

# Application News

## No. L496

超临界流体色谱  
Supercritical Fluid Chromatography

## 使用在线 SFE-SFC 分析不稳定化合物

Analysis of Unstable Compounds Using Online SFE-SFC

超临界流体是粘度小、扩散系数高、溶解性强的流体，兼有气体和液体的双重性质和优点。因为二氧化碳的临界点低(31.1℃, 7.38 MPa)，操作条件温和，且无色、无毒、无味、不易燃、化学惰性，作为介质被广泛用于各种领域。在超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction: SFE)和超临界流体色谱(Supercritical Fluid Chromatography: SFC)中通常将其作为萃取剂。

一直以来我们是在离线模式下进行 SFE 和 SFC 分析。并且 SFE 和 SFC 分别作为预处理方法和分析方法，被归属于完全不同的工作流程。而在“Nexera UC”中，将 SFE 和 SFC 在线连接，对预处理到分析的工作流程进行了整合。本文向您介绍使用“Nexera UC”的在线 SFE-SFC 进行分析的示例。

### ■ 在线 SFE-SFC

Online SFE-SFC

图 1 为在线 SFE-SFC 分析的流程图。由图可知，该分析系统是对当超临界流体通过萃取容器进行萃取后，将得到的样品在线导入 SFC 用分析柱中，然后直接进行分离并检测的方法。如图 1 所示，在萃取至分析的一系列操作中，均通过 SFE 单元内置阀进行流路切换。萃取处理有两种方式，即将超临界流体导入萃取容器后以静置状态进行萃取的静态萃取(Static extraction)和向萃取容器中注入流体后带出萃取物的动态萃取(Dynamic extraction)。对于在线 SFE-SFC，将样品导入分析柱的操作属于动态萃取。

因为在线 SFE-SFC 分析无需进行复杂的预处理，即可完成从萃取至分离检测的流程，并且实现了自动化，从而大幅度减少了操作步骤。

另外，由于能够在避光、无氧、无水的环境下进行分析，所以对于易光解、易氧化以及易水解等不稳定化合物的分析非常有效。如果使用离线 SFE，无需使用溶液制备样品，因此目标成分不会发生稀释，从而可以实现高灵敏度分析。

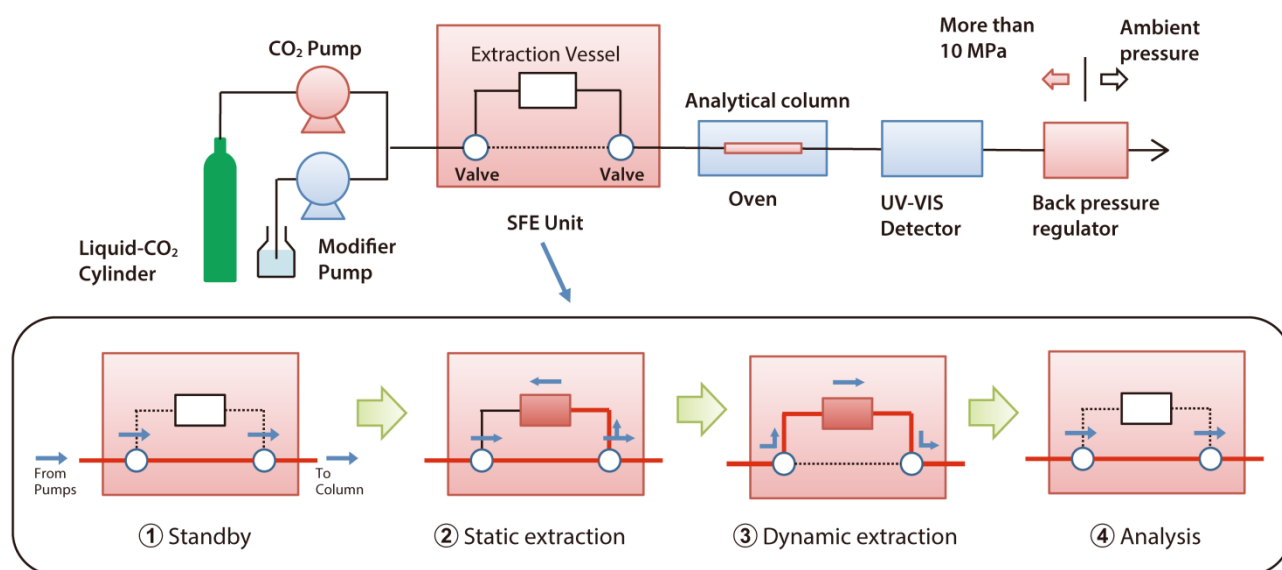


图 1 在线 SFE-SFC 系统流程图  
Process Flow Diagram of Online SFE-SFC System

■ 对还原型辅酶 Q10 进行在线-SFE-SFC 分析  
Online SFE-SFC Analysis of Reduced Coenzyme Q10

图 2 为还原型辅酶 Q10（泛醇）的结构式。由此可知，其易被氧化而变为氧化型辅酶 Q10（泛醌）。本例中，分别通过溶剂萃取 SFC 分析和在线 SFE-SFC 分析对营养补充剂中所含的还原型辅酶 Q10 进行了分析。

