

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 445 842**

21 Número de solicitud: 201231371

51 Int. Cl.:

G01N 27/447 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

04.09.2012

43 Fecha de publicación de la solicitud:

05.03.2014

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

30.04.2014

Fecha de la concesión:

09.03.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

16.03.2015

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE ALCALÁ (100.0%)
Plaza de San Diego, s/n
28801 Alcalá de Henares (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**SAIZ GALINDO, Jorge;
THANH DUC, Mai;
C. HAUSER, Peter y
GARCÍA RUIZ, Carmen**

74 Agente/Representante:

GUTIÉRREZ DE MESA, José Antonio

54 Título: **INSTRUMENTO DE ELECTROFORESIS CAPILAR PORTÁTIL SEMIAUTOMÁTICO**

57 Resumen:

Esta invención consiste en un equipo de electroforesis capilar portátil (P-CE).

Cuenta con un sistema de baterías que le aportan autonomía y está fabricado en el interior de un maletín de 35 x 45 x 15 cm. Es un equipo de electroforesis capilar asistido por presión externa proporcionada por la bomba de una bicicleta capaz de suministrar hasta 40 bares. La presión, al provenir de la bomba, no requiere consumo eléctrico, lo que prolonga el tiempo de uso del instrumento que trabaja con baterías.

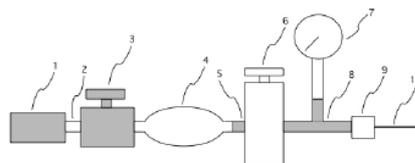


Figura 1

ES 2 445 842 B1

DESCRIPCIÓN

INSTRUMENTO DE ELECTROFORESIS CAPILAR PORTÁTIL SEMIAUTOMÁTICO

La presente invención consiste en un instrumento de electroforesis capilar portátil (P-CE). Actualmente existen 6 instrumentos de electroforesis capilar de los cuales únicamente uno es totalmente automático. En esta invención se presenta, por primera vez, un sistema de presión para el llenado del capilar y la inyección de muestras que no depende de baterías y no consume energía eléctrica. Además, cuenta con un sistema de inyección por contrapresión que tampoco consume energía.

10

SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención tiene su campo de aplicación dentro del área de la Química Analítica. En particular, esta invención se refiere al diseño de un instrumento P-CE semiautomático alimentado por baterías.

15

ESTADO DE LA TÉCNICA

La electroforesis capilar tradicional se introdujo en los años 60 y se basa en el movimiento de los analitos eléctricamente cargados en un medio conductor bajo la influencia de un campo eléctrico. El movimiento de los analitos depende de su tamaño y de su carga. Desde su introducción hasta la actualidad, los instrumentos de electroforesis capilar han evolucionado y han ido incorporando mejores y más potentes fuentes de alto voltaje, capilares de sección más uniformes y de mejores materiales y una gran variedad de detectores. Además, se han convertido en instrumentos mucho más versátiles y prácticos. Sin embargo, no dejan de ser instrumentos de análisis de laboratorio, grandes y pesados.

20

25

Aunque no existe una tendencia marcada hacia el desarrollo de equipos de electroforesis capilar miniaturizados y/o portátiles, el desarrollo de este tipo de instrumentos portátiles presenta ventajas muy importantes. Entre ellas, la más importante es que estos instrumentos son independientes de la infraestructura del

30

laboratorio y pueden utilizarse en cualquier parte, preferiblemente lo más cerca posible del punto dónde se recoge la muestra. Esto presenta dos ventajas adicionales. Por un lado, se evita la degradación de la muestra en su transporte y almacenamiento. Por otro lado, se tiene una disponibilidad inmediata de los datos y se pueden tomar decisiones
5 inmediatas en el lugar de recogida de la muestra. Los instrumentos portátiles de análisis, además, reducen el número de muestras necesarias y, por lo tanto, los gastos económicos y de tiempo [1]. Por regla general, se entiende que un objeto es portátil cuando es movable y fácil de transportar. Además, debe ser capaz de transferirse o adaptarse a lugares alterados. En términos de instrumentación científica, un instrumento
10 portátil puede emplearse fuera del laboratorio sin necesidad de conectarse a una fuente de alimentación principal. También debe ser, en cierto modo, miniaturizado y fácil de posicionar [2].

Aunque las ventajas de un instrumento portátil son muchas, la industria de P-CE
15 es prácticamente inexistente y, hasta la fecha, se reduce a una única compañía comercial [3]. A pesar de ello, desde hace menos de 15 años, se han desarrollado algunos P-CEs que se han aplicado a diferentes campos de la Química Analítica. El primer P-CE del que se tiene constancia se publicó en 1998 y se fabricó por T. Kappes y P. C. Hauser [1]. El instrumento consistió en una caja de PVC de 340 x 175 x 175 mm y con un peso
20 de 7.5 kg. Contaba con una fuente de alto voltaje, capaz de proporcionar hasta 30 kV tanto en polaridad positiva como negativa y con dos baterías de plomo y ácido capaces de alimentar al P-CE casi 5 horas, dependiendo de las condiciones de trabajo. En este estudio, la detección se llevó a cabo mediante un detector potenciométrico fabricado en el laboratorio, conectado a través de un conversor analógico-digital a un ordenador
25 mediante un conector tipo RS232. Posteriormente, a este P-CE se le añadieron un detector amperométrico [4] y detector conductimétrico [5], también fabricados en el laboratorio y comunicados con el ordenador de recogida de datos mediante el mismo conversor analógico-digital. De esta manera, se podía elegir el detector más apropiado dependiendo de los analitos de interés.

