

# Simulation of Chromatography

## By Macsyma

# Summary

A simple method of simulation for preparative liquid chromatography is discussed. The equilibrium-dispersive model describing the behavior of elution peaks in preparative liquid chromatography is solved numerically by using PDEsolver Macsyma<sup>®</sup> (Macsyma Inc., Arlington, MA, U.S.A.) and simulation results obtained in overloaded isocratic chromatography are plotted. The effects of sample concentration and flow velocity on the band profiles of elution peaks are described.

# Chromatography Modelling

Modeling of chromatography plays an important role in getting optimum experimental conditions. The model allows the calculation of separated chromatographic peaks taking place in the column under a given set of operational parameters and predicts proper experimental conditions [1][2].

Equilibrium-dispersive model gives theoretical results that are in fairly good agreement with experimental results. The main idea of this model is to assume rapid equilibrium between mobile and stationary phases. Besides, all the contributions to the band broadening can be lumped into a single apparent dispersion coefficient [3][4].

In order to simulate the model, we have to rely on numerical methods which require programming works such as finite differencing differential equations as well as coding the difference equations into Fortran language [5]. It is a big burden to the experimental chromatographers so that differential equation solvers have been developed to lighten the burden of programming [6].

# Chromatography system

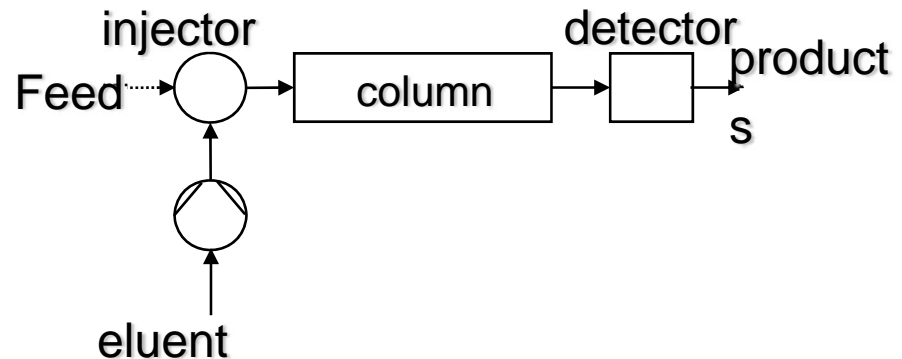
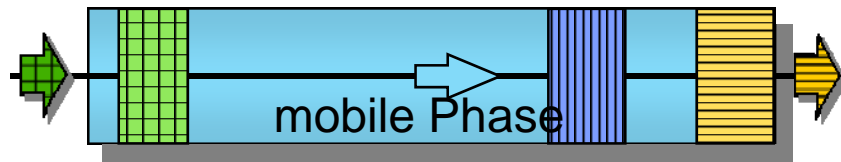
- Batch chromatography

- Advantages :

- simple process
- high flexibility

- Disadvantages :

- poor productivity
- poor utilisation of the adsorbent
- high eluent consumption
- low concentration

