

Szimulált mozgóréteges (SMB) preparatív folyadékkromatográfias művelet vizsgálata laboratóriumi méretű négyoszlopos készülékkel

NAGY Melinda,^a MOLNÁR Zoltán,^a SZÁNYA Tibor,^a HANÁK László,^a

ARGYELÁN János,^a RAVASZ Bernadett,^a TURZA Gergely,^a

ARANYI Antal^b és TEMESVÁRI Krisztina^b

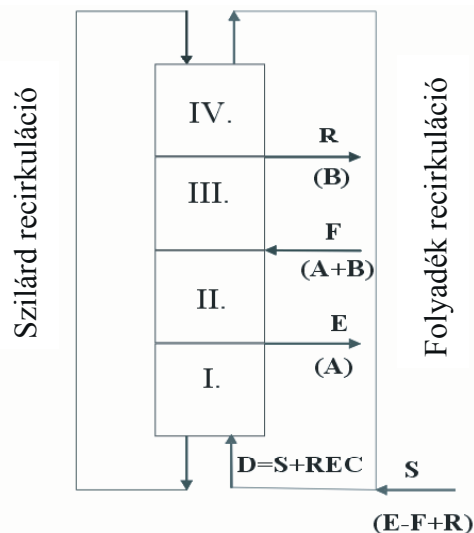
^aVeszprémi Egyetem, Vegyipari Művelési Tanszék, 8201 Veszprém, Egyetem út 10.

^bRichter Gedeon Rt., 1103 Budapest, Gyömrői út 19-21.

1. Bevezetés

A preparatív kromatográfias műveletek legkorszerűbb csoportját a szimulált mozgóréteges művelési megoldások alkotják és egyre szélesebb körben alkalmazzák elsősorban nehezen izolálható és/vagy nagy tisztaságú termékek előállítására a gyógyszeriparban, a finomkémiai és biotechnológiai szeparációs feladatok megoldására. Ezekben a készülékekben a folyadékfázis mozgása mellett a szilárd fázis szimulált mozgását is megvalósítják. Ezáltal az úgynevezett batch technológiákat folyamatosá tehetjük és ezáltal nemcsak a termelést tehetjük gazdaságosabbá, hanem közel azonos mértékben kötődő komponensek is nagy tisztasággal elválaszthatók.

A valódi mozgóréteges kromatográfias eljárást (True Moving Bed: TBM) a Universal Oil Products Company-nál szabadalmaztatták először 1961-ben¹.

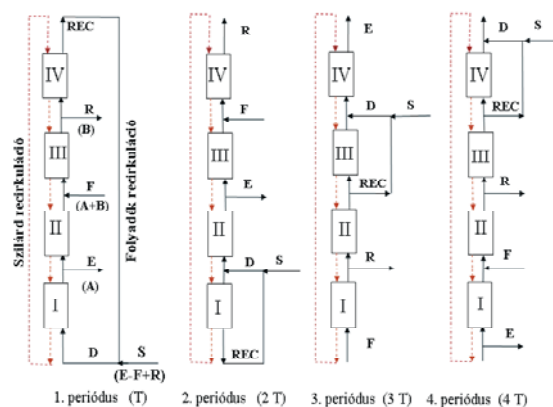


1. Ábra. Valódi mozgóréteges kromatográfia (TMB)

Lényege, hogy a szilárd és a folyadék fázis ellenáramban folyamatosan mozog (1. ábra). A módszer hátránya, hogy a szilárd fázis számottevő visszakeveredése elkerülhetetlen és ez nagymértékben csökkenti a művelet hatékonyságát. Az adszorbens folyamatosan recirkulál felülről lefelé haladva, míg az eluens az adszorbenssel ellenáramban mozog. A

