

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

B01D 15/08

C07C 57/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 96111835.0

[45] 授权公告日 2004 年 2 月 11 日

[11] 授权公告号 CN 1137745C

[22] 申请日 1996.8.16 [21] 申请号 96111835.0

[30] 优先权

[32] 1995.8.17 [33] CH [31] 2355/1995

[71] 专利权人 弗·哈夫曼-拉罗切有限公司

地址 瑞士巴塞尔

[72] 发明人 G·布鲁尼尔 F·雷切曼

审查员 付明星

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 林柏楠 段承恩

权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 5 页

[54] 发明名称 色谱方法

[57] 摘要

一种通过柱色谱以超临界或液态二氧化碳作为流动相从脂肪酸和/或脂肪酸衍生物的一种混合物中回收分子中至少有 16 个碳原子的不饱和脂肪酸或这种脂肪酸的一种衍生物的方法，其中把选择性地用碱预处理过的氧化铝用作固定相。氧化铝的预处理可以方便地通过将颗粒状的氧化铝与一种碱金属或碱土金属的氢氧化物的一种水溶液，选择性地补充一种水混溶的或水溶性的有机溶剂，在 pH 范围大约 10 至大约 13 下接触数小时以上来实施。以这种方法用色谱方式产生的不饱和脂肪酸或脂肪酸衍生物适合用作在营养和医学领域中有价值的活性成分。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 用柱色谱以超临界或液态二氧化碳作为流动相从脂肪酸 C₁₋₆ 烷基酯的混合物中回收分子中至少具有 16 个碳原子的不饱和脂肪酸或该脂肪酸的 C₁₋₆ 烷基酯的一种方法, 其中采用用碱预处理过的氧化铝作为固定相, 并任选水解该 C₁₋₆ 烷基酯, 以获得游离的酸。

2. 根据权利要求 1 的一种方法, 其中所述用碱预处理过的氧化铝为尽可能均匀装填的珠状颗粒, 颗粒尺寸是 5 至 25 μm。

3. 根据权利要求 1 或 2 的一种方法, 其中所述用碱预处理过的氧化铝被用作固定相, 这种预处理通过将颗粒状的氧化铝与一种碱金属或碱土金属的氢氧化物的水溶液在 pH 10 至 13 的范围中接触 8 至 20 小时以上来实施。

4. 根据权利要求 3 的一种方法, 其中用一种水混溶的或水溶性的有机溶剂来补充溶液, 以便将水溶液的粘度调整到在使用中可用的值。

5. 根据权利要求 4 的一种方法, 其中所述的有机溶剂为乙腈或丙酮。

6. 根据权利要求 5 的一种方法, 其中将乙腈和 0.1M 氢氧化钠水溶液的 10:90 (v/v) 混合物用于氧化铝的预处理。

7. 根据权利要求 1 或 2 的一种方法, 其中一种预先纯化和/或化学处理过的鱼油被用作脂肪酸 C₁₋₆ 烷基酯的混合物。

8. 根据权利要求 7 的一种方法, 其中用一种预先酯化的鱼油作为脂肪酸 C₁₋₆ 烷基酯的混合物。

9. 根据权利要求 8 的一种方法, 其中所述的预先酯化的鱼油为用乙醇酯化的鱼油。

10. 根据权利要求 1 或 2 的方法, 这种方法是在 30℃ 至 100℃ 的温度范围和 140bar 至 320bar 的压力下来实施的。

11. 根据权利要求 10 的一种方法, 其中的温度范围是 45℃ 至 75℃ 而对应的压力范围是 220bar 至 260bar。

12. 根据权利要求 1 或 2 的一种方法, 该法被用来直接或通过乙酯的形式回收二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸或二十二碳六烯酸。

色谱方法

本发明涉及一种用柱色谱从不饱和的、选择性衍生的脂肪酸和其它组分如饱和的、选择性衍生的脂肪酸的混合物中回收不饱和的、选择性衍生的脂肪酸的方法。

从营养学的和医学的观点来看待不饱和的，特别是多不饱和，脂肪酸（缩写为“PUFAs”）的科学上的兴趣已经流行了很长时间。正如已知的，除了前列腺素、凝血噁烷和 leukotrienes 之外，一些脂肪酸，特别是 PUFAs，是前列腺素类化合物的前体，除了在血小板的聚集、发炎及变应性之外，前列腺素类化合物起着重要的生物学上的作用。尤其是两种“ $\omega - 3$ ” - PUFAs（其中第一个双键位于从酸的端甲基算起第三个碳原子上）二十碳五烯酸（“EPA”）和二十二碳六烯酸（“DHA”）在“文明疾病”，特别是心血管疾病，例如心肌梗塞和胆固醇水平升高的治疗和预防中适于用作活性剂。也是已知的是发现了 $\omega - 3$ - PUFAs 与 $\omega - 6$ - PUFAs（其中第一个双键位于第六个碳原子上）一样，除了在婴儿的全面发育中以外还在视网膜和大脑的发育中起着重要作用。因此，在母乳中能测得 $\omega - 3$ - 和 $\omega - 6$ PUFAs；母乳喂养的孩子比非母乳喂养的对比的孩子发育快得多是完全正确的。此外，特别是对二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸在动脉硬化的控制、降低胆固醇水平和血液脂肪水平以及预防血小板凝集、慢性炎症如类风湿关节炎和神经性皮炎，和变应性中的确定的活性正在进行深入研究。

