

中药检验中薄层色谱的边缘效应

赵维良* 钟丽萍 (浙江省药品检验所, 杭州 310004)

陈国强 (义乌市药品监督检验所, 义乌 322000)

摘要 中药检验中薄层色谱在各种因素的影响下, 可产生5种不同形态的边缘效应。边缘效应产生的最根本原因是层析缸中溶剂蒸汽的不饱和状态。

关键词 边缘效应 薄层色谱 中药检验

薄层色谱在中药材和中成药的鉴别、检查和含量测定中起着极其重要的作用, 但该法常受边缘效应的干扰而使化合物的 R_f 值发生异常变化, 从而影响鉴别结果的正确判断和含量测定的正确性。笔者根据多年工作经验, 并参考了有关薄层色谱的文献^[1-4], 阐述了中药检验中薄层色谱边缘效应的表现形态、产生的原理, 造成边缘效应的因素及防止办法。

1 边缘效应的表现形态及其产生的原理

1.1 凹弧形边缘效应。此类边缘效应首先由 Stahl^[1]发现, 他在薄层色谱试验中发现: 相同物质的斑点, 靠近薄层板边缘处的 R_f 值比中间的大, 把它们横向连接, 可形成一凹弧形(图1)。因为在不饱和层析缸中, 薄层板吸附剂上的溶剂在不断的挥发, 板的边缘比中间挥发快, 挥发掉的溶剂由板的下部向上部补充, 边缘处因挥发的较多, 故补充得也较多, 由此推动边缘的化合物移动得更快(Stahl 效应)。随后 Demole^[2]在薄层色谱的实验中也发现了此类边缘效应。他还注意到了当所用的展开剂为混合物, 且各组分间的极性、蒸汽密度等差异较大时, 更易引起边缘效应, 这是因为混合展开剂在薄层板上展开时, 极性较弱、蒸汽密度较大的组分挥发较快, 而展开剂在薄层板边缘的挥发速度又比中间快, 由此造成极性较大的组分在薄层板边缘的浓度比中间的大, 所以在边缘更易推动化合物向前移动(Demole 效应), 结果产生了凹弧形边缘效应。

1.2 幅射状边缘效应。RA De Zeeuw^[3]在薄层色谱试验中发现, 化合物展开时, 斑点除向上移动外, 尚横向往外移动。化合物的 R_f 值越大, 往外移动的距离也越大, 原点越靠近边缘, 往外移动也越明显(Zeeuw 效应), 数个原点展开的结果, 形成了幅射状边缘效应, 笔者在人参的薄层色谱试验中也发现过此类边缘效应(图2)。薄层板在展开过程中, 由于边缘的展开剂挥发较快, 造成中间的展开剂浓度比边缘大, 展开剂从高浓度向低浓度移动, 即从中部向边缘移动, 由此引起斑点由中部横向往二边移动而形成幅射状边缘效应。

1.3 混合型边缘效应。此类边缘效应为凹弧形和幅射状边缘效应同时作用于薄层色谱板而形成(图3)。此类边缘效应未见文献记载, 其产生是由于薄板边缘的斑点受边缘展开剂较快挥发的影响, 在比中间斑点向上更快移动的同时横向往外移动的结果。当层析缸盖子二端的密封程度较差时, 此类边缘效应较易产生。

1.4 凸弧形边缘效应。此类边缘效应亦未见文献记载, 其薄层板边缘斑点的 R_f 值比中间的小(图4)。当用各组分的极性和蒸汽密度差异较大的混合展开剂展开极性较小的化合物时, 可能见到这类边缘效应。笔者认为其产生的原理为: 当极性和蒸汽密度具一定差异的混合溶剂作展开剂时, 板上展开剂蒸发的结果使薄板边缘的展开剂比中间的极性更大, 而某些被展开的弱极性化合物与极性溶剂的亲性和比其

*赵维良, 男, 35岁, 主管药师, 1986年毕业于浙江医科大学药系, 获硕士学位。

与非极性溶剂的亲性和小,因而在极性较大的展开剂中反而比在极性较小的展开剂中展开得慢(Zhao效应),由此造成了中部比边缘的Rf大的凸弧形边缘效应。此类边缘效应较少见,只有当Zhao效应明显大于Stahl效应时,才有可能产生。

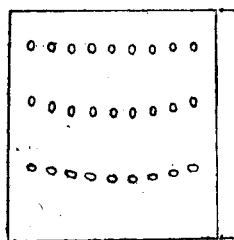


图1. Stahl发现的凹弧形边缘效应

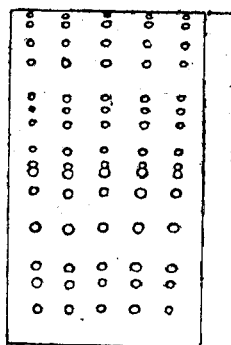


图2. 辐射状边缘效应

样品: (1)麦角列斯汀碱
(2)麦角胺
(3)麦角米特合碱
展开剂: 氯仿-甲醇(95:5)

样品: 人参皂甙提取物
展开剂: 氯仿-甲醇-水
(65:35:10)下层液
显色剂: 10%硫酸乙醇溶液

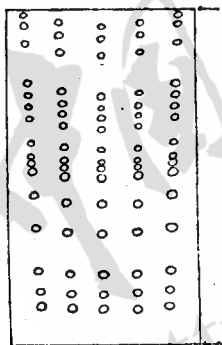


图3. 混合形边缘效应

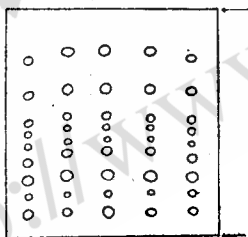


图4. 凸弧形边缘效应

样品: 西洋参皂甙提取物
展开剂: 氯仿-甲醇-水
(65:35:10)下层液
显色剂: 10%硫酸乙醇溶液

样品: 抗喘保健包乙醚提取物
展开剂: 环己烷-醋酸乙酯
(17:3)
显色剂: 1%香草醛硫酸液

1.5 不定形边缘效应。此类边缘效应形态不定, Rf 值的变化无一定规律, 有时左边 Rf 值比右边大, 有时右边比左边大。这是由于层析缸与盖子的密封均匀性较差造成的。因为展开剂在层析缸密封

