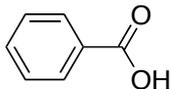


練習問題

1. 以下の問いに答えなさい。

(1) 安息香酸 ( = PhCO₂H, pKa = 4.21) は以下の各 pH において、分子型

(PhCO₂H) の濃度 [PhCO₂H] は、イオン型 (PhCO₂⁻) の濃度 [PhCO₂⁻] の何倍存在するか答えなさい。計算過程も書くこと。

$$pK_a = -\log \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} + \text{pH} \text{ (式 1) より } pK_a = \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} + \text{pH} \text{ (式 2)}$$

I) pH = 4.21 の時、pKa = 4.21、pH = 4.21 を式 2 に代入 :

$$4.21 = \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} + 4.21 \rightarrow \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = 0 \rightarrow \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = 10^0 = 1$$

よって、[PhCO₂H] は [PhCO₂⁻] の 1 倍

II) pH = 6.21 の時、pKa = 4.21、pH = 6.21 を式 2 に代入 :

$$4.21 = \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} + 6.21 \rightarrow \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = -2 \rightarrow \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = 10^{-2} = 0.01$$

よって、[PhCO₂H] は [PhCO₂⁻] の 10⁻² (0.01) 倍

III) pH = 3.21 の時、pKa = 4.21、pH = 3.21 を式 2 に代入 :

$$4.21 = \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} + 3.21 \rightarrow \log \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = 1 \rightarrow \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} = 10^1 = 10$$

よって、[PhCO₂H] は [PhCO₂⁻] の 10 倍

答 pH 4.21 1 倍 pH 6.21 10⁻² (0.01) 倍 pH 3.21 10 倍

(2) 安息香酸を pH 6.21 の時に結合するのは「陰イオン交換樹脂」と「陽イオン交換樹脂」のいずれであるか答えなさい。

(1)より pH6.21 では [PhCO₂H] は [PhCO₂⁻] の 10⁻² (0.01) 倍。→イオン型 (PhCO₂⁻) のほうが多い。加えて、安息香酸は陰イオン化している。陰イオンを結合するのは「陰イオン交換樹脂」 答 「陰イオン交換樹脂」

(3) (2)の答えの化学的な理由を下記の用語を使用して答えなさい。

用語 : 負電荷、正電荷、pKa、pH 6.21

pKa が 4.21 の安息香酸は pH 6.21 の条件下ではイオン型 (PhCO₂⁻) 分子種が大部分をしめる。この異音型分子種は負電荷を帯びており、正電荷を帯びた官能基が結合した「陰イオン交換樹脂」に対して結合できる。

- (4) (2)の条件でイオン交換クロマトグラフィーの固定相に結合した安息香酸を固定相から溶出するための方法を2つ答えよ。

答 塩強度を上げる。 pHを下げる。

- (5) pH 6.21 の溶液中の安息香酸と結合可能なクロマトグフイーの官能基を下記の選択肢から選びなさい (複数回答可)。

- a) $-\text{SO}_3\text{H}$ b) $-\text{Si-OH}$ c) $-\text{CO}_2\text{H}$ d) $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
 e) $-(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$ f) $[-\text{N}(\text{CH}_3)_3]^+(\text{OH}^-)$

答 d) $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ f) $[-\text{N}(\text{CH}_3)_3]^+(\text{OH}^-)$

註：陰イオン交換樹脂には正に帯電した官能基が必須

- (6) pKa が 8 の化合物は、pH 6 では正負のいずれに電荷が偏っているか。

答 酸分子の場合: 中性 塩基分子の場合: 正に帯電

註：酸分子 $\text{AH} \rightleftharpoons \text{A}^- + \text{H}^+$ 酸性(H^+ 濃度↑)では H^+ との結合型↑ ($\text{AH} \uparrow$)

塩基分子 $\text{B} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{BH}^+$ 酸性(H^+ 濃度↑)では H^+ との結合型↑ ($\text{BH}^+ \uparrow$)

- (7) pH 6 の緩衝液を移動相とした時、pKa が 8 の化合物は陰イオン交換樹脂／陽イオン交換樹脂のいずれに吸着するか。

答 酸分子の場合: 中性なのでイオン交換樹脂への吸着は弱い

塩基分子の場合: 正に帯電しているので陽イオン交換樹脂への吸着がおこる

- (8) pH 8 の緩衝液を移動相とした時、pKa が 6 の化合物は陰イオン交換樹脂／陽イオン交換樹脂のいずれに吸着するか。

答 (6)の化学平衡より、 $\text{pH}(8) > \text{pKa}(6)$ では、 H^+ 濃度↓ので H^+ が外れた解離型↑

酸分子の場合: H^+ 解離型はアニオン (A^-) なので陰イオン交換樹脂に吸着する

塩基分子の場合: H^+ 解離型は中性 (B) なのでイオン交換樹脂への吸着は弱い

- (9) ヒスタミン ($\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{N} \end{array} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$; pKa=9.75 ($-\text{NH}_2$), pKa=6.04 (imidazole = $\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{N} \end{array}$)) につ

