

# 模拟移动床色谱及其在茶叶功能成分分离中的应用前景

黄永东<sup>1,2</sup>, 江用文<sup>1</sup>, 江和源<sup>1,\*</sup>, 王斌<sup>1</sup>

(1. 中国农业科学院茶叶研究所, 农业部茶及饮料植物产品加工与质量控制重点开放实验室, 浙江 杭州 310008 ;  
2. 广东省农业科学院 农产品质量安全与标准研究中心, 广东 广州 510640)

**摘要:** 模拟移动床色谱是20世纪60年代发展起来的能实现连续分离的一种制备色谱, 具有提高产品纯度和回收率, 提高分离效率和降低成本等优点。该技术已经在石油化工和食品医药等领域有重要应用, 但是尚未被应用到茶叶功能成分的分离。目前, 有研究表明模拟移动床色谱能用于分离儿茶素。本文综述模拟移动床色谱的分离原理和国内外的应用进展, 并分析该方法在茶叶功能成分分离中的应用前景。模拟移动床色谱将成为儿茶素单体和茶黄素单体制备研究的主要方向。

**关键词:** 模拟移动床色谱; 茶叶功能成分; 儿茶素

Simulated Moving Bed Chromatography and Its Application Prospects in the Separation of Functional Components in Tea

HUANG Yong-dong<sup>1,2</sup>, JIANG Yong-wen<sup>1</sup>, JIANG He-yuan<sup>1,\*</sup>, WANG Bin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Tea and Beverage Crop Product Processing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China ; 2. Center for Quality Safety and Standard Research of Agricultural Products, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Simulated moving bed chromatography, developed in the 1960s, is a kind of continuous preparative chromatography with multiple advantages, such as improving product purity and recovery rate, increasing separation efficiency and reducing costs. This technology has been extensively used in the petrochemical, food and pharmaceutical industries, but has not yet been applied to separate functional components of tea. Current studies have demonstrated the successful separation of catechin by using simulated moving bed chromatography. In this paper, separation principles and application progress at home and abroad of simulated moving bed chromatography are summarized. Meanwhile, its application prospects in the separation of functional components from tea are also discussed. Therefore, simulated moving bed chromatography will become a major research direction for the preparation of catechin and theaflavin.

**Key words:** simulated moving bed chromatography ; functional components of tea ; catechin

中图分类号: O657.72 ; S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)15-0296-07

模拟移动床色谱(simulated moving bed chromatography, SMBC)是20世纪60年代发展起来的能进行连续分离的一种制备色谱。SMBC不仅实现了连续分离,而且提高了产品的纯度和回收率,在两组分离和多组分中单一组分的纯化中有巨大的优势,并且随着SMBC的飞速发展,已经突破了操作单一和两组分分离的局限,形成了各种模拟移动床(SMB)工艺,并广泛应用于食品、化

工和医药行业。茶叶中包含多种功能成分,如儿茶素、茶黄素、茶红素、咖啡碱、茶氨酸和茶多糖,其中许多成分的分离存在生产效率低、分离成本高等缺点。本文拟通过对模拟移动床色谱分离原理和国内外应用进展的总结以及目前分离茶叶功能成分的一些方法,探讨模拟移动床色谱在茶叶功能成分分离中的应用前景,也为其混合物的分离提供一定参考。

收稿日期: 2010-09-17

基金项目: 国家“948”项目(2011-Z10); 农业部留学基金项目; 教育部留学基金项目

作者简介: 黄永东(1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学、茶叶深加工。E-mail: muyuxingsu@163.com

\* 通信作者: 江和源(1974—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为天然产物化学、茶叶深加工。

E-mail: jianghy@mail.tricaas.com

## 1 模拟移动床色谱技术

固定相不发生直接移动或相对移动的色谱柱称为固定床,反之,称为移动床。真实移动床的固定相与流动相逆向流动,SMB固定相本身不移动,而是通过柱切换模拟固定相的流动。SMBC的分离仪器就是SMB,它由多根色谱柱或类似色谱柱的固定床层串联而成,通常将这些色谱柱或固定床层分成多个区带,通过阀门来实现柱之间的切换,从而模拟固定相的流动,实现类似真实移动床的连续进样与分离,其分离原理与真实移动床类似<sup>[1]</sup>。

传统的SMB色谱将多根色谱柱分成4个区,用于二元混合物的分离,如图1所示。区带1在洗脱液入口和萃取液出口之间,称为洗脱带,用于解吸强吸附组分B,得到以B组分为主的萃取液。区带2位于萃取液出口和原料液入口之间,称为第一精馏带,也称为B的精制带,在此带中,B组分被吸附,而弱吸附组分A解吸附,流入区带3中。区带3位于原料液进口和萃余液出口之间,称为吸附带,在此带中,B组分被吸附,A组分流形成以A为主的萃余液。区带4在萃余液出口和洗脱液入口之间,称为二精带,用于洗脱液的纯化,在此带中,A组分被吸附,纯净的洗脱液流至区带1。

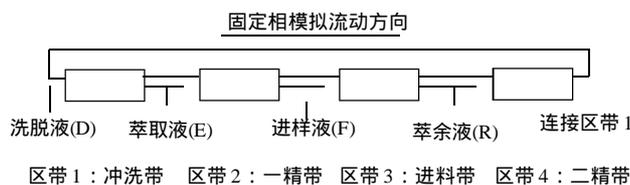


图1 4带SMB结构图

Fig.1 Structure of SMB with 4 zones

相比批处理色谱,SMB有很多优点:1)连续进样和分离,分离效率高;2)设备最优化,节省固定相和流动相,节约分离成本;3)产品纯度和回收率高;4)自动化程度高,节约人力;5)分离手性化合物及其他难分离物质有很好的效果;6)容易实现工业规模上大批量制备。危凤等<sup>[2]</sup>比较了SMB和单柱色谱分离奥美拉唑对映体,模拟移动床色谱分离效果优于单柱色谱,生产能力为单柱色谱的5倍以上,回收率则高出1.28倍以上,溶剂消耗则可节省约22%。由SMB的分离原理和优点得知,SMB尤其适用于二元分离,能得到高纯度的单一化合物。对于多组分分离,只能得到保留时间最长或最短的一种纯化化合物,或者通过改进的SMB实现三组分分离。由于SMB比单柱分离具有更高的分离性能,因此,对于一些单柱较难实现分离的手性化合物也能实现分离。

