

УДК 579.66+663.18

РАЗРАБОТКА И ВНЕДРЕНИЕ СИСТЕМЫ ФЕРМЕНТАЦИИ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МЕТАНОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ

© 2024 г. В. М. Кочетков^{а, *}, И. С. Гаганов^а, В. В. Кочетков^а, П. А. Нюньков^а

^аООО “ГИПРОБИОСИНТЕЗ”, Москва, Россия

^{*}*e-mail: kwm@bk.ru*

Поступила в редакцию 19.02.2024 г.

После доработки 22.06.2024 г.

Принята к публикации 30.06.2024 г.

На основе теоретических исследований и лабораторных испытаний была разработана оригинальная конструкция биореактора струйного типа, предназначенного для выращивания метанооксиляющих бактерий. Проведена серия испытаний, показавших эффективность установки, обеспечивающей достижение требуемых значений продуктивности процесса культивирования при обозначенных удельных энергозатратах на производство биомассы. Приведены основные параметры работы ферментационного оборудования, такие как температура, давление, составы компонентов газового питания, pH и скорость протока в аппарате, и освещены вопросы, связанные с ограничениями допустимых величин указанных параметров, в частности влияние давления и состава кислородосодержащего газа на протекание процесса культивирования. Подтверждена эффективность использования специальных конструктивных элементов, разработанных для обеспечения в биореакторе гидродинамического режима, при котором достигаются необходимые условия для роста культуры.

Ключевые слова: конструкция биореактора, ферментация, биомасса, *Methylococcus capsulatus*, метанооксиляющие бактерии

DOI: 10.31857/S0040357124040071 **EDN:** AWATYK

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос выбора конструкции биореактора для культивирования микроорганизмов является одним из наиболее значимых и сложных в промышленной биотехнологии. Крайне важным этапом, оказывающим существенное влияние на выбор подхода к разработке ферментационного оборудования, является переход от лабораторных ферментеров и их вспомогательного оборудования к промышленным биореакторам со сложной технологической обвязкой. В литературе [1, 2] приводятся классификации биореакторов, которые сгруппированы и структурированы как в общем виде — по модели структуры потоков (близкие к идеальному смешению и идеальному вытеснению), по принципу работы (периодически и непрерывно), по подходу к организации условий стерильности (стерильные и нестерильные), так и более конкретно — по конструктивным признакам. Однако более универсальным является подход к классификации по способу ввода энергии: аппараты с подводом энергии с газовой фазой (барботажные, газлифтные), аппараты с подводом энергии с жидкой фазой (струйные, с са-

мовсасывающей мешалкой) и аппараты с комбинированным подводом энергии [3].

При разработке ферментационного оборудования, предназначенного для культивирования метанооксиляющих бактерий, следует учитывать особенности данного процесса, которые оказывают существенное влияние на конструкцию биореактора. Так, вопросы, связанные с основными техническими решениями, применяемыми при разработке биореакторов, предназначенных для получения белка из природного газа с учетом обозначенной специфики процесса, приведены в работе [4].

Для более четкого понимания необходимости использования специальных технических и конструктивных решений при разработке реакторного узла технологии получения белков из природного газа следует рассмотреть одну из наиболее распространенных конструкций биореактора — классический аппарат с механическим перемешиванием, который, несмотря на очевидное преимущество, выражающееся в наличии единой зоны во всем реакционном объеме, имеет ряд недостатков: невозможность возврата в реакционный объем и повторного

использования природного газа и кислорода из газовой фазы аппарата без дополнительных технических приспособлений, обеспечение необходимого массообмена с помощью перемешивающего устройства при масштабировании системы свыше 1 м^3 за счет градиента концентрации и сложной конструкции мешалки с частотой вращения не менее 1000 об/мин.

