние лимитирующих и ингибирующих концентраций компонентов газовой фазы и минеральной среды на рост Methylococcus capsulatus. Установлено, что для культуры метанокисляющих бактерий Methylococcus capsulatus (штамм ВСБ-874), полученной в институте «Вниисинтезбелок» (Россия), с повышением парциального давления углекислого газа в газовой фазе биореактора происходит ингибирование ее роста. В работе [9] представлен способ культивирования бактерий рода Methylococcus, имеющий практическое значение в изучении влияния углекислого газа на рост микроорганизмов. Авторами предложено фактическое удаление части углекислого газа из газовой фазы биореактора и частичный возврат ее в жидкую фазу аппарата с помощью компрессионного оборудования.

В научно-техническом центре *OOO «ГИПРОБИО-СИНТЕЗ»* были учтены ранее полученные результаты по проблеме влияния углекислого газа на рост метанокисляющих бактерий. В процессе введения в эксплуатацию пилотных установок по производству белка из природного газа были проведены работы по модификации биореактора, позволяющие возвращать в процесс очищенные от углекислого газа компоненты газового питания без применения компрессионного оборудования. Кроме того, проведены испытания модифицированного аппарата, которые позволили получить фактические данные об изменении продуктивности биореактора при включении в работу системы очистки его газовой фазы от углекислого газа.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Схема ферментационной установки

Для реализации технической возможности удаления углекислого газа из газовой фазы биореактора предложена система ферментации, описание которой приведено в патенте [10]. Схема ферментационной установки представлена на рисунке.

Установка состоит из ферментера (1) рабочим объемом 15 л, центробежного насоса (2), эжектора (4), емкости для отбора КЖ (7) и блока удаления углекислого газа, состоящего из двух адсорберов (5a,  $5\delta$ ). Установленный на циркуляционном контуре биореактора центробежный насос нагнетает КЖ в эжектор. Газовая фаза из верхней части биореактора,

Лалов В.В. Анализ и синтез энерготехнологических систем производства кормового белка из природного газа: дис. ... д-ра тех. наук. Москва, 1991. 416 с. [Lalov V.V. Analysis and synthesis of energy-technological systems for the production of fodder protein from natural gas. Diss. Dr. Sci. (Eng.). Moscow, 1991. 416 p. (in Russ.).]

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Гаязов Р.Р. Лимитирование и ингибирование роста МЕТНҮLOCOCCUS CAPSULATUS компонентами минеральной среды и газовой фазы: дис. ... канд. биол. наук. Российская академия наук. Ин-т биохимии и физиологии микроорганиз. Пущино, 1992. 127 с. [Gayazov R.R. Limitation and inhibition of METHYLOCOCCUS CAPSULATUS growth by components of mineral medium and gas phase. Diss. Cand. Sci. (Biol.). Russian Academy of Sciences. Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms. Pushchino, 1992. 127 p. (in Russ.).]

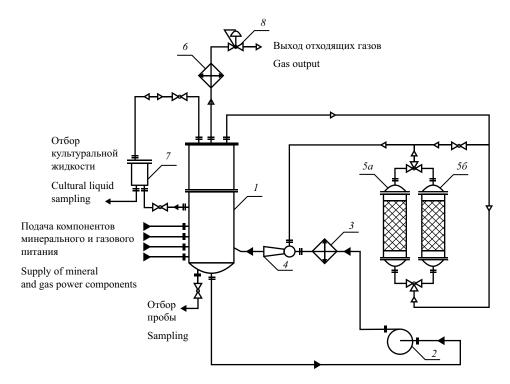


Рис. Модифицированная ферментационная установка для получения метана из природного газа:

- (1) биореактор; (2) насос центробежный; (3) теплообменник; (4) эжектор; (5a, 5b) адсорберы; (b) конденсатор;
- (7) сборник культуральной жидкости; (8) регулятор давления «до себя» [10]

Fig. Modified fermentation unit for methane production from natural gas:

