

ビタミンB₂の光分解に及ぼす共存物質の影響について

納谷佳世子、八木一文

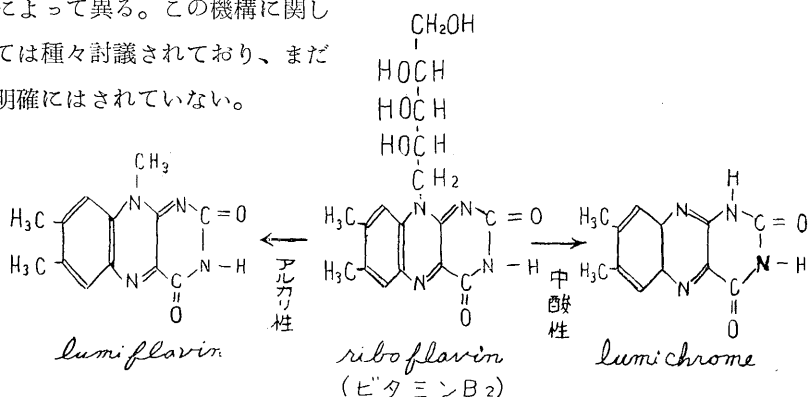
I 緒言

ビタミン B₂ (以下 B₂ と略す) の最も特徴ある反応としてはまず光化学反応があげられる。これには 2 種あって、その 1 つは光エネルギーによる B₂ 自身の分解 (これからのべようとする B₂ の光分解反応) であり、他の 1 つはその演ずる光触媒的酸化作用にある。前者すなわち B₂ 自身の光分解では条件によってその様相は一様でなく、溶液の pH、反応温度、光波長並びに共存物質によって影響される。

分解温度は一般の化学反応と同様その影響が著しい。

光波長は紫外線よりはむしろ波長 400~700m μ の可視光線が支配的な役割を演ずることが判明している。

溶液の pH については pH4~6 では分解率が 60% であるのに対して pH7~8 では 80% まで分解される。またこの時生ずる分解生成物も第 1 図に示す如く pH によって異なる。この機構に関しては種々討議されており、まだ明確にはされていない。



第一図

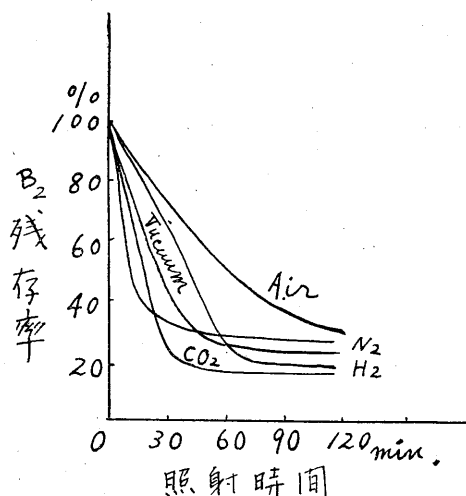
ビタミン B₂ の光分解生成物

本課題の共存物質の影響は特に著者らの食品成分間の相互作用を究明するという立場から見て甚だ興味が深い。B₂は 単独の状態で存在することなく食品中で他の成分と共存し、これらによって光分解が促進され、あるいはまた逆に阻止されるであろう。そこで著者らはこの事については 現在までの研究を調べ、検討を加えることにした。調査の範囲では植物色素に関する問題が残されており、著者らは植物界に広く分布しているフラボノイドの B₂ 光分解に及ぼす影響について特に興味をもっているが、この点に関しては後でのべる。

Ⅱ 気体、金属イオンによる影響

B₂ の光分解の反応速度を測定する場合、その反応系に存在する気体が先ず問題となることはいうまでもない。

¹⁾ 桜井らの研究では、第2図に示すように酸素が B₂ の光分解速度を減少させるものであることがわかった。



第 2 図
B₂溶液をガス気流中で照射した場合の B₂分解曲線
(100% B₂溶液) 5cc, 70°C, 200W
にて照射)

次に B₂水溶液中に微量の金属イオンが存在すると B₂ の光分解に幾分か影響することも考えられるが、坂井の研究では B₂ 2.6×10^{-4} M/L に対して各種金属イオン 10^{-4} M/L が共存する場合、微酸性溶液中で、これら金属が B₂ の光分解速度に及ぼす影響は Fe^{••} が最も促進的であり、次いで Fe^{•••}, Cu^{••}, Al^{••},

