

の消費酸素量 (ppm) を比較すると、その差は、0.1ppm で、約 10%改善されていることが分かった (表 1、2)。

表 1. 空気存在下での消費酸素量 (ppm)

No.	初期値	終点値	差
1	8.39	7.37	1.02
2	8.26	7.36	1.00
3	7.01	6.17	0.84
4	6.84	6.05	0.79
5	6.72	5.93	0.79
6	8.22	7.23	0.99
7	8.04	7.16	0.88
8	8.82	7.84	0.98
9	8.73	7.82	0.91
10	8.44	7.52	0.92
平均			0.91

初期値 = 溶存酸素計の測定前の数値 (酸素濃度)

終点値 = 反応終了時の溶存酸素計の数値

差 = 反応によって減少した酸素濃度

表 2 アルゴンガス充填下での消費酸素量 (ppm)

No.	初期値	終点値	差
1	7.36	6.38	0.98
2	7.83	6.81	1.02
3	8.19	7.22	0.97
4	7.77	6.87	0.90
5	6.53	5.71	0.82
6	8.76	7.62	1.14
7	8.59	7.48	1.11
8	8.79	7.70	1.02
9	8.99	7.97	1.02
10	8.38	7.31	1.07
平均			1.01

初期値 = 溶存酸素計の測定前の数値 (酸素濃度)

終点値 = 酵素反応終了時の溶存酸素計の数値

差 = 酵素反応によって消費した酸素濃度

### 3.4.考察

アスコルビン酸の標準液を使用しアルゴンを充填する、あるいは充填しないの2条件で測定を行ったところ、アルゴン充填なしにくらべアルゴンで充填した方が数値が高かった。このことから、アルゴンがないと測定中に空气中酸素が溶解し、測定誤差が生じる可能性が判明したので、今後の測定は、アルゴンを充填して酵素反応を行うこととした。

#### 4.酵素量の決定

##### 4.1.研究目的

アルゴンを充填して酵素反応を行うことで良好な測定が出来ることが判明したので、酵素法によるビタミン C 測定の改良に関する研究を進めることにした。酵素高価な試薬であるため、至適酵素量を求めることにした。

##### 4.2.研究方法

アスコルビン酸を 5mg (f = 1.00) 取り 0.2%メタリン酸を加え 100mL にした 50ppm アスコルビン酸標準液を用いて、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液をそれぞれ 3, 2, 1  $\mu$  L を加えて 2.2.方法と同様な方法で測定した。

##### 4.3.研究結果

酵素添加量を 1 ~ 3  $\mu$  L の範囲で検討を行ったが、各濃度間には大差はなかった(表 3、図 3)。

表 3.アスコルビン酸オキシダーゼ (ASOD) の濃度別消費酸素量 (ppm)

ASOD 添加量	初期値	終点値	差	平均
3 $\mu$ L	7.89	5.65	2.24	2.31
	8.46	6.11	2.35	
	8.20	5.86	2.34	
2 $\mu$ L	8.96	6.53	2.43	2.46
	9.05	6.58	2.47	
	8.97	6.47	2.49	
1 $\mu$ L	8.60	6.22	2.38	2.42
	8.33	5.90	2.43	
	8.51	6.07	2.44	

初期値 = 溶存酸素計の測定前の数値 (酸素濃度)

終点値 = 酵素反応終了時の溶存酸素計の数値

差 = 酵素反応によって消費した酸素濃度

酵素量添加量別酸素消費量 (n = 3)

