



SOMOGYI法による蔗糖溶液中の転化糖の定量 : 定量中に生成する転化糖に対する補正法について

岸原, 士郎

(Citation)

神戸大学農学部研究報告, 10(2):225-230

(Issue Date)

1972

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/00228444>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00228444>



SOMOGYI 法による蔗糖溶液中の転化糖の定量

定量中に生成する転化糖に対する補正法について

岸 原 士 郎*

(昭和47年7月31日受理)

Determination of Invert Sugar in Sucrose Solutions by SOMOGYI Method.

On corrections for invert sugar resulted from sucrose during analysis

Sirou KISHIHARA

緒 言

還元糖の定量方法には多くの方法^{1~8)}があり、それらのほとんどの方法がアルカリ性における糖の還元力を利用している。そのため蔗糖を含む溶液中では蔗糖のアルカリ加水分解⁹⁾により還元糖のみの場合より大きな還元力を示す。この蔗糖のアルカリ加水分解物による還元力を考慮した定量方法に OFNER 法^{6~8)} や BERLIN INSTITUTE 法^{6,7)}, STRIEGLER 法⁶⁾, SAILLARD 法^{6,8)}, LUFF SCHOORL 法^{6,8)}, LANE-EYNON 法^{2,6~8)}, HERZFELD 法^{1,8)}, MEISSL-HILLER 法^{1,7,8)}, MUNSON-WALKER 法^{6~8)}, などがある。

OFNER 法および BERLIN INSTITUTE 法, STRIEGLER 法は微量の定量に適しているが、これらは共に分析に用いるアルカリ性硫酸銅溶液が不安定であり、さらに BERLIN INSTITUTE 法と STRIEGLER 法は蔗糖濃度が一定(それぞれ10g蔗糖/100ml 溶液および10g 蔗糖/50ml溶液)でなければならない。SAILLARD 法と LUFF SCHOORL 法は半微量の定量に適している。LANE-EYNON 法および HERZFELD 法, MEISSL-HILLER 法, MUNSON-WALKER 法はむしろ多量の定量に適しており, LANE-EYNON 法はフェーリング溶液を糖溶液で直接滴定するために分析操作は大変簡単であるが予備試験が必要であり, HERZFELD 法は蔗糖濃度が一定(10g 蔗糖/50ml 溶液)である必要があり, MEISSL-HILLER 法と MUNSON-WALKER 法は分析操作が複雑で、さらに MUNSON-WALKER 法は蔗糖濃度に制限がある(0.3gまたは0.4g, 2.0g 蔗糖/50ml溶液)。またこれらのすべての定量方法は供試糖液を多量に必要とする(OFNER 法および STRIEGLER 法, SAILLARD 法, HERZFELD 法, MEISSL-HILLER 法, MUNSON-WAL-

KER 法は50mlを, BERLIN INSTITUTE 法は100mlを, LUFF SCHOORL 法は25mlを, LANE-EYNON 法は2×(15~50) mlを必要とする)。以上のように蔗糖溶液中の転化糖を定量する方法で供試糖液が少量で微量の定量ができ、分析操作も複雑でない定量方法が見つからない。

そこで微量で比較的広い糖含有範囲の定量ができ、しかも試薬の安定性のよい SOMOGYI 法を用いて、蔗糖溶液中の転化糖を測定して分析中に加水分解する蔗糖量を調べ、蔗糖に由来する転化糖量を補正する式およびグラフ、表を得た。

実験方法 (SOMOGYI 法^{2,3,10)})

供試糖液5mlを25×200mm試験管にとり、硫酸銅試薬(1ℓの溶液中に結晶硫酸銅(CuSO₄·5H₂O)8g, 無水炭酸ナトリウム30g, ロッセル塩30g, ヨウ化カリウム8g, 無水硫酸ナトリウム180g, 1N水酸化ナトリウム溶液40ml, 1Nヨウ素酸カリウム10~25mlを含む)5mlを加えて混合し、小ロートで蓋をして沸とう水浴中で15分間加熱する。その後直ちに水中で冷却し、3分後に2N硫酸2mlを速やかに加えて混合する。酸化第1銅が完全に溶解して溶液が透明になってから(約2分後)、指示薬にデンプン溶液を用いて0.005Nチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。盲検には糖液のかわりに水5mlを用いて上と同様に操作する。

