

色谱技术丛书

化学工业出版社

平面色谱方法及应用

何丽一 编著

SEPULSHU CONGSHU



色谱技术丛书

平面色谱方法及应用

何丽一 编著

化学工业出版社

·北京·

(京)新登字 039 号

图书在版编目(CIP)数据

平面色谱方法及应用/何丽一编著. —北京:化学工业出版社, 1999

(色谱技术丛书/傅若农主编)

ISBN 7-5025-2737-0

I. 平… II. 何… III. ①纸色谱-化学分析②薄层色谱-化学分析 N. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(1999)第 71482 号

色谱技术丛书
平面色谱方法及应用
何丽一 编著
责任编辑:任惠敏
责任校对:姜亚男
封面设计:于 兵

化学工业出版社出版发行
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)
<http://www.cip.com.cn>

新华书店北京发行所经销
北京市昌平振南印刷厂印刷
三河市宇新装订厂装订

开本 850×1168 毫米 1/32 印张 12½ 字数 327 千字

2000 年 3 月第 1 版 2000 年 3 月北京第 1 次印刷

印 数:1—4000

ISBN 7-5025-2737-0/TQ · 1204

定 价:26.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

色 谱 技 术 丛 书

傅若农 主编

汪正范 刘虎威 副主编

各分册主要执笔者:

- | | | | | |
|---------------|-----|-----|-----|-----|
| 《色谱分析概论》 | 傅若农 | | | |
| 《色谱定性定量》 | 汪正范 | | | |
| 《气相色谱检测方法》 | 吴烈钧 | | | |
| 《液相色谱检测方法》 | 张晓彤 | 云自厚 | | |
| 《气相色谱方法及应用》 | 刘虎威 | | | |
| 《高效液相色谱方法及应用》 | 于世林 | | | |
| 《平面色谱方法及应用》 | 何丽一 | | | |
| 《离子色谱方法及应用》 | 牟世芬 | 刘克纳 | | |
| 《毛细管电泳技术及应用》 | 陈义 | | | |
| 《色谱分析样品处理》 | 王立 | | | |
| 《色谱联用技术》 | 汪正范 | 杨树民 | 吴伟天 | 岳卫华 |
| 《色谱柱技术》 | 刘国栓 | 余兆楼 | | |
| 《色谱仪器维护与故障排除》 | 吴方迪 | | | |

序

色谱作为一种分离技术与方法，自本世纪初发表第一篇论文算起，已有 100 年的历史，虽然在前 30 多年间这种方法未受到应有的重视，但自 40 年代以后，逐渐得到发展，而且其势头越来越猛，从技术到理论，到各种分离模式，以及在各个科学领域内的应用，得到了突飞猛进的发展，现在已经成为分析化学学科中的一个重要分支。同时为许多重要学科的发展作出了极大的贡献。在人类进入 21 世纪之际，人们面临着在信息科学、生命科学、材料科学、环境科学等领域的快速发展的挑战，在这些领域人才的需求成为国家高度发展的至关重要的因素。而色谱技术是生命科学、材料科学、环境科学必不可少的手段和工具。根据最近的统计在全世界各类分析仪器中气相色谱仪和液相色谱仪的营销总额占 25%~30%。2000 年对各类分析仪器的需求量也以液相色谱仪最多。可以毫不夸张地说，如果没有色谱技术的应用，自然科学和生命科学能发展到今天的这个样子是很难想象的。

有关色谱的各种专著国内外已经出版了许多种，其中多是针对色谱专业人员而写的专著，而缺少一套系统的比较全面的介绍当代色谱技术的丛书，供广大的工厂企业中从事色谱分析的初中级技术人员和科研院所的科技人员，大专院校的研究生，甚至管理人员及有关领导学习参考的书籍。为此化工出版社提议，由北京理化分析测试学会组织编写了这套‘简明扼要，深入浅出，通俗易懂，新颖实用’的色谱技术丛书。这套书以傅若农教授为主编，汪正范教授和刘虎威副教授作副主编。为联系方便，主要请在京的专家来编写，并自 1998 年初开始运作。从方便读者学习角度出发，将色谱技术的主要内容分为 13 册。分别为：傅若农之《色谱分析概论》，刘国诠、余兆楼等之《色谱柱技术》，陈义之《毛细管电泳技术及应用》，于世林之《高效

