

Flash-Chromatographie

Die Flash-Chromatographie ist eine preisgünstige und effektive Methode der Säulenchromatographie, die vor allem im Syntheselabor eingesetzt wird. Die Apparatur besteht aus einer Glassäule (Trennsäule, 6) und einem Vorratsgefäß (1) für den Eluenten (7). Dieser wird bei der Flash-Chromatographie mit einem geringen Überdruck (1,5–2,0 bar) durch das Kieselgelbett (9) gedrückt. Die Flash-Chromatographie ermöglicht Trennungen von Substanzgemischen zwischen 10 mg und 2 g. Neben dem geringen apparativen Aufwand bietet die Flash-Chromatographie den Vorteil, dass die Säule mit trockenem Sorbens befüllt werden kann.

Alternativ zu Standard-Kieselgel 60 (Porenweite 60 Å, bevorzugte Partikelgröße 0,04–0,063 mm) können auch hochreine, unmodifizierte oder modifizierte POLYGOPREP Kieselgele verschiedener Porenweiten (60, 100, 300 und 1000 Å) verwendet werden. Die Trennleistung der Flash-Chromatographie erlaubt die Auftrennung von Verbindungen, die auf einer dem Packungsmaterial kompatiblen Dünnschicht-Chromatographie Folie bzw. Platte einen R_f -Wertunterschied von mindestens 0,1 zeigen.

Bitte beachten: Mit dem vorliegenden Produkt haben Sie ein hochwertiges Produkt zur Anwendung bei der Flash-Chromatographie bezogen. Flash-Säulen, Vorratsgefäße und weiteres Zubehör sind gemäß den allgemeingültigen Prinzipien und Arbeitstechniken der Flash-Chromatographie zu verwenden. Der korrekte Aufbau einer Apparatur und Ablauf der Methodik liegt in der Verantwortung des Kunden und ist durch den jeweiligen Anwender sicherzustellen. MACHEREY-NAGEL übernimmt keine Garantie oder Gewährleistung für die erfolgreiche Durchführung von Trennungen. Im Folgenden sind das Flash-Chromatographie Produktsortiment, geeignete Sorbentien, die Durchführung (Gebrauchsanleitung für Kits, Säulen und Zubehör) und die Gebrauchsanleitung für die Manometereinheit beschrieben. Falls Sie nach dem Lesen dieser Anleitung noch Fragen haben sollten, wenden Sie sich bitte an unseren Service / technische Produktberatung.

Sicherheitshinweise

Unsere Flash-Chromatographie Glassäulen und Vorratsgefäße sind mit einem Berstschutz versehen. Bitte treffen Sie dennoch beim Arbeiten entsprechende Schutzmaßnahmen, z.B. Augenschutz und Sicherung der Arbeitsumgebung (geschlossener Abzug) gegen ein mögliches Bersten der Apparatur und/oder gegen austretende Flüssigkeiten. Beachten Sie die allgemeinen Gefahrenhinweise für die verwendeten Chemikalien und Lösemittel. Jegliche Garantie oder Gewährleistung von MACHEREY-NAGEL erlischt, falls durch unsachgemäße Verwendung oder Behandlung Folgeschäden auftreten.

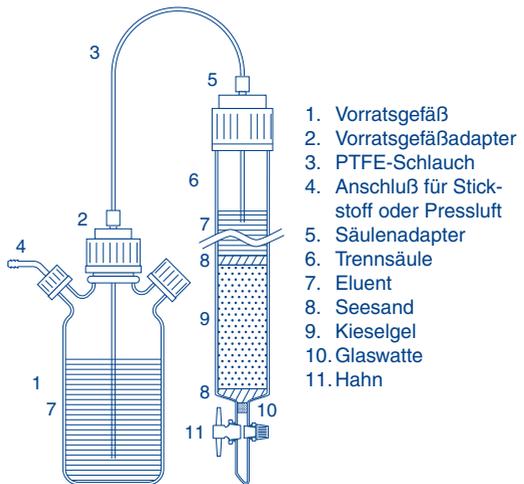


Abb. 1: Flash-Chromatographiesystem

**Flash-Chromatographie Produktsortiment**

MACHEREY-NAGEL bietet für die Flash-Chromatographie ein Sortiment von Kits, Säulen und Zubehör an:

