

# 超临界流体模拟移动床色谱及其应用

董海胜, 黄贱英, 陈斌\*

(中国航天员科研训练中心航天医学基础与应用国家重点实验室, 北京 100094)

**摘要:** 将超临界流体作为洗脱剂应用到模拟移动床色谱技术(SMB)中, 从而产生了超临界模拟移动床色谱技术(SF-SMB), 其综合了超临界流体色谱(SFC)和SMB这2种分离技术的优势, 解决了SMB色谱进行梯度操作的困难, 拓宽了SFC的适用范围和生产规模。介绍了超临界模拟移动床色谱技术(SF-SMB)产生、理论基础、操作特性, 并对其应用情况进行了阐述。

**关键词:** 模拟移动床色谱; 超临界流体; 恒压模式; 压力梯度模式

## Supercritical Fluid-Simulated Moving Bed Chromatography and Applications

DONG Hai-sheng, CHEN Bin \*

(Astronaut Scientific Research and Training Center of China State Key Laboratory of Space Medicine Fundamentals and Application, Beijing 100094)

**Abstract:** By applying supercritical fluid to simulated moving bed chromatography as eluent, thus a new separating method is developed: supercritical fluid-simulated moving bed chromatography, which accumulates the superiority of both SFC and SMB, furthermore, the operating difficulty of SMB in pressure gradient is overcome, the application field and production scale of SFC is widened. In this paper the development, theory fundament, operating mode and its application is reviewed.

**Key words:** simulated moving bed chromatography; supercritical fluid; Isocratic mode; pressure gradient mode

中图分类号: TS2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)增刊1-0020-05

目前大多数对映体的分离采用液相色谱的方式, 采用的分离柱为手性柱, 但是这种方法存在很大的局限性, 目标物被液相稀释, 需要进一步的分离, 消耗大量溶剂及无法实现操作连续性。美国通用石油公司(UOP)于1946年开发了逆流连续循环移动床装置(TMB), 用于分离小分子质量的碳氢化合物。由于该系统固定相流速较难控制且易磨损, 特别是极难应用于液相色谱中, 因此没有得到进一步的发展; 20C60S初期, UOP开发了一种基于模拟移动床(SMB)原理的色谱技术<sup>[1]</sup>, 近年来其应用拓展到了糖类、消旋药物、异构体、多酚、黄酮及酶等<sup>[2-6]</sup>。随着超临界流体技术的发展, 超临界流体高效色谱理论逐渐成熟, 并得到了广泛的应用并商业化, 为超临界流体模拟移动床色谱技术的产生奠定了理论基础<sup>[7-9]</sup>。1996年, Clavier等将超临

界流体应用于模拟移动床色谱技术, 超临界流体模拟移动床色谱技术(supercritical fluid-simulated moving bed chromatography, SF-SMB)产生<sup>[10]</sup>, Marco Mazzotti<sup>[11]</sup>对超临界流体模拟移动床技术进行了详细介绍。

### 1 SF-SMB 的理论基础

模拟移动床(SMB)色谱技术分离过程与TMB分离过程极为相似, 是基于固定相(12~60目的活性炭)对各组分的吸附能力的强弱差异<sup>[1]</sup>。在分离过程中, 固定相由于重力作用, 自上而下地移动, 依次通过冷却区(ZONE 4)、吸附区(ZONE 3)、精馏区(ZONE 2)和解吸区(ZONE 1), 到达底部后, 解吸完全的活性炭由气体提升到顶部重复使用; 流动相(水蒸气)则

收稿日期: 2011-07-28

基金项目: 中国载人航天工程基金资助项目课题(SJ201001); “航天医学基础与应用国家重点实验室研究基金资助项目(SMFA10B03)

