

章育中 郭希圣编著

薄层层析法 和 薄层扫描法

中国医药科技出版社

薄层层析法和薄层扫描法

章育中 编著
郭希圣

中国医药科技出版社

内 容 提 要

本书深入论述薄层层析法的基本概念和原理,详细讨论铺层、点样、展开和显色等各步所应遵循的正确方法,并介绍有关仪器,以提高扫描测定的准确性;阐明薄层扫描仪的原理、结构、性能和安装;详细按步讲解日本岛津 CS 型和瑞士 Camag 型薄层扫描仪的重要操作方法,以帮助读者迅速熟悉和掌握仪器的正确使用;收录薄层扫描法的重要应用实例,可供分析时借鉴和应用;书末的附录对国内外薄层预制板和薄层扫描仪的生产情况提供了信息。

本书是在作者多年实践的经验上写成,并搜罗了国内外最新的论点、成就和资料。通过阅读本书,读者可望运用所介绍的理论和方法指导实验,提高解决实际问题的能力,做出合乎规范而又准确的薄层扫描测定结果。

本书可供从事化学、化工、医药、环保、食品、农业及各部門分析工作人员和大专院校有关专业师生参考。

薄层层析法和薄层扫描法

章育中 郭希圣 编著

*

中国医药科技出版社 出版

(北京西外北礼士路甲 38 号)

中国医药科技出版社激光照排室 排版

北京昌平精工印刷厂 印刷

新华书店北京发行所 发行

*

开本 787×1092mm^{1/32}印张 16^{1/2}

字数 360 千字 印数 1—3000 插页 1

1990 年 2 月第 1 版 1990 年 2 月第 1 次印刷

ISBN 7-5067-0080-8/R·0081

定价: 9.50 元

序 言

薄层层析法是一种微量分离方法，分离效果好，样品用量少，检测灵敏度高，分析快速准确，已在各个领域中得到广泛应用。

国内从1960年前后开展薄层层析法以来，已历时二十余年，样品组分经薄层分离后的定量测定，以前多采用洗脱法。随着国外薄层扫描仪的研制和发展，近十年来国内已购进许多日本岛津CS型薄层扫描仪和瑞士Camag薄层扫描仪，用薄层扫描仪测定样品中微量或痕量组分的含量，分析快速，结果准确。目前国内使用薄层扫描仪已日趋普及，已在化学、化工、医药、临床、农业、食品、毒理等的各种化合物的定性鉴定和含量测定方面做出了许多出色的工作。

用薄层扫描仪定量时，在使用仪器前的各步操作如铺层、点样、展开和显色等，都有正规的做法和严格的要求，它与普通的用薄层层析法进行样品组分的分离和定性鉴定不同，如果使用仪器前的各步操作不合要求，则虽有性能优良的薄层扫描仪，也不能得出准确的定量分析结果。

目前国内还没有论述薄层扫描法的专著，国外的有关资料则分散于各种期刊和书籍中，国内查阅较为困难。国内开始从事薄层扫描法的同志常在理论知识和实际操作方面遇到一些困难。在我们与他们的交往中，我们了解到他们迫切希望能看到一本中文的薄层扫描法的书，这样就促成了本书的编写。

2A57/10

本书系统论述薄层层析法的基本概念、公式和原理；详细讲解薄层层析法各步的正确而具体的操作方法、理由和注意事项，以便使样品组分得到合适的分离度和准确的定量结果；深入阐明层析的机理、吸着剂和展开剂的选择理论；详细叙述薄层扫描仪的结构、性能、各种参数的制定和实际操作方法，以便了解和采用合适的实验条件。本书的内容包括足够的基础理论知识、详细而具体的实际操作和仪器的安装和使用方法。

本书是根据国内外近几年的最新理论、观点和资料（国外到1986年，国内到1987年）以及作者多年的实际工作经验而写成。本书希望做到内容新颖，理论与实际联系，叙述扼要易懂，注意结合国内情况和立足国内，以便于在国内推广应用。但是由于作者的学识和水平有限，书中难免会有缺点和错误，切望读者指正和批评。

