

第七改正日本薬局方による市販蜂蜜の 検査成績について

白鳥つや子

Tsuyako Shirotori

Inspection Data of Commercial Honey by the 7th pharmacopoeia of Japan

Twenty nine commercial honeys as well as three directly extracted honeys were inspected according to the methods described in the 7th Pharmacopoeia of Japan.

Concerning the detection of artificial invert sugar, four other methods were applied results being compared in detail. There were no problems regarding specific gravity, acidity, sulfate and ammonia reaction. So far as the starch and dextrin reaction was concerned, results by tannic acid were not coincident with use by iodine reaction.

As for artificial invert sugar reaction, the results obtained by determination with use of *p*-toluidine-barbituric acid were in good accordance with ultra violet spectrometry.

Both Fiehe and Feder reactions were found to have the possibility of leading to false judgement.

蜂蜜とは、ミツバチが花の蜜 (nectar)、植物の分泌物もしくは生命部分から生産されたものを集め、変化させ、特殊の物質と結合させてはちの巣に貯える甘味物質のみを意味するものであって、種々の糖の濃厚溶液よりなる。糖の主成分はぶどう糖および果糖であるが、その他に蛋白質、アミノ酸、酵素、有機酸、無機質、花粉およびその他の物質を含み、これらの他に蔗糖、麦芽糖、その他の少糖類 (デキストリンを含む) などを含む場合がある。近年わが国においては、蜂蜜の消費は顕著な増加を示しており、そのまま、あるいは他の食品に添加する天然物として広く使用されている。しかしながら、わが国においては食品としての蜂蜜の規格および検査法については特に定められていない。

日本薬局方では 1932 年の第五改正日本薬局方以降ハチミツおよび精製ハチミツの項目が設けられたが、1966 年の第七改正日本薬局方二部の作製にあたって精製ハチミツは削除された。従って局方と標示してあるハチミツについては、日本薬局方による規格並びに試験法に拘束されるわけであるが、それ以外の市販蜂蜜について検査する場合にも、他によるべき適当な検査法がないために、薬局方の規定を準用しているのが実情である。本研究においては市販蜂蜜 29 種類および参考のために養蜂家が直接採取した蜂蜜 3 種類について、日本薬局方に示された試験法によって行なった成績について表示し、必要に応じて外国の文献に示された研究方法による成績と合せて比較した (市販蜂蜜は昭和 42 年秋に東京都区内で購入したものである)。

実験方法

日本薬局方に示された実施項目は次に示す通りである。

蜂蜜の性状(色調, 液性), 比重, 純度試験(酸, 硫酸塩, アンモニア呈色物, 人工転化糖, 澱粉およびデキストリン, 異物)および灰分が示されているのであるが, 本研究において, これらのうち, 異物および灰分を除く各項目について試験した。

(i) 性状: 20°Cにおいて観察した。

(ii) 比重: 試料 50.0 g を水 100 ml と混和した液の比重を浮きばかりを用いて測定した。

(iii) 酸: 試料 10 g を水 50 ml と混和し, 1N 水酸化カリウム液で中和するに要した ml 数で示した。

(iv) 硫酸塩: 試料 1.0 g を水 2.0 ml と混和し, 濾過し, 濾液に塩化バリウム試液(1N 溶液: 塩化バリウム 12 g に水を加えて溶かし, 100 ml とする) 2 滴を加えるとき, BaSO₄ による混濁で検知する。

(v) アンモニア呈色物: 試料 1.0 g を水 2.0 ml と混和し, 濾過し, 濾液にアンモニア試液(10%; 強アンモニア水 400 ml に水を加えて 1 l とする) 2 ml を加えることにより検査する。

アンモニアは配位子として各種の重金属と配位してアンミン醋塩を与えることが知られている。たとえば銅イオンおよび銀塩との反応は次に示す通りである。 $\text{AgCl} + 3\text{NH}_3 \rightarrow \text{AgCl} \cdot 3\text{NH}_3$, $\text{Cu}^{++} + 4\text{NH}_3 \rightarrow [\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{++}$ 。このようなアンモニアの呈色性を利用して蜂蜜中の有害性重金属の検出試験を行なった。

(vi) 人工転化糖: レゾルシン反応(Fiehe 反応) 試料 5 g にエーテル 15 ml を加えてよく混和し, 濾過して得たエーテル液を常温で蒸発し, 残留物にレゾルシン試液(レゾルシン 0.1 g に塩酸 10 ml を加えて溶かしたもの) 1~2 滴を加えた際に, 残留物および液が1時間以上持続する赤色~赤紫色を呈した場合には人工転化糖陽性と判定する。

蜂蜜に甘味の増強の目的で加えられるものとしては通常ぶどう糖および果糖が考えられる。この目的には一般に蔗糖の加水分解によって生成した転化糖が使用される。しかしながら, 加藤および桜井⁴⁾は蔗糖の酸分解の際に, 生成した果糖(D-Fructose)の極く一部は 3-Desoxy-D-glucose を

經由して 5-Oxymethyl-furfural $\text{HOH}_2\text{C} \cdot \text{C} \begin{array}{c} \text{H}-\text{C}-\text{CH} \\ \parallel \quad \quad \parallel \\ \quad \quad \quad \text{O} \end{array} \text{C}-\text{CHO}$ (HMF) を形成することを明らかにして

いる。HMF は Resorcin と反応して赤~赤紫色を呈することが知られており, また Feder 試薬(anilin) と反応させた場合にも桜赤色~微紅色の反応を呈することが知られている(Feder 反応)。

(vii) 澱粉およびデキストリン

a. 蜂蜜 7.5 g に水 15 ml を加えて振り混ぜ, 水浴上で加温し, これにタンニン酸試液(タンニン 1 g を 95% エチルアルコール 1 ml にとかし, 水を加えて 10 ml としたもの) (0.5 ml を加え, 冷後, 濾過した液 1.0 ml に塩酸 2 滴を含む無水エタノール 1.0 ml を加えるとき液の混濁により検出する。

b. 試料 2.5 g に水 10 ml を加え, 水浴中で加温して混和し, 冷後, この液 1.0 ml に沃素試液(沃素 14 g を沃化カリウム液(4~10) 100 ml に溶かし, 10% 塩酸 1 ml および水を加えて 1 l としたもの) 1 滴を加えて振り混ぜるとき, 液は青色, 緑色または赤褐色の有無により検出する。

白鳥：第七改正日本薬局方による市販蜂蜜の検査成績について

これらの中でもっとも問題の多いのは (vi) の人工転化糖の反応である。従って人工転化糖については FAO/WHO の蜂蜜の暫定規格¹⁾ に示された *p*-Toluidine および Barbituric acid による 5-Oxymethyl-furfural (HMF) の比色定量法、紫外部吸光度法による HMF の比色定量法²⁾ およびフランス法による 12 段階色度表による Resolcine 反応の判定法³⁾ についても行なって比較した。

蜂蜜の試験成績 (1)

