

ビタミンC (還元型) の新定量法*

“キシレン—グリセリン法”

藤井 実・立川 英毅

A New Method of Determination of L-Ascorbic Acid
“Xylene-Glycerine Method”

By

Minoru FUJII and Eiki TATSUKAWA

We have investigated a new volumetric method so-called “xylene-glycerine method”; by which L-ascorbic acid (V.C) is determined accurately.

Procedure: Acidify the sample to pH 3—4 and add with buffer solution (Mc ILVAINE's phosphate buffer) and then add indophenol solution to excess more than corresponding to V.C in sample.

Then shake the mixture for several seconds, and remaining indophenol remove to xylene layer. Next shake again the xylene layer with phosphate buffer solution (pH 8) containing 15% of glycerine, and separate the water layer and repeat washing of the sample four times. By this treatment indophenol remove again from the xylene layer to the water layer. We then acidify the solution containing indophenol with metaphosphoric acid to pH 3—4 and titrate with standard solution of V.C.

Then V.C in sample can be determined by following equation.

$$\text{V.C (ml) in sample} = a - \frac{b}{0.94}$$

a : ml of standard solution of V.C corresponding to initial indophenol solution.

$\frac{b}{0.94}$: ml of standard solution of V.C corresponding to remaining indophenol solution after reaction.

0.94 : Percentage of recovery for indophenol in case of using xylene.

結 論

2,6-dichlorophenol-indophenol を使用して vitamin C (V.C) を直接滴定¹⁾する場合、試料の着色

※ 水産大学校研究業績 第416号, 1964年1月21日 受理
Contribution from the Shimonoseki University of Fisheries, No. 416
Received Jan. 21, 1964

程度が非常に影響をあたえる。しかるに大多数の V. C 含有試料は、天然または人工的に黄、赤色に着色されているので、その反応終末点を決定するのは非常に困難である。そこで、V. C 含有試料に過剰の indophenol を添加して反応させ、余分の indophenol をキシレンに移行させて、紅色を呈したキシレン層の吸光度から試料の V. C を求める方法²⁾が発表されているが、これには次のような障害が存在することを知った。すなわち試料中の V. C と反応して無色となった還元型-indophenol もキシレンに移行する結果、キシレン層中の未反応の indophenol (酸化型) がたとえ同量であっても、還元型-indophenol の量の多少によりその吸光度 (または透過率) は影響を受けるのである。したがって、結晶 V. C を使用して作製した標準曲線を利用した場合、誤差を生ずることは明らかである。以上の事実から、私どもは一度生じた還元型-indophenol を再び酸化させないような方法を考案した。すなわちキシレン中に溶存する酸化型及び還元型-indophenol を、グリセリン含有弱アルカリ性水溶液を使用することによって、その割合を変化させることなく水溶液部に移行させることに成功した。そしてこれを微酸性溶液とした後、V. C 標準溶液で滴定し、所定の算出式に従って計算し、ほとんど 100% 近い測定値を得ることが出来た。

実 験 の 部

1) 試 薬

2,6-dichlorophenol-indophenol (indophenol と略す) 溶液……6.6 mg を水に溶解し、さらに濾過して透明な液を 100 ml とする。

vitamin C (V. C と略す) 標準溶液……結晶 V. C 2.5 mg を水に溶解して 100 ml としたものを作り、必要に応じて種々に希釈して使用した。

