

# 高温水を用いたポリエチレングリコール / 硫酸ナトリウム水性二相抽出

日大生産工(院) 赤沼 友実子

日大生産工 齊藤 和憲, 南澤 宏明, 日秋 俊彦

産総研 鎗田 孝

埼玉大院 澁川 雅美

## 1. 緒言

2種類の水溶性高分子または高分子と塩の水溶液を用いて構成される水性二相抽出法は、水を主体とした環境にやさしい液液抽出法として注目されている<sup>1)</sup>。

これまで生体物質の分離・精製などに利用されてきたが、基本的に水を主体として構成される抽出系であるために、分離選択性が大きくないという欠点がある。一方、水性二相系では形成される相の組成が温度に大きく依存して変化することが知られている<sup>2)</sup>。そこで我々はこのような水性二相抽出系の性質を利用し、温度と圧力を制御できる液液抽出システムを構築して、温度変化によって分配係数を制御する新しい液液抽出法の開発を行った<sup>3)</sup>。

本研究ではポリエチレングリコール(PEG)-4000 / 硫酸ナトリウム水性二相抽出系における直鎖アルコールとケトンの分配係数を異なる温度で測定してその温度依存性を検討するとともに、二相間の移行自由エネルギーを求めてその分配機構について議論した。

## 2. 実験方法

### 2.1 水性二相抽出 (ABS)

50%(w/w)PEG-4000(平均分子量 2700-3400)水溶液と 20%(w/w)Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液および水を任意の量で混合し、様々な組成の二相系を調製した。これに1-プロパノール, 1-ブタノー

ル, 1-ペンタノール, 1-ヘキサノールを0.1%(w/w)になるように加えた。この溶液を恒温槽で25℃または40℃に保ち、15分間振とう、15分間2000 rpmで遠心分離を行った後、再び恒温槽に浸した。上相と下相をそれぞれメスフラスコに一定量採取し、10 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液で定容とした。この溶液を試料溶液として、HPLCにより各相の組成および分配係数を決定した。

HPLC システムのカラムには、Toyopearl HW-50S をステンレス製のクロマト管(100 mm×8.0 mm i.d.)に充填したものをを用い、溶離液には10 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液を使用し、示差屈折計を用いて検出した。

また、分配係数は以下の式により定義した。

$$K_D = \frac{[solute]_{top-phase}}{[solute]_{bottom-phase}}$$

ここで[solute]<sub>top-phase</sub>と[solute]<sub>bottom-phase</sub>はそれぞれ、平衡状態における上相(PEGに富む相)および下相(塩に富む相)に含まれる溶質の濃度を示す。

二相間の組成差を表す単位として、二相間のPEGの濃度差をエチレンオキシドの質量モル濃度で表したΔEOを用いた。ΔEOとK<sub>D</sub>の関係は、二相を形成する塩の種類やPEGの分子量などに依存しないことが報告されている<sup>4)</sup>。

---

Aqueous Poly (Ethylene Glycol) / Sodium Sulfate Biphasic Extraction System  
Yumiko AKANUMA, Kazunori SAITOH, Hiroaki MINAMISAWA, Toshihiko HIAKI,  
Takashi YARITA and Masami SHIBUKAWA

## 2.2 高温水を用いた水性二相抽出 (SW-ABS)

本研究で使用した高温高圧水性二相抽出システム (Superheated Water Aqueous Biphasic Extraction System ; SW-ABS) の装置図を Fig.1 に示す .

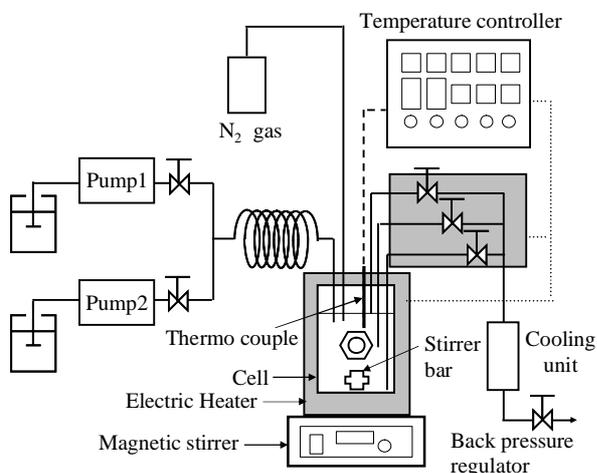


Fig.1 Superheated Water Aqueous Biphasic Extraction System (SW-ABS)

