

薄层层析硅胶板使用说明

薄层层析硅胶板涂层的主要成分为 $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ，化学性质稳定，除强碱和氢氟酸外，不与其他酸碱反应。具有点样斑点小，斑点清晰，分离时间短，分离效果好，塔板数高，灵敏度高等特点；对于某些微量以及成分复杂的化合物有很好的分离效果，适用于定性和半定量分析。广泛应用于医药，化工，生化，环保等系统的科研和检测。

■ 经典操作和注意事项：

1、点样

分析板：

点样一般为圆点(不能太大)，点样基线距底边 0.5~1.0 cm，点样直径 1~2 mm，点间距离 0.5~1.0 cm，点间距离可视斑点扩散情况来确定，以不影响检出为宜；

注意事项：

(1) 配制样品溶液时应选用对组分溶解度较好的溶剂；溶剂的粘度不宜过高，以便于点样；溶剂的沸点要适中，沸点过低，样品溶液中溶剂易挥发，会改变溶液浓度导致较大误差。沸点过高，会使样品溶液的溶剂残留于原点，导致展开剂极性异常变化，最常用的溶剂为甲醇；

(2) 点样时要控制力度，避免损伤涂层表面；

(3) 点样后必须待溶剂挥发完全后，再进行展开，但要避免长时间高温加热，以免改变待测组分的性质。

制备板：

取一块制备板，在距离底部 2~3 cm 处用铅笔画一条基线；取一次性滴管，在滴管口处嵌入适量脱脂棉后吸入待分离样品溶液，沿着制备板上的基线均匀移动，然后用吹风机吹干，重复以上操作，直至上样完成；将制备板置于展开缸中，硅胶面背对展缸玻璃面；展开结束后，取出、晾干，在紫外灯下面用铅笔标出所需的色带，用刮刀刮下，选择大极性溶剂，浸泡搅拌 1~2 小时，过滤、洗涤、旋干即可。

注意事项：

(1) 待分离的样品必须在硅胶中稳定，且难溶性样品不适合此方法；

(2) 上样量的计算方法：1 mm 厚的硅胶板的负载量不要超过 5 mg/cm^2 。以 $20 \times 20 \text{ cm}$ ，厚度为 1 mm 厚硅胶板为例：若上样带宽是 0.5 cm，板子两边空出 0.5 cm 边际，上样量约为 $0.5 \times 19 \times 5 = 47.5 \text{ mg}$ ，以此类推；

(3) 基线必须保持在展开剂的液面以上，防止待分离样品溶于展开剂；

(4) 为保证溶出效率，需将刮下的硅胶碾碎。安全起见，操作者应戴口罩，在风速小的环境下进行；

(5) 浸泡硅胶常用的溶剂是二氯甲烷/甲醇：20/1~10/1，注意不能超过这个比例，否则硅胶中的部分物质会被溶解；

(6) 制备板展开前后，要确保所有容器干净，尽量避免使用真空油脂。

2、展开剂

(1) 化合物分离效率大小用 Rf (化合物距离基线的距离除以溶剂的前沿距基线的距离) 值表达，Rf 值最好在 0.15~0.85 之间，尽量控制主要物质 Rf 值在 0.3~0.7 之间，Rf 值与展开剂的相对极性有密切关系。其中常用溶剂的极性顺序如下：水 (最大) > 甲酰胺 > 乙腈 > 甲醇 > 乙醇 > 丙酮 > 丙酮 > 二氧六环 > 四氢呋喃 > 甲乙酮 > 正丁醇 > 乙酸乙酯 > 乙醚 > 异丙醚 > 二氯甲烷 > 三氯甲烷 > 溴乙烷 > 苯 > 四氯化碳 > 二硫化碳 > 环己烷 > 己烷 > 煤油 (最小)；

(2) 展开剂的选择：单一的溶剂往往不能达到很好的分离效果，正常使用混合溶剂即高极性与低极性组成的混合体系(不限于 2 种，有可能是 3 种以上，根据底物的性质决定)，常用的溶剂组合有：石油醚/乙酸乙酯、二氯甲烷/甲醇、石油醚/丙酮、石油醚/二氯甲烷、乙酸乙酯/甲醇、乙酸乙酯/四氢呋喃、氯仿/乙酸乙酯、乙腈/水等，具体比例要结合实际情况或参考文献报道；

