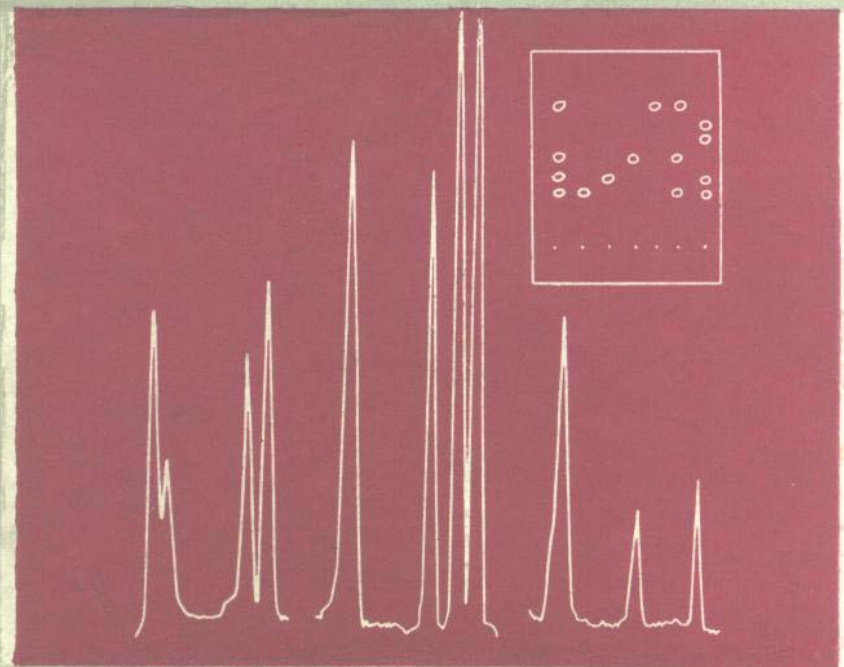


分析化学丛书

第三卷 第五册

# 纸色谱和薄层色谱

周同惠 等 编著



科学出版社

分析化学丛书

第三卷 第五册

# 纸色谱和薄层色谱

周同惠等 编著

科学出版社

1989

## 内 容 简 介

纸色谱法和薄层色谱法都是简便、快速的微量分离方法，先后自 40 年代和 50 年代开始得到推广应用。这两种方法操作相似，用样量少，分离快速、效果好，并可同时进行定量分析，因此在许多科学领域中得到广泛应用。尤其在医药、卫生、生化、天然有机等方面解决了许多其它分离分析方法所无法解决的问题，有力地推动了这些学科的发展。本书较系统地介绍这两种方法的基本原理，实验技术，一些应用及最近的发展，重点是目前应用更广的薄层色谱法。

本书共分十一章，内容包括概论、载体和吸附剂、薄层板的制备、点样、展开、展开剂、定位与显色、定量、其它有关技术、高效薄层色谱法及其应用等。书后附有三个附录，分别介绍商品吸附剂及载体、常用有机溶剂的精制方法及显色剂的配制与应用，以供读者参考使用。

本书可供医药、卫生、生化、化学、环境等领域的科学研究人员，大专院校有关专业师生及生产部门从事分离、分析的科技工作者参考，也可作为大学高年级学生及研究生的辅助教材。

分析化学丛书

第三卷 第五册

### 纸色谱和薄层色谱

周同惠等 编著

责任编辑 操时杰

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

\*

1989 年 8 月 第 一 版	开本：850 × 1168	1/32
1989 年 8 月 第一次印刷	印张：10 5/8	
平 1—1,590	插页：平 2 精 3	
印数：精 1—1,230	字数：274,000	

ISBN 7-03-000934-7/O · 232 (平)

ISBN 7-03-000935-5/O · 233 (精)

平 装 9.50 元  
定价：布脊精装 11.30 元

# 《分析化学丛书》总目

## 第一卷

- 第一册 化学分析原理  
第二册 分析化学中的离子平衡  
第三册 分析化学中的多元络合物  
第四册 分析化学中的溶剂萃取  
第五册 络合滴定  
第六册 无机痕量分析  
第七册 分析化学中的数理统计方法