Bestellinformation Kits, Säulen und Zubehör

Bezeichnung	Pg. à	REF
Flash-Chromatographie-Kits		
Flash-Chromatographie-Kit I besteht aus 1 Glassäule 20 mm ID x 400 mm Länge, ein 1 L Vorratsgefäß, 100 g Kieselgel 60 (40–63 µm), Seesand, silanisierte Glasfaserwatte, 1 m PTFE-Schlauch	1 Kit	727450
Flash-Chromatographie-Kit II besteht aus 1 Glassäule 40 mm ID x 450 mm Länge, ein 2 L Vorratsgefäß, 100 g Kieselgel 60 (40–63 µm), Seesand, silanisierte Glasfaserwatte, 1 m PTFE-Schlauch	1 Kit	727451
Flash-Chromatographie Säulen		
komplett mit Adapter und PTFE-Hahn, mit einem PE-Netz als Berstschutz versehen		
20 mm ID x 400 mm Länge	1	727401
40 mm ID x 450 mm Länge	1	727407
Zubehör für Flash-Chromatographie Glassäulen		
Vorratsgefäß 1 L mit Adapter, Kunststoffummantelung als Berstschutz, verhindert auch UV-induzierte Radikalbildung im Eluenten	1	727420
Vorratsgefäß wie oben, aber 2 L Inhalt	1	727421
Manometereinheit zum Regulieren der Flussrate	1	727422
PTFE-Schlauch, 3 mm AD, 2 mm ID, Länge 1 m	1 m	727424
Seesand, säuregewaschen und gegläht	1 kg	727423
Glasfaserwatte, silanisiert	25 g	718002



Flash-Chromatographie

Sorbentien

Neben dem für die Flash-Chromatographie am gängigsten Kieselgel 60 M (40–63 µm; REF 815381) bieten wir als Sorbentien- und HPLC-Säulenhersteller ein umfangreiches Sortiment an unmodifizierten und modifizierten Kieselgelen für die Flash-Chromatographie:

Bestellinformation Kieselgel 60

Bezeichnung	Partikelgröße	Pg. à 1 kg	Pg. à 5 kg	Pg. à 25 kg
Kieselgel 60, 0,015–0,04 mm	–	815650.1	815650.5	815650.25
Kieselgel 60, 0,025–0,04 mm	–	815300.1	815300.5	815300.25
Kieselgel 60, 0,04–0,063 mm	230–400 mesh	815380.1	815380.5	815380.25
Kieselgel 60 M, 0,04–0,063 mm	230–400 mesh	815381.1	815381.5	815381.25
Kieselgel 60, 0,05–0,1 mm	130–270 mesh	815390.1	815390.5	815390.25
Kieselgel 60, 0,05–0,2 mm	70–270 mesh	815320.1	815320.5	815320.25
Kieselgel 60, 0,063–0,2 mm	70–230 mesh	815330.1	815330.5	815330.25
Kieselgel 60, < 0,063 mm	+230 mesh	815400.1	815400.5	815400.25
Kieselgel 60, < 0,08 mm	+190 mesh	815310.1	815310.5	815310.25
Kieselgel 60, 0,1–0,2 mm	70–130 mesh	815340.1	815340.5	–
Kieselgel 60, 0,2–0,5 mm	35–70 mesh	815350.1	815350.5	815350.25
Kieselgel 60, 0,5–1,0 mm	18–35 mesh	815360.1	815360.5	815360.25

Bestellinformation unmodifiziertes und modifiziertes POLYGOPREP, 60 Å

(Auswahl – für Sorbentien mit weiteren Porenweiten und Partikelgrößen siehe www.mn-net.com)

Bezeichnung	Partikelgröße	Kohlenstoff- gehalt	Pg. à 1 kg	Pg. à 5 kg
POLYGOPREP 60-30	25–40 µm	–	711250.1000	
POLYGOPREP 60-50	40–63 µm	–	711260.1000	
			Pg. à 100 g	Pg. à 1 kg
POLYGOPREP 60-30 C ₁₈	25–40 µm	12% C	711480.100	711480.1000
POLYGOPREP 60-50 C ₁₈	40–63 µm	12% C	711500.100	711500.1000
POLYGOPREP 60-30 C ₈	25–40 µm	7% C	711470.100	711470.1000
POLYGOPREP 60-50 C ₈	40–63 µm	7% C	711490.100	711490.1000
POLYGOPREP 60-30 CN	25–40 µm	~ 4,5% C	711017.100	711017.1000
POLYGOPREP 60-30 NH ₂	25–40 µm	~ 3% C	711014.100	711014.1000

Für die Auswahl eines geeigneten Eluentensystems und zur Reinheitskontrolle empfehlen wir unsere zu dem Packungsmaterial kompatiblen Dünnschicht-Chromatographie Folien und Glasplatten. Die folgende Tabelle zeigt beispielhaft geeignete DC-Produkte:

Bestellinformation kompatibler DC-Folien und -Glasplatten

Sorbens für die Flash-Chromatographie	Kompatibles DC-Produkt	REF (DC-Produkt)
Kieselgel 60		
POLYGOPREP 60-30	ALUGRAM® Xtra SIL G/UV ₂₅₄ , 20 x 20 cm	818333
POLYGOPREP 60-50	ALUGRAM® Xtra SIL G/UV ₂₅₄ , 4 x 8 cm	818331
POLYGOPREP 60-30 C ₁₈	ALUGRAM® RP-18 W/UV ₂₅₄ , 4 x 8 cm	818144
POLYGOPREP 60-50 C ₁₈	Nano-SIL C18–100 UV ₂₅₄ , 10 x 10 cm	811062
POLYGOPREP 60-30 C ₈		
POLYGOPREP 60-50 C ₈	Nano-SIL C18–50 UV ₂₅₄ , 10 x 10 cm	811064
POLYGOPREP 60-30 CN	Nano-SIL CN/UV, 10 x 10 cm	811115
POLYGOPREP 60-30 NH ₂	Nano-SIL NH ₂ /UV, 10 x 10 cm	811111

Durchführung der Flash-Chromatographie · Gebrauchsanleitung für Kits, Säulen und Zubehör

Auswahl eines geeigneten Eluenten

Zur Trennung eines Substanzgemisches mit Hilfe der Flash-Chromatographie muss zuerst ein geeignetes Sorbens und Eluentensystem gefunden werden. Hierfür hat sich als schnelle Screeningmethode die Dünnschicht-Chromatographie bewährt. Da wir für unsere DC-Schichten Sorbentien mit der gleichen Selektivität verwenden, lassen sich die DC-Ergebnisse bei Verwendung unserer Produkte direkt übertragen.

Zuerst sollte die DC-Trennung mit unmodifiziertem Kieselgel und einem unpolaren, niederviskosem Eluenten probiert werden. Als Beispiel seien hier *n*-Hexan – Ethylacetat- oder *n*-Hexan – Aceton-Gemische genannt. Durch seinen Preis empfiehlt sich auch Petrolether anstelle von Hexan als unpolare Bestandteil. Durch Veränderung der Zusammensetzung des Eluenten wird der R_f -Wert der Zielsubstanz auf ca. 0,3 eingestellt. Unter diesen Bedingungen ist später eine optimale Flash-Chromatographie Trennung möglich. Mit zunehmender Polarität des Eluenten werden die R_f -Werte erhöht. Die zu trennenden Substanzen sollten eine R_f -Wertdifferenz von mindestens 0,1 haben, um eine sichere Trennung durch die anschließende Flash-Chromatographie zu gewährleisten. Durch Variation der Eluentenbestandteile (z.B. Aceton, Dichlormethan u. ä.) kann die eluentenspezifische Selektivität zur Optimierung der Trennung eingesetzt werden.

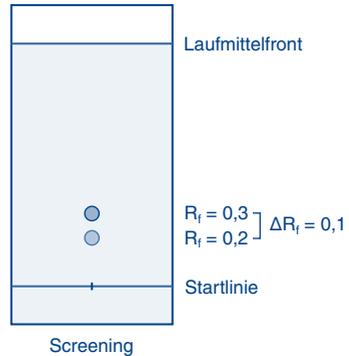


Abb. 2: Screening mittels DC

Auswahl der Flash-Chromatographie Säule

Die geeignete Trennsäule wird in Abhängigkeit von der Probenmenge aus der folgenden Tabelle ermittelt. Diese Werte dienen als grobe Anhaltspunkte. Bei unkritischen Trennungen kann die Säule auch stärker beladen werden. Die gerade noch zu trennende Substanzmenge muss aber für jedes Gemisch experimentell bestimmt werden.

Säulendurchmesser	Typische Probenmenge	Typische Fraktionsgröße
20 mm	400 mg	10 mL
40 mm	1600 mg	30 mL

Vorbereitung der Flash-Chromatographie Säule

Vor dem Befüllen der Säule mit Kieselgel muss diese unten vor dem Hahn gegen auslaufendes Kieselgel gesichert werden. Hierzu wird mit Hilfe eines Glasstabs oder Drahts ein Bausch aus Glasfaserwatte von oben in die Glassäule gebracht. Die Watte wird mit einer Schicht (ca. 0,5–1,0 cm) Seesand überschichtet. Anschließend wird das trockene Sorbens eingefüllt. Durch Klopfen mit einem weichen Gegenstand (z. B. mit einem Korkring) an die Glaswand der Säule wird das Material verfestigt bis sich eine stabile Höhe des Kieselgelbetts einstellt. Dann kann je nach Säulenlänge mit weiterem Sorbens aufgefüllt und verdichtet werden (bis ca. 80 % der Säulenhöhe). Das Kieselgelbett wird mit einer 0,5 bis 1,0 cm dicken Seesandschicht zur Vermeidung von Verwirbelungen bedeckt (siehe Abbildung 1).

