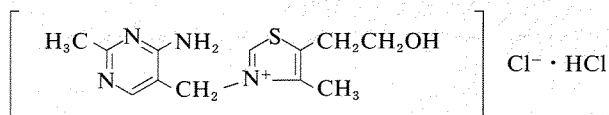


85 チアミン塩類

Thiamine Salts

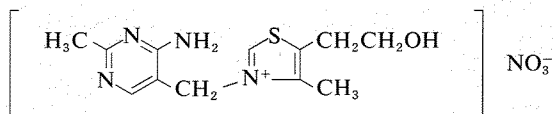
チアミン塩酸塩

Thiamine Hydrochloride

別名：ビタミン B₁塩酸塩 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl} : 337.27$

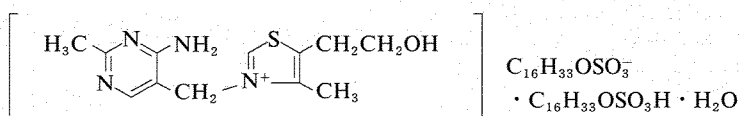
チアミン硝酸塩

Thiamine Mononitrate

別名：ビタミン B₁硝酸塩 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_4\text{S} : 327.36$

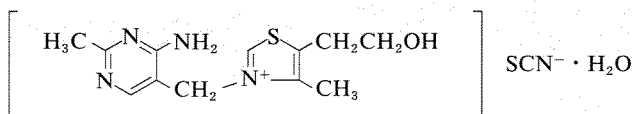
チアミンセチル硫酸塩

Thiamine Dicetylsulfate

別名：ビタミン B₁セチル硫酸塩 $\text{C}_{44}\text{H}_{84}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} : 927.39$

チアミンチオシアン酸塩

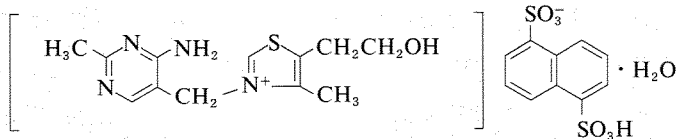
Thiamine Thiocyanate

別名：ビタミン B₁ロゲン酸塩 $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OS}_2 \cdot \text{H}_2\text{O} : 341.46$

チアミンナフタレン-1,5-ジスルホン酸塩

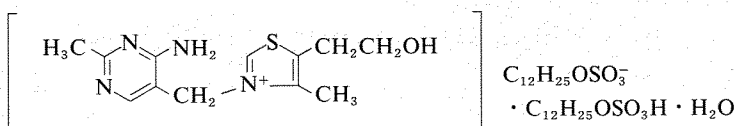
Thiamine Naphthalene-1,5-Disulfonate

別名：チアミンナフタリン-1,5-ジスルホン酸塩，

ビタミン B₁ナフタレン-1,5-ジスルホン酸塩 $C_{22}H_{24}N_4O_7S_3 \cdot H_2O : 570.67$

チアミンラウリル硫酸塩

Thiamine Dilaurylsulfate

別名：ビタミン B₁ラウリル硫酸塩 $C_{36}H_{68}N_4O_9S_3 \cdot H_2O : 815.17$

1. 試験法の概要

食品中のチアミン塩類は、チオクローム蛍光法によりチアミン塩酸塩として定量する。必要があれば定数を乗じて各チアミン塩の量として求める。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

チアミン塩酸塩として約 20 μ 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 60ml²⁾ を加えてよく混和³⁾した後⁴⁾、4mol/l 酢酸ナトリウム溶液を加えて pH4.0～5.0 に調整する⁵⁾。これにジアスターゼ溶液 (1→20) 5ml を加えてよく混和し、トルエン⁶⁾ 5 滴を加えた後、38～40 $^{\circ}$ C で一夜⁷⁾ 放置する。冷後、水を加えて正確に 100ml とする。これを乾燥ひだ折りろ紙⁸⁾ を用いてろ過し⁹⁾、試料溶液¹⁰⁾ とする。

