

## ノート

# 天然はちみつ中の偽和物の分析 - ガスクロマト

## グラフィーによる異性化糖の確認 -

難波 茂, 笹川 邦雄, 中津 純\*

### 1 緒言

近年はちみつの需要増大に伴い、天然はちみつの供給不足が起り、人工転化糖、異性化糖等により增量されたはちみつが増加し、品質面から問題となってきた。

はちみつの品質規格については、FAO/WHO、日本薬局方、公正競争規約等により人工転化糖添加が規制されており、ヒドロオキシメチルフルフラール(HMF)含有量の基準値が定められている。しかし、天然はちみつ中には 0~2mg/100gr の HMF が検出されるので HMF だけで偽和物を確認するのには問題がある。

輸入される天然はちみつは関税率表上税番第 04.06 号に分類され、輸入自由化品目 (AA 品目) である。一方、天然はちみつに人工転化糖、又は異性化糖等を添加した物品は、人造はちみつとして税番第 17.02-7 号に分類され、輸入割当品目 (IQ 品目) となっており、天然はちみつと関税率表上の取扱いを異にしている。

したがって、輸入はちみつについては、関税率表分類上偽和物の確認が必要となる。

はちみつの関税率表上の所属決定に当っては、果糖の全糖分に対する割合、しょ糖含有量等を一つの基準として規定している。これまでのように、偽和物として砂糖の添加が対象となっていた場合には、この区分基準で所属の決定は可能であった。最近では天然はちみつの糖組成に類似した異性化糖が極めて安価に入手できることから異性化糖を偽和物として使用するようになった。そのため、果糖の全糖分に対する割合、しょ糖含有量の基準では異性化糖の確認は困難となった。

はちみつ中の異性化糖確認についてはいくつかの研究が報告されているが、ここでは、天然はちみつ中に添加された異性化糖を確認するため、ガスクロマトグラフィーによるイソマルトース及びマルトースの定量法について検討し、異性化糖添加量との関係を考察した。

### 2 実験方法

#### 2・1 装置及び条件

装置：島津 GC-4BM, FID 検知器

条件：OV-17 (3%)、Gas Chrom Q (100~120 メッシュ) をカラム充てん剤としたガラスカラム (5m×3 mm) を用い、カラム温度は 260 恒温とした。キャリアーガスは N<sub>2</sub> (60ml/min)、注入口温度は 320 とした。

#### 2・2 試薬

標準糖質として試薬特級のマルトース、イソマルトース及びシュクロースを用いた。

糖質の TMS 化剤として HMDS を用い、TFA 及びピリジンを溶剤として用いた。

内部標準にはコレスタン (試薬特級) を用いた。

#### 2・3 試料

実験に用いた天然はちみつ及び異性化糖 (以下 HF CS と略) は輸入品及び国産品をそれぞれ使用した。その性状は Table 1 に示した。

\* 東京税關輸入部分析室 108 東京都港区港南 5-5-30

Table 1 Sugars Composition of honey sample and high fructose corn syrup (HFCS) used for examination

(Honey)

Sample	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Country of origin	U.S.A.								
Kind of flower	Clover	Clover	Clover	Clover	Clover	Orange	Orange	Orange	Orange
T. sugar (%)	79.03	78.52	78.68	78.59	79.25	75.57	78.47	76.23	78.85
Fructose (%)	41.7	40.8	42.8	40.8	42.7	44.1	44.2	39.2	43.1
Sucrose (%)	3.7	2.5	3.2	3.4	3.6	4.5	2.6	4.9	3.4

(HFCS)

Commodity name*	Maker	Glucose(%)	Fructose(%)
F - H	N.S.K.	45under	55
F - T	"	58 "	42
F - 55	"	45 "	55over

\* Submitted by the maker

#### 2・4 試料の調製

はちみつと HFCS を種々の重量割合で混合し, 湯浴上で加温しながら十分に混合した。

糖質のTMS化は次のようにして行った。すなわち、はちみつ、HFCS 又は、はちみつ+HFCS をそれぞれ約 60mg ずつスクリュートップバイアルに正確に秤り取り、これに内部標準としてコレスタン 1.0mg を加え、ピリジン 1.0ml を加えて溶かし、更に 0.9ml の HMDS を加えよく混合する、次に TFA 0.1ml を加えて十分に混合し、内容物が透明になるまで振とうし、これをガスクロマトグラフィーの試料とした。

