

Bestimmung von Adsorptionsisothermen in Packungen mit sehr geringer Trennstufenzahl mittels erweiterter *Elution by Characteristic Point* Methode

Dave Hartig¹, Stephan Scholl^{1,2}

¹ Technische Universität Braunschweig, Institute für Chemische und Thermische Verfahrenstechnik

² Technische Universität Braunschweig, Zentrum für Pharmaverfahrenstechnik

D.Hartig@tu-braunschweig.de | Tel: +49 (0) 531 391-7095

Motivation und Theorie

- Chromatographie und Adsorption finden eine breite Anwendung in der Forschung und industriellen Anwendungen
- Auslegung und Anwendung dieser Verfahren basieren auf Isothermendaten
- Die *Elution by Characteristic Point* (ECP) Methode kann die komplette Isotherme mit nur einer Messung liefern:

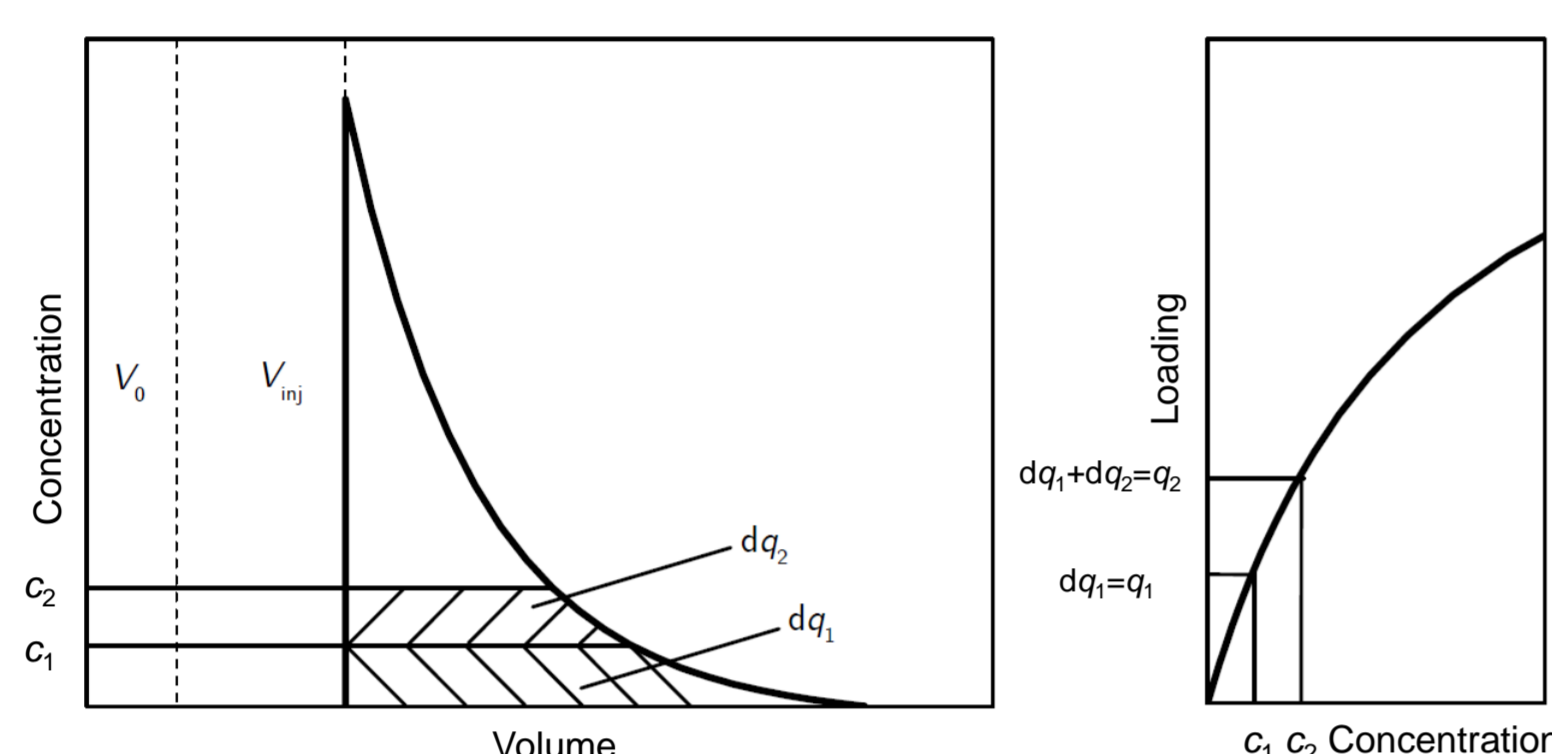


Abbildung 1:
Schematische
Darstellung der ECP-
Methode. Die
Isothermendaten sind
bis zur Maximal-
konzentration des
Peaks bestimmbar [1].