水酸化ナトリウム溶液……1 N 溶液を作製し、これを順次希釈して 5×10^{-4} N 溶液まで作った。

グリセリン水溶液……40 g/dl 水溶液を調製し、これを順次希釈して使用した。

メタリン酸溶液……5 M 溶液を調製した。

緩衝溶液……McILVAINE 及び CLARK & LUBS の緩衝溶液を使用した。

2) 還元型-indophenol の含量が透過率に及ぼす影響

試料中の V. C と反応する indophenol は還元型となるが、これがキシレン層に移行し、しかも無色である還元型-indophenol がその量の多少に応じてそれぞれ透過率に影響をあたえる事実を知った。すなわち試料として indophenol (酸化型) 1, 2, … 5 ml をそれぞれ 300 ml 容分液漏斗に入れ、これに pH 3 の緩衝溶液 10 ml を添加した後、下表のようにそれぞれ V. C 溶液を添加して各試料中になお酸化型-indophenol が 1 ml 宛残存するようにする。(この実験に使用した indophenol 1 ml = V. C 1 ml になるように調製した)。そして 2~3 秒間振盪した後、それぞれに 10 ml のキシレンを添加し 30 秒間振盪攪拌を行なうとキシレン層は紅色を呈するが、これと反対に水溶液部の紅色は消失して無色となり、indophenol がキシレン層に移行したことを示す。水溶液部をすべてキシレン層を取り出し、試料 No. 1 の紅色を光電比色計の透過率目盛 50% に合わせて他試料の紅色をこれと比較した。表 1 はその結果を示す。

Table 1. Influence of reduced indophenol on the transmittancy.

Indophenol (oxyd.-form) (ml)	1	2	3	4	5
V. C soln. (ml)	—	1	2	3	4
Transmittancy (%)	50	49.4	49.1	49.0	48.2

Indophenol soln. 1 ml = V. C soln. 1 ml

上表の結果から明らかなように、試料中の酸化型-indophenol はいづれも 1 ml であるのにも拘らず、還元型-indophenol が増加するにつれて透過率は順次減少をする。すなわち還元型も酸化型と同様にキシレンに溶解してその透過率に影響をあたえることを示している。従って酸化型-indophenol を使用して作製した標準由線を基準にして V.C を測定するには問題があるといえる。

3) キシレンの各波長に対する透過率

各波長に対するキシレンの透過率を測定して表2のような結果を得た。

Table 2. Transmittancy of xylene for each wave length.

Wave lengths	(m μ)	420	517	530	562	575	610
Transmittancy	(%)	74.0	78.4	44.5	39.8	31.0	—

上表の結果は波長 517 m μ のとき、キシレンは光を最もよく透すことを示す。すなわちこの波長を使用すれば、試料に対しキシレン自体による影響をあたえることが最も少ないということであるから、実験にはすべてこの波長を使用した。

4) Indophenol のキシレン (10 ml) に対する溶解及びその限界

indophenol (特に区別しない場合は酸化型を意味する) 溶液 1, 2, ……11 ml に pH 3 の緩衝溶液 10 ml をそれぞれ添加した後キシレンに indophenol を移行させる操作を常法の通りに行ない、無処理のキシレンを対照としてこれを光電比色計の透過率目盛 75% に合わせて、これと他の試料を比較した結果を表3で示す。また、これを図示すると図1のようになる。

Table 3. Removal of indophenol to xylene.

Indophenol soln.	(ml)	1	3	5	7	9	11	0 (Control)
Xylene soln.	(ml)	10	10	10	10	10	10	10
Transmittancy	(%)	64.3	49.9	36.7	28.3	22.6	18.7	75.0

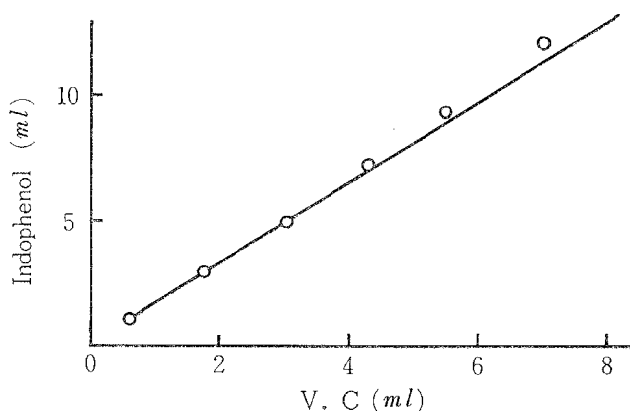


Fig. 1. Dissolving of indophenol into xylene.

