ビタミン C の安定化に関する研究 (第 5 報) ビタミン C 溶液の安定化 (其の 3)

住木諭介, 山本勘二, 佐竹憲二 (東京大学農学部農藝化学教室)

昭和 26 年 1 月 12 日 受理

Studies on the Stabilization of Vitamin C. Part 5. Stabilization of the Solution of Vitamin C. III.

Yusuke SUMIKI, Kanji YAMAMOTO, and Kenji SATAKE.

(Dept. Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Univ. of Tokyo)

さきに第 4 報⁽¹⁾に於てビタミン C 溶液の安定化を目的とし *l*-アスコルビン酸溶液に 17 種の安定剤を添加しインドフェノール法により残存アスコルビン酸量を定量した結果, 相當有効のものとしてチオ尿素, チオグライコール酸, 及びレダクチン酸を挙げた。而してレダクチン酸はそれ自身がインドフェノールに感ずるために動物実験の結果によらなければアスコルビン酸及びレダクチン酸の何れが残存するかは不明であつたので, ここに動物実験の結果を報告する。又チオ尿素 (I), チオグライコール酸が有効なのは如何なる機構によるかを知る爲に, *S*-methyl isothiurea sulfate (II), *N*-methyl thiourea (III), *N*-phenyl thiourea (IV), *N,N*-diphenyl thiourea (V), tetraphenylthiourea (VI), rubanic acid (VII) を合成し, これ等を *l*-アスコルビン酸溶液に添加し, その安定度を試験した。本報では以上の結果に就て報告する。

実験の部

1. *l*-アスコルビン酸及びレダクチン酸混液の動物実験 蒸溜水 100 cc に *l*-アスコルビン酸 2.5 g 及びレダクチン酸 2.5 g を溶解し, 之を 40° に 1 ヶ月放置したものを動物実験のビタミン C 供源とした。動物実験は常法によりモルモットを用い, V. C. 缺乏飼料と共にアスコルビン酸 1 mg, 或は 2 mg 相當量を経口的に駒込ピペットで給與した。その結果は第 1 圖の如く 1 mg (A), 2 mg (B) V. C. 相當量給與區共に約 2 週間程度で壊血病症状を呈し死に至つた。以上の結果アスコルビン酸, レダクチン酸共存溶液を長期間放置後インドフェノールに感ずるのは主としてレダクチン酸でありアスコルビン酸の残量は非常に少く, レダクチン酸は優良な安定剤でない事が分つた。

2. チオ尿素誘導体の安定剤試験

a. チオ尿素誘導体の合成: *S*-methyl isothiurea sulfate⁽²⁾ (II) thiourea 30.4 g を水 14 cc に溶かし, 27.6 g のデメチル硫酸を, 品温を 50° 以下に保ち乍ら攪拌下に滴下する (約 1 時間)。次いで逆流冷却器をつけて 110~118° に 30 分熱し, 生ずる結晶を濾集し, アルコールで洗滌する。収量 45.1 g (濾

(A) V. C. + Reductic acid (1mg) (B) V. C. + Reductic acid (2mg)
Fig. 1

液よりの同収 6.8 g) 理論値の 93%, 水, アルコールより再結晶する。D. p. 239°. 針状結晶。

N-phenyl-thiourea⁽³⁾ (IV) Anilin 30 g と NH_4SCN 24 g を混じ, 之に 35% の濃鹽酸 40 cc を加へ, 數時間加熱し, 後數回水洗して NH_4Cl を除きデシケーター中に放置して乾固せしめる。収量 45 g (理論値の 92%)

水、次にアルコールより再結する。針状結晶。m. p. 152°.

