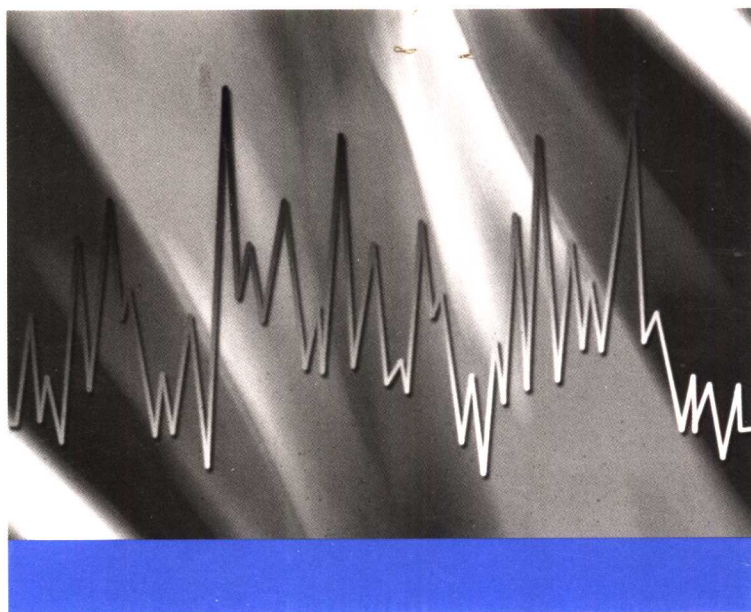


曹学丽 编著

高速逆流色谱分离技术及应用



Chemical Industry Press



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

高速逆流色谱分离技术及应用

曹学丽 编著



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目(CIP)数据

高速逆流色谱分离技术及应用/曹学丽编著. --北京:
化学工业出版社, 2005.2

ISBN 7-5025-6518-3

I. 高… II. 曹… III. 分离-色谱法 IV. O658.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 139482 号

高速逆流色谱分离技术及应用

曹学丽 编著

责任编辑:路金辉 梁虹

文字编辑:丁建华

责任校对:李林

封面设计:于剑凝

*

化学工业出版社 出版发行

化学与应用化学出版中心

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码 100029)

发行电话:(010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 720mm×1000mm 1/16 印张 29 字数 489 千字

2005 年 3 月第 1 版 2005 年 3 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6518-3/TQ·2140

定 价: 48.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

内 容 提 要

高速逆流色谱 (HSCCC) 技术正在发展成为一种备受关注的新型分离纯化技术, 已经广泛应用于生物医药、天然产物、食品和化妆品等领域。本书详细介绍了 HSCCC 的理论、技术与应用, 全书共分 15 章, 第 1~4 章着重阐述逆流色谱 (CCC) 基础知识以及 HSCCC 分离机理、工作方法及溶剂选择策略; 第 5~8 章主要介绍近年来 HSCCC 发展过程中形成的新技术、新方法, 包括分析型高速逆流色谱、双向逆流色谱、pH-区带精制逆流色谱、正交轴逆流色谱; 第 9~15 章对逆流色谱技术 (主要是 HSCCC 技术) 在各个领域的应用研究成果进行了报道, 包括 HSCCC 在天然植物有效成分、海洋生物活性成分、抗生素的分离中的应用, 双水相逆流色谱、离心沉淀色谱在蛋白质等分离中的应用, 逆流色谱在手性分离和天然药物工业中的应用。

可供天然产物、中药、药品、食品、化妆品及生物工程等领域的研发人员、技术 (分析、分离等) 人员使用, 也可供高等院校相关专业师生参考。

PREFACE

High-speed countercurrent chromatography (HSCCC) is considered to be the most advanced form of countercurrent chromatography. Besides the standard HSCCC technique, the method comprises a variety of other operation modes such as pH-zone-refining CCC, analytical HSCCC/MS, chiral CCC, foam CCC and liquid-liquid dual CCC, each offering specific application to the separation and purification of natural and synthetic products. Although over several CCC monographs have been published during the past 20 years, only one monograph—published in 1996—is solely devoted to the HSCCC technique. Since its publication, the HSCCC technique has been steadily advanced resulting in a number of publications of research papers. In 2000, the first International Conference on CCC was held in the suburb of London, UK, followed by the 2nd conference in Beijing, China in 2002, and the 3rd conference in Tokyo, Japan in 2004. In each meeting a majority of the papers reported the topics on theory and application of HSCCC. I believe that a new monograph on HSCCC is now highly demanded for the current CCC users as well as the beginners of this highly useful separation technique.

