た方法である。

文 献

- 1) G. S. Hartley, D. F. Runnicles : *Proc. Roy. Soc.*, **A168**, 424 (1938).
- 2) S. R. Epton : *Nature*, **160**, 795 (1947).
- 3) S. R. Epton : *Trans. Faraday Soc.*, **44**, 226 (1948).
- 4) 五十嵐忠孝, 田村正平 : 日本分析化学会第 24 年会講演要旨集, p. 245 (1975).
- 5) 保田健二, 田口 正, 田村正平, 戸田昭三 : 分化, **26**, 442 (1977).
- 6) 田村正平 : “トレースアナリシス”, 化学増刊 78 号, 藤永太郎, 池田重良編, p. 177 (1978), (化学同人).
- 7) F. F. Cantwell, H. Y. Mohammed : *Anal. Chem.*, **51**, 218 (1979).
- 8) H. Y. Mohammed, F. F. Cantwell : *Anal. Chem.*, **52**, 553 (1980).
- 9) A. S. Weatherburn : *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **28**, 233 (1951).
- 10) 花王石鹼 : 日特願 昭 55-183550 (1980).
- 11) 平沼産業株式会社 : “汎用型自動滴定装置 RAT-11S” 取扱説明書.
- 12) JIS K 3362 “合成洗剤試験方法” (1978).

☆

Automatic photometric titration of surface active agents based on two-phase titration I. Determination of anionic surfactants by direct titration. Akira HASEGAWA*, Makoto YAMANAKA**, Kazuro TSUJI*, and Shohei TAMURA*** (*Tochigi

Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd., 2606, Akabane, Ichikai-machi, Haga-gun, Tochigi; **Tokyo Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd., 2-1-3, Bunka, Sumida-ku, Tokyo; ***Institute for Solid State Physics, The University of Tokyo, 7-22-1, Roppongi, Minato-ku, Tokyo)

A simple and automated photometric titration system based on two-phase titration with a porous PTFE (Teflon) membrane as a separating medium of organic phase has been developed. The titrant, cationic surfactant, was added stepwise to a chloroform-aqueous sample solution mixture, which was continuously agitated vigorously by a stirring bar. The chloroform phase was continuously separated by the membrane and monitored at 610 nm. Methylene blue was used as indicator. The titration curve was obtained by converting a transmittance into an absorbance, and the end point was evaluated by extrapolation of linear portion of the curve before and after the end point. The usual samples were analyzed about within 20 min. Various anionic surfactants were analyzed by the proposed method with the coefficient of variation of about 0.9 %. The results were in good agreement with those of manual two-phase titration method developed by Weatherburn.

(Received Apr. 22, 1982)

Keyword phrases

determination of anionic surfactant; photometric titration; two-phase titration; porous Teflon membrane; methylene blue.

塩 酸 チ ア ミ ン の 簡 易 定 量 法

加藤 幸子, 田辺 良久®*

(1981 年 10 月 22 日受理)

塩酸チアミンの簡易定量法を考案しようと試み, ジアルキルスルフィドなどの定量に用いられている酸性で臭素酸塩-臭化物溶液で滴定する方法について検討した. 塩酸チアミンは酸性で臭素と反応しないが, 10% 水酸化ナトリウム溶液を加え沸騰水浴上で 15 分間加熱後水冷し, 塩酸酸性で臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液で滴定すると常に塩酸チアミン 1 モルに対し臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液の 4.3 当量 (臭素 4 原子に相当する) を消費した. この滴定の際に, 一度液が脱色し, 再び過剰の臭素で黄色になったらヨウ化カリウム溶液とデンプン溶液を加えてチオ硫酸ナトリウム溶液で逆滴定し, 両液の差を滴定量とする. この方法は 2 ml の試料中の塩酸チアミン量 (10~50) mg に対し, 用いる水酸化ナトリウム溶液は (10~20)% 溶液 2 ml, 加熱時間は 15 分がよく, ブドウ糖の影響はほとんどなく, 塩酸チアミンとして約 10 mg の試料では $\pm 0.5\%$ 以内の精度であった.

