

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 945 064**

51 Int. Cl.:

<b>C08L 1/02</b>	(2006.01) <b>D06M 13/33</b>	(2006.01)
<b>C08J 3/24</b>	(2006.01) <b>D06M 13/192</b>	(2006.01)
<b>C08K 5/09</b>	(2006.01) <b>D06M 13/21</b>	(2006.01)
<b>C08K 5/092</b>	(2006.01) <b>B01J 20/26</b>	(2006.01)
<b>C08B 15/10</b>	(2006.01) <b>B01D 69/02</b>	(2006.01)
<b>B01D 67/00</b>	(2006.01) <b>B01D 69/12</b>	(2006.01)
<b>B01D 71/00</b>	(2006.01) <b>B01D 71/10</b>	(2006.01)
<b>B01J 20/28</b>	(2006.01) <b>B01D 61/38</b>	(2006.01)
<b>C08J 5/22</b>	(2006.01) <b>D06M 101/28</b>	(2006.01)
<b>D06M 101/06</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.04.2017 PCT/US2017/030078**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.11.2017 WO17189977**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2017 E 17790518 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.02.2023 EP 3448928**

54 Título: **Membrana híbrida que comprende celulosa entrecruzada**

30 Prioridad:

**29.04.2016 US 201662329778 P**  
**18.11.2016 US 201662424096 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**28.06.2023**

73 Titular/es:

**NANOPAREIL, LLC (100.0%)**  
**310 N. Derby Lane 96**  
**Dakota Dunes, South Dakota 57049, US**

72 Inventor/es:

**SCHNEIDERMAN, STEVEN;**  
**MENKHAUS, TODD J.;**  
**ZHAO, YONG;**  
**FONG, HAO y**  
**ARNOLD, CRAIG**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 945 064 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Membrana híbrida que comprende celulosa entrecruzada

**5 Campo de la invención**

La invención se refiere a una composición que comprende una membrana híbrida que comprende celulosa entrecruzada.

**10 Antecedentes de la invención**

15 Las membranas basadas en celulosa ofrecen varias ventajas sobre otros materiales en aplicaciones de filtración. La celulosa es un polímero renovable, fácilmente disponible que es no tóxico y se modifica fácilmente para añadir funcionalidad para separaciones avanzadas. La celulosa se usa actualmente en una variedad de productos de membrana incluyendo aplicaciones de purificación de aire, agua y aceite y de filtración de adsorción.

20 Sin embargo, hay varios desafíos que se deben superar para llevar a cabo las ventajas de la celulosa como un medio de filtración. La celulosa absorbe agua fácilmente, hinchándose cuando está húmeda. La absorbancia de agua/hinchamiento restringe los espacios de poro de la membrana y produce permeabilidad reducida. Además, el volumen de la membrana entera aumenta. Si el material base se modifica con grupos funcionales para actuar como un medio de cromatografía, se puede producir hinchamiento adicional ya que el agua interacciona con los grupos funcionales añadidos para capturar proteínas y otras moléculas de interés. Puesto que el volumen total del material aumenta, capacidad de unión volumétrica (cantidad de molécula diana unida por volumen de material) disminuye comparado con un material que no se hincha. En casos extremos de adición de grupos funcionales (por ejemplo, adición de zarcillos funcionales a través de ATRP), se forma un hidrogel con capacidad de unión muy alta en una base en masa, pero que padece una permeabilidad muy baja y capacidad de unión volumétrica baja debido al hinchamiento del material y la constricción de poros.

30 Cuando está húmeda, la celulosa también es un material muy mecánicamente flexible. Después de la funcionalización, el material se vuelve incluso menos estructurado y no retiene su forma. Esta flexibilidad hace difícil trabajar físicamente con el material. Por ejemplo, al empaquetar material en una carcasa en preparación para filtración de flujo continuo, transferir el material se debe hacer con gran cuidado o el material se pliega sobre sí mismo y se debe separar a riesgo de dañar el material. La naturaleza flexible de la celulosa también significa que se puede producir compresión del material durante la filtración de flujo continuo. Debido al hinchamiento, se deben aplicar presiones aumentadas para obtener una velocidad de flujo determinada comparado con materiales que no se hinchan. A lo largo del tiempo, la presión puede compactar la celulosa, reduciendo los espacios de poro y aumentando más la presión. Los espacios de poro reducidos también disminuyen la cinética de adsorción ya que las moléculas diana no pueden ya acceder fácilmente a ciertos sitios de unión mediante convención y deben depender en difusión más lenta para alcanzar estos sitios y adsorberse al material. El resultado es requisitos de presión crecientes durante múltiples carreras y velocidades de flujo máximas menores ( $< 2$  MV/min) y/o lechos de membrana muy profundos ( $> 1$  cm) para alcanzar esta capacidad de unión.

45 El documento US 2015/114907 se refiere a aerogeles orgánicos muy porosos, de peso ligero, y recubiertos de organosilano sostenible con densidades ultrabajas y propiedades de material que incluyen alta afinidad para aceites y solventes orgánicos, y métodos para prepararlos.

50 El documento US 2015/298065 se refiere a una membrana que incluye una capa de recubrimiento que tiene nanofibras de celulosa producidas a partir de microfibras de celulosa oxidada y un sustrato electrohilado sobre el que se aplica la capa de recubrimiento.

55 Por tanto, reducir el hinchamiento de la celulosa es ventajoso en aumentar la permeabilidad y la capacidad de unión volumétrica. Además, si la rigidez del material se pudiera aumentar, sería más fácil trabajar físicamente con la membrana resultante y no se comprimiría bajo flujo, manteniendo la caída de presión baja durante múltiples carreras y la alta capacidad de unión a altas velocidades de flujo y/o menores profundidades de lecho. Por tanto, un objeto de la invención es proporcionar composiciones de celulosa porosas con propiedades físicas y cinéticas mejoradas como resultado del hinchamiento reducido. Un objeto adicional de la invención es proporcionar composiciones de celulosa porosas con rigidez material, cinética y durabilidad aumentadas. Otros objetos y ventajas de la invención son aparentes de la descripción detallada, figuras, y reivindicaciones.

60 La invención descrita en el presente documento usa entrecruzamiento para modificar materiales de membrana que contienen celulosa para reducir el hinchamiento, aumentar la rigidez y durabilidad (reutilizabilidad). En una forma de realización preferida, las composiciones pueden proporcionar alta capacidad de unión a altas velocidades de flujo después de que el material se modifique adicionalmente para su uso como un medio de cromatografía.

**Breve compendio de la invención**

La presente invención se refiere a una composición como se define en la reivindicación 1 y a un método de preparar una composición, el método se define en la reivindicación 7 y a un método de usar dicha composición como se define en la reivindicación 13.

5 Una ventaja de la invención es que los materiales celulósicos porosos proporcionan capacidad de unión aumentada respecto a la de materiales celulósicos existentes. Es una ventaja de la presente invención que membranas y/o hidrogeles preparados con las composiciones celulósicas poliméricas porosas sean particularmente adecuadas para medios de filtración, separación y/o funcionalización. En un aspecto de la invención las membranas y/o los hidrogeles de la invención pueden proporcionar capacidad de unión aumentada y operar a velocidades de flujo mayores.

10 En una forma de realización, la presente invención se dirige a una composición como se define en la reivindicación 1.

En otra forma de realización, la invención se dirige a un método de preparar una composición, el método se define en la reivindicación 7.

15 **Breve descripción de las figuras**

La figura 1 es un gráfico que compara la capacidad de unión en una base en volumen de una membrana celulósica de generación 1 ejemplar de la invención (representada por la línea discontinua) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por la línea continua).

La figura 2 es un gráfico que compara la capacidad de unión en una base en masa de dos membranas celulósicas ejemplares de la invención (generación 1 y generación 2, representadas por líneas discontinua y continua, respectivamente) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por la línea de puntos).

25 La figura 3 es un gráfico que compara la capacidad de unión en una base en volumen de dos membranas celulósicas ejemplares de la invención (generación 1 y generación 2, representadas por líneas discontinua y continua, respectivamente) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por la línea de puntos).

30 La figura 4 es un gráfico que compara la presión frente al flujo en una base en volumen de dos membranas ejemplares de la invención.

La figura 5 es un gráfico que compara la capacidad de unión en una base en volumen de una membrana ejemplar de la invención y una membrana tradicional comercialmente disponible a diferentes velocidades de flujo.

35 La figura 6 es un gráfico que compara la capacidad dinámica en una base en volumen de una membrana ejemplar de la invención (representada por las barras sólidas) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por las barras con puntos) a diferentes velocidades de flujo.

40 La figura 7 es un gráfico que compara la capacidad dinámica en una base en masa de una membrana ejemplar de la invención (representada por las barras sólidas) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por las barras con puntos) a diferentes velocidades de flujo.

45 La figura 8 es un gráfico que compara la presión relativa de una membrana ejemplar de la invención (representada por las barras sólidas) y una membrana tradicional comercialmente disponible (representada por las barras con puntos) a diferentes velocidades de flujo.

