

# アスコルビン酸-2-グルコシドおよびアスコルビン酸-2-リン酸の安定性

誌名	水産増殖
ISSN	03714217
著者名	渡辺,剛幸 細川,秀毅 元木,喜隆 示野,貞夫
発行元	水産増殖談話会
巻/号	44巻3号
掲載ページ	p. 369-373
発行年月	1996年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## アスコルビン酸-2-グルコシドおよび アスコルビン酸-2-リン酸の安定性

渡辺剛幸\*・細川秀毅・元木喜隆・示野貞夫

(高知大学農学部)

Stability of L-Ascorbyl-2-O- $\alpha$ -Glucoside and  
L-Ascorbyl-2-Phosphate Mg

Takayuki WATANABE, Hidetsuyo HOSOKAWA,  
Yoshitaka MOTOKI, and Sadao SHIMENO

### Abstract

Aqueous solution (pH 4, 7 and 9), formulated diet, and minced mackerel supplemented with L-ascorbic acid (AA), L-ascorbyl-2-O- $\alpha$ -glucoside (AA-2G) or L-ascorbyl-2-phosphate Mg (AA-2P) were prepared and stored at 5, 23 or 37 °C for 3-30 days. These materials were sampled periodically and the concentrations of AA, AA-2 G, and AA-2 P were determined by high performance liquid chromatography to estimate the stability of these compounds under storage. AA-2 G and AA-2 P were stable under all conditions of pH and temperature, while AA was unstable in aqueous solution and in the formulated diet. The stability of AA decreased as pH and temperature increased. The stability of AA-2 G, AA-2 P, and AA in minced mackerel decreased as temperature increased.

アスコルビン酸 (AA) は多くの魚類の必須ビタミンであり、その欠乏症や要求量についてはブリ<sup>1)</sup>、ニジマス<sup>2)</sup>、チャンネルキャットフィッシュ<sup>3)</sup>、イシダイ<sup>4)</sup>などで明らかにされている。

AA は酸化されやすく、飼料の製造中や保存中にも急速に分解するため<sup>5-7)</sup>、その安定化が望まれている。これまで AA の不安定さを補うため、牛脂やエチルセルロースでコーティングした AA や AA のカルシウム塩が用いられてきた<sup>8)</sup>。また、最近各種の AA 誘導体の開発が進められており<sup>2,6,8)</sup>、中でもアスコルビン酸-2-グルコシド (AA-2 G) およびアスコルビン酸-2-リン酸 (AA-2 P) は酸化されにくく、生体中では

速やかにビタミン C 活性を発揮すると言われている<sup>7,9)</sup>。

本報では、AA-2 G および AA-2 P を養殖用飼料のビタミン C 源として利用するため、これらの水溶液中における pH および温度安定性を調べ、ついで配合飼料中および魚肉ミンチ中における温度安定性を検討し、AA のそれらと比較した。

### 材料および方法

ビタミン C 源 AA は和光純薬工業(株)製の特級試薬 L-アスコルビン酸、AA-2 G は(株)林原生物化学研究所製の L-アスコルビン酸-2-O- $\alpha$ -グルコシド、AA-2

受領日：1995(H7)年11月17日

索引語：アスコルビン酸誘導体／アスコルビン酸-2-グルコシド／アスコルビン酸-2-リン酸／安定性

連絡先：〒783 南国市物部乙200 高知大学農学部水族栄養学講座 渡辺剛幸

Address：T. WATANABE, Faculty of Agriculture, Kochi University, Nankoku, Kochi 783, Japan

\* 現連絡先：〒945-03 新潟県柏崎市荒浜4-7-17 (財)海洋生物環境研究所実証試験場

Pは昭和電工(株)製のL-アスコルビン酸-2-リン酸マグネシウム(ホスピタンC)をそれぞれ用いた。

誘導体の安定性試験 AA, AA-2 G および AA-2 P を0.24%含む pH 4, 7 および 9 の水溶液, ならびに配合飼料およびマサバミンチを調製した。配合飼料の基本組成は Table 1 に示すとおりで, 沿岸魚粉を主成分とする粉末飼料である。配合飼料とマサバミンチには, それらの10および12%に相当する蒸留水にビタミンC源を溶かして添加し, よく混合した。

