

SL I portfolio

第5, 6回

# 化学のサイエンス

テーマ2 『分ける』

－分離・精製と同定－

1年次 組 番 氏名

---

## SLI 化学のサイエンス テーマ2

# 『分ける 分離と精製と同定』

## －頭を働かせ、腕を磨け！－

### はじめに

テーマ1「量る・測る」では、化学分野での「量る」基本操作と、分光光度計を用いた吸光光度法による「測る」操作について、理論と技術を学びます（ました）。

今回は「分ける」操作について理論と技術を学び、その応用として未知混合試料の中から「分けた物質」が何であるかを決定します（これを同定といいます）。

化学基礎の授業では、物質の分離・精製の方法として、ろ過、蒸留、再結晶、昇華、抽出、クロマトグラフィーなどがあることを学びました。テーマ2の実験では「クロマトグラフィー」を用いて、成分未知の色素混合試料に含まれる色素を化学的な手法で分析し、同定します。

あらためて、この講座で君たちに期待していることを繰り返します。ぜひ、君たちには、「理論と実験」「頭を働かせることと、実際に身体を使い腕を磨くこと」の両面を鍛え、未来の研究者・科学者を目指してください。

### ★当日持参する物★

●白衣（白衣を着用しない者は実験を認めない） ●SLI port folio ●電卓（スマホ代用可） ●定規

### <事前学習課題>

次の動画を視聴したうえで以下の資料をよく読んで、クロマトグラフィーについての歴史と原理について理解しておくこと。

「京都大学 化学実験操作法：操作法 1: 16. 薄層クロマトグラフィー（TLC）」

<https://www.youtube.com/watch?v=EpIL27gCoz0>



#### ①クロマトグラフィーの発見

クロマトグラフィー（Chromatography）は、1903年ロシア人植物学者 ツヴェット（Michal Tswett）によって植物色素の成分を分離する方法として発見・報告された。クロマトグラフィーを用いて、混合物から特定の物質を分離・精製することができることから、有用な研究手法として世界に広まり、現在様々な種類のクロマトグラフィーが存在している。

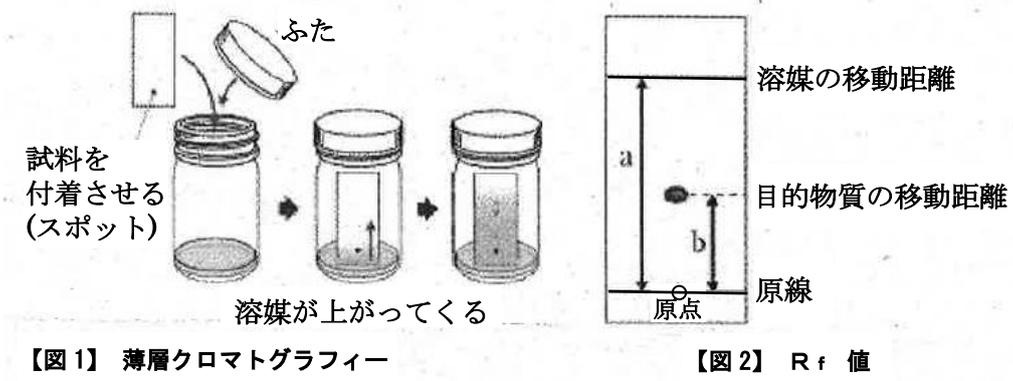
#### ②クロマトグラフィーの原理

クロマトグラフィーは、気体、液体、超臨界流体を移動相とし、ろ紙、薄層状のシリカゲル、またはカラムと呼ばれる管の中に詰められた固定相と、試料物質の相互作用によって混合物を分離する。対象とする試料は「移動相」によって運ばれ、試料中の各成分は「固定相」との相互作用の大きさによって分離される。固定相との相互作用が弱い成分はすぐに固定相から溶出し、固定相との相互作用が強い成分は固定相に長い時間保持される。相互作用の大きさの違いによって、試料導入点からの距離の違い（固定相からの溶出時間の違い）となって各成分が分離される。

