

## 漬物中のビタミンCに関する研究—Ⅳ—

ヒドラジン比色法によるビタミンC定量に及ぼす試料液の希釈の影響

若本ゆかり・藤澤浩明

### Studies on Vitamin C in Tsukemono (Salted Vegetables) —Ⅳ—

The Influence of Sample Dilution on the Determination of Vitamin C  
by the 2,4-Dinitrophenylhydrazine Method

Yukari Wakamoto and Hiroaki Fujisawa

In order to determine the content of vitamin C in tsukemono by the 2,4-Dinitrophenylhydrazine method, the influence of sample dilution on the determination was examined. The content of total vitamin C (TVC) in takuan is high in which the extract is diluted more than 100 times, and the content is low in which it is diluted fewer than 50 times. The contents of dehydroascorbic acid (DAsA) and ascorbic acid (AsA) were determined at 50 times dilution, but those were determined or not at 100 times dilution. Therefore, it is useful for the determination of vitamin C in tsukemono that the highest value of TVC in the dilution more than 100 times is adopted, and the values of DAsA and AsA at 100 times or 50 times dilution are used.

#### 1. 緒言

著者らは今までにヒドラジン比色法による市販漬物中のビタミンC含量の定量条件を確立するために、甘味料、調味料、酸味料、着色料、糊料、保存料などのアスコルビン酸 (AsA) 定量に及ぼす影響について明らかにした<sup>1) 2)</sup>。その結果、試料液に影響のない濃度まで希釈することによって、ビタミンCをより正確に定量できることが予測された。本報では、ヒドラジン比色法によるビタミンC定量に及ぼす希釈の影響について検討した。そして、漬物中のビタミンC定量の有効な希釈測定条件を明らかにすることができたので報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 供試材料

市販漬物：1995年8月～1996年2月に下関市内のスーパーで購入した4種のタイプのたくあんを供試した。塩押しだいを原料とした2種及び干しだいを原料とした2種であって、それらの概要を表1に示した。

試薬類：AsA、果糖、ブドウ糖及びショ糖は、いずれも特級（片山化学）を用いた。

### 2.2 試料液の調製法

AsA・糖混合液：供試漬物の糖度が約15%であることからモデルの糖組成を考え、果糖5g、ブドウ糖5g及びショ糖5gとし、これにAsA50mgを加え、5%メタリン酸溶液100mlに溶解したものを原液とした。原液を5%メタリン酸溶液で順次10倍～1000倍に希釈して用いた。対照実験のAsA希釈液は、AsA50mgを5%メタリン酸溶液100mlに溶解したものを原液とし、これを5%メタリン酸溶液で順次希釈して調製した。

漬物のビタミンC抽出液：試料から既報<sup>3)</sup>の方法によって抽出したものを原液とし、5%メタリン酸溶液で順次希釈して供試した。

### 2.3 ビタミンCの定量法

AsA、総ビタミンC (TVC) 及びデヒドロアスコルビン酸 (DAsA) の定量は、いずれも既報<sup>1-3)</sup>の通りのヒドラジン比色法<sup>1,2)</sup>によった。

希釈倍数の高い試料中のAsA量は微量となるので、AsA濃度が0.1mg/100ml以下の場合の検量線を求めたが、図1に見られるように曲線を示し、2次式が得られた。また、AsA濃度が1桁高い場合は、図2のように直線を示し、1次式が得られた。両検量線から、AsA量が1mg/100ml以下0.001mg/100mlのかなり微量まで測定できることがわかった。なお、AsA量が1～6mg/100mlにおいても、検量線は直線を示した。したがって、本法では、かなりの濃度範囲でAsAの定量が可能である。

## 3. 実験結果及び考察

### 3.1 糖混合液中におけるAsAの定量に及ぼす試料希釈の影響

モデル化した果糖、ブドウ糖、ショ糖及びAsA混合液を10～1000倍希釈し、糖混合液中の

表1. 供試材料 (たくあん)

