

GAOSU NILIU SEPU JIQIZAI
TIANRAN CHANWU FENLI
ZHONG DE YINGYONG

高速逆流色谱 及其在天然产物 分离中的应用

柳仁民 编著



中国海洋大学出版社

内容简介

高速逆流色谱及其 在天然产物分离中的应用

柳仁民 编著

图例式目录(CIP)数据

高速逆流色谱及其在天然产物分离中的应用

柳仁民 著 中国海洋大学出版社 2008.11

ISBN 978-7-81125-102-1

1. 高速逆流色谱法—应用—图例式目录

IV. Q916

中国图书馆

中

中国图书馆

中国海洋大学出版社
地址 青岛市香港中路33号
网址 <http://www.oceanpress.com>
信箱 xianmin@gm.com.cn
电话 0032-82082573(传真)
邮编 266071

中国海洋大学出版社
地址 青岛市香港中路33号
网址 <http://www.oceanpress.com>
信箱 xianmin@gm.com.cn
电话 0032-82082573(传真)
邮编 266071

中国海洋大学出版社
地址 青岛市香港中路33号
网址 <http://www.oceanpress.com>
信箱 xianmin@gm.com.cn
电话 0032-82082573(传真)
邮编 266071

中国海洋大学出版社
地址 青岛市香港中路33号
网址 <http://www.oceanpress.com>
信箱 xianmin@gm.com.cn
电话 0032-82082573(传真)
邮编 266071

中国海洋大学出版社
· 青岛 ·

内容简介

本书主要介绍了高速逆流色谱的原理与技术及其在天然产物分离中的应用。全书共分8章,第1章就逆流色谱的发展渊源及逆流分溶法进行概述,第2~6章主要介绍高速逆流色谱分离机理、工作方法以及溶剂系统的选择策略,第7章重点介绍在HSCCC发展过程中形成的新技术,第8章着重介绍HSCCC在分离纯化天然中草药活性成分中的应用,并对其具体的提取分离方法及分离结果进行了概述。

本书可作为在天然中草药活性成分的分离纯化及中药现代化等领域从事逆流色谱技术研究和应用的研究人员参考书,也可作为分析化学专业研究生及化学、应用化学等专业本科生的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

高速逆流色谱及其在天然产物分离中的应用/柳仁民
编著. —青岛:中国海洋大学出版社,2008.11
ISBN 978-7-81125-195-1

I. 高… II. 柳… III. 逆流色谱法—应用—植物—分离
IV. Q946

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第189419号

出版发行 中国海洋大学出版社
社 址 青岛市香港东路23号
网 址 <http://www.ouc-press.com>
电子信箱 xianlimeng@qingdaonews.com
订购电话 0532-82032573(传真)
责任编辑 孟显丽
印 制 日照报业印刷有限公司
版 次 2008年11月第1版
印 次 2008年11月第1次印刷
开 本 185 mm×260 mm 1/16
印 张 18.5
字 数 445千字
定 价 58.00元

邮政编码 266071

电 话 0532-85902478

前言

逆流色谱(Counter-current Chromatography)是一种不用固态支撑体或载体的液液分配色谱技术,是一种能实现连续有效的分配分离的实用分离技术。逆流色谱技术的创始人 Yoichiro Ito 对此项技术的发展作出了重大贡献。在 20 世纪七八十年代,Ito 教授为了在行星式运动模式和螺旋管柱在支持体上的几何位置之间寻求一种理想的结合状态,展开了一系列的研究。经过近 10 年的潜心研究,终于研制出一种高效的逆流色谱系统,也就是现在所称的“高速逆流色谱”(high speed counter-current chromatography, HSCCC)。经过近 30 年的发展,随着其理论与技术的日益发展与完善,HSCCC 已在生物、医药、食品、材料、农业、环保等领域获得了广泛的应用,尤其是在中药有效成分的分离纯化领域已成为最有优势的分离分析方法之一。

高速逆流色谱(HSCCC)是一种基于样品在两个互不混溶的溶剂之间分配作用的分离技术,是当今国际分离科学技术的一个新分支。由于 HSCCC 不使用固态支撑体,与其他色谱技术相比,HSCCC 能够完全排除支撑体导致的样品的不可逆吸附和对样品的沾染、失活、变性等影响,能实现对复杂混合物中各组分的高纯度制备量分离。与制备高效液相色谱相比,HSCCC 具有制备量大、运行费用低、可直接分离粗提物等优点。HSCCC 所有的优点都源于其不用固体固定相,有广泛的溶剂体系可供选择,概括起来有以下几点:

- (1)避免了样品在分离过程的不可逆吸附、分解等可能的样品变性问题。
- (2)滞留在柱中的样品可以通过多种洗脱方式予以完全回收。
- (3)粗品可以直接上样且不会对柱子造成任何损害。
- (4)柱子可以用合适的溶剂(如甲醇)很容易地清洗,用空气或氮气干燥,然后注入新的溶剂后构成新的柱体,可重复使用。
- (5)通过改变溶剂体系,实现对不同极性物质的分离。
- (6)被分离组分在柱中保留时间或保留体积,可以通过其分配系数进行预测。
- (7)HSCCC 的制备量可以比高效液相色谱(HPLC)大,而且费用低,因为其不需要昂贵的色谱柱。

另外,HSCCC 在操作方面所表现出的灵活性和多功能性也是其他许多色谱方法所不能比拟的,如以下几点:

- (1)几乎任何互不相溶的两相溶剂体系都可以使用,只是有的溶剂体系可能在一些特殊型号的 HSCCC 仪器上可以取得更好的分离效果。

- (2)洗脱方式灵活多样,可以以正向或反向进行洗脱,也就是说流动相可以是上相或下相、有机相或水相。甚至可以是两相溶剂同时逆向流动,实现真正连续的逆流色谱过

程。还可以实现多种形式的梯度洗脱过程,如 pH 梯度、极性梯度等。此外,也可用气体或超临界流体作为流动相,实现特殊的分离过程。

(4) 进样方式也比较灵活,样品可以溶解在任何一相溶剂或混合溶剂中进样。

(5) 此外可以在液态固定相和流动相中添加合适的离子对试剂或手性选择试剂等,以实现一些异构体的分离和酸碱性物质的大量制备。

由于 HSCCC 的上述优点和灵活性,近年来逐渐发展成为一项备受关注的制备性色谱分离纯化技术,并在很多领域得到了广泛的应用,尤其在天然产物研究开发等方面显示出其强大的优势。

我国从 20 世纪 80 年代初开始从事逆流色谱技术和仪器的研制工作,是继美国、日本之后最早开展逆流色谱研究与应用的国家。张天佑教授为我国乃至世界 HSCCC 的发展作出了重要贡献。近年来,随着逆流色谱技术的发展,国内也有越来越多的专家学者关注逆流色谱技术并加入到其研究队伍中来,逆流色谱技术在生命科学、生物医药,特别是天然中草药中有效成分的分离纯化中的应用越来越广泛。

本书是作者在多年对 HSCCC 的研究基础上撰写而成,兼顾理论、技术与应用三个方面,既能反映该技术的发展概况和最新研究成果,又能使入门者在了解逆流色谱技术基本原理的同时,提供一些具有可操作性的指导,使其能够很快掌握一些分离方法和应用技巧并应用该项技术解决实际问题。第 1 章就逆流色谱的发展历史及逆流分溶法进行概述,使读者对逆流色谱的基本原理有初步的认识。第 2~6 章主要介绍高速逆流色谱分离机理、工作方法以及溶剂系统的选择策略,力争通过浅显的语言使读者对 HSCCC 的基本理论有一个基本的认识和理解。第 7 章重点对在 HSCCC 发展过程中形成的新技术 pH-区带精制 CCC 进行阐述。第 8 章着重介绍 HSCCC 在分离纯化天然中草药活性成分中的应用,几乎囊括了所有应用 HSCCC 进行分离纯化的中草药,并对其具体的提取分离方法以及分离结果进行了概述,可以不用查阅具体的文献而了解其分离的过程和结果。希望本书能成为一本在天然中草药活性成分的分离纯化及中药现代化等领域从事逆流色谱技术研究和应用的研究人员、工程技术人员、教师和研究生等的有价值的参考书。

本书参考和引用了近 300 篇文献资料,吸纳了国内外众多专家的研究成果,在此对他们表示衷心感谢。

逆流色谱技术是一门正在发展的新技术,它的研究和应用涉及较广泛的知识领域,限于作者的知识水平,在编撰过程中难免发生错误。衷心希望各方面的专家、学者以及从事该项技术研究和应用的同行给予批评和指正。同时,也希望越来越多的专家、学者加入到应用逆流色谱技术分离纯化天然中草药活性及中药现代化的研究领域中来,使我国在该领域的研究工作能够保持国际先进水平。

