

サッカリンの熱分解および分解生成物に関する研究

(第 1 報)

pHの影響について

高村一知, 阿左美章治, 崎原幸子

Studies on the Thermal Decomposition of Saccharin Sodium and It's Products

Part I. Effect of pH of test solution

KAZUNORI TAKAMURA, SHOJI AZAMI and YUKIKO SAKIHARA

緒 言

食糧資源を有効に利用する目的で、食品の嗜好性、栄養価値、貯蔵性、流通性などを増すために、食品加工が行なわれ、その方法の中に食品添加物の使用がある。

食品添加物は、一般に使用量が少なく、また比較的安価、使用法が簡便で、しかも使用効果の顕著なものが多い。しかし、その種類が多く濫用の実状より、我国でも昭和30年頃から、その安全性が学問的に疑問視され安全性確認のため研究が開始されている。

合成甘味料も当然そのなかで安全性という面から再検討されている。

サッカリンナトリウム(以後、SASと略す)は、発見の歴史も古く、食品添加物として、使用年月も長いところから、学問的というよりむしろ経験的に安全という考え方でとりあげられてはいないか、現在一般飲食物に添加できる合成甘味料はこれだけとなっている。

著者らは、食品中および食品加工過程における様々な条件を考慮し、SASの安全性に関する研究の一環として、本報では、各種pH状態に対するSASの安定性について基礎的な検討として分解率および分解生成物質の同定、定量を行なったので報告する。

実 験 方 法

1. 試薬および装置

(1) 試 薬

CLARK-LUBS 緩衝液 (pH 3.0, 4.0 および 6.0), SÖRENSEN 緩衝液 (pH 7.0), KBr (メルク社製), サッカリンナトリウム (東京化成製品をエタノールで再結晶したものを、薄層クロマトグラフィーにて不純物の存在しないことを確認して用いた。融点 229°); シリカゲル HF 254 (メルク社製)

(2) 装 置

ポーラログラフ (柳本製 PA-101 型および付属高感度装置 PM-100 型), 自記分光光度計 (島津ダブルビーム UV-200 型), 赤外線分光光度計 (日本分光 DS-403G 型) 微量毛細管 (Drummond Scientific 社製, 10 μ l 容量)

2. 試験溶液の調製

CLARK-LUBS 緩衝液, 各 pH 3.0, 4.0, 6.0 および SÖRENSEN 緩衝液 pH 7.0 を 200ml ナス型フラスコに入れ、還流冷却器をつけて 50°C および 100°C の水浴中で 15 分間予温をした後、再結晶した SAS 500mg を手速く加えて、各々加温時間は 5, 15, 30 および 60 分間とし、反応終了後ただちに冷却し、各緩衝

液を加えて全量を50 ml にメスアップし試験溶液とした。

3. ポーラログラフによるSASの定量⁽⁶⁾

上記溶液1 ml を10 ml メスフラスコにとり水を加えて10 ml に希釈する。その溶液1 ml を電解セルに入れ、電解液(0.1N KCl:0.1N HCl, 1:1) 9 ml を加えて全量10 ml とし、常法に準じてポーラログラフを行った。

SAS標準溶液、50, 100, 150 および 200 ppm 濃度で、上記と同様の操作を行って検量線を作成した。(Fig.1), (Fig.2)

