

はちみつの分析法

この分析法は、はちみつとして輸入されるもので、全糖分、しょ糖分及び果糖分の定量を必要とするものについて適用する。

1. 試験方法の概略 この方法は、はちみつ中の全糖分、しょ糖分及び果糖分を定量する場合に適用するものであり、定量の手順は次のとおりである。

標準転化糖溶液の作成及びその力価の測定

レイン・エイノン法による、全糖分及び直接還元糖分の定量

しょ糖分の算出

レゾルシン塩酸法による、果糖分の定量

2. 試薬及び器具

(1) 標準転化糖溶液

しょ糖（試薬）4.75 g を 500 mL 容メスフラスコにとり、水 90 mL で溶かし、塩酸（比重 1.18）5 mL を加え、20～30℃で3日間放置する。これに水を加えて定容し、冷所に保存する。その 50 mL を 200 mL 容メスフラスコにとり、フェノールフタレインを指示薬として、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和したのち、水を加えて定容し、これを標準転化糖溶液として、フェーリング溶液の力価標定に用いる。

(2) 1%メチレンブルー溶液

メチレンブルー 1 g を水に溶かして 100 mL とする。

(3) フェーリング溶液

A 液： 硫酸銅（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）34.639 g を水に溶かして 500 mL とし、2 日間放置後ろ過する。

B 液： 酒石酸カリウムナトリウム 173 g と水酸化ナトリウム 50 g を水に溶かして 500 mL とし、これを 2 日間放置後ろ過する。

フェーリング溶液の力価の標定

フェーリング溶液 A 液 5.0 mL 及び B 液 5 mL を 200 mL 容三角フラスコにとり、50 mL 容ビュレットを用いて標準転化糖溶液 19.5 mL を加える。電熱器上で 2 分間沸とうさせたのち、メチレンブルー溶液 4 滴を加え、煮沸しながら標準転化糖溶液を滴下し、青色が消失したところを終点とする。滴定は沸とうし始めてから 3 分以内に終了する。この滴定を 3 回行い、その平均値を求める⁽¹⁾。

力価は次式により求められる。

$$\text{力価}^{(2)} = \frac{20.36}{A}$$

ただし、A：消費した標準転化糖溶液の量(mL)

(4) 0.1%レゾルシン・エタノール溶液

レゾルシン 0.1 g をエタノール（99.5 容量%）に溶かして 100 mL とする。この溶液は 3 ケ月間の使用に耐える。

(5) 塩化第二鉄塩酸溶液

塩酸（比重 1.18）100 mL に塩化第二鉄（ $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ）約 0.75 mg を含む溶液をつくる。

(6) 標準果糖溶液

果糖 1 g を 1000 mL 容メスフラスコにとり、水を加えて定容する。この溶液を更に水で薄めて 1 mL 中にそれぞれ 10、20、30、40、50 及び 60 µg の果糖を含む溶液をつくる。

(7) 紫外可視分光光度計

注 1) 3 回の平均値を滴定値とするが、各滴定値の差は 0.1 mL 以内とする。

注 2) 力価は小数点以下第 4 位を四捨五入し、 1 ± 0.02 の範囲内におさめる。

3. 全糖分の定量

3.1 試料の調製 分析試料をガラス棒でよくかくはんして均質にする⁽³⁾。その約 3 g を正確に量り取り、水を加えて 500 mL 容メスフラスコに移し入れ、定容する。

注 3) 試料が顆粒や微結晶を含むときは、50 以下の湯浴中で完全に溶解する。又は 60～65 で短時間に均質化して差し支えない。加温中水分の蒸発を防止するため軽くふたをする。試料が屍蜂や草木片などを含むときは、これを綿布でろ過して除く。

3.2 転化操作 3.1 で得られた糖液 100 mL を 200 mL 容三角フラスコにとり、0.1 mol/L 塩酸 30 mL を加えてよく混合する。これに空気冷却管をつけて沸とう水浴中で 30 分間加熱後、流水で冷却し、フェノールフタレインを指示薬として 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和したのち 200 mL 容メスフラスコに移し入れ、水を加えて定容する。

3.3 滴定操作 フェーリング溶液 A 液 5.0 mL 及び B 液 5 mL を 200 mL 容三角フラスコにとり、50 mL 容ビュレットを用いて、3.2 で得られた糖液約 15 mL を加え、電熱器上で沸騰させ、2-(3)の要領で滴定し、これを予備滴定とする。

