

緑茶葉成分のビタミンC酸化防止効果について*

藤 井 実・立川 英 毅・原 田 勝 彦

Preventive Effect of an Agent in Extraction
from Green Tea against Oxidation of Vitamin C

By

Minoru FUJII, Eiki TATSUKAWA and Katsuhiko HARADA

We studied the preventive effect of the extracted solution from green tea against oxidation of vitamin C.

The results obtained are as follows:

1. In the extracted solution from green tea exists some components, that shows the preventive effect against oxidation of vitamin C.
2. The component is neither tannin, thiourea nor sulfurous acid. The component exists in non-dialyzed fraction of extracted solution from green tea.
3. The preventive effect of this component against oxidation of vitamin C was demonstrated specially by heating the solution of vitamin C, that contains heavy metal ion such as Cu^{2+} , Fe^{2+} or Fe^{3+} .

罐詰ミカンおよびミカンを原料とするその他の食料品中のビタミンC (V.C) 含量は、製造の諸過程の条件によって、またその処理工程で混入してくる異物質、例えば重金属イオン等によって酸化、破壊されて減少し、甚しい時は零となっているものもある。ミカンは冬期の嗜好品として、また V.C の給源としても大いに重視され、その需要は年々増大し、また海外へのミカン罐詰の輸出増大に伴って、原料の生産が追いつかない状態になってきた。しかし、温州ミカンの場合、1月も半ば過ぎになると、その新鮮味が失なわれ、また V.C も減少してくる。したがって生果の状態のままでは、V.C の給源としては不安定なものといえる。それ故に、ミカンは罐詰、瓶詰、または冷凍等により、その新鮮な味覚を保有するようにすべきである。しかるに、現今の製造方法においては、V.C を保護し、さらに進んで強化するという点について、なんら考慮されていないようである。したがってこれ等の食品は V.C 高濃度含有保健食料品としては、あまり高く評価出来ないわけである。そこでミカンの V.C を保護し、さらに強化して、嗜好品としてのミカン加工品に、保健食料品としての性格を付け加えるならば、その価値は数倍にもなり、したがってその重要性はさらに増大し、生活必需品としての需要は格段の増加を示すに違いない。このような見地からミカンの V.C の酸化防止および強化の研究に着手した。

* 水産大学校研究業績 第421号, 1964年2月3日 受理
Contribution from the Shimonomoseki University of Fisheries, No. 421
Received Feb. 3, 1964

V. C の酸化防止効果を有する物質の探求には、今日まで多くの研究が行なわれ、種々の結果が発表されているが、最近平見¹⁾が緑茶の水抽出液を透析し、分離した透析部分と非透析部分の V. C 酸化防止効果を検討した結果、非透析部分の方に酸化防止効果を有する物質が存在することを発表した。

また、中西²⁾は牛乳成分の V. C 酸化防止効果について研究し、カゼインおよび V. B₁ がその防止に役立つと述べている。

著者の一人(藤井)は数年来、緑茶の V. C がミカン、リンゴなどの V. C に比べて、熱に対して、より安定であることを認めてその要因を探求しつつあった。そして、2, 3 の新しい知見を得たので報告する次第である。V. C の indophenol による定量法は、著者等が案出した“xylene-glycerine 法”³⁾を使用した。

1) 緑茶葉水抽出液の V. C 酸化防止効果

緑茶葉水抽出液が V. C の酸化防止効果を有することは従来いわれてきたことであるが、実際にどのような効果を有するものかを具体的に知るために、結晶 V. C 溶液に緑茶葉水抽出液、および緩衝溶液 (Mc ILVAINE…pH 4) を添加して 80°C に 30, 60 および 90 分間加温し、残存 V. C 量を測定した。表 1a および 1b はその結果である。

Table 1a. Preventive effect of tea extraction against oxidation of V. C by heating at 80°C.

| Time of heating (mins.) | 0 | 30 | 60 | 90 |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| V. C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Tea extraction (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Remaining V. C (mg) | 0.986 | 0.382 | 0.338 | 0.317 |
| Remaining V. C (%) | 100.0 | 39.8 | 34.3 | 32.1 |

