(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 534 310**

(51) Int. Cl.:

B01D 69/12	(2006.01)
B01D 69/02	(2006.01)
B01D 67/00	(2006.01)
B01D 63/06	(2006.01)
A61M 1/34	(2006.01)
B01D 61/14	(2006.01)
B01D 65/02	(2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2005** **E 05253940 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2015** **EP 1609522**

(54) Título: **Método para formar membranas de ultrafiltración compuestas de múltiples capas**

(30) Prioridad:

25.06.2004 US 583209
01.06.2005 US 686363

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.04.2015

(73) Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
290 CONCORD ROAD
BILLERICA, MASSACHUSETTS 01821, US

(72) Inventor/es:

TKACIK, GABRIEL;
GODDARD, PHILIP;
KOOLS, WILLEM FRANCISCUS CATHERINA y
NITIN, SATAV

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

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).

ES 2 534 310 T3

DESCRIPCIÓN

Método para formar membranas de ultrafiltración compuestas de múltiples capas

Esta invención proporciona un nuevo método para fabricar membranas compuestas de múltiples capas que tienen al menos una capa de ultrafiltración producida a partir de al menos dos soluciones de polímero. Las membranas son particularmente adecuadas para el uso en la ultrafiltración terminal.

Antecedentes

Las membranas de ultrafiltración y microporosas se usan en procedimientos de filtración conducidos por presión. Los expertos en el campo de los procedimientos de separación mediante membranas diferencian fácilmente entre las membranas microporosas y las de ultrafiltración y generalmente las distinguen basándose en su aplicación y aspectos de su estructura. Las membranas microporosas y de ultrafiltración se elaboran, se venden y se usan como productos separados y diferentes. A pesar de algún solapamiento en la nomenclatura, son entidades separadas, y se tratan como tales en el mundo comercial.

Las membranas de ultrafiltración se usan principalmente para concentrar o diafiltrar macromoléculas solubles tales como proteínas, ADN, almidones y polímeros naturales o sintéticos. En la mayoría de los usos, la ultrafiltración se efectúa en el modo de filtración de flujo tangencial (TFF, por sus siglas en inglés), en la que el líquido de alimentación se hace pasar a través de la superficie de la membrana y las moléculas menores que el tamaño de los poros de la membrana pasan (filtrado) y el resto (retenido) permanece sobre el primer lado de la membrana. Como también pasa líquido, hay una necesidad de reciclarlo o añadirlo al flujo del retenido a fin de mantener una operación de TFF eficaz. Una ventaja de usar un enfoque de TFF es que a medida que el fluido atraviesa constantemente la cara de la membrana, tiende a reducir la acumulación y la polarización de los solutos en o cerca de la superficie de la membrana conduciendo a una duración más prolongada de la membrana.

Las membranas microporosas se usan principalmente para retirar partículas, tales como sólidos, bacterias y geles, de una corriente líquida o gaseosa en el modo de filtración terminal. Filtración terminal se refiera a una filtración en la que la corriente fluida que se filtra atraviesa el filtro sin flujo de reciclado o retenido. Cualquier material que no pase a través del filtro se queda sobre su superficie superior.

Generalmente, las membranas de ultrafiltración son membranas asimétricas recubiertas, elaboradas en su mayor parte sobre un soporte que sigue siendo una parte permanente de la estructura de la membrana. El soporte puede ser un género no tejido o tejido, o una membrana preformada.

Las membranas microporosas se producen en forma soportada o no soportada. Habitualmente, el soporte tiene la membrana o una porción de la membrana formada en el soporte, en lugar de sobre el soporte, como en las membranas de ultrafiltración.

Las membranas microporosas celulósicas, de nailon y de poli(fluoruro de vinilideno) primitivas eran simétricas y, en su mayor parte, no estaban recubiertas. Actualmente, se producen algunas membranas microporosas asimétricas, y algunas de estas están recubiertas.

Aunque parecería que los dos tipos de membrana se podrían diferenciar por el tamaño de los poros, este no es el caso, como se analizará posteriormente. Las razones de esto son que se usan en aplicaciones diferentes, que requieren diferentes medios de caracterización. Ninguno de los métodos usados habitualmente da una medida absoluta del tamaño de los poros, y no se pueden comparar directamente métodos diferentes.

A pesar de las similitudes entre las membranas microporosas y las membranas de ultrafiltración, la historia de su desarrollo es bastante diferente. Por lo tanto, no es sorprendente que haya más de una limitación aceptada entre ellas.

Las membranas microporosas fueron desarrolladas comercialmente a partir del trabajo de Zsigmondy por Sartorius Werke (Alemania) en 1929. Éstas eran lo que ahora se llaman membranas "vaciadas al aire" elaboradas evaporando una capa fina de una solución de polímero en una atmósfera húmeda. Estas membranas eran y siguen siendo simétricas y generalmente sin recubrimiento. Puesto que se usaban para retirar o retener bacterias, se clasificaban por el tamaño de las bacterias que retenían. Este método daba como resultado clasificaciones de los tamaños de los poros en micras.

Un método común usado para clasificar las membranas microporosas es la prueba del punto de burbujeo. En este método, la membrana microporosa se pone en una montura y se satura con un líquido de prueba. Se aplicaba gas a presión a un lado de la membrana y la presión se incrementaba a una velocidad fija. La aparición de la primera corriente de burbujas procedente del lado inferior es una medida del poro más grande. A una presión superior a la que el líquido se expulsa de la mayoría de los poros, se alcanza el punto de espumación total (FAOP, de “foam all over point”). Esto se describn en los documentos ASTM F316-70 y ANS/ASTM F316-70 (Reaprobados en 1976).

Las membranas de ultrafiltración son una derivación de la investigación del desarrollo de las membranas de ósmosis

inversa de Leob y Sourirajan. Alan Michaels estableció 1965 como el momento en el que aparecieron por primera vez en el mercado membranas y dispositivos de UF rudimentarios. Las membranas de UF se elaboran mediante métodos de vaciado por inmersión y son recubiertas y asimétricas. Las aplicaciones comerciales iniciales estaban relacionadas con la concentración de proteínas y las membranas se clasificaron por el peso molecular de la proteína que retenían, es decir, la clasificación de separación de pesos moleculares de la membrana (MWCO, por sus siglas en inglés).

Aunque todavía se realiza la clasificación de las membranas basándose en la prueba con proteínas, un método común usa macromoléculas no proteínicas que tienen una distribución de pesos moleculares limitada, tales como polisacáridos (dextranos) o polietilenglicoles. Véase, por ejemplo, A rejection profile test for ultrafiltration membranes and devices, BIOTECHNOLOGY 9 (1991) 941-943.

A medida que las aplicaciones de las membranas se desarrollaban en los 60 y 70, las membranas de UF se extendieron a tamaños de poro mayores y las MF a tamaños de poros menores. A medida que se producía esto, los expertos empezaron a diferenciar entre los dos tipos de membranas. Es interesante desde una perspectiva histórica que la bibliografía primitiva se refería solamente a la ultrafiltración. Tanto Kesting Synthetic Polymer Membranes A Structural Perspective, Robert E. Kesting, John Wiley & Sons 1985 como Lonsdale "The Growth of Membrane Technology". K. Lonsdale, J. Membrane Sci. 10 (1982) 81 citan la importante revisión de Ferry de 1936 en la que la ultrafiltración se refiere a membranas tanto de ultrafiltración como de microfiltración. Kesting indica "El término ultrafiltración ha cambiado su significado a lo largo de los años". De hecho, incluso en un reseña de 1982 Pusch Synthetic Membranes - Preparation, Structure, and Application, W. Pusch and A. Walch Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 21 (1982) 660 usa ultrafiltración para indicar membranas tamizadoras de 0,005 µ a 1 µ. Kesting, en la tabla 2.9 (pg. 45) tiene la UF como 10 - 1.000 *angstroms*, 0,01 – 0,1 micras, y la MF como 1.000 - 100.000 *angstroms*, 0,1 – 10 micras.

Un diagrama de 1969 de Dorr-Oliver incluye membranas microporosas que varían de 0,03 µ a más de 10 µ y membranas de UF que varían de 0,002 µ a 10 µ. Un capítulo de un manual reciente, Handbook of Separation techniques for Chemical Engineers – Tercera Edición, Sección 2.1 Membrane Filtration, M. C. Porter, McGraw - Hill 1996 reclama que esto "refleja confusión en la bibliografía entre MF, UF y RO". En 1975 Porter Selecting the Right Membrane, M.C. Porter, Chem Eng. Sci. 71 (1975) 55 propuso que la UF cubre el intervalo de 0,001 a 0,02 micras, y la MF de 0,02 a 10 micras. Lonsdale mencionaba esto en la Referencia 2 y Porter usa de nuevo esta definición en la referencia 4.

Cheryan Ultrafiltration Handbook, M. Cheryan, Technomic Publishing Co. Capítulo 26 - Introduction and Definitions (Ultrafiltration) S. S. Kulkarni et al Capítulo 31 - Definitions (Microfiltration) R. H. Davis 1986 tiene ambos intervalos de Porter para UF y MF (sin citar) y un diagrama que parece proceder del diagrama de Dorr-Oliver. En Membrane Handbook, Davis, Van Nostrand y Reinhold DATE, Davis da la MF como 0,02 - 10 micras, y Kulkarni et al describen la UF como de 10 a 1.000 *angstroms*, 0,001 - 0,1 micras. Otro ejemplo de tamaños de poros procede de the Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Volumen 9 pg. 512, John Wiley and Sons 1987_ que incluye UF como de 0,01 a 0,1 micras y MF como de 0,1 a 10 micras. Zeman Microfiltration and Ultrafiltration. L. Zeman y A. Zydney, Marcel Dekker, Inc 1996, p 13 incluye un diagrama en el que UF varía de 0,001 a 0,1 micras y MF de aproximadamente 0,02 a 10 micras.

Con respecto a la presente invención, se definirán las membranas de ultrafiltración en comparación con las membranas microporosas basándose en las definiciones de the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), "Terminology for membranes and membrane processes" publicado en Pure Appl. Chem., 1996, 68, 1479.

> "72. microfiltración: procedimiento de separación basado en membranas conducido por presión en el que son rechazadas las partículas y las macromoléculas disueltas mayores de 0,1 µm"
>
> "75. ultrafiltración: procedimiento de separación basado en membranas conducido por presión en el que son rechazadas las partículas y las macromoléculas disueltas menores de 0,1 µm y mayores de aproximadamente 2 nm".

