

# 層析法

## 一、實驗目的：

了解薄膜層析法 TLC、管柱層析法 CC 的應用及其操作

## 二、實驗原理：

(1) 自層析法問世八十多年來，層析法已成為分離化合物最有利的工具。除了提供成千上萬的有機化合物的分離之外，還提供了定性鑑定及定量分析的數據。與傳統的分離純化方法（蒸餾、再結晶、萃取、昇華等）相比，層析法具有微量、快速、簡便、安全及高效率等優點。

(2) 層析法可分為三大類：吸附層析法、分配層析法及離子交換層析法。依其操作不同，可分為氣相層析法（Gas chromatography）及液相層析法（Liquid chromatography）。其中氣相層析法因牽涉到儀器分析，在有機化學實驗中並不予討論，我們僅僅討論液相層析法。

(3) 液相層析法又可分為薄膜層析法 TLC（Thin Layer Chromatography）、管柱層析法 CC（Column Chromatography）、濾紙層析法 PC（Paper Chromatography）及高效率液相層析法 HPLC（High Performance Liquid Chromatography）。

### 1、薄膜層析法 TLC：

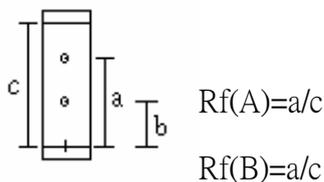
薄膜層析法屬於吸附層析的一種。由於混合物中的各個組成份對固定相（Stationary phase）的吸附能力不同，當移動相（沖提液，Mobil phase）流經固定相時，便會發生無數次的吸附和解吸，吸附力弱的組成份隨流動相迅速向前移動，吸附力強的組成份滯留在後，由於各組成份具有不同的移動速率，最後得以在固定相上分離。這一過程可表示為：化合物在固定相  $\longleftrightarrow$  化合物在流動相。

平衡常數  $K$  的大小取決於化合物吸附能力的強弱。一個化合物愈強烈地被固定相吸附， $K$  值愈低，則這個化合物沿著流動相移動的

距離就愈小。

(1) $R_f$  值 (Rate of flow) :

一個化合物在薄層板上升的高度與展開劑上升高度的比值稱為該化合物  $R_f$  值。



(2)展開劑 (沖提液, elution, 移動相) :

①如果展開劑的極性遠大於混合物中各組成份的極性,則最後展開劑將代替各個組成份而被固定相吸附,各個組份將幾乎完全存在流動相中,各個組份具有較高的  $R_f$  值。

②如果展開劑的極性遠低於混合物中各個組成份,則最後各組成份將被吸附在固定相中,而無法被展開劑所遷移,即  $R_f=0$ 。

③一般常用展開劑極性大小: **由小到大**

正己烷 < 四氯化碳 < 甲苯 < 苯 < 二氯甲烷 < 乙醚 < 氯仿 < 乙酸乙酯 < 丙酮 < 乙醇 < 甲醇。

④化合物官能基之極性大小: **由小到大**

烷類 < 鹵化烷類 < 烯類 < 雙烯類 < 鹵芳香族 < 醚類 < 酯類 < 酮類 < 醛類 < 胺類 < 醇類 < 酚類 < 羧酸類 < 硫酸。

(3)固定相:

為固定不動的吸附劑其成分可分為兩種——矽膠及氧化鋁。矽膠適用於分離極性較大的化合物;相反的,氧化鋁適用於分離極性較小的化合物。

(4)顯色:

TLC 展開後,如果樣品本身有顏色,可直接以肉眼觀察斑點的位置。如果樣品是無色的時候,就存在一個顯色的問題。常用的顯色方法有下列幾種:

①噴顯色劑

②紫外燈顯色：如果樣品本身是發螢光的物質，可以將 TLC 片放置紫外光下照射，則**化合物會吸收紫外光而呈現黑點**。

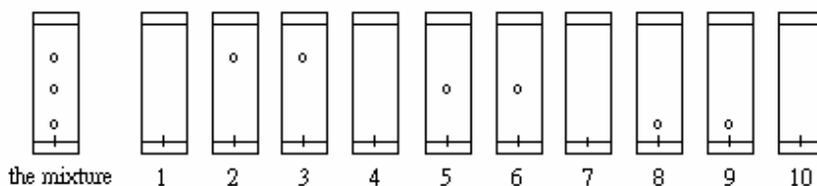
③碘薰顯色：把碘的結晶放在廣口瓶內，放入 TLC 片，蓋上瓶蓋，直至暗棕色的斑點明顯出現後取出，用筆畫下記號。這種方法是利用有機化合物與碘形成分子錯合物(烷及鹵化烷除外)而帶有顏色。

(5)TLC 的特點：

靈敏度高 ( $10^{-6}\sim 10^{-4}$ g)、快速、簡易、價錢低廉、安全。

(6)TLC 的用途：

- ①決定混合物中化合物的個數。
- ②鑑定兩種或以上的化合物是否為同一物。
- ③監控反應進行的程度。
- ④確定純化的效果
- ⑤決定管柱層析法的沖提液極性比例。



