



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 365 528**

51 Int. Cl.:

G01N 30/60 (2006.01)

G01N 30/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06251153 .0**

96 Fecha de presentación : **03.03.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1698895**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54

Título: **Sistema de compresión automatizada con columnas cromatográficas.**

30

Prioridad: **04.03.2005 US 72081**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
06.10.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
06.10.2011

73

Titular/es: **Millipore Corporation**
290 Concord Road
Billerica, Massachusetts 01821, US

72

Inventor/es: **Perreault, Jeremy;**
Carroll, Mark y
Noyes, Aaron

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 365 528 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

Sistema de compresión automatizada de columnas cromatográficas

La presente invención se refiere a columnas cromatográficas y en particular a un sistema de columnas cromatográficas y procedimiento de compresión y mantenimiento óptimo de una compresión consistente en un lecho de medio dentro de una columna cromatográfica. A menudo es deseable separar uno o más componentes de una mezcla de fluidos que contiene otros componentes que pueden no ser útiles o son menos valiosos. Para llevar a cabo esto último, a menudo es necesario o deseable fraccionar tal mezcla de fluidos para separar los componentes útiles o deseados. Esto se puede llevar a cabo usando sistemas de cromatografía líquida. La cromatografía líquida se puede describir como el fraccionamiento de componentes de una mezcla basada en las diferencias de las características físicas o químicas de los componentes. Los diversos sistemas cromatográficos líquidos fraccionan los componentes con una matriz de fraccionamiento. Algunos sistemas de matriz cromatográfica líquida fraccionan los componentes de una mezcla basada en tales parámetros físicos como el peso molecular. Otros sistemas cromatográficos líquidos fraccionarán los componentes de una mezcla basándose en criterios químicos como la carga iónica, hidrofobicidad, y la presencia de algunos restos químicos tales como determinantes antigénicos o sitios de unión a lecitinas sobre los componentes.

Los sistemas cromatográficos de diversas dimensiones se usan tanto en operaciones de análisis de laboratorio como en operaciones de producción a escala industrial en las cuales se pueden llevar a cabo etapas de separación como la separación de una fracción de cuerpo humano o la separación de impurezas de un producto farmacéutico a gran escala en un proceso por lotes.

Las separaciones que usan columnas cromatográficas llenas de un medio cromatográfico se han llevado a cabo durante años. El medio cromatográfico comprende típicamente partículas que tienen un diámetro entre 5 y 10 μm . Para maximizar la efectividad de la columna es deseable disponer el medio lo más firme y más uniformemente posible. Este proceso, conocido como relleno, elimina los huecos y canales dentro del medio. Sin embargo, el relleno de columna cromatográfica, particularmente allí donde están implicadas grandes columnas, es muy variable y puede afectar drásticamente a la eficiencia de la separación. Muchos parámetros del proceso de configuración se deben organizar muy bien con el fin de conseguir una columna rellena homogénea. Dependiendo de la dimensión de la columna, el proceso de relleno puede llevar una cantidad de tiempo considerable, en el intervalo de varias horas. A pesar del tiempo invertido en el relleno de la columna, a menudo los tiempos inferiores al 50% de estas columnas rellenas funcionan según la especificación.

Durante la operación y el relleno cromatográfico, la compactación del medio cromatográfico tiene un impacto sobre el rendimiento y la repetibilidad de la columna. En el relleno de la columna, se comprime típicamente el medio mediante un proceso alternativo de flujo de líquido a través de la columna para rellenar el medio y reducir entonces el conjunto ajustador en un esfuerzo para comprimir mecánicamente el medio.

Una vez que se ha rellenado la columna, el fluido a fraccionar se pasa a través de la columna. Durante la operación prolongada, los lechos de medio de relleno experimentarán una variedad de situaciones con el medio.

En algún medio, al humedecerse con el relleno y/o el fluido de proceso, se hincha. Esto puede producir una sobre compresión del medio dañando potencialmente el medio o conllevando una reducción de la eficiencia de separación debida a una reducción en las dimensiones de pro del medio o la disponibilidad del medio para el flujo de proceso.

También se produce una ligera compactación de lecho aunque significativa y acumulativa. Esto es intrínseco a muchas columnas de lecho relleno. Las fuentes de esta compactación adicional son principalmente dependientes de proceso y son generalmente debidas a la resistencia hidráulica de procesamiento, las perturbaciones de flujo durante los ciclos de procesamiento, las propiedades de fase móvil, tales como caudal, viscosidad y densidad, hinchado de matriz de soporte, y la movilidad de lecho intrínseca en la superestructura de lecho relleno. La magnitud de la compactación se refiere también a la dimensión, forma y rigidez de las partículas del medio. Por ejemplo las partículas de forma irregular tales como las matriz PROSEP® se predisponen para la separación y la compactación acompañante.

El resultado a largo plazo es que cuando se usa repetidamente un lecho relleno, se compacta de manera incremental. Esta compactación conduce a una reducción continua en la densidad del lecho de medio en la parte superior del lecho, hasta que se forma una grieta entre el lecho y el soporte de lecho superior. Las implicaciones inmediatas de rendimiento son una reducción en la eficiencia de separación, caracterizada típicamente por picos de elución más amplios con más residuo. Finalmente, esta densidad reducida de lecho puede conducir a la formación de canales preferidos de flujo a través del lecho, reduciendo la vida efectiva de la columna, requiriendo de este modo un re-relleno frecuente.

Por lo tanto, existe la necesidad de un procedimiento mejorado de mantenimiento de una compresión apropiada

dentro de una columna cromatográfica rellena durante su operación, lo cual mejorará el rendimiento de la columna y prolongará su vida útil.

5 Los inventores conocen la patente de los Estados Unidos US 4 350 595 (Merck Patent GmbH) que describe una columna de separación para cromatografía líquida que se obtura ajustablemente para reducir el espacio muerto en su interior. La columna de separación se rellena y el diafragma elástico obtura un extremo. Hay material inerte de forma esférica situado entre el relleno y el diafragma elástico con una frita porosa situada entre el material inerte y el diafragma. Un pistón ejerce una fuerza sobre el diafragma para estirarlo longitudinalmente en la columna reduciendo de este modo el espacio muerto. La frita y el material inerte operan para distribuir uniformemente la fuerza ejercida por el pistón.