Важно отметить, что особенности подхода к выбору конструкции биореактора, в котором в качестве продуцента используются метанокисляющие микроорганизмы, обусловлены исторически сложившейся концепцией, возникшей, очевидно, из различных подходов инженерных школ. В зарубежной промышленной биотехнологии используются модели петлевых биореакторов, близкие по структуре потока к модели реактора вытеснения [5, 6]. Петлевые ферментеры (U-loop Reactor), несмотря на некоторые очевидные достоинства, выраженные в простоте конструкции и наличии отдельной секции для газоотделения [7, 8], обладают рядом существенных недостатков. В первую очередь следует отметить необходимость подачи газового питания в нескольких точках активной зоны ферментера, наличие сложной и дорогостоящей автоматизированной системы поддержания всех параметров системы (рН среды, содержание природного и кислородсодержащего газов, а также элементного состава культуральной жидкости) на всей протяженности петлевой части реактора [9]. Кроме того, для обеспечения диспергирования вводимых в биореактор газов в жидкой фазе в петлевой части аппарата устанавливаются внутренние элементы — статические смесители [10], которые, несмотря на высокие скорости истечения, являются поверхностями, склонными к биообрастанию.

В советской инженерной школе широкое распространение получили ферментеры, оснащенные разнообразными эжекционными устройствами и близкие по структуре потока к аппаратам смешения [11, 12]. Традиционно данный подход к конструированию применяется и в российском инжиниринге. Биореакторы, в которых в качестве основного специального устройства используется эжектор или схожие по принципу работы сопловые устройства, обладают основной отличительной особенностью по сравнению с петлевым аппаратом и ферментером, оснащенным механическим перемешивающим устройством, — возможностью осуществления газового рецикла без использования дополнительных технических устройств для сжатия газа. Стоит также отметить возможность сокращения

количества точек контроля основных технологических параметров процесса, а также снижение требований к уровню автоматизации процесса в силу того, что в ферментерах, близких по структуре потока к модели идеального смешения, существенно снижается количество зон, в которых наблюдается тенденция к локальным изменениям условий культивирования. Однако при этом возникают трудности в разработке биореактора, имеющего в своем составе струйный аппарат, выражаемые в повышенном содержании газов в культуральной жидкости, поступающей в насосное оборудование, что существенно снижает его рабочие характеристики.

Таким образом, обобщая все вышесказанное, следует отметить необходимость разработки и внедрения ферментационного оборудования, которое с учетом особенностей культивирования метанотрофов позволяет за счет специальных конструктивных особенностей и оригинальных технических решений применять его для промышленных объектов в многотоннажных микробиологических производствах с перспективой достижения мощности свыше 100 тыс. т в год.

В настоящей статье предложены новые конструктивные решения, позволяющие создать в биореакторе гидродинамический режим работы, при котором обеспечивается стабильный рост метанокисляющих микроорганизмов, разработан новый аппарат, возможность масштабирования которого и его работоспособность экспериментально подтверждены в результате серии проведенных испытаний.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Схема и описание ферментационной установки.

Схема ферментационной установки с биореактором, используемая для культивирования метанокисляющих бактерий, приведена на рис. 1.

В нижнюю часть биореактора рабочим объемом 3 м^3 (рис. 1 (I)) подается природный газ, а также смесь кислорода с воздухом. Соотношение подаваемого кислорода и воздуха выбирается исходя из требуемых параметров поддержания процесса на каждой стадии запуска и выведения установки на режим. Культуральная жидкость из нижней части реактора насосным оборудованием (рис. 1 (4а, б)) подается в эжектор (рис. 1 (2а, б)), где происходит ее смешение с отбираемой из верхней части реактора газовой фазы, формируемой в процессе роста бактерий. Таким образом происходит постоянное перемешивание газа и жидкости в двух циркуляционных конту-

