

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 758 739**

51 Int. Cl.:

C12M 1/08 (2006.01)

C12M 1/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2013 PCT/EP2013/053390**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.08.2013 WO13124326**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2013 E 13707318 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019 EP 2817406**

54 Título: **Separador desechable para la retención y recirculación de células**

30 Prioridad:

20.02.2012 EP 12001121

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

06.05.2020

73 Titular/es:

**BAYER AKTIENGESELLSCHAFT (100.0%)
Kaiser-Wilhelm-Allee 1
51373 Leverkusen, DE**

72 Inventor/es:

**KAULING, JOERG;
SELETZKY, JURI;
MAGNUS, JORGEN;
PASTOR, ANDRE y
BROD, HELMUT**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 758 739 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

Separador desechable para la retención y recirculación de células

5 La invención se refiere a un separador desechable para la retención y recirculación de células en una bolsa de plástico atravesada de manera continua o intermitente, que puede accionarse preferentemente fuera de un biorreactor. La invención se refiere además a un procedimiento para la retención y recirculación de células dentro o fuera del biorreactor de acuerdo con la invención. Asimismo, la invención se refiere a un procedimiento para la producción del separador de acuerdo con la invención.

10 El cultivo de células vegetales y animales tiene gran importancia en la producción de sustancias biológicamente activas y productos farmacéuticamente activos. En particular el cultivo de células, que se lleva a cabo con frecuencia en un medio de cultivo en suspensión libre es exigente, porque las células en oposición a los microorganismos son muy sensibles en cuanto a un esfuerzo de cizallamiento mecánico y abastecimiento insuficiente de nutrientes.

15 Generalmente se cultivan líneas celulares animales y vegetales intermitentemente. Esto tiene la desventaja de que un abastecimiento de las células óptimo a consecuencia de las concentraciones de sustrato, producto y biomasa continuamente variables solamente puede alcanzarse con dificultad. Al final de la fermentación además se enriquecen productos secundarios, por ejemplo constituyentes de células muertas, que generalmente han de eliminarse con gran esfuerzo en el tratamiento posterior. Por los motivos mencionados, en particular también en la producción de productos inestables, que pueden resultar dañados, por ejemplo, mediante intervenciones proteolíticas, se usan por lo tanto biorreactores accionados de manera continua.

20 Con biorreactores continuos pueden alcanzarse altas densidades celulares y una alta productividad relacionada con ello, cuando se cumplen los siguientes requisitos:

- un abastecimiento suficiente y con bajo cizallamiento de las células con sustratos, en particular el oxígeno disuelto,
- una eliminación suficiente del dióxido de carbono generado en la respiración,
- un sistema de retención celular efectivo, de bajo cizallamiento, seguro ante la obturación para el establecimiento de altas concentraciones celulares,
- 25 • la estabilidad de larga duración (esterilidad, hidrodinámica) del biorreactor y del sistema de retención.

30 Además del funcionamiento continuo puede usarse un biorreactor con un sistema de retención celular eficiente por ejemplo también para el cultivo de precultivos con densidades celulares especialmente altas. Se usa entonces el sistema de retención celular de manera discontinua en el modo discontinuo repetido para retirar el sobrenadante de cultivo celular casi libre de biomasa. Después el reactor de precultivo puede llenarse de nuevo con medio de cultivo reciente, para llevar el cultivo de esta manera a densidades celulares superiores al funcionamiento simple intermitente.

Para que pueda alcanzarse una alta densidad celular (> 20 millones de células vivas por mililitro) en un biorreactor de funcionamiento continuo es necesaria una retención eficiente de las células. El grado de retención necesario depende a este respecto de la tasa de crecimiento de las células y de la tasa de perfusión q/V (caudal de medios q por volumen de biorreactor V).

35 En el pasado se propusieron diferentes sistemas de retención celulares para biorreactores de funcionamiento continuo, que se disponen generalmente fuera del biorreactor. El motivo de ello es la fácil accesibilidad del sistema de retención celular para fines de mantenimiento y de limpieza.

40 Para que los daños de las células en particular debido a un abastecimiento de oxígeno insuficiente y eliminación de dióxido de carbono fuera del biorreactor así como una degradación de principio activo por ataques enzimáticos sean lo más pequeños posible, son deseables sistemas de retención celulares con pequeños volúmenes de trabajo y cortos tiempo de permanencia relacionados con ello.

Además de filtros de membrana, aparatos que funcionan según el principio de la filtración de corriente transversal con membranas estacionarias y móviles, se emplean en el estado de la técnica centrífugas y separadores gravitacionales especiales.

45 En el caso de la retención celular con ayuda de filtros de membrana se observan depósitos o suciedad, que pueden impedir un funcionamiento de larga duración fiable y sin mantenimiento. Los depósitos pueden reducirse cuando las superficies de membrana se cubren de flujo de manera suficientemente rápida. Esto puede alcanzarse en funcionamiento estacionario u oscilante. Un ejemplo de un sistema de membrana cubierto de flujo de manera oscilante es el sistema de flujo tangencial alternante (Alternating Tangential Flow ATF) de la empresa Refine Technologies Inc.). Sin embargo, el que las superficies de membrana se cubran rápidamente de flujo se opone a la condición básica para un cultivo celular con bajo cizallamiento.

50 Las centrífugas de bajo cizallamiento para la separación de células en el campo centrífugo trabajan solamente durante pocas semanas sin esfuerzo de mantenimiento y hacen necesario un cambio de los elementos de centrífuga. Con ello

se aumenta el riesgo de contaminaciones.

Los separadores gravitacionales usados predominantemente en el cultivo de células son contenedores de sedimentación y separadores de canal inclinado. Comparado con contenedores de sedimentación sencillos, los separadores de canal inclinado en grandes escalas tienen la ventaja de un volumen considerablemente menor en relación con la superficie de separación. Una publicación previa (Henzler, H.-J., *Chemie-Technik*, 1, 1992, 3) describe la retención celular en separadores de canal inclinado, que pueden hacerse funcionar en contracorriente, corriente cruzada y corriente continua. La sección transversal de canal atravesada puede estar provista con placas o tubos. Los documentos de patente US 5.817.505 y EP 0 699 101 B1 reivindican el empleo de separadores de canal inclinado para la retención de células en separadores de corriente. En el documento WO2003020919 A2 se describen entre otros separadores de contracorriente y corriente cruzada, así como combinaciones con distintos separadores previos (por ejemplo hidrociclones) para la retención de células.

Los separadores de canal inclinado se conectan a través de un circuito externo al biorreactor. Para ello son necesarios conductos de tubo flexible y bombas.

Para evitar la actividad metabólica y la adhesión de células en un separador gravitacional se propone enfriar el caldo de cultivo celular en su camino a los separadores gravitacionales. Una actividad metabólica reducida a baja temperatura es seguramente ventajosa en el caso de una permanencia más larga de las células fuera del biorreactor.

El documento DE1022353 divulga un procedimiento para la separación de células no adherentes de células adherentes mediante el uso de la adherencia selectiva y la fuerza de la gravedad, evitándose esencialmente en la separación la aparición de fuerzas de cizallamiento.

El documento WO2009152990(A2) describe un sistema de retención celular para la retención y recirculación de células en un recipiente por el que circula flujo que comprende una pluralidad de canales dispuestos uno junto a otro, en el que los canales forman un cilindro hueco vertical y están inclinados con respecto al eje longitudinal del cilindro hueco en un ángulo β entre 10° y 60° . El recipiente por el que circula flujo puede ser un biorreactor o un recipiente conectado con un biorreactor para la retención y recirculación celular. Los canales están abiertos en el extremo inferior. En el extremo superior conducen hacia un espacio anular común, que dispone de al menos un conducto a través del cual pueden transportarse una corriente de cosecha desde el recipiente. En los canales tiene lugar la separación de células y solución de cultivo celular. Mediante la toma continua de la corriente de cosecha desde el biorreactor se aspiran solución de cultivo celular y células hacia los canales. Las células sedimentan dentro de los canales dispuestos inclinados y resbalan como en los separadores de canal inclinado clásicos en contracorriente hacia la corriente de cosecha de admisión de nuevo saliendo de los canales y permanecen por ello en el recipiente. La solución de cultivo celular separada de las células se transporta a través de los canales hacia el espacio anular por encima de los canales y finalmente desde el recipiente.

En el caso de la producción farmacéutica muy regulada se suprime un gran gasto de tiempo, técnico y de personal en la preparación de biorreactores y elementos de biorreactor limpios y esterilizados tales como, por ejemplo, sistemas de retención celulares. Para evitar de manera segura contaminaciones cruzadas en el caso de un cambio de producto en una instalación multiuso o entre dos lotes de producto, además de la limpieza se requiere una validación de limpieza muy complicada que debe repetirse dado el caso en el caso de una adaptación de proceso. Para la limpieza y esterilización de lotes convencionales, lote alimentado o fermentadores de perfusión de acero fino se emplean por regla general la técnica de limpieza en situ (Clean-in-Place CIP) en combinación con la técnica de vapor en situ (Steam-in-Place SIP) en las llamadas instalaciones firmemente entubadas. Para garantizar una estabilidad de larga duración suficiente en una dirección de proceso continua se usa también la técnica de autoclave, que sin embargo requiere un transporte complicado de los reactores o elementos de reactor hacia el autoclave y solamente puede aplicarse en escalas de reactor comparativamente pequeñas. El peligro de la contaminación es particularmente crítico en el uso de piezas de desgaste que envejecen, por ejemplo árboles agitadores compactados, esterilización inadecuada o transporte de la instalación, la puesta en marcha o la unión de conductos de unión después del tratamiento en autoclave y la toma de muestras regular.

En el caso de instalaciones CIP/SIP usadas en el modo discontinuo o discontinuo alimentado, la avería en el uso de un reactor condicionada por los procedimientos de provisión, en particular en el cambio de producto frecuente a consecuencia de los cortos periodos de uso puede situarse en el orden de magnitud de la disponibilidad de reactor.

Para cumplir con el requisito de un reequipamiento rápido y flexible de la instalación de producción, garantizando máxima limpieza y esterilidad, los conceptos para reactores desechables gozan en el mercado de un interés constantemente creciente.

Por lo tanto, partiendo del estado de la técnica se plantea el objetivo de proporcionar un método eficiente para la retención y recirculación de células animales, en particular humanas, y vegetales en un procedimiento de funcionamiento continuo o intermitente, que considere la sensibilidad de la células en cuanto al esfuerzo de cizallamiento mecánico y el suficiente abastecimiento de la células con nutrientes, que sea escalable a escalas muy grandes, que cumpla con los requisitos de la técnica de mantenimiento, limpieza y esterilización de la industria farmacéutica, cuyo uso rebaje la complejidad y el riesgo de errores, y que posibilite con una utilización mínima de

recursos un aprovechamiento óptimo desde el punto de vista económico y ecológico (producción y eliminación) como sistemas desechables.

El objetivo mencionado anteriormente se consiguió mediante un separador de células desechable para la retención y recirculación de células a partir de una mezcla de biorreactor, que comprende una bolsa de plástico esterilizable, que puede atravesarse por flujo, que puede tratarse en autoclave con preferentemente irradiación gamma según el estado de la técnica, que esterilizable químicamente o una botella de plástico que puede tratarse de manera correspondiente con los siguientes elementos fijos:

- 5 - en la zona superior de la bolsa de plástico o de la botella de plástico uno o varios pasajes/elementos fijos (80) para extraer un flujo de cosecha separado de las células (70) (=Harvest) a partir de una zona de recogida de un flujo de cosecha 56
- 10 - en el segmento superior de una zona central de la bolsa de plástico una zona de separación que comprende una superficie de separación (500) o un paquete de láminas (1) que contiene la superficie de separación, que durante el funcionamiento está inclinada con un ángulo ($10 = \beta$ de 0° a 80° con respecto a la horizontal,
- 15 - en el segmento inferior de la zona central de la bolsa de plástico o de la botella de plástico uno o varios pasajes o elementos fijos (84), opcionalmente con distribuidores horizontales (85), para la distribución de flujo horizontal uniforme de la solución de cultivo celular (=Feed) (74) a través de una superficie de introducción (510),
- en la zona inferior de la bolsa de plástico o de la botella de plástico una zona de recogida de sólidos estrechada cónicamente por abajo (57) para recoger der células con ayuda de la fuerza de la gravedad. Habitualmente, la zona de recogida de sólidos (57) presenta uno o varios pasajes (89) o elementos fijos (88) para extraer las células.

20 Por lo tanto, es objeto de la invención un separador de sólidos para la retención de sólidos a partir de una mezcla de reactor, que comprende una bolsa de plástico o botella de plástico esterilizable atravesada por flujo y dentro de la bolsa de plástico o de la botella de plástico:

- en la zona superior uno o varios pasajes/elementos fijos (80) para extraer un flujo de cosecha (70) separado de los sólidos a partir de una zona de recogida de un flujo de cosecha (56),
- 25 - en el segmento superior de una zona central una zona de separación (1, 501) con una superficie de separación, que durante el funcionamiento está inclinada con un ángulo ($10 = \beta$ de 0° a 80° con respecto a la horizontal,
- en el segmento inferior de la zona central uno o varios pasajes o elementos fijos (84), opcionalmente con distribuidores horizontales (85), para la distribución de flujo horizontal uniforme de la mezcla de reactor (74),
- 30 - en la zona inferior una zona de recogida de sólidos (57) estrechada hacia abajo, habitualmente de manera cónica o piramidal, para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad.

Habitualmente, la zona de recogida de sólidos (57) presenta uno o varios pasajes (89) o elementos fijos (88) para extraer los sólidos. Con ello pueden recircularse los sólidos, en caso necesario, al reactor.

Preferentemente, la zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo presenta un ángulo 58, 59 de 10° a 60° con respecto a la vertical, seleccionándose individualmente los ángulos 58 y 59.

35 La forma de la zona de recogida de flujo de cosecha 56 puede ser aleatoriamente en particular plana o estrechada hacia arriba.

Habitualmente, la bolsa de plástico o la botella de plástico se realiza a partir de un material polimérico transparente de una o más capas, que permite una vista en el dispositivo durante el funcionamiento.

