

色层吸附分析法

H·H·斯特兰 著

科学出版社

色层吸附分析法

H. H. 斯特兰 著

高 鹤 娟 译

涂 国 杰 校

顾 同 惠 再校

科 学 出 版 社

— 1959

H. H. Strain

CHROMATOGRAPHIC ADSORPTION ANALYSIS

Interscience Publishers, Inc.,

New York, N. Y.

1945

内 容 简 介

本书是关于色层吸附分析法的知识的概论,综述了色层吸附分析法的起源、发展及成长的情况,以及本法在化学和有关化学的领域内所作出的卓越贡献。书中对本法的发展前途、仪器设备、操作方法、吸附剂与溶剂的种类及性能等作了系统的介绍;并对本法在工业上的应用,以及无机化学、有机化学、生物化学、植物学、生理学、医药学上纯粹物质的分离制备与研究,都作了说明。

色 层 吸 附 分 析 法

H. H. 斯特兰著

高 鹤 娟 译

科学出版社出版 (北京朝阳门大街 117 号)

北京市书刊出版业营业登记证出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总经售

1959 年 8 月第 一 版

1 年 8 月第一次印刷

000

书号:1846 字数:153,000

开本:850×1168 1/32

印张:6 1/16 插页:1

定价:0.95 元

中 譯 本 序

在社会主义建設的高潮中,全国工农业生产在 1958 年取得了极大的跃进,为了爭取今后更大的跃进,迫切需要进一步地展开技术革新运动,随之而来的也需要各种有关近代科学技术的参考书。

色层分析法是 1906 年波兰植物学家 Tswett 所发明,首次利用物理方法将当时化学界无法正确分析的复杂色素分离成叶绿素、胡萝卜素和叶黄素等成分。这个試驗的成功虽然意义很大,但没有得到当时化学界权威的支持,經過二十五年, Kuhn 和 Tederer 利用 Tswett 的方法将过去一世紀公認為純淨的胡萝卜素分离成 α 和 β 两个同分异构体,并由所得純胡萝卜素定出其分子式。由此該法迅速为全世界的科学研究工作者所应用,又經過 Winterstein, Zechmeister, Cholnoky, Cassidy, Sørensen, Schwab, Meyer, Willstaedt, Stix, Valentin 等的研究和发展,現在已形成一門新兴的学科。对于无机化学同位素的分离以及有机化学烴类、醇类、醛类、酸类、酯类、杂环状化合物以及染料藥物、酶菌析出物的化驗和研究,起了一定的作用。

色层分析法因其应用广泛,設備簡單,既适宜于微量分析;又有助于生产和研究,特別对于我国中藥成分的研究和識別等方面将可起到一定作用。高鶴娟同志利用业余时间,譯成該书,得以首先閱讀,謹作簡單介紹,爰以为序。

孟目的

1959 年 6

序

在自然科学中，許多重要的发展依赖于各种特殊的、均一化合物的检定与分离。高純度的天然产物和人工合成物的制备方法的发现，常促进各方面研究領域的科学的发展。在各种各样的研究中，如无机化学、有机化学、生物化学、生理学、生物学、医学及物理学，这些制备方法都占着該門科学中的重要地位。元素的制备，同位素的分离，激素、酶、肽类以及其他有生命活力的产品的精制，都需要应用有效而精确的方法来分离混合物。

在过去十年中，一种独特的柱吸附法曾被广泛应用来检查、分离和精制許多別的方法所不能制备的化合物。有些物質的化学结构与反应极为相似，以至不能用最具选择性的方法来加以分离的，用这种新技术，可以迅速、有效而方便地将它們制备出来。这种方法最初系应用于色素，所以称为色层吸附法，它使我們在化合物的知識上写下了新的一頁。它是开发許多新園地的工具，尤其是在化学和生物学上。它的应用范围之广，可以从附在本书后面的书目中得到一个梗概。

本书乃是我們对色层吸附法的知識的一个概述，将重点放在实验步骤上。无疑地，最大、而且也許是最重要的利益，是将这个方法应用到新的問題上去，应用到检查和制备新的化合物上去。这些应用大部分依靠过去积累的研究知識，尤其是有关部門的知識。因此，本书对于业已发表的研究著作大部分均行提及。