Sn⁺⁺, Co⁺⁺, Mn⁺⁺, Cr⁺⁺, Zn⁺⁺, の順序に従って促進作用が減少し、Pb⁺, Ni⁺ は殆んどその作用がない。Ag⁺ は阻止作用をもつようである。

一番影響の大きい Fe⁺⁺ イオンの場合でも、反応系中の酸素の有無により、その効果が異なるのであって、これを表記すると第1表のようになる。

第 1 表

鉄イオン	酸素の存在する場合	酸素が存在しない場合
Fe ⁺⁺	促進する Fe ⁺⁺ → Fe ⁺⁺⁺	抑制する
Fe ⁺⁺⁺	Fe ⁺⁺ に比較して促進効果が小さい	促進効果が大 Fe ⁺⁺⁺ → Fe ⁺⁺

上表から Fe⁺⁺ あるいは Fe⁺⁺⁺ 自身よりも Fe⁺⁺ ⇌ Fe⁺⁺⁺ の反応が B₂ の光分解を促進するように思われる。この鉄イオンの触媒作用は酸素以外に、酢酸ソーダのような緩衝液によって促進されたり、propylene glycol などのアルコール類によって抑制される。

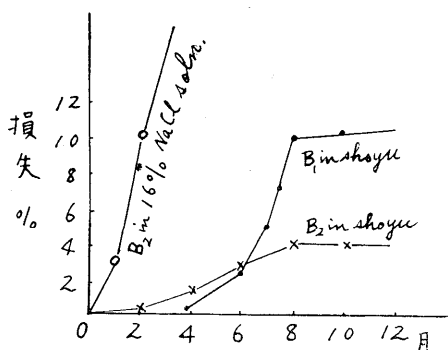
Ⅲ アミノ酸、糖、ビタミンなどの 栄養素による影響

a) アミノ酸

最近、強化食品（米、味噌、醤油などに B₁、B₂ などを添加しその栄養価値を高める）が多く市販されているが、高田³⁾の研究では醤油の B₂ 強化の場合、

第 3 図

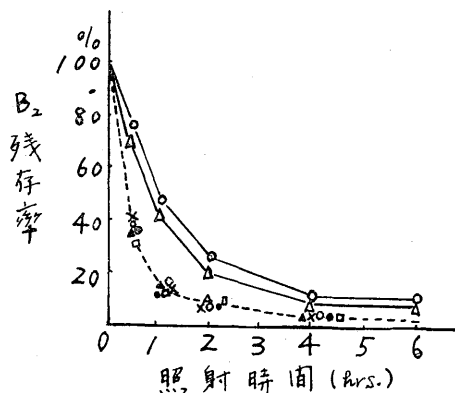
醤油に添加された
B₁およびB₂の損
失



添加した B₂ が比較的安定であることがわかった。(第3図) これは醤油中に含まれるアミノ酸が B₂ の光分解を抑制するた

めであるとされた。

桜井らは⁴⁾ B₂の微酸性溶液に各種アミノ酸を添加し、これを一定時間加熱照射したときの残存 B₂ 量を測定し各種アミノ酸による B₂ 光分解阻止作用を比較すると共にその微酸性溶液中に残存するアミノ酸の分量についても併せて検討した。



第 4 図

アミノ酸と共存する B₂ の光分解
曲線

B₂ 5γ/cc, アミノ酸 200γ/cc

pH 5.6. 0.1M酢酸緩衝液中 (50°C
400W照射)

-○ B₂のみ
- Tryptophane添加
-□ Methionine
- ▲.....▲ Cystine
- △——△ Tyrosine
- ×.....× Phenylalanine
-● Histidine

第 5 図

B₂と共存するアミノ酸の光分解
曲線

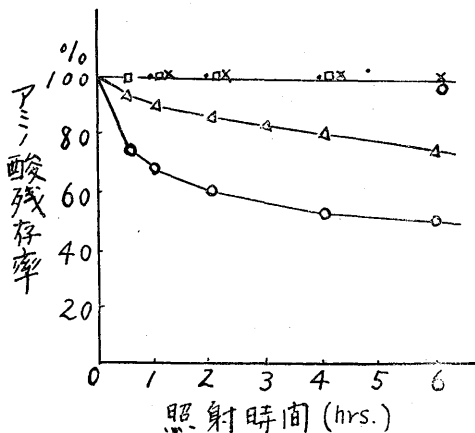
B₂ 5γ/cc, アミノ酸 200γ/cc

pH 5.6

0.1M酢酸緩衝液中

(50°C 400W照射)

