

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 817 077**

51 Int. Cl.:

B01F 3/04 (2006.01)

B01F 15/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2014** **PCT/US2014/058942**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.05.2015** **WO15065647**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2014** **E 14856842 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020** **EP 3062919**

54 Título: **Dispositivo y método de aireación modular**

30 Prioridad:

30.10.2013 US 201361897246 P

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

06.04.2021

73 Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
400 Summit Drive
Burlington, MA 01803, US

72 Inventor/es:

WOOD, AMY;
KRAUS, DAVE;
HANSEN, ANNE;
DER, KARA y
MCSWEENEY, JAMES

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 817 077 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

Dispositivo y método de aireación modular

La presente solicitud reclama prioridad de la Solicitud Provisional de EE.UU. con N° de serie 61/897,246 presentada el 30 de octubre de 2013.

5 Campo de la invención

Las realizaciones divulgadas en el presente documento hacen referencia a un dispositivo de aireación modular que puede ser utilizado en un recipiente o una cuba tal como un biorreactor, y en particular, tal como un biorreactor de tanque agitado de uso único, además de hacer referencia a un dispositivo de aireación modular y conjunto de mezclado, y a un recipiente o cuba que contiene el mismo.

10 Antecedentes

Tradicionalmente, los fluidos tales como materiales biológicos han sido procesados en sistemas que utilizan recipientes o cubas. Estos recipientes se esterilizan después de su uso de manera que puedan ser reutilizados. Los procedimientos de esterilización son costosos y voluminosos, además de resultar inefectivos en ocasiones.

15 Para proporcionar una mayor flexibilidad en la fabricación y reducir el tiempo que se necesita para efectuar una regeneración válida del equipo, los fabricantes han comenzado a utilizar recipientes esterilizados desechables, tales como unas bolsas que se utilizan una sola vez con un lote de productos y a continuación se desechan. Un ejemplo de uso de estas bolsas desechables o de un solo uso consiste en un sistema para mezclar dos o más ingredientes, al menos uno de los cuales es líquido y el otro (u otros) es líquido o sólido, y la bolsa tiene un elemento mezclador o similar para hacer que los contenidos se mezclen de una forma tan uniforme como sea posible.

20 Un ejemplo de un recipiente desechable de este tipo es una bolsa de biorreactor o fermentador, en la que las células se encuentran o en suspensión o bien en microportadores, y el recipiente tiene un elemento de circulación para hacer circular el líquido, los gases y en algunos casos las células, alrededor del interior del recipiente. Muchas bolsas de mezclado convencionales tienen forma de cilindros, con la parte inferior de la bolsa formando un cono, para imitar la forma de los depósitos a los que las bolsas desechables reemplazan. Dicha forma propicia el mezclado de los contenidos de la bolsa.

Habitualmente, la bolsa contiene un mezclador para mezclar o hacer circular los contenidos, tales como un rodete acoplado magnéticamente contenido dentro de la bolsa, y un motor magnético en el exterior de la bolsa que causa, de forma remota, que el rodete gire.

30 Los recipientes también pueden contener un dispositivo de aireación o un burbujeador de gas a través del cual se introducen burbujas de gas en los contenidos del recipiente, tal como fluidos biofarmacéuticos tales como un líquido de cultivo celular, para intercambiar gases tales como aire, oxígeno, dióxido de carbono, etc. Pueden administrarse volúmenes controlados de gas a la muestra. Un aspecto fundamental de un dispositivo de aireación es el tamaño de burbuja que produce. En aplicaciones para biorreactores, por ejemplo, existe un equilibrio entre manejar el tamaño de burbuja, de tal manera que la transferencia de masa de la fase gas-líquido o viceversa sea suficiente para el proceso, y causar efectos de cultivo negativos, tal como un cizallamiento o una formación de espuma significativos. Generalmente, cuanto más pequeña es la burbuja, más eficaz es la transferencia de gas desde la burbuja al líquido, debido al incremento del área superficial que se obtiene como resultado de la producción de las múltiples burbujas más pequeñas a una determinada tasa de flujo de gas hacia el sistema. Sin embargo, cuanto menor es la burbuja, mayor es el daño potencial a las células en comparación con burbujas de mayor tamaño, y es probable que sea mayor la acumulación total de espuma en la superficie del líquido.

35 Crear y mantener un entorno en general homogéneo para los contenidos de la cuba, tal como células en cultivo, es también de fundamental importancia en las operaciones del biorreactor. No es deseable tener zonas y/o gradientes en relación al mezclado (pH, nutrientes, y gases disueltos), cizallamiento, temperatura, etc. Algunos procesos de cultivo celular pueden requerir las mayores capacidades de transferencia de masa posibles, mientras que otros pueden requerir tamaños de burbuja específicos que sean lo suficientemente grandes para que las células sensibles permanezcan no dañadas.

El documento US 2011/121472 A1 divulga un dispositivo de aireación para inyectar aire en unos depósitos para el cultivo de peces. El elemento de aireación puede encontrarse en forma de un generador de burbujas tal como un difusor, adaptado para transformar el gas introducido en el mismo en una pluralidad de burbujas.

50 El documento US 2011/013473 A1 divulga una cuba de mezclado desechable que incluye un rodete y un burbujeador. El burbujeador es preferiblemente un tubo o un manguito que está acoplado a una pared lateral de un

recipiente para evitar que la línea del burbujeador interfiera con el eje giratorio y dicho uno o más rodets montados en el eje giratorio.

El documento US 2012/313267 A1 divulga un dispositivo de aireación para biorreactores. Dos elementos de aireación concéntricos tienen aberturas de salida de gas de diferentes tamaños.

- 5 El documento WO 2006/116067 A1 divulga un burbujeador de gas para sistemas contenedores tales como biorreactores. El burbujeador incluye una lámina de burbujeo permeable al gas. Un segundo burbujeador, configurado con poros de mayor tamaño, puede utilizarse para eliminar productos de desecho.

- 10 El documento US 5 007 620 A divulga un aparato para el procesamiento biológico de minerales que contienen metales. Comprende una pluralidad de difusores, cada uno de los cuales incluye una superficie difusora de membrana de tejido flexible para recibir un suministro de gas que contiene oxígeno, para introducir el gas en forma de burbujas en una suspensión dentro del recipiente. La membrana es reemplazable.

El documento US 5 858 283 A divulga un burbujeador de área grande que comprende un difusor permeable al gas plano adherido a una capa subyacente para dejar un hueco no adherido que recibe gas entrante y permite que el gas escape únicamente a través del difusor.

- 15 El documento EP 1 479 758 A2 divulga un primer elemento de aireación que tiene un primer material permeable al gas con un primer tamaño diferente del tamaño de poro de un segundo material permeable al gas de un segundo elemento de aireación.

- 20 El documento WO 03/024578 A1 divulga un tubo flexible de difusor para la oxigenación de agua en instalaciones de acuicultura para organismos marinos. Se utilizan unas sondas o sensores de oxígeno para medir la saturación de oxígeno.

Sería deseable proporcionar un recipiente o cuba, tal como un recipiente o cuba desechable o de un solo uso, para fluidos con un dispositivo de aireación versátil para ayudar a la hora de obtener un rendimiento óptimo para el crecimiento de cultivos celulares en biorreactores, por ejemplo.

Resumen

- 25 La presente invención hace referencia a un dispositivo de aireación para airear un fluido, a un sistema para la aireación de un fluido, a un método para controlar el suministro de gas a un biorreactor, y a un método para regular la transferencia de masa de una fase gas-líquido en un biorreactor, según se define en las reivindicaciones 1, 7, 8 y 10, respectivamente. La reivindicación 5 hace referencia a un biorreactor. Versiones ventajosas de la invención se deducen de las reivindicaciones dependientes.