いて、pH 7.0 の溶液中でイオン交換クロマトグラフィーを行う場合、ヒスタミンが結合できるのは「陽イオン交換樹脂」か「陰イオン交換樹脂」かを答えよ。



pH 7.0 の溶液では上記平衡の真ん中の分子種が主要な分子種。本分子種が正に帯電しているので、「陽イオン交換樹脂」に結合する。

答 「陽イオン交換樹脂」

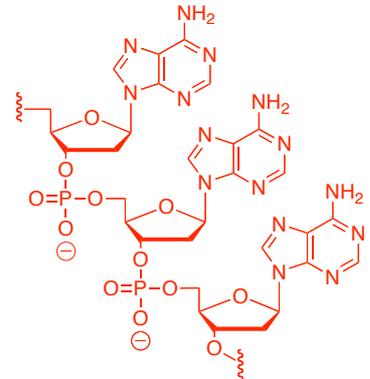
(10) $-\text{CO}_2\text{H}$ をイオン交換基に持つ樹脂がイオン交換能を持つことができる pH の条件を答えよ。 $-\text{CO}_2\text{H}$ の pK_a はおよそ 4.5 である。

$-\text{CO}_2\text{H} \rightleftharpoons -\text{CO}_2^- + \text{H}^+$ より、pH 4.5 より上で平衡が右に偏る

答 pH が約 4.5 より上

(11) DNA や RNA 等の核酸の分離に適しているのは陰イオン交換樹脂か、それとも、陽イオン交換樹脂かを答えなさい。
(ヒント：核酸の構造を調べること)

核酸(DNA)の構造は右のような構造をしている。糖リン酸骨格に負電荷を有している。



答 陰イオン交換樹脂

(12) サイズ排除クロマトグラフィー（ゲルろ過クロマトグラフィー）では、分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早くカラムから出てくるか。

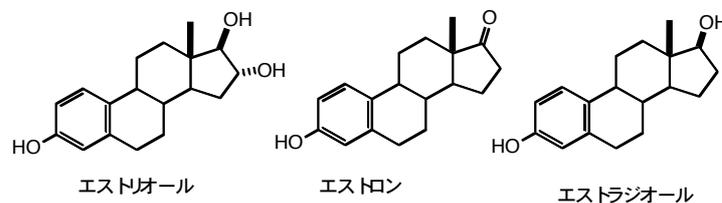
答 大きな蛋白質

(13) (12)で答えた順番でカラムから出てくる理由を下記の用語を使用して説明しなさい。

用語：多孔質、クロマトグラフィー担体、くぼみ、小分子、大分子

答 サイズ排除クロマトグラフィーのクロマトグラフィー担体は多孔質の樹脂(物質)であり、担体表面に多数のくぼみがある。大分子はくぼみに入りにくく担体間をすり抜けていくが、小分子は表面のくぼみに入り込めるため、頻繁にくぼみに捕捉されてカラムからの溶出が遅れる。

2. 以下の化合物のクロマトグラフィーに関する以下の問いに答えなさい。



(1) シリカゲルの化学構造について説明しなさい。

答 下図のようにケイ素(Si)と酸素(O)が無限につながった構造。表面に残った酸素原子はプロトン化され水酸基(シラノール基)になる。



- (2) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーで溶離溶媒として酢酸エチルから始め、次第にメタノールの量をステップワイズ（段階的に）に多くしていき、最後にはメタノールのみにした。このとき、上記(A),(B),(C)がどのような順序で溶出されるか。その理由を述べよ。

答 エストロン → エストラジオール → エストリオール

理由：化合物の極性は「エストロン → エストラジオール → エストリオール」の順に上がっていく。シリカゲル表面にはシラノール基があるため高極性で、高極性化合物とより強く結合する。シリカゲルと強く結合した分子は結合している間移動しないので溶出が遅くなる。

- (3) 溶媒組成を変化させて化合物の溶出をさせる方法を何と呼ぶか。

答 グラジエント溶離法（勾配溶離法）

- (4) シリカゲルを固定相に用いたクロマトグラフィーの分離メカニズム上の分類名を答えなさい。

答 吸着クロマトグラフィー

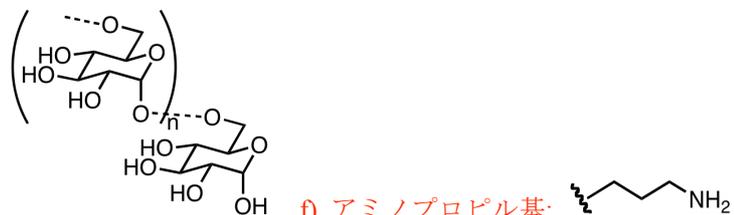
- (5) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーのような溶出順となるクロマトグラフィーを何と呼ぶか答えなさい。

答 順相クロマトグラフィー

- (6) (5)の分類に属するクロマトグラフィーに用いられる固定相の以下から選びなさい。
a) ポリエチレングリコール(PEG) b) オクタデシルシリル基 c) アルミナ d) セファデックス e) ケイソウ土 f) アミノプロピル基

答 c) アルミナ d) セファデックス f) アミノプロピル基 (PEG、ケイソウ土は未分類)

- (7) (6)で答えた化合物の化学構造式を書きなさい。



答 c) アルミナ: Al_2O_3 d) セファデックス:

f) アミノプロピル基:

- (8) (6)で答えた固定相を有したクロマトグラフィーの分離メカニズム上の分類名を答えなさい。

答 c) アルミナ：吸着クロマトグフィー d) セファデックス：分配クロマトグフィー

f) アミノプロピル基：分配クロマトグフィー（陰イオン交換クロマトグフィーも可）

- (9) シリカゲルの組成式を書きなさい。 答 SiO_2

(10) シリカゲルと組成が全く同じ物質と、シリカゲルの組成式で表される化合物を主成分とする物質を以下からそれぞれ選びなさい。

- a) ポリスチレン b) 窓ガラスのガラス c) ケイソウ土 d) 石英 e) 熔融石英
f) 水ガラス g) ヤタガラス h) オクタデシルシラン i) 石綿 j) セルロース
k) フューズドシリカ (fused silica) m) グルコース n) 石英ガラス