(3) 部分样品在薄层层析的展开过程中会有拖尾现象，主要是因为样品具有酸或碱的化学成分，且部分在溶液中电离，展开时存在分子，离子两种状态。主要解决方法：若样品酸性较大，一般在展开剂中加酸(0.1%~0.5%甲酸，乙酸)；若样品碱性较大，一般在展开剂中加碱(0.1%~0.5%氨水，三乙胺)。

3、展开室

薄层展开室需先用展开剂饱和，可在室中加入足够量的展开剂，并在壁上贴二条与室一样高、宽的滤纸条，一端浸入展开剂中，密封室顶的盖，使系统平衡。将点好样品的薄层层析硅胶板放入展开室的展开剂中，浸入展开剂的深度为距薄层板底边 0.5~1.0 cm(切勿将样点浸入展开剂中)，密封室盖，待展开至预定距离，取出薄层板，晾干，并进行后续的操作。

4、常用显色剂及其配制方法：

显色剂	检测物质	配制方法	显色方法
碘	不饱和或者芳香族化合物	在 100 mL 广口瓶中，加入 10 g 碘粒，30 g 硅胶	将薄层板放进碘缸片刻即显色，有时取出后加点水可增加显色的灵敏性，一般显黄棕色
磷钼酸	广谱	10 g 磷钼酸+100 mL 乙醇	烤枪加热至 120°C 有颜色形成，蓝色
茚三酮	含氮(伯、仲)化合物	1.5 g 茚三酮+100 mL 正丁醇+3 mL 乙酸	烤枪加热至 110°C 有颜色形成蓝紫色
高锰酸钾	含还原性基团化合物 如羟基、氨基、醛	1.5 g KMnO ₄ +10g K ₂ CO ₃ +1.25 mL 10% NaOH+200 mL 水使用期 3 个月	淡黄色背景黄色斑点
二硝基苯胂	醛和酮	12 g 二硝基苯胂+60 mL 浓硫酸+80 mL 水+200 mL乙醇	饱和酮立即呈蓝色；饱和醛反应慢，呈橄榄绿色，不饱和羰基化合物不显色
溴甲酚绿	羧酸，pKa≤5.0	在 100 mL 乙醇中，加入 0.04 g 溴甲酚绿，缓慢滴加 0.1 M 的 NaOH 水溶液，刚好出现蓝色即可	烤枪加热至 110°C
氯化铁	苯酚类化合物	1% FeCl ₃ +50% 乙醇水溶液	酚类呈蓝色或绿色，羟酰胺呈红色
茴香醛 1 (对甲氧基苯甲醛)	广谱	135 mL 乙醇+5 mL 浓硫酸+1.5 mL 冰醋酸 +3.7 mL 茴香醛，剧烈搅拌，混合均匀	烤枪加热至 120°C，颜色不一定
茴香醛 2 (对甲氧基苯甲醛)	萜烯、桉树脑，出油柑橘	茴香醛：HClO ₄ ：丙酮：水=1:10:20:80	烤枪加热至 120°C，颜色不一定
硫酸铈	生物碱	10% 硫酸铈(IV) +15% 硫酸的水溶液	烤枪加热至 110°C，8 min 颜色不一定
香草醛(香草素)	广谱	15 g 香草醛+250 mL 乙醇+2.5 mL 浓硫酸	烤枪加热至 110°C，颜色不一定

5、储存与活化

薄层层析硅胶板具有很强的吸湿性，应存放于密封干燥处，请勿与易挥发性物质一起存放。拆封后未用完的硅胶板应立刻密封，以免吸潮或吸附其他化学物质而影响分离性能；若硅胶板吸潮，可活化后再使用(放置于 110°C 的烘箱中，烘 30 分钟)。

6、安全防护措施

薄层层析硅胶板的使用中需要全程戴手套，若不小心被玻璃板划伤，可参考如下方式做紧急处理：

- (1) 若伤口不大不深，出血不多，伤口干净，可用酒精消毒伤口周围，不要将消毒液弄进伤口内，待干后用消毒纱布覆盖包扎，或用创可贴粘贴；
- (2) 若伤口不干净，要先用碘酒沿周围皮肤消毒一次，再用酒精消毒两次，然后用少量生理盐水冲洗伤口，冲洗时用药棉轻轻擦拭伤口，去除异物，最后再对伤口周围的皮肤进行再一次消毒，并用纱布覆盖包扎；
- (3) 若伤口较深，接触到化合物，请速去医院，进行专业的医护处理，必要时注射破伤风育苗。

声明：乐研产品仅用于科学研究，我们不为任何个人用途提供产品与服务。