The author, Dr. Xueli Cao, has been devoted to the HSCCC technique for the past 10 years. I have been honored 15 joint publications with her on the purification of natural products, and in most cases she has conducted HSCCC separations by her own hands. This monograph on HSCCC is a very special gift for natural product chemists who are engaged with a difficult task of purification of target compound(s) from a complex mixture of crude extracts. As it was written in Chinese, it will be especially useful for Chinese colleagues who are involved in the separation and purification of natural products in the field of food, pharmaceutical, Chinese traditional herbs, and bioseparation etc.



前 言

高速逆流色谱 (high-speed countercurrent chromatography, HSCCC) 是 20 世纪 80 年代发展起来的一种连续高效的液-液分配色谱分离技术。它利用两相溶剂体系在高速旋转的螺旋管内建立起一种特殊的单向性流体动力学平衡, 当其中一相作为固定相, 另一相作为流动相, 在连续洗脱的过程中能保留大量固定相。由于不需要固体支撑体, 物质的分离依据其在两相中分配系数的不同而实现, 因而避免了因不可逆吸附而引起的样品损失、失活、变性等, 不仅使样品能够全部回收, 回收的样品更能反映其本来的特性, 特别适合于天然生物活性成分的分离。而且由于被分离物质与液态固定相之间能够充分接触, 使得样品的制备量大大提高, 是一种理想的制备分离手段。它相对于传统的固-液柱色谱技术, 具有适用范围广、操作灵活、高效、快速、制备量大、费用低等优点。目前 HSCCC 技术正在发展成为一种备受关注的新型分离纯化技术, 已经广泛应用于生物医药、天然产物、食品和化妆品等领域。

目前, 国际上有数十个国家和地区的著名研究机构 and 大学在从事逆流色谱 (CCC) 技术的研究及应用工作。其中包括美国国立卫生研究院 (NIH)、英国的 Brunel 大学、瑞士洛桑大学、法国的里昂大学等。2000 年 9 月, 第一届国际逆流色谱学术会议 CCC-2000 在英国伦敦召开, 由英国 Brunel 大学组织承办。数十个国家和地区的专家学者首次会聚, 交流和总结了二三十年来逆流色谱技术在理论研究、设备研制、应用领域等方面的成果, 它标志着此项新颖的分离纯化技术进入了成熟和实用的历史发展阶段。第二届国际逆流色谱学术会议 CCC-2002 于 2002 年 4 月在北京召开, 由中国化学会和北京市新技术研究所共同组织承办, 该次会议更突出了高速逆流色谱技术在天然产物研究与开发方面的应用主题。第三届国际逆流色谱学术会议 CCC-2004 刚刚于 2004 年 8 月在日本东京结束, 由东京星药科大学、日本大学药理学部和日本爱知县公共卫生研究所共同组织承办, 这次会议是逆流色谱学术界的又一次盛会。第四届国际逆流色谱学术会议 CCC-2006 将于 2006 年 7 月于美国召开。

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, 属

于国际上少数几个起步较早的国家之一。近年来,随着逆流色谱技术的发展,国际上每年都不断有新的技术和应用研究成果报道出来,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。由张天佑教授于1991年编写的《逆流色谱技术》一书一直是从事逆流色谱技术工作者的惟一中文参考书,该书着重对逆流色谱仪器的原理和研制进行了较为详细的阐述。随着逆流色谱技术在我国生命科学、生物医药以及中药现代化等领域越来越广泛的应用,需要一本既能反映该项技术的发展概况和最新研究成果,又能在使入门者了解逆流色谱技术的基本原理的同时,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的参考书。这是作者编撰此书的最初想法。

