

茜含有色素の HPLC による化学的分析

Chemical analysis of natural dyes by HPLC

9830123 中村 仁美

Hitomi Nakamura

指導教官 小川 昭二郎

【目的】

植物染料の HPLC (高速液体クロマトグラフ) 分析は既に数多くなされているが、現在報告されている HPLC 分析は特別な機器とプログラムを必要とするグラジエント装置を伴う線状勾配溶離法が主流である。本研究では、より簡便な単一溶媒による分析で高精密な HPLC 分析方法を確定することを出発点としている。

今回は、数ある植物染料の中でも最古の染料の一つである茜に着目した。一般的に茜含有色素の測定の移動相には、メタノールやアセトニトリル-HCl 水溶液が用いられているが、これらの溶媒では茜含有色素や茜の水による抽出物は完全には溶解しない。本研究では過去に使用例のないジメチルホルムアミド (DMF) の利用を見出した。DMF は極性が高く茜染料中の色素をよく溶かす。また、DMF/水系について調べたところ、茜の分離には DMF - H₂O (57.5 : 42.5, v/v) が最も適していることが分かった。

また、古代において灰を利用している事が延喜式の記載から窺い知れる。この灰の利用については諸説あるが、茜の抽出液をアルカリ溶液にする為に利用していたと仮定できる。本実験では、茜含有色素の主成分とされているアリザリンの熱やアルカリに対する反応を検証した。

【HPLC 装置の構成】

カラムは HiQ sil C18 (4.6mm φ × 150 mm KYA TECH Corporation)、流出速度は 0.6ml/min、移動相に DMF - H₂O

(57.5 : 42.5, v/v) の溶媒、波長は 280nm、試料の注入量は 10 μl で行った。

【実験と考察】

茜の主成分とされているアリザリンは水に難溶であるが、アルカリ溶液には溶解する。色も薄い黄色から濃い赤紫へと大きく変色する。

実際の茜染めで抽出液をアルカリ溶液にしていたと仮定し、アリザリンのアルカリ溶液中での変化を調べた。

アリザリンを、まず DMF 水溶液に溶かし、そこにカセイソーダを加えその UV 測定を行った。(Fig. 1)

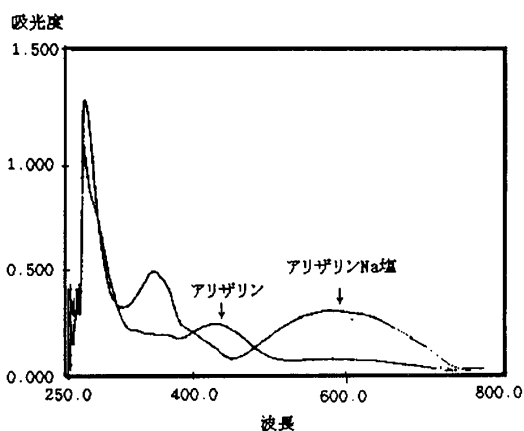


Fig.1 UV supectral of Alizarin in DMF solution (DMF : H₂O ; 57.5 : 42.5, v/v)

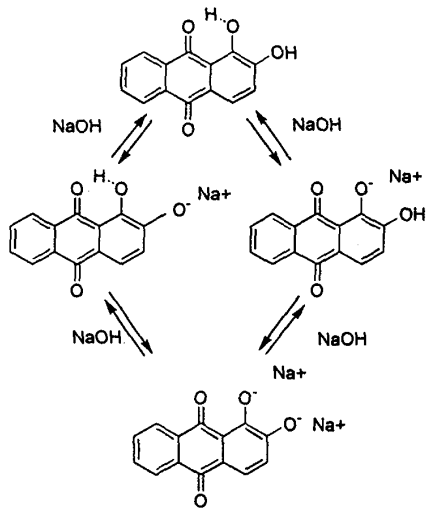
次にこのアルカリ中のアリザリンの HPLC 測定をする為に、まずアリザリンを DMF に溶解させ、懸濁しない程度の純水を加えた。そこに NaOH 溶液を添加し HPLC を測定した。(Fig.2)

この図を見ると、ピークがシャープではなく複雑な形をしている。

アリザリンは下のような平衡状態にあり、

NaOH を加えることにより、この中のいくつかの物質が同時に存在していると考えられる。

＜アリザリンの平衡状態＞



これらを明確にする為、今度は同じアリザリン溶液に CH_3COOH を加えたが、シャープなピークは得られなかった。

次に、強酸である HCl を同様のアリザリン溶液に加え HPLC を測定した。(Fig.3) HCl を加えると、NaOH を加えたときよりもリテンションタイムは遅くピークもシャープに現れた。このピークが、非イオン化型アリザリンの物だと考えられる。

次に有機塩であるジメチルアミンを過剰に加えて HPLC を測定してみた。(Fig.4) これは、NaOH を加えた時の物と比べるとリテンションタイムがかなり早く、HCl を加えた時と同様に、シャープなピークが現れた。このピークを、アリザリンのジアニオンの状態であると考えることが出来る。

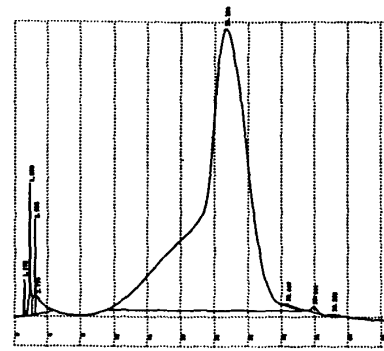


Fig. 2 Chromatographic pattern of Alizarin in NaOH solution.

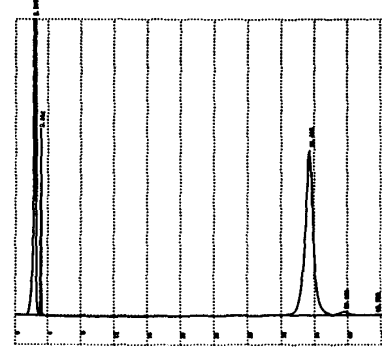


Fig. 3 Chromatographic pattern of Alizarin in HCl solution.

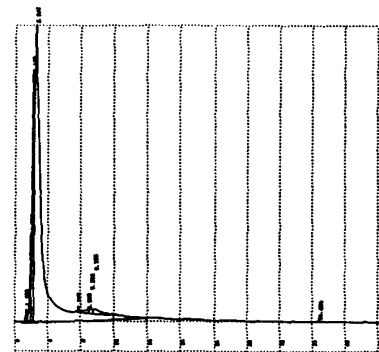


Fig.4 Chromatographic pattern of Alizarin in $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$.

以上の 3 つの状況下での HPLC 測定結果を比較すると、リテンションタイムや波形の形などから、HCl 中でのアリザリンのピークを非イオン化型の状態、NaOH 中がモノアニオン、 $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$ 中がジアニオンの状態のピークではないかと考えられる。

各々の状況下でのアリザリンの HPLC 測定結果を、茜の各状況下での測定結果と照らし合わせ、茜染めのメカニズムを解明するために、更なる実験をする必要がある。