

Title	ペントースの比色定量(第4報) : オルシン試薬による定量法
Sub Title	Colorimetric determination of pentoses. IV. : determination with orcinol reagent.
Author	友田, 正司(Tomodara, Masashi)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1964
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.8(1963)/9(1964) ,p.28- 31
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000008-0028">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000008-0028</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

コースは加熱時間の増大に伴なつて呈色が強くなる。

**呈色の安定度** キシロース (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) を検体として、加熱終了後室温に放置した場合の 500  $\text{m}\mu$  における吸光度の変化を Fig. 7 に示す。

N-アセチルノイラミン酸を分与された東京大学山田民夫教授、ならびに実験に協力された木村正子氏に深く感謝致します。

### Summary

A method using pyrogallol-ferric chloride-hydrochloric acid-acetic acid reagent was described for the colorimetric determination of pentose, pentosan, or ribonucleic acid. Coloration by this method was 90% in D-ribose and 54% in L-arabinose of that of D-xylose. Pentoses can be determined up to 10~50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Hexuronic acid showed an absorption curve similar to that of pentoses but its coloration was much lower than that of pentoses. It is possible to eliminate the influence of other carbohydrates by estimating the difference in absorbances between 500 and 430  $\text{m}\mu$ . The presence of D-glucosamine, serum albumin, and sodium chloride does not interfere in this coloration.

## ペントースの比色定量 (第4報<sup>\*1</sup>)<sup>\*</sup> オルシン試薬による定量法

友田 正司

### Colorimetric Determination of Pentoses. IV.

#### Determination with Orcinol Reagent.

Masashi TOMODA

オルシンの鉄塩含有塩酸溶液はペントースに対する定性および定量用試薬として広く知られている。<sup>1-3)</sup> この試薬を用いた多くの方法が発表されているが、ペントース以外にヘキソース、ヘキサロン酸、シアリン酸、およびデスオキシペントース等が呈色し、特異性に問題が残っている。<sup>4)6)</sup> 著者等は第2報<sup>5)</sup>において、塩酸・酢酸混液を溶媒とするオルシン試薬が呈色度は弱いの特異性が優れていることを報告した。この試薬に鉄塩を共存せしめると非常に呈色度が高くなり、しかも栄養分析等でもつとも問題になるグルコースや、核酸の分析で問題となるデスオキシ

\* Chem. Pharm. Bull. **11**, 809 (1963) に発表

<sup>\*1</sup> 第3報: Chem. Pharm. Bull. **11**, 806 (1963).

1) G. L. Miller, R. H. Golder, E. E. Miller: Anal. Chem., **23**, 903 (1951).

2) W. R. Fernell, H. K. King: Analyst, **78**, 80 (1953).

3) 友田: 分析化学, **5**, 249 (1956).

4) Z. Dische: Methods of Biochemical Analysis, **2**, 349 (1955).

5) 友田, 神谷, 木村: 薬誌, **82**, 126 (1962).

6) 友田, 神谷: 薬誌 **82**, 1447 (1962).

リボースは全く呈色しないことを認め、呈色度、特異性ともに優れた方法と考えられるので報告する。

鉄塩共存時にはオルシン・塩酸・酢酸試薬によるペントースおよびリボ核酸の呈色度は沸騰水浴中で 30 分間の加熱によりほぼ極大に達する。鉄塩としての効果は、硫酸鉄アンモニウムを用いた場合には塩化第二鉄よりやや呈色度が低いが大体同様である。鉄塩を含まない試薬による呈色の吸収極大波長は 605  $m\mu$  であつたが、鉄塩が共存すると 605  $m\mu$  の他に 665  $m\mu$  にも吸収極大が認められるようになり、Fig. 1 のごとく鉄濃度が増すと 665  $m\mu$  における吸光度は 605  $m\mu$  におけるそれよりも大になる。両極大吸収波長における吸光度は試薬中に 0.01 モルの塩化鉄が存在する場合に最大となり、鉄濃度をそれ以上増しても変わらない。

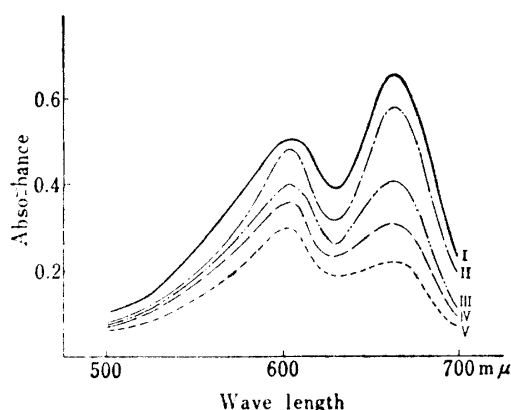


Fig. 1. Absorption Curves for the Colours Produced by the Orcinol- $Fe^{3+}$  Reagent

