

MERCK

Thin Layer Chromatography メルク TLC マニュアル

はじめて TLC をお使いになる方へ



The life science business
of Merck operates as
MilliporeSigma in the
U.S. and Canada.

Supelco[®]
Analytical Products

メルク TLC マニュアル

目次

1. 薄層クロマトグラフィーとは？	3
1-1 薄層クロマトグラフィーは時代遅れ!?	3
1-2 原理のおとぎ話：吸着による分離	3
1-3 クロマトグラフィーの始まり	5
1-4 薄層クロマトグラフィーでできること	6
2. 薄層クロマトグラフィーの基本原理	7
2-1 分離の原理：吸着と分配における平衡	7
2-2 分離の特性付け	9
2-3 分離に影響を及ぼす要因	11
・固定相（担体）	12
・移動相	14
・分離条件の選択	17
3. 薄層クロマトグラフィーの実験法	19
3-1 自家調製プレート	20
3-2 薄層の準備	21
・活性化	21
・プレートの保存、前洗浄	22
3-3 試料調製	22
3-4 試料のアプライ（スポットティング）	23
・概要	23
・プレートの準備	24
・試料のアプライ法とアプライ用装置	25
3-5 展開	26
・溶媒	26
・展開の種類	27
・展開槽の種類と展開技術	29

3-6	検出.....	32
	・ UV 照射による検出.....	32
	・ 誘導体化による検出.....	32
3-7	評価.....	34
	・ 定性的評価.....	34
	・ 半定量的評価.....	34
	・ 定量的評価.....	35

4. 薄層クロマトグラフィー用語集..... 38

5. アプリケーション..... 45

5-1	親油性、親水性色素混合物の TLC.....	45
5-2	インクの TLC 分離.....	46
5-3	菓子中の食用色素の分析.....	47
5-4	葉緑体色素の TLC 分離.....	49
5-5	生薬の TLC.....	50
5-6	保存剤の TLC 分析.....	51
5-7	食品中のりん酸塩の TLC 検出.....	52
5-8	脂肪・油の TLC 分離.....	54
5-9	血液試料中のアミノ酸の TLC 検出.....	55

6. アプリケーションリスト..... 56

6-1	定量分析.....	56
6-2	フィンガープリント解析 / スクリーニング.....	58

7. 展開溶媒（移動相）の例..... 59

7-1	一般試料.....	59
7-2	医薬品.....	60
7-3	展開溶媒使用上の注意.....	63
7-4	展開用溶媒一覧.....	63

8. 文献リスト..... 64

1 薄層クロマトグラフィーとは？

1-1 薄層クロマトグラフィーは時代遅れ!?

1975年の薄層クロマトグラフィーの学会で、R.E.Kaiser^[1]は上記表題の講演中、従来の分析方法の新しい展開について報告しました。1970年代初頭、カラム液体クロマトグラフィー（CLC）、特に高速液体クロマトグラフィー（HPLC）の急速な進歩により、薄層クロマトグラフィー（TLC）は廃れてしまうかと思われました。名称は違いますがTLCはCLCと同じ液体クロマトグラフィーといえます。1988年初めから、この専門分野は「平面クロマトグラフィー」の技術をあらゆる側面から掲載した学術論文誌を発行してきました。「論文出版がないと消滅する」という格言がその分析方法が有効であることの指標であるなら、**図1**は1980年以前と比較してTLC論文出版の数は減るどころか、むしろ増加していることを示しています^(注)。これが本入門書を執筆している理由です。

・(注) 2000年に至るまでかなりの論文が出版されています。しかし実際にはもっと多くの論文にTLCのことが述べられています。

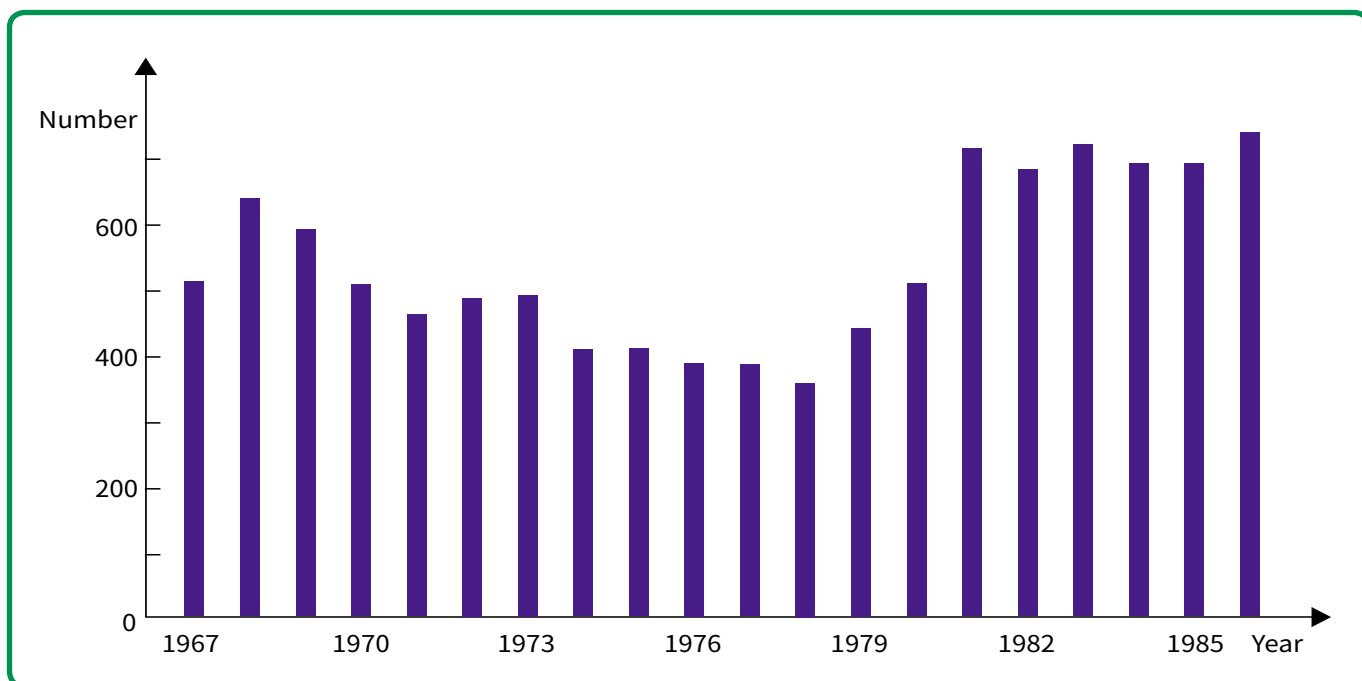


図1 1967年から1986年におけるTLC/HPTLC論文出版数（Chemical Abstractsの検索による）^[2]

1-2 原理のおとぎ話：吸着による分離^[3]

昔々、ある国に偉大な王様が住んでいました。この王様には美しい娘が一人おりました。

王様はその娘が自分の王国内で最も強い男と結婚することを望んでいましたが、どうやって最も強い男を探したらよいのか考えあぐねておりました。

そこで、王様は配下にいる全ての賢者を呼び出し、助言を求めました。しかし、賢者達のアイデアは独創性がなく役に立たないものばかりでお金ばかりかかるといった有様でした。ところが、その中にただ一人例外の者がおりました。彼の名はクロモスといい、本当に素晴らしいアイデアを持っていたのです。クロモスは次のように王様に申し上げました。

「陛下、王国の西部区域に激流の川があります。そこを栄えある競技会に使ってはいかがでしょうか。

競技会場では、まず技師に命じて川の中に一定間隔で杭を打ち込ませます。杭の高さと太さは川で泳ぐ人が十分掴めるようなものにするのです。

そしてこの競技内容は、スタートの号令によって男達を一斉に川に飛び込ませます。男達は杭を掴むことができますが、やがては川の流りに逆らえずその杭から引き離されてしまいます。しかし、次の杭に流れ着いたら再度そこで掴まることができます。力が強い者ほどより多くの杭により長時間掴まることができるのです。スタートからゴールまでの間に十分な数の杭を配置しておけば、最初にゴールするのは最も弱い者で、最後に到着するのが最も強い者ということになります。陛下の課題を解決できる素晴らしい競技となることでしょう。」

王様は新しいスポーツのアイデアをいつも喜んで受け入れる人であったので、さっそくコースを作らせました。最も速い者でなく、最も遅い者が勝者となるわけです。そして、実際に競技をしてみると、本当にそのとおりのことが起こりました。勝者は簡単に、穏やかに、しかも流血沙汰なしで見つかり、勝者は王様の美しい娘とめでたく結婚することができました。

スポーツドクターはその川を「移動相」と、その杭を「固定相」と、そして選手がコースの長さを移動するのに必要な時間を「保持時間」と呼びました。そして賢明な助言者に敬意を払って、そのスポーツを「クロマトグラフィー」と命名しました。これらの用語がみな極めて科学的に聞こえるので、科学界でも新しいスポーツによってもたらされた素晴らしい可能性に気づくようになりました。競技コースにはお姫様の手を求める競技者ではなく、化学物質を入れました。移動相として、激流ではなく溶媒を使用しました。杭はシリカゲルやアルミナなどの吸着剤に置き換えられました。そして、まさにこの小冊子の存在が示しているように、科学者たちはその後いつまでも幸せにクロマトグラフィーを行ないました。

*クロマトグラフィーに興味を持っていただくための、たとえのお話です。



1-3 クロマトグラフィーの始まり ^{*[4]}

アリストテレスの時代から、既にある種の土の吸着作用が海水処理に利用されていました。しかし、正式にはロシア人の植物学者 Michail S. Tswett が「クロマトグラフ」分離プロセスの父といわれています。彼は 1903 年に学会で初めて植物色素の分離を報告しました。図 2 はそのクロマトグラフ実験です。個々の着色ゾーンは上段右隅 (5) に描かれています。これは炭酸カルシウム上で分離された葉の色素です。

それから約 30 年後の 1931 年、R. Kuhn とその共同研究者によって分析方法としての吸着クロマトグラフィーの価値が認められました。その後、ロシア人の研究者が同じ原理を吸着剤の薄い層に応用しました。次いで、Stahl^[5] と Kirchner^[6] がこれを薄層クロマトグラフィーに発展させる研究を行いました。

吸着クロマトグラフィーは特に親油性物質の分離に適しています。一方、分離原理が異なる分配クロマトグラフィーでは、水を含んだ紙やシリカゲルを用いてアミノ酸や糖などの親水性物質の分離が行えます。メルク社は 1934 年以來これらの開発に積極的に携わり、主に標準物質や既製の分離システムを開発しました。そして、クロマトグラフィー、特に TLC のルーチン分析への応用に貢献してきました ^{*[7]}。

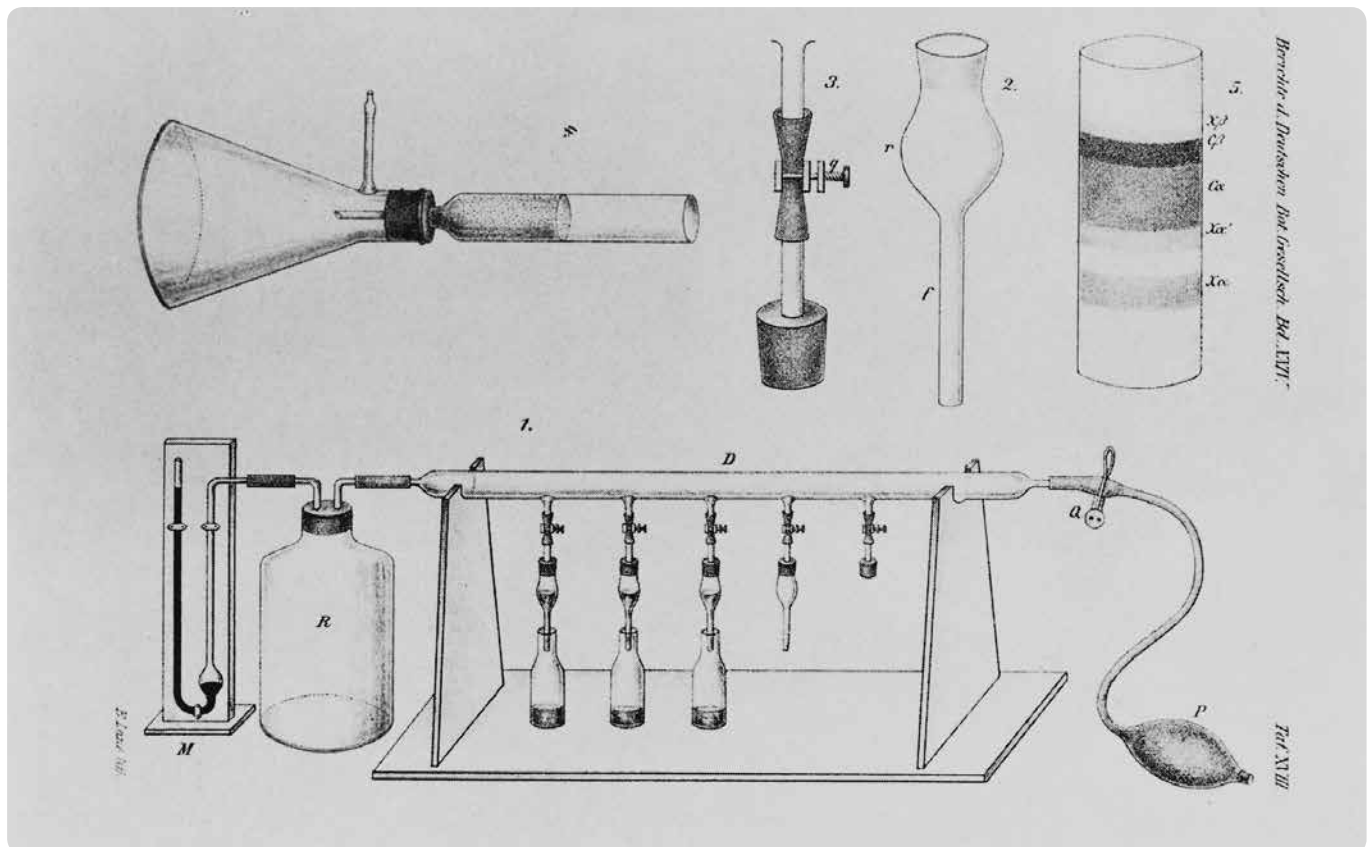


図 2 葉の色素を分離するために用いた最初のクロマトグラフ装置

(1) (Tswett の 1906 年の出版物より)。小さいクロマトグラフカラム (2) に沈降炭酸カルシウムを充填して、徐々に圧力 (250 ~ 300 mb) を上げます。水平管 (1) は 5 つまでの小カラムに圧力を供給します。(4) は Tswett ^[4] による減圧クロマトグラフィー。

1-4 薄層クロマトグラフィーでできること

TLCは他のクロマトグラフ法に十分匹敵します（セクション 1-1 参照）。これに関する詳細は参考文献をご参照ください^[1, 8, 9]。本書では、薄層クロマトグラフィーがどんな場合に適しているのかを、さらに他の方法と比較して簡単に説明します。次の質問のうち1つ以上に「はい」と言える方にはTLCのご使用をお薦めします。

1	クロマトグラフ分離を一目で読み取り、分離の全体状況を把握したい。また、試料成分のおおよその比率を推定したり、「テーリング」が発生するかを見分けたい。
2	前回分離した試料による汚染を避けるため、分離系の再使用は行いたくない。
3	実際の分取の前にプレート上の溶媒は完全に蒸発してしまうので、あらゆる種類の溶媒から適切なものを選びたい。
4	市販の各種固定相から、簡単に修飾ができて、充填する手間が省けるものを選びたい。
5	必要となる成分のみを分離して、そうでない他の成分はスタートラインに残したい。
6	移動相および固定相を簡単に変えて、迅速かつ低コストで分離を最適化したい。
7	得られたクロマトグラムを初期方向に対して直角に再度クロマトグラフィーにかけ、分離状況を改善したい（2次元 TLC）。
8	より厚い層またはカラムに移して成分の分取ができるスクリーニング法（適切な分離系を選択するための予備実験）を探している。
9	できるだけ数多くのサンプルを一度に分離して、時間と費用を節約したい。そして、標準物質も同じ条件で同時にクロマトグラフィーにかけたい。
10	できるだけ数多くの検出システムをシリーズで選択したい。1台購入したUV検出器を実験室内のいくつかの場所で共同で使用したい（展開後のクロマトグラムは、しばらくおいてから検出することもできるため）。
11	各種物質に有効で、簡便な検出方法を利用したい（蛍光消失）。

TLCが他の方法よりも優れているか否かについては次のようにお答えしましょう。TLCとカラムクロマトグラフィーは相補的な方法です。TLCは初心者、訓練用研究室、合成途中の迅速検査、薬局での薬物検査などに適しています。また、市販の高性能システム（HPTLC）、サンプルアプリケーション装置、展開槽、および検出器を使用すると、さらに高い分離力と再現性が得られます。これらはカラム法に十分匹敵しています。ここで重要なのは、TLCを効果的に行うためにはある最低限の基礎知識と実践的経験が必要であるということです。というのは、この「オープンクロマトグラフ系」には分離に影響を与える要素が多数存在するからです。まずは本書の第2章で述べる内容をお読みください。実験はその後行う方が効果的です（事例については第5章を参照）。TLCの実践的な応用については第3章で説明します。

2 薄層クロマトグラフィーの基本原則

2-1 分離の原理：吸着と分配における平衡

王様とその美しい娘の物語を思い出してください。この話から、クロマトグラフィーが一般に、固定相と移動相、つまり担体と溶質に対する物質の親和力の相違に基づいていることがわかります。

薄層プレートにアプライされた物質は溶媒の中で行われる分離プロセス中にどんな作用を受けるのでしょうか。物質は移動相によって薄層上を輸送され一定時間固定相に留まった後、再び輸送されるという同じ現象が何度も何度も反復されます。物質の移動速度は移動相の速度が低下するに応じて減速しますが、固定相に優位に残留すればするほど減速効果が大きくなります。この原理により、2相に対する親和力に小さな差しかない混合物も分離することができます。親和力の差が小さい場合でも、輸送や吸着が何度も繰り返し行われれば、クロマトグラフ分離に相違が現れてきます。図3は親和力の相違による2つの基本的原理、吸着平衡および分配平衡の模式図です。

吸着過程において、移動相に溶解している物質はアルミナなどの担体表面に吸着します。分配は互いに混じり合わない2液相に対する物質の溶解度の差により分離が生じます。実際に分配クロマトグラフィーでは、移動相に溶解している物質は固定相上（逆相シリカゲルやセルロースなど）と、第2の液体相との間に分配されます。

物質Aが低濃度（数 μg 程度のサンプル）の場合、以下の式が成り立ちます。

$$\frac{C_s}{C_m} = K$$

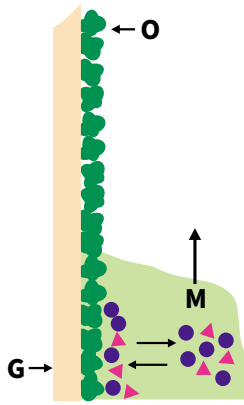
ここで、 C_s は平衡状態における固定相中の物質Aの溶質濃度、 C_m は平衡状態における移動相中の物質Aの溶質濃度を表します。Kは分配係数と定義されます。図4はこの平衡関係を示します。移動相中の物質が高濃度（飽和に近い）の場合、この単純な関係は成立せず、吸着等温線は不連続性を示します。図5は、K値の差異により、2つの物質AおよびBのクロマトグラフ挙動が影響を受けることを示します。K値が大きくなるほど物質の固定相に対する親和力は大きくなり、移動速度が小さくなります。

ここに表した図は単純化され、模式化されています。詳細な理論は文献を参照して下さい^[9-13]。クロマトグラフ分離において、理論は物質の実際の挙動を大まかに推定しているだけだと思われています。事実、クロマトグラフィーは類似実験を参考にするなど、依然として経験に重きがおかれています（セクション2-3参照）。というのは、ほとんどの系で吸着プロセスと分配プロセスの両方が同時に起こってしまうからです。

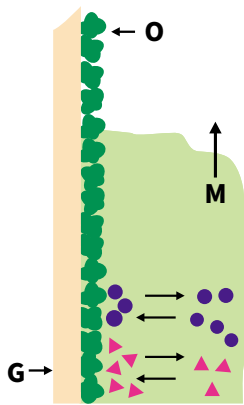
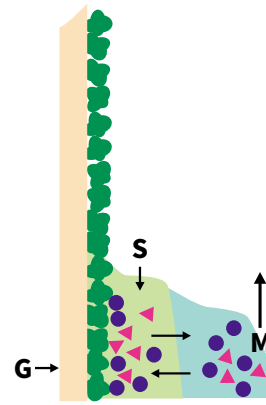
分配プロセスは、水または水性混合物などの極性溶媒をセルロースのような親水性担体に保持させ、極性の低い溶媒を移動相として用いた場合に起こります。また、疎水性担体を有機溶媒で飽和して、移動相に水などの極性混合物を用いることもあります。これは、いわゆる「逆相」と呼ばれます。アプリケーションの中には、逆相が有効な場合があります。

吸着プロセスは、極性の異なる化合物（エステル、アルコール、酸）の分離や吸着剤との相互作用エネルギーに差がある構造異性体の分離に適しています。一方、分配プロセスは、例えば同族体（すなわち脂肪酸）など溶解度の異なる物質の分離に役立ちます。以上が吸着および分配とよばれるプロセスです。

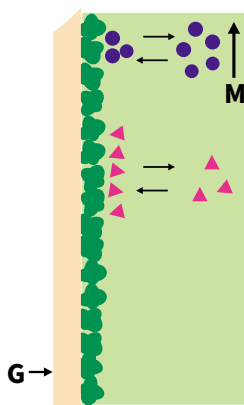
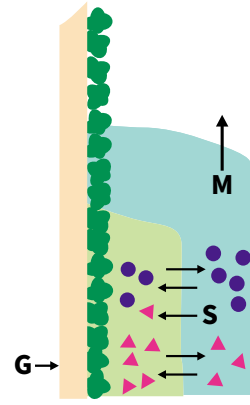
イオン交換クロマトグラフィーは正または負に荷電した官能基を持つ固定相を使用しています。特にカチオンやアニオンの分離に適し、またタンパク質の分離も行えます。ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）は物質を分子サイズによって分類します。この場合、決まった大きさの細孔を持つ膨潤ゲルが固定相として使用されます。



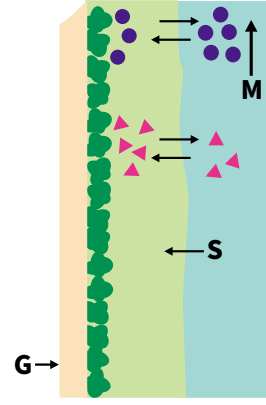
成分▲は優位に固定相(吸着)の表面上、あるいは固定相液体(分配)に存在します。これに対して、物質●は優位に移動相に存在します。



新しい移動相が流れてくるとすぐ、溶媒中の分子群はさらに輸送されます。分子群は成分▲を再度優位に吸着する固定相表面あるいは固定相液体中の空いている部位にたどり着きます。それより以前に固定相液体に吸着または溶解していた物質は移動相へと戻り、さらに輸送されます。



このプロセスを何回も繰り返すと物質は分離されます。移動相に優位に存在する分子●は分子▲よりも速く移動します。よって、▲の R_f 値は●の R_f 値よりも小さくなります (R_f 値については後述)。



A

B

図3 クロマトグラフ過程における平衡：吸着 (A) および分配 (B)

G= 担体層の支持体 (ガラスプレート) ; O = 固定相表面 ; M= 移動相 ; S= 固定相液体

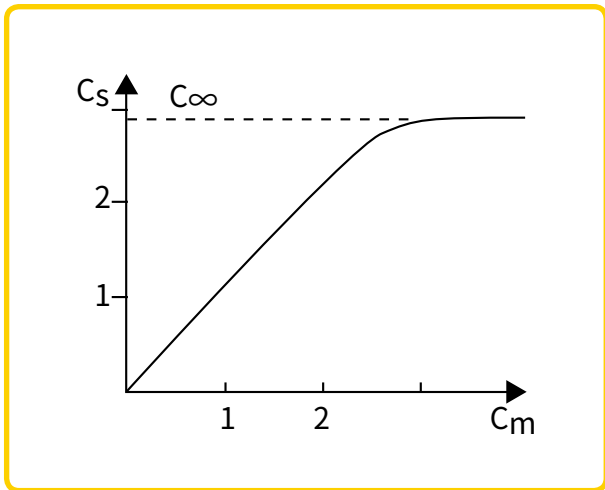


図4 移動相と固定相間における試料濃度の平衡関係

この曲線は吸着等温線と呼ばれる * [12]
 C_s = 固定相における試料 A の平衡濃度
 C_m = 移動相における試料 A の平衡濃度
 C_∞ = 固定相の飽和濃度

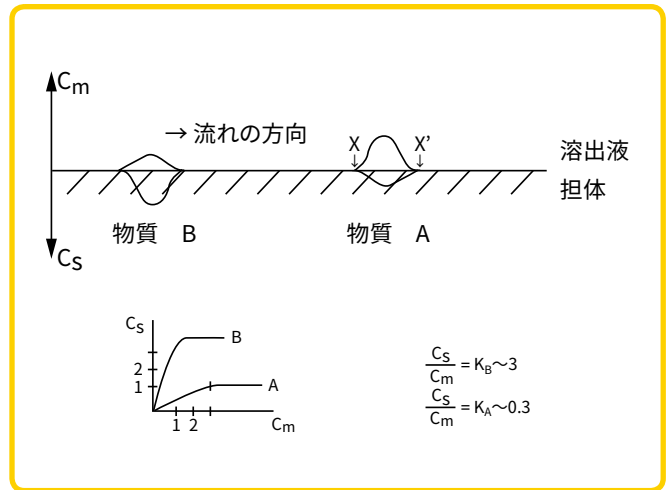


図5 物質 A と B のクロマトグラフ泳動速度（上段）と吸着等温線（下段）との間の依存関係 * [12]

2-2 分離の特性付け

分離された物質の「移動の挙動」は展開後に得られたクロマトグラムから読み取れます。これは次に示すような R_f 値 (Relative to Front, 溶媒フロントに対する相対的値) の形で与えられます。

$$R_f = \frac{\text{距離 (スターティングゾーン - 物質ゾーン)}}{\text{距離 (スターティングゾーン - 溶媒フロント)}}$$

物質濃度が最大となる部位が物質ゾーンの位置と見なされます。

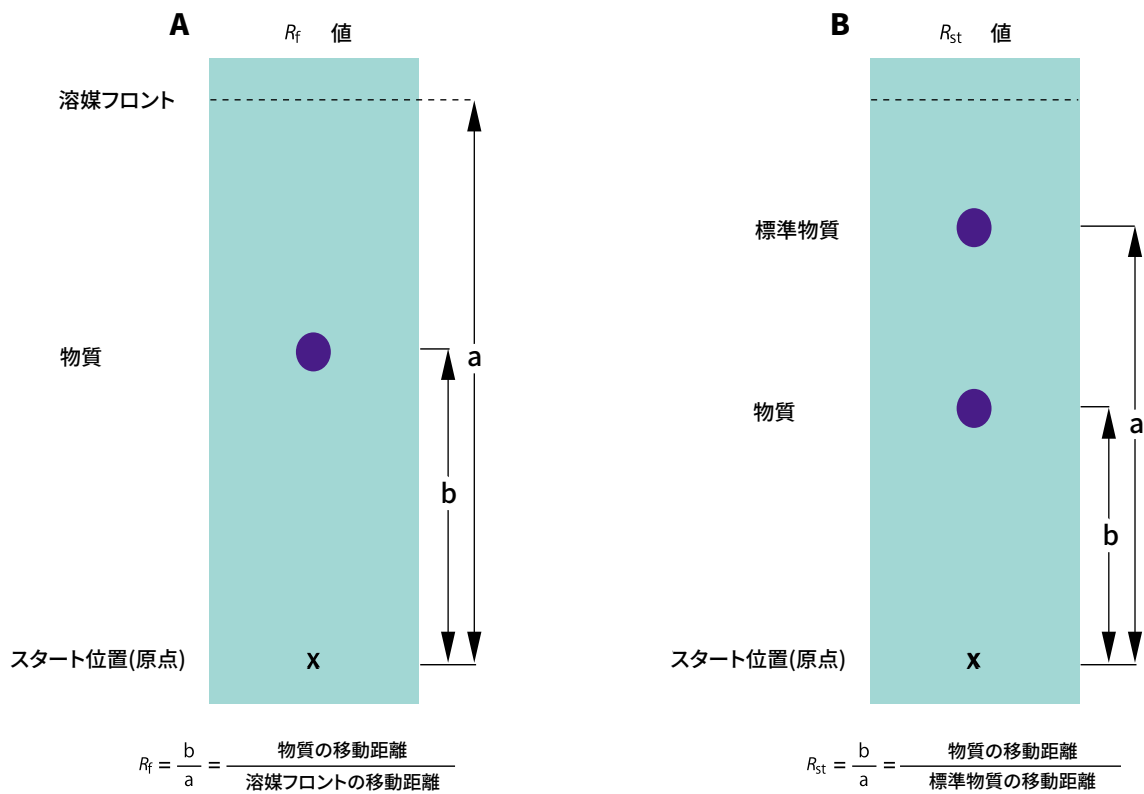
物質の移動に影響を及ぼす作用は数多くあり、これを同時に制御することは困難です。このため、 R_f 値は近似値と見なされます。また、相対的な値である R 値は試験対象となる物質と同一プレート上で、同一条件下で標準物質を移動させて求められます。この場合の R 値は R_x または R_{st} と呼ばれます。

$$R_{st} = \frac{\text{距離 (スターティングゾーン - 物質ゾーン)}}{\text{距離 (スターティングゾーン - 標準物質ゾーン)}}$$