由于欧洲战事，許多主要外国科学杂志，从 1939 年后就不能得到了。因此，本书所附的参考文献目录，可能忽略了若干新近的重要著作。色层吸附法的报告以多种不同的文字出现，在此特别按化学摘要 (Chemical Abstracts) 的方式將它們摘出，并將它們的

标题譯成英文。

各研究者所用的仪器，均已画下，有的还加以修改，务使能将图形简化，并強調原使用者所引进的新的面貌。

在写作本书的过程中，H. A. Spoechr 博士和 J. H. C. Smith 博士提出了許多有用的建議。J. W. McBain 博士提出了几种重要的著作。这些建設性的帮助都很有价值。作者深表謝忱。

H. H. Strain

于加州斯坦福大学

1941 年 4 月

2265011

目 录

中譯本序.....	(i)
序.....	(iii)
第一章 历史的緒言.....	(1)
第二章 色层吸附分析法的应用.....	(7)
1. 分开混合物使成为它們的组分	(7)
2. 測定化合物的均一性	(8)
3. 比較两种物質是否相同	(9)
4. 物質的提純	(9)
5. 濃縮稀溶液中的物質	(10)
6. 工业产品的確認和控制	(10)
7. 从复杂混合物中定量分离一种或多种成分	(11)
8. 分子結構的測定	(11)
9. 从复杂加成物中收回原物質	(21)
10. 色层吸附法与电泳法的結合	(21)
第三章 仪器与方法.....	(24)
1. 概論	(24)
2. 吸附柱的形状和大小	(26)
3. 吸附柱的制备	(34)
4. 吸附溶液的濃縮	(35)
5. 渗濾速率的調节	(36)
6. 色层的显现	(36)
7. 收回分离后的化合物	(37)
第四章 吸附剂.....	(39)
1. 概論	(39)
2. 影响吸附剂性質的条件	(41)
3. 吸附剂的收回	(43)
4. 吸附剂的混合物	(43)
5. 吸附剂的選擇	(44)

1102395

6. 各种吸附剂的性质	(44)
第五章 溶剂与洗出剂	(53)
1. 溶剂与洗出剂的选择	(53)
2. 各种溶剂和洗出剂的性质	(55)
第六章 无色吸附物在吸附柱上的位置	(57)
1. 由經驗切断吸附柱	(57)
2. 連續分次收集滲滤液(流动色层)	(58)
3. 有色指示剂	(58)
4. 紫外光下观察(紫外色层)	(58)
5. 吸附前有色产物的形成	(59)
6. 吸附后有色产物的形成	(60)
7. 应用吸附剂产生有色产物	(61)
8. 其它可能的方法	(61)
第七章 无机化合物的色层分析法	(62)
1. 元素	(62)
2. 金属离子	(62)
3. 阴离子	(66)
4. 无机化合物的提純	(66)
5. 同位素	(67)
第八章 有机化合物的色层分析法	(68)
1. 脂肪族化合物	(68)
2. 蒴类	(73)
3. 苯衍生物	(74)
4. 芳香族-脂肪族化合物	(76)
5. 稠合多环化合物	(77)
6. 甾醇类和它們的相关化合物	(79)
7. 氮杂环碱类	(83)
8. 脂溶性維生素	(84)
9. 水溶性維生素	(89)
10. 激素类	(92)
11. 酶类, 輔酶类和肽类	(94)
12. 花青甙类	(97)
13. 蝶翼素类	(97)
14. 叶綠素	(99)
15. 血紅素的衍生物	(105)

16. 胆汁色素.....	(106)
17. 类胡萝卜素类.....	(107)
18. 煤焦油染料.....	(126)
19. 各种天然产物.....	(130)
第九章 工业上的应用	(132)
1. 氧化锡的应用.....	(132)
2. 水的淨化.....	(132)
3. 油和脂肪.....	(133)
4. 糖.....	(134)
5. 丹宁.....	(135)
6. 药物.....	(135)
7. 酒.....	(137)
参考文献	(138)
内容索引	(176)
附 图	
用吸附法分离胡萝卜素和叶黄素	(124后)