### 3 実験結果及び考察

#### 3・1 標準糖質のガスクロマトグラム

シュクロース、マルトース及びイソマルトース混合物のガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。この条件では、シュクロースは 12 分、マルトースは 16 分、イソマルトースは 28 分でピークが現われる。シュクロースは単一ピークを示すが、マルトース及びイソマルトースは、-アノマーの二つのピークを示し、-アノマーの分離は悪い。しかし、マルトースとイソマルトースのアノマーは相互に重なりがないため、一個のピークとして取扱うことができる。内部標準コレスタンは 40 分に対称性のよいピークとして現われ、各糖質との分離も十分であり、この場合、内部標準として良好であった。

ノマーの分離は悪い。しかし、マルトースとイソマルトースのアノマーは相互に重なりがないため、一個のピークとして取扱うことができる。内部標準コレスタンは 40 分に対称性のよいピークとして現われ、各糖質との分離も十分であり、この場合、内部標準として良好であった。

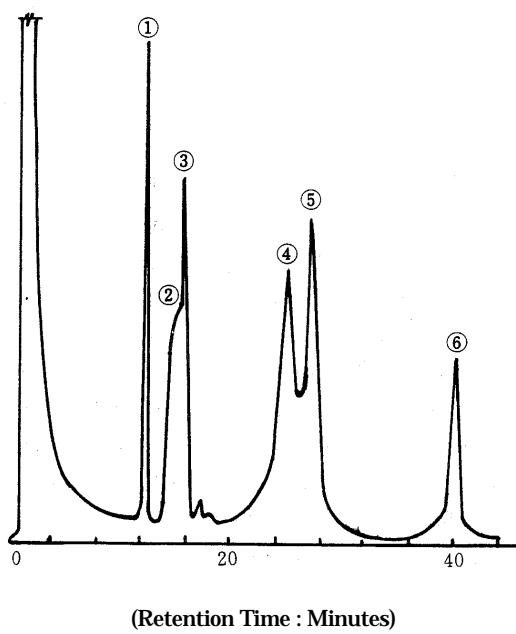


Fig. 1 Chromatograms of the Tms derivatives of standard sugars

sucrose	- isomaltose
- maltose	- isomaltose
- maltose	Cholestan

#### 3・2 HFCS のガスクロマトグラム

フラクトース含有量 55% の HFCS の糖組成を Fig. 2 に示した。この条件では HFCS 中の单糖類は溶剤と一緒に溶出するので分離したピークとしては現われていないが、二糖類として、シュクロース、マルトース、

## ノート 天然はちみつ中の偽和物の分析 - ガスクロマトグラフィーによる異性化糖の確認 -

イソマルトースのピークが検出される。でん粉の酸又は酵素加水分解工程においてグルコースからイソマルトースが生成することが知られているが、でん粉加水分解物を原料として製造されるHFCSではイソマルトース含量が高いことに特徴がある。Fig. 2に示したように、ここで用いたHFCSでもイソマルトースのピークが顕著に現われており、マルトースとイソマルトースのピーク高さの比は0.42となっている(本実験では、マルトース、イソマルトースとも - のみの数値を採用、以下同じ)。

