

ノート

菓子類に含有される直接還元糖分の逆滴定法による定量分析

武 藤 五 生*

Determination of Cane Sugar in
Sugar Products by Back-titration Method

Itsuo MUTO*

*Nagoya Customs Laboratory ,

2-3-12 , Irifune , Minato-ku , Nagoya-shi , 455 Japan

Cane sugar in sugar products such as biscuits and sugar confectionery is usually determined by Lane-Eynon method , Hanes's method , Bertrand method , etc. But determination of direct reducing sugars contained in small quantities in sugar products by Lane-Eynon method may present difficult technical problems. Hanes's method may not be appropriate for examining a large number of samples in a short period of time.

An intensive research was carried out to examine whether back-titration method using standard invert sugar solution could be effectively employed for analysing these samples in a short time. Compared with Hanes's method this approach was attended with virtually the same result. Back-titration method thus proved to be the useful way for determining direct reducing sugars in sugar products.

- Received June 7. 1984 -

1 緒 言

菓子、ジュース、缶詰、食料品等に含有される砂糖は、税表分類上この定量分析を必要とする。また、輸出菓子類についても関税定率法における戻し税並びに砂糖消費税の還付のため、砂糖含有量を定量する必要がある。

糖類の定量には、通常レイン・エイノン法、ハーネス法、ベルトランド法等が用いられている。このうちレイン・エイノン法は比較的操作が簡単で、測定精度も良好であるが測定範囲が転化糖として 100 ~ 336mg/100ml の狭い濃度範囲でしか定量できず 150mg/100ml 以下の希薄な糖液の場合、メチレンブ

ルーの脱色がゆるやかで終点の判定が難しい等の欠点がある。このような希薄糖液を定量分析するには、一般にハーネス法が用いられるがレイン・エイノン法に比べて操作が複雑で、分析時間も長い。砂糖含有量の異なる多種多様の試料を数多く定量する場合、操作が簡単、短時間で定量分析が可能、精度の高い方法等が要求される。

筆者は、高橋¹⁾が考案したフェーリング液を用いた逆滴定法とレイン・エイノン法及びハーネス法との定量結果を比較し、精度、分析時間、経済性等について検討した。なお、レイン・エイノン法^{2)・3)}、ハーネス法⁴⁾、ベルトラン法⁵⁾等については、従来から用いられている方法なので理論、分析方法等の詳細に

*名古屋税関 輸入部分析室 〒455 名古屋市港区入船2-3-12

については割愛し、逆滴定法による直接還元糖分の定量方法を中心に述べることにする。

2 実 験

2・1 試料調製法及び検液の作成

ビスケット、砂糖菓子等の試料を乳ばちで微粉砕し、十分に混合して均一試料を調製する。

まず試料に含有される糖を水に溶出させた後のろ過方法について検討した。砂糖菓子のように、水に大部分が溶解する試料は問題ないが、ビスケットのように、砂糖含有量が少なく水不溶成分の多い試料は、ろ過後定容にするか、定容後ろ過するかによって、定量値に大きな差が生じる。

例えば、30g のビスケットを 500ml に定容したあとろ過し、ろ液量を測定すると 470ml となり 30ml の差が生じる。砂糖含有量既知の試料を用い、定容後ろ過する方法とろ過後定容にする方法について、糖含有量を定量したところ Table 1 の結果を得た。

Table 1 Comparison of sugar recovery
between fill up-filtrate method
and filtrate-fill up method*

30 g / 500 ml	Total sugars (%)	Direct reducing sugars (%)	Cane sugar (%)
Fill up → Filtrate (1)	22.02	1.87	19.17
Filtrate → Fill up (2)	21.18	1.84	18.34
(1) - (2)	+0.84	+0.03	+0.77

* Biscuit was used in this experiment

定容後ろ過した場合には、実際の糖含有量より定量値が高く得られる。ろ過後定容にした場合には、実際の糖含有量に一致する値が得られた。したがって、本実験における試料の調製及び検液の作成は下記のように行った。

