

Vitamin B₁ の調理化学的研究及び熱分解

石原圭子*

On the Decomposition of Thiamin (B₁) during Cooking (Pyrolysis)

Keiko Ishihara

I. 緒 論

Vit. B₁は脚気病原因の追求に始まり、最も古く Eijkman の白米飼育実験から1911年には Funk, 鈴木梅太郎により米糠から有効物質が抽出され、その後多くのの人々によって研究がなされ、栄養上欠くべからざる重要成分で、1932年に構造が明らかにされ、1937年には Williams 等により合成された。

調理をする時にB₁がどの様に分解されるかという事はB₁研究の最初からの問題であり、稲垣・渡辺氏等により報告がなされた。土井頌子氏は調理化学的变化について研究されているが私もこれについて興味を覚えたので調理による変化及び熱分解について本実験を開始した。

私は純粋なB₁塩酸塩の結晶を用いて種々の調理条件のもとでの変化を paper chromatography により定量を行なった。

加熱による1% B₁水溶液は、125°Cまでは、あまり破壊は見られないが、150°C1時間の加熱により著しく破壊される事を認めた。また調味料(砂糖・塩・酢・アミノ酸)を加えて加熱した場合、加えない時のそれとあまり差はなく、これらの調味料は破壊、保護のいずれにもほとんど影響はないという結果を得た。また、B₁水溶液の安定度とpHの關係に於てはpHがアルカリに傾くほど不安定となり、pH 2~5に於ては大變安定であるという事が従来報告と一致した。一方、1% B₁水溶液を150°C1時間加熱を行なうと、加水分解が起り pyrimidin と thiazol に分解するという事を thin layer chromatography により分離し、picrate とし m. p. 測定、分析を行ない決定した。

II. 実 験

I. Vit. B₁の定量

I. I. 原試料

Vit. B₁塩酸塩 (m.p.252°Cで100%純粋)

I. II. 定量方法

Paper chromatography 一次元上昇法により定量

I. II. I. Standard curve の作成

A 標準液の調製

B₁-HClの1%水溶液を標準液とした。

B 実験操作

Micro pipette で標準液の 5, 10, 15, 20, 25 μ l を取り、濾紙(東洋濾紙 No. 50, 3 \times 40cm)の原線に点付けし、室内乾燥後下記の条件の下で展開した。

溶 媒：n-butanol : acetic acid : 水
(4 : 1 : 5 v/v) の上澄液

展 開 法：一次元上昇法

展開温度：30°C恒温器中

展開時間：17時間

展開後、室内で乾燥しヨードビスマスカリウム試薬(KBil₄)で発色させ、乾燥後、流動パラフィンをつけて光の透過をよくしたものについて、濾紙光電光度計にて発色部の色度を読み取り、その強度を曲線で表わし、曲線で囲まれた部分の面積をプランメーターで測定し各検液とこの面積との關係をもってB₁の standard curve とした。

C 実験結果

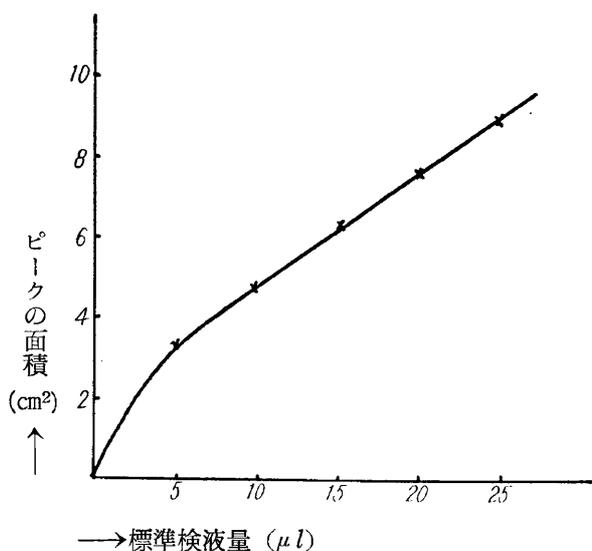
B₁の発色状態の面積、標準偏差、正確率は第1表、第1図の通りである。

第1表の如くB₁検液15 μ l (B₁含有量150 γ)に於て正確度が一番高いので、これより以下の実験は15 μ l をもって検液量とした。

* 本学調理化学研究室

第1表 ピークの面積, 標準偏差, 正確率

B ₁ 検液	平均面積	標準面積	正確率
(μ l)			(%)
5	3.3 cm ²	0.14	95
10	4.8	0.15	95
15	6.3	0.09	98
20	7.6	0.14	95
25	8.9	0.10	97