答 同一物質: d) 石英 e) 熔融石英 k) フューズドシリカ (fused silica) n) 石英ガラス

主成分が同じ物質: b) 窓ガラスのガラス c) ケイソウ土

(11) シリカゲルを用いたクロマトグラフィーとは化合物の溶出順が逆になるように設計されたクロマトグラフィーの充填剤の名前を答えなさい。

答 オクタデシルシリル化シリカゲル

(12) (11)の充填剤の「分離メカニズム」を答えなさい。

答 分配クロマトグラフィー

(13) (11)の固定相は液相、気相、固相のいずれであるか答えなさい。

答 液相 (液体)

(14) (11)の固定相として機能する官能基の化学構造を骨格構造式で書きなさい。

答 オクタデシルシリル基: 

(15) (11)の充填剤で、上述の化合物 (エストリオール、エストロン、エストラジオール) の溶出順がどのようになると予想されるか答えなさい。

答 エストリオール → エストラジオール → エストロン

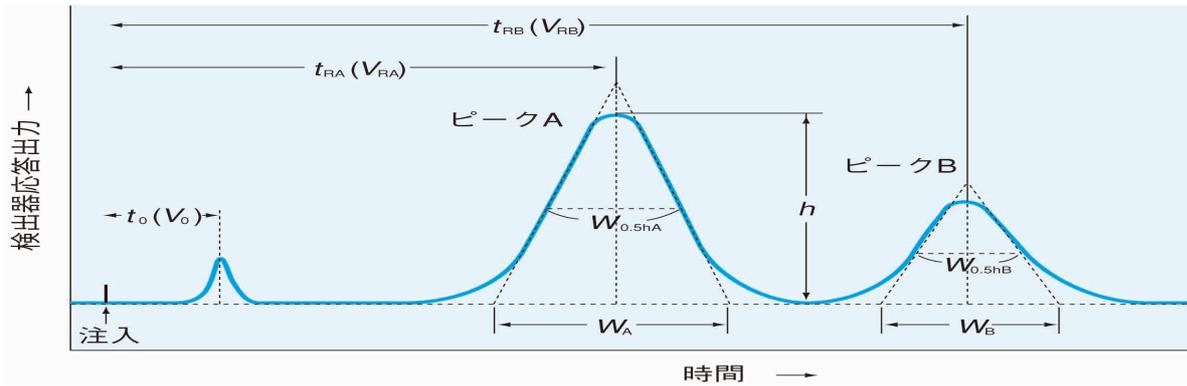
(16) シリカゲルおよび(11)の充填剤を用いたクロマトグラフィーの移動相の種類による分類名を答えなさい。

答 液体クロマトグラフィー

(17) (11)の充填剤を用いたクロマトグラフィーの「溶出順による分類名」を答えなさい。

答 逆相クロマトグラフィー

3. 下記のクロマトグラムに関する問いに答えなさい。 t_{RA} , t_{RB} の単位は分 (min) とする。



(1) 質量分布比 (保持比) k の定義式を書きなさい。(ヒント: クロマトグラムの保持時間 (t_{RA} , t_{RB}) を含まない式) 答 $k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$

(2) ピーク A の化合物の質量分布比 (保持比) k をクロマトグラムの保持時間を含む形の式として表しなさい。保持時間等の変数は上図に記載されたものを使うこと。

答 $k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$

(3) (1)の定義式に基づいて、 k が大きくなると化合物の保持時間が長くなることを説明しなさい。ただし、流速は変えないまま、 k のみが変わるものとする。

答 k が大きくなるということは、固定相に存在する量がより増えて、移動相に存在する量が減ることを意味する。その結果、カラムに結合する時間が長くなり、溶出するまでの保持時間が長くなる。

(4) (2)の式に基づいて、 k が大きくなると化合物の保持時間が長くなることを証明しなさい。

答 $k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$ (式1)より、 $t_0 \cdot k = t_R - t_0$ (式2) \rightarrow 整理して $t_R = t_0 \cdot k + t_0$ (式3) \rightarrow ここで $t_0 > 0$ のため、式3は k に対して単調増加関数。よって、 k が大きくなると t_R が増加 = 保持時間が長くなる。

(5) ピーク A とピーク B の分離度 R_s を式で表しなさい。 答 $R_s = 1.18 \times \frac{t_{RB} - t_{RA}}{W_{0.5hA} + W_{0.5hB}}$

(6) ピーク A の化合物の保持容量 V_{RA} を求めなさい。移動相の流速を 2 mL/min とする

答 保持容量 $V_{RA} = t_R \cdot F = 2(\text{mL/min}) \cdot t_R(\text{min}) = 2t_R \text{ mL}$

(7) 理論段数 N の定義式を書きなさい。なお次の変数のうち必要な変数を用いて理論段数 N を表すこと。化合物のピークの半値幅: $W_{0.5h}$; 化合物の保持時間: t_R ; 化合物のピーク高さ: h ; 固定相 (カラム) に保持されない化合物の保持時間: t_0

答 $N = 5.54 \times \frac{t_R^2}{W_{0.5h}^2}$

- (8) (7)の定義式に基づいて、理論段数が大きくなるとピーク同士の分離能が上がることを証明しなさい。なおカラムの充填剤は同一で、理論段数の違いは充填の出来不出来に起因していることとする。

答 (7)の定義式より理論段数が大きくなる時は t_R^2 が大きくなるか、 $W_{0.5h}^2$ が小さくなる。 t_R の値は化合物で決まっているので、 $W_{0.5h}^2$ が小さくなる(= $W_{0.5h}$ が小さくなる)。即ち、分