天然的脂肪和油，特别是鱼、海洋动物和植物油，是 $\omega - 3$ - 和 $\omega - 6$ - PUFAs 的重要来源， $\omega - 3$ - 和 $\omega - 6$ - PUFAs 主要是以它们的甘油酯和磷脂的形式存在并伴有许多不需要的次级产物和杂质。例如前述 $\omega - 3$ - PUFAs 二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸主要存在于鱼油中而 $\omega - 6$ - PUFAs 二十碳四烯酸和亚油酸主要存在于动物脂肪和植物油，如玉米油中。鉴于在吸收或服用 PUFAs 中的上述优点和在有营养的

脂肪和油中所需要的长链 PUFAs 的总含量在大约 10 % 至 20 % 之间 (例如 $\omega - 3 -$ 和 $\omega - 6 -$ PUFAs 在鱼油中的含量大约是 12 % 至 18 %) 的
这一事实, 为了获得推荐剂量的 $\omega - 3 -$ PUFAs 在日常的食物中必须吃掉大量的鱼。但是, 由于许多原因这一点是不能实行的。因此, 一些制造商除了销售含有天然浓度的油的鱼油 (这种鱼油在几十年前就已是可商购的) 外, 正在销售含有以可能的最纯的形式作为酯或作为再取代的甘油三酯的富集的 PUFAs 的胶囊, 这就保持了对个别的尽可能纯的 PUFAs 的需要。

含有 PUFAs 的混合物、例如鱼、海洋动物或植物油本身或它们的精炼形式的碱解, 和接下来的用醇, 特别是用乙醇的再酯化反应除了给出其它产物外, 产生相应的烷基酯。正如已知的, 烷基酯混合物的随后的工艺上的分离方法除了其它方法外可用超临界气体, 特别是二氧化碳, 根据可能存在的碳原子数用一种真实的分离通过逆流萃取来实施。采用这种方法得到的馏分具有相对较高纯度的具有相同或相近碳原子数的 PUFAs, 例如, 一种 60 % 纯的二十碳五烯酸 C_{20} 和二十二碳六烯酸 C_{22} 的混合物。从经验可知, 根据饱和度 (双键数) 以这种方法设计的分离是不可能的。然而, 为了研究个别的 PUFAs 的生理活性, 需要纯度非常高的馏分。由于分离方法的预先不适宜性, 仍然不可能澄清, 例如个别的 $\omega - 3$ PUFAs 二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸是分开地起作用还是彼此互相结合起作用, 这一点也适用于二十二碳五烯酸, 它总是必须与二十二碳六烯酸一起使用。

用 PUFAs, 特别是在分子中具有至少 16 个碳原子营养上和医药上有效益的 PUFAs 的一种分离方法, 有可能制得个别的 PUFAs, 这种方法不仅根据碳原子数目而且依据了双键的数目, 这些 PUFAs 不仅代表了对日常营养的补充而且它们可以作为药物被特定地服用。

一些出版物, 其中的大部分是基于由 M.Perrut 领导的研究小组的工作 [见, 例如, LC - GC (Magazine of Liquid and Gas chromatography) 6, 10 (1988), 914], 在制备性超临界流体色谱 (缩写为 "SFC") 领域中是可得到的。根据这些出版物, 从鱼油中获得并经重新酯化成相应的乙酯的二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸可

以在装填的柱上用 SFC 制备性地分离。使用硅胶装填的柱子能够得到纯度分别为 96 % 和 85 % 的二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸。没有给出关于二十二碳五烯酸分离的信息，由于对二十二碳六烯酸得到的是相对较低的纯度 85 %，这暗示着用这种方法不可能分离二十二碳五烯酸。

一种用于从含有不饱和脂肪酸或它们的衍生物的植物或动物混合物中回收不饱和脂肪酸或它们的衍生物的 SFC 柱色谱方法从欧洲专利出版物 (EP) 558, 974 中是已知的。在该法中超临界的或液态的二氧化碳被用作流动相和一种特别定义的涂覆相被用作固定相。固定相的特点是一个基本结构通常含有必须被提供一个具有游离电子对和/或多重键的涂覆相的硅胶或氧化铝，其中游离电子对和/或多重键正如在一种含有一个氨基（例如在氨基丙基中）或一个硝基或，个自地一个苯基或一个氰基（例如在氰基丙基中）的物质中所存在的。在 EP558, 974 中没有提出通过 SFC 柱色谱用二氧化碳作流动相但用一种未涂覆的基本结构，特别是氧化铝，获得个别的 PUFAs 的有效分离。