30

Desde este último trabajo tuvieron que pasar 6 años hasta que se volvió a publicar un trabajo en el que se empleó un P-CE. En el año 2007 Josep P. Hutchinson y

col. [6] publican el primer trabajo en el que se emplea el CE-P2, el primer P-CE comercial, de la casa CE Resources. Este equipo tiene unas dimensiones de 320 x 230 x 150 mm, pesa en torno a 8 kg y tiene una autonomía de 3 horas. Sin embargo, puede utilizarse de manera alternativa conectado a una toma de corriente mediante un transformador. Permite tanto inyección electrocinética como por presión (de 0 a 25 psi) y es capaz de trabajar a 15 kV en ambas polaridades. Puede conectarse mediante puertos RS232, USB y TCP/IP al ordenador de recogida de datos y puede combinarse con la mayoría de los detectores disponibles en el mercado. Con este P-CE se llevaron a cabo dos trabajos consecutivos en los que se analizó el contenido de iones inorgánicos en residuos de explosión con dos detectores diferentes: un detector fotométrico de LED fabricado en el laboratorio y un detector de conductividad sin contacto con acoplamiento capacitivo (C4D) comercial [2, 7].

En 2009, Andrus Seiman y col. [8] desarrollaron un nuevo P-CE. Sus dimensiones eran 330 x 180 x 130 mm y pesaba menos de 4 kg. Incorporaba dos fuentes de alto voltaje de +25 kV y -25kV, respectivamente, y tenía una autonomía mínima de 4 horas. Tenía un detector de conductividad sin contacto con acoplamiento capacitivo fabricado en el laboratorio, pero similar a uno comercial. La comunicación con el ordenador se llevaba a cabo a través de un puerto RS-232. La inyección de la muestra se llevaba a cabo manualmente, utilizando una jeringa, a través de lo que los autores llamaron el “cross-sampler”, que consistía en una pieza de PMMA con dos canales perpendiculares. En uno de ellos se instalaban dos capilares de manera que quedaban separados en la zona central que formaban los dos canales. La separación entre ambos capilares determinaba la cantidad de muestra a inyectar. La introducción de la muestra en el capilar de separación se producía por el flujo electroosmótico laminar generado al encender la fuente de alto voltaje. Este era un sistema de inyección complejo que, debido a limitaciones en su propio diseño, permitía la entrada constante de muestra en el canal de separación mientras se producía la separación, lo que afectaba al nivel de la línea base. El mismo año, ese grupo de investigación desarrolló un sistema de inyección micro-fluídico digital [9]. En el inyector se podían colocar varias gotas de diferentes muestras. Después se sumergía el extremo del capilar en la gota conectada a tierra y se aplicaba voltaje para la introducción de la muestra. La separación se llevaba a

cabo entre otra gota, esta vez de tampón, que estaba conectada a tierra, y el vial de salida. Un año después, en el 2010, el grupo de investigación publica un artículo en el que comparan 3 tipos de inyectores [10], entre los que se encuentra el “cross-sampler” descrito anteriormente. Los otros dos sistemas de inyección también se habían fabricado con PMMA. En este caso, los canales de inyección estaban colocados de manera horizontal o vertical y en cada modelo tenía una longitud diferente. De esta manera el canal horizontal tenía una longitud de 10 mm y el vertical era de 33 mm. Manualmente, con una jeringa, se inyectaba la muestra en el inyector y a continuación se procedía a la separación. El estudio concluyó que el “cross-sampler” era el inyector más apropiado para el trabajo en el campo, porque requería menos manipulación. Sin embargo, no se llevaron a cabo estudios cuantitativos porque ninguno de los tres dispositivos proporcionaban una buena reproducibilidad en el área de los picos. El grupo de investigación ha publicado un nuevo artículo en el año 2011 [11], pero en él no ha habido desarrollo instrumental del P-CE.

15

También en 2011, Miji Lee y sus colaboradores [12] publican un artículo en el que presentan un nuevo P-CE. Con unas dimensiones de 440 x 270 x 130 mm y con un peso de unos 8 kg, es el primer P-CE con un sistema de detección de fluorescencia inducida por láser construido en el laboratorio. El equipo estaba controlado a través de USB usando LabView 8.2. Las inyecciones de las muestras se llevaron a cabo de manera manual con un jeringa y las separaciones se realizaron usando una fuente de alto voltaje capaz de trabajar entre 0.01 y 10 kV.

20

En 2011, Petr Kubáň y sus colaboradores [13] desarrollaron un nuevo P-CE de 300 x 300 x 150 mm y con un peso de 5 kg. Tenía una fuente de alto voltaje capaz de trabajar a -25 kV. Los extremos del capilar se introdujeron en dos interfases de poliimida. El diseño de este tipo de interfases para controlar la inyección y el llenado del capilar está basado en los chips para electroforesis capilar y constan de diferentes canales perforados normalmente de un bloque pequeño de algún material inerte. Normalmente tienen una entrada y una salida. Además hay dos canales más, uno en el que se coloca el electrodo y el otro donde se sitúa el capilar. Haciendo uso de una válvula convenientemente colocada en la salida de la interfase se puede regular el flujo

30

de la muestra/tampón y así llevar a cabo una inyección o un lavado de la interfase. En este caso, la inyección de la muestra y del tampón se llevaba a cabo de manera manual con una jeringa en la interfase conectada a tierra. El lavado de la interfase o la inyección/llenado del capilar se controlaba con una válvula. La segunda interfase se lavaba manualmente de la misma manera.

El último trabajo publicado hasta la fecha con un P-CE está firmado por Gustavo A. Blanco y sus colaboradores [14]. El instrumento consistió en una bomba de jeringa doble y una válvula de dos posiciones, que permitía el llenado de la interfase contigua con muestra o con tampón. Cuando la interfase se llenaba con muestra, el tampón se desviaba hacia el desecho y viceversa. La interfase en forma de T comunicaba el electrodo conectado a tierra y la salida de la válvula con el capilar, cuyo extremo opuesto se introducía en un vial en el que se aplicaba el alto voltaje. La inyección se llevaba a cabo de manera electrocinética y el sistema se controlaba utilizando LabView v8.1.