粉砕し十分に混合して得られた調製試料より、糖の含有量を考慮してその必要量（菓子類の場合、直接還元糖分は総糖分より非常に少ないことから Table 2 により直接還元糖分の含有量に従い試料採取量を決定する。）を 300ml のピーカーに精ひょうし、水 200ml を加え 30 分間時々かくはんする。10 分

間静置後、デカンテーション法により 500ml 容メスフラスコにろ過し定容したものを検液とした。

2・2 試薬

2・2・1 レイン・エイノン法

従来から糖の定量に用いられている試薬によった。

2・2・2 ハーネス法

従来から糖の定量に用いられている試薬によった。

2・2・3 逆滴定法

1) 標準転化糖液

無水ぶどう糖 1.021g と無水果糖 1.021g 及び安息香酸 1g を水に溶解し、1,000ml とした。

2) フェーリング A 液

結晶硫酸銅 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 66g を水に溶解して 1,000ml とした。

3) フェーリング B 液

酒石酸カリウムナトリウム(ロッシェル塩)345g と水酸化ナトリウム 110g を水に溶解し 1,000ml とした。

4) 指示薬

メチレンブルー 0.5g を水に溶解し 100ml とした。

2・3 定量操作

2・3・1 レイン・エイノン法

従来から糖の定量に用いられている操作によった。

2・3・2 ハーネス法

従来から糖の定量に用いられている操作によった。

2・3・3 逆滴定法

フェーリング A 液 5ml とフェーリング B 液 5ml を 300ml 容三角フラスコに正確に採取し、水 20ml を加える。アスベスト金網を置いた電熱器又はガスバーナーの小炎で加熱し、直ちにビュレットを用い標準転化糖液 24ml を滴下する。沸騰が始まったら加

ノート 菓子類に含有される直接還元糖分の逆滴定法による定量分析

熱を調節して、穏やかに沸騰を続ける。沸騰が始ってから 2 分後指示薬数滴を加え、直ちにメチレンブルーの脱色まで標準転化糖液を滴下し、1 分以内に終点に達するようにする。

指示薬を加えてから終点までに加える標準転化糖液の滴下量は、1ml 以内に終わるように、実験に先立ち予備実験を行い標準転化糖液の滴下量を決定しておく、この空試験値を B とする。

この空試験値 B の測定は、フェーリング液と標準転化糖液の関係を示す値で、実験の前後に行うことが望ましいが標準転化糖液、フェーリング A 液が前回測定と同じ溶液であれば、一週間に一度程度測定すれば良い。

メチレンブルーの脱色は幾分遅れ気味であるので、終点が近くなりメチレンブルーの色が消え始めたら、一滴ずつ注意して滴下する。青色が突然消え紫の色相が残り、更に脱色する少し手前を終点とする。完全に脱色する点は、不安定であり、目測による個人差があるので空試験値は他人の測定値を用いずに測定者が自ら行うのが望ましい。

次に、先の空試験の水の代わりに検液 10～20ml

(糖含有量として 1～50mg) をホールピペットを用いて正確に加え、空試験と同様に操作する。沸騰後、銅イオンが残っていれば標準転化糖液を銅イオンが無くなるまで加え、2 分間穏やかに沸騰を続ける。指示薬を数滴加え直ちに標準転化糖液を滴下し、終点を求め予備実験とする。再び同じ様にして本実験を行うが、標準転化糖液は予備実験の滴定量より 0.5～1ml 少なく加え、2 分間穏やかな沸騰の後 1 分以内に終点に達するようにする。この値を M とする。2 (B-M) mg が検液 10～20ml 中に含有される糖の含有量である。

3 結果と考察

3・1 直接還元糖分と試料採取量の関係

定量操作に先立ち、直接還元糖分の含有量によって試料の採取量を決定しなければならない。レイン・エイノン法、ハーネス法及び逆滴定法における直接還元糖分の含有量、試料採取量及び定量範囲の関係を Table 2 に示す。