- (1) bioreactor; (2) centrifugal pump; (3) heat exchanger; (4) ejector; (5a, 5b) adsorbers; (6) condenser; (7) cultural liquid collector;
- (8) upstream pressure regulator [10]

увлекаемая рабочей средой (КЖ), также поступает в эжектор. Газожидкостная смесь подается из эжектора в нижнюю часть рабочего объема биореактора. Основное техническое решение предлагаемой ферментационной системы заключается в том, что на линию выхода газовой фазы из биореактора в эжектор устанавливается система очистки (блок удаления углекислого газа), представленная двумя попеременно работающими адсорберами. Основным достоинством данной конструкции является возможность подключения блока очистки к контуру рециркуляции газа перед напорным струйным эжектором, что позволяет использовать его для возврата газовой фазы, очищенной от углекислоты, в ферментер без установки дополнительного компрессионного оборудования.

### Блок извлечения углекислого газа

В линии рециркуляции газа предусмотрена байпасная линия с установленной регулирующей арматурой, которая позволяет определить соотношение газа, направляемого в адсорберы для очистки, и газа, поступающего в эжектор непосредственно из ферментера для смешения с КЖ. В блоке извлечения углекислого газа из газовой фазы в составе ферментационной

установки могут быть использованы различные способы газоразделения, такие как абсорбционная очистка растворами аминов, водными растворами карбоната калия или использование мембран для селективного газоразделения. Для проверки параметрических значений процесса ферментации, получаемых для модифицированной конструкции биореактора, в блоке очистки предложено использование более доступного процесса адсорбции. Произведен выбор группы адсорбентов, селективных к диоксиду углерода, с учетом их поглотительных способностей при давлении газовой фазы в биореакторе ( $p_{\rm peakt}$ ) 2 бар (избыточное). Значения емкости по углекислому газу при заданных давлениях и температуре адсорбции  $t_{\rm anc}$  приведены в табл. 1.

Исходя из указанных параметров выбран адсорбент AMSORB<sup>®</sup> PLUS. Состав адсорбента приведен в табл. 2.

Важным критерием при выборе адсорбента является не только его поглотительная способность и селективность, но и химический состав. Предложенный адсорбент включает в свой состав компоненты, растворы которых используются в качестве источников кальция и поступают в биореактор для обеспечения процесса культивирования бактерий в рабочем режиме.

Таблица 1. Поглотительная способность адсорбентов

Table 1. Absorption capacity of adsorbents

Адсорбент Adsorbent	Производитель Manufacturer	$t_{\rm adc}, {\rm ^{\circ}C}$ $t_{\rm ads}, {\rm ^{\circ}C}$	$p_{ m peakt}$ , бар (изб.) $p_{ m react}$ , barg	Емкость по углекислому газу (CO <sub>2</sub> ), ммоль/г (мгСО <sub>2</sub> /г) Carbon dioxide (CO <sub>2</sub> ) capacity, mmol/g (mgCO <sub>2</sub> /g)	Источник Reference
Молекулярное сито X13 Molecular sieve X13	Zeochem (Швейцария) Zeochem (Switzerland)	30	2	4.6 (202.4)	[11]
Цеолит NaY Zeolite NaY	UOP (CIIIA) UOP (USA)	25	2	5.0 (220.0)	[12]
Активированный уголь Activated carbon	Samchunri (Корея) Samchunri (Korea)	45	2	3.0 (132.0)	[13]
Гидроксид кальция Ca(OH) <sub>2</sub> Calcium hydroxide Ca(OH) <sub>2</sub>	Aldrich Chemical Company (CIIIA) Aldrich Chemical Company (USA)	650	_	10.7 (470.8)	[14]
AMSORB® (на основе Ca(OH) <sub>2</sub> ) AMSORB® (Ca(OH) <sub>2</sub> -based)	Armstrong (Великобритания) Armstrong (United Kingdom)	36.1	-	4.0 (176.9)	[15]
AMSORB® PLUS	Armstrong (Великобритания) Armstrong (United Kingdom)	35–40	-	7.8 (345)	[16], [17]