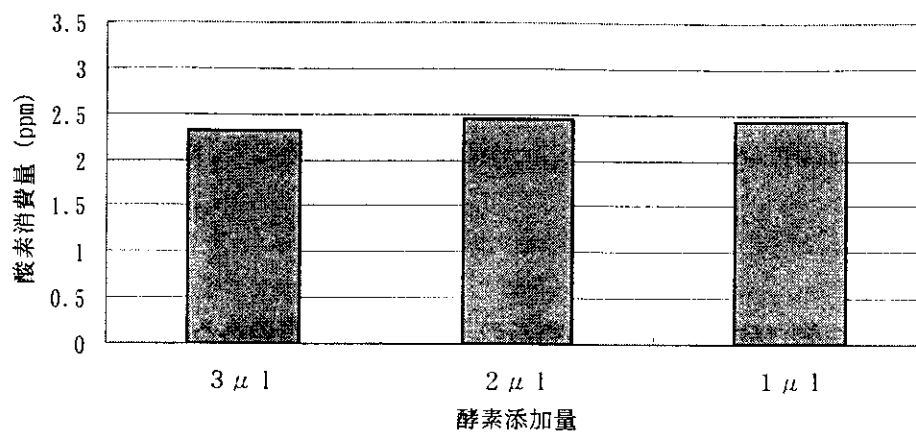


図 3.アスコルビン酸オキシダーゼ (ASOD) の濃度別消費酸素量 (ppm)

#### 4.4.考察

酵素添加量を1～3  $\mu$  Lの範囲で調べたが、1  $\mu$  Lでも十分反応することがわかった。1  $\mu$  L添加時の反応時間は、3  $\mu$  Lに比べると多少長くなるが、問題ない程度だったため、添加量は1  $\mu$  Lにする事にした。

## 5.還元剤の決定

### 5.1.研究目的

加工食品に添加された L-アスコルビン酸の一部は、酸化されてデヒドロアスコルビン酸となり存在しているので、食品製造時に添加された L-アスコルビン酸の量を求めるには、デヒドロアスコルビン酸を還元することが必要である。そこで、還元剤について検討を行うことにした。

### 5.2.研究方法

還元剤としては、強力な還元作用のあるもの、弱い還元作用のあるものについて、以下の試薬の検討を行った。

#### 1) 試薬

- (1) グルタチオン
- (2) ジチオトレイトール
- (3) テトラヒドロホウ酸ナトリウム
- (4) *N*-エチルマレイミド (NEM)

#### 2) 試薬の調整

##### (1) テトラヒドロホウ酸ナトリウム溶液

テトラヒドロホウ酸ナトリウム 0.0444g を水で溶かし 20mL とした。

( $f = 1.025$ )

##### (2) グルタチオン溶液

グルタチオン 0.353g を水に溶かし 20mL とした。(  $f = 1.00$  )

##### (3) ジチオトレイトール溶液

ジチオトレイトール 0.0815g を水に溶かし 20mL とした後、5 倍希釈した。

( $f = 1.00$ )

##### (4) *N*-エチルマレイミド溶液

*N*-エチルマレイミド 0.0714g をに溶かし 20mL とした後、5 倍希釈した。

##### (5) デヒドロアスコルビン酸試液 (20ppm)

デヒドロアスコルビン酸 20mg0.2%メタリン酸に溶かし 100mL とし、20ppm に調整した。(  $f = 1.00$  )

デヒドロアスコルビン酸試液を除くこれらの試薬は、デヒドロアスコルビン酸試液に対して、すべて 10 倍当量とした。

これらの試薬は、最終的な測定時のデヒドロアスコルビン酸の量に対して 5 倍当量、1 倍当量に希釈して使用した。

#### 3) 測定法

反応そうに、デヒドロアスコルビン酸溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、還元剤 10  $\mu$  L を加え 5 分間反応させた。還元剤を反応させた後、*N*-エチルマレイミドを 10  $\mu$  L (デヒ

ドロアスコルビン酸の10倍当量)を加え5分間攪拌し、過剰の還元剤を分解した後、酵素1 $\mu$ Lを加え反応させた。

還元剤は、10 $\mu$ L中にデヒドロアスコルビン酸(20ppm)試液に対して、10倍当量、5倍当量、1倍当量に相当する溶液を作成し、それぞれについて測定を行った。

### 5.3.研究結果

#### (1)テトラヒドロホウ酸ナトリウム

テトラヒドロホウ酸ナトリウム量が増加すると、初期値の値が低くなり、還元力が強力で反応中の溶存酸素を消費し、期待した測定結果は得られなかった(表4、5、9)。

表4.テトラヒドロホウ酸ナトリウム使用時の  
各濃度別溶存酸素消費量(ppm)

