

薄层色谱展开方法的几处改进

韩 晶, 王东援*, 王玉平, 余高宏

(沈阳药科大学分析化学教研室, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要:介绍了几种薄层色谱展开方法,包括中途展开、接力展开、多维接力展开、改进二维展开等,还介绍了一种简单的下行展开的操作方式以及关键部件的制作方法。

关键词:中途展开;接力展开;多维接力展开;漏斗式输液分配器

中图分类号:O657.7

文献标识码:B

文章编号:

薄层色谱法展开就是将点样后的薄层板放入展开室中,展开剂在毛细管作用力(有时也借用离心力、重力或外加的压力)作用下移动。具体的展开方式很多^[1],相对应的展开装置也多种多样。但使用最广的展开方法仍是薄层板浸入展开剂这一传统展开方式。

传统的薄层色谱展开方法存在以下三点不足:(1)浪费展开剂;(2)展开距离短;(3)不能充分利用已取得的分离结果。国外很早就有人对薄层色谱展开方式进行改进,其中波兰人 E. Soczewiński^[2,3]提出的一种展开方式及相应装置对我们最有启发。该装置除可进行普通展开外,还可进行梯度展开、斑点压缩、条带点样等^[2~6],且极省展开剂。可惜存在梯度不匀的缺点,并且不能解决前述传统展开方式的后两条不足。我们在 E. Soczewiński 工作的基础上进行改进,发展了几种新的展开方式,试图解决以上问题,现介绍如下。

1 中途展开与斜坡式输液分配器

中途展开^[7]借助简单的装置,将展开剂引入薄层板的任意位置。其优点是可以在板上任意位置加液展开,因而可充分利用前次展开所取得的成果,实现传统展开方法无法实现的技术。实现中途展开的关键部件是斜坡式输液分配器,它是由宽为 2 cm 厚为 2 mm(长度根据需要而定)的玻璃条制成,在中间有钻孔,底部两端粘两个玻璃片(10 mm × 2 mm × 2

mm)制成,图 1a 所示。展开方法是将硅胶板的一端的硅胶刮去约 2~3 cm,点样后放入一水平展开室中,这种展开室被称为 sandwich chamber^[2~6],它是由若干玻璃在水平玻璃板底座上围成一密闭方框即可,普通实验室条件下很容易制成。将斜坡式输液分配器放在刮去硅胶的薄层板一端,如图 1b、c、d 所示。盖上一在轴线上均匀钻有若干个钻孔的玻璃板,盖板上的钻孔平时用玻璃条盖住。用注射器将展开剂从斜坡式输液分配器上的小孔注入输液分配器和硅胶板之间时,展开剂立即开始沿输液分配器与硅胶之间的毛细缝隙扩展并传入硅胶层。这是一个点引入,线推进的展开过程。实验中发现在展开剂引入的瞬间,展开剂的前沿并不平齐,如图 2a 所示,但展开一小距离后,展开剂前沿很快就会平齐。我们定义这段距离为平齐距离(even distance)。如图 2b AB 之间。当斜坡式输液分配器置于薄层板一端时,由于注射器注入展开液的速度很快,故其平齐距离皆小于 5 mm。事实上采用普通展开方式(薄层板浸入展开剂)展开瞬间,流动相前沿也是不平的,其平齐距离往往大于 5 mm。平齐距离可作为描述展开系统特性的一种指标。对于任何展开系统,点样位置与展开起点的距离至少应大于平齐距离。采用本装置做展开的优点如下:节省展开剂,几乎没有残余;展开室空间极小,通常不需预饱和;可进行梯度展开、斑点压缩、条带点样等^[2~6]。本装置是在 Soczewiński^[2~6]的装置的基础上改进的。但制法更