第1図 Vit. B₁の Standard curve

I. II. II. 各調理条件の下に於けるB₁の変化

I. II. II. I. 加熱による変化

A 検液調製

- ㊤ 1% B₁水溶液
- ㊦ 2% B₁水溶液2.5ml + 2% NaCl溶液2.5ml
- ㊧ 2% B₁水溶液2.5ml + 10% NaCl溶液2.5ml
- ㊨ 2% B₁水溶液2.5ml + 10% 砂糖溶液2.5ml
- ㊩ 2% B₁水溶液2.5ml + 20% 砂糖溶液2.5ml (註1)
- ㊪ 2% B₁水溶液2.5ml + 10% 酢溶液2.5ml
- ㊫ 2% B₁水溶液2.5ml + 20% 酢溶液2.5ml
- ㊬ 2% B₁水溶液2.5ml + 2% アミノ酸溶液 (必須アミノ酸及びグルタミン酸, アスパラギン酸) 2.5ml

上記の溶液を各々 glass-bomb に採り, 100°, 125°, 150°Cで1時間加熱したものを検液とする。

B 実験操作

検液15 μ lにつきII. I. II. I. Bと同様の操作を行

註1 市販の酢は酢酸4~5%を含有しているので, 5%酢酸溶液を酢として用いた。故に5%酢酸溶液を100%酢溶液としている。

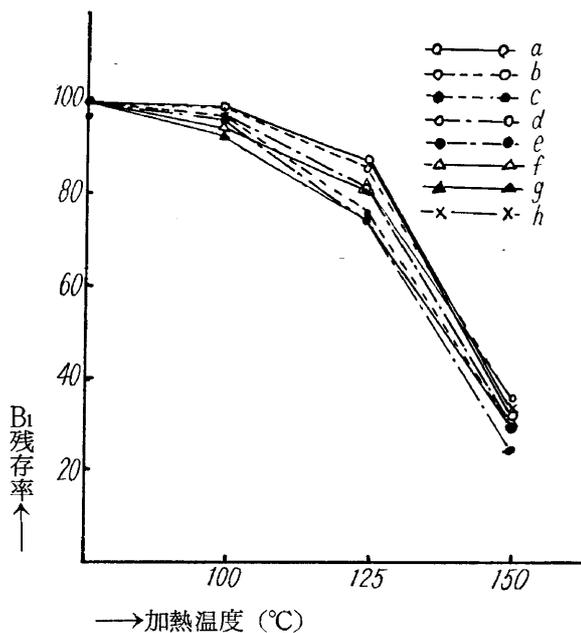
なって得た各々のピークの平均面積を標準面積を100として計算し, B₁の残存率とする。

C 実験結果

第2表, 第2図の結果を得た。

第2表 第2図の結果を得た

検液	加熱温度 (°C)				
	30	100	125	150	
1% B ₁ 水溶液	a	100	100	88	32
1% B ₁ の1% NaCl溶液	b	100	100	85	37
1% B ₁ の5% NaCl溶液	c	100	98	78	30
1% B ₁ の5% 砂糖溶液	d	100	98	81	30
1% B ₁ の10% 砂糖溶液	e	100	97	77	26
1% B ₁ の5% 酢溶液	f	100	95	81	37
1% B ₁ の10% 酢溶液	g	100	92	77	30
1% B ₁ の1% アミノ酸溶液 (10種平均)	h	100	100	88	33



第2図 各調理条件の下でのB₁の残存率

I. II. III. B₁の安定度とpHの関係

I. II. III. I. 時間的变化

Sørensen 及び McLlvaine の緩衝液を用いて pH 2~3, 4~5, 7~8, 9~10, 10~11の1% B₁水溶液を各々つくり, これを glass-bomb に採り封管後, 30°C恒温器中にて0.5, 18, 24, 120時間放置したものについて各々の残存率を調べた。結果は第3表, 第3図に示す如くである。

