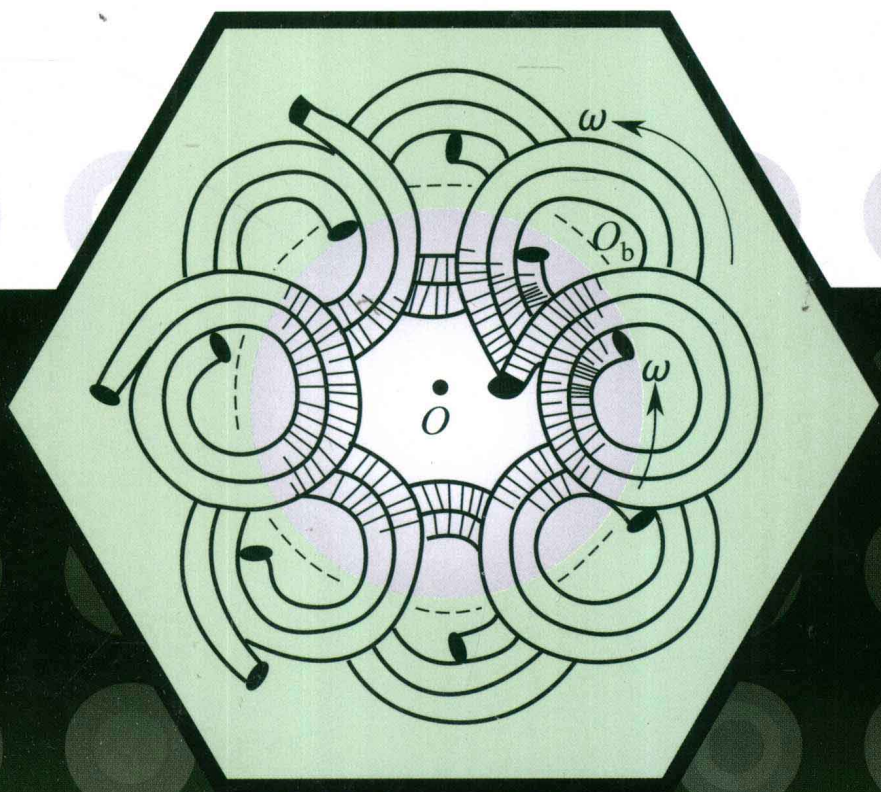


现代分离科学与技术丛书

GAOSU NILIU SEPU JISHU

高速逆流色谱技术

张天佑 王 晓 编著



化学工业出版社

1 现代分离科学与技术丛书

高速逆流色谱技术

张天佑 王 晓 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

序

随着科技的进步和产业的发展，在学科之间的交融越来越紧密的同时，学科分支的专业化也越来越明确。分离科学技术是人类剖析认识自然、充分利用自然、深层开发自然的手段；是获取真实和准确的分析鉴定信息的前提条件和技术保证。2000年，英国科学出版社邀请全世界500多位在不同领域从事分离科技工作的专家撰写并出版了一部巨著——《分离科学百科全书》（10册），本人参与了有关天然产物分离纯化方面的工作，深感其内容的丰富与广阔。2002年，美国出版了《分离科学一百年》，着重从色谱科技的进步说明分离科学技术的发展。

在我国科技界资深学者的倡导下，由化学工业出版社选题立项，经过十多位专家教授的分工合作，《现代分离科学与技术丛书》第一批（10个分册）将陆续出版。这是我国第一部关于分离科学技术的丛书，它的问世是我国科技界和产业界的一件喜事。

分离科学技术的门类很多，我们已经选定了《分离科学概论》、《溶剂萃取》、《超临界流体萃取》、《膜分离》、《离心分离》、《柱色谱技术》、《高速逆流色谱技术》、《模拟移动床色谱技术》、《结晶与沉淀》、《超声提取分离》等分册。随着分离科技的应用和发展，丛书的选题和内涵必将有新的拓展。《现代分离科学与技术丛书》的出版顺应于国际分离科学技术的发展潮流，又突出了我国在天然产物、生物医药、化工材料等优势科研与产业领域的特点和需要。

分离科学技术的门类很多，每一项分离技术都有它不同的理论、机理以及应用范围，各项分离技术之间是互补的和不可取代的。因此，我们希望广大的读者充分理解每项技术的基本原理，分析认识每项技术的实用领域，以期实现对于本丛书这一科技资源的有效利用和合理挖掘。

张天佑
2007年10月

前 言

《高速逆流色谱技术》在化学工业出版社的组织之下，作为《现代分离科学与技术丛书》的一个分册出版。这项技术是现代分离科学技术大家族中的一员，它将同其他的技术协同互补，为科学技术的进步和现代产业的发展起到应有的作用。

在各种分离技术之中，高速逆流色谱具有其自身的特点和应用价值。它属于现代色谱技术，具有高效、连续、广谱的特征；它是一种液液分配色谱技术，完全排除了固态相的影响，不存在不可逆吸附、样品组分损失、被沾染、失活等固-液色谱技术中可能出现的问题，具有结果物纯净、制备量大、技术成本低等优点；它是色谱家族中较年轻的成员，其技术机理的研究、应用技术的开发、实用领域的拓展等方面都存在较大的发展空间。

关于高速逆流色谱技术的专著不算多。1991年，张天佑教授编写了我国第一部这方面的书《逆流色谱技术》（北京科技出版社出版），介绍了这一技术的基本原理和设备机理。当时，国内外对这一较新的分离技术的研究和了解还不多，因此，该书涉及的应用领域和实例还很有限。此后，虽然相关的研究论文渐渐出现，也有一些汇编、手册、专著纳入了这项技术的内容，但是集中的专题论著依然缺乏。自2002年我们在北京主持召开第2届国际逆流色谱技术会议，并倡导在天然产物领域推广应用此项技术之后，国内外的研究与应用工作出现了长足发展的局面。2005年，曹学丽博士编著了《高速逆流色谱分离技术及应用》一书（化学工业出版社出版），对于这项技术的推广应用起到了很好的作用，特别是编入了一些应用实例，提供给读者实际可行的借鉴。现在出版的《高速逆流色谱技术》一书，则是希望进一步总结逆流色谱技术的发展历程和研究成果，进一步阐述这项技术的内涵与特质，在归纳较丰富的应用研究成果的同时，讨论了关于应用技术和使用方法方面的问题，希望能为读者提供较为实用的帮助。

国外的相关专著主要有：“High-Speed Countercurrent Chromatography”（John Wiley & Sons, New York, 1996. Volume 132 in The Series of Mono-Graphs on Analytical Chemistry and Its Applications），“Countercurrent Chromatography-The Support-Free Stationary Phase”（Elsevier, Amsterdam, 2002. Volume 38 in Comprehensive Analytical Chemistry）。这些专著反映了各个时期逆流色谱技术的研究与应用的概貌和水平，张天佑教授参与了这些专著的编写工作，读者可以查阅参考。

笔者具有多年从事逆流色谱技术研究及应用的经验，先后得到国家各部委、北京市科委和北京市科学技术研究院的支持；近年来，还获得了国家自然科学基金

(20872083)，山东省系列科技计划和山东省科学院科技计划项目的资助，在此深表感谢。

在本书的编写过程中，山东省科学院分析测试中心（山东省分析测试中心）天然产物研究室的老师和同学们给予了很大的支持和帮助，在此对他们深表感谢。还要感谢化学工业出版社领导和相关工作人员的支持和大力协助。

由于编者水平有限，时间仓促，书中难免有不足与疏漏，恳请广大读者批评指正。

编著者
2011年4月

目 录

第 1 章 逆流色谱技术的发展概述	1
1.1 现代色谱技术的发展	1
1.2 液液色谱的起源	2
1.3 早期的逆流色谱装置 (仪器)	3
1.4 高速逆流色谱的发展	4
1.5 高速逆流色谱的应用研究概况	5
参考文献	7
第 2 章 逆流色谱的技术原理	9
2.1 流体静力平衡体系 (HSES)	9
2.1.1 基本模型	9
2.1.2 以 HSES 为基础的逆流色谱仪	10
2.2 流体动力平衡体系 (HDES)	14
2.2.1 基本模型	14
2.2.2 以 HDES 为基础的逆流色谱仪	17
2.3 小结	22
参考文献	23
第 3 章 高速逆流色谱的技术原理	24
3.1 引言	24
3.2 单向性流体动力平衡逆流色谱原理	25
3.3 高速逆流色谱仪设计	26
3.4 IV 型同步行星式运动加速度分析	30
3.5 溶剂系统中两相在转动管柱里的流体动力学分布	33
3.5.1 运动螺旋管里的流体动力学特征	33
3.5.2 相分布图的研究	34
3.5.3 影响相分布的各个物理参量	36
参考文献	40
第 4 章 正交轴逆流色谱仪	41
4.1 仪器的设计原理	41
4.2 正交轴仪器的同步行星式运动加速度分析	44
4.2.1 作用于支持件中心平面上的加速度	45
4.2.2 作用于支持件上任一点的加速度	47
4.3 正交轴型仪器同轴螺旋管内相分布特性	49
4.4 正交轴逆流色谱仪的操作条件优化	54
4.5 正交轴型 CPC 的应用举例	55

4.6 小结	58
参考文献	58
第5章 高速逆流色谱的特殊技术	59
5.1 双向逆流色谱	59
5.1.1 概述	59
5.1.2 双向逆流色谱的原理和机制	59
5.1.3 双向逆流色谱的应用	61
5.2 泡沫逆流色谱法及其应用	63
5.3 用在J型CPC上的螺旋型固体圆盘柱组件系统	64
5.4 pH-区带精制逆流色谱	67
5.4.1 pH-区带精制逆流色谱的分离原理	67
5.4.2 pH-区带精制逆流色谱的分类	68
5.4.3 pH-区带精制逆流色谱分离的准备及操作	69
5.4.4 pH-区带精制逆流色谱的优点和局限性	71
5.4.5 典型pH-区带精制逆流色谱的应用	72
5.4.6 亲和分离pH-区带精制逆流色谱的应用	76
参考文献	79
第6章 高速逆流色谱的工作方法	81
6.1 HSCCC的溶剂系统选择	81
6.1.1 HSCCC的溶剂系统的要求	82
6.1.2 影响HSCCC分离的因素	83
6.1.3 选择HSCCC的溶剂系统的步骤	83
6.1.4 HSCCC的溶剂系统的选择方法	83
6.1.5 一种实用的溶剂系统选择思路	86
6.2 高速逆流色谱的工作步骤	87
6.2.1 溶剂系统的准备	87
6.2.2 柱系统的准备与运行	87
6.2.3 样品溶液的制备和进样	87
6.2.4 HSCCC分离和检测	88
6.2.5 清洗分离柱	90
6.2.6 注意事项	90
参考文献	91
第7章 HSCCC在天然植物有效成分分离中的应用	93
7.1 生物碱类化合物的分离	94
7.1.1 概述	94
7.1.2 辣椒生物碱	95
7.1.3 莲子心生物碱	96
7.1.4 吴茱萸生物碱	99
7.1.5 雷公藤生物碱	101

7.1.6	黄连生物碱	102
7.1.7	黄花岗头生物碱	105
7.1.8	夏天无生物碱	107
7.1.9	骆驼蓬生物碱	109
7.1.10	防己生物碱	111
7.1.11	苦参生物碱	111
7.1.12	小结	114
7.2	黄酮类化合物的分离	115
7.2.1	概述	115
7.2.2	橘皮黄酮	116
7.2.3	牡丹花黄酮	118
7.2.4	葛根黄酮	120
7.2.5	淫羊藿黄酮	122
7.2.6	厚果鸡血藤异黄酮	123
7.2.7	大豆异黄酮	125
7.2.8	藤黄双黄酮	127
7.2.9	黄芩黄酮	128
7.2.10	小结	130
7.3	植物多酚化合物的分离	131
7.3.1	概述	131
7.3.2	丁香多酚	132
7.3.3	金银花多酚	133
7.3.4	石榴多酚	137
7.3.5	菝葜多酚	138
7.3.6	紫锥菊多酚	140
7.3.7	茶叶多酚	143
7.3.8	花青素	145
7.3.9	小结	147
7.4	木脂素类化合物的分离	150
7.4.1	概述	150
7.4.2	厚朴木脂素	151
7.4.3	芝麻木脂素	152
7.4.4	五味子木脂素	154
7.4.5	丹参木脂素	158
7.4.6	牛蒡子木脂素	158
7.4.7	连翘木脂素	160
7.4.8	肉苁蓉木脂素	162
7.4.9	小结	165
7.5	香豆素类化合物的分离	166

7.5.1	概述	166
7.5.2	补骨脂香豆素	167
7.5.3	蛇床子香豆素	169
7.5.4	羌活香豆素	170
7.5.5	秦皮香豆素	172
7.5.6	白芷香豆素	173
7.5.7	盘龙参香豆素	177
7.5.8	小结	179
7.6	醌类化合物的分离	180
7.6.1	概述	180
7.6.2	紫草醌类化合物	181
7.6.3	大黄蒽醌化合物	182
7.6.4	虎杖醌类化合物	186
7.6.5	丹参醌类化合物	186
7.6.6	芦荟蒽醌化合物	190
7.6.7	何首乌蒽醌化合物	192
7.6.8	小结	194
7.7	萜类化合物的分离	194
7.7.1	概述	194
7.7.2	柿叶萜类化合物	195
7.7.3	雷公藤萜类化合物	196
7.7.4	甘草萜类化合物	198
7.7.5	穿心莲萜类化合物	199
7.7.6	甜瓜萜类化合物	201
7.7.7	番茄萜类化合物	201
7.7.8	银杏叶萜类化合物	204
7.7.9	冬凌草萜类化合物	204
7.7.10	苹果皮萜类化合物	206
7.7.11	赤芍萜类化合物	206
7.7.12	栀子苷萜类化合物	207
7.7.13	小结	210
7.8	皂苷类化合物的分离	210
7.8.1	概述	210
7.8.2	苦瓜皂苷	211
7.8.3	三七皂苷	212
7.8.4	人参皂苷	214
7.8.5	小结	216
7.9	其他类化合物的分离	217
7.9.1	当归内酯	218

7.9.2 太子参环肽	218
7.9.3 香附酮	220
7.9.4 葡萄糖脂肪酸	222
参考文献	225
第8章 HSCCC 在抗生素分离中的应用	228
8.1 概述	228
8.2 高速逆流色谱分离抗生素的实例	230
8.2.1 链孢毒素	230
8.2.2 环孢菌素	231
8.2.3 红霉素	232
8.2.4 螺旋霉素	234
8.2.5 抗真菌抗生素	236
8.3 小结	239
参考文献	239
第9章 HSCCC 在海洋生物活性成分分离中的应用	241
9.1 概述	241
9.2 HSCCC 分离海洋生物活性成分的应用实例	244
9.2.1 叶绿素	244
9.2.2 虾青素	244
9.2.3 叶黄素	246
9.2.4 斑蝥黄质	248
9.2.5 角鲨烯	250
9.2.6 苔藓虫素	251
9.2.7 聚醚类毒素	252
9.3 小结	253
参考文献	254
第10章 逆流色谱在生物大分子分离中的应用	255
10.1 概述	255
10.2 双水相聚合物体系的构成与选择	257
10.3 制备分离应用举例	258
10.3.1 羊肚菌糖蛋白的分离	258
10.3.2 枸杞糖肽的分离	260
10.3.3 嘌呤核苷酸磷酸化酶的分离	260
10.3.4 卵白蛋白的分离	261
10.3.5 质粒 DNA 的分离	264
10.4 小结	265
参考文献	266
第11章 HSCCC 在无机离子分离中的应用	267
11.1 概述	267

11.2	DHDECMP 逆流色谱体系	267
11.3	DCPDTPi 的逆流色谱体系	268
11.4	TOPO 逆流色谱体系	269
11.5	EHPA 逆流色谱体系	270
11.6	DEHPA 逆流色谱体系	271
11.7	B ₂ EHP 逆流色谱体系	272
11.8	DMDBDDEMA 逆流色谱体系	272
11.9	Tetraoctylethylenediamine 逆流色谱体系	273
	参考文献	273
第 12 章	HSCCC 在生物医药产业中的应用及发展趋势	275
12.1	HSCCC 在天然药用成分及标准样品制备中的应用	275
12.2	HSCCC 在新药先导化合物的发现和筛选中的应用	279
12.3	高速逆流色谱指纹图谱	281
12.4	逆流色谱的发展趋势	284
12.4.1	逆流色谱药物的工业化放大	284
12.4.2	HSCCC 的微型化及同多种分析技术的联用	284
12.4.3	HSCCC 在生物大分子分离中的应用	285
12.4.4	逆流色谱技术应用领域的拓展	286
12.5	结束语	286
	参考文献	287
附录	HSCCC 分离天然植物活性成分常用溶剂体系一览表	288

第 1 章 逆流色谱技术的发展概述

1.1 现代色谱技术的发展

色谱技术是广泛应用于混合物中组分分离与分析的有效手段。各种不同的色谱技术和分离方法，都是根据被分离物质中各组分的物理特性，设计相应的物理环境和条件，通过不同性态的载体对各组分的相互作用的不同而实现组分的分离。在近代色谱技术领域就出现了对于固、液、气三态物质的利用，形成了固液色谱、固气色谱和液液色谱等不同的色谱技术。

固液色谱，通常称之为液相色谱，是采用一个固态相作为色谱过程的固定相，再采用一个液态相作为色谱过程的流动相。被分离的混合物样品先是被固态的固定相承载，随后由液态的流动相按各组分的理化特性的差异，逐一地从固定相的承载状态下洗脱下来，从而实现各组分的顺序分离。一个世纪以来，固液色谱的固定相的种类、型号有了很大的发展，例如硅胶、大孔树脂及各种不同理化特性和表面特征的合成材料都已成为实现固液色谱的基本保证。

固气色谱，通常称之为气相色谱，也是采用了一个固态相作为固定相，例如，采用活性炭等材料作为固定相的填料，让它先承载被分离的混合样品，再用一个气态的流动相，按各组分不同的物理性质，逐个地将各组分带出来，以实现组分的分离。

固液色谱和固气色谱，都用了固态的固定相，而且通常也只有固态相作为固定相，即我们常说的载体、支撑体或填料，才能作为两相相对移动时稳定的支撑体。因此，在液相色谱和气相色谱的称谓中，理所当然地不再提及还有一个固态的固定相。随着各相关科学技术的发展，随着材料科学技术的进步，当代已经出现许多特性优良的固定相材料，用它装填制备成色谱柱，能实现对不同物质的很强的选择性，由此形成的色谱体系中，液态或气态的流动相可以在高压、高流速的状态下进行组分的洗脱，因此，现代的液相色谱和气相色谱都具有很高的分离效率和分辨能力。特别是在物质的分析鉴定方面表现出很高的应用价值。

但是，事物总是有它的两面性。由于固态的固定相的采用，会给色谱的结果带来一些问题。例如，固态固定相会对被分离的混合物样品中的某些组分产生不可逆吸附，这些组分不能被流动相洗脱出来，导致了在结果物中这些组分的损失；有时，有些组分即使能被洗脱出来，但会出现相应的色谱峰的拖尾现象，影响色谱分离的分辨率。例如，有的固定相材料中某些物质，会被色谱过程中所选用的流动相

洗脱出来，形成对结果的干扰；在分离纯化那些活性很强的物质时，固定相的极强的附着和承载能力和流动相的高压高速冲淋洗脱，会使得某些活性物质变性失活。在不断突出现代液相色谱和气相色谱的分析鉴定能力的同时，要想开发出对特定组分具有较大制备能力的手段就越来越不容易，其制造成本和运行成本也就越来越高。例如，随着生命科学的发展，活性大分子，乃至细胞、病毒、抗体、抗原等的分离纯化工作越来越重要，要研发出适用的固定支撑材料，保证整个色谱过程对样品活性的保护，是有相当难度的任务。

随着科学技术的进步和社会需求的更新，随着相关产业的技术革新和产品升级的需要，过去对分离分析功能一体化的概念，逐渐地向大量纯化制备的分离和微量高效快速的分析所要求的方向演化。2000年，美国科学出版社出版了一套包含10个分册的巨著《分离科学百科全书》(Encyclopedia of Separation Science)，成为分离科学进入新的发展时期的里程碑，张天佑应邀撰写了关于天然产物黄酮、生物碱等类物质的分离技术的章节。2002年，美国出版了《分离科学一百年》(A Century of Separation Science)也强调了分离科学技术应运发展的契机。研究、开发和利用新的分离制备手段，已经成为当前的重要命题。

我们在这里要着重介绍的，是一种液液色谱，也就是说，在这类色谱系统中，固定相和流动相都是液态的，这两相的物质可以是互不相溶或很少相溶的有机相-水相体系，也可以是大分子聚合物(polymer)的双水相体系，甚至是浓度动态变化的单一相体系。这样的色谱系统，不会出现固态支撑材料对样品和分离结果的不可逆吸附、干扰污染、失活变性等不良影响。而且，因为分离柱内没有固态填料占体积，容易实现较大的进样量和制备量；又因为不用价格不菲的填料，以及流动相由洗脱过程变成液液对流交换过程，而节省溶剂，所以从制备工作的角度看，具有明显节约投资和降低运行成本的优势。

逆流色谱技术以及高速逆流色谱技术，是当前液液色谱技术体系中最突出的代表。在国际上它是被公认的有效分离纯化手段，特别适合于天然产物和活性组分的分离纯化和制备工作。然而，它的固定相和流动相都是液态的，如何使两相与被分离样品之间形成有效的分配与传递关系？它的固定相是液体的，如何使之能在分离管柱内空间保持稳定的保留状态？它不是靠特定种类和型号的填充材料来保证分离过程的选择性，如何选择液态的对流溶剂体系来保证有效的分配分离结果？这些问题，都需要从特殊的作用原理，特殊的运动机制，特殊的实验方法来研究解决。本书将就逆流色谱的原理、机制、仪器、使用方法和应用进行全面的介绍。

1.2 液液色谱的起源

追溯最早出现的液液分配装置，乃是现今实验室里常用的分液漏斗。把两个互

不混溶的溶剂相置入分液漏斗中，投入要萃取分离的样品，振摇后静置，样品溶质就按分配系数的特征在两溶剂相间实现分配。如果两种溶质分子在两相溶剂系统中的分配系数差异明显，那么，在分液漏斗里的一次萃取过程中就能分离开来。但是，实际遇到的问题往往是要分离性质极其相近的复杂混合物，这就需要进行多次萃取才能实现满意的分离。1941 年，Martin 和 Synge 提出了一种级联链型萃取装置^[1]，通过对于逆流（对流）萃取的研究，开创了分配色谱技术^[2]。1944 年，Craig 发明了非连续式的逆流分溶装置（countercurrent distribution, CCD）^[3]，它适用于大量或小量的样品的液液分配分离。这些早期的分离装置能实现上千次的分配和萃取，很快为有机化学、生物化学等应用领域所接受。虽然，这些装置已很少在现今的实验室里用作分离分析的手段，但是，Craig 的设计仍被认为是在分离大极性组分，包括天然产物、多肽和其他大分子时具有特色，适合于大制备量的分离提取工作。CCD 的主要缺点是：仪器设备庞大复杂，溶剂系统容易乳化，溶剂消耗量大和分离操作时间太长等。

表 1-1 早期的液液分配分离装置

装置名称	发明人	发明年代
分液漏斗	—	—
级联链型萃取装置 ^[1]	Martin 和 Synge	1941
分配色谱仪器 ^[2]	Martin 和 Synge	1941
非连续式 CCD ^[3]	Craig	1944
大型玻璃制 CCD ^[4]	Craig 等	1951
小型非连续式 CCD ^[5]	Bell 等	1956
紧凑型 CCD ^[6]	Raymond	1958
具有混合和分层带的分离柱 ^[7]	Scheibel	1948
级联链型渗流装置 ^[8]	Kies 和 Cavis	1951
旋转盘形装置 ^[9]	Signer	1952
自旋转子分离柱 ^[10]	Spence 和 Streeton	1952
分隔式渗流分离柱 ^[11]	Keppes	1954
高效连续混合分层装置 ^[12]	Kietala	1960

表 1-1 列出了 1960 年以前出现过的各种液液分配分离装置和仪器。其中，除了前面提到的方法之外，虽然有的也具有较好的分离能力，但是由于仪器容易破损、操作不方便、分离样品的局限等原因限制了其发展和推广应用。

1.3 早期的逆流色谱装置（仪器）

1966 年，Ito 博士发现了一种有趣的现象，即互不混溶的两相溶剂在绕成螺旋形的小孔径管子里会分段割据，并能在螺旋管转动的情况下实现两溶剂相之间的逆向对流。在内径约 2mm 的螺旋管绕组层里，两相的分段状态能在重力场的作用下形成；而当螺旋管柱在一离心力场内转动时，特别是在如 0.2mm 口径的细螺旋管柱里，会形成更强的两相分割趋势和对流趋势，这种分割和对流的过程是连续进行

的。如果把要分离的样品从螺旋管柱的入口注入，连续的分配传递过程就会在管柱里进行，从而实现连续的液液分配分离。在这样的体系中，由于不存在固态的载体，因而避免了载体对样品组分的吸附和污染，其分配效果完全取决于样品各组分的分配系数值和管柱特定的效能。

Ito 等早期研究设计的各种逆流色谱仪列于表 1-2 中。以表 1-2 仪器为基础的逆流色谱技术（countercurrent chromatography, CCC）逐渐发展成为一个新兴的分离科学分支，并带动了一系列的技术手段的涌现，使得很多的化合物，乃至血细胞和病毒等的分离能在液液对流中实现。逆流色谱的突出优点在于：它既具有 CCD 法不用固态支撑体的各种长处，又具有现代色谱连续、自动、快速、高效的特点；而且，比 CCD 法的分辨能力更强，能适用于小量到相当大量的样品的分离，有比较广泛的溶剂系统可供采用，大大节省了操作时间和溶剂的消耗。

表 1-2 早期的逆流色谱仪器

仪 器 名 称	发 明 人	发明年代
螺旋管行星式离心分离仪 ^[13,14] (CPC)	Ito 等	1966
螺旋形逆流色谱仪 ^[15]	Ito 和 Bowman	1970
液滴逆流色谱仪 ^[16]	Tanimura 等	1970
旋转腔式逆流色谱仪和回旋腔式逆流色谱仪 ^[17]	Ito 和 Bowman	1970
流通型 CPC ^[18~23]	Ito 和 Bowman	1971
连续洗脱型离心分离仪 ^[24~26]	Ito 和 Bowman	1972
倾斜角转子逆流色谱仪 ^[27]	Ito 和 Bowman	1975

1.4 高速逆流色谱的发展

由 Ito 首创的离心式螺旋管逆流色谱技术，经过数十年的研究发展，已经在理论原理、仪器设计、实验方法和应用开发等方面积累了较为丰富的经验和成果。特别是高速逆流色谱（HSCCC）技术的形成，开辟了液液色谱分离技术的新纪元。表 1-3 所列为高速逆流色谱的发展情况。在常规的 HSCCC 技术的基础上，随着人们研究运用的深入，先后又发展了多种 HSCCC 技术和仪器设备。如双向逆流色谱（dual countercurrent chromatography, DuCCC），正交轴逆流色谱（cross-axis coil planet centrifuge, X-axis CPC），pH-区带精制逆流色谱（pH-zone-refining CCC），离心沉淀色谱（centrifugal precipitation chromatography, CPC）以及 J 型 CPC 上的螺线型圆盘柱组件系统等系列技术与仪器的出现，使 HSCCC 技术研究更上一个台阶。用 HSCCC 与质谱（MS）、傅里叶红外光谱（FTIR）或蒸发光散射（ELSD）检测器联用，为 HSCCC 技术的应用提供了一种新型多维分离分析方法。随着多领域的应用工作的快速发展，这方面的工作正在从实验室研究阶段转变为仪器的商品化生产和技术的社会化推广阶段，引起了世界各国的重

视和关注。

表 1-3 高速逆流色谱的发展

仪 器 名 称	发 明 人	发明年代
高速逆流色谱 ^[28,29]	Ito 等	1981
泡沫逆流色谱 ^[30~33]	Ito 等	1982
双向逆流色谱 ^[34]	Ito 等	1985
正交轴逆流色谱 ^[35~37]	Lee 等	1988
三柱平衡高速逆流色谱 ^[38]	Ito 和 张天佑	1988
pH-区带精制逆流色谱 ^[39~41]	Ito 等	1989
离心沉淀色谱 ^[42,43]	Ito 等	1990
J 型 CPC 上的螺旋型圆盘柱组件系统 ^[44]	Ito 等	1999
		2003

1.5 高速逆流色谱的应用研究概况

目前国际上有数十个国家及地区的著名研究机构 and 大学在从事逆流色谱技术的研究及在各个领域的应用工作，其中包括美国国立健康研究院（National Institute of Health, NIH），英国 Brunel 大学，瑞士 Lausanne 和 Geneva 大学，法国 Lyon 大学等。我国高速逆流技术起步较早，是继美国、日本之后最早开展逆流色谱研究与应用的国家。早在 20 世纪 70 年代末，张天佑教授领导的研究小组在国内最先自行研制了分析型和制备型的高速逆流色谱仪，研究水平处于国际领先地位，尤其对天然产物的分离制备，取得了特色性的成果。目前，国内已经有几十个单位开展逆流色谱的应用与研究工作。

