超音波処理がビタミン C 並びにビタミン B₁ に及ぼす影響

Effect of Ultrasonic Wave Irradiation on Vitamin C and B₁ Contents of Vegetable Tissues

(昭和 43 年 9 月 25 日 受 理)

松 谷 康 子* 猪 俣 節 子* 伊 東 淳 子*
(Yasuko Matsutani) (Setsuko Inomata) (Atsuko Ito)
中 野 典 子* 多 田 真 瑳 子* 小 川 安 子*
(Noriko Nakano) (Masako Tada) (Yasuko Ogawa)
小 川 政 禎*
(Masayoshi Ogawa)

In the previous communication the authors reported that when aqueous solution of *L*-ascorbic acid was placed in a sonic field, the indophenol titration value was decreased as a function of sonication times

In this report the effect of sonic oscillation on vitamin C and B₁ content of vegetable tissues was observed and following results were obtained:

1) In the aqueous solution of thiamine derivatives such as B₁-HCl, B₁-NDS, DBT and B₁-pyrophosphate, the thiochrome estimation value was decreased by sonic treatment, respectively.

2) Coexistence of SH compound, such as cysteine, seems to prevent ascorbic acid and thiamine from the effect of sonication.

3) Almost no effect was observed on the ascorbic acid content of fresh parsley leaves, or on the thiamine content of soybean tissue and rice bran tissue by sonic oscillation.

4) When thiamine was added to clam organ extract which was previously sonicated, the percent recovery of thiamine added was 75.7% for 60 minutes sonication.

緒 言

さきに超音波洗浄を食品に適用する前提としてL-アスコルビン酸溶液、植物組織などに超音波照射 (20KC) を行ないその影響を観察した結果を報告した¹⁾。すなわちL-アスコルビン酸の溶液においては超音波照射によって若干の損失をみたがパセリなど植物組織中のビタミンCは特に影響されないように思われた。依って本報では広帯域超音波発振装置 (超音波工業KK, UE 150 V-4 A) を用いてL-アスコルビン酸、ビタミンB₁などに対して周波数を異にする超音波照射を行ないその及ぼす影響について観察した。

実験方法並びに結果

1) 超音波の周波数とL-アスコルビン酸に及ぼす影響

* 椋山女学園大学家政学部

L-アスコルビン酸は水溶液並びに 磷酸緩衝液中において周波数 20KC の超音波照射によりある程度の影響を受ける事はすでに報告した。依ってここではL-アスコルビン酸 50mg% を含む再溜純水 (pH 2.8) および磷酸塩緩衝溶液 (M/15) (pH 4.5, 5.6, 6.8, 7.4) の10ml 宛を 30 ml 内容の試験管に採り室温においてそれぞれ 30分間、周波数28, 50, 200, 400, 800, 1,200, 2,000KC の超音波照射を行ないたる後残存するL-アスコルビン酸量をインドフェノール法によって測定し図1の結果を得た。

すなわち周波数 50KC においてわずかに、400KC 付近においてかなりL-アスコルビン酸の損失がみられ、この際 pH の高いもの程影響が多かった。

次に新鮮なパセリ葉 10 g 宛を秤取し 200ml の再溜純水を容れた 300ml 内容のビーカー中に浸漬したままそれぞれ30分間各周波数において超音波照射を行ないたる後インドフェノール法により 残存する L-アスコルビン

図 1. 超音波の周波数と L-アスコルビン酸に及ぼす影響

図 2. 超音波の周波数とパセリのビタミン C に及ぼす影響

酸を測定し図 2 の結果を得た。

すなわちこれらのパセリの L-アスコルビン酸量は上記各周波数の超音波照射によって特に変化を認めなかったので組織中の L-アスコルビン酸に対しては超音波処理による影響はほとんどないものと考えられる。

2) 超音波の周波数とビタミン B₁ に及ぼす影響

ビタミン B₁-HCl の再溜純水溶液 (pH 5.4~5.6), 酢酸塩緩衝溶液 (M/10, pH 4.5), 磷酸塩緩衝液 (M/15, pH 4.5, 6.8, 7.4) (いずれも B₁ の含有量 / γ / 1 ml) の 50ml 宛をそれぞれ 200ml 内容の三角フラスコに容れ室温中 30 分間, 周波数 28, 50, 200, 400, 800, 1,200, 2,000 KC の超音波照射を行ない残存するビタミン B₁ をチオクローム蛍光法によって測定し図 3 の結果を得た。

