

文章编号:1006-9798(2001)04-0092-06

制备色谱技术进展

王学军,赵锁奇,王仁安

(石油大学重质油加工国家重点实验室,北京昌平 102200)

摘要:综述了四种典型的制备色谱:高效液相色谱、超临界流体色谱、模拟移动床、高速逆流色谱技术进展及其优缺点,简要介绍了制备色谱在我国的发展现状并对制备色谱的发展前景进行了展望。

关键词:制备色谱,高效液相色谱,超临界流体色谱,模拟移动床色谱,高速逆流色谱

中图分类号: O657.7 **文献标识码:** A

色谱是迄今人类掌握的对复杂混合物分离效率最高的一种方法。作为一种精度高、速度快的分析工具,色谱在医药工业、生化技术和精细化学品的生产方面已成为越来越重要的制备分离的手段。许多情况下,所需的高纯标样只能用制备色谱技术来得到,如外消旋体的分离^[1]。随着生物工程以及中医药现代化的迫切要求,在相关的领域都面临着大量的分离纯化任务,制备色谱作为一种快速高效的分离技术,已经引起世界各国的高度重视。在我国该技术已被列入“863”工程生物技术领域的攻关项目中。

1 制备色谱

制备规模的色谱这一术语对不同的人含意不同,对生物化学家来讲,制备色谱可能意味着分离几毫克试样,然后用适合的分光技术对结构加以说明;对有机化学家来说制备色谱大概意味着为了随后的合成工作析 5~50 g 中间产品。可见制备色谱从几毫克到几十克宽范围试样的负载,甚至对几百克物质进行一次分离,以满足研究和其他用途的需要。

经典柱色谱法虽可处理大量样品,但是效率低,太花费时间和消耗大量溶剂。而现代制备色谱法则具备柱效高,分离速度快等特点,是制备纯化天然产物和化学合成产物的极好手段。但长期以来,传统制备色谱都与柱子低效、不稳定、重现性差等联系在一起。甚至很多化学工作者都千方百计试图避免使

用色谱作为制备手段^[2]:需要大量溶剂;回收的纯样品都呈稀释状态;对于与柱子超载相关的现象和典型分离没有理论框架;“优化”操作条件更多地依靠感觉和习惯而非科学事实等。由于 20 世纪 80 年代中期压缩柱(径向,特别是轴向压缩)技术的出现,以及人们意识到高品质柱可以大规模使用,这种情况才开始好转。这是现代高效制备液相色谱的开端,也称为 PHPLC^[3]。自从其诞生,PHPLC 取得了长足的发展。

PHPLC 的发展成为可能是由于几方面的工作:柱技术,填料(手性与非手性),理论和模型。而且,新的概念如 SMB(模拟移动床色谱)、Pre-SFC(制备型超临界流体色谱)以及 HSCCC(高速逆流色谱)都被引入以扩展色谱作为一种工业提纯工具的应用领域。

2 制备型液相色谱

相对于分析型色谱,制备色谱的核心就是柱子。为提供既稳定又高效的柱子,并用小尺寸颗粒进行填充,最常用也是最易实现的效果较为理想的是动态轴向压缩柱(DACTM)技术^[4]。DAC 技术为使用者提供了用任一种填料自己装填柱子、方便快速地调整柱长度的可能性。Matilal 等^[5]讨论了硅胶球形粒子填料在轴向压缩柱中的填充行为及稳定性。David 等^[6]考察了制备型径向压缩色谱的操作选择性及效率,发现在适当的压缩水平时,制备系统

收稿日期:2001-01-12

第一作者简介:王学军(1976-),男,石油大学(北京)重质油加工重点实验室在读硕士生。

的效率几乎接近分析柱,表明径压缩技术提供了可预测的 HPLC 放大升级的硬件水平。现有的制备柱内径达 1 m,额定压力 100 Pa,或更高,生产能力达几吨/年。