I. II. III. II. 加熱による変化

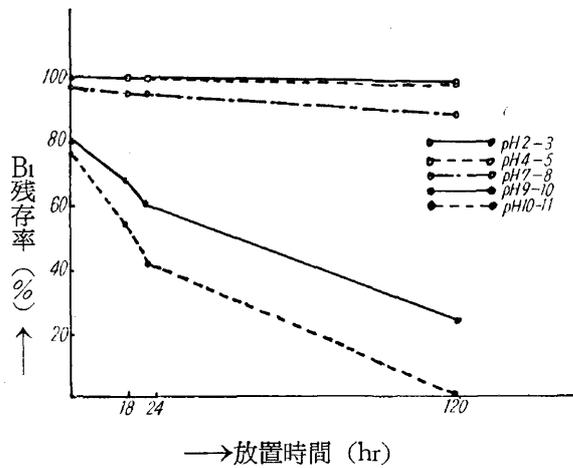
I. II. III. Iと同様の各pHの1% B₁水溶液を glass-bombに採り封管後, 100°, 125°, 150°C, 1時間加熱し

第3表 B₁の安定度とpHの関係 1
(1% B₁溶液30°C)

検液(pH)	時間(hr)			
	0.5	18	24	120
pH 2~3	100	100	100	98
4~5	100	100	100	97
7~8	96	95	95	87
9~10	80	68	61	24
10~11	75	55	42	0

第4表 B₁の安定度とpHの関係 2
(1% B₁溶液1時間加熱)

検液(pH)	加熱温度(°C)			
	30	100	125	150
pH 2~3の溶液	100	100	90	40
4~5	100	95	84	28
7~8	95	70	55	0
9~10	78	8.5	5.0	0
10~11	70	5.1	0	0



第3図 B₁の安定度とpHの関係 I

たものについて各々の残存率を調べた。その結果、第4表、第4図の如くである。

II. B₁の加熱生成成分の究明

Vit. B₁水溶液の paper chromatography 上に現われる spot の形は第5図の如くであり、加熱により図の様に変化して行き、100°, 125°C, 1時間の加熱では1個であった spot が150°C, 1時間加熱する事により、3個の spots に分離するのを認めたので、これらはB₁の加熱分解物であろうと思い、3個の spots の物質を明らかにすることにした。

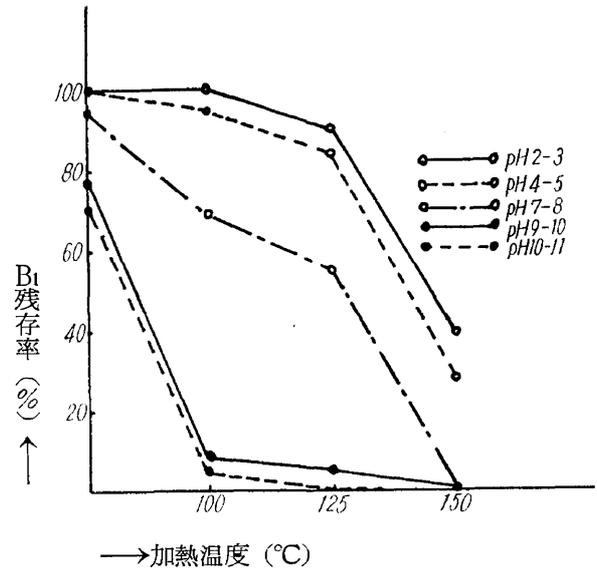
A 試料調製

1% B₁水溶液を150°C, 1時間加熱したものについて、薄層クロマトグラフィーを行い(溶媒は定量に用いたのと同様、シリカゲルG20×20cm, 15cm展開)乾燥後、ローダミンBを噴霧し、これを紫外線下で反応状態(第6図)を明らかにして各々の部分をかき採り、これらを試料とした。