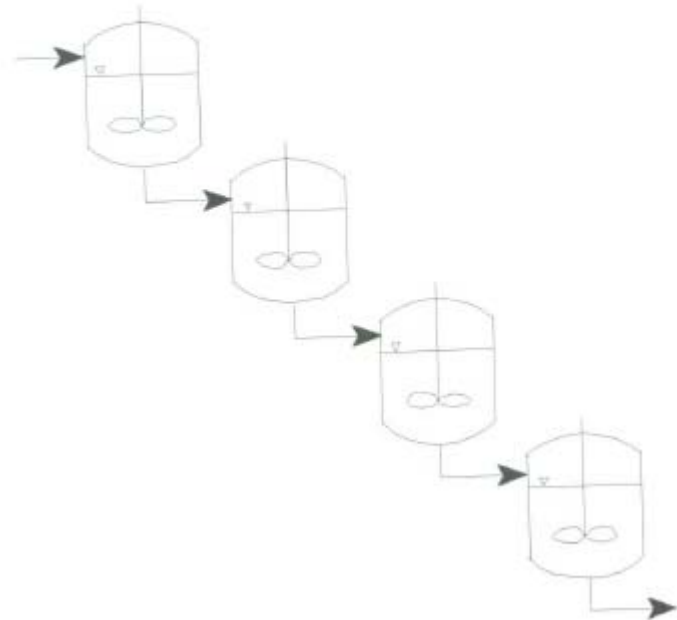


# Modelling approach

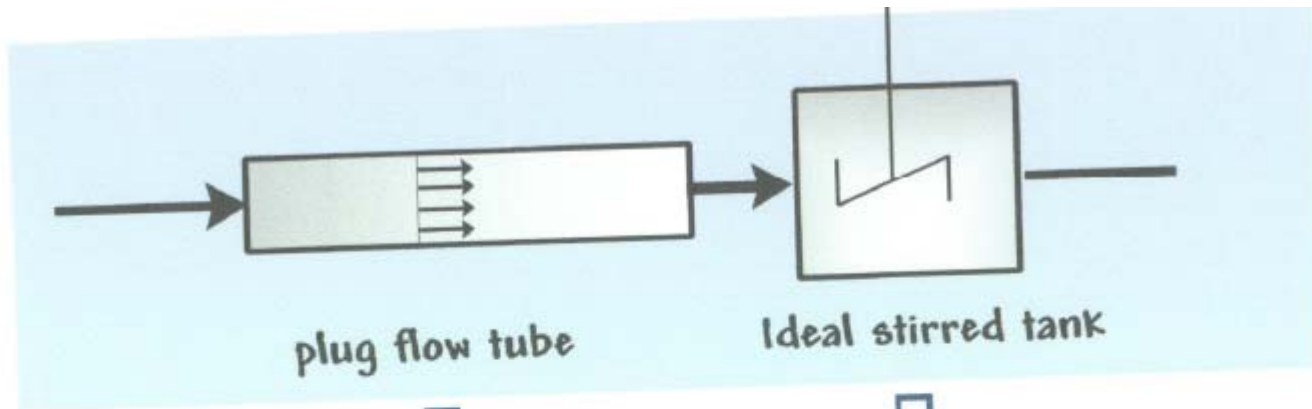
Plug flow tube with dispersion



Cascade of ideal stirred tanks:  
'stage model'



