



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0091185
(43) 공개일자 2017년08월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 15/18 (2006.01) A23D 9/04 (2006.01)
B01D 15/42 (2006.01) C11B 3/10 (2006.01)
C11B 7/00 (2006.01) C11C 1/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
B01D 15/185 (2013.01)
A23D 9/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7021341(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년01월09일
심사청구일자 2017년07월28일
(62) 원출원 특허 10-2015-7021479
원출원일자(국제) 2014년01월09일
심사청구일자 2015년08월07일
(85) 번역문제출일자 2017년07월28일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2014/050054
(87) 국제공개번호 WO 2014/108686
국제공개일자 2014년07월17일
(30) 우선권주장
1300354.6 2013년01월09일 영국(GB)
61/750,389 2013년01월09일 미국(US)

(71) 출원인
바스프 파마 (칼라니쉬) 리미티드
영국, 체셔 에스케이8 6큐쥐, 치들, 치들 홈, 얼
로드, 피오 박스 4
(72) 발명자
켈리허, 아담
영국, 치들 체셔 에스케이8 6큐쥐, 치들 홈, 얼
로드, 피오 박스 4, 바스프 파마 (칼라니쉬) 리미
티드 내
모리슨, 앤거스
영국, 치들 체셔 에스케이8 6큐쥐, 치들 홈, 얼
로드, 피오 박스 4, 바스프 파마 (칼라니쉬) 리미
티드 내
(74) 대리인
청운특허법인

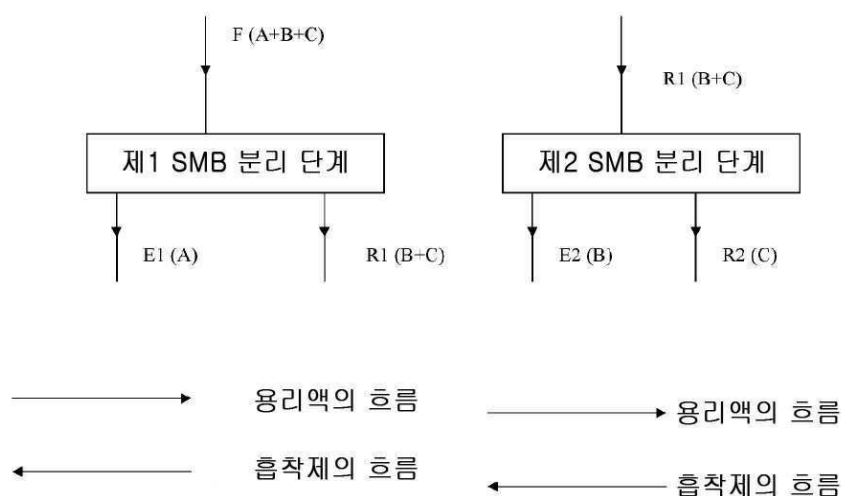
전체 청구항 수 : 총 13 항

(54) 발명의 명칭 다-단 분리 공정

(57) 요약

본 발명은 공급 혼합물로부터 고도불포화 지방산 (PUFA) 생산물을 회수하기 위한 크로마토그래피 분리 공정을 제
공하며, 상기 공정은: (a) 중간 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제
1 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 공급 혼합물을 정제하는 단계; 및 (b) PUFA 생산물을 얻기 위해, 용리액으
(뒷면에 계속)

대표도 - 도2



로서 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제2 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 중간 생산물을 정제하는 단계를 포함하며, 여기서 상기 제2 유기 용매는 상기 제1 유기 용매와 다르고, 제1 유기 용매의 극성 지수와 0.1 및 2.0 사이만큼 다른 극성 지수를 가지며, 여기서, 상기 PUFA 생산물은 알파-리놀렌산 (ALA), 감마-리놀렌산 (GLA), 리놀레산, ALA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, GLA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, 리놀레산 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르, GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 리놀레산 C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 이의 혼합물이 아니다.

(52) CPC특허분류

B01D 15/1892 (2013.01)

B01D 15/426 (2013.01)

C11B 3/10 (2013.01)

C11B 7/0008 (2013.01)

C11B 7/0033 (2013.01)

C11C 1/08 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

PUFA 생산물을 포함하는 조성물로서,

상기 PUFA 생산물은 1 wt%까지의 C18 지방산 불순물 양을 함유하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 2

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 1 wt%까지의 C18 지방산 불순물, C18 지방산 모노-, 디-, 및 트리글리세라이드, 및 C18 지방산 알킬 에스테르 불순물 양을 함유하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 3

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 0.5 wt% 또는 0.25 wt%까지의 C18 지방산 불순물 양을 함유하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 4

청구항 2에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 0.5 wt% 또는 0.25 wt%까지의 C18 지방산 불순물, C18 지방산 모노-, 디-, 및 트리글리세라이드, 및 C18 지방산 알킬 에스테르 불순물 양을 함유하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 5

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 적어도 하나의 ω -3 PUFA 또는 이의 유도체인 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 6

청구항 5에 있어서,

상기 PUFA 유도체는 모노-, 디-, 또는 트리-글리세라이드, 에스테르, 인지질, 아마이드, 락톤, 또는 염의 형태인 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 7

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA, C18 PUFA 모노-, 디-, 또는 트리글리세라이드, 또는 C18 PUFA 알킬 에스테르 이외의 것임을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 8

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 90 wt%를 초과하는 양으로 상기 조성물에 존재하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 9

청구항 8에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 95 wt% 초과, 또는 97 wt% 초과, 또는 98 wt% 초과 양으로 상기 조성물 내에 존재하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 10

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르인 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 11

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르이고, 90 wt%를 초과하는 양으로 상기 조성물 내에 존재하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 12

청구항 11에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르이고, 95 wt% 초과, 또는 97 wt% 초과, 또는 98 wt% 초과 양으로 상기 조성물 내에 존재하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

청구항 13

청구항 1에 있어서,

상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르이고, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 상기 조성물에 존재하는 것을 특징으로 하는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 고도불포화 지방산 (polyunsaturated fatty acids (PUFAs)) 및 이들의 유도체를 정제하기 위한 개선된 크로마토그래피 분리 공정 (chromatographic separation process)에 관한 것이다. 특히, 본 발명은 혼합 용매 시스템 (mixed solvent system)을 사용하는 개선된 크로마토그래피 분리 공정에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 지방산, 특히 PUFA, 및 이들의 유도체는, 혈소판 응집, 감염 및 면역 반응과 같은 생물학적 기능의 조절에서 중요한 역할을 수행하는, 생물학적으로 중요한 분자에 대한 전구체이다. 따라서, PUFAs 및 이들의 유도체는 CNS 상태; 당뇨병성 신경병증 (neuropathies)을 포함하는, 신경병증; 심혈관 병증 (cardiovascular diseases); 염증성 피부 질환을 포함하는, 일반적인 면역계 및 염증 상태를 포함하는 광범위한 병리적인 상태를 치료하는데 치료학적으로 유용할 수 있다.

[0003] PUFA는, 식물성 오일 (vegetable oil) 및 해양 오일 (marine oil)와 같은 천연 물질에서 발견된다. 그러나, 이러한 PUFA는 포화 지방산 및 다수의 다른 불순물과 혼합물로 이러한 오일들에서 종종 존재한다. 따라서 PUFAs는 바람직하게는 영양적으로 또는 약학적으로 사용하기 전에 정제되어야 한다.

[0004] 불행하게도, PUFA는 극도로 손상되기 쉽다. 따라서, 산소의 존재하에서 가열된 경우, 이들은 이성화 (isomerization), 과산화 (peroxidation) 및 올리고머화 (oligomerization)되는 경향이 있다. 순수 지방산을 제조하기 위한 PUFA 생산물의 분별 (fractionation) 및 정제 (purification)는 어렵다. 진공하에서조차, 증류 (Distillation)는 수용할 수 없는 생산물 분해를 유도할 수 있다.

[0005] 크로마토그래피 분리 기술은 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 정지 층 (stationary bed) 시스템 및 모의 또는 실제 이동층 (simulated or actual moving bed) 시스템을 포함하는 크로마토그래피 분리 기술은 모두 기술분야의 당업자에게 친숙하다.

- [0006] 종래의 정지 층 크로마토그래피 시스템에 있어서, 혼합물의 성분은 용기를 통해 여과시켜 (percolates) 분리될 수 있다. 상기 용기는 일반적으로 원통형이고, 통상적으로 컬럼 (column)이라 한다. 상기 컬럼은 (일반적으로 정지 상 (stationary phase)이라 불리는) 유체에 대해 높은 투과성 (permeability)를 나타내는 다공성 물질의 패키징을 함유한다. 상기 혼합물의 각 성분의 여과 속도 (percolation velocity)는 상기 성분의 물리적 특성에 의존하며, 그래서 상기 성분은 상기 컬럼으로부터 연속적 및 선택적으로 빠져나온다. 따라서, 상기 성분의 몇몇은 상기 정지 상에 강하게 고정되는 경향이 있고, 따라서 느리게 여과되는 반면, 다른 것들은 약하게 고정되는 경향이 있어 좀더 빠르게 상기 컬럼으로부터 빠져나온다. 많은 다른 정지 층 크로마토그래피 시스템은 제안되어 왔고, 분석적 및 산업적인 생산 목적 모두를 위해 사용된다.
- [0007] 모의 및 실제 이동층 크로마토그래피는 기술분야의 당업자에게 친숙하고, 알려진 기술이다. 작동 원리는 액체 용리액 상 (liquid eluent phase) 및 고체 흡착제 상 (solid adsorbent phase)의 역류 이동 (countercurrent movement)을 포함한다. 이러한 작동은 용매의 최소 사용을 허용하여 경제적으로 실현 가능한 공정을 만든다. 이러한 분리 기술은, 탄화수소, 산업 화학제, 오일, 당 및 APIs를 포함하는, 다양한 분야에서 몇 가지 적용들을 발견한다.
- [0008] 따라서, 모의 이동층 크로마토그래피 장치는 직렬로 서로 연결된 흡착제를 함유하는 다수의 개별 컬럼으로 이루어진다. 용리액은 제1 방향으로 상기 컬럼을 통해 통과된다. 공급원료 및 용리액의 주입 지점 (injection points), 및 상기 시스템에서 분리된 성분 수집 지점은, 일련의 밸브의 수단에 의해 주기적으로 이동된다. 전체적인 효과는 고체 흡착제의 이동층을 함유하는 단일 컬럼의 작동을 모의실험하는 것이고, 상기 고체 흡착제는 용리액의 흐름에 역류 방향으로 움직인다. 따라서, 종래의 정지 층 시스템에서와 같이, 컬럼으로 이루어진 모의 이동층 시스템은, 용리액이 통과되는 고체 흡착제의 정지 층을 함유하지만, 모의 이동층 시스템에서 상기 작동은 연속 역류 이동층을 모의실험한 바와 같은 것이다.
- [0009] 통상적인 모의 이동층 크로마토그래피 장치는 도 1을 참조하여 예시된다. 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 분리 공정의 개념은 컬럼의 하부로부터 상부로 진행되는 섹션들, 좀더 구체적으로는 네 개의 중첩된 서브-존 (sub-zone) I, II, III 및 IV로 분할된 정지 상 (S)을 함유하는 수직 크로마토그래피 컬럼을 고려하여 설명된다. 상기 용리액은 펌프 (P)의 수단에 의해 IE의 하부로 도입된다. 분리될 성분 A 및 B의 혼합물은 서브-존 II 및 서브-존 III 사이의 IA + B에서 도입된다. 주로 B를 함유하는 추출물 (extract)은 서브-존 I 및 서브-존 II 사이의 SB에 수집되고, 주로 A를 함유하는 추출잔액 (raffinate)은 서브-존 III 및 서브-존 IV 사이의 SA에 수집된다.
- [0010] 모의 이동층 시스템의 경우에 있어서, 상기 정지 상 (S)의 모의 하향 움직임 (downward movement)은 고체상에 대한 도입 및 수집 지점의 움직임에 의해 유발된다. 실제 이동층 시스템의 경우에 있어서, 상기 정지 상 (S)의 모의 하향 움직임은 도입 및 수집 지점에 대한 다양한 크로마토그래피 컬럼의 움직임에 의해 유발된다. 도 1에 있어서, 용리액은 상향 흐르고, 혼합물 A + B는 서브-존 II 및 서브-존 III 사이에서 주입된다. 상기 성분들은 정지 상, 예를 들어, 다공성 매체 상에 흡착과 이들의 크로마토그래피 상호작용에 따라 움직일 것이다. 상기 정지 상에 더 강한 친화성 (affinity)을 나타내는 상기 성분 B (더 느리게 움직이는 성분)는 상기 용리액에 의해 좀더 느리게 비말 동반 (entrained)될 것이고, 지연되어 이를 따를 것이다. 상기 정지 상에 더 약한 친화성을 나타내는 상기 성분 A (더 빠르게 움직이는 성분)는 상기 용리액에 의해 쉽게 비말 동반될 것이다. 만약 파라미터들, 특히 각 서브-존에서 유속의 올바른 설정이, 정확하게 추정되고 조절된다면, 상기 정지 상에 더 약한 친화성을 나타내는 상기 성분 A는 추출잔액으로서 서브-존 III 및 서브-존 IV 사이에서 수집될 것이고, 상기 정지 상에 더 강한 친화성을 나타내는 상기 성분 B는 추출물로서 서브-존 I 및 서브-존 II 사이에서 수집될 것이다.
- [0011] 따라서, 도 1에 개략적으로 예시된 종래의 모의 이동층 시스템은 이원 분별 (binary fractionation)로 제한되는 것으로 인식될 것이다.
- [0012] 모의 이동층 크로마토그래피에 대한 공정 및 장비는 US 2,985,589호, US 3,696,107호, US 3,706,812호, US 3,761,533호, FR-A-2103302호, FR-A-2651148호 및 FR-A-2651149호를 포함하는, 몇 개의 특허들에서 기재되었고, 이의 전체적인 내용은 참조로서 본 발명에 혼입된다. 상기 주제는 또한 1993년 Marcel Dekker Inc, New York, Ganetsos 및 Barker에 의해 출간된 "Preparative and Production Scale Chromatography"에서 다루어졌고, 이의 전체적인 내용은 참조로서 본 발명에 혼입된다.
- [0013] 실제 이동층 시스템은 모의 이동층 시스템의 작동과 유사하다. 그러나, 상기 공급 혼합물 (feed mixture) 및 용리액의 주입 지점을 이동하는 것보다, 일련의 흡착 유닛 (즉, 컬럼) 대신에, 밸브 시스템의 수단에 의한 분리

된 성분 수집 지점은, 공급 및 배출 지점 (drawoff point)에 대해 물리적으로 움직인다. 다시, 작동은 연속적 역류 이동층을 모의실험한 것과 같다.

[0014] 실제 이동층 크로마토그래피에 대한 공정 및 장비는 US 6,979,402호, US 5,069,883호 및 US 4,764,276호를 포함하는, 몇 개의 특허들에서 기재되었고, 이의 전체적인 내용은 참조로서 본 발명에 혼입된다.

[0015] PUFA 생산물의 정제는 특별한 도전이다. 따라서, PUFA 생산물을 제조하기 위한 많은 적절한 공급원료 (feedstocks)는 크로마토그래피 장치에서 매우 유사한 보유 시간 (retention times)을 갖는 다량의 다른 성분들을 함유하는 극도의 복합 혼합물이다. 따라서 이러한 공급원료로부터 특정 PUFAs를 분리하는 것은 매우 어렵다. 그러나, 고순도의 PUFA 생산물은 특히 약학적 및 영양학적 적용들을 위해 요구된다. 따라서, 역사적으로, 고순도 PUFA 생산물이 요구되는 경우, 증류는 사용되어 왔다. 그러나, 전술된 바와 같이 부서지기 쉬운 PUFAs에 대한 분리 기술로서 증류를 사용하는데 상당한 단점이 있다.

[0016] 전체적인 내용이 참조로서 여기에 혼입된, 공개된 국제 특허출원 WO-A-2011/080503호는, 공급 혼합물로부터 PUFA 생산물을 효율적 및 매우 고순도로 회수하기 위한 SMB 분리 공정을 개시한다. 그러나, 거대 부피의 수성 알코올 용매를 사용하여 공급 혼합물로부터 효율적으로 C18 지방산, 특히 알파-리놀렌산 (linolenic acid) (ALA) 및/또는 감마-리놀렌산 (GLA)을 제거하는 것은 어려울 수 있는 것으로 확인되었다. C18 지방산의 효율적 제거는 약학 및 식이요법을 위한 많은 사양이 낮은 함량의 지방산을 요구하기 때문에 장점이 있다. 예를 들어, 일본에서 사용을 위한 어떤 오일 사양은 1 wt% 미만의 ALA 함량을 요구한다.

[0017] 따라서, 결과적인 생산물에 존재하는 C18 지방산, 예를 들어 ALA 및/또는 GLA의 양을 최소화하면서, 공급 혼합물로부터 PUFA 생산물을 효율적으로 회수할 수 있는 크로마토그래피 분리 공정에 대한 요구가 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 놀랍게도, 낮은 수준의 C18 지방산을 갖는 PUFA 생산물, 예를 들어, ALA 및/또는 GLA가 혼합 용매 시스템을 사용하여 어유 (fish oils)와 같은 상업적으로 이용가능한 공급원료로부터 효과적으로 정제될 수 있음을 발견하였다.

과제의 해결 수단

[0019] 따라서 본 발명은 공급 혼합물로부터 고도불포화 지방산 (PUFA) 생산물을 회수하기 위한 크로마토그래피 분리 공정을 제공하며, 상기 공정은:

[0020] (a) 중간 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제1 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 공급 혼합물을 정제하는 단계; 및

[0021] (b) 상기 PUFA 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제2 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 중간 생산물을 정제하는 단계를 포함하며,

[0022] 여기서 상기 제2 유기 용매는 상기 제1 유기 용매와 다르고, 제1 유기 용매의 극성 지수 (polarity index)와 0.1 및 2.0 사이만큼 다른 극성 지수를 가지며,

[0023] 여기서, 상기 PUFA 생산물은 알파-리놀렌산 (ALA), 감마-리놀렌산 (GLA), 리놀레산 (linoleic acid), ALA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, GLA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, 리놀레산 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르, GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 리놀레산 C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 이의 혼합물이 아니다.

[0024] 또한 본 발명의 공정에 의해 얻어질 수 있는 PUFA 생산물은 제공된다.

[0025] 또한 본 발명의 공정에 의해 얻어질 수 있는 PUFA 생산물을 포함하는 조성물은 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 이원 혼합물 (binary mixture)을 분리하기 위한 모의 또는 실제 이동층 공정의 기본 원리를 예시하는 개략도이다.

도 2는 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 3은 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 DHA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 4는 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 5는 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 DHA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 6은 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 7은 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 DHA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 8은 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 9는 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한, 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정들을 포함하는, 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 10은 두 개의 모의 또는 실제 이동층 공정을 포함하는 크로마토그래피 분리 단계가 실행될 수 있는 3개의 방식을 예시한다.

도 11은 더 빠르게 및 더 느리게 움직이는 불순물 (즉, 좀더 극성 및 덜 극성 불순물)로부터 EPA를 분리하기 위한 크로마토그래피 분리 단계를 예시한다.

