

旋光度を利用したショ糖の加水分解反応実験における 無限大時間旋光度の推算*

長田秀夫**

Estimation of infinite time optical rotation in hydrolysis reaction experiment of sucrose
using optical rotation

Hideo NAGATA

1. 緒言

旋光度を利用したショ糖の加水分解反応は典型的な擬 1 次反応であり、この反応の速度解析は大学や高等専門学校における物理化学の実験に利用されている^{1,2)}。この反応の特徴は、旋光度計を利用することで使用する薬品が少なく済むこと、擬 1 次反応であるため初濃度を正確に測定する必要がないこと等である。しかし、生成物であるブドウ糖や果糖にも旋光性があるため、データの解析には反応時間無限大時の旋光度が必要になる。

佐世保工業高等専門学校物質工学科では 4 年次の物質化学実験 3 において本反応を行なっていた。この科目は毎週金曜日に行われるため、反応時間無限大の旋光度は翌週の月曜日に測定を行なっていた。以前は専用の実験室で行なっていたため翌週月曜日の測定に支障は無かったが、校舎の改修後は実験室の効率的利用の観点から 2 年次の物質化学実験 1 と実験室を共同利用している。物質化学実験 1 は月曜日に開講しているため従来通りの実験方法ではこの実験を実施できない。この対策として、反応時間無限大時の旋光度をなんらかの方法で推算することが考えられる。しかし、このような研究はこれまで報告されていない。

本研究では、反応時間無限大時の旋光度が反応物初濃度等から推算が可能かについて検討を行うために、以下の 2 つのことを仮定しその検証を行った。ただし、ショ糖、ブドウ糖および果糖を、それぞれ A、B および C で表す。また、 $[\alpha]_m$ はモル基準の比旋光度（以後、モル旋光度（単位：deg dm² mol⁻¹）と表記する）であり、化学便覧の比旋光度³⁾から算出した。 L

は測定用セルの長さである。

[仮定 1]

反応開始時の溶液中には反応物であるショ糖しか存在せず、生成物であるブドウ糖および果糖の濃度は無視できる。この仮定が正しいとすると反応開始時の旋光度は(1)式で表される。

$$\alpha_0 = [\alpha]_{m,A} L C_{A0} \quad (1)$$

[仮定 2]

反応時間無限大時には反応物であるショ糖は存在せず、全て生成物であるブドウ糖および果糖に分解される。この仮定が正しいとすると反応時間無限大時の旋光度は(2)式で表される。

$$\alpha_\infty = ([\alpha]_{m,B} C_{B\infty} + [\alpha]_{m,C} C_{C\infty}) L \quad (2)$$

これらの仮定が成り立てば、 $C_{A0} = C_{B\infty} = C_{C\infty}$ となるので、(1)式を(2)式に代入して、反応時間無限大時の旋光度 α_∞ は、反応開始時の旋光度である α_0 から以下の式で求めることができる。

$$\alpha_\infty = ([\alpha]_{m,B} + [\alpha]_{m,C}) L C_{A0}$$

$$\alpha_\infty = \frac{([\alpha]_{m,B} + [\alpha]_{m,C}) \alpha_0}{[\alpha]_{m,A}} \quad (3)$$

本研究で用いるショ糖、ブドウ糖および果糖のモル旋光度を表 1 に示す。

* 原稿受付 令和 3 年 10 月 29 日

** 佐世保工業高等専門学校 物質工学科

表 1 各物質のモル旋光度

Molar optical rotation	
[deg dm ² mol ⁻¹]	
Sucrose	22.76
Glucose	9.422
Fructose	-16.63

2. 実験方法

ショ糖濃度が 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 および 1.0 mol dm⁻³ の溶液を調製し各濃度における旋光度を測定した。1.0 mol dm⁻³ のショ糖水溶液がおよび同濃度の塩酸水溶液を調製し両者を 1 : 1 で混合した。混合後の溶液を 1 min 以内に旋光度測定セルに移し旋光度を測定した。この値を $t=0$ における旋光度とし検量線からショ糖の初濃度を求めた。その後反応溶液を測定セルに入れたまま、3 日間放置した試料の旋光度を測定し、この値を反応時間無限大時の旋光度とした。

3. 結果と考察

仮定 1 の検証は、ショ糖の検量線を用いてショ糖の初濃度を検証することによって行った。図 1 にショ糖濃度の異なる水溶液の旋光度を測定した結果を示す。図中には、原点を通る直線 ($y=ax$) に回帰した結果も併せて示している。この直線の決定係数は 0.99935 と著しく高い値であり、検量線として使用できることを示している。また、直線の傾きはショ糖のモル旋光度 (22.76 deg dm² mol⁻¹) とセル長 (2.00 dm)

