

分子種類的分離

——層析術簡介——

蘇賢錫

國立臺灣師範大學 物理系

從最簡單的濾紙層析術 (Paper Chromatography) 到價值較高昂的高性能液相層析術 (High Performance Liquid Chromatography) 裝置，名稱叫做某某層析術的分離法或分析法，為數不少。但其共同點是，讓流體 (移動相) 通過固定相，使試料 (溶質) 在固定空間移動，來分離各成分。「層析術 (Chromatography)」一詞，其由來是希臘字 chroma (色) + graphos (描繪)，本來是表示植物色素在填充了粉筆粉末的管柱內分離成為幾種帶狀物的現象。本文將透過簡單層析術實驗來體驗，乍看之下是均勻的身邊「物質」(例如水性藍墨水)，其實是包含許多成分 (這例中是色素) 的混合物，同時，說明層析術可以廣泛用來分離「物質」的構成成分。

一、前言

自古以來，要除去衣服的汙點時，有所謂「去汙法」。通常的做法是，令汙面朝下，放在乾淨的乾布上，用絞緊的濕毛巾敲打衣服的裏面，把汙點移到乾布上來達到去汙的目標。至於油性汙點，則用揮發油來替代水。用層析術的術語來說這件事，就是將保持在固定相 (衣服) 的溶質 (汙點) 溶出在移動相 (水或揮發油)，令其朝向運動方向去移動。

1906 年，俄國植物學家朱也特 (Michael S. Tsvet) 令綠色植物的石油醚萃取液滲入填充在玻璃管的碳酸鈣粉末管柱上端，再注入石油醚，結果發現分成幾個帶狀的色素在管柱內流下來。他指出這現象是色素分子對管柱內填充粒子的吸附力之差異所導致的，並且宣稱可以利用這現象來分離各成分，於是朱也特成為近代層析術的主要創始者。

今天，層析術普受利用，以分離混合物所含的許多成分，並且進行定性及定量分析

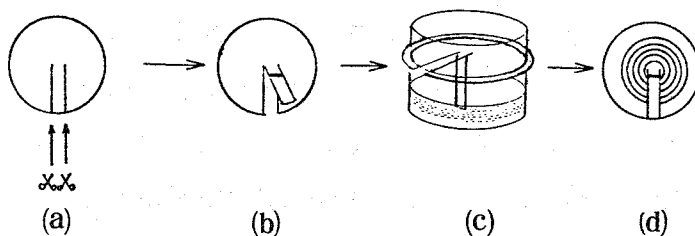
。現在暫且透過國中生也會做的簡單層析術實驗，來瞭解其原理。乍看之下是「黑一色」的水性墨水，其實是能夠分離成為數種成分色素，經過這種親身體驗，更能真正體會身邊的許多「物質」原來都是屬於混合物。

二、水性藍墨水顏色的分離

〔圓形濾紙層析術的應用〕

(1) 實驗

圖一表示實驗的概略過程。丁醇飽和水溶液約 15 ml，裝入直徑約 10 cm 的培養皿



圖一

(schale)，用同樣大小的培養皿蓋上。圓形濾紙(直徑 11 cm)剪開兩處，寬度約 5 mm〔見圖一(a)〕，在中心下方不遠處，用坊間出售的水性藍墨水來畫一條寬度約 2 mm 的線。將這剪開部分彎起來使成一脚〔見圖一(b)〕，令其浸在丁醇中來觀察〔見圖一(c)〕。大約 1 小時後，數種色素將被分離成為同心圓上的各環。

(2) 濾紙的分離歷程

由於毛細現象，丁醇飽和水溶液從浸入丁醇的腳部分被吸上來。構成濾紙的纖維素，其親水性頗強，當基體來保持水(參看 四)。於是，藍墨水中的色素依其溶解度而分配在固定相中的水與移動相中的丁醇之間，而容易溶於丁醇的色素，其移動速率較大。這是相當於一面移動地點一面就濾紙上的各處微小部分反覆進行好幾千次丁醇萃取，而能夠分離溶解度相差甚小的色素成分。

三、菠菜顏色的分離

〔矽膠薄層層析術(TLC)的應用〕

(1) 實驗

將菠菜葉 1~2 張撕成小碎片，與己烷約 10 ml 及甲醇 5 ml 一起用研鉢來磨碎。將綠色液體（儘量避免含有固態物）倒入試管內。因為在試管內分成兩層，所以要用吸管取出上層液體，將其移到裝上塞子的錐形燒杯，加上少量無水硫酸鈉，予以充分攪拌，暫時放置後，用毛細管點在 T L C 用矽膠片上，再用苯與甲醇的混合溶劑（3 : 1）來展開，即可看到分離成爲黃到綠的幾個點。最上方的黃點容易消失，最好是用鉛筆來作記號。