本书兼顾理论、技术与应用三个方面。第1章就逆流色谱的基本概念、发展渊源以及与高效液相色谱(HPLC)的比较进行了概述,使读者对逆流色谱技术有一个初步的了解和整体的定位。第2章~第4章着重对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进行了阐述,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5章~第8章则主要介绍一些近年来在高速逆流色谱发展过程中形成的新技术和新方法,包括分析型HSCCC及其与质谱等鉴定技术的联用、双向HSCCC、pH-区带精制CCC和正交轴CCC等。第9章~第15章重点对逆流色谱技术在各个领域的应用研究成果进行了报道,给出大量翔实的应用研究实例,希望对该技术的具体应用提供有意义的指导。其中包括在天然植物有效成分分离、海洋生物活性成分分离、抗生素分离、多肽和蛋白质等生物大分子分离以及手性分离等方面的应用。最后还专门讨论了逆流色谱技术在新药研发以及天然药物工业中的应用,对逆流色谱技术在工业放大过程中的一些关键问题进行了探讨。希望本书能成为一本在天然产物、中药现代化,以及食品、生物工程、化妆品等相关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500余篇文献资料,吸纳了国内外众多专家的研究成果,在此首先对他们表示衷心感谢。同时,在本书的编撰过程中得到了北京工商大学化学与环境工程学院及北京市植物资源研究开发重点实验室的关心和支持,尤其要感谢学院副院长重点实验室主任董银卯研究员的大力支持和扶植。中国科学院研究生院的马晓丰博士后在第9章和第10章的资料收集、整理方面做了大量工作,并撰写了第9章的部分内容。历刃、黄丹凤、李攀同志也参与了部分资料的收集工作。历刃同志还为本书的图表制作做了大量

而细致的工作。本书在撰写过程中还得到赵华、刘杨秋、何聪芬、兰社益、陆辛孜等同志的关心和帮助。在此谨向他们表示衷心的感谢。

作者本人具有多年从事逆流色谱技术研究及应用的经验,近年来在该研究领域得到了国家自然科学基金(20376002)、北京市自然科学基金(2042006)、北京市教委科技发展计划项目(KM200410011001)、北京市科技新星计划项目(951873900)以及北京市“优秀人才培养专项经费”等项目的资助。在国内外学术期刊发表论文三十余篇,在英文学术期刊 Journal of Chromatography A 和 Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies 等上发表论文十多篇,SCI 收录 12 篇。曾参加了上述三届国际逆流色谱学术会议,有幸与众多国际学术领域的专家、学者相识,并进行了面对面的交流,与高速逆流色谱技术的创始人美国国立卫生研究院(NIH)的 Yoichiro Ito 教授一直保持密切的合作关系,得到了很多的指导和帮助。Ito 教授还在百忙中抽出时间为本书作序,使本书增色不少。

尽管如此,由于本书所涉及的知识领域较为广泛,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、学者和从事该项技术研究和应用的同志给予批评和指正。同时,也希望越来越多的专家、学者加入到逆流色谱的研究领域当中来,使我国在该领域的研究工作能够保持国际先进水平。

曹学丽

于北京工商大学

2005 年 3 月

目 录

第 1 章 逆流色谱基础	1
1.1 逆流色谱的概念	1
1.2 逆流色谱的发展	1
1.2.1 逆流分溶法	1
1.2.2 液滴逆流色谱	2
1.2.3 离心分配色谱和螺旋管式逆流色谱	2
1.2.4 高速逆流色谱和正交轴逆流色谱	4
1.2.5 pH-区带精制逆流色谱	4
1.2.6 离心沉淀色谱	4
1.2.7 螺旋形圆盘柱式高速逆流色谱	5
1.2.8 逆流色谱的发展趋势	5
1.3 现代逆流色谱仪器体系	6
1.3.1 流体静力学平衡体系	6
1.3.2 流体动力学平衡体系	7
1.3.3 两种体系的逆流色谱仪的比较	8
1.4 逆流色谱的基本色谱理论	9
1.4.1 溶质的保留	9
1.4.2 保留因子和选择性	10
1.4.3 分离度	11
1.5 逆流色谱和液相色谱的比较	11
1.5.1 理论塔板数的工作范围	12
1.5.2 逆流色谱的制备性分离	13
1.5.3 逆流色谱和液相色谱的互补性	13
参考文献	14
第 2 章 高速逆流色谱分离机理	16
2.1 重力场中旋转螺旋管内流体动力分布	16
2.2 不用旋转密封接头的流通式离心分离仪	20
2.3 同步行星式运动旋转螺旋管内流体动力分布	22
2.4 高速逆流色谱的单向流体动力平衡机理	24

2.5 高速逆流色谱仪器系统	26
2.6 相分布图	30
2.7 影响相分布的物理参数	33
2.7.1 β 值的影响	33
2.7.2 溶剂体系的物理特性和分层时间	35
2.7.3 温度对分层时间的影响	37
参考文献	37
第3章 高速逆流色谱工作方法	39
3.1 溶剂体系的准备	39
3.1.1 溶剂体系的选择原则	39
3.1.2 几种常用的溶剂体系选择方法	40
3.1.3 溶剂体系的平衡	42
3.1.4 温度的影响	42
3.2 柱系统的准备	42
3.3 样品溶液的准备和进样	43
3.4 洗脱方式	44
3.4.1 梯度洗脱	44
3.4.2 双向洗脱	48
3.4.3 清空柱子	50
3.5 检测	50
3.5.1 紫外-可见光检测器	50
3.5.2 蒸发光散射检测器	51
3.5.3 傅里叶红外光谱检测器	51
3.5.4 薄层色谱检测器	52
3.6 高速逆流色谱的优点	52
参考文献	53
第4章 溶剂体系的选择策略	55
4.1 溶剂体系的物理参数	55
4.1.1 Hildebrand 溶解度参数	56
4.1.2 Snyder 吸附溶剂强度参数	56
4.1.3 Rohrschneider 和 Snyder 极性参数	57
4.1.4 Reichardt 极性指数	58
4.1.5 HSCCC 中应采用的极性指数	60
4.2 三元溶剂体系	60

4.2.1 三元相图	60
4.2.2 三元相图的类型	62
4.2.3 三元溶剂体系的选择策略	64
4.3 多元溶剂体系	71
4.3.1 Ito 方法	71
4.3.2 Oka 方法	72
4.3.3 HBAW 方法	72
4.3.4 ARIZONA 方法	74
4.3.5 扩展的“ARIZONA”方法	75
4.3.6 乙基乙二醇二甲基醚体系	75
4.3.7 丙酮溶剂系列	76
4.3.8 Abbott 方法	77
4.4 一种实用性的溶剂选择思路	78
参考文献	79
第5章 分析型高速逆流色谱	80
5.1 概述	80
5.2 分析型 HSCCC 的原理及仪器	80
5.3 分析型 HSCCC 的应用	82
5.3.1 溶剂体系的快速筛选	82
5.3.2 分配系数的测定	84
5.3.3 小量天然产物样品的分离	87
5.3.4 中药指纹图谱研究方面的应用	90
5.4 分析型 HSCCC 与质谱联用技术	92
5.4.1 与热喷雾质谱的联用	93
5.4.2 与电子电离、化学电离和快原子轰击质谱的联用	94
5.4.3 与电喷雾质谱的联用	104
参考文献	108
第6章 双向逆流色谱	110
6.1 双向逆流色谱的原理和机制	110
6.2 双向逆流色谱的应用	112
6.3 泡沫逆流色谱及其应用	115
参考文献	122
第7章 pH-区带精制逆流色谱	123
7.1 pH-区带精制逆流色谱的发展	123

7.2 pH-区带精制逆流色谱的理论机理	129
7.2.1 反向置换模式	130
7.2.2 正向置换模式	131
7.2.3 pH-区带精制逆流色谱与置换色谱法的比较	132
7.3 典型 pH-区带精制逆流色谱的应用	133
7.3.1 氨基酸衍生物的分离	135
7.3.2 肽类衍生物的分离	140
7.3.3 氧杂蒽染料的分离	142
7.3.4 生物碱的分离	145
7.3.5 酸性成分的分离	149
7.4 pH-区带精制逆流色谱在亲和分离中的应用	156
7.4.1 对映异构体的分离	157
7.4.2 儿茶酚胺的分离	158
7.4.3 肽类的分离	159
7.4.4 蛋白质的分离	161
7.4.5 磺化物的分离	161
7.5 pH-区带精制逆流色谱分离的有关技巧	164
7.5.1 样品和样品溶液	164
7.5.2 溶剂体系	165
7.5.3 实验条件的优化	167
7.5.4 分离过程	168
7.6 pH-区带精制逆流色谱的优点和局限性	168
参考文献	169
第 8 章 正交轴逆流色谱	171
8.1 正交轴逆流色谱仪的设计原理	171
8.2 正交轴逆流色谱仪同轴螺旋管内的相分布特性	174
8.3 正交轴逆流色谱仪操作条件的优化	180
8.4 正交轴逆流色谱与高速逆流色谱的比较	182
8.4.1 固定相的保留	182
8.4.2 分离效率	183
8.5 正交轴逆流色谱的应用	184
8.5.1 低极性有机相/水相体系	184
8.5.2 极性有机相/水相体系	185
8.5.3 双水相聚合物体系	185
参考文献	186

第 9 章 天然植物有效成分的分离	188
9.1 生物碱类	188
9.1.1 概述	188
9.1.2 茶叶生物碱	191
9.1.3 黄连生物碱	192
9.1.4 高乌头生物碱	195
9.1.5 异喹啉类生物碱	197
9.2 黄酮类	198
9.2.1 概述	198
9.2.2 银杏黄酮和沙棘黄酮	201
9.2.3 木蝴蝶黄酮	203
9.2.4 黄芪中的毛蕊异黄酮	204
9.2.5 葛根异黄酮	205
9.2.6 大豆异黄酮	207
9.3 多酚类	210
9.3.1 概述	210
9.3.2 白藜芦醇、白藜芦醇苷及其类似物	214
9.3.3 绿茶中的儿茶素	214
9.3.4 红茶中的茶黄素	220
9.3.5 原花青素	222
9.3.6 花青素和花青苷	225
9.3.7 红景天苷	228
9.3.8 肉苁蓉中的类叶升麻苷	231
9.3.9 金银花中的绿原酸	232
9.4 醌类	236
9.4.1 概述	236
9.4.2 大黄蒽醌	237
9.4.3 虎杖蒽醌苷	238
9.4.4 丹参菲醌	238
9.4.5 紫草素	241
9.5 萜类	243
9.5.1 概述	243
9.5.2 紫杉醇半合成前体	244
9.5.3 穿心莲内酯	245
9.5.4 甜瓜中的葫芦素	246

9.5.5 番茄红素	247
9.5.6 叶黄素	250
9.6 木质素	253
9.6.1 概述	253
9.6.2 丹参木质素	254
9.6.3 胡麻木质素	256
9.7 香豆素类	258
9.7.1 概述	258
9.7.2 羌活香豆素	259
9.7.3 蛇床子香豆素	259
9.8 皂苷类	264
9.8.1 概述	264
9.8.2 三七皂苷	264
9.9 其他	267
9.9.1 β -谷甾醇、菜油甾醇和豆甾醇	268
9.9.2 葡萄籽不饱和脂肪酸	270
9.10 结论	272
参考文献	274
第 10 章 海洋生物活性成分的分离	278
10.1 海洋天然产物的分离技术	280
10.2 HSCCC 分离海洋活性成分的应用	281
10.2.1 大环内酯类	281
10.2.2 聚醚类	284
10.2.3 萜类和甾体化合物	286
10.2.4 肽类	288
10.2.5 含氮的杂环化合物	290
10.2.6 类胡萝卜素	302
10.3 结论	303
参考文献	303
第 11 章 抗生素的分离	306
11.1 大环内酯类抗生素的分离	309
11.1.1 2-去甲红霉素、尼达霉素、台勾霉素、科拉多菌素	310
11.1.2 孢绿菌素	311
11.1.3 伊氟霉素	313

11.1.4	螺旋霉素	315
11.1.5	子囊霉素、FK-506 和雷帕霉素	316
11.1.6	红霉素	317
11.2	肽抗生素的分离	320
11.2.1	杆菌肽	321
11.2.2	黏杆菌素	323
11.2.3	WAP-8294A 抗生素	324
11.3	抗真菌抗生素的分离	328
11.4	结论	331
	参考文献	332
第 12 章	双水相逆流色谱在蛋白质分离纯化中的应用	333
12.1	双水相聚合物体系的构成与选择	336
12.2	聚乙二醇-磷酸钾体系及其应用	337
12.2.1	聚乙二醇-磷酸钾体系的构成及固定相保留	337
12.2.2	细胞色素 c、肌红蛋白、卵白蛋白和牛血红蛋白的分离	340
12.2.3	重组酶——嘌呤核苷酸磷酸化酶、尿苷磷酸化酶的分离	345
12.2.4	高密度、低密度和非常低脂蛋白的分离	346
12.2.5	鸡蛋白蛋白的分离	352
12.3	聚乙二醇-葡聚糖聚合物体系及其应用	354
12.3.1	聚乙二醇-葡聚糖体系的特点	354
12.3.2	聚乙二醇-葡聚糖体系的固定相保留	355
12.3.3	组蛋白混合物的分离	356
12.3.4	α -球蛋白与人血清蛋白的分离	357
12.3.5	α -球蛋白与 γ -球蛋白混合物的分离	358
12.4	pH-峰聚焦双水相逆流色谱分离乳酸脱氢酶	359
12.5	双水相体系染料-配体亲和逆流色谱分离乙醇脱氢酶	361
12.6	新型柱组件系统对双水相体系固定相的保留及应用	364
12.6.1	正交轴 CPC 上的螺旋型管柱组件系统	364
12.6.2	J 型 CPC 上的螺旋型固体圆盘柱组件系统	368
	参考文献	371
第 13 章	离心沉淀色谱在蛋白质等分离中的应用	372
13.1	原理及仪器	372
13.2	蛋白质分离条件的初步研究	375
13.2.1	传质速率和膜渗透作用的研究	375

13.2.2 蛋白分离条件的优化	376
13.3 应用	379
13.3.1 蛋白质的分离	379
13.3.2 多糖的分离	385
13.3.3 其他生物大分子	389
13.4 结论	389
参考文献	389
第 14 章 逆流色谱在手性分离中的应用	390
14.1 CCC 手性分离的原理及步骤	391
14.2 CCC 手性分离的最初探索	393
14.3 各种手性试剂在 CCC 分离中的应用	394
14.3.1 N-十二烷酰基-L-脯氨酸-3,5-二甲基酰基苯胺	394
14.3.2 磺化 β -环糊精	396
14.3.3 牛血清白蛋白	398
14.3.4 万古霉素	399
14.3.5 金鸡纳生物碱衍生物	401
14.4 结论	404
参考文献	405
第 15 章 逆流色谱在天然药物工业中的应用	407
15.1 高通量筛选前的高通量分离制备方法	407
15.1.1 天然提取物的通用第一步分离方法	409
15.1.2 粗提物活性试验前的预分离方法	412
15.1.3 中药现代化研究中的应用	413
15.2 生物活性试验指导下的天然产物分离	414
15.3 高纯度药物活性成分标准品或对照品的制备	419
15.4 逆流色谱的药物工业化放大	422
15.4.1 逆流色谱放大的可能性和优越性	423
15.4.2 逆流色谱放大过程的影响因素	425
参考文献	436
附录 1 国内外一些常见的高速逆流色谱仪器及其性能简介	438
附录 2 HSCCC 分离天然植物活性成分常用溶剂体系一览表	442
附录 3 缩略语及专用术语表	448

第1章 逆流色谱基础

1.1 逆流色谱的概念

任何一种分离方法都是基于混合物中被分离组分的某种物理性质的不同而实现的。例如液-液萃取和分配色谱即是根据物质的分配系数的不同而进行分离的。逆流色谱 (countercurrent chromatography, CCC), 则结合了上述两种方法的内在优点, 它是一种简单的液-液分配色谱技术, 它不用固体支撑体来保留固定相, 因而避免了样品的不可逆吸附、失活和变性等问题, 近年来逐步发展成为一种备受关注的新型色谱分离技术。

逆流色谱可以广义地定义为: ①任何利用两相不混溶液体的色谱技术; ②其中一相以一种相对均匀的方式纵向分布在一根空管或一系列的腔体中; ③同时另一相以一定的速度通过第一相并与之混合^[1]。

一个简单的定义很难涵盖所有被称为逆流色谱的技术和仪器。主要是由于逆流色谱仪是一种多功能性仪器, 它还可以进行一些其他与色谱无关的分离过程, 比如逆流泡沫浮选、逆流萃取等。逆流色谱工作者更倾向于将那些在逆流色谱仪上实现的色谱行为称为逆流色谱。

1.2 逆流色谱的发展

溶质在两相互不混溶溶剂中的分配是一种理想的天然产物分离纯化方法。由于减少了溶质分子与固体支撑体之间各种复杂的相互作用, 这种方法不仅可以获得高纯度的分离级分, 同时具有较高的回收率和重现性。Yoichiro Ito 曾经对逆流色谱及其相关离心分离技术的发展进行过综述^[2], 这里只对逆流色谱技术发展过程中具有较大影响力和广泛应用的技术和方法的发展脉络进行梳理, 同时这些技术也是本书阐述的重点。

1.2.1 逆流分溶法

在 20 世纪 50 年代, 逆流分溶法 (countercurrent distribution, CCD)