PEG-4000 / Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 水溶液に 1-プロパノール, 1-ブタノール, 1-ペンタノール, 1-ヘキサノールを 0.1 % (w/w), または 2-ペンタノン 2-ヘキサノン 2-ヘプタノン 2-オクタノンを 0.05% (w/w) になるように加えた。この混合溶液を SW-ABS 反応槽に入れ, 攪拌しながら反応槽の温度を 60 ~ 100 の範囲で変化させ, 二相を形成させた。100 において抽出を行う際には, 背圧を 1.0 MPa に設定した。温度が一定になったところで攪拌を止め, 約 1 時間静置した。ついで上相と下相の一部を窒素ガス加圧送液によって採取し, 各相の組成および溶質の分配係数を HPLC によって測定した。なお HPLC システムは 2.1 と同様のものを用いた。

## 3. 結果および考察

### 3.1 分配係数の温度依存性

常温では一相で存在する, 9% (w/w) PEG-4000 / 7% (w/w) Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 二相系を SW-ABS 装置に導入し, 60 ~ 100 の各温度における分配係数を測定した (Fig.2) .

水性二相系の温度を上昇させると, 一部の例外を除いてアルコールおよびケトンの分配係数は増加した。分配係数は試料化合物の炭素数の増加に伴って増加し, また炭素数の大きな化合物ほど分配係数の温度依存性が大きいことがわかった。

一方, 温度上昇にともなって上相中の PEG 濃度が増加するのに対して, 下相は PEG と Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> の濃度がともに減少することが明らかになった (Fig.3) . この現象は温度上昇によって, 上相に含まれる PEG が脱水和を起こし, 排斥された水が下相に移動したために起こると考えられる<sup>5)</sup>。このことは, 温度が高くなると上相と下相の組成差が大きくなることを示しており, このため分配係数が大きくなったものと推測される。

$\Delta E_O$  と分配係数の関係を Fig.4 に示す。この図から  $\Delta E_O$  と  $\ln K_D$  との間にはおおよそ直線関係があることがわかる。

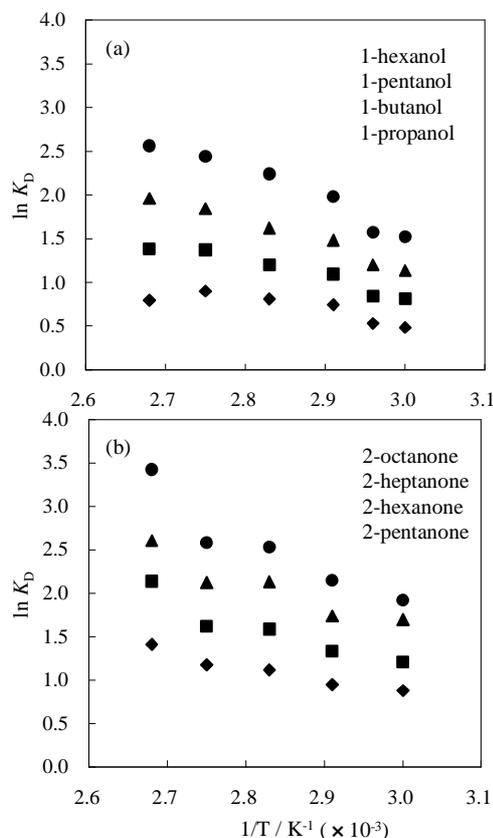


Fig.2  $\ln K_D$  of *n*-alcohols (a) and ketones (b) as a function of inversed temperature