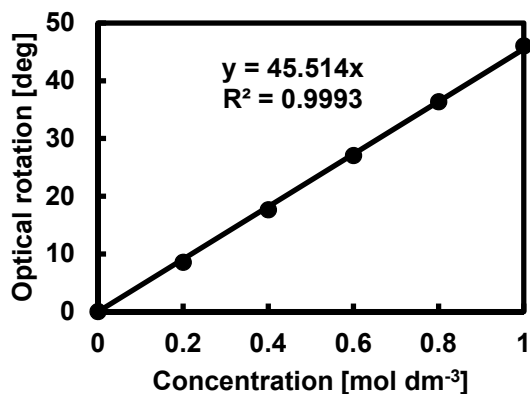


図 1 旋光度とショ糖濃度の関係

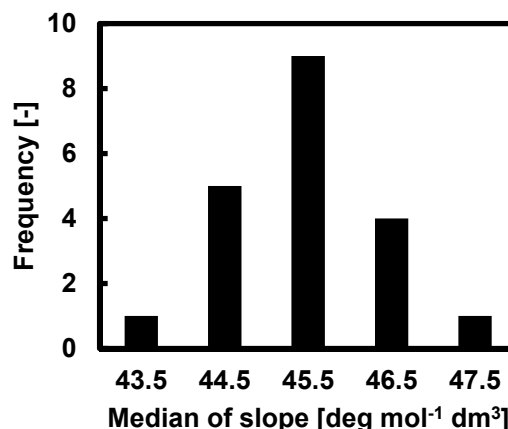


図 2 検量線の傾きの分布

の積 (45.52 deg dm³ mol⁻¹) となる。このことを検証するために同じ実験を 20 回繰り返した結果を図 2 に示す。グラフの形は左右対称の山形であり正規分布となることを示唆している。そこで、実験で得られた傾きの平均値と理論値 (45.52 deg dm³ mol⁻¹) の関係を t 検定によって調べた。結果を表 2 に示す。帰無仮説 ($a = 45.52$ deg dm³ mol⁻¹) を支持する確率 (p 値) が 0.715 と大きくなり、帰無仮説を棄却できないことがわかった。しかしこの検定では、対立仮説を採択することはできても、帰無仮説を採択することはできない。そこで、同等性の検定を行った。同等性の検定とは、基準値から僅かに離れた値 (基準値 $\pm \Delta$) の中に標本平均が含まれるか否かを検定するものである。具体的には、有意水準を β とすると、帰無仮説を標本平均の $(1 - \beta)$ 信頼区間(下側) \leq |基準値 - Δ | および標本平均の $(1 - \beta)$ 信頼区間(上側) \geq |基準値 + Δ | とする検定である。この場合の対立仮説は、|基準値 - Δ | < 標本平均の $(1 - \beta)$ 信頼区間 < |基準値 + Δ | となる。

表 2 検量線の傾きの検定

Average	45.45 deg dm ³ mol ⁻¹
Variance	0.74 (deg dm ³ mol ⁻¹) ²
Degree of freedom	19
t value	0.371
p value	0.715

本検討においては有意水準を 0.05, Δ の値を基準値の 5% とした。検討の結果, 基準値の範囲は 43.244 ~ 47.796 deg dm³ mol⁻¹, 標本平均の 95% 信頼区間は 45.037 ~ 45.861 deg dm³ mol⁻¹ となり, 標本平均の 95% 信頼区間は基準値の範囲に完全に収まっているため帰無仮説が棄却され, 得られた傾きが基準値と等しいことが示された。そこで, ショ糖水溶液と塩酸水溶液を 1 : 1 で混合した溶液の旋光度を測定し, 先程の検量線を用いてショ糖の初濃度を算出した。20 回繰り返した結果を図 3 に示す。図中の横軸の数字は各級の中央値を示している。グラフの形は左右対称の山形であり正規分布となることを示唆している。そこで, 実験で得られた初濃度と基準値 (0.5 mol dm⁻³) の関係を t 検定によって調べた。結果を表 3 に示す。帰無仮説 ($C_{A0} = 0.5 \text{ mol dm}^{-3}$) を支持する確率 (p 値) が 0.694 と大きくなった。この結果についても同等性の検定を行った。先ほどと同様に有意水準を 0.05, Δ の値を基準値の 5% とした。検討の結果, 基準値の範囲は 0.475 ~ 0.525 mol dm⁻³, 標本平均の 95% 信頼区間は 0.485 ~ 0.510 mol dm⁻³ となり, 標本