40 El material polimérico de la bolsa de plástico permite, con pequeños grosores de película habituales de $s < 1$ mm, aparatos con un porcentaje de masa relativamente pequeño. Es económico de crear y procesar, lo que es muy adecuado para la construcción de sistemas desechables. La eliminación de los separadores usados y el uso de nuevo separador desechable es por lo tanto más económica que la limpieza de dispositivos de separación usados, en particular dado que con el uso de separadores desechables se suprime una limpieza cara con agua para inyecciones (Water for Injections, WFI) y la validación de la limpieza que requiere mucho tiempo. El separador de acuerdo con la invención está montado de manera adecuada preferentemente para la unión con el sistema de biorreactor a través de conducciones de tubo flexible con elementos de unión acoplables de manera estéril correspondientemente y elementos de filtro y envasado de manera estéril.

45 Como materiales para la bolsa de plástico son adecuados en particular los materiales y combinaciones de materiales usados en el documento de patente US 6.186.932 B1 en las columnas 2 y 3 para las bolsas de transporte allí mencionadas (*sachets*). También los espesores de pared allí expuestos pueden transmitirse al dispositivo de separación de acuerdo con la invención.

50 En una forma de realización preferida, las paredes de la bolsa de plástico se componen de un material compuesto de

lámina conocido por el experto en la materia de dos o varias capas (material laminado o coextruido), para mejorar las propiedades de la bolsa de plástico con respecto al comportamiento de desplegado, comportamiento de dilatación, difusión de gases, estabilidad, compatibilidad de proceso (adsorción mínima de productos y células) y soldabilidad.

5 El separador de sólidos de acuerdo con la invención con bolsa de plástico de láminas de polímero puede producirse por ejemplo según el procedimiento descrito en el documento US 6.186.932 B1, teniendo que adaptarse el cordón de soldadura. Ejemplos de realización para la producción de formas de realización preferida del dispositivo de separación de acuerdo con la invención se describen más adelante.

10 Los pasajes se producen habitualmente a partir del mismo material del que se compone también la lámina en contacto con el producto, para permitir con esta una soldadura correcta desde el punto de vista de la técnica de esterilización y resistencia. Un material de película en contacto con producto preferido es polietileno de distinto grado de reticulación conocido por el experto en la materia. Como láminas de revestimiento exterior se emplean, en función del empleo y requisito de proceso, distintos materiales conocidos por el experto en la materia con un punto de fusión aumentado con respecto a la lámina interior para el empleo de procedimientos de soldadura térmicos y/o mejores propiedades de resistencia y/o de difusión.

15 Habitualmente, los elementos fijos 80, 88 y 84 son pasajes soldados, a los que pueden conectarse conducciones, preferentemente tubos flexibles para la unión con el biorreactor u otras instalaciones externas. Como alternativa, los pasajes para el paso de las conducciones de conexión pueden incorporarse en una o varias placa(s) de conexión, tapa o tapón.

20 En una forma de realización especial del separador de acuerdo con la invención, en la zona superior en la pared de la bolsa de plástico (tetraedro) o en un vértice (cubo) se encuentran una o varias placas de conexión 90, preferentemente una, que también puede ser una tapa, que contiene los pasajes para el paso de las conducciones de conexión y en la zona de la conexión permite una sujeción del separador. Se conecta habitualmente durante el montaje con la carcasa del separador.

25 Como alternativa, en el extremo de la zona de recogida de sólidos estrechada 57 en un cuello, puede estar incorporada una tapa o un tapón 220. La tapa o tapón comprenden, en esta forma de realización, los pasajes para el paso de las conducciones de conexión.

30 La extracción de los sólidos de la zona de recogida de sólidos 57 tiene lugar habitualmente a través de uno o varios pasajes o elementos fijos 88 cerca de las puntas inferiores del separador. El elemento fijo 88 está conectado habitualmente con el biorreactor, en el que se recirculan las células recogidas por la caída de presión o por bombeo. Preferentemente, el elemento fijo 88 se usa para la aspiración vertical central. Esto simplifica la producción y la colocación del separador en su recipiente para el funcionamiento. También la extracción puede tener lugar también a través de un pasaje soldado en las puntas del separador o a través de un pasaje incorporado en una tapa o tapón.

35 **En una primera forma de realización** de la presente invención, la zona de separación se compone de una pluralidad de canales dispuestos uno junto a otro en un paquete de láminas 1, preferentemente producidos a partir de varias placas con nervios apiladas una sobre otra, que forman los canales del paquete de láminas 1. Preferentemente se usan placas de plástico. Los canales están abiertos en el extremo inferior y en el extremo superior. En el extremo inferior, los canales conducen a la superficie de introducción a través de la zona de recogida de sólidos 57 común estrechada hacia abajo, en particular de manera cónica o piramidal, hacia abajo. En el extremo superior llevan a una zona de recogida de flujo de cosecha común 56, que dispone de al menos un pasaje 80, a través del cual puede transportarse el flujo de cosecha desde el recipiente.

40 En los canales tiene lugar la separación de células y solución de cultivo celular. Mediante la toma continua de la corriente de cosecha desde el biorreactor se aspiran solución de cultivo celular y células hacia los canales. En el segmento inferior de la zona central de la bolsa de plástico o de la botella de plástico se incorporan uno o varios pasajes o elementos fijos 84 para la distribución de flujo horizontal uniforme de la mezcla de reactor 74. Se pretende una distribución de flujo horizontal uniforme de la solución de cultivo celular (=Feed) 74 a través de una superficie de introducción 510. Habitualmente, en función de la anchura del paquete de láminas, se incorpora de uno a cuatro pasajes con puertos rectos a la misma altura en la pared de la bolsa de plástico o de la botella de plástico. En función de la altura y la distancia entre tales pasajes pueden ser ventajosos distribuidores horizontales 85 como elementos fijos.

45 Las células sedimentan dentro de los canales dispuestos de manera inclinada, resbalan tal como en los separadores de canal inclinado clásicos en contracorriente hacia el flujo de cosecha afluente de nuevo desde los canales y se recogen en la zona de recogida de sólidos estrechada cónicamente 57. Habitualmente, la zona de recogida de sólidos 57 dispone de uno o varios pasajes/elementos fijos 88/89, conectados con el biorreactor para la aspiración de las células recogidas y la recirculación al biorreactor.

55 Los canales del paquete de láminas 1 pueden tener una sección transversal angular, elíptica, redonda o semirredonda (Figura 4).

Las dimensiones de los canales (número, diámetro, longitud) depende en cada caso del tipo de las células que van a

retenerse, el tamaño del biorreactor y el caudal.

La anchura de canal d se encuentra preferentemente en $d \geq 1$ mm, para impedir una obturación de los canales. En una forma de realización preferida, se emplean canales con una anchura de canal de 3 mm a 100 mm, preferentemente de 4 mm a 20 mm, de manera especialmente preferente de 5 -7 mm, para evitar de manera segura, por un lado estados de bloqueo, pero, por otro lado, mantener lo más posible la relación en volumen que disminuye el rendimiento espacio-tiempo del espacio de separador y biorreactor.

La superficie de separación A_{erf} necesaria resulta de la velocidad de sedimentación w_s , de la tasa de perfusión q/V (caudal medio q por volumen de biorreactor V) y el volumen de biorreactor según la Eq. 1. Una eficiencia η tiene en cuenta la disminución de potencia o diferencia de potencia de separadores de canal inclinado con respecto a separadores verticales (Eq. 2).

La superficie de separación teórica A_{th} en secciones transversales rectangulares y cilíndricas puede determinarse por aproximación según planteamientos publicados en la bibliografía (H.-J. Binder, Sedimentación de suspensiones mono- y polinucleares en tubos rectangulares erguidos verticalmente, atravesados pro flujo laminar, tesis doctoral Berlín, 1980) a partir de las Eq. 3 y 4:

$$A_{erf} = \frac{\text{tasa de perfusión} \cdot V}{wv} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$A_{th} = \frac{A_{erf}}{\eta} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Rectángulo: } A_{th} \approx Z \cdot \text{sen}(\beta) \cdot d \cdot L \quad (\text{Eq. 3})$$

$$\text{Cilindro: } A_{th} \approx \frac{3 \cdot \pi}{16} \cdot Z \cdot \text{sen}(\beta) \cdot d \cdot L \quad (\text{Eq. 4})$$

En este sentido, Z es el número de canales, β el ángulo que están inclinados los canales con respecto a la dirección de la fuerza de la gravedad, d el diámetro interno y L la longitud de los canales. π es la constante del círculo ($\pi = 3,14159\dots$).

En el caso de las dimensiones de la longitud de canal ha de tenerse en cuenta mantener las condiciones de flujo laminar (número de Reynolds $Re < 2300$). La longitud de canal L depende de la longitud de la dimensión interior de bolsa disponible (= longitud de la bolsa LK). La longitud LK que va a realizarse de la bolsa depende del nivel de llenado que va a realizarse en la bolsa de plástico y presiones hidrostáticas que van a realizarse en la bolsa de plástico. Presiones hidrostáticas demasiado grandes pueden darse, dado el caso, en alojamientos dimensionados correspondientemente, no en contacto con el producto y, por lo tanto, reutilizables.

La presión dinámica en el sitio de extracción de flujo de cosecha (=pasajes/elementos fijos 80) será a este respecto al menos de 5 a 10 veces menor que la pérdida de presión en los canales, para excluir el fenómeno de disminución de la eficiencia de la mala distribución. Pérdidas de presión suficientes han de considerarse, en el caso de la longitud de canal a partir de 0,1 m, como técnicamente realizables, mientras que se realizan preferentemente longitudes de canal de 0,2 m a 5 m, de manera especialmente preferente longitudes de canal de 0,4 m a 2 m.

Habitualmente, las longitudes de canal L ascienden a del 30 % al 95 %, de manera especialmente preferente del 60 % al 90 % de la longitud LK de la bolsa de plástico o botella de plástico.

Longitudes de canal L cortas pueden conducir a problemas de distribución debidos a pérdidas de presión reducidas, lo que puede requerir, en particular en el caso de la disminución del flujo de cosecha a partir de la zona de recogida de flujo de cosecha superior 56 un dispositivo de distribución para la reducción de las velocidades de extracción. Opcionalmente, por lo tanto, los pasajes/elementos fijos 80 presentan inversores de flujo 81 para una extracción homogeneizada del flujo de cosecha 70 separado de las células (=Harvest) a partir de una zona de recogida de un flujo de cosecha 56.

El separador de acuerdo con la invención puede comprender habitualmente de 1 a 10^6 canales, preferentemente de 10 a 100.000, de manera especialmente preferente de 10 a 10.000. Los canales están distribuidos, dado el caso, a través de una o varias placas con nervios en un paquete de láminas 1 para la optimización de la necesidad de espacio. Preferentemente, el paquete de láminas 1 comprende de 1 a 400 placas con nervios, de manera especialmente preferente de 1 a 50 placas con nervios. En una forma de realización no limitativa de la invención, las placas con nervios pueden estar unidas a una placa de apoyo 30, que ofrece sujeción y para la colocación exacta con la bolsa de plástico puede unirse mediante pegado o soldadura.

La relación de anchura con respecto a altura del paquete de láminas 1 que se compone de placas con nervios de una o varias capas, inclusive la placa de apoyo, puede adaptarse a la geometría de la bolsa de plástico.

En bolsas 3D (bolsas soldadas entre sí a partir de 4 bandas de lámina) pueden emplearse de manera favorable paquetes de láminas 1 con sección transversal cuadrada, cilíndrica rectangular o elíptica con una relación de altura con respecto a anchura H/D de $0,3 < H/D < 1,5$, preferentemente $0,6 < H/D < 1,2$, de manera especialmente preferente

$0,9 < H/D < 1,0$.

Para las bolsas 2D más sencillas, más económicas (bolsas soldadas entre sí a partir de dos bandas de lámina) son adecuados paquetes de láminas planas con sección transversal rectangular con relaciones H/D de $0,005 < H/D < 1$, preferentemente $0,02 < H/D < 0,6$, de manera especialmente preferente $0,04$.

- 5 Para la soldadura de una bolsa 2D en el caso de un paquete de láminas insertado es ventajoso mantener una relación de distancia mínima $0,5 \leq X/H \leq 2$ preferentemente $1 \leq X/H \leq 1,6$, donde X es la distancia entre el paquete de láminas 1 y el comienzo de un estrechamiento y H el grosor del paquete de láminas. El paquete de láminas 1 puede formarse a partir de una placa perfilada 340 o 320 (véase la Figura 4). Una placa perfilada presenta preferentemente un lado liso y un lado con una sucesión de nervios y acanaladuras a distancias constantes. Los canales se forman con el apilamiento de la placa en una o varias capas por ejemplo sobre una placa de apoyo 30. A este respecto, las acanaladuras se cierran hacia el lado abierto en cada caso por el lado liso de una capa adyacente o por la pared del estator. Existe asimismo la posibilidad de extruir en una o varias capas un paquete de láminas o paquete parcial de láminas y unirlos formando un paquete de láminas 1.

- 15 La geometría de los canales se establece por la relación de la altura de nervio h_s con respecto a anchura de canal d (Figura 4). Relaciones h_s/d técnicamente realizables se encuentran, en función de la naturaleza (conformabilidad, elasticidad, capacidad de embutición profunda) en el intervalo de $0,01 \leq h_s/d \leq 5$. Habitualmente h_s será mayor que o igual a 1 mm, o preferentemente mayor que o igual a 3 mm. Relaciones h_s/d preferidas son de 0,5 a 5. Las anchuras de nervio b_s se determinan por la estabilidad mecánica del material de lámina. Las anchuras de nervio b_s serán lo más pequeñas posible, para permitir altas superficies de separación por volumen de separador. Al mismo tiempo no se seleccionarán demasiado pequeñas, para poder permitir una unión por arrastre de fuerza con la posición inferior sin cambio de forma. En el caso de paquetes de láminas extruidos 1, o en el caso de paquetes de láminas, que están formados por paquetes parciales de láminas extruidos o placas con nervios, pueden realizarse rigideces muy altas con pequeñas anchuras de nervio sin gran pérdida de superficie de separación, de modo que se prefiere esta forma de producción.

- 25 El paquete de láminas formado por placas con nervios, o bien está realizado como paralelepípedo recto (Figura 3), estando el plano de las aberturas de canal en ángulo recto con respecto a la superficie de apoyo del paquete de láminas 1, o como paralelepípedo inclinado (Figura 2), situándose las aberturas de canal en estado montado en un plano horizontal. La última solución se prefiere para impedir un gradiente de concentración provocado por sedimentación con respecto a las aberturas de canal inferiores. Los canales se atraviesan de manera homogénea de manera preferentemente por la mezcla de reactor con ayuda del distribuidor horizontal (85).