Таблица 2. Состав адсорбента AMSORB® PLUS

Table 2. Composition of AMSORB® PLUS adsorbent

Компонент Component	Содержание, мас. % Content, wt %
Гидрооксид кальция $Ca(OH)_2$ Calcium hydroxide $Ca(OH)_2$	77.0–88.0
Пентагидрат сульфата кальция CaSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O Calcium sulfate pentahydrate CaSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.6–1.5
Хлорид кальция CaCl <sub>2</sub> Calcium chloride CaCl <sub>2</sub>	2.0–3.5
Вода H <sub>2</sub> O Water H <sub>2</sub> O	10.0–18.0

### Режимы работы биореактора

Для оценки эффективности работы ферментационной системы проведены испытания ее работы в двух режимах: без системы очистки и с использованием блока удаления углекислого газа, представленного двумя адсорберами.

Для реализации первого режима работы подача газовой фазы из биореактора на смешение с КЖ в эжекторе проводилась по линии байпаса в обход адсорберов. В аппарат обеспечивалась подача компонентов газового питания: природного газа, кислорода и воздуха в соотношении 1:0.9:1. Регулирование

расхода технологических газов осуществлялось с помощью электронных регуляторов массового расхода газа F-201CV производства Bronkhorst High-Tech (Нидерланды), включающего в состав тепловой электронный регулятор расхода с терморезистивными элементами. Процесс проводился при температуре 42°C. В биореактор подавался раствор компонентов минерального питания, необходимый для роста культуры, а также поток аммиачной воды, обеспечивающий поддержание постоянного рН 5.6-5.8 для КЖ. Измерение рН в биореакторе производилось с помощью электрохимического датчика EasyFerm Plus ARC 225, разработанного компанией Hamilton (США). Содержание растворенного в КЖ кислорода определялось с помощью оптического датчика кислорода VisiFerm DO Arc 225 H2 (Hamilton, США). Необходимая скорость протока в аппарате (не менее  $0.25 \text{ ч}^{-1}$ ) обеспечивалась за счет подачи в него технологической воды. В реакторе установлено давление 2 бар (изб.) для обеспечения условий, при которых содержание углекислого газа в циркулирующей газовой фазе и, соответственно, в растворенной форме в КЖ не приводило бы к нарушению режима культивирования вследствие ингибирования роста метанокисляющих бактерий (диссертация Гаязова, сноска 2).

При реализации второго режима работы ферментационной системы газовая фаза из биореактора направлялась в эжектор через блок очистки. Обеспечивалась подача в аппарат компонентов газового питания: природного газа, кислорода и воздуха.

Соотношение расхода подаваемых компонентов в процессе опыта было скорректировано до значений 1.0: 0.7: 1.6. В реакторе установлено давление 4 бар (изб.), остальные условия проведения процесса сохранены. Работа блока удаления углекислого газа была реализована таким образом, чтобы обеспечить возможность регулирования соотношения количества циркулирующего газа, поступающего непосредственно в эжектор и направляемого в адсорберы. Такой механизм регулирования позволил обеспечить задаваемую нагрузку (поток газа с содержанием СО<sub>2</sub>) на каждый работающий адсорбер, обеспечивая при этом заданное время работы адсорбента, при котором не достигается содержание углекислоты в газовой фазе свыше требуемой величины. Состав газовой фазы в биореакторе контролировался с помощью газоанализатора марки МАГ-6 (Россия, ТУ 26.51.53-016-70203816-2021<sup>3</sup>) с встроенными сенсорами для определения объемной доли кислорода и углекислого газа. В непрерывном режиме фиксировалось содержание трех компонентов: метана, кислорода и углекислого газа. В соответствии с данными, приведенными в работе Гаязова (сноска 2), выбрана величина объемного содержания углекислоты в газовой фазе в 3 об. %, которая позволяет исключить ее ингибирующее воздействие на рост культуры при установленном давлении аппарата 4 бар (изб.). В качестве контрольного метода определения содержания компонентов газовой фазы использовалась хроматография. Два раза в сутки производился отбор пробы из газовой фазы биореактора и ее анализ на хроматографе марки Хроматэк-Кристалл 5000.2 (СКБ «Хроматэк», Россия) с использованием колонки Mss. 316 2 м × 3 мм NaX 60/80 (СКБ «Хроматэк», Россия). В качестве газа-носителя использовался гелий, температура детектора 180°C, температура колонки 60/180°C. Каждая проба анализировалась не менее двух раз.

