

Chemistry for Life,
Chemistry for better Life



Practical Test



2006. 7. 5
Gyeongsan, Korea

一般的注意

- 試験時間は5時間である。時間を有効に使うこと。目安として、問題1（10点）には1時間、問題2（15点）には2時間、問題3（15点）には2時間が必要だろう。
- 解答用紙の全ページに、自分の名前とコード番号を記入すること。
- 試験問題は7ページ、解答用紙は7ページある。
- 解答と計算経過は、指定された欄に記入すること。
- 与えられたペン、定規および計算機のみを使うこと。
- オリジナルの英文の問題を見たい人は申し出ること。
- 分光光度計、C-18カラムおよび安全ピペッターの使用説明を補足するための図を別紙で配布する。
- 試料、試薬および実験器具の追加や交換は可能であるが、（蒸留水以外の場合）1回または1個につき1点の減点になる。
- トイレに行く場合は許可を得ること。
- 試験が終了したら、すべての用紙（問題用紙と解答用紙）を所定の封筒に入れ、封をすること。
- 試験終了後も、退室の許可があるまで席を立ってはいけない。
- ペン、定規、計算器およびC-18カラムは持ち帰ってよい。

安全および実験廃棄物

- 安全眼鏡をかけ、実験着を着用すること。
- 有害な物質は使っていない。酸、アルカリおよび色素の溶液はいずれも低濃度である。しかし、なるべく皮膚に付かないように注意する。皮膚に付いた場合は、キムワイプ（Kimwipe）をぬらして拭き取ること。
- 薬品のおいをおいではいけない。
- 使用した薬品は“DISPOSABLE”と表示されたプラスチックの容器に入れること。試験管および壊れたガラス器具は“Waste Basket”に捨てること。

器具の使用説明の補足図

Fig. A 分光光度計（セルのラベル面を光源に向ける）

Fig. B ノートパソコンの画面

Fig. C 10 mL の注射器を使うカラムの洗浄

Fig. D 試料溶液をカラムに移す操作

Fig. E 10 mL の注射器を使うカラムの溶離

Fig. F 安全ピペッター

器具・試薬など

問題1と2（白いカゴ）

分光光度計	1	
セル（光路長1 cm）	1	
C-18 カラム（cartridge）	4	
10 mL 注射器	1	
1 mL 注射器	1	
パスツールピペット	3	
1 mL ピペット	1	
5 mL ピペット	1	
安全ピペッター	1	
10 mL メスフラスコ	2	
ビュレット	1	
試験管	20	
試験管立て	1	
50 mL 三角フラスコ	1	
100 mL ビーカー	2	
シリコーンゴム栓	2	
三色ボールペン，定規	1	
洗びん	3	
ラベル	Solution E （溶液 E）	33% エタノール水溶液
	NaOH solution	濃度5 mM以下
	water	蒸留水
100 mL びん		6
ラベル	Solution R	Solution Eに溶かした 赤い色素
	Solution B	Solution Eに溶かした 青い色素
	Solution MD	B と Rの混合色素
	Solution MA	酸の混合水溶液 （酢酸＋サリチル酸）
	KHP	フタル酸水素カリウム （potassium hydrogen phthalate）の溶液
	phenolphthalein	フェノールフタレイン の0.05% 溶液

問題3（黒いカゴ）

試験管	95	
試験管立て	1	
小さい葉さじ	2	
目盛りつき1.5 mL スポイト（ポリエチレン製）	15	
ピンセット	1	
サインペン（試験管への記入用）	1	
pH 試験紙	1	
100 mL びん		3
ラベル	95% EtOH	95% エタノール
	CH ₃ CN	アセトニトリル
	water	蒸留水
30 mL 滴びん		6
ラベル	1M HCl	1M HCl 溶液
	1M NaOH	1M NaOH 溶液
	2,4-DNPH	2,4-ジニトロフェニル ヒドラジンの3%溶液
	CAN	硝酸セリウム(IV)アン モニウムの20% 溶液
	0.5% KMnO ₄	0.5% KMnO ₄ 溶液
	2.5% FeCl ₃	2.5% FeCl ₃ 溶液
10 mL サンプル管		7
ラベル （□の番 号は、生 徒ごとに 異なる）	Set□ U-1	
	Set□ U-2	
	Set□ U-3	
	Set□ U-4	
	Set□ U-5	
	Set□ U-6	
	Set□ U-7	

