



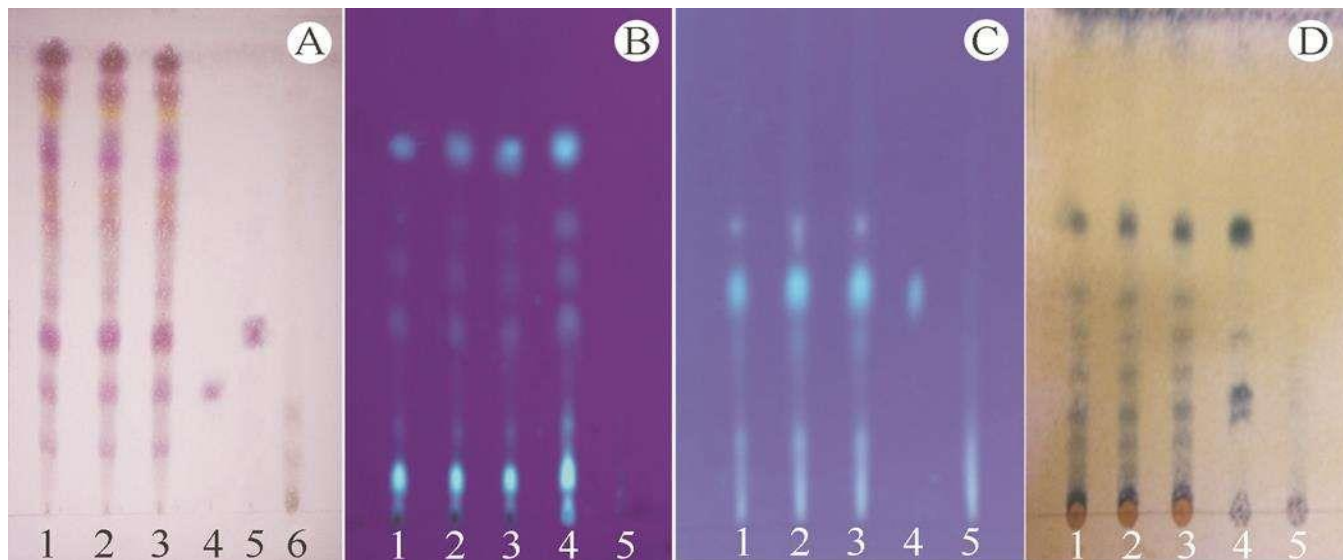
薄层层析

华东理工大学有机化学教研室
有机化学实验室



一、实验目的

- 1、了解色谱法的概念和种类
- 2、了解薄层色谱的原理
- 3、掌握薄层色谱的操作方法



色谱法（也称层析法）

- ◆ 是分离、提纯和鉴定有机化合物的重要方法
- ◆ 利用待分离混合物中的各组分在某一物质中（**固定相**）的亲 and 性差异（如吸附性差异、溶解性差异等），让混合物溶液（**流动相**）流经固定相，使混合物在流动相和固定相之间进行反复吸附或分配等作用，从而使混合物中的各组分得以分离

色谱法种类——按流动相和操作形式

柱色谱 (Coloum Chromatography)

纸色谱 (Paper Chromatography)

薄层色谱 (Thin Layer Chromatography)

气相色谱 (Gas Chromatography)

高效液相色谱 (High Performance Liquid Chromatography)

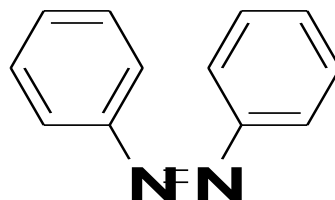
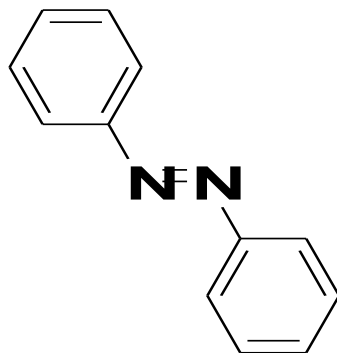
超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography)

