

小学校家庭科向きのビタミン C 簡易測定法の精度と適用性

中村 泰彦・田島 真理子・長石 啓子

(1995年10月16日 受理)

Accuracy and Applicability of a Convenient Method of Measuring Vitamin C

Suitable for Homemaking Class in Elementary School

Yasuhiko NAKAMURA, Mariko TAJIMA and Keiko NAGAISHI

はじめに

小学校家庭科の授業で扱う食品のひとつに果物や野菜がある。これらは、その栄養的特徴としてビタミン C の供給源となるものが多いので、栄養を考えた食品の組み合わせで必ずといっていいほど取り上げられている。中でもいちごやみかんなどの果物はビタミン C の含有量も多く、子供たちの最も好きな食べ物のひとつでもあるので、それへの関心は高い。一方、野菜は果物のようには好まれないが、きゅうり、トマト、ピーマンなどは子供たちにとって身近な食品であり、好き嫌いにかかわらずそれらへの関心は高い。また、果物や野菜は本来、生食するか生食することのできるものが多いので、洗う、切るといった簡単な調理操作だけで食物の調製を完結させることができる。したがって、これらの果物や野菜を取り入れて、低学年向きの家庭科の題材、例えば栄養素の種類、食品の栄養的特徴、簡単な調理操作、会食の仕方などを学ばせる題材を設定することは、子供たちの興味や技能からみても妥当なものといえよう。

教材としての食品の選択とともに大事なことは、教えた内容の理解と知識としての定着をいかにして図るかということであろう。その方法のひとつとして実験が考えられる。食品中のビタミン C を測定するための簡単な試験法としては、ビタミン C の還元性を利用した2,6-ジクロロフェノールインドフェノール（インドフェノール色素）を用いる方法があり^{1)~3)}、この方法による測定を取り入れた授業実践も多く行われている。しかし、実際に小学校5、6年の子供たちにさせようとする技術面や設備面で難点があったり、逆に操作は簡単であるが量的把握という観点が不十分であるで必ずしも子供たちの知的要求に答え得ない、といった問題に直面することがある。また、教える側の教師も実験の経験がなく、測定を授業に取り入れたいと思いつつも実際に計画する段階で器具や試薬の問題から躊躇してしまうという場合も少なくない。家庭科の学習における実験、実習の

重要性から考えて⁴⁾、学校の設備や教師の経験、子供たちの技能で十分できるビタミンC測定法の検討が求められる。

本研究では、ある程度の量的把握ができることを条件として、小学校5、6年生でできる還元型ビタミンCの測定法を設定し、実験経験の少ない者が測定しようとするときの結果のばらつきと、この方法の適用性について検討した。なお、小学校の家庭科の授業で、還元型ビタミンCと酸化型ビタミンCの合計量を求める実験をすることはいろんな点で困難が多いので、本研究では還元型ビタミンCの測定だけを取り上げた。

実験方法

1. 試料、試薬および器具

測定試料の野菜および果物はすべて鹿児島市内のスーパーマーケットで購入し、できるだけその日のうちに試験に供した。やむを得ず翌日使用するときには、ポリエチレンの袋に入れて冷蔵庫に保存した。ほうれんそうは根の上1cmで切断して根部分を除き、じゃがいも、かき、キウイフルーツは皮をむいた。果汁を用いる柑橘類は果皮とじょう嚢を取り除いて用いた。その他の野菜や果物は、家庭で利用するときには普通取り除く部分(ピーマンのへた、キャベツの最外部の葉、ブロッコリーの太い花茎など)を除いて用いた。サンプリングにあたっては全体を代表したものとなるよう注意した。すなわち、中心軸を持ち球形に近い形のものには軸に沿って放射状に切り(キャベツ、ピーマン、トマト、かき、ブロッコリー、いちご)、あるいは区分けし(レモン、うんしゅうみかん、オレンジ、グレープフルーツ)、円柱に近い形のものには長軸に直交するように層状に切り(きゅうり、じゃがいも、キウイフルーツ)、それぞれ断片を数か所から集めて使った。ほうれんそうは葉の主脈に直角に2cm間隔に切り、よく混ぜ合わせた中から取った。

試薬は市販の特級品を使用した。測容器具は化学実験用のガラス器具の他に、簡易計量器具として、市販のプラスチック製10ml容試料びん、5ml容のピペットおよび2ml容のスポイトを用いた。