- 30 Las realizaciones divulgadas en el presente documento hacen referencia a unos burbujeadores de gas o dispositivos de aireación, y a unos recipientes o cubas que incorporan los mismos. De acuerdo con ciertas realizaciones, el dispositivo de aireación comprende una pluralidad de elementos de aireación que pueden producir burbujas de gas de diferentes tamaños y suministrarlas a los contenidos (p.ej., fluidos biofarmacéuticos) del recipiente. Los elementos de aireación son intercambiables. En ciertas realizaciones, cada elemento de aireación tiene un material permeable al gas preseleccionado que produce burbujas de gas de un tamaño conocido. De acuerdo con ciertas realizaciones, se divulgan en el presente documento unos recipientes, tales como recipientes desechables o de un solo uso, que presentan opcionalmente una o más entradas y una o más salidas, y un agitador o mezclador de fluidos opcional asociado con el recipiente para efectuar el mezclado, la dispersión, homogeneización y/o circulación de uno o más ingredientes contenidos en, o añadidos al recipiente. En ciertas realizaciones, el agitador ayuda a la hora de distribuir en el fluido las burbujas de gas producidas por el elemento de aireación. De acuerdo con ciertas realizaciones, el recipiente incluye el anteriormente mencionado dispositivo de aireación solo o en combinación con el mezclador.

- 45 De acuerdo con ciertas realizaciones, los dispositivos de aireación divulgados en el presente documento se utilizan en biorreactores para controlar la concentración del gas disuelto (p.ej., aire, oxígeno, CO₂, etc.) de los contenidos del biorreactor, facilitando de este modo el crecimiento apropiado de los cultivos celulares en el biorreactor, o pueden ser utilizados en fermentadores para controlar el contenido de oxígeno del fluido en los mismos.

- 50 También se divulga un sistema para la aireación de un fluido en un recipiente o cuba con un volumen interno, comprendiendo el sistema un recipiente, un conjunto de rodete, un mecanismo de accionamiento para el conjunto de rodete, y un dispositivo de aireación que tiene múltiples elementos de aireación intercambiables y extraíbles, estando situado el dispositivo de aireación dentro del volumen interno del recipiente para producir burbujas de gas de diferentes tamaños.

También se divulga un método para la aireación de un fluido en un recipiente o cuba con un conjunto de rodete y un dispositivo de aireación dispuesto en el recipiente. En ciertas realizaciones, el método incluye la preselección de una pluralidad de elementos de aireación con un material permeable al gas predeterminado, de un tamaño de poro, distribución del tamaño de poro y/o porosidad total conocidos, y acoplar cada elemento de aireación seleccionado a un elemento base para ensamblar un dispositivo de aireación. De acuerdo con ciertas realizaciones, el método incluye introducir un fluido en un recipiente, en donde un conjunto de rodete está contenido al menos parcialmente en el recipiente, accionando las palas o álabes del conjunto de rodete para agitar el fluido en el recipiente, e introducir gas en el dispositivo de aireación que produce entonces burbujas de tamaños diferentes y predeterminados para airear el fluido en el recipiente. En ciertas realizaciones, el mecanismo de accionamiento para el conjunto de rodete es externo a la bolsa, y acciona el conjunto de rodete magnéticamente.

También se divulga un método para controlar o regular la transferencia de masa de gas hacia la fase líquido en un recipiente. El método incluye proporcionar una pluralidad de elementos de aireación en el recipiente, tal como un biorreactor, donde cada uno de la pluralidad de elementos de aireación está en relación fluido-comunicante con una fuente de gas, y donde cada uno de la pluralidad de elementos de aireación juntos definen un valor de transferencia de masa máximo; y reducir ese valor de transferencia de masa máximo ajustando independientemente el flujo de gas a cada uno de la pluralidad de elementos de aireación. En ciertas realizaciones, el valor de transferencia de masa máximo se reduce deteniendo todo el flujo de gas a, al menos, uno de dicha pluralidad de elementos de aireación. En ciertas realizaciones, el flujo de gas a cada uno de la pluralidad de elementos de aireación se controla independientemente, ya sea manualmente o a través de un controlador tal como un PLC (siglas en inglés de Programmable Logic Controller –Controlador Lógico Programable-). En ciertas realizaciones, se utiliza una única fuente de gas, y se distribuye independientemente a cada elemento de aireación individual, tal como con tubos adecuados o similares, ya sea externamente o internamente en el recipiente.

La aproximación modular al dispositivo de aireación proporciona beneficios de fabricación, ya que sobremoldear múltiples secciones más pequeñas de material permeable al gas en cada elemento modular reduce la complejidad y disminuye los costes de moldeo en comparación con un proceso que requiere el sobremoldeo de una sección grande permeable al gas.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es una vista en despiece de un dispositivo de aireación y un conjunto de mezclado de acuerdo con ciertas realizaciones.

La FIG. 2A es una vista superior de una tapa de rodete de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 2B es una vista transversal tomada a lo largo de la línea 2-2 de la FIG. 2A;

La FIG. 3A es una vista superior de un elemento de aireación de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 3B es una vista transversal de un elemento de aireación tomada a lo largo de la línea A-A de la FIG. 3A;

La FIG. 3C es una vista transversal de un elemento de aireación tomada a lo largo de la línea F-F de la FIG. 3A;

La FIG. 3D es una vista superior de una lengüeta de un elemento de aireación de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 3E es una vista transversal de una lengüeta tomada a lo largo de la línea E-E de la FIG. 3D;

La FIG. 3F es una vista aumentada del detalle B en la FIG. 3B que muestra un canal de gas de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 4A es una vista en perspectiva de un dispositivo de aireación y un conjunto de mezclado de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 4B es una vista transversal del dispositivo de aireación y conjunto de mezclado de la FIG. 4A;

La FIG. 4C es una vista transversal del conjunto de mezclado de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 5 es una vista inferior de un elemento de aireación de acuerdo con ciertas realizaciones;

La FIG. 6 es una vista transversal de un elemento de aireación tomada a lo largo de la línea D-D de la FIG. 5;

La FIG. 7 es un gráfico de la caracterización del k_{La} para las secciones del burbujeador 1 a 4 y al completo, con una tasa de flujo de aire creciente;

La FIG. 8 es un gráfico de la efectividad de la transferencia de gas versus el área;

La FIG. 9 es un gráfico de la efectividad media de transferencia de gas versus el área;

5 La FIG. 10 es un gráfico del flujo de aire necesario para lograr $30 \text{ hr}^{-1} k_{La}$; y

La FIG. 11 es un gráfico de la tasa de flujo de aire versus k_{La} .

Descripción detallada

De acuerdo con ciertas realizaciones, el recipiente desechable o de un solo uso diseñado para recibir y contener un fluido no está particularmente limitado, y puede formarse de paredes flexibles monocapa o de múltiples capas formadas de una composición polimérica tal como polietileno, incluyendo polietileno de peso molecular ultra alto, polietileno de baja densidad lineal, polietileno de baja densidad o densidad media; polipropileno; acetato de etilenvinilo (EVOH); cloruro de polivinilo (PVC); acetato de polivinilo (PVA); copolímeros de acetato de etilenvinilo (copolímeros de EVA); mezclas de diversos termoplásticos; co-extrusiones de diferentes termoplásticos; laminados multicapa de diferentes termoplásticos; o similares. Se entiende que el término "diferentes" incluye diferentes tipos de polímeros tales como capas de polietileno con una o más capas de EVOH además de el mismo tipo de polímero pero de diferentes características tales como peso molecular, polímero lineal o ramificado, rellenos y similares. Habitualmente, se utilizan plásticos de calidad médica y preferiblemente sin sustancias de origen animal. Se esterilizan generalmente, por ejemplo, mediante tratamiento con vapor, óxido de etileno o por radiación tal como radiación beta o gamma. La mayoría presenta buena resistencia a la tracción, baja transferencia de gas y son transparentes o bien al menos translúcidos. Preferiblemente, el material puede soldarse y es un material que no requiere soporte estructural. Preferiblemente, el material es transparente o translúcido, lo que permite la monitorización visual de los contenidos. El recipiente puede estar provisto de una o más entradas, una o más salidas y uno o más pasajes de purga de aire opcionales.

En ciertas realizaciones, el recipiente puede ser una bolsa desechable, deformable, plegable y flexible que define un volumen interno cerrado, que se esteriliza para un solo uso, capaz de alojar contenidos tales como fluidos biofarmacéuticos en estado fluido, y que pueda alojar un dispositivo de mezclado, parcialmente o completamente dentro del volumen interior, y un dispositivo de aireación dentro del volumen interior. En ciertas realizaciones, el volumen cerrado puede abrirse, tal como mediante válvulas adecuadas, para introducir un fluido en el volumen, y para expulsar fluido del mismo, tal como por ejemplo después de que el mezclado u otro proceso se complete.