柳仁民

2008 年 9 月

于聊城大学

目次

第 1 章 逆流色谱技术基础	(1)
1.1 逆流色谱的起源与发展	(1)
1.2 逆流分溶法简介	(2)
参考文献	(6)
第 2 章 逆流色谱仪器的工作原理	(7)
2.1 流体静力学平衡体系	(7)
2.2 流体动力学平衡体系 HDES	(9)
2.2.1 基本模型	(9)
2.2.2 单向性流体动力学平衡体系	(12)
2.2.3 以 HDES 为基础的逆流色谱仪	(13)
2.3 小结	(13)
参考文献	(14)
第 3 章 非螺旋管式逆流色谱仪	(16)
3.1 液滴逆流色谱仪	(16)
3.2 旋转腔室逆流色谱仪	(19)
3.3 回旋腔室逆流色谱仪	(20)
3.4 环绕螺旋管离心分离仪	(21)
3.5 整体集成流通回路	(22)
参考文献	(23)
第 4 章 螺旋管行星式逆流色谱仪	(25)
4.1 I 型同步螺旋管行星式逆流色谱仪	(26)
4.2 III 型同步螺旋管行星式逆流色谱仪	(28)
4.3 II 型同步螺旋管行星式逆流色谱仪	(29)
4.4 IV 型同步螺旋管行星式逆流色谱仪	(30)
4.5 VI 型非同步螺旋管行星式逆流色谱仪	(32)
参考文献	(33)

第 5 章 高速逆流色谱法原理	(34)
5.1 高速逆流色谱仪器系统	(34)
5.1.1 液体输送系统	(34)
5.1.2 分离系统	(35)
5.1.3 检测系统	(38)
5.1.4 国内仪器研究与生产单位及常见仪器介绍	(40)
5.2 高速逆流色谱的单向流体动力平衡机理	(41)
5.3 相分布图及影响相分布的因素	(43)
5.3.1 相分布图	(43)
5.3.2 影响相分布的因素	(45)
参考文献	(48)
第 6 章 高速逆流色谱实验方法	(50)
6.1 溶剂体系的选择原则	(50)
6.2 多元溶剂体系的选择方法	(50)
6.2.1 Ito 方法	(51)
6.2.2 HBAW 方法	(52)
6.2.3 ARIZONA 方法	(52)
6.3 HPLC 法测定分配系数	(53)
6.3.1 HPLC 法测定分配系数的理论基础	(53)
6.3.2 分配系数与分离度之间的关系研究	(55)
参考文献	(56)
第 7 章 高速逆流色谱新技术	(57)
7.1 非平衡溶剂系统的应用	(57)
7.2 pH-区带精制逆流色谱	(59)
7.2.1 pH-区带精制逆流色谱的发展	(59)
7.2.2 pH-区带精制逆流色谱的理论机理	(61)
7.2.3 pH-区带精制逆流色谱分离的有关技巧	(64)
7.2.4 pH-区带精制逆流色谱的优点和局限性	(67)
7.3 双向逆流色谱	(67)
7.3.1 双向逆流色谱的原理和机制	(68)
7.3.2 双向逆流色谱的应用	(69)
7.3.3 泡沫逆流色谱及其应用	(71)
参考文献	(75)

第 8 章 天然植物有效成分的分离	(77)
8.1 生物碱类	(77)
8.1.1 概述	(77)
8.1.2 小蔓长春花	(78)
8.1.3 峨眉千里光	(79)
8.1.4 三尖杉	(80)
8.1.5 文殊兰	(81)
8.1.6 苦参	(81)
8.1.7 黄连	(84)
8.1.8 高乌头	(85)
8.1.9 青叶胆	(87)
8.1.10 黄柏	(88)
8.1.11 莲子心	(90)
8.1.12 川芎	(91)
8.1.13 附子	(91)
8.1.14 吴茱萸	(92)
8.1.15 延胡索	(94)
8.1.16 浙贝母	(97)
8.1.17 夏天无	(99)
8.1.18 黄花乌头	(100)
8.1.19 雷公藤	(102)
8.1.20 太子参	(103)
8.1.21 雁来红	(104)
8.2 黄酮类	(106)
8.2.1 概述	(106)
8.2.2 白花败酱草	(107)
8.2.3 长瓣金莲花	(109)
8.2.4 淫羊藿	(110)
8.2.5 黄芪	(112)
8.2.6 黄芩	(115)
8.2.7 显齿蛇葡萄	(118)
8.2.8 木蝴蝶	(120)
8.2.9 野葛	(122)
8.2.10 银杏叶	(123)
8.2.11 沙棘	(123)
8.2.12 藤黄	(125)
8.2.13 柳叶菜	(126)
8.2.14 知母	(127)