図 3 超音波の周波数とビタミン B₁ に及ぼす影響

すなわちビタミン B₁ の水溶液並びに磷酸緩衝液においては超音波の周波数 28, 並びに 400~800KC 付近においてはかなり B₁ の損失を認めたが付酸塩緩衝溶液においては 28KC 付近において微に, 400KC 付近においてわずかに損失を認めたに過ぎずあまり影響はないように思われた。また周波数 50KC 付近および 1,200~2,000

KC の一帯においてはいずれの場合においても超音波照射による影響はほとんど認められなかった。

次に B₁-HCl の再溜純水溶液 (pH 5.4~5.6) 50ml (B₁ 10 γ /ml) を採り周波数 20KC において超音波照射を行ないたる後, それぞれ 20 分間, 60 分間を経過するごとに残存するビタミン B₁ を測定し次の表 1 に示す結果を得た。

すなわち表 1 に示したように 60 分間 20KC の超音波照射によって B₁-HCl は水溶液中 30% 以上を

損失した。

依って以下の各項において周波数 20KC を用い同様に数種のビタミン B₁ 誘導体について超音波照射の影響について観察した。

表 1 B₁-HCl の水溶液に超音波照射 (20KC) を行なった際の影響

超音波照射時間数 (分)	B ₁ 測定値 (γ /ml)	残存率 (%)
0 (照射前)	10.4	100
30	8.1	77.9
60	6.9	65.7

3) デベンゾイルチアミン (DBT) に及ぼす超音波照射の影響

DBT (東京化成工業 KK) を少量のメタノール²⁾ 並びに再溜純水に溶解し B₁ として 10 γ /ml 相当量を含むものをつくりその 50ml を採り 60 分間超音波照射 (20

表 2 DBT 水溶液に超音波照射 (20KC) を行なった際の影響

超音波照射時間数 (分)	B ₁ 測定値 (γ /ml)	残存率 (%)
0 (照射前)	10.7	100
15	8.7	77.5
30	7.2	67.0
60	6.7	62.5

KC) を行ないたる後常法により L-システインにて還元分解後残存 B₁ を測定し表 2 の結果を得た。

表 2 に示したように 60 分間にわたって超音波照射 (20KC) を行なった場合 DBT は水溶液中約 40% 未満を損失した。

4) チアミンナフタリン 1.5 デスルホン 酸塩 (B₁-NDS) に及ぼす超音波照射の影響

B₁-NDS (三共 KK) を少量の 10% HCl³⁾ に溶解し再溜純水にて稀釈したものを A (pH 2.4), この際 1.0 N NaOH にて pH 5.4~5.6 に調整したものを B, 最初より温水に溶解したもの³⁾ (pH 5.4~5.6) を C としこれらはいずれも B₁ として 10 γ /ml 相当量を含むものとし, それぞれ 50ml 宛を採って 60 分間超音波 (20KC) 照射を

表 3 B₁-NDS 溶液に超音波照射 (20KC) を行なった際の影響

供 試 No.	A		B		C	
超音波照射時間数 (分)	B ₁ 測定値 (γ/ml)	残存率 (%)	B ₁ 測定値 (γ/ml)	残存率 (%)	B ₁ 測定値 (γ/ml)	残存率 (%)
0 (照射前)	11.2	100	11.2	100	11.6	100
15	9.3	82.8	8.1	72.0	9.4	81.0
30	7.5	67.4	7.8	69.3	8.7	75.0
60	7.1	63.7	7.2	64.5	8.4	72.8

行ないたる後残存するB₁量を測定し表3の結果を得た。

上表3に示したように B₁-NDS に 60 分間超音波照射 (20KC) を行なった場合 B₁ として約 30 % 余が損失した。

5) B₁ ビロリン酸エステルに及ぼす超音波照射の影響 B₁ ビロリン酸エステル (Sigmachemical Co.) の再溜純水溶液 (B₁ として約 10γ/ml 相当, pH 5.4~5.6) をつくりその 50ml を採って 60 分間超音波照射 (20KC) を行ない常法によりジアスターゼ処理後残存する B₁ を測定し表 4 の結果を得た。

