

L-ribose와 L-arabinose 분리를 위한 Aspen chromatography를 이용한 SMB (Simulated moving bed) 전산모사

이 선 희 · 이 은 · † 김 인 호
충남대학교 화학공학과
(접수 : 2007. 10. 8., 게재승인 : 2008. 1. 31.)

Simulation of SMB (Simulated Moving Bed) Chromatography for Separation of L-ribose and L-arabinose by ASPEN chromatography

Seon-hee Lee, Eun Lee, and In Ho Kim†
Department of Chemical engineering, Chungnam National University
(Received : 2007. 10. 8., Accepted : 2008. 1. 31.)

SMB (simulated moving bed) chromatography is a very useful utility for the separation of binary system. We simulated the separation of L-arabinose and L-ribose from the mixture by using lab-scale 4(1-1-1-1)-zone SMB chromatography. Preliminary experiments of PIM (pulse input method) were performed to measure adsorption isotherms of L-ribose and L-arabinose in NH₂ HPLC column, and experimental and simulated results from ASPEN chromatography were compared. To find the most suitable separation condition in SMB, we carried out a simulation in m₂-m₃ plane base on the triangle theory and calculated operating parameters (flow rate of four zone, switching time and feed concentration and so on) using ASPEN chromatography under the conditions of linear isotherms obtained from PIM.

Key Words : SMB (simulated moving bed) chromatography, ASPEN chromatography, L-arabinose and L-ribose

서 론

최근 유전공학의 발달로 L-nucleoside의 생체 내 기능들을 밝히기 위한 연구가 활발히 진행되면서 L-nucleoside 계열 신약의 개발이 급증하게 되었다. 이런 신약의 제조에 필요한 당 화합물 중에 L-ribose는 B형간염 치료제로써 개발되고 있는 L-FMAU (Bukwang & Triangle)의 핵심 중간체로 점차 그 수요가 늘어나고 있어, 산업적으로 이용 가능한 그의 제조방법을 개발하는 것은 동분야 많은 연구진들의 관심의 대상이 되고 있다(1).

L-ribose는 고가의 희귀 당 화합물으로써 자연계에서 얻을 수 없기 때문에 화학반응으로 부터 생산하는데(2) L-ribose, L-arabinose isomerase와 *Acetobactor aceti* IFO 3281를 이용한 ribitol 산화 효소반응이 있다(3). 그리고 Bilik reaction이

라 하여 L-arabinose의 변환과정을 거쳐 L-ribose를 생산해 내는 Epimer 반응이 있다(4). 연구를 위한 기초 실험으로써 회분식 크로마토그래피를 통해 반응 물질인 L-arabinose와 생산 물질인 L-ribose의 수율을 해석하고 최종 목표인 L-ribose의 높은 순도와 수율을 위한 연구가 필요하다.

먼저 고효율 HPLC 시스템에서 실험을 통해 얻은 값들을 식 (1)과 식 (2)에 대입하여 성분의 분리도와 선택도를 추산할 수 있고 그에 따른 분리특성을 확인한다.

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2} \quad (1)$$

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0} \quad (2)$$

여기서, R_s 는 분리도, t_{R1} , t_{R2} 는 성분 1, 2의 체류시간, t_0 는 dead volume, α 는 선택도, w_1 , w_2 는 성분 1, 2의 피크 너비이다.

흡착 분리공정을 개발하기 위한 가장 중요한 전단계의 하나는 화합물이 분리되는 흡착 평형을 결정하는 것이다. 흡착평형 연구는 고정상과 이동상의 물질 사이의 상관관계

† Corresponding Author : Department of Chemical engineering, Chungnam National University, 220, Gung-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-764, Korea

Tel : +82-42-821-5685, Fax : +82-42-822-8995

E-mail : ihkim@cnu.ac.kr

규명을 통해 액체 크로마토그래피를 분리정제 공정으로 확장시키기 위함이 그 목적이다(5). 따라서 흡착 평형식은 크로마토그래피의 흡착 공정을 설계하거나 분석하는데 있어서 중요한 역할을 하는데, PIM (Pulse input method)을 통해 결정 될 수 있다. 본 연구에서는 PIM을 이용하여 주입되는 부피와 농도증가에 따른 피크의 변화를 관찰함으로써 얻은 체류인자로부터 식 (3)을 이용해 평형상수를 추산하여 식 (4)와 같은 흡착 등온식을 얻어낼 수 있다.

$$H = \frac{t_R - t_0}{t_0} \cdot \left(\frac{\varepsilon}{1 - \varepsilon} \right) \quad (3)$$

$$C_S = H \cdot C_M \quad (4)$$

이 식에서 H는 Henry's 상수, t_0 는 dead time, t_R 는 체류시간, ε 는 공극률, C_S 는 고정상의 농도, C_M 은 이동상의 농도이다.

다음으로 L-ribose의 회분식 크로마토그래피를 기본으로 SMB 크로마토그래피 연속 공정에 대한 설계가 필요하다. SMB 크로마토그래피는 여러 개의 컬럼을 사용하고 밸브를 순차적으로 제어함으로써 향류흐름을 만들어 zone을 변화 시켜 주는 공정으로 TMB (True moving bed)의 단점을 보완한 연속적인 크로마토그래피이다. SMB 공정에서 중요한 쟁점은 네 개의 zone에서의 흐름속도와 switching time (Δt)을 결정하는 것이며, 많은 문헌에서 SMB 공정의 설계방법이 보고되고 있다(6, 7). SMB 공정은 zone 1, 2, 3, 4에서의 각 흐름속도와 eluent, extract, feed, raffinate의 흐름속도에 의해서 다음과 같은 식을 따른다.

$$Q_{Input} = Q_{Output} \quad (5)$$

$$Q_{Eluent} + Q_{Feed} = Q_{Extract} + Q_{Raffinate} \quad (6)$$

$$Q_1 = Q_{Eluent} + Q_4 \quad (7)$$

$$Q_2 = Q_3 - Q_{Extract} \quad (8)$$

$$Q_3 = Q_2 + Q_{Feed} \quad (9)$$

$$Q_4 = Q_3 - Q_{Raffinate} \quad (10)$$

평형이론을 이용한 triangle 이론은 공정설계에 기본이 되는 이론이며 각 zone j에서의 이동상과 고정상의 부피유속의 비, 즉 m_j 는 컬럼의 부피 (V), 공극률 (ε), switching time (Δt)에 의해 다음과 같이 정의된다.

$$m_j = \frac{Q_j \Delta t - V\varepsilon}{V(1 - \varepsilon)} \quad (11)$$

이상의 운전에 필요한 변수들을 이용하여 SMB 공정을 최적화 하기위한 ASPEN chromatography 전산모사 프로그램을 이용하면, 실험을 하지 않고도 실시간 결과를 확인함으로써 생산물의 순도를 예측할 수 있고 여러 조건의 공정모사가 가능하므로 실험 조건을 쉽고 빠르게 얻어낼 수 있다. 따라서, 본 연구에서는 NH_2 컬럼을 이용한 HPLC 실험에서 얻은 L-ribose와 L-arabinose의 분리특성을 토대로 SMB 크로마토그래피의 운전 조건을 ASPEN chromatography의 전산모사에 의해 얻고자 한다.

실험 및 전산모사

재료 및 장치

L-ribose와 L-arabinose로 각각 Danisco, Sigma aldrich사의 제품을 사용하였다. 실험에 쓰인 용매로 Acetonitrile (ACN, 99.9% Duksan, Korea)과 증류수를 혼합하여 멤브레인 필터 (0.22 μm GVPP, Millipore)를 통해 감압 여과 시킨 후, sonicator (Brason, USA)로 잔존하는 공기를 제거하기 위해 20분 동안의 탈기 과정을 거쳤다.

HPLC 장치로 펌프 (Model-510, Waters, U.S.A)와 검출기 (Model-757, Applied Biosystems)를 사용하였고, 분리컬럼으로 NH_2 컬럼 (0.46*25 cm, phenomenex)을 사용하였다. 데이터 수집 시스템으로는 Clarity software (DataApex, ver. 2.1.0.152, Czech)를 Desk top 컴퓨터에 설치하여 크로마토그램으로 분석하였다.

실험과 전산모사 방법

이동상의 조성 변화에 따른 L-ribose와 L-arabinose의 분리 특성을 찾기 위해서 Acetonitrile과 증류수의 조성을 80/20, 85/15, 90/10 (v/v)로 변화시켜 실험을 수행하였다. 펌프의 유량은 1 ml/min으로, sample loop는 100 μl 를 사용하였으며 검출기의 파장은 197 nm로 정하였다.

실험을 위하여 L-ribose와 L-arabinose의 50 대 50 혼합물을 1, 3, 5, 7, 10 g/l의 농도로 변화시켜 그에 따른 두 성분의 t_0 , t_R 값을 측정하여 식 (3)을 통해 흡착평형상수 (H)를 계산하였다.

Aspen chromatography simulator (ver. 11.1 Aspen tech. U.S.A)를 사용하여 Table 1에 주어진 값을 이용하여 회분식 크로마토그래피를 전산모사 하였다. 전산모사는 회분식 크로마토그래피와 SMB 크로마토그래피를 얻는데 목적이 있다. 회분식 크로마토그래피의 실험 결과를 바탕으로 얻은 두 성분의 H값을 이용하여 Triangle 이론에 의한 m_2 - m_3 diagram을 작성한 후, 각 m값에서 SMB 크로마토그래피를 조작하기 위한 각 zone 유량과 switching time 변수를 계산하였다. Table 3의 조건에서 feed의 유량을 0.1 ml/min으로 고정 한 후 m_2 , m_3 의 값이 변함에 따라 결정되는 $Q_{Extract}$, Q_{Feed} , Q_4 , Δt 의 값들을 프로그램 메뉴에서 설정하여 m_2 - m_3 diagram 안의 6개의 포인트에서 extract와 raffinate의 순도 변화를 계산하였고, 최대 순도를 나타내는 운전조건을 수립하였다.