La definición para las membranas de ultrafiltración se basará en lo que hacen y en cómo lo hacen. Las membranas de ultrafiltración son capaces de concentrar o diafiltrar macromoléculas solubles que tienen un tamaño en solución de menos de aproximadamente 0,1 micras y que funcionan continuamente en un modo de flujo tangencial durante períodos de tiempo prolongados, habitualmente más de 4 horas y durante hasta 24 horas. Las membranas microporosas son capaces de retirar partículas mayores de 0,1 micras y de ser usadas en aplicaciones de filtración terminal. Generalmente, las membranas microporosas permiten que las macromoléculas solubles pasen a través de la membrana.

Se conocen a fondo métodos de producción de membranas de ultrafiltración mediante vaciado por inmersión. Un análisis conciso se da en Microfiltration and Ultrafiltration: Principles and Applications Marcel Dekker (1996); L. J. Zeman and A. J. Zydney eds. Generalmente, se describe que estas preparaciones consisten en las siguientes etapas:

> a) preparación de un preparado específico y muy controlado de una solución de polímero,

b) vaciar la solución de polímero en la forma de una película fina sobre un sustrato,

c) coagular la película resultante de la solución de polímero en un no disolvente y

d) opcionalmente, secar la membrana de ultrafiltración.

La forma común de las membranas de ultrafiltración es una membrana asimétrica, en la que el tamaño de los poros de la membrana varía como una función de la posición dentro del espesor de la membrana. La membrana asimétrica más común tiene una estructura de gradiente, en la que el tamaño de los poros se incrementa de una superficie a la otra. Las membranas asimétricas son más propensas al deterioro, ya que su característica de retención se concentra en una región superficial delgada o recubrimiento. Un recubrimiento de membrana es una superficie densa horadada por poros superficiales. Sin embargo, se ha encontrado que resulta una productividad incrementada de tener en contacto la corriente de alimentación que se va a filtrar con la mayor superficie de poros, que actúa prefiltrando la corriente y reduce la obturación de la membrana.

Los expertos en la técnica de la elaboración de membranas de ultrafiltración, particularmente membranas asimétricas, han encontrado que las membranas que contienen grandes (con relación al tamaño de los poros de la membrana) estructuras cavernosas huecas tienen propiedades inferiores en comparación con membranas elaboradas sin tales estructuras huecas. Estas estructuras huecas se denominan a veces "macrohuecos", aunque se usan otros términos en la técnica. Los expertos que luchan por conseguir membranas de una eficacia de retención muy alta prefieren elaborar las membranas sin estas estructuras huecas.

Quizás la variación más directa de la estructura de una sola capa es un estratificado no ligado de múltiples capas. Aunque los estratificados pueden estar hechos de capas de membranas iguales o diferentes, tienen desventajas. Cada capa se tiene que elaborar en un procedimiento de fabricación separado, incrementado el coste y reduciendo la eficacia de fabricación. Es difícil fabricar y manejar membranas muy delgadas, menores de, por ejemplo, 20 micras, debido a que se deforman y se arrugan fácilmente. Esto se suma a la ineficacia de producir un producto final con capas delgadas. Los estratificados no ligados también se pueden separar durante la fabricación como un dispositivo filtrante final, tal como un filtro plegado, lo que provocará irregularidades de flujo y concentración. Se conocen otros métodos para formar estructuras de membrana porosa de múltiples capas. La Patente de EE. UU. 4.824.568 describe una membrana de ultrafiltración compuesta elaborada vaciando una membrana de ultrafiltración delgada sobre una membrana microporosa preformada. La Patente de EE. UU. 5.228.994 describe un método para revestir un sustrato microporoso con una segunda capa microporosa formando de ese modo una membrana microporosa compuesta de dos capas. Estos procedimientos requieren dos etapas de formación de membrana separadas, formando una sobre la otra membrana preformada, y están restringidos por las viscosidades de las soluciones de polímero que se pueden usar en el procedimiento para evitar la penetración excesiva de solución de vaciado en los poros del sustrato preformado.

En la Patente de EE. UU. 5.620.790 se describe un método para elaborar una membrana microporosa elaborada vertiendo una primera capa sobre un soporte de material polimérico sobre un sustrato y posteriormente vertiendo una o más capas adicionales de una solución de material polimérico sobre la primera capa antes de la aparición de enturbiamiento en cada capa precedente sucesivamente inmediata, habiendo sido la viscosidad de cada capa inmediatamente sucesiva de una solución de material polimérico igual o menor que la de la capa precedente. Las Solicitudes de Patente de EE. UU. 20030217965 y US 2003/0209485, dirigidas a membranas microporosas, proporcionan un método para producir una membrana porosa de múltiples capas integral colocando simultáneamente una pluralidad de soluciones de polímero sobre un soporte para formar una lámina líquida de múltiples capas y sumergiendo la lámina en un baño líquido de coagulación para efectuar una separación de fases y formar una membrana porosa. La Patente de EE. UU. 6.706.184 divulga un procedimiento para formar una membrana microporosa de inversión de fases continua, no soportada, de múltiples zonas que tiene al menos dos zonas comprendidas por las acciones de: colocar operativamente al menos un aparato de aplicación de barniz, que tiene al menos dos ranuras de alimentación de barniz polimérico, con relación a una superficie de revestimiento que se mueve continuamente; aplicar barnices poliméricos desde cada una de las ranuras de alimentación de barniz sobre la superficie de revestimiento que se mueve continuamente a fin de crear un revestimiento de barniz polimérico de múltiples capas sobre la superficie de revestimiento; someter a la capa de múltiples zonas de barniz a contacto con un ambiente que produce inversión de fases a fin de formar una membrana microporosa de inversión de fases de múltiples zonas húmeda; y a continuación lavar y secar la membrana. En estas estructuras, cada capa o zona es una membrana microporosa. La Solicitud de Patente de EE. UU. 20040023017 describe una membrana microporosa de múltiples capas que contiene una resina termoplástica, que comprende una capa de estructura gruesa con una relación de poros abiertos superior y una capa de estructura fina con una relación de poros abiertos inferior, en donde dicha capa de estructura gruesa está presente al menos en una superficie de membrana que tiene un grosor de no menos de 5,0 µ, un grosor de dicha capa de estructura final no es menor de 50% del grosor de toda la membrana, y dicha capa de estructura gruesa y dicha capa de estructura fina se forman de una pieza. La estructura fina no tiene recubrimiento. Esta estructura se forma a partir de una sola solución. Otros métodos para formar membranas de múltiples capas se divulgan en los documentos EP 0 245 863 o US 2002/00 63093.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra un cabezal de revestimiento por covaciado

La Figura 2 ilustra la posición de las capas para membranas de dos capas

La Figura 3 muestra los resultados de la filtración de cuentas fluorescentes

La Figura 4 muestra imágenes de micrografía electrónica de barrido de las membranas de los Ejemplos 1 y 2

La Figura 5 muestra imágenes de micrografía electrónica de barrido de las membranas del Ejemplo 3.

Sumario de la invención

Las particularidades esenciales y opcionales de la presente invención se indican en la reivindicación principal y las subrreivindicaciones adjuntas, respectivamente.

Esta invención comprende un método para formar una membrana laminar plana integral de múltiples capas elaborada a partir de más de una solución de polímero, en el que al menos una capa es una membrana de ultrafiltración.

El uso de las membranas de la presente invención es posible en un procedimiento para retirar partículas virales de una solución fabricada que contiene proteínas, elaborada en el curso de la producción de productos farmacéuticos derivados de la biotecnología, en donde cada una de las membranas es capaz de impedir sustancialmente el paso a su través de las partículas de virus y permitir sustancialmente el paso a su través de una proteína.

Descripción detallada de la invención

La presente invención es un método para formar una membrana compuesta integral de múltiples capas que tiene al menos una capa de ultrafiltración elaborada covaciando una pluralidad de soluciones de polímero sobre un soporte para formar una lámina líquida de múltiples capas y sumergiendo la lámina en un baño de coagulación líquido para efectuar separación de fases y formar una membrana de ultrafiltración porosa. Después de la formación, la membrana porosa se lava libre de disolvente y otros materiales solubles. A continuación, se puede extraer para reducir materiales fugitivos hasta un nivel bajo y a continuación opcionalmente se puede secar opcionalmente.

A fin de reducir la presente invención a la práctica, los inventores tenían que vencer el problema fundamental de elaborar una estructura integral de múltiples capas a partir de soluciones formadoras de membrana notablemente distintas. Los inventores afrontaron dificultades prácticas asociadas con las diferencias en la estructura y la formación de las capas de membrana distintas. Aunque la técnica anterior describe métodos para elaborar membranas microporosas de múltiples capas, en esa técnica las soluciones de formulación de las membranas y los mecanismos de formación de las membranas y la estructura de membrana de cada capa son bastante similares.

En la presente invención, las diferencias en los tamaños de los poros entre la capa de ultrafiltración (UF) y la capa microporosa (MF) pueden ser de un orden de magnitud. Además, la velocidad de formación de las membranas de UF y MF es diferente, formándose la UF de forma significativamente más rápida en el baño de coagulación. Problemas potenciales y reales que pueden surgir con la fabricación de las membranas de la presente invención incluyen:

Si la última solución revestida es una solución formadora de UF, se puede formar demasiado rápidamente y demasiado densamente para permitir que el líquido de coagulación penetre en la capa microporosa en formación a una velocidad necesaria para formar una membrana satisfactoria. Si el coagulante se difunde a través de la capa superior demasiado lentamente, se dificultará la formación de la capa microporosa subyacente, y el tamaño de los poros será incontrolable. Asimismo, incluso puede ocurrir que la capa subyacente no se pueda solidificar antes de que la lámina revestida salga del baño coagulante.

Si la solución formadora de MF se reviste sobre la capa formadora de UF, la formación de la capa microporosa afectará mucho a la formación de la capa de UF. Impedirá la formación de la superficie de recubrimiento, y cambiará el tamaño de los poros que habría resultado si se hubiera vaciado separadamente la capa de UF.

Otros problemas pueden resultar de la disparidad entre los intervalos de viscosidad para los dos tipos de membranas. Las soluciones que forman membranas de UF habitualmente son de mucha más viscosidad que las de las membranas MF. Revestir multicapas con discrepancias de viscosidad sólo exacerba los problemas de elaborar membranas porosas.

Los inventores han encontrado que dentro de ciertos intervalos limitados en variables clave, se pueden elaborar membranas de ultrafiltración compuestas covaciadas integrales de múltiples capas con propiedades prácticas.

Por simplicidad, el procedimiento para elaborar una membrana de ultrafiltración compuesta covaciada de múltiples capas se describirá para un ejemplo de dos capas, aunque también se pueden elaborar tres o más capas mediante

el mismo procedimiento. El procedimiento preferido comprende las etapas de elaborar dos soluciones de polímero, una para cada capa. Las soluciones para elaborar membranas porosas mediante vaciado por inmersión consisten habitualmente en un polímero, un disolvente y aditivos para modificar y controlar el tamaño de los poros y la naturaleza porosa finales (es decir, porcentaje de porosidad, distribución de tamaños de poros, etc.) de la membrana. A veces se usan otros aditivos para modificar propiedades físicas tales como la hidrofilia, el alargamiento, el módulo, etc.

Polímeros preferidos incluyen, pero no se limitan a, poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF), náilones tales como nailon 66, poliamidas, poliimidas, polieterimidas, polietersulfonas, polisulfonas, poliarilsulfonas, polifenilsulfonas, poli(cloruros de vinilo) (PVC), policarbonatos, celulosa, celulosa regenerada, éteres de celulosa tales como acetato de celulosa o nitrato de celulosa, poliestirenos, polímeros acrílicos, polímeros metacrílicos, copolímeros de polímeros acrílicos o metacrílicos, o combinaciones de los anteriores y similares.

Disolventes usados incluyen, pero no se limitan a, ejemplos tales como dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, tetrametilurea, acetona, dimetilsulfóxido y fostato de trietilo.

Ejemplos de los muchos porógenos que se han usado en la técnica incluyen, pero no se limitan a, compuestos tales como formamida, diversos alcoholes y compuestos polihidroxilados, agua, diversos polietilenglicoles, polivinilpirrolidona y diversas sales, tales como cloruro de calcio y cloruro de litio.

Ejemplos de otros aditivos incluyen tensioactivos para mejorar la humectabilidad, y polímeros compatibles con el polímero de membrana principal usados para modificar las propiedades mecánicas de la membrana final.

Después de que se elaboren las soluciones, se aplican a un portador móvil. Para una membrana no soportada, que no tiene una tela unida a la membrana final, el portador es habitualmente una película de plástico, tal como poli(tereftalato de etileno), o un papel revestido de polietileno, o una tela lisa continua similar que se puede retirar fácilmente de la membrana formada.

La aplicación se puede realizar mediante cualquier método estándar. El objetivo es revestir una primera solución sobre el portador y una segunda solución sobre la primera solución. Un método muy preferido es el covaciado, en el que las dos capas se revisten esencialmente sin tiempo entre revestimientos. Esto se puede hacer con un aparato de doble cuchilla sobre cilindro, un cabezal de revestimiento de rendija doble presurizado o cualquier otro dispositivo de revestimiento de pre- o posdosificación como los conocidos en la industria. El covaciado significa que las capas individuales se vacían de forma esencialmente simultánea entre sí sustancialmente sin intervalo de tiempo entre una capa vaciada y la siguiente capa vaciada. Este método se describe con detalle en la Solicitud de Patente de EE. UU. publicada 20030217965. El covaciado es un aspecto importante de la invención debido a que permite la formación de regiones de tamaño de poros controlado en las uniones de las capas. En la técnica anterior, se forma una línea de demarcación muy definida entre las capas vaciadas secuencialmente. Un cambio drástico en el tamaño de los poros que va desde una estructura más abierta hasta una más compacta puede conducir a la rápida acumulación no deseable de soluto retenido en la interfase y por consiguiente a una drástica disminución del flujo. Posiblemente debido a la mezcladura parcial de lacas covaciadas adyacentes o debido a fuerzas de cizallamiento superiores en la interfase entre dos lacas covaciadas adyacentes, una interfase brusca se puede reemplazar por un cambio más sutil en el tamaño de los poros entre dos capas adyacentes con un procedimiento de covaciado. Tal zona interfacial es beneficiosa para el comportamiento retentivo de la estructura global de la membrana de múltiples capas y por lo tanto es preferible en algunas aplicaciones. Sin embargo, incluso con la técnica de covaciado se puede, si se desea, formar una línea de demarcación brusca o bien definida entre las capas con la selección apropiada de los materiales y las metodologías de aplicación.

Las membranas de la presente invención se producen preferiblemente usando un procedimiento de revestimiento predosificado. Los revestimientos predosificados son aquellos en los que la cantidad exacta de solución de revestimiento que se va a depositar se alimenta al cabezal de revestimiento. La altura de las capas está fijada por la deposición en vez de por algún medio posterior a la aplicación tal como una cuchilla rascadora que fija el grosor de la estructura después de la dosificación de las capas (denominado comúnmente "procedimiento de posdosificación"). El término predosificado se aplica al revestimiento con matriz, revestimiento por deslizamiento y en cortina entre otros métodos para formar la estructura. La presente invención usa preferiblemente una caja de doble cuchilla o una matriz de doble ranura. Si se desea, también se pueden usar aplicaciones posdosificadas.

La Figura 1 ilustra un aparato 10 de formación de múltiples capas para vaciar membranas de múltiples capas. Según se muestra, está diseñado para producir una película líquida de dos capas y tiene dos cámaras 50 y 60 que contienen las soluciones 14 y 16, una para cada capa, que se van a vaciar. Si se desea, se pueden añadir cámaras adicionales para formar capas covaciadas adicionales. El aparato comprende una pared 20 frontal y una pared 40 posterior con una pared 30 separadora entre las paredes frontal y posterior. La pared de separación define los volúmenes de las dos cámaras. Dos paredes laterales, no mostradas, completan el aparato. Durante el funcionamiento, el aparato se sujeta en una máquina de vaciado para membranas típica, y una tela 18 de soporte se mueve o se hace pasar bajo el aparato estacionario y las dos soluciones se distribuyen a través de huecos o salidas 80 y 90. El grosor de las dos capas se controla mediante la distancia (espacio) fijada entre la tela móvil y la salida, ilustrado mediante las graduaciones 80 y 90 del espacio. El grosor final de la capa líquida es una función de la

distancia del espacio, las viscosidades de las soluciones y la velocidad de la tela. La pared posterior del aparato habitualmente se mantiene a una pequeña distancia por encima del soporte para prevenir arrugar o arañar el soporte. El espacio de la pared posterior, la velocidad del soporte y la viscosidad de la solución se ajustan en la práctica para evitar que la solución se fugue a través del hueco de la pared posterior. El aparato se puede equipar con medios de calentamiento o enfriamiento para cada cámara separadamente, o para el aparato como un todo, si se necesita por las características de la solución, o para controlar adicionalmente las propiedades de la membrana final.

Una matriz ranurada consiste en un depósito encerrado con una ranura de salida que tiene una sección transversal menor. Una extrusora o bomba de desplazamiento positivo, o en algunos casos un recipiente presurizado alimenta el revestimiento al depósito a una velocidad uniforme, y todo el fluido que se introduce en la matriz se expulsa desde un depósito a través de una ranura mediante presión, y se transfiere a una tela portadora móvil. La ranura se sitúa perpendicular a la tela portadora móvil. Los revestimientos de múltiples capas requieren una matriz con depósitos individuales, y un método de alimentación asociado, y ranuras de salida para cada capa.

Después de que las capas se revistan sobre el portador móvil, el portador con la lámina de líquido se sumerge en un líquido que es un no disolvente para el polímero y es miscible con el disolvente y los porógenos. Esto provocará una separación de fases y la formación de una membrana porosa.

A continuación, la membrana compuesta formada se separa habitualmente del portador y se lava para retirar disolvente y otro material residual. A continuación, la membrana se puede secar. Las membranas de ultrafiltración se secan habitualmente con un humectante, tal como glicerina, sumergiendo en primer lugar la membrana lavada en una solución acuosa de glicerina, de una concentración de 5% a 25% en peso, y retirando el exceso de líquido, antes de avanzar a través de la etapa de secado. El secado se realiza de un modo que retira la mayoría del agua y deja suficiente glicerina para evitar el colapso de los poros.

En la coagulación de una lámina líquida de múltiples capas, la coagulación se produce desde la superficie de la película líquida que entra en contacto en primer lugar con el baño de coagulación y a continuación a través de las capas posteriores de la lámina líquida de múltiples capas. Cada capa se diluye y cambia el coagulante a medida que el coagulante se difunde a través de las capas. Tales cambios en la naturaleza del coagulante afectan a la formación de la membrana de cada capa y de la membrana de múltiples capas final. El grosor de capa, la composición y la situación de cada capa con relación a las otras capas afectarán a la estructura y las propiedades de la membrana. Cada capa se forma de modo diferente al que lo haría si se elaborara a partir de una solución de una sola capa o de estratificados de capas individuales.

Se hace referencia a las Figuras 2a y 2b como una ayuda en la descripción de estas membranas de múltiples capas. Es una convención común de los expertos en la técnica indicar como la "superficie superior" de una membrana asimétrica la superficie facial que tiene el menor tamaño de poros. Se usará esta convención como base. Para el caso de membranas de múltiples capas que tienen una capa de membrana de ultrafiltración asimétrica recubierta sin otras capas que entren en contacto con la superficie recubierta, la capa de membrana de ultrafiltración asimétrica recubierta será la primera capa, o capa superior, y las capas posteriores se numeran dos, tres, etc. Esto se ilustra en la Figura 2a. Para ser consecuentes, para el caso en el que una membrana microporosa es la capa superior sobre una capa de ultrafiltración asimétrica, la capa microporosa se indicará como la primera capa, la capa de ultrafiltración, la segunda capa, etc. Esto se ilustra en la Figure 2b. Otro modo de describir equivalentemente la nomenclatura es indicar que el primer lado será la capa superior, es decir, la última solución revestida sobre el portador, de la lámina líquida de múltiples capas que se ha vaciado.

La membrana de múltiples capas producida según la presente invención no es la misma que una serie aditiva de membranas de una sola capa elaboradas equivalentemente. Debido a la ligazón integral de las capas, hay una región en la que el tamaño de los poros se transforma de una capa a la siguiente. Para describir las estructuras, se usará el siguiente dispositivo, con una membrana de dos capas como un ejemplo. Una membrana de una sola capa consiste en un primer lado, un segundo lado y una estructura porosa entre ellos. De forma similar, un estratificado de dos membranas consistiría en una primera capa con un primer lado, un segundo lado y una estructura porosa entre ellos, y una segunda capa con un primer lado, un segundo lado y una estructura porosa entre ellos. Para una membrana de dos capas, la primera capa tiene un primer lado y un segundo lado equivalente. El segundo lado equivalente sería un segundo lado si esta capa fuera una membrana de una sola capa, pero aquí es parte de la ligazón integral de las dos capas. Asimismo, la segunda capa tiene un primer lado equivalente y un segundo lado y una estructura porosa entre ellos. Los dos lados equivalentes se asocian para formar el espesor asociado, esto es la zona de transición entre las dos capas.

Las membranas de ultrafiltración asimétricas se usan a veces en la filtración terminal con la superficie de poros abiertos o mayores en el lado aguas arriba o de alta presión. Una aplicación importante para tal uso es en la retirada de partículas virales de soluciones de procesamiento en la fabricación de fármacos terapéuticos biotecnológicos. Esto se describe en la Solicitud de Patente de EE. UU. Nº de Serie 10/145.939.

La ventaja de la filtración terminal reside en su simplicidad. La corriente de alimentación presurizada se pone en contacto con un lado de la membrana y el fluido pasa a su través mientras que el material que se va a retirar es

retenido por la membrana. En comparación, en la filtración de flujo tangencial (TFF), la corriente de alimentación presurizada se dirige tangencialmente a través de la cara de la membrana, y una porción de la corriente de alimentación pasa a través de la membrana, mientras que el resto, el retenido, habitualmente se recicla con alimentación de relleno añadida, o se devuelve al tanque de alimentación. La TFF requiere un equipo de bombeo adicional, y más controladores para mantener las relaciones apropiadas de flujos y presión. Sin embargo, la filtración terminal con membranas de ultrafiltración no se ha usado comúnmente debido a que las membranas tendían a perder las propiedades de penetración demasiado rápidamente para ser útiles.

Los inventores han encontrado que las membranas de ultrafiltración de múltiples capas producidas según la presente invención tienen propiedades muy mejoradas sobre las membranas de ultrafiltración de la técnica anterior. La razón aparente de esta mejora reside en la estructura de las membranas, aunque no se debe limitar el alcance de la invención por el siguiente análisis. Se presenta para los inventores que la transición del tamaño de los poros en la región de asociación representa un papel clave en las propiedades mejoradas.

Esto se ilustra en la Figura 3 en la que un ejemplo de una membrana producida según la presente invención, una membrana de ultrafiltración asimétrica recubierta asociada a una capa microporosa, se compara con una membrana de ultrafiltración de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) de dos capas elaborada vaciando una capa de ultrafiltración sobre una membrana microporosa preformada (membrana Viresolve® disponible de Millipore Corporation of Billerica, Massachusetts).

La Figura 3 muestra vistas en sección transversal de las membranas después de haber sido usadas para filtrar cuentas de poliestireno fluorescentes desde el lado de poros abiertos en un modo terminal. Se realizaron tres pruebas con tamaños de cuentas de 31 nm, 60 nm y 170 nm.

Para la prueba realizada con las partículas de 31 nm con la membrana producida según la presente invención, las partículas filtradas se distribuyen a través del grosor de la capa de ultrafiltración. Sin embargo, para el PVDF de dos capas, las partículas se concentran justo debajo de la superficie de poros pequeños de las membranas. Puesto que esta superficie proporciona el tamaño de poros limitativo para el flujo, será más probable que la capa de partículas concentradas obture estos poros y tenga un efecto más perjudicial sobre la penetración.

Para la prueba con las partículas de 60 nm, las partículas se mantienen alejadas de la capa de ultrafiltración y se distribuyen difusamente en la región de asociación. Para el PVDF de dos capas, las partículas forman una capa concentrada cerca de o en la unión del sustrato microporoso y la capa de ultrafiltración para la membrana de PVDF.

Se observan resultados similares para la prueba con partículas de 170 nm. La membrana retiene las partículas en una capa difusa alejada del recubrimiento. El PVDF de dos capas atrapa de nuevo las partículas en una capa densa en la unión de las dos capas.

En todos estos casos, la membrana atrapa partículas de modo difuso, lo que amplia los efectos de la obturación de los poros e incrementa el flujo y la duración del filtro.

En la presente invención, se usan las enseñanzas de la Patente de EE. UU. 5.444,097 ('097) de un modo nuevo. La patente '097 muestra el uso de una solución polimérica que exhibe una temperatura crítica inferior de disolución (LCST, por sus siglas en inglés) para elaborar membranas microporosas de una sola capa. Calentar una solución de LCST por encima de la LCST provoca separación de fases. Esta etapa se incorpora en el procedimiento de la presente invención después de que se forme la película líquida de múltiples capas pero antes de la inmersión en el baño de precipitación para variar y controlar adicionalmente las estructuras de las capas de la membrana resultantes. Una o varias de las soluciones de la presente invención serían una solución de LCST. Se ha encontrado que la temperatura a la que se eleva la solución por encima de la LCST, y el tiempo en el que la solución se mantiene por encima de la LCST, controla el tamaño de los poros final de la capa de la membrana. Por otra parte, si hay un gradiente de temperatura en una capa líquida, entonces habrá un gradiente de tamaño de los poros correspondiente.

En la presente invención, el uso de soluciones de LCST se usa para producir una variedad de estructuras.

Para una membrana de ultrafiltración compuesta de doble capa que usa soluciones de LCST que tienen una primera capa de una capa asimétrica recubierta sobre una segunda capa microporosa, una solución preferida para la primera capa tendrá un contenido de polímero de aproximadamente 15% a aproximadamente 30% de sólidos de polímero, con un intervalo más preferido de aproximadamente 20% a aproximadamente 25% de sólidos de polímero. Todos los porcentajes relacionados con las soluciones son en % en peso de la solución. Para la capa microporosa, la solución de polímero tendrá un contenido de polímero de aproximadamente 10% a aproximadamente 20% de sólidos de polímero, con un intervalo más preferido de aproximadamente 15% a aproximadamente 18% en peso de sólidos de la solución. La LCST de la solución de la primera capa es preferiblemente de aproximadamente 70° a aproximadamente 150°C. Para la segunda capa, el intervalo de LCST es preferiblemente de aproximadamente 40° a aproximadamente 60°C. El grosor de la primera capa es de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 100 micras, preferiblemente de 2 micras a aproximadamente 50 micras, con un intervalo más preferido de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 25 micras. La segunda capa microporosa tiene un intervalo de grosor de aproximadamente 50 micras a aproximadamente 200 micras, con un grosor preferido de

aproximadamente 80 micras a aproximadamente 150 micras, con un intervalo más preferido de aproximadamente 100 micras a aproximadamente 125 micras. Es preferible que el grosor total de la membrana compuesta covaciada esté en el intervalo de aproximadamente 52 micras a aproximadamente 300 micras, preferiblemente de aproximadamente 75 micras a aproximadamente 200 micras, con un intervalo más preferido de 90 micras a aproximadamente 120 micras. Si el tamaño de los poros está determinado por la temperatura a la que la solución de LCST se eleva por encima de la LCST, y el tiempo mantenido por encima de la LCST, el experto determinará mediante un sistema empírico habitual las condiciones apropiadas para hacer funcionar su equipo de procesamiento particular. El calentamiento de la solución se puede realizar mediante varios métodos. El soporte revestido con las capas de solución de polímero se puede transportar sobre una superficie calentada, tal como una placa plana, un bloque o un cilindro. Un método preferible es usar un tambor giratorio calentado. El calentamiento también se puede realizar mediante métodos sin contacto tales como, por ejemplo, calentamiento con infrarrojos o energía de microondas. Si se usa un tambor calentado para elevar la temperatura de la tela revestida, el grosor y las propiedades de aislamiento térmico de la tela portadora y el grosor de la solución de polímero estarán relacionados con obtener un tamaño de poros deseado. La temperatura del tambor y la velocidad del procedimiento estarán entonces determinadas y controladas para producir la membrana deseada. La temperatura de la superficie calentada está determinada por el equipo y las condiciones del procedimiento de fabricación que se describen anteriormente.

Para el caso de una primera capa microporosa y una segunda capa de ultrafiltración, una solución preferida para la primera capa tendrá un contenido de polímero de aproximadamente 10% a aproximadamente 20% de sólidos de polímero, con un intervalo más preferido de aproximadamente 12% a aproximadamente 16% de sólidos de polímero. Todos los porcentajes relacionados con las soluciones son en % en peso de la solución. Para la segunda capa de ultrafiltración, la solución de polímero tendrá un contenido de polímero de aproximadamente 15% a aproximadamente 30% de sólidos de polímero, con un intervalo más preferido de aproximadamente 20% a aproximadamente 25% de sólidos de polímero. La LCST de la solución de la primera capa es preferiblemente de aproximadamente 40° a aproximadamente 60°C. Para la segunda capa, el intervalo de LCST es preferiblemente de aproximadamente 70° a aproximadamente 120°C. El grosor de la primera capa es de aproximadamente 2 micras a aproximadamente 50 micras, con un intervalo más preferido de aproximadamente 5 micras a aproximadamente 25 micras. La capa de la segunda membrana de ultrafiltración tiene un grosor preferido de aproximadamente 80 micras a aproximadamente 150 micras, con un intervalo más preferido de aproximadamente 100 micras a aproximadamente 125 micras. Es preferible que el grosor total esté en el intervalo de aproximadamente 90 micras a aproximadamente 120 micras. De modo similar al caso anterior, el experto determinará mediante un sistema empírico habitual las condiciones apropiadas para poner en funcionamiento su equipo.

Si se desea elaborar dos capas a partir de soluciones formadoras de membranas de ultrafiltración, los parámetros anteriores servirán como guías para las composiciones de las capas y los parámetros de procesamiento individuales.

Según la invención, la primera capa se forma a partir de una solución y bajo condiciones que darían una membrana de ultrafiltración asimétrica sin recubrimiento si se vacía como una capa. La segunda capa daría una membrana microporosa si se vacía como una capa. La estructura resultante es una membrana de ultrafiltración asimétrica sin recubrimiento sobre una capa microporosa, con una zona de transición integral entre ellas. En un método preferido, ambas soluciones a parir de las cuales se vacían las capas tienen una LCST, teniendo la capa de ultrafiltración una LCST superior. La lámina líquida de múltiples capas vaciada se calienta hasta una temperatura planificada previamente por encima de la LCST de la segunda capa (microporosa) pero por debajo de la LCST de la primera capa (de ultrafiltración) antes de la inmersión en el baño de precipitación. Se ha encontrado que esto da como resultado una capa de ultrafiltración sobre una capa microporosa con una zona de transición intermedia.

Una versión preferida de este procedimiento se puede realizar cuando la capa de ultrafiltración no tiene una LCST, o no tiene una LCST medible, mientras que la solución de la capa microporosa tiene una LCST, y resultará la misma estructura general.