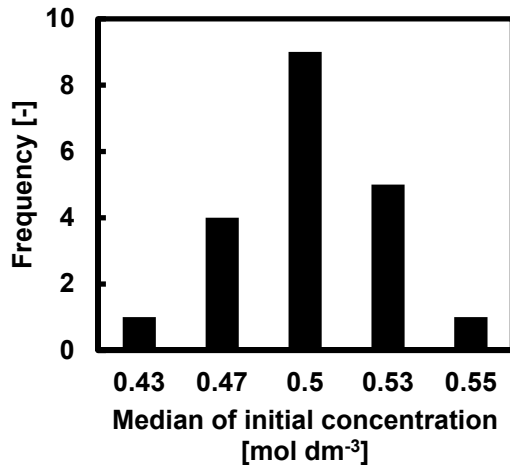


図 3 初濃度の分布

表 3 初濃度の検定

Average	0.498 mol dm ⁻³
Variance	6.74×10 ⁻⁴ (mol dm ⁻³) ²
Degree of freedom	19
t value	0.400
p value	0.694

平均の 95% 信頼区間は基準値の範囲に完全に収まっているため帰無仮説が棄却され, 得られた初濃度が基準値と等しいことが示された。この結果は反応液混合後 1 min 以内では生成物であるブドウ糖や果糖はほとんど生成していないことを示しており, 仮定 1 が正しいことを示唆している。

仮定 2 の検証は, 2 つの仮定が成り立つとして求めた(3)式を用いて推定した反応時間無限大時の旋光度 ($\alpha_{\infty}(\text{sp})$) と実際に反応を行い 3 日後に測定した旋光度 ($\alpha_{\infty}(\text{ex})$) を比較することによって行った。得られた結果を対応のあるデータとして t 検定を行った。結果を表 4 に示す。帰無仮説 ($d = \alpha_{\infty}(\text{sp}) - \alpha_{\infty}(\text{ex}) = 0$) を支持する確率 (p 値) が 0.855 と大きくなった。この結果についても同等性の検定を行った。有意水準を 0.05, Δ の値は従来法である 3 日後の旋光度の 5% とした。検討の結果, 従来法との基準差 (0) の範囲は -0.360 ~ 0.360 deg, 実差平均の 95% 信頼区間は -0.164 ~ 0.195 deg となり, 実差平均の 95% 信頼区間は基準差の範囲に完全に収まっているため帰無仮説が棄却され, 本方法で得られた無限大時間旋光度が従

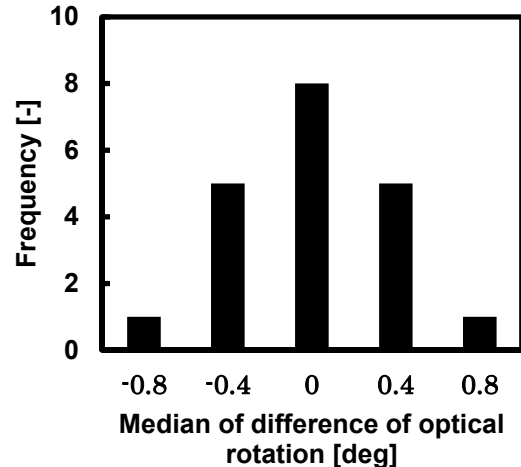


図 4 無限大時間旋光度の差の分布

表 4 無限時間旋光度の差の検定

Average of difference	0.0155 deg
Variance of difference	0.140 deg ²
Degree of freedom	19
t value	0.185
p value	0.855

来法で得られた無限大時間旋光度と等しいことが示された。この結果は反応時間無限大時にはショ糖はほとんど存在しておらず、反応溶液中には生成物であるブドウ糖や果糖のみ存在していることを示している。このことは仮定 2 が正しいことを示唆している。

以上の結果から、ショ糖の加水分解反応における反応時間無限大時の旋光度を、ショ糖の初濃度から推算するための 2 つの仮定が正しいことがわかり、反応時間無限大時の旋光度をショ糖の初濃度から推算することが可能となった。これにより本実験を 1 日で終わることが可能となり、実験時間の著しい短縮となった。

参考文献

- 1) 鮫島実三郎, 物理化学実験法 (増補版), 株式会社裳華房, p. 389, 1977
- 2) 千原秀昭・徂徠道夫編, 物理化学実験法 (第 4 版), 株式会社東京化学同人, p. 128, 2000
- 3) 日本化学会編, 化学便覧 基礎編 II (改訂 3 版), 丸善株式会社, p. 563, 1990