

# 硫化黒変に関する研究—II

トマト果実中の腐食因子について

竹内伊公子・前淵 絹子・長田 博光

## Studies on Sulfur Stain of Internal Wall of Cans—II Corrosion Factors in Tomato Fruit

Ikuko Takeuchi, Kinuko Maebuchi and Hiromitsu Osada

The internal wall corrosion of canned asparagus differs from that of canned orange juice, as the former accompanies sulfur stain.

Now, we analyzed the amino acid in fresh asparagus to find out the corrosion factors of canned asparagus, and showed that of the corrosion factors of canned asparagus is a compound of glutamic acid and organic acids.

In order to determine whether the corrosion factors of tomato fruit are the same compound as that of asparagus, investigation was made on its amino acid composition, as well as on the relation between the composition and the corrosion factors of internal wall of the canned plant.

Tomato fruit was extracted with 75% ethanol. The greater amount of glutamic acid is contained than other amino acids in tomato fruit. The extractives were fractionated with ion exchange resins and acid fraction "A-2" was partially hydrolyzed for 2 hours at 100°C with 2.4 N HCl, and the hydrolyzate was fractionated with ion exchange resin. The corrosive activity of each fraction of internal wall of the can was examined.

The corrosion factors of tomato fruit are adsorbed to anion exchange resin (OH<sup>-</sup> form), but not to cation exchange resin (H<sup>+</sup> form). From resin analysis and paper chromatography, it is concluded that the corrosion factors in tomato fruit are acidic substances and one of these is a conjugated compound of glutamic acid and organic acids.

### 1. 緒 言

トマトジュース缶詰の缶内面腐食因子については岩本ら<sup>1)</sup>によって研究され、その主因子はトマト果実中の硝酸塩であると報告している。また同氏ら<sup>2)</sup>はオレンジジュース、果実ならびに蔬菜類缶詰の腐食因子についても研究し、硝酸塩であろうと報告している。

これら硝酸塩による腐食は内容物の pH が 3~4 の場合に顕著である。これに反して、アスパラガス缶詰の pH は 6~7 であり、しかもその腐食は硫化変色を伴うので、硝酸塩による腐食でないことは明らかである。

そこで、著者らはアスパラガスには硝酸塩以外の腐食因子が含まれているのではないかと考え、そのアミノ酸組成から検索した結果、その腐食因子の一つとしてグルタミン酸と有機酸の化合物を検出した<sup>3)</sup>。

本報ではトマト果実にもアスパラガスと同一の腐食因子が含まれているのではないかと考え、そのアミノ酸組成から検索したので、以下にその結果を報告する。

## 2. 実験方法

### 2.1 試料

東洋食品研究所付属農場で栽培され、8月下旬に採取されたファイアボール品種のトマト果実を試料とした。

### 2.2 エキス調製法<sup>4)</sup>

トマト果実をホモジナイズし、75%エタノールを加え、沸騰水浴中で20分間加熱したのち濾過する。残渣は同様に2回くり返し抽出する。抽出液を合わせて、60°Cで減圧濃縮する。濃縮液に75%エタノールを加え、不溶物を濾別し、濾液を再び濃縮する。濃縮液にピクリン酸溶液を加え、充分攪拌したのち遠心分離し、除蛋白する。上澄液はDowex 1×8 (Cl<sup>-</sup>) カラムにかけ、0.02N塩酸で洗い、過剰のピクリン酸を除去し、流出液を濃縮してエキスとした。

