

まぐろ表皮中のフラビンについて

今丸, 博康
九州大学農学部生物化学教室

船津, 軍喜
九州大学農学部生物化学教室

船津, 勝
九州大学農学部生物化学教室

大島, 康義
九州大学農学部生物化学教室

<https://doi.org/10.15017/21415>

出版情報：九州大学農学部学藝雑誌. 16 (1), pp.75-80, 1957-03. 九州大学農学部
バージョン：
権利関係：

まぐろ表皮中のフラビンについて

今丸博康*・船津軍喜*
船津勝*・大島康義*

Flavin in the epidermis of tunny

Hiroyasu Imamaru, Gunki Funatsu, Masaru Funatsu
and Yasuyoshi Oshima

緒 言

著者等はメラニンの研究に際しまぐろ黒色表皮のメタノール浸漬液に可成り多量の黄色蛍光物質が存在する事を認め、之を結晶状に分離しリボフラビンである事を明らかにした。堀田等¹⁾は魚皮黒色部にリボフラビンが存在し黒色度が強い程リボフラビンの含量も高い事を報告している。之等の魚皮フラビンがリボフラビンであるか、或は心筋から分離された Lyxoflavin²⁾の如きものであるか、或は又 Riboflavinyl glucoside³⁾の様なりボフラビン誘導体であるかは興味ある所であつたが、種々検討の結果まぐろ表皮フラビンはリボフラビンであると思われる。尙注意すべきはまぐろ表皮中には極めて多量のリボフラビンが含まれている事である。斯くの如き多量のリボフラビンの生理的意義は非常に興味ある問題で今後の研究に俟たねばならぬが、表皮黒色部に多く白色部には殆んど含まれていない点メラニンと何等かの関連を推定せしめるものであるが所謂Sメラニンとフラビン含量の間には未だ何等の関連も認めなかつた。

実 験

試料

冷凍まぐろ(太洋漁業)の黒色最外部、即ち鱗の外側にある表皮を剥ぎ取り之を試料とした。

試料の水分含量は約 60~70% であつた。

まぐろ表皮より黄色蛍光物質の抽出

まぐろ表皮を 70~80% のメタノールに 30°C 3日浸漬して得たメタノール抽出液と 80°C 15分間加熱して得水抽出液とについて検討した結果水抽出液ではまぐろ表皮より多量の膠状物質が溶解しフラビンの結晶化を妨害するのでメタノール抽出液を用いた。但しこの際メタノール抽出ではフラビン結合型が分解される危険があるが遊離フラビンの調整には差支えない。

まぐろ表皮中のフラビンのペーパークロマトグラフィー

まぐろ黒色表皮のメタノール抽出液を濃縮後八木等¹⁾の方法に従つて第1表に示す様な

* 九大農学部生物化学教室

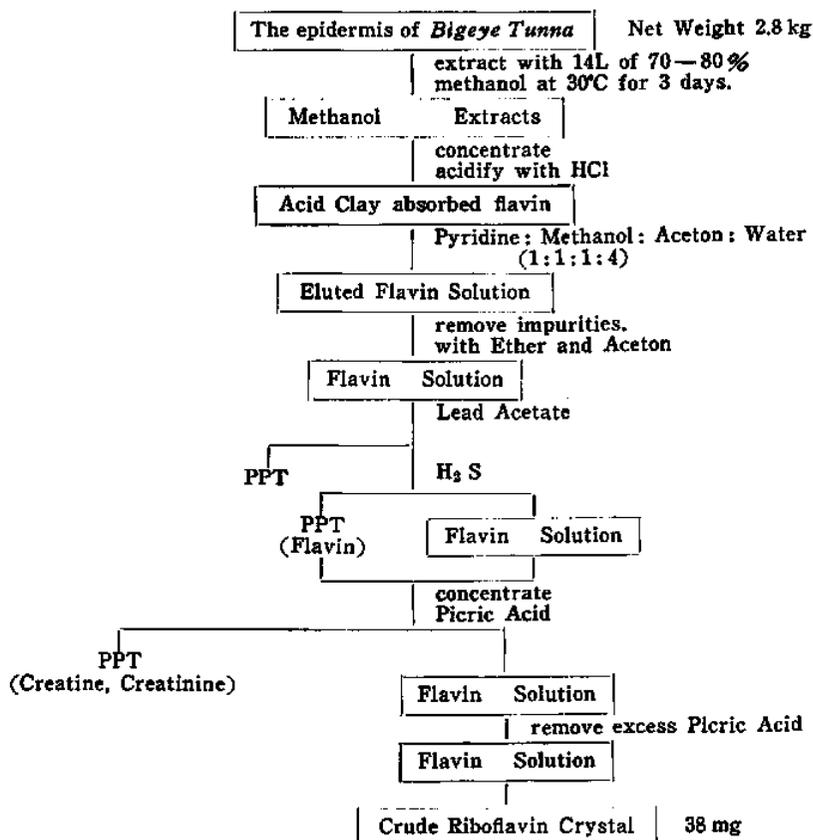
Table 1. Rf values of flavin (Temperature of development: 28~30°C)