2、管柱層析法 (CC)：

管柱層析法一般可區分為乾填法及濕填法。

(1)乾填管柱法：

將一空的管柱 (column) 填滿吸附劑 (矽膠或二氧化矽)，再將要分離的物質放在柱頂，使溶劑藉毛細作用和地心引力向下移動而將色層展開。展開完畢，將吸附劑從柱內移出，將已分離的的各組成份分層帶用適當溶劑分離出來，分別處理。

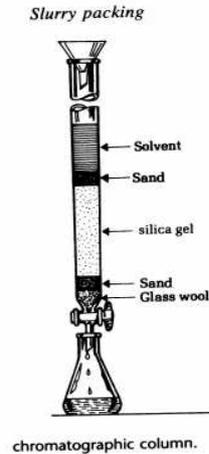
(2)濕填層析法：

將一空的管柱 (column) 填入吸附劑 (矽膠或二氧化矽)，再將要分離的物質放在柱頂，加入沖提液沖提向下移動而將各個組成份沖

堤下來，分別加以收集後，除去沖提液，便達到分離的效果了！

目前較常使用為濕填層析法。濕填層析法屬於吸附層析法，原理類似於薄層層析法，欲分離的混合物中的各組成份分配在固定相和移動相之間，化合物被固定相吸附愈強，該化合物存在於流動相中就愈少，沿沖提液移動的距離就愈小。

藉著沖提作用及吸附劑同時對溶劑及溶質吸附力大小而使之成為差別移動，進而將混合物中各組成分離。管柱層析法作用類似多次萃取，其萃取次數與管柱高度成正比，利用混合物中各組成份在固定相及移動相不同的吸附力（萃取中的分配係數）而分離。



**一般極性大的的物質被吸附較多，而極性較小的物質因不易被吸附，因此較易向下流動。**

管柱層析除了在使用器材與薄層層析法不同之外，其最大的差異乃在於管柱層析法所處理的量遠大於薄層層析法，約以克來計算。因為層析管柱填充的吸附劑的量遠大於 TLC 片，且管柱的大小、長短可以依欲分離的物質量的多少而選擇，因而管柱層析法可用於分離比較大量的物質，而 TLC 分離的量比較小，約為毫克以下。

### 3、濾紙層析法：

濾紙層析法主要用於多官能基團或高極性化合物如醣、氨基酸等的分離，作為支持物的濾紙是由高純度的纖維素製造，纖維素是高分子量的多烴基化合物。濾紙層析法的原理較為複雜，主要是分配過程，固定相是存在濾紙中的水，流動相是事前被飽和的溶劑。與薄層層析法一樣，用毛細管點樣，由於濾紙的毛細作用，溶劑在濾紙上緩緩上升，樣點中的各個成份由於移動速率不同，在隨溶劑上升的過程中得到分離。如果各組成份具有顏色，可以直接觀察。若不具顏色，

則可利用 TLC 顯色的方法使之顯色。

### 三、實驗步驟：

#### 1、薄層層析(TLC)：

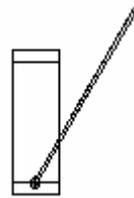
取 0.02 公克混合物(內含二茂鐵 0.01 公克與二苯酮 0.01 公克)放入圓底瓶中，加入 4 毫升二氯甲烷去溶解。

↓

用鉛筆在 TLC 片上下 0.5 公分處，輕輕地各畫一條線，並在起始線上畫一標記。

↓

點本生燈，拉毛細管。



↓

用拉好的毛細管吸取混合液，並點在 TLC 片標記處，點三次以上。

↓

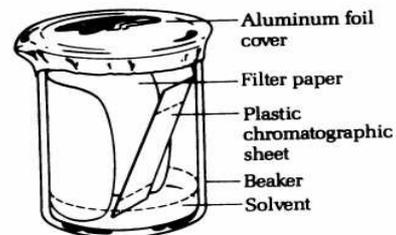
沖堤展開 (沖堤液：2mL 正己烷+ 0.5mL 二氯甲烷)