10 Los inventores conocen también la patente de los Estados Unidos US 6 139 732 (Hodge Bioseparation) que describe una columna cromatográfica que incluye un tubo de columna, un distribuidor de fluido posicionado dentro del tubo de columna, y una junta inflable posicionada alrededor de la periferia del distribuidor. La junta inflable está estructurada para proporcionar una junta estanca a fluidos entre el distribuidor y el tubo de columna cuando se inflan, sin crear volumen muerto en el interior de la columna. La columna cromatográfica también puede incluir un tubo de entrada amovible y sustituible para introducir fluido, tal como la fase móvil en el tubo de columna. El tubo de entrada puede incluir un alojamiento tubular exterior hueco, rígido monobloque, un acoplamiento de fluido para facilitar la conexión a una fuente de fluido en un extremo del alojamiento, y un elemento de estanqueidad para acoplar el distribuidor de fluido de la columna cromatográfica al otro extremo del alojamiento. El tubo de entrada también puede incluir un revestimiento interior construido en un material que es inerte respecto del fluido introducido en la columna.

15 El documento US 2004/099604 divulga un dispositivo cromatográfico que comprende una columna para recibir un lecho cromatográfico a través del cual se adapta un fluido para fluir, una base que soporta dicha columna, un soporte de lecho ajustable que se desliza en el interior de la columna y adaptado para ejercer una fuerza sobre el lecho de medio, un accionador para desplazar dicho soporte de lecho, un sensor para medir la fuerza total ejercida sobre el lecho de medio. Un controlador está en comunicación con el sensor de presión y está adaptado para generar una señal de salida hacia el accionador.

25 El documento US-A-3 410 135 divulga un aparato para medir la fuerza o presión, en el cual la presión a medir se transmite a una célula de carga a través de un pistón.

30 El documento WO03/076923 divulga una columna cromatográfica que comprende una disposición de traviesa y montantes, usándose dicha disposición para aplicar presión al lecho de medio cromatográfico.

Sumario de la invención

Se establecen características esenciales y opcionales de la presente invención en las reivindicaciones independientes y dependientes, respectivamente.

35 Los problemas de la técnica anterior se han solucionado con la presente invención, la cual proporciona un sistema automatizado y un procedimiento para mantener la compactación, y por lo tanto una mayor eficiencia, de un lecho de medio dentro de una columna cromatográfica. En la realización preferida, un conjunto de ajuste se acopla deslizantemente en el interior de un extremo de la columna de manera que se puede desplazar a lo largo del eje principal de la columna. Cuando está inactivo, la fuerza ejercida sobre este extremo es igual a la compresión del lecho de medio. Cuando la columna es procesada activamente, esta fuerza ejercida se puede expresar como la suma de la compresión del medio, y la fuerza del fluido procesado. Esta fuerza total y la presión de fluido son controladas usando una célula de carga y un sensor de presión, respectivamente. La fuerza de compresión que opera sobre el lecho de medio se calcula entonces basándose en estas mediciones y se compara con el valor preferiblemente óptimo o deseado. La posición del conjunto de ajuste dentro de la columna se modifica entonces en respuesta a cambios en la fuerza de compresión medida para mantener una compresión consistente sobre el lecho de medio.

Breve descripción de los dibujos

- La figura 1 es una vista en sección transversal de una primera realización de una columna de técnica anterior.
- 50 - La figura 2 es una vista en sección transversal de una segunda realización de una columna de técnica anterior.
- La figura 3 es una vista en sección transversal de una realización de la presente invención.
- La figura 4 muestra la realización de la figura 3 en la posición girada.

Descripción detallada de la invención

El procesamiento repetido de una columna cromatográfica causará típicamente la compactación adicional del medio previamente rellenado. Esta compactación puede ser significativa. Por ejemplo, en un ensayo, usando el medio, se llevó a cabo la separación repetida de un entorno de proteínas E. coli. Durante el primer proceso de separación, la altura de lecho medida era de 56 cm. Después de la cuadragésima separación, la separación de lecho se compacto a una altura de solamente 48 cm. Esta compactación llevó a una grieta entre la superficie superior del lecho de medio y el soporte de lecho superior y a una eficiencia reducida.

Hay también un segundo asunto asociado a la altura de lecho. Las matrices de soporte de las resinas usadas en el medio pueden cambiar de volumen. Cada matriz procesa su propio comportamiento de hinchado, siendo las resinas celulósicas y basadas en dextrano más susceptibles de hincharse cuando se someten a cambios de pH. La resistencia iónica también tiene un impacto significativo sobre el hinchado de medios cromatográficos celulósicos, agarósicos y basados en dextrano tales como cambiadores de iones. Generalmente, este hinchado es más pronunciado durante las fases de elución, regeneración, y más particularmente las fases de limpieza de un ciclo de separación cromatográfica. Por lo tanto, la columna debe ser capaz de adaptarse a los cambios inducidos por hinchado en el lecho de medio para prevenir una sobrepresurización de la columna, o una sobretensión del medio.

La figura 3 ilustra la realización preferida de la presente invención. Antes de su uso, la columna cromatográfica 110 se llena con una suspensión de medio de una manera conocida por el experto en la técnica. El soporte de lecho 112 ajustable, que forma una junta estanca a lo largo de las paredes de columna 110, se desplaza entonces hacia abajo en el interior del tubo de columna 110. Típicamente, el soporte de lecho también tiene una junta de estanqueidad, u otro medio de estanqueidad a lo largo de su perímetro para garantizar la estanqueidad de la junta. Esto permite que el tampón dentro de la columna 110 salga del orificio de flujo inferior 113. Generalmente un soporte de lecho se fija en posición mientras que el otro es libre de desplazarse. Alternativamente, ambos soportes se pueden desplazar si se desea. En la realización mostrada, el soporte de lecho inferior 114 se fija en posición a la columna. Durante este proceso de relleno, se forma un lecho de medio 120 y es contacto por el soporte de lecho ajustable a medida que sigue aplicando fuerza sobre el lecho 120. De este modo, cuando el lecho 120 está totalmente compactado, ejerce una fuerza sobre el soporte de lecho ajustable 112.