提高柱效最有效的方式是用相当小的颗粒以减少提纯时间、溶剂消耗、产品稀释度及提纯成本。与传统的制备色谱填料(粒径至少 100 μm)相比,典型的 PHPLC 用的填料为 10~20 μm ,柱子也较短,一般 20~50 cm。另外保证填料的窄的粒径分布也很重要,以避免太微小的颗粒产生柱后压以及太大的颗粒导致低柱效。制备液相色谱最常用的固定相填料是硅胶,假如硅胶的酸性有碍于对它的使用,那末最好改用氧化铝,有时用一种低质低价填料而非高质中高价填料会使提纯成本更高。不过多数制备分离用硅胶作固定相是令人满意的。现在能得到的键合相不能指望用于大型分离工作,因为它的负载容量低而不适合于制备工作。

考虑到由色谱系统能得到的四种特殊属性^[7],即分辨率、速度、范围和负载,十分明显,要得到其中的任何两种必须牺牲其它两种。因此在制备色谱中,欲得到负载势必以速度和范围为代价,在某些例子中甚至会使用分辨率减小。而色谱在超载条件下的行为是十分复杂的。Sadroddin 等^[8]对制备型液相色谱的模型化进行了综述,认为理想模型最易于理解过载色谱柱中的谱带峰形,而平衡扩散模型则最适于工艺本身。Sadroddin 等^[9]还对制备型液相色谱的实验条件的优化进行了考察,认为收率与产率之间是一种此消彼长的关系。Anila 等^[10]对制备型液相色谱的不同模式(等温洗脱,梯度洗脱,顶替色谱)的最佳化性能进行了比较,主要参数为负载因子和理论塔板数等,并讨论了各自的优点。Christian 等在统一理论模型的基础上比较了四种制备色谱(经典洗脱色谱,循环色谱,模拟移动床及环隙色谱),认为数学模型及所建议的方法学是有通用性的。在这一方面,模拟软件是种有力的帮助,而且即使不能精确计算出最佳提纯操作条件,也可清楚地表现出其趋势。

比起其它制备方法,液相色谱是目前技术手段最成熟、应用最为广泛的一种。它的缺点也很明显^[11],需消耗大量溶剂、产品过于稀释以及往往无法避免有毒溶剂的使用。尽管如此,HPLC 仍然是难以替代的分离方法。在蛋白质(包括酶)、核酸和糖等与生命科学密切相关的生物大分子的分离上,

HPLC 也是特别爱宠的一项技术,多种可供选择的分离模式(反相、正相、离子交换、体积排斥、疏水作用、亲和色谱等)都有应用^[12]。

国内制备型液相色谱方面的报道不多,王志祥等^[13]立足于国产材料和设备,成功地研制了一套较为实用的制备型 HPLC 分离装置,根据不同的制备量和分离要求,该装置可以使用不同内径及不同柱长的制备柱,用于生化产品的制备分离。制备量可达数毫克至数百毫克。

3 制备型超临界流体色谱

所谓超临界流体是指在高于临界压力和临界温度时的一种物质的状态,它兼有气体和液体的某些性质,即兼有气体的低粘度、液体的高密度以及介于气、液之间较高的扩散系数等特征^[14]。二氧化碳做为一直被广泛采用的超临界流体是由它自身的特点决定的。它临界点性质温和($T_c = 31.05$),成本低,安全,且工业易得高纯度。由于 CO_2 对极性化合物的溶解能力较低,人们在以选择二氧化碳为主要流体的基础之上,提出了很多的强化 SFC 分离的技术手段。在需要提高密度以提高超临界流体溶解性的情况下,极性化合物改性剂(Modifier)可有效地提高原流体的溶解能力^[15]。甲醇、乙醇、乙醚、水等是较常用的改性剂。Cantrell 等^[16]对各种改性剂在填充柱 SFC 中的作用进行了考察,发现可以把改性剂调整到合理的模式以加强或掩盖分子间作用。Roth^[17]则考察了改性剂在 SFC 中的热动力学性质。改性剂通过引入一种低浓度强极性的化合物可进一步改善,这种化合物可称为添加剂(Additive)。Blackwell 等^[18]研究了添加剂作用,认为色谱选择性与添加剂及流动相状态有关。