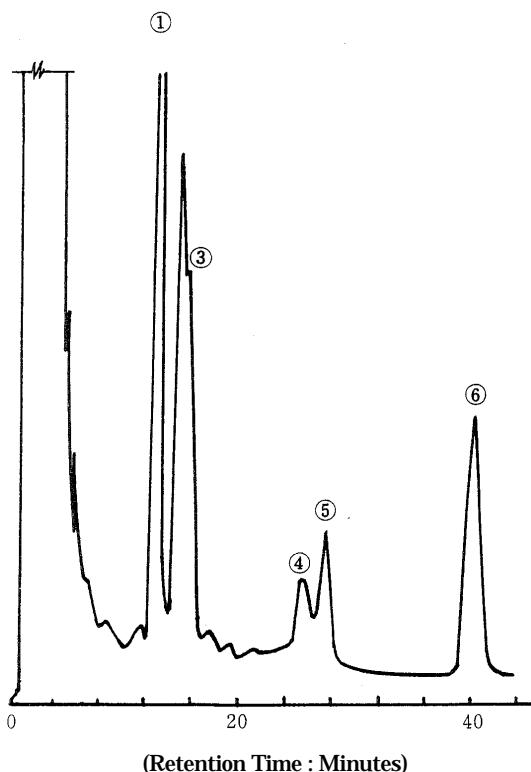


Fig. 2 Chromatograms of the TMS derivatives of typical high fructose corn syrup

sucrose	- maltose
- isomaltose	- isomaltose
Cholestane	

## 3・3 はちみつのガスクロマトグラム

米国産のクローバーを蜜源とするはちみつのガスクロマトグラムをFig. 3に示した、二糖類の糖組成は、定性的にはこれまで報告されたようにシュクロース、マルトース、及びイソマルトースが検出されているが、イソマルトースについては麻生<sup>1)</sup>らが指摘しているように、その含量は極めて微量であった。9種類の輸入はちみつについて、同様の方法によりガスクロマトグラムからイソマルトースとマルトースの比を求めた結果はTable 2に示した。ピーク高比を用いた場合、イソマルトース/マルトース(IM/M)比は0.01~0.04となっており、平均0.03であった。重量比では、IM/M比は0.02~0.07と比較的広い幅で分布し、平均0.05となっており、ピーク高比の場合とやや異なっている。

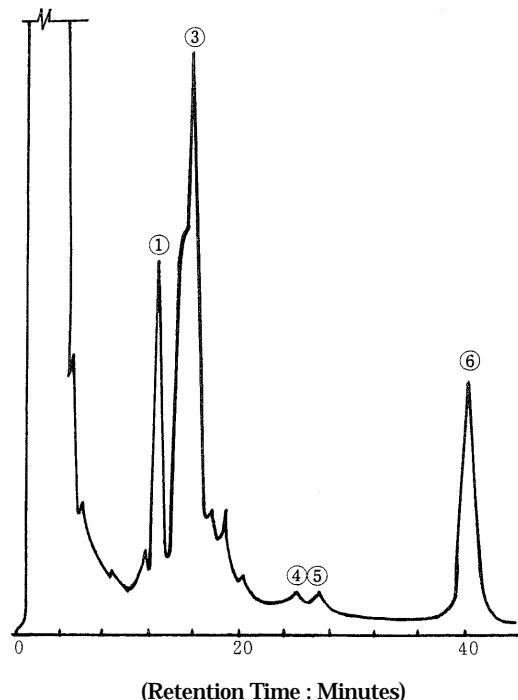
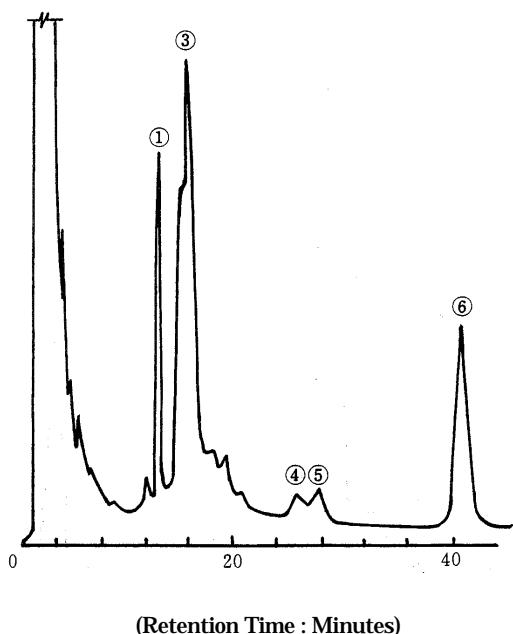


Fig. 3 Chromatograms of the TMS derivatives of U.S.A. typical clover honey (Sample E)

sucrose	- maltose
- isomaltose	- isomaltose
Cholestane	

Table 2 Results of IM/M ratios for imported honey samples  
(M; - maltose, IM; - isomaltose)

Sample	Kind of flower	Country of origin	Peak	Height	M %	IM %	IM/M	
			Mcm	IMcm				
A	Clover	U.S.A.	10.01	0.30	0.03	6.08	0.32	0.05
B	"	"	6.56	0.28	0.04	6.22	0.46	0.07
C	"	"	13.77	0.56	0.04	3.91	0.28	0.07
D	"	"	14.60	0.36	0.02	5.80	0.25	0.04
E	"	"	11.49	0.26	0.02	5.33	0.21	0.04
F	Orange	U.S.A.	11.50	0.15	0.01	6.51	0.14	0.02
G	"	"	10.22	0.31	0.03	8.37	0.45	0.05
H	"	"	12.30	0.31	0.02	5.63	0.25	0.04
I	"	"	14.91	0.48	0.03	6.13	0.35	0.06



(Retention Time : Minutes)

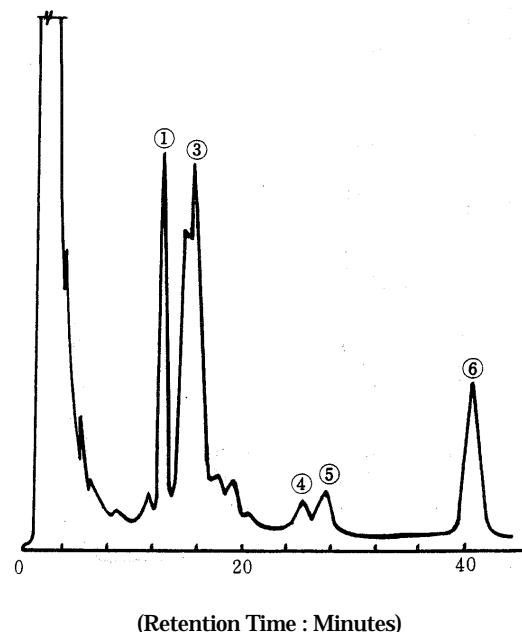
Fig. 4 Chromatograms of the TMS derives of mixture of honey (Sample G) and HFCS (F - H) (mixed ratio ; honey : HFCS=80:20)

Sucrose	- maltose
- isomaltose	- isomaltose
Cholestane	

しかし、いずれの場合においても、天然はちみつでは IM/M 比が 0.07 以下と考えられる。

3・4 HFCS 添加によるはちみつの糖組成の変化  
はちみつに HFCS をそれぞれ 20%, 40% 添加したもののガスクロマトグラムを Fig. 4 及び Fig. 5 に示した。HECS を添加したものでは、天然はちみつに比較してイソマルトースのピーク強度が相対的に増加している。すなわち、イソマルトースとマルトースの比をピーク高さの比から求めると 20%HFCS 添加では、IM/M = 0.06, 40%HFCS 添加では、IM/M = 0.11 となっている。この結果は、はちみつ中の HFCS 添加量を IM/M から確認できることを示唆している。

HFCS 添加量を変えた場合の 1M/M を求めた結果は Table 3 に示した。HFCS の添加量に対応して IM / M



(Retention Time : Minutes)

Fig. 5 Chromatograms of the TMS derivatives of mixture of honey (Sample G) and HFCS (F - H) (mixed ratio ; honey : HFCS=60:40)

sucrose	- maltose
- isomaltose	- isomaltose
Cholestane	

## ノート 天然はちみつ中の偽和物の分析 - ガスクロマトグラフィーによる異性化糖の確認 -

は増加しているが、添加量との間に直線関係は得られなかった。これはガスクロマトグラフによる定量法上の不備によることも考えられる。

Table 3 Results of IM/M ratios for mixed sugars

(M; - maltose, IM; - isomaltose)

(Clover Honey; Sample E)