## 第二卷

- 第一册 近代有机定性分析  
第二册 近代有机定量分析

## 第三卷

- 第一册 色谱理论基础  
第二册 气相色谱法  
第三册 高效液相色谱法  
第四册 无机色谱  
第五册 纸色谱和薄层色谱

## 第四卷

- 第一册 分光光度分析  
第二册 光度分析中的有机试剂  
第三册 原子吸收及原子荧光光谱  
第四册 现代发射光谱分析

## 第五卷

- 第一册 电分析化学导论  
第二册 离子选择性电极  
第三册 电解与库仑分析  
第四册 极谱电流理论  
第五册 极谱催化波  
第六册 方波和脉冲极谱  
第七册 溶出伏安法

## 第六卷

- 第一册 放射化学分析  
第二册 热量分析  
第三册 金属中的气体分析  
第四册 分析化学中的电子技术

## 前 言

随着科学技术的迅速发展,分析化学得到了日益广泛的应用。新方法、新技术层出不穷,日新月异。为了更好地适应我国生产、教学和科学研究工作的需要,充分发挥分析化学界从事编著的积极性,科学出版社于1979年4年在北京召开了《分析化学丛书》筹备会议,酝酿编辑、出版一套比较系统、完整的《分析化学丛书》,并成立了编委会。同年10月在武昌召开了编委扩大会议,确定了编写这套丛书的方针和任务。内容分化学分析、有机分析、色谱分析、光学分析、电化学分析等六卷共二十九册,由有关高等院校和科学研究单位从事分析化学工作的同志分头编写,由科学出版社陆续出版。

本丛书着重阐述分析方法的基本原理,评述这些方法的应用及国内外的最新研究成果和发展趋向,力求做到立论严谨,叙述深入浅出,使在教学、科研和生产岗位上从事分析化学工作的广大读者,都能从中获得比较系统的理论和实践知识,对工作有所帮助,进而推动我国分析化学的进一步发展。

由于作者水平所限,经验不足,本丛书中难免会有缺点和错误,诚恳欢迎读者批评指正。

《分析化学丛书》

编委会

## 序 言

色谱法开始是以一种分离方法的面目出现的。复杂的混合物通过装有吸附剂的柱管可以被分离成一条条的色带，从而可以取下、溶出，获得纯的组分。其后经过 80 年的发展，色谱法现已成长为一门专门学科。它集分离与分析于一体，简便、快速、微量，成为分离分析复杂混合物的理想方法之一，在许多科学领域中得到广泛应用，解决了许多其它分离分析方法所不能解决的重大问题，有力地推动了医药、卫生、生化、天然有机化学等学科的发展，对人类的进步做出了巨大贡献。在这些领域中有好几项获得诺贝尔奖金的工作与色谱法有关，如 R. Kuhn (胡萝卜素)，A. W. K. Tiselius (电泳及吸附色谱)，A. J. P. Martin 与 R. L. M. Syngé (分配色谱)，S. Moore 与 W. H. Stein (氨基酸分析) 等的工作。色谱法的发展开始比较缓慢，由本世纪初至 40 年代应用不多，但从 40 年代开始，新的色谱技术不断出现，由单纯的吸附方法发展到分配色谱，以后相继发明了纸色谱 (PC)，气相色谱 (GC)，离子交换色谱 (IEC)，薄层色谱 (TLC)，凝胶过滤 (GF)，凝胶渗透色谱 (GPC)，亲和色谱 (AC)，高效液相色谱 (HPLC)，离子色谱 (IC) 等，其应用范围之广已超过任何其它分离分析方法。在这些色谱方法中，GC 和 HPLC 分别在挥发性和非挥发性物质的分离方面应用很广，但这二种方法都需用特殊仪器，投资较多，且一次只能分析一个样品，而 PC 与 TLC 则无需特殊设备，简便易行，独具特色，操作分步进行，可同时分析多个样品，在微量物质的许多分离分析工作中效果并不逊于 HPLC 法，因此得与 GC 和 HPLC 分庭抗礼，自成一派。在 80 年代仪器分析占优势，GC、HPLC 又居仪器分析应用之首，而 TLC 法仍不断发展，应用广泛，绝非偶然。PC 与 TLC 在我国也分别从 50 年代