传统的液相SMB为保持与真实移动床相同的吸附平

衡特点,具有以下限制:1)各区带流动相组成一致;2)各区带温度相同;3)各区带柱数不变;4)在同一切换周期内进样浓度不变;5)同一切换周期内进样流速不变;6)所有入口和出口同时切换;7)萃余液和萃取液全部收集。实际上,这些限制是可以不存在的,SMB技术本身有很大的发展空间。为使SMB技术应用更加广泛,研究者对SMB技术的改进和发展产生了溶剂梯度操作、压力梯度操作、温度梯度操作、萃余液或萃取液部分舍弃的操作、在一个切换周期内每区带柱数发生改变的Varicol工艺、在一个切换周期内进样流速发生改变的Powerfeed工艺、在一个切换周期内进样流速发生改变的Modicon工艺、超临界流体SMB、气相SMB和多组分分离SMB。这些新的工艺由于具有比传统SMB更大的自由度,选择合适的工艺能得到更好的分离效果。

## 2 模拟移动床色谱的应用

### 2.1 模拟移动床在石油化工领域的应用

传统石油化工行业产品需求量大,要求设备年产量高,SMB装置以大型的固定床层为主,具有生产量大、效益高的优点,采用旋转阀或开关阀实现固定相的模拟移动,多采用沸石分子筛为吸附剂,利用吸附剂对各组分吸附能力强弱的不同分离混合物,生产成本低。

20世纪60年代,SMB最早应用于石油化工行业,美国环球油品公司(Universal Oil Products Co., UOP)首先进行了混合二甲苯的分离,称为Sorbex工艺。该工艺采用大型吸附床层,通过一个旋转阀实现柱的移动,用于从支链烷烃和芳烃中分离出高纯度正构烷烃<sup>[3]</sup>。之后,法国石油研究院(IFP)和日本东丽株式会社(Toray)相继开发了Eluxyl工艺和Aromax工艺。Eluxyl工艺首先于1997年韩国蔚山S-Oil炼厂投产,其工艺原理与Parex相似,主要区别在于吸附室采用了多达120个单独的开关阀,由计算机控制开闭<sup>[4-5]</sup>,相较于Sorbex工艺使用一个旋转阀,开关阀价格较低并且容易维护和更换,使生产成本更低。日本东丽株式会社(Toray工业)于1970年也研究成功模拟移动床吸附工艺,称为Aromax工艺,与Parex工艺相比,不同点是采用卧式吸附器,吸附器由许多分割的小室组成,每个小室都设计有进出阀门<sup>[6]</sup>。此外,日本的旭化成公司利用置换色谱原理,用改进的沸石固体吸附剂和特殊的脱附剂开发出能同时分离对二甲苯和乙苯的Asahi法<sup>[7]</sup>。

国内应用SMBC分离石油化工的实例也很多。最早于1978年广州石油化工总厂研究所设计建造了对二甲苯模拟移动床吸附分离试验装置<sup>[8]</sup>,之后,扬子石化公司、北京燕山石化公司研究院都设计了SMB设备用于石油化工的分离。2004年,中国石化集团洛阳石油化工工程公司设计的我国第一套Eluxyl装置于镇海炼化投产<sup>[4]</sup>,用于分离二甲苯和乙苯。大型SMB已经是石油

化工行业的重要的分离设备,随着模拟移动床的多样化发展,必将产生更多的应用。

## 2.2 模拟移动床在食品工业中的应用

20世纪80年代,UOP公司最早应用SMB分离果糖和葡萄糖,开启了SMB在食品工业中的应用。如今,SMB的应用从最初果糖和葡萄糖的分离到多种氨基酸的分离,从二元分离到三元分离,从糖的精细分离到初分离,已经形成了广泛应用。由于SMB具有很高的灵活性,只要能找到合适的固定相和流动相以及分离条件,就能用于不同的混合物分离。糖类和氨基酸中有多种同分异构体以及性质相似的化合物,利用SMB在两组分和三组分分离中的巨大优势,能将单柱不能分离的组分实现分离,具有分离效率高、分离成本低的优点,纯度和产率也大幅度提高。SMB在食品工业中已经有很多应用实例,许多大型工厂纷纷采用SMB用于分离糖类和氨基酸以及糖类的初分离,同时,对SMB实现精细分离的研究报道也很多。

UOP公司应用SMB分离果糖和葡萄糖的过程被称为Sarex过程,是Sorbex工艺的一种,采用大型旋转阀切换。该过程以分子筛为吸附剂,从玉米糖浆中分离果糖与葡萄糖,果糖含量达97.5%,回收率达96.7%。国内的大庆石化研究院与南宁木薯技术开发中心最早开发了分离果糖和葡萄糖的SMB设备<sup>[9]</sup>,类似于Sarex过程。山东青岛胶南明月海藻工业有限责任公司和广西南宁化学制药有限责任公司相继建立了甘露醇和山梨醇的六元醇分离生产装置<sup>[10]</sup>。Long等<sup>[11]</sup>采用离子交换树脂为固定相对D-果糖酶催化合成的D-阿洛酮糖进行了分离纯化,反应后经过脱灰分处理,实验分离得到纯度为99.36%的D-阿洛酮糖和99.67%的D-果糖。