超临界流体具有许多获得好的色谱分离的必要特性,更重要的是,通过改变流动相温度或压力即可改变其密度,色谱分离的特性就会改变^[19]。因此一种单一的流动相就可以用于多种用途的分离,而无需为柱平衡浪费时间,这在 HPLC 靠改变其流动相组成是难以做到的。另外,也容易去除所收集的馏分中的流动相,简单地降压足以将超临界流体 CO_2 气化。流动相的回收也十分简便,只需收集气相 CO_2 ,净化后可使其重返超临界流体状态。 CO_2 易于回收,成本低廉,使 Pre-SFC 对工业极具吸引力,尤其是对比 PHPLC 在生产成本中流动相占最大比例(甚至在回收利用情况下)^[21]。然而,Pre-SFC 也

有缺点^[20],技术相当昂贵(设备必须承受上百 Bar 的压力),操作超临界流体不象液体那样简单,以及 CO₂ 的溶解性能不允许溶解所有物质,通常加入改性剂有所帮助,但同时也部分抵消了上面所提到的优势。所以时至今日,虽然超临界流体的独特物化性质使得 CO₂ 极具竞争性,甚至在模拟移动床^[21-22]和逆流色谱^[23]中也有应用,但超临界流体技术在实验室中的应用远远大过它在工业化生产中的应用。1997 年在法国 Strasbourg 召开的第三届国际超临界流体会议上,会议主席 Krtukonis, Brunner 和 Perrut 在大会特邀报告中指出,丙烷是一种更为实用的工业化超临界溶剂,且已用于一些食品加工过程中。王仁安等^[24]比较了丙烷与 CO₂ 这两种超临界溶剂的溶解性能和传质性能,并结合文献超临界流体萃取的实例说明,在设计工业化超临界流体萃取装置时,丙烷是一种很有竞争力的溶剂。

本实验室的赵锁奇等^[25-26]建立了国内第一套制备型超临界流体色谱,并用于天然产物的分离制备,实验表明这套克级制备色谱使用空白硅胶填料既可以分离弱极性化合物,也可以分离制备强极性物质及生物碱等难洗脱的溶质。

4 模拟移动床色谱

模拟移动床色谱 SMB (Simulated Moving Bed Chromatography) 是提纯化合物的另一个强大且极具吸引力的分离手段。早在 20 世纪 60 年代就由美国工程公司 UOP 把逆流色谱的概念引入 Sorbex 家族的 SMB 工艺并使之商业化,从而作为一种工业制备工艺取得了长足的发展^[27]。由于 SMB 技术减少了为达到特定分离所需的固定相及流动相的体积,成本的节约使色谱分离更加经济可行。但应用于制药及精细化学品的制备分离却一直发展缓慢,主要是由于缺少工艺模拟的模型^[28]、有效数值方法和计算机。直到 20 世纪 80 年代在有关 SMB 理论框架的形成和模拟程序的出现加上 PHPLC 在硬件方面的最新进展,才使 SMB 重新焕发出勃勃生机。古典制备色谱有两大缺陷,不连续且溶质稀释。SMB 的出现打破了这些局限。SMB 是一种模拟真实移动床^[29](或逆流色谱)的重要分离工艺。在 SMB 中,固相逆流移动由进样和溶剂入口与残液和提取物出口的周期性切换来模拟(如图 1),相当于柱子朝与切换方向(即流动相流动的方向)相反的方向移动。

模拟逆流的实现避免了因固相的物理移动导致

的缺点。工艺具连续性,可以将二元样品分离为高度纯净的两个组分,并完全回收。可高效拆分分离因子相对较小的化合物^[30]。SMB 与 HPLC 相比主要的优势在于:溶剂消耗大量减少;收集到的产品稀释度小;填料更加有效利用。因此 SMB 提纯成本比 HPLC 更少。当然 SMB 也有难以克服的问题^[2],一是 SMB 是一种二元分离器,这限制了它的应用范围;二是设备的复杂性,可能比 HPLC 更难使用和维修,一般要用 8~16 根性能相似的柱子,致使优化提纯条件更加复杂。