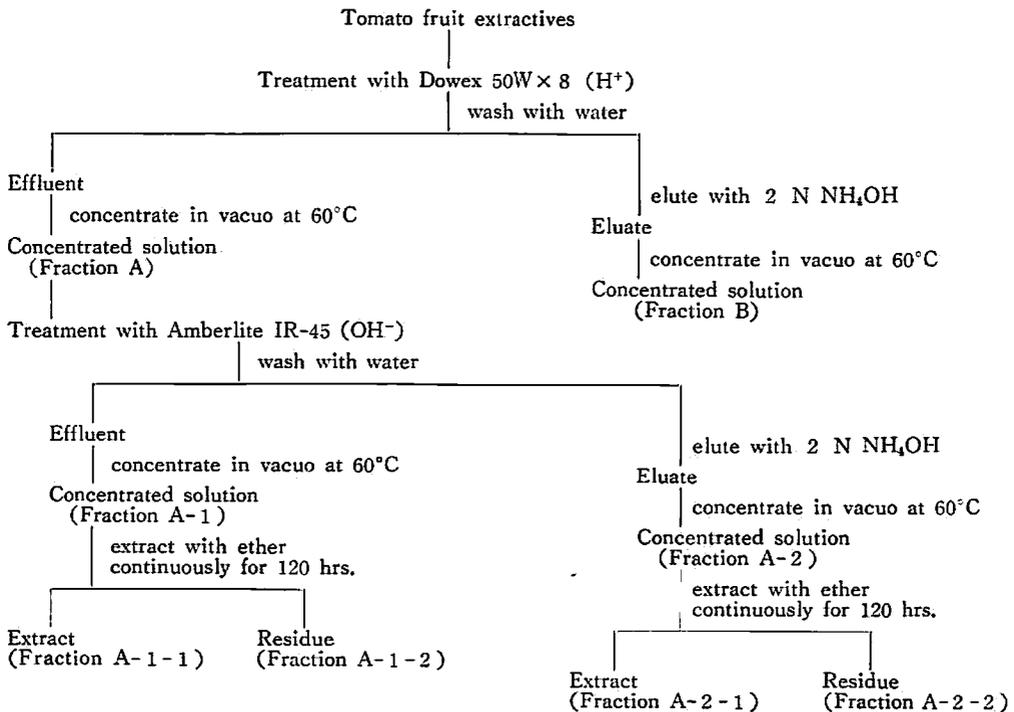


Fig. 1 Procedure for fractionating tomato fruit extractives.

### 2.3 遊離アミノ酸の分析

エキスを pH 2.2 に調整して、日立液体クロマトグラフ 034 型で分析した。

### 2.4 エキスの分画

エキスの分画は第1図に示したように、エキスを Dowex 50W×8 (H<sup>+</sup>) カラムにかけ、水洗して、流出区と吸着区に分ける。流出区は濃縮してA区とする。吸着区は2Nアンモニア水で溶出し、濃縮してB区とした。

A区はさらに Amberlite IR-45 (OH<sup>-</sup>) カラムにかけ、水洗して、流出区と吸着区に分ける。流出区は濃縮してA-1区とする。吸着区は2Nアンモニア水で溶出し、濃縮してA-2区とした。

両区はさらにエーテルで120時間連続抽出し、抽出区と非抽出区に分け、エーテルを除去して、それぞれA-1-1, A-1-2, A-2-1, A-2-2区とした。

### 2.5 エキス画分の一般理化学的反応

エキスの各画分について、ニンヒドリンおよびブローム・クレゾール・グリーン(B.C.G)呈色<sup>5)</sup>、硝酸イオン<sup>6)</sup>ならびに硫酸イオンの定性反応を調べた。

### 2.6 エキス画分のアミノ酸分析

エキスの各画分を pH 2.2 に調整し、アミノ酸分析を行なった。

### 2.7 エキス画分のペーパークロマトグラフィー

エキスの各画分を東洋沓紙 No. 2 につけ、アミノ酸と有機酸は n-ブタノール、酢酸、水 (4:1:1 v/v/v)<sup>5)</sup>を、糖は n-ブタノール、ピリジン、水 (6:4:3 v/v/v)<sup>7)</sup>をそれぞれ展開剤としてペーパークロマトグラフィーを行ない、風乾後ニンヒドリン、B. C. Gおよびアニリン水素フタル酸塩で発色し、それぞれの R<sub>f</sub> 値を求めた。

### 2.8 エキス画分の缶内面腐食性

エキスの各画分を 10ml 取り、pH 7.0 に調整したのち、pH 6.2 の McIlvaine buffer を加えて全量を 80ml とし、内面無塗装のベビーフード缶に詰め、真空巻締めし、120°C、20分間加熱殺菌したのち、37°C に7日間放置し、それぞれの缶内面腐食度を調べた。