たくあんのタイプ 試料番号	原 料	1パック当たり 内容量・大きさ	漬け込み原材料 (食品添加物)	摘 要
塩 押 し 本 漬 (かつお調味) T-1	塩押しだいこん	1本入り 290g 長径 16cm 短径 4.5~5cm	米ぬか、食塩、ブドウ糖果糖液糖、 甘味料(ステビア)、かつおエキス、 かつおぶし、調味料(アミノ酸等)、 食酢、酸味料(リンゴ酸、乳酸)、 香辛料(とうがらし)、 着色料(紅こうじ色素、クチナシ)、 酸化防止剤(ビタミンC)	糖度：16%
T-2		270g 長径 16cm 短径 4~5cm		
T-14		285g 長径 16cm 短径 4.5~6cm		
早 漬 T-25	塩押しだいこん	1本入り 302g 長径 15cm 短径 4~5cm	食塩、果糖ブドウ糖果糖液糖、甘味料 (ステビア)、調味料(アミノ酸等)、 酸味料(リンゴ酸、乳酸)、着色料 (黄色4号)、メタリン酸ナトリウム、 保存料(ソルビン酸カリウム)、 酸化防止剤(ビタミンC)	糖度：15%
つ ぼ 漬 T-3	干しだいこん	3本入り 248g 長径 10cm 短径 2.5~4cm	米ぬか、食塩、砂糖、ブドウ糖果糖 液糖、甘味料(ステビア、甘草、 サッカリンナトリウム)、調味料 (アミノ酸等)、食酢、 酸味料(リンゴ酸、乳酸)、 着色料(黄色4号)、 保存料(ソルビン酸カリウム)、 酸化防止剤(ビタミンC)	糖度：15%
T-4		225g 長径 10cm 短径 2~4cm		
T-8		290g 長径 9.5cm 短径 3~4cm		
干 し 本 漬 T-21	干しだいこん	1本入り 455g 長径 37cm 短径 2~4cm	米ぬか、食塩、砂糖、ブドウ糖果糖 液糖、甘味料(ステビア、甘草、 サッカリンナトリウム)、調味料 (アミノ酸等)、 酸味料(リンゴ酸、乳酸)、 保存料(ソルビン酸カリウム)、 酸化防止剤(ビタミンC)	糖度：16%

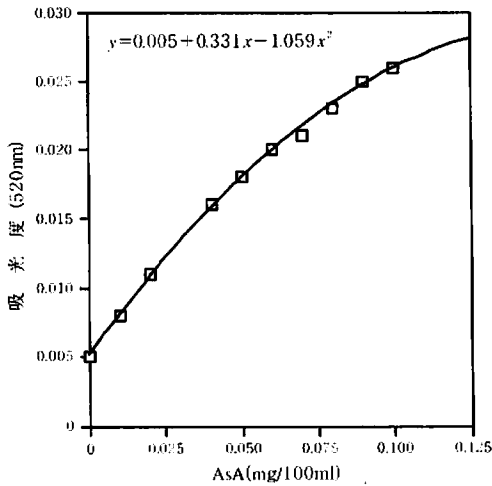


図1. フェニルヒドラジン法によるAsA定量の検量線(濃度0.1mg/100ml以下).

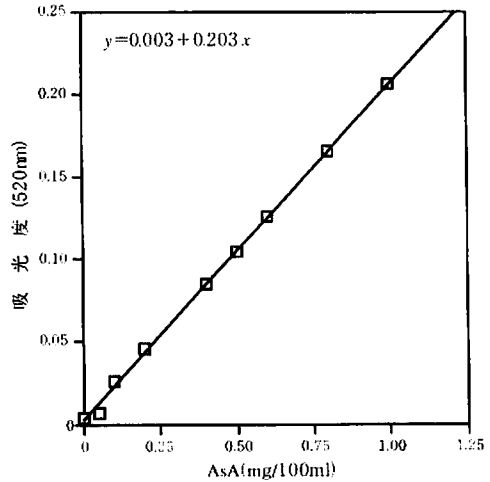


図2. フェニルヒドラジン法によるAsA定量の検量線(濃度1mg/100ml以下).

AsA量を測定し、それぞれ対照値と比較した結果を表2に示した。

表2. ヒドラジン比色法による糖混合液中のAsA量と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	I 対照液中のAsA量 (mg/100ml)	II 糖混合液中のAsA量 (mg/100ml)	II/I (%)
10	4.890	4.537	92.8
50	0.993	0.938	94.5
100	0.500	0.500	100.0
500	0.105	0.105	100.0
1000	0.049	0.049	100.0

I：原液はAsA 50mg/100ml 5%メタリン酸溶液である。

II：原液はAsA 50mg+果糖5g+ブドウ糖5g+ショ糖5g  
/100ml 5%メタリン酸溶液である。

表2から、糖混合液中のAsA量は1000~100倍希釈では、いずれも対照値と差が見られず、100%であった。一方、50倍希釈では94.5%、10倍希釈では92.8%とそれぞれ定量値が低くなることがわかった。したがって、このような条件下では、試料液を100~1000倍希釈すれば、正確なAsA量の測定が可能である。