	Standard rivoiflavin	Flavin of tunny
n-Butanol: Acetic acid: Water (4:1:5)	0.40—0.42	0.40—0.42
n-Propanol: Pyridine: Water (5:3:2)	0.71—0.73	0.71—0.73
n-Propanol: n-Butanol: Water (2:2:1)	0.61	0.61
Benzylalcohol: Ethanol: Water (3:1:1)	0.60	0.60
5% secondary Sodium phosphate	0.31	0.31

種々の溶媒を用いてペーパークロマトグラフィーを行つた結果リボフラビンと同一の Rf 値を示す只 1 個の spot のみが得られた。又まぐろ表皮より得た結晶状フラビンと水抽出液に於いても全く同一の Rf 値が得られた。尚濾紙は東洋濾紙 No. 2 を用い、spot は紫外線下の黄色蛍光によつて確認した。

その結果まぐろ表皮中の黄色蛍光物質はリボフラビンと同一の Rf 値を与える単一なフラビンである事を認めた。

更にまぐろ表皮黄色蛍光物質を結晶状に分離しその構造を明らかにしリボフラビンその

Fig. 1. Preparation of flavin crystals from the epidermis of *Bigeye Tuna*.

ものであるか否かを確かめる為結晶分離を試みた。

めばちまぐろ表皮よりリボフラビン結晶の調製

めばちまぐろ表皮黒色部 2.8 kg を 14 l の 70~80% メタノールで 3 日間抽出し濾過濃縮後 Kühn⁶⁾ と山崎⁷⁾ の法を併用してリボフラビンの粗結晶を得た。その概略は第 1 図に示す通りである。

此の際混在する蛋白質の除去及びクレアチンの除去の為、必要な段階は 2, 3 回反復した。

以上の方法で得られた結晶は尙不純でありその吸収スペクトルは短波長の方に大きな吸収を示し恐らく微量の蛋白質が共存する事を推察せしめるものであつた。次にカラムクロマトグラフィーによつて精製を行つた。

フラビンの精製

まぐろ表皮より得たフラビンの粗結晶は黄褐色の粘質物を含み、これはアセトンに不溶性であるからこの粗結晶をアセトンに溶解し不溶部を除去して溶解部のみを八木等⁴⁾ の方法に従つて粉末濾紙カラムクロマトグラフ (径 3.5 cm のガラス管に粉末濾紙 200 g を充填したもの) にかける。フラビンは粉末濾紙カラムクロマトグラムの上部に吸着されているのでこれを 90% アセトンで展開溶出させ、溶出液は濃縮し水溶液としてから氷室に放置して第 2 図に示す様なリボフラビンの結晶を得た。

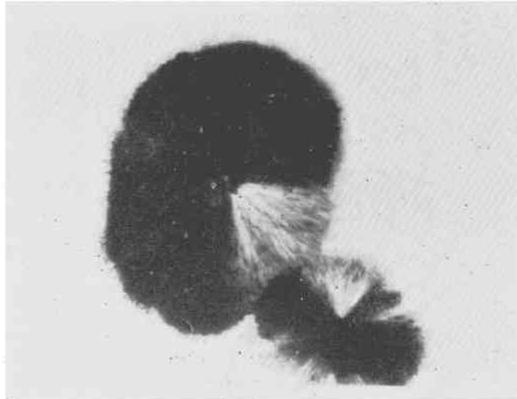


Fig. 2. Crystal of riboflavin obtained from the epidermis of tunny.

まぐろ表皮フラビン結晶の吸収スペクトル

純粋リボフラビンの水溶液とまぐろ表皮より得たフラビンの水溶液を DU 型 Beckman Spectrophotometer にかへ第 3 図に示す様な殆んど同一の吸収スペクトルを得た。尙高田等⁷⁾ の報告せるリボフラビンの吸光比とまぐろ表皮のフラビンの吸光比は第 2 表に示す如くである。

以上の結果まぐろ表皮のフラビンはリボフラビンと思はれる。

まぐろ表皮中のリボフラビン含量とメラニン含量

細切したまぐろ表皮を 100 倍量の 2% 硫酸酸性液にて 80°C 15 分間加熱して得られた水抽出液について藤田によるルミフラビン蛍光法⁸⁾ を用いリボフラビン含量を定量した。

