

# キャピラリー電気泳動を用いた食品成分・残留農薬のキラル分析

著者	小玉 修嗣, 早川 和一
著者別表示	Kodama Shuji, Hayakawa Kazuichi
雑誌名	ぶんせき
巻	303
号	3
ページ	167-168
発行年	2000-03-05
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00042094">http://doi.org/10.24517/00042094</a>



# キャピラリー電気泳動を用いた食品成分・残留農薬のキラル分析



小玉 修嗣, 早川 和一

## 1 はじめに

キラル分析は様々なクロマトグラフィーで行われている。その中でキャピラリー電気泳動によるキラル分析は歴史的に新しく、1980年代に入ってからである。キラル分析におけるキャピラリー電気泳動の最大の魅力は、従来の分離分析法に比べて桁違いの分解能を有することである。また、もう一つの利点は分析対象化合物が陰イオン、陽イオンおよび中性化合物と広範囲にわたっていることであるが、これは分離モードの多様性による<sup>1)2)</sup>。どの分離モードの分析法を用いるにせよ、キラル分析を達成するためにはキラル識別剤を泳動緩衝液に添加しなければならない。その理由は、キラル化合物間には電気泳動移動度の差がないばかりか、適当なキラル試薬で誘導体化したジアステレオマー間にも電気泳動移動度の差が見られないためである。キャピラリー電気泳動におけるキラル識別剤としては、今までにシクロデキストリン (CD) とその誘導体、クラウンエーテル、バンコマイシンなどの抗生物質、コンドロイチン硫酸などの多糖類、アルブミンなどのタンパク質、金属キレート生成剤などの適用が試みられている<sup>1)3)~5)</sup>。これらのうち、疎水基の包接能を有する CD およびその誘導体が最もよく用いられている。たとえば、トリメチル- $\alpha$ -CD はマンデル酸のようなフェニル基を有するキラル化合物に対するキラル識別能が高いことが知られている。X線解析によると、トリメチル- $\alpha$ -CD は R-マンデル酸のフェニル基全体を包接して水酸基と水素結合を形成するが、S-マンデル酸はフェニル基の一部が緩く包接されているにすぎない<sup>6)7)</sup>(図1)。このように、キラル化合物とキラル識別剤との間のジアステレオメリックな複合体の生成定数に差が生じる場合にのみ、キラル分離が達成される。

これまでのところ、キャピラリー電気泳動を用いたキラル分析は主に医薬品を対象に検討されており、多くの研究報告が総説で紹介されている<sup>3)~5)</sup>。一方、食品成分や添加物の中には多くのキラル化合物があり、食品の味や品質にかかわっている。さらに、食品に残留している可能性のある農薬の中にもキラル化合物がある。現在使用されている農薬の25%はキラル化合物と言われており、キラル化合物間で薬効、毒性や残留性が異なることが知られている。しかし、キャピラリー電気泳動を実際の食品中のキラル分析に適用した報告は極めて少ないのが現状である。また、食品中に残留する農薬をキラル分析した

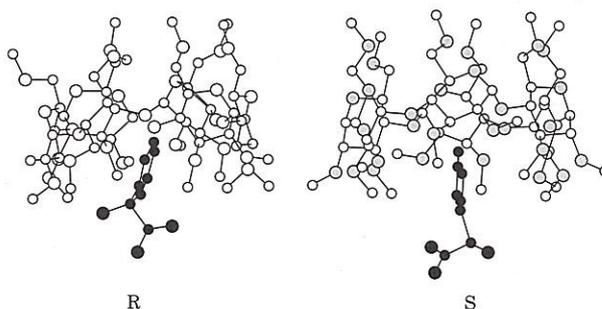


図1 トリメチル- $\alpha$ -CD による R- および S-マンデル酸の包接<sup>6)7)</sup>

報告はいまだなく、土壤中の残留農薬のキラル分析例がわずかに報告されているだけである。今後、食品成分や農薬等においてもキラル分析の必要性が増すと予想され、これらの先駆的研究について紹介する。

