



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1989236 B

(45) 授权公告日 2012.05.16

(21) 申请号 200580020449.3

(22) 申请日 2005.05.18

(30) 优先权数据

2004902629 2004.05.18 AU

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.12.21

(86) PCT申请的申请数据

PCT/AU2005/000713 2005.05.18

(87) PCT申请的公布数据

W02005/111193 EN 2005.11.24

(73) 专利权人 澳大利亚核科学技术组织

地址 澳大利亚新南威尔士

(72) 发明人 A·P·A·泰勒 K·S·芬尼

J·巴特利特 P·J·霍尔登

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张平元

(51) Int. Cl.

C12M 3/00 (2006.01)

C12M 1/40 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1263097 A, 2000.08.16, 摘要.

CN 1161862 A, 1997.10.15, 摘要.

全文.

CN 2132750 Y, 1993.05.12, 摘要, 说明书第
2 页第 1-2 段, 附图 1-2.

审查员 贾涛

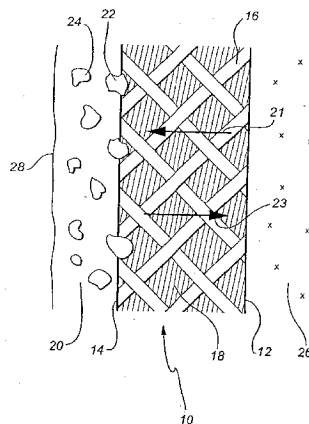
权利要求书 3 页 说明书 32 页 附图 26 页

(54) 发明名称

膜生物反应器

(57) 摘要

本发明提供包括由支撑物支撑的凝胶的膜。该膜具有相对的表面, 所述的表面之间具有一定厚度。凝胶可以在相对的表面之间移动, 并使营养物质通过膜扩散。本发明还提供一种生物反应器, 其包括膜支撑结构、和支撑在膜支撑结构上的根据本发明的膜。



1. 一种生物反应器,其包括:

膜支撑结构;和

在膜支撑结构上支撑的膜,所述的膜具有营养面、气体面,在所述的面之间有一定厚度,所述的膜在选自下列的位置上固定有生物层:气体面上和靠近气体面的膜中;

其中所述的膜使营养物溶液从营养面扩散至被固定的生物层,其中所述的膜支撑结构支撑多于一张的膜,所述的膜成对排列,使每对膜安置成每对两张膜之间形成内部区域。

2. 根据权利要求1所述的生物反应器,其中所述膜包括由支撑物增强的凝胶,因而凝胶连同所述的相对表面,使营养物溶液通过膜扩散。

3. 根据权利要求1或2所述的生物反应器,其中所述的营养物溶液的扩散在不施加外部压力的情况下发生。

4. 根据权利要求1或2所述的生物反应器,其中所述的生物层包括选自下列的生物物质:细菌、真菌、动物细胞、哺乳动物细胞、植物细胞、原生动物、其它生物物质、原核细胞和真核细胞。

5. 根据权利要求1所述的生物反应器,其中所述的两张膜之间的内部区域与所述两张膜各自的营养面邻接。

6. 根据权利要求1所述的生物反应器,其中所述的营养物溶液在使用时基本上是缺氧的。

7. 一种生物反应器,其包括:

膜支撑结构;和

在膜支撑结构上支撑的膜,该膜与水平面呈非零角度,所述的膜具有营养面、气体面,在所述的面之间有一定厚度,所述的膜在选自下列的位置上固定有生物层:气体面上和靠近气体面的膜中;

其中所述的膜使营养溶液从营养面扩散至被固定的生物层,其中所述的膜支撑结构包括安置成使膜和无孔支撑物之间形成内部区域的无孔支撑物,所述的无孔支撑物包括对营养液体不通透的材料。

8. 根据权利要求1所述的生物反应器,其中所述的膜被竖直支撑。

9. 一种生物反应器,其包括:

膜支撑结构;和

支撑在膜支撑结构上的平面膜,所述的膜具有营养面、气体面,在所述的面之间有一定厚度,所述的膜在选自下列的位置上固定有生物层:气体面上和靠近气体面的膜中;

其中所述的膜使营养溶液从营养面扩散至被固定的生物层,其中所述的膜支撑结构以如下构造支撑膜:膜的一部分与膜的另一部分平行,在两部分之间形成内部区域。

10. 根据权利要求1所述的生物反应器,其具有一个或多个隔板,以保持每对膜的两张膜之间的距离。

11. 根据权利要求1所述的生物反应器,其具有使营养物溶液进入膜营养面的进口、使营养物溶液从膜营养面排出的出口、和将营养物溶液从出口再循环至进口的再循环系统。

12. 根据权利要求11所述的生物反应器,其中所述的再循环系统能够防止氧进入液体。

13. 根据权利要求1所述的生物反应器,其还包括将氧从营养物溶液中去掉的除氧器。

14. 根据权利要求 1 所述的生物反应器,其具有从膜中去除固体物质的装置。

15. 一种在其气体面上固定有生物层的膜的制造方法,该方法包括下列步骤:

在远离膜的营养面的膜上固定生物物质,所述的膜能够使营养物溶液从营养面扩散至生物物质,所述的固定包括使膜与多种细胞或孢子接触,使多种细胞或孢子中的至少一些附着于其上;和

为膜的营养面提供营养物溶液,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:生物物质在气体面上形成被固定的生物层;

其中所述的膜是能透过的,使得一旦形成被固定的生物层就能使细胞从其中被去除。

16. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的营养物溶液基本上是缺氧的。

17. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的气体包含氧。

18. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的膜选自纳米孔膜,中孔膜,微孔膜,和具有纳米尺度、中尺度、微尺度的孔中的一种或多种的組合的膜。

19. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的膜包括由支撑物增强的凝胶,所述的膜具有相对的表面,所述表面之间有一定厚度,因而凝胶连通所述的相对表面,使营养物溶液通过膜扩散。

20. 根据权利要求 15 所述的方法,其中提供营养物溶液的步骤包括将氧从营养物溶液中除去。

21. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的固定步骤包括下列步骤:

将前体液体灌注进支撑物材料中,所述的前体液体能够产生纳米孔固体或凝胶;和在支撑物材料上和/或支撑物材料中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述的前体液体包括多种细胞或孢子,因而产生纳米孔固体或凝胶的过程使至少一些的细胞或孢子固定在膜内。

23. 根据权利要求 21 所述的方法,其额外包括以下步骤:在灌注步骤之前,对支撑物材料进行处理,所述处理的目选自:清洁表面、使表面更加亲水、清洁表面的施胶剂和其它污染物。

24. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述的前体液体包括胶体二氧化硅,所述的产生纳米孔固体或凝胶的步骤包括改变支撑物中灌注的前体液体的 pH。

25. 一种生物反应器的操作方法,所述的生物反应器包括:

膜支撑结构;和

在膜支撑结构上支撑的膜,所述的膜具有营养面、气体面,在所述的面之间有一定厚度,所述的膜在选自下列的位置上固定有生物层:气体面上和靠近气体面的膜中;

其中所述的膜使营养物溶液从营养面扩散至被固定的生物层,其中所述的膜支撑结构支撑多于一张的膜,所述的膜成对排列,使每对膜安置成每对两张膜之间形成内部区域,所述的方法包括:

将膜的营养面与营养物溶液接触,

将生物层与气体接触,和

使营养物溶液从膜的营养面扩散至生物层。

26. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述的营养物溶液基本上是缺氧的。

27. 根据权利要求 25 所述的方法,其中使营养物溶液扩散的步骤在不施加外部压力的

情况下进行。

28. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述的气体含有氧。

29. 根据权利要求 25 所述的方法,其中将膜的营养面与营养物溶液接触的步骤包括使营养物溶液经过营养面再循环。

30. 根据权利要求 25 所述的方法,其中所述的营养物溶液不通过膜进入邻接膜气体面的气体区域。

31. 根据权利要求 25 所述的方法,其中选择生物层以及营养物溶液组分的目的选自制造药物、制造抗体、制造疫苗成分、制造食物原料、制造细胞、制造酶、和使营养物溶液中的成分去除、降解或转化。

32. 根据权利要求 25 所述的方法,其中选择生物层以及营养物溶液组分是为了制造抗生素或制造疫苗。

33. 根据权利要求 25 所述的方法,其还包括从营养物溶液中去除氧的步骤。

34. 根据权利要求 25 所述的方法,其额外包括分离生物反应器产物的步骤。

35. 根据权利要求 34 所述的方法,其中所述的分离步骤包括从营养物溶液中分离产物。

36. 根据权利要求 34 所述的方法,其中所述的分离步骤包括从气体面收取固体物质。

37. 根据权利要求 25 所述的方法,其额外包括:

将第二种液体导入膜的营养面,

将膜与第二种液体接触第二段时间,和

从第二种液体中分离产物。

38. 根据权利要求 15 所述的方法,其中所述的膜包括由支撑物增强的凝胶,所述的膜具有相对的表面,在所述表面之间有一定厚度,因而凝胶连通所述的相对表面,使营养溶液通过膜扩散。

39. 根据权利要求 25 所述的的方法,其中所述的膜包括由支撑物增强的凝胶,所述的膜具有相对的表面,在所述表面之间有一定厚度,因而凝胶连通所述的相对表面,使营养溶液通过膜扩散。

膜生物反应器

技术领域

[0001] 本发明涉及膜生物反应器、用于膜生物反应器的膜的制造方法、以及膜生物反应器的使用方法。

背景技术

[0002] 膜生物反应器结合使用生物物质和膜将提供的物质转化成生物物质,它可以用于生物反应用途,例如,产生有用的物质(如药物、抗体或疫苗成分),将有机废物生物转化成生物量或生物燃料,或者有毒废物的补救(remediation),包括将有毒化学物质降解成惰性或非生物可利用的形式,以及重金属的沉淀或还原/氧化。

[0003] 广义来说,目前的生物反应器可以分为机械搅拌生物反应器、气动搅拌生物反应器、或非搅拌式生物反应器。机械搅拌生物反应器包括:通气搅拌生物反应器;转鼓生物反应器;和旋转过滤生物反应器(spin-filter bioreactor)。气动搅拌生物反应器包括鼓泡生物反应器和气升(air-lift)式生物反应器。非搅拌式生物反应器包括气相生物反应器、可透过氧的膜曝气生物反应器和覆盖式曝气生物反应器。

[0004] 气动搅拌生物反应器一般包括装有通气口的气桶,其通过所含的液体介质喷射空气,以保持为生物量充分供应溶解的氧。这种反应器使用多种系统来保证生物量和加工液体保持良好的混合,包括叶轮、推进器、搅拌桨。搅拌桨还可以用来从容器的各个侧面上刮除生物量,以尽量减少污垢,保证生物量与加工液体的持续接触。但是这种系统的缺点在于这种混合和刮除相关的切变应力经常会损伤脆弱的培养物,导致生物活性下降,随后生产率下降。同样,相对致密的生物量的存在增加了反应介质的粘度,从而降低了混合效率、以及分子氧和其它气体在工艺物料流中的扩散速度。氧利用率的任何降低都会引起生物量活性的相应下降,使许多类型细胞不再象它们在天然系统中一样发挥作用(例如,在空气-固体界面处,或在动物细胞的情况下,浸泡在血液中)。

[0005] 组织培养系统包括鼓泡式生物反应器和在培养容器或转鼓中的多种浸入式表面生长系统。这些系统的缺点是氧的摄取相对较低,因此一旦生长出少量的生物量,溶解氧的生物利用率便会受到限制。溶解氧的生物利用率低妨碍了许多类型细胞的培养,而且许多细胞系不能像它们在更容易获得氧的体内一样发挥作用。

[0006] 在填料塔系统中,细胞固定在各种形状(如环形、球形、鞍形或多边形)的填充在塔中的惰性材料上。营养物料流在进入塔前被氧合。这些系统的缺点在于它们受营养物料流中氧溶解度的限制。它们通常以滴流模式运行,氧限制还可以与生物量的厚度有关。另一个缺点在于,细胞的生长可以导致填料的团聚和塔的阻塞。成本也是这种系统工程加固型的一个问题。

[0007] 膜系统可以分成三个大类:

[0008] 1型:气-液界面膜生物反应器涉及使用多孔膜基质(host),它可用来支撑膜气体一侧的活性生物量。膜的另一侧与通过膜加压泵出的加工液体接触。已经有报道使用烧结陶瓷膜用于该加工过程(Canto 等人, Science and Engineering Journal, 1998-2, 2)。据

报道,烧结陶瓷膜相对不通透,使得液体可以通过膜被压出。这种类型的生物反应器缺点在于:这种反应器操作时要加压,限制了膜及其外罩的尺寸以避免破裂。营养物的利用率(由于活性膜的总孔隙度相对较低而)降低限制了生物量的生长,由此导致产物的产率相对较低。W090/02170 描述了这种类型反应器的另一个例子。该专利描述了一种外侧具有生物层(生物膜)的中空纤维膜。在使用过程中,液体透过膜的内腔,空气通过围绕膜的支撑基质提供给生物膜。这种系统的缺点在于:由于需要很高的跨膜压力,支撑基质需要围绕膜以防止由于压力引起的损坏。支撑基质/生物膜/膜系统的同心结构十分复杂。另外,在使用过程中支撑基质有可能被生物膜的细胞污染,导致氧和营养物通过生物膜的扩散率下降。

[0009] 2 型:培养物在膜的液体一侧生长,经常是在缺氧的条件下。在一个例子中,使用中空多孔纤维膜来固定与液体介质接触的生物膜,同时含氧气体供应到膜的另一侧(JP2003251381Asahi Kasei Corp.)。第二种专利方法是将加压氢气导入中空纤维,该纤维一端密封,以防止氢气逃逸,并且使液体不能透过。水围绕纤维,生物膜在膜的液体一侧生长,使用溶解氧作为细胞去除溶解在液体中的氧化化学物质的电子受体(US6387262, Northwestern University)。这种系统的缺点在于:气体加压提供给膜,必须有昂贵的装置进行加压,并对加压氢气进行屏蔽。另外,需要的专用膜非常昂贵,其制造需要复杂的装置。

[0010] 3 型:培养物悬浮生长在液体中,使用膜滤器将其从液体中过滤。大多数膜生物反应器都是 3 型。这种类型生物反应器的缺点与气升式和组织培养型生物反应器类似,用于分离含产物物质的液体的膜也有生物污染的缺点。

[0011] 因此需要有一种经济、耐用、比传统系统的生物转化率高的生物反应器。

发明内容

[0012] 本发明的目的是克服或基本上改进上述的至少一种缺点。本发明更进一步的目的是至少部分满足上述需求。

[0013] 在本发明的第一个方面,提供了生物反应器中使用的膜,所述的膜具有营养面和气体面,所述的膜:

[0014] 能够在气体面上和/或靠近气体面的膜中支撑被固定的生物层;

[0015] 能够使营养物溶液从营养面扩散至被固定的生物层;和

[0016] 是可通透的,以便如果存在细胞时,使得能够从被固定的生物层除去细胞。

[0017] 膜可以是平面的或管状的。膜可以是纳米孔、中孔或微孔的,或者具有纳米尺度和/或中尺度和/或微尺度孔的组合。膜可包括支撑材料,例如,机制或非织造的纤维材料、或非纤维多孔材料。支撑材料可以是编织材料、机织材料、压缩纤维材料、散纤维、毡合材料或一些其它的合适材料。支撑物可以在凝胶的内部,或者在凝胶的外部,例如在其表面上。支撑物可以是亲水的或疏水的,在其表面上可以有涂料或没有涂料。它可以是聚合的(例如,聚酯、聚酰胺、丙烯酸、聚烯烃等)、无机的(例如,玻璃纤维)、天然纤维(纤维素或改性纤维素、棉等)或一些其它材料。支撑物材料中和/或其上可以有纳米孔固体或凝胶。

[0018] 纳米孔固体或凝胶可以是亲水的或疏水的。它可以源自溶胶-凝胶。它可以是没有退过火的。它可以是水凝胶。膜可以能够将气体面的气体与营养面的营养物溶液分隔开。膜可以能够使得营养物溶液在不施加外部压力的情况下从营养面扩散到被固定的生物层上。膜在其气体面上可以没有支撑基质。膜可以是混合膜,在其液体面有多孔层或微孔

层。

[0019] 生物层可以包括细菌、真菌、动物或植物细胞、原生动物或其它生物物质。细胞可以是原核细胞或真核细胞。动物细胞可以是,例如哺乳动物细胞。生物层可以能够生成药物、抗体、疫苗成分、食物原料、细胞、酶或其它物质。为了产生特定的产物,需要选择适当的生物层(即,包括生物层的细胞等),并为生物层选择适当的营养物溶液。如果生物层包括哺乳动物细胞,可能需要使用疏水膜,例如,包括疏水的二氧化硅。疏水的二氧化硅可以是,例如,甲基化、辛基化或苯基化的二氧化硅。

[0020] 膜可以包括被支撑物增强的凝胶,所述的膜具有相对的表面,在所述表面之间有一定厚度,因此凝胶在所述的相对表面之间移动,使营养物溶液通过膜扩散。

[0021] 在第一个方面的一个实施方式中,膜在气体面上和/或靠近气体面的膜中有被固定的生物层。膜可以能够使营养物溶液在不施加外部压力的情况下从营养面扩散到被固定的生物层上。具体地,膜可以包括被支撑物加强的凝胶,所述的膜具有营养面、气体面和和所述面之间的一定厚度,所述的膜在选自气体面上和靠近气体面的膜中的位置中有被固定的生物层,因此凝胶在营养面和生物层之间可以移动,使营养物溶液通过营养面扩散至生物层。

[0022] 在另一个实施方式中,膜具有营养面和气体面,并包括其中和/或其上具有纳米孔固体或凝胶的纤维支撑材料。纳米孔固体或凝胶可以是硅胶、二氧化钛凝胶、氧化锆凝胶、氧化铝凝胶或包括两种或多种二氧化硅、二氧化钛、氧化锆和氧化铝的混合凝胶(例如,二氧化硅-氧化铝凝胶),或者它可以包括琼脂-琼脂、琼脂糖、海藻酸钙、果胶或其它生物聚合物。根据该实施方式的膜的一种制造方法包括下列步骤:

[0023] 将前体液体灌注至支撑材料内,所述的前体液体能够产生纳米孔固体或凝胶;和

[0024] 在支撑材料上和/或支撑材料中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜。

[0025] 该方法还可以包括以下步骤:在灌注步骤之前将支撑材料与碱性水溶液、酸性水溶液、酸性气体或水等离子体接触。前体液体可以是,例如,胶体二氧化硅,或者海藻酸钙或琼脂-琼脂或琼脂糖或果胶或其它天然或合成聚合物的溶液或悬液,或这些的混合物。灌注的方法可包括将支撑材料浸泡在前体液体中,然后将支撑材料从液体中取出,或者,可以包括使液体流过支撑材料,或者,可以包括其它合适的灌注方法。产生纳米孔固体或凝胶的方法取决于前体液体的性质,但是,例如,可以包括使灌注在支撑材料中的至少部分前体液体蒸发,改变灌注在支撑物中的前体液体的pH,改变支撑材料中前体液体的温度,或者使支撑材料中的前体液体与沉淀剂接触,以便将纳米孔固体或凝胶沉淀在支撑材料上和/或支撑材料中。

[0026] 在另一个实施方式中,膜具有营养面和气体面,并包括:

[0027] 在其上和/或其中具有纳米孔固体或凝胶的纤维支撑材料,和

[0028] 在气体面上和/或靠近气体面的膜中的被固定的生物层,其中所述的膜能够使营养物溶液在不施加外部压力的情况下从营养面扩散到被固定的生物层,其中所述的膜是可通透的(accessible),使得细胞能够从被固定的生物层上被去除。膜在其气体面上可以没有支撑基质。

[0029] 在本发明的第二个方面,提供一种生物反应器,其包括:

[0030] 膜支撑结构;和

[0031] 支撑在膜支撑结构上的根据本发明第一个方面的膜。

[0032] 膜支撑结构以下列构造支撑膜：其中膜的一部分与膜的另一部分平行，以便在两个部分之间形成内部区域。膜支撑结构可以支撑多于一张的膜。如果生物反应器包括多于一张的膜，这些膜可以互相平行，或者它们互相不平行。两张或多张平面膜可以成对排列，使得每一对结合在一起，以便形成在每对两张膜之间形成内部区域的袋或扁平管或其它形状。膜的构造可以是将气体面的气体和营养面的营养物溶液分隔开。生物反应器可以具有一个或多个隔板，以保持膜之间、或膜的不同部分之间的距离。隔板可以阻止营养液从膜的各个侧面泄漏。

[0033] 生物反应器可以有使营养物溶液进入膜营养面的进口，还可以有使营养物溶液离开营养面的出口。进口可与进口歧管相连，出口也可与出口歧管相连。

[0034] 还可以有再循环系统，用于使液体（如营养物溶液）从出口再循环至进口。再循环系统能够阻止氧进入液体。再循环系统可以包括一个或多个泵、进料管道、进料管道阀门、排出管道、排出管道阀门、进料槽和出料槽。

[0035] 生物反应器可以另外包括至少部分封装膜的容器，该容器还可以部分封装膜支撑结构。容器可以是可消毒的（sterilisable），可以具有使气体进入容器的进气口、和使气体从容器排出的排气口。生物反应器可包括收容膜的外罩，该外罩还可以任选地收容膜支撑结构。外罩可以是可消毒的，可以有进气口和排气口。膜可以从容器或外罩上取下，任选地膜支撑结构也可以从容器或外罩上取下。可消毒外罩可以用于防止生物层、膜或生物反应器其它部分的污染。

[0036] 任选地还可以有除氧器，用于从营养物溶液中除去氧。除氧器可以是脱氧器或脱气器，如真空脱气器，或者，它可以包括喷射装置，用于将氧含量很低的气体通过营养物溶液鼓泡。

[0037] 生物反应器可以具有将固体物质从膜上去除的装置。固体物质可以是诸如生物反应器的产物，或者可以是生物层的一部分。去除装置可以包括振荡器、刮具、鼓风机或一些其它合适的工具。

[0038] 在一个实施方式中，生物反应器包括：

[0039] 膜支撑结构；

[0040] 一对根据第一个方面的膜，所述的膜被膜支撑结构垂直支撑，每张膜相对于一对膜中的另一张膜取向，以便在这对膜之间形成内部区域；和

[0041] 位于该对膜每张膜的气体面上和 / 或在靠近其气体面的一对膜中每张膜中的被固定生物层。

[0042] 膜可以是平面的或管状的。每张膜可以相对于该对膜的另一张膜取向，以便形成袋或扁平管或环，或者可以一些其它在该对膜之间形成内部区域的构造取向。该对膜的每张膜可以结合在一起，也可以不结合在一起。营养面可以邻接该对膜的内部区域。可以有至少一个隔板来保持该对膜两张膜之间的指定距离。生物反应器可以包括一对以上的膜。一对以上的膜可以并联或串联，或者，一些可以并联，一些可以串联。

[0043] 在另一个实施方式中，生物反应器包括：

[0044] 膜支撑结构；

[0045] 根据第一个方面的管状膜，所述的膜被膜支撑结构垂直支撑；和

[0046] 位于在气体面上和 / 或靠近气体面的膜中的被固定的生物层。

[0047] 营养面可以位于管状膜内部, 气体面可以位于其外部。管状膜可以具有至少一个隔板, 以保持管状膜相反两面之间的距离。管状膜可以具有与管状膜同心的内部支撑物, 使得管状膜和内部支撑物之间形成了内部区域。在这种情况下, 可以有至少一个隔板, 以保持管状膜和内部支撑物之间的距离。生物反应器可以有一个以上的管状膜。一个以上的管状膜可以并联或串联, 或者, 一些可以并联, 一些可以串联。

[0048] 在本发明的另一个实施方式中, 生物反应器包括:

[0049] 膜支撑结构;

[0050] 根据第一个方面的平面膜, 所述的膜被膜支撑结构以下列构造支撑: 一部分膜与另一部分膜平行, 以便在两部分之间形成内部区域;

[0051] 位于膜的气体面上和 / 或靠近其气体面的膜中的被固定的生物层。

[0052] 膜的营养面可以邻接内部区域。可以有至少一个隔板, 以保持膜两部分之间的距离。

[0053] 在另一个实施方式中, 生物反应器包括:

[0054] 膜支撑结构;

[0055] 根据第一个方面的平面膜, 所述的膜被膜支撑结构以下列构造支撑: 其中膜将气体面的空气与营养面的营养物溶液分隔开, 其中膜形成多个内部区域, 因此内部区域与营养面邻接,

[0056] 位于膜气体面上和 / 或靠近其气体面的膜中的被固定的生物层,

[0057] 多个使营养物溶液进入内部区域的进口, 所述的进口与进口歧管连接,

[0058] 多个使营养物溶液从内部区域排出的出口,

[0059] 将营养物溶液从出口再循环至进口歧管的再循环系统,

[0060] 将固体物质从膜上去除的刮具, 和

[0061] 收容膜和膜支撑结构的可消毒外罩, 所述的外罩有进气口和排气口。

[0062] 可消毒外罩可以是, 例如, 温室或玻璃温室 (glass-house), 或小室 (chamber), 和能够使光进入生物层的小室。

[0063] 在本发明的第三个方面, 提供了膜的制备方法, 该膜在其气体面上和 / 或靠近气体面的膜中有被固定的生物层, 所述方法包括下列步骤:

[0064] 将生物物质固定在远离膜营养面的膜上和 / 或之中, 所述的膜能够使营养物溶液从营养面扩散至生物物质; 和

[0065] 为膜的营养面提供营养物溶液, 并使膜的气体面在以下条件下与气体接触: 生物物质在气体面上和 / 或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层,

[0066] 其中所述的膜是可通透的, 以便能够一旦形成便将细胞从被固定的生物层上除去。膜在其气体面上可以没有支撑基质。

[0067] 气体可以是含氧气体, 例如, 空气或氧, 或氧与其它气体如氮气、二氧化碳或氢气的混合物。优选地, 气体不损害膜。

[0068] 生物物质可以包括细胞、孢子或其它生物物质。细胞可以是原核细胞或真核细胞, 可以是诸如真菌、细菌、原生动物、或植物或动物细胞。动物细胞可以是诸如哺乳动物细胞。生物层可以能够产生药物、抗体、疫苗、食物原料、细胞或其它物质。

[0069] 营养物溶液含有生物物质的营养物,其性质取决于生物物质的性质。营养物溶液还可以包括一种或多种其它成分,如电解质、盐类、缓冲液、用于行生物转化或生物降解的化合物等。营养物溶液可以是基本缺氧的。

[0070] 膜可以是平面的或管状的。膜可以是纳米孔、中孔或微孔的,或者具有纳米尺度和/或中尺度和/或微尺度孔的组合。膜可包括支撑材料,例如,机制或非织造的纤维材料、或非纤维多孔材料。支撑物材料中和/或其上可以有纳米孔固体或凝胶。膜可以由在生物反应器操作条件下不可降解的一种材料或多种材料制成。膜可以能够使营养物溶液在不施加外部压力的情况下从营养面扩散至生物物质。

[0071] 在为膜营养面提供营养物溶液的步骤中,一些生物物质可能在膜的营养面上生长。因此,在该步骤中,使刮具沿营养面移动是有益处的。这种移动可以是连续的或间断的。这种移动可从营养面上去除生物物质,并防止邻近膜的营养面由于生物物质的生长而相互粘合在一起。刮具可以是分隔邻近膜的营养面的隔板。

[0072] 固定步骤可包括使膜与多种细胞和/或孢子接触,这样多种细胞和/或孢子的至少一些可以与其粘附。所述的接触可以包括使膜与含细胞和/或孢子的载体接触,其中所述的载体可以是液体,例如水性液体,或气体、蒸汽、气溶胶或喷雾。所述的接触可以包括喷雾、冲洗、刷抹、鼓风或者任何其它将细胞和/或孢子传送至气体面的方法。

[0073] 提供营养物溶液的步骤可以包括从营养物溶液中除氧。除氧的步骤可以包括脱气,例如通过向营养物溶液施以真空,或者可以包括使含氧量极低的气体通过营养物溶液鼓泡。

[0074] 在一个实施方式中,固定的步骤包括以下步骤:

[0075] 将前体液体灌注进支撑材料中,所述的前体液体能够产生纳米孔固体或凝胶;和

[0076] 在支撑材料上和/或其中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜。

[0077] 固定的步骤还可以包括以下步骤:在灌注步骤之前使支撑材料与碱性水溶液或水等离子体接触。前体液体可以包括生物物质,例如,多种细胞和/或孢子,因此产生纳米孔固体或凝胶的方法至少将一些生物物质(例如细胞和/或孢子)固定在膜内。固定步骤可以额外地包括如前所述使膜与多种细胞和/或孢子接触。前体液体可以是,例如,胶体二氧化硅,或者海藻酸钙或琼脂-琼脂或果胶或其它天然或合成聚合物的溶液或悬液,或者这些的混合物。灌注的方法可以包括将支撑材料浸泡在前体液体中,然后从液体中去掉支撑材料,或者可以包括使液体流过支撑材料,或者可以包括一些其它合适的灌注方法。产生纳米孔固体或凝胶的方法取决于前体液体的性质,例如,可以包括使支撑材料中灌注的至少一部分前体液体蒸发,改变支撑物中灌注的前体液体的pH,改变支撑材料中的前体液体的温度,或者使支撑材料中的前体液体与沉淀剂接触以便将纳米孔固体或凝胶沉淀在支撑材料上和/或其中。

[0078] 在另一个实施方式中,提供了制备膜的方法,所述的膜在其气体面上和/或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述方法包括以下步骤:

[0079] 将前体液体灌注到支撑材料中,所述的前体液体能够产生纳米孔固体或凝胶;

[0080] 在支撑材料上和/或其中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜;

[0081] 使膜的气体面与多种细胞和/或孢子接触,使得多种细胞和/或孢子的至少一些可以在其上粘附,和

[0082] 向膜的营养面提供营养物溶液,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:细胞和/或孢子在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层。

[0083] 在另一个实施方式中,提供了制备膜的方法,所述的膜在其气体面上和/或在靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述方法包括以下步骤:

[0084] 将前体溶液灌注到支撑材料中,所述前体液体含有生物物质,并能够产生纳米孔固体或凝胶;

[0085] 在支撑材料上和/或其中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜,从而将生物物质固定在膜上和/或其中;和

[0086] 将营养物溶液提供给膜的营养面,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:生物物质在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层。

[0087] 在另一个实施方式中,提供了制备膜的方法,所述的膜在其气体面上和/或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述方法包括以下步骤:

[0088] 将胶体二氧化硅灌注到机织支撑材料中,所述的胶体二氧化硅含有细胞和/或孢子;

[0089] 将支撑材料中的胶体二氧化硅酸化,形成膜,从而将细胞和/或孢子固定在膜中;和

[0090] 将营养物溶液提供给膜的营养面,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:细胞和/或孢子在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层。

[0091] 本发明还提供了在其气体面上和/或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层的膜,所述的膜由本发明第三个方面的方法制成。

[0092] 在本发明的第四个方面,提供了制备生物反应器的方法,该方法包括以下步骤:在膜支撑结构上安装根据本发明第一个方面的膜。

[0093] 在一个实施方式中,该方法包括将根据第本发明第一个方面的膜安装在膜支撑结构上,所述的膜在气体面上和/或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,并且所述的膜能够使营养物溶液从营养面扩散至被固定的生物层,因而膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层上去除。在膜的气体面上可以没有支撑基质。

[0094] 在另一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0095] 将膜安装在膜支撑结构上,所述的膜在远离膜营养面的膜上和/或其中固定有生物物质,所述的膜能够使营养物溶液从营养面扩散至生物物质,并且所述的膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层上去除;和

[0096] 将营养物溶液提供至膜的营养面,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:生物物质在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层。

[0097] 营养物溶液可以是基本上缺氧(anoxic)的。在膜的气体面上可以没有支撑基质。

[0098] 在另一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0099] 将膜安装在膜支撑结构上,所述的膜:

[0100] ●具有营养面和气体面,且

[0101] ●能够将被固定的生物层支撑在气体面和/或靠近气体面的膜中,

[0102] ●能够使营养物溶液从营养面扩散至被固定的生物层;和

[0103] 将生物物质固定在远离营养面的膜上和/或之中;和

[0104] 将营养物溶液提供至膜的营养面,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:生物物质在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层,因而膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层去除。在膜的气体面上可以没有支撑基质。

[0105] 固定的步骤可包括使膜与多种细胞和/或孢子接触,使得多种细胞和/或孢子中的至少一些附着于其上。所述的接触可以包括使膜与含有细胞和/或孢子的载体接触,其中所述的载体可以是液体,例如水性液体,或者气体、蒸汽、气溶胶或喷雾。所述的接触可以包括喷雾、冲洗、刷抹、鼓风、或者任何其它将细胞和/或孢子传送至气体面上接触方法。营养物溶液可以是基本缺氧的。

[0106] 在另一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0107] 将支撑材料安装在膜支撑结构上,

[0108] 将前体液体灌注到支撑材料中,所述的前体液体能够产生纳米孔固体或凝胶;

[0109] 在支撑材料上和/或之中产生纳米孔固体或凝胶,形成膜;和

[0110] 将营养物溶液提供至膜的营养面,使膜的气体面在以下条件下与气体接触:在气体面上和/或靠近气体面的膜中形成被固定的生物层,因而膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层去除。在膜的气体面上可以没有支撑基质。

[0111] 在本实施方式的方法中:

[0112] 前体液体包括多种细胞和/或孢子,从而产生纳米孔固体或凝胶的步骤将至少一些细胞和/或孢子固定在膜中;或

[0113] 在提供营养物溶液的步骤之前,进行使膜与多种细胞和/或孢子(如前所述)接触的步骤;

[0114] 或者二者均有。

[0115] 营养物溶液可以是基本缺氧的。

[0116] 在本发明的第五个方面,提供了操作根据第二个方面的生物反应器的方法,该方法包括:

[0117] 使膜的营养面与营养物溶液接触,

[0118] 使生物层与气体接触,和

[0119] 使营养物溶液从膜的营养面扩散至生物层。

[0120] 使营养物溶液扩散的步骤可以在不施加外部压力的情况下进行。该方法还可以包括使气体通过生物层。如果生物层包括需氧物种,气体可以是含氧气体,例如空气或氧,或者氧和其它气体如氮、二氧化碳或氩的混合物。优选地气体不损害膜。营养物溶液包含生物层的营养物,其性质取决于生物层的性质。营养物溶液还可以包括一种或多种其它成分,例如电解质、盐类、缓冲液等。营养物溶液可以是基本缺氧的。该方法可以是分批处理法,其中营养物溶液不流过膜,或者可以是连续处理法,其中营养物溶液流过膜。操作生物膜反应器的方法可以是为了生产例如药物、抗体、疫苗成分、食物原料、细胞或酶,或者可以是为了去除、降解或转化营养液体中不需要的成分。

[0121] 该方法还可以包括从营养物溶液中除去氧的步骤。除去氧的步骤可包括脱气,例如,通过向营养物溶液施以真空,或者可以包括将氧含量极低的气体通过营养物溶液鼓泡。除氧的步骤可以在使营养面与营养物溶液接触之前进行。

[0122] 该方法可以额外地包括分离生物反应器产物的步骤。所述的分离可以包括从营养

物溶液分离产物,或者可以包括从其气体面收取固体物质。固体物质可以是诸如生物反应器的产物,或者可以是生物层的一部分。固体物质可以包括,例如,细胞、孢子、菌丝,或者其它生物物质,包括由细胞产生的物质如蛋白质、多糖和聚合物。

[0123] 在一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0124] 将膜的营养面与营养物溶液接触,所述的膜在其气体面上和 / 或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述的膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层上去除,

[0125] 将生物层与含氧气体接触,

[0126] 使营养物溶液从膜的营养面扩散至生物层,

[0127] 将膜与营养物溶液接触第一段时间,

[0128] 将第二种液体导入至膜的营养面,

[0129] 将膜与第二种液体接触第二段时间,和

[0130] 从第二种液体中分离产物。

[0131] 膜的气体面上可以没有支撑基质。第二种液体可以是不含营养物的液体,可以是诸如盐水溶液或缓冲溶液。第一段时间可以在例如大约 1 小时至 1 天之间,第二段时间可以在例如大约 12 小时至 12 天之间。

[0132] 在另一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0133] 将膜的营养面与营养物溶液接触,所述的膜在其气体面上和 / 或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述的膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层上去除,

[0134] 将生物层与含氧气体接触,和

[0135] 从营养物溶液中分离产物。

[0136] 在膜的气体面上可以没有支撑基质。

[0137] 在再另一个实施方式中,该方法包括以下步骤:

[0138] 将膜的营养面与营养物溶液接触,所述的膜在其气体面上和 / 或靠近气体面的膜中具有被固定的生物层,所述的膜是可通透的,以便能够将细胞从被固定的生物层上去除,

[0139] 使营养物溶液从营养面扩散至生物层,

[0140] 将生物层与含氧气体接触,和

[0141] 从生物层去除固体产物。

[0142] 在膜的气体面上可以没有支撑基质。去除步骤可以包括刮除、振动、或鼓风,或者其它合适的从生物层分离固体产物的方式。

[0143] 本发明还提供了一种生物反应器,当使用时,在其营养面上使用基本上缺氧的营养物溶液,在其气体面上和 / 或靠近气体面的膜中产生生物层,或在气体面上和 / 或靠近其气体面的膜中产生生物层的产物。产物可以是,例如,药物、抗体、疫苗成分、食物原料、细胞或其它物质,或者生物反应器可以将溶液中的物质转化成有用或无毒的形式。

附图说明

[0144] 现在参考附图用实施例对本发明的优选形式进行说明,其中:

[0145] 图 1 是根据本发明的膜的示意图;

[0146] 图 2 显示的示意图描述根据本发明的其上和 / 或其中具有生物层的膜的制造方法;

[0147] 图 2a 显示的示意图描述根据本发明的其上和 / 或其中具有被固定的生物层的膜的不同的制造方法；

[0148] 图 3 是根据本发明的生物反应器的示意图；

[0149] 图 3a 是可以用于图 3 所示的生物反应器的进口歧管的示意图；

[0150] 图 3b 是根据本发明的将液体从生物反应器的出口再循环至进口的再循环系统的示意图；

[0151] 图 3c 是根据本发明的将液体从生物反应器出口再循环至进口的另一种再循环系统的示意图；

[0152] 图 3d 是根据本发明的另一种生物反应器的示意图；

[0153] 图 4 是根据本发明的另一种生物反应器的示意图；

[0154] 图 5 是根据本发明的再另一种生物反应器的示意图；

[0155] 图 5a 是根据本发明的再另一种生物反应器的示意图；

[0156] 图 6 是实施例 1 的生物反应器中,对于产黄青霉 (*P. chrysogenum*),青霉素浓度对时间的曲线图；

[0157] 图 7 是在实施例 1 的鼓泡式生物反应器中,对于产黄青霉,青霉素浓度对时间的曲线图；

[0158] 图 8 是在实施例 1 的生物反应器中,对于黑曲霉 (*A. niger*),碳水化合物浓度对时间的曲线图；

[0159] 图 9 是在实施例 1 的鼓泡式生物反应器中,对于黑曲霉,碳水化合物浓度对时间的曲线图；

[0160] 图 10 是在实施例 2 的使用玻璃支撑物的生物反应器中,对于产黄青霉,碳水化合物浓度、pH 和青霉素浓度对时间的曲线图；

[0161] 图 11 是在实施例 2 的使用聚酯支撑物的生物反应器中,对于产黄青霉,碳水化合物浓度、pH 和青霉素浓度对时间的曲线图；

[0162] 图 12 是在实施例 2 使用棉支撑物的生物反应器中,对于产黄青霉,碳水化合物浓度、pH 和青霉素浓度对时间的曲线图；

[0163] 图 13 是在实施例 2 的使用聚酯 - 棉支撑物的生物反应器中,对于产黄青霉,碳水化合物浓度、pH 和青霉素浓度对时间的曲线图；

[0164] 图 14 显示了在实施例 2 的使用棉支撑物 (图 14a) 和玻璃支撑物 (图 14b-d) 的生物反应器中,对于黑曲霉,分别使用各种凝胶材料 (包括无凝胶 ; 琼脂 - 琼脂 ; 海藻酸钙 ; 和硅胶) 时碳水化合物浓度对时间的 4 个曲线图；

[0165] 图 15 显示了在实施例 2 的使用玻璃支撑物和硅胶的生物反应器中,对于黑曲霉,营养物溶液各种成分的浓度对时间的曲线图；

[0166] 图 16 显示了在实施例 3 的连续生物反应器中,碳水化合物消耗量和 pH 的曲线图,以及使用相同膜材料的分批处理系统的结果作为参考；

[0167] 图 17 显示了在实施例 4 中,黑曲霉在 NMB 中生长,同时从麦芽肉浸液中去除溶解的固体 P 和 N,各测量参数随时间变化的曲线图；

[0168] 图 18 显示了在实施例 4 中多种元素随时间变化的曲线图,表明黑曲霉在 NMB 中生长从麦芽肉浸液中去除了这些元素；

[0169] 图 19 显示了实施例 5 中, NMB 中的嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (*A. ferrooxidans*) 和摇瓶培养物将二价铁转化成三价铁的过程中三价铁离子浓度随时间变化的曲线图; 和

[0170] 图 20 是根据本发明的生物反应器的示意图, 其中营养物流从膜的下部进料。

具体实施方式

[0171] 本发明的生物反应器可以是膜生物反应器、纳米颗粒膜生物反应器、杂合器官或类器官。生物反应器可以是, 但不限于产生生物量的装置, 或产生化学物质的装置, 或去除污染物的装置。生物反应器包括任选地在其上和/或在其中具有纳米颗粒凝胶(例如硅胶)并被膜支撑结构支撑的多孔或纤维材料的膜。生物反应器可以具有一张或多张膜, 可以具有大约 1 至 20000 张膜, 或大约 1 至 1000, 或大约 1 至 100, 或大约 1 至 50, 或大约 1 至 20, 或大约 1 至 10, 或大约 100 至 20000, 或大约 1000 至 20000, 或大约 10000 至大约 20000, 或大约 2 至 10000, 或大约 10 至 5000, 或大约 20 至 1000, 或大约 50 至 500, 或大约 100 至 200 张膜, 可以具有大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、250、350、400、450、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、6000、7000、8000、9000、10000、12000、14000、16000、18000 或 20000 张膜。每张膜的面积可以是大约 10cm^2 至 10m^2 , 面积可以是大约 10cm^2 至 1cm^2 , 或者大约 10 至 500cm^2 , 10 至 100cm^2 , 10 至 50cm^2 , 100 至 500cm^2 , 500cm^2 至 1m^2 , 1 至 10m^2 , 1 至 5m^2 , 5 至 10m^2 , 或 500cm^2 至 5m^2 , 面积可以是大约 10 、 50 、 100 、 200 、 300 、 400 、 500 、 600 、 700 、 800 或 900cm^2 , 或者可以是大约 1 、 1.5 、 2 、 2.5 、 3 、 3.5 、 4 、 4.5 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 或 10m^2 , 或者面积可以大于 10m^2 , 例如 15 、 20 、 25 或 30m^2 或更大。如果膜是平面膜, 它们可成对排列或成排 (in gills) 排列。可以有大约 1 至 10000 对, 或者大约 1 至 5000 对, 或大约 1 至 1000 对, 或大约 1 至 500 对, 或大约 1 至 100 对, 或大约 1 至 50 对, 或大约 1 至 10 对, 或大约 2 至 10000 对, 或大约 5 至 5000 对, 或大约 10 至 1000 对, 或大约 50 至 500 对, 或大约 100 至 200 对, 或大约 100 至 10000 对, 或大约 500 至 10000 对, 或大约 1000 至 10000 对, 或大约 5000 至 10000 对, 或者可以有大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、200、300、500、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、6000、7000、8000、9000、10000、12000、14000、16000、18000 或 20000 对。在一个实施方式中, 一对膜, 即一排, 以竖直方向相互平行地悬挂。膜可以是平面的, 使得一对膜可以是扁平管的形式, 或者它们可以是管状和同心的, 使得一对膜在其间形成环形区域。一对膜可以围绕其圆周边缘的至少一部分连接在一起, 在膜之间形成内腔。在另一个实施方式中, 膜管用适当的隔板悬挂。因此本发明提供一种生物反应器, 其包括两张平行排列、互相靠近的基本呈平面的膜, 使得它们在其间形成平面内腔, 所述内腔容纳液流。膜上远离内腔的面上和/或其中可以具有生物层(即生物膜)。膜和内腔竖直取向, 使得液流在重力作用下通过内腔向下输送。两张膜可以在其边缘处连接在一起, 形成袋状结构。可以有另一个隔板以刮具的形式位于膜之间, 其可以是竖直构件, 例如杆或棒。其中可以有一些孔, 使得当它移动时, 膜之间区域中的营养物溶液可以通过这些孔。该隔板可以是可移动的, 可以在膜之间移动。它可以排列成在移动时能够刮擦膜的营养面。它可以排列成在移动时可以去除粘附在膜的营养面上的细胞。隔板可以是刮具的形式, 其可以是垂直的构件, 例如杆或棒。它可以与隔板移动装置连接在一起使隔板移动, 以去除粘附在膜的营养面上的细

胞。通过破坏将两张膜粘合在一起的凝胶层,从而防止形成内腔,这种可移动隔板还可以有助于形成两张单独的掺杂有凝胶的膜。在再另一个实施方式中,膜管相对于支撑物同心放置(在内部或外部),并有隔板保持膜与支撑物之间的距离。在另一个实施方式中,膜的构造使得一部分膜与另一部分膜平行,以便在两部分之间形成内部区域。例如,膜可以是折叠式的。膜可以掺杂有适当的生物物质,例如在膜的制造过程中将生物物质与前体液体一起引入,或者在膜制造完成后将生物物质接种在膜上。

[0172] 膜可以并联或串联,或者一些可以并联,一些可以串联。在串联的情况下,从第一张(对)膜的营养面排出液体的出口与向第二张(对)膜的营养面供应液体的进口连接。可以有泵将液体从出口泵至进口。在并联的情况下,向膜的营养面供应液体的进口与进口歧管连接,将液体从膜的营养面排出的出口与出口歧管连接。

[0173] 膜可以竖直、非水平、或者与水平面呈非零度角取向,可以将营养区(例如内腔)或多个营养区(邻近膜的营养面或多个营养面)与气体区或多个气体区(邻近膜的气体面或多个气体面)分隔开。营养物溶液可从上述的膜供应,可以流向膜的营养面。它可以通过喷嘴或一些其它注入装置通过该膜。可以使用喷雾将其喷射到膜上,所述的喷雾包括营养物溶液和基本上缺氧的气体。膜与水平面的角度可以为大约 30 至 90 度,或者大约 45 至 90 度,60 至 90 度,或者 45 至 60 度,可以是大约 30、45、60、75 或 90 度。膜可以排列在营养面的营养物溶液和气体面的气体之间,营养物溶液和气体均与膜接触。气体面上气体的压力可以足以使营养物溶液不通过膜进入气体区域。该压力可以与营养面上营养物溶液的压力相同或者大于后者。该压力可以为大约 0.8 至 1.2atm,或大约 0.9 至 1.1,0.9 至 1,或 1 至 1.1atm 之间,可以是大约 0.8、0.9、1、1.1 或 1.2atm。跨膜压力可小于大约 0.2atm,或者小于大约 0.15、0.1、0.1 或 0.05atm,可以是大约 0、0.05、0.1、0.15 或 0.2,或者为大约 0 至 0.2,0 至 0.1,0 至 0.05,或者 0.05 至 0.15atm,或某些条件下可以大于 0.2atm。

[0174] 本发明的膜可以许多方向使用。如果膜的生物层包括需氧的细胞或微生物或孢子,则膜的营养侧应当基本上无氧,气体侧应当有含氧气体与其接触。含氧气体可以有大约 5 至 100% w/w 的氧,或者大约 10 至 100、15 至 100、20 至 100、30 至 100、50 至 100、75 至 100、10 至 50、10 至 30、10 至 20、15 至 50、15 至 25、或 20 至 50% w/w 的氧,可以含有大约 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、或 100% w/w 的氧。如前所述,在一个方向上,一对膜在其间形成内腔。由于生物层从营养物溶液中吸收氧,使其基本上无氧,因此流经内腔的营养物溶液缺少氧。可以在流经内腔之前使用除氧器对营养物溶液进行脱氧。在另一个方向上,膜分隔出两个小室,其中第一个气体小室中具有与膜的气体面接触的含氧气体,第二个小室是无氧的,与膜的营养面接触。第二个小室可以装有营养物溶液,其可以是静态的,也可以流过膜。第二个小室在营养物溶液之上可以有缺氧气体,或者营养物溶液在第二个小室内流经膜的营养面,所述的第二个小室中有缺氧气体,使得在第二个小室中的营养物溶液是缺氧的。在第二个小室中可以使用营养物溶液可以喷射到膜上,所述喷射使用缺氧的气体进行。第一个小室可以是上室,第二个小室可以是下室,或者第一个小室是下室,第二个小室是上室(因而膜是水平的),或者,第一个和第二个小室可以是并排的,因而膜是竖直的。在水平膜的情况下,具体而言,如果第二个小室是上室,可以有支撑结构支撑膜,使得营养物溶液的重量不会使膜变形或损坏。另外可选地,可以没有第一个小室,其中膜的气体面对含有氧的大气开放。使含氧浓度大于环境浓度的气体通过膜

的气体面可能是有益的,以促进生物层的生长。在其它方向上,膜是水平的,将上室与下室分隔,所述的上室具有与膜气体面接触的含氧气体,所述的下室具有与膜营养面接触的营养物溶液,其中所述的营养物溶液是缺氧的。使用除氧器脱氧后营养物溶液可以是缺氧的。另外可选地,如果下室的体积很小,下室中的营养物溶液中的氧可以通过被膜的生物层消耗而耗尽。营养物溶液和含氧气体之一或者二者都可以流过膜。在其它方向上,膜可以靠近并平行于表面(例如可以是聚合材料或金属,如不锈钢、铝等)放置,使得膜和固体表面之间形成内腔。膜可以是竖直的,或者如上所述与水平面成一定角度。由于生物层从营养物溶液中吸收氧,使其基本上缺氧,因此流经内腔的营养物溶液被脱除了氧。在流经内腔之前,可以使用除氧器对营养物溶液进行脱氧。在其它方向上,膜形成营养小室壁的一部分,因而膜的气体面在营养小室的外侧,营养面在营养小室的内侧。如本文其它地方所述,通过除氧器使营养小室保持缺氧。在营养物溶液流过膜的情况下,它可以在重力影响下流动,或者通过泵的作用流动,或者可以使包括膜的一部分生物反应器转动,使得营养物溶液在离心力影响下流过膜,或者它可以在其它力的作用下流过膜。在膜不水平的情况下,营养物溶液可从上方或从下方,或者以其它方向流过膜。在其它方向上,营养液体可以非水平方向(任选为竖直方向)流过膜。在该方向上,营养液体可以在营养小室内从膜的下部流过膜到达膜的上部。这样能够很容易地将气体从营养小室中排出,从而有利于在膜的营养面上保持缺氧状态。在本发明的一些操作方式中,除膜上的生物层之外,营养物溶液中还可以有包裹在小珠(beads)中的厌氧细胞。因此,营养物可以被缺氧的营养物溶液中被包裹的缺氧细胞和膜上生物层的需氧细胞和/或孢子代谢。小珠可以足够小,以避免发生阻塞,其比重足以使其悬浮在营养物溶液中。小珠的大小可以为大约1至100微米,或者大约1至50、1至10、10至100、50至100、或10至50微米,可以是大约1、2、3、4、5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、或100微米,或者可以更大或更小,部分地取决于其中所包裹细胞的大小。小珠的比重可以为大约0.8至1.2,或者大约0.8至1、1至1.2、或0.9至1.1,可以是大约0.8、0.9、1、1.1或1.2,或者可以更大或更小,这部分地取决于营养物溶液的比重。包裹的厌氧细胞可以被密封剂包裹,所述的密封剂可以是使营养物溶液中的营养物接触到包裹的厌氧细胞的凝胶或多孔材料。密封剂可以是水凝胶、无机凝胶、有机凝胶、多孔陶瓷、多孔聚合物或者其它对营养物可通透的密封剂。通过这种方式,小珠可以通过膜再循环,可以防止从生物反应器中被排出。例如,可以使用滤器来实现这一点。通过包裹厌氧细胞,可以防止或阻止它们定植在膜的营养侧,从而限制营养物溶液通过膜到达膜气体面的生物层上。

[0175] 在上述所有或任何方向上,以上述的所有或任何方式,可以通过膜支撑结构(例如支撑架、套管、外罩、框架、支架或其它支撑结构)将膜保持在该方向上。膜可以安装成使其悬挂在膜支撑结构上,或者限制在膜支撑结构内,或者可以其它方式安装在膜支撑结构内或其上。膜支撑结构可包括其中有凹槽或通道的固体结构,因而膜可以跨过这些凹槽,将营养物溶液封在其中。因此在后一种形式中,其上具有生物层的膜的气体侧远离凹槽,膜的营养侧面向这些凹槽。通过这些凹槽流动的营养物溶液通过营养面扩散至生物层,代谢物扩散至凹槽。在这种情况下,膜可以有内部支撑物,例如机织、纤维或其它的支撑物,或者可以没有内部支撑物。例如,其中可以有纤维,以提供额外的支撑。凹槽可以横跨固体支撑物,在每个凹槽的两个相反侧具有凝胶膜。膜支撑结构可以对膜提供足够的支撑,以维持其完整性。在上述的所有或任何方向上,可以使用再循环系统使营养物溶液通过膜进行循环。

再循环系统可以能够将氧从营养物溶液中排出,或者使用诸如除氧器对营养物溶液进行脱氧。

[0176] 在废水和类似应用中,可能需要将废水(营养物溶液)通过生物反应器的膜再循环一次以上,以实现成分的接触时间,使除去废水中所需量的物质。接触时间可以为大约1分钟至10天,这取决于生物层的性质、被去除物质的性质、浓度以及其它因素。接触时间可以为大约1分钟至1天、1分钟至12小时、1分钟至1小时、1分钟至30分钟、1至15分钟、1小时至10天、1至10天、5至10天、1小时至1天、1至12小时、12小时至24小时、或6至12小时,可以是大约1、2、3、4、5、6、12、18、24、30或45分钟,1、2、3、4、5、6、8、12、15、18或21小时,或1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天、或超过10天。因此,废水可通过膜再循环大约1至1000次,这取决于膜的尺寸、流速、被去除物质的性质和浓度、生物层的性质和其它因素。可以再循环大约1至500、1至200、1至100、1至50、1至10、10至1000、100至1000、500至1000、10至500、10至100、100至500、50至100或10至50次,可以再循环大约1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900或1000次。再循环系统中可以有检测器,以确定被去除物质的浓度。因此,废水可被再循环直至根据检测器确定被去除的物质下降至预定浓度。检测器的性质取决于被去除物质的性质。它可以是浓度检测器、pH检测器、pH探针、离子浓度探针或其它类型的检测器。根据本发明的生物反应器可以用于从含有重金属的液流中使重金属螯合(sequester)。它可以是废水液流或其它液流。如果需要,可以从螯合它们的生物层中回收重金属,例如,通过萃取、燃烧或其它合适的方法回收。

[0177] 本发明的膜的生物层中使用的微生物和细胞的例子包括产黄青霉、嗜酸氧化亚铁硫杆菌、黑曲霉、米曲霉(*A. Oryzae*) (例如水稻霉菌(var. *oryzae*) IF030113株)、*A. soya*、人初级成纤维细胞。

[0178] 本发明的一个特征在于膜是可通透的,使细胞能够从被固定的生物层去除。在膜的气体面上可以没有支撑基质,使膜是可通透的。从被固定的生物层上去除细胞的目的可以是,例如,为了使用细胞作为食物,或者这可以防止生物层的过度生长。在操作过程中,生物层可以生长到一定程度,使氧和/或营养物溶液通过生物层的扩散被减缓,从而降低了产物的生产速率、或者将不需要的成分从营养物溶液中去除的速率。因此,需要去除一些生物层,以便使氧和/或营养物溶液的扩散速率足以实现可接受的生产速率或去除速率。膜与用于从生物层上分离固体产物的刮除或振动或鼓风或其它合适方式的装置相通。因此,可以通过包括刮除或振动或鼓风中至少一种的方法将固体产物去除。另外可选地,可以通过操作生物反应器使生物层不能存活来去除固体,例如,不向生物层提供营养物,或者使培养物耗尽所有营养物。在这种情况下,对于某些类型的生物层来说,生物层可以自行从膜上分离,或者可以通过刮除或振动或鼓风变得更容易被去除。