表3, 図1で明らかなように、indophenol 1~7 ml まではその透過率は比例の関係にあるように思える。indophenol 量が9, 11 ml になると抽出後の水溶液部にもなお紅色が残存していることからキシレン層への移行が不十分であることが一目でわかる。

次に indophenol 溶液 1, 3, ……12 ml の各々に pH 3 の緩衝溶液 10 ml を添加した後, さらにキシレンを 10 ml 注加し indophenol をキシレンに移行させる操作を上述のようにする。水溶液部を除去し, さらに蒸留水で 2~3 回 (毎回 10~20 ml) キシレン層を振盪洗滌した後, これに 10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液 5 ml, 蒸留水 5 ml を加えて 20 秒間振盪抽出を行なうと, indophenol はアルカリ性水溶液部へ移行し青色を呈する。水溶液部を 100 ml 容 三角フラスコに分ち取り, さらにキシレン層をアルカリ洗滌すること 3 回, 全洗滌液を合してこれに 10^{-1} M メタ磷酸溶液を少量 (約 0.45 ml) 加えて微酸性 (pH 3~4) とし, V.C 標準溶液で滴定した。

その結果を表 4 及び図 2 に示す。

Table 4. Titration value by V.C solution corresponding to indophenol dissolved in xylene.

Indophenol soln. (ml)	1	3	5	7	9	12
Titration value by V.C soln. (ml)	0.453	1.734	3.002	4.214	5.446	7.229

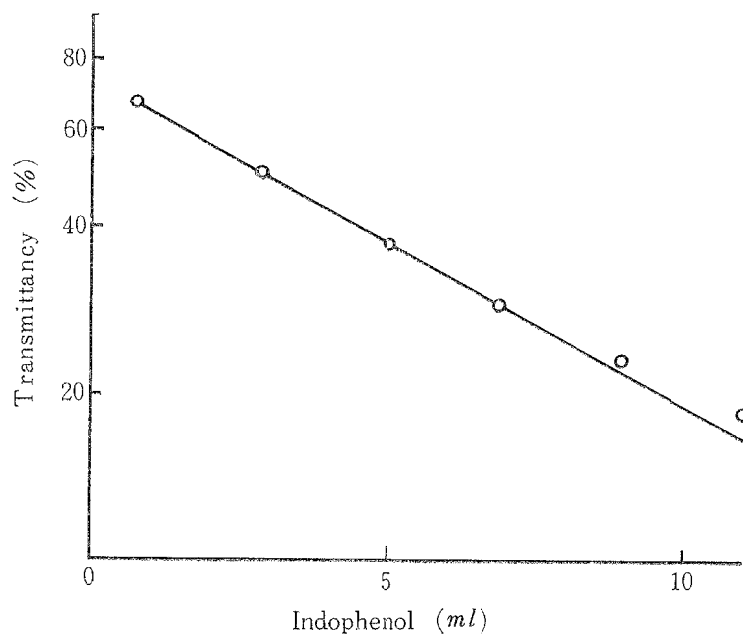


Fig. 2. Titration value by V.C solution corresponding to indophenol dissolved in xylene.

表 4 及び図 2 で指摘されるように, indophenol 1~5 ml まではキシレン 10 ml に対し定量的に移行するが, indophenol 7 ml では V.C のやや滴定不足が示され, 9 及び 12 ml では明らかに V.C の滴定不足を示している。indophenol 12 ml 使用の場合, キシレン処理後においてもその水溶液部はなお紅色を呈して indophenol の残存を示し, その移行不十分なことが肉眼的にも明瞭に認められた。従って上述の諸実験結果からキシレン 10 ml に対する indophenol の溶解能は 5 ml までが完全であると考えられる。

5) Indophenol 溶液の pH とキシレンへの移行率の関係

indophenol のキシレンへの移行に際しての反応溶液の pH の影響を検討した。pH 1 及び 2 (以上は CLARK & LUBS 緩衝溶液), 3, 4, 5 及び 6 (以上は McILVAINE 緩衝溶液) をそれぞれ 10 ml 宛分液漏斗に入れ, これに indophenol 5 ml を加えた後, キシレンを正確に 10 ml 添加し, 常法の通り処理して

紅色になったキシレン層の比色を行なった。この場合 pH 3 の試料の色調を透過率目盛 50 % に合わせてこれと他を比較した。

その結果を表5に示す。

Table 5. Influence of pH on the transmittancy.

pH		1	2	3	4	5	6
Indophenol soln. (ml)		5	5	5	5	5	5
Transmittancy (%)		75.0	51.9	50.0	50.1	52.2	54.4

次にメタリン酸溶液を適当に稀釈して pH 1～5 の溶液を調製し、上述と全く同様に処理して表6の結果を得た。但し表6に於ける pH はメタリン酸 10 ml に indophenol 5 ml を混合した場合の pH を示す。

Table 6. Influence of pH on the transmittancy.

pH		1.60	2.20	3.19	4.44	5.15
Indophenol soln. (ml)		5	5	5	5	5
Transmittancy (%)		69.1	52.5	50.0	50.0	51.0

上記の2つの表の結果から次のことが言える。すなわち pH が 2, 1 と低くなるにつれて紅色はうすれる。また pH が 5, 6 となった場合も pH 3～4 の場合の紅色に比べて色調がうすい。すなわち pH 3～4 の場合が最もよくキシレンへ移行していることを示すものである。そしてキシレンへ移行させた後の水溶液部は肉眼的にも全く無色である。

6) Indophenol と V.C の反応に及ぼす pH の影響

ビーカーに表7に示すような pH の緩衝溶液をそれぞれ 10 ml 宛入れ、これに indophenol 5 ml を加えた後、V.C 標準溶液で滴定を行なった。

Table 7. Influence of pH on the titration value by V.C solution.

pH		1.8	3	5	6
Titration value by V.C soln. (ml)		4.194	4.233	4.160	4.162

表7の結果も pH 3 の場合の滴定値が pH 1.8, 5 及び 6 の場合のそれよりも多く、表5及び6の結果と一致した。表5, 6 及び7の結果から次の事が推定される。すなわち pH が3以下になると滴定値が減少する理由については、pH 3 以下では indophenol の構造の一部に変化を生じ、V.C と反応しなくなるのであろう。従ってキシレン層より移行処理を行なった後も低下した滴定値を示す結果となるのであろう。また、pH 5 以上の高い値の場合、良い結果を示さないのは反応液の酸性度が低いので、十分な反応をなし得ないためであらう。また、移行率の良否はキシレンそれ自体の性質とも関係するもののようで、pH 3～4 が最もよく、また、indophenol も最もよく安定するということが出来よう。

7) Indophenol-キシレン層より indophenol の溶出について

100 ml 容三角フラスコに indophenol 5 ml をとり、これに表8で示されるような各種濃度の水酸化ナトリウム溶液 40 ml を添加し、1分間振盪した後、10⁻¹M メタリン酸溶液で微酸性 (pH 3～4) とし V.C 標準溶液で滴定した。その結果は表8の通りである。対照は水酸化ナトリウム溶液の代わりに蒸留水を 40 ml

添加したものである。

Table 8. Influence of various concentration of sodium hydroxide solution on the titration value by V. C solution.

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Indophenol soln. (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5
Concentration of NaOH soln. (N)	5×10^{-4}	10^{-3}	2×10^{-3}	4×10^{-3}	10^{-2}	2×10^{-2}	5×10^{-2}	(H ₂ O)
Titration value by V. C soln. (ml)	5.055	5.059	5.018	5.030	4.967	4.940	4.926	5.040

表8の結果は抽出水酸化ナトリウム溶液の濃度が 10^{-3} Nまでは対照値(試料No. 8)に比較して変化がないが、アルカリ濃度がそれ以上増加するにつれて次第にその影響が現われてくるようで、 10^{-2} N濃度以上になると明らかに悪影響をあたえることを示している。その原因について考えるに、アルカリの一定濃度以上に於ては、indophenolの構造にある不可逆的变化を生じ、これは次にメタリン酸でpHを3~4にした場合にも元に戻ることがないのであろうと考える。

さてキシレン中に溶解するindophenolは水酸化ナトリウム溶液で振盪抽出を行なうことによりアルカリ水溶液中に移行させ得ることを予備実験によって知った。そこでindophenol 5 mlを10 mlのキシレンに移行させたものを試料とし、これに各種濃度の水酸化ナトリウム溶液を加えて抽出を行ない、酸化生にした後V. C標準溶液で滴定した。表9にその結果を示す。

Table 9. Influence of concentration of sodium hydroxide solution on the extraction of indophenol dissolved in xylene.

Sample No.	1	1	2	3	4
Indophenol soln. (ml)	5	5	5	5	5
Concentration of NaOH soln. (N)	5×10^{-4}	10^{-3}	2.5×10^{-3}	5×10^{-3}	5×10^{-3}
Titration value by V. C soln. (ml)	3.175	3.090	3.043	3.019	3.019

表9の結果は抽出水酸化ナトリウム溶液の濃度が低いほどよい滴定値を得ることを示している。

そして、試料No. 1では理論値(indophenol 5 ml = V. C 3.329 ml)に対し95.4%の回収率であった。そこで、さらに 5×10^{-4} N水酸化ナトリウム溶液を稀釈してpH 9及び8の溶液を作製し、同様に抽出実験を行なったところ、予期に反してpH 9の場合のV. C標準溶液の滴定値は1.102 mlとなり、pH 8の場合はさらに悪く0.703 mlであった。この原因としてindophenol-キシレン層が酸性であるので両抽出液とも処理の際そのpHがさらに低下しそのため抽出能力を失ったものと考えられる。よってpH 8の緩衝溶液(McILVAINE)を使用してその回収率を求めたところ、表10のような結果を得た。

Table 10. Recovery of indophenol by using sodium hydroxide solution (5×10^{-4} N) and phosphate buffer solution (pH 8) as dissolving agents.

Extractive soln.	NaOH soln. (5×10^{-4} N)	Phosphate buffer soln. (pH 8)
Indophenol soln. (ml)	3	3
Titration value by V. C soln. (ml)	2.196	2.168
Recovery of indophenol (%)	95.2	94.1

すなわち pH 8 の緩衝溶液を使用した場合の回収率は 94.1 % で、これを $5 \times 10^{-4}N$ 水酸化ナトリウム溶液の回収率 95.2 % に比べればやや劣ったが、後に述べる理由により pH 8 の緩衝溶液を今後使用することにする。

なお、さらに pH 9 及び 10 の緩衝溶液 (CLARK & LUBS) を使用した場合、pH 9 : 0.241 ml, pH 10 : 1.978 ml のような滴定値を示した。このように悪い結果を生じた理由については今のところわからない。

8) 還元型-indophenol の酸化型-indophenol への再酸化に対するグリセリンの防止効果

試料中の V.C に対し過剰の indophenol を添加すると V.C に相当する indophenol は還元され、所謂還元型となるが、キシレンで振盪抽出を行なうと、酸化型-indophenol のみならず還元型もキシレン層へ移行してくることは既に表 1 の結果より明らかである。そして、さらに水酸化ナトリウム溶液で抽出を行なうと酸化型はアルカリ性水溶液へ移行するが、還元型の一部もアルカリ性水溶液との接触反応により酸化されて酸化型となり、アルカリ性水溶液に移行してくる。このことは表 11 より明らかである。

Table 11. Change of reduced indophenol into oxidized indophenol.