	初期値	終点値	差
1倍当量	8.19	7.93	0.26
	8.08	7.85	0.23
	8.48	8.37	0.11
平均			0.20
5倍当量	6.49	6.28	0.21
	6.53	6.64	-0.09
	6.70	6.46	0.24
平均			0.12
10倍当量	5.05	5.04	0.01
	4.90	5.33	-0.43
	4.91	5.03	-0.08
平均			-0.17

表 5.テトラヒドロホウ酸ナトリウム (NEM 添加) 使用時の  
各濃度別溶存酸素消費量 (ppm)

	初期値	終点値	差
1 倍当量	7.86	7.96	0.10
	8.22	8.13	0.08
	8.16	8.10	0.06
平均			0.08
5 倍当量	6.12	6.12	0.00
	6.93	6.95	-0.02
	6.48	6.59	-0.11
平均			-0.04
10 倍当量	4.82	5.00	-0.16
	4.64	4.89	-0.15
	4.44	4.65	-0.19
平均			-1.67

(2) グルタチオン

初期値と終点値に殆ど変化が無く、また、NEM 添加時と NEM 無添加時との間に変化が無く、酵素阻害を起こしたことが予想された(表 6、7、9)。

表 6.グルタチオン使用時の各濃度別溶存酸素消費量 (ppm)

	初期値	終点値	差
1 倍当量	8.47	8.42	0.05
	8.43	8.34	0.09
	8.51	8.42	0.09
平均			0.08
5 倍当量	8.96	8.88	0.07
	9.00	8.97	0.09
	8.44	8.34	0.10
平均			0.09
10 倍当量	8.70	8.55	0.15
	9.06	8.97	0.09
	8.61	8.55	0.06
平均			0.10

表7.グルタチオン（NEM 添加）使用時の  
各濃度別溶存酸素消費量（ppm）

	初期値	終点値	差
1 倍当量	8.77	8.70	0.07
	8.01	7.96	0.05
	7.92	7.89	0.03
平均			0.05
5 倍当量	8.73	8.65	0.08
	8.86	8.81	0.05
	9.15	9.14	0.01
平均			0.05
10 倍当量	8.33	8.32	0.01
	8.37	8.34	0.03
	8.73	8.65	0.08
平均			0.04

(3) ジチオトレイトール

期待した結果が得られ、デヒドロアスコルビン酸の還元にも最も適していた。なかでも10倍量が最もよい結果を示した(表 8,9)。

表8.ジチオトレイトール（NEM 添加）使用時の  
各濃度別溶存酸素消費量（ppm）

	初期値	終点値	差
1 倍当量	8.32	8.18	0.14
	8.51	8.39	0.12
	8.60	8.45	0.15
平均			0.14
5 倍当量	8.12	7.75	0.37
	8.28	8.00	0.28
	7.93	7.65	0.28
平均			0.31
10 倍当量	8.44	8.00	0.44
	8.52	8.15	0.37
	8.85	8.47	0.38
平均			0.40



表 9. 各還元剤濃度別溶存酸素消費量 (ppm)

還元剤	10 倍当量	5 倍当量	1 倍当量
テトラヒドロホウ酸ナトリウム	- 1.67	- 0.04	0.08
グルタチオン	0.04	0.05	0.05
ジチオトレイトール	0.40	0.31	0.14

### 5.5) 考察

3 種類の還元剤を使用した。従来から使用されているジチオトレイトールが一番大きな酸素消費量をしめし、また、濃度と酸素消費量との相関関係も得られた。ジチオトレイトールを用いる濃度は、10 倍量が数値が大きいのでこの条件で今後の研究を行うことにした。

## 6.アスコルビン酸に対する還元剤ジチオトレイトールの影響

### 6.1.研究目的

デヒドロアスコルビン酸からジチオトレイトール(DTT)を用いて L-アスコルビン酸に還元した後に、ASOD と反応させ消費酸素量を測定したが、その場合の測定値が理論値よりも消費酸素量の数値が低かった。そこで DTT が、酵素反応に影響を与えることも考えられたため、アスコルビン酸を用いて DTT の影響の有無を調べることにした。

### 6.2.研究方法

#### 1) 試薬

- (1) アスコルビン酸 (50ppm) 溶液
- (2) 0.2%メタリン酸溶液
- (3) 2%メタリン酸溶液
- (4) ジチオトレイトール溶液
- (5) *N*-エチルマレイミド溶液
- (6) アスコルビン酸オキシダーゼ溶液

