

原 報

加藤好夫, 牧田浩和: 微生物による Riboflavin の分解機構について

**Yoshio Kato, Hirokazu Makida: On the Process of
Decomposition of Riboflavin by Microorganism.**

In this experiment bacillus decomposing riboflavin was found in the soil. On paper pertition chromatography the three substances were isolated from riboflavin decomposed by this bacillus. These substances were determined by Rf value, fluorescence color and ultraviolet absorbtion spectra.

The results were as follows; blue-violet substance of Rf 0.40 was flavoviolet, blue-green subst. of Rf 0.70 lumichrome and violet subst. of Rf 0.80 oxo-violet.

Decomposition of riboflavin by this bacillus was determined as follows; riboflavin→flavo-violet→oxo-violet→Rf 0.95 subst. Mechanisms of this process were caused by enzyme reactions. This enzyme was extracted by saline solution and phosphate buffer and had strong activity at pH 5.2.

黄色酸化酵素の構成成分である riboflavin (以下 B₂ と略す) については光分解, 熱分解, アルカリ分解および酸化分解などの分解に関する研究が多くの研究者によって行われて, これらの B₂ 分解機構もかなり判明してきたが, その複雑なる分解の一部については未だ解明されていない。

伊奈¹⁾らは B₂ の分解機構を研究するため, B₂ (I) のアルカリ性熱分解を行い, 生成物として得た B₂-ケト酸 (II) を過酸化水素で酸化して, 6,7-dimethyl-1-ribityl-2,3-diketotetrahydroquinoxaline (III) (これを flavo-violet と命名) とし, さらにそれをアルカリ性で過酸化水素と加熱反応させて, 6,7-dimethyl-2,3-diketotetrahydroquinoxaline (IV) (これを oxo-violet と命名) を得, またはこれらを合成的に確認した。他方,²⁾微生物による B₂ 分解については, 1942年 Starkey は動物の腸管内において B₂ を分解する微生物が存在することを指摘し, 1943年 Selye は間接的にラットの腸内組織において B₂ が分解され得ることを証明した。その後1944年 Foster⁴⁾⁵⁾は土壤中より B₂ を分解するところの *Pseudomonas riboflaviana* を分離し, その性状ならびに B₂ 分解機構を明らかにした。⁶⁾滝口も土壤中より分離した

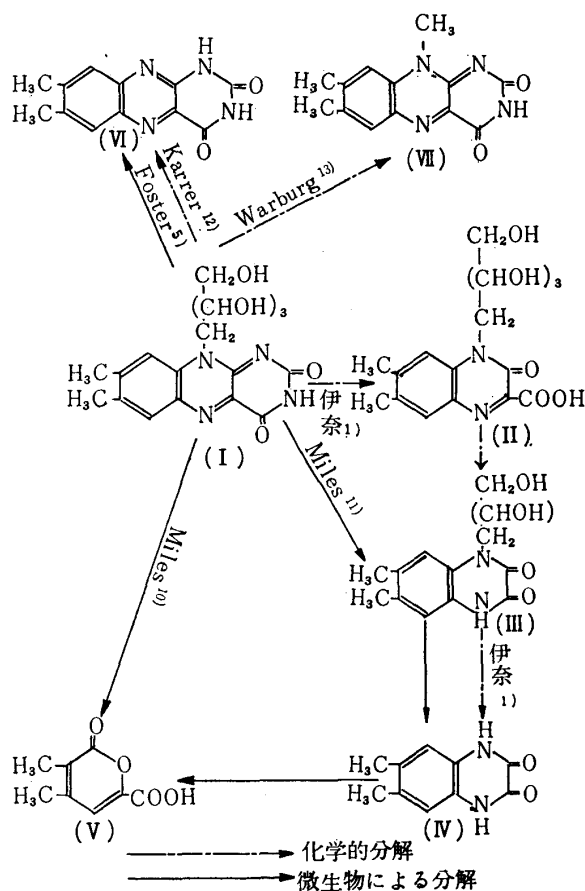


Fig 1. Decomposition of Riboflavin

Bacillus furfarmis 群および *Bacillus circulans* 群に属する4種類の好気性菌を発見して, これらによる B₂ の分解生成物は lumichrome(VI)であることを認めた. その後腸内細菌による B₂ 分解に関しては, 堀田⁷⁾ は1948年に糞便中の微生物によって B₂ 分解が行われることを予想して実験したところ, lumichrome 法では B₂ が認められなかった⁸⁾ので, 糞便中の微生物は alloxazine 核を変化するものと推定した. さらに堀田⁸⁾, 高田⁹⁾ によって追試が行われたが, B₂ 分解生成物として lumichrome (VI) のみを確認できたにすぎなかった.