Varias formas de realización de la presente invención se describirán en detalle con referencia a las figuras. La referencia a varias formas de realización no limita el ámbito de la invención. Las figuras representadas en el presente documento no son limitaciones a las varias formas de realización según la invención y se presentan para una ilustración ejemplar de la invención.

50 **Descripción detallada de una forma de realización preferida**

55 La presente invención se refiere a materiales celulósicos porosos. Los materiales celulósicos porosos se incorporan a membranas que tienen muchas ventajas sobre las membranas existentes. Por ejemplo, las membranas que comprenden el material celulósico poroso pueden tener mayor capacidad de unión y pueden operar a mayores velocidades de flujo que las membranas existentes.

60 Las formas de realización de esta invención no están limitadas a materiales celulósicos particulares, que pueden variar y entienden los expertos en la materia. Se debe además entender que toda la terminología usada en el presente documento es para el fin de describir formas de realización particulares solo, y no se pretende que sea limitante en ninguna manera o ámbito. Por ejemplo, como se usa en esta especificación y reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" pueden incluir referentes plurales a menos que el contexto claramente indique otra cosa. Además, todas las unidades, prefijos y símbolos pueden estar indicadas en su forma aceptada en el SI.

65

Los intervalos numéricos enumerados en la especificación son inclusivos de los números en el intervalo definido. A lo largo de esta divulgación, varios aspectos de esta invención se presentan en un formato de intervalo.

5 Según esto, se debe considerar que la descripción de un intervalo ha divulgado específicamente todos los posibles subintervalos y fracciones, así como los valores numéricos individuales en ese intervalo (por ejemplo, de 1 a 5 incluye, 1, 1,5, 2, 2<sup>3</sup>/<sub>4</sub>, 3, 3,80, 4, y 5).

10 A fin de que la presente invención se pueda entender más fácilmente, primero se definen ciertos términos. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la materia a la que pertenecen las formas de realización de la invención.

15 Al describir y reivindicar las formas de realización de la presente invención, la siguiente terminología se usará según las definiciones expuestas a continuación.

20 El término “aproximadamente”, como se usa en el presente documento, se refiere a una variación en la cantidad numérica que se puede producir, por ejemplo, mediante los procedimientos típicos de medición y manejo de líquidos usados para hacer concentrados o soluciones de uso en el mundo real; mediante error inadvertido en estos procedimientos; mediante diferencias en la fabricación, fuente, o pureza de los ingredientes usados para hacer las composiciones o llevar a cabo los métodos; y similares. El término “aproximadamente” también abarca cantidades que se diferencian debido a diferentes condiciones de equilibrio para una composición resultante de una mezcla inicial particular. Estén o no modificadas por el término “aproximadamente”, las reivindicaciones incluyen equivalentes a las cantidades.

25 El término “capacidad en masa” como se usa en el presente documento se refiere a la cantidad de producto unido por masa de adsorbente. La capacidad para la adsorción de proteínas se considera “alta” si está por encima de 200 mg de proteína/g de adsorbente.

30 El término “capacidad en volumen” como se usa en el presente documento se refiere a la cantidad de producto unido por volumen seco de adsorbente. La capacidad para la adsorción de proteínas se considera “alta” si está por encima de 100 mg de proteína/ml de adsorbente.

35 El término “velocidad de flujo” como se usa en el presente documento se refiere al volumen de líquido expresado en volúmenes de membrana (MV) seca de membrana por la que pasa el flujo por tiempo expresado en minutos. La velocidad de flujo se considera alta si está por encima de 20 MV/min.

El término “nanofibras compuestas” como se usa en el presente documento son nanofibras producidas de al menos dos polímeros diferentes.

40 El término “diferencialmente separable” como se usa en el presente documento significa que, cuando el fieltro de nanofibra híbrida contiene al menos dos nanofibras diferentes preparadas con diferentes polímeros, se pueden seleccionar condiciones (temperatura elevada y/o exposición a solvente) para retirar una de las nanofibras o polímeros que forman parte de una nanofibra (por ejemplo, en una nanofibra compuesta).

45 El término “electrohilado” como se usa en el presente documento se refiere a la aplicación de fuerzas eléctricas a la solución de hilatura para formar nanofibras.

50 Los términos “membrana”, “fieltro”, “estera”, y “malla”, como se usan en el presente documento son intercambiables y se refieren a una colección de fibras no tejidas, aleatoriamente superpuestas, colecciones tejidas de fibras o fibras orientadas.

55 El término “fieltro de nanofibra” como se usa en el presente documento se refiere a una colección de nanofibras en una formación sustancialmente plana, que también puede incluir microfibras añadidas para resistencia, aumentar el flujo, etc.

El término “microfibras” como se usa en el presente documento se refiere a fibras con diámetros mayores de 1,0 micrómetro, y en general entre 1,0 micrómetro y 1,0 milímetro.

60 El término “nanofibras” como se usa en el presente documento se refiere a fibras con diámetros menores de 1,0 micrómetro, y en general entre 10 nanómetros y 1,0 micrómetro, tal como 200 nm y 600 nm.

El término “nanofibras de componente único” como se usa en el presente documento son nanofibras producidas de al menos dos polímeros diferentes.

65 El término “solución de hilatura” como se usa en el presente documento se refiere a la solución de polímero que se usa en el proceso de electrohilado.

Composiciones de celulosa entrecruzada y métodos de preparar y usar las mismas

5 Las composiciones de la invención se definen en las reivindicaciones. Opcionalmente, estas composiciones se pueden modelar en formas deseadas, incluyendo, pero no limitadas a, fibras, obleas, cilindros, esferas, y tubos huecos. Estas composiciones celulósicas se pueden preparar u obtener en forma preparada.

10 Los poros y canales pueden ser nanoporos, microporos, nanocanales, microcanales, y combinaciones de los mismos. En ciertas formas de realización, las membranas celulósicas se pueden funcionalizar o tener zarcillos (preferiblemente zarcillos por polimerización de radicales por transferencia de átomos (ATRP)) o hidrogeles unidos a su superficie.

15 La composición celulósica es una composición híbrida que contiene celulosa y un polímero no basado en celulosa. Las composiciones celulósicas híbridas adecuadas y los métodos de preparar las mismas se describen en la publicación de patente en EE UU No. 2015/0360158.

20 Por ejemplo, las composiciones celulósicas híbridas se pueden preparar por electrohilado de un fieltro híbrido con una primera nanofibra no basada en celulosa y una nanofibra compuesta. La primera nanofibra no basada en celulosa se puede preparar por electrohilado de un primer polímero no basado en celulosa; preferiblemente, la primera nanofibra no basada en celulosa es una nanofibra de componente único. La nanofibra compuesta se puede preparar por electrohilado de un polímero basado en celulosa y un segundo polímero no basado en celulosa. Opcionalmente, el primer y segundo polímeros no basados en celulosa pueden ser diferencialmente separables.

25 Las composiciones celulósicas híbridas contienen al menos el 60% en peso, o al menos el 70% en peso, de nanofibras celulósicas.

#### Polímeros no basados en celulosa

30 Mientras la mayoría en masa de una composición celulósica híbrida puede ser de los polímeros basados en celulosa, la incorporación de tipos adicionales de fibras en los fieltros puede proporcionar funcionalidad deseada para aplicaciones de los fieltros. Según esto, es deseable tener fibras adicionales en los fieltros porque pueden proporcionar resistencia mecánica aumentada al fieltro, permitir que se incorporen funcionalidades múltiples al fieltro, proporcionar estabilidad al proceso de fabricación, y otros aspectos como se explica en otro lugar en el presente documento. En efecto, los presentes inventores descubrieron inesperadamente que incluir incluso una pequeña proporción de polímeros no basados en celulosa en las composiciones celulósicas híbridas mejoraba el proceso de electrohilado y también permitía personalización del producto terminado para una variedad de aplicaciones biológicas e industriales, especialmente cuando las composiciones celulósicas híbridas contenían tanto una nanofibra compuesta como una nanofibra de componente único.

40 Las nanofibras de polímero sintéticas (por ejemplo, las producidas de polímeros de vinilo y polímeros acrílicos) ofrecen una amplia gama de funcionalidades químicas para bioseparaciones y otras aplicaciones. Al combinar diferentes unidades poliméricas, la química de superficie de la fibra resultante se puede controlar como parte del proceso de electrohilado, proporcionando funcionalidad directa a la nanofibra producida. Como una alternativa, y similar a las fibras de escala micrométrica convencionales, la funcionalidad de superficie de las nanofibras de polímero se puede modificar químicamente tras el electrohilado para acomodar requisitos de funcionalidad específicos para varias aplicaciones de bioseparación. Las químicas de funcionalización se conocen bien en las técnicas de polímeros. En general, también soportan pautas de limpieza duras asociadas con bioprocesos. Las químicas de funcionalización ejemplares también se discuten en más detalle en otro lugar en el presente documento.