常に 1 以下となる R_f 値とは異なり、 R_{st} 値は 1 を超える場合があります。図 6 に 2 つのパラメーターの決定方法を図示します。 R_{st} 値は試験物質と標準物質の化学的性質が近似している場合のみ有用です。

TLC 系の分離効率はアプライした物質スポットのゾーンが分離距離を移動するにつれて広がっていくことから求めることができます。分離効率は理論段数 N 、あるいは理論段高さ H として説明されます。

$$N = 16 \left(\frac{X}{W} \right)^2 \qquad H = \frac{W^2}{16X}$$

図6 R_f 値 (A) と R_{st} 値 (B) を求める方法の模式図

ここで、 X は原点から物質スポットまでの距離、 W はそのスポットの直径を表しています。この理論段高さが小さいほど、与えられた分離距離で多くの分離プロセスが行われ分離効率が良くなります。分離効率と選択性は異なります。分離効率はピークのブロードニング（広がり）の状態を意味します（上記参照）。一方、選択性は各分離物質の R_f 値にどれだけ差があるかを意味します。これについて、図7に図示します。

実際には、用いる TLC 系（溶媒系 + 固定相）によって、2つの異なる物質がどの程度分離されるかということが重要になります。これは分離効率と分離系がもつ選択性の両方に依存します。分離度 R_s はこれに関連する値です（図8参照）。

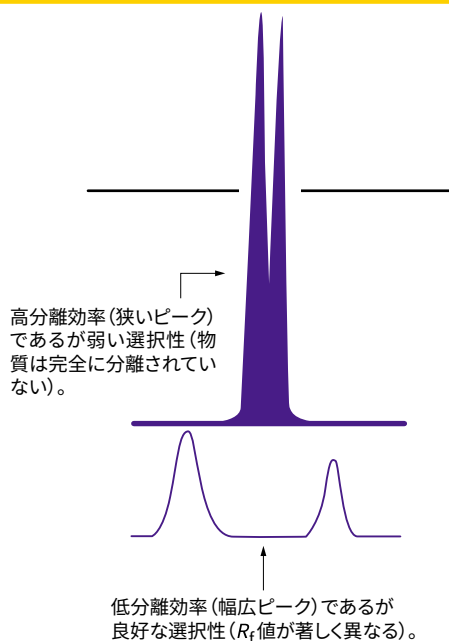


図7 分離効率とクロマトグラフ分離の選択性との相違

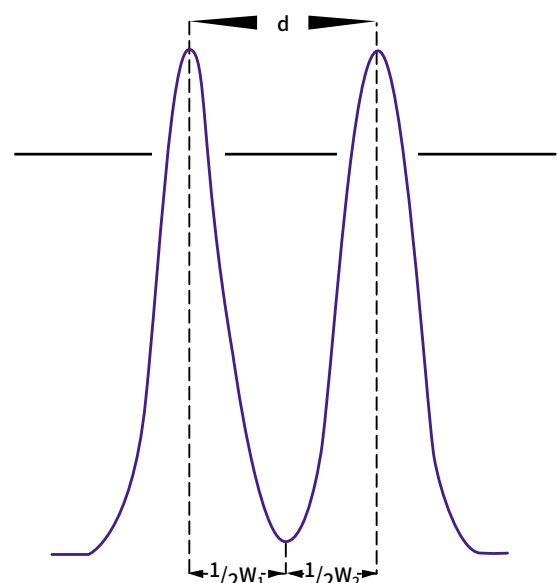


図8 クロマトグラフ分離度の測定

$$R_s = \frac{d}{1/2 W_1 + 1/2 W_2}$$

W 値は物質 1 および物質 2 のスポット径を、d は 2 つのスポット中心間の距離を示しています。中心間の距離 (d) が大きくなり、物質の平均スポット径 (W_1 、 W_2) が小さいほど分離度は向上します。 $1/2 W_1 + 1/2 W_2 = d$ となる場合には $R_s=1$ となるため、2 つの物質はちょうど「ベースライン分離」されることになります。これは、クロマトグラフシグナルが各スポット間でちょうどベースラインに達していることを表します (図 8 参照)。

Kaiser^{* [14]} は、分離数 SN というパラメータを用いています。SN は理想状態の TLC 系において、その分離距離内で分離できる物質の最大数を表します。但しこれは各物質が全て分離度 1 で分離されるという条件を仮定した場合に限ります (上記参照)。HPTLC の典型的な分離数は 10 から 15 です (展開距離が 5 cm の場合)。また、TLC プレートの分離数は 20 から 25 となります (展開距離が 15 cm の場合)。さらに AMD (自動多重展開装置) を用いると分離数は 40 まで上昇します (HPTLC 上で 8 cm)。

2-3 分離に影響を及ぼす要因

F.Geiss^{* [15]} は TLC 分離に影響する 25 のパラメータを重要性の高いものから順にリストアップしました。

1. 固定相	13. 移動相の流速
2. 移動相	14. R_f 値の大きさ
3. 展開槽の種類	15. 温度
4. 溶媒の前吸着 (コンディショニング)	16. 試料容量
5. 固定相の相対湿度	17. 固定相中の結合剤
6. 固定相の活性度	18. 固定相の層厚の不均一性
7. 溶媒蒸気による展開槽および固定相の飽和	19. 固定相の作製
8. 固定相の粒子径	20. 固定相の層厚
9. アプライ時のスポットサイズ	21. 分離展開槽蒸気空間内の対流
10. 分離展開槽内における物質のスタート位置と溶媒フロントの距離	22. 展開の方向 (上昇 / 下降 / 水平のいずれか)
11. 溶媒勾配 (移動相の各成分が分離距離方向で不均一な分布を示す)	23. 移動相中の不純物
12. 固定相の質の変動	24. 分離距離
	25. pH 値

TLC はオフラインモードで操作される開放系のため、多くの要因 (パラメータ) によって容易に影響を受けます。そして、再現性のある結果が必要となる場合、このことがよく欠点として問題となります。一方で、この多くのパラメータが TLC に高い柔軟性を与えます。それ故、これらを適切に選択する方法を会得することは効果的といえます。本章では、TLC の最重要事項である固定相、移動相、展開槽の飽和、分離条件の選択について説明します。

固定相（担体）

一定品質の市販担体が供給されるようになり、TLCのルーチン使用が可能となりました。担体の主な特性とパラメータを次の3つのセクションで説明します。

(1) 化学組成と構造

非常に多くの種類がある市販の担体は次の2種類に大別されます。

- 極性相（親水性）。「順相」とも呼ばれます。
- 無極性相（親油性）。「逆相」（RP）とも呼ばれます。

この2つの間に中間極性相があります。これは通常、CN基、DIOL基、NH₂基などで修飾されています。これらはいずれも移動相系によって「順相」となったり、「逆相」となったりします。極性相は通常、クロロホルム/メタノールなどの無極性移動相と組み合わせます。一方、無極性（RP）相は極性の高い移動相と組み合わせます。順相系から逆相系へ転換すると物質の溶出順が逆になります。

多くの担体の中で、シリカゲル、修飾シリカゲル、アルミナ、およびセルロースが実際よく使用されています。次に各担体を説明します。分離操作の約90%はシリカゲルを用いて行われています。シリカゲルは多孔性非晶質粉末で、表面にSi-OH基を持っています。Si-OH基はそれ自身互いに結合したり、あるいは極性物質と水素結合を行います。150°Cで活性化したシリカゲルは有効なSi-OH基の数が最大となり、それとともに活性度も最大となります。よって、シリカゲルはこのような処理中に吸着水を失い、10 nm²当たりのSi-OH基の数は4~6個となります。

修飾シリカゲルは、シリカゲルの極性表面（シラノール基）を化学的に処理し、官能基を結合させて固定相としたものです。一般的に、シリカゲル表面の水酸基と有機シラン類との反応で形成されます。官能基にはNH₂基、DIOL基、CN基などがあり、担体表面に化学結合させることができます。移動相にはメタノール等の極性の高い溶媒を用い、試験物質の2相への分配比の差により分離を行います。アルキルクロロシランでアルキル化したシリカゲルはクロマトグラフィーでよく用いられます。こうして、極性固定相シリカゲルを逆の無極性相、いわゆる「逆相」に転換できます。疎水鎖に2、8、および18個のC原子を持つ逆相系はRP-2、RP-8、RP-18として市販されています。

キラル（光学活性）官能基を持つシリカゲルもあります。この相ではジアステレオマー間の相互作用の差を利用して光学活性体を分離できます。エナンチオマー（鏡像異性体）は薬理活性が全く異なることがあるため、天然物化学や薬物合成ではこの純度をコントロールし、別々に試験することが必要とされています。

アミノ酸や糖などの親水性物質を分離する場合、担体にセルロースを使用するとペーパークロマトグラフィーと類似した分離が得られます。他にもポリアミド、アルミナ、ケイ酸マグネシウム（フロリジル）層なども市販されています。本書ではこれらの説明は行いません。

(2) 粒子および細孔の特性

吸着剤の分離効率（セクション2-2参照）はそれのもつ幾何学的構造（粒子径や粒度分布）によって決まります。一方、分離したい物質に対してどの吸着剤を選ぶべきかは物質の化学構造によります（セクション2-2参照）。

● 粒子径

分離効率は原則として、粒子が小さく、粒度分布が狭くなるほど向上します。また、粒子径はできる限り均一なものを用います（粒度分布が狭いもの）。市販のシリカゲルの粒子径には5~40 μmの幅があります。図9に代表的な粒度分布を示します。

● 細孔径

nmの単位で示されます（通常、6 nm）。

● 比表面積

m^2/g の単位で示されます。比表面積が大きいと試料と固定相間の相互作用も大きくなり、それによって吸着力や保持力も大きくなります。市販のシリカゲルの比表面積は $400 \sim 600 \text{ m}^2/\text{g}$ です。

● 細孔容積とその分布

mL/g の単位で示されます（通常、 0.8 mL/g ）。

(3) 層に関するパラメータ

分離分析では、一般に $100 \sim 250 \mu\text{m}$ の層厚を用います。通常の TLC では約 $250 \mu\text{m}$ 、HPTLC では約 $200 \mu\text{m}$ です。層厚が $0.5 \sim 2 \text{ mm}$ のプレートは分取用分離に使用します。分取分離は分離終了後、それぞれのゾーンをかき取り、物質を溶出して単離します。

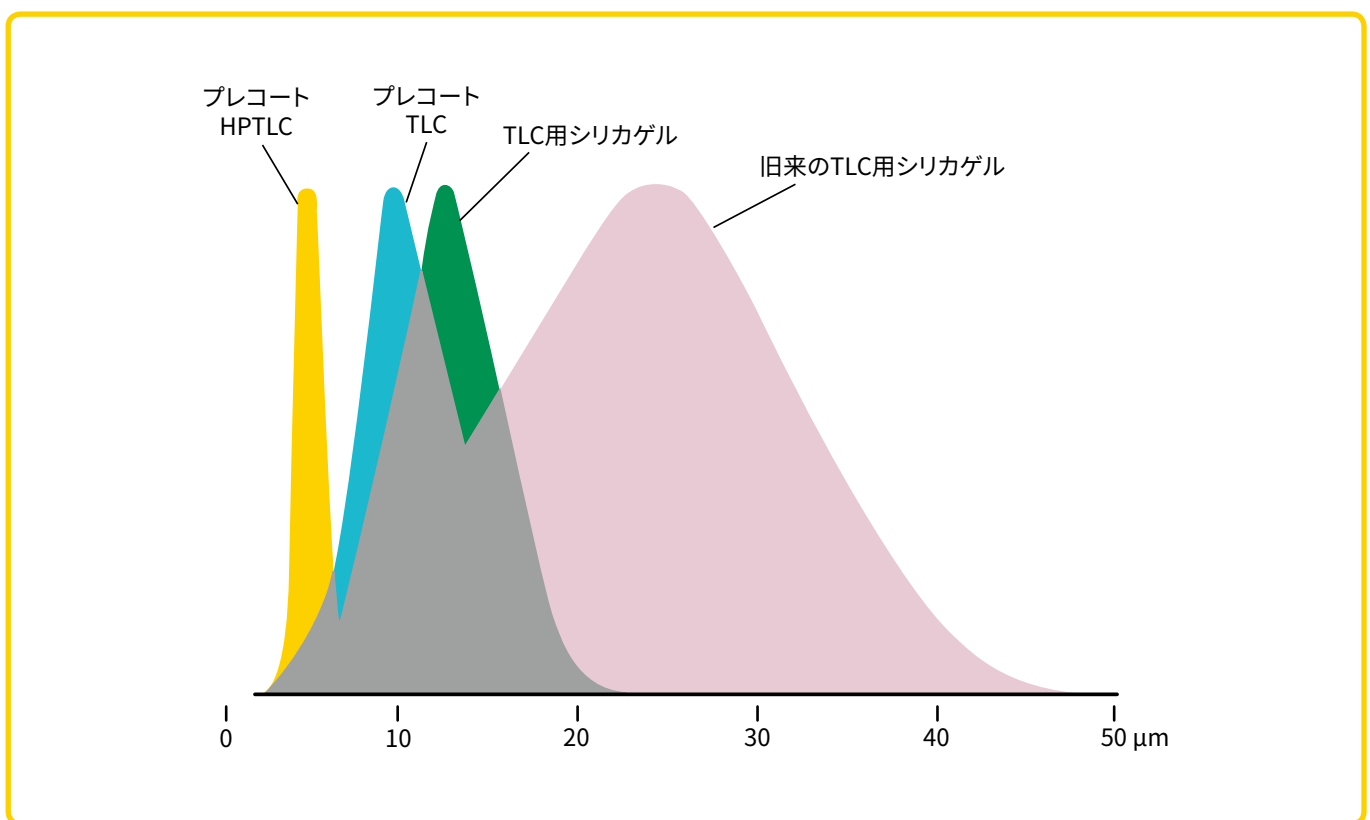


図9 市販担体の粒子径分布

層の安定性と凝集力を向上させるために添加した石膏や有機物質などの結合剤は層の特性に影響を与えることがあります。

濃縮ゾーン付きの層も市販されています。理想的な場合、濃縮ゾーンでは物質は溶媒フロントとともに移動して細い直線状に濃縮されます（吸着分離プロセスを経て）。クロマトグラフ分離は試料がこの濃縮ゾーンと実際に分離が行われる層の境界に達したとき開始されます。従って、この境界線はスタートラインとしての役割を果たします。このように、クロマトグラフ方向でのスポットサイズが小さく維持されることで分離度が向上します。

移動相

溶媒系あるいは移動相の選択は担体の活性度（親水性担体の場合）とは別に分離に決定的な影響を与えます。溶媒は担体から溶離してくる物質を溶解し、プレート上を輸送します。溶媒が担体に強く吸着するほど溶出力（置換力）は大きくなります。そのため、溶媒に対する親和力が担体に対するそれよりも強い物質はフロントに近い方に溶出されます。使用する混合溶媒（移動相）の組成は、理論的には実際にクロマトグラフ分離を行う移動相と一致するはずですが、しかし常にそうなるとは限りません。というのは、溶媒自身もクロマトグラフプロセスの影響を受けるからです。この現象は多成分溶媒系で顕著にみられます。特にサンドイッチ型展開槽では「β-フロント」が現れることがあります（第3章参照）。

次にこの実例を示します。溶媒にシクロヘキサンとエーテルを使用し、シリカゲル層上でクロマトグラフィーを行うとします。このとき、無極性溶媒のシクロヘキサンは単独でフロント部分に移動してきます。そのため、極性溶媒のエーテルが取り残されて、シクロヘキサンとエーテルの混合溶媒は実際の溶媒フロントの下部に分離します。そこに「β-フロント」といわれる別の溶媒フロントが現れます。これは溶媒組成の極性の差による結果です。従って、極性がそれほど小さくなく、自力でシクロヘキサンとともに移動できない物質はすべてここに集まります。この現象は層に不純物が存在するときにもよく起こります。また溶媒の蒸発および凝縮の影響とも重なって生じます（展開槽の飽和 p.29 を参照）。

溶媒は一般的に溶出力が大きくなる順に表記します。この「溶出系列」は基本的に溶媒の極性または誘電率が大きくなる順と一致しています。これは厳密に、ある特定の担体に対して適用されており、順相のシリカゲルとアルミナの溶出系列はほぼ一致しています。一方、RP相（逆相）に対する溶出系列は順相と比べると逆になります。表1にシリカゲル用溶出系列の主な溶媒を一覧で示します。

展開槽の飽和状態は分離に大きく影響します。図10は不飽和分離展開槽にプレートを入れた状態を示します。この場合、分離プロセスにおいて、溶媒は主に溶媒フロント部分でプレートから蒸発します。このため、溶媒フロントがさらに移動するにはより多くの溶媒が必要となり、結果として R_f 値が増大します。一方、溶媒を浸み込ませた濾紙を展開槽内に挿入すると、溶媒蒸気は速やかに均一に分散して展開槽が飽和します。この飽和展開槽にプレートを入れると、乾燥した層に溶媒蒸着が起こります。また、TLC層からの溶媒蒸発も抑制され、溶媒フロントが同じ距離を移動するのに必要となる溶媒が少量で済み、 R_f 値も小さくなります。

飽和展開槽と不飽和展開槽での R_f 値の相違は、外見上の違いといえます。飽和展開槽の場合、溶媒フロントで溶媒が移動する場合と比較して、より多くの溶媒が層を流れます。不飽和展開槽の場合、実際のフロントの手前にある蒸気相から溶媒が凝縮するので、移動距離が長くなった印象を受けます。

各種溶媒は分離に影響します。すなわち、移動相のもつ溶媒溶出力と選択性の2つの特性がクロマトグラフィーの結果に影響を与えます。溶媒溶出力は極性指数のパラメータで表せます（表1）。移動相の溶媒溶出力が上昇すると、試験物質は結果として高い R_f 値を示します。AとBの2種類の溶媒を混ぜ合わせた場合、混合物の溶媒溶出力は $P'_{mix} = \text{vol}\% A \cdot PA + \text{vol}\% B \cdot PB$ として計算されます。ヘキサン（ $P=0$ ）を混合した溶媒は溶媒溶出力が小さくなります。図11は溶媒溶出力の上昇による分離の影響を表します。

クロマトグラフィーで溶媒溶出力が一定に保たれる場合、溶媒の選択性は物質の分離する位置に影響を与えます。実際に、選択性が異なるグループから溶媒を選ぶと（表1）、移動相の選択性は変化します。図12に例を示します。溶媒に酢酸エチルとアセトン（両方とも選択性グループVI）を用いた場合は似たような分離を示します。トルエン（選択性グループVII）を用いると、ある色素の位置が著しく変化します。

表1 溶媒の特性

溶出系列 (Eluotropic series)	示性式 (Formula)	極性指数 (Polarity index*)	誘電率 (Dielectric constant) (20 or 25°C)	モル質量 (Molar mass) [g/mol]	沸点 (Boiling point) [°C]	蒸気圧 (Vapor pressure) [mbar] (20°C)	最大許容濃度 (Maximum concentrations at the workplace) (MAK values) 1983 [mL/m ³] or [ppm]	選択性グループ (Selectivity group)
n-ヘプタン	C ₇ H ₁₆	—	1.9	100.21	98.4	48	500	—
n-ヘキサン	C ₆ H ₁₄	0.0	1.9	86.18	68.9	160	100	—
シクロヘキサン	C ₆ H ₁₂	0.0	2.0	84.16	80.7	104	300	—
イソオクタン	C ₈ H ₁₈	0.4	1.9	114.23	99.2	51	500	—
ジエチルエーテル	C ₄ H ₁₀ O	2.8	4.2	74.12	34.6	449	250	I
トルエン	C ₆ H ₅ CH ₃	2.3	2.4	92.14	110.6	29	200	VII
クロロホルム	CHCl ₃	4.4	4.8	119.38	61.7	210	10	VIII
ジクロロエタン	ClCH ₂ CH ₂ Cl	3.7	10.6	98.97	83.4	87	20	V
ジクロロメタン	CH ₂ Cl ₂	3.4	9.1	84.93	40.0	453	100	V
1-ブタノール	CH ₃ (CH ₂) ₃ OH	3.9	17.8	74.12	117.2	6.7	100	II
アセトニトリル	CH ₃ CN	6.2	37.5	41.05	81.6	97	40	VI
2-プロパノール	CH ₃ CH(OH)CH ₃	4.3	18.3	60.10	82.4	43	400	II
酢酸エチル	CH ₃ COOC ₂ H ₅	4.3	6.0	88.10	77.1	97	400	VI
アセトン	CH ₃ COCH ₃	5.4	20.7	58.08	56.2	233	1000	VI
エタノール	C ₂ H ₅ OH	5.2	24.3	46.07	78.5	59	1000	II
1,4-ジオキサン	C ₄ H ₈ O ₂	4.8	2.2	88.11	101.0	41	50	VI
テトラヒドロフラン	C ₄ H ₈ O	4.2	7.4	72.11	66.0	200	200	III
メタノール	CH ₃ OH	6.6	32.6	32.04	65.0	128	200	II
水	H ₂ O	9.0	80.2	18.01	100.0	23	—	VIII

*) L.R.Snyder, *J.Chromatogr.*92, 223-230(1974)

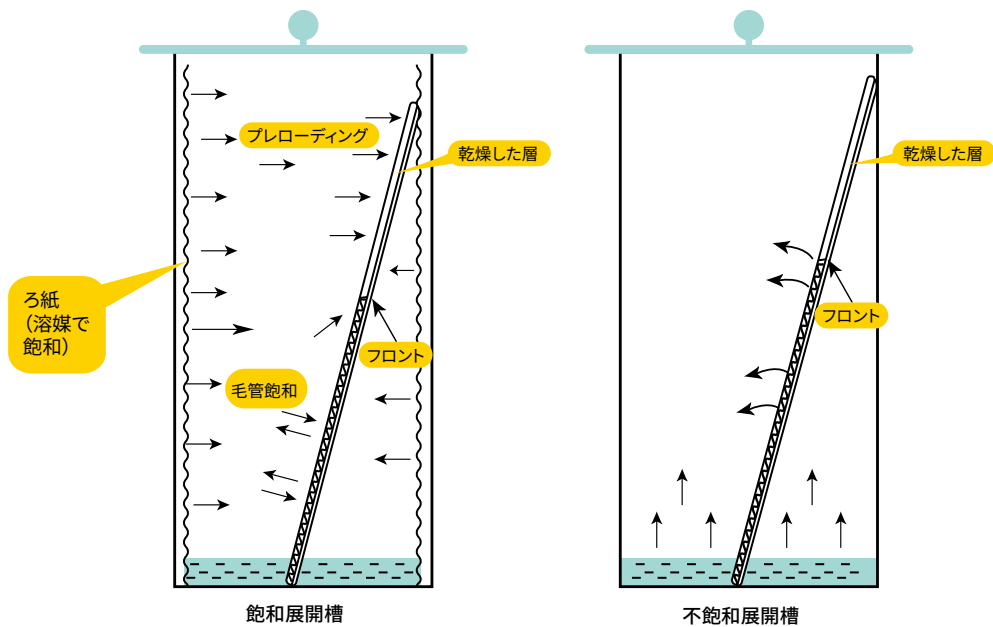


図 10 薄層クロマトグラムにおける気相の動き

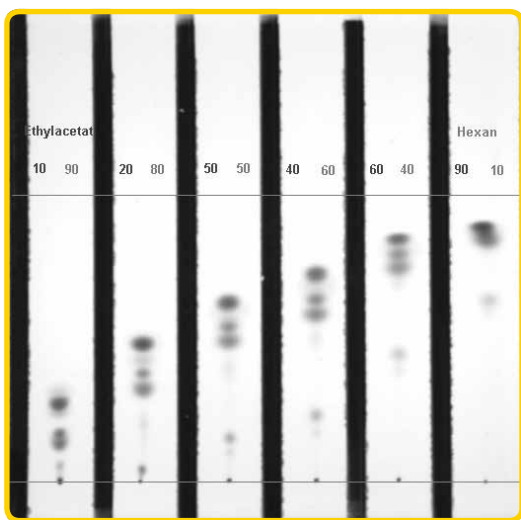


図 11 溶出力の上昇（図左から図右）による分離の影響
 (バリオチャンバーを用いて、
 酢酸エチル-ヘキサン混合溶媒で色素混合物を分離)

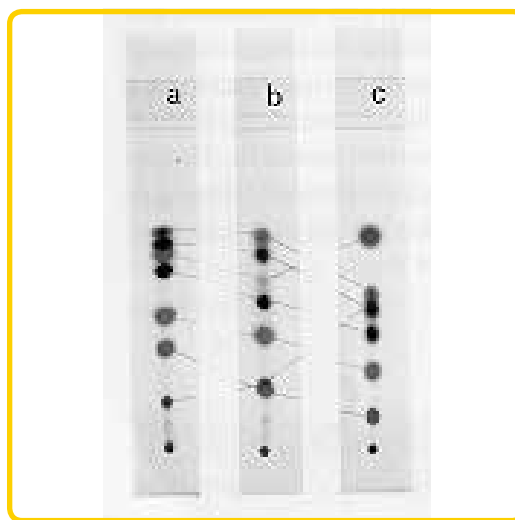


図 12 色素混合物の分離
 a= 酢酸エチル-ヘキサン、b= アセトン-ヘキサン、
 c= トルエン-ヘキサン (一定の溶出力)

分離条件の選択

日常の操作ではクロマトグラフの条件を類似実験や文献を参考にしながら、経験的に決めていくことがよくあります。しかし、多くの場合は適切な系を自分で作り出さなければなりません。図 13 は移動相、固定相、試料の 3 要素の相互関係を表します。三角形の頂点の 1 つを 3 要素中の 1 要素の既知特性に向けると、残りの 2 要素の特性がほぼ自動的に決まります。

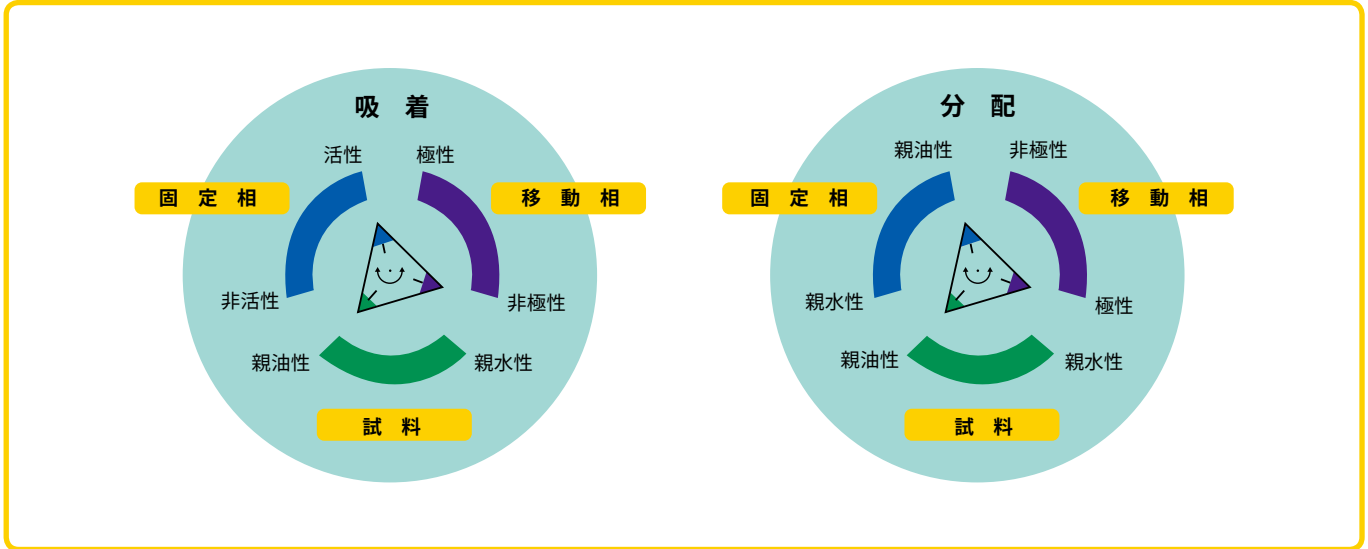


図 13 クロマトグラフ分離の適切な条件を決定する模式図 ([16] から引用)