# Combination of PFR and CSTR



plug flow tube

Ideal stirred tank



Time delay

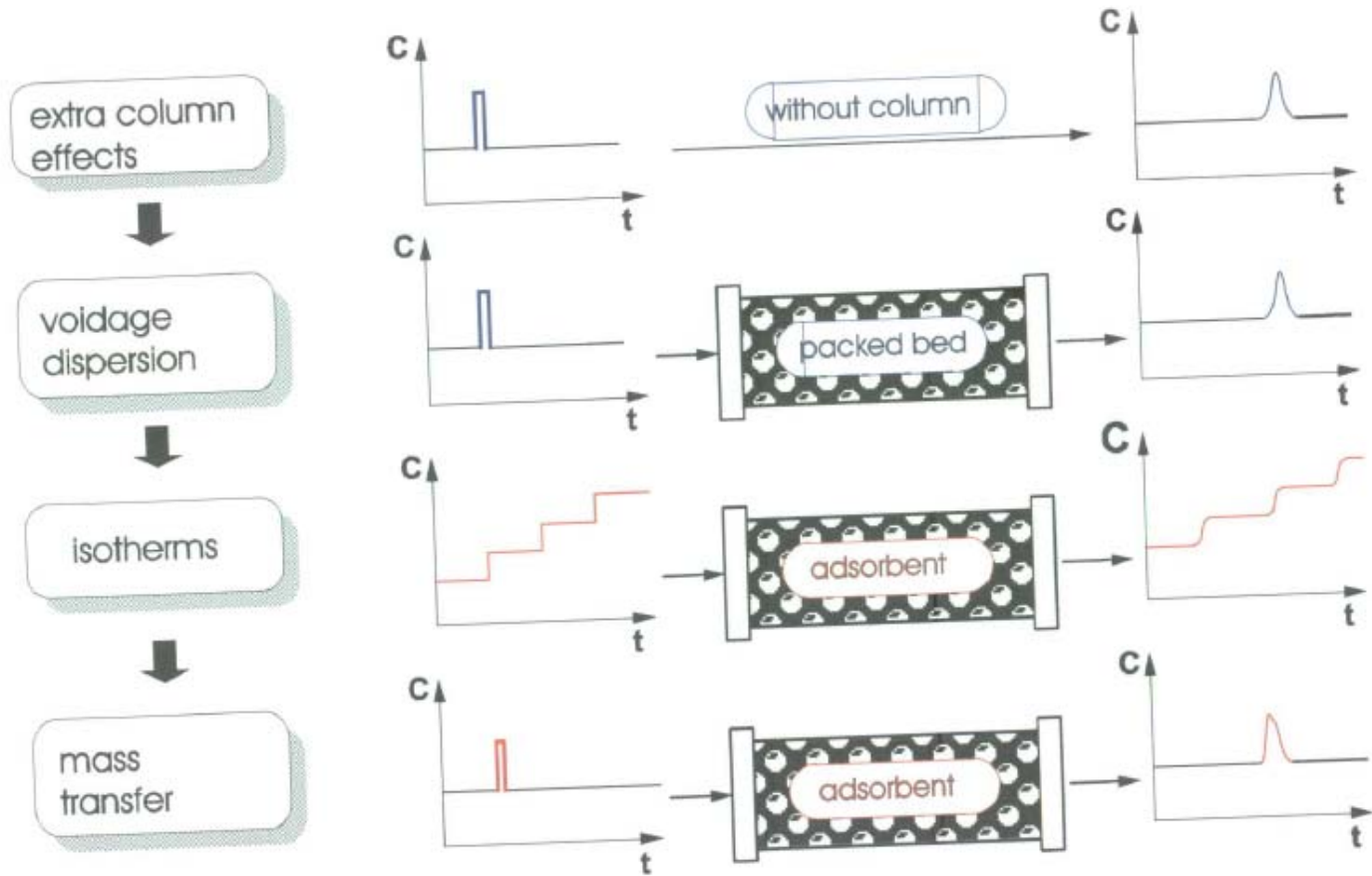


Ideal back mixing

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = -u_0 \frac{\partial c_i}{\partial x}$$

$$V_{ST} \frac{\partial c_i}{\partial t} = V(c_{in,i} - c_i)$$

# Concepts in chromatography



# Transport equations in terms of PDE

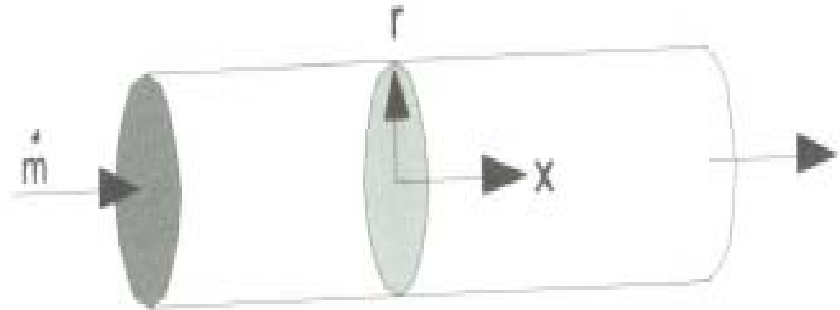
$$\frac{\partial(\rho \cdot c)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot c \cdot u)}{\partial x} = \frac{\partial}{\partial x} \left( D \cdot \frac{\partial c}{\partial x} \right) + S$$

storage term:  $\frac{\partial(\rho \cdot c)}{\partial t}$

convection:  $\frac{\partial(\rho \cdot c \cdot u)}{\partial x}$

diffusion:  $\frac{\partial}{\partial x} \left( D \cdot \frac{\partial c}{\partial x} \right)$

source- and sink term:  $S$





# Model PDE

The band profiles were calculated by means of the equilibrium-dispersive model of chromatography (7). The mass balance equation in this model is given by

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + F \frac{\partial q_i}{\partial t} + u \frac{\partial C_i}{\partial z} = D_{i,a} \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} \quad (1)$$

where  $C_i$  and  $q_i$  are the concentrations of component  $i$  in the mobile and the stationary phases, respectively;  $z$  is the column length,  $t$  the time,  $u$  the mobile phase linear velocity, and  $F$  the phase ratio,  $(1-\epsilon)/\epsilon$ , where  $\epsilon$  is the total porosity of the column.  $D_{i,a}$  is the apparent axial dispersion coefficient related to the column HETP.