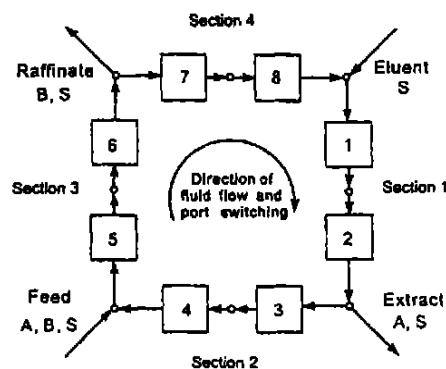


图 1 模拟移动床色谱流程图

尽管如此, SMB 还是方兴未艾,尤其是应用于外消旋溶液的分离^[30](一种典型的二元分离),更是 SMB 技术最理想的用武之地。FDA(美国食品与药品管理局)已宣布出于药物审批的目的将认为两种对映异构体是不同的化学品^[31]。McCoy^[32]讨论了各公司使用 SMB 分离手性化合物的方法。Lehoucq 等^[33]则对 SMB 在手性分离方面的应用进行了探讨,并提出一基于实验数据的逆流模型,发现模型与实际系统吻合良好。也正是由于对纯手性化合物的市场需求趋势,驱使填料制造商去开发用于手性分离的特殊固定相,包括:分子压印,蛋白质相,环糊精等。对于 SMB 系统的设计是一个热门的研究领域^[34-37]。Yun^[38]和 zhong 等^[39]则研究了流速对分离的影响。

SMB 技术在我国的发展尚处于起步阶段,主要是鞍山钢铁学院的林炳昌等^[40]进行这一方面的研究,发表有几篇模型方面的文章^[41-42],李勃等^[43]则在高分子树脂柱和 SMB 系统上分离得到了高纯度的紫杉醇。

5 高速逆流色谱

任何大规模的制备分离都是以小规模制备和一

般分析为先导,摸索条件,优化处理,逐步放大。目前的液固色谱在从分析级放大到制备或生产规模时有局限性^[44],分析分离大多用反相,但这种工艺对于制备型 LC 来讲太昂贵,导致在从实验室规模(1~5 mg)放大到制备规模(5 mg~十几 kg⁺)时需要采用正相硅胶的方法,除非产品单价高到可以采用反相及手性介质。而且目标产物在固定相上有可能被吸附、变质、水解或改变构型。因而色谱的选择成为突出的瓶颈。高速逆流色谱(High Speed Countercurrent Chromatography - HSCCC)避免了这些困难。自从1966年 Yoishiro Ito 提出逆流色谱(CCC)的概念,CCC就是一种制备技术^[45]。由于20世纪80年代早期 Ito 的开创性工作,开发出了比过去的 CCC 装置分离效率更高且分析时间缩短的新装置,因线圈本身处于装置整体的中心轴,以固定齿轮为中心作进行行星式的运动(如图2),所以此装置称为“伊东多层线圈行星离心机”或“高速逆流色谱”(HSCCC)^[46]。HSCCC是一种无载体的液液分配色谱,在分离柱体内不加入任何固态载体或支持体,因而完全排除了载体对分离过程的影响,在色谱过程中,样品在一对互不混溶(或很少混溶)的溶剂相中分配、传递,各组分依据它在这两相中的分配系数的差异实现分离^[47]。它基于运转螺旋管内两相溶剂的单向性流体动力学现象(Unique Hydrodynamic Phenomenon)使逆流色谱体系的分离效率更高,更符合于分离分析和制备纯化工作的需要。柱内无载

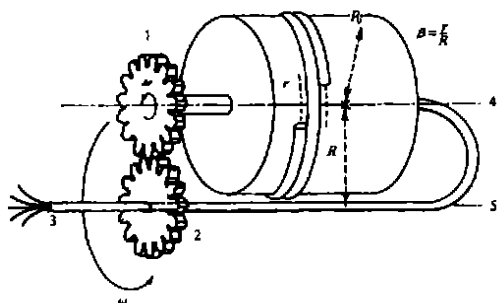


图2 高速逆流色谱示意图^[47]

1. 行星齿轮 2. 静止齿轮 3. 流通管
4. 自转轴 5. 公转轴

体占空部位,两相又高速对流,因此 HSCCC 具有很强的超载能力,非常适合半制备级或更大量的分离纯化工作。HSCCC 也不是十全十美的,由于其固相的逆流移动会造成两相互相侵蚀和严重的混合而导致其稳定性降低,从而使分离效率不高^[48]。技术的

