

ノート

茶の L-アスコルビン酸定量のための修正インドフェノール滴定法

矢ヶ崎 国 秀, 加 藤 時 信*

Modified Indophenol Titration Method
for the Determination of (L)-Ascorbic Acid in Teas

Kunihide YAGASAKI and Tokinobu KATO*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

Modified indophenol titration method was investigated for applying to the determination of (L)-ascorbic acid in teas.

The disturbance to the judgement of the end point of titration by the coloring materials in the extracted solution from teas could be removed by pretreatment of the extracted solution with hide powder without any influence to the titration.

In case when (L)-ascorbic acid content was very small in the sample, we could finish titration within desirable titer and time by using dilute indophenol solution and by adding a small amount of standard (L)-ascorbic acid.

It was found that this modified method could be applied to the determination of (L)-ascorbic acid in green tea, semi-fermented tea and also in black tea.

— Received June 11.1984 —

1 緒 言

茶が輸入される場合、それが半発酵茶であるウーロン茶又はパオチョン茶であれば物品税が課され、その他の緑茶、紅茶等には課されない。したがって税関においては半発酵茶か、その他の茶かの鑑別が必要となり、分析により判定することが多い。半発酵茶は発酵を途中で止めた茶であるので、発酵の程度を知ることが物品税課税の可否判定上重要なこととなる。現在、税関分析においては、外観・風味等の官能検査のほか、L-アスコルビン酸、カロチノイド色素等の客観的な量的関係から総合判断している。中でも、茶の L-アスコルビン酸量は発酵の過程で顕著に変化するため、発酵の程度を知る上での

有力な情報の一つである。

L-アスコルビン酸の定量法として、インドフェノール滴定法^{1) 2)}、インドフェノール・キシレン法³⁾、酵素法⁴⁾などがある。インドフェノール滴定法は簡便であり、日本薬局方⁵⁾にも採用されているなど広く用いられている。この方法により茶の L-アスコルビン酸を定量するには、試料溶液が着色していること及び L-アスコルビン酸含有量が少ないことにより、滴定の終点の判定が大変困難であるという欠点がある。したがって、本報では、インドフェノール滴定法を茶の L-アスコルビン酸定量に用いるため、これらの欠点を修正する目的で 2, 3 検討したので報告する。

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

2 実験

2.1 試薬及び試料

(1) メタりん酸・酢酸試薬

日本薬局方記載の方法によった。

(2) インドフェノール溶液 (2, 6-ジクロルフェノールインドフェノールナトリウム溶液)

日本薬局方記載の方法により調製したものを四倍希釈して用いた。

(3) 標準 L-アスコルビン酸原液

シリカゲルを入れたデシケータ内で一昼夜乾燥した L-アスコルビン酸結晶 10mg を精ひょうし、メタりん酸・酢酸試液に溶解し 100ml にしたものを。

(4) L-アスコルビン酸標準液

標準 L-アスコルビン酸原液 10ml をメタりん酸・酢酸試液で 50ml にしたものを。

(5) 皮粉

タンニン定量用のもの (シグマ社製)

(6) 試料

市販の緑茶、鉄観音茶及び紅茶を使用した。

2.2 操作

2.2.1 試料の調製

試料を乳ばちで摩砕後、0.5g を精ひょうし、メタりん酸・酢酸試液約 40ml を加え 20 分間振とうする。振とう後、メタりん酸・酢酸試液で 50ml に定容し、ろ過する。ろ液の全部に着色物質を除去する目的で皮粉を 0.6~0.8g を加え、更に 30 分間振とうし、再びろ過する。

鉄観音茶及び紅茶の場合は、L-アスコルビン酸含有量が非常に少ないので、ろ液 25ml に標準 L-アスコルビン酸原液 10ml を加え、メタりん酸・酢酸試液で 50ml に定容したものを試料溶液とした。緑茶は、ろ液をそのまま試料溶液とした。

2.2.2 定量法

インドフェノール溶液 5ml を三角フラスコにとり、試料溶液を滴下し、紅色が消失したところを endpoint とし滴定量を続む。滴定は 1.5~2 分間で終るよ

うにする。L-アスコルビン酸標準液についても同様に滴定する。

L-アスコルビン酸含有量は次式により求める。

[鉄観音茶・紅茶]

$$\text{L-アスコルビン酸} = \frac{A \times (M - N)}{N} \times \frac{50}{25} \times 50 \times \frac{100}{S} \quad (\text{mg } \%)$$

[緑茶]

$$\text{L-アスコルビン酸} = \frac{A \times M}{N} \times 50 \times \frac{100}{S} \quad (\text{mg } \%)$$

A: L-アスコルビン酸標準液の濃度

(mg/ml)

M: インドフェノール溶液 5ml に対する L-アスコルビン酸標準液の滴定量(ml)

N: インドフェノール溶液 5ml に対する試料溶液の滴定量(ml)

S: 試料採取量(g)

3 結果及び考察

3.1 皮粉処理による着色物質の除去

茶の抽出液の色はタンニンが主要な役割を果たしている。茶タンニンはカテキンが主であり、発酵茶ではカテキンの二倍体であるテアフラビン、更に高重合度のテアルビジンが赤色系の色素となっている⁵⁾。このような着色物質がインドフェノール滴定法の終点の判定を妨害する最大の原因となっていると考えられたので、タンニン系物質を吸着する性質を持つ皮粉により、着色物質の除去を試みた。

皮粉処理前の抽出液の色は、緑茶が黄緑色、鉄観音茶が少し濃いめのこはく色、紅茶は濃紅色であったが、処理後は緑茶がほとんど無色、鉄観音茶が極薄黄色、紅茶は淡黄色となり、滴定時におけるインドフェノールの変色の判別 (滴定終点の判定) を妨害しない程度までに脱色することができた。また、この脱色過程が、L-アスコルビン酸の回収率及び実験の精度に影響を与えるかどうかについて検討を行った。

Table 1 は L-アスコルビン酸標準液を皮粉処理したときの L-アスコルビン酸の回収率を示したものである。Table 1 で明らかなように、L-アスコ

ノート 茶の L-アスコルビン酸定量のための修正インドフェノール滴定法

Table 1 Recovery of (L)-ascorbic acid in the solution pretreated with hide powder

No.	Added (mg%)	Determined (mg%)	Recovery (%)
1	2.18	2.183	100.1
2	2.18	2.177	99.9
3	2.18	2.186	100.3
4	2.18	2.180	100.0
5	2.18	2.177	99.9
Average	2.18	2.181	100.1
St. Dev.*	—	0.0035	—
C.V.**	—	0.160	—

*: Standard deviation

**: Coefficient of variation

ルビン酸の回収率はほぼ 100%であり、皮粉処理による損失は全くなく、良好な結果が得られることが判明した。

3.2 L-アスコルビン酸の添加効果

滴定法による L-アスコルビン酸の定量は、妨害物質の影響を最小限に抑えるため試料溶液を滴下し、滴定時間を 1.5~2 分間と制限している²⁾。

鉄観音茶及び紅茶のように含有する L-アスコルビン酸が非常に少ないものについては、滴定量が多くなるとともに時間も多く費やすことになるので、滴定量が 5~8ml の範囲内になるよう、一定量の L-アスコルビン酸を添加して滴定する方法について検討した。

2.2.1 に記載した方法で標準 L-アスコルビン酸原液を添加して滴定することにより、終点は明らかに判定でき、滴定に要する時間も制限内に納めることができた。

緑茶には比較的多量の L-アスコルビン酸が存在するので、標準原液を添加する必要がなかった。

3.3 修正インドフェノール滴定法

3.1 及び 3.2 の検討結果から、茶の L-アスコルビン酸定量法としてインドフェノール滴定法を

Table 2 Determination of (L)-ascorbic acid in teas by modified indophenol titration method

No.	Green tea (mg%)	Pouchong tea (Tetsukannon) (mg%)	Black tea (mg%)
1	250.9	41.9	3.4
2	250.8	42.8	2.2
3	248.1	39.2	1.7
4	246.4	39.9	2.3
5	243.8	39.8	2.3
Average	248.0	40.7	2.4
St. Dev.*	2.69	1.38	0.56
C.V.**	1.08	3.40	23.53

*: Standard deviation

**: Coefficient of variation

適用する場合、次の修正を加えることが望ましいと判明した。

- (1) 茶のメタリん酸・酢酸抽出液の脱色に皮粉を用いる。
- (2) L-アスコルビン酸含有量の少ない半発酵茶及び紅茶の抽出液には、一定量の L-アスコルビン酸を添加して滴定する。
- (3) L-アスコルビン酸が少ない茶の滴定に用いるインドフェノール溶液は、日本薬局方記載の濃度のものを希釈して用いる。茶の場合、四倍希釈したものを用いて滴定すると、滴定量は通常 5~8ml となる。

これらの修正点を取り入れた修正インドフェノール滴定法により定量した結果は、Table 2 に示したとおりであり、緑茶、鉄観音茶及び紅茶とも偏差は小さく再現性は良好であった。なお、緑茶の定量値は、文献値⁶⁾にほぼ一致している。紅茶の定量値については、文献⁶⁾では 0%と報告されているが、今回使用した試料の高速液体クロマトグラムでは Fig.1 に示すとおり、わずかではあるが L-アスコルビン酸のピークが認められ、Table 2 に示した定量値程度は含有しているものと考えられる。