도 12는 메탄올이 제1 유기 용매로서 사용된 본 발명의 공정의 제1 분리 단계에 의해 생산된 중간 생산물의 GC-FAMES 트레이스 (trace)를 나타낸다.

도 13은 아세토니트릴이 제2 유기 용매로서 사용된 본 발명의 공정의 제2 분리 단계에 의해 생산된 PUFA 생산물의 GC-FAMES 트레이스를 나타낸다.

도 14는 아세토니트릴이 제1 유기 용매로서 사용된 본 발명의 공정의 제1 분리 단계에 의해 생산된 중간 생산물의 GC-FAMES 트레이스를 나타낸다.

도 15는 메탄올이 제2 유기 용매로서 사용된 본 발명의 공정의 제2 분리 단계에 의해 생산된 PUFA 생산물의 GC-FAMES 트레이스를 나타낸다.

도 16은 55% wt% EPA 에틸 에스테르를 함유하는 통상적인 공급 혼합물의 GC-FAMES 트레이스를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 가장 일반적인 의미에 있어서, 본 발명은 공급 혼합물로부터 고도불포화 지방산 (PUFA) 생산물을 회수하기 위한 크로마토그래피 분리 공정을 제공하며, 상기 공정은:

[0028] (a) 중간 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제1 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 공급 혼합물을 정제하는 단계; 및

[0029] (b) 상기 PUFA 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제2 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 중간 생산물을 정제하는 단계를 포함하며,

[0030] 여기서 상기 제2 유기 용매는 상기 제1 유기 용매와 다르고, 제1 유기 용매의 극성 지수와 0.1 및 2.0 사이만큼 다른 극성 지수를 갖는다.

[0031] 여기에 사용된 바와 같은, 상기 용어 "PUFA 생산물"은, 통상적으로 영양학적 또는 약학적인 의미의 하나 이상의 고도불포화 지방산 (PUFAs), 및/또는 이의 유도체를 포함하는 생산물을 의미한다. 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 단일 PUFA 또는 이의 유도체이다. 선택적으로, 상기 PUFA 생산물은 둘 이상의 PUFAs 또는 이의 유도체들의 혼합물이다.

- [0032] 상기 용어 "고도불포화 지방산" (PUFA)은 하나 이상의 이중 결합을 함유하는 지방산을 의미한다. 이러한 PUFAs는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 여기에 사용된 바와 같은, PUFA 유도체는 모노-, 디-, 또는 트리글리세라이드, 에스테르, 인지질, 아마이드, 락톤, 또는 염의 형태의 PUFA이다. 트리글리세라이드 및 에스테르는 좀더 바람직하다. 에스테르는 더욱더 바람직하다. 에스테르는 통상적으로 알킬 에스테르, 바람직하게는 C₁-C₆ 알킬 에스테르, 좀더 바람직하게는 C₁-C₄ 알킬 에스테르이다. 에스테르의 예로는 메틸 및 에틸 에스테르를 포함한다. 에틸 에스테르는 가장 바람직하다.
- [0033] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 ω -3 또는 ω -6 PUFA 또는 이의 유도체 중 적어도 하나, 바람직하게는 ω -3 PUFA 또는 이의 유도체 중 적어도 하나이다.
- [0034] ω -3 PUFAs의 예로는 에이코사트리엔산 (eicosatrienoic acid) (ETE), 에이코사테트라에노산 (eicosatetraenoic acid) (ETA), 에이코사펜타엔산 (eicosapentaenoic acid) (EPA), 도코사펜타엔산 (docosapentaenoic acid) (DPA), 및 도코사헥사엔산 (docosahexaenoic acid) (DHA)을 포함한다. EPA, DPA 및 DHA는 바람직하다. EPA 및 DHA는 좀더 바람직하다.
- [0035] ω -6 PUFAs의 예로는 이코사디엔산 (eicosadienoic acid), 디호모-감마-리놀렌산 (dihomo-gamma-linolenic acid) (DGLA), 아라키돈산 (arachidonic acid) (ARA), 도코사디엔산 (docosadienoic acid), 아드렌산 (adrenic acid) 및 도코사펜타는 (ω -6) 산을 포함한다. ARA 및 DGLA는 바람직하다.
- [0036] 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA, DHA, 이의 유도체 또는 이의 혼합물이다. 통상적인 유도체는 EPA 및 DHA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 EPA 및 DHA 에스테르, 바람직하게는 C₁-C₄ 알킬 에스테르와 같은 알킬 에스테르를 포함한다.
- [0037] 좀더 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA, DHA, 또는 이의 유도체이다. 통상적으로 유도체는 EPA 및 DHA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 EPA 및 DHA 에스테르, 바람직하게는 C₁-C₄ 알킬 에스테르와 같은 알킬 에스테르를 포함한다.
- [0038] 가장 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 에이코사펜타엔산 (EPA), 도코사헥사엔산 (DHA), EPA 트리글리세라이드, DHA 트리글리세라이드, EPA 에틸 에스테르 또는 DHA 에틸 에스테르이다.
- [0039] 특히 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA, DHA, EPA 에틸 에스테르 또는 DHA 에틸 에스테르이다.
- [0040] 일 구현 예에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 EPA 및/또는 EPA 에틸 에스테르 (EE)이다.
- [0041] 다른 구현 예에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 DHA 및/또는 DHA 에틸 에스테르 (EE)이다.
- [0042] 또 다른 구현 예에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 EPA 및 DHA 및/또는 EPA EE 및 DHA EE의 혼합물이다.
- [0043] 가장 바람직한 구현 예에 있어서, 상기 제2 분리 단계에서 얻어진 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 유도체, 예를 들어, EPA 에틸 에스테르이고, 90 wt%를 초과, 바람직하게는 95 wt%를 초과, 좀더 바람직하게는 97 wt%를 초과, 더욱더 바람직하게는 98 wt%를 초과, 더더욱 바람직하게는 98.4 wt%를 초과하는 순도로 얻어진다. 바람직하게는, 상기 제2 분리 단계에서 얻어진 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 유도체, 예를 들어 EPA 에틸 에스테르이고, 98 및 99.5 wt% 사이의 순도로 얻어진다.
- [0044] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물에 부가하여, 부가적인 2차 PUFA 생산물은 본 발명의 크로마토그래피 분리 공정에서 수집된다. 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 이의 유도체이고, 부가적인 2차 PUFA 생산물은 DHA 또는 이의 유도체이다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 구현 예에 있어서, 상기 공정은 EPA 및 DHA 또는 이의 유도체의 농축 혼합물 (concentrated mixture)인 PUFA 생산물을 수집하도록 구성된다. 따라서, 사용된 공급 혼합물은 EPA, DHA, EPA 및 DHA보다 더 극성인 성분, 및 EPA 및 DHA보다 덜 극성인 성분을 함유한다.
- [0046] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 알파-리놀렌산 (ALA), ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 ALA 및 이의 유도체인 1 wt% 미만의 불순물을 함유한다. 통상적인 ALA 유도체는 PUFA 유도체에 대해 위에서 정의된 바와 같다.
- [0047] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 감마-리놀렌산 (GLA), GLA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 GLA 및 이의 유도체인 1

wt% 미만의 불순물을 함유한다. 통상적인 GLA 유도체는 PUFA 유도체에 대해 위에서 정의된 바와 같다.

- [0048] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 C18 지방산 불순물, C18 지방산 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 불순물 및 C18 지방산 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 C18 지방산 및 이의 유도체인 1 wt% 미만의 불순물을 함유한다. 통상적인 C18 지방산 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다. 여기서 사용된 바와 같은, C18 지방산은 직쇄 또는 분쇄된 탄화수소 사슬을 갖는 C18 지방족 모노카르복실산이다. 통상적인 C18 지방산은 스테아르산 (C18:0), 올레산 (C18:1n9), 바크센산 (vaccenic acid) (C18:1n7), 리놀레산 (C18:2n6), 감마-리놀렌산/GLA (C18:3n6), 알파-리놀렌산/ALA (C18:3n3) 및 스테아리돈산 (stearidonic acid)/SDA (C18:4n3)을 포함한다.
- [0049] 의심의 여지를 없애기 위해, 이들 구현 예에 있어서, 모든 특정한 불순물의 최대량은 1 wt%이다.
- [0050] 전술된 바와 같이, 통상적으로 PUFA 생산물에서 전술된 불순물의 양은 1 wt% 미만이다. 바람직하게는, 전술된 불순물의 양은 0.5 wt% 미만, 좀더 바람직하게는 0.25 wt% 미만, 더욱더 바람직하게는 0.1 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.05 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.01 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.001wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.0001 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.00001 wt% 미만이다.
- [0051] 어떤 바람직한 구현 예에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 전술된 불순물이 실질적으로 없다.
- [0052] 상기 PUFA 생산물은 ALA, GLA, 리놀레산, ALA 모노- 디- 또는 트리글리세라이드, GLA 모노- 디- 또는 트리글리세라이드, 리놀레산 모노, 디- 또는 트리글리세라이드, ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르, GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 리놀레산 C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 이의 혼합물이 아니다. 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 ALA, GLA, 리놀레산, 또는 유도체 또는 이의 혼합물이 아니다. 통상적인 ALA, GLA 및 리놀레산 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0053] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA, C18 PUFA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, 또는 C18 PUFA 알킬 에스테르가 아니다. 따라서, 본 발명은 공급 혼합물로부터 고도불포화 지방산 (PUFA) 생산물을 회수하기 위한 크로마토그래피 분리 공정을 제공하며, 상기 공정은:
- [0054] (a) 중간 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제1 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 공급 혼합물을 정제하는 단계; 및
- [0055] (b) 상기 PUFA 생산물을 얻기 위해, 용리액으로서 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 사용하여 제2 크로마토그래피 분리 단계에서 상기 중간 생산물을 정제하는 단계를 포함하며,
- [0056] 여기서 상기 제2 유기 용매는 상기 제1 유기 용매와 다르고, 제1 유기 용매의 극성 지수와 0.1 및 2.0 사이만큼 다른 극성 지수를 가지며,
- [0057] 여기서, 상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA, C18 PUFA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, 또는 C18 PUFA 알킬 에스테르 이외의 것이다.
- [0058] 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA 또는 C18 PUFA 유도체가 아니다. 통상적인 C18 PUFA는 리놀레산 (C18:2n6), GLA (C18:3n6), 및 ALA (C18:3n3)를 포함한다.
- [0059] 본 발명의 공정에 의해 분리시키기 위한 적절한 공급 혼합물은 채소 및 동물 기름 및 지방을 포함하는 천연 공급원, 및 유전자 변형 식물, 동물 및 효모를 포함하는 미생물로부터 얻는 오일을 포함하는 합성 공급원으로부터 얻어질 수 있다. 예로는 어유, 해조 (algal) 및 미생물 오일 및 식물유, 예를 들어, 보라지유 (borage oil), 에키움유 (Echium oil) 및 달맞이꽃 오일 (evening primrose oil)을 포함한다. 일 구현 예에 있어서, 상기 공급 혼합물은 어유이다. 다른 구현 예에 있어서, 상기 공급 혼합물은 해조 오일이다. 해조 오일은 원하는 PUFA 생산물이 EPA 및/또는 DHA인 경우 특히 적절하다. 유전자 변형 효모는 원하는 PUFA 생산물이 EPA인 경우 특히 적절하다.
- [0060] 특히 바람직한 구현 예에 있어서, 상기 공급 혼합물은 어유 또는 어유 유래 공급원료이다. 어유 또는 어유 유래 공급원료가 사용된 경우, EPA 또는 EPA 에틸 에스테르 PUFA 생산물은 90% 초과 순도, 바람직하게는 95% 초과 순도, 좀더 바람직하게는 97% 초과 순도, 더욱더 바람직하게는 98 wt% 초과, 더욱더 바람직하게는 98.4 wt% 초과, 예를 들어 98 및 99.5 wt% 사이에서 본 발명의 공정에 의해 생산될 수 있는 것으로 확인되었다.
- [0061] 상기 공급 혼합물은 본 발명의 공정에 의한 분별 전에 화학 처리를 수행할 수 있다. 예를 들어, 어떤 경우에

있어서, 결정화 (crystallisation), 분자 증류 (molecular distillation), 요소 분별 (urea fractionation), 질산은 또는 다른 금속염 용액으로 추출, 요오드락톤화 (iodolactonisation) 또는 초임계 유체 분별 (supercritical fluid fractionation)과 같은 선택적인 공정을 수반하는 글리세라이드 에스테르교환 (glyceride transesterification) 또는 글리세라이드 가수분해를 수행할 수 있다. 선택적으로, 공급 혼합물은 초기 처리 단계 없이 직접 사용될 수 있다.

[0062] 상기 공급 혼합물은 통상적으로 PUFA 생산물 및 적어도 하나의 더 극성인 성분 및 적어도 하나의 덜 극성인 성분을 함유한다. 상기 덜 극성인 성분은 PUFA 생산물보다 본 발명의 공정에 사용된 흡착제에 더 강한 접착력 (adherence)을 갖는다. 작동 동안, 이러한 덜 극성인 성분은 통상적으로 액체 용리액 상보다 우선적으로 고체 흡착제로 이동한다. 상기 더 극성인 성분은 PUFA 생산물보다 본 발명의 공정에 사용된 흡착제에 더 약한 접착력을 갖는다. 작동 동안, 이러한 더 극성인 성분은 통상적으로 고체 흡착제 상보다 우선적으로 액체 용리액 상으로 이동한다. 일반적으로, 더 극성인 성분은 추출잔액 스트림 (raffinate stream)으로 분리될 것이고, 덜 극성인 성분이 추출물 스트림 (extract stream)으로 분리될 것이다.

[0063] 상기 공급 혼합물은 통상적으로 상기에서 정의된 바와 같이 PUFA 생산물 및 적어도 하나의 C18 지방산 불순물을 함유한다. 따라서, 좀더 통상적으로, 상기 공급 혼합물은 PUFA 생산물 및 적어도 하나의 C18 지방산 및/또는 이의 유도체를 함유한다. 통상적인 C18 지방산 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다. 바람직하게는, 상기 공급 혼합물은 상기 PUFA 생산물 및 스테아르산 (C18:0), 올레산 (C18:1n9), 바크센산 (C18:1n7), 리놀레산 (C18:2n6), 감마-리놀렌산/GLA (C18:3n6), 알파-리놀렌산 (C18:3n3) 및 스테아리돈산/SDA (C18:4n3) 및 이의 유도체로부터 선택된 적어도 하나의 C18 지방산 불순물을 함유한다.

[0064] 바람직하게는, 상기 공급 혼합물은 (i) PUFA 생산물, 및/또는 상기 PUFA 생산물의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 상기 PUFA 생산물의 C₁-C₄ 알킬 에스테르, 및 (ii) ALA 및/또는 ALA의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 ALA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르를 포함한다.

[0065] 바람직하게는, 상기 공급 혼합물은 (i) PUFA 생산물, 및/또는 상기 PUFA 생산물의 모노-, 디- 또는 및/또는 상기 PUFA 생산물의 C₁-C₄ 알킬 에스테르, 및 (ii) GLA 및/또는 GLA의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 GLA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르를 포함한다.

[0066] 좀더 바람직하게는, 상기 공급 혼합물은 (i) PUFA 생산물, 및/또는 상기 PUFA 생산물의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 상기 PUFA 생산물의 C₁-C₄ 알킬 에스테르, 및 (ii) ALA 및/또는 GLA 및/또는 ALA의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 GLA의 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및/또는 ALA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르 및/또는 GLA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르를 포함한다.

[0067] 상기 PUFA 생산물이 1 wt% 미만의 상기-명시된 C18 지방산 불순물을 함유하는 구현 예에 있어서, 상기 공급 혼합물은 통상적으로 명시된 C18 지방산 불순물을 함유한다. 따라서, 공급 혼합물에 존재하는 C18 지방산 불순물의 양이 본 발명의 공정에 의해 낮은 수준으로 감소될 수 있는 것은 본 발명의 특별한 장점이다. 예를 들어, 상기 PUFA 생산물이 1 wt% 미만의 ALA, ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유하는 경우, 상기 공급 혼합물은 통상적으로 ALA, ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및/또는 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다. 상기 PUFA 생산물이 1 wt% 미만의 GLA, GLA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유하는 경우, 상기 공급 혼합물은 통상적으로 GLA, GLA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및/또는 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다. 상기 PUFA 생산물이 1 wt% 미만의 C18 지방산, C18 지방산 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 C18 지방산 알킬 에스테르를 함유하는 경우, 상기 공급혼합물은 통상적으로 C18 지방산, C18 지방산 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및/또는 C18 지방산 알킬 에스테르를 함유한다.

[0068] 더 극성 및 덜 극성인 성분의 예로는 (1) 천연 오일 (예를 들어, 해양 오일 또는 야채 오일)에서 발생하는 다른 화합물, (2) 저장, 정제 및 이전의 농축 단계동안 형성된 부산물 및 (3) 이전의 농축 또는 정제 단계 동안 활용된 용매 또는 시약으로부터 오염원을 포함한다.

[0069] (1)의 예로는 다른 원하지 않은 PUFAs; 포화 지방산; 스테롤, 예를 들어, 콜레스테롤; 비타민; 및 폴리클로로비페닐 (PCB), 폴리방향족 탄화수소 (PAH) 살충제, 염소화 살충제, 다이옥신 및 중금속과 같은 환경 오염원을 포함한다. PCB, PAH, 다이옥신 및 염소화 살충제는 모두 높은 비-극성 성분이다.

