

实验四（1） 薄层色谱

一、实验目的

- 1、学习学习薄层色谱法的原理，了解其意义和应用。
- 2、掌握薄层板的制作及薄层色谱的操作方法。

二、实验原理

薄层色谱法是以薄层板作为载体，让样品溶液在薄层板上展开而达到分离的目的，故也称为薄层层析。它是快速分离和定性分析少量物质的一种广泛使用的实验技术，可用于精制样品、化合物鉴定、跟踪反应进程和柱色谱的先导（即为柱色谱摸索最佳条件）等方面。

1、薄层色谱常用的吸附剂

硅胶和氧化铝是薄层层析常用的固相吸附剂。化合物极性越大，它在硅胶和氧化铝上的吸附力越强，所以吸附剂均制成活性精细粉末。活化通常是加热粉末以脱去水分。硅胶是酸性的，用来分离酸性或中性的化合物。氧化铝有酸性、中性和碱性的，可用于分离极性或非极性的化合物。商用的硅胶和氧化铝薄层板可以买到，这些薄板常用玻璃或塑料制成。溶剂在薄层板上爬升的距离越长，化合物的分离效果越好。宽的薄层板也可用于量较大的样品，具有 1~2 mm 厚的大板可用于 50~1000 mg 样品的分离制备。

2、样品的制备与点样

样品必须溶解在挥发性的有机溶剂中，浓度最好是 1~2 %。溶剂应具有高的挥发性以便于立即蒸发。丙酮、二氯甲烷和氯仿等是常用的有机溶剂。分析固体样品时，可将 20~40mg 样品溶到 2mL 的溶剂中。在距薄层板底端约 1cm 处，用铅笔划一条线，作为起点线。用毛细管（内径小于 1mm）吸取样品溶液，垂直地轻轻接触到薄层板的起点线上。样品量不能太多，否则易造成斑点过大，互相交叉或拖尾，不能得到很好的分离效果。

3、展开

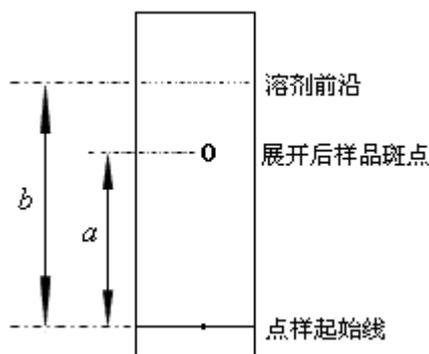
将选择好的展开剂放在层析缸中，使层析缸内空气饱和，再将点好样品的薄层板放入层析缸中进行展开。使用足够的展开剂以使薄层板底部浸入溶剂 3~5 mm，但溶剂不能太多，否则样点在液面以下，溶解到溶剂中，不能进行层析。当展开剂上升到薄层板的前沿（离顶端 5~10mm 处）或各组分已明显分开时，取出薄层板放平晾干，用铅笔划出前沿的位置后即可显色。根据 R_f 值的不同对各组分进行鉴别。

4、显色

展开完毕，取出薄层板，划出前沿线，如果化合物本身有颜色，就可直接观察它的斑点。但是很多有机物本身无色，可先在紫外灯下观察有无荧光斑点。另外一种方法是将薄层板除去溶剂后，放在含有 0.5g 碘的密闭容器中显色来检查色点，许多化合物都能和碘形成黄棕色斑点。也可在溶剂蒸发前用显色剂喷雾显色。

5、 R_f （比移值）的测定

R_f （比移值）表示物质移动的相对距离，即展开后样品点到原点的距离和溶剂前沿到原点的距离之比，常用分数表示。 R_f 值与化合物的结构、薄层板上的吸附剂、展开剂、显色方法和温度等因素有关。但在上述条件固定的情况下， R_f 值对每一种化合物来说是一个特定的数值。当两个化合物具有相同的 R_f 值时，在未做进一步的分析之前不能确定它们是不是同一个化合物。在这种情况下，简单的方法是使用不同的溶剂或混合溶剂来作进一步的检验。



$$R_f = \frac{\text{溶质移动距离}}{\text{展开剂移动距离}} = \frac{a}{b}$$

式中：a为溶质由点样中心到展开后溶质最高浓度中心的距离；b为由点样中心到展开剂前沿的距离。

三、实验步骤

1、制板及活化：每人制两块硅胶板。

(1) 选用 2.5×7.5 (cm) 规格的玻璃板两块，用肥皂水洗净，用蒸馏水淋洗两次后烘干，用时再用酒精棉球擦除手印至对光平放无斑痕。

(2) 称取 2g 硅胶 GF₂₅₄，边搅拌边慢慢加入到盛有 4~5mL 0.3% CMC 清液的烧杯中，调成糊状，平铺在玻片上。

(3) 晾干后放入 105~110℃ 烘箱内烘 30 分钟（活化）。

2、点样：靛酚蓝溶液、苏丹红溶液、混合样品溶液、苯甲酸乙酯溶液。

(1) 在 2.5 × 7.5 cm 的硅胶板上离底边约 1 cm 处用铅笔轻轻画一条直线，作为点样的起始线。

(2) 用不同的取样毛细管分别吸取上述四种溶液，均匀地点在起始线上，要控制好点与点、点与薄层板边缘之间的距离。

3、展开：

(1) 展开剂的选择：展开剂的选择主要根据样品的极性、溶解度和吸附剂的活性等因素，本实验分别选用石油醚：乙酸乙酯=9：1 和 2：1 的混合溶剂各 3mL，比较分离情况，加入层析缸(125mL 广口瓶)中，液层高度约 0.5cm。

(2) 展开：将点好样的硅胶板轻轻放入展开缸中，盖好瓶盖。当展开剂展开至其前沿距板顶 5~10mm 处时取出，立即用铅笔或大头针划出展开剂前沿位置。

4、计算 R_f 值:

溶剂挥发干后找出各样品斑点浓度最高部分的中心点。靛酚蓝、苏丹红有颜色，可直接观察。苯甲酸乙酯样点没有颜色，可将薄层板置于紫外灯（波长为 254 nm）下显色，分别量出 a、b 值，计算各点的 R_f 值。

四、问题

- 1、有 A、B 两瓶无标签试剂，如何用薄层色谱分析它们是否是同一化合物？
- 2、在层析缸中，若展开剂的高度超过点样线，对 TLC 有何影响？