* 北陸大学薬学部: 石川県金沢市金川町ホ 3

1 緒 言

塩酸チアミンの定量法にはチオクロムとして 368 nm での吸光度測定法¹⁾, チオクロム蛍光法²⁾, ジアゾ法³⁾, ホルマリン法⁴⁾, 及び微生物による定量法⁵⁾ などがある. この中でもチオクロム吸光度測定法は薬局方にも採用され, よく使われている優れた定量法の一つであるがプロモシアンなどの有毒な試薬や塩酸チアミン標準品及び分光光度計が必要である. 特別の機器を用いず, どこでもできる簡易定量法を開発する目的でジアルキルスルフィド, メチオニオンなどの定量に用いられている酸性で臭素酸塩-臭化物溶液による 滴定法⁶⁾ が応用できないか試みたが, そのままでは塩酸チアミンとは反応しなかった. そこで塩酸チアミンを沸騰水浴上水酸化ナトリウム溶液とともに加熱分解後, 酸性にして 臭素酸塩-臭化物規定液で滴定してみたところ, 実験的には常に一定量の臭素の消費を認めた. 塩酸チアミンのアルカリ分解の報告⁷⁾ は多数あるが, その分解は複雑で, この定量法の反応機構は不明であり, 今後の研究に待たねばならない. しかし本法は塩酸チアミン 1 モルに対し臭素約 2 モル (4 原子) を消費する塩酸チアミンの一簡易定量法として使用できると思われるので報告する.

2 装置, 試料及び試薬

2.1 装 置

青筋入り自動ビュレット

2.2 試料及び試薬

塩酸チアミン: 和光純薬, 特級
 定量用塩酸チアミン標準液: 武田薬品
 強力メタボリン注射液: 塩酸チアミンとして 10 mg/ml, 武田薬品
 塩酸チアミン散: 塩酸チアミンとして 1 mg/g
 臭素酸カリウム: 和光純薬, 特級
 臭化カリウム: 和光純薬, 特級
 水酸化ナトリウム: 和光純薬, 特級
 塩酸 (36 %): 和光純薬, 特級
 チオ硫酸ナトリウム: 和光純薬, 特級
 プロモシアン: 和光純薬
 0.02 N 臭素酸カリウム (0.5567 g/l)-臭化カリウム (3 g/l) 溶液
 0.02 N チオ硫酸ナトリウム溶液

3 実験操作

三角フラスコに試料の塩酸チアミン溶液 {(5~50)mg/2 ml} と 10 % 水酸化ナトリウム溶液 2 ml を入れ, ガラス板でふたをして, 沸騰水浴中で一定時間加熱分解する. これを氷水中で約 (1~2) 分間冷却し, 濃塩酸 2

ml を加えて液を酸性にし, 0.02 N 臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液で滴定する. このとき, 液の色は最初は黄~淡褐色をしているが, 臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液を滴下するに従って, しだいに色が淡くなり, 臭素過剰のところで再び黄色味が濃くなる. この黄色が濃くなり始めた点で臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液の滴下をやめ直ちに 1 % ヨウ化カリウム溶液 1 ml と 1 % デンプン溶液 1 ml を加え, 0.02 N チオ硫酸ナトリウム溶液で過剰の臭素を逆滴定し, ヨード-デンプンの色が消えるところを終点とする. 両液の差を臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液の消費量とする.

4 実験結果

4.1 アルカリ分解時間の検討

塩酸チアミン (1.0012 g/100 ml) 水溶液 5 ml (50 mg 含有) を 3 の方法により 10 % 水酸化ナトリウム溶液 2 ml とともに加熱分解するときの加熱時間を 0~120 分と変化させ, 臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液の消費量を検討した. Fig. 1 に示すように始めは加熱時間を増すごとに消費量を増したが, 15 分以上では一定であり, 塩酸チアミン 1 モルに対して約 2 モル (4 原子) の臭素を消費した. ここで塩酸チアミン 1 モルに対して臭素何当量消費するかを示す値を便宜上 $Br_2/V \cdot B_1$ として比較したところ, 加熱時間 15 分以上では常に $Br_2/V \cdot B_1$ 値は約 4.3 であった. 以上の結果より加熱時間を 15 分とした.