- [0070] (2)의 예로는 PUFA 생산물, 예를 들어, 지방산 또는 이들의 유도체의 자가-산화 중합물 (auto-oxidation polymeric products)로부터의 이성질체 및 산화 또는 분해 산물을 포함한다.
- [0071] (3)의 예로는 공급 혼합물로부터 포화 또는 모노-불포화 지방산을 제거하기 위해 첨가될 수 있는 요소 (urea)를 포함한다.
- [0072] 바람직하게는, 상기 공급 혼합물은 PUFA-함유 해양 오일 (예를 들어, 어유), 좀더 바람직하게는 EPA 및/또는 DHA를 포함하는 해양 오일 (예를 들어, 어유)이다.
- [0073] 본 발명의 공정에 의해 농축된 EPA (EE)를 제조하기 위한 통상적인 공급 혼합물은 50-75% EPA (EE), 0 내지 10% DHA, 및 다른 필수 ω -3 및 ω -6 지방산을 포함하는 다른 성분을 포함한다.
- [0074] 본 발명의 공정에 의해 농축된 EPA (EE)를 제조하기 위한 바람직한 공급 혼합물은 55% EPA (EE), 5% DHA (EE), 및 다른 필수 ω -3 및 ω -6 지방산을 포함하는 다른 성분을 포함한다. DHA (EE)는 EPA(EE)보다 덜 극성이다.
- [0075] 본 발명의 공정에 의해 농축된 DHA (EE)를 제조하기 위한 통상적인 공급 혼합물은 50-75% DHA (EE), 0 내지 10% EPA (EE), 및 다른 필수 ω -3 및 ω -6 지방산을 포함하는 다른 성분을 포함한다.
- [0076] 본 발명의 공정에 의해 농축된 DHA (EE)를 제조하기 위한 바람직한 공급 혼합물은 75% DHA (EE), 7% EPA (EE), 및 다른 필수 ω -3 및 ω -6 지방산을 포함하는 다른 성분을 포함한다. EPA (EE)는 DHA (EE)보다 더 극성이다.
- [0077] 본 발명의 공정에 의해 EPA (EE) 및 DHA (EE)의 농축 혼합물을 제조하기 위한 통상적인 공급 혼합물은 30% 초과 EPA (EE), 및 22% 초과 DHA (EE)를 포함한다.
- [0078] 본 발명의 공정은 적어도 두 개의 크로마토그래피 분리 단계를 포함하고, 여기서 물 및 다른 유기 용매의 혼합물은 각 단계에서 용리액으로 사용된다. 제1 및 제2 분리 단계는 물 및 제1 및 제2 유기 용매 각각의 혼합물을 사용하여 수행된다.
- [0079] 통상적으로, 어떤 용리액도 초임계 상태는 아니다. 통상적으로, 용리액 모두는 액체이다.
- [0080] 제1 및 제2 유기 용매는 통상적으로 알코올, 에테르, 에스테르, 케톤 및 니트릴 (nitriles)로부터 선택된다. 알코올 및 니트릴은 바람직하다.
- [0081] 알코올 용매는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 알코올은 통상적으로 단쇄 알코올이다. 알코올은 통상적으로 식 ROH이고, 여기서 R은 직쇄 또는 분쇄된 C1-C6 알킬기이다. 상기 C1-C6 알킬기는 바람직하게는 미치환된다. 알코올의 예로는 메탄올, 에탄올, n-프로판올, i-프로판올, n-부탄올, i-부탄올, s-부탄올 및 t-부탄올을 포함한다. 메탄올 및 에탄올은 바람직하다. 메탄올은 좀더 바람직하다.
- [0082] 에테르 용매는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 에테르는 통상적으로 단쇄 에테르이다. 에테르는 통상적으로 식 R-O-R'이고, 여기서 R 및 R'는 같거나 또는 다르고, 직쇄 또는 분쇄된 C1-C6 알킬기를 나타낸다. 상기 C1-C6 알킬기는 바람직하게는 미치환된다. 바람직한 에테르는 디에틸에테르, 디이소프로필에테르, 및 메틸 t-부틸 에테르 (MTBE)를 포함한다.
- [0083] 에스테르 용매는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 에스테르는 통상적으로 단쇄 에스테르이다. 에스테르는 통상적으로 식 R-(C=O)O-R'이고, 여기서 R 및 R'는 같거나 다르게, 직쇄 또는 분쇄된 C1-C6 알킬기를 나타낸다. 바람직한 에스테르는 메틸아세테이트 및 에틸아세테이트를 포함한다.
- [0084] 케톤 용매는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 케톤은 통상적으로 단쇄 케톤이다. 케톤은 통상적으로 식 R-(C=O)-R'이고, 여기서 R 및 R'는 같거나 다르게, 직쇄 또는 분쇄된 C1-C6 알킬기를 나타낸다. 상기 C1-C6 알킬기는 바람직하게는 미치환된다. 바람직한 케톤은 아세톤, 메틸에틸케톤 및 메틸 이소부틸 케톤 (MIBK)을 포함한다.
- [0085] 니트릴 용매는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 니트릴은 통상적으로 단쇄 니트릴이다. 니트릴은 통상적으로 식 R-CN이고, 여기서 R은 직쇄 또는 분쇄된 C1-C6 알킬기를 나타낸다. 상기 C1-C6 알킬기는 바람직하게는 미치환된다. 바람직한 니트릴은 아세토니트릴을 포함한다.
- [0086] 제2 유기 용매는 제1 유기 용매와 다르다.
- [0087] 용매의 극성 지수 (P')는 용매의 극성 정도에 대해 잘 알려진 측정이다. 더 높은 극성 지수는 더 극성인 용매를 나타낸다. 극성 지수는 통상적으로 다양한 시험 용질 (solutes)과 상호작용하는 용매의 능력을 측정하여 결

정된다. 좀더 통상적으로, 용매의 극성 지수 (P')는 Burdick and Jackson's Solvent Guide (AlliedSignal, 1997)에 정의된 바와 같고, 이의 전문은 참조로서 여기에 혼입된다. Burdick 및 Jackson은 용매의 다른 극성에 따라 용매의 등급을 매기는 지수 (numerical index)를 참조하여 용매의 등급을 매긴다. Burdick 및 Jackson 지수는 용매의 구조에 기초를 둔다.

[0088] 일반 용매의 다양성의 극성 지수 (P')는 Burdick 및 Jackson에 따른 하기 표 1에 서술된다.

표 1

[0089]

용매	극성 지수 (P')
펜탄	0.0
1,1,2-트리클로로트리플루오로에탄	0.0
사이클로펜탄	0.1
헵탄	0.1
헥산	0.1
Iso-옥탄	0.1
석유 에테르	0.1
사이클로헥산	0.2
n-부틸 클로라이드	1.0
톨루엔	2.4
메틸 t-부틸 에테르	2.5
o-크실렌	2.5
클로로벤젠	2.7
o-디클로로벤젠	2.7
에틸 에테르	2.8
디클로로메탄	3.1
에틸렌 디클로라이드	3.5
n-부틸 알코올	3.9
이소프로필 알코올	3.9
n-부틸 아세테이트	4.0
이소부틸 알코올	4.0
메틸 이소아밀 케톤	4.0
n-프로필 알코올	4.0
테트라하이드로푸란	4.0
클로로포름	4.1
메틸 이소부틸 케톤	4.2
에틸 아세테이트	4.4
메틸 n-프로필 케톤	4.5
메틸 에틸 케톤	4.7
1,4-디옥산	4.8
아세톤	5.1
메탄올	5.1
에탄올	5.2
피리딘	5.3
2-메톡시에탄올	5.5
아세토니트릴	5.8
프로필렌 카보네이트	6.1
N,N-디메틸포름아미드	6.4
디메틸 아세트아미드	6.5
N-메틸피롤리돈	6.7
디메틸 설펍사이드	7.2
물	10.2

[0090] 상기 제2 유기 용매는 0.1 및 2.0 사이만큼 상기 제1 유기 용매의 극성 지수와 다른 극성 지수를 갖는다. 따라서, 상기 제1 유기 용매의 극성 지수가 P1이고, 상기 제2 유기 용매의 극성 지수가 P2인 경우, |P1-P2|는 0.1 내지 2.0이다.

[0091] 통상적으로, 제2 유기 용매는 적어도 0.2, 바람직하게는 적어도 0.3, 좀더 바람직하게는 적어도 0.4, 더욱더 바

람직하게는 적어도 0.5, 및 훨씬 좀더 바람직하게는 적어도 0.6 만큼 제1 유기용매의 극성 지수와 다른 극성 지수를 갖는다.

[0092] 통상적으로, 제2 유기 용매는 최대한 1.8, 바람직하게는 최대한 1.5, 좀더 바람직하게는 최대한 1.3, 더욱더 바람직하게는 최대한 1.0, 및 훨씬 좀더 바람직하게는 최대한 0.8 만큼 제1 유기 용매의 극성 지수와 다른 극성 지수를 갖는다.

[0093] 바람직하게는, 제2 유기 용매는 0.2 및 1.8 사이, 좀더 바람직하게는 0.3 및 1.5 사이, 더욱더 바람직하게는 0.4 및 1.3 사이, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.5 및 1.0 사이, 및 가장 바람직하게는 0.6 및 0.8 사이 만큼 상기 제1 유기 용매의 극성 지수와 다른 극성 지수를 갖는다.

[0094] 통상적으로, 제1 및 제2 유기 용매는 물과 혼화성이다. 좀더 통상적으로, 제1 및 제2 유기 용매는 3.9 이상의 극성 지수를 갖는다. 바람직하게는, 제1 및 제2 유기 용매는 테트라하이드로푸란, 이소프로필 알코올, n-프로필 알코올, 메탄올, 에탄올, 아세토니트릴, 1,4-디옥산, N,N-디메틸 포름아미드, 및 디메틸설폭사이드로부터 선택된다.

[0095] 통상적으로, 제1 유기 용매:물 비는 99.9:0.1 내지 75:25 부피부, 바람직하게는 99.5:0.5 내지 80:20 부피부이다. 만약 제1 유기 용매가 메탄올인 경우, 상기 메탄올:물 비는 통상적으로 99.9:0.1 내지 85:15 부피부, 바람직하게는 99.5:0.5 내지 88:12 부피부이다. 만약 제1 유기 용매가 아세토니트릴인 경우, 상기 아세토니트릴:물 비는 통상적으로 99:1 내지 75:25 부피부, 바람직하게는 96:4 내지 80:20 부피부이다.

[0096] 통상적으로, 제2 유기 용매:물 비는 99.9:0.1 내지 75:25 부피부, 바람직하게는 93:7 내지 85:15 부피부이다. 만약 제2 유기 용매가 메탄올인 경우, 상기 메탄올:물 비는 통상적으로 95:5 내지 85:15 부피부, 바람직하게는 93:7 내지 90:10 부피부이다. 만약 상기 제2 유기 용매가 아세토니트릴인 경우, 상기 아세토니트릴:물 비는 통상적으로 90:10 내지 80:20 부피부, 바람직하게는 88:12 내지 85:15 부피부이다.

[0097] 통상적으로, 제1 및 제2 유기 용매 중 하나는 아세토니트릴이다.

[0098] 통상적으로, 제1 및 제2 유기 용매 중 하나는 메탄올이다.

[0099] 바람직하게는, 제1 및 제2 유기 용매는 아세토니트릴 및 메탄올로부터 선택된다. 따라서, (i) 상기 제1 유기 용매는 메탄올이고, 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이거나, 또는 (ii) 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이고, 상기 제2 유기 용매는 메탄올인 것이 바람직하다.

[0100] 좀더 바람직하게는, 상기 제1 유기 용매는 메탄올이고, 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이며, 및 (a) 메탄올:물 비는 99.9:0.1 내지 85:15 부피부, 바람직하게는 99.5:0.5 내지 88:12이고, 및/또는 (b) 아세토니트릴:물 비는 90:10 내지 80:20 부피부, 바람직하게는 88:12 내지 85:15 부피부이다. 어떤 구현 예에 있어서, (a) 메탄올:물 비는 91:9 내지 93:7 부피부이고, 및/또는 (b) 아세토니트릴:물비는 86:14 내지 88:12 부피부인 것이 바람직하다.

[0101] 선택적으로, 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이고, 상기 제2 유기 용매는 메탄올이며, 및 (a) 아세토니트릴:물 비는 99:1 내지 75:25 부피부, 바람직하게는 96:4 내지 80:20 부피부이고, 및/또는 (b) 메탄올:물 비는 95:5 내지 85:15 부피부, 바람직하게는 93:7 내지 90:10 부피부이다. 어떤 구현 예에 있어서, (a) 아세토니트릴:물 비는 86:14 내지 88:12 부피부이고, 및/또는 (b) 메탄올:물 비는 87:13 내지 89:11 부피부인 것이 바람직하다.

[0102] 각 크로마토그래피 분리 단계는 통상적으로 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 공급 혼합물을 통과시키는 단계를 포함한다. 따라서, 제1 크로마토그래피 분리 단계는 통상적으로, 용리액으로서, 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 함유하는, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 공급 혼합물을 통과시키는 단계를 포함한다. 통상적으로, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는, 용리액으로서, 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 함유하는 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 중간 생산물을 통과시키는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는, 용리액으로, 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 함유하는 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 공급 혼합물을 통과시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는, 용리액으로서, 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 함유하는, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 중간 생산물을 통과시키는 단계를 포함한다. 어떤 알려진 크로마토그래피 컬럼은 청구된 공정에서 사용될 수 있다.

[0103] 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼은 통상적으로 흡착제를 함유한다. 크로마토그래피 분리 기술에 대해 기술분야에서 알려진 종래의 흡착제는 본 발명의 공정에서 사용될 수 있다. 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼이 사용

된 경우, 각 크로마토그래피 컬럼은 같거나 다른 흡착제를 함유할 수 있다. 통상적으로, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼이 사용된 경우, 각 컬럼은 동일한 흡착제를 함유한다. 이러한 일반적으로 사용된 물질의 예로는 고분자 비드 (polymeric bead), 바람직하게는 DVB (디비닐벤젠 (divinylbenzene))로 망상조직원 폴리스티렌; 및 실리카겔, 바람직하게는 C8 또는 C18 알켄, 특히 C18과 결합된 역상 (reverse phase) 실리카겔이다. C18 결합된 역상 실리카겔은 바람직하다. 본 발명의 공정에서 사용된 흡착제는 바람직하게는 비-극성이다.

[0104] 흡착제 정지 상 물질의 형상은, 예를 들어, 구형 또는 비구형 비드, 바람직하게는 실질적으로 구형 비드일 수 있다. 이러한 비드는 통상적으로 5 내지 500 microns, 바람직하게는 10 내지 500 microns, 좀더 바람직하게는 15 내지 500 microns, 좀더 바람직하게는 40 내지 500 microns, 좀더 바람직하게는 100 내지 500 microns, 좀더 바람직하게는 250 내지 500 microns, 더욱더 바람직하게는 250 내지 400 microns, 가장 바람직하게는 250 내지 350 microns의 직경을 갖는다. 몇몇 구현 예에 있어서, 5 내지 35 microns의 직경을 갖는 비드는 통상적으로 10 내지 30 microns, 바람직하게는 15 내지 25 microns이 사용될 수 있다. 몇몇 바람직한 입자 크기는 모의 및 실제 이동층 공정에서 과거에 사용된 비드의 입자 크기보다 다소 크다. 더 큰 입자의 사용은 시스템에 사용될 더 낮은 압력의 용리액을 가능하게 한다. 이것은, 결국, 장치의 비용 절감, 효율 및 수명의 측면에서 장점을 갖는다. 큰 입자 크기의 흡착제 비드는 해상도에서 어떤 손실 없이 (이들의 연관된 장점과 함께) 본 발명의 공정에서 사용될 수 있다.

[0105] 사용된 컬럼의 치수는 특별하게 제한되지 않으며, 정제될 공급 혼합물의 부피에 어느 정도로 의존할 것이다. 당업자는 사용하기에 적절한 크기의 컬럼을 결정하는 것이 용이할 것이다. 각 컬럼의 직경은 통상적으로 10 및 1000mm 사이, 바람직하게는 10 및 500mm 사이, 좀더 바람직하게는 25 및 250mm 사이, 더욱더 바람직하게는 50 및 100 mm 사이, 및 가장 바람직하게는 70 및 80 mm 사이이다. 각 컬럼의 길이는 통상적으로 10 및 300 cm 사이, 바람직하게는 10 및 200 cm 사이, 좀더 바람직하게는 25 및 150cm 사이, 더욱더 바람직하게는 70 및 110 cm 사이, 및 가장 바람직하게는 80 및 100 cm 사이이다.

[0106] 어떤 알려진 크로마토그래피 장치는 각 분리 단계의 목적을 위해 사용될 수 있다. 각 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 컬럼의 수는 특별하게 제한되지 않는다.

[0107] 통상적으로, 본 발명의 공정은 실온에서, 또는 실온을 초과하는 온도에서 수행된다. 바람직하게는, 상기 공정은 실온을 초과하는 온도에서 수행된다. 상기 제1 및 제2 분리 단계는 동일한 온도 또는 다른 온도, 바람직하게는 동일한 온도에서 수행될 수 있다.

[0108] 통상적으로, 상기 공급 혼합물이 통과되는 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나의 온도는 실온을 초과한다. 좀더 통상적으로, 사용된 모든 크로마토그래피 컬럼의 온도는 실온을 초과한다.

[0109] 따라서, 통상적으로 각 크로마토그래피 분리 단계는 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 공급 혼합물을 통과시키는 단계를 포함하고, 이들 크로마토그래피 컬럼의 적어도 하나의 온도는 실온을 초과한다. 좀더 통상적으로, 사용된 모든 크로마토그래피 컬럼의 온도는 실온을 초과한다.

[0110] 인식하는 바와 같이, 만약 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나가 실온을 초과하는 온도라면, 이는 분리 공정에 중요한 컬럼의 내부이다. 따라서, 이것은 통상적으로 실온을 초과하는 온도에 있을 수 있는 크로마토그래피 컬럼 내에 용리액 및 흡착제이다. 물론, 내부 (예를 들어, 용리액 및/또는 공급 혼합물을 가열시켜) 및/또는 외부 수단에 의해 (예를 들어, 어떤 알려진 종래의 수단에 의해 크로마토그래피 컬럼의 외부부를 가열시켜) 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나의 내부에 요구된 온도를 달성하는 것이 가능하다.

[0111] 통상적으로, 상승된 온도는 용리액 및/또는 공급 혼합물을 가열시켜 달성될 수 있다. 이것은 컬럼을 내부적으로 가열의 효과가 있다.

[0112] 따라서, 공급 혼합물이 통과되는 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나의 온도는 용리액의 온도로서 측정될 수 있다. 통상적으로, 따라서, 제1 및/또는 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 용리액의 온도는 실온을 초과한다.

[0113] 선택적으로, 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나의 요구된 온도는 컬럼을 가열시켜 달성될 수 있다. 상기 가열은, 예를 들어, 전기 가열 맨틀, 가열된 물 재킷 또는 코일을 사용하거나 또는 방사 열 램프 (radiative heat lamps)에 의해 수행될 수 있다. 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼의 내부 및/또는 외부는 통상적으로 가열될 수 있다.

[0114] 상기 크로마토그래피 컬럼 중 적어도 하나의 요구된 온도는 컬럼 및/또는 수성 유기 용매 용리액, 및/또는 공급

혼합물을 가열시켜 달성될 수 있다.

