砂糖中のマルトール化合物の定量法

斎藤 祥治*・三木 健*・伊藤 汎*・鴨田 稔*

Determination of Maltol Compounds in Sugars

Shoji SAITO*, Takeshi MIKI*, Hiroshi ITO* and Minoru KAMODA*

* Research Laboratory, Japan Sugar Refiners' Association
5-7 Sanbancho, Chiyoda-ku, Tokyo, 102

A new method for determination of maltol compounds in sugars has been developed. Ferric ammonium sulfate solution was added to a sugar solution to form maltol- Fe^{3+} complex. The complex was adsorbed on a silica gel column and the column was washed with aqueous sodium thiosulfate solution. The complex was then eluted with the aqueous solution of acetic acid and ethanol. Ferric ammonium sulfate solution was added to the effluent and the solution was evaporated to dryness under reduced pressure. The dried residue was dissolved with 0.05 N H_2SO_4 and the solution was filtered. The absorbance of the filtrate was measured at 522 nm. The determination limit was 50 μg and the relative standard deviation for six determinations was 2.2%. Recoveries of added maltol from sample ranged from 98.5% to 102.5%.
(Received Aug. 17, 1983)

種々の砂糖類中に微量のマルトール、イソマルトール(以下マルトール化合物)が含まれ、これが甘味香の成分であることはよく知られており^{1)~4)}、最近では甘味香の強い砂糖が注目されるようになってきている。しかし砂糖類中のマルトール化合物の定量方法に関する報告は少ない。

マルトールと同じ γ -パイロン化合物に属する麴酸を麴酸- Fe^{3+} 錯体として定量する方法⁵⁾⁶⁾が報告されているが、砂糖類中に微量含まれるマルトール化合物の定量には感度が低く、また試料が着色している場合などには十分な定量ができない。伊藤³⁾はこの Fe^{3+} 錯体反応を利用して、各種砂糖類中のマルトール化合物の定量を行っている。しかしながら、上述のような問題もあり、着色している原料糖や微量のマルトール化合物しか含まない上白糖、三温糖、液糖などの中のマルトール化合物の定量には適用できなかった。

この欠点を解決するために、強酸性イオン交換樹脂で砂糖類中の微量のマルトール化合物を予め吸着濃縮する前処理法が考えられるが、この前濃縮の過程で砂糖の分解によりマルトールが生成⁷⁾⁸⁾するので適用できない。

マルトールをクロロホルムで抽出する方法⁹⁾も報告されているが、著者らの追試した結果では微量の場合は抽出効率が悪く、定量には不适当であった。

そこで砂糖類中のマルトール化合物を分離、濃縮する方法を検討し、マルトール化合物- Fe^{3+} 錯体が効率よくシリカゲルに吸着されることを見出したので、この手法を利用し、砂糖類中のマルトール化合物をマルトールを標準物質として精度よく定量する分析法を開発した。

実験方法

1. 試薬

標準マルトール液：ペルトール(ファイザー社製)を昇化結晶させ、その100.0 mgを蒸留水に溶かし、1 lの定容とした。

0.55% 鉄溶液：硫酸第二鉄アンモニウム 24 水塩を1.00 g 取り、氷酢酸 2 ml を加え、100 ml に蒸留水で定容とした。

溶出液：氷酢酸 23 ml および 98.0% エタノール 20 ml を蒸留水で 100 ml に希釈した。

1 M チオ硫酸ナトリウム溶液：チオ硫酸ナトリウム

* 精糖工業会技術研究所 (〒102 東京都千代田区三番町 5-7)

Fig. 1 Analytical Procedure of Maltol Compounds in Sugars

24.0 g を蒸留水に溶かし 100 ml とした。

0.05 N 硫酸: 和光純薬製 1.0 N 硫酸溶液 (定量分析用) を希釈した。

シリカゲルカラム: 和光純薬製 Wako Gel S-1 に蒸留水を加え、傾斜法で微粒子を除いた後、直径 2.0 cm × 長さ 15.0 cm のガラス管に高さ 11.0 cm 詰めて使用した。再使用の場合は蒸留水 500 ml で洗浄した。

その他の試薬: 市販の特級品を使用した。

(2) 装置

分光光度計: 日立 124 型分光光度計, セルは 10 mm ガラス製。

(3) 定量操作

Fig. 1 に示すように, 各種砂糖類試料から濃度 30% 以下の水溶液を調製し, その 200~300 ml (マルトール 50~400 µg 含有) を採取した。その糖液に 0.55% 鉄溶液 1 ml を加え, シリカゲルカラムに 1.0~2.0 ml/分の流速で通液し, マルトール-Fe³⁺ 錯体をシリカゲルに吸着させた (糖液中に不溶性不純物が多い場合はあらかじめ脱脂綿またはガラス綿を詰めたロートで濾過した)。以下 Fig. 1 に示したように処理した。検量線は標準マルトール溶液を 0.500~4.00 ml (マルトール 50 µg~400.0 µg) 用い作成した。