Table 1. composition of formulated diet

Ingredients	%
Brown fish meal	65.7
$\alpha$ -Starch	9.0
Vitamins* <sup>1</sup>	2.7
Minerals* <sup>2</sup>	3.6
Pollack liver oil	9.0
Water	10.0

\*<sup>1</sup> Contained (mg/100 g diet): thiamin · HCl, 8.1; riboflavin, 27; pridoxine · HCl, 5.4; nicotinic acid, 108; Ca pantothenate, 37.8; inositol, 540; biotin, 0.81; folic acid, 2.03;  $\rho$ -aminobenzoic acid, 54; choline chloride, 1080; cyanocobalamin, 0.081;  $\alpha$ -cellulose, 836.779.

\*<sup>2</sup> U. S. P. XII No. 185 with trace metals<sup>13)</sup>.

それらの水溶液, 配合飼料およびマサバミンチを5, 23および37℃で保存し, 水溶液では0, 2, 6, 12, 48および120時間後に, 配合飼料では0, 1, 3, 10, 20および30日後に, またマサバミンチでは0, 2, 6, 12, 24, 48および72時間後に, それぞれサンプリングし, 各ビタミンC源を測定した。

AA およびその誘導体の分析法 AA, AA-2 G および AA-2 P の分析は高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法で行った。カラムには和光純薬工業(株)製の Wakosil 5C18 (6.0×150 mm) を, 検出器には(株)日立製作所製の UV-VIS spectrophotometric detector L-4200 (UV 245 nm) を用いた。カラム温度は40℃とし, 移動相には0.1 M リン酸バッファー (pH 2.0) を用いて, 流速0.5 ml/min で展開した。

水溶液の検液は適当に希釈し, 0.45  $\mu$ m のフィルターを通して分析に供した。また, 配合飼料と魚肉ミンチは, それらの2倍量の4.25% HPO<sub>3</sub> 溶液とともに乳鉢で磨砕し, 適当に希釈したのち, 遠心分離して得た上清を水溶液と同様に処理して分析に供した。

## 結 果

水溶液中における安定性 pH 4, 7 および 9 の水

溶液中における AA, AA-2 G および AA-2 P 量の経時変化を Fig. 1 に示した。水溶液中では, いずれの pH でも, AA は徐々に減少し, 120時間後の AA の残存率は pH 4 では60.1%, pH 7 では66.4%, また pH 9 では53.6%であり, 酸性・中性よりアルカリ性で残存率が低かった。一方, いずれの pH でも AA-2 G および AA-2 P は保存期間中きわめて安定であり, 120時間後に AA-2 G は95.0%以上, AA-2 P は90.0%以上が残存した。

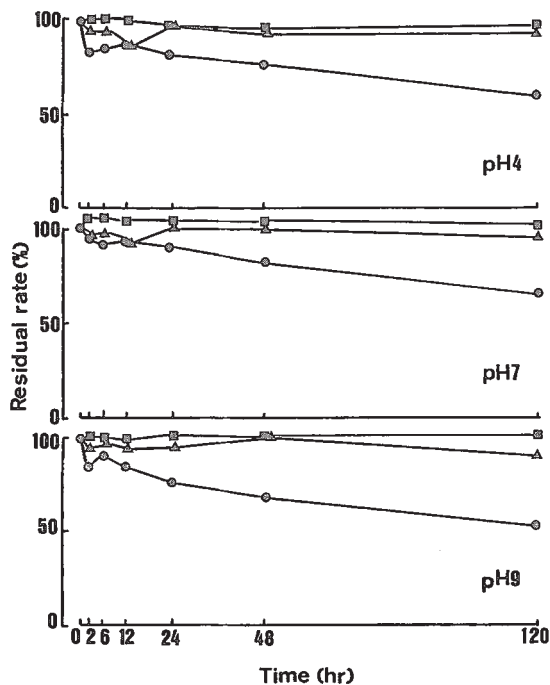


Fig. 1. Stability of Ascorbic Acid (●), Ascorbyl-2-O- $\alpha$ -Glucoside (■) and Ascorbyl-2-Phosphate Mg (▲) in aqueous solution at different pH values.