- 35 Una unión preferida de las placas con nervios tiene lugar a través de pegado o soldadura. El paquete de láminas se fijará espacialmente mediante la unión en primer lugar. Además se pretende mantener lo más pequeñas posible las denominadas zonas muertas (espacios no usados para la separación alrededor de las superficies exteriores de las placas con nervios). Evitar por completo estas zonas muertas no se requiere forzosamente, sin embargo, a este respecto. Como pegamento son adecuados los componentes adhesivos conocidos por el experto en la materia, adaptados a las propiedades de materiales y superficiales de los canales. En particular se usa preferentemente pegamento que se encuentra disponible en el mercado en las clases de calidad requerida por la FDA. Para la soldadura, pueden emplearse técnicas de unión térmicas tales como calor, láser, ultrasonido. Una técnica de unión especialmente preferida es la soldadura por rayo láser, que puede emplearse en particular también en combinación con el recorte del paquete de láminas en un dispositivo adecuado para ello. La técnica de soldadura tiene la ventaja de que el número de los plásticos introducidos en el proceso farmacológico no se aumenta mediante esta técnica de unión.

- 45 La placa perfilada puede tener lugar mediante conformación directamente en la producción de placas o mediante unión (por ejemplo por técnica de pegado) de una placa gofrado, conformada en caliente o en frío con una placa lisa. Las propiedades de material de las placas gofradas y lisas pueden adaptarse a su funcionalidad diferente (buenas propiedades deslizamiento y estabilidad de forma de las placas gofradas, buenas propiedades de obturación de las placas lisas) de manera óptima, es decir, mediante la elección de un material adecuado, conocido por el experto en la materia, con calidad superficial correspondiente.

- 50 Habitualmente se extruyen placas con nervios, en particular placas con nervios de plástico, comercialmente disponibles, económicas, y adecuadas para procesos farmacológicos, por ejemplo a partir de policarbonato y se cortan o se producen como paquete parcial de láminas para la producción del paquete de láminas 1 en la longitud adecuada y se fijan entre sí.

Para la producción del separador se preparan y dado el caso se incorporan además en una lámina de plástico los pasajes y otros elementos fijos en los sitios adecuados.

- 55 A continuación se suelda una bolsa de plástico 50 a partir de la lámina de plástico, que rodea el paquete de láminas 1, en una bolsa de plástico 50 con cordón de soldadura 55 (Figura 5).

El paquete de láminas 1 inclusive la placa de apoyo se prensa entonces habitualmente contra las superficies interiores de la bolsa de plástico 50, para impedir la penetración de células entre bolsa de plástico 50 y paquete de láminas 1 y

con ello la incrustación.

5 En una primera forma de realización del procedimiento de producción, la bolsa de plástico 50 se tensa contra el paquete de láminas 1 (Figura 5) y el pliegue formado 52 se presiona de manera plana y se fija por medio de una o varias bandas de sujeción 60 (Figura 6). Como banda de sujeción es adecuada también una lámina de plástico, que se enrolla alrededor prensando la bolsa y el paquete de láminas. Tienen propiedades de prensado favorables por ejemplo láminas domésticas o láminas flexibles, delgadas, de silicona. También una soldadura del paquete de láminas 1 con la pared de bolsa puede ser adecuada para la producción de una unión estanca entre bolsa y paquete de láminas.

10 Los procedimientos descritos permiten la producción sencilla y económica del separador de sólidos de acuerdo con la invención para la retención y recirculación de células. Mediante la configuración variable en amplios límites de los paquetes de láminas, la geometría del dispositivo posterior puede establecerse de manera sencilla y precisa y, en contraposición a sistemas de acero fino, también proporcionarse biorreactores muy grandes. Los procedimientos descritos permiten en particular la producción económica de elementos desechables, mediante cuyo empleo puede reducirse a un mínimo el esfuerzo para la provisión de un sistema de retención limpiado según los principios farmacológicos.

15 Para el funcionamiento se dirige el dispositivo de acuerdo con la invención con un ángulo $10 = \beta$ con respecto a la horizontal. El ángulo β depende del comportamiento de deposición y deslizamiento de las células/sólidos y, durante el funcionamiento asciende a $30^\circ \leq \beta \leq 80^\circ$ con respecto a la horizontal. En una forma de realización preferida, el ángulo β es de 35° a 75° , de manera especialmente preferente de 45° a 60° con respecto a la horizontal.

20 Para garantizar el ángulo β durante el funcionamiento, se fija el separador de sólidos de acuerdo con la invención para el funcionamiento en un armazón 140 (Figuras 11 a 13).

25 Habitualmente, el armazón 140 comprende un pie de armazón 145 y un apoyo 148 con un ángulo predefinido $10 (= \beta)$ con respecto a la superficie de apoyo. Sobre el apoyo 148, el paquete de láminas 1 inclusive la placa de apoyo 30 con ayuda de un saliente 142 y/o tapa 110 así como elementos de fijación 115 se sujetan a una altura predefinida, con ello, tanto la zona de recogida de flujo de cosecha 56 (superior) y la zona de recogida de sólidos 57 durante el funcionamiento pueden descansar de la manera más libre de pliegues posible sobre el apoyo. Con ello se evitan espacios muertos y la incrustación correspondiente.

En una forma de realización preferida, el armazón 140 dispone de una carcasa 100 y una tapa 110 para el alojamiento del paquete de láminas 1.

30 En este caso, el proceso de prensado puede tener lugar también en el caso del elemento fijo del separador de sólidos de acuerdo con la invención sobre el armazón 140 y en particular en la carcasa 100 y tapa 110 (Figuras 6 y 7) dado el caso también sin involucrarse con una banda de sujeción 60. En este sentido, la bolsa de plástico 50 se mantiene en su posición con ayuda de la carcasa 100 contra la placa de apoyo 30 y contra el paquete de láminas 1 y el pliegue 52 se presiona con ayuda de la tapa 110 contra el paquete de láminas 1. Preferentemente, la tapa 110 está fijada en la carcasa 130 en un lado por ejemplo por medio de bisagras y en el otro lado por medio de uno o varios elementos de fijación 115 que pueden cerrarse. Con ello, el armazón 140 para la puesta en marcha del separador de sólidos de acuerdo con la invención puede accionarse de manera más sencilla.

35 En una forma de realización preferida, la tapa 110 dispone de una prolongación 112 y/o un bastidor 130, que mantiene la forma de la zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo 57, en particular mantiene constante el ángulo 59, e impiden su dilatación en el estado lleno durante el funcionamiento. Un recipiente que se adapta a la forma de este tipo es, entre otras cosas, ventajoso para el funcionamiento del sistema en el caso de fuerzas hidrostáticas mayores de lo esperado al conectarse a biorreactores grandes.

40 Para mejorar el comportamiento de deslizamiento de las células en los canales del paquete de láminas y sobre las paredes interiores de la zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo, en particular de manera cónica o piramidal, puede hacerse vibrar el dispositivo con medios adecuados, por ejemplo vibradores neumáticos o eléctricos.

45 Las superficies de separación necesarias dependen de las propiedades de sedimentación de las células así como las tasas de perfusión y concentraciones celulares pretendidas. Tasas de perfusión preferidas se encuentran en el intervalo de 0,1 a 40 1/día, de manera especialmente preferente de 0,5 a 20 1/día. Superficies de separación preferidas por volumen de biorreactor se encuentran, según las propiedades de sedimentación de las células (en función de la concentración, tamaño y tendencia a la aglomeración de las células) en el intervalo de 0,1 a 100 m²/m³ de manera especialmente preferente de 2 a 20 m²/m³.

50 Como alternativa a la bolsa de plástico puede estar montado un paquete de láminas 1 en una botella de plástico 50 con corte transversal poligonal (Figura 21), presentando la botella de plástico una zona estrechada hacia abajo, que termina en un cuello de botella y, formando la zona que se estrecha hacia abajo la zona de recogida de sólidos 57 para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad. Para el funcionamiento se cierra el cuello de botella de plástico con ayuda de una tapa 220, que presenta los pasajes para el paso de las conducciones de conexión. En una forma de realización alternativa, el paquete de láminas 1 se sustituye por uno o varios platos fijados a las paredes

de la botella de plástico 50 como zona de separación.

Como material para la botella de plástico son adecuados, por ejemplo, el material de los frascos de cultivo Millicell® comercialmente disponibles de la empresa Merck Millipore de (<http://www.millipore.com/catalogue/module/c85149>).

5 El separador de sólidos de acuerdo con la invención está realizado para evitar la problemática de limpieza preferentemente como artículo desechable.

10 Habitualmente, el separador de células de acuerdo con la invención se acopla a un biorreactor por ejemplo a un biorreactor desechable tal como se describe en el documento US 2009-0180933 de manera externa por medio de conducciones de tubo flexible. El suministro del separador de acuerdo con la invención se garantiza mediante al menos dos bombas, preferentemente bombas peristálticas de bajo cizallamiento (Figura 18). Las bombas permiten la extracción de la solución de cultivo celular del espacio de biorreactor, su conducción después del enfriamiento a través de un intercambiador de calor al dispositivo de separación, la extracción del flujo de cosecha del dispositivo de separación y el transporte de vuelta del flujo de sólidos (=Return 70) al biorreactor.

15 El almacenamiento de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención ocupa poco espacio, dado que pueden apilarse uno sobre otro sin problemas y solo durante la puesta en marcha se colocan con el ángulo adecuado. Pueden conectarse y funcionar entonces de manera sencilla fuera de un biorreactor. La conexión a los fermentadores tiene lugar por medio de dispositivos de acoplamiento estériles fijados en el extremo de las conducciones de tubo flexible de diversos fabricantes (empresa Pall, empresa Sartorius, empresa Coulter) dentro o fuera de bancos de trabajo de seguridad, preferentemente, sin embargo, mediante soldadura de tubo flexible. Las conducciones de tubo flexible fijadas a los separadores de sólidos de acuerdo con la invención están equipadas, por lo tanto, al menos en parte, con un elemento de tubo flexible adecuado para la soldadura de tubo flexible. Además, habitualmente las conducciones de tubo flexible para el transporte de la suspensión contienen al menos dos elementos de tubo flexible que pueden cargarse altamente de manera mecánica especiales (por ejemplo Verderprene de tubo flexible elastomérico de la empresa Verder), que pueden colocarse de manera no invasiva en bombas peristálticas, sin poner en peligro la esterilidad de los separadores. La conexión, el funcionamiento y el mantenimiento no suponen ningún problema. La realización del dispositivo de acuerdo con la invención o partes del dispositivo de acuerdo con la invención como elemento desechable elimina los problemas de limpieza.

Otros objetos de la presente invención son, por lo tanto, un procedimiento para la producción de un dispositivo de separación de sólidos de acuerdo con la invención con paquete de láminas en una bolsa de plástico así como

30 Un empleo directo del paquete de láminas 1 en biorreactores aeróbicos es en principio concebible cuando las burbujas de gas necesarias para la gasificación pueden mantenerse alejadas de las aberturas de entrada. En este caso, pueden suprimirse la parte de recogida cónica de la bolsa de plástico así como la bomba de recirculación. Preferentemente, el separador de acuerdo con la invención está previsto sin embargo para el uso fuera de un biorreactor.

35 **En una segunda forma de realización** del separador de células de acuerdo con la invención, la bolsa de plástico es poliédrica o cónica, en el que la bolsa de plástico durante el funcionamiento está colocada de modo que la zona de recogida de sólidos estrechada cónicamente por abajo 57 se forma por las paredes de la bolsa de plástico y una punta o vértice del poliedro o del cono. Dentro de la bolsa de plástico, el ángulo 10 de la superficie de separación 500 asciende a 0° con respecto a la horizontal, tal como en los separadores verticales convencionales.

El volumen del separador puede adoptar por ejemplo valores de 0,1 l a 1000 l.

40 En particular, la forma poliédrica del separador de acuerdo con la invención se selecciona del grupo que consiste en un disenoide (= un poliedro delimitado por cuatro triángulos congruentes, tal como se representa en las Figuras 14 y 15), en particular tetraedro, pirámide recta (= un poliedro delimitado por cuatro triángulos congruentes y un cuadrado, no representado), octaedro y cubo (representado en las Figuras 16 y 17).

Asimismo son adecuados cono (= compuesto por la superficie envolvente cónica y un círculo).

45 Para una producción sencilla a partir de una lámina de plástico, se prefieren disenoide en particular tetraedro, cono y cubo. El separador de células de acuerdo con la invención presenta habitualmente una relación de altura con respecto a anchura máxima en el intervalo de 0,2 a 3, preferentemente de 0,5 a 2, de manera especialmente preferente de 0,7 a 1,5.

50 La unión del separador de células de acuerdo con la invención con un biorreactor u otra instalación externa tiene lugar preferentemente a través de conexiones y líneas de unión en la cabeza del separador. Esto tiene la ventaja de que el recipiente para el alojamiento del equipo de separador puede realizarse sin pasaje, es decir sin fugas. Con ello, puede impedirse, sin equipos de seguridad adicionales, la salida de células de producción modificadas por ingeniería genética.

55 La entrada de la mezcla de biorreactor tiene lugar habitualmente a través de un elemento fijo 84 para la introducción de la mezcla de biorreactor a lo largo del eje vertical de la bolsa de plástico colocada para el funcionamiento.

Preferentemente, en el separador de células de acuerdo con la invención, en la abertura de entrada del elemento de montaje 84 se usan distribuidores horizontales 85 para la distribución de flujo horizontal uniforme de la mezcla de reactor 74. La alimentación se distribuye a este respecto por medio de boquillas anulares o por medio de dos o varias aberturas de salida, elementos fijos dirigidos horizontalmente tales como por ejemplo piezas en T o elementos fijos dirigidos hacia abajo tales como por ejemplo piezas en Y a través de la superficie de introducción 510 preferentemente en la dirección de los vértices de la superficie de introducción 510. La Figura 25 muestra una comparación entre elemento fijo 84 para la introducción de la mezcla de biorreactor con un distribuidor en T o Y simple así como con distribuidores en T o Y dobles. En el caso de los distribuidores en Y, los flujos de entrada se dirigen hacia abajo. El flujo de entrada del distribuidor en el caso de una carga de superficie de clarificación $v \leq 0,1$ m/h, es bajo. Una mejor retención se consiguió con un distribuidor en T o Y simple como con distribuidores en T o Y dobles. En el caso de altas cargas de superficie $v \geq 0,1$ m/h, los distribuidores en Y con los flujos de entrada dirigidos hacia abajo son superiores a los distribuidores en T, y se prefieren de manera correspondiente.

