

薄層クロマトグラフィーを用いた反応進行と物質同定実験の授業導入検討

Discussion of reaction progress and identification of substances by experiment using thin-layer chromatography in class

豊島 雅幸¹⁾, 高橋 龍也¹⁾

Masayuki Toyoshima¹⁾, Tatsuya Takahashi¹⁾

Abstract : Industrial Chemistry has taught organic chemistry, particularly synthesis and analysis, since 2022. Since then, the authors have introduced experiment of organic chemistry reaction, such as structural, reaction and analysis. The theme on synthesis of the dehydration reaction was introduced in order to give students a more accurate understanding of organic reaction. The experiment consisted of 2 steps : synthesis via amide bond and structural analysis using TLC. We would like to summarize the present overall situation in this experiment and discuss ways for further improvement of the coursework.

Keywords : Organic chemical reaction, Reaction progress, Chemical experiment, Color reaction, Thin-layer chromatography

1. 緒言

平成 29 年度から開講されている, 本校荒川キャンパスの 4 学年前期期間における一般選択科目である工業化学概論は令和 4 年度より, 有機化学合成と有機物の解析法について講義を行っている. また同時期より, 後期期間に開講される総合化学特論においては, 高分子の合成, 加工, 解析の 3 分野の知識を扱い, 身近にある製品の素材から, 基礎材料から機能発現を得るための違いを中心に講義を展開している. そのため前期開講の工業化学概論は, その基礎分野にあたる内容となっている. しかしながら, 座学だけでは分かりにくい部分, 特に合成の進行や反応前後の物質変化などは, 実際の実験を行うことで視覚的に変化を確認することで, より理解促進が深まると考えられる.

そこで, 工業化学概論では, 薄層クロマトグラフィー (Thin-Layer Chromatography (以降 TLC)) を用いた呈色反応を通じて, 有機物質の比較と反応の進行を視覚的に理解することを目的に, 1 班 2 名若しくは 3 名編成で実験を行った.

本稿では, 工業化学概論の実験の過程, 結果と考察及び講義について報告する.

2. 授業内容

2.1 実験準備

2.1.1 実験試薬

次の試薬は購入した状態で用いた.

*p*アニスアルデヒド, アニリン, 安息香酸, エタノール, 塩化ヘプタノイル, 塩化ベンゾイル, 酢酸, ジエチルエ

ーテル, ニンヒドリン, *n*-ブタノール, *n*-ヘキシルアミン, *n*-ヘプタン酸 (関東化学, 東京)

2.1.2 実験器具

次の器具は購入した状態で用いた.

シリカゲル 60F254 アルミプレート (Merck, 東京), 熱風加工機ブランジェット (石崎電機製作所, 東京), ハンディ UV ランプ, ラボランスクリーフ瓶 (アズワン, 大阪), マイクロピペット (NICHIRYO, 埼玉)

2.1.3 TLC 呈色試薬の調整

2.1.3.1 アニスアルデヒドの調整

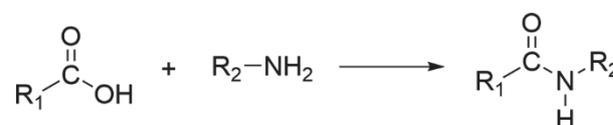
*p*アニスアルデヒド (1300 mL), 酢酸 (500 mL) および エタノール (47.8 mL) を氷冷下で混合し, 氷浴中で濃硫酸 (1800 mL) を滴下することで調整した. 調整した溶液は冷蔵保存した.

2.1.3.2 ニンヒドリンの調整

ニンヒドリン (0.15 g), 酢酸 (1500 mL) および *n*-ブタノール (50 mL) を混合することで調整した. 調整した溶液は冷蔵保存した.

2.1.4 実験条件の検討

本実験では簡便かつ瞬間的高効率に合成が完了するアミド結合 (Scheme 1) を選択した.



