

機器分析・分析化学

ゆっくり丁寧・これで納得

No. 11-7

Thin layer Chromatography

TLC

薄層クロマトグラフィー



何がわかる?

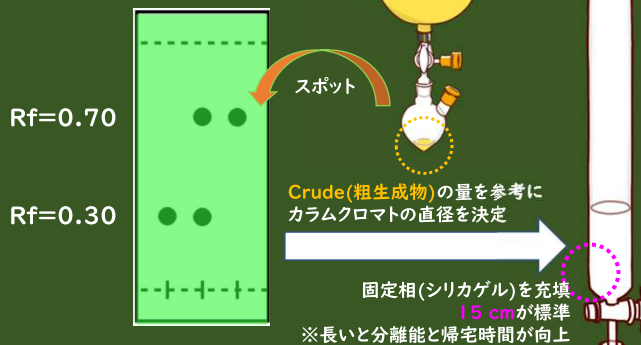
Rf値の考え方
展開溶媒
カラムクロマトの方法

必ず深くわかる

1

研究室に配属して化合物を合成すると分離が待っています。

TLCを使って最適なRf値となる
展開溶媒を決定



紫外線を吸収して緑発光。
UVを吸収する化合物は発光せずに
黒いスポット(●)として検出
※スポットの検出方法

展開溶媒を上端から導入して試験管で分取する。
このフラクション(分取)の量は、固定相体積の半
分量が標準

理論上、Rf値が「1」の場合、固定相体積と同じ量の展開溶媒を流すと、目的物が出てきます。

Rf値が「0.5」の場合、固定相体積と同じ量の展開溶媒を流すと、目的物が半分進みます。結果、固定相体積の2倍量の展開溶媒を流した時に、Rf=0.5の目的物が得られる。

Rf値が「0.7」の場合、
 $1 \div 0.7 = 1.42 \rightarrow$ 固定相体積の1.42倍の展開溶媒

Rf値が「0.3」の場合、
 $1 \div 0.3 = 3.33 \rightarrow$ 固定相体積の3.33倍の展開溶媒

各種分析へ
NMR室へGo!

イラスト おやすみん Twitter (@oyasumi_orgchem)

2

目次

1. クロマトグラフィーの理論：YouTube動画の紹介
2. TLCによる操作
3. 重ね打ちの理由とRf値の計算方法
4. 展開溶媒の考え方（Synderの極性パラメータ）
5. スポットをみるための発色指示薬一覧

3

1. クロマトグラフィーの理論：動画の紹介



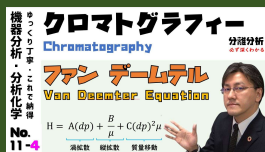
#11-1
なぜ、クロマトグラフィーで分離できるのか？



#11-2
なぜ、定性分析ができるのか？ クロマトの頻出用語を紹介
(分配係数・保持係数・分離係数・分離度・シンメトリー係数)



#11-3
理論段数と分離度Rの関係式から、クロマトを使い倒す



#11-4
クロマトの頻出式
ファンデームテル式を読み解く

4

TLCやカラムの方法について

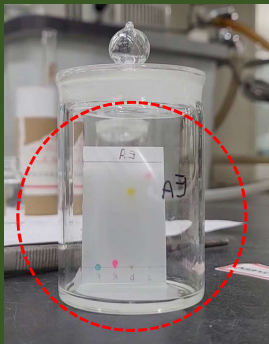
所属している研究室の方法に従ってください。
独自のルールがあったりしますからね!っね!

5

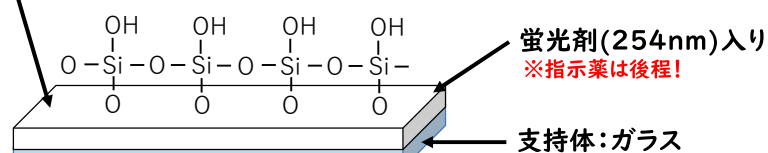
2. TLCについて

薄層クロマトグラフィー (TLC; Thin layer Chromatography)

ガラス板上に固定相が塗布されている平面クロマトグラフィーのひとつ。合成により得た目的物を分取するためのカラムクロマトには必須の準備操作!!



順相(高極性): シリカゲル or アルミナ (逆相: アルキル基付シリカゲル)

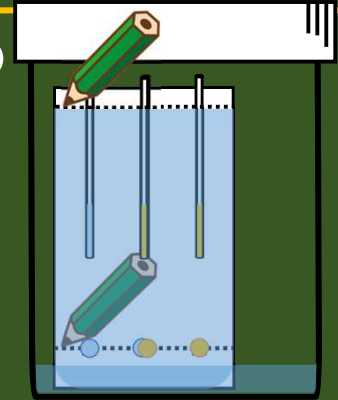


TLCは様々な種類があります。
カラムクロマトの固定相と合わせましょう。

6

2. TLCによる操作

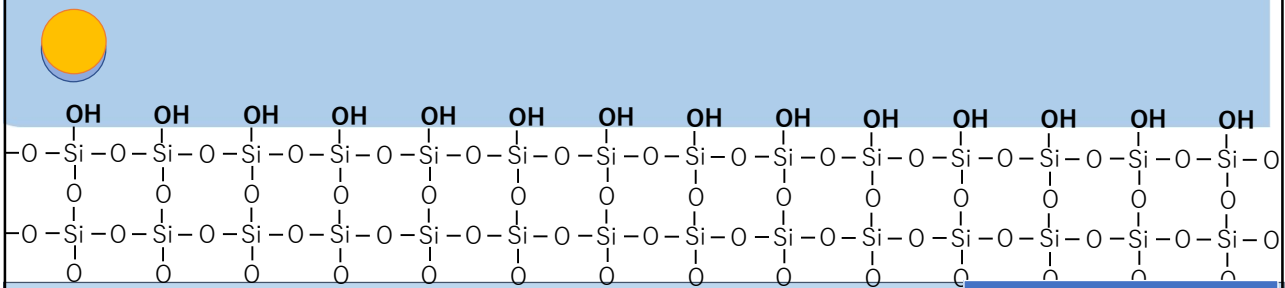
1. TLCの下端に鉛筆で線をつける (油性ペンは当然NGです笑)
2. 反応後の溶液(生成物)をガラスキャピラリーで吸う。
3. 反応後の溶液(生成物)を「左」と「中央」にスポットする。
4. 原料の溶液を「中央」と「右」にスポットする。
5. 移動相(展開溶媒)の入った容器に静置する。
この時、移動相はスポット位置より下にある必要があります。
フタもしっかり閉めます。TLC板や溶媒を動かさないように。
6. **移動相が固定相を上昇し始めます。**
7. 移動相がTLCの上端に達する前に取り出して、
移動相の達した位置に鉛筆で印をつけます。