El soporte de lecho ajustable 112 se acopla a un eje 130, que está preferiblemente roscado. El eje 130 pasa a través de una abertura 141 en la traviesa 140, dicha abertura está también roscada. La traviesa 140 se mantiene en posición mediante montantes 150, que están montados en una base 160, sobre la cual descansa preferiblemente la columna 110. En la realización preferida, los montantes 150 se mantienen en contacto con la base a través del uso de medios de fijación 161, tales como pernos, que se extienden a través de las aberturas 164 en la base y se acoplan con el montante mediante la ranura 151 perforada en el montante, que también está roscado. El medio de fijación tiene un eje 162, que está preferiblemente roscado, de un diámetro dado, y una cabeza 163 que tiene un diámetro superior al del eje. La abertura 164 en la base 160 es preferiblemente superior al diámetro del eje de medio de fijación 161, pero inferior al diámetro de la cabeza de medio de fijación 163, para permitir que el eje de del medio de fijación se desplace libremente a través de la abertura 164. El medio de fijación 161 se inserta del la parte inferior de la base 160, a través de la abertura 164 de manera que el eje del medio de fijación 161 se acopla a la ranura 151 en el montante 150.

La traviesa 140 se fija a una pluralidad de montantes 150. Dos montante proporcionan típicamente la estabilidad estructural necesaria para columnas de menor diámetro, mientras se pueden usar montantes adicionales para columnas de mayor diámetro. Estos montantes 150 se colocan preferiblemente equidistantes unos de otros alrededor de la circunferencia de un círculo que es concéntrico a, pero superior a la columna 110. Los montantes 150 tienen una altura igual a, o preferiblemente superior a la de la columna 110.

En una realización, la traviesa 140 está conectada a los dos o más montantes y se extiende sobre el ancho y la línea central de la columna 110. La traviesa 140 está retenida en los montantes 150 por medios tales como la ranura 152, un anillo u otro dispositivo que puede mantener de hecho en posición la traviesa 140. La traviesa 140 se puede fijar permanentemente a los montantes 150 o más preferiblemente, se puede conectar amoviblemente a los montantes 150 por pernos, pasadores de abrazadera, pasadores de chaveta, grapas y similares. En una realización preferido, la traviesa 40 se fija a un montante 50 por un perno, y el otro montante por un pasador de abrazadera de manera que cuando el soporte de lecho ajustable 112 se retira de la columna, la traviesa 140 puede girar verticalmente alrededor del montante 150 que contiene el perno y puede subir y salir del recorrido de la columna para permitir un fácil acceso al interior de la columna. La figura 4 muestra esta realización en la posición girada.

En otra realización, la traviesa 140 también se puede girar en un desplazamiento circular horizontal separado de la boca de la columna 110.

Encima de la traviesa 140 se encuentra un accionador 170 adaptado para desplazar el eje en dirección vertical, independientemente de la traviesa 140. Este accionador se puede controlar neumática, eléctrica o hidráulicamente. En la realización preferida, un motor, preferiblemente alimentado por electricidad, está equipado con un engranaje que entra en contacto con el eje roscado 130. El movimiento del motor causa la rotación del engranaje, que a su vez causa la rotación del eje roscado 130. La rotación resultante del eje roscado 130, a través de la abertura roscada 141 en la traviesa 140 hace que el eje 130 se desplace respecto de la traviesa 140 en dirección vertical.

5

El soporte de lecho ajustable 112, el eje 130 y el accionador 170 constituyen el conjunto ajustador. Estos componentes operan al unísono para ajustar la posición del soporte de lecho ajustable 112 en el interior de la columna 110, controlando de este modo la presión ejercida sobre el lecho de medio.

La traviesa 140 y los montantes 150 comprenden una estructura de soporte 155. Esta estructura se acopla rígidamente y se fija al eje 130 y la base 160, de manera que cualquier fuerza ejercida sobre el soporte de lecho ajustable 112 se transfiere a través del eje 130, a través de la estructura de soporte 155, al punto de conexión entre la estructura de soporte 155 y la base 160.

10

Aunque esta realización constituye una realización preferida en la cual se usa un único eje con dos montantes, la invención no queda limitada a la misma. Los expertos en la técnica apreciarán que se encuentra dentro del alcance de la presente invención el uso de múltiples ejes y un mayor número de montantes. Por ejemplo, un diámetro muy superior puede requerir un mayor número de ejes y montantes con el fin de garantizar que el soporte de lecho ajustable descienda uniforme y regularmente sobre el lecho de medio.

15

Alternativamente, se pueden usar otras estructuras. Las columnas cromatográficas están formadas por tres componentes básicos; un tubo de columna, un extremo inferior fijo y un extremo superior móvil. Véase los documentos U.S. 4.350.595 y U.S. 6.139.732. El extremo superior se desplaza respecto del tubo de manera a poder retirarse para su introducción y poder retirar el medio cromatográfico en el tubo y poder desplazarse longitudinalmente dentro del tubo para comprimir el medio a usar.

20

Este extremo superior necesita sin embargo, fijarse en algún punto a la columna con el fin de desplazarse respecto de la columna.

25

Un primer medio para llevar a cabo esto último es formar un tubo de materiales de gran resistencia, incluyendo metales tales como acero inoxidable o plásticos estructurales rígidos, tales como acrílicos o polimetilpentenos tales como plástico TPX® disponible en Mitsui Petrochemical Industries Ltd Corporation of Japan. El tubo tiene un reborde en el extremo superior al cual una placa superior se fija a la columna y un reborde en el extremo inferior al cual se fija un extremo inferior fijo. El extremo superior móvil se fija entonces a esta placa superior y se desplaza respecto de la misma dentro y fuera del tubo.

30

En una realización, mostrada en la figura 1, el tubo 2 tiene una placa inferior 4 fijada en posición por pernos 6 fijados a un reborde 8 del tubo 2. Una placa superior 10 se fija a un reborde superior 12 del tubo 2 por tornillos de presión 13. un extremo móvil 14 se sitúa centralmente en la placa superior 10 y es capaz, por movimiento de la varilla 16, de desplazarse dentro o fuera del tubo 2.