[0179] 在操作过程中,将营养物溶液提供给膜的营养面,以输送营养物,营养物通过膜扩散至生物层,该生物层在膜的气体面上生长,并在膜的孔网格内部生长至不太致密的程度。由于几乎所有的生物量均在膜的气体面上或其中生长,它实际上被固定,从而从营养物溶液中分离出来。相对缺氧的营养物溶液可以减缓营养物溶液内生物层的细胞或其它生物物质的生长,从而减少生物污垢。与其它类型生物反应器所产生的充满细胞的流出液相比,实际上无细胞的营养物溶液更容易进行处理。营养物溶液的扩散可以在无需外部压力的情况

下进行。这就便不再需要支撑结构来支撑膜和生物层以对抗来自膜营养面的压力,也不再需要装置来施加这种压力。

[0180] 在一种实施方式中,生物反应器的生物层包括需氧微生物或细胞。在该方式中,将含氧气体提供至膜的气体面,以营养物溶液基本缺氧的方式将包括可氧化物质(例如碳水化合物、氨基酸、铁(II)盐类)的营养物溶液提供至膜的营养面。这可以通过将营养物溶液提供至膜之前从其中除去氧来实现,或者将营养物溶液提供至以下构造的膜来实现:生物层将最初存在于营养物溶液中的任何氧迅速消耗,使其此后基本上缺氧。取决于生物反应器的构造、营养物溶液的性质、生物层的性质等,最初存在于营养物溶液中的氧可以在膜的大约前 10cm 膜被消耗,或者在膜的大约前 5、4、3、2、1 或 0.5cm(或某些其它长度)中被消耗,然后膜的剩余部分与基本上缺氧的营养物溶液接触。

[0181] 在另外可选的实施方式中,生物反应器的生物层包括厌氧微生物或细胞。在该方式中,将缺氧气体提供至膜的气体面。缺氧气体可以是氢气、甲烷、一氧化氮、氮气或其它缺氧气体、或这些气体的组合。缺氧气体可以是非氧化性的,可以是还原性气体,可以是可氧化气体。在该方式中,营养物液流可以包括可还原物质(如硫酸盐、硝酸盐)或可还原物质的混合物。在该实施方式中,生物层将营养物液流的可还原物质还原,并将缺氧气体氧化。可还原物质的还原可以产生不溶性物质(例如金属硫化物),例如,从营养物液流中去除不需要的溶质。

[0182] 在其它实施方式中,在膜的气体面上有第一生物层,所述的第一生物层包括需氧细胞或微生物,在膜的营养面上有第二生物层,所述的第二生物层包括厌氧细胞或微生物。这种方式用于,例如,将氨水和亚硝酸盐同时硝化和反硝化,形成氮。这种模式可以用于废水处理和水产养殖。

[0183] 在操作中,生物量也可以在膜的气体侧与含氧气体接触。在现有技术的许多生物反应器中,生物量位于营养物溶液中,从而必须对营养物溶液氧合或曝气,以便为生物量提供氧。这样极大地增加了这些生物反应器的成本。本发明的生物反应器设计消除了这种对氧合或曝气装置的需求。在根据本发明的生物反应器中,成对的膜(形成使其间营养物溶液通过的内腔)可以被足以使空气在该对膜之间通过的空间分隔开,从而为膜上和/或膜中的生物量提供氧。该空间可以足以使扩散流量通过其中。气体(例如空气)可以通过扩散、对流、风力或其它方式通过该空间,即,不需要额外的装置使其通过该空间,或者通过风扇、鼓风机、循环风机或其它方式使气体通过该对膜的气体面。该空间可以取决于膜的大小。它的跨度可以为大约 2 至 100mm(即,在该对膜之间),或者大约 2 至 50、2 至 20、2 至 10、5 至 50、5 至 20、5 至 10、10 至 100、50 至 100、80 至 100、10 至 50、10 至 20、或 8 至 10mm,跨度可以可以是大约 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 或 100mm,或者跨度超过 100mm。

[0184] 在许多实施方式中,本发明的生物反应器在营养物液流基本上缺氧的条件下工作。这样就限制了膜营养面上需氧细胞和孢子的生长。这种特征将本发明和许多以前已知的生物反应器区别开来,以前没有描述缺氧营养物溶液,实际上并未提示要保证营养物料流缺氧。例如,JP10-179138 描述了一种生物反应器,其中营养物液流流过膜,该膜在营养物液流的另一侧上具有生物层。但是在这种生物反应器中,在营养物液流应用于膜并在其上流过时,没有提示要放置营养物液流的氧合,也没有说明它是缺氧的。该发明中使用的膜

必须对生物层的细胞不通透,因为这是防止细胞在膜的营养面上生长的唯一方式。在本发明中,与之相反,膜的绝对完整性并不太重要,因为营养物溶液的缺氧性质使细胞、孢子等在膜营养侧的生长受到抑制。这使得本发明能够使用相对于 JP10-179138 较为便宜的膜。

[0185] 生物反应器可以在营养物溶液与空气不接触的条件下工作。通过使其通过两张膜之间,或一张膜的两个部分之间,或膜和对氧不通透的支撑物(其中所述的支撑物位于两张平行的膜之间)之间,可以实现这一点,因此流入的营养物溶液中的任何溶解氧均被生物层迅速消耗,使营养物溶液相对缺氧。以这种方式可以使营养物液流在很大程度上缺氧,而不需要昂贵的鼓泡和/或除氧装置。另外可选地,营养物溶液可以在基本上缺氧的气体(例如氮、二氧化碳、氦、氩或其它非氧化性气体、或其混合物)中通过膜。例如,膜可以竖直悬挂,在气体侧上有含氧气体,营养物溶液从被氮气气氛覆盖的营养侧滴下。任选地,还可以有除氧器从营养物溶液中除去氧,以保证溶液相对缺氧。除氧器可以是脱气器,例如真空脱气器,或者它可以包括鼓泡装置,将含氧量极低的气体通过营养物溶液鼓泡。含氧量极低的气体可以是,例如,氮、二氧化碳、氦、氩或任何其它氧含量很少的合适气体。按重量计或按体积计,氧含量可以是小于大约 5%,或者小于大约 4、3、2、1、0.5 或 0.1%,或者氧含量按重量计或按体积计可以是大约 0、0.1、0.5、1、2、3、4 或 5%。营养物溶液从除氧器中排出后,氧的浓度可以为低于大约 10ppm 氧,或者低于大约 5、1、0.5、0.1、0.05 或 0.01ppm 氧,或者可以是大约 0、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5 或 10ppm 氧,或者氧饱和度水平可以为低于大约 10%,或者低于大约 5、2、1、0.5 或 0.1%,或者为大约 0、0.1、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10%。除氧器可以位于进口、进口歧管、出口、出口歧管或储存营养物溶液的储存容器或生物反应器的其它部分,或者可以有一个以上的除氧器,每一个位于这些位置中的任何一处。

[0186] 也可以有再循环系统,将营养物溶液从出口再循环至进口。再循环系统可以能够防止氧进入营养物溶液。再循环系统可以包括一个或多个泵、泵进口管道、泵出口管道、泵出口管道、进料管道、进料管道阀门、出料管道、出料管道阀门、进料槽和出料槽。例如,再循环系统可以包括:

[0187] 将营养物溶液泵入泵出的泵,

[0188] 从泵连接至进口歧管的泵出口管道,

[0189] 从出口歧管连接至泵的泵进口管道,

[0190] 具有进料管道阀门的进料管道,用于使液体进入到生物反应器中,和

[0191] 具有出料管道阀门的出料管道,用于将液体从生物反应器中排出。

[0192] 再循环系统可以具有储存营养物溶液的储存器。储存器可以是槽或箱、烧杯、瓶子、小室、池或罐。

[0193] 已经发现,在营养物溶液被不含营养物的第二种液体(例如盐水和/或缓冲溶液)更换后,本发明的生物层可以继续生成产物。因此,根据本发明的生物反应器的一种操作方法是提供营养物溶液给膜营养面以第一段时间,然后向膜提供不含营养物的第二种液体以第二段时间。因此,提供实际上无细胞和无营养物的溶液更容易进行处理以分离产物。在后一种方法中,第一段时间取决于生物层的性质和生物分离器的工作条件。第一段时间可以为大约 1 小时至 1 天,或大约 1 至 18 小时、或大约 1 至 12 小时、或大约 1 至 6 小时、或大约 1 至 3 小时、或大约 1 至 2 小时、或大约 6 小时至 1 天、或大约 12 小时至 1 天、或大约 18 小时至 1 天、或大约 3 至 18 小时、或大约 6 至 12 小时,可以是大约 1、2、3、4、5、6、12、18 或

24 小时。第二段时间也取决于生物层的性质和生物反应器的工作条件,并可取决于第一段时间的长度。第二段时间可以为大约 12 小时至 12 天、或大约 12 小时至 8 天、或大约 12 小时至 4 天、或大约 12 小时至 2 天、或大约 12 小时至 1 天、或大约 1 至 12 天、或大约 4 至 12 天、或大约 8 至 12 天、或大约 1 至 6 天、或大约 2 至 4 天,可以是大约 12 或 18 小时,或者大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 天。

[0194] 为了促进生物层健康、有效地工作,生物层可保持在特定的温度下。该温度将取决于生物层的性质,因为不同生物材料的最佳工作温度是不同的。生物反应器工作过程中温度可以稍微变化。温度可以为大约 -5 至 120℃、或 -5 至 0℃、或大约 0 至 100℃、或大约 0 至 50℃、或大约 0 至 20℃、或大约 20 至 120℃、或大约 50 至 120℃、或大约 90 至 120℃、或大约 10 至 45℃、或大约 10 至 35℃、或大约 10 至 25℃、或大约 20 至 55℃、或大约 30 至 55℃、或大约 40 至 55℃、或大约 15 至 45℃、或大约 17 至 42℃、或大约 20 至 40℃、或大约 20 至 30℃、或大约 30 至 40℃,可以是大约 -5、0、5、10、15、17、20、25、28、30、35、37、40、42、45、50、60、70、80、90、100、110 或 120℃。通过与生物层接触的空气或流出液体,可以将温度保持在所需的温度附近。

[0195] 生物反应器的工作目的可以是产生可溶性产物(可以从膜营养面的液体中回收,例如药物、抗体、疫苗成分、或其它化学物质)和/或固体产物(可以从膜的气体面回收,例如食物原料或细胞),或者是为了从营养液体中去除不需要的成分。额外地或另外可选地,通过生物转化(例如碳水化合物的代谢,以减少生物需氧量(BOD)、金属离子的生物还原或生物氧化以减少污染负荷、去除硫、磷或氮化合物)或者某些成分如金属离子生物吸着在生物层上,生物反应器可以用来去除营养液流中不需要的成分(例如,C、N、S、P、Mn、Mg、Ca、Zn、重金属)如污染物。这样可以用于处理废水、从液流中生物吸着金属离子、以及应用于采矿回收和生物除污。

[0196] 膜支撑结构可以是任何用于支撑本发明的膜的合适结构,或者,在有多于一张膜的生物反应器中,用于支撑所有的膜。例如,它可以是框架、托架、套管、外罩、台架或支架。它可以由金属制成,例如铝、钢、不锈钢、钛或其它合适的金属,或者可以由合适的硬性塑料制成,例如聚乙烯、聚丙烯、聚甲基戊烯、聚甲基丙烯酸甲酯或聚碳酸酯。膜支撑结构可以竖直或水平放置以支撑膜。膜支撑结构可以包括滚筒或电动机,以协助膜在生物反应器内移动。

[0197] 本发明的膜可以是纳米孔、中孔或微孔的,或者具有纳米尺度和/或中尺度和/或微尺度孔的组合。它可以能够使生物层的细胞或孢子从其中通过,或者可以不能使生物层的细胞或孢子从其中通过。如下所述,膜包括支撑材料,如下所述,在支撑材料上和/或其中还可以有纳米孔固体或凝胶,尽管根据本发明的膜可以没有纳米孔固体或凝胶。膜可以包括以重量或体积计大约 0 至 90% 的纳米孔凝胶,或者包括以重量或体积计大约 10 至 90%、或大约 10 至 50%、或大约 10 至 30%、或大约 30 至 90%、或大约 50 至 90%、或大约 70 至 90%、或大约 20 至 80%、或大约 30 至 70%、或大约 40 至 60% 的纳米孔凝胶,或者可以包括以重量或体积计大约 0、10、20、30、40、50、60、70、80 或 90% 的纳米孔凝胶。膜可以是平面或管状的。膜的厚度可以为大约 0.1 至 10mm,可以为大约 0.1 至 5mm、或大约 0.1 至 2mm、或大约 0.1 至 1mm、或大约 1 至 10mm、或大约 5 至 10mm、或大约 0.5 至 5mm、或大约 1 至 5mm、或大约 1 至 2mm,可以是大约 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、

4.5、5、6、7、8、9 或 10mm 厚。当制造膜时,细胞在纳米孔材料中的分布最初可以是几乎均匀的。但是在工作过程中,工作条件可能会促进细胞在气体面附近和 / 或在其上生长,并会抑制细胞在膜其它区域的生长。这样就可能引起膜在工作状态下细胞分布不均匀,靠近气体面和 / 或在气体面上的细胞浓度较高。

[0198] 纳米孔固体或凝胶可以包括任何合适的可以从前体液体制成的材料,其中所述的前体液体适于在不损害细胞的情况下将细胞分散在其中。纳米孔固体或凝胶可以包括,例如,硅胶、氧化钛凝胶、氧化锆凝胶、氧化铝凝胶,或者包括二氧化硅、氧化钛、氧化锆和氧化铝中的两种或更多种的混合凝胶(例如,硅铝胶),或者可包括琼脂-琼脂、琼脂糖、海藻酸钙、果胶或其它生物聚合物。而且,由水铁矿组成的纳米孔无机凝胶可以在嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)的作用下在膜上 / 中形成。

[0199] 纳米孔固体或凝胶的孔隙度可以为大约 40 至 90%,或者为大约 40 至 75%、或大约 40 至 60%、或大约 50 至 90%、或大约 60 至 90%、或大约 70 至 90%、或大约 50 至 80%、或大约 60 至 70%,可以是大约 40、45、50、55、60、65、70、75、80、85 或 90%。孔的平均直径可以为大约 1nm 至 10 μ m,或者大约 1nm 至 1 μ m、或大约 1 至 500nm、或大约 1 至 100nm、或大约 1 至 50nm、或大约 1 至 10nm、或大约 100nm 至 10 μ m、或大约 500nm 至 10 μ m、或大约 1 至 10 μ m、或大约 10nm 至 1 μ m、或大约 50 至 500nm、或大约 100 至 200nm,其平均直径可以是大约 1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、75、100、150、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800 或 900nm,或者大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 μ m。纳米孔固体或凝胶在其孔中可以有液体,液体可以是水性液体。水性液体可以含有生物实体的营养物,可以含有生物实体生成的产物,可以含有其它成分,例如电解质、盐类、维生素、生长因子和 / 或溶解的气体。

[0200] 生物层可以是,例如,生物膜。生物层可以包括细胞、孢子或其它生物实体或其组合。生物层可以能够生成所需的产物,例如抗生素、药物、抗体、疫苗、化学物质、食物原料、细胞或激素,例如,它可以包括能够生成青霉素的产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*)。另外可选地,它可以包括能够摄入金属(可以是金属离子的形式)如铅或者去除其它废料或用于净化流出液的细胞,例如,它们可以是能够去除碳水化合物的黑曲霉(*Aspergillus niger*)。生物层可以位于膜上和 / 或之中,可以位于膜气体面上和 / 或其中,使得生物层可以与生物反应器中的气体接触。因此生物反应器能够产生所需的产物,或者从液流或气流中去除一些物质(如污染物或不需要的物质),所述液流作为营养液流提供给膜的营养面,所述气流提供给膜气体面上的生物层。例如,微生物可以介导污染物(例如,臭氧、 H_2S 、 SO_2 等)从气流中脱除。在这种情况下,膜的气体面可以气体小室或外罩的形式安置,气流可通过气体小室经过生物层再循环,并且可以再循环足够的时间,使污染物的浓度降低到可接受的水平。

[0201] 支撑材料可以由在膜的工作条件下不生物降解的材料制成。支撑材料可以是亲水的或疏水的,可以包括多孔材料、或机织材料、或非织造纤维材料、或海绵状材料、或开孔泡沫材料、或一些具有连接支撑物第一个面和支撑物第二个面的孔隙的其它材料。支撑材料可以是,例如,机织或非织造的纤维材料或非纤维性多孔材料。纤维材料可以是玻璃纤维网(matting)或棉,非纤维性多孔材料可以是开孔材料如开孔泡沫,或者可以是中孔和 / 或微孔材料。它可以是刚性或柔性的。支撑物的孔隙度可以为大约 40 至 90%,或者为大约 40

至 75%、或大约 40 至 60%、或大约 50 至 90%、或大约 60 至 90%、或大约 70 至 90%、或大约 50 至 80%、或大约 60 至 70%，可以是大约 40、45、50、55、60、65、70、75、80、85 或 90%。支撑物的孔可以为大约 10 至 200 微米，或者或大约 10 至 100 微米、或大约 10 至 50 微米、或大约 50 至 200 微米、或大约 100 至 200 微米、或大约 50 至 150 微米，可以是大约 10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150 或 200 微米。机织或非织造材料可以为大约 10 至 100 股 / 厘米、或大约 20 至大约 100 股 / 厘米、或大约 40 至 100 股 / 厘米、或大约 60 至 100 股 / 厘米，或者为大约 10 至 60 股 / 厘米、或大约 10 至 40 股 / 厘米、或大约 25 至 70 股 / 厘米、或大约 30 至 60 股 / 厘米、或大约 35 至 50 股 / 厘米、或大约 35 至 45 股 / 厘米，可以是大约 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95 或 100 股 / 厘米。每股的厚度可以为大约 20 至 1000 微米、或大约 20 至 500 微米、或大约 20 至 200 微米、或大约 20 至 100 微米、或大约 100 至 500 微米、或大约 200 至 500 微米、或大约 300 至 500 微米，或者为大约 50 至 400 微米、或大约 100 至 300 微米、或大约 500 至 1000 微米、或大约 750 至 1000 微米、或大约 500 至 750 微米，可以是大约 20、30、40、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900 或 1000 微米。支撑物可以包括，例如，玻璃纤维网、机织玻璃网、聚酯、微孔聚烯烃（例如聚乙烯或聚丙烯）、微孔含氟聚合物（如聚偏二氯乙烯或聚四氟乙烯）、棉、聚酯-棉、丝、毛、烧结玻璃、烧结金属或一些其它的多孔或纤维材料。

[0202] 支撑材料可以是亲水材料。在使用之前，可以对支撑材料进行处理，以清洁表面和 / 或使表面更具亲水性。处理的具体细节取决于材料的性质。例如，可以采用的处理包括使支撑材料与碱性溶液如氢氧化钾水溶液接触的步骤。碱性溶液可以为大约 0.1 至 5M，或者为大约 0.1 至 1M、或大约 0.1 至 0.5M、或大约 0.5 至 5M、或大约 1 至 5M、或大约 3 至 5M、或大约 0.5 至 2M，可以是大约 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5 或 5M。当对包括机织玻璃网（或其它玻璃纤维）的材料进行处理时，接触步骤可以持续大约 12 至 48 小时，或者大约 18 至 36 小时、或大约 20 至 28 小时、或大约 12 至 24 小时、或大约 12 至 18 小时、或大约 24 至 48 小时、或大约 36 至 48 小时，可以是持续大约 12、18、24、30、36、42 或 48 小时。但是，当对包括棉、聚酯-棉或聚酯的支撑材料进行处理时，接触步骤的时间应该较短，以免损坏支撑材料，接触步骤的时间可以是大约 1 至 20 分钟、或大约 1 至 10 分钟、或大约 1 至 5 分钟、或大约 10 至 20 分钟、或大约 15 至 20 分钟、或大约 2 至 15 分钟、或大约 3 至 10 分钟、或大约 4 至 7 分钟，可以是大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18 或 20 分钟。另一种可以采用的处理方法是使支撑材料与水等离子体（例如可以在 RF 发生器中形成）接触。接触时间可以为大约 1 至 20 分钟、或大约 1 至 10 分钟、或大约 1 至 5 分钟、或大约 10 至 20 分钟、或大约 15 至 20 分钟、或大约 2 至 15 分钟、或大约 3 至 10 分钟、或大约 5 至 8 分钟，可以是大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18 或 20 分钟。在一个实施例中，可以在 40W 射频等离子体发生器中，将支撑物在水等离子体中以 5.0×10^{-2} 毫巴侵蚀大约 6 分钟，在 13.56mH RM 下操作使表面氢化，使其可润湿。另外可选地，可以使用烘箱烧去玻璃支撑材料中的疏水性材料，使其更为亲水。烘箱的温度可以是大约 300 至 700℃，或者是大约 300 至 500℃、或大约 300 至 400℃、或大约 500 至 700℃、或大约 500 至 700℃、或大约 400 至 600℃之间，可以是大约 400、450、500、550、600、650 或 700℃。将玻璃支撑材料中的疏水性材料烧去所需的时间可以为在大约 5 分钟至 36 小时，或者为大约 10 分钟至大约 24 小时、或大约 30 分钟至 18 小时、或大约 1 至 12 小时、或大约 2 至 6 小时、或

大约 5 分钟至 12 小时、或大约 5 分钟至 6 小时、或大约 5 分钟至 1 小时、或大约 5 至 30 分钟、或大约 10 至 30 分钟、或大约 1 至 36 小时、或大约 6 至 24 小时、或大约 12 至 24 小时、或大约 18 至 24 小时,可以是大约 5、10、15、20、25、30、40 或 50 分钟,或者是大约 1、2、3、4、5、6、9、12、18、24、30 或 36 小时。

[0203] 前体液体可以是任何适于在不损害细胞的情况下将细胞分散在其中的液体,它可以在不损害细胞或支撑物的情况下转化成纳米孔材料。前体液体的一个例子是碱性胶体二氧化硅溶液。这些溶液的 pH 通常为 10 左右,但是,其 pH 可以为大约 9 至 11、或大约 9.5 至 10.5、或大约 9 至 10、或大约 10 至 11, pH 可以是大约 9、9.5、10、10.5 或 11。胶体二氧化硅溶液中二氧化硅的固体浓度可以是以重量 / 重量计 (w/w) 的大约 30%,或者为大约 15 至 50%、或大约 20 至 45%、或大约 25 至 40%、或大约 30 至 35%、或大约 15 至 40%、或大约 15 至 30%、或大约 25 至 50%、或大约 35 至 50% w/w,或者可以是大约 15、20、25、30、35、40、45 或 50% w/w,或者可以是以体积 / 体积计 (v/v) 的大约 17%,或者可以为大约 10 至 20%、或大约 12 至 20%、或大约 15 至 20%、或大约 16 至 20%、或大约 10 至 18%、或大约 10 至 16%、或大约 10 至 14%、或大约 12 至 19%、或大约 14 至 18%、或大约 16 至 17% v/v,或者可以是大约 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20% v/v。

[0204] 固定在纳米孔固体或凝胶中的细胞可以分散在前体溶液中。前体溶液中细胞的浓度可以为大约 10^1 至 10^{12} cfu/ml、或大约 10^1 至 10^5 cfu/ml、或大约 10^1 至 10^3 cfu/ml、或大约 10^9 至 10^{12} cfu/ml、或大约 10^{10} 至 10^{12} cfu/ml、或大约 10^5 至 10^9 cfu/ml、或大约 10^6 至 10^8 cfu/ml、或大约 5×10^6 至 5×10^7 cfu/ml、或大约 10^7 至 10^9 cfu/ml、或大约 5×10^7 至 5×10^8 cfu/ml、或大约 10^5 至 10^7 cfu/ml、或大约 5×10^5 至 5×10^6 cfu/ml,或者可以是大约 10^1 、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 10^5 、 5×10^5 、 10^6 、 5×10^6 、 10^7 、 5×10^7 、 10^8 、 5×10^8 、 10^9 、 10^{10} 、 10^{11} 或 10^{12} cfu/ml。

[0205] 纳米孔固体或凝胶可以包括,例如,硅胶、氧化钛凝胶、氧化锆凝胶、氧化铝凝胶、或者包括二氧化硅、氧化钛、氧化锆和氧化铝中的两种或多种的混合凝胶(例如硅铝胶),或者可以包括琼脂-琼脂、琼脂糖、海藻酸钙、果胶或其它生物聚合物。混合凝胶制备的方法可包括将相应醇盐的混合物可控水解的一步法,例如,二氧化硅-氧化钛凝胶可以通过四烷氧基硅烷(如四甲氧基硅烷 $\text{Si}(\text{OMe})_4$ TMOS)与四烷基钛酸酯(如四甲基钛酸盐 $\text{Ti}(\text{OMe})_4$)的可控水解进行制备。另外可选地,可以使用三烷氧基硅烷(如三甲氧基硅烷)或官能化烷基烷氧基硅烷(如甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷)来制备凝胶。通过改变 pH(如酸化),或通过挥发液体从前体溶液中蒸发,可以将前体液体转化成纳米孔固体或凝胶。蒸发可以包括加热和/或使气体通过具有前体液体的支撑材料。可以加热至足以使挥发性液体蒸发但不足以对支撑材料或其中的细胞和/或孢子(如果存在的话)造成破坏的温度。该温度可以为大约 30 至 90°C,或者为大约 30 至 80°C、30 至 60°C、30 至 40°C、50 至 80°C、或 40 至 60°C,可以是大约 30、40、50、60、70、80 或 90°C,或者,如果支撑材料和其中的任何细胞和/或孢子能够耐受该温度,可以超过 90°C。可以使足量挥发性液体蒸发,在支撑材料上和/或其中形成纳米孔固体或凝胶。

[0206] 因此,将作为前体液体的溶胶(如水溶胶)灌注到支撑材料中,通过合适的溶胶-凝胶方法在支撑材料中产生凝胶,所述方法取决于溶胶的性质,该方法可以包括以下的一种或多种:pH 调节、温度调节、挥发性液体的蒸发、与试剂接触、和用金属离子沉淀。

[0207] 在制造方法的一个实施例中,其中具有多个孔隙的支撑材料与其中分散有细胞的

胶体二氧化硅溶液接触,降低孔隙中胶体二氧化硅溶液的 pH,以便在支撑材料的孔隙中形成其中固定有细胞的纳米孔硅胶。pH 可以降低至大约 4 至大约 8,或者大约 5 至大约 7、或大约 4 至大约 7、或大约 4 至大约 6、或大约 5 至大约 8、或大约 6 至大约 8,可以降低至大约 4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5 或 8。降低 pH 的步骤可以包括如下步骤:从本体前体溶液中取出其孔隙中有前体溶液的支撑物,将支撑物浸泡在所需 pH 的水溶液中。另外可选地,如上所述,将胶体二氧化硅溶液的 pH 调节至大约 4 至大约 8。然后将细胞加入到胶体二氧化硅溶液中,在凝胶化之前,将溶液灌注到支撑材料中。这种可选方法特别适用于对于高 pH 环境敏感的细胞。