I :  $10 \times 10^{-3} M$   $FeCl_3$  in Reag.  
 II :  $4 \times 10^{-3} M$   $FeCl_3$  in Reag.  
 III :  $1 \times 10^{-3} M$   $FeCl_3$  in Reag.  
 IV :  $0.5 \times 10^{-3} M$   $FeCl_3$  in Reag.  
 V :  $0.1 \times 10^{-3} M$   $FeCl_3$  in Reag.  
 sample : xylose 40  $\mu g./ml.$

新方法によりキシロース 20  $\mu g/ml$  の 5 検液を用いて 665  $m\mu$  における吸収を測定した場合の吸光度の平均値 0.328, 標準偏差  $\sigma=0.0037$ , 変異係数 1.1% である。ペントースおよびリボ核酸ナトリウム塩の各水溶液による吸収曲線を Fig. 2 に、またフルクトース、ラムノース、グルクロン酸、ガラクトロン酸、および N-アセチルノイラミン酸の各水溶液による吸収曲線を Fig. 3 に示す。キシロース、リボース、およびリボ核酸の吸収曲線は同型であり、他のペントースに比べてアラビノースは 665  $m\mu$  における吸光度はやや大であるが 605  $m\mu$  における吸光度は低い。ウロン酸の吸収曲線はペントースと類似するが、グルクロン酸は呈色が弱いのにに対してガラクトロン酸の呈色はかなり強い。N-アセチルノイラミン酸は 580  $m\mu$  に吸収極大をもつ呈色が認められる。従来シアリン酸の定量法としてオルシン試薬を用いた方法が行なわれているが、<sup>7,8)</sup> 本法による呈色度はかなり高いのでシアリン酸の定量に応用することも可能であると考えられる。しかし 665  $m\mu$  での吸光度は小でペントース定量に対する影響は少ない。フルクトースは 665  $m\mu$  における吸光度はペントースの 3% 以下であり、ラムノースは 620  $m\mu$  以下の短波長で若干吸収が認められるが、665  $m\mu$  ではほとんど影響はない。グルコース、グルコサミン、およびデスオキシリボ核酸は全く呈色しない。これらの結果から 665  $m\mu$  における吸光度を測定してペントースの比色定量を行なうことが妥当と考えられる。

Fig. 4 はアラビノース、キシロース、リボース、およびリボ核酸ナトリウム塩を検体としてその量を変えて 665  $m\mu$  における吸光度を測定した結果であり、いずれも濃度と直線的に比例す

7) I. Werner : Acta Soc. Med. Uppsul., 57, 230 (1952).

8) L. Svennerholm : Arkiv. Kemi., 10, 577 (1957).

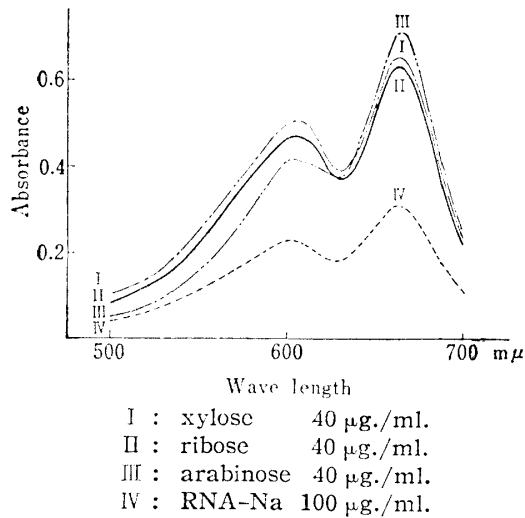


Fig. 2. Absorption curves for the colours produced by orcinol-Fe<sup>3+</sup> reagent

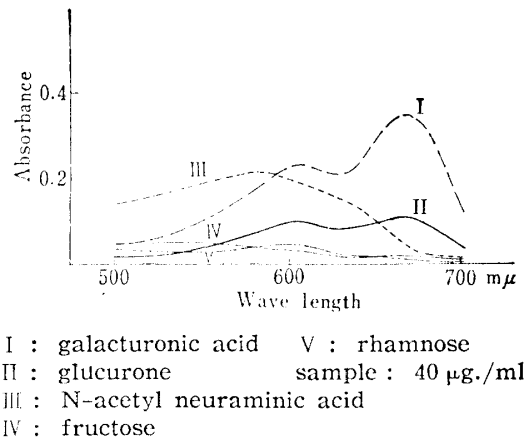


Fig. 3. Absorption curves for the colours produced by orcinol-Fe<sup>3+</sup> reagent

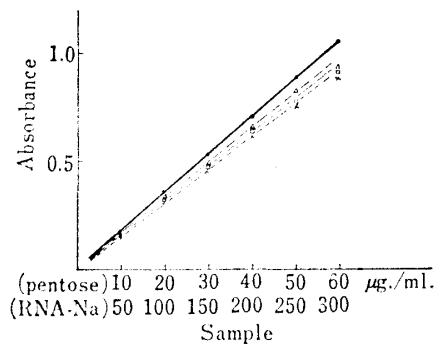


Fig. 4. Optical density at 665 mμ of various amounts of pentoses and RNA

- : arabinose
- △—△ : xylose
- : ribose
- ×—× : RNA-Na

ることが認められ、ペントースは 50 μg/ml, リボ核酸は 250 μg/ml 以内で定量できる。第 1 報<sup>5)</sup> で述べた実験結果から本法の条件でペントザンの定量を行ないうることも明らかである。