Введение в эксплуатацию блока очистки от углекислого газа производилось в работающей ферментационной системе при достижении объемного содержания углекислоты в газовой фазе биореактора в 3 об. %. В два предварительно промытых и осушенных адсорбера вносилось порционное количество адсорбента марки AMSORB® PLUS (Великобритания). В работу вводился один из адсорберов. Время работы размещаемого в объеме аппарата адсорбента фиксировалось по величине содержания углекислого газа в газовой фазе биореактора. При увеличении

значения содержания углекислоты в газовой фазе биореактора свыше значения 3 об. % поток абгаза переключался на параллельный адсорбер, заполненный свежей порцией адсорбента. Производилась замена отработанного адсорбента в адсорбере. Адсорбер с новой порцией адсорбента вводился в эксплуатацию в соответствии с циклом работы.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данное техническое решение было апробировано, и подтверждена возможность его эксплуатации в ферментерах, содержащих в составе своей конструкции струйные аппараты. Расположение блока очистки на внутренней циркуляционной газовой линии позволяет устанавливать соотношение количества газа, поступающего на блок очистки и по линии байпаса непосредственно в биореактор, с помощью регулирующей арматуры. Такой механизм регулирования обеспечивает возможность эксплуатации системы очистки в нескольких режимах работы биореактора, которые характеризуются такими варьируемыми величинами как давление в аппарате, состав кислородсодержащего газа, кратность циркуляции КЖ.

Сравнительный анализ режимов работы биореактора показал, что введение в эксплуатацию блока очистки газов позволяет обеспечить стабильное проведение процесса культивирования в условиях повышения давления в аппарате с 2 бар (изб.) до 4 бар (изб.).

Параметры работы ферментационной системы в двух сравнительных режимах работы приведены в табл. 3.

Как видно из полученных данных, в условиях увеличения протока с 0.27 до 0.30 ч<sup>-1</sup> при реализации режима № 2 в биореакторе была достигнута увеличенная концентрация биомассы, достигающая 15.5 г/л. При этом работа ферментационной установки в режиме удаления углекислого газа позволила увеличить продуктивность системы ферментации (в том числе и за счет увеличения давления в системе) до значения 4.6 г/(л·ч). Таким образом, прирост продуктивности по сравнению с режимом № 1 составил более чем 64%.

Проведение процесса во втором режиме позволило снизить количество подаваемого в процесс кислорода на 18% при увеличении расхода воздуха на 60%. В первом режиме, при обеспечении расхода воздуха в ферментер свыше 400 нл/час, продуктивность не увеличивалась свыше  $2.8~\mathrm{r/(n\cdot q)}$ .

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> ТУ 26.51.53-016-70203816-2021. Описание типа средства измерений. Газоанализаторы многокомпонентные МАГ-6. М.: Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Приказ от 10 августа 2022 г. № 1984. [TU 26.51.53-016-70203816-2021. Description of the measuring instrument type. MAG-6 multicomponent gas analysers. Moscow: Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Order No. 1984 of 10 August 2022.]

