

[J. Chromatogr., 274, 313 (1983)]

### A New Assay of Monoamine Oxidase by Gas Chromatography

KEIKO KOBAYASHI, SATOSHI KAWAI

#### ガスクロマトグラフィーによるモノアミンオキシダーゼの新測定法

小林恵子, 河合 聡

測定法：8mm 基質液 0.25ml, pH6.8, 50mm リン酸緩衝液 0.10ml, メタノール 0.20ml, カタラーゼ (20,000 U/ml) 0.10ml, ペンタフルオロベンジルオキシルアミン (PFBOA) 水溶液 (1mg/ml) 0.25ml, モノアミンオキシダーゼ (MAO) 試料液0.10ml を加えて37°C, 30分インキュベートする。内部標準物質としてヨードベンゼンの 3.5 $\mu$ g を含むヘキサン 1ml で抽出し, 電子捕捉検出器 (ECD) 装備のガスクロマトグラフ (GC) で測定する。GC 条件は 3%XE-60, 2m, 90°C である。

考察：MAO は基質に作用して H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を産生する。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> はカタラーゼの存在下, メタノールを酸化して対応量の HCHO を生成する。この HCHO を PFBOA と縮合させ, ECD-GC で測定する方法である。本法は, いかなる基質を用いた場合にも適用できる MAO 活性の統一的な測定法であるだけでなく, メタノール・カタラーゼ反応は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に対してきわめて特異性が高いため, 従来利用が困難とされてきたカテコールアミン類も基質に利用できるという大きな利点がある。HCHO と PFBOA との縮合体はきわめて EC 能が高く, 2pg の HCHO の測定が可能であるが, 環境中に存在する微量の HCHO がブランク値を高めるため, 本法の測定限度は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の生成量として 30ng 程度であり, ブランク値をいかにして低くするかが今後の課題として残された。

[J. Chromatogr., 275, 394 (1983)]

### Gas Chromatographic Determination of Glucose in Serum with Glucose Oxidase · Catalase System

KEIKO KOBAYASHI, SATOSHI KAWAI

#### グルコースオキシダーゼ・カタラーゼ反応を利用した血清グルコースのガスクロマトグラフィーによる定量

小林恵子, 河合 聡

測定法：pH5.6, 0.1M リン酸緩衝液 1.25ml, メタノール0.15ml, カタラーゼ (20,000U/ml) 0.1ml, グルコースオキシダーゼ (GOD) (5 U/ml) 0.5ml を含む溶液に10倍希釈血清 0.5ml とペンタフルオロベンジルオキシルアミン (PFBOA) 水溶液 (1mg/ml) 0.5ml を加えて 37°C, 90分インキュベートする。内部標準物質としてヨードベンゼンを含むヘキサン溶液 (200 $\mu$ g/ml) の 0.3ml で抽出し, ガスクロマトグラフィーで測定する。分離条件：3%XE-60, 2m, 100°C, FID

考察：グルコースは GOD によって H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を産生する。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> はカタラーゼ存在下, メタノールを酸化して対応量の HCHO を生成するので, この HCHO を PFBOA と縮合させて GC で測定する方法である。反応に及ぼす pH, メタノール濃度, GOD 濃度, 反応時間などの要因について詳しく検討された。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-peroxidase 系で妨害が問題となるアスコルビン酸の共存も本法では支障はなかった。本法における一連の酵素反応および縮合反応は同一溶液中で同時進行し, 測定は one step 操作が可能であった。0.05ml の血清を用い, グルコース濃度の 0.4~2.0mg/ml の範囲で検量線は原点を通る直線性を示した。