Mit einer Pipette füllt man vorsichtig mit Eluent auf und verbindet die Säule mit dem gefüllten Vorratsgefäß. Der Anschluss des Druckgases erfolgt **unbedingt über ein Reduzierventil** an das Vorratsgefäß. Wir empfehlen hier unsere Manometereinheit mit einer Druckbegrenzung von 2,5 bar (Gebrauchsanleitung für Manometereinheit siehe letzte Seite). Anschließend wird der Druck erhöht und der Eluent durch die Kieselgelschicht gepresst. **Der Druck sollte dabei – auch während der Durchführung der Trennung – einen Wert von 1,5 bis 2,0 bar nicht überschreiten.** Als zusätzliche Sicherheitsmaßnahme wird der Aufbau der Apparatur in einem weitestgehend geschlossenen Abzug angeraten. Die Säule ist betriebsbereit, wenn die Luft vollständig aus dem Kieselgelbett verdrängt wurde und das Packungsmaterial eine gleichmäßige Farbe und Temperatur angenommen hat.

Flash-Chromatographie

Durchführung der chromatographischen Trennung

Man lässt das Eluentenniveau bis in die obere Seesandschicht absinken (Teflonschlauch im Vorratsgefäß über das Flüssigkeitsniveau des Vorratseluenten ziehen). Die Kieselgelschicht darf keine Risse zeigen, da sonst die Trennung nicht optimal stattfinden kann (Kanalfbildung). Die Säule wird drucklos gestellt und der Säulenadapter abgeschraubt. Mit Hilfe einer Pipette wird die Probe, die zuvor im Eluenten gelöst wurde, auf den Seesand aufgegeben. Nachdem der Flüssigkeitsspiegel wieder abgesunken ist, wird zweimal mit wenig Eluent nachgewaschen. Anschließend wird die Säule mit Eluent aufgefüllt und druckdicht verschlossen. Der Teflonschlauch in dem Vorratsgefäß wird wieder bis kurz vor dem Boden eingeführt und der Stickstoffdruck erhöht (max. 2 bar), so dass Eluent durch die Säule fließt.

Die Laufgeschwindigkeit sollte einem zügigen Tropfen entsprechen (ggf. Druck optimieren). Die Fraktionen werden in Gefäßen geeigneter Größe (Reagenzgläser, Erlenmeyerkolben) gesammelt. Die Fraktionsgröße kann der Tabelle auf der vorherigen Seite entnommen werden. Mittels Dünnschicht-Chromatographie können die Fraktionen auf ihren Gehalt an gewünschter Substanz untersucht werden (siehe Abbildung 3).

Bei ausgewählten, mitunter vereinigten Fraktionen kann durch Verdampfen des Lösemittels (Abblasen, Rotationsverdampfer etc.) die getrennte Substanz präparativ erhalten und durch Stukturanalyse charakterisiert werden.

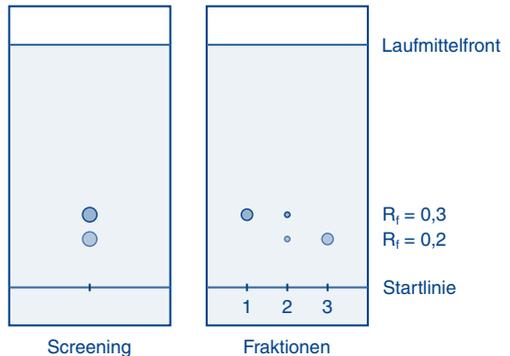


Abb. 3: DC-Kontrolle der Fraktionen

Manometereinheit für die Flash-Chromatographie, REF 727422 · Gebrauchsanleitung

Die Manometereinheit besteht aus einem Druckminderer (1, max. Eingangsdruck 25 bar), einem Sicherheitsventil (2), einem T-Einschraubstück (3), zwei Einschraubschlauchtüllen (4) und drei Dichtungsringen (5, drei weitere Dichtungsringe sind als Ersatz beigelegt).