For a single component, we have

$$D_a = \frac{Hu}{2} \quad (2)$$

In many practical cases, it is observed that binary-component adsorption data can be fitted reasonably well to the competitive Langmuir isotherm:

$$q_i = \frac{a_i C_i}{1 + b_1 C_1 + b_2 C_2} \quad i = 1, 2 \quad (3)$$

where  $a$  and  $b$  are numerical coefficients. The limit,  $q_s = a/b$ , of the stationary phase concentration at high mobile phase concentration is called the saturation capacity of the stationary phase [5].

All calculations based on the Eqs. (1) to (3) were carried out by using PDEsolver Macsyma<sup>®</sup> (6)(7).

# Program

## Title

"High Performance Liquid  
Chromatography"

## Select

errlim=0.0000005

## Coordinates

ycylinder(" r ", " z ")

## Variables

C1(range=0,500)

## Definitions

V0=0.1 e=0.4 L=10

C10=if t<100 then 2 else 0

r1=0.2 D1=0.01

a1=11.232 b1=0.0432

## Initial Values

C10=0

## Equations

$V0 \cdot dz(C1) - D1 \cdot dzz(C1)$

$= (e-1) \cdot dt(a1 \cdot C1 / (1 + b1 \cdot C1)) - e \cdot dt(C1)$

## Boundaries

region 1

start(0,0)

value(C1)=C10 line to (r1,0)

natural(C1)=0 line to (r1,L)

natural(C1)=0 line to (0,L)