Table 2 Relationship between direct reducing sugar content and sample amount required

Methods		Lane & Eynon					Hanes			Back-titration		
		105	150	200	250	336	0.5	2	3	10	15	20
Invert sugar		(mg/100 ml)					(mg)			(ml)		
Titer (ml)		50	34	25	20	15	—	—	—	10	15	20
Dilution		(g/500 ml)					(g/500 ml)			(g/500 ml)		
Direct reducing sugars (%)	0.5	105	150	200	250	336	50	200	300	150	100	50
	1.0	53	75	100	125	168	25	100	150	75	50	25
	1.5	35	50	67	83	112	17	67	100	50	33	17
	2.0	26	38	50	63	84	13	50	75	38	25	13
	2.5	21	30	40	50	67	10	40	60	30	20	10
	3.0	18	25	33	42	56	8	33	50	25	17	8
	4.0	13	18	25	31	42	6	25	38	19	13	6
	5.0	11	15	20	25	34	5	20	30	15	10	5
	10.0	5	8	10	13	17	3	10	15	8	5	3
	15.0	4	5	7	8	11	2	7	10	5	3	2
	20.0	3	4	5	6	8	1	5	8	4	2	1

3・2 試料採取量とろ過量の関係

直接還元糖含有量の異なる三種類の試料を用い、レイン・エイノン法と逆滴定法の定量値を比較した。試料採取量、ろ過量による直接還元糖分の回収量及び平均ろ過時間の関係を Table 3 に示す。

レイン・エイノン法、逆滴定法のいずれの方法においても、ろ過量が 500ml で糖が完全にろ過されていることを示している。表中 not clear の表示は、試料採取量が多いためビスケットに含有されるでんぶん類が溶解し、糖液と共存するため終点不鮮明になっていることを示している。

3・3 試料採取量と直接還元糖含有量の関係

レイン・エイノン法、ハーネス法及び逆滴定法により試料採取量の異なる検液を用いて定量した結果を Table 4 に示す。

Table 4 Comparison of the values of the direct reducing sugar contents determined by three methods at different sample amounts

Samples	Amounts (g/500ml)	Lane (%)	Hanes (%)	Back (%)
Biscuit stick	10	—	1.70	1.72
	30	1.70	1.72	1.72
	50	not clear	1.72	1.72±0.05
Cheese stick	10	—	2.28	2.30
	30	2.27	2.30	2.30
	50	not clear	2.06	2.06±0.05
Sugar confectionery	5	—	—	5.57
	10	5.57	5.57	5.57
	20	not clear	5.51	5.53

Lane: Lane-Eynon method Hanes: Hanes's method

Back: Back-titration method

not clear: End point was not clear

Table 3 Comparison of the values determined by two methods at different sample amounts and filtrate volumes