分光光度計の使い方

分光光度計は、光源・検出部・セルホルダーからなる。セルホルダーのフタは開いているので、開いたままにしておく。セルは、ラベルを光源のほうに向けて置く (Fig. A)。どの測定でもそのように置くこと。分光光度計は安定化してあり、そのまま使える。吸光度は、以下の記述に従って読み取る。

- a) セルに4分の3程度まで溶液 E を入れ、セルホルダーに挿入する。セルホルダーにフタをしてはいけない。
- b) パソコンのマウスを動かしてカーソルを画面上の **REFERENCE** (対照) に当て、3回クリックする。そのあと画面上の **MEASURE** (測定) を3回クリックすると、**470 nm** から **650 nm** まで (**20 nm** 間隔) の吸光度がほぼゼロとなる (Fig. B)。
- c) セルに試料溶液を入れ、**MEASURE** を3回クリックする。上記と同じ波長での吸光度がそれぞれ読み取れる。吸光度の値を、解答用紙の表に記入せよ。

C-18 カラム (cartridge) の使い方

- a) カラムには入口と出口がある (Fig. C)。入口のほうが太い。
- b) カラムの洗浄や溶出を行うときは、まず、使う液体を適切な注射器に入れ、注射器をカラムの入口につなぐ。そのあと注射器のピストンをゆっくりと押しこみ、液体をカラムに注入する (Fig. C & E)。
- c) 試料溶液をカラムに移すには、まず **10 mL** の注射器をカラムの入口につなぐ。次に、**1 mL** のピペットを使い、試料溶液 **1.00 mL** を注射器に入れる (Fig. D)。ピストンを押しこみ、試料溶液をカラムに移す。試料溶液を注射器内に残さないこと。試料溶液をカラムに移したあと、カラムに空気が入らないよう注意する。
- d) カラムは、溶液 E で洗えば再び使える。
- e) 注射器のピストンを引き抜くときは、あらかじめ注射器からカラムを外すこと。

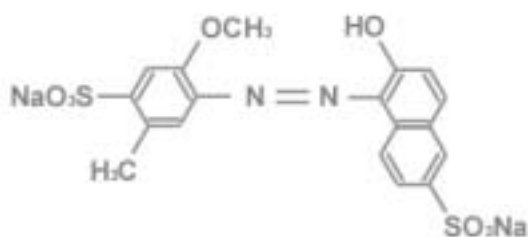
安全ピペッターの使い方

ピペッターに液体を吸いこむときは、ギザギザつき円板を指で下向きに回す。逆に、液体を出すときは円板を指で上向きに回す (Fig. F 参照)。

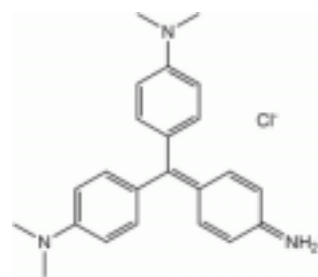
問題 1

逆相クロマトグラフィーと分光光度測定を用いる分析

クロマトグラフィーと分光光度測定を組み合わせた分析法は、化学実験で多用する。たとえば、複雑な混合物になっている有機化合物を、分光光度検出器付きの逆相クロマトグラフィーにかけ、成分それぞれを定量する。逆相クロマトグラフィーでは、注目物質の非極性部分と、固定相（ふつうは炭素数18のオクタデシル基を結合させた固体表面）との間の疎水性相互作用を利用する。検出波長が適切ならクロマトグラムは単純な形になり、注目物質だけを定量できる。この問題では、2種類の色素につき、分離した場合と分離しない状態での分光光度分析を行う。



食用色素・赤色 40号



メチルバイオレット 2B

1-1. 混合溶液中の R と B の分光光度分析

- 赤い色素の溶液 R ($3.02 \times 10^{-5} \text{ M}$) と青い色素の溶液 B ($1.25 \times 10^{-5} \text{ M}$) の吸光度をそれぞれ測定せよ (Fig. A & B)。測定結果を解答用紙の表に記入せよ。赤い色素の吸収スペクトルを赤線で、青い色素の吸収スペクトルを青線で、それぞれ Fig. 1-1 に描け。
- ある量比で溶液 R と溶液 B を混ぜた溶液 MD につき、同様な測定を行え。溶液 MD の吸収スペクトルを、黒線で Fig. 1-1 に描き加えよ。
- Beer-Lambert の法則を用い、溶液 MD 中の色素 R と色素 B のモル濃度をそれぞれ求めよ。「一方だけの濃度を求め、全体を 1 として他方の割合を出す」計算ではない。