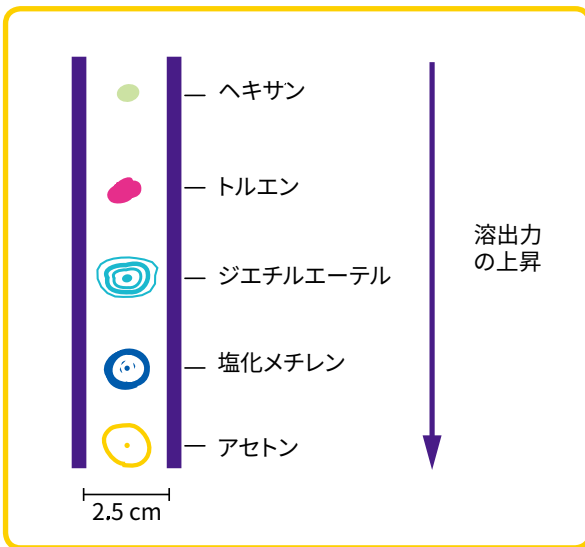


図 14 適切な溶媒決定のためのスポットテスト

図 14 は簡単なスポットテストの例です。分離したい物質溶液を適当な担体上に数センチメートル離して数回、点状にスポットします。溶媒を蒸発させた後、移動相で満たしたキャピラリーを各物質スポットの中心に置きます。キャピラリーから流出する液体は毛細管力によって円形に広がるため、円形クロマトグラフィーと同様な原理で物質を分離することができます。この簡単なテスト結果を比較して、最適な移動相と担体を推定することができます。図 14 の例はジエチルエーテルが溶媒として特に適していることを示します。バリオチャンバーも分離条件の決定に役立ちます (第 3 章の図 30 参照)。

模式図（図 15）に従うとより良い分離条件の決定が容易に行えます。最初に、固定相を図 13 に従って選択します。多くの場合、シリカゲルを最初に用います。レベル 1 の移動相は、できるだけ多くの選択性グループから代表となる単一の溶媒をいくつか選びそれぞれをテストします。結果として得られた R_f 値が 0.2 から 0.5 の間の場合、各々の溶媒はレベル 3 とみなされます。レベル 2 で高い R_f 値を示す溶媒はヘキサンでその溶出力を下げます。反対に、低い R_f 値を示す溶媒は水、酢酸またはジエチルアミンのような溶媒を一部加えることで溶出力が強くなります。レベル 3 では、レベル 1 あるいはレベル 2 からの適切な溶媒を 2 種混合して、どの混合比率が分離を改善するかを見つけ出します。レベル 4 では移動相の比率を変化させたり、溶媒を一部加えたりして移動相を良好な状態に調整します。

次の第 3 章では、実際の操作を説明します。

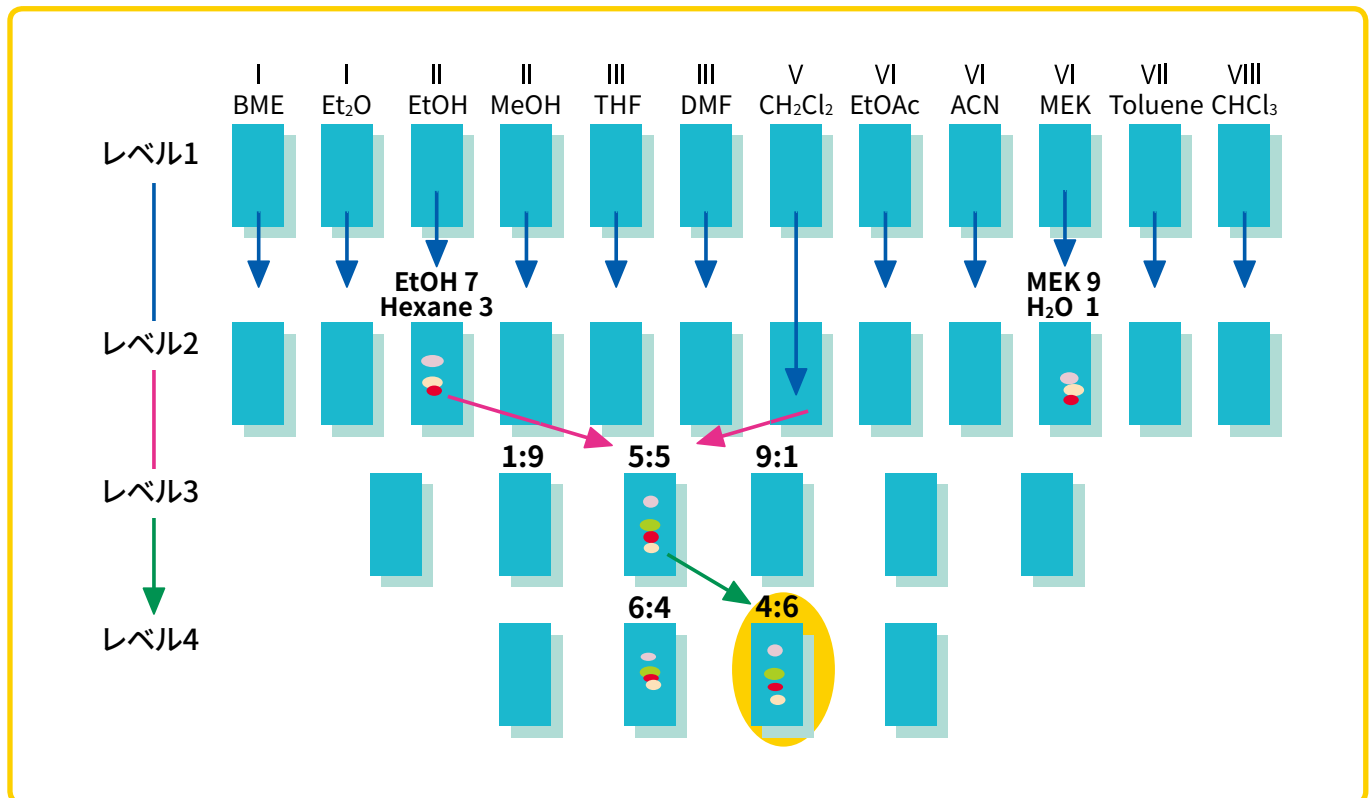


図 15 展開溶媒決定の模式図

3 薄層クロマトグラフィーの実験法

薄層クロマトグラフィーの操作は主要操作、任意操作、補助的操作の3つに分類することができます（図16）。主要操作はどの種類のクロマトグラフィーにも共通している事柄、つまり必須となる試料のアプライ、展開、検出、結果の評価です。任意操作は層の前洗浄、クロマトグラフィー前後の誘導体化、プレコンディショニングなどです。これにより検出限界、選択性、分離および再現性が向上します。補助的操作は試料を調製して分離で生じる問題をなくしたり、層に用いる物質や溶媒の選択などを行うことです。補助的操作には UV 光下での分離評価やクロマトグラムの記録などが含まれます。

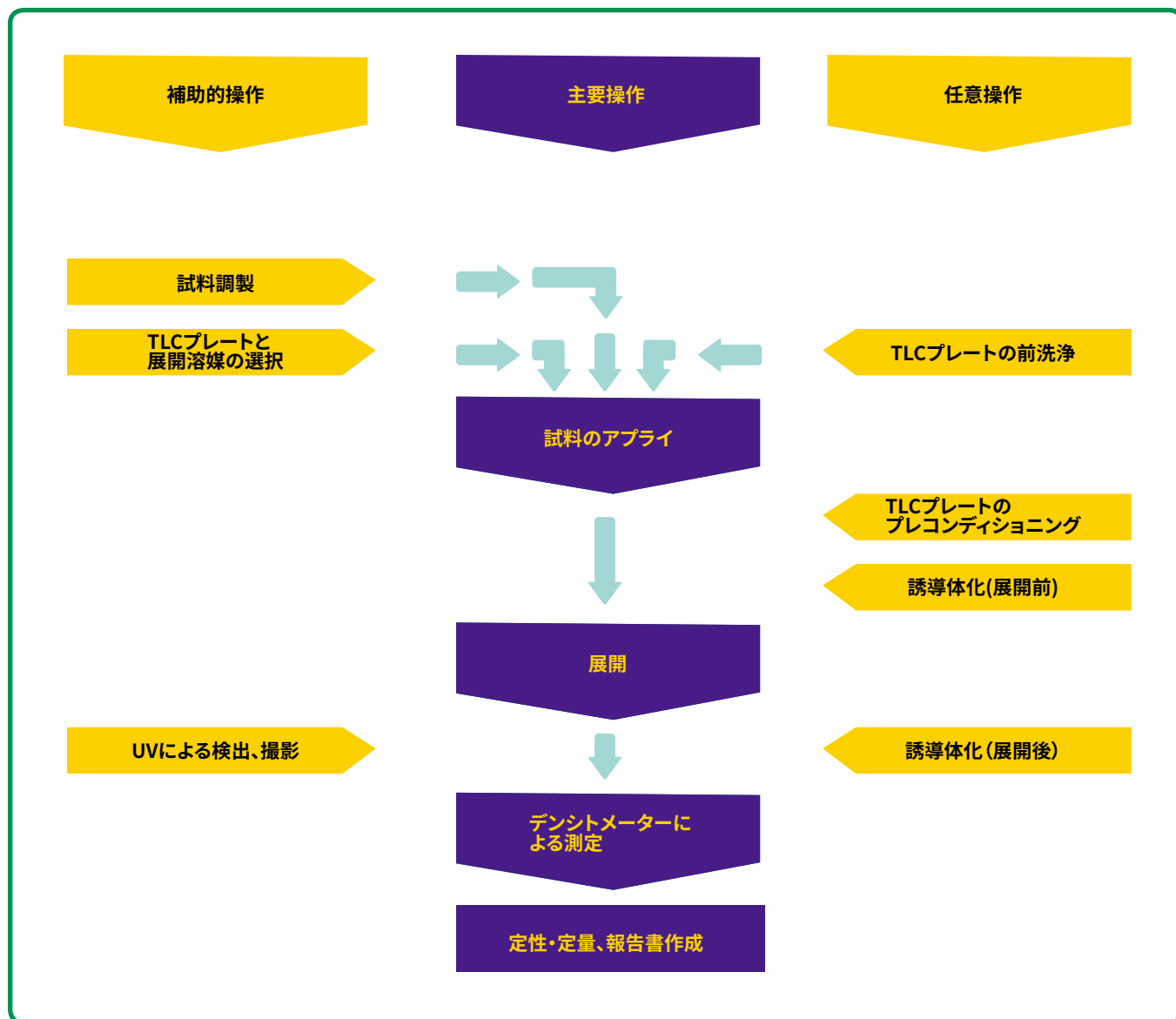


図 16 薄層クロマトグラフィーの操作手順

3-1 自家調製プレート

今日、薄層クロマトグラフィー用として多種類の担体と既製品の層が市販されています。既製品の品質は非常にすぐれているため、一般にあらゆる目的に適します。したがって、既製品を用いることをまずお勧めします。そうすればプレートを自製する負担が無くなります。しかし、緩衝液の成分、特殊な試薬、結合剤や他の担体を層に添加して物質の分離をきめ細かく行いたい場合は、ご自分で薄層を作成することをお勧めします。

一般には、5 cm × 20 cm、10 cm × 20 cm、20 cm × 20 cm のガラスプレートを十分前洗浄して、蒸留水でリンス後、これをコーティングします。ガラスプレートをフレームの上に並べ、コーティング用アプリケーション（スプレッターとも呼ぶ）を用いてコーティングします（図 17）。

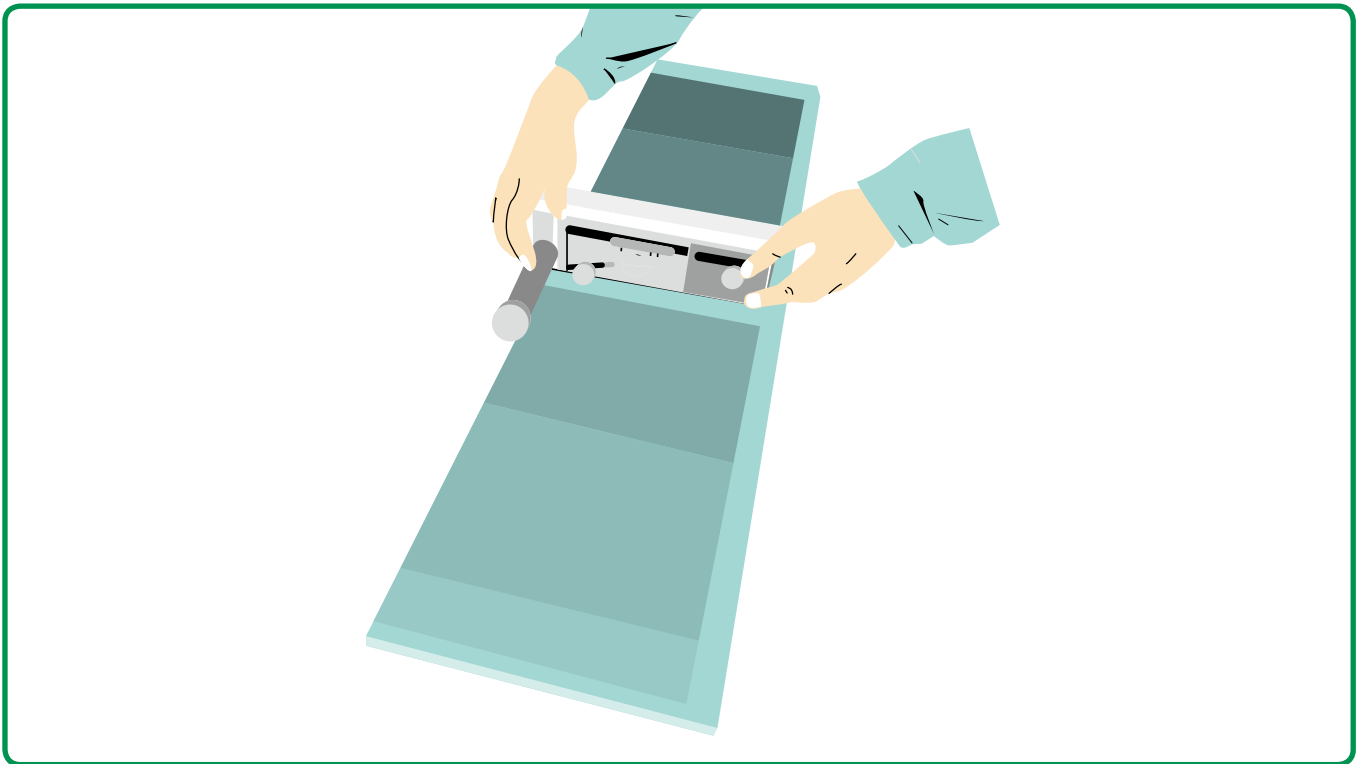


図 17 プレートの自家作製

アドバイス

- ガラスプレート表面を手で触れることで残る油脂分は薄層コーティング前に完全に除去します。残留油脂分があると層が接着しないことがあります。（脱脂後のプレートは必ず清浄な手袋を使用して取り扱います。）
- コーティングは迅速に行います。層は急速に硬化するため（例えば「G」層作製の場合は、ほんの数分）出来上がりにむらが生じることがあります。
- コーティング操作は一定速度で行わなければなりません。
- 層の乾燥中は室内空気の流れをしばらく止めます。通気により、層にクラックが発生することがあります。
- 装置は取扱説明書に従って、慎重に操作します。装置を誤って使用すると分離不良や再現性不良の原因になります。
- 一般に自家製プレートの質と再現性は既製プレートに劣ります。自家製は担体層の接着力が弱く、層厚にむらが生じることがあります。

3-2 薄層の準備

活性化

担体表面には多くの活性部位があります。そして、物質はこの活性部位に吸着されます。活性部位の強さ（単位面積当たりの表面エネルギー）と数（単位重量当たりの表面積）は、他の条件が一定の場合、吸着物質の量と吸着結合の安定性に影響を与えます。この2要素の寄与が大きくなると、担体の活性度が大きくなり、固定相の保持力も強くなります。従って、この活性度が大きくなると吸着-脱着平衡が吸着方向へシフトして、物質の移動距離が短くなります。それに伴い R_f 値も小さくなります。

不活性化剤（一般に極性物質）を薄層に吸着させると活性が低下します。TLCプレートは特に大気中水蒸気の影響を受けて不活性化されます。これは極性な水分子が活性部位に吸着して、担体の活性表面が減少することによります。空気中からの水の吸着と脱離の間に生じる平衡関係は僅か数分以内（2～5分）で起こります。そして、この平衡関係はもっぱら環境の相対湿度に依存します。

プレートの準備と試料のアプライには通常、数分を要します。このため、試料アプライ後の担体の活性度は実験室内空気の相対湿度に応じて影響を受けます。よって、プレートの前活性化が特別に必要な場合が起こります。再現性のあるクロマトグラフ結果はある一定条件の下でのみ得られます。活性度を正確に調整（コンディショニング）するためには、特殊な展開槽の使用をお勧めします（バリオチャンバー（カマグ社）、2槽式展開槽、水平展開槽など、セクション3-5-3参照^[17, 18]）。

アドバイス

- 分離能は活性度が大きくなるに従って高くなるとは限りません。
- 吸着平衡および活性度はあらゆる真の平衡と同様に、圧力と温度に依存します。周辺環境からの水の吸着や脱着は温度と圧力の変化により起こります。
- 活性度は試料アプライ時における吐息中の水蒸気で局所的に変化することがあります。
- 一般に層の再活性化は不要です。
- 熱帯地方で繰り返し分離操作を行う場合、層の活性化が必要となることがあります。
- 平衡に達する（活性度が安定する）までにかかる時間は層厚に依存し、層厚増加とともに長くなります。
- 一般に層の触媒作用は活性度が大きくなるにつれて増加します。溶媒の中には活性表面と接触して変化または縮合してしまうものもあります（アルミナ層とアセトンなど）。
- 標準物質は必ず試料と同じ TLC プレート上でクロマトグラフィーを行います。
- 活性度の効果は恒温恒湿な空調室内において基本的に一定レベルに維持されます。

プレートの保存、前洗浄

表面積の大きい担体は研究室の空気中に存在する水およびその他の蒸気を吸着します。また、研究室の環境に長時間曝露されたプレートは、一般に溶媒フロントまたは β -フロント部分に顕著な汚染ゾーンができます。これにより、結果に再現性が得られないことがあります。

薄層プレートのビニール包装は気体を透過するため、プレートを周囲の汚染から完全に保護することはできません。プレートを研究室の空気から保護して汚染を避けるにはプレートボックス（カマグ社）などに保管することをお勧めします。

担体はその吸着活性により、通常、周辺環境由来の汚染物質（殺虫剤、可塑剤など）を少量含んでいます。このような汚染物質はプレートの製造過程（分類作業で大量の空気と接触する場合など）で混入します。

再現性のある結果を得るためには（特に定量分析を行う場合）、プレートの前洗浄をお勧めします。一般的に、TLC層はメタノールでプレートの上端まで展開して前洗浄を行います。展開終了後、プレート上の溶媒先端に鉛筆で印をつけ、120°Cのオーブンで20分間乾燥させます。なお、メタノールは引火性のため、オーブンに入れる前にヘアードライヤーで大部分除去しておく必要があります。塵や蒸気のない環境（空のデシケーターなど）で保管したプレートは周囲の相対湿度と平衡になります。

アドバイス

- ガラス容器（デシケーター）中にプレートを保管する場合、密閉用としてグリースを使用することは避けます。
- 一般的に乾燥剤上で保管する必要はありません。

3-3 試料調製

微量分析を行う場合や試料が複雑なマトリックスを持つ場合などは、試料そのものを直接プレートにアプライせず、予め洗浄や濃縮操作（クリーンアップ）を実施します。粗試料は抽出、蒸留、昇華、析出などの方法によって、原試料から調製されます。クリーンアップされた粗試料は、クロマトグラフ分離前にさらにクリーンアップ操作を行うことがあります。試料の官能基特異的あるいは物質特異的分離は、さらなるクリーンアップ操作を行うことで理想的な状態になります^[20]。表2は、主なクリーンアップ操作を示します。

アドバイス

- 多くのクリーンアップ操作は類似実験を参考にして、経験的に決めていく必要があります。
- クリーンアップ操作のエラーは展開終了後のクロマトグラムの評価に影響を及ぼします。
- 試料の調製には必ず清浄な装置と高純度の溶媒を使用します。
- 複数の分析が実施できるよう、十分量の物質をクリーンアップします。
- 特に不安定な物質の場合、クリーンアップ後の試料はできるだけ迅速にクロマトグラフィーします。試料を一晩保管する場合は冷蔵庫に、それより長時間保管する場合は冷凍庫に入れます。

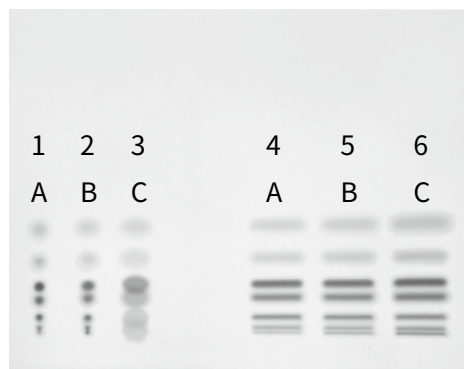
表2 主なクリーンアップ操作

操作	説明	アドバイス
溶解	主成分の溶解による直接分離（単純抽出）	<ul style="list-style-type: none"> 溶媒を直後に除去する必要があります。
液-液抽出	分液漏斗中で混合しない2つの溶媒を用いて試料を分配します。分析対象物は一方の溶媒に抽出され、不要な試料成分はもう一方の溶媒に抽出されます。	<ul style="list-style-type: none"> この方法には、十分な化学の知識が必要となります。 試料成分を、あらかじめ調べておきます。
ディスパーザブルカラムによる方法	<p>a) Extrelut カラム^[22]（ケイソウ土を含むプレパックカラム）を使用して抽出します。水系試料を直接カラムにアプライし、ケイソウ土の表面に保持させます。有機溶媒を流すことでその水系試料中の親油性物質を抽出します。</p> <p>b) LiChrolut カラム（物質を選択的に保持できる化学的修飾相をもつプレパックカラム）を用いて抽出します（固相抽出法）。</p>	<ul style="list-style-type: none"> 従来の抽出法すべてがこの方法に適合します。 乳化が回避できます。 溶媒、材料、時間が節約できます。 溶出液は純度の高いものを用います。 回収率と検出限界は、従来の抽出法よりも良好です。
特殊な TLC プレート	濃縮ゾーン付き TLC プレートによって、アプライした混合物は直線状に濃縮されます。これにより、妨害物質も除去され、試料がクリーンアップされます ^[22] 。	<ul style="list-style-type: none"> 濃縮は、特に吸着系で起こります。
誘導体化	化学反応により、試料のクロマトグラフィーにおける挙動を変えることでその取り扱いを容易にします ^[19, 23, 24] 。	<ul style="list-style-type: none"> 誘導体が元の試料よりも扱いやすくなる場合に、利点があります。
カラムクロマトグラフィー	イオン交換、吸着、分配、およびアフィニティークロマトグラフィーによる従来カラムを用いた混合物の前分離。	<ul style="list-style-type: none"> 純度に応じて、さらに処理を行います。 HPLC/TLC と直接組み合わせることが可能です。

3-4 試料のアプライ（スポッティング）

概要

原則として、試料は前処理を行ってからアプライします（セクション 3-3 参照）。試料はスポット状、直線状、いずれの形状でもアプライできます（図 18）。展開方向におけるスポットゾーンのプロードニング（広がり）はスプレー法を用いて直線状（バンドワイズ）にアプライした場合、著しく小さくなります。こうすると、よりよい分離が得られ、定量分析の結果を改善することができます。スポット状にアプライする場合、試料の溶媒が試料ゾーンのサイズに影響を及ぼします。使用する溶媒によっては、物質がスタート位置で直ちに環状クロマトグラム形にクロマトグラフィーされる場合があります（図 18）。



1,2,3: 2 μL ずつ手打ち（スポット状）
 4,5,6: 6 μL ずつ専用機器（バンド状）
 A: 試料（色素）をヘキサンに溶かしたもの
 B: 試料（色素）をトルエンに溶かしたもの
 C: 試料（色素）をメタノールに溶かしたもの

図 18 スポットアプライとバンドアプライの比較

スポット状に試料をアプライするよりもバンド状にアプライしたほうが、分離状態が確認しやすくなります。スポット状に試料をアプライした場合（1～3）は、溶媒によって分離ゾーンの重なりが見られます。バンド状の場合は、これが改善されています。

試料と標準物質は同じ溶媒に溶解します。試料アプライ後、溶媒はヘアードライヤーなどで完全に蒸発させます。溶媒の蒸発が不均一であると、物質スポット内の濃度が局所的に変化するため注意しなければなりません。一般に、薄層クロマトグラフィーでは試料 1～5 μL を、高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) では 0.1～1 μL をスポット状 (ポイントワイズ) にアプライします。試料濃度は通常、0.01%～1.00% の範囲が適切です。スタート位置 (原点) のスポットは、その最大直径が TLC では 5 mm、HPTLC では 1～2 mm を超えないようにします。試料を数回に分けてアプライすることはできる限り避けます。これは、先にアプライしたゾーンが次にアプライする時にクロマトグラフィーされてしまうためです (展開後のクロマトグラム上で、スポットは「犬の骨」形になります)。それでも、試料のアプライを繰り返す必要がある場合は、各操作間で溶媒を完全に蒸発させます。

定量実験の場合、試料と標準物質溶液はできる限り同じ成分をもつように調製します。必要であれば、同量の試料成分を標準物質溶液に加えます。添加物が存在すると、標準物質の R_f 値が変化することがあります。

プレートの準備

試料は一般にプレート下端から 12～15 mm 離れたところにアプライします。HPTLC プレートの場合は 8 mm です。最初にアプライする位置はプレートの左端から 15 mm 離します。試料と試料の間隔は TLC では 10 mm、HPTLC では 4 mm とります (図 19)。

TLC/HPTLC プレート上に鉛筆でアプライする位置を印することは避けます。これにより、層は容易に損傷を受け、クロマトグラフの結果に著しく影響を及ぼします。スポッティングガイド (図 20) やアプリケーション装置を用いるとアプライする位置を容易に決めることができます。プレート上には溶媒フロントの展開距離、およびプレート ID (何を分析したか) のみを記します。このプレート ID はプレートの上端付近に書き込みます。プレートの左あるいは右端の下端から HPTLC の場合 60 mm、TLC の場合 135～165 mm の位置に展開距離を示す印を鉛筆で小さく印します。

定量実験では既知濃度の標準物質を試料の展開方向と平行に様々な方法でアプライします。その方法は単一標準品、複数標準品を用いるのか、あるいはデータペア法 (図 21) を用いるのかによって選択します^[25]。分取実験には通常、層厚約 2 mm の 20 cm × 20 cm プレートを用います。試料はプレート下端から 2～3 cm 離れたところにアプライします。試料溶液中の物質は 200 mg までとし、スタート位置においた定規に沿ってキャピラリーもしくはシリンジでアプライします。ここで試料を複数回アプライすることは避けます。試料の多重アプライに適しているのはスプレー法 (3-4-3 参照) のみです。

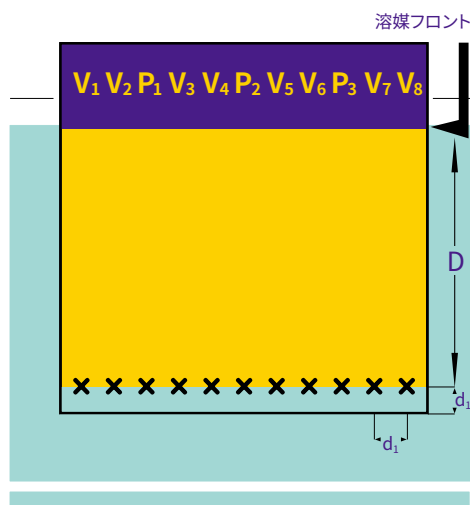


図 19 試料アプライの模式図

V_1, V_2, \dots = 標準物質、 P_1, P_2, \dots = 試料、 \times = スタート位置 (アプライした位置)、 D = スタート位置から溶媒フロントまでの距離、 d_1 = スタート位置間の距離、スタート位置とプレート底部までの距離



