

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比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, 不过几次之后就知道了样品在哪, 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： $0.6/0.8$ 一次的分离度，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，在过柱的时候，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，这样就可避免柱中有空气！过柱子需要耐心，不要着急。