Mixed ratio Honey HFCS	Peak height			M %	IM %	IM/M
	M cm	IM cm	IM/M			
100 0	11.49	0.26	0.02	5.33	0.21	0.04
90 10	8.80	0.34	0.04	7.04	0.47	0.07
80 20	7.44	0.44	0.06	6.10	0.63	0.10
70 30	10.78	0.65	0.06	5.19	0.55	0.11
60 40	7.13	0.61	0.09	4.16	0.63	0.15
50 50	7.10	0.88	0.12	3.82	0.83	0.21
40 60	5.39	0.76	0.14	4.17	1.03	0.25
30 70	4.81	0.83	0.17	3.03	0.91	0.30
20 80	4.25	0.94	0.22	2.08	0.81	0.39
10 90	3.43	0.96	0.28	1.82	0.89	0.49
0 100	7.68	3.20	0.42	2.58	1.88	0.73

(Orange Honey; Sample G)

Mixed ratio Honey HFCS	Peak height			M %	IM %	IM/M
	M cm	IM cm	IM/M			
100 0	10.22	0.31	0.03	8.37	0.45	0.05
90 10	9.71	0.39	0.04	4.86	0.34	0.07
80 20	10.14	0.61	0.06	4.06	0.46	0.11
70 30	9.22	0.72	0.08	4.27	0.58	0.14
60 40	7.51	0.81	0.11	4.32	0.82	0.19
50 50	7.40	0.87	0.12	3.58	0.73	0.21
40 60	6.50	1.01	0.15	3.46	0.94	0.27
30 70	5.75	1.11	0.19	3.63	1.23	0.34
20 80	5.27	1.31	0.25	2.37	1.03	0.44
10 90	4.55	1.43	0.31	1.92	1.06	0.55
0 100	7.68	3.20	0.42	2.58	1.88	0.73

## 4 要 約

天然はちみつに混合された HFCS を確認するため、マルトース及びイソマルトースを TMS 化物としてガスクロマトグラフィーにより分離し、両糖質の比から HFCS の添加量を推定する方法について検討した。

ピーク高さの比から求めたイソマルトース/マルトース (IM/M) 比は、天然はちみつでは  $IM/M = 0.02 \sim 0.04$  , HFCS では  $IM/M = 0.42$  であった。一方、重量比から求めた場合、天然はちみつでは  $IM/M = 0.02 \sim 0.07$  , HFCS では  $IM/M = 0.73$  であった。はちみつに HFCS を添加すると、その添加量に応じて IM/M 比は増加する。この実験結果から、輸入されるはちみつの IM/M 比が、重要比で求めた場合、0.07 以上であれば HECS 添加の可能性があると判定できる。

最後に、この報告の執筆に当たり極々ご指導、ご助言をいただいたいた関税中央分析所首席分析官、出来三男博士に厚く感謝します。

## 文 献

- 1 ) 麻生漬 , 渡辺敏幸 , 山尾暁子 : 酿造工業雑誌 , **36** (2) , 40 (1958) .
- 2 ) Landis W . Doner et al: J . A . O . A . C. , **62** (1) , 186 (1979) .
- 3 ) Brobst K . M . & Loh C . E . : J . Cereal Chem. , **43** , 35 (1966) .
- 4 ) Donner L . W . : J . Sci . Food Agric. , **28** , 43 (1977) .

**Analysis of Adulterant in Honey - Determination of High Fructose Corn Syrup ( HFCS )**

by Gas Chromatography -

Shieru NANBA , Kunio SASAGAWA and Atsushi NAKATSU\*

\* Tokyo Customs Laboratory, 5 - 5 - 30, Konan, Minato - ku, Tokyo Japan

A effective procedure for detecting high fructose corn syrup ( HFCS ) in honey was investigated. The method depends on measurement of the isomaltose/maltose ratio by gas chromatography. The ratios of the isomaltose/maltose for honey and HFCS were 0.02 to 0.07 and 0.42, respectively.

The isomaltose/maltose ratio for honey containing HFCS has increased according to the contents of adulterant in honey. Since the ratios for honey adulterated by HFCS indicate the values more than 0.07, isomaltose/maltose ratose ratios has been useful to detect adulteration by HFCS.

- Received Sep. 10, 1980 -