実験結果および考察

1. 1%転化糖溶液の調製^{6,11)}

蔗糖濃度が0.184g/mlで酸濃度が0.6Nの溶液の25°Cにおける加水分解速度を図1に示した。0.6N塩酸では10時間で、0.6N硫酸では16時間で加水分解を終えている。なお、蔗糖の加水分解によって生じた転化糖はOFNER法で定量した。

そこで純度99.52%の蔗糖23.865gを水に溶解して3.6

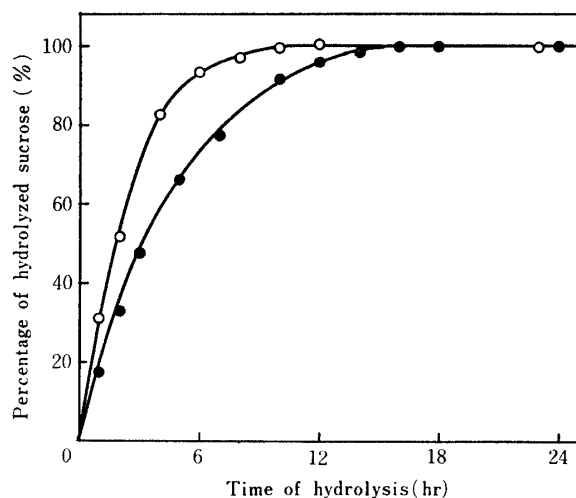


Fig. 1. Rate of hydrolysis of sucrose at 25°C by 0.6 N acids.
 —○— 0.6 N HCl
 —●— 0.6 N H₂SO₄

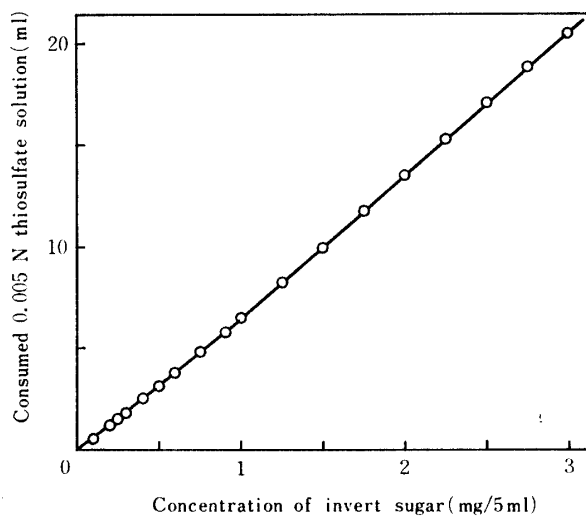


Fig. 2. Milliliters of 0.005 N sodium thiosulfate consumed corresponding to the amounts of invert sugar.

N硫酸21.7mlを加えて、全容量を約130mlにして25°Cで24時間加水分解したのち250mlに定容した。この10%硫酸酸性転化糖溶液 100mlに 1N 水酸化ナトリウム溶液 30.15ml および安息香酸2gを溶解した水溶液 750mlを加えて 1lに定容した。

2. 転化糖の標準曲線の作成

前項1で調製した1%転化糖溶液を稀水酸化ナトリウム溶液で中和して種々の濃度にうすめ、SOMOGYI法で測定したときの0.005 N チオ硫酸ナトリウム溶液の消費

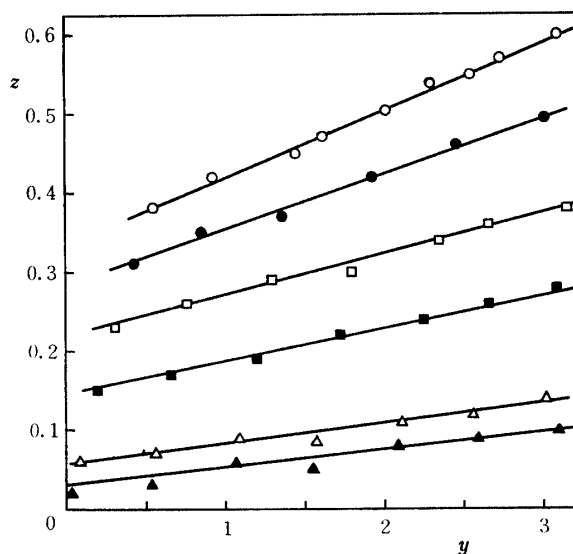


Fig. 3. Invert sugar resulted from sucrose during analysis.