Fig. 1 Relationship between consumption of bromine and heating time of thiamine hydrochloride with NaOH on boiling water bath
 $Br_2/V \cdot B_1$: The equivalent of bromine that is spent to one mole thiamine hydrochloride

Table 1 Determination of thiamine hydrochloride and its reproducibility

Taken		Number of measurement	0.02 N-KBrO ₃ -KBr titr. (ml)	Br ₂ /V. B ₁ †	Found†† (mg)	Recovery (%)	C. V. (%)
(ml)	(mg)						
2	10	10	6.38	4.302	10.004	100.04	0.35
1	5	10	3.17	4.277	4.973	99.46	2.15

† The equivalent of bromine that is spent to one mole thiamine hydrochloride; †† Those values were calculated in the following equation $W \text{ (mg)} = \frac{N \cdot V \times 337.27}{4.3}$, N : Normality of KBrO₃-KBr solution, V : Titr. of KBrO₃-KBr solution (ml); Sample: (5~10)mg; Heating time with 10 % NaOH: 15 min

4.2 試料の分解における水酸化ナトリウムの濃度の影響

試料溶液 2 ml (Thiamine HCl 10 mg) に水酸化ナトリウム溶液 2 ml を加えて実験した。水酸化ナトリウムの濃度は実質倍量にうすめられるので最終的には 1/2 の濃度になる。5 %, 10 %, 20 %, 30 % 水酸化ナトリウム溶液を使用したときの結果は Fig. 2 のとおりで 5 % の場合 (実質 2.5 %) は低い値が出るが, (10~20) % ではほぼ完全に分解され, 30 % ではやや高い値が出た。以上のことより試料溶液 2 ml に対して 10 % 水酸化ナトリウム溶液 2 ml を加えることとした。ただし, 試料が強酸性であるときは試料をほぼ中和した後この液量と同量の 10 % 水酸化ナトリウム溶液を加え加熱する。

Fig. 2 Influence of the concentration NaOH (2 ml) for the decomposition of sample (Thiamine HCl, 10 mg/2 ml)

4.3 再現性

3 の実験操作法において 10 % 水酸化ナトリウム溶液との加熱時間を 15 分, 試料として塩酸チアミン溶液 (0.5003 g/100 ml) 2 ml (10 mg) 及び 1 ml (5 mg) について本定量法の再現性を検討した結果を Table 1 に示した。Br₂/V. B₁ の平均値は試料 10 mg の場合は

4.302 (C.V. 0.35), 5 mg のときは 4.277 (C.V. 2.15) で試料 10 mg のほうがややよい精度を与えた。

4.4 試料の採取量と測定値の精度

4.3 で試料 10 mg の場合の誤差は ±0.5 % 以内, 5 mg の場合は約 ±2 % であったが, 採取量を (20~100) mg で行った結果 20 mg から 70 mg までは ±0.5 % 以内の精度を示したが, 100 mg では 2.6 % と誤差が大きくなることから, 試料としては塩酸チアミンの含量 (10~50) mg 程度が最適採取量と考えられる。

4.5 D-グルコースなどの影響

市販ビタミン B₁ 注射液などは D-グルコースを配合したものが多く D-グルコースの存在が測定値に与える影響を調べた。試料として塩酸チアミン 0.5003 g と D-グルコース 2.5 g を蒸留水に溶かし 100 ml にした液 2 ml (塩酸チアミン 10 mg, D-グルコース 50 mg) 及び 1 ml (塩酸チアミン 5 mg, D-グルコース 25 mg) を採り, 10 % 水酸化ナトリウム溶液 2 ml を加え, 水浴上 15 分間加熱, 冷却後滴定した。結果は Table 2 に示したとおり 5 倍量の D-グルコースの存在では塩酸チアミンの測定値に大きな影響を与えなかった。しかし試料採取量は 5 mg より 10 mg の場合のほうがよりよい値を与えた。又, アスコルビン酸の存在は 5 mg 程度までは測定値にほとんど影響を与えないが, それ以上では測定値が大きくなり, しかも値が一定しないので本定量法を用いることができない。

Table 2 Influence of glucose in determination of thiamine hydrochloride

Taken		Number of assay	Found† (mg)	Recovery (%)	C. V. (%)
(ml)	(mg)				
2	10	5	9.928	99.28	0.44
1	5	6	5.020	100.40	1.19

† Reference: Note of Table 1; Thiamine HCl : Glucose = 1 : 5

4・6 市販注射薬中の塩酸チアミンの定量

市販ビタミン B₁ 注射薬 (標示 10 mg/ml) を正確に (1~0.5) ml を採り定量した。結果は Table 3 のとおりでこの場合も試料採取量は 5 mg の場合よりも 10 mg のほうがよい測定精度を与えた。なお、本試料はチオクロム法では 10.12 mg/ml であった。

