

高效快速层析法——TLC Mesh柱层析

李 玉 林

(福州大学地质系)

TLC Mesh柱层析是根据高效液相色谱的基本原理研制出来的一种新型柱层析方法。与普通柱层析相比,它具有分离速度快、分离效果显著、设备简单、操作方便等优点。可供普通实验室配备使用。本文详细介绍了TLC Mesh柱层析的实验装置、填充剂、洗脱液和装柱、进样方法等。

在对原油、煤和沉积物(岩)抽提物的分析中,我们经常遇到一些尚未确认的、新的有机化合物。对于这类化合物的地球化学信息和生物信息研究来说,高效快速的分离实验技术是十分必要的。传统上,高纯度制备性分离工作都是在很长的普通层析柱上进行。这种普通柱层析方法不仅费时很大,样品回收率低,而且由于拖尾的影响,实验重复性很差。近年来国内外所使用的低压柱层析,虽大大缩短了实验时间,但分离效果并没有明显改善。另外制备性薄层层析有时亦可获得令人满意的分离效果,但同样存在效率低,样品量少等缺点。70年代以后,高效液相色谱有了很大的发展,它与普通柱层析的主要区别在于使用了粒度更细的填充剂,从而使它的分离效能及检测的灵敏度大大提高。同时,由于使用了加压技术,使分离效率比普通柱层析提高几百倍。但是,高效液相色谱需要专门的仪器设备,且价格昂贵,只有少数实验室有条件配置。国内目前主要用于少量样品的定性分析或作族组份分离,要进行常量的制备性分离和普及应用尚有困难。为此,我们根据高效液相色谱的基本原理^{[1][2]},经过多次反复实践,成功地研制出TLC Mesh柱层析系统。二年多来的实践证明它是一种高效快速的有机分离实验技术,可以与制备性薄层层析相媲美。我们已经将薄层板上 $\Delta R_f \geq 0.05-0.10$ 的不同皂甙组份有效地分离开来,获得制备性纯样。并且该方法设备简单便宜,进样范围大,从0.5—10克均已获得满意的结果。一次实验一般只需3—5个小时即可完成。所以,TLC Mesh柱层析有较大的普及实用价值。

一、实验装置

TLC Mesh柱层析的实验装置主要由氮气钢瓶、缓冲瓶、储液瓶、层析柱等四部分组成(图1)。氮气钢瓶提供层析系统压力,也可用空气压缩泵代替;缓冲瓶上装有一支带磨口玻璃活塞的排气管,以调节系统压力,使其保持平稳;层析柱长度与内径之比要大于12;储液瓶可以与层析柱直接相连,也可以分离开来,中间由导管与层析柱相连,这时储液瓶可用平底不锈钢瓶。实验时,按图1所示,安装好实验装置,然后开启

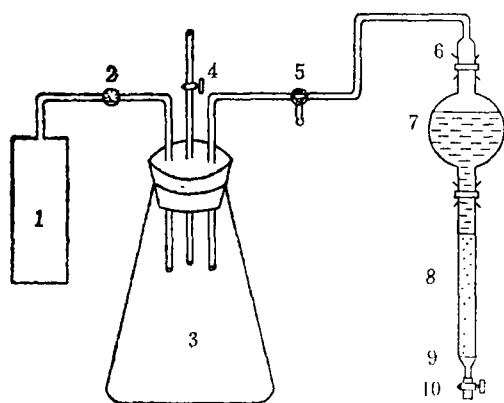


图1 TLC Mesh柱层析实验装置图

1. 氮气钢瓶 2. 压力阀 3. 缓冲瓶 4. 磨口玻璃活塞
5. 三通活塞 6. 磨口接头 7. 储液瓶 8. 层析柱
9. 脱脂棉 10. 馏分收集器

氮气钢瓶上的活塞，通过压力表上的压力调节阀调整压力大小，使洗脱液的流速控制在实验所需的范围之内。

二、填充剂和洗脱液

1. 填充剂

填充剂是决定柱效的主要因素。从理论上讲，填充剂的颗粒越细和粒度范围越小，柱效就越高。TLC Mesh柱层析一般都采用薄层层析级硅胶作填充剂，TLC Mesh柱层析也由此而得名。只有在个别情况下才使用氧化铝、活性碳和氧化镁等作填充剂。

(1) 填充剂粒级选择，必须根据样品分离纯化的难易程度及组份的复杂性选用适当的粒级范围，必要时可进一步过筛。例如，在对中药白头翁皂甙（甙体皂甙和三萜皂甙）进行分离纯化时，我们发现普通层析硅胶（100—200目）柱效很低，分离效果差。经试验以300—400目薄层层析硅胶分离效果最佳，用小于500目时，柱效并没有明显提高，反而给装柱带来困难。总之，实验之前要注意选择填充剂的粒度范围，并不是说越细越好。

(2) 填充剂的活性一般不宜太高，例如甙烷皂甙的分离，填充剂的活化级别以Ⅱ—Ⅲ级比较适宜。据认为^[3]填充剂的含水量在液固相层析中往往起很重要的作用，填充剂活性太低、含水量太大对水溶性样品有潮解作用。因此，适当控制填充剂的活性级别非常必要，活性太强时可加入适量的水，使其活性降低；反之，放在烘箱内烘烤，以提高填充剂活性。

填充剂与进样量的比例也是影响柱层析效果的重要因素，一般以1:300—1:500为宜。对于难分离的样品，可适当增加填充剂与样品量的比例。但一般不能超过1:1000，否则将影响样品的回收率。