—○— $x=1.00$ —●— $x=0.75$
 —□— $x=0.50$ —■— $x=0.30$
 —△— $x=0.10$ —▲— $x=0.05$
 x : sucrose in 5ml of sample solutions(g)
 y : observed invert sugar(mg)
 z : invert sugar from sucrose(mg)

量と転化糖濃度の関係を図2に示した。転化糖濃度が1mg/5ml以上では両者は直線関係があり、それ以下の濃度ではごくゆるやかな曲線になっている。

3. 分析中の蔗糖の転化

先項1で調製した1%転化糖溶液を中和したものと還元糖含有率 0.016% (OFNER法^{6,12-14})で測定)で純度 99.52% (加水分解して BERTLAND 法^{1,3,15})で測定)の蔗糖を用いて、種々の蔗糖および転化糖濃度の溶液を調製し、その溶液を SOMOGYI 法で分析して図2の標準曲線より得た転化糖(y)と、もともと供試糖液に含まれていた転化糖の差より分析中に加水分解した蔗糖による転化糖(z)を求めると図3のようになった。

図3をみると、ここで測定した範囲内($0.05 \leq x \leq 1.00$, $0.02 \leq y \leq 3.0$, $z \leq 0.70 y$)では、 y と z が x を助変数とした直線関係になっていることがわかる。それゆえに図3の各直線の z 軸上の切片を $f(x)$ 、勾配を $g(x)$ とすると、 x , y , z の関係を

$$z = f(x) + g(x) \cdot y$$

$f(x)$, $g(x)$ は x のみの関数

で表わすことができる。 $f(x)$ および $g(x)$ が x で表わされるならば、 z を x と y の関数として表わすことができる。

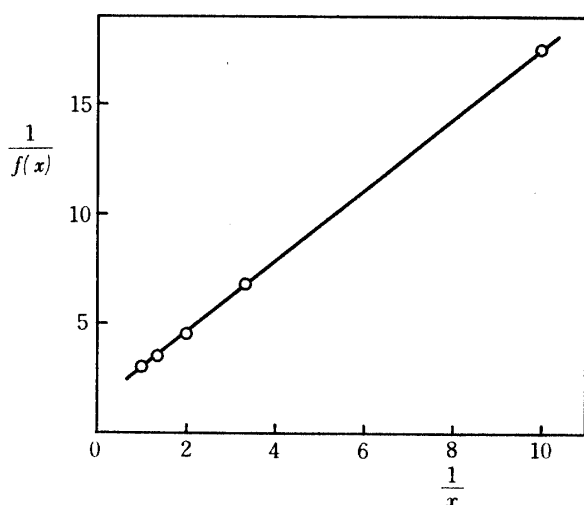


Fig. 4. Relation between x and $f(x)$.
 x : sucrose in 5ml of sample solutions(g)
 $f(x)$: intersection of each straight line on z axis in Fig. 3.

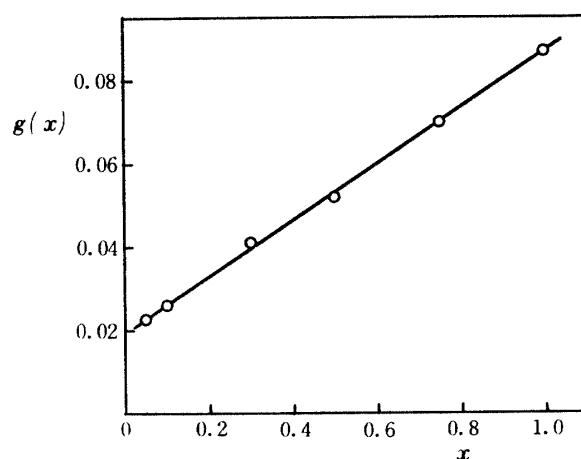


Fig. 5. Relation between x and $g(x)$.
 x : sucrose in 5ml of sample solutions (g)
 $g(x)$: slope of each straight line in Fig.3

