HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	海藻の酸醱酵に關する研究(第3報)：化生酸の分別定量法並びに實驗の確からしさに就て
Author(s)	鈴木, 昇
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 3(2), 114-117
Issue Date	1952-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/22744
Type	bulletin (article)
File Information	3(2)_P114-117.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

海藻の酸醗酵に關する研究（第3報）

化生酸の分別定量法並びに實驗の確からしさに就て

鈴　木　　昇（無機化學、海藻化學教室）

STUDIES ON THE ACID-PRODUCING FERMENTATION OF SEAWEEDS.

III. DETERMINATION OF THE ACIDS AND ACCURACY OF THE EXPERIMENT.

Noboru SUZUKI

(Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

1) Three methods of determinating volatile organic acids[3,4,5] are compared. Although satisfactory results are obtained through each method, Virtanen and Puli's is chosen because of the ease in carrying it out.

2) It is proved that four parallel experiments are required at least through the statistical examination.

I. 化生酸の分別定量法に就て

海藻の酸醗酵によつて生ずる酸は主として醋酸及びプロピオン酸であるが、前報[1,2]に於ては之を醋酸として計算した。本報に於ては是等を分別定量せんとして本實驗を行つた。

揮發性有機酸の混合して共存する水溶液から、是等の各々を定量するのには、主として分割蒸溜法が廣く用いられている。海藻の酸醗酵によつて生ずる酸は主として醋酸及びプロピオン酸であつて、度々の試驗にも拘らず、ニトロプロシツドナトリウムによるアセト醋酸の呈色反應は認められず、從つて酪酸の存在は認められなかつた。

混合揮發性有機酸水溶液中に於ける各々の有機酸の定量に就ては、古くは Duclaux[3] の方法があるが、此の方法では近似値が得られるに過ぎない。Gillespie 及び Walters[4] は Duclaux の方法に從つて蒸溜を行い、その各區分の滴定數から數種の酸の混合物の中の各々の酸の定量を行う方法を報告している。之に對して Virtanen 及び Puli[5] は2種の有機酸の混合している場合は2段蒸溜を、3種混合している場合には3段蒸溜を行う方法を報告している。

元來醋酸やプロピオン酸の如き低級の揮發性脂肪酸は、その性質が近似しているため、是等が共存している場合に於ては、混合水溶液中から是等を個々にとり出す事は困難であつて、普通には a) 分別蒸溜法、b) 塩類の分別沈澱法、c) 塩類からの分別遊離法、d) 塩類の分別結晶法、e) バリウム塩のアルコールによる分別抽出法等が用いられているが、熟れも之を定量法に用いて正確な値を得る事は困難である。

以上の方法に對して、前記の Duclaux, Gillespie 等及び Virtanen 等の方法は間接法ではあるが、比較的正確で且つ操作も簡單であるため便利である。依て著者は以上の3つの方法に對して檢討を加えた。

Duclaux の方法は、水溶性の揮發性有機酸の稀薄溶液を蒸溜する時は一定の法則に從つて溜出せられる事實に基いて、是等の溶液を 110c.c. とつて之を蒸溜し、其の溜液を 10c.c. 毎に區分して100c.c.を蒸溜し、其の各 10c.c. 中に含まれている酸量をアルカリで滴定し、夫れと溜液100c.c. 中に含まれている全滴定數との百分率を求め、之を圖上に表すと夫々の酸によつて特有の曲線が得られる。此の場合2種以上の混酸の場合は稍々複雜となるが、熟練すると近似値を得る事が出來る。之に對して Gillespie 等は、混酸の場分に於ても Duclaux の方法に從つて蒸溜した場合に、その中の個々の酸は夫れが唯一種の場合と全く同じ割合で溜出せられるという原理に基いて方程式をたてゝ計算する方法を報告している。從つて此の方法は Duclaux の方法の計算法とも稱すべきものであつて、詳細なる基礎實驗を行い、且つ、グラフによる計算法をも述べている。

Table 1.