1-2. クロマトグラフィー分離に続く分光光度分析

- a) 10 mL の注射器を使い、C-18カラムに約 10 mL の溶液 E を流せ (Fig. C)。
- b) カラムに 1.00 mL の溶液 MD を移せ (Fig. D)。
- c) 1 mL の注射器を使い、カラムに溶液 E を流せ (Fig. E) 。カラムの出口から出る溶液を10 mL のメスフラスコに集めよ。赤い物質が完全に流出し、メスフラスコに集まるまで操作を繰り返せ。
- d) メスフラスコの標線まで溶液 E を入れ、よく混合せよ。これを溶液 F と呼ぶ。
- e) 実験 1-1 と同様にして溶液 F の吸収スペクトルを求めよ。カラム分離のときに希釈が起こっている。そのため、実測の吸光度を10 倍し、溶液 F の吸収スペクトルを赤い破線で Fig. 1-1 に描け。
- f) 自分で波長を一つ選び、溶液 R を適当に希釈しながら、溶液 F 中の赤い色素 (R) を定量するための検量線を作れ。検量線は、X 軸に濃度を、Y 軸に吸光度をとり、解答用紙の Fig. 1-2 に描け。選んだ波長も付記せよ。検量線には、原点のほか3つの測定点を使うこと。溶液 F の位置を検量線の上に記せ。
- g) もともとの溶液 MD に溶けていた R の濃度はいくらか。
- h) 上記 g) の濃度を、実験 1-1 で得た濃度と比べ、クロマトグラフィーの回収率 (カラムに入れた量のうち、溶出した量の割合) を求めよ。

問題2

逆相クロマトグラフィー:

酢酸とサリチル酸の中和滴定

酢酸 (AA) とサリチル酸 (SA) は極性が少し違うので、逆相カラムを用い、水を溶離液として流せば分離できる。AAが先に溶離される。混合溶液中のAAとSAの全量は滴定によって求められる。次に、AAとSAの量はクロマトグラフィーで分離してから別々に定量する。

2-1. 酸の混合物 (MA) 溶液の中のAAとSAの全量の決定

- a) 蒸留水10 mLを、与えられたNaOH (< 5 mM) 溶液を用いて滴定せよ。蒸留水1 mLあたりに「初めから入っている酸の量」を、NaOH溶液の体積として答えよ。求めた「初めから入っている酸の量」は、以後のすべての溶液のデータを解析する際に考慮すること。計算欄にこの補正を明記すること。
- b) KHP (フタル酸水素カリウム) の標準溶液 (1.00×10^{-2} M) を2.00 mL用いて、NaOH溶液の濃度を決定せよ。滴定を繰り返し、NaOH溶液の濃度を答えよ。「初めから入っている酸の量」をどう考慮したかがわかるように記すこと。
- c) MA溶液を1.00 mLとり、酸の全濃度を決定せよ。滴定を繰り返し、MA溶液1.00 mL中のAAとSAの物質質量 (モル数) の和を答えよ。

2-2. 逆相クロマトグラフィーによる分離と滴定

- a) 新しいC-18カラムに、10 mLの注射器を使い、約10 mLの蒸留水を流せ。
- b) カラムに1.00 mLのMA溶液を移せ。カラムの出口で試験管1に溶離液を集めよ (分画1)。
- c) 蒸留水1 mLを用いて溶離せよ。溶離液を別の試験管に集めよ (分画2)。この操作を、分画20まで繰り返せ。それぞれ約1 mLの液体の入った20本の試験管が得られる。
- d) 各試験管中の酸の量を滴定で求めよ。各試験管で消費されたNaOHの体積と酸

の量を答えよ。酸の量を表すグラフを解答用紙のFig. 2-2に描け。

- e) 「初めから入っている酸の量」のほか、バックグラウンド（カラムに残留し、洗い流される酸の量）も差し引かなければならない。溶離したAAの量を求める際には、微量の酸しか入っていない試験管は無視せよ。ほとんどのAAは試験管2と3に入る。これらの試験管に入っているAAの量を合計し、溶離されたAAの全量を計算せよ。同様にして、溶離されたSAの全量も計算せよ。それぞれの酸の量を求めるためにどの分画を用いたか、Fig. 2-2に付記せよ。
- f) MA溶液中のAAのモル百分率を計算せよ。

