

ノート

ヨードメトリー法による乳糖の定量

伊藤茂行, 島野久則, 早野弘道*

Determination of Lactose by the Iodometric Method

Sigeyuki ITO, Hisanori SHIMANO and Hiromichi HAYANO*

*Tokyo Customs Laboratory

5-5-30, Konan, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan

Lactose is determined by the Lane - Eynon method in customs laboratories for the purpose of tariff classifications and import institutional applications.

The measured value by this method is apt to be underestimated, because, the titration procedure is difficult and the visual detection of its endpoint is not clear.

The application of the iodometric method reported by Doi et al. to the customs analyses was investigated.

The calibration curve was linearly, and the result of the recovery test was good. The relative error of the measured value was little.

It was found that the iodometric method was applicable to customs analyses.

- Received June, 1992 -

1 緒 言

乳糖は、ミルクの主成分の一つであり、工業的には、主に、チーズの製造工程中に副産物として生成するホエイからラクトアルブミン等の可溶性たんぱくを除去することによって製造されている¹⁾。また、乳糖は、乳幼児用調製粉乳の原料等の乳製品の原料として取引されており、わが国では、ほとんど全量輸入にたよっている現状にある²⁾。

乳糖は、乾燥状態における無水物の含有量が95%を超えるか否かによって関税率表上の分類及び輸入制度上の扱いが異なることから、税関分析において、定

量を行うことが必要となる。

乳糖の定量法としては、他の糖の場合と同様、レイン・エイノン法³⁾等の滴定法、比色法、HPLC等多くの方法が知られているが、レイン・エイノン法が公定分析法⁴⁾として採用されており、税関分析においても広く用いられている。

同法は、煮沸している一定量のフェーリング液中にピュレットより一定濃度の糖液を滴下することにより、2価の銅イオンを1価の銅イオンに還元し、指示薬として加えられたメチレンブルーが酸化型(青色)から還元型(無色)に変色することを利用して終点を判別し、糖液の滴定量よりレイン・エイノン氏の表を用い

*東京税關輸入部分析部門 〒108 東京都港区港南5-5-30

て還元糖の量を算出するものである。

同法は、非還元糖等の共存物質の影響を受けにくいという利点を持っているが⁵⁾、一方、試料液を測定のつどビュレットに入れ代えなければならないこと、反応が高温でないと進みにくいため煮沸しながら滴定を行うこと、糖の過分解を防ぐために一定時間内に滴定を行う必要があること等操作上の煩雑さを持っている。

さらに、乳糖の場合、他の還元糖の場合と異なり還元力が弱いことから、終点付近の色の変化がゆるやかになり、終点の判別が困難になるという問題がある。

最近、この点を改善した新たな定量法（以下「ヨードメトリー法」という）が土井らにより報告されたことから⁶⁾、同法の税関分析への応用について検討を行ったので報告する。