図 20 多目的スポッティングガイド (カマグ社)

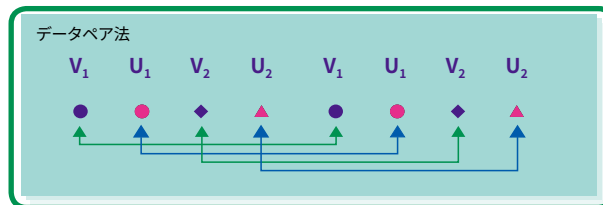


図 21 定量的 TLC における試料アプライの例 (データペア法) ^{*[26]}

V_1, V_2, \dots = 標準物質 U_1, U_2, \dots = 試料

試料のアプライ法とアプライ用装置

試料は主にキャピラリーあるいはシリンジを用いてアプライします ^{*[27]}。キャピラリーでアプライする場合、層の毛細管力だけで十分試料が流出します。シリンジアプライではプランジャの力で試料を強制的に押し出します。リノマート 5 (カマグ社) はスプレー法で、試料を N_2 ガスまたは圧縮空気で吹き付けながら薄層板にバンド上にアプライします (図 22)。また、複数の試料を自動的にアプライしたい場合は自動 TLC サンプラー 4 (ATS4) (カマグ社) を用いると便利です (図 23)。



図 22 リノマート 5 (カマグ社)



図 23 自動 TLC サンプラー 4 (ATS4) (カマグ社)

定性試験では使い捨ての毛細管を用います。定量試験の場合は既知容積の毛細管とアプリケーション装置を組み合わせます。シリンジ製のアプリケーション装置を用いると高度な正確さと精密さが得られます。標準的にアプライする試料の量は、TLCでは1～5 μL、HPTLCでは0.1～1 μLとなります。

アドバイス

- 定量分析にはできるだけ自動アプライ装置を使用します。
- 試料はキャピラリー内に完全に満たします。また、アプライする時にはキャピラリー内に試料が残らないようにします。
- 高密度の試料はアプライ前にキャピラリーから流出してしまうことがあるため注意します。高粘度溶液はその粘性により採取と流出が不完全になることがあります。また、高揮発性溶媒はアプライ前にキャピラリーから部分的に蒸発してしまいます。このような試料の場合にはスプレー法が適しています^[28]。
- 重ねてアプライするとクロマトグラフィー中にスポットが変形することがあります。これを避けるため、1回の操作でキャピラリーから層に、目的とする量の試料がアプライされるよう濃度を調節します。
- 試料をアプライしたスタート位置は展開前に必ず完全に乾燥させます^[29]。

3-5 展開

薄層クロマトグラフィーにおいて「展開」とは溶媒または混合溶媒が TLC 層を浸透していくことを意味します。溶媒は通常、毛細管力で浸透しますが、圧力をかけて浸透させることもできます。物質は溶媒によって流れの方向に輸送されます。輸送された物質は、移動相および固定相との間での相互作用により各成分に分離されます。実際、展開にはさまざまな種類があります。これは次のセクションで説明します。TLC クロマトグラムは原理的に3種の展開方法で得られます。これらは直線型展開（上昇法、水平法）、中心から外側へ向けての円形展開（円形法）、外側から中心へ向かう円形展開（逆円形法）です。

溶媒

定性分析の場合には一般的な純度の溶媒を使用します。一方、定量分析ではクロマトグラフィー用に十分精製された溶媒を用います。溶媒によっては安定化剤（CHCl₃ 中の EtOH など）が含まれており、これが分離に様々な影響を及ぼすことがあります。

溶媒組成は容量比（例：20+80, v/v）で表すのが適しています。混合溶媒の場合は必ず別々に量り取ってから混和します。これは溶媒の体積の収縮または膨張によって起こる問題を避けるためです。溶媒成分は必ず他の容器内で混和してから展開槽に移します。そして、各プレート毎に新しいものを用います。この理由は以下の通りです。

- 溶媒成分は展開槽を開封するとその揮発性の差から不均一に蒸発します。
- 溶媒成分間で化学反応が起こることがあります。
- シリカゲルを例とした場合、溶媒中に含まれる極性成分の一種または数種が展開中の層に優位に吸着されることがあります（1種または数種の溶媒成分の枯渇が生じる）。
- 2成分系混合溶媒で特に一方の成分の量が少ない場合、溶媒の枯渇が顕著に現れます。

展開の種類

● 上昇法（直線型）

上昇法は最もよく用いられます。試料をアプライしたスタートラインより下の担体層が溶媒に浸るようにして、プレートを適切な展開槽に入れます。溶媒フロントは毛細管力によって目標とする高さ（TLCで10～15 cm、HPTLCで3～7 cm）にまで上昇し、物質混合物を輸送して分離します。スポットが溶媒フロントに近づくにつれて、そのスポットのサイズが拡散により大きくなります。展開中、特に溶媒フロント部分でスポットが楕円形にひずむことがあります。溶媒フロントが予定する高さまで達したら、プレートを展開槽から取り出して溶媒フロントの位置を正確に印し（鉛筆で書く、またはスパチュラで引っかく）、プレートを乾燥させます。

● 水平法（直線型）

水平においたプレート上に、キャピラリースリットなどを用いて溶媒を浸透させます。展開は片側方向あるいは両側方向どちらからでも行えます^[30]。

● 2次元展開法（直線型）

分離する混合物をプレートの角のスタート位置にアプライします。プレートを標準型の展開槽に入れ、最初の下から上へと1回展開します。乾燥後、プレートを90°回転させ、異なる溶媒の入った別の展開槽に入れて再度展開します。最初の展開によるクロマトグラムの軌跡が2回目の展開のスタート位置になります^[31]。

2次元展開の場合も各展開に標準物質を使用できます（図24）。しかし標準物質を同じクロマトグラム上で2次元に展開することは避けます。これは試料と混ざり合ってしまうのを防ぐためです。2次元TLCの特徴は2回の展開ステップで異なる分離原理または分離メカニズムを利用できることです^[32]。

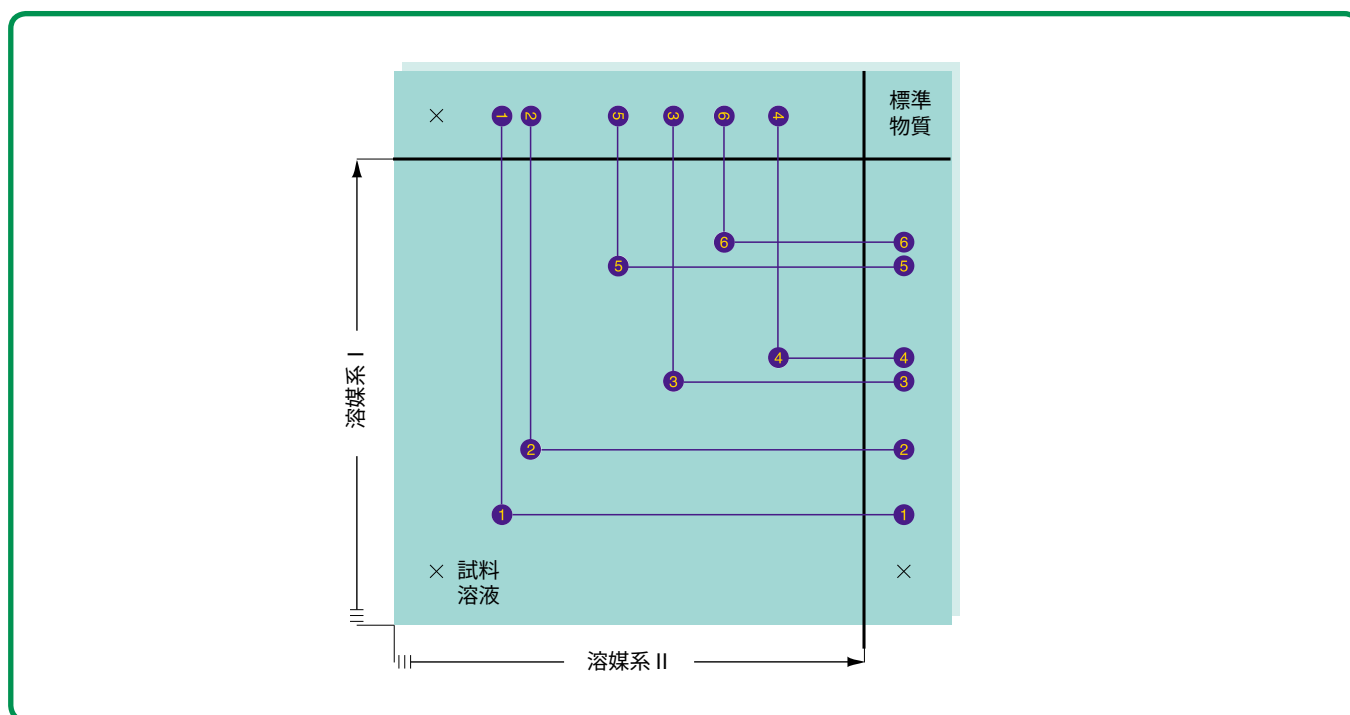


図 24 二次元展開法

1...6= 試料溶液（全面に二次元）および標準物質（へりに一次元）からの物質分離

●放射状展開法（内側から外側への円形展開）

層を水平におきます。物質を中心周りの円周上にアプライし、溶媒をこの円の中心に供給します。物質成分は溶媒とともに外側へ移動し、分離は同心円となって行われます。直線型展開と比較して、 R_f 値が小さい物質の分離に優れています（図 25）^[33]。

●放射状展開法（外側から内側への円形展開）

移動相を外縁弧周辺から供給し、中央へ移動させます。スタート位置は外側の円周上にとります（図 25）。直線型展開と比較して、 R_f 値が大きな物質の分離に優れています^[34]。

●連続展開法（オーバーラン、直線型および円形展開）

従来型の展開槽で、ふたにスリットが付いたものを使用します。これにより、溶媒は展開槽の外へ連続的に蒸発していきます。変法として、溶媒を加熱により蒸発させる方法もあります。連続展開法は通常の展開法と比較すると移動の遅い物質が良好に分離されます。これは移動速度の遅い物質は分離距離が長くなることによります。しかし良好な分離度を得るには展開時間が長く必要となります^[30]。

●多重展開法（直線型、円形展開）

一度展開した薄層プレートを展開槽から取り出し、乾燥させて、再度展開します。これにより、見掛け上の展開距離を延ばすことができます。溶媒フロントはクロマトグラムゾーン上で移動を繰り返します。またスポットは再濃縮されたり、楕円形や細い線に変形します。多重展開法を用いると通常 R_f 値が 0.5 未満の物質に対して良好な分離度が得られます。また溶媒は同一あるいは極性の異なるものを用いることができ、展開毎に分離距離を変えることもできます^[35, 36]。

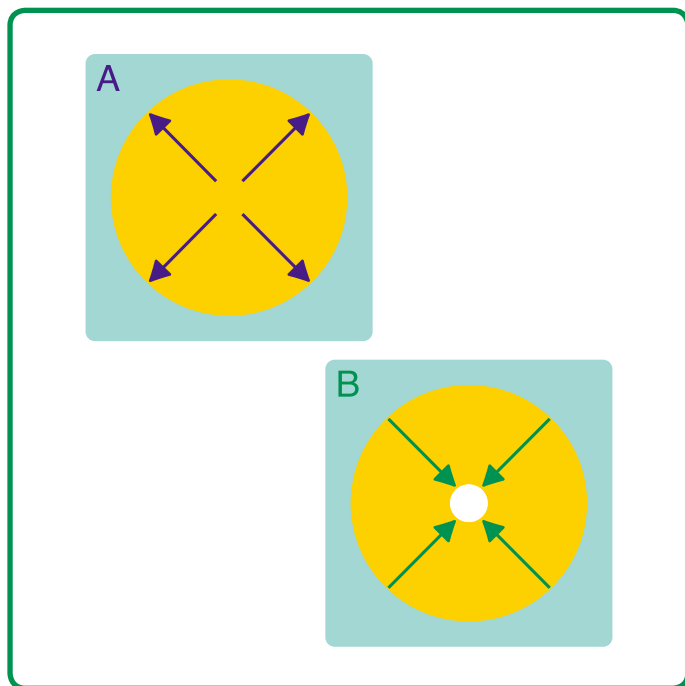


図 25 A) 円形展開 B) 逆円形展開

● AMD 法 (Automated Multiple Development、自動多重展開)

AMD 法は溶媒の極性を徐々に低くして行う多重展開（シリカゲルの場合）を完全自動化した方法です。各展開はその直前の展開よりも長い距離で行います。極性溶媒から始めるため、アプライした物質はすべて溶媒フロントとともに移動し、細い線上に集中します。そして溶媒の「勾配」により、最初に一番極性の大きい物質が移動して、最後に無極性の物質が適当な位置に分離されます。各展開は予め随意に選択することができます。また展開後は真空脱気により溶媒を除去します。AMD 法を用いると良好な分離度と選択性が得られます。

アドバイス

- 展開中に温度が変化すると溶媒フロントが不均一となるため、再現性のある結果が得られなくなります。
- 日光、通気調節装置などで、展開槽をある一方向から偏って加熱することを避けます。
- 室温の僅かな変動によって、 R_f 値が大きく影響を受けることはありません。

展開槽の種類と展開技術 ^{*[37~39]}

原理的に 2 種類の展開槽があります。気相（蒸気）空間の広い展開槽（いわゆる標準型展開槽）とその空間が非常に小さい展開槽（サンドイッチ型展開槽）です。

● 標準型展開槽

薄層クロマトグラフ実験には寸法 21 cm × 21 cm × 9 cm のガラス製標準型展開槽が最もよく使用されます。この展開槽は最大 2 枚の TLC プレート（20 cm × 20 cm）を同時に展開できます（図 26）。

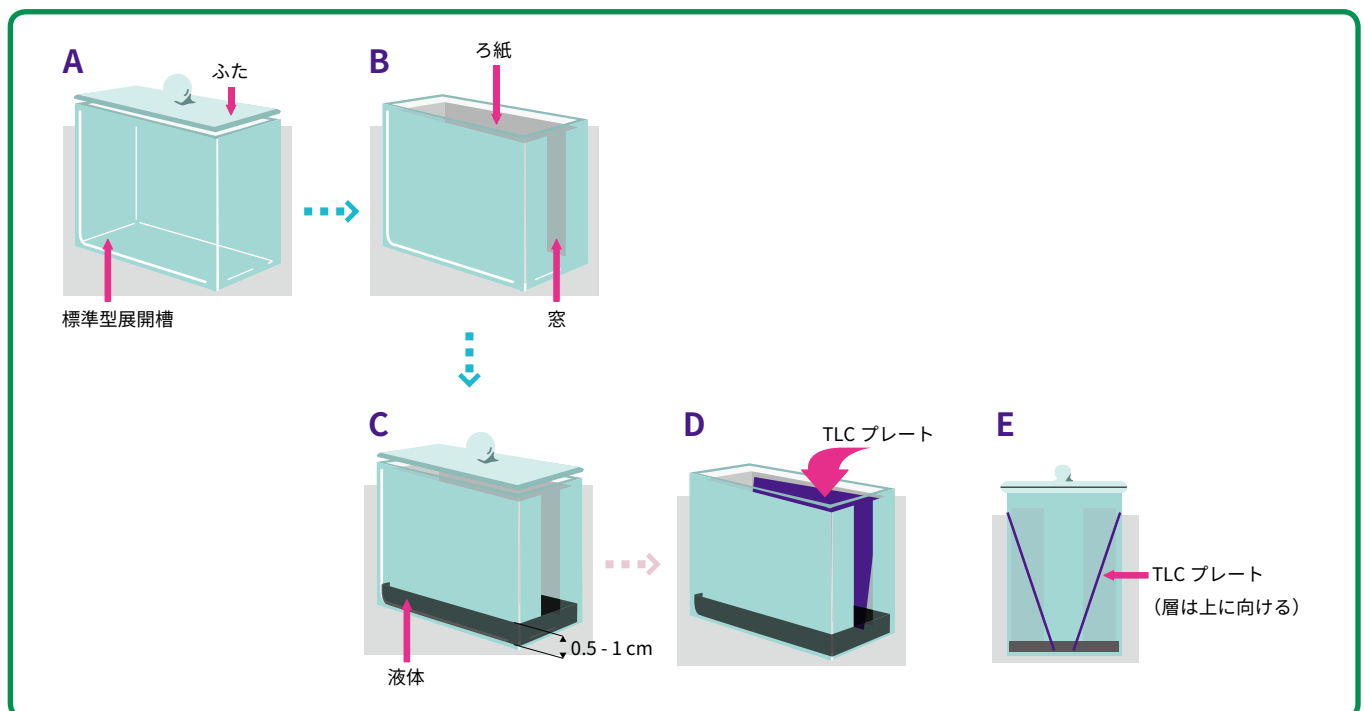


図 26 飽和槽での操作

A= 標準型展開槽；B= ろ紙を槽の内側に入れる；C= 展開溶媒をしみこませる；D=TLC プレートを挿入；E= 展開槽の側面

飽和標準型展開槽では、洗浄後、乾燥させた展開槽の内側をろ紙で覆います。このろ紙には予め切り込みを入れて窓をつくり、展開プロセスが観察できるようにしておきます。次に、約 100 mL の溶媒を展開槽の底から 0.5 ～ 1 cm の高さになるまで入れます。展開槽を慎重に傾けて、ろ紙を湿らせ、内部を蒸気で平衡化します。展開槽の蓋にグリースを塗布することは避けられます。これは密閉用のグリースが溶媒や層に移るのを防ぐためです。展開槽内が蒸気で飽和したら (5 ～ 10 分後)、TLC プレートを入れます。この時、溶媒がスタートラインにかかって物質を洗い流さないよう注意します。またプレートの縁とろ紙が接触しないよう気をつけます。接触するとプレートの縁から溶媒が浸透して、この部分に多量の溶媒が移動することになります。従って、この部分の上昇速度が速くなり、溶媒フロントが上方方向に曲がります。こうなると、正しいクロマトグラムの評価ができなくなります。展開後はプレートを展開槽から取り出し乾燥させます (換気フード内で行うことをお勧めします)。

不飽和展開槽ではろ紙を挿入しません。このため、特に溶媒フロント部分においてプレートから展開槽内蒸気空間へ溶媒が蒸発して、層上で溶媒の吸着、脱離が起こります。その結果、蒸発した溶媒を補うために多量の溶媒が移動して、 R_f 値も増加します。

● 2 槽式展開槽

2 槽式展開槽は底面に隆起があり、2 つのコンパートメントに分かれています。直線型展開 (図 27A) を行った場合、溶媒消費量 (20 cm × 20 cm のプレートで 20 mL、10 cm × 10 cm のプレートで 4 mL) は通常の展開槽より少なく、溶媒の廃棄問題も減少します。この展開槽では完全なプレコンディショニングも行えます。まずプレートが入っていない展開槽に溶媒を入れ (図 27B)、約 10 分後展開槽を傾けて溶媒を移し、展開を行います。また一方の槽に溶媒を入れ、もう一方にプレートを入れて、蒸気相を平衡化する方法もあります。平衡が生じた後、プレートを入れた槽に溶媒を流し入れ展開を開始します (図 27C)。この方法を用いるとプレートを溶媒に浸すことなく蒸気空間を様々な溶媒で予め平衡化できます。

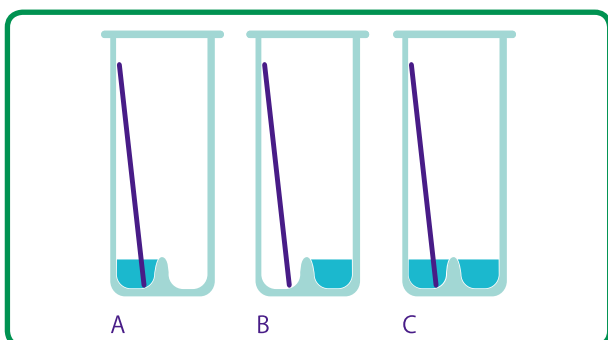


図 27 2 槽式展開槽の使用法

A= 通常展開; B= プレコンディショニング; C= 気体空間の溶媒蒸気による飽和

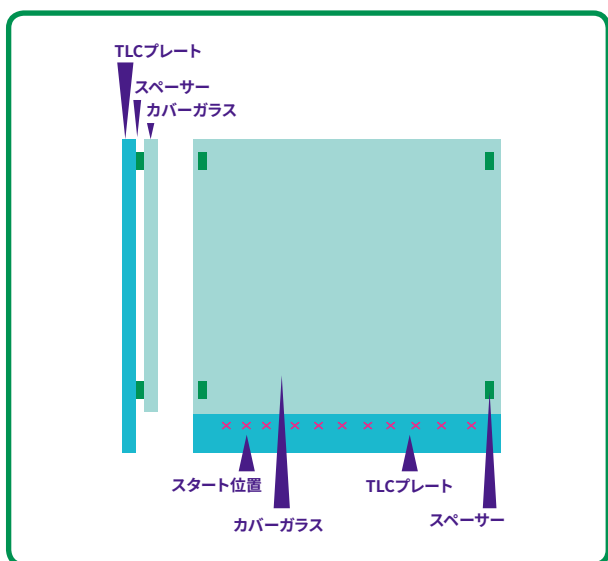


図 28 サンドイッチ型展開槽模式図



図 29 HPTLC 水平展開槽 (カマグ社)

● サンドイッチ型展開槽 (S 展開槽)

TLC プレートに厚紙かテフロン製のスペーサーなどで薄層の2方、3方を囲み (スペーサーの触れる部分の薄層は、削り取っておくとよい)、その上をガラス板で覆い、TLC プレートとしっかり止め合わせます。薄層とガラス板の間はスペーサーにより、少し隙間ができます。最下部の約2 cm 幅だけはガラス板で覆わないようにします (図 28)。ガラスのカバー板は展開時、溶媒に浸さないよう注意します。このS 展開槽は他の展開槽にも入れることができます。また理想的な不飽和展開槽にもなります。一方、溶媒を含んだ TLC プレートで覆った場合は理想的な飽和展開槽となります。担体層が溶媒蒸気で飽和されていない時、あるいは層からの溶媒蒸発を防止したい時は、サンドイッチ型展開槽の使用をお勧めします。

● 水平展開槽

水平に展開を行う展開槽です (図 29)。HPTLC プレートを中央に向かって両サイドから展開します。展開距離の短い TLC プレートにも使用でき、標準型展開槽と比べ、2 倍の数の試料を展開することができます。

● バリオチャンバー

6つの槽とプレートに6つの溝をつける装置がついています (図 30)。サンドイッチ展開あるいは通常の展開方法いずれかを用い、6つの異なる展開溶媒で同時に試験が行えます。そのため、最適な溶媒やコンディションを容易に決定することができます。

● AMD 展開槽 (Automated Multiple Development chamber)

薄層クロマトグラムの多重展開を完全自動化した展開槽です (図 31)。同方向の展開において、高い再現性が得られます。各展開毎に溶媒を取り除き、層を乾燥させます。また各展開は直前の展開よりも長い距離で行います (セクション 3-5-2 参照)。溶媒溶出力は徐々に低くなるように設定します。こうして、段階的な溶出勾配が可能になります。これにより、スポットのゾーンは展開方向に細く集中します。溶媒に勾配がついているため、幅広い異なる極性を持つ物質群が1つのクロマトグラム中で分離できます。

他にも様々な展開槽が市販されていますがここでは詳しく取り上げません。

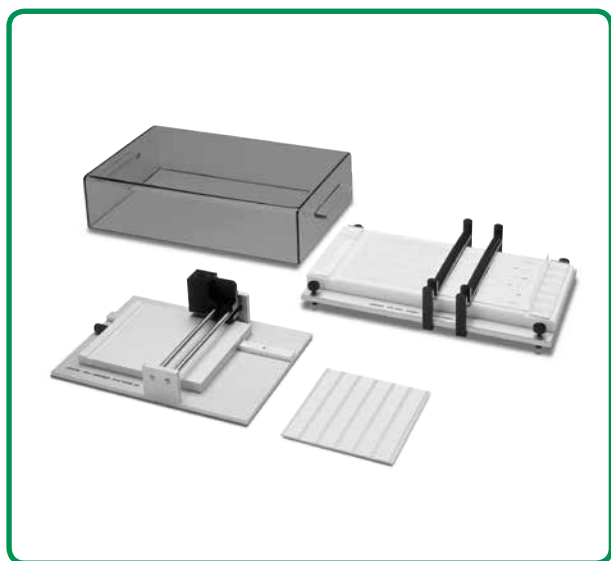


図 30 バリオチャンバー (カマグ社)



図 31 自動多重展開装置 (AMD) (カマグ社)

3-6 検出

展開後、TLC プレートを展開槽から取り出し、乾燥させて、分離物質を検出します。着色物質、蛍光を発する物質や UV 吸収物質は容易に検出できます。着色や UV 吸収がなく、また UV 光を照射したときに蛍光を発しない物質は適当な検出試薬を用いて目視できるようにします^[12,3]。

UV 照射による検出

UV 照射光を用いると分離物質が目視できるようになり、迅速かつ直接的に検出できます。市販品として、254 nm または 366 nm、あるいはその両波長の UV 光を放射する検出器があります（図 32）。検出は暗室あるいは UV ランプが予め設置されたキャビネット内で行います。

254 nm の UV 照射光を吸収する物質は F254 蛍光指示薬（254 nm で励起されて緑色蛍光を発する）を添加した層上で容易に検出できます。この場合、物質は層中の蛍光指示薬の放射を減少させ、蛍光背景に黒っぽい（暗紫色）ゾーンとして観察されます（蛍光減少または蛍光消失）。

UV 光下で励起され自ら蛍光を発する物質は蛍光指示薬がなくても層上で容易に検出されます。このような物質は UV 光下で暗背景に対し明るく輝くゾーンとして観察されます。両検出法とも検出物質の化学構造を修飾したり破壊しないため、分離した物質の分取目的に用いることができます。

誘導体化による検出

スポットが UV 照射光を吸収しない、あるいは蛍光発光しない場合は、誘導体化反応を用います^[19, 15]。検出試薬を展開前に作用させる（クロマトグラフィー前の誘導体化）、もしくは展開後に作用させる（クロマトグラフィー後の誘導体化）ことは、原理的にそれほど難しくはありません。クロマトグラフィー前の誘導体化は目視化だけでなく、分離系における試験物質の選択性の向上、あるいは不安定化合物の安定化にも役立ちます。クロマトグラフィー後の誘導体化は分離物質の目視化や検出感度向上のために役立ちます。

一般に検出試薬は TLC プレートを直接噴霧します。検出試薬の中には予め調製済みで市販されているものもあります（ローダミン B、ニンヒドリン、りんモリブデン酸など）。しかし、ほとんどのものは実験室で調製して、適切な噴霧器で噴霧します（図 33）。噴霧器は圧縮ガスまたは圧搾バルブと接続して用います。噴霧は通常、換気が十分にできるフード内あるいは溶媒蒸気を効果的に除去できる装置の下で行います。これは試薬や溶媒が腐食性または毒性をもつことが多いことによります。まず展開乾燥後の TLC プレートを少し斜めにして立てかけます。噴霧が均一な霧状になってから、噴流をプレートに向けます。通常、層が透明化し始めるまで均一に噴霧します。噴霧試薬の量が多すぎると、斜めにおいたプレートから物質が溶解したり、物質が流出することがあります。



図 32 UV ランプ（カマグ社）



図 33 スプレー装置 (カマグ社)

A=TLC オートスプレー (電動式)、B= ガラス製噴霧器 (手動式)、C=TLC スプレーキャビネット



図 34 イメージングデバイス (カマグ社)



図 35 プレートヒーターIII (カマグ社)

噴霧器の他にディッピング (浸漬) 用の装置も使用できます (図 34)。この装置は垂直方向の浸漬と取り出し、および浸漬槽内での浸漬時間 (数秒) が選択設定でき、操作過程が自動化されています^[2, 40]。展開終了後、予め試薬が混合されている層を加熱して誘導体化を行う場合もあります。なかには気体として使える試薬 (例えば芳香族化合物に対する亜硝酸ガス) や溶媒と混合できる試薬 (アミノ酸に対するニンヒドリンなど) もあります^[41, 42]。検出試薬の塗布後、反応を加速させるため、TLC プレート乾燥キャビネットに入れたり、加熱プレートに載せたりする場合があります (例えば 105 ~ 110°C で 10 ~ 15 分) (図 35)。スポットは退色するか変色するため、目視化後は直ちに印を付ける (軟らかい鉛筆で書く) ことをお勧めします。