和60年代开始得到应用,因为它们很适合我国国情,更易在国内推广。多年来我国科技工作者也取得了不少成绩,但目前国内有关PC和TLC的书籍极少,在一定程度上限制了方法的推广。为此我们编写此书,系统介绍PC和TLC的基本原理、实验操作、最新进展及应用等,希望对这两种方法的推广应用起些作用。由于TLC比PC有更多的优点,并有取代PC的趋势,所以书中对TLC进行较多的讨论。参加本书编写的有周同惠(第一、二、十一章)、徐礼桑(第二章、附录一)、罗淑荣(第三、四章、附录二)、何丽一(第五、六、九、十一章)、章观德(第七章、附录三)、王慕邹(第八、十、十一章)、曾纪琰(第十一章),最后由周同惠通读整理修正定稿。在编写过程中,承章育中、安登魁二位教授审阅原稿,并提出不少宝贵意见,谨此致谢。

由于作者水平有限,书中错误和不当之处在所难免,敬请读者批评指正。

# 符 号 表

$A$	斑点面积
$C_m$	溶质在流动相中的浓度
$C_s$	溶质在固定相中的浓度
$E_s$	使组分之 $k' = 3$ 时所需的溶剂强度
$hR_i$	高比移值
$H$	理论板高
$I_0$	入射光强
$k'$	容量因子
$K$	分配系数
$K_a$	吸附系数
$KX$	薄层的吸收系数
$L$	展开距离
$n$	展开次数
$N$	理论板数
$R_i$	比移值
$R_s$	分离度
$R_x$	相对比移值
$SX$	薄层的散射系数
$t_0$	不被吸附的组分的滞留时间
$t_r$	样品组分的滞留时间
$V_i$	组成展开剂的各单一溶剂的体积
$V_m$	流动相体积
$V_s$	固定相体积
$w$	样品量
$W$	斑点宽度
$W_a$	吸附剂量
$\alpha$	分离因子
$s^0$	溶剂强度因子
$\epsilon_1$	介电常数
$\epsilon_s$	溶剂系统极性强度
$\lambda_R$	参比波长
$\lambda_s$	样品测定波长



# 目 录

<b>第一章 概论</b> .....	1
§ 1.1 色谱法的发展.....	1
§ 1.2 分类和一般原理.....	3
§ 1.2.1 纸色谱法.....	3
§ 1.2.2 薄层色谱法.....	5
§ 1.3 纸色谱法与薄层色谱法的基本操作.....	8
§ 1.3.1 纸及薄层板的准备.....	8
§ 1.3.2 点样.....	8
§ 1.3.3 展开.....	8
§ 1.3.4 定位.....	9
§ 1.3.5 定量.....	9
§ 1.4 与其它色谱法比较.....	10
§ 1.4.1 气相色谱法.....	10
§ 1.4.2 高效液相色谱法.....	10
参考文献.....	11
<b>第二章 载体和吸附剂</b> .....	13
§ 2.1 滤纸.....	13
§ 2.2 吸附剂与载体.....	14
§ 2.2.1 吸附剂与载体的选择.....	14
§ 2.2.2 常用吸附剂的性质及制备.....	17
§ 2.2.3 吸附剂的过筛、活化与活度标定.....	34
参考文献.....	37
<b>第三章 薄层板的制备</b> .....	38
§ 3.1 干法制板.....	38
§ 3.2 湿法制板.....	39
§ 3.2.1 倾注法.....	39

§ 3.2.2	平铺法	40
§ 3.2.3	涂铺法	40
§ 3.3	粘合剂	42
§ 3.4	各种薄层板	43
§ 3.4.1	荧光薄层板	44
§ 3.4.2	络合薄层板	44
§ 3.4.3	酸碱薄层板和 pH 缓冲薄层板	45
§ 3.4.4	混合薄层板	45
§ 3.4.5	径向薄层板	45
§ 3.4.6	梯度薄层板	45
§ 3.4.7	烧结板	46
§ 3.4.8	薄层棒	47
§ 3.4.9	旋转薄层板	49
§ 3.4.10	聚酰胺薄层板	50
§ 3.4.11	纤维素薄层板	52
§ 3.4.12	离子交换纤维素薄层板	52
§ 3.4.13	葡聚糖凝胶薄层板	52
§ 3.4.14	反相薄层板	52
§ 3.4.15	高效薄层板	53
§ 3.5	薄层板的预洗处理	53
§ 3.6	薄层板的活化和活度标定	54
	参考文献	54
<b>第四章</b>	<b>点样</b>	<b>56</b>
§ 4.1	样品溶液	56
§ 4.2	点样量	56
§ 4.3	点样方式	56
§ 4.4	点样容器	60
§ 4.4.1	定容毛细管	60
§ 4.4.2	微量注射器	60
§ 4.5	点样装置	60
§ 4.5.1	Nanomat 点样器	61
§ 4.5.2	Linomat 线型点样器	61

