



中药分析技术与应用丛书 ● 总主编 杨秀伟 赵陆华

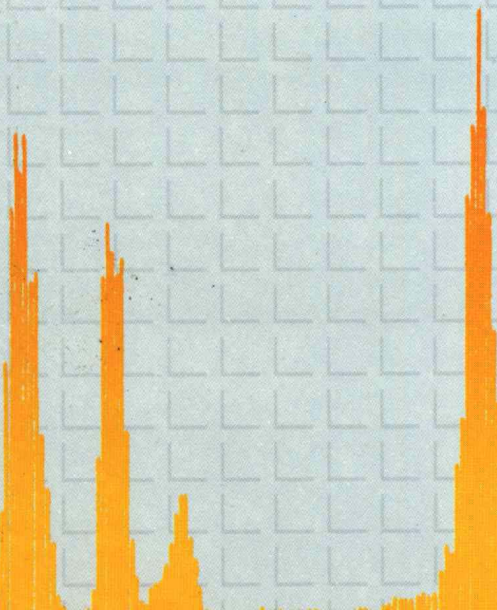
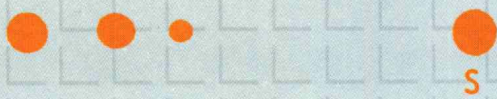
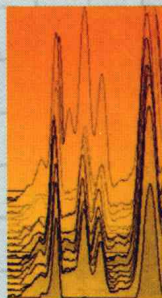
HONGYAO BOCENG SEPU FENXI JISHU YU YINGYONG

中药薄层色谱

分析技术与应用

主编 严拯宇

▶▶ 由权威专家组织编写，**中药领域第一套**成系统的分析技术与应用丛书。在已有技术方法的基础上**本土化创新**，为广大从事中药物质基础研究及质量控制规范化研究的读者提供**新的视点、新的观念**。



中国医药科技出版社

中药分析技术与应用丛书

中药薄层色谱分析 技术与应用

总主编 杨秀伟 赵陆华
主 编 严拯宇

 中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书系统地叙述了薄层色谱的基本理论、基本操作、显色及定性定量方法。介绍了薄层扫描法及其扫描仪在中药分析中的应用。在查阅大量资料与科研的基础上,对薄层色谱在中药分析中的应用进行了归纳总结,为中药分析色谱条件的选择提供了便利的条件与参考。

图书在版编目(CIP)数据

中药薄层色谱分析技术与应用/严拯宇主编. —北京:中国医药科技出版社, 2009.6

(中药分析技术与应用丛书/杨秀伟, 赵陆华总主编)

ISBN 978-7-5067-4217-7

I. 中… II. 严… III. 中药化学成分—薄层色谱—化学分析
IV. R284.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第064278号

美术编辑 陈君杞
责任校对 张学军
版式设计 郭小平

出版 中国医药科技出版社
地址 北京市海淀区文慧园北路甲22号
邮编 100082
电话 发行: 010-62227427 邮购: 010-62236938
网址 www.cspyp.cn
规格 787×1092mm^{1/16}
印张 20^{1/2}
字数 427千字
印数 1—5000
版次 2009年6月第1版
印次 2009年6月第1次印刷
印刷 北京金信诺印刷有限公司
经销 全国各地新华书店
书号 ISBN 978-7-5067-4217-7
定价 52.00元

本社图书如存在印装质量问题请与本社联系调换

丛书编委会

◎ 顾问

于德泉 肖培根 陈凯先 胡之璧

◎ 总主编

杨秀伟 赵陆华

◎ 副主编 (以姓氏笔画为序)

王广基 孔令义 毕开顺 杜力军

严拯宇 吴春福 陆建伟 季一兵

罗国安 屈凌波 陈常青 相秉仁

钟国跃 黄璐琦 蔡少青

本书编委会

◎ 主编 严拯宇

◎ 编者 (以姓氏笔画为序)

王志群 刘明明 何 华

杨秀伟 严拯宇 肖 莹

骆雪芳 徐 丽

前 言

中药是中华民族在与疾病长期斗争过程中积累的宝贵财富，其有效的实践和丰富的知识中蕴含着深厚的科学内涵，是中华民族优秀文化的重要组成部分之一，为中华民族的繁衍昌盛和人类健康做出了突出贡献。在继承发扬中药优势特色的基础上，充分利用现代科学技术方法和手段，不断推动中药现代化和国际化进程，以满足时代发展和民众日益增长的医疗保健和用药安全需求。