2. 測定者

同じ試料液の繰り返し測定における変動係数を求める実験では、大学で食物学の基礎的実験を履修した教育学部卒業生とし、測定者間のばらつきを見る実験では、実験の経験がある大学生とした。この試験の目的から、測定者には測定操作の説明だけを行い、予備実験など測定に習熟するための機会は設けなかった。

3. 測定方法

(1) スポイトによる還元型ビタミンCの測定

抽出溶媒は蒸留水(以下水と略す)またはメタリン酸溶液とした。水抽出では、試料10gをすり

鉢に取って10mlの水を加えてすりつぶし、さらに30mlの水を加えて十分に細くなるまですりつぶした。磨砕液はNo.2のろ紙を用いてろ過した。ろ過に時間がかかるものはブフナー漏斗を用いて吸引ろ過した。ろ液5mlを試験管に取り、よく振り混ぜながら、0.2%の2,6-ジクロロフェノールインドフェノールナトリウム（インドフェノール色素）溶液を2ml容のプラスチック製スポイトから滴下した。インドフェノール色素の色が消えずに残っていることが明らかに判別できるまで加え、それまでに加えた滴数を記録した。抽出溶媒をメタリン酸とするときは、試料10gに水のかわりに4%のメタリン酸を10ml加え、次に2%メタリン酸30mlを加えることを除いて水の場合と同様に行った。

多量の抽出液が必要なときは2倍または4倍にスケールアップして行った。

(2) 滴定による還元型ビタミンCの測定

試料10gを乳鉢に取り、海砂約5gと5%メタリン酸40mlを加えて十分にすりつぶした後、蒸留水50mlを加えて均一になるよう混合した。これを3,000rpmで10分間遠心分離し、得られた上澄をビュレットに取り、5mlの1mg%インドフェノール色素溶液を滴定した。インドフェノール色素溶液は測定時に新たに調製したが、その力価は4mg%の標準アスコルビン酸溶液で標定した。

測定結果のばらつきを見る実験は、本研究では終点の判定の難易に焦点を絞ったため、スポイト法、滴定法とも同一抽出液を使って行った。

(3) 計量用具の測定精度

スポイト類による計量の個体間ばらつきは30個体について次のように測定した。すなわち、5ml容ピペットでは標線まで蒸留水を吸い上げて取り、その排出重量を測定した。2ml容スポイトの1滴の容量は、スポイトから滴下させた蒸留水10滴の重量から出した。

試料びんの繰り返し使用による計量値のばらつきは、繰り返し数を10回として求めた。試料びんの刻線を標線とし、標線までまたは口までいっばいに蒸留水を満たし、その排出重量を測定した。

結果と考察

1. スポイト法の結果のばらつき

9種類の果物および野菜からメタリン酸で抽出した抽出液に対する滴定法とスポイト法による測定値の変動係数を図1と図2に示した。同一測定者の繰り返し測定における変動係数は滴定法が平均6.4%であるのに対してスポイト法は3.4%で、スポイト法が滴定法より小さかった。じゃがいもやトマトは還元型ビタミンC含有量が少ないので、スポイト法では1滴以内となり変動係数がゼロとなるが、このような特別の場合を除いても、キウイフルーツやキャベツのように滴定終点での色の変化が緩慢であるときは、用いる色素溶液の濃度が200倍高いスポイト法の方が結果の判定で差が生じない。オレンジやいちごのように、抽出液の着色が濃いときにも同じようなことがいえる。

