◇◇◇◇ 技術論文 ◇◇◇◇

最適化された繰り返しクロマトグラフィー操作条件に基づく
連続クロマトグラフィーの操作条件および生産性の計算方法杉山征輝, 吉本則子, 山本修一[†]

山口大学医学系研究科応用分子生命科学系専攻/生命医工学センター

A Method for Calculating the Productivity of Simulated Moving Bed
Chromatography Based on the Optimized Repeated Cyclic Operation
ChromatographyYukiteru SUGIYAMA, Noriko YOSHIMOTO, Shuichi YAMAMOTO[†]*Bio-Process Engineering Laboratory, Graduate School of Medicine and Biomedical Engineering Center (YUBEC)
2-16-1 Tokiwadai, Ube City, Yamaguchi 755-8611, Japan*

A method for calculating the productivity of simulated moving bed (SMB) chromatography based on the optimized repeated cyclic operation (RCO) chromatography was proposed. As a model system, a two-component separation system was chosen, where the distribution coefficients were controlled by changing the mobile phase composition. First, the sample feed volume per bed volume and the mobile phase velocity for the optimized RCO were used for determining the two inlet and the two outlet flow rates and the two zone velocities. The same HETP vs. flow velocity equations were used both for RCO and SMB. By using the parameters determined numerical calculations were carried out for the two different differences in the distribution coefficients. When the difference in the distribution coefficients was large, the productivity value of RCO was higher than that of SMB. The productivity of SMB was slightly higher for a smaller difference in the distribution coefficients.

Keywords: batch chromatography, SMB, productivity, distribution coefficient, HETP

1. 緒 言

抗体に代表されるタンパク質医薬品の製造においては、細胞由来のタンパク質、DNA、ウイルスさらには、製品であるタンパク質由来の凝集体や改変体を完全に除去することが必要であり、複数回のクロマトグラフィー操作が中心のダウンストリームプロセスが必要となる。そのコストは全コストの50%以上を占めるといわれている [1-3]。

食品産業ではクロマトグラフィーによる精密分離は一般的ではない。これは、タンパク質医薬品のように精密分離を必要とする高価な製品が少ないからである。しかしながら、食品に対して高機能性が期待されており、経済的に実用可能なクロマトグラフィープロセスの要求が増加していくと考えられる。

クロマトグラフィーの効率化すなわち生産性の向上

には適切なモデルと評価方法が必要である。クロマトグラフィーは回分式操作であり、容易に生産性が定義できる。一方、高い生産性が得られるとされている複数本のカラムを切り替える(スイッチング)ことにより、擬似的に連続操作をする方法[擬似移動層, simulated moving bed (SMB)]は、操作変数が多いため操作条件の設定が難しい。また、生産性の定義も回分式とは異なる。設計方法や最適化法について多くの論文が発表されているにもかかわらず [4-14], 最適化された繰り返し回分操作 (repeated cyclic operation, RCO) のクロマトグラフィーと SMB の生産性比較は、ほとんど行われておらず、どのような条件で SMB の生産性がどの程度向上するかについては明確ではない。

本研究では、等組成溶出クロマトグラフィーによる2成分分離(エタノール水移動相によるカテキン、エピガロカテキンガレートのポリスチレン樹脂逆相クロマトグラフィー)をモデル系として、前報で提案した RCO [15] を基準とした標準型4ゾーン SMB の操作条件の設定方法と生産性の計算方法を提案し、実験値に基づいて両方法の生産性の比較を行った。

(受付 2017 年 9 月 25 日, 受理 2018 年 1 月 29 日)

〒755-8611 山口県宇部市常盤台2丁目16-1

[†] Fax: 0836-85-9240, E-mail: shuichi@yamaguchi-u.ac.jp

2. 理 論

2.1 RCO による 2 成分分離 [15, 16]

等組成 (isocratic) 溶出の 2 成分分離は, 保持容量 V_R と HETP で記述できる. ここでは溶質の移動相固定相間の分配係数 K は一定 (線形) であるとする.

$$V_R = Ft_R = V_o + (V_t - V_o)K = V_o(1 + HK) \quad (1)$$

ここで, F は体積流量, t_R は保持時間, V_t はカラムベッド容量, V_o は空隙容量, $H = (V_t - V_o)/V_o = (1 - \epsilon)/\epsilon$ は相体積比, ϵ はカラムの空隙率である.