アドバイス

- 噴霧中は常に保護メガネと実験用手袋を装着します。
- 誘導体化は化合物の化学構造を修飾または破壊します。
- 誘導体化は UV 照射による検出よりもコストがかかり煩雑です。しかし感度が格段に向上する場合があります。
- スプレー缶の呈色試薬の場合、缶中の圧縮不活性ガスは環境を汚染します。
- ディッピング（浸漬）の場合、使用する溶媒によって化合物が溶け出す恐れがあります（この場合、溶媒の極性を変えます）。またディッピング試薬中に含まれる水によって層が剥離する恐れがあります（この場合、試薬を有機溶媒と共に使用して剥離を防ぎます）。
- プレート上の物質はディッピング中に拡散することがあります。
- ディッピングの方が噴霧よりも均一に検出試薬が分散します。ディッピングは噴霧よりも実験者および環境に対する害が少ないことが知られています。
- 乾燥キャビネットで加熱する場合、熱分布を均一にするため支持体として穴の開いていない金属トレーを使用します。

3-7 評価

薄層クロマトグラムが得られたら評価を行います。評価には様々な目的にあわせて様々な方法があります。最も重要な方法について次に説明します^{*[43, 44]}。

定性的評価

定性的評価では得られたクロマトグラムから混合物試料中に存在する個々の物質の同定、純度試験、あるいは混合物の分離を行います。クロマトグラムは合成反応で用いる混合物を検査したり、合成反応経路を追跡する場合に特に役立ちます。

R_f 値（セクション 2-2 参照）は物質がクロマトグラム上で存在する位置を表します。しかし、この R_f 値はクロマトグラフィー中にさまざまな影響を受けるため、厳密に再現性のある値を得ることが困難です。従って、この値は 1 つの目安と見なすのが適切です。

同定を目的とする場合は、試験物質の R_f 値と標準物質の R_f 値を関係付ける必要があります。 R_f 値が一致していれば、だいたいの 2 つのスポットは同一物質に相当すると言えます。また、薄層クロマトグラフィーと分光学的試験（IR 分光法、NMR スペクトル分析、質量分析法など）を組み合わせることにより、さらに信頼できる同定が可能となります。

半定量的評価

半定量的評価は分析値が検出限界よりも高いか低いかを調べたり、または近似データが有効であるかどうかを確認する必要がある場合に行います。いずれの場合も、数種の濃度の対象物質を試料と平行してクロマトグラフィーを行います。評価は目視で比較したり、スポット径やその面積を測定して行います。精度は約 ± 10% です。

定量的評価

間接法、直接法の両方が定量的評価に用いられます。間接法の場合、物質を層から溶出して試験を行います。直接法の場合、評価は層上で直接行います (*in situ* 法)。

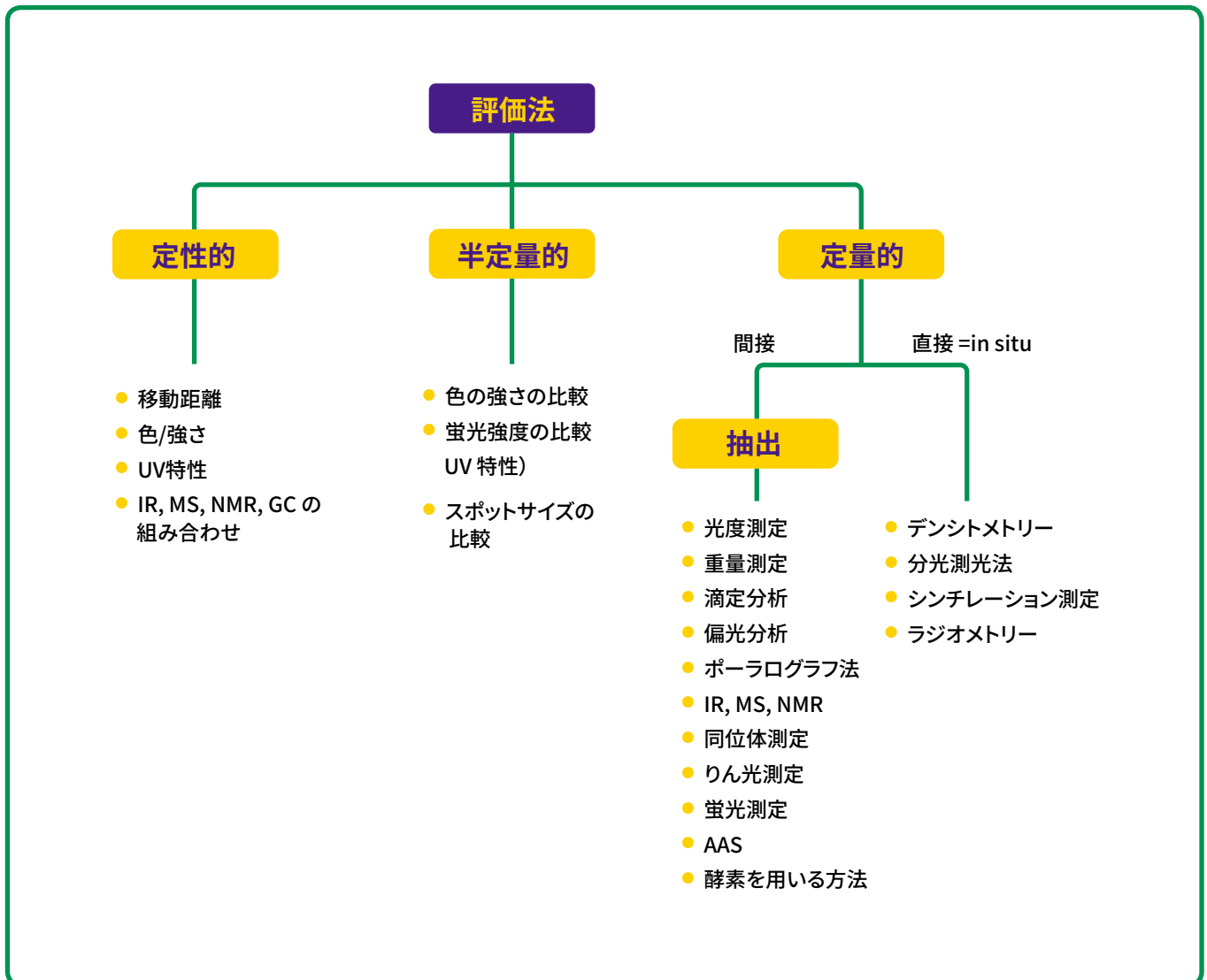


図 36 評価の方法

● 間接定量的評価

この方法は現在ではあまり重要ではありません。間接的評価の 1 つに、対象物質を検出後の層からかき取り、適切な分析技術を用いて調べる方法があります。この方法では物質は抽出時に希釈されるため再濃縮を行います。また、試料と標準物質は同一プレート上でクロマトグラフィーにかけます。

● 直接定量的評価

すべての直接定量的評価法において、試料と標準物質を同じプレートに同量アプライすることが重要です。濃度はほぼ同程度になるように、また R_f 値は 0.3 ~ 0.7 になるようにします。得られたクロマトグラムはデンストメーターでトラックごとにスキャンします。その後、ピーク高さまたはピーク面積を標準物質と試料の間で比較して評価を行います。測定には、物質の特性に応じて可視光または UV 光を照射します。この時、評価する物質が最大吸収または最大蛍光発光を示す波長で行うのが一般的です (図 37)。

間接経路で蛍光消失を測定して、定量的評価をすることは避けます。UV 指示薬の発する蛍光を消失する物質は UV_{254} を照射したときに自ら UV 照射光を吸収してしまうおそれがあるからです。このような物質には直接最大吸収波長を用いて測定した方が優れた評価結果が得られます。原則として、光の吸収は反射モードで測定します（UV 照射光はガラスやシリカゲルに吸収されます）。着色物質あるいは蛍光発光物質は透過モードでも測定できます。しかし、透過モードの測定には反射モードのそれを上回る利点は見られません。



図 37 TLC スキャナーIII (デンシトメーター) (カマグ社)

- [1] R. E. Kaiser, *GIT Fachz. Lab.* **29**, 268-269 (1985).
- [2] H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer, *Thin-Layer Chromatography-Reagents and Detection Methods*, Vol. 1 a, VCH-Verlag, Weinheim, p. 6 (1990).
- [3] A. N. Stein, *J. Chem. Education* **53**, 646 (1976).
- [4] U. Wintermeyer, *Die Wurzeln der Chromatographie*, GIT-Verlag, Darmstadt (1989).
- [5] E. Stahl (Editor), *Thin layer Chromatography – A Laboratory Handbook*, 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin (1969).
- [6] J. G. Kirchner, *Thin Layer Chromatography* - John Wiley and Sons, New York (1978).
- [7] H. Halpaap, *Kontakte (Merck)* **3**, 37 (1980).
- [8] B. Fried, J. Sherma, *Thin Layer Chromatography*, Marcel Dekker, New York, p. 4-7 (1986).
- [9] F. Geiss, *Fundamentals of Thin Layer Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, p. 3-8(1987).
- [10] K. Randerath, *Dünnschicht-Chromatographie*, Verlag Chemie Weinheim (1962).
- [11] O. Mikes, *Laboratory Handbook of Chromatographic and Allied Methods*, Ellis Horwood Ltd. Chichester, p. 472 (1979).
- [12] P. Pachaly, *Dünnschichtchromatographie in der Apotheke*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart (1982).
- [13] B. Fried, J. Sherma, *Thin Layer Chromatography*, Marcel Dekker, New York, p. 9-19 (1986).
- [14] R. E. Kaiser, HPTLC; *Journal of Chromatography Library*, Vol. 9, Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York, p. 31 (1977).
- [15] F. Geiss, *Fundamentals of Thin Layer Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, p. 2, 73 (1987).
- [16] H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer, *Thin-Layer Chromatography – Reagents and Detection Methods*, Vol. 1 a, VCH-Verlag Weinheim, p. 121 (1990).
- [17] F. Geiss, *Fundamentals of Thin Layer Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, p. 185 (1987).
- [18] P. Pachaly, *Dünnschichtchromatographie in der Apotheke*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, p. 16-18 (1982).
- [19] W. Funk, Z. Fresenius, *Anal. Chem.* **318**, 206-219 (1984).
- [20] G. Mildau, H. Jork, Z. Fresenius, *Anal. Chem.* **318**, 302-304 (1984).
- [21] Company Literature (Merck), “*Extrelut-Neues Verfahren zur Extraktion lipophiler Stoffe*”, (1978).
- [22] H. Halpaap, K-F. Krebs, *J. Chromatogr.* **142**, 823-853 (1977).
- [23] H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer, *J. Planar Chromatogr.* **1**, 280-292 (1988).
- [24] W. Funk, M. Schanze, U. Wenske, *GIT-Supplement Chromatographie* 3/83.
- [25] P. Pachaly, *Dünnschichtchromatographie in der Apotheke*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Section 3.5(1982).
- [26] H. Jork, W. Funk, W. Fischer, H. Wimmer, *Thin-Layer Chromatography – Reagents and Detection Methods*, Vol. 1 a, VCH-Verlag Weinheim, p. 132(1990).
- [27] CAMAG TLC Catalog (1987).
- [28] D. Volkmann, *GIT Fachz. Lab.* **23**, 508-512 (1979).
- [29] H. Jork, H. Wimmer, *Quantitative Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen*, Loseblattsammlung I./3-3. GIT-Verlag, Darmstadt(1982).
- [30] E. Stahl(Editor), *Thin layer Chromatography – A Laboratory Handbook*, 2nd Edition, Springer-Verlag, Berlin, p.86-105 (1969).
- [31] K. Randerath, *Dünnschicht-Chromatographie*, Verlag Chemie Weinheim, p. 51-53(1962).
- [32] B. Fried, J. Sherma, *Thin Layer Chromatography*, Marcel Dekker, New York, p. 93-94(1986).
- [33] D. Volkmann, *GIT Supplement Chromatographie* 5/84, 17-22(1984).
- [34] R. E. Kaiser, *J. High Resolut. Chromatogr., Chromatogr. Commun.* **1**, 164-168(1978).
- [35] J. A. Perry, T. H. Jupille, L. H. Glunz, *Anal. Chem.* **47**, 65A-74A(1975).
- [36] E. Stahl, *Arch. Pharm.* **292**, 411-416(1959).
- [37] F. Geiss, *Fundamentals of Thin Layer Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, p. 305(1987).
- [38] CAMAG TLC Catalog(1987).
- [39] B. Fried, J. Sherma, *Thin Layer Chromatography*, Marcel Dekker, New York, p. 100-115(1986).
- [40] W. Funk, M. Heiligenthal, *GIT Supplement Chromatographie* 5/84, 49-51 (1984).
- [41] J. C. Touchstone, T. Murawec, M. Kasparow, W. Wortmann, *J. Chrom. Sci.* **10**, 490-493 (1972).
- [42] R. Bottler, T. Knuhr, Z. Fresenius, *Anal. Chem.* **302**, 286-289(1980).
- [43] H. Jork, H. Wimmer, *Quantitative Auswertung von Dünnschicht-Chromatogrammen*, Loseblattsammlung I./3-3, GIT-Verlag, Darmstadt, Sections I./1 and I./2(1982).
- [44] F. Geiss, *Fundamentals of Thin Layer Chromatography*, Hüthig, Heidelberg, p. 420 (1987).

4 薄層クロマトグラフィー用語集

● アミノ層

Amino layer

NH₂基はスペーサーにより化学的にシリカゲル表面に結合しています。短鎖 n-アルキルグループ（例えば、n-プロピル）がスペーサーとして用いられます。アミノプロピルシリカゲルは弱塩基性陰イオン交換体です。この層は水で完全に湿潤されます。

● R_f 値

Retention factor

保持ファクター。クロマトグラム中の、物質の位置を表すために用いられる変数。

定義：スタートラインから物質スポットまでの距離をスタートラインから移動相のフロントまでの距離で割ったもの。R_f値は0から1の値をとります。その値はクロマトグラフ条件や試料中に何が含まれているかに依存します。単回展開したクロマトグラムに対してのみ適用できます。R_f × 100はhR_f値を与えます。

● 移動相

Mobile phase

毛細管現象により、多細孔 TLC 層上を前進して移動する溶媒、又は溶媒混合物（溶出系列を参照）。通常、溶媒の混合物。移動相と TLC の固定相間には局所的な平衡が起こります。展開溶媒の極性を調整するために用いられる溶媒混合系（例：ジクロロメタン-メタノール）では、活性シリカ層における強い吸着相互作用のために局所的に異なる溶媒組成の層が形成されることがあります。これにより、クロマトグラフィー過程において問題が生じることがあります。

● 移動定数 k

Mobility constant k

展開中における移動相フロントの移動速度を表します。個々の TLC 層に対して、個々の移動相は異なる定数をもちます（直線上昇においては4倍時間則に従います）。

● インプレグネーション（液相を浸込ませること）

Impregnation

TLC 層の細孔径表面に外部物質（例：エチレングリコール、液体パラフィン）を浸込ませること。スプレー、浸漬、またはクロマトグラフ展開により実施されます。

● 円形クロマトグラフィー

Circular chromatography

TLC 層を水平に配置したもの。試料は環状あるいは中心にアプライし、移動相は中心に供給します。

● 遠心クロマトグラフィー（CLC）

Centrifugal layer chromatography

微量試料分離のための分析用展開槽システム。遠心力は層における移動相の移動を加速させます。通常の展開と比較して、分離時間を短くすることができます。

● 加圧クロマトグラフィー（OPLC）

Over pressure layer chromatography

フォースフロー法。TLC/HPTLC ガラスプレートあるいはシートの表面は圧力クッションにより密封され、そのエッジは適切な高分子でシールされています。移動相は TLC 層上においてポンプにより加圧されます。分析および微量分取の両方に適します。

● 回転水平クロマトグラフィー（RPC）

Rotation planar chromatography

移動相の移動に、TLC 層の毛細管効果と共に外側に向かう放散力（遠心力）を用います。プレコート HPTLC 層は微量試料の分離に用いられます。

● 活性

Activity

あらゆる物質のクロマトグラフ系において特有の R_f 値をもたらす担体の（表面の）性質。有効な表面積と表面エネルギーによって決まります。吸着クロマトグラフィーにおいてのみ用いられます。担体の活性はその水分含量によって影響を受けるため、相対湿度により左右されます。シリカゲルと酸化アルミニウム層は 110°C 以上の乾燥棚で活性化され、（物理吸着）結合水は物理的に脱離します。これにより、最も高い活性になります（BROCKMANN による活性度 I）。残留する湿度と水蒸気への接触は、活性を活性度 V まで減少させます。

● キーゼルグール（けいそう土）

Kieselguhr

化石由来の天然アモルファスケイ酸。けいそう土とも呼ばれます。表面の活性が弱く細孔の直径が大きいため、分配クロマトグラフィーに使用されます。

● 比表面積の比較：シリカゲル 60 550 m²/g ● キーゼルグール（けいそう土） 約 1m²/g

● 逆円形クロマトグラフィー

Anticircular chromatography

試料はプレートの外側に円状にアプライします。移動相は外側から円の中心に向かって、環状に移動します。

● 逆相 (RP)

Reversed phase

親油性溶液（低粘度パラフィンなど）を浸み込ませたり、アルキルクロロシランのような物質との化学反応でシリカゲルを修飾することにより、固定相が親油性（疎水性）になること。移動相には親水性、すなわち強い水溶性をもつものを用います。

● 逆相プレコートプレート (RP プレート)

Reversed phase precoated plate

異なる鎖長のアルキルクロロシランとシリカゲルの極性シラノール基との化学反応によって固定相は逆相化します。例えば、RP2、RP8、RP18 などがあります。RP2（ジメチル）を除いて、8 や 18 とした数字はアルキル鎖の炭素原子の数を示します。疎水性の性質は鎖長が長くなると増加します。クロマトグラフィーは極性液体移動相を用いて行われます。

● 吸収

Absorption

物質による特定波長の光の吸収（吸い込み）あるいは、溶液、液体によるガス状物質の吸収。

● 吸着

Adsorption

二相間の界面で行われる可逆過程（例：固相-液相、液相-液相）。例：固相表面への物質の吸着。

● 吸着クロマトグラフィー

Adsorption chromatography

担体表面での吸着と、前進運動する移動相中への溶解との間に生じる競合的相互作用が関与する固-液相系におけるクロマトグラフ分離。

結果：個々の化合物の極性官能基に従って、混合物質の分離が行われます。シリカゲルあるいは酸化アルミニウム層（固定相）で、移動相がジクロロメタンの場合、例えば、エーテルとエステルはクロマトグラムの上部に、ケトンとアルデヒドは中間部に、アルコールはそれより下に、酸は原点付近に分離されます。

● クリーンアップ

Clean up

干渉を起こす夾雑物質を除去することによる試料の精製。例えば、抽出など。

● クロマトグラフ系

Chromatographic system

試験物質（試料）、担体（固定相）および溶媒（移動相）から成ります。クロマトグラフィーで得られた結果（例えば、 R_f 値）は特定のクロマトグラフ系にのみあてはまります。

● クロマトグラム

Chromatogram

クロマトグラフ分離の結果（展開された TLC プレート）。その記録法として、複写、写真、スケッチ、吸収または蛍光スキャンなどがあります。

クロマトグラフ展開後、個々のスポットの情報は TLC プレート上に保存されます。

- 長期間保存可能
- いつでも必要ときに参照可能
- ひと目で判定可能
- 様々な方法で分析可能

● 蛍光

Fluorescence

剛性およびπ電子系をもつ分子は適当な波長の光線の照射で励起され、通常、エネルギーの低い光線を放射します。すなわち、より長波長の可視光スペクトルを放射します。

● 蛍光指示薬

Fluorescence indicator

無色であるが、UV 吸収性のある物質を目視可能にするために使用されます。現象：蛍光消失（クエンチング）。

TLC で使用される一般的な蛍光指示薬：

1. F_{254} = マンガン活性化ケイ酸亜鉛。254 nm の波長により励起され、緑の蛍光を放射します。
2. F_{254S} = 酸に安定なアルカリ土類のタングステン酸塩。254 nm の波長で励起され、薄い青色蛍光を放射します。
3. F_{366} = 発光剤。366 nm の波長で励起され強い青色蛍光を放射します。

● 蛍光消失（クエンチング）

Fluorescence quenching

蛍光指示薬を含む層が UV 光 ($\lambda=254$ nm) で励起されるときに生じます。短波長 UV 光を吸収する無色物質は薄い青色蛍光を背景として、暗いクロマトグラムゾーンとして現れます。

● 検出

Detection

分離を評価するために、クロマトグラフ展開後、分離された物質を目視できるようにすること。物質自身のもつ固有の色調や 366 nm における自然蛍光、蛍光指示薬でコートされたプレート（蛍光消失）の使用、あるいは、適切な呈色試薬によるクロマトグラフ展開後の処理（浸漬およびスプレー法）が基本的な方法です。

● 勾配法

Gradient technique

2つの変法があります。

1. 均一層を使用します。展開中は移動相の組成の変化が起こります（勾配溶出法、AMD（自動多重展開法））。
2. 不均一層を使用します。層の性能は分離能において、'勾配'を示します。この勾配は幾つかの担体を交互に使用し、層の厚さや pH を変化させて得られます。

● 高圧水平液体クロマトグラフィー (HPPLC)

High pressure planar liquid chromatography

高圧自動円形分離法。移動相の消費は最小限に抑えられ、最適な移動相速度で極めて短時間に分離が達成されます（加圧クロマトグラフィー p.38 を参照）。

● 高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC)

High performance thin layer chromatography

吸着剤の素材（例えば、シリカゲル 60）は従来の TLC の素材より粒子径がはるかに小さく、粒度分布が狭くなります。HPTLC 層の特徴は表面が均質で薄いことです。

- 長所：● 分離が良好 ● 分析時間が短い ● 高い検出感度 ● 定量分析に適する
nl（ナノリットル）または ng（ナノグラム）の試料をアプライするだけで十分です（ナノ-TLC）。

● 固定相

Stationary phase

担体、および移動相やその他の適当な液体に対して担体表面上で固定相様を示す分子から成ります。

● コンディショニング

Conditioning

展開前における、展開槽内の乾燥した TLC 層への溶媒蒸気分子の吸着。効率よく行うには 2 槽式展開槽などを用います。

● 細孔径

Pore diameter

シリカゲルと酸化アルミニウム担体は開口した溝をもつ多孔性粒子からなり、その平均開孔径を細孔径（ポアサイズ）といいます。細孔の壁表面積の合計は内表面積となります。細孔径が小さければ小さいほど比表面積は大きくなり、吸着効果がより強くなります。これにより、大きい細孔の二酸化ケイ素、例えばシリカ 50000 ではその表面積が小さいため、ほとんど吸着効果がみられません。

● 細孔容量

Pore volume

移動相により完全に満たされる細孔担体粒子の内容積量。シリカゲル 60 の細孔容積量は約 0.65 mL/g です。測定法には FISHER AND MOTT LAU の滴定法や吸着、脱着の等温式記録法があります。

● 酸化アルミニウム

Aluminium oxide

400 ~ 700°C で水酸化アルミニウムを加熱脱水することにより調製される塩基性の反応性担体。様々な細孔径をもつものが市販されています（例：60 または 150Å、すなわち 6 または 15 nm）。

● サンドイッチ型展開槽

Sandwich chamber

気相を通してクロマトグラフの結果に影響を及ぼす移動相の効果をできるだけ削減するため、気体空間をなくした展開槽。

● シアノ層

Cyano layer

疎水性スパーサーにより、化学的に CN 基と結合した極性相を呈するシリカゲル。CN 層の極性はシリカゲルと逆相シリカゲルの中間となります。この層は水により完全に湿潤されます。

● ジオール層

Diol layer

疎水性スパーサーにより、極性官能基であるジオール基と化学結合したシリカゲル。ジオールの極性はシリカゲルと逆相シリカゲルの間にあります。この層は水で完全に湿潤されます。

● シラナイズド層

Silanized layer

RP2（ジメチル）。シリカゲル表面がジメチル基で修飾されています。

● シリカゲル

Silica gel

吸着と分配クロマトグラフィーの両方に最も頻繁に使用される担体。平均細孔は 4 および 6 nm。ケイ酸ナトリウム溶液を酸性化して脱水することにより調製されます（水ガラス）。表面のシラノール基（=Si-OH）は化学的に反応性があります。例えば、RP プレコート層は様々な鎖長のアルキルシランとシリカゲルが反応することにより形成されています。

● 試料のアプリケーション

Sample application

クリーンアップ後、試料を TLC プレートのスタートラインにアプライすること。

変法：キャピラリー又はシリンジシステムでスポット状、あるいはバンド状にアプライします。

定量的 TLC：市販されている自動試料アプリケーターは再現性を高めます。

● 自動多重展開法 (AMD)

Automated multiple development

自動多重展開装置による一次上昇展開法。多重一次元展開および、特に段階法（段階的に濃度を变化させる展開法）を使用する場合に用いられます。物質ゾーンの拡散は、各展開（25回まで）における展開距離をその直前に行った展開より長くすること、展開過程で移動相の組成を極性から非極性に変えていくことにより（濃度効果）補正されます。

● 周辺効果

Edge effect

TLC は、HPLC とは異なり開放系です。展開槽が十分に飽和していない場合はプレート周辺部からの溶媒の蒸発が起こり、同一物質の R_f 値がプレート周辺で中心より高くなる現象が起こります。この現象は移動相に浸したろ紙で展開槽の内部をおおうことで防ぐことができます（展開槽の飽和）。

● 順相

Straight phase

極性表面をもつ担体。例：シリカゲル、酸化アルミニウムなど。

● 親水性

Hydrophilic

水と結合しやすい性質。

● 親油性

Lipophilic

油に似た性質（疎水性）。

● スキャナー

Scanner

デントメーターを参照。

● セルロース（天然物、微結晶）

Cellulose (native, microcrystalline)

分配クロマトグラフィーに用いられ、アミノ酸、炭水化物、核酸誘導体、りん酸塩などのような親水性物質の分離に適する有機担体。

天然物由来繊維状および化学的に処理された微結晶（桿状）セルロースが市販されています。これら 2 種類のセルロースの分離特性は異なります。

● 選択性

Selectivity

混合物から 2 つの物質をそれぞれ分離するクロマトグラフ系の能力の程度。担体表面の化学的性質によります（例：層の活性、化学修飾のタイプ、化学反応の程度）。

● 疎水性

Hydrophobic

水と反発する（親油性）性質。

● 相対湿度

Relative humidity

ある温度において、水によるその環境の飽和の度合いを表します。担体が水を含む環境に曝露されると、それらは相対湿度に依存しながらその表面上で水分子を吸着して、平衡濃度となります。TLC 試験は 40-65% の相対湿度で行うのが一般的です。

実施上のヒント：プレコンディション層を適切な容器に入れるか、あるいは特別なコンディショニング槽に入れ、特定の相対湿度の環境（過飽和塩溶液、又は特定濃度の硫酸溶液）に曝露します。

● 多重展開

Multiple development

混合物、又は隣接する両物質の分離が向上します。展開後にプレートを乾燥して、再び展開を繰り返すことを数回行います。

変法：同一の移動相を用いるか、又は移動相を変えて行います。 $R_f < 0.5$ の物質に適します。

● 担体

Sorbent

ガラスプレート、プラスチックシートやアルミシートのような支持体にはりつけられた無機（例： SiO_2 , Al_2O_3 など）又は有機（例：セルロースなど）物質です。最も重要な担体はシリカゲル 60 です。

● 段階法

Stepwise technique

段階的に極性を変えた移動相を用いて、クロマトグラムを同一方向に展開する多重展開法。そのため、移動距離が異なります。クロマトグラフ挙動が互いに大きく異なる物質混合物の分離に最適です（AMD を参照）。

● 段高さ

Plate height, H

クロマトグラフ分離中における物質ゾーンの拡散の度合い。分離能を決定します。

● 直線上昇展開法

Linear ascending development

従来ので、最もよく使用される展開法。TLC プレートの底辺を移動相（展開溶媒中）に浸します。固定相の毛細管現象により、移動相はある高さまで上昇します。展開後、TLC プレートを展開槽から取り出し、移動相のフロントに印をつけ（ R_f 値計算用）、プレートを乾燥させます。クロマトグラフィーは一方方向にのみ実施されるため、この過程を 1 次元上昇展開法と呼びます。

● 直線水平展開法

Linear horizontal development

特別な展開装置を用いて、TLC プレートの一方あるいは両方向から展開を行います。

長所：迅速な展開で溶媒量を調節できます。両方向からのクロマトグラフィーにより、より多数の試料の処理能力が得られます。

● 展開（クロマトグラフィー）

Development (chromatography)

