



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 183**

51 Int. Cl.:
B01D 67/00 (2006.01)
B01D 71/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04009163 .9**
96 Fecha de presentación : **16.04.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1470854**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **27.10.2004**

54 Título: **Membrana celulósica cargada, epóxido-reticulada.**

30 Prioridad: **16.04.2003 US 414980**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.06.2011

73 Titular/es: **Millipore Corporation**
290 Concord Road
Billerica, Massachusetts 01821, US

72 Inventor/es: **Charkoudian, John**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 362 183 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Membrana celulósica cargada, epóxido-reticulada

Campo

5 Esta invención se refiere a una membrana de ultrafiltración mejorada útil para separaciones de fluidos bioquímicos y a un método para la fabricación de la misma. Más particularmente, esta invención se refiere a una membrana de ultrafiltración en base a celulosa cargada y epóxido-reticulada.

Antecedentes

10 Las estructuras de polímero poroso generalmente se clasifican según su tamaño de poro efectivo y/o según su retentividad, es decir, los tamaños de las partículas que son incapaces de pasar a través de las estructuras de polímero poroso. Así, por ejemplo, las estructuras usadas como filtros se clasifican como ultrafiltros si retienen la materia disuelta tales como iones, proteínas, virus, o macro-moléculas, y se clasifican como estructuras microporosas si pasa la materia disuelta y retienen solamente las partículas no disueltas. La línea divisoria entre las estructuras microporosas y los ultrafiltros en términos de tamaño de poro no es una delimitación absoluta, definida científicamente. Así, entre los usuarios habituados con la técnica (por ejemplo, membranólogos), los ultrafiltros son generalmente membranas con un tamaño medio de poro entre aproximadamente 0,005 micrómetros y aproximadamente 0,05 micrómetros. En cambio, una estructura microporosa típicamente connota un tamaño medio de poro entre aproximadamente 0,05 micrómetros y aproximadamente 10 micrómetros.

Las membranas de ultrafiltración se pueden conformar en una variedad de formas que incluyen hojas y tubos.

20 Las membranas porosas a menudo se clasifican según su tamaño de poro en sus dos superficies, es decir, "isotrópicas" o "simétricas" cuando las dos superficies tienen tamaños de poro similares y "anisotrópicas" o "asimétricas" cuando las dos superficies tienen diferentes tamaños de poro.

25 Las membranas poliméricas porosas a menudo también se clasifican como hidrófilas o hidrófobas. Cuando las membranas hidrófilas se ponen en contacto con agua, éstas de forma espontánea se "mojan", es decir, el agua desplaza al aire de los poros de la membrana sin la aplicación de fuerza externa. En cambio, se requiere una presión positiva para introducir el agua en los poros de las estructuras hidrófobas y para desplazar el aire en el interior de las mismas.

30 Las membranas de ultrafiltración se pueden conformar como membranas de materiales compuestos, es decir, en donde una capa de ultrafiltración está asegurada, depositada, o dispuesta de una manera sobre un substrato microporoso, tal como un polietileno de ultra-alto peso molecular (UPE, del inglés ultrahigh molecular weight polyethylene).

35 Debido a su pequeño tamaño de poro, las membranas de ultrafiltración a menudo se usan para separar moléculas en base a su tamaño molecular. Por ejemplo, las membranas de ultrafiltración se usan para separar una proteína específica de una mezcla de otras proteínas por exclusión de tamaños. Una membrana de ultrafiltración tiene generalmente una permeabilidad suficiente para permitir la permeación a través de dicha membrana de objetos menores de aproximadamente 0,05 micrómetros y restringir la permeación de objetos más grandes en tamaño. Al utilizar una membrana de ultrafiltración para separar las proteínas en solución acuosa, es deseable usar una membrana hidrófila que no fije a la proteína de modo que se pueda procesar la disolución y se pueda recuperar la proteína.

40 La celulosa es una materia prima polimérica de uso general en la fabricación de membranas de ultrafiltración. Las membranas de ultrafiltración en base a celulosa a menudo están bien reconocidas por sus características de baja unión de proteínas -una característica importante en numerosas aplicaciones bioquímicas. Desafortunadamente, las membranas de ultrafiltración en base a celulosa -si no están modificadas- también son percibidas como físicamente débiles e inestables. Se han dirigido muchos esfuerzos hacia mejorar la robustez física y la durabilidad de las membranas en base a celulosa. Una estrategia a lo largo de esta línea implica reticular el polímero celulósico de la membrana. Mientras que con esta estrategia se alcanzan buenos resultados, a menudo la mejora en la durabilidad tiene como consecuencia el sacrificio de otras propiedades superficiales y/o químicas.