35

A medida que el extremo 14 se desplaza dentro del tubo 2 para comprimir el lecho de medio 18 a usar, fuerzas longitudinales son llevadas desde el extremo 14 a la varilla 16, a la placa superior 10 y a continuación al propio tubo.

En la figura 2 se muestra otra alternativa. Usa una serie de varillas 20 o tornillos alineados de cerca alrededor del exterior del tubo 24 para llevar las fuerzas longitudinales en lugar de la pared del propio tubo. Esto permite usar menos materiales estructuralmente rígidos, tales como vidrio o plásticos, preferiblemente acrílico o estireno, y usar también tubos de paredes más finas. Todo esto reduce el peso y el costo del dispositivo.

40

La mayoría de los elementos de este tubo 24 de la figura 2 son similares a los de la figura 1. Uno tiene una placa de extremo superior móvil 22, una placa inferior 26, fijada a un extremo inferior fijo 27, rebordes 28, bien como parte del tubo 24 o en este ejemplo como piezas separadas para asegurar la placa superior fija 30 y la placa inferior 26 del tubo 22. Una varilla 32 se prolonga a través de la placa 30 y se conecta al extremo móvil 22 por una empuñadura 34. Un lecho de medio cromatográfico 36 se comprime mediante el movimiento del extremo 22. Como se muestra en la figura 2 hay una serie de varillas guías 38, que se usan, en columnas mayores para mantener el extremo 22 horizontal durante el movimiento. La placa 30 se fija normalmente sobre el reborde 33 y queda fijada por numerosos medios de fijación mecánica 31.

45

50

En la realización de la invención, una célula de carga 180 se sitúa entre la cabeza 163 del dispositivo de fijación y la parte inferior de la base 160. La célula de carga se puede posicionar entre el perno 6 y la placa inferior 4 en la figura 1. Igualmente, la célula de carga se puede situar entre el medio de fijación mecánica 31 y la placa 30 o entre el medio de fijación mecánica 31 y la placa inferior 26 en la figura 2. Una célula de carga es un dispositivo que

traslada la carga ejercida sobre ella a una señal de salida eléctrica analógica, tal como la tensión o la corriente. La relación entre la carga ejercida y la señal de salida eléctrica se establece bien y se controla adecuadamente, de manera que la carga exacta experimentada por la célula de carga se puede determinar controlando su señal de salida eléctrica. El término célula de carga se usa en el presente documento para incluir cualquier dispositivo que lleva a cabo esta función.

Volviendo a la figura 3, la célula de carga 180 es preferiblemente circular, con una abertura concéntrica en el centro, de tal manera que el diámetro de la abertura es suficientemente ancho para permitir que el eje 162 se deslice a través de la abertura. Sin embargo, el diámetro de la abertura es preferiblemente inferior al diámetro de la cabeza 163 del medio de fijación, de manera que la cabeza no puede pasar por la abertura, haciendo de este modo que la célula de carga se interconecte con el medio de fijación de una manera similar a una arandela tradicional. De este modo, el medio de fijación se inserta a través de la abertura concéntrica en la célula de carga 180, a través de la abertura en la base 160, y en la ranura del montante 150. Preferiblemente, se usa una célula de carga sin tener en cuenta el número de montantes, aunque se consideran múltiples células de carga, o una célula de carga para cada montante como realización de la presente invención.

El experto en la técnica apreciará que aunque la realización preferida comprende un soporte de lecho superior ajustable, y un soporte de lecho inferior fijo, la invención no se limita a la misma. El aparato también se puede construir de manera que el soporte superior es fijo, y el soporte de lecho inferior es ajustable.

En la realización preferida, el fluido a procesar por la columna 110 se desplaza en un conducto a través de una cavidad hueca dentro del eje 130 hasta el soporte de lecho ajustable 112. Alternativamente, el fluido se puede desplazar dentro de un conducto paralelo al eje y entrar entonces en el soporte de lecho ajustable bajo un arco hueco formado en la base del eje. El soporte de lecho ajustable 111 también comprende una célula de flujo, que distribuye igualmente el fluido de manera que entra en el lecho de medio uniformemente. El fluido procesado sale entonces de la columna a través del orificio de flujo inferior 113. El experto en la técnica apreciará que la dirección de desplazamiento del fluido no se limita a ir de arriba abajo; el fluido también puede ser forzado en la parte inferior de la columna y salir por la superficie superior. Igualmente, no es necesario que la entrada de fluido y el soporte móvil estén localizado en el mismo extremo de la columna.

La presión del fluido que entra en la columna es controlada. Hay un número de procedimientos conocidos en la técnica para llevar a cabo este control. Por ejemplo, se puede insertar una trampa de burbujas entre la fuente de fluido y la entrada al eje 130. Se puede usar un sensor de presión asociado a la trampa de burbuja para suministrar la presión de fluido medida. En la realización preferida, un sensor de presión 190, preferiblemente un transductor está en comunicación con el flujo de fluido a través del uso de un a conexión en forma de T muy próxima al eje 130. Se usa un transductor de presión para convertir una medición de presión en una señal eléctrica analógica o digital, tal como la tensión o la corriente. En este escenario, el transductor 190 mide la presión del fluido forzado a través del conducto y dentro de la columna 110.

