

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 513**

51 Int. Cl.:

A61K 33/24 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

B01J 13/00 (2006.01)

B01D 65/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2004 E 04747659 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2015 EP 1647345**

54 Título: **Utilización de una solución coloidal metálica para ensayar la integridad de una membrana de eliminación de virus, procedimiento para la producción de dicha solución y procedimiento para ensayar la integridad de dicha membrana**

30 Prioridad:

17.07.2003 JP 2003275847

19.12.2003 JP 2003422496

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

09.06.2015

73 Titular/es:

**ASAHI KASEI MEDICAL CO., LTD. (100.0%)
1-105, Kanda Jinbocho, Chiyoda-ku
Tokyo 101-8101, JP**

72 Inventor/es:

**HONGO, TOMOKO;
HAMASAKI, NAOKO;
IDE, SHOICHI;
YAMAGUCHI, FUMIHIKO y
KUBOZAKI, MITSUNORI**

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Carlos

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 537 513 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

Utilización de una solución coloidal metálica para ensayar la integridad de una membrana de eliminación de virus, procedimiento para la producción de dicha solución y procedimiento para ensayar la integridad de dicha membrana

SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a la utilización de una solución coloidal metálica que sobresale en estabilidad en almacenamiento, estabilidad a temperatura y estabilidad a pH, como partículas sustitutas de virus para utilización en una prueba de integridad para una membrana de eliminación de virus, por ejemplo, y a un procedimiento para producir dicha solución coloidal.

ANTECEDENTES TÉCNICOS

Las partículas coloidales metálicas con un diámetro de partícula promedio de 1-100 nm se utilizan en una serie de materiales funcionales debido al pequeño diámetro de partícula y gran área superficial. Cuando se añaden a agua, sin embargo, dichas partículas se agregan fácilmente debido a una fuerte fuerza interparticular. Es difícil dispersar uniformemente las partículas coloidales metálicas. Además, para dispersar de forma estable partículas coloidales metálicas, el pH de la solución debe estar controlado en un intervalo específico. El intervalo de pH aplicable está excesivamente limitado (documento de patente 1).

Se ha dado a conocer un procedimiento prueba de integridad de la membrana que utiliza partículas sustitutas en una membrana de eliminación de virus. La prueba de integridad es una prueba para confirmar el rendimiento de membranas de eliminación de virus para eliminar virus de soluciones que contienen proteínas, productos fisiológicamente activos, y similares después de la utilización (u ocasionalmente antes de la utilización). Los procedimientos de prueba de integridad incluyen (1) un procedimiento de punto de burbujeo, (2) un procedimiento de medición de la proporción de poros grandes en una distribución de diámetro de poro de la membrana (por ejemplo, un procedimiento de utilización de una tensión interfacial líquido-líquido baja), y (3) un procedimiento de filtración de partículas sustitutas de virus. De estos procedimientos, el procedimiento de filtración de partículas sustitutas de virus es altamente fiable, dado que el principio del procedimiento es filtración por tamizado de partículas que es el mismo que el de la eliminación de virus y, por lo tanto, puede obtener correlación de características del mismo tipo de mecanismos que la eliminación de virus. Particularmente, existe una excelente correlación entre la capacidad de eliminación de un coloide de oro, utilizado como partículas sustitutas de virus, mediante filtración y la capacidad de eliminación de virus de una membrana. En la prueba de integridad, es necesario lavar la membrana después de utilizarla como membrana de eliminación de virus para reducir la cantidad de residuo en la membrana lo máximo posible. Una solución, tal como una solución alcalina, puede utilizarse como agente de lavado. Dado que podía utilizarse una solución coloidal de oro convencional con solamente un intervalo de pH limitado, era necesario un lavado posterior para el estricto control del pH de la membrana después del lavado con agente de lavado. La operación era muy complicada (documento de patente 2, documento no de patente 1).

En la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus para eliminar pequeños virus con un diámetro de 20-25 nm, tales como parvovirus, no ha existido un sustituto exacto para partículas virales que tenga correlación con la capacidad de eliminación de virus. Para mostrar características tanto de elevada capacidad de eliminación constante de pequeños virus como de elevada permeabilidad a proteínas, la membrana debe tener una estructura especial. La prueba de integridad para la membrana de eliminación de virus que tiene dicha estructura de membrana debe detectar una diferencia muy pequeña de diámetros de poro. No ha habido soluciones coloidales metálicas utilizables para dicho propósito hasta la fecha (documento de patente 3).

(Documento de patente 1) JP-A-08-141388

(Documento de patente 2) JP-A-07-132215

(Documento de patente 3) WO 01/014047

(Documento no de patente 1) Hiroki Murakami (Etd.), Animal Cell Technology; Basic & Applied Aspects, Países Bajos, Kluwer Academic Publishers, Vol. 4, 1992, págs. 87-102

El documento DE 19803891 da a conocer coloides de metales nobles acuosos y su utilización como catalizadores. El tamaño de partícula está entre 0,5 y 100 nm.

El documento DE 19852547 da a conocer coloides de óxidos metálicos, su reducción a los coloides metálicos correspondientes y la fijación de los coloides sobre un soporte para una utilización como catalizadores en transformaciones químicas.

El documento WO 02/087749 da a conocer una solución coloidal que puede utilizarse en un agente antibacteriano.

El documento JP-A-7-132215 da a conocer la utilización de un coloide de oro para realizar una prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus.

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

PROBLEMAS A RESOLVER POR LA INVENCION

5 Un objetivo de la presente invención es dar a conocer una solución coloidal que sobresale en estabilidad en almacenamiento, estabilidad a temperatura y estabilidad a pH, útil en una prueba de integridad para una membrana de eliminación de virus.

MEDIOS PARA RESOLVER LOS PROBLEMAS

10 Como resultado de exhaustivos estudios para alcanzar los objetivos anteriores, los inventores de la presente invención han descubierto que una solución coloidal metálica específica que contiene partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico puede alcanzar el objetivo anterior. Este descubrimiento condujo a la finalización de la presente invención.

15 Específicamente, la presente invención se refleja en las reivindicaciones.

EFFECTOS DE LA INVENCION

20 Se espera que la solución coloidal metálica utilizada en la presente invención posea excelente estabilidad en almacenamiento, estabilidad a temperatura, y estabilidad a pH. Además, dado que la capacidad de eliminación después de filtrar la solución coloidal metálica utilizada en la presente invención a través de una membrana de eliminación de virus tiene una correlación con la capacidad de eliminación del virus, la expansión del intervalo de pH de una solución de prueba durante la prueba, la reducción del tiempo de prueba (tiempo de lavado), la simplificación de la operación, y la detección debida a una diferencia de tamaño de poro muy pequeña en la membrana de eliminación de virus (capacidad de detección elevada), todas las cuales han sido imposibles en la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus hasta la fecha, son ahora posibles.

30 En una prueba de integridad que utiliza la solución coloidal de oro dada a conocer en el documento JP-A-07-132215 y una membrana de eliminación de virus hecha de un polímero sintético tal como fluoruro de polivinilideno, cuya superficie se hidrofilió, la solución coloidal de oro no podía filtrarse en absoluto debido al efecto de un surfactante contenido en la solución. Por lo tanto, la capacidad de eliminación de la membrana no podía confirmarse mediante la filtración del coloide de oro. Aunque la solución coloidal de oro que no contiene un surfactante podía filtrarse a través de la membrana, una prueba de integridad precisa no podía completarse debido a la adsorción de partículas de oro coloidal al material de la membrana. La medición de una membrana porosa de polímero sintético es ahora posible utilizando la solución coloidal utilizada en la presente invención.

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

40 [Figura 1] la figura 1 es un diagrama que muestra una correlación entre la capacidad de eliminación de partículas de oro coloidal y la capacidad de eliminación de poliovirus. La flecha indica que el VRL es mayor que el valor indicado. El eje horizontal indica "VRL de la partícula de oro coloidal", mientras que el eje vertical indica "VRL de poliovirus".

45 [Figura 2] la figura 2 es un diagrama que muestra una correlación entre la capacidad de eliminación de partículas de oro coloidal y la capacidad de eliminación de parvovirus porcinos. En esta figura, la flecha indica que el VRL es mayor que el valor indicado. El eje horizontal indica "VRL de la partícula de oro coloidal", mientras que el eje vertical indica "VRL de parvovirus porcino (PPV)".

50 [Figura 3] la figura 3 es un diagrama que muestra una correlación entre la capacidad de eliminación de partículas de oro coloidal y la capacidad de eliminación de parvovirus porcinos utilizando una membrana de fibra hueca porosa de PVDF. En esta figura, la flecha indica que el VRL es mayor que el valor indicado. El eje horizontal indica "VRL de la partícula de oro coloidal", mientras que el eje vertical indica "VRL de parvovirus porcino (PPV)".

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

55 La presente invención se explicará a continuación en detalle.

60 Como ejemplo de la solución coloidal metálica utilizada en la presente invención, pueden proporcionarse una solución coloidal metálica que contiene partículas metálicas (o partículas de un compuesto metálico), un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, y agua y/o un disolvente orgánico soluble en agua.

De las partículas metálicas y partículas de un compuesto metálico, son preferentes partículas metálicas.

65 Como los metales que forman las partículas coloidales, pueden proporcionarse metales mencionados en la invención anterior [17]. Metales nobles, particularmente oro, es preferente como metal.

Para utilizar la solución coloidal para un producto de diagnóstico *in vitro* o una prueba de integridad de una membrana porosa, la solución coloidal se identifica, preferentemente, en la región visible. Una solución coloidal que tiene una longitud de onda de absorción máxima en una región visible es particularmente preferente. Como longitud de onda en una región visible, se utiliza preferentemente una longitud de onda de 350 a 650 nm. Cuando se utiliza oro como partícula metálica, el color de la solución coloidal es de rojo-púrpura a púrpura, aunque el color cambia según el diámetro de partícula.

Las partículas metálicas y las partículas de un compuesto metálico son, preferentemente, no reactivas. Específicamente, es preferente que las propias partículas coloidales no cambien químicamente, y/o las partículas coloidales no reaccionen con una membrana porosa.

El diámetro de partícula promedio de las partículas metálicas o las partículas de un compuesto metálico es, preferentemente, de 1 a 100 nm para garantizar la dispersión estable. Un intervalo más preferente es de 1 a 50 nm. El diámetro mínimo de las partículas para utilización práctica en la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus es habitualmente de 1 nm o más, preferentemente 5 nm o más, más preferentemente 10 nm o más, y de forma particularmente preferente 15 nm o más. Para garantizar dispersión estable, el límite máximo es habitualmente de 100 nm o menos, preferentemente 75 nm o menos, más preferentemente 50 nm o menos y, de forma particularmente preferente, 40 nm o menos. En algún caso, 37 nm o menos es ideal.

El diámetro de las partículas metálicas o las partículas de un compuesto metálico contenidas en la solución coloidal metálica utilizada en la presente invención se expresa habitualmente mediante un diámetro equivalente de un círculo. Específicamente, un área de proyecto de una partícula se calcula a partir de una fotografía observada a través de un microscopio electrónico y el diámetro de la partícula se muestra como el diámetro del círculo que tiene la misma área. El diámetro de partícula promedio se expresa mediante el diámetro promedio en número de esos diámetros equivalentes de un círculo.

En la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus para eliminar pequeños virus con un diámetro de 20-25 nm, tal como un parvovirus, el diámetro de partícula promedio en el intervalo de 15 a 25 nm es preferente. Un intervalo más preferente es de 15 a 22 nm. La capacidad de eliminación cuando una solución coloidal metálica con un diámetro promedio de 15-25 nm se filtra a través de una membrana de eliminación de virus para eliminar pequeños virus tiene una elevada correlación con la capacidad de eliminación cuando pequeños virus, tales como un parvovirus, se filtran a través de la membrana de eliminación.