V. C = Vitamin C

Table 1b. Influence of heating at 80°C on oxidation of V. C.

| Time of heating (mins.) | 0 | 30 | 60 | 90 |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| V. C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Distilled water (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Remaining V. C (mg) | 0.986 | 0.266 | 0.118 | 0.027 |
| Remaining V. C (%) | 100.0 | 26.9 | 11.9 | 2.7 |

表 1b は対照試験で、緑茶葉水抽出液の代わりに蒸留水を使用している。表 1a の結果をみるに、V. C の残存率は 30分 : 39.8%, 60分 : 34.3%, 90分 : 32.1% というように比較的ゆるやかな傾斜で減少する傾向を示している。これに対し表 1b では 30分 : 26.9%, 60分 : 11.9%, 90分 : 2.7% というように加温時間が長びくにつれて V. C の残存率は激減している。即ち、緑茶葉水抽出液は温度に対して V. C の酸化防止効果を明らかに示している。

2) 緑茶葉水抽出液よりタンニン成分の除去

上記のように緑茶葉水抽出液が V. C に対し顕著な酸化防止効果を有することを知ったので、その有効成

分を分離する第一段階として、抽出溶液をタンニン部分と非タンニン部分とに分画し、それぞれの有効性の有無を検討した。タンニンの除去法としては、緑茶葉水抽出液にゼラチンを添加し、これにタンニンを吸着させた後、このタンニン吸着ゼラチンを三塩化酢酸 (TCA) で除去する方法を行なった。先ず予備実験として、一定量のゼラチン溶液に各種濃度の TCA を添加し、ゼラチンの沈澱を除いた後、その濾液について、コロイド滴定法によって P. V. S. K. 値を求め、ゼラチン除去の状態を比較した。その結果を表 2a および 2b に示す。

Table 2a. Removal of gelatin by various concentration solution of trichloroacetic acid (TCA).

| | | | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TCA soln. (20 g/dl) (ml) | 0 | 2 | 3 | 5 | 10 | 15 |
| Concentration of TCA (g/dl) | 0 | 5.7 | 7.5 | 10 | 13.3 | 15 |
| Titrated value of P. V. S. K. (ml) | 7.643 | 7.738 | 7.834 | 9.033 | 9.568 | 9.576 |

P. V. S. K. = Potassium polyvinyl alcohol sulfate

Table 2b. Removal of gelatin by various concentration solution of TCA.

| | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TCA soln. (50 g/dl) (ml) | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Concentration of TCA (g/ml) | 14.3 | 22.2 | 27.3 | 30.8 |
| Titrated value of P. V. S. K. (ml) | 9.530 | 9.553 | 9.462 | 9.086 |

上記の2つの表の結果によると、反応液中の TCA 濃度が高まるにつれて、ゼラチンの除去率は高まり、TCA 濃度が約 13 g/dl 以上になると、ほぼ一定値を示すに至るが、さらに高濃度の 27 g/dl 以上になると、逆に P. V. S. K. 値は減少した。そこで TCA の経済的使用量と完全な沈澱能力という観点から、約 15 g/dl 濃度の TCA を使用することにした。

3) TCA によるゼラチンの除去率

タンニンを吸着したゼラチンを TCA で除去する場合、15 g/dl TCA 濃度で、どの程度の除去が可能であるかを検討した。即ちゼラチンに TCA を添加した後、凝固したゼラチンを除去した濾液について、その P. V. S. K. 値を求めてゼラチンの除去率を求めたのが表 3 である。

Table 3. Removal of gelatin by 15 % TCA solution.

| | | | |
|------------------------------------|--|-------|-------|
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 0 | 5 | 5 |
| TCA soln. (20 g/dl) (ml) | 15 | 15 | 0 |
| M. G. Ch. soln. (0.005 N) (ml) | 5 | 5 | 5 |
| Titrated value of P. V. S. K. (ml) | 9.882 | 9.375 | 7.643 |
| Percentage of removal (%) | 77.3 $\left(= \frac{9.375 - 7.643}{9.882 - 7.643} \times 100 \right)$ | | |

M. G. Ch. = methyl glycol chitosan

表 3 の結果から、TCA によるゼラチンの除去率は 77 % 強であった。即ち濾液中には、なお約 23 % のゼラチンがなんらかの形で溶存していることを示している。即ち TCA の使用のみではゼラチンの完全除去

は出来ない。

4) コロイド滴定値におよぼす TCA 濃度の影響

上述のように、タンニン性物質の測定に、コロイド滴定を行なっているが、この場合、TCA の濃度がどのような影響をあたえるかについて検討した。その関係を示すのが表4である。

Table 4. Influence of concentration of TCA on the titration by P. V. S. K.

| | | | | |
|----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| TCA soln. (20 g/dl) (ml) | 0 | 10 | 20 | 30 |
| M. G. Ch. soln. (0.005 N) (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Titred value of P. V. S. K. (ml) | 10.083 | 10.065 | 10.086 | 10.071 |

即ち表4から明らかなように、TCAの濃度はP. V. S. K. の滴定値になんら影響をあたえない。

5) タンニン性物質の TCA による除去率

以上のようにゼラチン、TCA および P. V. S. K. の間の関係が明らかになったので、これ等を使用することによって、緑茶葉水抽出液中のタンニン性物質が、どの程度除去出来るかについて検討した。但し実験に供したタンニン溶液とは分子量 $C_{14}H_{10}O_9 \cdot xH_2O$ のタンニン酸(石津製薬)を溶解したものをいい、これを適宜に希釈して使用し、その実験の結果から、実際の緑茶葉水抽出液中のタンニンの行動を推定しようとするものである。先ず各種濃度のタンニン溶液にゼラチン溶液の一定量を添加し、80°C に30分間加温した後、TCAをそれぞれ添加して、その濃度を15 g/dl となるように調製する。そうすると沈澱が生じるので、これを濾過し、その濾液についてコロイド滴定を行なって表5a および5bの結果を得た。

Table 5a. Removement of tannin by adding of gelatin.

| | | | | | | | |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tannin soln. (0.2 g/dl) (ml) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| TCA soln. (20 g/dl) (ml) | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 | 30 | 33 |
| M. G. Ch. soln. (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Titred value of P. V. S. K. (ml) | 9.375 | 9.278 | 9.176 | 9.049 | 8.995 | 8.774 | 8.533 |

Table 5b. Percentage of removement of tannin by adding of gelatin.

| | | | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Tannin soln. (0.2 g/dl) (ml) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| TCA soln. (20 g/dl) (ml) | 15 | 18 | 21 | 24 | 27 | 30 | 33 |
| M. G. Ch. soln. (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Titred value of P. V. S. K. (ml) | 9.882 | 9.679 | 9.489 | 9.273 | 9.063 | 8.870 | 8.661 |
| Removement of tannin (relative value) (%) $\left(\frac{N_0 - N_x}{N_0' - N_x'} \times 100 \right)$ | — | 52.3 | 49.4 | 46.5 | 53.6 | 40.6 | 31.0 |

N_0 ...Titred value of P. V. S. K. by non-adding of tannin on Table 5a.

N_x ...Titred value of P. V. S. K. corresponding to various concentration of tannin on Table 5a.

N_0' ...Titred value of P. V. S. K. by non-adding of tannin on Table 5b.

N_x' ...Titred value of P. V. S. K. corresponding to various concentration of tannin on Table 5b.

即ち表 5a および 5b の P. V. S. K. 値より求めたタンニン除去率から、タンニン濃度が 8 mg/dl まではゼラチン濃度 125 mg/dl によって一定量除去することが出来ることが明らかとなった。しかし前述のように未除去のゼラチンによる P. V. S. K. の消費があるので、ここで求めた除去率は比較値である。

6) Indophenol 滴定におよぼすゼラチンの影響

タンニンの除去の目的で添加したゼラチンは TCA の処理では、完全に除去されないもので、未除去ゼラチンの存在に於て、indophenol 滴定を行なった場合の状態を検討した。

indophenol 溶液 (10 mg/dl) 3 ml にゼラチン溶液 (2.5 g/dl) を適量加えてゼラチンの濃度をそれぞれ変えた溶液を、標準 V. C 溶液で滴定して表 6 の結果を得た。

Table 6. Influence of gelatin on the titration of indophenol.

| | | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Indophenol soln. (ml) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 |
| Distilled water (ml) | 8 | 6 | 4 | 2 | 0 |
| Titration value by V. C soln. (ml) | 1.646 | 1.646 | 1.650 | 1.638 | 1.643 |

上表の結果からわかるようにゼラチンは indophenol と V. C の反応になんら影響をあたえない。

7) V. C に対するゼラチンの酸化防止効果

V. C 溶液をゼラチンの存在のもとに加温した場合、ゼラチンが V. C の酸化防止効果を示すかどうかについて検討した。V. C 溶液 (10 mg/dl) 10 ml にゼラチン溶液 (2.5 g/dl) を添加し、80°C で 30 分加温した後、滴定して残存 V. C を測定した結果は表 7 の通りである。

Table 7. Preventive effect of gelatin against oxidation of V. C (heating : 80°C, 30 mins.).

| | | | |
|-------------------------------|-------|-------|-------|
| V. C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Gelatin soln. (2.5 g/dl) (ml) | 0 | 5 | 10 |
| Remaining V. C (mg) | 0.332 | 0.120 | 0.065 |

表 7 の結果はゼラチンが V. C に対し酸化防止効果を有しないことを明らかに示している。

8) Indophenol 滴定におよぼすタンニンの影響

従来タンニンは V. C の酸化防止効果を有するものと考えられているので、その当否を知るため、indophenol 溶液 (10 mg/dl) 3 ml に、タンニンをそれぞれ 5, 10 および 20 mg 含有するタンニン溶液 10 ml を添加した後、標準 V. C 溶液で滴定し、タンニン無添加の試料の滴定値を 100% として比較値を求めたところ、表 8 の結果を得た。

Table 8. Influence of tannin on the titration of indophenol.

| | | | | |
|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Indophenol soln. (ml) | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Tannin (mg) | — | 5 | 10 | 20 |
| Titration value by V. C soln. (ml) | 1.974 | 1.277 | 0.993 | 0.805 |
| Relative value (%) | 100 | 65 | 50 | 40 |

即ち表8の示すように、タンニンの添加量が多くなるにつれて indophenol の消費量も増大することが明らかとなった。この事実は indophenol によって V.C の定量を行なう場合、タンニンの存在によって過大な結果が示されることを意味するものであるから、この場合慎重な対照試験を行なう必要がある。

9) V.C に対するタンニンの影響

緑茶葉水抽出液中には相当量のタンニンがあり、これが加温の際、V.C に対し酸化防止効果を揮発するものかどうかについて検討した。即ち V.C 溶液一定量に同一量のタンニン溶液、または量を異にしたタンニン溶液を添加して、70°C および 80°C に30分間加温した後、残留 V.C を測定して表9の結果を得た。

Table 9. Preventive effect of tannin against oxidation of V.C by heating for 30 minutes.

| | | | | |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Tannin soln. (0.5 g/dl) (ml) | 0 | 10 | 20 | 30 |
| V.C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Remaining V.C (at 70°C) (mg) | 0.380 | 0.087 | 0.065 | 0.041 |
| Remaining V.C (at 80°C) (mg) | 0.380 | 0.077 | 0.013 | 0.008 |

表9の示すところによれば、タンニン溶液を 10 ml 添加して、70°C および 80°C に加温した場合、共に最初の V.C 量の 1/5 に減少するが、やはり 80°C の方がやや減少量が大である。しかるにタンニンの添加量が2倍 (20 ml) になると、70°C で 1/6 となるが、80°C では 1/30 と激減し、さらにタンニン溶液 30 ml 添加では、70°C で 1/9 となるのに対し、80°C では 1/48 となり、殆んど0に近い数値となった。このようにタンニンが溶存する場合、特に加温の条件が加われば、V.C の消費が著しく増大することからして、タンニンは V.C の酸化防止作用をするのではなく、逆に V.C を消費するものであることが明らかとなった。

10) 緑茶葉水抽出液より除タンニン分画 (N. T. F.) の分離

上述の実験により、タンニンは V.C の保護因子でなく、むしろ V.C に有害であることが明らかとなったのでこれを除去した分画液 (N. T. F.) を得るため、タンニンをゼラチンに吸着させ、その吸着ゼラチンを TCA で沈澱除去した。そして澄明な溶液を得た。

11) Indophenol 滴定におよぼす N. T. F. 溶液の影響

indophenol 溶液に N. T. F. 溶液を 10, 20 および 30 ml 添加し、さらにそれぞれに緩衝溶液 (pH 4) 10 ml を添加した後、標準 V.C 溶液で滴定した結果を表10で示す。

Table 10. Influence of tea fraction excepted tannin on the titration of indophenol.

| | | | | |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Indophenol soln. (ml) | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Tea fraction (ml) | 0 | 10 | 20 | 30 |
| Titration value by V.C soln. (ml) | 2.207 | 2.127 | 2.042 | 1.989 |
| Relative value (%) | 100 | 96 | 93 | 90 |

この表の結果でわかるように、各試験区の滴定値は対照区の値を100としたのに比べて96、93および90というように、N. T. F. 溶液の量に応じていくらか低下しているが、表8のようにタンニンの溶存のための滴定値の激減は見られない。ただ、タンニンが完全に除去されていないため (前述)、N. T. F. の添加量の増加と共に V.C の滴定値は幾らか減少している。

12) N. T. F. 溶液の V.C 酸化防止効果

a) 加温に対する効果

標準 V.C 溶液の一定量に N. T. F. 溶液一定量を添加し、さらに緩衝溶液 (McILVAINE) を加えて pH 4 に調製した後、それぞれを 70, 80 および 98°C に 30, 60 および 90 分間加温して残存 V.C 量を測定した。表 11, 12 および 13 はその結果を示す。

Table 11. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V.C by heating at 70°C.

| Time of heating (mins.) | | 0 | 30 | 60 | 90 |
|--|----|-------|-------|-------|-------|
| Remaining V.C by adding tea fraction | mg | 0.492 | 0.209 | 0.191 | 0.130 |
| | % | 100 | 41.9 | 38.9 | 26.4 |
| Remaining V.C by non-adding tea fraction | mg | 0.492 | 0.178 | 0.127 | 0 |
| | % | 100 | 36.2 | 25.8 | 0 |

Table 12. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V.C by heating at 80°C.

| Time of heating (mins.) | | 0 | 30 | 60 | 90 |
|--|----|-------|-------|-------|-------|
| Remaining V.C by adding tea fraction | mg | 0.489 | 0.214 | 0.194 | 0.141 |
| | % | 100 | 43.7 | 39.6 | 28.8 |
| Remaining V.C by non-adding tea fraction | mg | 0.489 | 0.169 | 0.057 | 0 |
| | % | 100 | 34.5 | 11.6 | 0 |

Table 13. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V.C by heating at 98°C.

| Time of heating (mins.) | | 0 | 30 | 60 | 90 |
|--|----|-------|-------|-------|-------|
| Remaining V.C by adding tea fraction | mg | 0.476 | 0.127 | 0.111 | 0.055 |
| | % | 100 | 26.6 | 23.2 | 11.5 |
| Remaining V.C by non-adding tea fraction | mg | 0.476 | 0.035 | 0.003 | 0 |
| | % | 100 | 7.2 | 0 | 0 |

3つの表の結果を見るに、加温の条件の如何に拘らず、N. T. F. 溶液添加区のものは無添加区 (対照) のそれにくらべて V.C 残存率が高く、30分加温の場合；70°C で5%差、80°C で10%差を示すが、98°C では添加区はなお、27%の残存率を示すのに対し対照区はわずかに7%の残存率にすぎない。次に60分の加温の場合では；70°C で13%差、80°C で28%差を示して添加区の残存率が大きく、98°C では添加区は23%の残存率を示すのに対し、対照区は0%となった。さらに90分加温の場合には；各加温温度における V.C 残存率はそれぞれ、26.4%、28.8%および11.5%であるのに対し、対照区はいずれも0%となり、N. T. F. 溶液添加の効力が実に顕著にあらわれている。以上の諸実験結果から N. T. F. 溶液は加温に対し、V.C を保護する作用を有し、とくに高温に対して、よくその効果を発揮することが明らかとなった。

た。なお 70°C 及び 80°C 加温において、90 分のときの残存率が 80°C の方が少なく逆に良い結果を示しているが、これは殆んど差がないものと考えてよく、そのときの実験の条件が微妙に影響をしたものであろう。

次に金属イオン、特に銅、鉄等のイオンが溶存する場合において、N. T. F. 溶液が加温に対し、酸化防止効果を有するかどうかを検討した。

b) Cu^{2+} に対する酸化防止効果

Cu^{2+} を溶存する V. C 溶液を 80°C に 60 分加温した場合に、N. T. F. 溶液添加の効果を検討した。 Cu^{2+} 溶液として硫酸銅溶液を適当に希釈して使用し、 Cu^{2+} として反応溶液中の濃度 (γ/dl) をそれぞれ 100, 200 および 300 となるようにし、N. T. F. 溶液は 10 ml 宛添加した。V. C 溶液は結晶 V. C 10 mg/dl 濃度溶液を 10 ml 使用した。対照試験区には N. T. F. 溶液を添加しない。以上の条件で実験した結果は表 14 の如くであった。

Table 14. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V. C by adding of Cu^{2+} (heating : 80°C , 60 mins.).

| V. C soln. (10 mg/dl) (ml) | | 10 | 10 | 10 | 10 (Non-heating) |
|--|----|-------|-------|-------|---------------------|
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Concentration of Cu^{2+} in reaction soln. (γ/dl) | | 100 | 200 | 300 | 0 |
| Remaining V. C by adding tea fraction | mg | 0.211 | 0.192 | 0.183 | 1.087 |
| | % | 19.5 | 17.7 | 16.9 | 100 |
| Remaining V. C by non-adding tea fraction | mg | 0.045 | 0.016 | 0 | 1.087 |
| | % | 4.1 | 1.4 | 0 | 100 |

上表の結果によれば、前項の加温のみの場合に比べて Cu^{2+} の影響が強く現われて、N. T. F. 溶液添加区に於ても、 Cu^{2+} の濃度に応じて、濃度 100 : 19.5 %、濃度 200 : 17.7 %、濃度 300 : 16.9 % というように V. C 残存率が低かった。しかし対照区はさらにきびしい影響を受けて、それぞれの V. C 残存率は 4.1 %、1.4 % および 0 % であった。即ち Cu^{2+} 溶存の場合でも N. T. F. 溶液の添加は V. C の酸化防止に顕著な効果を発揮する。

c) Fe^{2+} および Fe^{3+} に対する酸化防止効果

Cu^{2+} の場合と同様に、 Fe^{2+} および Fe^{3+} を溶存する V. C 溶液に対する N. T. F. 溶液の効果について検討した。実験条件は Cu^{2+} の場合と同様であるが、 Fe^{2+} および Fe^{3+} の濃度はそれぞれ 50, 100 およ

Table 15. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V. C by adding of Fe^{2+} (heating : 80°C , 60 mins.).

| V. C soln. (10 mg/dl) (ml) | | 10 | 10 | 10 | 10 (Non-heating) |
|--|----|-------|-------|-------|---------------------|
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Concentration of Fe^{2+} in reaction soln. (γ/dl) | | 50 | 100 | 200 | 0 |
| Remaining V. C by adding tea fraction | mg | 0.147 | 0.138 | 0.100 | 1.146 |
| | % | 12.8 | 12.0 | 8.7 | 100 |
| Remaining V. C by non-adding tea fraction | mg | 0.103 | 0.083 | 0 | 1.146 |
| | % | 8.9 | 7.2 | 0 | 100 |

び 200 γ/dl である。なお、 Fe^{2+} として硫酸第一鉄溶液を、 Fe^{3+} として硫酸第二鉄溶液を使用した。その結果を表 15 および 16 で示す。

Table 16. Preventive effect of tea fraction excepted tannin against oxidation of V.C by adding of Fe^{3+} (heating : 80°C , 60 mins.).

| V. C soln. | (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 (Non-heating) |
|--|-----------------|-------|-------|-------|---------------------|
| Buffer soln. | (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Concentration of Fe^{3+} in reaction soln. | (γ/dl) | 50 | 100 | 200 | 0 |
| Remaining V. C by adding tea fraction | mg | 0.142 | 0.134 | 0.120 | 1.088 |
| | % | 13.1 | 12.3 | 10.9 | 100 |
| Remaining V. C by non-adding tea fraction | mg | 0.072 | 0.047 | 0.018 | 1.088 |
| | % | 6.6 | 4.3 | 1.6 | 100 |

表 15 の結果を見ると、 Fe^{2+} のそれぞれの濃度に対する V. C の残存率は 12.8 %、12.0 % および 8.7 % となった。これに対し対照区はそれぞれ 8.9 %、7.2 % および 0 % となった。

また表 16 の場合、 Fe^{3+} の各濃度に対して V. C 残存率は 13.1 %、12.3 % および 10.9 % となった。これに対して対照区のそれはそれぞれ 6.4 %、4.3 % および 1.6 % となり、両表の結果は、N. T. F. 溶液添加の効果が大きいことを明らかに示している。

以上のように、いずれもかなりの重金属イオンを溶存している場合、N. T. F. 溶液の添加によって、加温による V. C の酸化を相当に防止し得ることが証明された。

13) N. T. F. 溶液のアルコールによる精製とその酸化防止効果

N. T. F. 溶液が V. C 酸化防止効果を有することは明らかとなったが、前述のようにゼラチンを溶存している。したがって溶存ゼラチンに吸着しているタンニンも存在するわけで、そのため V. C の酸化防止効果が一部減殺されていることも十分に考えられることである。そこで、この溶存ゼラチンを除去するならば、さらに V. C 酸化防止効果は増大するものと考えられるので、ゼラチンの除去剤として、アルコールを使用してその目的を達しようとした。即ち N. T. F. 溶液にアルコールを添加したところ、その濃度に応じて沈澱を生じたので、濾過しその濾液について P. V. S. K. 値を測定した。表 17 はその結果を示す。

Table 17. Removement of gelatin by using alcohol.

| Tea fraction | (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
|-------------------------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Ethyl alcohol | (ml) | 0 | 3 | 5 | 10 | 15 |
| M. G. Ch. soln. | (0.005N) (ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Titrated value of P. V. S. K. | (ml) | 8.690 | 8.898 | 8.973 | 8.970 | 8.972 |

この実験で明らかなように、アルコールの濃度を 50 % にすると P. V. S. K. 値は一定値に達し、それ以上アルコール濃度を増加しても同一値を示した。即ちアルコール濃度を 50 % にすることにより、TCA により除去出来ない可溶性ゼラチンを除去出来た。このようにして得た溶液 (R. N. T. F. と略す) と N. T. F. 溶液の V. C 酸化防止効果を比較したものが表 18 および 19 である。

Table 18. Preventive effect of refined tea fraction against oxidation of V.C by heating at 80°C.

| Time of heating (mins.) | 0 | 30 | 60 |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| V.C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Refined tea fraction (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Remaining V.C (mg) | 0.819 | 0.464 | 0.426 |
| Remaining V.C (%) | 100 | 56.7 | 52.0 |

Table 19. Preventive effect of tea fraction against oxidation of V.C by heating at 80°C.

| Time of heating (mins.) | 0 | 30 | 60 |
|---------------------------|-------|-------|-------|
| V.C soln. (10 mg/dl) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Tea fraction (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Remaining V.C (mg) | 0.819 | 0.356 | 0.319 |
| Remaining V.C (%) | 100 | 43.5 | 38.8 |

即ち 80°C で 30 分および 60 分加温の条件において、V.C 酸化防止効果をみると、R.N.T.F. 溶液では 56.7% および 52.0% の V.C 残存率を示したのに対し、N.T.F. 溶液では 43.5% および 38.8% の残存率を示した。