液相色谱方法及应用》，刘虎威之《气相色谱方法及应用》，云自厚、张晓彤之《液相色谱检测方法》，吴烈均之《气相色谱检测方法》，汪正范之《色谱定性与定量》，汪正范等之《色谱联用技术》，牟世芬、刘克纳之《离子色谱方法及应用》，何丽一之《平面色谱方法及应用》，王立之《色谱分析样品处理》，吴方迪之《色谱仪器维护与故障排除》。这些编著者多是我国目前在教学与科研第一线为色谱科学努力奋进的中青年专家，在书中都反映了色谱领域的基本知识、基本方法和他们自己的宝贵经验以及有关领域的最新成果。这套丛书将给初学色谱的年轻科技工作者提供较完整的学习参考书，也为大中专学生提供一套有用的教学参考书。还应该提出的是，由于得到了安捷伦科技有限（原中国惠普）公司的赞助，这套书的出版才能顺利进行。值此书即将付梓之际，特书此以为序。

周同惠

1999年9月9日

前 言

平面色谱法是色谱法中的一种,主要包括纸色谱法及薄层色谱法。称这两种方法为平面色谱法,主要是由于其色谱分离是在纸和薄层板上进行,是在平面上操作,有别于各种柱形式的色谱法。

纸色谱法出现于 40 年代,在之后的 20 年该法在微量分析,特别是生化医学方面的应用十分广泛。60 年代后薄层色谱法的发展和普及,使得纸色谱法的应用逐渐减少;80 年代后出现了仪器化薄层色谱法 (Instrumental thin layer chromatography) 或现代化薄层色谱法 (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步骤均用一整套仪器来代替以往的手工操作,可得到高质量的色谱图,再配以高质量的薄层扫描仪。这样就使在较长时期内被认为只能用作定性和半定量的经典薄层色谱法定量结果的重现性及准确度大大提高,成为一种极有实用价值的分离分析方法。然而近 10 年来国内未出版过平面色谱的专著,现在化工出版社组织编写“色谱丛书”,其中包括平面色谱分册,无疑对进一步推广应用此技术是十分必要的。

本书主要根据近 10 年来的文献资料以及作者在这方面工作的经验编写而成。目前该技术在国内基本普及,应用也涉及各个领域,因此书中除介绍一般原理、实验技术、最新进展及应用实例外,为了使平面色谱在飞速发展的分离分析技术中继续发挥作用,着重介绍了薄层色谱定性定量方式的几种新技术。例如,为简化操作方法、节约样品用量,在薄层上进行原位化学反应;为提高检测灵敏度,以便测定样品中的微量成分以及为排除众多干扰物质提高被测组分的专属性,在薄层上进行荧光衍生化反应;利用不同展开方式及优化展开剂,使样品中极性相差较大的多种组分,在同一薄层上得到分离;应用不同检测器分别进行不同性质组分的定性或定量;充分利用可提供多层次信息,直观性、可比性极强的薄层色谱图……。并尽可能地举出一些

实例。如果从事薄层色谱工作的人员能在上述这些方面深入研究，相信这一历史悠久的色谱方法将会继续发挥其应有的作用。本书在编写过程中承周同惠院士审阅全稿以及提出宝贵意见；并受任惠敏编辑具体指导，在此一并致谢。

编写过程中，由于作者水平有限，书中出现错误和不当之处，恳请读者批评指正。

作者

1999 年 11 月 12 日

内 容 提 要

平面色谱法设备简单,操作方便,特别适合我国国情,并且由于其不断地规范化、标准化与仪器化,至今仍得到广泛应用,特别是对中草药、中成药及一些有大量杂质存在的样品中的微量成分的分离分析。

本书包含三部分内容,共分为 13 章:第一~七章为概论、滤纸及薄层板、点样、展开、展开剂、定位、定性与定量,其中包括了一般介绍与最新进展;第八~十章为薄层扫描定量的影响因素及其方法学认证、荧光化技术与原位化学反应;第十一~十三章为纸色谱与薄层色谱的应用实例。

本书可供医药、环保、食品、化工、农业、司法等领域的科研人员,大专院校有关专业师生、质量检验与生产部门从事分离分析的工作人员学习参考,亦可作为以上专业的本科生、研究生的辅助教材。