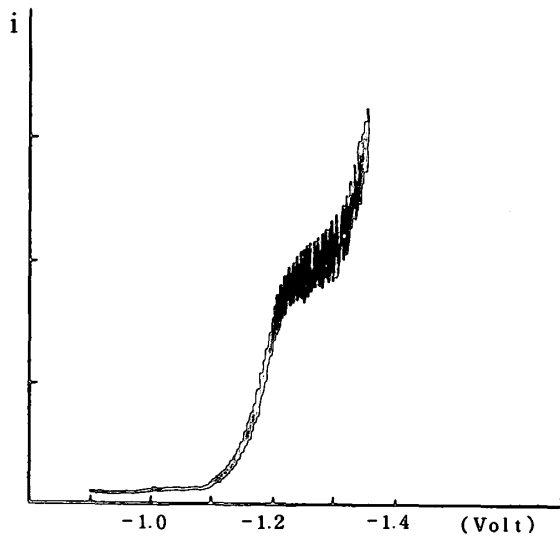


Fig.1. DC-polarogram of SAS
Rate of flow of mercury m: 6.3mg/sec Temperature: at 25°C Buffer: 0.1N-HCl: 0.1N-KCl (1:1)

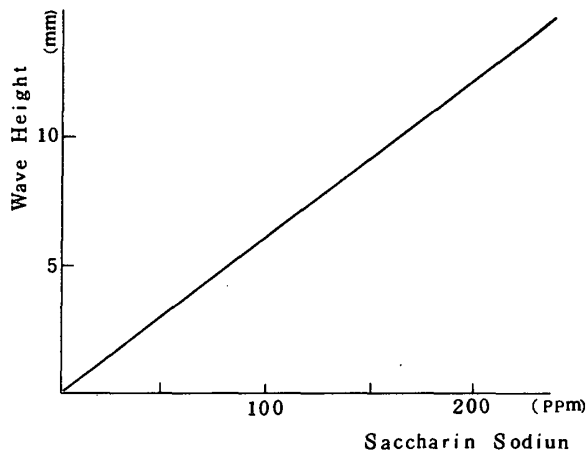


Fig.2. Working curve of SAS

実験結果および考察

1. 名種pH緩衝液中のSASの分解率について

上記ポーラログラフ分析操作にしたがって四段階のpH状態および50°C, 100°Cの温度条件におけるSASの分解率を測定しTable 1. に示した。

Table 1. Effect of pH and temperature on the decomposition ratio of SAS (%)

Temp.	50°C				100°C			
	Time (min)	5	15	30	60	5	15	30
3.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.6	1.0
4.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1	0.2	0.9
5.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0	0.3	0.6
6.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.5	1.2

この結果からSASは50°C加熱で5, 15, 30分間においては0~0.1%と微量の分解しか見出されなかった。しかし、60°C, 60分間では0.1%といずれの場合もpHの影響と関係なく分解率を示した。

100°C加熱では、15分および30分間での加熱時間においてはpH3.0, 4.0と酸性が高くなるにしたがいpHの分解率に対する影響も増加する傾向がみられる。PRATT⁽⁵⁾, GARMO,⁽¹⁾ 館らのSAS熱分解における研究結果でも、酸性が高くなるにしたがい分解率が増加することを確認している。

Table 1. に示すように、温度の上昇による影響は50°Cより100°CがSASの分解率が概して高く、また、pHは低くなるほどSAS分解率が高くなることがわかった。しかし、100°C, 60分, pH7.0の場合は、若干異なった結果を示した。

2. 分解生成物質の同定

Table 1. の試験溶液をシリカゲル HF₂₅₄ にて薄層クロマトグラフィー (CHCl₃:MeOH:NH₄OH=10:5:1.2) を行なった結果50°C,

100°C および各種pH 条件下における分解生成物質のRf 値はS A S Rf 0.56, Rf 0.35 (以後, A 物質と略す) およびRf 0.18 (以後, B 物質と略す) ^{(3), (4)}であった。Rf 0.56は200 ppm S A S 標準溶液と同じRf 値を示した。Fig. 3.