由于制糖工业中很多分离原料包含多组分,因此,多组分分离的SMB得到广泛研究和应用。研究者设计了两个SMB串联、增加第5带或仅用4带3种操作。两个SMB串联的3组分分离,三元混合物首先被分成双组份混合物和一个纯的化合物,然后双组份混合物进入第2个SMB进行分离,得到纯的化合物。增加第5带和仅用4带的操作有两个萃取液出口或两个萃余液出口,仅用4带通常将区带4(二精带)省略,也可采用柱数可变的Varicol工艺。其中,两个SMB串联具有更好的分离性能,而增加第5带或仅用4带节约固定相和流动相,降低成本。在国外,两个和多个模拟移动床串联的SMB分离系统已经应用于蔗糖、葡萄糖和果糖混合物的分离;葡萄糖、麦芽糖和麦芽三糖混合物的分离;单糖、二糖和多聚糖的分离。在国内,李瑛等<sup>[12]</sup>开发了一种分离多组分分离装置,能分离葡萄糖、甘露糖和低聚糖,此外,还用该装置分离了大豆低聚糖<sup>[13]</sup>。

除制糖工业中精细分离的应用外,对制糖原料的农产品水解液的初分离也有大量应用,以脱除木质素、糖

酸、盐<sup>[14]</sup>和酶蛋白等化合物。其中,脱除糖酸的应用最多,李浔等<sup>[15]</sup>用模拟移动床离子排斥色谱,分离了纤维素酸解制糖工艺中的糖酸;刘建奇<sup>[16]</sup>分离纯化了柠檬酸和葡萄糖,首先建立了分析柱模型和单柱模型;Wu等<sup>[17]</sup>采用16柱中试规模的SMB对发酵肉酱中的柠檬酸进行了分离纯化得到纯度为99.8%、回收率为97.2%的柠檬酸。

除了制糖工业中的应用,模拟移动床色谱还广泛用于氨基酸的分离,在苯丙氨酸、赖氨酸、色氨酸、缬氨酸和苏氨酸等的分离纯化上都有应用。国内已建立了模拟移动床分离纯化L-赖氨酸、L-苯丙氨酸、缬氨酸和丙氨酸等氨基酸的装置。万红贵等<sup>[18]</sup>采用4带8柱模拟移动床实现了缬氨酸和丙氨酸的分离,分离效果远好于普通的离子交换树脂法,得到含量98.6%的缬氨酸和82.9%的丙氨酸。近几年,研究者对芳香族氨基酸的三元分离研究较多,为使SMB设备更为简化,4柱SMB实现三元分离是其趋势。Jo等<sup>[19]</sup>采用改进的4柱SMB对三元氨基酸混合物甲硫氨酸、苯丙氨酸和色氨酸进行了分离,他们将萃取液分成两段分别收集中间保留组分苯丙氨酸和强保留组分色氨酸,得到3种氨基酸纯度都在90%以上。Binder<sup>[20]</sup>采用强阳离子交换树脂为固定相的SMB纯化氨基酸,通过pH梯度来洗脱,已申请专利。此外,Cremasco等<sup>[21]</sup>也采用4柱SMB从L-苯丙氨酸、L-赖氨酸和L-色氨酸中分离纯化L-色氨酸。

## 2.3 模拟移动床在药物分离中的应用

### 2.3.1 模拟移动床在天然药物分离中的应用

我国是一个重视中医药的国家,中药自古以来广泛应用于疾病的治疗和预防,然而对于一些中药的治病机理并不明确,同时有许多中药材尚未开发成药品。为研究中药材的治病机理和开发成药品,中药材提取物的分离纯化是前提步骤。天然产物的市场需求量不如石油化工,因此,采用的SMB通常为多根色谱柱串联的中小型设备,ODS填料、吸附树脂等固定相应用较多。SMB只是天然产物分离工艺中的一部分,由于原料杂质较多,常常不能得到纯度在98%以上的产品,可以结合萃取、离心、过滤、结晶和层析等提取分离手段提高产品的纯度。初分离之后得到的经常是多组分混合物,采用SMB分离只能得到一种化合物,或者采用串联SMB实现多组分分离。

辽宁科技大学分离技术中心自行研制了小型的4带和3带SMB系统,分离纯化了紫杉醇(95%)<sup>[22]</sup>、槲皮素(99%)<sup>[23]</sup>、银杏总内酯(95%)<sup>[24]</sup>、银杏黄酮(94%)<sup>[25]</sup>、银杏内酯B(90%)<sup>[26]</sup>、甘草苷(97%)<sup>[27]</sup>、人参皂苷Rb<sub>1</sub>(90%)<sup>[28]</sup>、玉米须黄酮(90%)<sup>[29]</sup>、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)(90%)<sup>[30]</sup>。近年来,国内外分离纯化其他天然产物的研究也诸见报道。Mun等<sup>[31]</sup>采用溶剂梯度SMB从三尖杉宁碱中分离纯化紫杉醇,参数优化后,生产效率是等度SMB的11倍,流动相消耗只有等度SMB的

21%。Kang 等<sup>[32]</sup>还采用两个 SMB 串联的方式对紫杉醇、13-脱羟基赤霉素和 10-二乙酰紫杉醇三元混合物进行了分离,紫杉醇从第一个 SMB 的萃取液出口流出,13-脱羟基赤霉素和 10-二乙酰紫杉醇进入第二个 SMB,分别从萃余液和萃取液出口流出。Wei 等<sup>[33]</sup>采用 ODS 填料的色谱柱,以体积比为 75:25 的甲醇-水为流动相分离辣椒总碱,将萃余液中的少量弱保留杂质切换至区带 1(从萃取液出口流出)以提高萃余液中辣椒碱的含量,得到纯度为 93.4% 的辣椒碱和 93.56% 的二氢辣椒碱。

