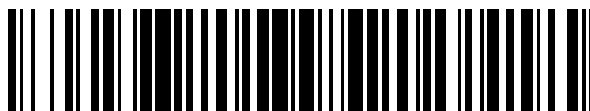


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 862**

51 Int. Cl.:

B01D 15/20 (2006.01)

G01N 30/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2006 E 07014835 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015 EP 1859848**

54 Título: **Método para el relleno automático de columnas de cromatografía**

30 Prioridad:

04.04.2005 US 98505

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

23.02.2016

73 Titular/es:

**EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
290 Concord Road
Billerica, MA 01821, US**

72 Inventor/es:

**PERREAULT, JEREMY;
CARROLL, MARK y
NOYES, AARON**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 560 862 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

Método para el relleno automático de columnas de cromatografía

5 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a métodos para rellenar una columna de cromatografía. Frecuentemente, es deseable separar uno o más componentes útiles de una mezcla de fluidos que contiene otros componentes que pueden no ser útiles o ser menos valiosos. Para lograr esto, a menudo es necesario o deseable fraccionar tal mezcla de fluidos para separar los componentes útiles o deseados. Esto se puede realizar usando sistemas de cromatografía líquida. Puede describirse la cromatografía líquida como el fraccionamiento de componentes de una mezcla basado en diferencias de las características físicas o químicas de los componentes. Los diversos sistemas de cromatografía líquida fraccionan los componentes con una matriz de fraccionamiento. Algunos sistemas de matriz de cromatografía líquida fraccionan los componentes de una mezcla basándose en parámetros físicos tales como el peso molecular. Aún otros sistemas de cromatografía líquida fraccionarán los componentes de una mezcla basándose en criterios químicos tales como carga iónica, hidrofobicidad y la presencia de ciertas entidades químicas, tales como determinantes antigénicos o lugares de fijación de lectina de los componentes.

Se usan sistemas de cromatografía de diversos tamaños tanto en operaciones de análisis de laboratorio como en operaciones de producción a escala industrial, en las que los pasos de separación, tales como separar una fracción de sangre humanada o separar impurezas de un fármaco, pueden realizarse a gran escala con un procesamiento discontinuo.

Se ha realizado durante años separaciones usando columnas de cromatografía llenas con medios cromatográficos. Los medios cromatográficos comprenden típicamente partículas con un diámetro entre 5 y 100 μm . Para maximizar la eficacia de la columna, es deseable disponer los medios de una manera tan apretada y uniforme como sea posible. Este proceso, conocido con relleno, elimina vacíos y canales dentro de los medios. Sin embargo, el relleno de columna de cromatografía, particularmente cuando están implicadas grandes columnas, es altamente variable y puede afectar marcadamente la eficiencia de la separación. Muchos parámetros del proceso de inicio deben instrumentarse suavemente con el fin de lograr una columna rellena homogénea. Dependiendo del tamaño de la columna, el proceso de relleno puede llevar una cantidad significativa de tiempo, en el rango de varias horas. No obstante, a pesar del tiempo invertido en el relleno de la columna, a menudo menos del 50% de estas columnas rellenas funcionan según la especificación. Durante el relleno y la operación de cromatografía, la compactación de los medios cromatográficos tiene un impacto significativo sobre el rendimiento y repetitividad de la columna. Durante el relleno de la columna, los medios son comprimidos típicamente mediante un proceso alterno de hacer fluir líquido a través de la columna para compactar los medios y posteriormente bajar el conjunto ajustador en un esfuerzo para comprimir mecánicamente los medios.

En la referencia "Column packing for process-scale chromatography: Guidelines for reproducibility": Guía internacional de biofarmacia, páginas 23 a 30, publicada en julio de 2003, se describen procedimientos típicos para rellenar una columna de cromatografía.

Por tanto, existe la necesidad de un método mejorado para rellenar columnas, que reduzca el tiempo necesario y mejore la repetitividad y rendimiento del proceso. Las mejoras en el diseño de la columna pueden reducir el error de relleno del operador y conducir a mejores prestaciones, reproducibilidad y estabilidad de los lechos de cromatografía, y lo mismo puede ocurrir con la incorporación de medios controlados para realizar automáticamente uno o más procesos implicados en el relleno de la columna.

La presente invención es como se reivindica en la reivindicación 1.

50 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

La figura 1 ilustra un aparato útil para ejecutar el método de la presente invención;

La figura 2 representa una gráfica que ilustra la relación entre esfuerzo y deformación para diversos tipos de medios;

La figura 3 representa una gráfica que ilustra las fuerzas durante un proceso de relleno a velocidad constante de acuerdo con la presente invención;

La figura 4 represente un diagrama de flujo que ilustra los pasos realizados durante un proceso de relleno a velocidad constante de acuerdo con la presente invención;

La figura 5 representa una gráfica que ilustra la velocidad del ajustador durante un proceso de relleno a presión constante (que no es según la presente invención); y

La figura 6 representa un diagrama de flujo que ilustra los pasos realizados durante un proceso de relleno a presión constante (que no es según la presente invención).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Actualmente, la mayor parte de columnas de cromatografía se rellenan manualmente, lo cual puede ser un procedimiento largo y tedioso. Los trabajadores que están relleno las columnas deben ser entrenados especialmente y necesitan tiempo y práctica para mejorar su pericia. A pesar de esto, el rendimiento de columnas

manualmente rellenadas rara vez supera el 50%. De este modo, más de la mitad de las columnas que se rellenan no cumplen sus requisitos, demandando así ser rellenadas de nuevo. Esto da como resultado ineficiencia y, más específicamente, la pérdida de tiempo y medios. Puede usarse una automatización para mejorar significativamente el rendimiento y reducir el tiempo necesario para rellenar una columna.