種類	色調	液性	比重	判定	酸 (mI)	判定	硫酸塩	アンモニア呈色物
市販蜂蜜 No. 1	淡黄褐色	一部結晶	1,116	合格	0.20	合格	-	-
2	"	"	1,117	"	0.24	"	-	-
3	"	液体	1,119	"	0.24	"	-	-
4	"	"	1,118	"	0.18	"	-	-
5	"	"	1,119	"	0.21	"	-	-
6	"	"	1,120	"	0.32	"	-	-
7	"	一部結晶	1,120	"	0.20	"	-	-
8	"	"	1,116	"	0.21	"	-	-
9	"	"	1,118	"	0.20	"	-	-
10	"	"	1,120	"	0.22	"	-	-
11	"	"	1,118	"	0.20	"	-	-
12	"	液体	1,119	"	0.19	"	-	-
13	"	一部結晶	1,120	"	0.20	"	-	-
14	"	液体	1,116	"	0.22	"	-	-
15	淡黄色	"	1,116	"	0.21	"	-	-
16	淡黄褐色	"	1,116	"	0.28	"	-	-
17	"	一部結晶	1,114	"	0.14	"	-	-
18	"	液体	1,117	"	0.24	"	-	-
19	"	一部結晶	1,117	"	0.17	"	-	-
20	"	液体	1,119	"	0.20	"	-	-
21	"	"	1,119	"	0.22	"	-	-
22	"	一部結晶	1,116	"	0.21	"	-	-
23	"	液体	1,117	"	0.19	"	-	-
24	"	一部結晶	1,113	"	0.13	"	-	-
25	"	液体	1,111	"	0.27	"	-	-
26	淡黄色	一部結晶	1,116	"	0.22	"	-	-
27	"	"	1,115	"	0.18	"	-	-
28	淡黄褐色	液体	1,119	"	0.21	"	-	-
29	茶褐色	"	1,118	"	0.25	"	-	-
採取蜂蜜 No. 1	"	"	1,119	"	0.32	"	-	-
2	淡黄褐色	"	1,122	"	0.30	"	-	-
3	"	"	1,120	"	0.32	"	-	-

注 + : 検出, - : 検出しない

蜂蜜の試験成績 (2)

種類	でんぷんおよびデキストリン			人工転化糖				
	a タンニン酸法	b ヨード反応	判定	日本薬局方による方法	<i>p</i> -toluidine ^{*1} -barbituric-acid による比色法	紫外部吸光度法 ^{*1}	Fiehe 反応12段階色度法 ^{*2}	Feder 反応
市販蜂蜜 No. 1	-	+	不合格	-	合格	合格	合格	-
2	-	-	不合格	-	合格	合格	合格	-
3	-	+++	不合格	-	合格	合格	合格	-
4	-	-	不合格	-	合格	合格	合格	-
5	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
6	-	-	合格	-	合格	合格	不合格	-
7	-	++	不合格	+	合格	不合格	合格	±
8	-	+	合格	-	合格	合格	合格	-
9	-	±	合格	-	合格	合格	合格	-
10	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
11	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
12	-	+++	不合格	-	合格	合格	合格	-
13	-	-	不合格	+	不合格	不合格	不合格	+
14	-	-	合格	-	合格	合格	合格	+
15	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
16	-	-	合格	+	合格	合格	合格	-
17	-	-	合格	+	合格	合格	不合格	-
18	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
19	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
20	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
21	-	-	合格	+	不合格	不合格	不合格	+
22	-	-	合格	+	合格	合格	合格	+
23	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
24	-	+	不合格	+	合格	合格	合格	-
25	-	-	不合格	-	合格	合格	合格	-
26	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
27	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
28	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
29	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
採取蜂蜜 No. 1	-	-	合格	-	合格	合格	合格	+
2	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-
3	-	-	合格	-	合格	合格	合格	-

注 +: 検出, -: 検出しない
 *1: HMF 40 mg/kg 以下合格
 *2: 色度表で9 以下合格

実験成績並びに考察

(i) 性状: 色調および液性についての観察結果は表に示す通りである。採取蜂蜜は茶褐色ないし淡黄褐色を示しているのに対して、市販のものは淡黄色のものが3種類存在し、茶褐色のものは認められなかった。(このことから市販蜂蜜の中には脱色を行なっているものがあるように思われ

る) また、液性は 20°C において市販蜂蜜では液体のもが 15、一部結晶が生成しているものが 14 種類であったが、採取蜂蜜はいずれも液体であった。

(ii) 比重：表(1)に示す通りで、日本薬局方では比重 1.111 以上でなければならないと定められており、供試 32 検体の比重は 1.111~1.122 の範囲にあるので、いずれも合格と判定された。

(iii) 酸：10 g あたりの 1 N 水酸化カリウム消費量の測定成績は 0.13~0.32 の範囲であった。日本薬局方では 0.5 ml 以下でなければならないと定められており、この点で供試 32 検体はいずれも合格と判定された。なお FAO/WHO による蜂蜜の暫定規格¹⁾には酸度に関する規定はない。

