

## 제조용 액체 크로마토그래피의 특성

† 노 경 호 · 김 은 철

초정밀생물분리기술연구센터, 인하대학교 화학공학과

(접수 : 2005. 6. 17., 게재승인 : 2005. 6. 24.)

## Characteristics of Preparative Liquid Chromatography

Kyung Ho Row† and Yinzhe Jin

Center for Advanced Bioseparation Technology, Department of Chemical Engineering,

Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received : 2005. 6. 17., Accepted : 2005. 6. 24.)

Recently preparative liquid chromatography (PLC) has been used more frequently to separate drugs and natural substances. This modern separation methodologies require reliable tools that perform on a high level in terms of efficiency and reproducibility. However, large-scale PLC easily tends to reduce the yield and purity of the product. To promote the separation efficiency of PLC, we need to properly understand the controlling effects of the process, which may enable to predict the process and to improve the design and operation of PLC. Progress in computer technology allows the use of sophisticated models, provided their parameters can be measured. Some hardwares as well as softwares for PLC were already commercially available. In this work, the separation characteristic of PLC will be reviewed and compared on both the software and the hardware.

**Key Words** : PLC, scale-up, software, hardware

### 서 론

크로마토그래피는 널리 사용되는 분리방법으로서 1903년 러시아의 생화학자 Mikhail Tswett가 최초로 분필 가루로 채워진 컬럼을 사용하여 식물에서 혼합성분을 추출 정제하는데 사용되었다. 크로마토그래피는 여러 가지 혼합물 중에서 순수한 물질을 얻을 수 있는 분리능력으로 하여 지속적인 발전을 가져왔다. 더 나아가서 TLC (Thin layer chromatography, 막 크로마토그래피), 가스액체, 가스와 고체 크로마토그래피, 저, 고성능 액체 크로마토그래피 등으로 발전하여 왔다(1). 노벨상을 받은 액체-분배 크로마토그래피를 비롯하여 이동상이 기체(2-4), 초임계(5-7) 등에 이르기까지 다양한 형태의 크로마토그래피가 분석용 및 제조용 (preparative)의 용도로 이용되고 있다. 분리능력이 우수하고 작은 양의 시료로도 정밀한 정성, 정량분석을 할 수 있어서 대표적인 분석기기로 사용될 뿐만 아니라, 초고

순도 제품을 생산하기 위한 공정까지 상용화가 활발하게 진행되고 있다. 크로마토그래피는 예전부터 석유, 정밀화학에서, 최근 생명공학에 이르기까지 가장 우수한 분리기술로서 이용되고 있다(8-11).

LC (Liquid chromatography, 액체 크로마토그래피)란 용어는 중력에 의해 조절되는 컬럼으로 분리하는 방법과는 구별되게, 크로마토그래피 컬럼에 압력을 가해 적용하는 여러 가지 기술들을 포함하고 있다. 압력이 2 bar인 플래시 (Flash) LC부터 100 bar인 PLC (preparative liquid chromatography, 제조용 액체 크로마토그래피)까지, 시료의 크기가 수 마이크로그램에서 수 그램까지의 영역을 다루게 된다. 전통적인 크로마토그래피는 수 그램의 화학적 물질들을 분리하는데 효과적이지 못했다. 반면, semi-PLC와 같은 액체 크로마토그래피는 더 높은 분리인자 ( $\alpha$ )에 의해 더 복잡하고 어려운 분리를 할 수 있다.

제조용과 분석용 크로마토그래피의 차이는 분석용은 시료를 회수하는 방법으로 쓰이지 않고, 제조용은 혼합물에서 순수한 물질의 분리를 요구한다는 것이다. 종종 높은 농도의 시료를 사용하는 PLC는 특별한 장치와 적절한 조업조건이 필요하다. PLC에서 분리도는 주입량이 너무 많거나, 다른 초과된 시료부피나 시료양에 의해 컬럼에 과부하되는 양이 증가될수록 감소한다(12). 다시 말해 주입량은 컬럼의 반지름, 길이, 입자의 직경과 충전물의 밀도에 의

† Corresponding Author : Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering, Inha University, Incheon 402-751, Korea

Tel : +82-32-860-7470, Fax : +82-32-872-0959

E-mail : rowkho@inha.ac.kr

존한다. 때때로 얼마정도의 순도와 회수율을 가지고 특정 물질의 적정량을 분리하는데 목적이 있는 경우가 있다. 생산 규모의 크로마토그래피에서 단위장치에 따라 분리할 수 있는 성분의 양은 주요한 규칙이 있다. 단위시간동안 분리된 용질의 양인 생산량은 컬럼의 치수와 용출유속 그리고 종종 증가되는 순도손실에 따라 결정된다. 압력을 가하는 데에 대하여 충전물로 채워진 컬럼에 압력이 증가하면 용출되는 유속이 증가하고, 더 빠른 분리를 할 수 있다. 또한, 가압된 용매가 용출되는 컬럼에서 충전물의 입자모형은 더 우수한 물질로 조절할 수 있고, 그래서 더 높은 분리도를 얻을 수 있다. 짧은 용출시간의 장점은 민감한 물질의 경우, 오랜 시간이 걸리는 개방형 컬럼의 분리를 대신해 분리시간을 최소화할 수 있다. 제조용이란 용어는  $\mu\text{g}$ 에서  $\text{kg}$ 까지의 정제된 물질량을 포함하고 있다.

순수한 물질의 필요량은 다음의 사용목적에 따라 결정된다.

- ① 분광학적 정의에 의해 자연물의 분리를 목적으로 경우,  $\mu\text{g}$ 에서  $\text{mg}$  정도
- ② 화학적 반응이나, 제한된 생물질의 검사를 목적으로 하는 경우,  $\text{mg}$  정도
- ③ 생물질의 검사, 합성 또는 준-합성이나 분리를 목적으로 하는 경우,  $\text{g}$  정도

게다가 제조용 기술은 펩타이드와 같은 생고분자 물질 뿐만 아니라, 초순도의 표준물질, 구별된 물질, 미량의 불순물, 제약, 생화학적 분해산물을 얻기 위한 유용한 방법이다.

LC를 scale-up하여 대량의 물질을 분리하는데 적합하다. Fig. 1에서 개략적인 범위를 보여주고 있다. 물론 이런 범위는 주의 있게 다루어져야만 하고, 특별한 경우에 과부하량 기술을 사용하도록 해야 한다.

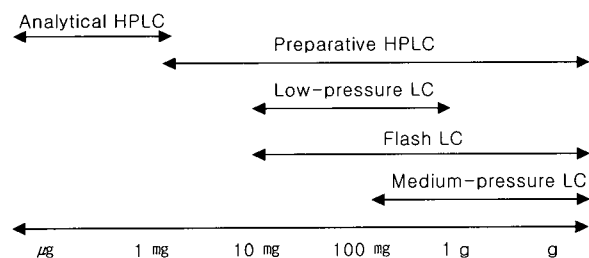


Figure 1. Approximate division of pressure liquid chromatography methods according to the preparative scale required.

제조용 시스템의 선택은 단지 시료의 크기 뿐만 아니라 행해지는 분리의 특징을 고려해야 한다. 이런 요소의 고려와 컬럼의 치수, 고정상, 압력, 유출 상태는 목적하는 분리에서 요구되는 것이다. 제조용 분리의 경우 경험 위주의 연구를 피해야 하며 이론적 방법들에 따른 매개변수들의 계산도 반드시 시도되어야 한다(13). 그러나 PLC에서 종종 발견되는 과부하량 주입은 크로마토그래피 매개변수들에 예측하는 모험을 하게 한다. 게다가, 분리의 최적화는 선형적 또는 비선형적 용출곡선을 포함하고 있다(14-16).

PLC의 효과는 속도, 분리도와 주입량에 달려있다(Fig.

2). 하나의 분리변수의 최적화는 다른 분리변수들에게 효과를 미친다. 예를 들면 유량을 증가시키면 분리도가 감소한다. 과량의 시료부피나 시료질량으로부터 컬럼의 과부하가 일어나서 주입량이 너무 크면 분리도는 감소된다(17). 간혹 특정 순도와 회수율로 적당한 양에서 특별한 화합물을 격리하는 경우도 있다. 생산규모의 크로마토그래피는 단위시간당 분리 가능한 성분의 양이 가장 중요한 기준이다.

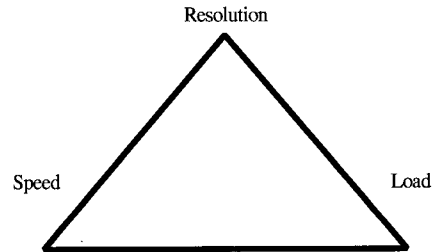


Figure 2. Relationship of separation variables in PLC.

작업처리량 (주어진 단위 시간동안에 분리된 용질의 무게)은 컬럼의 부피와 용매의 유량 등 변수에 의존하며 때때로 고순도로 인해서 비용이 증가되기도 한다. 분리도만이 PLC에서 항상 중요한 요인은 아니라는 것이다. PLC는 가능한 빠르고 값싸게 고순도 제품을 분리해야 한다(18). 다공성 충전물로 채워진 컬럼에서 압력의 증가는 용매의 유량을 증가시켜 더 빨리 분리를 한다. 더 미세한 다공성 재질의 충전물을 사용하여 높은 분리도를 얻을 수 있다.

PLC는 목적과 규모면에서 고성능 LC와 구별된다. 분석용 LC 혹은 HPLC가 혼합물의 정성과 정량분석을 수행하고 PLC는 정제된 화학물질을 분리하는 목적을 수행한다. PLC의 규모는 보통 HPLC의 규모보다 크고 1회 운전규모는  $\mu\text{g}$ 에서  $\text{g}$ 정도의 범위이다. 생산용 LC는 상업용 제품생산을 위해 수행되는 LC라고 정의될 수 있고, 비용이 중요시된다는 점에서 PLC와 다르다. 컬럼은 주입된 시료량이 너무 커서 용출된 피크가 극소량 또는 분석용 시료의 주입결과보다 현저하게 넓을 때 과부하 되었다고 한다. 컬럼이 과부하 되었다고 하는 것에는 두 가지가 있다. 첫째, 주입된 시료의 부피가 너무 커서 용질의 농도가 낮고 분배등의 선형부분범위에 있음에도 불구하고 용출된 피크가 분석용 시료에서 보다 현저하게 넓을 때이다. 이런 과부하를 “volume overloading”이라고 부른다. 두번째로, 주입된 용질의 농도나 양이 너무 커서 매우 적은 주입부피에서도 용출된 피크가 분석용 시료보다 넓을 때이다. 이런 경우, 용질의 농도는 더 이상 분배 등의 선형부분범위에 있지 않다. 그런 과부하를 “concentration overloading”라고 부른다. 부피와 농도 과부하는 물론 조합되기도 한다. 그런 경우 용출된 피크의 넓이는 주입된 부피를 감소시키거나 주입량을 줄이는 것에 의해 감소되어질 수 있다. 단순히 주입된 부피가 충분히 큰 부피 과부하 조건 하에서 용출된 피크는 대칭형태를 나타낸다. 농도 과부하 조건하에서는 피크가 일반적으로 보통 앞부분이 매끄럽고 뒤가 뭉뚱한 비대칭형태가 될 것이다(19). 작은 주입량에서 피크의

농도와 축방향 거리에 대한 관계식은 잘 알려진 가우스 형태를 따른다.

$$C = \frac{Q}{\sqrt{2\pi H_0 z}} \exp[-\Delta z^2 / 2 H_0 z] \quad (1)$$

C는 컬럼 도입부로부터의 거리 z에서 충전층의 단위 부피 당 양에 따라 계산된 컬럼 내에 있는 용질의 총 농도이고, Q는 컬럼의 단위 면적당 주입된 용질의 양이며, H<sub>0</sub>는 미소한 시료에 대한 단의 높이이고, z는 피크 최대치의 거리이며 Δz는 피크 최대치로부터 계산된 거리이다. 단순하게 낮은 농도의 용질이 주입되었지만 주입부피가 클 때 피크의 형태는 다음과 같이 표현된다.

$$C = \frac{Q}{2z_{inj}} \left\{ \operatorname{erf} \left[ \frac{\Delta z}{\sqrt{2 H_0 z}} \right] - \operatorname{erf} \left[ \frac{\Delta z - z_{inj}}{\sqrt{2 H_0 z}} \right] \right\} \quad (2)$$

z<sub>inj</sub>는 순간적으로 주입된 컬럼에서의 용질의 띠의 너비이다. 에리함수는 다음과 같이 정의된다.

$$\operatorname{erf} \left[ \frac{x}{\sqrt{2}} \right] = \sqrt{\frac{2}{\pi}} \int_0^x \exp \left[ -\frac{x^2}{2} \right] dx \quad (3)$$

z<sub>inj</sub>는 다음 식에 의해 주입된 시료의 부피, V<sub>inj</sub>와 연관된다.

$$z_{inj} = V_{inj} / A_m (1 + k) \quad (4)$$

A<sub>m</sub>은 컬럼의 단면적이고 k는 용질의 컬럼 체류인자이다. 컬럼에서 주입된 직후의 총 농도, C<sub>0</sub>는 아래와 같이 주어진다.

