

Chap. 2 Chromatography

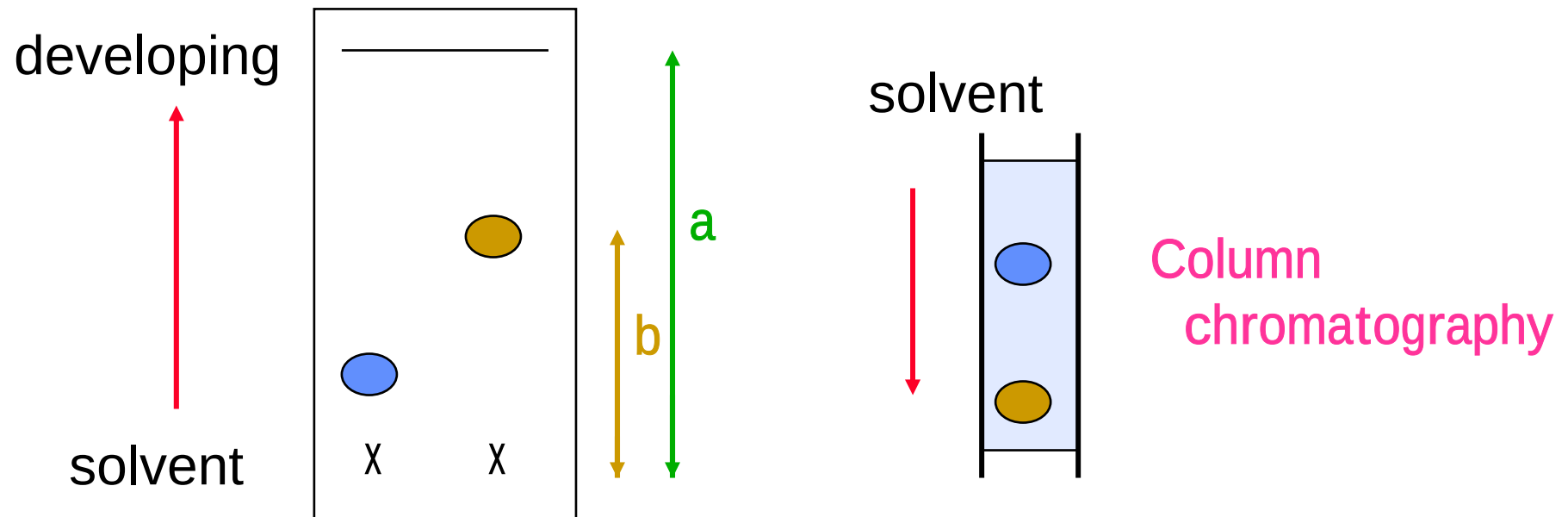
(1) Chromatographyとは？

Paper chromatography

葉のhomogenate → スポット → 水で展開 → 色素の分離

色素の濾紙への吸着の違い

Rf 値 = b/a 弱い吸着: 早い移動 → Rf 大
強い吸着: ゆっくりした移動 → Rf 小



TLC (Thin layer chromatography)





Chap. 2 Chromatography

(2) 精製の方法

old technique

固体: 再結晶 純度 OK、スケール 大、回収率 悪

液体: 蒸留 純度 不十分

new technique

chromatography 純度 OK、スケール ミクロOK

(3) Chromatographyの種類

固定相

stational phase

solid

paper

silica gel

liquid

移動相

mobile phase

liquid

solvent

solvent

gas

paper chromatography

TLC, HPLC

gas-liquid chromatography

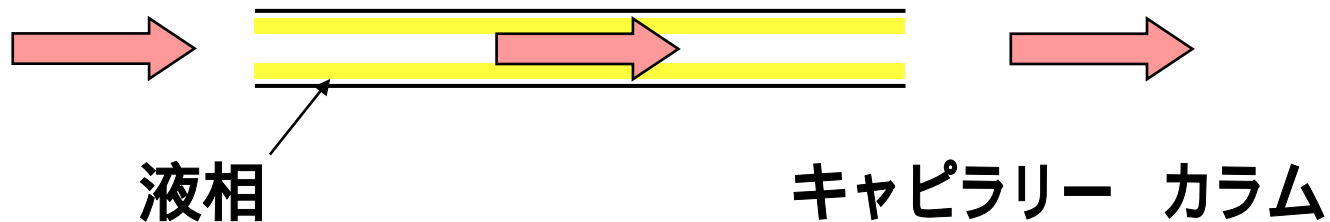
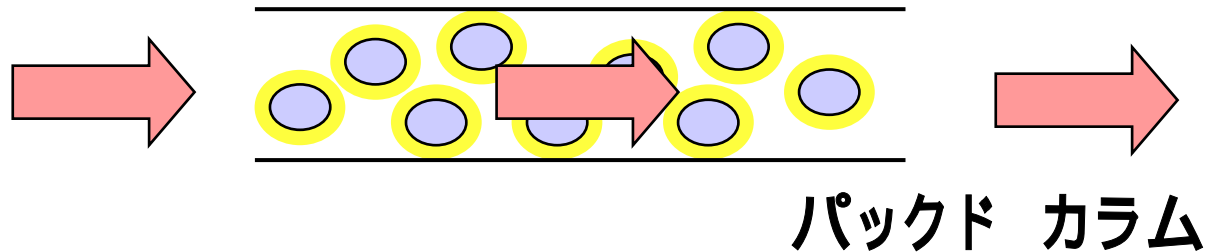
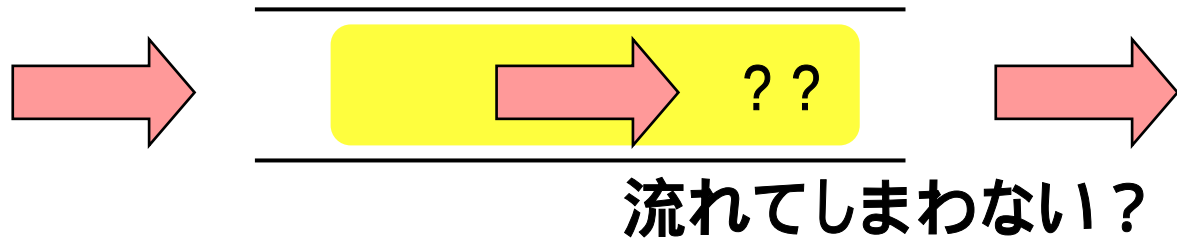
GLC (GC)

Chap. 2 Chromatography

GLC (GC) gas-liquid chromatography

移動相: gas

固定相: liquid ??

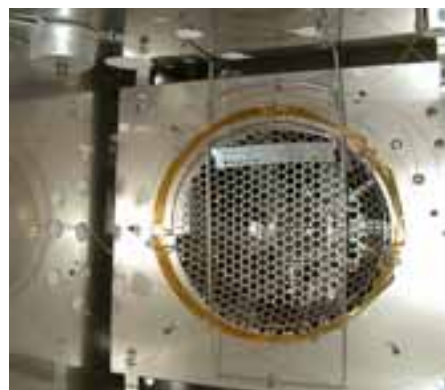
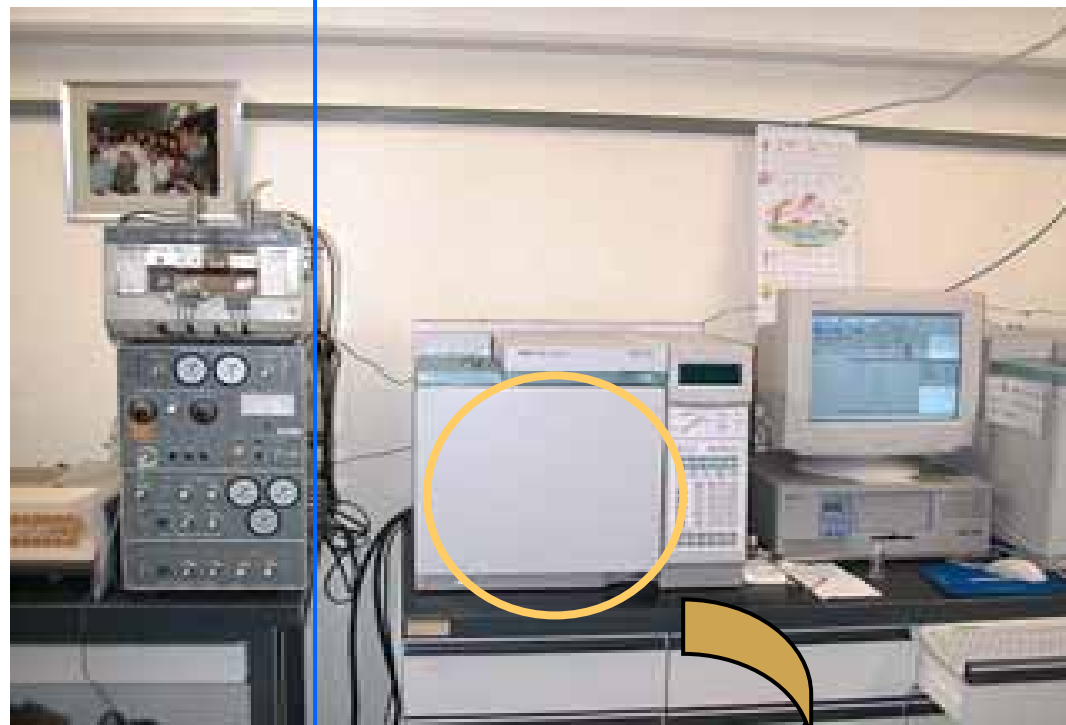


旧型のGC



ガラスカラム
内径 5 mm
長さ 2 m

新型のGC



キャピラリーカラム
内径 0.25 mm
長さ 30 m

Chap. 2 Chromatography

クロマトグラム chromatogram

サンプルの注入
injection



0 min

保持時間

retention time (R_t)

物質の
流出量
(検出量)



時間 (分)

GLC (GC)

室温 → 200 ~ 300 に加温
揮発性があれば、沸点がそれ以上の
物質でもカラムから流出

低沸点化合物 → R_t 小
分子量 小
極性 小

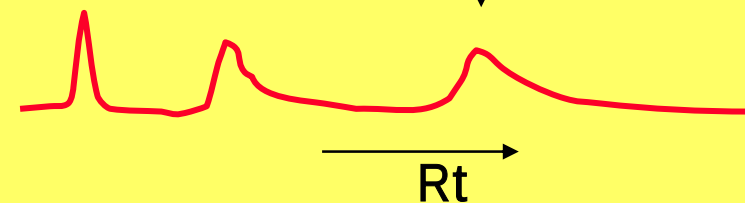
octanol
(C8)



decanol
(C10)



dodecanol
(C12)

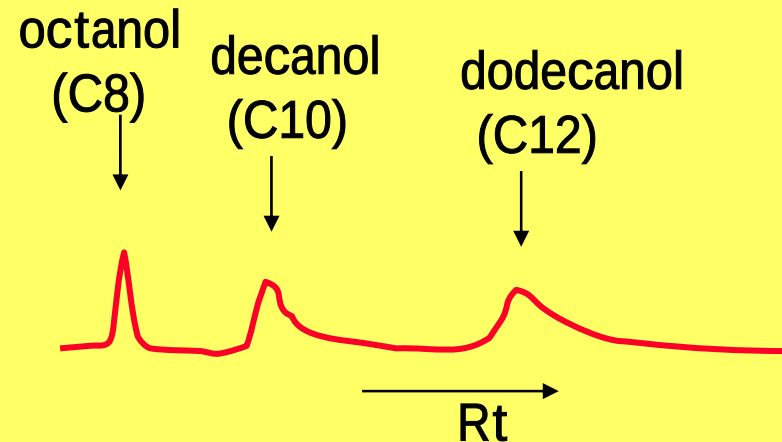


Chap. 2 Chromatography

GLC (GC)

室温 → 200 ~ 300 に加温
揮発性があれば、沸点がそれ以上の物質でもカラムから流出

低沸点化合物 → R_t 小
分子量 小
極性 小



octanol ($C_8H_{18}O$) 分子量 130



アセチル化 (酢酸エステル)

octyl acetate ($C_{10}H_{20}O_2$) 分子量 172

分子量



大

極性



小

R_t



?

液相(カラムの種類)
によって異なる



極性の高い駅相のカラムでは、 R_t は小さくなる
(早い流出)

Chap. 2 Chromatography

(4) 順相と逆相

normal phase chromatography

通常のシリカゲル(非水条件)、有機溶媒を使用

溶媒の極性

ヘキサン → ベンゼン → EtOAc、CHCl₃、エーテル → アセトン、MeOH

reversed-phase chromatography

化学修飾(octadecyl基結合)シリカゲル: ODS、水を使用

水 + アセトニトリル、水 + MeOH、水 + THF

(5) 分離の要因

分子の大きさ: 分子篩い(ゲル濾過)、Sephadex G

溶出順序 大きい → 小さい

解離性: イオン交換、Amberlite、Dowex

電気泳動

蒸気圧: GC 高い揮発性(低沸点) → 低い揮発性(高沸点)

Chap. 2 Chromatography

(5) 分離の要因

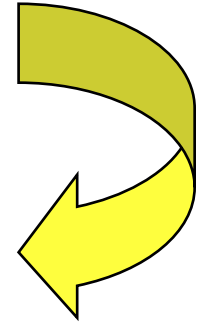
分配 **partition** (どちらに溶けるか)

TLC: シリカゲル近傍の溶媒と移動相の溶媒との間の分配

GC: 液相と気相との間の分配

吸着 **absorption**

化合物の極性 **polarity** に関係



(6) 極性とは？

low
親油性化合物
炭化水素



high
親水性化合物
極性の官能基 (OH, COOH, NH₂) を多く持つ
例) アルコール
octanol (C₈H₁₇OH) → ethanol (C₂H₅OH)

Chap. 2 Chromatography

(7) HPLC と GC

分子量 小 ← → 大

揮発性 大 ← → 小

極性 小 ← → 大

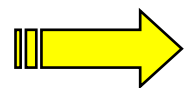
農薬・医薬

ペプチド・タンパク質
糖

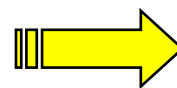
← GC

HPLC →

一長一短



最適な手法の見極め



相補的な使用
両者の並行的な使用

キャピラリーGC: 高い理論段数

難揮発性物質 → 誘導体化

例) 糖 → 酢酸エステル、シリルエーテル

Chap. 2 Chromatography

(8) 分離物の検出法

TLC : 発色剤のスプレー

硫酸 → 加熱、KMnO₄ + 硫酸、ヨウ素 (多くの有機化合物)
KMnO₄ (不飽和化合物) ニンヒドリン (アミノ酸)
2,4-dinitrophenylhydrazine (アルデヒド)

HPLC : RI 検出器: 示唆屈折計、すべての化合物、低感度
UV検出器: 共役系を含む化合物、高感度
蛍光検出器、電気伝導度計、旋光度計

GC : FID (flame ionization detector) :
可燃物 → ほぼすべての化合物、高感度
TCD: すべての化合物、低感度
ECD (electron capture detector): β -線照射、ハロゲン化物等
PFD (flame photometric detector): リン化合物

Chap. 2 Chromatography

(9) 良い分離とは？

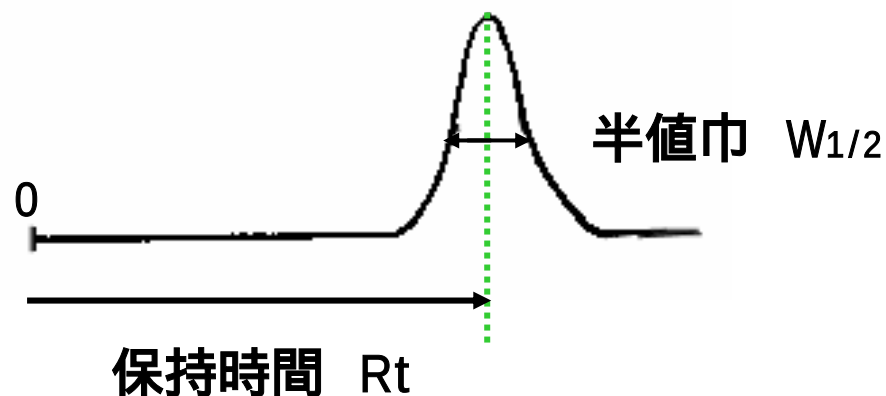
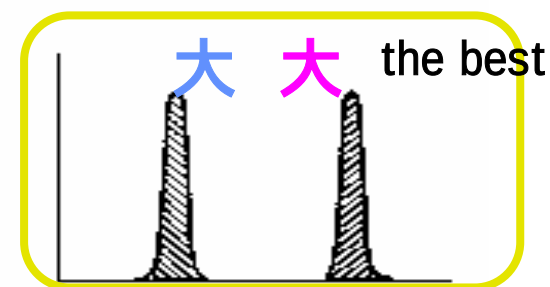
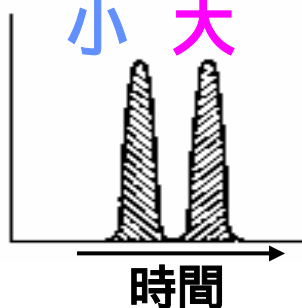
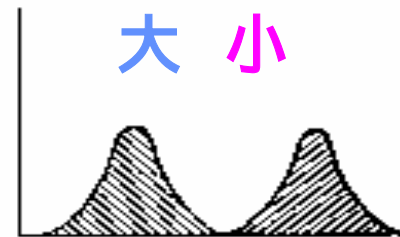
分離係数

separation factor

理論段数

theoretical plate (N)

カラムからの
溶出量



$$N = 5.54 \times (R_t \div W_{1/2})^2$$

例 $R_t = 11.5 \text{ min}$
 $W_{1/2} = 0.5 \text{ min}$
 $N = 5.54 \times (11.5 \div 0.5)^2$
3000