## 2 食品成分のキラル分析

### 2.1 アミノ酸

キャピラリー電気泳動によるアミノ酸のキラル分析は、キラル識別剤に銅-L-ヒスチジンをを用いた配位子交換による方法が1985年に報告されて以来、今日まで多くの研究者が様々なキラル識別剤の適用を試みている。しかし、個々のアミノ酸についてはキラル分析できても、アミノ酸は20種類以上あるためにアミノ酸相互の分離が難しく、食品中のアミノ酸のキラル分析を一斉に行うのは困難である。Chang らも、キラル識別剤として  $\beta$ -CD を用いたミセル動電クロマトグラフィーによりダンシル化アミノ酸をキラル分析しているが、4種類もの組成の泳動緩衝液を用いる必要があった<sup>8)</sup>。興味深いことに、タンパク質をアルカリ処理したときのアミノ酸のラセミ化速度は遊離アミノ酸のラセミ化速度に比べて10倍以上も速いことが知られている。中華食材として知られるピータンはアヒルの卵を4.2% NaOH、5% NaClに20日間漬けてつくられる。Chang らはピータン製造中の卵白と卵黄中のタンパク質を分離し、塩酸で加水分解し、ダンシル化後、アミノ酸をキラル分析した。ここで注意しなければならないのは、塩酸による加水分解で一部ラセミ化するアミノ酸がみられることである。卵白におけるラセミ化速度はセリン>アスパラギン酸>グルタミン酸>フェニルアラニン>ロイシン>バリンの順となり、イソロイシンやトレオニンではラセミ化されず、また、ラセミ化速度はアルカリ処理の初期で速く、アミノ酸側鎖、pH、温度などにより影響されることが報告されている。

### 2.2 有機酸

近年の健康飲料ブームにより、各種ビタミンを添加した飲料が市販されている。パントテン酸はビタミンB群に含まれ、D-体だけが生理活性を有する。従来、キラル識別剤としてCDを用いたキラル分析では、対象となる化合物は芳香環を有する化合物に限られていた。ところが、芳香環を持たず、水溶性の基に富むパントテン酸が2-ヒドロキシプロピル- $\beta$ -CD (2HP- $\beta$ -CD) をキラル識別剤として用いたキャピラリー電気泳動によりキラル分析されることが見いだされ、清涼飲料水に適用された<sup>9)</sup>。この知見から、芳香環を持たなくても短いアルキル鎖があればCDに包接される可能性が示唆された。包接定数は小さいものの、乳酸も2HP- $\beta$ -CDに包接されることがわかり<sup>10)</sup>、その結果、キャピラリー電気泳動によるキラル分

Chiral Resolution of Food Components and Agricultural Chemicals by Capillary Electrophoresis.

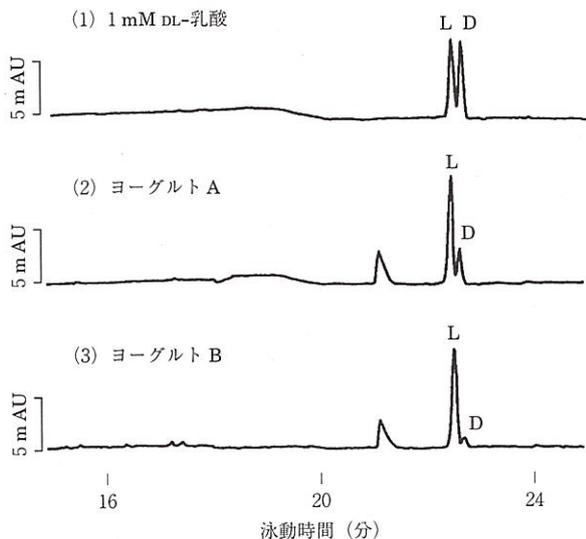


図2 ヨーグルト中のD-およびL-乳酸の分析

析が可能となり、ヨーグルト、ワイン、日本酒などの発酵食品に適用できた<sup>11)</sup>。図2は2種類の市販のヨーグルトを100倍に希釈したもののクロマトグラムである。製品の違いにより乳酸のD/L比は異なっているが、これはヨーグルト製造時に用いる乳酸菌の種類の違いを反映していると推定される。

### 3 環境中の残留農薬のキラル分析

農薬には不斉炭素原子を持つもののほか、不斉リン原子あるいは代謝されて不斉硫黄原子を持つものなどがあり、キラル分析の対象化合物として興味深いものが多くみられる。

シクロロプロップは不斉炭素原子一つを持つ除草剤であり、土壤中で2,4-シクロロフェノールに分解されることが知られている。Garrisonら<sup>12)</sup>は100ヘクタールの実験農場にシクロロプロップを主成分とする農薬を散布し、経時的に土壤を採取し、溶媒抽出により試験溶液を調製した。キラル識別剤としてトリメチル-β-CDを用いたキャピラリーゾーン電気泳動によりキラル分析した。その結果、シクロロプロップの半減期はR-体で8.7日であるのに対し、S-体では4.4日と短かったため、シクロロプロップの分解はキラル選択性があることを明らかにしている。