Scheme 1 アミド結合

1) 東京都立産業技術高等専門学校 ものづくり工学科, 一般科目

アミド結合はカルボキシ基とニトロ基の脱水縮合反応であるが、実際には理論的な反応進行はせず、カルボキシ基を塩化アシル基に置換させる必要がある。そこで、カルボキシ基とアミノ基、塩化アシル基を持ち、UV 吸収するベンゼン環を有する物質(Fig. 1)を反応物質として選択した。なお、溶媒としては、ジエチルエーテルを選択した。

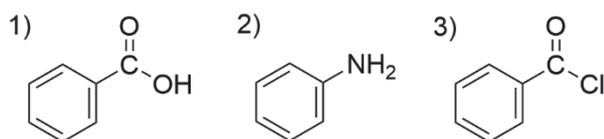


Fig. 1 ベンゼン環を有する反応物質 1) 安息香酸, 2) アニリン, 3) 塩化ベンゾイル

2.2 授業展開

実験実施前の講義において、物質の同定方法および理論データを用いた測定結果の解析方法の講義を行った。

2.2.1 装置を用いた解析講義

化学における構造解析は、核磁気共鳴分析 (NMR) による構造解析とフーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR) による官能基解析を行うのが一般的とされている。また反応の進行確認としては、TLC 上での共鳴構造の UV 吸収確認や特定の官能基に対する呈色反応の確認などがある (Fig. 2)。

構造の同定方法

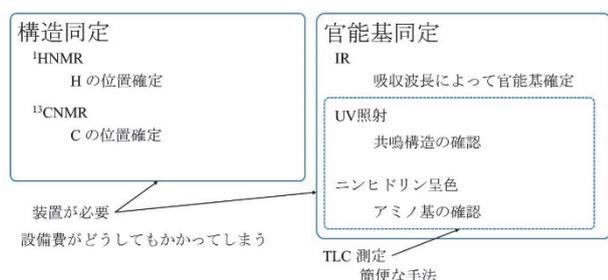


Fig. 2 構造の同定方法の講義スライド

アニリンとフェノールの判別

官能基が異なる場合

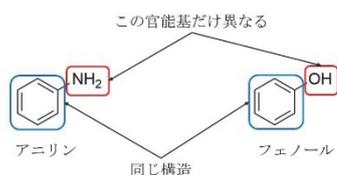


Fig. 3 アニリンとフェノールの構造の違いのスライド

そこで、ベンゼンの 1 ヶ所だけ異なる官能基が置換さ

れているアニリンとフェノール(Fig. 3)を例にとり構造確定方法を講義した。このスライド中では、2 物質の間で、同じ構造と異なる構造を確認した後、この異なる点が測定における相違点であることを講義した。

そして、産業技術総合研究所が提供している、有機化合物スペクトルデータベース^[1] から、ベンゼンとアニリンの ¹H NMR (Fig. 4. 1), ¹³C NMR (Fig. 4. 2) および FT-IR (Fig. 5) のデータをお借りして、ピークの比較検討を講義した。

¹H NMR 結果

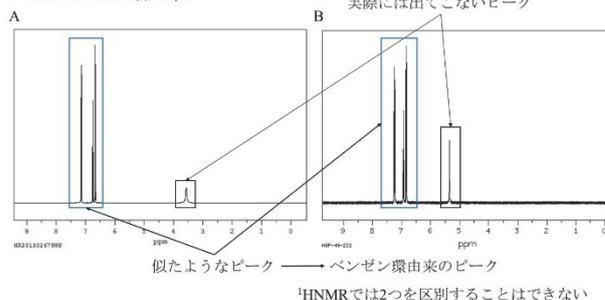


Fig. 4. 1 ¹H NMR のピーク比較スライド

¹³C NMR 結果

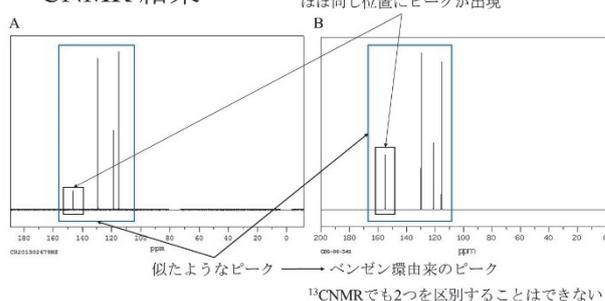


Fig. 4. 2 ¹³C NMR のピーク比較スライド

まず、¹H NMR は構造中の H の配置をピークで解析するものであるが、本講義においては隣接基によるピークの分裂や分極によるピークの移動など専門的な内容は行わず、ピークの相違比較までにとどめた。しかしながら、このデータは理論値であることから実際の測定ではアミノ基、ヒドロキシ基の水素のピークは見られない。つまり、この測定においてはこの 2 つの物質の同定をすることができないことがわかる。

続いて、¹³C NMR は構造中の C の配置と数をピークで解析するものであるが、本講義で選択した物質はともにベンゼン環以外に炭素を有しないので、NMR で物質同定が難しいことを解説した。

続いて、FT-IR による官能基同定について講義 (Fig. 4) をした。

ここでは、4000 cm⁻¹ - 3000 cm⁻¹ のピークが大きく異なる点を中心に解説し、この 2 種類の物質の同定には FT-IR の結果が必要であることを確認するとともに、複数の

装置で総合的に同定判断が必要であることを加えて説明した。

IR 結果

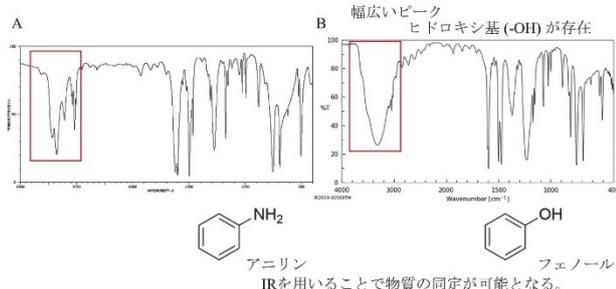


Fig. 5 FT-IR のピーク比較スライド

これらの解析には分析機器が必要であり、精製が必要である。IR に関しては本研究室で保有しているため測定解析は後期の総合化学特論にて既に実験として組み込んでいる²。しかしながら、NMR に関しては本校にはない装置であるため簡単に測定することができない。そこでより簡便且つ精製を必要としない TLC の展開及び呈色反応を利用して反応の進行確認を行うため、続いて TLC の原理を解説した(Fig. 6)。

TLCによる成分分離

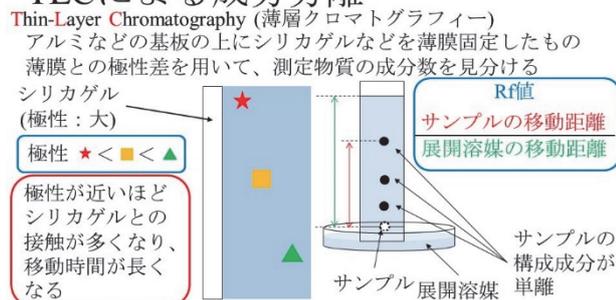


Fig. 6 TLC の原理講義スライド

加えて、物質の極性に依存する形でサンプルの移動距離が異なり、この数値である Rf 値を比較することが必要であることも加えて解説した。

2.3 実験

実験は3週に分けて実施した。

2.3.1 ガラス細工

TLC に溶液をスポットする際に必要な毛細管を、パスツールピペットを用いて作成した。

軟質ガラスは加熱すると、流動性を持つ固体となるので、この状態では曲げたり、伸ばしたりすることが可能となる。これを利用して、パスツールピペットを長く伸ばすことで、学生自身が実験で使う毛細管 (Fig. 7) を作成した。