目 录

第一章 概论	1
第一节 平面色谱法的简史及现状	1
第二节 平面色谱法的分类及原理	3
一、纸色谱法	3
二、薄层色谱法	4
三、薄层电泳法	4
第三节 平面色谱法的技术参数	4
一、保留值	5
二、分配系数与容量因子	7
三、理论塔板数与塔板高度	8
四、分离度及分离数	9
第四节 平面色谱法的基本材料及设备	9
一、滤纸及薄层板	10
二、涂布器	10
三、点样器	10
四、展开室	10
五、显色器	11
六、薄层扫描仪	11
参考文献	11
第二章 滤纸及薄层板	13
第一节 滤纸	13
第二节 薄层板	15
一、固定相及载体	15
(一) 硅胶	17
(二) 氧化铝	22
(三) 纤维素	23
(四) 聚酰胺	24

(五) 葡聚糖凝胶	25
(六) 硅藻土	26
二、粘合剂及添加剂	26
(一) 粘合剂	26
(二) 添加剂	27
三、薄层的制备方法	28
(一) 手工制板	29
(二) 预制板	31
四、薄层板的活化及活度标定	31
(一) 薄层板的活化	31
(二) 活度的标定	32
五、滤纸及薄层板的预处理	33
第三节 烧结薄层板	33
一、普通烧结薄层的制备	33
二、荧光烧结薄层的制备	34
三、烧结薄层的再生	34
四、影响烧结薄层的因素	34
五、烧结薄层的应用范围	35
第四节 棒状薄层	35
一、薄层棒的制备	36
二、点样、赶样及展开	37
三、影响棒状薄层定量的因素	37
四、应用	38
参考文献	38
第三章 点样	41
第一节 样品溶液的制备	41
一、纯品的溶解	41
二、样品的提取及净化	41
第二节 点样设备和技术	43
一、点状点样	44
二、带状点样	45
三、自动点样	45
四、接触点样	46

五、特殊的点样技术	48
(一) 热微量抽出法	48
(二) 流体提取法	51
参考文献	55
第四章 展开	56
第一节 展开方式及展开室	56
一、线性展开	56
(一) 上行展开	56
(二) 下行展开	59
(三) 双向展开	60
(四) 近水平展开	60
(五) 水平展开	60
二、环形展开	63
三、反圆心式展开	63
四、多次展开	63
(一) 单向多次展开 (UMD)	63
(二) 增量多次展开 (IMD)	64
(三) 阶式展开	64
(四) 程序多次展开 (PMD)	65
(五) CAMAG 自动展开室 (ADC)	69
(六) CAMAG 全自动多次展开系统 (AMD)	69
五、连续展开	71
(一) Regis 短床展开室 (SB/CD)	71
(二) 蒸发展开	71
六、程序蒸气展开 (VP-TLC)	72
七、分离-反应-分离展开 (SRS 法)	74
八、超压薄层色谱法 (OPLC)	76
(一) 用于超压薄层的仪器	76
(二) 分析技术	77
九、旋转薄层	80
第二节 影响薄层展开的因素	81
一、相对湿度的影响	82
(一) 记录相对湿度	83

(二) 控制相对湿度	83
二、溶剂蒸气的影响	84
三、温度的影响	89
四、展开方式的影响	90
五、展距的影响	90
六、展开室的放置	91
参考文献	91
第五章 展开剂	93
第一节 溶剂分类及溶剂强度	93
一、溶剂分类	93
二、溶剂强度	94
第二节 选择展开剂的方法	96
一、三角形法	97
二、点滴试验法	97
三、CAMAG VARIO-KS 展开室	97
第三节 选择展开剂的实例	98
一、白屈菜中异喹啉生物碱的分离	99
二、丹参中水溶性酚酸类成分的分离	100
三、丹参中脂溶性二萜醌类成分的分离	102
四、红豆杉中紫杉醇及有关化合物的分离	105
第四节 展开剂优化方法	107
一、窗图法	108
二、数值分析法	108
三、图示法	109
四、重叠分辨率图法	109
五、理想分离法	110
六、混合设计统计技术	110
七、改进单纯形二因子优化法	111
八、棱柱形法	111
九、均匀设计法	112
第五节 胶束薄层色谱法	113
一、基本原理	113
(一) 表面活性剂的特点及种类	113