(iv) 硫酸塩：硫酸塩の存在は特に有害ではなく危険性もないが、一般に多く含まれやすい不純物であるので試験した結果は表(1)に示す通りであり、供試 32 検体に硫酸塩は含まれなかった。

(v) アンモニア呈色物：実験結果は供試蜂蜜 32 検体中には有害性金属を含まないことが知られた。

(vi) 人工転化糖：*p*-Toluidine および Barbituric acid による比色定量法、紫外部吸光光度法および 12 段階色度法の総ての方法により人工転化糖の存在が陽性と判定されたものは市販蜂蜜 No. 13 および No. 21 のみであった。又同方法により、人工転化糖陰性と判定されたものは、市販蜂蜜 No. 1, No. 2, No. 3, No. 4, No. 5, No. 8, No. 9, No. 10, No. 11, No. 12, No. 15, No. 18, No. 19, No. 20, No. 23, No. 25, No. 26, No. 27, No. 28, No. 29 と採取蜂蜜 No. 2, および No. 3 の合計 22 種類であり、これらについては何等問題はないが、残りの 10 種類については、まちまちな結果が得られている。同じ Fiehe 反応でも日本薬局方により合格とされたが、フランス法による 12 段階色度法では不合格とされているものもあるし(市販蜂蜜 No. 6)、その逆の例もある(同 No. 16)。一般に *p*-Toluidine-barbituric acid による比色法と紫外部吸光光度法の成績は 1 例(市販蜂蜜 No. 7)を除きよく一致しているのに反して、呈色反応は誤った成績を出す場合のあることが認められた(例、市販蜂蜜 No. 16, 同 No. 17, 同 No. 24)。ことに Feder 反応では採取蜂蜜 No. 1 でも陽性を示しているのが大きな欠点である。FAO/WHO 国際規格では *p*-Toluidine-barbituric acid による比色法を採用しているので日本薬局方もこの点について検討することが望ましい。

(vii) 澱粉およびデキストリン：蜂蜜に偽和の目的で溶性澱粉およびデキストリンを加える場合がある。特にデキストリンの場合には、それが核となって蜂蜜に混濁固化を起し、濃厚であるような外観を呈することがあるといわれている。供試 32 検体の試験成績は表に示す通りである。本表よりタンニン酸法と沃素反応の成績は一致しないことが知られる。沃素反応の成績より考察すると市販蜂蜜 29 種類中 6 種類に澱粉またはデキストリンの存在することが認められる。なおこのうち日本薬局方による Fiehe 反応も陽性のものは 7 種類であり、澱粉・デキストリンと人工転化糖の反応は余り関係のないことが知られた。

要 約

1) 供試蜂蜜 32 検体中、比重、酸、硫酸塩、アンモニア呈色物はそれぞれ規定内にあり問題はなかった。

2) 性状(色調、液性)は採取蜂蜜に対して市販蜂蜜は多少の異なりのあることがわかった。

3) 澱粉およびデキストリンは、タンニン酸法と沃素反応の成績は一致しなかったが、供試蜂蜜 32 検体中沃素反応の成績から偽和として、澱粉やデキストリンを添加したものの 6 種類あることがわかった。

4) 人工転化糖の検出法として、日本薬局法、*p*-Toluidine-barbituric acid 法、紫外部吸光光

度法, Fiehe 法, Feder 法の検出結果は一致せず今後の研究に待つもの多々あることを知った。終りに臨み, 本研究に御指導を賜った, 農学博士慶田雅洋氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) 慶田雅洋, 白鳥つや子, 川城 巖: 食衛誌投稿中。
- 2) 井上哲男, 慶田雅洋, 白鳥つや子: 日本農芸化学会昭和 43 年度大会講演要旨集 p. 41 (1968)。
- 3) J. A. Gautier, J. Renault, M. Julia-Al Varez: Ann. Fals. Exp. Chim. **54**, 177 (1961)。
- 4) 加藤博通, 桜井芳人: 日農化誌, **38**, 536 (1964)。