- [0115] 통상적으로, 실온을 초과하는 온도는 30℃ 초과, 바람직하게는 35℃ 초과, 좀더 바람직하게는 40℃ 초과, 더욱더 바람직하게는 45℃ 초과, 더욱더 바람직하게는 50℃ 초과, 더욱더 바람직하게는 55℃ 초과, 및 더욱더 바람직하게는 57℃를 초과한다. 56℃의 온도는 어떤 구현 예에 있어서 유용하다.
- [0116] 통상적으로, 실온을 초과하는 온도는 100℃까지, 바람직하게는 95℃까지, 좀더 바람직하게는 90℃까지, 더욱더 바람직하게는 85℃까지, 더욱더 바람직하게는 80℃까지, 더욱더 바람직하게는 75℃까지, 및 더욱더 바람직하게는 70℃까지이다.
- [0117] 따라서, 통상적인 온도 범위는 30 내지 100℃, 35 내지 95℃, 40 내지 90℃, 45 내지 85℃, 50 내지 80℃, 55 내지 75℃ 또는 57 내지 70℃이다.
- [0118] 바람직한 온도 범위는 40 내지 70℃, 바람직하게는 50 내지 67℃, 좀더 바람직하게는 56 내지 65℃, 더욱더 바람직하게는 57 내지 63℃이다.
- [0119] 어떤 구현 예에 있어서, 단일 크로마토그래피 컬럼은 사용될 수 있고, 바람직하게는 단일 정지 상 크로마토그래피 컬럼이다. 이러한 방식에서 분리는 통상적으로 알려진 정지 층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행된다. 이러한 방식의 분리는 "정지 층" 크로마토그래피라 칭할 수 있다. 통상적으로, 제1 및/또는 제2 크로마토그래피 분리 단계 중 적어도 하나는 적어도 하나, 예를 들어 하나의, "정지 층" 크로마토그래피 단계를 포함한다.
- [0120] 다른 구현 예에 있어서, 하나 이상의 크로마토그래피 컬럼은 사용된다. 이것은, 직렬 또는 병렬로 같거나 다르게 배열될 수 있는, 둘 이상의 크로마토그래피 컬럼을 통해 공급 혼합물을 통과시키는 단계를 포함할 수 있다. 이러한 구현 예에서 사용된 컬럼의 수는 특별하게 제한되지는 않지만, 통상적으로 30개의 컬럼을 초과하지는 않는다.
- [0121] 다중 크로마토그래피 컬럼이 사용되는 경우의 하나의 특별한 구현 예는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피이다.
- [0122] 모의 및 실제 이동층 크로마토그래피 장치는 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 어떤 알려진 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치는, 상기 장치가 본 발명의 공정에 따라 사용되는 한, 본 발명의 방법의 목적을 위해 활용될 수 있다. US 2,985,589, US 3,696,107, US 3,706,812, US 3,761,533, FR-A-2103302, FR-A-2651148, FR-A-2651149, US 6,979,402, US 5,069,883 및 US 4,764,276호에 기재된 이들 장치들은 만약 본 발명의 공정에 따라 구성된다면 모두 사용될 수 있다. 예를 들어, WO-A-2011/080503호에 개시된 SMB 공정 (SMB processes)은 또한 사용될 수 있다.
- [0123] 제1 및 제2 분리 단계는 여기서 논의된 바와 같은 정지 층 크로마토그래피 장치, 또는 하나 이상의 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행될 수 있다.
- [0124] 통상적으로, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치로 공급 혼합물을 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치로 중간 생산물을 도입시키는 단계를 포함한다. 따라서, 통상적으로 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행되고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행된다.
- [0125] 선택적으로, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 장치로 공급 혼합물을 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 중간 생산물을 도입시키는 단계를 포함한다. 따라서, 통상적으로 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 장치를 사용하여 수행되고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행된다.
- [0126] 선택적으로, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 공급 혼합물을 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치로 중간 생산물을 도입시키는 단계를 포함한다. 따라서, 통상적으로 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행되고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 정지 층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행된다.
- [0127] 선택적으로, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 공급 혼합물을 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피

장치로 중간 생산물을 도입시키는 단계를 포함한다. 따라서, 통상적으로 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행되고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용하여 수행된다.

- [0128] 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는, 각 분리 단계가 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 용리액으로 사용하는 경우, 단일 크로마토그래피 분리 또는 둘 이상의 크로마토그래피 분리로 이루어질 수 있다.
- [0129] 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는, 각 분리가 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 용리액으로 사용하는 경우, 단일 크로마토그래피 분리 또는 둘 이상의 크로마토그래피 분리로 이루어질 수 있다.
- [0130] 통상적으로, 상기 제1 및/또는 제2 크로마토그래피 분리 단계는, 예를 들어, 도 1에 도시된 바와 같은, 종래의 장치를 사용하는 단일 SMB 분리 단계의 사용을 포함할 수 있다. 이러한 방식의 분리는 "단일 패스 (single pass)" SMB라 칭할 수 있다. 통상적으로, 제1 및/또는 제2 크로마토그래피 분리 단계 중 적어도 하나는 적어도 하나, 예를 들어 하나의, "단일 패스" SMB 단계를 포함한다.
- [0131] 선택적으로, 상기 제1 및/또는 제2 크로마토그래피 분리 단계는 다중 SMB 분리의 사용을 각각 포함할 수 있다.
- [0132] 일 구현 예에 있어서, 제1 크로마토그래피 분리 단계 및/또는 제2 크로마토그래피 분리 단계는 WO-A-2011/080503 및 PCT/GB2012/051591호에 기재된 바와 같이 수행될 수 있고, 이들의 전체적인 내용은 참조로서 여기에 혼입된다. WO-A-2011/080503 및 PCT/GB2012/051591호에 명시된 바람직한 공정 조건은 이러한 구현 예에 대한 바람직한 공정 조건이고, WO-A-2011/080503 및 PCT/GB2012/051591호로부터 혼입될 수 있다.
- [0133] WO-A-2011/080503 및 PCT/GB2012/051591호에 개시된 공정은 수성 유기 용매를, 용리액으로, 함유하는 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼을 갖는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치에 입력 스트림 (input stream)을 도입시키는 단계를 포함하고, 여기서 상기 장치는 적어도 제1 존 및 제2 존을 포함하는 복수의 존을 가지며, 각 존은 상기 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼으로부터 액체가 수집될 수 있는 추출물 스트림 및 추출잔액 스트림을 갖고, 및 여기서 (a) 더 극성인 성분과 함께 PUFA 생산물을 함유하는 추출잔액 스트림은 상기 제1 존에서 컬럼으로부터 수집되고, 상기 제2 존에서 인접하지 않은 컬럼으로 도입되며, 및/또는 (b) 덜 극성인 성분과 함께 PUFA 생산물을 함유하는 추출물 스트림은 상기 제2 존에서 컬럼으로부터 수집되고, 상기 제1 존에서 인접하지 않은 컬럼으로 도입되며, 상기 PUFA 생산물은 각 존에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리된다. 이러한 방식의 분리는 "이중 패스 (double pass)" SMB 공정이라 칭할 수 있다.
- [0134] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 용어 "존"은, 용리액으로, 수성 유기 용매를 함유하고, 및 물 및/또는 유기 용매, 액체가 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼으로부터 수집될 수 있는 추출잔액 테이크-오프 스트림 (raffinate take-off stream), 및 액체가 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼으로부터 수집될 수 있는 추출물 테이크-오프 스트림에 대한 하나 이상의 주입 지점 (injection points)인, 입력 스트림에 대한 하나 이상의 주입 지점을 갖는 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼을 의미한다. 통상적으로, 각 존은 입력 스트림에 대한 오직 하나의 주입 지점을 갖는다. 일 구현 예에 있어서, 각 존은 수성 유기 용매 용리액에 대한 오직 하나의 주입 지점을 갖는다. 다른 구현 예에 있어서, 각 존은 물 및/또는 유기 용매에 대한 둘 이상의 주입 지점을 갖는다.
- [0135] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, "입력 스트림"에 대한 언급은 전술된 SMB 공정이 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 공급 혼합물을 의미하고, 전술된 SMB 공정이 제2 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 중간 생산물을 의미한다.
- [0136] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, "수성 유기 용매"에 대한 언급은 전술된 SMB 공정이 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 의미하고, 전술된 SMB 공정이 제2 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 의미한다.
- [0137] 용어 "추출잔액"은 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 실제 및 모의 이동층 크로마토그래피의 상황에 있어서, 이것은 고체 흡착제 상에 비교하여 액체 용리액 상과 함께 좀더 빠르게 이동하는 성분의 스트림을 의미한다. 따라서, 추출잔액 스트림은 통상적으로 입력 스트림과 비교하여 더 극성인 성분이 풍부하고, 덜 극성인 성분이 대폭 감소된다.
- [0138] 용어 "추출물"은 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 실제 및 모의 이동층 크로마토그래피의 상황에 있어서, 액체 용리액 상에 비교하여 고체 흡착제 상과 함께 좀더 빠르게 이동하는 성분의 스트림을 의미한다. 따라서, 추출물 스트림은 통상적으로 입력 스트림과 비교하여 덜 극성인 성분이 풍부하고, 더 극성인 성분이 대폭

감소된다.

- [0139] 여기에 사용된 바와 같은, 용어 "인접하지 않는"은, 예를 들어, 하나 이상의 컬럼, 바람직하게는 3 이상 컬럼, 좀더 바람직하게는 5 이상 컬럼, 가장 바람직하게는 약 5 컬럼에 의해 분리된, 동일한 장치에서 컬럼을 의미한다.
- [0140] "이중 패스" SMB 공정은 도 11에 예시된다. PUFA 생산물 (B) 및 더 극성 (C) 및 덜 극성인 (A) 성분을 포함하는 입력 스트림 (F)은 제1 존에서 컬럼 (5)의 상부로 도입된다. 수성 유기 용매 탈착제 (desorbent)는 제1 존에서 컬럼 (1)의 상부로 도입된다. 제1 존에 있어서, 덜 극성인 성분 (A)은 컬럼 (2)의 하부로부터 추출물 스트림 (E1)으로 제거된다. 상기 PUFA 생산물 (B) 및 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (7)의 하부로부터 추출잔액 스트림 (R1)으로 제거된다. 추출잔액 스트림 (R1)은 그 다음 컬럼 (12)의 상부에서 제2 존으로 도입된다. 수성 유기 용매 탈착제는 제2 존에서 컬럼 (9)의 상부로 도입된다. 제2 존에 있어서, 상기 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (14)의 하부에서 추출잔액 스트림 (R2)으로 제거된다. 상기 PUFA 생산물 (B)은 컬럼 (10)의 하부에서 추출물 스트림 (E2)으로 수집된다.
- [0141] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 수성 유기 용매는 통상적으로 제1 존에서 컬럼 (1)의 상부로 도입된다.
- [0142] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 수성 유기 용매는 통상적으로 제2 존에서 컬럼 (9)의 상부로 도입된다.
- [0143] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 상기 입력 스트림은 통상적으로 제1 존에서 컬럼 (5)의 상부로 도입된다.
- [0144] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 제1 추출잔액 스트림은 통상적으로 제1 존에서 컬럼 (7)의 하부로부터 수집되고, 제2 존에서 컬럼 (12)의 상부로 도입된다. 상기 제1 추출잔액 스트림은 선택적으로 컬럼 (12)으로 도입되기 전에 용기에 수집될 수 있다.
- [0145] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 제1 추출물 스트림은 통상적으로 제1 존에서 컬럼 (2)의 하부로부터 제거된다. 상기 제1 추출물 스트림은 선택적으로 제1 존에서 컬럼 (3)의 상부로 재도입된 일부 및 용기에서 수집될 수 있다. 제1 존으로 되돌아가는 제1 존으로부터 추출물 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환율은 액체가 컬럼 (3)의 상부로 이러한 용기로부터 펌핑되는 속도이다.
- [0146] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 제2 추출잔액 스트림은 통상적으로 제2 존에서 컬럼 (14)의 하부로부터 제거된다.
- [0147] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제2 존에서 컬럼 (10)의 하부로부터 수집된다. 이러한 제2 추출물 스트림은 통상적으로 PUFA 생산물을 함유한다. 상기 제2 추출물 스트림은 선택적으로 제2 존에서 컬럼 (11)의 상부로 재도입된 일부 및 용기에 수집될 수 있다. 제2 존으로 되돌아가는 제2 존으로부터 추출물 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환율은 액체가 컬럼 (11)의 상부로 이러한 용기로부터 펌핑되는 속도이다.
- [0148] 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 제1 존으로부터 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 존으로 되돌아가 재순환되는 속도는 통상적으로 제2 존으로부터 추출물 스트림으로 통해 수집된 액체가 제2 존으로 되돌아가 재순환되는 속도보다 더 빠르다. 이러한 "이중 패스" SMB 공정에 있어서, 용리액은 통상적으로 각 존에서 실질적으로 동일하다.
- [0149] 통상적으로, 제1 및 제2 크로마토그래피 분리 단계 중 적어도 하나는 적어도 하나, 예를 들어 하나의, 상기에서 정의된 바와 같은 "이중 패스" SMB 공정을 포함한다.
- [0150] 선택적인 구현 예에 있어서, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계 및/또는 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 국제 특허 출원 PCT/GB2012/051596 또는 PCT/GB2012/051597호에서 기재된 바와 같이 수행될 수 있고, 이들의 전체적인 내용은 참조로서 여기에 혼입된다. 이러한 구현 예는:
- [0151] (i) 제1 생산물을 얻기 위해, 수성 유기 용매를, 용리액으로, 함유하는 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼을 갖는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치에서 제1 SMB 단계에 입력 스트림을 정제하는 단계; 및
- [0152] (ii) 제2 생산물을 얻기 위해, 수성 유기 용매를, 용리액으로, 함유하는 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼을 갖는 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치를 사용한 제2 SMB 단계에서 (i)에서 얻어진 제1 생산물을 정제하는 단계를 포함하고;

- [0153] 여기서
- [0154] (a) 상기 제1 및 제2 SMB 단계는 동일한 크로마토그래피 장치에 연속적으로 수행되고, 상기 제1 생산물은 제1 및 제2 SMB 단계 사이에 회수되며, 상기 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 SMB 단계에서 공급 혼합물의 다른 성분으로부터 분리되도록 제1 및 제2 SMB 단계 사이에서 조정되거나; 또는
- [0155] (b) 상기 제1 및 제2 SMB 단계는 개별의 제1 및 제2 크로마토그래피 장치 각각에서 수행되고, 상기 제1 SMB 단계로부터 얻어진 제1 생산물은 제2 크로마토그래피 장치로 도입되며, 상기 PUFA 생산물은 각 SMB 단계에서 공급 혼합물의 다른 성분으로부터 분리된다. 이러한 방식의 분리는 "백-투-백 (back-to-back)" SMB라 칭한다.
- [0156] 의심의 여지를 없애기 위해, 만약 제1 크로마토그래피 분리 단계가 상기 방식에 따른 "백-투-백" SMB 공정인 경우, 각각의 SMB 단계에서 용리액은 물 및 제1 유기 용매의 혼합물이다. 만약 제2 크로마토그래피 분리 단계가 상기 방식에 따른 "백-투-백" SMB 공정인 경우, 각각의 SMB 단계에서 용리액은 물 및 제2 유기 용매의 혼합물이다.
- [0157] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 용어 "모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치"는 통상적으로, 수성 유기 용매를, 용리액으로, 함유하고, 및 물 및/또는 유기 용매, 액체가 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼으로부터 수집될 수 있는 추출잔액 테이크-오프 스트림, 및 액체가 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼으로부터 수집될 수 있는 추출물 테이크-오프 스트림에 대한 하나 이상의 주입 지점인, 입력 스트림에 대한 하나 이상의 주입 지점을 갖는 복수의 연결된 크로마토그래피 컬럼을 의미한다.
- [0158] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 사용된 크로마토그래피 장치는 수성 유기 용매를, 용리액으로, 함유하는 직렬로 연결된 단일 배열의 크로마토그래피 컬럼을 갖는다. 통상적으로, 각각의 크로마토그래피 컬럼은 그 컬럼에 인접한 장치에서 두 개의 컬럼과 연결된다. 따라서, 배열에서 제공된 컬럼으로부터 출력은, 배열에서 용리액의 흐름에 대하여 다운스트림인, 배열에서 인접한 컬럼의 입력과 연결된다. 따라서, 용리액은 연결된 크로마토그래피 컬럼의 배열 주변을 흐를 수 있다. 통상적으로, 크로마토그래피 컬럼 중 어떤 것도 장치에서 인접하지 않는 컬럼에 연결되지 않는다.
- [0159] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, "입력 스트림"에 대한 언급은 전술된 SMB 공정이 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 공급 혼합물을 의미하고, 전술된 SMB 공정이 제2 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 중간 생산물을 의미한다.
- [0160] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, "수성 유기 용매"에 대한 언급은 전술된 "백-투-백" SMB 공정이 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 물 및 제1 유기 용매의 혼합물을 의미하고, 전술된 "백-투-백" SMB 공정이 제2 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 물 및 제2 유기 용매의 혼합물을 의미한다. 제1 및 제2 SMB 단계에 사용된 유기 용매는 같다. 제1 및 제2 SMB 단계에 사용된 유기 용매:물 비는 같거나 다를 수 있다.
- [0161] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, "제2 생산물"에 대한 언급은 전술된 SMB 공정이 제1 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 중간 생산물을 의미하고, 전술된 SMB 공정이 제2 크로마토그래피 분리 단계에 사용된 경우 PUFA 생산물을 의미한다.
- [0162] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 각 장치는 입력 스트림에 대한 오직 하나의 주입 지점을 갖는다. 일 구현 예에 있어서, 각 장치는 수성 유기 용매 용리액에 대한 오직 하나의 주입 지점을 갖는다. 다른 구현 예에 있어서, 각 장치는 물 및/또는 유기 용매에 대한 둘 이상의 주입 지점을 갖는다.
- [0163] 용어 "추출잔액"은 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 실제 및 모의 이동층 크로마토그래피의 상황에 있어서, 이것은 고체 흡착제 상과 비교하여 액체 용리액 상과 함께 좀더 빠르게 이동하는 성분의 스트림을 의미한다. 따라서, 추출잔액 스트림은 통상적으로 공급 스트림과 비교하여 더 극성인 성분이 풍부하고, 덜 극성인 성분이 대폭 감소된다.
- [0164] 용어 "추출물"은 기술분야의 당업자에게 잘 알려져 있다. 실제 및 모의 이동층 크로마토그래피의 상황에 있어서, 이것은 액체 용리액 상과 비교하여 고체 흡착제 상과 함께 좀더 빠르게 이동하는 성분의 스트림을 의미한다. 따라서, 추출물 스트림은 공급 스트림과 비교하여 통상적으로 덜 극성인 성분이 풍부하고, 더 극성인 성분이 대폭 감소된다.
- [0165] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서 각 장치에 사용된 컬럼의 수는 특별하게 제한되지 않는다. 당업자는 사용하기에 적절한 수의 컬럼을 용이하게 결정할 수 있을 것이다. 컬럼의 수는 통상적으로 4 이상, 바람직하게는 6 이상, 좀더 바람직하게는 8 이상, 예를 들어, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 컬럼이다. 바람직한 구현 예에 있어서,

5 또는 6 컬럼, 좀더 바람직하게는 6 컬럼이 사용된다. 또 다른 바람직한 구현 예에 있어서, 7 또는 8 컬럼, 좀더 바람직하게는 8 컬럼이 사용된다. 통상적으로, 25 컬럼 미만, 바람직하게는 20 컬럼 미만, 좀더 바람직하게는 15 컬럼 미만이다.

[0166] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 및 제2 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치는 통상적으로 같은 수의 컬럼을 함유한다. 어떤 적용에 대하여, 이들은 다른 수의 컬럼을 가질 수 있다.

[0167] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 컬럼은 통상적으로 동일한 치수를 갖지만, 어떤 적용에 대하여, 다른 치수를 가질 수 있다.

[0168] 상기 컬럼의 유속은 일련의 컬럼을 가로지르는 최대 압력에 의해 제한되고, 컬럼 치수 및 고체 상의 입자 크기에 의존할 것이다. 기술분야의 당업자는 효율적인 탈착을 보장하기 위해 각 컬럼 치수에 대해 요구된 유속을 용이하게 확립할 수 있을 것이다. 더 큰 직경 컬럼은 컬럼을 통한 선형 흐름을 유지하기 위해 더 높은 흐름을 일반적으로 필요로 할 것이다.

