



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH** **702 439 A1**

(51) Int. Cl.: **G01N 30/22** (2006.01)

Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein

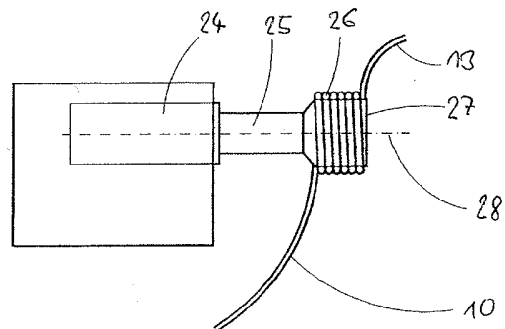
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(12) **PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 01955/09	(71) Anmelder: Werner Döbelin, Grellingerstrasse 4 4153 Reinach (CH)
(22) Anmeldedatum: 21.12.2009	(72) Erfinder: Werner Döbelin, 4153 Reinach (CH)
(43) Anmeldung veröffentlicht: 30.06.2011	(74) Vertreter: Dr. Regine Wüstefeld, Margarethenstrasse 105 4053 Basel (CH)

(54) **Verfahren zur Online-Probenaufbereitung im HPLC Hochdruckbereich mit Hilfe von Ultraschall.**

(57) Probenaufarbeitungssystem für die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit einem, im Hochdruckbereich befindlichen, Ultraschallmodul (11) zur Veränderung der Probeneigenschaft mittels einer hochdrucktauglichen Leitung (10), welche starr mit dem Ultraschallkopf (27) verbunden ist.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Probenbehandlungssystem für die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit einem Ultraschallmodul zwischen Injektor und HPLC Säule zur Homogenisierung der Probe, Zerkleinerung der in der Probe enthaltenen Komponenten und Veränderung der Probeneigenschaft zur Vermeidung von Verstopfung der HPLC Säule und zur Verbesserung und Vereinfachung der Analytik.

[0002] In der Probenaufarbeitung für die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie werden seit langem grosse Anstrengungen unternommen, um mit geringem Aufwand möglichst exakte und reproduzierbare Resultate zu erhalten. Gerade die Aufarbeitung von biologischen oder Umweltproben sind oft mit sehr grossem Aufwand verbunden, damit die Probe für die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) geeignet ist und dementsprechend in ein HPLC System injiziert werden kann. Das Probenhandling von der Probenentnahme über die Probenverteilung, Probenaufarbeitung, Probenlagerung bis zur Injektion der Probe in das Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-System birgt eine Vielzahl von möglichen Fehlern, welche das analytische Resultat verfälscht oder gar unbrauchbar macht. Jede Vereinfachung der Probeaufarbeitung minimiert die Fehlermöglichkeiten.

[0003] Bei den herkömmlichen Methoden zur Aufarbeitung von Proben im allgemeinen und speziell von biologischen oder Umweltproben musste durch zentrifugieren, fällen, filtern, extrahieren, lösen, derivatisieren etc. sichergestellt werden, dass die Probe für die Injektion in ein Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph (HPLC System) geeignet ist. Proben, welche verklumpen oder zur Verklumpung neigen, können die HPLC Säule verstopfen. Blutproben mit intakten roten Blutkörperchen verstopfen die normalen analytischen HPLC Säulen aufgrund ihrer Grösse. Moleküle welche bevorzugt aneinander haften, können oft nur schlecht mit chromatographischen Mitteln getrennt und analysiert werden.

[0004] Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Probenhandlungssystem bereit zu stellen, mit dem diese negativen Auswirkungen mit vernünftigem Aufwand verringert werden und zum Teil biologische Proben und Umweltproben direkt in ein Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph (HPLC System) injiziert werden können und um neue Anwendungen zu ermöglichen.

[0005] Erfindungsgemäss wird dies dadurch erreicht, dass die Probe nach der Injektion, im Hochdruckbereich, durch eine Kapillare gepumpt wird, welche durch ein Ultraschallmodul führt, bei dem die Kapillare starr mit dem Ultraschallkopf verbunden ist und dadurch die Ultraschallenergie direkt in der Probe wirkt. Die Probe gelangt dadurch homogenisiert und optimiert auf die HPLC Säule. Die HPLC Säule verstopft weniger. Die Lebensdauer der HPLC Säule verlängert sich und die Trennleistung der HPLC Säule kann sich verbessern.