El porcentaje de variación de la distribución del diámetro de partícula de partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico es, preferentemente, del 30% o menos, más preferentemente el 27% o menos, y ocasionalmente el 26% o menos, para utilizar la solución coloidal metálica en una prueba de integridad de membranas de eliminación de virus.

El porcentaje de variación puede calcularse según la siguiente fórmula.

$$[\text{Porcentaje de variación (\%)} = \sigma (\text{desviación estándar}) \times 100 / \text{diámetro de partícula promedio}]$$

Para utilizar la solución coloidal metálica para la prueba de integridad de una membrana porosa, la forma de las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico es, preferentemente, isotrópica o aproximadamente isotrópica y la relación de eje principal/eje secundario de las partículas es preferentemente de 1 a 2, y más preferentemente de 1 a 1,8, y de forma particularmente preferente de 1 a 1,7.

La cantidad de las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico en la solución coloidal está preferentemente en un intervalo de 1 a 1.000 ppm, más preferentemente de 10 a 800 ppm, y aún más preferentemente de 20 a 700 ppm. La cantidad de 1 ppm o más es preferente desde el punto de vista de la utilidad en pruebas de integridad, con una cantidad de 10 ppm o más siendo más preferente, y 20 ppm o más siendo aún más preferente. El límite superior no está particularmente limitado en la medida en que la estabilidad en dispersión y otras condiciones no resulten afectadas adversamente. La cantidad es habitualmente de 1.000 ppm o menos, preferentemente 800 ppm o menos, y aún más preferentemente 700 ppm o menos. En otra expresión de cantidad, se proporciona una cantidad del 0,0001 al 0,1% en peso como un intervalo preferente. El límite inferior de la cantidad es habitualmente el 0,0001% en peso o más, preferentemente el 0,001% en peso o más, y aún más preferentemente el 0,002% en peso o más. El límite superior no está particularmente limitado. Sin embargo, la cantidad es habitualmente el 0,1% en peso o menos, preferentemente el 0,08% en peso o menos, y aún más preferentemente el 0,07% en peso o menos.

El dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N utilizado en la presente invención es preferentemente un compuesto que muestra afinidad con partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, y que también muestra afinidad con disolventes (solvatación). El grupo N es preferentemente un grupo que contiene un grupo pirrolidona. Como mínimo, uno o más polímeros seleccionados entre poli(vinilpirrolidona), copolímero de N-vinilpirrolidona/estireno, copolímero de N-vinilpirrolidona/acetato de vinilo, y similares pueden proporcionarse como ejemplos preferentes. El dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un

grupo N muestra acción coloidal protectora directa sobre un coloide metálico o coloide de compuesto metálico y se espera que impida la agregación de partículas coloidales, mantenga condiciones superficiales constantes (potencial eléctrico), e impida que las partículas coloidales se adsorban a otras sustancias. También se espera que el dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N mantenga la estabilidad de la solución coloidal frente a cambios ambientales (temperatura, pH).

Aunque no específicamente limitado, el peso molecular del dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N está habitualmente en el intervalo de 1.000 a 2.000.000, más preferentemente de 1.000 a 100.000, y todavía más preferentemente de 1.000 a 50.000. El límite inferior del peso molecular es habitualmente 1.000 o más, preferentemente 2.000 o más, aún más preferentemente 5.000 o más, y de forma particularmente preferente 7.000 o más desde el punto de vista de garantizar la estabilidad de una dispersión coloidal metálica o de un compuesto metálico. El límite superior del peso molecular es habitualmente de 2.000.000 o menos, preferentemente 1.000.000 o menos, más preferentemente 100.000 o menos, y particularmente 50.000 o menos desde el punto de vista de garantizar la viscosidad, solubilidad en disolventes, facilidad de manipulación, efecto sobre el tamaño de partícula coloidal de un metal o compuesto metálico y estabilidad en dispersión.

La cantidad del dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N que se añadirá es habitualmente del 0,001 al 10% en peso, preferentemente del 0,01 al 5% en peso, y más preferentemente del 0,1 al 5% en peso. Desde el punto de vista de garantizar la estabilidad en dispersión, el límite inferior de la cantidad de adición es habitualmente el 0,001% en peso o más, preferentemente el 0,01% en peso o más, más preferentemente el 0,05% en peso o más, y de forma particularmente preferente el 0,1% en peso o más. Desde el punto de vista de viscosidad, solubilidad en disolventes y facilidad de manipulación, el límite superior es habitualmente el 10% en peso o menos, preferentemente el 7,5% en peso o menos, y más preferentemente el 5% en peso o menos, y de forma particularmente preferente el 3% en peso o menos.

La solución coloidal utilizada la presente invención comprende además uno o más tipos de surfactantes y/o agentes quelantes. Se espera que el surfactante y/o agente quelante muestre, por ejemplo, el efecto de incrementar la estabilidad en dispersión y el efecto de controlar que la solución coloidal metálica sea absorbida en el material de membrana.

Como surfactantes, pueden utilizarse surfactantes aniónicos o surfactantes no iónicos. Como ejemplos del surfactante aniónico, pueden proporcionarse ácido dodecilsulfúrico y sus sales. Pueden utilizarse cualesquiera tipos de sales, por ejemplo, sal de litio y sal de sodio disponibles en el mercado. Puede proporcionarse dodecilsulfato sódico como un ejemplo preferente de la sal. Como surfactante no iónico, pueden utilizarse Triton X-100, Tween 20, Tween 80, y similares.

Como ejemplos del agente quelante utilizado en la presente invención, como mínimo puede proporcionarse uno de ácido tripolifosfórico, ácido poliacrílico, copolímero de ácido poliacrílico, ácido etilendiaminotetraacético, o sales de los mismos, con copolímero de poliacrilato sódico y ácido poliacrílico siendo preferentes. Pueden utilizarse cualesquiera tipos de sales. Como ejemplos preferentes, pueden proporcionarse sal de sodio o sal de potasio disponibles en el mercado. Preferentemente, como mínimo puede proporcionarse uno de tripolifosfato sódico, poliacrilato sódico, copolímero de poliacrilato sódico, y etilenediaminotetraacetato sódico (de forma particularmente preferente etilendiaminotetraacetato disódico).

La cantidad de surfactante y/o agente quelante en la solución coloidal, en términos del peso de compuestos, es preferentemente del 0,001 al 5,0% en peso. La cantidad del 0,001 al 7,0% en peso también es preferente. Aunque no específicamente limitado en la medida en que el efecto de la presente invención (tal como la capacidad de controlar la adsorción al material de membrana) pueda mostrarse, el límite inferior de la cantidad es habitualmente el 0,001% en peso o más, preferentemente el 0,005% en peso o más, más preferentemente el 0,01% en peso o más, aún más preferentemente el 0,05% en peso o más, y de forma particularmente preferente el 0,1% en peso o más. En algunos casos, el límite inferior del 0,2% en peso o más, o incluso el 0,5% en peso o más, es preferente. Aunque no específicamente limitado en la medida en que los efectos de la presente invención tales como viscosidad, solubilidad en disolventes, impedir la agregación de partículas coloidales, y similares no resulten adversamente afectados, el límite superior es habitualmente el 7% en peso o menos, preferentemente el 5,0% en peso o menos, más preferentemente el 4,0% en peso o menos, aún más preferentemente el 3,0% en peso o menos, y de forma particularmente preferente el 2,5% en peso o menos. En algunos casos, el límite superior es preferentemente el 2,0% en peso o menos, más preferentemente el 1,0% en peso o menos, aún más preferentemente el 0,5% en peso o menos, y de forma particularmente preferente el 0,3% en peso o menos.

Cantidades más preferentes del surfactante y el agente quelante son, respectivamente, las siguientes.

Como cantidad del surfactante utilizado en la presente invención, puede proporcionarse un intervalo más preferente del 0,01 al 3% en peso, y un intervalo aún más preferente del 0,05 al 2,0% en peso, por ejemplo. Aunque no específicamente limitado en la medida en que el efecto de la presente invención (tal como la capacidad de controlar la adsorción al material de membrana) pueda mostrarse, el límite inferior de la cantidad de surfactante es habitualmente el 0,001% en peso o más, preferentemente el 0,005% en peso o más, más preferentemente el 0,01%

en peso o más, aún más preferentemente el 0,05% en peso o más, y de forma particularmente preferente el 0,1% en peso o más. El límite superior tampoco está específicamente limitado en la medida en que los efectos de la presente invención, tales como solubilidad en disolventes y otras condiciones, no resulten adversamente afectados. Por ejemplo, el límite superior es habitualmente el 5% en peso o menos, preferentemente el 3,0% en peso o menos, más preferentemente el 2,5% en peso o menos, aún más preferentemente el 2,0% en peso o menos, de forma particularmente preferente el 1,0% en peso o menos, y en algunos casos el 0,5% en peso o menos.

Aunque no específicamente limitado en la medida en que el efecto de la presente invención (tal como la capacidad de controlar la adsorción al material de membrana y similares) pueda mostrarse, la cantidad del límite inferior del agente quelante utilizado en la presente invención es habitualmente el 0,05% en peso o más, preferentemente el 0,1% en peso o más, más preferentemente el 0,2% en peso o más, aún más preferentemente el 0,3% en peso o más, y de forma particularmente preferente el 0,5% en peso o más. El límite superior tampoco está específicamente limitado en la medida en que los efectos de la presente invención tales como viscosidad, solubilidad en disolventes, y facilidad de manipulación, no resulten adversamente afectados y no haya otras desventajas tales como reticulación o agregación de partículas coloidales metálicas o de compuesto metálico. Dicho límite es habitualmente el 7,0% en peso o menos, preferentemente el 5,0% en peso o menos, más preferentemente el 4,0% en peso o menos, y aún más preferentemente el 3,0% en peso o menos. En algún caso, el límite superior puede ser el 2,5% en peso o menos, preferentemente el 2,0% en peso o menos, más preferentemente el 1,5% en peso o menos, y aún más preferentemente el 1,0% en peso o menos.

El peso molecular del copolímero de poliacrilato sódico y ácido poliacrílico utilizado en la presente invención es habitualmente de 100 a 10.000, por ejemplo. Aunque el límite inferior del peso molecular del copolímero de poliacrilato sódico y ácido poliacrílico no está específicamente limitado en la medida en que el efecto de la presente invención (tal como un efecto inhibidor de la adsorción) pueda mostrarse, el peso molecular es habitualmente 100 o más, preferentemente 500 o más, aún más preferentemente 1.000 o más, y de forma particularmente preferente 5.000 o más. Aunque no específicamente limitado en la medida en que los efectos de la presente invención tales como viscosidad, solubilidad en disolventes, facilidad de manipulación, y otras condiciones, no resulten adversamente afectados, el límite superior es habitualmente 10.000 o menos, preferentemente 9.000 o menos, más preferentemente 8.000 o menos, y de forma particularmente preferente 7.000 o menos.

En la solución coloidal utilizada en la presente invención, tanto un surfactante como un agente quelante pueden utilizarse en combinación, si se requiere, o también es posible utilizar uno cualquiera del surfactante y el agente quelante. Se espera que la utilización de un agente quelante además de un surfactante proporcione efectos de que la estabilidad en dispersión mejore y la adsorción de partículas coloidales al material de membrana se inhiba, por ejemplo. Asimismo, la solución coloidal puede incluir además un ácido orgánico y su sal. Como ejemplos del ácido orgánico y su sal, pueden proporcionarse ácido cítrico, citrato sódico, y similares.

Como ejemplo de utilización del surfactante y/o el agente quelante en una solución coloidal utilizada en la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus, cuando el material de la membrana es celulosa, puede utilizarse un surfactante o un agente quelante, o ambos en combinación. Cuando se utiliza una membrana hecha de un polímero sintético, puede no utilizarse un surfactante, sino que se utiliza un agente quelante solo.

El dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N utilizado en la presente invención tiene la función de proteger al coloide y estabilizar la dispersión, y se espera además que incremente el efecto de estabilidad mediante adición del surfactante y/o agente quelante. El dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N también controla la adsorción de partículas coloidales a otros materiales. Se espera que este efecto de control de la adsorción mejore mediante la adición del surfactante y/o el agente quelante. Como resultado, se espera que la adsorción de partículas coloidales a otros materiales, por ejemplo, un recipiente para almacenar la solución coloidal durante un largo periodo, así como a una membrana porosa, esté controlada.

La solución coloidal utilizada en la presente invención puede prepararse mediante los siguientes procedimientos, por ejemplo. Específicamente, puede proporcionarse un procedimiento de añadir un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N a partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, y añadir además un surfactante y/o un agente quelante. Es posible añadir el dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, después de disolver un compuesto metálico en un disolvente y hacer que las partículas metálicas se formen, y, a continuación, añadir además un surfactante y/o un agente quelante. Tomando el caso en el que se utilizan partículas metálicas como ejemplo, la solución coloidal metálica utilizada en la presente invención puede prepararse disolviendo un compuesto metálico de materia prima en un disolvente y reduciéndolo a metal, obteniendo de este modo partículas. Como ejemplos del compuesto metálico utilizado como materia prima, pueden proporcionarse ácido cloroáurico, nitrato de plata, ácido cloroplatínico, cloruro de rodio (III), cloruro de paladio (II), cloruro de rutenio (III), cloroiridato, óxido de osmio (VII), y similares. Como agente reductor, puede proporcionarse ácido cítrico, citrato sódico, ácido tánico, hidrazina, borohidruro sódico, y similares. Aunque no específicamente limitada, la temperatura de reacción puede estar en el intervalo de temperatura ambiente al punto de ebullición del disolvente, preferentemente de 25 a 100°C, y más preferentemente de 40 a 100°C. Tampoco existen limitaciones específicas al tiempo de reacción, que puede ser de varios minutos a varios días, por ejemplo. En el caso de partículas de un compuesto metálico, las partículas pueden obtenerse según el procedimiento dado a

conocer en el documento JP-A-08-141388. Después de obtener las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, una cantidad prescrita de dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N se añade para producir una solución coloidal. Después de esto, se añaden además un surfactante y/o agente quelante, si se requiere. Asimismo, pueden añadirse además un ácido orgánico y su sal.

Como disolvente para el compuesto metálico utilizado como la materia prima utilizada en la presente invención o el medio de dispersión para la solución coloidal, se utiliza preferentemente agua, un disolvente orgánico soluble en agua, o una mezcla de los mismos. Como ejemplos del disolvente orgánico soluble en agua, pueden proporcionarse etanol, metanol, etilenglicol, y similares. Preferentemente, pueden proporcionarse agua, etanol, metanol, y una mezcla de los mismos, y agua es particularmente preferente.

La viscosidad a 25°C de la solución coloidal utilizada en la presente invención es preferentemente de 0,8 a 5 cP (mPa·s). Un intervalo más preferente es de 0,8 a 2 cP (mPa·s), por ejemplo. Aunque el límite inferior de la viscosidad de la solución coloidal no está específicamente limitado en la medida en que el efecto de la presente invención se muestre, el límite inferior es habitualmente 0,8 cP. El límite superior no está particularmente limitado en la medida en que la facilidad de manipulación, el tiempo de operación cuando un fluido es procesado por la membrana, y otras condiciones no resulten adversamente afectadas. La viscosidad es habitualmente 5 cP o menos, y preferentemente 2 cP o menos, por ejemplo. Más preferentemente, la viscosidad es 1,7 cP o menos, con una viscosidad de 1,5 cP o menos siendo particularmente preferente.

En la evaluación de la estabilidad de la solución coloidal metálica en la presente invención, la estabilidad en almacenamiento, estabilidad a temperatura, y estabilidad a pH pueden evaluarse midiendo características ópticas o inspeccionando la producción de un agregado, la formación de un precipitado, y similares por observación. La estabilidad frente a sales puede confirmarse por desalado ("salting-out") y similares.

Como procedimiento para medir características ópticas, puede proporcionarse la medición de la longitud de onda de absorción máxima de la solución coloidal metálica utilizando un espectrofotómetro, por ejemplo. Como procedimiento para medir la longitud de onda de absorción máxima de la solución coloidal, puede proporcionarse un procedimiento de barrido mediante luz con una longitud de onda en el intervalo en el que la longitud de onda de absorbancia inherente a partículas coloidales puede identificarse (preferentemente la región visible, es decir el intervalo de 350 a 650 nm) utilizando un espectrofotómetro y determinando la longitud de onda a la cual la absorción es máxima en el espectro de absorción resultante, por ejemplo. Como espectrofotómetro, puede utilizarse un aparato capaz de medir desde la región de longitud de onda visible a la región de longitud de onda ultravioleta tal como un espectrofotómetro de la región ultravioleta-visible "UV-160A" fabricado por Shimadzu Corp., por ejemplo. La longitud de onda de absorción máxima representa el diámetro de partícula promedio de partículas coloidales metálicas.

La estabilidad en almacenamiento en la presente invención, indicada por, por ejemplo, el cambio en la longitud de onda de absorción máxima cuando la solución coloidal ha sido almacenada a 50°C durante como mínimo 90 días, y preferentemente durante un año, desde el día inicial (día 0), está en el intervalo de -1,3 nm a +2,0 nm. La diferencia está preferentemente en el intervalo de -1,3 nm a +1,7 nm, más preferentemente de -1,3 nm a +1,5 nm, y aún más preferentemente de -1 nm a +1 nm. En algunos casos, el intervalo es preferentemente de -1,6 nm a +1,6 nm, y más preferentemente de -1,3 nm a +1,3 nm. La estabilidad también puede confirmarse mediante la producción de agregado o precipitado mediante observación.

La siguiente fórmula que indica la tasa de cambio (TC) de la longitud de onda de absorción máxima también puede utilizarse para evaluar la estabilidad en almacenamiento.

TC de la longitud de onda de absorción máxima (%) = (diferencia entre la longitud de onda de absorción máxima durante el periodo transicional hasta un día específico y la longitud de onda de absorción máxima del día 0 (nm) x 100)/longitud de onda de absorción máxima el día 0 (nm)

La TC de la longitud de onda de absorción máxima de la solución coloidal almacenada durante el mismo número de días en las mismas condiciones que se han descrito anteriormente está habitualmente en el intervalo del -0,38% al +0,38%, preferentemente del -0,32% al +0,32%, más preferentemente del -0,28% al +0,28%, y aún más preferentemente del -0,19% al +0,19%. En algunos casos, el intervalo es preferentemente del -0,30% al +0,30%, y más preferentemente del -0,24% al +0,24%.

En la estabilidad en almacenamiento en la presente invención, también se espera que la solución coloidal muestre una propiedad preferente de que no se producía precipitado cuando se le dejaba reposar a 80°C y a pH 5 durante 6 días, por ejemplo. Además del criterio de no producción de precipitado, también puede utilizarse el cambio de la longitud de onda de absorción máxima. Es preferente que, tanto la diferencia desde la longitud de onda de absorción máxima el día 0 como la TC de la longitud de onda de absorción máxima, estén en los intervalos anteriores.

Con respecto a la estabilidad al pH en la presente invención, la diferencia de longitud de onda de absorción máxima, cuando la solución coloidal ha sido almacenada a un pH prescrito en el intervalo de pH 4 a pH 11 a temperatura

ambiente durante 180 días, desde la longitud de onda de absorción máxima el día inicial (día 0) está preferentemente en el intervalo de -2,0 nm a +2,0 nm. La diferencia está preferentemente en el intervalo de -1,7 nm a +1,7 nm, más preferentemente de -1,5 nm a +1,5 nm, y aún más preferentemente de -1 nm a +1 nm. En algunos casos, el intervalo es preferentemente de -1,6 nm a +1,6 nm, y más preferentemente de -1,3 nm a +1,3. Además de la estabilidad durante el almacenamiento a temperatura ambiente durante el periodo mencionado anteriormente de 180 días, los intervalos anteriores del cambio de longitud de onda de absorción máxima (diferencia desde la longitud de onda de absorción máxima el día 0) se cumplen preferentemente a temperatura ambiente durante 200 días, más preferentemente durante 300 días, y de forma particularmente preferente durante 360 días. El intervalo preferente indicado como la anterior TC de la longitud de onda de absorción máxima está habitualmente en el intervalo del -0,38% al +0,38%, preferentemente del -0,32% al +0,32%, más preferentemente del -0,28% al +0,28%, y aún más preferentemente del -0,19% al +0,19%. En algunos casos, el intervalo es preferentemente del -0,30% al +0,30%, y más preferentemente del -0,24% al +0,24%.

También se espera que la solución coloidal utilizada en la presente invención posea estabilidad en almacenamiento en la medida en que incluso la solución coloidal con una elevada concentración de sal no muestre ningún cambio especial tal como producción de precipitado y similares. Preferentemente, una solución coloidal (pH 5) que contiene PVP no produce precipitado cuando se le deja reposar durante una noche después de la adición de, como mínimo, 0,2 M de CaCl₂. Si se produjo o no precipitado puede confirmarse mediante separación sólido-líquido de la solución coloidal.

En la presente invención, la tasa de recuperación de partículas coloidales puede determinarse mediante la siguiente prueba de recogida de coloides. Específicamente, la tasa de recuperación de coloides se mide cuando la solución coloidal a evaluar se filtra a través de una membrana porosa de prueba de recogida. Una membrana porosa de prueba de recogida que cumple la siguiente fórmula de desigualdad, se utiliza preferentemente.

$$(\text{diámetro de poro promedio (nm) de la membrana porosa de prueba de recogida}) - (\text{diámetro de partícula promedio (nm) de coloide}) > 10 \text{ nm}$$

La tasa de recuperación de coloides se expresa como la relación de la concentración de coloide antes de la filtración y la concentración de coloide después de la filtración mediante la siguiente fórmula.

$$\text{Tasa de recuperación de coloide (\%)} = (C_f/C_o) \times 100$$

en la que Co es absorbancia antes de la filtración y Cf es absorbancia después de la filtración.

Cuando se utiliza la solución coloidal para la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus, la membrana porosa para la prueba de recogida está hecha preferentemente del mismo material que la membrana de eliminación de virus. Habitualmente se considera que una tasa de recuperación elevada indica una fuerza de adsorción pequeña de partículas coloidales al material de la membrana. Como resultado, el rendimiento puede evaluarse en base al principio de tamizar la partícula dependiendo del diámetro de poro de la membrana de eliminación de virus, indicando adecuación para la prueba de integridad de la membrana de eliminación de virus. La tasa de recuperación es habitualmente del 70% o más, preferentemente el 75% o más, aún más preferentemente el 78% o más, y de forma particularmente preferente el 80% o más. En algunos casos, el 83% o más, preferentemente el 94% o más, y de forma particularmente preferente el 97% o más pueden proporcionarse como ejemplos de intervalos preferentes.

Más específicamente, una solución coloidal metálica con un diámetro de partícula promedio de 17 nm se filtra a través de una membrana porosa de prueba de recogida con un diámetro de poro promedio de aproximadamente 35 nm, por ejemplo, y la concentración de partículas metálicas coloidales antes y después de la filtración se comparan. Puede emplearse cualquier procedimiento de filtración en la medida en que el procedimiento sea óptimo para cada membrana, y un procedimiento frontal a presión constante se proporciona como ejemplo. Al hacer esto, el intervalo de presión de filtración más apropiado (en el que la estructura de la membrana no se rompe) puede determinarse dependiendo de la resistencia a la presión de cada membrana. Es deseable medir la tasa de recuperación cuando se hace pasar a un fluido a través de la membrana a una velocidad de 2,5 a 5,0 l/m².