表 4 B₁ ビロリン酸溶液に超音波照射 (20KC) を行なった際の影響

供試 No.	A		B	
超音波照射時間数 (分)	B ₁ 測定値 (γ/ml)	残存率 (%)	B ₁ 測定値 (γ/ml)	残存率 (%)
0 (照射前)	12.2	100	11.3	100
60	6.5	52.8	6.6	58.4

表 4 に示したように B₁ ビロリン酸エステルにおいても 60 分間の超音波処理により略々その 50% 未満を損失した。

6) 組織中のビタミン B₁ に及ぼす超音波照射の影響

大豆, 米糠などの 50 g に再溜純水 200ml 宛を加え, ビーカー中に 1 夜飽水後そのままホモゲナイザーに付して均等化し, これらより 10 g 宛を秤取し再溜純水 30ml を加えて 60 分間 20KC の超音波照射を行ないたる後, 残存する B₁ を測定し表 5 の結果を得た。

表 5 に示したようにこれらの組織中の B₁ は 60 分間にわたる超音波照射 (20KC) により総ビタミン B₁ としての損失は微量で, 遊離型においてはほとんど損失がないがエステル型において若干の影響が認められた。

7) 蛤アノイリナーゼ活性と超音波照射の影響

さきに人参汁アスכולビナーゼが超音波照射によって著しく不活性化せられる事を報告したが本項では蛤アノイリナーゼ活性に及ぼす影響について観察した。

蛤の内臓を採り 20 倍量の 0.85% NaCl 溶液を加えて数分間ホモゲナイザーに付したる後これらを二分し, 一方は 60 分間超音波照射 (20KC) を行ない, 他は対照としてこれを行なわず, いずれも酢酸, 酢酸ソーダ緩衝液 (M/10 pH 5.6) の 4 倍量にて稀釈しその 9.0ml を採り, 55°C にて 5 分間予浸後ビタミン B₁-HCl (100γ/ml) 1.0ml を添加し 55°C にて 20 分間作用せしめたる後酢

表 5 組織中のビタミン B₁ と超音波照射の影響

供 試 組 織	大 豆				米 糠			
超音波照射有無	照 射 前		照射60分間後		照 射 前		照射60分間後	
ビタミン B ₁ 量	γ %	比 率	γ %	比 率	γ %	比 率	γ %	比 率
遊 離 型	421	100	399	94.7	2,910	100	2,844	97.8
エ ス テ ル 型	58	100	12	20.7	204	100	66	32.3
総 量	479	100	411	85.8	3,114	100	2,910	93.4

表 6 蛤内臓抽出液のアノイリナーゼ活性と超音波照射の影響

供 試 No.	A			B		
超 音 波 照 射 時 間 数 (分)	0 対照	30	60	0 対照	30	60
B ₁ 添加量 (γ)	103	103	103	96	96	96
アノイリナーゼ作用後 B ₁ 測定値 (γ)	67	66	78	55	55	77
〃 B ₁ 損失量 (γ)	36	37	25	41	41	19
B ₁ の損失率 (%)	35.5	35.6	24.3	42.8	42.8	19.7

酸塩緩衝液 (N/10, pH 4.5) にて 50 ml 定容となし、これより 5.0ml 宛を採って残存する B_1 を測定し表 6 の結果を得た。

表 6 に示したように蛤内臓抽出液に対し超音波照射を行なった場合、照射 30 分間ではほとんど影響がみられないが 60 分間に及べば B_1 分解能力は低下し超音波処理によって蛤内臓アノイリナーゼの不活性化される事が判る。

8) L-システインの存在と超音波照射が L-アスコルビン酸、 B_1 -HCl などには及ぼす影響

すでに述べたように L-アスコルビン酸、ビタミン B_1 などは超音波照射によって若干損失する事が判るがこれらは超音波発振による⁴⁾ キャピテーションに基づく酸化によるものとも考えられるので本項においては L-アスコルビン酸 (終濃度 $10^{-3}M$) の磷酸緩衝液 (M/15, pH 7.2) について L-システイン-HCl を添加し 30 分間にわたって超音波照射 (20KC) を行ない、残存するアスコルビン酸を DNP 法により測定し表 7 の結果を得た。なおこの際 L-システインの終濃度は $10^{-2}M$ となした。