7

2. TLC上でのスポットの移動について

順相; 固定相が高極性 ● 極性が低い ○ 極性が高い

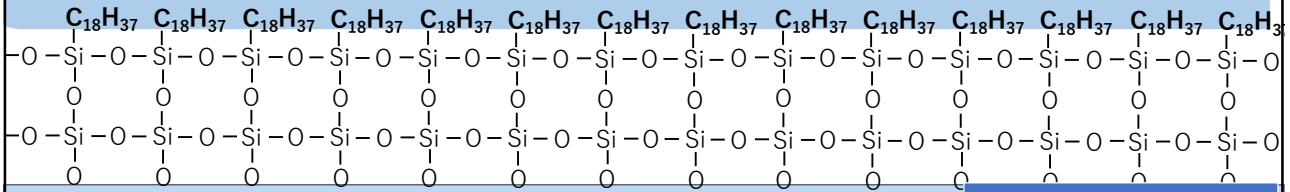


- 極性の高い(●)は、固定相(シリカゲル; 高極性)と相互作用
- 極性の低い(○)は、固定相との相互作用が弱く、分離する。

8

2. TLC上でのスポットの移動について

逆相; 固定相が低極性 ● 極性が低い ● 極性が**高い**

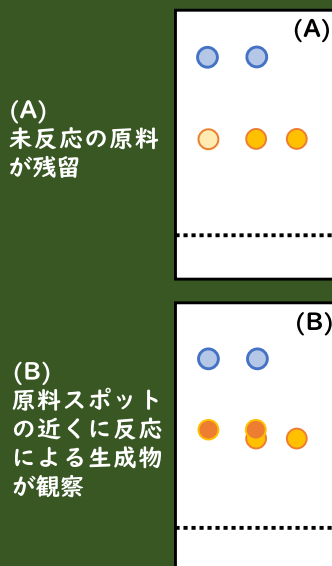


- 極性の**高い**(●)は, 移動相(展開溶媒: 高極性)と相互作用
- 極性の**低い**(●)は, 固定相との相互作用が強く, 分離する。

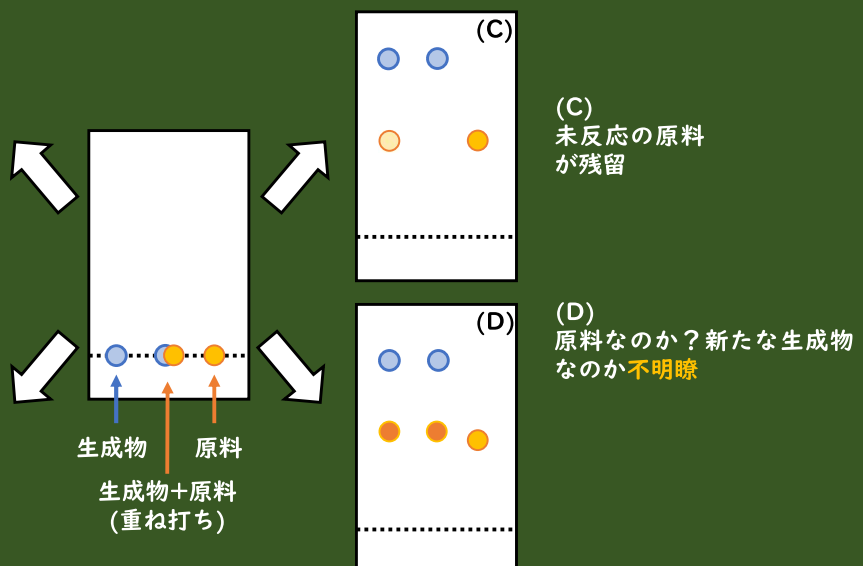
9

2. スポットの重ね打ちの理由: 反応の進行具合をみるため

重ね打ちした**場合**



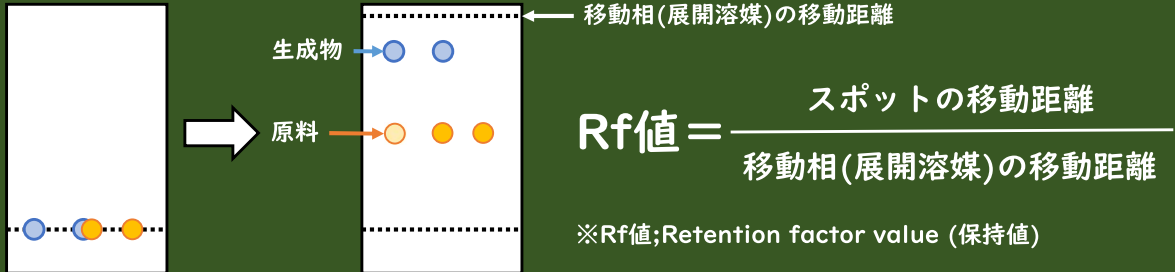
重ね打ち**してない**場合



10

3. Rf値の求め方

固定相(シリカゲル)は、高極性なので順相で考える。



移動相の移動距離は同じ。(=分母は同じ値。)

- Rf値が**大きい**。スポットの移動距離が大きい。
つまり、極性が小さい化合物であることがわかる。
- Rf値が**小さい**。スポットの移動距離が小さい。
つまり、極性が大きい化合物であることがわかる。

