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

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 cm^3 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 350 mg), agafem uns 45 cm^3 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 cm^3 de **silica-60** per cromatografia mesurats en una proveta.

2. Preparem el gel amb **silica-60** 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. La mescla a separar es dissolt en el mínim volum del principal solvent que s'utilitzarà com eluent en un erlenmeyer esmerilat de 100 mL. Per a la columna cromatogràfica de 42x2,5 cm s'hi afegeixen 3 cm^3 de **silica-40,** per a la columna cromatogràfica de 30x2 cm s'hi afegeixen 2 cm^3 de **silica-40**, i per a la columna cromatogràfica de 30x1,5cm s'hi afegeixen 1,5 cm^3 de **silica-40**.

7. La suspensió es concentra a sequedat en el rotavapor.

8. La **silica-40** amb la mostra absorbida s'aboca amb precaució amb l'ajuda d'una espàtula en forma de cullera i un embut de sòlids dins de la columna.

9. Sobre el sòlid anterior s'hi afegeix amb una espàtula en forma de cullera i amb l'ajuda d'un embut de sòlids una capa d'uns 2 mil·límetres de sorra de mar neta.

10. Afegim l'eluent amb cura i per la paret de la columna i al mateix temps obrim la clau per introduir la mostra a la fase estacionària.

11. Afegim l'eluent fins omplir la columna.

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.

WORKING PROCEDURE FOR CHROMATOGRAPHIC COLUMN (introduction of the sample by dry method):

1.For a chromatographic column 42 cm high and 2.5 cm in diameter (reaction crude on the order of 500 mg), we take about 70 cm^3 of **silica-60** for chromatography measured in a measuring cylinder.

For a chromatographic column 30 cm high and 2 cm in diameter (reaction crude on the order of 350 mg), we take about 45 cm^3 of **silica-60** for chromatography measured in a measuring cylinder.

For a chromatographic column 30 cm high and 1.5 cm in diameter (reaction crude on the order of 250 mg), we take about 25 cm^3 of **silica-60** for chromatography measured in a measuring cylinder.

2. Prepare the gel with **silica-60** and the solvent or mixture of solvents that we will use as the eluent.

3. Fill the column with the eluent up to a fifth or a quarter of its height.

4. Put the gel into the column.

5. Allow some time for the gel to settle. Then, we speed up the process by opening the key a little. The eluent must be allowed to reach the top of where the gel reaches.

6. The mixture to be separated is dissolved in the minimum volume of the major solvent to be used in the eluent in a 100 mL Erlenmeyer flask with ground glass joint. For the chromatographic column 42x2.5cm, 3 cm^3 of **silica-40** are added, for the chromatographic column 30x2 cm 2 cm^3 of **silica-40** are added and for the chromatographic column 30x1.5cm, 1.5 cm^3 of **silica-40** are added.

7. The suspension is concentrated to dryness in the rotavapor.

8. **Silica-40** with the absorbed sample is poured cautiously with the help of a spoon-shaped spatula and a funnel for solids inside the column.

9. On top of the above solid, a layer of about 2 millimeters of clean sea sand is added with a spoon-shaped spatula and a funnel for solids .

10. Add the eluent carefully and through the wall of the column and at the same time open the key to introduce the sample into the stationary phase.

11. Add the eluent until filling the column.

The level of the eluent should not be allowed to be below the upper level of the gel.

It is convenient to filter the fractions that are collected, since part of the stationary phase is not retained by the filter plate of the column.

Work in the fume chamber. Chlorinated solvents are harmful, and when handling silica-60, particles remain suspended in the air.