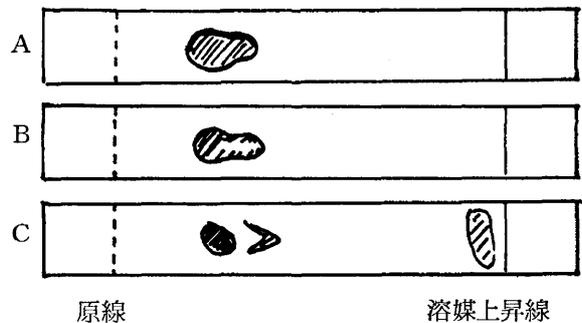
B 実験操作と結果

①の部分について

①の部分をかき取り、水で抽出し、活性炭にてローダミンを除き、濾過後減圧濃縮しこれに picric acid の

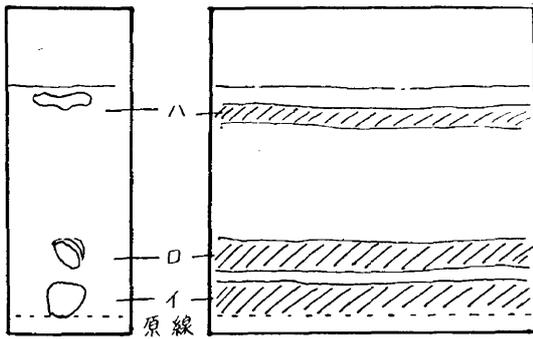


第4図 B₁の安定度とpHの関係 II



A 加熱なし B 1% B₁水溶液を125°C 1時間加熱 C 1% B₁水溶液を150°C 1時間加熱

第5図 B₁の paper chromatogram



溶媒 n-Butanol : Aceticacid : 水 = 4 : 1 : 5 v/v

発色液 ヨード
ビスマスカリ
ウム

発色液 ローダミン B
紫外線下で見える状態

第6図 T.L.C に於けるB₁の発色状態

アルコール飽和溶液を加え picrate をつくり, その m. p. 測定, Rf 値により確認を試みた結果, 次の通りである。

① m. p. 測定

	m. p.
検 体	203°(C)
純のB ₁ picrate	203°
混 融	203°

② Rf 値 (T.L.C.)

	Rf 値
検 体	0.03
純B ₁ の picrate	0.03

以上により①の層は加熱により残存したB₁であると決定した。

②の部分について

①と同様, 水で抽出し picrate を作成し, m. p. 測定, Rf 値, 元素分析, 赤外吸収スペクトルによりB₁の加水分解物であろうと仮定し, 武田製薬よりいただいた pyrimidin の結晶を用いて, この picrate を作成し比較した。(pyrimidin の picrate は未記載)

① m. p. 測定

	m. p.
検 体	193°(C)
純 Pyrimidin の picrate	193°
混 融	193°

② Rf 値

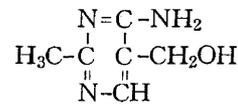
	Rf 値
検 体	0.25
純 Pyrimidin の picrate	0.25

③ 元素分析 (京大薬学部元素分析センター)

	実 験 値	計 算 値
C	38.87(%)	39.02(%)
H	2.95	3.52
N	22.32	22.7

④ 赤外吸収スペクトル (第7図)

以上より②の層は pyrimidin である事を決定した。



③の部分について

③の層を エーテルで抽出し, 脱色後濾過 蒸溜し, picrate を作成。②が pyrimidin に対して③は thiazol であろうと想像し, thiazol の picrate を作成し m. p. 測定, Rf 値, N の含量を比較した。