[0208] 前体液体的其它例子包括海藻酸钠水溶液或琼脂-琼脂或琼脂糖的水溶液。前体液体中溶质的浓度应当使得前体液体的粘度适于灌注到支撑物中。浓度取决于下列因素:包括溶质分子量和性质以及支撑材料的性质(孔径或网格筛目大小)。浓度可以为以重量或体积计的大约 0.5% 至 40%,可以为大约 0.5 至 30%、大约 0.5 至 20%、大约 0.5 至 15%、大约 0.5 至 10%、大约 0.5 至 5%、大约 1% 至 10%、大约 1% 至 5%、大约 5 至 40%、大约 10 至 40%、大约 15 至 40%、大约 20 至 40%、大约 30 至 40%、大约 5 至 30%、或大约 10 至 20%,可以是以重量或体积计的大约 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35 或 40%。水溶液一部分水的蒸发可以使溶质作为凝胶沉淀在支撑材料上和/或其中。在纳米孔固体或凝胶包括琼脂琼脂的情况下,通过将琼脂琼脂与水性液体一起加热至琼脂琼脂的凝胶温度使其溶解,可以制备前体溶液。凝胶化温度取决于琼脂-琼脂的级别,可以为大约 25 至大约 70°C。优选地,选择琼脂-琼脂的级别,使其凝胶温度足够低,使得发生溶解的温度下细胞不受损害。凝胶温度可以适宜地低于大约 50°C,可以低于大约 45°C 或低于大约 40°C,可以是大约 30、35、40、45 或 50°C。前体液体中琼脂琼脂的浓度以重量或体积计可以为大约 0.5 至 5%,或者为大约 0.5 至 4%、或大约 0.5 至 3%、或大约 0.5 至 2%、或大约 1 至 3%,或者以重量或体积计可以是大约 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、2、3、4 或 5%。将灌注有前体溶液的支撑材料冷却,使琼脂琼脂凝胶沉淀在支撑材料中和/或其上。如果琼脂-琼脂的凝胶温度高到足以对细胞造成损害,则如前所述,琼脂-琼脂凝胶可以在支撑材料中形成,但是前体溶液中没有细胞,在形成膜之后,得到的膜可以用细胞接种。在纳米孔固体或凝胶包括海藻酸钙的情况下,前体溶液可以是海藻酸或可溶海藻酸盐如海藻酸钠的水溶液。海藻酸的浓度以重量或体积计可以为大约 1 至 10%,或者为大约 1 至 5%、或大约 1 至 3%、或大约 5 至 10%、或大约 7 至 10%、或大约 2 至 7%、或大约 3 至 5%,可以为以重量或体积计的大约 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10%。因此,将灌注有前体溶液的支撑物浸泡到其海藻酸盐不溶于水的金属离子(如钙)的溶液中,使得不溶性海藻酸盐(如海藻酸钙)沉淀在支撑材料中和/或之上。例如,海藻酸盐可以是海藻酸钙,其溶液以重量或体积计可以为大约 1 至 5%,或者为大约 1 至 4%、或 1 至 3%,或者以重量或体积计可以是大约 1、2、3、4 或 5%。

[0209] 参照图 1,膜 10 具有营养面 12 和气体面 14,并包括其中和其上具有纳米孔凝胶 18 的纤维支撑材料 16。被固定的生物层 20 位于气体面 14 上和靠近气体面 14 的膜 10 中。纤维支撑材料 16 包括没有施胶剂的机织玻璃纤维网,纳米孔凝胶 18 包括纳米孔硅胶。生物层 20 包括包埋在靠近气体面 14 的膜 20 中的真菌 22,和在气体面 14 上或其附近的真菌 24。真菌 22 和 24 可以是诸如能够生成青霉素的产黄青霉。

[0210] 在工作过程中,膜 10 使得营养物溶液 26 沿箭头 21 的方向从营养面 12 扩散至被固定的生物层 20 上。将空气提供给生物层 20 的表面 28,促进真菌 22 和 24 的生长,因此生物层 20 生成产物(例如青霉素)。在营养物溶液 26 中和膜 10 内真菌的生长由于这些区域相对缺氧的条件而被抑制。产物沿箭头 23 的方向从生物层 20 通过膜 10 扩散。

[0211] 图 2 显示的示意图描述了其上和/或其中具有生物层的膜的制造方法。参照图 2,支撑材料 16 是纤维网,例如玻璃纤维机织网。在使用之前,可以对支撑材料 16 进行处理,以便清洁表面的施胶剂和其它污染物,使其表面更加亲水。可以采用的处理包括使支撑材料 16 与碱性溶液如大约 1M 的氢氧化钾水溶液接触大约 24 小时。膜的制备方法包括,例如,加入无机酸溶液如硫酸或盐酸,将胶体二氧化硅溶液(初始 pH 为 10 左右,固体含量为大约 30% w/w)调节至 pH 大约 6,所述的无机酸可以为大约 1 至 5N、或大约 1 至 3N、或大约 3 至 5N、或大约 2 至 5N,可以是大约 1、2、3、4 或 5N。加入真菌 22 如产黄青霉,总计数大约为 10^9 cfu/ml,得到前体液体 30。通过将支撑材料 16 浸泡在前体液体 30 中,将前体液体 30 灌注到支撑材料 16 中。pH 调节至大约 6 之后,前体液体 30 将很快发生凝胶化,通常在大约 30 分钟内,因此,在凝胶化之前需要将支撑材料 16 从前体液体 30 中取出。从前体液体 30 中取出支撑材料 16 时,前体液体 30 保持灌注在其中。在环境条件下静置时,前体液体 30 在支撑材料 16 上凝胶化,形成膜 32,真菌 22 基本上均匀地遍布其中分布,并且其中具有纳米孔凝胶 18。将营养物溶液 34 提供给膜 32 的营养面 12 使得营养物溶液 34 渗透过膜 32。气体面 14 与空气接触基本上不会使空气透过膜 32,因为其孔隙充满液体。这促使真菌 22 在气体面 14 上或靠近其生长,并抑制其在膜 32 的其它含氧较少的区域生长。因此,最初真菌 22 均匀分布的膜 32 上发生了不均匀分布,使膜 10 在气体面 14 上和其中产生了生物层 20(包括真菌 22)。

[0212] 图 2a 显示了另一个示意图,描述了具有被固定生物层的膜的一种不同的制造方法。在图 2a 中,膜包括支撑物 16。支撑材料 16 是纤维网,例如棉,喷雾 70 包括其中具有真菌 22 的微滴 72。支撑材料 16 的气体面 14 与喷雾 70 接触,使真菌 22 沉积在气体面 14 上,真菌 22 中的一些也可能渗透入支撑物 16 中。膜的营养面 12 与营养物溶液 78 接触,使得溶液 78 通过支撑材料 16 扩散至真菌 22,置换支撑材料 16 中的空气。这促使真菌 22 在气体面 14 上或靠近其生长,抑制其在膜其它含氧较少的区域生长。这样导致形成位于气体面 14 上、且一部分在其中的生物层 20。

[0213] 参照图 3,生物反应器 50 包括膜支撑结构 52 和由结构 52 垂直支撑的膜 10。每张膜 10 都是平面的,其取向与其它膜 10 平行。膜 10 成对排列,使得每对膜连接在一起形成扁平管,其横截面如图所示。每张膜 10 上均固定有生物层 20,使得营养物溶液能够向其扩散。生物层 20 可以包括真菌,例如能够生成青霉素的产黄青霉。生物反应器 50 具有用于保持每对膜之间距离的隔板 54。每张膜 10 都有刮具 56,用于从生物层 20 上去除过量的生物量。生物反应器 50 具有使营养物溶液到达膜 10 的营养面的进口 58,还有将营养物溶液从每对膜之间去除的出口 60。进口 58 与进口歧管 62 连接,出口 60 与出口歧管 64 连接。

[0214] 在操作过程中,通过进口歧管 62 和进口 58 供应营养物溶液。营养物溶液是适合生物层 20 的真菌的营养物溶液,可以含有诸如碳水化合物。生物反应器 50 位于需氧环境中,从而使生物层 20 与空气接触。营养物溶液通过膜 10 扩散至生物层 20。因此生物层 20 具备生成所需产物所要求的条件,所述产物在上例中为青霉素。该产物在营养物溶液中通

过膜 10 扩散,通过出口 60 和出口歧管 64 从生物反应器 50 中排出。可以收集排出的营养物溶液,以分离所需产物。在生物反应器 20 变厚,由于其一些部分缺氧使产物的生成变慢的情况下,刮具 56 可以沿生物层 20 向下移动,从其上去除固体物质。在另外可选的实施方式中,营养物溶液如上所述提供给膜 10 以第一段时间,该段时间可以为大约 12 至 24 小时。在该第一段时间后,通过进口歧管 62 和进口 58 将盐水溶液提供给膜 10 以第二段时间,从而置换生物反应器 50 中的营养物溶液。第二段时间可以为大约 1 至 5 天。在第二段时间期间,如上所述,生物层 20 生成所需的产物。该产物通过膜 10 扩散,并在盐水溶液中通过出口 60 和出口歧管 64 从生物反应器 50 中排出。从排出的盐水溶液中分离所需的产物很容易完成。

[0215] 图 3a 显示了用于图 3 所示生物反应器的进口歧管。在图 3a 中,歧管进口 63 连接通向除氧器 65。除氧器可以是任何合适的除氧器,可以包括,例如,脱气器如真空脱气器,或者可以包括鼓泡装置,用于将含氧量极低的气体如氮或二氧化碳通过营养物溶液进行鼓泡。歧管管道 67 将除氧器 65 与进口 58 连接。在操作过程中,通过歧管进口 63 将营养物溶液提供至除氧器 65,将氧脱除至很低的水平,例如低于大约 5ppm。然后,相对缺氧的营养物溶液通过歧管管道 67 至进口 58,该进口将营养物溶液供应给生物反应器的膜(未示出)。

[0216] 图 3b 显示了根据本发明的生物反应器中的将来自出口的液体再循环至进口的再循环系统。在图 3b 中,进料管道阀门 620 是与生物反应器 50(在图 3 中显示,但未在图 3b 中显示)的进口歧管 62、进料管道 630 和泵出口管道 640 连接的三通阀门。出料管道阀门 650 是与生物反应器 50(图 3)的出口歧管 64、出料管道 660 和泵进口管道 670 连接的三通阀门。在生物反应器 50 的正常工作过程中,进料管道阀门 620 设置成使液体可以从管道 640 到达歧管 62,但是管道 630 被关闭,出料管道阀门 650 设置成使液体可以从歧管 64 到达管道 670,但是管道 660 被关闭。在这种配置中,泵 610 将液体从出料歧管 64 经管道 670 和 640 泵至歧管 62,没有液体通过管道 630 或 660。为了向生物反应器 50 中加入液体,例如在生物反应器开始工作时,将阀门 620 配置成液体可以从管道 630 到达进口歧管,但是不到达管道 640。同样,为了将液体从生物反应器 50 中排出,例如为了使液体到达分离器以便从中分离产物,阀门 650 设置成使液体可以从出口歧管到达出料管道 660,但是不到达管道 670。

[0217] 图 3c 显示了根据本发明生物反应器的将来自出口的液体再循环至进口的另一种再循环系统。在图 3c 中,泵 710 具有泵进口管道 720 和泵出口管道 730。泵出口管道 730 输出至进料槽 740 中。装有阀门 760 的进料管道 750 也输出至进料槽 740 中。进料槽 740 与生物反应器 50(在图 3 中显示,但未在图 3b 中显示)的进口歧管 62 连接。生物反应器 50 的出口歧管 64 输出至出料槽 770 中,该槽与泵进口管道 720 连接,并与装有出料管道阀门 790 的出料管道 780 连接。槽 740 和 770 可以任选地具有从其中的液体排除氧的装置。这些装置可以包括,例如,惰性气体喷气管、盖子、可移动式活塞或其它合适的装置。在生物反应器 50 的正常工作中,进料管道阀门 760 是关闭的,以防止液体通过管道 750 进入槽 740,出料阀门 790 是关闭的,以防止液体通过出料管道 780 从槽 770 中排出。在这种配置中,液体从槽 740 流至进口歧管 62,经出料歧管 64 返回至槽 770。泵 710 将液体通过管道 720 和 730 从槽 770 泵至槽 740。为了向生物反应器 50 中加液体,例如在生物反应器开始工作时,打开阀门 760,使液体可以通过管道 750 到达槽 740 中。同样,为了从生物反应器

50 中去除液体,例如为了使液体通过到达分离器以便从其中分离产物,打开阀门 790,使液体可以通过管道 770 到达出料管道 780。

[0218] 图 3d 显示了根据本发明的另一种生物反应器。该生物反应器有多对依次配置的膜。在图 3d 中,生物反应器 800 具有膜支撑结构 810 和分别支撑于其上的膜 830 和 831、832 和 833、以及 834 和 835 组成的成对膜 820、821 和 822。成对的 820、821 和 822 分别具有内部区域 836、837 和 838。进口 840 与 820 对的内部区域 836 连接,出口 850 与 822 对的内部区域 838 连接。连接管道 860 与内部区域 836 和 837 连接,并配有泵 870,连接管道 865 与内部区域 837 和 838 连接,并配有泵 875。在工作过程中,营养物溶液通过管道 840 到达内部区域 836,并从此处通过膜 830 和 831 扩散至其上的生物层(未显示)。产物通过膜扩散至内部区域 836。然后,营养物溶液经管道 860 从 836 区流出,由泵 870 泵至内部区域 837 中,如上文对膜 830 和 831 所述,在此通过膜 832 和 833 扩散。通过管道 865 从内部区域 837 排出时,营养物溶液由泵 875 泵至内部区域 838 中,如上文对膜 830 和 831 所述,在此通过膜 834 和 835 扩散。最后,含有由膜 830 至 835 生成的任何产物的营养物溶液通过出口 850 排出。营养物溶液可以通过如图 3b 和 3c 所示的再循环系统进行再循环。

[0219] 图 4 是根据本发明的另一个生物反应器的示意图。图 4 的上部显示了生物反应器 80 的侧视图,下部显示其垂直横截面视图。生物反应器 80 包括膜支撑结构 81 和支撑在在膜支撑结构 81 上的膜 10。膜 10 上支撑有生物层 20。膜支撑结构 81 包括滚筒 82 和有孔滚筒 84,它们能够以顺时针方向旋转。滚筒 82 和 84 中的至少一个是由电动机 85 驱动的电动机,使膜 10 以箭头 86 的方向移动。膜支撑结构 81 以如下构造支撑膜 10:膜 10 的 88 部分分别与另一 90 部分平行,在其间形成内部区域 92。生物反应器 80 具有使营养物溶液经由有孔滚筒 84 进入内部区域 92 的进口 93,并具有将营养物溶液从内部区域 92 中去除的出口 94。进口 93 与进口歧管 96 连接,并与有孔滚筒 84 连接。生物反应器 80 具有将固体物质从膜 10 上去除的刮具 98。

[0220] 在工作过程中,将营养物溶液通过进口歧管 96 和进口 93 供应至有孔滚筒 84。营养物溶液是适合生物层 20 细胞的营养物溶液,例如,可以含有碳水化合物。生物反应器 80 位于需氧环境中,从而使生物层 20 与空气接触。营养物溶液从滚筒 84 中流出,进入区域 92,从此处通过膜 10 扩散至生物层 20。从而为生物层 20 提供生成所需产物如青霉素所需的条件。该产物通过膜 10 扩散至 92 区,在营养物溶液中通过出口 94 排出生物反应器 80。可以收集排出的营养物溶液,以分离所需产物。在生物层 20 变地足够厚,使得由于其一些部分缺氧使产物的生成变慢的情况下,可以操作电动机 85,使膜 10 以箭头 86 的方向移动。因此,刮具 98 经过膜 10,该刮具的定位使得能够将过量生物量从生物层 20 上去除。可以收集过量的生物量以备使用或进一步加工。在另外可选的实施方式中,电动机 85 可以很低的速度连续工作,使得膜 10 的一部分上的生物层 20 在其上以足够长时间生长有需要去除的生物量时,则由刮具 98 通过该部分进行刮除。例如,如果用于生物层 20 生长的适当条件下的膜 10 的总长度为 L 米,生物层 20 需要 T 小时来生长出足以需要去除的生物量,由电动机 85 驱动的滚筒 82 的圆周为 C 米,则电动机 85 将以 $U(T \cdot C)$ 转/小时转动滚筒 82。

[0221] 图 5 是根据本发明的再另一种生物反应器的示意图。图 5 的上部显示生物反应器 100 的侧视图,下部显示其水平横截面视图。生物反应器 100 包括膜支撑结构 102、和支撑在进口环 107 和出口环 109 之间的内膜 104 和外膜 106。膜 104 和 016 是管状、同心的,

在其间形成内部区域 108。进口环 107 和出口环 109 中的孔向 108 区开放,使液体从环 107 中流至 108 区,从 108 区流至环 109。膜 104 和 106 各自分别固定有生物层 120 和 122,并在其气体面(分别为 124 和 126)上包括有细胞。隔板 105 位于内部区域 108 中,以保持膜 104 和 106 之间的距离。生物反应器 100 具有使营养物溶液经进口环 107 进入 108 区的进口 110,并具有使营养物溶液经出口环 109 从 108 区排出的出口 112。生物反应器 100 具有分别从生物层 120 和 122 上去除固体物质的刮具 114 和 115。为了使膜 104 和 106 分别相对刮具 114 和 115 旋转,提供电动机 116,以有助于将过量生物量从膜 104 和 106 的生物层 120 和 122 上去除。

[0222] 在工作过程中,营养物溶液通过进口 110 供应至进口环 107。营养物溶液是适合生物层 120 和 122 的真菌的营养物溶液,例如,可以含有碳水化合物。生物反应器 100 位于需氧环境中,因此生物层 120 和 122 与空气接触。营养物溶液通过进口环 107 流入 108 区,从该处分别通过膜 104 和 106 扩散至生物层 120 和 122。因此为生物层 120 和 122 提供生成所需产物所要求的条件。该产物通过膜 104 和 106 扩散至 108 区,在营养物溶液中通过出口环 109 和出口 112 从生物反应器 100 中排出。可以收集排出的营养物溶液,以分离所需产物。在生物层 120 和 122 变得足够厚使得由于其一些部分缺氧使产物的生成变慢的情况下,可以操作电动机 116,使膜 104 和 106 围绕竖直轴旋转。因此,刮具 114 和 115 分别经过膜 104 和 106,该刮具的定位使得能够将过量生物量从生物层 120 和 122 上去除。可以收集过量的生物量以备使用或进一步加工。在另外可选的实施方式中,电动机 116 可以很低的速度连续工作,使得当膜 104 和 106 的一部分上的生物层 120 和 122 生长了足够长时间需要去除生物量时,由刮具 114 和 115 经过这些部分进行刮除。

[0223] 图 5a 是根据本发明的再一种生物反应器的示意图。图 5 的上部显示生物反应器 200 的侧视图,下部显示其水平横截面视图。生物反应器 200 包括膜支撑结构 202、内部支撑物 204(它是支撑结构 202 的一部分)、和支撑在进口环 107 和出口环 109 之间的膜 106,进口环 107 和出口环 109 是膜支撑结构 202 的一部分。内部支撑物 204 是无孔支撑物,其包括对营养液体不通透的材料,例如,可以包括不锈钢或一些的合适硬性聚合材料如聚碳酸酯。膜 106 是管状的,且与内部支撑物 204 同心,二者之间形成内部区域 108。进口环 107 和出口环 109 中的孔向 108 区开放,使液体从环 107 流至 108 区,从 108 区流至环 109。膜 106 固定有生物层 122,并在其气体面 126 上包括有真菌。隔板 105 位于内部区域 108 中,以保持膜 106 和内部支撑物 204 之间的距离。生物反应器 200 具有使营养物溶液经进口环 107 进入 108 区的进口 110,并具有使营养物溶液经出口环 109 从 108 区排出的出口 112。生物反应器 200 具有将固体物质从生物层 122 上去除的刮具 115。为了使膜 106 相对于刮具 115 旋转,提供电动机 116,以有助于将过量生物量从膜 106 的生物层 122 上去除。

[0224] 在工作过程中,营养物溶液通过进口 110 供应至进口环 107。营养物溶液是适合生物层 122 的真菌的营养物溶液,例如,可以含有碳水化合物。生物反应器 200 位于有氧环境中,因此使生物层 122 与空气接触。营养物溶液从进口环 107 流入 108 区,从该处通过膜 106 扩散至生物层 122。因而为生物层 122 提供生成所需产物所要求的条件。该产物通过膜 106 扩散至 108 区,在营养物溶液中通过出口环 109 和出口 112 从生物反应器 200 中排出。可以收集排出的营养物溶液以分离所需产物。在生物层 122 变得足够厚使得由于其一些部分缺氧使产物的生成变慢的情况下,可以使电动机 116 工作,使膜 106 围绕竖直轴旋转。因

此,刮具 115 经过膜 106,该刮具的定位使得能够将过量生物量从生物层 122 上去除。可以收集过量的生物量以备使用或进一步加工。在另外可选的实施方式中,电动机 116 可以很低的速度连续工作,这样当膜 106 的一部分上的生物层 122 生长了足够时间需要去除生物量时,则由刮具 115 经过这些部分进行刮除。

[0225] 参照图 20,生物反应器 300 包括其气体面 315 上有生物层 310 的膜 305。膜 305 的营养面 320 与营养物溶液 325 在营养小室 330 中接触,生物层 310 与空气在小室 330 外接触。如果需要,膜 305 可以由支撑基质支撑(未显示),或者可以是自支撑的。营养物溶液 325 可以任选地其中悬浮有微囊化厌氧细胞(未显示)。生物反应器 300 也具有再循环系统 335,用于将营养物 325 以箭头 338 的方向通过再循环器(例如泵)340 的方式再循环通过膜 305。通过在该方向上进行再循环,小室 330 保持充满状态,上面没有气体空间。再循环系统 335 可以具有脱氧器 345,用于从营养物溶液 325 中将氧去除。系统 330 还具有装有阀门 355 的进口 350、和装有阀门 365 的出口 360,并任选地具有防止微囊化厌氧细胞(如果存在)离开生物反应器 300 的滤器 370。生物反应器 300 还具有防止氧进入的密封储存容器 380,以保留通过小室 330 再循环的营养物溶液。提供检测器 390,以检测营养物溶液 325 的成分水平。因此,在工作过程中,打开阀门 355,关闭阀门 365,营养物通过进口 350 进入生物反应器 300。然后关闭阀门 355,营养物溶液 325 通过储存容器 380 和小室 330 以箭头 338 的方向再循环。通过脱氧器 346 使营养物液流 325 缺氧并保持该状态。在小室 330 中,营养物通过膜 305 的营养面 320 扩散至生物层 310,在此被代谢,例如,形成所需的产物,或者将不需要的物质从营养物溶液 325 中去除。生物层 310 从小室外与其接触的空气中获得氧进行代谢。然后,代谢物(例如所需产物)可以扩散回小室 330,营养物溶液 325 进行再循环。如果有的话,微囊化厌氧细胞也可以代谢营养物液流的成分,生成的代谢物作为营养物通过微囊扩散至微囊化的厌氧细胞。通过确定何时营养物溶液成分的水平降低至预定水平,或者确定何时代谢物水平增加至预定水平,检测器 390 可以确定何时生物层的生物反应已经反应充分。然后可以将将营养物溶液 325 通过阀门 365 从生物反应器 300 中去除。如果有的话,微囊化厌氧细胞通过滤器 370 保留在生物反应器 300 中。然后将产物(代谢物)单独从营养物溶液 325 中回收。检测器可以自动触发打开阀门 365,或者,可以给予操作者信号,以手动打开阀门 365。另外可选地,可以在预设的时间后(手动或自动)打开阀门。

[0226] 用途

[0227] 本发明的生物反应器可以应用于多种用途。这些用途包括:

[0228] ● 抗生素、其它药物和美容产品的生产;

[0229] ● 污水处理;

[0230] ● 重金属清除/回收;

[0231] ● 生物浸出和其它采矿应用;

[0232] ● 生物合成(用于工业和研究的食品和化学品);

[0233] ● 废水的二级和三级处理,用于去除碳、氮、磷和金属离子;

[0234] ● 有毒废水的生物处理;

[0235] ● 被污染饮用水的清洁;

[0236] ● 动物和植物组织的培养。

- [0237] ●使用培养需氧细胞的任何领域；
- [0238] ●食物的生长（例如用于航天工业）；
- [0239] ●使用动物组织用于生物合成；
- [0240] ●回收有机原料用于生产燃料（生物燃料）；
- [0241] ●动物组织培养用于人造器官和植入及用于激素和其它哺乳动物来源药物的生物合成；
- [0242] 优点
- [0243] 本发明的生物反应器较以往的技术有多种优点。这些优点包括：
- [0244] ●膜孔隙度较高－生物层支撑在高孔隙度的膜内。与用于相同目的其它膜（例如陶瓷膜生物反应器）相比，这使得营养物的利用率较高；
- [0245] ●膜的成本较低－由于通过相对缺氧的条件使生物量在膜营养侧的生长受到抑制，因此不需要膜的孔隙足够小以防止生物量的微生物透过。因此，可以使用比传统膜－表面－液体－培养型生物反应器中使用的那些膜更便宜的膜。
- [0246] ●膜很容易制备－本发明的膜并不昂贵，而且可以使用简单的技术和很容易获得的便宜装置来制备。膜的制造可以很快。如果需要，可以将膜作为一次性物品使用。
- [0247] ●生物层很薄且扩散良好－溶解氧和营养物的扩散距离相对较短，确保为生物层提供充足量的代谢物；
- [0248] ●空气冷却－反应器组件可以通过自然对流冷却，因此不需要昂贵的冷冻设备；
- [0249] ●重量轻－本发明的生物反应器不需要大型的建筑基础设施，使其很容易进行安装；
- [0250] ●经济－成分很便宜，并很容易获得；
- [0251] ●常压操作－被采用的生物过程均在常压下工作，因此不需要昂贵的高压设施；
- [0252] ●培养物主要生长在生物反应器的膜气体面上－这便增加了生物层和气相之间的接触面积，更有效地从营养物溶液中去除生物层；
- [0253] ●双面－相对单面系统，增加了系统的表面积；
- [0254] ●柔性膜－使膜更耐用，并能够以几乎任何所需的形状使用；
- [0255] ●产物易分离－任何时刻均可将生物层从营养物溶液中分离；
- [0256] ●运行成本低；
- [0257] ●不需要专家－系统简单，只需要简单训练便可操作；
- [0258] ●有自动化的可能性；
- [0259] ●制造速度快－高于传统的生物反应器（比 1 型陶瓷膜生物反应器高两个数量级，比目前用于青霉素生产的气升式生物反应器构造快多达 40 倍）；
- [0260] ●生物层的选择范围广－适合细菌、酵母、真菌、动物和植物细胞；
- [0261] ●台面面积最小－膜可以竖直悬挂；
- [0262] ●产物产率高－每单位消耗底物的产率更高；
- [0263] ●生长速率更快－生物层生长速率更快；
- [0264] ●连续流动－可以用于连续模式，以进行顺序加工。
- [0265] ●可再生－生物层能够被有效地冲洗，并可以再使用 / 再循环多次；
- [0266] ●气体输送量高－促进被固定的培养物发挥全部功能；

- [0267] ●反应器结构柔性 – 可以在不损坏膜的情况下变形；
- [0268] ●停机时间相对较少 – 以使用新批次生物量开始操作；
- [0269] ●迟滞时间短 – 加入营养物和生成产物之间的迟滞时间短（同时发生一级和二级代谢）；
- [0270] ●寿命延长 – 生物层寿命延长；
- [0271] ●同时进行二级和三级处理；
- [0272] ●生物量易分离 – 去除生物量后培养物迅速再生长。

[0273] 实施例 1

[0274] 青霉素生物合成和碳水化合物消耗试验

[0275] 封闭系统纳米颗粒膜生物反应器

[0276] 用机织玻璃纤维制成 4 个小袋, 90x80mm, 装配在 1000ml 烧杯中悬挂的不锈钢框架上, 烧杯上盖有铝箔盖。所用的机织玻璃网每 cm 有 22 股, 重 80g/m²。为使玻璃可湿润, 对其进行等离子蚀刻, 如下文所述。之后, 所有技术均使用无菌技术, 并在 II 型生物安全柜中进行。

