

28amB-006

硫化水素の化学発光分析法の開発

○荒川 秀俊¹, 西島 千晶¹(¹昭和大薬)

【目的】硫化水素は、血管拡張や神経伝達調節などの作用が報告され、生体内の重要な物質として近年注目されている。硫化水素の分析法としては、一般にGCが用いられるが、機器を用いるなどの問題がある。本研究では、簡便で高感度に硫化水素の分析を可能とするため、銅イオンを作用させ、生じる活性酸素をルシゲニン発光で検出する新たな硫化水素の分析法の開発を検討した。

【方法】リン酸緩衝液 (pH11.7) で希釈した Na_2S 溶液 $20\ \mu\text{L}$ にルシゲニン発光試薬 (塩化銅(II)、Lucigenin、TritonX-100 を含む) 0.2mL を加え、生じる発光をアロカルミネッセンスリーダーで測定した。

【結果・考察】本法は、硫化水素と金属イオンにより発生する活性酸素をルシゲニンにより発光測定することを原理とする。金属イオンとしては、銅(II)、銅(I)、亜鉛、鉄、マグネシウム、マンガン、アルミなどのイオンについて検討した。その結果、銅(II)で強い発光が生じ、その発光はSODで大きく消失した。発光反応における緩衝液pH、塩濃度、ルシゲニン濃度について検討し、方法に記載した条件を至適とした。本法の検量域は Na_2S $1\ \mu\text{mol/L}$ ($20\ \text{pmol/assay}$) $\sim 10\ \text{mmol/L}$ ($20\ \text{nmol/assay}$)、再現性は平均 6.0% ($n=7$) であった。SH化合物であるグルタチオンやシステインはそれぞれ $1\ \text{mmol/L}$ での発光強度を同一濃度の硫化ナトリウムと比べたところ、約 4.1% と 2.9% であった。これにより本法は H_2S に対し特異的分析法と考えられる。現在、より詳細な反応機構ならびに応用などについて検討を行っている。