結果および考察

1. マルトール錯-Fe³⁺ 体のシリカゲルへの吸着

30% 糖液 100 ml に 200.0 µg マルトールと 0.55% 鉄溶液 1 ml を加えた試料と鉄溶液無添加の試料につい

て, シリカゲルカラムに通液後, 1 M チオ硫酸ナトリウム溶液 1 ml 含有蒸留水 500 ml で洗い, 溶出液で展開し, マルトールの吸着を調べたところ, 鉄溶液無添加の場合には流出液中にはほとんどマルトールが含まれておらず, シリカゲルカラムを通過した糖液に鉄溶液を加えると青紫色の発色を見たので, マルトールがシリカゲルに吸着しないことが明らかとなった。鉄溶液添加の場合には流出液中にマルトールが見いだされた。通過した糖液中に鉄溶液を添加しても発色しなかった。また, シリカゲルカラムに糖液を通過させた際, マルトール-Fe³⁺ 錯体の青紫色がカラムの上層部に残ってくることが確認できた。さらに, マルトール水溶液で同様な試験を行った結果でも, 鉄溶液無添加の場合はマルトールが流出液中に見いだされず, 同様な結果が得られた。このことから, シリカゲルに吸着するマルトールは Fe³⁺ との錯体の形で吸着されていることがわかった。マルトール-Fe³⁺ 錯体は 0.45 µm メンブレンフィルターで濾過しても除去されなかった。

使用する鉄溶液については塩化第二鉄溶液でも錯体が生成されシリカゲルに吸着されるが, 溶液中の Fe³⁺ の濃度の決定が困難なため, 硫酸第二鉄アンモニア溶液を用いた。

2. 糖液の濃度

糖液がシリカゲルカラムを通過する速度はその濃度に影響されるので, 10~50% の糖濃度の液を調製し, 試験した結果, 30% までは流速が 1.5 ml/分以上であったが, 40% ではほとんど流れなくなり, 200 ml の砂糖液が通液完了するまで 6 時間以上要した。そこで, 本法では砂糖の濃度を 30% 以下とした。

3. 吸着時の pH の影響

マルトール-Fe³⁺ 錯体はアルカリ性下では形成されないために, マルトールはシリカゲルに吸着されず, 一方 pH 2 以下となると吸着が困難となった。そこで, 弱酸性下でマルトール-Fe³⁺ 錯体の吸着を行った。

4. シリカゲルによる糖の分解

シリカゲルでの糖の分解によりマルトールの生成が考えられるので 30% の砂糖液と転化型液糖の各々 100 ml に 0.55% 鉄溶液 1 ml を加え, シリカゲルカラムに通液し, 通過した糖液を前述と同様に処理し, 両方のカラムを 1 M チオ硫酸ナトリウム溶液含有蒸留水 500 ml で洗い, 溶出液で展開し, 流出液中のマルトールの含有量を調べた。最初のシリカゲルカラムからの流出液には微量のマルトールが含まれていたが, 後者のカラムからの流出液には見いだされなかった。また 50% 砂糖液を 2

組調製し、1組はシリカゲルを加え、一夜放置し、他の組はそのまま放置、マルトールの含量を調べたところ、両者の間には有意差はなかった。このことから、シリカゲルによる糖の分解はないと思われた。

5. 洗浄液の検討

糖液通液後、シリカゲルカラムから、残留する糖を除くために、洗浄液を用いて洗浄する時、この洗浄液の組成がマルトールの回収率に大きな影響を与える。

糖液にマルトール 200.0 μg および 0.55% 鉄溶液 1 ml を加えマルトール- Fe^{3+} 錯体をシリカゲルカラムに吸着させ、蒸留水 500 ml、同量の蒸留水に過酸化水素水 2~3 滴を加えた液あるいは 1 M チオ硫酸ナトリウム溶液を加えた同量の蒸留水でシリカゲルカラムを洗い、その後溶出液で展開しマルトール- Fe^{3+} 錯体の回収率を見た。その結果、蒸留水だけでは回収率 43.3%、過酸化水素添加蒸留水は 0%、1 M チオ硫酸ナトリウム溶液 0.1 ml 含有蒸留水では 92.0%、同 0.5~2.0 ml では 97.0~97.6% であった。