Al haberse definido los componentes de la presente invención, ahora se describirá la operación. En primer lugar, se comprime el medio en la columna para formar un lecho de medio. Este proceso se puede llevar a cabo de diversas maneras bien conocidas por el experto en la técnica, y la presente invención no se limita a una metodología de relleno específica. Una vez la columna rellena, el soporte de lecho ajustable 112 estará en contacto directo con la parte superior del lecho 120, manteniéndolo bajo alguna cantidad de fuerza suficiente para garantizar que permanece compactado. El lecho de medio 120 ejerce una contrafuerza sobre el soporte de lecho ajustable 112. Puesto que el soporte de lecho ajustable 112 está fijado rígidamente al eje 130, que está fijado rígidamente a la traviesa 140, que a su vez está fijada rígidamente a los montantes 150, esta fuerza ejercida se transfiere directamente al medio de fijación 161 que está asegurando el montante 150 a la base 160. De este modo, la fuerza ejercida por el lecho de medio 120 puede ser medida por la célula de carga 180, situada entre el medio de fijación 161 y la parte inferior de la base 160. En la realización preferida, se utiliza una única célula de carga, de este modo esta célula de carga experimentará solamente una fracción de la fuerza total ejercida por el lecho de medio. Esta fracción se define como $1/(\# \text{ de montantes})$. De este modo, si se utilizan dos montantes, la célula de carga experimentará la mitad de la fuerza total ejercida por el lecho de medio 120. Alternativamente, las células de carga se pueden disponer en asociación con cada montante. En este caso, la fuerza total se definiría como la suma de las fuerzas experimentadas por cada célula de carga. Igualmente, si las células de carga se disponen sobre solamente una parte de los montantes, la carga total se puede expresar como

$$(\Sigma \text{ de células de carga}) * (\# \text{ de montantes}) / \# \text{ de células de carga}.$$

Las señales de salida del sensor de presión 190 y la célula de carga están en comunicación con el controlador 100. El controlador 100 también genera señales de salida hacia el accionador 170 que las dirige para alterar la posición del soporte de lecho ajustable. Usando las señales de salida de la célula de carga 180 en combinación con el controlador 100, es entonces posible crear un sistema de control mediante el cual la carga experimentada por la célula de carga es usada por el controlador 100 para ajustar la posición del eje 130, usando el accionador 170. El

5 experto en la técnica apreciará que el controlador puede ser de varios tipos, incluyendo, pero no limitándose al tipo proporcional, proporcional-derivado (PD), proporcional-integral (PI) o proporcional-integral-derivado (PID), y que la invención no está limitada por la selección del controlador. Igualmente, la señal de salida del controlador 100 hacia el accionador 170 puede tener varias formas, incluyendo pero no limitándose a tensión, corriente analógicas, señales o impulsos digitales.

10 La fuerza óptima a aplicar al lecho de medio 120 se puede determinar usando un número de procedimientos diferentes, tal como pero no limitándose a mediciones empíricas a medida que la columna se rellena, o valores fijos basados en la cantidad y el tipo de medio usado. Una vez determinada la fuerza óptima requerida para crear la compresión apropiada sobre el lecho de medio 120, el sistema de control que comprende la célula de carga 180, el accionador 170 y el controlador 100 operan para mantener esta fuerza. El procedimiento para determinar esta fuerza óptima es independiente de la presente invención, y por lo tanto cualquier procedimiento para determinar este valor es apropiado.

15 Habiéndose establecido la compresión apropiada para el lecho de medio 120, la columna está entonces lista para aceptar fluido. El fluido que entra en la columna también estará a presión, y esta presión se ejercerá también sobre el soporte de lecho ajustable. Por lo tanto, la fuerza total ejercida sobre el soporte de lecho ajustable se puede dar mediante:

$$F_{\text{Total}} = F_{\text{Fluido}} + F_{\text{Compresión de Medio}},$$

y F_{Fluido} es dado por:

$$F_{\text{Fluido}} = P_{\text{Fluido}} * \text{Area}_{\text{Soporte de Lecho Ajustable}}$$

20 Combinando esto, la fuerza total sobre el soporte de lecho ajustable es:

$$F_{\text{Total}} = P_{\text{Fluido}} * \text{Area}_{\text{Soporte de Lecho Ajustable}} + F_{\text{Compresión de Medio}}$$

Puesto que la fuerza total se puede medir mediante la célula de carga, y la presión de fluido se puede medir por el sensor de presión 190, es posible determinar la cantidad de fuerza aplicada al lecho de medio.

$$F_{\text{Compresión de Medio}} = F_{\text{Total}} - P_{\text{Fluido}} * \text{Area}_{\text{Soporte de Lecho Ajustable}}$$

25 Esta $F_{\text{Compresión de Medio}}$ calculada se compara entonces con la fuerza de compresión óptima. Ajustando la posición de eje 130 basándose en la medición de la célula de carga 180 y el sensor de presión 170, es posible mantener una presión óptima constante sobre el lecho de medio 120. Por ejemplo, a medida que el lecho de medio se comprime, ejerce menos fuerza sobre el soporte de lecho ajustable 112. Esta reducción será medida por la célula de carga como una reducción en la fuerza total (suponiendo una presión de fluido constante). El controlador detectará esta fuerza reducida, y determinará que la fuerza ejercida sobre el lecho de medio ha decrecido. Para compensar esto último, el controlador accionará el accionador 170 para ajustar el eje 130 para que comprima más la columna, hasta que la fuerza de compresión de medio vuelva al valor óptimo. Por el contrario, si el lecho de medio se expande, el controlador detecta un aumento en la fuerza total y accionará el accionador 170 para retraer el eje 130 en una dirección fuera de la columna, hasta que la fuerza de compresión del medio vuelva al valor óptimo.

35 El sistema de control de la presente invención se puede utilizar de numerosas maneras. En una primera realización, el sistema de control se usa solamente entre ciclos de separación para corregir cualquier cambio de altura del lecho de medio 120 ocurrido durante el ciclo anterior. En esta realización, la posición del soporte de lecho ajustable dentro del cilindro se mantiene constante a lo largo de todo el ciclo de separación, y entonces su altura se ajusta después de terminar el ciclo.

40 En una segunda realización, el sistema de control está continuamente operativo, ajustando por lo tanto constantemente la presión ejercida sobre el lecho de medio cambiando la posición del soporte de lecho ajustable dentro del cilindro. Debido a la precisión requerida, esta realización utiliza preferiblemente un controlador PID. El experto en la técnica reconocerá que se puede abordar un sistema de control continuo mediante el uso de un sistema de muestras, con lo cual la célula de carga y los transductores de presión son muestreados a intervalos
45 periódicos y se realizan ajustes a la posición vertical del soporte de lecho ajustable en respuesta a estas mediciones de muestras.