二、实验原理

- ◆ 薄层色谱是一种微量、快速、简单的定性分析分离方法。
- ◆ 将吸附剂涂在玻璃板上作为**固定相**，经干燥活化后点上待分离样品，选用适当的有机溶剂（**流动相**）作为展开剂。
- ◆ 利用样品各组分在展开剂中亲和能力的差异以及被吸附剂吸附能力的不同，将各组分彼此分开。

- ◆ 样品混合物中吸附能力弱的组分随展开剂向前移动快；吸附能力强的组分随展开剂向前移动慢。
- ◆ 如果样品本身有颜色，薄层板上将显示各种有色斑点，每一个斑点代表一个组分（如果样品本身无色，则可用各种显色方法使之显色）。薄层板上每个组分上升的高度与展开剂上升的前沿之比即为比移值 R_f 。
- ◆ 极性大的溶质与吸附剂作用强，向前移动慢， R_f 值就小；相反，极性小的溶质与吸附剂作用弱，向前移动快， R_f 值就大。

实验对象——偶氮苯



偶氮苯化合物含有共轭 π 体系，基态稳定的反式偶氮苯在光照下能吸收紫外光形成活化分子。活化分子失去过量的能量回到反式基态或由于光能克服异构化的能垒使反式异构体转换为顺式异构体，得到顺式和反式两种异构体的混合物。

在薄层板上，没有经过光照射的偶氮苯只有一个斑点，而经过光照射的偶氮苯则有两个斑点。反式偶氮苯的偶极矩为 **0**，顺式偶氮苯的偶极矩为 **3.0 D**。两者极性不同，可借薄层色谱把它们分开，分别测定它们的 R_f 值。

三、实验化学品

试剂	m.p/°C	b.p/°C	$\rho/\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$	性质
层析用 硅胶G				含锻石膏
环己烷	6.5	80.7	0.78	无色液体、有刺激性 不溶于水，溶于乙醇、乙醚、 苯、丙酮等多数有机溶剂等有 机物
乙酸乙酯	-83.6	77	0.902	无色液体、易燃、有刺激性 微溶于水，溶于醇、酮、醚、 氯仿等多数有机溶剂
偶氮苯	66	293	1.02	橙色至红色晶体，有毒，易燃 不溶于水，溶于乙醇、乙醚和 醋酸

