

成分分析法による極性アルコール-塩または糖系 水性二相の相図作成

衣笠 巧* 仁居 茜* アマラー* 真鍋 緑* 伊藤 愛菜* 西井 靖博**

Phase Diagram Construction of a Polar Alcohol-Salt or Sugar Aqueous Two-Phase System by Component Analysis

Takumi KINUGASA* Akane NII* Erdenebat AMARBAYASGALAN*
Midori MANABE* Aina ITO* Yasuhiro NISHII**

A polar alcohol-salt/sugar system aqueous two-phase system is advantageous, because of low cost and high operability. In this study, the aqueous two-phase formation behavior was investigated and the phase diagram was constructed by the component analysis method. The strength of the two-phase formation ability was almost the same for ammonium sulfate, sodium sulfate, sodium tartrate and sodium citrate, and was considerably smaller for ammonium nitrate. For alcohol types, the order was 1-propanol > 2-propanol > ethanol, and for sugars, the order was glucose > sucrose. The two-phase formation ability of salt seems to be related to the magnitude of the salting-out effect, and the effect of nitrate ion was consistent with the Hofmeister series, but the other anions did not show a clear deference. The two-phase formation ability of polar alcohols was explained by their hydrophobicity. It was found that the two-phase formation ability of sugar is weaker than that of salt, and the sugaring-out effect is not so large.

1. 緒言

液液抽出は、互いに溶け合わない二種類の溶媒に対し、その両者に可溶な成分を溶解させたときに、成分の濃度が二相で大きく異なることを利用した分離方法であり、一方の溶媒に溶解している成分をもう一方の溶媒に溶かし出すことで分離を行う。工業的には、金属イオンの分離精製、食品製造、医薬品製造などで利用されており、省エネルギー的な物質分離法として今日の化学産業において欠かせない技術である。液液抽出では、水溶液と容易に二相を形成する無極性有機溶媒を使用する方法が一般的であり、水溶液中の疎水性成分を分離する物理抽出や抽出剤との化学反応を利用した反応抽出がある。しかし、無極性有機溶媒は環境負荷が大きく、SDGsの観点から使用が懸念されている。

これに対して水溶性の溶媒が条件によって二相形成することを利用した水性二相抽出が注目されている^[1,2]。これには水溶性高分子系と極性有機溶媒系が知られている。水溶性高分子系には水溶性高分子-水溶性高分子系と水溶性高分子-塩系があって、どちらもこれまでに広く研究されている。主にタンパク質などの生体関連物質の分離精製への適用が期待さ

れているが、高分子が高価であること、粘性が大きく相分離や抽出に時間を要することなどの課題を抱えている。極性有機溶媒系は、極性有機溶媒の水溶液に塩を加えると、塩析によって極性有機溶媒の水と水が奪われて極性有機溶媒相と塩水溶液相の二相を形成するものである。これを極性有機溶媒-塩系といい、コストや操作性の面では水溶性高分子系よりも有利である^[3]。また、高濃度の塩の使用は装置の腐食をもたらす恐れがあることから、糖を用いて二相形成する方法も提案されている^[3]。これを極性有機溶媒-糖系といい、塩析に似た糖析と呼ばれる現象を利用している。糖は塩のように解離しないため、糖析を利用した水性二相抽出は新たな機能を発現することが期待されている。しかし、極性有機溶媒系の水性二相抽出は塩と糖どちらを用いた研究もまだ少なく、まず二相形成が生じる条件から調査する必要がある。

極性有機溶媒系の二相形成条件の研究は曇点法で行われることが多い^[4]。これは極性有機溶媒に塩水溶液を滴下し、液が濁った点を二相形成した組成と判定する方法であるが、形成された二相間の平衡関係を知ることはできない。二相間の平衡関係を求めるには、水性二相系の各相の組成を測定する成分分析法によらなければならない。

令和5年9月8日受付 (Received Sep. 8, 2023)

* 新居浜工業高等専門学校生物応用化学科 (Department of Applied Chemistry and Biotechnology, National Institute of Technology (KOSEN), Niihama College, Niihama, 792-8580 Japan)

** 国立高等専門学校機構 (National Institute of Technology, Hachioji, 193-0834 Japan)

Table 1 Minimal salt and sugar concentration required for formation of aqueous two-phase system.