① m. p. 測定

	m. p.
検 体	159°~160°(C)
純 Thiazol の picrate	159°~160°
混 融	159°~160°

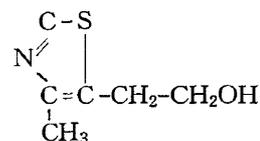
② Rf 値

	Rf 値
検 体	0.82
純 Thiazol の picrate	0.82

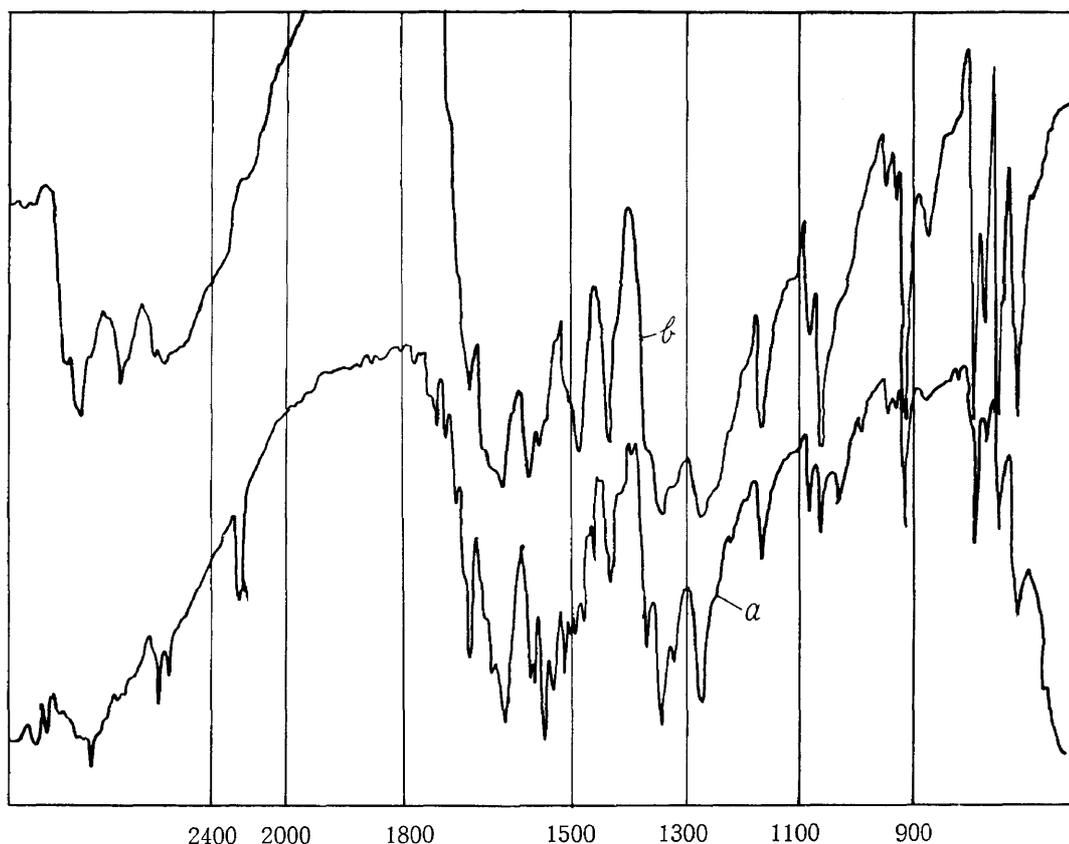
③ N の定量 (京大薬学部元素分析センター)

	実 験 値	計 算 値
N 含有量	15.08(%)	15.1(%)

以上より③の層は Thiazol であると決定。



以上の事より 3 個の spots は加熱により残存したB₁と加水分解物の pyrimidin と thiazol であることを確認した。



第7図 純 Pyrimidin の picrate (a) と 検体のpicrate (b)の赤外線スペクトル

III. 総括と考察

1. 純粋のB₁塩酸塩の1%水溶液 (pH4.6)を加熱した場合、100°C, 1時間ではB₁の破壊は認められないが、125°C, 1時間以上の加熱により破壊が進み、150°C, 1時間で著しく破壊される事を認めた。

2. 日常調理で使用される濃度の調味料を加えて加熱した場合、加えない時とあまり差はなく、またこれらの調味料の濃度による差も認められない点から、調味料はB₁破壊の促進、抑制作用のない事を認めた。

3. B₁は酸性では安定であるが、中性から、アルカリ性に傾くほど不安定となり、酸性 (pH 2~5) に於ては常温にて5日間は安定なる事がわかった。またpH 9~11に於ては、30分後すでに20%以上が破壊され時間の経過とともに著しい破壊がおこり、加熱によっては100°C, 1時間ですでにほとんど破壊されてしまう事を認めた。

4. 1% B₁水溶液を150°C, 1時間加熱する事により加水分解がおこり、pyrimidin と thiazol に分解するという事を T. L. C. を用いて明らかとした。この際の

Pyrimidin の picrate は未記載である。

最後に貴重な試料を分与下さった武田製薬の万木博士に心から感謝致します。

参 考 文 献

- 1) 佐竹一夫：クロマトグラフィー
- 2) 川崎近太郎, 小川俊太郎：ビタミンの化学と定量法
- 3) ビタミンB研究特別委員会：ビタミンB₁
- 4) 佐橋佳一等：ビタミン学 249~371
- 5) Hanes, C. S. & Isherwood, F. A. (1949). *Nature, Lond.*, **164**, 1107.
- 6) Naimans, B (1937) *Science* 85, 290
- 7) *Biocemical Journal* Vol. **56** 379 (1954).
- 8) 石川正幸等：薄層クロマトグラフィー—基礎と応用—
- 9) Blok, Durrum, Zweig : Paper Chromatography Paper Electrophoresis
- 10) 満田久輝：栄養化学要説