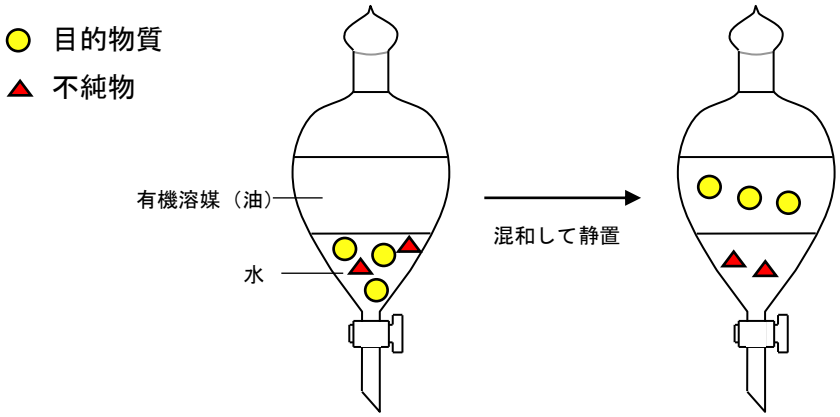
# Ⅲ.試料前処理法

## 1　試料前処理法

生体試料には目的化合物以外の夾雑物が多く、分析をする前に前処理が必要となる。主な試料前処理法として、**溶媒抽出法、固相抽出法、灰化法、除タンパク法**などがある。

### 1）　溶媒抽出法（液–液抽出法）

水と油のように互いに**混じり合わない二液間**における溶質の分配を利用した抽出法である。




#### （1）溶媒抽出法で用いる有機溶媒

溶媒抽出法で用いる有機溶媒は、**水と混和しない溶媒（ベンゼン、ジエチルエーテル、クロロホルム、四塩化炭素、二硫化炭素、1–ブタノールなど）**である。水と混和する溶媒（メタノール、エタノール、アセトン、アセトニトリルなど）は用いられない。