### 2.9 エキスのA-2画分の加

#### 水分解ならびにその分解物の分画

エキスのA-2画分の加水分解ならびにその分解物の分画には第2図に示したように、A-2区を2.4N塩酸で100°C、2時間加水分解し、中和後ろ過する。ろ液をDowex 50W×8 (H<sup>+</sup>) カラムにかけ、水洗して流出区と吸着区に分ける。流出区は濃縮してA-2-3区とした。吸着区

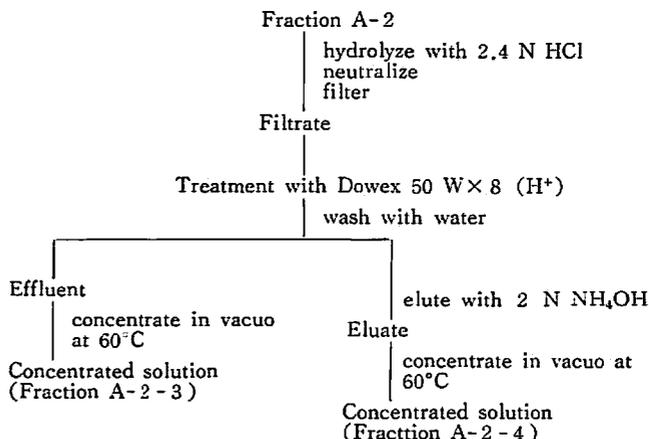


Fig. 2 Procedure for hydrolyzing fraction A-2 and for fractionation.

は 2Nアンモニア水で溶出し、濃縮してA-2-4区とした。

### 2・10 加水分解画分のアミノ酸分析

加水分解画分を pH 2.2 に調整し、アミノ酸分析を行なった。

### 2・11 加水分解画分のペーパークロマトグラフィー

加水分解画分を東洋沱紙 No. 2 につけ、〔7〕の方法に準じてペーパークロマトグラフィーを

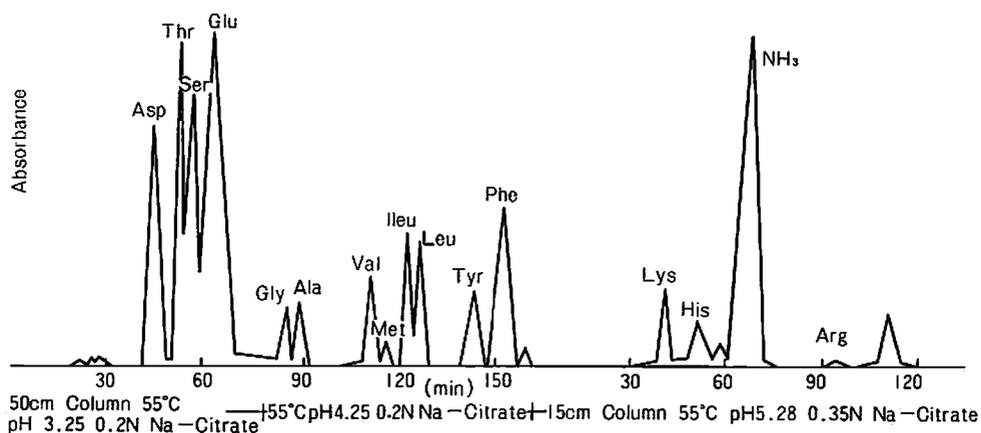


Fig. 3 Chromatogram of free amino acids in fresh tomato fruit.

行なった。

### 2・12 加水分解画分の缶内面腐食性

加水分解画分をそれぞれ 10ml 取り、pH 7.0 に調整したのち、〔8〕と同様の方法で缶内面腐食度を調べた。

## 3. 結 果

### 3・1 トマト果実の遊離アミノ酸組成ならびに含有量

トマト果実の遊離アミノ酸組成ならびに含有量は第3図および第1表に示したようにグルタミン酸が最も多く、次いでスレオニン、セリン、アスパラギン酸が多く含まれていた。一方アルギニン、プロリンは極めて少なく、またシスチンは全く含まれていなかった。なお、一般に知られているアミノ酸以外に4~5の未知アミノ酸が検出された。

### 3・2 エキス画分の一般理化学的反應

エキス画分の一般理化学的反應は第2表に示したように、ニンヒドリン呈色はA-1-1, A-1-2,

Table 1 Amino acid composition of hot ethanol extractives of tomato fruit.