11

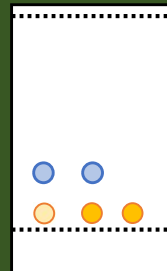
4. 展開溶媒の考え方 (比率や極性を変更)

移動相(展開溶媒)の代表例 5選 (混ぜる必要がある)

- ・ヘキサン/酢酸エチル (1:10~10:1; 比率変更も有効手段)
- ・ヘキサン/トルエン
- ・ヘキサン/ジエチルエーテル
- ・トルエン/アセトン
- ・クロロホルム/メタノール

移動相を**極性の高いもの**にすると移動することがある。極性の高い目的物が、固定相だけではなく移動相とも相互作用するから。

ヘキサン:酢酸エチル → トルエン:アセトン



固定相(シリカゲル)との相互作用が強く、スポットがほとんど移動しない。移動相の極性をあげてみる。

| 溶媒 | Snyderの極性パラ | 溶媒 | Snyderの極性パラ |
|----------|-------------|---------|-------------|
| ヘキサン | 0.1 | アセトニトリル | 5.8 |
| トルエン | 2.4 | クロロホルム | 4.1 |
| ジエチルエーテル | 2.8 | メタノール | 5.1 |
| 酢酸エチル | 4.4 | 水 | 10.2 |

12

4. 展開溶媒の考え方 → 溶出挙動の推定

溶媒(の極性)を変更することで、**保持係数(k)**を調整できる。
この保持係数(溶出挙動)の変化は、Synderの極性パラメータと保持係数kとの関連式から算出できる。

$$\text{順相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_i - P_f}{2}} \quad \text{逆相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_f - P_i}{2}}$$

k_f : 変更後の保持係数, k_i : 変更前の保持係数, P_f : 変更後の極性, P_i : 変更前の極性

| 溶媒 | Snyderの極性パラ | 溶媒 | Snyderの極性パラ |
|----------|-------------|---------|-------------|
| ヘキサン | 0.1 | アセトニトリル | 5.8 |
| トルエン | 2.4 | クロロホルム | 4.1 |
| ジエチルエーテル | 2.8 | メタノール | 5.1 |
| 酢酸エチル | 4.4 | 水 | 10.2 |

※他の溶媒の極性については、概要欄のURLを参照してください。

#11-2



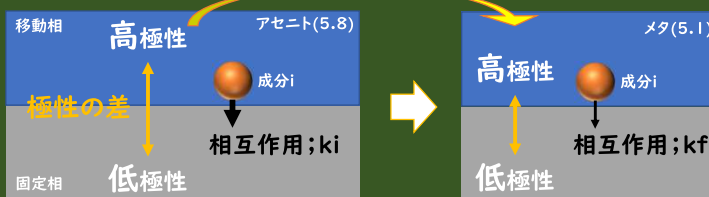
保持係数k
移動相にある成分iの
固定相との相互作用
の度合い

13

4. 展開溶媒の考え方 → 溶出挙動の推定 単一溶媒Ver

Q. **逆相ミセル**: 移動相溶媒をアセニト(P=5.8)からメタ(P=5.1)に変更
定性的な表現

溶媒変更による移動相の極性が低下



- ① 移動相の極性が低下(アセニトからメタへ)
- ② 固定相の極性は一定
- ③ 移動相と固定相の極性差が低下
- ④ 成分iの相互作用が低下(保持係数の低下)

定量的な表現

$$\frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_f - P_i}{2}} = 10^{\frac{(5.1 - 5.8)}{2}} = 10^{-0.35} = 0.44$$

