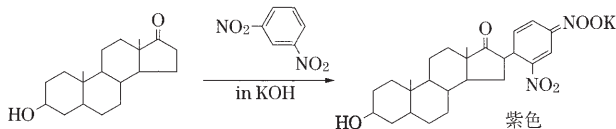


② 17-KS (17-ケトステロイド)

【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。