中药具有基源多样性、生态环境多样性、化学物质结构多样性、生物活性多样性、配伍应用多样性、临床应用多样性等特点，造成了中药是多组分、非线性、多元化、多环节发挥效应的复杂体系。无论认为中药是一种文化还是认为中药是一种实践活动，皆存在物质基础。中医的“辨证论治”植根于人体的高级活动物质，“理法方药”植根于中药中存在的作用物质。“辨证论治”和“理法方药”的和谐统一，是中药对疾病的预防、治疗和康复起作用的基础。中药中化学物质结构的多样性，决定了物质基础研究方法的多样性，决定了中药材在规范化种植/养殖、道地中药材质量评价、优良品种培育、最佳采收期、饮片炮制和煎煮、中成药生产工艺优化、剂型选择、中成药等质量研究上用一种定性、定量技术方法难以满足质量标准制定的要求；同时，中药的质量标准亦要求相应的配套生产设备技术能够响应中药质量标准。因此，中药质量控制的技术方法显得尤其重要，是中药系统工程研究中的核心内容之一。近年来，随着科学技术水平的飞速发展，带动了各种仪器设备功能的完善、更新换代和新型仪器设备的研制，针对于不同化学物质结构特点而设计的各种检测设备、分析和数据处理程序、试剂等的不断出现，给中药质量控制技术方法的选择提供了硬件和软件条件。考虑中药质量控制或评价定性、定量技术方法的可操作性和适用性，推出《中药分析技术与应用丛书》，包括《中药薄层色谱分析技术与应用》、《中药高效液相色谱分析技术与应用》、《中药毛细管电泳分析技术与应用》、《中药气相色谱分析技术与应用》、《中药结构的核磁共振波谱分析技术与应用》和《中药液相色谱-质谱联用分析技术与应用》等，以期能带给广大读者和从事中药物质基础研究、

质量控制规范化研究的科研人员新的视点、新的观念、新的技术方法，在已有技术方法的基础上本土化创新，以推动中药物质基础和质量标准研究发展，提高中药产品和产业技术水平。当然，中药物质基础研究和质量控制技术还处于探索阶段，本套丛书亦存在挂一漏万之处，敬请广大读者评论并提出宝贵意见，使其伴随中药科技的发展不断完善。

丛书编委会

2009年1月

编写说明

色谱是一种分离分析技术，薄层色谱是色谱分析组成部分之一。它具有简便、快速、不怕污染、实验现象直观等特点，几乎适用于绝大多数物质的分离分析。色谱分析自始至今已有一百多年的历史，尤其在 20 世纪 40 年代以后，色谱分析领域发展迅猛，目前已成为分析工作者解决各种分离问题不可缺少的工具与手段。被广泛应用于医药、化工、天然植物化学、生物化学和生命科学等诸多研究领域。尤其在中药分析中，薄层色谱已成为中药成分分离分析的主要方法。

本书系统地叙述了薄层色谱的基本理论、基本操作、显色及定性定量方法。介绍了薄层扫描法及其扫描仪在中药分析中的应用。在查阅大量资料与科研的基础上，对薄层色谱在中药分析中的应用进行了归纳总结，为中药分析色谱条件的选择提供了便利的条件与参考。

本书共分八章，参加编写的有严拯宇（第一、二章），何华、王志群（第五章），骆雪芳（第四章），骆雪芳、刘明明（第六章），肖莹（第三章），徐丽（第七、八章），杨秀伟（附录）。

由于编者学术水平有限，书中如有缺点与错误，请读者批评指正。

编者

2009 年 1 月

目 录

第一章 薄层色谱的分类和原理	(1)
第一节 引言	(1)
第二节 薄层色谱法的分类	(2)
一、吸附薄层色谱法	(2)
二、分配薄层色谱法	(2)
三、离子交换薄层色谱法	(3)
四、分子排阻薄层色谱法	(4)
第三节 薄层色谱法技术参数和板效参数	(5)
一、定性参数	(5)
二、相平衡参数	(6)
三、分离参数	(7)
四、板效参数	(8)
第二章 固定相与薄层板的制备	(9)
第一节 固定相	(9)
一、硅胶	(10)
二、氧化铝	(13)
三、聚酰胺	(13)
四、葡聚糖凝胶	(14)
五、纤维素	(15)
六、硅藻土	(16)
七、多孔玻珠	(16)
第二节 黏合剂	(16)
一、煨石膏	(17)
二、羧甲基纤维素钠	(17)
三、淀粉	(17)
第三节 薄层板的制备	(17)
一、软板的制备	(17)
二、硬板的制备	(18)
三、特殊薄层板	(20)
第四节 薄层板的活化和活度标定	(22)