- Tryptophane
- Methionine
- △——△ Tyrosine
- ×——× Phenylalanine
- Histidine



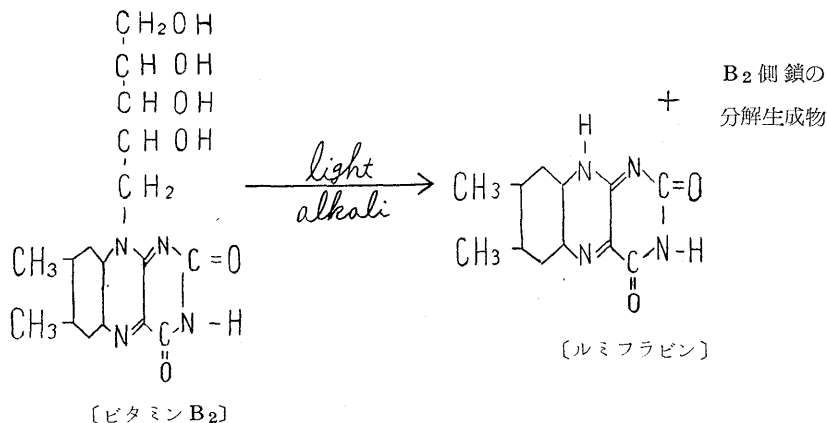
第 4、5 図の結果から B₂ の光分解を阻害する Tryptophane 及び Tyrosine はそれら自身も光分解されることがわかる。しかしながら B₂ の光分解に影響しない Methionine, Cystine, Histidine, Phenylalanine は殆んど変化しない。

b) 糖

蔗糖あるいは果糖のような糖類は一般に微酸性溶液中の B_2 の光分解を幾分か促進するが逆にアルカリ性溶液中では、糖の種類によって幾らか異った振舞をするようである。すなわち蔗糖、ブドウ糖では酸性、アルカリ性何れの溶液中にあっても殆んどその効果に変化は見られないが、果糖あるいはソルボースのようなケトーズが存在する場合には B_2 の光分解が著しく阻止される。

桜井、日置らの果糖による B_2 光分解実験では溶液中のアルカリ濃度が増せば B_2 光分解の阻止作用が強く、さらに果糖をアルカリで処理したものと B_2 とを共存させ、その光分解の状況を調べると、阻止作用が著しく増加することが観察された。なお、この場合果糖をアルカリ処理した際の果糖量は処理後5時間で約50%に減少し、ペーパークロマトグラム法を用いて分解物の検索を実施した結果、数個のスポットの生ずることが判明した。これらの化合物がどのような構造のものであるかは全く不明であるが、おそらく B_2 側鎖の ribitol の分解生成物と同一であろうと推察される。

B_2 のアルカリ光分解の反応の機構を次のように仮定すると



となり、既に B_2 側鎖の分解物として果糖のアルカリ分解物がこの反応系に存在するため、この反応系は平衡状態となり、 B_2 の光分解反応は停止する。このためアルカリ溶液中では果糖が B_2 光分解阻止作用をもつと推察される。

c) ビタミン類

ビタミンについては余り知られていない。今までに報告された1、2について略述する。

B₁、B₂がアルカリ性溶液中に共存する場合の光分解においてこれらはそれぞれ H donor H acceptor として作用し、B₂が存在しない場合と比較して B₁ からチオクロムへの移行が著しい。⁶⁾

B₂とCの共存においても同様のことが考えられ、B₂の光分解はCの存在によって阻止され、逆に C の光分解はB₂の存在によって促進されるのである。⁷⁾

IV フェノール及びその誘導体による影響

B₂ 溶液中に微量のフェノール誘導体が共存すると B₂ の螢光が消失し、かつ光分解を抑制することは、八木、堀田によって報告されている。⁷⁾ この原因として、八木らは

(1) フェノール誘導体によって、入射光の中光分解に関与する特定の波長を吸収する。

(2) B₂ —フェノール誘導体の結合物が生成され、それが光分解を抑制するという2つの場合を考えている。

(1)について検討するため、フェノール水溶液及び純水を通過した光のそれぞれで B₂ の中性光分解を行ったところ、両者の分解率の間には有意な差が見られなかった。これはフェノール溶液では原因(1)で示される光の吸収が認められないことを示すものである。従って(2)の結合物生成がほぼ正しいと考えられるようになった。