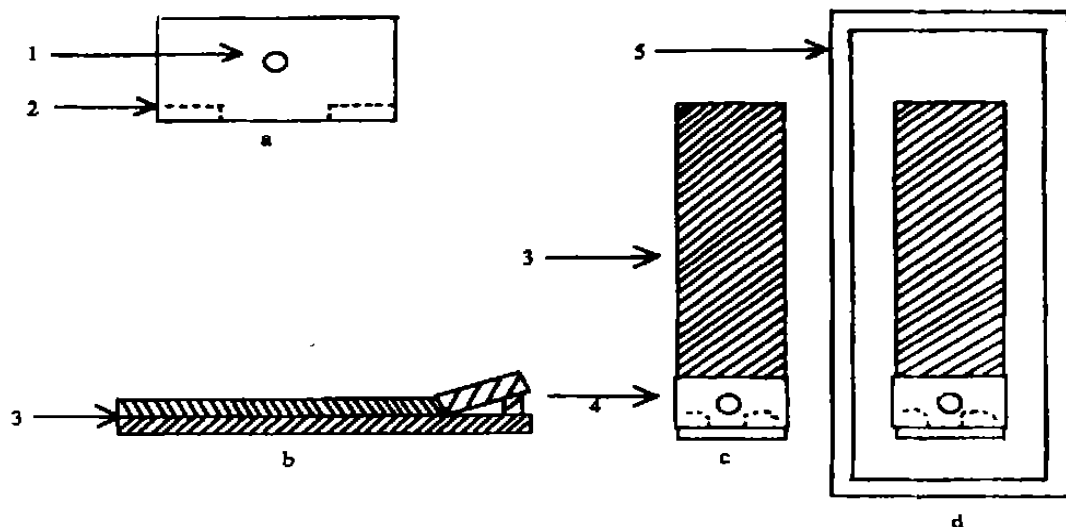


图1 输液分配器与硅胶板的摆放示意图

Fig. 1 Arrangement of silica gel plate and slope distributor

- a. 输液分配器 b. 输液分配器放于硅胶板一端侧视图 c. 俯视图 d. 硅胶板与输液分配器放于展开室
1. 用于输液的小孔 2. 小玻璃片 3. 硅胶板 4. 输液分配器 5. 展开室

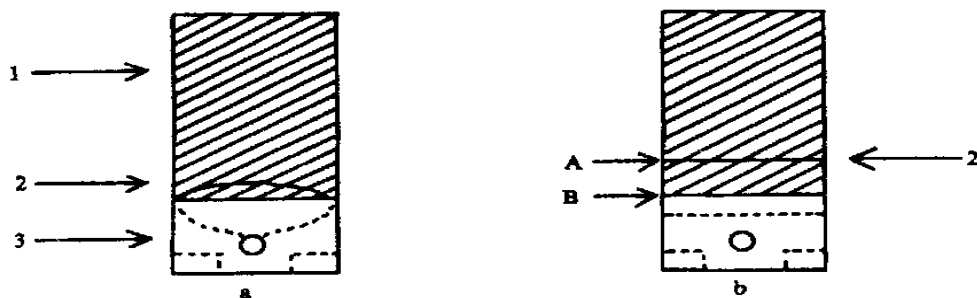


图2 平齐距离示意图

Fig. 2 Details of even distance

- a. 展开初始阶段,溶剂前沿不平齐 b. 展开一定时间后溶剂前沿平齐
1. 硅胶板 2. 溶剂前沿 3. 输液分配器

简单、性能更优、不存在梯度不匀现象,也无需对输液分配器作附加的操作. 斜坡式输液分配器具有一定的贮液能力,注液一次可维持展开 3~4 cm 左右. 本装置的独特优点是可进行中途展开与接力展开.

中途展开指在薄层板中间的任意位置进行展开,通常用于对已分离但分离效果不好的斑点进行再处理,具体示例如图 3.

假定采用图 1 装置,第一次将 A、B、C、D、E、F 六个组分基本分开如图 3a 所示(普通展开). 由于感到 D、E、F 相距过近,故在挥去展开剂后,可将输液分配器放在 D、E 之间,注入适量别种展开剂将 E、F 斑点向前推若干距离,与此同时斑点 D 也将被推向

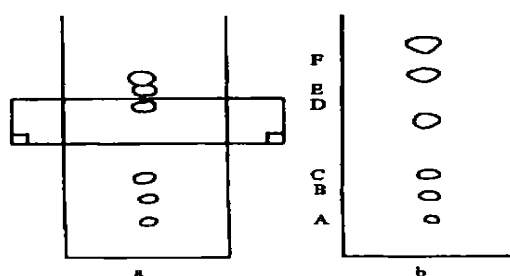


图3 中途展开示意图

Fig. 3 Half-way development

后方一定距离,一下子就能使分离的视觉效果达到满意,见图 3b.