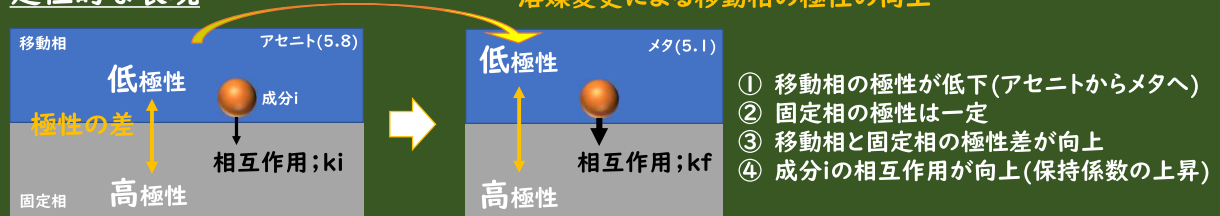
$$\Rightarrow k_f = 0.44 k_i$$

- ① 移動相をアセニト(5.8)からメタ(5.1)に変更
- ② 変更前 k_i に比べて、変更後 k_f は0.44倍に低下
- ③ 相互作用が弱まる。

14

4. 展開溶媒の考え方 → 溶出挙動の推定 単一溶媒Ver

Q. 順相ミセル：移動相溶媒をアセト(P=5.8)からメタ(P=5.1)に変更
定性的な表現



定量的な表現

$$\frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_i - P_f}{2}} = 10^{\frac{(5.8 - 5.1)}{2}} = 10^{0.35} = 2.23$$

➡ $k_f = 2.23 k_i$

- ① 移動相をアセト(5.8)からメタ(5.1)に変更
- ② 変更前 k_i に比べて, 変更後 k_f は2.33倍に増加
- ③ 相互作用が強まる

15

4. 展開溶媒の考え方 → 溶出挙動の推定 混合溶媒Ver

実際のカラム操作の際には, 混合溶媒を移動相に用いる。混合溶媒での極性の求め方は, 下記の式で求められる。

$$P_{mix} = \psi_A P_A + \psi_B P_B + \psi_C P_C + \dots$$

ψ_A : 展開溶媒Aの容量分率,
 P_A : 展開溶媒AのSynder極性パラメーター

Q. 逆相ミセル：ヘキサン-酢酸エチルの組成比(10:90)を(90:10)に変更

変更前 $P_{mix i} = 0.1 \times 0.1 + 0.9 \times 4.4 = 3.97$

変更後 $P_{mix f} = 0.9 \times 0.1 + 0.1 \times 4.4 = 0.53$ ↓ 移動相の極性が低下

逆相 $\frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_f - P_i}{2}}$ に代入すると $K_f = 0.019k_i$

Q. 逆相ミセル：ヘキサン-酢酸エチル(50:50)をトルエン-アセトン(50:50)に変更

変更前 $P_{mix i} = 0.5 \times 0.1 + 0.5 \times 4.4 = 2.25$

変更後 $P_{mix f} = 0.5 \times 2.4 + 0.5 \times 5.1 = 3.75$ ↓ 移動相の極性が上昇

順相 $\frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_i - P_f}{2}}$ に代入すると $K_f = 0.177k_i$

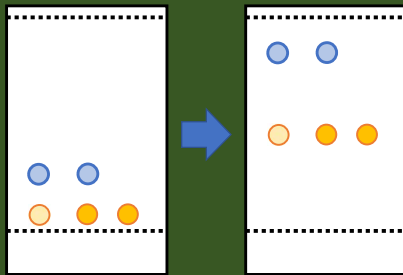
16

4. 保持係数とRf値から最適な溶出挙動を予測

溶媒(の極性)を変更することで、**保持係数(k)**を調整できる。
この保持係数(溶出挙動)の変化は、Synderの極性パラメータと保持係数kとの関連式から算出できる。

$$\text{順相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_i - P_f}{2}} \quad \text{逆相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_f - P_i}{2}}$$

k_f : 変更後の保持係数, k_i : 変更前の保持係数, P_f : 変更後の極性, P_i : 変更前の極性



- ① 展開溶媒を変更したことによる**Rf値の変化**
- ② 上記式より、溶媒を変更した際の**保持係数kの変化**
- ③ 1と2に相関性を参考に、**最適な展開溶媒を予想する**。

