

使用正己烷/含界面活性劑水溶液之溶劑系統  
以逆流層析分離類固醇化合物

學生：張郁培

指導教授：余艇博士

國立交通大學應用化學所

摘要

傳統逆流層析系統分離疏水性化合物大多使用雙有機相溶劑系統 (Organic two-phase solvent system) 或者選用有機-水相溶劑系統 (Water-organic solvent system) 來進行分離，藉由分析物種在動、靜相之間分佈差異達成分離。但因此兩類型溶劑系統配製時，為了調整分析物在兩相間的分佈係數  $K$  值，又需保持溶劑系統會分層而得到動、靜兩相，使得溶劑選擇以及溶劑比例配製上有相當的困難度，因此本實驗嘗試一種新的溶劑系統： $n$ -Hexane/Water 溶劑系統中添加水溶性界面活性劑，如月桂硫酸鈉、1-庚烷磺酸鈉等，用來分離疏水性之類固醇混合物，我們探討了不同種類之界面活性劑以及不同界面活性劑添加濃度對分離效果的影響。其結果顯示，在添加低濃度界面活性劑的溶劑系統下對於類固醇混合物有助於分離，但效果不甚理想，當界面活性劑添加濃度超過臨界微胞濃度後，對分離效果有顯著的提升。此外，本實驗也成功發展出數種適於分離類固醇之有機-水相溶劑系統，例如溶劑系統： $n$ -Hexane/Ethanol/ $n$ -Butyl Alcohol/Water 等，對於類固醇混合物亦有相當不錯之分離效果。

# Separation of Steroids by Countercurrent Chromatography Using n-Hexane/Surfactant-Containing Water Solvent System

Student : Yu-Pei Chang

Advisor : Tiing Yu

Institute of Applied Chemistry  
National Chiao Tung University

## Abstract

Separation of hydrophobic compounds can usually be achieved by either using an organic two-phase solvent system or an organic /water solvent system. In order to obtain appropriate partition coefficients of solutes between the stationary and mobile phases, however, the preparation of either system may face a problem that the solvent systems oftentimes hardly remain as two separate phases during the fine-tuning process. In this study, we tried a novel solvent system: n-hexane/surfactants-containing water for the separation of hydrophobic components. Four surfactants, including sodium n-dodecyl sulfate, triton X-100, sodium 1-butanesulfonate, and sodium 1-heptanesulfonate, with different concentrations have been examined to separate three steroids, progesterone, (+) - 4 - cholesten - 3 - one, and  $\Delta^4$ - androstene - 3,17 - dione. The results demonstrated that the addition of surfactant helped separation under low concentrations. However, when the surfactant concentration of sodium 1-heptanesulfonate exceeded the critical micelle concentration, the separation efficiency increased more significantly. In addition, we also developed several

organic/water solvent systems, such as n-hexane/ethanol/n-butyl alcohol/water, which enabled very good resolution in separating these compounds.



## 謝誌

兩年的時光一晃眼就過去了，想想自己剛踏進交大時的情景，彷彿還像昨日一般清晰，如今，我的研究生涯即將劃下句點，心中既是欣喜又是不捨，過去的點點滴滴歷歷在目，所有美好的回憶是我手中的提燈，將陪著我一步步照亮前方所有未知的前程。

在此非常感謝指導教授余艇老師對我細心的指導，使我受益良多，並且感謝陳月枝老師、黃賢達老師蒞臨口試給予指導。另外，當然要感謝眾多實驗室伙伴們友情贊助，特別是神通廣大的淑慧大師姐、陪我一起鑽研CCC浩瀚的基育、實驗詭計多端的經緯學弟，以及阿貝仔月杏、秀琴、俊竹、俊宏，還有隔壁實驗室的惠真，直屬學長亮勳，謝謝你們的建議、幫助與鼓勵。

最後更要感謝陪伴我一路走來的爹娘，張哥哥與張姊姊，姊妹淘雅琪、倍甄、曉雯、丸仔，還有小王子，我要跟大家宣布：你們的寶寶兒終於畢業嚕!!