8.2.15	青蒿	(129)
8.2.16	大豆	(129)
8.2.17	毛叶黄牛木	(132)
8.2.18	驱虫斑鸠菊	(133)
8.2.19	越橘	(135)
8.2.20	茯苓	(136)
8.2.21	牡丹花	(136)
8.2.22	白花蛇舌草	(138)
8.2.23	甘草	(138)
8.3	多酚类	(139)
8.3.1	概述	(139)
8.3.2	知母	(141)
8.3.3	金银花	(142)
8.3.4	虎杖	(142)
8.3.5	茶	(144)
8.3.6	花青素	(156)
8.3.7	苹果	(159)
8.3.8	山茱萸	(160)
8.3.9	红景天	(162)
8.3.10	元宝枫	(164)
8.3.11	紫锥菊	(166)
8.3.12	丁香	(167)
8.3.13	石榴皮	(168)
8.3.14	丹参	(169)
8.3.15	葡萄	(171)
8.3.16	肉苁蓉	(174)
8.3.17	<i>Paepalanthus microphyllus</i>	(175)
8.3.18	何首乌	(176)
8.4	醌类	(177)
8.4.1	概述	(177)
8.4.2	大黄	(177)
8.4.3	虎杖	(182)
8.4.4	茜草	(186)
8.4.5	决明子	(186)
8.4.6	丹参	(187)
8.4.7	芦荟	(192)
8.4.8	何首乌	(195)
8.4.9	紫草	(197)

8.5 萜类和挥发油	(198)
8.5.1 萜类概述	(199)
8.5.2 紫杉醇半合成前体	(200)
8.5.3 白果内酯	(202)
8.5.4 番茄红素	(202)
8.5.5 虾青素	(204)
8.5.6 叶黄素	(205)
8.5.7 穿心莲	(207)
8.5.8 角鲨烯	(208)
8.5.9 南蛇藤	(209)
8.5.10 白芍	(210)
8.5.11 木香	(210)
8.5.12 冬凌草	(212)
8.5.13 铁线莲	(213)
8.5.14 挥发油	(214)
8.6 木脂素类	(216)
8.6.1 概述	(216)
8.6.2 当归	(217)
8.6.3 刺五加	(218)
8.6.4 丹参	(219)
8.6.5 亚麻籽	(221)
8.6.6 厚朴	(222)
8.6.7 牛蒡子	(224)
8.6.8 五味子	(226)
8.6.9 维基尼亚木兰	(229)
8.6.10 石炭酸灌木	(229)
8.6.11 连翘	(231)
8.6.12 板蓝根	(232)
8.7 香豆素	(233)
8.7.1 香豆素类概述	(233)
8.7.2 <i>Lomatium dissectum</i>	(235)
8.7.3 羌活	(237)
8.7.4 蛇床子	(239)
8.7.5 胀果甘草	(242)
8.7.6 白芷	(243)
8.7.7 补骨脂	(246)
8.7.8 白花前胡	(248)
8.7.9 紫花前胡	(250)

8.7.10 秦皮	(252)
8.7.11 瑞香狼毒	(253)
8.7.12 百里香	(255)
8.7.13 盘龙参	(256)
8.8 皂苷类	(258)
8.8.1 概述	(258)
8.8.2 洋地黄	(259)
8.8.3 三七	(260)
8.8.4 甘草	(261)
8.8.5 结香	(262)
8.8.6 天麻	(263)
8.8.7 车前草	(264)
8.8.8 菝葜	(265)
8.8.9 人参	(267)
8.8.10 石榴皮	(268)
8.8.11 栀子	(270)
8.9 其他	(271)
8.9.1 概述	(271)
8.9.2 甾醇	(271)
8.9.3 珍珠草	(272)
8.9.4 葡萄籽	(273)
8.9.5 葶苈	(273)
参考文献	(275)

第 1 章 逆流色谱技术基础

1.1 逆流色谱的起源与发展

逆流色谱起源于最简单的液-液分配装置——实验室里常用的液液分配萃取。1891年, Nernst 首先提出分配定律, 认为当溶质溶解在平衡的互不相溶的两相溶剂系统中的一相中时, 溶质会自动在两相中分配, 在一定的温度下, 溶质在两相中浓度之比是一个常数, 可用下列方程表示:

$$K = c_1 / c_2 \quad (1-1)$$

式中, c_1 和 c_2 分别代表溶质分子在第一相和第二相中的浓度, K 为分配常数。待分离的样品置于盛有互不相溶两相溶剂的分液漏斗中, 经振荡后静置。样品会在两相中按照分配系数进行分配。不同的溶质在不同的溶剂系统中有着不同的分配系数, 若两种溶质分子在两相溶剂系统中的分配系数差别较大, 在分液漏斗中经过一次或数次萃取即可达到分离目的。但是实际需要分离的物质经常是性质较为相似的复杂混合物, 分配系数相差较小, 需要进行成百上千次萃取才能实现分离。这就给用分液漏斗来实现分离这样的物质带来许多困难, 既费时(有时需数十天), 又浪费溶剂。