化学品危险性

偶氮苯

有毒，易燃；遇明火、高热可燃。受高热分解放出有毒的气体。

低毒，半数致死量（大鼠，经口）
1000mg/kg。有致癌可能性。

本实验采用1%偶氮苯的乙醇溶液

环己烷

对眼和上呼吸道有轻度刺激作用。持续吸入可引起头晕、恶心、倦睡和其他一些麻醉症状。液体污染皮肤可引起痒感。

该品极度易燃。
皮肤接触：用肥皂水和清水彻底冲洗。
眼睛接触：提起眼睑，用流动清水或生理盐水冲洗。就医。
吸入：迅速脱离现场至空气新鲜处。保持呼吸道通畅。

乙酸乙酯

低毒类。
急性毒性：LD₅₀为
5620mg/kg（大鼠经口）
人吸入400ppm短时间，眼、鼻、喉有刺激。

燃烧性：易燃
闪点（℃）：-4℃（闭杯），7.2℃（开杯）
引燃温度（℃）：426
爆炸下限（%）：2.0
爆炸上限（%）：11.5

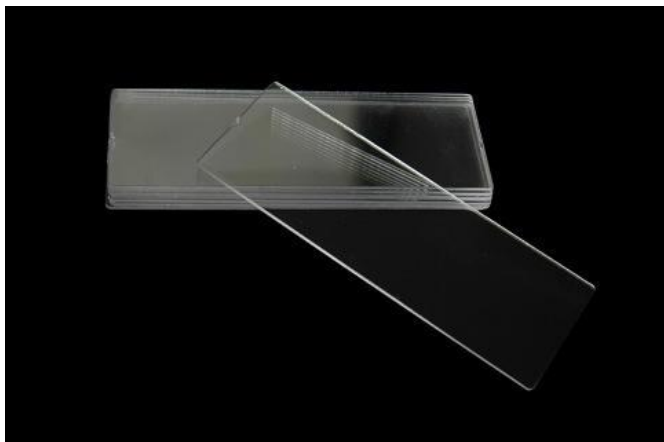
吸附剂

薄层层析用吸附剂通常有硅胶和氧化铝

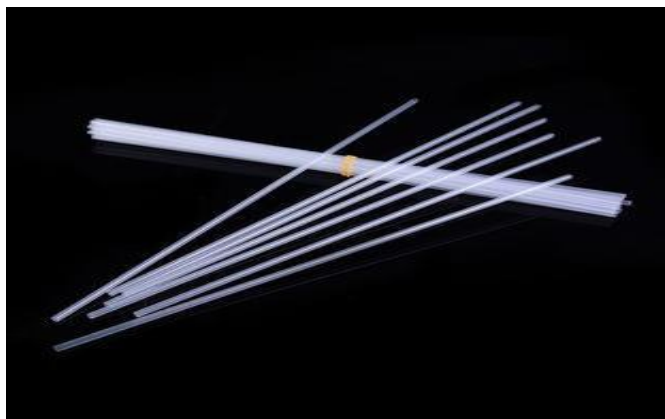
薄层层析用硅胶：

- ◆ 硅胶H——不含有粘合剂和其他添加剂的硅胶
- ◆ 硅胶G——含煅烧过的石膏 ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) 作粘合剂的硅胶，标记G代表石膏 (gypsum)
- ◆ 硅胶HF₂₅₄——含荧光物质用硅胶，可用于254nm的紫外光下观察荧光
- ◆ 硅胶GF₂₅₄——含煅烧石膏和荧光物质的硅胶

四、实验器材



载玻片



点样毛细管



层析缸

五、实验操作步骤

- 1、配料、铺板
- 2、烘干活化
- 3、准备层析缸、配展开剂
- 4、点样
- 5、展开
- 6、测量并计算 R_f
- 7、回收、清洗、整理

配料、铺板

100mL
干净烧杯



称取1.5g硅胶G
+ 5mL去离子水

玻棒搅匀

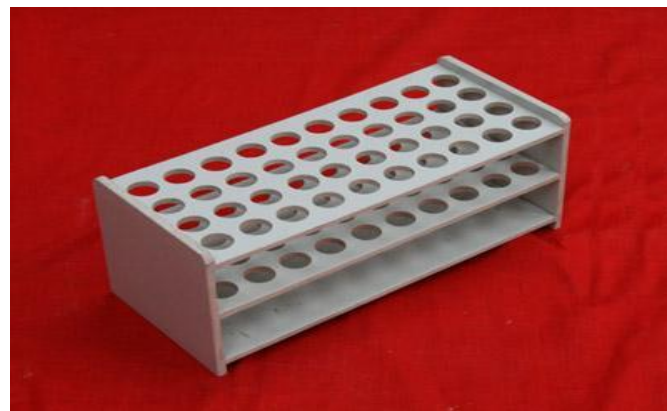


倾倒法均匀铺板 × 2

★要求：涂层厚薄适中，均匀铺满整个载玻片

烘干活化

铺好的薄板



平放，每人两片
记住自己所放位置



电热烘箱中
105~110℃, 30~40min, 烘干

准备层析缸



或



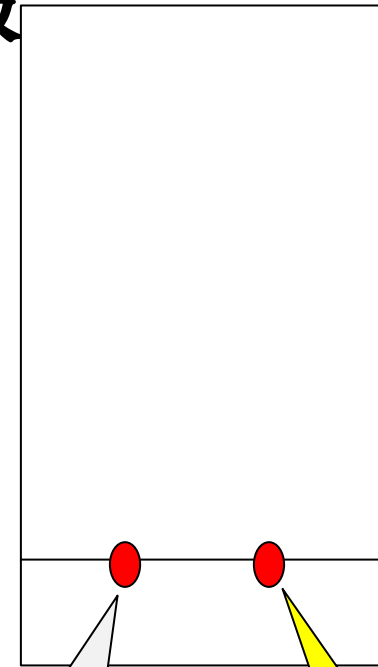
干净、干燥
每人一套

配展开剂

- ★ 此工作由值日生完成
- ★ 准备干净干燥的250mL烧杯、25mL量筒和玻棒
- ★ 量取8mL环己烷、0.5mL乙酸乙酯
(单人量、总量根据实验班学生人数定，可过量1~2人量)，混合均匀
- ★ 每个学生自己用干净干燥的10mL量筒量取8mL，倒入层析缸，盖好盖子备用

划线、点样

- ★ 取出烘干的薄板、冷却
- ★ 在板离底部约1cm的地方用铅笔轻轻的划一条线，注意不要把涂层划破
- ★ 用点样毛细管在线上点一个未光照偶氮苯样品和一个已光照偶氮苯样品，样品点直径不能大于2mm，且在板上保持一定间距

