

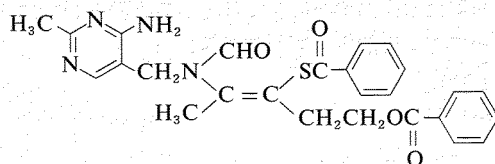
86 チアミン誘導体

Thiamine Derivatives

ジベンゾイルチアミン

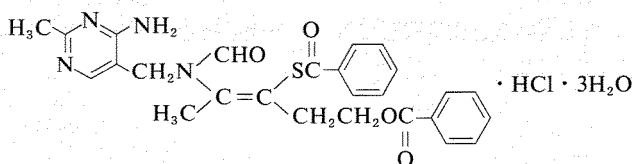
Dibenzoyl Thiamine

略名：DBT

 $C_{26}H_{26}N_4O_4S$: 490.58

ジベンゾイルチアミン塩酸塩

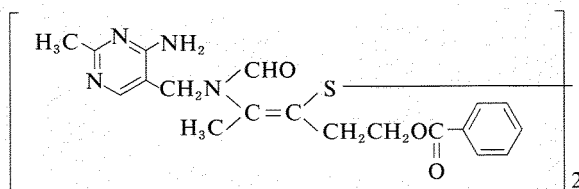
Dibenzoyl Thiamine Hydrochloride

 $C_{26}H_{26}N_4O_4S \cdot HCl \cdot 3H_2O$: 581.09

ビスペンチアミン

Bisbentiamine

別名：ベンゾイルチアミンジスルフィド

 $C_{38}H_{42}N_8O_6S_2$: 770.93

1. 試験法の概要

食品中のジベンゾイルチアミン、ジベンゾイルチアミン塩酸塩及びビスペンチアミンは、チオクローム蛍光法により定量する。食品中には天然のチアミンが分布している。したがって、定量値は食品由来のチアミンと添加されたものとの合計値である。

2. 試験法 (チオクローム蛍光法)

(1) 検体の採取¹⁾と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

(2) 試料液の調製

チアミン誘導体として約 $20\mu\text{g}$ に対応する、通常、 10g 以下の試料の量を精密に量り、 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液 70ml を加えて軽く振り混ぜた後、還流冷却管を付けて $80\sim 90^\circ\text{C}$ の水浴中でときどき軽く振り混ぜながら 30 分間加温する。冷後、 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液を加えて正確に 100ml とする。これを乾燥ひだ折りろ紙²⁾ を用いてろ過³⁾ し、試料液⁴⁾ とする。

(3) 標準液の調製

ジベンゾイルチアミン (又はビスペンチアミン) 100mg を正確に量り、 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液を加えて溶かして正確に 100ml とし、標準原液とする。用時標準原液 10ml を正確に量り、 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液を加えて正確に 100ml とし、この液 10ml を正確に量り、 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液を加えて正確に $1,000\text{ml}$ とし、標準液とする (この液 1ml は、チアミン誘導体 $1\mu\text{g}$ を含む)。

(4) 測定法

① 測定条件

蛍光光度計を用い、励起波長 370nm 、測定波長 440nm 、液層 10mm の条件によって測定する。

② 測定液の調製

次のいずれかの方法により調製する。

a フェリシアン化カリウム溶液を用いる方法

試料液 5ml ずつを正確に量り、それぞれ 3 本の共栓試験管 A, B, C に入れる。A には標準液 1ml を正確に量って加え、B, C には 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液 1ml ずつを正確に量って加える。よく振り混ぜた後、A, B, C にシステイン塩酸塩溶液 (1 → 50) 0.1ml ずつをそれぞれ正確に量って加え、次に 1mol/l 水酸化ナトリウム溶液 1ml ずつを正確に量って加える。よく振り混ぜ、正確に 20 分間放置した後、 1mol/l 塩酸 1ml ずつを正確に量って加えて微酸性とする。更に A, B にフェリシアン化カリウム溶液⁵⁾ (1 → 100) 0.5ml ずつを、C には水 0.5ml を正確に量って加えてよく振り混ぜる。次に A, B, C に水酸化ナトリウム溶液 (3 →

