

# 比色法によるブドウ糖水溶液中のヒドロオキシメチル

## フルフラールの定量 (その1)

Colorimetric estimation of 5-hydroxymethylfurfural in glucose syrup

—ベンジジン-醋酸による呈色条件の検討—

Studies on coloring conditions by benzidineacetic acid reagent. (Part 1)

吉 弘 芳 郎・中 村 亦 夫

ヒドロオキシメチルフルフラール (以下 H. M. F と略す) の定量には紫外スペクトル法が用いられるがこの方法は一般的な工業分析法とは言い難い。著者らはこの簡易定量法として比色法を研究し、まずベンジジン-醋酸による呈色条件の検討を行った。

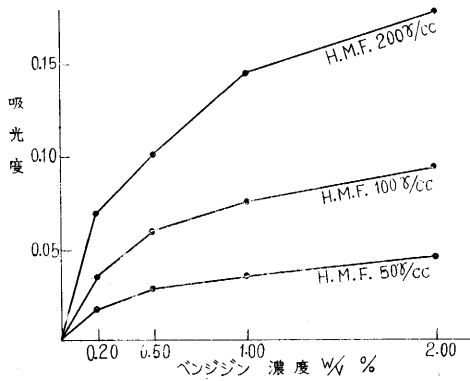
### 実験と結果

#### (1) H. M. F. 標準溶液の作成

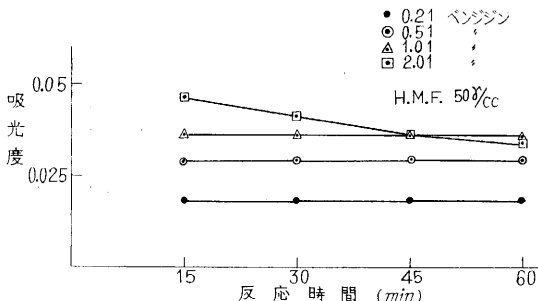
Kiermayer の方法により蔗糖を修酸溶液中で加圧加熱し、修酸を中和後フミン質を除き醋酸エチルで数回抽出後脱水し醋酸エチルを蒸溜除去し、これを 1 mmHg に減圧蒸溜して得る。m. p. 31°C. この H. M. F. を蒸溜水に溶解し標準溶液を得る。

#### (2) ベンジジンの濃度について

H. M. F. の標準溶液 (50~200 r/cc) をおのおの 1 cc ずつとりブタノール (試薬特級) を 4 cc ずつ加え、混和後ベンジジンの氷醋酸溶液を 5 cc ずつ加え、30°C で 15 分間呈色反応後直ちに比色計 (日立製 EPO-A) 型で主波長 460m $\mu$  のフィルタで吸光度を測定した結果を第 1



第 1 図

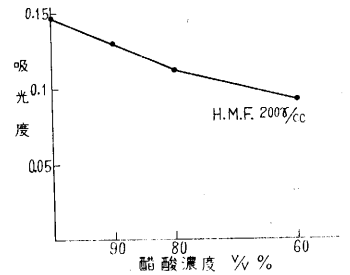


第 2 図

図に示す。同じ実験を反応時間を変えて行ったものを第 2 図に示す。これよりベンジジンを氷醋酸に溶解し 1% (W/V) にしたものを呈色反応試薬として選んだ。

#### (3) 醋酸の濃度について

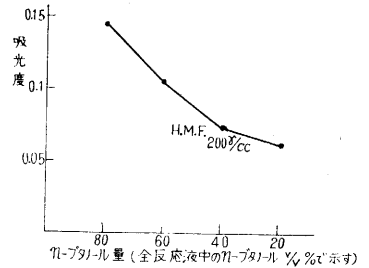
ベンジジンを氷醋酸に溶解するかわりに普通の醋酸に溶解した場合の反応の鋭敏性を調べた結果を第 3 図に示す。これより醋酸の濃度が下がるにつれて反応の鋭敏性も悪くなるので使用醋酸を氷醋酸とした。ただし実験は(2)と同じ条件で行い呈色反応試薬作成に用いる醋酸の濃度だけを変えた。



第 3 図

#### (4) n-ブタノール量について

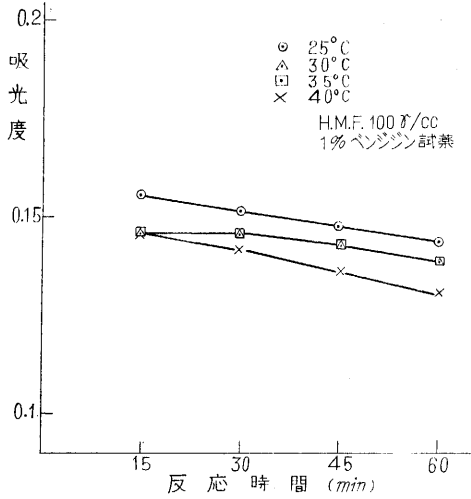
n-ブタノールを使用することはブドウ糖溶液より H. M. F. を抽出すると同時に呈色反応を鋭敏にするためである。呈色反応の鋭敏性におよぼす添加ブタノール量の関係を調べた結果を第 4 図に示す。実験は(2)におけると同様に添加ブタノール量を変えて全反応液が常に 10 cc になるようにした。n-ブタノールの濃度が高いほど反応は鋭敏となる。(呈色試薬ベンジジンの 1% 氷醋酸溶液)。