Table 1. Data for ASPEN chromatography batch simulation

Name	Value	Unit	Description
H _b	25	cm	Height of adsorbent layer
D _b	0.46	cm	Internal diameter of adsorbent layer
E _i	0.653	m ³ void / m ³ bed	Inter-particle voidage
N _p (L-ribose)	10000	n/a	Number of plates
N _p (L-arabinose)	2000	n/a	Nuber of plates
MTC (L-ribose)	15000	l/min	Constant mass transfer coefficient
MTC (L-arabinose)	500000	l/min	Constant mass transfer coefficient
IP (L-ribose)	3.51	n/a	Isotherm parameter
IP (L-arabinose)	5.07	n/a	Isotherm parameter

Table 2. The change of α and R_S with mobile phase composition condition

Mobile phase composition ACN / Water	Selectivity (α)	Resolution (R_S)
80 / 20	1.3	1.6
85 / 15	1.4	2.5
90 / 10	1.6	3.1

Table 3. Operating parameters according to change of m_2 and m_3

Run No.	Flow ratios		Internal flow rate (ml/min)				Flow rates of zones (ml/min)					Switching time (min)
	m_2	m_3	Q_f	Q_{blu}	Q_{ex}	Q_{ra}	Q_1	Q_2	Q_3	Q_4	Q_{re}	Δt
1	3.20	4.20	0.10	0.16	0.19	0.07	0.69	0.63	0.61	0.67	0.54	11.56
2	4.50	4.00	0.10	0.16	0.06	0.20	0.69	0.64	0.74	0.54	0.54	14.45
3	3.51	5.07	0.10	0.10	0.10	0.10	0.45	0.35	0.45	0.35	0.35	22.54
4	3.70	4.00	0.10	0.52	0.46	0.16	2.32	1.86	1.96	1.80	1.80	4.33
5	4.10	4.50	0.10	0.39	0.24	0.25	1.74	1.49	1.59	1.35	1.35	5.78
6	4.70	4.90	0.10	0.78	0.19	0.69	3.47	3.29	3.39	2.69	2.69	2.89

결과 및 고찰

이동상의 조성 변화에 따른 L-ribose와 L-arabinose의 분리 특성은 Fig. 1과 같다. Acetonitrile의 부피비가 커질수록 t_R 이 커지고 두 성분의 체류시간 차가 커짐을 확인할 수 있었으며 식 (1)과 식 (2)을 이용해 분리도 (R_S)와 선택도 (α)를 계산하였다(Table 2). Acetonitrile의 부피비가 증가함에 따라 이동상의 극성이 감소하여 극성 NH₂ 고정상에 대한 용매의 세기가 감소하여 t_R 이 증가한다. 선택도와 분리도가 클수록 두성분의 분리가 잘 이루어지는데 분리도가 증가해도 피크 너비가 넓어지고, 또한 분석 시간이 길어져 용매의 소비가 많아진다. 따라서 선택도, 분리도, 분석시간을 고려하여 Acetonitrile 과 증류수의 조성이 85 / 15 조건에서 $\alpha = 1.4$, $R_S = 2.5$ 로 최적의 조성이라고 판단하였다.

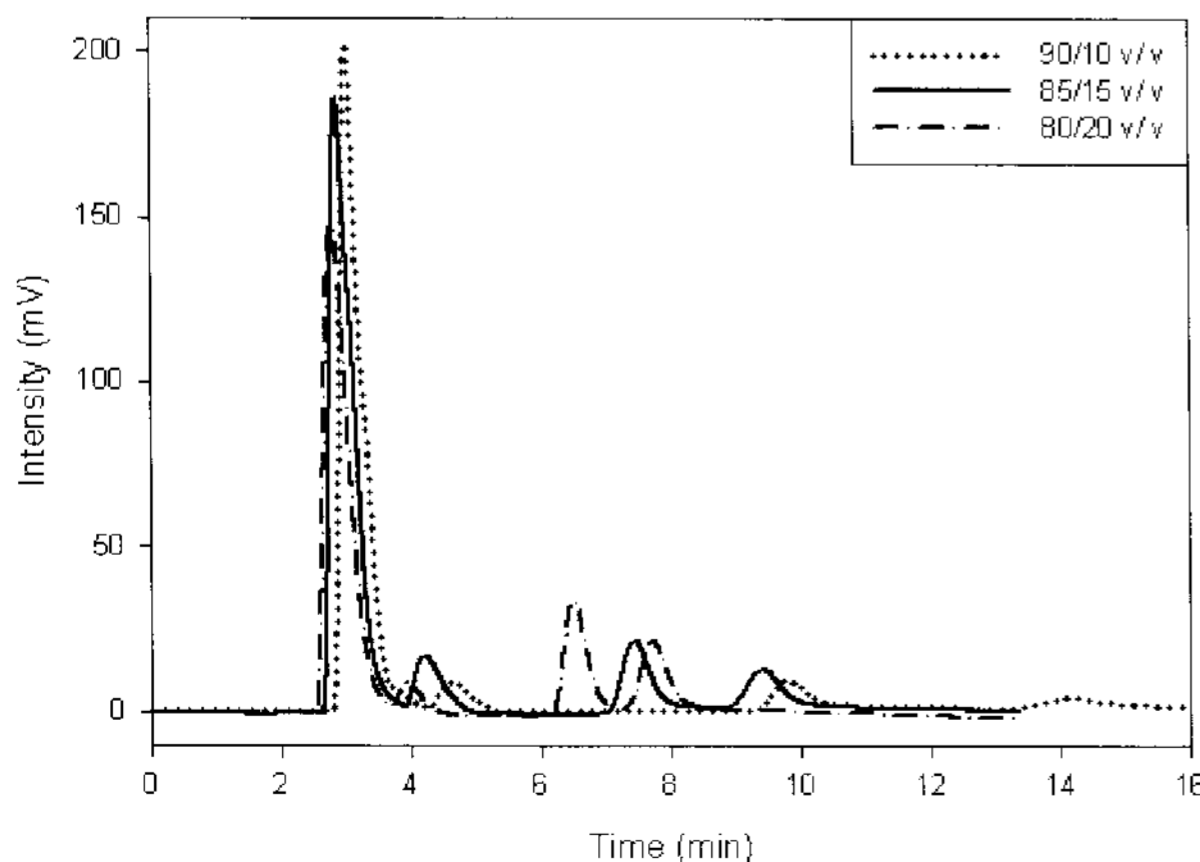


Figure 1. Chromatograms with change of mobile phase. (ACN / water = 80 / 20, 85 / 15, 90 / 10 v/v)

PIM (Pulse input method)

Fig. 1는 시료의 농도가 1, 3, 5, 7, 10 g/l일 때의 크로마토그램을 나타낸 것으로 $t_0 = 2.72$ 분이며 농도변화에 따른 $t_{R,ribose} = 7.7$ 분, $t_{R,arabinose} = 9.9$ 분으로 변화가 없는 것으로 보아 두 성분이 선형의 흡착등온식을 따르는 것을 확인하였다. 식 (3)에서 Henry 상수는 각각 3.51, 5.07로 추산되었고 다음과 같은 등온 흡착식으로 쓸 수 있다.

$$C_{S,ribose} = 3.51 \cdot C_{M,ribose}$$

$$C_{S,arabinose} = 5.07 \cdot C_{M,arabinose}$$

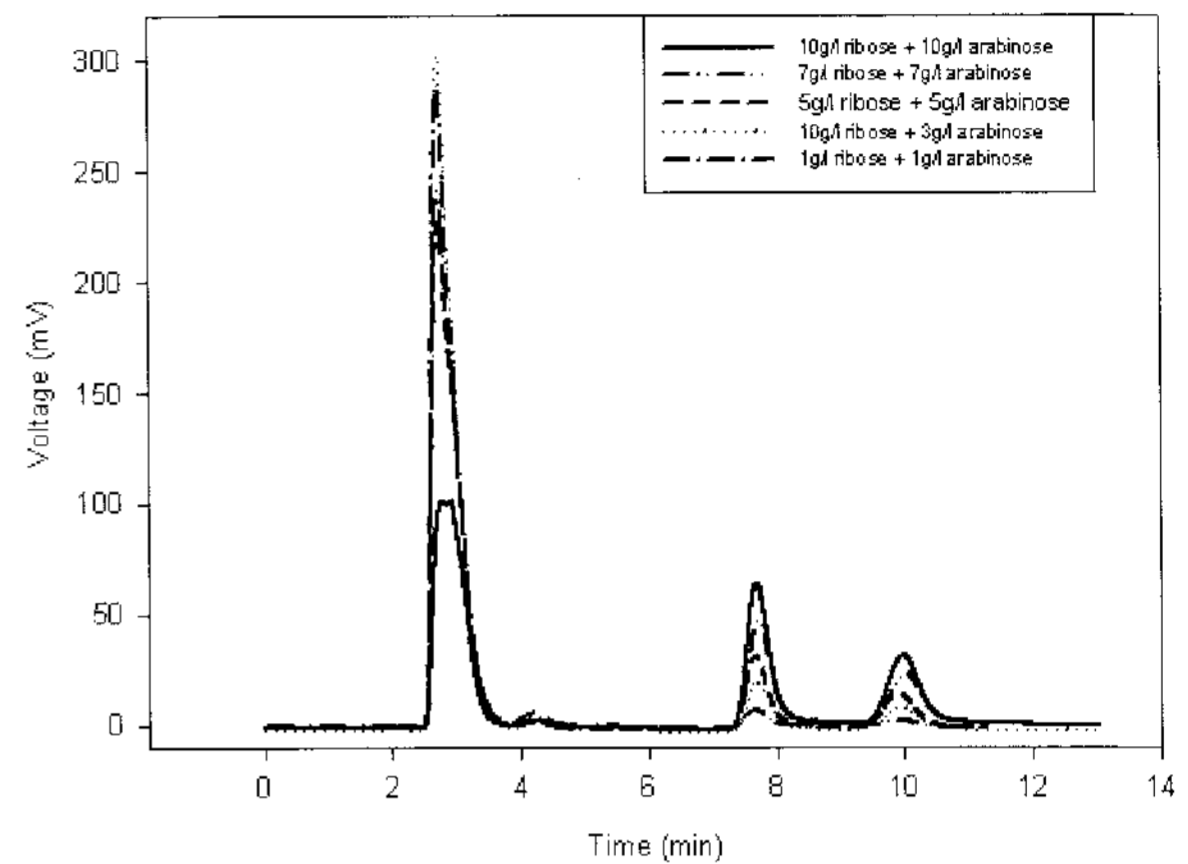


Figure 2. Chromatograms with change of concentration. ($t_{R,ribose} = 7.7$ min, $t_{R,arabinose} = 9.9$ min)

전산모사

HPLC를 이용한 L-ribose와 L-arabinose 혼합물의 분리실험을 Aspen chromatography를 이용하여 전산모사한 결과, Fig. 3과 같이 모사 값과 실험결과를 비교 하였다.