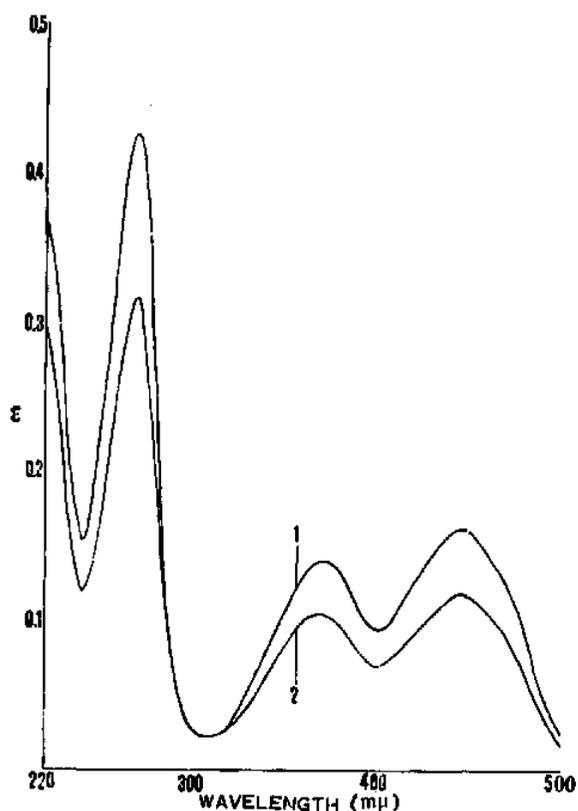


Fig. 3. Absorption spectrum of riboflavin in water.

1. ... 0.5 mg % standard riboflavin
 2. ... 0.37 mg % flavin from the epidermis of tunny

Table 2. Absorption ratio of flavin

	Flavin crystals from the epidermis of tunny	Riboflavin (Takata)
E_{270} / E_{445}	2.709	2.643
E_{370} / E_{445}	0.872	0.871
E_{270} / E_{370}	3.108	3.033

一方同量の細切したまぐろ表皮を風乾後Sメラニン分離法⁹⁾に従つてSメラニンを分離しメラニン含量を測定した。

総 括

まぐろ黒色表皮のメタノール抽出液から得た結晶はリボフラビンと同一の結晶形を示した。又純粋なリボフラビンの水溶液とまぐろ表皮より得たフラビンの水溶液の吸収スペクトルは全く同じものであり270 m μ 、370 m μ 、445 m μ に極大値を示した。然し E_{270}/E_{445}

Table 3. Riboflavin and melanin contents of the epidermis of tunnies.

	Riboflavin contents (mg %)	S-Melanin contents (%)
Bigeye Tunna	9.1	8.8
Basho Tunny	5.7	20.6
Black skin Tunny	1.6	19.4

と E_{270}/E_{370} の二つの吸光比は高田等⁷⁾の報告せる純粋リボフラビンの吸光比に比較してやや高い値を示した。これは 270 m μ の吸光係数が 370 m μ と 445 m μ のそれに比較して高い為であると考えられる。又 Flavin adenine dinucleotide, Flavin mononucleotide, Riboflavinyl glucoside の E_{290}/E_{450} は各々 3.28, 2.22, 2.25 でまぐろ表皮のリボフラビンの E_{290}/E_{450} は 2.32 である。この吸光比 2.32 はリボフラビンの吸光比 2.27 に近く Lyxoflavin のそれと比較し得なかつたが、まぐろ表皮のフラビンは恐らくリボフラビンと同物と考えられる。

めばちまぐろは他のまぐろに比べリボフラビン含量が高く他の食品並びに動物諸器官のリボフラビン含量と比較しても極めて高い。まぐろ表皮中黒色部に多く腹部の白色部にはリボフラビン含量が少い。まぐろ表皮のメラニン含有量とリボフラビン含有量との関係について検討した結果 S メラニン含有量とリボフラビン含有量との間には特別の関係は見出せなかつた。しかし外観上の黒色度と S メラニン含有量とが一致するかどうか疑問で、これに関してはまぐろ表皮フラビンの生理的意義と共に今後の研究に俟たねばならぬ。

要 約

冷凍めばちまぐろ表皮よりフラビンの結晶を得た。

ペーパークロマトグラフィー及び吸収スペクトルによつて該フラビンはリボフラビンである事を推定した。

まぐろ黒色表皮中のリボフラビン含有量とメラニン含有量との間には直接の関係はみられなかつた。

終りに臨み種々御指導を賜つた山崎何恵教授並びに試料を提供された林兼工場長石川氏並びに太平洋漁業研究所山家道則氏及び安田誠一氏に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 堀田一雄, 鷲野栄万蔵, ビタミン, 4, 144 (1947)
- 2) E. S. Pallars and H. M. Garza, Arch. Biochem., 22, 63 (1949)
- 3) L. G. Whitby, Biochem. J., 50, 433 (1952)
- 4) 八木国夫, 松岡芳隆, 生化学, 27, 83 (1955)
- 5) R. Kuhn, P. György und T. Wagner-Jauregg, Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., 66, 1034 (1933)
- 6) I. Yamasaki, Proc. Imp. Acad. Tokyo, 16, 6 (1940)
- 7) 高田亮平, 清水祥一, ビタミン, 7, 300 (1954)
- 8) 藤田秋治, ビタミン, 2, 254 (1950)
- 9) 船津 勝, 船津軍喜, 農化 (投稿中)

S u m m a r y

A flavin was isolated and crysterized from the methanol extracts of the black epidermis of freezed *Bigeye Tunna*.

It was identified with riboflavin by paper chromatography and spectrophotometry.

The direct relation was not found between riboflavin and melanin contents of the black epidermis of some tunnies.

Laboratory of Biochemistry, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka.