

原著

サッカリンの熱分解および分解生成物に関する研究

(第 2 報)

有機酸の影響について

阿左美章治, 崎原幸子, 高村一知

Studies on the Thermal Decomposition of Saccharin Sodium and Its Products

Part II. Effect of organic acid

SHOJI AZAMI, YUKIKO SAKIHARA and KAZUNORI TAKAMURA

緒 言

サッカリンは以前より食品加工および調理時の加熱, また酸性溶液中では非常に不安定で分解しやすいことが知られている。

前報においてサッカリンと水素イオン濃度と加熱の関係を追求し, その分解率, 分解生成物の定量, 同定を報告した。

本報では, 一般的な調理, 食品加工などの処理加工工程におけるサッカリンの安定度を知るための基礎実験として有機酸の影響について薄層クロマトグラフィで検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 試薬, 器具および装置

(1) 試薬

サッカリンナトリウム(以後SASと略称)標準原液: SASを120°Cで4時間乾燥したものを, 60mgはかり10mlにメスアップした。

CLARK-LUBS氏緩衝液(0.2M HCl: 0.2M KCl, pH2.0)

ジメチルスルホオキシド(DMSO)

テトラメチルシラン(TMS)

(2) 器具, 装置

紫外線照射灯(2573 Å, 3660 Å)

核磁気共鳴(日本電子社製C-60HL型)

蛍光分光光度計(日立社製MPF-4型)

2. 試料の処理

SAS標準原液1mlを各種3%有機酸溶液(リンゴ酸, シュウ酸, 酒石酸, コハク酸および酢酸)19mlを加えて, SAS有機酸溶液とし, この外に純水19mlを加えたSAS対照液とSASを加えない対照有機酸を調製した。加熱は, 50°Cおよび80°Cで処理時間, 30分間および60分間とし, 還流冷却器付電気浴上で加熱した。

前記処理でえられる被検液10mlをおのおの, 50mlの分液漏斗にとり, 塩酸酸性としエチルエーテル3mlにて2回抽出し, 硫酸ナトリウムにて水分を除去し試験溶液とした。

3. 薄層クロマトグラフ(TLC)

薄層担体としてシリカゲルG, シリカゲルHF₂₅₄, ポリアミド, 蛍光ポリアミド(MF)などを使用して展開溶媒(ベンゼン: 酢酸エチル: キ酸, クロロホルム: メタノール: アンモニア, アセトン: アンモニア)と組み合わせ検討した結果, SAS, *o*-Sulfamoyl Benzoic Acid(以下*o*-SABA), *o*-Sulfo Benzoic Acid(*o*-SBA)の分離能の良さ, テーリングの少いことにより, 次の担体と展開溶媒を選定した。薄層担体: シリカゲルHF₂₅₄(メルク社)

製，薄層クロマトグラフ用ガラス板(20×20cm)に250 μ の厚さに塗布し110°Cで45分間乾燥し活性化したもの。))

展開溶媒：アセトン(9)：10%アンモニア(1) (以下 Solvent Aと略す)，クロロホルム(10)：メタノール(5)：アンモニア(5) (以下 Solvent Bと略す)

上記の展開溶媒を用い薄層プレート(20×20cm)の下端から2.5cmのところを原線として，ヘマトクリット用毛細管を用い約30 μ lを点状に塗布し，25°Cにて10cm，上昇法で一次展開を行った。展開終了後，薄層プレートを取り出し，溶媒揮散後，暗所で紫外線照射灯(2573Å，3660Å)でスポットを確認しRf値を測定した。

実験結果および考察

1. SASと緩衝溶液の加熱による分解

SAS標準原液1mlに3%有機酸溶液19mlを加えると約pH2.0になる。そこでCLARK-LUBS緩衝液にてpH2.0の時のSAS分解パターンをうるために，SAS標準原液1mlに緩衝

液19mlを加え，有機酸の反応条件と同様の操作をして薄層クロマトグラフを行いTable 1のRf値をえた。

Table 1. TLC Rf-values of the SAS decomposition products obtained by heating with pH 2.0 HCl-KCl buffer solution

Developer Time Temperature	Solvent A		Solvent B	
	30min	60min	30min	60min
50°C	0.45	0.28, 0.46	0.27	0.27
80°C	0.46	0.0, 0.29, 0.46	0.27	0.01, 0.18, 0.26