Indophenol soln.	(ml)	5	5
V.C soln.	(ml)	5.5	—
Color of soln. extracted with NaOH soln. ($5 \times 10^{-4}N$)		Blue	Blue
Titration value by V.C soln.	(ml)	2.480	4.550

すなわち indophenol に十分過剰の V.C を添加して還元型となした後 $5 \times 10^{-4}N$ 水酸化ナトリウム溶液で処理するとアルカリ性水溶液は青色を呈する。そしてこれを再び酸性にした後、V.C 標準溶液で滴定すると、上表で示されるように相当量の酸化型-indophenol の生成がみられるのである。そこで、還元型-indophenol から酸化型-indophenol への移行を防止するためにグリセリンを使用した。

しかし先づ予備実験として、グリセリンが indophenol と V.C との反応にどのような影響を及ぼすかを検討した。すなわちグリセリンの各種濃度溶液 20 ml 及び $10^{-3}N$ 水酸化ナトリウム溶液 20 ml をビーカーにとり、これに indophenol 5 ml を加えて 1 分間振盪した後、 $10^{-1}M$ メタリン酸溶液で微酸性 (pH 3 ~ 4) として V.C 標準溶液で滴定した。その結果を表 12 に示す。

Table 12. Influence of glycerine on the titration of indophenol.

Sample No.	1	2	3	4	5	6
Indophenol soln. (ml)	5	5	5	5	5	5
Concentration of glycerine (g/dl)	0	4	6	10	15	20
Titration value by V.C soln. (ml)	4.817	4.913	4.854	4.855	4.822	4.826

表 12 の結果により、グリセリンの添加はなんら悪影響を及ぼさないばかりでなく、むしろ無添加の試料 (試料 No. 1) に比べて添加試料はいづれも良い値を示し、無添加の場合、理論値に対する実測値は 97 % であったのに比べて、添加した場合の実測値はグリセリンの濃度 20 % までいづれも 99 % 以上の値を示した。

次にグリセリンの添加により、キシレンよりの indophenol の抽出が阻害を受けるかどうかについて検討した。すなわち indophenol を溶解したキシレン層を試料とし、これからグリセリン-水酸化ナトリウム水溶液によって indophenol を抽出し V.C 滴定を行なった。また、抽出後の各試料のキシレン層の透過率を比較した。表 13 はその結果を示す。

Table 13. Influence of glycerine on the extraction of indophenol from xylene.

Indophenol soln. (ml)	5	5	5	5	5
Concentration of glycerine (g/dl)	0	6	10	15	20
Titration value by V.C soln. (ml)	4.335	4.346	4.408	4.372	4.369
Relative value of transmittance of empty xylene (%)	40.4	40.0	39.5	39.8	40.0

表 13 の結果からグリセリンの添加により無添加の場合よりよい滴定値を得ることが判明した。また、グリセリン(20g/dl)-水酸化ナトリウム水溶液を使用して抽出した後のキシレン層を光電比色計の透過率目盛 40% に合わせ、他のグリセリン濃度溶液を使用して抽出した後のキシレン層と比較した場合、ほとんど同一値を得た。この事実により抽出は完全に行なわれていることが判明した。次に indophenol に充分過剰の V.C を添加して、そのすべてを還元型-indophenol とし、これをキシレン層に移行させたものを試料として、これに各種濃度のグリセリン-水酸化ナトリウム水溶液(水酸化ナトリウムの濃度： $5 \times 10^{-4}N$)を添加し、還元型-indophenol の再酸化の有無を検討した。

表 14 はその結果を示す。

Table 14. Preventive effect of glycerine against oxidation of indophenol (reduced form).

