



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0807694-4 B1



(22) Data do Depósito: 11/01/2008

(45) Data de Concessão: 27/09/2022

(54) Título: MÉTODO PARA AUTOMATIZAR O EMPACOTAMENTO DE COLUNA

(51) Int.Cl.: B01D 15/20; B01D 15/14; G01N 30/56.

(52) CPC: B01D 15/206; B01D 15/14; G01N 2030/565.

(30) Prioridade Unionista: 06/03/2007 US 60/893202.

(73) Titular(es): GLOBAL LIFE SCIENCES SOLUTIONS USA LLC.

(72) Inventor(es): ALAN M. WILLIAMS; KYRIL DAMBULEFF; KATHRYN TAYLOR; JOHN DAVIS; ADAM KALETSKI; DANIEL GO; SCOTT R. MULLER.

(86) Pedido PCT: PCT US2008050823 de 11/01/2008

(87) Publicação PCT: WO 2008/109192 de 12/09/2008

(85) Data do Início da Fase Nacional: 24/08/2009

(57) Resumo: MÉTODO PARA AUTOMATIZAR O EMPACOTAMENTO DE COLUNA Esta invenção apresenta empacotamento de colunas cromatográficas completamente automatizado, isento de manipulação por intermédio da dispensação de um volume previamente calculado de suspensão e utilizando-se duas modalidades diferentes de empacotamento para interromper o empacotamento quando 1) este volume foi dispensado na coluna, ou 2) quando o adaptador é movido para atingir uma altura de leito correspondente ao volume previamente calculado. Assim sendo, uma coluna cromatográfica pode ser empacotada de uma forma totalmente automática e tal coluna é 1) estável e 2) tem as características desejadas de desempenho.

“MÉTODO PARA AUTOMATIZAR O EMPACOTAMENTO DE COLUNA”

Referência cruzada com pedidos relacionados

[0001] Este pedido reivindica prioridade para o pedido provisório de patente americana de número 60/893.202 depositado em 6 de março de 2007; a apresentação integral do qual é incorporada aqui como referência na sua integridade.

Campo da invenção

[0002] A invenção atual refere-se a um sistema de empacotamento do meio para colunas e métodos de empacotar um meio para uso em colunas. Mais especificamente, a invenção refere-se a dispositivos de empacotamento e a métodos para melhorar a qualidade e a consistência do meio cromatográfico de empacotamento dentro de colunas cromatográficas.

Antecedentes da invenção

[0003] As colunas utilizadas em cromatografia líquida tipicamente são constituídas de um corpo tubular envolvendo um meio cromatográfico poroso através do qual escoar um líquido veículo, com a separação acontecendo através do recolhimento do material entre o líquido veículo e a fase sólida do meio poroso. Tipicamente, o meio é colocado dentro da coluna como um leito de empacotado formado pela consolidação de uma suspensão de partículas distintas, conhecida como suspensão, que é bombeada, derramada, ou succionada para dentro da coluna. A consolidação da suspensão dentro de um leito empacotado é feita comprimindo-se a suspensão de forma que ela seja colocada dentro de um volume, o qual é menor do que o volume que ela ocuparia se tivesse sido deixada decantar-se sob a influência da gravidade para formar um leito sedimentado. A eficiência da separação cromatográfica posterior depende fortemente de 1) distribuição do líquido e sistema de recolhimento na entrada e saída do fluido do leito empacotado), 2) da

orientação especial (também conhecida como geometria do empacotamento) das partículas do meio no leito empacotado, e 3) da compressão do leito empacotado. Se a compressão do leito empacotado é muito baixa, então as separações cromatográficas executadas naquele leito sofrem "de atraso" e, geralmente, tais leitos comprimidos de forma insuficiente são instáveis. Se a compressão do leito empacotado é muito alta, as separações cromatográficas executadas pelo leito sofrem "de avanço" e tais leitos comprimidos em excesso podem afetar a capacidade de produção e ligação, e, em geral, produzem pressões de operação muito mais elevadas. Se a compressão é ótima, então os picos de separação formados durante o uso apresentam muito menos "de avanço" ou "de atraso" e são substancialmente simétricos. O grau ótimo de compressão requerido para uma coluna é determinado experimentalmente para cada tamanho de coluna (largura ou diâmetro), altura do leito, e o tipo do meio.

[0004] Antes de qualquer processo de separação, o leito tem que ser preparado iniciando-se pela suspensão de partículas que deve ser introduzida dentro da coluna. O processo de formação do leito é chamado de "procedimento de empacotamento" e um leito empacotado corretamente é um fator crítico que influencia o desempenho de uma coluna contendo um leito empacotado. Um dos objetivos principais do procedimento de empacotamento é produzir um leito, que é comprimido pela quantidade ótima de compressão, i.e., o fator ótimo de compressão. A altura do leito, quando ele é comprimido ativamente, é chamada de altura visada do leito comprimido.

[0005] Colunas em larga escala, tais como CHROMAFLOW® (uma marca registrada da GE Healthcare, são colunas fabricadas pela GE Healthcare em Piscataway, NJ), colunas semelhantes à CHROMAFLOW® e outras colunas atualmente utilizadas na indústria, de preferência, são empacotadas através da colocação dentro da coluna, por intermédio de uma

conexão central da suspensão, uma válvula de meio, ou outra conexão, de um volume predeterminado de suspensão tendo uma concentração especificada de partículas do meio. Tão logo o volume predeterminado de suspensão tenha sido colocado dentro da coluna, o meio cromatográfico na coluna pode ser 1) totalmente empacotado, ou 2) não empacotado, e que necessita ser adicionalmente consolidado e comprimido através da movimentação de um adaptador móvel para baixo ao longo do eixo longitudinal da coluna na direção do fundo da coluna, normalmente em uma velocidade constante. O líquido em excesso durante este procedimento é expelido na saída da coluna, enquanto que as partículas do meio são retidas por intermédio de um material de filtro, o assim chamado "suporte do leito", com poros pequenos demais para permitir que as partículas do meio passem através dele. O processo de empacotamento é completado tão logo o leito empacotado tenha sido comprimido através da quantidade ótima de grau de compressão. O processo de empacotamento é considerado bem-sucedido se o leito comprimido permite um desempenho cromatográfico bom e robusto. No entanto, não é fácil de se conseguir na prática empacotar tal leito otimamente comprimido de meio cromatográfico em uma coluna cromatográfica através de meios devido ao fato da qualidade do leito final empacotado depender bastante da habilidade do operador. Durante o enchimento e o empacotamento subsequente da coluna, o operador escolhe e ajusta manualmente todos os parâmetros de empacotamento, tais como as posições da válvula, a velocidade de bombeio, as vazões, a velocidade de movimento do adaptador, etc. Mais importante, em todos os casos, o operador tem que decidir arbitrariamente quando o empacotamento da coluna deve ser finalizado, através da determinação visual de 1) suspensão suficiente ter sido dispensada para dentro da coluna ou 2) o adaptador ter sido comprimido o suficiente no leito. Erros na seleção de qualquer dos parâmetros de empacotamento, e/ou erros na

decisão de quando terminar o empacotamento, normalmente levam a uma coluna com desempenho pobre. Além disso, em colunas equipadas com um tubo transparente, é especialmente difícil, e em colunas equipadas com um tubo não transparente, como o aço inoxidável, é impossível avaliar-se através do olho quando a compressão do leito na realidade começa, e um erro significativo neste momento faz com que seja impossível obter-se um leito otimamente comprimido. Em resumo, o empacotamento da coluna tem sido até agora considerado como uma técnica ao invés de uma ciência.