此例是由于 D、C 之间距离过宽,我们有意利用了本法的向后展开效应;如果不希望向后展开,可采用接力方式,即:先用非极性展开剂展开至预定位置(输液分配器事先搭放好,见图 4a),然后再进行“中

途展开”。由于非极性展开剂不能推动后面的斑点,但却占据了薄层板的毛细空间,从而使展开按照我们希望的方向进行。

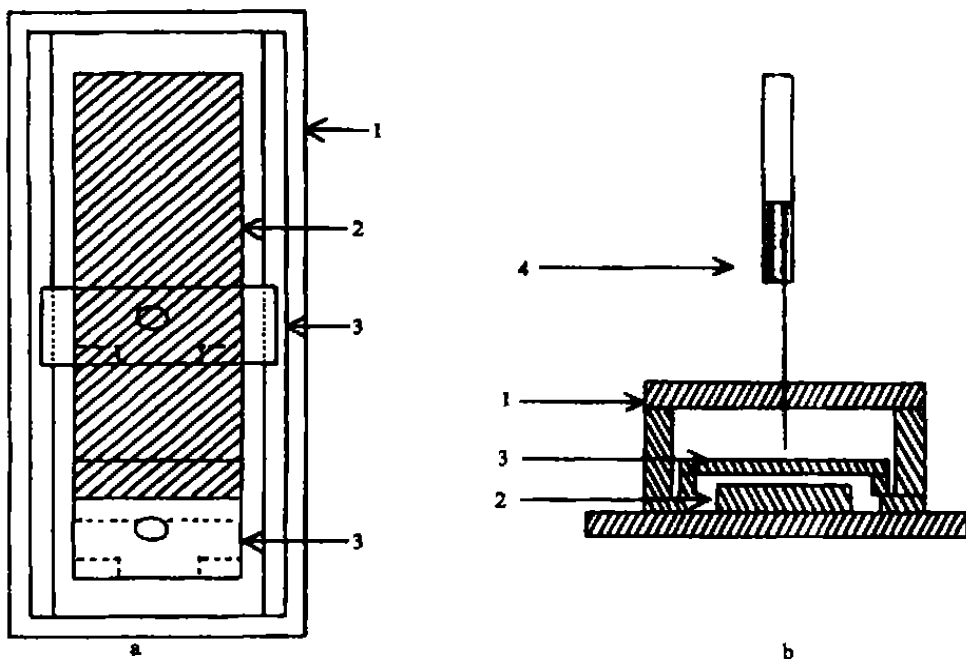


图 4 中途展开和接力展开中输液分配器的摆放示意图

Fig. 4 The distributor and its arrangement for half-way development and relay development

a. 输液分配器的摆放 b. 溶剂输入的方法 1. 展开室 2. 硅胶板 3. 输液分配器 4. 注射器

2 中途展开与漏斗式输液分配器

我们建立中途展开方法的目的是对已分离斑点进行再处理。斜坡式输液分配器虽然可以实现这一想法,但其在输液过程中浸润面积比较大,如果样品斑点距离较近,不利于进一步处理。兰梦宁等^[8]制作了一种新式的漏斗式输液分配器(见图 5)可解决以上问题。当需要在薄层板上中间任意位置加液时,漏斗式输液分配器较小的浸润可以实现对相距较近的斑点进行再处理。这种输液分配器是由两片载玻片(76 mm × 6 mm × 0.8 mm)加工制成。用砂纸仔细打磨一块载玻片(图 5a 所示 2)使之在一侧形成一个约宽 5 mm 的斜面;另外一块载玻片用 20 % 氢氟酸浸泡约 30 min 使成一薄玻璃片(厚约 0.2 mm, 图 5a 所示 4)。然后用胶棒(图 5a 所示 1)在火上加热后凝固,把两片玻璃粘在一起,在薄玻璃片的适当位置粘上一塑料片作为支架(图 5b 所示 3)。漏斗式

输液分配器直接与硅胶面接触,平齐距离基本为零,浸润面积积极小,可以插入两个距离较近的斑点之间,直接进行输液。

3 二维展开的改进^[9]