Таблица 3. Параметры ферментационной системы для двух режимов работы

**Table 3.** Fermentation system operation parameters for two modes

Параметр Parameter	Режим № 1 Параметры системы без использования системы извлечения углекислого газа (адсорбер) Мode No. 1 System parameters without using a carbon dioxide removal system (adsorber)	Режим № 2 Параметры системы с использованием системы извлечения углекислого газа Мode No. 2 System parameters using a carbon dioxide removal system				
Входные параметры Input parameters						
Давление в ферментере, бар (изб.) Fermenter pressure, barg	2.0	4.0				
Текущий расход воздуха, нл/час Air flow rate, nL/h	250	400				
Текущий расход природного газа (96 об. % метана), нл/час Natural gas flow rate (96 vol % methane), nL/h	250	250				
Текущий расход кислорода (93 об. %), нл/час Oxygen flow rate (93 vol %), nL/h	220	180				
Скорость протока, $\mathbf{q}^{-1}$ Dilution rate, $\mathbf{h}^{-1}$	0.27	0.30				
Выходные параметры Output parameters						
Содержание в газовой фазе кислорода и углекислого газа, об. %  The content of oxygen and carbon dioxide in the gas phase, vol %						
Кислород Oxygen	22.7	23.2				
Углекислый газ Carbon dioxide	3.9	3.2				
Продуктивность, г/(л·ч) Productivity, g/(L·h)	2.8	4.6				
Концентрация биомасс, г/л Biomass concentration, g/L	10.4	15.5				
Содержание растворенного кислорода, мг/л Dissolved oxygen content, mg/L	1.2	6.6				

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Предложенная конструкция ферментационной установки с расположением блока очистки от углекислого газа на внутренней циркуляционной газовой линии позволяет проводить процесс культивирования метанокисляющих бактерий при увеличении давлении в биореакторе без дополнительных энергозатрат на осуществление возврата очищенного газа в систему. Наиболее перспективным с точки зрения увеличения растворимости газовых компонентов питания (метана

и кислорода) является исследование влияния увеличения давления в ферментере на продуктивность процесса. Данный подход позволит также оптимизировать расходные показатели для газовых компонентов питания и обеспечить стабильное проведение процесса получения белка из природного газа.

Повышение продуктивности биореактора, одного из наиболее важных параметров системы, более чем на 64% указывает на необходимость подбора и применения технологических процессов, которые позволили бы эффективно производить очистку газовой

фазы от углекислого газа. В качестве перспективных процессов, которые могут быть использованы в блоке очистки, можно отметить использование мембран для селективного газоразделения, а также абсорбционную очистку растворами аминов.

### Вклад авторов

- **В.М. Кочетков** концептуализация идеи, конструкционные разработки, научное редактирование, формулировка выводов.
- **И.С. Гаганов** конструкционные разработки, написание статьи, оформление библиографии.
- **Д.В. Толкин** планирование и проведение экспериментальной работы.
- **В.В. Кочетков** проведение экспериментальной работы, техническое редактирование, подготовка иллюстративных материалов.