REIVINDICACIONES

- 1.- Sistema cromatográfico que comprende:
- una columna (110) que comprende una entrada y que incluye un lecho de medio (120) a través del cual se adapta un fluido para fluir; una base (160) que soporta dicha columna;
- 5 un soporte de lecho ajustable (112) móvil en dicha columna y adaptado para ejercer una fuerza sobre dicho lecho de medio;
- un accionador (170) para desplazar dicho soporte de lecho ajustable; y
- una traviesa (140) sobre la cual se fija dicho accionador, siendo mantenida la traviesa en posición por al menos dos montantes (150) que están montados en la base (160);
- 10 **caracterizado porque** una célula de carga (180) para medir la fuerza ejercida sobre dicho soporte de lecho ajustable, en el cual dicha célula de carga se sitúa en la unión entre dicha base y dicha traviesa, y un controlador en comunicación con dicha célula de carga y adaptado para generar una señal de salida hacia dicho accionador, desplazando dicho accionador dicho soporte de lecho ajustable en respuesta a la fuerza medida por dicha célula de carga.
- 15 2.- Sistema según la reivindicación 1, que comprende, además, un sensor para medir la presión de dicho fluido que entra en dicha columna.
- 3.- Sistema según la reivindicación 2, en el cual dicho sensor comprende un transductor de presión.
- 4.- Sistema según la reivindicación 2, en el cual dicho controlador está también en comunicación con dicho sensor y está adaptado para generar una señal de salida hacia dicho accionador en respuesta a dicha célula de carga y dicho sensor.
- 20 5.- Sistema según la reivindicación 2, en el cual dicho soporte de lecho ajustable comprende, además, un eje acoplado a dicho accionador, de manera que la acción de dicho accionador causa el desplazamiento de dicho eje dentro de dicha columna.
- 6.- Sistema según la reivindicación 1, que comprende, además, una pluralidad de ejes fijados a dicho soporte de lecho ajustable.
- 25 7.- Sistema según la reivindicación 4, en el cual dicho controlador lleva a cabo
- a) un algoritmo de control proporcional, o
- b) un algoritmo de control proporcional derivado, o
- c) un algoritmo de control proporcional-derivado, o
- 30 d) un algoritmo de control proporcional-integral-derivado.
- 8.- Sistema según la reivindicación 1,
- a) en el cual dicho accionador comprende un motor eléctrico, o
- b) en el cual dicho accionador comprende un dispositivo hidráulico.
- 9.- Sistema según la reivindicación 1 en el cual dicha entrada a dicha columna se sitúa dentro de dicho soporte de lecho ajustable.
- 35 10.- Sistema según la reivindicación 1 que comprende, además, un soporte de lecho fijo situado en el extremo de dicha columna opuesto a dicho soporte de lecho ajustable, en el cual dicho soporte de lecho fijo comprende, además, una salida de dicha columna.
- 11.- Procedimiento para mantener la compresión sobre un lecho de medio en el sistema cromatográfico según la reivindicación 2, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:
- 40 - usar dicha célula de carga para medir dicha fuerza ejercida sobre dicho soporte de lecho ajustable;
- usar dicho sensor para medir la presión de dicho fluido;
- calcular la fuerza de compresión sobre dicho lecho de medio, basándose sobre mediciones de dicha célula

de carga y dicho sensor;

- comparar dicha fuerza de compresión calculada con una fuerza de compresión óptima; y
- usar dicho accionador para desplazar dicho soporte de lecho ajustable basándose en dicha comparación.

12.- Procedimiento según la reivindicación 11, en el cual dichas etapas se llevan a cabo

- 5
- a) entre cada ciclo de separación, o
 - b) continuamente, o
 - c) a intervalos de tiempo regulares.

13.- Procedimiento para establecer la fuerza de compresión sobre un lecho de medio en un sistema cromatográfico según la reivindicación 1 antes de la introducción de fluido, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 10
- usar dicha célula de carga para medir dicha fuerza ejercida sobre dicho soporte de lecho ajustable;
 - calcular la fuerza de compresión sobre dicho lecho de medio, basándose sobre la medición de dicha célula de carga;
 - comparar dicha fuerza de compresión calculada con una fuerza de compresión óptima; y
 - usar dicho accionador para desplazar dicho soporte de lecho ajustable basándose en dicha comparación.