经典的薄层二维展开进行第二次展开时,只能使用一种展开剂,这对于极性差异大的复杂样品难以产生良好的分离效果。比较理想的方式是将第一次分离后的斑点分隔成若干区域,每个区域用不同的展开剂展开,通常对靠近前沿的区域用极性小的展开剂,靠近原点的区域用极性大的展开剂。实施这项技术的难点是要求在斑点适当位置存在足够的距离,这样才有可能切割区域。采用漏斗式输液分配器用甲醇做短暂中途展开,即可在密集斑点之间分隔出足够宽度。10 种染料采用改进二维展开^[9]的分离示例如图 6、图 7 所示。

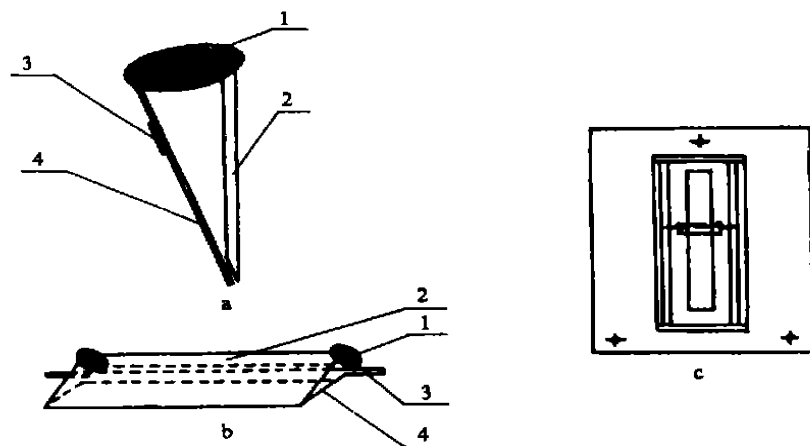


图5 漏斗式输液分配器示意图

Fig. 5 Structure of funnel distributor

a. 侧视图 b. 前视图 c. 俯视图 1. 胶 2. 薄玻璃片 3. 塑料片 4. 薄玻璃片

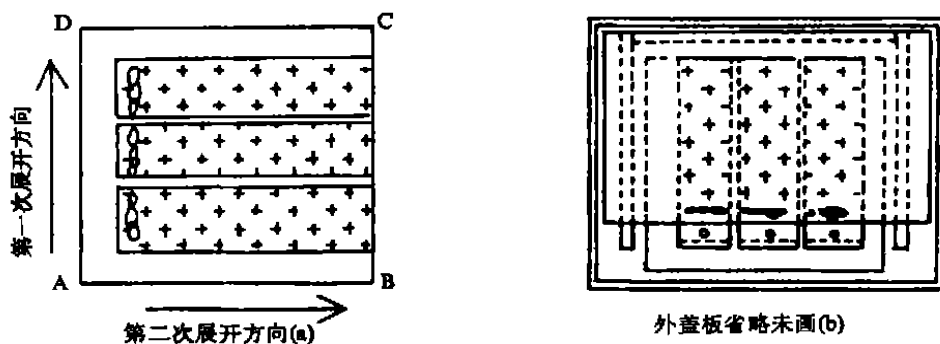


图6 二维展开中第二次展开前的处理过程示意图

Fig. 6 Operations before second development

a. 刮边,分割各分离区带 b. 放置硅胶板和输液分配器

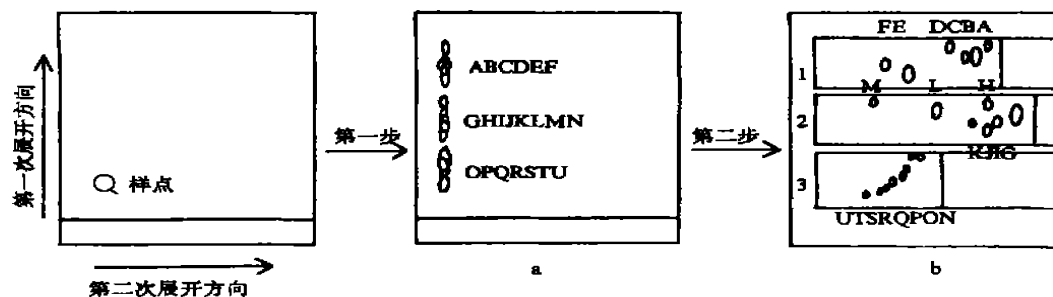


图7 二维展开的第一次展开及第二次展开的结果示意图

Fig. 7 Result of first and second development

a. 第一次展开结果 b. 第二次展开结果

4 多维接力展开

多维接力展开是将初步分离的斑点分别转移到新的薄层板重新展开,借以扩充展开空间。超长板

接力展开虽然也能扩充展开空间,但必须将前面的斑点推到很远才有可能为后面的斑点腾出空间,多有不便;二维展开可以直接利用新的展开空间,但可惜只能利用一次;多维接力展开的优点是可以反