一、吸附剂的活化·····	(22)
二、吸附剂的活度标定·····	(22)
第三章 点样及展开 ·····	(25)
第一节 点样·····	(25)
一、样品溶液的制备·····	(25)
二、点样·····	(26)
三、点样方式·····	(28)
第二节 展开·····	(32)
一、薄层展开装置·····	(32)
二、展开方式·····	(35)
三、影响展开的因素·····	(47)
第三节 展开剂及其选择方法·····	(51)
一、展开剂的要求·····	(52)
二、溶剂的性质和分类·····	(53)
三、展开剂的选择及优化·····	(56)
四、不同类型薄层色谱的展开剂·····	(59)
五、特殊的展开系统及实例·····	(60)
第四章 薄层色谱的定位及显色方法 ·····	(65)
第一节 薄层色谱的定位显色方法及其在中药分析中的应用·····	(65)
一、光学显色定位法·····	(65)
二、蒸气检出法·····	(77)
三、显色剂显色检出方法·····	(78)
四、生物自显影检出法·····	(87)
五、放射自显影定位法·····	(87)
第二节 显色剂显色方法·····	(87)
一、通用显色剂显色法·····	(87)
二、专属显色剂显色法·····	(88)
三、薄层色谱定位显色方法综合使用实例·····	(95)
第五章 薄层扫描法 ·····	(139)
第一节 薄层扫描法的基本理论·····	(140)
一、薄层吸收扫描法·····	(140)
二、薄层荧光扫描法·····	(144)
第二节 薄层扫描法的条件选择·····	(145)
一、薄层吸收扫描法波长选择·····	(145)
二、薄层荧光扫描法的扫描波长选择·····	(149)

第三节 薄层色谱定性(鉴定)方法	(157)
一、利用保留值定性	(157)
二、通过板上化学反应定性	(159)
三、通过板上光谱图定性	(160)
四、薄层色谱与其他技术联用定性	(162)
五、薄层扫描在中药定性分析中应用的典型实例	(163)
第四节 薄层扫描的定量分析方法	(177)
一、定量方法	(177)
二、影响薄层扫描定量的因素	(180)
三、定量薄层色谱方法的认证	(185)
四、薄层色谱扫描在中药定量分析中应用的典型实例	(190)
第六章 薄层色谱扫描仪	(207)
第一节 概述	(207)
第二节 薄层扫描仪的基本原理	(207)
一、利用低浓度区进行定量	(207)
二、利用线性参数进行定量	(207)
三、利用非线性方程进行定量	(210)
第三节 薄层扫描仪的基本用途	(210)
一、定性分析	(210)
二、定量分析	(210)
第四节 薄层扫描仪的组成及主要功能	(211)
一、分光器及测量范围	(211)
二、光源及检测器	(212)
第五节 薄层扫描仪的测光形式	(212)
一、单波长扫描	(212)
二、双波长扫描	(213)
三、自动多波长扫描	(216)
第六节 薄层色谱扫描仪的扫描方式	(217)
一、直线扫描	(217)
二、锯齿扫描	(218)
三、圆形扫描	(220)
四、倾斜扫描	(221)
五、跟踪扫描	(221)
六、多通道自动扫描	(222)
第七节 薄层扫描仪的测定方法	(222)
一、吸光度测定法	(222)
二、荧光测定	(223)