En ciertas realizaciones, el recipiente puede ser una bolsa bidimensional o "plegable", o puede ser una bolsa tridimensional. La geometría en particular del recipiente no está particularmente limitada. En ciertas realizaciones, el recipiente puede incluir una base rígida, que proporciona puntos de acceso tal como tomas u orificios de purga. Cada recipiente puede contener una o más entradas y salidas y opcionalmente otras características tales como orificios de purga y tomas de gas estéril para la detección del líquido dentro del recipiente, para determinar parámetros tales como conductividad, pH, temperatura, gases disueltos y similares.

En ciertas realizaciones, cada recipiente puede contener, ya sea parcial o completamente dentro de su interior, un conjunto de rodete para mezclar, dispersar, homogeneizar, y/o hacer circular uno o más líquidos, gases y/o sólidos contenidos en el recipiente. De acuerdo con ciertas realizaciones, el conjunto de rodete puede incluir una o más palas o álabes, que se pueden mover tal como por rotación u oscilación alrededor de un eje. En ciertas realizaciones, el conjunto de rodete convierte el movimiento rotacional en una fuerza que mezcla los fluidos con los que está en contacto. En ciertas realizaciones, las palas están realizadas de plástico.

Volviendo ahora a la FIG. 1, se muestra un dispositivo 10 de aireación de acuerdo con ciertas realizaciones. El dispositivo 10 incluye una tapa 12 del rodete que en la realización ilustrativa que se muestra es un elemento 13 de base rígido en forma circular o de disco que tiene una copa 14 cilíndrica que termina en un fondo 15, que se observa mejor en las FIGS. 2A y 2B. La copa 14 está configurada para recibir un imán 18 sobremoldeado utilizado para accionar el rodete. Una pluralidad de salientes, varillas, conos o pasadores 16 distanciados se extienden hacia arriba desde la superficie superior del elemento 13 de base. En la realización que se muestra, hay 8 salientes, alineados linealmente en pares, aunque el número y la localización de los salientes en el elemento de base no se encuentran particularmente limitados. Los salientes están configurados y dispuestos para acoplarse con unas lengüetas correspondientes en los elementos de aireación, tal como se discute en detalle a continuación. En ciertas realizaciones, como se observa mejor en la FIG. 2B, cada saliente incluye elementos de cuerpo distanciados, terminando cada uno en una parte 16A de cabeza que se ensancha hacia el exterior, tal como se muestra. En ciertas realizaciones, una o más patas 29 se extienden hacia abajo desde la superficie inferior del elemento 13 de base (FIG. 2B) y pueden ser recibidas por orificios receptores respectivos correspondientes (no se muestran) en el

alojamiento o depósito, para posicionar el dispositivo de forma apropiada de manera que pueda conectarse un mecanismo de accionamiento externo del rodete. El elemento 13 de base y los elementos de aireación pueden estar realizados de plástico. El elemento 13 de base actúa como un elemento de soporte o sustrato para los elementos de aireación modulares, y se acopla de forma extraíble y selectiva a cada uno de los elementos de aireación. En ciertas realizaciones, el elemento 13 de base es común a todos los elementos de aireación.

La FIG. 1 también muestra una pluralidad de elementos 20A-20D de aireación. En la realización que se muestra, se representan cuatro elementos de aireación, aunque podrían utilizarse menos o más. Como se observa mejor en las FIGS. 3A-3F y 5-6, en la realización que se muestra cada elemento de aireación tiene generalmente forma de tarta, e incluye un reborde 28 perimetral que tiene forma de C en su corte transversal (FIG. 3E). El reborde 28 porta una o más lengüetas 22 perimetrales, cada una extendiéndose hacia el exterior desde el perímetro y con una abertura 22A configurada y posicionada para acoplarse de forma liberable con un saliente 16 respectivo en el elemento 13 de base, tal como mediante ajuste por presión. En ciertas realizaciones, el diámetro de cada abertura 22A aumenta desde la abertura superior hacia la abertura inferior, es decir, se ensancha radialmente hacia el exterior como puede observarse en la FIG. 3E. Cada elemento de aireación puede acoplarse y desacoplarse fácilmente con la tapa 12 del rodete, alineando cada abertura 22A en cada lengüeta 22 con un pasador 16 correspondiente en el elemento 13 de base, permitiendo la selección del tamaño de burbuja deseado versus las capacidades de transferencia de masa, simplemente seleccionando y acoplando un elemento de aireación con las especificaciones deseadas.

En ciertas realizaciones, cada elemento de aireación incluye un elemento 23 de placa inferior, que tiene una pared 31 lateral perimetral con un reborde 26 que se extiende radialmente hacia el exterior. Tal como se observa en las FIGS. 5 y 6, el elemento 23 de placa inferior del elemento de aireación puede incluir una pluralidad de nervaduras 95 de refuerzo dispuestas en un patrón similar a una rejilla para proporcionar resistencia añadida. El elemento 23 de placa inferior se acopla con el elemento de placa superior para definir entre los mismos una cavidad cerrada (excepto por el material 24 permeable al gas) en la que se introduce gas a través de un elemento 96 de conexión. El elemento de aireación puede incluir un tamiz 27, tal como un material de tela tejida de monofilamento disponible en Sefar Filtration Inc., tal como PETEX 07-350/34 con aberturas de malla de 350 μ m. El elemento de aireación puede también incluir una lámina o película 24 de material permeable al gas. Los materiales adecuados incluyen películas y láminas poliméricas, incluyendo pero sin limitarse a, materiales de olefina de filamento continuo tales como Tyvek® 1059B, politetrafluoroetileno (TEFLON®), polisulfona, polipropileno, silicona, fluoropolímeros tales como fluoruro de polivinilideno (KYNAR®), membranas POREX® tales como POREX® 4903, membranas RM disponibles comercialmente en EMD Millipore, etc.

En ciertas realizaciones, el material permeable al gas está sobremoldeado en su lugar, tal como sobre el reborde 26 perimetral de la pared 31 lateral de la placa 23, y pueden estar intercalado por el elemento 28 de reborde perimetral (FIG. 3E). La pantalla 27 puede colocarse sobre el material 24 permeable al gas y también estar intercalada por el elemento 28 de reborde superior.

Cada elemento de aireación puede incluir una o más patas 39 que se extienden hacia abajo para elevar de forma selectiva cada elemento de aireación sobre la tapa del rodete. Esto elimina alturas de hueco variable.

Cada elemento de aireación incluye una fuente de gas de entrada dedicada, que incluye un canal 33 (FIG. 3F) que puede colocarse en relación fluido-comunicante con una fuente de gas (no se muestra) tal como un tubo flexible, tubo, conducto o similar, a través del elemento 96 de conexión, por ejemplo. El canal proporciona una relación fluido-comunicante desde la fuente de gas al material permeable al gas a través del canal 33.

Tal como se observa en la FIG. 3B, en ciertas realizaciones hay una sección 40 cóncava en el elemento 23 de placa para la localización de la inyección en el molde, y un saliente 41 axial que es una marca del orificio de inyección que será retirada antes del sobremoldeo.

El dispositivo de aireación incluye por tanto una pluralidad de elementos de aireación individuales, por ejemplo cuartos de círculos tal como se ilustra, donde cada uno de ellos contiene su propia fuente de gas de entrada, y cada uno puede recibir un material permeable al gas personalizado o pre-seleccionado de un tamaño de poro predeterminado, lo que permite la personalización del tamaño de poro, tamaño de burbuja, y el área de superficie total del material permeable al gas dentro del recipiente de un solo uso, tal como una bolsa.

La eficacia del dispositivo de aireación para la distribución de burbujas uniformes es mejorada a partir del dispositivo de aireación individual convencional con una única entrada de gas, con un área de superficie de X que incluye múltiples entradas de gas en múltiples elementos de aireación, los cuales juntos se suman a un área de superficie total X. Esta aproximación de seccionar el dispositivo de aireación en secciones modulares permite que el dispositivo de un determinado material y de un área de superficie total específica utilice esa área de superficie total de forma más eficiente. La dispersión de gas dentro de cada elemento de aireación alimentado por una entrada de gas dedicada permite una distribución más regular a través del área de superficie total de todos los elementos de aireación. Este es, en particular, el caso cuando la superficie en la que se encuentra el burbujeador no es horizontal. Esto ayuda a mantener más constante el tamaño de burbuja producida por el material permeable al gas, mantener

más constante la localización de la generación de burbujas en relación con el elemento mezclador, en algunos casos reduce la distribución del tamaño de las burbujas producidas por el elemento de burbujeo, y tiene como resultado un entorno más homogéneo para el fluido procesado tal como los cultivos celulares.

5 En ciertas realizaciones, a medida que las burbujas emergen de cada elemento 20A-20D, estas son dispersadas en la cuba por un conjunto 100 de mezclado. En ciertas realizaciones, el conjunto 100 de mezclado se sitúa centralmente con respecto a los elementos de aireación, y se sitúa encima de los elementos de aireación con respecto a la dirección de la emisión de burbujas de gas desde los elementos de aireación (FIG. 4A).

10 En ciertas realizaciones, el conjunto 100 de mezclado es un conjunto de rodete que tiene una o más palas o álabes 116 móviles, con cuatro palas 116 distanciadas que se muestran en las FIGS. 1 y 4A con fines ilustrativos. El número y forma de las palas 116 no se encuentra particularmente limitado, siempre que proporcionen la suficiente agitación del fluido dentro del recipiente cuando se accionan. La pala o palas pueden estar construidas de un material plástico, tal como polietileno, o cualquier polímero resistente a la irradiación gamma, tal como un copolímero de polipropileno. En ciertas realizaciones, cada una de las palas 116 se acopla a un elemento 117 cilíndrico central, que se observa en un corte transversal en la FIG. 4B y 4C, que tiene un elemento 119 cilíndrico inferior que se extiende axialmente, abierto en su extremo inferior, que recibe el conector 19 del imán 18 sobremoldeado. Se proporcionan una o más aberturas 120 para recibir unos pasadores 121 del imán sobremoldeado, que se calientan después y se deforman para acoplarse permanentemente al imán del rodete.

20 Las palas 116 están posicionadas axialmente encima del imán 18 sobremoldeado además de encima de los elementos 20A-20D de aireación, donde estos se encuentran libres para rotar cuando el rodete magnético es accionado por un actuador adecuado. Mantener la localización consistente del dispositivo de aireación bajo el conjunto de rodete permite una mejor distribución del gas en el volumen del recipiente, a medida que cada elemento de aireación modular se sitúa igualmente o simétricamente bajo el rodete. Esto puede mantener una distribución más pequeña de los tamaños de las burbujas producidas, ya que la interacción en la zona del rodete de alto cizallamiento puede tener un impacto sobre el tamaño, la formación y el comportamiento de la burbuja.

25 En ciertas realizaciones, cuando el conjunto 100 de rodete se instala en un recipiente, la copa 14 cilíndrica que aloja el imán 18 sobremoldeada sobresale hacia el exterior del recipiente y se sella al recipiente. En esta realización, el resto del conjunto 100 de rodete se aloja en el interior del volumen interno del recipiente. Preferiblemente, el dispositivo de aireación y el conjunto de mezclado está posicionado en o cerca del fondo del recipiente, cuando el recipiente se encuentra en posición de mezclado (tal como con en una posición suspendido) y en estrecha proximidad a una entrada del recipiente. Por tanto, en ciertas realizaciones, al menos una parte del conjunto de rodete es interno al recipiente, y el mecanismo de accionamiento para el conjunto de rodete es externo al recipiente.

35 La característica modular de los elementos 20A-20D de aireación permite la flexibilidad a la hora de suministrar un rango diferente de tamaño de burbuja versus la capacidad de transferencia de masa. Por ejemplo, si se utilizan únicamente tres elementos de aireación (p.ej., 20A, 20B y 20C) en lugar de cuatro (p.ej., 20D no se utiliza), la capacidad de transferencia de masa del dispositivo puede modificarse sin cambiar el tamaño de burbuja y sin construir un nuevo dispositivo, ya que cada dispositivo de aireación tiene una alimentación de gas dedicada. El control de cuál de entre la pluralidad de dispositivos de aireación recibe la alimentación de gas de una o más fuentes de gas, puede realizarse manualmente o con un controlador tal como un PLC. Se logra la personalización de los elementos de aireación en el momento del ensamblaje final sin tener un impacto en la fabricación del recipiente, además de la mejora en la habilidad para controlar y gestionar el cizallamiento producido por las burbujas dentro de un recipiente tal como un biorreactor, debido a la gestión mejorada del tamaño de burbuja y la velocidad de burbuja tras salir de cada elemento de aireación. La dañina producción de espuma también puede reducirse. Los tubos para suministrar gas al dispositivo de aireación pueden distribuirse internos al recipiente o externos al recipiente, independientemente de si se utiliza una única fuente de gas o múltiples fuentes de gas, lo que permite una facilidad de uso para la aplicación en particular con flexibilidad de diseño. Cada elemento de aireación puede distribuirse individualmente, proporcionando de este modo un mayor control sobre el suministro de gas en el sistema.

40 En ciertas realizaciones, se emplean bucles de control de realimentación para mantener una concentración deseada de gas disuelto, por ejemplo oxígeno o dióxido de carbono, dentro del caldo o sistema del biorreactor/fermentador. El sistema de control recibe habitualmente una entrada de señales que representan el valor del proceso en tiempo real de una sonda/sensor que está conectado por cable o en línea, activando una salida de respuesta, según se determina mediante un algoritmo de bucle de control que se construye para proporcionar una acción tal como alterar la composición de gas y/o la tasa de flujo en el dispositivo de aireación para lograr el efecto deseado en el valor del proceso del gas disuelto. El gas disuelto (p.ej., O₂) puede monitorizarse de forma continua o constante, y la tasa de flujo ajustarse a través del bucle de control de realimentación de forma continua o constante.

55 Dependiendo de cómo se distribuya el dispositivo de aireación, el sistema de control puede gestionarse para incluir salidas de respuesta que implican diversas técnicas de distribución que podrían variar el número de dispositivos de aireación dentro de la pluralidad de dispositivos de aireación como parte del algoritmo de control de realimentación

diseñado para gestionar una concentración de gas disuelto específica y deseada dentro del sistema de biorreactor/fermentador.

Aumentar el área de superficie del elemento de aireación empleando una pluralidad de burbujeadores con entradas individuales de la fuente de aire, puede aumentar la capacidad del coeficiente volumétrico k_La de transferencia de masa del sistema. El k_La puede determinarse mediante el método de eliminación de gas conocido como "gassing out" estático, donde se purga oxígeno del sistema mediante la adición de gas nitrógeno. A continuación se añade aire a una tasa controlada (con agitación a una velocidad controlada). Se representa gráficamente el registro de la concentración de oxígeno disuelto en el tiempo y se realiza un análisis matemático para el ajuste fino del k_La de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\ln \left[\frac{(C^* - C_{t1})}{(C^* - C_{t2})} \right] = k_La * t$$

donde C = concentración de OD, t = tiempo

Bajo determinadas condiciones, emplear cuatro elementos de aireación con fuentes de entrada de gas individuales proporciona un k_La adicional con respecto a un elemento diseñado con una única (igual total) área de superficie a la que se suministra gas desde una única entrada.

EJEMPLO 1

Se ejecutaron una serie de ensayos de k_La en una cuba de 1000L, equipada con un rodete redondeado de 330,2 mm (13"), un deflector y sensores apropiados, para establecer la relación entre el área de material permeable al gas en el burbujeador modular y la eficiencia de transferencia de gas esperada. Para estos ensayos, las rpm del rodete se mantuvieron constantes a 60 rpm, una entrada de potencia de 10 W/m³. Se realizaron tres réplicas en cada condición, utilizando Tyvek® 1059B como el material permeable al gas en todas las cuatro posiciones del burbujeador modular de la FIG. 1, y las tasas de flujo de aire de 5 lpm a 20 lpm, para las tasas de flujo de aire (vvm) de 0,005 a 0,020 min⁻¹. También se sometió a ensayo un burbujeador de tamaño completo. Se utilizaron medios simulados, que consistían en agua, Pluronic (0,2%), 1X PBS, y 50 ppm de antiespumante. Los resultados se muestran en la FIG. 7. Los datos indican que unas tasas de flujo de aire más altas tienen como resultado valores del k_La más elevados.

La efectividad de transferencia de gas puede establecerse comparando k_La /área/vvm con el área de cada segmento modular del burbujeador. La FIG. 8, muestra esta relación en base a un área de cada módulo del burbujeador modular de 40,98 pulgadas cuadradas, y un área de un burbujeador de tamaño completo de 200 pulgadas cuadradas. La FIG. 9 muestra la efectividad media de la transferencia de gas a lo largo de todas las tasas de flujo.

Debido a que el valor de k_La /área/vvm se incrementa con una menor área del burbujeador, resulta claro que el burbujeador modular proporciona una mejor eficiencia a la hora de la transferencia de gas, puede utilizarse un área menor para lograr el mismo k_La sin un aumento en el flujo de aire. Esto se muestra en la FIG. 10. El gráfico en la FIG. 10 muestra que el flujo de aire necesario para un k_La de 30 hr⁻¹ es de aproximadamente 0,025 vvm (25 lpm para 1000L). Utilizando solo un módulo, el requerimiento de flujo de aire para lograr este mismo k_La se eleva a 0,035 vvm. Por consiguiente, pueden utilizarse dos módulos de Tyvek® a aproximadamente un flujo de aore de 0,025 vvm para lograr el valor de k_La deseado de 30 hr⁻¹.

EJEMPLO 2

El burbujeador modular de acuerdo con las realizaciones divulgadas en el presente documento permite que se utilice más de un tipo de material permeable al gas en el sistema. En el Ejemplo 1 se demuestra que pueden lograrse valores elevados del k_La en los casos en que el material TYVEK® ocupa únicamente dos de los cuatro segmentos modulares del burbujeador. Por ejemplo, el material permeable al gas para los dos segmentos modulares restantes podría seleccionarse para que produzca burbujas de mayor tamaño que las producidas utilizando el material TYVEK®, tal como un material Porex® POR97619 ("PE-10"), POR4920 (PE-40") y POR 4903 ("PE-90"), todos realizados de polietileno.

Utilizando la cuba del Ejemplo 1, estos tres tipos de material permeable al gas fueron evaluados en uno y dos segmentos del burbujeador, en un rango de tasas de flujo de 5 lpm a 50 lpm (0,005 vvm a 0,05 vvm), manteniendo constantes las rpm del rodete a 60 rpm. Un resumen de los resultados se muestra en la FIG. 11.

En general, el material con un tamaño de poro mayor (PE-90) tendía a proporcionar valores de k_La inferiores, mientras que los poros más pequeños (PE-10) proporcionaron los valores de k_La más elevados. Pueden admitirse, sin embargo, unos valores de k_La inferiores en casos en que se desee un tamaño de burbuja mayor.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de aireación para la aireación de un fluido dentro de un biorreactor, que comprende:

un elemento (13) de base;

5 una pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación individuales e intercambiables, cada uno acoplados de forma extraíble al elemento (13) de base, cada uno de dichos elementos (20A-20D) de aireación comprendiendo un material permeable al gas, que comprende una membrana, y cada uno de dichos elementos (20A-20D) de aireación con una entrada adaptada para conectarse a una fuente de gas, cada dicha entrada estando en relación fluido-comunicante con dicho material permeable al gas;

10 en donde dicha pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación individuales e intercambiables comprende un primer y un segundo elementos, dicho primer elemento de aireación con un primer material permeable al gas que tiene un primer tamaño de poro, y dicho segundo elemento de aireación con un segundo material permeable al gas que tiene un segundo tamaño de poro diferente de dicho primer tamaño de poro.

2. Dispositivo de aireación según la reivindicación 1, en donde dicho material permeable al gas comprende un material de olefina de filamento continuo.

15 3. Conjunto de aireación y mezclado, que comprende un dispositivo (10) de aireación según cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un dispositivo de mezclado,

dicho dispositivo de mezclado que comprende:

un conjunto (100) de rodete que comprende al menos una pala (116) móvil.

20 4. Conjunto de aireación y mezclado según la reivindicación 3, en donde dicho conjunto (100) de rodete se acciona magnéticamente.

5. Un biorreactor para procesar una muestra de fluido, que comprende:

un volumen interno;

un conjunto (10, 100) de aireación y mezclado según la reivindicación 3,

en donde dicho dispositivo (10) de aireación se sitúa en dicho volumen interno, y

25 en donde dicho dispositivo (100) de mezclado se sitúa, al menos parcialmente, en dicho volumen interno.

6. El biorreactor según la reivindicación 5, en donde dicho biorreactor se forma de un material flexible.

7. Un sistema para la aireación de un fluido dentro de un biorreactor que comprende:

un biorreactor que tiene un volumen interno;

un conjunto (100) de rodete al menos parcialmente dentro de dicho volumen interno;

30 un mecanismo de accionamiento para dicho conjunto (100) de rodete; y

35 un dispositivo (10) de aireación de un fluido en dicho volumen interno y que tiene múltiples elementos (20A-20D) de aireación de fluidos individuales e intercambiables montados en un elemento (13) de base, cada elemento (20A-20D) de aireación de fluidos con poros de diferentes tamaños que los demás elementos de aireación, el dispositivo (10) de aireación de fluidos estando situado dentro del volumen interno del biorreactor para producir burbujas de gas de diferentes tamaños cuando dicho dispositivo se encuentra en relación fluido-comunicante con una fuente de gas.

8. Un método para controlar el suministro de gas en un biorreactor, que comprende:

proporcionar el dispositivo (10) de aireación de fluidos según la reivindicación 1 en dicho biorreactor; y

suministrar gas de dicha fuente de gas a menos que la totalidad de dicha pluralidad de dichos elementos (20A-20D) de aireación.

9. El método según la reivindicación 8, en donde hay cuatro elementos (20A-20D) de aireación, y en donde dicha etapa de suministro suministra gas desde dicha fuente de gas a menos de dichos cuatro elementos de aireación.

5 10. Un método de regulación de la transferencia de masa de una fase gas-líquido en un biorreactor que contiene un fluido biofarmacéutico, que comprende:

10 proporcionar el dispositivo (10) de aireación de fluidos según la reivindicación 1 en dicho biorreactor, cada uno de dicha pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación estando en una relación fluido-comunicante independiente con una fuente de gas, dicha pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación juntos definiendo un valor de transferencia de masa máximo;

detectar la concentración de gas disuelto en dicho biorreactor, y

reducir dicho valor de transferencia de masa máximo en respuesta a dicha concentración detectada

- ajustando independientemente el flujo de gas a una o más de dicha pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación,

15 - o suministrando gas a menos de la totalidad de dicha pluralidad de elementos (20A-20D) de aireación.

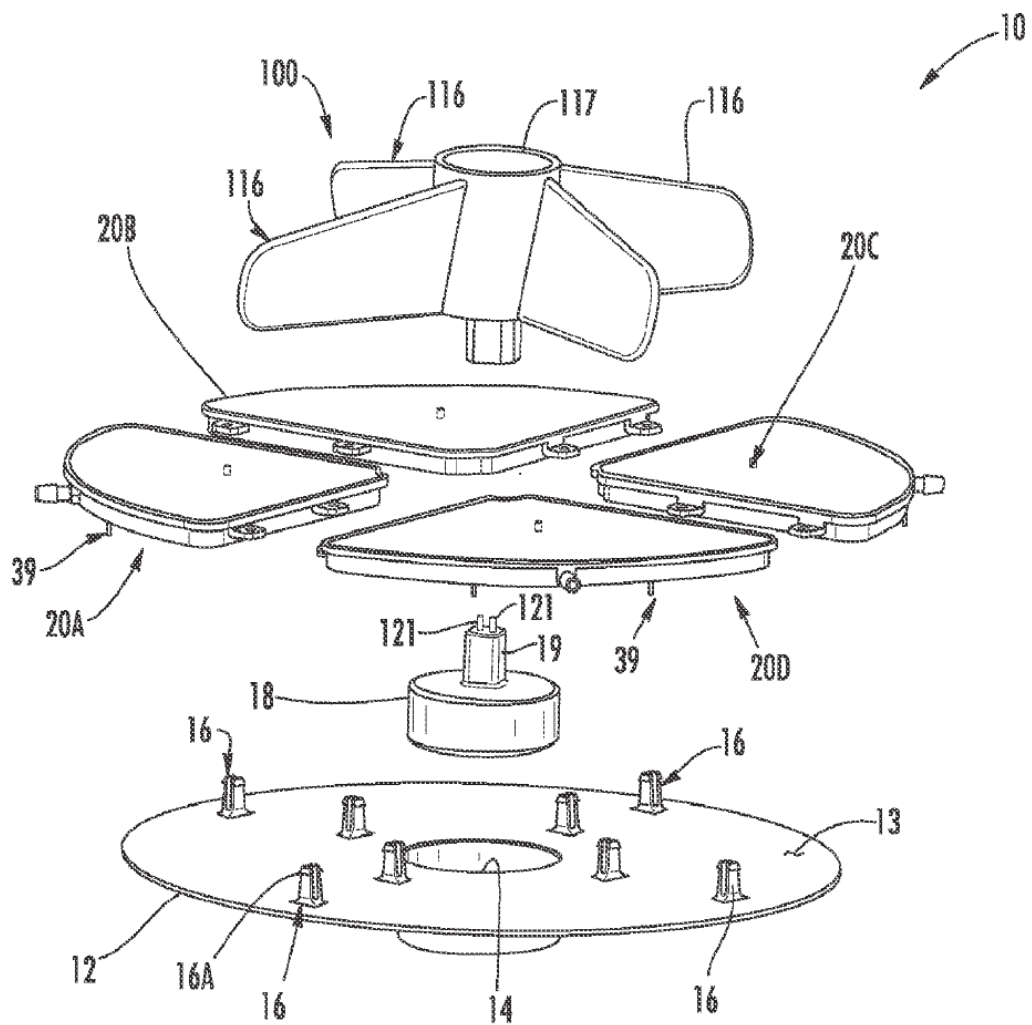


FIG. 1

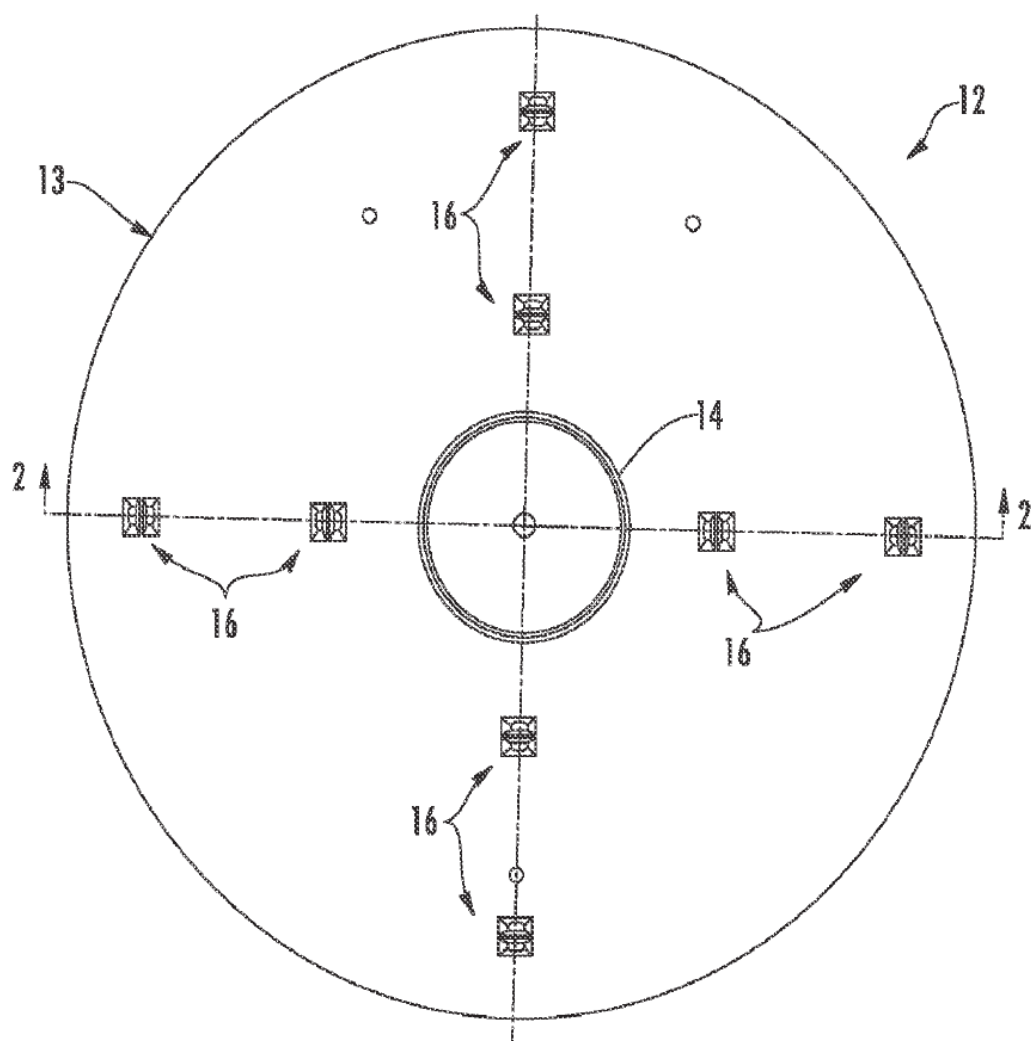


FIG. 2A

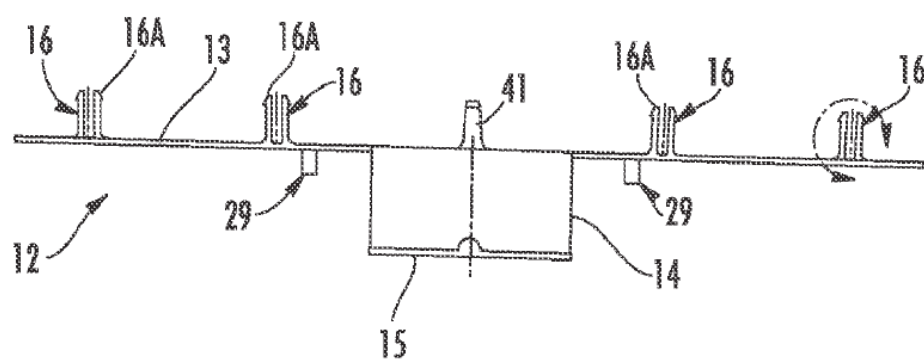


FIG. 2B

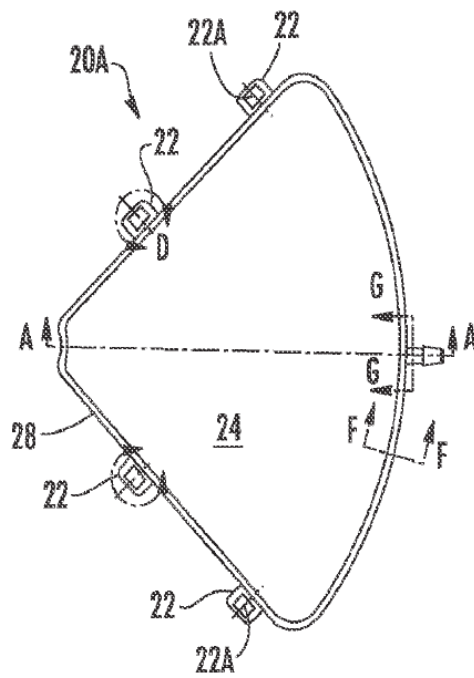


FIG. 3A

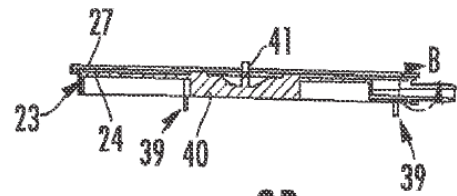


FIG. 3B

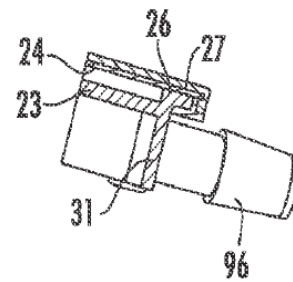