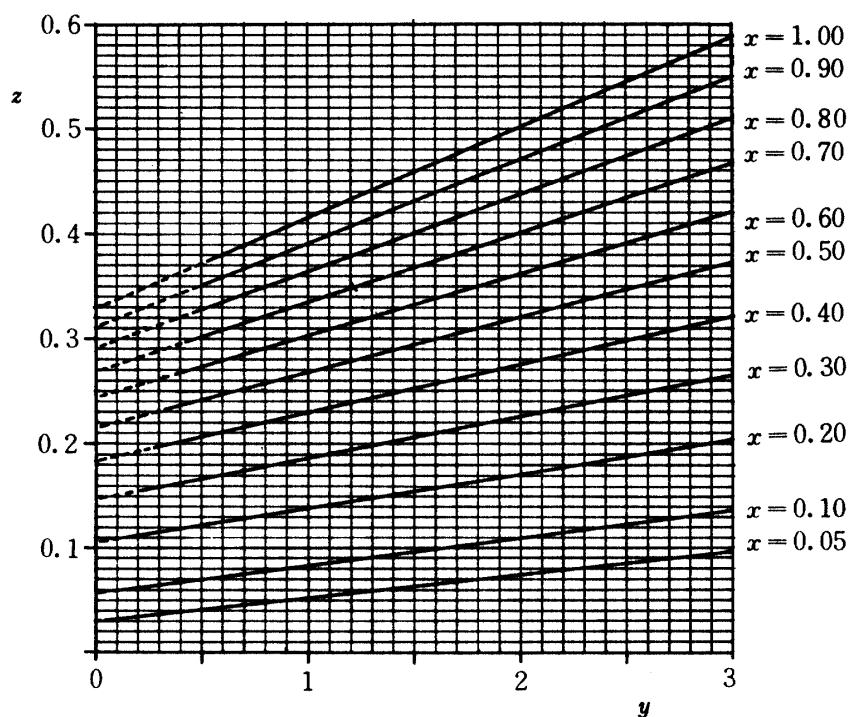


Fig. 6. Corrections for invert sugar from sucrose.
 Dotted lines are values of extrapolation.
 x : sucrose in 5ml of sample solutions (g)
 y : observed invert sugar (mg)
 z : invert sugar from sucrose (mg)

x と $f(x)$ の関係は図4に示すように、 $1/f(x)$ を $1/x$ に対して点綴すると直線関係が得られた。そこで x と $f(x)$ の関係を

$$\frac{1}{f(x)} = a + \frac{b}{x} \quad (a, b \text{ は定数})$$

で表わすことができる。図4より求めた $a=1.43$, $b=1.661$ を代入して整理すると

$$f(x) = \frac{x}{1.43x + 1.661}$$

が得られる。

次に $g(x)$ を x に対して点綴すると図5に示すように直線になり、その関係を

$$g(x) = 0.0193 + 0.0676x$$

で表わすことができる。

これらの $f(x)$ および $g(x)$ をもとの式に代入すると

$$z = \frac{x}{1.43x + 1.661} + (0.0193 + 0.0676x)y$$

が得られる。この式は供試糖液5ml中の蔗糖が x gで測定された転化糖が y mgのとき、 z mgが蔗糖の加水分解による転化糖であることを示しており、

Table 1. Corrections for invert sugar from sucrose (mg)

