

report 13

Informationsdienst für KNAUER-Kunden
Ausgabe Herbst 2001



Aktuelle Informationen und Berichte aus der Chromatografie und dem Unternehmen KNAUER

► Erweiterung der präparativen HPLC-Produktpalette SIMULATED MOVING BED AUF DEM VORMARSCH

Vor sieben Jahren war es schwierig, die junge Technologie der kontinuierlichen präparativen Chromatografie auf dem Markt zu etablieren. KNAUER bietet SMB-Systeme bereits seit 1994 an. Erst in den letzten zwei Jahren bestätigt sich nachhaltig, dass unsere Investitionen in diese zukunftsorientierte Technologie richtig waren. Speziell in den USA herrscht zurzeit eine große Nachfrage nach KNAUER SMB-Systemen. Wir freuen uns über das entgegengebrachte Vertrauen und sind auch ein wenig stolz darauf, dass wir allein in den letzten 12 Monaten Aufträge z. B. von **Pfizer, ESAI, Merck** und **Schering Plough Corp.** erhalten haben.

Bei Pfizer und ESAI liegen die Applikationen im Bereich der pharmazeutischen Industrie. Beide haben sich für ein KNAUER-System entschieden, weil es flexibel und ohne großen Aufwand auf völlig andere Trennungen umgestellt werden kann. Es lassen sich verschiedene Säulensätze einbauen, wobei die jeweiligen Prozessparameter mit Hilfe der leistungsfähigen Simulations-Software **SMB_Guide®** vorab berechnet und optimiert werden. Die Übereinstimmung zwischen der Simulation und dem Experiment wurde in allen ausgelieferten SMB-Systemen nachhaltig bestätigt. KNAUER SMB-Systeme beinhalten die SMB-Hardware, die Steuerungs-Software **ValveChrom** sowie den neuesten **SMB_Guide®**.

Beim Erwerb einer Anlage sind die Installation und die Einweisung durch erfahrene KNAUER-Mitarbeiter im Preis inbegriffen, gleichgültig, ob das System in Neuseeland oder in Brandenburg installiert werden soll.



Unsere Anlagen sind für die Forschung und Entwicklung ebenso gut geeignet wie für die Produktion. Es können damit Substanzmengen zwischen 100 kg und 1.000 kg



pro Jahr gewonnen werden. Der Kauf eines kleinen SMB-Systems lohnt sich aber auch schon, wenn Sie öfters Trennungen mit nur einigen hundert Gramm Substanz durchführen möchten.

► EDITORIAL



Liebe Leserinnen, liebe Leser,

das Jahr 2000 haben wir wirtschaftlich bereits sehr erfolgreich abgeschlossen und freuen uns, das wir auch in diesem Jahr erneut eine beachtliche Umsatzsteigerung zu verzeichnen haben. Wie Sie sicherlich wissen, ist KNAUER international tätig. Wir arbeiten in über 50 Ländern mit Vertretern zusammen, die von uns bestmöglich betreut werden. Jährlich findet in unserem Hause eine Schulung statt, bei der allein in diesem Jahr mehr als 45 Teilnehmer aus 30 Ländern vertreten waren. Die Geschäftsführer, das Gründerehepaar Dr. Herbert und Roswitha Knauer sowie die Produktmanager sind unterwegs, um unsere Repräsentanten auf Messen oder direkt beim Kunden zu unterstützen. Dieses Engagement hat sich in den letzten Jahren bezahlt gemacht, denn der internationale Absatz konnte überaus deutlich angekurbelt werden. Außer in Europa, wo KNAUER traditionsgemäß etabliert ist, konnten die Marktpositionen in den USA, Südamerika und vor allem Fernost beträchtlich ausgebaut werden. Nicht zu vergessen ist der Anteil von OEM-Geschäften am Gesamtumsatz. Wir sind sehr stolz, dass große HPLC-Anbieter den Weg zu KNAUER suchen, um von unseren Entwicklungen im Bereich Geräte und Software zu profitieren. Dies lässt uns sehr optimistisch in die Zukunft blicken.

Ihr

Dr. Birger Holz
Leiter des Produktmanagements

► Erweiterung der präparativen HPLC-Produktpalette SMB AUF DEM VORMARSCH (Fortsetzung)

► Modifizierte SMB-Variante: Acht-Zonen-System zur Dreikomponententrennung

Prinzipiell lassen sich Dreikomponententrennungen nach dem SMB-Prinzip durchführen. Voraussetzung dabei ist, dass in einem Gemisch aus drei Komponenten A, B und C die Komponente A die höchste Affinität zum Desorbent (Raffinat) hat, die Komponente B eine schwächere zum Adsorbent (Extrakt 1) und die Komponente C die stärkste Affinität zum Adsorbent (Extrakt 2) aufweist.

Normalerweise wären zwei komplette SMB-Systeme erforderlich, um das Raffinat zunächst vom Extraktgemisch abzutrennen und dann in einem zweiten Prozess die beiden Extrakte voneinander zu separieren. Eine kostengünstige und platzsparende Variante zeigt dagegen das abgebildete Schaltbild eines Acht-Zonen-SMB-Systems.

In den gängigen SMB-Anwendungen wird mit vier Zonen gearbeitet. Es handelt sich also um eine Modifikation des herkömmlichen SMB-Konzepts, in dem durch Verdopplung der

Feed (zwischen den Zonen 2 und 3)
Desorbent 1 (zwischen den Zonen 4 und 5)
Desorbent 2 (zwischen den Zonen 8 und 1)
Vier Zykluspumpen fördern intern.

Das Extraktgemisch wird zwischen den Zonen 3 und 4 abgeführt und zwischen den Zonen 6 und 7 wieder eingespeist.

Aus dem System abgeführt werden:

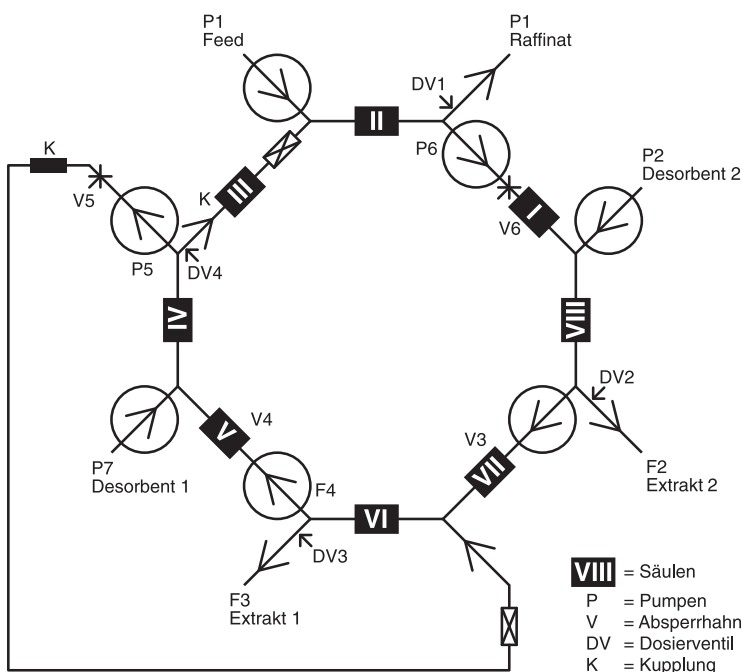
Raffinat (zwischen den Zonen 2 und 1)
Extrakt 1 (zwischen den Zonen 5 und 6)
Extrakt 2 (zwischen den Zonen 7 und 8)

Es handelt sich bei der modifizierten SMB-Variante um ein kaskadiertes SMB-System. Dabei sparen Sie eine Pumpe ein und benötigen kein zweites SMB-System.

► Neu: SMB mit multipler Probenentnahme

Um dem Wunsch vieler Interessenten zu entsprechen, bieten wir künftig die Möglichkeit an, vor oder nach jeder Säule im System Proben zu entnehmen, um diese offline zu analysieren. Damit erhalten Sie wichtige

Informationen zu den Konzentrationsprofilen und -verhältnissen in jeder einzelnen Zone. Sie können 6-Port-3-Kanalventile (soviel erforderlich: 4, 8, 12 oder 16) jeweils zwischen die Säulen schalten und dann individuell durch entsprechendes Schalten Proben entnehmen. Damit sind KNAUER SMB-Systeme bestens für Studien in den einzelnen Zonen geeignet.



Anzahl der Zonen ein zweites SMB-System in eine bestehende SMB-Anlage integriert wird. Es werden hierfür insgesamt sieben Pumpen und mindestens acht, besser 16 Säulen (zwei Säulen pro Zone) benötigt.

Es ergibt sich eine Anlagenkonfiguration, bei der drei externe Pumpen in das System hinein-fördern:

► Typische Applikationsbereiche für SMB

- Pharmazeutische Industrie (Chirale Verbindungen)
- Lebensmittelindustrie (Glukose/Fruktose, Zitronensäure, Ascorbinsäure)
- Erdölverarbeitende Industrie (Trennung von Xylen-Isomeren)

► Nachlese SYMPOSIEN 2001

► Berlin, 12. September 2001

Kontinuierliche Präparative Gradientenchromatographie

Prof. Dr. Andreas Seidel-Morgenstern

HPLC/MS-Der kurze Weg vom »geht nicht« bis »geht nicht ohne«

Prof. Dr. Michael Linscheid

Entwicklung chromatographischer Phasen über mehr als drei Jahrzehnte

Dr. Friedhelm Eisenbeiss

Trennstufen oder Selektivität?

Dr. Günter J. Eppert

Die neue Generation Chromatographie – ein umfassender Durchbruch seit 2001

Prof. Dr. Rudolf Kaiser,

► Lübeck, 20. September 2001

Auswahl eines geeigneten Trennsystems

Bernward Rittgerodt

Struktur-Retentionsbeziehungen in der Chromatographie

Prof. Dr. Jastorff

Kopplungsmethoden in der Chromatographie

Prof. Dr. Spiekermann

Einsatz der HPLC bei der Analytik von Fischen und Fischerzeugnissen

Dr. Helle

Pektinfragmente als Standards in der Lebensmittelanalytik

Prof. Dr. Vogel

SMB-Zuckertrennung

Dr. Birger Holz

► München, 27. September 2001

Perspektiven der elektrophoretischen Chromatographie

Prof. Dr. Thomas Welsch

HPLC – gestern, heute und morgen

Bernward Rittgerodt

Festphasenextraktion – Ein Klassiker in einem neuen, maßgeschneiderten Gewand

Prof. Dr. Dr. Karl-Siegfried Boos

Selektivität und Durchsatz bei der LC-MS integrierten Festphasenextraktion

Frau Dr. Claudia Fleischer

Monolithische Träger – wenn Produktivität Ihr Ziel ist

Dr. Rainer Arras

Probenvorbereitung für Proteomics

Prof. Dr. Klaus K. Unger

► **Unveränderte Wiedergabe einiger Abstracts**

KNAUER ON THE ROAD – DIE CHROMATOGRAPHIE SYMPOSIEN 2001



► **Einsatz der HPLC bei der Analytik von Fischen und Fischerzeugnissen**

Im Fachgebiet »HPLC-Analytik« des Staatlichen Veterinäruntersuchungsamtes für Fische und Fischwaren Cuxhaven werden Arzneimittelrückstände, Biotoxine, spezielle Kontaminanten und Zusatzstoffe mittels Hochdruckflüssigchromatographie untersucht. Dabei wird neben klassischen Detektionsverfahren wie UV/VIS und Fluoreszenz seit einiger Zeit auch ein massenspektrometrischer Detektor eingesetzt. Es wird eine Auswahl der »fischspezifische« Problemstellungen vorgestellt und die jeweiligen Untersuchungsmethoden vorgestellt. Im einzelnen wird auf Methoden zur Bestimmung von Arzneimittelrückständen in Fischen (Flumequin, Oxolinsäure, Chloramphenicol), zur Bestimmung bestimmter toxikologisch relevanter Kontaminanten (biogene Amine, Bisphenol [A] diglycidylether) sowie in besonderem Maße auf die Analytik bestimmter Algentoxine (Diarrhetic Shellfish Poisoning, Amnesic Shellfish Poisoning), die zu ernsthaften Erkrankungen nach dem Verzehr kontaminierter Muscheln führen können, eingegangen.