[0006] Assim sendo, existe uma necessidade por um sistema e método para o empacotamento preciso e reproduzível de meio cromatográfico para dentro de colunas cromatográficas.

Sumário da invenção

[0007] O objetivo da invenção é apresentar um sistema de empacotamento de coluna e um método para rechear o meio para dentro da coluna que supere as desvantagens dos sistemas da técnica anterior.

[0008] Esta invenção apresenta o empacotamento de colunas cromatográficas totalmente automatizado, sem manipulação, através da dispensação de um volume calculado previamente de uma suspensão e a utilização de duas modalidades diferentes de empacotar para interromper o empacotamento quando 1) este volume foi dispensado para a coluna, que é a modalidade preferida para colunas equipadas com adaptadores fixos, ou 2) quando, depois da dispensação do volume de suspensão previamente calculado, o adaptador é movido para atingir uma altura de leito correspondente à altura visada do leito comprimido, que é a modalidade preferida para colunas equipadas com adaptadores móveis. Assim sendo, uma coluna cromatográfica pode ser empacotada de uma forma totalmente automática, e tal coluna é 1) estável e 2) tem a característica de desempenho desejada.

Breve descrição dos desenhos

[0009] Estas e outras vantagens da invenção atual se tornarão mais aparentes quando a descrição que se segue é lida em conjunto com os desenhos anexos, onde:

[00010] A figura 1 detalha um fluxograma de um primeiro procedimento de empacotamento automático de coluna e de meio de acordo com a invenção, em que:

- 101 – Preparar o meio cromatográfico
- 103 – Determinar a concentração da suspensão
- 105 – Determinar o volume da coluna
- 107 – Determinar o fator de compressão
- 109 – Calcular o volume da suspensão
- 111 – Encher a coluna com líquido
- 113 – Escorvar o dispositivo de empacotamento com a suspensão
- 115 – Bombear a suspensão para dentro da coluna
- 117 – Monitorar o volume de suspensão bombeado
- 119 – Finalizar automaticamente o empacotamento

[00011] As figuras 2A e 2B detalham um fluxograma de um segundo procedimento de empacotamento automático de coluna e de meio de acordo com a invenção, em que:

- 201 – Preparar o meio de cromatografia
- 203 – Determinar a concentração da suspensão
- 205 – Determinar o volume da coluna
- 207 – Determinar o fator de compressão
- 209 – Calcular o volume da suspensão
- 211 – Encher a coluna com o líquido
- 213 – Abaixar o adaptador
- 215 – Succionar a suspensão para dentro da coluna

217 – Consolidar o meio cromatográfico

219 – Abaixar o adaptador

221 – Comprimir o meio cromatográfico

223 – Finalizar automaticamente o empacotamento.

[00012] A figura 3 é um diagrama esquemático do primeiro sistema de empacotamento automático de coluna e de meio associado com a figura 1 de acordo com a invenção;

[00013] A figura 4 é um diagrama esquemático de um segundo sistema de empacotamento automático de coluna e de meio associado com as figuras 2A e 2B de acordo com a invenção; e

[00014] A figura 5 é uma representação gráfica de uma curva de pressão fluxo e uma curva de compressão de acordo com a invenção.

Descrição detalhada da invenção

[00015] São descritas as realizações atualmente preferidas da invenção com referência aos desenhos. As descrições das realizações preferidas são exemplos e não se destinam a limitar o escopo da invenção.

[00016] Conforme utilizado aqui e nas reivindicações anexas:

[00017] O termo "célula" se destina a incluir os termos "vaso" e "coluna", assim como qualquer outra estrutura utilizada pelos praticantes das técnicas de separação, para efetuar uma separação, e/ou reação, e/ou catálise, e/ou extração de componentes de uma mistura, colocando-se a mistura em contato com o meio de troca sólido ou líquido, conhecido como leito empacotado.

[00018] O termo "direção longitudinal de fluxo" refere-se à direção do fluxo a partir de uma entrada na direção de uma saída dentro de uma célula. "Longitudinal" é utilizado consistentemente para designar o caminho principal de fluxo de fluido através de uma célula, sem se considerar a direção.

[00019] O termo "sistema de conexão de fluxo" refere-se ao sistema de

canais ou caminhos que ligam dois pontos em um circuito fluido.

[00020] O termo "sistema de distribuição" refere-se a estruturas através das quais são introduzidos fluidos em uma célula e o termo "sistema de recolhimento" refere-se às estruturas usadas para o recolhimento de fluidos de uma célula.

[00021] O termo "altura de leito sedimentado" refere-se à altura de um leito de partículas do meio que são obtidas quando as partículas de um líquido e meio em uma coluna são sedimentadas somente sob a influência da gravidade - tal leito sendo chamado de "leito sedimentado".

[00022] O termo "altura de leito consolidado" refere-se à altura de um leito de partículas de um meio que é obtida quando um leito de partículas de meio é formado em uma coluna enquanto as partículas do meio em suspensão são forçadas a se sedimentarem quando um fluxo de fluido é aplicado através da suspensão por intermédio de 1) um líquido bombeado para dentro da coluna, 2) bombeando-se o líquido para fora da coluna, ou 3) movendo-se (por exemplo, movimentando-se para baixo) um adaptador móvel, que força o líquido para fora da coluna - tal leito sendo chamado de "leito consolidado".

[00023] O termo "altura do leito comprimido" refere-se à altura de um leito de partículas de um meio em uma coluna que é obtida quando um leito consolidado foi comprimido, por exemplo, através do contato com, e do movimento adicional de, um adaptador móvel ou semelhante, ou através do bombeamento do fluido através da coluna em uma velocidade maior do que a utilizada durante a consolidação do leito - tal leito é chamado de "leito comprimido".

UM PRIMEIRO SISTEMA E MÉTODO DE EMPACOTAMENTO AUTOMÁTICO DE COLUNA E DE MEIO

[00024] A figura 1 mostra um fluxograma de um primeiro procedimento de empacotamento automático de coluna e meio. No bloco 101, a preparação

do meio cromatográfico ocorre onde qualquer meio cromatográfico típico é colocado em suspensão. O meio cromatográfico poderá também ser referido como gel, contas ou resina. Esta suspensão do meio cromatográfico é obtida no recipiente de despacho do meio cromatográfico (não mostrado) através de métodos típicos, tais como agitação manual, agitação motorizada, aeração, sacudidas ou vibração, ou utilização de um MEDIA WAND® (que é uma marca da GE de uma ferramenta que é fabricada pela GE Healthcare in Piscataway, NJ). O MEDIA WAND® é um meio robusto, fácil de ser utilizado, que é projetado para a remoção do sobrenadante da adição de água ou solução tampão, a criação de suspensões homogêneas do meio em recipientes de despacho e a transferência do meio para tanques de suspensão. O MEDIA WAND® é uma ferramenta descrita no pedido de patente americana intitulado "METHOD AND APPARATUS FOR FORMING AN HOMOGENEOUS MIXTURE OF CHROMATOGRAPHY MEDIA IN A VESSEL", que tem o número de pedido de patente americano 11/669.347 e foi depositado em 31 de janeiro de 2007, que é incorporada aqui como referência.