SASと緩衝溶液を50°C，80°Cにおいて30，60分間加熱し，SASのRf値はSolvent AおよびSolvent Bで前者で0.46，後者で0.27であった。その結果SAS標準品のRf値と一致した。

SAS以外の分画としてSolvent A，Rf値0.29とSolvent B，Rf値0.18分画をおのの薄層板よりかきとりIRおよびNMRを測定した結果はFig. 1に示す。

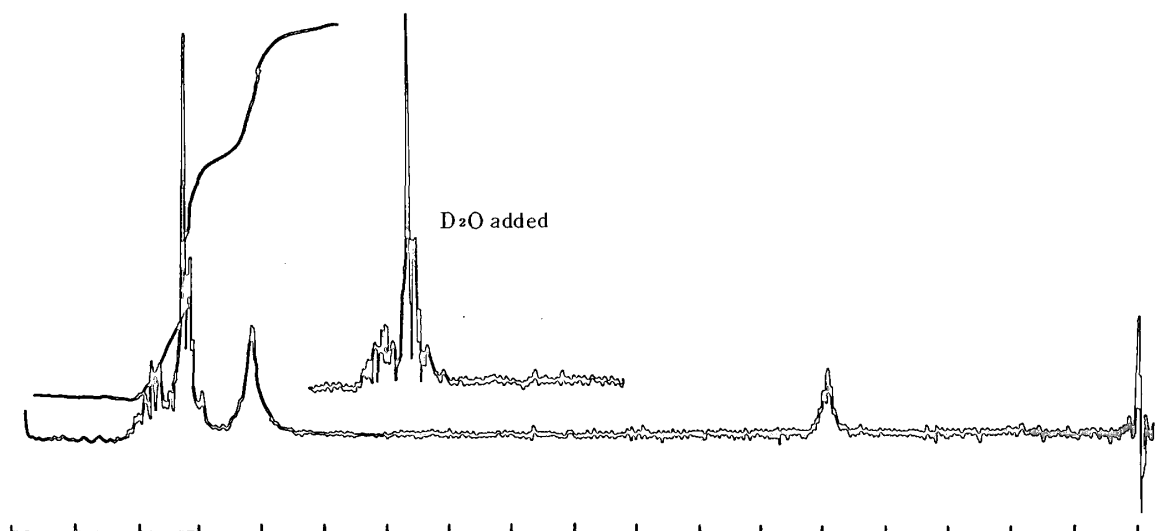


Fig. 1. NMR spectrum of *o*-SABA
Solvent: DMSO, Reference: TMS, Width: 9×1ppm

同様の操作にてSolvent A, BのRf値0.00
および0.01をそれぞれ採取して測定した結果

はFig 2, 3のとおりであった。

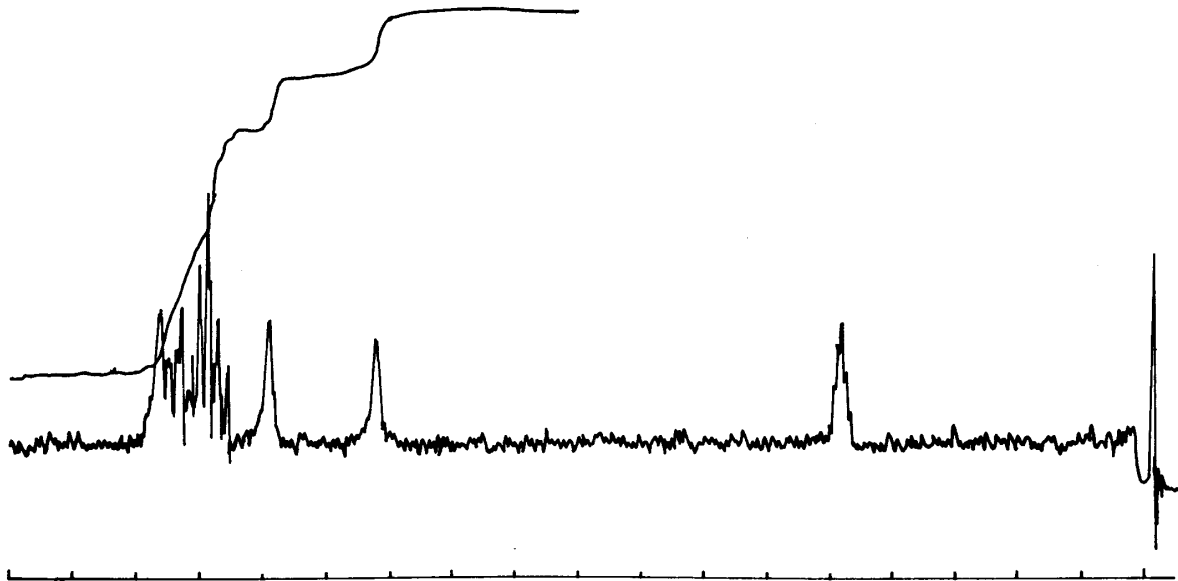


Fig.2. NMR spectrum of *o*-SBA
Solvent:DMSO, 9×1ppm

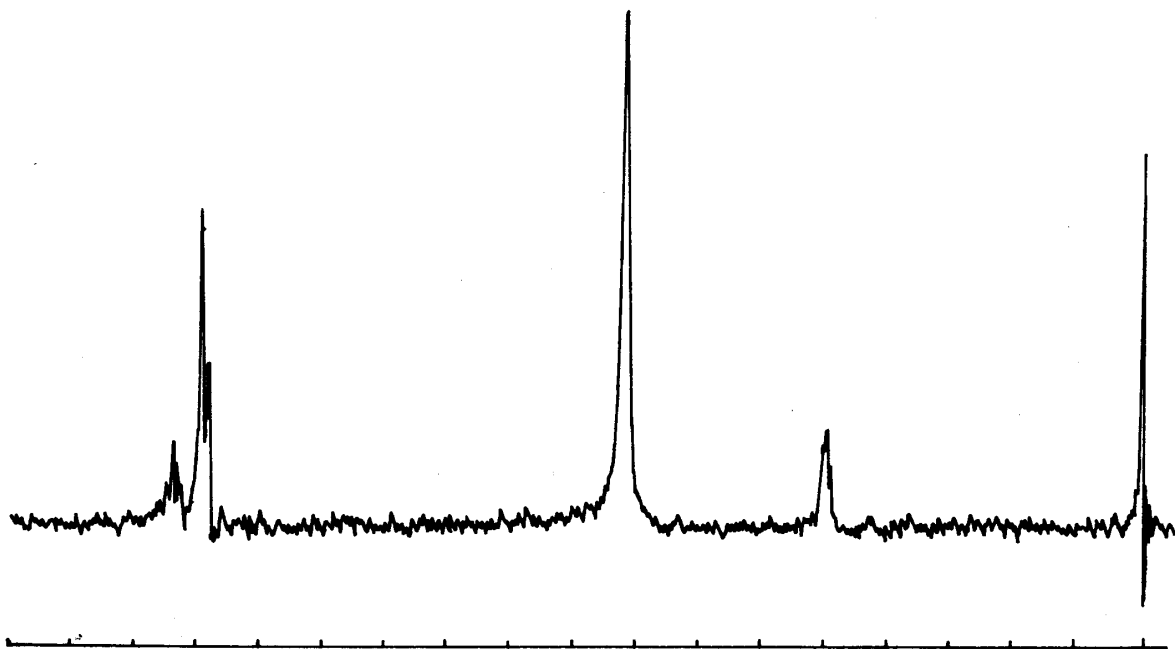


Fig.3. NMR spectrum of *o*-SBA
Solvent:DMSO+D₂O, Width:9×1ppm