### 2.3.2 模拟移动床在手性药物分离中的应用

临床应用的很多化学药物并非是单一的化合物,而是两种或多种对映体组成的,其中很多药物只有一种手性对映体具有药理作用,另一种或多种没有药理作用或功效很低,甚至有些手性对映体具有毒副作用。手性化合物的分离利用手性固定相或手性流动相,因为手性流动相很不经济,因此,手性固定相应用十分广泛,在外消旋药物的 SMB 分离中起了关键性的作用。手性对映体由于性质相似,采用单柱色谱分离较为困难。自 1992 年, Negawa 等<sup>[34]</sup>首次应用 SMB 分离手性药物以来,优时比制药公司(UCB Pharma)于 1997 年成功开发了大型 SMB 用于手心药物分离。至 2002 年,用 SMB 生产的抗抑郁药物依地普仑的单一对映体首次获得美国食品药品监督管理局的批准。近几年关于 SMB 分离手性化合物的报道层出不穷, SMB 的分离性能远高于单柱,尤其适用于两组分分离,因此分离手性药物具有很大的应用前景。

近年来,研究者多使用小型 SMB 用于手性药物分离,固定相多为手性固定相,采用模型分析,通过实验确认分离结果。Goncalves 等<sup>[35]</sup>采用手性固定相的 8 柱 SMB 在线性条件下对精神压抑治疗药物外消旋咯利普兰进行了分离,以体积比为 70:30 的己烷和 2-丙醇为流动相。Yoon 等<sup>[36]</sup>采用 6 柱 SMB 分离将 4 种氯索洛芬对映体分成两部分 (1'R, 2S)和(1'S, 2S)对映体在萃余液出口流出,纯度达 98% (1'R, 2R)和(1'S, 2R)对映体在萃取液出口流出,纯度达 95%。此外,国外还有分离 1,1-2-萘酚外消旋对映体<sup>[37]</sup>、外消旋布比卡因<sup>[38]</sup>、布洛芬对映体<sup>[39]</sup>和苦杏仁酸对映体<sup>[40]</sup>的报道。

除了传统 SMB 的应用,Varicol 工艺、间歇 SMB、低柱数 SMB、部分回收工艺和溶剂梯度操作等新工艺或操作模式在手性分离中的应用也诸见报道。Zhang 等<sup>[41]</sup>采用 SMB 分离了 -受体阻滞药外消旋心得静,采用 Varicol 工艺(在一个切换周期内柱配置发生变化的工艺)比传统 SMB 能得到更高纯度和回收率的 S-心得静。在 SMB 分离过程中,切换周期的后段,萃取液和萃余液中常含有杂质,为提高纯度,研究者提出了切换周期后段不收集的间歇色谱。间歇 SMB 将一个切换周期分成收集和收集两个阶段,收集阶段与传统 SMB 操作一致,

不收集阶段流动相通过 4 个区后流出。Katsuo 等<sup>[42]</sup>采用间歇 SMB(intermittent simulated moving bed, I-SMB)分离特勒盖尔碱对映体,实验比较了 1/1/1/1 柱配置的 I-SMB、1/2/2/1 柱配置和 1/1/1/1 柱配置的传统 SMB,结果发现采用 1/1/1/1 柱配置的 I-SMB 得到萃余液和萃取液纯度最高、生产率最大。Acetti 等<sup>[43]</sup>也采用 1/1/1/1 柱配置的间歇 SMB 分离(RS,RS)-2-(2,4-二氟代苯基)-丁-1,2,3-三醇对映体。Araújo 等<sup>[44]</sup>采用两柱半连续开环 SMB 分离手性药物瑞波西汀,将一个循环周期分成 3 个阶段,循环周期的前 1/5 时间柱 1 进样、柱 2 精制,之后 1/5 时间柱 1 不进样,萃余液都从柱 1 流出,最后的 3/5 时间柱 1 精制、柱 2 洗脱得到萃取液。该方法不仅具有单柱色谱的简便性和灵活性,而且具有多柱 SMB 提高产品纯度和生产率、低成本和易放大的优点。Zhou 等<sup>[45]</sup>对 PG50 进行了分离,对 SMB 和单柱色谱的比较发现, SMB 能提高分离性能,并采用萃取液的部分回收(partial extract withdrawal)工艺,提高了 S-PG50 的纯度,并节约了流动相。陈丽君等<sup>[46]</sup>采用溶剂梯度 SMB 分离了奥美拉唑对映体,以纯乙醇为流动相,体积比为 50:50 的乙醇-正己烷为进料口溶剂,结果表明,溶剂梯度 SMB 能节约流动相,并且能提高分离效率。

### 2.3.3 模拟移动床在生物药物分离中的应用

利用微生物发酵提取或工业合成的药物纯度通常不高,因此需要通过分离纯化才能用于医药行业。通过选择适合的固定相和流动相, SMB 不仅能用于食品化工和医药领域,对于一些生化成分如酶、反应中间产物和代谢产物也能实现分离。20 世纪 90 年代, Gottschlich 等<sup>[47]</sup>首次采用 SMB 分离单克隆抗体,此后,利用 SMB 分离生物药物的研究受到重视。Le 等<sup>[48]</sup>应用反相固定相模拟移动床分离 3-和 4-水杨酸,在流动相中加入 1.5mL/L 的 [hmim][BF<sub>4</sub>]以避免水杨酸在中性流动相中离子化,相比 pH3 的条件,分离条件温和,出口浓度提高,溶剂消耗降低。Mun<sup>[49]</sup>对 SMB 纯化制真菌素进行了研究,同时研究了填料粒径对制真菌素纯度和产量的影响,结果表明,在一定的细填料范围内,由于受压力影响,粒径增大,纯度和产量增高;大粒径时则相反,是由于受传质阻力的影响。Wang 等<sup>[50]</sup>采用 SMB 分离纯化胰岛素,并申请了专利。此外,国内还有分离 -、-和 -VE<sup>[51]</sup>和利用 30 柱 Carrousel 型模拟移动床从工业红霉素发酵液中提取红霉素<sup>[52]</sup>的报道。

