

有機物分析における還元糖定量方法の課題

(株)イーエス総合研究所 ○成田瑞季 植松えり子 斉藤謙一
上松武 小口智久 常松哲

1. 緒言

昨年当社では、ほ場に埋設し数年を経た木質資材について分解の程度を調べる業務を請け負い、回収した木質資材中の有機物組成の分析を行った。有機物組成からは、植物の分解の程度や堆肥の腐熟度が判定でき、炭素固定の基礎データとして用いられている。分析を行った有機物は、熱水可溶有機物、ヘミセルロース、セルロース、リグニン、硫酸不溶性含化合物の 5 種類であるが、セルロースとヘミセルロース測定に用いた還元糖の分析について条件設定に課題が見つかった。本発表では還元糖定量の適切な分析条件を検討したことを報告する。

2. 分析方法

還元糖の分析は、図 1 に示すフロー（堆肥等有機物分析方法¹⁾）に基づいて行ったが、この方法では正確な測定ができなかった。分析の反応メカニズムは、**反応①**銅(II)イオンと還元糖の酸化還元反応により酸化銅(I)の沈殿が生成、**反応②**酸化銅(I)による試薬中のヨウ素の消費、**反応③**未反応のヨウ素とチオ硫酸ナトリウムの酸化還元滴定、である。

図 1 の操作フローに従い分析を行ったところ、反応①で本来なら沈殿する酸化銅が沈殿せず、滴定値は空白値と差がない結果となった。一方、反応②③については一般的な分析方法であるため特に問題はないと考えられる。よって反応①の反応条件に問題があると考え、以下の実験を行った。

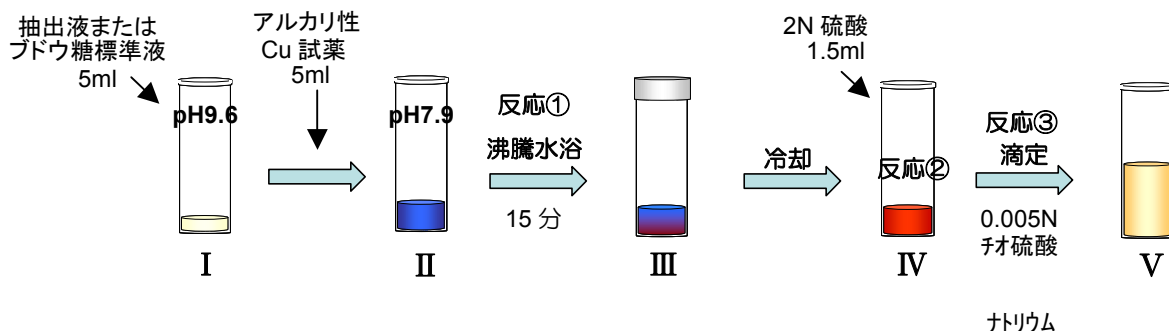


図 1 還元糖の定量の操作フロー

3.実験方法および結果

3.1【実験 1】 還元糖+銅試薬の反応と諸条件

反応①の条件として、(1) 反応時間、(2) ブドウ糖濃度、(3) pH の 3 点についてそれぞれ検討した。実験では、操作フローの反応①まで行い、反応後の溶液(Ⅲ)をろ過し、ろ液中の Cu 濃度を測定した。

3.1.1[実験方法]

- (1) 反応時間 (15 分) が適正かどうかを判断するため、反応時間 30 分と比較検討した。ブドウ糖標準液の濃度は 2.5mg/5ml とした。
- (2) ブドウ糖濃度 (0.5~2.5mg/5ml) が適正かどうかを判断するため、ブドウ糖標準液の濃度を 2.5~50mg/5ml に増加させた。
- (3) 反応①はアルカリ雰囲気で行われる反応であり、操作フローではブドウ糖標準液(Ⅰ)を pH9.6 に調整している。ブドウ糖標準液を pH9.6 と強アルカリの pH12 として Cu 濃度の減少量を比較検討した。混合溶液(Ⅱ)はそれぞれ pH7.9 と pH9.4 であった。

