食品の水分定量法 —高力価試薬を用いる高水分食品へ のカルフィッシャー法の適用—

小泉 英夫*・安井 明美*・堤 忠一*

Determination of Moisture in Food: Application of Karl-Fischer Method using High Factor KF Reagent to High Moisture Containing Foods

Hideo KOIZUMI*, Akemi YASUI* and Chuichi TSUTSUMI*

* National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries,
Kannondai 2-1-2, Yatabe-machi, Tsukuba-gun, Ibaraki, 305

Karl-Fischer (KF) method using a high factor KF reagent (10 mg H₂O/ml) was applied to determine moisture in foods containing high moisture or components which were decomposed or volatilized by heating. Moisture was extracted from foods with methanol and then titrated with KF reagent using automatic titrator (Mitsubishi Kasei Co., type KF-01). This method was compared with the conventional oven-drying methods (vacuum oven and air oven method) in the measurements of various kinds of foods. Moisture contents in *miso*, *shoyu* (soy sauce) and yogurt (whole milk, unsweetened type) by KF method were 44.28, 66.77 and 86.73%, and lower by 1.36, 1.70 and 0.28% than by vacuum oven method (25-30 mmHg, 60±1°C), respectively. Because these foods are considered to contain volatile (ethanol etc.) or easily decomposed components by drying, KF method is desirable to be applied. KF method, vacuum oven method and air oven methods (98-100°C, 3 h for yogurt, and 105±1°C, 3 h for mayonnaise) gave the practically same moisture values in the measurements of yogurt (skimmed, sweetened type) (80.34, 80.12 and 80.16%, respectively), mayonnaise (20.69, 20.57 and 20.57%, respectively) and Satsuma mandarin juice (87.71, 87.88 and not measured, respectively). Though KF method was less precise than vacuum oven method and air oven method (except for mayonnaise), it gave a practically satisfactory precision. Therefore, three methods are considered to be applicable to practical measurement of moisture in these foods. Because KF method is rapid and practically precise, it could be applied to the determination of high moisture. KF method is especially advantageous for a rapid measurement.

(Received Dec. 13, 1983)

食品の水分は、品質評価上重要な項目であり、正確な水分量の測定と同時に、簡易迅速さも要求される。従来から水分の測定は、簡便さと同時に精度もよいことから加熱乾燥法が多く用いられている。しかし一般的な加熱乾燥法は、熱で分解しやすい成分や水以外の揮発性成分を含む食品では、不正確となると同時に精度も悪くなりがちである。このような食品の水分測定には、水と反応するカルフィッシャー法（以下KF法と略記する）の適用が有効と考えられる。しかしながら、従来KF試薬

の力価は H₂O 3 mg/ml 以下と低いため、高水分食品へ適用するにあたっては、試料採取量を極度に少量とする必要があり、正確さ、精度とも十分でなく、實際上適用不可能に近かった。このことから、一般には低水分食品への適用が主体であった^{1)~3)}。

最近、高力価KF試薬（H₂O 約 10 mg/ml）が開発されたことから、従来KF法の適用が困難とされていた高水分食品で、かつ加熱乾燥によって分解する成分、あるいは水以外の揮発する成分を含むと考えられる食品へ、

* 農林水産省 食品総合研究所 (〒 305 茨城県筑波郡谷田部町観音台 2-1-2)

高力価試薬を用いるKF法の適用を検討した。

実験方法

1. 試料および試料調製

みそ：市販の赤色辛みそを用いた。大袋から測定するたびに試料を採取すると、袋の開閉により試料の水分含量が変化するおそれがあるので、試料を均一化後約50gずつポリエチレンの小袋に小分けし、それぞれ測定用試料とした。

しょうゆ：市販のこいくちしょうゆをそのまま用いた。

ヨーグルト：市販の加糖タイプ及びプレーンタイプを用いた。試料をピーカーに採取し良くかき混ぜた後、ポリエチレン袋に入れ、さらに外から手で揉んで均質化し測定用試料とした。

マヨネーズ：市販品をポリエチレン袋に採取し、外からよく揉んで均質化した後測定用試料とした。

みかん果汁：市販の缶入り果汁100%の製品をそのまま測定用試料とした。

2. 装置および試薬

(1) 装置

i) KF自動水分測定装置：三菱化成(株)製、デジタル水分測定装置KF-01型を用いた。

ii) 減圧加熱乾燥器：内径25cm、奥行25cmの電熱直熱式を用いた。

iii) 常圧加熱乾燥器：間口45cm、高さ45cm、奥行45cmの強制通風循環式で、使用する乾燥棚板の中心部から上部約5cmのところの設定温度が $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以内になるように調整できる装置を用いた。