第 4 図

#### (5) 反応温度について

一般にフルフラールの呈色試薬は反応温度が低いほど生成する色は多い。しかし比色定量の根本条件である色の安定性ということから考えると低温が反応温度として好ましいことは言いきれぬ。これよりして反応温度は H. M. F. の比色定量には重要な点と考えられる。色の安定性という点に主眼を置き 25°C, 35°C, 40°C の各温度で(2)におけると同様に実験した結果を第 5 図に示す。



第 5 図

この結果より反応温度は 30°C~35°C が適当と思われる。

(6) 比色計のフィルタについて

呈色々素の吸収曲線を求めれば比色のとき使用するフィルタが決定するがここでは一応簡単に EPO-A 型比色計付属のフィルタを用い、H. M. F. を今まで述べた最適の反応条件で呈色させその透光度を求めた結果を第 6 図に示す。吸収セルは 10mm の厚さのものを使用し空試験を対照にした。H. M. F. 濃度は 1 mg per-cc のも使用した。これにより主波長 460m $\mu$  の B フィルタが最適と考えられた。

以上で反応条件の検討は一応終わった。H. M. F. 水溶液のベンジジン試薬による比色定量を目的とした実験方法を要約すると次のようになる。

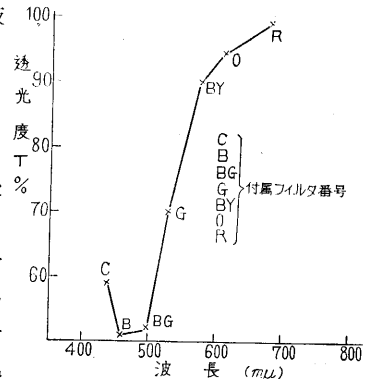
H. M. F. 水溶液

1 cc をとり 4 cc の *n*-ブタノールを加えよく振盪後、5cc のベンジジン試薬 (0.5g のベンジジンを 50cc の氷醋酸に溶解する) を加え 30°C で 15 分間反応させた後、直ちに比色計で主波長 460m $\mu$

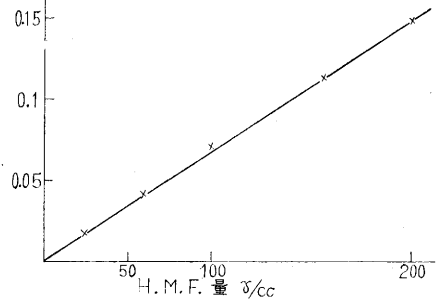
のフィルタを用い空試験を対照に吸光度を測定する。

この方法で H. M. F. の標準溶液

について実験した結果 H. M. F. 量 200 $\gamma$  per cc 以下の場合には吸光度と H. M. F. の濃度でグラフを求めると第 7 図に示すように原点を通る直線が得られる。これは逆にいえばこの検量線を用いて 200 $\gamma$  per cc 以下の濃度の H. M. F. の水溶液を正確に比色定量できることになる。この結果をブドウ糖水溶液中に含まれた微量の H. M. F. の定量に応用した結果を続報する。(1957. 12. 4)



第 6 図



第 7 図

(そ の 2)

—ヒドロキシメチルフルフラールの抽出と定量—

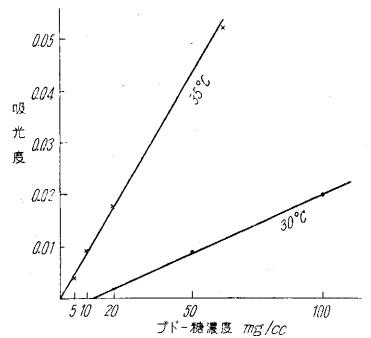
Extraction and estimation of 5-hydroxymethylfurfural (Part 2)

吉 弘 芳 郎・中 村 亦 夫

前報でヒドロキシメチルフルフラール(以下H. M. F. と略す)の比色定量を目的としたベンジジン-醋酸試薬による H. M. F. 水溶液の反応条件の検討を行い、反応温度として 30°C~35°C がよい結果を示すことを報告した。ブドウ糖水溶液中に含まれる H. M. F. をこの試薬で呈色させる場合には共存しているブドウ糖の影響をまぬがれ得ない。反応温度を前記の 30°C~35°C とした場合に呈色反応試薬のブドウ糖による発色を検討するため、ブドウ糖の標準溶液を作り H. M. F. 水溶液の場合と全く同じ条件で反応を行わせその着色量を調べた結果を第 1 図に示す。

この結果、反応温度 35°C ではブドウ糖の影響が強く

あらわれてくる事が判り、30°C で反応を行かせた方がよいことになる。しかも 30°C においてもブドウ糖濃度 10mg/cc 以下にならないと着色する。しかし実際上問題になるブドウ糖水溶液濃度は 100mg/cc 以上であるか



第 1 図