La concentración de la solución coloidal metálica se mide mediante los siguientes procedimientos, por ejemplo. El espectro de absorción de la solución coloidal metálica se mide utilizando un espectrofotómetro o similar para identificar la longitud de onda de absorción máxima. La absorbancia de la solución coloidal metálica a la longitud de onda de absorción máxima se mide antes y después de la filtración.

La celulosa o un polímero sintético pueden proporcionarse como un material particularmente preferente para la membrana porosa utilizada en la presente invención.

Como ejemplos de la celulosa, pueden proporcionarse celulosa regenerada, celulosa natural y acetato de celulosa.

Polímeros termoplásticos pueden proporcionarse como ejemplos del polímero sintético utilizado en la presente

invención. Los ejemplos preferentes incluyen fluoruro de polivinilideno y poliétersulfona. Es preferente que las superficies de fluoruro de polivinilideno y poliétersulfona sean tratadas para proporcionar propiedades hidrófilas. Como un tratamiento para proporcionar propiedades hidrófilas sobre una superficie, puede proporcionarse un tratamiento para proporcionar a las superficies de la membrana o las superficies de los poros propiedades de humectarse espontáneamente con agua. Dicho tratamiento se lleva a cabo según un procedimiento convencional, tal como injerto o recubrimiento.

La prueba de integridad de la presente invención utilizando partículas sustitutas de virus es altamente fiable, dado que el principio del procedimiento es filtración por tamizado de partículas que es el mismo que la eliminación de virus y, por lo tanto, puede obtener correlación de características del mismo tipo de mecanismos que la eliminación de virus. Además, el procedimiento de filtrar oro coloidal es ventajoso debido a la fácil preparación de la solución coloidal y la sencilla y precisa medición de la concentración. En la prueba de integridad, después de que la membrana ha sido usada como membrana de eliminación de virus, se cree que una etapa de lavar la membrana es necesaria para reducir el efecto de los residuos (por ejemplo, proteínas, lípidos, etc.) en la membrana en la medición (tal como cambio de la distribución de diámetro de poro debido a atascamiento de residuos) en la mayor medida posible. Después de esto, la solución coloidal se filtra para confirmar la capacidad de eliminación (rendimiento) de la membrana de eliminación de virus. Dado que la solución coloidal utilizada en la presente invención posee elevada estabilidad frente al cambio de pH y es estable a una concentración de sal elevada, el tratamiento de lavado de la solución coloidal puede simplificarse.

Como diámetro de poro promedio de la membrana de eliminación de virus utilizada en la presente invención, el intervalo de 10 a 100 nm puede proporcionarse como ejemplo.

Puede aplicarse un procedimiento convencional a la prueba de integridad utilizando la solución coloidal utilizada en la presente invención. Específicamente, la membrana de eliminación de virus después de la filtración se lava utilizando un fluido de lavado, tal como un agente de eliminación de proteínas que contiene un ácido, álcali, surfactante, y similares. Después de esto, una solución alcalina que permanece en la membrana es neutralizada con un ácido o lavada con agua, después de lo cual la solución coloidal se filtra a través de la membrana de eliminación de virus lavada para medir la capacidad de eliminación. Dado que la solución coloidal utilizada en la presente invención posee estabilidad en un amplio intervalo de pH, la solución coloidal tiene una ventaja de seleccionar apropiadamente el pH, según la resistencia al pH de la membrana de eliminación de virus.

Por ejemplo, en la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus hecha de celulosa regenerada utilizando la solución coloidal utilizada en la presente invención, una membrana que ha sido utilizada como una membrana de eliminación de virus puede lavarse con un álcali, a continuación con agua sin lavar con un ácido para llevar el pH del fluido en la membrana a la región neutra estrictamente, después de lo cual el rendimiento de la membrana puede confirmarse utilizando la solución coloidal.

En la prueba de integridad de la membrana de eliminación de virus hecha de un polímero sintético tal como fluoruro de polivinilideno hidrofiliado utilizando la solución coloidal utilizada en la presente invención, por ejemplo, una membrana que ha sido utilizada como una membrana de eliminación de virus puede lavarse con un ácido, a continuación con agua, después de lo cual el rendimiento de la membrana puede confirmarse utilizando la solución coloidal.

Cualquier procedimiento de lavado habitual puede utilizarse en la presente invención sin limitaciones específicas. Por ejemplo, lavado ultrasónico en un fluido de lavado, pueden utilizarse inmersión en un fluido de lavado, lavado directo, lavado inverso, y similares. El lavado directo en el presente documento se refiere a un procedimiento de lavado para hacer que un fluido de lavado en la misma dirección que la dirección de la sustancia orgánica a filtrar, y lavado inverso se refiere a un procedimiento de lavado para hacer que un fluido de lavado en la dirección inversa a la dirección de la sustancia orgánica a filtrar. Aunque la selección depende de la forma de la membrana, utilizar lavado directo y lavado inverso es más eficaz.

Aunque la temperatura de lavado en la presente invención no está específicamente limitada en la medida en que no exista ningún efecto adverso sobre el fluido de lavado, el intervalo de 4°C a 40°C es preferente.

Aunque la presión de lavado en la presente invención no está específicamente limitada en la medida en que no exista ningún efecto adverso sobre la estructura de la membrana porosa, una presión de 100 kPa o menos se utiliza en el caso de una membrana de celulosa con baja resistencia a la presión, y 300 kPa o menos en el caso de una membrana de fluoruro de polivinilideno y una membrana de polisulfona, es preferente utilizar una presión lo más alta posible.

Como procedimiento para confirmar el rendimiento de la membrana de eliminación de virus, pueden proporcionarse el siguiente procedimiento de cálculo del valor de reducción logarítmica (VRL). Específicamente, aunque cualquier procedimiento para filtrar la solución coloidal a través de la membrana de eliminación de virus puede emplearse en la medida en que el procedimiento sea óptimo para cada membrana, un procedimiento frontal a presión constante se proporciona como ejemplo. En este caso, aunque la presión no está específicamente limitada en la medida en que

no exista ningún efecto adverso sobre la estructura de la membrana porosa, una presión de 100 kPa o menos se utiliza en el caso de una membrana de celulosa con baja resistencia a la presión, y 300 kPa o menos en el caso de una membrana de fluoruro de polivinilideno y membrana de polisulfona, es preferente utilizar una presión lo más alta posible.

El espectro de absorción de la solución coloidal metálica se mide utilizando un espectrofotómetro o similar para identificar la longitud de onda de absorción máxima. La absorbancia de la solución coloidal metálica a la longitud de onda de absorción máxima se mide antes y después de la filtración y el valor resultante se expresa como el valor de reducción logarítmica (VRL), que se calcula según la siguiente fórmula:

$$\text{Valor de reducción logarítmica (VRL)} = \text{Log}_{10}(\text{Co/Cf})$$

en la que Co es la absorbancia antes de la filtración y Cf es la absorbancia después de la filtración.

Como tipos de la solución coloidal utilizada en la presente invención, pueden proporcionarse un tipo de un reactivo que contiene todos los componentes, un tipo de dos reactivos en el que los reactivos se proporcionan por separado, y similares. Específicamente, un tipo de un reactivo contiene todas las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, un agente preventivo de la adsorción que comprende un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, un surfactante y/o un agente quelante; y un tipo de dos reactivos contiene un coloide de partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, y un agente preventivo de la adsorción que comprende un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, un surfactante y/o un agente quelante; y similares. Los reactivos pueden contener los componentes a concentraciones prescritas para utilización en la medición o concentraciones de varias veces a 10 veces esas concentraciones.

El surfactante y/o el agente quelante pueden añadirse inmediatamente antes de la etapa de hacer que la solución coloidal entre en contacto con una membrana porosa (por ejemplo, una prueba de integridad), pueden añadirse en el momento de iniciar el almacenamiento del coloide o en cualquier momento opcional durante el almacenamiento, o pueden añadirse por separado y de forma intermitente. Cuando se añaden de forma intermitente, el surfactante y el agente quelante pueden añadirse por separado o la cantidad total definitiva del surfactante y el agente pueden dividirse y añadirse por partes, respectivamente. La cantidad del surfactante y el agente quelante puede determinarse apropiadamente, de modo que sus concentraciones definitivas en la solución coloidal puedan ser las concentraciones óptimas descritas anteriormente.

Como otra aplicación preferente de la solución coloidal desvelada en el presente documento, puede proporcionarse diagnóstico *in vitro*. Las demás aplicaciones potenciales incluyen un material fotocromático, material antibacteriano, material antifúngico, material anti-algas, material magnético, material óptico no lineal, pigmento, catalizador, material conductor, y similares.

EJEMPLOS

La presente invención se describirá a continuación por medio de ejemplos y ejemplos comparativos.

Ejemplo 1

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd., reactivo garantizado) en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 13,1 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 78°C durante 30 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 39,8 g de una solución al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 24,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% para obtener una solución azul púrpura concentrada de solución coloidal de oro. La solución se ajustó, a continuación, de pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella para observar el coloide seco utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 28-37 nm. Un espectro de absorción medido mediante un espectrofotómetro para confirmar la absorción máxima que se origina a partir de plasmón de oro a 520-530 nm. El espectro que se origina a partir de la absorción de plasmón de oro puede verse en nanopartículas con un tamaño de partícula en el intervalo de varios nm a varias decenas de nm. Además, se sabe que existe una correlación muy alta entre el valor de la longitud de onda de absorción máxima y el diámetro de partícula promedio. El cambio de la longitud de onda de absorción máxima de esta solución coloidal de oro se observó para confirmar que la diferencia de las longitudes de onda de absorción máxima el primer día (día 0) y durante cada uno de los días transcurridos después del día 0 era de -1,5 nm a +1,5 nm (en su mayoría de -1,0 nm a +1,0 nm). La solución coloidal de oro era estable durante un año en el entorno de 50°C. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Ejemplo 2

La solución coloidal de oro preparada mediante el procedimiento del ejemplo 1 se almacenó en un entorno de 80°C. Las características de absorción de la solución coloidal de oro eran estables durante un periodo de seis días o más. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Ejemplo 3

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 15,9 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 70°C durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 39,8 g de una solución al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 24,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% para obtener una solución de color rojo brillante concentrada de coloides de oro. Se prepararon soluciones a pH 2,0, pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Estas soluciones coloidales de oro se secaron sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella para observar las partículas coloidales de oro secas utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas coloidales de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 20 a 24 nm. Todas las soluciones coloidales de oro con de pH 2 a pH 11 se almacenaron a temperatura ambiente durante 180 días para confirmar características de absorción estables. Los resultados se muestran en la tabla 3.

Ejemplo 4

Se añadió cloruro cálcico a la solución coloidal de oro preparada en el ejemplo 3. Después de agitar suficientemente, a la solución coloidal se le permitió reposar durante una noche. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Las soluciones coloidales de oro a pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 no produjeron precipitado cuando se añadió cloruro cálcico hasta la concentración de 0,2 M.

Ejemplo comparativo 1

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 13,9 g de una solución acuosa de ácido cítrico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 80°C durante 30 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 18,0 g de una solución de polietilenglicol al 20% fabricada por Sigma Co., seguidos por la adición de 25,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% fabricada por Nacalai Tesque, Inc., para obtener una solución coloidal de oro. La solución se ajustó de pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella para observar las partículas coloidales de oro secas utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 34-39 nm. La solución coloidal de oro se almacenó en el entorno de 50°C de la misma manera que en el ejemplo 1. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Se descubrió que la estabilidad de la solución coloidal de oro era peor que la solución coloidal del ejemplo 1 y mostraba un cambio significativo de las características de absorción después de almacenamiento durante 240 días.