異なる測定者間での変動係数は滴定法が平均8.5%、スポイト法が6.4%で、いずれも繰り返し測

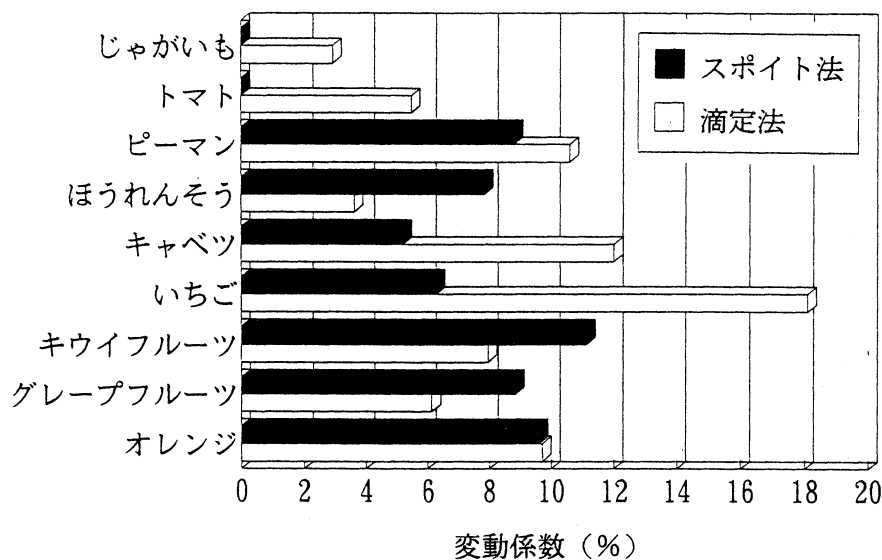


図1 繰り返し測定における測定値のばらつき

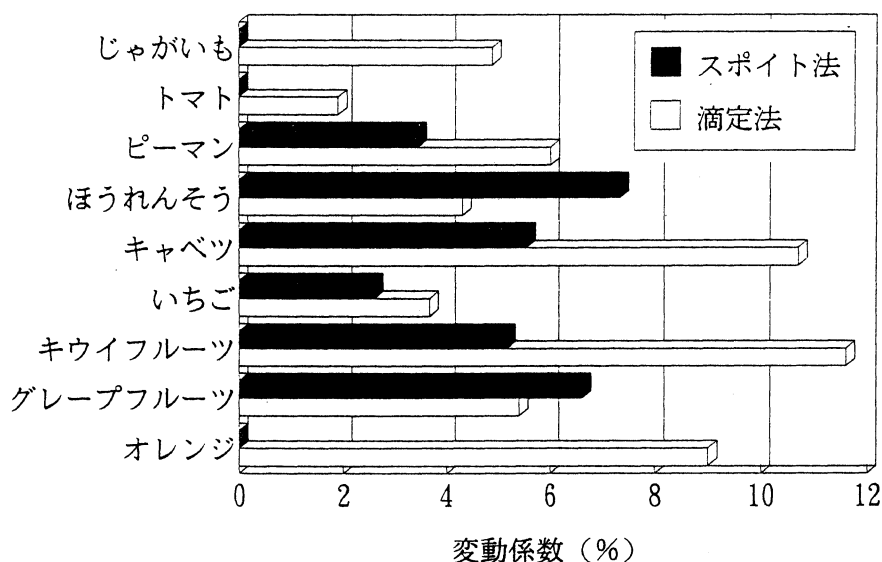


図2 異なる測定者間での測定値のばらつき

定るときより大きかった。終点の見方の個人差が加わるため当然の結果といえる。滴定法とスポイト法の比較ではいちごでの違いが顕著であった。いちごはメタりん酸溶液抽出液が赤色となるため、インドフェノール色素溶液の色との区別が難しく、終点の変色点の定め方の個人差が結果に影響していると考えられる。

ビュレットを用いる滴定法は熟練すればかなり正確な結果が得られるが、測定者が実験の経験が少ない者であるときは、滴定終点での色の変化の様子をかなり詳しく説明しても終点の判定は容易ではない。同じ試料について数回の練習をした後では同一人によるその試料の滴定値のばらつきはかなり小さくなるが、この場合でも測定者による差はあまり減少しない。

小学校の家庭科の授業の中で行うときには、あらかじめ練習させるという時間的余裕は多くの場合ないし、また全員に測定させるという前提で考えれば測定者によるばらつきを相当大きく見積もらなければならない。したがって、子供たちが行った実験の結果からそれぞれの試料のビタミン C 含有量についての一定の結論を導き出そうとするときには、変動係数の大きい滴定法よりスポイト法の方がよいといえる。小学 5, 6 年生の技能の程度からいっても滴定法は難し過ぎ、スポイト法が適当であろう。ただし、スポイト法の場合でも、どこでインドフェノール色素溶液の滴下をやめたらよいかを言葉で子供たちに正確に理解させることは難しいので、子供たちが実験に取りかかる前に、滴下したインドフェノール色素溶液の色が消えなくなる時の変化の様子を教師が演示実験で示しておくことが望ましい。

滴定法に十分習熟した後に 15 種の果物および野菜の還元型ビタミン C 含有量を滴定法で求め、スポイト法で得られた結果との相関を求めた。メタリン酸で抽出したときの結果を図 3 に示した。スポイト法と滴定法との相関係数は $r=0.972$ で両者に高い相関があること、したがって抽出の際にメタリン酸を使用すれば、スポイト法はかなりの正確さで、かつ簡単な操作で果物や野菜の還元型ビタミン C を測定することができることが分かった。メタリン酸のかわりに水で抽出したときは図 4 に示したように、スポイト法はかきを除く果物類では $r=0.819$ で滴定法と高い相関を示したが、全体では $r=0.224$ で相関が低かった。特にブロッコリー、パセリ、ほうれんそう、キャベツなどではスポイト法は滴定法から期待される値の 6~50% の値しか得られなかった。柑橘類やい