$$C_0 = Q / z_{inj} \quad (5)$$

z<sub>inj</sub> → 0일 때, (2)식은 (1)식으로 축소된다. 분석용 시료의 경우, 띠에서 용질의 최대 농도는 C<sub>max</sub> = Q/√(2πHz)이고 z<sub>inj</sub>이 충분히 커서 농도 과부하인 경우에는 경사도가 띠의 이동에 따라 1/√z이다. 농도 과부하조건하에서의 상태는 속도론적 확산과 열역학적 확산의 효과 때문에 훨씬 더 복잡하다. 그러나 속도론적 확산이 무시할만할 때에는 간단한 결과가 얻어진다. 분배등온이 C<sub>m</sub>축 (C<sub>m</sub>은 용출 농도이다)에 대해 오목할 때 피크는 앞부분이 매끄럽고 뒤가 뾰족하다. 피크의 뾰족한 부분 안에 특정한 C<sub>m</sub>을 가진 요소의 이동과 일치하는 컬럼의 용량비는 다음과 같이 주어진다.

$$k_{|c} = \frac{dC_s}{dC_m} \quad (6)$$

C<sub>s</sub>와 C<sub>m</sub>은 각각 정지상과 이동상에서 용질에 대한 단위부피당 농도를 말하며, 전체 농도 C는 다음과 같이 주어진다.

$$C = C_s + C_m \quad (7)$$

앞부분에 대한 컬럼 용량비는 다음과 같은 방정식을 따른다.

$$k_{front} = C_s / C_m \quad (8)$$

속도론과 열역학적 효과로 인하여 일어나는 띠 확산이 발생하는 복잡한 경우에는 분배등온이 간단히 표현될 수 있는 경우에만 아래와 같은 명확한 수학적 표현을 구할 수 있었다.

$$C_s = k_0 C_m (1 - \alpha C_m) \quad (9)$$

근접한 해는 Cretter와 Rocca(20)에 의해 실험적으로 테스트되었고 Poppe와 Kraak(21)에 의해 컴퓨터 시뮬레이션을 사용하여 검증하였다.

일반적으로 사용되는 제조용 크로마토그래피에 사용되는 소프트웨어와 하드웨어의 특성을 설명하고자 한다.

### 기술의 현황

PLC는 소프트웨어로 공정의 최적화를 디자인하고 분석용과 구별되는 제조용 하드웨어로써 실제적인 실험 혹은 생산에 적용된다. 분석용 크로마토그래피로부터 제조용으로의 scale-up에는 공정을 위한 소프트웨어의 디자인, 모사, 최적화, 분석 등이 하드웨어의 적용에 도움을 주며 생산시간을 줄이고 경비를 줄이며 하드웨어의 실험 및 생산이 소프트웨어에 의한 모사를 검증하여 준다. 아래에 소프트웨어와 하드웨어의 종류, 특성, 응용 등을 나열하였으며 소프트웨어와 하드웨어의 결합으로 분리도, 생산력, 비용 등을 계산하고 설계하고 검증한다.

Table 1. Price of softwares

Software	Price	Reference
HCI program	*	31
ADSim/Chromatography	\$ 430/\$ 430	48/49
DryLab	\$ 6,450	51
ChromSword	\$ 6,150	52
HPLC Optimization	\$199	54
ACD/LC Simulator	\$ 995	55
EZChrom Elite	\$ 100	56
Chrom Perfect	\$ 2,000	57

\*:noncommercial

### 소프트웨어

크로마토그래피에 적용하는 소프트웨어는 여러 가지가 있다. 본문에서는 8개의 소프트웨어에 대하여 소개하였다. Table 1에서는 각 소프트웨어의 가격을 나타내었다. 소프트웨어의 가격은 그 성능, 지역에 따라 다르다. 또한, 첨가되는 기타 소프트웨어의 많고 적음에 따라 가격이 다르다. ChromSword와 같은 경우에는 첨가되는 소프트웨어가 많아

서 가격이 높게 표시되었고 HCI program 같은 경우에는 일반적인 소프트웨어를 작성하여 사용할 수 있다.

**HCI program**

분석용 및 PLC의 사용이 급증함에 따라 생산성을 극대화시킬 목적으로 인하대학교 화학공학과 고순도분리연구실에서는 HCI 프로그램을 개발하였다. 이 프로그램은 크로마토그래피 분리의 수학적인 도구로서 제안되어지고 만들어진 소프트웨어이다. 최근, HPLC의 이용은 의학 산업을 위한 생물학적인 분리연구에 그 사용이 증가하고 있다. 하지만, HPLC의 최적조건을 선정하는 것은 많은 시행오차를 가지는 힘든 작업이다. 그래서 HCI 프로그램은 분석용 HPLC에서 최적조건을 선정하는 것보다 쉽게 하기 위하여 제안되어진 소프트웨어이며, 또한 HCI 프로그램은 단 몇 번의 실험 데이터를 입력시킴으로써 최적조건을 선정 뿐만 아니라, 경제성 측정에도 사용할 수 있는 HPLC 연구에 유용한 소프트웨어이다. HCI 프로그램의 특징으로는 정상, 역상 컬럼에서 사용이 가능하고 일정용매조성법과 구배용매조성법에 사용이 가능하며 이동상의 조성과 물질의 체류인자와의 상관관계를 이용하여 물질의 체류시간을 예측할 수 있다(22-27). 계산된 결과를 모니터와 PC에 보여줄 수 있으며 텍스트 파일로 변환이 쉽다. 분석용과 제조용 LC를 위한 step-by-step procedures 기능을 제공한다. 프로그램을 실행하여 주어진 이동상조성에서 시료의 용출시간을 예측하기 위해서 기본적인 기능을 이용하였다. 또한, 기능을 이용하기 위해서 컬럼 효율과 분리도, 주어진 조건에서 시료의 용출곡선과 최적의 분리조건을 얻을 수 있다(28-30). 최적조건을 예측하기 위해서는 컬럼의 내경, 이동상의 종류, 시료의 농도, 시료의 주입부피, 분석조건에서의 용출시간 등 초기입력 자료가 요구되어진다. 또한, HCI 프로그램은 원통모양의 컬럼만 사용할 수 있으며, 3성분 이상의 이동상 시스템까지 사용할 수 있으나 용질은 10개로 제한한다.

HCI 프로그램은 다음의 3가지 체류모델을 이용할 수 있다.

- Snyder 모델 (준실험식, 이성분계 이동상)  

$$\log k = \log k_w - SF \tag{10}$$

- Langmuir 모델 (이론적 모델, 이성분계 이동상)  

$$k = A + B/F \tag{11}$$

- Polynomial 모델 (실험식, 이성분과 삼성분계 이동상)  

$$\ln k = A + BF + CF^2 \tag{12}$$

$$\ln k = A + BF + CF^2 + DG + EG^2 \tag{13}$$

각각의 용질에 대해서 용질의 농도분포곡선, 체류시간, 분리도를 계산한다. 비선형 흡착평형식에 대해서는 각각 용질의 용출곡선계산을 위한 분리시간이 요구되어진다. "Evaluation" 모드에서 HCI 프로그램은 주어진 조건에서 용질의 용출곡선을 계산한다. 계산되어진 용출곡선에서 HCI 프로그램은 분리도, 체류시간, 분리시간을 제공한다. 그리

고 HCI 프로그램은 사용자가 원하는 순도와 수율에 대해서 계산할 수 있다. 각각의 용질에 대해서 최적의 이동상, 운전조건, 체류시간, 분리시간, 분리도를 계산하여 준다. HCI 프로그램은 아직 비선형 크로마토그래피의 최적화는 지원하지 않는다. HCI 프로그램은 결과로서 사용자가 원하는 순도와 수율에 대해서 계산할 수 있으며 용출곡선은 ASCII 파일로서 텍스트 파일로 변환이 가능하다. "Optimize" 모드에서 HCI 프로그램은 최적의 이동상조건에서 용출곡선을 계산하고 이동상의 최적화를 연속적으로 수행한다. "Cost estimation"을 이용하면, HCI 프로그램은 계산된 분리시간에 따른 용매가격을 계산할 수 있다. HCI N calculator는 기본적으로 이론단수(N)를 계산한다. 사용자가 N을 계산할 때, 사용자는 HCI에 계산되어진 값을 보낼 수 있고, 사용자가 계산하고 최적화를 원하는 값을 사용할 수 있다. 사용자가 N calculator를 사용하기 위해서 윈도우 운영체제하에 HCI 프로그램을 설치해야 한다. HCI에서 예상되어지는 용출곡선은 체류 모델 (retention model)을 이용하여 계산한다. 이 단계에서는 HCI는 사용자의 "trial run" 으로부터 실제의 변수를 필요로 한다. 데이터 기재사항은 최소한 3개의 체류시간과 첨가제의 %를 필요로 한다. Ternery-ploynomial 체류모델에서는 2개의 첨가제 %가 필요하다. 무용시간 (dead time)은 최소한의 체류시간보다 작아야 한다. Calculate 버튼에서는 계산이 수행되고 Status와 result창에서는 계산되어진 결과를 보여준다. "Send to HCI" 버튼은 계산되어진 결과를 HCI로 보내는 버튼이다. 공정의 최적화는 메뉴바의 "Optimize"와 툴바에서의 "OPTIMI..."를 선택한다. 자료가 불충분하다면, 계산과정은 수행되지 않는다. 유속을 입력하면, 자동적으로 시간범위가 실행된다. 사용자는 "Optimizing condition" 대화창에서 이동상조성과 분리도의 범위, 그리고 최초의 구배용매조성시간을 결정해야 한다. 계산되어진 용출곡선과 피크의 정보(시료의 이름, 체류시간, 최적 농도, 피크의 폭, 분리도)와 구배용매조성표를 윈도우에서 볼 수 있다(31).

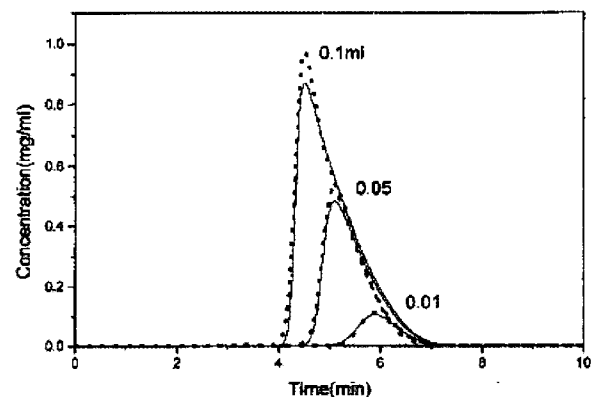


Figure 3. Comparison of experimental and calculated elution profile of 5'-GMP (Langmuir Isotherm: a=3.86, b=0.000349, mobile phase: 20 mM potassium phosphate, 15 μm packing, C<sub>18</sub> (Merck)).

제조용에서 분리하고자 하는 물질의 양이 많기 때문에 관내에서의 물질이 선형흡착에서 벗어난 비선형흡착이 된다. Fig. 3은 5'-GMP (Guanosine 5'-monophosphate Disodium salt)

의 주입량을 변화시키면서 실험한 크로마토그램과 HCl 프로그램으로 계산한 용출곡선을 비교한 것이다(32). HCl는 HCl의 add-in 프로그램으로서 비선형흡착평형식의 실험상수를 구하는데 사용되며 주로 dynamic method에 의해서 구하게 된다. 5'-GMP의 주입량이 증가할수록 체류시간이 감소하여 Langmuir isotherm으로 표시할 수 있으며 실험적으로 구한 크로마토그램과 계산에 의한 용출곡선이 비교적 잘 일치하고 있다.

### Aspen Software

Aspen ADSim은 상용화된 흡착공정의 개발과 분석을 위해서 사용되는 소프트웨어이며 상용화되는 기체와 액체흡착공정의 전체영역에서 모의실험을 할 수 있는 소프트웨어이다. 또한, 우수한 흡착제의 발전, 보다 좋은 흡착공정의 개발과 공장운전시간을 증가시킬 수 있는 최적단의 기술이다. ADSim은 공정기술자가 전체의 흡착공정과 순환운전의 특징을 모델링 도구로서 표현할 수 있다. 공정의 개발을 증가시킬 수 있고 공장의 운전시간을 증가시킬 수 있는 모델이다. 흡착공정의 모델로 최적단화된 것이며 등온흡착에 대해서 알 수 있다. 물질수지를 모델링 할 수 있으며 공정을 흐름도로 표현할 수 있는 모델을 가지고 있다. 순환 매니저로서 그래픽을 토대로 하고 있으며 물질치를 계산할 수 있고 열용량을 모델링할 수 있다. ADSim은 흡착공정기술의 다변화와 빠른 생산을 위한 시뮬레이터로 사용되어지며 이해하기 쉬운 flowsheet 시뮬레이터를 사용하여 기체흡수공정을 묘사하여, 공정의 최적화와 연구의 발전을 가져올 수 있다. 기체 시스템에서 ADSim은 pressure swing process (PSA)(33-37), thermal swing process (TSP)(38), vacuum swing process (VSA)(39, 40), reactive-adsorption process (RAP)(41)를 포함하는 모든 기체흡수 공정에서 적용할 수 있다. 액체 시스템에서 ADSim은 이온교환(42), 모사이동층 흡착 (SMB)(43), 크로마토그래피(44-46) 그리고 대용량의 액체 흡수공정(47)에서 적용될 수 있다. 기체흡착공정은 본래 동적이고 순환공정이므로 경험적인 방법과 직관적인 방법으로 설계하는 것은 어렵다. ADSim은 공정기술자에게 전체의 흡착공정을 모델링 할 수 있고 순환공정을 제어할 수 있는 도구로서 사용되어 진다. ADSim으로 결정되어지는 요소로는 공장의 위치 선정, 공정의 최적조건, 요구되어지는 생산물의 유량, 순도, 생산량을 유지와 획득하기 위한 계획, 많은 공정 변수에서 흡착제의 선택, 순환단계의 가장 좋은 결합, 순환시간의 최적화 등이다. ADSim은 모든 영역의 공업적 흡착공정에서 사용할 수 있기 때문에 활성탄, 제올라이트, 알루미늄, 실리카, 그리고 분자체를 가지고 있는 다양한 흡착제들을 모델링 할 수 있는 기능들이 지원된다.