そこで B₂ 溶液を中性あるいは微酸性に保ち、これにフェノール誘導体を添加した試料を作成した。さらにこれに一定時間、光照射してその光分解の状態を調べ、次に示す結果を得た。

すなわち、B₂の光分解阻止作用にはベンゼン核に直結する OHが1ヶ以上あることが必要であり、—COOH, —NH₂ は影響しないことがわかる。さらに OH が直結していないベンジルアルコールなどの B₂ の光分解阻止作用は全く見られなかった。

第 2 表

フェノール誘導体	B ₂ 光分解抑制率	
	中、酸性	アルカリ性
フェノール <chem>Oc1ccccc1</chem>	100	0
パラクレゾール <chem>Oc1ccc(C)cc1</chem>	96.6	13.3
グアヤコール <chem>Oc1ccccc1OC</chem>	96.6	10.7
フロログルシン <chem>Oc1ccc(O)c(O)c1</chem>	100	1.8
サルチル酸 <chem>O=C(O)c1ccccc1</chem>	100	0
P. A. S <chem>O=C(O)c1ccc(N)cc1</chem>	86.6	0.9

なお、同氏らは B₂ とフェノール及びその誘導体とが共存する水溶液について吸収スペクトルの測定結果から B₂—フェノール結合物の存在を認め、さらに自由エネルギーの変化からこの結合を水素結合によるものと判定した。⁹⁾ フェノール

の B₂光分解阻止作用が中性溶液では著明であるが、強アルカリでは殆んど認められないことも B₂—フェノール結合物が水素結合であることを示している。

最近に至って OH と NH₂ をもつ芳香族化合物が B₂の溶解度を増加すると共に B₂ の蛍光消失の程度に平行して光分解が抑制されるという事実が認められた。¹⁰⁾ 著者らの実験室における実験でも、この事は明らかにされている。

以上の結果から B₂ の溶解度増大、蛍光消失作用、光分解阻止作用の三現象は本質的に同一の機構を有するように思われる。B₂ の isoalloxazine 核の共軛二重結合が飽和状態となった場合、B₂ に特有の蛍光が消失するという事実からもわかるようにフェノールの OH と B₂ の isoalloxazine 核の 2 または 4 位の C=O が水素結合をなし、B₂ の光分解を司る isoalloxazine 核の特性を失うため光分解を阻止するものと思われる。このことは堀田らの述べるように B₂ の構造と類似ではあるが、isoalloxazine 核をもたない flavoviolet では ribitol

が脱離しない、すなわち光分解が起らないことからよく理解される。

V フラボノイド(フェノール性植物色素) による影響

天然物質中では B_2 が比較的安定であり、光分解などの影響の少ないことが云われている。この点に関する第一の理由としてはまず第3節でのべたアミノ酸や糖などが天然物中で B_2 と共存することによる影響と考えられるが、さらに第二の理由としては、前節にのべたフェノール性物質の B_2 光分解阻止作用も考慮することが必要であると考えられる。しかしながら前節で取扱われたフェノール性物質はすべて天然物中に存在しないものばかりであって、第二の理由を証明するためには、たとえば天然に植物色素として存在するフェノール性物質などの B_2 光分解への影響について詳細な検討を加え、これを基礎として論ずることが適切であると考えられる。しかしながら現在までこの点に関する詳細な報告は著者らの知るところでは全く見られない。