(二) 胶束的形成和临界胶束浓度	113
(三) 胶束的增溶作用	114
(四) 胶束薄层色谱机理	115
二、胶束薄层色谱的应用	115
(一) 表面活性剂引入薄层色谱的展开剂	115
(二) 表面活性剂作薄层固定相及增效剂	118
第六节 包合薄层色谱法	118
一、环糊精与包合色谱的特点和机理	119
二、包合薄层色谱法的应用	119
参考文献	120
第六章 定位与定性	123
第一节 定位	123
一、光学检出法	123
二、蒸气检出法	124
三、试剂显色法	124
(一) 显色方法	124
(二) 显色试剂	127
四、生物自显影	143
五、放射自显影	145
第二节 定性	145
一、斑点的 R_f 值	145
二、斑点的显色特性	145
三、斑点的原位光谱扫描	147
(一) 薄层色谱-紫外可见光谱扫描	147
(二) 薄层色谱-三维光谱扫描	147
四、薄层色谱与其他分析技术的联用	148
(一) 薄层色谱与其他色谱法联用	148
(二) 薄层色谱法与电化学法联用	152
(三) 薄层色谱法与光谱法联用	154
参考文献	160
第七章 含量测定	162
第一节 半定量	162
一、目测比较法	162

二、限量检查法	162
第二节 定量	164
一、间接定量(洗脱测定法)	164
(一)斑点的定位	164
(二)斑点的洗脱	164
(三)测定方法	165
二、直接定量(原位薄层扫描法)	166
(一)薄层扫描仪的基本原理	166
(二)薄层扫描仪的基本用途	168
(三)薄层扫描仪的组成及主要功能	171
(四)测定方法	172
(五)测光形式	174
(六)扫描方式	177
(七)显示输出方式与微机控制	181
(八)几种常用薄层色谱扫描仪	182
参考文献	193
第八章 薄层扫描定量的影响因素及其方法学认证	194
第一节 薄层扫描定量的影响因素	194
一、吸附剂性能及薄层质量	194
二、点样	195
三、展开	195
四、显色	196
五、薄层扫描定量	196
第二节 薄层色谱定量方法认证	197
一、薄层分离	198
二、测定条件	199
三、定量方法认证	199
参考文献	202
第九章 薄层荧光衍生化技术	203
第一节 概述	203
第二节 自身具荧光的物质	205
第三节 对较弱荧光物质的加强	206
第四节 对非荧光物质的荧光衍生化	207

一、荧光衍生化试剂	207
二、环化和缩合反应	212
三、氧化还原反应	213
四、酸碱反应	214
五、络合反应	214
六、与重原子反应	215
七、热解与光解反应	215
第五节 荧光猝灭法	217
参考文献	228
第十章 薄层原位化学反应	232
第一节 氧化还原反应	232
一、氧化反应	232
二、还原反应	233
第二节 水解反应	233
一、酸水解法	233
二、碱水解法	237
三、酶解法	237
第三节 脱水反应	238
第四节 卤化反应	238
一、氯化反应	238
二、溴化反应	238
三、碘化反应	239
第五节 酯化反应	239
一、醇的酯化	239
二、酸的酯化	239
第六节 硝化及重氮化反应	240
第七节 脞衍生化反应	240
参考文献	241
第十一章 纸色谱法的应用	242
第一节 纸色谱法在医药方面的应用	242
第二节 纸色谱法在其他方面的应用	245
参考文献	247
第十二章 薄层色谱法在医药方面的应用	248

第一节 中草药和中成药的成分分析	248
一、中药材品种鉴别	249
二、中草药成分分析	251
三、中成药鉴别及质量标准研究	273
第二节 合成药物的分析	289
一、药物的定性鉴别	289
二、纯度检查	292
三、合成药制剂的含量测定	296
四、稳定性考察	299
五、药物代谢研究	301
六、合成工艺的监控及反应机制的研究	302
第三节 生化与抗菌素研究	305
参考文献	308
第十三章 薄层色谱法在其他方面的应用	318
第一节 生物样品与毒物分析	318
一、生物样品的分析	318
二、毒物分析	323
第二节 环境有害物质的分析	327
一、农药及农药残留分析	327
二、有毒金属测定	335
三、多环芳烃测定	335
第三节 食品分析	341
第四节 无机及金属有机化合物分析	346
第五节 其他方面的应用	354
一、染料及化妆品的分析	354
二、石油和煤的分析	356
三、手性化合物的分离	360
(一) 制备成非对映异构体	360
(二) 在手性固定相 (CSP) 上进行对映体分离	362
(三) 手性流动相 (CMP) 进行对映体分离	364
四、化工及高分子材料	365
参考文献	370
符号表	381