natural(C1)=0

line to finish

## Time

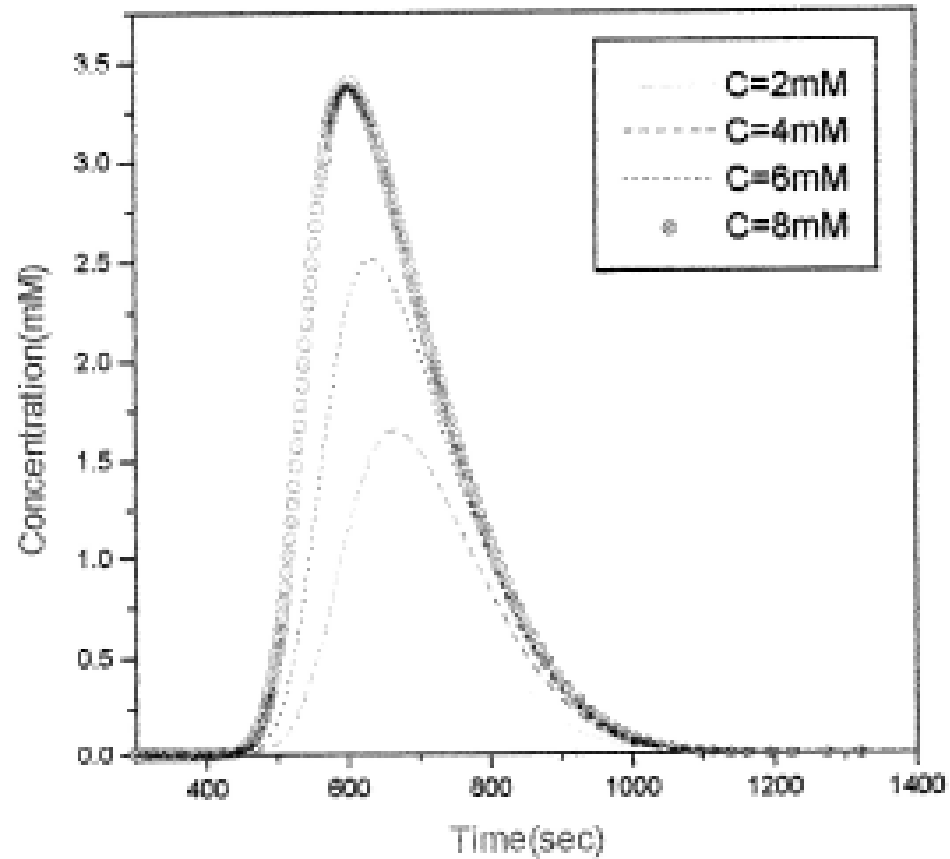
0 to 3600

## Histories

history(C1) at (r1/2,L) as "Concentration" file

## End

# Simulation Chromatogram



## REFERENCES

1. H. Guan, B. Scott Broyles and G. Guiochon, *J. of Chromatography A*, 734 (1996).
2. W. B. Lin, F. S. Wang and W. C. Lee, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 37 (1998).
3. S. Golshan-Shirazi and G. Guiochon, *J. of Chromatography A*, 658 (1994).
4. B. Lin, Z. Ma, S. Golshan-Shirazi and G. Guiochon, *J. of Chromatography*, 500 (1990).
5. A. Felinger and G. Guiochon, *J. of Chromatography A*, 796 (1998).
6. G. Guiochon, S. Golshan-Shirazi and A. M. Katti (eds.), *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Boston, MA, 1994.
7. J. C. Bellot and J. S. Condoret, *Process Biochemistry*, 26 (1991).
8. I. H. Kim, S. Lee and W. Whang, *J. of Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 14 (1999).
9. Macsyma Inc., *PDEase2D™ Reference Manual*, Arlington, MA, 1996.
10. I. H. Kim and J. T. Kim, *Korean J. Chem. Eng.*, 15 (1998).

# Comparison of Macsymba Simulation with Caffeine HPLC Experiment

ABSTRACT : A simple method of isotherm determination for HPLC is discussed. The equilibrium-dispersive model describing the behavior of elution peaks in HPLC for single component is solved numerically by using PDE solver Macsymba<sup>®</sup> (Macsymba Inc., Arlington, MA, USA) and compared to the experimental data obtained in overloaded isocratic chromatography with caffeine as model species. The effect of sample concentration and flow velocity on the band profiles of elution peaks are described.

본 연구에서는 Macsymba<sup>®</sup>를 이용하고 크로마토그램의 시뮬레이션을 통하여 비교적 단순한 방법으로 Langmuir 등온흡착곡선의 파라미터들을 계산하고자 하였으며, 신속한 시뮬레이션을 통하여 파라미터들을 보정하고, 이로부터 크로마토그램이 나타내어 지도록 하였다.

# Theory

Langmuir parameter의 계산을 수행하기 위하여 용출되는 피크의 형태는 equilibrium-dispersive model로부터 추산되어지며, 이때 물질수지식은 다음과 같다[9].

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_i}{\partial t} + F \frac{\partial q_i}{\partial t} + u \frac{\partial C_i}{\partial z} \\ = D_{i,a} \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} \end{aligned} \quad (1)$$

여기서, C = 이동상중에 시료의 농도,  
 q = 고정상중에 시료의 농도,  
 i = 시료중의 성분,  
 z = 칼럼의 길이,  
 t = 시간,  
 u = 이동상의 선속,

F = 상비로써  $\frac{1-\epsilon}{\epsilon}$  이며,  $\epsilon$ 는 고정상중의 공극율  
 $D_{i,a}$  = 축방향 분산계수이다.

또한  $D_{i,a}$ 는 단일성분인 경우 다음과 같이 나타내어진다.

$$D_a = H u / 2 \text{이다.} \quad (2)$$

등온흡착곡선을 계산하기 위하여, 실험적으로 잘 알려진 Langmuir isotherm이 많이 사용되어지며 단일성분에서 다음과 같이 표현된다.

$$q = \frac{aC}{1 + bC} = \frac{bq_s C}{1 + bC} \quad (3)$$

여기서, a, b = Langmuir isotherm parameters,  
 $q_s$  = saturation capacity, a/b로써 고농도 이동상에서의 고정상에 흡착량이다[10].

# Theory and Experiment

체류시간을 이용한 계산법(Retention Time Method ; RTM)은 Langmuir isotherm parameter를 구하는 첫 번째 방법으로 다음과 같은 식을 사용하였다.

$$a = \frac{t_r - t_0}{Fv t_0} \quad (4)$$

$$L_f = \left[ 1 - \frac{\sqrt{t_f - t_0 - t_p}}{t_r - t_0} \right]^2 \quad (5)$$

$$b = \frac{L_f Fv (t_r - t_0)}{n_m} \quad (6)$$

여기서,  $t_R$  = 미량의 시료를 주입했을 때 체류 시간,

$t_0$  = 이동상의 불감시간,

$t_f$  = 피크 전면의 체류시간,

$t_p$  = 시료 주입에 의한 펄스의 폭,

$Fv$  = 이동상의 유속,

$n_m$  = 주입된 시료의 양이다.

실험에 사용된 시료는 카페인(Sigma, USA)이었으며, 이동상은 HPLC 등급의 메탄올과 물(Duksan, Korea)을 25:75의 부피비로 혼합하여 사용하였다. 또한, 실험에 사용하기 전에  $0.2\mu\text{m}$  필터로 여과하여 30분간 탈기시킨 후 사용하였다.