#11-2

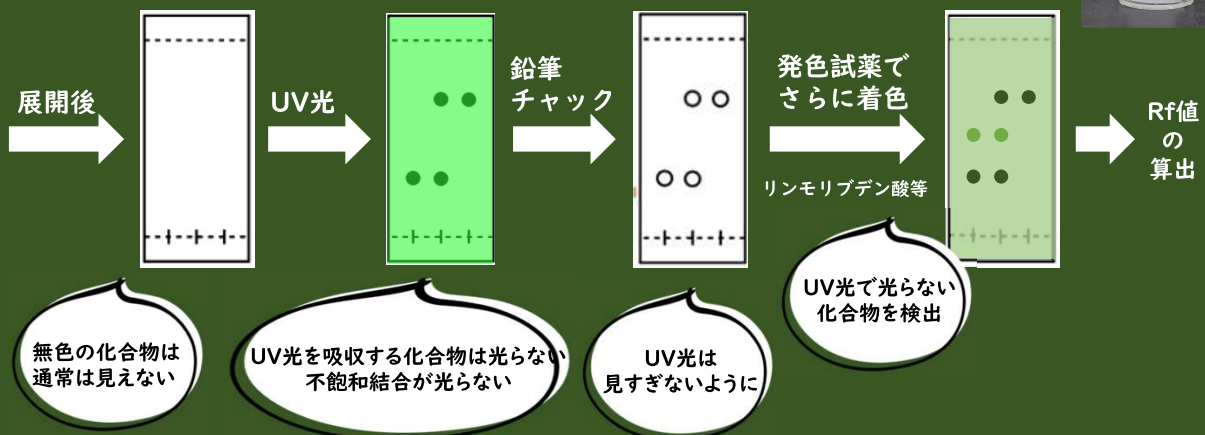


保持係数k
移動相にある成分iの
固定相との相互作用
の度合い

17

5. スポットを見るための発色指示薬

スポットは、化合物自体が**着色**していないと通常は見えません。



着色試薬の紹介!

18

5. スポットを見るための発色指示薬 一覧

リンモリブデン酸(PMA): すべての化合物, 特に水酸基含有化合物

| | | |
|----------|-------|-------------------------|
| リンモリブデン酸 | 5g | 混合溶液にディップしてホットプレート上で温める |
| エタノール | 100mL | |

ニンヒドリン: アミン含有化合物

| | | |
|---------|-------|-------------------------|
| ニンヒドリン | 0.3g | 混合溶液にディップしてホットプレート上で温める |
| 酢酸 | 3mL | |
| N-ブタノール | 100mL | |

ヨウ素-シリカゲル: 有機化合物全般

| | | |
|-------|----|------------------------|
| ヨウ素 | 適量 | TLC板をヨウ素添加したシリカゲルに埋める。 |
| シリカゲル | 適量 | |

ジニトロフェニルヒドラジン: アルデヒド・ケトン

| | | |
|-------------------|-------|-------------------------------|
| 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン | 12g | 混合溶液に浸す。発色しない場合はホットプレート上で温める。 |
| 濃硫酸 | 60mL | |
| 蒸留水 | 80mL | |
| エタノール | 200mL | |

ブロモクレゾールグリーン: カルボン酸などの酸性官能基

| | | |
|------------------|--------|--------------------------------------|
| ブロモクレゾールグリーン | 40mg | ブロモクレゾールグリーンエタノール溶液が青くなるまでNaOHを滴下する。 |
| エタノール | 100mL | |
| 0.1N 水酸化ナトリウム水溶液 | 適量(滴下) | |

19

ご視聴ありがとうございました。

カラムが上手!というのは,
「各化合物を高純度で早々と分けて帰宅する」ということです。

$$\text{順相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_i - P_f}{2}} \quad \text{逆相} \quad \frac{k_f}{k_i} = 10^{\frac{P_f - P_i}{2}}$$

上記の式も参考までです。

普段のカラム条件とRf値の積み重ねが、カラムが上手になるコツです。

学外へのアウトプットは自己研鑽につながっています。
皆さんと共に様々に学んでいます。

20