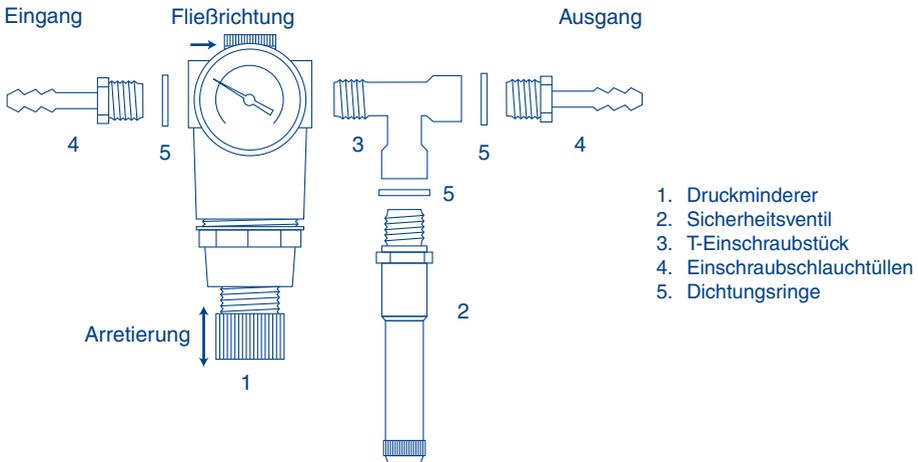


Abb. 4: Zusammenbau der Manometereinheit

Der Druckminderer wird auf der Eingangsseite (die Fließrichtung ist auf dem Druckminderer gekennzeichnet) mit einer Einschraubschlauchtülle versehen. Hieran erfolgt der Anschluss der Pressluft- bzw. Stickstoffleitung. Der Maximaldruck eingangsseitig beträgt 25 bar. Das T-Einschraubstück wird auf der Ausgangsseite montiert. Die Abdichtung kann hier z. B. mittels PTFE-Band (REF 706512) erfolgen. Die Verbindung zum Vorratsgefäß der Flash-Chromatographie Säule erfolgt wieder über eine Einschraubschlauchtülle und einem Schlauchstück*. Über den zweiten Ausgang des T-Einschraubstücks wird das Sicherheitsventil angeschlossen. Dieses Ventil öffnet bei Überschreiten des werksseitig eingestellten Maximaldruckes von 2,5 bar und verhindert so die Zerstörung der Flash-Apparatur.

Nach Lösen der arretierten Einstellschraube am Druckminderer kann der Druck geregelt werden.

* nicht im Lieferumfang enthalten

Flash chromatography

Flash chromatography is an economic and fast method of column chromatography particularly used in synthesis laboratories. The system consists of a glass column (separation column, 6) and a reservoir (1) for the eluent (7). In flash chromatography, the eluent is pressed through the silica bed (9) by a small excess pressure (1.5–2.0 bar). Flash chromatography allows separations of substance mixtures between 10 mg and 2 g. Beside the low instrumental expenses flash chromatography shows the advantage that columns can be packed with dry adsorbent.

As an alternative for standard silica 60 (pore size 60 Å, preferential particle size 0.04–0.063 mm) high purity, unmodified or modified POLYGOPREP silicas with different pore sizes (60, 100, 300 and 1000 Å) can be used. The separation efficiency of flash chromatography allows the separation of compounds, which on an analytical thin layer chromatography sheet or plate compatible to the packing material show a difference in R_f value of at least 0.1.

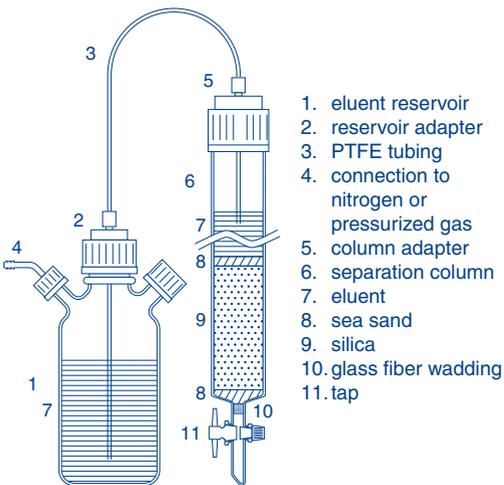


Fig. 1: Flash chromatography system

Note: The present product is a high quality product for application in flash chromatography. Flash columns, eluent reservoirs and further accessories must exclusively be used in accordance with universally accepted laboratory regulations and working methods of flash chromatography. The proper installation of the system and the safe operation of the method must be carefully checked by the operator. MACHEREY-NAGEL does not give any warranty and is not liable for the success of a separation. In the following the range of flash chromatography products, suitable adsorbents, the operation (instructions for use of kits, columns and accessories) and the instructions for use of the pressure gauge are described. If you have any questions after reading this manual, please contact our service / technical support.