アプライした混合物質が移動相の移動経路の終点（フロント）に至る間に分離されること。移動相の移動方向は各展開法により決定されます（上昇法、水平法、円形展開法など）。

● 展開槽

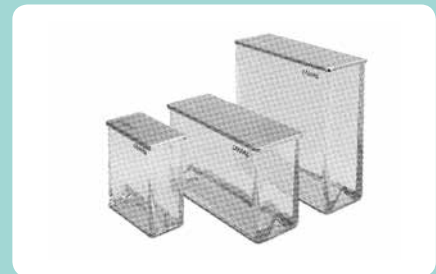
Development chamber

ガラス展開槽は最も頻繁に使用されています（直線上昇法）。

様々なサイズのものが市販されており、水平展開用の PTFE

（四ふっ化エチレン樹脂）槽も市販されています。

図 38



● 展開槽の飽和

Chamber saturation

展開前および展開中で、展開槽内における移動相の全ての成分と気体空間の全てが平衡になること。通常の展開槽では移動相で湿らした濾紙を内側に入れることで飽和させます。移動相で湿らせた濾紙を入れると、5～10 分で液相と気相間が平衡に達します。

● デンシトメーター

Densitometer

スキャナーはクロマトグラム分光光度計。クロマトグラムの定量的解析、分離物質の定性的検出（吸収又は、蛍光スキャンの記録による）および物質の定性（スペクトルの記録による）を行うための検出機器。

測定原理：TLC プレートを機械的にスキャンして、単色光を照射し拡散反射光の計測を行います。測定される物質は光の吸収があるか、または励起されて蛍光を発する必要があります。

● ナノ TLC

Nano-TLC

高性能薄層クロマトグラフィー（HPTLC）を参照。

● 二次元展開法

Two-dimensional development

混合物質を分離するために改良された操作法。試料をプレートの隅の原点にアプライして、一次元上昇展開を行います。乾燥後、クロマトグラムを 90 度回転させ、再び直線的に上昇クロマトグラフ展開を行います。そのため、最初の展開のクロマトグラムの軌跡は、2 回目の展開の原点となります。

応用：2 方向を同一あるいは異なる移動相で展開します。

● 2 槽式展開槽

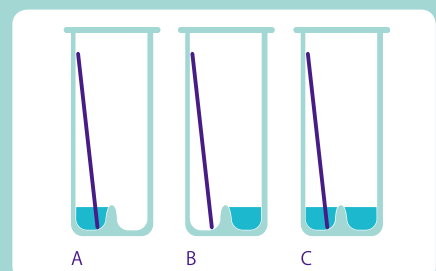
Double-trough chamber

移動相用のタンクが 2 つに分かれている上昇展開法用のガラス展開槽。

槽の予備平衡化用としても最適です。

図 39

A= 通常展開
B= プレコンディショニング
C= 気体空間の溶媒蒸気による飽和



● 濃縮ゾーン

Concentrating zone

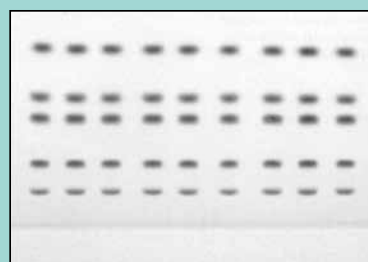
濃縮ゾーン付きのプレートではプレートの下部に濃縮ゾーンを2.5 cm（分取用 PLC では4 cm）設けています。この濃縮ゾーン内は活性度の極めて低い担体がコートされており、試料は担体との相互作用なしに分離用の担体との境界の部分まで展開溶媒の先端からの遅れなしに展開されます。そして、試料が通常の分離ゾーンに達すると分離用担体の試料に対する相互作用の影響により、試料の展開速度が急激に落ちるため、濃縮ゾーンでチャージされた試料スポットは境界面に集められます。その後、展開方向に対して濃縮された線、または長方形のスポットとなった状態で分離が行われます。この濃縮ゾーン付きプレートは多量の試料のチャージを必要とする場合や、試料内に極めてクロマトグラフィーの性質の異なる物質が混在している場合の展開に適したプレートです。



濃縮ゾーンに試料をアプライ



分離ゾーンと濃縮ゾーンとの境界に試料が濃縮



分離ゾーンでは展開方向に対し狭い範囲に分布したスポットとして分離可能

● PEI セルロース

PEI cellulose

ポリエチレンイミン修飾微結晶セルロース。モノおよびオリゴヌクレオチド、ヌクレオシドなどの陰イオン交換分離に使用します。

● 比表面積

Specific surface area

担体の比表面積は m^2/g で計測され、外側（粒子の表面積）と内側（孔の表面積）から成ります。比表面積が大きいと、試料と固定相間に強い相互作用が生じます。

比表面積の比較：シリカゲル 60 $550 \text{ m}^2/\text{g}$ シリカゲル 40 $750 \text{ m}^2/\text{g}$

● 表面品質

Surface quality

試料をアプライする際にプレート表面を確認することが大切です。何らかのダメージを受けた層は使用しないようにします。また、機器による直接的光学スキャニングを行う場合はなおさら、ダメージを受けている層の使用は避けます。プレコーティングされた HPTLC 層は特別に均一化された表面をもつのが特徴です。

● フォースフロー法

Forced flow technique

担体層の毛細管現象に加えて、圧力あるいは遠心力を利用して移動相の移動を加速すること。その結果、分離能および分離時間が使用機器との組み合わせで改良されます。

● 不飽和槽

Unsaturated normal chamber

ろ紙を槽内に入れず、クロマトグラフ展開を始める前に移動相と気相の平衡化を行いません。複数成分からなる移動相を使用する場合、移動相成分の分離が生じることがあり、その結果、クロマトグラム内に複数の溶媒フロントが形成されます（アルファ、ベータ、ガンマフロント）。極端な場合、フロントの数は移動相中の異なる極性成分の数と一致します。

● プレクロマトグラフ

Prechromatographic

クロマトグラフ展開の前処理などのための用語（物質が分離されるよう化学的に誘導することなど）。

● プレコート層

Precoated layer

ガラス、アルミニウムやポリエチレンテレフタレートなどの適切な支持体に、予め薄層状に塗布されている担体。結合剤と蛍光指示薬を含んでいる薄層が多層用されます。層の厚さは、TLC は 0.25 mm 、HPTLC は 0.1 または 0.2 mm 、PLC は $0.5 \sim 2.0 \text{ mm}$ となります。

● フロリジル

Florisil

ケイ酸マグネシウムからなる無機担体（組成：約 $15\% \text{ MgO}$ および $85\% \text{ SiO}_2$ ）。糖、糖誘導体およびその他のポリヒドロキシ化合物の分離に用いられます。

● 分取用薄層クロマトグラフィー（PLC）

Preparative layer chromatography

分取用 TLC による分離はミリグラム量の物質を精製するために用いられます。分取プレートは 2 mm までの厚さです。試料はプレートの全幅にバンド状にアプライします。分離した物質はそれが分解してしまわない方法で目視化します（UV による検出など）。物質は、層を掻き取ったあと、吸着剤から抽出することにより単離します。

● 分配クロマトグラフィー

Partition chromatography

液-液相系クロマトグラフィー。ネルンストの分配の法則に基づきます。

分離原理: 移動相と固定相における個々の成分の溶解度の差による分離 (両相は理想条件において非混和である)。TLC において、移動相が一つの相を成し、TLC 層の細孔の表面上にある液体層 (例: エチレングリコール、水、酢酸) がもう一つの相をなします。

● 分解能

Separation efficiency

TLC/HPTLC 層の性能と品質を特徴づけるもの。クロマトグラフィー中に、アプライした物質ゾーンが展開によってどれだけ拡散したゾーンになるかによって計測されます。通常、段高さ H として測定され、 H が小さいほど分離能は大きくなります (HPTLC の分離能 > TLC の分離能)。

● ポストクロマトグラフ

Postchromatographic

クロマトグラフ展開後の処理などのための用語 (物質を目視できるようにする検出反応など)。

● 溶出系列

Eluotropic series

クロマトグラフィーに適する溶媒は溶出力 (極性) に従って分類されます。極性の重要な目安となるのは誘電率です。表面張力、粘度や蒸気圧のようなパラメータも溶媒を特徴づけます。

● 溶出液

Eluent

移動相を参照。

● ラジオグラム

Radiogram

放射性標識物質を分離したクロマトグラム。

● 粒子径 / 粒度分布

Particle size, particle size distribution

これらの幾何構造的パラメータは担体の分離能を決定します。粒子径が小さければ小さいほど、そして粒度分布が狭ければ狭いほど、分解能はより高くなります。

HPTLC シリカゲルは平均粒子径が $4 \sim 6 \mu\text{m}$ で、TLC シリカゲルは平均粒子径が $10 \sim 12 \mu\text{m}$ です。

HPTLC の素材の粒度分布は $4 \sim 8 \mu\text{m}$ で、TLC シリカゲルの粒度分布は $5 \sim 20 \mu\text{m}$ です。

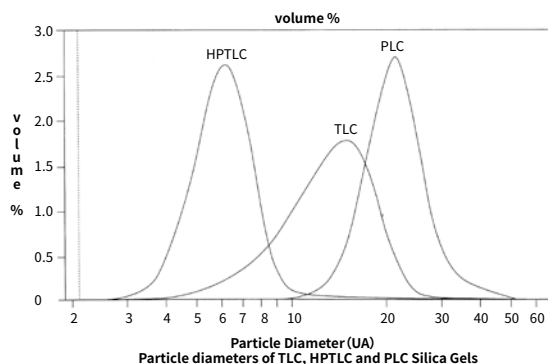


図 40 TLC, HPTLC および PLC シリカゲル上の粒度分布 (μm)

● レゾリューション (分離度)

Resolution

2 物質の分離の目安。クロマトグラムから得られる測定可能なパラメータです。ゾーンと平均ゾーン幅間の距離の比で示されます。パラメータの値は、層の分離能と選択性の相互作用に依存します。すなわち、バンドブロードニング (ゾーンの拡散) と 2 物質の R_f 値の差で決まります。

5 アプリケーション

5-1 親油性、親水性色素混合物の TLC

【概要】

親水性又は親油性色素混合物を直接プレートにアプライし、次いでクロマトグラフィーを行います。

【試薬】

- ・ 親水性色素標準品
- ・ 親油性色素標準品
- ・ 酢酸エチル (カタログ番号 109623)
- ・ 1-プロパノール (カタログ番号 100997)
- ・ 水 (カタログ番号 116754)
- ・ トルエン (カタログ番号 108325)

【器具】

- A) ・ TLC アルミニウムシートセルロース (カタログ番号 105552、5 × 7.5 cm にカット)
- B) ・ TLC アルミニウムシートシリカゲル 60 (カタログ番号 105553、5 × 7.5 cm にカット)
- ・ TLC 展開槽 (10 × 10 cm)
- ・ 5 µL 毛细管

【移動相】

A 用：1-プロパノール / 水 / 酢酸エチル
(60 : 30 : 10, v/v)

B 用：トルエン

【操作法】

色素混合物 5 µL をスポットあるいはバンド状にアプライします。親水性色素標準品は TLC アルミニウムシートセルロースにアプライし、親油性色素標準品は TLC アルミニウムシートシリカゲルにアプライします。アプライした試料を乾燥させた後、展開槽内を飽和せずに上記の各溶媒で展開を行い、クロマトグラムを得ます。

【移動時間、移動距離】

A : 30 分、5 cm

B : 15 分、7 cm



図 41 A

親水性色素 (ブリリアントブラック BN、ファストイエロー、アマランス S75、クリセン S)



図 42 B

親油性色素 (インドフェノールブルー、スダン赤 G、4-ジメチルアミノアゾベンゼン)

5-2 インクの TLC 分離

【概要】

エタノール（96%）で希釈した後、毛細管でプレートにアプライします。

【試薬】

- 水 (カタログ番号 116754)
- 1-ブタノール (カタログ番号 101990)
- 酢酸 (カタログ番号 100062)
- エタノール（96%）

【器具】

- TLC 展開槽
- 2 μL 毛細管
- HPTLC プレートシリカゲル 60 (カタログ番号 105631)

【移動相】

1-ブタノール / エタノール / 水 / 酢酸
(60 : 10 : 20 : 0.5, v/v)

【操作法】

インクをエタノール（96%）で 1 : 1 に希釈します。希釈試料 2 μL をプレートにバンド状にアプライします。飽和展開槽を用い、溶媒フロントが 8 cm の距離に移動するまで展開を行います。（フェルトペンインクも分離できます。この場合、約 1 cm の長さでスタートラインに沿って書き込みます。）

【移動時間、移動距離】

3 時間、6 cm

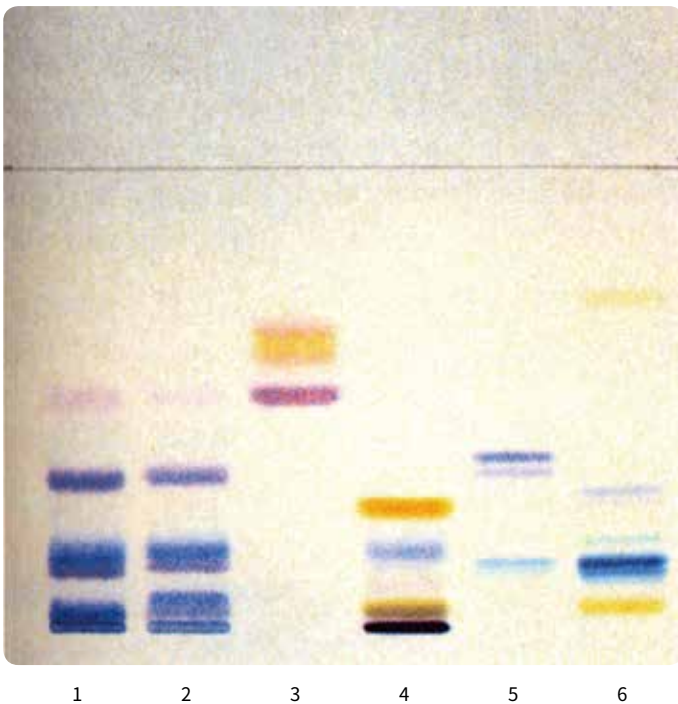


図 43 インクの TLC

1. Geha 青
2. Pelikan 青
3. Pentel 赤
4. Pelikan 黒
5. Pentel 青
6. Pentel 緑

5-3 菓子中の食用色素の分析

【概要】

色素を試料から溶出させて、ポリアミド粉末又は毛糸に吸着させます。溶出後の色素抽出物は TLC によって同定されます。

【試薬】

- ・メタノール (カタログ番号 106009)
- ・酢酸エチル (カタログ番号 109623)
- ・1-プロパノール (カタログ番号 100997)
- ・水 (カタログ番号 116754)
- ・アンモニア水 (25%) (カタログ番号 105432)
- ・ぎ酸 (100%) (カタログ番号 100264)
- ・ポリアミド 6 (カラムクロマトグラフィー用 (Serva33143))
- ・酢酸 (C=2 mol/l)
- ・石油エーテルで脱脂した羊毛
- ・海砂
- ・ガラスウール

【溶液】

▼標準品溶液

0.1% キノリンイエロー (50%EtOH 溶液) (E104)、イエローオレンジ (E110)、ポンソー 4R (E124)、エリスロシン (E127)、パテントブルー V (E131)、ブリリアントアシッドグリーン BS (E142)

▼ぎ酸のメタノール溶液 (10%)

メタノール 90 mL をぎ酸 10 mL と混和。

▼アンモニアのメタノール溶液 (5%)

メタノール 95 mL を濃アンモニア溶液 5 mL と混和。

▼アンモニア水溶液 (5%)

アンモニア水 20 mL を蒸留水 80 mL と混和。

【器具】

- ・25 mL ビーカー
- ・100 mL 時計皿
- ・TLC 展開槽
- ・クロマトグラフィーカラム (直径 2.5 cm)

- ・5 μ L 毛細管

- ・HPTLC プレートシリカゲル 60F₂₅₄ (10 × 10 cm) (カタログ番号 105628)

【移動相】

A : 酢酸エチル / 1-プロパノール / 水 (10 : 60 : 30, v / v)

B : 1-プロパノール / アンモニア溶液 (33%) / メタノール (150 : 37 : 30, v / v)

【カラムの準備】

フリット、もしくはカラムの開口部を少量のガラスウールでふさぎ海砂で覆います。

【操作法】

試料 (ゼリー、チョコレートドロップなど) 約 10 g に熱湯 20 mL を加え、色素が溶解するまで攪拌します。色素水溶液は酢酸 1 mL で酸性化し、操作法 1,2 のいずれかを用いてさらに分析を行います。

▼操作法 1) ポリアミド法

ポリアミド粉末 1 g を酸性化した試料液に加え、懸濁液を 60°C で攪拌しながら温めます。懸濁液を空のクロマトグラフィーカラムに移します。上澄み液が流出した後、残渣をぎ酸のメタノール溶液 (10%) 20 mL、次いで蒸留水 50 mL で洗浄します。溶出はアンモニアのメタノール溶液 3 mL で 2 回、メタノール 3 mL で 1 回行います。

▼操作法 2) 毛糸法

脱脂した非染色の毛糸 2 ~ 3 本を酸性化した試料液に加え、ビーカーを時計皿で覆い、内容物を数分間軽く煮沸します。毛糸を取り出し、蒸留水で洗浄します。毛糸を小さいビーカーに入れ、アンモニア水溶液 5 mL を加え、加熱し、数分間沸騰して色素を抽出します。

TLC を行う場合、抽出した色素液 5 ~ 10 μ L を対応する標準品と共にプレートにアプライします。プレートは展開槽を飽和せずに展開します。

[移動時間、移動距離]

約 1 時間、10 cm



A 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

図 44 菓子色素の TLC

1. E142
2. E131
3. 緑色菓子抽出物
4. E104
5. 黄色菓子抽出物
6. E127
7. 桃色菓子抽出物
8. E110
9. 赤色菓子抽出物
10. E124



B 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

5-4 葉緑体色素の TLC 分離

[概要]

試料（芝、葉）を乾燥後、粉碎してアセトンで処理します。石油エーテルと NaCl 溶液を加え、得られた緑の抽出物を濃縮してクロマトグラフィーを行います。

[試薬]

- ・ アセトン (カタログ番号 100014)
- ・ 2- プロパノール (カタログ番号 109634)
- ・ 軽油 (40 ~ 60°C)

[溶液]

塩化ナトリウム 10 g を水に溶かし、総容量が 100 mL になるよう調製します。

[器具]

- ・ 乳棒
- ・ 乳鉢
- ・ 50 mL メスシリンダー
- ・ 250 mL 分液漏斗
- ・ 遠心分離機
- ・ 50 mL 遠心管
- ・ 乾燥キャビネット
- ・ マイクロチャンバー
- ・ リノマート 5 (カマグ社) または 5 μ L 毛細管
- ・ HPTLC プレートシリカゲル 60 (10 \times 10 cm) (カタログ番号 105631)

[移動相]

軽油 / 2- プロパノール (45 : 5, v/v)

[操作法]

試料 5 g を乾固後粉碎します。その 1 g を分液漏斗に移し、アセトン 20 mL で 2 ~ 3 回抽出を行います。緑色の抽出物を遠心分離にかけ、分液漏斗に移します。石油エーテル 8 mL を加えた後、NaCl 溶液 20 mL で 2 回洗浄します。下部の NaCl 層を吸引して廃棄し、得られた抽出物のクロマトグラフィーを行います。リノマート 5 (カマグ社) がある場合は、500 μ L をバンド状にアプライします。手で試料をアプライする場合は、予め抽出物を 20 μ L 量まで濃縮します。

プレート表面から移動相の蒸発によって生ずるエッジ効果を避けるために、“クリップ法” (サンドイッチ型展開槽、3.5.3 章参照) の使用をお勧めします。約 0.1 mm の薄いスペーサーをプレートの左と右の端に置き、2 枚目のガラス板をスペーサーの上に載せます。2 枚のプレートの左右を 2 つのクリップでしっかりとめ、スタートラインにカバーリングプレートを置きます。この 2 枚のプレートを TLC 展開槽に入れ展開を行います。

[移動時間、移動距離]

30 分、8 cm

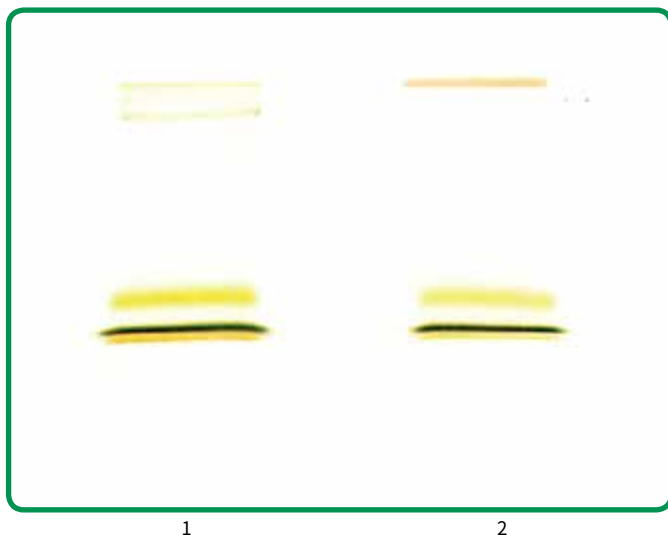


図 45 植物抽出物の TLC

1. 葉抽出物
2. 芝抽出物

5-5 生薬の TLC

[概要]

植物成分はジクロロメタン又は水蒸気蒸留で抽出されます。生薬中の精油をジクロロメタン中に溶出させ、クロマトグラフィーを行います。アニスアルデヒド / 硫酸溶液をスプレー噴霧します。

[試薬]

- ・ ジクロロメタン (カタログ番号 106050)
- ・ メタノール (カタログ番号 106009)
- ・ 酢酸 (96%) (カタログ番号 100062)
- ・ 硫酸 (95-97%) (カタログ番号 100731)
- ・ アニスアルデヒド

[溶液]

▼ スプレー試薬

アニスアルデヒド 0.5 mL に、酢酸 10 mL、メタノール 85 mL および硫酸 5 mL を、この順に混和します。

[器具]

- ・ 乳鉢
- ・ ガラス棒
- ・ TLC 展開槽 (10 × 20 cm または 20 × 20 cm)
- ・ 噴霧スプレー
- ・ 乾燥キャビネット
- ・ リノマート 5 (カマガ社)
- ・ TLC プレートシリカゲル 60F254 (10 × 20 cm または 20 × 20 cm) (カタログ番号 105729、または 105715)

[移動相]

ジクロロメタン

[操作法]

試料 1 g を乳鉢で粉碎し、ジクロロメタン 20 mL で抽出します。得られた抽出物を乾固して、ジクロロメタン 0.2 mL に溶解します。

この溶液 20 μ L をプレートにバンド状にアプライし、次いで飽和展開槽内でクロマトグラフィーを行います。乾燥後、254 nm の UV 光を照射するか、あるいは、アニスアルデヒド / 硫酸溶液をスプレー噴霧して 110°C で加熱して検出します。

(精油は水蒸気蒸留によっても得られます。抽出油の 0.01 mL をジクロロメタン 1 mL に溶解します。)

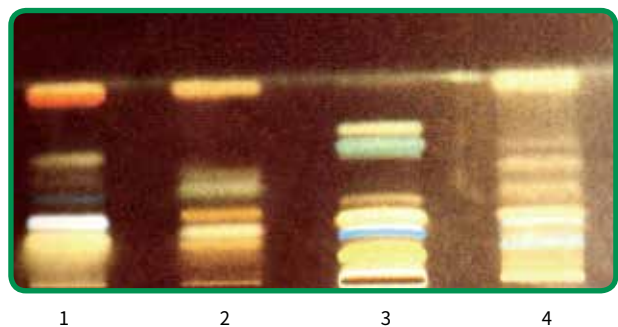
[移動時間、移動距離]

- 20 分、
- 7 cm (10 × 20 cm プレート)
- 10 cm (20 × 20 cm プレート)

図 46 精油の TLC

1. ペパーミントオイル
2. レモンオイル
3. セージオイル
4. カモミールエタノール抽出物

A) 365 nm の UV 光下



B) 可視光



5-6 保存剤の TLC 分析

[概要]

安息香酸、ソルビン酸および PHB エステルの定量的検出に適します。試料を酸性化した後、保存剤を水蒸気蒸留により分離します。ジエチルエーテル抽出物の同定は TLC 分離後、UV 光下で行います。

[試薬]

- ・ 硫酸マグネシウム（無水物）（カタログ番号 106067）
- ・ ジエチルエーテル（カタログ番号 100921）
- ・ 濃硫酸（カタログ番号 100731）
- ・ 塩化テトラエチルアンモニウム
- ・ エタノール

[溶液]

▼ 標準品液

ソルビン酸 0.1 g、安息香酸 1.0 g、
4-ヒドロキシ安息香酸エチルエステル 0.1 g、
4-ヒドロキシ安息香酸メチルエステル 0.1 g および 4-ヒドロキシ安息香酸プロピルエステル 0.1 g をメタノール 40 mL に溶解し、総容量が 100 mL になるよう蒸留水を加えます。

▼ 20% 硫酸

濃硫酸 20 mL を、冷やしながら 50 mL の水に加え、さらに総容量が 100 mL になるまで水に加えます。

[器具]

- ・ 水蒸気蒸留器
- ・ 250 mL メスフラスコ
- ・ 500 mL 分液漏斗
- ・ 500 mL メスシリンダー
- ・ TLC 展開槽
- ・ UV キャビネット
- ・ 5 μ L 毛細管
- ・ HPTLC プレート CN F_{254S}（カタログ番号 116464）

[移動相]

エタノール / 水（20 : 80, v/v） + 塩化テトラエチルアンモニウム 1.657 g

[操作法]

試料（マヨネーズ、トマトケチャップなど）10 g を硫酸マグネシウム 25 g で処理後、20% 硫酸 10 mL で酸性化して水蒸気蒸留器に移します。留出物は予め 20% 硫酸 5 mL が入った 250 mL のメスフラスコに集めます。蒸留終了後、留出物を分液漏斗に移し、ジエチルエーテル 30 mL で 2 回抽出します。集めた抽出物を約 1 mL 量になるまで蒸発させます。標準品液の各 200 nL および試料液 20 μ L をスタートラインにアプライし、展開槽を飽和せずに展開を行います。

プレートを展開槽から取り出し、乾燥後、254 nm の UV 光下で観察します。

[移動時間、移動距離]

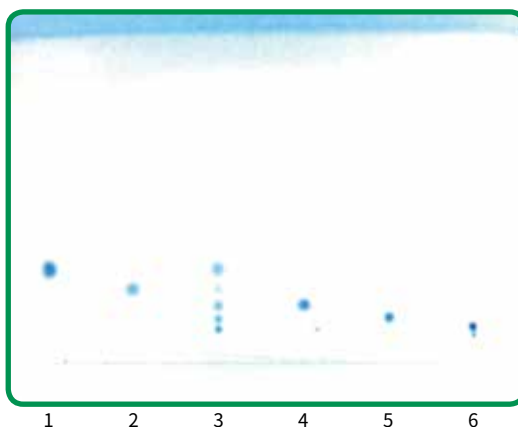
60 分、6 cm

[参考文献]

W. Jost, H. E. Hauck, W. Fischer, *Chromatographia* 21, 375(1986).

図 47 保存剤の TLC

1. ソルビン酸
2. 安息香酸
3. 標準品液の混合物
4. 4-ヒドロキシ安息香酸メチルエステル
5. 4-ヒドロキシ安息香酸エチルエステル
6. 4-ヒドロキシ安息香酸プロピルエステル



5-7 食品中のりん酸塩の TLC 検出

[概要]

りん酸塩を、トリクロロ酢酸で試料（ハム、ソーセージ）から抽出して TLC を行います。呈色試薬噴霧後、プレートを加熱して視覚化します。

[試薬]

- ・ 硝酸 (65%) (カタログ番号 100456)
- ・ 亜硫酸ナトリウム (無水物) (カタログ番号 106657)
- ・ 二亜硫酸ナトリウム (カタログ番号 106528)
- ・ 1- ブタノール (カタログ番号 101990)
- ・ メタノール (カタログ番号 106009)
- ・ 水 (カタログ番号 116754)
- ・ トリクロロ酢酸 (カタログ番号 100807)
- ・ アンモニア水 (25%) (カタログ番号 105432)
- ・ モリブデン酸アンモニウム
- ・ Photo-Rex (4- (メチル - アミノ) フェノール硫酸塩)
- ・ エタノール (50%)

[溶液]

▼ 標準品溶液

りん酸 2 水素ナトリウム、2 りん酸 4 ナトリウム、トリメタりん酸ナトリウム、トリポリりん酸ナトリウムおよびポリりん酸ナトリウムの各 100 mg を 50% エタノールに溶解し、総容量が 100 mL になるよう調製します。