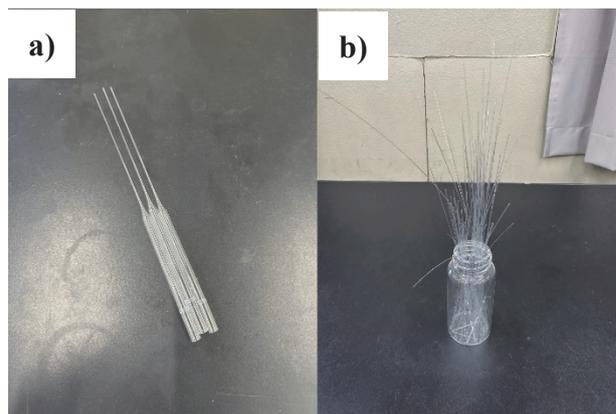


Fig. 7 a) パスツールピペット, b) 作成した毛細管

2.3.2 構造解析

TLC を用いて、含まれる官能基による比較実験を行った。比較物質としてはベンゼン環を有した物質として、ヒドロキシ基を有するフェノール、カルボキシ基を有する安息香酸、アミノ基を有するアニリン (Fig. 8) を選択し、ジエチルエーテルを溶媒に選択し、0.1 mol/L に調整した。なお、展開溶媒はヘキサンと酢酸エチルの混合溶液を選択し、3種類の体積比 (ヘキサン: 酢酸エチル = 1 : 1, 3 : 1, 10 : 1) を用意した。

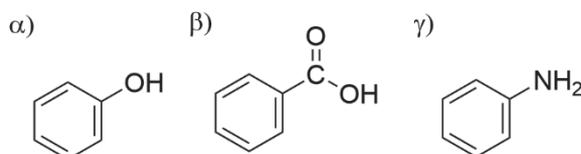


Fig. 8 サンプル物質構造式 α) フェノール, β) 安息香酸, γ) アニリン

得られた結果は(Fig. 9)のようになった。

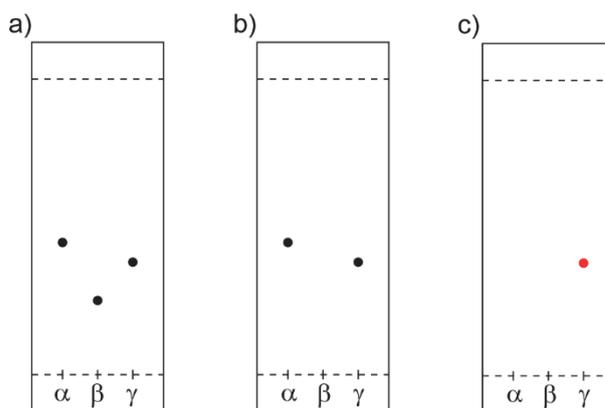


Fig. 9 サンプル物質 TLC 結果 (酢酸エチル : ヘキサン = 1 : 3) a) UV, b) アニスアルデヒド, c) ニンヒドリン

ベンゼン環は UV を吸収することから、すべてのスポットが確認された。呈色反応としては、アニスアルデヒド

は一般的には有機物質に対して呈色するため、フェノール、アニリンは呈色したが安息香酸は還元性を持つことから呈色反応が起こらず、スポットは見られなかった。また、ニンヒドリンはアミノ基に対して赤色呈色することから、アミノ基を有するアニリンのみ呈色が見られた。

各展開溶媒における Rf 値は、以下 (Table 1) のようになった。

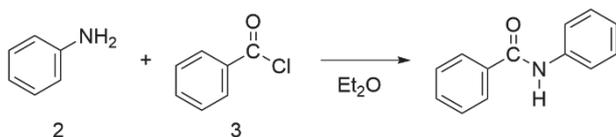
Table 1 サンプル物質 TLC 結果一覧

サンプル 展開溶媒	α	β	γ
酢酸エチル/ヘキサン 1/1	0.55	0.48	0.50
酢酸エチル/ヘキサン 1/3	0.45	0.25	0.38
酢酸エチル/ヘキサン 1/10	0.20	0.08	0.15

サンプルごとに Rf 値が異なることが判明した。また、ヘキサンは酢酸エチルに比べて極性が低いため、TLC 表面を上がる速度が速いため、スポットは上がりにくくなることがわかる。