程度较差(泄气)的位置向外挥发较快, 从而引起薄层板靠近该位置处斑点的 Rf 值增大。随着泄气位置的变化, 产生较大 Rf 值的位置也随之变化, 因而造成了不定形的边缘效应。

尽管边缘效应的表现形态不同, 但其形成的根本原因是层析缸中溶剂蒸汽的不饱和状态。关于这一点, Stahl 和 Demole 都持相同的观点。可是 RA De Zeeuw^[3]对此不持赞同的意见。笔者认为, Stahl 和 Demole 对边缘效应的解释是正确的。我们对丹参的薄层色谱试验亦证实了这一解释: 把层析缸人为地置通风柜中通风展开, 因层析缸与盖子不可能完全密封, 通风时, 层析缸中的展开剂向外挥发加快, 结果造成了明显的边缘效应。可是, 当层析缸内壁贴上被展开剂湿透的滤纸, 并把层析缸置不通风的层析柜中展开时, 由于饱和性大大增加, 色谱结果基本上无边缘效应。

2 引发边缘效应的因素及其防止措施

2.1 展开剂各组分的极性和蒸汽密度的大小。如前所述, 如展开剂各组分的极性和蒸汽密度相差较大, 则易产生 Demole 效应, 如展开剂各组分的极性均小而蒸汽密度均较大, 则易产生 Stahl 效应, 二者均可引发边缘效应。但是, 展开剂选择的主要原则是获得较佳的分离效果和合适的 Rf 值, 所以, 在选择展开剂时不必过分考虑边缘效应对薄层色谱的影响。

2.2 层析缸的容积、密封度和密封的均匀性。如果层析缸的容积过大或密封程度不好, 会使展开剂的饱和性下降, 导致明显的边缘效应。而当层析缸与盖子密封的均匀性较差时, 会引起如前所述的不定形边缘效应。因此, 在可能的情况下, 应选择较小容积的层析缸。同时, 层析缸的翻口应宽, 并具磨砂, 与盖子应紧密结合, 使用时应在口盖结合处均匀地涂抹适量凡士林以增加密封性。

2.3 层析缸周围的环境条件。如果层析缸置空气流通速度过大处, 则流通的空气会加速缸中展开剂的挥发, 导致边缘效应的产生。所以层析缸应置不通风的层析柜中并关上柜门展开, 切忌开启换气扇。另外, 因展开剂的挥发性随着温度的升高而增加, 所以, 高温可使薄层色谱的边缘效应变得较为明显。所以, 薄层色谱试验最好在恒温实验室进行, 高温天气时, 如无恒温实验室, 宜在早、晚气温稍低时进行。

(下转第40页)

(上接第29页)

2.4 展开的高度和时间。薄层色谱随着展开高度的增加和时间的延长,薄层板上展开剂的挥发总量增加,展开剂在单位时间内的挥发量也随之增大,故展开高度越大(或时间越长),边缘效应也越明显。所以,如果薄层色谱所要分离的成分较少或欲分离的成分之间的分离度较大,则展开的高度可以低一点,时间可少一点。

2.5 被分离物质的性质:由于 Demole 效应的作用,当被分离物质为极性较大的化合物时,较易产生边缘效应。实际工作中常发现:在用薄层色谱展开中药中极性较大的成分时较易产生边缘效应。而较大极性的展开剂却不一定更能推动较小极性的化合物,所以,一些极性较小的化合物较不易产生边缘效应。

为防止或减小边缘效应的产生,在薄层色谱的操作中还需注意以下几点:1.离薄层板纵向中线等距的点,其受边缘效应影响的程度也相等,且距中

线越近,边缘效应的影响越小,反之则越大。所以,点样时对照品和被对照品应尽量点于与中线等距的二点上,并且以靠近中线为佳。2.层析缸在展开前应预饱和,薄层板放入层析缸的速度要快。3.对于层析结果要求较高的薄层色谱(如用作定量等),可在预饱和和前于层析缸内壁贴上被展开剂湿透的滤纸。这样,层析缸中展开剂的饱和度大大增加,可使边缘效应大大减小以至消失。4.薄层板应置于层析缸的中部,如偏向一边,会使薄层板二边展开剂的挥发不均匀,而可能引发轻微的边缘效应。

参 考 文 献

- 1 Stahl E. Arch Pharm, 1959, 292:411
- 2 Demole E. J Chromatog, 1958, 1:24
- 3 洪筱坤等译. 层析理论与应用, 上海: 上海科学技术出版社, 1981, 132
- 4 中国医学科学院药物研究所. 薄层层析及其在中草药分析中的应用, 北京: 科学出版社, 1978, 63

收稿日期: 1994-02-02

Discussion of the Edge Effects on TLC in Quality Control of Chinese Drugs

Zhao Weiliang, Zhong Liping

(Zhejiang Provincial Institute for Drug Control, Hangzhou 310004)

Zhen Guoqiang

(Yiwu Institute for Drug Control, Yiwu 322000)

Abstract Five forms of edge effects may appear during TLC tests in quality control of Chinese drugs because of the affection of various factors. The principal factor of the appearance of edge effects is the unsaturated vapor in TLC tank.

Key words Edge effect Thin layer chromatography Quality control of Chinese drugs

(on page 28)