離度 $R_s = 1.18 \times \frac{t_{RB} - t_{RA}}{W_{0.5hA} + W_{0.5hB}}$ の $W_{0.5hA}$ 、 $W_{0.5hB}$ が小さくなる。 t_{RA} 、 t_{RB} は一定(化合物が変わっていない)のため、分離度の定義式の分母のみが小さくなる。その結果、分離度 R_s が大きくなる(=分離度が良くなる)。

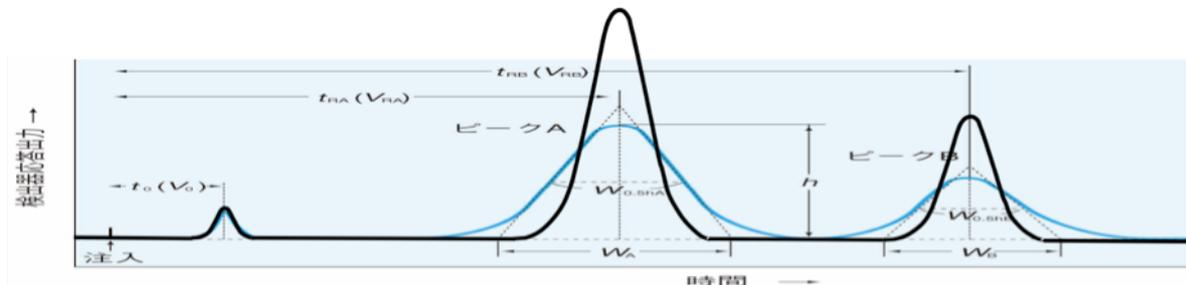
- (9) 上図のクロマトグラムを与えるカラムの理論段数が 80 であった時、理論段数が 320 になった場合のクロマトグラムを下記のクロマトグラムに重ねて書きなさい。ただし、各ピークの保持時間は変化しないものとし、同量の化合物をカラムに注入することとする。

$$N = 5.54 \times \frac{t_R^2}{W_{0.5h}^2} \text{ より、 } W_{0.5h}^2 = 5.54 t_R^2 / N. \quad W_{0.5h} = \sqrt{\frac{5.54(t_R)^2}{N}} = t_R \sqrt{\frac{5.54}{N}}$$

即ち、 $W_{0.5h}$ は \sqrt{N} に反比例する。

よって、理論段数 80 → 320 (4 倍)から、半値幅は 1/2 ($= \frac{1}{\sqrt{4}}$)

化合物量が同じで半値幅 1/2 なので、高さは 2 倍。また、保持時間も不変。



- (10) カラムの理論段数が 80 でカラム長が 150 mm であった時、理論段高さ H を求めなさい。

理論段高さ $H = \text{カラム長 } L / \text{理論段数 } N = 150(\text{mm}) / 80(\text{段}) = 15/8 \text{ mm}$

答 15/8 mm (= 1.88 mm)

4. 蛋白質の分離に関する以下の問いに答えなさい。

- (1) 蛋白質の分離に用いる電気泳動用ゲルは何か答えなさい。

答 ポリアクリルアミドゲル

- (2) SDS-PAGE で使用される SDS は何の略語であるか答えなさい。

- (3) SDS の化学構造式を書きなさい。

答 (2) Sodium Dodecyl Sulfate (3) CCCCCCCCCCCCOS(=O)(=O)[O-].[Na+]

(4) (2)において SDS を用いる理由を答えなさい。

答 SDS は界面活性剤(両親媒性化合物)であるため、蛋白質内部の疎水コアのアミノ酸に結合して、蛋白質の構造を変性させる(破壊する)。また SDS が陰イオン(Sulfate)のため、SDS の結合した蛋白質を一律に負に帯電させ、全蛋白質を陽極に向かって泳動するようにできる。その結果、ゲル中の蛋白質の移動度が分子形状(三次元構造)に依存せず、鎖長(分子量)のみに依存するようになる。

(5) SDS-PAGE では蛋白質は陽極/陰極のいずれの電極に向かって泳動されるか。

答 陽極

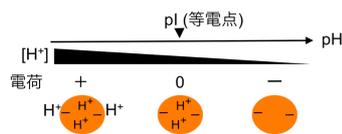
(6) SDS-PAGE では分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早く泳動されるか。