5 La presente invención puede ser realizada utilizando una columna de cromatografía, usada junto con varios componentes adicionales. El primero de tales componentes es un actuador, que es capaz de mover un soporte de lecho ajustable, o ajustador, situado dentro de la columna. Este actuador puede accionarse por cualesquiera medios adecuados, tal como medios accionados neumática, eléctrica o hidráulicamente. Este soporte de lecho ajustable
10 puede ser movido por el actuador con el fin de aumentar o disminuir la presión ejercida sobre el lecho de medios. Un segundo de tales componentes son unos medios para medir la presión o fuerza total ejercida sobre el lecho de medios. Esto puede implementarse de muchas formas, tal como un sensor de presión, una pila piezoeléctrica o mediante el uso de un cilindro hidráulico calibrado. Una de tales implementaciones se describe en la patente estadounidense número 7.238.282. La salida generada por estos medios puede tener una gran variedad de formas, incluyendo, pero no limitándose a, tensión analógica, corriente analógica y señales digitales. Un tercer componente
15 consiste en unos medios para medir la presión del fluido que entra en la columna. Esto puede implementarse de muchas formas, tal como una trampa de burbujas o un sensor de presión. Un cuarto componente es un controlador capaz de recibir estas mediciones desde los dispositivos de medición de presión y usar estas mediciones para controlar el actuador. Una persona versada en la técnica apreciará que el controlador puede ser de diversos tipos, incluyendo, pero no limitándose a, proporcional, proporcional-derivado (PD), proporcional-integral (PI) o proporcional-integral-derivado (PID), y que la invención no está limitada por la elección del controlador. Similarmente, la salida del controlador hacia el actuador puede ser de diversas formas incluyendo, pero no limitándose a, tensión analógica, corriente, señales digitales o impulsos. Asimismo, se disponen unos medios para medir la posición del soporte de lecho ajustable dentro de la columna. La posición del soporte de lecho puede medirse usando sensores ópticos, sensores acústicos, usando visualmente una columna transparente, tal como una
20 realizada de vidrio o plástico, y preferiblemente con un gradiente o escala marcados aplicados a la superficie de pared, o puede determinarse basándose en las acciones del actuador. Por ejemplo, la posición del soporte de lecho puede determinarse basándose en el número de giros realizados por un engranaje helicoidal, o el número de impulsos aplicados a un motor de pasos.

30 La figura 1 ilustra una disposición preferida de dicho aparato. Un soporte de lecho ajustable 112 está acoplado a un vástago 130, que preferiblemente está roscado. El vástago 130 atraviesa una abertura 141 en un yugo 140, cuya abertura también está preferiblemente roscada. El yugo 140 se mantiene en posición mediante unos montantes 150, que están montados en una base 160, sobre la cual descansa preferiblemente la columna 110. En la disposición preferida, los montantes 150 se mantienen en contacto con la base mediante el uso de unos fijadores 161, tales como pernos, que se extienden a través de unas aberturas 164 en la base y se acoplan con el montante mediante unas ranuras 151 perforadas dentro del montante, que también están roscadas. El fijador tiene un vástago 162, que preferiblemente está roscado, de un diámetro dado, y una cabeza 163 que tiene un diámetro mayor que el del vástago. Las aberturas 164 de la base 160 son preferiblemente mayores que el diámetro del vástago 162 del fijador, pero menores que el diámetro de la cabeza 163 del fijador, para permitir que el vástago del fijador se mueva libremente a través de la abertura 164. El fijador 161 se inserta desde el lado inferior de la base 160, a través de la
40 abertura 164, de tal manera que el vástago 162 del fijador se acople con la ranura 151 del montante 150.

45 El yugo 140 está fijado a una pluralidad de montantes 150. Dos montantes proporcionan típicamente la estabilidad estructural necesaria para columnas de menor diámetro, mientras que pueden usarse montantes adicionales para columnas de mayor diámetro. Estos montantes 150 están situados preferiblemente equidistantes uno respecto de otro alrededor de la circunferencia de un círculo que es concéntrico con la columna 110, pero mayor que ella. Los montantes 150 tienen una altura igual a la de la columna 110, o preferiblemente mayor que la misma.

50 En una disposición, el yugo 140 está conectado a los dos o más montantes y abarca la anchura y línea central de la columna 110. El yugo 140 está retenido sobre los montantes 150 por medios tales como una ranura 152, un anillo u otro dispositivo que pueda mantener al yugo 140 afirmativamente en su sitio. El yugo 140 puede fijarse permanentemente a los montantes 150 o, más preferiblemente, puede conectarse de forma retirable a los montantes 150 mediante pernos, pasadores de abrazadera, pasadores de aletas, abrazaderas y similares. En una disposición preferida, el yugo 140 está fijado a un montante 150 mediante un perno y el otro montante mediante un pasador de abrazadera de modo que cuando el soporte de lecho ajustable 112 se retira de la columna, el yugo 140 puede hacerse pivotar verticalmente alrededor del montante 150 que contiene el perno y moverse hacia arriba y hacia fuera del camino de la columna para permitir un fácil acceso al interior de la columna.

60 Encima del yugo 140 está un actuador 170 destinado a mover el vástago en la dirección vertical, independientemente del yugo 140. Accionadores de actuador adecuados incluyen accionadores neumáticos, eléctricos o hidráulicos. En la disposición preferida, un motor, preferiblemente accionado eléctricamente, está equipado con un engranaje que hace contacto con el vástago roscado 130. El movimiento del motor provoca el giro del engranaje, el cual, a su vez, provoca el giro del vástago roscado 130. El giro resultante del vástago roscado 130, a través de la abertura roscada 141 del yugo 140, hace que el vástago 130 se mueva con relación al yugo 140 en la
65 dirección vertical.

El soporte de lecho ajustable 112, el vástago 130 y el actuador 170 constituyen el conjunto ajustador. Estos componentes funcionan al unísono para ajustar la posición del lecho de soporte ajustable 112 dentro de la columna 110, controlando así también la presión ejercida sobre el lecho de medios.

El yugo 140 y los montantes 150 constituyen una estructura 155 de soporte. Esta estructura está acoplada rígidamente y fijada al vástago 130 y a la base 160, de tal manera que cualquier fuerza ejercida sobre el soporte de lecho ajustable 112 es transferida por el vástago 130, a través de la estructura 155 de soporte, hasta el punto de conexión entre la estructura 155 de soporte y la base 160.

Aunque esta disposición comprende una disposición preferida en la que se usa un único vástago con dos montantes, la invención no está limitada de esta manera. Los expertos en la técnica apreciarán que está dentro del alcance de la presente invención el uso de vástagos múltiples y de un mayor número de montantes. Por ejemplo, una columna de un diámetro muy grande puede requerir un mayor número de vástagos y montantes con el fin de garantizar que el soporte de lecho ajustable descienda uniformemente y por igual sobre el lecho de medios.

En la disposición preferida, una pila piezoeléctrica 180 está situada entre la cabeza 163 del dispositivo de sujeción y el lado inferior de la base 160. Sin embargo, la pila piezoeléctrica 180 puede estar colocada en cualquier posición en la que pueda medir la fuerza ejercida sobre el lecho de medios. Una pila piezoeléctrica es un dispositivo que traduce la carga ejercida sobre ella en una salida eléctrica analógica, tal como una tensión o corriente, o una salida eléctrica digital. La relación entre la carga ejercida y la salida eléctrica está bien establecida y es estrechamente controlada, de tal manera que puede determinarse la carga exacta experimentada por la pila piezoeléctrica vigilando su salida eléctrica. El término pila piezoeléctrica se usa en el presente documento para incluir cualquier dispositivo que realice esta función.