- Ursprüngliche Beschränkung auf hohe Stufenzahlen kann durch eine Erweiterung der ECP-Methode umgangen werden
- Zusammenfassung aller Nicht-Idealitäten in einem konzentrations-abhängigen Systemvolumen führt zu:

$$q(c_{Ad}) = \frac{c_{Ad,max}}{m_{Ad}} \int_0^{c_{Ad}} (V_R(\tilde{c}_{Ad}) - V_S(\tilde{c}_{Ad})) d\tilde{c}_{Ad} \quad (1)$$

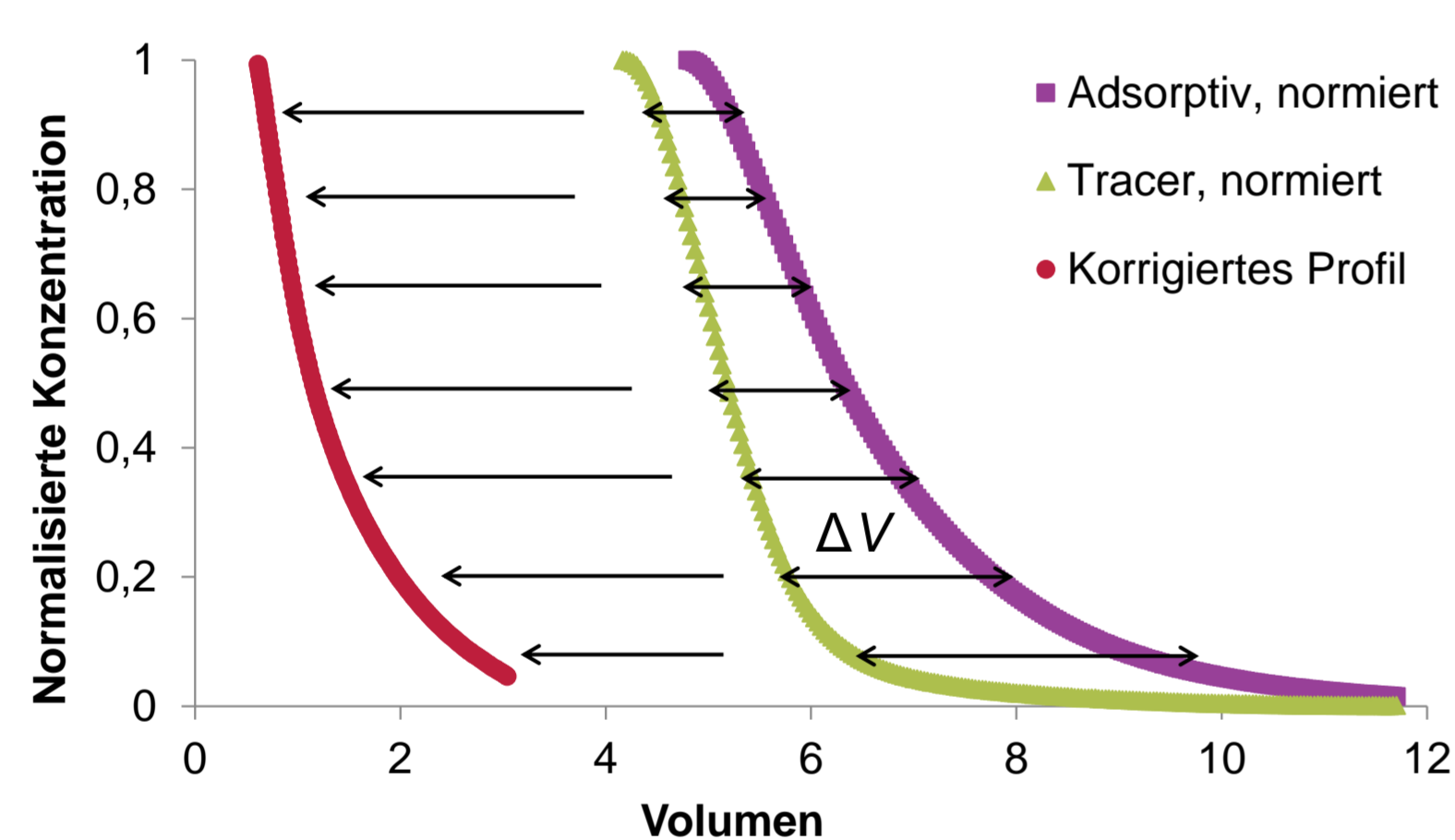


Abbildung 2:
Schematische
Darstellung des
korrigierten
Retentionsprofils
($V_R(\tilde{c}_{Ad}) - V_S(\tilde{c}_{Ad})$).

Benötigte Geräte und Materialien

Geräte

- Selbst-gepackte Säulen (bis zu 17 mm x 4 mm klein)
- Einfaches HPLC-System, wobei Pumpen auch niedrige Volumenströme mit hoher Genauigkeit liefern
- Verschiedene Detektoren, z.B. **UV/VIS, RI, DAD, ...**
- Geringe Totvolumina hilfreich, nicht unbedingt nötig



Adsorbens und Adsorptiv

- Größe der Säulen abhängig von Partikelgröße und Homogenität des Adsorbens sowie der Stärke der Adsorption
- Adsorptiv sollte in möglichst hoher Reinheit vorliegen
- Benötigte Menge an Adsorptiv hängt vom Innendurchmesser der Säule und der Stärke der Adsorption ab
- Faustregel: 1...10 mL einer Adsorptivlösung mit der gewünschten Maximalkonzentration der Isotherme wird benötigt
- Produkt kann nach der Messung i.d.R. aufgefangen und wieder verwendet werden

Literatur

- Torgny, U. 2011 Development and improvement of methods for characterization of HPLC stationary phases. Dissertation, Uppsala University, Uppsala.
- Hartig, D., Waluga, T. & Scholl, S. 2015 Expanding the elution by characteristic point method to columns with a finite number of theoretical plates. *J. Chrom. A* **1413**, 77–84.
- Hartig, D., Waluga, T., Schmidt, C., Fieg, G. & Scholl, S. 2017 Using an extended elution by characteristic point method for characterization of protein ion-exchange adsorption. *Chem. Eng. Technol.* *in revision*

Danksagungen

Die Autoren bedanken sich bei der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Projektförderung sowie bei der Firma Clariant für die Bereitstellung der Zeolith-Extrudate.

Deutsche
Forschungsgemeinschaft

DFG

CLARIANT

Ergebnisse und Diskussion

System Zucker/Zeolith

- Sehr gute Übereinstimmung mit Batch-Messungen bei vergleichbaren Vertrauensbereichen (Abbildung 3, links)
 - Verringerung des Materialverbrauchs um ein bis zwei Größenordnungen (siehe Tabelle 1)
- Korrigiertes Retentionsvolumen zeigt sehr gute Übereinstimmung mit *Peak Maximum* (PM) und *Perturbation Peak* (PP) Methode (Abbildung 3, rechts)
 - Materialverbrauch der erweiterten ECP Methode dabei etwa 3 Größenordnungen kleiner als bei PP Methode

- Ergebnisse mit maximal 200 theoretischen Trennstufen erreicht

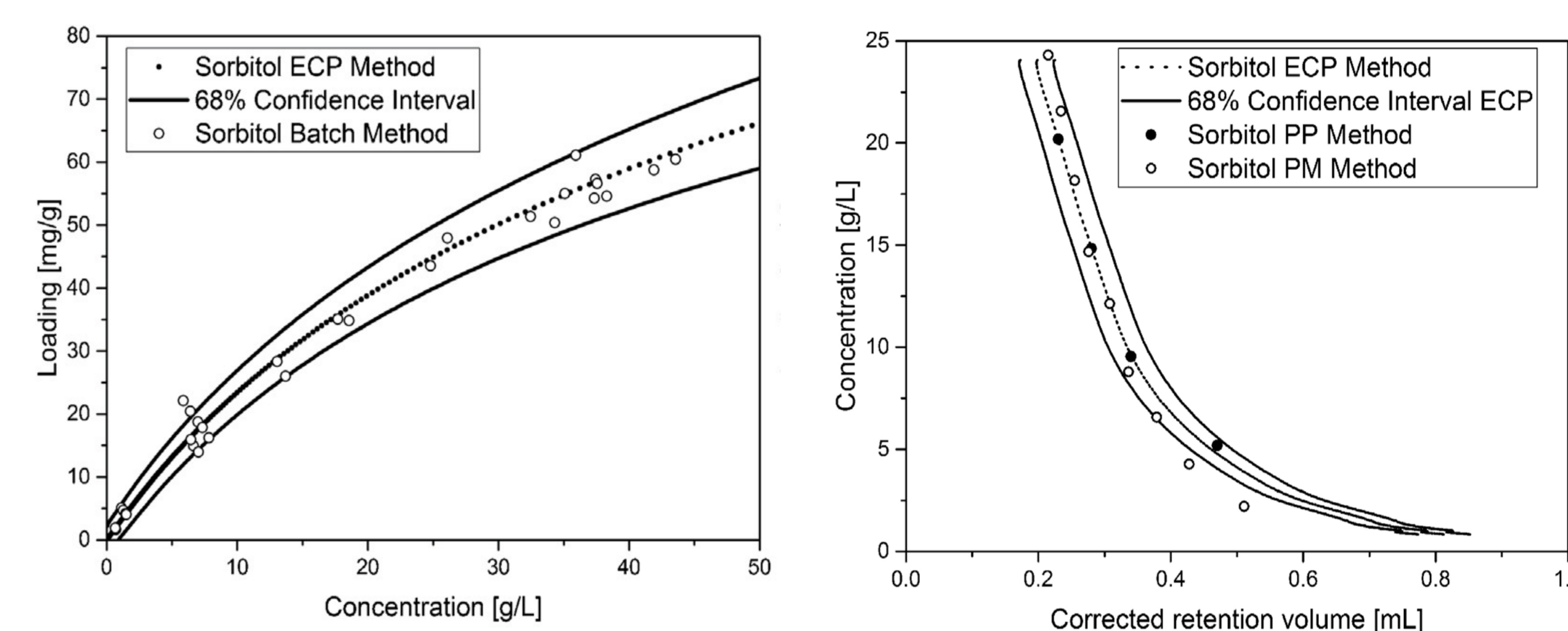


Abbildung 3: Vergleich zwischen Batch und erweiterter ECP Methode (links) sowie zwischen erweiterter ECP Methode und anderen dynamischen Methoden (rechts). Säule L x ID = 50 mm x 4 mm. Versuche bei Raumtemperatur statt mit Saccharose als Tracer [2].

System Protein/Ionenaustauscherharz

- Ebenfalls sehr gute Übereinstimmung mit Batch-Messungen (Abbildung 4)
 - Verwendung eines leicht adsorbierenden Tracers ist möglich
 - Bestimmung der an der Adsorption teilnehmenden Packung über zusätzliche Tracerversuche möglich und nötig

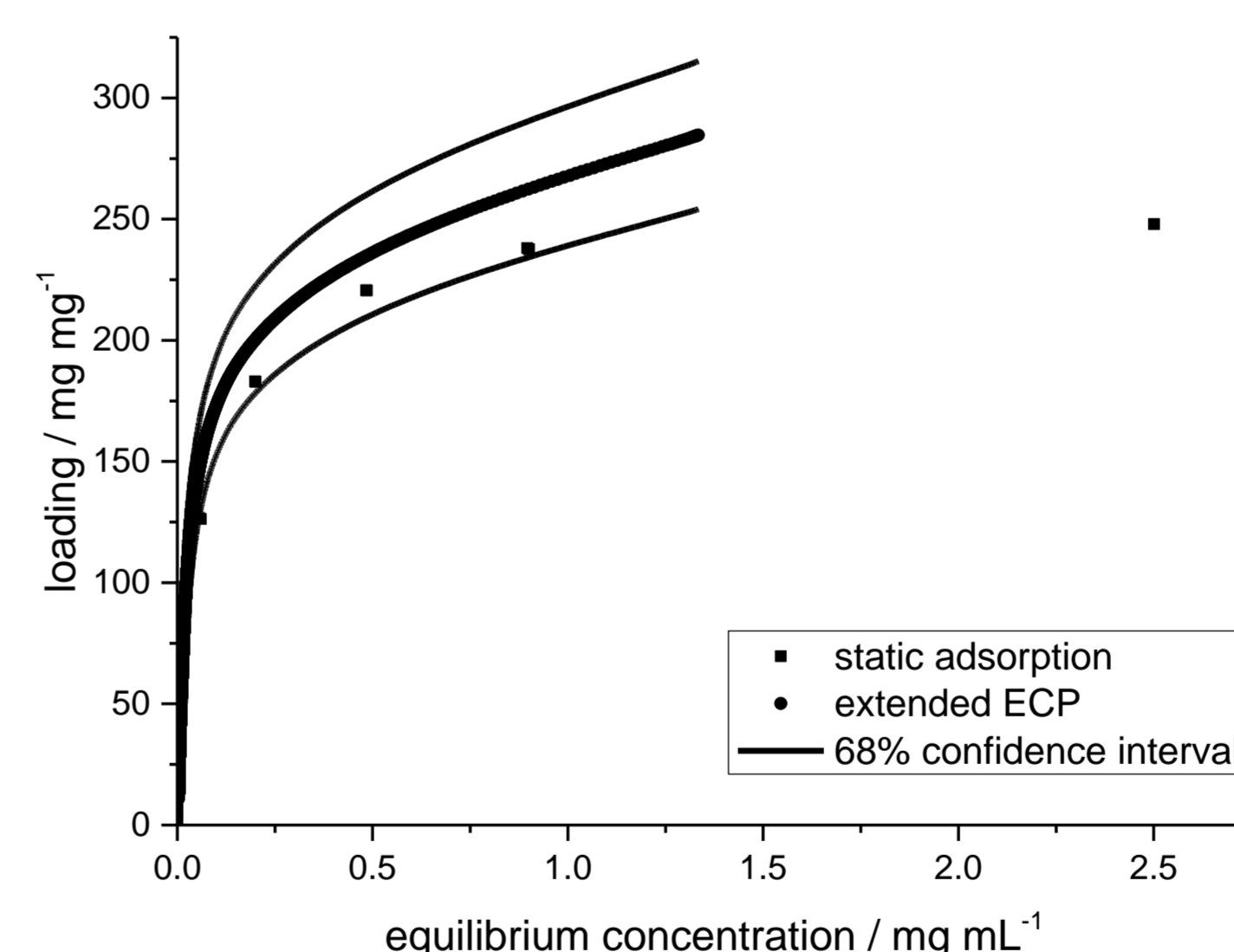


Abbildung 4: Adsorption von bovinem Serumalbumin an Q Sepharose FF. Vergleich zwischen Batch erweiterter ECP Methode. Säule L x ID = 17 mm x 4 mm. Versuche bei Raumtemperatur. Bovines Hämoglobin wurde als schwach adsorbierender Tracer verwendet. An der Adsorption teilnehmende Adsorbensmasse mit Fructose als Tracer bestimmt [3].

Table 1: Benötigte Mengen zur Bestimmung einer Isotherme für die Systeme Sorbitol/Zeolith und Bovines Serum Albumin (BSA)/Sepharose. Die benötigte Menge hängt stark von der Adsorptionsstärke, der gewünschten Maximalkonzentration der Isotherme und dem Innendurchmesser (ID) der Säule ab.

Produkt	Adsorbens	Säule		Maximalkonzentration der Isotherme	Stärke der Adsorption	Benötigte Menge für eine Isotherme
		ID [mm]	Länge [mm]			
Sorbitol	Zeolith	4	50	60 g/L	Schwach	75 mg
BSA	Sepharose	4	17	20 mM	Sehr stark	200 µmol

Zusammenfassung und Ausblick

- Isothermen am System Zucker/Zeolith sowie Protein/Ionenaustauscherharz mittels erweiterter ECP Methode in selbst gepackten Säulen bestimmbar
- Erweiterte ECP-Methode bei theoretischer Trennstufenzahl < 200 einsetzbar
- Materialverbrauch kann dabei um eine bis drei Größenordnungen verringert werden
- Zukünftig soll die erweiterte ECP Methode zur genaueren Charakterisierung der Adsorption an den betrachteten Adsorbentien eingesetzt werden.