

# 超临界流体 色谱技术

【美】Colin F. Poole © 主编  
邓惠敏 杨飞 唐盛 © 主译

SUPERCRITICAL FLUID  
CHROMATOGRAPHY

第 11 卷 (1993) 目录就在此

# 超临界流体色谱技术

[美] Colin F. Poole 主编

邓惠敏 杨 飞 唐 盛 主译

 中国轻工业出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

超临界流体色谱技术/(美)科林·普尔(Colin F. Poole)主编.邓惠敏,杨飞,唐盛主译. —北京:中国轻工业出版社,2019.10  
ISBN 978-7-5184-2521-1

I. ①超… II. ①科… ②邓… ③杨… ④唐… III. ①液相色谱  
IV. ①0657.7

中国版本图书馆CIP数据核字(2019)第121163号

责任编辑:张 靓      责任终审:唐是雯      封面设计:锋尚设计  
版式设计:砚祥志远      责任校对:吴大鹏      责任监印:张 可

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印 刷:三河市国英印务有限公司

经 销:各地新华书店

版 次:2019年10月第1版第1次印刷

开 本:720×1000 1/16 印张:27.5

字 数:570千字

书 号:ISBN 978-7-5184-2521-1 定价:108.00元

邮购电话:010-65241695

发行电话:010-85119835 传真:85113293

网 址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请与我社邮购联系调换

180563K1X101ZYW

## 本书译者人员

**主译** 邓惠敏(国家烟草质量监督检验中心)

杨 飞(国家烟草质量监督检验中心)

唐 盛(江苏科技大学环境与化学工程学院)

**译者** 沈 薇(江苏科技大学环境与化学工程学院)

李中皓(国家烟草质量监督检验中心)

王 颖(国家烟草质量监督检验中心)

刘珊珊(国家烟草质量监督检验中心)

黄贞贞(武汉大学健康学院)

李晨曦(重庆师范大学生命科学学院)

范子彦(国家烟草质量监督检验中心)

王 康(湖北省烟草质量监督检测站)

曹昌清(上海烟草集团有限责任公司)

王 源(上海烟草集团有限责任公司)

边照阳(国家烟草质量监督检验中心)

唐纲岭(国家烟草质量监督检验中心)

Supercritical Fluid Chromatography

Colin Poole

ISBN :978-0-12-809207-1

Copyright © 2017 by Elsevier Inc. All rights reserved.

Authorized Chinese translation published by China Light Industry Press Ltd..

《超临界流体色谱技术》(邓惠敏,杨飞,唐盛主译)

ISBN:9787518425211

Copyright © Elsevier Inc. and China Light Industry Press Ltd.. All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from Elsevier (Singapore) Pte Ltd. Details on how to seek permission, further information about the Elsevier's permissions policies and arrangements with organizations such as the Copyright Clearance Center and the Copyright Licensing Agency, can be found at our website: [www.elsevier.com/permissions](http://www.elsevier.com/permissions).

This book and the individual contributions contained in it are protected under copyright by Elsevier Inc. and China Light Industry Press Ltd. (other than as may be noted herein).

This edition of Supercritical Fluid Chromatography is published by China Light Industry Press Ltd. under arrangement with ELSEVIER INC.

This edition is authorized for sale in China only, excluding Hong Kong, Macau and Taiwan. Unauthorized export of this edition is a violation of the Copyright Act. Violation of this Law is subject to Civil and Criminal Penalties.