Fraction c.c.	Duclaux	Gillespie etc.	Author
10	7.4	8.0	7.7
20	15.2	16.3	15.7
30	23.4	24.6	23.9
40	32.0	33.5	32.4
50	40.9	42.7	41.5
60	50.5	52.1	51.1
70	60.9	62.4	61.6
80	71.9	73.4	72.6
90	84.4	85.7	85.2
100	100.0	100.0	100.0

Table 2.

Method of / Acid	Duclaux	Gillespie etc.	Virtanen etc.	Theoretical value
a	40	36.3	34.9	34.9
p	60	63.7	65.1	65.1
a	50	48.8	52.1	51.8
p	50	51.2	47.9	48.2
a	75	75.1	70.1	74.4
p	25	24.9	29.9	25.6
a	64	60.0	54.3	55.5
p	36	40.0	45.7	44.5

Where: "a" presents percentage of acetic acid, "p" presents percentage of propionic acid.

Table 3.

Method of / Acid	Duclaux	Gillespie etc.	Virtanen etc.
a	50	50.1	54.1
p	50	49.9	45.9
a	75	73.3	73.4
p	25	26.7	26.6
a	55	53.4	54.0
p	45	46.6	46.0

Virtanen 等の方法は先に述べた如く、2段或は3段の蒸溜を行うものであつて、2つの揮發性有機酸の水溶液中の各々の酸を定量せんとする場合には、混液 400c.c. をとり、その中の 10～20c.c. を用いて總揮發酸を滴定し、次にその中の 200c.c. をとつて、之を 100c.c. 蒸溜し、溜液中の揮發酸の量を滴定し、その兩者の値から、彼等の實驗によつて得られた式に基いて、成分である 2 つの酸の量を算出する。同樣にして 3 種の混酸の場合は 3 段蒸溜を行うが詳細は省略する。

著者はメルク製の醋酸及びプロピオン酸を試料として上記三法を比較した。此の場合 Gillespie 等によれば、Duclaux 及び Gillespie 等の方法は、裝置の異るに從つて、幾分溜出する割合の異る事を指摘して、各實驗者は各自の裝置及び條件を定め、之に對して各自の數値を得て、之を基礎として實驗する必要のある事を述べている。著者は、著者の實驗による數値を基準とする事としたが、此の場合數値には第 1 表に見られる通り、僅少ではあるが實驗者による差異が認められる。

尙 Virtanen 等の方法は彼等の式をその儘用いる事とした。以上 3 つの方法を比較した結果は第2表に示す通りである。第 2表によつて見れば、是等3つの方法は熟れも、大體に於て近似的な値が得られるが、Duclaux の方法が理論値に對して最も開きが多い樣である。

次に海藻の酸醱酵液を H_3PO_4 酸性下で蒸溜した溜液を用いて是等 3 法を比較した結果の數

Table 4.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.58	0.354	16.156
2	4.69	0.201	52.353
3	4.71	0.390	20.011
4	7.11	0.776	20.484
5	6.90	0.447	34.513
6	8.17	0.293	62.283
7	9.69	0.699	30.951
8	5.54	1.749	7.084
9	6.61	0.888	16.650
10	7.50	1.073	15.530
11	9.78	0.800	27.335
12	6.61	1.943	7.606
13	12.05	0.471	57.221
14	6.68	0.215	71.719
15	5.89	1.176	11.223
16	6.98	0.420	37.204
17	4.26	1.406	6.776
18	5.94	0.363	36.338
19	5.34	1.576	7.715
20	8.39	0.581	32.252

Table 5.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.61	0.345	13.102
2	4.78	0.185	44.751
3	4.79	0.410	20.235
4	7.11	0.699	17.617
5	6.71	0.205	56.691
6	8.29	0.294	42.947
7	9.19	0.360	39.403
8	6.51	0.690	66.325
9	6.18	0.170	62.964
10	6.97	0.765	15.780
11	10.08	1.049	16.669
12	7.65	1.405	9.430
13	11.95	0.323	64.079
14	6.95	0.204	59.007
15	6.49	1.380	8.145
16	4.00	1.131	5.020
17	5.05	1.209	7.235
18	6.01	0.347	29.998
19	5.46	0.998	9.476
20	8.47	0.495	29.838

例を示すと第3表の如くである。

第3表に見られる如く是等の方法は、熟れも夫々近似的な値が得られるので何れの方法を用いても差支えない事が判るが、Virtanen の方法が最も簡單で便利な方法であると考えられる。

Table 6.