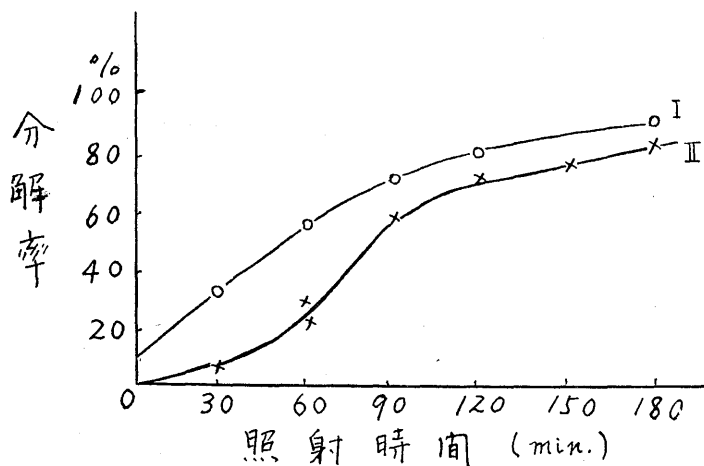
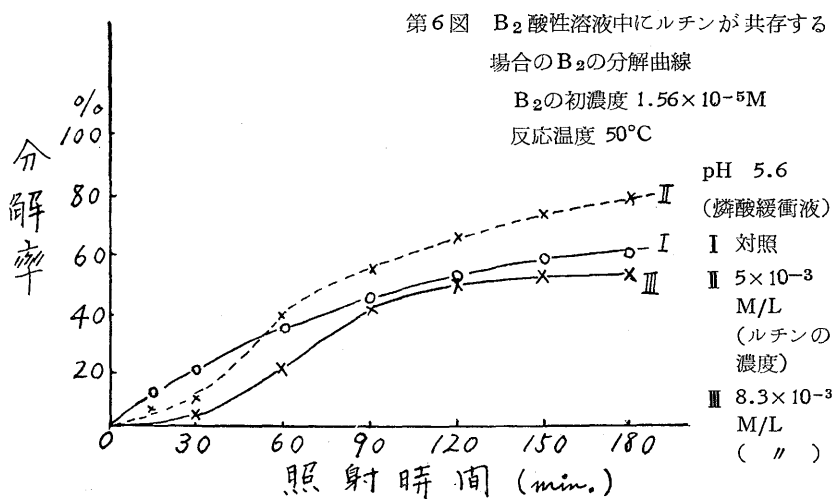
そこでわれわれは天然フェノール性物質としてのフラボノイドの B_2 の光分解に及ぼす影響を調査することとし、まずその第一着手としてルチンを取り上げることにした。

実 験 の 部

試料液 6cc (B_2 溶液 3cc, ルチン溶液 1cc, 緩衝液 2cc) を目盛付共栓沈澱管に入れ、恒温槽中に立て、30cm の距離からサークライン蛍光灯 20W で照射した。一定時間毎に取り出して酸性の場合は生成ルミクロームを、アルカリ性の場合はルミフラビンをクロロホルムで抽出除去する。残存 B_2 をルミフラビン蛍光法によって測定し、分解率を各時間毎に求め、 B_2 光分解に及ぼすルチンの影響を調べ、次に示す結果を得た。

1) 酸性光分解の場合、ルチンの濃度が $5 \times 10^{-3} \text{M/L}$ の濃度では最初は B_2 の光分解を阻止するが時間が経つに従って逆に促進するようである。

2) ルチンの濃度を僅かに増加して、 $8.3 \times 10^{-3} \text{M/L}$ とした場合には阻止作用は初期の段階では極めて著しく、次第に速度を増し、末期に於いて飽和状態に達した。