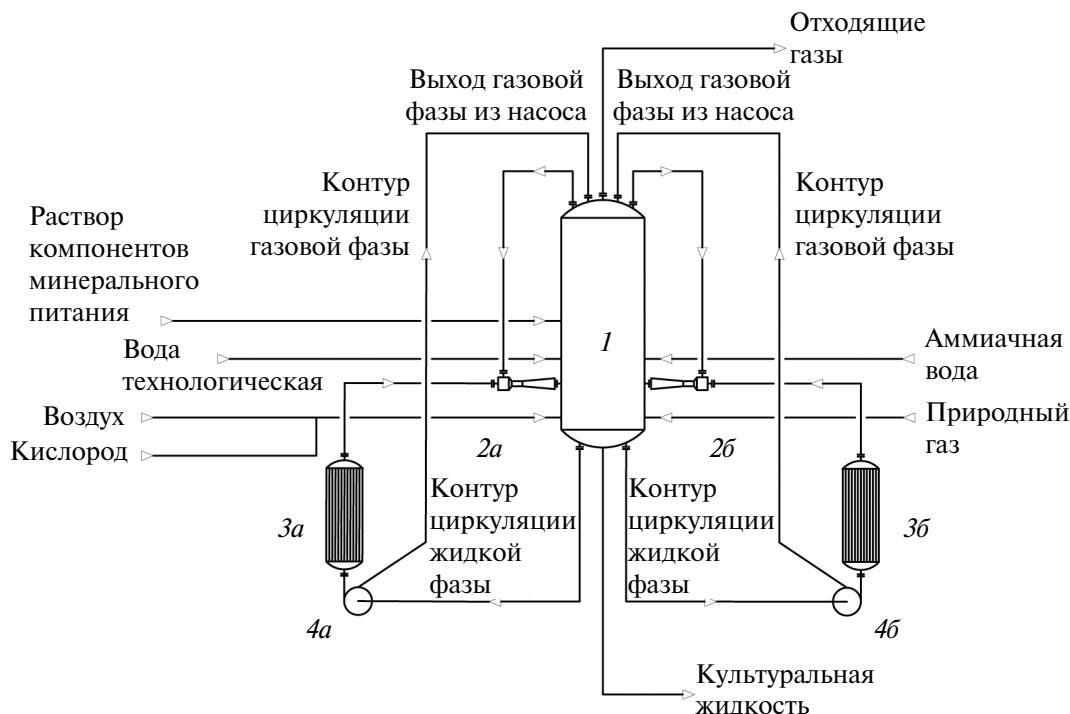


Рис. 1. Схема ферментационной установки: 1 – биореактор; 2а, б – эжектор; 3а, б – теплообменник; 4а, б – насос центробежный.

рах. В состав газовой фазы входит метан, его гомологи фракции C_1 – C_4 , а также кислород, азот и углекислый газ. Процесс проводится при температуре 42°C , которая поддерживается с помощью теплообменников (рис. 1, (3а, б)), обеспечивающих съем тепла, выделяющегося при росте микроорганизмов. В биореактор подается также раствор компонентов минерального питания, необходимый для роста культуры. Постоянство рН среды (культуральной жидкости) поддерживается в реакторе посредством подачи аммиачной воды. В реакторе сформировано постоянное избыточное давление 2 бара для увеличения растворимости газа в жидкости; вывод последнего осуществляется из верхней части аппарата, где формируется газовое пространство. Поддержание постоянного протока в ферментере обеспечивается за счет подачи в него технологической воды, аммиачной воды, раствора компонентов минерального питания и вывода культуральной жидкости из нижней части биореактора.

Далее следует рассмотреть более подробно применяемые в самом биореакторе внешние и внутренние конструкционные решения, связанные с указанными ранее особенностями технологического процесса.

Учитывая, что эффективность процесса биосинтеза и его продуктивность (P) определяются не кинетическими характеристиками культу-

ры, а диффузионными процессами, и тот факт, что лимитирующим фактором является процесс массопереноса в системе газ–жидкость [13], все основные конструкционные решения, применяемые при разработке биореактора направлены в первую очередь на создание в нем стабильного гидродинамического режима. В биореакторе, разработанном ООО “ГИПРОБИОСИНТЕЗ” [14], проблема, связанная с необходимостью насыщения жидкой фазы растворенным кислородосодержащим газом и метаном без потери напора циркуляционного насоса культуральной жидкости, решена с помощью применения специального внутреннего элемента конструкции – переливного устройства, изображенного на рис. 2.

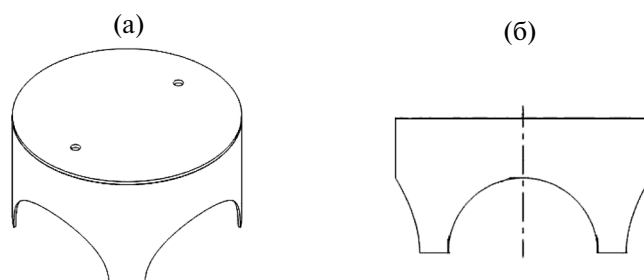


Рис. 2. Переливное устройство, устанавливаемое в биореакторе: (а) изометрический вид, (б) вид сбоку.