20 世纪 30 年代初, Jantzen^[1] 对工业上的混合分离单元首先使用了逆流分配术语, 并发展了实验室规模的逆流分配装置。1941 年 Martin 和 Synge^[2] 设计了一种级联型萃取装置, 在研究这一装置过程中, 使用了多孔固态载体支撑一种液体, 而让另一不互溶的液体通过载体, 从而产生了分配色谱。逆流分溶法的创始人 Craig^[3], 发明了非连续式的逆流分配(Countercurrent Distribution, 简称 CCD 装置), 经过广泛研究, 设计了几种 CCD 仪器, 他认为逆流分溶不仅是色谱方法, 而且适用多种类型物质的分离——这一设计很快被化学家所接受, 用于分离极性较大的组分, 如天然产物、多肽和其他生物大分子。Craig 发明的逆流分溶法是一种不连续过程, 理论和操作都简单, 与我们通常在实验室里用分液漏斗萃取相似。这种仪器的主要缺点是: 仪器设备庞大复杂, 溶剂系统易乳化, 溶剂消耗量大和分离操作时间太长等。此后, 又出现过多种液-液分配分离装置和仪器, 但因没有根本上的突破, 因此均未得到推广应用。

日本学者 Ito 等首先在日本, 随后在美国的国家医学科学研究院发现了一种有趣的现象: 不互溶的两相溶剂在绕成螺旋形的小口径管子里能在重力场的作用下实现物质在两相溶剂间的连续分配。而当螺旋管柱在一离心力场内转动时, 随着转速的增加, 两相溶剂的混合程度、分配效率、管柱的利用率及物质在固定相的保留值也随之增加。如果把待分离样品从管子的入口引入, 连续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。由此设计制造了多种逆流色谱仪。

另外一种逆流色谱仪,液滴逆流色谱仪(Droplet Countercurrent Chromatography,简称 DCCC),于 1970 年由 Tanimura 等^[4]研制,它采用一系列竖直管柱,两相溶剂中的一相在管柱中通过另一相时,以小液滴的形式流过,从而实现了物质在两相溶剂的连续分配。各种逆流色谱仪的出现时间列于表 1-1 中。

表 1-1 各种逆流色谱仪的出现年代

仪器	发明者	年代	参考文献
螺旋管行星式离心色谱仪	Ito 等	1966	[5]
螺旋形逆流色谱仪	Ito 和 Bowman	1970	[6]
液滴逆流色谱仪	Tanimura 等	1970	[4]
旋转和回旋腔室逆流色谱仪	Ito 和 Bowman	1970	[7]
连续洗脱型逆流色谱仪	Ito 和 Bowman	1972	[9]
倾斜角转子逆流色谱仪	Ito 和 Bowman	1975	[10]
慢旋转螺旋管制备型逆流色谱仪	Ito 和 Bowman	1977	[11]
水平流通式逆流色谱仪	Ito	1978	[12]
非同步逆流色谱仪	Ito 等	1979	[13]
高速逆流色谱仪	Ito	1981	[14]
离心液滴逆流色谱仪	Murayama 等	1982	[15]
双向逆流色谱仪	Lee 等	1988	[16]
多螺旋管逆流色谱仪	Ito 等	1988	

由 Ito 首创的离心式螺旋管逆流色谱技术,逐渐发展成为一个新兴的分离科学分支。其特点在于:它既具有 CCD 不用固态支撑体所带来的各种优点,又具有现代色谱连续、自动、快速、高效的特点。

近几年来,逆流色谱已在理论、仪器设计、实验方法和应用研究等方面取得了较大的成就。随着应用范围的拓展,商品化的仪器越来越多。北京新技术应用研究所张天佑等也很快研制出了离心式螺旋管逆流色谱仪、高速逆流色谱仪等,并出版了专著,为我国的色谱工作者研究和应用逆流色谱创造了条件。