FIG. 3C

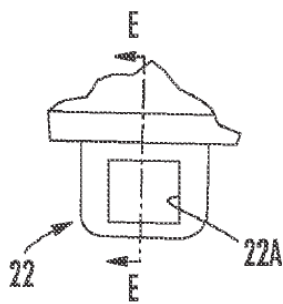


FIG. 3D

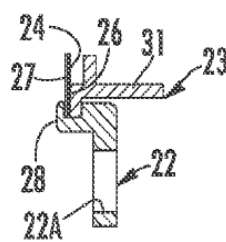


FIG. 3E

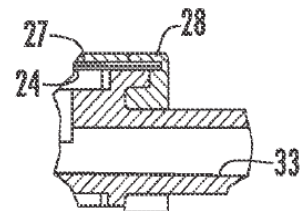
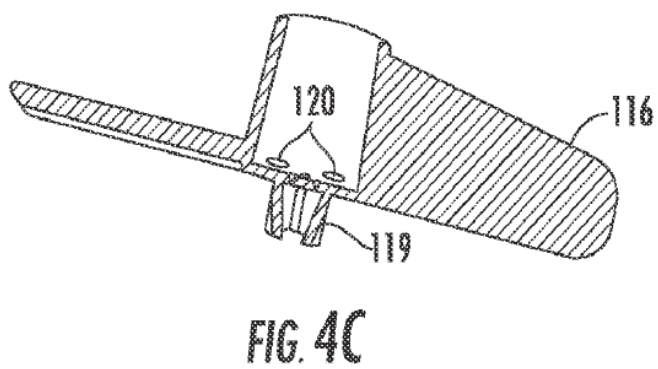
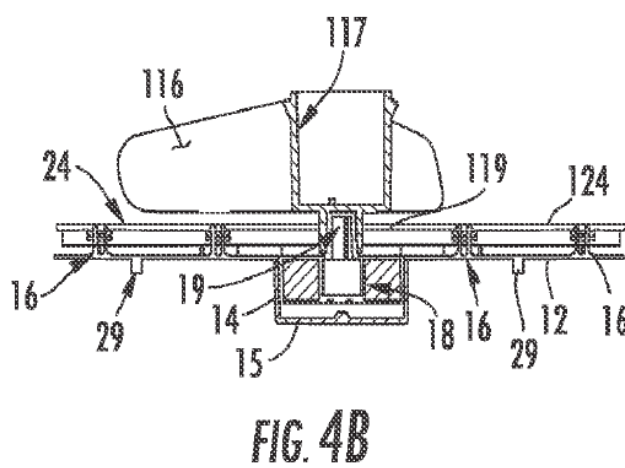
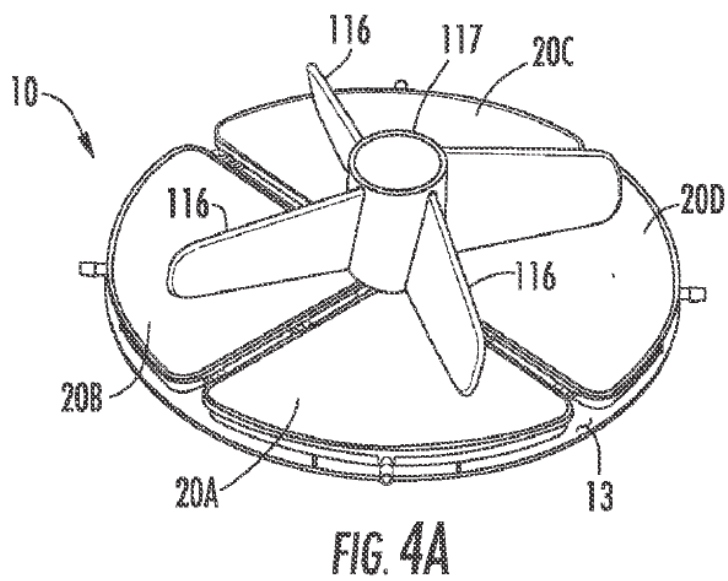