[0169] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 개요의 통상적인 컬럼 크기에 대하여, 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 용리액의 유속은 1 내지 4.5L/min, 바람직하게는 1.5 내지 2.5 L/min이다. 통상적으로, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로부터 추출의 유속은 0.1 내지 2.5L/min, 바람직하게는 0.5 내지 2.25 L/min이다. 제1 SMB 분리 단계로부터 추출물의 일부가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 구현 예에 있어서, 재순환의 유속은 통상적으로 0.7 내지 1.4 L/min, 바람직하게는 약 1 L/min이다. 통상적으로, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로부터 추출잔액의 유속은 0.2 내지 2.5 L/min, 바람직하게는 0.3 내지 2.0 L/min이다. 제1 SMB 분리 단계로부터 추출잔액의 일부가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 구현 예에 있어서, 재순환의 유속은 통상적으로 0.3 내지 1.0 L/min, 바람직하게는 약 0.5 L/min이다. 통상적으로, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 입력 스트림의 도입의 유속은 5 내지 150 mL/min, 바람직하게는 10 내지 100 mL/min, 좀더 바람직하게는 20 내지 60 mL/min이다.

[0170] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 개요된 통상적인 컬럼 크기에 대하여, 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 용리액의 유속은 1 내지 4 L/min, 바람직하게는 1.5 내지 3.5 L/min이다. 통상적으로, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로부터 추출물의 유속은 0.5 내지 2 L/min, 바람직하게는 0.7 내지 1.9 L/min이다. 제2 SMB 분리 단계로부터 추출물의 일부가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 구현 예에 있어서, 재순환의 유속은 통상적으로 0.6 내지 1.4 L/min, 바람직하게는 0.7 내지 1.1 L/min, 좀더 바람직하게는 약 0.9 L/min이다. 통상적으로, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로부터 추출잔액의 유속은 0.5 내지 2.5 L/min, 바람직하게는 0.7 내지 1.8 L/min, 좀더 바람직하게는 약 1.4 L/min이다. 제2 SMB 분리 단계로부터 추출잔액의 일부가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 구현 예에 있어서, 재순환의 유속은 통상적으로 0.3 내지 1.0 L/min, 바람직하게는 약 0.5 L/min이다.

[0171] 당업자가 인식하는 바와 같이, 액체가 다양한 추출물 및 추출잔액 스트림을 통해 수집 또는 제거되는 속도에 대한 언급은 시간의 양에 따라 제거된 액체의 부피, 통상적으로 L/minute을 의미한다. 유사하게, 액체가 장치, 통상적으로 상기 장치에 인접한 컬럼으로 다시 재순환되는 속도에 대한 언급은 시간의 양에 따라 재순환된 액체의 부피, 통상적으로 L/minute을 의미한다.

[0172] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 실제 이동층 크로마토그래피는 바람직하다.

[0173] 단계 시간, 즉, 입력 스트림 및 용리액의 주입 지점, 및 수집된 분획의 다양한 테이크 오프 지점을 이동시키는 사이의 시간은 특별하게 제한되지 않고, 사용된 컬럼의 수 및 치수, 및 장치를 통한 유속에 의존할 것이다. 당업자는 본 발명의 공정에 사용하기 위한 적절한 단계 시간을 용이하게 결정할 수 있을 것이다. 상기 단계 시간은 통상적으로 100 내지 1000 seconds, 바람직하게는 200 내지 800 seconds, 좀더 바람직하게는 약 250 내지 약 750 seconds이다. 몇몇 구현 예에 있어서, 100 내지 400 seconds, 바람직하게는 200 내지 300 seconds, 좀더 바람직하게는 약 250 seconds의 단계 시간은 적절하다. 다른 구현 예에 있어서, 600 내지 900 seconds, 바람직하게는 700 내지 800 seconds, 좀더 바람직하게는 약 750 seconds의 단계 시간은 적절하다.

[0174] 상기 "백-투-백" SMB 공정은 제1 및 제2 SMB 분리 단계를 포함한다.

[0175] 이들 두 단계는 단일 크로마토그래피 장치 상에서 용이하게 수행될 수 있다. 따라서, 일 구현 예에 있어서, (a) 제1 및 제2 SMB 분리 단계는 동일한 크로마토그래피 장치상에서 연속적으로 수행되고, 제1 생산물은 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에서 회수되며, 상기 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 분리 단계

에서 입력 스트림의 다른 성분으로 분리되도록 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에서 조정된다. 이러한 "백-투-백" SMB 공정의 바람직한 구현 예는 도 10a에서 나타난다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계 (좌측)는 8 컬럼을 갖는 SMB 장치상에서 수행된다. 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에서 제1 생산물은, 예를 들어, 용기에 회수되고, 크로마토그래피 장치에 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 조정된다. 제2 SMB 분리 단계 (우측)는 그 다음 8 컬럼을 갖는 동일한 SMB 장치상에서 수행된다.

[0176] 구현 예 (a)에 있어서, 공정 조건을 조정하는 단계는 통상적으로 전체로서 장치에서 공정 조건을 조정하는 것, 즉, 조건들이 다르도록 장치를 물리적으로 변형시키는 것을 의미한다. 이것은 공정 조건이 다르게 발생할 수 있는 동일한 장치의 다른 부분으로 제1 생산물을 다시 단순히 재도입하는 것을 의미하지는 않는다.

[0177] 선택적으로, 제1 및 제2 개별 크로마토그래피 장치는 제1 및 제2 SMB 분리 단계에서 사용될 수 있다. 따라서, 다른 구현 예에 있어서, (b) 제1 및 제2 SMB 분리 단계는 각각 개별의 제1 및 제2 크로마토그래피 장치상에서 수행되고, 제1 SMB 분리 단계로부터 얻어진 제1 생산물은 제2 크로마토그래피 장치로 도입되며, PUFA 생산물은 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리된다.

[0178] 구현 예 (b)에 있어서, 두 개의 SMB 분리 단계는 연속적으로 또는 동시에 수행될 수 있다.

[0179] 따라서, 두 개의 SMB 분리 단계가 연속적으로 수행되는 경우의 구현 예 (b)에 있어서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계는 개별의 제1 및 제2 크로마토그래피 장치에서 각각 연속적으로 수행되고, 제1 생산물은 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에서 회수되며, 제1 및 제2 SMB 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 조정된다. 이러한 "백-투-백" SMB 분리 공정의 바람직한 구현 예는 도 10b에 나타난다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계 (좌측)는 8개의 컬럼, 1 내지 8 번째를 갖는 SMB 장치상에서 수행된다. 상기 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에서, 제1 생산물은, 예를 들어, 용기에 회수되며, 그 다음 제1 개별 SMB 장치로 도입된다. 제2 SMB 분리 단계 (우측)는 8개 컬럼, 9 내지 16 번째를 갖는 제2 개별 SMB 장치상에서 수행된다. 두 개의 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 조정된다.

[0180] 두 SMB 분리 단계가 동시에 수행되는 경우의 구현 예 (b)에 있어서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계는 개별의 제1 및 제2 크로마토그래피 장치에서 각각 수행되고, 제1 생산물은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입되며, 제1 및 제2 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 조정된다. 이러한 "백-투-백" SMB 분리 공정의 바람직한 구현 예는 도 10c에 나타난다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계 (좌측)는 8 컬럼, 1 내지 8 번째를 갖는 SMB 장치에서 수행된다. 제1 SMB 분리 단계에서 얻어진 제1 생산물은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에 사용된 제2 개별 크로마토그래피 장치로 도입된다. 제1 생산물은 직접 또는 간접적으로, 예를 들어, 용기를 통해, 제1 SMB 분리 단계로부터 제2 SMB 분리 단계로 통과될 수 있다. 제2 SMB 분리 단계 (우측)는 8 개 컬럼, 9 내지 16 번째를 갖는 제2 개별 SMB 장치상에서 수행된다. 두 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 조정된다.

[0181] 두 SMB 분리 단계가 동시에 수행되는 경우의 구현 예 (b)에 있어서, 용리액은 두 개별 크로마토그래피 장치에서 개별적으로 순환된다. 따라서, 용리액은 용리액이 제2 SMB 분리 단계에서 정제되고, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입되는, 제1 생산물에서 용매로서 존재할 수 있는 것과 다르게 두 개별 크로마토그래피 장치 사이에 공유되지 않는다. 크로마토그래피 컬럼은 제1 및 제2 SMB 분리 단계에 사용된 두 개별 크로마토그래피 장치 사이에 공유되지 않는다.

[0182] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 생산물이 제1 SMB 분리 단계에서 얻어진 이후, 수성 유기 용매 용리액은 제1 생산물이 제2 SMB 분리 단계에서 정제되기 전에 부분적으로 또는 전체적으로 제거될 수 있다. 선택적으로, 제1 생산물은 어떤 용매 존재의 제거 없이 제2 SMB 분리 단계에서 정제될 수 있다.

[0183] 진술된 바와 같이, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, PUFA 생산물은 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리된다. 구현 예 (a)에 있어서, 두 SMB 분리 단계에 사용된 단일 SMB 장치의 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 제1 및 제2 SMB 분리 단계 사이에 조정된다. 구현 예 (b)에 있어서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계에 사용된 두 개별 크로마토그래피 장치에서 공정 조건은 PUFA 생산물이 각 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리되도록 설정된다.

[0184] 따라서, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계에서 공정 조건은 변한다. 변하는 공정 조건은, 예를 들어, 사용된 컬럼의 크기, 사용된 컬럼의 수, 컬럼에 사용된 패킹 (packing), SMB 장치의 단계 시

간, 장치의 온도, 분리 단계에 사용된 용리액의 물:유기 용매 비, 또는 장치에서 사용된 유속, 특히 추출물 또는 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환 속도를 포함할 수 있다.

- [0185] 바람직하게는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 변할 수 있는 공정 조건은 SMB 분리 단계에 사용된 용리액의 물:유기 용매 비, 및/또는 SMB 분리 단계에서 추출물 또는 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환 속도이다. 이들 옵션 모두는 이하 좀더 상세하게 논의된다.
- [0186] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 얻어진 제1 생산물은 통상적으로 입력 스트림과 비교하여 PUFA 생산물에 풍부하다.
- [0187] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 얻어진 제1 생산물은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0188] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 생산물은 통상적으로 제1 SMB 분리 공정에 사용된 크로마토그래피 장치로부터 추출잔액 또는 추출물 스트림으로 수집된다.
- [0189] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 생산물은 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림으로 수집되고, 제2 생산물은 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림으로 수집된다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계에서 수집된 추출잔액 스트림은 제2 SMB 분리 단계에서 입력 스트림으로서 사용된다. 제1 SMB 분리 단계에서 수집된 추출잔액 스트림은 통상적으로 더 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유한다.
- [0190] 선택적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 생산물은 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림으로 수집되고, 제2 생산물은 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림으로서 수집된다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계에서 수집된 추출물 스트림은 제2 SMB 분리 단계에서 입력 스트림으로 사용된다. 상기 제1 SMB 분리 단계에서 수집된 추출물 스트림은 통상적으로 덜 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유한다.
- [0191] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, PUFA 생산물은 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리된다. 통상적으로, 본 발명의 공정의 각 SMB 분리 단계에서 분리된 성분은 다른 극성을 갖는다.
- [0192] 바람직하게는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 제1 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 덜 극성인 성분으로부터 분리되고, PUFA 생산물은 제2 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 더 극성인 성분으로부터 분리된다.
- [0193] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, (a) 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터의 추출물 스트림의 일부는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되고; 및/또는
- [0194] (b) 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터의 추출잔액 스트림의 일부는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되며; 및/또는
- [0195] (c) 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터 추출물 스트림의 일부는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되고; 및/또는
- [0196] (d) 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터 추출잔액 스트림의 일부는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환된다.
- [0197] 바람직하게는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, (a) 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터의 추출물 스트림의 일부는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되고; 및
- [0198] (b) 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터의 추출잔액 스트림의 일부는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되며; 및
- [0199] (c) 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터의 추출물 스트림의 일부는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되고; 및
- [0200] (d) 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로부터 추출잔액 스트림의 일부는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환된다.
- [0201] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서 재순환은 제1 또는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 밖으로 추출물 또는 추출잔액 스트림의 일부를 그 SMB 단계에 사용된 장치, 통상적으로 인접한 컬럼으로 다시 공급하는 단계를 포함한다. 이러한 인접한 컬럼은 시스템에서 용리액의 흐름에 대하여 다운스트림인 인접한 컬럼이다.

- [0202] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 또는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 또는 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 그 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 단계에 사용된 장치, 통상적으로 인접한 컬럼으로, 즉, 시스템에서 용리액의 흐름에 관하여 다운 스트림 컬럼으로 다시 주입되는 속도이다.
- [0203] 이것은 도 9를 참조하여 알 수 있다. 제1 SMB 분리 단계에서 추출물의 재순환 속도는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (2)의 하부로부터 수집된 추출물이 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 주입되는 속도이다, 즉, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 액체의 유속이다.
- [0204] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, 제2 SMB 분리 단계에서 추출물의 재순환 속도는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (2)의 하부에서 수집된 추출물이 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 주입되는 속도이다, 즉, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 액체의 유속이다.
- [0205] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 및/또는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 및/또는 추출잔액 스트림의 재순환은 통상적으로 용기로 그 SMB 분리 단계에서 그 스트림을 통해 수집된 액체를 주입하는 단계, 및 그 다음 용기로부터 그 액체의 양을 그 SMB 분리 단계에 사용된 장치, 통상적으로 인접한 컬럼으로 다시 펌핑하는 단계에 의해 효과적이다. 이 경우에 있어서, 제1 및/또는 제2 SMB 분리 단계에서 특별한 추출물 또는 추출잔액 스트림을 통해, 통상적으로 인접한 컬럼으로 다시, 수집된 액체의 재순환 속도는 액체가 크로마토그래피 장치, 통상적으로 인접한 컬럼으로 다시 용기 밖으로 펌핑되는 속도이다.
- [0206] 당업자가 인식하는 바와 같이, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, 용리액 및 입력 스트림을 통해 크로마토그래피 장치로 도입된 액체의 양은 장치로부터 제거되고 장치로 다시 재순환되는 액체의 양과 균형을 이룬다.
- [0207] 따라서, 도 9를 참조하는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서, 추출물 스트림에 대해, 제1 및 제2 SMB 분리 단계 (D)에 사용된 크로마토그래피 장치(들)로 용리액 (탈착제)의 유속은 그 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 추출물이 특정 SMB 분리 단계 (D-E1 및 D-E2)에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도로 부가된 용기 (E1 및 E2)에 축적되는 속도와 동일하다.
- [0208] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, SMB 분리 단계로부터 추출잔액 스트림에 대하여, 공급원료가 특정 SMB 분리 단계 (F 및 R1)에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입되는 속도로 부가된 특정 SMB 분리 단계 (D-E1 및 D-E2)에 사용된 크로마토그래피 장치로 추출물이 다시 재순환되는 속도는 추출잔액이 특정 SMB 분리 단계 (D+F-E1-R1 및 D+R1-E2-R2)에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도로 부가된 용기에 특정 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 축적되는 속도와 동일하다.
- [0209] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 크로마토그래피 장치로부터 특정 추출물 또는 추출잔액 스트림으로부터 수집된 액체가 용기에 축적되는 속도는 또한 그 크로마토그래피 장치로부터 그 추출물 또는 추출잔액 스트림의 제거의 순 속도로 고려될 수 있다.
- [0210] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 및 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 그 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 속도는 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리될 수 있도록 조정된다.
- [0211] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 및 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 속도는 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리될 수 있도록 조정된다.
- [0212] 바람직하게는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 각 SMB 분리 단계에서 추출물 및 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 속도는 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분과 분리될 수 있도록 조정된다.
- [0213] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도와 다르고, 및/또는 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제2

SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도와 다르다.

- [0214] 제1 또는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 및/또는 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 특정 SMB 분리 단계에 사용된 장치로 다시 재순환되는 속도를 변화시키는 것은 추출물 및 추출잔액 스트림에 존재하는 더 극성 및 덜 극성인 성분의 양을 변화시키는 효과를 갖는다. 따라서, 예를 들어, 더 낮은 추출물 재순환 속도는 추출잔액 스트림을 통해 운반될 그 SMB 분리 단계에서 더 적은 덜 극성인 성분을 결과한다. 더 높은 추출물 재순환 속도는 추출잔액 스트림을 통해 운반될 그 SMB 분리 단계에서 더 많은 덜 극성인 성분을 결과한다.
- [0215] 이것은, 예를 들어, 도 6에서 알 수 있다. 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 분리 단계 (D-E1)에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 어떤 성분 A가 제1 SMB 분리 단계 (R1)에서 추출잔액 스트림을 통해 운반되는 정도에 영향을 미칠 것이다.
- [0216] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 빠르다. 바람직하게는, 더 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유하는 추출잔액 스트림은 제1 SMB 분리 단계로부터 수집되고, 제2 SMB 분리 단계에서 정제되며, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도가 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 빠르다.
- [0217] 선택적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 느리다.
- [0218] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 빠르다. 바람직하게는, 덜 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유하는 추출물 스트림은 제1 SMB 분리 단계로부터 수집되고, 제2 SMB 분리 단계에서 정제되며, 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 빠르다.
- [0219] 선택적으로, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 느리다.
- [0220] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 재순환 속도가 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리될 수 있도록 조정되는 경우, 각 SMB 분리 단계에 사용된 용리액의 물:유기 용매 비는 같거나 다를 수 있다. 각 SMB 분리 단계에서 용리액의 통상적인 물:유기 용매 비는 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0221] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 각 SMB 분리 단계에 사용된 수성 유기 용매 용리액은 다른 물:유기 용매 비를 갖는다. 각 SMB 분리 단계에 사용된 유기 용매는 같다. 각 SMB 분리 단계에 사용된 물:유기 용매 비는 PUFA 생산물이 각 SMB 분리 단계에서 입력 스트림의 다른 성분으로부터 분리될 수 있도록 바람직하게 조정된다.
- [0222] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, SMB 분리 단계의 각각에서 사용된 용리액의 용리력 (eluting power)은 통상적으로 다르다. 바람직하게는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 용리액의 용리력이 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액의 것보다 크다. 실제로 이것은 각 SMB 분리 단계에 사용된 물 및 유기 용매의 상대적 양을 변화시켜 달성된다.
- [0223] 유기 용매의 선택에 의존하여, 이들은 물보다 더 강력한 탈착제 (desorber) 일 수 있다. 선택적으로, 이들은 물보다 덜 강한 탈착제일 수 있다. 예를 들어, 아세토니트릴 및 알코올은 물보다 좀더 강력한 탈착제이다. 따라서, 수성 유기 용매가 수성 알코올 또는 아세토니트릴인 경우, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 용리액에 알코올

또는 아세토니트릴의 양은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액에 알코올 또는 아세토니트릴의 양보다 통상적으로 더 많다.

[0224] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 용리액의 물:유기 용매 비는 제2 SMB 분리 단계에서 용리액의 물:유기 용매 비보다 더 낮다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계에서 용리액은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에서 용리액보다 더 많은 유기 용매를 함유한다.

[0225] 위에서 언급된 각 SMB 분리 단계에서 물 및 유기 용매의 비는 전체 크로마토그래피 장치 내에 평균 비인 것으로 인식될 것이다.

[0226] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 각 SMB 분리 단계에서 용리액의 물:유기 용매 비는 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 하나 이상의 컬럼에 물 및/또는 유기 용매를 도입시켜 조절된다. 따라서, 예를 들어, 제2 SMB 분리 단계에서보다 제1 SMB 분리 단계에서 더 낮은 물:유기 용매 비를 달성하기 위해, 물은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에서보다 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 좀더 느리게 도입된다.