本发明的目的是提供一种用柱色谱从脂肪酸和/或脂肪酸酯的混合物中以不饱和脂肪酸或其衍生物，特别是这些脂肪酸的预制备的较低级烷基酯的形式回收有价值的饱和脂肪酸的新方法，即一种方法大致不具有本领域现有水平的缺点。根据本发明的方法是一种用于从脂肪酸和/或脂肪酸衍生物的混合物中用柱色谱以超临界或液态二氧化碳作流动相回收分子中具有至少 16 个碳原子的一种饱和脂肪酸或这种脂肪酸的一种衍生物的方法。其特点是用选择性地用碱预处理过的氧化铝作为固定相。

从大体上说，根据本发明的方法按如下来实施：将可能已经是在压力下的脂肪酸和/或脂肪酸衍生物与超临界的或液态二氧化碳的流动相结合，将全部混合物（选择性地加入额外的流动相）加入到装有前述固定相的色谱柱中和然后洗脱，洗脱在选定的温度和压力条件下实施并注意固定相和混合物中个别组分之间的强相互作用，获得了这些组分间的暂时分离，收集溶解在二氧化碳（洗脱剂）中的组分，这些组分在收集器中用检测方法连续地检查确定后从柱中连续地洗脱，从每个收集的物料中通过减压（蒸发）除去二氧化碳，如此最终获得的、分离的组分或“馏

分”（特别是所需要的不饱和脂肪酸或脂肪酸衍生物）在各个收集器中不含二氧化碳。如果需要，在洗脱和从柱中流出来后洗脱液可再进行一次或多次这样的色谱步骤以便获得组分的更好的分离。这种方法也适合于任何不具有所需要纯度的馏分。

在实施完根据本发明的方法后，如果从所用的混合物中得到的是原来存在于混合物中的一个衍生物，例如具有至少 16 个碳原子的一种不饱和脂肪酸的一个较低级的烷基酯或一种天然存在的甘油三酯，而脂肪酸本身是所需要的，则这种脂肪酸可通过常规方式的衍生，例如通过较低级的烷基酯或甘油三酯的皂化来获得。此外，经过这样的化学处理后得到的是未足够富集的不饱和脂肪酸，该个别的产物可进行根据本发明的方法的处理直到在产生的洗脱产物中达到所需要的纯度。

含有至少一种分子中具有至少 16 个碳原子的不饱和脂肪酸或其一种衍生物的任何混合物都适合作为脂肪酸和/或脂肪酸衍生物的混合物用于根据本发明的方法中。因此，例如，可以使用植物或动物（包括海洋动物）来源的油或脂肪，它们除含有其它物质外，含有以甘油三酯、酰胺、磷脂、内酯和盐的形式的所需要的脂肪酸以及其它脂肪酸及其衍生物如甘油三酯等、甾醇如胆甾醇、维生素如维生素 E，和通常被认为是杂质的物质，例如，多氯联苯（PCB）、芳烃聚合物（PAH）、杀虫剂、二噁英、重金属，饱和脂肪酸或它们的衍生物的氧化和分解产物，预先采用的浓缩或纯化步骤等所剩余溶剂或试剂，或可以使用预先提纯的和/或化学处理的，特别是酯化或再酯化的原料（油或脂肪）。优选地，当甘油三酯存在时，将对应的油或脂肪（选择性地预纯化）进行酸解或碱解，其中所含的甘油三酯被转化成相应的酸，或用一个较低级的烷基特别是 C₁₋₆ 烷基醇尤其是用乙醇酯化，不饱和的和饱和的脂肪酸的甘油三酯被酯基转移成相应的较低级烷基酯。水解或酯化作用可用常规方法来实现。优选的原料（选择性地已被预先纯化和/或化学处理）是鱼油例如沙丁鱼和金枪鱼油，这是由于它们是大量需要的二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的有价值的来源，以及动物脂肪和植物油，例如玉米油，这是由于它们是同样大量需要的二十碳四烯酸和亚油酸的有价值的来源，鱼油是特别优选的原料。

尽管脂肪酸和/或脂肪酸衍生物的混合物可预先溶解在适当的溶剂，例如一种较低级的烷烃，优选正己烷中，通常不将该混合物稀释就与超临界或液态二氧化碳一起用于装有根据本发明所使用的固定相的色谱柱中，然而优选地是以未稀释的形式使用该混合物。