Ejemplo comparativo 2

La solución coloidal de oro preparada en el ejemplo comparativo 1 se almacenó en un entorno de 80°C de la misma manera que en el ejemplo. Los resultados se muestran en la tabla 2.

Se descubrió que la estabilidad de la solución coloidal de oro era significativamente peor en comparación con la solución coloidal del ejemplo 1. Después de almacenamiento durante 4 días, la solución coloidal producía agregado y precipitación, y mostraba un cambio significativo de las características de absorción.

Ejemplo comparativo 3

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 15,9 g de una solución acuosa de ácido cítrico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 70°C durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 18,0 g de una solución de polietilenglicol al 20% fabricada por Sigma Co., seguidos por la adición de 25,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% fabricada por Nacalai Tesque, Inc., para obtener una solución coloidal de oro. Se prepararon soluciones a pH 2,0, pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 a partir de esta solución coloidal de oro utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Entre éstas, una solución coloidal con pH5 se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a

ella para observar el coloide seco utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 18-22 nm. Las soluciones coloidales de oro anteriores con diferentes pH se almacenaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la tabla 3. Se descubrió que las soluciones con un pH 2,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 tienen mala estabilidad en almacenamiento en comparación con la solución del ejemplo 3. Después del almacenamiento durante 180 días, las soluciones coloidales mostraban un cambio de las características de absorción. Después de 90 días, la absorción de la solución con un pH 2,0 no podía medirse debido a la producción de agregado y precipitado.

10 Ejemplo comparativo 4

Se añadió cloruro cálcico a la solución coloidal de oro preparada en el ejemplo comparativo 3. La solución coloidal resultante se agitó y se le dejó reposar de la misma manera que en el ejemplo 4. Los resultados se muestran en la tabla 4.

15 La solución coloidal de oro produjo una gran cantidad de agregado y precipitado a una baja concentración de 0,04 M o menos.

20 Ejemplo 5

Según el procedimiento descrito en el documento JP-A-04-371221, filtros que tienen cada uno un área de membrana de 0,01 m², se prepararon a partir de membranas de fibra hueca porosas de celulosa regenerada de cupramonio con un diámetro de poro promedio de 13,8 nm, 15,5 nm, 15,7 nm, 17,6 nm, 19,3 nm, 23,8 nm, 24,3 nm, 24,8 nm y 36,1 nm. El diámetro de poro promedio de la membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada obtenida se calculó según el procedimiento descrito en la fórmula 2 en el documento JP-A-04-371221. Las soluciones coloidales de oro de pH 4 a pH 11 del ejemplo 3 se diluyeron a una concentración de coloide de oro de un décimo utilizando soluciones acuosas de dodecilsulfato sódico al 0,27% a los mismos pH y se filtraron a través de los filtros anteriores con diferentes diámetros. Como procedimiento de filtración, el procedimiento frontal a presión constante se llevó a cabo a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 5 a 10 ml se midió a partir de la absorbancia para calcular el VRL del coloide de oro. Se añadió poliovirus utilizado como virus indicador a D-MEM que contenía suero fetal bovino al 10% para preparar la solución con una concentración de 10^{6.47} TCID₅₀/ml. La solución resultante se filtró, a continuación, a través del filtro anterior fabricado a partir de las membranas de fibra hueca con diferentes diámetros de poro. La concentración de virus de fracciones de filtrado de 0 a 30 ml se calculó como TCID₅₀/ml a partir del efecto citopático al 50% para células FL. La figura 1 muestra la correlación entre la capacidad de eliminación de coloide de oro y la capacidad de eliminación de virus.

La capacidad de eliminación de coloide de oro y la capacidad de eliminación de virus mostraban una buena correlación. Como resultado, se confirmó que la solución coloidal metálica de la presente invención era aplicable a la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus.

40 Ejemplo 6

Según el procedimiento descrito en el documento JP-A-04-371221, un filtro con un área de membrana de 0,001 m² se preparó a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada de cupramonio con un diámetro de poro promedio de 16,5 nm. Las soluciones coloidales de oro con diferentes pH preparadas en el ejemplo 3 se diluyeron a una concentración de coloide de oro de un décimo utilizando soluciones acuosas de dodecilsulfato sódico al 0,27% y se filtraron utilizando el procedimiento frontal a presión constante a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 4 a 6 ml se determinó mediante medición de la absorbancia para calcular el VRL. Los resultados se muestran en la tabla 5.

50 La capacidad de eliminación de coloide de oro mostraba un valor de casi VRL = 2 en el intervalo de pH 4 a pH 11, indicando que la prueba de integridad dará como resultado un valor de VRL constante en este intervalo de pH.

55 Ejemplo comparativo 5

Las soluciones coloidales de oro con diferentes pH preparadas en el ejemplo comparativo 3 se diluyeron de la misma manera que en el ejemplo 6 y se filtraron utilizando el mismo filtro que en el ejemplo 6 para calcular el VRL. Los resultados se muestran en la tabla 5.

60 Se descubrió que el valor de VRL se incrementaba a medida que se incrementa el pH, indicando dependencia de VRL del pH.

Ejemplo 7

65 Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 19,0 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4% y la mezcla de reacción se hizo

reaccionar a 70°C durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 39,8 g de una solución de PVP al 30% (fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 24,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% para obtener una solución de color rojo brillante concentrada de coloide de oro. La solución se ajustó a pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Estas soluciones coloidales de oro se secaron sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella, seguido por observar las partículas coloidales de oro secas utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas coloidales de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 16-20 nm. Según el procedimiento descrito en el documento JP-A-04-371221, un filtro con un área de membrana de 0,01 m² se preparó a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada de cupramonio con un diámetro de poro promedio de 19,3 nm. Después de filtrar una solución salina de globulina bovina al 3% durante una hora, el filtro se lavó con 30 ml de agua, 30 ml de una mezcla de NaOH 0,25 N y SDS al 1%, 80 ml de HCl 1/3.000 N, y 30 ml de agua. La solución coloidal de oro se diluyó a una concentración de coloide de oro de un décimo utilizando una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 0,27% y se filtró a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 5 a 10 ml se determinó mediante medición de la absorbancia para calcular el VRL. El coloide de oro se filtró utilizando el mismo procedimiento que anteriormente excepto por la omisión de la etapa de lavado con HCl y se calculó el VRL. Para comparación, el coloide de oro se filtró utilizando un filtro para el cual la filtración de globulina y el proceso de lavado se omitieron, y se calculó el VRL. La tasa de recuperación de penetración de agua es una tasa de la cantidad de penetración de agua del filtro después de un proceso de lavado de proteínas a la cantidad de penetración de agua antes de la filtración de proteínas. Los resultados se muestran en la tabla 6.

La capacidad de eliminación de coloide de oro del filtro para el cual la etapa de lavado con HCl se omitió mostró el mismo VRL que el filtro lavado.

Ejemplo 8

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Se añadieron 320 g de agua destilada y 19,4 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 70°C durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 39,8 g de una solución acuosa de PVP al 30% ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 24,0 g de una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 5% para obtener una solución de color rojo-púrpura brillante concentrada de coloide de oro. La solución se ajustó, a continuación, de pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella, seguido por observar las partículas coloidales de oro secas utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 18,5 nm. Un espectro de absorción medido mediante un espectrofotómetro confirmó la absorción máxima que se origina a partir de absorción del plasmón de oro a 520-530 nm. El espectro que se origina a partir de la absorción del plasmón de oro se observa en nanopartículas con un tamaño de partícula en el intervalo de varios nm a varias decenas de nm. Además, se sabe que existe una correlación muy alta entre el valor de la longitud de onda de absorción máxima y un diámetro de partícula promedio. El cambio de la longitud de onda de absorción máxima de esta solución coloidal de oro se observó para confirmar que la diferencia de la longitud de onda de absorción máxima el primer día (día 0) y cada día después del día 0 era de -1,5 nm a +1,5 nm (en su mayor parte de -1,0 nm a +1,0 nm), y la solución coloidal de oro era estable durante un año en el entorno de 50°C.

Ejemplo 9

Según el procedimiento descrito en el documento WO 01/014047, un filtro con un área de membrana de 0,01 m² se preparó a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada de cupramonio con un diámetro de poro promedio de 18,5 nm.

La solución coloidal de oro del ejemplo 8 se diluyó a una concentración de coloide de oro de un décimo utilizando soluciones acuosas de dodecilsulfato sódico al 0,27% con pH 2,0, pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0, seguido por el ajuste fino de los pH, y se filtró utilizando el procedimiento frontal a presión constante a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 5 a 10 ml se determinó mediante medición de la absorbancia para calcular el VRL. Los resultados se muestran en la tabla 7.

El valor del VRL era de 2,3 en el intervalo de pH 4-11, indicando que la prueba de integridad dará como resultado un valor de VRL constante en este intervalo de pH.

Ejemplo 10

Las soluciones con pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 se prepararon a partir de la solución coloidal de oro obtenida en el ejemplo 8 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Se añadió cloruro cálcico a las soluciones coloidales de oro con diferentes pH. Las soluciones resultantes se agitaron suficientemente y se dejaron reposar

durante una noche. Las soluciones coloidales de oro con pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0 y pH 11,0 no produjeron precipitados incluso se añadió cuando cloruro cálcico hasta la concentración de 0,2 M.

Ejemplo 11

5 Según el procedimiento descrito en el documento WO 01/014047, filtros con un área de membrana de 0,01 m² se prepararon a partir de membranas de fibra hueca porosas de celulosa regenerada de cupramonio con diferente diámetro de poro promedio en el intervalo de 18,0 nm a 21,0 nm. Las soluciones coloidales de oro diluidas con pH 4 a pH 11 preparadas en el ejemplo 9 se filtraron utilizando los filtros anteriores con diferente diámetro de poro promedio. Como procedimiento de filtración, el procedimiento frontal a presión constante se llevó a cabo a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 5 a 10 ml se midió a partir de la absorbancia para calcular el VRL del coloide de oro. Se añadió parvovirus porcino (PPV) utilizado como virus indicador, a D-MEM que contenía suero fetal bovino al 5% para obtener una concentración de 10^{5.89} TCID₅₀/ml. La solución resultante se filtró, a continuación, a través del filtro anterior con un área de membrana de 0,01 m² fabricado a partir de las membranas de fibra hueca con diferentes diámetros de poro a una presión de filtración de 78,4 kPa. La concentración de virus de una fracción de filtrado de 0 a 55 ml se calculó como TCID₅₀/ml a partir del efecto citopático al 50% para células ESK (riñón porcino). La correlación entre la capacidad de eliminación del coloide de oro y la capacidad de eliminación del virus se muestra en la figura 2. Los resultados mostraban una buena correlación, confirmando que la solución coloidal metálica de la presente invención puede aplicarse a la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus para eliminar pequeños virus.

Ejemplo 12

25 La solución coloidal de oro preparada en el ejemplo 1 se diluyó a una concentración de coloide de oro de un décimo utilizando una solución acuosa de dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,27% y se filtraron utilizando el filtro ("Planove 75N" fabricado por Asahi Kasei Pharma Corp.) con un área de membrana de 0,01 m² fabricado a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada con un diámetro de poro promedio de 75 nm. Como procedimiento de filtración, el procedimiento frontal a presión constante se llevó a cabo a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de la fracción de filtrado de 25 a 50 ml (2,5 a 5,0 l/m²) se midió a partir de la absorbancia para calcular la tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos. Como resultado, la tasa de recuperación era del 83,0%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 13

35 Se colocaron 15 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM y 385 g de agua destilada en un recipiente de reacción (dos lotes). Después de calentar a 100°C mientras se agitaba, se añadieron de 8,5 a 9,0 g de una solución acuosa de citrato sódico al 3,0% al recipiente y la mezcla se hizo reaccionar durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 90 ppm. Después de que se completó la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con 350 ml de agua destilada. Se le añadieron 6,5 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 7,7 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) para preparar una solución coloidal de oro. Un espectro de absorción medido mediante un espectrofotómetro confirmó la absorción máxima a 529,4 nm. La solución acuosa era roja. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella, que comprende las partículas coloidales de oro secas se observaron utilizando un microscopio electrónico de transmisión. El diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de aproximadamente 16 nm a 17 nm.