进步使这个问题有所改观,已可与 PHPLC 相抗衡。尽管 HSCCC 的色谱效率受到限制,其高负载和多用途依然使其充满竞争力,可以处理相当宽范围内的有机和无机的工业提纯问题,更是从传统中医药及其他天然产物中进行活性分离的理想工具^[43,49,50]。已经证实 CCC 在方法的快速建立、极性屏蔽和作为一种抽提工艺的多用途性。事实上 CCC 可以处理含微粒的粗提取物(或直接与逆流萃取耦合^[51]),这意味着它具有分离细胞、细胞类脂质和溶剂混合油的潜力^[44]。

我国是美国之外最早开发应用此项技术的国家,在 HSCCC 仪器的研制方面处于国际领先的地位^[52]。以张天佑^[52-54]为代表的我国科学家在利用 HSCCC 对天然药物有效成分的分离纯化(如紫杉醇的分离^[49])方面做出了许多创新性工作。

6 制备色谱需解决的问题及其前景

制备色谱目前在我国仍只存在于少数科研单位中,要推广到工业生产仍面临许多亟待解决的问题。首先就是制备色谱的填料用量大且价格昂贵,造成生产成本太高。开发新的填料,或者利用已有的空白硅胶开发新的分离方法或模式,是色谱工作者努力的方向。其次是制备色谱的升级放大的问题,这也是制约制备色谱进一步发展的瓶颈。HSCCC 似乎没有这两方面的忧虑,但该色谱法的流体力学机制沿需进一步阐明。另外建立连续制备色谱还有许多开发性的工作要做。

制备色谱的发展在近20年中取得了长足的进步,色谱理论逐渐完善,新技术不断出现,显示出广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Christian H, Hagen K, Thomas F, Andreas - Morgestern. Comparison of various process engineering concepts of preparative chromatography [J]. Chem. eng. Technol., 1998, 21(6): 469~477.
- [2] Colin. H. Preparative chromatography [J]. Analysis Magazine, 1998, 26(7): m15 - m17.
- [3] Perrut M. Advances in supercritical fluid chromatography [J] J. Chromatogr. A, 1994, 658: 293 - 313.
- [4] Joon Ho Koh, B. Scott Broyles, Hong Guan - sajonz, et al. Consolidation and column performance of several packing materials liquid chromatography in a dynamic axial compression column [J]. J. Chromatogr. A, 813, 1998, 223 -