Safety indication

Our flash chromatography glass columns and eluent reservoirs are covered with a protective plastic sleeve for burst protection. However, take precautions against any kind of injuries or damage to health during work, e.g., eye protection and safeguard of working area (closed fume hood) in case of broken equipment and/or against leaking liquids. Follow the general safety instructions for the handling of the used chemicals and solvents. MACHEREY-NAGEL disclaims and excludes all warranties of any kind or nature whatsoever and shall not be liable for any damages (whether direct, indirect, foreseeable, incidental, compensatory, consequential or special), whether based upon warranty, contract, tort or strict liability, if damages and/or losses occur caused by improper use, maintenance, neglect or improper treatment.

**Range of flash chromatography products**

MACHEREY-NAGEL offers an assortment of kits, columns and accessories for flash chromatography:

Ordering information kits, columns and accessories

Designation	Pack of	REF
Flash chromatography kits		
Flash chromatography kit I consists of 1 glass column 20 mm ID x 400 mm length, one 1-L eluent reservoir, 100 g silica 60 (40–63 µm), sea sand, silanized glass fiber wadding, 1 m PTFE tubing	1 kit	727450
Flash chromatography kit II consists of 1 glass column 40 mm ID x 450 mm length, one 2-L eluent reservoir, 100 g silica 60 (40–63 µm), sea sand, silanized glass fiber wadding, 1 m PTFE tubing	1 kit	727451
Flash chromatography columns		
complete with adapter and PTFE tap, fitted with a polyethylene net to protect against bursting		
20 mm ID x 400 mm length	1	727401
40 mm ID x 450 mm length	1	727407
Accessories for flash chromatography glass columns		
1-L eluent reservoir with adapter, covered with a protective plastic sleeve for burst protection, this also prevents build-up of UV-induced radicals in the eluent	1	727420
2-L eluent reservoir as above	1	727421
Pressure gauge for controlling flow rates	1	727422
PTFE tubing, 3 mm OD, 2 mm ID, length 1 m	1 m	727424
Sea sand, acid washed and calcined	1 kg	727423
Glass fiber wadding, silanized	25 g	718002



Flash chromatography

Adsorbents

As manufacturer of adsorbents and HPLC columns we offer a versatile range of unmodified and modified silicas for flash chromatography beside the common silica 60 M (40–63 µm; REF 815381):

Ordering information silica 60

Designation	Particle size	Pack of 1 kg	Pack of 5 kg	Pack of 25 kg
Silica 60, 0.015–0.04 mm	–	815650.1	815650.5	815650.25
Silica 60, 0.025–0.04 mm	–	815300.1	815300.5	815300.25
Silica 60, 0.04–0.063 mm	230–400 mesh	815380.1	815380.5	815380.25
Silica 60 M, 0.04–0.063 mm	230–400 mesh	815381.1	815381.5	815381.25
Silica 60, 0.05–0.1 mm	130–270 mesh	815390.1	815390.5	815390.25
Silica 60, 0.05–0.2 mm	70–270 mesh	815320.1	815320.5	815320.25
Silica 60, 0.063–0.2 mm	70–230 mesh	815330.1	815330.5	815330.25
Silica 60, < 0.063 mm	+230 mesh	815400.1	815400.5	815400.25
Silica 60, < 0.08 mm	+190 mesh	815310.1	815310.5	815310.25
Silica 60, 0.1–0.2 mm	70–130 mesh	815340.1	815340.5	–
Silica 60, 0.2–0.5 mm	35–70 mesh	815350.1	815350.5	815350.25
Silica 60, 0.5–1.0 mm	18–35 mesh	815360.1	815360.5	815360.25

Ordering information unmodified and modified POLYGOPREP, 60 Å

(Selection – for adsorbents with further pore and particle sizes see www.mn-net.com)

Designation	Particle size	Carbon content	Pack of 1 kg	Pack of 5 kg
POLYGOPREP 60-30	25–40 µm	–	711250.1000	
POLYGOPREP 60-50	40–63 µm	–	711260.1000	
			Pack of 100 g	Pack of 1 kg
POLYGOPREP 60-30 C ₁₈	25–40 µm	12% C	711480.100	711480.1000
POLYGOPREP 60-50 C ₁₈	40–63 µm	12% C	711500.100	711500.1000
POLYGOPREP 60-30 C ₈	25–40 µm	7% C	711470.100	711470.1000
POLYGOPREP 60-50 C ₈	40–63 µm	7% C	711490.100	711490.1000
POLYGOPREP 60-30 CN	25–40 µm	~ 4.5% C	711017.100	711017.1000
POLYGOPREP 60-30 NH ₂	25–40 µm	~ 3% C	711014.100	711014.1000