更に同様にして、予備滴定で得た滴定数より約 1 mL 少ない量の糖液を加え、2-(3)の要領にしたがって滴定する⁽¹⁾。ここで得た糖液の消費量に力価を乗じ、この数値からレイン・エイノン糖量表を用いて転化糖量 Ts (mg) を求め⁽⁴⁾、次式により全糖分 (%) を算出する。

$$\text{全糖分}(\%) = \frac{Ts \times 2 \times 5 \times 100}{S \times 1000} = \frac{Ts}{S}$$

ただし、S は 3.1 でひょう量した分析試料のグラム数である。

数値の丸め方は小数点第 3 位以下を四捨五入する。

注 4) レイン・エイノン糖量表のうち、転化糖・無し糖を用いる(7. 参照)。

4. 直接還元糖分の定量

4.1 試料の調製 3.1 で得られた糖液 100 mL を 200 mL 容メスフラスコにとり、水を加えて定容する。

4.2 滴定操作 4.1 で得られた糖液を用いて 3.3 の滴定操作に準じて滴定し、転化糖量 Ds (mg) を求め、次式により直接還元糖分 (%) を算出する⁽⁵⁾。

$$\text{直接還元糖分}(\%) = \frac{Ds}{S}$$

ただし、S は 3.1 でひょう量した分析試料のグラム数である。

数値の丸め方は、小数点第 3 位以下を四捨五入する。

注 5) はちみつに含まれる直接還元性の糖は転化糖が主成分であるとみなし、転化糖として表す。

5. しょ糖分の計算 3.3 及び 4.2 で求めた全糖分と直接還元糖分を用いて、次式により算出した値をしょ糖分とする。

$$\text{しょ糖分}(\%) = (\text{全糖分}(\%) - \text{直接還元糖分}(\%)) \times 0.95$$

数値の丸め方は、小数点第 2 位以下を四捨五入する。

6. 果糖分の定量（レゾルシン塩酸法）

6.1 試料の調製 3.1 で得られた糖液 5 mL を 500 mL 容メスフラスコにとり、水を加えて定容する。

6.2 測定操作 6.1 で得られた糖液 2 mL を試験管にとり、これに 0.1 %レゾルシン・エタノール溶液 2 mL 及び塩化第二鉄塩酸溶液 6 mL を加えてよく混合し、80 の湯浴中に入れて 8 分間加熱⁽⁶⁾後、直ちに流水で冷却する。糖液の代わりに水を用いて同様に処理したものを対照として 483 nm⁽⁷⁾ で吸光度を測定する⁽⁸⁾。また同形同質の試験管を用いて同時に糖液と同様に処理した標準果糖溶液（1 mL 中 10、20、30、40、50 及び 60 µg の果糖を含む溶液）の吸光度と果糖濃度から検量線を作成する⁽⁹⁾。

糖液の吸光度から検量線により 1 mL あたりの全果糖量 F (µg)を求め次式により果糖分 (%) を算出する。

$$\text{果糖分}(\%) = \frac{5 \times F}{S} - \frac{\text{全糖分} - \text{直接還元糖分}}{2}$$

ただし、S は 3.1 でひょう量した試料のグラム数である。

数値の丸め方は、小数点第 2 位以下を四捨五入する。

注 6) 加熱は均一になるようにする。

注 7) 測定波長は、460 ~ 500 nm 範囲を用いてよい。

注 8) 測定は並行試験を同時に行う。

注 9) 検量線は試料測定のと同時、それと同時に処理して得られた吸光度から作成する。

7. レイン・エイノン糖量表（転化糖・無し糖）

糖液の所要量（mL）	糖液 100 mL に 対する mg	糖液の所要量（mL）	糖液 100 mL に 対する mg
15	336	33	156.6
16	316	34	152.2
17	298	35	147.9
18	282	36	143.9
19	267	37	140.2
20	254.5	38	136.6
21	242.9	39	133.3
22	231.8	40	130.1
23	222.2	41	127.1
24	213.3	42	124.2
25	204.8	43	121.4
26	197.4	44	118.7
27	190.4	45	116.1
28	183.7	46	113.7
29	177.6	47	111.4
30	171.7	48	109.2
31	166.3	49	107.1
32	161.2	50	105.1