5, 23および37℃の水溶液中における AA, AA-2 G および AA-2 P 量の経時変化を Fig. 2 に示した。水溶液中の AA 残存率は, 120時間後に 5℃では96.4%であったが, 23および37℃でそれぞれ86.4および71.6%であり, いずれの温度でも AA は徐々に減少し, 温度の上昇に伴って残存率は低下した。しかし, AA-2 G および AA-2 P は保存期間中いずれの温度でもほとんど減少せず, とともに95.0%以上の残存率を示した。

配合飼料中における安定性 5, 23および37℃の配

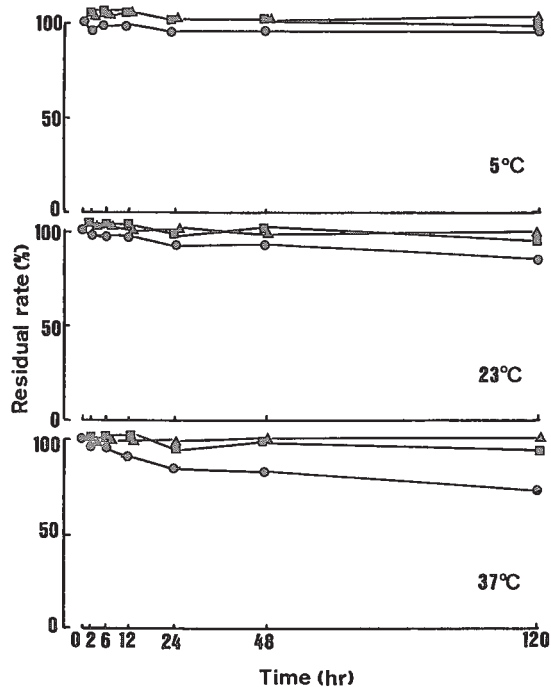


Fig. 2. Stability of Ascorbic Acid (●), Ascorbyl-2-O-α-Glucoside (■) and Ascorbyl-2-Phosphate Mg (▲) in aqueous solution at different temperatures.

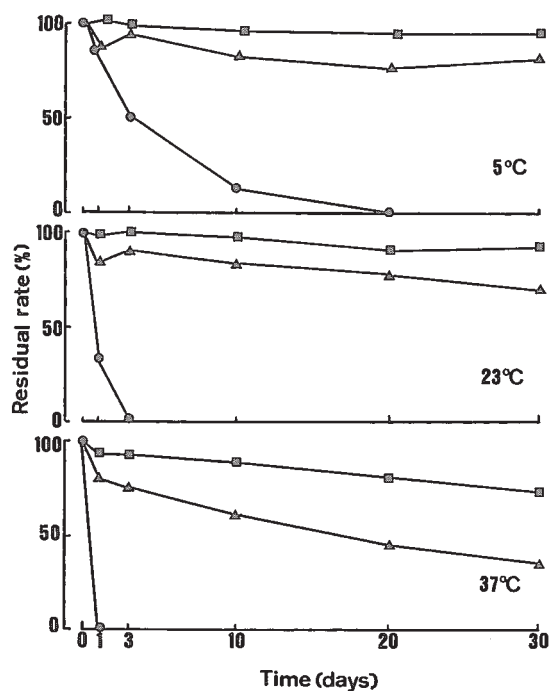


Fig. 3. Stability of Ascorbic Acid (●), Ascorbyl-2-O-α-Glucoside (■) and Ascorbyl-2-Phosphate Mg (▲) in formulated diet at different temperatures.

