

問題 35:

薄層クロマトグラフィー(TLC)による色素混合物の単離

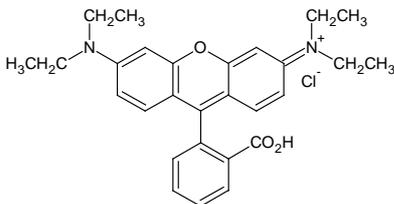
有機色素は古来より布や革の染色に用いられている。様々な種類の動植物が天然の色素原料として用いられてきた。染色工程と同じく、色素の抽出と精製は洗練された化学反応の工程である。人類史上初めて合成された有機色素である **mauveine** は、19 世紀になってようやく発見された。それ以来、布や革の染色だけでなく CD や DVD のようなデジタル画像記録メディアに不可欠な用途を含む様々な目的に対して、数多くの合成色素が用いられている。色素溶液の見かけの色は、その色素分子が特定の光を吸収することにより生じる。白い背景に対して透明な容器中の色素溶液を透かして見ると、吸収された光の補色を見ることができる。

本実験では、色素混合物から個々の色素を単離して区別するための基本的な原理と手順について学ぶ。

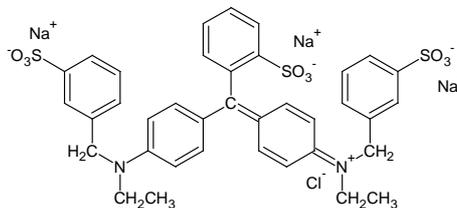
試薬

有機色素（それぞれの名称は意図的に伏せてある。）

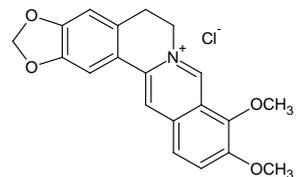
A



B



C



メタノール

展開液（メタノール-水（体積比 90:10）混液）

装置とガラス器具

ガラス毛细管

TLC 板

コード	固定相
P-1	オクタデシルシリル基修飾シリカ
P-2	陰イオン交換基修飾シリカ
P-3	陽イオン交換基修飾シリカ

ふた付き広口びん（展開槽）（×3）

もし P-2 や P-3 の TLC 板が入手できない場合は、修飾シリカゲルと硫酸カルシウム ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$; 結合剤) から調製する（純粋な硫酸カルシウムの代わりに硫酸カルシウムが混ざったシリカゲルも使用可能）。通常、修飾シリカゲルと硫酸カルシウムをメタノール-水（2:18）混液でスラリー状（泥状）にし、電動ミキサーでスラリーを均一に

混ぜる。スラリーをガラス板の上に広げ、110~130°Cで乾燥・活性化させる。

手順

鉛筆でシリカゲル板の短辺から約 10 mm のところに開始線を描く。

- (1) 線の上に、クロマトグラフィーの開始点として×印を描く。
- (2) ガラス毛细管に試料溶液を吸い取り、開始点の一つに溶液を軽くスポットし、必要ならばドライヤーでスポットを乾燥させる。この操作を 2~3 回繰り返して試料溶液を直径 2 mm 以下の小さい点に濃縮する。
- (3) 展開液を各広口びんに約 5 mm の高さまで注ぎ入れる。
- (4) ふたを閉じてびんの中が溶媒蒸気で飽和するまで 2~3 分間置く。
- (5) どれか一つのびんのふたを開け、ピンセットで TLC 板の上端をつまんで持ち上げる。TLC 板の底が溶媒に浸かり板の上部がびんの内壁に寄りかかるように、TLC 板を置く。溶媒が TLC 板を垂直に上昇していくはずである。
- (6) 溶媒の先端が TLC 板の上端から約 10 mm の位置まで達したら展開を終了する。
- (7) TLC 板を取り出し、直ちに展開溶媒の先端の線を鉛筆でなぞる。
- (8) スポットの形状と色を記録する。
- (9) 他の TLC 板を展開するために同様の手順を踏む。