45 También se ha dirigido mucho esfuerzo hacia modificar la superficie del poro de las membranas preformadas. Y, en general se ha observado que cuando se usan sustancias macromoleculares en la modificación, se puede tener como resultado un cambio significativo en las propiedades del poro. Por ejemplo, puede ocurrir una pérdida de flujo, particularmente para las membranas con un pequeño tamaño medio de poro. Aunque se pueden emplear procesos de modificación química heterogéneos alternativos, a menudo se requiere un esquema de reacción complicado, lo que puede tener como resultado cambios en la estructura y las propiedades de la membrana, tales como su resistencia mecánica y solubilidad.

55 El Documento de Patente de los EE.UU. de número US 4.839.203 describe membranas semi-permeables preparadas por una reacción de los grupos catiónicos con grupos nucleófilos. Estas membranas son membranas de

materiales compuestos en donde la capa discriminante de la membrana se prepara por reacción de un grupo de un compuesto catiónico reactivo con un compuesto que tiene un resto nucleófilo. El producto de reacción contiene enlaces covalentes formados vía reacciones de eliminación de cargas.

5 El Documento de Patente de los EE.UU. de número US 4.888.115 describe un proceso para la filtración por flujo cruzado de un líquido que comprende hacer circular al líquido de forma tangencial a una membrana de filtro microporosa polimérica orgánica de carga modificada.

Resumen

10 La presente invención proporciona una membrana ultraporosa sintética de carga modificada que comprende una capa porosa cargada de polímero de celulosa reticulado soportado sobre un sustrato poroso, estando el polímero reticulado formado a partir de un polímero celulósico y un agente de reticulación. El polímero celulósico tiene un contenido substancial de restos hidroxilo reticulables. El agente de reticulación es un epoxi bi- o multifuncional capaz de reaccionar con y de unirse a los restos hidroxilo del polímero y tiene la fórmula $X(CH_2)_nY$, en donde: n es un número entero de 1 a 5; X es H_2COCH o $H_2COCHCH_2O$; e Y es un halógeno, H_2COCH , o $H_2COCHCH_2O$. La carga superficial se proporciona por unión covalente de un resto cargado sobre una superficie de dicha capa de polímero reticulado. La membrana sintética porosa tiene buena durabilidad y buenas características de unión de proteínas.

15 La modificación de la carga superficial se puede realizar, particularmente, según un procedimiento de etapa única o por un procedimiento de dos etapas.

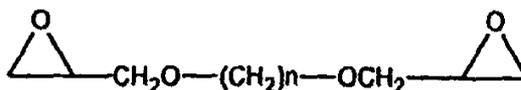
20 En el procedimiento de etapa única, una membrana de celulosa en bruto se hace reaccionar con un reactivo con los grupos hidroxilos que, bajo tal reacción con dicho grupo hidroxilo, forma un grupo iónico cargado positivamente o negativamente. El reactivo y la membrana de celulosa se hacen reaccionar bajo condiciones para modificar la carga de la membrana sustrato de modo que la membrana modificada tenga un cambio mínimo en su estructura de poros en relación a la membrana sustrato modificar. El procedimiento de etapa única tiene las ventajas de mínimos tiempos de reacción, mínimo desecho, y mínimos cambios en la estructura de poros de la membrana de celulosa.

25 En el procedimiento de dos etapas, la membrana de celulosa en bruto se hace reaccionar primero con un agente ligante diepóxido que puede efectuar alguna reticulación de la membrana sustrato y que, bajo reacción con la membrana sustrato, produce un resto que es reactivo con un segundo reactivo que, bajo reacción con el resto ligante, forma un grupo iónico cargado positivamente o cargado negativamente. Los reactivos y la membrana sustrato se hacen reaccionar bajo condiciones para modificar la carga de la membrana sustrato de modo que la membrana modificada tenga propiedades de ultrafiltración similares a la membrana sustrato sin modificar. El procedimiento de dos etapas tiene las ventajas de mejorar la resistencia física y química de la membrana debido a la reticulación y al aumento del número de agentes químicos modificantes útiles.

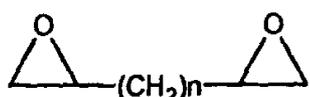
35 Las membranas de ultrafiltración de carga modificada de esta invención son hidrófilas ya que se mojan en contacto con el agua. Además, las membranas de esta invención se caracterizan por su poca o nula unión de proteínas. Debido a que las membranas de esta invención pueden estar positivamente o negativamente cargadas, éstas se pueden utilizar para efectuar la ultrafiltración de una amplia variedad de especies moleculares disueltas en disolución acuosa.

A la luz de lo expuesto, es un objetivo principal de la presente invención proporcionar una membrana de celulosa de superficie cargada y epóxido-reticulada con buena durabilidad y bajas características de unión de proteínas.

40 Es otro objetivo de la presente invención proporcionar una membrana porosa cargada que comprende un polímero celulósico reticulado substancialmente hidrófilo formado a partir de un polímero celulósico y de un agente de reticulación de la fórmula



o



45 en donde n es un número entero de 1 a 5.