50 Los medios de adsorción basados en carbono sintéticos y membranas de filtración con frecuencia son mucho más químicamente robustos que los medios basados en celulosa, y por tanto se pueden usar cuando se requieren ácidos y bases fuertes para limpiar los medios de separación entre usos. Además, las nanofibras híbridas que incluyen polímeros tanto basados en celulosa como no basados en celulosa (por ejemplo, poliacrilonitrilo y alcohol polivinílico) muestran área de superficie específica incluso mayor y resistencia química mayor cuando se comparan con nanofibras de celulosa de componente único o de polímero sintético de componente único. Según esto, hay una sinergia observable cuando las nanofibras compuestas incluyen polímeros tanto basados en celulosa como no basados en celulosa.

60 Muchos polímeros se han electrohilado con éxito a nanofibras, incluyendo (1) homopolímeros termoplásticos tal como polímeros de vinilo, polímeros acrílicos, poliamidas, poliésteres, poliéteres, y policarbonatos, (2) copolímeros termoplásticos, tal como polímeros de vinilo-co-vinilo, copolímeros acrílico-co-acrílico, y polímeros de vinilo-co-acrílico, (3) polímeros elastoméricos tal como elastómeros de copolímero tribloque, elastómeros de poliuretano, y elastómeros de etileno-propileno-dieno, (4) polímeros de alto rendimiento tal como poliimidas y poliamidas aromáticas, (5) polímeros cristalinos líquidos tal como poli(p-fenileno tereftalamida) y poliaramida, (6) polímeros textiles tal como tereftalato de polietileno y poliacrilonitrilo, (7) polímeros eléctricamente conductores tal como polianilina, así como (8) polímeros biocompatibles (es decir, "biopolímeros") como policaprolactona, polilactida, quitosano y poliglicolida. Como

se describe, el polímero también puede ser un copolímero de dos o más de las especies de polímeros anteriormente nombradas.

- 5 Los ejemplos de polímeros adicionales que se pueden añadir a los filtros de nanofibras híbridas se electrohilan como nanofibras de componente único de poliacrilonitrilo (PAN), poliimidias, poliamidas (nylon 6, nylon 6,6, nylon 6,10, etc.), poliésteres (tereftalato de polietileno, etc.), así como copolímeros de los mismos.

#### Preparación de composiciones celulósicas

- 10 Preferiblemente, la producción de composiciones celulósicas se basa en la forma de acetato de celulosa de la molécula debido a la alta solubilidad en solventes comúnmente usados. Después de la producción, la celulosa se puede obtener regenerando el material con hidróxido de sodio en un solvente que contiene agua y etanol. Específicamente, una concentración en el intervalo de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 N de NaOH en un solvente de regeneración que consiste en etanol de aproximadamente el 0 a aproximadamente el 20 (% en vol) en agua es preferida con un tiempo de regeneración de hasta aproximadamente 48 horas. El material se puede lavar con varios volúmenes de agua, preferiblemente agua de ósmosis inversa (RO), y secar a temperatura ambiente. También se pueden emplear otros métodos de preparar filtros celulósicos.

- 20 Una vez se obtiene una composición celulósica, el material se puede añadir a un sistema de entrecruzamiento. El sistema de entrecruzamiento puede comprender un agente de entrecruzamiento y un catalizador en solución. Preferiblemente el agente de entrecruzamiento y el catalizador están en una solución con agua. Preferiblemente, el agua es agua de RO.

- 25 Los intervalos de concentración adecuados del agente de entrecruzamiento pueden ser desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 100 g/l y el catalizador desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 100 g/l. La naturaleza del agente de entrecruzamiento se define en las reivindicaciones. Los agentes de entrecruzamiento incluyen aldehídos, organoclorados, éteres, ácidos carboxílicos multifuncionales, derivados de urea, éteres glicidílicos, y mezclas de los mismos.

- 30 El catalizador usado puede depender del agente de entrecruzamiento. Los catalizadores preferidos incluyen, pero no están limitados a, cianamida, ácido bórico, sulfato de aluminio, persulfato de amonio, hipofosfito de sodio, cloruro de magnesio, compuestos que contienen fosfato, y mezclas de los mismos.

- 35 Los agentes de entrecruzamiento preferidos incluyen, pero no están limitados a, compuestos que contienen un ácido carboxílico multifuncional y/o catalizadores descritos anteriormente. Los agentes de entrecruzamiento preferidos incluyen, pero no están limitados a, ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido itacónico-ácido maleico, ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico (BTCA), hipofosfito de sodio, persulfato de amonio, hidróxido de sodio, sulfato de aluminio, glioxal, glicerol, 1,4-butanodiol-diglicidil-éter, y mezclas de los mismos. En algunas formas de realización, ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico (BTCA), persulfato de amonio, glicerol, glioxal, hipofosfito de sodio, y combinaciones de los mismos son los agentes de entrecruzamiento más preferidos.

- 45 La composición celulósica se puede empapar desde aproximadamente 2 minutos hasta aproximadamente 1 hora en el sistema de entrecruzamiento y retirar. Opcionalmente, el sistema de entrecruzamiento se puede calentar y/o agitar mientras la composición celulósica se empapa. Una porción de la solución de entrecruzamiento se puede eliminar del filtro celulósico a través de presión para obtener una cierta cantidad de agente de entrecruzamiento por mol de unidades de anhidroglucosa (AGU) de celulosa. El material que contiene celulosa húmeda se puede secar después. Preferiblemente el secado se realiza a una temperatura entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 100°C durante un tiempo mayor de 0 minutos y menor de aproximadamente 120 minutos; lo más preferiblemente el secado se realiza a aproximadamente 25°C durante entre aproximadamente 30 y aproximadamente 60 minutos. Las etapas de secado y curado se pueden realizar por separado o simultáneamente. En una forma de realización preferida, se realizan por separado.

- 55 La composición celulósica también se cura. Preferiblemente, el material que contiene celulosa se cura a una temperatura entre aproximadamente 120°C y aproximadamente 195°C durante entre aproximadamente 1 minuto y aproximadamente 30 minutos. El material que contiene celulosa se puede enfriar después de estar a una temperatura elevada por encima de temperatura ambiente. Después de enfriar a temperatura ambiente, el material se puede lavar y después secar a temperatura ambiente. Preferiblemente, la composición se lava en agua, más preferiblemente en agua de RO.

- 60 En un aspecto de la invención la composición celulósica se puede poner en capas. Las composiciones estratificadas pueden tener cualquier número de capas, incluyendo, por ejemplo, entre aproximadamente 2 capas y aproximadamente 1000 capas.

- 65 Las composiciones celulósicas que se han entrecruzado pueden mostrar propiedades significativamente mejoradas comparadas con el material base. Por ejemplo, las composiciones pueden tener rigidez aumentada, descamación reducida, permeabilidad mejorada, cuando están húmedas, durabilidad, reutilizabilidad y/o hinchamiento reducido. Las

composiciones celulósicas entrecruzadas pueden ser más rígidas, mantener su forma mejor, y se pueden empaquetar fácilmente en soportes de filtración. La permeabilidad no está adversamente afectada por el entrecruzamiento y con ciertas condiciones de entrecruzamiento se puede mejorar. Después del entrecruzamiento, las composiciones se pueden usar directamente en aplicaciones de filtración o modificar adicionalmente. El material se puede modificar adicionalmente para añadir grupos funcionales para crear otros medios de cromatografía (por ejemplo, intercambio catión/anión, afinidad, etc.). Un beneficio adicional es que el material de celulosa modificado puede contener algunos grupos carboxilo sin reaccionar después del entrecruzamiento. Beneficiosamente, estos grupos carboxilo sin reaccionar pueden actuar como grupos de intercambio de cationes por ellos mismos sin modificación adicional.

Sorprendentemente, se encontró que la permeabilidad mejorada presente en las composiciones de celulosa entrecruzada se retenía incluso después de modificación adicional. Esto permite que se usen velocidades de flujo mucho mayores con poca pérdida en la capacidad de unión. Incluso más sorprendente fue que se podrían usar velocidades de flujo operativas superiores a 100 MV/min sin pérdida significativa de capacidad de unión, donde el material funcionalizado no estabilizado estaba limitado a < 5 MV/min. Esto puede indicar que las mejoras en la rigidez del material se traducían a un material más estructurado en el que una buena distribución de flujo y compresión mínima permiten alta permeabilidad y cinética de adsorción muy rápida.

Las composiciones de celulosa entrecruzada se pueden modelar en formas deseadas. En algunas formas de realización, las composiciones de celulosa entrecruzada se pueden usar como un medio de filtración, separación, y/o funcionalización. Opcionalmente, el medio de filtración es para adsorción y cromatografía, incluyendo, pero no limitado a, cromatografía líquida, HPLC, UPLC y/o cromatografía de gases. Las composiciones celulósicas se pueden usar para separar muchos materiales, incluyendo, pero no limitado a, biomateriales, microorganismos, proteínas, ADN, etc. Preferiblemente, las composiciones celulósicas se pueden usar para separar microorganismos, incluyendo, pero no limitado a, virus, bacterias, levaduras y células de mamífero.