- 238.
- [5] Marti Lal Sarler, Georges Guiochon. Study of operating compression high - performance liquid chromatographic columns for preparative chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 709, 1995, 227 - 239.
- [6] Da Vid Pgevrais, Scott Laughingouse. W, Gorgio Carta. Study of radial Compression high - performance of several packing materials for liquid chromatography in a dynamic axial compression column [J]. J. Chromatogr. A, 1995, 708, 41 - 53.
- [7] R P. W. Scott 著. 现代液相色谱 [M], 第一版. 李玲颖, 等译. 天津:南开大学出版社, 1992. 296 - 321.
- [8] Sadroddin Golshan - Shirazi, Georges Guiochon. Modeling of preparative liquid chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1994, 658:149 - 171.
- [9] Sadroddin Golshan - Shirazi, Georges Guiochon. Optimization of experimental conditions in preparative chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1991, 536:57 - 73.
- [10] Attila Felinger, Georges Guiochon. Comparing the optimum performance of the different modes of preparative liquid chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1998, 796, 59 - 74.
- [11] Cretier G, neffati J, Rocca J L. preparative LC and preparative SFC: two complementary techniques in the fractionation of an impurity from a mayor component [J]. J. Chromatogr. A, 1994, 32, 449 - 454.
- [12] 师治贤, 王俊德, 编著. 生物大分子的液相色谱分离和制备 [M]. 第二版. 北京:北京科学出版社, 1996.
- [13] 王志祥, 何志敏, 余国琮. 制备型高效液相色谱分离装置的研制 [J]. 东南大学学报, 1997, 27(4): 92 - 96.
- [14] 傅若农, 顾峻岭编著. 近代色谱分析 [M]. 第一版. 北京:国防工业出版社, 1998. 199 - 200.
- [15] 刘志敏, 赵锁奇, 王仁安, 等. 黄酮醇异构体的超临界流体色谱法分离 [J]. 色谱, 1994, 15(4), 288 - 291.
- [16] Cantrell G O, Stringham R W, Blackwell J A. Effect of various modifiers on selectivity in packed column subcritical and supercritical fluid chromatography [J]. Anal. Chem. 1996, 68(15): 3645 - 50.
- [17] Roth M. Thermodynamics of modifier effects on supercritical chromatography [J]. J. Phys. Chem. 1996, 100(8): 2372 - 5.
- [18] Blackwell J A, Stringham R W, Weckwerth J D. Effect of mobile phase additives in packed - column subcritical and supercritical fluid chromatography [J]. Anal. Chem. 1997, 69(1): 409 - 15.
- [19] Larry T, Taylor. Trends in supercritical fluid chromatography: 1997 [J]. J. Chromatogr. A, 1997, 35: 374 - 381.
- [20] Jusforgues P, Shaimi M. Preparative supercritical fluid chromatography [J]. J. Analysis magazine, 1998, 26(7): m55 - m59.
- [21] Macro Mazzotti, Giuseppe Storti, Massimo Morbidelli. Supercritical fluid simulated moving bed chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1997, 786: 309 - 3320.
- [22] Depta A, Giese T, Johannsen M, et al. Separation of stereoisomers in a simulated moving bed supercritical fluid chromatography plant [J]. J. Chromatogr. A, 1999, 865, 175 - 186.
- [23] Yu Tiing, Chen Yi-Hsing. Resolution studies on counter-current chromatography using supercritical fluid carbon dioxide [J]. J. Chromatogr. A, 1997, 790, 31 - 39.
- [24] 王仁安, 石铁磐, 胡云翔, 等. 一种有竞争力的超临界溶剂—丙烷 [C]. 广州: 第二届全国超临界流体技术学术及应用研讨会. 1998, 11. 9 - 12.
- [25] 赵锁奇, 石铁磐, 王仁安, 等. 硅胶柱超临界流体制备色谱分离提纯极性化合物 [C]. 西安: 第三届超临界流体技术学术及应用研讨会 [C]. 2000, 10, 359 - 362.
- [26] 石铁磐, 赵锁奇, 王仁安, 等. 克级超临界流体制备色谱的模块化设计与实现 [C]. Sendai, Japan: The 4th International Symposium on Supercritical Fluids, 1997, 253 - 256.
- [27] Ma Z, Wang H L. Standing wave analysis of SMB chromatography [A]: linear systems [J]. AIChE Journal, 1997, 43(10): 2488 - 2509.
- [28] Norbert Gottschlich, Volker Kasche. Purification of monoclonal antibodies by simulated moving - bed chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1997, 765, 201 - 206.
- [29] Pais L S, Loureiro J M, Rodrigues A E. Modeling strategies for enantiomers separation by SMB chromatography [J]. AIChE Journal, 1998, 44(3): 561 - 569.
- [30] Blehaut J, Charton J R, Nicoud M. Separation of fatty alcohol stereoisomers on a large - scale high performance simulated moving bed [J]. LC - GC International, 1996, 228 - 238.
- [31] Zhong Guoming, Maureen S Smith, Georges Guiochon. Effect of the flow rates in linear, ideal, simulated moving - bed chromatography [J]. AIChE journal, 1997, 43(11): 2960 - 9.
- [32] McCoy M. SMB emerges as chiral technique [J]. Chem. and Engin. news, 2000, 78(25): 17 - 19.
- [33] Lehoucq S, Verheve D, Wouwer A V. SMB enantioseparation [A]: process development, modeling, and operating