Samples and sugar content	Sample amount (g)	Sugars	Filtrate								Time of filtration (minutes)
			200 ml		250 ml		500 ml		1,000 ml		
			Lane	Back	Lane	Back	Lane	Back	Lane	Back	
Biscuit stick D.S 1.72 T.S 20.88 C.S 18.20	10	D.S	—	1.51	—	1.58	—	1.72	—	1.72	10
		T.S	19.06	19.06	19.90	19.90	20.88	20.88	20.88	20.88	
	30	D.S	—	1.35	1.65	1.44	1.70	1.72	1.7±0.2	1.72	25
		T.S	18.65	18.82	19.01	19.24	20.05	20.10	20.0±0.2	20.20	
	50	D.S	not clear	1.41	not clear	1.51	not clear	not clear	1.7±0.2	1.7±0.2	45
		T.S	not clear	19.91	not clear	19.85	not clear	not clear	20.0±0.3	20.0±0.4	
Cheese stick D.S 2.30 T.S 8.20 C.S 5.60	10	D.S	—	1.98	—	2.05	—	2.30	—	2.30	25
		T.S	7.55	7.58	7.81	7.80	8.20	8.20	8.20	8.20	
	30	D.S	1.90	2.24	1.99	2.28	2.32	2.34	2.3±0.2	2.32	50
		T.S	7.21	7.25	7.60	7.63	not clear	7.90	8.2±0.4	8.2±0.4	
	50	D.S	not clear	2.21	not clear	2.26	not clear	not clear	2.3±0.6	2.3±0.6	105
		T.S	not clear	7.68	not clear	7.74	not clear	not clear	8.2±0.6	8.2±0.4	
Sugar confectionery D.S 5.57 T.S 77.50 C.S 68.30	5	D.S	—	5.28	—	5.31	—	5.57	—	5.57	30
		T.S	76.10	76.22	76.61	76.82	77.50	77.50	77.50	77.61	
	10	D.S	5.38	5.38	5.42	5.44	5.52	5.55	5.52	5.55	95
		T.S	76.57	76.70	76.93	77.01	77.20	77.21	77.41	77.40	
	20	D.S	5.46	5.46	5.48	5.50	5.5±0.6	5.5±0.4	5.5±0.6	5.5±0.4	180
		T.S	76.51	76.63	76.92	77.01	77.0±0.6	77.0±0.4	77.0±0.6	77.0±0.4	

Lane: Lane-Eynon method

Back: Back-titration method

not clear: End point was not clear

D.S: Direct reducing sugar

T.S: Total sugar

C.S: Cane sugar

Figures show sugar contents(%) (determined values)

ノート 菓子類に含有される直接還元糖分の逆滴定法による定量分析

試料採取量を少なくした場合、レイン・エイノン法では定量できないが、ハーネス法及び逆滴定法ではほぼ一致した値が得られた。

3・4 レイン・エイノン法、ハーネス法及び逆滴定法による直接還元糖分定量結果の比較

同一ロットの試料を用い、総糖分はレイン・エイノン法、直接還元糖分はハーネス法と逆滴定法によりそれぞれ3回定量分析し平均値を求めた。更に、糖の含有量は同じでもロットの異なる試料についても同様に定量分析し、平均値を求めた。定量結果をTable 5示す。

直接還元糖分の定量値を比較するため、Table 5における最上段の総糖分を基準にして、他の定量値を換算した。いずれの分析法によっても、直接還元糖

分の定量値は近似した値を示すが、レイン・エイノン法の個々の値は他の二法に比べて定量値にばらつきがみられる。

3・5 試料に添加した転化糖の回収試験

検液 20ml に対し 10mg の転化糖を正確に添加し、その回収量を測定した。レイン・エイノン法及び逆滴定法で定量分析した結果を Table 6 に示す。

直接還元糖分及び転化糖の回収量を比較するため、Table 6 における最上段の総糖分を基準にして、それぞれの定量値を換算した。いずれの分析法によっても回収量は近似した値を示すが、レイン・エイノン法の個々の値は逆滴定法に比べて定量値にばらつきがみられる。

これらの結果をまとめ Table 7 に示す。

レイン・エイノン法及びハーネス法は、従来から各種の糖の定量に用いられているように、非常に安定した良好な方法である。しかし、レイン・エイノン法は

- 1) 糖の含有量が 105 ~ 336mg/100ml の範囲に限定される。したがって、糖の含有量が少ない場合、試料採取量が多くなり過が十分に行われないことがある。
- 2) 検液を滴下しながら定量するため、試料が変わる度にピュレットの洗浄が必要となり分析に要する時間が長くなる。
- 3) フェーリング A 液の力価の標定を必要とする。
- 4) レイン氏表により転化糖を換算する必要がある。

等の欠点がみられる。また、ハーネス法は

- 1) 操作が複雑なうえ分析に長時間を必要とする。
- 2) 試料濃度が 0.5 ~ 3mg/100ml の測定範囲に入らない場合、最初から操作をやり直す必要があり再測定が簡単にできない。
- 3) 一度に多数の試料を分析できない。
- 4) フェリシアン化カリウムを用いるため別に排水処理を必要とする。

