



# 薄層層析 TLC

2021/01/30

## 領取：

- 剪刀，研鉢與杵(磨葉片)
- 塑膠滴管 (1，吸取葉汁)
- **30 mL燒杯 (2，展開槽)**
- 鑷子 (1，夾取TLC片)
- **鋁箔紙 (2，槽蓋)**
- 長方形濾紙 (2，展開槽)
- 擦手紙 (1，襯墊TLC片)
- TLC片 (4，一次領1片)

## 自準備：

- 葉片
- 直尺、鉛筆、相機

## 共用：

- 膠帶台
- 紫外燈及觀察箱
- 標準品溶液及毛細管
- 30 mL燒杯
- 7 mL樣品瓶





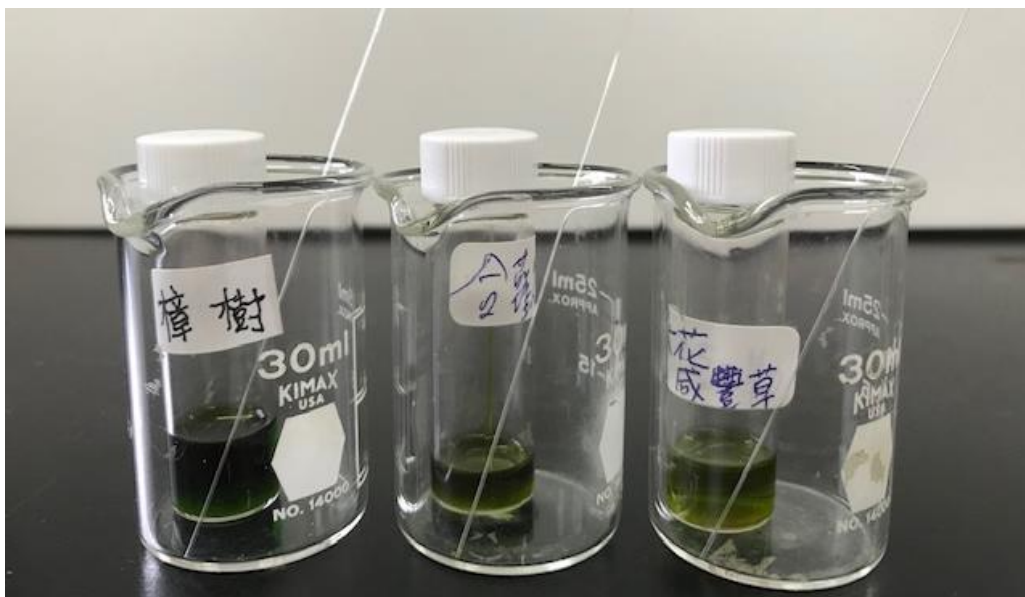
# 薄層層析

## 目的：

- 利用薄層層析 (TLC) 分離及辨別混合物
- 探究：展開劑極性對展開分離效果之影響

## 技能：

- 研磨及萃取
- TLC點樣
- 展開及顯影
- $R_f$  值計算

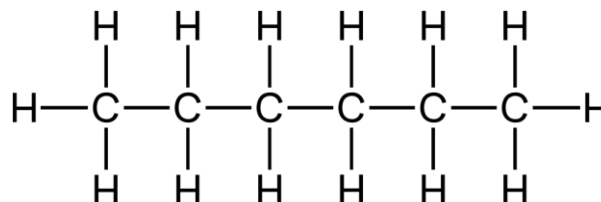
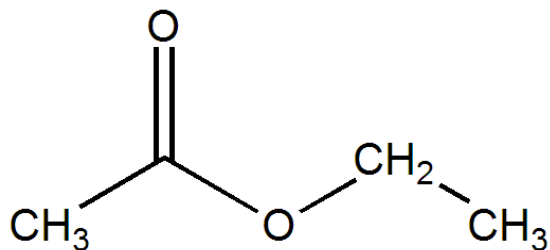




# 薄層層析

## 原理：

- ◆ 化合物在靜相與動相之間的分配差異以分離混合物
- ◆ 靜相：含有螢光劑 $F_{254}$ 的高極性矽膠TLC片
- ◆ 動相：
  - 極性較高的乙酸乙酯/非極性的正己烷
  - 若試樣點均不隨展開劑移動，表示展開劑極性太低
  - 若試樣點均隨展開劑移向展開劑前沿，則展開劑極性太高
  - 以乙酸乙酯及正己烷調整至適合之雙溶劑展開系統