由于此项新颖技术的迅猛发展和不断成熟，加之其影响不断扩大，各国从事逆流色谱研究和应用的同行于 1999 年发起和成立了国际逆流色谱技术委员会。自 2000 年起国际逆流研究领域每隔 2 年举行一次国际逆流色谱学术会议（international conference on CCC），迄今已经举行了 5 次（见表 1-4）。每年一度的美国匹兹堡国际分析化学与应用光谱学学术会议上，都设有 CCC 的专题组。国际重要的色谱学术刊物“Journal of Chromatography A”和“Journal of Liquid Chromatography and Relative Technology”都曾多次出版过这一技术的论文专辑。自 1995 年以来，国外已有 5 本英文专著出版^[45~49]，我国目前也已出版过三本中文专著^[50~52]。

表 1-4 国际逆流色谱专业会议

届	时 间	地 点	主 席
第一届	2000	英国,伦敦	Prof. Sutherland
第二届	2002	中国,北京	张天佑教授
第三届	2004	日本,东京	Dr. Oka
第四届	2006	美国,贝萨斯特	Dr. Ito
第五届	2008	巴西,里约热内卢	Prof. Leitao

高速逆流色谱用于天然药物化学成分分离始于1985年,到2005年达到一个高潮,期间发表了大量的文章(见图1-1)。目前处于平稳发展阶段,截至2007年,CCC论文的作者主要分布在亚洲、欧洲、美洲(见图1-2)^[53]。自从2002年在我国召开第二届国际逆流色谱学术会议,并突出了该技术在天然产物领域的应用研究以来,我国学者发表的论文数量在总的论文数量中所占的比例最大,其次为美国、日本、德国、法国、英国等(见图1-3)^[53]。可以看到逆流色谱已经引起世界各国学者的注意,越来越多的研究者或应用者加入到逆流色谱的研究和应用的队伍中。特别是近十多年高速逆流色谱的发展,逆流色谱在生物工程、医药、生化、植物化学、农业、化工、环境、海洋科学、无机化学等广泛领域显现出越来越高的实用价值。

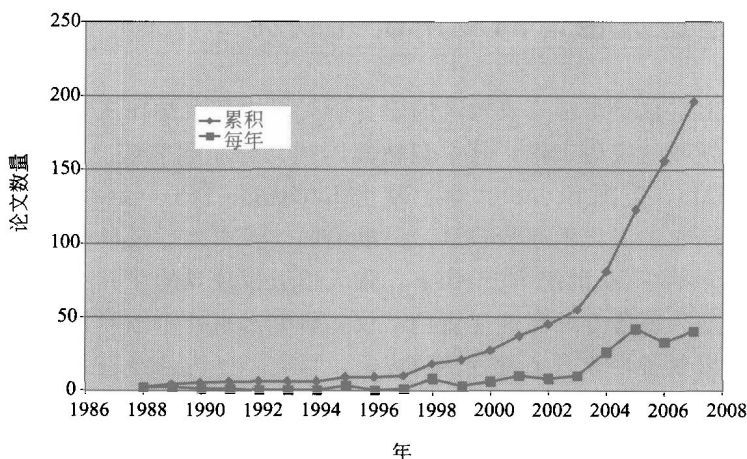


图 1-1 逆流色谱发表数量(1986~2007年)

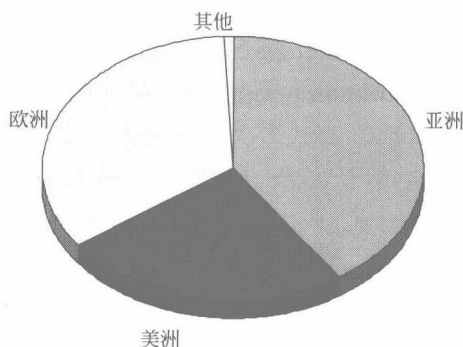


图 1-2 逆流色谱论文作者在各大洲的分布(截至2007年)