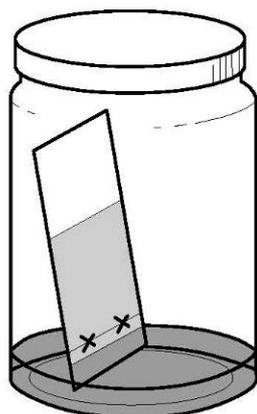


Fig. 35.1 ふた付びんに入れた TLC 板

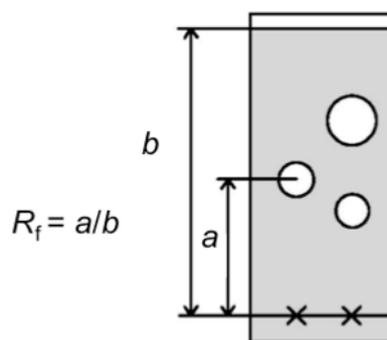


Fig. 35.2 TLC 板と展開したスポット

問題

I. TLC の結果

1. TLC 板上に記録したスポットから、それぞれの TLC 板上における各色素の R_f 値を求めよ。

$$R_f = a/b$$

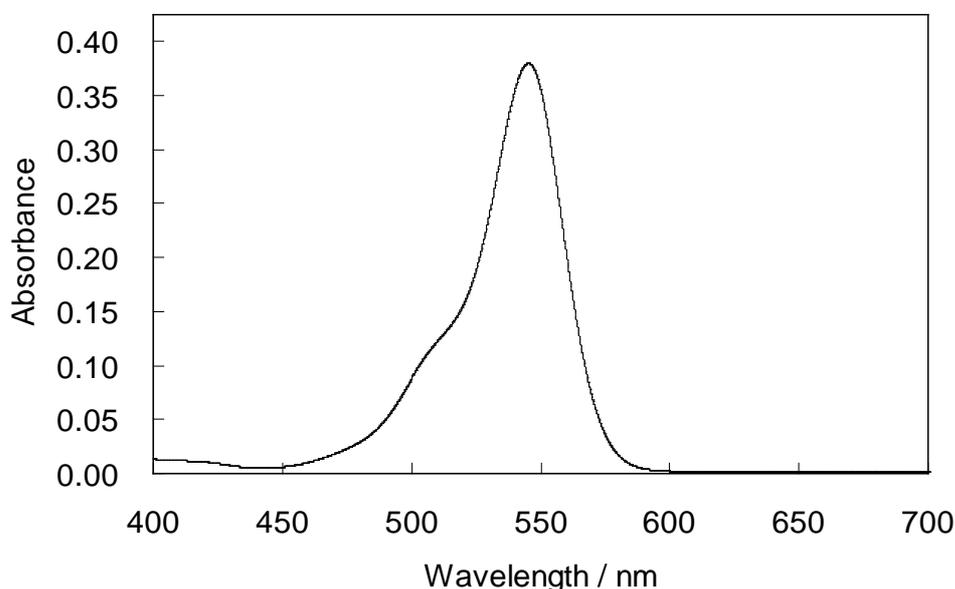
a = 開始点から試料スポットの重心点までの距離

b = 開始点から展開溶媒の先端までの距離

2. TLC 板表面の性質と色素分子の特性（酸性か塩基性か、そして親水性か疎水性か）から、色素 **A**, **B** および **C** の色を決定せよ。
3. どのようにしてそのような結論に至ったかを詳細に説明せよ。

II. 吸収スペクトル

色素溶液の見かけの色は、色素分子が特定の光を吸収することにより生じる。光吸収スペクトルから色素に関するより深い情報を得ることができる。図 35.3 は光路長 10 mm のキュベットを用いて色素 **A**~**C** のうちの一つにつき濃度 $3.30 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ の溶液を測定して得られた吸収スペクトルである。最大の吸光度 (0.380) は波長 545 nm (黄緑色の光の波長に相当) に見られた。



(縦軸：吸光度、横軸：波長/nm)

Fig. 35.3 ある色素の吸収スペクトル

光の吸収と Lambert-Beer (ランベルトーベール) の法則に関する問題を以下に示す。

1. 545 nm におけるこの色素のモル吸光係数を算出せよ。
2. 545 nm と 503 nm (503 nm における吸光度は 0.100) におけるこの色素溶液の透過率 (%) を算出せよ。次に、この色素溶液を 50% に希釈したときにそれぞれの波長にお



いて得られる透過率 (%) を求めよ。これらの結果を比較することにより、色素濃度の変化時に透過率変化がより鋭敏な光源の波長はどちらか推定せよ。

3. 光路長 30 mm のキュベットを用いて、545 nm において色素原液について得られる吸光度と透過率を算出せよ。

物質		R分類	S勧告
メタノール	液体	11-23/24/25-39 /23/24/25	7-16-36/37-45
シリカ	固体	非収載	非収載
オクタデシルシリル基修飾シリカ (ODS 化シリカ)	固体	非収載	22-24/25
陰イオン交換基修飾シリカ	固体	36/37/38	26
陽イオン交換基修飾シリカ	固体	34	26-36/37/39-45
色素 A	固体	22-41	26-39
色素 B	固体	68	36/37
色素 C	固体	非収載	非収載