Переливное устройство представляет собой перевернутый стакан заданной высоты, с глухим дном. На обечайке переливного устройства в зоне контакта с днищем корпуса ферментера выполнены симметрично расположенные полукруглые вырезы, равные по сечению отверстию выхода культуральной жидкости на циркуляцию. Установка данного конструкционного элемента не только препятствует воронкообразованию в биореакторе, что значительно снижает насыщение пузырьками газа выходящей из него культуральной жидкости, но и позволяет исключить прорыв ядра воронки в сливное отверстие циркуляционного контура и, как следствие, срыв работы насосного оборудования [15].

Для достижения максимального эффекта по сохранению напорных характеристик насосного оборудования на входе в струйный эжектор были использованы мультифазные насосы специальной конструкции с газоотделением. Возможность отделения, отведения и возврата газовой фазы через специальные патрубки из рабочей части насоса в биореактор может быть реализована, в частности, при работе аппарата с использованием в качестве кислородосодержащего газа не смеси, а чистого воздуха. В таком случае количество газовой фазы, диспергированной в виде пузырьков в жидкости в ферментере, значительно увеличивается и, соответственно, возрастает степень ее проникновения во всасывающую линию циркуляционных насосов.

Требуемый режим работы биореактора обеспечивается также с помощью выбора направления движения газожидкостного потока в точке ввода его в биореактор. Ввод в ферментер газожидкостной смеси, выходящей из эжектора, осуществляется под углом к горизонтالي, в нижнюю часть обечайки аппарата (рис. 3а). Данная конструкция позволяет обеспечить необходимое время пребывания равномерно распределенного в культуральной жидкости газа, уменьшить его количество на входе в контур циркуляции, а впоследствии в насос и эжектор.

Симметричный однонаправленный ввод в биореактор насыщенной газом культуральной жидкости от двух эжекторов обеспечивает дополнительное смешение потоков смеси газа и жидкости, поступающих из циркуляционных контуров аппарата (рис. 3б).

Выбор конструкционных материалов. Важным вопросом на начальном этапе разработки конструкции биореактора является подбор материалов как основных его элементов, так и уплотнительных соединений с учетом необходимости

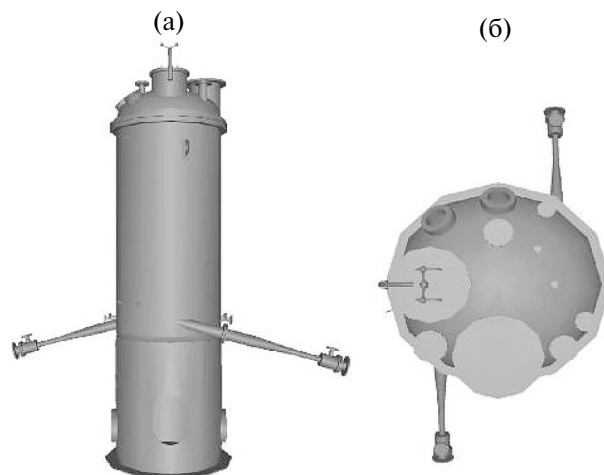


Рис. 3. Биореактор и эжекторы. Вид сбоку (а), вид сверху (б).

не только проведения в нем процесса культивирования, но и последующих вспомогательных операций, таких как температурная (до 130°C) и химическая стерилизация. Одним из наиболее предпочтительных материалов, который удовлетворяет требованиям, предъявляемым к оборудованию для проведения ферментационных процессов, является хромоникелевая нержавеющая сталь 12Х18Н10Т [2]. При более подробном рассмотрении варианта использования хромоникелевых сталей, классифицируемых как стали высокой коррозионной стойкости к агрессивным средам, следует отметить возможность использования разных типов нержавеющей сталей, широко распространенных для аппаратуры и машиностроения. Однако при рассмотрении хромоникелевых сталей следует учитывать их предрасположенность к коррозии, вызванной использованием растворов, содержащих ионы хлора и сильных окислителей [16]. Таким образом, в качестве конструкционного материала для основных элементов разрабатываемого биореактора была принята легко поддающаяся механической обработке коррозионностойкая сталь марки 12Х18Н10Т (ближайший аналог — марка 321 по стандарту AISI).