③薄層クロマトグラフィー（TLC）およびRf値について

薄層クロマトグラフィーは、試料を付着させた薄層プレート的一端を展開溶媒に浸し、展開溶媒に溶けた資料の移動距離の違いによって混合物を分離する。

試料が移動する距離をRf値（Rate of flow, 移動率）で表す。目的の資料が何であるかを決定するために用いる目安となる。Rf値は以下のように定義される。



【図1】 薄層クロマトグラフィー

【図2】 Rf 値

④親水性物質と疎水性（親油性）について

水になじみやすい（溶けやすい）性質を親水性、水になじみにくい（溶けにくい）性質を疎水性（または親油性）という。今回用いる薄層クロマトグラフィーは、化学修飾した逆相シリカゲルを固定相として用いる逆相クロマトグラフィーである。そのため試料物質の親水性が大きいほど移動距離が大きく、疎水性が大きいほど移動距離が小さくなる。

⑤今回の実験で使用する食用色素試料について

食用色素試料 9 種

- (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)

※これらはすべて日本国内で使用が許可されている食用色素である。（引用 第 9 版食品添加物公定書）

<p>①赤2号 アマランス <math>C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3</math></p> <p>分子量 604.48</p>	<p>②赤3号 エリスロシン <math>C_{20}H_6I_4Na_2O_6 \cdot H_2O</math></p> <p>分子量 897.87</p>	<p>③赤40号 アルラレット <math>C_{19}H_{14}N_2Na_2O_8S_2</math></p> <p>分子量 496.42</p>
<p>④赤102号 ニューコクシン <math>C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3 \cdot 1 \frac{1}{2} H_2O</math></p> <p>分子量 897.87</p>	<p>⑤赤106号 アシッドレッド <math>C_{27}H_{28}N_2NaO_7S_2</math></p> <p>分子量 580.65</p>	<p>⑥黄4号 タートラジン <math>C_{16}H_8N_4Na_3O_6S_2</math></p> <p>分子量 534.37</p>
<p>⑦黄5号 サンセットイエロー <math>C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2</math></p> <p>分子量 452.37</p>	<p>⑧緑3号 ファストグリーン <math>C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3</math></p> <p>分子量 808.85</p>	<p>⑨青1号 ブリリアントブルー <math>C_{37}H_{34}N_2Na_2O_9S_3</math></p> <p>分子量 792.85</p>

省略

省略

# 実験手順書

## 1.目的

今回は「分ける」操作について理論と技術を学ぶ。化学物質の分離・精製法は様々な種類があるが、その中からクロマトグラフィーの基本原理について理解する。

本実験では薄層クロマトグラフィー（TLC）を用いて、成分未知の色素混合試料に含まれる色素を化学的な手法で分析・同定し、その取り扱い技術を身に付ける。

## 2.理論

※事前学習資料を熟読せよ。

## 3.準備

試薬：食用色素9種（①赤2号、②赤3号、③赤40号、④赤102号、⑤赤106号、⑥黄4号、⑦黄5号、⑧緑3号、⑨青1号）

未知混合色素試料 5種（A～E）、紅ショウガの汁

展開溶媒（溶媒組成 メタノール：アセトニトリル：5%硫酸ナトリウム＝3:3:10）

器具：薄層クロマトグラフィープレート 10 cm × 10 cm 2枚（ODS シリカゲル＝逆相クロマトグラフィー用）

展開槽（2班に1台）、キャピラリー（試料スポット用）、鉛筆、ピンセット、定規、ドライヤー、電卓、保護メガネ、キムワイブ、両面テープ

## 4.方法

### 4-1 展開用薄層クロマトグラフィープレートの作成〈標準色素試料9種〉

(1)薄層クロマトグラフィープレート（以下、TLCプレート）に、定規と鉛筆を用いて下から1.5 cmのところから原線を書く。さらに、原線上に1 cm 間隔で目印を書いていく。※左端、右端を除き、9カ所の印が書ける。プレートを傷つけないようにうすく書くこと。