HPLC는 고압펌프(M-930, Younglin, Korea), UV 가변파장 검출기(M-720, Younglin, Korea) 그리고, 시료주입장치(7725i, Rheodyne, USA)를 부착하였다. 컬럼은 Nova-pak C18(내경 3.9 mm×길이 150 mm)이었으며, 충전된 고정상의 입자크기는  $4\mu\text{m}$ , 평균 기공크기는 60 Å이었다. 용출실험에서 크로마토그램은 254 nm 파장에서 흡광도를 Autochro-Win (Younglin, Korea)를 사용하여 PC를 통해 기록하였다. 모든 실험은 등용매 조건이었고, 시료의 주입량은  $20\mu\text{l}$ , 실온( $25\text{ }^\circ\text{C}$ )에서 수행되었다.



# Comparison

RTM으로 식 (3)의 a, b값을 계산하기 위하여 농도별로 소량의 시료를 주입하여 크로마토그램을 얻으며, 이때 이동상의 유속은 0.7 ml/min였다(Fig. 1). 식 (4)-(6)을 이용하여 a,b를 계산하였으며, 필요 파라미터값들은 Table 1에 나타내었다. 이로부터 얻어진 Langmuir 등온흡착 곡선은 다음과 같다.

$$q = \frac{4.44C}{1 + 0.19C} \quad (7)$$

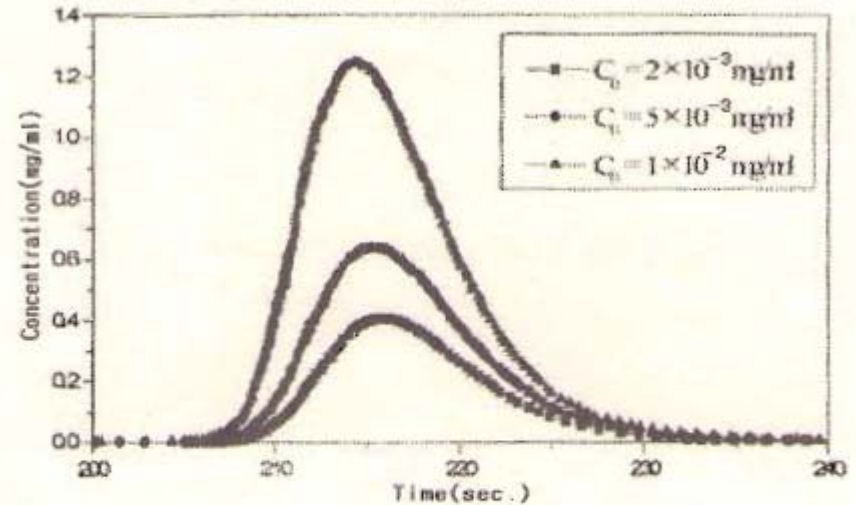


Fig. 1. Chromatograms of experiments at different concentration of caffeine; mobile phase flow rate=0.7 ml/min., sample loading amount=20  $\mu$ l, wavelength=254 nm.

Table 1. Parameters used in RTD method

| $t_R$ (sec.) | $t_0$ (sec.) | F    | $t_f$ (sec.) | $t_p$ (sec.) | $n_m$ ( $\mu$ g) |
|--------------|--------------|------|--------------|--------------|------------------|
| 216          | 70.98        | 0.46 | 210          | 1.2          | 0.04             |
| 215          | 70.98        | 0.46 | 208          | 1.2          | 0.04             |
| 214          | 70.98        | 0.46 | 206          | 1.2          | 0.04             |

# Comparison

식 (7)의 등온흡착곡선을 통하여 식 (1)과 (3)을 Macsyma<sup>®</sup>로 시뮬레이션을 수행한 결과를 Figure 2에 나타내었으며, 실험치와 계산치간에 많은 편차를 보였다. 따라서, 실험치와 더욱 잘 부합하도록 Langmuir isotherm parameter를 구하기 위하여 식 (8)을 이용해 a 값의 계산을 수행하였다[12].

$$a = \frac{t_r \times u_0 / L - \epsilon}{(1 - \epsilon) \times \beta} - 1 \quad (8)$$

여기서, L = 칼럼의 길이,

u<sub>0</sub> = 이동상의 선속,

β = 입자의 기공도,

ε = 칼럼의 공극율이다.