La pila piezoeléctrica 180 es preferiblemente circular, con una abertura concéntrica en el medio, de tal manera que el diámetro de la abertura sea lo suficientemente grande para permitir que el vástago 162 se deslice a través de la abertura. Sin embargo, el diámetro de la abertura es preferiblemente menor que el diámetro de la cabeza 163 del fijador, de tal manera que la cabeza no pueda atravesar la abertura, provocando así que la pila piezoeléctrica se interconecte con el fijador de manera similar a la de una arandela tradicional. De este modo, el fijador es insertado a través de la abertura concéntrica de la pila piezoeléctrica 180, a través de la abertura de la base 160, y dentro de la ranura del montante 150. Preferiblemente, se usa una pila piezoeléctrica, con independencia del número de montantes, pero también se contemplan múltiples pilas piezoeléctricas, o una pila piezoeléctrica para cada montante, como una disposición de la presente invención.

Los expertos en la técnica apreciarán que aunque la disposición preferida comprende un soporte de lecho superior ajustable y un soporte de lecho inferior fijo, la invención no está limitada a esto. El aparato también puede construirse de tal manera que el soporte superior esté fijo y el soporte de lecho inferior sea ajustable.

En la disposición preferida, el fluido que se ha de procesar por la columna 110 viaja en un conducto a través de una cavidad hueca dentro del vástago 130 hasta el soporte de lecho ajustable 112. Alternativamente, el fluido también puede viajar en un conducto paralelo al vástago y entrar posteriormente al soporte de lecho ajustable bajo un arco hueco formado en la base del vástago. El soporte de lecho ajustable 112 también comprende una célula de flujo que distribuye por igual el fluido de tal manera que éste entre uniformemente en el lecho de medios. El fluido procesado sale entonces de la columna a través de una lumbrera inferior 113 de flujo. Los expertos en la técnica apreciarán que la dirección del desplazamiento del fluido no está limitada a ser de arriba abajo; el fluido también puede ser forzado hacia el fondo de la columna y succionado desde la superficie superior. Similarmente, no se requiere que la entrada de fluido y el soporte móvil estén situados en el mismo extremo de la columna.

Se vigila la presión del fluido que entra en la columna. Existe una pluralidad de métodos conocidos en la técnica para realizar esta vigilancia. Por ejemplo, puede insertarse una trampa de burbujas entre la fuente de fluido y la entrada al vástago 1. Puede usarse un sensor de presión asociado a la trampa de burbujas para suministrar la presión de fluido medida. En la disposición preferida, un sensor de presión 190, preferiblemente un transductor, está en comunicación con el flujo de fluido mediante el uso de una conexión en T muy próxima al vástago 130. Se usa un transductor de presión para convertir una medición de presión en una señal eléctrica analógica o digital, tal como una tensión o corriente. En este escenario, el transductor 190 mide la presión del fluido que está siendo forzado a través del conducto y hacia dentro de la columna 110.

Finalmente, se disponen unos medios 195 para medir la posición del soporte de lecho ajustable 112 dentro de la columna 110. Esta posición puede medirse indirectamente vigilando las actividades del actuador. Alternativamente, la posición del soporte de lecho ajustable puede vigilarse mediante el uso de diversos tipos de sensores.

Usando el aparato antes descrito, se pueden realizar diferentes métodos para rellenar un lecho de medios como se describe ahora. En un primer método (que no es según la presente invención), el sistema determina en primer lugar el tipo de medios que están presentes en la columna y usa esta información junto con un procedimiento automatizado para compactar el tipo de medios específico.

El tipo de medios se determina según el siguiente algoritmo. Se llena la columna con medios en papilla de un tipo desconocido. A continuación, el actuador mueve a velocidad constante el ajustador, preferiblemente un soporte de lecho ajustable 112, hacia los medios. A medida que el soporte 112 del lecho es movido, se mide la fuerza ejercida sobre el soporte de lecho ajustable, tal como por la pila piezoeléctrica 180. También se mide la posición del soporte de lecho superior 112 dentro de la columna 110, tal como por sensores ópticos. La presión aplicada por el soporte de lecho ajustable, calculada como la fuerza medida dividida por el área superficial del soporte de lecho ajustable, se compara entonces con la distancia que ha recorrido el soporte de lecho ajustable.

La relación puede representarse gráficamente según se ilustra en la figura 2. En esta figura, el eje vertical, etiquetado como “esfuerzo”, se define como:

$$\text{Esfuerzo} = \text{Fuerza}_{\text{medida}} / \text{Área}_{\text{soporte de lecho ajustable}}$$

El eje horizontal, etiquetado como “deformación”, se define como:

$$\text{Deformación} = \text{Altura de columna}_{\text{comienzo del proceso}} / \text{Altura de columna}_{\text{actual}}$$

La figura 2 ilustra las diferencias relativas entre diversos tipos de medios. Los medios blandos 200 ofrecen el grado más inferior de resistencia a medida que se mueve hacia los mismos el soporte de lecho ajustable. Por el contrario, los medios rígidos 220 ofrecen un grado grande de resistencia a medida que se mueve hacia los mismos el soporte de lecho ajustable. Basándose en la gráfica resultante, puede determinarse el tipo de medios. Alternativamente, cada tipo de medios ilustrado en la figura 2 muestra una relación casi lineal entre esfuerzo y deformación. Por tanto, en vez de trazar una serie de muchos puntos sucesivos, es posible computar la pendiente de la línea resultante calculando el esfuerzo y deformación en sólo dos alturas de columna. Aún alternativamente, dado que la deformación se define como la altura de columna de partida dividida por la altura de columna actual, puede determinarse el tipo de medios comparando la presión ejercida sobre el soporte de lecho ajustable con la altura de columna actual. Dado que la gráfica esfuerzo – deformación es casi lineal, y la altura de columna actual es inversamente proporcional a la deformación, el producto de presión y altura de columna actual es aproximadamente una constante, para un tipo dado de medios, si la altura de columna de partida y el área del soporte de lecho ajustable son valores fijos. Una vez determinada, esta constante puede usarse para determinar el tipo de medios que se está usando. Finalmente, la altura de columna actual también está relacionada con la distancia que ha recorrido el soporte de lecho ajustable 112. Por tanto, en otra disposición, el movimiento del soporte lecho ajustable puede compararse con la fuerza (o presión) aplicada al soporte de lecho para determinar el tipo de medios.

Una vez que se ha determinado el tipo de medios, la columna puede rellenarse de acuerdo con la presente invención. El tipo de medios se da a conocer al sistema, por una entrada adecuada. Esta entrada se puede proporcionar de una serie de maneras, incluyendo, pero sin limitarse a, seleccionar en un menú que enumera tipos de medios posibles, e introducir, mediante teclado numérico o alfanumérico, el nombre o un símbolo asociados con un tipo de medios.

Una vez introducido, el sistema puede rellenar la columna de acuerdo con la presente invención.

