醸 造 研 究

昭和 31 年度

醤油糖分定量の一新法について

(第 1 報) 各種定量法の比較

風 間 雍

(昭和 31 年 5 月 18 日受理)

緒 言

従来から醤油の糖分定量法としては、Bertrand 法及びその Rithausen 処理を併用した方法が基本とされている。しかし、周知の通り醤油中には多量の含窒素化合物と食塩が存在し、これらが糖分定量を阻害する。従つてその糖分定量法に関する報告を極めて多い。古く山田等¹⁾は Lane-ynon 法をとりあげ当面の醤油の糖分定量法として最良のものであると報告した。最近に至り松尾等²⁾は Lane-Eynon 法を改良した Blom-Rosted 法を適用して醤油の糖分を定量し比較的好結果をえたと述べ、又一方牛山等³⁾は醤油の糖分定量法として Bertrand 法、Somogyi 変法、Fehling-Lehmann-Schoorl 法等の各法を比較し、除蛋白を行えば Bertrand 法が良いとし Somogyi 変法これに次ぐと報告した。更に吉野等⁴⁾は Lane-Eynon 法と 3,5-Dinitro-Salicylic Acid による比色法とを比較し、後者のすぐれた点を強調している。

以上いずれも定量の正確度を増すためには操作に熟練を要し、又特殊の装置を必要とする。

筆者は先ず従来の各種糖分定量法につき比較検討を加えると共に S. Seiler⁵⁾の報告に基づき新定量法 Seiler 変法を案出し醤油の糖分を定量し好結果をえたので報告する。

実 験

1 各種定量法による糖分含有量の比較

先ず Bertrand 法、Fehling-Lehmann-Schoorl 法 (F.L.S.) Lane-Eynon 法及び Seiler 変法の各定量法を用い各種醤油及びアミノ酸混液中の還元糖を定量した。各定量法は常法に従つたが Seiler 変法については後述の要領により実施した。各試料の供試時における稀釈度を変えて行つた定量値は Table 1 の通りであつた。

Table 1 Comparison of Reducing Sugar Content in Soy-Sauce which determined by various Methode.

Sample D. R.	Method				
	Bertrand	F. L. S.	Lane		Seiler-modified
A	500	4.74 g/dl	6.52 g/dl	6.56* g/dl	6.60 g/dl
	250	5.08	5.96	6.32**	6.53
B	500	4.53	5.92		5.25
	20			5.58	
C	500	2.88	4.51		3.90
	20			4.22	

Sample :

- A. Protein Hydrolysed Mixture (Amino Acid Soy-Sauce) which contained carbohydrate.
- B. Soy-Sauce which contained Miki.
- C. Naturally brewed Soy-Sauce (Kiage).

D. R. : Dilution ratio of sampling for analysis.

* D. R. is 50

** D. R. is 25

II Seiler 変法の検討

S. Seiler の報告によると、供試糖液の一定量を予め Fehling 溶液と混合沸騰し、これに濃度既知の Glucose 溶液をもつて滴定する。かくてえた値と blank test はよる値から供試糖液中の Glucose 含量を計算により求める。本法により血液中の糖分の定量を行い好結果をえたという。この報告に基き以下の各実験を行った。(以下 Seiler 変法を本法と称する。)

(1) 本法の要領

Lane-Eynon 法におけると全く同一の Fehling 試薬, Methylene blue 指示薬を使用する。各試薬の調製法は次の通りである。

- イ. 硫酸銅液 純硫酸銅 69.3g を水にとかし 1l. とする。
- ロ. Alkali 液 Rochelle Salt 346g と NaOH 100g を水にとかし 1l. とする。
- ハ. Methylene blue 液 Methylene blue 0.5g を水にとかし 100cc とする。
- ニ. 標準 Glucose 液 純 Glucose を再結するか又は 105°C にて恒量まで乾燥後その 1g を精秤し 0.25% Benzoic acid にとかし 100cc とする。本液は使用に当り、水にて稀釈し 1cc 当り、2.5~1.25mg の溶液とする。

定量に当り先ず Fehling 溶液各 5cc をビーカーにとり本液の還元糖消費容量(B)を求めるため、直ちに加熱する。沸騰するに至れば、ビュレットより標準 Glucose (0.1~0.3 溶液)を滴下し Fehling 溶液の青色が殆んど消えた時、Methylene blue 液を 2 滴加え更に青色が完全に消失するまで滴定する。これまでを予備滴定とする。この時の滴定値より約 1cc 弱の標準 Glucose 溶液を予め Fehling 溶液に加えて後加熱し沸騰し始めたら 2 分間維持し直ちに指示薬 2 滴を加え、前回と同様標準 Glucose 溶液で青色の消失するまで滴定し、その cc 数を読む。この値を(B)とする。以上の操作は Lane-Eynon 法とほとんど変わらない。次に供試糖液(糖量 50mg 以下なること)を Fehling 溶液各 5cc に加え先の要領と同様にて滴定し(t)とする。

$$X = (B - t) \times C$$

X.....Reducing Sugar mg of sample

B.....Consumed cc of Standard Glucose soln. on Blank test.

t.....Consumed cc of Standard Glucose soln. on Main test.

C.....mg/cc of Glucose in Standard Glucose soln.

(2) 標準 Glucose 溶液の調製

i) Glucose の精製

以下の通り三種の Glucose を 100~110°C にて恒量まで乾燥後 1g を精秤し 1% 溶液を作る。これを Bertrand 法にて定量した結果 Table 2 の通りであつた。

Table 2. Experimental Error of Glucose Value on some Sugar-Reagents by Bertand's method.

Name of

Sugar Reagent	Grade	Glucose taken	Glucose found	absolute error	comparative error
Nippon Rikagaku	G. R.	1.0000g/dl	1.0055g/dl	+0.0055g/dl	+0.55%
Chugai Seiyaku	*	"	"	"	"
Nippon Rikagaku	E. P.	"	0.9810	-0.0190	-1.90

* The Japanese Pharmacopoeia

ii) 標準 Glucose 溶液に対する防腐剤の添加

標準 Glucose を保存した場合、その変化を防止するため Seiler は Methyl-p-oxy-Benzoate の添加を提唱し、又 Folin, Wu はその糖定量法において基準糖液として 0.2% Benzoic acid の溶液を使用している。これらにならない、筆者は防腐剤として下記物質をえらびその添加による定量値に差異があるかどうかを検討した。各防腐物質は、水溶液として次の濃度に調製し、各液を標準 Glucose に添加しいずれも 0.3% Glucose 0.1% 防腐剤溶液とした。

(a) Benzoic acid 0.25% water solution

(b) Salicylic acid 0.20% "

(c) Sodium Dehydroacetate 0.5% "

添加糖液を Bertrand 法にて定量し Table 3 の結果をえた。

Table. 3 Effect of Added Antiseptics to Glucose Standard Solution on Determination of Sugar.

Antiseptics	Antiseptics added —g/dl	Glucose found 0.2963 g/dl	Comparative error —%
(a)	0.1	0.2989	+0.88
(b)	"	0.2963	±0
(c)	"	0.2942	-0.71

(3) 本法の信頼度

本法による定量操作の信頼度を検討するため糖の添加量をかえ、その回収率を求めた。その結果は Table 4 の通りであった。

Table 4. Recovery of Glucose

mg of Glucose Added	t	B-t	X	Recovery
10.168	16.90	4.00	10.168	100.0%
20.336	12.85	8.05	20.463	100.6
30.504	8.70	12.20	31.012	101.7
40.672	4.85	16.05	40.799	100.3
50.840	0.90	20.00	58.840	100.0

B=20.90

C=2.542

考 察

含窒素化合物中の糖類の分析は分別定量法を応用すれば最適と考えるが、一般分析においては操作が煩雑で余り好まれない。醸造食品殊に醤油中における還元糖の定量法についても同様である。醤油の糖分定量法が困難である理由の第一は定量阻害物質の存在であつてこの物質を除去するか、阻害を受け難い方法を採用することが必要である。Bertrand 法を始め多くの糖分定量法は糖分が単独に存在する場合には極めて正確なことが知られている。一方供試量をできるだけ少くすること、すなわち微量分析法を適用すれば正確度が高まるが、とかく誤差が大きく響き易く、工場分析法には不適である。

本法は Lane-Eynon 法及び Seiler 法の原理を用いる滴定法により、滴定終点を明瞭ならしめ、精度を高めることを主眼とした。本定量法の規準としては Fehling 溶液の中の硫酸銅温液を検定してもよいが、標準 Glucose 温液を調製し検討した。

Table 2, Table 3 の結果から本実験による標準 Glucose の調製法は本法を使用するに当つては十分適用できることがわかつた。

(本報の要旨は昭和31年春の日本農芸化学会大会にて発表した。)

文 献

- 1) 山田, 石丸: 醸試報 126, 115(1938)
- 2) 松尾, 松井: 発酵工学 31, 135(1953)
- 3) 牛山, 中坪, 石渡: 醤油技術 88号 2 (1954)
- 4) 吉野, 富野, 吉備: 調味科学 2 (4) 1 (1954)
- 5) S. Seiler: *Biochem. Z.*, 294, 309 (1937)

(茨城県醸造試験所)

Determination of reducing sugar in soy-sauce. (Part I)

By Yasushi KAZAMA

(Brewing Institute, Ibaraki Prof.)

(Received May 18, 1956)

It is very difficult to determine sugars in soy-sauce, since it contains various inhibitors. Various methods were compared. The author proposed a method which is a modification of S. Seiler's one. It is very simple and accurate.