For the selection of a suitable eluent system and for purity control we recommend our thin layer chromatography sheets and glass plates compatible with the packing material. The following table exemplifies suitable TLC products:

Ordering information of compatible TLC sheets and glass plates

Adsorbent for flash chromatography	Compatible TLC products	REF (TLC product)
Silica 60		
POLYGOPREP 60-30	ALUGRAM® Xtra SIL G/UV ₂₅₄ , 20 x 20 cm	818333
POLYGOPREP 60-50	ALUGRAM® Xtra SIL G/UV ₂₅₄ , 4 x 8 cm	818331
POLYGOPREP 60-30 C ₁₈	ALUGRAM® RP-18 W/UV ₂₅₄ , 4 x 8 cm	818144
POLYGOPREP 60-50 C ₁₈	Nano-SIL C18–100 UV ₂₅₄ , 10 x 10 cm	811062
POLYGOPREP 60-30 C ₈		
POLYGOPREP 60-50 C ₈	Nano-SIL C18–50 UV ₂₅₄ , 10 x 10 cm	811064
POLYGOPREP 60-30 CN	Nano-SIL CN/UV, 10 x 10 cm	811115
POLYGOPREP 60-30 NH ₂	Nano-SIL NH ₂ /UV, 10 x 10 cm	811111

Operation of flash chromatography · Instructions for use of kits, columns and accessories

Selection of a suitable eluent

For separation of a substance mixture by flash chromatography, you first have to find a suitable adsorbent and eluent system. For this purpose, thin layer chromatography is well suited as a rapid screening method. Because the materials used for our TLC layers have the same selectivities as our flash adsorbents, TLC results obtained with our products can be directly transferred to flash chromatography.

As a first choice we recommend to try a separation with unmodified silica and a nonpolar, low-viscosity eluent. Examples are *n*-hexane – ethyl acetate or *n*-hexane – acetone mixtures. You may also use petroleum ether instead of hexane as non-polar component, due to its economical price. By changing the composition of the eluent mixture, try to adjust the R_f value to about 0.3 for the target substance. With these conditions an optimal flash chromatography separation will be possible. Increasing polarity of the eluent increases R_f values. The difference in R_f values of the substances to be separated by flash chromatography should be at least 0.1. Varying the eluent component (e.g., acetone, dichloromethane etc.) may result in an eluent-specific selectivity, which can improve the separation.

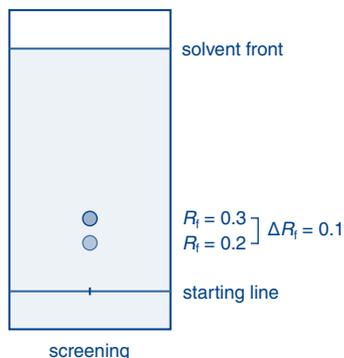


Fig. 2: Screening with TLC

Selection of the flash chromatography column

A suitable separation column can be found in relation to the sample amount as listed in the following table. The values given are for orienting purposes only. For noncritical separations the column load may be larger. The maximum amount of substance which can be separated with a given system, has to be determined experimentally.

Column diameter	Typical sample amount	Typical fraction size
20 mm	400 mg	10 mL
40 mm	1600 mg	30 mL

Preparation of the flash chromatography column

Before filling the column with silica, you have to make sure that the adsorbent cannot be flushed from the column. For this purpose, a pad of glass fiber wadding is placed in front of the tap by insertion from the column entrance with a stirring rod or a wire. Above the glass fiber wadding, fill in a layer of sea sand (about 0.5–1.0 cm). Then the dry adsorbent is packed into the column. By tapping the glass wall with a soft object (e.g., a cork ring) the material is settled down until it forms a stable gel bed. Depending on the column length you can then fill up with further adsorbent and compact the bed (up to about 80 % of column height). The silica bed is covered with another layer of sea sand (about 0.5–1 cm) in order to avoid suspension of the silica surface (see figure 1). The column is carefully filled with eluent using a pipette and connected to the loaded eluent reservoir. Connection to the pressurized gas is **always** performed **via a reducing valve**. We recommend our pressure gauge with a pressure limit of 2.5 bar (for instructions for use of the pressure gauge see the last page). The pressure is then increased, and the eluent pressed through the silica bed. **The pressure – also during flash chromatography – should never exceed a value of 1.5 to 2.0 bar.** As an additional safety feature we recommend to place the whole apparatus into a well-closed fume hood. The column is ready for operation, when the air has been completely pressed out of it and the packing material has assumed a uniform color and temperature.