(mg per 100g of fresh tomato fruit)

Amino acid	Content (mg)
Lysine	1.46
Histidine	1.55
Arginine	Trace
Aspartic acid	12.00
Threonine	31.10
Serine	13.70
Glutamic acid	73.50
Proline	Trace
Glycine	0.75
Alanine	5.30
Cystine	0
Valine	2.30
Methionine	1.50
iso-Leucine	2.60
Leucine	2.60
Tyrosine	1.80
Phenylalanine	6.60

A-2-1区はわずかに陽性 A-2-2区は陽性、B区は著しく陽性であった。B. C. G 呈色は A-1-1, A-1-2区に陰性、A-2-1, B区はやや陽性、A-2-2区は著しく陽性であった。硝酸イオンは A-1-1, A-2-2区は 0~0.5 ppm, A-2-1区は 10ppm 以上含んでいた。一方、A-1-2, B区は全く含んでいなかった。

硫酸イオンはいずれも含んでいなかった。

### 3.3 エキス画分のアミノ酸組成

エキス画分のアミノ酸組成は第4図に示したように、A-1, A-2区は両者ともエーテルによって明確に分画できず、いずれの区もグルタミン酸あるいはグルタミンが最も多く検出され、他に4~5の未知アミノ酸が検出された。なお、これら画分はいずれも pH 4.25 の buffer ではアミノ酸は検出されなかった。一方、B区はシステンを除いた全ての中酸性アミノ酸を含んでいた。

### 3.4 エキス画分のペーパークロマトグラフィー

エキスの画分のペーパークロマトグラムは第5図に示したように、ニンヒドリン発色では、A-1-1区はグルタミン酸と同一の Rf 値を持つスポットを一つ、A-1-2, A-2-1区はグルタミン酸と同一の Rf 値を持つスポットと今一つのスポットを与えた。A-2-2区はグルタミン酸と同一の Rf 値を持つスポットと他に4つのスポットを与えた。またB区は10数個のスポットを与えた。

B. C. G 発色では A-1-1, A-1-2区はともにスポットを与えなかった。A-2-1区は Rf 値 0.24 に小さなスポットと他に3つの不明瞭なスポットを与えた。A-2-2区は Rf 値 0.24, 0.35, 0.7 の3つのスポットを与えた。B区は Rf 値 0.21 の1つのスポットを与えた。これらはいずれもクエン

Table 2 General physico-chemical properties of fractions of tomato fruit extractives.

Fraction	Ninhydrin	Bromocresol Green	NO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
A-1-1	±	-	± (0-0.5ppm)	-
A-1-2	±	-	-	-
A-2-1	±	+	+++ (above 10ppm)	-
A-2-2	++	+++	± (0-0.5ppm)	-
B	+++	+	-	-

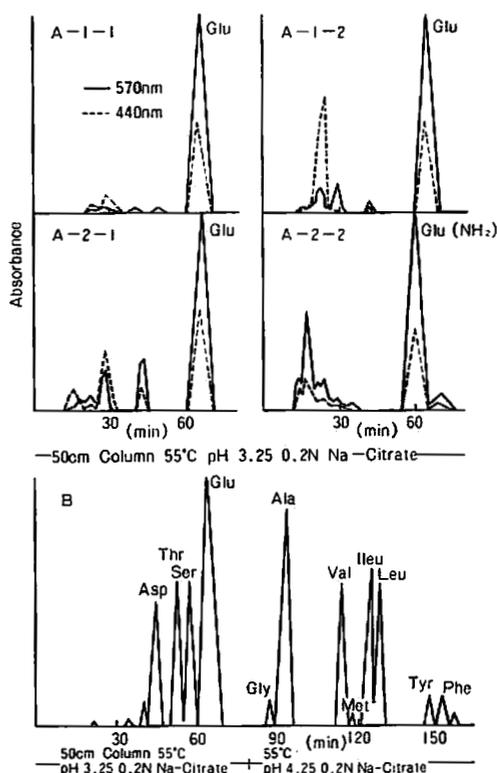


Fig. 4 Chromatograms of fractions of tomato fruit extractives with ion exchange separation.