N, N-Diphenyl thiourea⁽⁴⁾⁽⁵⁾ (V) 10 cc の水及び 30 g の濃硫酸をクライゼンフラスコにとり、上部より 120 cc の稀硫酸 (100 g の 96% H_2SO_4 を水で稀釋し、120 cc とする) と 300 cc の 25% NH_4SCN の水溶液を 1 時間に滴下する。減壓下 (22 mmHg) に b. p. 40~43° の區分を集め溜液 300 cc を得る。此の區分中にはアルカリによる滴定で $HSCN$ 15.3 g が入っている事が認められる。此の區分を 1.5% 水溶液にうすめ、その 50 cc をとり、之に diphenyl amine 7 g を加え数日間室温に放置する。生ずる固形物を濾集し、アルコールより數回再結する。緑色の針状結晶、m. p. 196.5°, 收量 3.2 g (理論收量の 36.6%)

Tetraphenyl thiourea⁽⁶⁾⁻⁽⁸⁾ (VI) 精製乾燥した CS_2 200 g に沃素 0.2 g を加え、25° 以上に昇らない様に冷却しながら、乾燥鹽素ガスを通じ重量が増して 618 g になるまでにすると $CSCl_4$ と S_2Cl_2 との混合液が出来る。本液を 5 滴/秒の割合で滴下しながら同時に水蒸氣蒸溜を行う。溜出する油状物を取り、鹽化カルシウムで脱水し蒸溜する。b. p. 147~151° の區分を集める。溜出物は $CSCl_4$ である。收量 205 g (理論値の 41.8%)。次に Sn 粒 150 g, 28% HCl 300 cc とを熱した液に $CSCl_4$ 150 g を流入すれば thiophosgen ($CSCl_2$) が析出する。之を分離し鹽化カルシウムで乾燥し再溜する。b. p. 73~76°, 收量 25 g (理論値の 25.8%)。次に diphenylamine 60 g をエーテルに飽和させその中に攪拌下に thiophosgen のエーテル液を室温で徐々に滴下する。1 時間半後エーテルを去り、水を加へ濾過して固體を集める。之を數回アルコールで再結する。柱状結晶、m. p. 195.5°, 收量 16.2 g (理論値の 23.9%)。分析値 C% 79.08, H% 5.38, N% 7.73, S% 7.55 (理論値は夫々 78.89, 5.30, 7.37, 8.44)。

Rubianic acid⁽⁹⁾ (VII). 硫酸銅 80 g を濃厚な水溶液とし 28% NH_4OH を加え最初に生ずる沈澱が溶解するまで加える。その液を冷却し乍ら攪拌下に濃厚な KCN 水溶液 (100 g) を滴下する。藍青色が消える寸前に滴下をやめ生じた $Cu_2(CN)_2$ を手早く濾し、濾液に冷却下に H_2S を通じ生じる青色沈澱を集めアルコールから再結する。朱色の結晶を得る。收量 0.4 g (理論値の 2.1%)。

b. チオ尿素誘導體の安定剤試験： 50 mg % の *L*-アスコルビン酸水溶液に夫々チオ尿素誘導體が 50 mg % になるように添加し、コルク栓を施し、37° の恒温器に放置し、一定日後インドフェノール法により残っているアスコルビン酸量を滴定した。結果は第 2 圖の如くである。即ち未だ斷定を降すには早計かもしれないが、チオ尿素の $>C\equiv S$ 基が $>C-SH$ と tautomerism をおこし得る時に保護作用が現れている。

尙前報に報告したようにチオ尿素の分解による SH_2 の發生によりアスコルビン酸の安定化

Table 3

Day	0	2	4	6	8	11	15
mg %	—	—	2.4	6.8	3.2	2.7	2.5
pH	6.4	6.8	6.8	6.8	6.4	6.4	6.2

が行われるのではないかと考え、チオ尿素のみの水溶液を恒温器に入れ前記同様インドフェノールで滴定した結果は第 3 表の如くで、インドフェノールに感ずる物質を少量生ずることは確認出来たが、これが何物であるかは

Fig. 2 Tests on the stabilization of V. C soln. by some derivatives of thiourea.