## 目錄

中文摘要.....	i
英文摘要.....	ii
謝誌.....	iv
目錄.....	v
圖目錄.....	vii
表目錄.....	ix
第一章 緒論.....	1
第二章 研究背景與理論.....	3
2.1 逆流層析法.....	3
2.1.1 簡介.....	3
2.1.2 起源與發展.....	3
2.1.3 理論基礎.....	4
2.1.4 儀器系統基本結構.....	5
2.1.5 影響相分佈的因素.....	9
2.1.6 反扭轉機構的應用.....	9
2.1.7 高速逆流層析 (HSCCC).....	12
2.1.8 逆流層析的應用.....	16
2.2 界面活性劑.....	17
2.2.1 界面活性劑介紹.....	17
2.2.2 界面活性劑之性質與應用.....	18
2.3 類固醇.....	21
第三章 實驗.....	23
3.1 試藥.....	23
3.1.1 藥品.....	23

3.1.2 溶劑.....	26
3.1.3 樣品配製.....	26
3.2 儀器設備.....	27
3.3 實驗步驟.....	28
第四章 結果與討論.....	31
4.1 溶劑系統的選擇.....	31
4.2 分離條件的選擇.....	31
4.3 HSCCC 儀器分離之初步測試.....	32
4.4 實驗分離結果.....	35
4.4.1 添加界面活性劑月桂硫酸鈉的分離效果.....	35
4.4.2 添加界面活性劑 Triton X-100 的分離效果.....	38
4.4.3 添加界面活性劑 1-丁烷磺酸鈉的分離效果.....	39
4.4.4 添加界面活性劑 1-庚烷磺酸鈉的分離效果.....	40
4.4.5 Water-Organic 溶劑系統的分離效果.....	47
第五章 結論.....	53
參考文獻.....	54

## 圖目錄

圖 1	液相-液相層析方法.....	4
圖 2	表示萃取次數與分離效果的關係曲線.....	6
圖 3	流體靜力平衡 (HSES)示意圖.....	7
圖 4	旋轉螺管中物體移動的情形.....	8
圖 5	螺管在不同轉速下兩不互溶溶劑的相分佈.....	10
圖 6	反扭轉機構共有三種轉動系統.....	11
圖 7	CCC 第IV型管柱纏繞方式之分類.....	13
圖 8	高速逆流層析的旋轉機構.....	14
圖 9	IV型同步行星式逆流層析的混合在管柱內的分佈情形.....	15
圖 10	界面活性劑分子示意圖.....	18
圖 11	溶於水中之界面活性劑示意圖.....	18
圖 12	微胞示意圖.....	19
圖 13	溶液的表面張力與界面活性劑濃度間的關係圖.....	20
圖 14	表面張力計儀器圖.....	21
圖 15	Cyclopentanoperhydrophenanthrene 結構式.....	22
圖 16	三類固醇之 UV/Vis 吸收全光譜圖.....	24
圖 17	高速逆流層析儀儀器主體圖.....	28
圖 18	實驗儀器裝置圖.....	29
圖 19	溶劑系統: n-Hexane/Water (SDS 0.83mM) = 1:1 分離管柱內體積 : 42mL 之類固醇分離層析圖.....	33
圖 20	溶劑系統: n-Hexane/Water (SDS 0.83mM) = 1:1 分離管柱內體積 : 112mL 之類固醇分離層析圖.....	34
圖 21	溶劑系統 : n-Hexane/Water (SDS 0.83mM) = 1:1 分離管柱內體積: 112mL 之類固醇分離層析圖.....	36

圖 22 溶劑系統 : n-Hexane/Water (SDS 8mM)/Ethanol = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	37
圖 23 溶劑系統 : n-Hexane/Water (Triton X-100 0.054mM) = 1:1 之類固醇分離層析圖.....	38
圖 24 溶劑系統 : n-Hexane/Water (1-丁烷磺酸鈉 25mM) = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	40
圖 25 溶劑系統 : n-Hexane/Water (1-庚烷磺酸鈉 20mM) = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	41
圖 26 溶劑系統 : n-Hexane/Water (1-庚烷磺酸鈉 50mM) = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	42
圖 27 溶劑系統 : n-Hexane/Water (1-庚烷磺酸鈉) = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	44
圖 28 界面活性劑 1-庚烷磺酸鈉表面張力 V.S log 濃度做圖.....	45
圖 29 溶劑系統 : n-Hexane/Water (1-庚烷磺酸鈉 400mM) = 2:1 之類固醇分離層析圖.....	46
圖 30 溶劑系統 : n-Hexane/Ethanol/Water (10:1:4) 之層析圖.....	47
圖 31 溶劑系統 : n-Hexane/Acetone/Water (10:3:7) 之層析圖.....	48
圖 32 溶劑系統 : n-Hexane/Ethanol/Hexyl Alcohol/Water (10:2:2:5) 之類固醇分離層析圖.....	49
圖 33 溶劑系統 : n-Hexane/Ethanol/n-Butyl Alcohol/Water (11:3:2:6) 之類固醇分離層析圖.....	50
圖 34 溶劑系統 : n-Hexane/Ethanol/n-Butyl Alcohol/Water (15:3:1:6) 之類固醇分離層析圖.....	51



## 表目錄

表一 測量界面活性劑 1-庚烷磺酸鈉在不同濃度下溶液之表面張力 .....	45
------------------------------------------	----