3.1.2[結果]

- (1) Cu 濃度は、反応時間 30 分では 1088 mg/L、15 分では 1102 mg/L、ブランクは 1108 mg/L であった。反応時間を 2 倍にしても Cu 濃度はほとんど変わらないことが分かった。
- (2) Cu 濃度は段階的に減少し、検量線を作成することはできた。しかし、テスト試料の分析結果を過去に得られた値と比較したところ、整合性が取れないことが分かった。
- (3) Cu 濃度の減少は混合溶液(Ⅱ)pH7.9 では見られず、pH9.4 のみ見られた。また、酸化銅(Ⅰ)の沈殿も pH9.4 のみ確認された。この結果から、操作フローの条件ではアルカリが不足していると考えられる。

3.2【実験 2】 銅試薬の反応量と pH の関係

3.2.1[実験方法]

[実験 1]より反応①は pH に大きく左右されることが分かった。還元糖と Cu 試薬の反応に必要なアルカリ量を確認するため、ブドウ糖標準液(Ⅰ)の pH を段階的に高くして分析フローの反応①まで行った。反応後(Ⅲ)の溶液をろ過し、ろ液中の Cu 濃度を測定して Cu 濃度の減少量と pH の関係を比較検討した。表 1 にブドウ糖標準液(Ⅰ)の pH および混合溶液(Ⅱ)の pH を示す。

表 1 ブドウ糖標準液(Ⅰ)および混合溶液(Ⅱ)の pH

ブドウ糖 pH	9.6	12.0	12.3	12.5	13.0	13.3
混合溶液 pH	7.94	9.41	10.18	11.97	12.55	12.92

3.2.2[結果]

図2に結果を示す。ブドウ糖標準液 0.5 mg/5ml では、混合溶液(Ⅱ)が pH9.4 以上で Cu 濃度が一定となった。一方、2.5 mg/5ml では、pH10.2 以上で Cu 濃度が一定となった。この結果より、反応①はブドウ糖濃度が高ければ必要なアルカリ量も増加することが確認され、検量線範囲 0.5~2.5 mg/5ml では、混合溶液(Ⅱ)pH10 以上とする必要があると分った。

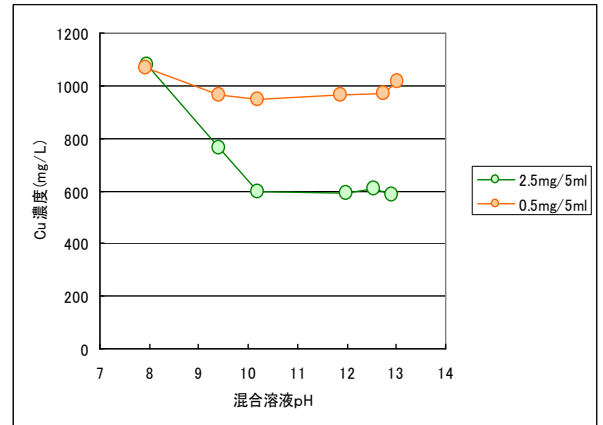


図2 銅濃度と混合溶液 pH の関係

4.まとめ

実験の結果、反応①はアルカリ雰囲気で行われ、pH10 以上で一定となることが分かった。また、反応②(Ⅳ)で溶液を硫酸酸性にする必要があるため、反応①の混合溶液(Ⅱ)の pH は必要以上にあげないことが望ましいと考えられる。従って、混合溶液(Ⅱ)pH10 つまりブドウ糖標準液(Ⅰ)pH12.3 とすることが適切な条件であるとした。

以上の条件の下で分析を行ったところ、検量線の作成が可能となり、過去データとの整合性もとれた。

【参考文献】

- 1) 財)日本土壌協会：堆肥等有機物分析法 (2000)
- 2) R.T.モリソン、R.N.ボイド著 中西香爾、黒野昌庸、中平靖弘訳：モリソンボイド 有機化学 下 第5版 東京化学同人 (1989)