作 者

1987年10月

目 录

第一章 绪论	(1)
一、引言	(1)
二、薄层层析法的步骤	(1)
三、本书的内容	(4)
第二章 层析法的分类	(5)
一、分类、定义和基本概念	(5)
二、比较和讨论	(9)
(一) 分离方式和设备	(9)
(二) 样品用量和检测灵敏度	(10)
(三) 分析对象	(10)
(四) 定量准确性	(10)
(五) 分析时间	(11)
第三章 历史和发展概况	(13)
一、薄层层析法	(13)
二、薄层分离后的定量和薄层扫描仪	(15)
(一) 肉眼比较面积法	(16)
(二) 测量面积法	(16)
(三) 洗脱法	(18)
(四) 光密度法或扫描定量法	(20)
三、国内发展情况	(21)
第四章 重要公式和概念	(23)
一、比移值 R_f	(23)

二、容量因子 K' 和分配系数 K	(2 4)
三、理论塔板数 N 和理论等板高度 H	(2 5)
四、分离度 R_s	(2 6)
(一) 效率项	(2 8)
(二) 选择性项	(2 8)
(三) 容量因子项	(2 8)
第五章 高效薄层层析法	(3 1)
一、高效薄层层析法与经典薄层层析法的 比较	(3 2)
二、高效薄层层析法与高效液相层析法的 比较	(3 6)
第六章 背材和吸着剂	(4 1)
一、薄层的背材	(4 1)
二、吸着剂的选择	(4 2)
(一) 吸着剂的基本性质	(4 3)
(二) 选择吸着剂的原则	(4 3)
三、粘合剂、荧光剂和常用的吸着剂	(4 7)
(一) 粘合剂	(4 7)
(二) 荧光剂	(4 9)
(三) 吸着剂	(5 0)
四、吸着剂和薄层板所用的符号和意义	(6 5)
第七章 铺层	(6 9)
一、涂铺器	(7 0)
二、铺层方法和薄层板	(7 3)
(一) 硅胶 G	(7 4)
(二) 硅胶 H	(7 5)
(三) 氧化铝 G	(7 5)

(四) 纤维素	(75)
(五) 聚酰胺	(76)
(六) 硅藻土 G	(77)
(七) 葡聚糖凝胶	(78)
三、特制薄层板	(78)
(一) 荧光薄层板	(78)
(二) 酸、碱薄层板和 pH 缓冲薄层板	(78)
(三) 混合吸着剂薄层板	(79)
(四) 络合薄层板	(79)
(五) 梯度薄层板	(80)
(六) 分配薄层板	(81)
(七) 烧结薄层板	(82)
四、制备型薄层板	(85)
五、预制板	(85)
六、吸附剂的活化和吸附活度的标定	(86)
第八章 样品和样品溶液的制备	(90)
一、样品	(90)
(一) 中草药	(90)
(二) 人	(91)
(三) 温血动物	(92)
(四) 冷血动物	(92)
(五) 微生物	(92)
二、样品的处理、贮存、保藏和冷冻	(93)
三、样品的提取	(94)
(一) 中草药	(94)
(二) 生物样品	(96)
四、样品溶液的精制和制备	(96)

(一) 去盐	(96)
(二) 去蛋白质	(97)
(三) 精制和点样	(97)
五、样品溶液的蒸发和残渣的溶解	(103)
第九章 点样	(105)
一、点样的量器	(105)
二、手工点样	(109)
三、点样仪器	(113)
(一) Linomat 点样仪	(113)
(二) Nanomat 点样仪	(114)
(三) 自动点样仪 II 型	(115)
(四) 接触点样	(117)
第十章 展开剂	(118)
一、对展开剂的基本要求	(119)
二、溶剂分子与样品组分分子之间的作用	(123)
(一) 色散作用	(123)
(二) 偶极作用	(124)
(三) 氢键作用	(125)
(四) 介电作用	(126)
三、展开剂的极性、强度和选择性	(126)
(一) 展开剂的极性和强度	(127)
(二) 展开剂的选择性	(132)
四、展开剂的选择	(134)
(一) 二元展开剂的极性和强度的选择	(136)
(二) 二元展开剂的选择性	(136)
(三) 多元展开剂的选择	(137)
(四) 其它因素	(141)