▼ 呈色試薬 1

モリブデン酸アンモニウム 7.5 g を水に加え、総容量が 100 mL になるよう調製します。この溶液 100 mL に硝酸 10 mL をゆっくりに加えます（溶液は常に新しく調製します）。

▼ 呈色試薬 2

Photo-Rex 1.0 g、亜硫酸ナトリウム 2.5 g および二亜硫酸ナトリウム 150 g を蒸留水に溶解し、総容量が 500 mL になるよう調製します（溶液は冷暗所に保存します）。

▼ トリクロロ酢酸溶液 (20%)

トリクロロ酢酸 20 g を水に溶解し、総容量が 100 mL になるよう調製します。

[器具]

- ・ 磁器乳鉢
- ・ ガラス棒
- ・ ガラス漏斗 (直径 50 mm)
- ・ TLC 展開槽 (10 × 20 cm)
- ・ 乾燥キャビネット
- ・ 噴霧スプレー
- ・ 2 μ L 毛細管
- ・ HPTLC プレートセルロース 10 × 10 cm (カタログ番号 105787)

[移動相]

1- ブタノール / メタノール / 水 / トリクロロ酢酸 / アンモニア水 (25%) (35 : 35 : 25 : 5 : 0.3, v/v)

[操作法]

ソーセージ 10 g に 20% トリクロロ酢酸溶液 3 mL を加え、ガラス棒で混和します。水層抽出物をろ過後、TLC を行います。抽出物 2 μ L をプレートにバンド状にアプライします。同時に標準品溶液 2 μ L をアプライして冷気流中でそれぞれ乾燥させます。展開槽を飽和せずに、移動距離が 8 cm になるまで展開を行います。プレートを TLC 展開槽から取り出し乾燥します。

呈色試薬 1 を、層が透明になるまでプレートにスプレーして乾燥キャビネット中で 100°C に加熱します。りん酸塩は白いバックグラウンドに対して、黄色スポットを呈します。さらに発色させる場合は、呈色試薬 2 をスプレーすると、白いバックグラウンドに対し青色のスポットとなります。

[移動時間、移動距離]

90 分、7 cm

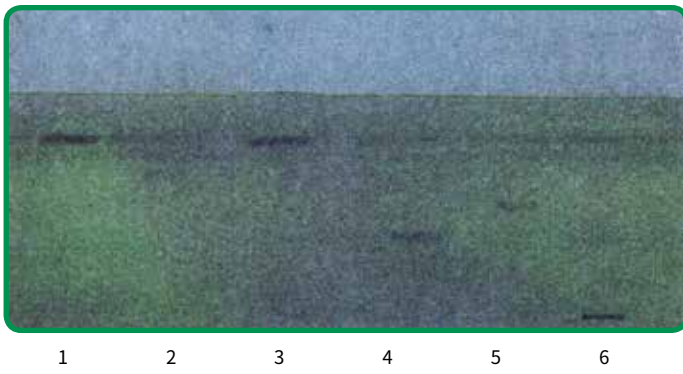


図 48 ソーセージ中のりん酸塩の検出

1. りん酸2水素ナトリウム
2. 2りん酸4ナトリウム
3. ソーセージ抽出物
4. トリメタりん酸ナトリウム
5. トリポリりん酸ナトリウム
6. ポリりん酸ナトリウム

5-8 脂肪・油の TLC 分離

【概要】

脂肪および油をクロロホルムに溶解して、そのままクロマトグラフィーを行います。りんモリブデン酸で処理して誘導体化を行い、次いで 110°C に加熱します。

【試薬】

- ・メタノール (カタログ番号 106009)
- ・りんモリブデン酸 (カタログ番号 100532)
- ・アセトン (カタログ番号 100014)
- ・アセトニトリル (カタログ番号 100003)
- ・クロロホルム (カタログ番号 102445)

【溶液】

りんモリブデン酸 1 g をメタノールに溶解し、総容量が 100 mL になるよう調製します。

【器具】

- ・ 50 mL ガラスビーカー
- ・ 5 mL 計量ピペット
- ・ 500 mL メスシリンダー
- ・ TLC 展開槽
- ・ 浸漬層または噴霧スプレー
- ・ 乾燥キャビネットまたはプレートヒーター (カマグ社)
- ・ リノマート 5 (カマグ社) または 5 μ L 毛細管
- ・ HPTLC プレート RP-18 濃縮ゾーン付き (10 \times 20 cm) (カタログ番号 115037)

【移動相】

アセトン / アセトニトリル / クロロホルム (50 : 40 : 20, v/v)

【操作法】

脂肪および油試料 10 mg をビーカーに量りとり、クロロホルム 5 mL に溶解します。

この溶液 5 μ L を毛細管を用いて、HPTLC プレート RP-18 にバンド状にアプライします。TLC 展開槽を飽和させずに展開を行います。溶媒フロントが 8 cm の高さに達したら、プレートを展開槽から取り出し、移動相を蒸発させます。1% りんモリブデン酸を入れた浸漬槽に浸すか、あるいはスプレーで噴霧して誘導体化を行います。プレートを 100°C に加熱して、可視スポットを得ます。

【移動時間、移動距離】

20 分、6 cm



図 49 脂肪、油の TLC

1. 大豆油
2. オリーブ油
3. ひまわり種油
4. 試料 (植物油)
5. 豚ラード

5-9 血液試料中のアミノ酸の TLC 検出

[概要]

血液試料を遠心分離して、透明または僅かに濁った上澄み液のクロマトグラフィーを行います。展開中、アミノ酸が分離されてきます。2度目の展開時に、移動相にニンヒドリン試薬を加え誘導体化を行い、プレートを80°Cに加熱します。

[試薬]

- ・ 1-ブタノール (カタログ番号 101990)
- ・ アセトン (カタログ番号 100014)
- ・ 酢酸 (カタログ番号 100062)
- ・ 水 (カタログ番号 116754)
- ・ ニンヒドリン (カタログ番号 106762)

[溶液]

ニンヒドリン 3.75 g を 1-ブタノール、アセトン各 25 mL の混合液 50 mL に溶解します。

[器具]

- ・ 10 mL 遠心管
- ・ 遠心分離機
- ・ TLC 展開槽
- ・ 乾燥キャビネット 80°C またはプレートヒーター (カマグ社)
- ・ 2 μ L 毛細管
- ・ アミノ酸標準品 (血漿分析用)
- ・ HPTLC プレートセルロース 10 \times 20 cm (カタログ番号 105786)

[移動相]

1-ブタノール / アセトン / 酢酸 / 水 (35 : 35 : 7 : 23. v / v)

[操作法]

血液試料を遠心管に移し、20分、3000 rpm で遠心分離します。透明か、わずかに濁った上澄みの 2 μ L をプレートにバンド状にアプライし、移動相 40 mL が入った展開槽に移します。展開槽は飽和させずに展開を行います。移動相が移動高さ 8 cm の高さに達した時点で、プレートを取り出し乾燥させます。2度目の展開を行う前、ニンヒドリン試薬 2 mL を移動相に加え、プレートを再度展開します。移動相がフロントに達した時点で、プレートを 80°C で加熱して視覚化します。

[移動時間、移動距離]

2 \times 45 分、8 cm

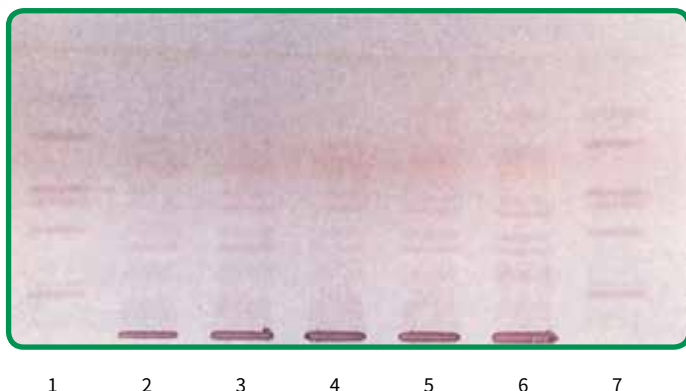


図 50 血漿中のアミノ酸の TLC

1. および 7. アミノ酸標準液
2. ~ 6. 血清

6 アプリケーションリスト

6-1 定量分析

A. 生化学、バイオテクノロジー

No.	
A-11.4	DANS- アミノ酸の定量
A-51.1	培養液中のメチオニンの定量
A-52.3	AMD（自動多重展開槽）によるリン脂質の定量
A-61.1	AMD（自動多重展開槽）によるガングリオシドの分離
A-76.1	発酵培地中のなたね油の検出

B. 臨床分野

No.	
A-01.4	血清中の carbamazepine およびその 2 種代謝物の定量
A-22.2	妊娠時における血清中 estriol の定量
A-23.1	羊水中における sphingomyelin に対するレシチンの割合（L/S 比）の定量
A-24.2	血清中のコルチゾールの定量
A-26.2	水および血清中セレンの 2,3-diaminonaphthalene（DAN）による誘導体化後の定量
A-31.1	血清中の chloramphenicol の定量
A-32.1	血清中の torazodone の定量
A-33.1	血清中の quinidine の定量
A-34.1	血清中の triamterene の定量
A-37.1	尿および血漿中の captopril の定量
A-40.1	血清中の disopyramide の定量
A-72.1	HPTLC を用いた血漿中の ornidazole 分析法の決定

C. 化粧品

No.	
A-14.3	サリチル酸およびその誘導体の定量
A-15.5	p - ヒドロキシ安息香酸とそのエステルおよび 4- メトキシ桂皮酸誘導体の定量

D. 環境分析

No.	
A-21.1	水および人血清中の無機、有機水銀の定量
A-28.7	AMD（自動多重展開槽）による飲料水中の農薬の定量
A-75.1	鉱物中に混入した 6PAHs の検出

E. 食品分析

No.	
A-03.4	子牛肉および肥育子牛の尿中 diethylstilbestrol の定量
A-07.3	モノ、ジ、トリ、およびポリサッカライドの定量
A-10.5	果汁中のビタミン C の定量
A-12.4	食品中のアフラトキシン B1,B2,G1,G2 の定量
A-13.3	食品中のカフェインの定量
A-17.2	牛乳および乳製品中のアフラトキシン M1 の定量
A-30.3	食品中の cyclopiazonic acid の定量

A-35.1	AMD（自動多重展開槽）による食肉および尿中の蛋白同化ホルモンの定量
A-36.1	AMD（自動多重展開槽）による脂肪エマルジョン中のコレステロールの定量
A-41.2	タバコ中のグリセリンの定量
A-55.2	家畜の尿および肉中の clenbuterol の定量
A-63.1	魚および魚用飼料中キノロン系抗生物質の分析
A-78.2	ワイン中の有機酸の分析
A-81.2	糖蜜中のオリゴ糖の分析

F. 医薬品、化学物質

No.	
A-09.2	降圧剤中の clopamide の定量
A-16.2	錠剤および座薬中の paracetamol, amobarbital, りん酸コデインおよびカフェインの定量
A-20.3	抗生物質 cotrimoxazole 錠中の trimethoprim (TMP) と sulfamethoxazole (SMZ) の定量
A-25.2	ラクトース、サッカロース、フルクトース、グルコースの定量
A-27.4	製剤中のビタミン B1 の定量
A-29.3	AMD（自動多重展開槽）による動物飼料中のサルファ剤、およびテトラサイクリンの定量
A-36.1	AMD（自動多重展開槽）による脂肪エマルジョン中のコレステロールの定量
A-65.2	Diclofenac-Na (Voltaren®) の含量均一性試験
A-66.1	針および植物葉中の diflubenzuron の定量
A-74.1	ラノリン軟膏中のヒドロコルチゾンおよび cinchocaine の分析
A-77.2	K acid (4-amino-5-hydroxy-1,7-naphthalenedisulfonic acid) 中の夾雑物の分析

G. 天然物、植物成分

No.	
A-18.2	甘草中のグリシルリチン酸の定量
A-59.1	β -sitosterol, β -sitosterolglucoside の定量
A-67.1	生薬中の精油の分析
A-68.2	生薬中のグリコシドの定量
A-69.2	St.John's wort 抽出物の valena N 中の hypericin の定量
A-70.1	Guarana cofertan 抽出物中のカフェインの定量
A-71.1	生薬中のカフェイン酸の定量
A-73.1	Cimicifuga racemosa 根茎中の actein の分析

H. 毒性学、裁判化学

No.	
A-04.2	ppm 領域の diazepam 副生成物の微量分析
A-38.1	尿中非代謝遊離 melleril の定量とその代謝物の検出
A-39.2	尿中の馬尿酸の定量
A-42.2	血清中の抗痙攣薬の検出
A-45.1	尿中の遊離 chlorpromazine の定量とその代謝物の検出
A-57.1	人毛髪中のモルヒネおよびモノアセチルモルヒネの定量
A-60.3	機器定量 TLC を用いた薬物のスクリーニング
A-62.1	AMD（自動多重展開槽）によるボールペンインクの変質
A-64.5	AMD（自動多重展開槽）による、繊維アゾ染料分解物の発がん性アミンの分析
A-79.1	AMD（自動多重展開槽）による織物中のアレルギー誘発染料の分析
A-80.1	皮製品における劣化アゾ染料の発癌性アミンの分析

I. ドーピング分析

No.	
A-43.2	尿中の hydrochlorothiazide (Esidrex®) の定量

A-44.1	尿中のカフェインの定量
A-46.3	尿中の furosemide (Lasix®) の定量
A-47.3	尿中の chlortalidone (Hygroton®) の定量
A-48.3	尿中の atenolol (Tenormin®) の定量
A-49.3	尿中の pemoline の定量
A-50.3	血液中の oxprenolol の定量
A-54.1	尿中の benzodiazepines の定量
A-56.1	血漿中の phenylbutazon の定量

J. 冶金、電気メッキ

No.	
A-53.1	ニッケル分解槽モニタリングのための <i>m</i> -ニトロ安息香酸の定量

6-2 フィンガープリント解析 / スクリーニング

No.	
F-01	フィンガープリント法による Valerian の同定
F-02	HPTLC を用いた <i>Schisandra berries</i> の同定
F-03	HPTLC を用いた <i>Crataegus</i> (葉および花) の同定
F-04	HPTLC を用いた <i>Astragalus</i> および <i>Hedysarum</i> の同定
F-05	HPTLC を用いた <i>Viburnum</i> 種の同定
F-06	HPTLC を用いたニンニクの同定
F-07	HPTLC を用いた柳樹皮の分析
F-08	フィンガープリント法による <i>Withania</i> (Ashwaganda) の同定
F-09	HPTLC を用いたレイシの分析
F-10A	HPTLC を用いたフィンガープリント法による Chaste tree fruits (<i>Vitex agnus castus</i>) の同定 (～水溶性フラボノイド)
F-10B	HPTLC を用いたフィンガープリント法による Chaste tree fruits (<i>Vitex agnus castus</i>) の同定 (～脂溶性植物成分)
F-10C	HPTLC を用いたフィンガープリント法による Chaste tree fruits (<i>Vitex agnus castus</i>) の同定 (～イリドイド)
F-11	HPTLC を用いた Bearberry (<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>) の葉の分析
F-12	HPTLC を用いた Horse tail (<i>Equisetum arvense</i>) の分析
F-13A	HPTLC を用いた Black cohosh (<i>Cimicifuga racemosa</i>) Part I - トリテルペングリコシドの分析
F-13B	HPTLC を用いた Black cohosh (<i>Cimicifuga racemosa</i>) Part II - 植物酸の分析
F-14	HPTLC を用いた St. John's wort の同定
F-15	HPTLC を用いた Goldenseal (<i>Hydrastis</i>) の同定
F-16A	HPTLC を用いたイチョウ中の Ginkgolides の同定
F-16B	HPTLC を用いたイチョウ中のフラボノイドの同定
F-17	HPTLC を用いた Bilberry の同定

(カマグ社提供による)

*アプリケーションリストをご希望の方は、弊社までお問い合わせください。

7 展開溶媒（移動相）の例

以下展開溶媒および文は、東京薬科大学教授 功刀 彰先生よりご提供いただきました固定相にシリカゲルを順相で用いた場合、適する展開溶媒の例を示します。

7-1 一般試料

試料	展開溶媒
ヒスタミン	アセトン / 強アンモニア水 (95 : 5) メタノール / 強アンモニア水 (20 : 1)
不揮発性腐敗アミン (チラミン、ヒスタミン、カダベリン、プトレシン)	アセトン / 強アンモニア水 (9 : 1) アセトニトリル / 強アンモニア水 (5 : 1) メタノール / クロロホルム / 強アンモニア水 (4 : 2 : 3)
単糖類、二糖類	アセトニトリル / 水 (17 : 3)
糖アルコール (ラムノース、キシロース、リボース、グルコース、ガラクトース、マンノース)	2- プロパノール / アセトン / 0.1M 乳酸 (2 : 2 : 1)
トロパンアルカロイド (アトロピン、スコポラミン)	メタノール / 強アンモニア水 (200 : 3)
バッカクアルカロイド (エルゴタミン、エルゴトキシン、エルゴメトリン)	クロロホルム / エタノール / 強アンモニア水 (93 : 7 : 0.2)
アフラトキシン B1, G1	クロロホルム / アセトン (9 : 1)
ステリグマトシスチン	ベンゼン / メタノール / 氷酢酸 (90 : 5 : 5)
オクラトキシン A	ジエチルエーテル / メタノール / 水 (94 : 4.5 : 1.5)
グリチルリチン酸	1- ブタノール / エタノール / 4M アンモニア水 (5 : 1 : 2) ブタノール / エタノール / 1% アンモニア水 (6 : 2 : 3)
サッカリン	ベンゼン / 酢酸エチル / 99.5% ぎ酸 (10 : 7 : 3)
サイクラミン酸	1- ブタノール / 強アンモニア水 (9 : 1)
D- ソルビトール D- マンニトール	酢酸エチル / 2- プロパノール / 水 (20 : 10 : 3)
可塑剤 (フタル酸エステル、アジピン酸エステル)	イソオクタン / 酢酸エチル (9 : 1) ベンゼン / 酢酸エチル (95 : 5) ジブチルエーテル / n- ヘキサン (4 : 1)
植物色素 (クロロフィル類、β- カロテン)	石油エーテル / アセトン (3 : 1)
リン脂質の分離	クロロホルム / メタノール (98 : 2) クロロホルム / メタノール / 水 (65 : 25 : 4)、(25 : 15 : 2) クロロホルム / メタノール / 氷酢酸 / 水 (25 : 15 : 2 : 2)
フタル酸エステル類	ヘキサン / 酢酸エチル (5 : 1)
トコフェロール類 (α-、β-、γ-、δ- トコフェロール)	クロロホルム / メタノール (99 : 1)
抗酸化剤 (BHA, BHT)	ヘキサン / トルエン / 氷酢酸 (10 : 10 : 1)
プリン誘導体 (カフェイン、テオブロミン、テオフィリン)	ジクロロメタン / エタノール / 強アンモニア水 (90:8.5:1.5)

7-2 医薬品

主として純度試験においてステロイド、アミノ酸、アルカロイド、類縁物質の分離と確認に多く用いられます。

a) ステロイドの試験

医薬品名称	展開溶媒
安息香酸エストラジオール	クロロホルム / ジエチルアミン (19 : 1)
エストリオール	クロロホルム / メタノール / アセトン / 氷酢酸 (18 : 1 : 1 : 1)
エナント酸メテノロン	酢酸エチル / シクロヘキサン (1 : 1)
吉草酸ベタメタゾン	クロロホルム / メタノール (9 : 1)
酢酸コルチゾン	1,2-ジクロロエタン / メタノール / 水 (470 : 30 : 1)
酢酸プレドニゾン	1,2-ジクロロエタン / メタノール / 水 (470 : 50 : 1)
酢酸メテノロン	酢酸エチル / シクロヘキサン (1 : 1)
ノルゲストレル	ジクロロメタン / 酢酸エチル (2 : 1)
ヒドロコルチゾン	クロロホルム / エタノール (7 : 3)
フルオキシメステロン	トルエン / エタノール / 酢酸エチル (3 : 1 : 1)
フルオシノジド	クロロホルム / メタノール (97 : 3)
フルオロメトロン	ジクロロメタン / アセトン / メタノール (45 : 5 : 1)
プレドニゾン	アセトン / トルエン / ジエチルアミン (55 : 45 : 2)
プロゲステロン	クロロホルム / ジエチルアミン (19 : 1)
プロピオン酸テストステロン	クロロホルム / ジエチルアミン (19 : 1)
プロピオン酸ドロスタノロン	n-ヘプタン / 酢酸エチル (9 : 1)
プロピオン酸ベクロメタゾン	1,2-ジクロロエタン / メタノール / 水 (475 : 25 : 1)
ベタメタゾン	ジクロロメタン / ジエチルエーテル / メタノール / 水 (385 : 75 : 40 : 6)
メストラノール	クロロホルム / 無水エタノール (29 : 1)
メチルテストステロン	クロロホルム / ジエチルアミン (19 : 1)
メチルプレドニゾン	ジクロロメタン / ジエチルエーテル / メタノール / 水 (385 : 75 : 40 : 6)

b) アミノ酸の試験

医薬品名称	展開溶媒
カイニン酸	水 / 1-ブタノール / 氷酢酸 (5 : 4 : 1)
L-イソロイシン	1-ブタノール / 水 / 氷酢酸 (3 : 1 : 1)
L-カルボシステイン	
トリプトファン	
L-バリン	
L-フェニルアラニン	
L-メチオニン	

c) アルカロイドの試験

医薬品名称	展開溶媒
アジマリン	クロロホルム / アセトン / ジエチルアミン (5 : 4 : 1)

d) 類縁物質の試験

医薬品名称	展開溶媒
アモキサピン	エタノール / 氷酢酸 (9 : 1)
イオトロクス酸	トルエン / アセトン / ぎ酸 (6 : 4 : 1)
イソソルピド	エタノール / シクロヘキサン (1 : 1)
イブプロフェン	ヘキサン / 酢酸エチル / 氷酢酸 (15 : 5 : 1)
インドメタシン	無水エーテル / 氷酢酸 (100 : 3)
ウルソデスオキシコール酸	クロロホルム / アセトン / 氷酢酸 (7 : 2 : 1)
エスタゾラム	ヘキサン / クロロホルム / メタノール (5 : 3 : 1)
エタクリン酸	クロロホルム / 酢酸エチル / 氷酢酸 (6 : 5 : 2)
エチオナミド	クロロホルム / メタノール (9 : 1)
エナント酸フルフェナジン	アセトン / ヘキサン / 強アンモニア水 (16 : 6 : 1)
エノキサシン	1- ブタノール / 水 / 氷酢酸 (3 : 1 : 1)
エピリゾール	イソプロピルエーテル / エタノール / 水 (23 : 10 : 2)
塩化エドロホニウム	メタノール / クロロホルム / 強アンモニア水 (16 : 4 : 1)
オキサゾラム	トルエン / アセトン (8 : 1)
オキサプロジン	酢酸エチル / 氷酢酸 (99 : 1)
オキセサゼイン	イソプロピルエーテル / テトラヒドロフラン / メタノール / 強アンモニア水 (24 : 10 : 5 : 1)
カフェイン	クロロホルム / エタノール (9 : 1)
カルバマゼピン	トルエン / メタノール (19 : 1)
カルモフル	トルエン / アセトン (5 : 3)
グアイフェネシン	ジエチルエーテル / エタノール / 強アンモニア水 (40 : 10 : 1)
クリノフィブラート	クロロホルム / シクロヘキサン / 氷酢酸 (12 : 5 : 3)
クロキサゾラム	トルエン / アセトン (5 : 1)
クロチアゼパム	クロロホルム / アセトン (5 : 1)
クロナゼパム	ニトロメタン / アセトン (10 : 1)
クロルジアゼポキシド	酢酸エチル / 無水エタノール (19 : 1)
クロルプロパミド	シクロヘキサン / 3- メチル -1- ブタノール / メタノール / 強アンモニア水 (15 : 10 : 5 : 1)
ケトプロフェン	四塩化炭素 / 氷酢酸 (9 : 1)
ジアゼパム	酢酸エチル / ヘキサン (1 : 1)
ジソピラミド	1- ブタノール / 水 / 強アンモニア水 (45 : 4 : 1)
シメチジン	酢酸エチル / メタノール / 強アンモニア水 (21 : 2 : 2)
スルピリド	1- ブタノール / 水 / 氷酢酸 (4 : 2 : 1)
スルファミチゾール	酢酸エチル / 氷酢酸 (20 : 1)
スルファモノメトキシ	1- ブタノール / 強アンモニア水 (4 : 1)
スルフィンピラゾン	クロロホルム / 氷酢酸 (4 : 1)
チニダゾール	酢酸エチル / ジエチルアミン (19 : 1)
テオフィリン	アセトン / クロロホルム / メタノール / 1- ブタノール / 強アンモニア水 (3 : 3 : 2 : 2 : 1)
テガフル	クロロホルム / エタノール (5 : 1)
トフィソパム	酢酸エチル / アセトン / メタノール / ぎ酸 (24 : 12 : 2 : 1)
トラピジル	クロロホルム / エタノール / 氷酢酸 (85 : 13 : 2)
トリウムテレン	酢酸エチル / 強アンモニア水 / メタノール (9 : 1 : 1)
トレピプトン	イソプロピルエーテル / アセトン / 水 / ぎ酸 (100 : 30 : 3 : 3)
ナプロキセン	ヘキサン / ジクロロメタン / テトラヒドロフラン / 氷酢酸 (50 : 30 : 17 : 3)

ナリジクス酸	エタノール / クロロホルム / アンモニア試液 (7 : 2 : 1)
ニトラゼパム	ニトロメタン / 酢酸エチル (17 : 3)
ノスカピン	アセトン / トルエン / 無水エタノール / 強アンモニア水 (60 : 60 : 9 : 2)
ヒメクロモン	クロロホルム / エタノール (10 : 1)
フェンブフェン	ジクロロメタン / メタノール / 水 (80 : 20 : 3)
プラゼパム	クロロホルム / アセトン (9 : 1)
フルオロウラシル	酢酸エチル / アセトン / 水 (7 : 4 : 1)
フルジアゼパム	クロロホルム / 酢酸エチル (10 : 7)
フルシトシン	酢酸エチル / メタノール / 水 (5 : 3 : 2)
フルラゼパム	シクロヘキサン / アセトン / 強アンモニア水 (60 : 40 : 1)
フロプロピオン	ヘキサン / 無水エタノール / 氷酢酸 (40 : 20 : 1)
ブロマゼパム	酢酸エチル / 強アンモニア水 / 無水エタノール (38 : 1 : 1)
ベンズプロマロン	クロロホルム / アセトン / 氷酢酸 (100 : 2 : 1)
ミコナゾール	ヘキサン / クロロホルム / メタノール / 強アンモニア水 (60 : 30 : 10 : 1)
メタゼパム	シクロヘキサン / アセトン / 強アンモニア水 (60 : 40 : 1)
メチラボン	クロロホルム / メタノール (15 : 1)
メトキサレン	クロロホルム / ヘキサン / 酢酸エチル (40 : 10 : 3)
メトクロプラミド	1- ブタノール / 強アンモニア水 (19 : 1)
メフェナム酸	2- ブタノール / 強アンモニア水 (3 : 1)
リドカイン	酢酸エチル / エチルメチルケトン / 水 / ぎ酸 (5 : 3 : 1 : 1)

e) 漢方薬の成分定量

医薬品名称	展開溶媒
バイカリン	1- ブタノール / 水 / 氷酢酸 (7 : 2 : 1)
グリチルリチン酸	1- ブタノール / 水 / 氷酢酸 (4 : 2 : 1)

7-3 展開溶媒使用上の注意

- TLCのプレートを浸透する溶媒の容量は各点で異なり一定していません。また、プレートの各点で保持される移動相溶媒の量は液面からの距離に関係があります（移動相溶媒量のプロファイルはS字型を示し、プレートの下部では十分湿っており、先端は乾いています）。そこで、蒸気密度の異なる混合溶媒を用いるときには溶媒蒸気の飽和に注意します。
- メタノール、水、氷酢酸等を少量含む混合溶媒ではデミキシング（非極性成分のフロントと極性成分によるβ-フロントができる）が起こることがあるのでチャンバーの飽和に注意します。
- 揮発しやすい成分（エーテル、アセトン、強アンモニア水）を含む展開溶媒を用いるときには溶媒の組成の変化に注意を要します。特に強アンモニア水を含む溶媒系では経時的に組成が変化し、最終的には強アンモニア水の代わりに水を加えた場合と同じ組成になるので、1～2枚展開する毎に新しい溶媒にすると再現性の良い結果が得られます。