(2) 矽膠的分離歷程

T L C 用矽膠片是將大小相等的矽膠粒子均勻塗在玻璃片或鋁片而成的。若將矽膠粒子填充在玻璃管，則變成管柱層析術，但其分離歷程可以視作完全相同。

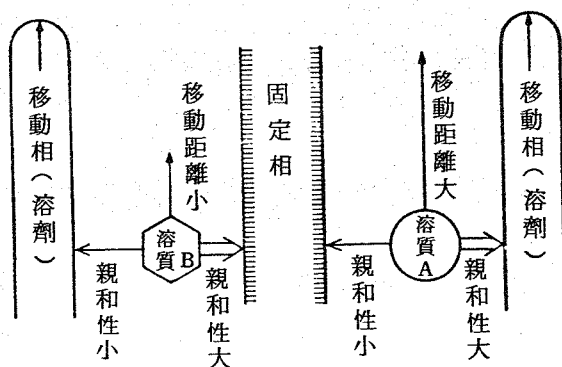
矽膠（ SiO_2 ）對水分的吸附力特別強，所以常常當乾燥劑來使用。這是因為表面的矽烷醇（silanol）基（ —Si—OH ）與極性基形成強大的氫鍵之緣故。因此，具有 -OH 或 -NH- 基的分子，大多數因形成氫鍵而緊緊被吸附在矽膠粒子表面，不容易移動，反之，沒有這種極性基的分子，因移動相溶劑而迅速移動（參見四）。

四、層析術的原理與種類

由多種成分組成的混合物，要把它分離成爲所構成的成分（分子）時，必須利用各成分間的物理性質及化學性質之差異。其代表性方法如下：

- (1) 利用不同蒸氣壓來分離——蒸餾，昇華等。
- (2) 利用不同溶解度來分離——再結晶，洗淨，溶劑萃取等。
- (3) 利用對固體表面的不同吸附力來分離——活性碳的脫色，矽膠的防濕等。
- (4) 利用不同分子大小來分離——膠綿（collodion）膜透析等。
- (5) 利用不同化學反應性來分離——將氮氣通入五倍子酸〔pyrogallol, $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$ 〕溶液來除去微量氧。

前面已述，層析術的原理可以說是，「令流體（移動相）通過固定相，因而將溶質分子對這二相的“親和性”之差異換成空間位置移動量之差異，來分離溶質內各成分的方法」。圖二是層析術原理的示意圖。層析術的特徵是，各成分的分離能使定性分析得以完成，又因在一定條件之下，特定溶質分子有一定移動距離，故由移動距離能夠辨別成分分子。此處所謂的「親和性」與上列(1)~(5)各要素之間有複雜關係，但是一般而言

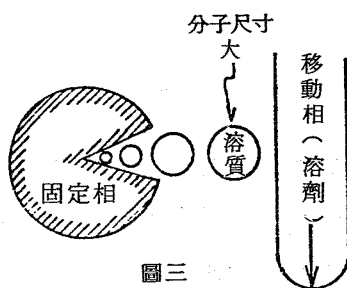


圖二

，依據分離歷程可以分類如下。

- 分配層析術 (Partition Chromatography)
- 吸附層析術 (Adsorption Chromatography)
- 分子篩層析術 (Molecular Sieve Chromatography)
- 離子層析術 (Ion Exchange Chromatography)

二中的濾紙層析術相當於 a. 換言之，固定相是纖維素所保持的水，而這時的「親和性」是色素分子對水的溶解度。圖二表示，容易溶於水的色素（溶質 B）不容易移動，而容易溶於丁醇的色素（溶質 A）則容易移動。至於 b.，已在 三 的矽膠層析術提過，亦即這時的「親和性」是溶質分子對固定相（矽膠）的吸附力。c. 是利用分子嵌入具有受控細孔的固定相孔中之現象，分子尺寸愈大，移動速率愈大（見圖三）。分子篩層析術



圖三

在區別人造高分子化合物或蛋白質時，及時發揮威力。此外，還有下列分類法。

依據所用材料或形態來分類：

- 濾紙層析術 (Paper Chromatography)
- 管柱層析術 (Column Chromatography)
- 薄層層析術 (Thin Layer Chromatography, 簡稱 TLC)