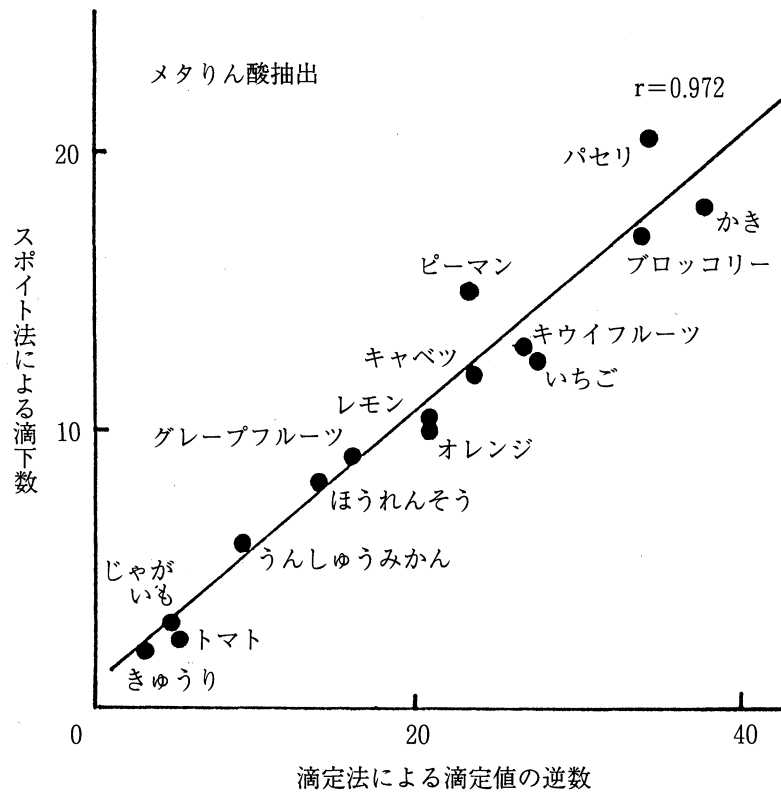


図 3 メタリン酸抽出—スポイト法の滴定法との相関

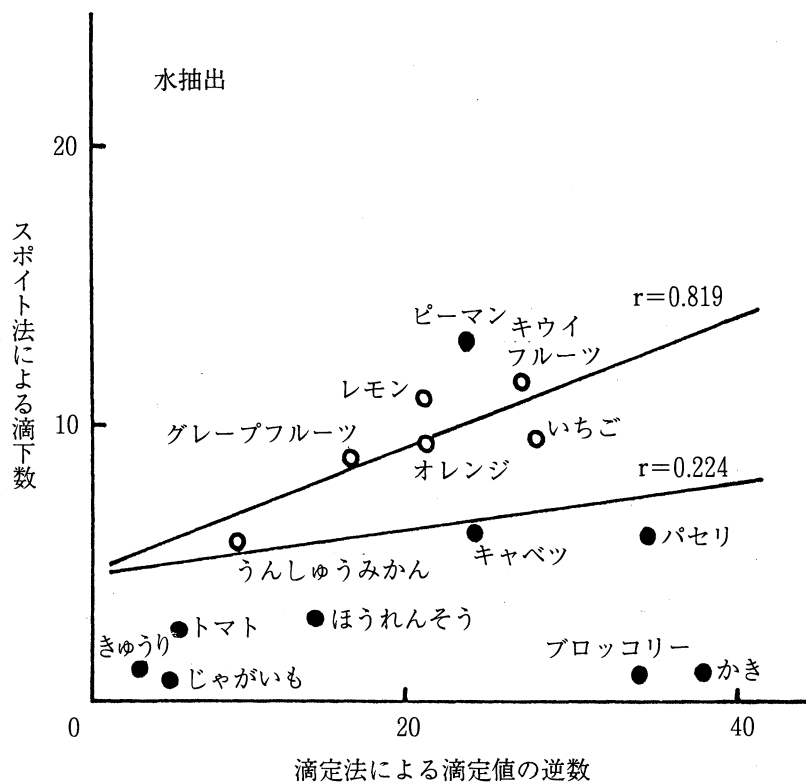


図4 水抽出—スポイト法の滴定法との相関

ちごの水での抽出液の pH は 3～4 であるのに対して、トマトを除く野菜のそれは 6～7 と高いため、抽出からインドフェノール色素溶液滴下までの間に還元型ビタミン C が変化し、その結果低い値となったものと推定される。