三、荧光淬灭法	(224)
第八节 几种常用薄层扫描仪的结构、功能和特点	(225)
一、CS-930型双波长薄层扫描仪	(225)
二、CS-9000型双波长飞点薄层色谱扫描仪	(228)
三、CAMAG II型薄层色谱扫描仪	(231)
四、CAMAG III型薄层色谱扫描仪	(234)
五、CS-9301双波长飞点扫描分析仪	(235)
六、其他薄层色谱扫描仪	(236)
第七章 薄层色谱法在中药分析中的应用	(237)
第一节 薄层色谱在中药材鉴别中的应用	(238)
一、中药材的成分定性鉴别	(239)
二、中药材的成分研究	(240)
三、中药材真伪鉴别及中药材质量研究	(242)
第二节 薄层色谱在中成药鉴定上的应用	(247)
一、成药的提取方法	(248)
二、薄层色谱	(249)
三、阴、阳对照法	(249)
四、应用举例	(249)
第八章 薄层色谱中药指纹图谱研究	(273)
第一节 中药指纹图谱研究概况	(273)
一、中药指纹图谱概念及特征	(273)
二、建立中药指纹图谱的原则及意义	(274)
三、建立指纹图谱的步骤	(275)
四、指纹图谱建立的主要方法	(275)
五、中药指纹图谱在中药研究中的应用	(279)
六、中药指纹图谱存在的问题	(280)
七、应用前景	(280)
第二节 指纹图谱的构建方法及薄层色谱中药指纹图谱	(281)
一、中药薄层色谱指纹图谱的研究	(281)
二、薄层色谱中药指纹图谱的具体研究	(282)
附录 薄层色谱喷雾剂和应用	(296)

第一章 薄层色谱的分类和原理

第一节 引言

色谱分析法 (chromatography) 始于 20 世纪初。1903 年俄国植物学家 M.C. Tswett 将碳酸钙装在玻璃管中, 从顶端倒入植物色素的石油醚提取液, 并以石油醚冲洗, 由于提取液中不同颜色的色素在管中的移动速度不同, 从而形成不同颜色的色带, 因此, 这种分离方法被称为“色谱法”。色谱法自创立至今已成为不可缺少的分离方法, 随着分离技术的不断发展, 逐步形成了一门学科, 且越来越多的无色物质成为了分离对象, 色谱也渐渐失去了“色”的含义, 但其名称沿用至今。

在 M.C. Tswett 的实验中, 将玻璃管作为色谱柱 (column), 玻璃管中填充的碳酸钙被称为固定相 (stationary phase), 用于冲洗样品所用溶剂被称为流动相 (mobile phase)。当植物色素提取液进入柱后, 由于各种色素受到固定相的作用力不同, 随着流动相的不断冲洗, 各种不同的色素在柱中形成不同的色带而被分离。因此, 色谱法是利用不同性质的物质在固定相与流动相中的分配系数、吸附与解吸附或其他性能不同而被分离。

色谱分析法包括柱色谱和平面色谱。柱色谱包括经典的柱色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法和高压毛细管电泳色谱法; 平面色谱法包括薄层色谱法、纸色谱法和薄层电泳色谱法。

薄层色谱法 (thin layer chromatography, TLC) 是将固定相均匀涂抹在玻璃板上 (或其他支持物上, 如塑料片或铝制薄板) 成一层膜, 然后用毛细管或适当的点样器将样品点在薄层的起始线上, 待溶剂挥去后, 置入展开槽中, 用一定的溶剂展开, 当展开到适当距离时取出, 晾干, 显色后定性、定量。

薄层色谱法具有操作简单, 快速, 不怕污染, 且流动相选择范围宽, 有利于不同性质的化合物的分离与分析等特点。早在 20 世纪 50 年代, Kirchner 等从经典的柱色谱法和纸色谱法的基础上发展了薄层色谱技术, 20 世纪 60 年代后, Stahl 等对薄层色谱法进行了标准化、规格化及扩大应用等方面的工作, 但由于仪器的自动化程度、分辨率及重现性等方面的不足, 较长时间停留在定性和半定量的水平上。20 世纪 70 年代开始, 薄层色谱向仪器化、高效化发展, 逐步提出了仪器化平面色谱 (instrumental planar chromatography) 或现代化薄层色谱 (modern TLC)。即在高效薄层板上进行组分分离, 并且薄层色谱的每一个步骤应用一整套适当的仪器来代替以往的手工操作, 已得到分辨率极高的色谱图, 再配以高质量的薄层色谱扫描仪, 大大提高了薄层色谱定量结果的重复性和准确度。因而, 薄层色谱法已成为当今分析实验室主要的分离分析手段, 并成为色谱领域必不可少的一个分支。