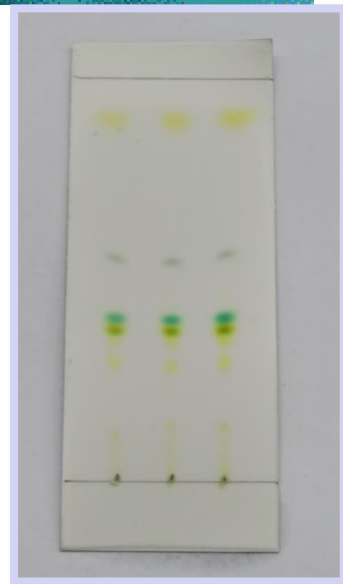
# 實驗流程

## I. 葉片萃取液之TLC分析

**3種**葉片萃取液，**2種**展開劑

點樣→TLC展開→檢視→記錄→計算 $R_f$

→ 比較差異



## II. 止痛藥之TLC分析

**2**標準品**1**止痛藥，**2種**展開劑

點樣→TLC展開→檢視→記錄→計算 $R_f$

→ 比較差異

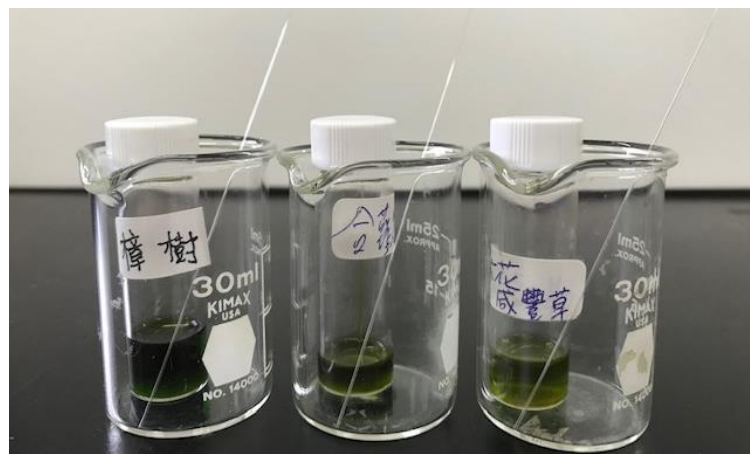




# 步驟1：葉片萃取液製備

## 萃取

- ◆ 取深綠且柔軟之葉片5-6片，剪成碎片置於研鉢
- ◆ 於排煙櫃中加10 mL萃取劑(正己烷：乙酸乙酯 = 4：1)，研磨至溶液呈深綠色
  - ◆ 溶劑易揮發，可適量補加
- ◆ 以滴管吸取萃取上清液於樣品瓶，並標示葉片種類備用
  - ◆ 比較各組不同葉片的萃取液
  - ◆ 毛細管及試樣瓶放在30 mL燒杯中共用





# 步驟2：止痛藥樣品

- ◆ 共用：
  - ◆ 乙醯胺酚標準品
  - ◆ 咖啡因標準品
  - ◆ 含**咖啡因**之止痛藥
- ◆ 記錄止痛藥品牌及成分含量





# 步驟3：準備展開槽



\* 使用**30 mL**燒杯為展開槽

\*\* 展開劑

**1**：正己烷/乙酸乙酯 (**4 : 1**)

**2**：正己烷/乙酸乙酯 (**1 : 4**)

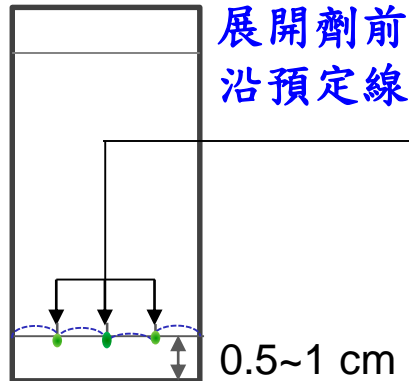
- 長方形濾紙 ( $2.5 \times 5 \text{ cm}$ ) 橫向放入**30 mL**燒杯中
- 長邊與**杯底**接觸，**貼壁**立於燒杯內
- 杯中加展開劑至約  $0.2 \text{ cm}$  高度 (約  $2 \text{ mL}$ )
- 以**鋁箔紙**蓋住杯口保持密閉，使蒸氣壓達**飽和**平衡
- 標籤紙標示展開槽**1**及展開槽**2**