Habitualmente se usan distribuidores con de 2 a 8, preferentemente de 2 a 4 aberturas dirigidas en horizontal o hacia abajo, usándose habitualmente una anchura c (= distancia entre dos aberturas) con respecto a la longitud de canto D de la bolsa de plástico $0,03 \leq c/D \leq 0,25$, preferentemente $0,04 \leq c/D \leq 0,15$. En el caso de un separador cónico, D es el diámetro del círculo.

La extracción de los sólidos de la zona de recogida de sólidos 57 tiene lugar habitualmente a través de uno o varios pasajes o elementos fijos 88 cerca de las puntas inferiores del separador. El elemento fijo 88 está conectado con el biorreactor, en el que se recirculan las células recogidas por la caída de presión o por bombeo. Preferentemente, el elemento fijo 88 se usa para la aspiración central, vertical, de los sólidos (Figuras 14, 15, 16, 17). Esto simplifica la producción y la colocación del separador en su recipiente para el funcionamiento. En otra forma de realización preferida, la extracción puede extraerse también a través de un pasaje soldado en las puntas del separador. Para una realización sin fugas de la carcasa, en este caso, el tubo flexible de conexión, ha de colocarse en el interior de la carcasa para el alojamiento del separador (es decir entre pared de carcasa y bolsa de plástico).

La extracción del flujo de cosecha tiene lugar habitualmente a través de un elemento fijo 80, que se encuentra dentro de la bolsa de plástico en la zona de recogida de flujo de cosecha 56 por encima de la superficie de separación 500. En una forma de realización preferida, en la zona de recogida de flujo de cosecha 56 se incorpora un inversor de flujo 81 para una extracción homogénea del flujo de cosecha 70 separado de las células (=Harvest) a partir de la zona de recogida de flujo de cosecha 56, que está conectado con el elemento fijo 80 (Figura 15). Este elemento fijo 80 presenta habitualmente la forma de una pantalla invertida con el contorno exterior de la zona de recogida de flujo de cosecha 56 (en el caso de un tetraedro se usa un elemento fijo triangular), con una longitud de canto o diámetro a , pudiendo ser $0,25 \leq a/D \leq 0,75$, preferentemente $0,4 \leq a/D \leq 0,6$, de manera especialmente preferente 0,5.

Habitualmente, los elementos fijos 80, 88 y 84 son pasajes soldados, a los que pueden conectarse conducciones, preferentemente tubos flexibles para la unión con el biorreactor u otras instalaciones externas.

En una forma de realización preferida del separador de acuerdo con la invención, en la zona superior en la pared de la bolsa de plástico (tetraedro) o en un vértice (cubo) se encuentran una o varias placas de conexión 90, preferentemente una, que también puede ser una tapa, que contiene los pasajes para el paso de las conducciones de conexión y en la zona de la conexión permite una sujeción del separador. Se conecta habitualmente durante el montaje con la carcasa del separador.

La superficie de separación máxima 500 se encuentra por encima de la superficie de entrada 510. La separación de las células tiene lugar, en el caso de separadores verticales, de acuerdo con las Figuras 14 a 17, en la sección transversal de recipiente que se ensancha cónicamente hacia arriba hasta la sección transversal máxima de la superficie de separación 510 de acuerdo con la diferencia de fuerza positiva entre fuerza de la gravedad y flujo vertical como consecuencia de la extracción continua del flujo de cosecha a partir de la zona de recogida de flujo de cosecha 56.

Las dimensiones del separador de sedimentación depende del tipo de células que van a retenerse, el tamaño del biorreactor y el caudal.

La superficie de separación necesaria A_{erf} resulta, como en la primera forma de realización de la invención, a partir de la velocidad de sedimentación w_s , de la tasa de perfusión q/V (caudal medio q por volumen de biorreactor V) y el volumen de biorreactor según la Eq. 1. Una eficiencia η tiene en cuenta la disminución de potencia de separadores técnicos con respecto a la consideración idealizada de una partícula individual que fluye desde abajo, cuya velocidad de sedimentación w_s , para cumplir la condición para la separación, tiene que ser un tanto mayor que la velocidad de flujo = tasa de perfusión $\times V / A_{erf}$ (Eq. 2).

Tal como ya se expuso:

$$A_{erf} = \frac{\text{tasa de perfusión} \cdot V}{w_s} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$A_{th} = \frac{A_{erf}}{\eta} \quad (\text{Eq. 2})$$

La determinación de la superficie de separación teórica para separadores de bolsa de plástico poliédrica se determina por aproximación a partir de la Eq. 5 o Eq. 6:

Para tetraedros con la longitud de canto D, se cumple, para la determinación de la superficie de separación máxima, en una primera aproximación:

$$A_{th} = \frac{1}{4} D^2 \sqrt{3} \quad (\text{Eq. 5})$$

Debido a que el sitio de extracción se encuentra, en lo que respecta a la construcción, un tanto por debajo de la sección transversal máxima, dada por la longitud de canto del tetraedro, la eficiencia η es un tanto menor que 1.

Esto mismo se cumple para separadores cónicos, cuya superficie de separador máxima resulta del diámetro del círculo D:

$$A_{th} = \frac{\pi}{4} D^2 \quad (\text{Eq. 6})$$

Para cubos con la longitud de canto D resulta como superficie de separación máxima a $\eta = 1$ un hexágono con la siguiente superficie de sección transversal:

$$A_{th} = \frac{3}{4} D^2 \sqrt{3} \quad (\text{Eq. 7})$$

En el caso de las dimensiones de la segunda forma de realización del separador de acuerdo con la invención, ha de tenerse en cuenta igualmente mantener las condiciones de flujo laminar. En el caso de las dimensiones de la bolsa de plástico (50), la longitud de canto D o la longitud LK que va a realizarse de la bolsa, depende de los niveles de llenados que van a realizarse en la bolsa de plástico. Presiones hidrostáticas demasiado grandes pueden darse, dado el caso, en alojamientos dimensionados correspondientemente, no en contacto con el producto y, por lo tanto, reutilizables.

Habitualmente, la superficie de entrada 510 se encuentra a una altura h con respecto a la altura de la bolsa de plástico HK de $0,3 \leq h/HK \leq 0,7$, preferentemente de 0,4 a 0,6. La Figura 26 muestra la influencia de la altura de la superficie de entrada sobre la retención en un separador de cubo.

Para el uso apropiado, el separador se introduce en un recipiente, que soporta las paredes flexibles de la bolsa de plástico, cuando el separador está lleno. Por lo tanto, las formas de recipiente y separador están preferentemente adaptadas entre sí.

Otro objeto de la presente invención es por lo tanto un dispositivo de separación de sólidos que comprende un separador de sólidos de acuerdo con la invención y un recipiente para el alojamiento del separador de sólidos, en el que el recipiente comprende al menos:

- un espacio interior para el alojamiento del separador de sólidos, estando adaptado el espacio interior a la forma de los separadores de sólidos por medio de paredes adaptadas a la forma del separador de sólidos, que rodean el espacio interior y lo separan del mundo exterior,
- una abertura para la introducción de los separadores de sólidos desde arriba en el recipiente.

Preferentemente, en particular para la segunda forma de realización del dispositivo de separación, el recipiente presenta un canal, a través del cual pueden introducirse tubos flexibles y/o canales y/o sondas de medición en el dispositivo de separación de células.

La abertura para la introducción del dispositivo de separación de células preferentemente puede cerrarse.

El recipiente de acuerdo con la invención está realizado preferentemente de manera estanca a líquidos en estado cerrado, es decir puede obturarse frente al mundo exterior de modo que no llegue nada de líquido, de manera indeseada desde el interior del recipiente al mundo exterior.

También es posible una bolsa de plástico o una botella de plástico con una sección transversal cuadrangular y en la zona inferior una zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo 57 para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad (Figura 24). Elementos fijos y pasajes 80, 88 y 84 pueden estar soldados en la bolsa de plástico o botella de plástico. Como alternativa, la zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo 57 termina en un cuello. Tanto el cuello de bolsa de plástico como el cuello de botella de plástico se cierra entonces con una tapa o tapón, en el que están incorporados todos los pasajes necesarios. En ambas formas de realización, la forma de la zona de recogida de flujo de cosecha 56 puede ser cualquiera. Estas bolsas o botellas de plástico son especialmente ventajosas para pequeños volúmenes de fermentador de 0,02 a 2 l. Para el funcionamiento se suspenden una o varias bolsas o botellas de plástico en un almacén. Para una aplicación con ahorro de espacio de varios separadores en paralelo, son ventajosas la bolsa de plástico o botella de plástico colgada de la Figura 24.

Otro objeto de la presente invención es una instalación de biorreactor que se compone de un biorreactor y de un dispositivo de separación de células de acuerdo con la invención descrito. Preferentemente, el biorreactor es un reactor desechable, en particular un reactor tal como se describe en el documento US 2009-0180933.

5 La instalación de biorreactor es por ejemplo un reactor de perfusión, que puede hacerse funciona de manera conocida. Medio nutriente se alimenta de manera continua al biorreactor, y el sobrenadante de cultivo celular, pobre en células, se evacua de manera continua. El reactor de perfusión puede hacerse funcionar a altas tasas de perfusión q/V (caudal medio q por volumen de biorreactor V), cuando esto es biológicamente útil y se proporciona una superficie de separación suficiente. En este caso tiene lugar el paso a través del separador de manera continua.

10 Igualmente, el reactor de perfusión puede hacerse funcionar de tal manera que se deja crecer un cultivo en primer lugar de manera intermitente. Cuando el medio se ha consumido hasta que ya no es posible una formación considerable de biomasa, se extrae a través de los separadores de células externos el sobrenadante de cultivo, que está prácticamente libre de biomasa. El espacio obtenido en el biorreactor puede usarse entonces para alimentar medio nutriente nuevo, mediante lo cual se permiten el crecimiento adicional y con ello una mayor productividad de biomasa total (Repeated-Batch-Modus). En este caso el paso de flujo a través del separador de células tiene lugar de
15 manera intermitente. Este procedimiento se ofrece por ejemplo para precultivos, con los que se inocularán biorreactores muy grandes, dado que puede aumentar la productividad de reactores de precultivo existentes.

Para el funcionamiento en biorreactores se prefiere un flujo continuo del separador de células de acuerdo con la invención.

20 El biorreactor o reactor de perfusión puede emplearse para el cultivo de células que crecen *in vitro* y en suspensión libre o sobre microsoportes. Entre las células preferidas figuran protozoos así como células humanas eucariotas adhesivas y no adhesivas (células nerviosas, células sanguíneas o células tisulares, así como células madre de origen embrionario o adulto), de origen animal o vegetal, que por ejemplo mediante modificación por ingeniería genética pueden producir principios activos farmacéuticos especiales tales como virus, proteínas, enzimas, anticuerpos, neuronas, células tisulares o estructuras de diagnóstico. De manera especialmente preferente, para la producción de
25 alto rendimiento farmacéutica se usan células adecuadas, por ejemplo ciliados, células de insecto, células de Baby Hamster Kidney (BHK) (riñón de hámster lactante), células de Chinese Hamster Ovary (CHO) (ovario de hámster chino), células HKB (generadas a través de la fusión de la línea celular HEK 293 humana con la línea celular Burkitt Lyphom 2B8 humana), células de hibridoma así como células madre.

30 En una forma de realización alternativa de la instalación, uno de los separadores de células de acuerdo con la invención descritos, en el funcionamiento llevado a cabo de manera intermitente, tras finalizar la fermentación antes de la separación de células, está conectado a un biorreactor adicional o a un tanque de cosecha con el objetivo de reducir la masa celular que ha de aplicarse sobre los filtros y, con ello, las superficies de filtro necesarias.

35 Es objeto de la presente invención además un procedimiento para la retención y recirculación de sólidos, en particular células, en un recipiente atravesado por flujo, en el que se alimenta al recipiente de manera continua o intermitente medio que contiene sólidos y se evacua medio libre de sólidos, caracterizado por que el recipiente es una bolsa o botella de plástico esterilizable por rayos gamma atravesada por flujo, que en la zona inferior presenta superficies situadas de manera inclinada, de manera favorable una zona de recogida de sólidos estrechada por abajo 57, en particular de manera cónica o piramidal, para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad. En una forma de realización particular del procedimiento, la superficie de separación se forma por canales colocados de manera
40 inclinada y prevalece preferentemente una velocidad de flujo que permite la defensa de estados de flujo laminar de acuerdo con $Re < 2300$, con lo que se evita una resuspensión que reduce la eficiencia de las células separadas frente al campo gravitatorio de la tierra.

El número de Reynolds Re puede calcularse según la Eq. 7 a partir de la velocidad de flujo promediada a lo largo del corte transversal w , la viscosidad cinemática ν del medio que fluye y el diámetro interno d de un canal:

45
$$Re = (w \cdot d / \nu) \quad (\text{Eq. 7})$$

50 En canales inclinados prevalece en las paredes interiores de canal una velocidad de flujo menor que en los centros de canal. Las células sedimentan en los canales y resbalan en el lado inferior de los canales en contra de la dirección de flujo en contra de los extremos de canal inferiores. La solución de cultivo celular liberada de las células se emite a través de los canales a una zona de recogida de flujo de cosecha 56, que está dispuesta por encima de los canales, y, por último, se transporta desde el recipiente.

55 En un separador poliédrico o cónico, d es la anchura o el diámetro de la sección transversal de la superficie de separación máxima. En las paredes de plástico prevalece una velocidad de flujo menor que en los centros de canal. Las células resbalan en contra de la dirección de flujo contra a la zona de recogida de sólidos 57. La solución de cultivo celular libre de las células sube a una zona de recogida de flujo de cosecha 56 que está dispuesta por encima de la superficie de separación, y, por último, se transporta desde el recipiente.

