Ⅰ.クロマトグラフィー

【クロマトグラフィーの原理と分類】

問１　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。２つ選べ。（93 回問 25 改）

１　カラムクロマトグラフ法における溶質の分離機構には吸着、分配、イオン交換、サイズ排除（分子ふるい）、アフィニティーがある。
２　カラムクロマトグラフィーで用いられる固定相は、気体又は固体である。
３　カラムクロマトグラフィーで用いられる移動相は、気体、液体又は固体である。
４　液体クロマトグラフィーは移動相に液体を用いる。

【吸着クロマトグラフィー】

問１　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。２つ選べ。

（86 回問 30、87 回問 28、93 回問 26）

１　シリカゲルを固定相に用いる系では、溶質の保持を支配する主な要因は疎水結合である。
２　シリカゲルを固定相に用いる系では、極性の大きな溶質が後に溶出する。
３　固定相にシリカゲルを用いる吸着クロマトグラフィーでは、塩基性の溶質が先に溶出する。
４　ベンゼンは安息香酸と比較してシリカゲルカラムに保持されにくい。

【分配クロマトグラフィー】

問１　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。(86 回問 30、93 回問 26)

1　固定相としてオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる逆相分配クロマトグラフィーでは、極性の大きな溶質が先に溶出する。

2　類似した構造の化合物群に逆相クロマトグラフ法を適用するとき、疎水性の大きい化合物ほど保持時間が小さい。

3　カラムクロマトグラフ法で C_{18} 充填剤(ODS)を固定相、アセトニトリルと水との混液(体積比 1:1)を移動相に用いる系では、フェノールはナフタレンよりも遅く溶離される。

4　固定相としてオクタデシルシリル化シリカゲルを用いる逆相分配クロマトグラフィーでは、アセトアミノフェンは 4−アミノフェノールよりも遅く溶離される。

【イオン交換クロマトグラフィー①】

問１　最も強い陽イオン交換能をもつ樹脂の交換基はどれか。**１つ**選べ。（98 回問 4）

1　2 級アミン
2　3 級アミン
3　スルホン酸
4　カルボン酸
5　4 級アンモニウム

問２　強酸性陽イオン交換樹脂に最も強く結合するイオンはどれか。**１つ**選べ。（104 回問 4）

1　塩化物イオン
2　カルシウムイオン
3　グリシン（双性イオン）
4　硫酸イオン
5　ナトリウムイオン

問３　強酸性陽イオン交換樹脂に最も強く結合するイオンはどれか。**１つ**選べ。

1　カリウムイオン
2　ナトリウムイオン
3　硫酸イオン
4　リチウムイオン
5　グリシン（双性イオン）

【イオン交換クロマトグラフィー②】

問１　陽イオン交換クロマトグラフィーによるアミノ酸分析に関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（86 回問 30、101 回問 100）

１　アルギニン、グルタミン酸、グリシンの分離を行ったとき、アルギニンが最初に溶出される。

２　陽イオン交換クロマトグラフィーにおいて、移動相の pH を上昇させることで、保持された物質を溶出させることができる。

３　陽イオン交換クロマトグラフィーでは、移動相のイオン強度を低下させることで、保持された物質を溶出させることができる。

４　イオン交換体を固定相に用いる系では、主に移動相の pH と塩濃度が解離基をもつ溶質の保持を決定する。

【ゲルクロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー】

問１　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。

（87 回問 28、93 回問 26 改）

１　サイズ排除（ゲルろ過）クロマトグラフィーでは、分子量の小さな溶質から順に溶出する。

２　サイズ排除用のカラムを用いた場合、グリシンはアルブミンより遅く溶出する。

３　アフィニティークロマトグラフィーは、生体内での酵素と基質又は酵素と阻害剤などの生物特異的相互作用を利用して分離する方法である。

４　アフィニティークロマトグラフ法では、固定化したリガントに対して特異的アフィニティーを示す物質が先に溶出される。

問２　マウスの肝臓から酵素 X の精製を試みた。以下に実験手順の概要（①〜④）を示す。

①　ゲル濾過クロマトグラフィーにより肝臓抽出液 A を分画した。
②　各画分の酵素 X の活性を測定し、その活性が高い画分を集めたものを B とした。
③　B を陰イオン交換クロマトグラフィーにより分画した。
④　各画分の酵素 X の活性を測定し、その活性が高い画分を集めたものを C とした。

上記 A、B 及び C の液量、タンパク質濃度、全タンパク質量と酵素活性（全活性及び比活性）を以下の表に示した。比活性とは、試料中のタンパク質の単位重量当たりの酵素活性のことである。なお、酵素活性における 1 U（ユニット）は、1 分間当たり、1 μmol の生成物を生成する酵素の量を表す。

表　実験結果のまとめ

試料	液量（mL）	タンパク質濃度（mg/mL）	全タンパク質量（mg）	全活性（U）	比活性（U/mg）
A	10	20.0	200	10,000	50
B	20	2.00	40.0	8,000	**ア**
C	5.0	1.00	5.00	7,000	**イ**

実験方法及び結果に関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（104 回問 112）

1　A 中の酵素 X の 20%が B に回収されたと考えられる。
2　ゲル濾過クロマトグラフィーでは、分子量の小さなタンパク質ほど、早くカラムから溶出される。
3　陰イオン交換クロマトグラフィーでは、正の電荷をもった樹脂に酵素 X が保持されたと考えられる。
4　B の比活性**ア**は A の比活性よりも高い。
5　C の比活性**イ**は 140 U/mg である。

【薄層クロマトグラフィー】

問１　薄層クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。２つ選べ。（105 回問 97）

１　シリカゲルを固定相とする薄層クロマトグラフィーの分離モードはイオン交換である。

２　シリカゲルを固定相とする薄層クロマトグラフィーにおいて、L−ロイシン（$C_6H_{13}NO_2$）の R_f 値は L−バリン（$C_5H_{11}NO_2$）の R_f 値より大きい。

３　シリカゲルを固定相とする薄層クロマトグラフィーにおいて、R_f 値が大きい物質ほど、逆相分配クロマトグラフィーにおいては保持時間が大きくなる。

４　シリカゲルを固定相とする薄層クロマトグラフィーの分離において、R_f 値が 1 より大きくなることがある。

【液体クロマトグラフィー】

問１　液体クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。２つ選べ。

（86 回問 25 改、104 回問 94 改）

１　液体クロマトグラフ法で用いられる充填剤は、吸着形、イオン交換形、分配形の 3 種類のみである。

２　同一カラムについて、移動相の組成や流速が一定であれば、カラム温度が変わっても保持時間は変わらない。

３　液体クロマトグラフィーにおいて、分離されたアミノ酸はオルトフタルアルデヒドで誘導体化され、蛍光検出される。

４　ポストカラム誘導体化法では、長時間を要する誘導体化反応を利用できる。

５　ポストカラム誘導体化法では、1 つの分析対象物から複数の誘導体が生成しても問題ない。

【ガスクロマトグラフィー】

問１　ガスクロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（86 回問 29 改）

１　移動相（キャリアーガス）として酸素や二酸化炭素が用いられる。
２　キャピラリーカラムを用いることができる。
３　ガスクロマトグラフ法で用いられる充填剤は、吸着形、イオン交換形、分配形の 3 種類に大別される。
４　電子捕獲検出器は、有機ハロゲン化合物に高い選択性を示す検出器である。
５　質量分析計（MS）を検出器とする GC–MS は、タンパク質などの高分子化合物及び難揮発性物質の分析に適している。

問２　ガスクロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（109 回問 100 改）

１　電子捕獲検出器は、主に C–H 結合を有する有機化合物の検出に用いられる。
２　移動相に用いられるキャリアーガスの種類によって試料成分の溶出順序が変化する。
３　難揮発性物質の誘導体化の 1 つにトリメチルシリル化がある。
４　カラム恒温槽の温度をある温度から一定速度で上昇させると、上昇させない場合と比較して分離時間が長くなる。
５　電子イオン化及び化学イオン化はガスクロマトグラフィー質量分析法のイオン化法に用いられる。

【クロマトグラム（保持時間、ピーク面積、分離度、分離係数、シンメトリー係数）】

問１　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（84 回問 27、102 回問 98）

１　試料と標準物質の保持時間を同一の条件下で比較することにより、試料成分の確認が可能である。
２　テーリングしたピークのシンメトリー係数は、1 より小さい。
３　同一の分離条件で、二つの化合物の保持時間が同じ場合、両者の分離係数は 0 であり、両者の分離度は 1 である。
４　分離度（*R*s）は、2 つのピークの保持時間の関係を示し、ピーク幅には依存しない。
５　2 つの物質の保持時間の差が同一であるなら、2 つの物質のピークが鋭いほど分離度は大きい。

問２　クロマトグラフィーに関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。

（93 回問 25、99 回問 97、102 回問 98）

1　分離度は、カラムの理論段数には依存しない。

2　理論段数が大きい値を示すほど優れた分離系である。

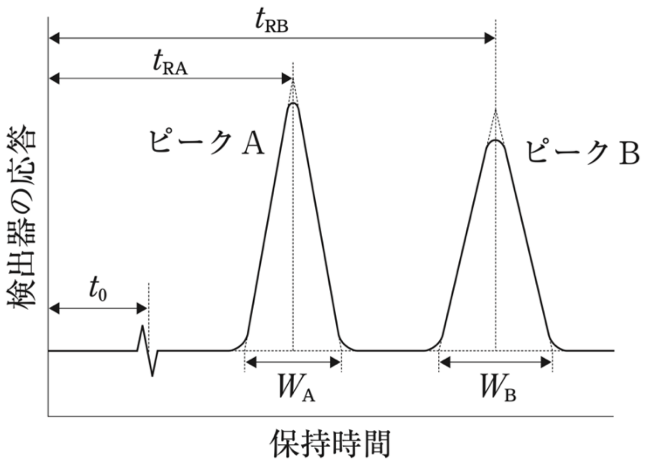
3　カラムの長さが 2 倍になると、理論段数（N）は 2 倍になる。

4　カラムの長さが 2 倍になると、理論段高さ（H）は 2 倍になる。

5　カラムの長さが 2 倍になると、質量分布比（k）は 2 倍になる。

【クロマトグラム（理論段数、質量分布比）】

問１　下図は液体クロマトグラフィーにより得られた成分 A と成分 B のクロマトグラム（模式図）で、ピーク A は成分 A、ピーク B は成分 B 由来である。この図に関する記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。（108 回問 99）



t_0：移動相がカラムを通過する時間（溶媒先端）、t_{RA}：ピーク A の保持時間、
t_{RB}：ピーク B の保持時間、W_A：ピーク A のピーク幅、W_B：ピーク B のピーク幅

1　ピーク A とピーク B の分離係数を α とすると、成分 A の質量分布比 k_A は成分 B の質量分布比 k_B の α 倍である。

2　このカラムの理論段数 N は、$\dfrac{t_{RB}-t_{RA}}{W_A+W_B}$ で与えられる。

3　W_A と W_B がいずれも小さくなるほど分離係数 α は大きくなる。

4　ピーク A とピーク B の分離度 R_s は、$R_s>1.5$ である。

5　R_s を大きくするには理論段高さ H が小さいカラムを選択する。

問２　固定相としてオクタデシルシリル（ODS）化シリカゲル、移動相としてアセトニトリルと緩衝液（pH3）の混合溶媒を用いて、ベンゼン、トルエン及び安息香酸の分離を液体クロマトグラフィーにより行った。次の記述のうち、正しいのはどれか。**２つ**選べ。ただし、質量分布比を k とする。

（96 回問 27 改）

1　トルエン、ベンゼン、安息香酸の順に溶出する。
2　移動相中のアセトニトリルの含量を増やすと、ベンゼン、トルエン及び安息香酸の k は大きくなる。
3　ベンゼン、トルエン及び安息香酸の保持には、疎水性相互作用が働いている。
4　移動相中の緩衝液の pH を 3 から 7 に変えると、安息香酸の k は小さくなる。

問３　固定相としてオクタデシルシリル（ODS）化シリカゲル、移動相としてアセトニトリルと水の混合液を用いて、ベンゼン、トルエン及びエチルベンゼンの分離を液体クロマトグラフィーにより行った。この分離に関する記述のうち、正しいのはどれか。**１つ**選べ。（107 回問 99）

1　エチルベンゼン、トルエン、ベンゼンの順で溶出する。
2　理論段高さの値が小さいカラムに変更することにより、各成分間の分離度が向上する。
3　移動相の流速と各成分間の分離係数は比例する。
4　移動相中のアセトニトリルの割合を大きくすることにより、各成分間の分離度が向上する。
5　固定相にシリカゲル、移動相に n−ヘキサン−アセトン混液を用いても、溶出順は変わらない。

問４　フェノール、パラオキシ安息香酸及びトルエンを含む混合物試料を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により分析した。このことに関する記述として正しいのはどれか。２つ選べ。なお、HPLC の分析条件は以下のとおりである。（110 回問 100）

分析条件
検出器：紫外吸光光度計（測定波長：270 nm）
カラム：内径 4.6 mm、長さ 15 cm のステンレス管に粒径 5μm の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。
カラム温度：35 ℃付近の一定温度
移動相：pH 7.0 の 0.1 mol/L リン酸緩衝液／メタノール（3：1）混液

1　使用した HPLC は順相クロマトグラフィーである。
2　3 つの化合物のうち、最後に溶出するのはトルエンである。
3　カラム温度を高くするとピーク高さは大きくなり、ピーク面積は減少する。
4　パラオキシ安息香酸の保持時間を長くするには、移動相中の緩衝液の pH を低くする。
5　トルエンの保持時間を長くするために、移動相中のメタノールの比率を高くする。