1958年 H. Todd Miles¹⁰⁾ らは土壌中の微生物により B₂ の alloxazine 核が破壊された 3,4-dimethyl-6-carboxy- α -pyrone (V) を得た. さらに1959年には¹¹⁾ 6,7-dimethyl-1-ribityl-2,3-diketotetrahydroquinoxaline (III) を分解生成物として確認した (Fig. 1).

さて著者らは土壌中の微生物の種類によって, さらに異なる B₂ の分解が行われる可能性を予想して, B₂ 分解機構を解明するために本実験を企図したのである.

まず B₂ 分解作用の可能な微生物を本学周辺の土壌中より検索して, 有能なる5種の桿菌類を発見した.

これらの桿菌について B₂ の分解を試み, この場合生成される分解物質について究明したところ, lumichrome (VI) のほかに 6,7-dimethyl-1-ribityl-2,3-diketotetrahydroquinoxaline (III) および 6,7-dimethyl-2,3-diketotetrahydroquinoxaline (IV) と Rf 0.95 の未知物質を得た. ここに B₂ より微生物の分解によって flavo-violet (III) および oxo-violet (IV) が得られたことは興味あることであり, さきに伊奈¹⁾ が化学的に B₂ の分解を試みた結果と付合することは意義深いことである.

さらにこの微生物による B₂ 分解が酵素作用に起因するものと推定して, この酵素の抽出およびその分解能力について実験を試みたところ, B₂ 分解を促進する酵素を得たので, これらの実験経過についても報告する.

実 験 の 部

I. 土壌中より B₂ 分解菌の分離

1) 操 作 法

まず土壌中より B₂ を分解する有能な菌を分離するために, 下記の B₂ 含有の液体および固形培地を使用した.

B ₂ - 液 体 培 地	B ₂ - 固 形 培 地
Yeast extract.....1.0 g	左記 B ₂ 液体培地.....100.0ml
Pepton.....1.0 g	培地用粉末寒天1.5 g
1M·KH ₂ PO ₄40.0ml	
MgSO ₄ ·7H ₂ O200.0mg	上記の両培地を4%水酸化ナトリウムにて, pH7.0
CaCl ₂ ·2H ₂ O10.0mg	に調整しこれを2気圧, 30分間加圧滅菌して使用し
FeSO ₄ ·7H ₂ O10.0mg	た.
MnSO ₄ ·4H ₂ O0.6mg	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O0.6mg	
100mcg/ml B ₂ soln.50.0ml	
Waterad 1000.0ml	

樹木の根元の土を掘りその中の土壌1gを滅菌試験管にとり, これに滅菌生理食塩液5mlを加えてよく振り混ぜて静置後, その上清液の2白金耳を B₂500mcg% 含有の液体培地を入れた滅菌培地試験管に移殖し, 37°, 48時間ふ卵器中で培養して, B₂ の螢光色が消失したものを選び, この培地より1白金耳をとり, B₂500mcg% 含有の寒天培地を入れた滅菌シャーレの中に無菌的に画線培養をする. これを37°, 48時間ふ卵器中にて培養し

て、B₂の螢光が著しく消失したコロニーを選びだし、純培養を繰り返したところ、Table 1 および2に示される性状を有するA, B, C, D およびEの5種の桿菌類に属する有能なるB₂分解菌を分離することができた。

Table 1. Properties of Bacteria decomposing Riboflavin

試験事項		菌種	A 菌	B 菌	C 菌	D 菌	E 菌
染色	形態	桿菌	+	+	+	+	+
	グラム染色		+	+	+	+	+
	芽胞		+	+	-	+	-
加状熱態	80°, 20分		+	+	-	+	+
	100°, 10分		-	-	-	-	-
ブイヨン液体培地	にごり		++	++	-	+	++
	沈殿		+	+	-	+	+
	表面の発育	菌膜	+	+	-	+	+
	pH 7.0	菌膜	+	+	-	+	+
	色		淡黄褐	淡褐	淡褐	淡黄褐	黄褐