흡착 시스템을 설계하는 사람은 일반적으로 실험공정을 연구하기 위하여 많은 연구비와 시간을 소비하게 된다. ADSim모델은 공정을 결정하기 전에 대안을 테스트하는 엔지니어에게 많은 편리를 제공한다. ADSim의 사용함으로써 기술자들은 흡착공정을 설계함으로써 얻는 이점으로는 시험공정을 적게 할 수 있고 전체 설계시간을 감소시킬 수 있으며 공장의 선정을 빠르게 할 수 있다. 또한, 재현

성과 유용성을 증가시킬 수 있고 제어 및 제품의 질을 향상시킬 수 있고 분리공정의 경쟁력을 가질 수 있으며 보다 경제적인 흡착제를 사용할 수 있다. ADSim을 사용하면 공장의 운전을 좋게 할 수 있고, 공정변수의 변화에 대한 대처를 좋게 할 수 있는 장점을 얻을 수 있다. ADSim을 사용하면, 엔지니어는 생산물의 순도요구량과 수율과 공급조성을 변화시키는 것에 대한 새로운 운전조건들을 알 수 있다. 운전단계를 좋게 만들고 에너지와 원료비를 절감할 수 있으며 생산량을 증가시킬 수 있고 일정시간에 대한 처리량을 증가시킬 수 있다.

ADSim은 모든 상업적 흡착공정의 문제점을 해결하는데 기술적 편리함과 유통성과 쉬운 사용법을 가진다. ADSim은 다성분 흡착평형식, 물질전달, 역류 그리고 열적효과 등의 흡착현상을 분명하게 설명할 수 있다. ADSim은 등온흡착에서 많은 선택성을 제공하고 실험실과 시험공장이나 공장의 자료에 대한 등온 매개변수를 결정하기 쉽게 해준다. 등온모델은 분압과 부분 농도 모두 사용할 수 있다. 단일조성이나 혼합조성에 대해서 등온모델은 ADSim으로 모델링을 하는 도구가 되어지고 적용할 수 있다. 제공된 I.A.S. 다성분 흡착평형식은 사용자가 지정한 순수성분의 흡착평형식과 함께 이용될 수 있다. ADSim은 몇몇의 물질전달 모델을 제공하고 적용할 수 있는 종류와 정밀한 수준의 요구량을 기본으로 선택할 수 있다. 물질전달 계수는 상수와 ADSim을 사용하는 자료들로부터 소급되거나 ADSim으로 예견되어지는 상관관계로부터 얻을 수 있다. 모든 흡착공정은 다르고, 때로는 다층 충전탑과 같은 값이 비싼 장비를 포함하고 있지만 ADSim은 전체 공정의 모델에 이용될 수 있다. 처음의 탑에서 많은 층과 각각의 흡착제의 조건을 지정할 수 있고 탑에 밸브, 압축기, 펌프, 탱크, 파이프, 혼합기, 분리기와 열 교환기 등 값이 비싼 장비를 추가할 수 있다. 모든 흡착공정은 몇몇의 순환단계로 구성된 순환공정으로서 각 단계를 지나는 동안, 공정의 다른 모드에서 각각의 흡착제와 값이 비싼 장치를 사용한다. ADSim "Cycle Managers"는 순환공정이 변환에 따라서 빠른 변화를 유동적으로 구할 수 있다. 예를 들어, ADSim "Cycle Manager"는 열교환기의 개폐, 밸브의 개폐를 동시에 이용할 수 있다. "Cycle Manager"를 이용함으로써, 엔지니어는 순환단계, 즉 한 단계에서 다른 단계로 순환흐름 및 역류에 대해서 정의할 수 있다. ADSim은 최적단의 그래픽 체계를 이용하는데 이것은 윈도우<sup>®</sup>2000, 윈도우<sup>®</sup>XP 하에서 적용 된다. ADSim은 엔지니어가 공정에 대한 세부적인 자료가 없어도 모델에 기초한 공정의 초기값을 입력하면, 묘사된 공정의 결과를 얻을 수 있다. 묘사된 결과값은 그래프, 표 그리고 리포트를 통하여 유기적으로 표현된다. 공정단계와 순환의 평균치는 또한 자동적으로 ADSim에서 계산되어 진다. ADSim은 AspenTech의 정밀한 물성 시스템 (Properties plus)에 의해서 표현되어진다. "Properties plus"를 이용하여 사용할 수 있는 광대한 데이터베이스와 물성식에 관한 식들은 엔지니어가 넓은 범위에서 압력과 온도에서의 물성을 공정에서 신뢰할 수 있게 해준다. ADSim은 모델이 요구되어지는 가정과 흡착공정에서 열 효과에 대한 많은 식을 제공한다. 간단한 선택사항인 등온

은 작은 규모의 기체흡수와 기체공정의 회석과 액체흡착 공정에서 사용된다. 비등온과 단열모델은 대부분 기체흡착 공정에서 사용된다. 이런 선택사항은 흡착열과 탈착열로부터 가압과 감압으로부터 반응의 결과로부터 수평적인 온도의 측면에서 결정할 수 있다. ADSim은 또한 흡착제와 가스 혹은 액체사이의 열교환기에 대해서 모델을 할 수 있다(48).

Aspen Chromatography는 액체, 연속식 크로마토그래피 공정 모두에 적용할 수 있는 모사시스템으로서 모델링, 모사, 설계와 최적화에 대해서 사용이 가능하게 설계하였다. 공정에서 자본비용과 운전비용을 감소시키고, 설계를 용이하게 하기 위한 목적으로 제작되었고 Aspen Modeler 10 Technology에 기반을 두고 있으며 다른 AspenTech 제품 (Aspen Custom Modeler, Aspen Dynamics, Aspen ADSim)과 변환이 가능하다. Aspen Chromatography는 사용이 쉽고 약학 및 생물 공정, 식품 가공 공정 등 분야에 사용된다.

Aspen Chromatography에서 화면의 주요 요소와 용어는 주로 메뉴, 툴바, flowsheet창, 메시지창, 상태바, 모사검사창 등이 있다. Flowsheet창은 만들어진 공정의 모델을 보여주는 창으로서 Drag and Drop을 이용하여 만들 수 있으며 In-built connection stream으로 블록을 연결한다. Flowsheet창에서 수행할 수 있는 작업으로는 블록의 이동 및 삭제, 아이콘의 교체 및 회전, 흐름을 재연결하고 분리, 변수 검색 등을 할 수 있다. 메시지창에서는 입력된 파일에서 결과에 대한 모든 메시지가 표시되고, solvers에서의 출력도 표시된다. 모사검사창의 주요 구성요소들은 다음과 같다. 모사에는 해의 옵션과 현재 모사의 단편이 있다. 보편화된 모델링, 사용자 라이브러리가 있는데 후자에는 모델과 내장되어 있는 아이콘, 형식, 문자 (scripts), 업무 (tasks), 흐름의 유형, 매개변수, 포트 등의 유형이 있다. 시스템 라이브러리는 Built-in 형태이고 크로마토그래피 라이브러리에는 공정도로 이동시킬 수 있는 모델과 각각의 변수, 포트 그리고 흐름의 유형이 있다. 공정도에는 블록과 흐름에 대한 정보와 문자, 업무, 형식이 있고 구성성분 목록에는 구성성분 목록명을 지정하고 물성표로부터 불러오는 구성성분 목록을 지정 할 수 있다. 모사한 단편 (snapshot) 파일을 저장하여 결과를 기록하고 진단하여 분해된 정보를 읽을 수 있고 사용자가 보기를 원하는 부분을 불러오고 시간이나 축방향으로 표현할 수 있다(49).

Aspen Chromatography에서 사용되는 흡착평형식은 아래와 같다.

- 선형

$$W_i = IP1_i C_i + IP2_i C_i \tag{14}$$

- 확장된 Langmuir

$$W_i = IP1_i C_i \frac{IP2_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^n IP2_j C_j} \tag{15}$$

- 확장된 선형 Langmuir

$$W_i = IP1_i C_i + IP2_i \frac{IP3_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^n (IP3_j C_j)} \tag{16}$$

- Dual-site Langmuir

$$W_i = IP1_i \frac{IP2_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^n (IP2_j C_j)} + IP3_i \frac{IP4_i C_i}{1 + \sum_{j=1}^n (IP4_j C_j)} \tag{17}$$

- 순수 성분 Langmuir (with I.A.S.)

$$W_i = IP1_i \frac{IP2_i C_i}{1 + IP2_i C_i} \tag{18}$$

여기서, IP1, IP2, IP3, IP4는 각각 해당하는 흡착평형식에 대한 매개변수들이다.

평가는 모델링을 할 때 실험적 실제 공정 데이터를 통해서 정해지며 모델은 정당한 매개변수 값을 사용하여야 한다. 어떤 실행 조건에서는 합당한 매개변수를 평가하여서 모사할 수 있다. Aspen Chromatography 모델에 합당한 매개변수를 가지는 실험적 데이터는 평가 모듈을 통하여 결정된다. Aspen Chromatography는 모사이동층의 디자인과 최적화에 많이 사용된다(50).

**DryLab**

DryLab 크로마토그래피 모델링 소프트웨어는 빠른 실험적 조건의 변화에 따른 크로마토그래피의 분리공정을 빠르고 간단하게 하기 위해 사용하는 소프트웨어이다. 두 개 또는 그 이상의 실제 크로마토그래피에서의 다양한 조건을 조합하여 크로마토그램을 예측하는데 사용한다. 실험장치에서 반복적인 실험을 통해 얻은 결과보다 분리에 대한 더 많은 정보를 제공한다. 유속이나 구배, 온도, 컬럼 등과 같은 크로마토그래피 조건들은 소프트웨어에서 모델링 하여 공정의 방법을 구하는데 필요한 시간이 절약된다.

DryLab은 분리과정의 수학적 모델을 세우기 위해 하나의 변수 (percent organic, gradient time, pH)를 변화시킨 후, 두 번 또는 그 이상의 실험에 의한 체류시간과 면적을 사용한다. 그런 변수의 수치를 입력하여 얻은 결과로부터 분리를 정확하게 예측할 수 있다. 또한, DryLab은 LC에서의 컬럼 내경, 입자 크기, 유속, 무용부피와 GC에서의 컬럼 길이를 변화하여 설계한다. DryLab의 장점으로는 좋은 분리조건을 빠르게 찾아내고 최소의 시간에 방법을 최적화한다. 확실한 방법을 예측하고 실행시간이 짧으며 다른 장치와의 호환이 가능하고 복잡한 혼합물에서도 몇 번의 과정을 통해서 시료를 위한 최적의 분리조건을 예상한다. DryLab을 이용한 시료와 기기의 검량을 수행하는데 두 번 또는 그 이상의 실험에 의해 얻은 최상의 자료 시스템들로부터 DryLab으로 데이터들을 입력하여 데이터에 의한 모델링을 기초로 한다. 분리의 최적화를 얻기 위하여 DryLab이 적절한 데이터를 가지고 있을 때 실험 변수들에 의한 새로운 수치를 입력하여 새로운 실험조건들을 간단하게 얻어낼 수 있다. 이동상 조성을 결정하기 위해 분리도 영역을 사용하면 최적의 분리도를 얻어 낼 수 있다. 컬럼 내경, 유속, 구배용매 조성 조건과 같은 변수들을 조절하여 fine-tune을 이용한다. 결과의 확인에 있어서 DryLab이 시료에 대해 예측한 조건을 사용하여 실험실에서 최종 크로마토그램을 실행시킨다. 만일 좋은 결과가 얻어진다면 다음 시료나 방법을 적용시킬 수 있다. DryLab은 분리 공

정을 간단하고 빠르게 하고 실험실에서 하는 것보다 더 넓은 실험조건에 대한 영향을 보여주고 중복되는 실험과 에러를 줄인다. 최적화 공정에서 DryLab에서 예측되어지는 크로마토그램은 조건의 변화에 따른 결과의 변화를 보여주므로 피크의 움직임 예측하며 피크에 따른 분리로서 모델링을 한다. 강력한 분리도 영역을 제공하여 확실한 방법을 예상하도록 하며 분리도표에 의해 자세한 분리도정보를 제공한다. 결과표는 분리에 대한 예상을 위해 피크의 정보를 제공한다. 컬럼 최적화에서는 컬럼 길이, 컬럼 내경, 컬럼 입자크기, 유속을 변화시켜서 분리에 미치는 정보를 제공한다. 구배용매조성 편집기에서는 분리를 위해 최적의 선형구배용매조성을 예상하여 최종 구배용매조성을 설계하고 요약표는 유기적 실험과 DryLab 실험을 비교한 특징을 제공한다.

DryLab은 조건에 대한 조그마한 변화라도 방법을 향상시킬 수 있다는 것과 새로운 장비나 컬럼에도 방법을 적용할 수 있다는 것을 보여준다. 분석에 대한 시간을 짧게 하고 싶다면 DryLab은 다른 컬럼의 구성 또는 유속에 의해 분석이 간단해짐을 보여준다. 피크의 꼬리 끌기가 분리에 문제가 된다면, 보다 실제적인 모델링을 위한 DryLab 데이터에 꼬리 늘어짐 요소 (peak tailing factor)들을 추가시킬 수 있다. DryLab의 정확한 분리도 영역은 분리가 민감한 반응이나 그렇지 않은 경우의 결과를 보여주고 에러가 발생하는 것을 피하여 최적의 조건을 만들어 낸다. 만일 단일 물질의 거동에 대한 연구가 필요하다면 DryLab의 분리도 영역 조절은 분리의 조건들이 분리도에 미치는 영향을 보여준다. 만일 분리의 복잡성 때문에 구배용매조성 분리를 하지 않는다면 DryLab의 구배용매조성 편집기를 사용하면 되고 구배용매조성 편집기는 한번의 클릭만으로 구배용매조성을 만든다.

구배용매조성이 변화함에 따라 DryLab은 즉시 크로마토그램을 변화시키며 몇 번의 구배용매조성 시간을 변화시키는 것 대신에 실험실에서 한 번의 구배용매조성을 실행하면 된다. DryLab은 선형과 연속 단계 구배용매조성을 설계한다. 다른 기기로 구배용매조성용출법을 적용할 필요가 있다면 다른 기기의 구성으로 방법을 조절해서 DryLab의 구배용매조성 편집기를 사용할 수 있다. 용출법의 변화에서 일정용매조성용출법이 구배용매조성용출법으로 변화가능함을 알 수 있다. 모델의 복잡한 분리와 분리방법의 결정에서 DryLab은 그래픽 또는 표 형태의 결과를 고화질로 출력하도록 설치되어 있다. 또한 결과들은 스프레드시트와 크로마토그램으로 출력할 수 있다. "Laboratory" 창에는 5개의 주 영역이 있고 각각은 창의 윗부분에 있는 적합한 탭을 클릭하여 볼 수 있다. 분리도 영역은 이동상과 컬럼의 사용으로써 최적분리의 가능하고 이동상의 조성은 시료의 최적 분리도를 제공할 것이다. X-축은 활용하고 있는 매개변수의 값들을 나타낸다. 즉 X-축은 구배용매조성 시간 ( $t_G$ )의 수치이다. Y-축은 분리시 피크의 분리도를 나타낸다. 분리도 영역의 아래에 화살표가 분리도 표시이다. 이 표시는 plot의 분리도 수치를 선택하기 위해 X-축을 따라 drag 되어질 수 있다. 또한 수직선은 이 표시의 위치와 분리도를 표시한다. 그 표시가 조정되면 DryLab 소프트웨

어는 선택한 조건 (구배용매조성시간,  $t_G$ )을 근거로 하여 분리도 영역 아래 plot 면적 내에서 크로마토그램을 예측한다. 분리도 영역의 붉은 선은 소프트웨어 모델링이 정확하게 예측할 수 있는 한계를 표시한다. 이 범위의 외의 모사는 보다 덜 정확하다. 만일 이 범위 외에서 예측을 고려한다면 이 범위를 확장하기 위해 부가적인 기능을 수행해야 한다. 분리도 영역아래 나타난 크로마토그램은 현재 피크 표시를 선택한 값과 부합한다. 컬럼의 최적화와 상태창은 분리조건에 대한 정보를 나타내는데 이 몇 가지 정보는 편집할 수 있고, 분리를 예상하는데 사용되어질 수 있다. 이 구간에서 수정된 것은 크로마토그램을 표시하는데 반영된다. 분리도표는 다양한 조건에 대한 분리정보를 나타낸다. 최소 분리도인 구배용매조성 시간 ( $t_G$ )나 critical pair와 가장 늦은 체류시간 ( $t_R$ )들은 이 표에 나타내어질 수 있다. 크로마토그램은 표 아래에 나타내어지며 이 크로마토그램은 현재 표의 선택된 행에서의 조건을 반영한다. 컬럼 최적화와 상태 창들은 분리도 영역에 나타내어진다. "Results table"은 작업하는 매개변수 (예를 들어 구배용매조성시간,  $t_G$ )의 선택된 수치(분리도 plot로부터)들을 위한 피크 데이터를 나타낸다. 이 표에서의 정보는 피크사이에서 피크 이름, 예상되는 체류시간 ( $t_R$ ), 피크 면적, 꼬리끌기인자, 평균 체류인자, 피크 면적, 분리도를 포함하고 있다. 크로마토그램 plot은 'Results table' 아래 위치해 있고, 현재 선택된 조건 하에서의 분리를 나타내고 있다. 컬럼 최적화와 상태창들은 이전에 다른 것과 같다. 요약표는 예상되는 결과들 사이에서의 시각적인 자료를 제공한다. DryLab 소프트웨어에서 보여 지는 데이터들의 해석을 하는 동안, 툴바에서 있는 "Summary ( $\Sigma$ )" 버튼을 클릭함으로써 summary table 내로 선택된 데이터들을 입력할 수 있다. Summary table은 비교 목적으로 각 흐름에 대한 정보를 표시한다. 즉 매개변수의 값 ( $t_G$ ), 최소 분리도, 피크 수, 마지막 피크의 체류시간 등이다. 구배용매조성 편집기는 크로마토그래피 plot에서 예상된 분리를 보고 구배용매조성을 그래픽 적으로 수정하는데 사용되어진다. 구배용매조성이 조성되어질 때, 크로마토그램 plot은 새로운 조건하에서 예상분리를 반영하도록 수정되어질 것이다. 분리도 영역의 Y-축에서 가장 높은 점은 분리에서 최대 분리도와 일치한다. X-축에 일치하는 위치는 이 분리에서 제공하는 구배용매조성 조건을 보여준다. 만일 분리도 영역이 분리를 잘 나타내지 못한다면 다른 유기용매나 이동상 또는 컬럼을 변화하여 보다 많은 정보를 찾아 기입하는 것이 필요하다 (51).

### ChromSword

ChromSword는 최소한의 실험을 통해 LC에 빠른 분리조건을 제공해 주는 크로마토그래피 방법을 개발해 주는 소프트웨어이다. 다항식 모델을 사용하는 HPLC에서 방법을 구축하는 과정은 여러 번의 (한 이동상에서 한 유기용매의 다른 농도에 의한) 실험에 의한 자료를 입력함으로써 체류에 대한 방법을 세우는 것에 기반을 둔다. 체류방법을 설정한 후, 소프트웨어는 한 유기용매의 다른 농도하에서 다른 실험들의 결과를 전산모사 할 수 있고, 컴퓨터로써 최

적의 조건을 찾아낼 수 있다. ChromSword Auto는 전체 자동화 방법을 구축하고 ChromDraw Chemical Editor는 화학 구조를 포함하는 문서의 작성한다. Chrom Calculator는 8개 용매를 포함하는 혼합물의 계산을 통해 분리 방법을 구축한다.

ChromSword의 특징은 역상, 정상, 이온 교환 HPLC에서의 전통적인 최적 분리조건들뿐만 아니라 다중 배열 구배용매조성들을 최적화할 수 있다. 몇 번의 실험 또는 그 화학구조식에 의해 각각 다른 용질들, 다양한 컬럼, 용출에 의한 많은 실험을 최소의 시간동안 컴퓨터로 전산모사 할 수 있다. 이동상, pH값, 온도, 구배용매도표 등에서 유기용매의 농도를 최적화 할 수 있다. 성분들의 화학구조식을 알거나 두 번이나 그 이상의 실험에 의한 체류자료들을 입력 하여 일정조성용매법이나 구배용매조성법 용출을 위한 최적의 조건을 획득한다. 구조식을 알지 못하는 용질의 경우, 실험하려는 분자의 부피, 물과 산 또는 염기의 상호작용, pK 값들의 특성, 다른 역상 컬럼과 이동상에 대한 체류시간 등을 예상할 수 있다. Record time에서는 복잡한 분리를 위한 방법을 구축한다. 메탄올-물, 아세트나이트릴-물 그리고 테트라하이드로퓨란-물의 이동상에서의 일반적인 역상 컬럼의 특성에 대한 자료를 내장하여 체류거동에 대해 예상한다. 분리에 있어서 중요한 매개변수들 (체류인자, 선택도, 효율)이 변화함에 따라 분리도에 끼치는 영향을 분석할 수 있다. 만일 혼합물의 화학구조를 안다면 실험 없이 크로마토그램을 예상하고 그에 따른 이론적인 체류모델을 사용한다. 역상 LC에서는 화학구조식을 바탕으로 혼합물의 적합한 체류시간을 얻어내기 위해 일정용매 조성법이나 구배용매조성도표를 이동상에서 메탄올, 아세트나이트릴 또는 테트라하이드로퓨란의 최적조성을 예상할 수 있고 다른 컬럼과 다른 용리액의 혼합물의 크로마토그램과 크로마토그램 거동을 전산모사 한다. 또한, 이동상에서 유기용매의 농도를 최적화하고 이동상의 pH값과 온도를 최적화할 수 있다. 선형과 다중 배열의 구배용매조성법에서 자동적으로 구배용매조성도표를 최적화할 수 있다. 분리의 체류인자와 선택도를 위해 역상 컬럼의 매개변수들을 결정한다. 분리도가 좋고 나쁜 이유를 분석할 수 있으며 원자구조에서 화학구조로의 변환이 가능하다. 크로마토그래피 자료로부터 성분 (물의 부분물 부피, 물과의 상호작용력, pK 값)의 특성들을 결정한다. 정상 LC에서는 이동상의 온도를 최적화시키고 이동상에서 강한 용매의 농도를 조절한다. 이온교환 LC에서는 이동상에서의 온도와 버퍼 또는 염의 농도를 최적화시키고 분리도가 좋고 나쁜 이유를 분석할 수 있으며 내부 표준 방법을 사용하여 정량분석을 실행하고 검량표를 실행시킬 수 있다(52). 역상 LC는 고감도, 정확성, 재생성이 우수하기 때문에 오래 전부터 염기, 뉴클레오사이드, 뉴클레오타이드, 올리고뉴클레오사이드를 분리하는데 사용되어 왔다(53). ChromSword를 이용하여 뉴클레오사이드의 분리를 위한 역상에서의 pH와 온도의 최적화를 예로 들 수 있다. 소프트웨어를 이용하여 공정에서의 pH와 온도에 대한 최적화를 모사하여 보다 빠르고 쉽게 생산화를 실현할 수 있다.

### HPLC Optimization

HPLC Optimization은 제조용 HPLC로의 대형화 뿐만 아니라 일정용매이나 구배용매 HPLC조건을 최적화할 수 있고 두 개의 초기 구배용매 실행조건으로부터 분리도를 측정한다. 유기용매의 LC분리를 위해 용출순서나 체류시간을 전산모사 하는 소프트웨어이다. 실행순서로는 같은 시작점과 끝점의 구배용매를 사용하여 두 개의 다른 구배시간에서 두 개의 구배용매 실행하고 무용부피, 유속, 컬럼 길이, 이동상, 시작점과 끝점에서 용매의 분율, 성분 수, 구배용매 실행 시간, 피크 이름, 체류시간에 대한 면적을 입력한다.

HPLC Optimization의 특징은 HPLC 분리를 위해 최적화된 일정용매에서의 이동상 조건, 다른 이동상에서의 동등한 용리세기의 일정용매조성, 최적화된 구배용매조건, 제조용 HPLC로의 대형화 조건 및 최적의 체류시간을 제공한다. 크로마토그램을 전산모사 하고 각 성분 분자량의 측정이 가능하며 결과에 대한 출력이 용이하다. 윈도우 스프레드시트 프로그램으로부터 데이터를 붙이거나 복사가 용이하며 일정용매조성법에서 각 성분의 최적 체류시간, 메탄올, 아세트나이트릴 그리고 테트라하이드로퓨란의 최적의 일정용매조성을 제공한다. 크로마토그램을 전산모사 하여 조성을 바꾸었을 때 체류시간은 단지 새로운 조성을 입력하여 구할 수 있고 구배용매조성법에서는 최적 체류시간과 각 성분의 분자량을 측정에 따른 최적 구배시간을 제공하며 구배시간을 변화시킴으로써 체류시간은 새로운 구배시간만을 입력하여 정밀 조정에서 한번의 구배용매법의 실행만으로 최적의 구배용매조건을 제공한다. 시작점과 끝점에서의 용매 %농도, 구배시간, 처음과 마지막 체류시간 입력 시, 새로운 시작점과 끝점에서의 구배용매농도와 새로운 구배시간에 대한 결과를 획득한다. 대형화에서 분석용 HPLC부터 제조용 HPLC로의 대형화를 할 수 있다. 분석용 컬럼 직경, 길이, 분석 시간을 입력 후 제조용 컬럼 직경과 길이를 입력하여 제조용 컬럼에서의 계산된 분석시간, 최대 처리량, 계산된 유속 그리고 구배시간의 결과 획득할 수 있다(54).

### ACD/LC simulator

ACD/LC simulator는 LC를 이용한 분리에서 용출순서의 예상은 주입된 화학혼합물의 구조에 기인한다. 한 컬럼에서 나온 혼합물의 체류시간을 알고 있을 때 실험실조건에서 체류시간을 예상하는 목적으로 ACD/LC Simulator가 사용된다. 유기용매의 LC분리를 위해 용출순서나 체류시간을 전산모사 하는 소프트웨어이다. 주어진 실험조건에서 새로운 혼합물의 체류시간을 추정하는데 사용하는 흡착평형식을 계산하고 효과적인 분리결과를 얻기 위한 매개변수들을 제공하고 실제 pH를 결정하므로 최적의 분리조건을 결정하고 pKa와 logP/logD는 예상의 정확도를 증가시키기 위해 실험적 수치로써 다룬다. ACD/LC simulator에서 최적화 변수의 장점으로 는 시료의 거동을 예측할 수 있고 새로운 성분의 체류시간, 특별한 분리조건 (컬럼, 용출, 온도, 용매, 구배용매 프로그램 등)을 계산할 수 있으며 한번에 두 개 (또는 세 개)의 다른 실험에 의해 유사한 크로마토그램들을 다룰 수 있다. 또



한, 화학적 혼합물에서 분리된 두 개 또는 세 개의 크로마토그램을 합쳐 구조의 선택폭을 넓힐 경우, 보다 더 정확한 예측을 할 수 있다. 최적화 변수로는 용매의 농도, 구배용매 프로그램 (구배시간, 용매의 농도), 염 농도, 온도, 컬럼의 직경과 길이 등이 있다(55).

### EZChrom Elite

EZChrom Elite는 자료 수집, 장비 제어 그리고 분석에 대한 자료를 완벽하게 제공하고 간단한 사용을 위해 초보자도 쉽게 사용할 수 있게끔 실행방법서를 제공하며 다양한 리포트 기능을 제공한다. 사용자 리포트는 EZChrom Elite를 통해 분리 방법 리포트를 개발할 때 사용자에게 전체 조절을 가능하게 한다. 확장된 리포트에서는 Microsoft's Excel<sup>®</sup>을 사용해 온 사람들은 EZChrom Elite의 확장된 리포트 기능을 쉽게 다룰 수 있다. 사용자 매개변수들은 reporting, exporting 그리고 주석기능이 가능하며 EZChrom Elite (Graphical integration events)는 쉽게 완벽한 피크 적분 값을 얻게 해준다. Automation interface는 사용자들이 조작을 간단하게 할 수 있게 하여 주며 장비와 실험 방법, 시료 이름을 보다 간단히 선택하도록 만든다. EZChrom Elite는 다양한 자료 수집방법을 제공하며 특별한 용도를 위해 다양한 기능의 프로그램들을 내장하고 있다. EZChrom Elite GPC/SEC 소프트웨어 option은 narrow standards, broad standard 그리고 검량 기술들을 제공한다. EZChrom elite의 적절한 시스템 option은 적합한 계산과 최대의 효율로 실험 방법을 구축하기 위해 크로마토그래피 소프트웨어를 조정한다(56).

### Chrom Perfect

Chrom Perfect에는 Client/Server, COM and DCOM, Microsoft ActiveX controls 등 다양한 실행 기술이 있고 윈도우 98SE, ME, NT, 2000, XP 등 환경에서 실행할 수 있다. Chrom Perfect은 호환성, 적용성이 강하고 LC와 GC에서 사용 가능하고 또한 크기 배제 크로마토그래피에서의 전산모사도 가능하다. 오븐의 온도와 같은 장치의 조절 매개변수들을 포함하여 모든 매개변수들을 쉽게 나타내기에 사용법이 간단하고 이해하기 쉽다. Validation Assistance Program은 Chrom Perfect가 validation하기 위해 필요한 도구들을 제공하고 Chrom Perfect는 특별한 명령 없이 컴퓨터 스크린에 원하는 보고 형식을 제공한다. 사용자들은 시간, 시료나 이동상과 같은 운영경비 등을 절약할 수 있다. 분석용 프로그램에서의 모든 크로마토그램은 도면화, 적분, 보고서들이 조절 가능하여 사용자들은 크로마토그램, 기본적인 보고서 또는 피크와 성분에 대해 계산을 빠르고 쉽게 할 수 있다(57).

### ChromSim

ChromSim은 PLC의 분리를 위한 모사를 실행한다. 몇 년 간의 연구를 거쳐 비선형과 제조용 크로마토그래피는 원리를 축적하고 인식을 받았다. 그러므로, 오늘날에 와서 크로마토그래피의 체류에 대하여 정확한 예측을 할 수가 있다. ChromSim<sup>®</sup>은 Guichon 등 연구자에 의하여 연산에

이용되었다. 이 소프트웨어는 열역학 데이터와 동적 데이터를 실제 실험 탑에 적용하여 크로마토그래피를 모사할 수 있다. ChromSim<sup>®</sup>의 특징에는 컬럼의 과포화 분리의 모사를 포함하며 용출 곡선과 분리 효율을 나타내고 분류의 횡단면적에 대한 시간의 자취를 측정할 수 있다(58).

### 하드웨어

분석용의 크로마토그래피에서 수집한 데이터를 이용하여 제조용으로 scaleup을 하게 된다. 여러 종류의 크로마토그래피에서 흡착, 분배, 크기배제, 이온 교환 등의 원리에 의하여 분리를 하게 되는데, 가장 많이 사용되는 방법이 흡착을 이용한 분리기술로서 흡착 공정은 오래 전부터 화학공장에서 널리 이용되고 있었다.

흡착은 제3성분인 흡착제를 사용하여 목적성분을 분리하는 조작의 하나로써, 고체에 의한 기체의 흡착과 액체의 흡착이 있다. 기체의 흡착에는 탈습, 탈취, 불순물제거, 희박농도의 용제, 증기를 포함하는 기체로부터 용제의 회수, 탄화수소계 기체혼합물로부터 각 성분의 분리 등이 있다. 액체의 흡착에는 석유제품이나 사탕용액의 탈색, 물의 탈취, 방향족과 지방족 탄화수소 혼합물의 성분분리 등이 있다. 또한 이온교환도 흡착의 한 분야로 취급하고 있다. 흡착조작의 고체이온 교환체에 의한 교환조작과는 그 이론적 취급에서 비슷한 점이 많지만 현상 그 자체는 다르다. 흡착은 두 개의 상이 접촉하는 계면에서 한쪽의 상의 농도가 그 상의 내부에서의 농도와 달라지는 현상이며, 이온교환은 순 화학반응이다. 공업적 흡착제는 모두 고체이다. 이온교환조작에서도 현재는 고체이온 교환제를 사용하고 있으나, 최근 액체이온 교환제의 용도가 넓어지고 있다. 연속공정으로서 상업화된 것은 UOP 공정이 대표적인 경우이다(59). 그러나 이보다 작은 규모이지만 더욱 더 활발히 상업화되는 것이 회분식이다. 연속식 크로마토그래피의 우월성에도 불구하고 지난 20년 동안 회분식이 장치 및 조업의 편리성 때문에 scaleup에서 압도적으로 많이 이용되어졌다. 핀란드의 Finnish sugar engineering 회사에서는 carbohydrate 분리에서 대규모의 LC에서의 선두주자이다. 3.6 (i.d.) × 12 m의 7개관을 사용하여 연간 6000톤의 생산량으로 사탕무에서 설탕을 분리하였다.

참고로 GC 분야에서는 프랑스의 Elf-Aquainte 회사에서는 관의 내경이 1-50 cm의 6가지 종류의 장치를 시판하고 있는데 주로 제약, 정밀화학, 향료분야에서 이용되고 있다. 현재까지의 문헌조사에 의하면 초임계 유체를 이용한 공정용 크로마토그래피는 프랑스와 미국 정도에서 상업화가 비교적 활발하게 시작되고 있다. 프랑스의 Prochom (Champgellus) 회사가 1980년대 중반의 주문생산 이후 1990년 상반기 중에 standard unit을 시판하였다. PS-SFC 100이라고 불리는 이 장치는 다양한 초임계 유체를 이동상으로 사용할 수 있도록 설계하였다. 미국에서 개발된 공정용 초임계 유체 크로마토그래피는 충전 컬럼이 아닌 모세관 컬럼으로 처리량이 작은 단점이 있으나, 하나의 제품으로 Combusion Engineering Inc. (Lewisburg, West Virginia)에서 제작하여 시판되고 있다. Ecking과 Polster는 초임계 이산화

탄소를 이용하여 분자체 5 Å를 충전시킨 상태에서 파라핀을 분리하였다. 판의 크기는 2 (i.d.), 15 cm 길이의 제조용이며 온도는 40 - 200°C이며 압력은 20 MPa이 실험조건이다(60).

Table 2에서는 회사별 장비의 특성, 응용분야, 특징 등을 표로 나타내었다. 각 회사마다 장비의 특징이 있지만 응용분야에 있어서는 제약, 바이오, 임상병리, 환경, 식품, 정밀화학, 고분자, 의약 첨가물, 화학제품, 바이오 고분자, 정제 등 여러 가지 방면에 응용된다는 것을 알 수 있다.

### JAI-RECYCLING PLC

21세기 국가전략사업으로 양성되고 있는 Bio분야에서, 현재 우리에게 취약한 분야인 신 물질 탐색, 즉 생리활성 물질의 탐색에 있어서 PLC의 중요성은 더욱 부각되고 있다. 따라서 더 많은 양을 더 좋은 분리능으로 분리 및 분취 하고자 하는 욕구에 발을 맞추어, 순환 기능을 통한 완벽한 대용량, 고순도 정제용 Recycling PLC (한국 JAI, Japan)가 개발되었다. 즉, 대용량의 시료를 원하는 순도까지 자동으로 처리할 수 있게 된 것이다. 또한, 이 과정에서 일어날 수 있는 확산 등의 문제를 정압기술로 완벽하게 차단하였으므로 운용자의 조작이 없이 최대 50 ml의

시료 (R&D용)를 주입부터 원하는 순도의 분취까지 24시간 무인 운전체제를 완성하였다. 또한 분취 및 생산의 부가가치를 높이기 위하여 용매의 소비량을 획기적으로 줄였고, 더불어 폐용매의 재사용까지 가능한 시스템을 구축하였다.

JAI-Recycling PLC는 1μ에서 g까지 컬럼 교체없이 분리를 할 수 있고 높은 이론단의 컬럼을 주 컬럼으로 채택하고 실리카계 컬럼과 달리 컬럼내에서 확산이 없다. 고감도 검출기 내장 등 일체형 시스템을 갖추고 있으며 HPLC분석에서 분취 규모의 분리까지 사용할 수 있으며 회수 장치를 통하여 완전한 분리가 가능하고 최대 20 g까지 분취가 가능하다. 세계 최초의 회수와 기술기 구배 적용 모델로서 매뉴얼 분석 시, PS m/w 400으로 1회 2 g 분취할 수 있으며 경제적인 디자인의 고성능 분취용으로서 무백류 적용 펌프를 통하여 무백류 용액을 실현한다.

Fig. 4에서 볼 수 있듯이 기존의 장비는 펌프에서 나오는 용매와 manual injector에서 주입된 시료가 혼합되어 흐르면서 컬럼에서 분리가 이루어지고, 이 분리된 상황을 Detector로 확인한 후 바로 분취를 행하였다. 그러나 Recycling PLC의 경우, 모식도 아래에 보이는 Recycling System을 Auto Recycler가 조절하여 분리가 이루어지지 않은 시료의 경우, 곧 바로 컬럼에 재주입하게 된다. 따라서

Table 2. Hardwares of PLC

Company	Flow rate (ml/min)	Maximum pressure (psi)	Configuration	Application	Characteristics	Reference
JAI	2 - 199	-7000	·UV/Vis and PI Detector ·CDS (Chromatography Database System) ·Auto Recycling System ·Auto Repeat Injector System ·Multi method column	·Pharmaceutical ·Food ·Chemical product ·Biopolymer ·Crude plants	·Recycle LC for high resolution ·Low solvent consumption ·At once used the UV and RI detector ·24 hr automatic operation ·Different scale up method	60
NOVASEP	250 - 250	-1500	·Manufacture the I.d 50 mm - 1000 mm column	·Pharmaceutical, Food, Chemical product, Biopolymer	·Used the Dynamic axial compression (DAC)	61
SHIMADZU	0.1 - 150	10-4200	·LC 8A liquid pump ·SCL-8A system controller ·SPD UV spectrophometric detector	·Drugs	·Recycle LC for high resolution	63
WATERS	10 - 300	-4000	·Waters 2487 dual wave length detector ·Standard 3725i injector ·Prep LC controller ·Solvent delivery unit ·Integral injector panel	·Isolate and purity microgram to multi-gram quantities	·Multiple milliliter injection volume at suitable injector ·Fraction collected and the column automatically flushed prior to the next run	64
Agilent 1100 Series	10 - 100	-5880	·Agilent 1100 Series multi wavelength detector specifications ·Agilent 1100 Series Isocratic Pump	·Pharmaceutical/Bio industry ·Pathological ·Environmental ·Precision chemical ·Polymer	·Low maintenance cost ·Saving the using time ·Good results	65
MERCK	- 400	-	·Automatic recycling system ·Automatic injection system ·Multi-functional valve ·Diode array detector	·Pharmaceutical/Bio industry ·Pathological ·Environmental ·Precision chemical ·Polymer	·Recycle LC for high resolution ·Decrease the cost	66
SEPRAGEN	1 - 1800	-	·Automatic cGMP generation ·Pressure rating 50 psi ·6 solvent inlets ·Air Sensor & eject valve ·Pre column filter & bypass ·Fwd/Rev/Bypass column	·Biotechnology ·Pharmaceutical and ·Food companies scale-up	·24 hr operation ·Automatic ·Decrease the cost ·Manufacture the cGMP	67

50 cm 길이의 컬럼을 10회 순환할 경우 5 m 컬럼으로 분리하는 분리능에, 늘어난 시료량을 처리할 수 있다. 즉, 분리가 이루어지지 않은 시료를 분리가 이루어질 때까지 재순환하는 원리이며, 이 순환 과정에서 첫 번째 순환의 컬럼에서 두 번째 순환의 컬럼까지의 넓은 용적을, 시료가 확산 등의 이유로 다시 섞이지 않고 순차적으로 분리가 이루어지게 정압을 유지시켜주는 것이 독특한 기술이다. 또한, 이 과정에서 용매의 소비가 전혀 이루어지지 않기 때문에 저렴하게 분리할 수 있으므로 많은 연구소들이 기존에 LC 시스템에 의한 용매비용의 부담을 덜어서 생산라인에 응용 중이다(61).

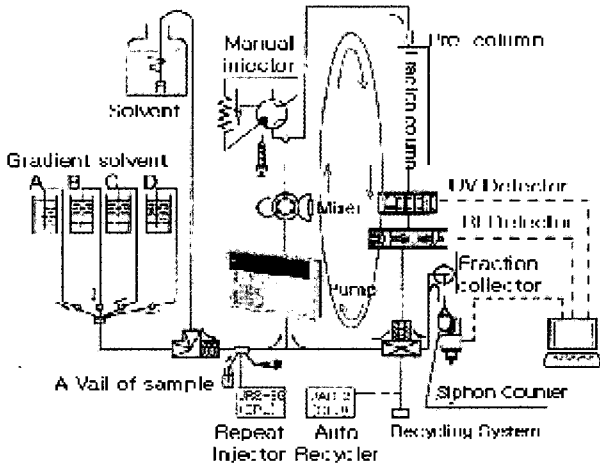


Figure 4. Equipment for recycling PLC.

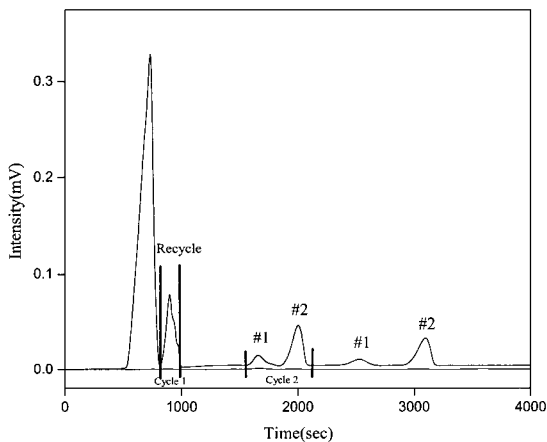


Figure 5. Chromatogram of eupatilin by recycling PLC (mobile phase : water/acetonitrile/TFA=50/50/0.5 vol. %, 2 ml. injection volume).

Fig. 5에서는 recycling PLC를 이용한 쪽에서 유파티린의 추출을 예로 나타낸 크로마토그램이다. 두 번의 순환공정을 거쳐 한 개의 피크가 두개의 피크로 분리됨으로써 분리능을 극대화하고 완전한 분리를 실현할 수 있다.

**NOVASEP**

1996년 창설 이후, NOVASEP은 지속적인 발전으로 제조용 규모의 크로마토그래피 (회분식 또는 모사이동층)에서

선도적인 위치에 이르렀다. 1999년에는 PLC의 역사의 지도적 역할을 하던 PROCHROM의 합병으로 보강되었다. 본사는 Vandoeuvre-lès-Nancy (프랑스)에 위치하고, 연구소와 대규모의 생산시설은 Vandoeuvre-lès-Nancy (프랑스)와 Champigneulle (프랑스)에 있다. 한편, 미국에서의 좋은 서비스를 위하여 NOVASEP (Gibbstown, NJ, 1997)가 설립되었으며, 연구소와 대규모의 생산시설을 가지게 되었다. NOVASEP은 대규모의 정제를 필요로 하는 곳에서 사용되는데, 예를 들면 의약, 식품 첨가물, 화학제품 또는 바이오 고분자 등이 있다. PROCHROM사의 LC컬럼과 시스템의 완전한 범위의 통합으로 NOVASEP사는 PLC에서 요구되어지는 직경이 50 mm에서 1000 mm 이상의 칼럼과 작동시 2 bar에서 100 bar 이상 (1500 psi) 작용하는 압력을 수용할 수 있는 제품을 생산할 수 있게 되었다. 또한 HPLC 시스템은 Dynamic Axial Compression (DAC)라는 자체 개발기술을 큰 직경의 컬럼 충전에 이용하고 있다. LICOSEP HP-SMB는 경쟁적이고 확실한 정제도구으로써 매우 높고 안정한 수준의 분리를 수행한다. Chiral 그리고 achiral 분자와 같은 물질들이 그 예이다. LICOSEP  $\mu$  (충전된  $\mu$  SMB는 분석용 4.6 mm i.d. 컬럼 또는 제조용 10 mm i.d. 컬럼이 있음)에서 직경이 1 m인 6개의 컬럼으로 구성된 LICOSEP 6.1000까지 다양한 형태가 있다. 제조용 규모의 초임계 유체 크로마토그래피 (PS-SFC)는 의약과 특정 화학산업의 정제분야에 이용되어 왔다. SUPERSEP 라인은 NOVASEP 공학자들의 제조용 규모의 초임계 유체추출과 PLC 지식의 결과이다. 이것은 초임계 유체를 다룰 수 있는 혁신적인 기술, 완전자동화와 안전기술을 결합한 것이다. PS-SFC는 분자량이 1500을 초과하지 않는 매우 다양한 화합물 정제에 이용되고, 특히 천연물 추출에 많이 사용되는데, 분자량이 1500보다 작은 의약품의 90% 이상은 이를 통해 얻어 낼 수 있다(62). 초임계 유체 추출에서는 임계온도가 낮은 기체를 용매로 사용하기 때문에 열에 불안정한 물질을 손상 없이 추출할 수 있으며, 초임계 유체추출에 사용되는 기체는 대부분 농축된 상태에서 친 지방성을 나타내므로 극성물질이나 고분자 물질을 잘 용해하지 않아 선택성이 좋으며, 적절한 압력과 온도의 선택으로 추출단계와 분리 단계를 최적화 할 수도 있고, 첨가제를 사용하여 용해도와 선택도를 증가시킬 수 있다(63).

**SHIMADZU**

VP series에서 시료 주입은 SIL-10ADVP robotic auto-injector는 낮은 농도의 시료에서도 0.1  $\mu$ L~500  $\mu$ L의 주입으로 높은 재현성과 선형성을 제공한다. 용매 이송과 펌프는 LC-10ADVP의 micro-plunger 기술은 truly pulse-free 용매 이송장치에 공급한다. LC-10ATVP 용매 이송 장치는 신뢰성 있는 용매 이송과 우수한 내구력을 지원한다. VP series는 사용자의 요구에 충족할 정도의 기능을 제공한다. 고감도 검출기는 시스템 제어기에 있는 표시 메뉴, SCL-10AVP UV 검출기는 낮은 잡음수준  $\pm 0.35 \times 10^{-5}$  AU까지 분석이 가능하다. Workstation는 32-bit CLASS-VP<sup>®</sup> 소프트웨어는 쉽고 안전하게 시스템을 구축할 수 있다. 간단한 이정용매 조성이나 저압 혹은 고압에서의 구배용매조성 모드도 쉽

게 처리한다. SCL-10A normal 시스템 single point를 위한 제어시스템 조절이 가능하다. 모든 VP series에 포함되어 있는 SCL-10A VP 시스템 제어기는 쉽고, 사용하기 편리하게 구성 되어있으며 모든 Shimadzu HPLC 시스템 모듈은 "Plug and Play"으로 편리한 유리광섬유로 되어있고 이 유리광섬유는 적은 잡음과 고속의 데이터 처리방법으로 시스템에 신뢰성과 감도를 높여준다. 광 SCSI 인터페이스는 일련의 VP series HPLC에 모두 사용된다. CLASS-VPTM 크로마토그래피 소프트웨어는 SCL-10AVP에 사용되어진다. VP Series는 두 개의 용매 이송 장치를 제공한다. Shimadzu 펌프는 GLP/GMP에 적용되는 built-in validation 기능과 빠른 정비를 위한 plunger와 seal과 같은 악세서리를 가지고 있다. 이 두 펌프는 광범위하게 이용되고 있으며 고압, 저압의 구배조성과 온도를 조절할 수 있는 일정용매 조성에서도 사용이 가능하다. LC-2010은 가장 진보된 기술로 만들어진 HPLC 시스템으로서 매우 높은 재현성과 더 효과적인 크로마토그래피 분석을 위한 편리한 기능들은 제공한다. LC-2010은 HPLC 분석에 필요한 높은 처리량, 자동화, 시스템 확인, 사용의 용이성 등의 필요성에 의해 개발되었다. Shimadzu의 analytical-to-preparative 시스템은 펌프 헤드의 교체 없이 분석용의 유속을 제조용의 유속으로 쉽게 바꿀 수 있게 해준다. LC-8A는 나노그램에서부터 수그램 양까지 편리하게 scale-up이 되는 analytical-to-prep HPLC로서 약품제조와 정제 등 다양하게 쓰이는 기기이다. 이동상의 유속은 0.1-150 ml/min까지 가능하며 시료 주입만 해도 펌프 등의 자동화가 이루어진다. 이런 두 가지 장점으로 인해 광범위하게 PLC의 이용을 가능하게 하며 또한 최저 유속인 0.1 ml/min에서는 분석용 컬럼을 연결하면 분석용 HPLC의 이용이 가능하다. 분석용 컬럼을 사용해도 PLC에서 최적의 이동상 조건을 쉽게 결정할 수 있다. 이런 기능을 이용하면 이동상의 소비를 줄일 수 있기 때문에 경제적이다. LC-8A는 analytical-to-preparative 용매 이송 장치이고 LC-10Ai는 biocompatible 용매 이송 장치이다. SIL-10A는 analytical to semi-prep autoinjector이고 SIL-10Ai는 biocompatible autoinjector이다. SPD-10Ai/10AVi는 biocompatible UV-VIS 검출기이고 RID-10A는 조절을 검출기이며 RF-10AXL은 형광 검출기이다. LCMS-prepSTAR은 FRC-10A-an으로 자동화를 통해 고속도 분석, 정제 등 다기능을 조절한다. 질량 검출기가 검출기로 사용될 때 제조용은 질량수 데이터에 의해 실행되어진다. UV 흡수를 하지 않는 성분, 합성물의 질량을 분석하거나 알려지지 않은 물질의 품질 분석, 고순도 물질을 검출할 때 빠른 검출을 할 수 있다. 분석용과 제조용 둘 다 연결할 수 있는 전환 밸브를 가지고 있어 빠른 scale-up의 계산과 분석시 피크의 측정을 빨리 결정하여 준다. LC/MS 워크스테이션 소프트웨어 CLASS-8000는 모든 LC/MS 단위공정 자료를 제어할 수 있는 통합된 소프트웨어이다. 자동 연속식 가동 (분석용, 제조용, data processing, report output)과 분석방법, 데이터 정리 등 모든 파일을 처리할 수 있다. LCMS-prepSTAR은 분석용/제조용에서도 고농도의 합성물을 고속으로 분리할 수 있는 환경을 제공한다(64).

## WATERS

Waters PrepLC™ 시스템은 용매 이송, 검출, 데이터 조작, 화학 및 기술지원면에서 종합적인 선두주자의 역할을 해오고 있다. 원하는 물질을 마이크로그램에서 수그램까지 분리, 정제 할 수 있고 높은 수준의 수행과 안정성을 제공하여 준다. Waters Delta 600 시스템은 준제조용에 사용되며 유속의 범위는 0.01~45 ml/min이다. 주입기는 용매의 조성, 유속을 짧은 시간 내에 최적화하고 패널 앞의 two-way 밸브를 돌리면 분석용뿐만 아니라 반제조용의 시료 주입기와 컬럼을 쉽게 선택한다. Waters DeltaPrep™ 4000 시스템은 PrepLC™ 조절장치와 PrepLC 4000 series 용매 이송 장치로 구성되고 유속은 1.0~150 ml/min, 역압은 4000 psi이고 일정용매 또는 구배용매 조성으로 물질을 분리할 수 있으며, 11개의 구배조성 곡선 프로그램 내장한다. Waters PrepLC™ 4000 시스템은 높은 분리도와 제조능력을 포함하고 수 mg~g까지 일회용에 수행할 수 있다. PrepLC 제어기와 PrepLC 4000 series 용매 이송장치, integral injector panel assembly이고 흐름유속은 1.0~150 ml/min, 역압은 4000 psi이다. PrepLC 2000 series에서 PrepLC 제어기와 prepLC 2000 용매 이송장치로 구성되고 유속은 4.0~300 ml/min, 역압은 2000 psi이며 8개까지의 분율 수집은 multi-position 밸브를 이용 할 수 있으며 이 시스템은 intergral recycle 밸브를 가지고 있는 특징이 있다. Waters fraction collector II는 다루기가 쉽고, HPLC, PLC 또는 개방형 컬럼 LC와 함께 사용되도록 제작되었으며, 흐름 유속이 300 ml/min에서도 높은 호환성을 갖고 있으며 장치가 작동을 수행하는 동안에도 현시점에서의 크로마토그래피 관측 가능밸브의 전환을 통해 외부의 용매와 원하지 않는 피크 없이 수집을 수행한다. 이 분율수집기는 단지 29 cm의 작은 공간에서 밸브의 전환을 통해 외부의 용매와 원하지 않는 피크 없이 수집을 수행하고 최대의 분율 수집 효율과 제조용 시스템에 있어서의 생산성을 증가한다. Waters 충전제로써 Radial compression cartridges에 5~7 micron의 충전된 컬럼에서 55~100 micron의 벌크 물질로 충전된 컬럼까지 다양한 컬럼이 있다. 입자 크기의 선택은 분리도와 질량 부하의 최적화를 수행할 수 있고 제조용 컬럼의 충전물들은 다양한 스틸 컬럼과 유용한 radial compression cartridges에 이용하며 스틸 컬럼의 범위는 직경이 3.9~50 mm, 길이는 150~300 mm이고 Radial compression cartridges는 위에 장착할 수 있다(65).

## Agilent 1100 Series

Agilent Technologies (휴렛팩커드)의 1100 series는 경제적인 시스템으로 제약회사와 일반 HPLC사용자를 위하여 만들어졌다. 전체 시스템은 Agilent 1100 series 주입기, Agilent 1100 series 펌프, Agilent 1100 series 다과장 검출기, PC 장치 그리고 제어기와 데이터 분석기의 전용 소프트웨어로 구성되어 있다. Agilent 1100 series는 설치가 빠를 뿐만 아니라, 여러 언어로 된 설명서, 인터넷을 통한 교육을 시키고 HPLC의 기능을 도와주는 GLP/GMP로 의약품 개발을 할 수 있다. 모듈을 통한 빠른 접근으로 시간을 절약할 수 있다. 낮은 유지비로 많은 사용시간과 좋은 결

과를 얻을 수 있다. 편리한 모듈과 액세서리는 모든 Agilent 1100 series HPLC 모듈에 연결할 수 있으며, 차지하는 공간은 매우 간결하게 만들어졌다. 세라믹 회전면으로 밸브의 수명을 길게 했다. Agilent Technologies의 ZORBAX 컬럼은 서로 다른 충전 물질과 입자 크기를 가진다. 내경은 9.4-21.2 mm, 길이는 50, 100, 150 mm, 입자 크기는 5  $\mu\text{m}$ 이다. 충전물은 ZORBAX Stable Bond의 경우 pH 1~8, ZORBAX Eclipse XDB는 pH 3~8에 이용할 수 있다. Agilent Technologies 1100 series 제조용 펌프는 2개의 평행한 피스톤을 가지고 있다. Servo-controlled로 작동되는 두 개의 피스톤이 실제 펄스와 안정된 용매의 흐름을 만든다. Servo-controlled의 원리는 변화하는 부피의 진동으로 특정 유량을 유지시켜 주는 것이다. 주입밸브는 전기적인 피스톤의 움직임과 동시에 작동한다. 또한 자동적으로 용매 속의 기포는 제거되어 진다. Agilent 1100 series isocratic 펌프의 특징으로는 hand-held 제어 모듈은 빠른 조작의 매개 변수, 저장방법, 압력변화, 진단법, 작업정보 등을 제공하여 사용하기가 쉽다. 스테인레스 스틸, 티타늄, 금, 루비, 사파이어, 세라믹, PEEK와 PTFE 등 장시간 사용할 수 있어야 하고, 높은 염도의 이동상 조성을 유지해야 조업 비용이 절감된다. 준제조용 분리와 같은 10 ml/min 이상의 HPLC이기에 넓은 유량의 흐름이 적용된다. GLP에 적합하여야 하는데 이것은 압력 분포곡선과 빠른 피드백을 위하여 그래픽 표시가 필요하다. 연구분야를 확대하거나 생산물을 자동화된 Agilent 1100 series 시스템으로 얻기를 원한다면, Agilent 1100 series 다과장 검출기를 사용하면 탁월한 선택성으로 검출한계를 줄일 수 있다. 또한, 간결한 디자인을 갖고 있으며 노이즈와 불규칙적인 낮은 검출선에서 높은 감도와 낮은 검출한계를 표시하였다. 프로그램된 경제적 특징을 갖고 있어 램프의 수명을 길게 하는 자동 절전기능은 가동비용을 줄인다. Automatic holmium oxide filter는 GLP 요구에 맞는 크로마토그래피의 파장 길이를 확실히 맞출 수 있다. 사용하기 간편한 제어 모듈이 있어 분석적 업무를 위한 단계적인 가이드로 크로마토그래피의 signal plot와 built-in context의 온라인 정보를 배우기가 쉽다(66).

### MERCK

WellChrom PLC 시스템은 컬럼이 과부하일 때는 주입 방법을 다르게 하면 생산성을 증가시킬 수 있으며 자동화 용매 재순환 시스템은 비용을 절감시키며 시료의 자동화 재주입장치는 이론단수를 증가시키고 분리능을 향상시킨다. 기술적 진보는 생산물의 순도와 수율의 최적화와 시간과 일의 양을 줄여주는 경험적 이익을 주며 극도의 작은 무용 부피는 교차되는 혼합 없이 분류를 증가시킨다. 다기능 밸브 (Multi-functional valve) 시스템은 큰 양의 샘플을 처리할 수 있으며 Diode Array 검출기와 연결해서 사용하면 목적물질의 분취가 가능하다. 시스템 WellFast는 Combinatorial Chemistry laboratory (e.g. by LaChrom High Throughput Purifier, Merck)에서 High Throughput Purification (HTP)하려는 빠른 제조용 크로마토그래피 시스템은 빠르고 간단한 통합 auto-sampler와 정밀 분취수집기, 시료 tracking을 갖춘 자동화

시스템을 제공한다. 시스템 WellMaker은 합성을 한 후에 구조의 설명을 위해 화합물을 분리, 정제하며 더 제약적인 실험을 위해 물질들을 제공한다. 이 제조용 규모는 대학에서 사용하기에 가장 적절하며 간단한 auto-sampler나 다른 펌프에 샘플을 주입하기 위한 자동화 시스템을 유지하기 위해 구성되어 있다. 많은 양의 샘플을 수집하는 분취수집기는 더 높은 기능을 제공하며 시스템 WellScale은 공정을 위한 PLC 기구들은 신뢰성이 있는 up-scaling을 제공한다. 이것은 파일럿 플랜트 차원에서 나온 결과와 작동되고 있는 상태에서 샘플의 재순환이 허락되었던 자동화 제조용 크로마토그래피의 bench top 시스템이다(67).

### SEPRAGEN

Sepragen에서는 파일럿 단계의 제품인 QuantaSep 100 파일럿시스템과 제조용 규모의 QuantaSep<sup>®</sup> 1000, QuantaSep<sup>®</sup> 1800LX<sup>™</sup>, QuantaSep<sup>®</sup> ISO-LC, QuantaSep<sup>®</sup> GRAD-LC 시스템들을 시판하고 있다. QuantaSep<sup>®</sup> 1000의 제어 시스템은 공정 관측, 자동화 시스템, 시스템의 자동 및 수동 조절, 수정, 시스템 매개변수의 프로그래밍, 조건의 기록과 편집을 수행할 수 있다. 시스템은 펌프, 밸브, 이음쇠, 센서 그리고 컴퓨터로 구성되었다. QuantaSep<sup>®</sup> ISO-LC 정제 공정 시스템은 Sepragen에 의해 얻어진 경험을 기초로 한다. 생물공학, 의약품 그리고 식품회사 scale-up에 적용되며 Pre hook buffers, 컬럼 그리고 fraction tanks는 작업량 최소화가 가능하고 24시간 조업이 가능하다. 비용을 줄일 수 있으며 cGMP의 상황에서 생산되며 원료물질의 비용손실을 줄일 수 있다. QuantaSep<sup>®</sup> GRAD-LC는 강력한 소프트웨어를 포함하고 있고 높은 순도의 제품을 생산할 수 있다. cGMP 하에서 생산함으로써 인력을 최소화 하여 들어가는 비용을 감소시키고 원료물질의 비용 손실을 줄일 수 있다(68).

### LabAlliance

LabAlliance Prep-200 분취용 HPLC 시스템은 일반적인 자동화된 소용량 분취용 또는 분취용 HPLC로 사용할 수 있도록 고안되었다. 분석용 LC의 분리도로 마이크로그램에서 밀티그램까지의 량까지 규모를 크게 하여 시료를 고성능으로 분리하고 정제할 수 있다. LabAlliance 분취시스템은 등용매용리 또는 기용기용리에 의해 분리, 정제작업을 수행할 수 있다. Prep-200 시스템은 별도의 시스템제어기 (System Control Unit, SCU) 또는 선택사항인 PC 기반의 소프트웨어를 통하여 완전히 자동적으로 작동된다. 두 대의 Prep-100 듀얼헤드 디지털펌프에 의해 직선성 2-용매 기용기용리가 수행되고 압력을 모니터링 할 수 있으며 소용량 분취에서 대용량 분취 실험에서 요구하는 유량 조건을 충족시킬 수 있다. 표준 Prep-100 펌프는 펄스샘퍼가 내장되어 있어서 펄스를 극소화할 수 있으며, 작업압력 3000 psi에서 최대유량이 100 ml/min인 경우 2% 이하의 표준편차로 용매를 안정하게 이송할 수 있다. 자동세척 펌프헤드는 고압펌프 셀 (seal)의 뒷부분을 세척하여, 이동상으로 완충용액을 사용할 경우에도 피스톤셀의 수명을 현저히 연장시켜 준다. 내구성이 탁월한 Prep-100 펌프의 품질 보증 기간은 3년이다. 등용매용리 모드에서 최대 유량은 200

ml/min이며, 두 대의 펌프에 의해 직선성 2-용매 기울기용리를 수행할 경우 최대 유량은 100 ml/min이며 이 유량 범위에서 최대 작업압력은 4000 psi이다. Model-500 UV/Vis 검출기는 가변 파장 자외선/가시광선 검출기로써, 높은 유량의 분취용으로 사용할 수 있도록 flowcell의 pathlength를 조정 (0-3 mm)할 수 있는 SS-Kalrez flow cell로 구성되어 있다.

Model-500 검출기의 flowcell은 분취 작업에 적합하도록 검출기의 입구와 출구부는 1/8" 외경 튜빙으로 연결할 수 있도록 되어 있다. LabAlliance Series-II 디지털 펌프 (10 ml/min)를 사용하여 용매이송 라인에 있는 Tee를 통하여 자동으로 시료를 주입하게 된다. 시료주입 펌프가 작동 중에는 용매이송 펌프는 정지되고 펌프 입구에 있는 체크밸브는 이동상이 시료 주입펌프로 흘러 들어가는 것을 방지하여 준다. LabAlliance Prep-200 분취 HPLC 시스템의 핵심부는 용매이송과 시료주입 및 등용매용리 또는 기울기용리 프로그램, 작동시간, TTL 제어, 반복 회수 등을 완벽히 조절할 수 있는 스마트하고 컴팩트한 키패드 SCU가 있고 SCU 표시장치는 현재 진행과정과 경과 시간 등을 계속적으로 모니터링 하여 준다. 기울기용리 모드에서 SCU-II는 두 대의 연결된 Prep-100 펌프를 제어하여 직선기울기용리를 실행하게 한다. 또한, 기울기용리 특징은 기울기를 용리를 실행하기 전에 초기상태로 되돌아가서 평형상태가 되도록 지체시간을 설정할 수 있으며 유량은 작동 중에도 SCU를 통해 수정할 수 있다. "hold"와 "continue" 및 "abort" 명령어는 유량의 조절과 각 프로그램을 순차적으로 작동할 수 있도록 한다(69).