2. スポイト法の適用性

小学校家庭科で行う実験であることを前提として考えると、できるだけ特別な試薬等を使わずにできることが望ましいし、また、実験の操作も大人のように速やかにはできないことも考慮する必要がある。図3、図4から明らかなように、野菜類は水抽出では含有量に比例した結果が得られないが、柑橘類やいちごのような果物では水抽出とメタリン酸抽出とでほとんど差がない。そこで、身近に得られる果物で、還元型ビタミン C 含有量の多いものについて、水抽出したときの抽出液中の還元型ビタミン C 量の経時的変化をスポイト法で求めた。磨砕始めから抽出液を測り取るまでに最低6分はかかるので最初の測定時間は6分とした。結果は図5に示したように、きんかん、いよかんでは60分後でもインドフェノール色素溶液の消費量は6分後と変わらなかった。オレンジ、レモン、いちご、キウイフルーツでは5～10%程度の減少が見られたが、この程度の変化は測定の精度と比較してほとんど問題ないといえる。

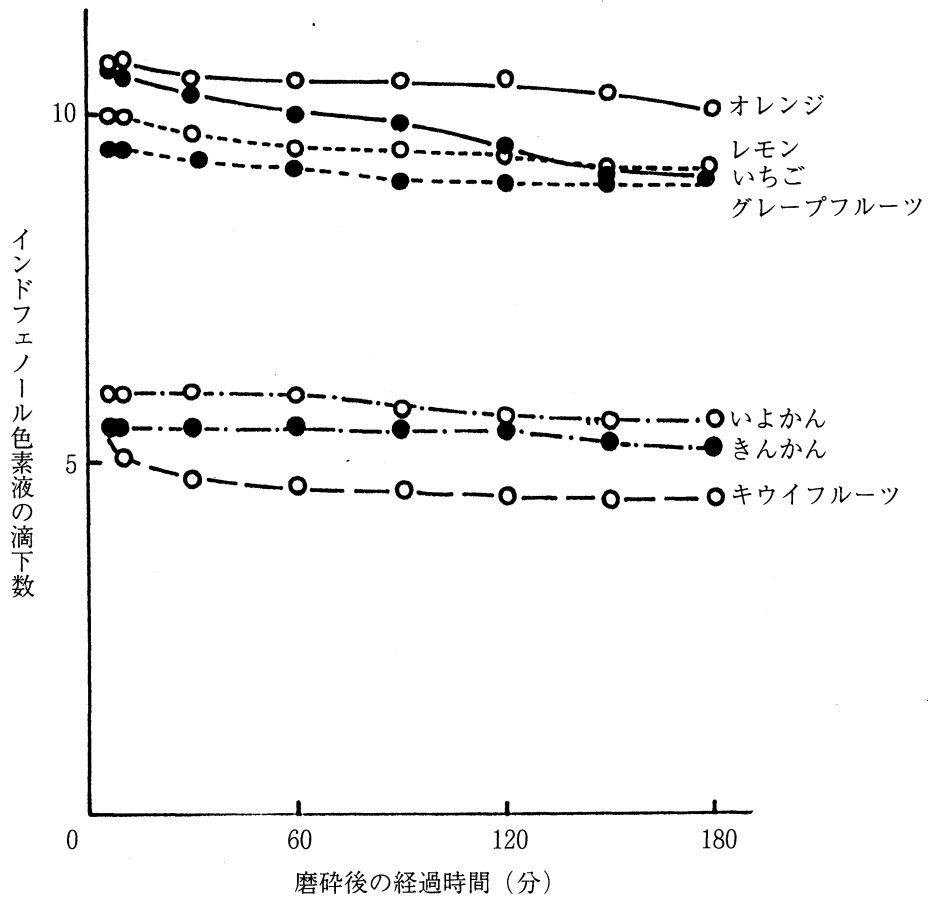


図5 果物水抽出液中の還元型ビタミン C の安定性 (スポイト法)

3. 器具の選択

小学校の現場で家庭科の授業に実験を取り入れようとするとき、一般に障害となるのは用いる試薬および器具の準備である。柑橘類やキウイフルーツなどの酸度の高い果物を試料とするときは水での抽出で十分であるので、用いる試薬は0.2%のインドフェノール色素水溶液のみとなる。薬品の入手や調製にはほとんど問題はないといっている。器具について、著者らは、小学生の技能に合いかつ教師の準備に負担をかけない器具として、インドフェノール色素溶液滴下用には2 ml容のポリエチレン製スポイトを、希釈した試料液5 mlを取るのには5 ml容のポリエチレン製ピペットを、搾り汁と希釈用の水を取るのにはポリエチレン製の10 ml容試料びんを使用し、試料液の調製からインドフェノール色素溶液の滴下までの操作を次のように設定した。

皮をむいた柑橘類、キウイフルーツをさらし布か二重ガーゼに包んで搾り、搾り汁を試料びんいっぱいに取り適当な容器に移す。これに水道水を試料びんで4杯加えて混ぜる。このようにして薄めた搾り汁5 mlを5 ml容ピペットで試験管に取り、2 ml容のスポイトに入れた0.2%インドフェノール色素溶液を色が消えなくなるまで滴下する。

このようにして得られた結果に対する、計量の大まかさからくる誤差の程度を知るために、使用する器具による計量の個体による偏差を求めた (表1)。5 ml容ピペットの目盛りまでの採取量は

平均4.40mlで表示量より15%ほど少なかったが、個体間の相対標準偏差は表1に示したように1.7%でかなり小さかった。同じ表示容量のガラス製駒込ピペットの相対標準偏差は1.3%であったので、このポリエチレン製のピペットを用いて一定量を取るときの個体によるばらつきは駒込ピペットと同等であるといえる。一方、2ml容のスポイトの1滴の量の相対標準偏差は9.2%でかなり大きかった。

表1 スポイト類による計量の個体間偏差

測容器具	容量	測定量	平均値	標準偏差	相対標準偏差
駒込ピペット	5	5	4.95	0.064	1.3
ポリピペット	5	5	4.40	0.076	1.7
ポリスポイト	2	1	0.39	0.036	9.2

注) 30個体について測定。相対標準偏差(%)とポリスポイトの測定量(滴)を除き、単位はml。

小学校段階で授業にビタミンCの測定を取り入れるときの目的を考えると、試料中に含まれるビタミンC量を正確に測る必要はまずないといってよい。ビタミンCの測定実験を授業に組み入れることによって学習効果が上がることが期待できる例として、教材として用いる試料中にビタミンCが含まれるか否かの確認、複数の試料間のビタミンC含有量の大小の比較、試料の時間経過によるビタミンC含有量の変化の追跡などがあげられるが、これらは還元型ビタミンC含有量の相対的な比較で十分に目的を達することができる。そのような場合、一連の測定に同じスポイトを使えばスポイト間の偏差は問題とならない。ただし、複数の測定結果を平均するときには注意が必要で、異なるスポイトで得た結果(滴下数)は対照に対する相対値に直す必要がある。また、この方法では観測できる最小単位は1滴となるので、測定結果には滴下数が5滴以上のとき20%以下の、10滴以上のとき10%以下の誤差を必然的に伴うことになる。したがって、試料液の滴下数が少ないときは試料の希釈倍数を低くするなどの工夫が必要となってくる。

試料びんは同じものを搾り汁と希釈用の水を取るのに用いるので、個体間の計量のばらつきは最終希釈液の濃度には影響しない。むしろ液を測るときに液面を標線と合わせる視点の位置やびんの傾きが原因となるばらつきの影響が大きいと思われる。試料びんを水平な台の上に置いてびんの液面と同じ目の高さで標線に合わせたとき、びんを手を持ってびんの傾きに特に注意を払わないで標線に合わせたとき、びんから溢れるまでいっばいに液を入れたときそれぞれの、10回繰り返し測定による計量値の相対標準偏差は0.39%、1.39%、1.08%であった。溢れるまでいっばいに取る方法でも5ml容ピペットの相対標準偏差より小さいので、小学生の技能のことも考慮すると、溢れるまでいっばいに取るよう指示するのがよいと思われる。

還元型ビタミンCの測定実験は小学校でもよく行われているが、そこで用いられている方法の多くは、インドフェノール滴定法^{5), 6)}を基にしたものである。しかし、この方法では試料液の還元型ビタミンC含有量が少ないときは加える試料液量が多くなり、それによって色素溶液が薄めら