Table 2. Biochemical Properties of Bacteria decomposing Riboflavin

試験事項		菌種	A 菌	B 菌	C 菌	D 菌	E 菌
糖分解	Glucose		+	+	-	+	+
	Fructose		+	+	+	+	+
	Mannose		+	+	-	+	+
	Lactose		+	-	+	-	+
	Saccharose		+	+	-	+	+
	Dextrin		+	-	+	-	+
	Starch		+	-	+	-	+
	CO ₂ 発生		+	+	+	-	-
ラ培セル地	斜面		淡黄褐	淡黄緑	淡黄	不変	淡黄緑
	高層 (ガス)		-	-	-	-	-
	高層 (酸)		+	+	+	-	-
Indol 産生		-	-	-	-	-	
硝酸塩還元		-	-	-	-	-	
Methylred 反応		+	+	-	-	+	
NH ₃ の発生		+	+	+	-	+	
ゼラチン液化		+	+	+	+	+	
H ₂ S の発生		-	-	-	-	-	
馬鈴薯培地		++	++	++	±	-	
発育状態		(乳白)	(乳白)	(黄乳)	(乳白)		
運動性		+	+	+	+	+	

2) B₂分解菌類の性能

前述のように純粋に分離したA, B, C, D およびE菌をB₂500mcg%含有の液培地に移殖して、37°で48時間培養すると、Fig. 2のNo.1に示されるように、いずれもB₂の螢光色と異なる青紫色の螢光色を現わす。ま

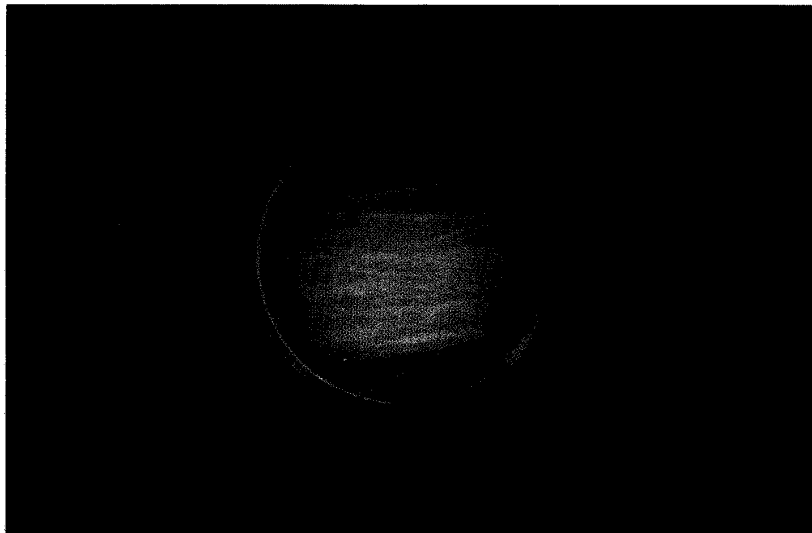
Fig. 2 Activity decomposing Riboflavin
by Bacteria in the Soil

No. 1



A→B→C→Control→D→E

No. 2



た B₂500mcg% 含有の寒天培地中に移殖培養を行うと, その蛍光色およびコロニーの発育状態は, A菌について例を示すと, Fig.2 の No.2 のようになり, その特異性を有することがわかる. つぎにA菌について, 単染色およびグラム染色を試みると, 形態上からは桿菌でグラム陽性, 有芽胞の菌体であることがわかる.

また純粹に分離した5種のB₂分解菌についての細菌学的, 生化学的性状は, Table 1 および Table 2 に示され, これらの菌類の属名菌種の判定は目下岐阜医大細菌学教室に依頼中である.