作者简介: 董海胜(1982—), 男, 研究实习员, 硕士, 研究方向为天然产物分离提取。E-mail: dhs303@126.com

\*通信作者: 陈斌(1962—), 男, 研究员, 博士, 研究方向为航天食品工程。E-mail: chenb12@yahoo.com

由下而上移动, 见图 1 TMB 工作原理示意图。不同点是吸附颗粒被装填后不再移动, 而是由原料进口和产品液流出口不断切换的方法, 形成吸附颗粒和液流相对逆流运动来模拟固定相的移动, 见图 2 SMB 工作原理示意图。SF-SMB 对组分的分离原理与 SMB 类似, 不同点是 SF-SMB 使用的洗脱剂为超临界状态的流体 (或含夹带剂)。

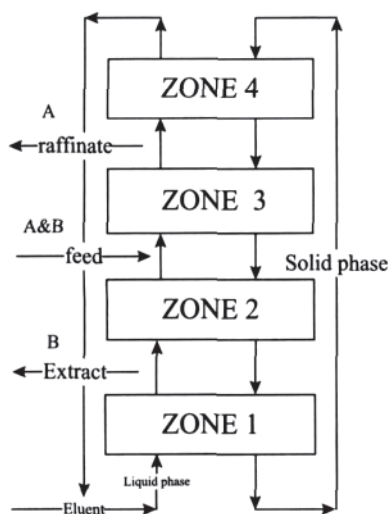


图 1 TMB 结构示意图

Figure 1 structure schemes of TMB

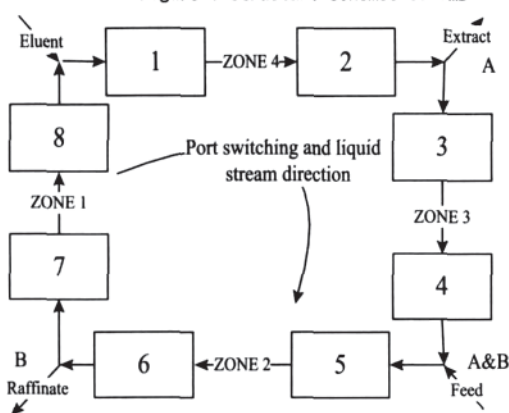


图 2 SMB 结构示意图

Figure 2 structure schemes of SMB

SMB 装置设计的准则是基于色谱平衡理论的三角形理论, 在色谱平衡理论中, 忽略了传质阻力, 如它假设柱子的效率是无限大的, 在各种因素中, 一个柱子的效率是由流动相中溶质的扩散性决定的, 由于在超临界流体中溶质的扩散率比在液体中高, 而且可以预见 SF-SMB 中的传质阻力比在液相模拟移动床 (Liquid-SMB) 中要小, 因此三角形理论的假设应用于 SF-SMB 中比应用于 Liquid-SMB 中更合理 [12], 而且, 三角形理论应用于 SF-SMB 设计的有效性已经被试验结果所证实。同

时我们将三角形理论拓展应用于压力梯度模式下的 SF-SMB, 必须考虑两点: 第一, 由于吸附动力学决定于装置中每个区的溶剂密度值, 装置中不同的区必须使用不同的吸附等温线; 第二, 非常复杂的流体动力学现象必须考虑在内, 这一现象经常发生在每次阀和柱子进行切换的时间期限的开始阶段或者 SMB 的每个区的设定压力值达到稳定时。

基于色谱平衡理论的三角形理论为 SMB 操作的提供了设计原则 [11]。可以通过移动相净流量相对于固定相的比例来描述 SMB 装置的性能, 即  $m_j$  值。

$$m_j = \frac{Q_j^* - V\varepsilon}{V(1-\varepsilon)} \quad (j=1, \dots, 4) \quad (\text{公式一})$$

其中,  $Q_j$  是  $j$  区的容量流速,  $t^*$  是装置的切换时间 (即入口和出口通道) 两个相继的切换之间的时间,  $V$  是色谱柱的体积,  $\varepsilon$  是柱子的空隙率。