等の欠点がみられる。一方、これらの欠点を解決した逆滴定法は次の長所を持つ。

- 1) 定量範囲が 5 ~ 240mg/100ml と広い。
- 2) 標準転化糖を滴定溶液に用いるためピュレットを洗浄する必要がなく、多数の試料を連続的に短

Table 5 Comparison of the results determined by Lane-Eynon, Hanes and Back-titration methods

Samples	Total sugars (%)	Direct reducing sugars (%)		
	Lane	Lane	Hanes	Back
Biscuit Stick (50g/500ml)	20.81	1.76	1.68	1.68
	20.80	1.69	1.67	1.68
	20.88	1.64	1.68	1.67
	20.74	1.59	1.66	1.68
	21.02	1.71	1.69	1.67
Average	20.85	1.68	1.68	1.68
Cheese Stick (50g/500ml)	8.10	2.12	2.08	2.09
	8.04	2.11	2.08	2.10
	8.21	2.13	2.08	2.08
	8.18	2.13	2.06	2.09
	8.12	2.09	2.09	2.09
Average	8.13	2.12	2.06	2.09
Sugar confectionery (15g/500ml)	77.32	5.46	5.35	5.38
	78.06	5.26	5.36	5.34
	77.68	5.38	5.38	5.36
	77.99	5.43	5.37	5.36
	77.55	5.41	5.35	5.38
Average	77.52	5.39	5.36	5.36

Lane: Lane-Eynon method

Hanes: Hanes's method

Back: Back-titration method

Table 6 Recoveries of the invert sugar added into the samples

Samples	Total sugars	Direct reducing sugars		Added	Recovery (mg/200ml)		Recovery Ratio (%)	
	(%)	(mg/20ml)	(%)	(mg)	Lane	Back	Lane	Back
Biscuit stick (30g/500ml)	20.81	20.4	1.68	10	30.7	30.4	100.99	100.00
	20.80	20.4	1.68	10	30.6	30.5	100.66	100.33
	20.88	20.3	1.67	10	30.0	30.3	98.68	99.67
	20.74	20.4	1.68	10	30.1	30.4	99.01	100.00
	21.02	20.3	1.67	10	30.8	30.3	101.32	99.34
Average	20.85	20.4	1.68	10	30.4	30.4	100.00	100.00
Cheese stick (30g/500ml)	8.10	25.2	2.09	10	35.5	35.2	100.85	100.00
	8.04	25.3	2.10	10	35.4	35.3	100.57	100.28
	8.21	25.1	2.08	10	35.6	35.1	101.14	99.72
	8.18	25.2	2.09	10	35.6	35.2	101.14	100.00
	8.12	25.2	2.09	10	35.2	35.2	100.00	100.00
Average	8.13	25.2	2.09	10	35.5	35.2	100.85	100.00
Sugar confectionery (10g/500ml)	77.32	22.5	5.38	10	32.8	32.5	101.23	100.31
	78.06	22.3	5.34	10	32.0	32.4	98.79	100.00
	77.68	22.4	5.36	10	32.5	32.3	100.31	99.69
	77.99	22.4	5.36	10	32.7	32.4	100.93	100.00
	77.55	22.5	5.38	10	32.6	32.5	100.62	100.31
Average	77.52	22.4	5.36	10	32.5	32.4	100.31	100.00
Candy (15g/500ml)	80.72	19.4	22.27	10	29.4	29.4	100.00	100.00
	80.65	19.4	32.27	10	29.6	29.4	100.68	100.00
	81.02	19.6	32.60	10	29.4	29.3	100.00	99.66
	80.35	19.2	31.91	10	29.2	29.3	99.31	99.66
	80.96	19.6	32.60	10	29.6	29.5	100.68	100.34
Average	80.74	19.4	32.33	10	29.4	29.4	100.00	100.00