蛋白质是一切生命的物质基础,也是重要的食品成分,无论是研究蛋白质的特性还是用于产品开发,分离纯化都尤为重要。分离纯化蛋白质的方法主要有电泳、纤维素离子交换层析、Sephadex 离子交换层析、HPLC 和亲和层析法等方法。近年来,研究者基于各种层析方法将 SMB 用于蛋白质分离纯化的报道越来越多。Sahoo 等<sup>[53]</sup>采用固定化金属亲和 SMB 分离纯化了 -葡萄

糖苷酶, 该酶先用组氨酸标记, 分离得到产品纯度接近 100%, 回收率为 91%。Li 等<sup>[54]</sup>采用溶剂梯度离子交换 SMB 分离蛋白质, 比较了开环、闭环和闭环加混合管 3 种工艺, 混合管将新的流动相和区带 4 流出的流动相混合, 能够降低流动相盐浓度和洗脱强度的波动。Thommes 等<sup>[55]</sup>发明了一种能分离纯化免疫活性蛋白如抗体的亲和色谱 SMB。此外, Kessler 等<sup>[56]</sup>采用三带开环盐梯度模拟移动床实现了免疫球蛋白 G 和骨骼形态遗传蛋白 2 的纯化; Ottens 等<sup>[57]</sup>对水解蛋白混合物进行了分离, 得到纯度在 98% 以上的活性蛋白。

随着基因工程等生物技术的迅猛发展, 对核苷酸及相关化合物的分离纯化要求越来越高, SMB 作为能得到高纯度单一化合物和实现手性分离的先进分离方法, 近年来开始用于遗传物质及相关化合物的分离纯化。Paredes 等<sup>[58]</sup>采用 8 柱 5 带 SMB 纯化了质粒 DNA, 以琼脂糖凝胶为固定相, 分为 0、1、2、3 和 r 共 5 个区带, 区带 1、2 和 3 是用于分离的主要区带, 区带 0 以 1 mol/L 的 NaOH 水溶液彻底去除色谱柱中的杂质, 使固定相再生, 区带 r 用流动相平衡, 这样的操作模式被称为就地清洁(cleaning in place, CIP), 有文献将这 5 个区带分别称为再生带、进样带、洗脱带、冲洗带和平衡带<sup>[59]</sup>。此外, Abel 等<sup>[60]</sup>采用 8 柱 4 带 SMB 对鸟嘌呤核苷和尿嘌呤核苷进行了分离, Jeon 等<sup>[61]</sup>采用 3 带 SMB 对 *L*-阿拉伯糖差向异构化形成的 *L*-核糖进行了分离纯化。

### 3 模拟移动床色谱在茶叶功能成分分离中的应用及其前景

茶叶中含有多类功能成分, 儿茶素、茶黄素、茶氨酸、茶皂素和咖啡碱等物质具有很好的保健功能, 都已经制成保健食品或药品。然而这些功能成分的分离存在纯度较低或分离成本高的缺点, SMBC 正好能弥补这些缺点。根据 SMBC 分离原理, 能通过色谱分离的物质, 通过改变固定相和流动相, 将分离条件进行参数优化后, 均能实现分离。同时, 单柱分离是 SMBC 分离的基础。因此, 分离茶叶功能成分时, 可以选择目前较优的色谱分离方法, 依据该方法的固定相和流动相建立 SMB, 以 SMB 传统工艺或改进的工艺进行分离, 通过参数优化确定最适的分离条件。

#### 3.1 模拟移动床分离纯化儿茶素

目前较为先进的分离纯化儿茶素的方法有葡聚糖凝胶柱层析、轴向压缩键合硅胶色谱和高速逆流色谱。葡聚糖凝胶柱层析分离效果好, 但分离时间较长, 而且柱填料昂贵。轴向压缩键合硅胶色谱和高速逆流色谱分离效果较好, 但是分离量少、分离效率低。SMBC 具有连续进样、分离效率高、分离效果好、降低成本等优点, 根据 SMBC 的分离原理, 能纯化保留时间最短或最长的儿茶素组分。王霞<sup>[62]</sup>研究了模拟移动床分离茶

多酚得到 EGCG 的前处理, 采用乙酸乙酯萃取法能去除保留时间在 EGCG 之前的组分, 以 ODS 填料为固定相、乙醇和水为流动相, 分离茶多酚得到了纯度为 90% 的 EGCG。此外, 许多 98% 茶多酚产品或 EGCG 粗品都以 EGCG 为主, 可以将 EGCG 作为弱保留组分纯化。因此, SMBC 分离纯化 EGCG 是可行的。同时, 许多 98% 茶多酚产品中 ECG 含量高而保留时间更长的 CG 含量少, ECG 可以作为强保留组分而纯化。由于分离纯化儿茶素仅处于实验室规模, 转化成工厂应用前还需要进行中试, 如何控制成本仍是 SMB 应用的瓶颈。

#### 3.2 模拟移动床分离纯化茶氨酸

天然的茶氨酸均为 *L* 型, 而化学合成的茶氨酸为 *L* 型和 *D* 型的混旋体, 人体能利用的茶氨酸只有 *L* 型, 如摄入过量 *D* 型氨基酸对映体, 甚至会引起中毒, 危及生命。美国和欧盟等国家对于手性药物需给出手性拆分结果。并且, *D*-茶氨酸的生理作用和活性尚不明确, 无论是茶氨酸的应用和研究都需要进行手性分离, 因此手性分离是必然趋势。