复多次利用新的展开空间,其具体操作如下:

图8a为使用斜坡式输液分配器在超长板上进行普通展开所得结果.其中靠近流动相前沿的部分斑点已用适当展开剂进行了中途展开,并得到良好分离;后面的斑点用漏斗式输液分配器分隔成三段后用刀片切割成图8a形状,准备转移.用刀片把数块小硅胶板(40 mm × 200 mm)一端的硅胶刮去约1 cm成为如图8a中所示形状(图中小板的硅胶面朝下).按图8b所示摆入展开室中,在硅胶块宽的一侧放上斜坡式输液分配器,窄的一侧搭上小板,使硅胶块与小板的硅胶断面互相吻合.为了让小板保持水平而使硅胶断面之间接触良好,可在小板的另一

端垫上一块与超长板厚度一样的玻璃板.另外,在超长板和小板的接合处,压上数块玻璃板,防止因轻微的碰撞而影响硅胶断面接合.盖上盖板,用注射器通过盖板上的钻孔把甲醇或其它极性大的溶剂注入斜坡式输液分配器,可将硅胶块上的斑点转移到小板上.转移完后,取出小板,晾干.将少许甲醇注入漏斗式输液分配器,压缩每个小板上的斑点直至成一点.然后把小板放入前述中途展开室中,应用适宜的展开剂,分别进行展开.如果转移一次仍未得到完全分离,可进行第二次转移或第三次转移,方法同上.通过对染料的洗脱液用比色法测定,证明二次转移率仍可达97%以上^[10].

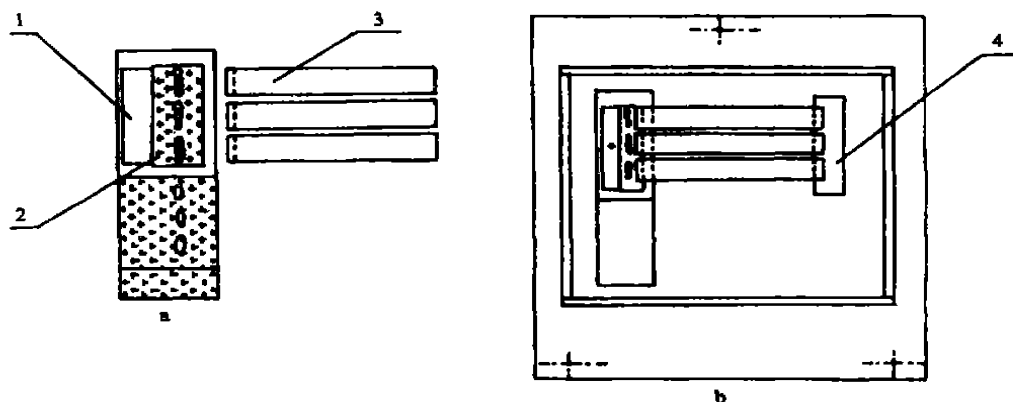


图8 多维接力展开中硅胶板的摆放

Fig. 8 Arrangement of silica plate in the chamber

1. 斜坡式输液分配器 2. 硅胶板 3. 小硅胶板 4. 玻璃板

5 下行展开的改进

下行展开过程中展开剂除受到毛细管作用力的作用外,还受到重力的作用,因此展速快.传统的下行展开多用于纸色谱,葡聚糖凝胶色谱.薄层色谱也有应用,但结构复杂^[11].其主要限制因素是供液方式的设计.我们通过对斜坡式输液分配器的改进,运用板上直接加液的原理,设计出一种简单的输液分配器,它是在一块长为4~5 cm,宽为2 cm,厚为0.2 cm的玻璃片一上一下的位置上钻出两个直径为0.4 cm的孔,分别插入聚乙烯管制成.如图9所示.在硅胶板上部靠近板上沿约3 cm的居中用小刀刮出一长2 cm,宽1 cm的“小窗”,盖上输液分配器用夹子夹紧,样品点于输液分配器下方.当用注射器将展开剂由输液管注入时,就可进行下行展

开.

本装置对硅胶板平整度要求较高,如不平,容易漏液.本法的平齐距离较大.通常在展开剂移动1~2 cm(这与硅胶板的平整程度有关)后展开剂前沿在板中间位置上会平齐,但在靠近板两个侧边0.5 cm范围始终要落后于中间部分的展开剂前沿.

薄层分离过程,实际上是一个不断尝试的过程.传统的展开方法,在第一次尝试失败后,往往从头作起,不能直接利用已分离的结果.这里所说的直接利用已分离的结果,是指在原薄层板上再分别对已分离斑点作进一步展开.其思路是:先保住已分离的结果,在此基础上,再作进一步分离.实践证明,北方气候干燥,自然干燥的薄层板与活化后的薄层板活性差异并不很大,这就为反复利用薄层板实施上述技术提供了可能.

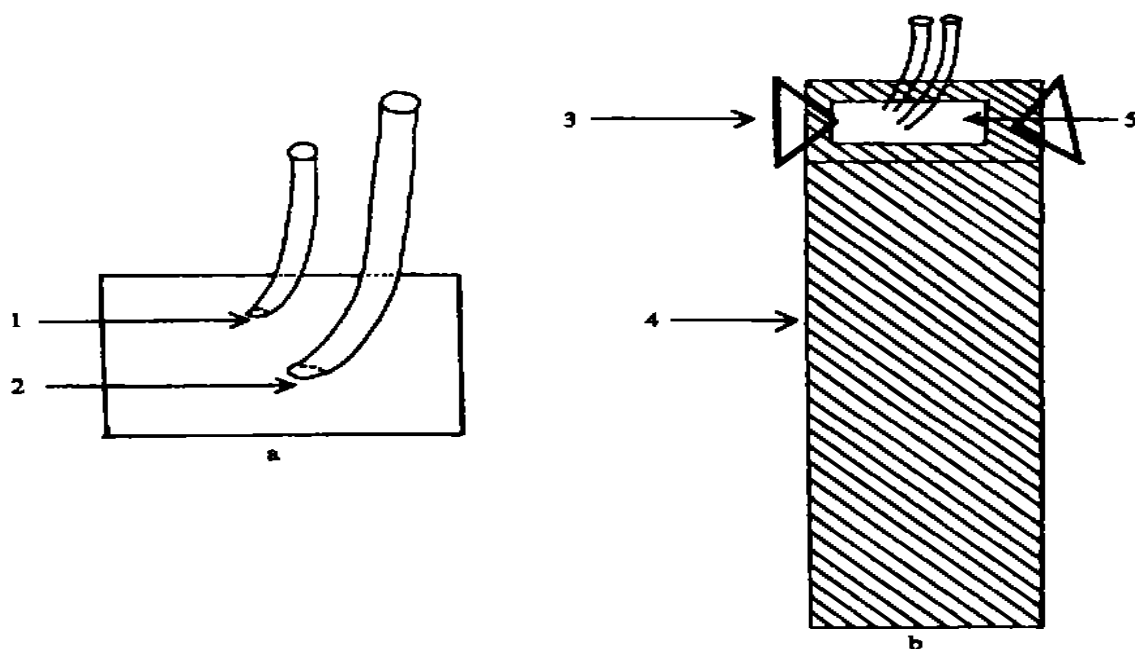


图9 下行展开中输液分配器及其摆放方式示意图

Fig. 9 The arrangement of the distributor

a. 输液分配器 b. 输液分配器与硅胶板

1. 用于平衡气压的塑料管 2. 用于输液的塑料管 3. 夹子 4. 硅胶板 5. 在胶板上刮出的“小窗”

实践中,薄层色谱下行展开极为少见。目前,我们正在进行下行展开法的研究,希望通过这种展开方式把展开和洗脱同步完成,从而能为薄层色谱技术提供更多选择。

参考文献:

- [1] 何丽一. 平面色谱方法及应用[M]. 北京:化学工业出版社, 2000.
- [2] E Soczewiński. Simple device for continuous thin-layer chromatography[J]. J. Chromatogr., 1977, 138:443-446.
- [3] E Soczewiński, Wawrzynowicz T. A sandwich tank for continuous quasi-column development of precoated HPTLC[J]. Chromatographia, 1978, 11:466-468.
- [4] E Soczewiński, Kuczmierczyk J. Solvent composition effects in the liquid solid chromatography of AZO dyes[J]. J Chromatogr., 1978, 150:53-61.
- [5] E Soczewiński, K Czapińska. Stepwise gradient development in sandwich tanks for quasi-column[J]. J. Chromatogr., 1979, 168:230-233.
- [6] E Soczewiński, Maciejewicz W. Use of equilibrium sandwich tank with a glass distributor of organic compounds[J]. J. Chromatogr., 1979, 176: 247-254.
- [7] Ping Su, Dongyuan Wang, Mengning Lan. Half-way development-the technique and the device[J]. J Planar Chromatography-modern TLC, 2001, 14:203-207.
- [8] Mengning Lan, Dongyuan Wang, Jing Han. A new distributor of half-way development[J]. J Planar Chromatography-modern TLC (submitted for publication).
- [9] Mengning Lan, Dongyuan Wang, Jing Han. Improvement of two-dimensional development of TLC[J]. J Planar Chromatography-modern TLC, 2002, 15:144-146.
- [10] 兰梦宁. 薄层新技术及其在中药分析中的应用[C]. 沈阳药科大学硕士学位论文. 2002.
- [11] Pelick N. Descending thin layer chromatography apparatus[P]. USP 3449083, 1969.

Some Improvement on Development Methods of TLC

HAN jing , WANG Dong-yuan , WANG Yu-ping , SHE Gao-hong
(Shenyang Pharmaceutical University , Shenyang 110016 , China)

Abstract : A few new development methods of TLC are introduced , which are half-way development , relay development , multidimensional relay development , improved two-dimensional development and a simple mode of the descending-development . The key parts of the instruments are described in detail .

Key word : half-way development ; relay development ; multidimensional relay development ; funnel distributor

Classifying number : O657.7

介 绍

《分析测试技术与仪器》简介

《分析测试技术与仪器》是经国家科委批准向国内外公开发行的技术性季刊(刊号:ISSN 1006 - 3757 , CN 62 - 1123/O₆) ,由中国科学院综合计划局、中国科学院兰州分院分析测试中心和中国科学院兰州化学物理研究所主办。创办于 1992 年,在当时填补了中国科学院技术期刊的空白。10 年来,它担负着技术传播、交流、研讨及学科发展的导向作用,始终以繁荣分析测试科学为己任,得到了全国科研、高校、厂矿、企事业单位广大科技工作者的厚爱。

1 办刊宗旨及特色

本刊的服务对象主要是在科研、教育系统隶属的分析测试中心、开放实验室、各行各业的分析测试实验室以及国外相应部门等从事科学研究分析测试工作的人员、教师及有关行业的科技工作者。本刊为之提供一个发表新技术、新理论、新方法、新成果的园地,并将遵循技术性 with 学术性相结合、应用性与基础性相结合的方针,在内容上突出一个“新”字。实行以上宗旨定位准确,具有良好的发展前景,并且非常符合中国科学院科学期刊“十五”发展计划纲要(讨论稿)中提出的:“……适当发展技术类期刊,增加科普类期刊和英文版期刊的品种数……”的主要任务。因此,本刊在 21 世纪的知识经济时代将具有较强的生命力。

2 栏目设置及篇幅要求

- 2.1 编委论坛 本栏目主要反映分析测试领域各专业的最新进展与新动向及分析测试技术进展。8 000 字左右,并附 300 字以内的中文摘要和 1 000 ~ 1 200 字符的英文摘要。
- 2.2 综述及专论 反映当代分析测试技术的最新成就和最高水平。参考文献以近年发表的为主。8 000 字左右。
- 2.3 分析测试新技术和新成果 本栏目所交流的分析测试新技术应突出其创新性和实用性。4 000 字左右,并附 300 字以内的中文摘要和 800 ~ 1 000 字符以内的英文摘要。
- 2.4 仪器功能开发成果与维修技术 报导和交流分析仪器的研制、改进和功能扩展;介绍仪器维修技术,4 000 字左右,并附 300 字以内的中文摘要和 800 ~ 1 000 字符的英文摘要。

(下转 52 页)