

新規チアミン・ナトリウム沈殿物の形成について

根 来 宗 孝¹⁾, 澤 村 弘 美^{2,4)}, 榎 原 周 平¹⁾, 渡 邊 敏 明^{1,2,3)}, 前 川 隆 嗣³⁾¹⁾大阪青山大学健康科学部健康栄養学科*, ²⁾兵庫県立大学環境人間学部***,³⁾前川 TSH 研究所, マエカワテイスト(株)***, ⁴⁾中国学園大学現代生活学部人間栄養学科****)

(受付 2021 年 8 月 31 日, 受理 2021 年 10 月 12 日)

The development of the method of synthesizing the complex of thiamine-sodium precipitate

Munetaka NEGORO¹⁾, Hiromi SAWAMURA^{2,4)}, Shuhei EBARA¹⁾, Toshiaki WATANABE^{1,2,3)}, Takatsugu MAEKAWA³⁾¹⁾Department of Health and Nutrition, Faculty of Health Science, Osaka Aoyama University²⁾School of Human Science and Environment, University of Hyogo³⁾Maekawa TSH Laboratory, Maekawa Taste Co., Ltd.⁴⁾Department of Human Nutrition, Faculty of Contemporary Life Science, Chugoku Gakuen University

Summary

Although several complexes of thiamine and inorganic compounds had been reported in several literatures, the thiamine-sodium compounds have not been identified as yet. While conducting studies for the purpose of synthesizing thiamine-calcium-phosphorus compounds, we found a method for synthesizing thiamine-sodium precipitate in the trial processes. Based on the findings of elemental analysis, FT-IR analysis, and HPLC and TLC analysis, the formation of the thiamine-sodium complex was firmly confirmed.

Key words: thiamine, sodium, thiamine-sodium precipitate.

これまでに複数のチアミン・無機化合物の存在が知られている^{1,7)}。その具体例として、チアミンおよびその誘導体(オキシチアミン oxythiamine, TMP, TDP など)と多数の金属元素(Hg, Cd, Zn, Pt, Cu, Co, Mn, Rh など)との化合物が報告されている。しかしナトリウムのチアミン化合物について、これまでのところ未確認であった。著者らはチアミン・カルシウム・リン化合物の形成を検討する過程において、チアミン・ナトリウム沈殿物を見出した。

本研究のように、複数の無機イオンが存在する溶液中にチアミンを添加することで得られる沈殿物の形成について議論を行うことは、栄養成分強化を目的とする食品や飲料の添加物の種類やその調整方法に一石を投じる可能性がある。またチアミン・無機物の沈殿形成に関する知識の集積は、製造過程における食の安全性を担保し、添加物の溶解性を保ちつつその安定性を維持し、異物混入などの可能性を否定するためには不可欠である。

そこで、本研究では新規チアミン・ナトリウム沈殿物の形成および析出方法を見出したので報告する。

実験方法

チアミン・ナトリウム沈殿物の形成

カルシウム・リン化合物を用いた塩酸・水酸化ナトリウム処理によるチアミン・ナトリウム沈殿物の形成を試みた。沈殿物の調製方法は以下のように行った。

- ① まずピロリン酸カルシウム: 0.15 g, チアミン塩酸塩: 0.075 g に精製水 600 μ L, 塩酸 1,000 μ L を加えてピロリン酸カルシウムを完全に溶解した。
- ② 次に飽和した水酸化ナトリウム溶液を 1,000 μ L 加えると沈殿が生じる。
- ③ 再び塩酸 750 μ L で沈殿を溶解した。
- ④ その後、再び、水酸化ナトリウム溶液を 150 μ L 添加すると沈殿とともに上清が得られ、15,000 rpm \times 10

*所在地: 大阪府箕面市新稲2-11-1 (〒562-8580)

**所在地: 兵庫県姫路市新在家本町1-1-12 (〒670-0092)

***所在地: 兵庫県姫路市土山6-4-1 (〒670-0996)

****所在地: 岡山県岡山市北区庭瀬83 (〒701-0197)

連絡先: E-mail: m-negoro@osaka-aoyama.ac.jp

min 遠心分離した。

- ⑤ この上清を等量のブタノールで抽出し、真空乾燥機で濃縮・乾燥し、チアミン・ナトリウム沈殿物として解析に供した。

チアミン・ナトリウム沈殿物の解析

析出した沈殿物について、

① 走査電子顕微鏡 [日本電子株式会社 (東京) : 電界放出形分析走査電子顕微鏡 /JSM-7001 F] による元素分析 (EDS 法),

② フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) [サーモフィッシャーサイエンティフィック (株) (東京) Nicolet iS50 + iN10],