[0227] 통상적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 필수적으로 순수한 유기 용매 및 필수적으로 순수한 물은 각 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 다른 지점에서 도입될 수 있다. 이들 두 개의 스트림의 상대적 유속은 크로마토그래피 장치에서 전체 용매 프로파일을 결정할 것이다. 선택적으로 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 유기 용매 및 물의 다른 혼합물은 각 SMB 분리 단계에 사용된 각 크로마토그래피에서 다른 지점에서 도입될 수 있다. 그것은 특정 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 유기 용매 및 물의 둘 이상의 다른 혼합물을 도입하는 단계를 포함할 것이고, 각 유기 용매/물 혼합물은 다른 유기 용매:물 비를 갖는다. 이러한 "백-투-백" SMB 공정에서 유기 용매/물 혼합물의 상대 유속 및 상대 농도는 그 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에 전체 용매 프로파일을 결정할 것이다.

[0228] 바람직하게는 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, (1) 더 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유하는 제1 생산물은 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림으로 수집되고, 상기 제2 생산물은 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림으로 수집되거나; 또는

[0229] (2) 덜 극성인 성분과 함께 제2 생산물을 함유하는 제1 생산물은 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림으로 수집되고, 상기 제2 생산물은 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림으로 수집된다.

[0230] 옵션 (1)은 입력 스트림으로부터 EPA를 정제하는데 적절하다.

[0231] 옵션 (1)은 도 2에서 예시된다. 제2 생산물 (B) 및 더 극성 (C) 및 덜 극성인 (A) 성분을 포함하는 입력 스트림 (F)은 제1 SMB 분리 단계에서 정제된다. 상기 제1 SMB 분리 단계에서, 덜 극성인 성분 (A)은 추출물 스트림 (E1)으로 제거된다. 제2 생산물 (B) 및 더 극성인 성분 (C)은 추출잔액 스트림 (R1)으로 수집된다. 추출잔액 스트림 (R1)은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에서 정제되는 제1 생산물이다. 상기 제2 SMB 분리 단계에서, 더 극성인 성분 (C)은 추출잔액 스트림 (R2)로 제거된다. 상기 제2 생산물 (B)은 추출물 스트림 (E2)으로서 수집된다.

[0232] 옵션 (1)은 도 4에서 좀더 상세하게 예시된다. 도 4는 각 크로마토그래피 장치로 유기 용매 탈착제 (D) 및 물 (W)의 도입 지점을 나타낸 것을 제외하고, 도 2와 동일하다. 상기 유기 용매 탈착제 (D) 및 물 (W)은 함께 용리액을 구성한다. (D) 상은 통상적으로 필수적으로 순수한 유기 용매이지만, 어떤 구현 예에 있어서, 주로 유기 용매를 포함하는 유기 용매/물 혼합물일 수 있다. (W) 상은 통상적으로 필수적으로 순수한 물이지만, 어떤 구현 예에 있어서, 주로 물, 예를 들어, 98% 물/2% 메탄올 혼합물을 포함하는 유기 용매/물 혼합물일 수 있다.

[0233] 옵션 (1)의 또 다른 예시는 도 6에서 나타난다. 여기서 개별 물 주입 지점은 없고, 대신 수성 유기 용매 탈착제는 (D)에서 주입된다.

[0234] 옵션 (1)에서, 추출잔액 및 추출물 스트림으로 분리하는 각 크로마토그래피 장치 내에 용리액의 탈착력을 변화시켜 도움을 받을 수 있다. 이것은 각 크로마토그래피 장치의 다른 지점에서 용리액의 유기 용매 (또는 유기 용매 풍부) 성분 및 물 (또는 물 풍부) 성분을 도입시켜 달성될 수 있다. 따라서, 통상적으로, 상기 유기 용매는 추출물 테이크-오프 지점의 업스트림에 도입되고, 상기 물은, 시스템에서 용리액의 흐름에 대하여, 크로마토그래피 장치로 피드의 도입 지점 및 추출물 테이크-오프 지점 사이에서 도입된다. 이것은 도 4에 나타난다.

[0235] 통상적으로, 옵션 (1)에서, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 수성 유기 용매 용리액은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액보다 더 많은 유기 용매를 함유한다, 즉, 제1 SMB 분리 단계에서 물:유기 용매 비는 제2 SMB 분리 단계에

서 물:유기 용매 비 보다 더 낮다.

- [0236] 옵션 (1)에서, 상기 SMB 분리는 제1 및 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 및 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 그 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도를 변화시켜 도움을 받을 수 있다.
- [0237] 통상적으로, 옵션 (1)에서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재순환되는 속도보다 더 빠르다.
- [0238] 옵션 (1)에서, 제1 SMB 분리 단계에서 제1 추출잔액 스트림은 통상적으로, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 입력 스트림의 도입 지점의 다운 스트림에서 제거된다.
- [0239] 옵션 (1)에서, 제1 SMB 분리 단계에서 제1 추출물 스트림은 통상적으로, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 입력 스트림의 도입 지점의 업스트림에서 제거된다.
- [0240] 옵션 (1)에서, 제2 SMB 분리 단계에서 제2 추출잔액 스트림은 통상적으로, 용리액의 흐름에 대하여, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 제1 생산물의 도입 지점의 다운스트림에서 제거된다.
- [0241] 옵션 (1)에서, 제2 SMB 분리 단계에서 제2 추출물 스트림은, 용리액의 흐름에 대하여, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 제1 생산물의 도입 지점의 업스트림에서 통상적으로 수집된다.
- [0242] 통상적으로 옵션 (1)에서, 유기 용매 또는 수성 유기 용매는, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 추출물 스트림의 제거 지점의 업스트림에서 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0243] 통상적으로 옵션 (1)에서, 물이 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된 경우, 상기 물은, 용리액의 흐름에 대하여, 입력 스트림의 도입 지점의 업스트림이지만, 제1 추출물 스트림의 제거 지점의 다운스트림에서 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0244] 통상적으로 옵션 (1)에서, 상기 유기 용매 또는 수성 유기 용매는, 용리액의 흐름에 대하여, 제2 추출물 스트림의 제거 지점의 업스트림에서 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0245] 통상적으로 옵션 (1)에서, 물이 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된 경우, 상기 물은, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 생산물의 도입 지점의 업스트림이지만, 제2 추출물 스트림의 제거 지점의 다운스트림에서 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0246] 옵션 (2)는 입력 스트림으로부터 DHA를 정제하는데 적절하다.
- [0247] 옵션 (2)은 도 3에 예시된다. 제2 생산물 (B) 및 더 극성 (C) 및 덜 극성인 (A) 성분을 포함하는 입력 스트림 (F)은 제1 SMB 분리 단계에서 정제된다. 상기 제1 SMB 분리 단계에서, 더 극성인 성분 (C)은 추출잔액 스트림 (R1)으로 제거된다. 제2 생산물 (B) 및 덜 극성인 성분 (A)은 추출물 스트림 (E1)으로 수집된다. 추출물 스트림 (E1)은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에서 정제되는 제1 생산물이다. 제2 SMB 분리 단계에서, 덜 극성인 성분 (A)은 추출물 스트림 (E2)으로 제거된다. 상기 제2 생산물 (B)은 추출잔액 스트림 (R2)으로 수집된다.
- [0248] 옵션 (2)은 도 5에서 좀더 상세하게 예시된다. 도 5는 각 크로마토그래피 장치로 유기 용매 탈착제 (D) 및 물 (W)의 도입 지점이 나타난 것을 제외하고는, 도 3과 동일하다. 전술된 바와 같이, 상기 (D) 상은 통상적으로 필수적으로 순수한 유기 용매이지만, 어떤 구현 예에 있어서, 주로 유기 용매를 포함하는 유기 용매/물 혼합물일 수 있다. (W)는 통상적으로 필수적으로 순수한 물이지만, 어떤 구현 예에 있어서, 주로 물, 예를 들어, 98% 물/2% 메탄올 혼합물을 포함하는 유기 용매/물 혼합물일 수 있다.
- [0249] 옵션 (2)의 또 다른 예시는 도 7에 나타난다. 여기서 개별 물 주입 지점은 없고, 대신 수성 유기 용매 탈착제는 (D)에서 주입된다.
- [0250] 통상적으로 옵션 (2)에서, 제1 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 재도입되는 속도는 제2 SMB 분리 단계에서 추출잔액 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 재도입되는 속도보다 더 빠르다.
- [0251] 통상적으로 옵션 (2)에서, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 수성 유기 용매 용리액은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액보다 더 적게 유기 용매를 함유한다, 즉, 제1 SMB 분리 단계에서 물: 유기 용매 비는 제2 SMB 분리 단계에서보다 더 높다.
- [0252] 옵션 (2)에서, 제1 분리 단계에서 제1 추출잔액 스트림은 용리액의 흐름에 대하여, 제1 SMB 분리 단계에 사용된

크로마토그래피 장치로 입력 스트림의 도입 지점의 다운스트림에서 통상적으로 제거된다.

- [0253] 옵션 (2)에서, 제1 SMB 분리 단계에서 제1 추출물 스트림은, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 입력 스트림의 도입 지점의 업스트림에서 통상적으로 제거된다.
- [0254] 옵션 (2)에서, 제2 SMB 분리 단계에서 제2 추출잔액 스트림은 용리액의 흐름에 대하여, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 제1 생산물의 도입 지점의 다운스트림에서 통상적으로 제거된다.
- [0255] 옵션 (2)에서, 제2 SMB 분리 단계에서 제2 추출물 스트림은, 용리액이 흐름에 대하여, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 제1 생산물의 도입 지점의 업스트림에서 통상적으로 수집된다.
- [0256] 통상적으로 옵션 (2)에서, 상기 유기 용매 또는 수성 유기 용매는, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 추출물 스트림의 제거 지점의 업스트림에서 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0257] 통상적으로 옵션 (2)에서, 물이 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된 경우, 상기 물은, 용리액의 흐름에 대하여, 입력 스트림의 도입 지점의 업스트림이지만, 제1 추출물 스트림의 제거 지점의 다운스트림에서 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0258] 통상적으로 옵션 (2)에서, 유기 용매 또는 수성 유기 용매는, 용리액의 흐름에 대하여, 제2 추출물 스트림의 제거 지점의 업스트림에서 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0259] 통상적으로 옵션 (2)에서, 물이 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된 경우, 상기 물은, 용리액의 흐름에 대하여, 제1 생산물의 도입 지점의 업스트림이지만, 제2 추출물 스트림의 제거 지점의 다운스트림에서 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입된다.
- [0260] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 및 제2 SMB 분리 단계에 사용된 각각의 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치는 바람직하게는 8개의 크로마토그래피 컬럼으로 이루어진다. 이들은 컬럼 (1) 내지 (8)로 언급된다. 각 장치에서 8개의 컬럼은 컬럼 (1)의 하부가 컬럼 (2)의 상부가 연결되고, 컬럼 (2)의 하부가 컬럼 (3)의 상부에 연결되며, ..등.. 및 컬럼 (8)의 하부가 컬럼 (1)의 상부에 연결되도록 직렬로 배열된다. 이들 연결은 선택적으로 다음 컬럼으로 재순환 스트림과 함께, 보유 용기 (holding container)를 통할 수 있다. 시스템을 통한 용리액의 흐름은 컬럼 (1)로부터 컬럼 (2) 내지 컬럼 (3) 등이다. 상기 시스템을 통한 흡착제의 효과적인 흐름은 컬럼 (8)로부터 컬럼 (7) 내지 컬럼 (6) 등이다.
- [0261] 이것은 도 8에 예시된다. 제2 생산물 (B) 및 더 극성 (C) 및 덜 극성인 (A) 성분을 포함하는 입력 스트림 (F)은 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 컬럼 (5)의 상부로 도입된다. 유기 용매 탈착제는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다. 물은 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (4)의 상부로 도입된다. 제1 SMB 분리 단계에서, 덜 극성인 성분 (A)은 컬럼 (2)의 하부로부터 추출물 스트림으로 제거된다. 제2 생산물 (B) 및 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (7)의 하부로부터 추출잔액 스트림 (R1)으로 제거된다. 추출잔액 스트림 (R1)은, 컬럼 (5)의 상부에서 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 도입시켜, 제2 SMB 분리 단계에서 정제되는 제1 생산물이다. 유기 용매 탈착제는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 컬럼 (1)의 상부로 도입된다. 물은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 컬럼 (4)의 상부로 도입된다. 제2 SMB 분리 단계에서, 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (7)의 하부에서 추출잔액 스트림 (R2)으로 제거된다. 제2 생산물 (B)은 컬럼 (2)의 하부에서 추출물 스트림 (E2)으로서 수집된다.
- [0262] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 유기 용매는 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다.
- [0263] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 물은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (4)의 상부로 도입된다.
- [0264] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 유기 용매는 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다.
- [0265] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 유기 용매는 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (4)의 상부로 도입된다.
- [0266] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 입력 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (5)의 상부로 도입된다.

- [0267] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 추출잔액 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (7)의 하부로부터 제1 생산물로서 수집된다. 이러한 제1 생산물은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에서 정제되고, 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (5)의 상부로 도입된다. 상기 제1 추출잔액 스트림은 제2 SMB 분리 단계에서 정제되기 전에 용기에 선택적으로 수집될 수 있다.
- [0268] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 추출물 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (2)의 하부로부터 제거된다. 상기 제1 추출물 스트림은 용기에서 선택적으로 수집될 수 있고, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 재도입될 수 있다.
- [0269] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제2 추출잔액 스트림은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (7)의 하부로부터 제거된다.
- [0270] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (2)의 하부로부터 수집된다. 이러한 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제2 생산물을 함유한다. 상기 제2 추출물 스트림은 용기에서 선택적으로 수집될 수 있고, 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (3)의 상부로 재도입될 수 있다.
- [0271] 도 8에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 사용된 용리액은 통상적으로 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0272] 통상적으로, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 물:유기 용매 비는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 물:유기 용매 비보다 낮다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계에서 용리액은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액보다 더 많은 유기 용매를 함유한다.
- [0273] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 물:유기 용매 비는 통상적으로 0.5:99.5 내지 1.5:98.5 부피부이다. 제2 SMB 분리 단계에서 물:유기 용매 비는 통상적으로 2:98 내지 6:94 부피부이다.
- [0274] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 비록 도 8의 장치가 도 10a에 나타난 것과 같이 구성될지라도, 도 10b 및 10c에 나타난 구성은 또한 사용될 수 있다.
- [0275] 이러한 "백-투-백" SMB 공정은 또한 도 9에 예시된다. 제2 생산물 (B) 및 좀더 극성 (C) 및 덜 극성 (A) 성분들을 포함하는 입력 스트림 (F)은 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (5)의 상부로 도입된다. 수성 유기 용매 탈착제는 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다. 제1 SMB 분리 단계에 있어서, 상기 덜 극성인 성분 (A)은 컬럼 (2)의 하부로부터 추출물 스트림 (E1)으로 제거된다. 상기 제2 생산물 (B) 및 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (7)의 하부로부터 추출잔액 스트림 (R1)으로 제거된다. 추출잔액 스트림 (R1)은 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치의 컬럼 (4)의 상부로 도입되어 제2 SMB 분리 단계에서 정제되는 제1 생산물이다. 수성 유기 용매 탈착제는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다. 제2 SMB 분리 단계에 있어서, 상기 더 극성인 성분 (C)은 컬럼 (7)의 하부에서 추출잔액 스트림 (R2)으로 제거된다. 상기 제2 생산물 (B)은 컬럼 (2)의 하부에서 추출물 스트림 (E2)으로 수집된다.
- [0276] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 수성 유기 용매는 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (1)의 상부로 도입된다.
- [0277] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 수성 유기 용매는 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (9)의 상부로 도입된다.
- [0278] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 상기 입력 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (5)의 상부로 도입된다.
- [0279] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 추출잔액 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (7)의 하부로부터 제1 생산물로서 수집된다. 이러한 제1 생산물은 그 다음 제2 SMB 분리 단계에서 정제되고, 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (5)의 상부로 도입된다. 상기 제1 추출잔액 스트림은 제2 SMB 분리 단계에서 정제되기 전에 용기에서 선택적으로 수집될 수 있다.
- [0280] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 추출물 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크

로마토그래피 장치에서의 컬럼 (2)의 하부로부터 제거된다. 상기 제1 추출물 스트림은 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (3)의 상부로 재도입된 일부 및 용기에서 선택적으로 수집될 수 있다. 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 되돌아가는 제1 SMB 분리 단계에서 추출물 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환율은 액체가 이 용기로부터 컬럼 (3)의 상부로 펌핑되는 속도이다.

- [0281] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (7)의 하부로부터 제거된다.
- [0282] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (2)의 하부로부터 수집된다. 이 제2 추출물 스트림은 통상적으로 제2 생산물을 함유한다. 상기 제2 추출물 스트림은 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서의 컬럼 (3)의 상부로 재도입된 일부 및 용기에서 선택적으로 수집될 수 있다. 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 되돌아가는 제2 SMB 분리 단계로부터 추출물 스트림을 통해 수집된 액체의 재순환율은 액체가 이 용기로부터 컬럼 (3)의 상부로 펌핑되는 속도이다.
- [0283] 도 9에 나타난 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 사용된 용리액은 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0284] 통상적으로, 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 물:유기 용매 비는 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치에서 물:유기 용매 비보다 낮다. 따라서, 제1 SMB 분리 단계에 사용된 용리액은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계에 사용된 용리액보다 더 많은 유기 용매를 함유한다.
- [0285] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계에서 물:유기 용매 비는 통상적으로 0.5:99.5 내지 1.5:98.5 부피부이다. 제2 SMB 분리 단계에서 물:유기 용매 비는 통상적으로 2:98 내지 6:94 부피부이다.
- [0286] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 제1 SMB 분리 단계로부터의 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제1 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재활용되는 비율은 통상적으로 제2 SMB 분리 단계로부터 추출물 스트림을 통해 수집된 액체가 제2 SMB 분리 단계에 사용된 크로마토그래피 장치로 다시 재활용되는 비율보다 빠르다. 이 경우에 있어서, 상기 수성 유기 용매 용리액은 통상적으로 각 SMB 분리 단계에서 실질적으로 동일하다.
- [0287] 이러한 "백-투-백" SMB 공정에 있어서, 비록 도 9의 장치가 도 10a에 나타난 것과 같이 구성되었을지라도, 도 10b 및 10c에 나타난 구성은 또한 사용될 수 있다.
- [0288] 통상적으로, 제1 및 제2 크로마토그래피 분리 단계 중 적어도 하나는 상기에서 정의된 바와 같은, 적어도 하나, 예를 들어 하나의, "백-투-백" SMB 공정을 포함한다.
- [0289] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 각 크로마토그래피 분리 단계에서 공급 혼합물의 다른 성분들로부터 분리된다.
- [0290] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 제1 및/또는 제2 분리 단계에서 전술된 하나 이상의 C18 지방산 불순물로부터 분리된다. 통상적으로 상기 PUFA 생산물은 제1 및 제2 분리 단계 중 어느 하나에서 전술된 하나 이상의 C18 지방산 불순물로부터 분리된다.
- [0291] 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 제1 및/또는 제2 분리 단계에서 ALA, ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르로부터 분리된다.
- [0292] 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 제1 및/또는 제2 분리 단계에서 GLA, GLA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르로부터 분리된다.
- [0293] 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 제1 및/또는 제2 분리 단계에서 C18 지방산, C18 지방산 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 C18 지방산 알킬 에스테르로부터 분리된다.
- [0294] 통상적으로, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖고; 및/또는 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는다.
- [0295] 좀더 통상적으로, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 ALA, ALA의 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 저농도의 불순물을 갖고; 및/또는 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA

생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 상기 불순물을 갖는다.