[0277] 使用通用指示剂和 4.0M HCl, 将 40ml γ 射线 – 灭菌的 pH 为 10 的胶体二氧化硅溶液 (Bindzil™, Eka Chemicals) 调节至 pH6, 开始凝胶化。将 4.0ml 含 8.0×10^{10} cfu/ml 的产黄青霉孢子悬液加入到凝胶化中的二氧化硅溶胶中。将 10.0ml 胶体二氧化硅通过相同方式调节至 pH6, 并掺杂入含 9.0×10^{10} cfu/ml 的黑曲霉孢子悬液 1.0ml。将大约 8.0、10.0 和 12.0ml 掺杂有产黄青霉的胶体二氧化硅浸入到 3 个玻璃袋的每个中。将大约 8.0ml 掺杂有黑曲霉的胶体二氧化硅浸入到第 4 个袋中。将 100ml 含有麦芽提取物, 3.0g/l; 蛋白胨, 5.0g/l; 酵母提取物, 3.0g/l; 和葡萄糖, 10g/l 的 Wickerham 麦芽酵母提取液肉汤 (MYEB) 加入到每个袋的内腔中之前, 使所有样品胶化, 并在 20℃ 下老化过夜, 防止再分散。最初纳米颗粒膜生物反应器 (NMB) 是可漏过的, 使得流出物经振动泵返回至内腔中, 其流速大于流出速度, 这样内腔在任何时刻都是充满的。顶部 10mm 内的小袋被肉汤充满, 使每侧培养物的面积为 80x80mm, 得到共计 128cm² 的培养膜。这些袋子在 28℃ 下孵育。每天从每个 NMB 中取 1.0ml 样品, 进行碳水化合物浓度和 pH 分析。产黄青霉培养物也通过圆盘扩散测定法测定青霉素的产量。每 4 天去除 MYEB。使用 100ml 无菌 0.85% 盐水将每个生物反应器冲洗 1 小时。对盐水进行采样, 进行青霉素分析 (仅对产黄青霉), 弃去剩余物。在 NMB 中更换 100ml 新鲜 MYEB, 开始下一批次。在每批开始时取 1.0ml 样品。除在鼓泡式生物反应器 (描述见下文) 中的产黄青霉培养物以外, 每批持续 4 天。在 8 个批次后, 在使用新鲜 MYEB 开始下一批之前, 用刮铲从 NMB 中无菌刮去生物量。

[0278] 鼓泡式生物反应器 (SB)

[0279] 两刻度鼓泡式生物反应器 (SB) 由具两孔塞的 500ml Schott 瓶组装而成。一个管将无菌过滤的空气以大约 1.0L/ 分钟的速度通过每个容器底部的 100ml MYEB 进行鼓泡。另一个管装载通过另一个滤器排出的空气, 将其释放。将生物反应器接种 1.0ml 孢子悬液 (如上所述为产黄青霉和黑曲霉), 并在 28℃ 下孵育。每天取 1.0ml 样品, 如上文纳米颗粒膜生物反应器中所述进行分析。对于鼓泡式生物反应器中的产黄青霉, 当青霉素浓度下降时该批次结束。

[0280] 表 1: 各种生物反应器中培养的产黄青霉的代谢参数

[0281]

生物反应器	批次	Y_p	$Y_{p/s}$	R_p	Lag	$[COH]_{pen}$
NMB	1	16.8	1.2	0.18	43	14.6
	2	44.3	3.4	0.64	0	13.8
	3	30.7	2.4	0.32	0	13.1
	4	55.8	4.3	0.59	0	13.6
	5	52.8	4.3	0.54	0	13.1
	6	50.4	3.9	0.72	0	13.8
	7	33.9	2.8	0.34	0	12.9
	8	47.3	3.8	0.49	0	13.4
	9	69.3	5.2	0.88	0	14.1
SB	1	28.6	2.0	0.14	113	0.7
	2	9.8	1.3	0.14	46	4.4
CMB*	1	2.2	0.4	0.014	98	0.8

- [0282] $Y(\text{null})_p$ 青霉素产量 ($\mu\text{g/ml}$)
- [0283] $Y_{p/s}$ Y_p 除以消耗的碳水化合物 ($\mu\text{g/mg}$)
- [0284] R_p 青霉素生成速率 ($\mu\text{g/mlh}$)
- [0285] Lag 加入新的培养基直至开始生成青霉素所经过的时间 (h)
- [0286] $[COH]_{pen}$ 青霉素开始生成时碳水化合物的浓度
- [0287] NMB 纳米颗粒-膜生物反应器
- [0288] SB 鼓泡式生物反应器
- [0289] * 现有技术数据
- [0290] 表 2 NMB 和鼓泡式生物反应器 (SB) 中培养的黑曲霉的代谢参数
- [0291]

生物反应器	批次	T_D	R_s
NMB	1	47	0.30
	2	21	0.57
	3	21	0.63
	4	26	0.52
	5	21	0.60
	6	25	0.50
	7	21	0.60
SB	1	66	0.22
	2	45	0.24
	3	46	0.26
	4	72	0.17
	5	69	0.17
	6	71	0.17
	7	116	0.10

- [0292] T_D 去除碳水化合物的 90% 递减时间 (decimal reduction time)
- [0293] R_s 碳水化合物的消耗速率 (mg/mlh)
- [0294] S_B 鼓泡式生物反应器
- [0295] 比较图 6 和图 7, 说明本发明的生物反应器在需要再生之前能够进行更多的生产

周期,在每个周期中,碳水化合物消耗速率和青霉素产量均大于对应的鼓泡式生物反应器。比较图 8 和图 9,同样说明在根据本发明的生物反应器中,对于黑曲霉,碳水化合物消耗速率远远大于对应的鼓泡生物反应器,且生物反应器能够重复多个周期,而没有观察到性能下降。

[0296] 实施例 2

[0297] 材料试验

[0298] 不同材料

[0299] 用机织玻璃纤维(如实施例 1 中所述)、棉(calico)、聚酯和聚酯-棉混纺(70/30)制成四个袋子(90x80mm)。材料的纤维密度为:机织玻璃材料 20 股/cm;棉(calico)20 股/cm;聚酯 26 股/cm;和聚酯-棉(70/30)24 股/cm。袋子在 1.0M KOH 中在 20℃下冲洗 15min,漂洗,并烘干。向 40ml γ 射线灭菌的胶体二氧化硅(如实施例 1 中所述)中加入 0.2ml 通用指示剂。加入大约 0.6ml 4M HCl,将 pH 调节至 6。然后在胶体二氧化硅中掺入含 7×10^7 cfu/ml 的 1.0ml 产黄青霉孢子悬液。悬液浸入至每个袋子中至饱和。较精细的纤维织物更容易饱和,并形成更精细的膜。将袋子老化过夜,然后向每个袋子中加入 80ml MYEB(如实施例 1 中所述)。每天取 1.0ml 样品进行碳水化合物、青霉素和 pH 分析。4 天后,去掉 MYEB,将生物反应器在无菌 0.85%盐水中冲洗 1 小时,然后用新鲜 MYEB 更换,并再次孵育。

[0300] 四个不同袋子的结果显示于图 10 至 13,并表明四个袋子的碳水化合物消耗速率相当,使用所有四个袋子,在随后批次中的青霉素产量均有提高。其原因可能是膜上生物层的生长。从图 10 至 13 中的数据似乎表明聚酯袋产生青霉素的水平低于其它袋子。

[0301] 不同的凝胶

[0302] 将三个玻璃袋和一个棉袋(90x80mm)在 KOH 中冲洗,漂洗并烘干。棉袋(NMB1)不加入凝胶,而将其涂以含 7×10^6 cfu/ml 的 0.1ml 黑曲霉孢子悬液。在 T_0 时,向袋子中仅加入 5.0ml MYEB。每天加入 10ml MYEB。三天后用 80ml 新鲜 MYEB 更换 MYEB,装上回流管,组装在振动泵中,将溢流注满。几乎立即不透水,表明生物量可以作为生物反应器中的膜发挥作用,而不需要单独的纳米孔凝胶。玻璃袋掺入琼脂-琼脂(NMB2)、海藻酸钙(NMB3)和胶体二氧化硅(NMB4)。

[0303] 将 10ml 1.5%热琼脂溶液浸入玻璃袋,在 20℃下冷却,进行凝胶化。袋子涂以含 7×10^6 cfu/ml 的 0.1ml 黑曲霉孢子悬液,并注入 80ml MYEB,并在 28℃下孵育。

[0304] 第二个玻璃袋子掺入海藻酸钙。使用通用指示剂和 0.2 μm 过滤的 1M NaOH 溶液,将 5.0ml 4%海藻酸调节至 pH6。将溶胶浸入到玻璃袋子中,并在 4% $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 溶液中使海藻酸盐凝胶化。将袋子涂以 0.1ml 黑曲霉孢子悬液,并加入 80ml MYEB。

[0305] 第三个玻璃袋子掺入含 0.1ml 黑曲霉孢子悬液的胶体二氧化硅,老化过夜,然后加入 80ml MYEB。

[0306] 所有袋子均在 28℃下孵育。4 天后更换所有袋子中的 MYEB。

[0307] 结果显示于图 14。这些结果表明,不同凝胶的表现非常相似。在第一批后即使没有凝胶的袋子的碳水化合物消耗速率与有凝胶的袋子也是相当的。

[0308] 纳米颗粒膜生物反应器中培养的黑曲霉的元素摄取

[0309] 从凝胶试验(上面)中有硅胶支撑在玻璃支撑物中的纳米颗粒膜生物反应器中,

取 3.0ml 样品,使用电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)进行元素分析。在用 3.0ml 硝酸处理的样品上使用具 AIM 自动采样器的 Varian Vista ICP-AES 进行 ICP-AES。在每批开始和结束时,也取 50ml 样品进行 CNS(碳/氮/硫)分析。对 50ml 肉汤样品进行 CNS 分析,将样品烘干,在 Leco CNS-2000 中进行分析。一个批次(3 天)之后,从生物反应器中去除被消耗的肉汤。将 40ml 11% CuSO_4 溶液加入到 NMB1 中,将 79.2ml MYEB 和 0.8ml 金属溶液(含:0.1% CuSO_4 ;0.2% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$;0.2% $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$;0.2% NiCl_2 ,并以 PbCl_2 饱和, pH4.00)加入到 NMB2 和 NMB3 中,将 80ml 金属溶液加入到 NMB4 中。

[0310] 结果显示于图 15。这些结果表明,碳水化合物的消耗与溶液中钾、磷、钙和镁的损失在很大程度上平行。尽管锌的初始水平非常低,但是其浓度在相当的时间内也是下降的,硫浓度在相当的时间内也是下降的,尽管硫的水平不象其它的分析物下降那样大。对具有支撑在玻璃支撑物中的硅胶的生物反应器上生长的黑曲霉的第二批培养物进行 CNS 分析,在 23 个小时中,总碳消耗了 77%,总氮消耗了 61%,总硫消耗了 65%。

[0311] 实施例 3

[0312] 连续流动式纳米颗粒膜生物反应器

[0313] 微型连续流动式纳米颗粒膜生物反应器由不锈钢储存容器(80x30x25mm)和安装在储存容器中的不锈钢支架组成,该储存容易通过上侧面中的狭缝延伸 100mm。由掺有黑曲霉的胶体二氧化硅和机织玻璃纤维网组成的一对膜在边缘处结合,将其围绕支架组装。两根软管装在顶部,使得它们引流至该对膜形成的薄腔中。该对膜的底部引流至储存容器顶部的狭缝中,两根软管的另一端经上部侧面上的两个孔插入储存容器中。软管组装在振动泵中,储存容器和支架收纳在盖有铝箔盖的 1000ml 烧杯中。将 NMB 注入 60ml MYEB,并在 28℃ 下孵育。每天取 1.0ml 样品进行碳水化合物和 pH 分析,4 天后更换 MYEB。结果显示于图 16。数据说明,连续流动式反应器第一批提供的碳水化合物消耗速率比间歇式反应器慢,但随后的批次与间歇式反应器相当。连续流动式系统中生物层的建立似乎较慢,但是一旦建立,其性能与静态间歇系统一样好。

[0314] 玻璃纤维网的制备

[0315] 通过两种方式对机织玻璃袋子进行打底以备粘附硅胶:用无羟基基团(见下)进行水-等离子体蚀刻;和在 20℃ 下 1M 氢氧化钾(KOH)浴中浸泡 15 分钟。在以 13.56mH RM 工作的 40W RF-等离子体发生器中,将袋子在约为 5.0×10^{-2} 毫巴的水等离子体中蚀刻 6.0 分钟,将其表面羟基化,使其可湿润。该技术用于实施例 1,在 KOH 溶液中浸泡的方法用于实施例 2 和 3。还可以预计,可以使用烘箱从玻璃网中烧去疏水涂料,使表面可湿润。还可以预计,可以在水蒸气的存在下使用 UV 照射使玻璃材料可湿润。玻璃纤维网还可以用浓硝酸处理大约 1 小时,以除去涂料。

[0316] 实施例 4

[0317] 废水处理

[0318] 为了模拟从废水流中回收化学物质,黑曲霉在 8 袋型 NMB 中在 30℃ 下生长,麦芽肉浸液(30.0g/L)作为模拟的废水。每天,将整个 NMB 进行灼烧失量分析,以确定生物量负荷。液体肉汤在 11℃ 下脱水,确定溶解固体的量,相同溶液的样品通过 ICP-AES 和 CNS 进行分析,确定模拟废水中不同元素的量。结果显示于图 17 和 18。

[0319] 实施例 5

[0320] 生物浸矿和生物转化

[0321] 在摇瓶(110ml 培养基, 100r. p. m.) 和袋型 NMB(125cm², 含 100ml 肉汤) 内, 将嗜酸氧化亚铁硫杆菌在含 3.8 和 23.0g/L FeSO₄·7H₂O 形式的 Fe²⁺ 的培养基 DSMZ#670 中在 30℃ 下培养。每批次完成后(3-4 天), 从 NMB 中将溶液引流出来, 更换 100ml 新鲜培养基, 从摇瓶培养中将溶液引流出来, 更换 100ml 新鲜培养基, 并用来自前一批次的 10ml 接种。分析培养物中的 Fe³⁺ 浓度。结果显示于图 19, 该图显示了 Fe³⁺ 对时间的曲线图。

[0322] 实施例 6

[0323] 哺乳动物组织培养

[0324] 将小鼠乳腺癌细胞系 MAT 和 B16 以及仓鼠成纤维细胞系 V79 在 RPMI1640 培养基中培养, 每升培养基含: 100ml 胎牛血清、0.292g/L- 谷氨酰胺、63mg 青霉素和 100mg 链霉素。细胞在含 5.0% CO₂ 的湿润气体中在 37.0℃ 下培养。细胞培养在袋型 NMB 和含 10ml 培养基的 24cm² 组织培养瓶中, 所述 NMB 由掺有硅胶的机织玻璃材料组成, 它含有 50ml 培养基, 并具有 72cm² 培养的膜。细胞用胰蛋白酶 EDTA 溶液消化回收, 用台盼蓝 (trypan blue) 染色, 在血细胞计数仪中计数。在 NMB 外表面上不适合所有被检测的细胞系的生长(表 3), 其原因可能是脱水、有毒氧物种、或二者皆有。也可能是由于二氧化硅的亲水性太强, 有报道称哺乳动物组织仅可生长在甲基化(疏水性)硅胶上。

[0325] 表 3. NMB 中和其上以及组织培养瓶中的哺乳动物组织培养

[0326]

培养容器	组织培养		
	MAT	B16	V79
NMB			
气体表面 (细胞/cm ²)	2.2×10 ⁴	8.3×10 ⁴	2.8×10 ⁵
液体表面 (细胞/cm ²)	7.2×10 ⁵	3.3×10 ⁵	
内腔 (细胞/cm ²)	9.0×10 ⁶	2.9×10 ⁶	
烧杯基底*	3.9×10 ⁶	1.5×10 ⁵	
TCF			
烧瓶基底 (细胞/cm ²)	3.9×10 ⁶	4.2×10 ⁷	1.6×10 ⁷

[0327] NMB: 纳米颗粒膜生物反应器;

[0328] *: NMB 悬挂在烧杯中, 液体培养基漏入烧杯, 经振动泵返回至小袋;

[0329] TCF: 组织培养瓶。

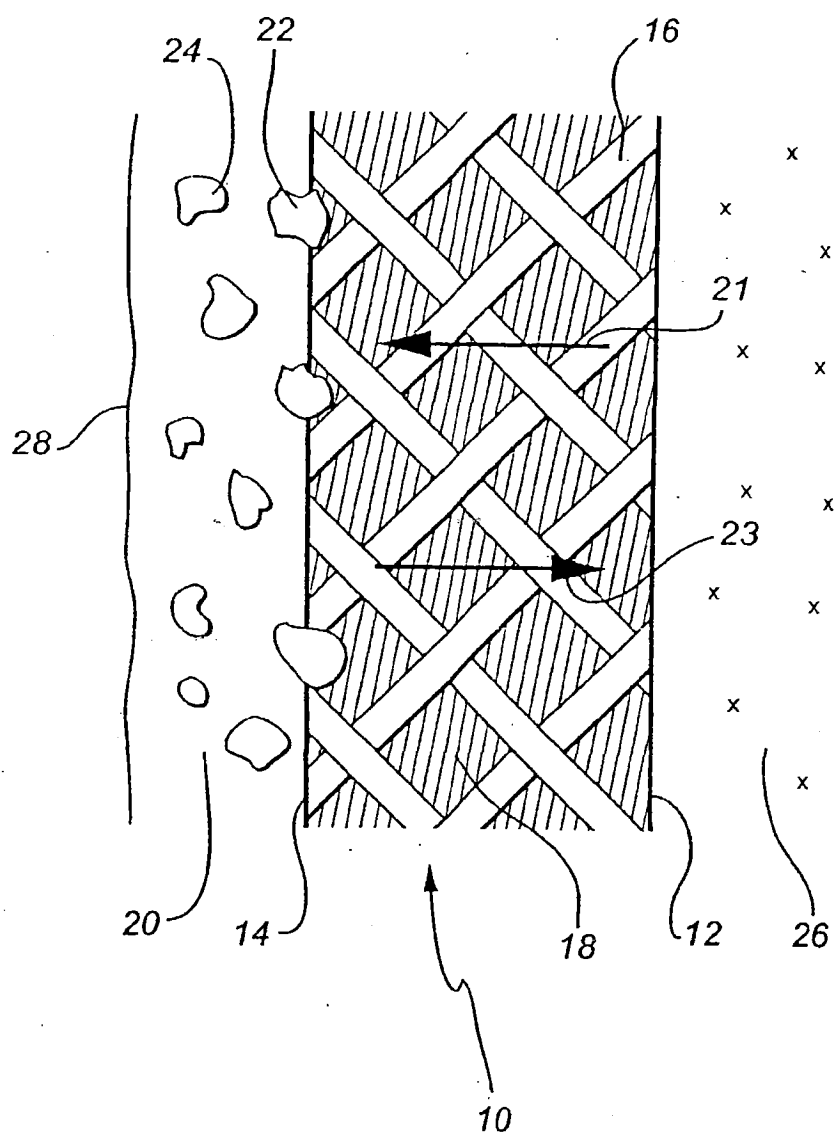


图 1

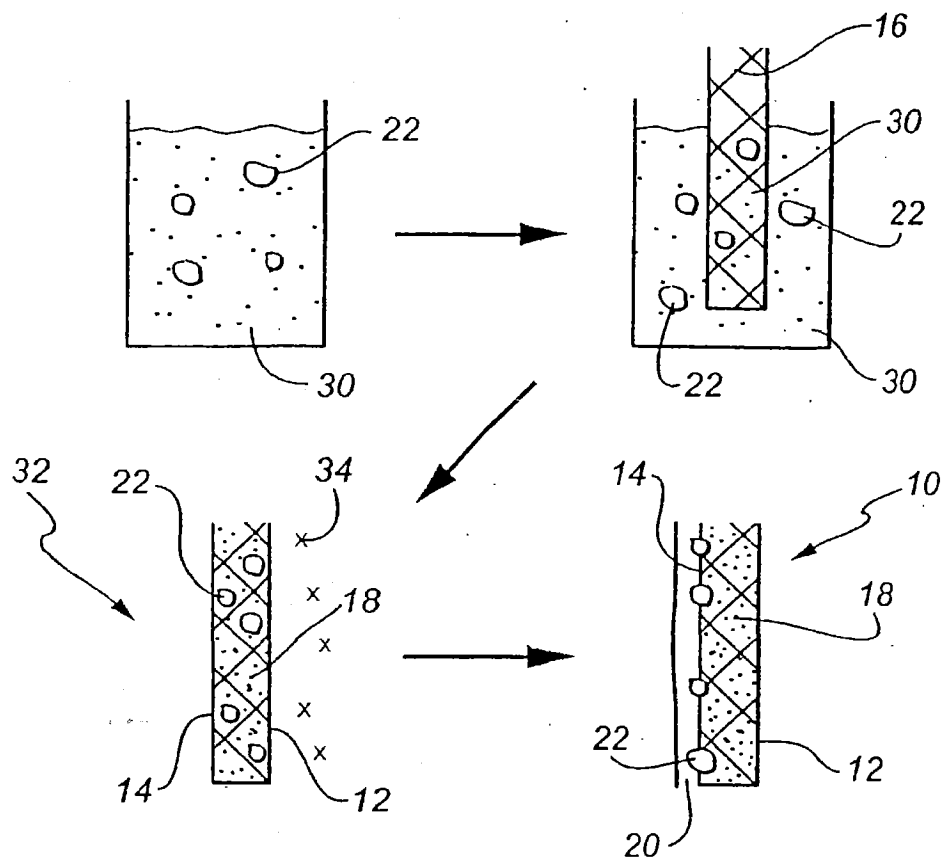


图 2

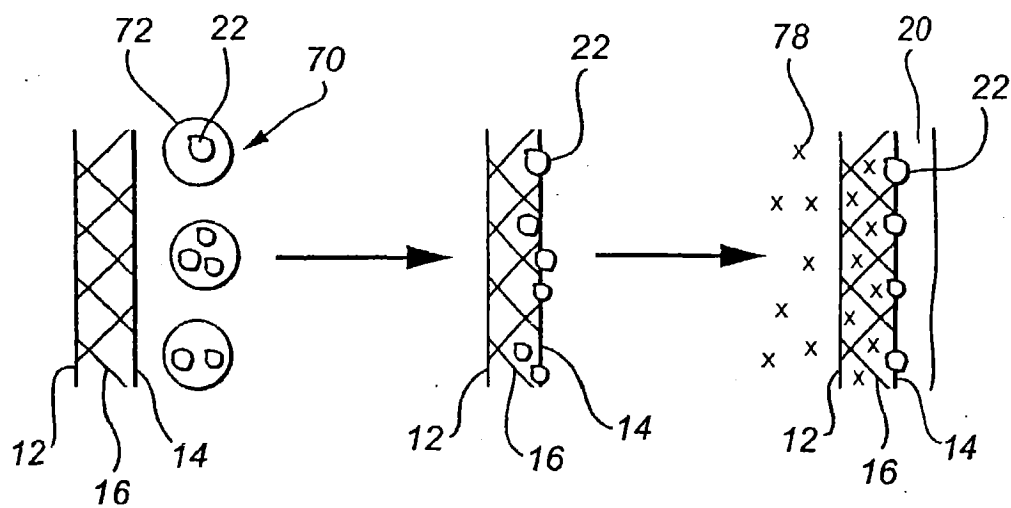


图 2a

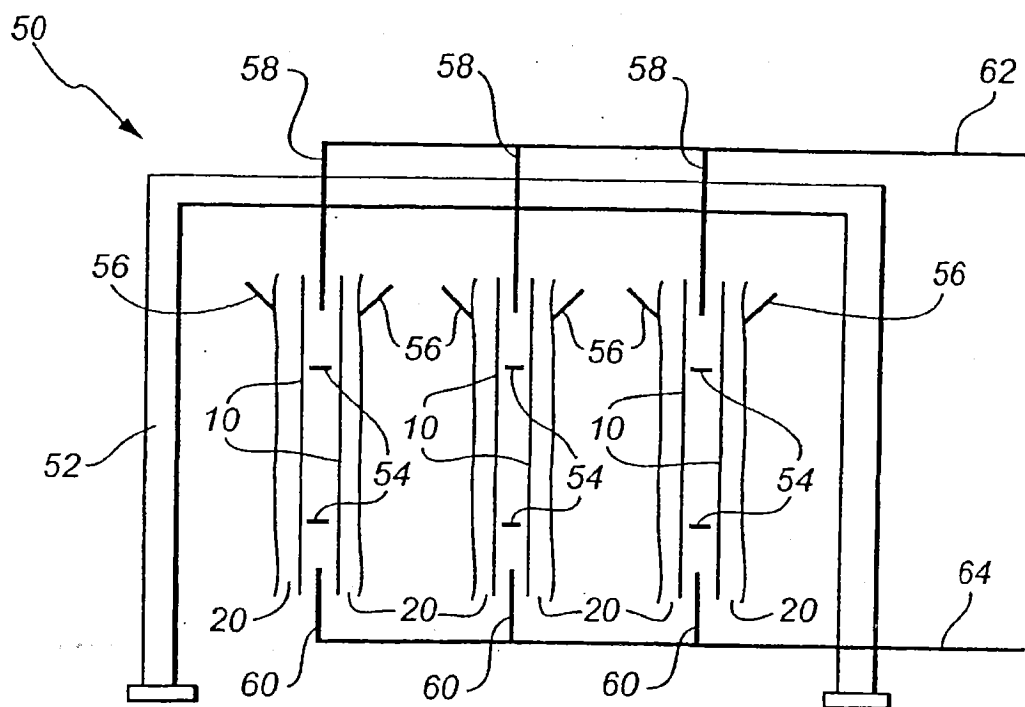


图 3

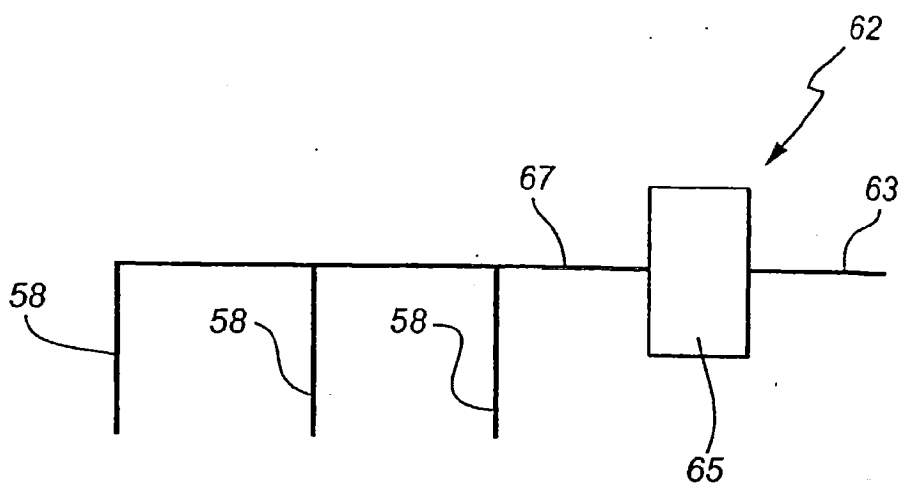


图 3a

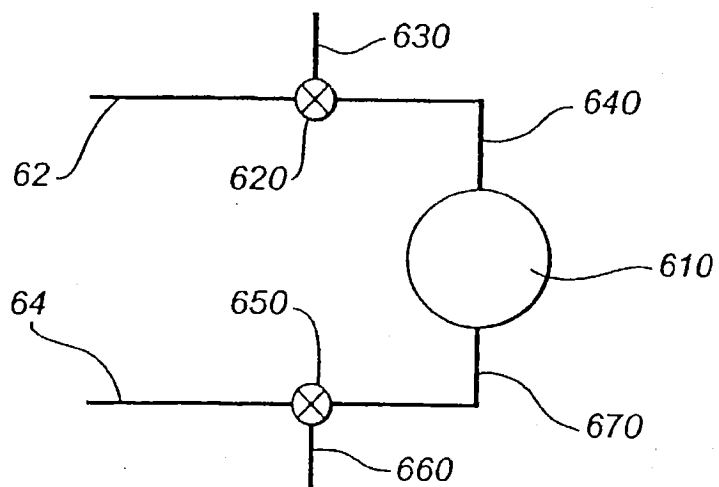


图 3b

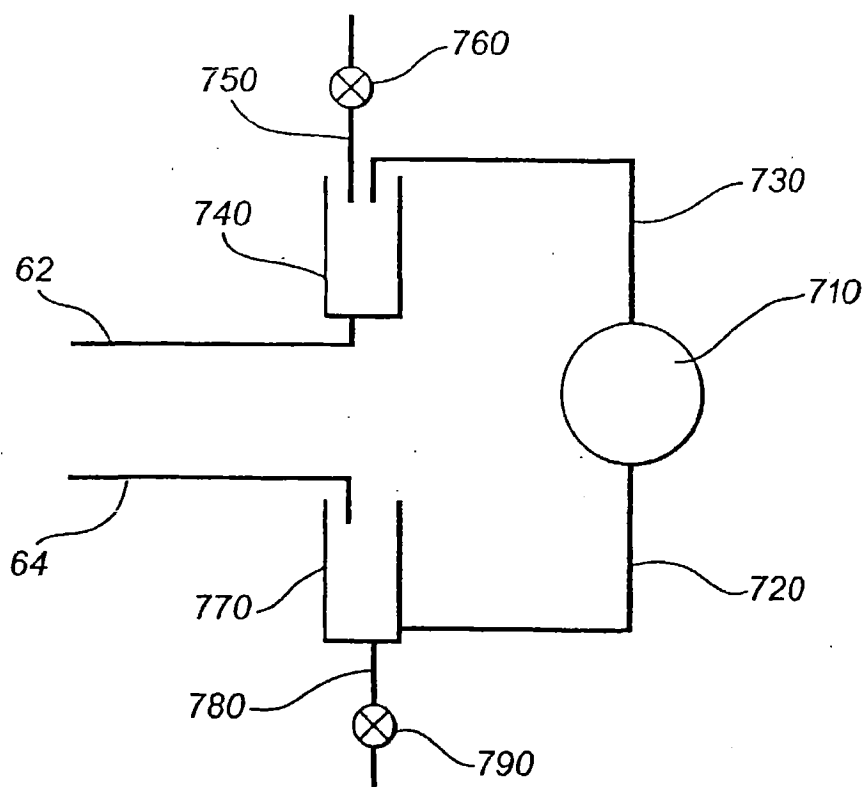


图 3c

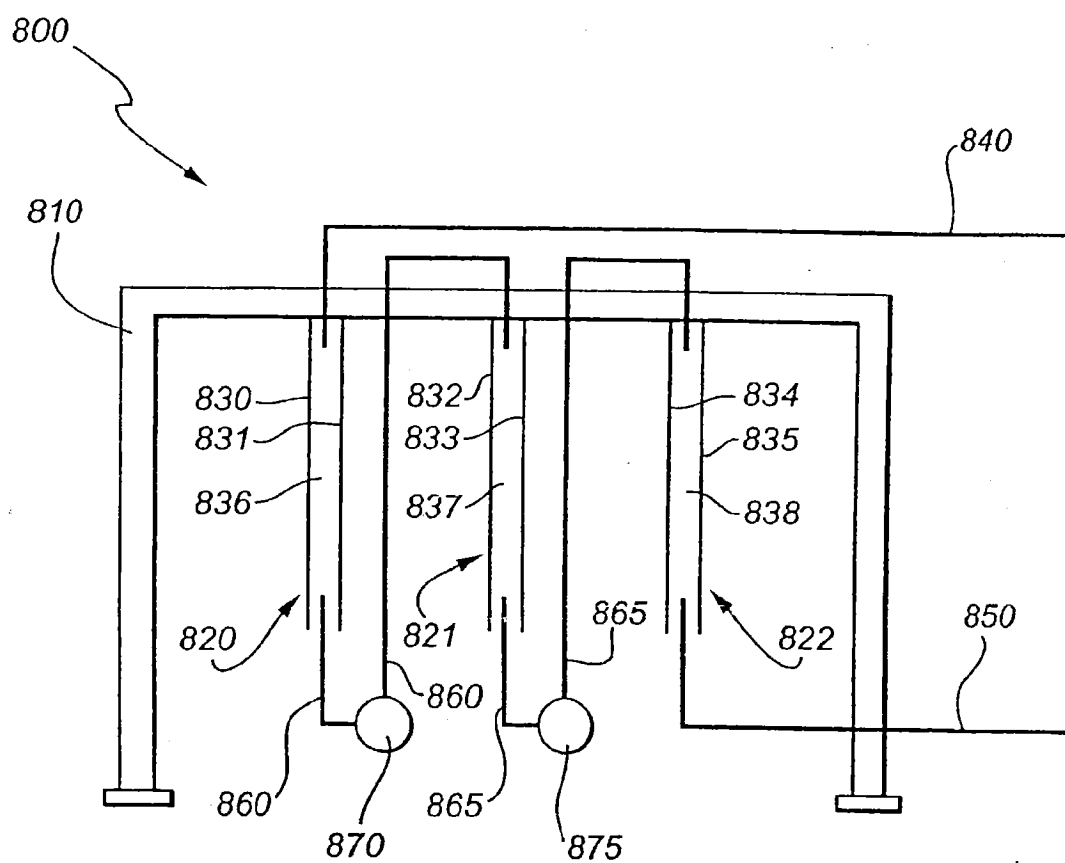


图 3d

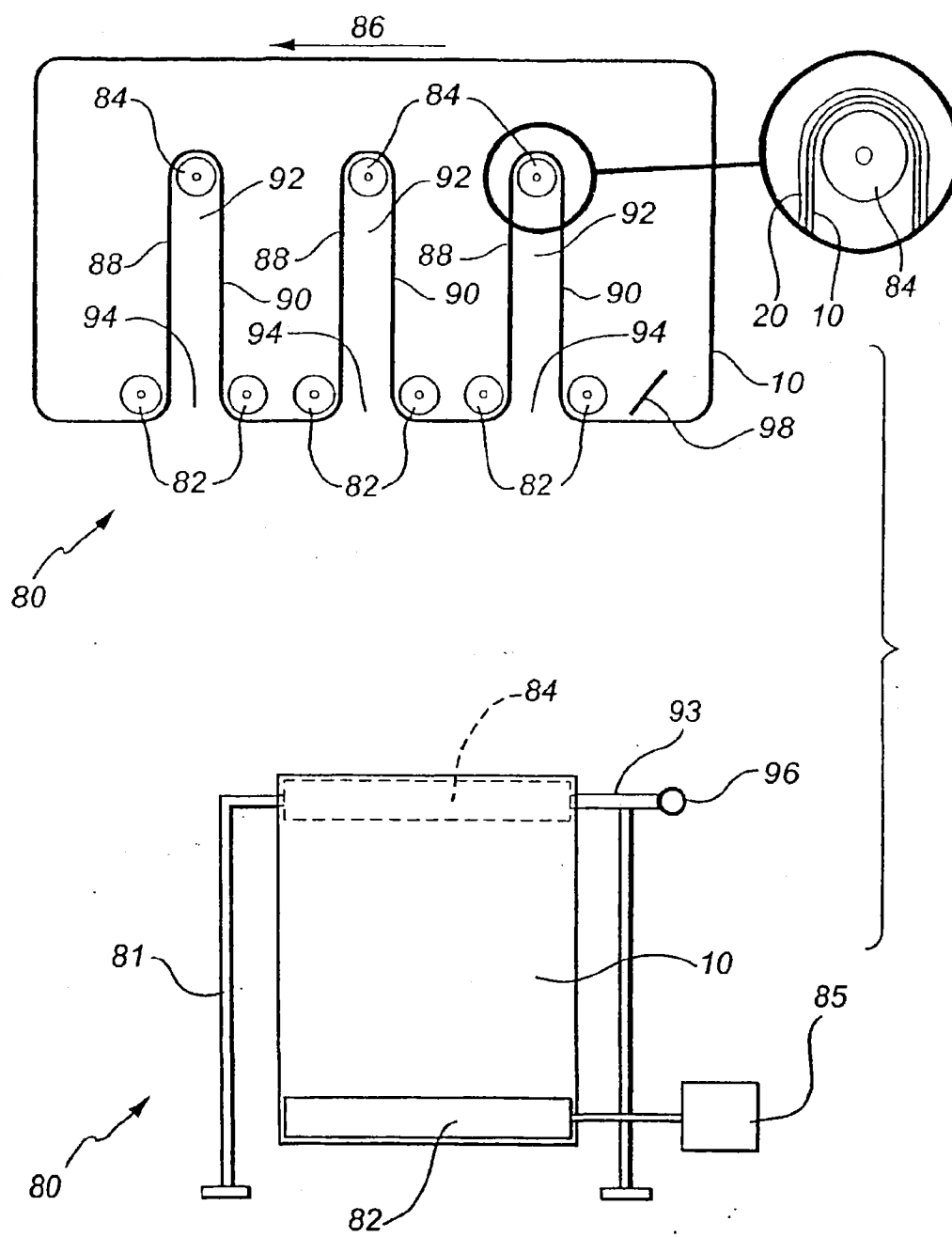


图 4

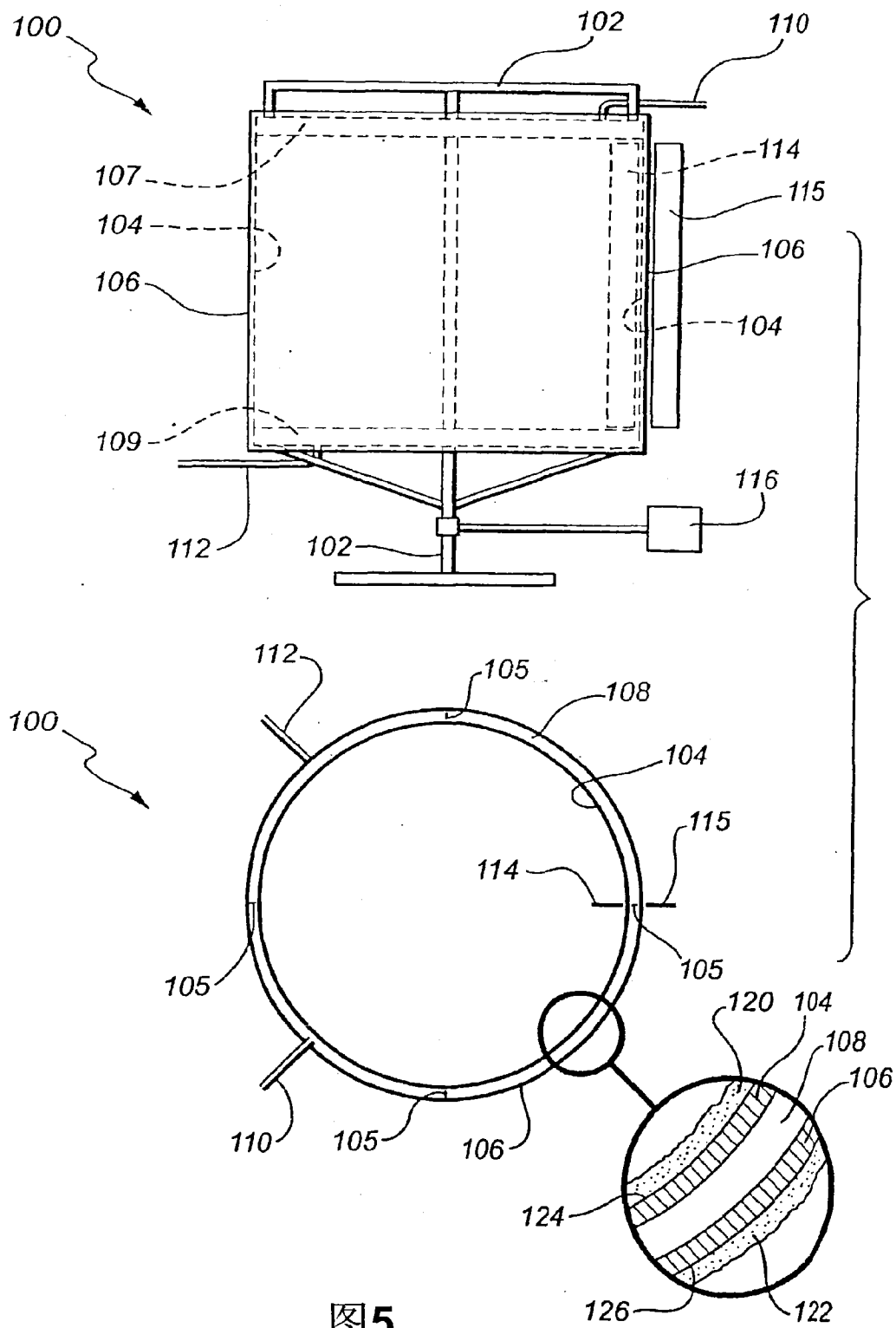
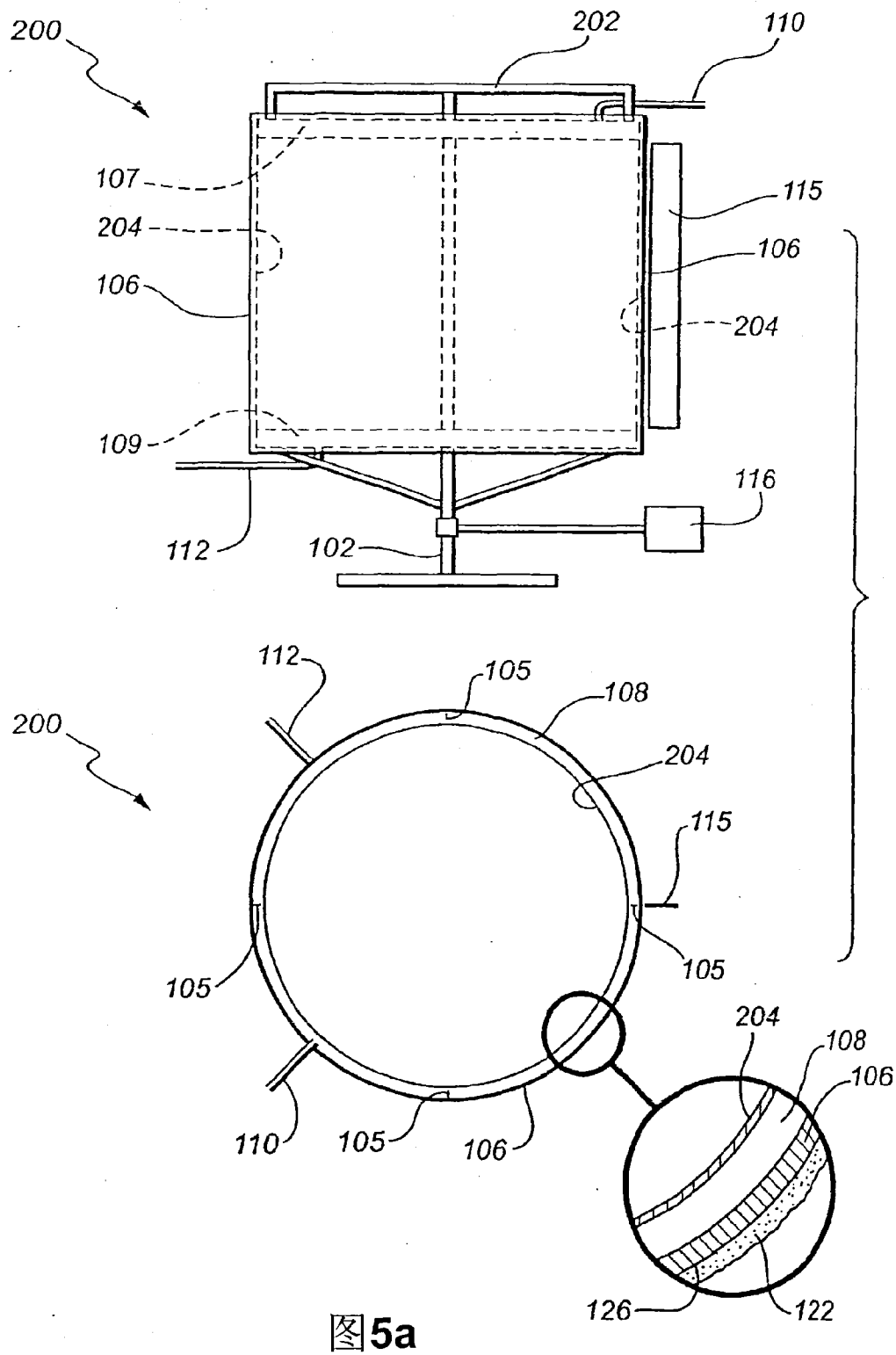


图5



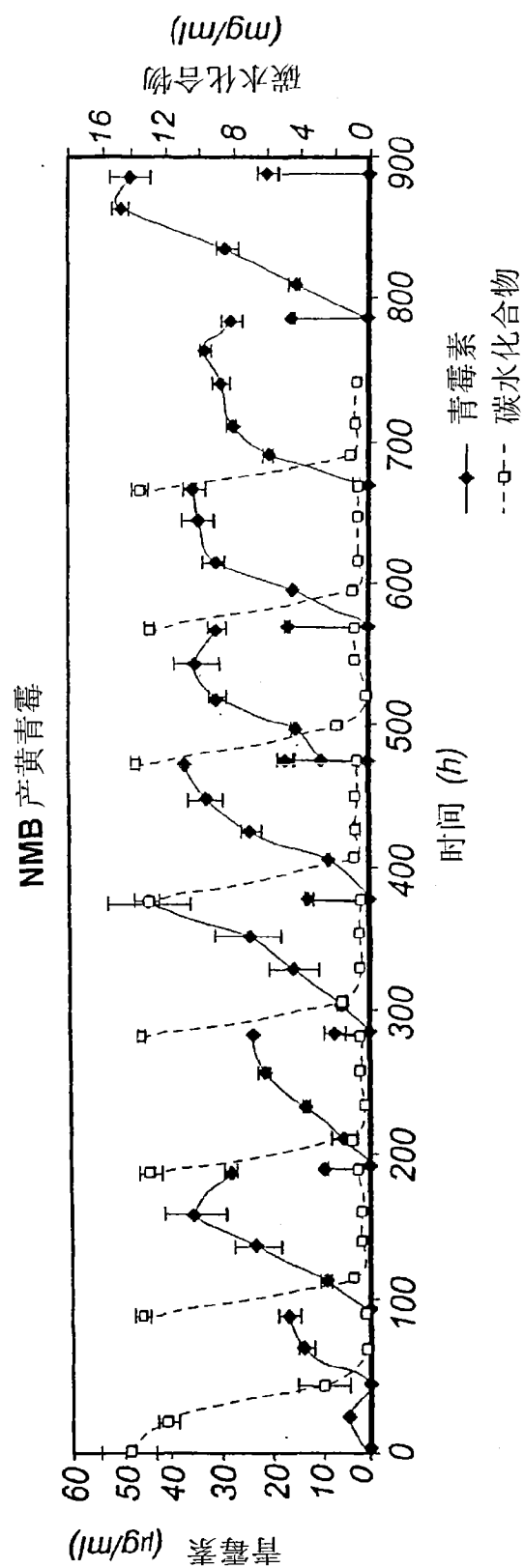


图6

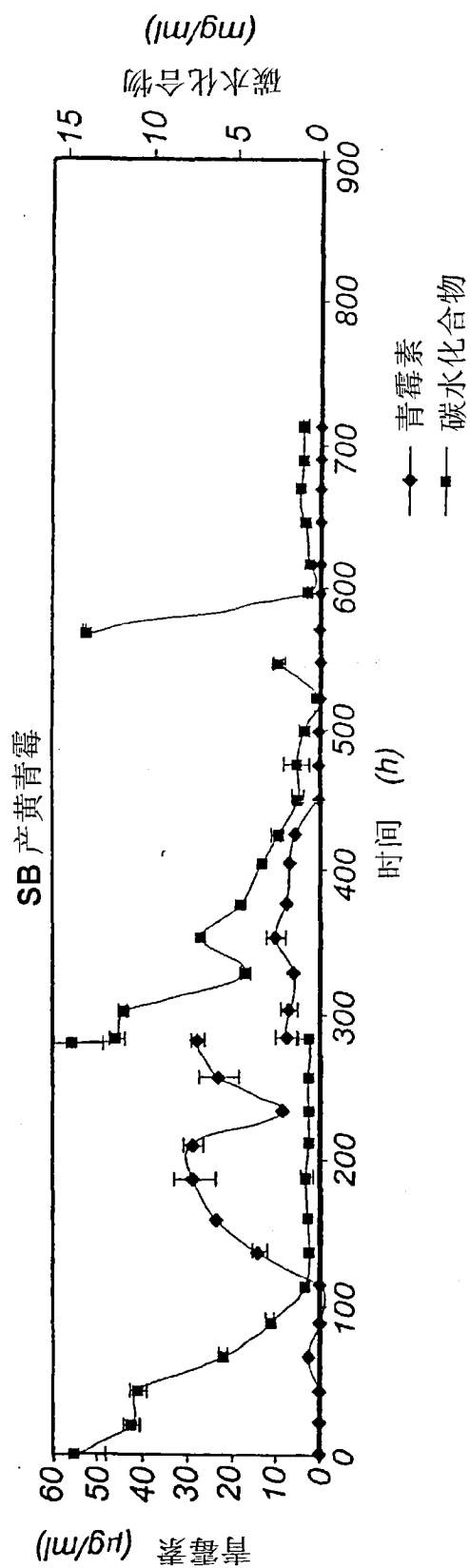


图7

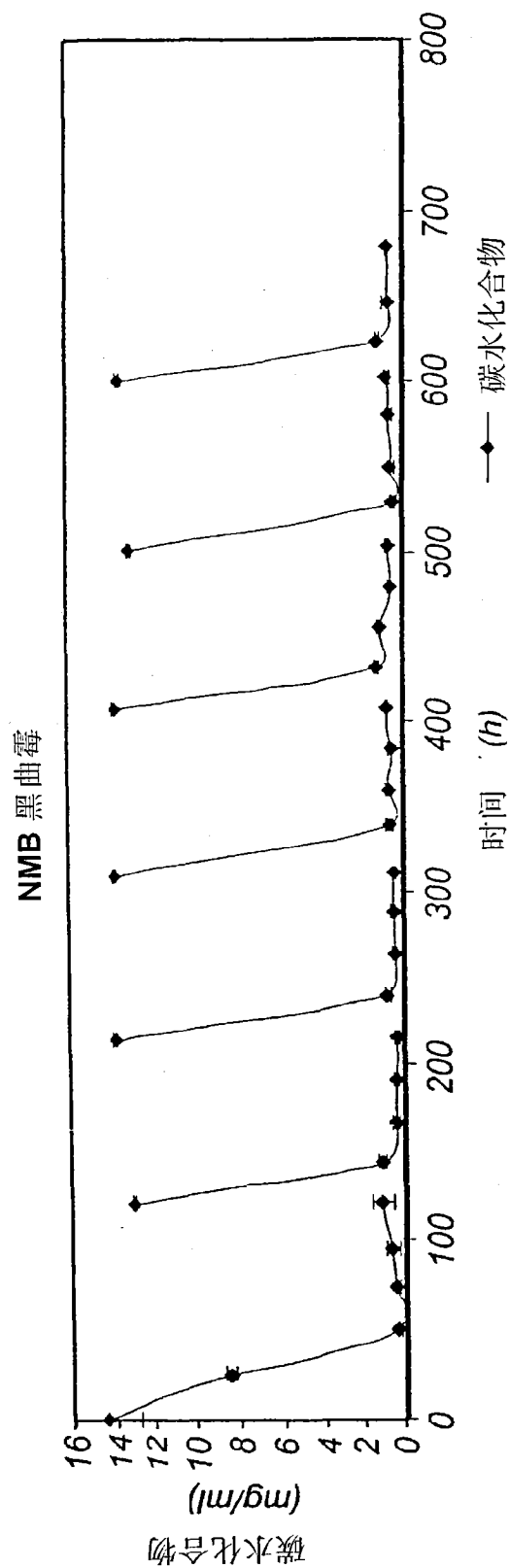


图8

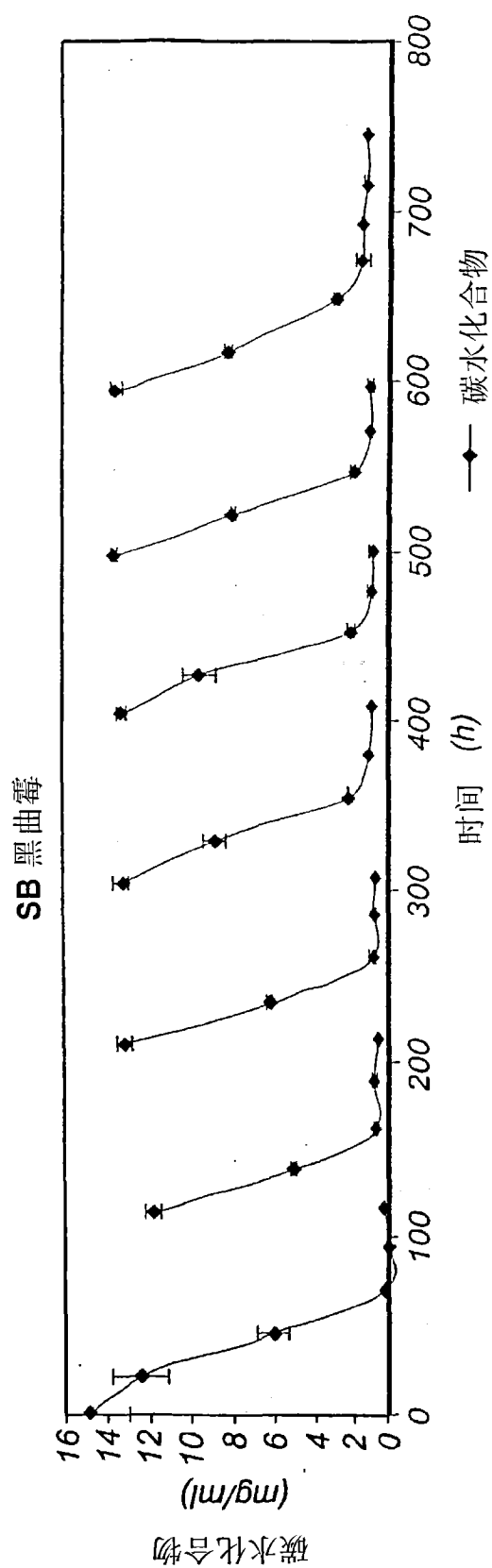


图9

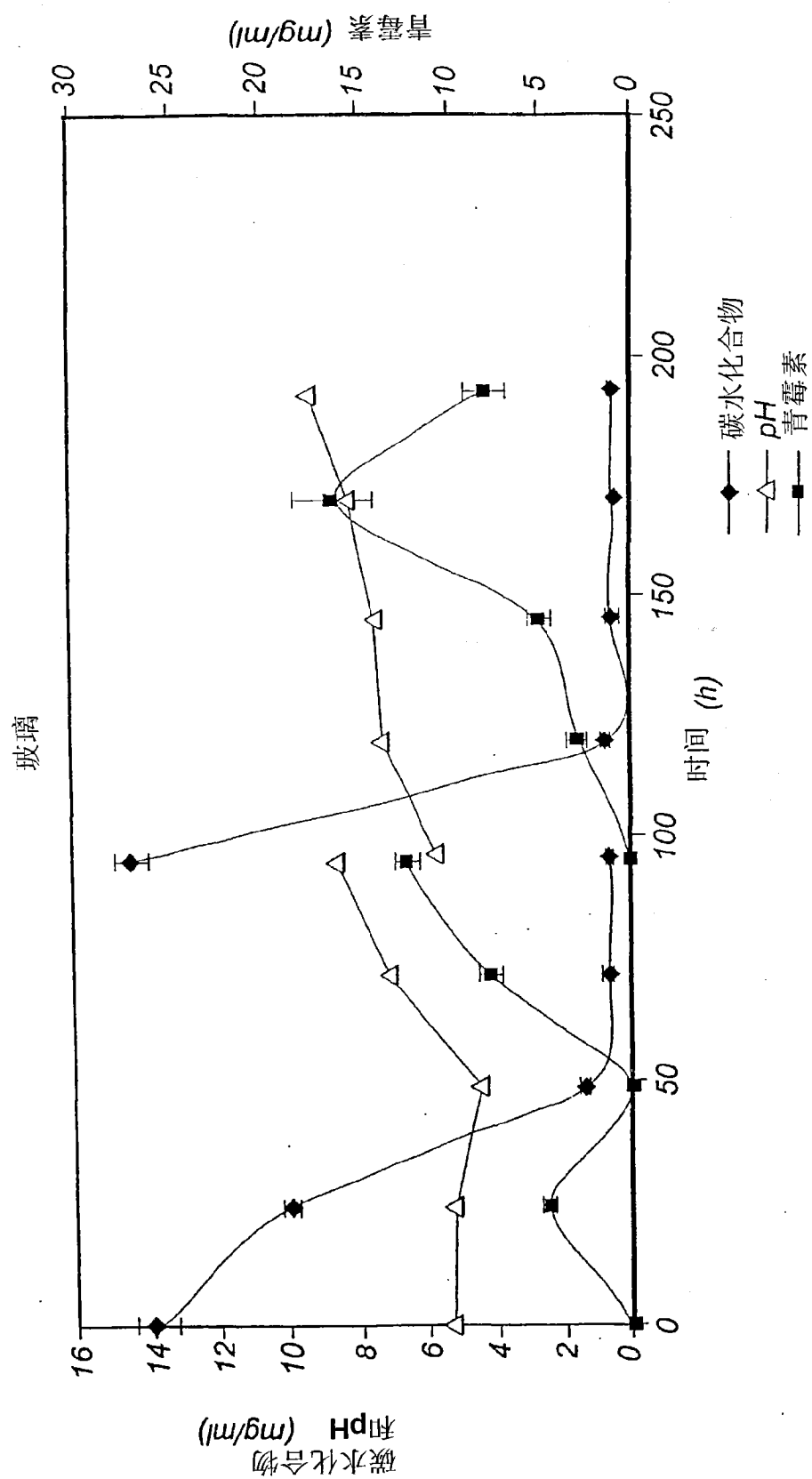


图10

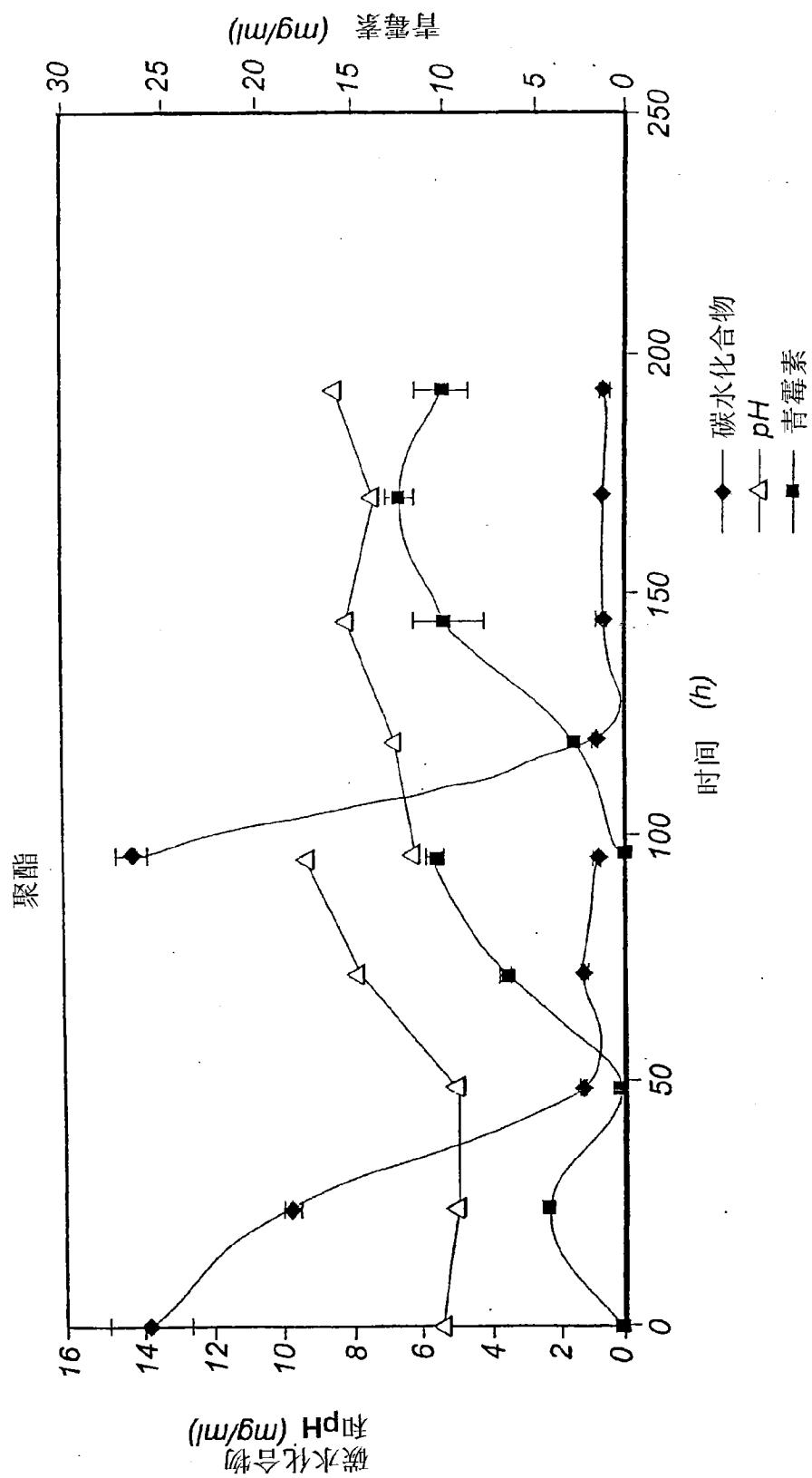


图11

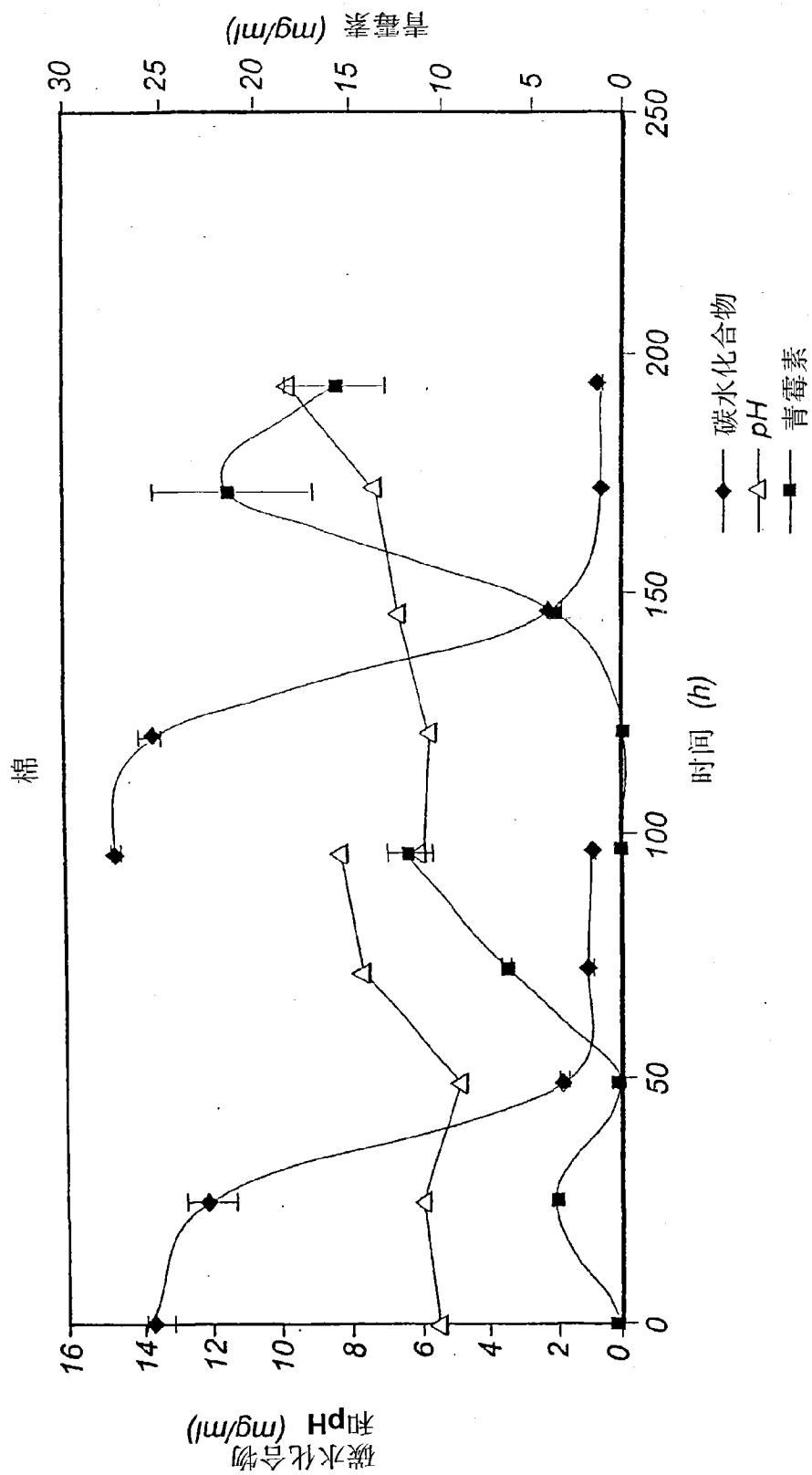


图12

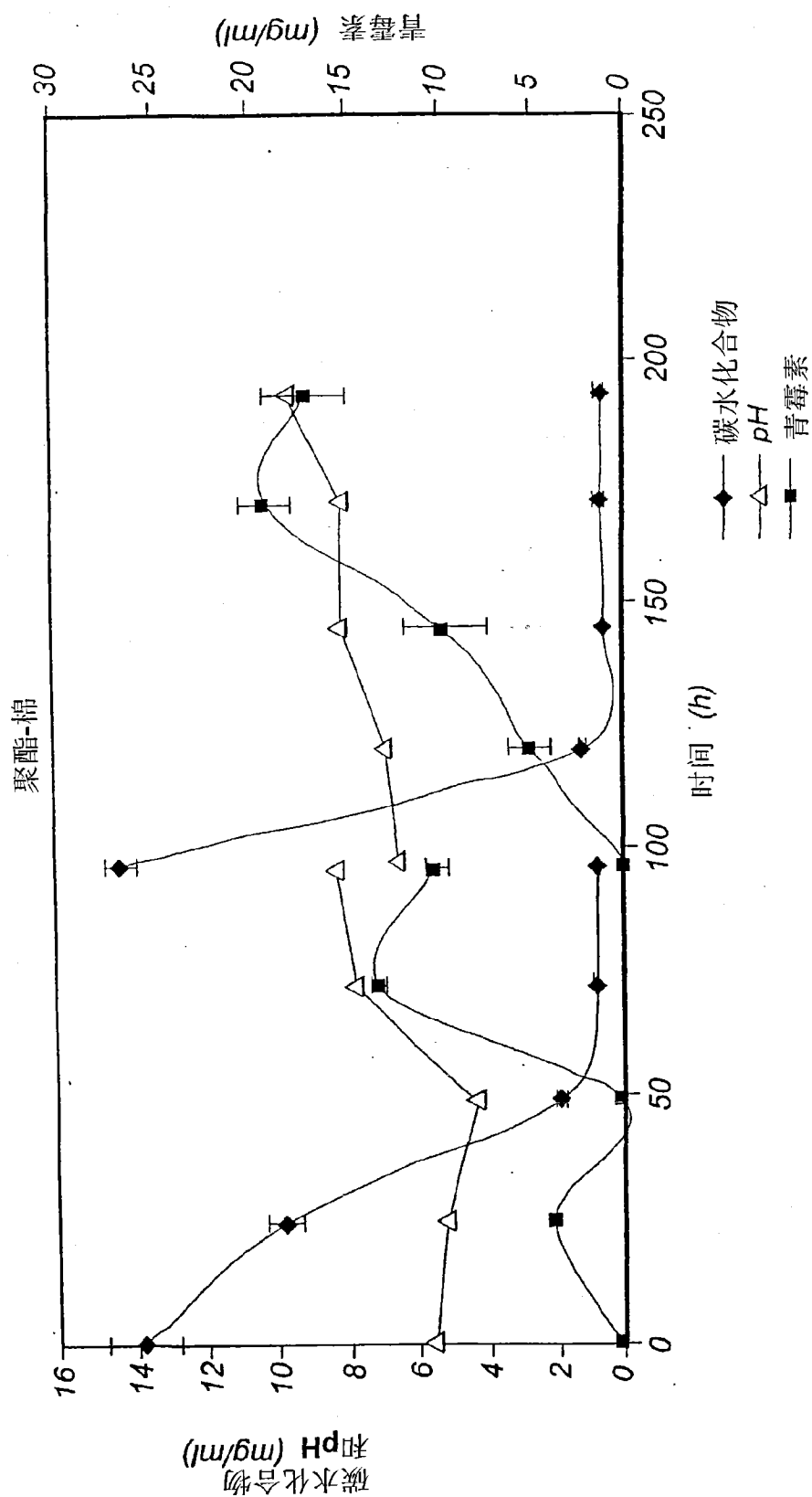


图13

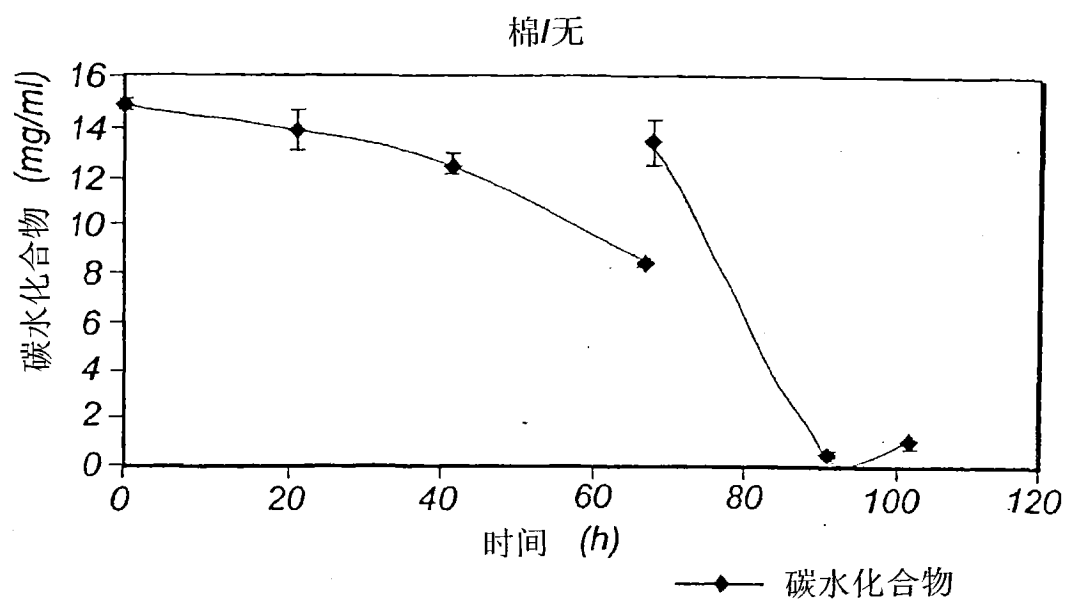


图 14a

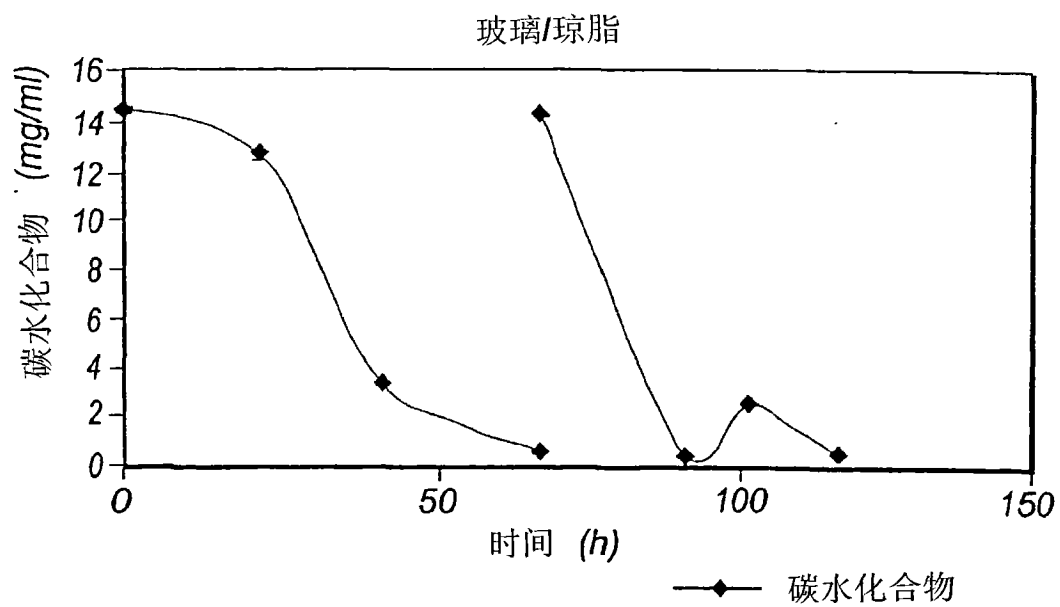


图 14b

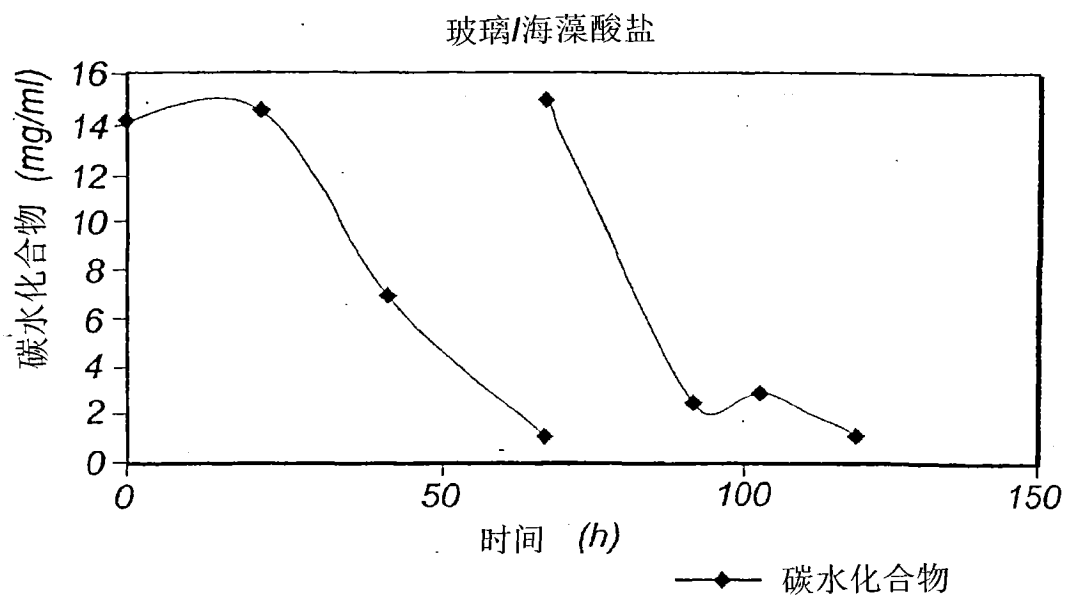


图 14c

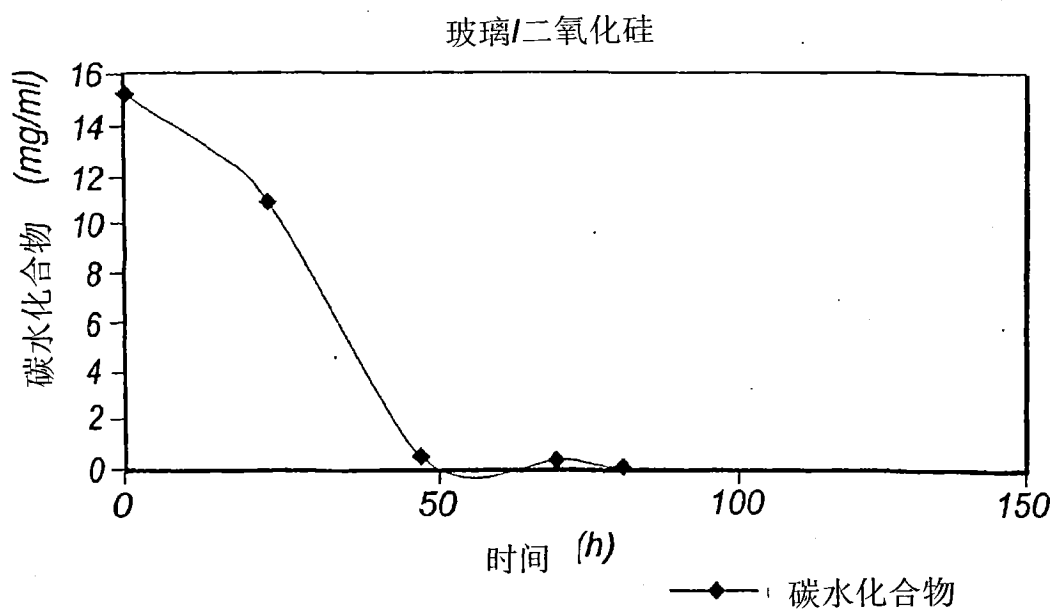


图 14d

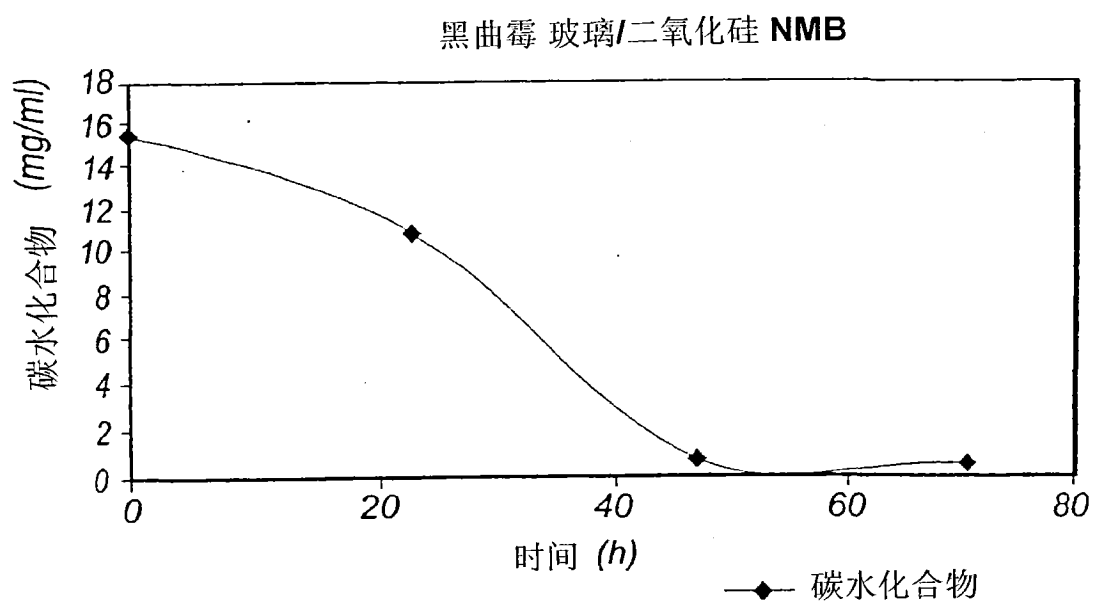


图 15a

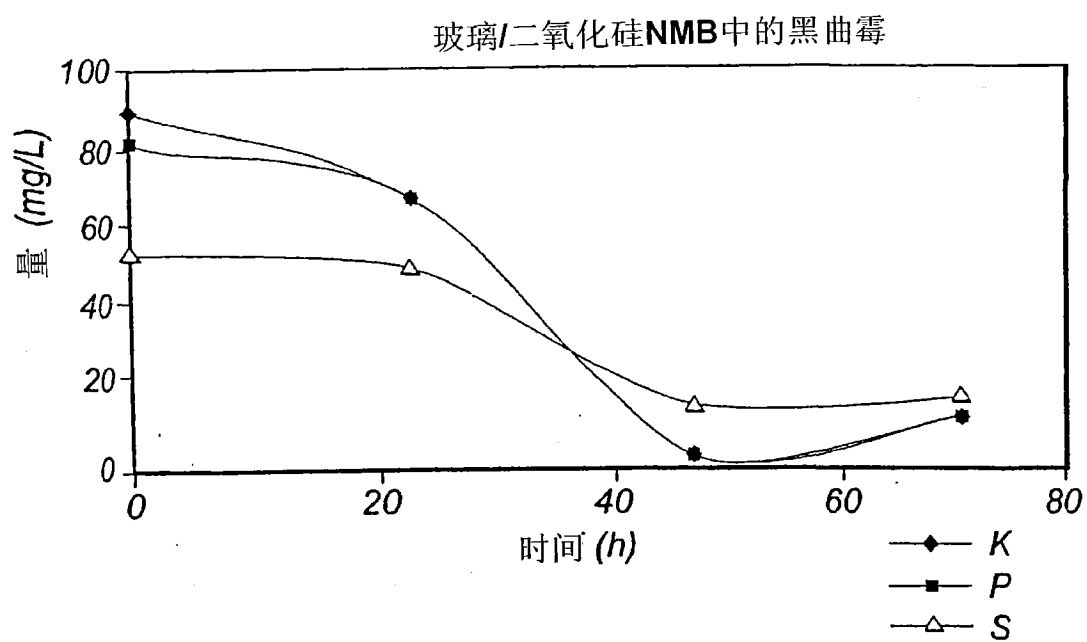


图 15b

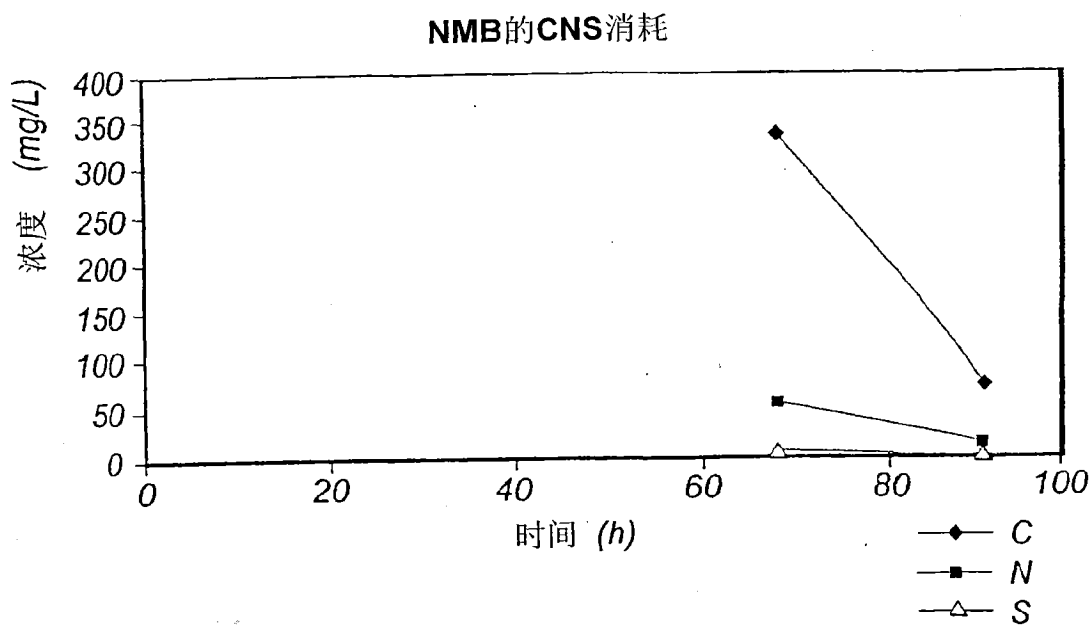


图 15c

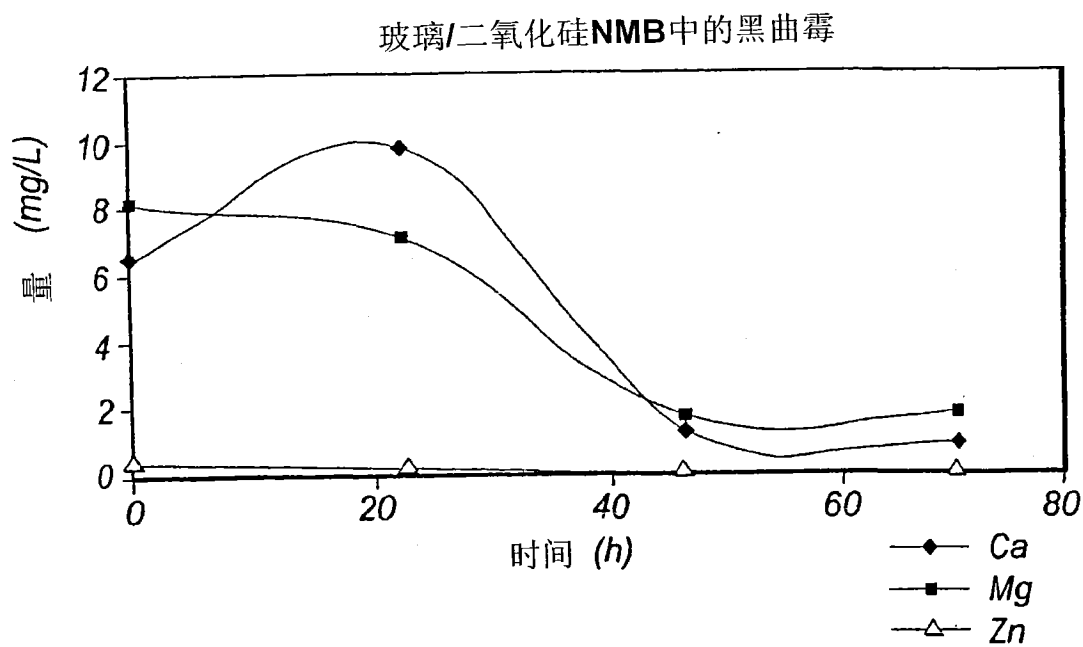


图 15d

静态NMB中的黑曲霉

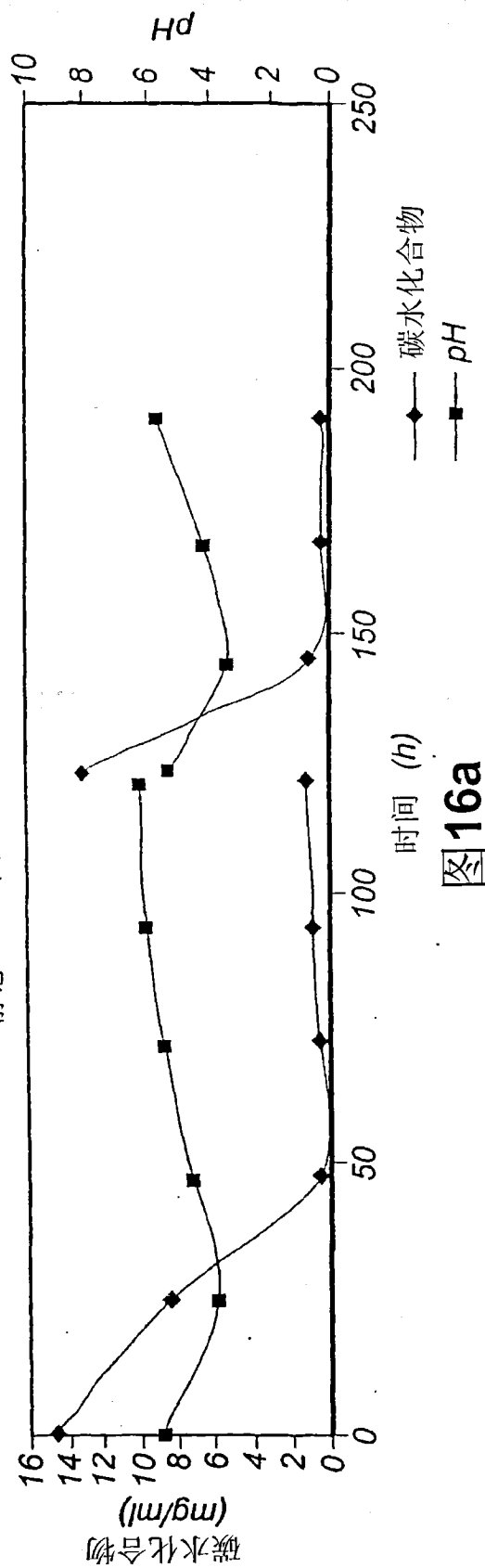


图16a

连续流动NMB中的黑曲霉

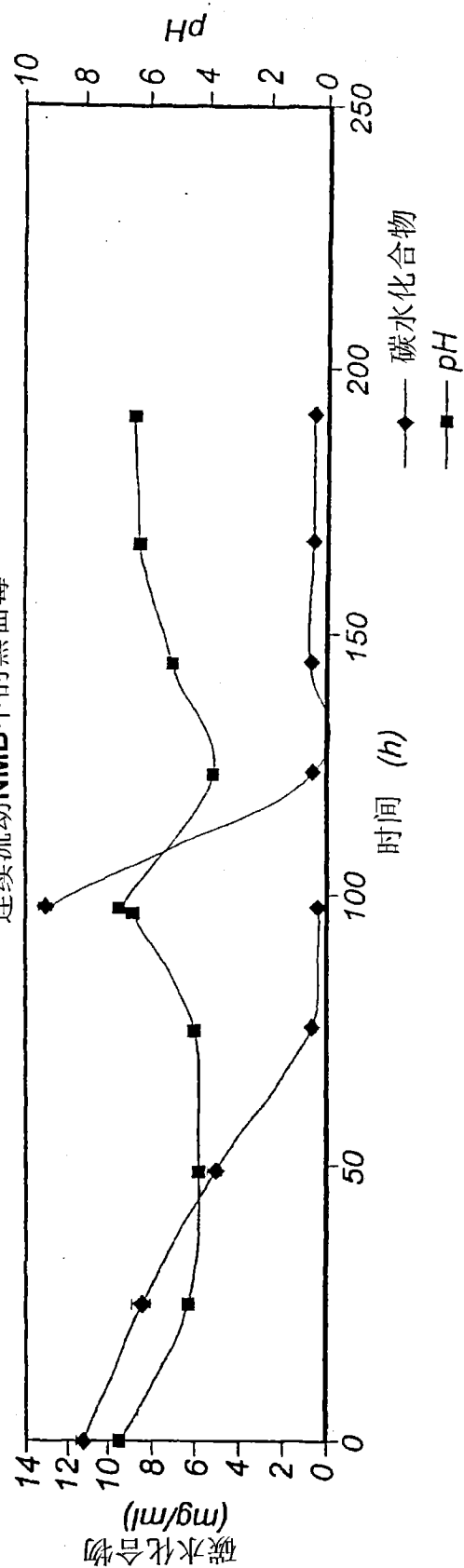


图16b

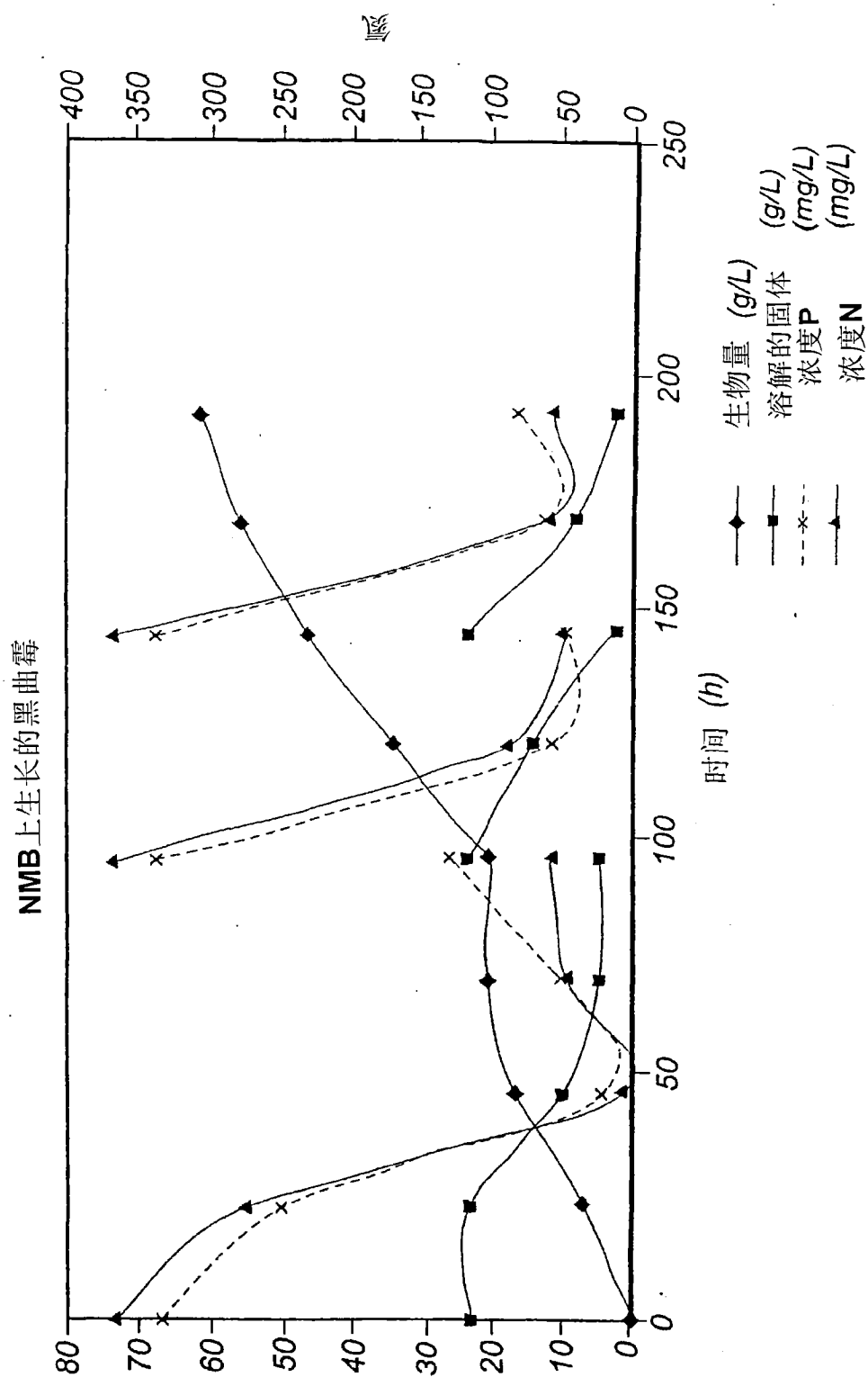


图17

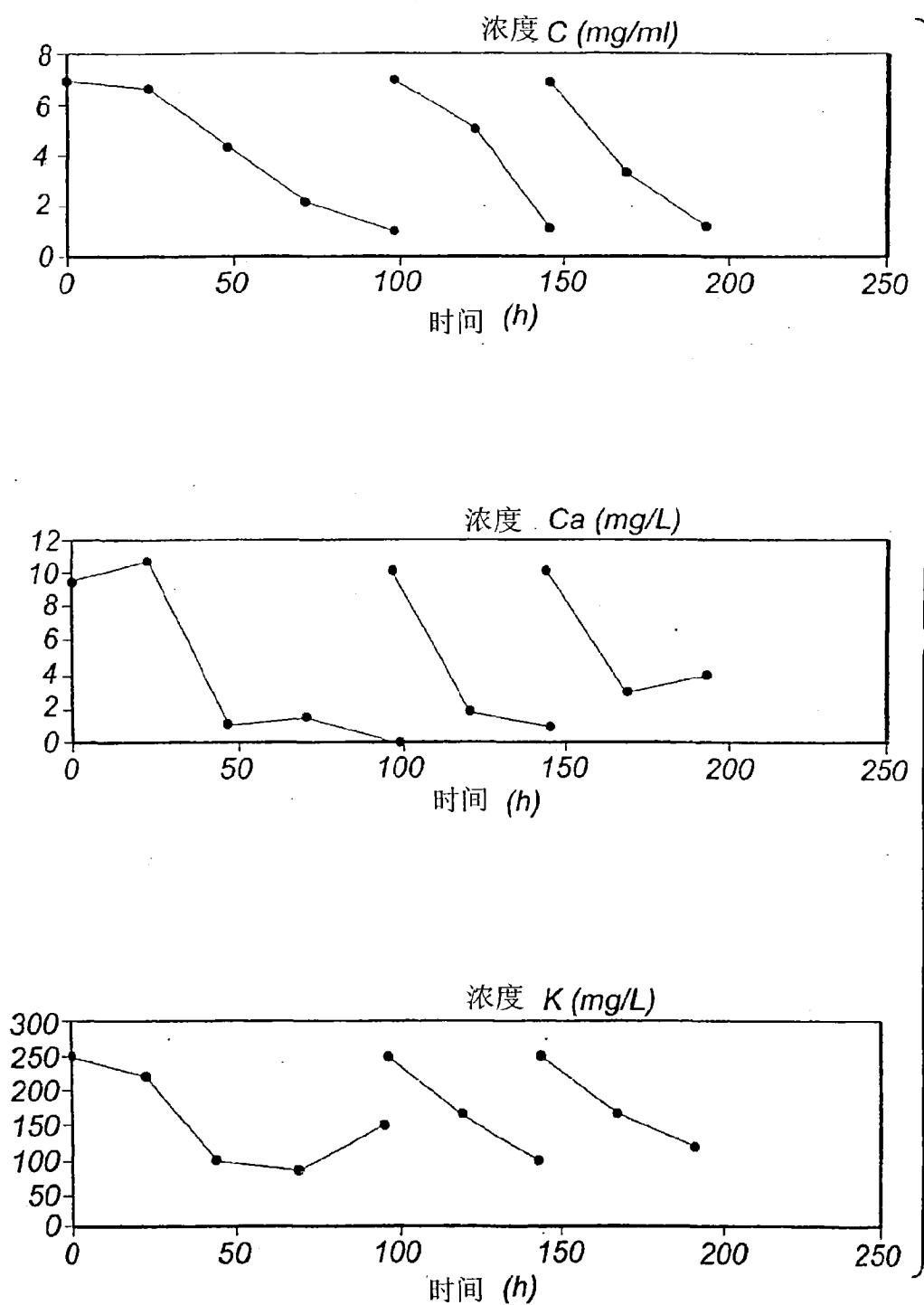


图 18(第一部分)

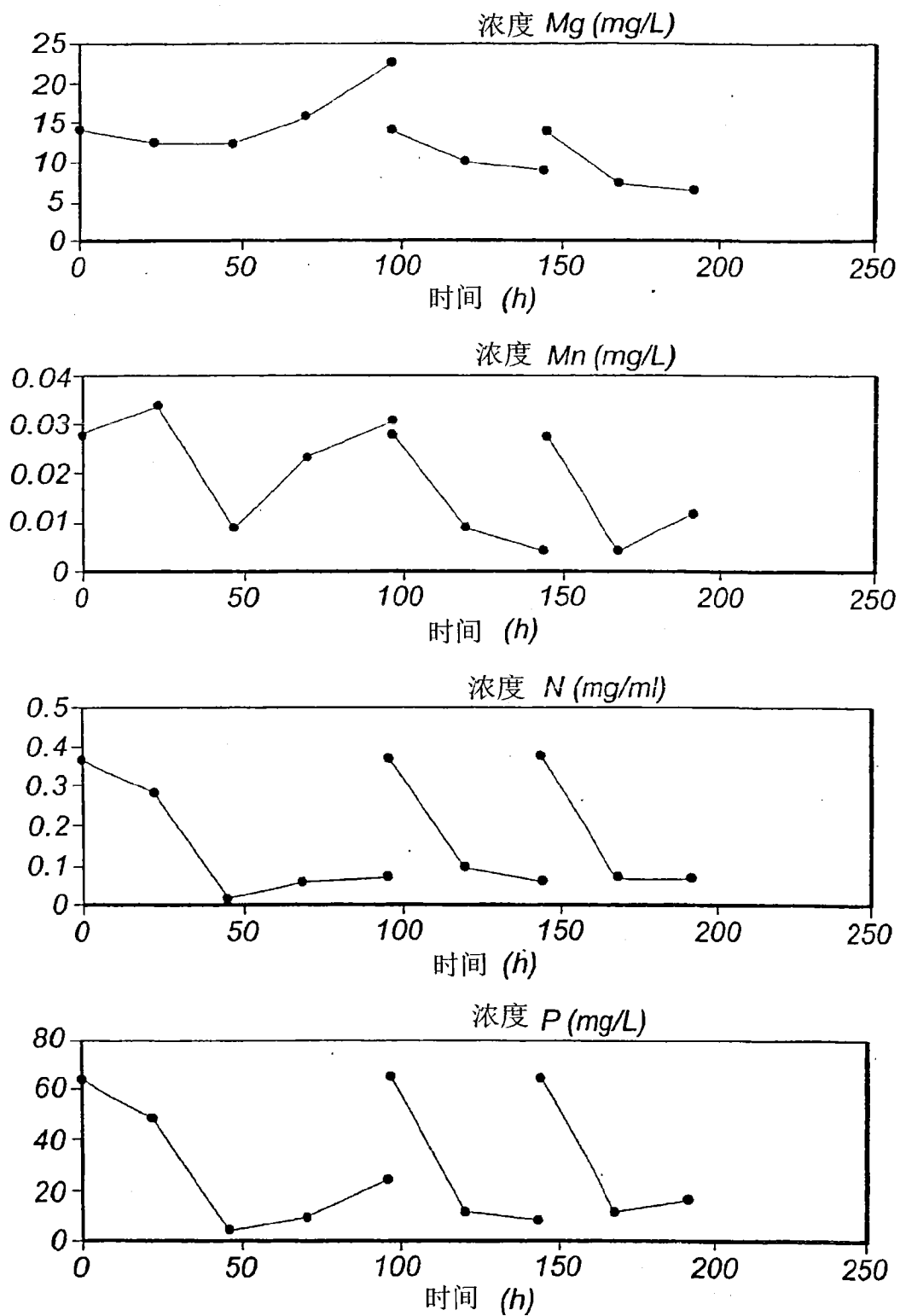


图 18(第二部分)

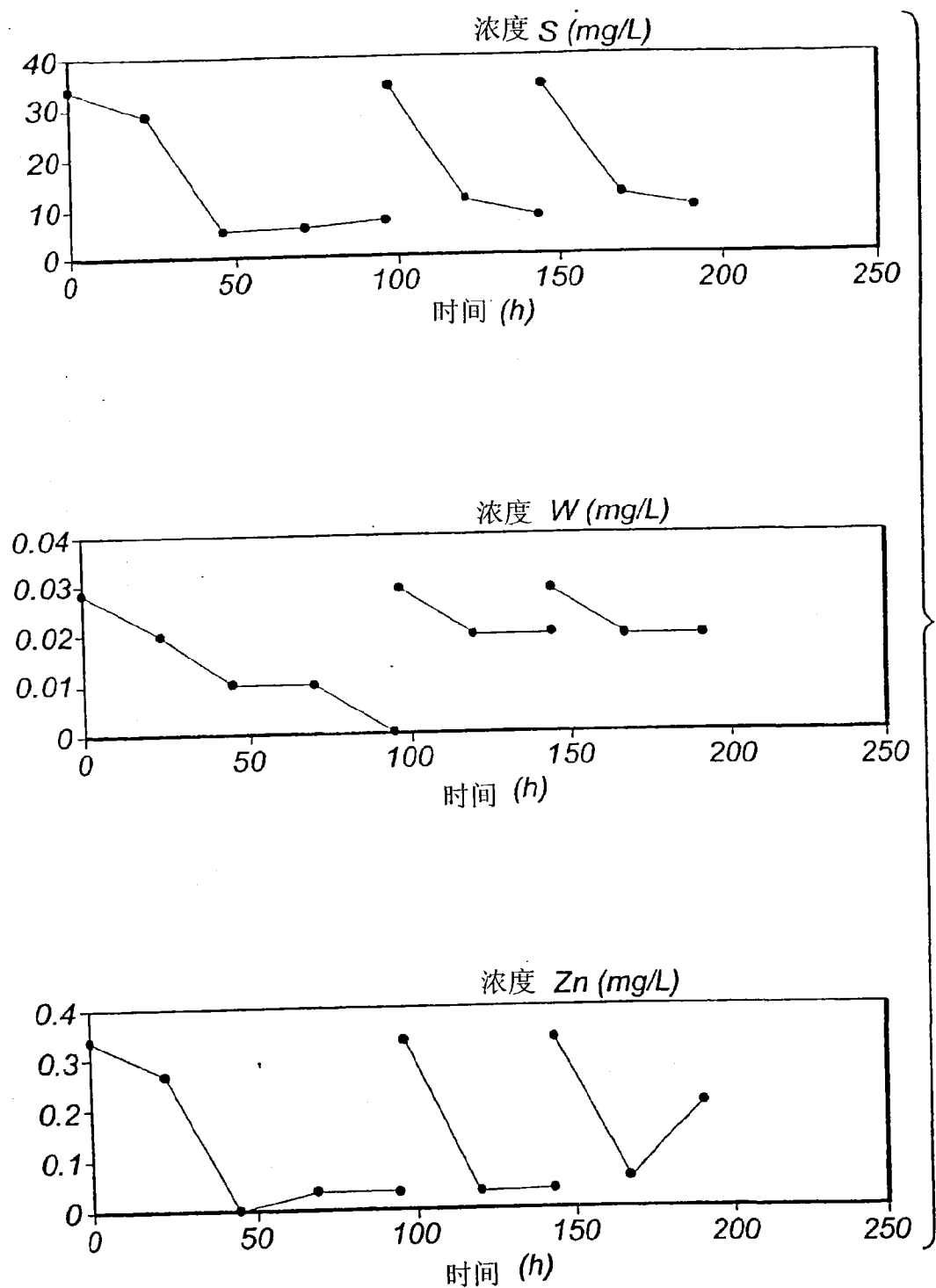


图 18(第三部分)

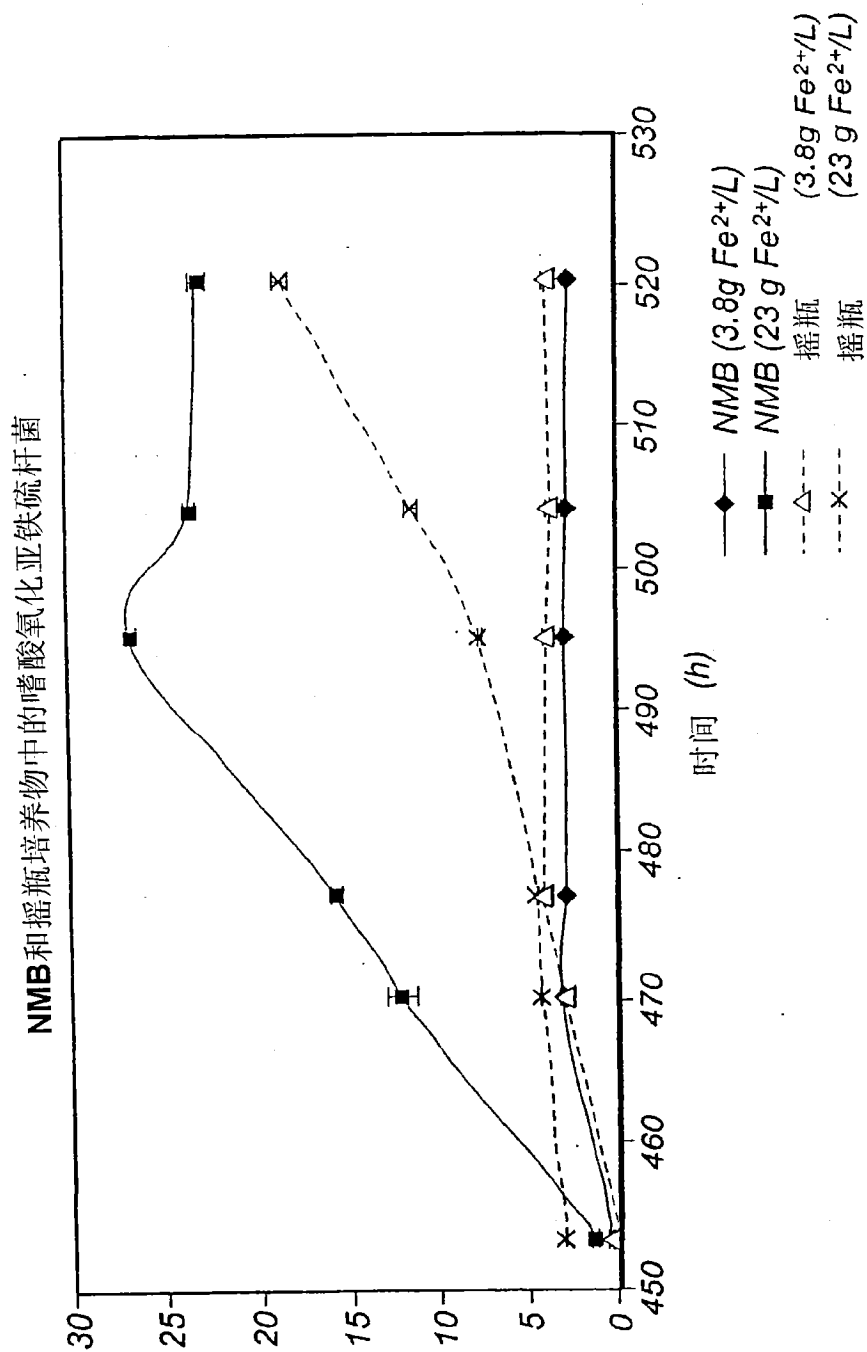


图19

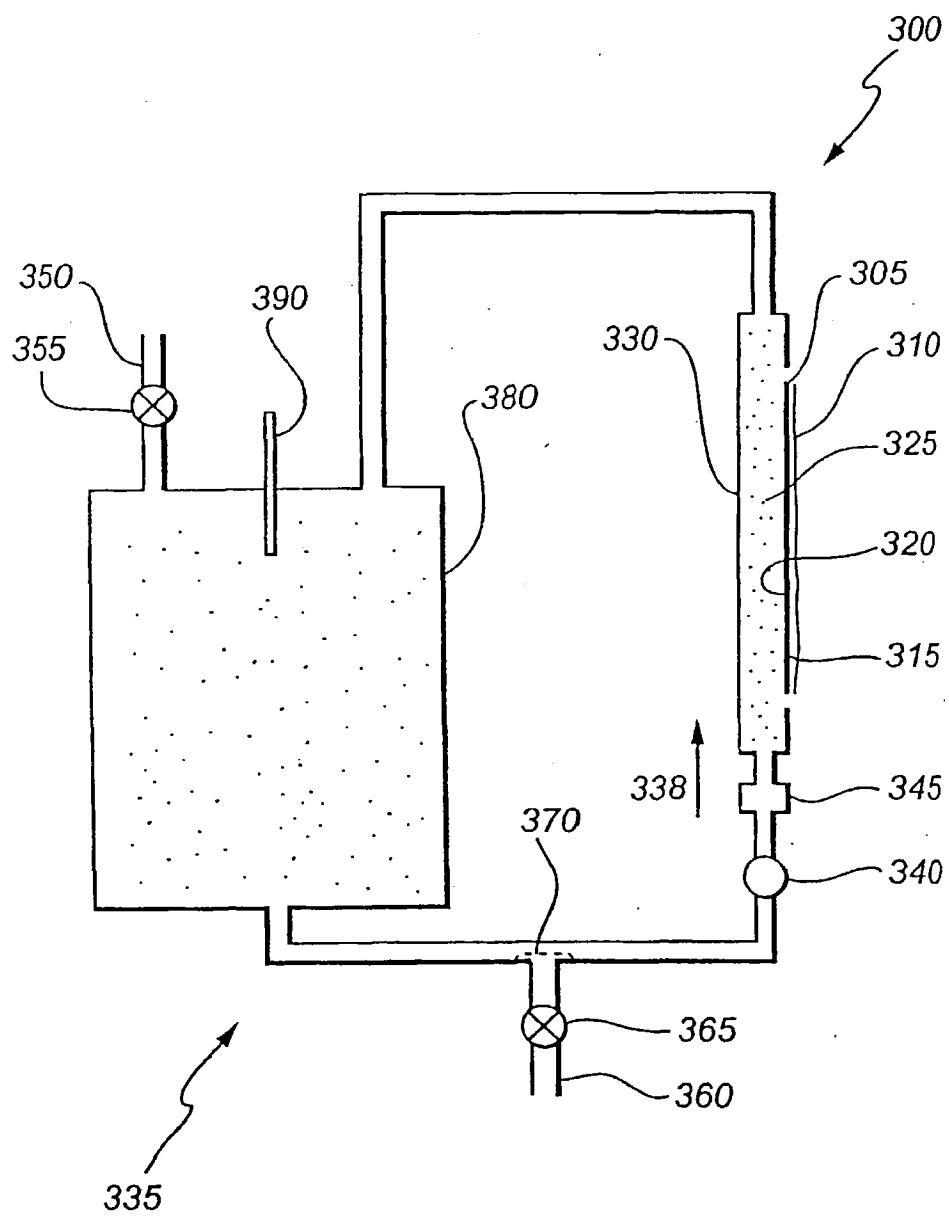


图 20