答 小さな蛋白質

(7) サイズ排除クロマトグラフィー (ゲルろ過クロマトグラフィー) では、分子量の大きな蛋白質と小さな蛋白質ではどちらが早くカラムから出てくるか。

答 大きな蛋白質

(8) 等電点 (pI) が 8 の蛋白質は、pH 6 では正負のいずれに電荷が偏っているか。



答 正に帯電

(9) pH 6 の緩衝液を移動相とした時、等電点 (pI) が 8 の蛋白質は陰イオン交換カラム/陽イオン交換カラムのいずれのカラムに吸着するか。

答 陽イオン交換カラム

(10) pH 8 の緩衝液を移動相とした時、等電点 (pI) が 6 の蛋白質は陰イオン交換カラム/陽イオン交換カラムのいずれのカラムに吸着するか。

答 陰イオン交換カラム

(11) (10)の蛋白質をイオン交換カラムから溶出するための方法を 2 つ答えよ。

答 塩強度を上げる pH を変化させる

(12) 核酸の分離に用いるゲルは何か答えなさい。

答 アガロースゲル、ポリアクリルアミドゲル

(13) 数百塩基対から数千塩基対の核酸を泳動するのに適したゲルは何か。

答 アガロースゲル

(14) そのゲルは、ペプチド/アクリルアミド重合体/多糖類/蛋白質/セファデックスのいずれの化合物に分類されるか。

答 多糖類

(15) (12)のゲルで核酸は陽極／陰極のいずれの電極に向かって泳動されるか。

答 陽極

(16) 液体クロマトグラフィーで核酸を検出するのに適した検出器は何か。

答 紫外可視吸光光度検出器

(17) 芳香族アミノ酸を含まない蛋白質の検出が可能な検出器を列挙しなさい。

答 示差屈折計

5. キャピラリー電気泳動に関する以下の問いに答えなさい。

(1) キャピラリー電気泳動で、キャピラリー中に電解質溶液のみで満たされている電気泳動法を何と呼ぶか。

答 キャピラリーゾーン電気泳動

(2) (1)のキャピラリー電気泳動で、移動相の流れを何と呼ぶか。

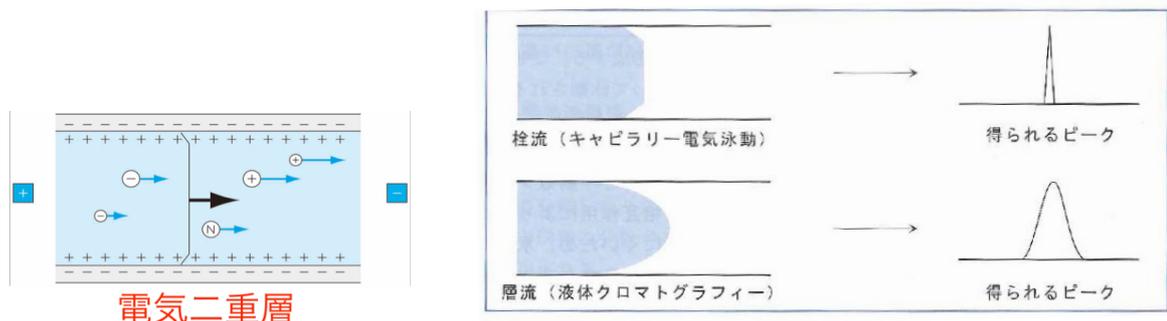
答 電気浸透流

(3) (1)の流れは陽極／陰極のいずれの方向に流れるか。

答 陰極

(4) (3)の流れの方向が(3)の答の方向に流れる理由を説明しなさい。流れができる要因となる現象の名前を用いて説明すること。

キャピラリーは **fused silica** (熔融シリカ)でできている。表面にはシラノール基 **Si-OH**がある。シラノール基は **pH 4** 以上でプロトン(H^+)が解離(脱離)し、キャピラリー表面が負に帯電する。この時、溶媒中のカチオン(陽イオン)が負電荷に引き寄せられ、電気二重層を形成する。キャピラリーとの界面に集まった陽イオンが陰極の負電荷に引き寄せられることで電気浸透流が生じる



(5) キャピラリー電気泳動では、陰イオン、陽イオン、中性物質はそれぞれ、陽極側／陰極側のいずれの方向に流れるか答えなさい。

答 陰イオン：陰極、陽イオン：陰極、中性物質：陰極

(6) キャピラリー電気泳動の応用例を一つ挙げなさい。

答 DNA シーケンサー

(7) キャピラリーの素材は何であるか名前を答えなさい。またその組成式も答えること。

答 素材名：フューズドシリカ（溶融石英） 組成式：SiO₂

(8) キャピラリーの補強のためのポリイミドによるコーティングはキャピラリーの内面／外面のいずれに施されているか。

答 外面 （註：内面をコーティングするとシラノール基の電離がおきない）

(9) キャピラリー電気泳動の検出器を2つ挙げなさい。

答 紫外可視吸光光度(UV)検出器、フォトダイオードアレイ検出器（実はこれも紫外可視吸収を利用）（その他：蛍光検出器、電気化学検出器、電気伝導度検出器、質量分析計）

6. ガスクロマトグラフィーに関する次の問いに答えなさい。

ある未知試料中に含まれる化合物 X の含量を求めるために、2種類の、標準溶液 A（X の濃度 100 mg/mL，Z の濃度 50 mg/mL）、B（X の濃度 50 mg/mL，Z の濃度 50 mg/mL）および X 濃度未知試料（X の濃度? mg/mL，Z の濃度 50 mg/mL）とともに、同一条件下でガスクロマトグラフィーによる分析を行った。チャート紙の速度は 2 cm/min とした。以下は得られた測定データである。キャリアガスには窒素を用いた。

	標準溶液 A		標準溶液 B		X 濃度未知溶液	
	化合物 X	化合物 Z	化合物 X	化合物 Z	化合物 X	化合物 Z
開始点からの距離	80.0 mm	40.0 mm	80.0 mm	40.0 mm	80.0 mm	40.0 mm
ピーク高さ	105.0 mm	210.0 mm	48.0 mm	192.0 mm	60.0 mm	200.0 mm
ピーク半値幅	4.0 mm	2.0 mm	4.0 mm	2.0 mm	4.0 mm	2.0 mm
保持時間	4 min	2 min	4 min	2 min	4 min	2 min
ピーク面積	X	Z	X	Z	X	Z
	420 mm ²	420 mm ²	192 mm ²	384 mm ²	240 mm ²	400 mm ²
面積比 (X/Z)	1		0.5		0.6	

(1) 化学成分 X の保持時間（小数第 2 位まで）および各ピーク面積（小数第 1 位まで）、化合物 X と化合物 Z の面積比（小数第 2 位まで）を求めよ。 *解答欄は上の表の中