#### 2) 測定操作

##### (1)アスコルビン酸 (50ppm) 溶液+ジチオトレイトール還元剤無添加の測定

アスコルビン酸 (50ppm) 溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、および蒸留水 20  $\mu$  L を加えアルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (2)アスコルビン酸 (50ppm) 溶液+ジチオトレイトール還元剤添加した測定

アスコルビン酸 (50ppm) 溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、ジチオトレイトール溶液 10  $\mu$  L を加え 5 分間放置後、*N*-エチルマレイミド溶液 10  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (3)アスコルビン酸 (250ppm) 溶液+ジチオトレイトール還元剤無添加の測定

アスコルビン酸 (250ppm) 溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL、蒸留水 20  $\mu$  L を加えアルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (4)アスコルビン酸 (250ppm) 溶液+ジチオトレイトール還元剤添加した測定

アスコルビン酸 (250ppm) 溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL、ジチオトレイトール溶液 10  $\mu$  L を加え 5 分間放置後、*N*-エチルマレイミド溶液 10  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

### 6.3.研究結果

#### (1) ジチオトレイトール還元剤添加の結果

50ppmのアスコルビン酸を使用した測定を行ったところ、表10（還元剤無添加）と表11（還元剤添加）に示すように、還元剤添加の方が0.86大きな消費酸素量を示した（図4）。

また、濃度の高い250ppmの場合も、図4に示すように還元剤を添加した場合の方が高い値を示した（表12,13）。

表10. アスコルビン酸(50ppm)溶液  
還元剤無添加の消費酸素量(ppm)

初期値	終点値	差
8.54	6.21	2.33
8.20	5.92	2.28
8.03	5.93	2.10
平均		2.24

表11. アスコルビン酸(50ppm)溶液+ジチオトレイトール  
還元剤添加の消費酸素量(ppm)

初期値	終点値	差
8.54	5.08	3.46
8.32	8.04	3.28
7.70	5.13	2.57
平均		3.10

表12. アスコルビン酸(250ppm)溶液  
還元剤無添加の消費酸素量(ppm)

初期値	終点値	差
7.81	5.68	2.13
7.80	5.75	2.05
7.84	5.79	2.05
平均		2.08

表 13. アスコルビン酸 (250ppm) 溶液 + ジチオトレイトール  
還元剤添加の消費酸素量 (ppm)