1-propanol	1-propanol	1-propanol	1-propanol	1-propanol	1-propanol	1-propanol	2-propanol	ethanol
ammonium sulfate	ammonium nitrate	sodium sulfate	sodium titrate	trisodium citrate	glucose	sucrose	ammonium sulfate	ammonium sulfate
0.6 mol%	9.2 mol%	0.4 mol%	0.9 mol%	0.9 mol%	4.1 mol%	2.2 mol %	0.8 mol%	1.1 mol%

そこで本研究では、極性有機溶媒の中でも環境、安全、健康の観点から環境調和型溶媒（グリーン溶媒）とされる極性アルコールを用い^[5]、成分分析法によって極性有機溶媒-塩系および極性有機溶媒-糖系の相図を作成することで、この水性二相系を用いた抽出のための基礎データとする。

2. 実験

極性アルコールとして 1-プロパノール、2-プロパノール、エタノール、塩として硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム、硫酸ナトリウム、酒石酸ナトリウム、クエン酸三ナトリウム、糖としてグルコース、スクロースを用いた。試験管に所定の初期濃度に調製した塩水溶液または糖水溶液を入れ、質量比が 1 : 1 となるように極性アルコールを加え、密栓してよく振り混ぜた。これを 25°C の恒温水槽中で静置し、水性二相が形成されたことを確認した。

各相の水分量を水分測定装置（平沼 A Q V - 7 5 ）によりカールフィッシャー法で測定した。また、蒸発皿に各相の適量を測り取り、80°C の恒温乾燥機で水分とアルコール分を蒸発させ、残渣を塩分または糖分としてその質量を測定した。アルコール分は全量から水分と塩分・糖分を差し引いて物質収支により決定した。

3. 結果と考察

3-1 水性二相形成に必要な最低塩/糖濃度

様々な極性アルコール-塩/糖系について、水性二相を形成させるのに必要最低限の初期塩分濃度あるいは初期糖分濃度を調べた。結果を Table 1 に示す。1-プロパノール系では多くの塩が 0.4~0.9 mol% で水性二相を形成し始めるのに対して、硝酸アンモニウムは 9.2 mol% が必要であった。糖はグルコースが 4.1 mol%、スクロースが 2.2 mol% であった。一方、硫酸アンモニウム系において、分岐のある 2-プロパノールや炭素数の少ないエタノールでは 1-プロパノールより高い塩濃度が必要であった。以下の実験はこれより高い塩濃度で行った。なお、初期塩分濃度が高すぎると極性アルコールを加えたときに塩が析出することがあった。

3-2 1-プロパノール-塩系の相図

極性アルコールとして 1-プロパノールを用い、様々な塩水溶液と水性二相形成した結果を示す。Fig.1 は、初期塩分濃度 $C_{salt,F}$ に対して、水性二相形成後の各相の (a) 水分濃度 C_{water} 、(b) 塩分濃度 C_{salt} 、(c) アルコール分濃度 $C_{alcohol}$ を表している。