### 3.2 たくあんにおけるTVCの定量に及ぼす試料希釈の影響

上述の実験で、糖混合液については、AsAの定量値に100~1000倍希釈と50~10倍希釈との間に差異が見られ、試料希釈の効果が認められたので、市販漬物の代表としてたくあんを選び、TVCの定量値に及ぼす希釈の影響について検討した。

塩押し本漬2試料及びつぼ漬2試料について、原液～1000倍希釈液におけるTVC量を測定し、得られた結果を表3に示した。

表3. ヒドラジン比色法によるたくあん中のTVC量と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	T-1 TVC量(%) (mg/100g)	T-2 TVC量(%) (mg/100g)	T-3 TVC量(%) (mg/100g)	T-4 TVC量(%) (mg/100g)
1000	—	—	499.5(100)	549.8(100)
500	431.3(100)	500.0(100)	499.5(100)	549.8(100)
200	430.0(99.7)	500.0(100)	479.5(96.0)	519.8(94.5)
100	405.5(93.9)	495.0(99.0)	479.5(96.0)	509.8(92.7)
50	377.5(87.5)	345.0(69.0)	399.6(80.0)	457.4(83.2)
20	376.0(87.2)	342.0(68.4)	393.6(78.8)	421.9(76.7)
10	358.0(83.0)	337.5(67.5)	388.1(77.7)	411.4(74.8)
1	357.5(82.9)	328.0(65.6)	342.2(68.5)	381.4(69.4)

T-1, T-2: 塩押し本漬(表1参照)

T-3, T-4: つぼ漬 (表1参照)

% : 各試料のTVC量の最大値を100とした。

— : 正確な値が得られなかった。

表3から、たくあん2種中のTVC量に及ぼす試料液希釈の影響については、100倍以上の希釈で高い定量値が得られ、50倍以下の希釈では、明らかに前者の値よりも低い値を示し、さらにこの場合、希釈倍数が小さい程TVC定量値が低くなる傾向が見られた。

したがって、漬物中のTVC量の測定には、影響を及ぼさない倍数まで希釈することが望ましく、具体的には100倍、200倍及び500倍の試料希釈液について定量し、最大値を採ることが適している。

### 3.3 たくあんにおけるTVC, DAsA及びAsAの定量に及ぼす試料希釈の影響

塩押し本漬(T-14)、塩押し早漬(T-25)、つぼ漬(T-8)及び干し本漬(T-21)についての結果を、それぞれ表4、表5、表6及び表7に示した。

表4. 塩押し本漬たくあん(T-14)におけるTVC, DAsA及びAsAの定量値と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	TVC (mg/100g)	DAsA (mg/100g)	TVCに対する比 (%)	AsA (mg/100g)	TVCに対する比 (%)
200	453.0	—	—	—	—
100	456.5	13.4	2.9	443.1	97.1
50	442.5	31.0	7.0	441.5	93.0
10	368.5	32.8	8.9	335.7	91.1
1	358.7	39.8	11.1	318.9	88.9

—: 正確な定量値が得られなかった。

表5. 塩押し早漬たくあん(T-25)における TVC, DAsA及びAsAの定量値と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	TVC (mg/100 g)	DAsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)	AsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)
200	234.9	—	—	—	—
100	226.4	—	—	—	—
50	163.9	14.4	8.8	149.5	91.2
10	136.9	15.8	11.5	121.1	88.5
1	126.4	20.1	15.9	106.3	84.1

—: 正確な定量値が得られなかった。

表6. つぼ漬たくあん(T-8)における TVC, DAsA及びAsAの定量値と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	TVC (mg/100 g)	DAsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)	AsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)
200	490.0	—	—	—	—
100	490.0	6.5	1.3	483.5	98.7
50	482.5	38.0	7.9	444.5	92.1
10	460.0	31.0	6.7	429.0	93.3
1	363.2	24.3	6.7	338.9	93.3

—: 正確な定量値が得られなかった。

表7. 干し本漬たくあん(T-21)における TVC, DAsA及びAsAの定量値と試料の希釈度

希釈度 (倍数)	TVC (mg/100 g)	DAsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)	AsA (mg/100 g)	TVC に対する比 (%)
200	310.5	—	—	—	—
100	300.0	—	—	—	—
50	290.0	100.5	34.7	189.5	65.3
10	261.5	100.0	38.2	161.5	61.8
1	252.0	95.0	37.7	157.0	62.3