1.2 逆流分溶法简介

逆流分溶法(CCD)由 Craig^[3]创立,其目的在于利用多次的分配操作分离分配系数较接近的物质。CCD 是液液分配分离的最基础的方法,尽管当今已经发展出多种更高效的逆流色谱方法,但是 CCD 法的基本原理仍然得到普遍应用,特别是在 CCD 法广为利用的年代所积累的关于溶剂系统的选择和实验条件的分析等经验,至今仍然值得借鉴。因此,我们在讨论现代逆流色谱技术之前,先对 CCD 作一些简单的介绍是有益的。其原理如下:

在多个分液漏斗中加入已平衡好的两个互不混溶的溶剂系统的下相,把某种溶质 X 溶解 0 号分液漏斗中,并加入溶剂系统的上相。经过充分振摇混合达到分配平衡后,分离出上相转移到 1 号分液漏斗中,与其中的下相达到分配平衡。分离出 1 号分液漏斗中上相,转移到 2 号分液漏斗中,与其中的下相达到分配平衡,依次往下进行。在分离出上相的 0 号分液漏斗中重新加入新的上相,按上述操作依次进行。CCD 操作过程可用图 1-1 表示:

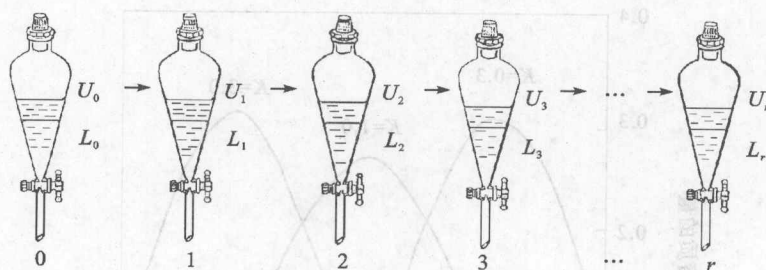


图 1-1 CCD 操作过程

假定已选好一适宜的两相溶剂系统,所用上、下相的体积相同, X 在两相中的分配系数 $K=1$ 。假设有编号从 0~8 的 9 个试管,每个试管中加入体积相同的下相溶剂。然后,在 0 号试管中加入 1.000 g X ,再加入同下相体积相等的上相溶剂,经过充分振摇和分配平衡之后,溶质 X 在上下两相中应各溶解 0.500 g。这时,把 0 号试管中的上相完全转移到 1 号试管中,使 0 号试管中只留下溶有 0.500 g 溶质 X 的下相。重复前述的操作,再对 0 号试管加入相同体积的上相,同时振摇 0 号和 1 号两试管,使之达到分配平衡状态,这时,0 号和 1 号试管的上相内都应溶有 0.250 g 的溶质 X 。下一步把 0 号和 1 号试管的上相分别转移到 1 号和 2 号试管中,在 0 号试管中加入新的上相,再使 0,1 和 2 三个试管同时振摇和达到分配平衡,如此反复进行,达到多级分配的效果。表 1-2 列出了经过几次操作在 0~8 号试管中的溶质含量。

表 1-2 CCD 多级分配传递的原理示意数值表

试管号 操作次数	0	1	2	3	4	5	6	7	8
0	1.000								
1	0.500	0.500							
2	0.250	0.500	0.250						
3	0.125	0.375	0.375	0.125					
4	0.062	0.250	0.375	0.250	0.062				
5	0.031	0.156	0.313	0.313	0.156	0.031			
6	0.015	0.093	0.234	0.313	0.234	0.093	0.015		
7	0.008	0.054	0.164	0.274	0.274	0.164	0.054	0.008	
8	0.004	0.031	0.109	0.219	0.274	0.219	0.109	0.031	0.004

由表 1-1 可以看出,经过 8 次操作后,含量最大值的管号为 4 号。很明显,当物质在两相中的分配系数不同时,跟随上相向前移动的速度也不同,分配系数越大的物质,向前移动的速度越快。

图 1-2 给出经过 8 次操作后各试管中不同分配系数 $K=0.3, 1.0$ 和 3.0 的溶质的分配结果。由此可见,经过 8 次操作, K 值相差较大的两种溶质可较好地分离开来。