## 요 약

PLC는 약물과 천연물질의 분리에 많이 사용된다. 분석용으로부터 제조용으로의 scale-up에 따른 분리도가 낮아지는 것을 방지하여야 하며 또한 분리에 대한 효율성과 생산성을 고려하여야 한다. PLC의 최적조건을 선정하는 것은 많은 조업변수에 대한 고려를 해야 하는 힘든 작업이다. 소프트웨어를 이용한 분리공정의 디자인, 최적화, 모사, 분석 등을 통하여 시간을 절약할 수 있으며 효율적으로 공정에 적용되게 한다. 하드웨어에 대한 기초 실험과 예비 생산을 통하여 이러한 공정에 대한 모사를 검증하고 생산량을 결정하고 분리효율을 증가시킬 수 있다. 소프트웨어와 하드웨어의 특성, 종류, 응용을 예로 들어 설명함으로써 분리하고자 하는 물질에 대한 적합한 시스템을 선택하고 적용하여 분리공정을 생산화할 수 있다. 크로마토그래피의 중요성이 증가함에 따라 고성능 및 사용하기 더욱 편리한 소프트웨어와 하드웨어가 나타날 것이며 많은 영역의 분리공정에서 필수적으로 이용될 것이다.

## REFERENCES

- G. Guiochon (2002), Preparative liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **965**, 129-161.
- Christensen, J. H., J. Mortensen, A. B. Hansen, and O. Andersen (2005), Computerized separation of chromatographically unresolved peaks, *J. Chromatogr. A*, **1062**, 113-123.
- Paterson, S., R. Cordero, and S. Burlinson (2004), Screening and semi-quantitative analysis of post mortem blood for basic drugs using gas chromatography/ion trap mass spectrometry, *J. Chromatogr. B*, **813**, 323-330.
- Hao, C., J. V. Headley, K. M. Peru, R. Frank, P. Yang, and K. R. Solomon (2005), Characterization and pattern recognition of oil-sand naphthenic acids using comprehensive two-dimensional gas chromatography/ time-of-flight mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **1067**, 277-284.
- Di, L., O. J. McConnell, E. H. Kerns, and A. G. Sutherland (2004), Rapid, automated screening method for enzymatic transformations using a robotic system and supercritical fluid chromatography, *J. Chromatogr. B*, **809**, 231-235.
- Ramírez, P., F. J. Señoráns, E. Ibañez and G. Reglero (2004), Separation of rosemmary antioxidant compounds by supercritical fluid chromatography on coated packed capillary columns, *J. Chromatogr. A*, **1057**, 241-245.
- Hirata, Y., K. Tsuda, and E. Imamura (2005), Serially coupled capillary columns supercritical fluid chromatography with midpoint pressure control, *J. Chromatogr. A*, **1062**, 269-273.
- Barth, T., S. Højland, P. Fotland, K. M. Askvik, B. S. Pedersen, and A. E. Borgund (2004), Acidic compounds in biodegraded petroleum, *Organic Geochemistry* **35**, 1513-1525.
- Bennett, B., A. Lager, C. A. Russell, G. D. Love, and S. R. Larter (2004), Hydrolysis of algae, bacteria, archaea and lake sediments; insights into the origin of nitrogen compounds in petroleum, *Organic Geochemistry* **35**, 1427-1439.
- Kang, D. H. and K. H. Row (2002), Fractionation of soybean phospholipids by preparative high-performance liquid chromatography with sorbents of various particle size, *J. Chromatogr. A*, **949**, 217-223.
- Park, Y. K., K. H. Row, and S. T. Chung (2000), Adsorption characteristics and separation of taxol from yew tree by NP-HPLC, *Separation: Purification Technology* **19**, 27-37.
- Sott, R. P. W. and P. Kucera (1976), Some aspects of preparative-scale liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **119**, 467-482.
- Hupe, K. P. and H. H. Lauer (1981), Selection of optimal conditions in preparative liquid chromatography: I. Theory, *J. Chromatogr. A*, **203**, 41-52.
- Ströhlein, G., M. Mazzotti, and M. Massimo (2005), Optimal operation of simulated-moving-bed reactors for nonlinear adsorption isotherms and equilibrium reactions, *Chemical Engineering Science* **60**, 1525-1533.
- Hao, W. and J. Wang (2005), Evaluation of nonlinear chromatographic performance by frontal analysis using a simple multi-plate mathematical model, *J. Chromatogr. A*, **1063**, 47-56.
- Mary J. W., E. A. Smith, and S. R. Anthony (2004), Measurement and simulation of tailing zones of a cationic dye in analytical-scale reversed phase chromatography, *J. Chromatography A*, **1034**, 69-75.
- Feng, W., X. Zhu, L. Zhang, and X. Geng (1996), Retention behaviour of proteins under conditions of column overload in hydrophobic interaction chromatography, *J. Chromatogr. A*, **729**, 43-47.
- Felinger, A. and G. Guiochon (1998), Comparing the optimum performance of the different modes of preparative liquid chromatography, *J. Chromatography A*, **796**, 59-74.
- Andreas, S. M. (2004), Experimental determination of single solute and competitive adsorption isotherms, *J. Chromatogr. A*, **1037**, 255-272.
- Coq, B., G. Cretter, and J. L. Rocca (1979), Preparative liquid chromatography: sample volume overload, *J. Chromatogr. A*, **186**, 457-473.
- Jong, A. W. J., H. Poppe, and J. C. Kraak (1981), Column loadability and particle size in preparative liquid chromatography, *J. Chromatogr. A*, **209**(3), 432-436.
- Lee, Y. W., K. H. Row, M. S. So, I. A. Polunina, and A. V. Larin (1995), Reversed-Phase HPLC Retention of Deoxyribonucleosides as

- a Function of Mobile Phase Composition, *J. Liquid Chromatogr.* **18**(15), 3077-3089.
23. Kim, J. D., K. H. Row, M. S. So, I. A. Polunina, and A. V. Larin (1995), Chromatographic Behaviour of Deoxyribonucleosides with respect to Organic Modifier Content in the Mobile Phase, *J. Liquid Chromatogr.* **18**(15), 3091-3104.
  24. Lee, Y. W., M. S. So, J. W. Lee, S. T. Chung, and K. H. Row (1996), Retention Models of Capacity Factor with Different Compositions of Organic Modifier in RP-HPLC, *Korean J. Chem. Eng.* **13**(6), 578-584.
  25. Polunina, I. A., D. K. Choi, K. H. Row, and A. V. Larin (1996), Adsorption Isotherm of Deoxyadenosine under the Conditions of a Reverse Phase Liquid Chromatography, *Colloid J.* **58**(6), 805-807.
  26. Larin, A. V. and K. H. Row (1997), Novel Relationship between the Capacity Factor and the Fraction of Organic Modifier in the Mobile Phase, *Russian J. of Anal. Chem.* **52**(10), 1064-1066.
  27. Row, K. H. (1998), Comparison of Retention Models for the Dependence of Retention Factors on Mobile-Phase Composition in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.* **797**, 23-31.
  28. Row, K. H. and A. V. Larin (1995), A Chromatographic Theory based on the Concept of a Layer of Equilibrium Adsorption, *Korean J. Chem. Eng.* **12**(4), 442-447.
  29. Row, K. H. and A. V. Larin (1995), Computational Algorithm to Predict Peak Profiles in Preparative High-Performance Chromatography, *Korean J. Chem. Eng.* **12**(5), 512-515.
  30. Row, K. H. and A. V. Larin (1995), Experimental Study of Influence of Slight Deviation from Adsorption Isotherm Linearity on Elution Peak Profiles, *J. Chem. Eng. Japan* **28**(6), 851-853.
  31. <http://www2.inha.ac.kr/~hci/hpg.htm>
  32. Choi, Y. S., J. W. Lee, and K. H. Row (2000), Comparison of Frontal Analysis and Pulsed Input Method for Determining Adsorption Isotherm, *Korean J. Chem. Eng.* **38**(4), 474-478.
  33. Yuwen, Z., W. Yuyuan, G. Jianying, and Z. Jilin (2005), The experimental study on the performance of a small-scale oxygen concentration by PSA, *Separation and Purification Technology* **42**, 123-127.
  34. Rajasree, R. and A. S. Moharir (2000), Simulation based synthesis, design and optimization of pressure swing adsorption (PSA) processes, *Computers and Chemical Engineering*, **24**, 2493-2505.
  35. Esteves, I. A. A. C. and J. P. B. Mota (2002), Simulation of a new hybrid membrane/pressure swing adsorption process for gas separation, *Desalination*, **148**, 275-280.
  36. Ambalavanan, J. and T. Y. Ralph (2005), Stable oxygen-selective sorbents for air separation, *Chemical Engineering Science* **60**, 625-634.
  37. Choi, W. K., T. I. Kwon, Y. K. Yeo, H. Lee, H. K. Song, and B. K. Na (2003), Optimal Operation of the Pressure Swing Adsorption (PSA) Process for CO<sub>2</sub> Recovery, *Korean J. Chem. Eng.* **20**(4), 617-623.
  38. Park, S., V. K. Mathur, and R. P. Planalp (1998), Syntheses, solubilities and oxygen absorption properties of new cobalt(II) Schiff-base complexes, *Polyhedron* **17**(2-3), 325-330.
  39. Cruz, P., J. C. Santos, F. D. Magalhaes, and A. Mendes (2003), Cyclic adsorption separation processes: analysis strategy and optimization procedure, *Chemical Engineering Science* **58**, 3143-3158.
  40. Boger, T., A. Salden, and G. Eigenberger (1997), A combined vacuum and temperature swing adsorption process for the recovery of amine from foundry air, *Chemical Engineering and Processing* **36**, 231-241.
  41. Andrzej, S. (2003), Reactive separations for process intensification: an industrial perspective, *Chemical Engineering and Processing* **42**, 137-144.
  42. Rouf, S. A., P. L. Douglas, M. Moo-Young, and J. M. Scharer (2001), Computer simulation for large scale bioprocess design, *Biochemical Engineering Journal* **8**, 229-234.
  43. Fricke, J. and H. Schmidt-Traub (2003), A new method supporting the design of simulated moving bed chromatographic reactors, *Chemical Engineering and Processing* **42**, 237-248.
  44. Grodahl, M., A. Teleman, and P. Gatenholm (2003), Effect of acetylation on the material properties of glucuronoxyylan from aspen wood, *Carbohydrate Polymers* **52**, 359-366.
  45. Teleman, A., M. Nordstro, M. Tenkanen, A. Jacobs, and O. Dahlman (2003), Isolation and characterization of O-acetylated glucomannans from aspen and birch wood, *Carbohydrate Research* **338**, 525-534.
  46. Jacobs, Anna., J. Lundqvist, H. Stabrand, F. Tjerneld, and O. Dahlman (2002), Characterization of water-soluble hemicelluloses from spruce and aspen employing SEC/MALDI mass spectroscopy, *Carbohydrate Research*, **337**, 711-717.
  47. Miri, R., R. Dizene, and R. Joulie (2004), Influence of adsorbent particles on a dynamic protein membrane in cross flow filtration, *Desalination* **168**, 329-339.
  48. <http://www.acdlabs.com/ADSim>
  49. <http://www.aspentech.com/>
  50. Kim J. K. and P. C. Wankat (2003), Scaling and Intensification Procedures for Simulated Moving-Bed Systems, *AIChE Journal* **49**(11), 2810-2821.
  51. <http://www.lcresources.com/>
  52. <http://www.iristechnologies.net/ChromSword/ChromSwordAuto.htm>
  53. Row K. H. (1989), Separation technology of nucleoside and nucleotide by chromatography, *Chemical Industry and Technology* **7**(2), 162-168.
  54. <http://www.chemsw.com/>
  55. [http://www.acdlabs.com/products/chrom\\_lab/lc\\_simulator/](http://www.acdlabs.com/products/chrom_lab/lc_simulator/)
  56. <http://www.scisw.com>
  57. <http://www.chromperfect.com>
  58. [http://www.knauer.net/cgi-bin/e\\_artikel.pl?ptype=software,%20complete](http://www.knauer.net/cgi-bin/e_artikel.pl?ptype=software,%20complete)
  59. Wolf, D., N. Dropka, Q. Smejkal, and O. Buyevskaya (2001), Oxidative dehydrogenation of propane for propylene production-comparison of catalytic processes, *Chemical Engineering Science* **56**, 713-719.
  60. Row, K. H., D. K. Choi, K. Y. Huang, and Y. Y. Lee (1990), Separation by Chromatography, *Chemical Industry and Technology* **8**(4), 425-434.
  61. <http://www.jaikorea.co.kr>
  62. <http://www.novasep.com/what/constructions.htm>
  63. Song, M. S., Y. W. Lee, J. D. Kim, and K. H. Row (2003), Extraction of Acanthoside-D in *Acanthopanax Senticosus* by Supercritical Fluid, *HWAHAK KONGHAK* **41**(2), 207-212.
  64. <http://www1.shimadzu.com/products/lab/hplc.html>
  65. <http://www.waters.com>
  66. <http://www.chem.agilent.com>
  67. <http://www.merck.de>
  68. <http://www.sepragen.com/products/automation.html>
  69. <http://www.laball.co.kr/laballiance/system/prep200hplc.htm>