Lane: Lane-Eynon method

Hanes: Hanes's method

Back: Back-titration method

Table 7 Comparison of three methods for the determination of direct reducing sugars

Samples	Methods	Sample amount (g/500ml)	Titer *	Filtration time (minutes)	Analytical time (minutes)	Number of reagents	Number of appliances	End point	Total sugars	
									Filtrate (ml)	Titer*
Biscuit stick D.S 1.7 T.S 21.0 C.S 18.3	Lane	44	34	35	17	3	few	not clear	25/200	21.4
	Hanes	29	1	30	43	8	many	clear	25/200	1.5
		58	2	40	43	8	many	clear	25/200	3.0
		88	3	90	43	8	many	clear	25/200	4.6
	Back	14	20	15	15	4	few	clear	50/200	34.2
Cheese stick D.S 2.3 T.S 8.2 C.S 5.6	Lane	32	34	55	17	3	few	not clear	100/200	18.8
	Hanes	22	1	45	43	8	many	clear	50/200	0.9
		43	2	90	43	8	many	clear	50/200	1.8
		65	3	120	43	8	many	clear	50/200	2.7
	Back	11	20	25	15	4	few	clear	200/250	34.9
		20	16	40	15	4	few	clear	100/200	30.4
Sugar confectionery D.S 5.6 T.S 77.5 C.S 68.3	Lane	13	34	105	17	3	few	clear	25/200	19.7
	Hanes	9	1	90	43	8	many	clear	20/200	1.4
		18	2	120	43	8	many	clear	20/200	2.8
		27	3	180	43	8	many	clear	20/200	4.2
	Back	4.5	20	25	15	4	few	clear	50/200	32.7

Lane: Lane-Eynon method

Hanes: Hanes's method

Back: Back-titration method

* Lane-Eynon method and Back titration method: ml, Hanes's method: mg

ノート 菓子類に含有される直接還元糖分の逆滴定法による定量分析

時間で定量することができる。

- 3) 試料濃度が濃い場合, 単に希釈するだけで複雑な操作を必要としない。
- 4) 試料濃度すなわち糖の含有量がレイン・エイノン法に比較して少ないので, 終点が鮮やかである。特に, ビスケット類のようにでん粉類が共存する試料溶液に有効である。
- 5) フェーリング A 液の力価の標定を必要としない。
- 6) レイン・エイノン法, ハーネス法と定量精度は全く変わらない。

等の長所がみられ, 逆滴定法は多種多様の糖含有量をもつ菓子類を正確に, かつ, 迅速に定量分析することができる。

4 要 約

菓子類に含有されるしょ糖の定量には, レイン・エイノン法, ハーネス法, ベルトラン法等が主に用いられている。しかし, 菓子類には種々の糖含有量のものがあり, ビスケット類のように直接還元糖分の含有量が 1%以下の場合, レイン・エイノン法による定量分析が難しい。このような場合, 一般にハーネス法が用いられるが, 多種多様の試料を定量するには操作が複雑なうえ, 短時間に数多くの試料を処理できない。

標準転化糖を用いた逆滴定法は, 短時間に数多くの試料を定量することができ, ハーネス法と比較してもほぼ一致した定量値が得られた。

逆滴定法は, 菓子類に含有される微量の直接還元糖分はもちろん, 一般の糖類の定量分析にも良好な結果が得られた。

文 献

- 1) 高橋和民:化学の領域, **12**, 59(1958)
- 2) J.H.Lane, L.Eynon:J.Soc., Chem., **nd.**, **19**, 150(1925)
- 3) J.H.Lane, L.Eynon:J.Soc., Chem., **nd.**, **17**, 32T(1923)
- 4) Browne and Zerban: Sugar Analysis, 873(1955)
- 5) G.Bertrand: Bull. Soc. Chemi., Paris, **35**, 1285(1906)