

# ビリルビンの亜鉛イオンによるジメチルスルホキシド中の蛍光反応とその反応の血清中の総ビリルビン測定への応用

小橋一彌、伊達有子、森田美紀、鶴田泰人

*Analytica Chimica Acta*, 365, 177–182 (1998)

## Fluorescence reaction of bilirubin with zinc ion in dimethyl sulfoxide and its application to assay of total bilirubin in serum

Kazuya Kohashi, Yuuko Date, Miki Morita  
and Yasuto Tsuruta

**ABSTRACT** A new fluorimetric method is described for the determination of total bilirubin in serum. The Fluorescence with E<sub>ex</sub> 470 nm and E<sub>em</sub> 545 nm, is based on the reaction of bilirubin with zinc acetate in dimethylsulfoxide (DMSO). Serum (10  $\mu$ L) is added to 2.5mL of DMSO solution containing zinc acetate (0.01M) and *Tris* (0.2 M). After 60 min, at 37°C, the fluorescence is measured. The blank is obtained by mixing serum (10  $\mu$ L) and *Tris*-DMSO solution (2.5 mL) without zinc acetate. The method gave a linear calibration for 0.1~5 mg dl<sup>-1</sup> bilirubin, a 3.3 $\sigma$  detection limit of 5  $\mu$ g dl<sup>-1</sup> and relative standard deviations for bilirubin in control sera of 1~2% ( $n=10$ ). It is simple, specific and sensitive, and showed good correlation with the usual diazo-coupling method.

**抄録** ビリルビンの新しい蛍光反応を開発し、血清中の総ビリルビンの新しい蛍光定量法として応用した。この方法は、ビリルビンが酢酸亜鉛とジメチルスルホキシド(DMSO)中で反応して、E<sub>ex</sub> 470 nm 及び E<sub>em</sub> 545 nm の蛍光を発することに基づいている。酢酸亜鉛(0.01M)とトリス(0.2M)を含むDMSO溶液2.5 mLに、血清(10  $\mu$ L)を加え、37°Cで、60分間反応させた後、蛍光を測定する。ブランクは、トリス(0.2M)を含むDMSO溶液2.5 mLに、血清(10  $\mu$ L)を加える。本法の検量線は、ビリルビン

濃度  $0.1\sim5 \text{ mg dl}^{-1}$  で直線性を示し、検出限界は  $5 \mu\text{g dl}^{-1}$ 、コントロール血清で相対標準偏差は  $1\sim2\%$  ( $n=10$ ) であった。本法は、簡便で、特異的かつ鋭敏であり、一般に用いられているジアゾカップリング法とよい相関を示した。