第一章 历史的緒言

1906年，在当时属于俄国的华沙市中，发明了一种新而巧妙的化学分析用的吸附法；这个方法，对于全世界的人类与动物都有很大的影响。在当时是一种原始而简单的发明，但它放出的光芒，已使许多构成动、植、矿物的化学物质的迷惑问题有了解决的途径。

这优良的吸附技术，是科学家制备高度纯净化合物时的一种特殊有效的方法。化合物的分离，鉴别——研究物质组成与分子构造的先决条件——因而进入了一个圆满的新阶段。在化学探索的领域中，找到了一块新的园地。

由于利用吸附分析法获得了结果和进展，化学家对熟知的化合物有了新的领会。因为掌握了这种方法，可能从若干相似物质中分出许多种化合物，许多化学反应的过程，也可以依据此法更精确地去探讨。吸附法终于可使许多物质如维生素、药物、色素等达到分离。它帮助更进一步了解模糊不明的自然现象，例如植物与动物的营养、激素对人与动物的形状和特性的影响、维生素在动植物中的分布和作用。由于它的应用，人们发现了那些从来没有想到的化学反应，原来是生命细胞复杂机能中的一部分。这些成就的全部或一部应该归功于新的色层吸附分析法。

M. Tswett, 这优良而对化学进步有极大贡献的分析法的发明者，他本人是植物学家，而不是化学家。在研究植物中色素的过程中，创立了简易的实验，成为色层吸附法的基础。在一根玻璃管的狭小部分，如图 1 所示，Tswett 塞上了一团棉花，在这上面填入少量的粉状吸附剂，如沉淀白垩 (precipitated chalk) 等。把这有孔性的过滤层或称吸附柱，与吸滤瓶连接，使绿色植物叶子的石油醚

抽出液自吸附柱中滤过。在这情形下，两种叶绿素在管的上部被固体吸附剂吸附，一种黄色素——即胡萝卜素，随着溶剂穿过吸附柱。另外二、三种黄色素称为叶黄素，在吸附剂上形成黄色的色带 (bands) 或色层 (zones)，位于绿色色层的下面。如此色素逐渐各别分开。根据 Tswett 的报告，混合色素的各成分，分开后成为规则而与光谱相似的色层。

色层的形成是基于不易被吸附的色素比易被吸附的色素在吸附柱上移动得快。要使几个色层完全分离，可用新鲜的溶剂洗涤吸附柱。经验告诉我们，这是用 Tswett 法制备纯物质时的一个重要步骤。

植物叶子的多种色素在吸附柱上分成色层，再用新鲜的溶剂洗涤使完全分离后，Tswett 将这潮湿的吸附剂从玻璃管中推出，得到一个含有色层的凝聚的吸附剂圆柱。将这圆柱依色层的位置用小刀分别切开，各种不同的色素也就因而完全分成为单一的成分了。

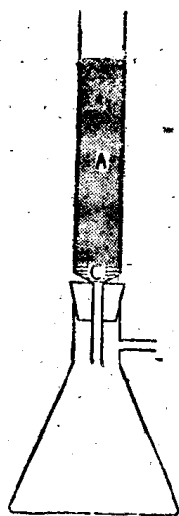


图 1. 最简单的吸附仪器
A, 吸附剂; C, 棉花
或玻璃棉。

至此，在分析操作上还有一步骤；那就是把色素自吸附剂上提出。这可用醇为溶剂，将色素自固体物质中提出或洗出。如此，使吸附物质溶解，成为单一色素的溶液。由这技术，实现了化学家分离混合物成为单一化合物的要求。

为了叙述 Tswett 的吸附法中的各种步骤，而发展了若干复杂的术语。在吸附剂上的一系列色层在德文中称为“Chromatogramm”，这字换成英文时略去最后的 m，成为“Chromatogram”（“色层分离谱”）。用新鲜溶剂渗过吸附柱使进一步分离色层，如图 2 所示，称为“色层的显现” (development of the chromatogram)。利用吸附柱将混合物分成它们的成分，名为“色层分析” (chromatographic analysis) 或