$$\text{HETP} = Z \left(\frac{\sigma}{t_R} \right)^2 = \frac{Z}{16} \left(\frac{W}{t_R} \right)^2 = Z \left(\frac{\sigma_V}{V_R} \right)^2 \quad (2)$$

ここで, Z はカラムベッド長, σ はピーク標準偏差, σ_V は体積基準のピーク標準偏差である. $W = 4\sigma$ はベースラインでのピーク幅である. HETP は移動相線速度 u の関数として次式で表される.

$$\text{HETP} = A^0 + C^0 u \quad (3)$$

ここで, A^0 と C^0 は定数である. 移動相線速度 u の増加とともにピーク幅は広がる. また, 式 (3) で直接は計算できないが, ピーク幅は試料容量 $V_F (=Ft_F)$ の増加でも広がる. 少量のサンプルでのピーク幅 $\sigma_{V_o}^2$ からの V_F による増加は 20% 程度までは次式で計算できる.

$$\sigma_V^2 = \sigma_{V_o}^2 + \frac{V_F^2}{12} \quad (4)$$

2 成分の分離の程度を評価するために次式で定義される分離度 R_s が利用される. 下付き 1 と 2 は, それぞれ成分 1 と 2 を示す (組成 1 は最初に溶出する成分である).

$$R_s = \frac{2(t_{R,2} - t_{R,1})}{W_1 + W_2} \quad (5)$$

式 (1) と式 (2) を式 (5) に代入して整理すると次式となる [17].

$$R_s = \frac{Z^{0.5}}{2} \frac{H(K_2 - K_1)}{(\text{HETP}_1)^{0.5}(1 + HK_1) + (\text{HETP}_2)^{0.5}(1 + HK_2)} \quad (6)$$

$R_s \geq 1.2$ では完全に分離し, ピークを三角形に近似した場合は $R_s = 1.0$ で完全分離となる. 例えば, $R_s = 1.0$ を目的分離度とすると, それが成立する移動相線速度 u

と試料容量 V_F の組み合わせが存在する. このような等分離度条件で, 次式で定義される生産性 P を計算すると, 最大生産性 P_M を与える u_M が求まる.

$$P = \frac{C_0 V_F}{V_o t_c} \quad (7)$$

ここで, C_0 は原料濃度, t_c はサイクル時間 (分離に必要な時間) である. 繰り返し操作では, Fig. 1 でわかるように成分 2 の溶出が終了する前に, 次の試料注入をすることで t_c を短くすることができる ($t_c = t_{2b} - t_{1a}$). ここで, t_{1a} は成分 1 の溶出開始時間, t_{2b} は成分 2 の溶出終了時間である. このような RCO は, 厳密には回分式ではなく擬似連続操作とよぶほうが適切である.

また, 使用溶媒量を考慮した生産性は, 次式で定義できる.

$$P_1 = \frac{C_0 V_F}{V_o t_c} \frac{V_o}{V_c} = P \frac{V_o}{V_c} \quad (8)$$

V_c は 1 サイクルあたりの溶媒供給量である. 吸着等温線が線形のとき, 生産性は C_0 に比例するので, $P^* = P/C_0$, $P_1^* = P_1/C_0$ と C_0 で規格化できる.

$$P^* = \frac{P}{C_0} = \frac{V_F}{V_o t_c} \quad (9)$$

$$P_1^* = \frac{P_1}{C_0} = \frac{V_F}{V_o t_c} \frac{V_o}{V_c} = \frac{V_F}{V_c t_c} \quad (10)$$

単位は $P^*[(\text{mL-product})(\text{mL-bed})^{-1} \text{min}^{-1}] = [\text{min}^{-1}]$, $P_1^*[(\text{mL-product})(\text{mL-solvent})^{-1} \text{min}^{-1}] = [\text{min}^{-1}]$ である (前報 [15] では, ある大きさのカラムの生産性の計算に着目しているので, 式 (8) と式 (10) は単位体積単位時間あたりとしている).

2.2 複数カラム切り替えによる連続操作 (SMB)

前述の RCO では 1 本のカラムを利用している. 複数のカラムを切り替えることによる擬似的な連続クロマトグラフィー操作がいくつかあるが, 等組成 2 成分分離に対してもっともよく知られているのは SMB である. SMB にもさまざまな改変型があるが [10], ここでは標準型 4 ゾーン (4 カラム) SMB を考える. 基本的な操作を Fig. 2 に示す. ここで, 移動相溶媒 (D) はゾーン 1 のカラムに, 試料 (F) はゾーン 3 のカラムに供給さ

Fig. 1 Repeated cyclic operation (RCO) chromatography.

Fig. 2 Simulated moving bed (SMB) chromatography.

れ、エクストラクト (E) 画分はゾーン 1 とゾーン 2 の間から、ラフィネート (R) 画分はゾーン 3 とゾーン 4 の間から回収される。

RCO では流速 u は一定であるが、SMB では各ゾーンの速度は異なる ($v^{(1)}, v^{(2)}, v^{(3)}, v^{(4)}$)。また、入口 2 か所 (v_F, v_D) と出口 2 か所の流速 (v_R, v_E)、さらには切り替え時間 t_{sw} の合計 9 つの変数が存在する。カラム長さ (ゾーン長さ) を固定しても 9 つの変数を最適化し、最大生産性条件を探索することは容易ではない。

定常状態で 2 か所の入口と 2 か所の出口の流速には式 (11) が成立する。

$$v_F + v_D = v_R + v_E \quad (11)$$

分離を達成するためには各ゾーンの速度 $v^{(l)}$ は、Adachi[4] が提案している 4 つの不等式を満足するように設定しなければならない。これについては Triangle Theory として整理され、以下の記述が広く用いられている [5, 6]。

$$m^{(l)} = \frac{v^{(l)} - \varepsilon v_s}{(1 - \varepsilon) v_s} \quad l = 1, 2, 3, 4 \quad (12)$$

$$K_2 < m^{(1)} \quad (13a)$$

$$K_1 < m^{(2)} < K_2 \quad (13b)$$

$$K_1 < m^{(3)} < K_2 \quad (13c)$$

$$-\frac{1}{H} < m^{(4)} < K_1 \quad (13d)$$

ここで、 $m^{(l)}$ は各ゾーンの移動相と固定相の移動速度の比を表わし、無次元化速度比 (dimensionless flow-rate ratio) とよばれる。 v_s は固定相線速度であり、次式で定義される。

$$v_s = \frac{Z}{4 t_{sw}} \quad (14)$$

ここで、 t_{sw} はカラム切替え時間である。SMB では原料と溶媒供給および分離液の回収は連続的に行われる。RCO と SMB の変数は以下の式で関係づけられる。

$$V_{o, SMB} = A_C Z_{SMB} \varepsilon \quad (15)$$

$$t_{C, SMB} = n t_{sw} \quad (16)$$

$$V_{F, SMB} = A_C v_F t_{C, SMB} \quad (17)$$

$$V_{C, SMB} = A_C v_D t_{C, SMB} \quad (18)$$

$V_{o, SMB}$ は SMB の全カラムの空隙容積、 A_C はカラム断面面積、 Z_{SMB} は SMB の全カラム長さ、 $t_{C, SMB}$ は SMB の 1 サイクル時間、 n はカラム本数 (= 本検討では 4 本)、 $V_{C, SMB}$ は 1 サイクルあたりの溶媒供給量、 $V_{F, SMB}$ は 1 サイクルあたりの原料供給量である。式 (15)–(18) を式 (9) と式 (10) に代入することにより、SMB の生産性は以下の式で表される。

$$P_{SMB}^* = \frac{V_F}{V_o t_C} = \frac{A_C v_F t_{C, SMB}}{A_C Z_{SMB} \varepsilon t_{C, SMB}} = \frac{A_C v_F}{A_C Z_{SMB} \varepsilon} = \frac{v_F}{Z_{SMB} \varepsilon} \quad (19)$$

$$P_{1, SMB}^* = \frac{V_F}{V_o t_C} \frac{V_o}{V_C} = P_{SMB}^* \frac{V_o}{V_{C, SMB}} = P_{SMB}^* \frac{Z_{SMB} \varepsilon}{v_D t_{C, SMB}} \quad (20)$$

$$= \frac{v_F}{v_D} \frac{1}{t_{C, SMB}} = \frac{v_F}{v_D} \frac{1}{4 t_{sw}} = \frac{v_F}{v_D} \frac{v_s}{Z_{SMB}}$$

本研究では、RCO における最大生産性 P_M の操作条件に関する結果を基にした SMB の運転条件の決定と生産性の計算方法を提案する。

<計算手順>

はじめに RCO における P_M を求める (1)–(3)。

- (1) 分配係数は 2 成分ともに一定である (本系では移動相濃度 I により値が決定される)。
- (2) 2 成分の HETP は式 (3) で計算する (A°, C° はそれぞれの成分で異なる)。

- (3) カラム長さ Z の RCO において P_M^* (P^* の最大値) とする移動相線速度 u_M と試料供給量 $V_{F,M}$ を求める. (P_M の求め方はすでに報告しているように [15, 18], 単位時間使用溶媒量あたりの試料供給量が最大になる u と V_F を探索する方法である).

次に SMB のパラメータを順次決定していく.

- (4) ゾーン 3 の線速度 $v^{(3)}$ は RCO の u_M (P_M^* となる線速度の最大値) と同じに設定する. $v^{(3)} = \varepsilon u_M = v_M$
- (5) 分離パラメータ $m^{(2)}$ は式 (12) と式 (13) から適正な値を決定する.
- (6) 試料 (Feed) 供給速度 v_F を以下の手順で計算する. SMB カラム長さは均等に 4 分割する.

$$Z_{RCO} = Z_{SMB} = Z^{(1)} + Z^{(2)} + Z^{(3)} + Z^{(4)} = 4Z^{(1)} \quad (21)$$

$$P_M^* = \frac{V_F}{t_C V_0} = \frac{A_C v_F}{A_C Z_{SMB} \varepsilon} = \frac{v_F}{Z_{SMB} \varepsilon} \quad (22)$$

(V_F/t_C) は 1 サイクルあたりの試料供給量であり, SMB では $A_C v_F$ となる. これより,

$$v_F = Z_{SMB} \varepsilon P_M^* \quad (23)$$

- (7) 溶媒あるいは移動相供給速度 v_D は, RCO と同じになるように計算する.

$$\frac{t_F}{t_C - t_F} = \frac{v_F}{v_D} \quad (24)$$

$$v_D = \frac{v_F (t_C - t_F)}{t_F}$$

- (8) $v^{(2)}$ は $v^{(3)} = v_M$ から v_D と等しくなる. RCO において $V_C = V_D + V_F$ なので

$$v_M t_C A_C = v_D t_C A_C + v_F t_C A_C \text{ となり } v_M = v_D + v_F$$

$$v^{(2)} = v^{(3)} - v_F = v_M - v_F = v_D \quad (25)$$

- (9) v_s は分離パラメータ $m^{(2)} = (v^{(2)} - \varepsilon v_s) / [(1 - \varepsilon) v_s]$ から次式で計算する.

$$v_s = \frac{v^{(2)}}{\varepsilon + (1 - \varepsilon) m^{(2)}} \quad (26)$$

- (10) t_{sw} は, $t_{sw} = Z_{SMB} / (4v_s)$ で決定する.

- (11) $v^{(1)}$ は, $HETP_{RCO} = HETP_{SMB}$ となるように式 (27) より計算する.

$$v^{(1)} = \frac{2(HETP - A^0)}{C^0} + \frac{(v_D + v_F)}{2} - v^{(3)} \quad (27)$$

- (12) v_E を物質収支に基づき式 (28) で決定する.

$$v_E = v^{(1)} - v^{(2)} \quad (28)$$

- (13) $v^{(4)}$ は物質収支に基づく v_E と等しくなる.

$$v^{(4)} = v^{(1)} - v_D = v^{(1)} - v^{(2)} = v_E \quad (29)$$

- (14) v_R を物質収支に基づき式 (30) で決定する.

$$v_R = v^{(3)} - v^{(4)} \quad (30)$$

- (15) 以上の手順により決定されたすべてのパラメータ ($v^{(1)}$, $v^{(2)}$, $v^{(3)}$, $v^{(4)}$, v_D , v_E , v_F , v_R , Z_{SMB} , t_{sw}) を用いて SMB の数値シミュレーション計算を行い, 純度 X_{SMB} と回収率 Y_{SMB} を計算する. X_{SMB} , Y_{SMB} の計算値が目標値 (X , Y) を下回る場合は, 式 (23) の v_F を減少し, 計算値が上回る場合は, v_F を増加して目標値を達成するまで再計算する.

- (16) 生産性を式 (9) と式 (10) で計算する.

3. 結果と考察

前報においてエタノール水移動相によるカテキン (成分 1), エピガロカテキンガレート (成分 2) のポリスチレン樹脂 (Diaion HP20SS 逆相クロマトグラフィー) をモデル系として, RCO による生産性について検討した. この系ではエタノール水移動相のエタノール濃度 I が減少すると分配係数 K_1 , K_2 と分配係数の差 ($K_2 - K_1$) が増加するので分離は容易になるが, 使用溶媒量が増える傾向となる. 式 (10) で定義される生産性を計算したところ $I=26\%$ 付近で最大生産性が得られることが明らかとなった [15]. $I=24\%$ および 26% における両成分

Fig. 3 Calculated elution curves of two components (1, 2) based on the experimental data for catechin (1) and epigallocatechin galate (2) on reversed phase chromatography. (a) $I=24\%$ (b) $I=26\%$

の溶出挙動の分離シミュレーションの結果を Fig. 3 に示す。なお、本研究では $\varepsilon=0.400$ として計算した。RCO の等分離度条件 ($R_s=1: X_{\text{RCO}}=98\%, Y_{\text{RCO}}=98\%$) に基づき、SMB の数値シミュレーション計算では $X_{\text{SMB}}=0.98\pm0.01, Y_{\text{SMB}}=0.98\pm0.01$ および $X_{\text{SMB}}Y_{\text{SMB}}=0.9625\pm0.025$ を目標値とした。2.2 で提案した計算法による $I=24\%$ に対する計算手順と計算結果は以下となる。まず、 K_1 および K_2 は既報 [15] に従って実験的に求めた相関式から計算した。 $I=24\%, 26\%$ における K_1 および K_2 を用いて最適化した RCO の各パラメータを Table 1 に示す。ここで、式 (26) で用いる $m^{(2)}$ は、理論的な分離条件では $m^{(2)}=K_1$ が成り立つが、分散がある場合には $m^{(2)}>K_1$ となる。Triangle Theory を利用した既往 [10] では、およそ $1.5K_1>m^{(2)}>K_1$ の範囲において最大生産性が検討されており、本研究では $m^{(2)}=1.2K_1$ を選択した。これらの値を使用して順次パラメータの値を決定する。以下に $I=24\%$ のときの計算手順をまとめる。

$$\begin{aligned}
Z^{(1)} &= Z^{(2)} = Z^{(3)} = Z^{(4)} = Z_{\text{RCO}}/4 &= 7.5 \text{ cm} \\
P_{\text{M}}^* &= V_{\text{F}}/(t_{\text{C}}V_{\text{O}}) &= 9.4 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1} \\
v_{\text{F}} &= P_{\text{M}}^* Z_{\text{SMB}} \varepsilon &= 0.113 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v_{\text{D}} &= v_{\text{F}}(t_{\text{C}} - t_{\text{F}})/t_{\text{F}} &= 2.57 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v^{(3)} &= v_{\text{M}} &= 2.68 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v^{(2)} &= v_{\text{D}} &= 2.57 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
m^{(2)} &= 1.2K_1 &= 4.20 \\
v_{\text{s}} &= v^{(2)}/(\varepsilon + (1-\varepsilon)1.2K_1) &= 0.88 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
t_{\text{sw}} &= Z/(4v_{\text{s}}) &= 8.53 \text{ min} \\
v^{(1)} &= 2(\text{HETP}_{1,\text{RCO}} - A^0)/C^0 + (v_{\text{F}} + v_{\text{D}})/2 - v^{(3)} &= 4.24 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v_{\text{E}} &= v^{(1)} - v^{(2)} &= 1.67 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v^{(4)} &= v_{\text{E}} &= 1.67 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1} \\
v_{\text{R}} &= v^{(3)} - v^{(4)} &= 1.01 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}
\end{aligned}$$

これらの値を使用して付録に示す SMB のシミュレ

ーションを行ったところ、エクストラクト画分の成分 2 について、 $X_{\text{SMB}}=97.4\%, Y_{\text{SMB}}=96.3\%, X_{\text{SMB}}Y_{\text{SMB}}=0.939$ であった。目標値を達成できていないので、流速を遅くして分離効率を上げる必要があるが、生産性は低下する。同様な計算を $I=26\%$ についても行った。その結果を $I=24\%$ の値とともに Table 1 にまとめる。 $I=26\%$ では、 $X_{\text{SMB}}=98.5\%, Y_{\text{SMB}}=98.6\%, X_{\text{SMB}}Y_{\text{SMB}}=0.971$ であった。目標値より高いので v_{F} を増やして計算をし、 $v_{\text{F}}=0.084 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}, v_{\text{D}}=1.40 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}, t_{\text{sw}}=13.3 \text{ min}$ にて以下の結果を得た。

$$\begin{aligned}
X_{\text{SMB}} &= 98.1\%, Y_{\text{SMB}} = 97.9\%, X_{\text{SMB}}Y_{\text{SMB}} = 0.960 \\
P_{\text{SMB}}^* &= v_{\text{F}}/(Z_{\text{SMB}}\varepsilon) = 7.0 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1} \\
P_{1\text{SMB}}^* &= (v_{\text{F}}/v_{\text{D}})/(4t_{\text{sw}}) = 1.1 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}
\end{aligned}$$

P_{SMB}^* は RCO の生産性 $P^*=5.7 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ に対して 1.23 倍、 $P_{1\text{SMB}}^*$ は RCO の生産性 $P_1^*=1.3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ に対して 0.87 倍であった。

逆相系、イオン交換、疎水性相互作用クロマトグラフィーにおいては、移動相組成により分配係数と分配係数差を制御することができる。SMB は、難しい 2 成分分離すなわち、分配係数の差 (K_2-K_1) が小さい分離において効率的な方法であると主張されている [3]。(K_2-K_1) の値が 1 よりも大きく、物質移動が速い (HETP が小さい) ときは、本研究で示したように RCO の生産性が SMB より高くなる場合もある。

SMB と回分式クロマトグラフィーの性能あるいは生産性比較については比較の基準があいまいなので正確な判定ができていない。SMB が 2-3 倍高い生産性であると結論している論文もあるが [11]、対象の回分式が十分に最適化されていない。分離条件に依るがそれほどの差がない [8, 9]、あるいは大スケールによりメリットがでる [10] という報告もある。生産性のみに着目したが、SMB は装置が複雑であり初期投資についても十分検討しておく必要がある。初期投資を考えると 5 年以上の運

Table 1 Parameter values for optimized RCO and SMB.

Repeated cyclic operation (RCO) optimized conditions for $R_s=1$ ($X_{\text{RCO}}=98\%, Y_{\text{RCO}}=98\%$)

I %	K_1 -	K_2 -	u $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	V_{F} mL	t_{C} min	t_{F} min	HETP ₁ cm	HETP ₂ cm	Z cm	N_1 -	N_2 -	$P^* \times 10^3$ min^{-1}	$P_1^* \times 10^3$ min^{-1}
24	3.5	5.99	6.7	3.6	33.2	1.4	0.31	0.44	30.0	97	69	9.4	1.3
26	2.88	4.39	3.7	2.35	36.4	1.67	0.19	0.25	30.0	161	118	5.7	1.3

Simulated moving bed (SMB)

I %	v_{F} $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	v_{D} $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	v_{E} $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	v_{R} $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$v^{(1)}$ $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$v^{(2)}$ $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$v^{(3)}$ $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	$v^{(4)}$ $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	v_{s} $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	t_{sw} min	Z cm	X_{SMB} %	Y_{SMB} %	$X_{\text{SMB}}Y_{\text{SMB}}$ -
24	0.113	2.57	1.67	1.01	4.24	2.57	2.68	1.67	0.88	8.53	30.0	97.4	96.3	0.939
26	0.068	1.41	1.10	0.38	2.51	1.41	1.48	1.10	0.57	13.2	30.0	98.5	98.6	0.971

転が必要との指摘もある [12]. また, 4 ゾーン以外の SMB も開発されており, 単純な比較は難しい [19].

ここで提案した方法は SMB の 8 個の流速のうち 6 個を最適化した RCO の操作条件に基づくことにより設定している. 生産性は純度と回収率の設定値や, 目的成分と不純物の構成比率によっても大きく変化する. 本提案方法を用いて, 広い条件下での SMB と RCO との生産性の比較をすることにより, それぞれの方法のメリットがでる操作条件あるいはクロマトグラフィー条件が明確になることが期待される.

付録 SMB の数値計算方法

SMB の数値シミュレーションは以下の基礎式を有限差分化して数値計算することにより行った.

$$\text{移動相} \quad \frac{\partial C}{\partial t} + H \frac{\partial \bar{C}_s}{\partial t} = -u \frac{\partial C}{\partial z} \quad (\text{A1})$$

$$\text{固定相} \quad \frac{\partial \bar{C}_s}{\partial t} = K_s (KC - \bar{C}_s) \quad (\text{A2})$$

移動相では混合拡散を無視しており, 固定相は総括物質移動係数 K_s による linear driving force モデルを使用している. C は移動相での溶質濃度, $\bar{C}_s$ は固定相での溶質平均濃度である.

K_s と HETP は以下の式で関係づけられる.

$$K_s = \frac{2HK}{(1+HK)^2} \left(\frac{u}{\text{HETP}} \right) \quad (\text{A3})$$

境界条件は下記となる.

$$C_i^{(l)}(z, 0) = C_i^{(l+1)}(z, t_{\text{sw}}), l=1, 2, 3 \quad (\text{A4a})$$

$$C_{s,i}^{(l)}(z, 0) = C_{s,i}^{(l+1)}(z, t_{\text{sw}}), l=1, 2, 3 \quad (\text{A4b})$$

$$C_i^{(4)}(z, 0) = C_i^{(1)}(z, t_{\text{sw}}) \quad (\text{A4c})$$

$$C_{s,i}^{(4)}(z, 0) = C_{s,i}^{(1)}(z, t_{\text{sw}}) \quad (\text{A4d})$$

下記の条件も成立しなければならない.

$$C_i^{(l)}(z, t) = C_i^{(l+1)}(0, t), l=1, 3 \quad (\text{A5})$$

$$u_i^{(2)} C_i^{(2)}(z, t) + u_F C_{F,i} = u_i^{(3)} C_i^{(3)}(0, t) \quad (\text{A6})$$

$$u_i^{(4)} C_i^{(4)}(z, t) = u_i^{(1)} C_i^{(1)}(0, t) \quad (\text{A7})$$

以上の計算を Kawajiri らが開発した MATLAB によるパッケージを改訂して計算した [14].

Nomenclature

A_c	: cross-sectional area, cm^2
A°	: constant, cm
C	: liquid-phase concentration, $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
C°	: constant, min

C_0	: initial concentration, $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
C_s	: average stationary phase concentration, $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
F	: volumetric flow rate, $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$
H	: volumetric phase ratio, —
HETP	: height equivalent theoretical plate, cm
I	: ethanol concentration, %
K	: distribution coefficient, —
K_s	: overall mass transfer coefficient, min^{-1}
m	: dimensionless flow-rate ratio, —
n	: number of columns, —
P^*	: amount of the product obtained per unit bed volume per cycle time, min^{-1}
P_M^*	: maximum amount of the product obtained per unit bed volume per cycle time for RCO, min^{-1}
P_{SMB}^*	: amount of the product obtained per unit bed volume per cycle time for SMB, min^{-1}
P_1^*	: amount of the product obtained per unit bed volume per unit solvent per cycle time, min^{-1}
R_s	: resolution, —
t	: time, min
t_c	: cycle time, min
t_F	: feed time, min
t_R	: retention time, min
t_{sw}	: column switching time, min
u	: linear mobile phase velocity, $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$
v	: superficial linear velocity, $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$
V_c	: cycle elution volume, mL
V_F	: feed volume, mL
V_R	: retention volume, mL
V_t	: column bed volume, mL
V_o	: column void volume, mL
v_s	: velocity of the stationary phase, $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$
W	: peak width at the base line, min
X	: purity, %
Y	: yield, %
Z	: column length, cm

Greek

ε	: void fraction, —
σ	: standard deviation, s

Subscripts

a, b	: start and end position of elution curve
D, E, F, R	: abbreviation of Desorbent, Extract, Feed, Raffinate

i	: component i
-----	-----------------

Superscripts

l	: zone number for SMB
-----	-----------------------

References

- 1) M. Ladisch; *Reversed phase chromatography, Bioseparations Engineering, Principles, Practice. and Economics.* New York, NY, Wiley (2001).
- 2) G. Carta, A. Jungbauer; *Protein Chromatography.* Weinheim, Wiley-VCH (2010).
- 3) G. H. Roger, P. Todd, S. R. Rudge, D. P. Petrides, *Bioseparations Science and Engineering,* Oxford University Press (2003).
- 4) S. Adachi; Simulated moving-bed chromatography for continuous separation of two components and its application to bioreactors. *J. Chromatogr. A*, **658**, 271-282 (1994).
- 5) A. Rajendran, G. Paredes, M. Mazzotti; Simulated moving bed chromatography for the separation of enantiomers. *J. Chromatogr. A*, **1216**, 709-738 (2009).
- 6) F. D. Antia; "A simple approach to design and control of simulated moving bed chromatographs. In Rathore A, Velayudhan A, editors. *Scale-up and optimization in preparative chromatography*" principles and biopharmaceutical applications. Dekker, 2002, p.173-201.
- 7) K. Hashimoto, Y. Shirai, S. Adachi, M. Horie; Comparison of efficiency in separation of maltose and glucose between conventional batch chromatography and simulated moving-bed adsorber (in Japanese). *Kagaku Kougaku Ronbunshu*, **17**, 623-626 (1991).
- 8) J. Strube, S. Haumreisser, H. Schmidt-Traub, M. Schulte, R. Ditz; Comparison of batch elution and continuous simulated moving bed chromatography. *Org. Process Res. Dev.*, **2**, 305-319 (1998).
- 9) A. Seidel-Morgenstern; Optimization and comparison of different modes of preparative chromatography. *Analysis*, **26**, 46-55 (1998).
- 10) A. Jupke, A. Epping, H. Schmidt-Traub; Optimal design of batch and simulated moving bed chromatographic separation processes. *J. Chromatogr. A*, **944**, 93-117 (2002).
- 11) G. Paredes, M. Mazzotti; Optimization of simulated moving bed and column chromatography for a plasmid DNA purification step and for a chiral separation. *J. Chromatogr. A*, **1142**, 56-68 (2007).
- 12) S. Chan, N. Titchener-Hooker, E. Sorenson; Optimal economic design and operation of single- and multi-column chromatographic processes. *Biotechnol. Prog.*, **24**, 389-401 (2008).
- 13) J. Siitonen, T. Sainio; Unified design of chromatographic separation processes. *Chem. Eng. Sci.*, **122**, 436-451 (2015).
- 14) B. Sreedhar, Y. Kawajiri; Multi-column chromatographic process development using simulated moving bed superstructure and simultaneous optimization - Model correction framework. *Chem. Eng. Sci.*, **116**, 428-441 (2014).
- 15) N. Yoshimoto, Y. Sugiyama, S. Yamamoto; A simple method for calculating the productivity of polyphenol separations by polymer-based chromatography. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **81**, 812-816 (2017).
- 16) N. Yoshimoto, S. Yamamoto; "Simplified methods based on mechanistic models for understanding and designing chromatography processes for proteins and other biological products -Yamamoto Models and Yamamoto Approach- in *Preparative chromatography for separation of proteins*" Chapter 4, A. Staby, A. S. Rathore, S. Ahuja ed., Wiley, 2017, pp.111- 157.
- 17) M.Hosono, R. Maeda, N.Yoshimoto, S. Yamamoto; Rational method for designing efficient chromatography processes based on the iso-resolution curve. *Chem. Eng. Technol.*, **35**, 198-203 (2012).
- 18) S. Yamamoto, M. Nomura; Predicting the performance of gel-filtration chromatography of proteins. *J. Chromatogr. A*, **512**, 77-87 (1990).
- 19) Y. Sugiyama, N. Yoshimoto, S. Yamamoto; Continuous chromatographic separation processes by using a column switching technique (in Japanese), *Jpn. J. Food Eng.*, **18**, A9-A12 (2017).

要 旨

最適化された繰り返しクロマトグラフィー (RCO) の操作条件に基づいた連続クロマトグラフィー (擬似移動層 SMB) の操作条件および生産性の計算方法を提案した。移動相組成により分配係数を変化させることができる 2 成分分離をモデル系とした。最初に、RCO の試料負荷量、流速に基づいて SMB の 8 流速のうち、入口 2 か所、出口 2 か所、ゾーン 2 か所を決定した。RCO と SMB のどちらにも同じ HETP と線速度の関係式を使用した。決定された変数を用いて SMB シミュレーションを分配係数差が異なる 2 つのケースについて実行した。分配係数差が大きいときは RCO の生産性が高く、小さいときは SMB の生産性が高いという結果が得られた。本方法を用いて、広範な条件における RCO と SMB の生産性比較をすることにより、さらなる知見が得られると期待される。