Material de vidre per fer una columna de cromatografia preparativa

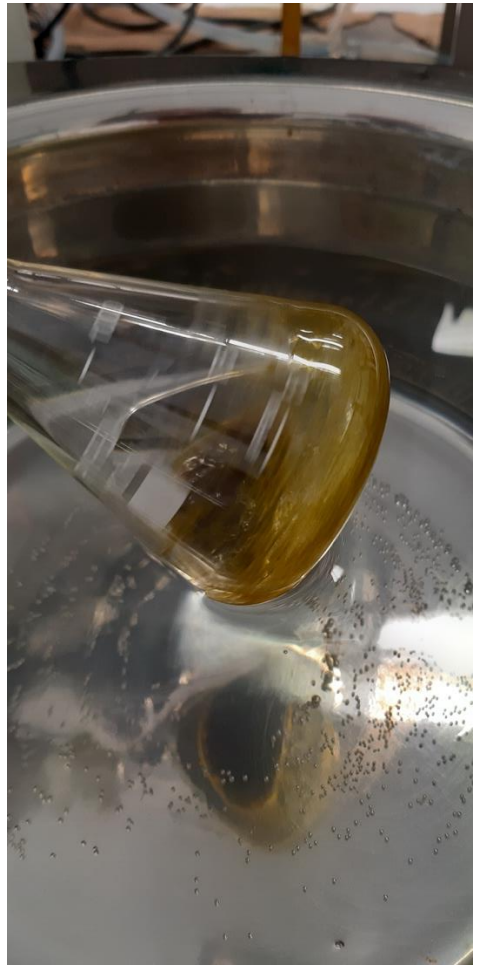
Preparació de la fase mòbil

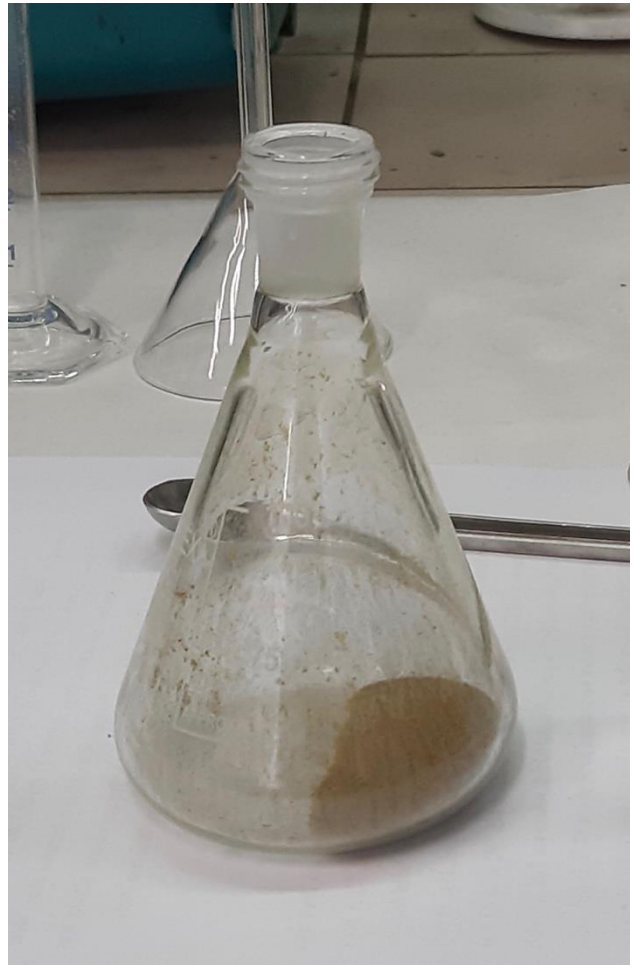
Preparació de la fase estacionària (silica-60)

Introducció de la fase estacionària a la columna

Adsorció de la mostra a la silica-40

Dissoldre la mostra en el solvent principal de l'eluent en un Erlenmeyer esmerilat de 100 mL, afegir 2,5 cm^3 de silica-40 (per una columna cromatogràfica de 42 cm d'alçada i 2,5 cm de diàmetre) i concentrar la suspensió al rotavapor

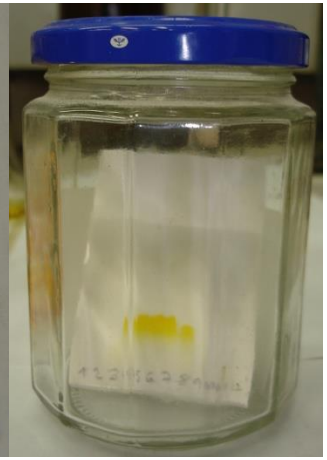


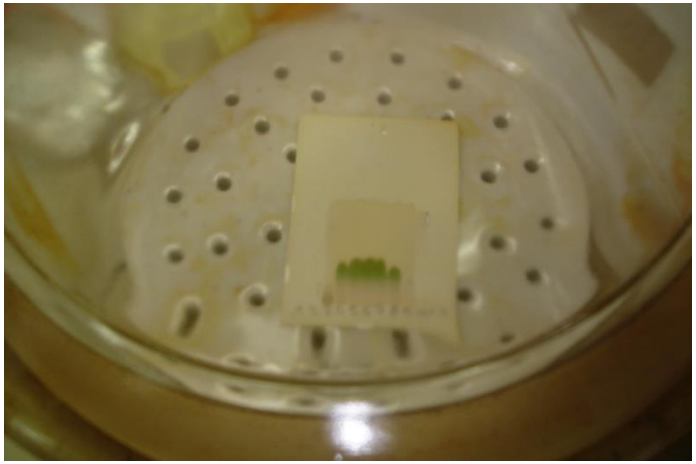


Introducció de la mostra

Introducció de l’eluent i elució de la mostra

Separació de les bandes en fraccions, 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