

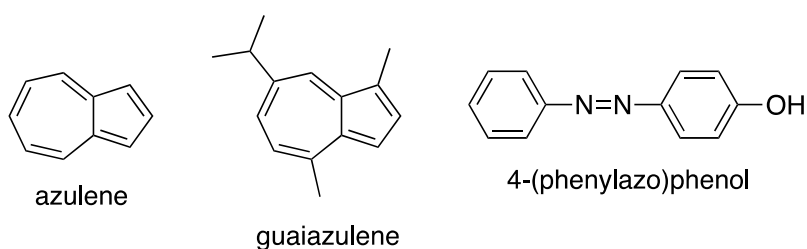
実験問題 7. 緑色の混合物からの青色成分と赤色成分の分離

1903 年、Tswett (ツヴェット) は最初のクロマトグラフィーの例を報告した。その実験では、葉をすり潰したものをろ紙上に展開することにより、クロロフィル、カロテン、キサントフィルなどの色素が分離された。クロマトグラフィーという用語は、ギリシア語で「色」を意味する *chroma* と、「書くこと」を意味する *graphein* に由来する。クロマトグラフィーは、最初は着色した化合物の分離に用いられたが、今日では無色の化合物の分離にも用いられている。

クロマトグラフィーは、化合物の混合物から個々の成分を分離するとても強力な方法である。この課題では、クロマトグラフィーをもう一つの一般的な分離・精製の方法である再結晶と比較する。

比較を行うために、この課題ではグアイアズレンと 4-(フェニルアゾ)フェノールの混合物 (以降、単に「混合物」と表記する) を用いる。グアイアズレンはいくつかの植物の精油に含まれる天然の色素である。アズレン骨格 (下図参照) の特殊な電子構造により、グアイアズレンは深い青色を呈しており、他の異性体であるナフタレン誘導体とはとても対照的である。混合物のもう一方の化合物である 4-(フェニルアゾ)フェノールは、最も簡単なジアゾカップリング反応の 1 つによって得られる生成物である。共役アゾ化合物は重要な発色団の 1 つであり、様々なアゾ染料が繊維や食品などの産業において用いられている。

この課題では、「クロマトグラフィー」の歴史的な起源になぞらえて、「混合物」から 2 つの有色の化合物を分離する。



azulene: アズレン

guaiazulene: グアイアズレン

4-(phenylazo)phenol: 4-(フェニルアゾ)フェノール

薬品

物質	名前	状態	GHS コード
C ₁₅ H ₁₈	グアイアズレン	固体	H302
C ₆ H ₅ N=NC ₆ H ₄ OH	4-(フェニルアゾ)フェノール	固体	H302, H315, H319
C ₂ H ₅ OH	エタノール	液体	H225, H320
C ₆ H ₁₄	ヘキサン	液体	H225, H315, H319, H361, H335 H336, H304, H401, H372
CH ₃ COOC ₂ H ₅	酢酸エチル	液体	H225, H320, H332, H335, H336
SiO ₂	シリカゲル	固体	H351, H402
	海砂	固体	

試料

再結晶用の「混合物」; グアイアズレンと 4-(フェニルアゾ)フェノールの混合物 (質量比 約 1:5)

カラムクロマトグラフィー用の「混合物」; グアイアズレンと 4-(フェニルアゾ)フェノールの混合物 (質量比 約 1:1)

溶媒

再結晶溶媒; エタノールとヘキサンの混合溶媒 (体積比 1:1)

試料をカラムに装填する際に用いる溶媒; ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒 (体積比 1:1)

2つ目の溶離液; ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒 (体積比 4:1)

器具・装置

- 短い試験管	2本
- 試験管立て	1個
- パスツールピペット	5本
- スパチュラ	3本
- 天秤 (精度: 0.001 g)	1個
- 湯浴	1個
- 氷浴	1個
- メスシリンダー (50 mL)	1本
- メスシリンダー (5 mL)	1本
- (小さい) 吸引ろ過用漏斗	1個
- ろ紙	1枚
- 吸引ろ過用フラスコ	1個
- アスピレーター	1個
- ペトリ皿	1個
- スタンド	1個
- クランプ	1個
- コック付きガラス製カラム (内径: 12 mm)	1個
- バイアル管 (4 mL)	1個
- 三角フラスコ (100 mL)	4個
- 三角フラスコ (50 mL)	1個
- 漏斗	3個
- 脱脂綿	
- ガラス棒	1本
- 丸底フラスコ (100 mL)	2個
- ロータリーエバポレーター	1台