目前对茶氨酸的手性拆分研究较少, 李银花<sup>[63]</sup>提出的手性固定相法和手性衍生试剂法两种液相色谱分离法有较好的分离效果。手性固定相法采用 *L*-羟基脯氨酸硅胶键合手性柱, 流动相为 0.8 mmol/L 的硫酸铜水溶液。该方法能将茶氨酸对映体基线分离, 缺点在于手性色谱柱价格较昂贵, 且色谱柱通用性不强。手性衍生试剂法采用 Kromasil C<sub>18</sub> 柱, 流动相为三乙胺-磷酸缓冲液和乙睛, 采用 1-氟-2,4-二硝基苯基-5-*L*-丙氨酸酰胺(FDAA)作为衍生试剂, NaHCO<sub>3</sub> 使溶液成碱性, 从而使茶氨酸的氨基不带电荷, HCl 用于终止反应。*L*-茶氨酸与 FDAA 生成反式结构, *D*-茶氨酸与 FDAA 生成顺式结构, 利用两者疏水性不同而分离。手性衍生试剂法使用通用的色谱柱, 同样适用于多组分氨基酸的分离, 分离茶氨酸对映体能达到基线分离。然而, 这两种方法都只用于分析, 制备分离尚无报道。SMBC 比单柱具有更高的分离度, 拆分对映体具有优势, 因此制备分离茶氨酸对映体理论上具有可行性。同时 SMBC 色谱免除了色谱柱的活化, 文献<sup>[58]</sup>提出的就地清洁的方法能很好地解决采用缓冲盐流动相时色谱柱的清洗问题。利用文献<sup>[63]</sup>的固定相和流动相, 将 SMB 分为洗脱带、精制带、进样带、平衡带和再生带, 再生带采用强洗脱流动相洗脱, 不仅实现连续进样, 还能提高产品纯度、降低流动相消耗。

如前文所述, SMB 对于一些难分离的混合物也能实现分离, 手性分离是 SMB 最具前景的应用之一。SMB 分离茶氨酸对映体的应用瓶颈仍然在成本控制上, 手性色谱柱价格昂贵, 柱效容易降低; 手性衍生试剂需要色谱纯, 价格较贵。SMB 分离设计时增大进样流速、降低流动相消耗、降低设备成本成为主要目标。

### 3.3 模拟移动床分离茶黄素

目前,茶黄素的分离可采用 Sephadex LH-20 柱层析、聚酰胺层析法和高效液相色谱法等方法。丁阳平等<sup>[64]</sup>采用聚酰胺大孔吸附树脂分离茶黄素,流动相甲醇-氯仿-丙酮-冰醋酸体积比为 3:5:8:0.5,等梯度洗脱,茶黄素(TF)单体最后流出,纯度为 93%,其他单体也能进一步得到。该方法填料价格低,化学性质稳定,制备量大,被认为是制备茶黄素单体很有前景的方法<sup>[65]</sup>。该方法为 SMBC 分离提供了固定相和流动相及分离条件的参考,然而,该方法不能连续进样、操作繁琐、设备利用率低。SMBC 能提高分离效率,可以利用聚酰胺大孔吸附树脂为固定相,制备得到 TF 单体,该方法的缺点在于其他 3 种主要单体需要重新分离。也可采用串联 SMB,一级 SMB 将茶黄素分离成两部分,萃余液中以茶黄素-3-没食子酸酯(TF-3-G)和茶黄素-3,-3'-双没食子酸酯(TF-D-G)为主,萃取液中以 TF 和茶黄素-3'-没食子酸酯(TF-3'-G)为主,两个二级 SMB 分别分离两组混合物,从而得到 4 种茶黄素单体。该方法色谱柱较多,实验设计复杂,并且由于茶黄素可能包含其他杂质,得到高纯度单体有一定的难度。

### 3.4 模拟移动床纯化茶皂素

赵晓东<sup>[66]</sup>开发了一种纯化茶皂素的方法,将市售的粗茶皂素配制成 5% 的水溶液,采用聚苯乙烯型树脂在 pH4 的条件下进行吸附处理,0.1% 氢氧化钠水溶液脱除被吸附的杂质和色素,以 80% 的甲醇为洗脱液洗脱,减压蒸馏回收甲醇,将残留物浓缩烘干,得到纯度 95.11% 的茶皂素。该方法所用树脂选择性强、吸附量大、解吸和吸附容易、操作简便、成本低廉、为 SMBC 的固定相和流动相的选择提供参考。SMBC 能提高分离效率,以聚苯乙烯型树脂为固定相,进样带进样 5% 的粗茶皂素水溶液;精制带以 0.1% 氢氧化钠水溶液为流动相脱除色素及其他杂质,从萃余液出口流出;洗脱带以 80% 的甲醇为流动相得到高纯度茶皂素。由于流动相的不同,采用 3 带开环 SMB 能避免不同流动相之间的干扰。SMB 能连续生产、批量制备、生产效率高,将是纯化茶皂素的好方法。

### 3.5 模拟移动床分离纯化茶叶中的其他天然产物

SMB 纯化咖啡碱可以利用现有的吸附柱层析技术,咖啡碱在萃取液出口流出,具有连续分离、制备量大、节约成本等优点。茶多糖的分离中现有的纤维柱层析、凝胶柱层析和高效液相色谱法,理论上都可以利用其固定相和流动相实现 SMBC 分离纯化。其他能采用色谱法精制的茶叶功能成分,理论上都可以通过 SMBC 分离纯化得到单体或性质类似的混合物。