試料溶液 25ml を正確に量り、パームチットカラムに静かに注ぐ¹¹⁾。試料溶液がカラム中のパームチット層の上面にくるまで、3 秒に 1 滴の速度¹²⁾ で流出させた後、塩酸 (1→100,000)

約5mlでカラムのR部の内面を洗い流す。次に熱湯50~100mlを注ぎ、熱湯がカラム中のパームチット層の上面にくるまで、1秒に1滴の速度¹³⁾で流出させた後¹⁴⁾、カラムのコックを閉める。

カラムが温かいうちに¹⁵⁾、受器として25mlのメスフラスコを用い、沸騰した塩化カリウム・塩酸溶液10mlをカラムに注ぎ、1秒に1滴の速度で流出させ、更に沸騰した塩化カリウム・塩酸溶液8ml及び7mlをそれぞれカラムに注ぎ、同様に流出させ、冷後、水を加えて正確に25mlとし、試料液とする。

(3) 標準液の調製

チアミン塩酸塩を105℃で2時間乾燥した後、その0.100gを正確に量り、0.1mol/l塩酸2mlを加えて溶かし、水を加えて正確に100mlとし、標準原液¹⁶⁾とする(この液1mlは、チアミン塩酸塩1mgを含む)。用時標準原液10mlを正確に量り、水を加えて正確に100mlとし、この液10mlを正確に量り、水を加えて正確に1,000mlとし、標準液とする(この液1mlは、チアミン塩酸塩1 μ 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, C¹⁷⁾に入れる。Aには標準液1mlを正確に量って加え、B, Cには水1mlずつを正確に量って加える。更にA, Bにフェリシアン化カリウム溶液¹⁸⁾(1→100)0.5mlずつを、Cには水0.5mlを正確に量って加え、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¹⁹⁾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²⁰⁾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、それぞれ3本の共栓試験管A, B, C¹⁷⁾に入れる。Aには標準液1mlを正確に量って加え、B, Cには水1mlずつを正確に量って加える。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、次に A, Bに水酸化ナトリウム溶液 (3→10) 3ml ずつ、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¹⁹⁾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²⁰⁾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入れ、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。

検体中のチアミン塩酸塩の含量 (g/kg) は、次式によって求める²¹⁾。

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

A : 標準液中のチアミン塩酸塩濃度 ($\mu\text{g/ml}$)

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¹⁰⁾

$$\text{チアミン硝酸塩含量 (g/kg)} = \text{チアミン塩酸塩含量 (g/kg)} \times 0.9706$$

$$\text{チアミンセチル硫酸塩含量 (g/kg)} = \text{チアミン塩酸塩含量 (g/kg)} \times 2.750$$

$$\text{チアミンチオシアン酸塩含量 (g/kg)} = \text{チアミン塩酸塩含量 (g/kg)} \times 1.012$$

$$\text{チアミンナフタレン-1,5-ジスルホン酸塩含量 (g/kg)}$$

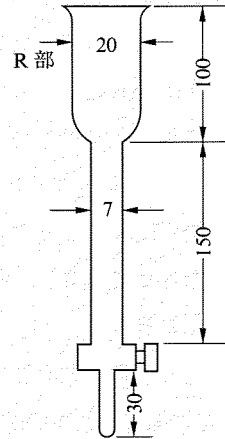
$$= \text{チアミン塩酸塩含量 (g/kg)} \times 1.692$$

$$\text{チアミンラウリル硫酸塩含量 (g/kg)} = \text{チアミン塩酸塩含量 (g/kg)} \times 2.417$$

試薬・試液等

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. 塩化カリウム : [特級]
3. 0.1mol/l 塩酸 : 塩酸 9.5ml に水を加えて 1,000ml とする。
4. 塩化カリウム・塩酸溶液 : 塩化カリウム 250g に 0.1mol/l 塩酸を加えて溶かして 1,000ml とする²²⁾。
5. 酢酸ナトリウム : [特級]
6. 4mol/l 酢酸ナトリウム溶液 : 酢酸ナトリウム 544g に水を加えて溶かして 1,000ml とする。

7. ジアスターゼ：市販品を用いる。
8. 臭素：〔特級〕
9. チオシアン酸カリウム：〔特級〕
10. 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。
11. トルエン：〔特級〕
12. パームチット：市販のビタミン B₁ 定量用を用いる²³⁾。
13. パームチットカラム：図 85-1 に示すカラムを用い、次の方法によりパームチットを充てんする。コックの部分に薄くシリコーン樹脂を塗り、コックを閉じて水を注ぎ、カラムの下端に少量のガラスワールを詰める。ビーカーにパームチット 1.3~1.5g を採り、水 20~30ml を加え、カラム中に空気が残らないように流し込む²⁴⁾。水がカラム中のパームチット層の上面にくるまで流出させた後、酢酸（3 → 100）約 10ml を加え、酢酸がカラム中のパームチット層の上面にくるまで 3 秒に 1 滴の速度で流出させる。更に水 20ml を加えて同様に流出させる²⁵⁾。
14. フェリシアン化カリウム：〔特級〕
15. 無水硫酸ナトリウム：硫酸ナトリウム（無水）〔特級〕 蛍光のないことを確かめる。



単位：mm（直径はすべて内径を示す）

図 85-1 パームチットカラム

〔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塩酸塩含量 20 μ g/100ml としている。
- 2) 0.1mol/l 硫酸 60ml を使用してもよい。
- 3) 均質になりにくい場合は、十分にかくはんする。
- 4) 続いて沸騰水浴中で 30 分間加熱抽出してもよい。
- 5) 後に加えるジアスターゼの至適 pH が 4.0~5.0 である。
- 6) 防腐の目的で添加する。
- 7) 45~50 $^{\circ}$ C で 2 時間から 3 時間放置してもよい。そのときはトルエンを加えなくてよい。
- 8) ろ紙は蛍光のないものを使用する。
- 9) 遠心分離（15 分間、3,000 回転/分）して上澄液を使用してもよい。
- 10) この試料溶液には、チアミン塩酸塩として 1ml 中に約 0.2 μ g 含まれるようにする。チアミン塩酸塩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。
- 11) チアミン以外の物質に起因する蛍光（盲蛍光）が非常に少ない試料の場合には、パームチット

ト処理をせずに、次の②測定液の調製に進んでよい。

- 12) 1分間に 1ml となる。
- 13) 1分間に 3~4ml となる。
- 14) 洗液に盲蛍光がなくなるまで繰り返す。
- 15) 温度が下がると流出中に塩化カリウムの結晶がカラムの中で析出する。
- 16) 標準原液は遮光して冷暗所に保存する。数カ月は保存できる。
- 17) 試験管 A は添加試験用, B は主試験用, C は空試験用である。
- 18) 遮光して冷暗所に保存する。
- 19) 遠心分離 (2分間, 1,000~1,500 回転/分) する方法もある。又は 40℃ に加温してもよい。
- 20) イソブチルアルコール層に水がわずかに含まれていると濁るので加える。
- 21) 各チアミン塩類よりチアミン塩酸塩への換算係数は以下のとおりである。
チアミン硝酸塩 : 1.030
チアミンセチル硫酸塩 : 0.3637
チアミンチオシアン酸塩 : 0.9878
チアミンナフタレン-1,5-ジスルホン酸塩 : 0.5910
チアミンラウリル硫酸塩 : 0.4137
- 22) もし結晶が析出したら、加温して完全に溶かして使用する。
- 23) 試薬は前処理する必要がなく、そのまま使用できる。
- 24) 空気が入ると吸着が十分に行われない。また、流出速度が遅くなる。
- 25) バームチットの上端に水を少量残しておき、乾燥させないようにする。