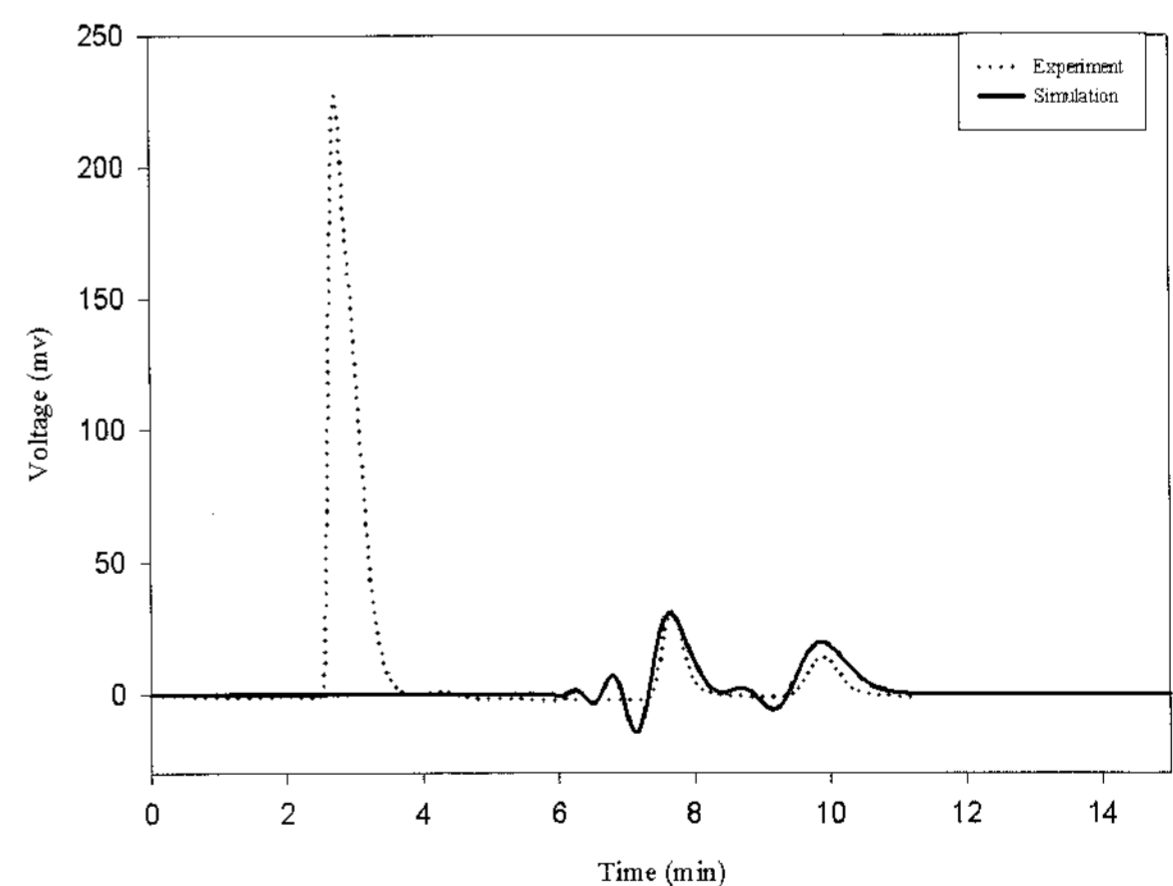


Figure 3. Comparison of simulated and experimental batch chromatograms.

Table 1의 전산모사 입력 값에 대해 각 성분의 체류시간, 피크 높이 및 폭이 잘 일치함을 확인하였다. 실험에서 나타난 물에 의한 처음 피크는 전산모사에서 고려하지 않았다.

회분식 크로마토그래피의 실험에서 얻어진 H_{ribose} , $H_{arabinose}$ 값을 토대로 Triangle 이론을 바탕으로 m_2 - m_3 diagram을 Fig. 4에 도시하였다.

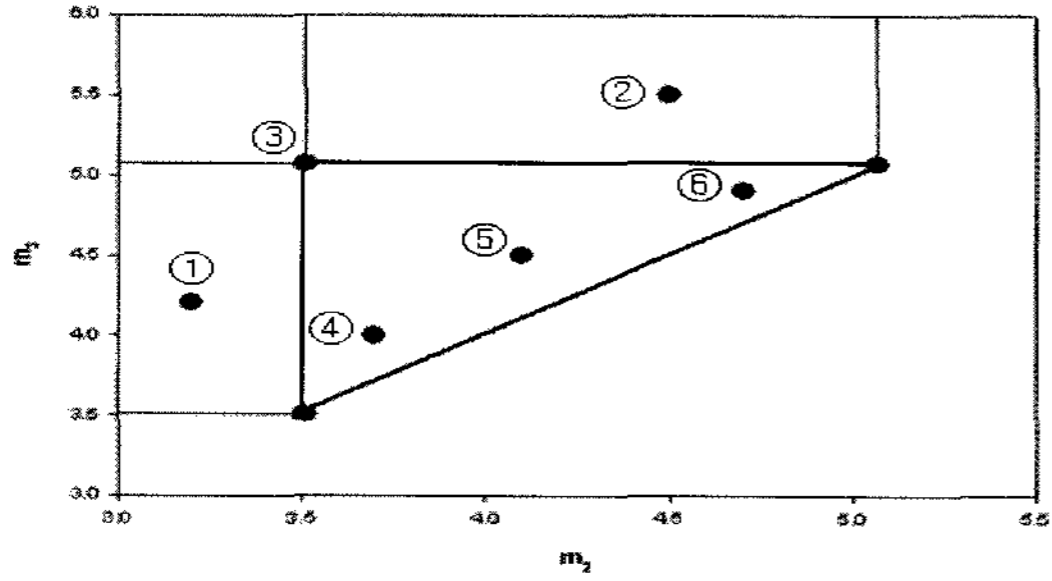


Figure 4. The $m_2 - m_3$ diagram plane based on triangle theory and six points selected for simulation.

Fig. 4를 기준으로 feed의 유량을 0.1 ml/min로 고정시키고 6개의 m_2 와 m_3 값에 따른 $Q_{\text{raffinate}}$, Q_{eluent} , Q_{extract} , Q_{recycle} , Δt 값들의 변화를 고려하여 (Table 3) SMB 크로마토그래피의 운전 을 전산모사 하였다. 그 결과, SMB 전체 컬럼 내부에서의 농도분포를 Fig. 5에 나타냈다. 먼저 $m_2 - m_3$ diagram에서 삼각형 외부 왼쪽 지점인 ① $m_2, m_3 : 3.2, 4.2$ 에서는 raffinate는 얻을 수 있는 최고 농도인 혼합물의 초기농도까지 도달하지만 extract는 초기농도의 50%정도 밖에 미치지 못한 것을 볼 수 있다. 이는 앞에서 언급한 SMB 공정 모델인 식 (6)~식 (10)으로 설명될 수 있다. 조건 ①은 m_3 에 비해서 상대적으로 m_2 가 작은 값을 갖게 되는데 m_2 값이 작으면 식 (11)에 의해서 Q_2 도 작은 값을 갖게 된다. 이에 따라 식 (8), 식 (9)에서 상대적으로 Q_{Extract} 가 증가하거나 $Q_{\text{Raffinate}}$ 가 감소하고 raffinate의 유량이 작아지게 되면 느린 속도로 배출되기 때문에 컬럼 내에 존재하는 농도가 높아 순수한 raffinate를 생산할 수 있게 된다. 반대로 extract 유량이 커지게 되면 그만큼 많은 양이 배출되기 때문에 컬럼 내부에서의 extract 농도는 작아지고 두성분이 겹쳐지는 부분이 많아지게 되므로 extract 쪽에서는 순수한 성분을 얻기 어렵게 된다. 조건 ②는 삼각형 외부에서 위쪽 지점으로, m_3 가 상대적으로 큰 값을 가지게 되어 zone 3의 유량이 커지고 이에 따라 extract의 유량은 작아지고, raffinate의 유량은 커지게 되어 raffinate 흐름에서는 순도가 낮은 반면 extract 흐름에서는 순수한 성분을 얻을 수 있게 된다. 삼각형의 꼭지점 지점에서는 SMB 공정을 통해 얻을 수 있는 최고 농도까지 도달하고 Base line이 영점에 도달 하는 것으로 보아 안정된 분리 조작이 이루어져 두 성분의 완전한 분리가 이루어졌음을 알 수 있다. 삼각형 내부의 운전조건들에서는 Fig. 5의 ④~⑥과 같이 ④점은 ①과 유사하게 extract의 컬럼 내부농도에 비해 raffinate의 내부 농도가 높게 나타났고, ⑤점은 두 성분이 낮게 비슷한 농도에 도달하였으나 ⑥점은 ②와 유사하게 raffinate의 컬럼 내부 농도에 비해 extract의 내부농도가 높게 나타났다.