酸、酒石酸の Rf 値と一致しなかった。

アニリン水素フタル酸塩発色では、A-1-1区はグルコースと同一の Rf 値を持つスポットと他に3つのスポットを与えた。A-1-2区はグルコースと同一の Rf 値を持つスポットと今1つのスポットを与えた。A-2-1、B区はスポットを与えなかった。A-2-2区はグルコースと同一の Rf 値のスポットを与えた。

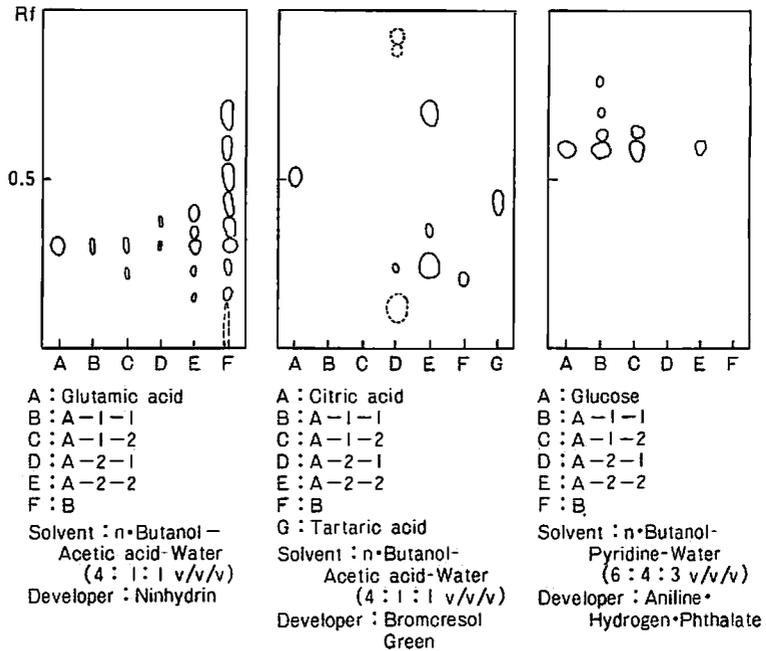


Fig. 5 Paper chromatograms of fractions of tomato fruit.

### 3・5 エキス画分の缶内面腐食性

エキス画分の缶内面腐食性は第3表に示したように、A-1-1、A-2-1およびB区はいずれも黒変ならびに腐食は認められなかった。A-1-2区は黒変は認められなかったが、腐食はわずかに認められた。一方A-2-2区は黒変は認められなかったが、腐食は著しくそして錫は244ppmと多量に溶出していた。

Table 3 Effect of fractions of tomato fruit extractives on internal wall corrosion of the can.

Fraction	Sulfur Stain	Corrosion Degree	Tin dissolved (ppm)	Iron dissolved (ppm)
A-1-1	—	—	73.0	8.5
A-1-2	—	+	105.0	9.0
A-2-1	—	—	76.0	11.0
A-2-2	—	++	244.0	9.0
B	—	—	71.0	8.7
Control	—	—	59.0	8.5

Control: McIlvaine buffer (pH 6.2)

Each sample was packed in baby-food can, sterilized at 120°C for 20 minutes and stored at 37°C for a week.

### 3・6 加水分解画分のアミノ酸組成

加水分解画分のアミノ酸組成は第6図に示したように、A-2-3区はグルタミン酸を主とし、グリシンあるいはアラニンが検出され、他に570nmより440nmの方が吸光度の高い3つの未知アミノ酸が検出された。一方、A-2-4区は大部分がグルタミン酸であり、他に3つの未知アミノ酸が検出された。

### 3・7 加水分解画分のペーパークロマトグラフィー

加水分解画分のペーパークロマトグラムは第7図に示したように、ニンヒドリン発色では、A-2-

3区は6つのスポットを与え、これらのうちの1つはグルタミン酸と同一の Rf 値を示し褐色のスポットと重なっていた。A-2-4区はグルタミン酸と同一のスポットを含めて4つの明らかなスポットと他に2~3つのテーリング状のスポットが認められた。