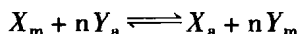
第二节 薄层色谱法的分类

薄层色谱法按其分离原理可分为吸附薄层色谱法、分配薄层色谱法、离子交换薄层色谱法和排阻薄层色谱法等，其中应用最广的是吸附薄层色谱法。

一、吸附薄层色谱法

吸附薄层色谱法 (adsorption TLC) 也称为液 - 固薄层色谱法 (liquid - solid chromatography), 是最为经典的色谱过程。吸附薄层色谱所用的固定相是吸附剂, 流动相可根据分离对象选择不同剂型的溶剂, 溶质的分离取决于溶质与流动相分子在吸附剂表面的吸附竞争。吸附薄层色谱法操作过程中, 当用一定溶剂展开时, 不同溶质在吸附剂表面和溶剂之间不断发生吸附、解吸附、在吸附、再解吸附……。易被吸附的物质相对移行速度慢, 较难被吸附的物质则相对移行速度快, 即产生差速迁移。经过一定时间的展开, 利用吸附剂对样品中各组分的吸附能力不同产生差速迁移, 而被彼此分开。因此, 吸附剂表面吸附中心的多少以及吸附能力的强弱直接影响到吸附剂的性能。

吸附剂的吸附能力用吸附平衡常数 K 来衡量, 其吸附过程可用下式来表达:



式中: X_m : 流动相中的溶质分子;

X_a : 吸附与固定相表面的溶质分子;

nY_a : 吸附在吸附剂表面的流动相分子;

nY : 被溶质分子置换的流动相分子。

它们之间的平衡关系符合质量作用定律:

$$K_a = \frac{[X_a][Y_m]^n}{[X_m][Y_a]^n}$$

由于 Y_m 和 Y_a 是大量的, 所以 $K_a \approx \frac{[X_a]}{[X_m]}$, 即吸附平衡常数 (adsorption equilibrium constant), 从广义的角度理解相当于分配系数。

硅胶、硅藻土、氧化铝等常用作吸附薄层色谱中的吸附剂。

二、分配薄层色谱法

流动相与固定相都是液体的色谱为液 - 液分配色谱 (liquid - liquid chromatography)。利用样品中各组分在固定相与流动相的溶解度的差异而分离, 因而成为分配薄层色谱法。

分配薄层色谱法 (partition TLC) 常以纤维素、硅藻土或硅胶为载体, 在载体上吸附的水或其他溶剂 (如缓冲溶液、酸溶液、甲酰胺、丙二醇等) 为固定相, 以与固定相溶液互不相溶的 (或部分相溶的) 的展开剂作为流动相。由于溶质分子在两相中的溶解度不同, 一定温度下, 溶质分子在流动相与固定相中处于平衡状态时, 其浓度比是一个常数, 即分配系数 K 。

$$K = \frac{C_s}{C_m} \quad X_m \rightleftharpoons X_s$$

式中： X_m 为流动相中的被测组分； X_s 为固定相中的被测组分； C_s 被测组分在固定相中的浓度； C_m 为被测组分在流动相中的浓度， K 为分配薄层色谱的分配系数。

在分配薄层色谱中，当展开剂移行过程中被测物质的各组分在两相间进行分配，每移行一段距离，被分离组分不断重复进行着分配。分配系数大的组分，在流动相中溶解度小，被流动相带动移行的速度就慢；而分配系数小的组分，在流动相中的溶解度相对大些，被流动相带动移行的速度就快，经过一定时间的展开后，分配系数不同的组分逐渐拉开距离，从而得以分离。

和经典的柱色谱相同，将液-液分配薄层色谱法按照固定相和流动相的相对极性的差异，分为正相薄层色谱法和反相薄层色谱法。

1. 正相分配薄层色谱法 (normal phase partition TLC)

用极性大的物质作固定相，用比固定相极性小的物质作流动相的薄层色谱称为正相分配薄层色谱法。例如，用含水量大于 17% (W/W) 的硅胶作为薄层色谱的固定相，在硅胶表面吸附的水使硅胶失去吸附活性，则水为薄层色谱的固定相。用极性小的有机溶剂或含水的有机溶剂为流动相就构成了正相分配薄层色谱。极性大的组分分配系数大，比移值 R_f 小；而极性小的组分分配系数小，比移值 R_f 大。即利用物质中各组分在固定相和流动相中的分配系数的不同得以分离。