Ejemplo 14

50 Según el procedimiento descrito en el documento WO 01/014047, un filtro con un área de membrana de 0,006 m² se preparó a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada con un diámetro de poro promedio de 29 nm. La solución coloidal de oro preparada mediante el procedimiento del ejemplo 13 se filtró utilizando el filtro. Como procedimiento de filtración, el procedimiento frontal se llevó a cabo a una presión de filtración de 26,7 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 15 a 30 ml (2,5 a 5,0 l/m²) se determinó mediante medición de la absorbancia para calcular la tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos. Como resultado, la tasa de recuperación era del 94,6%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 15

60 Una composición que contenía el 40% en peso de una resina de fluoruro de polivinilideno ("Sofef 1012" fabricada por Solvay, punto de fusión cristalino: 173°C) y el 60% en peso de ftalato de dicitclohexilo (fabricado por Osaka Organic Chemical Industry Co., Ltd., producto industrial) se agitó y se mezcló a 70°C utilizando un mezclador Henschel, y se enfrió para obtener un producto en polvo. El producto resultante se cargó en una extrusora de doble tornillo ("Labo Plastomill Model 50C150" fabricada por Toyo Seiki Seisaku-Sho, Ltd.) mediante una tolva, y se disolvió uniformemente fundiendo y mezclando el producto a 210°C. El producto disuelto se extruyó en forma de una fibra hueca a partir de una boquilla de hilado formada por un orificio circular con un diámetro interno de 0,8 mm y un

diámetro externo de 1,1 mm a una velocidad de descarga de 17 m/min mientras se hacía que ftalato de dibutilo (fabricado por Sanken Kako Co., Ltd.) a 130°C fluyera a una velocidad de 8 ml/min dentro del hueco. El producto extrudido se enfrió y se solidificó en un baño de agua con la temperatura controlada a 40°C, y se bobinó a una velocidad de 60 m/min. Después de eliminar el ftalato de dicitohexilo y el ftalato de dibutilo mediante extracción con metanol-etanol modificado al 99% (fabricado por Imazu Chemical Co., Ltd., producto industrial), el etanol adherente se sustituyó por agua. El producto resultante se sometió a un tratamiento térmico a 125°C durante una hora utilizando un esterilizador de vapor a alta presión ("HV85" fabricado por Hirayama Manufacturing Corporation) en un estado en el que el producto se sumergió en agua. Después de sustituir el agua adherente por etanol, el producto resultante se secó a 60°C en un horno para obtener una membrana de fibra hueca microporosa. En las etapas de extracción a secado, la membrana se trató mientras se endurecía la membrana en un estado de longitud constante para prevenir la aparición de agrietamiento. La membrana microporosa se sometió, a continuación, a un tratamiento hidrófilo utilizando un procedimiento de injerto. Como líquido de reacción, se utilizó un líquido obtenido disolviendo acrilato de hidroxipropilo (fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., calidad de reactivo) en una solución acuosa al 25% en volumen de 3-butanol (reactivo químico fabricado por Junsei Kagaku Co., Ltd., reactivo garantizado), de modo que el contenido de acrilato de hidroxipropilo era del 8% en volumen, y burbujeando nitrógeno a través de la mezcla a 40°C durante 20 minutos. La membrana microporosa se irradió con rayos γ a 100 kGy a partir de ^{60}Co como fuente de irradiación en una atmósfera de nitrógeno mientras se enfriaba la membrana porosa a -60°C con hielo seco. Se dejó reposar a la membrana después de la irradiación a presión reducida de 13,4 Pa o menos durante 15 minutos, se le hizo entrar en contacto con el líquido de reacción anterior a 40°C, y se le dejó reposar durante una hora. Después de lavar la membrana con etanol, la membrana se secó a 60°C durante cuatro horas al vacío para obtener una membrana de fibra hueca porosa de PVDF hidrofílica.

El diámetro de poro promedio de la membrana de fibra hueca porosa de PVDF hidrofílica resultante se calculó utilizando la siguiente fórmula.

Diámetro de poro promedio de la membrana de fibra hueca porosa de PVDF hidrofílica = Diámetro de poro promedio de la membrana de fibra hueca porosa de PVDF no hidrofílica $\times ((\text{cantidad de penetración de agua después de la hidrofílica})/(\text{cantidad de penetración de agua antes de la hidrofílica}))^{1/4}$

La membrana de fibra hueca porosa de PVDF no hidrofílica anterior es una membrana antes del proceso de hidrofílica. La cantidad de penetración de agua de cada membrana se calculó a partir de la cantidad de penetración de agua purificada a 25°C medida mediante el procedimiento frontal a presión constante, área de membrana, presión de filtración (0,1 MPa), y tiempo de filtración utilizando la siguiente fórmula.

[Cantidad de penetración de agua ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}/\text{Pa}$) = cantidad de penetración \div (área de membrana \times presión diferencial \times tiempo de filtración)]

El diámetro de poro promedio resultante era de 28,0 nm. La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó según el mismo procedimiento que en el ejemplo 14 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar la membrana de fibra hueca porosa de PVDF. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 94,7%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 16

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar una solución de copolímero de acrilato sódico-metacrilato sódico en lugar de la solución de poliácilato sódico del ejemplo 13. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 93,5%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 17

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar tripolifosfato sódico (STPP) en lugar de la solución de poliácilato sódico del ejemplo 13. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 97,5%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 18

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar etilendiaminotetraacetato disódico (EDTA-2Na) en lugar del poliácilato sódico del ejemplo 13. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 87,4%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

Ejemplo 19

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el

ejemplo 15 (presión de filtración: 26,7 kPa), excepto por utilizar el filtro MillexGV™ (área de membrana: 0,00039 m², fabricado por Millipore) fabricado a partir una membrana porosa de PVDF hidrofílica plana con un diámetro de poro promedio de 220 nm en lugar de la membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 98,0%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

5

Ejemplo comparativo 6

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó utilizando el mismo procedimiento que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar dodecilsulfato sódico en lugar de la solución de poliacrilato sódico del ejemplo 13. Como resultado, la solución coloidal de oro no podía pasar a través y la tasa de recuperación no podía medirse.

10

Ejemplo comparativo 7

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar una solución coloidal de oro preparada sin añadir la solución de poliacrilato sódico del ejemplo 13. Como resultado, la tasa de recuperación de coloide de oro era del 55,4%. Los resultados se muestran en la tabla 8.

15

Ejemplo comparativo 8

La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se calculó de la misma manera que en el ejemplo 15 (presión de filtración: 98 kPa) excepto por utilizar una solución coloidal de oro preparada sin añadir el PVP (K-15) del ejemplo 13. Como resultado, el coloide de oro se agregaba y la tasa de recuperación no podía medirse.

20

Ejemplo 20

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM y 320 g de agua destilada en un recipiente de reacción. Después de calentar a 70°C mientras se agitaba, se añadieron 18,5 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4,0% y la mezcla se hizo reaccionar durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 37,5 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición adicional de 9,0 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) para obtener una solución coloidal de oro roja concentrada. 10 g de la solución coloidal de oro concentrada se diluyeron con una solución acuosa preparada añadiendo 1,8 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) a 88,2 g de agua destilada para obtener una solución coloidal de oro roja. Un espectro de absorción medido mediante un espectrofotómetro confirmó la absorción máxima que se origina a partir de plasmón de oro a 526 nm. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella para observar las partículas coloidales de oro secas utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de 19 nm.

30

35

40

Ejemplo 21

Membranas de fibra hueca porosa de PVDF hidrofílicas con diferentes diámetros de poro promedio de 15,9 nm, 17,6 nm, 18,0 nm, 19,1 nm, 20,6 nm y 21,2 nm se prepararon modificando la concentración del fluoruro de polivinilideno del ejemplo 15 al intervalo del 43 al 49%, y se preparó un filtro con un área de membrana de 0,01 m². La solución coloidal de oro preparada mediante el procedimiento del ejemplo 20 se filtró utilizando los filtros anteriores con diferente diámetro de poro promedio. Como procedimiento de filtración, el procedimiento frontal se llevó a cabo a una presión de filtración de 98 kPa. La concentración de coloide de oro de fracciones de filtrado de 5 a 10 ml se midió a partir de la absorbancia para calcular el VRL del coloide de oro. Un parvovirus se utilizó como virus indicador, y se añadió a D-MEM que contenía suero fetal bovino al 5% a una concentración de 10⁶⁻⁷ TCID₅₀/ml. La capacidad de eliminación de coloide de oro y la capacidad de eliminación del virus mostraban una buena correlación. Los resultados se muestran en la figura 3. Como resultado, la solución coloidal de oro de la presente invención puede aplicarse a la prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus.

45

50

55

Ejemplo 22

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM y 320 g de agua destilada en un recipiente de reacción. Después de calentar a 70°C mientras se agitaba, se añadieron 16,0 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4,0% y la mezcla se hizo reaccionar durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 37,5 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 9,0 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) para obtener una solución coloidal de oro roja concentrada. 10 g de la solución coloidal de oro concentrada se diluyeron con una

60

65

solución acuosa preparada añadiendo 1,8 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) a 88,2 g de agua destilada para obtener una solución coloidal de oro roja. Un espectro de absorción medido mediante un espectrofotómetro confirmó la absorción máxima que se origina a partir de plasmón de oro a 529 nm. La solución coloidal de oro se secó sobre una malla con una membrana de colodión fijada a ella, a continuación, las partículas coloidales de oro secas se observaron utilizando un microscopio electrónico de transmisión. Las condiciones de dispersión de partículas de oro eran excelentes y el diámetro de partícula promedio de las partículas de oro era de 21 nm.

Ejemplo 23

Un agua destilada (fabricada por Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.), γ -globulina de suero bovino al 3% en peso (fabricada por Invitrogen Corporation) (IgG), y un fluido de lavado que se iban a utilizar se mantuvieron a 25°C por adelantado. La solución de IgG al 3% en peso se prefiltró utilizando un filtro ("Planove 35N" fabricado por Asahi Kasei Pharma Corp.) fabricado a partir de una membrana de fibra hueca porosa de celulosa regenerada con un diámetro de poro promedio de 35 nm. Todas las operaciones de lavado se llevaron a cabo en una cámara con termostato a 25°C.

En primer lugar, una membrana de fibra hueca porosa de PVDF hidrofílica con un diámetro de poro promedio de 15,9 nm se preparó utilizando la resina de fluoruro de polivinilideno del ejemplo 15 a una concentración del 49% en peso. A continuación, se preparó un filtro con un área de membrana de 0,01 m². La IgG al 3% en peso se filtró utilizando el filtro a una presión de filtración de 294 kPa. La filtración continuó hasta que la velocidad de filtración alcanzó 1/5 de la velocidad de filtración inicial, a continuación, el filtro se sometió a filtración inversa con una solución acuosa de ácido cítrico 0,1 M (fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) a una presión de filtración de 195 kPa durante 5 minutos.

A continuación, el filtro se sometió a filtración inversa con una solución de inyección a una presión de filtración de 195 kPa durante 5 minutos para eliminar el fluido de lavado en el filtro. La solución coloidal de oro preparada en el ejemplo 22 se filtró utilizando el procedimiento frontal a presión constante a una presión de 98 kPa. Después de que se hizo fluir a 5 ml de solución coloidal de oro para sustituir al agua en el filtro, los posteriores 5 ml de filtrado se recogieron. La absorbancia a 526 nm del filtrado se midió utilizando un medidor de absorbancia (UV-1700 fabricado por Shimadzu Corp.) para calcular el valor de reducción logarítmica (VRL) del coloide de oro. La absorbancia de un filtro blanco, para el que no se había llevado a cabo filtración de IgG ni lavado, se midió mediante el mismo procedimiento. Como resultado, el VRL del filtro era de 2,03 y el del filtro blanco era de 2,01, confirmando que una prueba de integridad es posible.