#### Funcionalización de superficie

Después de la preparación de una composición híbrida, las superficies de la fibra se pueden funcionalizar. Los ejemplos no limitantes de funcionalización incluyen la adición de grupos de intercambio iónico tal como ácidos, y bases débiles o fuertes (por ejemplo, ácidos carboxílicos y aminas), grupos hidrofóbicos tal como compuestos fenólicos, y ligandos de afinidad tal como conjugados de virus, anticuerpos, sustratos de enzimas, y biomiméticos de molécula pequeña.

Para su uso en bioseparación, las composiciones híbridas de la presente invención son idealmente biológicamente inertes, lo que significa que deben resistir la unión no específica de sólidos insolubles tal como células y restos celulares, así como interacciones indeseadas con proteínas, azúcares, ácidos nucleicos, virus, y otros componentes solubles presentes en muchos sistemas biológicamente producidos.

Además, los fieltros de nanofibras para uso en bioseparación deben mostrar varias cualidades: (1) fibras de diámetro pequeño para permitir la mayor cantidad de área específica (este criterio es el más importante para procesos de adsorción y menos importante para separaciones estrictamente basadas en tamaño discutidas posteriormente); (2) distribución de tamaño de poro bien controlada y estrecha entre fibras para permitir distribución de flujo uniforme durante aplicaciones de adsorción y para un límite de tamaño estricto para separaciones basadas en tamaño; (3) las fibras deben tener excelente estabilidad mecánica y química para soportar presiones de operación potencialmente altas y condiciones de limpieza duras; y (4) las fibras deben tener un tamaño y composición química bien definidos y espacialmente consistentes.

Para procesos de adsorción, donde productos macromoleculares tal como proteínas, ácidos nucleicos y virus son las dianas predominantes, la gran área de superficie específica asociada con fieltros de nanofibras proporciona una pluralidad de potenciales sitios de unión para bioseparaciones de adsorción. Las nanofibras se pueden modificar para que contengan una pluralidad de sitios de unión y la adsorción se puede producir en la superficie de las fibras, que hace los sitios de unión inmediatamente disponibles sin requerir que la molécula diana difunda internamente. La difusión interna con frecuencia puede limitar la capacidad para muchos procesos de adsorción de bioproductos cuando se usan perlas de resinas porosas tradicionales debido al tamaño relativamente grande de las moléculas diana. Además, puesto que las membranas de nanofibras se pueden hacer de muchas nanofibras de polímeros diferentes y basadas en celulosa, el ligando de adsorción se puede personalizar para que cumpla las necesidades de una separación particular (por ejemplo, iónica, hidrofóbica, y de afinidad). En algunos casos el ligando se puede incorporar a la nanofibra desde los materiales fuente durante el electrohilado, o alternativamente, la superficie se puede modificar químicamente para proporcionar el agente de adsorción deseado después de producir la nanofibra.

Dos de las características más importantes de la operación de separación son que, (1) el flujo pasa a través de micro- y macroporos del fieltro (en oposición a perlas de resina estrechamente empaquetadas), y (2) esa adsorción tiene lugar en la superficie de las fibras, donde no se requiere difusión interna. Estos factores reducen las preocupaciones de caídas de alta presión con velocidades de flujo elevadas, y eliminan la difusión intrapartícula lenta requerida para la adsorción en perlas de resina. Se ha mostrado que la capacidad de unión de biomoléculas a fieltros de adsorción actualmente disponibles es similar en magnitud a las perlas de resina, pero puede operar a velocidades de flujo de

procesamiento más de 10 veces más rápidas que los lechos empaquetados. Estos factores permiten tiempos de procesamiento mucho más rápidos y niveles de unión potencialmente mayores para purificar productos biológicos valiosos. Esto es muy deseable, especialmente para grandes biomoléculas (pesos moleculares mayores de 100 kDa, y/o diámetros hidrodinámicos de 20-300 nm), porque son difíciles de purificar usando lechos empaquetados debido a las limitaciones de transferencia de masa en los pequeños poros de las perlas de resina.

La superficie de los filtros de nanofibras de la presente invención se puede modificar para proporcionar química de intercambio iónico e interacción hidrofóbica. Se puede usar modificación química sencilla tal como sulfonación de fibras de poliestireno con ácido sulfúrico para producir un medio de intercambio catiónico. Se pueden usar injertos, polimerización de radicales por transferencia de átomos (ATRP), y tratamientos de plasma para crear grupos funcionales de superficie de intercambio iónico, así como anclajes tridimensionales a partir de una variedad de sustratos poliméricos incluyendo polipropileno, difluoruro de polivinilideno, polisulfona, y otros. También se pueden introducir grupos fenilo y butilo como ligandos de interacción hidrofóbica. Puede ser deseable modificar adicionalmente la superficie de membranas de polímero para aumentar la hidrofobicidad y para desalentar la unión no específica. Esto se ha logrado mediante la introducción de polietilenglicol y otros polioles en la superficie.

La capacidad de intercambio iónico de una composición híbrida también se puede aumentar introduciendo, incluyendo, por ejemplo, pero no limitado a, grupos dietilaminoetilo (DEAE) como un ligando de intercambio aniónico débil o ácido carboxílico como un ligando de intercambio catiónico débil.

#### Funcionalización de superficie con antimicrobianos

En una forma de realización de la presente invención, el polímero no basado en celulosa es poliacrilonitrilo (PAN). Las membranas fibrosas de PAN son preferibles para filtración debido a la estabilidad térmica, propiedades mecánicas altas, y resistividad química. Los filtros de nanofibras de PAN electrohiladas han sido de interés particular debido a propiedades tales como pequeños diámetros de fibra y las concomitantes grandes áreas de superficie específica, así como las capacidades para controlar tamaños de poro entre nanofibras y para incorporar agentes antimicrobianos a nanoescala. Los filtros compuestos de nanofibras con funcionalidad antimicrobiana han atraído atención creciente debido a las preocupaciones sobre las calidades del agua purificada y/o aire filtrado, así como los costes de procesamiento. Los filtros de agua y aire (en particular los que operan en condiciones oscuras y húmedas) están constantemente sometidos a ataques de microorganismos medioambientales. Los microorganismos (tal como bacterias) que pueden ser capturados fácilmente por los filtros crecen rápidamente, produciendo la formación de biopelículas. Por consiguiente, las acumulaciones de microorganismos en superficies de filtros deterioran las calidades del agua purificada y/o aire filtrado; además, también tienen los efectos desfavorables sobre el flujo de agua y/o aire.

Además, los filtros contaminados con biopelículas son difíciles de limpiar. Habitualmente, se requiere alta presión durante la operación. Esto, a su vez, aumenta los costes. Los métodos descritos incorporan agentes antimicrobianos (tal como N-halamina e iones/nanopartículas de plata) directamente en las soluciones de hilado, por tanto, las moléculas/partículas de agentes antimicrobianos se distribuyen a lo largo de las nanofibras (Xinbo Sun, Lifeng Zhang, Zhengbing Cao, Ying Deng, Li Liu, Hao Fong, y Yuyu Sun. "Electrospun Composite Nanofiber Fabrics Containing Uniformly Dispersed Antimicrobial Agents as an Innovative Type of Polymeric Materials with Superior Anti-Infective Efficacy". ACS Applied Materials and Interfaces, 2(4), 952-956, 2010).

Sin embargo, esto con frecuencia produce problemas de proceso, principalmente porque el alto contenido de agentes antimicrobianos puede afectar seriamente el proceso de electrohilado y/o deteriorar las propiedades de las nanofibras resultantes. Una potencial solución a estos problemas es introducir la funcionalidad antimicrobiana sobre las superficies de las nanofibras después de que se produzcan las nanofibras (Lifeng Zhang, Jie Luo, Todd J. Menkhaus, Hemanthram Varadaraju, Yuyu Sun, y Hao Fong. "Antimicrobial Nano-fibrous Membranes Developed from Electrospun Polyacrylonitrile Nanofibers". Journal of Membrane Science, 369, 499-505, 2011).

Se sabe que los grupos nitrilo ( $-C\equiv N$ ) en PAN se pueden convertir químicamente a grupos amidoxima ( $-C(NH_2)=NOH$ ). Los grupos amidoxima se pueden coordinar con una amplia gama de iones metálicos incluyendo iones de plata, y los iones de plata coordinados se pueden reducir a nanopartículas de plata. Tanto los iones de plata como las nanopartículas de plata son agentes antimicrobianos con alta eficacia antimicrobiana.

#### Otros ejemplos

Una alternativa prometedora a la cromatografía de lecho empaquetado y otras tecnologías de separación es el uso de composiciones híbridas de la presente invención como membranas de adsorción selectivas. Este estilo de adsorción utiliza los filtros de nanofibras como el soporte para ligandos que se usan durante el proceso de adsorción selectiva.