↓

照紫外燈(短波長 254nm)並描下所有的點

↓

計算 Rf 值



#### 2、管柱層析法 (CC)：

##### (1) 充填—packing (濕填)：

①取一乾淨管柱先測試是否會漏 (測試完畢之後，務必烘乾後再使用)，加入少許棉花以防止矽膠外漏。

②取 100 毫升燒杯倒入適量矽膠加入正己烷 (比例約 1:10) 均勻混合，不斷攪拌並緩慢倒入管柱中。

③倒入的過程中，不斷敲打管壁，使矽膠堆積密實，同時打開下

端旋轉閥，使正己烷持續滴下。

④當上方正己烷接近矽膠約 1 公分時，關閉旋轉閥。

(2)附著—coating：

①欲分離的混合物若是固體以最少量的溶劑加以溶解；若是液體則加以濃縮來提高濃度。

②打開旋轉閥讓正己烷繼續滴下，直至正己烷達矽膠上端（愈接近愈好但不可讓矽膠乾掉），關閉旋轉閥。

③沿著管壁將混合物加入（不可直接倒入，以免矽膠出現凹洞），打開旋轉閥讓混合物進入矽膠層，直至混合物達矽膠上端（愈接近愈好但不可讓矽膠乾掉），關閉旋轉閥。

※ 乾填法：（所有瓶內不得有水）

①在塞了棉花的滴管內，加入 0.8 公克乾的矽膠。

②在原先裝二氯甲烷與混合物的溶液內再加 0.1 公克矽膠後，旋轉濃縮到乾。

③將表面附著混合物的矽膠，倒入管柱最上端。

(3)沖提—elution：

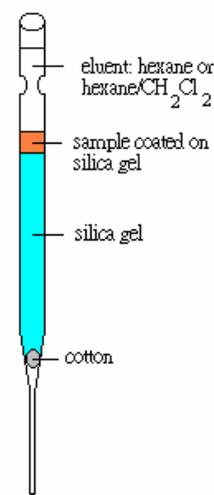
將沖提液—5mL 正己烷加入管柱內，打開旋轉閥讓沖提液滴下，開始收集。（收集瓶 A）

(4)收集—collection：

先收集黃色液體—二茂鐵，待以正己烷沖提下的黃色液體完全收集完畢，則更改沖提液—二氯甲烷，繼續沖提收集 5 毫升。（收集瓶 B）

(5)偵測—detection：

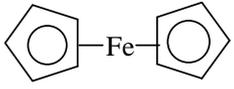
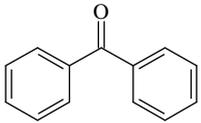
分別將收集的正己烷沖提液(A)及二氯甲烷的沖提液(B)，使用 TLC 片進行檢驗純度。



#### 四、實驗儀器：

管柱、TLC 片、棉花、跑片槽及紫外光燈等

#### 五、實驗藥品：

<p>Ferrocene 二茂鐵 (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>Fe</p> 	<p>亦稱為二環戊二烯鐵，一種夾心金屬化合物，分子量 186.04，橙黃色固體，能昇華，化學性質安定，具有芳香族化合物的特性，容易進行 Friedel-Crafts 反應及磺化等親核性取代反應，而不易發生加成及氧化反應，在煮沸的 NaOH 水溶液中或鹽酸中也不分解，加熱至 400°C 以上仍穩定。</p>
<p>Benzophenone 二苯酮 C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O</p> 	<p>分子量 169.23，無色或淡灰色結晶，有花香味，但有毒，比重 1.16，遇光變色，極易溶於乙醇、苯、乙醚、冰醋酸、二硫化碳、異丙醇，不溶於水，呈弱鹼性，可與強酸成鹽。</p>
<p>Dichloromethane 二氯甲烷 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></p>	<p>無色透明易揮發液體，有刺激性芳香氣味，有毒，對肝與神經系統有一定毒性，高濃度時，對人有麻醉作用，蒸氣不燃燒，與空氣的混合物無爆炸性，比重 1.33，沸點 39.75°C，略溶於水，與乙醇、乙醚、苯、油類等。主要用於代替易燃易爆的石油醚與乙醚，可作為脂肪和油的萃取劑，醋酸纖維塗料，有機合成反應溶劑，密閉儲存。</p>
<p>n-Hexane 正己烷 CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub></p>	<p>無色，揮發性液體，有一點石油味，比重 0.66，沸點 68.74°C，溶於酒精、丙酮及乙醚，不溶於水，具毒性，長期處理易引發神經性肌肉萎縮，由石油經</p>

	分餾而得，可燃，起火危險。用途：溶劑、低溫溫度計標定、聚合反應介質、油漆稀釋液、酒精變性劑。
--	--

## 六、注意事項：

### 1、CC

- ①管柱內不可有水，以防止出現斷層
- ②充填矽膠的量約為管柱高度的一半

### 2、TLC

- ①滴點不可浸入液面
- ②每次沖提液皆須重新配
- ③TLC 沖提液與管柱層析比例不同
- ④TLC 板平行放入液面

### 3、勿直視紫外光燈。

### 4、廢液處理：

- ①含正己烷之沖提液可倒入”不含鹵素有機廢液桶”。
- ②含二氯甲烷之沖提液**必須**倒入”含鹵素有機廢液桶”。

## 七、實驗問題：

- 1、若毛細管點在 TLC 上點半徑過大會有何種現象發生？
- 2、為何需在 TLC 上下各劃一條線？
- 3、跑片槽內放置一張濾紙的意義何在？
- 4、為何 TLC 滴點不可浸入液面？
- 5、為何每次沖提液皆須重新配？
- 6、進行 CC 充填時為何不可讓管柱乾掉？

# 管柱層析法 實驗報告

學系：            姓名：            學號：            組別：            日期：

數據及結果：

## 1、TLC：

沖提液名稱	結構式	用量	極性比較



## 2、C.C：

化合物名稱	結構式	顏色	使用之沖提液	R <sub>f</sub> 值計算
A：				
B：				

