

Anleitung Säulenchromatographie

1. Dünnschichtchromatographie (DC) des Rohprodukts, bis R_f -Wert $\leq 0,3$

- R_f -Wert des Produkts sollte bei ca. 0,3 liegen
- Wenn $R_f > 0,3$, so muss die Polarität des Laufmittels verringert werden
- Wenn $R_f \leq 0,3$: Eingesetztes Laufmittelgemisch merken (bspw. cHex/ EtOAc = 2:1) und später für die Säule verwenden

2. Benötigte Trennleistung anhand der DC ermitteln

- Wenn die Spots der Nebenprodukte auf der DC nah beim Spot des Produkts liegen, so muss bei der Säulenchromatographie viel Silica verwendet werden
- Liegt auf der DC bereits eine gute Trennung zwischen Produkt und Nebenprodukt vor, so ist eine geringere Menge Silica ausreichend bei der Säule

3. Säule vorbereiten und aufbauen

- Schnappgläser (Schnappis) ggf. nummerieren und bereitstellen
- Ausreichende Menge des bei der DC ermittelten Laufmittelgemischs ansetzen
- Säule so klammern, sodass sie von allen Seiten gerade ist, und ein kleines Becherglas o.Ä. darunterstellen
- Das Rohprodukt in sehr wenig Laufmittel lösen und Gefäß verschließen

4. Säule bepacken

- Mit einem Feststofftrichter das Silicagel in die Säule geben
- Mindestens bis zur Hälfte, maximal bis unter den Schiff Silica hineingeben – je nach benötigter Trennleistung (siehe Schritt 2)
- Das Silica aus der Säule in einen großen Erlenmeyerkolben schütten
- So viel Laufmittel zum Silica hinzugeben (aufschlännen), bis es die Konsistenz von flüssigem Kleister/ Rübenkraut hat; eher zu flüssig als zu viskos
- Zwischendurch umrühren
- Eine kleine Menge Laufmittel in die Säule geben und den Hahn öffnen, bis ein Tropfen Laufmittel hinausläuft
- Hahn schließen und mit Trichter das aufgeschlännte Silicagel hineingeben, bis alles drin ist oder die Säule voll ist
- Am besten eher langsam und so, dass das Silica am Rand hinunterläuft, damit keine Blasen entstehen
- Wenn große Blasen vorliegen, mit einem Korkring vorsichtig (!) die Säule abklopfen, damit die Blasen nach oben steigen
- Kurz warten, bis sich das Silica abgesetzt hat
- Mit einer Pasteur-Pipette den Schliff und die Innenwand der Säule mit Laufmittel abspülen, damit kein Silica mehr an der Innenseite hängt; vor allem auf einen sauberen Schliff achten

- Hahn öffnen und mit einer Handpumpe das Laufmittel vorsichtig runterpumpen, bis noch etwa einen Zeigefinger hoch Laufmittel über der Silica-Schicht liegt, Hahn schließen
- Das Silica darf auf keinen Fall trocken werden!
- Pumpe entfernen, Hahn öffnen und das restliche Laufmittel nur per Schwerkraft hinunterlaufen lassen, bis das Silica grade noch bedeckt ist mit Laufmittel
- Achtung: Die Laufmittelfront sinkt noch ein kleines bisschen tiefer, nachdem der Hahn bereits geschlossen wurde
- Tipp: Wenn man sanft gegen die Säule klopft, sodass auf der Oberfläche des Laufmittels Wellen entstehen, lässt sich leichter abschätzen, wann nur noch ganz wenig Laufmittel auf der Silica-Schicht drauf ist. Spätestens, wenn keine Wellen mehr auftauchen, muss der Hahn geschlossen werden

5. *Rohprodukt auftragen*

- Nun mit einer Pasteur-Pipette das gelöste Rohprodukt aufnehmen und knapp über dem Laufmittel gleichmäßig auftragen – hierbei das Rohprodukt stets an der Innenwand entlang hinunterlaufen lassen und mit der Hand kreisende Bewegungen machen
- Wenn alles aufgetragen wurde, das Laufmittel wieder bis knapp über der Silica-Schicht hinablassen (siehe Schritt 4)
- Vorsichtig mit einer Pipette Laufmittel in die Säule geben; das Silica darf auf keinen Fall aufschlammern
- Wenn eine genügend hohe Menge an Laufmittel über der Silica-Schicht liegt (ca. 10 cm), mit einem Trichter vorsichtig weiter Laufmittel auffüllen, bis die Säule voll ist
- Ggf. eine Glaskugel auf die Säule setzen, festklammern, und ebenfalls mit Laufmittel befüllen

6. *Durchführen der Chromatographie*

- Hahn öffnen, mit der Pumpe das Laufmittel hinunterpumpen und Fraktionen befüllen
- Nach bspw. 10 Fraktionen eine DC durchführen; hierbei kann auch ein polareres Laufmittel zur besseren Trennung von Produkt und Nebenprodukt verwendet werden, falls Mischfraktionen auftreten
- Sobald das Produkt von der Säule kommt, wird auf der DC ab einer bestimmten Fraktion der Produkt-Spot zu sehen sein
- So lange weitere Fraktionen sammeln, bis der Produkt-Spot nicht mehr auf der DC der jüngsten Fraktion zu erkennen ist
- Alle Fraktionen vereinen, welche nur das Produkt enthalten (Mischfraktionen bei Seite legen oder verwerfen) und das Lösungsmittel am Roti entfernen