Se ilustra en la figura 4 un diagrama de flujo que muestra una realización de un algoritmo para un proceso de relleno a velocidad constante. En el bloque 410, se da a conocer al algoritmo el tipo de medios. Esta determinación se realiza empíricamente usando las técnicas previamente descritas, puede introducirse en el sistema, tal como por teclado o selección en un menú. El tipo de medios permite al controlador definir un número de parámetros que necesita el algoritmo, tales como la velocidad a la que se va a desplazar el soporte de lecho ajustable y la sensibilidad del sistema (según se describe a continuación). Una vez que se han establecido estos parámetros, comienza el proceso. El sistema, particularmente el controlador, activa el ajustador, preferiblemente un soporte de lecho ajustable, moviéndolo a una velocidad constante hacia los medios según se muestra en la Casilla 430. En la Casilla 440, se mide la fuerza de admisión de columna, que es la fuerza ejercida por el fluido que entra en la columna. En la disposición preferida, la medición se realiza por el sensor de presión 190 y el resultado se transmite al controlador 100. En la Casilla de decisión 450, esta fuerza de admisión, que se representa como la lectura de presión procedente del sensor de presión 190 multiplicada por el área del soporte de lecho ajustable, se compara con la fuerza medida en la pila piezoeléctrica 180.

La figura 3 es una representación gráfica que ilustra las fuerzas que se están ejerciendo sobre el soporte de lecho ajustable en función del tiempo. La línea 300 representa la fuerza total medida por la pila piezoeléctrica 180. Esta fuerza incluye la fuerza de la compresión de medios, además de la fuerza de contrapresión hidráulica. La línea 310 representa la fuerza relacionada con la presión de admisión, que es la fuerza de contrapresión hidráulica. De este modo, la diferencia entre estas líneas es la fuerza causada por la compresión de medios. Cuando comienza el proceso de relleno, la fuerza de admisión 310 de la columna representa una parte significativa de la fuerza total experimentada por la pila piezoeléctrica 180, según se muestra en la línea 300. Esto es debido al hecho de que los medios están bajo una pequeña o nula compresión, por lo que esta fuerza es mínima. Sin embargo, cuando se rellena la columna, la componente de fuerza de compresión de medios comienza a dominar a la fuerza total,

haciendo que la línea 300 experimente un gran aumento de su pendiente. Después de este momento, la presión de admisión constituye un porcentaje mucho menor de la fuerza total.

La Casilla de decisión 450 compara la presión de admisión con la fuerza medida total. La variable C, mostrada en la Casilla 450, indica la relación deseada de la fuerza de admisión respecto de la fuerza total y es una función del tipo de medios. En tanto la relación de la fuerza admisión respecto de la fuerza total medida sea mayor que el valor de C, el controlador habilitará el soporte lecho ajustable para que continúe desplazándose a su velocidad predeterminada. Sin embargo, tan pronto como la fuerza de admisión caiga por debajo de un porcentaje señalado de la fuerza total medida, el proceso finaliza en la Casilla 460. Por ejemplo, si C se fija con un valor de 0,9, el proceso terminará tan pronto como la fuerza de admisión sea menor del 90% de la fuerza total medida. En este punto, el controlador ya no permite que el actuador mueva el soporte de lecho ajustable y se rellena la columna.

La tasa de incremento de la fuerza total medida 300 es función del tipo de medios. Por ejemplo, en unos medios rígidos, el incremento a medida que los medios se aproximan a la compresión es drástico. Sin embargo, en medios más blandos, el cambio es mucho menos obvio. Para acomodar estos tipos de medios diferentes, la sensibilidad del sistema de control puede variarse en función del tipo de medios. El rechazo del ruido del sistema puede aumentarse cuando se compactan medios rígidos, dado que el aumento de la fuerza es claramente obvio. Sin embargo, en medios más blandos, el rechazo del ruido no puede ser tan grande debido a la falta de un incremento obvio de la fuerza total.

Además de este método preferido de rellenar una columna usando una velocidad constante, existen otros varios métodos alternativos que también pueden usarse. Por ejemplo, en un método alternativo, el punto de terminación puede determinarse exclusivamente vigilando la fuerza medida total, según se muestra en la figura 3. Esto se puede hacer comparando la fuerza total medida con un valor absoluto o vigilando la pendiente (es decir, la derivada) de la línea 300. Haciendo referencia a la figura 3, se ve que la fuerza medida total es aproximadamente lineal respecto del tiempo hasta que finaliza el proceso de relleno. En ese punto 320, la pendiente de la línea 300 cambia significativamente. De este modo, la derivada de la línea tendría un cambio de valor o una discontinuidad en este momento en el tiempo. Evaluando la derivada de esta línea, el controlador puede determinar este punto, sin la necesidad de una fuerza terminal predeterminada, o sin usar una relación predeterminada entre la fuerza de admisión y la fuerza medida total. Este método es muy efectivo cuando se usa con medios rígidos, dado que las fuerzas de compresión de medios asociadas con este tipo de medios son fácilmente observables.

Alternativamente, en vez de comparar la fuerza de admisión con la fuerza medida total según se muestra en la Casilla de decisión 450, el controlador puede evaluar la fuerza asociada exclusivamente con la compresión de medios. Haciendo referencia a la figura 3, esta fuerza puede expresarse como la línea 300 menos la línea 310. Esta fuerza se puede evaluar posteriormente según cualquiera de los métodos descritos anteriormente, es decir, en comparación con la fuerza medida total, en comparación con un valor predeterminado o vigilando su derivada.

Se ilustra en la figura 6 un diagrama de flujo que muestra una realización de un algoritmo para un proceso de relleno (que no es según la invención). Las Casillas 600, 610 y 620 son análogas a las Casillas 400, 410 y 420 del algoritmo de velocidad constante, porque es durante estos pasos cuando el controlador define los parámetros constantes que se van a usar por el algoritmo, basados en el tipo de medios. En la Casilla de decisión 630, el algoritmo aumenta la velocidad del ajustador, preferiblemente un soporte de lecho ajustable, hasta que alcanza el valor de presión objetivo. En la tanto la presión medida sea menor que el valor señalado, el controlador continuará aumentando la velocidad del soporte de lecho ajustable, según se muestra en la Casilla 640. La figura 5 representa una gráfica que ilustra la velocidad del soporte de lecho ajustable en función del tiempo durante un proceso de relleno a presión constante. La línea 500 representa la velocidad del ajustador en función del tiempo. El segmento 510 de línea se corresponde con la Casilla 640 y la Casilla de decisión 630 de la figura 6, porque esta es la porción temporal en la que se aumenta la velocidad del soporte de lecho ajustable. Una vez que se ha alcanzado la presión deseada, mostrado como punto 520 en la figura 5, el algoritmo continúa con la Casilla 650, en la que el controlador reduce la velocidad del soporte de lecho ajustable. La presión medida se compara entonces con un valor objetivo en la Casilla de decisión 660. Este valor objetivo es uno de los parámetros que se basa en el tipo de medios. Si la presión medida es mayor que el valor objetivo, la velocidad del soporte de lecho ajustable continúa siendo disminuida por el controlador en la Casilla 667. Este conjunto de pasos se realiza repetidamente mientras la velocidad del ajustador disminuye, según se muestra en el segmento 530 de línea de la figura 5. La velocidad debe disminuirse continuamente porque el lecho de medios está creciendo en altura y así está creando una resistencia incrementada al flujo. Esto continuará hasta que se haya formado todo el lecho. Una vez que se forme todo el lecho, la presión y la velocidad alcanzarán un valor de estado estable durante un corto periodo, según se muestra en un punto 540 en la figura 5. En este momento, la presión de admisión será igual al valor objetivo. En este punto, el algoritmo avanza hasta la Casilla 665, en donde se mide y almacena la velocidad actual del soporte de lecho ajustable para usarla posteriormente como una referencia. Después de haber alcanzado este estado estable, ya no habrá quedado dentro de los medios fluido suficiente para mantener la presión hidráulica deseada. De este modo, será necesario incrementar la velocidad para mantener la presión deseada. Esto se ilustra en la Casilla 670, que se ejecuta cuando la presión hidráulica llega a ser menor que el valor señalado. Se aumenta la velocidad y se compara la nueva velocidad con la velocidad de referencia que se almacenó en la Casilla 665. Si la nueva velocidad es mayor que la de referencia en una medida predeterminada, se completa el algoritmo y el proceso finaliza en la Casilla 690. Si la