本版由 ELSEVIER INC. 授权中国轻工业出版社在中国大陆地区(不包括香港、澳门以及台湾地区)出版发行。

本版仅限在中国大陆地区(不包括香港、澳门以及台湾地区)出版及标价销售。未经许可之出口,视为违反著作权法,将受民事及刑事法律之制裁。

本书封底贴有 Elsevier 防伪标签,无标签者不得销售。

#### 注意

本书涉及领域的知识和实践标准在不断变化。新的研究和经验拓展我们的理解,因此须对研究方法、专业实践或医疗方法作出调整。从业者和研究人员必须始终依靠自身经验和知识来评估和使用本书中提到的所有信息、方法、化合物或本书中描述的实验。在使用这些信息或方法时,他们应注意自身和他人的安全,包括注意他们负有专业责任的当事人的安全。在法律允许的最大范围内,爱思唯尔、译文的原文作者、原文编辑及原文内容提供者均不对因产品责任、疏忽或其他人身或财产伤害及/或损失承担责任,亦不对由于使用或操作文中提到的方法、产品、说明或思想而导致的人身或财产伤害及/或损失承担责任。

## 译者序

超临界流体色谱的概念最早始于 20 世纪 60 年代。近年来,随着超临界流体色谱在仪器上的不断进步和革新才引起色谱分析领域的广泛关注。作为主流色谱技术气相色谱和液相色谱的补充,超临界流体色谱技术的应用也越来越广泛。

我从 2016 年开始涉足超临界流体色谱,主要从事其在同分异构体和手性异构体分离及分析中的应用研究。实验研究离不开基础理论的支撑,在开展研究工作的同时不断地查阅相关文献资料及著作。我在中文书籍检索过程中发现,超临界流体色谱常常仅在超临界流体技术科技图书的相关章节中出现,关于超临界流体色谱尚没有专门的中文著作。而进一步的英文书籍检索使我与原著 *Supercritical Fluid Chromatography* 结缘。

*Supercritical Fluid Chromatography* 全面介绍了超临界流体色谱的起源与发展、基本原理、实践应用等,内容丰富、结构清晰、文献资料完备,适合从事超临界流体色谱分析的人员查阅和学习。译者们希望该书中文版的面世,能够进一步推动超临界流体色谱技术在国内的广泛学习和实践应用。

本书的翻译工作邀请了来自于科研院所的研究人员和高校的教职人员共同参与完成,译者们已从事色谱分析工作和研究多年,具有扎实的专业知识。作为本书翻译工作的牵头人,我主要统筹任务的分配及实施,并完成了第一章和第二章超临界流体色谱发展历史和原理相关内容的翻译。第三章和第四章主要介绍超临界流体色谱柱的选择及表征,由黄贞贞翻译完成。第五章和第十一章主要介绍超临界流体分析方法的建立和验证,由王颖翻译完成。第六章介绍多重柱-超临界流体色谱,第七章和第八章主要介绍分析用超临界流体色谱仪器及超临界流体色谱-质谱联用,由杨飞翻译完成。第九章和第十章主要介绍制备超临界流体色谱,由唐盛翻译完成。第十二章介绍了超临界流体色谱在立体异构体拆分中的应用,由王康翻译完成。第十三章和第十四章分别介绍了超临界流体色谱在石油产品和脂类分析中的应用,由李晨曦翻译完成。第十五章和第十六章分别介绍了超临界流体色谱在天然产物分离和制药领域中的应用,由刘珊珊翻译完成。第十七章介绍了超临界流体色谱在食品分析领域中的应用,由唐盛和沈薇共同翻译完成。第十八章介绍了通过超临界流体色谱对物理化学性质的测定,由沈薇翻译完成。唐纲岭、边照阳、李中皓、范子彦、曹昌清、王源主要为翻译工作中遇到的疑难问题提供技术方面的指导,并参

与译稿的校对。

译者虽力求准确传达原著者的思想,但由于时间关系及水平所限,译文中难免存在疏漏或不当之处,恳请读者批评指正。

邓惠敏

# 目 录

CONTENTS

## 1 超临界流体色谱中的里程碑：发展历史及现代化 / 1

- 1.1 引言 / 1
- 1.2 20 世纪 60 年代 / 1
- 1.3 20 世纪 70 年代 / 3
- 1.4 20 世纪 80 年代 / 4
- 1.5 20 世纪 90 年代 / 7
- 1.6 21 世纪 00 年代 / 10
- 1.7 21 世纪 10 年代 / 12
- 1.8 结论 / 15
- 参考文献 / 15

## 2 超临界流体色谱原理 / 18

- 2.1 引言 / 18
- 2.2 超临界流体色谱中的流动相 / 18
- 2.3 非均匀色谱柱中流体的可压缩性和平均参数 / 25
- 2.4 超临界流体色谱的保留机理 / 27
- 2.5 动力学原理 / 29
- 2.6 动力学原理及实践 / 38
- 2.7 结论 / 40
- 参考文献 / 41

## 3 超临界流体色谱柱的选择方法 / 45

- 3.1 引言 / 45
- 3.2 超临界流体色谱分离的关键影响因素 / 46
- 3.3 固定相 / 59
- 3.4 新型固定相及其对 SFC 的潜在影响 / 70

3.5 结论 / 75

参考文献 / 76

## 4 色谱柱的表征 / 83

4.1 引言 / 83

4.2 非色谱方法 / 84

4.3 固定相的稳定性 / 84

4.4 柱效 / 85

4.5 分析物探针 / 85

4.6 定量结构与保留的关系 / 89

4.7 结论 / 96

参考文献 / 96

## 5 超临界流体色谱分析方法的建立 / 102

5.1 引言 / 102

5.2 样品类型 / 103

5.3 检测器 / 104

5.4 分析柱 / 105

5.5 超临界流体色谱的流动相 / 116

5.6 添加剂 / 117

5.7 密度 / 118

5.8 实际分析方法的建立 / 119

5.9 结论 / 120

参考文献 / 120

## 6 多重柱-超临界流体色谱的应用 / 125

6.1 引言 / 125

6.2 SFC 在二维色谱中的应用 / 126

6.3 串联柱超临界流体色谱 / 130

6.4 串联柱超临界流体色谱方法的开发 / 133

6.5 串联柱超临界流体色谱中压力的作用 / 135

6.6 结论 / 138

参考文献 / 138

## 7 分析用超临界流体色谱仪的发展 / 141

- 7.1 引言 / 141
- 7.2 CO<sub>2</sub>泵 / 149
- 7.3 泵的驱动 / 154
- 7.4 泵头冷却器 / 160
- 7.5 混合器 / 162
- 7.6 自动进样器 / 162
- 7.7 柱温箱和色谱柱 / 164
- 7.8 紫外可见检测器 / 165
- 7.9 背压调节器 / 167
- 7.10 其他 / 168

参考文献 / 169

## 8 SFC 联用的检测器：质谱 / 171

- 8.1 引言 / 171
- 8.2 SFC-MS 中的离子源 / 172
- 8.3 超临界流体色谱-质谱联用中的接口 / 175
- 8.4 SFC-MS 中的质谱 / 179
- 8.5 LC-ESI/MS 与 SFC-ESI/MS 的对比 / 181
- 8.6 SFC-MS/MS 的应用 / 184
- 8.7 结论 / 187

参考文献 / 188

## 9 制备型超临界流体色谱原理 / 196

- 9.1 引言 / 196
- 9.2 影响制备型 SFC 性能的因素 / 198
- 9.3 设计制备型 SFC 的方法 / 201
- 9.4 结论 / 215

参考文献 / 215

## 10 制备型超临界液相色谱的实践意义和应用 / 218

- 10.1 引言 / 218
- 10.2 制备型 SFC 简史 / 218
- 10.3 一般考虑因素 / 219
- 10.4 填充柱 SFC 的制备型手性分离 / 224
- 10.5 填充柱上的制备型非手性 SFC 纯化 / 230
- 10.6 高通量非手性超临界流体色谱纯化 / 238
- 10.7 模拟移动床色谱 (SMB) 制备型 SFC / 239
- 10.8 大规模和工业应用 / 239
- 10.9 结论 / 240
- 参考文献 / 240

## 11 超临界流体色谱方法验证 / 252

- 11.1 引言 / 252
- 11.2 验证标准 / 253
- 11.3 总误差法 / 255
- 11.4 耐受性优化策略 / 258
- 11.5 方法转化 / 259
- 11.6 SFC 方法验证 / 260
- 11.7 结论 / 268
- 参考文献 / 269

## 12 立体异构体的拆分 / 274

- 12.1 引言 / 274
- 12.2 立体异构 / 275
- 12.3 对映异构体的拆分 / 275
- 12.4 手性固定相 / 277
- 12.5 手性 SFC 的色谱参数 / 284
- 12.6 与其他技术的比较 / 286
- 12.7 立体选择 SFC 研究进展 / 288
- 12.8 SFC 立体异构应用综述 / 290
- 12.9 非对映异构体的拆分 / 293

12.10 结论 / 294

参考文献 / 295

### 13 石油产品的超临界流体色谱分析 / 303

13.1 引言 / 303

13.2 技术部分：超临界流体色谱和火焰离子化检测器的联用 / 305

13.3 模拟蒸馏 / 307

13.4 使用超临界流体色谱进行族组成分析和相关应用 / 312

13.5 基础油和润滑油添加剂的分离 / 321

13.6 结论和展望 / 324

参考文献 / 325

### 14 脂类的分离 / 332

14.1 引言 / 332

14.2 SFC-MS 方法用于多种脂类分析 / 333

14.3 在线 SFE-SFC-MS 方法用于脂类分析 / 344

14.4 SFC-MS 方法在生命科学方面的应用 / 346

14.5 总结和展望 / 346

参考文献 / 346

### 15 天然产物的分离 / 348

15.1 引言 / 348

15.2 选择性应用 / 349

15.3 结论 / 361

参考文献 / 361

### 16 制药中的应用 / 366

16.1 引言 / 366

16.2 SFC 在新药研发中的应用 / 371

16.3 SFC 在药物和药品分析中的应用 / 373

16.4 SFC 在生物流体中的药物及其代谢物分析中的应用 / 381

16.5 结论 / 385

参考文献 / 386

## 17 在食品分析领域中的应用 / 393

17.1 引言 / 393

17.2 动物源性食品及相关产品 / 395

17.3 植物源性食品及相关产品 / 396

17.4 其他源性食品基质 / 404

17.5 结论 / 406

参考文献 / 406

## 18 使用 SFC 仪器进行物理化学性质测量 / 410

18.1 引言 / 410

18.2 简单案例：黏度估算 / 410

18.3 相行为的测定 / 411

18.4 直接溶解度估算 / 420

18.5 吸附等温线测定 / 420

18.6 扩散性 / 422

18.7 估算的限制因素 / 423

18.8 结论 / 425

参考文献 / 425

# 1 超临界流体色谱中的里程碑：发展历史及现代化

R. McClain

Merck Research Laboratories, West Point, PA, United States

## 1.1 引言

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 技术于 1962 年问世。起初, 其所表现的优异的分性能使之备受追捧, 然而也因发展过程中所显现的不足而使其被妖魔化。在过去的 50 多年里, SFC 发展中具有里程碑意义的事件涵盖了诸如仪器性能及局限性、对性能参数和所获得的数据的科学理解和解释、与当下所使用的其他分离方法在技术性能方面的比较等方面。这一章将重点介绍一些 SFC 发展高峰时期的里程碑。在这些里程碑事件中, 有的推动了这项技术的发展, 为其赢得了更广泛的支持和应用, 有的反而使其受到压制, 限制了该项技术在科研界的接受和认可程度。本章将按时间顺序来呈现这些里程碑事件, 希望能让读者了解 SFC 的发展历史, 并认识在这些里程碑事件中, 是哪些人的努力赋予了我们今天所用的 SFC 的优异性能。此外, 鉴于有些相关主题将在后面的各章节中详细介绍, 因此本章中的参考文献并非无所不包的, 仅列出了一些关键性参考资料, 以供读者进一步查阅。

## 1.2 20 世纪 60 年代

在 20 世纪 60 年代, 鉴于气相色谱 (Gas Chromatography, GC) 的高效性, 尤其是当其与光火焰离子化检测器 (Flame Ionization Detector, FID) 联用时, 使之成为当下主要的色谱技术。然而 GC 的局限性在于被分析物需具有挥发性以及热稳定性, 因而促使研究人员寻求其他的替代分离方法以进一步满足分析需求。Ernst Klesper 在 1962 年发表的题为“超临界压力以上的高压气相色谱 (HPGC)”的文章, 开创了 SFC 的先河, 针对 GC 分析物热稳定性的局限性提供了解决方案 [1]。以往研究证明在使用传统 GC 分析时, 吡啶类化合物会分解。而 Ernst Klesper 采用聚乙二醇固定相, 以二氯二氟甲烷为流动相, 在压力为 131bar\* 的条件下, 成功分

---

\* 本书中所采用的压力单位均为原版书中的单位, 1bar =  $10^5$ Pa, 1psi = 6894.76Pa, 1atm =  $1.01325 \times 10^5$ Pa, 1kgf/cm<sup>2</sup> =  $9.80665 \times 10^4$ Pa ——译者注

离了初叶啉镍和中叶啉镍二甲酯的混合物。且对由该方法分析完成后回收得到的化合物进行 X 射线粉末衍射分析，结果表明初叶啉镍和中叶啉镍二甲酯均保持着其固有结构。此研究证明了流动相在高于临界压力的条件下，其在色谱柱上的流动性增强，因此可以在比传统 GC 工作温度低的情况下进行有效分离，也因此项研究使得 SFC 应运而生。

与此同时，阿姆斯特丹皇家/壳牌实验室的 Sie 和 Rijnders 研究组在 HPGC 方面的研究也很活跃，但其主要是以临界压力较低（73atm）的二氧化碳（CO<sub>2</sub>）为流动相。他们在基于角鲨烷固定相和甘油固定相的色谱柱上，以大量化合物为分析对象，研究了压力对分配系数（K）的影响 [2]。这项开创性的工作揭示了：随着流动相压力的升高，分析物的保留因子降低（如图 1.1 所示）。而在 GC 分析中只能通过提高温度来降低保留因子。但温度的升高不仅会带来分析物稳定性的问题，也会使仪器面临最高耐受温度的挑战。Sie 和 Rijnders 研究组的上述新发现颠覆了在 GC 分析中的普遍认知，也因此将 SFC 推至高峰。在该时期，SFC 被认为是一种进一步扩大 GC 技术分析物相对分子质量上限的可行方案。

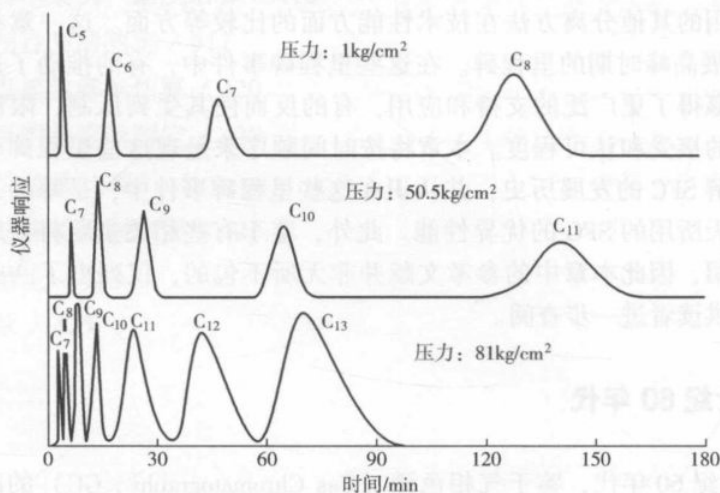


图 1.1 以 CO<sub>2</sub> 为载气，在流速相当、压力不同的条件下正构烷烃的分离结果。色谱柱为以 25%（质量分数）角鲨烷填充的 100/200 目硅藻土柱（长 1m，内径 3mm）；柱温 40℃；进样量约 15μL（引自：Sie S, Beersum W, Rijnders G. *Sep Sci* 1966; 1: 459-90.）