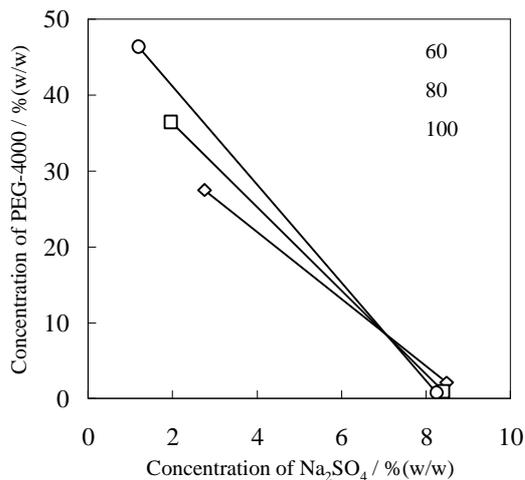


Fig.3 Phase diagram of PEG-4000/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ABS at 60, 80 and 100

( total composition  
(9.00% PEG / 7.00% Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) )

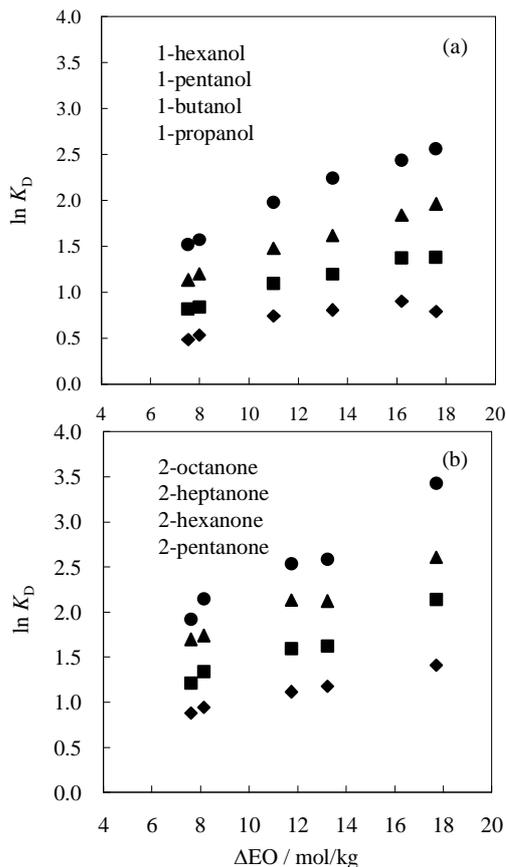


Fig.4  $\ln K_D$  of  $n$ -alcohols(a) and ketones(b) as a function of  $\Delta EO$

### 3.2 二相間移行自由エネルギー変化 $\Delta G_{CH_2}$ の測定

分配係数におよぼす温度の影響を詳細に検討するために、二相間のメチレン基の移行自由エネルギー変化( $\Delta G_{CH_2}$ )を、各温度において求めた。

$\Delta G_{CH_2}$  は温度一定の条件下において炭素数の異なる直鎖アルコールの分配係数を求めることによって測定した<sup>6)</sup>。Fig.5 に 25 において測定した直鎖アルコールの分配係数を示す。

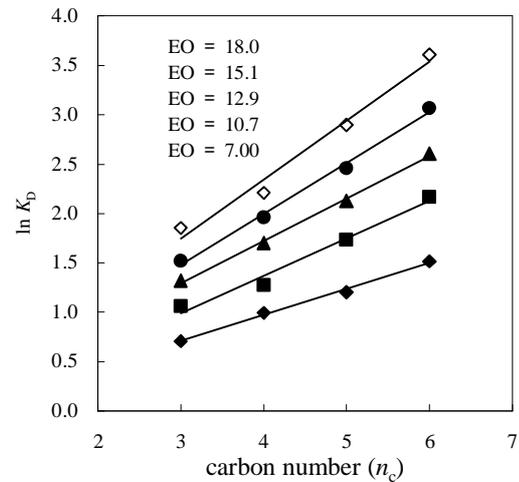


Fig.5 Plots of  $\ln K_D$  of  $n$ -alcohols against carbon number (25 ) .

