

簡介薄層彩色分析法

藥一 林哲男 徐茂樹

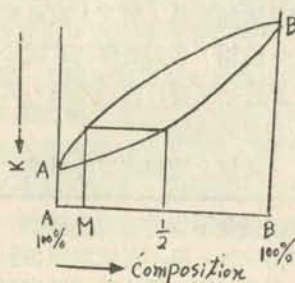
前言：近世化學分析法日新月異，而彩色分析法在近世分析學尤佔有極重要之地位，其中薄層彩色分析法更崛起四五年前，由於操作簡單便利，故為舉世所重視，自1949年至1961年10餘年之間，發表有關論文已達200篇之多，單1961年一年中論文即有七十餘篇，其被重視及發展之速可見也，本校為充實實驗設備，培養師生研究風氣，特託顏焜榮教授自日本購得薄層彩色分析裝置一組，此實北醫學生之一大福音，我們會參考不少文獻，對其操作及利用，略有心得，願與綠杏讀者共同研究討論，俾更完臻，同時更請先進不吝指教，則吾等幸甚也，茲簡介如下：

一、原理：薄層彩色分析(Thin-layer chromatography) 簡稱 T. L. C.，其原理與圓柱彩色分析(Co.umn Chromatography) 同，故又名圓柱展平之彩色分析法(Open Column Chromatography)，一般而言彩色分析法之原理與分餾及再結晶之原理同，吾人可想像將彩色分析法之担休(Support)分為若干層，使每層之預測混合物質之比例與溶劑通過此處所溶出之比例同，則吾人可利用各物質對二種溶劑之分散率(Distribution Coefficient)之不同，而將不同之物質分開，設有A、B之混合物，A、B之分散率各為Ka、Kb

$$K_a = \frac{\text{Conc in Solvent}}{\text{Conc in Support}}$$
，則由Fig 1知若A：

B = 1 : 1，則經第一分層後二者之比例為M，此時M已趨近A，如此經若干分層後，可得純A及純B。

二、裝置：本校所購得為 Stahl 型之裝置，包括① 5×20cm, 20×20cm 玻璃板，② Applicator (暫譯敷劑器)，③ 密閉展開槽內附溶劑槽及支架，④ 平塑膠板，⑤ 貯藏箱⑥ 噴霧器。



三、操作方法：實驗方法與上升式濾紙色圖分離法相似，也分為單向(One dimension)及二向(two dimension)展開兩種，只是玻璃板垂直放在展開劑中而不需懸掛，其操作程序為：(A) 吸着劑之塗敷

(a) 置乾淨之玻璃板(5×20, 20×20cm)於平塑膠板上。

(b) 取適當量之吸着劑(氧化鋁，矽氧膠，矽藻土)加二倍量蒸餾水在研鉢中研磨使均勻，倒入敷劑器內。

(c) 將已倒入吸着劑之敷劑器置於平塑膠板上

之玻璃板上，轉動把手迴轉180°後等速推動使其於板上滑行，(吸着劑由加水調和至塗敷，須四分鐘內完成)。

(d) 置已敷吸着劑之玻璃片烘箱內(105°)烘30分，取出放在儲藏箱裡，但假如所用試料是親水性之物質，則取出後即馬上做實驗。

(B) 試料之塗布：試料依實際需要配成適宜濃度的溶液(0.1%或1%或5%)，用微量滴管滴在薄層之玻璃上距底邊約2Cm的平行線上，但點的面積越小越好。

(C) 展開：取適量之展開溶劑注入溶劑槽中，密閉展開槽，靜置1小時後將已塗敷試料之玻璃片置入槽中，展開至一定高度，取出乾固。

(D) 分別帶之顯出：以適當之呈色劑(Colour reagent)用噴霧器噴於已展開完畢之板上，置入烘箱內加熱至100°C 15—30分，取出即有色帶顯出，各色帶之Rf值可與標準純物質對較而鑑定此試驗物質為某種物質。

四、影響Rf值之因素：

(A) 溫度：溫度雖對T.L.C. 略有影響，但其影響力遠不及對Paper partition chromatography(簡稱P.P.C)大，但若用(沸點)b.p. range很大的溶劑為展開劑時，則溫度之影響力不容忽視。

(B) 薄層厚度：厚度在50u—200u之間時，Rf值變化最大，至200u以上則無大差異。

(C) 展開槽中之氣壓：若展開槽中未飽和時，則板上之平衡未能完全，Rf值亦將受其影響。

(D) 結合劑：Silica gel中所加CaSO₄·½H₂O為結合劑之量，對Rf值影響不大，但對Alumina 則有影響(吸着力改變)。

(E) 吸着劑之含水量：其因素對Silica gel 影響較小。

(G) 所塗之試料濃度：過濃時則產生拖尾(tailing)現象，使Rf值增大。

即使這些因素全能固定，Rf值還要決定於所用之溶劑之性質，故一般說來Rf值不可靠，故有建議以Rb值代之者。(Rb=dist travelled by the Compd/dist travelled by the Butter yellow)

(五) 應用：五種Steroids的分離：

(A) 試料：(a) Pregnane-3α, 20α-diol。(b) Pregnane-2α, 17α, 20α,-triol。

(c) Estrone。(d) Estradiol。(e) Estriol。

(B) 展開劑：CHCl₃:MeOH(97:3)

(C) 呈色劑：SbCl₃ in CHCl₃

(D) 結果：Fig 4

(下轉第58頁)

。他會詳盡的為我們講解課程上及做人方面的道理，他常常單獨地問每一個人說：「你近來是否鬆懈下來呢？不可以的，要好好用功。」這種感化方式，我們能不動心嗎？他訓示我們：「有問題盡量問，我領學校的薪水，因此我有毫不藏私地教導你們的義務，也有詳盡答覆你們疑難的責任。我們做學問，心胸要開闊，態度要認真，我們要在國際上跟人家爭，不要在你我之間鉤心鬥角。」高雄醫學院每年聘他兼任藥品鑑定課程，上過他的課的學生，也跟我們一樣對他尊崇的人品和認真教學的態度，表示發自肺腑的敬仰。

畢業旅行到達洄春的四重溪時，兩位男同學感冒得很嚴重，一位發高燒，一位聲音嘶啞，他淋大雨，跑遍了四重溪，却買不到藥品，真急壞了他，好在有位同學攜帶抗生素，給那兩位同學服用，他才稍放了心，並且要其中的一位跟他同床而眠，以便照顧，對另外一位同學，則派專人照料，而一夜之間又來查看六、七次。翌晨至大城鎮，即刻買治療藥品以及克勞酸，強迫那兩位同學服用。旅行中，車行於崎嶇山路時，他總坐在最後的座位，忍受最厲害的顛簸，同學們要請他在稍前的座位落座，却被婉拒了，真是令人敬佩。

為了增加我們的學識，這學期聘請很多位教授任課，他有時跟任課教授一同乘計程車到校，當然車資是他付的，有時又請教授共進午餐。沒有交際費，為了我們，他的薪水就這樣子被打了個大折扣

。他反對學校的轎車去接他，却藉口道：「我要走路運動！」

他的許多假日和星期日，都被我們給佔用了，很多假期或星期日，只要有一位同學說要到學校來做實驗，他必定竭誠歡迎，並且親自到校指導，有時陪我們做實驗直到深夜才離校。因為他一向極注意水電的安全問題，有些同學說：「那怕是大年初一，我們要到學校實驗，他必定會來指導我們。」這句話說得並不過份，因為從他的涵養和人格看來，我們可以得到肯定的答案。

三年來，我們受他的感召比誰都深遠，所有的同學一致認為他是我們生平所遇到感人最深，受人最切的導師。相信以後再也難遇到這樣的恩師了。他時常暗示我們：藥學是救國的基本科學之一，要我們盡最大的努力，為藥學，為救國而竭頭苦幹。時間是有情的，它帶給我們這位恩師的愛，時間也是無情的，它將教我們離開這位恩師，這怎能叫我們不黯然神傷，心中一片茫然呢？昔日孔子仲尼有七十二位賢弟子，今天，他有七十二位化了三年多時間經心培養，滋潤而長大的門徒就要畢業離去，我想他該是多麼自慰。同時我更相信這七十二位門徒必會永遠記取恩師的教誨，為不負恩師殷切的期望而努力，而邁進。

朋友！現在您看過了這幅畫像，您能說我的收穫太少嗎？

(上接第56頁)

Substance Data	Pregnane-3 α , 20 α -diol	Pregnane-3 α , 17 α , 20 α -triol	Estrone	Estradio	Estriol
Rf 值	0.52	0.22	0.86	0.69	0.15
Color	Black Blue	Black Blue	Purple	orange red	Black Blue

Fig 4a

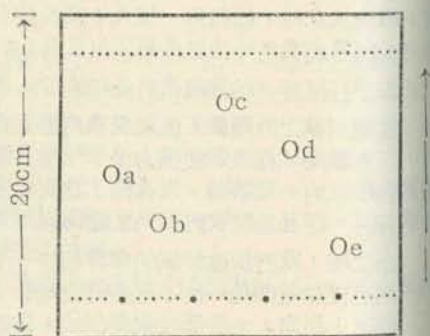


Fig- 4b

六、優點與缺點：

(A) 優點：(a) 簡易性：設備費用低廉，除 Applicator 外，其餘零件在台灣均可隨時製造補充，而且裝置簡單，操作方便，非熟練者亦能操作。

(b) 迅速性：T. L. C. 之操作時間遠較 P. P. C. 省時，大約 40 分左右就能完全展開，而 P. P. C. 要 10—12 小時。

(c) 分離效率：比圓柱法 (Column Chromatography) 設滷法 (P. P. C.) 好，即分離比較完全。

(d) 靈敏性：比 P. P. C. 檢出靈敏度約 10—100 倍即 P. P. C. 確認量為 10—500 μ g，而 T. L. C. 為 0.1 μ g—10 μ g。

(e) 呈色試藥多樣性：例如腐蝕劑—硫酸 StCl_3 等 P. P. C. 法不能以此為呈色劑，而 T. L. C. 却可以，此為 T. L. C. 之特點。

(d) 清晰性：顯色後吸着劑不變色，故色點分明不像 P. P. C. 含糊不清。

(B) 缺點：(a) Rf 值的再生度 (reproducibility) 不及 P. P. C. 法大。

(b) 吸着劑 (氧化鋁，矽膠，矽藻土) 的薄層不易保存。

(c) 吸着劑貴，而且在台灣不易買到，現在正在努力搜求價廉物品吸着劑，以利實驗。

本實驗蒙賴煒榮教授指導，謹此致謝。