梶井雅一郎：過酸化水素による α -アミノ酸の定性反應

Masaichiro Masui: Qualitative Reaction of α -Amino Acid Group
with Hydrogen Peroxide

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo*)

銅のアンモニア、ピリジン等の錯塩水溶液に H_2O_2 を加えると烈しく H_2O_2 は分解され同時に黒褐色の過酸化水素化物 ($CuO, O_2Haq^{1)}$ が析出する。このものは銅塩の水溶液がアルカリ性で水酸化銅の析出する状態にて H_2O_2 を加えた時にも析出する。此等の際に α -アミノ酸を一定量以上加えると H_2O_2 を加えても H_2O_2 の分解は弱く、もはや黒褐色の銅の過酸化水素化物は析出せず溶液は透明な青色（或は帯緑青色）を保っている。この作用は pH 8 以下 3 位迄の間では α -アミノ酸以外にカルボン酸その他数種のものにも見られる。然るに炭酸ソーダで pH 9.2 より強アルカリ性になると α -アミノ酸以外に殆んどこの作用は見られない。成績は Table I に示す。

Table I

試 料	使用溶媒	pH	試薬添加順並に外観	呈 色
Glycocoll, <i>l</i> -Cystine, <i>l</i> -Asparagine <i>dl</i> -Alanine, Arginine-HCl 塩, Glutamic acid, <i>l</i> -Aspartic acid, <i>dl</i> -Phenylalanine	水	9.6<	Cu* + H_2O_2 *	青 透明
<i>l</i> -Leucine, <i>dl</i> -Methionine	水	9.6<	Cu (白析出物あり) + H_2O_2	青：淡緑青
<i>l</i> -Iodogorgoic acid	水	9.6<	Cu + H_2O_2	青→淡紅→緑
<i>l</i> -Tyrosine	水	9.6<	Cu + H_2O_2	褪色して透明
<i>dl</i> -Tryptophane	水	9.6<	Cu + H_2O_2	緑青→カーキ色→褐
<i>K</i> -Citrate; <i>K</i> -Saccharate	水	9.6<	Cu + H_2O_2	青：緑
β -Alanine, <i>K</i> -Na-Tartrate, Tartaric acid, Succinic acid, Glutaric acid, Lactic acid, Malic acid, KH_2PO_4 , H_3BO_3 , Glycolic acid, Methylacetanilide, Picrolonic acid, Diethylamine, Guanidine carbonate, Salicylic acid, Albumine, Dextrin, CH_3-NH_2-HCl , $H_2N-COOC_2H_5$	水	9.0~ 9.6<	Cu + H_2O_2	褐色(↓)*
Sulfanilic acid, <i>m</i> -Phenylenediamine-HCl	水	9.0~ 9.6<	Cu + H_2O_2	褐赤(↓)
5-Aminosalicylic acid	水		Cu (濃緑色) + H_2O_2	褐赤透明
α -Benzoinoxime,	アルコール	9.4	Cu (緑↓) + H_2O_2	無変化
2-Amino-5-methyl-pyrimidine, 2-Amino-4-methyl-thiazole HCl salt,	水	9.2~ 9.6<	Cu + H_2O_2	褐色(↓)
Starch, Haemoglobin	水	9.6	Cu + H_2O_2	褐色透明

* Cu は試薬 (1) H_2O_2 は (2) ↓ は沈澱 9.6< は pH 9.6 或はそれよりアルカリ性強し

この機構は Nikolaev²⁾ の報告より考え、錯塩の場合には $[Cu(NH_3)_4]^{++}$ に更に 2 箇の α -アミノ酸が結合して安定な H_2O_2 接融分解作用の低い化合物となる為と考えられるが、又単なる銅塩の場合にアルカリ性のこの溶液に α -アミノ酸が存在すると青色透明になつて水酸化銅は析出しなことは α -アミノ酸が銅と安定な塩を形成する為であり、何れにせよこの様に銅を溶液中に於て安定化する為と考えられる。citric acid, saccharic acid

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo.