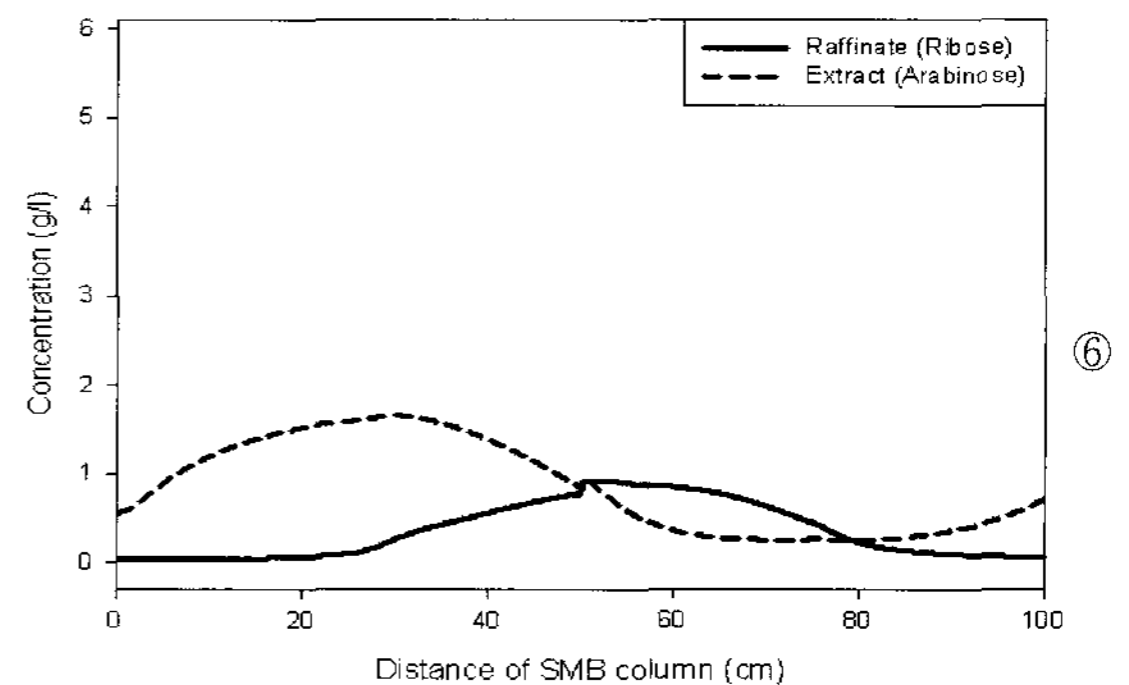
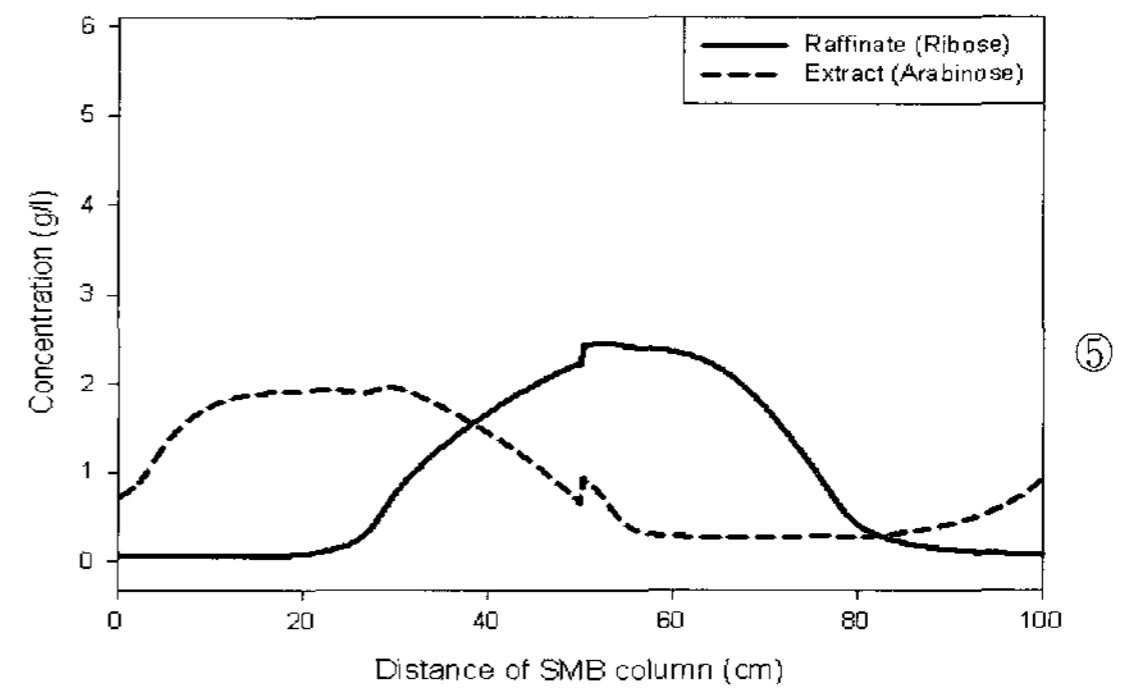
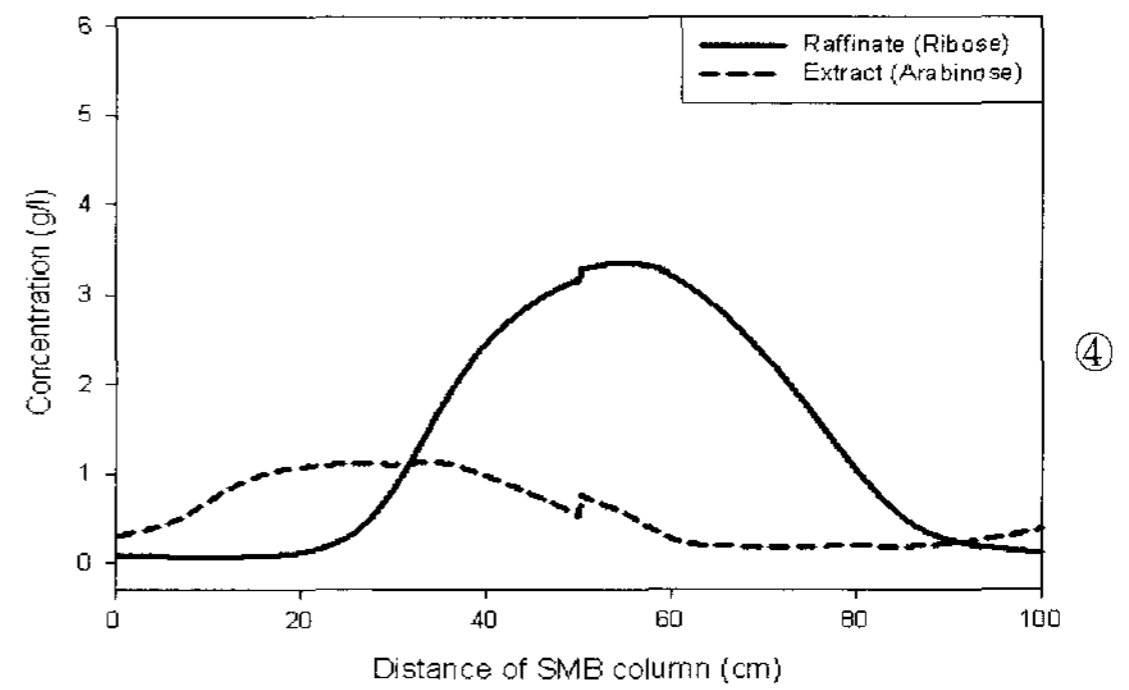
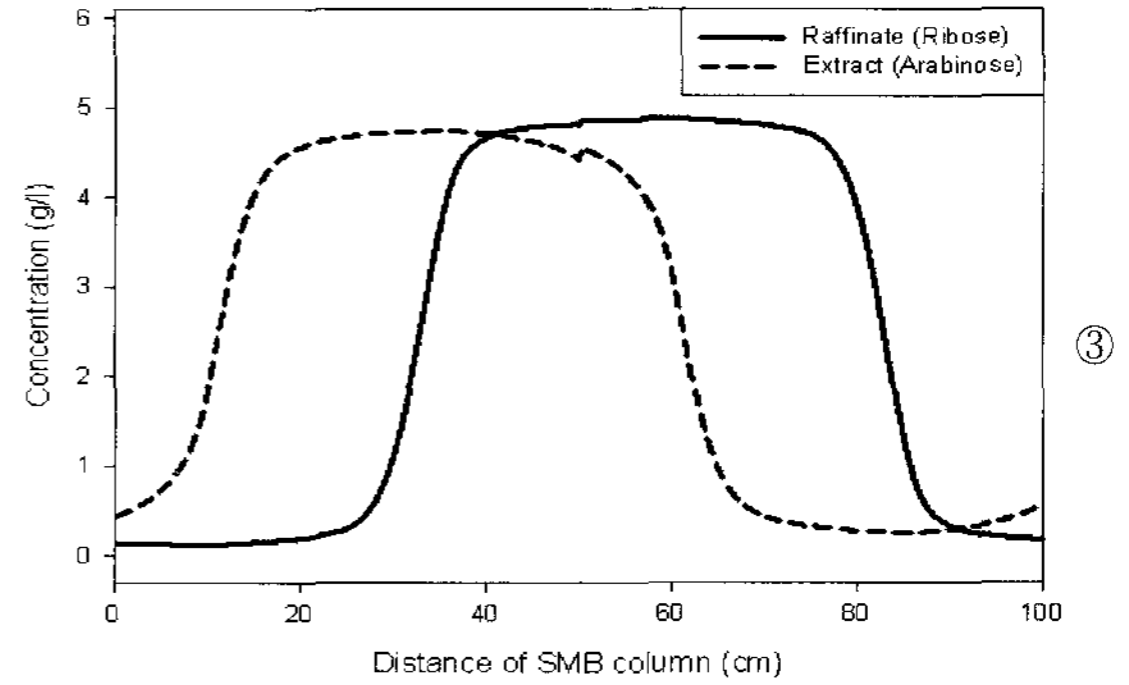
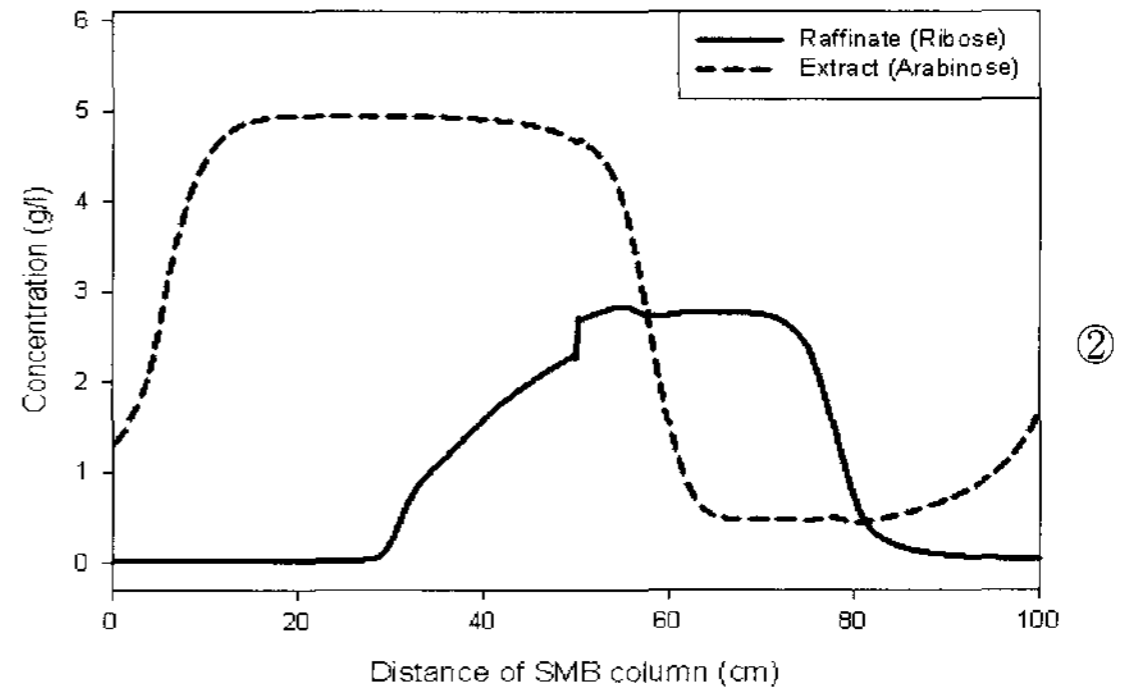
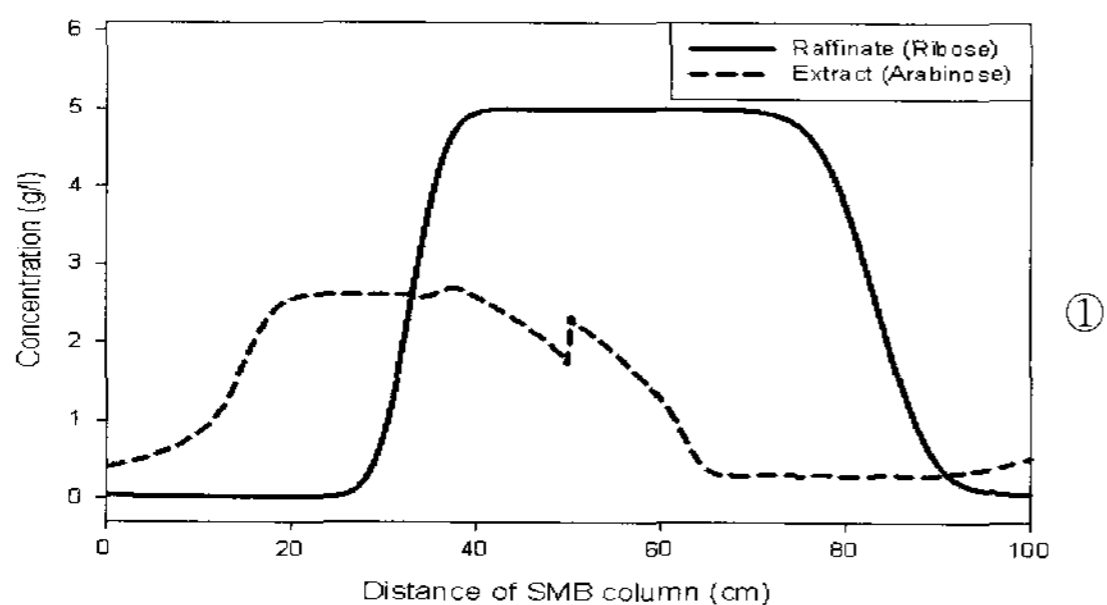