- [0296] 좀더 통상적으로, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 GLA, GLA의 모노, 디- 및 트리글리세라이드 및 GLA의 C₁-C₄ 알킬 에스테르로부터 선택된 저농도의 불순물을 갖고; 및/또는 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 상기 불순물을 갖는다.
- [0297] 바람직하게는, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 C18 지방산 또는 C18 지방산 유도체를 갖거나; 또는 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 C18 지방산 또는 C18 지방산 유도체를 갖는다. 어떤 구현 예에 있어서, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 C18 지방산 또는 C18 지방산 유도체를 갖고; 및 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 C18 지방산 또는 C18 지방산 유도체를 갖는다.
- [0298] 저농도는 통상적으로 5 wt% 이상, 좀더 통상적으로는 10 wt% 이상, 바람직하게는 20 wt% 이상, 좀더 바람직하게는 30 wt% 이상, 더욱더 바람직하게는 40 wt% 이상, 훨씬 좀더 바람직하게는 50 wt% 이상, 훨씬 좀더 바람직하게는 60 wt% 이상, 훨씬 좀더 바람직하게는 70 wt% 이상, 훨씬 좀더 바람직하게는 80 wt% 이상, 훨씬 좀더 바람직하게는 90 wt% 이상의 양만큼 낮은 농도를 의미한다. 따라서, 상기 중간 생산물이 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는 경우, 상기 중간 생산물에서 C18 지방산 불순물의 농도는, 상기 공급 혼합물에서 C18 지방산 불순물의 농도보다 낮은, 통상적으로 10 wt% 이상, 바람직하게는 20 wt% 이상 등이다. 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물이 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는 경우, 상기 PUFA 생산물에서 C18 지방산 불순물의 농도는, 상기 중간 생산물에서 C18 지방산 불순물의 농도보다 낮은, 통상적으로 10 wt% 이상, 바람직하게는 20 wt% 이상 등이다.
- [0299] 통상적으로, 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이고, 및 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는다. 선택적으로, 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이고, 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는다.
- [0300] 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 에틸 에스테르이고, 및 (i) 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이며, 및 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖거나, 또는 (ii) 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이고, 및 상기 제2 분리 단계에서 생산된 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는다.
- [0301] 좀더 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 에틸 에스테르이고, 및 (i) 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이며, 상기 제2 유기 용매는 메탄올이고 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖거나, 또는 (ii) 상기 제1 유기 용매는 메탄올이고, 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이며, 및 제2 분리 단계에서 생산된 상기 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖는다.
- [0302] 좀더 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 에틸 에스테르이고, 및 (i) 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이며, 상기 제2 유기 용매는 메탄올이고, 및 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 상기 공급 혼합물을 정지 층 장치로 도입시키는 단계를 포함하며, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 상기 중간 생산물을 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함하거나; 또는
- [0303] (ii) 상기 제1 유기 용매는 메탄올이고 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이며, 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 상기 공급 혼합물을 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 상기 중간 생산물을 정지 층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함한다.
- [0304] 더욱더 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 에틸 에스테르이고, 및 (i) 상기 제1 유기 용매는 아세토니트릴이고, 상기 제2 유기 용매는 메탄올이며, 상기 중간 생산물은 상기 공급 혼합물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖고, 및 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 상기 공급 혼합물을 정지 층 장치로 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 상기 중간 생산물을 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함하거나; 또는
- [0305] (ii) 상기 제1 유기 용매는 메탄올이고, 상기 제2 유기 용매는 아세토니트릴이며, 제2 분리 단계에서 생산된 상

기 PUFA 생산물은 상기 중간 생산물 이외에 저농도의 전술된 바와 같은 하나 이상의 C18 지방산 불순물을 갖고, 및 상기 제1 크로마토그래피 분리 단계는 상기 공급 혼합물을 모의 또는 실제 이동층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함하고, 상기 제2 크로마토그래피 분리 단계는 상기 중간 생산물을 정지 층 크로마토그래피 장치로 도입시키는 단계를 포함한다.

- [0306] 본 발명은 또한, 본 발명의 공정에 의해 얻어질 수 있는, 상기에서 정의된 바와 같은, PUFA 생산물을 제공한다.
- [0307] 본 발명은 또한, 본 발명의 PUFA 생산물을 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0308] 이러한 조성물은 통상적으로, PUFA 생산물로서, EPA 또는 EPA 에틸 에스테르를 함유한다.
- [0309] 상기 PUFA 생산물은 90 wt% 초과, 바람직하게는 95 wt% 초과, 좀더 바람직하게는 97 wt% 초과, 더욱더 바람직하게는 98 wt% 초과, 더욱더 바람직하게는 98.4 wt%를 초과하는 양으로 조성물에 통상적으로 존재한다.
- [0310] 바람직하게는, 상기 PUFA 생산물은 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르이고, 90 wt% 초과, 바람직하게는 95 wt% 초과, 좀더 바람직하게는 97 wt% 초과, 더욱더 바람직하게는 98 wt% 초과, 더욱더 바람직하게는 98.4 wt% 초과, 예를 들어, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 상기 조성물에 존재한다.
- [0311] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 하나 이상의 전술된 C18 지방산 불순물을 함유한다.
- [0312] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 알파-리놀렌산 (ALA), ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 ALA 및 이의 유도체인 불순물을 함유한다. 통상적인 ALA 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0313] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 감마-리놀렌산 (GLA), GLA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 미만의 GLA 및 이의 유도체인 불순물을 함유한다. 통상적인 GLA 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0314] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 C18 지방산 불순물, C18 지방산 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 C18 지방산 알킬 에스테르 불순물을 함유한다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 1 wt% 미만의 C18 지방산 및 이의 유도체인 불순물을 함유한다. 의심의 여지를 없애기 위해, 이러한 구현 예에 있어서, 모든 이러한 불순물의 최대량은 1 wt%이다. 통상적인 C18 지방산 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다. 여기에 사용된 바와 같은, C18 지방산은 직쇄 또는 분쇄된 탄화수소 사슬을 갖는 C18 지방족 모노카르복실산이다. 통상적인 C18 지방산은 스테아르산 (C18:0), 올레산 (C18:1n9), 바크센산 (C18:1n7), 리놀레산 (C18:2n6), 감마-리놀렌산/GLA (C18:3n6), 알파-리놀렌산/ALA (C18:3n3) 및 스테아리돈산/SDA (C18:4n3)를 포함한다.
- [0315] 전술된 바와 같이, 상기 PUFA 생산물에서 전술된 불순물의 통상적인 양은 1 wt% 미만이다. 바람직하게는, 전술된 불순물의 양은 0.5 wt% 미만, 좀더 바람직하게는 0.25 wt% 미만, 더욱더 바람직하게는 0.1 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.05 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.01 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.001wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.0001 wt% 미만, 훨씬 좀더 바람직하게는 0.00001 wt% 미만이다.
- [0316] 어떤 바람직한 구현 예에 있어서, 상기 PUFA 생산물은 전술된 불순물이 실질적으로 없다.
- [0317] 상기 PUFA 생산물은 ALA, GLA, 리놀레산, ALA 모노- 디- 또는 트리글리세라이드, GLA 모노- 디- 또는 트리글리세라이드, 올레산 모노, 디- 또는 트리글리세라이드, ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르, GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 올레산 C₁-C₄ 알킬 에스테르 또는 이의 혼합물이 아니다. 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 ALA, GLA, 리놀레산, 또는 유도체 또는 이의 혼합물이 아니다. 통상적인 ALA, GLA 및 리놀레산 유도체는 PUFA 유도체에 대해 상기에서 정의된 바와 같다.
- [0318] 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA, C18 PUFA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드, 또는 C18 PUFA 알킬 에스테르가 아니다. 좀더 통상적으로, 상기 PUFA 생산물은 C18 PUFA 또는 C18 PUFA 유도체가 아니다. 통상적인 C18 PUFAs은 리놀레산 (C18:2n6), GLA (C18:3n6), 및 ALA (C18:3n3)를 포함한다.
- [0319] 통상적으로, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 ALA 에틸 에스테르를 함유한다.
- [0320] 통상적으로, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 또는 EPA 에틸 에스

테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 GLA 에틸 에스테르를 함유한다.

- [0321] 바람직하게는, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 ALA, ALA 모노-, 디- 및 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다.
- [0322] 바람직하게는, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 또는 EPA 에틸 에스테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 GLA, GLA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다.
- [0323] 좀더 바람직하게는, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 에틸 에스테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 ALA, ALA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및 ALA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다.
- [0324] 좀더 바람직하게는, 상기 조성물은, PUFA 생산물로서, 98 및 99.5 wt% 사이의 양으로 존재하는 EPA 에틸 에스테르를 포함하고, 상기 조성물은 1 wt% 미만의 GLA, GLA 모노-, 디- 또는 트리글리세라이드 및 GLA C₁-C₄ 알킬 에스테르를 함유한다.
- [0325] 하기 실시 예들은 본 발명을 예시한다.
- [0326] 실시 예
- [0327] 실시 예 1
- [0328] 제1 크로마토그래피 분리 단계
- [0329] 도 16에 나타난 바와 같은 지방산 프로파일을 갖는 어유 유래 공급원료 (55 중량% EPA 에틸 에스테르(EE), 5 중량% DHA EE)는 직렬로 연결된 15 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)으로 이루어진 "단일 패스" SMB 장치를 통하여 정지 상으로 결합된 (bonded) C18 실리카겔 (입자 크기 300mm, 입자 공극률 150 angstroms) 및 용리액으로 수성 메탄올 (통상적으로 0.5% 내지 10% 물)을 사용하는 실제 이동층 크로마토그래피 시스템을 사용하여 분별된다.
- [0330] 작동 파라미터 및 유속 (flowrates)은 다음과 같다.
- [0331] (도 8에 따른 통상적인 흐름 스킴 (flow scheme))
- [0332] 단계 시간: 750 secs
- [0333] 사이클 시간: 200 mins
- [0334] 공급 혼합물 공급 속도 (F1): 74 ml/min
- [0335] 탈착제 공급 속도 (D1): 6250 ml/min
- [0336] 추출물 축적률 (E1): 1250ml/min
- [0337] 추출물 재순환율 (D1-E1): 5000 ml/min
- [0338] 추출잔액 (Raffinate) 축적률 (R1): 1688ml/min
- [0339] 사이클 시간: 600 secs
- [0340] 이러한 공정에 의해 생산된 중간 생산물은 도 12에 나타난 바와 같은 GC-FAMES 트레이스를 갖는다. EPA EE는 96.5% 순도로 함유된다. 주요 불순물은 0.9%로 존재하는 에틸-알파 리놀렌산염 (linolenate) (ALA - C18:3n3)이다. ALA는 0.65%로 원료 물질에 존재한다. 따라서 ALA는 이동 상으로 메탄올/물을 이용하여 EPA와 공-용리 (co-elute)하는 것을 알 수 있다. 그러나, 메탄올/물은, 밀접하게 관련된 성분 에틸-데코사헥사노에이트 (docosahexaenoate) (DHA - C22:6n3)를 제거하는데 매우 효율적이다.
- [0341] 제2 크로마토그래피 분리 단계
- [0342] 제1 크로마토그래피 분리 단계에서 생산된 중간 생산물은 아세토니트릴/물 이동 상 혼합을 사용하여 고정 층에서 예비 HPLC에 의해 더욱 정제된다. 87:13의 중량비의 아세토니트릴/물은 활용된다. c18 결합 실리카 (20mm

입자 크기)로 팩킹된 치수 600mm x 900mm의 HPLC 컬럼은 1400ml의 공급 혼합물 주입 부피 및 2200ml/min의 탈착제 유속으로 사용된다.

- [0343] 생산된 최종 PUFA 생산물은 GC FAMES에 의해 분석되고, 트레이스는 도 13에 나타낸다. ALA가 완전히 제거되었고, EPA 순도가 98.5%로 증가하였음을 알 수 있다.
- [0344] 선택적인 제2 크로마토그래피 분리 단계
- [0345] 제1 크로마토그래피 분리 단계에서 생산된 중간 생산물은 직렬로 연결된 8 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)으로 이루어진 "단일 패스" SMB 장치를 통하여 정지 상으로 결합된 C18 실리카겔 (입자 크기 300mm, 입자 공극률 150 angstroms) 및 용리액으로 수성 아세트니트릴 (12% 물)을 사용하는 실제 이동층 크로마토그래피 시스템을 사용하여 분별된다.
- [0346] 작동 파라미터 및 유속은 다음과 같다.
- [0347] (도 8에 따른 통상적인 흐름 스킴)
- [0348] 단계 시간: 780 secs
- [0349] 공급 혼합물 공급 속도 (F1): 90 ml/min
- [0350] 탈착제 공급 속도 (D1): 6500 ml/min
- [0351] 추출물 축적률 (E1): 1400ml/min
- [0352] 추출물 재순환율 (D1-E1): 5100 ml/min
- [0353] 추출잔액 축적률 (R1): 1690ml/min
- [0354] 사이클 시간: 600 secs
- [0355] 실시 예 2
- [0356] 제1 크로마토그래피 분리 단계
- [0357] 도 16에 나타낸 바와 같은 지방산 프로파일을 갖는 어유 유래 공급원료 (55중량% EPA EE, 5 중량% DHA EE)는 아세트니트릴 /물 용리액을 사용하는 예비 HPLC 분리에 적용된다. 사용된 이동 상은 87:13의 아세트니트릴:물이다. c18 결합 실리카 (20mm 입자 크기)로 팩킹된 치수 600mm x 900mm의 HPLC 컬럼은 1400ml의 공급 혼합물 주입 부피 및 2200ml/min의 탈착제 유속으로 사용된다. 생산된 중간 생산물은 GC FAMES에 의해 분석되고, 트레이스는 도 14에 나타낸다.
- [0358] 에틸-알파 리놀렌산염 (ALA-C18:3n3)이 공급 혼합물로부터 완전히 제거된 것을 알 수 있다. 그러나, 오직 92.5% EPA EE의 순도 수준은 주로 높은 수준의 에틸-데코사헥사에노에이트 (DHA - C22:6n3)의 존재에 기인하여 달성된다.
- [0359] 선택적인 제1 크로마토그래피 분리 단계
- [0360] 도 16에 나타낸 바와 같은 지방산 프로파일을 갖는 어유 유래 공급원료 (55 중량% EPA EE, 5 중량% DHA EE)는 직렬로 연결된 15 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)으로 이루어진 "단일 패스" SMB 장치를 통하여 정지 상으로 결합된 C18 실리카겔 (입자 크기 300mm, 입자 공극률 150 angstroms) 및 용리액으로 수성 아세트니트릴 (통상적으로 4% 내지 18% 물)을 사용하는 실제 이동층 크로마토그래피 시스템을 사용하여 분별된다.
- [0361] 작동 파라미터 및 유속은 다음과 같다.
- [0362] (도 8에 따른 통상적인 흐름 스킴)
- [0363] 단계 시간: 600 secs
- [0364] 공급원료 (F) 공급 속도: 105 ml/min
- [0365] 탈착제 (D) 공급 속도: 4800 ml/min
- [0366] 추출물 속도: 1250 ml/min
- [0367] 추출잔액 속도: 1800 ml/min

- [0368] 제2 크로마토그래피 분리 단계
- [0369] 생산된 중간 생산물은 용리액으로 88:12 중량비의 메탄올/물을 사용하는 예비 HPLC를 사용하여 추가 정제에 적용된다. c18 결합 실리카 (20mm 입자 크기)로 팩킹된 치수 600mm x 900mm의 HPLC 컬럼은 1250ml의 공급 혼합물 주입 부피 및 2200ml/min의 탈착제 유속으로 사용된다.
- [0370] 생산된 최종 생산물은 도 15에 나타낸 바와 같은 GC FAMES 트레이스를 갖는다. 생산된 생산물은 99% 순도의 EPA EE를 함유한다.
- [0371] 따라서, 먼저 아세토니트릴/물 분리를 실행한 후에 메탄올/물이 뒤를 따르는 결과는 먼저 메탄올/물을 실행한 후에 아세토니트릴/물이 뒤를 따르는 것과 실질적으로 동일한 것을 알 수 있다. 각 경우에 있어서, 메탄올/물을 포함하는 단계 및 아세토니트릴/물을 포함하는 추가 단계를 조합하는 것은 낮은 함량의 C18 지방산 불순물, 예를 들어 ALA를 갖는 ~99% 순도의 고도로 정제된 EPA (EE) 농축물을 제조하는 장점이 있다.
- [0372] 선택적인 제2 크로마토그래피 분리 단계
- [0373] 상기 생산된 중간 생산물은 직렬로 연결된 8 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)으로 이루어진 "단일 패스" SMB를 통하여 정지 상으로 결합된 C18 실리카겔 (입자 크기 300mm, 입자 공극률 150 angstroms) 및 용리액으로 수성 메탄올 (7% 물)을 사용하는 실제 이동층 크로마토그래피 시스템을 사용하여 분별된다.
- [0374] 작동 파라미터 및 유속은 다음과 같다.
- [0375] (도 8에 따른 통상적인 흐름 스킴)
- [0376] 단계 시간: 960 secs
- [0377] 공급원료 (F) 공급 속도: 45 ml/min
- [0378] 탈착제 (D) 공급 속도: 3975 ml/min
- [0379] 추출물 속도: 3655 ml/min
- [0380] 추출잔액 속도: 2395 ml/min
- [0381] 비교 예 1
- [0382] 도 16에 나타낸 바와 같은 지방산 프로파일을 갖는 어유 유래 공급원료 (55 중량% EPA EE, 5 중량% DHA EE)는 두 분리 단계들에서 정지 상으로 결합된 C18 실리카겔 (입자 크기 300mm, 입자 공극률 150 angstroms) 및 용리액으로 수성 메탄올을 사용하는 실제 이동층 크로마토그래피 시스템을 사용하여 제1 및 제2 크로마토그래피 분리 단계에서 분별된다.
- [0383] 제1 분리 단계는 직렬로 연결된 일련의 8 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)에서 수행된다.
- [0384] 작동 파라미터 및 유속은 다음과 같다.
- [0385] (도 8에 따른 통상적인 흐름 스킴)
- [0386] 공급 혼합물 공급 속도 (F1): 34 ml/min
- [0387] 탈착제 공급 속도 (D1): 14438 ml/min
- [0388] 추출물 축적률 (E1): 9313 ml/min
- [0389] 추출물 재순환율 (D1-E1): 5125 ml/min
- [0390] 추출잔액 축적률 (R1): 1688ml/min
- [0391] 사이클 시간: 1200 secs
- [0392] 제2 분리 단계는 직렬로 연결된 일련의 7 컬럼 (직경: 76.29mm, 길이: 914.40mm)에서 수행된다.
- [0393] 제2 중간 생산물 공급 속도 (F3): 40 ml/min
- [0394] 탈착제 공급 속도 (D3): 6189 ml/min
- [0395] 추출물 축적률 (E3): 1438 ml/min

[0396] 추출물 재순환율 (D3-E3): 4750 ml/min

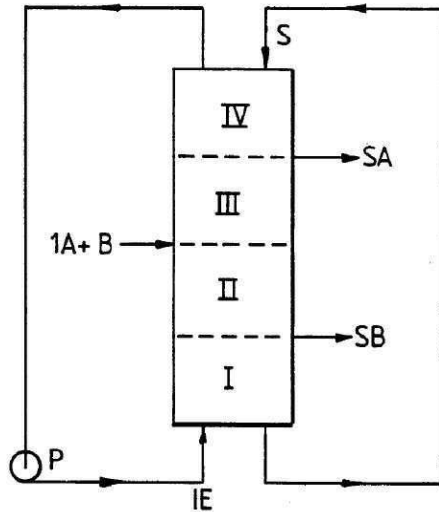
[0397] 추출잔액 축적률 (R3): 1438 ml/min

[0398] 사이클 시간: 1080 secs

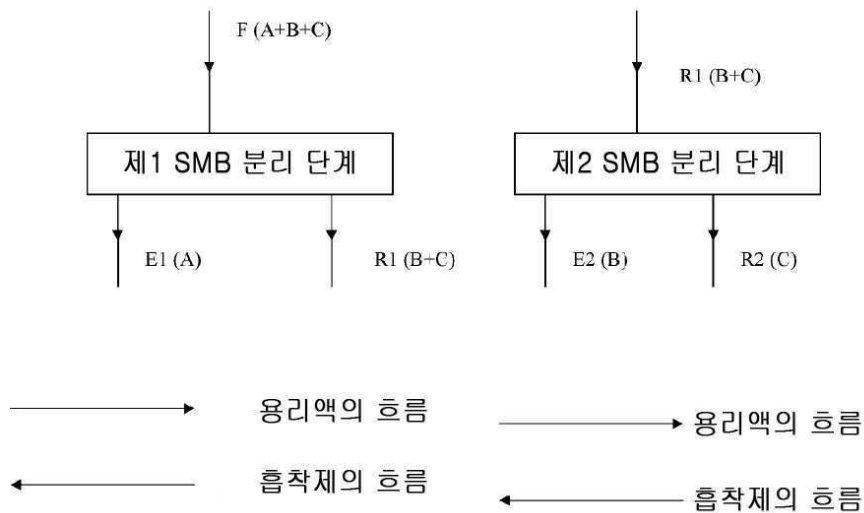
[0399] 비교 예는 덜 이로운 불순물 프로파일을 갖는 EPA 농축물을 생산한다. 달성가능한 상위의 순도는 특히 C18:3 성분 (GLA 및 ALA)의 존재에 의해 제한된다.