시료의 농도가 등온흡착 곡선의 선형영역에 위치하는 경우 얻어진 체류시간(t<sub>R</sub>)은 Figure 1에 나타난 바와 같이 피크의 형태가 좌우 대칭이며, 이 때 얻어진 t<sub>R</sub> 값은 피크의 최상점에서의 값이다. 이 값을 식 (8)에 넣어 계산한 경우, 구해진 a 값은 7.45였다.

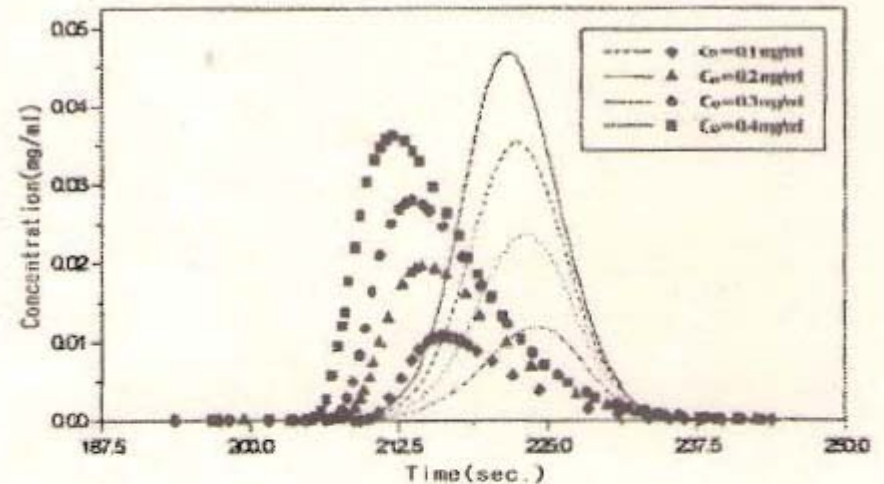


Fig. 2. Comparison of experiments and calculated values at different concentration of caffeine with a=4.44, b=0.19 of Langmuir isotherm parameters; mobile phase flow rate=0.7ml/min., sample loading amount=20 μl, wavelength=254 nm.

# Comparison

그리고,  $b$  값을 얻기 위하여 PDE solver인 Macsyma<sup>®</sup>를 사용하였고, 얻어진  $b$  값들을 사용하여 얻어진 크로마토그램을 Figure 3에 나타내었다. Figure 3에 보인 바와 같이  $b$  값이 2.1일때 실험치와 계산치는 잘 부합하였기에 다음과 같은 등온흡착 곡선으로 결정하였다.

$$q = \frac{7.45C}{1 + 2.1C} \quad (9)$$

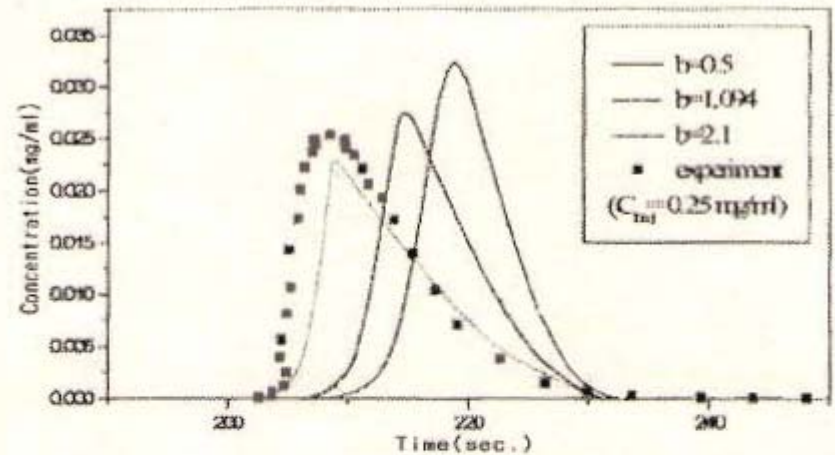


Fig. 3. Comparison of experiments and calculated values at different Langmuir isotherm parameter  $b$  with  $a=7.45$ ; mobile phase flow rate= $0.7 \text{ ml/min.}$ , sample loading amount= $20 \text{ } \mu\text{l}$ , wavelength= $254 \text{ nm}$ .