**П.А. Нюньков** — систематизация публикаций, критический анализ.

### Authors' contributions

- **V.M.** Kochetkov research concept, developing the design, scientific editing, formulating the conclusions.
- **I.S. Gaganov** structural designs, writing the paper, designing the bibliography.
- **D.V. Tolkin** planning and conducting the experimental work.
- **V.V. Kochetkov** conducting the experimental work, technical editing, preparing the illustrative materials.
- **P.A.** Nynkov systematization of publications, critical analysis.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. The authors declare no conflicts of interest.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Ошкин И.Ю., Белова С.Э., Хохлачев Н.С., Семенова В.А., Червякова О.П., Чернушкин Д.В., Тихонова Е.Н., Марданов А.В., Равин Н.В., Попов В.О., Пименов Н.В., Дедыш С.Н. Молекулярный анализ состава микробного сообщества, формирующегося при непрерывном культивировании *Methylococcus* sp. concept-8 на природном газе. *Микробиология*. 2020;89(5):556–565. https://doi.org/10.31857/S0026365620050171
- 2. Червинская А.С., Воропаев В.С., Шмаков Е.А., Мартынов Д.В., Бондаренко П.Ю., Бочков М.А., Портнов С.А., Новиков С.Н. *Ферментер и ферментационная установка для непрерывного культивирования микроорганизмов*: пат. RU 2728193 РФ. Заявка № 2019118203; заявл. 11.06.2019; опубл. 28.07.2020.
- 3. Листов Е.Л., Небойша Я. *Аппарат для выращивания микроорганизмов в крупнотоннажном производстве*: пат. RU 2769504 РФ. Заявка № 2021112069; заявл. 27.04.2021; опубл. 01.04.2022.
- Кочетков В.М., Гаганов И.С., Кочетков В.В., Нюньков П.А. Технологическое и аппаратурное оформление ферментационного узла процесса получения биопротеина из природного газа. Тонкие химические технологии. 2023;18(3): 230–242. https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-3-230-242
- Coyne F.P. The effect of carbon dioxide on bacterial growth. Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. 1933;113(782):196–217. https://doi.org/10.1098/rspb.1933.0041
- Dixon N.M., Kell D.B. The inhibition by CO<sub>2</sub> of the same inhibition rate of growth and metabolism of microorganisms.
   J. Appl. Bacteriol. 1989;67(2):109–136. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb03387.x
- 7. Devlieghere F., Debevere J., Van Impe J. Concentration of carbon dioxide in the water phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 1998;43(1–2):105–113. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00101-9
- 8. Ho Ch.S., Smith M.D., Shanahan J.F. Carbon Dioxide Transfer in Biochemical Reactors. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 1987;35:84–124. https://doi.org/10.1007/bfb0004427
- 9. Шмушкин А.А., Лалов В.В., Григорян А.Н. *Способ выращивания микроорганизмов*: пат. 811846 СССР. Заявка № 2805913; заявл. 27.07.1979; опубл. 07.08.1983.

### **REFERENCES**

- Oshkin I.Y., Belova S.E., Khokhlachev N.S., et al. Molecular Analysis of the Microbial Community Developing in Continuous Culture of Methylococcus sp. Concept-8 on Natural Gas. Microbiology. 2020;89(5):551–559. https://doi. org/10.1134/S0026261720050173
  - [Original Russian Text: Oshkin I.Yu., Belova S.E., Khokhlachev N.S., Semenova V.A., Chervyakova O.P., Chernushkin D.V., Tikhonova E.N., Mardanov A.V., Ravin N.V., Popov V.O., Pimenov N.V., Dedysh S.N. Molecular Analysis of the Microbial Community Developing in Continuous Culture of *Methylococcus* sp. Concept-8 on Natural Gas. *Mikrobiologiya*. 2020;89(5):556–565 (in Russ.). https://doi.org/10.31857/S0026365620050171]
- Chervinskaya A.S, Voropaev V.S., Shmakov E.A., Martynov D.V., Bondarenko P.Y., Bochkov M.A., Portnov S.A., Novikov S.N. Fermenter and Fermentation Unit for Continuous Cultivation of Microorganisms. RF Pat. RU 2728193. Publ. 28.07.2020 (in Russ.).
- Listov E.L., Neboisha Ya. Apparatus for Growing Microorganisms in Large-Tonnage Production: RF Pat. RU 2769504. Publ. 01.04.2022 (in Russ.).
- 4. Kochetkov V.M., Gaganov I.S., Kochetkov V.V., Nyunkov P.A. Technology and implementation of the fermentative unit for bioprotein production from natural gas. *Tonk. Khim. Tekhnol. = Fine Chem. Technol.* 2023;18(3):230–242. https://doi.org/10.32362/2410-6593-2023-18-3-230-242
- 5. Coyne F.P. The effect of carbon dioxide on bacterial growth. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B.* 1933;113(782):196–217. https://doi.org/10.1098/rspb.1933.0041
- Dixon N.M., Kell D.B. The inhibition by CO<sub>2</sub> of the same inhibition rate of growth and metabolism of microorganisms.
   J. Appl. Bacteriol. 1989;67(2):109–136. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb03387.x
- 7. Devlieghere F., Debevere J., Van Impe J. Concentration of carbon dioxide in the water phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. *Int. J. Food Microbiol.* 1998;43(1–2):105–113. https://doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00101-9
- Ho Ch.S., Smith M.D., Shanahan J.F. Carbon Dioxide Transfer in Biochemical Reactors. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol*. 1987;35:84–124. https://doi.org/10.1007/bfb0004427

