

29-0189 W53-1

メチルチモールブルーおよびFe(II)イオンを用いる過酸化物の吸光度定量法の開発

大村 真美¹, ○山口 敬子¹, 藤田 芳一¹ (¹大阪薬大)

【目的】過酸化物は環境中, 食品中, あるいは生体中で多種多様な生理活性作用を有しているのでこの過酸化物の簡便で高感度な分析法の開発は, 非常に有意義である. 例えば, 過酸化脂質の定量法としては, チオバルビツール酸(TBA)法が汎用されているが, この方法はヒドロペルオキシド類を直接測定するのではなく, その代表的な二次生成物であるマロンジアルデヒド(MDA)とTBAとの生成物を吸光あるいは蛍光光度定量することに基づいているので, MDA以外にもTBA反応陽性物質が存在するため選択性などにおいてやや問題のある定量法であると考えられる. 今回, 当研究室では, 過酸化物が, 鉄(II)イオンと直接酸化還元反応し, 鉄(III)イオンを生成する点に着目し, 本反応系を用いる簡便な分析法の設定を試みた.

【方法】過酸化物として, *tert*-ブチルヒドロペルオキシド(*t*-BuOOH)を取り上げ, 常法(液性の検討, 鉄(III)イオンと反応性の高い色素の検討, 緩衝液の種類, 界面活性剤共存による影響, 反応温度の検討, 反応時間の検討, 添加順序の検討, 安定性の検討など)に従って基礎的定量条件を検討した.

【結果および考察】反応条件として酢酸塩-塩酸緩衝液を用い, 鉄(II)イオン及び色素としてメチルチモールブルーを用い, 陰イオン性界面活性剤共存下, 室温で30分放置後, 640nm付近の吸光度を測定することにより, 0.3 μg/mL以下の*t*-BuOOHを再現性良く定量可能であり, キシレノールオレンジ法¹⁾に比べて5倍以上の定量感度を示すことが認められた. 今後共存物質の影響やその他の過酸化脂質を含む化合物並びに実試料への適用についてさらに詳細な検討を進めていく予定である.

1) Khelifa Arab and Jean-Paul Steghens, *Anal. Biochem.* **325** (2004), 158-163.