“色层吸附分析”(chromatographic adsorption analysis)。色层分析的利用称为“色层分析法”(chromatography)。色层分析(chromatograph)为描写分离在 Tswett 柱上吸附的物质的动词,表示一种新的用法,已公认为专门名词了,不必再从希腊文的字根上去猜测它的意义。

从这些术语的意义上看来,似乎吸附法仅应用于有色物质,但无色物质也与有色物质一样,可以在吸附柱上形成很清楚的一系列色层。由于许多操作上的改良(在第六章中叙述),使得可以找出无色物质在吸附柱上的位置,因此,色层分析法可以应用于分离各式各样的混合物。

虽然 Tswett 对叶色素的分离已较过去学者更为详尽,并且也曾考虑到后来经证明为影响吸附柱的应用的大多数因素,但是他的方法在发明了 25 年后才开始广泛地应用于化合物的制备。这是由于三种主要原因*: (1) 所制备的物质的量太少,不足供当时的常量化学分析法之用。(2) 有声望的德国化学家如 Willstätter 和 Stoll 等认为吸附作用可能改变或者分解不安定的化合物如叶色素等。(3) 由于 1914—1918 年间第一次世界大战的关系, Tswett 的文章停止出版。

少数工作者立即应用色层吸附法。早在 1912 年, Rogowski 在 Dhéré 实验室与较后的 Dhéré 和 Vegezzi 研究叶中的色素与蜗牛肝脏中的色素。Palmer (1913) 与 Palmer 及 Eckles (1914) 利用吸附柱分离乳脂中的色素。Coward (1924) 与 von Lipmaa (1926)

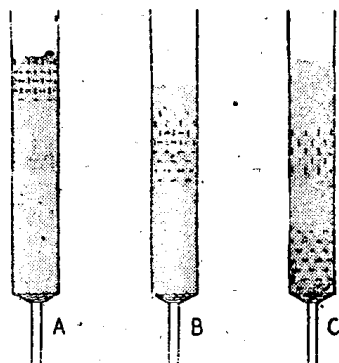


图 2. 色层的显现

A, 二种化合物 1 和 2 的溶液经过柱的上部; B, 柱用新鲜溶剂洗涤将 1 和 2 以不同的速率带走; C, 1 和 2 完全分离, 同时色层增宽。

* M. Tswett 所发表的许多文章, 大多是用德文写的, 但他的专论“Chromophylls in plant and Animal world”是用俄文写的。而且只有俄文本。当时欧美学者认识俄文的人甚少, 也是使那时色层法不易流传的原因之一——译者注。

用以企图分离天然物中的黄色脂溶性色素。所有这些研究中，同 Tswett 所做的一样，仅能从柱中收回极少量的色素 (Palmer, 1922)。

直到 1931 年，Kuhn 和 Lederer 在装有纤维状氧化铝的吸附柱上，将胡萝卜根中的胡萝卜素分成两种相似的同分异构的烃，就大大地推动了色层吸附法的应用。结晶状的胡萝卜素，一世纪多来被认为是均一的物质，至此被分成为 α -和 β -胡萝卜素，每种所制备的量都相当多，足够供 Pregl 氏微量燃烧分析法之用。

同年 Kuhn, Winterstein 及 Lederer 等扩大吸附法的应用，制备叶黄素结晶 (lutein 黄色色素的一种)，并从蛋黄中分离出叶黄素。腌鱼腐败细菌所含的红色类胡萝卜素，利用吸附法也被制成了结晶 (Petter)。

从 Tswett 发明吸附法乃至应用他的技术去制备足够量可供进一步化学试验用的均一物质，其间经过了 25 年。其后，这潜伏着的方法，象休止的植物，突然开了花，毕竟吸引了埋头工作的所有工业工作者和研究工作者。

由于胡萝卜素 (carotenes) 和维生素 A 前身的某些类胡萝卜素 (carotenoids) 的重要性，很多国家迅速地注意到可以利用吸附柱去制备其它具有生物效应的化合物。Kuhn 和 Lederer 应用纤维状氧化铝，指出了选择吸附剂的重要性，尤其是吸附剂的制备和活化。以后在这方面继续工作的结果，发展了许多具有高度活性和选择性的吸附剂，其中较重要的将在第四章中叙述。随着工业的普遍发展，可以大量生产许多廉价的吸附剂。同样由于工业的进步，使某些新的有机化合物，可利用作为溶剂。在某些情形下，水有时也作为形成色层和显现色层的溶剂。