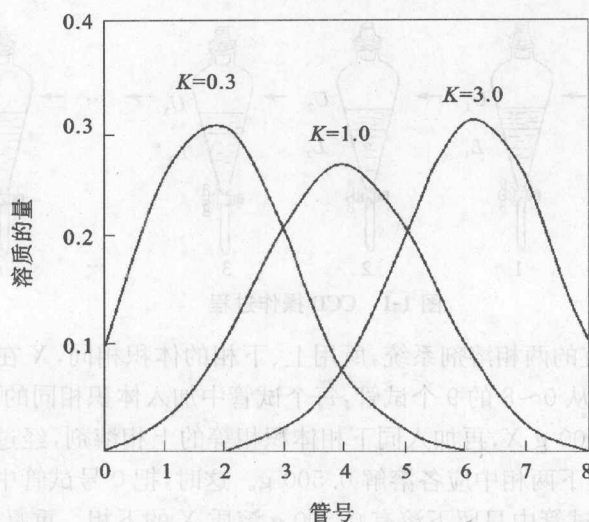


图 1-2 经过 8 次操作后分配系数 $K=0.3, 1.0$ 和 3.0 的溶质在各管中的量

按照 Craig 的逆流分溶法,在进行实际分离操作时,手工操作工作量非常大。为此, Craig 应用上述原理设计出了逆流分溶装置(Countercurrent Distribution Machine)。他设计制作了特制的试管式的部件(图 1-3),并装置在一个能转动的台架上,以半自动的方式使试管部件和其中的两相溶剂同时振摇,静置分层,转移传递。利用这种方法, Craig 设计制作了由几十个管到 1 000 个管组成的逆流分溶装置。图 1-4 为 30 个管组成的逆流分溶装置,图 1-5 为 1 000 个管组成的逆流分溶装置。

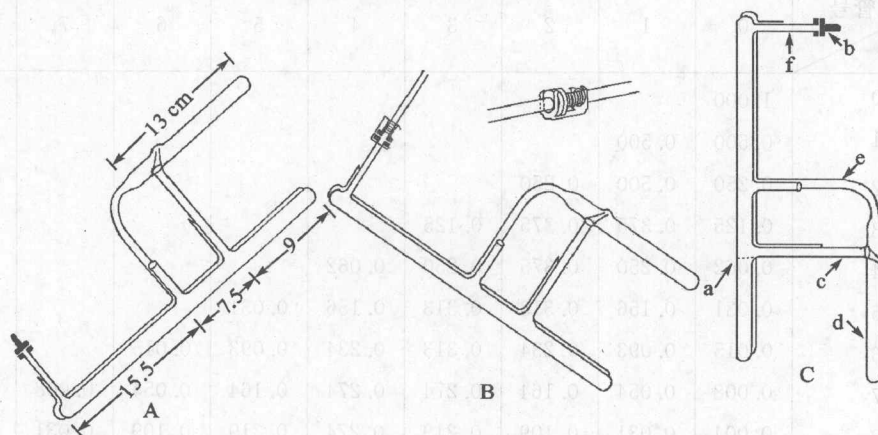


图 1-3 Craig 设计的试管式部件

Craig 的逆流分溶装置由于庞大复杂、溶剂系统易乳化、溶剂消耗量大等原因,并未得到广泛应用。尽管如此,但 Craig 的逆流分溶思想却影响深远,后来研制的各种逆流色谱仪器都是基于逆流分配的原理。