問題3

有機化合物の定性分析

7種類の未知試料を実験で同定する。これらの試料はp. 7に描いてある10物質のどれかである。以下の手順に従って実験を行え。

未知試料のラベル

Set□ U-1, Set□ U-2, Set□ U-3, Set□ U-4, Set□ U-5, Set□ U-6, Set□ U-7

手順

注意

- 小さい薬さじ1杯の固体は約**15~20 mg**である。
- 薬さじは使うたびにキムワイプできれいに拭く。
- 試薬を未知試料の溶液に加えたあと、よく混ぜて注意深く観察せよ。
- 満点をとるには、全部の実験を行い、所定の欄に記入する必要がある。

実験1：溶解性試験

薬さじ1杯の未知試料と **CH₃CN** (アセトニトリル) **1 mL**を試験管にとれ。試験管をよく振り、溶解性を記録せよ。続いて、**1M HCl**, 水、**1M NaOH**でも試してみよ。

実験2：2,4-DNPH試験

薬さじ1杯の未知試料を試験管に入れ、**95% EtOH**の**2 mL**に溶かせ(ただし、水溶性の未知試料は、**1 mL**の水に**15~20 mg**を溶かせ)。濃硫酸と**95% EtOH**の混合液に**2,4-dinitrophenylhydrazine** (**2,4-ジニトロフェニルヒドラジン**)を溶かした溶液(ラベル：**2,4-DNPH**)を5滴加えよ。

実験3：CAN試験

希硝酸に硝酸セリウム(IV)アンモニウムを溶かした溶液(ラベル：**CAN**)と **CH₃CN** (アセトニトリル) **3 mL**を試験管に加えて混ぜよ。この混合溶液の**1 mL**を別々の試験管にとり、未知試料の**15~20 mg**を加えよ。ただし、水溶性の未知試料は、まず**15~20 mg**の試料を**1 mL**の水に溶解してから、**1 mL**の **CAN**を加えよ。色の変化が見られた試料は、アルコールかフェノールかアルデヒドを含む。

実験4：バイヤー試験

2 mL の CH_3CN を試験管にとり、未知試料の15~20 mg を溶かしてみよ。ただし、水溶性の未知試料は、1 mL の水に15~20 mg を溶かせ。その溶液に5滴の0.5% KMnO_4 溶液を、振り混ぜながら1滴ずつゆっくりと加えよ。

実験5：pH試験

2 mL の 95% EtOH を試験管にとり、未知試料の15~20 mg を溶かしてみよ。ただし、水溶性の未知試料は、1 mL の水に15~20 mg を溶かせ。pH試験紙でその溶液の pH を調べよ。

実験6：塩化鉄(III)試験

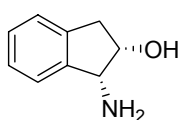
上の実験5で調製し、pH試験に使った残りの溶液に2.5% FeCl_3 溶液を5滴加えよ。

結果

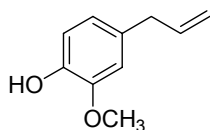
1. 解答用紙に実験結果を記録せよ。溶けるときには○を、溶けないときには×を記入せよ。また、実験2-4と6については、変化した場合は(+)を、しない場合は(-)を記入せよ。

2. 実験結果をもとに、最も適当と思う化合物を化合物リストから選び、解答用紙に記号で答えよ。

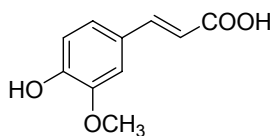
化合物リスト



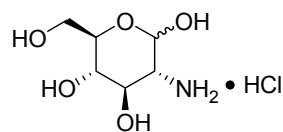
(A)



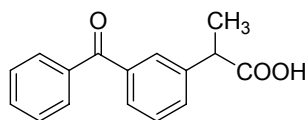
(E)



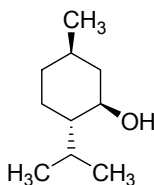
(F)



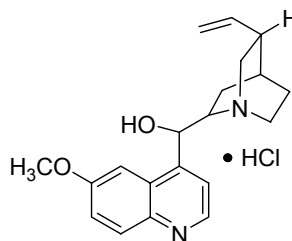
(G)



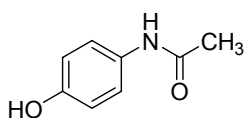
(K)



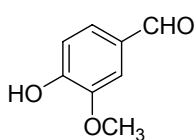
(M)



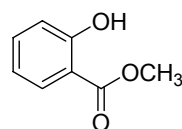
(Q)



(T)



(V)



(W)