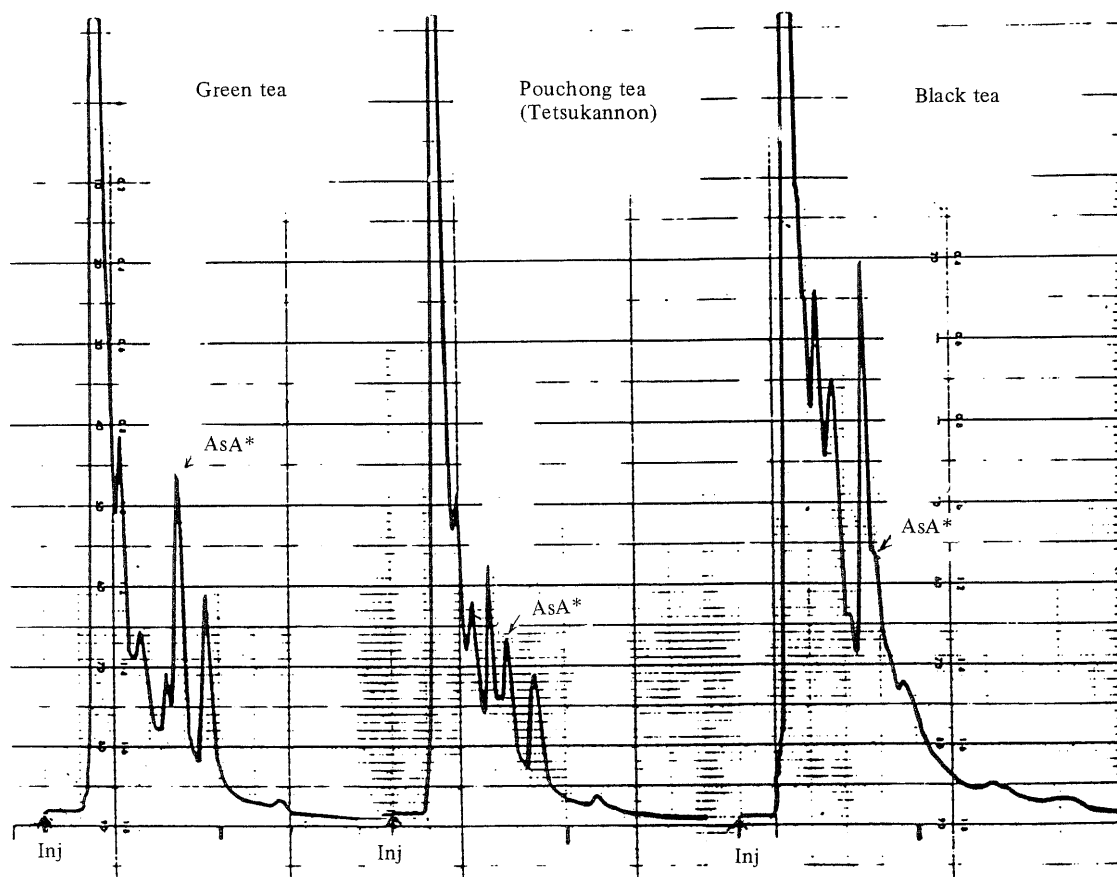


Fig.1 HPLC chromatograms of (L)-ascorbic acid in teas

Instrument : Shimadzu HPLC LC-3A

Column : Zorbax-NH₂ 4.6mm x 25cm

Detector : UV 254 nm

Absorbance : 0.04 a.u.f.s

Mobile phase : CH₃CN : 0.005M KH₂PO₄ = 80:20

Flow rate : 1.5 ml/min

Sample was extracted with 2% meta-phosphoric acid

AsA* : (L)-ascorbic acid

4 要 約

茶の L-アスコルビン酸の定量に適用することを目的として、インドフェノール滴定法を修正した。

滴定に用いる茶の抽出液に存在する着色物質は、皮粉処理により滴定終点の判定を妨害しない程度に除去できた。

インドフェノール溶液を希釈して用いること及び

L-アスコルビン酸含有量が非常に少ない試料には、一定量の L-アスコルビン酸を添加して滴定することにより、適度な滴定量及び滴定時間内に終ることができた。

これらの修正を加えたインドフェノール滴定法により、緑茶、半発酵茶及び紅茶の L-アスコルビン酸が精度良く定量できることが判明した。

文 献

- 1) 日本公定書協会：第十改正 日本薬局方，C-43 (1981) (広川書店)
- 2) 京大農芸化学教室編：新改版 農芸化学実験書 (増補) 第 2 巻，573 (1983) (産業図書)
- 3) 日本果汁協会：果汁・果実飲料事典，452 (1981) (朝倉書店)
- 4) 金田吉男，慶田雅洋：食品衛生研究，**31**，839 (1981)
- 5) 竹尾忠一，大沢キミ子：日本食品工業学会誌，**19**，406 (1972)
- 6) 科学技術庁資源調査会編：四訂 日本食品標準成分表，274 (1983)
- 7) 岩田久敬：第 3 次改著 食品化学各論，344 (1972)