图 3 为溶剂萃取-SFC 分析的预处理操作流程；表 1 为分析条件；图 4 为分析营养补充剂和氧化型辅酶 Q10 标准样品得到的色谱图。

表 1 溶剂萃取-SFC 分析条件  
Analytical Conditions for Solvent Extraction-SFC

系统	: Nexera UC SFC-UV 系统
色谱柱	: Shim-pack UC-RP (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 3 μm)
柱温	: 40 °C
改性剂	: 甲醇
流速	: 3 mL/min
时间程序	: 5 % (0 min)→50 % (5-8 min)
背压调节器压力	: 10 MPa
检测器	: UV-VIS (220 nm)
进样体积	: 1 μL

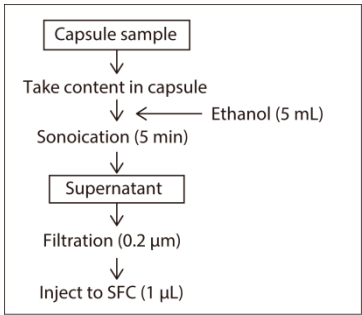


图 3 预处理  
Pretreatment

表 2 为在线 SFE-SFC 的分析条件。

分别将营养补充剂中的液体和氧化型辅酶 Q10 标准样品 5 μL 滴在滤纸上，再用冲孔机对滤纸打孔，将打下的滤纸装入萃取容器后进行在线 SFE-SFC 分析。图 5 为分析营养补充剂和氧化型辅酶 Q10 标准样品得到的色谱图。

表 2 在线 SFE-SFC 分析条件  
Analytical Conditions for Online SFE-SFC

系统	: Nexera UC 在线 SFE-SFC-UV 系统
SFE	
萃取容器	: 0.2 mL
静态萃取	: 时间 : 0~2 min, : B.Conc. : 5 % : 背压调节器压力 : 10 MPa : 流速: 3 mL/min
动态萃取	: 时间 : 2~4 min, : B.Conc. : 5 % : 背压调节器压力 : 10 MPa : 流速: 3 mL/min
SFC	
色谱柱	: Shim-pack UC-RP (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 3 μm)
柱温	: 40 °C
流动相	: A; 超临界 CO <sub>2</sub> 流体 : B; 甲醇
流速	: 3 mL/min
时间程序	: 5 % (4 min)→50 % (9-13 min)
背压调节器压力	: 10 MPa
检测器	: UV-VIS (220 nm)

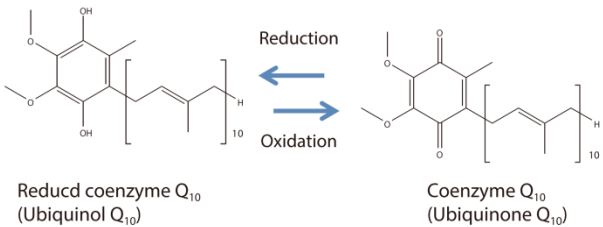


图 2 结构式  
Structural Formulas

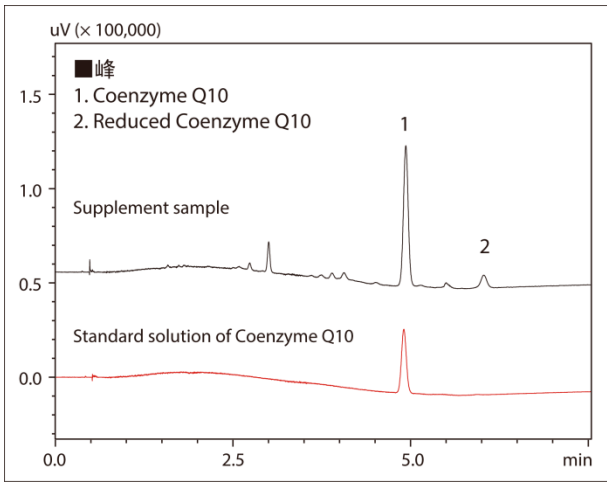


图 4 通过溶剂萃取 SFC 分析得到的色谱图  
Chromatograms Obtained by Solvent Extraction-SFC

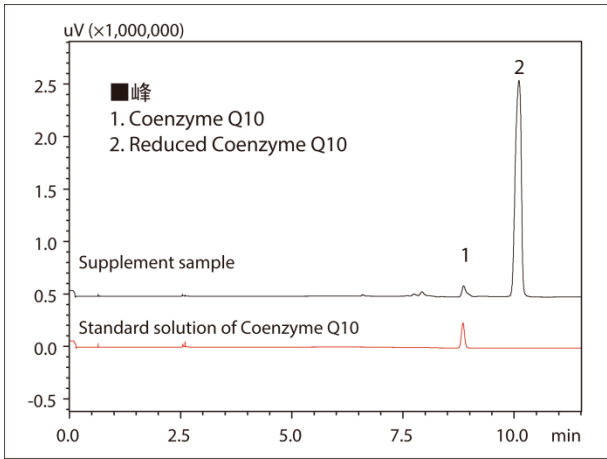


图 5 通过在线 SFE-SFC 分析得到的色谱图  
Chromatograms Obtained by Online SFE-SFC

综上所述，在溶剂萃取 SFC 分析中，还原型辅酶 Q10 在萃取时被氧化而变为氧化型辅酶 Q10，而在在线 SFE-SFC 分析中成分并不发生变化，可以直接进行萃取、分离和检测。由此可知，使用在线 SFE-SFC 能够对不稳定的化合物以原始状态有效地进行分析。