

过柱的实验方法和技巧

常说的过柱子应该叫柱层析分离,也叫柱色谱。我们常用的是以硅胶或氧化铝作固定相的吸附柱。由于柱分的经验成分太多,所以下面我就几年来过柱的体会写些心得,希望能有所帮助。

一: 柱子可以分为: 加压, 常压, 减压

压力可以增加淋洗剂的流动速度,减少产品收集的时间,但是会减低柱子的塔板数。所以其他条件相同的时候,常压柱是效率最高的,但是时间也最长,比如天然化合物的分离,一个柱子几个月也是有的。

减压柱能够减少硅胶的使用量,感觉能够节省一半甚至更多,但是由于大量的空气通过硅胶会使溶剂挥发(有时在柱子外面有水汽凝结),以及有些比较易分解的东西可能得不到,而且还必须同时使用水泵抽气(很大的噪音,而且时间长)。以前曾经大量的过减压柱,对它有比较深厚的感情,但是自从尝试了加压后,就几乎再也没动过减压的念头了。

加压柱是一种比较好的方法,与常压柱类似,只不过外加压力使淋洗剂走的快些。压力的提供可以是压缩空气,双连球或者小气泵(给鱼缸供气的就行)。特别是在容易分解的样品的分离中适用。压力不可过大,不然溶剂走的太快就会减低分离效果。个人觉得加压柱在普通的有机化合物的分离中是比较适用的。

二: 关于柱子的尺寸

应该是粗长的最好。柱子长了,相应的塔板数就高。柱子粗了,上样后样品的原点就小(反映在柱子上就是样品层比较薄),这样相对的减小了分离的难度。试想如果柱子十厘米,而样品就有二厘米,那么分离的难度可想而知,恐怕要用很低极性的溶剂慢慢冲了。而如果样品层只有0.5厘米,那么各组分就比较容易得到完全分离了。当然采用粗大的柱子要牺牲较多的硅胶和溶剂了,不过这些成本相对于产品来说也许就不算什么了(有些不环保的说,不过溶剂回收重蒸后也就减小了部分浪费)。

现在见到的柱子径高比一般在1: 5~10,书中写硅胶量是样品量的30~40倍,具体的选择要具体分析。如果所需组分和杂质分的比较开(是指在所需组分 r_f 在0.2~0.4,杂质相差0.1以上),就可以少用硅胶,用小柱子(例如200毫克的样品,用2cm×20cm的柱子);如果相差不到0.1,就要加大柱子,我觉得可以增加柱子的直径,比如用3cm的,也可以减小淋洗剂的极性等等。

三: 关于无水无氧柱

适用于对氧,水敏感,易分解的产品,可以湿柱,也可以干柱。不过在样品之前至少要用溶剂把柱子饱和一次,因为溶剂和硅胶饱和时放出的热量有可能是产品分解,毕竟要分离的是敏感的东东,小心不为过。也是因为分离的东西比较敏感,所以接收瓶一定要用可密封的,遵循schlenk操作。至于是加压、常压、减压,随需而定。因为是schlenk操作,所以点板是个问题,如果样品是显色的,恭喜了,不用点板,直接看柱子上的色带就行了。如果样品无色,只好准备几十个schlenk瓶,一瓶一瓶的点,不过几次之后就on知道样品在哪,也就可以省些了。像我以前过一根无水无氧柱,需要六个schlenk,现在只一个就能把所要的全收集到。

无水无氧柱中用的比较多的是用氧化铝作固定相。因为硅胶中有大量的羟基裸露在外,很容易是样品分解,特别是金属有机化合物和含磷化合物。而氧化铝可以做成碱性、中性和酸性的,选择余地比较大,但是比硅胶要贵些。听说有个方法,就是用石英做柱子,然后用HF254做固定相,这样在柱子外面用紫外灯一照就知道产品在哪里了,没有验证过。哪位做过可以提出来大家参详参详。

四：关于湿法、干法上样

湿法省事，一般用淋洗剂溶解样品，也可以用二氯甲烷、乙酸乙酯等，但溶剂越少越好，不然溶剂就成了淋洗剂了。很多样品在上柱前是粘乎乎的，一般没关系。可是有的上样后在硅胶上又会析出，这一般都是比较大量的样品才会出现，是因为硅胶对样品的吸附饱和，而样品本身又是比较好的固体才会发生，这就应该先重结晶，得到大部分的产品后再柱分，如果不能重结晶，那就不管它了，直接过就是了，样品随着淋洗剂流动会溶解的。

有些样品溶解性差，能溶解的溶剂又不能上柱（比如DMF, DMSO等，会随着溶剂一起走，显色是一个很长的脱尾），这时就必须用干法上柱了。样品和硅胶的量有一种说法是1: 1，我觉得是越少越好，但是要保证在旋干后，不能看到明显的固体颗粒（那说明有的样品没有吸附在硅胶上）。