Dr. Norbert Helle

Staatliches Veterinäruntersuchungsamt für Fische und Fischwaren, Cuxhaven

► **Kopplungsverfahren in der Chromatographie**

Durch die Kopplung von Analysenverfahren gelingt es, möglichst viele Informationen auszunutzen, die von den Einzelmethoden geliefert werden. Betrachtet man z. B. die Kopplung chromatographischer Verfahren mit spektroskopischen Verfahren, so kann man einerseits die Chromatographie als Probenvorbereitung für die Spektroskopie, andererseits kann man das spektroskopische Verfahren nur als Detektor für die Chromatographie betrachten. Bei der Kopplung der HPLC mit der UV/VIS-Spektroskopie kann man z. B. die Extinktion in Abhängigkeit von der Retentionszeit und der Wellenlänge erhalten. Damit ist die erhaltene Information dreidimensional. Man spricht in diesem Fall daher auch von 3D-Verfahren. In der Praxis haben sich eine Reihe verschiedener Kopplungstechniken bewährt, die heute schon zur Routine gehören. Andere Techniken sind vor längerer Zeit vorgeschlagen, haben sich aber aufgrund der damaligen messtechnischen Schwierigkeiten noch nicht durchsetzen können. Durch neuartige Messtechniken und verstärkten Einsatz der Datenverarbeitung im analytischen Labor ist denkbar, dass auch solche Techniken in Zukunft an Bedeutung gewinnen.

Auch die Kopplung chromatographischer Methoden untereinander wird heute eingesetzt. So dient z. B. die Kopplung der HPLC mit der GC zur Voranreicherung der Analyten oder zur Abtrennung von störenden Matrixkomponenten. Durch solche Techniken lässt sich z. B. das Rauschen des Detektors verringern und damit die Nachweisgrenze absenken. Im Vortrag werden sowohl gängige, als auch weniger bekannte Kopplungstechniken vorgestellt.

Prof. Dr. Manfred Spiekermann

Fachhochschule Lübeck

► **Synthetisch gewonnene Pectinfragmente als Standards in der Lebensmittelindustrie**

Ballaststoffe sind zu einem großen Teil aus pectinhaltigen Polysacchariden aufgebaut und ihnen wird als unverdauliche Nahrungsmittelbestandteile eine gesundheitsfördernde Wirkung zugesprochen. Diese Effekte schließen sowohl Aktivitäten ein, die das Immunsystem des Menschen aktivieren, als auch die Förderung des Wachstums einer begrenzten Anzahl von Bakterien im Darm, die ihrerseits die Gesundheit des Menschen verbessern helfen. Pectine sind sehr komplex aufgebaute Zellwandpolysaccharide der Pflanzen, die zum einen $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidisch verknüpfte Homogalacturonanketten, sogenannte *glatte Regionen*, enthalten, zum anderen durch *haarige Regionen*, die aus Rhamnogalacturonanen (RG-I) aufgebaut sind, unterbrochen werden. Die Hauptkette des RG-I-Polymers besteht aus *repeating units* der Disaccharide $\alpha(1\rightarrow2)$ -L-Rha- $\alpha(1\rightarrow4)$ -D-GalA. An diese Hauptkette sind neutrale Seitenketten geknüpft, die Arabinose, Galactose und Fucose enthalten. Bei einem derart komplexen Aufbau der Pektine ist es sehr schwer, aus natürlichem Material Fragmente einheitlicher chemischer Zusammensetzung zu erhalten. Das aber ist die Grundvoraussetzung für Studien, die ein besseres Verständnis der Struktur-Wirkungsmechanismen der Pectine (Ballaststoffe) im Darm ermöglichen. In meiner Arbeitsgruppe haben wir Möglichkeiten eröffnet, Pectinfragmente definierter Struktur synthetisch herzustellen. Dabei wurden Verfahren entwickelt, die eine blockweise Zusammensetzung von niederen pectinhaltigen Oligomeren zu höheren Oligomeren gestatten. Bei den Arbeitstechniken spielen chromatographische Verfahren eine zentrale Rolle. Über den Stand dieser Entwicklung und ihre Perspektiven wird berichtet.

