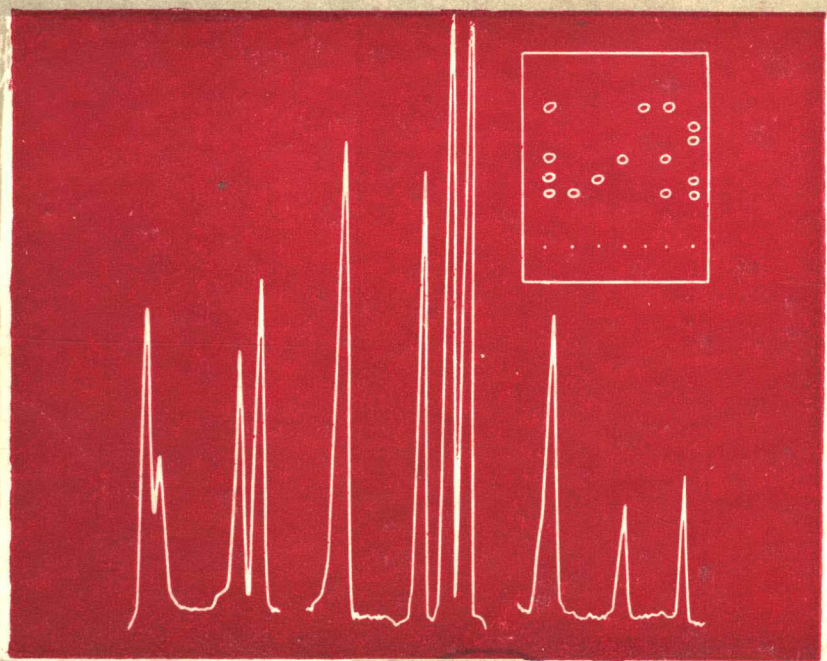


分析化学丛书

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

江苏工业学院图书馆  
藏书章

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)

定 价：平 装 9.50 元

布 脊 精 装 11.30 元

## 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月在北京召开了《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，色谱法现在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. Synge (分配色谱)，S. Moore 与 W. H. Stein (氨基酸分析) 等工作。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。

作者

## 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
$hR_f$	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
$R_f$	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
$V_1$	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
$e^0$	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	Nanommat 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>	<b>64</b>
§ 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 离心展开槽	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>	<b>74</b>
§ 6.1 选择展开剂的方法	74
§ 6.1.1 查阅文献	74
§ 6.1.2 微量循环技术	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	89
§ 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>	<b>197</b>
§ 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. 11ber<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，11ber 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式展开,分离酊剂中的成分。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



纸上水分之间的分配不同所引起,因此在纸色谱中,组分在二相中的分配系数起主要作用。在纸色谱和薄层色谱中,组分的移动情况通常以比移值 ( $R_f$ ) 来表示,其定义为,

$$R_f = \text{原点至组分点中心的距离} / \text{原点至流动相前沿的距离} \quad (1.1)$$

有时为了表示的方便,使用“高比移值”,用  $hR_f$  表示,其定义为,

$$hR_f = R_f \times 100 \quad (1.2)$$

有时也使用“相对比移值”,即相对于某一物质  $x$  的  $R_f$  值,用  $R_x$  表示,其定义为:

$$R_x = \text{组分的 } R_f \text{ 值} / \text{物质 } x \text{ 的 } R_f \text{ 值} \quad (1.3a)$$

或  $R_x = \text{原点至组分点中心的距离} / \text{原点至物质 } x \text{ 点中心的距离} \quad (1.3b)$

因此  $R_f$  值总是小于 1, 而  $R_x$  值可小于或大于 1,  $hR_f$  值则在 0—100 之间。

在纸色谱法和分配薄层色谱法中,  $R_f$  值与组分的分配系数  $K$  有关。  $K$  的定义为,

$$K = \frac{C_s}{C_M} = \text{溶质在固定相中的浓度} / \text{溶质在流动相中的浓度} \quad (1.4)$$

设组分移动距离为  $d_1$ , 流动相移动的距离为  $d_m$ , 二者之差为  $d_2$ , 则,

$$R_f = \frac{d_1}{d_m} = \frac{d_1}{d_1 + d_2} \quad (1.5)$$

如果组分的分配系数大,则在水中的分配量大,随溶剂移动的距离  $d_1$  减小,  $R_f$  值也小。因此  $K$  与移动距离的关系式可写为,

$$K \propto \frac{d_2}{d_1} \quad (1.6)$$

此外,移动距离也与二相之体积比有关。体积大者,在其中分配的量也多。如以  $V_s$  表示固定相的体积,  $V_M$  表示流动相的体