(2)キャピラリーを用いて、食用色素試料9種を順番に原線の上に液を付着させる（「スポットを打つ」「試料のアプライ」という）。1回または2回でよい。※スポットの大きさは直径2 mmを目安とする。大きくなりすぎると結果に悪い影響を与える。

(3)ドライヤーを用いてスポットを乾燥させる。

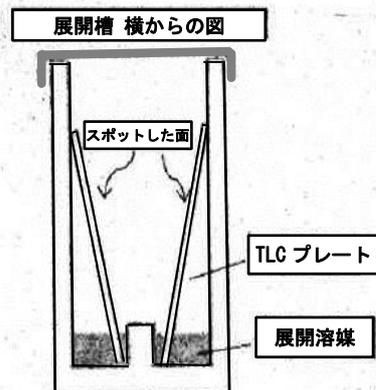
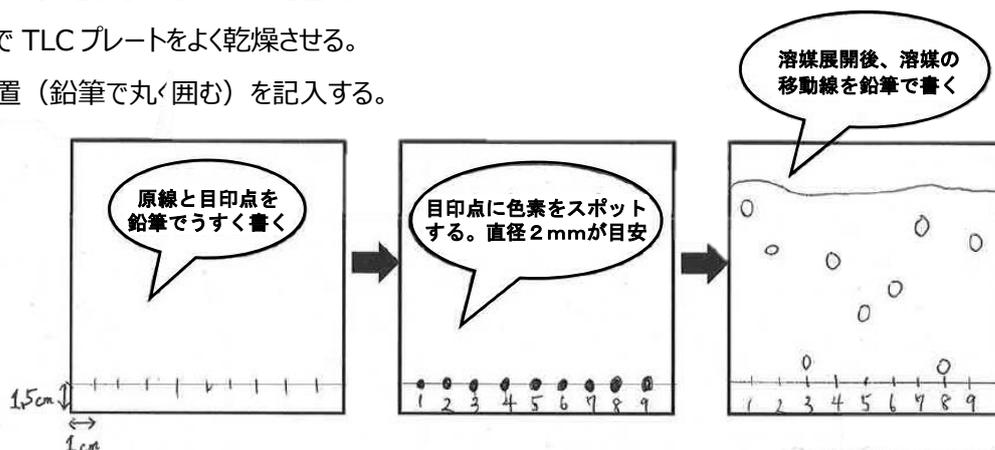
※以下(4)～(6)の操作は2班で協力して行う。

(4)展開溶媒の入った展開槽の中にピンセットでTLCプレートを入れる。TLCプレートの下端と液面の平衡状態を維持しながら、液面を乱さないように静かに液につけ、時間を計測する。

(5)直ちに静かにふたをして静置する。20分経過したらTLCプレートを取り出し、展開溶媒が上がった位置（湿った部分と乾いた部分の境目）をなぞり、鉛筆で線を書く。

(6)ドライヤーでTLCプレートをよく乾燥させる。

(7)試料の位置（鉛筆で丸く囲む）を記入する。



### ※実験上の注意

- TLCプレートを持つときは両端を指で持ち、表面を触らないようにすること。
- 原線や試料番号は薄層クロマトグラフィーを傷つけないようにうすく書くこと。
- スポットの濃さや大きさが結果に影響するため、操作には注意が必要。
- 原線の位置や展開時間などの条件をつねに一定にすることが実験の再現性を高める。