Es otro objetivo de la presente invención proporcionar una membrana de celulosa epóxido-reticulada, estando la superficie de la misma modificada para proporcionar restos biológicamente activos o cargados para mejorar la

capacidad de separación de la membrana (cf., por la provisión de carga) o para mejorar su funcionalidad biológica (cf., por la provisión del resto biológicamente activo).

Es otro objetivo de la presente invención proporcionar una membrana de ultrafiltración hidrófila con una superficie cargada que retenga la capacidad de ultrafiltración de una membrana sin modificar.

- 5 Es otro objetivo de la presente invención proporcionar una membrana de ultrafiltración hidrófila con una superficie cargada, una buena capacidad de ultrafiltración, y una baja afinidad por proteínas.

Descripción Detallada

10 La presente invención proporciona una membrana sintética porosa adecuada para llevar a cabo separaciones fluidas macromoleculares (por ejemplo, filtración de proteínas). La membrana ultraporosa comprende un polímero reticulado formado a partir de un polímero de celulosa y de un agente de reticulación. El polímero celulósico tiene un contenido substancial de restos hidroxilo reticulables. El agente de reticulación es un epóxido bi- o multifuncional capaz de reaccionar con y de unirse a los restos hidroxilo del polímero y tiene la fórmula $X(CH_2)_nY$, en donde: n es un número entero de 1 a 5; X es H_2COCH o $H_2COCHCH_2O$; e Y es un halógeno, H_2COCH , o $H_2COCHCH_2O$. La membrana sintética porosa tiene buena durabilidad y buenas características de unión de proteína.

15 Las membranas de ultrafiltración de carga modificada de esta invención se forman a partir de un sustrato de membrana con una superficie formada de un polímero polihidroxilado con grupos hidroxilos reactivos. Polímeros polihidroxilados adecuados representativos incluyen celulosa, alcohol polivinílico (PVA, del inglés polyvinyl alcohol), metacrilatos de polihidroxialquilo tal como metacrilato de polihidroxietilo, acrilatos de polihidroxialquilo tal como acrilato de polihidroxietilo o similares. La superficie del polímero polihidroxilado también se puede formar por
20 revestimiento de una membrana porosa de sustrato con un polímero polihidroxilado.

En el procedimiento de etapa única, la membrana de polímero polihidroxilado se hace reaccionar con un reactivo que se combina con los grupos hidroxilo del polímero bajo condiciones para formar un grupo iónico cargado positivamente o negativamente. Reactivos adecuados representativos para formar un grupo iónico cargado positivamente incluyen los compuestos de las fórmulas:

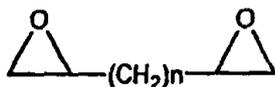
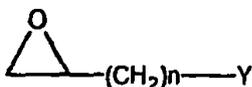
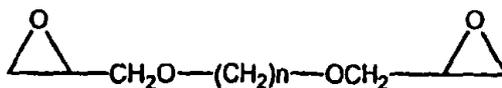


30 en donde X puede ser halógeno tal como cloruro o bromuro, Y es un anión, R_3 puede ser el mismo o diferente y son alquilo de 1 a 5 átomos de carbono y n es 0 o un número entero de 1 a 5. Se prefiere utilizar reactivos donde n es 1 ya que estos reactivos minimizan el cambio en la hidrofilia de la membrana sustrato. Reactivos adecuados representativos incluyen cloruro del glicidil trimetilamonio, cloruro del (2-cloroetil) trimetilamonio, y cloruro del (3-bromopropil) trimetilamonio o similares.

35 Reactivos adecuados representativos para formar un grupo iónico cargado negativamente incluyen compuestos de la fórmula $X(CH_2)_nA$ o las sales de metales alcalinos de los mismos, en donde n es un número entero de 1 a 5, X es halógeno y A es carboxilo o sulfonato. Se prefiere utilizar reactivos en donde n es 1 ya que estos reactivos minimizan el cambio en la hidrofilia de la membrana sustrato. Reactivos adecuados representativos incluyen cloroacetato de sodio, ácido 3-cloropropiónico, ácidos haloalquilo, 2- cloroetil sulfonato o similares.

40 En el procedimiento de etapa única, la reacción se efectúa bajo condiciones de temperatura, tiempo, pH y concentración de reactivo para retener las propiedades de ultrafiltración de la membrana sustrato y para formar la membrana cargada. Temperaturas más altas, tiempos de reacción más largos y/o concentraciones más altas de reactivo promueven una modificación creciente de la membrana sustrato. Por lo tanto, estas condiciones se equilibran para obtener la modificación deseada de la membrana mientras se retiene la capacidad de la membrana modificada para funcionar como una membrana de ultrafiltración. Por ejemplo, las concentraciones del reactivo pueden variar de aproximadamente 1 a 40 % de la concentración. Los tiempos de reacción pueden variar de aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 24 horas. Las temperaturas de reacción pueden variar de
45 aproximadamente 25 °C hasta aproximadamente el punto de ebullición del reactivo. La reacción se efectúa a un pH entre aproximadamente 9 y aproximadamente 14,5.