表 7 L-システインの存在と超音波照射が L-アスコルビン酸に及ぼす影響

アスコルビン酸 測定値 (r/ml)	超音波照射前 (対照)		超音波照射 30 分間後	
	還元型	酸化型	還元型	酸化型
L システイン無添加 (対照)	131.0	0	108.6	22.5
L システイン添加 (終濃度 $10^{-2}M$)	131.0	0	121.5	9.5

上表 7 に示すようにシステインの存在により超音波発振によるビタミン C の酸化はかなり抑制せられる事がわかる。

次にビタミン B_1 -HCl (終濃度 $10^{-4}M$) の磷酸緩衝液 (M/15, pH 7.2) について L-システイン-HCl (終濃度 10^{-3} 乃至 $10^{-4}M$) を添加し 前と同様に 30 分間超音波照射 (20KC) を行ない表 8 の結果を得た。

すなわち次表 8 に示したように超音波照射時において L-システインを添加したものは然らざるものに比して

表 8 L-システインの存在と超音波照射が B_1 -HCl に及ぼす影響

L-システインの添加量 (終濃度 M)	B_1 測定値 (r/ml)	損失量 (r/ml)	残存率 (%)
0	27.7	14.3	66.0
0.1×10^{-3}	29.4	12.6	70.0
0.133×10^{-3}	31.7	10.3	75.0
0.20×10^{-3}	34.0	8.0	80.0
0.40×10^{-3}	35.0	7.0	83.0
1.0×10^{-3}	41.2	0.8	98.0
(最初の B_1 量)	(42.0)		(100 とする)

B_1 の損失はわずかでこの際システインの終濃度 $10^{-3}M$ においてはほとんど B_1 の損失はみられなかった。

要 約

すでに超音波照射 (20KC) によりビタミン C が若干損失する事を述べたがここでは周波数を異にした際におけるビタミン C、ビタミン B_1 などに及ぼす影響について検索した。また周波数 20KC においてビタミン B_1 およびその 2, 3 の誘導体、蛤アノイリナーゼ活性などに及ぼす影響についても観察した。なおシステインの共存する場合に於いてはこれらの影響はかなり抑制せられる事を知った。これらの結果を要約すれば次の通りである。

1) すでに L-アスコルビン酸が水溶液並びに磷酸緩衝液に於いて超音波照射 (20KC) により若干の影響を受ける事を報告したが、本報では周波数 (50KC) 付近に於いてわずかに、400KC 付近においてはかなりの影響を受けこれらは溶液の pH が大なる程著しい事が判った。

2) B_1 -HCl は水溶液並びに磷酸緩衝液溶液 (pH 4.5, 6.8, 7.4) において超音波照射 (周波数 20~28, 400~800 KC 付近) によりかなりの影響がみられるが、50, 1,200, 2,000KC においてはほとんど影響がないように思われた。なお B_1 -HCl の酢酸塩緩衝液 (pH 4.5) においては磷酸塩緩衝液および水溶液の場合に比して超に音波照射の影響はわずかにすぎない。

3) 周波数 20 KC にて 60 分間にわたって超音波照射を行なった B_1 -HCl, B_1 -NDS, DBT, B_1 -ピロ磷酸エステルなどの B_1 誘導体は超音波照射によりいずれも若干損失する事が判った。

4) パセリ中のビタミン C、大豆および米糠中のビタミン B_1 など組織中のビタミンは超音波照射の影響は極めて僅少である。

5) 蛤内臓抽出液は超音波照射 (20KC) によりアノイリナーゼ活性を減少した。

6) L-システインの存在は超音波照射時におけるビタミン C および B_1 などの損失をかなり抑制する。

本研究を行なうに当たり超音波照射に特にご便宜を賜わった名古屋市工業研究所の工学博士江口金満、星野正夫の両氏並びに日製産業 K. K. 通信電子課の秋山敏幸、伴野次郎の諸氏に深謝致します。本研究は昭和 42 年 12 月日本家政学会中部支部例会に於いて報告した。

文 献

- 1) 松谷、結城、多田、小川、小川：栄養と食糧、20, 69 (1967)
- 2) 第 1 版食品添加物公定書注解, p. 192 金原出版 (1961)
- 3) 第 1 版食品添加物公定書注解, p. 398 " " "
- 4) 日本超音波医学会編：超音波医学 (1966) (経費著者負担)