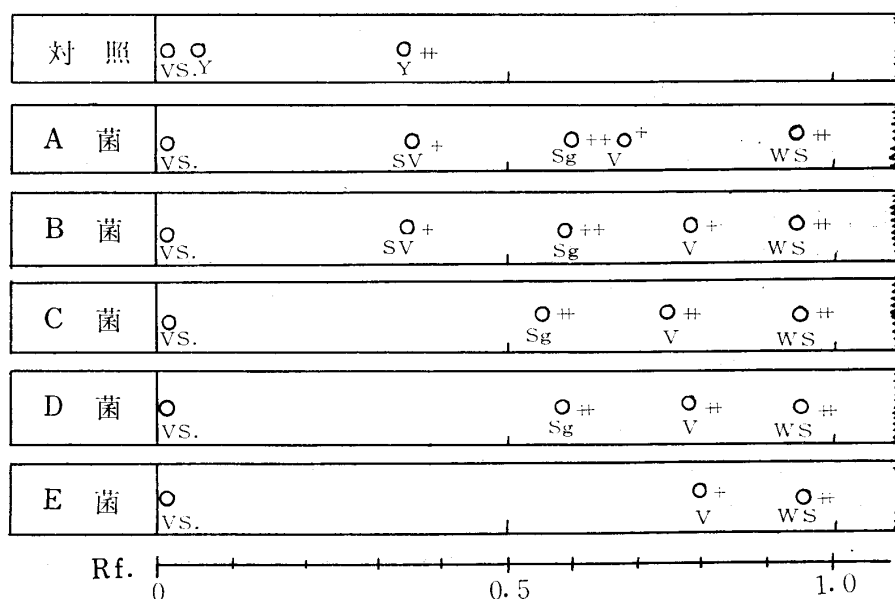
II. 螢光を有する B₂ 分解成績体

1) 分離操作法

A, B, C, D および E の5種類の純菌から各5白金耳をとり, B₂500mcg% 含有液体培地 200ml にそれぞれを移殖して 37° のふ卵器中に培養し, B₂ の螢光色が消失し始めた2日後の培地, 4日後および7日後の培地をとり, これらを 40° 以下で減圧濃縮して 1/10 容となし, エタノールで除塩した後, 遠心分離して, その上清液を 40° 以下で減圧濃縮し, この濃縮液を東洋ろ紙 No.51 の 40×40cm 上に塗布し, 風乾後, 展開溶媒として n-BuOH : HAc : H₂O (4 : 1 : 5) に 30%NH₄OH を 5% 添加したものをを用いて展開して螢光物質の分離を行った. また対照としては B₂500mcg% 含有液体培地 200ml そのものを 37° ふ卵器に入れたものを前と同一条件において処理したものをを用いた.

2) 分離した分解成績体の Rf 値

上述の操作によって, 各菌により分解された螢光物質を分離して PPC により観察するに, 各菌を移殖後2日, 4日さらに7日後の培地より得たものを比較してみると, 経日により Rf 値が次第に高くなり, 螢光色も濃くなってゆくのが認められた. したがって B₂ が各菌によって, 経日によって, 段階的に分解してゆくものと推定される. そこで本実験においては, 培養7日後の分解成績体について検討することとした. これら物質の PPC の結果は, Fig.3 に示すような結果を与えた.



(註) 展開溶媒: n-BuOH : HAc : H₂O (4 : 1 : 5) + 30%NH₄OH を 5%
Y: 黄色, SV: 青紫色, Sg: 青緑色, V: 紫色, WS: 淡青色

Fig.3 PPC of Decomposed Substances of Riboflavin by Bacilli (A~E)

Fig. 3 において、対照と比較して、Rf 値、螢光色の異なるスポットを観察すると、Rf 0.35 の SV は A~B 菌に、Rf 0.55~0.60 の Sg は A~D 菌に、Rf 0.65~0.80 の V は A~E 菌におよび Rf 0.95 の WS は A~E 菌にともに存在するが、同一物質と考えられるので、各スポットを切りとり、蒸留水エタノールで抽出して、その抽出液を 40° 以下で減圧濃縮して PPC による分離を反復して純化してゆくと、SV の Rf 0.35 物質は **Rf 0.40**、Sg の Rf 0.55~0.60 物質は **Rf 0.70**、V の 0.65~0.80 物質は **Rf 0.80**、および WS の **Rf 0.95** は同値に単一化でき、また螢光色の色調には変化は認めなかった。

Ⅲ. 分離した分解産物の確認

1) Rf 値 0.40 の青紫色物質

Rf 0.40 物質は、Miles¹¹⁾ の報告によれば、Rf 値、螢光色が一致するので flavo-violet であると推定されるので、その水溶液について、つぎの確認実験を行った。

a) flavo-violet の純結晶を対照として、Rf 0.40 物質を PPC により、それぞれ単一の場合と両物質の混合物について検討するに、Table 3 のように、Rf 0.40 物質と flavo-violet は同一 Rf 値を与える。

b) Rf 0.40 物質および flavo-violet の水溶液について、UV スペクトルを測定すると、Fig. 4 のように、吸収極大は 234, 262, 322, および 334m μ にあり、flavo-violet の吸収極大値と全く一致した。