【定量法】

問１　高速液体クロマトグラフ法による物質の定量に関する記述のうち、正しいものはどれか。２つ選べ。（90 回問 28 改）

1　内標準法は標準添加法ともよばれ、定量結果に対して被検成分以外の成分の影響が無視できない場合に適している。
2　内標準法を用いて定量を行う場合、作成する検量線の縦軸には被検成分のピーク面積又はピーク高さをとる。
3　内標準物質としては、被検成分に近い保持時間をもち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質が適している。
4　絶対検量線法を用いて定量を行う場合、注入操作などの測定操作を厳密に一定の条件に保つ必要がある。

問２　日本薬局方ニカルジピン塩酸塩注射液の定量法に関する記述のうち、誤っているのはどれか。１つ選べ。（94 回問 27 改）

本品のニカルジピン塩酸塩（$C_{26}H_{29}N_3O_6 \cdot HCl$）約 2 mg に対応する容量を正確に量り、内標準溶液 5 mL を正確に加えた後、メタノールを加えて 50 mL とし、試料溶液とする。別に定量用塩酸ニカルジピンを 105℃で 2 時間乾燥し、その約 50 mg を精密に量り、メタノールに溶かし、正確に 50 mL とする。この液 2 mL を正確に量り、内標準溶液 5 mL を正確に加えた後、メタノールを加えて 50 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10 μL につき、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、内標準物質のピーク面積に対するニカルジピンのピーク面積の比 Q_T 及び Q_S を求める。

$$\text{ニカルジピン塩酸塩}(C_{26}H_{29}N_3O_6 \cdot HCl)\text{の量(mg)} = W_S \times \frac{Q_T}{Q_S} \times \boxed{}$$

W_S：定量用塩酸ニカルジピンの秤取量（mg）
内標準溶液：フタル酸ジ-*n*-ブチルのメタノール溶液（１→625）

試験条件
カラム：内径 4.6 mm、長さ 15 cm のステンレス管に 5 μm の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。
移動相：リン酸二水素カリウム 1.36 g を水に溶かし、1000 mL とする。この液 320 mL にメタノール 680 mL を加える。

１　本定量法では、試料溶液及び標準溶液を厳密に 10 μL 注入する必要がない。
２　ニカルジピン及び内標準物質の分離は、逆相クロマトグラフィーにより行われている。
３　$\boxed{}$に入れるべき数値は 1/25 である。
４　本定量法で、適当な内標準物質が得られない場合は、標準添加法を用いて定量を行う。

【光学異性体の分離】

問１　液体クロマトグラフィーを用いた鏡像異性体の分離法には、キラル固定相法、キラル移動相法、ジアステレオマー誘導体化法がある。各法に関する記述のうち、誤っているのはどれか。**１つ**選べ。

（100 回問 99、104 回問 94）

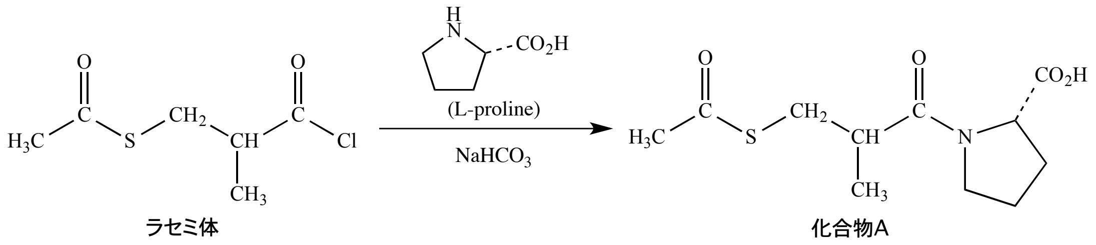
１　キラル移動相法では分析対象物に対する対掌体を移動相溶液に添加してエナンチオマー分離を行う。

２　ジアステレオマー誘導体化法は、誘導体化により通常の分配クロマトグラフィーで分離することを目的とする。

３　キラルカラムに固定化される光学活性な高分子として、多糖類誘導体やタンパク質が広く用いられている。

４　ジアステレオマー誘導体化法によって、鏡像異性体を光学不活性なカラムで分離することができる。

問２　次の反応式はカプトプリルの合成法の一部を示している。以下のラセミ体を用いた反応により生成する化合物 A に関する記述のうち、正しいのはどれか。**１つ**選べ。（91 回問 12 改）



１　化合物 A は単一エナンチオマーである。

２　化合物 A はラセミ混合物である。

３　化合物 A はジアステレオマー混合物である。