100°C, 60分, pH3.0~7.0の試験溶液0.5mlを薄層プレート20×20cm, 200枚もちいて, その下端から3.0cm のところを原線として帯状に塗布し, 10cmまで展開してRf 0.35, およびRf 0.18の部分をかきとって1ℓ分液ロートにてエタノール300ml×3回抽出し, 冷却遠

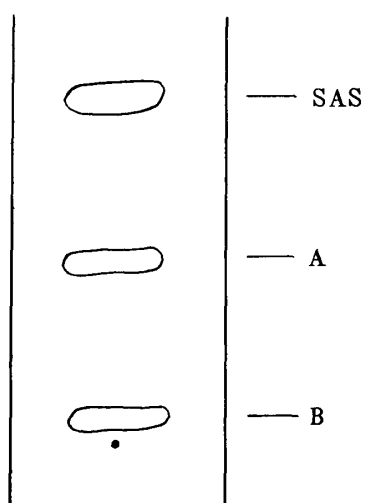


Fig. 3. Thin-Layer chromatogram of heating decomposition products of SAS

Plate	Solvent System
Silica gel HF ₂₅₄	CHCl ₃ : MeOH :
	NH ₄ OH (10 : 5 : 1.2)

心分離 (8,000 r.p.m)する。上澄液を減圧濃縮しエタノール中より再結晶をくりかえし, 各々約6mgのA物質針状, B物質板状結晶を得た。

A物質およびB物質の融点を測定した結果は, 156.5°と140°であった。また紫外線吸収スペクトルは, Fig. 4.に示すごとくA物質は272 nm B物質は267 nmの結果を得た。

赤外線分光光度計にてAおよびBの各々再結晶物質をKBr錠剤法にて測定した。Fig. 6, Fig. 7.

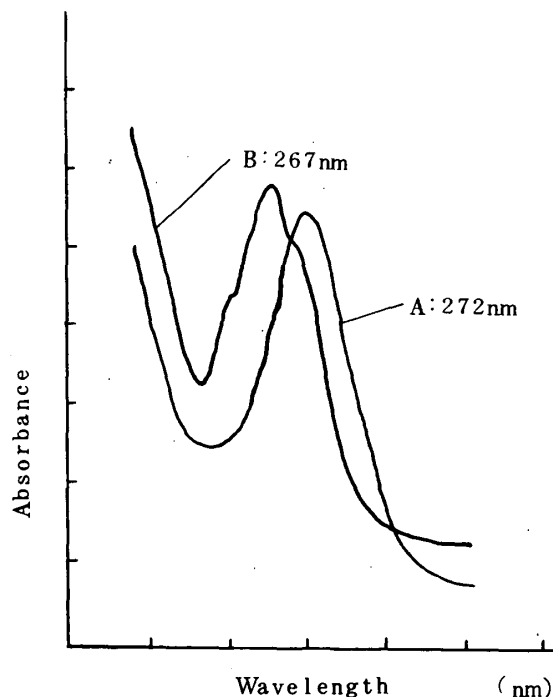


Fig. 4. UV Spectra of A^{*} and B^{*}
*see Fig. 3.