在流动相为液相的情况下, SMB 装置一个区内的容量流速是恒定的。对于 SF-SMB 装置来说, 沿着区的压力降形成密度梯度, 因此, 容量流速在一个区内是变化的。在这种情况下, 只有质量流速是唯一不变的参数, 对于 SF-SMB 装置, 上述公式可以用质量流速  $G_j$  的方式表达, 即:

$$m_j = \frac{G_j^* - V\varepsilon\rho}{V(1-\varepsilon)} \quad (\text{公式二})$$

其中  $\rho_j$  为  $j$  区的平均密度。

当溶质浓度较小时, 吸附平衡可以用线性等温线代替, 即:

$$n_i = H_i c_i$$

其中,  $n_i$  及  $c_i$  分别为组分  $i$  在固定相及液相中的浓度,  $H_i$  是亨利常数。此方程可以用组分  $i$  在流动相中的质量份数表达, 即:

$$n_{ii} = H_{ij}^* w_{i,j} \quad (\text{公式三})$$

$$H_{ij}^* = H_i \rho_j \quad (\text{公式四})$$

其中  $\rho_j$  为 SF-SMB 装置  $j$  区液相的密度。在此前提下, SF-SMB 装置分离组份 A (强吸附组份)、B (弱吸附组份) 的完全分离的充分必要条件为:

$$H_{A,1}^* < m_1 \quad (\text{条件一})$$

$$H_{B,2}^* < m_2 < H_{A,2}^* \quad (\text{条件二})$$

$$H_{B,3}^* < m_3 < H_{A,3}^* \text{ (条件三)}$$

$$m_4 < H_{B,4}^* \text{ (条件四)}$$

从物理学的角度来看,限制条件二和三是使操作参数  $m_2$  和  $m_3$  必须足够的大,这样组分 B 可以被带到萃余液出口,另一方面,它们的值又不能太大以保证组分 A 不被带出萃取液出口。对  $m_4$  的限制条件四及对  $m_1$  的限制条件一使两种组分在一区得到洗脱,而在四区则被吸附,这样流动相和固定相分别得到再生。物料 A 和 B 分别从萃取液和萃余液中得到收集。

## 2 SF-SMB 的操作特性

### 2.1 洗脱剂

SF-SMB 的一个重要特性就是利用超临界状态洗脱剂的物理特性的可调性可以改进其操作性能<sup>[11]</sup>。超临界流体兼具气体动力学优点(粘度低、扩散系数大、压降小)和液体在溶解能力等方面的优势,其中,超临界二氧化碳( $T_c=31^\circ\text{C}$ ,  $P_c=73\text{bar}$ ,  $d_c=470\text{kg}/\text{m}^3$ )对于 SF-SMB 而言,是一种颇有吸引力的流动相<sup>[13]</sup>。超临界  $\text{CO}_2$  的密度、溶解能力及洗脱强度随压力升高而增大,可通过简单的压力程序实现梯度洗脱。超临界  $\text{CO}_2$  的优点还包括低成本、低毒性、产品易回收和洗脱液易循环使用。

### 2.2 固定相与修饰因子

在色谱中使用超临界  $\text{CO}_2$  的限制主要是对纯化目标产物的相对分子质量、极性与溶解性能的要求(一般要求产物相对分子质量不能超过 1500,且极性不能太大)。为了克服这个问题,可以使用溶剂修饰因子(夹带剂)<sup>[14]</sup>。修饰因子在流动相中的作用是增加溶质的溶解性,在固定相中可以钝化强极性基团(如 Silanols),当增加修饰因子浓度时就可以相应的降低保留时间,常用的修饰因子包括:甲醇、丙醇、乙腈、四氢呋喃及丙酮。固定相需要根据目标物的极性、结构等进行选择,通常采用分离因子作为评价固定的依据,常用的手性柱包括: Chiralcel OJ、Chiralpak AS、Kromasil DMB、Chirobiotik T、Kromasil TBB 及 Chiralcel OD 等<sup>[15]</sup>。修饰因子及固定相的选择增加了工艺的自由度,同时也是在设计 SF-SMB 操作条件时的考虑因素<sup>[16]</sup>。

### 2.3 SF-SMB 的操作模式

SF-SMB 装置有两种操作模式:恒压模式(Isocratic mode)和压力梯度模式(Pressure gradient mode)<sup>[11]</sup>。在恒压模式中,装置中的压力是恒定的(流体流经色谱柱产生的压力降可忽略);在压力梯度模式中,装置中四个区(Section)的压力水平各不相同,这是由每个柱子后面出口和入口阀之间的压力控制阀产生的。由于