(2) 試薬

i) 高力価KF試薬：三菱化成(株)製、KF試薬SS、力価が H_2O 約10mg/mlのものを用いた。

ii) 脱水溶剤：三菱化成(株)製、ミツピンMS。

iii) 脱水メタノール：関東化学(株)製。この10mlは H_2O 0.7~0.5mgを含むが、そのまま使用した。

iv) ケイソウ土：和光純薬(株)製。CeliteのHyflo Super Cel, を塩酸(1+1)で煮沸後水洗いし乾燥したものを用いた。

3. 測定方法

(1) KF法⁴⁾

広口の100mlメスフラスコに測定試料の約1~4g(水分量として約800mg前後)を採取する。試料の採取は以下の方法で行なった。ペースト状試料(みそ、マヨネーズ)は、口が太い容量25mlの注射器を用い、その口にビニールチューブを長さ約10cm接続し、注射器内

に試料をすばやく詰め、ビニールチューブをメスフラスコ内に挿入し、試料がメスフラスコの首の部分につかぬように注意しながら、試料を押し出して採取した。液状試料は駒込ビペットで採取した。

試料採取後、メスフラスコをひょう量し試料採取量を求め、ついで脱水メタノールで100mlに定容し、5分以上よくふり混ぜて試料を分散させて水を抽出し、メタノール抽出試料溶液とする。KF自動水分測定装置の滴定フラスコ内に、あらかじめ脱水溶剤MSを50ml入れKF試薬で無水としておく。ここにさきのメタノール抽出試料溶液10mlをホールビペットで加え、KF試薬で滴定する。ついで抽出に用いた脱水メタノール10mlについても同様に滴定して空試験とし、試料溶液の滴定値を補正して試料の水分含量を算出した。

(2) 減圧加熱乾燥法(以下減圧法と略記する)

幅約8cm、長さ約11cmのハイゼックスフィルム袋(耐熱性約 105°C)にケイソウ土約3gを入れ、みそ以外の試料は3~10gを正確にはかりとり、袋の外から揉んで試料とケイソウ土をよく混ぜ、うすく延ばしても試料が流出しない程度まで、常圧 60°C 以下で予備乾燥を行なった。みそは約3gをハイゼックス袋に正確にはかりとった。ついで試料をうすく延ばしたのち、袋の口を開き、常圧下で $60\pm 1^{\circ}\text{C}$ に温度調節した減圧乾燥器内に入れ、水銀柱25~30mmの減圧下で乾燥を行ない、乾燥前後の重量減少が2mg以下となったときを恒量とし、水分含量を求めた。

(3) 常圧加熱乾燥法(以下常圧法と略記する)

AOAC法⁵⁾：ヨーグルト類の水分測定にあたり、AOACの乳類およびクリーム類の水分定量法を適用した。

試料約3gを小型アルミ製ひょう量容器(直径約5.5cm、高さ約2.5cm)に正確にはかりとり、常圧 $98\sim 100^{\circ}\text{C}$ で3時間乾燥した。

JAS法⁶⁾：マヨネーズの水分測定にあたり、日本農林規格の試験法に定められている、ドレッシング類の水分定量法を適用した。

ガラス製のひょう量容器(直径約5cm、高さ約2cm)に厚さ約0.5~1cm、直径約4cmの脱脂綿をひき、 105°C で乾燥後その上に試料約3gを広げながら採取し、正確にひょう量後、 $105^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ で3時間乾燥し水分含量を求めた。

結 果

1. KF法の精度の検討

KF法は水又は標準メタノールをKF試薬で滴定し

て、KF 試薬の力価を標定することが必要である。

水約 80 mg を正確にはかりとり滴定した時の力価(mg/ml) 標定の精度は、10 回繰り返し測定したときの標準偏差が 0.01 mg であり、良い精度を示した。また日常の測定時の標定を考え、5 回繰り返し測定して力価を求めた時の標準偏差は 0.02 mg 以下であり、これは日常測定で許容されるバラツキと考えられたので、以下、試料の測定時の力価は、5 回繰り返し測定して算出した。

