

## 制备薄层层析 (PTLC) 技术规范

制备薄层层析是利用薄层色谱的快速, 简便, 高效率的特点来制备分离纯物质的方法。在制备薄层层析中, 用的最多的是硅胶吸附色谱, 其次是氧化铝吸附薄层层析, 其处理的样品量在 1mg-500mg 之间。具体依据混合物总量, 分离度的不同而不同。

1. 制备薄层板: 一般采用 20×20cm 大小的 0.5-3mm 厚的玻璃板, 宽的薄板可以增加上样量, 但长度一般不超过 20cm, 因为长度增加, 一方面会增加展开时间, 另一方面, 由于扩散原因, 板长增加过多对分辨率的改进不很明显。
2. 吸附剂的选择: 一般是选用含有荧光剂的吸附介质, 如 GF254 型硅胶等。
3. 铺板: 一般是以 10%-15% 的煅石膏, 0.2%-10% 的 CMC (羧甲基纤维素钠) 溶液, 5% 聚丙烯酸或者 5% 的淀粉溶液与 GF254 硅胶混合碾匀后, 铺到洁净的玻璃板上; 制备薄层的厚度一般控制在 0.5-3mm 范围内, 硅胶的用量一般按铺 1mm 厚的 20×20cm 制备薄层板, 需要硅胶 20-25g; 板铺得太厚会导致板的上下流速差异导致板的分离效率减低; 为防止铺板产生裂口, 一般减少用水量和增加黏合剂的比例。
4. 干燥: 制备薄层板铺好之后, 可静置室内自然挥干 24 小时以上, 待其完全干燥以后, 可置于烘箱中干燥活化, 一般温度先控制在 50-80℃ 之间, 然后再升温至 105-110℃ 进一步活化, 如果板很厚, 需降低活化温度, 防止板干裂。
5. 分离条件的选择: 一般认为待分离组分边缘与杂质边缘之间的距离至少要大于 3mm 才能保证一定的分离效率。
6. 上样前的预展开: 由于吸附介质及黏合剂中含有部分杂质, 在上样之前需要进行预展开, 预展开溶剂一般选择用氯仿: 甲醇 (1:1) 或者乙醚 (含 1% 的氨水或者 1% 的乙酸, 根据展开剂的选择其含酸或者碱), 预展开后再取出, 干燥备用。
7. 上样量的选择: 制备薄层上样量的选择与薄层板的大小, 厚薄, 吸附剂的种类及样品的性质有关。一般认为薄层板的容量与薄层板的厚度的平方根成正比。可用厚 1mm 的 20×20cm 制备薄层板上样 5-25mg, 看其展开后的谱带是否拖尾或者变形来判断其是否过载。在正式上样前, 一定要反复试验该类薄层板对具体某种样品的样品容量。
8. 样品浓度的选择: 样品一般用挥发性尽可能大的且溶剂的极性尽可能小的溶剂溶解, 以不析出晶体为宜, 其浓度范围控制在 2%-10% 的范围即可。
9. 上样: 样品溶解好后, 可在距其低端 2.5-3cm, 距两端 2-3cm, 宽约 3-5mm 成一条状, 避免边缘效应而使条带移动速度不一样。上样过程可重复, 但在重复上样过程中, 必须让条状样品中的溶剂挥发至干, 可以用电吹风吹干; 上样时, 应该使样品条尽量直和窄, 如果样品条状带过宽, 可以先用强极性溶剂甲醇展开 1-2cm, 取出, 挥干甲醇后, 再在所选择的展开体系中展开。在上样过程中, 千万不能破坏薄层板的表面层, 否则会影响样品的分离效率。
10. 上样器: 上样器一般可以用小的滴管或者小的注射器, 也可以用专门的上样器。
11. 展开剂的选择: 可以用 TLC 来选择合适的展开条件, 在混合展开剂中, 占比较大的弱极性溶剂在溶剂体系中, 主要起溶解物质和基本分离作用的, 占比例小的强极性溶剂起着改善分离物质的  $R_f$  值和某些物质选择性作用, 中等极性溶剂往往起着混匀极性相差较大溶剂的作用, 对于粘度大的展开剂, 可以加一些粘度小的溶剂, 加快展开速度; 展开剂的极性是组成混合溶剂的各组分的介电常数与体积分数的乘积之和;  $R_f$  值控制在 0.1-0.7 范围为宜; 展开剂体系中可以加入酸, 碱让含有酸碱的有机物的斑点更加集中。经典溶剂中的氯仿是给电子溶剂, 甲醇

或者乙醚是获得质子溶剂，二氯甲烷是以诱导力为主的溶剂；在展开剂中，极性较大的溶剂体积分数小于 5%或者大于 50%时往往会得到最大的分离度。如果知道化合物的类型，可根据其性质采用查阅文献的办法来确定溶剂系统。

12. 展开：在整个过程中，展开槽必须是密封的，因为水蒸气对分离效率有很大的影响；同时在展开前，薄层制备板和展开槽必须要用展开溶剂饱和；如果一次展开不能达到有效分离，可换用不同的溶剂体系，极性逐渐增加，进行多次展开，一般 2-3 次即可。
13. 检测：有色化合物通过肉眼就可以进行检测；对有荧光或者不发光物质在 254nm 紫外灯下照射，样品会显色或者暗斑带；还可以用 I<sub>2</sub> 蒸汽显色，I<sub>2</sub> 蒸汽显色完毕后，取出制备板，用铅笔做记号，待 I<sub>2</sub> 蒸汽挥发后即可；用水也可以显色，在制备板上均匀喷水使其透明，在黑背景下，水不溶的组分就会显现不透明的谱带；如果以上方法都不显色，则可用，化学检测法，在制备板上盖上适当大小的玻璃板，在两端留出 0.5-1cm，然后喷显色剂显色，然后画出各条色带即可。
14. 收集：在展开显色后，用刀片把色带刮下，置于砂芯漏斗中，操作时需要非常小心，不要把非收集成分刮入；用丙酮，乙醇，氯仿及混合展开剂都可以洗脱所需的样品，最好不用甲醇洗脱样品，因其洗脱能力强，会把微量杂质也洗脱出来；可采用少量多次原则；洗脱完后，经浓缩后，对其进行重结晶纯化；洗脱体积可按照如下经验公式来计算：洗脱体积 =  $(1-R_f) \times 10 \times$  刮下吸附剂的体积

修改于二零一零年三月