溶质在固定相和超临界流体中分配系数取决于溶剂密度(d),而溶剂密度又可以通过改变操作温度和压力而得到较大的改变,对于一个色谱工艺,在较高超临界流体密度的条件下操作,能使溶质更快的洗脱,见图 3,虚线表示恒压模式,实线表示压力梯度模式。与上述 TMB 装置中各区的功能相类似,显然装置中四个区采用递减的密度梯度,相应的产生一个递减的洗脱液强度梯度,与恒定密度模式相比(装置中洗脱液强度恒定),操作性能会更好。如将 1 区压力设置为最大(洗脱液强度为最大,在此吸附力强的组分得到分离),4 区的压力设置为最小(洗脱液强度为最小,吸附力弱的组分在此分离)。已经开展有关研究并且工艺的可操作性也得到的清晰的阐述。

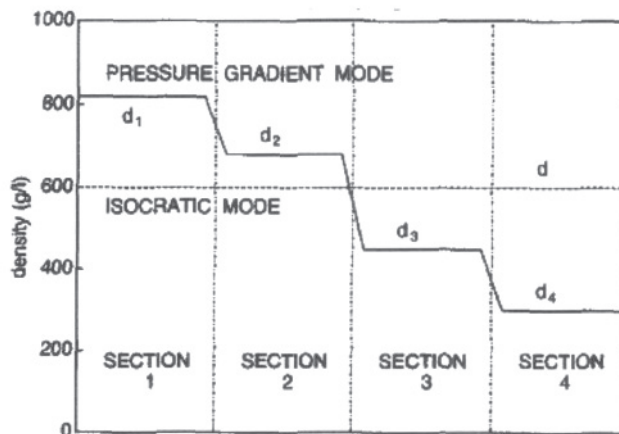


图 3 SF-SMB 分离装置四个区的密度分布(—为恒压模式; —为压力梯度模式)

Figure 3 Density profile of four sections in SF-SMB (—Constant pressure mode; —pressure gradient mode)

下面结合文献报道<sup>[11]</sup>的试验数据对两种操作模式进行比较。试验在一个由 8 根柱子组成的中试规模 SF-SMB 装置上进行,分别利用恒压和压力梯度模式对两种脂肪酸乙酯进行了分离(A: 二十碳六烯酸乙酯; B:  $\gamma$ -亚麻酸乙酯)。在恒压模式下,装置中的压力保持在  $152 \pm 6\text{bar}$ ,而在压力梯度模式下,压力降达 80bar,萃取物及萃余物纯度分别为 99.9% 和 100.0%,压力梯度模式的产率是恒压模式的 2 倍多,而 A 组分和 B 组分的富集率前者分别是后者的 8 倍和 5 倍。

SC- $\text{CO}_2$ /SMB 色谱纯化 1, 2, 3, 4-四氢-1-萘酚的工艺数据<sup>[17]</sup>表明,当压力梯度为  $10\sim 25\text{MPa}$  时,与恒压操作模式操作相比,前者生产能力为后者的 3 倍,而溶剂消耗量却不足后者的 1/5。

采用 SC- $\text{CO}_2$ /SMB 脂肪酸<sup>[17]</sup>,与恒压模式相比,当采用压力梯度模式(从 1 区 174bar 到 4 区 138bar)时,产率由 33g/kg 固定相\*天增加到 122g/kg 固定相\*天。