В качестве уплотнительного материала предложено использование фторопласта марки Ф-4, обладающей хорошей химической стойкостью, устойчивостью к высоким температурам и низкой адгезионной способностью к любым поверхностям [17]. При уплотнении отдельных узлов ферментационной системы, в которых сам уплотнительный материал подвергается значительной деформации, предпочтительно использование термостойкой силиконовой резины, об-

ладающей рядом полезных свойств, таких как прочность на разрыв и растяжение.

Испытания и выбор режима работы биореактора. Оценка результатов испытаний пилотного биореактора в процессе работы была произведена по двум параметрам: по величине продуктивности процесса (P), протекающего в аппарате, определяемой как количество произведенной биомассы к единице рабочего объема аппарата (G) и величине удельных энергозатрат (N), которая характеризует количество энергии, затраченной на количество произведенной биомассы.

При выборе основных технологических параметров процесса следует более подробно остановиться на фактическом давлении процесса в биореакторе. С одной стороны, увеличение давления в ферментере увеличивает растворимость компонентов газового питания — метана и кислорода, с другой стороны, в культуральной жидкости происходит растворение углекислого газа, синтезируемого в процессе роста микроорганизмов. В работе [18] исследовалось влияние углекислого газа на параметры роста метаноокисляющих бактерий, т.е. определялось парциальное давление углекислоты в газовой фазе реактора, при котором происходит ингибирование культуры. Фактически было установлено, что ингибирующий эффект был связан с воздействием растворенной углекислоты. Исходя из представленных данных в биореакторе выбрано давление 2 бар (изб.), исключающее негативное влияние растворенного углекислого газа и срыв работы реактора при достижении его ингибирующих количеств в культуральной жидкости.

Вопрос о снижении степени влияния углекислого газа с учетом возможности повышения давления в биореакторе требует более подробного рассмотрения в дальнейших исследованиях. Однако некоторые подходы к решению данной проблемы освещены в публикациях [19, 20]. Помимо предложенных решений по организации процесса ферментации с учетом снижения растворенного углекислого газа, в работе [20] указано, что конструктивные решения, которые позволяют создать в биореакторе зону остаточного давления, как наиболее простой способ удаления углекислого газа, не являются эффективными.

При проведении испытаний были выбраны три основных режима работы ферментационной системы, при которых варьировались соотношения кислорода и азота в подаваемом в биореактор кислородсодержащем газе. Каждый режим был апробирован при новом запуске аппарата, который проводился после окончания предыдущего испытания. В процессе каждого испы-

тания ферментер выводился на стационарный режим работы, при котором в биореакторе обеспечивалась постоянная скорость потока (D). Основные технологические параметры, которые оставались постоянными в каждом из режимов биореактора, приведены в табл. 1.

Таблица 1. Основные технологические параметры работы биореактора в каждом из трех режимов испытаний (параметры идентичны для трех режимов)

Контролируемый параметр	Величина
p , бар (изб.)	2
T , °C	42
$pH_{\text{кж}}$	5.6–5.8
V_p , м ³	2.5
D , ч ⁻¹	0.25–0.28

В первом режиме работы была использована смесь кислорода с воздухом, формирующая при подаче в ферментер следующий состав: кислород — 48.5% об., азот и инертные газы — 51.5% об.). Использование кислородосодержащего газа с меньшим содержанием кислорода, включающего в состав азот, обуславливается рядом причин. Во-первых, применение воздуха для создания смеси позволяет оптимизировать затраты на выработку чистого кислорода, во-вторых, наличие в биореакторе азота значительно влияет на соотношение парциальных давлений компонентов в газовой фазе биореактора, в том числе и на упомянутый ранее углекислый газ, что позволяет минимизировать его содержание в растворенной форме в культуральной жидкости.

Величина максимальной продуктивности процесса (P_{max}) определена из фактически получаемых в реакторе параметров: концентрации сухих веществ в выходящей из биореактора культуральной жидкости и величины потока в аппарате. Значения продуктивности (P) и удельных затрат (N) в первом режиме получены при работе циркуляционных насосов, обеспечивающих кратность циркуляции в реакторе (k) 80 ч⁻¹. Период непрерывной работы биореактора в процессе проведения испытаний составил для первого режима 638 ч. Параметры процесса, при которых было достигнуто максимальное значение продуктивности процесса, также приведены в табл. 2.