2.3.3 反応進行確認実験

アニリンと塩化ベンゾイルを反応 (Scheme 2)させ、反応の進行を TLC を用いて確認した。反応溶液は 0.1 mol/L に調節し、アニリン、塩化ベンゾイル溶液のスポットをとったのち、2つの溶液を混合させることで反応を行った。なお、順位債アニリンの分量を少し増やしておいた。



Scheme 2 アミド結合反応式

この反応はアニリンと塩化ベンゾイルは 1:1 の反応が 100 % 進行する。今回は未反応物がどのように結果として出てくるかを見るため、ニンヒドリンで赤色呈色するアニリンの分量を多くすることで、アニリンの未反応物が見えるように設定した。

TLC の結果は下記 (Fig. 10) のようになった。UV 吸収の結果から、反応物質は単独のスポットが見られたが、反応物質はスポットが 2 点見られた。1 点はアニリンの Rf 値と同じで、もう 1 点はアニリン、塩化ベンゾイルとは異なるものであった。アニスアルデヒドの呈色反応においては、塩化ベンゾイルのスポットが見られなかったが、これは安息香酸と同様に還元性を有するためと考えられる。最後にニンヒドリンによる呈色反応においては、反応物

のアニリンと Rf 値が同じスポットが赤く呈色したことから、このスポットは未反応物のアニリンであることが判明し、塩化ベンゾイルとは異なるスポットが反応物質であることが判明した。

各展開溶媒における Rf 値は、以下 (Table 2) のようになった。

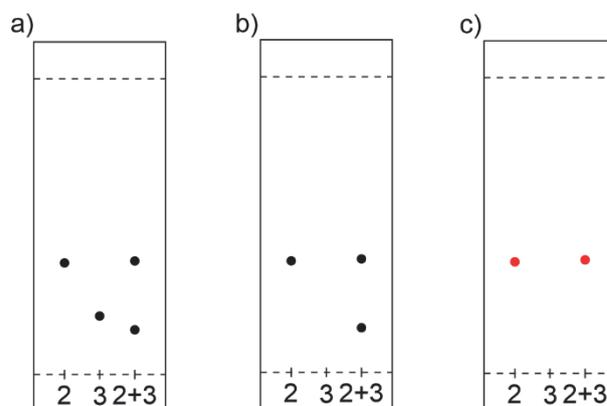


Fig. 10 反応物質 TLC 結果 (酢酸エチル : ヘキサン = 1 : 3) a) UV, b) アニスアルデヒド, c) ニンヒドリン

Table 2 反応物質 TLC 結果一覧

サンプル 展開溶媒	2	3	2 + 3
酢酸エチル/ヘキサン 1/1	0.50	0.33	0.50 0.28
酢酸エチル/ヘキサン 1/3	0.38	0.20	0.38 0.15
酢酸エチル/ヘキサン 1/10	0.15	0.08	0.15 0.06

3. 実験解説と学生の感想

実験終了後、実験結果の解説を行い、実験報告書の作成を行った。また、学生からの感想を紹介する。

3.1 実験解説

今回の実験においては、未反応物の確認と時間的な都合から合成後の精製は行っていない。そのため、解析は TLC のみであり、構造解析は行っていない。

そのため、Rf 値に依存する形で物質同定を行なったことから、その場合の注意点及び反応進行の有無の解説を行った。

まず、UV 吸収の結果 (Fig. 11. 1) に関しては、すべてのスポットが見えていることから、すべての物質が UV 吸収することができるベンゼン環を有していることがわかる。問題は、アニリン (2) のスポットと反応物のスポットに Rf 値が同じものが生じていることである。Rf 値は物質ごとに差が生じるが、この段階では未反応のアニリン