即ち R.N.T.F. は N.T.F. よりも 13% 以上強い保護効果をもっている。

14) R. N. T. F. 溶液の透析部分と非透析部分の保護効果

平見¹⁾は緑茶葉水抽出液を透析して透析部分と非透析部分の V.C 保護効果を比較した結果、非透析部分にその効果があることを報告している。著者等は上述のような方法によって得た R.N.T.F. 溶液を透析し、透析部及び非透析部を使用し、80°C に 30 分加温した場合の V.C 酸化防止効果を比較した。表 20 及び 21 はそれぞれ透析部を使用した場合の結果である。

Table 20. Preventive effect of dialyzed fraction from refined tea fraction against oxidation of V.C (heating : 80°C, 30 mins.).

| Dialyzed fraction (ml) | 0 | 5 | 5 (Non-heating) |
|-----------------------------------|-------|-------|-----------------|
| V.C soln. (10 mg/dl) (ml) | 2 | 2 | 2 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Titration value by V.C soln. (ml) | 1.636 | 1.640 | 1.680 |
| Remaining V.C (%) | 36.1 | 1.1 | 100 |

Indophenol soln. 3 ml = Standard V.C soln. 2.461 ml

Table 21. Preventive effect of non-dialyzed fraction from refined tea fraction against oxidation of V.C (heating : 80°C , 30 mins.).

| | | | |
|-----------------------------------|-------|-------|--------------------|
| Non-dialyzed fraction (ml) | 0 | 5 | 5 (Non-heating) |
| V.C soln. (10 mg/dl) (ml) | 2 | 2 | 2 |
| Buffer soln. (pH 4) (ml) | 10 | 10 | 10 |
| Titration value by V.C soln. (ml) | 1.852 | 0.905 | 1.860 |
| Remaining V.C (%) | 35 | 50.8 | 100 |

Indophenol soln. 3 ml = Standard V.C soln. 2.670 ml

表 20 の結果をみると、透析溶液を添加した場合、V.C 残存率は僅かに 1.1 % となり、対照の 36.1 % に比べて著しい減少である。このような減少率を生じた原因については今のところ、なんともいえないが、透析溶液に酸化防止効果を有する成分が存在しないことは事実である。これに反し、非透析溶液添加の効果は、表 21 で示される通り、V.C 残存率 50.8 % を示した。これに対し対照（無添加）は 35 % であって、これは前表及び表 12 の結果とも大体一致している。即ちこの結果から、非透析溶液中には V.C を保護する成分が存在することは明らかである。

V.C の酸化防止効果を有する物質としてチオ尿素があげられているが、著者等の方法では効果が見られなかった。また亜硫酸塩が V.C の保護効果を示すとの説もあるが、これもまた、全然効果がなく、また両物質共に透析膜を通るので緑茶葉水抽出液の非透析部分の成分でないことも明らかである。

総 括

緑茶葉水抽出液がビタミンCの酸化防止効果を有することを確認したので、その有効成分を抽出分離する段階として、該抽出液から除タンニン分画を、また透析処理によって透析分画と非透析分画とに分け、それ等が加温、特に重金属イオンの溶存する場合の加温に対して、V.C の酸化防止効果を有するか否かについて検討した。そしてさらに上述の結果に基づいて V.C 酸化防止効果の著しい分画を分離することが出来た。即ち

1. 緑茶葉水抽出液をゼラチン、トリクロル酢酸で処理して除タンニンした分画液は加温に対し、V.C の酸化防止効果を顕著に示した。

特に重金属イオン、例えば Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 等の溶存する場合、その効果は大であった。これに反し、タンニンは V.C の酸化を防止することが出来ず、逆に V.C を酸化し、特に加温する場合、その傾向は大となる。

2. 上記の除タンニン分画液をさらにアルコール処理することにより、V.C 酸化防止効果を強力にした分画液を調製することが出来た。

3. 除タンニン分画液を透析して、透析及び非透析の両分画液の効果を検討したところ、V.C 酸化防止効果を示す因子は非透析部にあることがわかった。

この報文の要は昭和38年4月の水産学会（東京）で発表した。

文 献

- 1) 平見嘉彦, 1961: 高知女子大紀, **9** (5).
- 2) 中西武雄, 1961: 酪農科学, **10** (A 1—A 4).
- 3) 藤井 実・立川英毅, 1964: 本報告, **13** (2).