[00025] A seguir, no bloco 101, o meio de cromatografia em suspensão é bombeado do recipiente de despacho do meio de cromatografia para dentro de um tanque de suspensão 301 (figura 3). A suspensão poderia ser bombeada utilizando-se bombas típicas, que não danificam as contas, tais como bombas de diafragma ou bombas de lóbulos rotativos. Estas bombas típicas usualmente são localizadas entre o recipiente do meio cromatográfico e o tanque de suspensão 301 ou elas poderiam ser incorporadas em uma estação de colocação de empacotamento como a 303 (figura 3) ou em algum outro dispositivo de manipulação da suspensão, como a unidade de manipulação do meio, que é uma ferramenta fabricada pela GE Healthcare em Piscataway, NJ. O MEDIA WAND® e a unidade de manipulação do meio são projetados para

simplificar a manipulação do meio em grande escala, dessa forma reduzindo o tempo de manipulação e o esforço de trabalho. Alternativamente, a suspensão poderia ser fisicamente retirada do recipiente de despacho do meio cromatográfico e colocada dentro do tanque de suspensão 301 (figura 3) através de uma abertura no topo do tanque. A quantidade de meio cromatográfico contida na suspensão, geralmente é referida como a % de suspensão e também como a concentração da suspensão. Ambas, a percentagem e a concentração da suspensão, refletem o volume do material decantado por gravidade (Vgs) ou sólidos (i.e. gel, meio cromatográfico, contas, resina) no volume total da suspensão. A concentração da suspensão pode ser ajustada, mas normalmente está na faixa de 25% a 75% de Vgs no volume total da suspensão. Quando a suspensão está no tanque de suspensão 301, ela é mantida em suspensão por meios padrão de agitação para assegurar uma suspensão ou dispersão homogênea.

[00026] No final da preparação da suspensão descrita acima, uma pequena amostra de suspensão poderá ser removida do tanque de suspensão 301 (figura 3) utilizando-se uma conexão típica de amostra que é uma característica comum em tanques de suspensão. Alternativamente, uma pequena amostra da suspensão poderá ser removida simplesmente retirando-se a mesma ou utilizando-se uma pipeta típica. O volume real da amostra removido do tanque de suspensão 301 tipicamente é menor do que 1 litro, mas de preferência, poderá ser menor do que 0,1% do volume da coluna 304 (figura 3).

[00027] A seguir, no bloco 103 (figura 1), a concentração da suspensão (SC) é determinada por qualquer das seguintes técnicas:

[00028] 1. Ocorre a segmentação através da qual a suspensão é deixada decantar-se totalmente sob a força da gravidade durante um período de tempo suficiente para que aconteça uma sedimentação completa. Este período de

tempo varia com o tipo de meio cromatográfico utilizado e, em geral, poderia variar de 2 a 72h. Por exemplo, uma amostra de 100 ml retirada do tanque de suspensão 301 (figura 3) é colocada em um cilindro graduado de 100 ml, e deixada decantar-se ou sedimentar-se totalmente sob a ação da gravidade. Se o leito totalmente sedimentado então atinge um volume de 53 ml quando lido contra as marcas de graduação no cilindro graduado, a concentração da suspensão é considerada como sendo 53%.

[00029] 2. ocorre a centrifugação, através da qual a suspensão é forçada a decantar-se sob as forças centrífugas. Por exemplo, uma amostra de 100 ml é retirada do tanque em suspensão 301 (figura 3) e é colocada em um tubo centrífugo graduado de 100 ml. O tubo é então colocado em uma centrífuga e a centrífuga é operada a 3000 RPM durante 15 minutos. O tubo é então retirado da centrífuga e o volume do leito sedimentado é lido contra as marcas de graduação no tubo da centrífuga, e se aquela leitura é 53 ml, então a concentração da suspensão é considerada como sendo 53%.

[00030] 3. Ocorre a filtração, através da qual a suspensão é derramada dentro de um cilindro graduado, ou em algum outro vaso graduado, que é equipado com um filtro que permite que o líquido na suspensão seja drenado, mas retém as partículas do meio. Por exemplo, uma amostra de 100 ml é retirada do tanque de suspensão 301 (figura 3), é colocada em um cilindro graduado de 100 ml equipado com um filtro ou aglomerado no fundo, e é deixada drenar-se totalmente. Se o leito sedimentado então atinge um volume de 53 ml quando lido contra as marcas de graduação no cilindro graduado modificado, a concentração da suspensão é considerada como sendo 53%.

[00031] 4. Outros meios ou métodos, que utilizam tais princípios ou dispositivos, tais como dispersão de luz, ultra-som, e contadores de partícula, etc. Por exemplo, o outro método poderá ser um método de filtração, mas o líquido não é drenado do fundo da coluna. Neste caso, uma quantidade

específica de suspensão é derramada para dentro de uma coluna e o meio é decantado de um fluxo pequeno através da coluna. Quando o leito é decantado, então o leito é deixado em relaxamento durante um período específico de tempo. A altura do leito é medida e é relacionada com a altura da suspensão originalmente cheia. Este método de filtração mencionado anteriormente é adicionalmente descrito no pedido de patente sueca intitulado "DETERMINATION OF SLURRY CONCENTRATION", com o número de pedido do escritório de patentes sueco 0701671-0, depositada em 6 de julho de 2007, que é incorporada aqui como referência.

[00032] A seguir, no bloco 105 (figura 1), é determinado o volume da coluna (V_c) da coluna 304 (figura 3). Em uma realização preferida da invenção, o volume da coluna é determinado empiricamente, enchendo-se a coluna 304 (figura 3) com água e então drenando-se, recolhendo-se, e pesando-se a água. Em outra realização da invenção, o V_c da coluna 304 (figura 3) é determinado através de cálculo como se segue: V_c igual a área de seção em corte da coluna Πr^2 multiplicado pela altura da coluna (L):

$$V_c = \Pi r^2 \times L.$$

[00033] A altura na qual o leito do meio cromatográfico deve ser colocado dentro de uma coluna é um parâmetro bem definido, dependente da aplicação, e controlado, que normalmente é especificado na licença para a fabricação e não pode ser desviado do mesmo. Ele tipicamente é expresso como um número fixo dentro de uma certa faixa. Por exemplo, a altura do leito da coluna para uma aplicação específica poderá ser especificada como 20 ± 2 cm.