Prof. Dr. Christian Vogel

Universität Rostock, Fachbereich Chemie, Abteilung Organische Chemie

► **Kontinuierliche präparative Gradientenchromatographie**

Die gezielte Veränderung von Parametern während des Trennprozesses ist etablierte Praxis in der analytischen Chromatographie. Typische Zielstellungen sind die Verbesserung der Auftrennung sowie die Beschleunigung langsam eluierender Substanzen und damit die Reduzierung von Zykluszeiten.

Im Bereich der Flüssigchromatographie bietet sich eine gezielte Modulation der Zusammensetzung von aus mehreren Komponenten bestehenden Lösungsmitteln an. Häufig veränderte Parameter sind auch der Salzgehalt oder der pH-Wert. In jüngster Zeit wird dem Prinzip der Gradientenchromatographie zunehmend auf dem Gebiet der präparativen Chromatographie Interesse geschenkt. Dabei sind insbesondere kontinuierlich arbeitende Verfahren attraktiv, wie z. B. die simulierte Gegenstromchromatographie. Derartige Verfahren werden zur Zeit in der Regel unter isokratischen Bedingungen betrieben. Neben einer Darstellung der Möglichkeiten einer quantitativen Bewertung der Gradientenchromatographie soll es ein Schwerpunkt des Vortrages sein, einen neuartigen kontinuierlich arbeitenden Gegenstromprozess unter Verwendung eines 2-Stufen-Gradienten zu erläutern.

Prof. Dr. Andreas Seidel-Morgenstern

Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Institut für Verfahrenstechnik

► **HPLC/MS: Der kurze Weg vom »geht nicht« bis zum »geht nicht ohne«**

In dem Vortrag soll an wenigen typischen Beispielen aufgezeigt werden wie auf der einen Seite die Entwicklung der HPLC bis hin zur MikroHPLC und auf der anderen Seite die Konstruktion neuer Kopplungstechniken die HPLC/MS zu einer Technik haben werden lassen, ohne die die moderne Analytik nicht vorstellbar ist. Sowohl in der Synthesechemie als auch der Spurenanalytik, in der Biologie und der Medizin spielt die HPLC/MS Kopplung eine so gewichtige Rolle, daß sich der kleine Rückblick wirklich lohnt. Die Zeit ist eigentlich kurz: Erst vor 20 Jahren hat alles angefangen, aber das Ergebnis ist heute dramatisch. Die unterschiedlichsten Trennmethoden werden mit den unterschiedlichsten Ionisierungstechniken erfolgreich verbunden. Und schließlich soll ein kleiner Ausblick versucht werden auf das, was wir noch zu erwarten haben.

Prof. Dr. Michael Linscheid

Humboldt Universität zu Berlin, Institut für Chemie

► **Jubiläum für den Firmengründer
DR. HERBERT KNAUER FEIERTE 70. GEBURTSTAG**



Am 12. September 2001 wurde Dr. Herbert Knauer 70 Jahre alt. Ihm zu Ehren wurde an diesem Tag das Berliner Chromatografie-Sym-

posium veranstaltet. Unter den Gratulanten befanden sich unter anderem der Bezirksbürgermeister Weber sowie der Direktor des Schadow-Gymnasiums in Zehlendorf. Zur Förderung des Chemieunterrichts überreichte Dr. Knauer dem Schulleiter einen Scheck in Höhe von 10.000 DM. Insgesamt 36 Jahre stand Dr. Knauer als Gesellschafter und Geschäftsführer an der Spitze unseres Unternehmens. Sein ungebremstes Engagement und seine Präsenz auf unzähligen Messen rund um den Globus haben dem Hause KNAUER weltweit zu Ansehen und Anerkennung verholfen. Seit seinem »Rückzug« aus der aktiven Geschäftsführung im Dezember 2000 steht Dr. Knauer als wissenschaftlicher Berater nach wie vor allen Abteilungen mit Rat und Tat zur Seite.