2 実験

2.1 測定用試料

輸入品：乳糖一水和物の含有量が95%程度のものを用いた。

2.2 試薬の調製

フェーリング A 液：純正化学社製特級品の硫酸銅5水塩34.639gを蒸溜水に溶解し500mlとした。

フェーリング B 液：純正化学社製特級品のロッセル塩（4水塩）173gと同水酸化ナトリウム50gを蒸留水に溶解し500mlとした。

4w/v%無水炭酸ナトリウム水溶液：純正化学社製一級品を蒸溜水に溶解した。

よう化カリウム：純正化学社製特級品をそのまま使用した。

6規定塩酸：純正化学社製一級品（塩化水素35%）を6規定となるように蒸溜水で希釈し調製した。

1/10規定チオ硫酸ナトリウム標準液：純正化学社製容量分析用試薬をそのまま使用した。

1w/v%でん粉水溶液：和光純薬工業社製一級品を蒸溜水に溶解した。

除たんぱく剤A液：純正化学社製特級品硫酸亜鉛7水塩2gを蒸溜水に溶解し100mlとした。

除たんぱく剤B液：純正化学社製特級品水酸化バリウム8水塩1.8gを蒸溜水に溶解した。

1w/v%メチレンブルー水溶液（レイン・エイノ

ン法用指示薬）：純正化学社製特級品を蒸溜水に溶解した。

2.3 試料液の調製

乳糖は一水和物の型が化学的に安定で⁷⁾80℃で常圧乾燥を行うと結晶水が失われないことが知られていることから⁸⁾、次のとおり、乳糖標準液を調製した。

乳糖標準液：純正化学社製乳糖一水和物を80℃で常圧乾燥により一水和物として恒量にしたものを使用し、濃度が10ml中に20.0mg, 25.0mg, 30.0mg, 35.0mgになるように調製した。

輸入品試料液：輸入品0.6g程度を精秤し、除たんぱく剤A液5ml及びB液5mlを加え、200mlに定容し、ろ液を使用した。

2.4.1 ヨードメトリー法の測定手順

200ml容三角フラスコにフェーリングA液5ml、フェーリングB液7ml及び試料液10mlをとり、直火で2分間煮沸する。加熱終了後、4%炭酸ナトリウム水溶液40ml、よう化カリウム4g、6規定塩酸10mlを加え、アルミホイルでゆるくふたをしてゆるやかに振とうし、二酸化炭素を発生させ酸素を追い出す。さらに、暗所に5分間放置した後、遊離したよう素を1%でん粉水溶液を指示薬として、1/10規定チオ硫酸ナトリウム標準液で滴定する。

試料液の代わりに同量の蒸溜水を用いて同様に測定を行ったときの滴定値を空試験値とする。

2.4.2 ヨードメトリー法による定量値の算出方法

濃度の異なる4種類の標準液について測定を行い、空試験値と標準液測定値との差に1/10規定チオ硫酸ナトリウム標準液の力価を乗じ、この値と乳糖一水和物含有量との間で検量線を作成する。

輸入品試料液について同様に測定を行い、空試験値と輸入品試料液測定値との差に1/10規定チオ硫酸ナトリウム標準液の力価を乗じた値から、検量線を用いて、乳糖一水和物の含有量を算出する。

なお、本法は逆滴定による方法であることから、検量線作成時と輸入品試料液測定時のフェーリングA液の力価が異なる場合においても、理論的には検量線を使用することができ、フェーリングA液の力価は

必要としない。

2.5 レイン・エイノン法による測定手順及び定量値の算出方法

公定分析法⁴⁾によった。ただし、乳糖は一水和物として算出した。なお、同法において、フェーリング A 液の力価標準は乳糖標準液を用いる方法ではなく、ヨウ素滴定の方法を用いて行うこととなっている。

2.6 乾燥状態における無水乳糖の含有量の算出方法

乾燥状態における無水乳糖の含有量は、乳糖一水和物の定量値及び水分の定量値を求め、計算式により算出する。このときの水分の定量は、乳糖一水和物の結晶水が失われない⁸⁰ 常圧乾燥による方法が望ましいと考えられるが、関税行政上は、99%，5時間の常圧乾燥による乾燥減量を水分とすることとされている。

したがって、乾燥状態における無水乳糖の含有量は、次の式で表わされる。

$$A (\%) = \frac{0.95 Y}{100 - (X + 0.05 Y)} \times 100$$

A : 乾燥状態における無水乳糖の含有量

X : 99%，5時間常圧乾燥における乾燥減量

Y : 乳糖一水和物の定量値

3 結果及び考察

3.1 検量線

ヨードメトリー法による空試験及び標準液の測定を3回行った結果をTable 1に、3回の測定値の平均値をもとに作成した検量線をFig. 1に示す。回帰式は、次のとおりであり、相関係数は、0.9999と良好であった。

$$Y = 5.1006X - 0.26252$$

X: 1/10 規定チオ硫酸ナトリウム標準液の滴定量
に力価を乗じた値 (ml)

Y: 乳糖一水和物の含有量 (mg / 10ml)

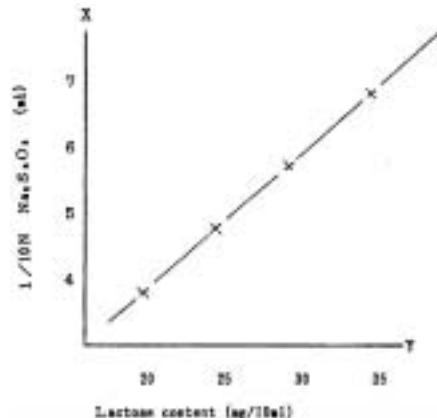


Fig. 1 Calibration Curve of Lactose Content

Table 1 Titration of Lactose Standard Solution by the Iodometric Method

Taken (mg/10ml)	Blank	20.0	25.0	30.0	35.0
Titration volume (ml)	13.68	9.82	8.86	7.82	6.82
2	13.68	9.80	8.86	7.86	6.86
3	13.68	9.82	8.86	7.84	6.90
Average	13.68	9.81	8.86	7.84	6.89
Difference from Blank (a)	—	3.87	4.82	5.84	6.79
(a) × Factor (1.002)	—	3.878	4.830	5.852	6.804

3.2 ヨードメトリー法及びレイン・エイノン法による乳糖標準液の定量誤差

乳糖標準液をヨードメトリー法及びレイン・エイノン法により定量を行った結果をそれぞれ Table 2 及び Table 3 に示す。さらに、それぞれの方法による定量値と調製時の乳糖一水和物の含有量に対する相対誤差を Table 4 に示す。

ヨードメトリー法による相対誤差は、レイン・エイノン法による相対誤差よりも小さいことがわかる。これは、レイン・エイノン法と比較すると終点の判別が容易なことによると考えられる。

一方、レイン・エイノン法による定量値は、調製時の含有量よりも低く算出されている。これは、前述のように、乳糖の還元力が弱いことからメチレンブルーの色の消失に時間がかかり、乳糖標準液の滴定量が過

剰になる傾向があることによると考えられる。なお、この誤差は、終点を判別する時点の差異に由来することから、個人差があり、熟練により、その誤差を少なくて済むことができると推定される。

3.3 添加回収実験

輸入品 400mg に乳糖一水和物を 50mg, 100mg, 150mg, 200mg の 4 段階で添加し、除たんばく剤 A 液 5ml 及び B 液 5ml を加え 200ml に定容したときの濁液について、乳糖含有量を定量し、輸入品由來の乳糖一水和物含有量を差し引いて求めた値と、実際に添加した乳糖一水和物の量から回収率を計算した。この結果を Table 5 に示す。回収率は、98.6~101.9% と良好であった。

Table 2 Determination of Lactose Standard Solution by the Iodometric Method

Taken (mg/10ml)	20.0	25.0	30.0	35.0
Measured (mg/10ml)	1 19.99	24.90	30.21	34.81
	2 20.09	24.90	30.01	35.21
	3 19.99	24.90	30.11	34.92
Average	20.02	24.90	30.11	34.98

Table 3 Determination of Lactose Standard Solution by the Lane - Eynon Method

Taken (mg/100ml)	250.0	300.0	350.0
Measured (mg/100ml)	1 246.58	296.76	345.62
	2 246.94	296.25	346.35
	3 246.40	297.01	345.26
Average	246.64	296.67	345.74

Table 4 Relative Error of Lactose Standard Solution by the Iodometric Method and the Lane - Eynon Method

Taken(mg/l Sol)		25.0	25.0	25.0	25.0
Iodometry	1	-0.1	-0.4	+0.7	-0.5
Relative	2	+0.6	-0.4	0	+0.3
Error	3	-0.1	-0.4	+0.3	-0.3
(%)	Average	-0.1	-0.4	+0.3	-0.3
Lane-Eynon	1	—	-1.0	-1.1	-1.0
Relative	2	—	-1.2	-1.3	-1.0
Error	3	—	-1.4	-1.0	-1.4
(%)	Average	—	-1.3	-1.1	-1.1

