

レーザー励起蛍光検出器 (キャピラリ電気泳動法)

薬理学、生化学、分子生物学、神経化学、免疫学、農業、食品、環境などの分析分野でレーザー励起蛍光検出法 (Laser-induced fluorescence : LIF 法) が使われています。LIF 法とは、レーザー光によって励起された分子等からの自然放出光(蛍光)を検出する方法です。蛍光を観測することで電子遷移を確認することができます。この電子スペクトルを詳細に解析することで物質の色々な情報が分かり、さらに分解能を上げることにより励起状態の分子の幾何構造をも知ることができます。

レーザー励起蛍光検出法の一つの応用で、キャピラリ(毛細管)電気泳動法と組み合わせたものがあります。その組合せについて説明します。一般的に用いられているキャピラリ電気泳動法の検出器は、吸光光度検出器です。キャピラリの材質としては、紫外域までレーザー光を透過する熔融石英製のキャピラリが使われ、内径は 20 μ m から 100 μ m、長さは 10 から 100cm になります。そのキャピラリに泳動液を満たし試料溶液を入れます。両端に電圧 (-30 ~ 30 kV) を印加することにより成分を荷電、大きさ、形などに基づく移動度の差異で分離します。検出部は、励起するレーザーと蛍光を観測する光電子増倍管が取り付けられています。キャピラリに対し、ある角度でレーザー光が照射されレンズでキャピラリ内にある物質に集光され照射されます。試料からの、または分析対象物に組み込まれた蛍光物質からの蛍光は、ピンホールを通し光電子増倍管に入力されます。その蛍光を分析することにより、試料物質の構造などの情報も得ることができます。

励起用のレーザーはヘリウムカドミウム (He-Cd) レーザ(325nm、442nm)及び固体レーザー(266nm、473nm、532nm)やアルゴンレーザー(488nm)や He-Ne レーザ(633nm)やチタンサファイヤレーザーや半導体レーザーが使われます。

具体的に有機化合物の分析では He-Cd レーザの 442nm は、アミノ酪酸、アスパラギン酸、グルタミン酸、ノルエピネフリン、ドーパミン、Y-アミノ酸、ノルアドレナリンの励起光源として使われます。He-Cd レーザの 325nm は、多糖類、ピレン、ポリ芳香族炭化水素、アフラトキシン B&G、アフラトキシン M1、オクラトキシン、アミノ酸、エピネフリン、ノルエピネフリン、2,5 ジヒドロキシ安息香酸、グリオキサールの励起光源として使われません。

一般的な検出装置は、キャピラリ電気泳動部と蛍光検出部が別装置の場合が多く、各々独立した構造になっております。レーザーはファイバー出力タイプで、レーザー光はファイバーより装置に入射されます。対象の分析試料により、励起レーザーは交換できるようになっております。