初期値	終点値	差
7.96	4.47	3.49
8.05	4.98	3.07
7.92	5.00	2.92
平均		3.16

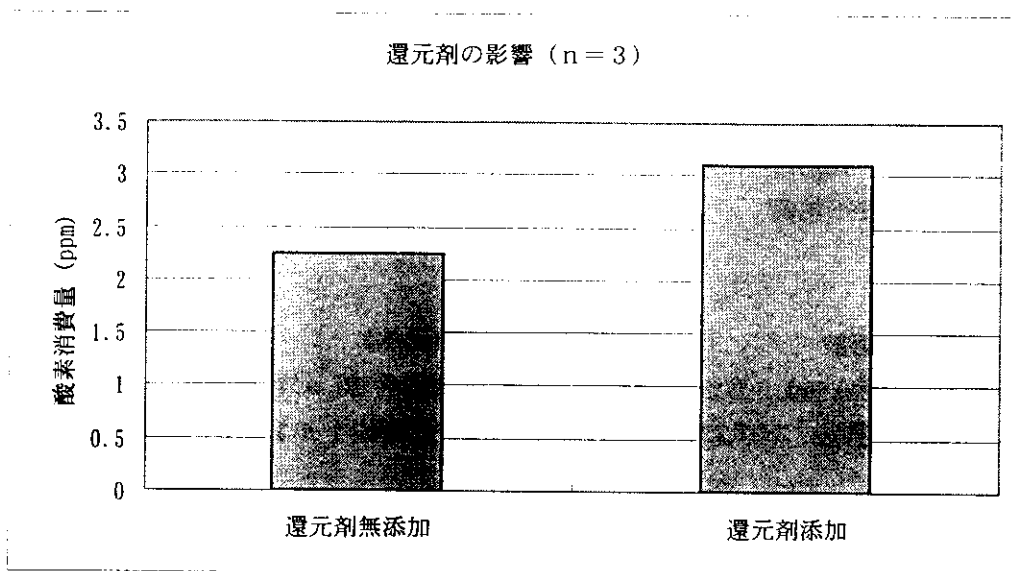


図 4. ジチオトレイトール還元剤の添加消費酸素量に及ぼす影響

#### 6.4. 考察

アスコルビン酸に還元剤を添加あるいは、無添加の条件で溶存酸素消費量を測定した結果、還元剤を添加した方が、消費酸素量が多く、ジチオトレイトール還元剤が影響を与えることがわかった。

## 7. ブランク測定

### 7.1.目的

[6.]の実験で還元型を使用したにもかかわらず還元剤添加の方が数値が高かった。ことでアスコルビン酸を加えずに測定を行い還元剤の影響を調べることにした。

### 7.2.研究方法

#### 1) 試薬

- (1) 0.2%メタリン酸溶液
- (2) 2%メタリン酸溶液
- (3) リン酸緩衝液 (pH8)
- (4) アスコルビン酸オキシダーゼ溶液
- (5) ジチオトレイトール溶液
- (6) *N*-エチルマレイミド溶液

#### 2) 測定操作

##### (1) 0.2%メタリン酸溶液 (アスコルビン酸及び DTT 無添加)

0.2%メタリン酸溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、蒸留水 20  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (2) 0.2%メタリン酸溶液 (アスコルビン酸無添加、DTT 添加)

0.2%メタリン酸溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、ジチオトレイトール溶液 10  $\mu$  L を加え 5 分間放置後、*N*-エチルマレイミド溶液 10  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (3) 2%メタリン酸溶液 (アスコルビン酸及び DTT 無添加)

2%メタリン酸溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL、蒸留水 20  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

##### (4) 2%メタリン酸溶液 (アスコルビン酸無添加、DTT 添加)

2%メタリン酸溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL、ジチオトレイトール溶液 10  $\mu$  L を加え 5 分間放置後、*N*-エチルマレイミド溶液 10  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

### 7.3.研究結果

L-アスコルビン酸がない場合は、「DTT 添加」と「DTT 無添加」とを比較すると 0.2%のメタリン酸溶液では、差はなく (表 14、15)、2%のメタリン酸溶液では、「DTT 無添加」の方が 0.08 高い値を示した (表 16、17)。

表 14. 0.2%メタリン酸溶液（アスコルビン酸及び DTT 無添加）

酸素消費量 (ppm)

初期値	終点値	差
8.09	8.05	0.04
7.84	7.79	0.05
8.15	8.12	0.03
平均		0.04

表 15. 0.2%メタリン酸溶液（アスコルビン酸無添加、DTT 添加）

酸素消費量 (ppm)

初期値	終点値	差
7.84	7.76	0.06
8.46	8.46	0.00
7.97	7.92	0.05
平均		0.04

表 16. 2%メタリン酸溶液（アスコルビン酸及び DTT 無添加）

酸素消費量 (ppm)

初期値	終点値	差
7.95	7.90	0.05
7.22	7.05	0.17
7.71	7.59	0.12
平均		0.11

表 17. 2%メタリン酸溶液（アスコルビン酸無添加、DTT 添加）

酸素消費量 (ppm)

初期値	終点値	差
8.28	8.26	0.02
7.92	7.87	0.05
8.23	8.22	0.01
平均		0.03

#### 7.4.考察

アスコルビン酸を加えずに測定を行い還元剤 DTT の影響を調べた結果では、0.2%及び2%のメタリン酸溶液では還元剤 DTT の添加と無添加の条件では酸素の消費量に差はなく、還元剤の影響は、ほとんど認められなかった。しかし、2%のメタリン酸溶液では還元剤 DTT の無添加では酸素の消費量は僅かに高かった。このことから、アスコルビン酸が存在すると還元剤の影響が現れることになり、アスコルビン酸としては新しい L-アスコルビン酸標準品を用いたが、この標準品にデヒドロアスコルビン酸の存在の可能性も考えられる。