## 2.4 SF-SMB 应用进展

Arvind Rajendran<sup>[12]</sup>等研究了1-苯基-正丙醇的超临界模拟移动床色谱分离工艺, 用一个分析型的柱子

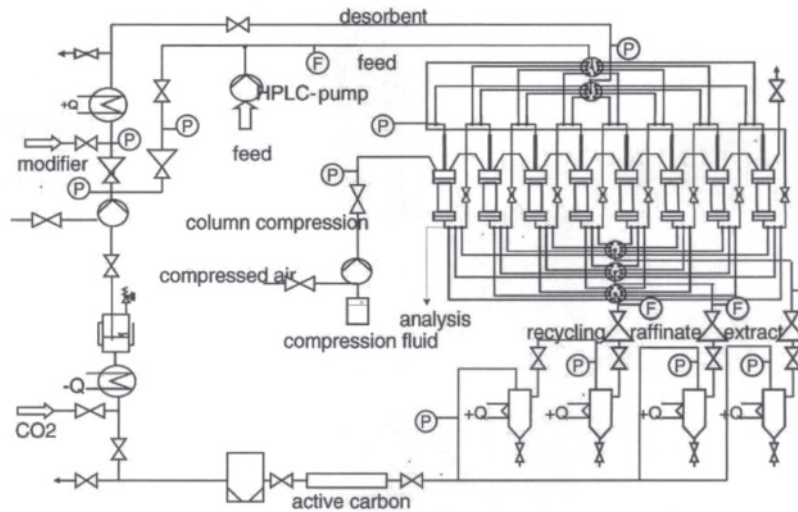


图4 超临界流体模拟移动床色谱 (SF-SMB) 流程图

Figure 4 Flow chart of supercritical fluid-simulated moving bed chromatography

测量了非线性等温线, 并参照广泛应用于模拟移动床设计的三角形理论选择 SF-SMB 的操作条件, 试验在一个中试规模的 SF-SMB 装置上开展, 见图 4, 该装置可以分为 3 部分: 进料单元、分离及切换阀单元、旋转蒸发浓缩单元。由进料单元提供洗脱液及料液, 二氧化碳一部分用作解吸, 一部分用于进料。

实验条件和等温线的非线性范围相一致, 在低进料浓度的情况下, 能够获得物料的完全分离 (萃取液纯度达 99.5%, 萃余液纯度达 98.4%), 在较大进料浓度的情况下, 最好的分离效果是: 98.0% 的提取液纯度和 94.0% 的萃余液纯度, 每天的产率可达每 kg 固定相 110g 外消旋体化合物。

Depta A 等 [18] 采用超临界模拟移动床色谱分离了叶绿醇的同系物。采用 HPLC-SMB 分离顺式及反式叶绿醇异构体, 压力梯度为 23-10 MPa, 流动相为二氧化碳 (夹带 4.5% 质量分数的 2-丙醇), 产率为 1300g/kg 固定相 \* 天, 目标组分的纯度均达到 97% 以上。Peper 等 [19] 利用超临界模拟移动床色谱分离了  $\gamma$ -生育酚及  $\delta$ -生育酚, 压力梯度为 22-13 MPa, 温度为 30℃, 流动相为二氧化碳 (夹带剂为 4.5% 质量分数的

2-丙醇)。Peper S 等 [20] 利用超临界模拟移动床色谱分离了布洛芬 (ibuprofen) 异构体, 压力梯度为 17-14 MPa, 温度为 40℃, 流动相为二氧化碳 (夹带 4.5% 质量分数的 2-丙醇), 产率达 504g/kg 固定相 \* 天, 目标物纯度达 99%。

## 3 结论与展望

许多药物及生物活性成分具有手性中心, 尽管一些药物是以外消旋物的形式出售, 但是不同的对映体的药理和毒理特性是不同的, 因此, 外消旋药物的拆分显得十分必要。SF-SMB 色谱综合了 SFC 和 SMB 这 2 种分离技术的优势, 解决了 SMB 色谱进行梯度操作的困难。SF-SMB 技术的两种操作模式 (恒压模式和压力梯度模式) 增加了工艺操作的自由度, 并通过了已成熟理论的考验, SF-SMB 在对映体分离中具有巨大潜力, 美、法、德及日本均对认识到这种分离技术对未来化工、食品及药物生产的重要意义和商业价值。另外, SF-SMB 所需高压的产生并不需要非常昂贵的设备, 使得 SF-SMB 作为中小规模使用的连续色谱工艺很有发展前景。