(五) 举例	(141)
五、不同类型薄层层析法的展开剂	(147)
(一) 吸附层析法	(147)
(二) 分配层析法	(151)
(三) 反相键合相层析法	(155)
(四) 聚酰胺层析法	(158)
(五) 离子交换层析法	(158)
(六) 葡聚糖凝胶层析法	(162)
六、各类化合物的展开剂	(163)
第十一章 展开	(165)
一、展开槽的饱和与不饱和	(165)
(一) 边缘效应	(166)
(二) 展开剂的分层	(167)
(三) 展开剂蒸气对“干”层的作用	(168)
二、展开方式	(169)
(一) 上行展开	(169)
(二) 下行展开	(175)
(三) 水平直线展开	(176)
(四) 水平圆心展开	(179)
(五) 水平向心展开	(183)
(六) 多次展开	(185)
(七) 连续展开	(191)
(八) 双向展开	(195)
(九) 超压薄层层析法	(198)
(十) 葡聚糖凝胶薄层层析法的铺层、点样、 展开和显色	(201)
第十二章 定位和显色	(209)

一、紫外光检测	(210)
二、显色剂显色的一般技术和设备	(211)
(一) 喷雾显色	(211)
(二) 蒸气显色	(213)
(三) 浸渍显色	(213)
(四) 预浸渍显色	(214)
(五) 加热显色	(214)
三、显色剂	(215)
(一) 通用显色剂	(215)
(二) 专属性显色剂	(218)
四、薄层上的衍生化	(219)
五、生物检测法	(219)
第十三章 斑点的定性和层析谱的记录	(222)
一、影响 R_f 值的因素	(222)
二、定性的方法	(223)
(一) 用标准品作对照	(223)
(二) 根据斑点的颜色和吸收光谱等	(225)
(三) 采用一系列展开剂	(225)
(四) 与其它层析法和波谱技术联用	(225)
三、层析谱的记录和保存	(228)
(一) 薄层层析条件的记录	(228)
(二) 薄层的保存	(229)
(三) 层析谱的记录	(230)
第十四章 薄层放射层析法	(233)
一、放射自显影法	(234)
二、液体闪烁计数	(237)
三、薄层板放射性的原位测定	(240)

(一) 火花室	(241)
(二) 直接扫描	(242)
四、几种检测方法的比较	(245)
第十五章 层析机理	(248)
一、分配系数	(249)
(一) 吸附层析法	(249)
(二) 分配层析法	(251)
(三) 离子交换层析法	(252)
(四) 凝胶层析法	(253)
二、层析机理	(255)
(一) 吸附层析法	(255)
(二) 分配层析法	(257)
(三) 键合相层析法	(258)
(四) 离子交换层析法	(259)
(五) 凝胶层析法	(259)
第十六章 薄层扫描法的原理和概况	(261)
一、薄层扫描法与比色法的比较	(261)
(一) 要点	(261)
(二) 比色法	(263)
(三) 薄层扫描法	(263)
二、Kubelka-Munk 理论及其方程式	(265)
三、薄层扫描法的现况	(266)
四、薄层扫描法的定量方法	(269)
(一) 外标法	(269)
(二) 外标法公式的推导	(271)
(三) 内标法	(272)
(四) 内标法公式的推导	(275)

(五) 用峰面积或峰高定量	(277)
第十七章 薄层扫描仪的主要结构和性能	(279)
一、测量法(方式)——透射法和反射法	(279)
二、光和光源	(281)
(一) 可见光	(281)
(二) 紫外光	(281)
(三) 荧光	(282)
三、	(285)
四、扫描方式	(292)
五、标准曲线的线性化和线性器	(295)
六、背景校正	(299)
七、检测器和记录器	(300)
八、数据处理机	(301)
第十八章 薄层扫描仪	(303)
一、岛津双波长薄层扫描仪 CS-910	(303)
(一) 仪器的外观	(303)
(二) 光学系统和电学系统	(304)
(三) 仪器的部件	(308)
(四) 仪器的特性和评价	(310)
(五) 主要操作方法	(310)
(六) 数据处理机的参数设定和操作方法	(315)
二、岛津高速薄层扫描仪 CS-920	(322)
(一) 仪器的外观	(323)
(二) 光学系统	(323)
(三) 仪器的部件	(324)
(四) 仪器的特性和评价	(326)