2. 洗脱液

TLC Mesh柱层析所用的洗脱液，一般采用薄层层析法的系列溶剂。即用不同的溶剂系列对分离的样品作薄层层析，从中选择分离效果最佳的溶剂系列作为TLC Mesh柱层析的洗脱液。另外，洗脱液的流速对分离效果影响很大，实验时必须适当控制好洗脱液的流速。在大多数情况下，洗脱液的流速控制在3—5ml/min比较适宜。但是，层析柱内径较大时，洗脱液流速也要适当增大。表1列出了洗脱液的配量与柱的大小和进样量之间的比例关系，供大家参考。

表1 (ml) 洗脱液与柱径、进样量关系表

层析柱直径 (mm)	洗脱液配量 (ml)	进样量 (mg)		馏份体积 (ml)
		$\Delta R_f \geq 0.2$	$\Delta R_f \geq 0.1$	
10	150	100	50	5
20	300	500	300	10
30	500	1000	700	20
40	700	2000	1000	30
50	1000	4000	2000	50

表中数据是我们已结使用的数值, 而不是极限值。

四、装柱和进样

TLC Mesh柱层析的实验包括装柱、进样、洗脱和馏分收集四个步骤。其中, 装柱和进样最为关键。一般装柱均匀, 进样较好, 层析时溶剂前沿和色带整齐, 分离效果就好。

1. 装柱

由于TLC Mesh柱层析的填充剂粒度很小, 一般都小于40微米, 所以以干法装柱为宜。干法装柱有许多种方法, 据Kirkland对六种不同的干法装柱效果对比, 认为改良顿击法装柱效果最好。我们实验室即采用此法装柱:

用玻璃棒将一小团脱脂棉或多孔炼结玻璃放入柱底, 压紧展平后将层析柱垂直地安装在铁架上(保持上下可自由活动), 插入一个大小适中的玻璃漏斗, 再用一张表面光滑的硬纸制成大小与三角漏斗相似的形状, 并在下面开一个小口, 垫入玻璃漏斗中。将已称好的适量填充剂倒入, 上面用一张洁净的纸封闭, 最后, 轻轻地垂直顿击, 使填充剂均匀地落入柱内, 同时用套有橡皮管的玻璃棒轻轻敲打柱内已充填的部位。当填充剂全部装入柱内时, 继续轻轻地顿击并敲打柱的外壁, 直到填充剂表面平整, 不再抖动为止。最后通入洗脱液驱除柱内填充剂中的气泡。

2. 进样

TLC Mesh柱层析进样有两种方法, 直接进样和拌样法进样, 现分别介绍如下:

<1> 直接进样法: 将待分离样品溶于少量溶剂中(溶剂量为样品量的3—5倍), 待填充剂内气泡完全消失, 洗脱液与填充剂处在同一平面时, 用滴管将溶解好的样品沿柱壁仔细地加入到柱内。待样品全部进入填充剂内时, 再用滴管沿柱壁仔细加入少量的洗脱液, 当柱内洗脱液液面有一定高度(约3cm)后, 立即装上储液瓶并往瓶内加入足够量的洗脱液。然后开启压力调节阀, 将洗脱液的流速控制在实验所需要的流速范围即可。

<2> 拌样法进样: 将待分离的样品溶于少量易溶低沸点的溶剂中, 并用滴管加到相当样品4—5倍的填充剂上, 拌匀后室温凉干。然后加入到柱内并轻轻地垂直顿击, 直到样品表面平整和不再抖动, 在样品之上再复盖一层1—2cm厚的纯净填充剂或处理后

的干净细砂，轻轻敲顿使其表面平整。沿柱壁仔细加入洗脱液，当柱内液面达到一定高度后立即装上储液瓶。此后的过程同上。

拌样法进样的优点是操作简便，节省时间和溶剂。但是，很容易将气泡带入填充剂内，影响分离效果。对于装柱技术尚不熟练的初学者，最好采用直接进样法较为稳妥。

据我们上百次实验，一般情况下，只要操作正确、填充剂和进样量比例适宜，薄层板上 $\Delta R_f \geq 0.1$ 的组份，我们都能成功地分离而获得制备性纯样品。在许多情况下， $\Delta R_f \approx 0.05$ 的组分也能够被有效地分离出来。

总之，TLC Mesh柱层析提供了高效、快速、简便、便宜的制备性色谱分离技术。在没有昂贵的高效液相色谱情况下，也可以获得与制备性薄层层析相媲美的分离效果。由于层析柱上的色带比制备性薄层层析整齐而集中，实际的分脱效果往往比制备性薄层层析更好。但必须强调指出表1中的各种比例关系以及填充剂的粒度、洗脱液的流速等选择，是TLC Mesh柱层析实验成功的关键。

参 考 文 献

- [1] 朱明华主编，1986，仪器分析，高等教育出版社。
- [2] 王成瑞等，1980，低压柱层析在天然药物化学中的应用，中草药，11卷3期。
- [3] W Clark Still et al., 1978, Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations With Moderate Resolution, J. Org Chem, vol.43, No.14, P2923—2925.

HIGH - PERFORMANCE RAPID CHROMATOGRAPHY —— TLC Mesh Column Chromatography

Li Yulin

(Geological Department of Fuzhou University)

Abstract

TLC mesh column chromatography is a new typed column chromatography, which is based on the principles of high performance liquid chromatography. It shows several advantages over conventional column chromatography, i.e. high speed, high resolution, simplicity of equipment and easy operation. It is available to ordinary laboratories. Detailed informations such as laboratory device, packing materials, eluants, column fillings and injection methods are given in this paper.