En resumen, desde que hace menos de 15 años se presentara el primer P-CE, únicamente se han fabricado 5 más. Si bien en estos P-CEs se han probado diferentes modos de inyección y diferentes detectores es evidente que el desarrollo de estos instrumentos acaba de comenzar. Es necesario hacer nuevos esfuerzos en mejorar los sistemas de inyección, que deben permitir inyecciones reproducibles y poco gasto de muestra y tampón. También es necesario trabajar en el automatismo de los instrumentos, de manera que un instrumento pueda trabajar por sí sólo, sin la necesidad de que un operario tenga que manipular constantemente el equipo, con el riesgo que esto conlleva, en términos de reproducibilidad.

DESCRIPCIÓN

El diseño del instrumento P-CE de esta invención se basa en la miniaturización y posterior alimentación por baterías de los elementos electrónicos y no electrónicos de un electroforesis capilar (no microchip) convencional. Esto, incluye principalmente: las fuentes de alto voltaje, el detector, el sistema de alimentación y la carcasa exterior. Ya

que el capilar que se utiliza es convencional, no es necesaria su miniaturización. El instrumento P-CE inventado presenta la posibilidad de realizar inyecciones electrocinéticas e hidrodinámicas, así como de llenar el capilar por presión y sin gasto eléctrico. Esto es posible gracias a un sistema de presión que almacena hasta 150 mL de
5 aire comprimido a una presión de hasta 40 bares y que proviene de una bomba para las suspensiones de las bicicletas que se llena manualmente. El sistema tiene una salida regulable entre 0 y 10 bares. La FIG 1 muestra un esquema del sistema de aire a presión. De esta manera, trabajando a 1 bar, se puede suministrar presión al instrumento durante unas 9 horas de trabajo.

10

El instrumento cuenta con tres baterías de ión de litio. Dos de ellas alimentan al detector y la tercera alimenta al resto del sistema. En la FIG 2 se muestra el esquema del circuito eléctrico de las baterías y se ilustra como mediante unos interruptores se pueden cambiar las baterías de manera que se carguen o alimenten al sistema. Además el
15 presente P-CE cuenta con la posibilidad de conectarse a la red eléctrica para su trabajo en el laboratorio. Mediante un interruptor se cambia la configuración de manera que el sistema trabaje con baterías o con la toma de red eléctrica.

El instrumento tiene dos fuentes de alto voltaje. Una es capaz de trabajar en el
20 intervalo de potenciales comprendidos entre +10 kV y +25 kV y la otra en el intervalo de potenciales comprendidos entre -25 kV y -10 kV.

La FIG 3 describe el funcionamiento del sistema de fluidos del instrumento. El aire comprimido que proviene del sistema de presión se reparte en un colector que
25 puede llegar a presurizar hasta 5 tubos de aluminio resistentes a la presión. En el interior de estos tubos se colocan tubos de plástico con diferentes disoluciones en su interior, por ejemplo, tampón, muestra, agua e hidróxido de sodio. Estos tubos de aluminio están conectados con otro colector que se controla automáticamente y que puede tener hasta 4 entradas y una única salida. De esta manera, controlando la apertura de cada una de las
30 válvulas de este colector automático, se permite el paso a través de la salida única del mismo hacia una interfase fabricada en polimetacrilato, que es resistente al deterioro por disolventes inorgánicos. El diseño de la interfase tiene un canal principal con una

entrada, conectada al colector automático, y una salida, conectada con una válvula que controla el desecho. Además tiene dos canales secundarios, conectados al canal principal en los que se colocan el capilar y el electrodo conectado a tierra. El diseño de esta interfase conectada a la válvula de desecho permite: a) el lavado de la interfase cuando la válvula de desecho está abierta; b) el lavado del capilar cuando la válvula de desecho está cerrada; y c) la inyección de la muestra cuando la válvula de desecho está abierta, debido a la contrapresión producida en el tubo que va desde la salida de la válvula de desecho al vial o vaso de desecho. La longitud y el diámetro interno de este tubo permiten controlar la intensidad de la inyección. El otro extremo del capilar se coloca dentro de un vial con tampón que se emplaza en el interior de una caja de seguridad fabricada de polimetacrilato de 1 cm de espesor. Dentro de este vial también se coloca el electrodo de platino conectado a la fuente de alto voltaje. La caja de seguridad tiene una puerta que permite la manipulación de su interior y un interruptor de seguridad que impide el encendido de las fuentes de alto voltaje cuando la puerta está abierta.

El sistema eléctrico está controlado automáticamente mediante un Arduino nano V3.0 que controla la válvula de desecho, las válvulas del colector automático y las fuentes de alto voltaje, así como su intensidad. Los potenciales a los que puede trabajar el instrumento están limitados mediante resistencias a +10 kV, +15 kV, +20kV, +25 kV, -10 kV, -15 kV, -20 kV o -25 kV, que son los potenciales que se utilizan más habitualmente en electroforesis capilar convencional. Arduino está controlado mediante su software específico a través de una conexión USB. La FIG 4 muestra el circuito electrónico de Arduino que controla los componentes eléctricos.

A una distancia determinada del comienzo del capilar se coloca la celda de detección que consta de dos electrodos aislados entre si eléctricamente y un amplificador de señal. Las diferencias de conductividad se miden entre estos dos electrodos y la señal se amplifica y envía al detector. Concretamente, la señal en el electrodo de excitación se amplifica hasta 25 V de pico a pico con una frecuencia de 300 kHz. La corriente resultante obtenida en el electrodo de recogida se convierte en voltaje empleando un amplificador operacional, localizado también en la celda de

detección. La señal de voltaje resultante se rectifica, amplifica y filtra con un filtro de paso bajo. La adquisición de datos se lleva a cabo con un registrador de datos de alta resolución que transfiere la señal al ordenador mediante el puerto USB.