6. 溶出液の検討

3 N 塩酸、酢酸含有の 20% エタノール水溶液およびエタノール含有の 4 N 酢酸水溶液各々 200 ml でシリカゲルカラムからのマルトール- Fe^{3+} 錯体の溶出を検討した。その結果、3 N 塩酸ではマルトールの回収率は低く、酢酸だけでも低かった。酢酸水溶液にエタノールを加えるとマルトールの回収率は上昇した。

マルトール 200.0 μg に 0.55% 鉄溶液を加え、シリカゲルカラムに吸着させ 20% エタノール含有 2 N 酢酸水溶液で溶出すると、回収率は 42.8%、同 3 N 酢酸では 94.2%、同 4 N 酢酸は 101% であった。4 N 酢酸の 5% エタノール水溶液では 90.0%、同 10% エタノール水溶液で 95.2% であった。

また 4 N 酢酸 20% エタノール水溶液によるシリカゲルカラムからの溶出画分は 25~100 ml で、その範囲内ではほぼ 100% 回収された。

7. マルトール- Fe^{3+} 錯体の吸光度曲線

Fig. 2 にマルトール- Fe^{3+} 錯体の吸光度曲線を示す。522 nm 付近で極大吸収があった。吸光度は硫酸濃度により変化し、硫酸濃度以外の条件を Fig. 1 と同じ条件で行うと、硫酸濃度 0.005 N で 0.565、0.05 N で 0.625、0.10 N で 0.510 となった。

8. マルトール- Fe^{3+} 錯体の吸光度と鉄の濃度

マルトール- Fe^{3+} 錯体の吸光度はマルトールと錯体を形成する鉄の濃度にも影響すると見られるので次のような試験を行った。

Fig. 2 Absorption Spectrum of Maltol- Fe^{3+} Complex

Preparation of Complex:

0.55% Ferric Ammonium Sulfate Solution
2.0 ml, Maltol 500.0 μg , 0.05N Sulfuric Acid
5.00 ml

シリカゲルカラムより溶出した 200.0 μg マルトールを含む溶出液中に、0.55% 鉄溶液を加え、減圧乾固後、0.05 N 硫酸 5.00 ml を加え、吸光度を測定すると、鉄溶液 0.5 ml の添加での吸光度は 0.210、1.0 ml では 0.253、2.0~3.0 ml では 0.250 となり、1.0~3.0 ml では鉄濃度の影響は見られなかった。

9. 共存物質の影響

砂糖類中にはクマリン酸化合物、バニリン化合物、ヒドロキシ安息香酸化合物、シリングアルデヒド、グワヤコール、サルチル酸、カテクロール¹⁰⁾⁻¹³⁾などのフェノール化合物が含まれており、 Fe^{3+} と反応して発色すると考えられた。そこで、これらの化合物についても Fe^{3+} との呈色反応を調べたところ、シリングアルデヒド、バニリン、バニリン酸、クマリン酸、ヒドロキシ安息香酸、アセトバニロン、ジメチルフェノールは発色せず、カテクロール、グワヤコール、サルチル酸は発色し、それぞれ 421, 472, 525 nm の波長に極大吸収を有していた。発色したこれら化合物各 1.0 mg を 30% 糖液 100 ml に加え実験方法 3. 定量操作に従い、シリカゲルへの吸着を調べた。その結果、これらの化合物の Fe^{3+} 反応物はシリカゲルカラムに吸着されなかった。このことにより

Table 1 Recovery of Maltol in Sugars by The Method

Sample	Sample Weight (g)	Blank (μ g)	Added (μ g)	Found (μ g)	Recovery (μ g)	Recovery (%)
Granulated Sugar	90.0	0	200.0	201.2	201.2	100.6
Soft White Sugar	90.0	50.0	200.0	250.3	200.3	100.2
Soft Brown Sugar	30.0	53.0	200.0	250.0	197.0	98.5
"	30.0	73.0	200.0	275.0	202.0	101.0
Raw Sugar (Cuba)	40.0	97.0	200.0	300.0	203.0	101.5
" (South Africa)	40.0	145.0	200.0	350.0	205.0	102.5
" (Australia)	40.0	210.0	200.0	410.0	200.0	100.0

$\bar{X}=100.6\%$ $CV=1.37\%$

り、共存するフェノール化合物はマルトール化合物の定量には影響がないことが明らかとなった。

また砂糖類中のマルトールの回収率は不純物の多い砂糖でも高純度の砂糖の場合とほとんど同じであった。従って、この結果からも共存物質の影響は無視できると考えられた。一方、砂糖類中の還元糖が添加した Fe^{3+} を還元し、マルトール- Fe^{3+} 錯体生成を阻害することが考えられるので、30% 糖液 (還元糖分 15%) 100 ml に 0.55% 鉄溶液の添加量は変え、回収率を見ると、1 ml 以上の添加でその回収率はほとんど変らなかった。