velocidad aún no es mayor que el valor de referencia en una medida predeterminada, el algoritmo vuelve a la Casilla de decisión 660 y se repite el bucle hasta que se completa el proceso.

5 Pueden existir situaciones en las que la presión de admisión medida pase de ser menor que el valor objetivo a ser mayor que el valor objetivo sin ni siquiera haber sido medida exactamente en el valor objetivo. En otras palabras, la Casilla 665 nunca es ejecutada. En este caso, la Casilla 670, además de aumentar la velocidad del ajustador, también comprobaría si se ha almacenado ya un valor de referencia. Si no se ha almacenado uno, el algoritmo medirá y almacenará la velocidad actual de la misma manera que se describió anteriormente con referencia a la Casilla 665.

10 Las mediciones usadas en ambos diagramas de flujo se calculan preferiblemente por el controlador, que primero lee los valores reales del dispositivo de medición adecuado y luego procesa ese resultado usando un algoritmo, tal como PID, de tal manera que se filtran fluctuaciones menores del análisis. Los valores usados por los diagramas de flujo son, por tanto, menos susceptibles a ruido y a lecturas erróneas.

15 En una realización de la presente invención, la columna se rellena siguiendo unos parámetros específicos introducidos en el sistema. Por ejemplo, pueden existir situaciones en las que el uso de un bucle de control computerizado para determinar el punto de relleno óptimo no resulte ventajoso. Por ejemplo, el usuario puede desear ejecutar pruebas múltiples en las que la columna se rellene exactamente igual cada vez. El uso de los algoritmos antes mencionados produce resultados óptimos, pero los algoritmos no pueden garantizar el relleno de columnas idénticas de manera idéntica con respecto a la altura idéntica debido a pequeñas variaciones algorítmicas y de medición. Por ejemplo, dos columnas idénticas rellenas usando el algoritmo de velocidad constante antes descrito pueden finalizar con alturas de columna ligeramente diferentes.

25 De este modo, la presente invención, se diseña para repetir el proceso de relleno idéntico para cualquier número de columnas. En esta realización, diversos parámetros, tales como, pero sin limitarse a, tipo de medios, velocidad del ajustador y altura de columna terminal, se dan a conocer al sistema, mediante menús o entrada por teclado. El sistema realiza entonces un proceso de relleno a velocidad constante, utilizando la velocidad deseada suministrada. El proceso se completa cuando la altura de columna iguala la altura de columna terminal que se introdujo en el sistema. Se contempla que la velocidad que se use sea una función del tipo de medios, como en las realizaciones anteriores. La altura de columna terminal óptima puede determinarse empíricamente. Por ejemplo, pueden rellensarse varias columnas usando la segunda realización de la presente invención, en la que el sistema determina la altura de columna óptima usando el algoritmo de relleno a velocidad constante o a presión constante. Las alturas de columna terminal de cada uno de estos procesos de relleno pueden usarse entonces para determinar una altura de columna terminal óptima. Este valor óptimo junto con la velocidad o la presión específicas de los medios se dan a conocer entonces al sistema. A continuación, de acuerdo con la presente invención, se rellena la columna.

REIVINDICACIONES

1.- Un método para rellenar un lecho de medios de una columna de cromatografía a través de la cual se hace fluir un fluido, teniendo dicha columna un ajustador y medios para determinar la posición de dicho ajustador dentro de dicha columna, comprendiendo dicho método:

- (i) introducir en un sistema de relleno de columnas el tipo de medios, la velocidad del ajustador y la altura de la columna terminal a través de menús o entradas de teclado.
- (ii) realizar un proceso de relleno a velocidad constante de una columna con la velocidad del ajustador deseada facilitada.
- (iii) completar el proceso de relleno cuando la altura de la columna alcance la altura de la columna terminal introducida en el sistema.

en el que la altura óptima de la columna introducida en el sistema se determina empíricamente rellenando varias columnas que utilizan una velocidad constante o un algoritmo de presión constante; en el que el algoritmo de velocidad constante comprende:

accionar dicho ajustador a una velocidad constante para comprimir dicho lecho de medios; determinar la fuerza de entrada de columna ejercida por el fluido en una entrada por medio de un sensor de presión colocado en dicha entrada; determinar la fuerza total, que es la suma de dicha fuerza de entrada de columna y la fuerza de compresión del medio, mediante una célula de carga; y continuar el movimiento de dicho ajustador mientras que la relación de dicha fuerza de entrada de columna con dicha fuerza total sea más grande que un nivel predeterminado, y cesar el movimiento de dicho ajustador cuando dicha relación proporcional descienda por debajo de dicho nivel predeterminado, en donde dicho nivel predeterminado es una relación deseada de dicha fuerza de entrada de columna con dicha fuerza total y es en función del tipo de medios; y en el que el algoritmo de presión constante comprende:

accionar dicho ajustador a una velocidad creciente hasta que la presión hidráulica alcance un nivel predeterminado; disminuir la velocidad de dicho ajustador para mantener dicha presión hidráulica a dicho nivel predeterminado; alcanzar un estado estable en donde la velocidad y la presión hidráulica permanezcan constantes; almacenar la velocidad en dicho valor de estado estable; incrementar la velocidad de dicho ajustador para mantener dicha presión hidráulica a dicho nivel predeterminado después de alcanzar dicho valor de estado estable; comparar la velocidad actual con dicha velocidad almacenada; y continuar incrementando la velocidad de dicho ajustador para mantener dicha presión hidráulica si dicha velocidad actual no es más grande que dicha velocidad almacenada por una cantidad predeterminada y cesar el movimiento de dicho ajustador cuando dicha velocidad actual sea más grande que dicha velocidad almacenada por dicha cantidad predeterminada.