—: 正確な定量値が得られなかった。

表4から、T-14については、本実験条件下で200倍希釈でTVCを定量することができたが、DAsA及びAsAを定量することはできなかった。100倍以下の希釈度では、3者とも定量が可能であった。この場合、TVC及びAsA定量値は、希釈倍数が小さい程低い値を示し、これと反対にDAsA定量値は高い値となる傾向が見られた。

表5から、T-25については、200倍及び100倍希釈において、TVCを定量することができたが、DAsA及びAsAを定量することはできなかった。50倍以下の希釈で3者とも定量が可能であり、表4の結果と同様に、希釈倍数が小さい程、TVC及びAsA定量値は低くなり、反対にDAsA定量値は高くなる傾向がみられた。

表6から、T-8については、200倍希釈ではTVCのみを定量することができ、100倍以下の希釈で3者とも定量することができた。またこの場合、希釈倍数が小さい程、TVC及び

AsA 定量値は低くなる傾向が見られたが、DAsA 定量値では100倍希釈で低く、50倍以下の希釈で TVC 及び AsA 定量値の場合と同じ傾向が見られた。

表7から、T-21については、200倍及び100倍希釈で TVC のみ定量することができ、50倍以下の希釈では3者とも定量することができた。この場合、TVC 及び AsA 定量値ではこれまでの結果と同様に、希釈倍数が小さい程低くなる傾向が見られたが、DAsA 定量値では50倍希釈及び10倍希釈でおおむね良好な定量結果が得られた。

表4～表7から、たくあん中のビタミンC量と希釈度とについて統合的に見ると、TVC 定量値は100倍及び200倍希釈で最も高く、50倍希釈では100倍希釈の値とほぼ等しいかまたは低い値を示し、10倍希釈では明らかに低い値であった。また、DAsA 及び AsA 定量値については、100倍希釈では測定できる場合と不可能な場合があったが、50倍希釈では測定可能であった。さらに、これらの結果と3・2の結果(表3)を合わせて考察すると、ヒドラジン比色法による漬物中のビタミンC 定量の有効な測定条件は、次の通りである。

先ず500倍、200倍及び100倍希釈液について TVC を定量し、その最高値を採る。次いで100倍及び50倍希釈液について、TVC、DAsA 及び AsA を定量し、100倍希釈液の DAsA 及び AsA 定量値を求め、この希釈度における定量値が得られない場合には、50倍希釈におけるこれらの定量値を参考とすることが望ましい。

なお、本実験では標準の10mm 角形セルを用いたが、20mm 以上の角形長吸収セルを使用することによって、100倍及び200倍希釈液における DAsA 及び AsA の定量が可能となるであろう。

#### 4. 要約

ヒドラジン比色法による市販漬物中のビタミンC 定量における有効な測定条件を明らかにする目的で、定量値に及ぼす試料液の希釈度の影響について検討し、次に要約する結果を得た。

1. モデル化した糖混合液中の AsA 量は、100倍～1000倍の希釈液で最も高く、50倍～10倍の希釈液で低くなることがわかった。

2. たくあん中のビタミンC 量については、TVC 定量値が100倍以上の希釈で高く、50倍以下の希釈では低くなり、また DAsA 及び AsA 量は50倍希釈では測定できるが、100倍希釈では測定不可能な場合もある。

3. 1及び2から実用的方法としては、500倍、200倍及び100倍希釈液について TVC を定量し、その最高値を採り、DAsA 及び AsA 量については、100倍及び50倍希釈液における測定値を求め、両希釈液のうちで有効と判断される定量値を採ることが望ましい。

終わりに、本報のとりまとめに当たり、有益な御教示を頂いた本学品川洸夫講師、上田正教授及び中野憲二教授に厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行上種々御高配を頂いた本学一柳和正教授並びに高井徹学長に深く感謝致します。

## 文 献

- 1) 若本ゆかり・藤澤浩明：下関女子短期大学紀要, 13, 43～54 (1995)
- 2) 若本ゆかり・藤澤浩明：下関女子短期大学紀要, 14, 15～23 (1996)
- 3) 若本ゆかり・藤澤浩明：下関女子短期大学紀要, 12, 47～59 (1994)
- 4) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会：食品分析法, 光琳, 1992, pp. 446～476.
- 5) J. H. Roe, M. B. Mills, M. J. Oesterling, and C. M. Damron : *J. Biol. Chem.*, 174, 201～208 (1948)