模拟移动床色谱法具有节约固定相、节约流动相、节约人力资源和成本、连续生产、容易实现工业规模上大批量制备等优点。选择合适的固定相和流动相,分离纯化茶

叶中的功能成分具有的可行性。并随着模拟移动床的多样化发展,在茶叶功能成分分离中有广阔的应用前景。

### 参考文献:

- [1] 林炳昌. 模拟移动床色谱技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 113.
- [2] 危凤, 赵迎宪. 间歇色谱与模拟移动床色谱分离奥美拉唑对映体的比较[J]. 高校化学工程学报, 2009, 23(2): 303-308.
- [3] Universal Oil Products Co.. Understanding the Sorbex™ process[EB/OL]. (2010-08-02)[2011-07-15]. <http://www.uop.com/products/equipment/aromatics-separation/>.
- [4] 魏军强, 许琴. 模拟移动床在对二甲苯生产中的应用[J]. 辽宁化工, 2009, 38(10): 746-747; 772.
- [5] 强霄航, 曹森. ELUXYL 对二甲苯吸附分离工艺吸附塔管道的设计[J]. 炼油技术与工程, 2004, 34(4): 41-44.
- [6] 伍川, 王净依, 陆俊跃, 等. 对二甲苯分离提纯进展[J]. 南京工业大学学报, 2002, 24(3): 106-110.
- [7] SEKO M. Process efficiently yields p-xylene and ethyl benzene[J]. Oil Gas J, 1979, 77(27): 81-87.
- [8] 蔡复礼. 模拟移动床吸附分离技术的研究与开发[J]. 辽宁化工, 1996(2): 32-34.
- [9] 毛小涛. 吸附分离装置控制系统[J]. 化工自动化及仪表, 1996, 23(2): 6-9.
- [10] 梁智. 南宁年产 5000 吨六元醇项目投产[J]. 广西轻工业, 2004(2): 34.
- [11] LONG N V D, LE T H, KIM J I, et al. Separation of *D*-psicose and *D*-fructose using simulated moving bed chromatography[J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(11): 1987-1995.
- [12] 李瑛, 金树人, 周日尤, 等. 一种用模拟移动床分离葡萄糖、甘露糖、低聚糖的方法: 中国, 200910031036[P]. 2009-10-14.
- [13] 李瑛, 金树人, 周日尤, 等. 用模拟移动床分离制备高含量大豆低聚糖的方法: 中国, 200910031037[P]. 2009-09-23.
- [14] 方煜宇, 方红贵. 模拟移动床的简易参数设计方法[J]. 中国甜菜糖业, 2006(3): 6-11.
- [15] 李浔, 颜涌捷, 任铮伟, 等. 模拟移动床离子排斥色谱分离水解液中的糖酸[J]. 太阳能学报, 2005, 26(6): 747-751.
- [16] 刘建奇. 柠檬酸模拟移动床色谱分离的模拟、优化和放大研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [17] WU Jianlan, PENG Qijun, ARLT W, et al. Model-based design of a pilot-scale simulated moving bed for purification of citric acid from fermentation broth[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(50): 8793-8805.
- [18] 方红贵, 方煜宇, 叶慧. 模拟移动床技术分离缬氨酸和丙氨酸[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(12): 50-53.
- [19] JO S H, NAM H G, MUN S. Optimal design and experimental validation of a modified four-zone SMB process for the separation of a ternary amino acid mixture[J]. Process Biochemistry, 2010, 45(8): 1288-1298.
- [20] BINDER T P. Simulated moving bed chromatographic purification of amino acids: EP, 19990309901[P]. 2001-6-13.
- [21] CREMASCO M A, STARQUIT A, WANG N H L. Separation of *L*-tryptophan present in an aromatic amino acids mixture in a four-column simulated moving bed: experimental and simulation studies[J]. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 2009, 26(3): 611-618.
- [22] 李勃, 肖国勇, 林炳昌, 等. 模拟移动床分离紫杉醇[J]. 鞍山钢铁学院学报, 2000, 23(4): 244-248.
- [23] 张丽华, 高丽娟, 林炳昌. 模拟移动床色谱提纯槲皮素[J]. 鞍山钢铁学院学报, 2002, 25(2): 108-111.
- [24] 高丽娟, 刘望才, 全艳玲, 等. 纯化银杏总内酯的新工艺[J]. 化学世界, 2005, 46(12): 711-714.
- [25] 高丽娟, 刘普, 张伟, 等. 生产银杏黄酮的模拟移动床色谱工艺[J].