[00034] A seguir, no bloco 107, é determinado um fator de compressão (CF). A figura 5 mostra a curva de pressão-fluxo e a curva de compressão utilizada para a obtenção do fator de compressão no qual o leito de meio cromatográfico deve ser colocado dentro de uma coluna. A compressibilidade

do meio cromatográfico e a vazão máxima (velocidade de fluxo) que pode ser obtida quando o líquido é bombeado através daquele meio quando colocado dentro de uma coluna em uma determinada altura de leito (i.e., a distância entre o fundo e o topo do leito) e pode ser determinada como se segue: um volume de suspensão (uma mistura de água ou outro líquido e um meio cromatográfico, em geral, resina, etc) é derramado ou colocado dentro de uma coluna cromatográfica, cuja saída do fundo é fechada, e é deixado decantar-se totalmente por gravidade. O volume ocupado por este meio de cromatografia decantado é definido como volume decantado por gravidade, e recebe o símbolo V_{gs} . A altura deste leito de gel decantado é então registrada. Neste exemplo, esta altura de leito poderia ser referida como "altura inicial do leito". Utilizando-se uma bomba, ou outro dispositivo como equipamento de dispensação de líquido, um líquido é bombeado através da coluna em vazões incrementalmente maiores. Isto continua até que é alcançada uma velocidade máxima de fluxo (também referida como crítica), em cujo ponto não pode ser obtida nenhuma velocidade mais elevada através do leito de gel, independentemente do esforço. A pressão (a resistência do leito de gel aplicado no fluxo) e a altura do leito são registrados para cada valor de vazão. Em geral, quanto maior for a vazão aplicada na coluna, maior será a pressão e menor será a altura do leito. Utilizando-se os valores registrados para a vazão, pressão, e altura do leito, podem ser construídas duas curvas:

[00035] A curva 1 representa os círculos em uma linha, que mostram a relação entre a pressão e a velocidade do fluxo; e

[00036] A curva 2 representa o triângulo em uma linha, que mostra a relação entre a pressão e a altura do leito.

[00037] Conforme pode ser visto do gráfico na figura 5, para cada velocidade de fluxo existe uma pressão e uma altura de leito correspondentes. Assim sendo, o fator de compressão (CF) pode ser derivado utilizando-se a

fórmula:

$$CF = (\text{altura inicial do leito})/(\text{altura do leito no fluxo}).$$

[00038] Por exemplo, a compressibilidade ou fator de compressão (CF) deste meio de cromatografia na velocidade máxima de fluxo pode ser determinada dividindo-se a "altura inicial do leito" de 34 cm pela " altura final do leito" de 27,7 cm, i.e., $34/27,7 = 1,23$.

[00039] O gráfico na figura 5 mostra um fator de compressão de 1,14 para este gel específico com uma velocidade de fluxo de 55 cm/hr.

[00040] O fator de compressão também poderá ser visto como a redução na altura do meio de cromatografia em uma coluna, de um valor inicial quando o meio cromatográfico ou gel é decantado por gravidade (Vgs) até um valor final quando o meio cromatográfico é comprimido pelo fluxo próximo de uma velocidade máxima de fluxo. O valor do fator de compressão deve ser considerado não como o desvio do valor estabelecido no qual ele é indesejável, mas ao contrário, como uma faixa na qual o desempenho ótimo da coluna ainda poderia ser alcançado. Por exemplo, se um meio cromatográfico comprime por um fator de 1,15, o desempenho ótimo da coluna ainda poderia ser alcançado na faixa de 1,12 a 1,18. Como outro exemplo, se um meio cromatográfico comprime por um fator de 1,20, o desempenho ótimo da coluna ainda poderia ser obtido na faixa de 1,16 a 1,24, etc.

[00041] A seguir, no bloco 109, é calculado o volume de suspensão (Vs) requerido para o empacotamento da coluna 304 (figura 3). Este é o volume de suspensão requerido para o Vgs apropriado a ser dispensado para dentro da coluna 304 e ser comprimido até um determinado fator de compressão ou fator desejado de compressão, dentro de uma faixa desejada de fator de compressão, e este Vs pode ser calculado manualmente. Em outra realização da invenção, o volume de suspensão requerido para o empacotamento poderá

ser calculado pela unidade de controle 305 ou através de um computador separado (não mostrado). A unidade de controle 305 (figura 3) é um computador típico que inclui um processador que é capaz de calcular o volume da suspensão (V_s) com base em uma equação.

[00042] A unidade de controle 305, como um computador típico, inclui os componentes padrão: um processador, um controlador de entrada/saída (I/O), uma estocagem de massa, uma memória, um adaptador de vídeo, uma interface de conexão e um sistema de barramento. A estocagem mássica inclui: 1.a um componente de disco rígido (não mostrado) para a leitura e o registro em um disco rígido e uma interface do disco rígido (não mostrada), 2.a um disco magnético (não mostrado) e uma interface de disco rígido (não mostrada e 3. um disco ótico (não mostrado) para ler ou registrar em um disco ótico removível, como um CD-ROM ou outro meio ótico e uma interface de disco ótico (não mostrada). As conexões mencionadas anteriormente e os seus meios que podem ser lidos associados com o computador, produzem uma estocagem não volátil de instruções que podem ser lidas no computador, estruturas de dados, módulos de programa e outros dados para a unidade de controle 305. As interconexões mencionadas anteriormente também incluem o efeito técnico de se ter um algoritmo para uma primeira coluna automatizada e um procedimento de empacotamento de meio que é descrito na figura 1. O algoritmo também poderá ser um programa ou equação do procedimento ilustrado na figura 1. Com referência à figura 4, uma unidade de controle 405 (figura 4) é equivalente à unidade de controle 305 que tem as interconexões mencionadas anteriormente, que inclui o efeito técnico de ter um algoritmo para uma segunda coluna automatizada e um procedimento de empacotamento que é descrito na figura 2. Este algoritmo para a segunda coluna automatizada e empacotamento também poderá ser um programa ou equação do procedimento ilustrado na figura 2.

[00043] Com referência à figura 3, a unidade de controle 305 inclui, o "hardware e o software" para o controle da operação da coluna 304. Além disso, a unidade de controle 305 controla e se comunica com todas as unidades de equipamentos utilizadas no empacotamento da coluna automatizada, como válvulas, bombas, sensor de ar, medidor de fluxo, etc. Para se calcular o volume da suspensão (V_s) é utilizada a seguinte equação:

$$V_s = (V_c \times CF)/C_s.$$

[00044] O volume da suspensão é igual ao volume da coluna (V_c) multiplicado pelo fator de compressão (CF) que é dividido pela concentração da suspensão (C_s). O volume requerido de suspensão é preparado no tanque de suspensão 301 e poderá ser adicionado um volume adicional de suspensão para viabilizar o volume externo entre o tanque de suspensão 301 e a coluna 304, incluindo uma estação de empacotamento 303 e mangueiras. A estação de empacotamento 303 é uma estação típica de empacotamento que inclui as bombas 306 e 307 e as válvulas 308 e 309 requeridas para a dispensação da suspensão.

[00045] A seguir, no bloco 111 (figura 1), a estação de empacotamento 303 (figura 3) aplica o líquido do tanque 302 na coluna 304 (figura 3) através da bomba 306 (figura 3) e através do bocal 311 (figura 3), que é inserido na posição de empacotamento. Quando a coluna 304 é cheia com o líquido, o ar de dentro da mesma é purgado através do bocal 312 e passa através de um sensor de ar 313 (figura 3). O sensor de ar 313 é um sensor de ar típico que é ligado a, e está em comunicação com a unidade de controle 305. O sensor de ar 313 determina se há ou não ar em movimento através do mesmo e esta capacidade é utilizada para estabelecer quando a coluna está cheia com água, em cujo ponto a unidade de controle 305 pode prosseguir automaticamente para o bloco seguinte.