Ejemplo 24

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM y 320 g de agua destilada en un recipiente de reacción. Después de calentar a 70°C mientras se agitaba, se añadieron 16,0 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4,0% y la mezcla se hizo reaccionar durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de 500 ppm. Después de que se completó la reacción, la solución de reacción se enfrió durante 15 minutos en un baño de agua. Se añadieron 37,5 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 9,0 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) para obtener una solución coloidal de oro roja concentrada. Se diluyeron 10 g de la solución coloidal de oro concentrada con una solución acuosa preparada añadiendo 1,8 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) a 80 g del agua destilada. El pH de las soluciones diluidas se ajustaron a pH 2,0, pH 3,0, pH 4,0, pH 5,0, pH 7,0, pH 9,0, pH 11,0 y pH 12,0 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. El agua destilada se añadió para conseguir 100 g de la cantidad total de cada solución de pH. Las soluciones coloidales de oro diluidas se filtraron utilizando el procedimiento frontal a presión constante a una presión de 98 kPa. Se hicieron fluir a 5 ml de la solución coloidal de oro diluida para sustituir al agua en el filtro. Los posteriores 5 ml de filtrado se recogieron. La absorbancia a 526 nm del filtrado se midió utilizando un medidor de absorbancia ("UV-1700" fabricado por Shimadzu Corp.) para calcular el valor de reducción logarítmica (VRL) del coloide de oro. Como resultado, se obtuvo un valor del VRL de casi 2,0 en el intervalo de pH 4-11, indicando que la prueba de integridad dará como resultado un valor de VRL constante en este intervalo de pH.

Ejemplo comparativo 9

Una solución coloidal de oro se preparó según el procedimiento descrito en el documento JP-A-08-141388. Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM en un recipiente de reacción. Después de la dilución de 280 g de agua destilada y 39,8 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15", fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), se añadieron 14,9 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4% y la mezcla de reacción se hizo reaccionar a 70°C durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se obtuvo un coloide de oro rojo púrpura concentrado. El coloide de oro resultante era no homogéneo con precipitado de carbón vegetal observándose en la parte inferior visualmente. Esta solución se dividió en dos soluciones. Se añadió una solución de dodecilsulfato sódico a una

solución para la concentración final del 0,27%. Ambas soluciones, una que contenía dodecilsulfato sódico y la otra que no contenía dodecilsulfato sódico, se ajustaron de pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Partes de estas soluciones coloidales de oro se almacenaron en un entorno de 80°C. La diferencia de la longitud de onda de absorción máxima después de tres días desde la del día 0 era mayor de 2,0 nm, lo que indicaba que la solución era inestable. Después de almacenar a temperatura ambiente durante 180 días, la diferencia de la longitud de onda de absorción máxima el 180º día desde la del día 0 era mayor de 2,0 nm, lo que indicaba también que la solución era inestable. No podía obtenerse una solución coloidal de oro homogénea mediante un procedimiento de producción en el que la solución contiene previamente PVP cuando precipitan partículas coloidales de oro. Además, dicha solución era inestable durante almacenamiento a largo plazo independientemente de la adición de dodecilsulfato sódico.

Ejemplo 25

Se colocaron 80 g de una solución acuosa de ácido cloroáurico 6,0 mM y 320 g de agua destilada en un recipiente de reacción. Después de calentar a 70°C mientras se agitaba, se añadieron 16,0 g de una solución acuosa de citrato sódico al 4,0% y la mezcla se hizo reaccionar durante 60 minutos. La concentración de oro en la solución era de aproximadamente 500 ppm. Después de que se completó la reacción, se añadieron 37,5 g de una solución acuosa al 30% de PVP ("K-15" fabricado por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd., peso molecular: 10.000), seguidos por la adición de 9,0 g de una solución de poliacrilato sódico al 40% en peso ("AC-103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.) para obtener una solución coloidal de oro roja concentrada (pH 7,5). A la solución coloidal de oro concentrada se le permitió reposar a 4°C, 25°C o 50°C para confirmar el cambio de la solución coloidal de oro en la longitud de onda de absorción máxima. Como resultado, la diferencia de la longitud de onda de absorción máxima el primer día (día 0) y cada día transcurrido después del día 0 era de -1,5 nm a +1,5 nm. La solución coloidal de oro era estable en el entorno de 4°C, 25°C, y 50°C durante, como mínimo, 90 días. Además, puede esperarse estabilidad durante un año.

Ejemplo 26

Se añadió dodecilsulfato sódico a las soluciones coloidales de oro concentradas a las que se añadió PVP, según el procedimiento del ejemplo 1, para mostrar la concentración del 0,14% o el 1,0%, respectivamente. Las soluciones se ajustaron a pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Las soluciones coloidales de oro concentradas que contenían dodecilsulfato sódico a una concentración del 0,14% o el 1,0% se diluyeron a un décimo utilizando soluciones acuosas de dodecilsulfato sódico a una concentración del 0,14% o el 1,0% para obtener soluciones coloidales de oro diluidas. La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se midió de la misma manera que en el ejemplo 12 para confirmar que la tasa de recuperación utilizando la solución de oro que contenía dodecilsulfato sódico al 0,14% era del 75%. La tasa de recuperación utilizando la solución de oro que contenía dodecilsulfato sódico al 1,0% era del 75% o más.

Ejemplo 27

Se añadió poliacrilato sódico a las soluciones coloidales de oro a las que se añadió PVP según el procedimiento del ejemplo 13 para mostrar una concentración del 0,08%, 2,0% o 3,0%, respectivamente. Se observó precipitado en la solución coloidal de oro a la que se añadió poliacrilato sódico a una concentración del 3,0%. La tasa de recuperación de la prueba de recogida de coloides metálicos se midió de la misma manera que en el ejemplo 15 para confirmar que la tasa de recuperación utilizando la solución coloidal de oro que contenía poliacrilato sódico al 0,08% era del 72%. La tasa de recuperación utilizando la solución coloidal de oro que contenía poliacrilato sódico al 2,0% era del 70% o más.

Ejemplo 28

Según el procedimiento del ejemplo 1, se añadió PVP a las soluciones coloidales de oro concentradas después de que se completó una reacción de reducción para mostrar una concentración del 0,025% o 5,0%, respectivamente, seguido por la adición de dodecilsulfato sódico a una concentración del 0,27%, obteniendo de este modo una concentración del 0,0025% o el 5,0%. Las soluciones se ajustaron de pH 4,7 a pH 5,3 utilizando ácido clorhídrico o hidróxido sódico. Las soluciones coloidales de oro se diluyeron adicionalmente a un décimo utilizando una solución acuosa de dodecilsulfato sódico al 0,27% para obtener soluciones coloidales de oro diluidas que contenían PVP a una concentración del 0,025% o el 0,5%.

TABLA 1

	Día transcurrido (días)			
	0	240	300	360
Ejemplo 1	535,2 nm	534,3 nm	534,8 nm	534,8 nm
Ejemplo comparativo 1	534,1 nm	532,3 nm	532,4 nm	532,6 nm

ES 2 537 513 T3

TABLA 2

	Día transcurrido (días)		
	0	4	6
Ejemplo 2	533,6 nm	533,5 nm	533,6 nm
Ejemplo comparativo 2	534,3 nm	527,6 nm	incapaz de medición debido a la precipitación

TABLA 3

pH	Ejemplo 3			Ejemplo comparativo 3		
	Día transcurrido (días)		Diferencia de longitud de onda de absorción máxima el día 180 desde la del día 0	Día transcurrido (días)		Diferencia de longitud de onda de absorción máxima el día 180 desde la del día 0
	0	180		0	180	
2	530,2 nm	530,8 nm	+0,6 nm	524,9 nm	No podía medirse	No podía medirse
3	530,2 nm	530,8 nm	+0,6 nm	524,6 nm	524,5 nm	-0,1 nm
4	529,8 nm	530,2 nm	+0,4 nm	523,8 nm	523,8 nm	+0,0 nm
5	529,8 nm	529,9 nm	+0,1 nm	523,6 nm	524,1 nm	+0,5 nm
7	529,7 nm	529,2 nm	-0,5 nm	523,4 nm	525,7 nm	+2,3 nm
9	529,4 nm	529,0 nm	-0,4 nm	523,3 nm	525,4 nm	+2,1 nm
11	528,9 nm	528,8 nm	-0,1 nm	522,9 nm	525,5 nm	+2,6 nm

5

TABLA 4

pH	Ejemplo 4	Ejemplo comparativo 4
2	Precipitó cuando se añadía cloruro cálcico hasta 0,2 M	Precipitó cuando se añadía cloruro cálcico hasta 0,04 M o menos
3		
4		
5	No precipitó cuando se añadía cloruro cálcico hasta 0,2 M	
7		
9		
11		

TABLA 5

Ejemplo 6		Ejemplo comparativo 5	
pH	VRL	pH	VRL
2	0,96	2	1,22
3	1,45	3	1,34
4	1,85	4	1,54
5	2,13	5	1,76
7	2,11	7	2,64
9	2,06	9	2,92
11	2,28	11	3,00

TABLA 6

Procedimiento de lavado	pH después del último lavado	Tasa de recuperación del agua de penetración (%)	VRL del coloide de oro
Lavar con agua, con NaOH+SDS, con HCl, y a continuación con agua	5,3	97	2,1
Lavar con agua, con NaOH+SDS, y a continuación con agua	9,45	98	2,1
Sin filtración de proteínas y lavado	-	100	2

10

TABLA 7

Ejemplo 9	
pH	VRL
2	1,40
3	1,86
4	2,25
5	2,34
7	2,36
9	2,36
11	2,38

TABLA 8

	Surfactante o agente quelante	Dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N	Material de la membrana porosa	Tasa de recuperación del coloide de oro (%)
Ejemplo 12	Dodecilsulfato sódico (SDS)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de celulosa regenerada	83,0
Ejemplo 14	Poliacrilato sódico ("JURYMER AC103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de celulosa regenerada	94,6
Ejemplo 15	Poliacrilato sódico ("JURYMER AC103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	94,7
Ejemplo 16	Copolímero de acrilato sódico-metacrilato sódico ("JURYMER AC230" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	93,5
Ejemplo 17	Tripolifosfato sódico ("STPP" fabricado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	97,5
Ejemplo 18	Etilendiaminotetraacetato disódico ("EDTA-2Na" fabricado por Dojindo Laboratories Co., Ltd)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	87,4
Ejemplo 19	Poliacrilato sódico ("JURYMER AC103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Membrana plana de PVDF hidrofiliada	99,7
Ejemplo comparativo 6	Dodecilsulfato sódico (SDS)	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	No podía medirse
Ejemplo comparativo 7	Ninguno	Poli(vinilpirrolidona) ("K-15" fabricada por Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd.)	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	55,4
Ejemplo comparativo 8	Poliacrilato sódico ("JURYMER AC103" fabricado por Nihonjunyaku Co., Ltd.)	Ninguno	Fibra hueca de PVDF hidrofiliada	No podía medirse

5 APLICABILIDAD INDUSTRIAL

La solución coloidal dada a conocer en el presente documento muestra una excelente estabilidad en almacenamiento, estabilidad a pH, y similares, y es útil como partículas sustitutas de virus para una prueba de integridad para una membrana de eliminación de virus.