No.	$\bar{x}$	s	t
1	2.64	0.415	8.99
2	4.62	0.214	30.53
3	5.05	0.173	41.31
4	7.29	0.780	13.22
5	7.19	0.660	18.56
6	8.05	0.208	54.72
7	9.73	0.625	66.72
8	5.84	2.608	3.15
9	6.67	1.300	7.25
10	7.05	1.111	8.97
11	9.56	1.164	11.61
12	6.91	2.486	3.93
13	12.46	0.501	35.17
14	6.91	0.325	30.06
15	4.93	0.415	16.56
16	4.71	1.897	3.51
17	3.91	1.663	3.32
18	6.07	0.427	20.10
19	5.48	1.518	5.10
20	8.66	0.380	32.22

Ⅱ. 實驗の確からしさに就て

海藻の自然醱酵を研究するに當つては、定量法以外に實驗の度に未知の各種條件に支配せられるため、出來る丈實驗の條件を一定にしてもその實驗の結果には往々相當の開きが見られる。從つて出來得る限り數多くの實驗を繰り返して、その結果を統計學的に平均する事が望ましい事はいうまでもない。著者はフシスヂモクに就て、同じ條件に就ては夫々獨立に6回宛の實驗を繰り返し、種々の條件で75組此の實驗を行つて、その結果を推計學的に檢討した。今此の75組の實驗結果より無作爲抽出を行つて得られた20組の各數値は第4表に示す通りである。玆には $\bar{x}$ は醋酸として計算せられた總化生酸量の平均値、sは標準偏差、tはt分布の値を示すものである。$t_{0.01}$ は4.032であるから、第4表に示す値は有意水準0.99に於て凡て有意である。此の結果から、有意水準0.99に於て有意でない結果の期待される百分率の推定を行うに、信頼度98%に於て0～0.23である事が判つた。

次に第4表に用いた測定値の中から各組毎に4ヶ宛の測定値を無作爲抽出によつて取り出して第4表と同樣 $\bar{x}$、s及びtを求めた結果は第5表に示す通りである。此の場合 $t_{0.02}$ は4.541であるから第5表に示す値は有意水準0.98に於て凡て有意である。從つて信頼度98%に於て有意水準0.98として有意といわれない値の期待せられる百分率は0～0.23と推定せられる。

次に上の場合と同樣にして各組から夫々3ヶ宛の測定値を無作爲抽出によつて取り出した3ヶの測定値から得られた $\bar{x}$、s及びtは第6表に示す通りである。第6表に示されている値につい

て $t_{0.05}$ は 4.303 であるから有意水準0.95 に於て20 回の觀測の中4 回は、その平均値が有意といわれない事を示している。此の結果から、有意水準0.95に於て有意でない結果の期待せられる百分率の推定を行うに、信頼度 98% に於て、0.07～0.45 である事が判つた。

以上の結果を總括すると次の通りである。即ち、海藻の醱酵による化生酸の定量に於て、著者の行つた方法[1] を用い定量する場合（此の定量法自身に就ては推計學的に檢定は行われていない）實驗の結果の有意水準を 0.95とした場合に於ても 1 組の實驗を獨立に行つた 3 回の平均値は信頼度 98% とした場合 0.07～0.45 有意でない場合が考へられるので少く共 4 回以上の獨立した實驗の結果を平均する事が望ましいという事が判る。

文　　献

(1) 鈴木　昇 (1945)：日水誌, 11, (5～6), 192.

(2) 同　　上 (1945)：同　上, 12, (1), 12.

(3) Duclaux (1874)：Ann. Chim. Phys. 〔5〕 2, 289, "Traite de Microbiologie' (1900) 3, 385 邦譯より引用.

(4) Gillespie and Walters (1919)：J. Am. Chem. Soc., 39, 2027.

(5) Virtanen and Puli (1928)：J. Am. Chem. Soc., 50, 3138.

（水產科學研究所業績　第 114 號