2. 反相分配薄层色谱法 (reversed phase partition TLC)

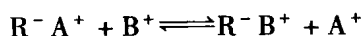
用极性弱的物质作固定相，即性强的物质作流动相的薄层色谱称为反相分配薄层色谱法。其固定相常用烷基化学键合相，即将非极性的烷基官能团以化学键的形式能结合在硅胶上，相当于在硅胶表面形成了一层非极性固定液；以水/醇类、水/乙腈等作为流动相。反相分配薄层色谱分离与正相分配薄层色谱恰恰相反，极性大的组分分配系数小，比移值 R_f 大；而极性小的组分分配系数大，在流动相中的溶解度小，比移值 R_f 小。

三、离子交换薄层色谱法

以离子交换剂为固定相的薄层色谱法称为离子交换薄层色谱法 (ion exchange TLC)。

离子交换的基础是离子交换剂，离子交换剂是具有网状立体结构的高分子多元酸或多元碱的聚合物。网状结构的骨架一般十分稳定，酸、碱及某些有机溶剂和弱氧化剂等都不起作用，对热也比较稳定。在其网状结构的骨架上有许多可电离、可被交换的基团使交换剂具有交换能力。离子交换剂能在含水溶液中溶胀而不被溶解，并通过电离会释放出一些离子，这些游离的离子可能被溶液中的其他离子所取代，这一过程称为离子交换。

离子交换薄层色谱法的分离机制是溶质与流动相离子竞争交换剂上的特定离子，由于流动相竞争交换的能力强，各组分均可被洗脱，但不同离子交换能力不同，在洗脱过程中被分离。上述的交换反应可用下式表示：



当反应达到平衡时，可用交换平衡常数 $K_{B/A}$ 表示：

$$K_{B/A} = \frac{[B^+]_r [A^+]}{[A^+]_r [B^+]}$$

其中 $[B^+]_r$, $[A^+]_r$ 分别为交换剂中 A、B 离子的浓度, $[A^+]$ 、 $[B^+]$ 表示水溶液中 A、B 离子的浓度。

离子交换剂对物质中不同组分的交换能力不同, $K_{B/A}$ 反应了交换剂对 B 离子交换能力的大小, $K_{B/A}$ 值越大交换能力越强, B 组分在薄层板上的移行速度越慢。因此, 多组分溶质在薄层板上的行为可用 $K_{B/A}$ 反映, $K_{B/A}$ 也可称为选择性系数 (selectivity coefficient)

$$K_{B/A} = \frac{[B^+]_r \cdot [A^+]}{[B^+] \cdot [A^+]_r} = \frac{[B^+]_r / [B^+]}{[A^+]_r / [A^+]} = \frac{K_B}{K_A}$$

K_B , K_A 分别表示 B、A 两组分在固定相中和流动相中的分配系数。离子交换薄层色谱法正是利用物质中各组分在展开过程中, 离子交换系数的不同得以分离。离子交换薄层色谱法常用于分离亲水性强、能呈离子的化合物。

四、分子排阻薄层色谱法

分子排阻薄层色谱法 (size exclusion TLC) 又称凝胶薄层色谱法 (gel TLC), 其所用的固定相为凝胶的多孔性物质, 根据物质中不同组分的分子体积大小的差异进行分离。因流动相的不同, 分子排阻薄层色谱又分为两类: 以水作流动相的称为凝胶过滤薄层色谱 (gel filtration TLC); 以有机溶剂为流动相的称为凝胶渗透薄层色谱 (gel permeation TLC)。

分子排阻色谱法的分离机制尚无确切的说法, 但其分子排阻理论已被多数从事分离分析的实验工作者所接受。其理论提出, 凝胶内的许多孔隙类似于分子筛, 当被分离组分的分子尺寸与凝胶孔径等同大小时, 溶质分子出于扩散平衡状态: $X_m \rightleftharpoons X_s$ 。式中 X_m 、 X_s 分别表示等同大小的溶质分子在流动相与凝胶孔隙中的数量, 平衡时, 两者浓度之比为渗透系数 K_p (permeation coefficient):