[0006] Im Folgenden wird anhand der beiliegenden Zeichnungen ein bevorzugtes Ausführungsbeispiel der Erfindung beschrieben.

[0007] Es zeigen:

Fig. 1 HPLC System mit Ultraschallmodul und Vorsäulenschaltung

Fig. 2 Ultraschallmodul

[0008] Die Fig. 1 zeigt ein HPLC System mit Vorsäulenschaltung und Ultraschallmodul. Mit der Spritze 1 wird die Probe 2 durch die Eingangsleitung 3 über das Ventil 9 in die Probenschlaufe 4 gedrückt. Der Probenüberlauf fliesst durch die Überlaufleitung 5 in den Abfall 6. Durch Umschalten vom Ventil 9 erfolgt die Injektion, dabei wird die Probe, welche sich in der Probenschlaufe 4 befindet mit der HPLC-Ladepumpe 8 über die Leitung 7 über das Ventil 9 aus der Probenschlaufe 4 über die Leitung 10 durch das Ultraschallmodul 11 über die Leitung 13 und durch das Ventil 18 über die Leitung 14 auf die HPLC-Vorsäule 12 gedrückt. Der Analyt in der Probe verbleibt dabei auf der HPLC-Vorsäule 12. Komponenten in der Probe, welche von der HPLC-Vorsäule 12 nicht zurückgehalten werden, werden von der HPLC-Ladepumpe 8 weiter über die Leitung 21 und 19 in den Abfall 20 gespült. Durch diesen Vorgang wird der Analyt in der Probe auf der HPLC-Vorsäule 14 das erste Mal gereinigt, aufkonzentriert und von störenden Komponenten getrennt. Durch Schalten vom Ventil 18 wird mit der analytischen HPLC-Pumpe 23 über die Leitung 22 und 21 der Analyt, welcher sich auf der HPLC-Vorsäule 14 befindet, über die Leitung 14 und 15 auf die analytische Trennsäule 16 gespült und dort erneut von störenden Komponenten, welche sich in der Probe befinden, getrennt um dann über die Leitung 17 in einen spezifischen Detektor zu gelangen.

[0009] Die Fig. 2 zeigt das Ultraschallmodul 11, bestehend aus dem Ultraschalltreiber 24 dem Ultraschalladapter 25 und dem Ultraschallkopf 27. Die Ultraschallbewegung verläuft axial auf der Ultraschallachse 28. Die auf dem Ultraschallkopf 27 aufgewickelte Leitung 26 ist starr mit dem Ultraschallkopf 27 gekoppelt und verbindet den Leitungsabschnitt 10 mit dem Leitungsabschnitt 13. Die Leitungsabschnitte 10, 29, 13 bestehen aus einem Stück dünnwandiger hochdrucktauglicher Stahlkapillare, wobei die Leitungsabschnitte 10 und 13 flexibel angebracht sind und dadurch die Ultraschallschwingung dämpfen und nicht weiterleiten.

Patentansprüche

1. Probenaufarbeitungssystem für die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Ultraschallmodul dadurch gekennzeichnet, dass die Probe, im Hochdruckbereich, vor dem Auftreffen auf die HPLC Säule, durch eine mit Ultraschall getriebene Kapillare 26 gepumpt wird und diese Kapillare 26 starr mit dem Ultraschallkopf 27 verbunden ist.
2. Probenhandlingsystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Ausführung des Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie Systems (HPLC) über eine einstufige (Fig. 1), oder mehrstufige Vorsäulenschaltung verfügt.
3. Probenhandlingsystem nach Anspruch 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, dass Blutproben, mit intakten roten Blutkörperchen, injiziert werden können.