El procedimiento de acuerdo con la invención puede realizarse preferentemente fuera de un biorreactor. Para ello, la

- solución de cultivo celular con células se transporta desde el biorreactor hasta el separador de células de acuerdo con la invención. Preferentemente, las células se enfrían antes de entrar en el separador en un recipiente externo, para ralentizar el metabolismo y, con ello, contrarrestar un subsuministro que reduce la productividad de las células. En la suspensión enfriada no es necesario un suministro de oxígeno a las células que sedimentan. Generalmente, es totalmente suficiente un enfriamiento de la solución de cultivo celular hasta la temperatura ambiente del separador, de modo que junto al efecto metabólico deseado, se evitan de manera segura flujos de convección. Para monitorizar el suministro suficiente de las células, el separador puede equiparse con al menos un sensor desechable, por ejemplo, para la medición de la concentración de oxígeno y/o del valor de pH. Una instalación de los sensores es posible tanto en las paredes como la conducción de unión al biorreactor o los recipientes de cosecha.
- El procedimiento de acuerdo con la invención permite la retención y recirculación efectiva de células en una bolsa de plástico estéril atravesada por flujo de manera continua. En la retención y recirculación actúan sobre las células solo fuerzas de cizallamiento moderadas, que, generalmente, se soportan adecuadamente por las células. Las células se mantienen en el dispositivo de separación a la temperatura de fermentación o a un nivel de temperatura bajo y el suministro se da con nutrientes.
- A continuación se explican en detalle ejemplos de realización de la invención por medio de dibujos sin limitar la invención a los mismos.
- Figura 1 representación esquemática del separador de sólidos desechable de acuerdo con la invención con paquete de láminas.
 Figura 2 representación esquemática de un paquete de láminas 1 (corte longitudinal)
 Figura 3 representación esquemática de un paquete de láminas 1 (corte longitudinal)
 Figura 4 esquema de la estructura de distintos paquetes de láminas (corte transversal AA' de la Figura 3)
 Figura 5 esquema de la aplicación de la bolsa de plástico 50 sobre un paquete de láminas 1 (corte transversal AA' de la Figura 3) Figura 6 y Figura 7 prensado y sujeción de la bolsa de plástico 50 sobre un paquete de láminas 1 (corte transversal)
 Figura 8 y Figura 9 prensado y sujeción alternativos de la bolsa de plástico 50 sobre un paquete de láminas 1 con ayuda de bastidor 130 y tapa 110 (corte transversal)
 Figura 10 vistas laterales de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención con paquete de láminas 1 sobre el armazón 140.
 Figura 11 vistas frontales del separador de sólidos de acuerdo con la invención con paquete de láminas 1 sobre el armazón 140.
 Figura 12 cortes longitudinales de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención con paquete de láminas 1 sobre armazón 140 con bastidor 130 y tapa 110.
 Figura 13 vistas frontales de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención con paquete de láminas 1 sobre su armazón 140 con bastidor 130 y tapa 110.
 Figura 14 representación tridimensional esquemática de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención en la forma de realización disfenoidal
 Figura 15 corte longitudinal esquemático de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención en la forma de realización disfenoidal con inversor de flujo 81
 Figuras 16 y 17 representación esquemática de los separadores de sólidos de acuerdo con la invención en la forma de realización cúbica.
 Figura 18 esquema de procedimiento de un reactor de perfusión. Para reducir la actividad respiratoria de las células en el transcurso del biorreactor, su temperatura se baja en la medida de lo posible inmediatamente después de la extracción en un dispositivo de refrigeración hasta un nivel más bajo. De esta manera se impide que las células permanezcan en el separador de células demasiado tiempo en un estado limitado por oxígeno, lo que podría dañar fisiológicamente a las células. En el ejemplo mostrado, el separador 640 se compone de una bolsa de separación 620 y un dispositivo de refrigeración integrado 600. Los flujos de líquido entre biorreactor 610 y separador 640 se ajustan mediante las bombas de bajo cizallamiento 630 y 631. Otras interconexiones, por ejemplo la colocación de una de las dos bombas 630 y 631 en el transcurso del biorreactor, son asimismo concebibles.
 Figura 19 comparación de los sistemas de separación
 Figura 20 comparación de los volúmenes de separador por superficie de separación.
 Figura 21 cortes longitudinales del separador de botella con platos como superficie de separación 1, distribuidor de flujo horizontal 85 y tapón 220.
 Figura 22 corte lateral del separador de botella según la Figura 21 de su armazón.
 Figura 23 detalles de un tapón 220 con cinta de cierre 230 así como distribuidor de flujo 85 con flujos de entrada dirigidos hacia abajo
 Figura 24 vistas frontales de una bolsa de plástico colgada (=BagSettler) como separador de sólidos y vista lateral del armazón.
 La Figura 25 muestra la influencia de distintos distribuidores de flujo 85 sobre el rendimiento de retención R a distinta velocidad de ascenso efectiva $v=q/A_{eff}$.

60 **Referencias:**

- 1 paquete de láminas / superficie de separador
- 5 anchura de nervio

- 8 distancia de placa
- 10 ángulo
- 13 longitud
- 15 anchura
- 5 18 altura
- 30 placa de apoyo
- 50 bolsa de plástico o botella de plástico
- 51 cuello
- 52 exceso / pliegue
- 10 55 cordón de soldadura
- 56 zona de recogida de flujo de cosecha
- 57 zona de recogida de sólidos
- 58 ángulo
- 59 ángulo
- 15 60 banda de sujeción 70 flujo de cosecha (Harvest)
- 74 mezcla de biorreactor / Feed
- 79 recirculación
- 80 pasaje
- 81 inversor de flujo
- 20 84 pasaje
- 85 distribuidor de flujo en particular distribuidor horizontal o distribuidor de flujo con flujos de entrada dirigidos hacia abajo
- 86 flujo de entrada
- 88 aspiración central
- 25 89 pasaje
- 90 placa de conexión 100 carcasa
- 110 tapa
- 112 prolongación
- 115 elemento de fijación
- 30 130 bastidor
- 140 armazón
- 142 saliente
- 145 pie de armazón
- 148 apoyo
- 35 200 vibrador
- 210 placa de montaje
- 220 tapa o tapón
- 230 tuerca tapón
- 240 junta tórica
- 40 Perfiles de un paquete de láminas
- 311 paquete de láminas
- 320 perfil rectangular
- 321 paquete de láminas
- 45 330 perfil redondo
- 331 paquete de láminas
- 340 perfil redondo
- 341 paquete de láminas
- 350 perfil hexagonal
- 351 paquete de láminas
- 50 500 superficie de separador máxima teórica
- 501 zona de separador
- 510 superficie de entrada
- 600 dispositivo de refrigeración
- 610 biorreactor
- 55 620 dispositivo de separación
- 630, 631 bombas
- 640 separador = bolsa de separación + dispositivo de refrigeración integrado dado el caso en el armazón o recipiente.
- 650 medio de cultivo
- 60 A continuación se describen ensayos de la aplicabilidad de los dispositivos de acuerdo con la invención sin limitarse a los mismos.

Sistema de partículas

Para la simulación de células se usa el sistema de partículas poliácilonitrilo polímero X "PAN-X". El polímero insoluble en agua se usa principalmente en la industria de la confección para la producción de fibras. A continuación muestra un extracto de la hojas de datos de producto del fabricante empresa Dralon GmbH, Dormagen.

Nombre	PAN-X
Fórmula química	$[C_3H_3N]_n$
Forma farmacéutica	polvo
Forma de partícula	esférica
Color	blanco
Densidad	1,18 g/m ³
Distribución del tamaño de grano	97 % en volumen ≤ 50 μm
Solubilidad en agua	insoluble
Temperatura de inflamación	485 °C

- 5 La distribución del tamaño de partícula muestra el diámetro de partícula más frecuente entre 15 y 30 μm medido con el aparato de medición de difracción láser Mastersizer de la empresa Malvern, lo que corresponde por ejemplo a células eucariotas (CHO, BHK).

Sistemas de separación

Separador de canal inclinado

- 10 Se examinaron para fines comparativos un separador de placas grande y uno pequeño de acero fino según el documento WO03/020919 con superficies de separación teóricas de $A_{th} = 1,42 \text{ m}^2$ o $A_{th} = 0,027 \text{ m}^2$ como modelo para el separador de acuerdo con la invención según la Figura 2. El separador grande tiene 20 placas, que están instaladas en un volumen de separador de 17,4 l. El separador de láminas pequeño se compone de 4 placas en un volumen de separador de 0,3 l.

15 Separador de dado

- Se produjeron dos cubos como modelo hidrodinámico con las longitudes de canto $D = 200 \text{ mm}$ y $D = 400 \text{ mm}$ a partir de placas de Plexiglas. El vértice superior del dado tenía una abertura para el pasaje de conducciones de tubo flexible. Se introdujo un elemento fijo para la distribución de flujo (también denominado distribuidor (de flujo) 85) de la suspensión de partículas en forma de una pieza en T o pieza en Y fijada a un tubo flexible (en cada caso dos entradas) hasta el centro ($h=50 \%$ HK) del modelo de plástico. La anchura de los distribuidores c se varió. Mediante un tubo flexible adicional que llega hasta la punta de cono inferior (zona de recogida de sólidos 57 también colector), se extrajo el sedimento de manera que se invierte el flujo verticalmente hacia arriba. A través un pasaje adicional se fijó un tubo de plástico para recoger la fase clara = pasaje 80, de modo que la fase clara (= flujo de cosecha 70) se extrajo desde la superficie de manera que se invierte el flujo dirigido hacia abajo (tubo en U). Los aumentos de sección transversal paulatinos hacia la punta de separador inferior y superior permiten una buena igualación de flujo y funcionan, con ello, ya como colectores de flujo (zona de recogida de sólidos 57 abajo, zona de recogida de flujo de cosecha 56 arriba), que también funcionarán suficientemente bien sin elementos fijos que invierten en flujo.

Separador de tetraedro

- 30 El tetraedro se produjo como modelo de Plexiglas a partir de triángulos equiláteros con una longitud de canto $D = 400 \text{ mm}$. Con respecto al vértice, que se seleccionó como zona de recogida de sólidos cónica 57, el separador de sólidos estaba abierto hacia arriba. A través de las aberturas pudieron montarse distintos pasajes para la introducción y extracción de suspensión (=Feed 74), sedimento y flujo claro (=flujo de cosecha 70). En los pasajes, por regla general, tubos flexibles, se realizaron y colocaron distribuidores y tubo de plástico para recoger la fase clara (= pasaje 80) de manera análoga al cubo.

- 35 El tetraedro se diferencia en su característica de flujo con respecto al cubo, en primer lugar en que estrechamiento favorecido por el flujo está presente únicamente hacia abajo hacia el colector de recirculación y la fase clara se recoge en el punto de la superficie más grande. Para la extracción uniforme, en el tetraedro se usa por lo tanto un distribuidor de flujo 85 colocado en esta superficie de separación máxima
La superficie de separación A_{th} ascendió, en la unidad examinada, a $0,069 \text{ m}^2$ con $7,6 \text{ l}$ de volumen.

40 Separador vertical con entrada cónica - tipo tanque de Dortmund

Este separador vertical se emplea con frecuencia en la técnica de aguas residuales. El separador examinado se componía de un revestimiento cilíndrico con un corte transversal de 145 mm , que en la zona inferior forma una tolva de recogida, y en la zona superior presenta una entrada cónica colocada en el centro con un corte transversal de

51 mm. Ambos elementos se fabrican a partir de vidrio. El líquido no clarificado se introdujo a través de la entrada cónica desde arriba en la zona cilíndrica (zona de separación vertical) y ascendió a la zona de separación, mientras que las sustancias en suspensión sedimentaron en la tolva de recogida. En el extremo superior de la zona de separación se recogió la fase clara en cuatro puntos. El separador vertical examinado tenía un volumen de 1,7 l de una superficie de separador A_{th} de 0,014 m².

Métodos

Método de análisis

La muestra se separa por filtración por medio de un filtro de succión (tamaño de poro <2 µm), el papel de filtro se secó a 140 °C y se pesó. Para ello se usó una balanza de secado (Sartorius MA45).

10 Realización del ensayo

Se proporcionó PAN-X 3 g/l en el contenedor de almacenamiento y se introdujo en el separador respectivo por medio de bombas de tubo flexible (Watson-Marlow Du323). A través de la tasa de bombeo de las bombas peristálticas q se ajusta la velocidad de ascenso deseada v ($v=q/A_{th}$, siendo q el flujo de cosecha, con el que se carga el separador con una tasa de perfusión y volumen de biorreactor V dados).

15 La suspensión de partículas se bombea en primer lugar en el circuito. Tras un tiempo de espera de dos tiempos de permanencia hidrodinámicos para ajustar las condiciones estacionarias, se inició la toma de muestras del flujo de cosecha.

20 El volumen de muestra dependió de la masa de partícula sobre el filtro. Este deberá ascender, para delimitar los errores de medición a aproximadamente 100 mg ± 25 mg. De esto resultan volúmenes de muestra de 40 a 800 ml para la determinación de la concentración de partículas, que se midieron por determinación triple.

Resultados

Tabla 1

Separador	Geometría			$R = 1 - c_H/c$ 1	$w = q/A_{th}$ m/h	$w_{eff} = w / \eta Do$ m/h
Tetraedro	A	m ²	0,0692	0,91	0,03	0,0294
	d	mm	400	0,82	0,05	0,0588
	VS	L	6,42	0,74	0,10	0,1176
	ηDo	-	0,8	0,51	0,20	0,2353
Cubo 1	A	m ²	0,052	0,96	0,03	0,0208
	d	mm	200	0,92	0,05	0,0417
	VS	L	8,00	0,83	0,10	0,0833
	ηDo	-	1,2	0,63	0,20	0,1667
Cubo 2	A	m ²	0,208	0,95	0,03	0,0208
	d	mm	400	0,91	0,05	0,0417
	VS	L	64	0,81	0,10	0,0833
	ηDo	-	1,2	0,61	0,20	0,1667
PLA 1	A	m ²	0,0274	0,95	0,03	0,0227
	Z	1	4	0,90	0,05	0,0455
	VS	L	0,375	0,76	0,10	0,0909
	ηDo	-	1,1	0,61	0,20	0,1818
PLA 2	A	m ²	1,42	0,96	0,03	0,0227
	Z	-	21	0,92	0,05	0,0455
	VS	L	18	0,79	0,10	0,0909
	ηDo	-	1,1	0,59	0,20	0,1818
Tanque de Dortmund	A	m ²	0,0142	0,93	0,03	0,9286
	d	mm	145	0,87	0,05	0,8704
	VS	L	1,7	0,75	0,10	0,7506
	ηDo	-	1	0,56	0,20	0,5617

La comparación de los sistemas de separación muestra la bajada esperada del grado de retención R con el flujo ascendente de medio o de cosecha q o la velocidad de ascenso efectiva $v=q/A_{eff}$ (Figura 19).

