

實驗十 Column chromatography separation of o- , p-nitroaniline

一、目的

學習管柱層析法來分離混合物

二、原理

管柱層析(Column chromatography or elution chromatography)是以一填充了極性吸附劑與溶劑的直立玻璃管柱來分離純化混合物。被分離的 sample 放入管柱上端，以溶劑持續沖提(elute)，不同的物質會以不同的時間沖提出來(圖 1)。

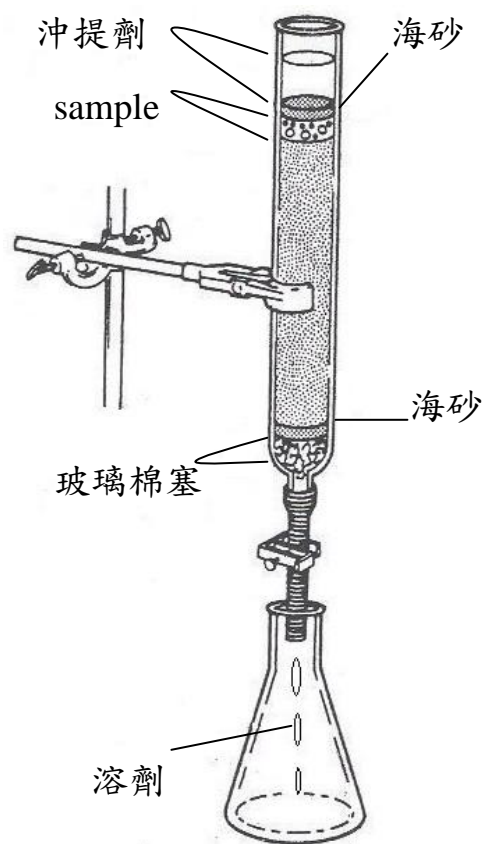
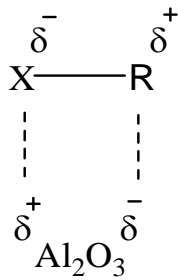


圖 1. column chromatography

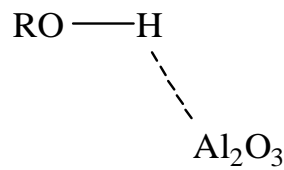
一般非極性物質較溶於溶劑，與吸附劑的吸引力弱，故很快也會被沖提出來，但極性的物質則被吸附地較強，沖提出來的速度就慢了，混合物因此可被分開。各物質的極順序如下：

alkanes > alkenes > ethers > halogenated hydrocarbons > aromatic hydrocarbons > aldehydes and ketone > ester > alcohols > amines > carboxylic acids

管柱中的吸附劑是以分子間的吸引力使分析物吸附於上，吸引力分為偶極距吸引力 (dipole-dipole attraction) 及氫鍵 (hydrogen bonding) 等。不同的吸附劑會吸附不同的物質。但一般不會吸引非極性的物質。



dipole-dipole attraction



hydrogen bonding

吸附劑吸附能力可排列如下：

alumina > activated charcoal > magnesium silicate (Florisil) > silica gel > inorganic carbonates > starch、cellulose、sucrose

沖提的溶劑均為有機化合物，它們也會被吸附劑吸附，但非極性的溶劑就不太會被吸附。當分離混合物時，將分析物置於管柱上端，先以非極性的溶劑(如石油醚，petroleum ether)沖提，非極性物質被吸附在吸附劑上的力較弱，卻較溶於非極性溶劑，故很快被沖提出來，至於極性物質恰好相反，故不太易被沖提出來。溶劑的極性順序如下：

alkanes > benzene > halogenated hydrocarbone > diethyl ether > ethyl acetate > acetone > alcohols > acetic acid

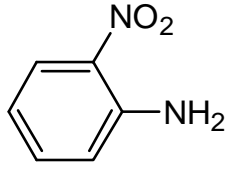
分離鄰硝基苯胺及對硝基苯胺時，管柱填充吸附劑可用 silicic acid，沖提液可用乙酸乙酯與庚烷的混合溶液。鄰硝基苯胺呈橘色，對硝基苯胺呈黃色，易觀察辨識。對硝基苯胺可與吸附基形成氫鍵，吸附力強，鄰硝基苯胺本身已形成分子內氫鍵，與吸附劑的吸引力就弱了，因此較快被沖提出來。做管柱層析時，應給予充分的時間，沖提流速要慢，約每分鐘 1~2 mL，使沖提液與吸附劑有足夠時間達到平衡。

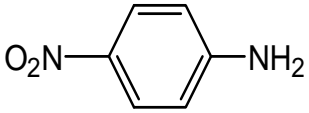
三、藥品

1. 乙酸乙酯(ethyl acetate) $\text{CH}_3\overset{\text{O}}{\parallel}\text{COC}_2\text{H}_5$

2. 玻璃棉(glass wool)

3. 正己烷(n-hexane) $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$

4. 鄰硝基苯胺(o-nitroaniline) 

5. 對硝基苯胺(p-nitroaniline) 

6. 矽酸(silicic acid) H_4SiO_4

四、器材

1. 燒杯
2. column
3. silica gel
4. 安全吸球

五、步驟

A. 前置準備工作

1. 將 0.2 g 鄰硝基苯胺、0.2 g 對硝基苯胺及 2 mL 之乙酸乙酯放入 50 mL 之錐形瓶內配製成 stock solution。

B. 準備管柱

1. 架設直立的玻璃管，關閉玻璃管下端的旋轉閥，利用漏斗加入 20 mL 正己烷於管柱中，將少許已浸泡於正己烷中的玻璃棉由長玻璃棒塞入管柱底部，並以玻璃棒按壓排除玻璃棉空氣。
2. 在 100 mL 燒杯中加入 15 g silicic acid (silica gel)及 50 mL 正己烷，完全混合，排出氣泡。
3. 將管柱底部旋轉閥打開，並且下方放置一錐形瓶，將混合的 silica gel slurry 利用漏斗一次倒入管柱內。把下方錐形瓶收集的正己烷中回沖洗燒杯，讓殘餘的 silicic acid 利用漏斗倒入管柱中，並用滴管清洗管壁上的 silica gel。
4. 當正己烷液面高於 silica 上端 1 cm 處時，關上旋轉閥，停止流出。用安全吸球輕敲管柱，使 packing 更緊密。利用刮勺加入 0.5 g 海砂成薄薄一層。

C. Loading 樣品

1. 將 stock solution 取 1 mL，以滴管繞圈滴入，不要碰到管壁。

D. 展開(Developing)

1. 利用滴管加入正己烷，持續沖提，直到胺類大約移動 7 cm，上層黃色，下層橘色。
2. 更改沖提液，加入 100 mL 30% ethyl acetate solution in n-hexane (30 mL EA + 70 mL n-hexane)於管中，持續沖提，直到當橘色化物流出後，以稱過重的 250 mL 圓底瓶收集。

E. 分離胺類

1. 加入 30 mL 30% ethyl acetate solution in heptane 沖提，使黃色化合物完全沖提出來，收集在另一稱重的圓底燒瓶中。
2. 將二瓶分別濃縮，稱重，測熔點，並計算其回收率。

六、實驗結果紀錄

1. o-nitroaniline , p-nitroaniline 的顏色
2. o-nitroaniline , p-nitroaniline 各收集瓶重
3. o-nitroaniline , p-nitroaniline 各產物重 , m.p. , 回收率