③ ポストカラム誘導体化法による高速液体クロマトグラフィー (HPLC) [(株)島津製作所 (京都) LC-20AT, 前処理カラム 株式会社大阪ソーダ (大阪) CAPCELL MF SCX S 5: Φ 4.6 mm \times 10 mm, 分析カラム (一財) 化学物質評価研究機構 (大阪) L-column ODSCX S Φ 4.6 mm \times 250 mm, カラム温度: 40 $^{\circ}$ C, 移動相: 0.01 mol/L リン酸二水素ナトリウム溶液—0.15 mol/L 過塩素酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.2) 及びメタノールの混液 (95:5), 流量: 1.0 mL/min, 蛍光励起波長: 375 nm, 蛍光測定波長: 440 nm, ポストカラム: 反応試液: 0.03% フェリシアン化カリウム含有 15% 水酸化ナトリウム溶液, 反応液流量: 0.5 mL/min, 反応温度: 40 $^{\circ}$ C] によって解析した⁸⁾。

④ さらに薄層クロマトグラフィー (TLC) (メルク株式会社, (ドイツ) TLC Silica gel 60, 展開溶媒 9mM 酢酸アンモニウム, 70% メタノール) により沈殿物を解析した。

なお、本研究では試薬は和光純薬工業株式会社 (大阪) 製特級品を使用した。

結果と考察

チアミン・ナトリウム沈殿物の電子顕微鏡による元素分析の結果、元素の構成比 (Wt%) は C: 35.71, N: 7.10, O: 11.79, Na: 18.49, S 1.4, Cl: 25.77 であった。このことから、炭素、窒素、酸素、ナトリウム、硫黄および塩素の存在を確認した。これらは、チアミン (ビタミン B₁) (C₁₂H₁₇N₄OS⁺) を構成する元素並びに、塩酸 (HCl), 水酸化ナトリウム (NaOH) 由来の Na および Cl であると想定された。しかし、ピロリン酸カルシウム (Ca₃(PO₄)₂) 由来の Ca, P は認められなかった。この原因としては Ca のイオン化傾向がナトリウムに比べて大きいことも影響したと考えられる。これまではチアミンと重金属の化合物の合成や生物学的利用を中心とした議論がなされてきたが、今後チアミン添加による溶液中の軽金属を含めた無機イオンとの沈殿物の形成についても検討する必要がある。

次に FT-IR による解析を行い、ライブラリーと照合した結果、Georgia State Crime Lab Sample Library からヒット率 36.81% でチアミン赤外吸光パターンを見出した (Fig. 1)。また HPLC によるチアミン検出方法 (日本食品分析方法) により、沈殿物中にチアミンの存在を確認した (Fig. 2)。その沈殿物中に含まれるチアミンの含有量は 900 mg/100 g であった。

今回見出したチアミン・ナトリウム沈殿物は、薄層クロマトグラムにより単一成分として分離可能 (R_f = 0.146) であった (Fig. 3)。

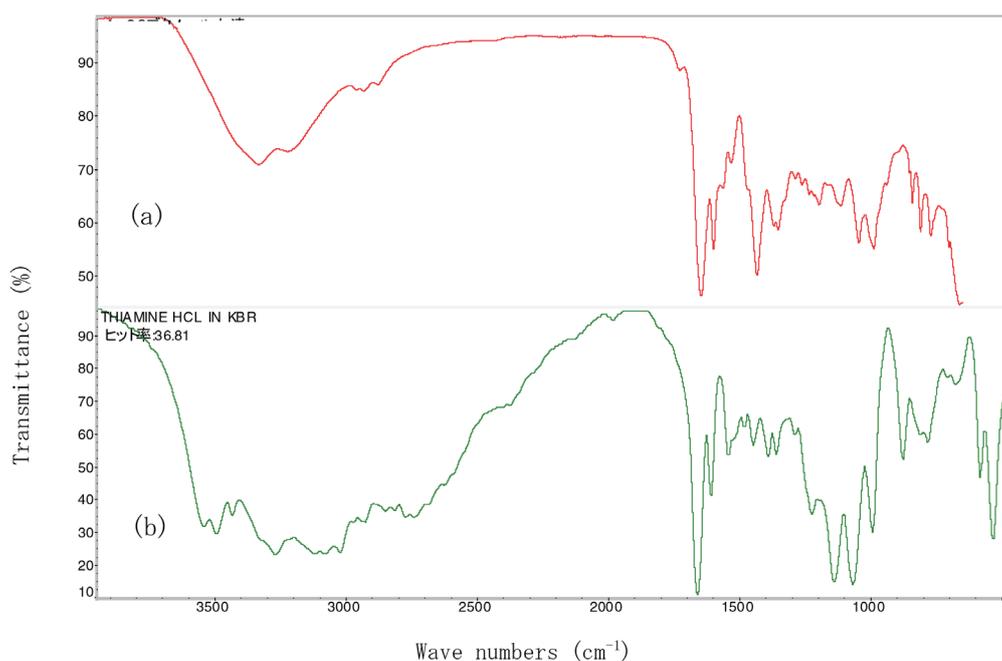


Fig. 1 Comparison of the two sequential fourier transform infrared spectroscopy spectrum.

(a): The spectrum of thiamine-sodium precipitate.

(b): The spectrum of thiamine-HCl from the library.

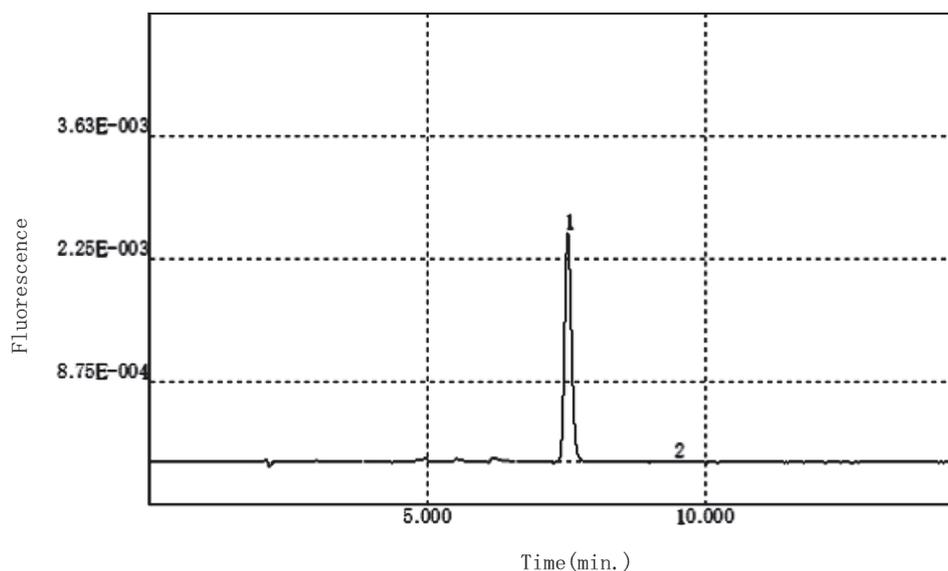


Fig. 2 The separation profile of thiamine-sodium precipitate from the high-pressure liquid chromatography.

Peak 1 : VBI (thiamine)

Peak 2 : HET (hydroxyethyl thiamine)

このように塩酸および水酸化ナトリウムでチアミン・ピロリン酸カルシウム液による処理を2回繰り返すことによりチアミン・ナトリウム沈殿物は比較的単純に形成することが明らかとなった。

結 論

本研究により見出した新規のチアミン・ナトリウム沈殿物は酸・塩基処理により条件を整えばチアミン・ナトリウム沈殿物は容易に液体中に析出することが判明した。

利益相反

本論文の発表に関して、共著者全員に申告すべきCOI状態はない。

参考文献

- 1) Casas JS, Castiñeiras A, Couce MD, Martinez G, Varela J (1996) The crystal structure of the salts [Hthiamine][SnMe₂(H₂O)Cl₃]Cl and [Hthiamine][SnPh₂Cl₄]H₂O: competition between water and chloride for coordination to diorganotin dihalides. *J Organomet Chem* 517: 165-172.
- 2) Hu N-H, Liu W, Aoki K (2000) Thiamine as a cationic host in anion coordination chemistry. Crystal structures of five anion salts of thiamine monophosphate. *Bull Chem Soc* 73: 1043-1052.

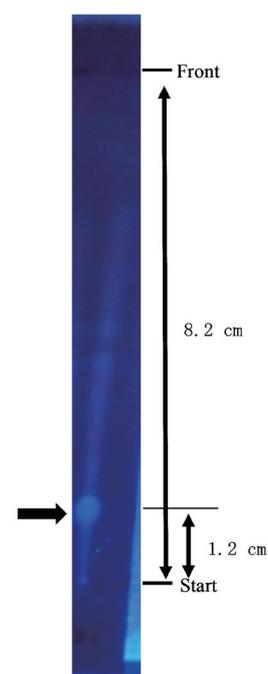


Fig. 3 UV radiation chromatogram of the thiamine-sodium precipitate (TLC plate Si 60, 9 mM ammonium acetate in 70 % Methanol).

- 3) Hu N-H, Aoki K, Adeyemo AO, Williams GN (2001) Metal ion and anion coordination in the thiamine-[Pt^{II}(NO₂)₄]²⁻ system. Structures of a metal complex, Pt(thiamine)(NO₂)₃, and two salts, (H-thiamine)[Pt(NO₂)₄]·2H₂O and (thiamine monophosphate)₂[Pt(NO₂)₄]·2H₂O. *Inorg Chim Acta* 325: 9-19.
- 4) Das B, Baruah JB (2011) Dipicolinato complexes of cobalt (II), copper (II) and zinc (II) with thiamine dications. *Inorg Chim Acta* 372: 389-393.
- 5) Dodi K, Louludi M, Malandrinos G, Hadjiliadis N (1999) Metal complexes with 2-(α -hydroxy-benzyl)thiamin pyrophosphate (HBTPP). Models for metal binding of thiamin enzymes. *J Inorg Biochim* 73: 41-47.
- 6) Brandão P, Correia-Branco A, Silva C, Martel F (2019) Development of novel Cu(I) compounds with vitamin B1 derivative and their potential application as anticancer drugs. *Inorg Chim Acta* 487: 287-294.
- 7) Tabrizi L, Abyar F (2020) Conjugation of a gold (III) complex with vitamin B1 and chlorambucil derivatives: anticancer evaluation and mechanistic insights. *Metallomics* 12: 721-731.
- 8) 食品衛生検査指針 理化学編 (日本食品衛生協会 2005年)