以上の実験により、Rf 0.40 物質は flavo-violet であると確認できた。

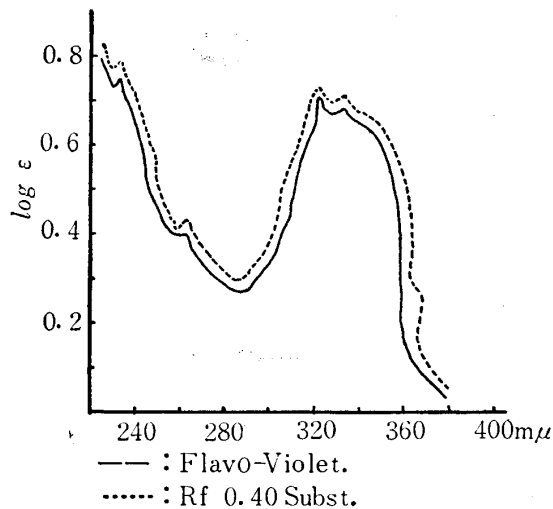


Fig 4. Ultraviolet Absorption Spectra of Rf 0.40 subst. and Flavo-violet in Water

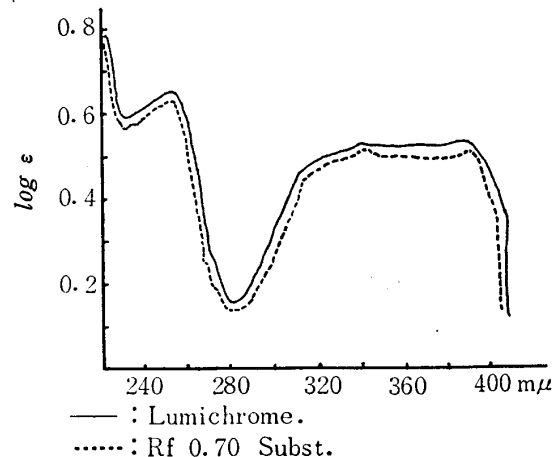


Fig 5. Ultraviolet Absorption Spectra of Rf 0.70 subst. and Lumichrome in Water.

2) Rf 0.70 の青緑色螢光物質

a) Rf 0.70 物質の水溶液は N-NaOH 溶液で黄色を呈し、HAc 酸性にすると、CHCl₃ に溶けて黄緑色の螢光を発するので lumiflavin (VII) か lumichrome (VI) と推定できる。

そこで、Rf 0.70 物質と lumiflavin および lumichrome とを個々に PPC によって比較したところ、Rf 0.70 物質が lumichrome と同様な結果を呈したので、つぎに Rf 0.70 物質と lumichrome とを混合したものについて、PPC により検討したところ、両者は同一物質であることを認めた。(Table 3)

b) Rf 0.70 物質および lumichrome の水溶液について、UV スペクトルを測定すると、Fig. 5 に示すように、その吸収極大は、256, 340, および 395m μ に認められ、lumichrome の吸収極大値と一致するので、Rf 0.70

物質は lumichrome であると同定できる。

3) Rf 0.80 の紫色蛍光物質

Rf 0.80 物質の溶解性を検討すると、水に冷時難溶、メタノールおよびエタノールに温時可溶、ピリジンおよび *N*-水酸化アルカリに冷時可溶であり、これらは伊奈¹⁾が報告した oxo-violet と溶解性が類似しており、また Rf 値、蛍光色から観察しても oxo-violet と推定されるので Rf 0.80 物質をエタノールに溶解した溶液について下記の確認実験を試みた。

a) Rf 0.80 物質と oxo-violet の純結晶の各々について、さらに両物質の混合物について、PPC によりそれらの相異を検討したところ、Table 3 に示すように、Rf 値の一致を認めた。

b) Rf 0.80 物質および oxo-violet のエタノール溶液について、UV スペクトルを測定するに、Fig. 6 に認められるように、吸収の極大値が 233, 269, 320 および 335m μ にあり、これらは oxo-violet の吸収極大値と全く一致した。

以上の実験により、Rf 0.80 物質は oxo-violet であると確認できた。

Table 3. Determination by PPC on the Decomposed Substances of Riboflavin

Samples	Rf. Val. *
Rf 0.40 SV. Subst.	0.40
Flavo-Violet	0.40
Rf 0.40 Subst.+Flavo-violet	0.40
Rf 0.70 Sg. Subst.	0.70
Lumichrome	0.77
Rf 0.70 Subst. +Lumichrome	0.75
Rf 0.80 v. Subst.	0.80
Oxo-Violet	0.80
Rf 0.80 Subst. +Oxo-violet	0.80