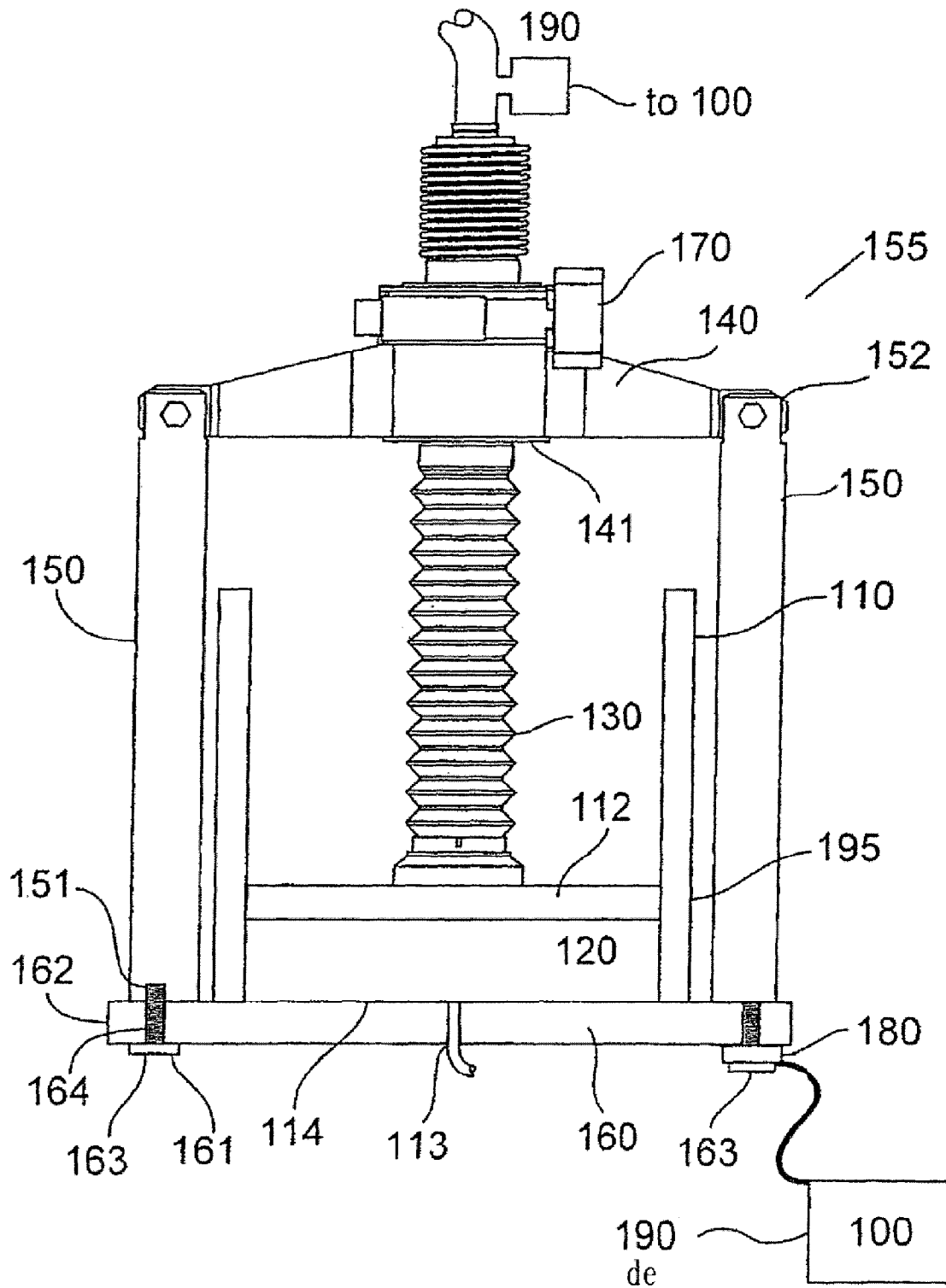


Figura 1

Esfuerzo contra Deformación de Medios

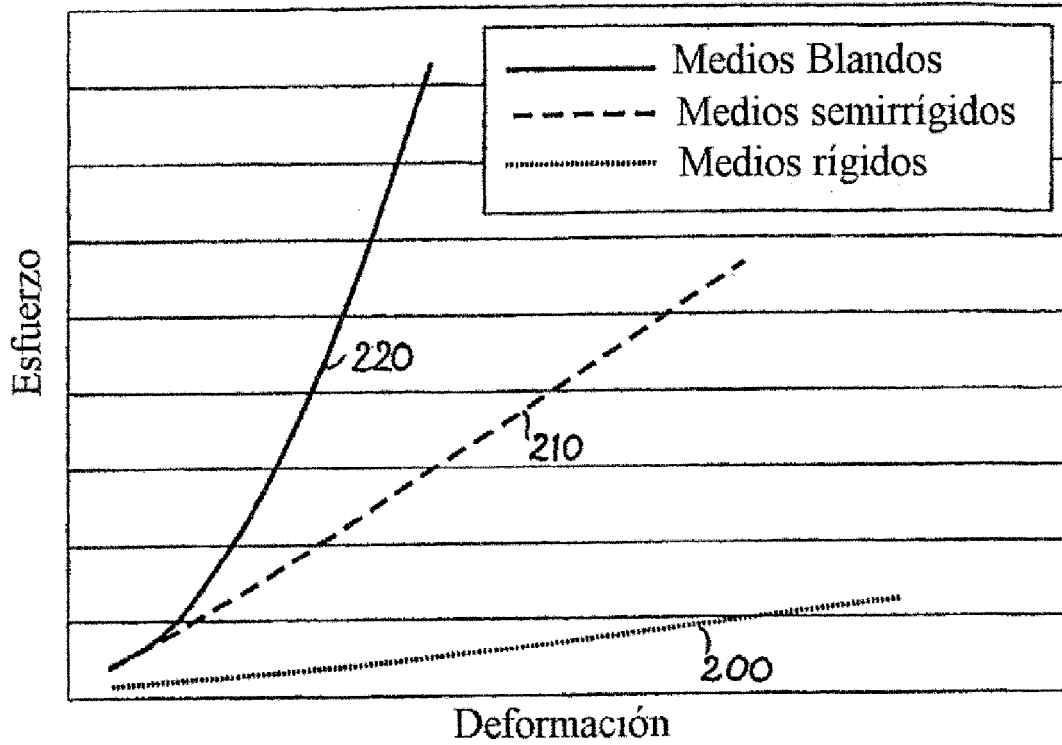


Figura 2

Relleno a Velocidad Constante