なお、イソマルトール- Fe^{3+} 錯体はマルトール- Fe^{3+} 錯体と同じ波長に極大吸収を持ち、同一濃度での吸光度も等しく、本法によりほぼ完全に回収された。

10. 検量線

蒸留水 200 ml にマルトールを 50~400 μ g 加え、実験方法 3. 定量操作に従い検量線を作成した。対照は蒸留水 200 ml に 0.55% 鉄溶液を加え、同様に処理した。その結果をもとに回帰分析を行い、回帰式 $y=801x$ (y =試料中のマルトール量 μ g, x =吸光度) を得た。この時の相関係数は 0.992 であった。本法の定量限界は 50 μ g, 30% 糖液 500 ml で得た相対的な定量限界は 0.30 μ g/g 砂糖であった。くり返し精度は 30% 上白糖液 200 ml に 200 μ g マルトールを加え、実験方法 3. に従い 6 回のくり返し分析の結果、変動係数で表わすと 2.20% であった。

11. 回収率

本法の正確さを調べるために、グラニュー糖、上白糖、中白糖、三温糖および原料糖の試料 7 点を 30~90 g 取り水にとかし 30% 糖液とし、200.0 μ g のマルトールを加え、実験方法 3. 定量操作に従い分析し回収率を調べた。回収率は平均 100.6%、変動係数 1.37% であった (Table 1)。

Table 2 Determination of Maltol Compounds in Sugars

Sample	Content (μ g/g)
Soft White Sugar (1)	0.3
" (2)	0.6
" (3)	ND*
Liquid Sugar (Invert Type)	1.3
" (Sucrose Type) (1)	1.4
" " (2)	0.3
Soft Brown Sugar (1)	2.5
" (2)	8.5
Raw Sugar (Taiwan, Sept. 1982)**	5.5
" (Thailand, Nov. 1982)**	4.8
" (Philippine, Oct. 1982)**	2.8
" (Cuba, Aug. 1982)**	3.1

* ND=Not Detected: <0.3 μ g/g ** Imported Date

12. 砂糖類中のマルトール化合物

上白糖、液糖、三温糖、原料糖の計 13 点につき分析しその結果を Table 2 に示した。

上白糖は 3 点を定量した結果、微量のマルトール化合物が見い出された。液糖は転化型 1 点、ショ糖型 2 点を分析し、転化型液糖と長期保存 (約 6 ヶ月) のショ糖型液糖には多く含まれていた。三温糖は 2 点分析し、長期保存 (約 3 年) の試料に多量のマルトール化合物が含まれていた。台湾、タイ、フィリピン、キューバの原料糖 4 点について分析した結果、5.50~2.78 μ g/g のマルトール化合物を検出した。

要 約

砂糖類中のマルトール化合物の定量法を検討し、マルトール化合物が第二鉄イオンと錯体を形成し、シリカゲ

ルに吸着される性質を利用する前処理法を用いた比色定量法を確立した。

本法を利用して各種の砂糖中のマルトール化合物を定量した。

本法の定量限界は 50 μ g, 添加回収試験における回収率は 98.5~102.5%, 6 回のくり返し実験の分析精度は変動係数 2.20% であった。

文 献

- 1) ITO, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 827 (1976).
- 2) ITO, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1307 (1977).
- 3) 伊藤 汎: 食品工誌, **25**, 515 (1978).
- 4) 伊藤 汎・出来三男: 日食工誌, **25**, 549 (1978).
- 5) 辰己忠次・鈴山 実: 農化, **28**, 274 (1954).
- 6) 辰己忠次・鈴山 実: 農化, **28**, 279 (1954).
- 7) 石家駿治: 農化, **40**, 353 (1966).
- 8) 石家駿治: 農化, **40**, 357 (1966).
- 9) データシート: 食品添加物・着香料, ベルトール (一般名 マルトール: ケトン類), ファイザー・コーポレーション (東京),
- 10) FARBER, L. and CARPENTER, F. G.: *Proc. 1970 Tech. Sess. Cane Sugar Refin. Res.*, 145 (1971).
- 11) GODSHALL, M. A., DEGENRE, M. G. and ROBERTS, E. J.: *Proc. 1978 Tech. Sess. Cane Sugar Refin. Res.*, 46 (1979).
- 12) 伊藤 汎: 学位論文, p. 74 (1978). 精糖工業会
- 13) GODSHALL, M. A.: *Sugar Ind. Technol.*, 178 (1981).

(昭和 58 年 8 月 17 日受理)