En una realización ilustrada por el Ejemplo 3, la membrana se forma a partir de una membrana de ultrafiltración de capa superior elaborada a partir de una solución con una LCST superior que la temperatura del tambor usada para calentar las capas de solución formadas antes de la inmersión, y una capa inferior elaborada a partir de una solución que tiene una LCST inferior que la temperatura del tambor. En este ejemplo, se supone que la LCST de la solución de la capa de UF es mayor de 150°C dado que no se podría medir debido a las limitaciones del equipo de prueba. Sorprendentemente, como la temperatura del tambor es aproximadamente igual a la LCST de la solución de la capa microporosa, el gradiente entre las dos capas se hace menos observable. Sin embargo, la membrana compuesta así formada supera a una membrana de dos capas formada vaciando una capa de ultrafiltración sobre una membrana microporosa (Viresolve, Millipore Corporation) preformada. Sin querer limitarse por lo siguiente, la presente teoría de los inventores es que el procedimiento de elaboración de la membrana Viresolve da como resultado una interpenetración de la capa superior en la capa inferior, lo que da el tipo de resultados analizados con relación a la Figura 3. Sin embargo, la membrana del Ejemplo 3, debido a que se forma en una sola etapa, no tiene el mismo tipo de "cuello de botella" en la interfase de las dos capas. De hecho, tiene un gradiente que, aunque es brusco, funciona sin embargo según se describe en la presente como una membrana.

En una realización, la primera capa es una capa microporosa preferiblemente delgada, que tiene entre 5 y 30 micras de grosor, y la segunda capa se elabora a partir de una solución y bajo condiciones que producirían una capa de ultrafiltración. En una realización muy preferida, las capas microporosa y de ultrafiltración se producen a partir de soluciones que tienen una LCST, siendo superior la LCST de la solución de la capa de ultrafiltración. Cuando se calienta por encima de la LCST de la solución de la capa microporosa, pero por debajo de la solución de la capa de ultrafiltración, la capa microporosa se separará en fases. La inmersión posterior fijará la estructura microporosa y provocará la separación de fases de la solución de ultrafiltración para formar la membrana de múltiples capas. Una versión preferida de esta realización se puede realizar cuando la capa de ultrafiltración no tiene una LCST, mientras que la solución de la capa microporosa tiene una a LCST, y resultará la misma estructura general.

En una realización, la membrana de ultrafiltración de múltiples capas está formada por dos capas de soluciones de elaboración de membranas de ultrafiltración que producirían, si se vacían como capas individuales, membranas de ultrafiltración asimétricas recubiertas.

El control de la zona o región de transición es importante para la presente invención. A fin de obtener una zona de transición útil, los inventores han encontrado que es deseable controlar el grosor de cada capa, en particular la primera capa, así como las viscosidades relativas de las dos soluciones, de modo que la diferencia de viscosidades no sea demasiado grande, y el tiempo de formación relativo, esto es, la solidificación, de las capas. Las variables anteriores servirán como una directriz para otros expertos, pero se debe apreciar que para cada grupo de soluciones y el equipo particular usado, habrá diferencias con las indicadas dentro de la presente descripción.

Las membranas producidas según la presente invención se pueden usar para un método basado en membranas de alta resolución para retirar un virus de una solución fabricada que contiene proteínas, caracterizándose el método particularmente por su capacidad para ser realizado rápidamente (es decir, según se mide por el flujo) y eficazmente (es decir, según se mide por el valor de reducción logarítmica, LRV, por sus siglas en inglés).

La realización de la metodología implica hacer fluir una solución fabricada que contiene proteínas a través de un dispositivo de filtración que contiene las membranas de ultrafiltración compuestas producidas según la presente invención bajo condiciones suficientes para efectuar el paso de dicha proteína a través de dichas membranas compuestas, y de ese modo cualquiera de los virus buscados específicamente que contaminan dicha solución que contiene proteínas, al impedir sustancialmente que pase a través de dichas membranas asimétricas, se retira sustancialmente de la misma.

Una "solución fabricada que contiene proteínas", según se usa en la presente, es un término de definición específica. En contraste con una solución que tiene un contenido de proteínas natural (p. ej., agua que tiene un contenido microbiano natural), el contenido de proteínas en una solución "fabricada" estará enriquecido, como resultado de la intervención humana y la posible realización de otros procedimientos de refinado de soluciones, de modo que el soluto predominante en dicha solución sea dicha proteína.

Con respecto a las membranas compuestas, se necesitan presentar varios criterios para realizar la metodología de la invención. En primer lugar, cada una debe ser sustancialmente hidrófila. En segundo lugar, las membranas compuestas deben ser capaces de impedir sustancialmente el paso a su través de los virus buscados, mientras que deben permitir sustancialmente el paso a su través de la proteína biofabricada.

Aparte de, pero importante para, la metodología de retirada de virus, las membranas producidas por un método de la presente invención también se podrían usar en una cápsula de filtración que comprende un tubo plegado formado por una, dos o tres membranas de ultrafiltración compuestas interfacialmente contiguas. Aunque quizá tenga aplicabilidad en cualquier parte, se ha encontrado que esta configuración de producto es bastante eficaz para realizar la metodología de retirada de virus de la invención, con respecto a su durabilidad, fiabilidad, coste y facilidad de uso y sustitución.

Considerando lo anterior, un objetivo principal es proporcionar una metodología para retirar a alta resolución un virus de una solución fabricada que contiene proteínas, y particularmente una capaz de realizarse eficazmente con un valor de reducción logarítmica de más de 6 para un virus comparativamente grande (p. ej., virus de leucemia murina) o de un virus comparativamente menor (p. ej., parvovirus).

Otro objetivo principal es proporcionar una cápsula de filtración útil para efectuar dicha metodología de retirada de virus.

Otro objetivo es proporcionar un dispositivo para retirar un virus de una solución, comprendiendo el dispositivo una carcasa adecuada para contener un material de filtración y caracterizado además por una entrada para recibir un fluido que se va a filtrar y una salida para retirar filtrado, comprendiendo el material de filtración una, dos o tres membranas compuestas libres de huecos, la cara aguas arriba orientada de modo que su lado más “compacto” dé aguas abajo.

En general, se ha encontrado que mediante la incorporación de múltiples membranas de ultrafiltración asimétricas, dispuestas en una configuración plegada con las membranas en la orientación del "lado compacto aguas abajo", la cápsula filtrante resultante tendrá buenas capacidades de retención viral, y sin embargo mantendrá buen flujo.

Aunque estos pueden no ser tal altos si no se usan todas las enseñanzas subyacentes a la metodología de la invención, este alto grado de cumplimiento (particularmente con respecto a la retención viral) no siempre se requiere en todas las circunstancias. Por ejemplo, para ciertas aplicaciones de purificación no farmacéuticas, los valores logarítmicos de reducción viral no necesitan alcanzar un valor mayor de 2.

En cuanto a su estructura preferida, la cápsula de filtración comprende una carcasa tubular y un tubo de filtración plegado encerrado de forma sustancialmente coaxial dentro de dicha carcasa. La carcasa tubular de la cápsula de filtración está construida para contener un canal que conduce a su través una corriente de procesamiento fluida – y, según esto, está provista de una entrada de fluido y una salida de filtrado. La corriente de procesamiento fluida *u*, aguas arriba del tubo de filtración plegado, se introduce en la cápsula de filtración a través de la entrada de fluido. Aguas abajo del tubo de filtración plegado, la corriente de procesamiento fluida d se libera de la cápsula de filtración a través de la salida de filtrado.

Los materiales usados para la carcasa tubular dependerán en gran parte de su aplicación pretendida. Materiales termoplásticos moldeables por inyección tales como polietileno-polipropileno y similares son los candidatos más probables. Sin embargo, también se contempla el uso de metales, vidrio y materiales cerámicos. Si se busca el uso en la depuración viral de productos proteínicos biofarmacéuticos, el material seleccionado debe ser compatible con los fluidos (p. ej., disolventes) y los parámetros ambientales (p. ej., temperatura y presión) implicados en la misma, y debe tener bajas características de unión a proteínas. Un material preferido a este respecto es el polipropileno.

Debido a que los dispositivos de filtración, en general, a menudo necesitan satisfacer varios criterios estructurales y funcionales en el transcurso de la mayoría de los protocolos de filtración, es improbable que su construcción global, incluyendo su carcasa y cualesquiera componentes internos, sea simple. Aunque es posible una sola estructura continua y unitaria, con toda probabilidad la carcasa tubular comprenderá varias partes ensambladas cooperativamente que típicamente incluyen una carcasa tubular que comprende una envuelta superior y una o dos tapas.

El tubo filtrante plegado se sitúa dentro de la carcasa tubular de modo que divida, durante el funcionamiento, la corriente de procesamiento fluida que fluye entre la entrada de fluido y la salida de filtrado. El tubo filtrante plegado está compuesto por al menos una capa de las membranas asimétricas. Preferiblemente, la una o más capas están todas orientadas de modo que el fluido introducido en dicha carcasa a través de la entrada de fluido comience el paso a través de cada membrana asimétrica respectiva a través de su lado abierto.

Los pliegues del tubo filtrante se pueden configurar en una conformación corrugada o situarse en espiral y pueden tener una sección transversal con conformación de bucle o una sección transversal doblada, tal como una sección transversal con conformación de W. Según se usa en la presente, el término "pliegue" o "plegado" pretende incluir todas estas conformaciones transversales. Con relación al volumen ocupado, la estructura plegada presenta a un flujo de procesamiento de fluido entrante más superficie que la que se presentaría mediante el uso de una lámina plana. Esto es particularmente ventajoso teniendo en cuenta el deseo de maximizar el flujo, especialmente cuando se hace frente a protocolos de depuración viral de alta resolución.

El tubo filtrante plegado se embute dentro de un cartucho reemplazable. Cuando sea posible, al menos conceptualmente, colocar el tubo filtrante plegado dentro de la cápsula filtrante sin la mediación de un cartucho, reemplazable u otro, en la práctica, se consiguen ventajas comerciales y medioambientales permitiendo la posibilidad de reemplazar fácilmente un tubo filtrante plegado gastado, sin tener que sufrir procedimientos de desmontaje gravosos y/o engorrosos, y/o requerir la eliminación de toda la cápsula filtrante. La sustitución se realiza desenroscando la tapa de la envuelta superior, sacando un cartucho filtrante gastado desde la salida de filtrado a la que está acoplada por fricción, introduciendo en la misma un cartucho reciente y enroscando de nuevo la tapa.

La uno o más láminas plegadas tubulares se mantienen en una conformación tubular relativamente fija dentro de la cápsula filtrante mediante el uso de soportes externos e internos que forman juntos el cartucho reemplazable. Estos soportes están hechos de material rígido y están provistos de orificios dispersados uniformemente para permitir el flujo entrante *i* de fluido procedente de regiones periféricas al tubo filtrante plegado, a través de sus membranas al centro del tubo y a continuación finalmente fuera de la cápsula filtrante.