[00046] No bloco 113 (figura 1), a unidade de controle 305 (figura 3)

controla a estação de colocação de empacotamento 303, onde a unidade de controle 305 automaticamente escorva a estação de empacotamento 303, as linhas de suspensão, mangueiras e bocal 312 com a suspensão, através do reciclo da suspensão a partir do tanque de suspensão 301 através da estação de empacotamento 303, bocal 312 e linhas de suspensão, de volta para o tanque de suspensão 301. Esta ação de escorva ocorre através do bocal 312, estando na posição retraída ou fechada, na qual é formado um circuito entre a entrada da suspensão (SIT) 312a e um orifício da suspensão descartada (SOT) 312b, onde a suspensão é enviada através da entrada de suspensão (SIT) 312a e é dispersada através do orifício da suspensão descartada (SOT) 312b e mangueiras associadas, de volta para o tanque de suspensão 301. Tão logo esta escorva seja completada, a unidade de controle 305 prossegue automaticamente para o bloco seguinte.

[00047] No bloco 115 (figura 1), a unidade de controle 305 (figura 3) que é ligada e está em comunicação com todos os componentes críticos, executa o seguinte: 1) zera o medidor de fluxo 314, 2) coloca o bocal 312 na posição de empacotamento ou em aberto que permite a dispensação da suspensão para a coluna 304 que é escorvada com água, 3) abre a saída do fundo da coluna 304 através da operação da válvula 310, e 4) inicia a partida na bomba de empacotamento 306 (figura 3), que fornece o meio cromatográfico para dentro da coluna 304. Assim sendo, o empacotamento da coluna foi iniciado.

[00048] No bloco 117 (figura 1), a unidade de controle 305 (figura 3) que é ligada e está em comunicação com o medidor de fluxo 314, controla o medidor de fluxo 314 para monitorar o volume de suspensão bombeado para dentro da coluna 304, onde o medidor de fluxo 314 se comunica com a unidade de controle 305 o volume monitorado de suspensão que é bombeado para dentro da coluna 304.

[00049] A seguir, no bloco 119 (figura 1), o processador na unidade de

controle 305 (figura 3) finaliza automaticamente o empacotamento na coluna 304 quando a medição do volume monitorado da suspensão bombeada para dentro da coluna 304 é equivalente ao volume previamente calculado da suspensão (V_s), que foi determinado no bloco 105 (figura 1). A unidade de controle 305 então executa o seguinte: 1) interrompe a bomba de empacotamento 306, 2) retrai ou fecha o bocal 312, e 3) fecha a entrada/saída da fase móvel da coluna 304, através da operação da válvula 310. Em outra realização preferida da invenção, o volume da suspensão bombeado para dentro da coluna 304 pode ser monitorado através de uma conexão e comunicação entre a unidade de controle 305 e o tanque de suspensão 301, o qual, ele próprio, pode ser equipado com um dispositivo de medição de volume interno ou externo. Ainda em outra realização preferida da invenção, o volume de suspensão bombeado para dentro da coluna 304 pode ser monitorado através de uma conexão e comunicação entre a unidade de controle 305 e uma balança na qual o tanque de suspensão 301 é colocado.

O SEGUNDO SISTEMA E MÉTODO DE EMPACOTAMENTO AUTOMÁTICO DE COLUNA E MEIO

[00050] As figuras 2A e 2B mostram um fluxograma do segundo procedimento de empacotamento automático de coluna e meio. Este fluxograma inclui os blocos 201 a 211 (figura 2A) onde os procedimentos são equivalentes e são descritos nos blocos 101 a 111 e assim sendo, não será apresentada aqui uma descrição destes blocos.

[00051] No bloco 213, a unidade de controle 405 (figura 4), que é ligada e está em comunicação com todos os componentes críticos, movimenta o adaptador 407 (figura 4) para baixo, por meio mecânico, elétrico, ou hidráulico, até o ponto onde o adaptador está na sua posição mais baixa, onde um volume conhecido do líquido utilizado para a escorva permanece na coluna 404 ou nenhum líquido permanece na coluna 404.

[00052] No bloco 215 (figura 2), a unidade de controle 405 (figura 4), que é ligada e está em comunicação com todos os componentes críticos, executa o seguinte: 1) é colocada ou abre as válvulas do meio (também referida como bocal, ou válvula de suspensão ou orifício da suspensão) 406 a qual permite a dispensação da suspensão para a coluna 404 (figura 4) que está escorvada com água, e 2) movimenta o adaptador 407 (figura 4) para cima, por meios mecânicos, elétricos, ou hidráulicos. A unidade de controle 405 é equivalente à unidade de controle 305 descrita acima e assim sendo, ela não será descrita aqui. Quando o adaptador 407 é movimentado, a suspensão é succionada do tanque de suspensão 401 (figura 4) para dentro da coluna 404, através do bocal 406. Este processo de sucção de suspensão para dentro da coluna 404, que é operado essencialmente de uma forma semelhante à seringa, pode ser auxiliado, se necessário, pela pressão positiva no tanque 401. A unidade de controle 405 monitora a altura do adaptador por meios padrão mecânicos, eletrônicos, ou hidráulicos (não mostrados) e interrompe o adaptador 407 quando o adaptador 407 é movimentado até uma altura correspondente ao volume calculado previamente de suspensão (V_s) requerido para o empacotamento, em cujo ponto um volume de suspensão igual a V_s foi dispensado para dentro da coluna.

[00053] A seguir, no bloco 217 (figura 2A), a unidade de controle 405 (figura 4) através de meios de uma bomba interna ou externa (não mostrada) faz com que a água ou a solução tampão do tanque 402) seja bombeada para dentro da coluna 404 (figura 4) com uma vazão determinada previamente, através das conexões da fase móvel da coluna 408 e 409 (figura 4). O meio de cromatografia, o qual neste ponto está na forma de suspensão dentro da coluna 404, é consolidado nesta vazão e a unidade de controle 405 continua a aplicar o fluxo através da coluna 404 até que o leito seja consolidado e seja criada uma camada de água (espaço) e que seja estabilizada entre o adaptador

móvel 407 e o leito de meio cromatográfico.

[00054] A seguir, no bloco 219 (figura 2A), o adaptador móvel 407 (figura 4) é automaticamente abaixado pela unidade de controle 405 até o topo do leito do meio cromatográfico depois de 1) monitoração do volume de líquido retirado da coluna 404 através da conexão da fase móvel 408 ou 409, quando o adaptador móvel 407 é baixado de uma forma semelhante a uma seringa, ou 2) através da monitoração da altura 407 do adaptador móvel.

[00055] A seguir, no bloco 221 (figura 2B), o adaptador móvel 407 (figura 4) é adicionalmente automaticamente abaixado pela unidade de controle 405 para comprimir o meio cromatográfico até o fator de compressão predeterminado desejado depois de 1) monitoração do volume de líquido retirado da coluna 404 através da conexão da fase móvel 408 ou 409, quando o adaptador móvel 407 é abaixado na forma de seringa, ou 2) através de monitoração da altura 407 do adaptador móvel.