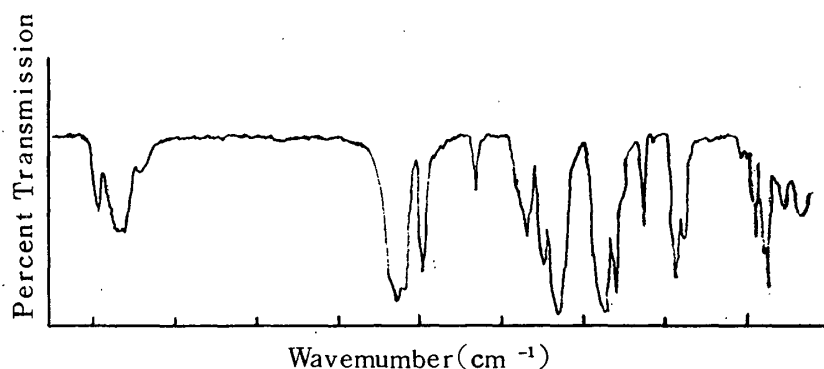


Fig. 5. IR Spectrum of SAS

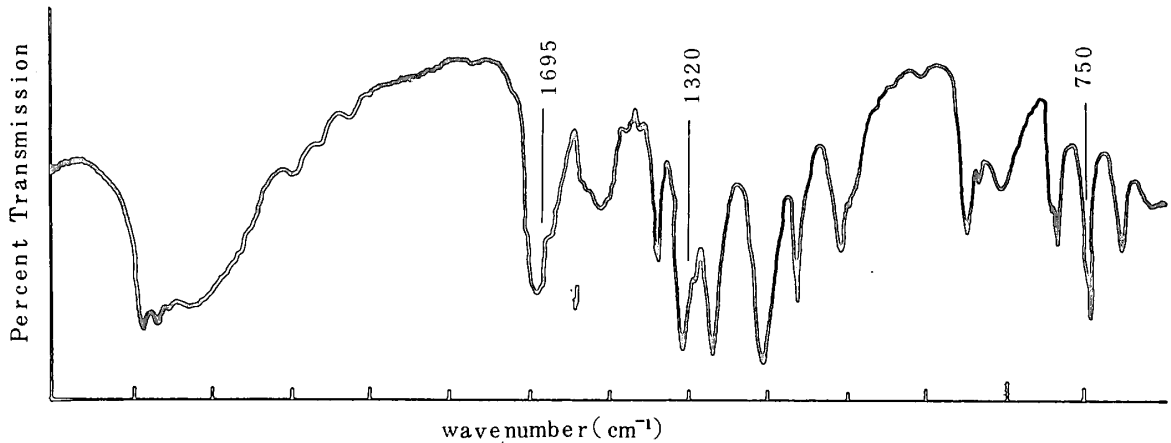


Fig.6. IR Spectrum of the Product A^{*}
(KBr-Tablet)

*see Fig.3.

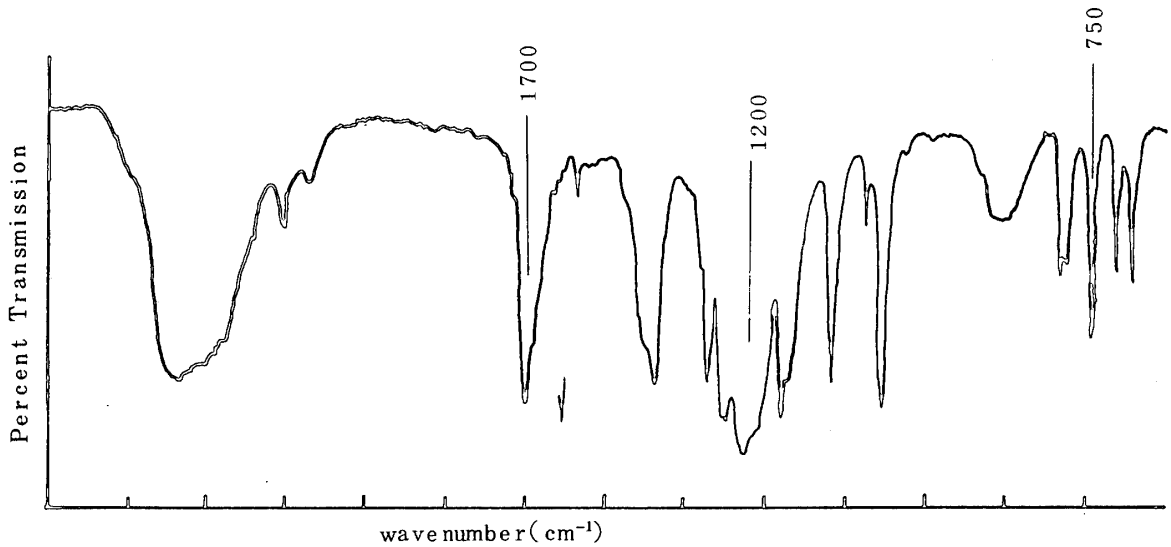


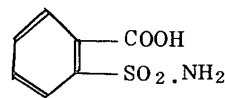
Fig.7. IR Spectrum of the Product B^{*}
(KBr-Tablet)

*see Fig.3.

