PROCEDIMENT NORMAL DE TREBALL COLUMNA CROMATOGRÀFICA (introducció de la mostra via humida):

1. Per a una columna cromatogràfica de 42 cm d'alçada i 2,5 cm de diàmetre (crus de reacció de l'ordre de 500 mg), agafem uns 70 cm3 de silica-60 per cromatografia mesurats en una proveta.

Per a una columna cromatogràfica de 30 cm d'alçada i 2 cm de diàmetre (crus de reacció de l'ordre de 300 mg), agafem uns 45 cm3 de silica-60 per cromatografia mesurats en una proveta.

Per a una columna cromatogràfica de 30 cm d'alçada i 1,5 cm de diàmetre (crus de reacció de l'ordre de 250 mg), agafem uns 25 cm3 de silica-60 per cromatografia mesurats en una proveta.

2. Preparem el gel amb la silica-60 o l'alúmina neutre i el dissolvent o mescla de dissolvents que farem servir d'eluent.

3. Omplim la columna amb l'eluent fins a una cinquena o quarta part de la seva alçada.

4. Aboquem el gel a la columna.

5. Deixem una estona per tal que el gel vagi sedimentant. Després, accelerem el procés obrint una mica la clau. S'ha de deixar que l'eluent arribi a la part superior d'on queda el gel.

6. Es dissolt la mescla a separar en el mínim volum de l'eluent.

6. Afegim, amb l'ajut d'una pipeta Pasteur, la solució a separar amb cura i per la paret de la columna.

7. També amb una pipeta Pasteur, netegem bé la paret de la columna amb una mica d'eluent.

8. Obrim la clau per introduir la solució problema a la fase estacionària.

9. Afegim l'eluent amb cura i per la paret de la columna, de manera que aquesta estigui plena fins dalt.

No s'ha de deixar que el nivell de l'eluent estigui per sota del nivell superior del gel.

És convenient filtrar les fraccions que es recullen, ja que part de la fase estacionària no queda retinguda per la placa filtrant de la columna.

Treballeu a la vitrina. Els dissolvents clorats són nocius i quan es manipula silica 60 queden partícules en suspensió a l'aire.

Material de vidre per fer una columna de cromatografia preparativa

Preparació de la fase mòbil

Preparació de la fase estacionària

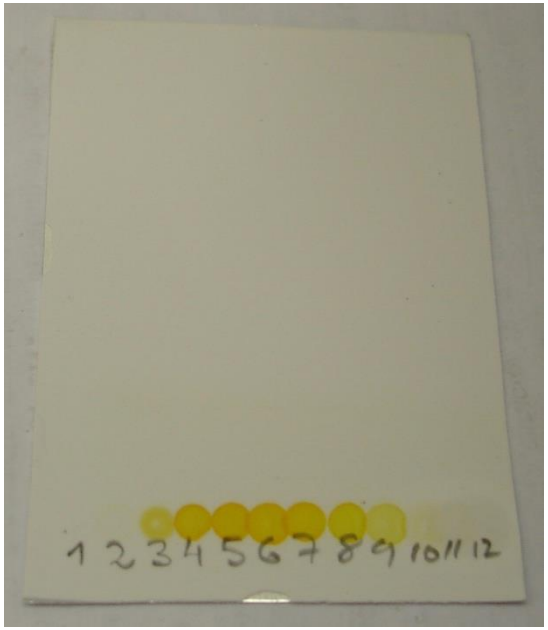
Introducció de la fase estacionària a la columna

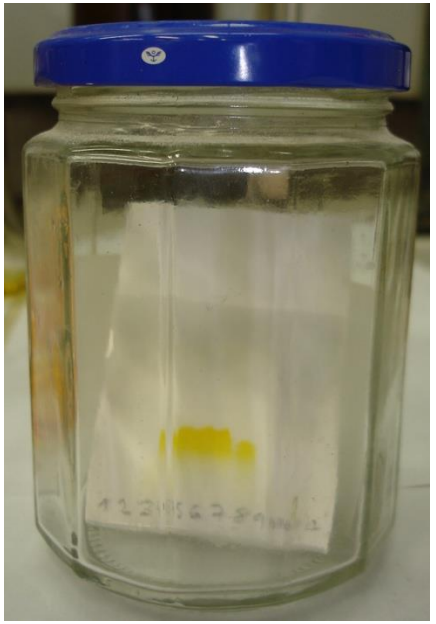
Introducció de la mostra a la columna

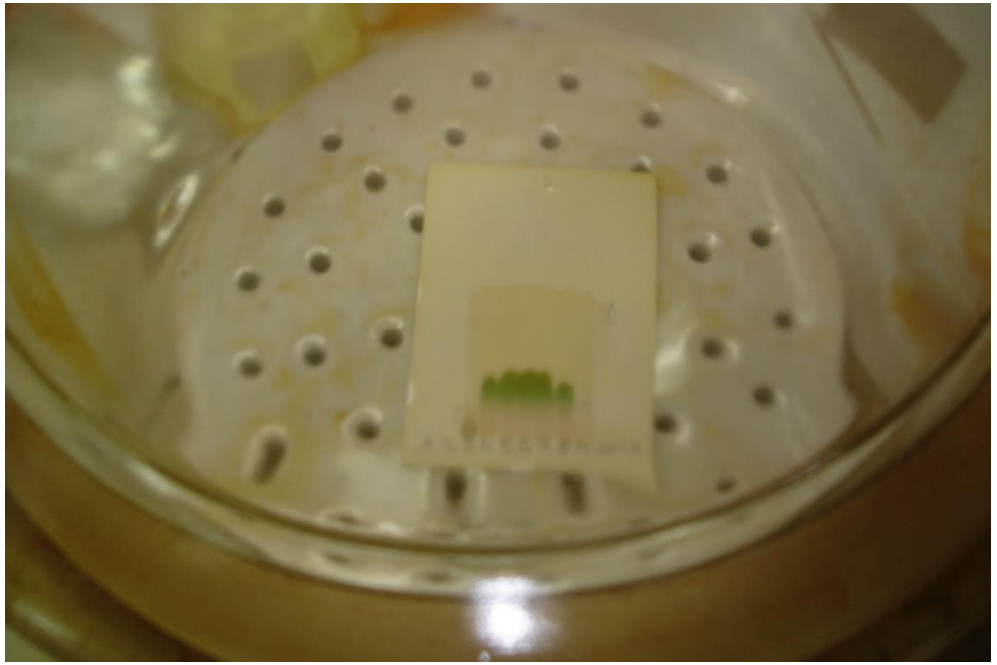
Introducció de l’eluent a la columna

Elució de la mostra i separació en fraccions de les bandes

Anàlisi per TLC de les fraccions i revelat en iode







Eliminació dels solvents i dels residus de silica

Filtració i concentració al rotavapor de les fraccions interessants