Во втором режиме работы в качестве источника газового питания был использован получаемый на мобильной кислородной станции продукционный газ с концентрацией кислорода в 93% об. Период непрерывной работы биореак-

тора в процессе проведения испытаний составил для первого режима 540 ч. Кратность циркуляции (k) в реакторе во втором режиме работы составила 104 ч⁻¹. Параметры процесса, при которых было достигнуто максимальное значение продуктивности процесса, приведены в табл. 2.

В третьем режиме работы в качестве источника газового питания была использована смесь кислорода с воздухом в количествах, формирующих при подаче в ферментера следующий состав кислородосодержащего газа: кислород – 33% об., азот и инерты – 67% об. Кратность циркуляции (k) в реакторе во втором режиме работы составила 104 ч⁻¹. Период непрерывной работы биореактора в процессе проведения испытаний составил для второго режима 740 ч. Параметры процесса, при которых было достигнуто максимальное значение продуктивности процесса, приведены в табл. 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные испытания биореактора с рабочим объемом 3 м³ показали результаты, которые позволяют сделать следующие выводы.

Использование специальных переливных устройств в реакторе близком по структуре потока к аппаратам смешения, позволяет исключить в нем воронкообразование, которое возникает при тангенциальном вводе газожидкостной смеси от двух симметрично расположенных эжекторов, что в конечном итоге минимизирует попадание газовой фазы во всасывающую линию циркуляционных насосов, а также исключает возможные гидроудары, возникающие из-за нестабильной работы насосного оборудования.

Использование насосов с функцией газоотделения позволяет обеспечить стабильный режим работы эжектора за счет минимизации газовой фазы в рабочем потоке культуральной жидкости, поступающем в него. Особенно актуальной данная функция становится при работе на смесях кислорода и воздуха, поскольку в этом слу-

чае количество газовой фазы, распределяемой в культуральной жидкости по всему рабочему объему, существенно увеличивается.

Максимально достигнутая продуктивность (P) составила 3.4 кг/м³·час. Данное значение получено при обеспечении кратности циркуляции в биореакторе (N) не менее 100 ч⁻¹, в условиях ограничения по максимальному давлению (2 бар (изб.)), устанавливаемому в ферментере.

Для продолжения оптимизации полученных результатов требуются дополнительные исследования с применением технических средств и конструкционных решений, которые позволили бы увеличивать давление в биореакторе с учетом влияния углекислого газа на скорость роста культуры. Данный вопрос следует рассмотреть с позиции полученных высоких удельных затрат энергии (N) на производство одного килограмма абсолютно сухого вещества, составивших 8.9 кВт на 1 кг полученной биомассы, поскольку с повышением давления происходит увеличение растворимости в культуральной жидкости основных компонентов газового питания: кислорода и метана.

При работе оборудования на давлении, не превышающем 2 бар (изб.), определено оптимальное соотношение азота и кислорода в кислородосодержащем газе, подаваемом в биореактор. Для достижения указанных параметров продуктивности процесса содержание кислорода в смеси должно составлять не менее 30% об.

ОБОЗНАЧЕНИЯ

АСВ	абсолютно сухое вещество
D	скорость потока в аппарате
F_{CH_4}	объемный расход метана
F_{O_2}	объемный расход кислорода
G	количество произведенной биомассы к единице рабочего объема реактора
k	кратность циркуляции
N	удельные энергозатраты на производство 1 кг АСВ

Таблица 2. Показатели процесса при достижении максимальной продуктивности процесса P_{max} в разных режимах работы биореактора

Показатели процесса	Режим работы 1	Режим работы 2	Режим работы 3
χ_i	48.5% об. – O ₂ , 51.5% об. – N ₂ , инерты	93% об. – O ₂ , 7% об. – N ₂ , инерты	33% об. – O ₂ , 67% об. – N ₂ , инерты
F_{CH_4}/F_{O_2}	1/1	1,4/1	1/1
P_{max} , кг/м ³ ·час	2.4	3.2	3.4
k , ч ⁻¹	80	104	104
N , кВт·ч/кг биомассы	9.1	9.5	8.9

P	давление в аппарате
pH	водородный показатель
P	продуктивность
T	температура в реакторе
V_p	рабочий объем аппарата
χ	состав газа