7-4 展開用溶媒一覧

7-1 および 7-2 で用いた展開溶媒と同等の弊社製品を下記に示します。

溶媒名	カタログ番号
アセトニトリル (Acetonitrile)	100003
アセトン (Acetone)	100014
イソオクタン (Isooctane)	104727
ジイソプロピルエーテル (Diisopropyl ether)	100867
ジエチルエーテル (Diethyl ether)	100921
ぎ酸 (Formic acid)	100264
クロロホルム (Chloroform)	102445
酢酸エチル (Ethyl acetate)	109623
ジエチルアミン (Diethylamine)	803010
1,2-ジクロロエタン (1,2-Dichloroethane)	113713
シクロヘキサン (Cyclohexane)	109666
ジクロロメタン (Dichloromethane)	106050
ジブチルエーテル (Dibutyl ether)	802892
テトラヒドロフラン (Tetrahydrofuran)	109731
トルエン (Toluene)	108325
ニトロメタン (Nitromethane)	820894
氷酢酸 (Acetic acid (glacial))	100063
1-ブタノール (1-Butanol)	101990
2-ブタノール (2-Butanol)	109630
エチルメチルケトン (Ethyl methyl ketone)	109708
2-プロパノール (2-Propanol)	109634
n-ヘキサン (n-Hexane)	104367
n-ヘプタン (n-Heptane)	104379
ベンゼン (Benzene)	101783
水 (Water)	116754
メタノール (Methanol)	106009
イソアミルアルコール (Isoamyl alcohol)	100979

8 文献リスト

A. 医薬品

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
A. El-Gindy, A. Ashour, L. Abdel-Fattah and MM. Shabana	Spectrophotometric and HPTLC-densitometric determination of lisinopril and hydrochlorothiazide in binary mixtures. (混合物中の lisinopril 及び hydrochlorothiazide の分光光度定量及び HPTLC によるデンストメトリー定量)	J. Pharm. Biomed. Anal. 25 , 923-931(2001)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
A. El-Gindy, A. Ashour, L. Abdel-Fattah and MM. Shabana	Application of LC and HPTLC-densitometry for the simultaneous determination of benazepril hydrochloride and hydrochlorothiazide. (Benazepril hydrochloride 及び hydrochlorothiazide の同時定量における LC 及び HPTLC デンストメトリーの応用)	J. Pharm. Biomed. Anal. 25 , 171-179(2001)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
D. Kowalczuk and H. Hopkala	Videodensitometric HPTLC determination of Fleroxacin, Sparfloxacin, and Cinoxacin in tablets. (HPTLC のビデオデンストメトリーによる錠剤中 Fleroxacin, Sparfloxacin 及び Cinoxacin の定量)	J. Planar Chromatogr. 14 , 126-129(2001)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
SA. Shah, MV. Ravishankara, A. Nirmal, C.J. Shishoo, IS. Rathod and BN. Suhagia	Estimation of individual sennosides in plant materials and marketed formulations by an HPTLC method. (HPTLC による植物原料及び市販製剤中のセンノシドの評価)	J. Pharm. Pharmacol. 52 , 445-449 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
AP. Argekar and SG. Powar	Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography. (HPTLC による錠剤中のアテノロール及び amlodipine の同時定量)	J. Pharm. Biomed. Anal. 21 , 1137-1142 (2000)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
B. Malawska, K. Kulig and M. Wisniewska	Determination of the lipophilicity of antiarrhythmic and antihypertensive 1-[2-hydroxy- or 1-[2-acetoxy-3-(4-aryl-1-piperazinyl) propyl]-pyrrolidin-2-one derivatives. (不整脈治療剤及び降圧剤の 1-[2-ヒドロキシ-又は 1-[2-アセトキシ-3-(4-アリル-1-ピペラジニル)プロピル]-ピロリジン-2-オン誘導体の親油性の決定)	J. Planar Chromatogr. 13 , 187-190 (2000)	TLC (RP-18 F _{254S})
S. Eric, D. Agbaba, S. Vladimirov and D. Zivanov-Štakic	The retention behavior of several semisynthetic cephalosporins in planar chromatography. (平板クロマトグラフィーにおける半合成セファロスピンの保持性)	J. Planar Chromatogr. 13 , 88-92 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
S. M. Petrovic, M. Sakac and S. Jovanovic-Santa	Steroid structure and retention in normal- and reversed-phase thin-layer chromatography. (順相及び逆相 TLC におけるステロイド構造と保持性の関係)	J. Planar Chromatogr. 13 , 106-113(2000)	HPTLC (silica gel 60, RP-8 F _{254S} , RP-18 F _{254S})
G. Inrayanto, L. Aditama, W. Tanudjaja and S. Widjaja	Simultaneous densitometric determination of betamethasone valerate and clotrimazole in cream, and its validation. (デンストメトリーによる軟膏中の吉草酸ベタメタゾン及びクロトリマゾールの同時定量とその評価)	J. Planar Chromatogr. 11 , 201-204 (1998)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
R.T.Sane, M. Francis and A. R. Khatri	High-performance thin-layer chromatographic determination of etodolac in pharmaceutical preparations. (HPTLC による製剤中の etodolac の定量)	J. Planar Chromatogr. 11 , 211-213(1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
X. Xu and J. T. Stewart	Quantitative analysis of propantheline bromide and related compounds in drug substance and tablet dosage from by HPTLC and scanning densitometry. (HPTLC 及びスキャニングデンストメトリーによる製剤原料及び錠剤中の臭化プロパンテリンとその関連化合物の定量分析)	J. Planar Chromatogr. 11 , 222-224 (1998)	HPTLC (silica gel RP-18 WF _{254S})
Z. Fatér, G. Tasi, B. Szabady and S. Nyiredy	Identification of amphetamine derivatives by uni-dimensional multiple development and two-dimensional HPTLC combined with postchromatographic derivatization. (ポストクロマトグラフ誘導体化を伴った一次元多重展開及び二次元展開 HPTLC によるアンフェタミン誘導体の同定)	J. Planar Chromatogr. 11 , 225-229(1998)	HPTLC (NH ₂ F _{254S})
I. Klebovich, J. Szúnyog and I. Hazai	TLC-DAR for the analysis of biological samples. A newly developed rapid tool for studying drug metabolism. (TLC-DAR による生化学的試料の分析。薬物代謝研究のために新しく開発された迅速ツール)	J. Planar Chromatogr. 10 , 399-405 (1997)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
D. Müller and S. Ebel	Two-dimensional thin-layer chromatographic separation of H ₁ -antihistamines. (H ₁ 抗ヒスタミン剤の二次元 TLC 分離)	J. Planar Chromatogr. 10 , 420-426 (1997)	TLC (silica gel 60 F _{254S}), HPTLC(RP-18 WF _{254S} , CN F _{254S})
T. Greshock and J. Sherma	Analysis of decongestant and antihistamine pharmaceutical tablets and capsules by HPTLC with ultraviolet absorption densitometry. (紫外吸収デンストメトリーを用いた HPTLC による抗ヒスタミン剤及び消炎剤の分析)	J. Planar Chromatogr. 10 , 460-463 (1997)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
L. Magyar and B. Elek	Study of some official pharmaceutical preparations in the Sixth Edition of Formule Normales by thin-layer chromatography. (The Sixth Edition of Formule Normales における薬局方医薬品の TLC による検討)	Acta. Pharm. Hung. 60 , 77-83(1990)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)

B. 生化学

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
S. Kimura, H. Nishida and T. Iyanagi	Effects of flavin-binding motif amino acid mutations in the NADH-cytochrome b ₅ reductase catalytic domain on protein stability and catalysis. (NADH-チトクローム b ₅ リダクターゼの触媒部位に存在するフラビン結合モチーフのアミノ酸変異が及ぼすタンパク質安定性と触媒作用への影響)	J. Biochem. 130 , 481-490 (2001)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
K. Higaki, H. Ninomiya, Y. Sugimoto, T. Suzuki, M. Taniguchi, H. Niwa, P. G. Pentchev, M. T. Vanier and K. Ohno	Isolation of NPC1-deficient Chinese hamster ovary cell mutants by gene trap mutagenesis. (遺伝子トラップ突然変異誘発による NPC1 欠損チャイニーズハムスター卵巣細胞変異体の単離)	J. Biochem. 129 , 875-880 (2001)	TLC (silica gel 60)
S. Araki, S. Yamada, S. Abe, H. Waki, K. Kon, S. Itonori, M. Sugita and S. Ando	Characterization of a novel triphosphonoctaosylceramide from the eggs of the sea hare, <i>Aplysia kurodai</i> . (アメフラシ (<i>Aplysia kurodai</i>) 卵中の新規トリフォスフォノオクタオシルセラミドのキャラクタリゼーション)	J. Biochem. 129 , 93-100 (2001)	HPTLC (silica gel 60)
K. Sakaguchi, N. Okino, N. Sueyoshi, H. Izu and M. Ito	Cloning and expression of gene encoding a novel endoglycoceramidase of <i>Rhodococcus sp.</i> strain C9. (<i>Rhodococcus sp.</i> C9 株の新規エンドグリコセラミダーゼをコードしている遺伝子のクローニングと発現)	J. Biochem. 128 , 145-152 (2000)	TLC (silica gel 60)
K. Nakata	Rescuing activity of galactoglycerolipids from cellular lesions induced by 5-aminolevulinic acid. (5-アミノレブリン酸によって誘起された細胞性障害からのガラクトグリセロリポイドのレスキュー活性)	J. Biochem. 127 , 813-819 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
O. Satoh, H. Imai, T. Yoneyama, T. Miyamura, H. Utsumi, K. Inoue and M. Umeda	Membrane structure of the hepatitis B virus surface antigen particle. (B型肝炎ウイルス表面抗原粒子の膜構造)	J. Biochem. 127 , 543-550 (2000)	TLC (silica gel 60)
E. V. Degterev, W. G. Degtiar, B. V. Tyaglov, V. Tyaglov, A. P. Tarasov, V. M. Krylov, I. I. Malakhova and V. D. Krasikov	Quantitative analysis of L-Tryptophan in fermentation broth. (培養液中のL-トリプトファン定量分析)	J. Planar Chromatogr. 13 , 191-194 (2000)	TLC (silica gel 60)
W. G. Degtiar, B. V. Tyaglov, E. V. Degterev, V. M. Krylov, I. I. Malakhova and V. D. Krasikov	Quantitative analysis of L-Lysine, L-Threonine, L-Homoserine and Cobalamines in fermentation broth. (培養液中のL-リシン、L-スレオニン、L-ホモセリン及びコバラミンの定量分析)	J. Planar Chromatogr. 13 , 217-220 (2000)	TLC (aluminium oxide 60 F ₂₅₄)
Er. Tyihák, G. Kátay, Z. Ostorics and E. Mincsovcics	Analysis of amino acids by personal OPLC instrument. (OPLCによるアミノ酸の分析)	J. Planar Chromatogr. 11 , 5-11 (1998)	TLC, HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)

C. 食品分析

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
I. M. Choma	TLC determination of tetracyclines in milk. (TLCによる牛乳中のテトラサイクリンの定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 261-265 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , silica gel 60), HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
QT. Liu and JL. Kinderlerer	Preparative thin-layer chromatographic separation and subsequent gas chromatographic-mass spectrometric analysis of monoacylglycerols derived from butter oil by fungal degradation. (カビ変敗バター油由来モノアシルグリセロールの分取 TLCによる分離とその GC-MS 分析)	J. Chromatogr. 855 , 617-624 (1999)	TLC (silica gel F ₂₅₄)
J. Mcsavage and P. E. Wall	Optimization of a mobile phase in reversed-phase HPTLC for the separation of unsaturated lipids in vegetable oils degraded during frying. (フライ中に分解した植物油中不飽和脂質の分離における逆相 HPTLC の移動相の最適化)	J. Planar Chromatogr. 11 , 214-221 (1998)	HPTLC (silica gel RP-18)
Á. Kovács, L. Simom-Sarkadi and E. Mincsovcics	Stepwise gradient separation and quantification of dansylated biogenic amines in vegetables using personal OPLC instrument. (OPLCを用いた野菜中のダンシル化生体アミンの段階勾配分離及び定量)	J. Planar Chromatogr. 11 , 43-46 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)

D. 化学物質

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
T. H. Dzido and D. Polit	Retention of aromatic hydrocarbons with polar groups in binary reversed-phase thin-layer chromatography. (2種混合移動相を用いた逆相 TLC における極性芳香族炭化水素の保持性)	J. Planar Chromatogr. 14 , 80-87 (2001)	HPTLC (RP-18 F _{254S} , RP-18WF _{254S}), TLC(silica gel 60 F ₂₅₄)
S. D. McCrossen, A. Conyers and J. D. Hayler	Use of p-benzoquinone as a TLC derivatization reagent for 2- (methylamino) ethanol and for the analysis of other primary and secondary Amines. (2-(メチルアミノ) エタノール及び他の1級、2級アミンの分析における TLC 誘導体化試薬としての p-ベンゾキノンの使用)	J. Planar Chromatogr. 14 , 88-94 (2001)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
P. K. Zarzycki	Normal-and reversed-phase thin-layer chromatography of selected calixarenes and pyrene. (Calixarenes 及びピレンの順相及び逆相 TLC)	J. Planar Chromatogr. 14 , 113-118 (2001)	TLC (silica gel 60WF _{254S}), HPTLC(RP-18W)
T. Tuzimski and E. Soczewinski	Chemometric characterization of R _f values of pesticides for thin-layer chromatographic systems of the type silica+weakly polar diluent-polar modifier. (TLC における農薬の R _f 値のケモメトリックキャラクタリゼーション)	J. Planar Chromatogr. 13 , 271-275 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
M. Janicka, L. Kwietniewski and J. Matysiak	A new method for estimating log K _w values and solute biological activity. (log K _w 値及び溶質生物活性の新しい評価法)	J. Planar Chromatogr. 13 , 285-289 (2000)	HPTLC (RP-18)
G. Kowalik, B. Klama and T. Kowalska	Raman spectroscopic quantification of the extent of hydrolytic cleavage of organic ligands from the surface of CN- and Diol-type stationary phases in TLC with mobile phase buffers of pH from 1 to 10. (pH1 から pH10 までの緩衝液移動相を用いた TLC における CN-基及び Diol 基固相表面有機配位子の加水分解度のラマン分光定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 290-295 (2000)	HPTLC (CN F _{254S} , DIOL F _{254S})
M. Lekic and F. Korac	Separation of organochlorine and organophosphorus insecticides by thin-layer chromatography. (TLC による有機塩素及び有機りん殺虫剤の分離)	J. Planar Chromatogr. 13 , 314-316 (2000)	TLC
W. Wardas, I. Lipska and J. Lebek	New visualizing agents for selected polybasic phenols and chlorophenols in thin-layer chromatography. (TLC における多塩基フェノール及びクロロフェノール検出のための新しい呈色試薬)	J. Planar Chromatogr. 13 , 317-320 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , silica gel 60 kieselguhr F ₂₅₄ , polyamide 11 F ₂₅₄)
M. Podgórna and P. Kus	Separation of tetraphenylporphyrin derivatives by adsorption and partition thin-layer chromatography. (吸着及び分配 TLC によるテトラフェニルポルフィリン誘導体の分離)	J. Planar Chromatogr. 13 , 166-170 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , RP-18 F _{254S})
J. K. Rózylo, J. Matysiak, A. Niewiadomy and A. Zabinska	Reversed-phase HPLC and HPTLC characterization of potential fungicides. (逆相 HPLC 及び HPTLC による防カビ剤の特性付け)	J. Planar Chromatogr. 13 , 176-181 (2000)	HPTLC (RP-18 F _{254S})
B. Paw and G. Misztal	Chromatographic analysis (TLC) of zopiclone and Benzodiazepines. (Zopiclone 及びベンゾジアゼピンの TLC 分析)	J. Planar Chromatogr. 13 , 195-198 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , aluminium oxide 60 F ₂₅₄ neutral)
M. J. Maslankiewicz and D. Kwapulinska	TLC study of the products of reaction of some β, γ -diquinoliny sulfides with nitrating mixture. (ニトロ化混合物とβ, γ-ジキノリニルスルフィドの反応生成物の TLC による研究)	J. Planar Chromatogr. 13 , 226-228 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , aluminium oxide 60 F ₂₅₄)
D. Matosiuk and K. Józwiak	Determination of the lipophilicity of some carbonyl derivatives of 2-aminoimidazolines-2 by reversed-phase thin-layer chromatography. (逆相 TLC によるアミノイミダゾリン-2のカルボニル誘導体の親油性の定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 130-134 (2000)	TLC (RP-18 F _{254S})
A. Matuszewska and L. Karwowski	Thin-layer chromatography in investigation of the chemical structure of baltic amber. (TLC による baltic amber の化学構造の検討)	J. Planar Chromatogr. 13 , 140-145 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
J. Czogala and W. Wardas	Content of volatile in steam phenols in the main stream of cigarette smoke from selected brands of cigarettes. (タバコ主流煙中における蒸気フェノールの揮発成分)	Rocz Panstw Zakl Hig. 49 , 365-375 (1998)	TLC (Polyamide 11 F ₂₅₄)
K. Morita, S. Koike and T. Aishima	Optimization of the mobile phase by the prisma and simplex methods for the HPTLC of synthetic red pigments. (Prisma 及び simplex 法による合成赤色素の HPTLC の移動相の最適化)	J. Planar Chromatogr. 11 , 94-99 (1998)	HPTLC (silica gel 60)
I. Baranowska and C. Pieszko	Analysis of phenol and its methyl and chloro derivatives by TLC and HPTLC on bonded amino, cyano, and diol stationary phase. (NH ₂ , CN, DIOL 基修飾 TLC 及び HPTLC によるフェノール及びそのメチル、クロル誘導体の分析)	J. Planar Chromatogr. 11 , 119-122 (1998)	TLC 及び HPTLC (CN-, DIOL-, NH ₂ -)
K. Volf	Detection of 1,4-Benzodiazepines and Benzophenones with a secondary amino group by thermal conversion and diazotization and spraying with Bratton-Marshall reagent. (加熱による変換とジアゾ化、並びに Bratton-Marshall 試薬噴霧による2級アミノ基をもつ1,4-ベンゾジアゼピン及びベンゾフェノンの検出)	J. Planar Chromatogr. 11 , 132-136 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
B. Malawska	Determination of the lipophilicity of some N-substituted amides of α -piperazine- γ -hydroxybutyric acid. (α -ピペラジン- γ -ヒドロキシ酪酸のN置換アミドの親油性の決定)	J. Planar Chromatogr. 11 , 137-140 (1998)	TLC (RP-18 F _{254S})
G. Ionita, T. Constantinescu and P. Ionita	Normal and reversed-phase TLC of some hydrazine derivatives. (ヒドラジン誘導体の順相及び逆相 TLC)	J. Planar Chromatogr. 11 , 141-144 (1998)	TLC
E. Soczewinski, M. Wójciak and K. Pachowicz	Thin-Layer chromatography of phenolic acids on diol silica. (DIOL 基修飾シリカにおけるフェノール酸の TLC)	J. Planar Chromatogr. 11 , 12-15 (1998)	HPTLC (DIOL F _{254S})
P. Bodart, J. Penelle, L. Angenot and A. Noifalise	Direct quantitative analysis of linamarin in Cassava by high-performance thin layer chromatography. (HPTLC によるキャッサバ中 linamarin の直接定量分析)	J. Planar Chromatogr. 11 , 38-42 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
A. Pyka	Topological indexes and R _M values for prediction of the pKa values of isomeric methylanilines and chloroanilines. (メチルアニリン及びクロロアニリン異性体の pKa 値予測に対する位相率及び R _M 値)	J. Planar Chromatogr. 11 , 61-63 (1998)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
S. M. Petrovic, E. Loncar, M. Popsavin and V. Popsavin	Thin-layer chromatography of aldopentose and aldohexose derivatives. (アルドペントース及びアルドヘキソース誘導体の TLC)	J. Planar Chromatogr. 10 , 406-410 (1997)	TLC (silica gel 60)
A. Pelander, K. Sivonen, I. Ojanperä and H. Vuorela	Retardation behavior of cyanobacterial hepatotoxins in the irregular part of 'PRISMA' model for thin layer chromatography. (TLC の変則 'PRISMA' model におけるシアノバクテリアヘパトキシンの阻害作用)	J. Planar Chromatogr. 10 , 434-440 (1997)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
Z. Lj. Tesic, S. R. Grguric, S. R. Trifunovic, D. Milojkovic-opsenica and T. J. Sabo	Planar chromatography of <i>Facial</i> and <i>Meridional</i> isomers of some aminocarboxylato cobalt(III) complexes. (アミノカルボキシラトコバルト(III) 錯塩の <i>Facial</i> 及び <i>Meridional</i> 異性体の平板クロマトグラフィー)	J. Planar Chromatogr. 10 , 457-459 (1997)	TLC

E. 天然物植物成分

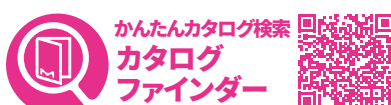
著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
W. Golkiewicz, A. Blazewicz and G. Józwiak	Isolation of milligram quantities of sanguinarine and chelerythrine from the roots of <i>Chelidonium majus</i> L. by zonal micropreparative TLC. (ゾーナル微量分取 TLC による <i>Chelidonium majus</i> L. の根由来 sanguinarine 及び chelerythrine の mg 量分離)	J. Planar Chromatogr. 14 , 95-99 (2001)	TLC (silica gel 60)
M. L. Hajnos, K. Glowniak, M. Waksmundzka-Hajnos and P. Kogut	Optimization of the isolation of some taxoids from Yew tissues. (イチイ組織由来 taxoids の分離の最適化)	J. Planar Chromatogr. 14 , 119-125 (2001)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ , silica gel 60 silinaized(RP-2) F ₂₅₄)
M. Waksmundzka-Hajnos, M. Gadzikowska and W. Golkiewicz	Special modes of development of <i>Chelidonium majus</i> L. alkaloids in systems of the type polar adsorbent-multicomponent mobile phase by TLC. (極性吸着剤 - 混合成分移動相系 TLC による <i>Chelidonium majus</i> L. alkaloids の特殊展開)	J. Planar Chromatogr. 13 , 205-209 (2000)	TLC
H. D. Smolarz, G. Matysik and M. Wójciak-Kosior	High-performance thin-layer chromatographic and densitometric determination of flavonoids in <i>Vaccinium myrtillus</i> L. 及び <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. (HPTLC 及びデンシトメトリーによる <i>Vaccinium myrtillus</i> L. 及び <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. 中のフラボノイドの定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 101-105 (2000)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
T. S. Panjaitan, A. Syahrani and G. Indrayanto	Densitometric determination of <i>p</i> -aminobenzoic acid and β -D-Glucose-1- <i>p</i> -aminobenzoate in cell-suspension cultures of <i>Solanum laciniatum</i> . (<i>Solanum laciniatum</i> の培養細胞における <i>p</i> -アミノ安息香酸及び β -D-グルコース-1- <i>p</i> -アミノ安息香酸塩のデンシトメトリーによる定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 114-118 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)

F. 臨床

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
T. K. Rózylo, A. Zabinska, L. Kwietniewski, T. Bachanek and A. Jamrozek-Manko	OPLC investigation of formaldehyde levels in the hard tissues of the teeth in rare pathological cases. (希少疾病における歯の硬組織中ホルムアルデヒド値の OPLC による検討)	J. Planar Chromatogr. 14 , 130-133 (2001)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
Á. Gyéresi, M. Gergely and J. Vámos	Chromatographic and UV-spectrophotometric study of H ₂ -receptor antagonists. (抗 H ₂ 受容体のクロマトグラフ及び UV- 分光光度研究)	J. Planar Chromatogr. 13 , 296-300 (2000)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
I. Baranowska and M. Zydron	Analysis of biogenic amines, alkaloids and their derivatives by TLC and HPLC. (TLC 及び HPLC による生体アミン、アルカロイド及びその誘導体の分析)	J. Planar Chromatogr. 13 , 301-306 (2000)	TLC (silica gel 60, RP-18, NH ₂)
R. Krishnamurthy, M. K. Malve and B. M. Shinde	Simultaneous determination of morphine, caffeine, and paracetamol in the urine of addicts by HPTLC and HPLC. (HPTLC 及び HPLC による麻薬中毒者尿中のモルヒネ、カフェイン及びパラセタモールの同時定量)	J. Planar Chromatogr. 13 , 171-175 (2000)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
E. Nováková	The detection of opiates by two-dimensional high-performance thin-layer chromatography. (2次元 HPTLC によるアヘンの検出)	J. Planar Chromatogr. 13 , 221-225 (2000)	HPTLC (silica gel 60 アルミニウムシート)
R. Krishnamurthy and A. K. Srivastava	Identification of LSD and MDA by HPTLC in the absence of standard reference samples. (標準試料がない場合の LSD 及び MDA の HPTLC による同定)	J. Planar Chromatogr. 11 , 145-148 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
D. Habel, S. Guermouche and M. H. Guermouche	HPTLC determination of isoniazid and acetylisoniazid in serum. Comparison with HPLC. (HPTLC による血清中イソニアジド及びアセチルイソニアジドの定量。HPLC との比較)	J. Planar Chromatogr. 10 , 453-456 (1997)	HPTLC (silica gel 60)
OM. Berezentseva, luA. Kluchko, SI. Nikulicheva and VS. Padalkina	The determination of methadone in the urine by high-performance thin-layer chromatography. (HPTLC による尿中メタドンの定量)	Sud. Med. Ekspert 38 , 24-26 (1995)	TLC (reversed-phase)
Z. Tomsova and Z. Juzova	Group determination of 17-oxosteroids on thin-layer chromatography. (TLC による 17-oxosteroids の官能基の定量)	Sb. Lek. 93 , 232-238 (1991)	TLC (silica gel 60 F ₂₅₄ アルミニウムシート)
SJ. Gatley and C. Shea	Radiochemical and chemical quality-assurance methods for [¹⁵ N]-ammonia made from a small volume H ₂ ¹⁶ O target. (微量 H ₂ ¹⁶ O 由来の [¹⁵ N]-アンモニアに対する放射化学及び化学品質保証法)	Int. J. Rad. Appl. Instrum. [A] 42 , 793-796 (1991)	TLC
W. Wardas and A. Pyka	Visualizing agents for cholesterol derivatives in TLC. (TLC におけるコレステロール誘導体の呈色試薬)	J. Planar Chromatogr. 11 , 70-76 (1998)	TLC (silica gel 60, silica gel 60 F ₂₅₄ , aluminium oxide 60 F ₂₅₄ , aluminium oxide 60 F ₂₅₄ Neutral)

G. その他

著者	タイトル	論文誌	TLCの種類
V. G. Berezkin, I. Malinowska, J. K. Rózylo, A. B. Makarov and R. G. Mardanov	The possible use of filter paper as a concentrating medium in TLC. (TLC における濃縮媒体としての濾紙の使用の可能性)	J. Planar Chromatogr. 13 , 82-87 (2000)	TLC (silica gel 60)
C. Cimpoiu, L. Jantschi and T. Hodisan	A. new method for mobile phase optimization in high performance Thin-layer chromatography (HPTLC). (HPTLC における移動相最適化の新手法)	J. Planar Chromatogr. 11 , 191-194 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
G. K. Bauer, A. M. Pfeifer, H. E. Hauck and K. Kovar	Development of an optimized sorbent for direct HPTLC-FTIR on-line coupling. (HPTLC と FTIR のオンラインでの直接カップリングのための最適な担体の開発)	J. Planar Chromatogr. 11 , 84-89 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
J. Summanen, R. Hiltunen and H. Vuorela	The choice of parameters in the optimization of automated multiple development. (自動多重展開の最適化におけるパラメーターの選択)	J. Planar Chromatogr. 11 , 16-24 (1998)	HPTLC (silica gel 60 F ₂₅₄)
G. K. Bauer and K. Kovar	Direct HPTLC-FTIR on-line coupling : interaction of acids and bases with the binder in precoated HPTLC plates. (HPTLC と FTIR のオンラインでの直接カップリング : プレコート HPTLC プレーートの結合剤と酸、塩基の相互作用)	J. Planar Chromatogr. 11 , 30-33 (1998)	HPTLC (silica gel 60, silica gel 60 F ₂₅₄ , silica gel WRF _{254S})
B. Klama and T. Kowalska	A new approach to separation number in planar chromatography : practical verification and applications. (平板クロマトグラフィーにおける分離数に対する新しい手法 : 実験検証と応用)	J. Planar Chromatogr. 10 , 427-433 (1997)	TLC (silica gel 60 F _{254S})



本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2020年12月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Supelco are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

メルク株式会社

ライフサイエンス リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.com/asp

E-mail: jppts@merckgroup.com Tel: 03-4531-1140

AAM093-2012-PDF-H