B. C. G発色ではA-2-3区は6つのスポットを与え、これらのうち1つはクエン酸と今1つは酒石酸と同一の Rf 値を示した。A-2-4区は2つのスポットを与え、そのうち1つは青色でグルタミン酸に相当した。他の1つは酒石酸の Rf 値よりわずかに小さな Rf 値を示した。

アニリン水素フタル酸塩発色ではA-2-3区はグルコースと同一の Rf 値を示すスポットを与えたが、A-2-4区はグルコースと同じ位置に不明瞭な1つのスポットを与えた。

### 3・8 加水分解画分の缶内面腐食性

加水分解画分の缶内面腐食性は第4表に示したように、A-2-3区は黒変ならびに腐食は著しく、そして錫も146ppm溶出していた。一方、A-2-4区は黒変、腐食ともにほとんど認められなかった。なお、これら画分には硝酸イオンは含まれていなかった。

## 4. 考 察

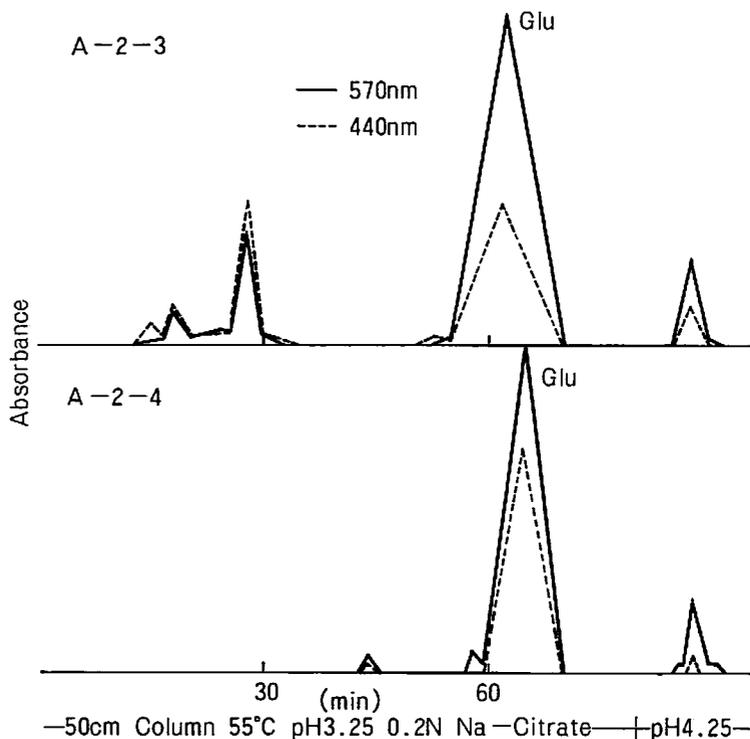


Fig. 6 Chromatograms of fraction A-2 hydrolyzate of tomato fruit extractives. For marks A-2-3 and A-2-4, see Fig. 2 and "Experimental".

Table 4 Effect of fraction A-2 hydrolyzate of tomato fruit extractives on internal wall corrosion of the can.

Fraction	Sulfur Stain	Corrosive Activity	Tin dissolved (ppm)	Iron dissolved (ppm)
A-2-3	++	+++	146.0	5.4
A-2-4	±	±	73.0	3.3
Control	-	-	41.0	5.2

Control : McIlvaine buffer (pH 6.2)

Each sample was packed in baby-food can, sterilized at 120°C for 20 minutes and stored at 37°C for a week.