1) J. Chem. Soc.: 1951, 904.

2) L. A. Nikolaev: C. A. 42, 3653 (1948).

が同様な作用を有したが他の数種のアミノ酸には作用なく、銅と安定な錯塩を作るものならこの作用を示す筈であるが、それ等以外には見当らなかつた。上述のことよりその作用を現わすに必要なアミノ酸の最低量が求められ、例えば 0.05 モル濃度の Cu に対し 0.1 モル濃度のグリシン同量で足りることが実験によつても示された。之より多少でも少いと褐沈が出来る。加えた際の濃度の不均衡のある為多くの場合はその量の数倍量ある時に安定に作用を呈するとみるのが安全である。今銅 0.05 モル濃度の試薬 1 滴 (0.05 cc) を用いると分子量たとえ 200 としても $1 \text{ mg} \times (1-5)$ であるわけである。この感度は銅塩溶液の稀薄なものをを用いれば更に上昇させ得るが、限度は α -アミノ酸不存在の場合の褐色呈色 (稀薄な時には沈澱は見えない) が明かに見得る処迄である。 α -アミノ酸存在時は無色透明である。実験したところでは銅につき 0.005 モルの小 1 滴 (0.025 cc) で尙充分であつたから、この際は $0.05 \text{ mg} \times (1-5)$ であるわけである。銅塩溶液にビリヂン (NH_3 でも可) を加えたものをを用いると、 α -アミノ酸不存在時に発泡が見られ又反應もやや鋭敏な様なので Table I では主に之を用いたが、ビリヂンは無くともよい。チロシン、トリプトファンは本反應の活性やや弱く、チロシンは相当量を用いる要あり、トリプトファンは初め緑透明だが時間と共に褐色になつて来る。反應は何れも速に起り判定は試薬を加えた瞬間、遅くとも数秒後に下せる。あまり時間を経てからの変色はとるべきでない。アミン系、ナフチルアミン系の第 1 級アミンのある化合物は赤色呈色するから妨害となる。又オキシンの如く銅と波澱を起すものの存在は不可である。

試薬：(1) 硫酸銅水溶液 (0.05 モル以下) 又はそれにビリヂンを加えたもの (銅量の 8~12 倍相当量)

(2) 20~30% 過酸化水素水

マイクロ試験管に検体少量をとり少量の 0.5 N Na_2CO_3 水溶液と蒸留水とに溶解せしめ (不溶の時は適宜エタノールを用いる) pH を 9.2 より強アルカリ性 (東洋炉紙 pH 試験紙では pH 9.6 以上不明なので出来る丈 Na_2CO_3 は少く用い 9.6 よりあまり強アルカリ性にならぬ様にした) にし、(1) を 1 滴加えて振り、次に (2) を 1 滴加えて振る。 α -アミノ酸が上記量以上あれば青色 (透明) 又は帯緑青色 (透明) であるが、然らざる場合には即時褐色になり或は黒褐色沈澱が出て簡明に判定出来る。

本実験に当り終始御指導御鞭撻を賜つた石館守三先生に衷心より感謝の意を表する。又種々御援助下された当教室田村善藏氏に心より御礼申し上げる。

Summary

By the addition of 20~30% H_2O_2 to alkaline copper solution of over pH 9.2, dark brown precipitate of $\text{CuO} \cdot \text{H}_2\text{O}$ appears. The presence of α -amino acid group in the solution prevents the precipitation the solution remaining blue and clear. This reaction was, therefore, thought to be applicable for a qualitative estimation of α -amino acid group. With the exception of citric and saccharic acids, many other compounds do not show this effect. Detectable amount is $0.05 \times (1-5) \text{ mg.}$ of amino acid (molecular weight taken as 200).

(Received November 13, 1951)