50 En el procedimiento en dos etapas, la membrana de polímero polihidroxilado se hace reaccionar en una primera etapa con un reactivo epoxi que une a los grupos hidroxilo del polímero bajo condiciones que efectúa la reticulación del polímero y efectúa la formación de un resto que es reactivo con un segundo reactivo que produce un grupo iónico bajo reacción con el segundo reactivo. En la segunda etapa, el polímero epoxi-modificado se hace reaccionar con el segundo reactivo. Reactivos epoxi que son reactivos con los grupos hidroxilo del polímero polihidroxilado pueden tener las fórmulas:



en donde Y es halógeno y n es un número entero de 1 a 5. Reactivos epoxi adecuados representativos incluyen epiclorohidrina, éter de butanedioldiglicidilo, éter de etilenglicoldiglicidilo o butadien diepóxido.

- 5 Bajo reacción con el reactivo epoxi, los grupos hidroxilos del polímero polihidroxiado pueden permanecer sin reaccionar, reaccionar con el reactivo epoxi para reticular al polímero o reaccionar con el reactivo epoxi para dejar grupos epoxi residuales. El segundo reactivo se utiliza para proporcionar el resto modificante al polímero tal como un resto biológicamente activo o una carga negativa o positiva.

- 10 En el procedimiento de dos etapas, los segundos reactivos adecuados para formar las membranas de ultrafiltración cargadas incluyen los reactivos establecidos anteriormente para el procedimiento de etapa única. Estos reactivos reaccionan directamente con los grupos hidroxilo sin reaccionar del polímero.

- 15 En el procedimiento de dos etapas, los segundos reactivos adecuados para formar las membranas de ultrafiltración positivamente cargadas incluyen los reactivos con un grupo nucleófilo que incluye monoaminas, diaminas, compuestos con un grupo sulfhidrilo o un grupo alcóxido. Reactivos adecuados representativos con un grupo nucleófilo incluyen trimetilamina, etilendiamina, N,N- dialquilalquilendiaminas tal como N,N- dimetiletilendiamina o similares.

En el procedimiento de dos etapas, condiciones de reacción adecuadas representativas para la segunda reacción son las establecidas anteriormente para el procedimiento de etapa única para retener las propiedades de ultrafiltración de la membrana substrato y para formar la membrana modificada.

- 20 Utilizando los procedimientos establecidos anteriormente, se puede modificar una membrana substrato para incluir cargas positivas y negativas.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos, que ilustran de forma adicional la invención, no tienen la intención de limitar la misma.

Ejemplo 1

- 25 El siguiente procedimiento demuestra la formación de una membrana de ultrafiltración de celulosa, cargada positivamente y epóxido-reticulada.

- 30 Una pieza prehumedecida de 16 cm x 8 cm de una membrana de ultrafiltración de material compuesto que comprende celulosa regenerada con un límite de peso molecular nominal (NMWL, del inglés Nominal Molecular Weight Limit) de 100.000 (es decir, 100KD), dispuesta sobre una membrana microporosa de polietileno de ultra-alto peso molecular, disponible de Millipore Corporation (Bedford, Massachusetts) bajo la designación de catálogo "PLCHK", se coloca en un recipiente cargado con 29 g de NaOH de 2 M, 8,9 epiclorohidrina, y 60 mg del borohidruro de sodio. El recipiente se sella herméticamente, y entonces se coloca en un hibridizador a 50 °C durante 2 horas. El producto epoxidado resultante se lava dos veces con etanol, dos veces con agua, y se almacena en agua.

- 35 La superficie epoxidada electrófila entonces se trata con un reactivo de amina nucleófila para proporcionar una carga positiva sobre la membrana de celulosa reticulada.

Particularmente, se usa una disolución que comprende 13 g de N,N- dimetiletilendiamina en 58 g de bicarbonato de sodio de 0,2 M para sustituir al agua en el recipiente. La membrana se trata con esta disolución en el hibridizador durante 2 horas a 50 °C. Seguido al lavado completo con agua, la membrana se almacena en agua de azida preservada.