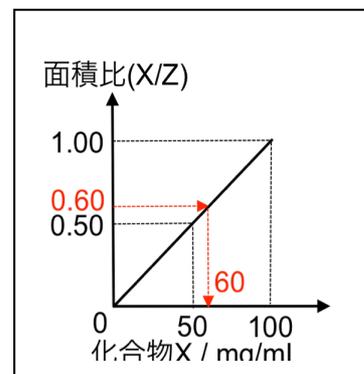
(2) 含量とピーク面積の関係を表す検量線を右に作成せよ。 *適切な目盛りを記すこと。

(3) 検量線から未知試料中の化学成分 X の含量を求めよ（小数第 1 位まで）。適切な単位も示すこと。

答 60.0 mg/mL

(4) ガスクロマトグラフィーのカラム内の充填剤として、ケイソウ土にポリエチレングリコールをコーティングしたものを用いた。この時、移動相と固定相は何であるか答えなさい。

答 移動相：窒素ガス 固定相：ポリエチレングリコール



(5) (4)の時、移動相、固定相はそれぞれ、固体／液体／気体のいずれであるか答えなさい。

答 移動相：気体 固定相：液体

(6) 実習で使用したクロマトグラフィーを分離メカニズムによって分類した場合、本実習で使用したクロマトグラフィーは何に分類されるか答えなさい。なお、固定相と移動相の関係による分類ではない点に注意すること。

答 分配クロマトグラフィー

(7) 化合物 Z のような全ての溶液に同じ濃度で含有されている化合物を何と呼ぶか。

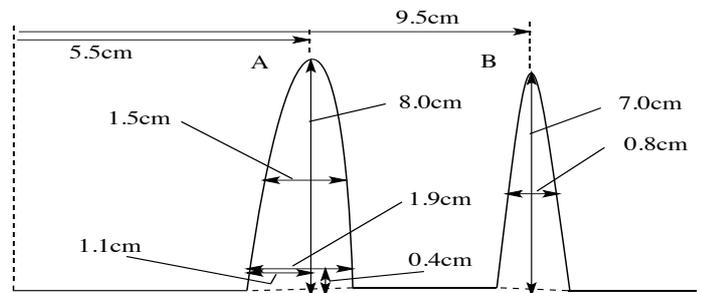
答 内標準物質

(8) 次に示すのはガスクロマトグラフ装置を構成する各部の名称である。正しい順序に並べよ。

a. 記録計 b. 検出器 c. 試料注入口 d. キャリヤーガスボンベ e. カラム

答 d. キャリヤーガスボンベ c. 試料注入口 e. カラム b. 検出器 a. 記録計

7. 次のピーク A, B の分離度、ピーク A のシンメトリー係数・保持時間 t_{RA} を求めなさい。記録用紙の移動速度は 5 mm/min とする。



分離度 $R_s = 1.18 \times \frac{t_{RB} - t_{RA}}{W_{0.5hA} + W_{0.5hB}}$ より、

$R_s = 1.18 \times \{9.5(\text{cm}) - 5.5(\text{cm})\} / \{1.5(\text{cm}) + 0.8(\text{cm})\} = 1.18 \times \{4(\text{cm}) / 2.3(\text{cm})\} = 2.052$

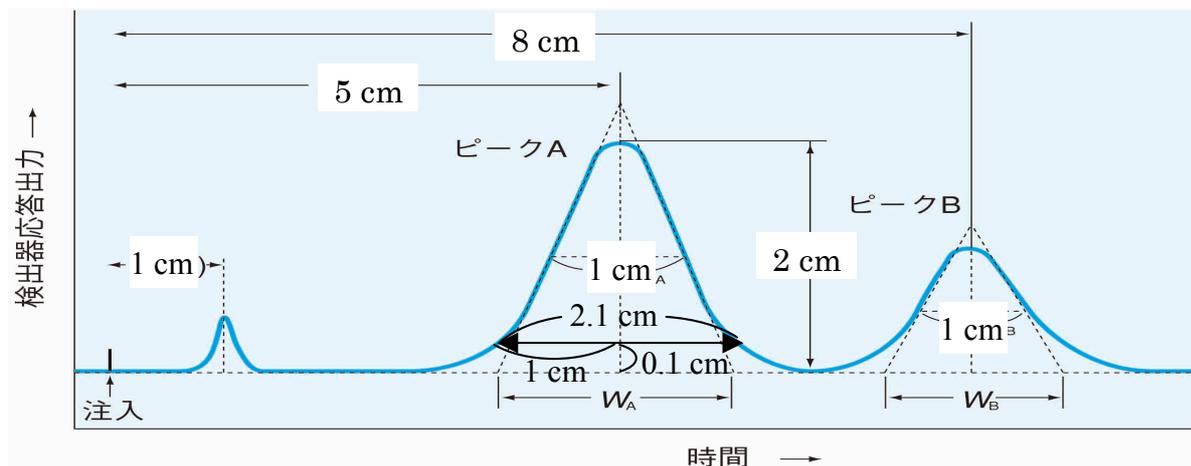
答 2.05 ($R_s > 1.5$ のため、ピークは完全に分離している)

シンメトリー係数 $S = W_{0.05h} / (2f) = 1.9(\text{cm}) / (2 \times 1.1(\text{cm})) = 0.864$

($S < 1$ より、リーディング)

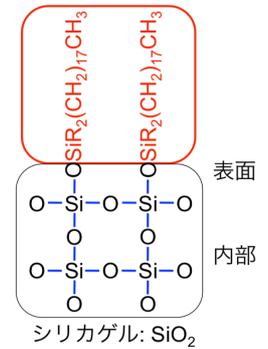
保持時間 $t_{RA} = 55(\text{mm}) / 5(\text{mm}/\text{min}) = 11(\text{min})$ 答 11 min