如已知的，在根据本发明的方法中使用的超临界二氧化碳是二氧化碳的这样一种形式：它被保持在至少大约 31 °C 的温度和至少大约 73bar 的压力下并且既不是纯粹的液体又不是纯粹的气体，而是两种物理形态的杂化体。作为替换能用于根据本发明的方法中的液态二氧化碳具有低于大约 31 °C 的温度和高于大约 73bar 的压力。使用二氧化碳的优点在于它的无毒性、不可燃性和容易除去减压收集的洗脱液对于分离的不饱和脂肪酸或其衍生物不会留下一一种潜在的有害剩余物。此外，能以较高的纯度和成本效益比大量地得到二氧化碳和，如果需要，能够与一种有机助溶剂（改性剂）如上述的正己烷，以及一种较低级的烷醇如甲醇或乙醇，和一种脂族酮如丙酮，一起用作流动相部分。由于二氧化碳的临界温度比室温高得不多而且在根据本发明的方法中要回收的不饱和的脂肪酸或脂肪酸衍生物是温度敏感的（感热的），由于这些原因二氧化碳非常适合作为流动相用于根据本发明的方法中。

用作根据本发明的方法中的固定相的氧化铝 - 这是本发明的特点 - 很方便地以不对称的或优选地以珠状（球形）颗粒存在，其尽可能均匀地装填，颗粒尺寸是大约 5 至 25 μm 。这样的珠状氧化铝可很容易地从商业上得到。作为商业上可得到的氧化铝的实例可以提到的是 Aluspher[®] Al 和 Spherisorb 氧化铝；前者具有比表面积 S_{BET} 为 $170\text{m}^2/\text{g}$ ，孔体积 V_p 为 0.5ml/g ，孔径 D 为 100\AA 和颗粒尺寸 dp_{50} 为 $5\ \mu\text{m}$ ，而后者具有 S_{BET} 为 $93\text{m}^2/\text{g}$ ， D 为 130\AA 和 dp_{50} 同样为 $5\ \mu\text{m}$ 。原料是可以从各种生产厂家如 ICN Biomedicals Inc, 得到的。这些氧化铝的特征是颗粒尺寸分布为 $3 - 6\ \mu\text{m}$ 、 $7 - 12\ \mu\text{m}$ 、 $10 - 18\ \mu\text{m}$ 或 $18 - 32\ \mu\text{m}$ 。这些材料的比表面积 S_{BET} 是 $200\text{m}^2/\text{g}$ ；其孔体积和孔径是可与球状材料的孔体积和孔径相比的。

作为直接使用（未经处理）氧化铝作为固定相的替换，可将氧化铝在使用前用一种碱预处理。这种预处理大体上包括将氧化铝颗粒与一种

碱金属或碱土金属的氢氧化物，如钠、钾或钙氢氧化物的一种水溶液在 pH 范围大约 10 至约 13 下接触数小时，方便地是接触约 8 至约 20 小时以上。碱金属或碱土金属氢氧化物水溶液的浓度是在大约 0.01M 至约 0.1M 的范围内。如果需要，碱金属或碱土金属的氢氧化物水溶液可用一种水混溶的或水溶性有机溶剂来补充以便将溶液的粘度调整到在使用中是可用的值。例如，这可以用极性有机溶剂乙腈或丙酮来获得。现已发现乙腈和 0.1M 氢氧化钠水溶液的 10:90 (v/v) 混合物是特别适用的，其 pH 值大约为 13。

为了实用上的原因氧化铝的碱预处理可以方便地通过将碱溶液连续地通入已经装入色谱柱中的氧化铝中数小时，优选大约 12 至 16 小时，然后用蒸馏水漂洗被预处理的氧化铝直到从柱中流出的漂洗液为中性来实施。为了除去预处理过的氧化铝中的水，推荐的方法是将柱加热至 50 至 90 °C 大约 4 - 10 小时和随后用一种较低级的烷烃，优选正庚烷，漂洗预处理过的氧化铝数小时，优选大约 8 至 20 小时，此后，如此预处理过的氧化铝可被用作固定相用于根据本发明的方法中。利用用碱预处理过的氧化铝代表了根据本发明的方法的一个优选的方面。

为了将在根据本发明的方法中用作流动相的二氧化碳保持在超临界或液体范围，不仅要在将二氧化碳引入到装有固定相的色谱柱中，而且要在随后的洗脱过程中，都必须保持确定的温度和压力条件。本方法可以方便地在温度为大约 30 °C 至约 100 °C 和压力为大约 140bar 至约 320bar 的条件下实施，当在其它等价的方法条件下用被碱预处理过的氧化铝代替未被处理过的氧化铝时可在适当的更低的压力下实施本方法。优选地，温度范围是大约 45 °C 至大约 75 °C 而个自的压力范围是大约 220bar 至约 260bar，二氧化碳的密度可以通过压力和温度来调节，和在最后所述的温度和压力范围下最佳的二氧化碳密度是大约 720kg/m³ 至大约 850kg/m³。

在实施根据本发明的方法中作为固定相的氧化铝使得各种不饱和的脂肪酸或脂肪酸衍生物和，存在时，饱和的脂肪酸或脂肪酸衍生物的色谱分离，一方面根据链长（碳原子数）和另一方面根据饱和度（双键数：该数越高，饱和度越低）来进行。从一个确定数值的双键开始，对饱和