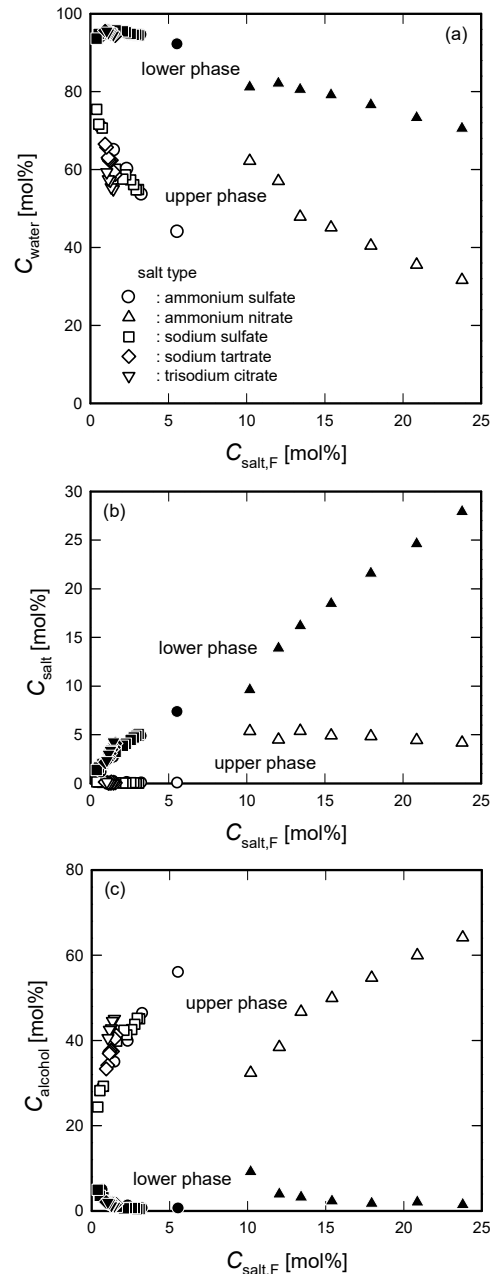


Fig.1 Effect of feed salt concentration on contents of (a) water, (b) salt and (c) alcohol in 1-propanol-salt aqueous two-phase system.

一般に水性二相の相図は質量組成で表すが、本研究では塩の種類などの影響を検討するため、モル組成を採用した。極性アルコール-塩系では、両相とも水を多く含み、上相はアルコールが豊富、下相は塩が豊富な水性二相を形成することが確認できた。硝酸アンモニウムは初期塩分濃度が 9.2 mol% 以

上でないと二相形成しないことも含めて特異な挙動を示した。下相の水分濃度は、初期塩分濃度が低いときには 90%以上であったが、初期塩分濃度が高くなると相対的に減少した。上相の水分濃度は、初期塩分濃度が大きくなるとより多くの水分子が塩の水和に費やされ、下相に分配されやすくなったため減少したと考えられる。塩分は、硝酸アンモニウム系を除いてほとんど上相には存在しなかった。硝酸アンモニウム系は上相の塩分濃度が 5 mol%程度もあった。硫酸アンモニウムや硫酸ナトリウムがエタノールにほとんど溶けないのに対して、硝酸アンモニウムのエタノールへの溶解度は 38 g/L もあることに関係すると考えられる⁶⁾。一方、下相の塩分濃度は初期塩分濃度に比例するように増加した。その傾きはいずれも 1 より大きく、下相の体積が上相に比べて小さいために塩分が下相に濃縮されたことを表している。アルコール分濃度は、初期塩分濃度とともに上相は増加し、下相は減少した。塩析によりアルコールが塩分濃度の高い下相から塩分濃度の低い上相に排斥されやすくなったためと考えられる。

Fig.2 は 1-プロパノール-塩系水性二相の相図である。横軸はアルコール分濃度、縦軸は塩分濃度であり、実線が溶解度曲線、破線がタイラインを表している。溶解度曲線より左下の原点に近い範囲が一相領域、右上の範囲が二相領域である。右下の点群が上相の組成、左下の組成は下相の組成を表しており、タイラインは平衡関係にある両相を結んだ線である。したがって、溶解度曲線が原点に近いほど二相領域が広く、水性二相を形成しやすいことを意味する。Fig.2 から、硝酸アンモニウム系がもっとも水性二相を形成しにくく、他の塩系

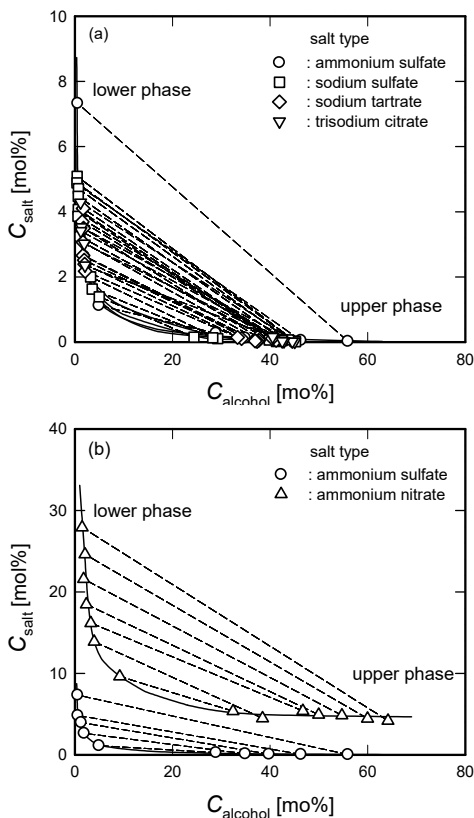


Fig.2 Phase diagram of 1-propanol-salt aqueous two-phase system.

ではそれほど違いが見られなかった。水性二相形成は、塩によるアルコールの塩析効果によって引き起こされるので、イオンを塩析能力の順に並べたホフマイスター系列を用いて検討した⁷⁾。ホフマイスター系列は、陽イオンに対してナトリウムイオン>アンモニウムイオン、陰イオンに対してクエン酸イオン>酒石酸イオン>硫酸イオン>硝酸イオンである。硝酸イオンはもっともホフマイスター系列の順位が低くて塩析能力が小さく、かつ他のイオンとの差が大きかったことから、もっとも水性二相形成しにくかったと考えられる。しかし、他の陰イオンや陽イオンではホフマイスター系列の順位の違いがそれほど小さくなく、明確な差が表れなかった。水性二相形成に及ぼす塩の影響をホフマイスター系列で説明する試みは水溶性高分子-塩系でも行われており、PEG-MgSO₄系に塩を加えたとき、ホフマイスター系列の順位が高い硫酸イオンは塩析効果によって水溶性高分子相の疎水性を高めたが、順位が低い酢酸イオンや塩化物イオンなどはほとんど疎水性に影響しなかったと報告されている⁸⁾。このように水性二相形成への塩の影響はホフマイスター系列によって定性的に説明することができるようである。

3-3 極性アルコール-硫酸アンモニウム系の相図

塩として硫酸アンモニウムを用い、様々な極性アルコールと水性二相形成した結果を Fig.3 に示す。下相の水分濃度は、1-プロパノール系、2-プロパノール系、エタノール系の順に高く、塩分濃度はその逆の順になった。特にエタノール系の下相の塩分濃度は非常に高く、下相の体積がかなり小さくなったことと対応している。

Fig.4 は極性アルコール-硫酸アンモニウム系水性二相の相図である。これより水性二相を形成しやすい順番は、1-プロパノール系>2-プロパノール系>エタノール系であることがわかる。一般に、炭素数が小さかったり、炭素鎖に分岐があると炭化水素化合物の疎水性が小さくなるとされている。有機物の疎水性を表す指標のひとつに 1-オクタノール/水分分配係数の対数値 $\log P$ があり、その値が大きいほど疎水性が高いことを意味する。本研究で用いた極性アルコールの $\log P$ は、1-プロパノールが 0.25、2-プロパノールが 0.05、エタノールが -0.32 であった⁹⁾。すなわち、疎水性の大きさは 1-プロパノール>2-プロパノール>エタノールの順であり、疎水性の高いアルコールほど水性二相を形成しやすいことがわかる。疎水性が高いアルコールは水合力が小さく、塩析効果を受けやすいことが原因と考えられる。

3-4 1-プロパノール-糖系の相図

極性アルコールとして 1-プロパノールを用い、糖水溶液によって水性二相形成した結果を Fig.5 に示す。糖を用いた場合、各相濃度に及ぼす初期糖分濃度の影響は硝酸アンモニウム系の場合に近かった。グルコースのエタノールへの溶解度は 1 g/L 程度であり⁶⁾、硝酸アンモニウムほどではないが他の塩よりも大きく、上相の糖分濃度が高かったことと一致している。

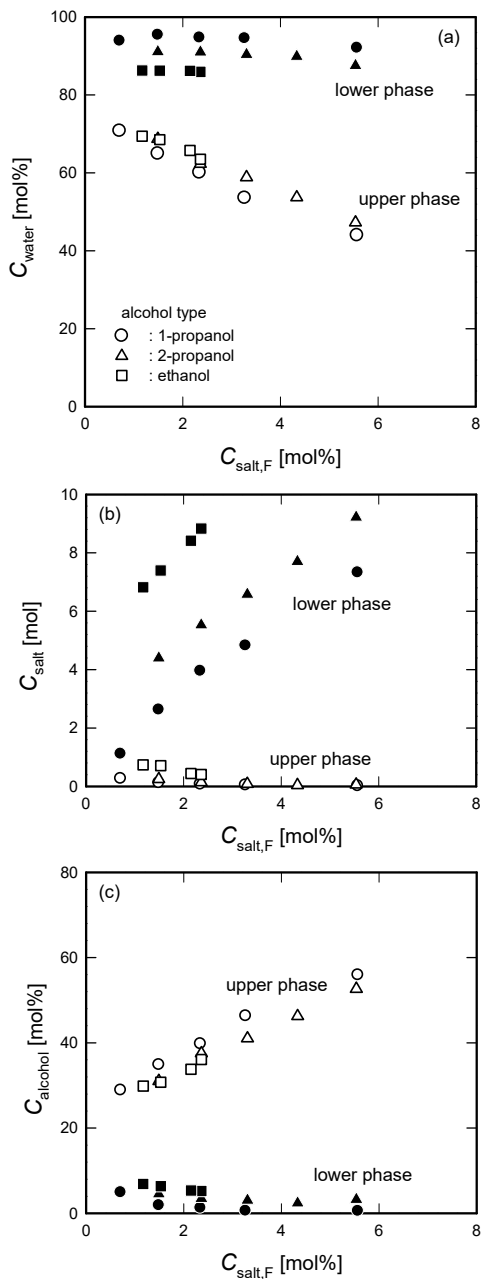


Fig.3 Effect of feed salt concentration on contents of (a) water, (b) salt and (c) alcohol in alcohol-(NH₄)₂SO₄ aqueous two-phase system.

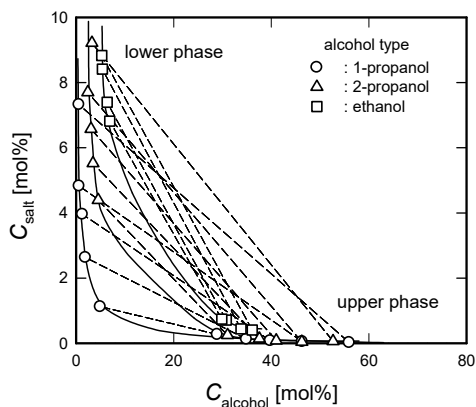


Fig.4 Phase diagram of alcohol-ammonium sulfate aqueous two-phase system.

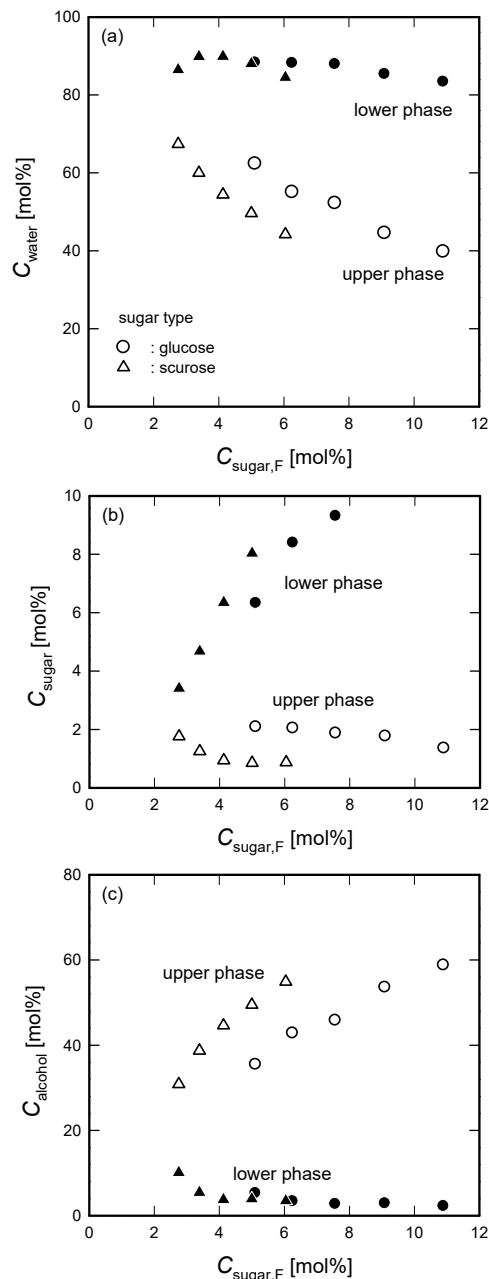


Fig.5 Effect of feed sugar concentration on contents of (a) water, (b) salt and (c) alcohol in 1-propanol-sugar aqueous two-phase system.

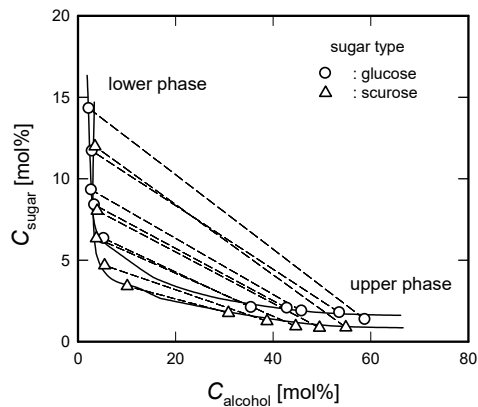


Fig.6 Phase diagram of 1-propanol-sugar aqueous two-phase system.

Fig.6 に1-プロパノール-糖系水性二相の相図を示す。グルコース系よりもスクロース系の方が二相形成領域がやや広いことがわかる。しかし、硫酸アンモニウム系などよりは水性二相形成しにくく、硝酸アンモニウム系に近かった。糖は非解離でイオンにはならないため糖の水和力はそれほど大きくなく、糖析の効果は塩析に比べて小さいと推測される。糖水溶液の粘度測定から水と糖の分子間相互作用を調べた研究によると、糖鎖が長くなるほど水和力が大きくなるとの報告がある^[10]。水和力が大きいことは糖析力が高いことを意味し、本研究の結果と一致した。ただし、グルコース系とスクロース系の比較のみであるので、さらにデータを蓄積する必要がある。

4. 結論

極性アルコール-塩/糖系の水性二相形成挙動を調べ、成分分析法によって水性二相間の平衡関係を表すタイラインを含む相図を作成した。初期塩分濃度あるいは糖分濃度が上相と下相の各成分濃度に及ぼす影響から、水性二相形成挙動に関する知見を得ることができた。塩のうちでは硝酸アンモニウムがもっとも水性二相を形成しにくく、その他の塩はあまり差が見られなかった。硝酸イオンは他の陰イオンに比べてホフマイスター系列の順位が低く塩析力が小さいことが原因であると示唆された。極性アルコールは、その疎水性が大きいほど水性二相形成しやすいことが示された。また、糖系は塩系に比べて水性二相を形成しにくかった。塩による装置の腐食の観点から糖の利用を促進するためには、例えば塩と糖の混合や抽出剤の添加などの工夫をする必要があると考えられる。

引用文献

- [1] W. N. Phong, P. L. Show, Y. H. Chow, T. C. Ling: "Recovery of biotechnological products using aqueous two phase systems", *J. Biosci. Bioeng.*, Vol.126, pp.273-281 (2018)
- [2] T. Varadavenkatesan, S. Pai, R. Vinayagam, A. Pugazhendhi, R. Selvaraj: "Recovery of value-added products from wastewater using aqueous two-phase systems - A review", *Sci. Total Environ.*, Vol.778, pp.146293 (2021)
- [3] 松本道明: 「塩析・糖析を利用した分離技術の新展開」, *日本海水学会誌*, 第70巻, pp.354-357 (2016)
- [4] M. Matsumoto, T. Sato, A. Wada, Y. Tahara: " Partition of Amino Acids in Aqueous Two-Phase Systems Comprising Hydrophilic Organic Solvents and Salts ", *J. Chem. Eng. Japan*, Vol.55, pp.344-348 (2022)
- [5] D. Prat, J. Hayler, A. Wells: "A survey of solvent selection guides", *Green Chem.*, Vol.16, pp. 4546-4551 (2014)
- [6] 厚生労働省, 職場のあんぜんサイト
<https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/6484-52-2.html>
 (令和5年9月7日閲覧)
- [7] V. Mazzini, V. S. J. Craig: "What is the fundamental ion-specific series for anions and cations? Ion specificity in standard partial molar volumes of electrolytes and electrostriction in water and non-aqueous solvents", *Chem. Sci.*, Vol.8, pp.7052-7065 (2017)
- [8] 久保井亮一, 田中寿計, 駒沢勲: 「水性二相分配系の疎水性に及ぼす塩効果」, *化学工学論文集*, 第16巻, pp.1053-1059 (1990)
- [9] キンダ化学, SDS シート
<https://www.kishida.co.jp/product/catalog/msds/id/10502/code/000-64775j.pdf>
<https://www.kishida.co.jp/product/catalog/msds/id/10507/code/000-64785j.pdf>
<https://www.kishida.co.jp/product/catalog/msds/id/5027/code/000-28555j.pdf>
 (令和5年9月7日閲覧)
- [10] 佐藤之紀: 「粘度測定による糖やアミノ酸の水和および高分子間相互作用の解析」, *日本食品科学工学会誌*, 第61巻, pp.316-322 (2014)