各々の分解生成物質は水およびアルコールに
しか溶けない性質からDMSOを溶媒としてNM
Rを測定した。

Fig 1, Solvent A, B(Rf値0.29, 0.18)
は7.90ppm, 7.66ppm, で[c1ccc(cc1)C(=O)O]のA₂, B₂
のプロトンが測定できた。また-COOHは

DMSOの2.5 ppmおよび7.1 ppmと一致するので重水素(D₂O)を添加すると7.1 ppmのプロトンは置換されて消えた。この結果より前報のIRスペクトルからのスルホンアミド-SO₂-NH₂, カルボン酸-COOHがオルト位結合を示し*o*-SABAであることが確認された。

Fig 2, Solvent A, B (Rf 値 0.0, 0.01) は 7.3 ppm ~ 7.84 ppm で [c1ccc(cc1)S(=O)(=O)N] の A₂, B₂ プロトンが複雑にあらわれているが Fig 3 に示すごとく重水素(D₂O)添加により 7.45 ppm および 7.65 ppm のオルト位を確認し 6.1 ppm および 6.95 ppm のカルボン酸-COOHのプロトンは 4.5 ppm に D₂O 添加により置換した。前報の IR スペクトルからスルホン酸-SO₃H および カルボン酸-COOH がオルト位結合を示し *o*-SBA であることが確認された。