ハロキシホップは不斉炭素原子一つを持つ酸性除草剤で、通常エステル型のラセミ体として使用される。土壤中で速やかに遊離のハロキシホップに分解され、農薬としての作用を持つ。Desiderioら<sup>13)</sup>はモデル実験として、100gの土壤にラセミ体のハロキシホップエトキシエチルを添加し、室温で3日間放置した後、溶媒抽出により農薬成分を回収した。キラル識別剤にはバンコマイシンを用いているが、紫外吸収が大きいため、バンコマイシンを含む緩衝液を検出部分の手前まで部分注入する方法を用い、電気浸透流がほとんど発生しないポリアクリルアミドでコートしたキャピラリーを使ってキラル分析した。その結果、R-ハロキシホップの割合は72%と多く(図3)、土壤中での分解にはやはりキラル選択性のあることが明らかになった。

### 4 おわりに

キャピラリー電気泳動は高い分解能を有し、キラル分析に適した方法と思われる。食品や環境試料のキラル分析の場合、キラル分析法の開発やその分離メカニズムの解明という面白さの

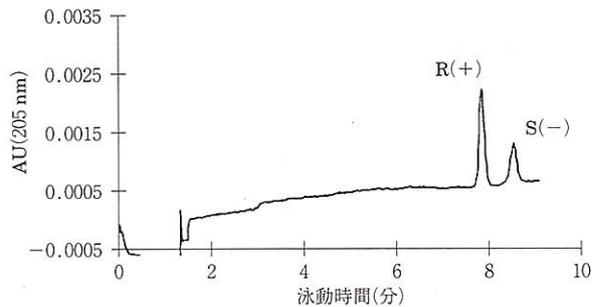


図3 土壤中に残留するハロキシホップのキラル分析<sup>13)</sup>

ほかに、食品製造工程におけるキラル化合物の挙動や意義、あるいは環境中での分解過程におけるキラル選択性の解明など2倍楽しめる興味深い研究分野と言える。キャピラリー電気泳動の大きな欠点として、他の分析法に比べて測定感度が低いことが挙げられる。現在の市販装置は吸光度検出器が標準装備となっているが、蛍光検出器や質量分析計を装備した装置が安価に市販されるようになると、この問題も解決されると期待される。現在までのところ、食品や環境試料を対象としたキラル分析の報告例は数えるほどしかなく、今後の発展に期待したい。

### 文 献

- 1) 本田 進, 寺部 茂 (編): “キャピラリー電気泳動—基礎と実際”, (1995), (講談社).
- 2) D. N. Heiger: “キャピラリー電気泳動入門”, (1994), (横河アナリティカルシステムズ).
- 3) S. Terabe, K. Otsuka, H. Nishi: *J. Chromatogr. A*, **666**, 295 (1994).
- 4) H. Nishi, S. Terabe: *J. Chromatogr. A*, **694**, 245 (1995).
- 5) S. Fanali: *J. Chromatogr. A*, **735**, 77 (1996).
- 6) K. Hirata, K. Uekama, M. Otogiri, F. Hirayama: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 497 (1987).
- 7) 戸田不二緒 (監)・上野昭彦 (編): “シクロデキストリン—基礎と応用”, pp. 59 (1995), (産業図書).
- 8) H.-M. Chang, C.-F. Tsai, C.-F. Li: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 479 (1999).
- 9) S. Kodama, A. Yamamoto, A. Matsunaga: *J. Chromatogr. A*, **811**, 269 (1998).
- 10) S. Kodama, A. Yamamoto, A. Matsunaga: *Analyst*, **124**, 55 (1999).
- 11) S. Kodama, A. Yamamoto, A. Matsunaga, T. Soga, K. Minoura: *J. Chromatogr. A*, in press.
- 12) A. W. Garrison, P. Schmitt, D. Martens, A. Kettrup: *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 2449 (1996).
- 13) C. Desiderio, C. M. Polcaro, P. Padiglioni, S. Fanali: *J. Chromatogr. A*, **781**, 503 (1997).

#### 小玉修嗣 (Shuji KODAMA)



富山県衛生研究所 (〒939-0363 富山県射水郡小杉町中太閤山17-1)。北海道大学大学院水産学研究所博士課程修了。水産学博士。《現在の研究テーマ》キャピラリー電気泳動の衛生化学領域への応用。《趣味》週末の庭いじり。

#### 早川和一 (Kazuichi HAYAKAWA)



金沢大学薬学部 (〒920-0934 金沢市宝町13-1)。東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了。薬学博士。《現在の研究テーマ》未規制有害汚染物質: 発癌性および内分泌攪乱作用を中心に。《主な著書》“衛生薬学”(廣川書店)。《趣味》テニス, スキー。