- 40 La membrana se ensaya para determinar su carga por manchado con colorante e infrarrojo. La porosidad de la membrana formada se evalúa obteniendo mediciones del flujo y del dextrano. Los resultados se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 1

	Control Sin Modificar	Ensayo Epoxidada	Ensayo Superficie Amina
Flujo, gsf/psi	43,6	11,2	9,1
Densidad Magenta	0,05	0,05	1,95

Ejemplo 2

5 Se hace reaccionar la etilendiamina con cuatro muestras de membrana epoxidada preparadas según el procedimiento del Ejemplo 1 durante 0,25, 0,50, 0,75 y 1,0 horas, respectivamente. Las membranas resultantes se hacen reaccionar con una disolución de 13 gramos del etilendiamina y 53 gramos de bicarbonato de sodio a 50 °C durante 1 hora. Las membranas se manchan con el colorante Ponceau S para revelar la magnitud de la superficie cargada positivamente. Como se muestra en la siguiente tabla, la magnitud de la carga positiva aumenta con el tiempo de epoxidización:

Tabla 2

Tiempo (horas)	Densidad Magenta (UDO)
0	0,01
0,25	1,54
0,50	1,71
0,75	2,08
1,00	2,51

10 Ejemplo 3

La membrana de partida usada en el Ejemplo 1 se trata con epoxi durante 1 hora a 50 °C, y entonces se hace reaccionar con etilendiamina a 50 °C durante 1 hora.

Se obtienen los valores de R90 y R95 para cada muestra, y se representan en la siguiente tabla:

Tabla 3

Membrana	R90	R95
Muestra de control	49.475 y 54.598	63.587 y 58.713
Muestra de NaOH	41.548 y 40.323	53.886 y 52.502
Muestra Epoxidada	26.737	34.643
Muestra Epoxidada/Derivada	32.103 y 35.047	44.360 y 48.866

15 El valor R90 es el peso molecular de las moléculas en donde el 90% de las mismas quedan excluidas por la membrana. El valor R95 es el peso molecular de las moléculas en donde el 95% de las mismas quedan excluidas. En donde se muestren dos valores, indica que se llevan a cabo dos operaciones de filtración diferentes.

Como se muestra en la Tabla 3, la membrana modificada de esta invención es capaz de ultrafiltración.

Ejemplo 4

20 Las membranas de celulosa cargadas negativamente se hacen usando materiales compuestos PLCHK sin modificar o materiales compuestos PLCHK epoxidados. El primer método (MÉTODO A) tiene como resultado una membrana que no está reticulada. El último método (MÉTODO B) tiene como resultado un producto derivado reticulado.

MÉTODO A

Una hoja prehumedecida de 8 cm x 4 cm de membrana PLCHK se coloca en un recipiente cargado con 15 g de NaOH de 2 M y 4,5 g de cloroacetato de sodio. El recipiente se sella herméticamente, y entonces se coloca en un hibridador a 50 °C durante 2,5 horas. El producto se lava con cantidades abundantes de agua.

5 Este procedimiento se repite a diferentes grados de reacción para obtener muestras intermedias del producto para su evaluación. Así, se obtienen muestras del material de partida ("Muestra de Control"), del producto intermedio epoxidado ("Muestra Epoxidada"), y del producto final epoxidado derivado ("Muestra Epoxidada/Derivada"). También se obtiene una muestra de membrana prima que se hace reaccionar con NaOH de 2 M durante sólo 1 hora a 50 °C ("Muestra de NaOH"). Una muestra se mancha con azul de metileno -un colorante cargado positivamente usado para manchar superficies negativas. Los resultados se presentan en la Tabla 4.

10 Se modifican membranas PLCHK adicionales usando el mismo procedimiento pero a una concentración más baja de electrófilo (es decir, anión cloroacetato) y a una temperatura más baja y durante un tiempo más corto, tal como se establece en la siguiente tabla mostrada a continuación.

Se obtiene un intervalo de densidades de carga negativa sobre las membranas de celulosa. Para todas las membranas se ensaya la densidad cian resultante del manchado con azul de metileno.

15 Tabla 4

Membrana	Cloroacetato de Na (g)	NaOH (g)	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	Densidad Cian
Sin modificar	0	0	0	0	0,14
Sin modificar	4,5	15 g de 1 M	50	2,5	1,50
Sin modificar	4,5	15 g de 2 M	50	2,5	1,64
Sin modificar	2,0	18 g de 1 M	30	0,5	0,93
Sin modificar	2,0	18 g de 1 M	30	1,0	1,09
Epoxidada	0	0	0	0	0,16
Epoxidada	4,5	15 g de 2 M	30	1,0	0,65

MÉTODO B

Una hoja de membrana PLCHK reticulada con epíclorohidrina se trata con 15 g de NaOH de 2 M, 4,5 g de cloroacetato de sodio durante 1 hora a 30 °C. La hoja se lava, y entonces se mancha para su evaluación. Los resultados de la evaluación se muestran en la tabla siguiente.

20 Como se muestra en la tabla, los procedimientos anteriores producen un intervalo de densidades de carga negativa sobre las membranas UF de celulosa. Es evidente la indicación positiva de una carga sustantiva de una membrana epoxidada por el tratamiento con el cloroacetato del sodio.