5 Todos los componentes electrónicos y del sistema de fluidos se encuentran en el interior de un maletín de aluminio de dimensiones 35 x 45 x 15 cm. El sistema en su conjunto pesa tan solo 8 Kg. Todos los componentes electrónicos del sistema de fluidos se presentan completamente aislados por una bandeja de polimetacrilato negra que puede levantarse fácilmente para tener acceso a los componentes electrónicos.

10

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

FIG. 1. Diagrama del sistema de aire a presión que proporciona la presión necesaria al equipo P-CE. 1, Bomba de bicicleta capaz de proporcionar una presión de
15 hasta 40 bares; 2, adaptador hecho de manera manual para conectar la bomba con una conexión NPT 1/4; 3, válvula de apertura y cierre con conexiones Swagelok 1/4 y NPT 1/4 macho; 4, cilindro de gas de 150 mL de capacidad con conexiones NPT 1/4 hembra y NPT 1/4 hembra; 5, adaptador de NPT 1/4 macho a NPT 1/8 macho; 6, regulador de presión de 0 a 10 bares con conexiones NPT 1/8 hembra y NPT 1/8 hembra; 7,
20 manómetro con conexión NPT 1/8 macho; 8, te con conexiones NPT 1/8 macho, NPT 1/8 hembra y NPT 1/8 hembra; 9, adaptador de NPT 1/8 macho a Swagelok 1/16; 10, tubo de diámetro externo 1/16 de PEEK.

FIG. 2. Circuito electrónico de las tres baterías que alimentan el P-CE. 11,
25 conectores; 12, batería de 14,8 V y capacidad de 6.6 Ah que alimenta al sistema; 13, baterías de 14.8 V y capacidad de 2.8 Ah que alimentan al detector; 14, interruptores para el cambio entre los modos de carga y alimentación del sistema; 15, conexiones a los cargadores de las baterías; 16, capacitadores de 47 μ F; 17, capacitador de 10 μ F; 18, reguladores de voltaje de +12 V; 19, regulador de voltaje de -12 V; 20, capacitador de
30 22 μ F; 21, capacitador de 10 μ F; 22, conexiones a la fuente de alimentación externa de +12 V; 23, conexión a la fuente de -12 V externa; 24 conexiones a tierra de la fuente de alimentación externa; 25, interruptores para el cambio entre el uso de las baterías o de

las fuentes de alimentación externas; 26, salida de +12 V hacia el sistema; 27, salida de +12 V hacia el detector; 28, salida de -12 V hacia el detector.

FIG. 3. Diagrama que ilustra el diseño de los componentes de fluidos así como
 5 la colocación de los electrodos, el capilar y la celda de detección del P-CE. 29, entrada del aire comprimido; 30, colector; 31, contenedores de aluminio que soportan la presión y que contienen los tubos con las diferentes disoluciones necesarias para los análisis; 32, tubos de PEEK de 1/16 pulgadas; 33, colector automático de cuatro entradas y una salida, o viceversa; 34, interfase; 35, electrodo de platino conectado a tierra; 36, válvula
 10 de desecho; 37, capilar; 38, celda de detección C4D; 39, interruptor de seguridad; 40, caja de seguridad; 41, vial con tampón; 42, electrodo de platino conectado a las fuentes de alto voltaje.

FIG. 4. Circuito electrónico de Arduino. 43, registrador de datos; 44, USB; 45,
 15 ordenador; 46, Arduino nano V3.0; 47, alimentación de +12 V; 48, 5 conexiones a 5 salidas digitales de Arduino; 49, válvula 1; 50, válvula 2; 51, válvula 3; 52, válvula 4; 53, válvula 5; 54, 4 conexiones a 4 pines digitales de Arduino; 55, resistencia; 56, entrada de +12 V; 57, interruptor de seguridad; 58, optoacoplador; 59, LED indicador del alto voltaje; 60, interruptor manual de la polaridad del alto voltaje; 61, multiplexor;
 20 62, 8 resistencias reguladoras del alto voltaje; 63, LEDs indicadores del alto voltaje; 64, módulo de alto voltaje de +25 kV; 65, módulo de alto voltaje de -25 kV; 66, salida de alto voltaje positiva; 67, salida de alto voltaje negativa.

FIG. 5. Determinación de 20 mM de N-metil-dietanolamina (MDEA), N-etil-
 25 dietanolamina (EDEA) y trietanolamina (TEA) empleando el P-CE de la presente invención. Condiciones electroforéticas: Capilar de 50 μm de diámetro interno, de 60 cm de longitud total y 45 de longitud efectiva. Tampón de separación compuesto por 12 mM histidina ajustado a pH 5.0 con ácido acético. Capilar recubierto con el polímero poli(1-vinilpirrolidona-co-2-dimetilaminoetil metacrilato) según el siguiente
 30 procedimiento: 15 min de hidróxido de sodio 1 M, 5 min de agua, 5 min de ácido clorhídrico, 5 min de agua, 2 min de polímero, 5 min de tampón.

MODO DE REALIZACIÓN

El P-CE de la presente invención está construido en el interior de un maletín de aluminio de 35 x 45 x 15 cm.

5

En el interior del maletín se atornillan y/o fijan los siguientes componentes: caja de aluminio de contiene las tres baterías, fuente de alto voltaje positiva, fuente de alto voltaje negativa, circuito de control del sistema conteniendo un Arduino nano, circuito de excitación del detector, circuito de rectificación, amplificación y filtrado de la señal del detector, placa CoolDrive® para el control de las válvulas, el registrador de datos de alta resolución y el circuito regulador de voltaje de las baterías.