* developing solvent=*n*-BuOH : HAc : H₂O
(4 : 1 : 5)

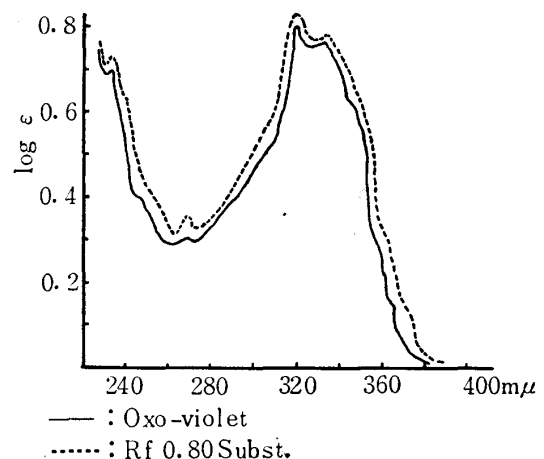


Fig 6. Ultraviolet Absorption Spectra of Rf 0.80 subst. and Oxo-violet in abst. Ethanol

4) Rf 0.95 の淡青色蛍光物質

Rf 0.95 物質は、Fig. 3 に示すように、A~E 菌による B₂ 分解成績体として、同程度に各菌によって生産される共通の分解物であるから、本物質を結晶体として単離するために、つぎのような実験を試みた。

まず B₂ 500mcg% 含有液培地 10ml 中に代表菌として A 菌 2 白金耳を移植して、37° で 48 時間培養したものを、別に B₂ 100mg% 含有の液体培地に添加して、37° にて 1 ヶ月間培養する、この液を遠心分離して、その上清液を Florisil Column 35.0×8.5cm に通過させて、この通過液を 18N-H₂SO₄ 溶液で pH 3.0 に調製し、これを 40° 以下で 1/10 容積位にまで減圧濃縮して、エーテルにて抽出する。このエーテルを留去すると褐色の沈殿が少量析出する。この析出物質を熱湯より再結晶する。この Rf 0.95 物質については、確認が容易ならず今後の研究にまつこととした。

5) B₂ 分解機構の確認

土壌菌による B₂ の分解過程が、B₂→flavo-violet→oxo-violet→Rf 0.95 物質の経過を辿ることを確認

するために、つぎの実験を試みた。

前記の液体培地の B₂ の代りに、flavo-violet および oxo-violet をそれぞれ添加した培地に、A 菌を移植して、前述と同条件下に培養して、同様操作により、PPC により分解物質を検討した。

flavo-violet を添加した培地からは、Rf 0.80 の紫色蛍光物質(oxo-violet)と Rf 0.95 の淡青色蛍光物質を得た。

一方 oxo-violet を添加した培地からは、Rf 0.80 の紫色蛍光物質 (oxo-violet) と Rf 0.95 の淡青色蛍光物質を得た。

以上の実験によって、flavo-violet は微生物によって、oxo-violet と Rf 0.95 物質に分解されるが、oxo-violet は徐々にしか、Rf 0.95 物質に変化して進まないことが判明できた。

IV. 微生物の B₂ 分解酵素

微生物により B₂ は lumichrome, flavo-violet, oxo-violet および Rf 0.95 物質に分解されることが、前述の実験結果から判明された。この B₂ 分解が微生物に存在する分解酵素によって行われるものと推定されるので、まず分離した A 菌を使用して、その培養液から分解酵素の抽出を試みた。

1) 分解酵素の抽出

B₂ 分解菌としては A 菌を、その培養基は通常的肉エキスブイヨン (肉エキス 10g, ペプトン 10g, 食塩 2g, 精製水 1000ml) を pH 7.0 に調整し、2 気圧、20 分間高圧滅菌をしたものを使用した。