15

20

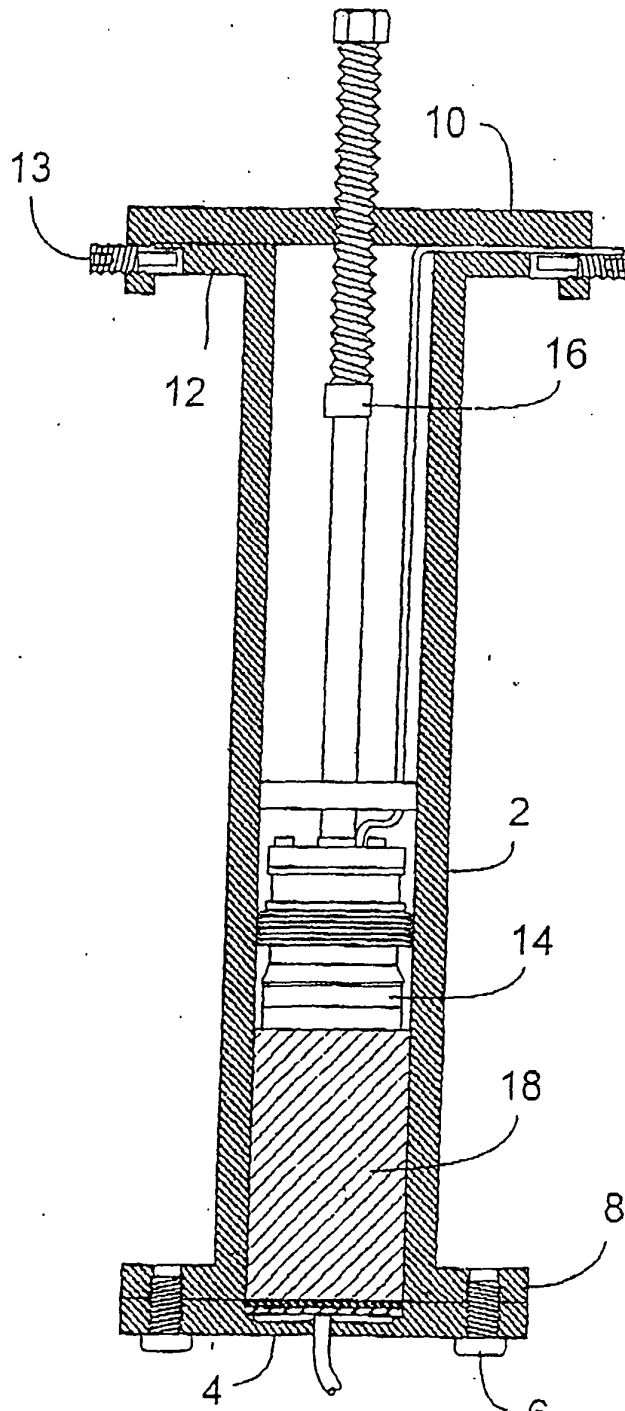


Fig. 1

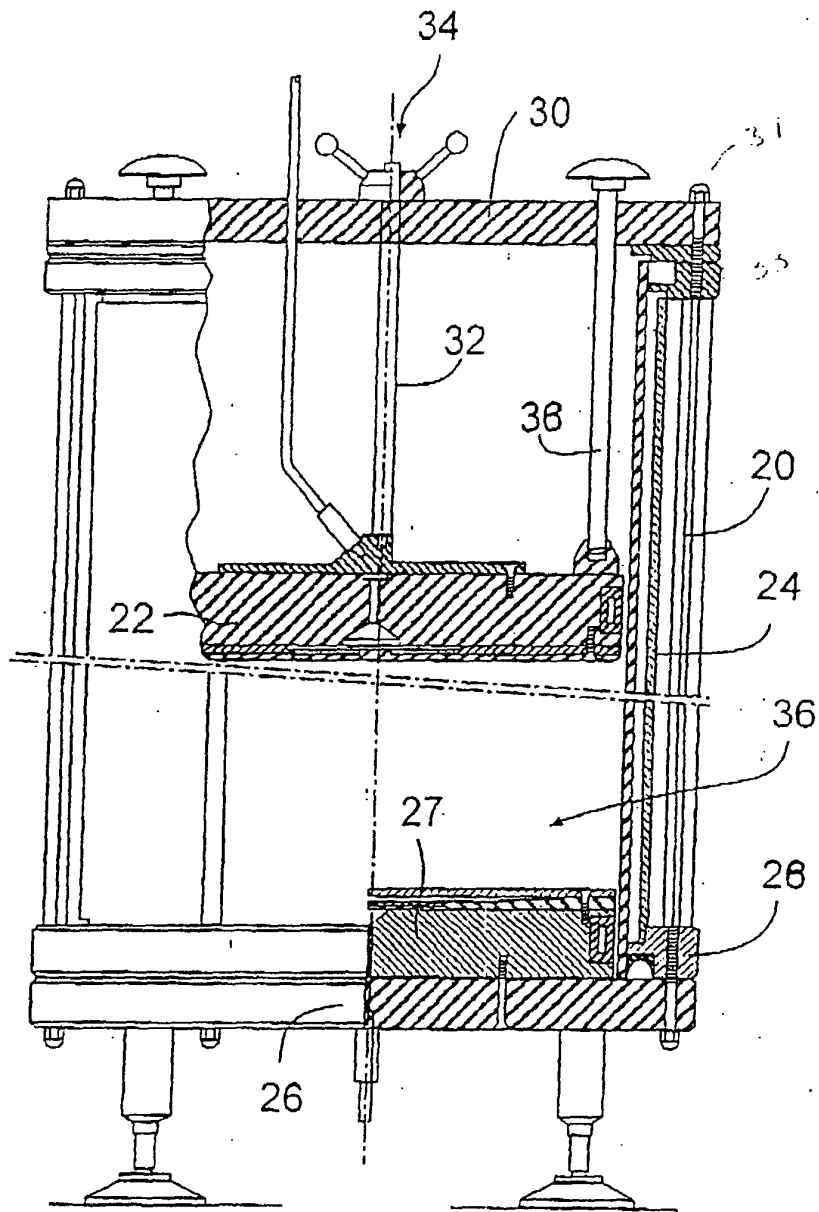