1. <i>N</i> -phenyl T. U.	6. <i>S</i> -methyl iso-T. U.
2. T. U.	7. Control (37°)
3. Control (0°)	8. Tetraphenyl-T. U.
4. <i>N,N</i> -diphenyl T. U.	9. Rubianic acid
5. Hydroquinon	

不明で Na-nitroprussid 法による H_2S の検出法では H_2S の存在を證明することは出来なかつた。尙前記動物實驗は稻垣長典氏 (明糖研) に御願ひしたものであり、厚く謝意を表します。

- (1) 住木, 林 : 農化, 23, 1 (1949)
- (2) P. R. SHILDNECK, and W. WINDUS : *Org. Synthesis*, **XII**, 52. (1932)
- (3) CLERMONT. LIEBERMANN : *Beilstein*, **XII**, 389.
- (4) W. TRAUBE *Ber.*, 26, 607. (1893)
- (5) A. C. BROWN : *Chem. News*, 65, 249.
- (6) H. BERGREEN : *Ber.*, 21, 340. (1888)
- (7) A. BERUTHSEN, G. FRIESE : *Ber.*, 15, 15, 30, 565, (1882)
- (8) G. M. DYSON : *Org. Synthesis* (邦譯), 551.
- (9) J. FORMÁNEK : *Ber.*, 22, 2305, 2655, (1889)

Summary

In the previous paper of this series, it was found that thiourea, thioglycolic acid and reductic acid were the effective antioxydants in the aq. soln. of *l*-ascorbic acid among 17 tested reagents. And it was also reported that the solution of reductic acid itself changed the colour of an indophenol soln. and so its stabilizing efficiency must be determined by feeding experiments with animals. First, in this paper it has been ascertained that reductic acid has no efficiency to preserve *l*-ascorbic acid by animal feeding experiments and the colour change of the indophenol soln. is due to the remaining reductic acid, and not to ascorbic acid.

Next, the derivatives of thiourea *S*-methyl-iso-thiourea (I), *N*-methyl-thiourea (II), *N*-phenyl-thiourea (III), *N, N*-diphenyl-thiourea (IV), tetraphenyl-thiourea (V), and rubianic acid (VI)

were synthesized and tested for their efficiency to prevent the auto-oxidation of an ascorbic acid soln. The result was as follows. VI and V rather accelerated the oxidation than the control containing only ascorbic acid; hydroquinone and I had similar effects and 80 % of ascorbic acid was destroyed after 12 days; IV, III and thiourea were effective and among these 3 compounds thiourea was best, for example about 70 % of ascorbic acid remained during 14 days under experimented conditions at 37°

リゾープス属の酸醗酵に関する研究 (第8報) 嫌氣的醗酵に就て

坂口謹一郎, 高橋 甫, 片岡純一郎 (東京大學農學部農藝化學科)

昭和 25 年 12 月 28 日 受理

Studies on the Acid Fermentation of Rhizopus Species. Part 8. On the Anaerobic Fermentation.

By Kin'ichiro SAKAGUCHI, Hajime TAKAHASHI and Jun'ichiro KATAOKA

(Dept. of Agr. Chem., Fac. of Agr., Univ. of Tokyo)

リゾープス属の嫌氣的醗酵は、1927年高橋、坂口が⁽¹⁾、フマル酸生産種 *Rh. G. 34* を用い綿栓の代りに醗酵栓を使用して酸と酒精の生産を研究した事に始る。其の結果、嫌氣度を大とすれば、甚しく酸の生産が減少する事を見出した。其後 FOSTER 等も嫌氣的乳酸醗酵⁽²⁾及びフマル酸醗酵⁽³⁾について研究を行い、王も嫌氣条件下で實驗を行つた⁽⁴⁾。1944年坂口等はこの第6報に於いて⁽⁵⁾、乳酸生産種 *Rh. G. 36* 及びフマル酸生産種 *Rh. G. 34* を用い表面培養により育成した菌體のブドウ糖を基質とする懸垂通氣培養を試み、市販窒素ガス通氣の際は少量の酸生産を認めたが、精製窒素ガス通氣の時は糖の消費、酸の生産ともに著しく減少する事を認めた。一方近年