2. SAS と有機酸溶液の加熱による分解

3% 有機酸のみの対照溶液を 50°C, 80°C でおおの 30 および 60 分間加熱した結果, 50°C での 30, 60 分間加熱ではどの有機酸にも分解は認められなかった。併しアスコルビン酸区では 80°C で 30, 60 分間加熱により Sol

vent A に Rf 値 0.23 を示す微量の吸収物質を確認したので上記 Rf 値は実験結果よりのぞいた。

SAS の有機酸溶液を 50°C および 80°C でおおの 30, 60 分間加熱した結果, 薄層クロマトグラフィーは Fig 4 であった。またその Rf 値は Table 2 のとおりである。

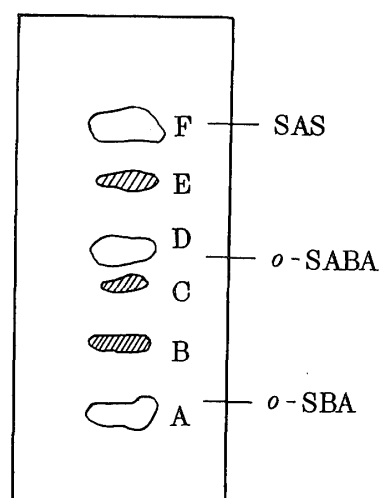


Fig. 4. Thin-Layer chromatogram of the decomposition products obtained by thermal decomposition of SAS
Plate: Silica Gel HF₂₅₄
Solvent A: acetone+10% NH₄ OH (9:1)

Table 2. TLC Rf-values of the SAS decomposition products obtained by heating with various organic acid solutions

Kinds of Organic acid solution	Temp. of heating		80°C		
	Developer	50°C		Solvent A	
		30 min	60 min	30 min	60 min
Control solution	0, 0.31, 0.68		0, 0.31, 0.69		
Malic acid	B: 0.15, C: 0.34	B: 0.14, C: 0.36, E: 0.46	—	B: 0.17, C: 0.31	
Succinic acid	—	—	—	—	
Oxalic acid	B: 0.16, C: 0.33	B: 0.14, C: 0.34, E: 0.47	C 0.39	B: 0.16, C: 0.33	
Tartaric acid	B: 0.12, C: 0.36	B: 0.15, C: 0.32, E: 0.49	C 0.38	B: 0.16, C: 0.30	
Citric acid	B: 0.13, C: 0.34	B: 0.15, C: 0.34, E: 0.47	C 0.38	B: 0.16, C: 0.32	
Ascorbic acid	B: 0.14, C: 0.34	B: 0.16, C: 0.33, E: 0.46	C 0.37	B: 0.16, C: 0.32	
Acetic acid	—	—	—	—	