Ejemplo 5

25 Se emplea el mismo procedimiento que el usado en el Ejemplo 4 a excepción del reactivo y de las condiciones usadas para impartir la carga negativa. En vez de cloroacetato de sodio, se lleva a cabo una reacción de adición de Michael por la reacción de la sal de sodio del ácido acrilamidometil-propanosulfónico en NaOH de 0,5 M a 50 °C durante 5 horas para cargar negativamente la celulosa.

Ejemplo 6

Método de Etapa Única con Reactivos de Glicidilo

30 Los reactivos de glicidilo con grupos epóxido y grupos capaces de poseer carga se pueden hacer reaccionar directamente con polímeros con grupos hidroxilo. En este ejemplo, un compuesto cuaternario de glicidilo se hace reaccionar con una membrana regenerada de celulosa para dar una superficie de celulosa cargada positivamente. La reacción análoga con un ácido de glicidilo da una membrana cargada negativamente.

35 Se disuelven 7 gramos de cloruro de glicidiltrimetilamonio en 26 gramos de NaOH de 2 M para dar una solución al 21 %. Una hoja de 2 cm x 4 cm de membrana PLCHK se trata con esta solución a 40 °C durante 2 horas. La membrana se lava a fondo con agua y se trata con el colorante Ponceau S para revelar una superficie cargada positivamente. La densidad óptica magenta medida es de 2,18 unidades de densidad óptica, lo que indica una alta densidad de carga positiva superficial.

El producto cargado positivamente resultante se caracteriza por separaciones sencillas de grupos de metileno entre los átomos de carbono con grupos hidroxilo y los restos cuaternarios en el polímero celulósico. Esto minimiza el número de átomos de carbonos hidrófobos añadidos a la superficie de la celulosa durante la unión covalente del grupo de nitrógeno cuaternario.

5 Procedimiento de Dos Etapas con Reactivo en Base Amonio

Los reactivos en base a amonio tal como la trimetilamina reaccionan con superficies que tienen grupos epóxido para dar superficies de amina que tienen un nitrógeno cuaternario (es decir, en el caso de reacciones con trialkilaminas) o aminas que ganan una carga positiva bajo protonación en agua. El uso de moléculas en base amonio disubstituidas, en donde cada uno de los sustituyentes contiene carga negativa, impartirá una carga negativa neta a la superficie epoxidada.

Se usa una disolución al 20% de trimetilamina en agua para tratar una hoja de 2 cm x 4 cm de membrana de celulosa regenerada epoxidada. Esta superficie epoxidada se produce por el procedimiento del Ejemplo 1. La membrana se hace reaccionar durante 2 horas a 40 °C. Después de un lavado completo, la membrana se mancha con Ponceau S. Se registra una densidad óptica magenta de 1,54, lo que indica una substancial carga positiva. El procedimiento produce comparativamente un bajo número de átomos de carbonos hidrófobos introducidos durante la unión covalente del nitrógeno que porta la carga.

Ejemplo 7

Se reviste una disolución de acetato de celulosa sobre una membrana microporosa, de polietileno de ultra-alto peso molecular que previamente había sido hidrofílica. La hoja de material compuesto entonces se hidroliza, para producir una estructura de dos capas que comprende celulosa regenerada soportada sobre una membrana sustrato hidrófilo. Esta membrana es esencialmente la misma que la membrana PLCHK anteriormente mencionada y tiene un límite de peso molecular nominal (NMWL, del inglés Nominal Molecular Weight Limit) de 100.000 daltons.

La membrana de material compuesto entonces se reticula usando el reactivo diepóxido difuncional, BUDGE (del inglés 1,4-butanedioldiglycidyl ether). BUDGE es el éter del 1,4-butanedioldiglicidilo y reacciona con los grupos -OH de la cadena principal de la celulosa. El grado de reticulación y la estructura resultante de la red reticulada se controlada por la concentración de BUDGE, el pH, el tiempo y la temperatura. En este ejemplo, se usan 200 g de una disolución al 20 % de BUDGE, 40% de N-metilpirrolidona, y 40 % de NaOH de 0,4 M (p/p) para reticular una lámina de 0,97 m x 0,13 m (38 pulgadas x 5,25 pulgadas) de membrana de material compuesto en un recipiente continuamente agitado durante 16 horas a 40 °C. La membrana epoxidada resultante se lava, primero con metanol y después con agua.

Para averiguar el grado de finalización de la reacción y la ausencia de grupos epóxido residuales, la membrana XL se trata con una disolución de 13 gramos de N,N-dimetiletilendiamina (DMED, del inglés N,N-Dimethylethylenediamine) en 58 gramos de NaHCO₃ de 0,2 M. Cualquier epóxido residual que resulte de solamente un extremo del epóxido difuncional que esté unido a la cadena principal de la celulosa reaccionará con la amina para dar una membrana cargada positivamente. La magnitud de la carga positiva se mide por la densidad magenta que resulta del manchado de la membrana con un colorante cargado negativamente, Ponceau S. Para la membrana epoxidada de la presente invención, la densidad magenta es de 0,02 unidades de densidad óptica, lo que indica esencialmente que la membrana no está cargada.