10

Sobre estos componentes se atornilla el panel de control también construido en polimetacrilato y cortado a la medida del maletín. El panel de control tiene LEDs indicadores de funcionamiento que se conectan a cada uno de los componentes eléctricos. También se colocan los interruptores de encendido/apagado y de cambio entre fuentes de alto voltaje. También hay tres conectores LEMO que alimentan y conectan los electrodos de la celda de detección con los circuitos de excitación y rectificación/amplificación/filtrado. Por último, se coloca un potenciómetro conectado a la salida del detector que servirá para ajustar a valor 0 la señal recogida por el detector.

15

20

Al panel de control se atornilla, mediante unas bisagras, una placa de polipropileno que cubre y protege todos los componentes electrónicos del interior del maletín. Las bisagras permitirán la manipulación del interior del maletín en caso necesario. Esta placa cortada a medida tiene una altura de 1 cm en los bordes, que en caso de fuga accidental de algún líquido impedirá su rebose. Sobre esta placa se atornillan, siempre con una pieza de goma cortada a medida entre cada componente y la placa, los dos colectores, las válvulas y la primera interfase. Las piezas de goma impedirán el goteo de líquido en el interior del maletín en caso de fuga de líquidos. Los componentes del sistema hidráulico se colocan de acuerdo al esquema de la FIG 3 y se conectan entre ellos y al sistema de presión mediante tubos de 0.1 pulgadas.

25

30

Todos los circuitos, salvo la placa CoolDrive® se fabricaron de manera casera.

APLICACIÓN INDUSTRIAL

- 5 La presente invención tiene posibles aplicaciones en cualquiera de los campos de la Química Analítica, desde la determinación de pequeños iones, hasta grandes macromoléculas. Entre ellos, se pueden citar, por ejemplo aplicaciones en medicina, biología, análisis de alimentos, análisis de aguas, análisis de muestras forenses, etc.

10

BIBLIOGRAFÍA

- [1] T. Kappes and P. C. Hauser, *Anal. Commun.*, 1998, 35, 325-329.
- [2] M. Ryvolová, J. Preisler, D. Brabazon, and M. Macka, *Trends Anal. Chem.*, 2010, 4,
5 29, 339-353.
- [3] CE Resources, Singapore.
- [4] T. Kappes, P. Schnierle, and P. C. Hauser, *Anal. Chim. Acta*, 1999, 393, 77-92.
- [5] T. Kappes, B. Galliker, M. A. Schwarz, and P. C. Hauser, 2001, 20, 133-139.
- [6] J. P. Hutchinson, C. J. Evenhuis, C. Johns, A. A. Kazarian, M. C. Breadmore, M.
10 Macka, E. F. Hilder, R. M. Guijt, G. W. Dicinoski, and P. R. Haddad, *Anal. Chem.*,
2007, 79, 7005-7013.
- [7] P. Hutchinson, C. Johns, M. C. Breadmore, M. Macka, E. F. Hilder, R. M. Guijt, C.
Lennard, G. Dicinoski, and P. R. Haddad, *Electrophoresis*, 2008, 29, 4593-4602.
- [8] A. Seiman, M. Jaanus, M. Vaher, and M. Kaljurand, *Electrophoresis*, 2009, 30, 507-
15 514.
- [9] J. Gorbatosva, M. Jaanus, and M. Kaljurand, *Anal. Chem.*, 2009, 81, 8590-8595.
- [10] N. Makarõtsëva, A. Seiman, M. Vaher, and M. Kaljurand, *Proc. Chem 2*, 2010, 20-
25.
- [11] A. Seiman, M. Vaher, and M. Kaljurand, *Electrophoresis*, 2011, 32, 1006-1014.
- 20 [12] M. Lee, K. Cho, D. Yoon, D. J. Yoo, and S. H. Kang, *Electrophoresis*, 2010, 31,
2787-2795.
- [13] P. Kubáň, A. Seiman, N. Makarõtsëva, M. Vaher, and M. Kaljurand, *J.
Chromatogr. A*, 2011, 1218, 2618-2625.
- [14] G. A. Blanco, Y. H. Nai, E. Hilder, R. A. Sheliie, G. W. Dicinoski, P. R. Haddad,
25 and M. C. Breadmore, *Anal. Chem*, 2011, 83, 9068-9075.

REIVINDICACIONES

1. Instrumento de electroforesis capilar portátil (P-CE) semiautomático caracterizado porque comprende:
 - 5 a. Una caja de aluminio que contiene tres baterías.
 - b. Una fuente de alto voltaje positiva y otra de alto voltaje negativa.
 - c. Un circuito de control automático del instrumento que contiene una placa para el control de diferentes componentes electrónicos.
 - d. Un circuito de excitación del detector.
 - 10 e. Un circuito de rectificación, amplificación y filtrado de la señal del detector.
 - f. Un circuito para el control de las válvulas.
 - g. Un registrador de datos de alta resolución.
 - h. Un circuito regulador de voltaje de las baterías.
 - 15 i. Un panel de control con LEDs indicadores de funcionamiento, interruptores de encendido/apagado y cambio entre fuentes de alto voltaje, y tres conectores LEMO

2. Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por su portabilidad, su funcionamiento con baterías, usando componentes de bajo consumo eléctrico y un sistema de presión independiente de fuentes de energía, con un colector controlado automáticamente y una interfase para controlar la distribución de las diferentes disoluciones de trabajo y los diferentes modos de trabajo.

- 20 3. Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso de componentes que no consumen energía eléctrica como sistema de presión e inyección.

- 25 4. Instrumento, según las reivindicaciones 1 y 3, caracterizado por el uso del sistema de presión alimentado por una bomba de llenado de las amortiguaciones de las bicicletas.

30

5. Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso del colector automático que permite el lavado y la inyección con hasta 4 disoluciones diferentes de manera automática.
- 5 6. Instrumento, según las reivindicaciones 1 y 3, caracterizado por el uso de un sistema de inyección basado en el empleo de una interfase para combinar conjuntamente el capilar, el electrodo conectado a tierra y la entrada y la salida de disolventes y muestras.
- 10 7. Instrumento, según la reivindicación 5, caracterizado por una salida conectada a una válvula automática para el control del lavado de la interfase, el lavado del capilar o la inyección.
- 15 8. Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso de una placa para el control automático del instrumento.
9. Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el empleo del P-CE en el análisis de muestras medioambientales, forenses, de alimentos y de otras muestras para las que el transporte de instrumentación analítica sea necesario.

20

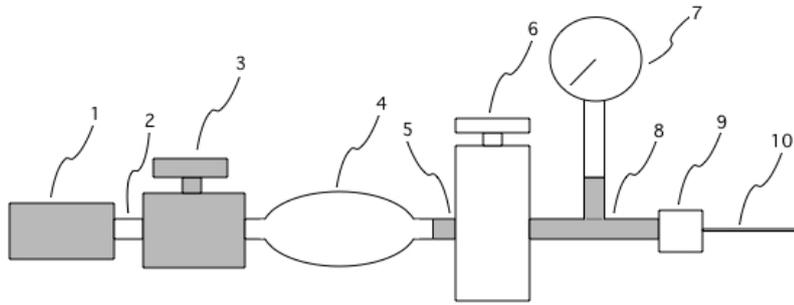


Figura 1

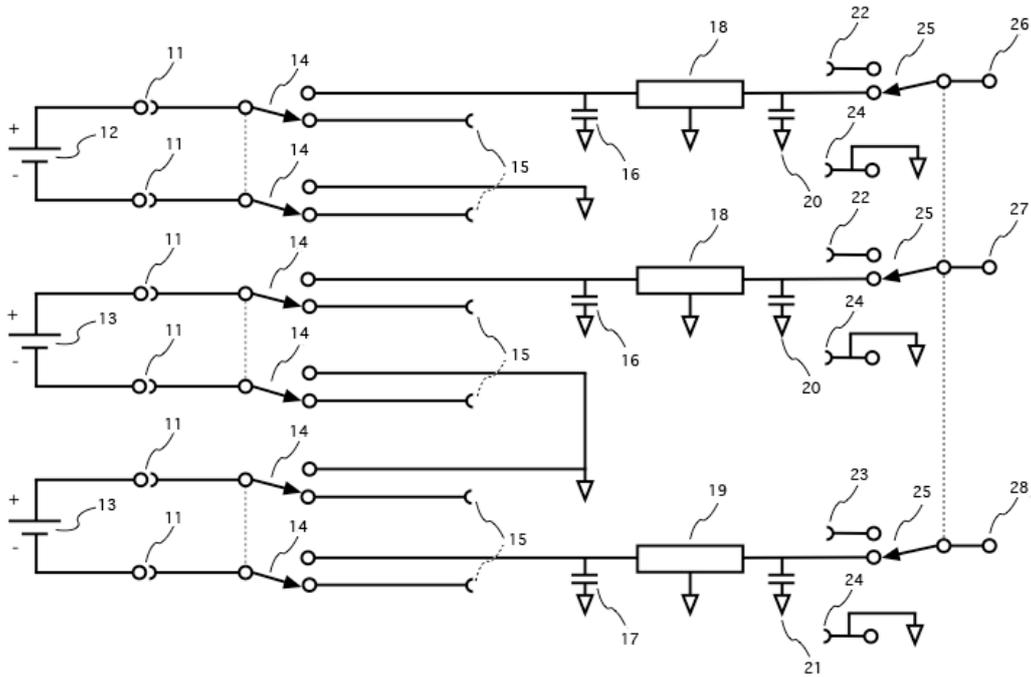


Figura 2

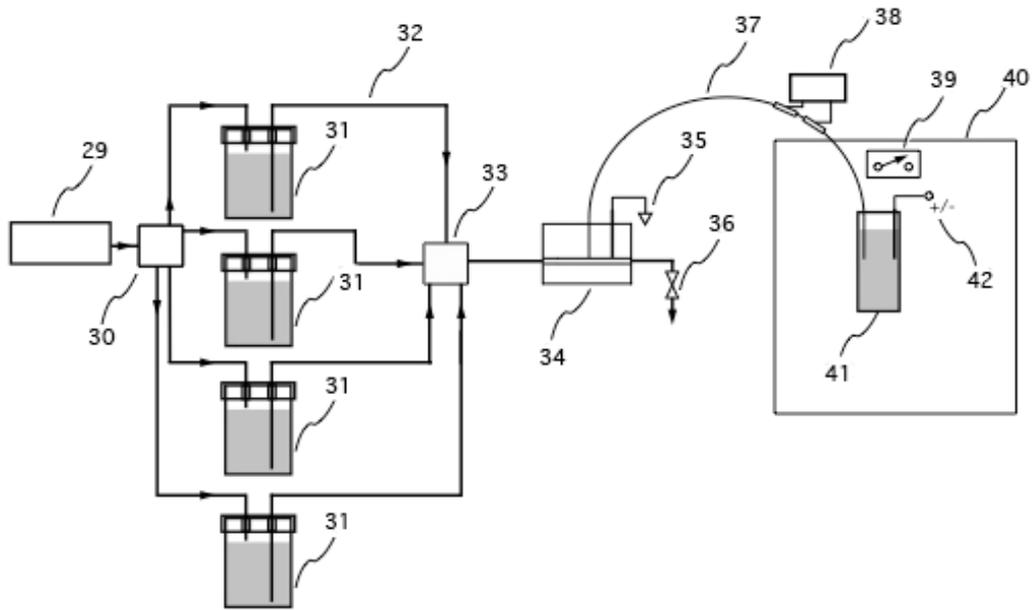


Figura 3

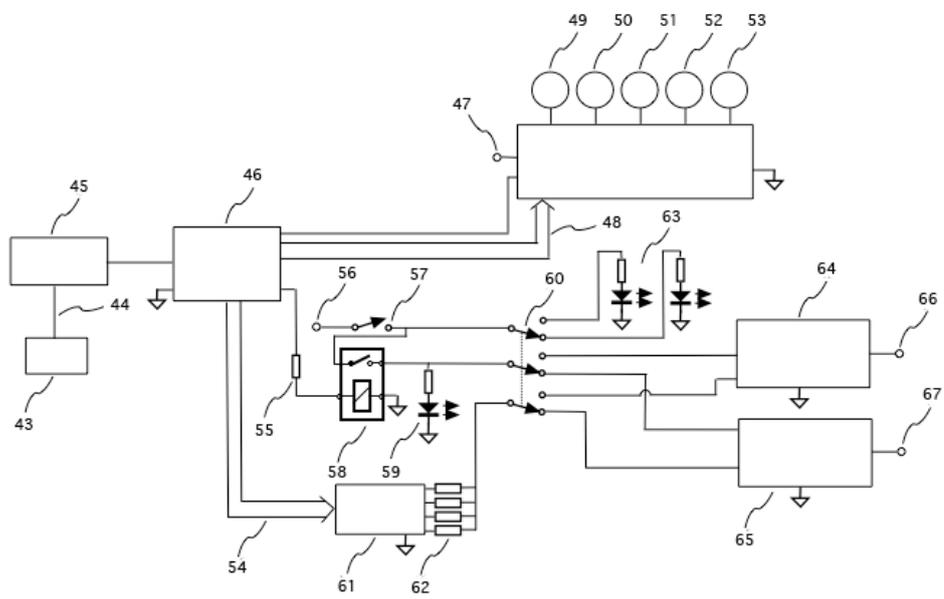


Figura 4

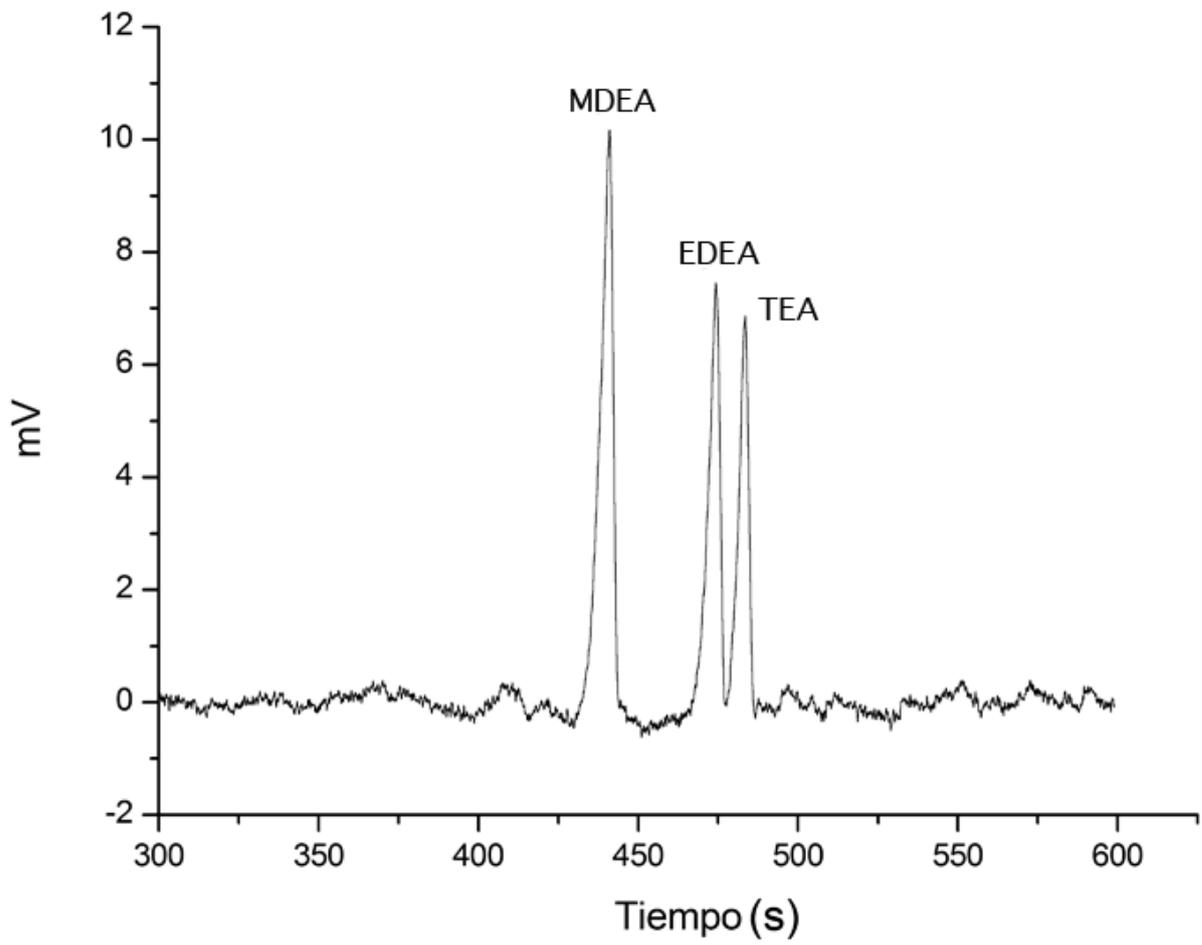


Figura 5



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201231371

②② Fecha de presentación de la solicitud: 04.09.2012

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N27/447** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 2010141921 A1 (INTEGENX INC et al.) 09.12.2010, párrafos [0019-0344].	1-9
X	US 2011155575 A1 (DORAIRAJ RATHISSH et al.) 30.06.2011, párrafos [0009-0135].	1
A	WO 2012020257 A1 (FORENSIC SCIENCE SERVICE LTD et al.) 16.02.2012, página 1, línea 1 – página 156, línea 5.	1-9
A	US 2012082985 A1 (ZENHAUSERN FREDERIC et al.) 05.04.2012, párrafos [0003-0064].	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
22.04.2014

Examinador
A. Casado Fernández

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 22.04.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-9	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-9	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2010141921 A1 (INTEGENX INC et al.)	09.12.2010
D02	US 2011155575 A1 (DORAIRAJ RATHISSH et al.)	30.06.2011
D03	WO 2012020257 A1 (FORENSIC SCIENCE SERVICE LTD et al.)	16.02.2012
D04	US 2012082985 A1 (ZENHAUSERN FREDERIC et al.)	05.04.2012

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El documento D01 se considera el más próximo del estado de la técnica a la invención solicitada.
Entre paréntesis se cita las partes relevantes del Documento D01.

Reivindicación 1:

Instrumento de electroforesis capilar portátil ([0019]) semiautomático caracterizado porque comprende:

- a. Una caja de aluminio ([0283]-[0284]) que contiene tres baterías.
- b. Una fuente de alto voltaje ([0244], [0316]-[0321],[0334], [0349]) positiva y otra de alto voltaje negativa.
- c. Un circuito de control automático del instrumento que contiene una placa para el control de diferentes componentes electrónicos ([0280], [0339]).
- d. Un circuito de excitación del detector ([0231], [0235], [0278]).
- e. Un circuito de rectificación, amplificación y filtrado de la señal del detector.
- f. Un circuito para el control de las válvulas ([0021], [0339]).
- g. Un registrador de datos de alta resolución ([0019], [0261], [0325]-[0341]).
- h. Un circuito regulador de voltaje de las baterías ([0316]-[0319]).
- i. Un panel de control ([0279]) con LEDs indicadores de funcionamiento, interruptores de encendido/apagado y cambio entre fuentes de alto voltaje, y tres conectores LEMO

La reivindicación 1 presenta meras diferencias con D01, destacando:

"Una caja de aluminio que contiene tres baterías", "un circuito de rectificación, amplificación y filtrado de la señal del detector", "LEDs indicadores de funcionamiento, interruptores de encendido/apagado y cambio entre fuentes de alto voltaje, y tres conectores LEMO".

La utilización de baterías es conocida en D01 sin especificar el número de baterías utilizadas ([0019], [0274]).

La utilización de circuitos de amplificación y rectificación es de sobra conocida por el experto en la materia (ver a modo ilustrativo el documento D02).

Así mismo, La utilización de LEDs, interruptores y conectores LEMO como sistemas de señalización y conexión son componentes electrónicos de sobra conocidos por el experto en la materia.

Las diferencias presentes entre D01 y la reivindicación 1 son meras yuxtaposiciones de elementos conocidos que no aportan actividad inventiva a la reivindicación.

Por lo tanto, la reivindicación 1 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 2:

Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por su portabilidad ([0019]), su funcionamiento con baterías ([0019], [0274]), usando componentes de bajo consumo eléctrico y un sistema de presión ([0021], [0278]) independiente de fuentes de energía, con un colector controlado automáticamente ([0273]) y una interfase ([0164]) para controlar la distribución de las diferentes disoluciones de trabajo y los diferentes modos de trabajo.

Por lo tanto, la reivindicación 2 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 3:

Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso de componentes que no consumen energía eléctrica como sistema de presión e inyección.

La reivindicación 3 no aporta ninguna característica técnica que resuelva el problema técnico planteado.

Por lo tanto la reivindicación 3 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 4:

Instrumento, según las reivindicaciones 1 y 3, caracterizado por el uso del sistema de presión alimentado por una bomba ([0021]-[0031]) de llenado de las amortiguaciones de las bicicletas.

Por lo tanto, la reivindicación 4 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 5:

Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso del colector automático que permite el lavado y la inyección ([0273]) con hasta 4 disoluciones diferentes de manera automática.

Por consiguiente, la reivindicación 5 carece de actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 6:

Instrumento, según las reivindicaciones 1 y 3, caracterizado por el uso de un sistema de inyección basado en el empleo de una interfase para combinar conjuntamente el capilar, el electrodo conectado a tierra y la entrada y la salida de disolventes y muestras ([0135], [0243], [0244], [0318]-[0322]).

Por lo tanto, la reivindicación 6 carece de actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 7:

Instrumento, según la reivindicación 5, caracterizado por una salida conectada a una válvula automática para el control del lavado de la interfase, el lavado del capilar o la inyección ([0069], [0165], [0177], [0236]).

Por lo tanto, la reivindicación 7 carece de actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 8:

Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el uso de una placa para el control automático del instrumento ([0280], [0339]).

Por consiguiente, la reivindicación 8 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).

Reivindicación 9:

Instrumento, según la reivindicación 1, caracterizado por el empleo del P-CE en el análisis de muestras medioambientales, forenses, de alimentos y de otras muestras para las que el transporte de instrumentación analítica sea necesario ([0019]).

Por lo tanto, la reivindicación 9 no implica actividad inventiva (Artículo 8 LP.).