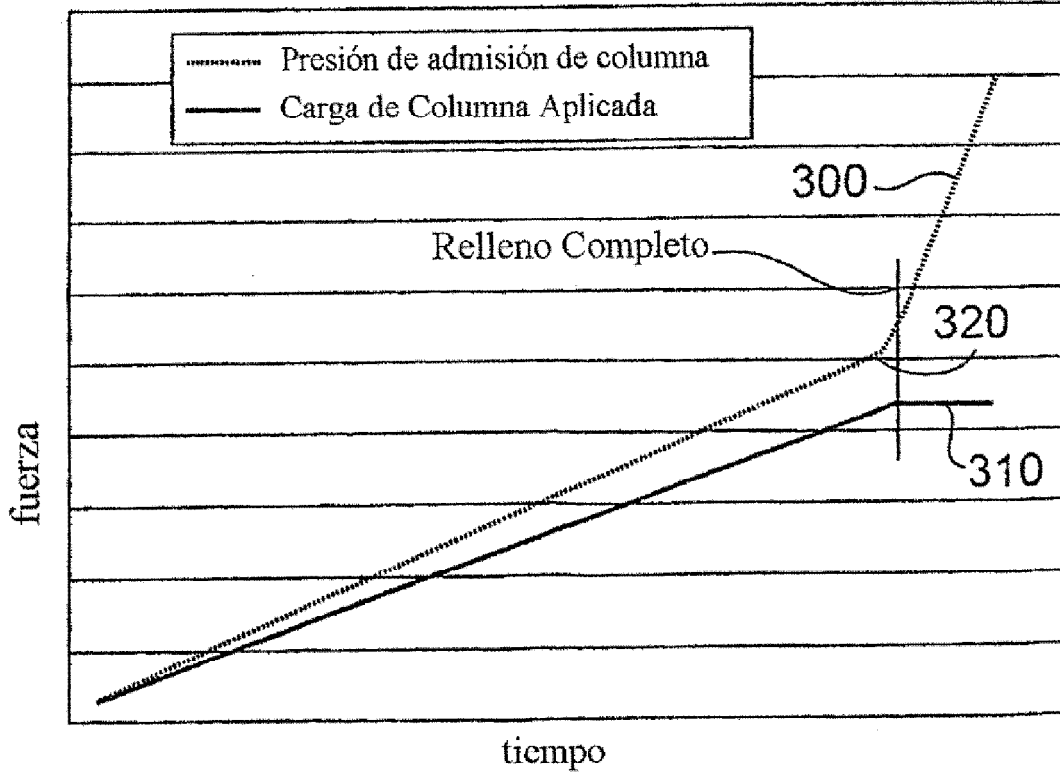


Figura 3

Algoritmo de Relleno a Velocidad Constante

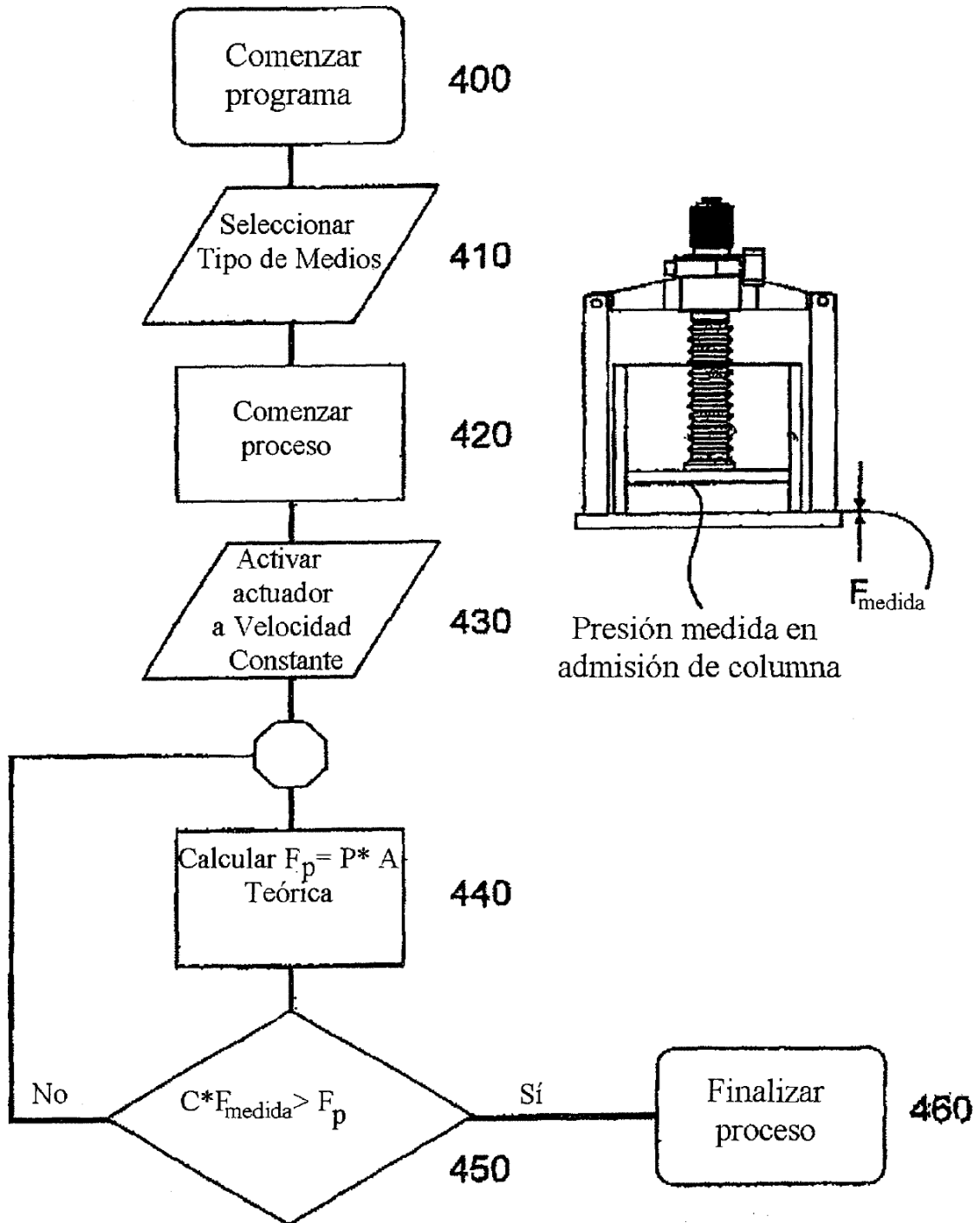


Figura 4