Figure 5. Internal concentration along SMB columns. (① $m_2, m_3 : 3.2, 4.2$, ② $m_2, m_3 : 4.5, 5.5$, ③ $m_2, m_3 : 3.51, 5.07$, ④ $m_2, m_3 : 3.7, 4.0$, ⑤ $m_2, m_3 : 4.1, 4.5$, ⑥ $m_2, m_3 : 4.7, 4.9$)

SMB 내부에서의 농도구배를 토대로 시간에 따른 raffinate와 extract의 순도 변화를 Fig. 6과 Fig. 7에서 보였다. Fig. 6의 ①에서 raffinate는 200분 정도 경과 후 정상상태에 도달하여 85~90%의 순도를 얻을 수 있었고, ②에서는 raffinate 유량이 크기 때문에 정상상태에 도달하지 못하고 매우 불안정하여 순도가 매우 낮은 것을 확인하였다. 삼각형의 꼭지점 ③은 다른 조건들에 비해 시간에 따른 순도의 기복이 크지 않고 순도 85%로 가장 안정적인 순도를 보였다. 삼각형 내부의 점 ④~⑥에서는 ①~③점 보다 steady-state에 빠르게 도달하는 이점이 있었지만 raffinate의 순도는 83%에서 72% 정도로 낮아졌다. 이는 ④에서 ⑥조건으로 갈수록 $Q_{Extract}$ 는 감소하고 $Q_{Raffinate}$ 는 증가 하게 되어 내부 농도 분포가 퍼지며 두 피크가 겹쳐지게 되기 때문이다. 시간에 따른 extract 흐름을 보면(Fig. 7) ①과 ④조건에서는 상대적으로 작은 Q_2 를 갖는 조건으로, 순도의 진동 폭이 매우 커 순수한 extract를 얻기 힘든 반면, 조건 ②에서는 운전시간 200분 정도 경과 후 순도의 기복이 거의 없는 정상상태에 도달해 순도 100%에 가까운 extract를 얻을 수 있음을 알 수 있으며 ⑥에서 또한 정상상태에 도달하는 시간이 100분 정도로 ②점 보다 짧은 시간이 걸리는 차이가 있지만 이 조건에서도 거의 100%의 순도를 얻을 수 있었다. 이 역시 큰 Q_3 값으로 인한 extract 유량의 감소 결과이다.