- 化学研究与应用, 2004, 16(3): 429-430.
- [26] 高丽娟, 刘望才, 张伟, 等. 银杏内酯 B 的纯化[J]. 精细化工, 2004, 21(6): 418-420.
- [27] CONG Jingxiang, LIN Bingchan. Separation of liquiritin by simulated moving bed chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1145(1/2): 190-194.
- [28] 张伟. 人参皂甙 Rb<sub>1</sub> 的模拟移动床色谱分离工艺研究[D]. 鞍山: 辽宁科技大学, 2007: 6-85.
- [29] 王健建, 高丽娟, 张丽华, 等. 玉米须黄酮的模拟移动床色谱纯化工艺[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(26): 8096-8097.
- [30] 王霞. 茶多酚中 EGCG 的分离纯化工艺研究[D]. 鞍山: 辽宁科技大学, 2005: 39-44.
- [31] MUN S, WANG N H L. Optimization of productivity in solvent gradient simulated moving bed for paclitaxel purification[J]. Process Biochemistry, 2008, 43(12): 1407-1418.
- [32] KANG S H, KIM J H, MUN S. Optimal design of a tandem simulated moving bed process for separation of paclitaxel, 13-dehydroxybaccatin III, and 10-deacetylpaclitaxel[J]. Process Biochemistry, 2010, 45(9): 1468-1476.
- [33] WEI Feng, ZHAO Yingxian. Separation of capsaicin from capsaicinoids by simulated moving bed chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1187(1/2): 281-284.
- [34] NEGAWA M, SHOJI F. Optical resolution by simulated moving-bed adsorption technology[J]. Journal of Chromatography A, 1992, 590(1): 113-117.
- [35] GONCALVES C V, CARPES M J S, CORREIA C R D, et al. Purification of n-boc-Rolipram racemate on chiral stationary phase using simulated moving bed chromatography under linear conditions[J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 40(3): 526-536.
- [36] YOON T H, LEE E, KIM J M, et al. The enrichment of loxoprofen enantiomer by 6-columns simulated moving bed chromatography[J]. Korean J Chem Eng, 2008, 25(2): 285-290.
- [37] WONGSO F, HIDAJAT K, RAY A K. Improved performance for continuous separation of 1,1'-bi-2-naphthol racemate based on simulated moving bed technology[J]. Separation and Purification Technology, 2005, 46(3): 168-191.
- [38] CHOI Y J, HAN S K, CHUNG S T, et al. Separation of racemic bupivacaine using simulated moving bed with mathematical model[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2007, 12(6): 625-633.
- [39] PARK J S, KIM W S, KIM J M, et al. Ibuprofen racemate separation by simulated moving bed[J]. J Chem Eng Japan, 2008, 41(7): 624-626.
- [40] LEE E, KIM J M, KIM W S, et al. Simulation and operation performance of simulated moving bed for enantioseparation of mandelic acid[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2010, 15(1): 103-109.
- [41] ZHANG Yan, HIDAJAT K, RAY A K. Multi-objective optimization of simulated moving bed and Varicol processes for enantio-separation of racemic pindolol[J]. Separation and Purification Technology, 2009, 65(3): 311-321.
- [42] KATSUO S, MAZZOTTI M. Intermittent simulated moving bed chromatography: 2. Separation of Tröger's base enantiomers[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(18): 3067-3075.
- [43] ACETTI D, LANGEL C, BRENNER E, et al. Intermittent simulated moving bed chromatographic separation of (RS,RS)-2-(2,4-difluorophenyl) butane-1,2,3-triol[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(17): 2840-2846.
- [44] ARAÚJO J M M, RODRIGUES R C R, EUSÉBIO M F J, et al. Chiral separation by two-column, semi-continuous, open-loop simulated moving-bed chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(13): 5407-5419.
- [45] ZHOU Weihong, LAN Shaopeng, WANG Jida, et al. Purification of S-PG05 using simulated moving bed chromatography[J]. Separation Science and Technology, 2009, 44(7): 1510-1524.
- [46] 陈丽君, 危凤, 苏宝根, 等. 溶剂梯度模拟移动床分离奥美拉唑对映体的研究[J]. 化工时刊, 2008, 22(4): 1-12.
- [47] GOTTSCHELICH N, KASCHE V. Purification of monoclonal antibodies by simulated moving-bed chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1997, 765(2): 201-206.
- [48] LE T H, LEE J W, KIM J K, et al. Application of [hmim][BF<sub>4</sub>] ionic liquid in reversed-phase simulated moving bed for the separation of 3- and 4-hydroxybenzoic acid[J]. Korean J Chem Eng, 2009, 26(5): 1334-1340.
- [49] MUN S. Simultaneous optimization of product purity and yield in a simulated moving bed chromatography for nystatin purification[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2009, 32(1): 1-27.
- [50] WANG N H L, XIE Y, MUN S. Insulin purification using simulated moving bed technology: US, 20030216543[P]. 2003-11-20.
- [51] LÜ Yubin, SU Baogen, YANG Yiwen, et al. Simulated moving bed separation of tocopherol homologues: simulation and experiments[J]. Journal of Zhejiang University: Science A, 2009, 10(5): 758-766.
- [52] 洪诗群, 洪昱斌, 何旭敏, 等. Carrousel 型模拟移动床在红霉素提取中的应用[J]. 化学工程, 2009, 37(11): 62-65.
- [53] SAHOO D, ANDERSSON J, MATTIASSON B. Immobilized metal affinity chromatography in open-loop simulated moving bed technology: Purification of a heat stable histidine tagged  $\alpha$ -glucosidase[J]. Journal of Chromatography B, 2009, 877(16/17): 1651-1656.
- [54] LI Ping, XIU Guohua, RODRIGUES A E, et al. Proteins separation and purification by salt gradient ion-exchange SMB[J]. AIChE Journal, 2007, 53(9): 2419-2431.
- [55] THOMMES J, SONNENFELD A M, PIERACCI J P, et al. Method of purifying polypeptides by simulated moving bed chromatography: US, 20070215534[P]. 2007-09-20.
- [56] KESSLER L C, GUEORGUEVA L, RINAS U, et al. Step gradients in 3-zone simulated moving bed chromatography application to the purification of antibodies and bone morphogenetic protein-2[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1176(1/2): 69-78.
- [57] OTTENS M, HOUWING J, van HATEREN S H, et al. Multi-component fractionation in SMB chromatography for the purification of active fractions from protein hydrolysates[J]. Food and Bioprocess Processing, 2006, 84(1): 59-71.
- [58] PAREDES G, MAZZOTTI M. SMB operation for three-fraction separations: purification of plasmid DNA[J]. Adsorption, 2005, 11(Suppl 1): 841-845.
- [59] ANDERSSON J, SAHOO D, MATTIASSON B. Isolation of potato proteins using simulated moving bed technology[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2008, 101(6): 1256-1263.
- [60] ABEL S, ERDEM G, AMANULLAH M, et al. Optimizing control of simulated moving beds: experimental implementation[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1092(1): 2-16.
- [61] JEON Y J, PARK M B, KIM I H. L-Ribose from L-arabinose by epimerization and its purification by 3-zone simulated moving bed chromatography[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2010, 33(1): 1615-7591.
- [62] 王霞. 茶多酚中 EGCG 的分离纯化工艺研究[D]. 鞍山: 辽宁科技大学, 2005.
- [63] 李银花. 茶氨酸对映体的高效液相色谱拆分与定量[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006.
- [64] 丁阳平, 刘仲华, 黄建安. 聚酰胺分离纯化茶黄素类物质研究[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 55-57.
- [65] 张建勇, 江和源, 崔宏春, 等. 4 种主要茶黄素单体分离制备方法研究进展[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 493-497.
- [66] 赵晓东. 一种纯化茶皂素的方法[J]. 西南石油学院学报, 2001, 23(3): 61-62.