参考文献	63
<b>第五章 展开</b>	64
§ 5.1 水蒸气的影响	64
§ 5.2 溶剂蒸气的影响	65
§ 5.3 展开槽	67
§ 5.3.1 普通展开槽	67
§ 5.3.2 双底展开槽	67
§ 5.3.3 夹心展开槽	68
§ 5.3.4 水平展开槽	69
§ 5.4 展开方式	69
§ 5.4.1 近水平展开	69
§ 5.4.2 上行展开	70
§ 5.4.3 下行展开	70
§ 5.4.4 双向展开	70
§ 5.5 展开操作	71
§ 5.5.1 展开槽的密闭	71
§ 5.5.2 展开槽的饱和	71
§ 5.5.3 展开距离	72
§ 5.5.4 展开时的温度	72
§ 5.5.5 展开槽的放置	73
参考文献	73
<b>第六章 展开剂</b>	74
§ 6.1 选择展开剂的方法	74
§ 6.1.1 查阅文献	74
§ 6.1.2 微量圆环技术	74
§ 6.1.3 微型薄层板	80
§ 6.2 选择展开剂的基本原则	80
§ 6.2.1 吸附薄层	81
§ 6.2.2 聚酰胺薄层	82
§ 6.2.3 分配薄层和纸色谱	90
§ 6.2.4 离子交换薄层	92
§ 6.2.5 凝胶薄层	93

§ 6.3	最佳展开剂组合的选择	94
§ 6.4	展开剂的规格和要求	95
	参考文献	95
<b>第七章</b>	<b>定位与显色</b>	<b>97</b>
§ 7.1	概述	97
§ 7.2	定位方法	98
§ 7.2.1	物理检出法	98
§ 7.2.2	化学检出法	100
§ 7.2.3	生物与酶检出法	116
§ 7.2.4	放射显影法	117
§ 7.3	$R_f$ 值	118
§ 7.3.1	定义	118
§ 7.3.2	$R_f$ 值与分配系数的关系	118
§ 7.3.3	影响 $R_f$ 值的因素	118
§ 7.3.4	$R_f$ 值与化学结构	122
§ 7.3.5	应用	125
	参考文献	127
<b>第八章</b>	<b>定量</b>	<b>130</b>
§ 8.1	洗脱测定法	130
§ 8.1.1	斑点的定位	130
§ 8.1.2	斑点的洗脱	131
§ 8.1.3	测定	133
§ 8.2	直接测定法	134
§ 8.2.1	目测法	134
§ 8.2.2	测面积法	134
§ 8.2.3	仪器测定法	135
	参考文献	155
<b>第九章</b>	<b>其它有关技术</b>	<b>157</b>
§ 9.1	特殊的上样技术	157
§ 9.1.1	热微量抽出法	157
§ 9.1.2	流体提取法	159

§ 9.2 特殊的薄层	162
§ 9.2.1 具浓集区的薄层	162
§ 9.2.2 铝箔薄层	163
§ 9.2.3 棒状薄层色谱	164
§ 9.3 特殊的展开技术	166
§ 9.3.1 连续展开	166
§ 9.3.2 多次展开	167
§ 9.3.3 阶式展开	168
§ 9.3.4 程序多次展开	170
§ 9.3.5 程序蒸气展开	173
§ 9.3.6 梯度展开	175
§ 9.3.7 分离-反应-分离展开	181
§ 9.3.8 加压薄层色谱	182
§ 9.4 制备薄层色谱	184
§ 9.4.1 厚层	185
§ 9.4.2 旋转薄层色谱	185
§ 9.4.3 移植薄层色谱	186
§ 9.5 薄层色谱法与其它分析技术的联用	188
§ 9.5.1 薄层色谱与气相色谱联用技术	188
§ 9.5.2 薄层色谱与质谱联用	192
§ 9.5.3 薄层色谱与红外光谱联用	192
§ 9.5.4 薄层色谱法与光声光谱法联用	192
参考文献	193
<b>第十章 高效薄层色谱法</b>	197
§ 10.1 薄层性能	198
§ 10.2 点样	200
§ 10.3 展开	201
§ 10.3.1 直线展开	202
§ 10.3.2 圆心式展开	202
§ 10.3.3 向心式展开	203
§ 10.4 定量	204
§ 10.5 应用	205