FIG. 3F



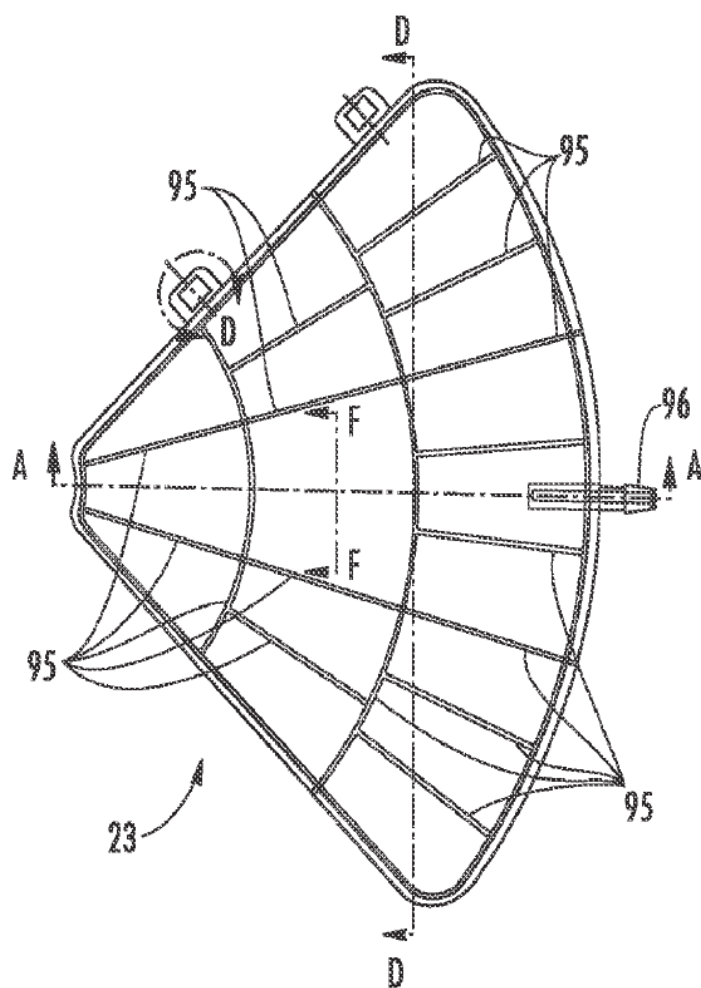


FIG. 5

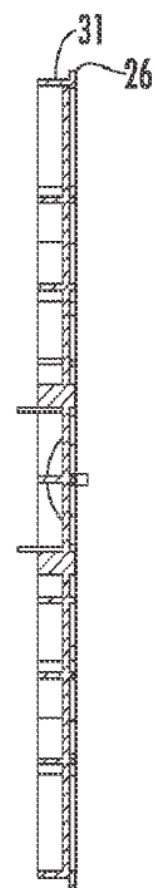


FIG. 6

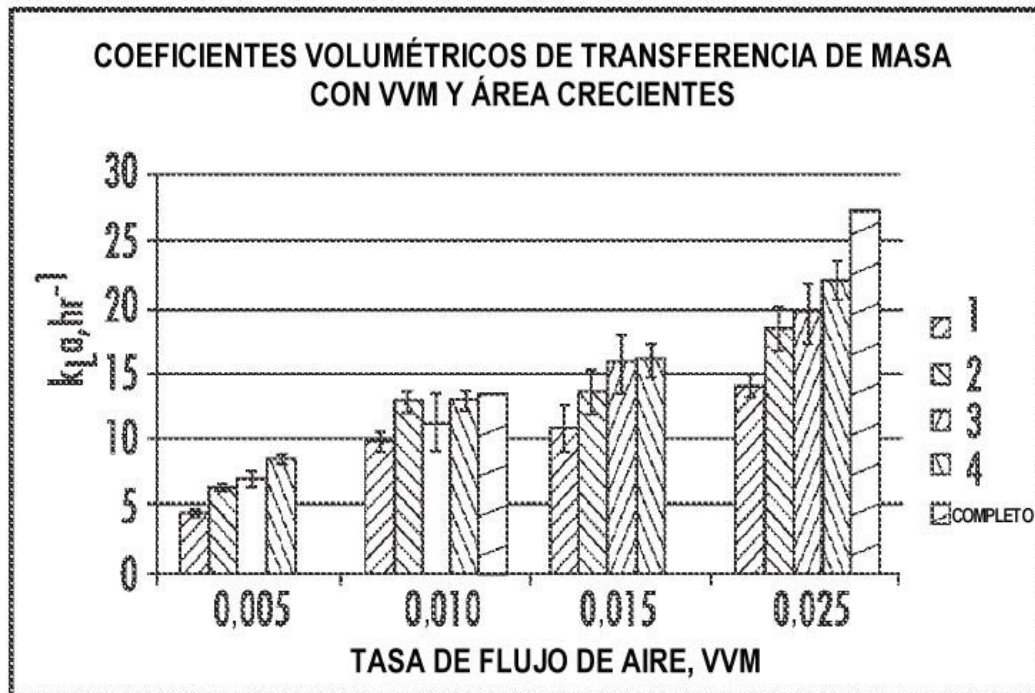


FIG. 7

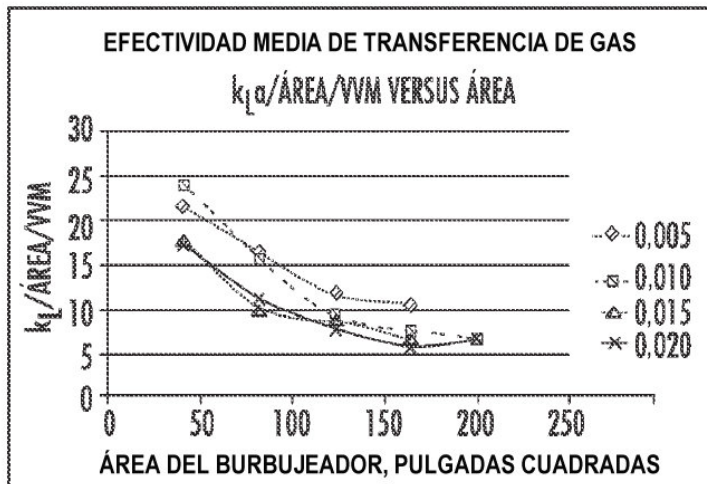


FIG. 8

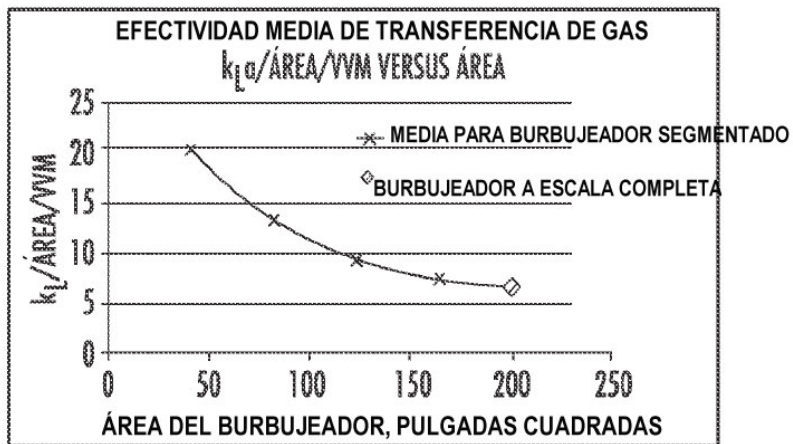


FIG. 9

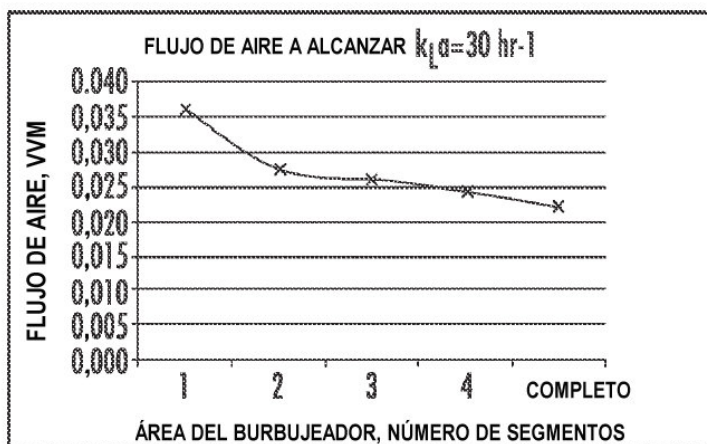


FIG. 10

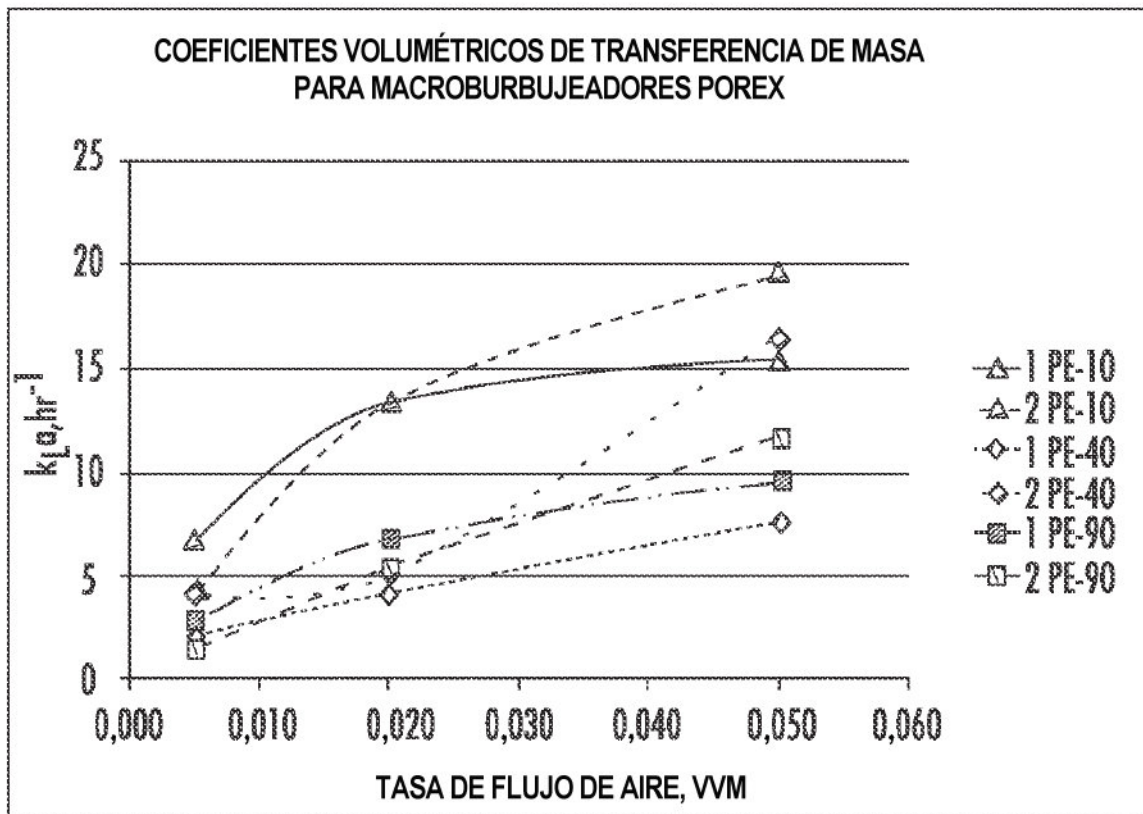


FIG. 11