La adsorción selectiva implica la funcionalización de superficie "activa" del filtro de nanofibras híbridas, que permite la captura directa (adsorción) de sustancias diana. Tal modificación se simplifica si las composiciones híbridas incluyen fracciones químicas en sus superficies que sean relativamente sencillas de modificar químicamente para proporcionar sitios de adsorción.

A diferencia de modificar superficie de nanofibras para funcionalidad de intercambio iónico e interacción hidrofóbica, incorporar ligandos de afinidad sobre la nanofibra puede ser más exigente. Con frecuencia, el proceso requiere primero modificar la superficie para crear sitios de acoplamiento para la inmovilización del ligando, seguido por unión del ligando al sitio activo. De forma importante, tanto la modificación de superficie inicial como el acoplamiento del ligando deben ser robustos para no lixiviar durante el procesamiento.

En algunos casos, los grupos carboxilo sencillos de injertar ácido metacrílico sobre la superficie pueden actuar como el sitio de acoplamiento activo creando un enlace amida covalente entre el grupo carboxilo funcionalizado y un grupo amina expuesto en un ligando proteico. De forma similar, la fuerte oxidación de la celulosa (si se controla apropiadamente) puede proporcionar grupos aldehído en la superficie de la fibra que pueden formar una unión covalente a las aminas primarias de una proteína (incluyendo proteína A y proteína G); especialmente mediante el aminoácido lisina. En otros casos, la funcionalización de superficie con un colorante de afinidad general (por ejemplo, azul Cibacron, capaz de unirse a algunas proteínas) se puede acoplar directamente a una nanofibra de celulosa.

De forma más elaborada, se pueden incorporar sitios bioactivos para la inmovilización de ligandos proteicos en el esqueleto de la nanofibra durante la construcción del nanofiltro. Un ejemplo de esto es usar polietilenglicol (PEG) con poli-D,L-lactida (PDLLA) como un copolímero en bloque. El glicol se puede acoplar con biocitina (capaz de interacción de afinidad con proteínas de fusión de estreptavidina) después del electrohilado para crear una nanofibra de afinidad. De forma similar, se puede crear un copolímero dibloque de policaprolactona (PCL) y poli(ácido D,L-láctico-co-glicólico)-b-PEG-NH<sub>2</sub> (PLGA-b-PEF-NH<sub>2</sub>) que contiene nanofibras aminadas en la superficie para el acoplamiento con proteínas usando un agente de acoplamiento homobifuncional. Por último, en algunos casos es posible usar sitios activos intrínsecos asociados con ciertas matrices de nanofibra. Por ejemplo, acoplar concanavalina A (una etiqueta de afinidad para lectina asociada con glicol-proteínas y/u otros conjugados de glicol) a una nanofibra basada en quitosano ha tenido éxito.

Otras técnicas para unir ligandos específicos a compuestos basados en celulosa y/o polímeros sintéticos se conocen en las técnicas químicas.

#### Métodos de usar la composición

En un aspecto de la invención, las composiciones se pueden usar pasando un líquido a través de la composición. Preferiblemente las composiciones celulósicas porosas son una membrana y/o un hidrogel en tal método. Más preferiblemente, las composiciones celulósicas porosas se pueden incorporar en una variedad de medios de separación, filtración, y/o funcionalización. El método puede además comprender una etapa de separar moléculas del líquido. El método puede además comprender la etapa de funcionalizar una molécula. En un aspecto de la invención, la velocidad de flujo del líquido puede ser entre 5 MV/min y aproximadamente 400 MV/min, preferiblemente entre aproximadamente 10 MV/min y aproximadamente 300 MV/min. En un aspecto de la invención, las composiciones pueden tener una capacidad de unión dinámica en una base en volumen de al menos aproximadamente 60 mg/ml de la composición, preferiblemente entre aproximadamente 80 mg/ml y aproximadamente 300 mg/ml. En un aspecto de la invención, las composiciones pueden tener una capacidad de unión dinámica en una base en masa de al menos aproximadamente 120 mg/g de la composición, preferiblemente entre aproximadamente 150 mg/g y aproximadamente 650 mg/g.

#### **Ejemplos**

Las formas de realización de la presente invención se definen adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitantes. Se debe entender que estos ejemplos, mientras indican ciertas formas de realización de la invención, se dan a modo de ilustración solo.

#### Ejemplo comparativo 1. Estabilización de nanofibras de celulosa a través de entrecruzamiento con BTCA

Se estabilizan materiales que contienen nanofibras de celulosa entrecruzando la celulosa con ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico (BTCA) e hipofosfito de sodio en agua. Una lámina de 1,55 g de celulosa al 85%, PAN al 15% se sumergió en 20 ml de agua que contenía 1,26 g de BTCA y 1,30 g de hipofosfito de sodio. Después de empapar durante 30 min, la lámina se retiró, se colocó en papel de aluminio, y se trató con calor. La lámina primero se presecó a 85 C durante 15 minutos, seguido por un aumento de temperatura a 180 C. A continuación, la lámina se dejó enfriar a temperatura ambiente, después se sumergió en agua de ósmosis inversa (RO) para separar la lámina del soporte de aluminio. La lámina se lavó después con varios volúmenes de agua de RO para eliminar el BTCA e hipofosfito de sodio residuales. La lámina producida mostró rigidez de material visiblemente aumentada y era más fácil de manejar. La permeabilidad es equivalente o menor que las láminas de nanofibras de celulosa no estabilizadas.

#### Ejemplo comparativo 2. Funcionalización de intercambio catiónico de nanofibras de celulosa estabilizadas

Las nanofibras de celulosa estabilizadas a través de entrecruzamiento se pueden modificar con grupos de intercambio catiónico usando una reacción de tratamiento de superficie de dos etapas con hidróxido de sodio y ácido cloroacético. El material entrecruzado se sumerge en una solución de reacción que contiene 2-propanol del 0-100% en agua junto

con NaOH 1-3 g/l. Después de mezclar a 20-55 C, se añade ácido cloroacético en cantidades de 1-5 g/l. La reacción se deja proceder durante 1-7,5 horas a 35-60 C. La reacción se termina lavando el material de celulosa carboximetilada en varios volúmenes de agua de RO seguido por lavado con agua caliente (50-60 C) durante 30 minutos-2 horas. Los materiales obtenidos de la reacción actúan como medio de cromatografía de intercambio catiónico débil, mostrando alta capacidad de unión a moléculas con carga positiva. Los materiales reaccionados retienen la rigidez y bajo comportamiento de hinchamiento observado en los materiales base y muestran alta permeabilidad comparados con materiales de celulosa de intercambio catiónico no entrecruzados. Los materiales también muestran alta capacidad de unión en una base volumétrica (> 220 mg/ml de lisozima), debido al bajo comportamiento de hinchamiento. Los materiales se pueden operar a velocidades de flujo muy altas (> 100 volúmenes de membrana por minuto) con poca pérdida en capacidad.

#### Ejemplo comparativo 3. Funcionalización de intercambio aniónico de nanofibras de celulosa estabilizadas

Las nanofibras de celulosa estabilizadas a través de entrecruzamiento también se pueden modificar con grupos de intercambio aniónico usando una reacción de tratamiento de superficie de dos etapas separadas con cloruro de 2-(dietilamino)etilo clorhidrato (DEACH) e hidróxido de sodio. El material de celulosa entrecruzada o no entrecruzada se sumerge en una solución de NaOH 20-60 g/l en agua. Después de mezclar a 50-70 C durante 30-60 minutos, se añade una solución al 20% de DEAECH en agua para llevar la concentración final de DEAECH a entre 40-80 g/l. La solución se mezcla después a 50-70 C durante 2-5 horas adicionales. La reacción se termina retirando el material de la mezcla de reacción y lavando con varios volúmenes de agua de RO a temperatura ambiente, seguido por un lavado caliente (50-60 C) en agua durante 30 minutos-2 horas. El material producido actúa como un material de cromatografía de intercambio aniónico y muestra alta capacidad de unión volumétrica a moléculas con carga negativa (por ejemplo, seroalbúmina bovina). Si se produce a partir de celulosa no estabilizada, el material producido se puede estabilizar por tratamiento con calor en presencia de un agente de entrecruzamiento, preferiblemente persulfato de amonio. El material producido se empapa en una solución de persulfato de amonio 0,1-2 g/l en agua durante 30-120 minutos. A continuación, el material se cura a 100-150 C durante 10-40 minutos.

#### Ejemplo 4. Ensayo comparativo de membranas celulósicas

Se preparó una membrana celulósica según los métodos de la invención excepto que no se entrecruzó. Esta membrana ejemplar se denomina generación 1 en estos ejemplos. La membrana de generación 1 se ensayó frente a membranas celulósicas comercialmente disponibles (denominadas en el presente documento "membrana comercial"). Se evaluó la capacidad de unión en una base en volumen. Los resultados se muestran en la figura 1 con la membrana de generación 1 representada por la línea discontinua y la membrana comercial existente representada por la línea continua. Como se puede ver en la figura 1, la membrana de generación 1 ejemplar tuvo mayor capacidad de adsorción en una base en volumen comparada con la membrana de celulosa comercialmente disponible.