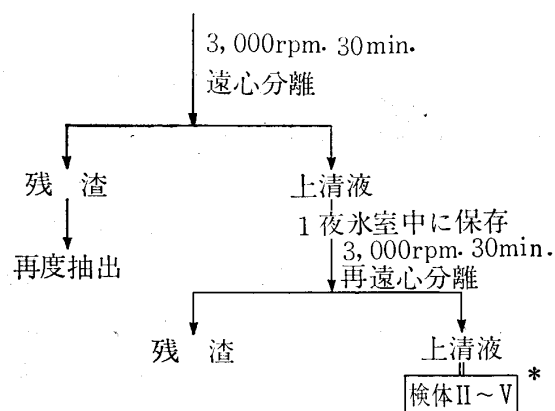
A 菌の 2 白金耳を上記培地 10ml 中に移植して、37° で 48 時間培養する。さらに、このものを新しい培地 1L に混入して、37° で 3 日間培養を続ける。培養を終り、これを遠心分離器に 3,000rpm で 30 分間かけて上清液と残渣に分ける。この上清液を一昼夜氷室中に保存し、再び同様に遠心分離して、このときの上清液をとり、これを検体 I とする。

初めの遠心分離の残渣については、Table 4 に示す抽出法により操作して、検体 II ~ V を得た。

Table 4. Extraction of Enzyme Decomposing Riboflavin

残渣 + 活性アルミナ } 乳鉢中で混和し
粉末状態とする

* 溶媒を加えて全量 30ml とする
遠沈管内で 10 分間よく混和する



* 溶媒に生理食塩液を用いたものは検体 II, リン酸緩衝液の pH 5.2, pH 7.0, pH 8.3 のものを用いたものを、それぞれ検体 III, IV, V とする。

2) 分解酵素の性状

上記にて得られた分解酵素検体 I ~ V について、蛋白質試験を試みたところ Table 5 に示すような結果となり、各検体ともに蛋白質が陽性のものであると推定できる。

Table 5. Protein tests of Enzymes (I ~ V) by Extraction from Bacteria

検体	I	II	III	IV	V
ビューレット反応	SV	SV	SV	SV	SV
ニンヒドリン反応	YB	YB	YB	BB	BB
ニトロプルシド反応	Yt	Y	Y	Y	Y
ミロン反応	Yt	Yt	Yt	Yt	Yt
硫化鉛反応	-	-	-	-	-
エタノール沈殿	+	+	+	+	+
酸凝固	+	+	+	+	+
熱凝固	+	+	+	+	+

註) SV: 青紫色, YB: 黄褐色, BB: 黒褐色, Y: 黄色, Yt: 黄濁

つぎに各検体が B₂ 分解能を有するかを検討するために, 1 例として, 検体 II を使用した.

検体 II (乾燥菌量 10mg/ml) を 1ml ずつ 7 本の滅菌試験管にとり, 1 本には滅菌生理食塩液 3ml を混和したものおよび他の 6 本にはリン酸緩衝液の pH 5.2, 5.8, 6.4, 7.0, 7.7 および 8.3 のもの各 3ml を混和したものと合せて 7 本を 1 群とし, また同じもの 7 本を他の 1 群として調製し, 1 群はそのまま, 他の 1 群は 100° で 10 分間加熱して, 酸素を滅菌したものの 2 群について B₂ 分解能試験を行った.

上記 7 種類の 2 群の試験酵素加入の試験管に, それぞれ B₂ 溶液 (2mcg/ml) を 1ml と少量のトルオールを加えて, ふ卵器に入れて, 37° で 24 時間培養する. その後これらの試験管中の各溶液について, 総 B₂ 含有量を定量したところ Table 6 のような結果を得た.

Table 6. Activity decomposing Riboflavin of Enzyme in various pH (B₂. mcg/ml)

条 件	検液の pH	生理食塩液	5.2	5.8	6.4	7.0	7.7	8.3
	室 温		1.4	1.0	1.1	1.1	1.42	1.41
100°10 min 加熱		1.6	1.2	1.2	1.2	1.64	1.63	1.53

Table 6 において, 抽出された B₂ 分解酵素は, pH 5.2 において最も強い B₂ 分解能を有することがわかる. 生理食塩液中や pH 7.0 以上のアルカリ性では, B₂ 分解の活性が劣るものである.

B₂ 分解酵素を 100° で 10 分間加熱処理したものには, 室温処理したものに比較して B₂ 含有量が多いことは, 加熱処理によって酸素活性が弱められたためであり, B₂ 分解は微生物の酵素作用によって行われることを示唆するものと推定される. またこの酵素はこの程度の加熱処理では殺菌されないことを示しておる. さらに室温処理と同様に生理食塩液中と pH 7.0 以上においては活性が弱まることが共通しておる.