# 步驟4：薄層層析點樣

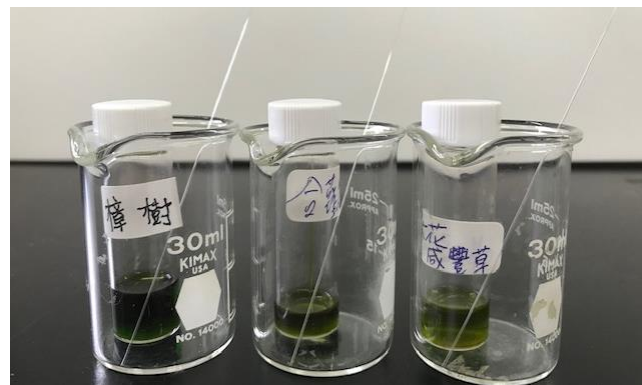


鉛筆畫記及點樣  
應避免刮傷矽膠層



相鄰試樣點及左右  
邊界各相距0.5 cm

- 3種不同樹葉萃取液
- 每試樣重複點3次



- 鑷子拿取TLC片放置在擦手紙上，以避免汙染
- 距TLC片底約0.5~1 cm高度以鉛筆輕畫線
- 鉛筆線上，以0.5 cm間距標記 3 點
- 毛細管吸樣品，**垂直、快速輕巧**觸點於各標記點，待溶劑揮發
- 試樣點越集中越小點越好
- 試樣**濃度稀可重覆點樣**，試樣濃度太高，易拖尾致分離效果差





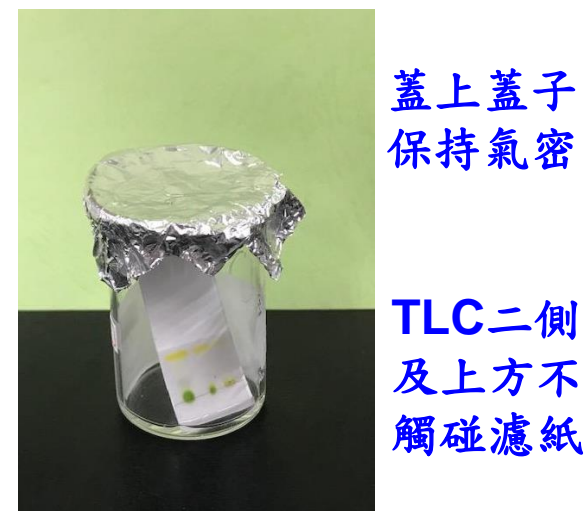
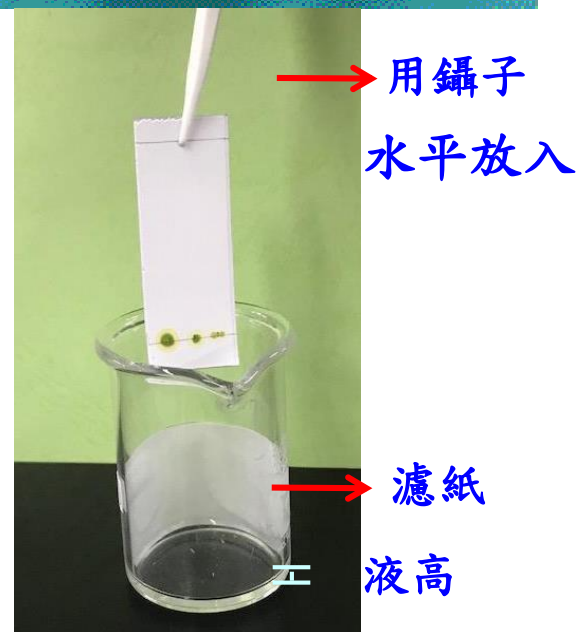
# 步驟5：薄層層析展開

## ■ 第1展開劑

- 試樣點溶劑揮發後
- 以**鑷子**夾住TLC片
- 小心平放入展開槽1
- TLC片勿觸杯壁及濾紙
- 試樣點須高於展開劑
- 鋁箔蓋住杯口保持**密閉**
- 靜置展開至展開劑到預定前沿位置
- 取出TLC片晾乾

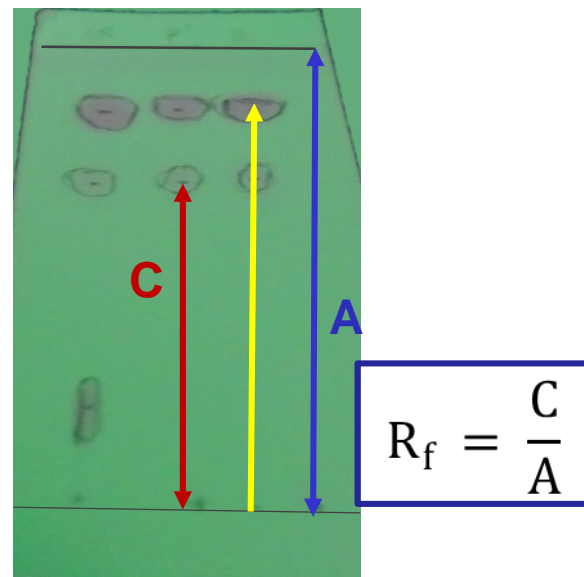
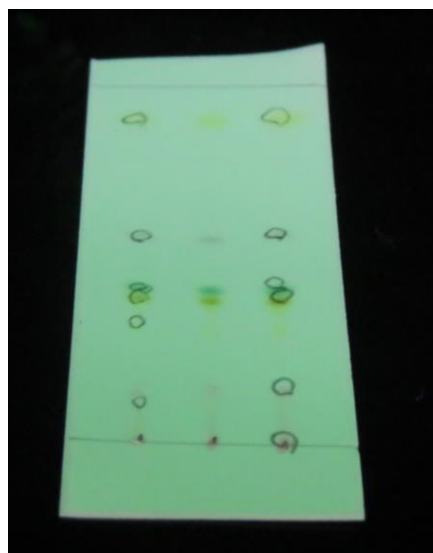
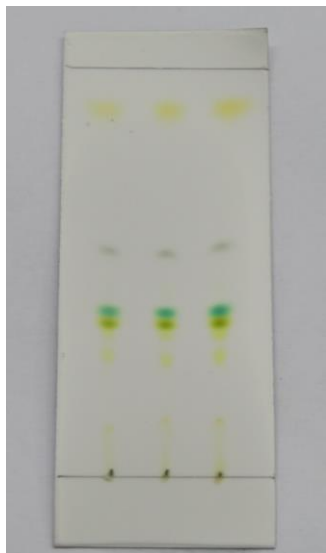
## ■ 第2展開劑

- 準備第二張TLC片
- 改置於展開槽2展開





# 步驟6：薄層層析顯影及記錄



(1) 色樣點直接觀察      (2) 於紫外光下觀察

- 圈記各試樣點並記錄顏色
- 改置於UV燈下，以**短波**觀察
- \* **避免直接接觸眼睛及皮膚**
- 計算每一試樣點（中心點） $R_f$ 值
- 比較不同樣品與展開劑之分離效果

\* 止痛藥TLC片於紫外光下顯影

$$R_f = \frac{\text{試樣點上升高度 (中心點)}}{\text{展開劑前沿上升高度}}$$

\*\*  $R_f$ 大的成分極性高？或低？



# 步驟7：止痛藥之薄層層析

- 準備2片TLC，依序於展開槽1及2展開
- 止痛藥層析之3種試樣：  
(1)乙醯胺酚、(2)咖啡因標準品、(3)止痛藥試樣
- 各輕點試樣1次即可
- 於紫外光燈下觀察畫記





# 實驗注意事項

精簡報告

- 先練習畫記與點樣1片，確認操作正確
- 以展開劑1展開後，確認分離結果
- 若層析展開不佳，瞭解改善方法後，取新TLC片，重新點樣，進行第二次展開
- 展開劑以滴管取2次約2 mL即可，無須精確
- 同桌共用葉片萃取液、藥物試樣、毛細管，不混用
- 展開及標記之TLC片黏貼於實驗紀錄本
- 計算 $R_f$ 及檢討分離結果



# 實驗結束後處理

- TLC片：以膠帶黏貼於實驗紀錄
- 展開劑：倒入中央排煙櫃有機廢液回收瓶
- 30 mL燒杯：洗淨除去標籤紙放回原領取處
- 鑷子：放回原領取處
- 鋁箔紙：回收盒（可重複使用）
- 毛細管：中央排煙櫃中指定之回收罐
- 用過的濾紙：兩側垃圾桶
- **止痛藥試樣需留用，不要倒掉**
- 物品及雙手洗淨，椅凳收在實驗桌下

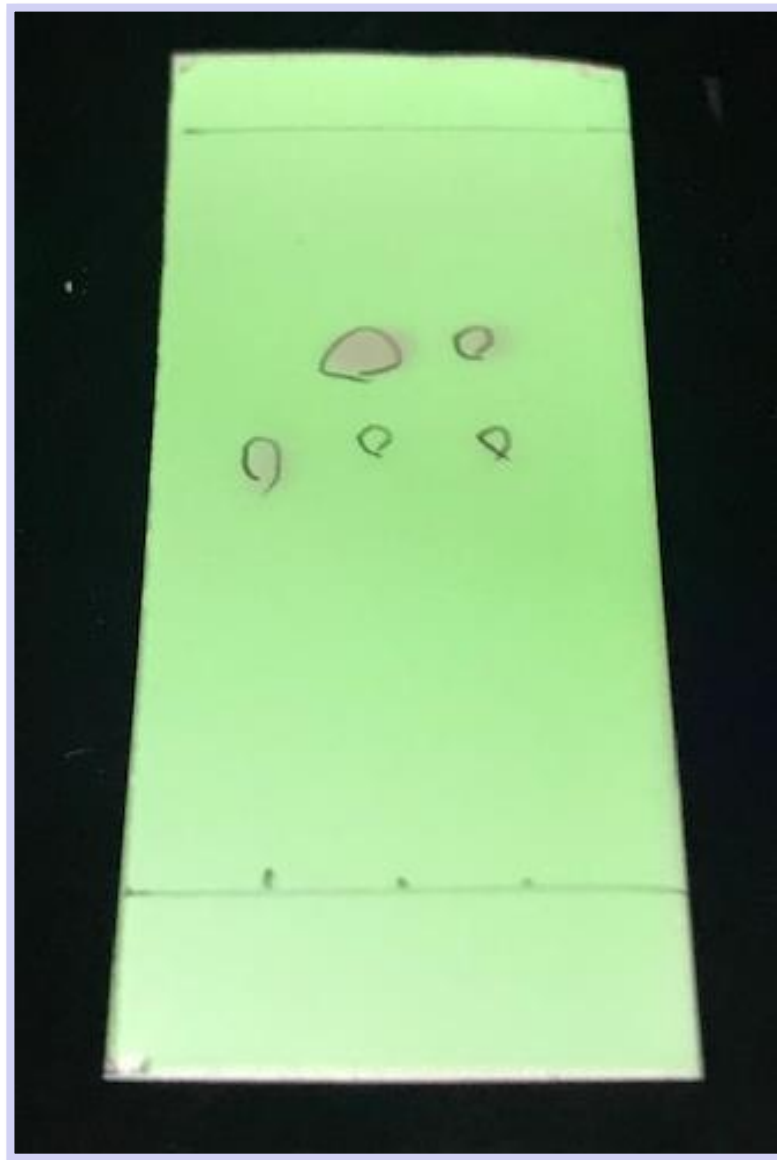


# 薄層層析實驗技能

- 層析片應保持乾淨，**用鑷子拿取**，不可碰觸矽膠部分以免污染
- **鉛筆輕畫記及輕點樣**，切勿用力，造成薄層靜相刮傷
- 以內徑小於1 mm的毛細管點樣（不是熔點測定用之毛細管）
- **試樣點越小越好**，以避免試樣重疊不易分離
- 試樣濃度不可太高，以致產生拖尾現象
- 試樣的濃度不可太稀，以免不易觀察，可同一位置重複點樣
- 試樣點的溶劑揮發之後，才能放入展開槽中進行展開
- 展開槽須保持氣密並且達到**氣液平衡**
- **使用鑷子夾放**層析片入展開槽，層析片之兩邊**不可碰觸到器壁或濾紙**以避免邊際效應，致試樣展開歪斜
- 試樣點必須高於展開劑，以避免試樣點溶入展開劑中
- 以紫外燈觀察時，紫外光源不可直接照射到眼睛或手部皮膚



# 好的分離





# 展開效果不佳