度的选择性似乎是占主要的。如果被分离的脂肪酸或脂肪酸衍生物只有一个双键，例如顺 13 - 二十二碳烯酸（22 个碳原子，1 个双键：“22:1”），则对于链长的选择性很明显是次要的，并且脂肪酸或衍生物在更短链长但更高不饱和度的脂肪酸或衍生物例如 20:5 脂肪酸二十碳五烯酸的洗脱范围之前洗脱。另一方面，在 20:5、22:5 和 22:6 脂肪酸（二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸，各自对应地）的洗脱中，具有相同数目的双键的较长链的酸与较短链的酸相比较和具有较小饱和度的酸与具有较大饱和度的酸相比较在每种情况下在固定相上停留更长，因此首先洗脱 20:5 脂肪酸，然后 22:5 脂肪酸和最后是 22:6 脂肪酸。特别是在后者范围中（碳原子数 20 - 22 和/或双键数是 5 - 6）存在有在营养和医学领域中最有意义的饱和脂肪酸，在这些领域中需要获得完全的色谱分离而没有过度的拖尾效应。

不仅实施根据本发明的方法的温度和压力条件影响分离的结果，而且选择未处理的氧化铝还是用碱预处理过的氧化铝作为固定相也对分离结果有影响。通常，温度增加或压力降低随时间将不同脂肪酸的洗出液分开，而压力增加或温度降低会将洗出液合并，因此这些参数的任何所需要的变化可以确定根据本发明的方法随时间的历程。用碱预处理氧化铝其表面上的活性中心（主要是 Lewis 酸和碱）可以被封闭，于是氧化铝的极性被减弱。这样处理后洗出液的次序不改变，但极性多重饱和脂肪酸的拖尾效应被减小了并显著减少了洗脱时间。例如，如果在未处理的氧化铝上于 65 °C 和 280bar 下实施根据本发明的方法最后洗脱的 22:6 脂肪酸只在大约半小时后被洗脱完并具有显而易见的拖尾效应时，那么在相同的温度和压力条件下在碱处理过的氧化铝上实施洗脱几乎是在三分之一时间后就被洗脱并且拖尾效应被很强地减少了。由于这种原因，在根据本发明的方法中与使用一种未经处理的中性氧化铝相比使用用碱预处理的一种氧化铝是优选的。

溶解在连续地从色谱柱中洗脱的二氧化碳（洗出液）中的组分的检测优选地是通过一个 UV 检测器、接着用一个火焰电离检测器（FID）来实施。UV 检测器可以根据双键的数目来评价组分和相应地对个别组分的有限结构评价作出贡献。通过使用 FID 可以电子化地表现出收集器

中不同洗出液的分布。从各自收集的物质中除去二氧化碳（通过减压）的技术方法本身是已知的。

根据本发明的方法尤其适合回收 20:5 脂肪酸二十碳五烯酸以及 22:6 脂肪酸二十二碳六烯酸，在每种情况下既可以直接地回收酸也可以通过它的一种衍生物，优选乙基酯来回收。

基于下列实施例来说明本发明。

图 1 表示实施例 1 中从 Carlo Erba Instruments 得到的 SFC - 3000 系统；

图 2 和图 3 表示图 1 所示装置得到的色谱图，其中图 2 表示使用碱改性前、后的柱子。

固定相： 铝（ Spherisorb 氧化铝）；

记录粘度： 0.25cm/min；

衰减： 64；

浓度： 40mg/ml 正己烷；

检测： FID。

图 3 色谱条件为：

改性柱： Al_2O_3 （相分离）， 5 μm

尺寸： 250 × 1mm

条件： 240bar/80℃

样品： Head3

检测： FID

固定相、记录粘度、衰减以及浓度与图 2 相同。

图 4 表示实施例 3 中从 New Ways of Analytics(NWA)得到的一种装置；

图 5 表示使用粗的氧化铝作固定相，用 NWA 装置得到的 UV 谱图结果，其色谱条件为：

柱: ICN18 - 32B μ m ;
尺寸: 250 × 4mm ;
条件: 235bar/50 ℃ ;
注射体积: 5 μ l ;
己烷中的稀释率: 1:1 ;
检测: UV ;
样品: Head3 .