直鎖アルコールの分配係数と炭素数は比例関係にあり、これは以下の式で表すことができる。

$$\ln K_D = A + En_c \quad (1)$$

ここで  $A$  と  $E$  は定数、 $n_c$  は溶質の炭素数を示している。さらに二相間の溶質の移行自由エネルギー  $\Delta G$  は、

$$\Delta G = -RT \ln K_D \quad (2)$$

と表される。ここで  $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度を示している。 $E$  は Fig.5 の傾きであるから、以下の式で表すことができる。

$$E = \frac{\Delta \ln K_D}{\Delta n_c} \quad (3)$$

式(1)-(3)より  $\Delta G_{CH_2}$  は以下の式で求めることができる。

$$\Delta G_{\text{CH}_2} = -RTE \quad (4)$$

(4)式を用いて 25 ~ 60 における $\Delta G_{\text{CH}_2}$ を求めた。これを Fig.6 に示す。Rogers らは水性二相系を構成する物質が異なっても、 $\Delta E O$  が等しければ $\Delta G_{\text{CH}_2}$  も一致し、 $\Delta E O$  と $\Delta G_{\text{CH}_2}$  は直線関係にあると報告している<sup>4)</sup>。Fig.6 から、25 において測定した $\Delta G_{\text{CH}_2}$ の値は Rogers らの値と一致していることがわかる。ところが 40 と 60 では、プロットが 25 の直線よりも傾きの大きな直線に乗ることがわかった。このことから、温度が分配係数に及ぼす影響は、 $\Delta E O$  だけに依存しているわけではないということが明らかになった。この結果は温度上昇に伴って相組成が変化するだけでなく、媒体の性質も変化することを示唆している。

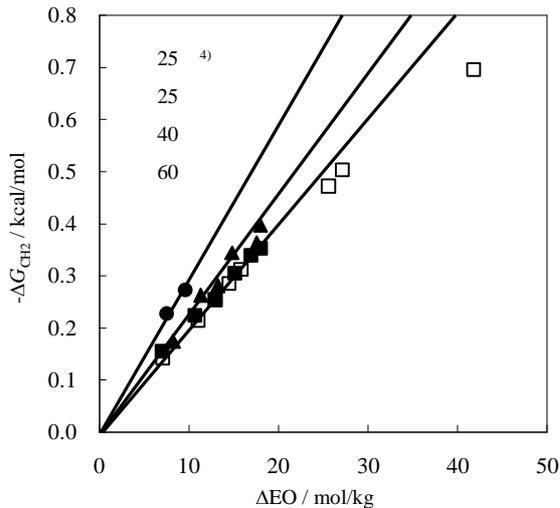


Fig.6 Plot of  $\Delta G_{\text{CH}_2}$  as a function of  $\Delta E O$  for PEG-4000/ $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ABS at 25, 40 and 60 and a various series of ABS at 25 .

#### 4. 結論

PEG-4000 /  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  水性二相系における直鎖アルコールおよびケトンの分配係数は、温度上昇に伴って増加した。これは温度上昇によって上相と下相の組成差が大きくなることが主な原因であるということがわかった。通常、水性二相抽出においては、PEG や塩の濃度を変化させて相組成を変えることにより分配係数を制御するが<sup>7)</sup>、この結果は温度によって分配係数を制御することが可能であることを示している。

温度が分配係数に及ぼす影響を詳細に調べるために、 $\Delta G_{\text{CH}_2}$  を求めたところ、各温度において $\Delta G_{\text{CH}_2}$  と $\Delta E O$  との間に異なる比例関係が得られた。このことから、温度上昇に伴う分配係数の増加は、単に二相間の組成差の増加だけが影響しているわけではないということが明らかとなった。

以上より、水性二相系における溶質の分配係数を温度によって制御することが可能であることが示された。

#### 【文献】

- 1) P.A. Albertsson, “水性二層分配法” 学会出版センター, (1972).
- 2) R.D. Rogers *et al.*, *J. Chromatogr. B*, **743** (2000) 127.
- 3) 古園加奈子, 日本大学生産工学部卒業論文, (2005).
- 4) R.D. Rogers *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **41** (2002) 2591.
- 5) R.D. Rogers *et al.*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **42** (2003) 6088.
- 6) Zaslavsky *et al.*, *J. Chromatogr.*, **216** (1981) 103.
- 7) R.D. Rogers and M.A. Eiteman, “*Aqueous Biphasic Separations ; Biomolecules to Metal Ions*” Plenum Press New York, (1995).