(五) 主要操作方法	(327)
三、岛津双波长薄层扫描仪 CS-930	(335)
(一) 仪器的外观	(336)
(二) 光学系统	(336)
(三) 仪器的部件	(336)
(四) 仪器的特性和评价	(338)
(五) 主要操作方法	(339)
四、瑞士 Camag 薄层扫描仪 II 型	(358)
(一) 仪器的外观和功能键/钮	(359)
(二) 光学系统	(359)
(三) 仪器的特性和评价	(359)
(四) 自动最佳化扫描	(361)
(五) 主要操作方法	(363)
五、美国 Schoeffel SD 3000 型双光束扫描/分光 光密度计	(368)
(一) 仪器的外观	(368)
(二) 光学系统	(368)
(三) 仪器的特性和评价	(370)
六、世界各国薄层扫描仪性能比较	(370)
第十九章 仪器的购置和人员的培训	(374)
一、仪器的订购	(374)
二、仪器的验收和安装	(375)
三、人员的培训	(376)
第二十章 应用	(379)
一、薄层层析法是化学的一种分离和分析 方法	(379)
二、薄层层析法在各个学科中应用的概况	(381)

三、薄层扫描法举例	(383)
(一) 中草药	(384)
(二) 合成药	(392)
(三) 抗生素	(401)
(四) 维生素	(419)
(五) 杀虫药	(435)
(六) 临床应用	(449)
(七) 其它	(455)
附录	(474)
附录一 具有代表性的厂家生产的薄层预 制板	(474)
附录二 薄层层析法展开剂的性质	(481)
附录三 各类化合物的专属性显色剂	(485)
附录四 世界各国薄层扫描仪性能比较	(490)

附图

第一章 绪 论

一、引 言

薄层层析法 (thin layer chromatography) 是一种微量分离方法, 分离效果好, 样品用量少, 灵敏度高, 分析速度快, 已在各个学科中广泛应用。经薄层分离后再采用薄层扫描仪 (TLC scanner) 定量, 则可进一步测定样品中微量或痕量组分的含量, 分析快速, 结果准确。因此薄层层析法和薄层扫描法适用于化学、化工、医药、临床、农业、食品、毒理等领域内的各种化合物的分离、精制、定性鉴定和定量测定。

二、薄层层析法的步骤

为了对薄层层析法有一概括而全面的了解, 首先简单叙述它的主要步骤和过程。

在台秤上称取薄层层析规格的硅胶 G (一种吸附剂) 1g, 加水 3ml, 在小烧杯中用玻棒调匀成浆状液, 在一块宽 3cm 长 15cm 的玻板 (用显微镜载玻片规格的玻璃按规定的尺寸划成) 上设法铺成厚度均匀 (厚度约 0.25mm) 的硅胶 G 薄层板 (称为铺层或铺板), 把它在水平位置放置阴干后, 在 105℃ 烤箱中烤 30 分钟 (称为活化), 从烤箱中取出后放入干燥器中放

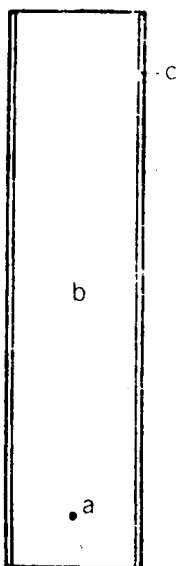


图 1-1 硅胶

G 薄层板

a—点样处；

b—硅胶 G；

c—玻板

冷或贮存，从干燥器中取出，用薄层点样毛细管将样品溶液点到薄层的下端距边缘 1.5cm 处（图 1-1 a 处，称为点样处），待样品溶液挥干后，将薄层板斜放到一个展开槽中，向展开槽中倒入几 ml 合适的溶剂，盖紧盖子（不能漏气），使槽中的溶剂浸没薄层板的下端约 0.5 cm，溶剂即沿着薄层由下向上爬行，这一过程称为展开（图 1-2）。展开所用的溶剂叫展开剂。要使展开剂从薄层板的下端一直展开到它的上端尽头。通常展开剂走完薄层的全长需十几分钟到几十分钟时间。由于样品溶液中所含各种组分的性质不同，它们在薄层上爬行的速度也不同，就可能互相分开。展开完毕后揭开展开槽盖，取出薄层板，挥干薄层上的溶剂后，在紫外灯下观察荧光或在薄层上喷显色剂，即可看出各组分的颜色。如果分离成功，则它们此时互相分开而显出各种荧光或有色的斑点（如图 1-3，称为显色或定位）。根据各个组

分斑点的荧光或颜色，并与已知组分对照比较，或进一步把分开的组分从薄层上洗脱下来后用化学的或物理的方法进行鉴定，就有可能知道样品中含什么组分（即定性分析）。如果需要，可进一步作某一组分的定量分析（用洗脱法或薄层扫描仪定量）。