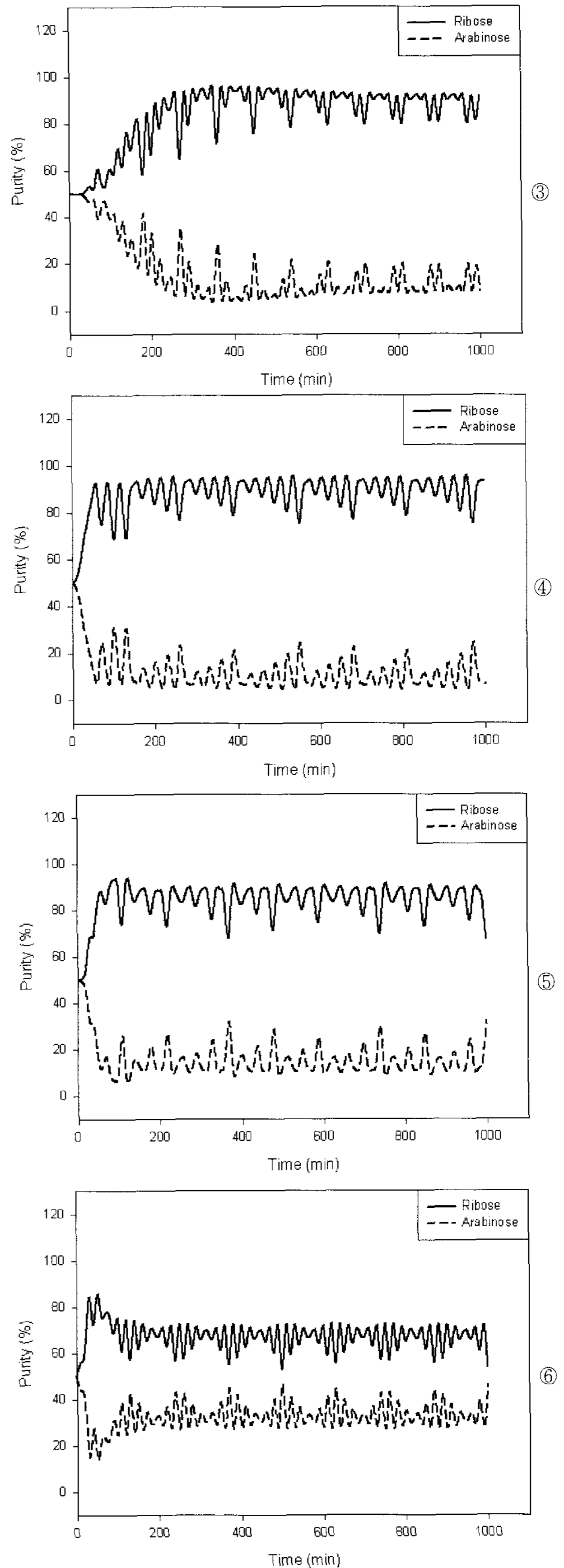
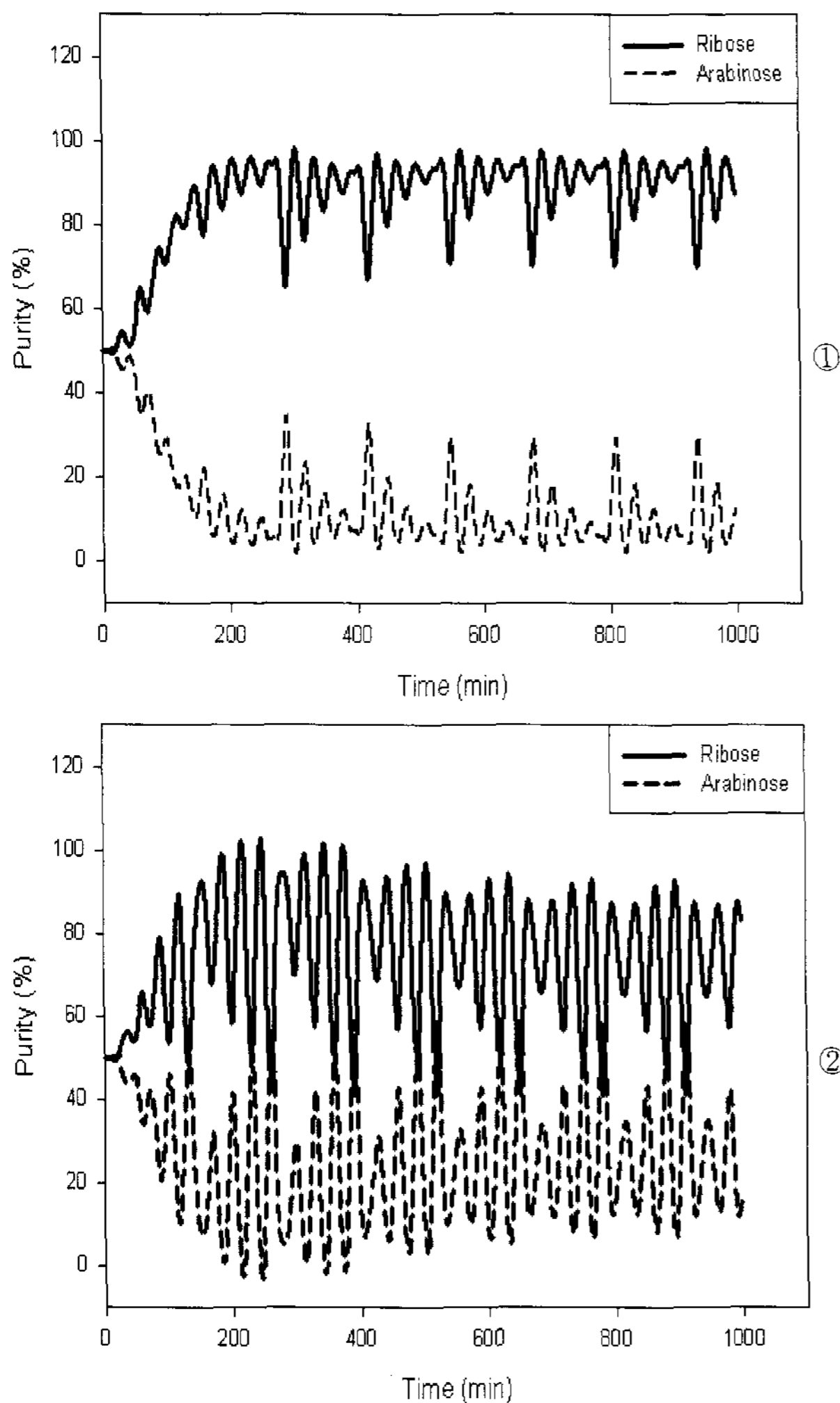
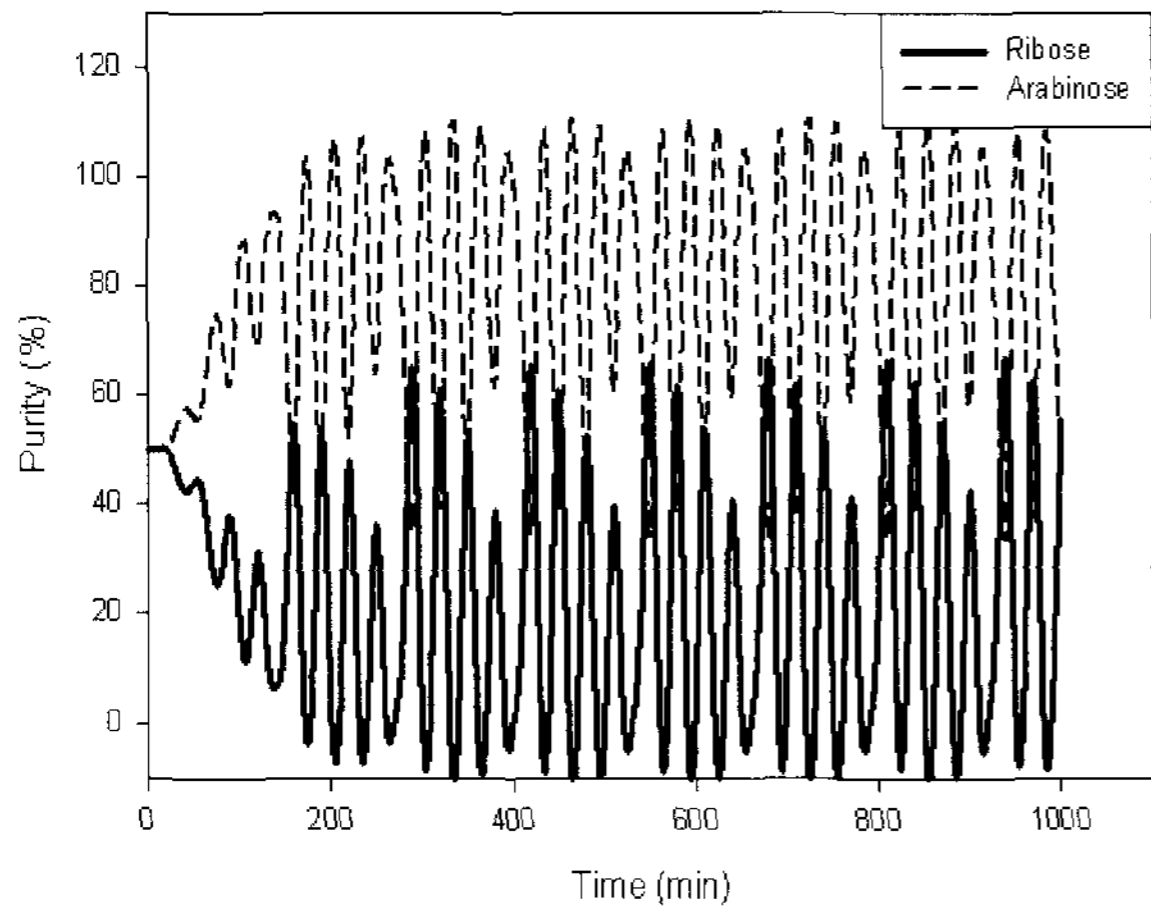
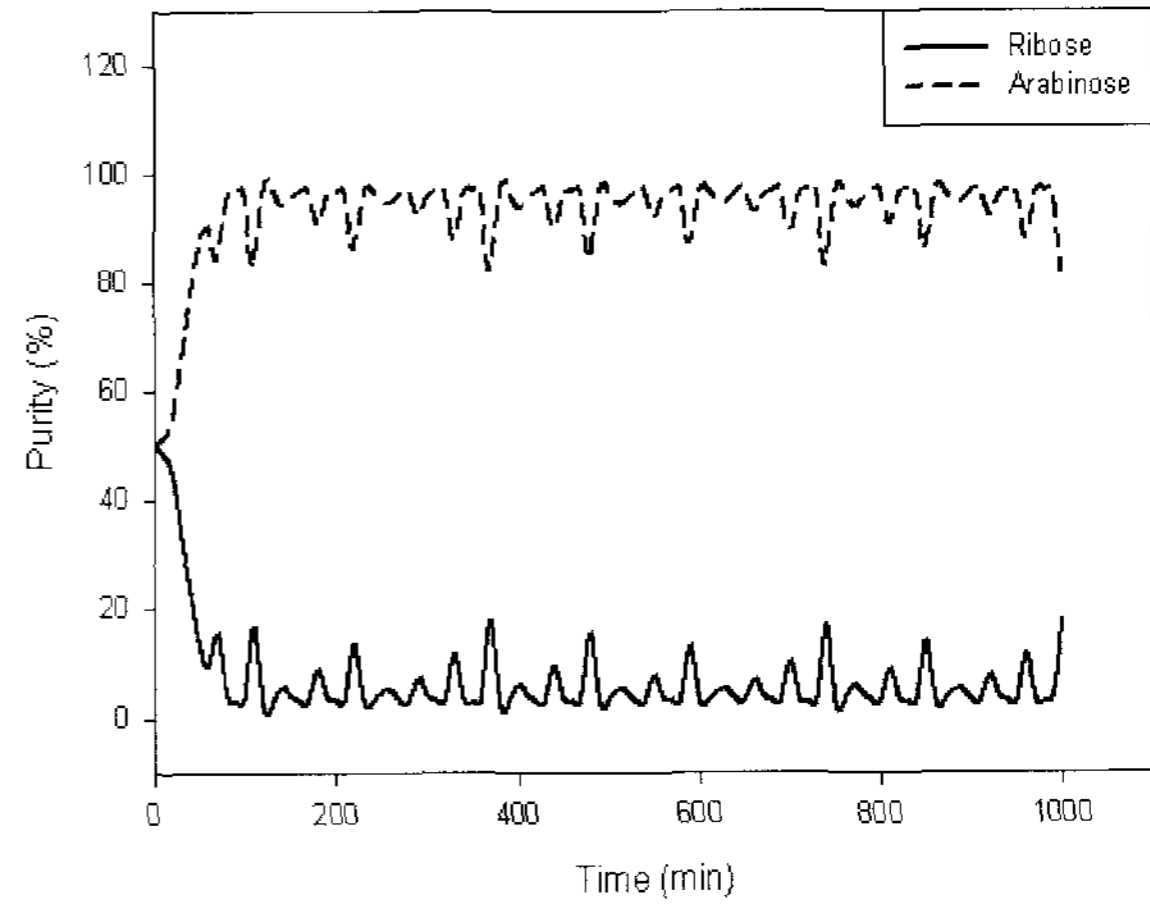