2. 抽出時間の影響

KF 法は試料を直接装置の滴定容器中に採取し測定できるが、固型状又はペースト状試料は、容器内で完全に分散させてくいたため、水の抽出が不十分となり、不正確な結果を示すことが多い。またこれらの試料を滴定容器に直接採取することはかなり難かしく、誤差も大きくなる。

このことから、試料は前もって一定量のメタノールに分散させ、メタノール抽出試料溶液とし、その一定量を採取して測定する方法を用いた。

メタノール抽出試料溶液の調製にあたり、抽出時間の影響を検討した結果は Table 1 に示した。みそ 4 g を

採取し脱水メタノールで 200 ml 定容とし、10 分から 60 分までときどきふりまぜて抽出し、経時的に 10 ml ずつ採取して測定した結果、10 分後と 60 分後との水分 % を比較すると、いずれの試料とも滴定値に差は認められず、10 分間以上抽出すれば水は完全に抽出されたものと考えられた。以後の試料の測定は、すべて 10 分間ときどきふりまぜて抽出した後測定した。

3. KF 法と加熱乾燥法の比較

(1) みそ

みその標準的方法である減圧法⁷⁾⁸⁾と KF 法とを比較検討した結果は Table 2 に示した。KF 法の精度は水分測定値 44.28% に対し、標準偏差が 0.08 であり良い結果を示した。

一方減圧法の精度は水分測定値で 45.64% に対し標準偏差が 0.03 であり、非常に良い結果を示した。しかし両法の水分測定値を比較すると、減圧法は KF 法の測定値より約 1.4% 高い値を示した。このことは、防腐剤として添加されたエタノール（一般に 1~2% 添加）や、揮発性成分が加熱乾燥法では揮散し、水分として測定されたためと考えられた。

Table 1 Effect of extraction time on extraction of moisture

	Sample	Extraction time (min)					
		10	20	30	40	50	60
Titration volume of KF reagent (ml)	<i>miso</i> (1)	9.08	9.09	9.08	9.09	9.07	9.07
	(2)	9.08	9.09	9.11	9.08	9.10	9.09

Moisture was extracted from 4 g of *miso* with 200 ml of methanol and then moisture in 10 ml of the methanol solution was titrated with the KF reagent.

Table 2 Comparison of three methods for determination of moisture

Sample	Moisture content $\pm$ standard deviation (%) (RSD %)		
	KF method* ¹	Vacuum oven method* ²	Air oven method* ³
<i>miso</i>	44.28 $\pm$ 0.080 (0.181) * ⁴	45.64 $\pm$ 0.034 (0.075) * ⁴	
<i>shoyu</i> (soy sauce)	66.77 $\pm$ 0.054 (0.080) * ⁵	68.47 $\pm$ 0.034 (0.050) * ⁶	
yogurt (whole milk, unsweetened)	86.73 $\pm$ 0.076 (0.088) * ⁴	87.01 $\pm$ 0.031 (0.035) * ⁴	87.25 $\pm$ 0.017 (0.019) * ⁴
yogurt (skimmed, sweetened)	80.34 $\pm$ 0.044 (0.055) * ⁵	80.12 $\pm$ 0.023 (0.029) * ⁶	80.16 $\pm$ 0.008 (0.010) * ⁶
mayonnaise	20.69 $\pm$ 0.031 (0.148) * ⁵	20.57 $\pm$ 0.014 (0.069) * ⁶	20.57 $\pm$ 0.089 (0.430) * ⁶
Satsuma mandarin juice	87.71 $\pm$ 0.073 (0.084) * ⁴	87.88 $\pm$ 0.007 (0.008) * ⁶	

*1; Moisture was extracted from samples with methanol and then moisture in aliquots of the methanol solutions was titrated with the KF reagent. *2; 25~30 mmHg, 60 $\pm$ 1°C, drying until constant weight. *3; 98~100°C, 3 h for yogurt (AOAC method). 105 $\pm$ 1°C, 3 h for mayonnaise (JAS method). *4; n=10, *5; n=8, *6; n=6

(2) しょうゆ

減圧乾燥法とKF法とを比較検討した結果はTable 2に示した。KF法の測定精度は水分測定値で66.77%に対し標準偏差が0.05であり、みそより若干良い結果を得た。一方減圧法の測定精度は、水分測定値で68.47%に対し標準偏差が0.03であり非常に良い結果を示した。

しかし、みそと同様に減圧法の水分測定値はKF法の測定値より約1.7%高い値を示し、前述のみそと同様添加されたエタノール等が水分として測定されたため、高い値を示したものと考えられた。