§ 10.5.1 发酵工业 .....	205
§ 10.5.2 生化样品 .....	205
§ 10.5.3 植物性样品 .....	208
参考文献 .....	209
<b>第十一章 应用</b> .....	<b>210</b>
§ 11.1 医药方面 .....	211
§ 11.1.1 中草药及中成药的分析 .....	211
§ 11.1.2 药物及其制剂的分析 .....	213
§ 11.1.3 体内药物分析 .....	214
§ 11.1.4 抗生素的分析 .....	215
§ 11.2 农药残留量 .....	216
§ 11.3 环境有害物质 .....	224
§ 11.3.1 多环芳烃 .....	227
§ 11.3.2 多氯联苯 .....	230
§ 11.3.3 酚和有关化合物 .....	233
§ 11.3.4 金属 .....	236
§ 11.3.5 农药 .....	238
§ 11.4 染料 .....	238
§ 11.5 食品 .....	241
§ 11.6 石油 .....	244
§ 11.7 煤 .....	245
§ 11.8 添加剂 .....	245
§ 11.9 高聚物 .....	246
§ 11.10 其它化工产品 .....	247
§ 11.11 无机物 .....	248
参考文献 .....	250
<b>附录</b> .....	<b>256</b>
一、商品吸附剂及载体 .....	256
二、常用有机溶剂的精制 .....	265
三、显色剂的配制与应用 .....	274
<b>索引</b> .....	<b>315</b>

# 第一章 概 论

## § 1.1 色谱法的发展

色谱法是**目前最常用**的一类分离技术，它利用不同结构或不同性质的物质在**不相混溶的二相中分布不同**而进行分离。当将其中一相固定(称**固定相**)，而使另一相流过(称**流动相**)时，则这些物质被流动相带动，以不同速度向前移动。经过一段时间之后，不同物质移动的距离有较明显的差异，因而达到分离。这个方法现已有多种操作，由于分离效能好，操作简便，已在各个领域中得到广泛应用。虽然一般公认色谱法系俄国植物学家 M. C. Цет<sup>[1]</sup> 于本世纪初发明，但它的发展可追溯到上个世纪。类似于纸色谱的工作在染料工业中已早有应用。19 世纪中叶就有有关书籍出版。F. F. Runge<sup>[2]</sup> 在他的“*Farbenchemie*”(染料化学)和“*Der Bildungstrieb der Stoffe*”(物质结构)二书中都描述了检查染料成分的方法：将染料溶液滴于纸或布上，则由于毛细作用，液体向外扩展，形成色圈，由此色圈可观察出各种染料成分，这可以认为是纸色谱法的最早记录。其后 C. F. Schönbein<sup>[3]</sup> 和他的学生 F. Goepfelsroeder<sup>[4-6]</sup> 进行了更多工作，并将这种方法命名为“毛细管分析”，同时还进行了定性和定量分析。19 世纪末期，L. Reed<sup>[7]</sup> 报道了用高岭土柱分离曙红与铬酸钾，以及氯化铁与硫酸铜的工作。至 1903 年，Цет发表他的第一篇以纯溶剂冲洗、分离植物色素的文章，并起名为“*chromatography*”，这种方法才正式以“色谱法”存在。但它并没有立即被人们所使用，直到过了近三十年才逐渐被重新认识为一种好的分离手段，得到较多应用。1941 年 A. J. P. Martin 和 R. L. M. Synge<sup>[8]</sup> 为解决氨基酸的分析问题，将溶剂抽提中的一个相固定在硅胶上，装在柱内，并

按色谱法操作,使另一液相流过柱子,获得分离的成功,从此出现了基于分配原理的分配色谱法,他们二人且因此获得了诺贝尔奖金。以后的发展采用了纤维素,继而采用滤纸作为分配色谱法的载体,于是又出现了一种新的分离手段——纸色谱法,R. Consden, A. H. Gordon 和 A. J. P. Martin<sup>[9]</sup>于1944年发表了第一篇纸色谱法的论文,不久就得到广泛的应用,在微量分离分析、在医药生化及其它许多方面的研究中都发挥了很大的作用。

