

醬油及び味噌中の Vitamin C の定量に就て

藤田 秋治 沼田 勇

(北里研究所生化学室)

藤田、海老原の Vitamin C 比色的定量法¹⁾は操作の比較的容易なることと、測定値の確實なることと、多くの動植物組織の測定に用ひる時直ちに Vitamin C の真値を示すこと²⁾とにより廣く行はれてゐるが、その後の研究により尿の定量に於ては Vitamin C 以外の還元物質の影響が Vitamin C の量に比して、無視し得ないことが明かになり³⁾ (但し Vitamin C の負荷實驗の場合は實用上無視して差支へない)、また茶の如き加工品では呈色阻害の現象があるからこの阻害率を補正する必要あることが判り⁴⁾、一般には添加實驗による補正を行へば常に正しい値を得ることを述べた。しかして動植物組織を天然のままではなく、種々の加工を加へる時、殊に砂糖を加へて加熱する處置が行はれる時には鹵性では容易に Reduktion を生じこのものの還元性は甚だ強く Ascorbin 酸と同様に藤田、海老原の比色法に於て Folin 試薬を還元し、また 2,6-Dichlorphenolindophenol をも還元せしめるから Indophenol 法に於ても關與を受ける⁵⁾ (この場合は Folin 試薬に對する影響の方が著しい)。また FeSO₄ によつても同様に兩法とも影響を受けるから (この場合は Indophenol 色素に對する影響の方が著しい。この影響は總 Vitamin C 測定の場合には除外される)、従つて加工に鐵を用ひる時には Ascorbin 酸と類似の反應を呈することも可能であらう。Glukoredukton の如き Reduktion ができた場合は Ascorbin 酸酸化酵素の作用を受けるから⁶⁾

1) 東京醫新. 3010, 1; 3011, 1, 1936; *Bioch. Z.* 290, 182, 192, 1937 (注意 誤植訂正 *Bioch. Z.* 291, 493, 1937).

2) 藤田、坂本: 東京醫新. 3072, 1, 1938; *Bioch. Z.* 297, 10, 1938.

3) 沼田: 東京醫新. 3165, 5, 1939; 日本醫學. 3226. 8, 1941.

4) 藤田、沼田: 日本農化, 16, 265, 1940.

5) 藤田、海老原: *Bioch. Z.* 290, 172, 1937; 290, 182, 1937.

酵素法によつても Ascorbin 酸との區別ができないが Glutathion, Cystein 等生体内に見出される多くの還元物質は實用上反應しないから

(これらは藤田, 海老原法にも反應しない)

非 Ascorbin 酸物質の影響の大部分は酵素法を行へば, これを除外することができる譯である。即ち加工品に於ては天然物と違ひ色々の誤源があり得る譯であつて Vitamin C の眞値を検討する必要のある場合には酵素法による殘餘還元物質の測定と, 還元阻害物質

による阻害率の補正とを行はねばならぬ。しかし Vitamin C は種々の處置によつて酸化分解を受け, 多くの加工食品中には Vitamin C は大抵破壊されて, 殆ど 0 に近いことを考へると⁷⁾, 多くの加工食品, 殊にその陳舊なるものでは Vitamin C は甚だ少いか, あるひは皆無に近いものとみて大體間違ひないであらう。

味噌, 醤油の類では藤田, 海老原の比色定量法では Vitamin C 以外の還元物質の影響があらはれ(色調の上からも C 以外の物質の影響が判る), その影響は Indophenol 法よりも著しい場合があるといふことを聞いたので⁸⁾, 我々も手に入つた數種の品について實驗を行つて見た。我々の行つたものはつぎの如くである⁹⁾。

- (1) 仙臺味噌, 黄褐色 (2) 配給味噌, 黒褐色

表 1

| 檢體 | Vitamin C 含量 (mg %) | |
|---------|---------------------|--------------|
| | 比色法 | Indophenol 法 |
| 醤油A (6) | 22; 21; 25; 26* | 22; 20; 21** |
| 醤油B (7) | 10; 8; 9*** | 19; 17**** |
| 醤油 (4) | 24 | 187 |
| 醤油 (5) | 18 | 28 |
| ソース (3) | 50 | 110 |
| 味噌 (1) | 4.4 | 18 |
| 味噌 (2) | 5.8 | 15 |

- * 稀釋倍數それぞれ 6, 66, 10, 20, 40 の場合の値。
 ** 稀釋倍數それぞれ 10, 20, 100 の場合の値。
 *** 稀釋倍數それぞれ 6, 66, 10, 20 の場合の値。
 **** 稀釋倍數それぞれ 20, 100 の場合の値。

6) 海老原: *J. Biochem.* 29, 199, 1939; 松川: *J. Biochem.* 32, 257, 1940.

7) 藤田, 本誌: 1, 10, 160.

8) 有山恒氏による(口頭及び書信)。

9) 現在の非常時局下にあつては, 製品の品質が戦前に比して著しく低下してゐると思はれる。

- (3) フタミソース (東京) 濃褐色 (6) 醤油A¹⁰ 濃褐色
 (4) サイタ醤油 (府中) 濃褐色 (7) 醤油B¹⁰ 濃褐色
 (5) 丸金醤油 (香川県小豆島) 稍濃褐色

比色法は藤田、海老原の方式¹⁾により測定し、添加実験より Vitamin C 値を求めた、Indophenol 法は醤油自身の着色のため通常の滴定法は困難であり、かつ測定の誤源を少なくするために Indophenol 比色法¹¹⁾によつた。つぎに測定例を示す。

検體：醤油 B (7)

藤田、海老原法による測定

醤油メタ磷酸溶液 (10倍稀釋, メタ磷酸終濃度 2%) 及びそれぞれ 6.9 mg % Ascorbin 酸液 (2% メタ磷酸中) または 2% メタ磷酸液の等容を混和→2.0 cc をとる→+ 磷酸鹽緩衝液 1.0 cc →+ 沃度醋酸液 0.5 cc →混和→40°, 5分→+ Folin 試薬 0.5 cc →40°, 10分→冷却→測定。

混合可検液中の Ascorbin 酸終濃度: 3.45 mg %

同液の醤油稀釋倍數: 20

E (S72; 5 mm) 値: Ascorbin 酸添加... 0.430, 不添加... 0.050, 差... 0.380.