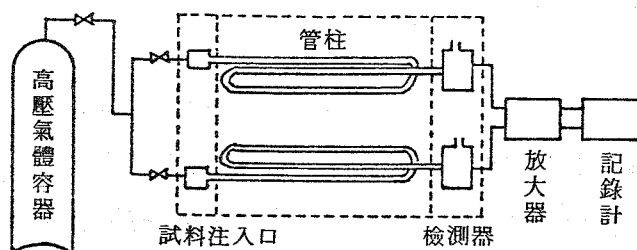
依據移動相來分類：

- 液相層析術 (Liquid Chromatography, 簡稱 LC)

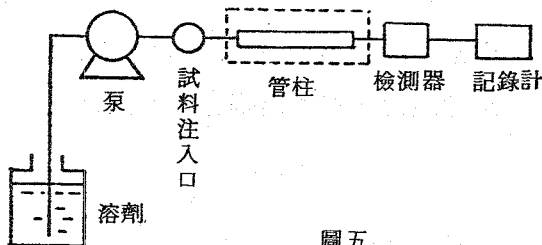
氣相層析術 (Gas Chromatography 簡稱 GC)

五、層析術的分離系統的高性能化及其應用

最近層析術在軟體與硬體兩方面的進步非常神速。只要利用氣相層析術 (GC) 或高性能液相層析術 (High Performance Liquid Chromatography, 簡稱 HPLC), 即可立刻分離微量試料中所含的成分, 而且獲得其存在量的數值。然而, 這些裝置依然是管柱層析術的一種而已。圖四與五分別代表氣相層析術與高性能液相層析術的示意圖。



圖四

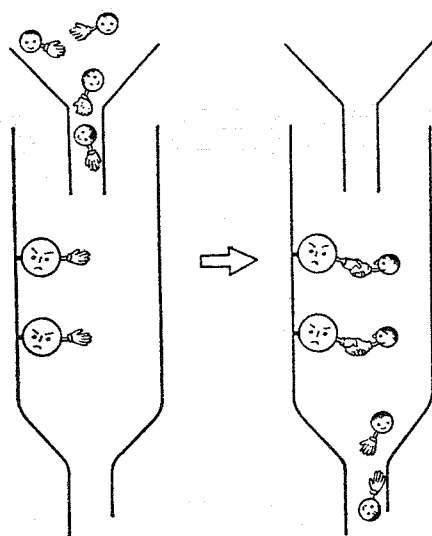


圖五

運用 GC 時, 要把試料加熱氣化後送入管柱, 用氮等氣體使其流出。因此, 不容易氣化的分子, 或對熱不穩定的化合物, GC 不適用, 這便是 GC 的缺點, 但是一般而言, 其操作極為簡單, 而且分離所需時間頗短。

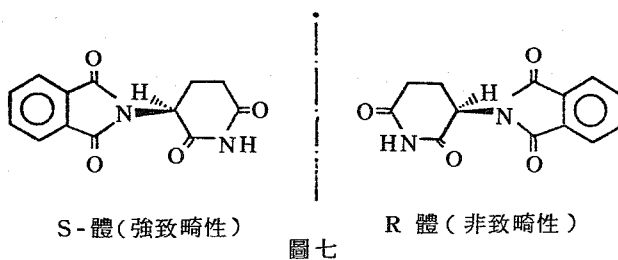
至於 HPLC, 則其固定相採用 $3\ \mu\text{m}$ 的微小而且均一形狀之矽膠粒子, 因而其分離功能獲得突破性提升。於是, 爲了抵抗來自固定相的強大阻壓力來送入均勻高壓溶劑, 需要特殊泵與耐高壓管柱。早期 HPLC 的 HP 代表 High Pressure, 就是在說明這個道理。

直到現在, 旋光異構物 (optical isomer) 的分離是最困難的課題之一。圖六表示, 在 HPLC 加上左「手」或右「手」即可分離旋光異構物。一九五八年, 日本公開發售泰利多梅得 (thalidomide) 當孕吐防止藥, 結果服用這藥物的孕婦普遍生產海



圖六

豹狀畸形兒。根據HPLC的分析得知，泰利多梅得（見圖七）乃是使用消旋化合物（



racemic compound）導致的，而且致畸性是來自本來沒有鎮靜藥效的S體。如此，HPLC能使固定相高性能化，能使檢測系高靈敏度化來驗出極微量成分，因此，廣泛應用在醫藥品，食品添加物，環境汙染物質的分析，以及有關生物體內微量成分分析的臨牀檢驗法。

參考資料：「化學と教育」第三十六卷第二號（一九八八），日本化學會。