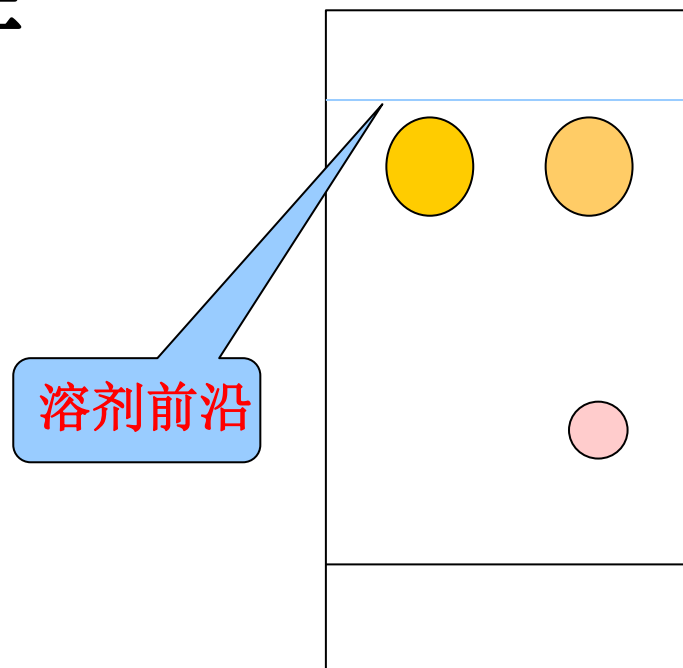


未光照

光照

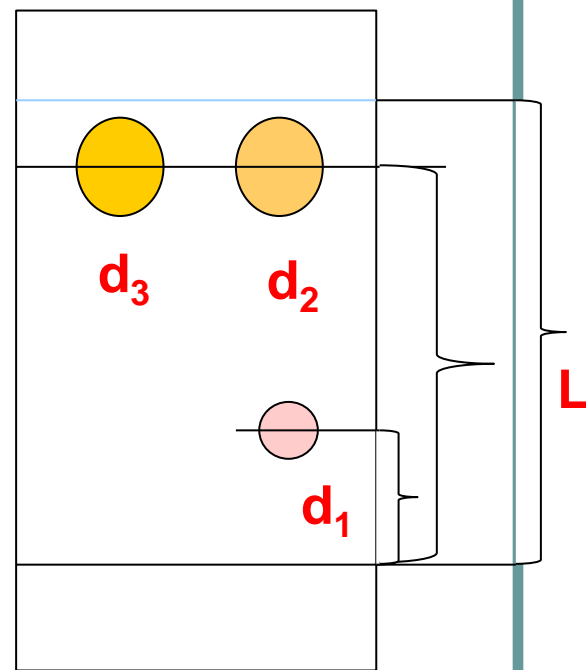
层析展开

- ★ 将点完样的薄板放入层析缸，盖上盖子
- ★ 随着展开剂的上升，样品逐渐沿展开剂上升的路线向上展开
- ★ 注意：在展开的过程中，溶剂前沿不能到达薄板顶部，
- ★ 取出后迅速做好相应的记号



测量、计算 R_f 值

- ★ 另一块薄板重复上述操作
- ★ 用直尺分别测量从点样原点至样品展开后的斑点之间的距离，此为 d
- ★ 点样原点至溶剂前沿之间的距离，此为 L
- ★ $R_f = d/L$,
- ★ 此实验应有3个 d 值，1个 L 值，计算得到3个 R_f 值



回收、清洗、整理

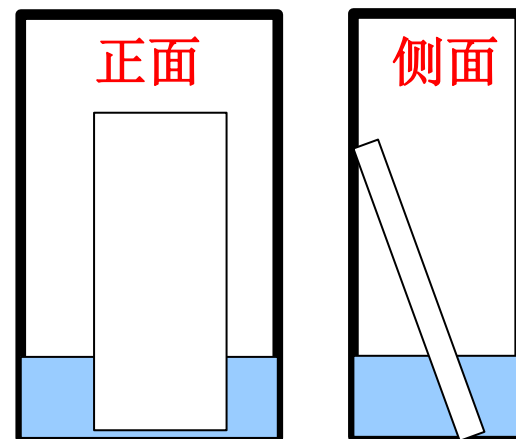
- ★ 实验结束、展开剂回收至回收瓶中，层析缸清洗干净，在气流干燥器上烘干，放回原处
- ★ 薄板用自来水冲洗干净，放回原处
- ★ 其他烧杯、量筒和玻棒等清洗干净，放进自己柜中，锁好柜门
- ★ 擦干净实验桌面，拉下防护窗

六、注意事项

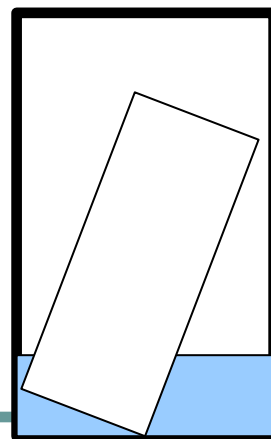
- ◆ 展开剂各组分的挥发程度不同，最好现配现用，保证比例正确。
- ◆ 点样位置必须在展开剂的液面之上，以防样品溶解在展开剂中。
- ◆ 注意观察展开剂的位置，作好标记。不要让展开剂的前沿上升到薄板前沿，否则无法准确测量展开剂的上升高度，影响 R_f 值的正确性。

注意事项

- ◆ 点样用的毛细管应专用，不能混用，以免污染样品。点样时，使毛细管液面刚刚接触到薄层即可，切忌点样过重，破坏薄层。
- ◆ 薄板放进层析缸中应保持正面垂直，不能倾斜，以免实验失败



正确



错误

七、思考题

- 1、当薄板放进层析缸时，**展开剂初始高度超过薄层板上点样线**时，对薄层色谱有什么影响？
- 2、用薄层色谱分析混合物时，如何确定各组分在薄板上的位置？如果**斑点出现拖尾**现象，可能是什么原因引起的？
- 3、薄层色谱中如果样品**斑点形状不规则**，呈现月牙形、扁圆形或纺锤形等情况，应如何计算 R_f 值？
- 4、如果待分析样品无颜色，有哪些使之**显色**的方法？