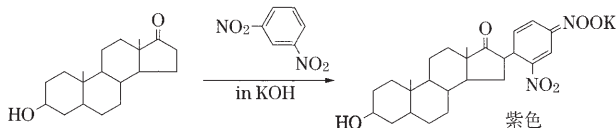


② 17-KS (17-ケトステロイド)

【原理】 17-ケトステロイドが、*m*-ジニトロベンゼンと強アルカリ中で反応して (Zimmermann 反応), 520 nm に吸収極大をもつ呈色反応を示す。



【操作】 ① 水解：24 時間尿の一部 5 ml に 8% ホルマリン 0.1 ml, 濃硫酸 0.5 ml を滴下して 100°C, 15 分間, 酸加水分解を行う。

② 抽出：冷却後, エーテル 20 ml で 3 分間振とうし抽出を行う。

③ アルカリ, 水洗浄：抽出液を 2.5 N 水酸化ナトリウム 5.0 ml で振とう 30 秒 2 回行い, 次に精製水 10 ml で 1 回洗浄し, 水層を除去する。

④ 蒸発乾固：エーテル層に沸石 1 個を入れ, 50~60°C で蒸発乾固する。

⑤ Zimmermann 反応：乾固物に 1% *m*-ジニトロベンゼン液 0.4 ml, 8 N KOH 0.2 ml を加え, 25°C, 10 分間放置後, 80% エタノール 5.0 ml を加えてよく混和し, 460, 520, 580 nm で吸光度を測定し, Allen の補正を行い, 検体吸光度 E_A を求める。

⑥ 別に標準液 (1 mg/dl デヒドロエピアンドロステロン) 5 ml およびブランク (精製水) 5 ml について検体と同様に処理し, 吸光度をそれぞれ E_S , E_B とする。

⑦ 計算：17-KS (mg/日) = $(E_A - E_B) / (E_S - E_B)$

【注】 呈色反応時間を長くすると, 発色物質が分解して褐色になるからこれ以上長くしない。