4-2 展開用薄層クロマトグラフィーの作成 〈未知混合色素試料 5 種 A~E + 紅ショウガ + 予備 3 つ〉  
※4-1 と同様に行う

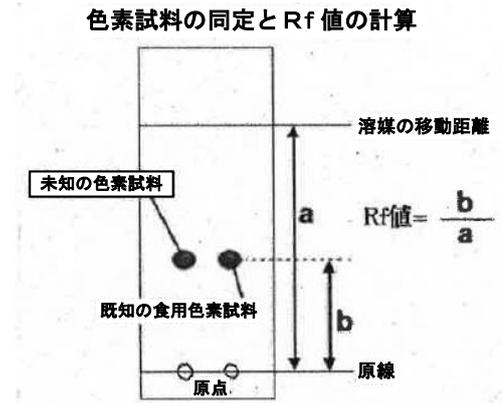
4-3 結果の整理と提出用紙の完成

課題 1【食用色素試料を薄層クロマトグラフィーで調べる】

食用色素 9 種（①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号）について薄層クロマトグラフィーを行い、Rf 値を答えよ。また、展開結果（プレート）を貼付せよ。  
※計算式も記述せよ。ただし、定規の目盛りは 1/10 mm まで読み、解答は小数点以下第 2 位までとすること。

課題 2【未知の色素試料にふくまれている色素を調べる】

未知混合色素試料 5 種（A~E）について薄層クロマトグラフィーを行い Rf 値を答えよ。また、展開結果（プレート）を貼付せよ。A~E にふくまれていると考えられる色素を考察し、解答欄の中から選び、○で囲め。



課題 3【食品にふくまれている色素を調べる】

紅ショウガには、より色を鮮やかにするために食用色素を加えてつくられているものがある。紅ショウガの汁の薄層クロマトグラフィーを行い Rf 値を答えよ。また、展開結果（プレート）を貼付せよ。紅ショウガに含まれていると考えられる色素を解答欄の中から選び、○で囲め。

課題 4【実験結果から考察する】

赤 3 号、赤 40 号、赤 102 号の性質について、実験結果とクロマトグラフィーの原理からいえることを考察せよ。ただし、「親水性」「疎水性」「Rf 値」の語句を用いて説明すること。

4-4 片付けおよび廃液処理

- (1) 展開槽はそのまま置いておくこと。
- (2) 机の上を雑巾でふき、使用した実験薬品・器具を整理せよ。
- (3) 実験結果用紙に解答のまとめを行うこと。また、使用した TLC プレートは 1 枚ずつ貼付して提出する。

# 実験結果用紙

□提出者 : 組番 氏名 \_\_\_\_\_

□共同実験者 : 組番 氏名 \_\_\_\_\_

□実験日 : 年 月 日 \_\_\_\_\_

□実験条件 : 天候 \_\_\_\_\_ 室温 \_\_\_\_\_ °C 湿度 \_\_\_\_\_ % 気圧 \_\_\_\_\_ hPa

## 課題 1

食用色素試料 9 種の Rf 値

※定規の目盛りは 1/10 mm まで読み、解答は小数点以下第 2 位までとすること。

	計算式	Rf 値
① 赤 2 号		
② 赤 3 号		
③ 赤 40 号		
④ 赤 102 号		
⑤ 赤 106 号		

	計算式	Rf 値
⑥ 黄 4 号		
⑦ 黄 5 号		
⑧ 緑 3 号		
⑨ 青 1 号		

## 課題 2・3

未知混合色素試料 5 種 (A~E) および紅ショウガ汁の Rf 値と、含まれる色素の判定

※含まれていると考えられる色素を解答欄の中から選び、○で囲め

	分離したスポットの数	すべてのスポットの Rf 値 (小さい値から順に書け)								
A	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									
B	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									
C	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									
D	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									
E	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									
紅ショウガ	個									
	判定 (①赤 2 号、②赤 3 号、③赤 40 号、④赤 102 号、⑤赤 106 号、⑥黄 4 号、⑦黄 5 号、⑧緑 3 号、⑨青 1 号)									

## 課題 4

赤 3 号、赤 40 号、赤 102 号の性質について、実験結果とクロマトグラフィーの原理からいえることを考察せよ。ただし、「親水性」「疎水性」「Rf 値」の語句を用いて説明すること。

展開結果（プレート）貼付スペース