[00056] A seguir, no bloco 223 (figura 2B), a unidade de controle 405 (figura 4) automaticamente completa o empacotamento da coluna 404 quando é alcançada uma altura ótima. A altura ótima ocorre quando o adaptador móvel 407 deslocou um volume de líquido igual à diferença em volume entre a altura inicial 407 do adaptador (altura na extremidade do bloco 215) e a altura final 407 do adaptador, da coluna 404, cujo valor é conhecido pela unidade de controle 405 e é monitorado através de um medidor de fluxo (não mostrado) de uma forma semelhante ou idêntica àquela já descrita. Em outra realização da invenção, a unidade de controle 405 finaliza automaticamente o empacotamento da coluna 404 quando um dispositivo de leitura da altura do leito ou qualquer outro dispositivo capaz de determinar a posição do adaptador (não mostrada), ligado a, e em comunicação com a unidade de controle 405, alcança valores iguais à altura desejada final da coluna com empacotamento que tem um valor conhecido pela unidade de controle 405.

[00057] Em outra realização da invenção, partindo do bloco 217 e terminando com o bloco 223, a consolidação do meio cromatográfico na coluna 404 pode ser feita por intermédio da movimentação do adaptador 407 mecanicamente, eletricamente, ou hidraulicamente, através de operação padrão e através da abertura da conexão da fase móvel 408 ou da conexão da fase móvel 409 até ser obtida a consolidação desejada. Se esta realização se torna o modo escolhido de execução do procedimento de aplicação de empacotamento automático, então o bloco 219 pode ser eliminado e o procedimento automático de empacotamento pode prosseguir através do bloco 221 e ser finalizado automaticamente no bloco 223 exatamente conforme descrito acima.

[00058] Ainda em outra realização preferida da invenção, partindo do bloco 217 e terminando com o bloco 223, a consolidação e a compressão subsequente podem ser obtidas em uma só etapa, por intermédio da movimentação do adaptador 407 mecanicamente, eletricamente, ou hidraulicamente, através da operação padrão e abertura da conexão da fase móvel 408 ou da conexão da fase móvel 409 até que ambas a consolidação e a compressão desejadas sejam obtidas. Se esta realização é o modo de execução escolhido do procedimento automático de aplicação de empacotamento, então o bloco 219 e o bloco 221 podem ambos ser eliminados e o procedimento automático de empacotamento pode prosseguir diretamente para o, e ser automaticamente finalizado no bloco 223, exatamente conforme descrito acima.

[00059] Esta invenção apresenta um sistema e método totalmente automático para empacotar colunas cromatográficas por intermédio da dispensação de um volume de suspensão calculado previamente. O usuário é capaz de empacotar as colunas cromatográficas com base na determinação da concentração da suspensão, na determinação do volume da coluna e na

determinação do fator de compressão. Estas determinações permitem que o usuário calcule o volume requerido de suspensão para empacotar uma coluna cromatográfica específica até uma altura específica de leito. Tão logo estas determinações tenham sido feitas e entradas em uma unidade de controle, um computador, ou um processador semelhante a um computador, que controle todos os componentes críticos do sistema de empacotamento da coluna, a unidade de controle pode então executar o procedimento de empacotamento da coluna de uma forma totalmente automática sem qualquer interferência de qualquer espécie ou auxílio pelo, e por parte do usuário. A ausência de interferência e/ou assistência humana durante o procedimento de empacotamento na coluna assegura a redução de todos os erros associados com tal interferência e/ou assistência, e produz um empacotamento preciso e reproduzível de colunas cromatográficas. Assim sendo, esta invenção fornece ao usuário um meio automático para o empacotamento de meio cromatográfico em colunas cromatográficas e evita que as colunas cromatográficas sejam empacotadas de forma pobre.

[00060] Apesar da invenção ter sido ilustrada através de exemplos de realizações nas quais a coluna é cilíndrica e tem um diâmetro constante, o que permite uma correlação linear entre o volume do cilindro e a altura do leito, é também concebível adaptar-se a invenção atual para aplicação a outros formatos de coluna nos quais a correlação não é linear.

[00061] Mesmo apesar da invenção atual ter sido descrita acima em termos de realizações específicas, podem ser feitas muitas modificações e variações desta invenção, conforme ficará óbvio para aqueles adestrados na técnica, sem se afastarem do seu espírito e escopo, conforme apresentado nas reivindicações que se seguem.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para automatizar o empacotamento de coluna, caracterizado pelo fato de ser composto de:

determinar uma concentração de suspensão para uma suspensão de um meio cromatográfico;

determinar um volume de coluna em uma coluna cromatográfica (304, 404) ;

determinar um fator de compressão para o meio cromatográfico na coluna cromatográfica (304, 404);

calcular um volume da suspensão necessária para empacotar a coluna (304, 404) com o fator de compressão determinado, referido cálculo sendo baseado no volume determinado de coluna, o fator de compressão determinado e a concentração determinada da suspensão;

configurar o volume calculado da suspensão em um tanque de suspensão (301, 401);

posicionar a coluna cromatográfica (304, 404) para a dispensação e empacotamento do volume calculado de suspensão na coluna cromatográfica (304, 404);

monitorar a dispensação do volume calculado da suspensão na coluna cromatográfica (304, 404); e

finalizar automaticamente o empacotamento da coluna (304, 404) pela finalização da dispensação da suspensão na coluna cromatográfica (304, 404), quando o volume da suspensão é equivalente ao volume calculado de suspensão.

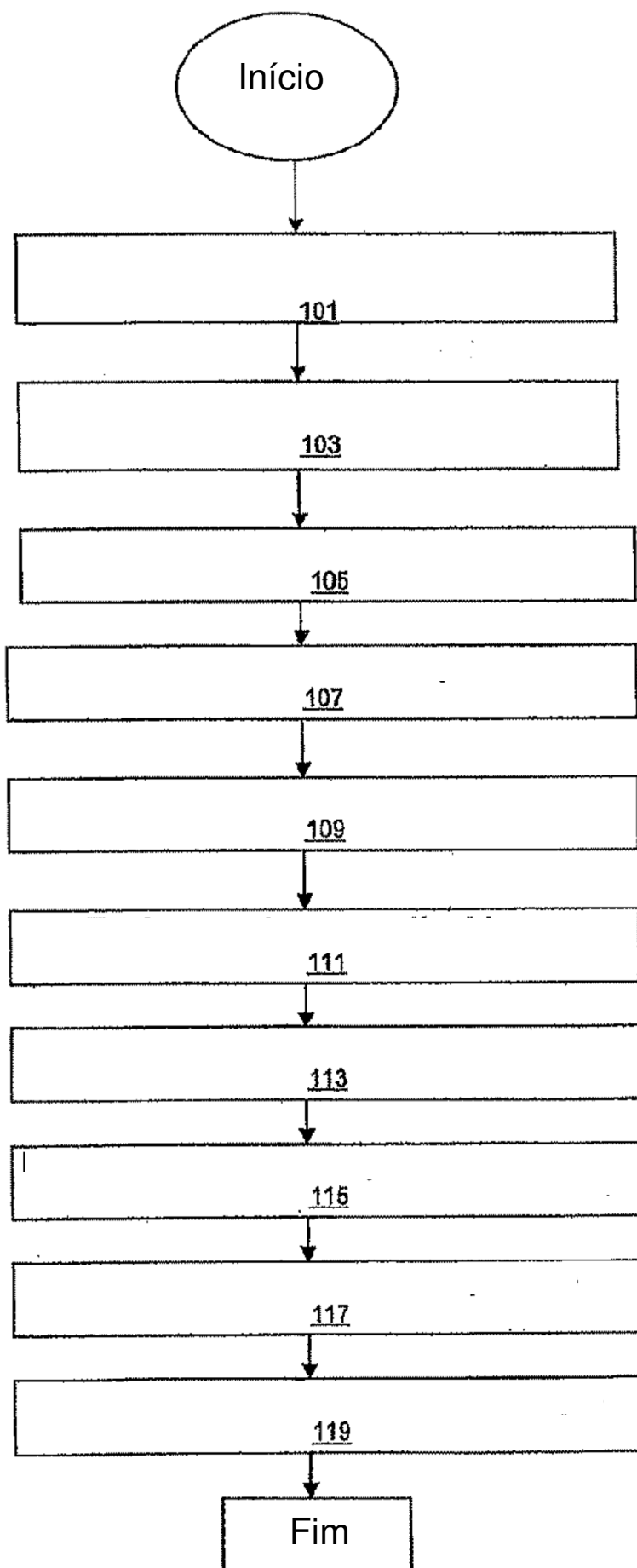
2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato da monitoração compreender:

fornecer um medidor de fluxo (314) para ler um valor igual ao volume calculado da suspensão.

3. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de ser compreender adicionalmente:

aplicar líquido na coluna cromatográfica (304, 404).