► **Neue präparative Version 3.01
EUROCHROM® FÜR WINDOWS**

Software hat in bezug auf ihre Aktualität erfahrungsgemäß nur eine kurze »Haltbarkeit«. Davon ist unsere bewährte HPLC-Software, EuroChrom® für Windows, Präparative Version, nicht ausgenommen. Um trotzdem auf dem Stand der Technik zu bleiben, steht ab sofort die neue Version 3.01 zur Verfügung. Fraktionstabellen können jetzt anhand eines Musterchromatogramms erstellt und modifiziert werden. Es gibt neue Kontrollmöglichkeiten zur Überprüfung der Fraktionszahl und es gibt verschiedene Modi zur Steuerung der Fraktionierung über die Parameter Zeit, Level, Slope und Spektrenvergleich, jeweils logischer UND- bzw. ODER-Verknüpfung. Im neuen Direct Control-Modus bei der Methodenentwicklung können alle Steuerparameter während einer laufenden Messung verändert werden. Wird ein Run durch einen Geräte- oder sonstigen Fehler unterbrochen, kann dieser Lauf nach Beheben des Fehlers mit den zum Zeitpunkt der Unterbrechung gespeicherten Parametern fortgesetzt werden, sodass keine wertvolle Substanz verloren geht. Schließlich bietet ein virtueller Detektor völlig neue Möglichkeiten zur Steuerung eines Fraktionssammlers. Anhand von direkt aufgenommenen oder durch den virtuellen Detektor modifizierten Musterchromatogrammen können die Fraktionierungsparameter ohne weiteren Substanzeinsatz optimiert werden. Sowohl das Schneiden von Fraktionen negativer Peaks (z. B. eines Chiraldetektors) als auch das Schneiden von Fraktionen aus »Summenchromatogrammen« verschiedener Detektoren (z. B. UV/RI) bereitet keine Schwierigkeiten mehr.



► **Messe-Aktivitäten
KNAUER – WELTWEIT**

Wir werden unsere Produkte international auf folgenden Messen präsentieren:

MEDICA 2001,
Düsseldorf
21.–24.11.2001
Besuchen Sie uns
am Stand 3F14
in Halle 3!



12th CIA, Singapur, 30.10.–2.11.2001
Analab, Taipeh, Taiwan, 7.–9.11.2001
Pittcon, New Orleans, USA 17.–21.3.2002
Analytica, München, 23.–26.4.2002

► **Neuer Ventilantrieb
WELLCHROM K-12**



KNAUERs bewährte elektrische Ventilantriebe, WellChrom K-6 und WellChrom K-16, erhalten Verstärkung: Mit dem neuen WellChrom K-12 steht ab sofort eine präparative 1/8"-Variante zur Verfügung.

Das Gerät wird mit einem 13-Port/1-Kanal-Schaltventil geliefert und arbeitet bis 15 bar druckstabil. Wahlweise kann das Ventil über die HPLC-Software EuroChrom® 2000 Präparative Version oder manuell gesteuert werden. Weiterhin erlaubt die serielle RS-232-Schnittstelle eine individuelle Programmierung. Das Schnittstellenprotokoll ist im mitgelieferten Handbuch ausführlich beschrieben.

Das Schaltventil WellChrom K-12 eignet sich damit besonders zum Aufbau eines präparativen Fraktionssammlers oder zur Auswahl bzw. Mischung verschiedener Eluenten auf der Ansaugseite der HPLC-Pumpe.

Beiträge von Lesern sind willkommen. Für unverlangt eingesandte Manuskripte übernehmen wir jedoch keine Verantwortung.

► **IMPRESSUM**

Der KNAUER report ist ein Informationsdienst der Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. Herbert Knauer GmbH Hegauer Weg 38, D-14163 Berlin-Zehlendorf Tel.: (0 30) 80 97 27-0 · Fax: (0 30) 8 01 50 10 E-Mail: info@knauer.net Internet: www.knauer.net

Verantwortlich für den Inhalt: Bernward Rittgerodt, Markus Mann Layout/Satz: Grafikstudio Weselmann, Berlin Druck: Rotadruck A. Weichert, Berlin Kuvertiert und versandt vom Vfj Anerkannte Werkstatt für Behinderte der Vereinigung für Jugendhilfe gem. GmbH, Berlin

Auflage: 18.000 Exemplare.