实施例 1

本方法的实施

从 Carlo Erba Instruments 得到的一种装置 (见图 1) 被用来研究用色谱法从用乙醇酯化的鱼油中回收组分, 特别是不饱和脂肪酸乙基酯。该装置通过一个二氧化碳 (CO₂) 汽缸连续地提供流动相, 根据选定的在超临界范围 (对于 CO₂ 高于大约 31 ℃ 和 73bar) 或次临界范围的压力和温度条件来操作流动相。

CO₂ 被从汽缸中抽入到泵室中并在那里用一个恒温箱开始将其凝结至 - 6 ℃。通过一个步进马达来操纵烧瓶, 这样流动相被压缩至所需要的压力。喷射泵的压力及柱加热炉的温度可通过计算机来调节, 流动相以所需要的压力流过该装置并开始通过注射系统。在此, 样品通过一个两通阀被加入到流经的流动相中。加样时间可以选择性地从 0 至 999msec 间变化, 加样体积是恒定的 0.5 μ l。然后样品与流动相一起进入到柱中。在此, 进行了基于样品溶液中个别组分与固定相之间不同相互作用强度的混合物分离。混合物的各个组分被 (在理想情况下) 连续地从柱中洗脱。由于柱子是位于一个加热炉中的, 所以也可以通过温度来影响洗脱行为。在柱上分离的物质 (特别是不饱和的脂肪酸乙基酯) 的检测 (确定) 可以连续地通过一个 UV 检测器和随后通过一个火焰电离检测器 (FID) 的方法来实施。

实施例 2

氧化铝固定相的碱预处理

将一个装有氧化铝的色谱柱用 0.1M 氢氧化钠水溶液在乙腈中的一种混合物 (90:10 % v/v) 通过漂洗数小时 (12 - 24 小时) 来进行处理, 随后溶液的 pH 值为 13。用蒸馏水将柱子洗至中性, 加热至 50 到 90 °C 大约 4 至 10 小时, 然后用正庚烷重新调节 12 至 18 小时。

实施例 3

本方法的实施 (进一步的实施方案)

将从 New Ways of Analytics 得到的一种装置 (见图 4) 用来操纵更大内径的色谱柱并由此增加了生产量。通过一个 CO₂ 管道连续地向该装置提供流动相。根据所选定的压力和温度条件可以在超临界 (对 CO₂ 高于大约 31 °C 和 73bar) 或也可以在次临界范围内操作流动相。为了这一目的, 从 CO₂ 容器中流入压力组件 PM - 101 的恒温器的 CO₂ 通过使用一个恒温器被冷凝至 - 6 °C。一个气动烧瓶泵将流动相压缩至压力在 300 - 400bar。在一个连接的减压组件 PR - 102 中将压缩的流动相减压至所需要的压力, 由操作压力组件 PM - 101 所产生的额外压力波动被抑制。流动相以在减压组件 PR - 102 中选定的压力流过该装置并开始通过注射阀门。在此样品通过一个六通阀 (Rheodyne 7125) 被引入到流过的流动相中。通过选择适当的从 5 μl 至数毫升的进样量可以改变引入的样品体积, 然后样品与流动相一起进入色谱柱。在柱中根据样品溶液中个别组分和固定相之间相互作用的不同强度进行混合物的分离。在理想情况下混合物中的各个组分连续地被洗脱。由于色谱柱位于一个加热箱中, 也有可能通过温度来影响洗脱行为。在色谱柱上分离的物质通过一个 UV 检测器来记录并且从那儿传输到色谱软件。软件可以控制阀门使被分离的组分流, 随后通过一个压力释放单元 PE - 103 来进行超临界相的压力释放。