Table 3 Determination of thiamine hydrochloride in the commercial injection (10.12 mg/ml)

Taken (ml)	Number of assay	Found [†] $\bar{x}$ (mg)	Recovery (%)	C. V. (%)
1	5	10.11	99.96	0.15
0.5	7	5.04	99.70	1.54

[†] Reference: Note of Table 1

4・7 塩酸チアミン散中の塩酸チアミンの定量

日本薬局方塩酸チアミン散 (標示 1 mg/g) の散剤約 5 g を精ひょうして日本薬局方に準じて抽出後本法で定量しても、又同 5 g をメタノールで 30 分以上抽出後本法で定量しても標示量の約 70 % しか測定されなかった。そこで散剤約 5 g を精ひょうし、蒸留水 15 ml に懸濁し 10 % 水酸化ナトリウム溶液 15 ml を加えて沸騰水浴上で 15 分間加熱して黄色のり状にし、氷冷後濃塩酸約 5 ml を加えて黄色が消えのり状から半液状になったとき、これを 0.02 N 臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液で少し黄色になるまで滴定し、直ちに 1 % ヨウ化カリウム溶液 1 ml を加えると青紫色になる。ここで水約 20 ml を加えてできるだけ液の粘りを少なくし、0.02 N チオ硫酸ナトリウム溶液で逆滴定する。結果は平均して 1.02 mg/g, C. V. 0.55 % で複雑な薬局方の測定に比べて簡単に短時間で好結果を与えた。使用した散剤はデンプンを賦形剤としたものであったが、デンプンの本法に対する妨害はなかった。又 D-グルコース、ラクトースは 100 mg 程度は影響はないが、それ以上では水酸化ナトリウム溶液と加熱する際の着色が濃くて終点が見にくくなる。

4・8 チオクロム吸光光度法と本法との比較

第 10 改正日本薬局方のチオクロム吸光光度法と本法とを塩酸チアミン標品の 0.001 N 塩酸希釈液について比較したところ Table 4 のとおり、ほとんど同様の結果を与えた。本法はチオクロム吸光光度法に比べて試料量は多く必要だが、チオクロム吸光光度法も希釈を繰り返して試料とするため元の量は同程度必要で、しかも有毒なプロモシアンを用い、分光光度計及び塩酸チアミン標準品を必要とし、操作がやや煩雑である。本法はその

Table 4 Comparison of the values obtained by spectrophotometric method and present method

Method	Taken (mg/5 ml)	Number of assay	Found $\bar{x}$ (mg)	Recovery (%)	C. V. (%)
Spectrophotometric method	0.09672	4	0.09648	99.75	1.56
Present method	4.836	3	4.851	100.31	0.31

点、数 mg の試料があれば特別な試薬、器具も使わずに比較的短時間で簡単に測定ができる。

5 考察及び結言

以上の結果より塩酸チアミンはそのままでは酸性で臭素を消費しないが、沸騰水浴上 (10~20) % 水酸化ナトリウム溶液と 15 分間加熱後塩酸性で臭素酸カリウム-臭化カリウム溶液で滴定すると、臭素として約 2 モル (4 原子) に近い 4.3 当量に匹敵する臭素酸カリウム規定液を消費することを認めた。その反応機構については今のところ明らかではないが、常に 4.3 当量の臭素を消費することから塩酸チアミンの定量に用いることが分かった。実験結果に示したように、試料としての塩酸チアミンの採取量は約 (5~50) mg, 加熱分解に用いる水酸化ナトリウムは (10~20) % の溶液を 2 ml, 加熱時間は 15 分を最適とする。又 D-グルコースの存在は約 5 倍量でもほとんど影響を認めず、D-グルコースを含む市販塩酸チアミンの定量に便利と思われる。しかし、アスコルビン酸などの還元性物質が存在する場合は本法は使用できない。試料採取量 10 mg では実験誤差は約 0.5 % 以内で、特別の試薬、器具も不要で操作も比較的簡単に短時間で測定可能であり、塩酸チアミンの簡易定量法の一つとして十分利用できると思われる。