Fig. 2

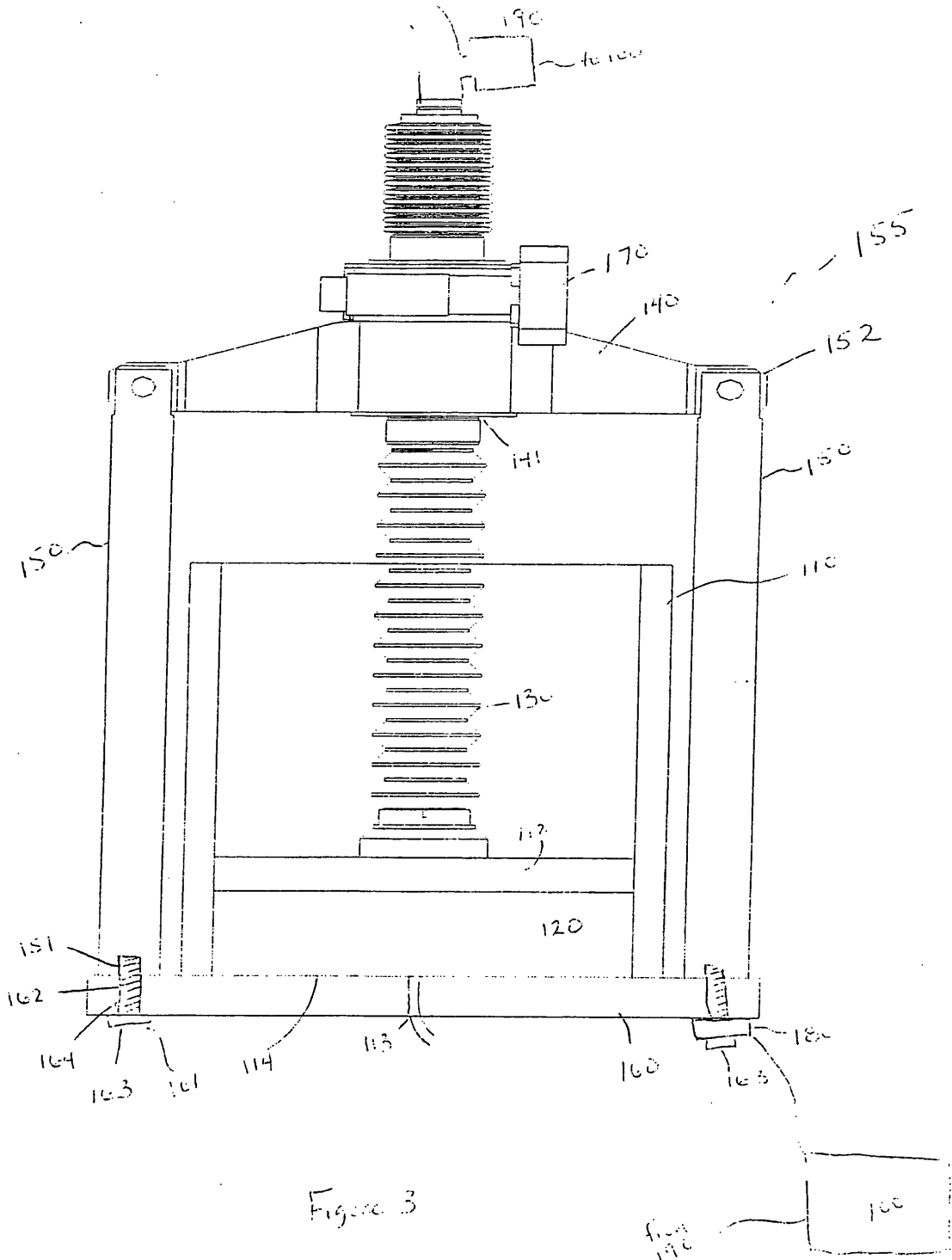


Figure 3

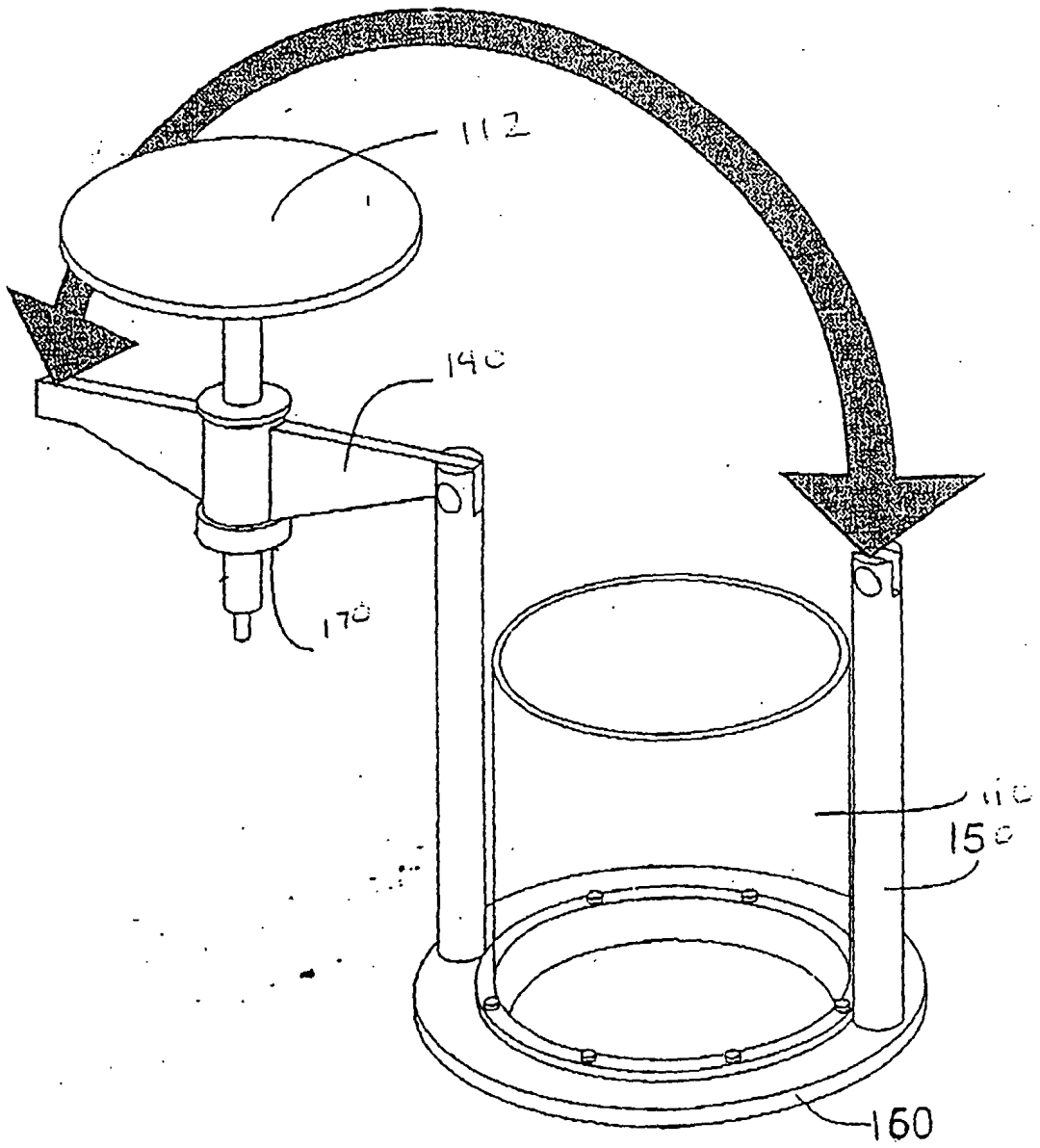


Fig. 4