

七、管柱層析

一、原理：

層析是利用化合物在靜相與流動相之間的分佈差異以分離混合物的方法。其中靜相可以是固體或者是吸附在惰性擔體（**support**）表面的液體，而動相可以為液體或者氣體，是一種高效率分離混合物的方法。管柱層析是在直立的玻璃管柱中，裝填已經用沖提劑潤濕的吸附性固態填充物，例如矽膠或礬土，作為靜相，要分離的混合物由管柱頂端載入，再以液態沖提劑（**eluent**）作為流動相，利用化合物與靜相之間的吸附力及化合物與沖提劑間溶解度的差異，造成各成分物被沖提的速率不同，而達到區帶分離的目的。影響管柱層析分離效率的因素包含：

- （一）靜相的材料：現今最常使用的靜相材料是矽膠以及礬土。矽膠和礬土都是極性高的材料，與極性化合物的吸附力較強。因此沖提時，高極性的化合物在管柱上的滯留時間較長，低極性的化合物在管柱上的滯留時間較短。填充靜相的用量一般視分離的難易程度而定，原則上約為待分離試樣重量的 25 至 30 倍。
- （二）管柱徑長比：管柱長度與內徑的比例約為 4 : 1 至 8 : 1 較為合適。
- （三）管柱的填充：管柱填充的好壞會直接影響分離的效果。若填充物上端表面不平整、管柱中有氣泡或裂痕，會破壞分離區帶的平整，使分離效果變差。填充物充填越緊密，分離效果越好。
- （四）流動相的極性：當使用矽膠或礬土這種高極性的填充物時，沖提劑極性越高，化合物在管柱上的滯留時間越短；反之沖提劑的極性越低，化合物在管柱上的滯留時間越長，適當調整沖提劑的極性可以讓混合物以適當速度流出。
- （五）沖提速率：沖提的速率太快時，靜相填充物與試樣之吸附作用未達平衡，區別力變小，造成分離效果變差。然而沖提速率放慢，雖較易達到平衡，但擴散的問題加劇，造成分離區帶變寬，區帶重疊機會增高，這會造成分離所需時間加長而且分離效果變差。一般沖提速度以每分

鐘沖提液降低 2.5 公分的高度為佳，也可以在沖提液面施加壓力以提高流速。

(六) 試樣的載入：未經稀釋的試樣絕不可直接載於靜相上，否則會超出填充物頂端的負荷，造成分離區帶變寬。通常使用沖提劑將試樣配製為 5%~10% 的溶液，然後載於靜相上。試樣溶液載入靜相時，必須等待溶液完全進入靜相，才可加入沖提劑開始沖提。試樣載入時的技術好壞會影響填充物上端的平整，為了保護靜相的上端，通常會加上一層乾淨的海砂或無水硫酸鈉作為緩衝。

(七) 流出液的收集：流出液分成小部分 (fraction) 收集於試管中，每一部分的量如果太多則分離區帶重疊機率增高，但若每次收集量太少，會得到太多含有收集液的試管需要分析，影響效率。可概略以每次收集管柱體積的一半為準，視分離的難易再做調整，越困難的分離，區帶重疊機率越高，因此每次要收少一些。收集到的各部分以薄層層析或其它方法分析，然後決定收集那些部分。

二、器材：

實驗器材包括：鐵架、鐵夾、玻璃管柱、燒杯、錐形瓶、玻璃棒、拍振棒、滴管、試管、試管架、矽膠、沖提劑、試樣溶液、無水硫酸鈉或海砂。

三、實驗操作：

(一) 準備靜相

填充管柱的方法有濕式填充法 (slurry method) 及乾式填充法 (dry method) 兩種。濕式填充法是以燒杯稱取適量的矽膠作為靜相填充物。取適量的沖提劑於另一燒杯中，將靜相填充物慢慢攪拌加入於溶劑中，混合攪拌至成一稀泥狀且沒有氣泡存在為止。