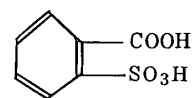
A物質はFig.6. に示したように、側鎖のカルボン酸-COOHに基づく吸収が 1695cm^{-1} に、 1320cm^{-1} にスルホンアミド-SO₂NH₂に基づく吸収、オルト置換基 [c1ccccc1] に基づく 750cm^{-1} の吸収が得られた。以上の紫外線吸収スペクトル 272nm および融点 156.5° よりGARMO⁽²⁾の値より、オルトスルファモイル安息香酸(以後o-SABAと略す)と確認した。

B物質はFig.7. に示すように、側鎖のカル

ボン酸 1700cm^{-1} に基づく吸収、 1200cm^{-1} に強くスルホン酸の吸収とオルト置換基に基づく 750cm^{-1} の吸収より、融点 140° 、紫外線吸収スペクトル 267nm より、オルトスルホ安息香酸(以後、o-SBA)略す)を確認した。⁽²⁾



A: o-Sulfamoyl benzoic acid



B: o-Sulfobenzoic acid

3. 分解生成物質の定量

薄層用ガラス板20×20cmを用い、シリカゲルHF254を常法により250μの厚さに塗布して110℃, 1時間活性化した。

SAS標準溶液(200ppm)を右端2cmのところスポットし、さらに試験溶液10μlを微量毛細管にて点状に塗布し、CHCl₃:MeOH(10:5:1.2)を展開溶媒として10cm展開を行った。

展開終了後、紫外線照射灯(2536Å)にてSASと別のRf値の部分をかきとって共栓遠心管に移してメタノール10mlを加え、密栓してよく振り混ぜたのち遠心分離する。上澄液を25ml共栓試験管にとりエバポレートし、水5mlを加えて紫外線吸収測定用の溶液とした。

上記操作による薄層クロマトからの、o-SABAおよびo-SBAの回収率はほぼ87%であった。また、紫外線吸収法による検量線はFig.8.に示す。

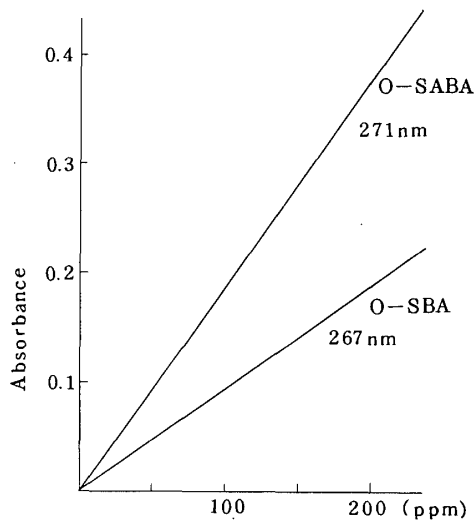


Fig.8. Working curves of o-SABA and o-SBA

4. 各種pHにおけるSAS分解生成物質o-SABAの定量

上記操作にしたがって分解生成物質o-SABAの分解生成量を測定した。Table 2.

Table 2. Effect of pH and temperature on the formation ratio of o-SABA (%)

Temp. pH	50℃				100℃			
	5	15	30	60	5	15	30	60
3.0	0.0	0.0	0.0	0.12	0.0	0.03	0.08	0.30
4.0	0.0	0.0	0.0	0.02	0.0	0.05	0.06	0.10
6.0	0.0	0.0	0.0	0.08	0.02	0.06	0.48	0.74
7.0	0.0	0.0	0.0	0.14	0.05	0.06	0.51	1.24

以上の結果より50℃, pH3.0~7.0, 30分間までは、ほぼ検出されなかった。また、薄層プレート、紫外線照射灯でRf 0.35付近に肉眼的にも確認できなかった。