随着选择性和活性吸附剂的发展，使 Tswett 的吸附法，立即应用于同位素的分离，元素混合物的离析和无机离子混合物的分离。关于后者，色层吸附法可能代替或补充较保守的定性分析法。在有机化学中，事实上各类物质 (烃类、醇类、酮类、醛类、酸类、酯类、磺酸类、杂环族化合物、染料、药物以及它们的取代产

物)都已被应用色层吸附法研究过。各种天然产物如毒素、酶以及蛋白質的研究,也是借助于吸附柱。工业操作上,实验室中都已很快地采用 Tswett 柱。活性与选择性更强的吸附剂的制备,无疑地将使色层吸附法的用途也随之而更广。参看文献,我們可以知道此法的应用正很快地繼續向許多不同部門伸展。

化合物的吸附現象,若应用同样的溶剂和吸附剂,在同一情况下,吸附柱上的次序永远一致。对于这原則,只有一、二个尚未确实的报告,即叶黄素和玉黍黄尿圈(zeaxanthin)的吸附(Strain 10)。改变溶剂或吸附剂,可能使某些吸附物的相对位置次序顛倒。Tswett 最先发现当叶子用石油醚作为溶剂抽提时,黄色的叶黄素与叶綠素混杂吸附着。但若在石油醚中加入少量的醇,叶黄素就吸附于叶綠素层之上。这現象已經証实(Strain 10)且被用来作分离叶綠素和叶黄素的基本方法了(Seybold 与 Egle)(参看 103 頁)。当加水于溶剂或吸附剂上时,也起相同的作用(Mackinney)。鋅离子与高铁离子从水溶液吸附于 8-羟基喹啉柱上时,其次序为鋅(上层)和高铁(下层)。若从醋酸溶液中吸附,其次序則恰相反(Erlenmeyer 和 Dahn)。Cassidy 发现不同的吸附剂可使桂酸(lauric acid)吸附于硬脂酸(stearic acid)层之上或下(69 頁)。

几乎吸附法的每一应用的主要目的都在于制备供其它研究用的純粹化合物。結果許多片断的关于吸附法应用的报导很快地累积起来。从这許多报导,其中有很多是关于制备不普通和不安定物質的,建立了能使有經驗的工作者們得到可观的結果的實驗原則。反之,沒有經驗的工作者,如不能費必需的时间从嘗試和失敗中去求得經驗和教訓,他們只好去应用其它效率較低的制备法了。

关于色层吸附法的应用原則,仅在特殊限制的条件下方为正确。对于經无数次試驗結果得到的精細方法,不能过于重視,这些精細的方法当在第三、四、五章中討論。許多有关 Tswett 吸附法的評介,可見于书本上与期刊上(Winterstein 1; Zechmeister 和 Cholnoky; Cassidy; Sørensen 3; Schwab; Meyer; Willstaedt 1; Stix; Valentin; Lederer 1, 12; Koschara 6; Armstrong; Celsi; Coffari;

Cook; Dam; Hesse; Brockmann)。參閱的文獻和特殊例子將在第七、八、九章中討論。

在 Tswett 最初報告吸附柱的運用的同年，Goppelsroeder 敘述一相似的分析法，名為毛管分析*。此法將有吸附性的紙條，浸于色素或其它需分離的物質的溶液中，當溶液由毛細管吸引力進入濾紙時，溶液中的物質就逐漸彼此分開，形成與 Tswett 柱相類似的一系列色帶。若將紙條懸于裝有混合溶液的容器邊緣，更可以增快溶劑進入紙條的速度。在某些情形下，將已吸有溶液的紙條放於新鮮溶劑中，可以使色帶彼此分開。