であると同等できないことを解説し、その場合、何がわかれば、物質の同定が可能かを討論させた。

TLC結果_UV吸収

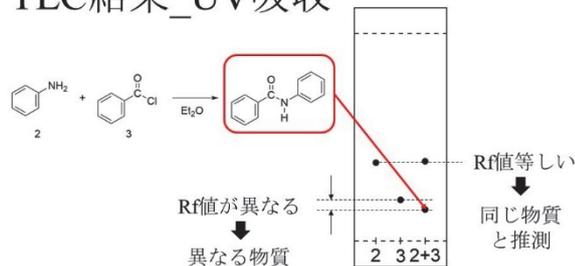


Fig. 11. 1 TLC 結果(UV 吸収)解説スライド

その結果、アミノ基が確認できれば同定できるということから、ニンヒドリンの結果 (Fig. 11. 2) から解説した。

ニンヒドリンの結果は、アニリンと同じ Rf 値のスポットは赤色呈色し、もう 1 点のスポットは呈色されなかったことから、反応溶液には、新規で合成された反応物と未反応のアニリンが含まれていることが、この段階で初めて同定できることを解説し、多角的な測定の必要性も加えて解説した。

TLC結果_ニンヒドリン

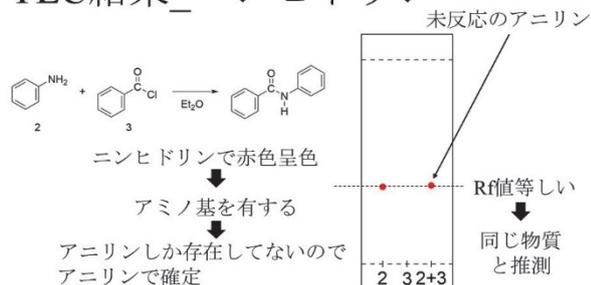


Fig. 11. 2 TLC 結果(ニンヒドリン呈色)解説スライド

3. 2 学生の感想

実験後に学生からの感想をまとめる。

- ・ 思っていたよりも地味かつ地道なものだった。

今回の実験の目的として、実際の化学実験とはどのようなものかというものがあつた。実際の化学研究は小スケールで細かい作業の繰り返して最適解を求める必要がある。このような細かく、複数の検討が必要であることを実感して欲しいというのもあつたので、雰囲気を感じ取ってもらえたならば狙い通りであつた。

- ・ 呈色反応の違いなど複数の測定をする意味が分かつた

化学においては、新規物質の確定には少なくとも 3 種類以上の解析結果が必要となる。これは複数の測定から新規物質に矛盾がないことを証明するためであるが、新規物質に限ったことではなく、例えば今回の測定においても、ニンヒドリンによる呈色と Rf 値が等しいことからアニリンの同定ができるように多角的な判断を理解することができたのであれば授業目標を達成できたと考えられる。

これ以外にも、思ったより楽しかったなどの感想があつたことから、有機化学に対する興味を引く実験を実施できたと考えられる。

4. まとめと今後の予定

TLC を用いた、アミド結合の反応進行実験を総括し、検証を行った、本稿でのまとめを示す。

- 1) 視覚的には見にくい反応進行を UV 吸収、呈色反応を用いることで、視覚的な判断を可能にし、学生が自ら合成測定することで、化学反応、構造や官能基に対する理解促進が認められた。また、複数の測定を行うことで、初めて結果の同定が可能になることから、求めたい結果に対して様々な視点で解析することが必要であることを実感させることができた。一方で今回用いた物質は有機溶媒にのみ溶解可能なことから、SDGs を意識した実験へ変更する必要性を感じた。
- 2) 呈色反応では一般的に用いられるアニスアルデヒドが今回の実験では効果的には働かなかつた。そのため、呈色溶液の選択を考え直す必要がある。
- 3) 上記 1), 2) を見直して、今後は親水性物質を用いた実験への変更を検討していく。また近年の話題に上がる合成法も取り込んでいく。

今後は、本稿で得られた知見を化学の授業に還元することで、教育効果を上げる努力を継続する。

5. 参考文献

- [1] https://sdb.sdb.db.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi?lang=jp
- [2] 豊島 雅幸, 高橋 龍也, 東京都立産業技術高等専門学校研究紀要, 11, pp.117-120, 2017