25 La velocidad de ascenso efectiva resulta por la introducción de la eficiencia η_1 , que presenta el rendimiento de retención diferente de la superficie máxima usada de los separadores con respecto al tanque de Dortmund. La Figura 19 muestra que los separadores tras la adición de esta eficiencia pueden describirse mediante un grado de comparación común.

La eficacia de los separadores, se compara en la Figura 20. Esta representación muestra cómo de necesario es el volumen de separador para instalar la superficie de separación efectiva. Pequeños volúmenes de separador son deseables en cultivos celulares, para minimizar tiempos de parada fuera del espacio de fermentación suministrado. Los separadores de canal inclinado separan muy adecuadamente en esta comparación, que independientemente de la escala, pueden hacerse funcionar superficies de separación muy altas por volumen de separador superior a 50 l/m. Este Ejemplo ilustra la excelente escalabilidad de estos sistemas de separador. En contraposición a esto, en los separadores verticales se necesita considerablemente más volumen para suprimir en estos la superficie de separación horizontal. Además, la eficiencia de la instalación disminuye con el aumento de la escala con $V = A^{3/2}$. Sorprendentemente, la eficiencia de los modelos desechables, del cubo y del tetraedro, es claramente superior a la del sistema convencional del tanque de Dortmund, de modo que estos sistemas muy sencillos y económicos pueden emplearse en biorreactores considerablemente más grandes (hasta aproximadamente 6 veces) que el tanque de Dortmund.

Una adaptación adicional (geometría y/o posición) del distribuidor de entrada y colector de flujo de cosecha podrían llevar a una optimización del grado de retención R.

15 **Los trabajos, que han conducido a esta solicitud, se promovieron de acuerdo con el convenio de subvención "Bio.NRW: MoBiDik - Modulare Bioproduktion - Disposable und Kontinuierlich" (número de proyecto w1004ht022a) en el marco de los Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (EFRE).**

REIVINDICACIONES

1. Separador de sólidos para la retención y la recirculación de sólidos a partir de una mezcla de reactor, que comprende una bolsa de plástico o una botella de plástico (50) esterilizables y que pueden ser atravesadas por un flujo y dentro de la bolsa de plástico o la botella de plástico (50):
 - 5 - en la zona superior uno o varios pasajes/elementos fijos (80, 81) para extraer un flujo de cosecha separado de los sólidos (70) a partir de una zona de recogida de un flujo de cosecha (56),
 - en el segmento superior de una zona central una zona de separación (1, 501) con una superficie de separación, que durante el funcionamiento está inclinada con un ángulo (10) de 0° a 80° con respecto a la horizontal,
 - 10 - en el segmento inferior de la zona central uno o varios pasajes o elementos fijos (84, 85) para la distribución de flujo de la mezcla de reactor (74),
 - en la zona inferior una zona de recogida de sólidos estrechada por abajo (57) para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad.
2. Separador de sólidos según la reivindicación 1, en el que la zona de recogida de sólidos (57) presenta uno o varios pasajes (89) o elementos fijos (88) para extraer los sólidos.
- 15 3. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la zona de recogida de sólidos (57) está estrechada hacia abajo de manera cónica o piramidal.
4. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende al menos un sensor desechable en el espacio interior.
5. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la zona de separación se compone de una pluralidad de canales dispuestos unos junto a otros en un paquete de láminas (1) y la superficie de separación durante el funcionamiento está inclinada con un ángulo (10) de 30° a 80° con respecto a la horizontal.
- 20 6. Separador de sólidos según la reivindicación 5, en el que el paquete de láminas (1) se compone de varias placas con nervios apiladas unas sobre otras, que forman los canales del paquete de láminas (1).
7. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 5 o 6, en el que los canales presentan una longitud de canal L del 30 % al 95 % de una longitud LK de la bolsa de plástico o la botella de plástico.
- 25 8. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 5 a 7, en el que la relación de altura de nervio con respecto a anchura de canal hs/d asciende a $0,01 \leq hs/d \leq 5$, con la limitación.
9. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la bolsa de plástico (50) es poliédrica o cónica y en el que la bolsa de plástico (50) durante el funcionamiento está colocada de modo que la zona de recogida de sólidos estrechada por abajo 57 está formada por las paredes de la bolsa de plástico y las puntas o vértices del poliedro o del cono.
- 30 10. Separador de sólidos según la reivindicación 9, en el que la bolsa de plástico (50) es un disenoide, una pirámide recta, un octaedro o un cubo.
11. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la bolsa de plástico o la botella de plástico (50) presentan una sección transversal cuadrangular, en donde la zona de recogida de sólidos estrechada hacia abajo 57 termina en un cuello, que está cerrado con una tapa o un tapón, presentando la tapa o el tapón todos los pasajes 80, 84, 89.
- 35 12. Separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 11 que comprende un recipiente para el alojamiento de la bolsa de plástico 50, comprendiendo el recipiente al menos:
 - 40 - un espacio interior para el alojamiento de la bolsa de plástico 50, estando adaptado el espacio interior a la forma de la bolsa de plástico 50 por medio de paredes adaptadas a la forma de la bolsa de plástico 50, que rodean el espacio interior y lo separan del mundo exterior, una abertura para la introducción de la bolsa de plástico 50 desde arriba en el recipiente.
13. Instalación de biorreactor que comprende un biorreactor unido a un separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 12.
- 45 14. Procedimiento para la retención y la recirculación de sólidos, en particular células, en un separador de sólidos según una de las reivindicaciones 1 a 12 que comprende un recipiente atravesado por flujo, en el que se alimenta al recipiente de manera continua o intermitente medio que contiene sólidos y se evacua medio libre de sólidos, **caracterizado por que** el recipiente es una bolsa o una botella de plástico esterilizable y atravesada por flujo, que en la zona inferior presenta superficies situadas de manera inclinada, de manera favorable una zona de recogida de sólidos estrechada cónicamente por abajo (57) para recoger los sólidos con ayuda de la fuerza de la gravedad.
- 50