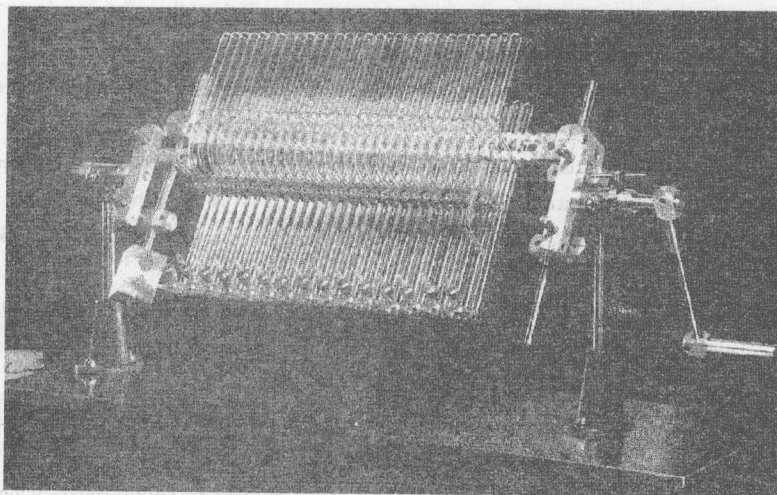


图 1-4 30 个管组成的逆流分溶装置

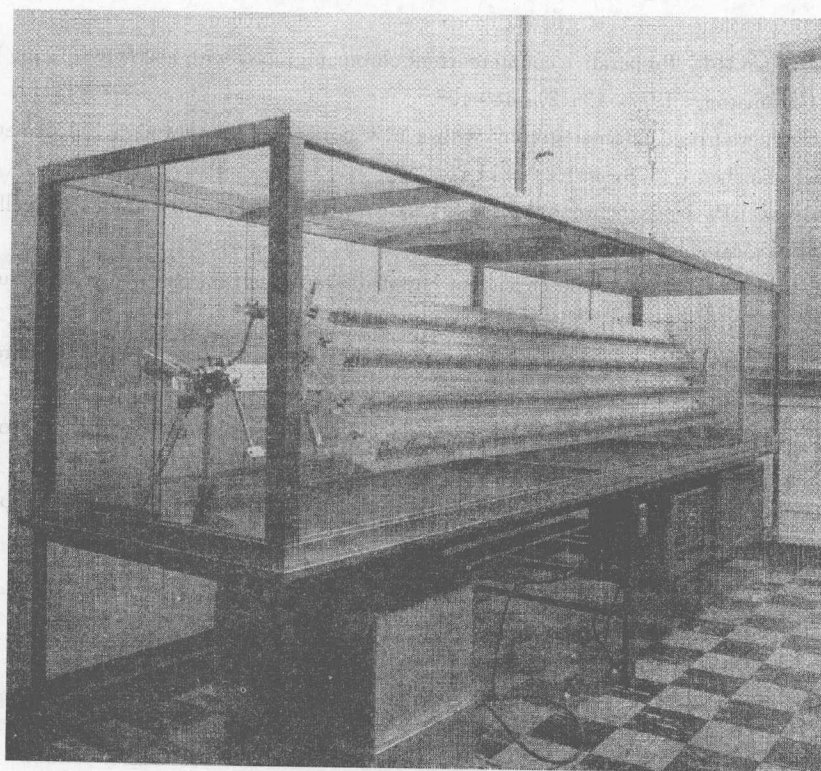


图 1-5 1 000 个管组成的逆流分溶装置

参考文献

- [1] Jantzen E, Das fraktionierte Destillieren das fraktionierte verteilen als methoden zur Tiennung von Staffgemischen [M]. Verlag Chemie, Berlin, 1932.
- [2] Martin A J P, Synge R L M. The separation of the higher mono amino acids by counter current liquid extraction: the amino acid composition of wool [J]. J. Biochem. 1941, 35: 91-121.
- [3] Craig L C. Identification of small amounts of organic compounds by distribution studies. II. Separation by counter-current distribution [J]. J. Biol. Chem. 1944, 155: 519-534.
- [4] Tanimura T, Pisano J, Ito Y, et al. Droplet countercurrent chromatography [J]. Science, 1970, 169: 54-56.
- [5] Ito Y, Meinstein, Aoki I. The Coil Planet Centrifuge [J]. Nature, 1966, 212: 985-987.
- [6] Ito Y, Bowman R L. Countercurrent chromatography: liquid-liquid partition chromatography without solid support [J]. Science, 1970, 167: 281-283.
- [7] Ito Y, Bowman R L. Countercurrent chromatography: Liquid-liquid partition chromatography without solid support [J]. J. Chromatogr. Sci. B, 1970: 315-323.
- [8] Ito Y, Bowman R L, Noble F W. The elution centrifuge applied to countercurrent chromatography [J]. Anal. Biochem, 1972, 49(1): 1-8.
- [9] Ito Y, Bowman R L. Angle rotor countercurrent chromatography [J]. Anal. Biochem, 1975, 65(1-2): 310-320.
- [10] Ito Y, Bowman R L. Preparative countercurrent chromatography with a slowly rotating helical tube [J]. J. Chromatogr, 1977, 136(2): 189-198.
- [11] Ito Y. Countercurrent chromatography with a new horizontal flow-through coil planet centrifuge [J]. Anal. Biochem, 1978, 100(2): 271-281.
- [12] Ito Y, Carmeci P. Nonsynchronous flow-through coil planet centrifuge applied to cell separation with physiological solution [J]. Anal. Biochem, 1979, 94(2): 249-252.
- [13] Ito Y. Efficient preparative counter-current chromatography with a coil planet centrifuge [J]. J. Chromatogr, 1981, 214(1): 122-125.
- [14] Murayama W, Kobayashi T, Kosuge Y, et al. A new centrifugal counter-current chromatograph and its application [J]. J. Chromatogr, 1982, 239: 643-649.
- [15] Lee Y W, Cook C E, Ito Y. Dual Countercurrent Chromatography [J]. J. Liq. Chromatogr. & Rel. Tech., 1988, 11: 37-53.
- [16] Ito Y, Chou F E. New high-speed counter-current chromatograph equipped with a pair of separation columns connected in series [J]. J. Chromatogr, 1988, 454: 382-386.