

如何选择RP-HPTLC反相高效预制薄层色谱板



作者: Michael Schulz和Susanne Minarik

自1966年起德国默克公司(Merck KGaA, EMD, Darmstadt)就开始为薄层色谱法提供商品预制薄层板。1975年起该公司推出了HPTLC高效预制薄层色谱板, 1978年开始销售硅胶改性的反相固定相, 中等极性固定相系列的薄层板稍晚些时候(1982 — 1987)实现了商品化。Michael Schulz是目前该公司PC-RLP-SIL(材料和生命化学品研发-硅胶合成)实验室主任, 负责薄层色谱板相关技术的研发。

译者按: 作为欧洲第二大薄层色谱板生产商的德国MN公司(MACHEREY-NAGEL, GmbH & Co. KG, Düren)也同样拥有成熟的薄层色谱预制板产品系列, 可为用户提供良好的产品体验。

简介

平面色谱中的大部分分离任务通常在硅胶、氧化铝或纤维素等极性吸附剂的预制板上完成。最常用的固定相是6 nm孔径的硅胶60。虽然(反相)疏水性薄层具有一些独特的优势, 但目前还没有在薄层色谱上得到广泛的应用。

编者按: 反相改性(RP-TLC)的预制板对于所有的化合物类别都具有很广的选择性。它不再需要复杂的多元展开剂配比, 通常2元流动相如甲醇/水或乙腈/水已经够用。通过调节流动相中水相的比例, 保留行为即可得到系统的改变。由于反相吸附剂的表面活性相对较低, 也降低了不稳定化合物在分析过程中产生降解的潜在风险。相对湿度对于保留行为的影响也变得非常小, 这是由于吸附剂的疏水特性和所使用的含水流动相。反相薄层的另外一个优点是色谱方法可方便地转移到HPLC法的RP-C18色谱柱上。

本文对改性薄层亲脂的疏水性表面特性对薄层色谱行为的影响通过分离甾醇的实例加以探讨, 并对HPTLC RP-18 F_{254s} 预制板和HPTLC RP-18W F_{254s} 水可湿性的预制板进行了比较。

对照品溶液的制备

将多种甾醇对照品分别加甲醇制成1.25 mg/mL的溶液。

薄层板

HPTLC RP-18W F_{254s} 高效预制板和HPTLC RP-18 F_{254s} 高效预制板, 10 x 10 cm (Merck)。

点样

采用CAMAG ATS4仪器进行条带状点样, 条带宽6 mm, 轨道间距9 mm。原点距底边10 mm, 点样体积1 μ L。

色谱条件

在平底展开缸中以甲醇-水(3:2)进行展开。

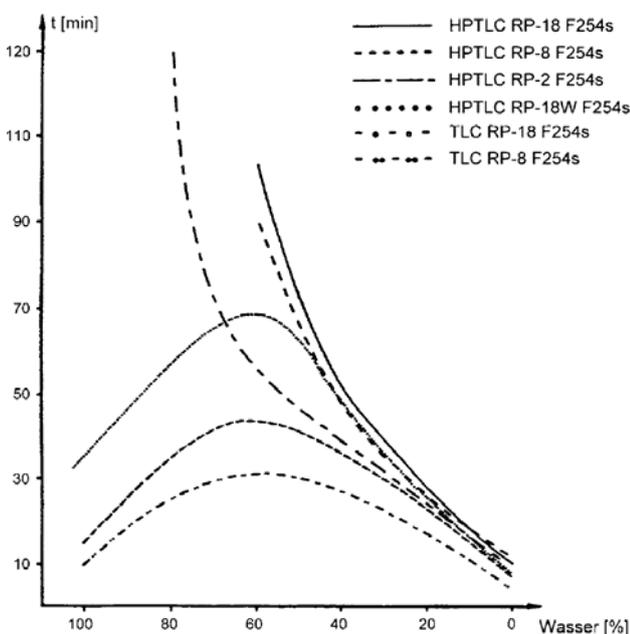
显色（色谱后衍生化）

采用TLC喷瓶喷以20%高氯酸-乙醇显色剂，在CAMAG TLC加热器上于100 °C加热5 min。

结果和讨论

在传统的薄层色谱法中，展开剂在固定相孔隙间以毛细管作用进行迁移。但在疏水薄层中，以硅胶表面高度改性的HPTLC RP-18固定相为例，当展开剂中含有大量水时可能会由于疏水作用的增大而导致展开过程的减慢甚至停止。通常来说，在高度改性的硅胶固定相上可采用最高40%-70%含水量的流动相，具体情况取决于硅烷覆盖程度、烷烃的碳链长度和流动相的组成。

因此反相普通硅胶板和HPTLC RP-18W高效薄层板可以使用100%的水作为流动相。下图是不同含水量对于不同反相薄层板在丙酮-水展开剂中展开时间的影响。



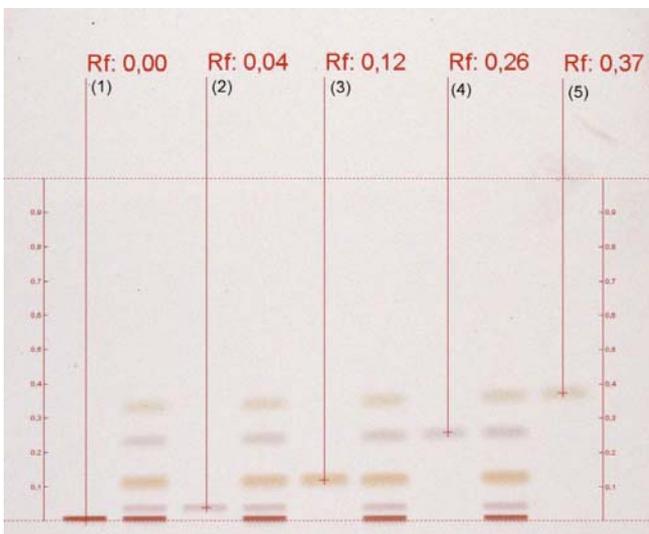
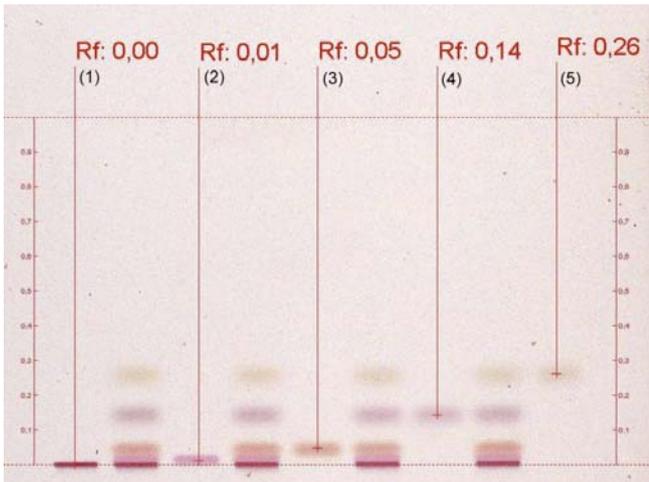
水对于丙酮-水展开剂展开时间的影响

薄层板型号	表面改性程度($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)
HPTLC RP-2 F _{254s}	3.9
HPTLC RP-8 F _{254s}	3.0
HPTLC RP-18 F _{254s}	2.6
HPTLC RP-18W F _{254s}	0.5
TLC RP-2 F254	2.5
TLC RP-8 F _{254s}	2.0
TLC RP-18 F _{254s}	1.7

下列对甾醇类成分的分离展示了HPTLC RP-18 F_{254s} 和HPTLC RP-18W F_{254s} 高效预制薄层板之间的区别。2种薄层板都以甲醇-水（3：2）展开。2者的硅胶表面硅羟基的修饰程度有很大的不同，HPTLC RP-18 F_{254s}的改性指数为2.6 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ ，而HPTLC RP-18W F_{254s}的只有0.5 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ 。尽管改性程度有较大区别，但2者的分离性能差异不大。这是因为游离的硅羟基受流动相中水的阻隔因此几乎不和样品组分的分子发生作用。

然而，2者在展开时间方面的差异是巨大的。亲脂性HPTLC RP-18 F_{254s}薄层板的展开花费了130 min，而水可湿性的HPTLC RP-18W F_{254s}薄层板的展开仅用了39 min。较长的展开耗时导致了成分色谱条带更加扩散。在这个例子中的疏水性薄层最多可使用40%比例的含水流动相，而水可浸润的薄层板可使用100%的水作为流动相。

一般意义上的反相改性的预制板具有与纯硅胶相比许多与众不同的优点并可用于解决多种分离问题。然而其表面的改性程度和它的水可湿性之间的关系使得其只能采用部分含水的流动相。如果分离需要高含水流动相，要推荐使用低表面改性比的水可浸润的薄层固定相。这类薄层板略高的产品价格对于其所具有的应用优势而言完全物有所值。



HPTLC RP-18 F_{254s} (上, 130 min) 和 RP-18W F_{254s} 高效预制板 (下, 39 min) 分离各类甾醇的HPTLC
对照品包括: (1) 胆固醇, (2) 司坦唑, (3) 甲基睾固酮, (4) Reichstein's S (氢化可的松中间体) 以及 (5) 氢化可的松

进一步资料可联系作者获取:

* Michael Schulz, Merck KGaA, PC-RLP-SIL, Frankfurter Str. 250, 64293 Darmstadt, Germany, Tel. +49(0)6151-722830, michael.schulz@merck.de



CAMAG TLC Visualizer薄层色谱成像系统

这一全新设计的薄层色谱的评价、可视化及成像存档系统是CAMAG DigiStore设备的继承者, 是知名的CAMAG Reprostar系列产品的最新组件。

- 可拍摄UV 254 nm、UV 366 nm和可见光下的色谱图像
- 强大的高分辨率12位CCD相机, 具有极佳的色彩线性范围
- 全自动图像捕获优化及背景校正功能

CAMAG TLC Visualizer和winCATS工作站软件均符合cGMP要求, 可进行IQ/OQ 验证, 并遵守FDA 21 CFR Part 11法案要求。

通过CAMAG TLC Visualizer您可获得无与伦比的高质量色谱图, 正如下图所示的一样 (西番莲 *Passiflora* 提取物)。