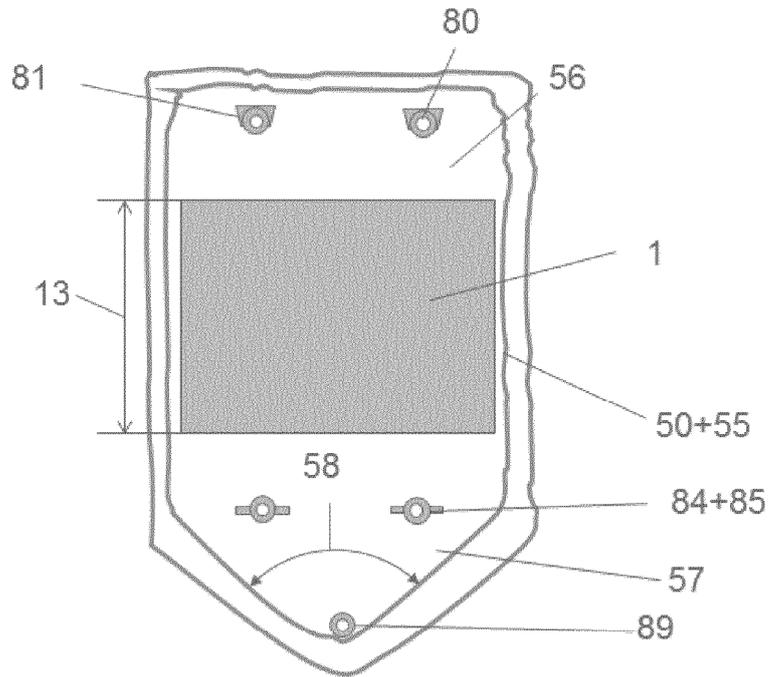


Fig. 1

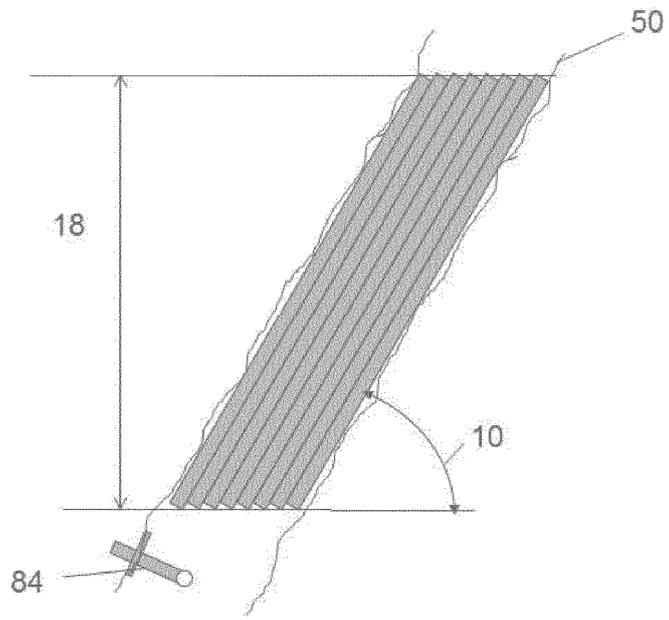


Fig. 2

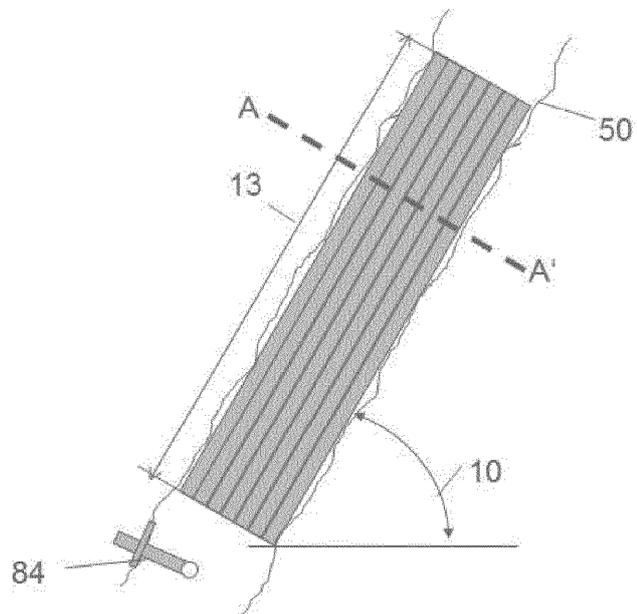


Fig. 3

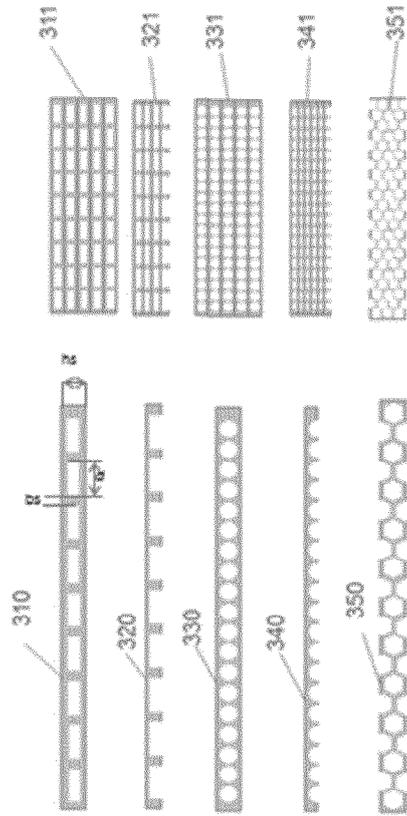


Fig. 4

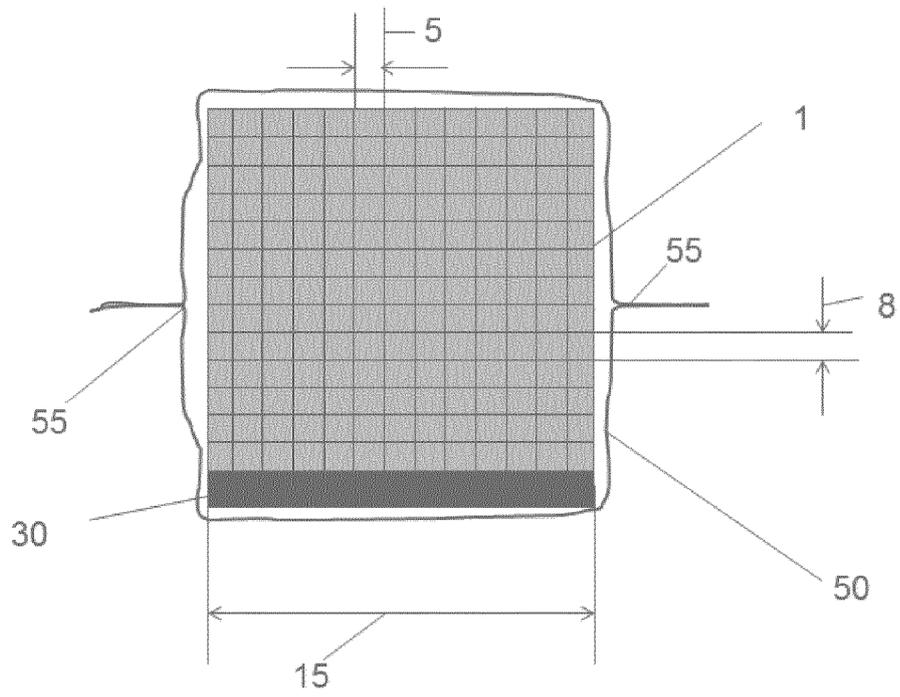


Fig. 5

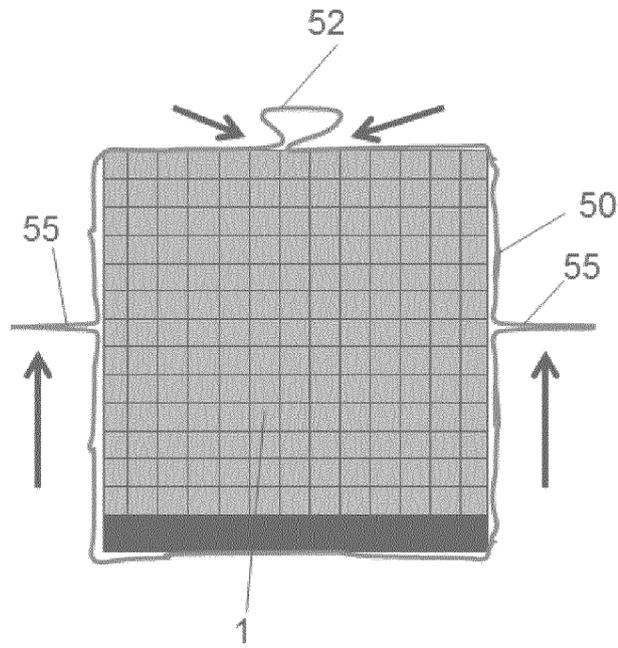


Fig. 6

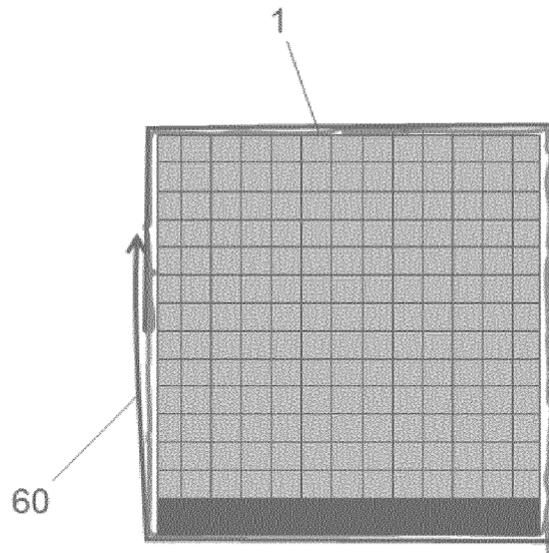


Fig. 7

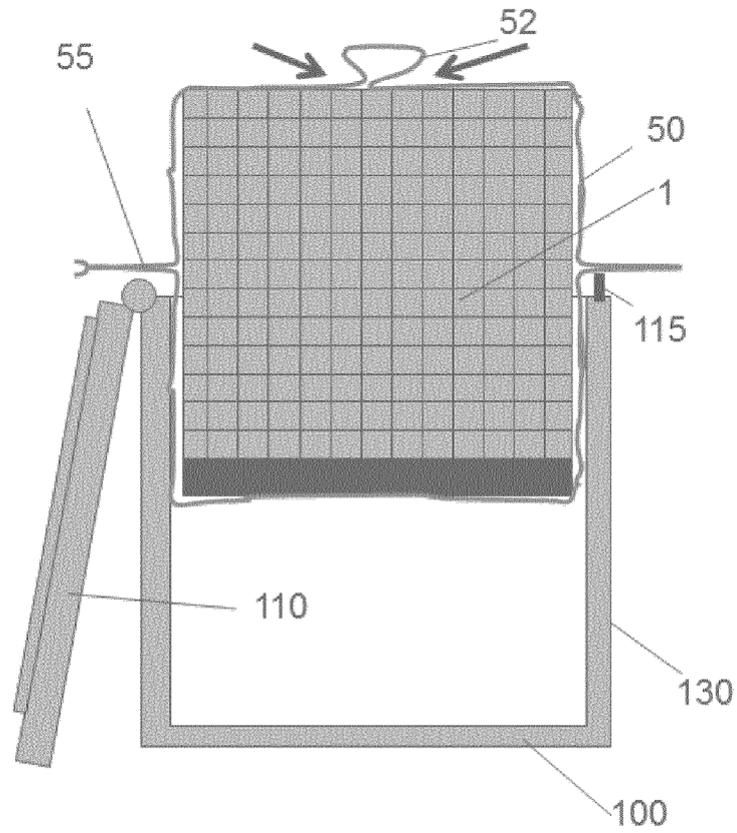


Fig. 8

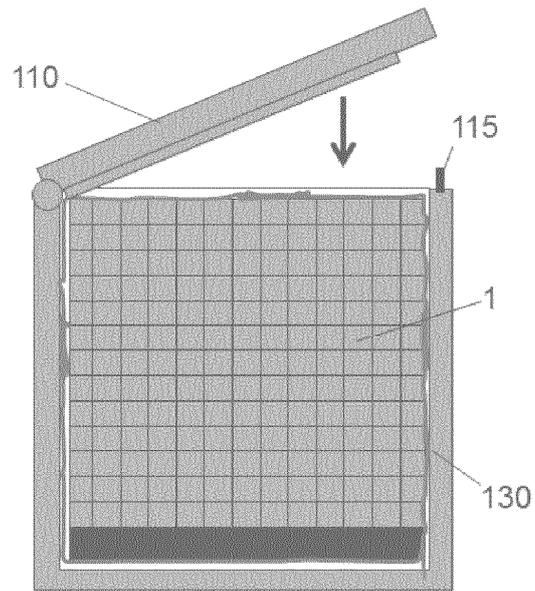


Fig. 9

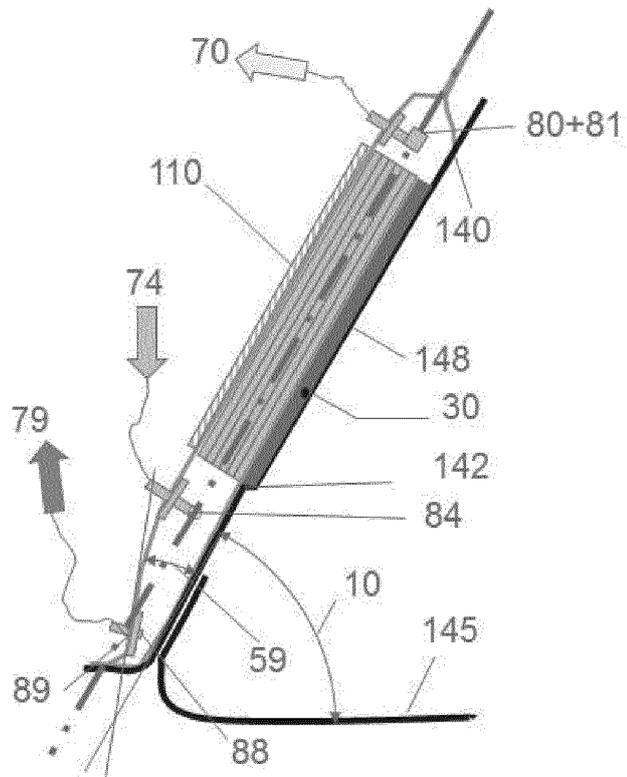


Fig. 10

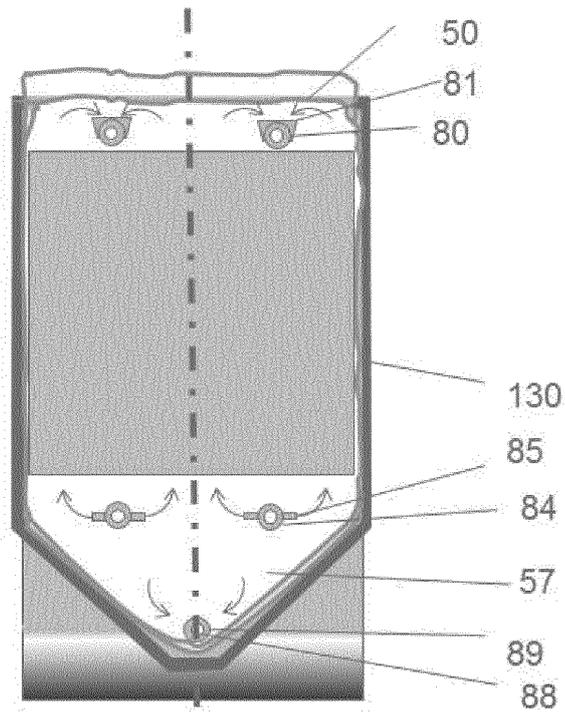


Fig. 11

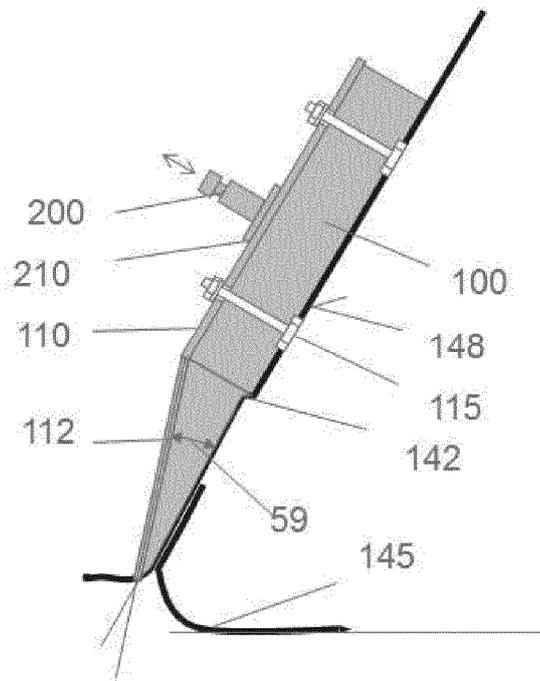


Fig. 12

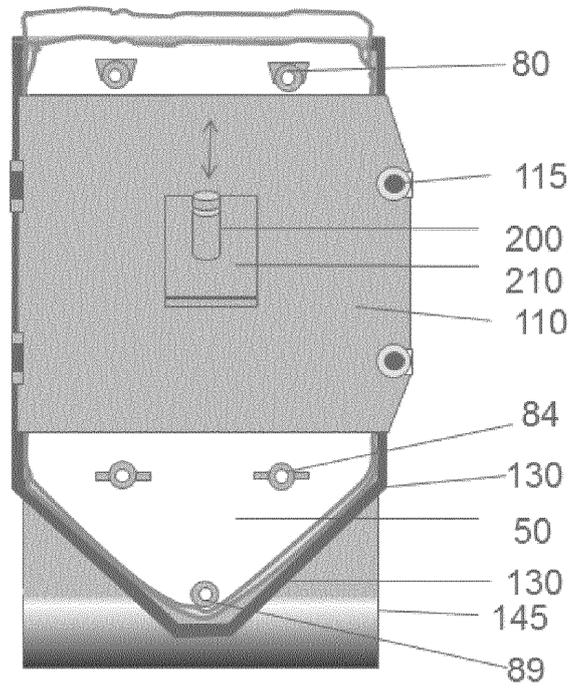