Observed invert sugar (mg)	Sucrose in 5 ml of sample solutions (g)										
	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
0.10	0.03	0.06	(0.11)	(0.15)	(0.19)	(0.22)	(0.25)	(0.27)	(0.30)	(0.32)	(0.34)
0.20	0.03	0.06	0.11	(0.16)	(0.19)	(0.23)	(0.25)	(0.28)	(0.31)	(0.33)	(0.35)
0.30	0.04	0.06	0.12	0.16	0.20	(0.23)	(0.26)	(0.29)	(0.31)	(0.33)	(0.35)
0.40	0.04	0.07	0.12	0.16	0.20	0.24	0.27	(0.29)	(0.32)	(0.34)	(0.36)
0.50	0.04	0.07	0.12	0.17	0.21	0.24	0.27	0.30	0.33	0.35	(0.37)
0.60	0.04	0.07	0.13	0.17	0.21	0.25	0.28	0.31	0.33	0.36	0.38
0.70	0.05	0.08	0.13	0.17	0.22	0.25	0.28	0.31	0.34	0.37	0.39
0.80	0.05	0.08	0.13	0.18	0.22	0.26	0.29	0.32	0.35	0.37	0.40
0.90	0.05	0.08	0.13	0.18	0.22	0.26	0.30	0.33	0.36	0.38	0.41
1.00	0.05	0.08	0.14	0.19	0.23	0.27	0.30	0.33	0.36	0.39	0.42
1.10	0.05	0.09	0.14	0.19	0.23	0.27	0.31	0.34	0.37	0.40	0.42
1.20	0.06	0.09	0.14	0.19	0.24	0.28	0.31	0.35	0.38	0.41	0.43
1.30	0.06	0.09	0.15	0.20	0.24	0.28	0.32	0.35	0.39	0.41	0.44
1.40	0.06	0.09	0.15	0.20	0.25	0.29	0.33	0.36	0.39	0.42	0.45
1.50	0.06	0.10	0.15	0.21	0.25	0.29	0.33	0.37	0.40	0.43	0.46
1.60	0.07	0.10	0.16	0.21	0.26	0.30	0.34	0.37	0.41	0.44	0.47
1.70	0.07	0.10	0.16	0.21	0.26	0.31	0.34	0.38	0.42	0.45	0.48
1.80	0.07	0.10	0.16	0.22	0.27	0.31	0.35	0.39	0.42	0.45	0.49
1.90	0.07	0.11	0.17	0.22	0.27	0.32	0.36	0.39	0.43	0.46	0.49
2.00	0.08	0.11	0.17	0.23	0.28	0.32	0.36	0.40	0.44	0.47	0.50
2.10	0.08	0.11	0.17	0.23	0.28	0.33	0.37	0.41	0.44	0.48	0.51
2.20	0.08	0.11	0.18	0.23	0.29	0.33	0.37	0.41	0.45	0.49	0.52
2.30	0.08	0.12	0.18	0.24	0.29	0.34	0.38	0.42	0.46	0.49	0.53
2.40	0.08	0.12	0.18	0.24	0.29	0.34	0.39	0.43	0.47	0.50	0.54
2.50	0.09	0.12	0.19	0.25	0.30	0.35	0.39	0.43	0.47	0.51	0.55
2.60	0.09	0.12	0.19	0.25	0.30	0.35	0.40	0.44	0.48	0.52	0.55
2.70	0.09	0.13	0.19	0.25	0.31	0.36	0.40	0.45	0.49	0.53	0.56
2.80	0.09	0.13	0.20	0.26	0.31	0.36	0.41	0.45	0.50	0.53	0.57
2.90	0.10	0.13	0.20	0.26	0.32	0.37	0.42	0.46	0.50	0.54	0.58
3.00	0.10	0.14	0.20	0.27	0.32	0.37	0.42	0.47	0.51	0.55	0.59

Numbers in parentheses are values of extrapolation

供試糖液中の転化糖は $y - z$ mg である。故にこの式を用いて蔗糖を含む溶液中の転化糖を SOMOGYI 法で測定するとき、蔗糖の加水分解による転化糖を補正することができる。使用の便宜をはかるために、この式をグラフおよび表に示すと図 6 および表 1 のようになった。

この補正法を用いて、蔗糖溶液中に存在していた転化糖と分析値を補正したものを比較すると表 2 のようになった。最大誤差は 0.02mg であり、測定値の大小にかかわらずその絶対誤差は同じと考えられるので、実存値と補正值の差より 95% および 99% 信頼限界を求めるとそれぞれ ± 0.002 mg および ± 0.003 mg となり、0.005N チオ硫酸ナトリウムに換算して 0.02ml 以下であり、この補正法は適当であるといえる。

要 約

還元糖の定量方法には多くの方法がある。それらの中で微量の定量ができ、定量できる範囲も比較的広く、しかも試薬の安定性のよい SOMOGYI 法で蔗糖を含む溶液中の転化糖の測定を行い、分析中に蔗糖が加水分解して生ずる転化糖を求める式

$$z = \frac{x}{1.43x + 1.661} + (0.0193 + 0.0676x) y$$

$$0.05 \leq x \leq 1.00, 0.02 \leq y \leq 3.0, z \leq 0.70 y$$

x : 供試糖液 5ml 中の蔗糖量 (g)

y : 測定された転化糖量 (mg)

z : 蔗糖の加水分解による転化糖量 (mg)

Table 2. Analysis of invert sugar in the presence of sucrose

Present		Observed invert sugar y (mg)	Correction z (mg)	Found invert sugar $v = y - z$ (mg)	Difference $u - v$ (mg)
Sucrose x (g)	Invert sugar u (mg)				
1.00	2.50	3.10	0.60	2.50	0
1.00	2.16	2.73	0.57	2.16	0
1.00	2.00	2.55	0.55	2.00	0
1.00	1.76	2.30	0.53	1.77	-0.01
1.00	1.50	2.01	0.50	1.51	-0.01
1.00	1.16	1.63	0.47	1.16	0
1.00	1.00	1.45	0.46	0.99	+0.01
1.00	0.50	0.92	0.41	0.51	-0.01
1.00	0.16	0.54	0.38	0.16	0
0.80	1.50	1.93	0.43	1.50	0
0.75	2.52	3.01	0.49	2.52	0
0.75	2.00	2.46	0.45	2.01	-0.01
0.75	1.50	1.92	0.41	1.51	-0.01
0.75	1.00	1.37	0.38	0.99	+0.01
0.75	0.50	0.85	0.34	0.51	-0.01
0.75	0.12	0.43	0.31	0.12	0
0.50	2.78	3.16	0.38	2.78	0
0.50	2.28	2.64	0.35	2.29	-0.01
0.50	2.00	2.34	0.34	2.00	0
0.50	1.50	1.80	0.31	1.49	+0.01
0.50	1.00	1.29	0.28	1.01	-0.01
0.50	0.50	0.76	0.25	0.51	-0.01
0.50	0.08	0.31	0.23	0.08	0
0.40	2.00	2.28	0.29	1.99	+0.01
0.40	1.00	1.24	0.24	1.00	0
0.30	2.80	3.08	0.27	2.81	-0.01
0.30	2.40	2.66	0.25	2.41	-0.01
0.30	2.00	2.24	0.23	2.01	-0.01
0.30	1.50	1.72	0.21	1.51	-0.01
0.30	1.00	1.19	0.19	1.00	0
0.30	0.50	0.67	0.17	0.50	0
0.30	0.05	0.20	0.15	0.05	0
0.20	2.50	2.69	0.19	2.50	0
0.20	0.50	0.61	0.13	0.48	+0.02
0.10	2.88	3.02	0.14	2.88	0
0.10	2.44	2.56	0.12	2.44	0
0.10	2.00	2.11	0.11	2.00	0
0.10	1.50	1.58	0.10	1.48	+0.02
0.10	1.00	1.09	0.09	1.00	0
0.10	0.50	0.57	0.07	0.50	0
0.10	0.02	0.08	0.06	0.02	0
0.05	3.00	3.10	0.10	3.00	0
0.05	2.50	2.59	0.09	2.50	0
0.05	2.00	2.08	0.08	2.00	0
0.05	1.50	1.55	0.06	1.49	+0.01
0.05	1.00	1.06	0.05	1.01	-0.01
0.05	0.50	0.53	0.04	0.49	+0.01
0.05	0.01	0.03	0.03	0	+0.01
Standard deviation					0.0079
95 per cent confidence limits by distribution of t					± 0.002
99 per cent confidence limits by distribution of t					± 0.003

およびグラフ(図6), 表(表1)を得た。これらを用いて, 蔗糖溶液中の転化糖を定量するとき, 蔗糖に由来する転化糖を補正することができる。その95%および99%信頼限界はそれぞれ $\pm 0.002\text{mg}$ および $\pm 0.003\text{mg}$ である。

引用文献

- 1) 東京大学農芸化学教室編: 実験農芸化学(上), 初版, p.128~134, 朝倉書店, 東京, 1960.
- 2) 東京大学農芸化学教室編: 実験農芸化学(下), 初版, p.414~416, p.638~639, p.666~667, 朝倉書店, 東京, 1960.
- 3) 京都大学食品工学教室編: 食品工学実験書(上), 第1版, p.398~408, 養賢堂, 東京, 1970.
- 4) 日本分析化学会編: 分析化学便覧, p.741~744, 丸善, 東京, 1961.
- 5) 関根隆光, 笹川泰治, 森田茂広, 木村徳次, 倉富一興編: 生化学領域における光電比色法(各論2)(化学の領域増刊34), p.27~39, 南江堂, 東京, 1958.
- 6) 精糖技術研究会編: 製糖便覧, p.45~54, 朝倉書店, 東京, 1962.
- 7) W. HORWITZ: Official Method of the Association of Official Agricultural Chemists, 9th Ed., p.426~433, Association of Official Agricultural Chemists, Washington, 1960.
- 8) C. A. BROWNE, F.W. ZERBAN: Physical and Chemical Method of Sugar Analysis, 3rd Ed., p.744~1015, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1948.
- 9) M. ATHENSTEDT: Über die Zersetzung der Saccharose in alkalischer Lösung, *Z. Zuckerind.*, **11**, 605, 661, 1961.
- 10) M. SOMOGYI: Notes on Sugar Determination, *J.Biol.Chem.*, **195**, 19, 1952.
- 11) L. EYNON, J. H. LANE: Preparation of Stable Solution of Invert Sugar, *Int. Sugar J.*, **51**, 169, 1949.
- 12) R. OFNER: Verschiedene Analysen (Invertzuckerbestimmung), *Z. Zuckerind. Cechoslovak. Rep.*, **59**, 52, 1934.
- 13) R. OFNER: Zu Zuckerfabriksanalysen benötigte Lösungen, *Z. Zuckerind. Cechoslovak. Rep.*, **59**, 63, 1934.
- 14) R. F. JACKSON, E.J. Mc DONALD: Examination of Ofner's Method for Determination of Invert Sugar in Refined Sugars, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **26**, 462, 1943.
- 15) G. BERTLAND: Le Dosage des Sucres Réducteurs, *Bull. Soc. Chim. Paris*, **35**, 1285, 1906.

Summary

Reducing sugars are determined by many methods. Most of these methods, i. e. OFNER method, BERLIN INSTITUTE method, STRIEGLER method, SAILLARD method, LUFF SCHOORL method, LANE-EYNON method, HERZFELD method, MEISSEL-HILLER method, MUNSON-WALKER method, etc. are applied to determine invert sugar in the presence of sucrose, but any of these methods are unable to determine very small amounts of invert sugar in use of small volume of sugar solutions.

SOMOGYI method has characteristics that by which very small amounts and relatively wide ranges of reducing sugars can be determined, the volume of sugar solutions needed is little and the copper reagent used for the analysis is stable. Various amounts of invert sugar in sucrose solutions of different concentration were analyzed by SOMOGYI method and a correction-formula for invert sugar resulted from sucrose during analysis was obtained.

$$z = \frac{x}{1.43x + 1.661} + (0.0193 + 0.0676x)y$$

$0.05 \leq x \leq 1.00, 0.02 \leq y \leq 3.0, z \leq 0.70y$
 x : sucrose in 5 ml of sample solutions (g)
 y : observed invert sugar (mg)
 z : invert sugar from sucrose (mg)

As shown in Figure 6 and Table 1, the formula were illustrated or tablated for the convenience. These expressions are used for the purpose of corrections of invert sugar obtained in sucrose solutions by SOMOGYI method, and the 95 per cent and 99 per cent confidence limits are $\pm 0.002\text{ mg}$ and $\pm 0.003\text{ mg}$, respectively.