(concentration of NaOH soln. $5 \times 10^{-4}N$)

Indophenol soln. (reduced form) (ml)	3	3	3	3	3
Concentration of glycerine (g/dl)	0	6	10	15	20
Titration value by V.C soln. (ml)	0.379	0.365	0.140	0	0

上表の結果から還元型-indophenol 3 ml に対し抽出液のグリセリン濃度 6 g/dl ではかなりの量の還元型-indophenol が再酸化され、10 g/dl の場合にもやはり少量が再酸化される。而して 15 g/dl 濃度に於て始めて再酸化現象を完全に阻止し得た。そこで濃度を異にする indophenol にそれぞれ当量の V.C を添加して還元型とし、これをキシレン層に移行させた後、上記抽出液(グリセリン 15 g/dl; 水酸化ナトリウム $5 \times 10^{-4}N$)で抽出処理を行なった後、V.C 標準溶液で滴定を行ない、表 15 のような結果を得た。

Table 15. Preventive effect of sodium hydroxide solution ($5 \times 10^{-4}N$) on oxidation of indophenol (reduced form), that quantity to same for that of oxidized form, in conditions of existence of indophenol (oxidized form).

Indophenol soln. (ml)	1	2	3	4	5
V.C soln. (ml)	1	2	3	4	5
Color of xylene containing indophenol	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless
Color of NaOH soln. using as extractive soln.	Slightly blue	Clearly blue	Clearly blue	Thickly blue	Thickly blue
Titration value by V.C soln. (ml)	0.128	0.446	0.625	0.895	0.995

Indophenol soln. 3 ml = V.C soln. 3 ml

上表の結果を述べると、還元型-indophenol を溶解したキシレン層の色は無色であったので、indophenol は完全に還元型であることがわかる。次にこのキシレン層に indophenol 抽出液を加えて抽出処理を行なうと、還元型-indophenol の量に応じて順次淡青色から濃青色へ呈色した。これを V.C 標準溶液で滴定し

たところ、表に示すようにそれぞれ酸化型-indophenol の存在を示した。このことは試料中の V.C と反応して生じた還元型-indophenol が $5 \times 10^{-4}N$ 水酸化ナトリウム溶液処理により、再酸化されることを示している。従って水酸化ナトリウム溶液はこの実験目的には使用出来ない。よって表 10 で示されたように回収率は水酸化ナトリウム溶液にやや劣るが、再酸化を起し難い pH 8 の磷酸緩衝溶液 (McILVAINE) を抽出溶液として使用し、その他は表 15 と全く同様な条件で実験を行ない、表 16 のような結果を得た。

Table 16. Preventive effect of phosphate buffer solution on oxidation of indophenol (reduced form), that quantity to same for that of oxidized form, in conditions of existence of indophenol (oxidized form).

Indophenol soln. (ml)	1	2	3	4	5
V.C soln. (ml)	1	2	3	4	5
Color of xylene containing indophenol	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless	Colorless
Color of phosphate buffer soln. using as extractive soln.	Colorless	Colorless	Colorless	Slightly blue	Clearly blue
Titration value by V.C soln. (ml)	0	0	0	0.115	0.347

Indophenol soln. 3 ml = V.C soln. 3 ml

上表の結果に依れば還元型-indophenol 5 ml 迄を含むキシレン層を pH 8 の磷酸緩衝溶液 (グリセリンの濃度 15 g/dl) で抽出した場合、indophenol 3 ml 迄は完全にその目的を達していることを知った。indophenol が 4 ~ 5 ml になると僅かながら再酸化現象を生じたので、さらにグリセリンの濃度を 20 g/dl としてみたが、indophenol 4 ml では V.C 0.115 ml, indophenol 5 ml では V.C 0.192 ml の滴定値を示し、再酸化を阻止し得なかった。