## 8.検量線の作成

研究の結果、アスコルビン酸の濃度により、測定条件が異なることが判明し、低濃度の場合は 0.2%メタリン酸溶液、高濃度の場合は 2%のメタリン酸溶液を用いた方がよいことが分かったので低濃度の検量線と高濃度の検量線を作成することにした。

### 8.1.低濃度の検量線

#### 8.1.1.研究目的

低濃度のアスコルビン酸の測定が可能なように 0.2%メタリン酸溶液を使用し、総アスコルビン酸の酸素消費を求めアスコルビン酸の検量線を作成することにした。

#### 8.1.2.研究方法

##### 1) 試薬

- (1) 0.2%メタリン酸
- (2) L-アスコルビン酸溶液 (50, 30, 10, 5ppm)
- (3) ジチオトレイトール溶液
- (4) N-エチルマレイミド溶液
- (5) 4000U/mL アスコルビン酸オキシダーゼ溶液
- (6) リン酸緩衝液 (pH8)

##### 2) 測定操作

###### (1) 総アスコルビン酸用の検量線

L-アスコルビン酸 0.010g を溶かし 0.2%メタリン酸溶液で 20mL とした後、0.2%メタリン酸溶液で 50ppm、30ppm、10ppm、5ppm になるように希釈した。

アスコルビン酸希釈溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL、ジチオトレイトール溶液 10  $\mu$  L を加え 5 分間放置後、N-エチルマレイミド溶液 10  $\mu$  L を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた (表 18)。

###### (2)L-アスコルビン酸用の検量線

L-アスコルビン酸 0.010g を溶かし 0.2%メタリン酸溶液で 20mL とした後、0.2%メタリン酸溶液で 5ppm、10ppm、30ppm、50ppm になるように希釈した。

アスコルビン酸希釈溶液 0.5mL、リン酸緩衝液 0.5mL を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

#### 8.1.3.研究結果

##### 1) 低濃度総アスコルビン酸の検量線

0.2%メタリン酸溶液を用いた、5ppm、10ppm、30ppm、50ppm のアスコルビン酸溶液における消費酸素量を求めた (表 18)。

この消費酸素量を基にして低濃度総 L-アスコルビン酸の検量線を作成した (図 5)。



表 18. 低濃度総アスコルビン酸用検量線の消費酸素量 ppm (DTT 添加)

L-アスコルビン酸濃度 (ppm)	初期値	終点値	差	平均
5ppm	8.17	7.74	0.43	0.46
	8.22	7.74	0.48	
	7.98	7.51	0.47	
10ppm	8.17	7.68	0.39	0.80
	8.41	7.65	0.76	
	8.99	8.15	0.84	
30ppm	7.37	5.24	2.13	2.08
	7.22	5.13	2.09	
	7.01	4.98	2.03	
50ppm	8.23	4.70	3.54	3.27
	8.22	5.09	3.13	
	8.34	5.22	3.12	

低濃度総VC検量線

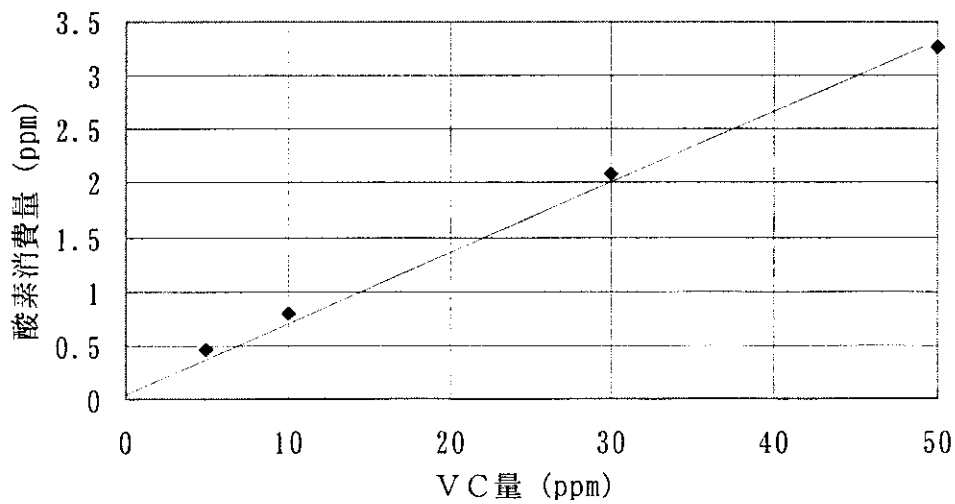


図 5. 低濃度総 L-アスコルビン酸の検量線  $Conc = 16.03x + -2.732$

2) 低濃度アスコルビン酸の検量線

0.2%メタリン酸溶液を用いた、5ppm、10ppm、30ppm、50ppmのアスコルビン酸溶液における消費酸素量を得た（表 19）。

この消費酸素量を基にして低濃度アスコルビン酸の検量線を作成した（図 6）。

表 19. アスコルビン酸用検量線の消費酸素量 ppm

L-アスコルビン酸濃度 (ppm)	初期値	終点値	差	平均
5ppm	9.07	8.75	0.32	0.33
	9.39	9.05	0.34	
	9.34	9.00	0.34	
10ppm	8.84	8.39	0.45	0.48
	8.82	8.33	0.49	
	8.55	8.05	0.50	
30ppm	8.99	7.52	1.47	1.51
	8.71	7.13	1.58	
	8.83	7.36	1.47	
50ppm	8.46	6.20	2.26	2.12
	7.73	5.64	2.04	
	7.79	5.72	2.03	

低濃度アスコルビン酸の検量線

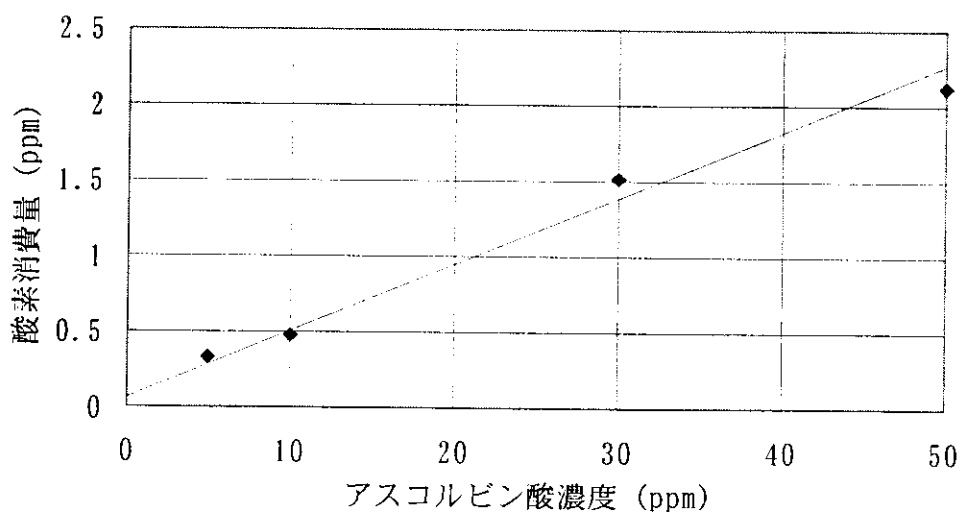


図 6. 低濃度アスコルビン酸の検量線

$$\text{Conc} = 24.26x + -3.194$$

## 8.2.アスコルビン酸高濃度の検量線

### 8.2.1.研究目的

高濃度のアスコルビン酸の測定が可能のように、2%メタリン酸溶液を使用し総アスコルビン酸の酸素消費を求めアスコルビン酸の検量線を作成する。

なお、0.2%のメタリン酸では高濃度の測定に手間がかかるため 2%メタリン酸を用いて行うことにより試料希釈の簡略化をはかる。

### 8.2.2.研究方法

#### 1) 試薬

- (1) 2%メタリン酸溶液
- (2) L-アスコルビン酸溶液 (50, 100, 250ppm)
- (3) ジチオトレイトール溶液
- (4) *N*-エチルマレイミド溶液
- (5) 4000U/mL アスコルビン酸オキシダーゼ溶液
- (6) リン酸緩衝液 (pH8)

#### 2) 測定操作

(1) 0.010g ( $f = 1.00$ ) のアスコルビン酸をはかり取り 2%メタリン酸溶液で 20mL にし、この溶液を 50ppm、100ppm、250ppm に希釈した。

#### 3) 総 L-アスコルビン酸用検量線

アスコルビン酸希釈溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL、ジチオトレイトール溶液 0.01mL を加え 5 分間放置後、*N*-エチルマレイミド溶液 0.01mL を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた (表 20)。

#### 4) L-アスコルビン酸用検量線

##### (2) L-アスコルビン酸用の検量線

L-アスコルビン酸希釈溶液 0.1mL、リン酸緩衝液 0.9mL を加え、アルゴンガスを充填し、5 分間攪拌後、アスコルビン酸オキシダーゼ溶液 1  $\mu$  L を加え反応させた。

### 8.2.3.研究結果

#### 1) 高濃度総 L-アスコルビン酸の検量線

2%メタリン酸溶液を用いた、50ppm、100ppm、250ppm の L-アスコルビン酸溶液における消費酸素量を得た (表 20)。

この消費酸素量を基にして低濃度総 L-アスコルビンの検量線を作成した (図 7)。

表 20. 総 L-アスコルビン酸用検量線の消費酸素量 ppm (DTT 添加)

濃度	初期値	終点値	差	平均
50ppm	8.42	7.90	0.52	0.56
	8.63	8.06	0.57	
	8.14	7.56	0.58	
100ppm	7.88	6.41	1.47	1.32
	7.68	6.42	1.26	
	7.70	6.48	1.22	
250ppm	8.05	4.87	3.18	3.10
	8.09	5.13	2.96	
	8.17	5.01	3.16	

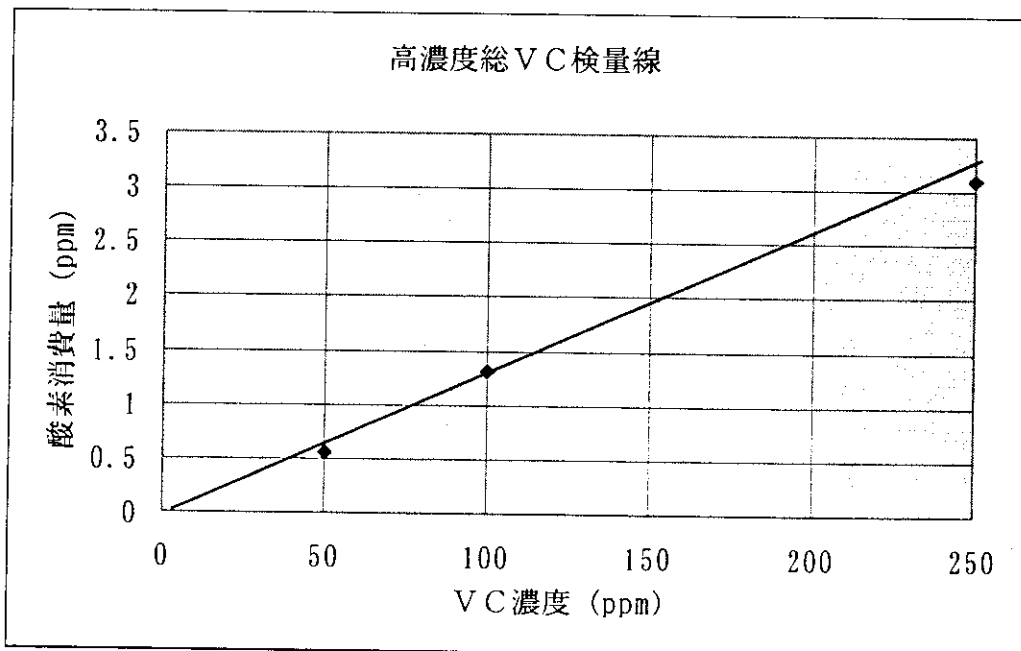


図 7. 高濃度総 L-アスコルビン酸検量線  $Conc = 79.85x + 0.945$

2) 高濃度アスコルビン酸の検量線

2%メタリン酸溶液を用いた 50ppm、100ppm、250ppm のアスコルビン酸溶液における消費酸素量を得た (表 21)。

この消費酸素量を基にして低濃度アスコルビン酸の検量線を作成した (図 8)。