

糖鎖分析メソッド集  
フェノール硫酸法による中性糖の定量

Ver. 20171130

Written by S. Natsuka

### 方法の概要と目的

古典的な中性糖の呈色法。オルシノール硫酸法より手順が少なく簡便だが、中性糖の種類による発色のばらつきが大きい。例えばフコースはグルコースの2倍弱の発色強度を示す。アミノ糖は発色しない。硫酸によって中性糖からフルフラール誘導体が生じ、フェノールと反応することで呈色する。高濃度の硫酸を加えるので、あらかじめ加水分解しなくても構成糖を検出できる。

### この方法を使った時に引用すべき論文

Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith. *Anal. Chem.*, **28** (3) 350–356 (1956).

1.5 g phenol (color less)

↓ 48.5 ml DDW

3% phenol solution

(水飽和 phenol を 70% phenol として 23 倍希釈してもよい。ただし温度によって飽和%が大きく変化する。室温の場合は約 70%)

0.1 mL of 1 – 10  $\mu$ g of neutral sugars (10 – 100  $\mu$ g/mL)

(エッペンドルフチューブを使うのは突沸の可能性が高く危険。ある程度の大きさのガラス試験管を用いる。)

↓ 0.2 mL of 3% phenol solution

↓ 0.75 ml conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SSG grade)

(突沸しない程度の速さで加え、生じた熱で反応を進める。)

↓ vortex

↓ room temp., 20 min

↓ measure absorbance

(490 nm for hexose, 480 nm for pentose, 6-deoxyhexose, uronic acid)