8. 下記のオクタデシルシリル化シリカゲルが充填されたカラムのクロマトグラムに関する問いに答えなさい。なおチャートスピードは 1 cm/min で、移動相の流速は 2 mL/min である。



- (1) オクタデシルシリル化シリカゲルの化学構造について説明しなさい。

右図のように、シリカゲルのシラノール基にオクタデシルシリル基が結合した構造。



- (2) オクタデシルシリル化シリカゲルの分離メカニズムに基づく分類名を答えなさい。

答 分配クロマトグラフィー

- (3) オクタデシルシリル化シリカゲルの溶出順による分類名を答えなさい。

答 逆相クロマトグラフィー

- (4) ピーク A の保持時間を計算しなさい。計算過程も書くこと。

保持時間 = 5(cm) / 1(cm/min) = 5(min) 答 5 min

- (5) ピーク A の化合物の保持容量を求めなさい。計算過程も書くこと。

保持容量 = 2(mL/min) × 5(min) = 10 mL 答 10 mL

- (6) ピーク A とピーク B の分離度を計算しなさい。分離度の定義式中の比例定数は 1.18 を用いること。計算過程も書くこと。

$R_s = 1.18 \times \{8(\text{cm}) - 5(\text{cm})\} / \{1(\text{cm}) + 1(\text{cm})\} = 1.18 \times \{3(\text{cm}) / 2(\text{cm})\} = 1.77$

答 1.77 (Rs > 1.5 のため、ピークは完全に分離している)

- (7) ピーク A の化合物の質量分布比 (保持比) k を求めなさい。計算過程も書くこと。

$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$ より、 $k = \{5(\text{cm}) - 1(\text{cm})\} / 1(\text{cm}) = 4(\text{cm}) / 1(\text{cm}) = 4$ 答 4

- (8) ピーク A の化合物では、固定相に存在する量は移動相に存在する量の何倍か答えなさい。

$k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$ および $k = 4$ のため、4倍 答 4倍

- (9) ピーク A のシンメトリー係数を求めなさい。

$S = W_{0.05h} / (2f) = 2.1(\text{cm}) / (2 \times 1(\text{cm})) = 1.05$

(S > 1 より、テーリング)

9. 以下に示すクロマトグラフィー用の検出器が使用可能なクロマトグラフィーと化合物の組合せを答えなさい。なお各検出器に対応するクロマトグラフィーおよび化合物は一つとは限らない点に注意すること。

[検出器]

熱伝導度検出器、紫外可視吸光光度検出器、示差屈折計、電子捕獲検出器、炎光光度検出器、蛍光検出器、電気化学検出器、アルカリ熱イオン化検出器、質量分析器、水素炎イオン化検出器

[クロマトグラフィー]

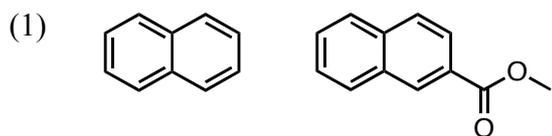
液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動

[化合物]

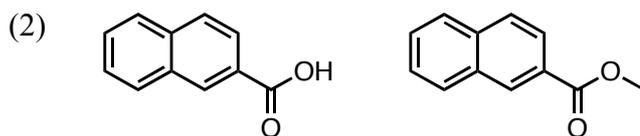
芳香族化合物、有機ハロゲン化合物、含窒素化合物、含リン化合物、含イオウ化合物、糖類、ニトロ化合物

検出器	クロマトグラフィー	化合物
電子捕獲検出器	ガスクロマトグラフィー	有機ハロゲン化合物 ニトロ化合物
光炎光度検出器	ガスクロマトグラフィー	含リン化合物 含窒素化合物
蛍光検出器	液体クロマトグラフィー	蛍光性化合物
電気化学検出器	液体クロマトグラフィー キャピラリー電気泳動	電気化学的に酸化/還元を受ける化合物
熱伝導検出器	ガスクロマトグラフィー	全ての化合物(低感度)
紫外可視吸光光度検出器	液体クロマトグラフィー キャピラリー電気泳動	芳香族化合物 色を持った化合物
示差屈折計	液体クロマトグラフィー (キャピラリー電気泳動)	全ての化合物(低感度) 糖類 非芳香族性有機化合物
アルカリ熱イオン化検出器	ガスクロマトグラフィー	含窒素化合物 含リン化合物
質量分析計	ガスクロマトグラフィー 液体クロマトグラフィー	全ての化合物(高感度) (分子質量も解る)
蛍光検出器	液体クロマトグラフィー	蛍光性化合物
水素炎イオン化検出器	ガスクロマトグラフィー	有機化合物(C-H結合を有する)

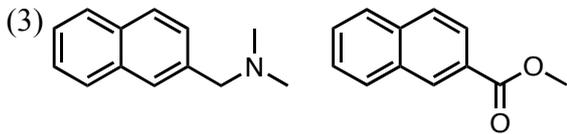
10. 以下の組合せの化合物の分離に適したクロマトグラフィーを答えなさい（複数回答可）。



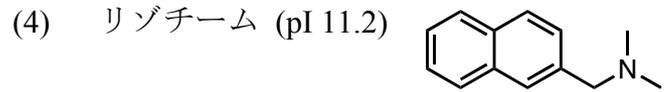
順相クロマトグラフィー（シリカゲル）
逆相クロマトグラフィー
（オクタデシルシリル化シリカゲル）