Fig. 1

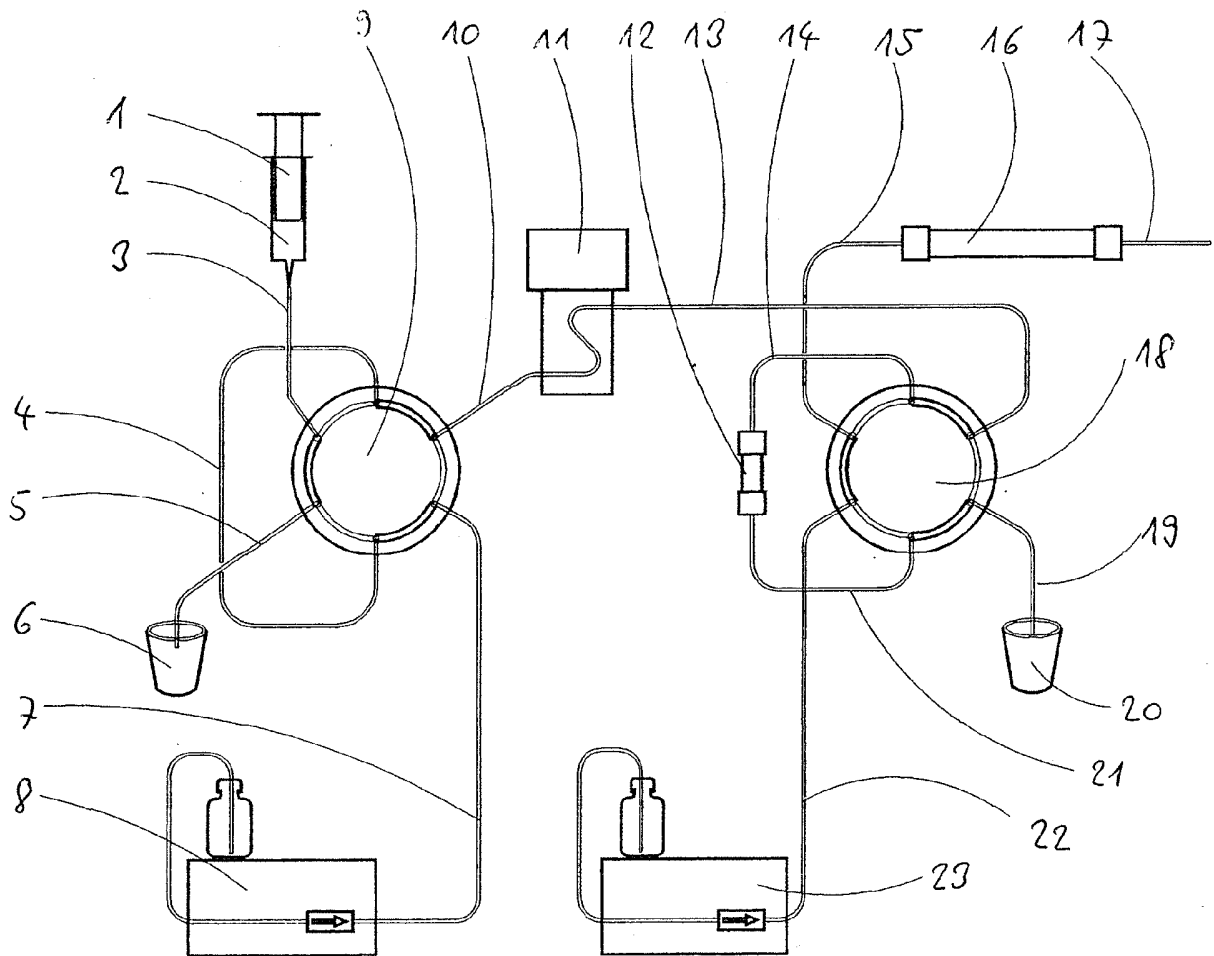
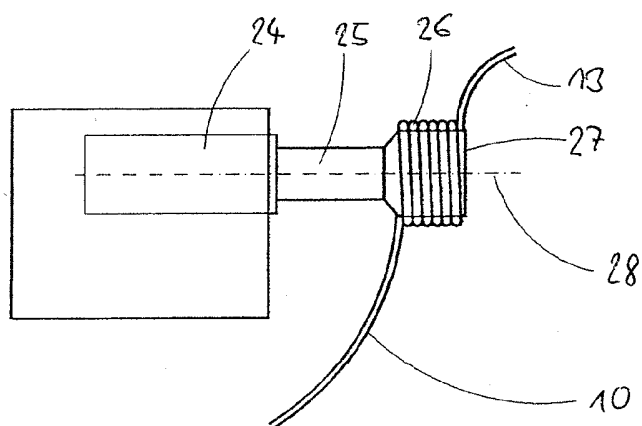


Fig. 2



**RECHERCHENBERICHT ZUR
SCHWEIZERISCHEN PATENTANMELDUNG**

Anmeldenummer: CH01955/09

Klassifikation der Anmeldung (IPC):
G01N30/22**Recherchierte Sachgebiete (IPC):**
G01N**EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE:**

