

回転式スパイラルセルを用いる金属イオンの単一液滴マイクロ抽出

日大生産工 (院)
日大生産工

○菌部 百合香
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。当研究室では試料溶液を充填したスパイラルセルに抽出溶媒を液滴として導入後、セルを回転させて抽出を行う単一液滴マイクロ抽出法 (SDME) を開発した¹⁾。例えば、抽出溶媒として 1H,1H-ペンタデカフルオロ-1-オクタノール (PDFO, 融点 45°C) を用いたとき、マラカイトグリーン (MG) を濃度比で約 1,600 倍、液滴に濃縮させることに成功している。また、融点以上の温度で抽出を行い、抽出後セルを室温に戻すことにより、MG 液滴のろ過と回収に成功している。本研究では、この SDME を金属キレート抽出に適用した結果を報告する。

2. 実験

2.1 抽出比色試薬と金属イオン

目視により金属イオンの抽出が確認できることから、カルセインや 2,3-ジアミノナフトレン (DAN) などの抽出比色試薬を用いた。モデル試料として Ca(II)や Se(IV)などの金属イオンを選択した。

2.2 バッチ法による抽出の確認

マイクロチューブ (内径 5 mm, 高さ 50 mm) に試料溶媒 (超純水もしくは 20%(w/w)NaCl 水溶液) 400 μ L, 抽出比色試薬溶液 (カルセイン:0.20 mM, DAN:2.0 mM) 20 μ L および 1000 ppm 各金属標準液を 10 μ L それぞれ加えて振とうし、抽出溶媒として PDFO とエタノールとの混液 (1:1(w/w))

100 μ L を加えて再び振とうした後、目視による抽出確認と紫外光による濃縮相の蛍光確認を行った。さらに、マイクロチューブを冷蔵庫 (-6°C) に入れて一昼夜放置し、濃縮相の固化を検討した。

2.3 スパイラルセルを用いた金属錯体の SDME

硝酸洗浄した抽出セルに 10ppm Ca(II)-2.0 μ M カルセイン錯体あるいは 10ppm Se(IV)-0.20 mM もしくは 2.0 mM DAN 錯体を含む水溶液を充填後、PDFO とエタノールとの混液 (1:1(w/w)) 1 滴 (3.0 μ L) を導入してペリスタリックポンプ (ATTO 製 SJ-1211) により抽出セルを回転させた。このとき、液滴中で形成される PDFO の体積は 1.0 μ L と推算される。抽出温度は、液滴の固化を防止するためにウォーターバス中で加温した (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、回収率と濃縮係数 (EF、抽出後の液滴と抽出前の試料溶液との濃度比) を間接的に測定するために、抽出前後の試料溶液をそれぞれ吸光度測定に供した。さらに、試料溶液として 10ppm Se(IV)-DAN 錯体を含む水溶液を用いて、ウォーターバス温度を 55°C と 65°C に変化させ、抽出に及ぼす温度の影響の検討を行った。

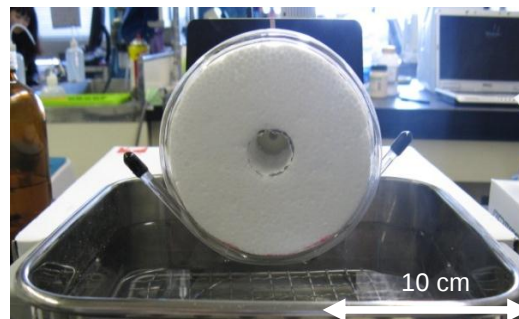


Fig.1 Experimental setup of a spiral glass cell for SDME

Single-drop microextraction of metal ions using a rotating spiral extraction cell

Yurika SONOBE, Kazunori SAITOH, Hiroaki MINAMISAWA and Tatsuro NAKAGAMA

3. 結果及び考察

バッチ法による抽出確認と固化確認の結果を、Table 1 に示す。濃縮相へのモデル金属錯体の抽出が可能であり、試料溶媒として超純水を用いたとき濃縮相の固化が確認された。Ca(II)-カルセイン錯体に紫外光を照射したところ、Ca(II)の添加の有無に関わらず蛍光が確認されたため、Ca(II)の抽出が目視で確認不可能であった。一方、Se(IV)-DAN 錯体においては、Se(IV)を添加することで桃色の蛍光を発生し、Se(IV)の抽出が目視で確認可能であった。