- conditions[J]. *AIChE Journal*, 2000, 46(2): 247 - 56.
- [34] Migliorini C, Gentilini A, Mazzotti M. Design of simulated moving bed units under nonideal conditions[J]. *Industrial and Engineering Chem Research*. 1999, 38(6): 2400 - 10.
- [35] Mallmann T, Burris BD, Ma Z. Standing wave design of nonlinear SMB systems for fructose purification [J]. 1998, 44(12): 2628 - 46.
- [36] Wu D J, Xie Y, Ma Z. Design of simulated moving bed chromatography for amino acid separations[J]. *Industrial and Engineering Chem Research*. 1998, 37(10): 4023 - 35.
- [37] Chiang AST. Continuous chromatographic process based on SMB technology [J] *AIChE Journal*. 1998, 44(8): 1930 - 2.
- [38] Yun T, Zong G, Guiochon G. Experimental study of the influence of the flow rates in SMB chromatography[J]. *AIChE Journal*. 1997, 43: 2970 - 83.
- [39] Zhong G, Smith MS, Guiochon G. Effects of flow rates in linear, ideal, simulated moving - bed chromatography [J]. *AIChE journal*. 1997, 43: 960 - 9.
- [40] 林炳昌, 王际达, 张家元. 非线性三带模拟移动床半解析优化计算[J]. *鞍山钢铁学院学报*, 2000, 23(1): 1 - 5.
- [41] 张家元, 林炳昌. 三带模拟移动床色谱的实验研究[J]. *鞍山钢铁学院学报*. 1999, 22(3): 145 - 148.
- [42] 王际达, 林炳昌. 模拟移动床色谱过程的数值分析[J]. *计算机与应用化学*. 1997, 4: 307 - 310.
- [43] 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.
- [44] sutherland I A L Brown, S Forbes, et al. Countercurrent chromatography (CCC) and its versatile application as an industrial purification & production process[J]. *J. Liq. Chrom & Rel. Technol*. 1998, 279 - 298.
- [45] Alain Berthod, Karine Talabardon, Francois De poype et al. purification of a flavonoid sample by countercurrent chromatography [J]. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol*. 1998, 21(19): 3003 - 3019.
- [46] Yoichi Shibusawa, Yoichiro Ito. Purification of proteins with aqueous two - phase solvent systems by countercurrent chromatography [J]. *prep. Biochem. & Biotechnol*. 1998, 28(2): 99 - 136.
- [47] 俞惟乐, 欧庆瑜, 等著. 毛细管气相色谱和分离分析新技术[M]. 第一版. 北京: 科学出版社, 1999.
- [48] Zhengrong Kong, Kenneth L Rinehart, Richard M. Milberg, et al. Application of high-speed countercurrent chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry (HSCCC/ ESIMS) in natural products chemistry [J]. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, 1998, 21(1 & 2): 65 - 82.
- [49] Cao Xueli, Tian Yu, Zhang Tian You, et al. Semi-preparative Separation and purification of taxol analogs by high-speed countercurrent chromatography [J]. *Prep. Biochem. & Biochenol.*, 1998, 28(1): 79 - 87.
- [50] Degenhardt A, Winterhalter P, Chou E. Separation of natural food colorants [J]. *Chem. Innovation*, 2000, 30(5): 25 - 32.
- [51] Yu T, Liang CS, Luo SK. Correlation of countercurrent extraction with countercurrent chromatography in aqueous matrixes [J]. *Amal. Chem*. 1999, 71(2): 507 - 13.
- [52] 张天佑. 高速逆流色谱的新进展 [C]. *生物医药色谱新进展(第三卷)* [A]. 北京: 化学工业出版社, 1996, 10 - 12.
- [53] Zhang TY, et al. *Modern Countercurrent Chromatography* [M], 1995.
- [54] 张天佑. *逆流色谱技术* [M]. 北京: 北京市科技出版社, 1991.

PROGRESS IN PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY

Wang Xuejun, Zhao Suoqi, Wang ren 'an

(State Key Lab of Heavy oil Processing, Petroleum University, Changping, Beijing 102200 China)

Abstract: A review with 47 references is given on the four typical kinds of preparative chromatography systems: high performance liquid chromatography, supercritical fluid chromatography, simulated moving bed chromatography, and high speed countercurrent chromatography. The advantage and disadvantage of these systems have been discussed with a brief introduction of the current progress of preparative chromatography in China.

Key words: preparative chromatography; high performance liquid chromatography; supercritical fluid chromatography; simulated moving bed chromatography; high speed countercurrent chromatography