665 mμ においてアラビノースに対する呈色度はキシロース 92%, リボース 89% である。血清アルブミンまたは塩化ナトリウムをペントースと同量共存せしめても呈色に対する影響は全く認められない。

本法は従来オルシン試薬より特異性が優れ、また著者等が第 1 報でペントースおよびペントザンの定量試薬として最適と認めた塩化鉄・フロログルシン試薬に比べても呈色度および所要時間ともに優つており、ウロン酸共存時を除いてはペントースおよびペントザンの定量試薬として一般的に用いることができる。

### 実 験 の 部

**オルシン試薬** 濃塩酸：氷酢酸 (1 : 3, v/v) の混液にオルシンを 0.1% に溶解し、この溶液 99 部に 1M FeCl<sub>3</sub> 1 部を加え混合。用時調製する。

**吸光度および吸収曲線の測定** 検液 1 ml を 25×200 mm の共栓付試験管にとり試薬 4 ml を加え混合し、沸騰水浴中で 30 分間加熱後直ちに冷水で室温に冷却する。呈色は 2 時間安定である。吸光度は日立 EPU 2 型分光光度計を用い、吸収曲線は日立 EPS 2 型自記分光光度計を用いて測定した。

**鉄塩添加による影響** キシロース (40 μg/ml) を検体として、試薬中の塩化鉄濃度を変えた場合の 605

$m\mu$  および  $665 m\mu$  における吸光度の変化を Fig. 5 に示す。

**加熱時間の影響** キシロース ( $40 \mu\text{g/ml}$ ) およびリボ核酸ナトリウム ( $100 \mu\text{g/ml}$ ) を検体として、沸騰水浴中の加熱時間を変えた場合の  $665 m\mu$  における吸光度の変化を Fig. 6 に示す。

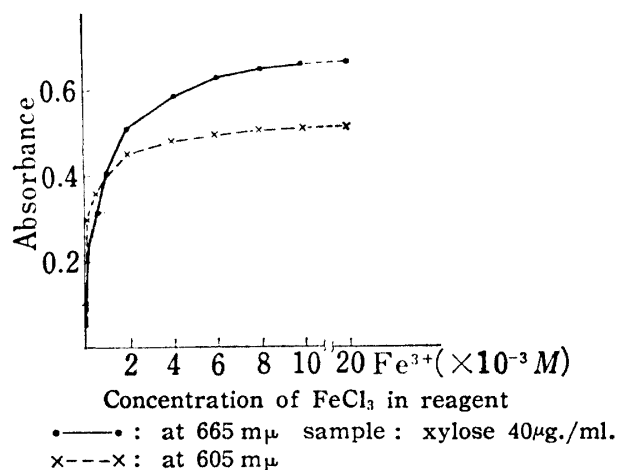


Fig. 5. Relationship between the Optical Density and Ferric Ion Concentration

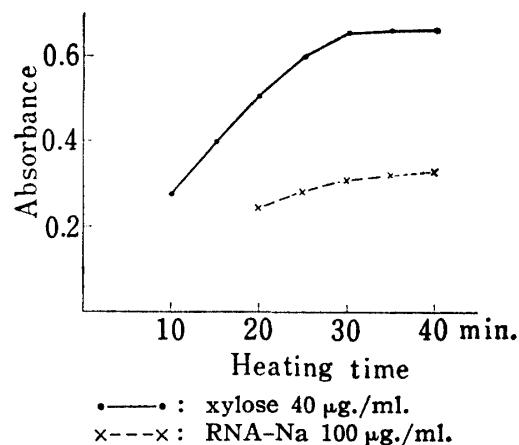


Fig. 6. Relationship between the Optical Density at  $665 m\mu$  and Heating Time

N-アセチルノイラミン酸を分与された東京大学山川民夫教授，ならびに実験に協力された神谷智子氏に深く感謝致します。

### Summary

A method using orcinol–ferric chloride–hydrochloric acid–acetic acid reagent was described for the colorimetric determination of pentose, pentosan, or ribonucleic acid. Coloration by this method was 92% in D-xylose and 89% in D-ribose of that of L-arabinose. Pentoses can be determined up to 10~50  $\mu\text{g/ml}$ . Hexuronic acid showed an absorption curve similar to that of pentoses but its coloration was much lower than that of pentoses. Sialic acid shows a color with an absorption maximum at  $580 m\mu$ , but its absorbance at  $665 m\mu$ , which is the absorption maximum wave length of pentoses, is low. D-Glucose, D-glucosamine, and deoxyribonucleic acid do not undergo this coloration. Other carbohydrates have very little effect on pentose determination. The presence of serum albumin and sodium chloride does not interfere in the coloration. The present method is better in specificity than other methods which have been used until now.