50℃加温で60分間をみるとpH3, における生成率0.12% およびpH7.0, 0.14%とは他のpH領域より高い生成率を示した。しかし、50℃ではいずれの場合でも生成率は概して低い値を示している。

100℃加熱では、5~15分間の短い時間に各pH領域で分解がはじまり、30~60分間では0.10~1.24%とpH3.0よりpH7.0になるほど若干ではあるが高い分解物生成量を認めた。KING⁽³⁾, 食添三によるとSASの分解はo-SABAに分解しo-SBAを経て、最後はサルル酸塩になる。また、GARMO⁽¹⁾でo-SABAの合成はSASを20%NaOH溶液中で4時間直火にて加熱するとo-SABAが合成できる報告がある。したがってSASは加熱および強酸性、強アルカリ性で分解されることが確認された。

5. SASの各種pH状態における分解生成物質o-SBAの定量

上記操作にしたがって分解生成物質o-SBAの分解生成量を定量した結果をTable 3.に示した。

Table 3. Effect of pH and temperature on the formation ratio of *o*-SBA (%)

Temp. pH	50°C				100°C			
	5	15	30	60	5	15	30	60
3.0	0.0	0.0	0.03	0.01	0.04	0.06	0.05	0.03
4.0	0.0	0.0	0.01	0.01	0.0	0.02	0.04	0.04
6.0	0.0	0.0	0.0	0.01	0.0	0.02	0.05	0.03
7.0	0.0	0.0	0.02	0.0	0.03	0.04	0.04	0.05

o-SBA 生成量は 50°C, 5~15 分加温では各 pH 領域とも 0% であった。30~60 分加温では各 pH 領域とも 0.01~0.03% の微量ではあるが生成を見た。また, 100°C では 15~60 分処理区間では pH の影響は定型的ではなく *o*-SBA の生成量は 0.02~0.06% であった。

要 約

SAS の安定性に関する基礎研究の一環として, 各種 pH 状態における SAS の分解率, 分解生成物の確認およびその定量を行った結果,

(1) 50°C 加温の 60 分間では, 各 pH とも 0.1% と比較的低い分解率を示した。また,

100°C 加熱の 30, 60 分間では, pH3.0 で 0.6~1.0% と僅かではあるが高い分解率であった。

(2) SAS の分解物質を薄層クロマトグラフにて分離し, 融点, 紫外線吸収スペクトルおよび赤外線吸収スペクトルにて検討した結果, オルトスルファモイル安息香酸およびオルトスルホ安息香酸であることを確認した。

(3) 分解生成物質を紫外線分光法にて測定した結果 *o*-SABA, 50°C, 60 分間では 0.02~0.14% の生成量を示した。また, 100°C では 15~60 分間で僅かではあるが生成量が増加し, pH3.0 の酸性より pH7.0 で高い傾向がみられた。

(4) *o*-SBA, 50°C では pH の影響はみられず 60 分加温で約 0.01% であった。100°C では 15~60 分処理で 0.02~0.05% とあまり顕著な差はみられなかった。

本研究の一部は, 第 27 回 日本栄養食糧学会にて発表した。

最後に, 本研究を行なうにあたり御指導を賜わった鈴木俊一氏, 国立衛生試験所 加藤三郎技官, 国民生活センター 林敏夫氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) J. Assoc. Offic. Agr. Chemists.: 30, 492 (1947).
- 2) GARMO, O., ASHWORTH, W. G. and EAKER, M. C.: J. Am. Pharm. Ass., 41, 1 (1952).
- 3) KING, E. R. and WRAGG, S. J.: J. Pharm. Pharmac., 18, Suppl., 22S (1966).
- 4) NAGASAWA, K.: J. Chromatography., 52, 173 (1973).
- 5) PRATT, E. D. and POWERS, J.: J. Assoc. Offic. Agr. Chemists., 37 (2), 486 (1954).
- 6) 館勇, 塚本務: 農化., 25 (6), 335 (1951).