V. 考 察

土壌中の B₂ 分解菌のうち最初に述べたように, Foster⁴⁾⁵⁾ により発見されたところの *Pseudomonas riboflavina* は好気性, グラム陰性, 無芽胞の, 大きさは不定の運動性を有し, また糖分解, ゼラチン液化は陰性の菌であった. また滝口⁶⁾ の発見した B₂ 分解菌は桿菌に属し, グラム陽性, 糖分解は陽性およびゼラチン液化は陰性の運動性を有する菌である.

著者らの発見した B₂ 分解菌は, 桿菌に属し, グラム陽性, 有芽胞の菌体で, その性状が第 2 表, 第 3 表に示すように既知の菌とは異なるものようである.

この分解菌による B₂ 分解機構をその分解成績体について, 研究したところ, B₂ は lumichrome, flavo-violet および oxo-violet に分解されていることを確認できた.

この事実は伊奈ら¹⁾ が B₂ を化学的に分解した場合と同様な分解経過をたどることを示す. そこで微生物による B₂ 分解も酸化作用によって起るものと考えられ, この酸化をひき起こす酸素が微生物中に存在するものと推定された.

よって B₂ を分解する微生物を大量に培養し, この中から B₂ 分解酵素を抽出し, この酵素液について B₂ 分解能を検討したところ, B₂ の分解を確認できた.

この分解酵素は pH 5.2 において酵素活性が大きく, また安定である. また生理食塩液中や, pH 7.0 以上では活性が劣る. またこの酵素は活性アルミナに吸着され, 生理食塩液およびリン酸緩衝液で抽出可能である.

本実験においては, この分解酵素の精製および結晶化にまで進まなかったが, この酵素の純化と結晶化が実現

すれば、この結晶酵素によって一層精密なる B₂ の分解機構の解明が可能となり、引いては、B₂ の安定化の問題について本質的な検討ができるものと考えられる。なお本実験において解明できなかった Rf 0.95 物質についてもその全貌が近く判明できることと信ずる。

VI 結 論

1) 土壤中より B₂ を分解する 5 種類の桿菌を発見し、それらの菌を用いて B₂ の分解実験を行ない、この際成生する特有の螢光色をもつ分解成績体を調べ、螢光色調、Rf 値および紫外部吸収スペクトルなどにより、つぎのようにそれぞれ同定確認した。

i) Rf 0.40 物質 (青紫色) = flavo-violet

ii) Rf 0.70 物質 (青緑色) = lumichrome

iii) Rf 0.80 物質 (紫色) = oxo-violet

2) B₂ が分解菌によって、つぎのような分解機構で分解が進行することを認めた。

riboflavin → flavo-violet → oxo-violet → Rf 0.95 物質 (未知)

3) B₂ の微生物による分解は、微生物の酵素作用であることを認め、別に微生物の培養液から酵素を抽出してこの事実を確認した。

この酵素は、活性アルミナに吸着され、生理食塩液かまたはリン酸緩衝液によって抽出可能であり、pH 5.2 で強い活性を現わし、したがって B₂ 分解能も強い。また pH 7.0 以上では活性が弱くなり、100°, 10 分の加熱では殺菌されないで、ただ活性が低下する程度であることを認められた。

終りに、本研究に種々御教示を与えられた名古屋大学名誉教授堀田一雄先生、岐阜大学教授栗本珍彦先生に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 堀田一雄, 伊奈修一郎: ビタミン **11**, 368, 440 (1955), 伊奈修一郎: 東北医誌 **59**, 13 (1959).
- 2) Starkey, R. L.: Proc. Soil. Sci. Soc. Am. **7**, 237 (1942).
- 3) Selye, H. J.: Natr. **25**, 137 (1943).
- 4) Foster J. W.: J. Bact. **47**, 27 (1944).
- 5) Foster, J. W.: J. Bact. **48**, 97 (1944).
- 6) 滝口きよ子: ビタミン **6**, 666 (1953).
- 7) 堀田一雄, 八木国夫: ビタミン **3**, 40 (1950).
- 8) 堀田一雄, 八木国夫ら: ビタミン **6**, 289 (1953).
- 9) 高田亮平, 清水祥ら: ビタミン **6**, 575 (1953).
- 10) H. Todd Miles, P. Z. Smpson *et al*: J. Am. Chem. Soc. **80**, 2541 (1958).
- 11) H. Todd Miles, P. Z. Smpson *et al*: *ibid* **81**, 1946 (1959).
- 12) Karrer, P. *et al*: Helv. Chim. Acta. **20**, 79 (1937).
- 13) Warburg, O. *et al*: Biochem. Z. **254**, 438 (1932).