图 1

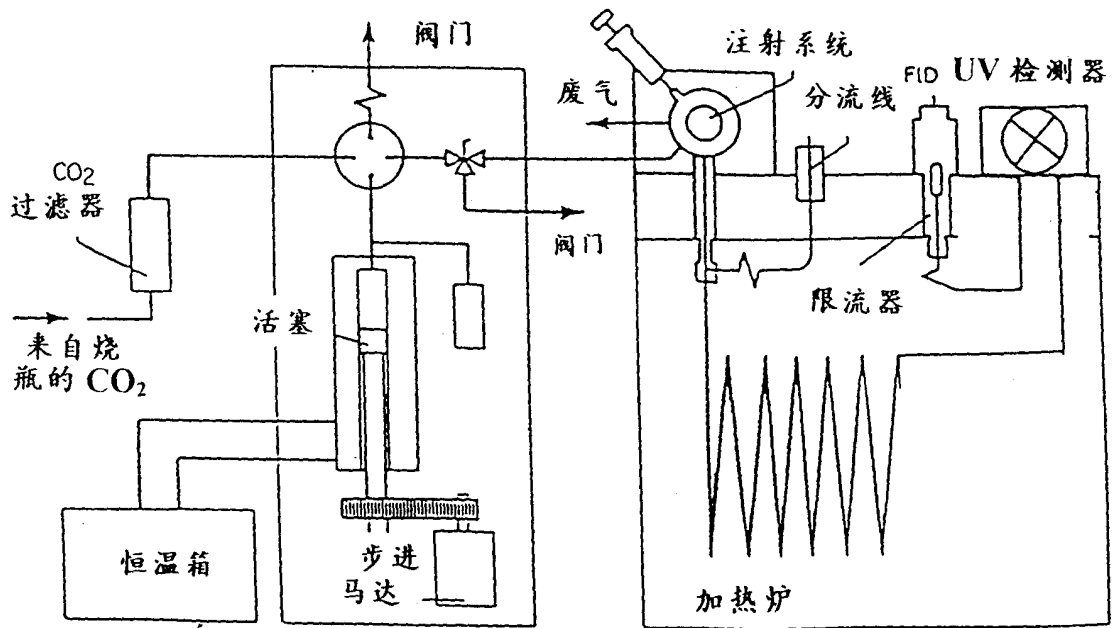


图 2

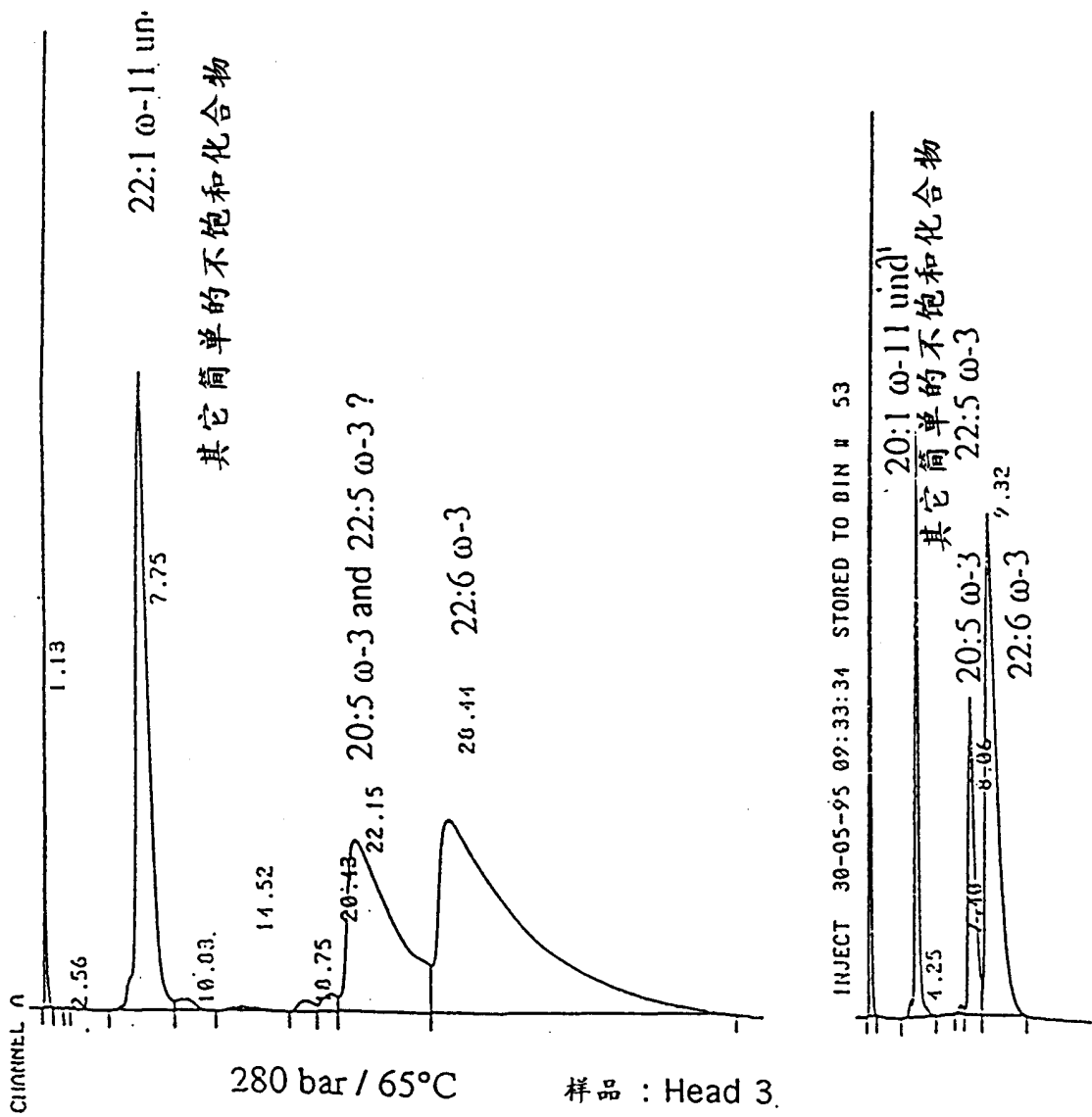