- Гаганов И.С., Кочетков В.М., Нюньков П.А., Кочетков В.В. Ферментационная установка для культивирования метанокисляющих бактерий: пат. 045062 ЕП. Заявка № 202390480; заявл. 28.02.2023; опубл. 27.10.2023.
- Siriwardane R.V., Shen M.S., Fisher E.P. Adsorption of CO<sub>2</sub> on Zeolites at Moderate Temperatures. *Energy & Fuels*. 2005;19(3):1153–1159. http://doi.org/10.1021/ef040059h
- Shi Y., Liu Q., He Y. CO<sub>2</sub> Capture Using Solid Sorbents.
   In: Chen W.Y., Suzuki T., Lackner M. (Eds.). Handbook of Climate Change Mitigation and Adaptation. Springer; 2016.
   P. 2349–2404. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14409-2\_83
- Na B.K., Koo K.K., Eum H.M., Lee H., Song H.K. CO<sub>2</sub> Recovery from Flue Gas by PSA Process using Activated Carbon. *Korean J. Chem. Eng.* 2001;18(2):220–227. http://doi.org/10.1007/BF02698463
- Wu S.F., Beum T.H., Yang J.I., Kim J.N. Properties of Ca-Base CO<sub>2</sub> Sorbent Using Ca(OH)<sub>2</sub> as Precursor. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2007;46(24):7896–7899. http://doi.org/10.1021/ie070135e
- 15. Murray J.M., Renfrew C.W., McCrystal C.B., Jones D.S., Fee H. A New Carbon Dioxide Absorbent for Use in anesthetic breathing systems. *Anesthesiology*. 1999;91(5):1342–1348. https://doi.org/10.1097/00000542-199911000-00026
- Struys M.M.R.F., Bouche M.P.L.A., Rolly G., Vandevivere Y.D.I., Dyzers D., Goeteyn W., Versichelen L.F.M., Van Bocxlaer J.F.P., Mortier E.P. Production of compound A and carbon monoxide in circle systems: an *in vitro* comparison of two carbon dioxide absorbents. *Anaesthesia*. 2004;59(6):584–589. https:// doi.org/10.1111/j.1365-2044.2004.03704.x
- 17. Kobayashi S., Bito H., Morita K., Katoh T., Sato S. Amsorb Plus and Drägersorb Free, two new-generation carbon dioxide absorbents that produce a low compound A concentration while providing sufficient CO<sub>2</sub> absorption capacity in simulated sevoflurane anesthesia. *J. Anesth.* 2004;18(4):277–281. https:// doi.org/10.1007/s00540-004-0253-5