文 献

- 1) “第 9 改正日本薬局方解説書”, P. C-406 (1976), (広川書店). “第 10 改正日本薬局方”, p. 191 (1981), (広川書店).
- 2) B. C. P. Jansen : *Rec. Trav. Chim.*, **55**, 1046 (1936). D. J. Hennesy : *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 179 (1939). 日本薬学会編: “衛生試験法注解”, p. 137 (1965), (金原出版).
- 3) K. J. Hayden : *Analyst* (London), **82**, 61 (1957). M. Hochberg, D. Melnick, B. L. Oser : *Cereal Chem.*, **22**, 83 (1945).
- 4) H. W. Kinnersly, R. A. Peters : *Biochem. J.*, **28**, 667 (1934).
- 5) F. M. Macias R. : *Appl. Microbiol.*, **5**, 249 (1957). R. H. Deibel, J. B. Evans, C. F. Niven, Jr. : *J. Bacteriol.*, **74**, 818 (1957).
- 6) F. Jancik, F. Buben, F. Korbl : *Ceskoslov. Farm.*, **5**, 515 (1956). S. Siggia, R. L. Edsberg : *Anal. Chem.*, **20**, 938 (1948).

- 7) H. T. Clarke, S. Gurin : *J. Am. Chem. Soc.*, **57**, 1876 (1935). 松川泰三, 岩津岳夫: 薬誌, **69**, 500 (1949), **70**, 52 (1950), **71**, 369 (1951). 平野 弘: 薬誌, **77**, 1004, 1007 (1957).

☆

Simplified determination of thiamine hydrochloride. Sachiko KATO and Yoshihisa TANABE (School of Pharmacy, Hokuriku University, Ho-3, Kanakawa-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa)

Measurement of sulfur was attempted to simplify the determination of thiamine hydrochloride. Thiamine hydrochloride did not react with bromine in an acidic solution, but after heating with a 10 % NaOH solution on boiling water bath followed by cooling in ice water, it could be titrated with a 0.02 N KBrO_3 -KBr solution in an HCl-acidic solution. The yellowish thiamine hydrochloride solution colored by heating with NaOH was decolorized by this titration and then the decolorized solution returned yellow again with surplus bromine. At the time, a potassium iodide solution and starch were added to the recolored solution, which was back titrated with a sodium thiosulfate solution. The difference of both titres corresponds to the content of

thiamine hydrochloride in the original solution. One mole of thiamine hydrochloride was reacted with 4.3 equivalents of KBrO_3 -KBr that correspond to 4.3 equivalents of bromine atom. This reaction mechanism can not be elucidated, however, as 4.3 equivalents of bromine are quantitatively reacted with one mole of thiamine hydrochloride, this method may be used for determining thiamine hydrochloride. The most suitable recipe is that (10~50) mg of sample (thiamine HCl) are taken and the solution is heated with (10~20) % NaOH for 15 min. As this method is not influenced by D-glucose, thiamine hydrochloride in the commercial injections that usually contain large amounts of glucose may be determined with ease by this method. Precision of this method was within ± 0.5 %.

(Received Oct. 22, 1981)

Keyword phrases

simplified determination of thiamine hydrochloride in injection and powder; decomposition by heating with sodium hydroxide; titration with potassium bromate-potassium bromide.

パーソナルコンピューターを用いるフローインジェクション 分析システム

——河川水の溶存状化学的酸素要求量測定への応用——

伊永 隆史[®], 井勝 久喜^{*}

(1982 年 1 月 29 日受理)

パーソナルコンピューターを用いて全自動分析の可能な高感度フローインジェクション分析システムを試作した。河川水の溶存状化学的酸素要求量 (COD) 測定へ応用したところ, 簡単, 迅速に自動連続分析を実施できることが分かった。二クロム酸カリウムの硫酸溶液と蒸留水とを別々に送液し, 水流路中に自動試料注入装置を用いて試料を注入し, 両液を混合後加熱により酸化反応を促進する。COD 濃度に基づく二クロム酸カリウムの吸光度変化をパーソナルコンピューターにより波形処理して測定を行う。D-グルコースを標準物質として用いた場合, ピーク高さとピーク面積のいずれについても良好な検量線が得られた。本法の検出限界濃度は COD として 0.5 mg l^{-1} で, 精度は変動係数で約 2 % であった。分析速度は 1 時間に 10 検体である。39 検体の河川水試料を本システムで自動分析し, ピーク高さからコンピューターと手計算によりそれぞれの COD 値を求め, 公定分析法による COD_{Mn} 値と比較した。

* 岡山大学工学部: 岡山県岡山市津島中 3-1-1