La membrana epoxidada se carga positivamente por la reacción con el cloruro de glicidiltrimetilamonio (GTMAC, del inglés glycidyltrimethylammonium chloride). La magnitud de la carga positiva se controla por la concentración del GTMAC y del hidróxido, así como por el tiempo y la temperatura. En este ejemplo, se usa una disolución de 20 g de GTMAC acuoso al 70 % en 80 g de NaOH de 0,1 M para tratar la membrana reticulada durante 1,75 horas a temperatura ambiente. La membrana reticulada cargada resultante se lava con agua. La densidad magenta es 1,5 unidades de densidad óptica, lo que indica que la membrana está ahora cargada.

Dotada con tal carga, la membrana epóxido-reticulada de la invención es capaz de una retención mejorada de moléculas cargadas positivamente a un flujo de procedimiento relativamente más elevado. Esto puede producir costes de procedimiento substancialmente más bajos en la realización de determinadas separaciones bioquímicas basadas en membranas.

La tabla siguiente muestra que cuando la membrana está reticulada, es “más hermética” tal como se pone de manifiesto por su disminución en el flujo y un R90 más bajo.

Tabla 5

	Flujo gsf/d/psi	R90 kD
PLC·HK	33,5	71,9

PLC·HK-XL	25,3	63,4
PLC·HK-XL-C	21,2	52,8

5 R90 es una medida del NMWL. Cuando se transforma a la forma cargada, los poros tienen moléculas GTMAC-derivadas unidas, a ellos, y se puede observar una disminución adicional en el R90 y en el flujo. La membrana epoxidada y cargada retiene las moléculas cargadas positivamente con substancialmente la misma eficacia que una membrana con valores de flujo de 2-4 gsf/psi y valores de R90 de 4-7 kD. Sin embargo, la membrana epoxidada y cargada tiene un flujo de 21,2, que es aproximadamente 10 veces más grande.

Ejemplo 8

10 En el Ejemplo 1, las concentraciones, el tiempo, y la temperatura empleada son tales que esencialmente no se detectan epóxidos residuales al final del procedimiento. Esencialmente todos los grupos epóxido reaccionan con los grupos -OH sobre la celulosa o reaccionan con el hidróxido del NaOH. Aumentando o disminuyendo la concentración del epóxido difuncional y/o del hidróxido, el tiempo, y la temperatura se puede obtener un intervalo completo de combinaciones de reticulación y de epóxido residual.

15 Estas membranas pueden poseer un intervalo de contenido de epóxido electrófilo y de reticulación, y pueden servir como membranas de excelente afinidad o como precursores para membranas de excelente afinidad. Al hacer reaccionar el contenido epóxido con los nucleófilos funcionales, puede ser accesible una amplia gama de funcionalidad sobre la celulosa.

20 Para este ejemplo, se emplea el proceso básico del Ejemplo 6. Sin embargo, en vez de usar NaOH de 0,4 M, se usa NaOH de 0,1 M. Y, en vez de reaccionar durante 16 horas, la reacción se lleva a cabo durante solamente 8 horas. Este procedimiento deja un substancial residuo epóxido. La reacción del DMED sirve no sólo para revelar este contenido y para hacer la superficie cargada positivamente, sino que también demuestra la capacidad de unirse funcionalmente vía la reacción con un nucleófilo.

25 La reacción de esta membrana con DMED, según el Ejemplo 6, da una membrana, que cuando se mancha con Ponceau S, tiene una densidad magenta de 1,4. La amina primaria del DMED –con el nitrógeno de la N,N- dimetil impedido estéricamente- reacciona con los epóxidos residuales y se une a la celulosa. La celulosa se carga positivamente porque los dos grupos amino ahora están unidos a la celulosa.

Se cree que si una proteína con funciones amina se hace reaccionar con la membrana en vez de con el DMED, se unirá la proteína. Se cree que cualquier molécula funcional con un sitio nucleófilo diferente de la funcionalidad superficial deseada se podría unir para dar una superficie funcional.

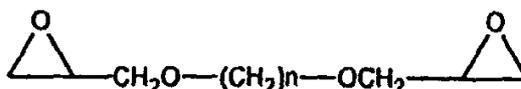
Ejemplo 9

30 Se lleva a cabo el procedimiento del Ejemplo 1. Sin embargo, se produce un intervalo de carga positiva en las membranas resultantes usando la epíclorohidrina como un agente de reticulación con tiempos de reacción ajustados para variar el grado de reticulación del epóxido. La reacción del epóxido residual con DMED se emplea para hacer que las superficies de las membranas resultantes sean positivas en carga.

