

電気浸透流を利用する F I A

岡山理科大学理学部 善木道雄

高性能キャピラリー電気泳動法 (HPCE) が注目を集めている。HPCEは高速、高分解能を特徴とする分離分析法で、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) をも凌駕するのではないとも言われている。ここ10年間の間に、装置が市販されたこととあいまって、急速に普及してきた。これまでに、低分子から高分子物質まで、電荷の有無に制限されることなく、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、糖、医薬品等多くの有機化合物の分析に応用されている。又、最近では金属キレート化合物の分離分析にも適用が進んでいる。

HPCEの装置はFig. 1に示すように内径10-200 μm 、長さ20-100 cm程度の熔融シリカの細管 (キャピラリー) 内で電気泳動を行う装置である。基本的な構成はキャピラリーと電解液を入れるリザーバー、高電圧装置、オンライン検出器から成る。普通のFIAやHPLCと大きく違う点は送液方法で、送液はポンプを使用せず、界面動電現象である電気浸透流によって行われる。又、試料導入はキャピラリーの一端から、この電気浸透流を利用して行うか、あるいは圧力またはサイホンの原理を利用し、原則的には注入バルブは使用しない。さてHPCEにおいて、分離が行われるかどうか最大の問題であるが、これを一旦無視してFig. 1をよくみると、明らかにこれはシングルラインFIAである。事実、Liuら¹⁾によって、 α -フェナントロリン- Fe^{2+} をモデル化合物にして、FIAの立場からの検討がなされた。それによると内径75 μm のキャピラリーを用い、20 n l以下のサンプル量で、相対標準偏差3%以下という精度を得ている。

電気浸透流を利用する送液の特徴は、管内均一な速度分布、即ち平らで乱れなく進行するプラグフロー (栓流) である。従って、対流、拡散も起こりずらく、流れのプロフィールはむしろ空気分節を用いるセグメントフローに似ていると考えられる。又、モーター部等機械的に動くものが一切ないので信頼性が極めて高い均一なフローが得られることが挙げられる。

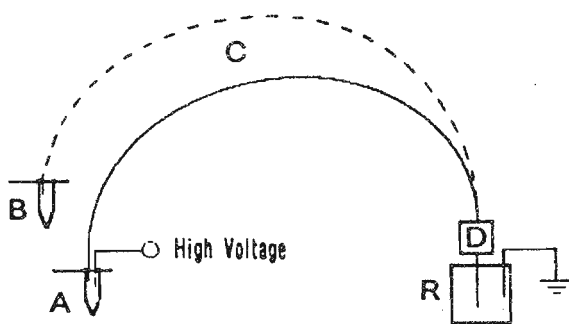


Fig. 1. Schematic diagram of the experimental system. (A) Turret containing carrier electrolyte vials; (B) turret containing sample vials; (C) capillary; (D) detector; (R) grounding electrolyte reservoir. (cited from ref. 1)

Fig. 1の系では、電気浸透流を起こすために電解質溶液を必ずキャリアとして用いなければならない。又、試料がイオン性の時には電気泳動が起き、多成分系の時には試料成分の分離が行われる。何とか電気浸透流の均一な流れだけを利用するFIAはないかと考案されたのがFig. 2である²⁾。A、B間のキャピラリー(C1)で電気浸透流を起こし、V1の四方バルブへ流れを導く。V1でこの流れを試薬溶液の流れに接続し、V2のインジェクションバルブでサンプルを注入、C2の反応(混合)キャピラリーを経てDでオンライン検出する手順である。電気浸透流の流量はごく微量なので、キャピラリーを数本並列に束ねて流量を増した、2流路系のFIAまで紹介されている(Fig. 3)。

FIAの心臓=真髄は、まず規則正しい流れ、再現性ある流れを作ることである。コンピューター制御のマイクロポンプの開発も進んでいる³⁾。

FIAの心臓は将来どんな形になるか楽しみである。

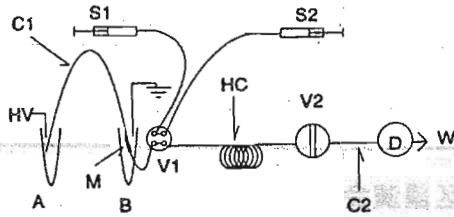


Figure 2. Schematic diagram of single-line FIA system with EOF pumping: A, pump electrolyte container (2 mM Na₂B₄O₇); M, membrane joint; B, vial housing M and containing the same solution as A; HV, high voltage power supply; C1, pumping capillary; V1, four-way valve; S1 and S2, syringes respectively holding pump buffer solution and reagent solutions; HC, reagent holding coil (150 μ L volume); V2, sample injection valve; C2, mixing/reaction capillary; D, detector; W, waste reservoir.

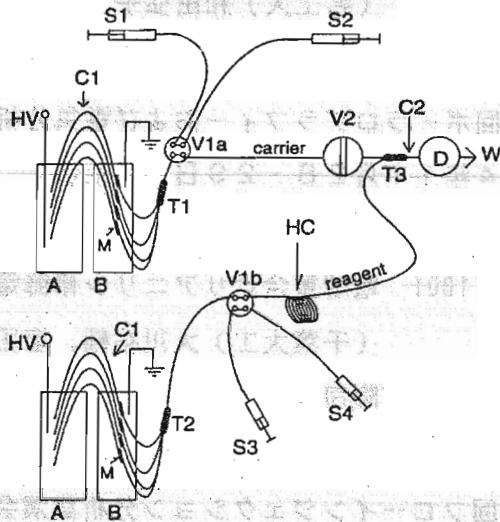


Figure 3. Schematic diagram of two-line FIA system with EOF pumping: B, pump electrolyte solution container; T1, T2, capillary unions; V1a and V1b, four-way valve stacks a and b; S1 and S3, syringes holding pump buffer solution; S2 and S4, syringes respectively holding carrier and reagent solutions; HC, reagent holding coil; T3, low-volume tee union. Other legends same as in Figure 2

(cited from ref. 2)

文献

- 1) S. Liu and P. K. Dasgupta: *Anal. Chim. Acta*, 268, 1(1992).
- 2) P. K. Dasgupta and S. Liu: *Anal. Chem.*, 66, 1792(1994).
- 3) T. Korenaga, X Zhou, T. Moriwake, H. Muraki, T. Naito and Sanuki: *Anal. Chem.*, 66, 73(1994).