(Referenz des Dokuments, Kategorie, betroffene Ansprüche, Angabe der massgeblichen Teile(*))

- 1 US5211829 A (HITACHI LTD [JP]) 18.05.1993
 Kategorie: **A** Ansprüche: **1, 2**
 * Patentansprüche 1, 10; Spalte 2 Zeilen 3 - 9; Spalte 3, Zeilen 41 - 52; Spalte 4 Zeile 65 - Spalte 5, Zeile 2; Figur 1 *
- 2 WO2004071619 A1 (WATERS INVESTMENTS LTD [US]; PLUMB ROBERT [US]; GRANGER JENNIFER H [US]) 26.08.2004
 Kategorie: **A** Ansprüche: **1, 3**
 * Seite 2 Zeilen 11 - 14; Seite 2, Zeile 31 - Seite 3, Zeile 2; Seite 2, Zeilen 8 - 11; Seite 27, Zeilen 11 - 14, 33 - 35; *
- 3 JP10010129 A (SEKISUI CHEMICAL CO LTD) 16.01.1998
 Kategorie: **A** Ansprüche: **1, 3**
 * Zusammenfassung *
- 4 DE3632226 A1 (YOKOGAWA HOKUSHIN ELECTRIC [JP]) 02.04.1987
 Kategorie: **A** Ansprüche: **1**
 * Spalte 3, Zeilen 52 - 59; Spalte 5, Zeile 58 - Spalte 6, Zeile 1; Spalte 6, Zeilen 14 - 39; Figuren 7, 9a-9d *

KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE:

X:	stellen für sich alleine genommen die Neuheit und/oder die erfinderische Tätigkeit in Frage	P:	wurden zwischen dem Anmeldedatum der recherchierten Patentanmeldung und dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht
Y:	stellen in Kombination mit einem Dokument der selben Kategorie die erfinderische Tätigkeit in Frage	D:	wurden vom Anmelder in der Anmeldung angeführt
A:	definieren den allgemeinen Stand der Technik; ohne besondere Relevanz bezüglich Neuheit und erfinderischer Tätigkeit	E:	Patentdokumente, deren Anmelde- oder Prioritätsdatum vor dem Anmeldedatum der recherchierten Anmeldung liegt, die aber erst nach diesem Datum veröffentlicht wurden
		&:	Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument

Die Recherche basiert auf der ursprünglich eingereichten Fassung der Patentansprüche. Eine nachträglich eingereichte Neufassung geänderter Patentansprüche (Art. 51, Abs. 2 PatV) wird nicht berücksichtigt.

Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt, für die die erforderlichen Gebühren bezahlt wurden.

Rechercheur: Dohnke Ina, Bern**Abschlussdatum der Recherche:** 02.09.2010**FAMILIENTABELLE DER ZITIERTEN PATENTDOKUMENTE**

Die Familienmitglieder sind gemäss der Datenbank des Europäischen Patentamtes aufgeführt. Das Europäische Patentamt und das Institut für Geistiges Eigentum übernehmen keine Garantie für die Daten. Diese dienen lediglich der zusätzlichen Information.

US5211829 A	18.05.1993	JP3252547 A	11.11.1991
		JP2539528 B2	02.10.1996
		US5211829 A	18.05.1993
WO2004071619 A1	26.08.2004	DE112004000244 T5	09.02.2006
		GB0515782 D0	07.09.2005
		GB2413508 A	02.11.2005

CH 702 439 A1

		GB2413508 B	21.02.2007
		JP2006518465 T	10.08.2006
		US2006219636 A1	05.10.2006
		WO2004071619 A1	26.08.2004
JP10010129 A	16.01.1998	JP10010129 A	16.01.1998
DE3632226 A1	02.04.1987	DE3632226 A1	02.04.1987
		DE3632226 C2	10.03.1988
		GB8622753 D0	29.10.1986
		GB2181072 A	15.04.1987
		GB2181072 B	20.06.1990
		JP62071838 A	02.04.1987
		JP3023861 B	29.03.1991
		JP1656919 C	13.04.1992
		JP62083644 A	17.04.1987
		JP3023862 B	29.03.1991
		JP1656920 C	13.04.1992
		JP62083643 A	17.04.1987
		JP3046065 B	15.07.1991
		JP1679934 C	13.07.1992
		NL8602393 A	16.04.1987
		US4676897 A	30.06.1987