

スパイラルセルを用いたマイクロ液滴抽出による濃縮と 有機相固化法による濃縮相の分取

日大生産工(院) ○菌部 百合香
日大生産工 齊藤 和憲, 南澤 宏明, 中釜 達朗

1. 緒言

液-液抽出は水溶液中の測定対象物質を抽出・濃縮する方法として広く用いられている。一般的な液-液抽出では、人体に有害な有機溶媒を相当量必要とする上、濃縮後回収された有機溶媒を破棄することが多い。もし、極少量かつ一定量の有機溶媒に直接抽出・濃縮できれば、廃溶媒を出さなくて済み、かつ定量的な濃縮も可能である。当研究室では抽出媒体としてマイクロ液滴を用いた新規液-液抽出法を開発している。例えば、試料溶液を充填したコイル状のガラス管（スパイラルセル、内径 2.6 mm、長さ 1.8 m）内にフッ素化アルコール（2,2,3,3,4,4,5,5,-オクタフルオロ-1-ペンタノール（OFP））液滴を 1 滴導入し、セルを回転させて試料溶液内の液滴を移動させることにより、スルホローダミン B（SRB）を濃度比で約 1,000 倍、液滴に濃縮させることに成功している。しかしながら、他の有機化合物に対して適用可能かどうか不明であり、かつ、液滴に濃縮された試料の分離方法が確立されていない。そこで、本研究ではまず、本法を金属錯体および色素の濃縮に適用可能かどうかを検討した。金属錯体では、生体試料中に含まれるカルシウムの蛍光定量¹⁾などに用いられている Ca(II)-カルセイン錯体を、色素では魚病薬として用いられているが、食用魚やうなぎなどへの使用が規制されているマラカイトグリーン（MG）を、それぞれモデル試料として使用した。さらに、有機相固化法²⁾を利用して抽出後の液滴を冷却することにより固化させ、濃縮相をろ過により分取する方法を検討した。

2. 実験

2.1. スパイラルセルを用いた金属錯体および色素の濃縮

硝酸もしくはアルカリ洗浄したスパイラルセルに試料溶液として 10ppmCa(II)-2.5 μM カルセイン錯体、あるいは MG を含む溶液を充填後、OFP 液滴を 1 滴導入してペリスタリックポンプ（ATTO 製 SJ-1211）によりスパイ

ラルセルを鉛直回転させた。回転後、水相を回収し抽出前後における試料溶液の吸光度変化を比較することにより抽出の確認を行った。

2.2. 有機相固化法による濃縮相の分取

アルカリ洗浄したスパイラルセルに、試料溶液として MG を含む 20%(w/w)NaCl 水溶液（0.20 μM）を充填後、1H,1H-ペンタデカフルオロ-1-オクタノール（PDFO、融点 45°C）とエタノールの混液（1:1）で形成した液滴（液滴中の PDFO の体積：0.96 μL）を導入して同様に実験と抽出の確認を行った。ただし、抽出時の液滴の固化を防止するために、スパイラルセルを恒温槽（約 65°C）に浸した（Fig.1）。抽出操作終了後、液滴を試料溶液と共にセルから取り出し、吸引ろ過により液滴の分取を行った。また、試料溶液として SRB を含む 20%(w/w)NaCl 水溶液（0.20 μM）を用いて恒温槽温度を室温（25.5°C）、35.8°C、40.7°C、45.5°C、50.5°Cに変化させ、抽出に及ぼす温度の影響の検討を行った。

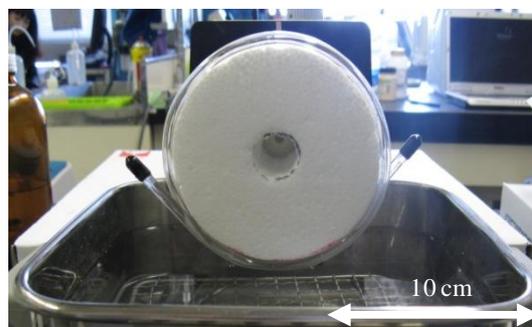


Fig.1 Experimental setup of a spiral glass cell for single droplet extraction

3. 結果及び考察

Ca(II)-カルセイン錯体の濃縮では、試料溶液に 20%(w/w)NaCl 水溶液を用いた。回転するセル内で OFP 液滴は安定に存在し、目視による抽出を確認できた。試料溶液の吸光度から算出した回収率は 8.42%、濃縮係数（Enrichment factor）³⁾は 0.26×10^3 と改善の余地がある結果となった。