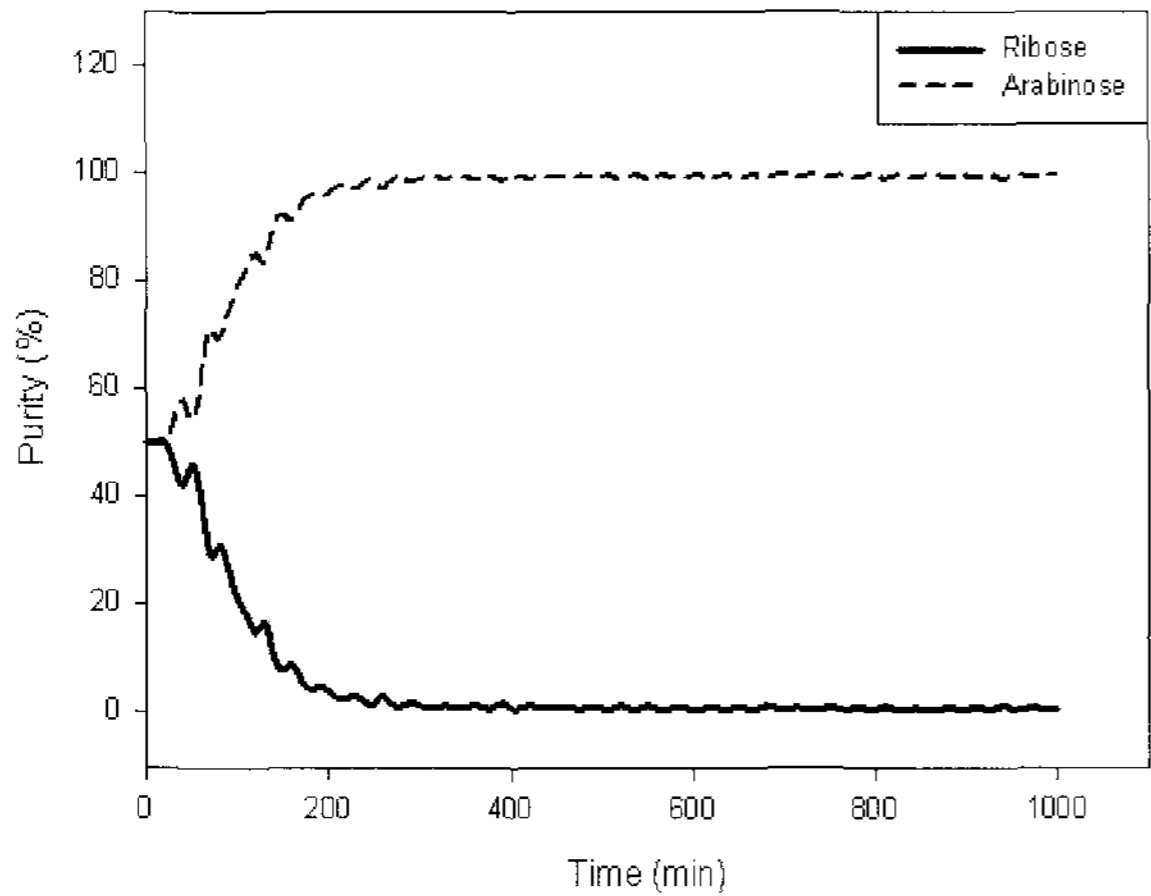
Figure 6. Purities of raffinate streams with change of time. (① $m_2, m_3 : 3.2, 4.2$, ② $m_2, m_3 : 4.5, 5.5$, ③ $m_2, m_3 : 3.51, 5.07$, ④ $m_2, m_3 : 3.7, 4.0$, ⑤ $m_2, m_3 : 4.1, 4.5$, ⑥ $m_2, m_3 : 4.7, 4.9$)