继阿姆斯特丹研究组“可通过 HPGC 分析更高相对分子质量的化合物”的猜想过去两年之后，美国犹他大学的 Giddings 及其同事们以实验数据证实了这一猜想。Giddings 研究组在化合物的溶解性研究中发现现在压力为 1200atm，温度为 40℃ 的条件下，CO<sub>2</sub> 能够溶解相对分子质量为 40 万的硅橡胶 [3]。超临界流体之所以能够作为溶剂，是因为当将其从普通气体压缩至类似于液体的密度的时候，提高了其与溶质之间的分子间作用力。此外，他们也在 500atm 的压力下，以 CO<sub>2</sub> 为流

动相，成功分离了大相对分子质量的生物分子，如 $\alpha$ -胡萝卜素和 $\beta$ -胡萝卜素。由于这些化合物的热稳定性较差，以往它们是无法通过传统 GC 来分析的。

通过综合研究 80 多种化合物在压缩气体中的迁移性，Giddings 研究组制作了一张表格将压缩气体的洗脱强度与常见的传统液体的洗脱强度关联起来 [4]。但讽刺的是，当时被广泛认可的“密度与液体接近状态下的  $\text{CO}_2$  的洗脱能力与异丙醇的洗脱能力相当”的这一说法，是后来经证实的关于 SFC 最大的误解。后来，相关专家证实了超临界流体  $\text{CO}_2$  的溶剂强度被高估了，并指出这一错误估计可能推迟了 SFC 技术的更广泛的应用 [5, 6]。时至今日，众所周知，超临界流体  $\text{CO}_2$  的溶剂强度与小相对分子质量的烷烃（戊烷和己烷）的相当，而非如异丙醇的醇类 [6, 7]。

在其最初几年的实践中，SFC 证明了其能够分离不利于传统 GC 分析的热不稳定化合物，并将分析物范围扩展到以前由传统 GC 方法不可分离的更高相对分子质量的化合物。SFC 的这两个特点使之能够与当时主流、高效的 GC 技术一较高下。通过对 SFC 中流动相洗脱强度的研究，使得 Giddings 研究组认识到可以通过调控色谱分析时的压力来改变流动相的溶解性能，从而使得一些分析物因能够溶解于流动相中而被洗脱下来 [8]。因此，若在 SFC 中能够施加压力梯度，将可使该新兴技术与通常使用二元流动相和合成压力梯度的液相色谱相竞争。这一性能，自 Giddings 研究组的原创性工作之后的不到一年内得以实现，从而进一步证实了人们在 SFC 初期发展阶段对该项技术的投入的关注和努力。

### 1.3 20 世纪 70 年代

雪佛龙公司的 Jentoft 和 Gouw 的工作继续推进了 SFC 发展，他们通过在液相色谱 (LC) 设备中嵌入压力程序，以高压氮气作为压力源，使 SFC 得以执行压力梯度。他们以正辛烷键合的 Poracil C 为固定相，以含 5% 甲醇的正戊烷为流动相，初始压力 650psi，以 6psi/min 速度进行程序升压，最终达到的压力为 1000psi [9]。如图 1.2 所示，在约 60min 的分析时间里，平均相对分子质量为 900 的聚苯乙烯被分离成 32 个聚苯乙烯低聚物。采用与 Klesper 相似的 SFC 分离后的确证分析手段，他们对其中的几个单峰物质在 UV 检测之后进行了捕集，并进行二次色谱分析，以进一步确证它们并非杂质 [1]。当时，SFC 以程序压力来控制洗脱强度，提供了一种提高分离效率的新的机制，加之其能在比 LC 高一个数量级的线速度下工作，从而使得 SFC 不仅能与 GC 一较高下，甚至可与 LC 比拟。

美国休斯敦大学的 Novotny 研究了压力和温度对色谱分析性能的影响，以正戊烷为流动相，在不同粒径的填充色谱柱上分离了多种分析物，如：均四甲苯、萘、联苯、蒽等。他们监测了改变温度和压力时，保留因子和理论塔板高度 (HETP) 的变化，并发现相较于改变压力，改变温度时的色谱分析性能更难预

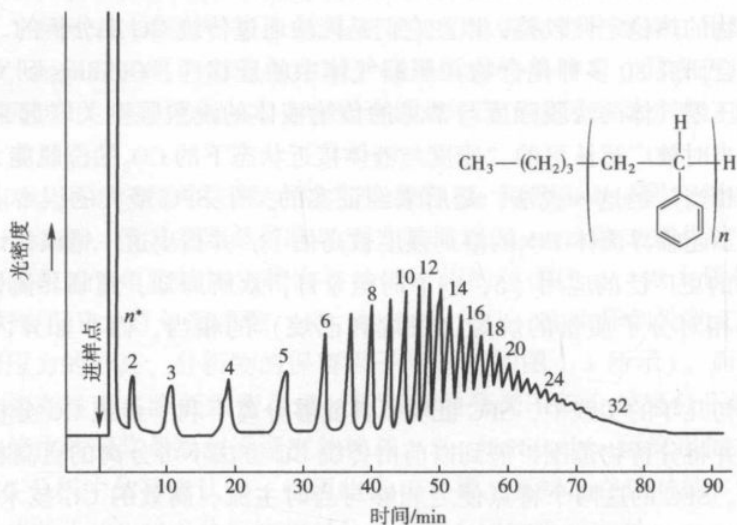


图 1.2 一个平均相对分子质量为 900 的聚苯乙烯样品的色谱图 (引自: Jentoft R, Gouw T. *J Chromatogr Sci* 1970; 8: 138-42.)

知。在当时, Novotny 的研究结果表明柱压下降越快, 色谱分析性能越差 [10]。这一结论进一步导致了大量的关于填充柱 SFC 的不准确结论, 如压力降对色谱柱性能以及分离速度的影响。基于以上有失偏颇的结论, 使得 SFC 的发展方向有所转变, 色谱柱类型从填充柱转变到空心柱, 然而这在接下来的十年中经常会受到质疑。

## 1.4 20 世纪 80 年代

Milos Novotny 和 Milton Lee 的研究工作认为填充柱 SFC 中压力降的问题, 就柱效而言, 带来的影响是灾难性的 [11]。也正是基于此, 使得毛细管 SFC 应运而生。相关研究组试图设计贯穿整个色谱柱和检测器的维持恒压的 SFC 系统, 并在色谱柱中使用最薄的固定相以减少传质阻力。如图 1.3 所示, 他们采用一根长 58m, 内径 0.2mm 的玻璃毛细管色谱柱, 涂覆苯基甲基聚硅氧烷作固定相, 以正戊烷为流动相, 分离了多环芳烃混合物。此工作中展现的较高的分离效率验证了毛细管柱在 SFC 中的有效性, 被 GC 领域的研究者广泛接受, 也因而使得毛细管 SFC 成为当时 SFC 领域的主导。

在 SFC 系统尚无商品化设备时期, 相关研究者在研究中均采用自己搭建的装置。鉴于当时的一种主流色谱技术为 GC, 因此, GC 的柱温箱和注射泵被广泛用于 SFC 早期仪器配备中。美国惠普公司 (现在为安捷伦) 的一个研究组, 通过夹持式热交换器来冷却泵头, 并加入背压调节器, 将 1084B LC 改造成了