毛管分析法操作原理與吸附柱法相似。而毛管分析法的色層呈現較困難，製備的物質也太少。因此，未被廣泛採用。近來修改的 Goppelsroeder 的方法，將單是紙或已散有吸附粉的紙夾於玻璃板之中 (Brown)，也與原來方法受同樣限制，Rheinboldt 曾評介各種毛管分析法的应用。

* 毛管分析法 (capillary analysis)，今已進展成“紙色層分析法”。最近幾年內，已有驚人的進展，極少量的物質(數微克)均可在紙上吸附分離，尤其是对溶解于水或醇而不溶解于烴的物質，更是很優良的方法，其前途也未可限量。因限于篇幅與範圍，本書不擬敘述——譯者註。

第二章 色层吸附分析法的应用

实际上,在有关化合物及其反应的各門科学上, Tswett 的吸附法,是作为一种工具的。它在新問題的应用上,需要知道由于它的应用而获得或推論而得的知識。迄今对吸附法还没有一个完整的理論解释,因此很难从理論上来考虑这个問題(參閱 25 頁)。由于吸附法实际上是一种实用的方法,而且人們对它的主要兴趣在于它的应用,因此本书系从分析工作者或技术工作者的观点来討論。

此法的主要用途如下:

1. 分开混合物使成为它們的組分。
2. 測定化合物的均一性。
3. 比較二种物質是否相同。
4. 物質的提純。
5. 濃縮稀溶液中的物質。
6. 工业产品的確認和控制。
7. 从复杂的混合物中定量分离一种或多种成分。
8. 分子結構的測定。
9. 从复杂加成物中收回原物質。
10. 与电泳法 (electrophoretic method) 結合。

1. 分开混合物使成为它們的組分

吸附柱最主要用途是用于分离混合物。在这一方面,其方法与 Tswett 所用者相似。使混合物的溶液經過吸附柱,直至已有顯多的溶解物質吸附在吸附剂的上部。然后再将此含有吸附物的柱,用純淨新鮮溶剂洗滌以使色层完全显现。

要将吸附物完全分离,須依靠各种条件;如吸附前物質在溶液中的浓度,吸附剂和溶剂的性質,吸附柱的大小。至于它們的影响

及其它条件将在 24—44 頁討論。

色层显现后，每一色层的物質慣常可自玻璃管中分別移出。但也有借助于其它方法的，参看第 37 頁。黏附在吸附剂上的物質，用乙醇或其它类似的极性溶剂洗出，吸附剂則可用离心分离法或过滤法除去。溶液中的物質，至此业已分开，可用一般分析法加以分离，鑑別或測定。如有生理作用的物質，可直接作动植物試驗。

在此所述吸附法的应用，其主要目的系制备足够量的物質以供物理、化学或生物研究。这种研究，常需供应大量的純物質，因此需采用較大的柱。不过事实上有时也会发生若干难以克服的困难，妨碍了这种仪器的采用。这些情形，留待 26 頁中討論。

吸附法迅速发展成为制备极少量的化学物質的方法。它的損失較慣习上的分餾法及結晶法为少。因为供給研究的原料常常有限，此經濟的吸附法当然有利了。

用細柱或微柱可分开的化学物質的所需量，远較蒸餾法与結晶法为少(36 頁)。这些极少量的分开物，仍可用特殊反应、光譜測定法或分光光度測定法等鑑別之，或与同一物質的精确制备物，如第 9 頁所述，在新吸附柱上再吸附而进行比较。

混合物如来自植物的抽出物或动物的产物，常很难用吸附柱把它們完全分开。一种成分可以影响他种成分的吸附，故有时須先用結晶法，在两种不能溶混的溶剂中的分布法，皂化法或蒸餾法使它們能初步或部分分开。若这样也不行的話，則必須借助于新吸附柱的反复吸附。在 89 頁中所述的維生素 K 的制备可作为生物制品經多次新吸附柱吸附而精制的典型例子。

混合物在吸附前經過精制或部分分开时，必須注意遺弃的溶液中成分的損失(如母液)。因为若有疏忽，对天然混合物的成分常会得到錯誤的結論。例如叶黄素(参看第 122 頁)。

2. 測定化合物的均一性

当用吸附柱試驗时，許多認為是均一或純粹的物質，时常发现