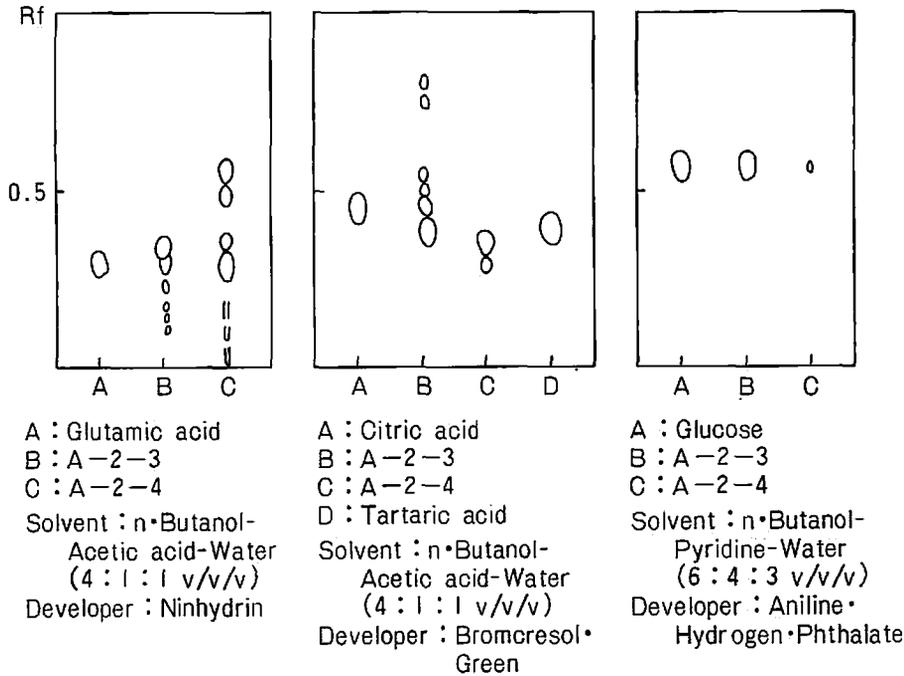


Fig. 7 Paper chromatograms of fraction A-2 hydrolyzate of tomato fruit extractives.

トマト果実中の缶内面腐食因子を検索するために、そのアミノ酸組成から検討したが、トマト果実のアミノ酸としてはグルタミン酸が最も多く含まれており、次いでスレオニン、セリンが多く含まれている。一方、シスチンは含まれていないので、堀尾らが<sup>9)</sup>モデル実験で得たシスチンによる腐食はトマト果実の場合考えられない。

腐食因子はアスパラガスと同様にトマト果実のエキス中に含まれており、そのエキス成分をイオン交換樹脂で分画すると、腐食因子は主として陽イオン交換樹脂 ( $H^+$ ) には吸着されず、陰イオン交換樹脂 ( $OH^-$ ) に吸着される酸性区分に存在していることが明らかとなったが、この酸性区分に含まれている腐食因子はエーテルにはほとんど溶けないので、腐食因子は遊離の有機酸でないと考えられる。

また、その酸性区分にはグルタミン酸が含まれており、部分加水分解によって多量のグルタミン酸が遊離する。さらに部分加水分解によって酒石酸とクエン酸を多く検出できることより、トマト果実の腐食因子はアスパラガスのそれと同様に主としてグルタミン酸と酒石酸ならびにグルタミン酸とクエン酸の化合物であると考えられる。

## 5. 要 約

トマト果実の缶内面腐食因子を検索するためにトマト果実の遊離アミノ酸から検討した。その結果、その遊離アミノ酸としては、グルタミン酸が最も多く、次いでスレオニン、セリンが多く含まれていた。一方、シスチンは含まれていなかった。

腐食因子はトマト果実のエキス中に含まれており、それは陽イオン交換樹脂 ( $H^+$ ) に吸着されず、陰イオン交換樹脂 ( $OH^-$ ) に吸着される酸性区分に存在していて、エーテルには不溶性であった。この酸性区分を部分加水分解するとグルタミン酸、酒石酸およびクエン酸を多量検出した。

#### 文 献

- 1) 岩本喜伴・宮崎正則・国里進三・前田瑠子・堀尾嘉友・小林祥子：栄養と食糧，21，50 (1968).
- 2) 岩本喜伴・宮崎正則・国里進三・前田瑠子・堀尾嘉友：栄養と食糧，21，47 (1968).
- 3) 竹内伊公子・長田博光・大塚滋：日食品工会誌投稿中.
- 4) 波多野博行：アミノ酸自動分析法 (化学同人) (1964)
- 5) 長田博光・岡屋忠治：本誌，6，54 (1964).
- 6) 岩本喜伴・宮崎正則・国里進三・前田瑠子：日食品工会誌，15，265 (1968).
- 7) 長田博光・岡屋忠治：本誌，6，47 (1964).
- 8) 堀尾嘉友・吉田千恵子：食衛誌，13，377 (1972).