(3) ヨーグルト

標準的方法の減圧法と、乳および乳製品の基準法であるアルミひょう量容器を用いる常圧法および、KF法の3方法を比較検討した。

全脂無糖プレーンタイプ製品の測定結果はTable 2に示した。3方法の測定精度は標準偏差がKF法で0.08、減圧法で0.03、常圧法で0.02であり3方法とも良い結果を示した。一方、3方法の測定値を平均値で比べると、KF法は86.73%、減圧法は87.01%、常圧法は87.25%であり、KF法に対し減圧法は0.28%、常圧法は0.52%高い測定値が得られ、加熱乾燥による成分の分解や揮散があったものと推定された。

脱脂加糖ヨーグルト（普通タイプ）製品の測定結果はTable 2に示した。糖が多い試料にもかかわらず、3方法の測定精度は標準偏差がKF法で0.04、減圧法で0.02、常圧法で0.01であり、3方法とも非常に良い結果を示した。一方、3方法の測定値を平均値で比べると、加熱乾燥法はKF法より約0.2%低い測定値を示した。3方法の測定精度が非常に良いことから、測定値の0.2は有意の差となるが、實際上、80%の高水分試料での測定値が、このように違う測定法で0.2%以内の差であることは、3方法が良く一致したと判断してよいものと考えられる。

(4) マヨネーズ

マヨネーズは他の試料に比べ水分はかなり少ないが、多量の油脂と卵および少量の酢酸（0.5~0.6%）を含むことから、水分の測定にあたり取扱いにくい試料の一つである。

標準的方法として減圧法と、JAS試験法で採用している常圧法およびKF法の3方法について、比較検討を行なった結果はTable 2に示した。3方法の測定精度は標準偏差がKF法で0.03、減圧法で0.01、常圧法で0.09であり、常圧法の精度がもっとも悪かったが実用上の測定目的を考慮するとき、3方法とも良い精度を示したと

考えられる。一方、3方法の測定値を平均値と比較するとKF法は20.69%、減圧法および常圧法は同一値の20.57%であって測定値の差は約0.1%であり、3方法はよく一致した結果を示したと考えられる。

(5) みかん果汁

標準的な減圧法⁹⁾とKF法との比較検討を行なった結果はTable 2に示した。両方法の測定精度は標準偏差がKF法で0.07、減圧法で0.01であり両方法とも良い結果を示した。また両方法の測定値を平均値で比べるとその差は0.2%以下であり、実質的には良く一致した結果を示したものと判断できる。

考 察

1. みそおよびしょうゆ

みその水分測定は現在、みそ基準分析法に収載されている減圧70°Cで5時間乾燥する方法が用いられている。しかし、みそは加熱に際し非常に不安定で温度と時間の増加に伴い乾燥減量は増大し、その程度はみその種類によって異なる⁷⁾。従って減圧乾燥器の温度管理を正確に行なわないと、測定値の偏りとバラツキを生じやすい⁷⁾。今回の実験では熱分解の影響をできるだけ少なくする目的から、60°Cで恒量になるまで乾燥する条件を採用した。

しかしながら、みそ、しょうゆ共に減圧法の測定値は、KF法のそれより1.5~1.7%高い水分測定値を示し、これは添加されたエタノールなどの揮発成分と分解成分が加算されたためと考えられる。このことから、みそやしょうゆの水分測定はKF法がより適切であると考えられる。KF法の適用にあたっては、KF試薬の力価を水で正しく標定して用いるなら、減圧法に比べて精度はいくぶん劣るが十分実用的な測定が可能である。

一方、みその品質管理において乾燥減量から総固形分を算出するにあたっては、減圧法が必要であり、この方法は測定条件を正しく守るなら精度よい測定が可能である。

測定の迅速さの面から両方法を評価すると、減圧法(70°C)が5~7時間を要するのに対し、KF法は1時間以内で結果が得られ非常に迅速である。

2. ヨーグルト

今回実験に用いたプレーンタイプでは常圧法がKF法より0.5%高い値を示したが、脱脂加糖タイプでは逆に0.2%低い測定値を示し、プレーンタイプは加熱乾燥により、揮散する成分を含有していたことが推察された。なお、常圧105°Cと減圧60°Cの加熱乾燥において、プ

ーンタイプは常圧 105°C の方が 0.2% 高い測定値を示したのに対し、脱脂加糖タイプではその差は認められなかった。このことから、2種のヨーグルトの加熱分解物成分の違いも推察された。