## 参考文献:

- [1] Pedro S a Gomes , Mirjana Minceva, Al rio E. Rodrigues. Simulated moving bed technology: old and new[J]. Adsorption ,2006,12:375-392.
- [2] Deepti Sahoo; Jonatan Andersson ; Bo Mattiasson. Immobilized metal affinity chromatography in open-loop simulated moving bed technology: Purification of a heat stable histidine tagged  $\beta$ -glucosidase[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(16-17):1651-1656.
- [3] Jin-II Kim ; Yoon-Mo Koo. Process modification of SMB (Simulated Moving Bed) for multicomponent separation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108:57.
- [4] Jin-II Kim; Philip C. Wankat; Sunyong Mun ; Yoon-Mo Koo. Analysis of "focusing" effect in four-zone SMB (Simulated Moving Bed) unit for separation of xylose and glucose from biomass hydrolysate[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009,108:65-66.
- [5] S. Henke; M. Kubut; Z. Bubnik. The new simulated moving bed pilot plant-modelling, simulation and application[J]. Journal of Food Engineering, 2008,87(1):26-33.
- [6] Bong-Jae Park; Chong-Ho Lee; Sungyoung Mun; Yoon-Mo Koo. Novel application of simulated moving bed chromatography to protein refolding[J]. Process Biochemistry, 2006, 41( 5):1072-1082.
- [7] Larry Miller; Matt Potter. Preparative chromatographic resolution of racemates using HPLC and SFC in a pharmaceutical discovery environment[J].Journal of Chromatography B, 2008, 875(1) : 230-236.
- [8] Pilar Ramirez; Monica R. Garca-Risco; Susana Santoyo; F. Javier Seorans; Elena Ibez; Guillermo Reglero. Isolation of functional ingredients from rosemary by preparative-supercritical fluid chromatography (Prep-SFC) [J].Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(5):1606-1613.
- [9] H. Kaemmerer, G. Brunner, M. Johannsen. Management and control of modifier content in preparative SFC solvent cycles[J].J. of Supercritical Fluids 2007,43:204-213.
- [10] Clavier JY, Nicoud R-M. A new efficient fractionation process: the simulated moving bed with supercritical eluent. Third Italian conference on supercritical fluid and their applications; 1995.
- [11] Marco Mazzotti et.al , Supercritical fluid simulated moving bed chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1997,786 :309-320.
- [12] Arvind Rajendranb.Enantioseparation of 1-phenyl-1-propanol by supercritical fluid-simulated moving bed chromatography[J].Journal of Chromatography A, 2005,1092 : 55-64.
- [13] Wolfgang Christen; Tim Krause; Klaus Rademann. Transferring pharmaceuticals into the gas phase[J]. International Journal of Mass Spectrometry, 2008, 277(1-3) : 305-308.
- [14] H. Kaemmerer, G. Brunner, M. Johannsen. Management and control of modifier content in preparative SFC solvent cycles[J]. J. of Supercritical Fluids 43 (2007) 204-213.
- [15] Monika Johannsen, Stephanie Peper, Andreas Depta. Simulated moving bed chromatography with supercritical fluids for the resolution of bi-naphthol enantiomers and phytol isomers[J].J. Biochem. Biophys. Methods 54 (2002) 85-102.
- [16] Gerd Brunner , Monika Johannsen. New aspects on adsorption from supercritical fluid phases[J]. J. of Supercritical Fluids 2006,38 :181-200.
- [17] Gerald Terfloth. Enantioseparations in super- and subcritical fluid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 906 (2001) 301-307.
- [18] Depta A, Giese T, Johannsen M, et al. Separation of stereoisomers in a simulated moving bed-supercritical fluid chromatography plan [J].J Chromatogr A, 1999, 865 (1-2): 175-186.
- [19] Peper S, Depta A, Giese T, Brunner G. SMB-SFC for isomer separation (Lecture). SPICA 2000-2nd international symposium on preparative and industrial chromatography and allied techniques,Zurich, Switzerland, October 9-11, 2000.
- [20] ]Peper S, Lu``bbert M, Johannsen M, Brunner G. Separation of Ibuprofen enantiomers by supercritical fluid simulated moving bed chromatography. Sep Sci Technol 2002, 37:2545-2566.