$$K_p = \frac{[X_s]}{[X_m]}$$

渗透系数 K_p 的大小, 由溶质分子的大小和凝胶空隙的大小决定。

当凝胶孔径一定, 分子大到不能进入凝胶的所有孔隙时, 会被“全排阻”凝胶团之外, 除颗粒体本身的阻力外, 分子几乎可随流动相同步移行。此时 $[X_s] = 0$, $K_p = 0$, 则比移值 R_f 接近于 1; 分子大到可以进入凝胶的所有孔隙时, $[X_s] = [X_m]$, 即 $K_p = 1$, 分子迁移的阻力主要来自于凝胶团的孔隙, 则比移值 R_f 接近于 0; 若分子大小介于上述两者之间时, 则 $0 < K_p < 1$, 比移值 R_f 介于上述两者之间。对于物质中不同的组分, 由于渗透系数 K_p 的不同, 比移值 R_f 不同而被分离。渗透系数 K_p 相同的组分, 如全排阻分子或全进入凝胶孔隙的分子, 即使分子大小不同, 也不能被分离。

分子排阻薄层色谱主要用于蛋白质及其他大分子的分离。例如溶于有机溶剂的橡胶、化纤及塑料等高分子化合物的分析可用凝胶渗透色谱法; 而水溶性的高分子化合物如蛋白质制剂、人工血浆等可用凝胶过滤色谱法分离分析。

第三节 薄层色谱法技术参数和板效参数

混合样品在薄层板上被分离的原理与柱色谱法类似，样品能够被分离的前提首先样品与固定相之间的相互作用（吸附，分配，离子交换）是可逆的；其次是相互作用的平衡常数 K 不相等，即各组分存在差速迁移。这样各组分分别与展开剂竞争与固定相上的作用位点，由于不同组份作用力不同，而达到分离。但薄层色谱与柱色谱操作不同，故其技术参数也不完全相同。本节介绍薄层色谱的主要技术参数。

一、定性参数

1. 比移值 (R_f) R_f 值是用来描述样品中各组分在薄层板上移行距离与溶剂移行距离之比的参数。由于 R_f 值与样品的性质、固定相、展开剂的性质有关，因此 R_f 值可以作为组分的定性参数。

其定义式如下：

$$R_f = \frac{L_1}{L_0}$$

式中： L_1 为原点中心到斑点中心的距离； L_2 为原点中心到溶剂前沿的距离（图 1-1）。

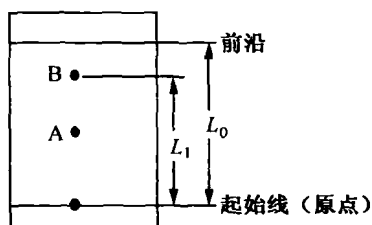


图 1-1 R_f 值示意图

由分离原理可知，平衡常数 K 大的组分在薄层板上移动的较慢，其 R_f 值较小，反之 R_f 值较大。当 R_f 值为 0 时，表示组分留在原点未被展开，即组分再固定相上的保留很牢固完全不溶于流动相；当 R_f 值为 1 时，表示组分随展开剂移行至溶剂前沿，完全不被固定相所保留，所以比移值 R_f 只能在 0~1 之间。在实际操作中，一般要求 R_f 值在 0.2~0.8 之间。

2. 相对比移值 (R_r) 由于 R_f 值受到诸多因素的影响，不同的色谱条件下很难加以比较，控制色谱条件也很有限，要在不同实验室、不同实验者间进行 R_f 值得比较时很困难的。采用相对比移值 (relative R_f)， R_r 值得可比性和重现性均比比移值 R_f 好。

其定义式如下：

$$R_r = \frac{R_{f(i)}}{R_{f(s)}}$$

$R_{f(i)}$ 和 $R_{f(s)}$ 分别为组分 i 和参考物质 s 在同一平面、同一展开条件下所测得的 R_f 值。

由于参考物质和组分在完全相同的条件下展开，能消除系统误差，因此 R_r 值的重现性和可比性均比 R_f 好。参考物质可以是加入样品中的纯物质，也可以是样品中的某一已知组分。由于相对比移值表示的是组分于参考物质的移行距离之比，显然其值得大小不仅与组分和色谱条件有关，而且与所选的参考物质有关。与 R_f 值不同，相对比移值 R_r 值可以大于 1 也可以小于 1。

3. 保留常数值 保留常数值 (R_M) 的定义是如下：