手順

「混合物」の再結晶

1. 1本の試験管の重さを量ったのち、再結晶用の「混合物」約 0.5 g を試験管に入れる。その後、再び試験管の重さを量る。
2. 湯浴を 80 °C に加熱する。
3. エタノール/ヘキサン (1 : 1) 混合溶媒 1.0 mL をその試験管に加える。クランプで試験管をスタンドに固定し、「混合物」がすべて溶解するまで湯浴で加熱する。
4. 緑色の溶液を室温まで冷やす。結晶が析出し始めたら、氷水を用いて試験管をさらに冷やす。
5. 吸引ろ過用のフラスコに漏斗を乗せ、ろ紙をセットする。フラスコをアスピレーターにつなぎ、吸引を開始する。少量のエタノールでろ紙を湿らせ、スパチュラを用いてろ紙を漏斗に密着させる。
6. エタノール/ヘキサン (1 : 1) 混合溶媒を別の試験管に加え、氷水で冷やす。
7. 試料が入った試験管内の沈殿と溶液を漏斗に移す。少量の冷エタノール/ヘキサン (1 : 1) 混合溶媒で漏斗上の結晶を洗ったのち、吸引を続けて結晶を乾燥させる。
8. 空のペトリ皿の重さを量ったのち、ろ紙上の生成物をペトリ皿に移す。その後、再びペトリ皿の重さを量る。

シリカゲルを充填したクロマトグラフィーによる「混合物」の分離

カラムへのシリカゲルの充填

1. ガラス棒を使って小さな脱脂綿の栓を、カラムのコックのすぐ上部に緩く押し込む。
2. クランプを用いてカラムをスタンドに固定する。カラムに海砂を加え、その上面が平らになるようにする。
3. シリカゲル (20 g) を三角フラスコ (50 mL) に入れ、溶離液としてヘキサン (30 mL) を加える。そして、フラスコ内をかき混ぜ、懸濁液とする。
4. 漏斗を使って懸濁液を慎重にカラムに注ぐ。
5. 少量のヘキサンのでカラムの壁に付いたシリカゲルをすべて洗い落とす。
6. ゴム管などの柔らかいものを使ってカラムを横から優しく叩き、シリカゲルを均一に詰まるようにする。

カラムへの試料の装填

7. カラムクロマトグラフィー用の「混合物」約 0.2 g をバイアル管に入れ、バイアル管の重さを量る。少量のヘキサン/酢酸エチル (1 : 1) 混合溶媒を加え、「混合物」を溶解させる。
8. カラムの下に三角フラスコを置く。コックを開け、溶離液の液面がシリカゲルの上端にくるまで溶離液を流し出す。シリカゲルが常に溶離液に浸されているようにすること。
9. コックを閉じ、パスツールピペットを使ってバイアル管内の緑色の溶液をシリカゲルの上端にそっと注ぐ。
10. コックを開け、溶液の液面がシリカゲルの上端に来るまで溶離液を流し出す。
11. コックを閉じ、少量のヘキサン/酢酸エチル (1 : 1) 混合溶媒でバイアル管の内壁を洗い、パスツールピペットを使って洗液をシリカゲルの上端に加える。
12. コックを開け、溶液の液面がシリカゲルの上端に来るまで溶離液を流し出す。
13. 手順 11, 12 をさらに 1, 2 回繰り返す。
14. コックを閉じ、シリカゲルの上に海砂を加え、最後にカラムに**ヘキサン**を加える。

サンプルの溶離と収集

15. コックを開ける。最初の無色の画分を集めたのち、2 つ目の三角フラスコに換えて 1 つ目の有色の画分を集める。必要であればカラムにさらにヘキサンを足すこと。
16. 1 つ目の有色の画分を集めたあと、3 つ目の三角フラスコに換えて続く無色の溶離液を集める。第 2 の溶離液としてヘキサン/酢酸エチル (4 : 1) 混合溶媒をカラムに加え、溶離液の収集を続ける。
17. 無色の溶離液を集めたあと、4 つ目の三角フラスコに換えて 2 つ目の有色の画分を集める。必要ならカラムにさらにヘキサン/酢酸エチル (4 : 1) 混合溶媒を加えること。2 つ目の有色の溶離液を集めたあと、コックを閉じる。
18. 空の丸底フラスコの重さを量る。
19. 漏斗を使いながら、有色の液をそれぞれ三角フラスコから丸底フラスコに移す (それぞれ、きれいな漏斗を使用する)。
20. ロータリーエバポレーターを用いてフラスコから溶媒を除去する。
21. フラスコを提出する。

問題

1. 再結晶によって得られた化合物の名前を答えよ。
2. カラムクロマトグラフィーによって得られた着色した画分に含まれる化合物の名前をそれぞれ答えよ。
3. 再結晶によって得られる回収物の量が、再結晶を行う前の量と等しくならない理由を説明せよ。
4. クロマトグラフィーは溶質 (溶離される分子) と固定相 (この場合はシリカゲル) の間の相互作用に基づいている。グアイアズレンと 4-(フェニルアゾ)フェノールでは、どちらの方がより強くシリカゲルと相互作用するか答えよ。また、分子と固定相との親和性を特徴づける官能基と相互作用の種類を答えよ。