



13.3 层析分离法

层析分离法又称**色层分离法**或**色谱分离法**。
色谱分离法是1906年俄国植物学家茨维特首先提出。

石油醚浸取液
 石油醚
 流动相 (mobile phase)
 固定相 (fixed phase)
 碳酸钙
 层析柱 (chromatographic column)
 谱带

13.3 层析分离法

- ▶ 13.3.1 柱层析
- ▶ 13.3.2 纸层析
- ▶ 13.3.3 薄层层析

13.3.1 柱层析

1. fundamental of column chromatography:

采用**层析柱**的**层析分离法**。分离过程中连续不断地发生**吸附、溶解、再吸附、再溶解**的现象。
 吸附剂对不同组分的**吸附能力**不同,不同组分随**流动相**的移动速度不同。
 层析分离中的**吸附-溶解**过程称为**分配过程**。
 分配过程的进行程度用**分配系数** K 衡量。

$$K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}}$$

13.3.1 柱层析

低浓度和一定温度下 K 是一常数,当吸附剂一定时, K 的大小取决于组分性质。
柱层析法就是利用被分离组分在固定相与流动相中具不同的分配系数而实现分离。

2. adsorbents in common use:

- ① 强极性: Al_2O_3 、 SiO_2 、聚酰胺等;
- ② 中等极性: CaCO_3 、 MgO 、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 等;
- ③ 弱极性: 淀粉、滑石、纤维素等。

洗脱剂应根据吸附剂吸附能力与被分离组分极性来选。

13.3.1 柱层析

一般来说,吸附能力强(弱)的吸附剂分离极性弱(强)的组分,选极性小(大)的洗脱剂

3. polar order of eluant in common use:

石油醚 < 环己烷 < 四氯化碳 < 甲苯 < 苯 < 二氯甲烷 < 氯仿 < 乙醚 < 乙酸乙酯 < 正丙醇 < 乙醇 < 甲醇 < 水。

13.3.2 纸层析

1. fundamental of paper chromatography:

也是据固定相对不同组分分配系数的不同实现分离。

纸层析与薄层层析所不同的在于纸层析属于分配色谱。即据组分在互不相溶的两种溶剂中溶解度的不同进行分配。

纸层析中的固定相是层析滤纸纤维素中吸附的水分,也可以是其它溶剂。

2. processes:



7



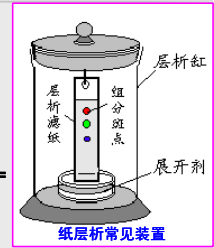
13.3.2 纸层析

纸层析的基本过程与薄层层析相同。

对展开剂,显色剂配制的要求也一样。

如,分离氨基酸时,常用展开剂的组成和配比为:正丁醇:乙酸:水=4:1:1。

另外,纸层析中组分分离情况的衡量同样是用 R_f 值。



8



13.3.3 薄层层析

1. fundamental of Thin Layer Chromatography:

分离原理与柱层析相同,是一种采用层析板的层析分离法。

层析板(chromato plate)是将吸附剂涂布在玻璃板或其它载片上制成。

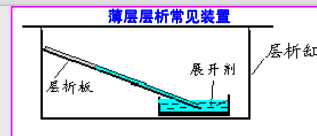
TLC流动相的移动是靠毛细作用。将试样点在层析板的一端,并将该端浸在作为流动相的溶剂(展开剂,developing agent)中,随溶剂向上移动,经过试样点时,带动组分向上运动。



9



13.3.3 薄层层析



2. processes of thin layer chromatography:

- 基本过程
- ①点样
 - ②展开
 - ③显色
 - ④测定

(1)点样:

用毛细管点样,样品点直径一般应小于5mm;可并排点多个样品。



10



13.3.3 薄层层析

(2)展开(development):将点好样的层析板置于层析缸中进行分离的过程。

展开剂可由一种或多种溶剂按一定比例组成,一般为有机溶剂。

反相色谱(inversed phase chromatography):

展开时采用水相为流动相,有机相为固定相。

(3)显色:有些组分在紫外光照射下会发荧光,可用铅笔将组分斑点描出来;其它无色的物质可采取显色的方法确定组分斑点。



11



13.3.3 薄层层析

常用显色法:喷洒显色剂、碘蒸气熏或氨水熏。配制显色剂的溶剂应选择挥发性较大的。

3. scale of separation degree:

组分分离的情况常用比移值(R_f value)衡量。

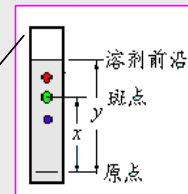
原点至斑点中心的距离 x

$R_f =$ 原点至溶剂前沿的距离 y

(filter paper for chromato)

一般 $1 \geq R_f \geq 0$ 。

每一组分都有自身特定 R_f 值。



12



13.3.3 薄层层析

被分离组分的 R_f 值相差0.02以上,一般就可实现分离。

$\Delta R_f < 0.02$,也可通过改变展开剂的极性来增大 ΔR_f 。

增大极性溶剂的比例,以增大极性组分的 R_f 值,减小非极性组分的 R_f 值。

◀ 休息 ▶ 目录

13