Relleno a Presión Constante

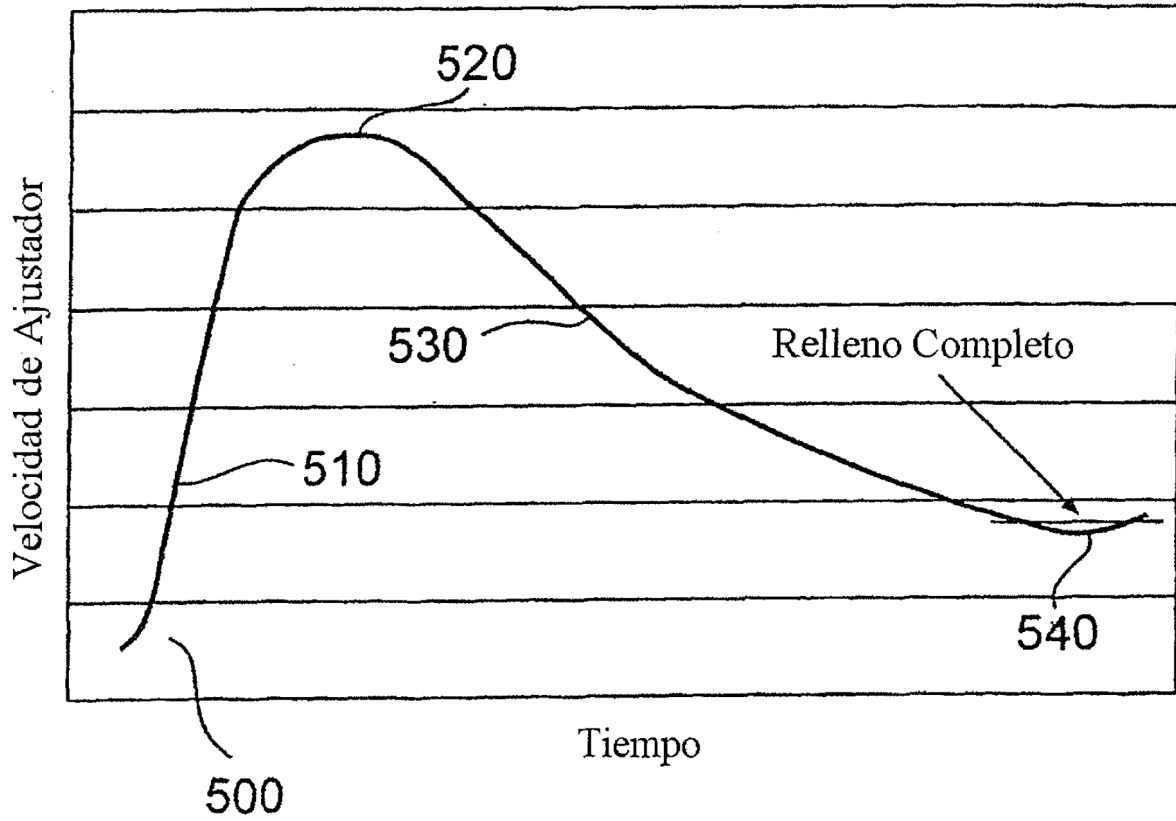


Figura 5

Algoritmo de Relleno a Presión Constante

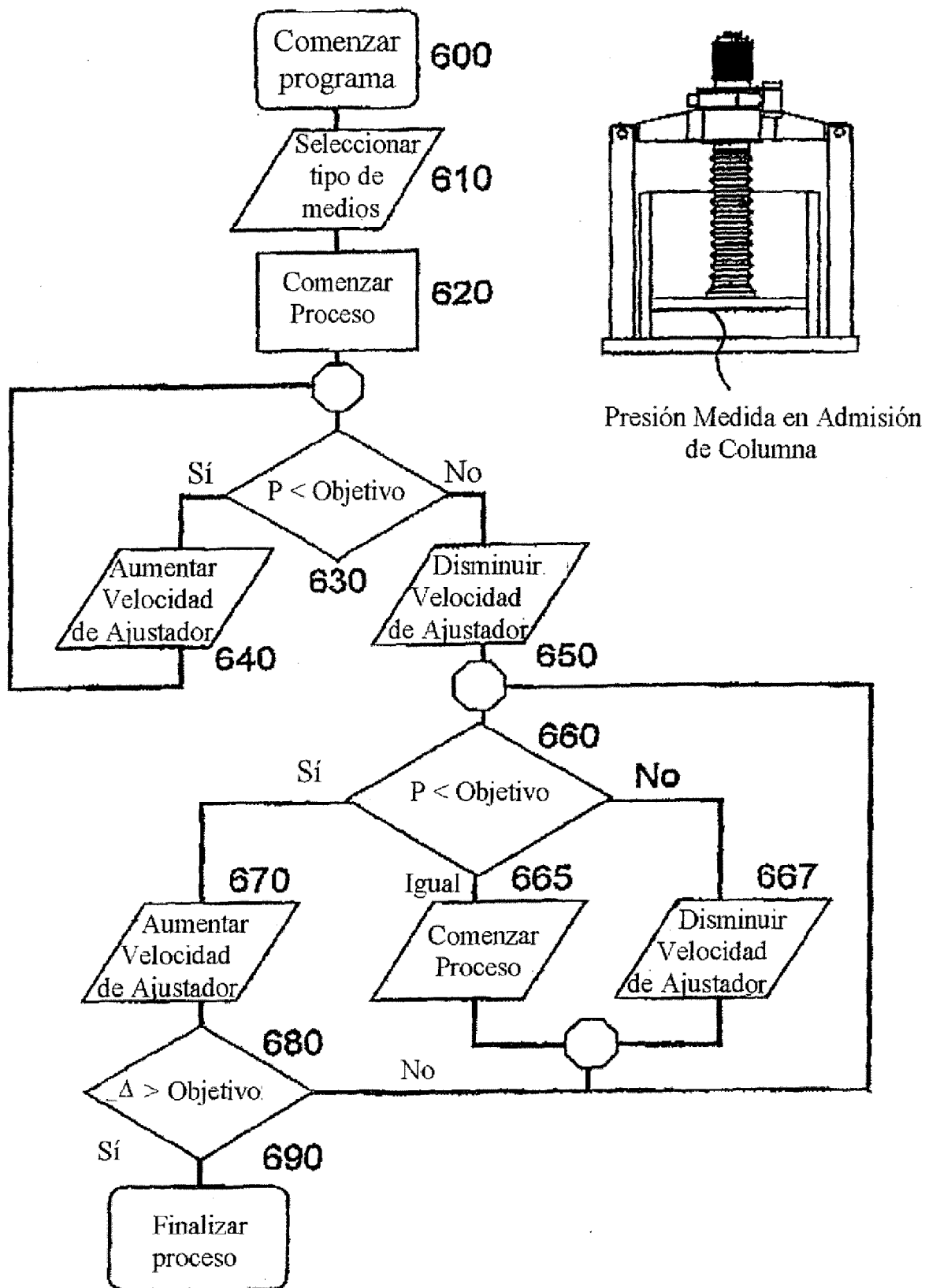


Figura 6