FIG. 1



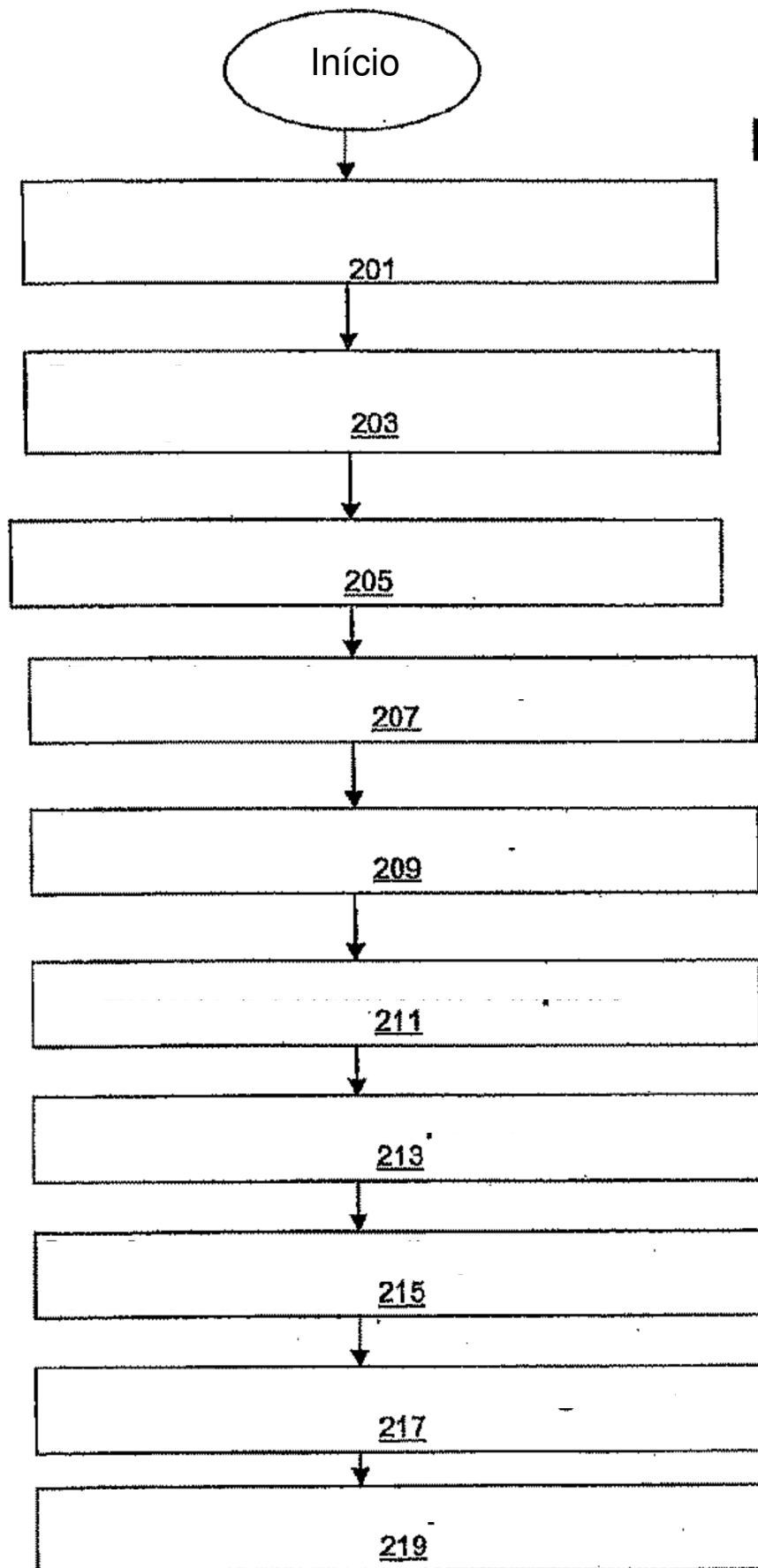
**FIG. 2A**

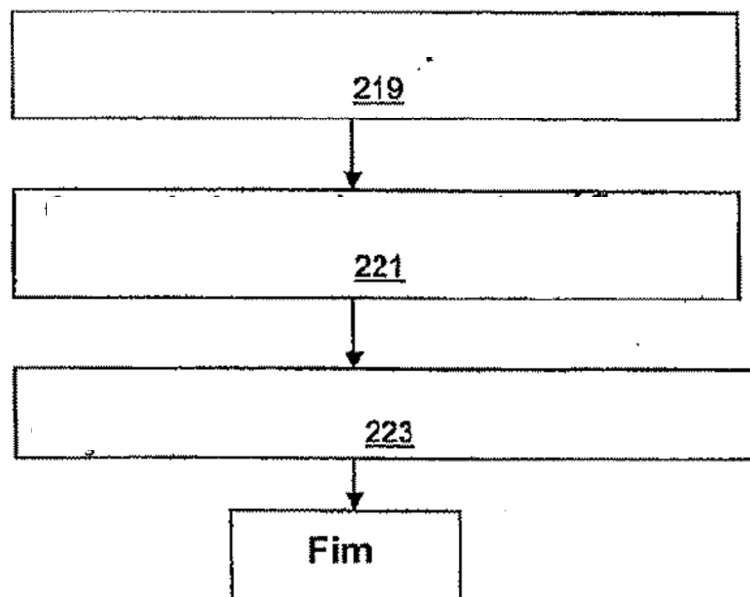
FIG. 2B

FIG. 3

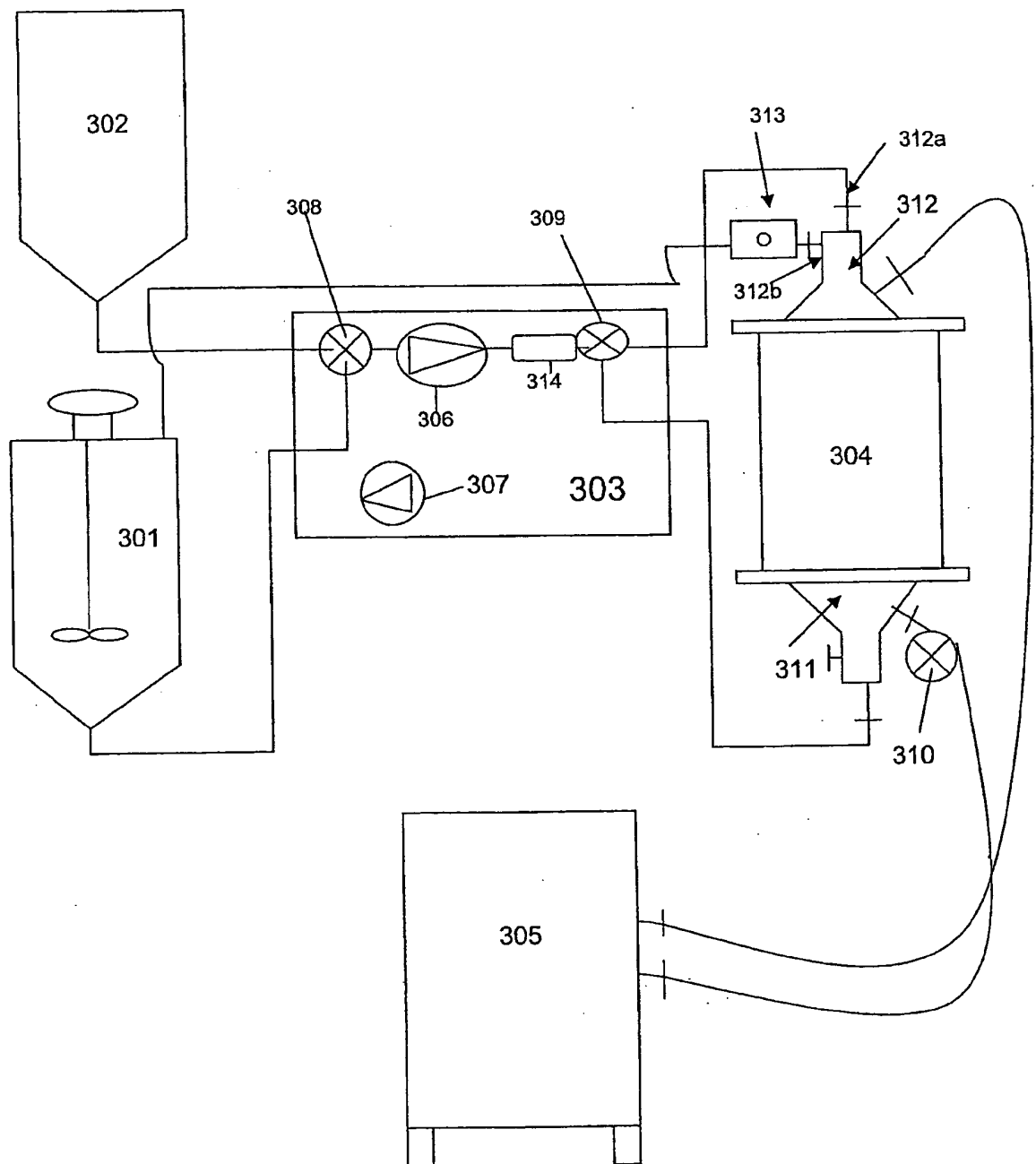


FIG. 4

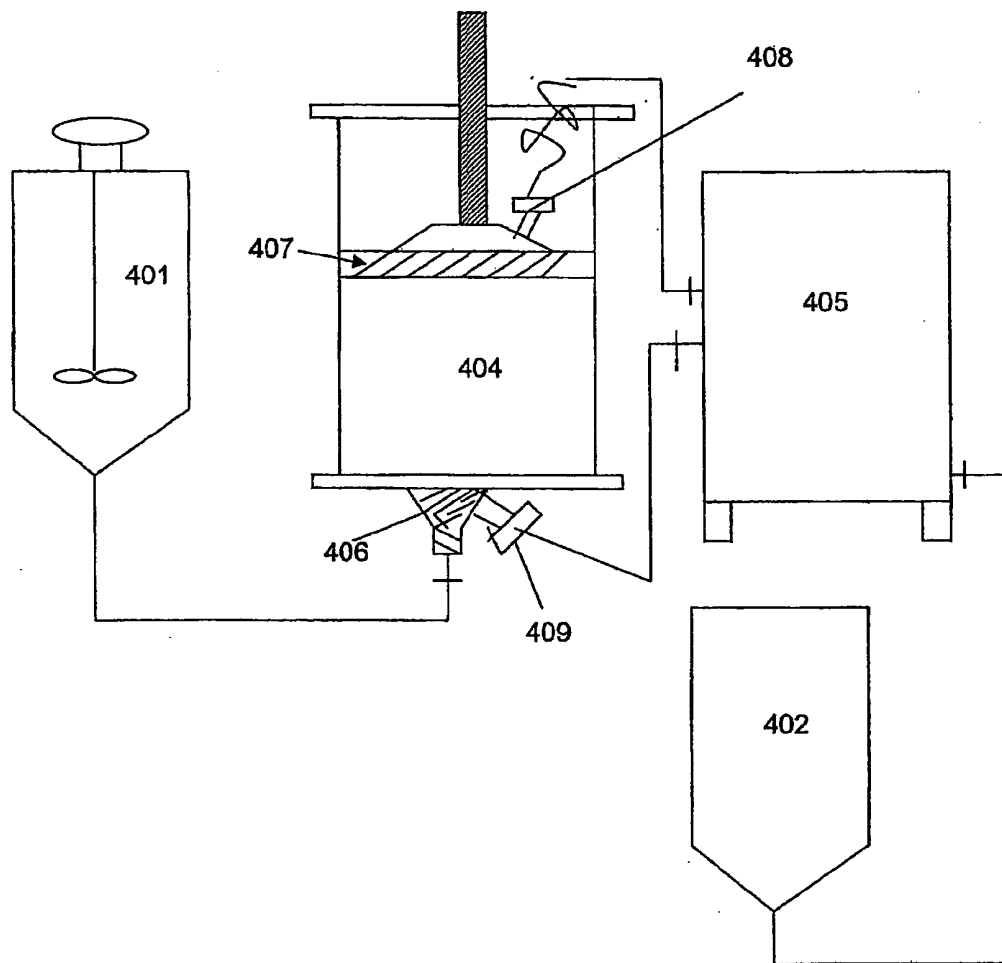


FIG. 5