9) 新定量法の実施方法及び実験例

以上の諸実験結果から V.C (還元型) の定量法を次のように決定した。300 ml 容分液漏斗に試料を入れ、これに $10^{-1}M$ メタ磷酸溶液 1 ~ 2 ml 及び pH 3 ~ 4 の緩衝溶液 (McILVAINE) 10 ml を添加し、pH を 3 ~ 4 に規正した後、indophenol 3 ml (6.6 mg/dl) を加え、2 ~ 3 秒間振盪攪拌した後、これにキシレン 10 ml を注加して 30 秒間振盪抽出する。過剰の indophenol はキシレン層に移行して紅色を呈する。水溶液部を除去し蒸留水で 3 回洗滌後、pH 8 の緩衝溶液 (McILVAINE) 5 ml, 30 g/dl グリセリン溶液 5 ml を添加し 20 秒間振盪抽出する。水溶液部 (青色) を分離し、さらにキシレン層に pH 8 の緩衝溶液 (水で 5 倍に希釈したもの) 5 ml, 30 g/dl グリセリン溶液 5 ml を添加し振盪抽出を行なう。この処理を 3 回

Table 17. Example of determination of V.C using this new method.

V.C soln. (sample) (ml)	0	0.5	1	1.5	2
Indopheonl soln. (ml)	3	3	3	3	3
Titration value by V.C soln. ... (b) (ml)	2.201	1.687	1.212	0.778	0.306
V.C soln. corresponding to excess indophenol ... $\left(\frac{b}{0.94}\right)$ (ml)	2.341	1.795	1.289	0.827	0.327
V.C in sample ... $\left(a - \frac{b}{0.94}\right)$ (ml)	-0.015	0.531	1.037	1.499	1.999
Experimental recovery (%)		106.2	103.7	99.7	99.95

a...Blank value of V.C soln. to indophenol soln. 3 ml.

Indophenol soln. 3 ml = V.C soln. 2.326 ml

行ない、分離した水溶液部を合併し、5 Mメタリン酸溶液で pH 3~4 となし (5 Mメタリン酸溶液 0.4~0.5 ml を要した)、V.C 標準溶液で滴定をする。この滴定値を b ml とし、indophenol 3 ml を直接に V.C 標準溶液で滴定した値を a ml とすれば、

求める試料中の V.C (ml) = $a - b / 0.94$ であたえられる。

なお、この定量法に於ける測定限界は試料中の V.C が約 66% 迄である。

次に実験の数例を示す。V.C 溶液 0.5, 1, 1.5 及び 2 ml を試料として上述の方法に従って $a - b / 0.94$ の値を求めたところ、表 17 のような結果を得た。

上表の結果より明らかなように、V.C 溶液 0.5 ml : 106.2%, 1 ml : 103.7%, 1.5 ml : 99.7%, 2 ml : 99.95% の測定結果を得た。これらの実験結果により新定量法が充分使用価値を有するものと思う。

なお、酸化型 V.C を測定する場合には予め還元処理を施した後、同測定法を実施すればよい。また、試料中に V.C 以外で indophenol と反応する物質、例えば亜硫酸塩などを含む時は予めそれ等の物質を除去する方法を施した後、この方法を実施すればよい。実際にそのように行なって正確な測定値を得ることが出来た。

要 約

この新定量法は V.C (還元型) 含有試料に過剰の indophenol を添加し、V.C と反応せずに残った余分の indophenol をキシレン層に移行させた後、これにグリセリンを含有する pH 8 の緩衝溶液 (Mc ILVAINE) を加えて、酸化型と同時にキシレン層に移行している一部の還元型-indophenol の再酸化を防止しながら振盪抽出を行ない、これらを再び水溶液部に移行させ、V.C 標準溶液で滴定し試料中の V.C を算出する方法である。

この論文の大要は昭和37年度日本水産学会秋期大会に於て発表した。

文 献

- 1) 東大農芸化学教室, 1960: 実験農芸化学 上巻, 朝倉書店.
- 2) 平岡栄一, 1955: ビタミン, 8, 137.