水と二層に分離し、下層にくる溶媒「クラスに溶け込めないデブ」
クラス：Cl、S を含む、溶け込めない：水と混和しない、デブ：重いから下層にくる

## （２）溶媒抽出法で抽出率を上げる方法

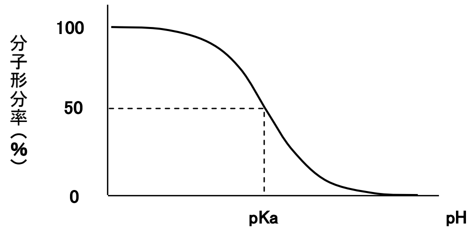
### ① pH を変化させて、分子形割合を増加させる。

・酸性薬物の場合

例： $R-COOH \rightleftarrows R-COO^-$

分子形　　　　　イオン形

**pH を低下**させて分子形割合を増加すると**抽出率が上がる。**

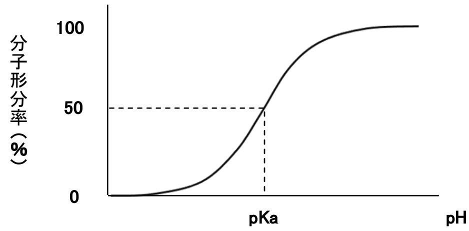



・塩基性薬物の場合

例： $R-NH_2 \rightleftarrows R-NH_3^+$

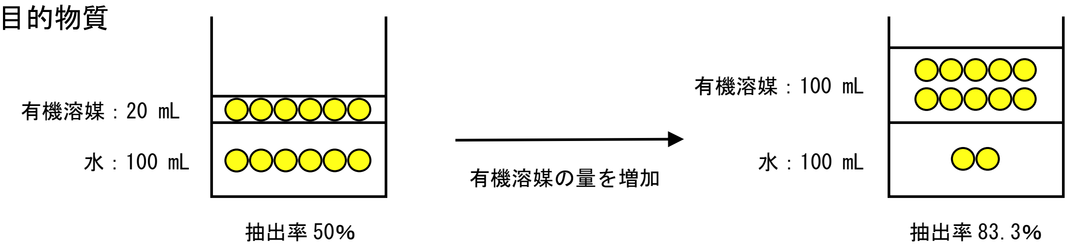
分子形　　　　　イオン形

**pH を増加**させて分子形割合を増加すると**抽出率が上がる。**



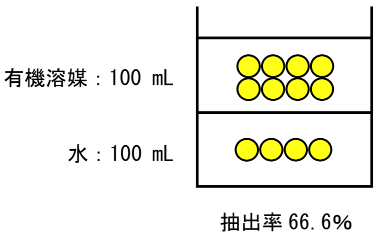

### ② 抽出溶媒の量を増加させる。

○ 目的物質

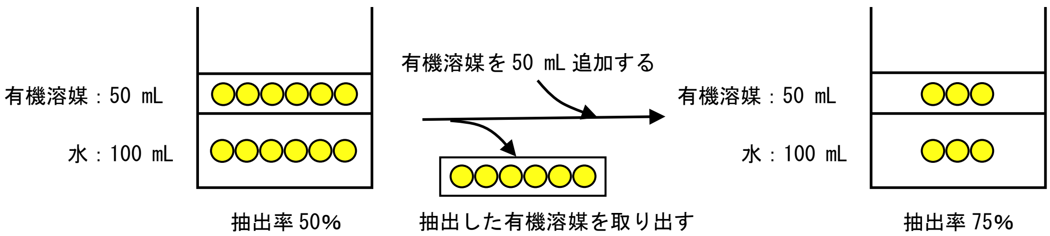



### ③ 抽出回数を増やす。

・有機溶媒 100 mL を 1 回で抽出した場合




・有機溶媒 100 mL を 50 mL ずつに分けて 2 回で抽出した場合



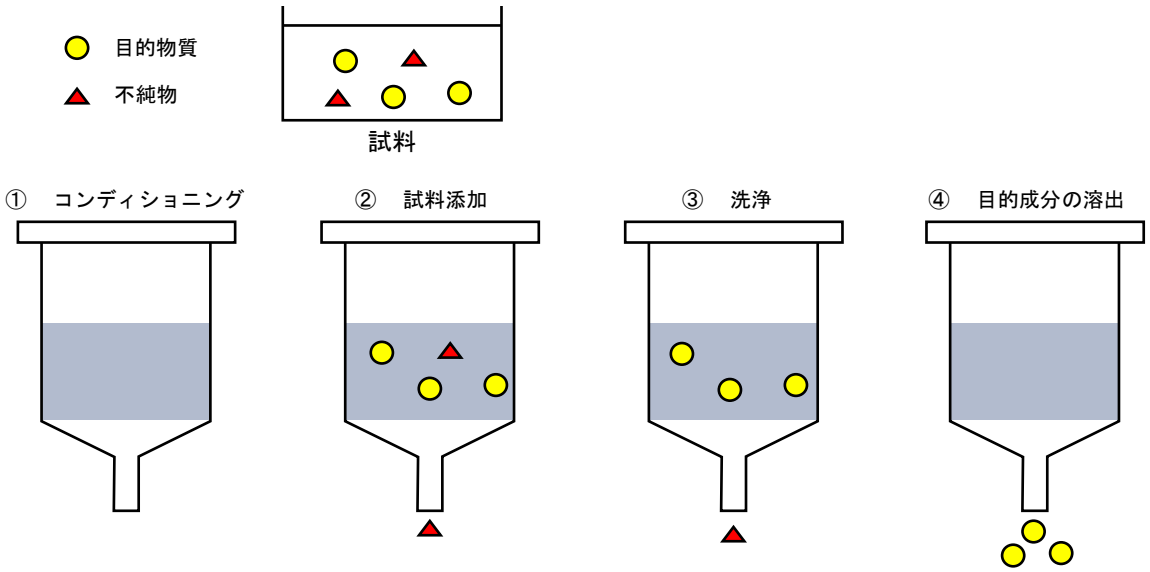
④ **無機塩類を水層に飽和濃度まで加える（塩析）。**

塩化ナトリウムなどの無機塩類を水層に飽和濃度まで加えると目的物質の水層での溶解度が低下し、有機溶媒へ抽出されやすくなる。

## ２）　固相抽出法

有機溶媒のかわりに固相を用いて目的物質の抽出を行う方法である。固相にはクロマトグラフィーと同様で、**シリカゲル（吸着型）、ODS（分配型）、イオン交換樹脂（イオン交換型）**などの充填剤が用いられる。

**・逆相系固相抽出法による分離**




**① コンディショニング（活性化）**

メタノールなどの有機溶媒であらかじめ固相を湿らすことで、固相の官能基を活性化することができる。

**② 試料の添加**

試料水溶液を固相に通液し、試料を固相に保持させる。試料溶媒は、順相型では極性の低い溶媒、**逆相型では極性の高い溶媒**、イオン交換型では塩濃度の低い溶媒を用いる。

**③ 洗浄**

試料溶媒と同じ組成の溶媒を十分に流し、固相に残っている夾雑物を除去する。

**④ 目的物質の溶出**

保持された目的の物質を有機溶媒で溶出させる。

**・溶媒抽出法との比較**

| | |
|---|---|
| ・回収率、再現性が良い | ・自動化が可能 |
| ・操作が容易 | ・使用する有機溶媒量が少ない |
| ・迅速に多数の試料の処理が可能 | ・少量の試料でも処理が可能 |

### ３）　除タンパク法

血液中の薬物を分析する場合、タンパク質が共存することが多く、そのままクロマトグラフィーなどの分離分析法を行うとタンパク質が吸着しカラムの劣化を早めることがある。このため、生体試料を分析するときは共存するタンパク質を除去する除タンパク操作を行う必要がある。

主な除タンパク法として、**タンパク質変性沈殿法（酸変性法、有機溶媒変性法）、限外ろ過法**がある。

**・タンパク質変性沈殿法**

| 前処理法 | 特徴 |
|---|---|
| **酸変性法** | **トリクロロ酢酸**や**過塩素酸**などのかさ高い酸により、タンパク質の高次構造を破壊して沈殿させる方法。塩酸、硝酸または硫酸などを用いても良い除タンパク効果は得られない。 |
| **有機溶媒変性法** | **水と均一に混和するメタノールやアセトン**などの有機溶媒により、タンパク質の**疎水結合**を切断し、沈殿させる方法。水と混和しない有機溶媒を用いてもタンパク質と接触することが出来ないため、良い除タンパク効果は得られない。 |
| **限外ろ過法** | ろ過膜を用いて、結合型薬物と遊離型薬物を分子サイズの違いで分離する方法。 |

### ４）　灰化法

元素分析において、微量濃度の測定を行う場合に行う前処理法である。主に原子吸光光度計やICP（誘導結合プラズマ）発光分析装置などの測定機器に導入する際の前処理で行う。灰化法には乾式灰化法と湿式灰化法がある。

| 前処理法 | 特徴 |
|---|---|
| **乾式灰化法** | 試料を電気炉中で加熱し、有機物を酸化分解する方法 |
| **湿式灰化法** | 試料に硝酸、硫酸、過塩素酸などを加え、有機物を酸化分解する方法 |