ИНДЕКСЫ

i	компонент
кж	культуральная жидкость
max	максимальный

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бортников И.И., Босенко А.М. Машины и аппараты микробиологических производств. Минск: Выш. школа, 1982.
2. Елинов Н.П. Основы биотехнологии. СПб.: Наука, 1995.
3. Винаров А.Ю., Гордеев Л.С., Кухаренко А.А., Панфилов В.И. Ферментационные аппараты для процессов микробиологического синтеза. М.: ДеЛи принт, 2005.
4. Кочетков В.М., Гаганов И.С., Кочетков В.В., Нюньков П.А. Технологическое и аппаратное оформление ферментационного узла процесса получения биопотеина из природного газа // Тонкие химические технологии. 2023. Т. 18. № 3. С. 230.
5. Prado-Rubio O.A., Jørgensen J.B., Jørgensen S.B. Systematic Model Analysis for Single Cell Protein (SCP) Production in a U-Loop Reactor // Proceedings of 20th European Symposium on Computer Aided Process Engineering. Naples. Italy, 2010. P. 319.
6. Wu M., Huusom J.K., Gernaey K.V., Krühne U. Modelling and simulation of a U-loop Reactor for Single Cell Protein Production // 26th European Symposium on Computer Aided Process Engineering. Portoroz. Slovenia, 2016. P. 1287.
7. Jørgensen L. Method and apparatus for performing a fermentation. Pat. 0418187. EU. 1991.
8. Nguyen L.T., Johannessen A., Aylen G.I., Silverman J.A. Gas-fed fermentation reactors, systems and processes. Pat. 10538730-B2 US. 2020.
9. Petersen L.A.H., Villadsen J., Jørgensen S.B., Gernaey K.V. Mixing and mass transfer in a pilot scale U-loop bioreactor // Biotechnol. Bioeng. 2017. V. 114. № 2. P. 344.
10. Olsen D.F., Jørgensen J.B., Villadsen J., Jørgensen S.B. Modeling and simulation of single cell protein production // Proceedings of 11th International Symposium on Computer Applications in Biotechnology. Leuven. Belgium, 2010. P. 502.
11. Найдин А.В., Миркин М.Г., Симонян С.Ю., Щербаков В.И. Устройство для выращивания микроорганизмов. Пат. 2741346. РФ. 2021.
12. Абатуров К.В., Небойша Я. Реактор для аэробного биосинтеза и способ получения микробной биомассы метанооксиляющих микроорганизмов в этом реакторе. Пат. 2766708. РФ. 2022.
13. Винаров А.Ю. Биореакторное оформление процесса ферментации при получении кормового белка из природного газа // Сб. тр. XXIII Международной научно-практической конференции "Современные тенденции развития науки и технологий". Белгород. № 2. Ч. 2, 2017. С. 24.
14. Кочетков В.М., Левитин Л.Е., Нюньков П.А., Рыжов Г.В., Цымбал В.В. Ферментер колонный (патент на промышленный образец). Пат. 126579. РФ. 2021.
15. Кочетков В.М., Гаганов И.С., Кочетков В.В., Нюньков П.А. Обеспечение устойчивых гидродинамических режимов в струйных биореакторах с эжектором, предназначенных для культивирования метанооксиляющих бактерий // Сб. тр. Восьмой Международной научно-практической конференции "Современные энергосберегающие тепловые и массообменные технологии (сушка, тепловые и массообменные процессы)". М.: ООО "Мегаполис", 2023. С. 190.
16. Воробьева Г.Я. Коррозионная стойкость материалов в агрессивных средах химических производств. Изд. 2 пер. доп. М.: Химия, 1975.
17. Панишин Ю.А., Малкевич С.Г., Дунаевская Ц.С. Фторопласты. Л.: Химия, 1978.
18. Гаязов Р.Р. Лимитирование и ингибирование роста *Methylococcus capsulatus* компонентами минеральной среды и газовой фазы. Дис. ... канд. биол. наук. Пушино: Российская академия наук. Ин-т биохимии и физиологии микроорганизмов, 1992.
19. Гаганов И.С., Кочетков В.М., Нюньков П.А., Кочетков В.В. Ферментационная установка для культивирования метанооксиляющих бактерий. Пат. 045062. ЕП. 2023.
20. Червинская А.С., Воронаев 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. 2728193. РФ. 2020.