图 3

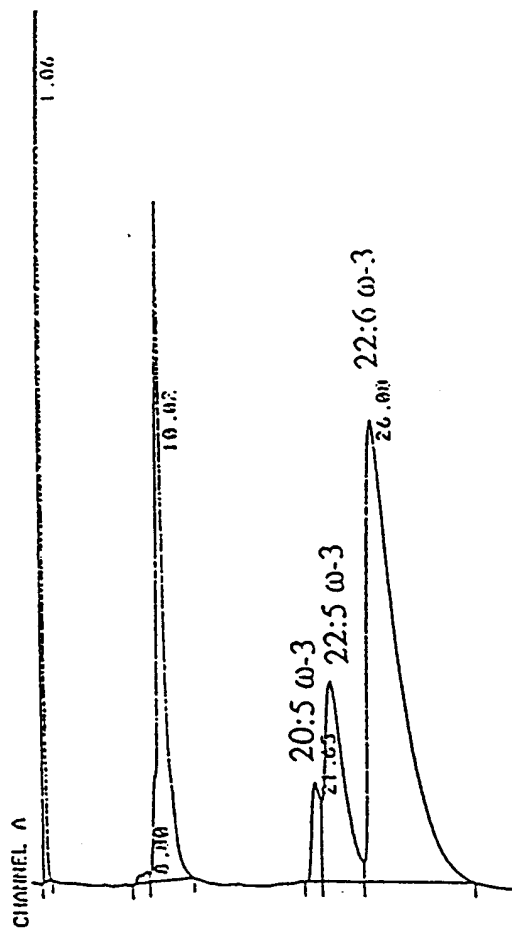


图 4

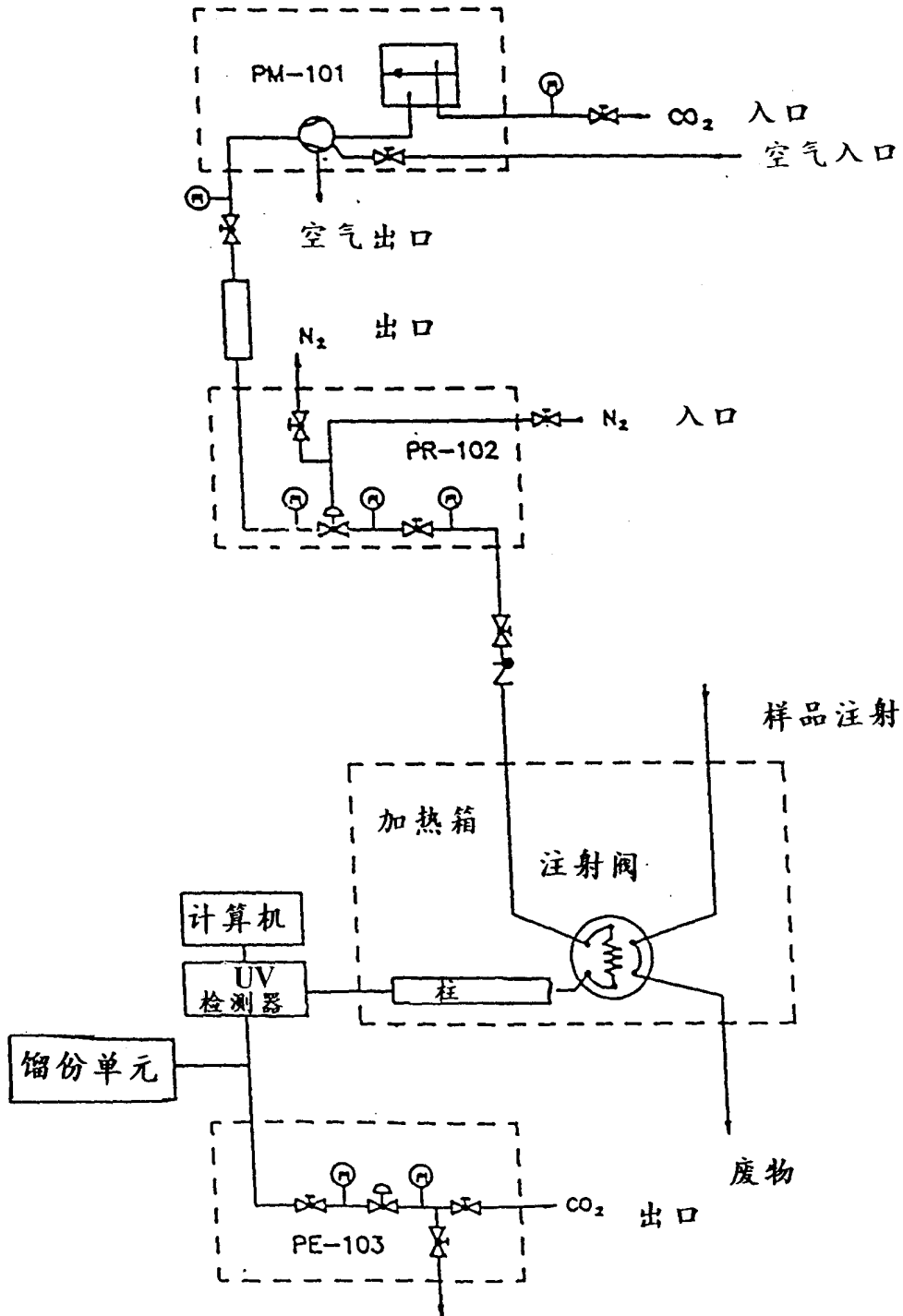


图 5