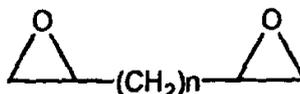
REIVINDICACIONES

1. Una membrana sintética ultraporosa de carga modificada que comprende una capa porosa de polímero de celulosa reticulada soportado sobre un substrato polimérico poroso, en donde: (a) el polímero de celulosa reticulada se forma a partir de un polímero celulósico y de un agente de reticulación, teniendo el polímero celulósico restos hidroxilo reticulables, y siendo el agente de reticulación capaz unirse a dichos restos hidroxilo y con la fórmula $X(CH_2)_nY$, en donde n es un número entero de 1 a 5, X es H_2COCH o $H_2COCHCH_2O$, y Y es un halógeno, H_2COCH , o $H_2COCHCH_2O$; y (b) un resto cargado que está unido covalentemente sobre una superficie de dicha capa de polímero de celulosa reticulada.

2. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada de la reivindicación 1, en donde dicho agente de reticulación tiene la fórmula:



3. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada de la reivindicación 1, en donde dicho agente de reticulación tiene la fórmula:



4. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde substancialmente menos de la totalidad de los restos hidroxilo reticulables están unidos con dicho agente de reticulación.

5. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la capa de polímero reticulado tiene una porosidad suficiente para permitir la permeación a través de dicha capa de objetos más pequeños de aproximadamente 1 micrómetro y de restringir la permeación de objetos más grandes en tamaño.

6. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la porosidad de dicho substrato polimérico poroso es menor que la porosidad de dicha capa de polímero reticulado.

7. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho resto cargado es un resto cargado negativamente.

8. La membrana sintética ultraporosa de carga modificada según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde dicho resto cargado es un resto cargado positivamente.

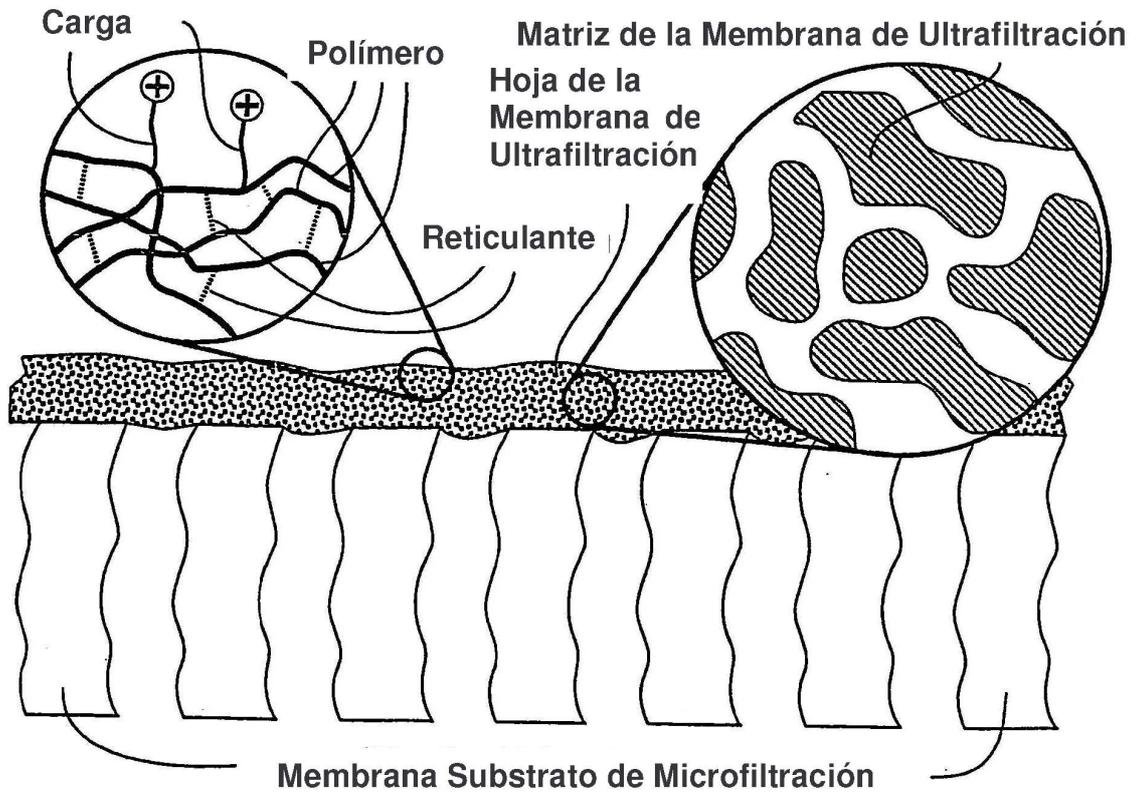


Figura 1