陰イオン交換クロマトグラフィー
順相クロマトグラフィー（シリカゲル）
逆相クロマトグラフィー
（オクタデシルシリル化シリカゲル）



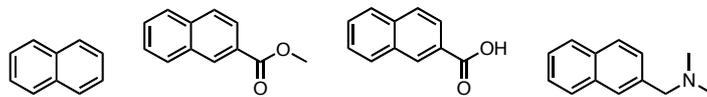
陽イオン交換クロマトグラフィー
 順相クロマトグラフィー (シリカゲル)
 逆相クロマトグラフィー
 (オクタデシルシリル化シリカゲル)



サイズ排除クロマトグラフィー
 (陽イオン交換クロマトグラフィー)
 (陰イオン交換クロマトグラフィー)

11. 以下の化合物の混合物をクロマトグラフィーを用いて各化合物に分離したい。分離の手順を考えなさい(クロマトグラフィーを複数用いてよい。手順には何通りかの可能性があります)。

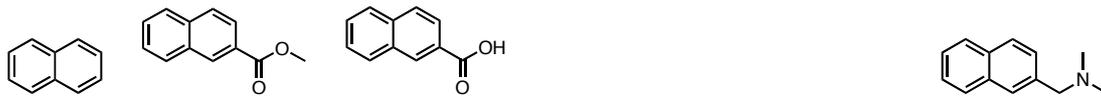
(その1)



↓ 弱酸性～中性条件下、陽イオン交換カラム

(非吸着成分)

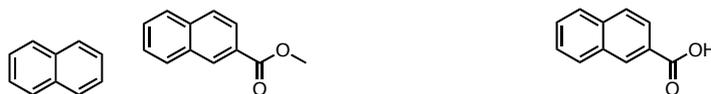
(吸着成分)



↓ 中性～弱塩基性条件下、陰イオン交換カラム

(非吸着成分)

(吸着成分)



↓ 有機溶媒に溶解後、順相カラム (シリカゲル)

(先行溶出成分)

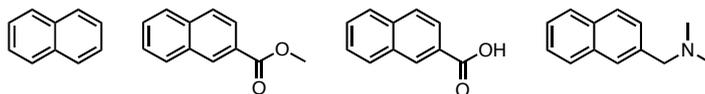
(後行溶出成分)



(注意点)

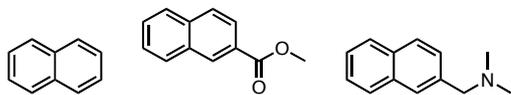
○ 順相カラムは逆相カラム (オクタデシルシリル化シリカゲルに入替え可能)。ただし溶出順が逆転する。

(その2)

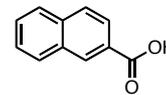


↓ 中性～弱塩基性条件下、陰イオン交換カラム

(非吸着成分)

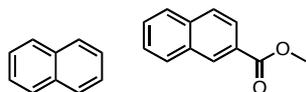


(吸着成分)

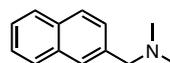


↓ 弱酸性～中性条件下、陽イオン交換カラム

(非吸着成分)

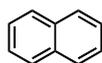


(吸着成分)

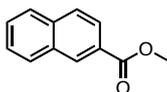


↓ 有機溶媒に溶解後、順相カラム (シリカゲル)

(先行溶出成分)

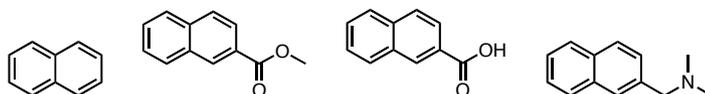


(後行溶出成分)



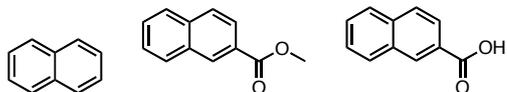
注意点： 順相カラムは逆相カラム (オクタデシルシリル化シリカゲルに入替え可能)。ただし溶出順が逆転する。

(その3)

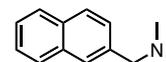


↓ 弱酸性～中性条件下、陽イオン交換カラム

(非吸着成分)

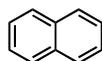


(吸着成分)

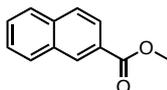


↓ 有機溶媒に溶解後、順相カラム (シリカゲル)

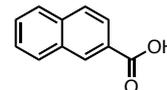
(1 番目溶出成分)



(2 番目溶出成分)

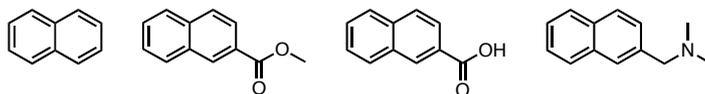


(最終溶出成分)



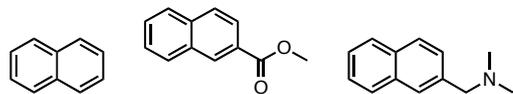
注意点： 順相カラムは逆相カラム (オクタデシルシリル化シリカゲル) に入替え可能。ただし溶出順が逆転する。

(その4)

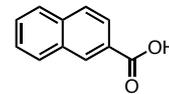


↓ 中性～弱塩基性条件下、陰イオン交換カラム

(非吸着成分)

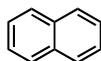


(吸着成分)

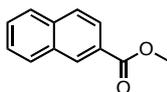


↓ 有機酸（酢酸等）を添加した有機溶媒に溶解後、順相カラム（シリカゲル）

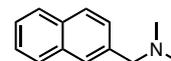
(1 番目溶出成分)



(2 番目溶出成分)



(最終溶出成分)



注意点： 順相カラムは逆相カラム（オクタデシルシリル化シリカゲル）に入替え可能。ただし溶出順が逆転する。