- Shmushkin A.A., Lalov V.V., Grigoryan A.N. Method for Culturing Microorganisms: USSR Pat. 811846. Publ. 07.08.1983 (in Russ.).
- Gaganov I.S., Kochetkov V.M., Nyunkov P.A., Kochetkov V.V. Fermentation Plant for Cultivation of Methane-Oxidizing Bacteria: EP Pat. 045062. Publ. 27.10.2023.
- Siriwardane R.V., Shen M.S., Fisher E.P. Adsorption of CO<sub>2</sub> on Zeolites at Moderate Temperatures. *Energy & Fuels*. 2005;19(3):1153–1159. http://doi.org/10.1021/ef040059h
- Shi Y., Liu Q., He Y. CO<sub>2</sub> Capture Using Solid Sorbents.
   In: Chen W.Y., Suzuki T., Lackner M. (Eds.). *Handbook of Climate Change Mitigation and Adaptation*. Springer; 2016.
   P. 2349–2404. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14409-2 83
- Na B.K., Koo K.K., Eum H.M., Lee H., Song H.K. CO<sub>2</sub> Recovery from Flue Gas by PSA Process using Activated Carbon. *Korean J. Chem. Eng.* 2001;18(2):220–227. http:// doi.org/10.1007/BF02698463
- Wu S.F., Beum T.H., Yang J.I., Kim J.N. Properties of Ca-Base CO<sub>2</sub> Sorbent Using Ca(OH)<sub>2</sub> as Precursor. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2007;46(24):7896–7899. http://doi.org/10.1021/ie070135e
- Murray J.M., Renfrew C.W., McCrystal C.B., Jones D.S., Fee H. A New Carbon Dioxide Absorbent for Use in anesthetic breathing systems. *Anesthesiology*. 1999;91(5):1342–1348. https://doi.org/10.1097/00000542-199911000-00026
- Struys M.M.R.F., Bouche M.P.L.A., Rolly G., Vandevivere Y.D.I., Dyzers D., Goeteyn W., Versichelen L.F.M., Van Bocxlaer J.F.P., Mortier E.P. Production of compound A and carbon monoxide in circle systems: an *in vitro* comparison of two carbon dioxide absorbents. *Anaesthesia*. 2004;59(6):584–589. https:// doi.org/10.1111/j.1365-2044.2004.03704.x
- 17. Kobayashi S., Bito H., Morita K., Katoh T., Sato S. Amsorb Plus and Drägersorb Free, two new-generation carbon dioxide absorbents that produce a low compound A concentration while providing sufficient CO<sub>2</sub> absorption capacity in simulated sevoflurane anesthesia. *J. Anesth.* 2004;18(4):277–281. https://doi.org/10.1007/s00540-004-0253-5

### Об авторах

**Кочетков Владимир Михайлович,** начальник технологического отдела, ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ» (123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, д. 10). E-mail: kwm@bk.ru. Scopus Author ID 58535713700, https://orcid.org/0000-0003-1194-9732

**Гаганов Иван Сергеевич,** ведущий инженер-технолог, ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ» (123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, д. 10). E-mail: ivan.gaganov@yandex.ru. Scopus Author ID 57224575918, https://orcid.org/0000-0003-4837-2332

**Толкин Дмитрий Владимирович,** ведущий инженер, ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ» (123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, д. 10). E-mail: tolkin.d@gibios.ru. https://orcid.org/0009-0002-4415-6683

**Кочетков Владимир Владимирович,** техник-технолог, ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ» (123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, д. 10). E-mail: vvkochetkov@bk.ru. Scopus Author ID 59376710800, https://orcid.org/0000-0002-1570-5893

**Нюньков Павел Андреевич**, генеральный директор ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ» (123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, д. 10). E-mail: nyunkov.P@gibios.ru. Scopus Author ID 58536061400, https://orcid.org/0000-0002-1232-7460

### About the authors

**Vladimir M. Kochetkov**, Head of the Technological Department, GIPROBIOSINTEZ (10, Testovskaya ul., Moscow, 123112, Russia). E-mail: kwm@bk.ru. Scopus Author ID 58535713700, https://orcid.org/0000-0003-1194-9732

Ivan S. Gaganov, Leading Engineer-Technologist, GIPROBIOSINTEZ (10, Testovskaya ul., Moscow, 123112, Russia). E-mail: ivan.gaganov@yandex.ru. Scopus Author ID 57224575918, https://orcid.org/0000-0003-4837-2332

**Dmitry V. Tolkin,** Leading Engineer, GIPROBIOSINTEZ (10, Testovskaya ul., Moscow, 123112, Russia). E-mail: tolkin.d@gibios.ru. https://orcid.org/0009-0002-4415-6683

**Vladimir V. Kochetkov,** Technician-Technologist, GIPROBIOSINTEZ (10, Testovskaya ul., Moscow, 123112, Russia). E-mail: vvkochetkov@bk.ru. Scopus Author ID 59376710800, https://orcid.org/0000-0002-1570-5893

Pavel A. Nynkov, General Manager, GIPROBIOSINTEZ (10, Testovskaya ul., Moscow, 123112, Russia). E-mail: nyunkov.P@gibios.ru. Scopus Author ID 58536061400, https://orcid.org/0000-0002-1232-7460