Para detalles adicionales relativos a la construcción y las funciones de un cartucho filtrante reemplazable, se puede hacer referencia a la Patente de EE. UU 5.736.044, concedida a S. Proulx et al. el 7 de abril de 1998. Entre otra materia, la patente describe un cartucho filtrante compuesto que incluye tanto membranas laminares como filtros profundos. Aspectos de tal filtro compuesto se pueden importar a la construcción de la presente cápsula filtrante.

Para retirar virus de una solución de proteínas, una solución que contiene una proteína o proteínas de interés y un virus o tipos de virus se somete a una etapa de filtración utilizando una o más membranas de ultrafiltración, que se puede efectuar bien del modo TFF o bien del modo NFF. En cualquier modo, la filtración se efectúa bajo condiciones que retienen el virus que generalmente tiene de 20 a 100 nanómetros (nm) de diámetro sobre la membrana mientras se permite el paso de la proteína o las proteínas a través de la membrana. Además, cuando se termina la filtración de la solución, la membrana se somete a descarga de agua o una solución acuosa tamponadora para retirar cualquier proteína retenida. El uso de la etapa de descarga permite obtener un alto rendimiento de la solución de

proteínas sustancialmente libre de virus.

Ejemplos

Punto de enturbiamiento

La temperatura del punto de enturbiamiento visual se usa para aproximarse a la temperatura crítica inferior de disolución para una solución de polímero de una composición dada. Esta es la temperatura a la que una fase de solución polimérica se separa de una fase en dos fases al calentar.

El procedimiento implica calentar una pequeña muestra de laca encerrada en un recipiente transparente en un baño de calentamiento y observar la temperatura a la que la solución se empieza enturbiar. El procedimiento se realiza de modo suficientemente lento para asegurar que la temperatura indicada por un termómetro en el baño sea la misma que la de la muestra de laca.

Punto de burbujeo autoascendente

El medidor del ABP es un dispositivo de aumento de presión automatizado usado para medir puntos de burbujeo en membranas de ultrafiltración y microporosas. El punto de burbujeo ABP es la presión "de espumación total", observada visualmente por el operario.

Vmáx

Vmáx es una medida de la cantidad de solución que la membrana puede filtrar antes de obturarse de modo que el flujo se reduzca hasta aproximadamente flujo cero. Vmáx se mide filtrando una solución a una presión predeterminada y registrando el volumen filtrado como una función del tiempo. El tiempo dividido por el volumen se representa frente al volumen. La inversa de la pendiente es Vmáx.

Prueba de retención de partículas virales

La prueba se llevó a cabo usando un solo disco de 47 mm en un una montura de acero inoxidable (Millipore, Billerica, MA) nº cat. XX44 047 00) a un diferencial de presión constante de 206,8 kPa (30 psi), y se recogieron datos automáticamente a través de un paquete informático de adquisición de datos. Las membranas se humedecieron con agua Milli-RO. Todos los experimentos comenzaron con una descarga de tampón durante 2-5 minutos para equilibrar la membrana y determinar la permeabilidad. Las membranas se dirigieron con su lado de poros abiertos hacia la presión de alimentación. Todos los candidatos se probaron con una solución que contenía 1 mg/ml de IgG de plasma humano (Bayer, lot. nº 648U035) y 10^7 ufp/ml de Phi-X174 (Promega, nº cat. I1041m lot. nº 7731801) en tampón de acetato 10 mM, pH 5,0. Partículas de provocación de fago bacteriano, Phi X 174, se ensayaron mediante un ensayo de calvas usando su bacteria huésped. Se generó una serie de dilución para determinar la concentración. Se calcula el LRV como el logaritmo negativo de la relación de concentración de permeado a concentración de alimentación.

Ejemplo 1

En los ejemplos, la preparación de las soluciones se realizó como sigue.

Se vaciaron membranas de polietersulfona (PES) a partir de una solución que consistía en el polímero, polietersulfona (PES), disolvente de resina Radel A200 (Solvay), N-metilpirrolidona (NMP) y no disolvente, trietilenglicol (TEG). La solución es homogénea a temperatura ambiente pero se separa en fases cuando se calienta. La temperatura a la que la solución se empieza a separar en fases se denomina la temperatura del punto de enturbiamiento y es una función de la composición de la solución y extremadamente sensible a la concentración de agua. Es importante minimizar la exposición de las materias primas, especialmente el TEG, y la solución final a la atmósfera. El polímero se debe presecar a, por ejemplo, 150°C durante tres horas.

La mezcla se elabora en 2 etapas. En primer lugar, el polímero se añade a una mezcla de toda la NMP y solo parte del TEG. Esta porción se mezcla mientras se calienta hasta entre aproximadamente 50°C y 80°C hasta que la solución sea transparente. La temperatura se disminuye hasta entre aproximadamente 30°C y aproximadamente 50°C. A continuación, se añade el TEG restante para formar la solución final.

Se preparó una primera solución de polímero disolviendo 17% de PES (Radel A200) en 29,2% de NMP y 53,8% de TEG. El punto de enturbiamiento resultante era 50,2°C.

Se preparó una segunda solución de polímero disolviendo 22% de PES (Radel A200) en 28,1% de NMP y 49,9% de TEG. Se añadió NMP adicional (6,3% de la solución final) para alcanzar un punto de enturbiamiento de 83,6°C.

Las dos soluciones se covaciaron como se describe en el documento WO 01/89673 (Kools), usando una revestidora de matriz ranurada. El grosor de vaciado de la primera solución se ajusta para dar un grosor de la capa final de 145 µm. El grosor de vaciado de la segunda solución se ajusta para dar un grosor de la capa final de 15 µm o aproximadamente 10% del grosor global de la membrana.

Las condiciones de formación se seleccionan de modo que la primera solución se caliente rápidamente sobre el tambor de colada, a una temperatura por encima de su punto de enturbiamiento, antes del punto de inmersión en un baño acuoso de inmersión a 55°C. Al mismo tiempo, la segunda solución no alcanza la temperatura de su punto de enturbiamiento. Como resultado, una formación de una capa microporosa resulta de la primera solución de polímero y una formación de una capa de ultrafiltración resulta de la segunda solución de polímero. Las características de la membrana final se variaron ajustando la temperatura del tambor y el grosor de la segunda capa se minimiza a fin de evitar una formación de macrohuecos no deseable.

Las estructuras y las propiedades resultantes se muestran posteriormente. La naturaleza retentiva está indicada por el alto punto de burbujeo, mientras que la capa de UF libre de huecos y la superficie de UF densa se pueden observar claramente en las imágenes del microscopio electrónico de barrido (Figuras 4a y Figura 4b) (se muestra una temperatura del tambor de 45°C). La transición de UF a MP es menos clara, lo que podría ser ventajoso para maximizar el rendimiento.

Muestra	Temp. Tambor (°C)	Punto de Burbujeo, kPa (psi)	Retención de Phi-X 174 (LRV)
1	58	703,3 (102)	
2	56	751,5 (109)	0,4
3	55	744,6 (108)	0,5
4	50	765,3 (111)	1,6
5	45	772,2 (112)	2,8

Los datos de la Tabla muestran un incremento de la retención de virus con la disminución de la temperatura del tambor. Este efecto de la temperatura del tambor es inesperado debido a que la capa de UF retentiva tiene una a LCST muy superior a cualquiera de las temperaturas del tambor usadas, y no se espera que calentar la solución de UF hasta este grado vaya a tener ningún efecto sobre la formación de la membrana. Sin embargo, como se puede observar a partir de los datos, reducir la temperatura del tambor desde 58°C hasta 45°C incrementa la retención de virus en más de dos órdenes de magnitud.

La Muestra 5 se comparó con una membrana de dos capas elaborada vaciando una capa de ultrafiltración sobre una membrana microporosa preformada para formar una membrana compuesta con dos capas distintas (membrana PPVG de Millipore). Los resultados posteriores muestran que para una permeabilidad y puntos de burbujeo BAP similares, la membrana (Muestra 5) tenía propiedades de Vmáx muy mejoradas y mejor retirada de virus.

Membrana	Punto de Burbujeo ABP	Litros de flujo/m^2/h/psi	Phi-X LRV	Vmáx
Muestra 5	112	58	2,8	7.717
PPVG	128	45,6	2,3	437

Ejemplo 2

Se preparó una primera solución de polímero disolviendo 22% de PES (resina Radel A200) en 28,1% de NMP y 49,9% de TEG. El punto de enturbiamiento resultante era 48,6°C.

Se preparó una segunda solución de polímero disolviendo 14% de PES (resina Radel A200) en 29,2% de NMP y 56,8% de TEG. Se añadió un 3% adicional de NMP para llegar a un punto de enturbiamiento de 59,3°C.

Las dos soluciones se covaciaron como se describe en el Ejemplo 1. El grosor de vaciado de la primera solución se ajustó para dar un grosor de la capa final de 140 µm. El grosor de vaciado de la segunda solución se ajustó para dar un grosor de la capa final de 13 µm u 8% del grosor global de la membrana.

Las condiciones de formación se seleccionan de modo que la primera solución se exponía rápidamente al tambor calentado a 55°C, lo que está por encima de su punto de enturbiamiento, antes del punto de inmersión en un baño acuoso de inmersión a 45°C, lo que está por debajo de su punto de enturbiamiento. Como resultado, una formación de una capa de UF libre de macrohuecos resultaba de la primera solución de polímero y una formación de una capa microporosa delgada resultaba de la segunda solución de polímero.

El punto de burbujeo resultante era relativamente alto, y se supone que se pueden conseguir niveles superiores mediante variaciones adicionales en las condiciones del procedimiento. Las estructuras resultantes se muestran posteriormente, donde la capa de UF libre de huecos y la superficie MP abierta se pueden observar claramente en

las imágenes del microscopio electrónico de barrido (Figuras 4c y 4d).

Era sorprendente para los inventores que estas condiciones dieran una membrana sin macrohuecos y con una superficie microporosa muy porosa. La temperatura del tambor estaba por encima de la LCST de la capa de ultrafiltración, pero por debajo de la LCST de la capa microporosa. (Temperaturas del tambor por debajo de la LCST de la capa de ultrafiltración daban una capa de ultrafiltración con huecos). Sin embargo, la superficie de la membrana del Ejemplo 2 mostraba una porosidad superficial muy alta. Estos resultados eran contrarios a la intuición para las expectativas de los inventores.