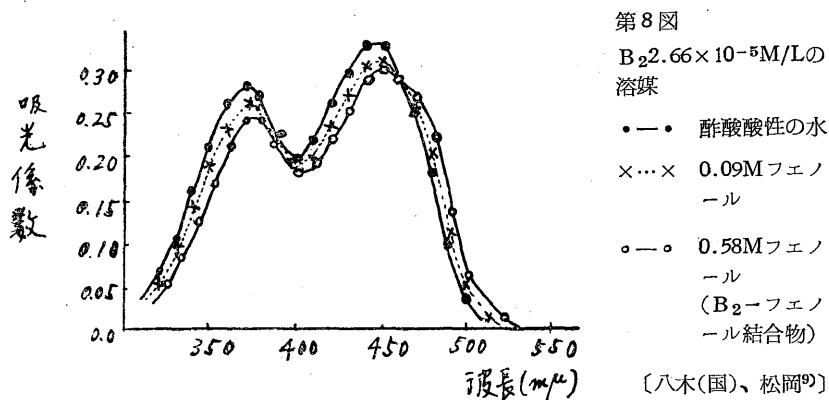


第7図 B₂アルカリ性溶液中にルチンが存在する場合のB₂分解曲線

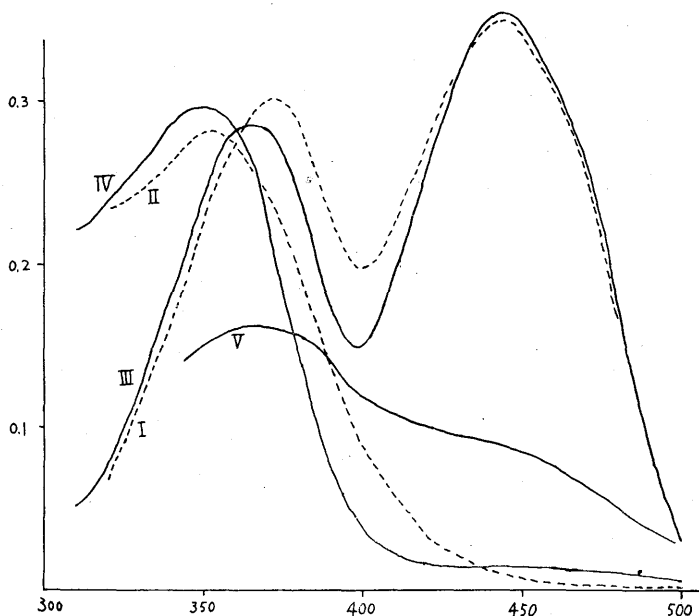
B₂の初濃度 $1.56 \times 10^{-5} \text{M}$
 反応温度 50°C
 pH 8.04 (磷酸緩衝液)
 I 対照
 II $8.3 \times 10^{-3} \text{M/L}$ (ルチンの濃度)

3) アルカリ性光分解の場合にも酸性光分解と同様、初期の段階で阻止作用が著しいが、末期には飽和状態となった。

上述の八木⁹⁾(国)及び Sakai¹¹⁾の報告によれば、 B_2 に対してその螢光を消失せしめるに足る高濃度のフェノール類を使用し、かつ吸収スペクトル上の変化も少ないのであるが(第8図)、われわれの使用したルチンは比較的低濃度でしかも B_2 の吸収スペクトル上の変化が短波長部において非常に大きい(第9図)。



第9図



第9図 B₂-rutin混合系の吸収スペクトル

- I B₂ $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
- II rutin $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
- III B₂-rutin $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
control: rutin $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
- IV B₂-rutin $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
Control: B₂ $2.66 \times 10^{-5} \text{M}$
- V B₂-rutin (B₂ $0.78 \times 10^{-5} \text{M}$, rutin $1.35 \times 10^{-4} \text{M}$)
control: rutin $1.35 \times 10^{-4} \text{M}$

以上の結果のみからフラボノイドの B₂ 光分解阻止作用についてのべることは甚だ困難であり、多数のフェノール性 OH 及びカルボニル基を有するフラボノイドと B₂ との相互作用については多くの検討の余地が残されている。

本実験の基礎的部分は家政科学生、糟谷美与子、永田満智子、野辺セツ子の1957年度卒業研究として行われたものである。

参 考 文 献

- 1) 和田津る、桜井芳人、深井千晴： 栄養と食糧 5, 208 (1953)
- 2) Kazuo Sakai: The Nagoya Journal of Medical Science, 18, 221 (1956)
- 3) 高田亮平： ビタミン 10, 200 (1956)
- 4) 桜井芳人、黒木証吉： ビタミン 11, 473 (1956)
- 5) 日置博子、桜井芳人： ビタミン 8, 380 (1954)
- 6) Maria Sibi, Alex Batcu, and Iulia Gheorghin: C. A; 50, 14816 (1956)
- 7) 八木国夫： フラビン (その検出と定量) 87 (1951)
- 8) 堀田一雄： ビタミン 6, 688 (1953)
- 9) 八木国夫、松岡芳隆： ビタミン 1, 874 (1954)
- 10) Kazuo Sakai: The Nagoya Journal of Medical Science 18, 237 (1956)
- 11) Kazuo Sakai The Nagoya Journal of Medical Science 18, 245 (1956)
- 12) 堀田一雄、伊奈修一郎： ビタミン 10, 67 (1956)

Nayatani, Kayoko

Yagi, Kazufumi

Effect of Co-existent Substances upon the Photolysis of Vitamin B₂

Résumé

Photo-sensitivity of vitamin B₂ is the most interesting property from both biochemical and food processing standpoint of view. Naturally occurring vitamin B₂, of course, coexists with various food components and its stability is greatly influenced by these substances. Therefore, we reviewed the recent progress about the effect of amino acids, sugars, vitamins and other compounds upon the photolysis of vitamin B₂ and some preliminary experiments were made concerning the effect of flavonoid pigment which is widely distributed among vegetable food materials. Rutin, one of the flavonol glycosides, was proved to have some inhibitory effect upon the photolysis of vitamin B₂.