도면

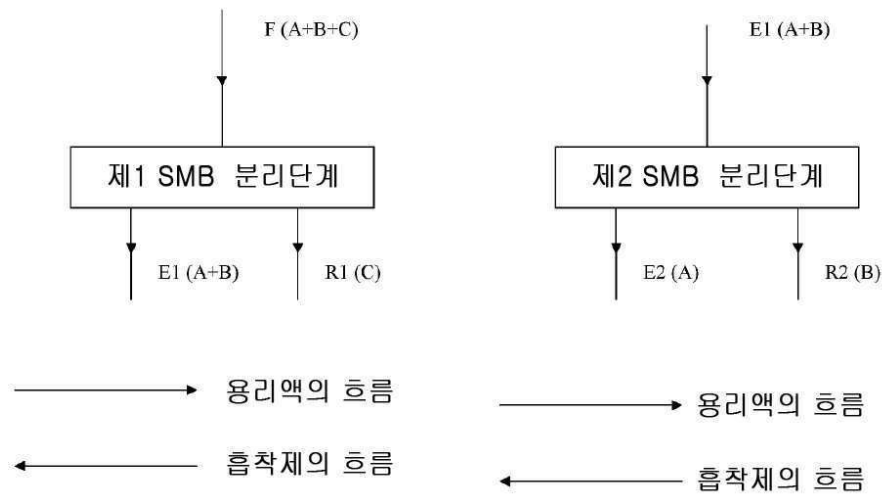
도면1



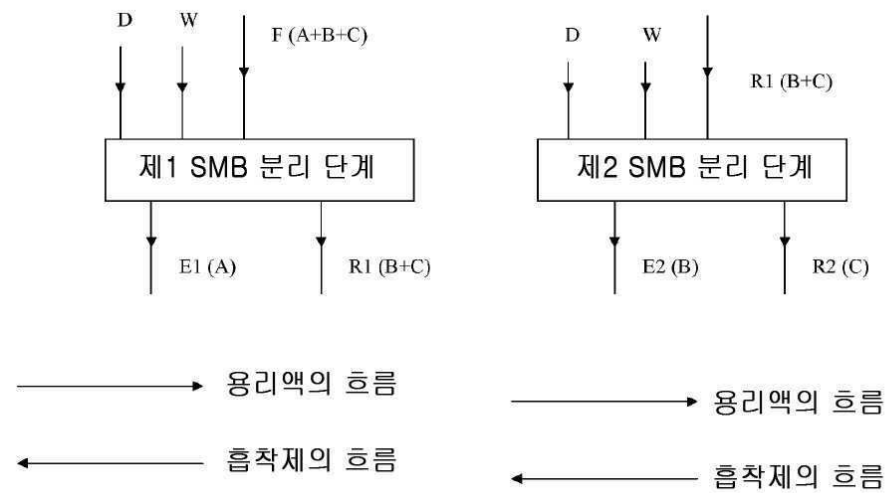
도면2



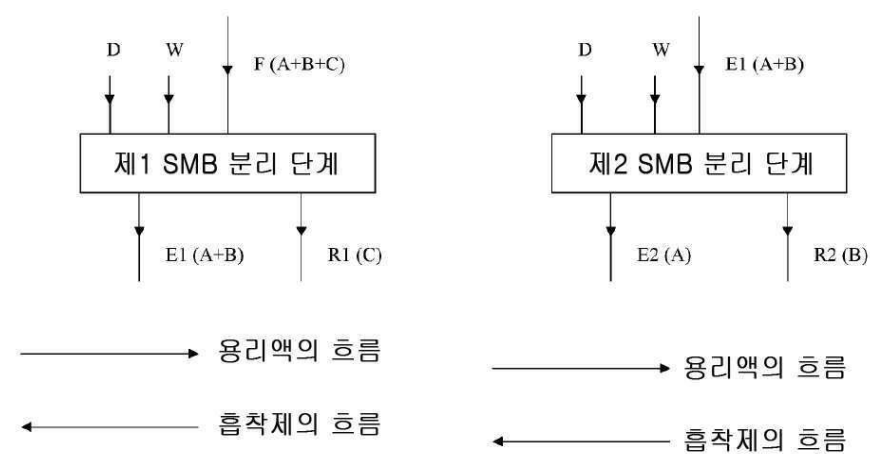
도면3



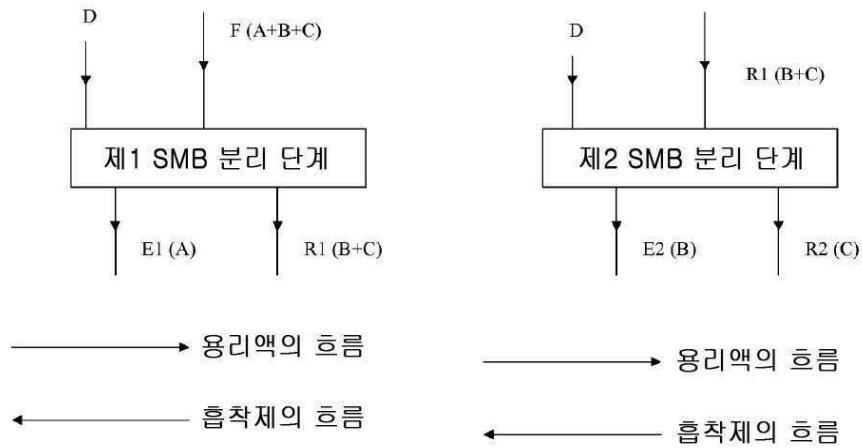
도면4



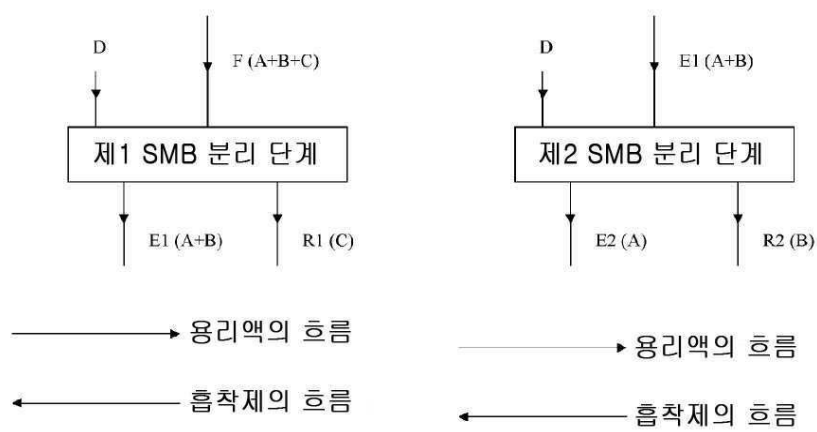
도면5



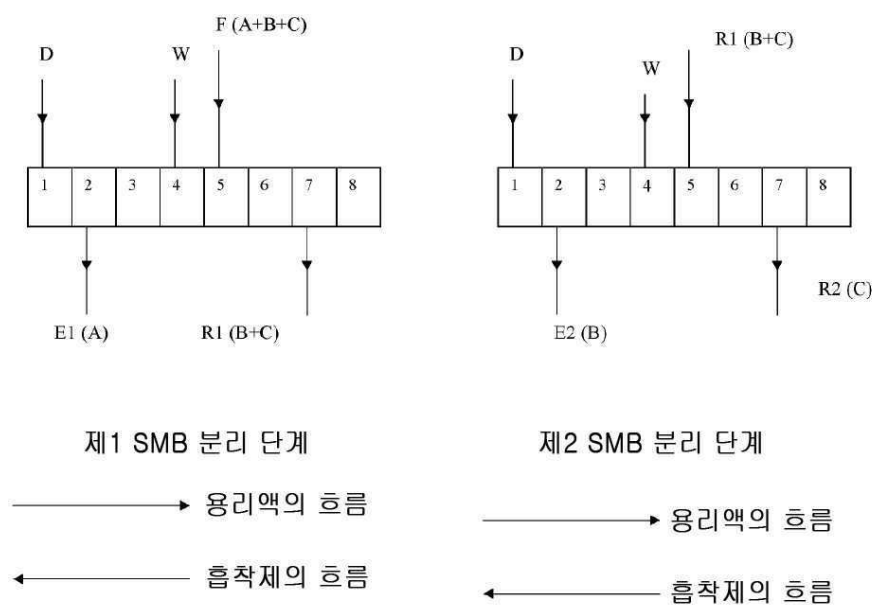
도면6



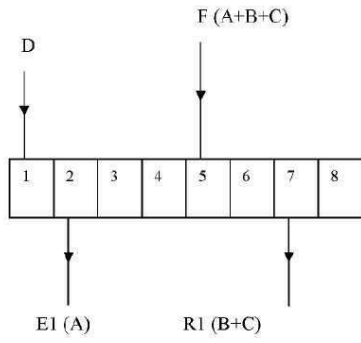
도면7



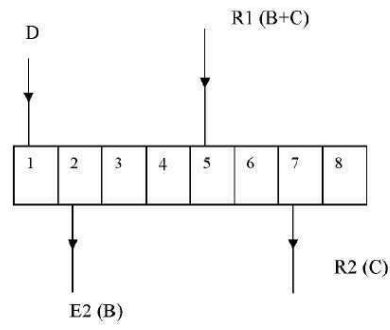
도면8



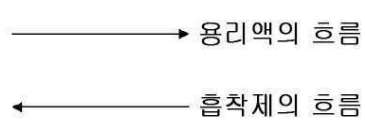
도면9



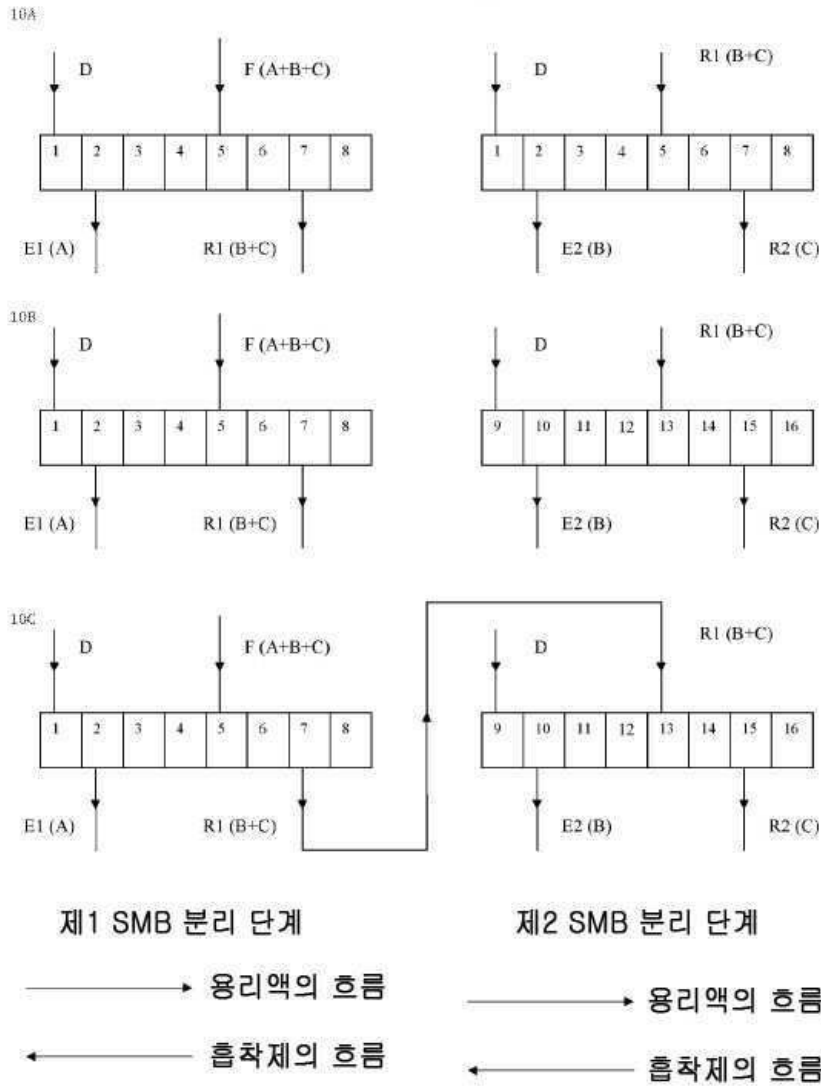
제1 SMB 분리 단계



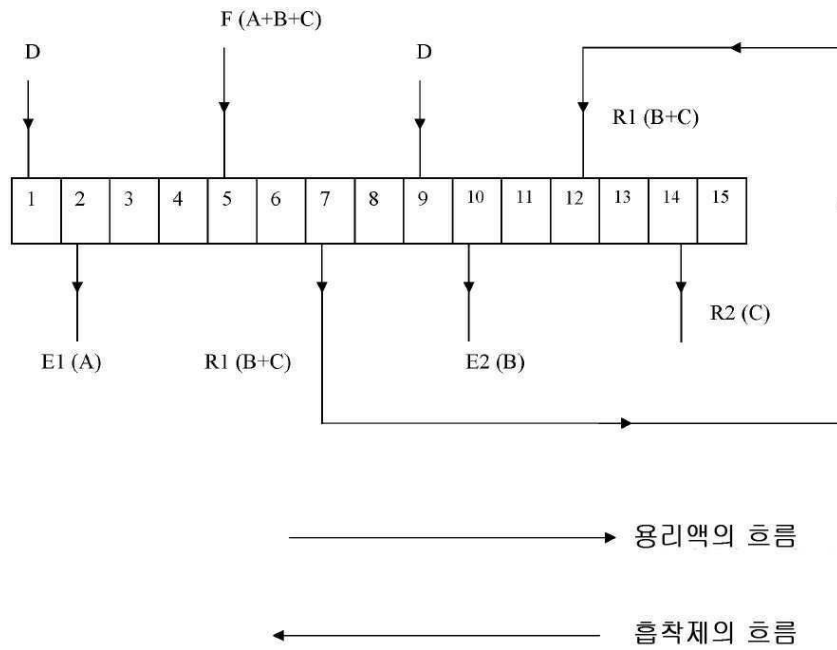
제2 SMB 분리 단계



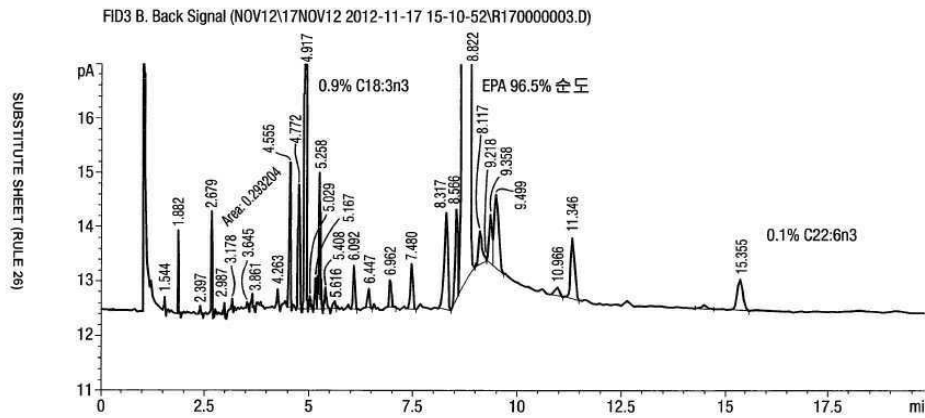
도면10



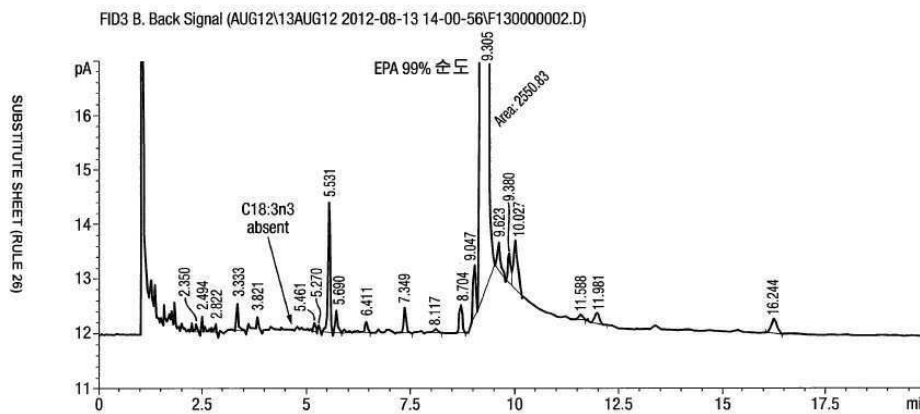
도면11



도면12



도면13



도면14