REIVINDICACIONES

1. Utilización de una solución coloidal de partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, en la que dicha solución coloidal comprende, como mínimo,
- 5 (1) partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico que tienen un diámetro de partícula promedio de 1 a 100 nm,
 (2) un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N,
 (3) agua y/o un disolvente orgánico soluble en agua, y
 (4) un surfactante y/o un agente quelante
- 10 y teniendo dicha solución coloidal las siguientes propiedades (a) y (b):
 (a) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -2,0 nm a +2,0 nm antes y después de ser almacenada a temperatura ambiente durante 180 días a un pH constante en un intervalo de pH 4 a pH 11, y
 (b) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -1,3 nm a +2,0 nm
- 15 antes y después de ser almacenada a 50°C durante un año a pH 5,
 para poner a prueba la integridad de una membrana de eliminación de virus.
2. Utilización, según la reivindicación 1, en la que el grupo N del dispersante de alto peso molecular soluble en agua comprendido en la solución coloidal es un grupo pirrolidona.
- 20
3. Utilización, según la reivindicación 1, en la que el surfactante comprendido en la solución coloidal es un surfactante aniónico.
4. Utilización, según la reivindicación 1, en la que dicha solución coloidal comprende, como mínimo, coloides metálicos o compuestos coloidales metálicos que tienen un diámetro de partícula promedio de 15 a 40 nm y el porcentaje de variación de la distribución del diámetro de partícula del 27% o menos, y que tienen la siguiente propiedad (c):
- 25
- (c) en la solución coloidal alcanzar una tasa de recuperación de coloide del 70% o más cuando la solución coloidal se filtra a través de una membrana porosa de prueba de recogida y cumplir las siguientes condiciones:
- 30 (diámetro de poro promedio de la membrana porosa de la prueba de recogida, nm) – (diámetro de partícula promedio del coloide, nm) > 10 nm.
5. Procedimiento para producir una solución coloidal utilizada en una prueba de integridad de una membrana de eliminación de virus, en el que dicha solución coloidal comprende, como mínimo
- (1) partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico que tienen un diámetro de partícula promedio de 1 a 100 nm,
- 40 (2) un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N,
 (3) agua y/o un disolvente orgánico soluble en agua, y
 (4) un surfactante y/o un agente quelante
- y comprendiendo dicho procedimiento añadir dispersante de mayor peso molecular soluble en agua que contiene un grupo pirrolidona a la solución coloidal de las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico, y añadir además un surfactante aniónico y/o un agente quelante, en el que dichas partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico tienen las siguientes propiedades:
- 45 a) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -2,0 nm a +2,0 nm antes y después de ser almacenadas a temperatura ambiente durante 180 días a un pH constante en un intervalo de pH 4 a pH 11 y
 (b) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -1,3 nm a +2,0 nm
- 50 antes y después de ser almacenadas a 50°C durante un año a pH 5.
6. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que el grupo N del dispersante de alto peso molecular soluble en agua contenido en la solución coloidal es un grupo pirrolidona.
- 55
7. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que el surfactante contenido en la solución coloidal es un surfactante aniónico.
8. Procedimiento, según la reivindicación 5, en el que las partículas metálicas o partículas de compuesto metálico tienen un diámetro de partícula promedio de 15 a 40 nm y el porcentaje de variación de la distribución del diámetro de partícula del 27% o menos, y tienen la siguiente propiedad (c):
- 60 (c) en la solución coloidal alcanzar una tasa de recuperación de coloide del 70% o más cuando la solución coloidal se filtra a través de una membrana porosa de prueba de recogida y cumplir las siguientes condiciones:
- 65 (diámetro de poro promedio de la membrana porosa de la prueba de recogida, nm) – (diámetro de partícula promedio del coloide, nm) > 10 nm.

- 5 9. Procedimiento para producir una solución coloidal, según las reivindicaciones 5 u 8, que comprende disolver un compuesto metálico en un disolvente, hacer que se formen las partículas metálicas reduciendo el compuesto metálico, a continuación, añadir un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, y añadir además un surfactante y/o un agente quelante.
10. Procedimiento para poner a prueba la integridad de una membrana de eliminación de virus para confirmar el rendimiento de capacidad de eliminación de la membrana de eliminación de virus, que comprende:
 lavar una membrana porosa que se utilizó como membrana de eliminación de virus,
 10 filtrar una solución coloidal y, a continuación, determinar el rendimiento de capacidad de eliminación de la membrana de eliminación de virus, en base a la relación de absorbancia a la longitud de onda de absorción máxima de la solución coloidal, medida antes y después de la filtración,
 en el que se hace que la solución coloidal de partículas metálicas o partículas de compuesto metálico sea filtrada a través de la membrana de eliminación de virus que se utilizó para eliminación de virus, en el que la solución coloidal
 15 contiene, como mínimo
 (1) partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico que tienen un diámetro de partícula promedio de 1-100 nm,
 (2) un dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene un grupo N, y
 (4) un surfactante y/o un agente quelante
 20 y tiene las siguientes propiedades (a) y (b):
 (a) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -2,0 nm a +2,0 nm antes y después de ser almacenada a temperatura ambiente durante 180 días a un pH constante en un intervalo de pH 4 a pH 11, y
 (b) mostrar un cambio de la longitud de onda de absorción máxima en el intervalo de -1,3 nm a +2,0 nm antes y
 25 después de ser almacenada a 50°C durante un año a pH 5.
11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que el grupo N del dispersante de alto peso molecular soluble en agua contenido en la solución coloidal es un grupo pirrolidona.
- 30 12. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que el diámetro de partícula promedio de las partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico es de 15 a 40 nm y la variación porcentual de la distribución del diámetro de partícula es del 27% o menos.
- 35 13. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que el surfactante es un surfactante aniónico.
14. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que la membrana de eliminación de virus es una membrana porosa de tipo celulosa.
- 40 15. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que la membrana de eliminación de virus es una membrana polimérica sintética que comprende un polímero termoplástico que tiene una superficie hidrofílica y la solución coloidal contiene un agente quelante.
- 45 16. Procedimiento, según la reivindicación 15, en el que el polímero termoplástico es fluoruro de polivinilideno o poliétersulfona.
- 50 17. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 16, que alcanza una tasa de recuperación de coloide del 70% o más cuando la solución coloidal se filtra a través de una membrana porosa de la prueba de recogida, hecha del mismo material que la membrana de eliminación de virus y que cumple las siguientes condiciones:
 (diámetro de poro promedio (nm) de la membrana porosa de prueba de recogida) – (diámetro de partícula promedio (nm) del coloide) > 10 nm.
- 55 18. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 17, en el que las partículas metálicas comprenden, como mínimo, uno de oro, plata, platino, rodio, paladio, rutenio, iridio, osmio, hierro y cobre.
- 60 19. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 18, en el que el diámetro de partícula promedio de partículas metálicas o partículas de un compuesto metálico es de 15 a 40 nm y el porcentaje de variación de la distribución del diámetro de partícula es del 27% o menos.
20. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 19, en el que el dispersante de alto peso molecular soluble en agua que contiene el grupo pirrolidona es poli(vinilpirrolidona) o un copolímero de poli(vinilpirrolidona).
- 65 21. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 20, en el que el surfactante es ácido dodecilsulfúrico o su sal.

22. Procedimiento, según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 20, en el que el agente quelante comprende, como mínimo, uno de ácido tripolifosfórico, ácido poliacrílico, copolímero de ácido poliacrílico, ácido etilendiaminotetraacético y sales de los mismos.

5

23. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que la solución coloidal se filtra después de que la membrana es lavada utilizando una solución alcalina, pero no se neutraliza con un ácido.

10

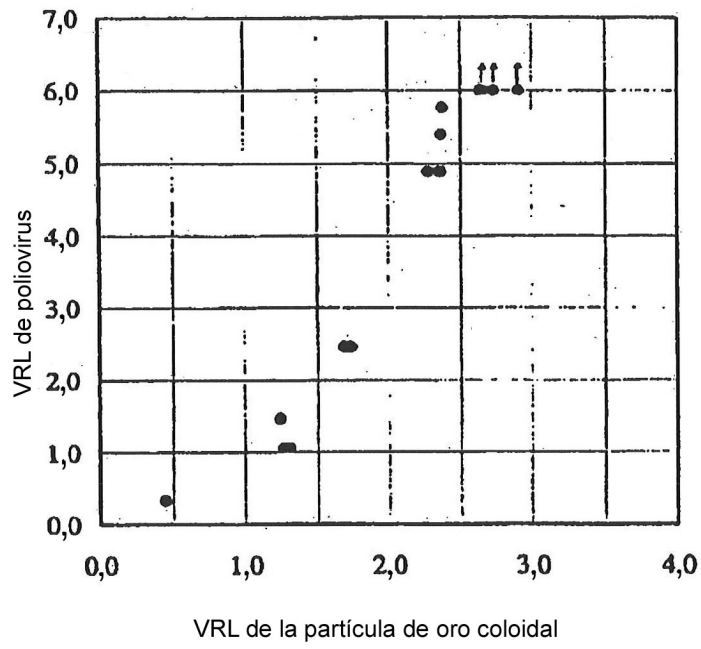


Fig. 1

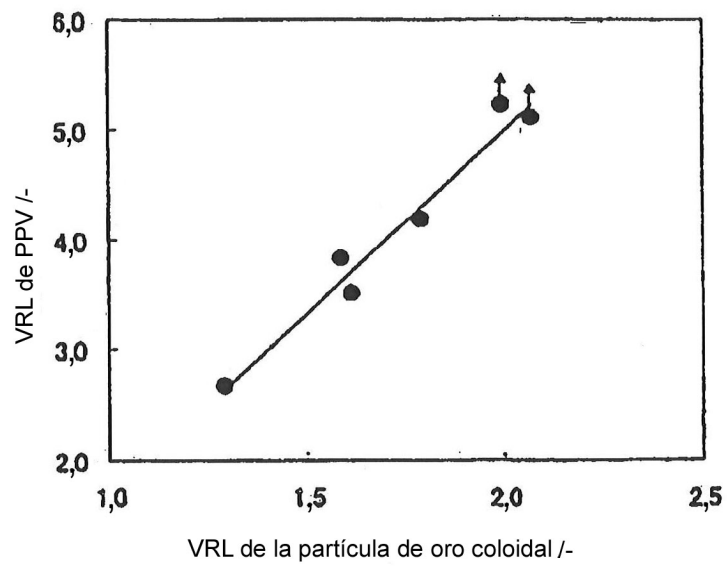


Fig. 2

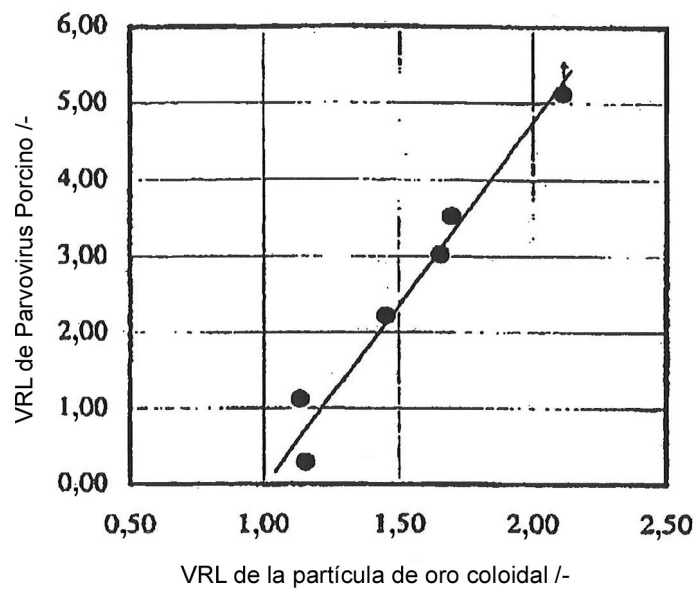


Fig. 3