Table 1 Liquid-liquid extraction of tested metal complexes and their colorimetric reagents, and solidification of PDFO droplet after the extraction by the batch method

	Ultra pure water		20%(w/w)NaCl solution	
	Extraction	Solidification	Extraction	Solidification
Calcein	○	○	○	×
Ca-Calcein	○	○	○	×
DAN	×	○	×	×
Se-DAN	○	○	○	×

○ possible × impossible

スパイラルセルを用いた SDME では、セル内を 1 往復させ抽出を行った。抽出後、抽出セルを室温に戻すことにより液滴は固化し、ろ取することができた。

吸光度測定より算出した回収率と EF の結果について、Table 2 に示す。試料相に 20%(w/w)NaCl 水溶液を用いた Ca(II)-カルセイン錯体の SDME では、EF が 0.88×10^3 であったが、錯体のセルへの吸着を考慮すると EF は 0.66×10^3 であった。

一方、試料相に超純水を用いた Se(IV)-DAN 錯体の SDME では、DAN 濃度が 2.0 mM、抽出温度が 65℃のとき、セルへの吸着を考慮した EF は 2.1×10^3 と比較的高い値を得ることができた。抽出温度を 55℃としたとき、セルへの吸着を考慮した EF は 2.0×10^3 と、抽出温度 65℃のときとほぼ同等の値を得ることができた。そのため、温度が抽出効率に

及ぼす影響は少ないと考えられる。また、回収した液滴に紫外光を照射することで桃色の蛍光を発生したことから、目視により Se(IV)の抽出が確認可能であった (Fig. 2)。顕微鏡により液滴直径を測定し、回収した液滴の体積を算出したところ、1.0 μL 以上であった (Table 2)。PDFO はエタノール溶液 (重量比 1:1) として抽出セルに導入したが、この重量比から換算した PDFO の体積は 1.0 μL であった。体積がわずかに増加したのは PDFO 中に水が含まれていることを示唆している。回収率については、25.2~27.9%であった。

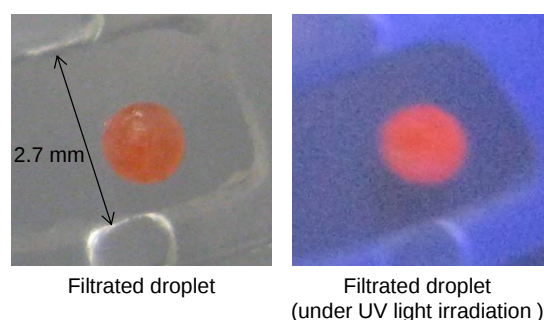


Fig.2 Solidified and filtrated of droplet after the extraction of Se(IV)-DAN

4. 結言

スパイラルセルを用いた SDME は、金属キレート抽出に適用可能であることが確認された。セルへの錯体の吸着などを防止することにより、生体試料や試料溶液量が比較的少ない溶液からの抽出などへの応用が期待される。今後、回収率の向上を目指すと共に、液体クロマトグラフを用いて液滴を測定する方法の開発を行う。

(参考文献)

- 1) 菌部, 齊藤, 南澤, 中釜, 分析化学, 61, 667(2012).

Table 2 Experimental results of single drop micro extraction of several metal complexes using a spiral cell

Metal complex	Colorimetric reagent (mM)	Extraction temperature (°C)	Adsorption ^{*1} rate (%)	Without consideration of adsorption		With consideration of adsorption ^{*1}		Droplet volume ^{*2} (μL)
				Recovery (%)	EF ($\times 10^3$)	Recovery (%)	EF ($\times 10^3$)	
Ca-calcein	2.0×10^{-3}	45.0	2.4	9.1	0.88	6.9	0.66	1.77
Se-DAN	0.20	65.0	11.3	25.2	2.4	15.6	1.5	1.38
Se-DAN	2.0	65.0	8.4	28.2	2.7	21.6	2.1	1.02
Se-DAN	2.0	55.0	9.5	27.9	2.7	20.3	2.0	1.23

^{*1} to inner wall of the spiral cell ^{*2} solidified PDFO droplet after the extraction by measuring the microscopic view