**Concentration by micro droplet extraction using a spiral cell
and separation of the concentrated phase by solidifying organic phase method**
Yurika SONOBE, Kazunori SAITOH, Hiroaki MINAMISAWA and Tatsuro NAKAGAMA

MGの濃縮では、塩基性の試料溶媒で比較的高い濃縮効率を得ることができた。これは、MGが塩基性色素であることが要因として考えられる。試料溶媒としてほう酸塩 pH 標準液 (pH9.18) を用い、液滴をセル内で1往復させたとき、濃縮係数は 1.4×10^3 と算出された。しかしながら、液滴をさらに往復させると液滴体積が小さくなり安定した結果を得られなかった。これは、フッ素化アルコールの溶解性が大きくなったことが原因として考えられる。20% (w/w) NaCl 水溶液を用いたとき液滴は安定に存在したが、濃縮係数は2往復で最大 0.66×10^3 と算出された。

一方、有機相固化法による濃縮相の分取では、PDFOの融点以上の温度で抽出を行い、室温に戻すことで液滴の固化に成功した。また、スパイラルセルから取り出した液滴は、試料溶液を吸引ろ過により除去することで液滴のみを回収することができた (Fig.2)。回収した液滴を USB マイクロスコープにより拡大した写真を Fig.3 に示す。Fig.3 より、回収した液滴の直径は 1.35 mm であり直径から体積を換算したところ、 $1.29 \mu\text{L}$ と算出された。試料溶液の吸光度から算出した回収率は 16.2% と改善の余地がある結果となったが、濃縮係数は、 1.6×10^3 と比較的高い値を得ることができた (Fig.4)。

また、抽出に及ぼす温度の影響の結果について Table1 に示す。抽出中の温度が 35.8°C のときを除いて、回収率と濃縮係数の大幅な変化はなかったが、PDFOの融点付近である 45.5°C のとき、回収率と濃縮係数が比較的高くなることが確認された。

4. 結言

マイクロ液滴を用いた本抽出法は、有機相固化法を併用することで液滴に濃縮した物質を取り出し、保存または他の分析法への適用が可能である。今後、生体試料や環境水中などの予備濃縮法としての展開が期待される。

(参考文献)

- 1) R. O. Ashby and M. Roberts, *J. Lab. & Clin. Med.*, 49, 958 (1957).
- 2) 藤永, ぶんせき, 3, p.118-122 (2008).
- 3) F.Pene, I.Lavilla, C.Bendicho, *Spectrochim. Acta Part B*, 64, 1-15 (2009).

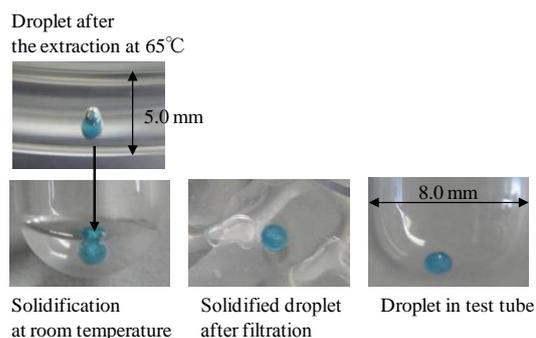


Fig.2 Solidification and filtration of droplet after the extraction of MG

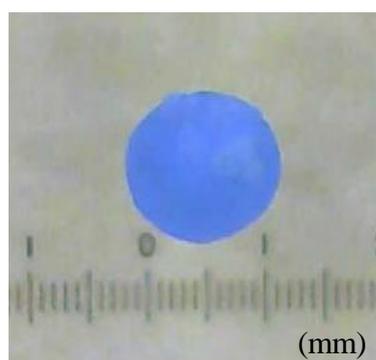


Fig.3 Microscopic view of solidified droplet after the extraction of MG

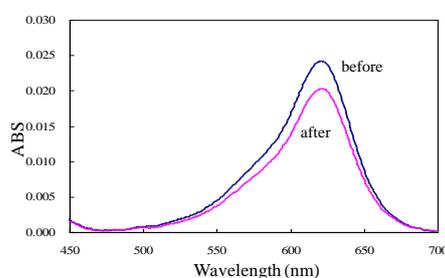


Fig.4 Absorption spectra of sample solution before and after the extraction

Table 1 Effect of extracting temperature on enrichment factor

Extracting temperature ($^\circ\text{C}$)	Recovery (%)	Enrichment factor ($\times 10^3$)
25.5	20.2	2.0
35.8	12.4	1.2
40.7	23.7	2.3
45.5	24.5	2.4
50.5	22.5	2.2