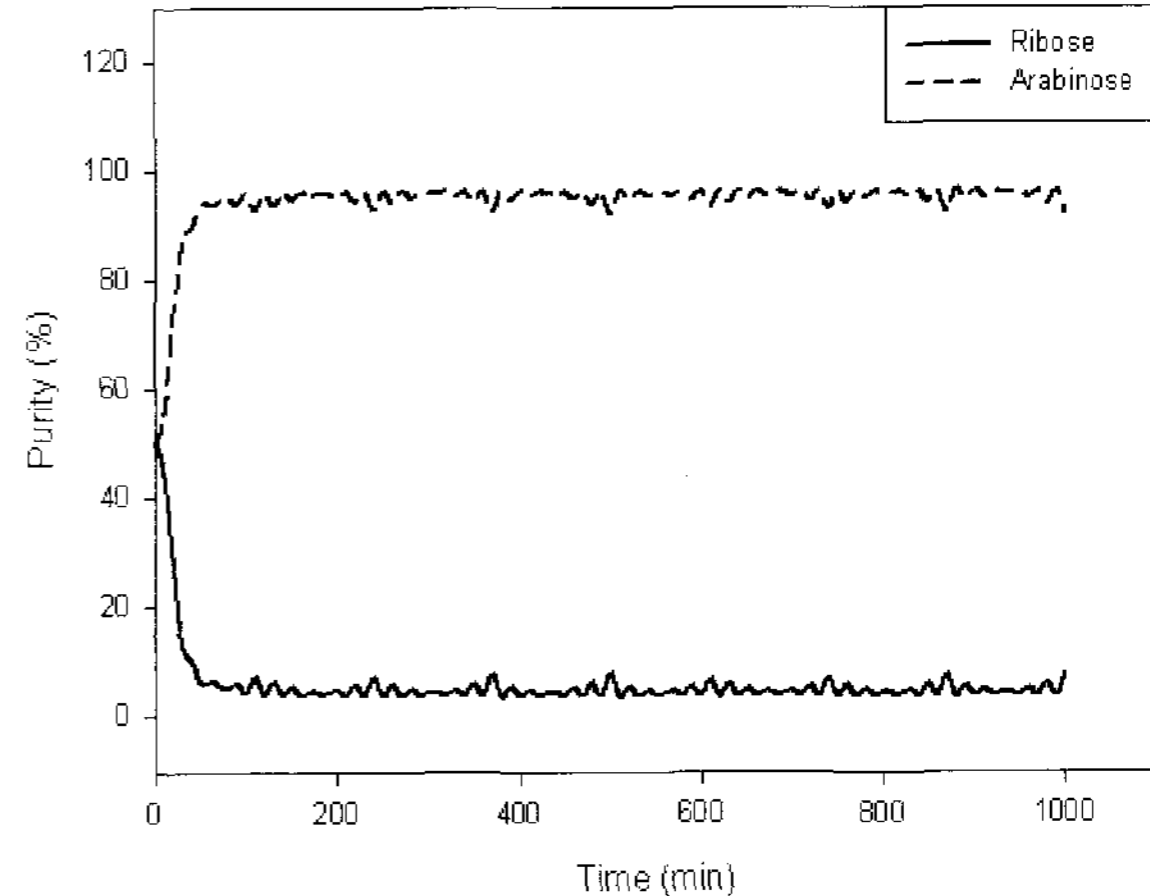
①



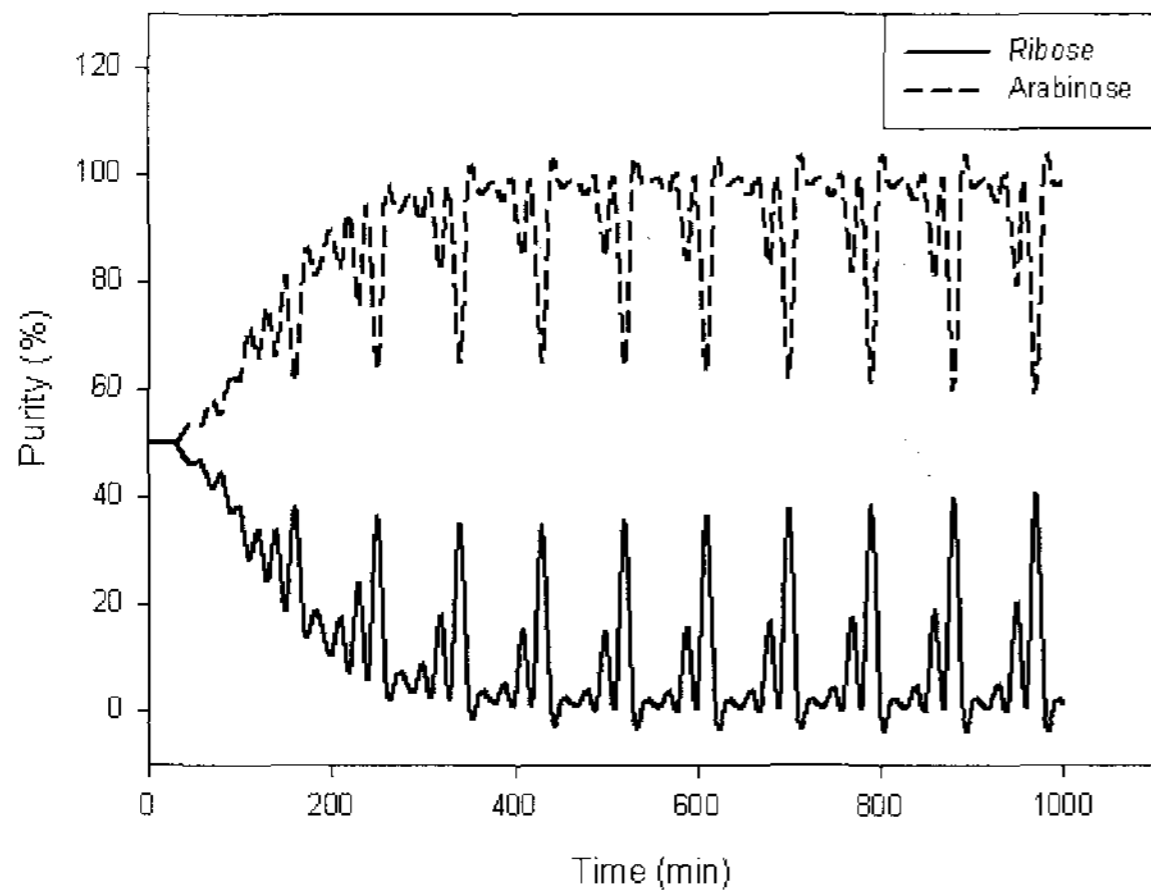
⑤



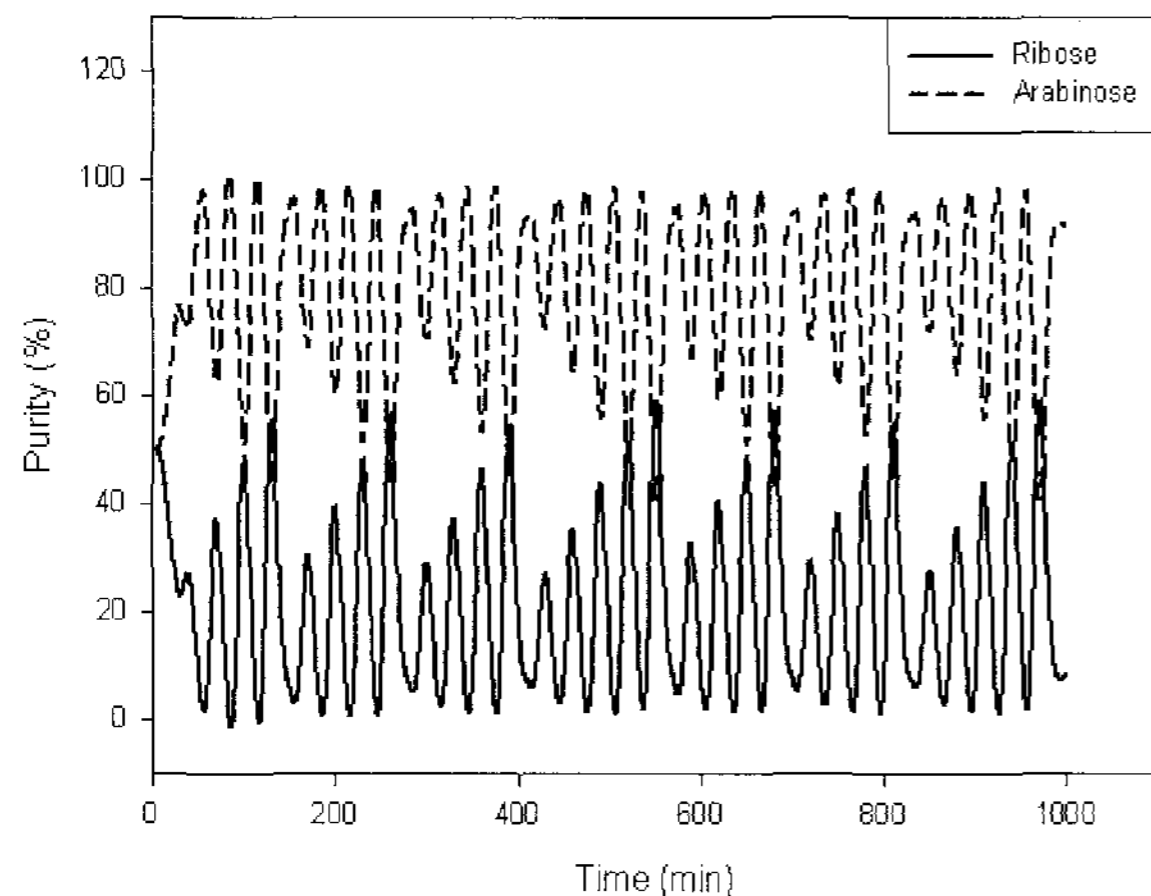
②



⑥



③



④

Figure 7. Purities of extract streams with change of time.

(① $m_2, m_3 : 3.2, 4.2$, ② $m_2, m_3 : 4.5, 5.5$, ③ $m_2, m_3 : 3.51, 5.07$, ④ $m_2, m_3 : 3.7, 4.0$, ⑤ $m_2, m_3 : 4.1, 4.5$, ⑥ $m_2, m_3 : 4.7, 4.9$)

이상으로 각 운전조건에서의 trainangle 이론과 ASPEN 전산모사 결과를 토대로 두성분의 효과적인 분리를 위한 운전조건은 $m_2 - m_3$ diagram에서 꼭지점, 즉 $m_2 = 3.51, m_3 = 5.07$ 일 때 80~85% 정도로 두 성분 모두 가장 높은 순도를 얻을 수 있음을 알 수 있었으며 이로써 SMB 크로마토그래피의 최적 운전 조건을 수립할 수 있었다.

요 약

SMB 크로마토그래피를 위한 예비 실험으로서 L-ribose와 L-arabinose의 혼합물의 분리 특성을 NH_2 컬럼을 사용하여 확인하였고 두 성분의 분리 최적 조건으로 Acetonitrile과 증류수의 조성이 85/15 (v/v)에서 실험을 수행하였다. PIM (Pulse input method)과 Aspen chromatography 전산모사를 통해 L-ribose와 L-arabinose가 선형 흡착등온식을 따르는 것을 알 수 있었으며 각 성분의 Henry상수를 추산하였고 다음과 같다.

$$C_{S, Ribose} = 3.51 \cdot C_{M, Ribose}$$

$$C_{S, Arabinose} = 5.07 \cdot C_{M, Arabinose}$$

이를 바탕으로 SMB 크로마토그래피의 최적 운전조건을 수립하기 위하여 Triangle 이론에 의한 운전 조작변수를 추산함으로서 $m_2 = 3.51$, $m_3 = 5.07$ 일 때 즉, 삼각형에서 꼭지점의 조건에서 L-ribose와 L-arabinose의 순도가 각각 85, 80% 정도로 두 성분의 분리에 있어서 가장 효과적인 운전 조건임을 확인 할 수 있었다.

감 사

본 연구는 과학재단 지원 인하대학교 초정밀 생물분리 기술 연구센터(BSEP ERC)의 연구비에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Du Jinfu, Yongseok Choi, Kyong Lee, Chun Byoung K., Hong Joon H., and Chu Chung K. (1999), A practical synthesis of L-FMAU from L-arabinose, *Nucleosides & Nucleotides*, **18**(2), 187-195.
2. Izumori K., K. Yamanaka, and A. D. Elbein (1976), Pentosemetabolism in *Mycobacterium smegmatis*, specificity of induction of pentose isomerase., *J. Bacteriol.* **128**, 587-591.
3. Shimonishi, T. and K. Izumori (1996), A new enzyme, L-ribose isomerase from *Acetobactor* sp. strain D-28, *J. Ferment. Bioeng.* **81**, 493-497.
4. Stephen, J. A. (2005), L-ribose : An Easily Prepared Rare Sugar *Aust. J. Chem.* **58**, 58-59.
5. Kim, S. Y., T. Song, J. K. Lee, S. S. Suh, and M. H. Chio (2002), Adsorptive Correlations of Chromatography for Ibuprofen Enantiomers, *HWAHAK KONGHAK*, **40**(3), 324-329.
6. Mazzotti M., G. Storti, M. Morbidelli (1997), Optimal operation of simulated moving bed units for nonlinear chromatographic separations, *J. Chromat. A.* **769**, 3-24.
7. Milgiorini, C., M. Mazzotti, M. Morbidelli (1998), Continuous chromatographic separation through simulated moving beds under linear and nonlinear conditions, *J. Chromat. A.* **827**, 161-173.