(二) 填充管柱

1. 架設玻璃管柱

玻璃管柱以廣用夾垂直夾放於鐵架上，管柱下方放置一支錐形瓶以盛接沖提劑。

2. 加沖提劑

以少許棉花擋在管柱底端，然後在管柱上端放置一支漏斗，經由漏斗加入適量的沖提劑，使用長玻璃棒將棉花中的氣泡壓擠出，並且鋪上一薄層的無水硫酸鈉或海砂，然後再用適量沖提劑將無水硫酸鈉沖至底端。如果管柱下方有燒結玻璃擋板，則無須塞放棉花，直接在管柱中加入適量的沖提劑，以趕除玻璃擋片內的氣泡。

3. 填充管柱

以玻璃棒一面將稀泥狀填充物攪拌均勻，一面快速的倒入管柱中，剩餘在燒杯中以及黏附在管壁上的填充物，借助滴管吸取沖提劑沖洗入管柱中。固態填充物沉降過程中，應不時的輕敲管壁以趕除氣泡並且讓填充物平整而緊實。可以使用一個有孔的橡皮塞套在木棒上，作為敲振的工具。這個操作很重要，因為填充物上端表面如果不平整、管柱中有氣泡或裂痕，會破壞分離區帶的平整，使分離效果變差。由於沖提劑流出速度較慢，可自管柱上方將沖提液以乾淨的滴管抽出，以減少等待的時間。目前所有用過的沖提液均為乾淨的，因此可以合併再使用。

4. 緩衝層

待沖提劑液面落至填充靜相頂端水平時，加入少許無水硫酸鈉做為緩衝層，使無水硫酸鈉層厚度約為 0.5 公分。然後，用吸管吸取少許沖提液，沿著管柱壁小心沖下，讓粘滯於管柱壁上之硫酸鈉沖下。

(三) 載入試樣

當沖提劑落至填充靜相頂端水平時，用滴管抽取待分離試樣溶液，儘量靠近填充硫酸鈉層的表面，沿著管柱壁順著環形小心加入。待加入之試樣溶液已經完全吸入於填充靜相時，取少量沖提劑沿著管柱壁小心將粘滯於管柱壁上之試樣溶液沖洗下去，待此沖提劑沒入填充矽膠靜相之後，再重複一次沖洗之動作。

(四) 沖提分離與收集

加入沖提劑至玻璃管柱的頂端，準備 40 支收集用的試管，置於試管架。分管收集時需要注意收集的先後順序，也可以在試管上貼上標籤。開始以試管收集沖提液，每 1 mL 換一支試管，注意記錄在這一連串動作中

管柱上所觀察到的顏色變化，收集到管柱中有顏色的試樣均被沖提出來。沖提過程要注意隨時補充沖提劑不可讓沖提劑沒入矽膠靜相，這會造成矽膠管柱裂縫。收集結束後，得到多支不同顏色的試管。這些試管必須進一步用薄層層析法分析收集到的溶液，以判定分離效果。

(五) 實驗結束後處理

實驗結束後，將廢液倒入指定的回收桶中。玻璃管柱倒夾在燒杯上方，讓溶劑滴乾，固態填充物即可順利倒出，棄置於廢固體回收桶中。所有器具清洗整理乾淨，完成實驗。

(六) 實驗注意事項

1. 準備靜相時，將填充物加入於沖提劑中，混合攪拌至稀泥狀沒有氣泡。
2. 管柱內靜相填充物應該平整沒有氣泡或裂痕。
3. 裝填無水硫酸鈉時，要在沖提劑液面落到填充矽膠靜相的水平面後再加入。
4. 待沖提劑完全降至靜相填充物之後，才可用滴管沿著管柱壁小心、均勻的載入待分離試樣。
5. 待試樣溶液完全吸入於矽膠靜相填充物時，再加入沖提劑。
6. 沖提過程要注意隨時補充沖提劑，絕不可以讓沖提劑沒入靜相，造成氣泡或裂痕。
7. 實驗結束後，將靜相填充物棄置於廢固體回收桶中，不可倒入水槽。

四、參考資料：

1. 國立台灣大學化學系有機教研小組，*大學有機化學實驗*，第七版，國立台灣大學出版中心：台北市，**2004**。
2. Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S. *Introduction to Organic Laboratory Techniques: a Contemporary Approach*; Saunders College Publishing: New York, **1976**.
3. Shugar, G. J.; Shugar, R. A.; Bauman, L.; Bauman, R. S. *Chemical Technicians' Ready Reference Handbook*, 2nd. ed.; McGraw-Hill Book Co.: New York, **1981**.