五：溶剂的选择

当然是最便宜，最安全，最环保的了。所以大多选用石油醚，乙酸乙酯。文献中有写用正己烷的，太贵了，除非特别需要不要用不然银子哗哗的，流的比淋洗剂还快，不过因为极性很小，有时还是非它不可。乙醚也可以用，但是就是容易睡觉，注意保持清醒别让溶剂流干了，那样柱子也就不爽了。二氯甲烷也有用的，但是要知道，它和硅胶的吸附是一个放热过程，所以夏天的时候经常会在柱子里产生气泡，天气冷的时候会好一些。甲醇据说能溶解部分的硅胶，所以产品如果想过元素分析的话要留神，应该经过后继处理，比如说重结晶等。其他的溶剂用的相对较少，要依个人的不同需要选择了。

由于某些原因，用到的淋洗剂多是大包装的（便宜嘛），我们这里是用10升或25升的塑料桶装的，就要注意这些工业品的纯度是较低的。经常能够从送来的大桶底部看见有色的杂质，其他的杂质就可想而知了，所以在比较严格的柱分时就要对溶剂重蒸。当然过原料时就可以免去这一步了，反正下面还有提纯的方法。

另外溶剂在过柱子后最好也回收使用，一方面环保，另一方面也能节省部分经费，缺点是要消耗一定的人工。这里要注意的是，一般在过柱同时进行的是减压旋蒸，石油醚和乙酸乙酯的比例由于挥发度的不同会导致极性的变化，一般会使得极性变大，在梯度淋洗时比较合适，正好极性越来越大了。在过完柱子后，溶剂最后回收要采用常压，因为在减压旋蒸时会有部分低沸点的杂质一起出来，常压时就会减少这种现象，如果杂质和你下面要过的样品有反应那就惨了。

六：关于操作问题

1、装柱

柱子下面的活塞一定不要涂润滑剂，会被淋洗剂带到产品中的，可以采用四氟节门的。干法和湿法装柱觉得没什么区别，只要能把柱子装实就行。装完的柱子应该要适度的紧密（太密了淋洗剂走的太慢），一定要均匀（不然样品就会从一侧斜着下来）。书中写的都是不能见到气泡，我觉得在大多数情况下有些小气泡没太大的影响，一加压气泡就全下来了。当然如果你装的柱子总是有气泡就说明需要多练习了。但是柱子更忌讳的是开裂，甬管竖的还是横的，都会影响分离效果，甚至作废！

2、加样

用少量的溶剂溶样品加样，加完后将下面的活塞打开，待溶剂层下降至石英砂面时，再加少量的低极性溶剂，然后再打开活塞，如此两三次，一般石英砂就基本是白色的了。加入淋洗剂，一开始不要加压，等溶样品的溶剂和样品层有一段距离（2~4cm就够了），再加压，这样避免了溶剂（如二氯甲烷等）夹带样品快速下行。

3、淋洗剂的选择

感觉上要使所需点在 r_f 0.2~0.3左右的比较好。不要认为在板上爬高了分的比较开，过柱子就用那种极性，如果 r_f 在0.6，即使相差0.2也不容易在柱子上分开，因为柱子是一个多次爬板的状态，可以通过公式的比较： $0.6/0.8$ 一次的分度，肯定不如 $(0.2/0.3)$ 的三次方或

四次方大。

4、样品的收集

用硅胶作固定相过柱子的原理是一个吸附与解吸的平衡。所以如果样品与硅胶的吸附比较强的话,就不容易流出。这样就会发生,后面的点先出,而前面的点后出。这时可以采用氧化铝作固定相。另外,收集的试管大小要以样品量而定,特别是小量样品,如果用大试管,可能一根就收到了三个样品, wuwu。如果都用小试管那工作量又太大。

5、最后的处理

柱分后的产品,由于使用了大量的溶剂,其中的杂质也会累积到产品中,所以如果想送分析,最好用少量的溶剂洗涤一下,因为大部分的杂质是溶在溶剂里的,一洗基本就没了,必要时进行重结晶。

另外,再过柱的时候,有时会出现气泡,一是和使用的溶剂有关,如果是易挥发的溶剂,如乙醚、二氯甲烷等,在室温稍高的情况下,很容易出现这种现象,因此,在室温高的时候,可以选择沸点较高,挥发相对小的溶剂。还有,使用混合溶剂时,使用的两种溶剂的沸点应该相差不大,如:乙酸乙酯和石油醚(60-90),而乙醚却要选择30-60的石油醚。二是:不论是用带砂板的还是塞棉花的,在装柱之前,都要将空气用加压的方法将空气排干,这样就避免柱中有空气!过柱子需要耐心,不要着急。

-