Table 5 Recovery of Lactose from the Imported Goods

Sample taken	Added Lactose (mg)	Deter- mination (mg)	Assay derived from Sample (mg)	Feed Lactose (mg)	Recovery (mg) / %
400.4	381.35				
401.0	58.5	482.48	381.03	59.55	98.5
400.1	181.3	480.62	381.07	59.55	98.8
400.2	159.3	533.00	381.17	151.48	100.0
400.8	290.7	585.85	381.74	294.06	101.3

3.4 輸入品の乳糖含有量の定量

輸入品の水分、灰分、粗脂肪及び粗たんぱく質を定量し、便宜、残分を乳糖一水和物とみなしたときの結果を Table 6 に示す。輸入品中の乳糖一水和物の含有量は 95% 程度と考えられる。

輸入品の乳糖含有量をヨードメトリー法及びレイン・エイノン法で定量した結果を Table 7 に示す。レイン・エイノン法による定量値は、ヨードメトリー法による定量値よりも低い値を示す。これは、乳糖標準液の定量の場合と同様の理由によると考えられる。また、乾燥状態における無水乳糖の含有量は、ヨードメトリー法によると 95% を超え、レイン・エイノン法によると定量値は 95% 以下となり、定量方法によって関税率表上の分類及び輸入制度上の扱いが異なる結果となつた。

したがって、レイン・エイノン法により定量を行う際には、あらかじめ標準液の滴定を行って誤差を確認しておき、測定試料の定量値が 95% 以下であっても誤差を考慮すると 95% を超える可能性のある場合は、ヨードメトリー法を補完的に用いることが望ましいと考えられる。

Table 6 The Component of the Imported Goods

Moisture(90°C, Short Open)	0.4%
Ash(550°C, Retort)	0.7%
Crude Fat(Blas Gottlieb Method)	0.9%
Crude Protein(N × 6.25)	3.0%
Total	3.0%
Lactose Monohydrate	
	95.9%

Table 7 Determination of Lactose in the Imported Goods

Method	Iodometry	Lane-Eynon
Measured (%)	1	95.2
	2	95.2
	3	94.3
	Average	95.3
Anhydrous Lactose (Dry Base)	95.4	94.3

4 要 約

レイン・エイノン法による乳糖の定量は、終点付近の色の変化が鋭敏でないことから、滴定量が過剰になりがちとなり、定量値が低く算出される傾向がある。

ヨードメトリー法は、レイン・エイノン法と比較すると終点の判別が容易であり、良好な検量線が得られ、回収実験の結果も良く、定量値の相対誤差も小さかった。

したがって、税關分析において、乳糖含有量が 95% 程度の輸入品について、乾燥状態における無水乳糖の含有量が 95% を超えるか否かを判定する場合、レイン・エイノン法のほかに本法を補完的に用いることが望ましいと考えられる。

文 献

- 1) 牛乳 , 乳製品ハンドブック (朝倉書店) , 449 (1958)
- 2) 発想鉱脈 輸出入図鑑 (ダイヤモンド社) , 112 (1990)
- 3) Lane, J. H. and Eynon, L . : J. Soc. Chem. ind. , 17. 32 (1923)
- 4) 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令 (昭和 26 年 12 月 27 日 , 厚生省令第 52 号)
- 5) 永原太郎 , 岩毛裕之 , 久保彰治 : 食品分析法 (柴田書店) 130 (1955)
- 6) 土井豊彦 , 佐藤加代子 , 神崎幹雄 , 松本 清 : 日本食品工業学会誌 Vol. 38, No. 7. 575 (1991)
- 7) 穴釜雄三 : 乳学 (光琳書院) 61 (1975)
- 8) 第十一改正日本薬局方解説書 (廣川書店) D - 708 (1986)