Se preparó una membrana celulósica entrecruzada ejemplar de una forma de realización preferida de la invención según los métodos de la invención. Se denomina membrana de generación 2. La membrana de generación 2 se ensayó frente a una membrana celulósica comercialmente disponible existente, así como a membrana de generación 1. Las membranas de generación 1 y generación 2 ejemplares de formas de realización preferidas de la invención se ensayaron para capacidad de unión en una base en masa en comparación con una membrana de celulosa comercialmente disponible. Los resultados se muestran en la figura 2 donde la membrana de generación 1 está representada por la línea discontinua, la membrana de generación 2 está representada por la línea continua, y la membrana de celulosa comercialmente disponible está representada por la línea de puntos. La figura 2 demuestra que las membranas ejemplares de la invención proporcionan capacidad dinámica mucho mayor a velocidades de flujo mucho más altas. La membrana de generación 2 proporcionó la capacidad dinámica más alta con aproximadamente 560 mg/g a 17 MV/min (tiempo de residencia 3,5 segundos) y aproximadamente 480 mg/g a 87 MV/min (tiempo de residencia 0,7 segundos), mientras la membrana de celulosa comercial proporcionó menos de 100 mg/g a una velocidad de flujo entre 20 MV/min y 80 MV/min.

Las membranas de generación 1 y generación 2 ejemplares de formas de realización preferidas de la invención también se ensayaron para capacidad de unión en una base en volumen en comparación con una membrana de celulosa comercialmente disponible. Los resultados se muestran en la figura 3 donde la membrana de generación 1 está representada por la línea discontinua, la membrana de generación 2 está representada por la línea continua, y la membrana de celulosa comercialmente disponible está representada por la línea de puntos. La figura 3 muestra que las membranas ejemplares de la invención proporcionan capacidad dinámica mucho mayor a velocidades de flujo mucho más altas. Las membranas ejemplares de la invención proporcionaron aproximadamente 224 mg/ml a 17 MV/min (tiempo de residencia 3,5 segundos) y aproximadamente 190 mg/ml a 87 MV/min (tiempo de residencia 0,7 segundos), mientras la membrana de celulosa comercial proporcionó aproximadamente 30 mg/g a una velocidad de flujo entre 20 MV/min y 80 MV/min.

Las membranas de generación 1 y generación 2 de la invención se compararon para presión frente a flujo. Los resultados se proporcionan en la figura 4 donde la membrana de generación 1 está representada por la línea discontinua y la membrana de generación 2 está representada por la línea continua. La membrana de generación 1 proporcionada tuvo una altura de lecho de 0,6 mm y la membrana de ocho capas tuvo una altura de lecho de 0,8 mm.

Como se puede ver en la figura 4, la membrana de generación 2 ejemplar de la invención proporciona altas velocidades de flujo a bajas presiones.

5 Como se demuestra en las figuras 2-4, la membrana de generación 2 (que estaba entrecruzada) superó la membrana comercialmente disponible y la membrana de generación 1 (no entrecruzada). Sin querer estar vinculado por ninguna teoría, se cree que el entrecruzamiento produjo propiedades mejoradas mayor capacidad y menor presión, permitiendo operación a mayor velocidad de flujo.

10 La membrana ejemplar de generación 2 de la invención se ensayó en comparación con una membrana celulósica comercialmente disponible para capacidad de unión de lisozima a velocidades de flujo altas variables con tiempos de residencia por debajo de 1 segundo. Los resultados se muestran en la figura 5. La figura 5 muestra que la capacidad de unión de una "Membrana ejemplar" es sustancialmente mayor que el material comercial incluso para velocidades de flujo muy altas que corresponden a tiempos de residencia muy bajos. Los datos reflejados en la figura 5 también se proporcionan en la tabla 2 a continuación.

15 **Tabla 2**

Velocidad de flujo [MV/min]	70	90	110	130
Capacidad del producto comercial [mg/ml]	25,6	25,6	25,6	25,6
Capacidad de la membrana ejemplar [mg/ml]	199	190	181	172
Tiempo de residencia [segundos]	0,86	0,67	0,55	0,46

20 Ejemplo 5. Comparación de membrana de intercambio celulósicas en cápsulas

Se ensayaron dos membranas de intercambio basadas en celulosa de igual volumen en cápsulas preempaquetadas. Una era una membrana de ocho capas ejemplar de la y la otra era una membrana celulósica comercialmente disponible. Se realizó una secuencia de absorción-elución de proteína estándar mediante las etapas de: equilibrio, carga, lavado, elución y regeneración. Los resultados de los datos se proporcionan en las figuras 7-9 donde la membrana ejemplar de la invención está representada por las barras sólidas y la membrana comercialmente disponible está representada por las barras de puntos.

La figura 6 muestra la capacidad de volumen dinámica (a diferentes velocidades de flujo de las dos membranas de intercambio catiónico basadas en celulosa. Está claro de la figura 6 que la membrana ejemplar de la invención superó significativamente a la membrana de intercambio basada en celulosa comercialmente disponible a todas las velocidades de flujo.

La figura 7 muestra la capacidad dinámica (masa seca) a diferentes velocidades de flujo de las dos membranas de intercambio catiónico basadas en celulosa. De nuevo, está claro en la figura 7 que la membrana ejemplar de la invención superó significativamente a la membrana de intercambio basada en celulosa comercialmente disponible a todas las velocidades de flujo.

La figura 8 muestra la presión relativa comparada a diferentes velocidades de flujo de las dos membranas de intercambio catiónico basadas en celulosa. De nuevo, la membrana ejemplar de la invención superó a la membrana comercialmente disponible.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:
- 5 una membrana híbrida que comprende celulosa y un polímero no basado en celulosa, en donde la celulosa está entrecruzada; en donde la composición comprende poros y/o canales, en donde el entrecruzador para la celulosa es un agente de entrecruzamiento elegido de un aldehído, un organoclorado, un éter, un ácido carboxílico multifuncional, glicerol, un derivado de urea, un éter glicidílico, o una mezcla de los mismos,
- 10 en donde la composición comprende al menos el 60% en peso de nanofibras celulósicas, y en donde la membrana híbrida comprende un fieltro híbrido que comprende una primera nanofibra no basada en celulosa preparada por electrohilado de un primer polímero no basado en celulosa y una nanofibra compuesta preparada por electrohilado de celulosa y un segundo polímero no basado en celulosa.
- 15 2. La composición de la reivindicación 1, en donde los poros y/o canales son nanoporos, microporos, nanocanales, microcanales, o combinaciones de los mismos.
3. La composición de la reivindicación 1 o 2, en donde la composición además comprende una funcionalización de la superficie de la fibra, y en donde la funcionalización comprende un grupo de intercambio iónico, un grupo hidrofóbico, o un ligando de afinidad.
- 20 4. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el agente de entrecruzamiento contiene un ácido carboxílico multifuncional.
- 25 5. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el agente de entrecruzamiento se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico (BTCA), glicerol, glioxal, y mezclas de los mismos.
- 30 6. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la composición está unida a un ligando; y/o en donde la composición está estratificada y en la forma de fibras, una oblea, un cilindro, una esfera, o un tubo hueco.
- 35 7. Un método de preparar una composición que comprende:
- (a) añadir una composición que comprende celulosa a un sistema de entrecruzamiento; en donde la composición es un híbrido que comprende la celulosa y un polímero no basado en celulosa, en donde el sistema de entrecruzamiento comprende un agente de entrecruzamiento y un catalizador en solución, y en donde el agente de entrecruzamiento es aldehído, un organoclorado, un éter, un ácido carboxílico multifuncional, glicerol, un derivado de urea, un éter glicidílico, o una mezcla de los mismos; y
- 40 (b) curar la composición después de ello; en donde la composición comprende poros y/o canales, en donde la composición comprende al menos el 60% en peso de nanofibras celulósicas, y
- 45 en donde la composición comprende un fieltro híbrido que comprende una primera nanofibra no basada en celulosa preparada por electrohilado de un primer polímero no basado en celulosa y una nanofibra compuesta preparada por electrohilado de la celulosa y un segundo polímero no basado en celulosa.
- 50 8. El método de la reivindicación 7, en donde el agente de entrecruzamiento comprende un ácido carboxílico multifuncional.
9. El método de la reivindicación 7, en donde el agente de entrecruzamiento se selecciona del grupo que consiste en ácido cítrico, ácido málico, ácido maleico, ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico (BTCA), glicerol, glioxal, y mezclas de los mismos.
- 55 10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en donde el catalizador se selecciona del grupo que consiste en cianamida, ácido bórico, sulfato de aluminio, persulfato de amonio, hipofosfito de sodio, cloruro de magnesio, un compuesto que contiene fosfato, y mezclas de los mismos.
- 60 11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en donde en donde los poros y/o canales son nanoporos, microporos, nanocanales, microcanales, o combinaciones de los mismos, y/o en donde el agente de entrecruzamiento está en una cantidad desde 5 a 100 g/l del sistema de entrecruzamiento, y en donde el catalizador está en una cantidad desde aproximadamente 5 a 100 g/l del sistema de entrecruzamiento.
- 65