# Comparison

Figure 4에 등용리 조건에서 각기 다른 농도의 카페인에 대한 크로마토그램의 계산치와 실험치를 나타내었으며, 각 농도는 0.1, 0.2, 0.25 mg/ml이었다. Figure 4에 나타난 바와같이 실험치와 계산치는 일치하였으며, 농도가 증가할수록 시료의 체류시간이 감소하고 용출되는 피크의 형태는 비대칭성을 보였다. 이동상의 유속을 변화시켰을 경우, 용출되는 피크를 Figure 5에 나타내었으며, 이동상의 유속이 감소할수록 시료의 체류시간은 감소하고, 용출되는 피크의 형태는 점차로 넓어짐을 보였다. 높은 유속에서는 크로마토그램상의 피크가 좁아지는 현상을 보이는데 이것은 고정상과 이동상의 접촉시간이 감소함에 기인하는 것이다.

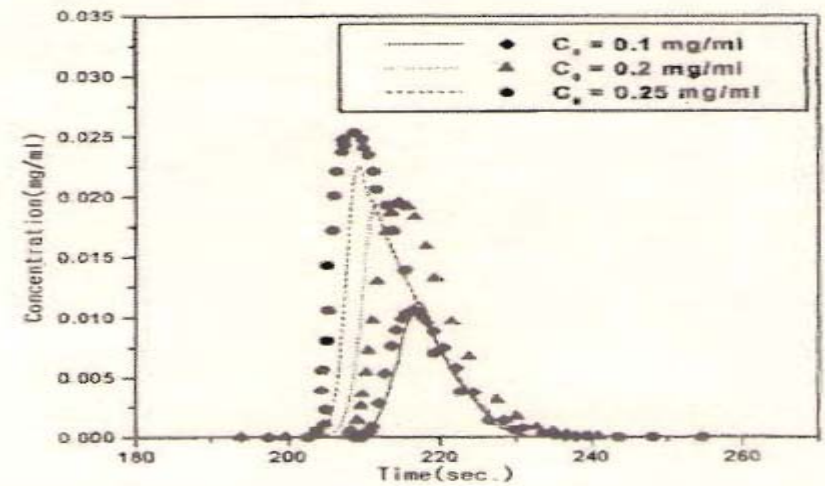


Fig. 4. Comparison of experiments and calculated values at different concentration of caffeine with  $a=7.45$ ,  $b=2.1$  of Langmuir isotherm parameters; mobile phase flow rate= $0.7 \text{ ml/min.}$ , sample loading amount= $20 \text{ }\mu\text{l}$ , wavelength= $254 \text{ nm}$ .

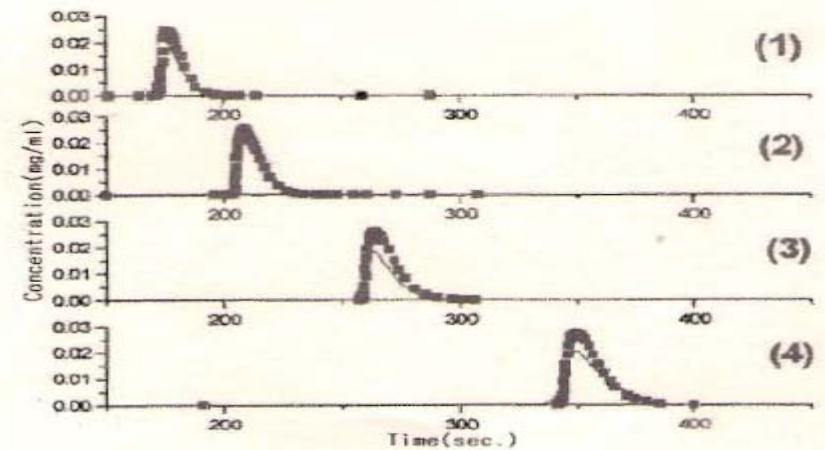


Fig. 5. Chromatograms of experiments and calculated at different flow rate of mobile phase ; sample loading amount= $20 \text{ }\mu\text{l}$ , wavelength= $254 \text{ nm}$ , mobile phase flow rate: (1)= $0.8 \text{ ml/min.}$ , (2)= $0.7 \text{ ml/min.}$ , (3)= $0.5 \text{ ml/min.}$ , (4)= $0.4 \text{ ml/min.}$