

キャピラリー電気泳動を使って代謝成分を測定してみよう

大橋 正孝

発酵食品には、発酵過程で生じるさまざまな代謝産物が含まれる。それら代謝産物を定量する際に、一体どのような機器で分析されているだろうか？一般的に香り成分などの揮発成分はガスクロマトグラフィーを使い、有機酸、アミノ酸などの非揮発成分は液体クロマトグラフィーを使って分析される。これらは、いずれもカラムに充填されている充填剤と食品に含まれる多様な成分との相互作用の強さの違いによって、成分を分離する機器である。一方、キャピラリー電気泳動（CE）は、内壁が溶融シリカの中空の細いキャピラリーに電解質を満たし、サンプル注入側と検出器側の両端に電圧をかけ、イオン性成分の電荷と大きさに応じた電気移動度の違いによって成分を分離する機器である。よく利用されている分離モードであるキャピラリーゾーン電気泳動（CZE）、ミセル動電クロマトグラフィー（MEKC）について解説する¹⁾。

CZE分離モードにおいて、キャピラリーの溶融シリカ内壁は、電解質溶液中でシラノール基（SiOH）が乖離し（SiO⁻）、負電荷を帯びている。したがって、内壁の隣接領域では、陽イオンが引き寄せられているが、キャピラリーの両端に電圧がかかると、陽イオンの移動により、電解質が陰極に移動し、pH4以上で電気浸透流（EOF）が生じる。サンプル注入側を陽極、検出側を陰極にした場合、サンプル中の陽イオンは、EOFにのり、電荷と大きさによって分離され陰極に移動し、検出器で検出される。

一方、サンプル中の陰イオンは、陽極に移動するので、EOFの流れと逆方向に移動することになり、その移動がEOFよりも早ければ、検出器に到達できず、陰イオン成分を測定できない。Reijengaらは電解質に界面活性剤であるセチルトリメチルアンモニウムブロマイド（CTAB）を加えるとEOFが反転することを見いだした²⁾。CTABを加えることで、溶融シリカ内壁の乖離したシラノール基に陽電荷を帯びたアンモニウムカチオンがイオンの相互作用により引き寄せられ、長いアルキル鎖が疎水性相互作用により近接し、アンモニウムカチオンが電解質側に並ぶ³⁾こととなる（図1）。あたかも、溶融シリカ内壁の隣接領域が陽電荷を帯びたようになり、その隣接領域では電解質中の陰イオンが引き寄せられるため、サンプル注入側を陰極、サンプル検出側を陽極とした場合（電極の反転）、キャピラリーの両端に電圧がかかると、EOFは陽極方向に生じる（EOFの反転）。サンプル中の陰イオンは、EOFにのり、成分の電荷と大きさによ

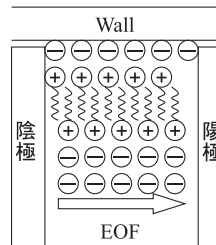


図1. EOFの反転

て分離され検出器で検出される。

電解質に界面活性剤が臨界ミセル濃度以上に添加されると、疎水基を内側に極性基を外側に向けて球状に会合したミセルが生じる。サンプル中に含まれる非イオン性成分は、そのミセルに一部取り込まれ、ミセルと同じ速度で移動する。取り込まれず電解質中に存在する成分は、EOFと同じ速度で移動する。したがって、ミセルに取り込まれる割合の大きい成分ほど遅く移動して分離される。この分離モードがMEKCである。

また、シクロデキストリンを用いたCE分析により、イオン性および非イオン性成分だけでなく、光学活性なアミノ酸も測定可能⁴⁾で、ビール、飲料など食品中のさまざまな成分の測定事例が紹介されている^{4,5)}。

CE分析では、原則的にサンプルを希釈するだけの前処理で済むので、操作が簡易で時間がかからないことが最大のメリットである。さらにサンプル注入量が数nLと非常に少ないため、ピークがシャープで高い分離能が得られ、分析に必要な電解質量も数十mLと低コストで環境に与える負荷も小さい。ただ、移動時間がぶれる場合があることがデメリットとしてあげられるが、質量分析計を検出器とすることで、分子イオンを確認しながら定量することが可能となる（適切な前処理が必要）。さらに飛行時間質量分析計（TOF-MS）であれば、精密質量数を測定できることから分子式の推定まで可能となる。今後、発酵食品中のメタボローム解析が一層重要になってくると考えられるので、一度CE分析を検討してみたいかがだろうか。

- 1) 本田 進ら：キャピラリー電気泳動 基礎と実際、講談社サイエンティフィック（1995）。
- 2) Reijenga, J. C. et al.: *J. Chromatogr. A*, **260**, 241 (1983).
- 3) Lucy, C. A. et al.: *Anal. Chem.*, **68**, 300 (1996).
- 4) Cifuentes, A.: *Electrophoresis*, **27**, 283 (2006).
- 5) Desiderio, C. et al.: *J. Sep. Sci.*, **33**, 2385 (2010).