合飼料中におけるAA, AA-2 GおよびAA-2 P量の経時変化をFig. 3に示した。AAは高温ほど急速に減少し、5℃では20日後に、23℃では3日後に、37℃では1日後にそれぞれ検出できなくなった。AA-2 GとAA-2 Pの残存率も保存温度の上昇に伴って徐々に減少したが、37℃でも30日後にAA-2 Gは約70%、AA-2 Pは約40%がそれぞれ認められた。

魚肉ミンチ中における安定性 5, 23および37℃のマサバミンチ中におけるAA, AA-2 GおよびAA-2 P量の経時変化をFig. 4に示した。AA, AA-2 GおよびAA-2 Pはいずれの温度でも減少し、高温度ほど残存率は低かった。比較的低温の5℃では、72時間後のAA, AA-2 GおよびAA-2 Pの残存率はそれぞれ8.0, 26.1および28.1%であり、AA-2 GおよびAA-2 Pの残存率はAAのそれより高かった。しかし、23℃で72時間後にAA, AA-2 GおよびAA-2 Pの残存率はそれぞれ49.5, 35.1および25.5%であり、また、37℃でAAが48時間後まで残存したのに対して、AA-2 GとAA-2 Pはそれぞれ12および24時間後までしか残存せず、比較的高温の23および37℃ではAA-2

GおよびAA-2 Pの残存率はAAのそれよりむしろ低かった。

### 考 察

AA-2 GおよびAA-2 Pは水溶液中ではほとんど分解されず、100%に近い残存率を示した。一方、AAは比較的不安定であり、またアルカリ性・高温ほど減少した。配合飼料中における両誘導体の残存率は温度の上昇に伴って低くなったが、AAの残存率に比べて著しく高かった。一方、両誘導体は魚肉ミンチ中ではいずれの温度でも急速に減少し、高温ほど残存率は低下し、AAと同程度に不安定であった。AA-2 Gはα-グルコシダーゼにより、AA-2 Pはフォスファターゼにより加水分解されてAAを遊離するが<sup>10,11)</sup>、水溶液中には両酵素が含まれていないので安定であったものと推察される。一方、マサバミンチ中には両酵素が含まれているので、両誘導体は加水分解されてAAを遊離し、安定性が低下すると考えられる。AA-2 Gの飼料中における安定性を調べた報告はみられないが、AA-2 PについてはShigueno and Itoh<sup>7)</sup>が検討してお

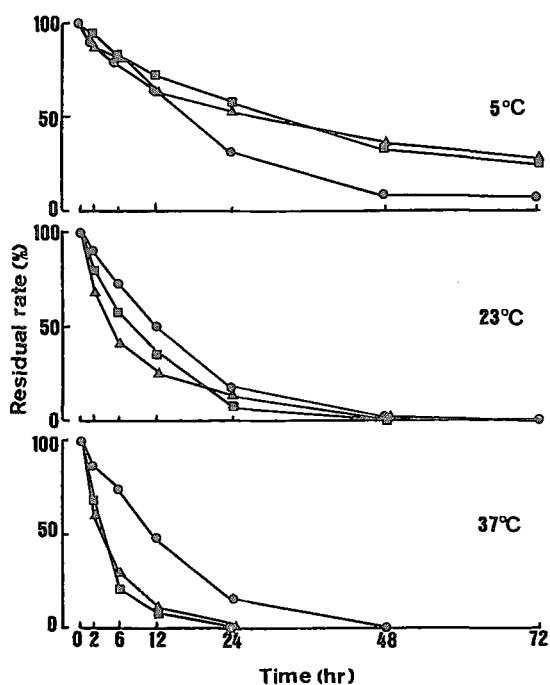


Fig. 4. Stability of Ascorbic Acid (●), Ascorbyl-2-O- $\alpha$ -Glucoside (■) and Ascorbyl-2-Phosphate Mg (▲) in minced mackerel at different temperatures.

り、ドライペレットの製造、保存中および海水へ浸した場合にはいずれも、AA-2 PはAAに比べて安定であると、また、Gadient and Fenster<sup>12)</sup>は、130°Cで調製したエクストルーデッドペレット中でのAA-2 Pの残存率はほぼ100%であったと報告している。

以上の結果から、配合飼料中における両誘導体の安定性はAAに比べて著しく優れており、配合飼料のビタミンC源としては有効であると考えられる。ミンチ中での両誘導体の安定性はAAと同程度に低いので、コーティング処理、錠剤化、あるいは給餌の直前に混合するなどの工夫が必要である。また、養魚飼料がモイストペレットからドライペレットへと移行しているため、今後は飼料組成や飼料調製法の異なる場合の両誘導体の安定性についても検討しなければならない。

### 要 約

L-アスコルビン酸(AA)、L-アスコルビン酸-2-O- $\alpha$ -グルコシド(AA-2 G)およびL-アスコルビン酸-2-リン酸Mg(AA-2 P)を含む水溶液(pH 4, 7および9)、配合飼料およびマサバミンチを5, 23お

よび37°Cで3~30日間保存し、それぞれのビタミンC源の残存率を調べた。AA-2 GとAA-2 Pは水溶液および配合飼料中でいずれのpHおよび温度でも安定であったが、AAは比較的的不安定であり、酸性・中性よりアルカリ性で、また低温より高温で、それぞれ速やかに減少した。しかし、マサバミンチ中ではAA-2 GおよびAA-2 Pはともに高温ほど減少し、AAと同程度に不安定であった。

### 謝 辞

本研究を行うにあたり、アスコルビン酸-2-グルコシドをご提供いただいた(株)林原生物化学研究所、ならびにアスコルビン酸-2-リン酸をご提供いただいた昭和電工(株)に厚くお礼申し上げる。

### 文 献

- 1) 坂口宏海・竹田文弥・丹下勝義(1969):ハマチのビタミン要求に関する研究-I. ビタミンB<sub>6</sub>およびビタミンCの欠乏症. 日水誌, 35(12), 1201-1206.
- 2) Sato, M., Y. Hatano, and R. Yoshinaka (1991): L-ascorbyl 2-sulfate as a dietary vitamin C source for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(4), 717-721.
- 3) Lim, C. and R. T. Lovell (1978): Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish. *J. Nutr.*, 108, 1137-1146.
- 4) 池田静徳・石橋泰典・村田 修・那須敏郎・原田輝雄(1988): イシダイにおける水溶性ビタミンの要求性. 日水誌, 54(11), 2029-2035.
- 5) Andrews, J. W. and T. Murai (1975): Studies on the vitamin C requirements of channel catfish. *J. Nutr.*, 105, 557-561.
- 6) Grant, B. F., P. A. Seib, Ming-Long Liao, and K. E. Corpron (1989): Polyphosphorylated L-ascorbic acid: a stable form of vitamin C for aquaculture feeds. *J. World Aquacult. Soc.*, 20(3), 143-157.
- 7) Shigueno, K. and S. Itoh (1988): Use of Mg-L-ascorbyl-2-phosphate as a vitamin C source in shrimp diet. *J. World Aquacult. Soc.*, 19(4), 168-174.
- 8) Murai, T., J. W. Andrews, and J. C. Bauernfeind (1978): Use of L-ascorbic acid, ethocel coated ascorbic acid and ascorbate 2-sulfate in diets for

- channel catfish. *J. Nutr.*, 108, 1761-1766.
- 9) 山本 格 (1991) : こわれにくいビタミンCの発見. *化学*, 46(4), 248-253.
- 10) 山本 格 (1991) : 強いビタミンCをつくる. アスコルビン酸 2-O- $\alpha$ -グルコシドの合成と生理活性. *化学と生物*, 29(11), 729-733.
- 11) 美間博之・野村容朗・今井祥雄・高島弘道 (1970) : アスコルビン酸リン酸エステルの化学と応用. *ビタミン*, 41(6), 387-398.
- 12) Gadiant, M. and R. Fenster (1994): Stability of ascorbic acid and other vitamins in extruded fish feeds. *Aquaculture*, 124, 207-211.
- 13) Halver, J. E. and J. A. Coates (1957): A vitamin test diet for long term feeding studies. *Prog. Fish-Cult.*, 19(3), 112-118.