原醤油中の V.C. 値 = $0.050 \cdot \frac{3.45}{0.380} \cdot 20 = 9.1 \text{ mg \%}$

同様の實驗を種々の稀釋倍數のものについて測定したが、その結果は 6.66 倍のもの 10.3 mg %, 10 倍のもの 8.1 mg % で大同小異であつた。

Indophenol 比色法による測定。

醤油メタ磷酸溶液 (10倍稀釋, メタ磷酸終濃度: 2%) 2.5 cc + 1.43 mg % Ascorbin 酸液 (2% メタ磷酸中) 1.0 cc + 2% メタ磷酸 1.5 cc (不添加實驗とは Ascorbin 酸液の代りに 2% メタ磷酸液を加へる) →+ 約 5 mg % Indophenol 水溶液 10.0 cc →15秒振盪→Amylacetat 5.0 cc →5秒振盪→遠心 (2分) →上層比色。

混合可検液中の Ascorbin 酸終濃度: 0.296 mg %

同液の醤油稀釋倍數: 20

E (S53, 5 mm): Ascorbin 酸添加... 0.245, 不添加... 0.345

E₀ = 0.660, E₀ - E: 添加... 0.415, 不添加... 0.315

差... 0.100.

原醤油中の V.C. 値 = $0.315 \cdot \frac{0.296}{0.100} \cdot 20 = 18.6 \text{ mg \%}$

同様の實驗を 100倍稀釋の液についても行つたが、結果は大同小異であつた。

10) 有山恒氏の惠與されたるもの、ここに氏の御厚意を深謝する。

11) 藤田、沼田: 日本醫學. 3224, 8, 1941.

同様にして比色法と Indophenol 法との比較を各種の醬油及び味噌類について行つた成績を表 1 に示す¹²⁾。

即ち我々の測定したものでは多くの場合比色法の値は Indophenol 法の値に比して明かに小であつた(醬油 A の場合だけは兩者の値は殆ど一致した)。

なほ沃度法を用ひても定量してみたが終點極めて不明確で, Jodat を用ひて滴定する時, 沃度薬粉の紫色が現はれた後も暫時放置すれば褪せし終點を定め難い。浸出液の褐色の強いもの程著しいやうに思はれた。

進んで Vitamin C の眞値の検討のため, 醬油 A 及び B について Ascorbin 酸酸化酵素を用ひて實驗したところ, つぎの成績を得た。

(實施) 醬油稀釋液 (1:5, メタ磷酸終濃度 2%) 1.0 cc + 6.9 mg % Ascorbin 酸 (2% メタ磷酸中) または 2% メタ磷酸 1.0 cc + 2n NaOH 適量¹³⁾ + 酵素液 0.2 cc → O₂, 5分 (酵素液を加へざるものは O₂ を通ぜず) → 2n HCl 適量 → 緩衝液... 以下比色法の方式に従ひ測定。

(結果) 數字は E (S₇₂; 5 mm) 値を示す

| 檢體 | 酵素を作用せしめず | | | 酵素を作用せしむ | | |
|-------------|-----------|-------|-------|----------|-------|---|
| | 添加 | 不添加 | 差 | 添加 | 不添加 | 差 |
| 醬油 A (1:10) | 0.460 | 0.165 | 0.295 | 0.100 | 0.100 | 0 |
| 醬油 B (1:10) | 0.355 | 0.080 | 0.275 | 0.035 | 0.035 | 0 |

$$\text{計算} \begin{cases} A \dots\dots \frac{6.9}{2} \cdot \frac{(0.165 - 0.100)}{0.295} \cdot 10 = 7.61 \text{ mg \%} \\ B \dots\dots \frac{6.9}{2} \cdot \frac{(0.080 - 0.035)}{0.275} \cdot 10 = 5.64 \text{ mg \%} \end{cases}$$

酵素法により消失するものが Ascorbin 酸のみとすれば A では檢出値の $\frac{7.6}{25} \cdot 100 = 30\%$, B では $\frac{5.6}{9} \cdot 100 = 62\%$ (Indophenol 法では $\frac{5.6}{18} \cdot 100 = 31\%$) が Vitamin C の眞値となる譯である。

いづれにせよ加工品の Vitamin C の測定は往々にして種々の困難を伴ひ, 酵素法によつても必ずしも悉くを Vitamin C の眞値と認めることは困難であると考へられる¹⁴⁾。

12) 比色法の場合は Folin 試薬添加後, いづれも濁濁した。遠心沈澱して上清を用ひ定量した。味噌の場合は遠心沈澱後も多少白濁してゐた。

13) 醬油 A の場合は 0.16 cc, B の場合は 0.18 cc。

14) Vitamin C の眞値は酵素法により求めた値より小なることはあり得るが, より大なることはない。

要約 醤油及び味噌の Vitamin C を定量する時、我々の入手した材料では藤田、海老原の比色法による測定値は多くの場合 Indophenol 法による測定値よりも著しく小さい値を示したが、それでも酵素法によつて検討するに比色法の値のかなりの部分は非 Ascorbin 酸物質に基くものであることが判つた。

(受附：昭和17年5月23日)