12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 7-11, en donde la composición está en el sistema de entrecruzamiento desde 5 minutos hasta 1 hora, y en donde la etapa de curado se realiza durante un tiempo entre 1 minuto y 10 minutos y a una temperatura de entre 120°C y 195°C; o:
- 5 dicho método además comprende una etapa de secado antes de la etapa de curado, en donde la membrana se seca a una temperatura entre 20°C y 100°C durante un tiempo mayor de 0 minutos y menor de aproximadamente 60 minutos.
13. Un método de usar la composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 que comprende:
- 10 pasar un líquido a través de la composición.
14. El método de la reivindicación 13, en donde la composición es un medio de filtración, separación, y/o funcionalización; y/o
- 15 en donde la composición realiza una adsorción selectiva para separar moléculas del líquido; y/o dicho método además comprende recuperar moléculas de la composición.
- 20 15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 13 o 14, en donde la composición tiene una capacidad de unión dinámica en una base en masa de al menos 120 mg/g de la composición.

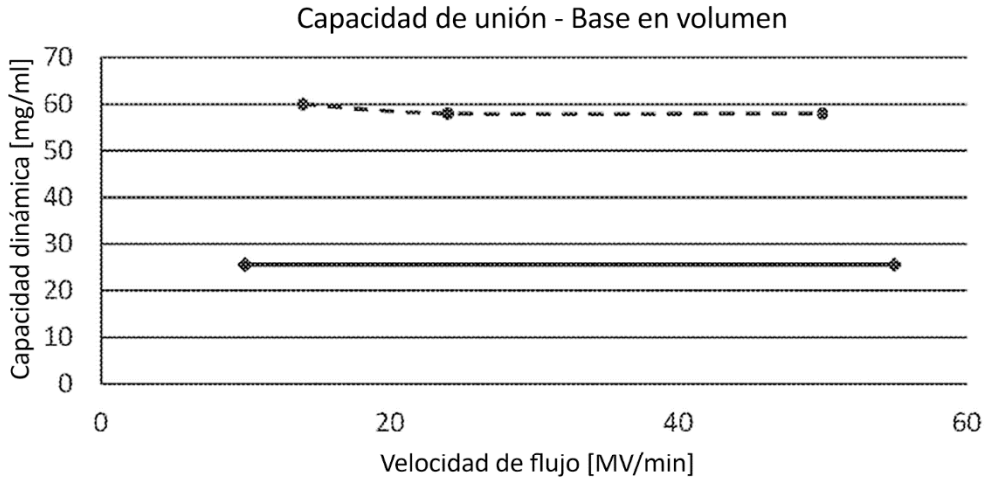


FIG. 1

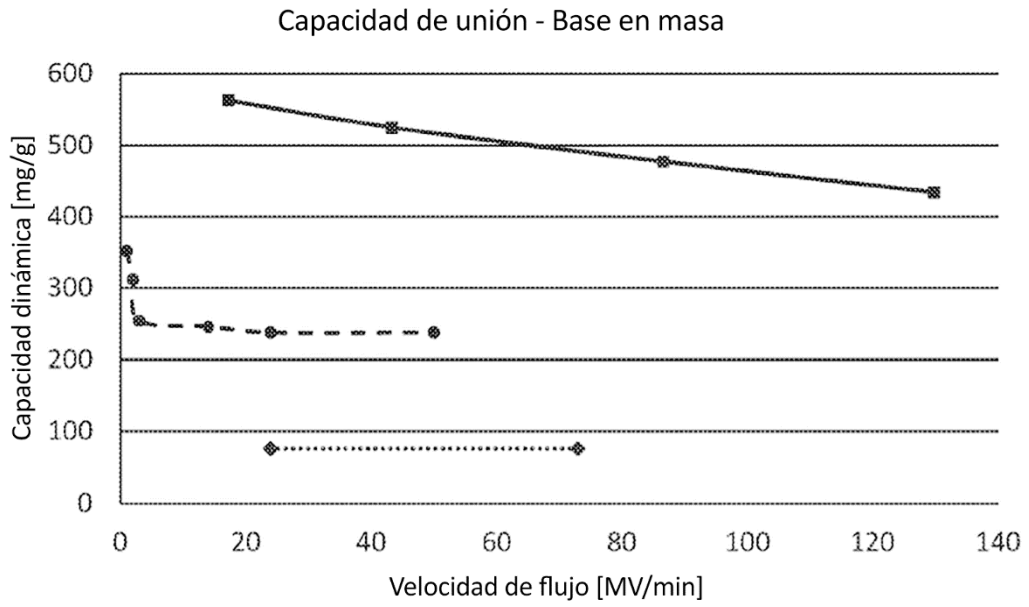


FIG. 2

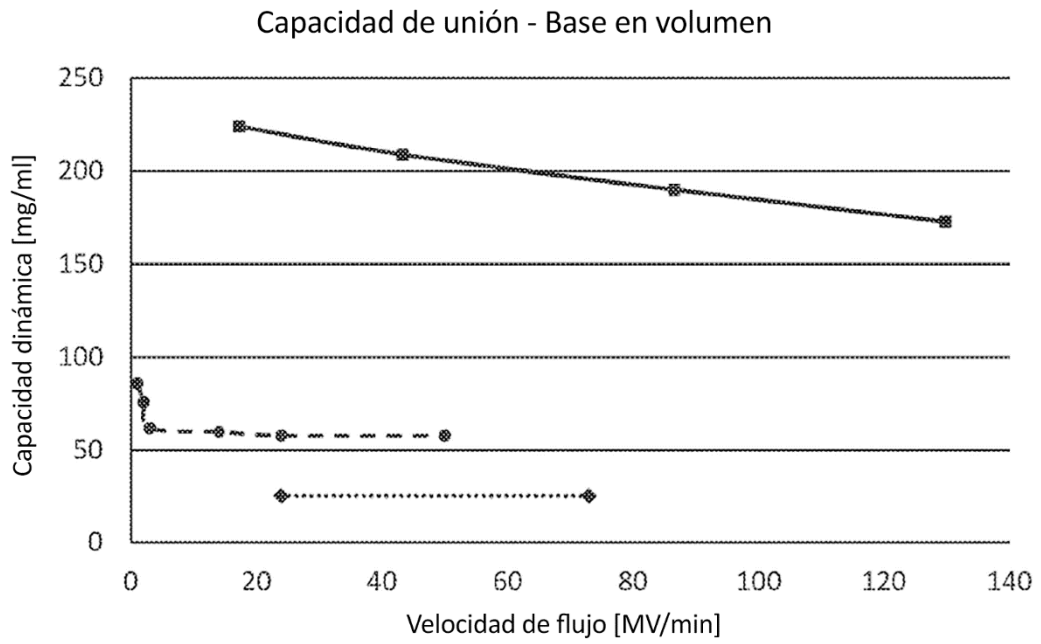


FIG. 3

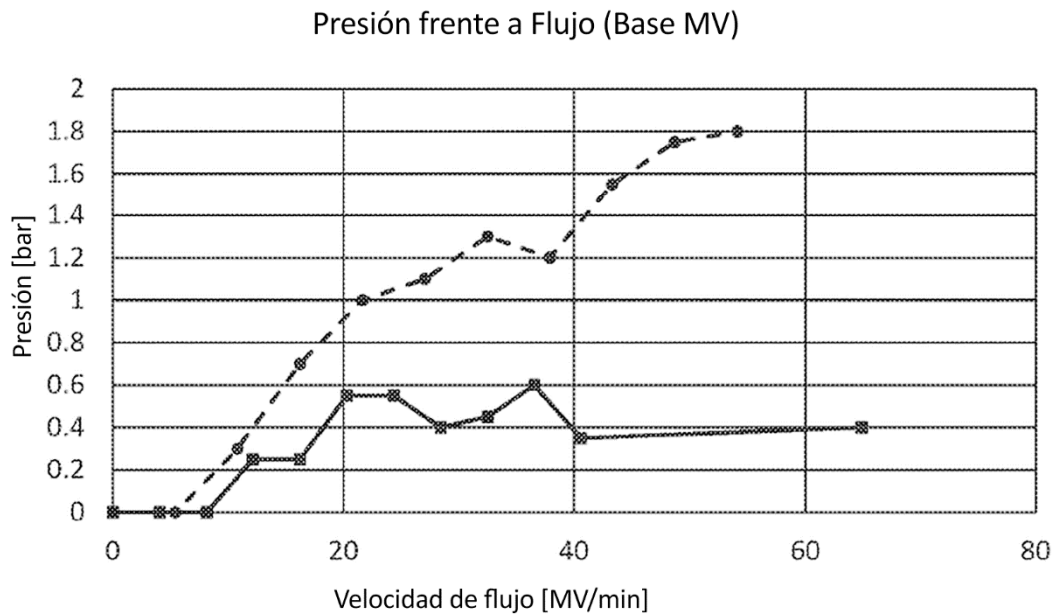
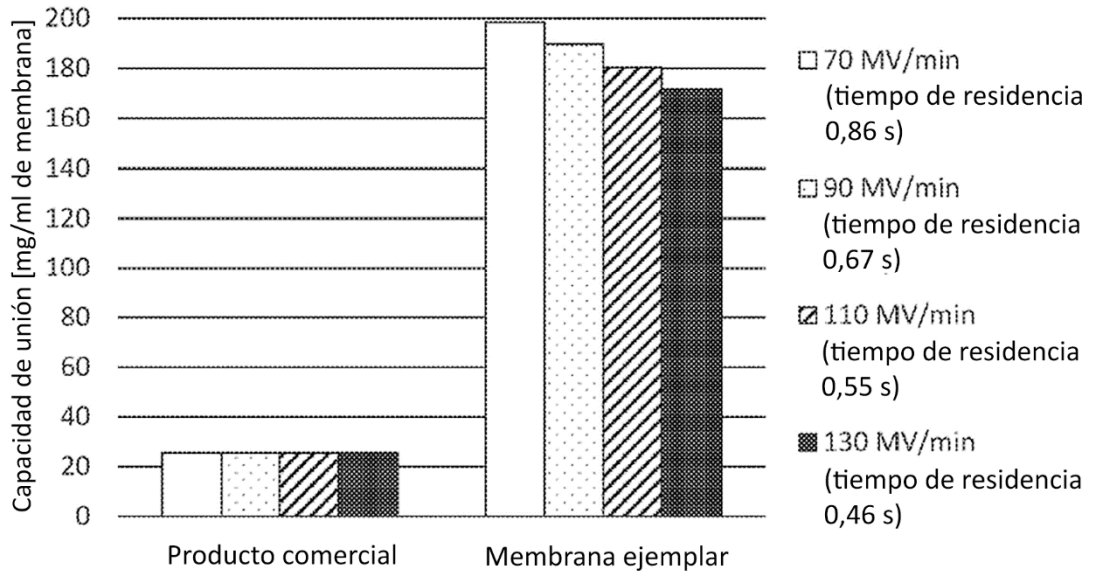
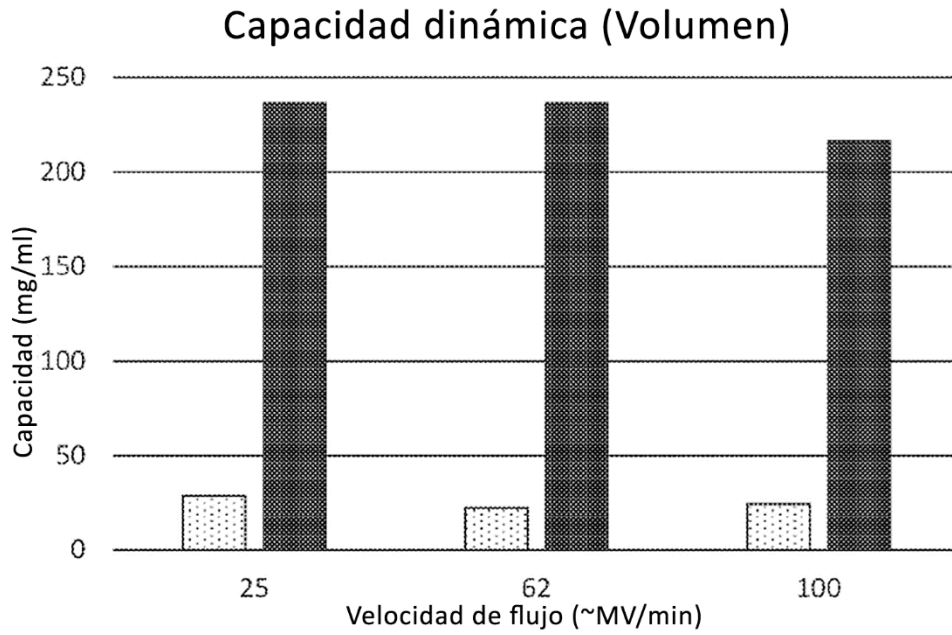


FIG. 4

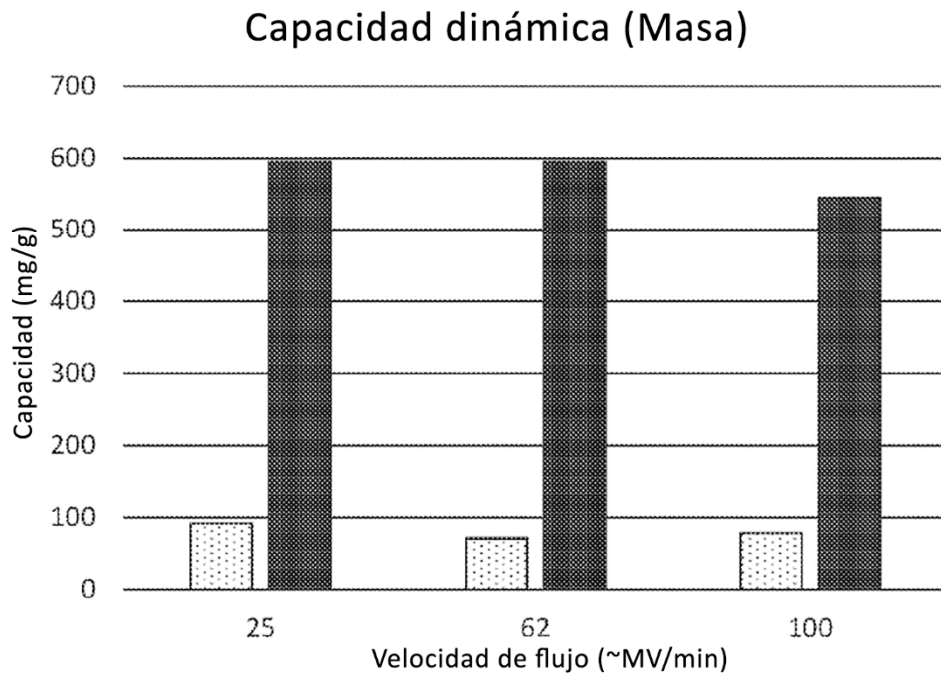
Capacidad de unión a lisozima - Base en volumen



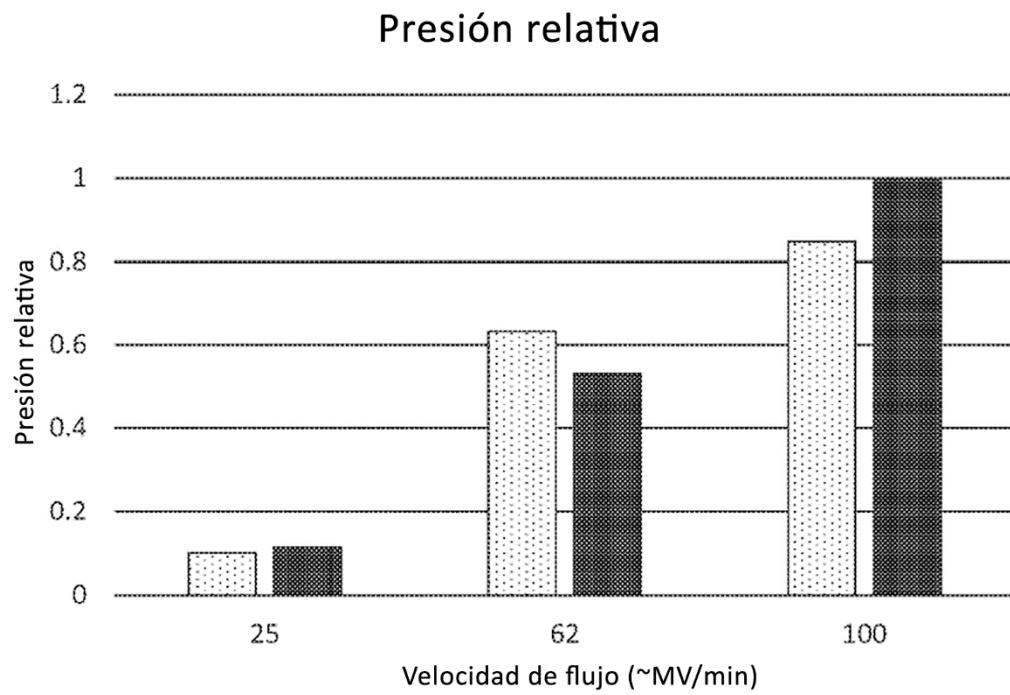
**FIG. 5**



*FIG. 6*



*FIG. 7*



**FIG. 8**