Flash chromatography

Chromatographic separation procedure

Lower the eluent level in the column to the upper sea sand layer (pull teflon tube of the eluent reservoir above the liquid level). However, the silica layer must not show any cracks, because the quality of the packing is deteriorated by the penetration of gas. The column is depressurized and the column adapter is screwed off. With the aid of a pipette, the sample dissolved in the eluent, is added on top of the sea sand. When the liquid level has reached the layer of sand again, wash twice with a small volume of eluent. Then fill the column with eluent and close it pressure-tight. Push the teflon tube of the eluent reservoir down to the bottom again and increase the pressure (max. 2 bar), so that eluent flows through the column. Flow rate should correspond to a rapid dropping (if necessary, pressure should be optimized).

Fractions are collected in vessels of suitable size (test tubes, Erlenmeyer flasks). The recommended size of fractions is listed in the table on the previous page. The content of the substance in question can be determined by thin layer chromatography (see figure 3).

For selected, occasionally combined fractions the separated substance can be isolated by evaporation of the solvent (blowing, rotary evaporator etc.) and characterized by structure analysis.

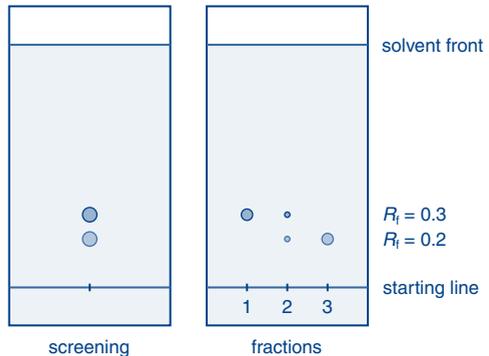


Fig. 3: TLC examination of the fractions

Pressure gauge for flash chromatography, REF 727422 · Instructions for use

The pressure gauge consists of one reducing valve (1, max. input pressure 25 bar), one safety valve (2), one T-shaped fitting (3), two threaded nozzles (4) and three sealing rings (5, three further sealing rings are added as replacement).

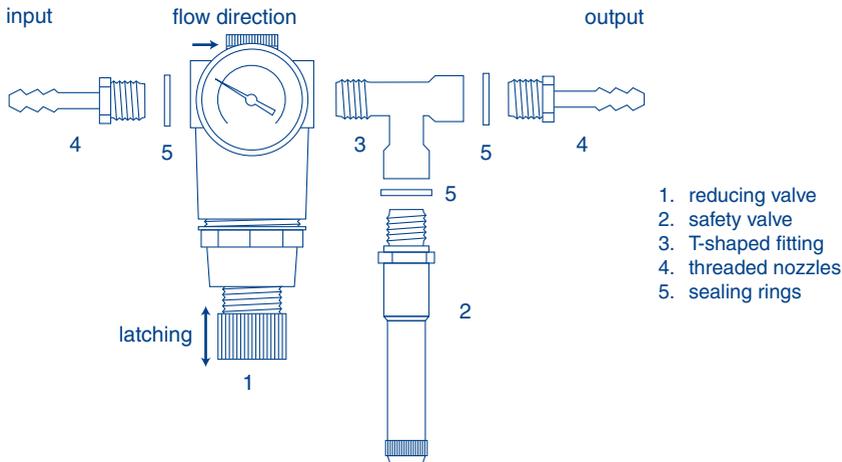


Fig. 4: Assembling of the pressure gauge

On the input side (the flow direction is indicated on the body) the reducing valve is fitted with a threaded nozzle. This is connected to the pressurized gas or nitrogen supply. The maximum pressure on the input side is 25 bar. The T-shaped fitting is mounted at the exit of the reducing valve. It can be sealed, e.g., with PTFE tape (REF 706512). Connection to the eluent reservoir of the flash chromatography system is achieved with the second threaded nozzle and a piece of tubing*. The second exit of the T-shaped fitting is used for mounting the safety valve. This valve opens when the pre-set pressure limit of 2.5 bar is exceeded and thus prevents destruction of the flash chromatography system.

The pressure can be regulated after releasing the latched adjusting screw.

* tubing not included in the scope of supply