Table 2 に示すとおり 50°C, 30 分間加熱では SAS コハク酸溶液, SAS 酢酸溶液をのぞく

検液中に Rf 値 0.12 ~ 0.16 (Fig 4 の B 区画) と 0.33 ~ 0.36 (C 区画) に, 二つの蛍光物質 B 分

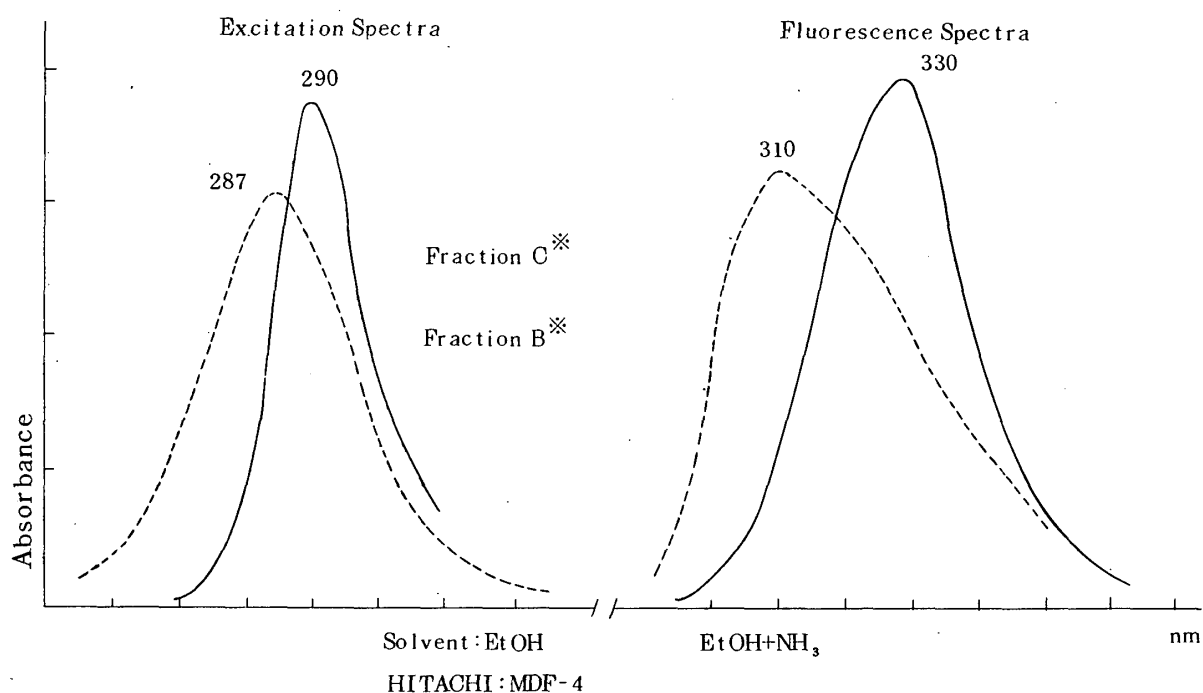


Fig. 5. Fluorescence spectra of the thermal decomposition products of SAS ※See:Fig. 4.

画, 励起波長 287nm, 蛍光波長 310nm, C 区画, 励起波長 290nm, 蛍光波長 330nm を確認した。Fig5。また, 60 分間加熱では B および C 区画と, さらに Rf 値 0.46 ~ 0.49 (E 分画) に微量の蛍光物質を薄層クロマトグラム上に認めた。しかし, E 分画については微量のため測定できなかった。

80°C の 30 分間加熱でも Rf 値 0.37 ~ 0.39 (C 分画) をもつ蛍光物質を認め 60 分間加熱では Rf 値 0.16 ~ 0.17 (B 分画) と 0.30 ~ 0.33 (C 分画) を示す蛍光物質が確認できた。80°C 加熱では 50°C の Rf 値 0.46 ~ 0.49 (E 区画) に相当する蛍光物質は加熱の影響によるため検出されなかった。

なお, SAS 対照液の Rf 値 0.0 は *o*-SBA, 0.31 は *o*-SABA, 0.69 は SAS と前報の結果と同様の UV および IR スペクトルを示した。

要 約

(1) 3% 有機酸溶液は約 pH 2.0 を示す。そ

こで, SAS を CLARK-LUBS 緩衝液 pH 2.0 の溶液中で, SAS の分解を検討した結果, *o*-SABA と *o*-SBA が生成することを確認した。

(2) 各種有機酸の SAS の加熱分解におよぼす影響を検討した結果, Rf 値 0.12 ~ 0.16 (Fig 4 の B 分画), および Rf 値 0.33 ~ 0.36 (C 分画) の蛍光物質生成を確認した。その蛍光スペクトルを測定した結果, B 分画は励起波長 287nm, 蛍光波長 310nm であった。また C 区画は励起波長 290nm, 蛍光波長 330nm であった。

以上の結果からサッカリンの加熱分解に対する有機酸の種類による特異性のある影響はあまり認められなかった。

なお, 本研究は第 28 回日本食品衛生学会にその一部を発表した。

最後に本研究にあたり御指導を賜った鈴木俊一氏, 国立衛生試験所 加藤三郎技官に深く感謝致します。

文

- 1) KING, R. E. and WRAGG, J. S : J. Pharm. Pharmac, **18**, Suppl. 22S (1966).
- 2) KORBELAK, T : J. AOAC, **52** (3), 487 (1969).
- 3) 刈米達夫：食品添加物公定書解説書，第3版，広川書店，B-364 (1973).

献

- 4) 加藤三郎：食品衛生研究，**24** (6), 81 (1974).
- 5) 加藤三郎：食品衛生研究，**24** (7), 47 (1974).
- 6) MINEGISHI, K : Chem. Pharm. Bull, **20**, (7), 1351 (1972).