10) 3ml ずつを正確に量って加え、30 秒間振り混ぜた後、イソブチルアルコール 10ml ずつを正確に量って加え、密栓して2分間激しく振り混ぜる。イソブチルアルコール層が分離するまで静置⁶⁾した後、イソブチルアルコール層 7~8ml を駒込ピペットで別の試験管にそれぞれ分取し、無水硫酸ナトリウム 2g ずつを少量ずつ加えて⁷⁾振り混ぜ、イソブチルアルコール層が澄明になるまで静置し、測定液とする。

b 臭化シアン溶液を用いる方法

試料液 5ml ずつを正確に量り、3本の共栓試験管 A, B, C に入れる。A には標準液 1ml を正確に量って加え、B, C には 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液 1ml ずつを正確に量って加える。よく振り混ぜた後、A, B, C にシステイン塩酸塩溶液 (1→50) 0.1ml ずつを正確に量って加え、次に 1mol/l 水酸化ナトリウム溶液 1ml ずつを正確に量って加える。よく振り混ぜ、正確に 20 分間放置した後、1mol/l 塩酸 1ml ずつを正確に量って加えて微酸性とする。更に A, B に臭化シアン溶液 3ml ずつを、C には水酸化ナトリウム溶液 (3→10) 3ml を正確に量って加え、よく振り混ぜる。次に、A, B に水酸化ナトリウム溶液 (3→10) 3ml ずつを、C に臭化シアン溶液 3ml を正確に量って加え、よく振り混ぜた後、イソブチルアルコール 10ml ずつを正確に量って加え、密栓して1分間激しく振り混ぜる。イソブチルアルコール層が分離するまで静置⁶⁾した後、イソブチルアルコール層 7~8ml を駒込ピペットで別の試験管にそれぞれ分取し、無水硫酸ナトリウム 2g ずつを少量ずつ加えて⁷⁾振り混ぜ、イソブチルアルコール層が澄明になるまで静置し、測定液とする。

③ 定量

測定液を蛍光光度計用セルに移し、蛍光強度を測定する。A の蛍光強度を 100% に合わせ、B, C の蛍光強度を測定する。検体中のジベンゾイルチアミン、ジベンゾイルチアミン塩酸塩及びビスベンチアミンの含量 (g/kg) は次式によって求める⁸⁾。

$$\text{ジベンゾイルチアミン含量 (g/kg)} = \frac{A \times (B - C) \times T}{50 \times (100 - B) \times W}$$

$$\text{ジベンゾイルチアミン塩酸塩含量 (g/kg)} = \frac{A \times (B - C) \times T}{50 \times (100 - B) \times W} \times 1.184$$

$$\text{ビスベンチアミン含量 (g/kg)} = \frac{A \times (B - C) \times T}{50 \times (100 - B) \times W}$$

A : 標準液中のチアミン誘導体濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

B : B の蛍光強度 (%)

C : C の蛍光強度 (%)

W : 試料の採取量 (g)

T : 試料液の希釈倍数⁴⁾

試薬・試液

1. イソブチルアルコール：〔特級〕 蛍光がないことを確かめる。
2. エタノール：〔95v/v%，特級〕
3. 0.1mol/l 塩酸・エタノール混液：1mol/l 塩酸 10ml を採り，エタノール 74ml 及び水を加えて 100ml とする。
4. L-システイン塩酸塩：〔特級〕
5. 臭素：〔特級〕
6. チオシアン酸カリウム：〔特級〕
7. 臭化シアン溶液：氷冷した水 100ml に臭素 2ml を加え，激しく振り混ぜた後，氷冷したチオシアン酸カリウム溶液（1→10）を臭素の色がまさに脱色するまで滴加する。この溶液はドラフト中で調製し，冷所に保存する。調製後 1 カ月以内に用いる。
8. フェリシアン化カリウム：〔特級〕
9. 無水硫酸ナトリウム：硫酸ナトリウム（無水）〔特級〕 蛍光がないことを確かめる。

〔注〕

- 1) 栄養改善法（昭和 27 年 7 月 31 日 法第 248 号）第 12 条に基づく特殊栄養食品の標準成分基準（昭和 46 年 4 月 8 日 衛発第 222 号）では，検体は 5 包装以上から無作為に採ることになっている。また，1 包装では任意の 5 箇所部分から試料の採取量以上の量を採ることになっている。栄養改善法では試料の採取量は次のようになっている。米 3g，押し麦，小麦粉，ゆでめん，乾めん，即席めん及びみそいずれも 5g，食パン 10g。また試料液としては適宜希釈してチアミン誘導体含量 $20\mu\text{g}/100\text{ml}$ としている。
- 2) ろ紙は蛍光のないものを使用する。
- 3) 遠心分離して上澄液を使用してもよい。
- 4) この試料液にはチアミン誘導体が 1ml 中に約 $0.2\mu\text{g}$ 含まれるようにする。チアミン誘導体の含量が多い場合は適宜希釈する。この際の希釈倍数を T とする。
- 5) 遮光して冷暗所に保存する。
- 6) 遠心分離（2 分間，1,000～1,500 回転/分）する方法もある。
- 7) イソブチルアルコール層に水がわずかに含まれると濁るので加える。
- 8) ジベンゾイルチアミン，ジベンゾイルチアミン塩酸塩及びビスベンチアミンよりチアミン塩酸塩への換算係数は，それぞれ 0.6875，0.5804，0.8748 である。