これらの今回の試験結果からプレーンタイプのような試料は、正確な水分測定のためにはKF法の適用が望ましいといえよう。一方、脱脂加糖タイプは、KF法と加熱乾燥法の測定値の差が0.2%以内であることから、いずれの測定法を適用してもよいと判断された。

3. マヨネーズ

3方法の測定値は一致したが、マヨネーズは酢酸を0.5~0.7%含み、この酢酸はKF試薬と反応しないと考えられることから、KF法の測定値は加熱乾燥法より0.5~0.7%低い値を示すものと考えられた。しかし、差は認められなかった。

この原因は2つ考えられた。ひとつは、KF試薬が酢酸と反応し、KF法と加熱乾燥法の測定値と一致したと考えられた。このことを確かめるため水酢酸を採取してKF試薬で滴定したが、酢酸はKF試薬を消費せずこの考えは否定された。他のひとつは、加熱乾燥によって酢酸が除去されず、乾燥残査の脂肪とたん白質中に含まれ、加熱乾燥法の測定値が低く示されたと推定した。このことを確かめるため、残査にベンゼン・アルコール(1+1)を加え酢酸を溶解抽出し、水酸化ナトリウム溶液で滴定したが酢酸は認められなかった。以上のことから、酢酸など揮発性の有機酸を含む食品について、今後検討する必要がある。

4. みかん果汁

みかん果汁ではKF法が減圧法より0.2%低い値を示し、減圧法は揮散および分解した成分があったことを示す結果を得た。しかし、約88%の多水分試料でありKF法の精度を考慮するとき、両方法の測定値は0.1~0.2%の差と考えられ、異なる2つの測定方法の値がこのような結果を示したことは、両方法が実質的によく一致した値を与えたと判断される。

従って、KF法は短時間で正確な測定値が得られるので、果汁などの水分測定には有効な方法と考えられる。

要 約

加熱に際し水以外の揮散あるいは分解成分を含むと推定される多水分食品の水分測定法として、高力価KF試

薬を用いるKF法の適用のため、加熱乾燥法との比較検討を行なった。

みそおよびしょうゆはKF法が減圧加熱乾燥法より1.5~1.7%低い測定値を示し、全脂無糖ヨーグルト(プレーンタイプ)はKF法が減圧加熱乾燥法より0.3%、常圧加熱乾燥法より0.5%低い測定値を示した。これらの食品では、エタノール等の揮散成分あるいは分解成分を含むと推定されたため、KF法の適用が望ましいと考えられた。

脱脂加糖ヨーグルト(普通タイプ)、およびマヨネーズは、KF法と減圧加熱乾燥法および常圧加熱乾燥法の測定値と、果汁はKF法と減圧加熱乾燥法が実質的に一致した。従ってKF法は加熱乾燥法より精度は若干劣るが、実用的な測定精度を示し、かつ測定結果が短時間で得られることから、迅速さが要求される場合はKF法が有効であると考えられた。なお、マヨネーズのKF法における酢酸の影響は解明できなかった。

本研究を行なうにあたり、カールフィッシャー滴定につき種々の御指導と御便宜を賜った三菱化成工業株式会社総合研究所工学博士室井 要氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 堤 忠一・室井 要・小川邦彦・永原太郎：食糧研究所報告，No. 17, 18 (1963).
- 2) 堤 忠一・永原太郎・室井 要：日食工誌，10, 418 (1963).
- 3) 室井 要・堤 忠一・小泉英夫：日食工誌，16, 39 (1969).
- 4) 室井 要：ぶんせき，No. 2, 26 (1979).
- 5) Official Methods of Analysis of the AOAC: 13th. ed., 16. 032, p. 243; 16. 145, p. 257 (1980).
- 6) 農林規格検査所編：JAS分析試験ハンドブック食品編，ドレッシング，p. 1 (1978).
- 7) 堤 忠一・小泉英夫・宮崎芳子・海老根英雄：日食工誌，13, 339 (1966).
- 8) 改訂基準味噌分析法委員会：基準味噌分析法(全国味噌技術会)，p. 2 (1968).
- 9) 小泉英夫・安井明美・堤 忠一・松永隆司・吉川誠次・垣内典夫・荒木忠治・泉 嘉郎・松田好祐・速水昭彦・浅野次郎・矢野昌充・光前礼子・時田鉄二：食品総合研究所研究報告，No. 34, 97 (1979). (昭和58年12月13日受理)