kétkomponensű (A+B) elválasztandó elegyet folyamatosan adagolják (F) az oszlop adott pontján^{2,3}. Az „A” komponens erősebben adszorbeálódik a szilárd fázison és az oszlop alsó végpontja felé halad, míg a gyengébben kötődő „B” komponens az oszlop teteje felé vándorol. A kolonna két meghatározott elvételi pontján, az extraktum (E) és a raffinátum (R) áramban az „A” és „B” komponens különböző tisztaságban kinyerhető. A friss eluents (S) folyamatosan vezetjük az oszlopra, valamint az oszlopról távozó eluents (REC) recirkuláltatjuk és a két áram együttesen (D=S+REC) adja a valójában oszlopra kerülő eluens mennyiséget. A betáplálási és elvételi pontok alapján négy részre osztható az oszlop (I., II., III., IV.). A II. és III. szegmens feladata az elválasztás, az I. szegmensben tisztítjuk a szilárd fázist mielőtt az oszlopból kilépne. Az összes adszorbeált komponensnek ebben a részben deszorbeálódnia kell. A IV. szegmensben az összes oldott komponensnek meg kell kötődnie, hogy tiszta eluens távozzon az oszlopból.

A visszakeveredési problémák kiküszöbölhetőek egy olyan berendezésben (Simulated Moving Bed: SMB), ahol a fenti szegmenseket térben elválasztott részekre bontják, többoszlopos, oszloponként nyugvó szilárd fázissal rendelkező egységekben (2. ábra).



2. Ábra. Szimulált mozgóréteges kromatográfia (SMB) (Betáplálási és elvételi helyek T idő szerinti váltakozása)

Ezen oszlopok kapcsolási sorrendjének változtatásával érhető el a szilárd fázis mozgata. A két oszlopmozgatás

*Főszerző. Tel.: +36-88-421-905; fax: +36-88-421-905; e-mail: menagy@freemail.hu

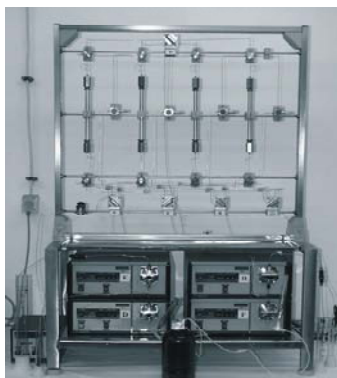
vagy továbbkapcsolás közötti időtartamra a „T” kapcsolási idő, taktus idő illetve a periódusidő elnevezések terjedtek el.

2. Kísérleti rész

A kísérleti munkánk során terveztünk és a Veszprémi Egyetem Központi Gépműhelyével kivitelezünk egy laboratóriumi méretű 4 oszlopos SMB berendezést ($L=25\text{cm}$, $D_b=1\text{cm}$), amellyel a Richter Gedeon Rt.-nél gyártott RG1040 számú szteroid elegy elválasztását⁴ valósítottuk meg, adszorbensként YMC S-50 szilikagélt, eluensként aceton:diklórmetán =50:50 % v/v arányú elegyét alkalmaztuk. A hőmérséklet 20°C volt. Vizsgáltuk a betáplálási koncentráció változtatásának komponensszétválasztásra gyakorolt hatását. A termékek tisztaságát és az egyéb fajlagosokat (kihozatal, termelékenység, eluens felhasználás) gázkromatográfiás méréssel vizsgáltuk.

2.2. SMB készülék üzembehelyezése

Négyoszlopos, nyitott eluenskörrel rendelkező SMB berendezés (3. ábra) üzembe helyezése során a négy preparatív folyadékkromatográfiás oszlopot YMC S-50 szilikagéllal töltöttük meg vibrációs módszerrel (~ 60 min töltési idő). A töltet halmazsűrűsége (ρ_H) $0,405\text{ g/cm}^3$ oszlop, szabadterfogatú tényezője (ϵ) $0,8018$ gravimetriás módszerrel illetve benzol jelzőanyaggal végzett mérés alapján. Az oszlopokba egyenként töltött szilikagél tömege ~ 7,95 g. Az oszlopok $2\ \mu\text{m}$ saválló acél frittel vannak ellátva alul felül, melyeket a mérés megkezdése előtt diklórmetán eluenssel légtelenítettünk.



3. Ábra. Az SMB készülék

2.3. Morbidelli-féle paraméterek meghatározása

A megfelelő hatásfokú elválasztáshoz pontosan meghatározott és beállított térfogatáramokra és a hozzájuk tartozó léptetési időre van szükség.

A Massimo Morbidelli által megfogalmazott független adszorpciót és lineáris izotermákat feltételező elméleti módszer⁵ alapján azonban jól megbecsülhetőek a térfogatáramok helyes beállítási értékei. A módszer hátránya, hogy lineáris adszorpciót feltételez, emiatt a kapott értékeket csak bizonyos korlátok között szabad elfogadni. A Morbidelli kritériumok szerint ha tiszta „A”, „B” szteroidokat kívánunk előállítani, akkor az alábbi relációknak kell teljesülnie (1, 2, 3, 4):

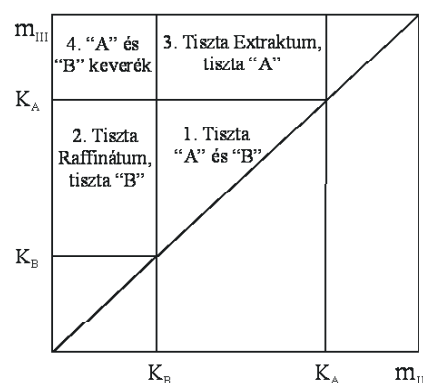
$$m_{III} > K_A = 28,783 \quad (1)$$

$$13,229 = K_B < m_{III} < K_A = 28,783 \quad (2)$$

$$13,229 = K_B < m_{III} < K_A = 28,783 \quad (3)$$

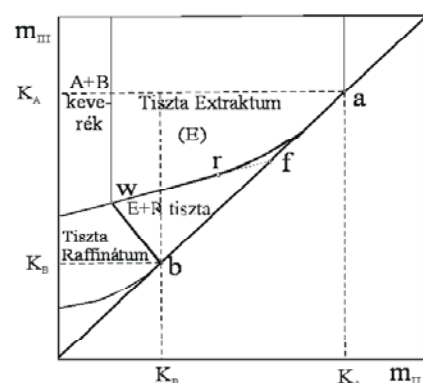
$$m_{IV} < K_B = 13,229 \quad (4)$$

A kapott eredményeket ábrázolhatjuk olyan diagramban, amelyben az m_{III} értékeket ábrázoljuk az m_{II} értékeinek függvényében. Az ilyen diagramokban a K_A , a K_B és az $m_{III} = m_{II}$ egyenesek kijelölnek egy háromszög alakú területet, amelyet Morbidelli-háromszögnek nevezünk. A Morbidelli-háromszögben levő pontokban dolgozó rendszerekben egymástól teljesen elválasztható a két komponens (4. ábra).



4. Ábra. Morbidelli-féle diagram izokratikus kromatográfiára

Ha $m_{II} < K_B$ és $K_B < m_{III} < K_A$ akkor tiszta raffinátumot „B” lehet előállítani, de „A” nem tiszta. Ha $m_{III} > K_A$ és $K_B < m_{II} < K_A$ akkor tiszta extraktumot „A” lehet előállítani, de „B” nem tiszta. A fenti tartományokon kívül nem lehet csak „A”, „B” keveréket előállítani az extraktumban és raffinátumban. Ha az előzőekben megadott egyensúlyi adszorpció elméleti leírása során nem teljesül a lineáris adszorpció egyensúlyi izotermák és a független adszorpció feltétele, akkor a Morbidelli-féle háromszög módosul⁶ (5. ábra).



5. Ábra. A Morbidelli-féle „háromszög” alakjának és területének változása kompetitív-Langmuir izotermára

Tekintsük az egyensúlyi adszorpciót kompetitív Langmuir izoterma esetén^{7,8,9} (5). A Morbidelli féle háromszög területét a betáplálási koncentráció és összetétel, valamint a kinetika és axiális keveredés, mint reális hatások is módosítják. Legyen érvényes a többkomponensű kompetitív Langmuir adszorpció izoterma¹⁰.

$$q_i = \frac{a_i c_i}{1 + \sum b_i c_i} \quad (5)$$

A tiszta „A” és „B” komponensek egyidejű előállításának feltétele módosul (6, 7, 8, 9).

$$m_I > K_A \quad (6)$$

$$m_{II, \min} (m_{II}, m_{III}) < m_{II} < m_{III} < m_{III, \max} (m_{II}, m_{III}) \quad (7)$$

$$m_{IV} < m_{IV, Kr} \quad (8)$$

$$m_{IV, Kr} = \frac{1}{2} [K_B + m_{III} + b_B c_B^F (m_{III} - m_{II}) - \sqrt{[K_B + m_{III} + b_B c_B^F (m_{III} - m_{II})]^2 - 4a_B m_{III}}] \quad (9)$$

Az 7. ábra magyarázata (10, 11, 12):

$$\begin{array}{l} \text{a pont} \quad K_A = K_A \\ \text{b pont} \quad K_B = K_B \\ \text{f pont} \quad \omega_G = \omega_G \\ \text{r pont} \quad \left[\frac{\omega_G^2}{K_A}, \frac{\omega_G [\omega_F (K_A - \omega_G) (K_A - K_B) + K_B \omega_G (K_A - \omega_G)]}{K_A K_B (K_A - \omega_F)} \right] \end{array} \quad (10)$$

$$\text{w pont} \quad \left[\frac{K_B \omega_G}{K_A}, \frac{\omega_G [\omega_F (K_A - K_B) + K_B (K_B - \omega_G)]}{K_B (K_A - \omega_F)} \right] \quad (11)$$

Ahol ω_F és ω_G ($\omega_G > \omega_F > 0$) az alábbi egyenlet gyökei:

$$1 + b_A c_A^F + b_B c_B^F \omega^2 - [K_A (1 + b_B c_B^F) + K_B (1 + b_A c_A^F)] \omega + K_A K_B = 0 \quad (12)$$

Az 6. ábrán láthatjuk, hogy a kompetitív Langmuir izoterma miatt jelentősen megváltozik a Morbidelli-féle „háromszög” alakja és területe, melyet a betáplálási koncentráció értéke és a kromatográfiás elválasztást zavaró hatások, adszorpciós kinetika (komponens transzporttal szembeni ellenállás), axiális keveredés, és az oszlop töltet hatásossága is befolyásol.

A mérés céljára az alábbi paramétereket választottuk ki:

$$F = 1,5 \text{ cm}^3/\text{min}$$

$$E = 6,2 \text{ cm}^3/\text{min}$$

$$R = 2,6 \text{ cm}^3/\text{min}$$

$$D = 9,5 \text{ cm}^3/\text{min}$$

A Morbidelli paraméterek értékei (13, 14, 15, 16):

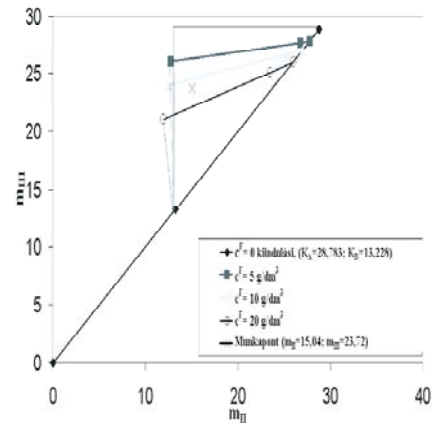
$$m_I = \frac{D}{A_f} T - L \varepsilon = 50,9 > 28,783 \quad (13)$$

$$13,229 < m_{II} = \frac{D-E}{A_f} T - L \varepsilon = 15,04 < 28,783 \quad (14)$$

$$13,229 < m_{III} = \frac{D-E+F}{A_f} T - L \varepsilon = 23,72 < 28,783 \quad (15)$$

$$m_{IV} = \frac{D-E+F-R}{A_f} T - L \varepsilon = 8,68 < 13,229 \quad (16)$$

A betáplálási koncentrációt növelve 5, 10, 20 g/dm³-re a Morbidelli háromszög tartománya csökken (6. ábra).



6. Ábra. A Morbidelli-féle tartomány változása a betáplálási koncentráció növelésével

A háromszögek pontjait a már ismertett módon számolva az 1. táblázat tartalmazza.

1. Táblázat. Morbidelli-féle háromszög pontjai

c^F (g/dm ³)	f pont		r pont		w pont	
5	27,76	12,37	26,77	27,65	12,75	26,06
10	27,00	11,58	25,34	26,66	12,41	23,97
20	25,99	10,22	23,47	25,10	11,94	21,03

3. SMB mérések

A négyoszlopos SMB készülék oszlopait előzetesen 20°C-on egyensúlyba hoztuk 50 %v/v aceton-50 %v/v diklórmetán eluenssel, majd megkezdjük a 4 g/dm³ „B”, 1 g/dm³ „A” koncentrációjú szteroid elegy elválasztását, melyet szintén a fenti eluensben oldottunk fel. A készülék III. oszlopára az 1. részperiódusban 22,5 min időn keresztül a szétválasztandó elegyet tápláltuk be 1,5 cm³/min térfogat sebességgel, majd ezt követően az SMB művelet szerint váltottuk az oszlopokat, az eluent nem recirkuláltattuk. A következőkben megismételtük a mérést 10 g/dm³ (8 g/dm³ „B”, 2 g/dm³ „A”), majd 20 g/dm³ (16 g/dm³ „B”, 4 g/dm³ „A”) koncentrációjú szteroid eleggyel. A mintákat periódusidőnként, azaz 22,5 min időnként vettük, majd gázkromatográfiásan vizsgáltuk.

4. Következtetések

A RG-1040 számú szteroid keverék SMB elválasztása során jelentősen szűkül a Morbidelli-féle tartomány Langmuir izotermák esetén a betáplálási koncentráció növelésével (5, 10, 20 g/dm³ eluensben oldva). Az optimális térfogatáramokat sikerült úgy beállítanunk, hogy kedvező termék tisztaságokat és kihozatalokat kaptunk.

A mérési eredmények a számunkra értékes „B” komponensre a 2. táblázatban láthatók összehasonlítva a Richter Gedeon Rt.-nél végzett preparatív HPLC-s méréssel.

Látható, hogy az SMB 1 és SMB 2 mérés esetén a számunkra előírt 99,9 % m/m tisztaságot és 90 %-nál nagyobb kihozatalt sikerült elérni a betáplálás koncentrációját növelve, emellett a termelékenység az SMB 2-es mérés esetén a kétszeresére nőtt, míg az eluens felhasználás a felére csökkent. A preparatív HPLC- hez képest a kihozatal 5 %-kal, a termelékenység 20 %-kal nőtt SMB 2 esetén.

Az SMB 3-as mérés esetén a munkapont a Morbidelli háromszög feletti tartományba esett, így tiszta extraktumot („A” komponens) és 88 % m/m tisztaságú raffinátumot („B” komponens) kaptunk. A kutató-fejlesztő munka jelenleg is folyik, melynek célja a műveleti jellemzők (tisztaság, kihozatal, termelékenység, eluens fajlagos) javítása.

2. Táblázat SMB mérések eredményei

Szétválasztandó elegy	Preparatív HPLC	SMB1	SMB2	SMB3
	60 g szteroid dm ³ diklórmétánban	5 g szteroid dm ³ eluensben	10 g szteroid dm ³ eluensben	20 g szteroid dm ³ eluensben
Tisztaság B, % m/m	> 99,9	> 99,9	> 99,9	88,2
Kihozatal B, %	95	> 99,9	> 99,9	99
Termelékenység, mg B/g szilikagél min	0,302	0,184	0,368	0,658
Eluens fajlagos, dm ³ eluens/g B	0,354	1,248	0,623	0,450

Összefoglalás

Közleményünkben egy 4 oszlopos laboratóriumi méretű szimulált mozgórteges preparatív folyadékkromatográfiás (SMB) készülékben végzett RG–1040 számú szteroid elválasztási kísérletek eredményeit mutatjuk be.

A kísérleti munka során vizsgáltuk a RG–1040 szteroid keverék betáplálási összetételében történő változások (5, 10, 20 g/dm³) hatását a fontosabb műveleti jellemzőkre. Megállapítottuk, hogy megfelelően beállított térfogati sebességek esetén, az SMB1 és SMB 2 mérésnél 99,9 % m/m –nál tisztább szteroid terméket kaptunk 99,9 %-nál nagyobb kihozattal. A termelékenység az SMB 2-es mérés esetén a kétszeresére nőtt 0,184 mg B /g szilikagél min-ről 0,368 mg B /g szilikagél min-re , míg az eluens felhasználás a felére csökkent 1,248 dm³ eluens/g B-ről 0,623 dm³ eluens/g B-re.

Az SMB2 mérés esetén a preparatív HPLC-hez képest a kihozatal 5 %-kal, azaz 95%-ról >99,9 %-ra, a termelékenység 20 %-kal, azaz 0,302 mg B/g szilikagél min-ről 0,368 mg B/g szilikagél min-re nőtt.

A kutatási–fejlesztési feladatot a műveleti jellemzők további javítása irányában folytatjuk növelve a termelékenységet az előírt követelményeknek való megfelelés mellett.

Study of simulated moving bed (SMB) preparative liquid chromatographic technology with laboratory- scaled four -columned equipment

In this publication we present the results of RG–1040 steroids in many separation experiments. For these experiments we used a four-columned laboratory-scaled simulated moving bed preparative liquid chromatographic equipment.

During the experiment we studied how affect the change of the RG-1040 feed concentration (5, 10, 20 g/dm³) some operation characteristic. We determined that at a given flow-rate for example in SMB1 and SMB2 measurements both the purity and the yield of the steroid were higher than 99.9 % m/m.

Köszönetnyilvánítás

A kutatási témát a Veszprémi Egyetem Vegyészmérnöki Intézet Kooperációs Kutatási Központja finanszírozta, a Richter Gedeon Rt. felkérésére. A szerzők mind a VE KKK-nak, mind a Richter Rt.-nek köszönetüket fejezik ki.

Hivatkozások

1. U.S. Patent No. 2.985.589 (1961) a UOP (Universal Oil Products Company)
2. Storti, G.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; Carra, S. *A.I.Ch.E. J* **1993**, *39*, 471.
3. Hagen Kniep, KNAUER GmbH. Advice for Modelling and Practical Designing of SMB process, KNAUER, Berlin
4. Szanya, T.; Argyelan, J.; Kovats, S.; Hanak, L. *J. of Chrom.A.* **2001**, *908*, 265.
5. Guiochon, G.; Shirazi, S.G.; Katti, A.M. *Fundamentals of preparative and non-linear chromatography*, Academic Press, New York,
6. Migliorini, C.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M. *J. Chrom. A* **1998**, *827*:2, 161.
7. Gentilini, A.; Migliorini, C.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M. *J. Chrom. A* **1998**, *805*, 37.
8. Abel, S.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M. *J. Chrom. A* **2002**, *944*, 23.
9. Giovanni, O.; Mazzotti, M.; Morbidelli, M.; Denet, F.; Hauck, W.; Nicoud, R. *J. Chrom. A* **2001**, *919*, 1.
10. Szanya, T.; Hanak, L. Preparatív Folyadékkromatográfia, „FINOMKÉMIAI MŰVELETEK” szakmérnöki jegyzet, Veszprém, **2000**.

In case of SMB 2 measurement we doubled the productivity from 0.184 mg B / g silica gel min to 0.368 mg B / g silica gel min while the eluent consumption decreased from 1.248 dm³ eluent/g B to 0.623 dm³ eluent/g B. When we compared the SMB 2 measurement with the preparative HPLC measurement the yield increased by 5 % from 95% to >99.9 %, and the productivity increased with 20 % from 0.302 mg B/g silica gel min to 0.368 mg B/g silica gel min. Our next goal is to focus on the operation characteristic development to increase the productivity and stay inside the given requirements.