Ejemplo 3

Se preparó una primera solución de polímero disolviendo 17% de PES (Radel A200) en 29,2% de NMP y 53,8% de TEG. El punto de enturbiamiento resultante era 43°C. Esta podría ser la capa microporosa inferior o de soporte.

Se preparó una segunda solución de polímero disolviendo 21% de PES (Radel A200) en 37% de NMP y 42% de TEG. El punto de enturbiamiento no se podía medir, estando por encima de 150°C. Esta sería la capa de ultrafiltración superior.

Las dos soluciones se covaciaron como se describe en el documento WO 01/89673 (Kools). La segunda solución se estratificaba sobre la primera solución. El grosor de vaciado de la primera solución se ajustó para dar un grosor de la capa de la membrana microporosa final de 160 µm. El grosor de vaciado de la segunda solución era aproximadamente 30 µm o aproximadamente 20% del grosor global de la membrana.

Las condiciones de formación se seleccionaron de modo que las soluciones estratificadas se calentaran rápidamente sobre el tambor de vaciado, a un intervalo de temperaturas alrededor de su punto de enturbiamiento, antes del punto de inmersión en un baño acuoso de inmersión a 55°C. La segunda solución no alcanza la temperatura de su punto de enturbiamiento. Como resultado, una formación de una capa microporosa resulta de la primera solución de polímero y una formación de una capa de ultrafiltración resulta de la segunda solución de polímero. Las características de la membrana final se variaron ajustando la temperatura del tambor, y el grosor de la segunda capa se minimiza a fin de evitar una formación de macrohuecos no deseable.

La estructura y las propiedades resultantes se muestran posteriormente. La naturaleza retentiva está indicada por la alta retención, mientras que la capa de UF libre de huecos y la superficie de UF densa se pueden observar claramente en la imagen del microscopio electrónico de barrido (Se muestra el tambor a 50°C). La transición de UF a MP es más observable que en el ejemplo 1, y sin embargo el rendimiento resultante estaba inalterado.

Temp. Tambor (°C)	Retención de Parvovirus (LRV)	Vmáx
60	2,8	4.110
55	3,7	2.269
50	5,0	1.119
45	5,1	228
40	5,5	204
35	2,7	75

Como en el Ejemplo 1, disminuir la temperatura del tambor incrementa la retención de virus. La LRV a 35°C no está conforme con la tendencia observada en otros experimentos. Estas condiciones se repitieron y la membrana producida tenía una LRV de 5, y una Vmáx de ~20.

Ejemplo 4

Se preparó una primera solución de polímero disolviendo 18% de PES (Radel A200) en 30,2% de NMP y 51,8% de TEG. El punto de enturbiamiento resultante era 56°C. Esta sería la capa microporosa inferior o de soporte.

Se preparó una segunda solución de polímero disolviendo 23% de PES (Radel A200) en 37% de NMP y 42% de TEG. El punto de enturbiamiento no se podía medir, estando por encima de 150°C. Esta sería la capa de ultrafiltración superior.

Las dos soluciones se covaciaron como se describe en el documento WO 01/89673 (Kools). La segunda solución se estratificaba sobre la primera solución. El grosor de vaciado de la primera solución se ajustó para dar un grosor de la capa de la membrana microporosa final de 155 µm. El grosor de vaciado de la segunda solución era aproximadamente 10 µm o aproximadamente 6% del grosor global de la membrana.

Las condiciones de formación se seleccionaron de modo que las soluciones estratificadas se calentaran rápidamente sobre la superficie calentada, a un intervalo de temperaturas alrededor de su punto de enturbiamiento, antes del punto de inmersión en un baño acuoso de inmersión a 55°C. La segunda solución no alcanza la temperatura de su punto de enturbiamiento. Como resultado, una formación de una capa microporosa resulta de la primera solución de polímero y una formación de una capa de ultrafiltración resulta de la segunda solución de polímero. Las características de la membrana final se variaron ajustando la temperatura de la superficie, y el grosor de la segunda capa se minimiza a fin de evitar una formación de macrohuecos no deseable. Las propiedades resultantes se presentan posteriormente, mostrando tanto una retención relativamente alta como una Vmáx alta a las temperaturas de la superficie superiores.

Temp. Superficie (°C)	Retención de Parvovirus (LRV)	Vmáx
60	4,6	1.774
55	4,5	1.339
45	5,5	260

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para formar una membrana de ultrafiltración compuesta, de múltiples capas, integral, que comprende las etapas de

situar operativamente un aparato de aplicación de soluciones de polímero que tiene al menos dos salidas distribuidoras con relación a una superficie portadora móvil, y

alimentar cada salida distribuidora con una solución de polímero diferente, en donde una primera solución de polímero comprende un polímero que tiene una temperatura crítica inferior de disolución (LCST, por sus siglas en inglés) por encima de la de una segunda solución de polímero, y

aplicar dichas soluciones sobre dicha superficie portadora móvil a fin de crear un revestimiento de múltiples capas sobre dicho portador, y en donde dichas capas múltiples se distribuyen esencialmente sin intervalo de tiempo entre capas sucesivas que se aplican, y

someter a dicha segunda solución de polímero a una separación de fases provocada por un cambio en su temperatura fuera de su intervalo crítico de disolución para formar una capa microporosa;

y a continuación someter a la primera solución de polímero a una separación de fases provocada por la inmersión en un baño que contiene un no disolvente del mismo a fin de formar una membrana de ultrafiltración de múltiples capas húmeda;

caracterizado por que dichas capas se calientan hasta una temperatura por encima de dicha LCST de la segunda solución de polímero antes de que las capas se sumerjan en dicho baño.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que dichas capas se calientan hasta una temperatura por debajo de la LCST de dicha primera solución de polímero.

3. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la primera solución de polímero no tiene una LCST medible.

4. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que una de dichas soluciones de polímero tiene un contenido de polímero de 20% a 25% y una LCST entre 70ºC y 150ºC y la otra de dichas soluciones de polímero tiene un contenido de polímero de 10% a 20% y una LCST entre 40ºC y 60ºC, para dar de ese modo como resultado una membrana compuesta que tiene una primera capa de ultrafiltración asimétrica y una segunda capa microporosa.

5. El procedimiento según la reivindicación 1 en el que

a) la membrana se seca a continuación, o

b) la membrana se lava a continuación, o

c) la membrana se lava y se seca a continuación.

6. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que una de dichas soluciones de polímero tiene un contenido de polímero de 20% a 25% y la otra de dichas soluciones de polímero tiene un contenido de polímero de 10% a 20%, para dar de ese modo como resultado una membrana compuesta que tiene una capa microporosa y una segunda capa de ultrafiltración asimétrica.

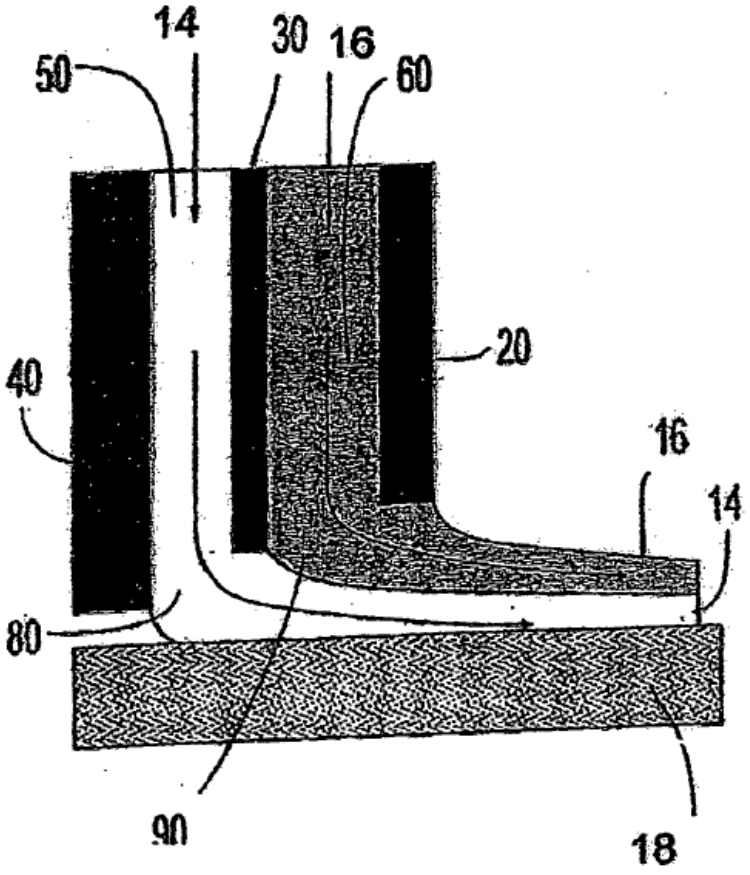

Figura 1

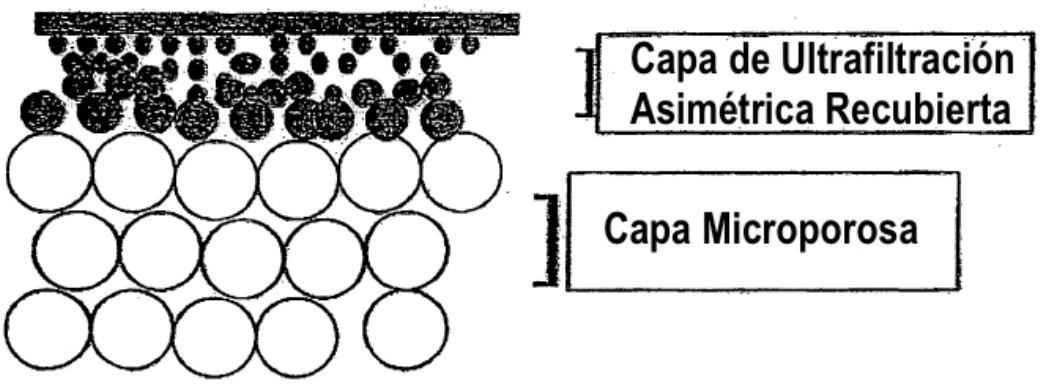
Capa de Ultrafiltración
Asimétrica Recubierta
Capa Microporosa

Figura 2a

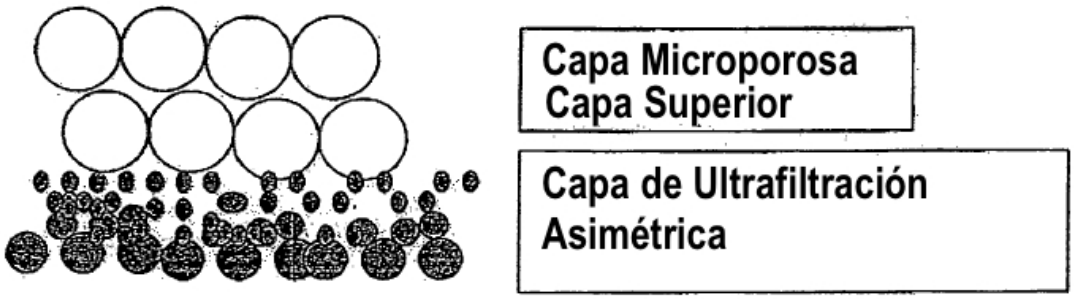
Capa Microporosa
Capa Superior
Capa de Ultrafiltración
Asimétrica