Fig. 13

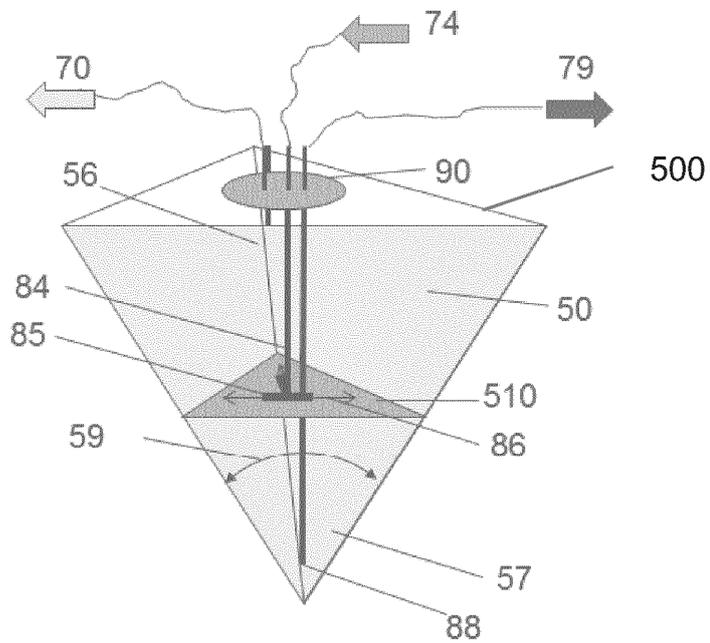


Fig. 14

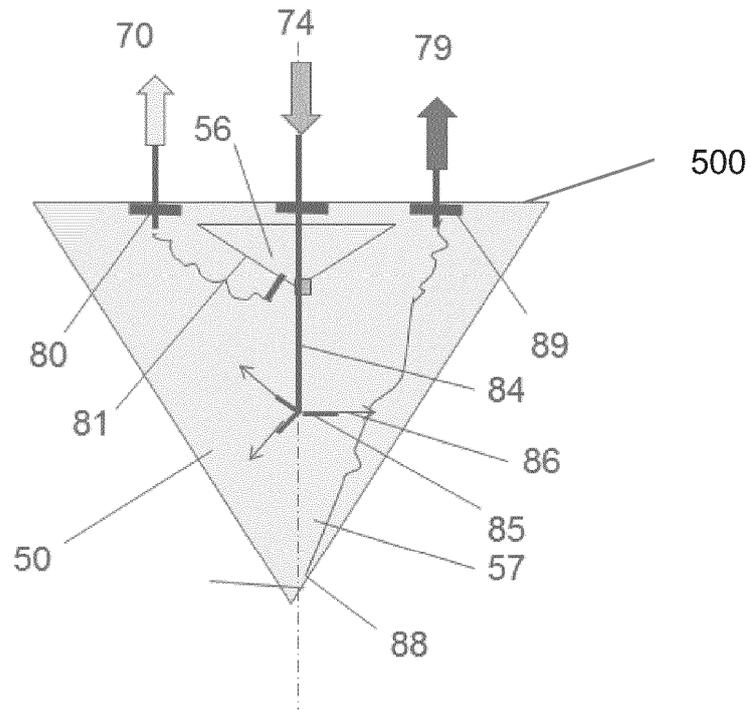


Fig. 15

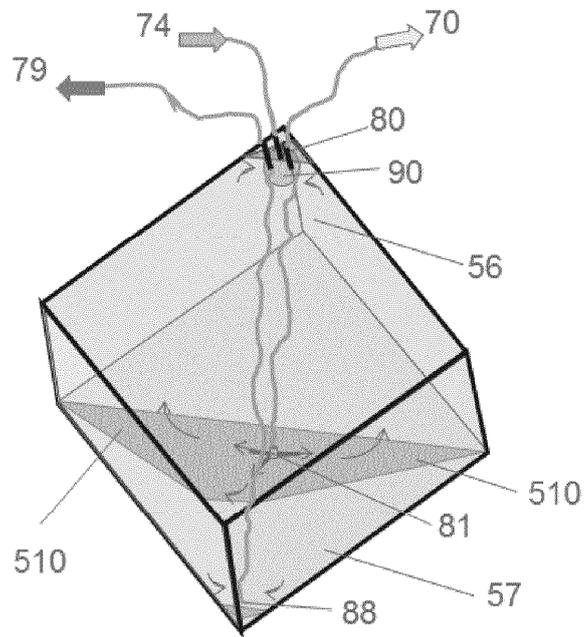


Fig. 16

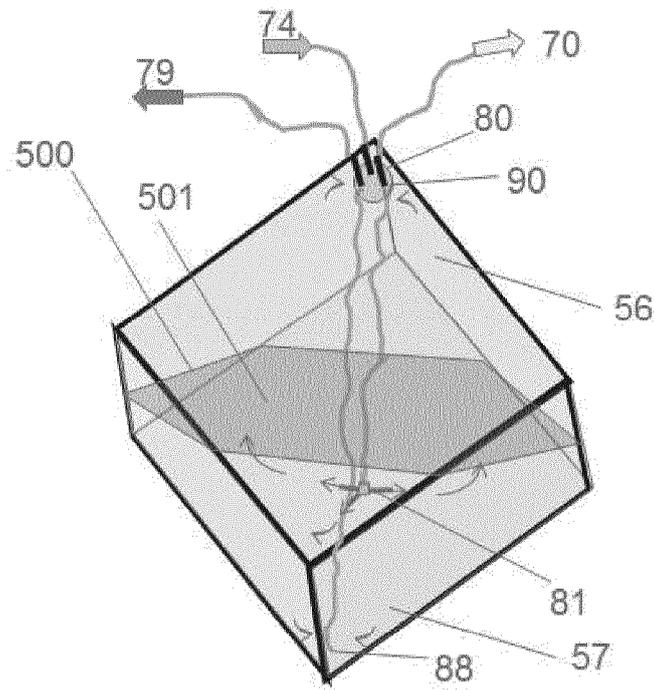


Fig. 17

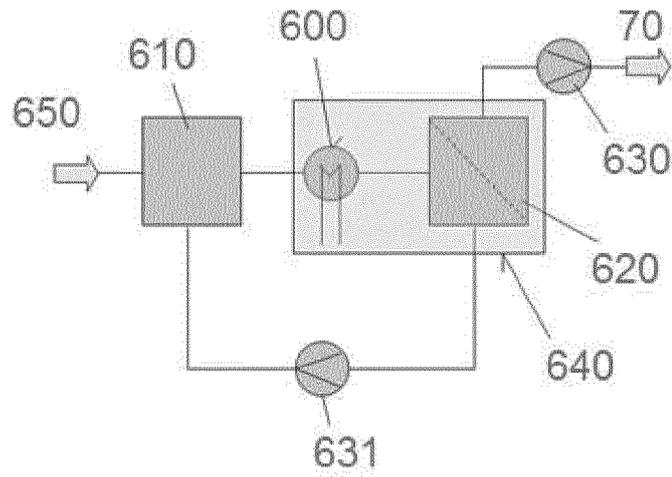


Fig. 18

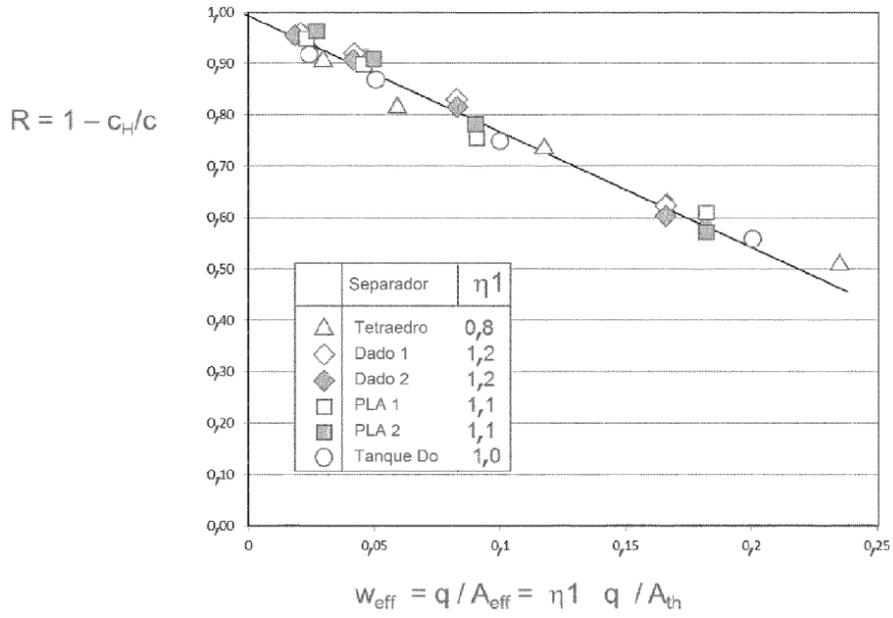


Fig. 19

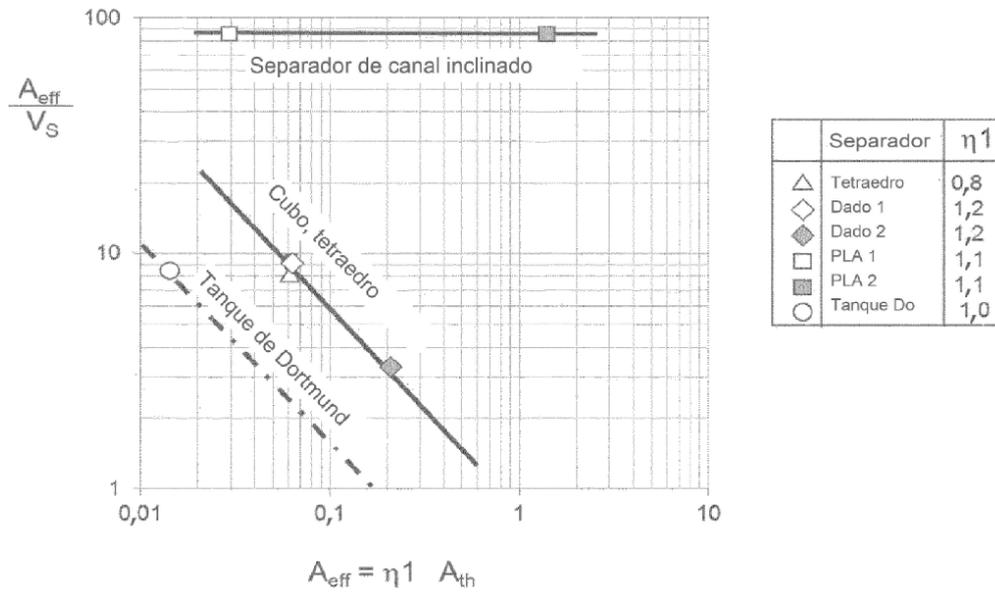


Fig. 20

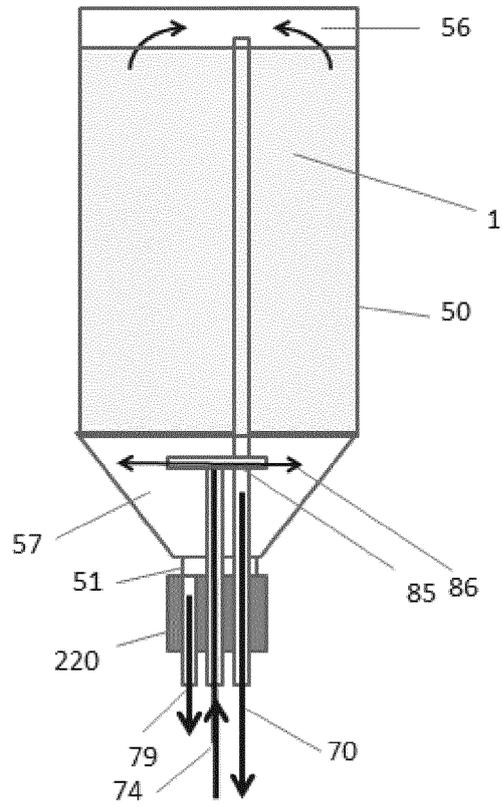


Fig. 21

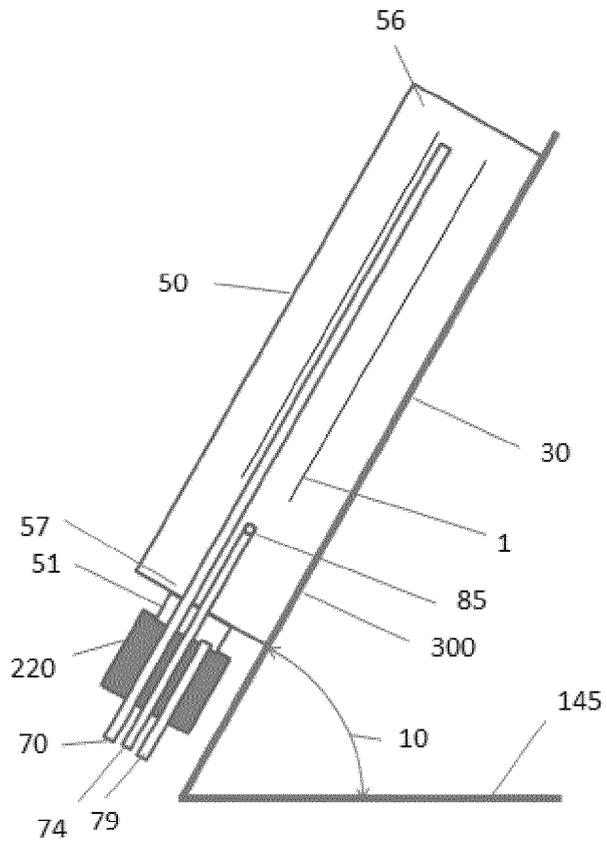


Fig. 22

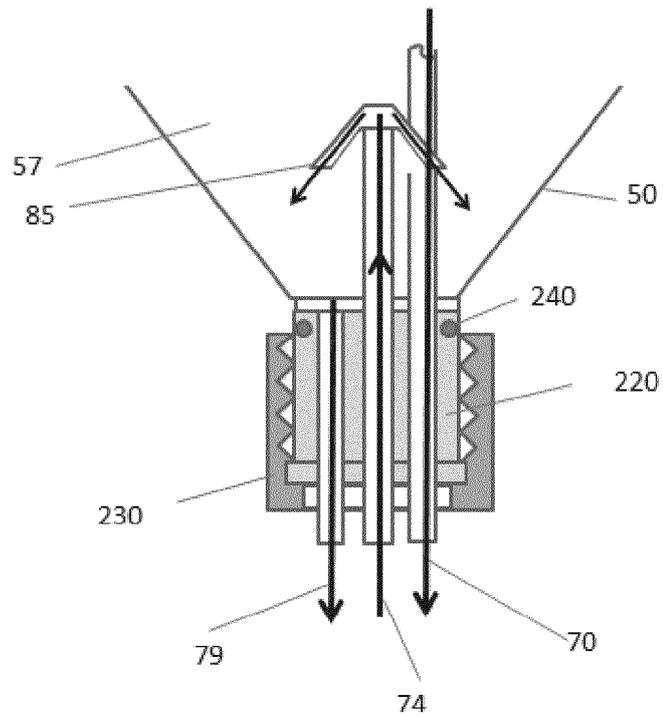


Fig. 23

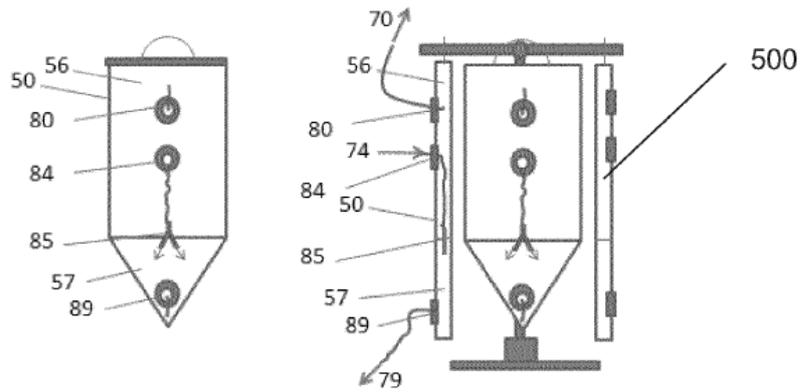


Fig. 24

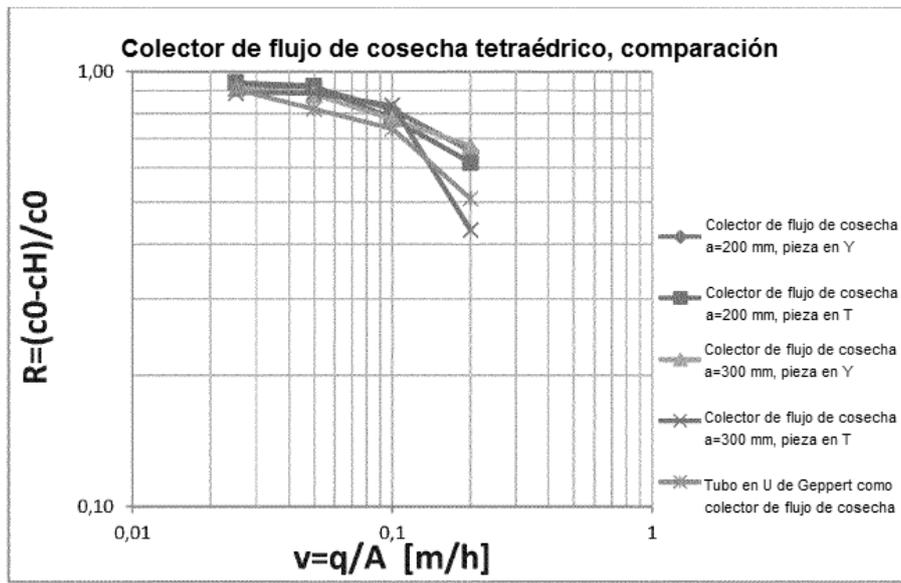


Fig. 25