薄层色谱法也可向前追溯到19世纪末,当时就有人用明胶薄层分离过盐酸和硫酸,也有人分离过酶。其后,1938年N. A. Izmailov 和 M. S. Schraiber<sup>[10]</sup>使用在显微镜玻片上涂铺的氧化铝薄层进行圆心系展开,分离酞剂中的成分。以后有少数几篇类似的报道,有的用吸附剂板,有的用浸渍有吸附剂的纸,但进展不大。至1949年J. E. Meinhard 和 N. F. Hall<sup>[11]</sup>报道了以淀粉为粘合剂的氧化铝和硅藻土板进行无机离子的分离,启发了J. G. Kirchner 等人<sup>[12-17]</sup>使用硅胶为吸附剂,煨石膏为粘合剂,制成较牢固的薄层板,并用类似于纸色谱的上行展开方式,进行了挥发油成分的分离。在此法中可以进行双向展开,也可用显色剂显示无色组分的斑点,这种方式将柱色谱与纸色谱的优点结合在一起,奠定了薄层色谱的基础。在1951到1954年发表了一些研究报告,此时Kirchner 将他们用的薄层板叫做“色谱条”(chromatostrip),R. H. Reitsema<sup>[18]</sup>则称之为“色谱板”(chromatoplate)。

尽管至此薄层色谱法已初具规模,但此法得到普遍承认和使用则还是在1956—1958年以后的事。在此期间,E. Stahl 进行了较系统的研究<sup>[19,20]</sup>,在吸附剂硅胶的规格、性能、薄层厚度等对于分离的影响等方面得到了总结性的结论,而生产厂家联邦德国的Desaga 和 Merck 也开始供应薄层分离用的硅胶和涂布薄层的涂铺器及其它有关设备,使分离结果的重现性得到较好的保证。尤其在Stahl 的《薄层色谱手册》一书于1965年出版<sup>[21]</sup>以后,方法得到宣传介绍,从此才被广泛使用,并正式采用了薄层色谱法的名称,由欧洲向世界各地推广,现在已与气相色谱法、高效液相色谱



法成为三种最常用的色谱方法。随着高效液相色谱法的进展,也发展了反相薄层色谱、高效薄层色谱等方法。为与柱色谱法相区别,并突出纸色谱和薄层色谱法的特点,也因为这二种方法有许多相似之处,所以也有人将纸色谱与薄层色谱统称为平床色谱法(Flat Bed Chromatography)或平面色谱法(Planar Chromatography)。

## §1.2 分类和一般原理

色谱法经过多年的发展,现在已有多种操作形式,其分类方法也有多种。如按固定相和流动相的物态可分为以气体为流动相的气相色谱法(包括气固色谱法和气液色谱法)和以液体为流动相的液相色谱法(包括液固色谱法和液液色谱法);如以固定相的操作方式及形状分类则有柱色谱、纸色谱、薄层色谱;如以分离机制分类则有吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱、排阻色谱、亲和色谱等。纸色谱和薄层色谱都属于液相色谱范畴,对纸和制作薄层的材料适当处理或选择也可进行吸附、分配、离子交换或排阻等色谱分离。但通常纸色谱法是以分配形式分离各个组分、而薄层色谱则主要以吸附方式进行分离。以下分别加以讨论。

### § 1.2.1 纸色谱法

纸色谱法是以纸为载体的液相色谱法,操作时在长条滤纸的一端点上待分离的样品溶液,待溶液挥发后,将滤纸吊放在一个密闭的缸内,使滤纸被流动相的蒸气所饱和,然后使流动相自点有样品的一端由毛细管作用流向另一端。在此过程中各组分逐渐得到分离。其分离机制属于分配范畴。固定相为结合于滤纸纤维的水分。据报道,适用于纸色谱的滤纸,其组成中的纤维素能吸收20—25%的水分,其中有6%左右的水分通过氢键与纤维素上的羟基相结合,形成液液色谱中的固定液。纸本身是惰性的,不参与分离组分的过程,只起负载水分的作用。分离由组分在流动相和