Figura 2b

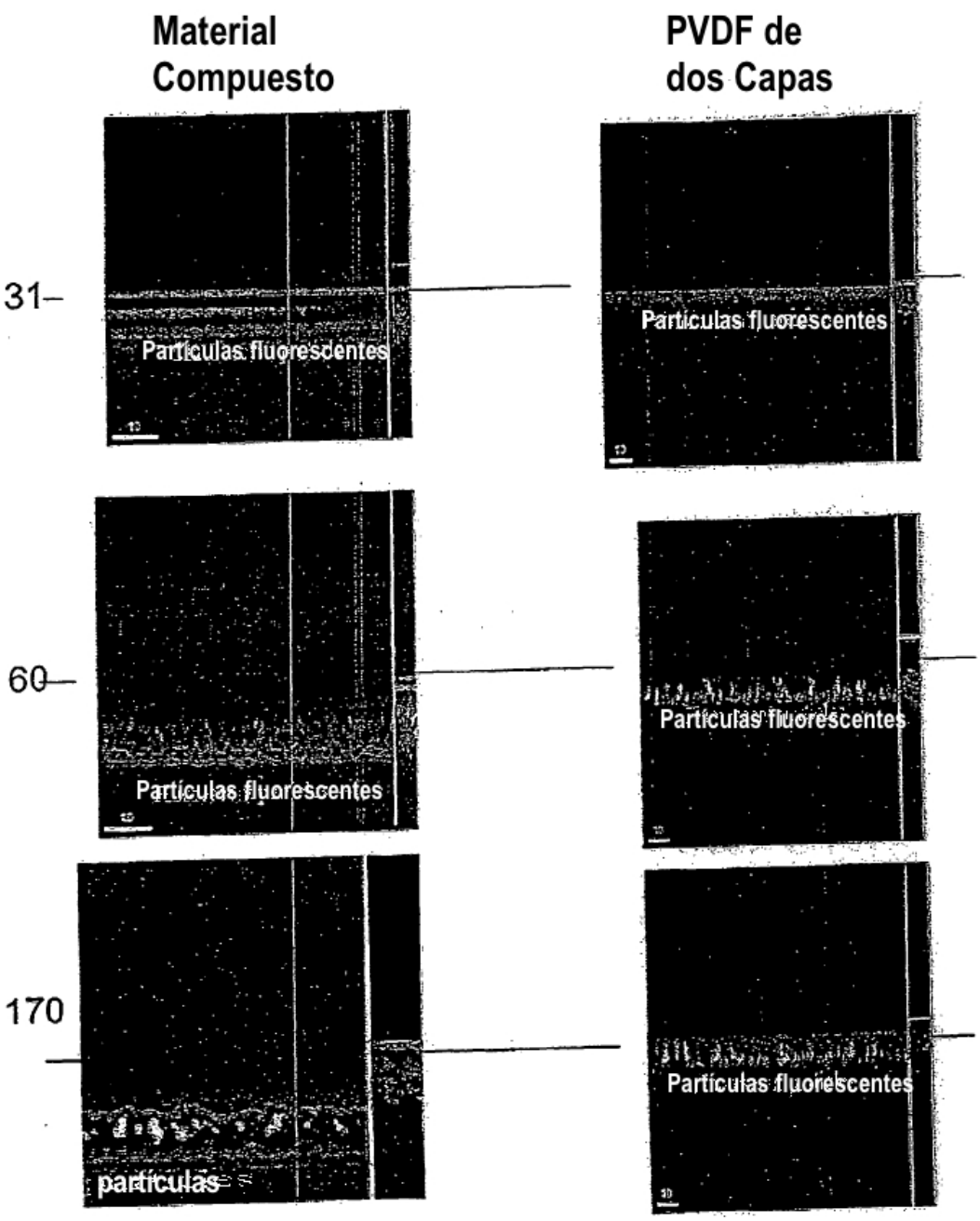
Material Compuesto
PVDF de dos Capas
31
60
170
Partículas fluorescentes
Partículas fluorescentes
Partículas fluorescentes
Partículas fluorescentes
Partículas fluorescentes
partículas

Figura 3

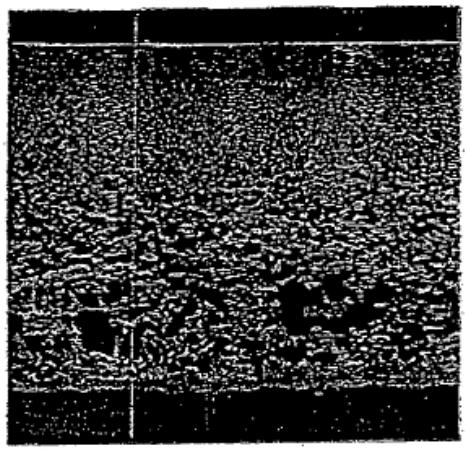

Figura 4a

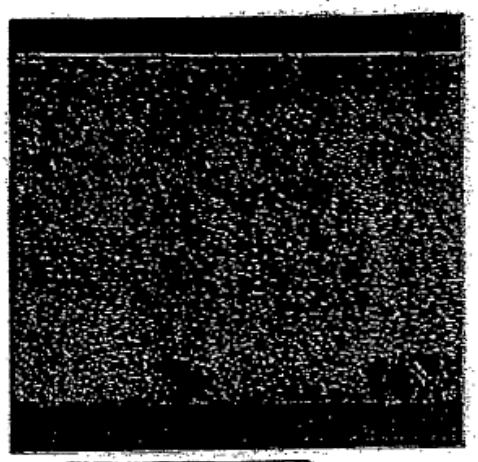

Figura 4c

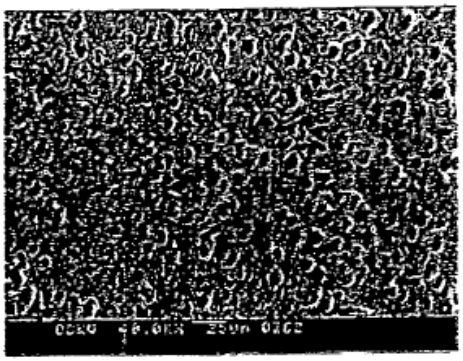

Figura 4b

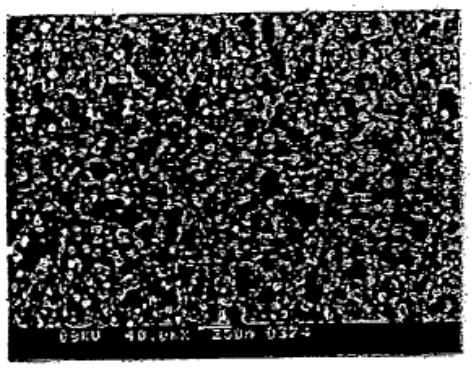

Figura 4d
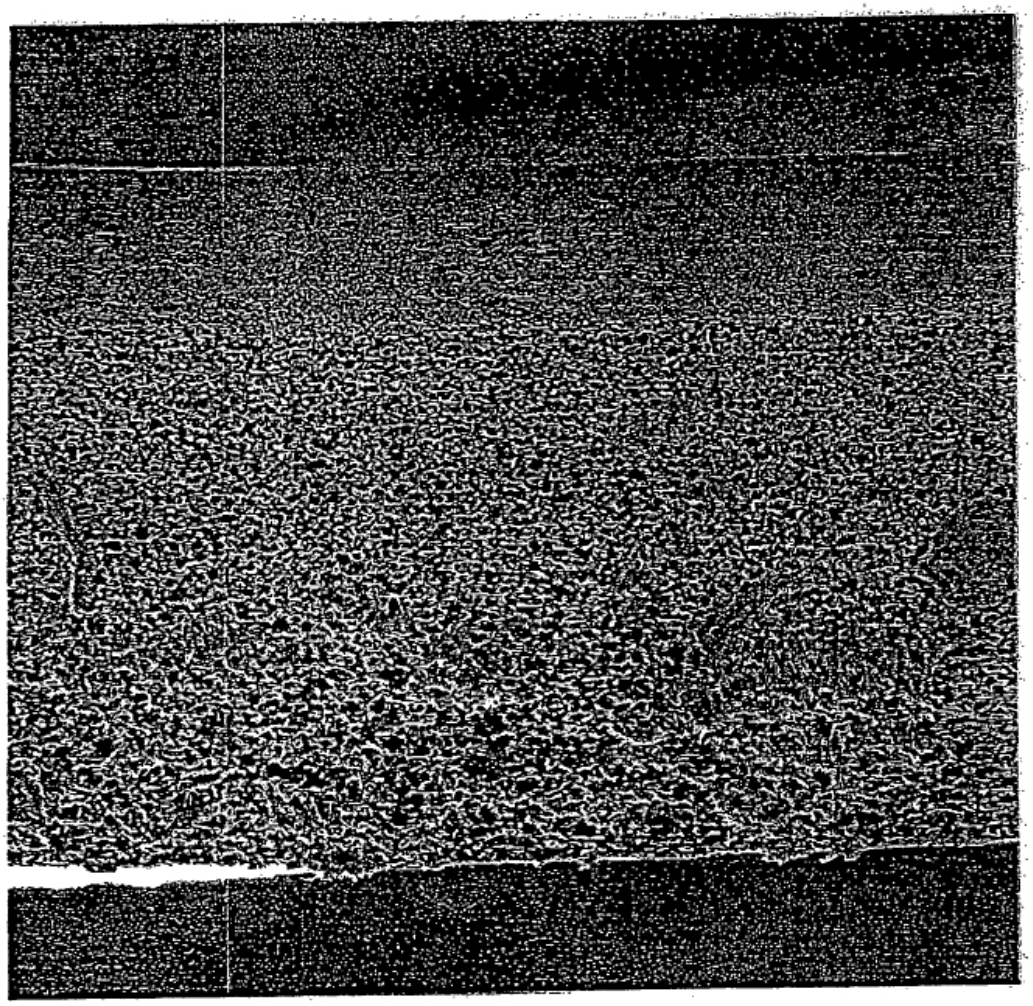
Figura 5