

## 硫化黒変に関する研究—V

トマト果実中の腐食因子について (その2)

長田 博光・竹内伊公子・下 富代

### Studies on Sulfur Stain of Internal Wall of Cans—V Corrosion Factors in Tomato Fruit (2)

Hiromitsu Osada, Ikuko Takeuchi and Tomiyo Shimo

In the previous paper, it has been reported that the corrosion factors of tomato fruit are contained in fraction A-2-2 separated with ion exchange resin.

In the present study, in order to purify the corrosion factors, the fraction A-2-2 was treated with silica gel and was separated into chloroform-butanolic fraction (a) and methanolic fraction (b) and then the composition of amino acids and organic acids of these separated fractions was investigated.

It was found that a small amount of glutamic acids and the few unknown amino acids are contained in both fractions, and propionic, fumaric, succinic, pyroglutamic acids are contained in fraction (a) and fumaric, succinic, citric, malic, pyroglutamic acids are contained in fraction (b).

When the fraction (a) and (b) were hydrolyzed with 6 N hydrochloric acid at 120C° for 48 hours, a large amount of glutamic acid was detected, but on the other hand, no pyroglutamic acid was detected.

A great part of corrosion factors in fraction A-2-2 was concentrated in methanolic fraction and this fraction showed considerable activities of sulfur stain and corrosion.

トマトジュース缶詰の缶内面腐食因子は岩本, 堀尾ら<sup>1)</sup>によって硝酸塩であることが明らかにされている。しかし, 著者らは硝酸塩以外にも腐食因子が存在しているのではないかと考え, トマト果実を70%熱エタノールで抽出し, その抽出液をイオン交換樹脂で分別し, さらにエーテルで分別したのち, それぞれの区分の腐食性を調べた結果, 腐食因子は陰イオン交換樹脂に吸着し, エーテル不溶区 (A-2-2) に存在することが認められた<sup>2)</sup>。

本報では, この区分をさらにシリカゲルカラムで分別したのち, それぞれの区分を加水分解し, その組成を調べたので以下にその結果を報告する。

### 実験方法

#### 1. シリカゲルカラムによる分別

シリカゲルカラムによる分別方法は図1に示したように, クロロホルムに懸濁したシリカゲル (100~200メッシュ) を4×40cmのカラムに30cmまで注入し, 試料 (A-2-2) を添加し, クロロホルム:ブタノール (1:1) 1ℓで溶出し, 溶出液を濃縮してa区とする。次いで, メタノール 2ℓで溶出し, 溶出液を濃縮してb区とする。これらa, b区は水に溶かして一定量にする。

## 2. 各区分のアミノ酸ならびに有機酸組成

アミノ酸は日立液体クロマトグラフ 034 型で、有機酸は  $2 \times 15\text{cm}$  のシリカゲルカラムクロマトグラフィーによりそれぞれ分析した。また、有機酸は *n*-ブタノール-酢酸-水 (4:1:1) を展開剤としたペーパークロマトグラフィーにより同定を行なった<sup>3)</sup>。

## 3. 加水分解

加水分解は 6 N HCl で  $120^\circ\text{C}$ 、48時間行なった。

## 4. 腐食試験

$2 \times 4\text{cm}$  のスズ板を試験管に入れ、各区分の溶液 2 ml, McIlvaine buffer 8 ml 注入し、封管したのち、 $120^\circ\text{C}$ 、20分間加熱し、 $37^\circ\text{C}$  に 7 日貯蔵し、それぞれの腐食性ならびに溶出スズ量をポラログラフィー<sup>4)</sup> で測定した。

## 結果と考察

### 1. アミノ酸ならびに有機酸組成

各区分のアミノ酸ならびに有機酸組成は図 2-5 に示したように、a 区のアミノ酸としては、グルタミン酸、ロイシン、フェニールアラニンが検出された。その他にシステイン酸に当る位置に 3 つの普通のアミノ酸のピークと  $440\text{nm}$  の吸光度のほうが高い 1 つのピークが検出された。また、それよりもやや後に 2 つの普通のアミノ酸のピークが検出された。有機酸はピログルタミン酸、コハク酸、プロピオン酸、フマル酸およびシユウ酸が検出された。

b 区のアミノ酸としては、グルタミン酸が検出された。その他に、システイン酸に当る

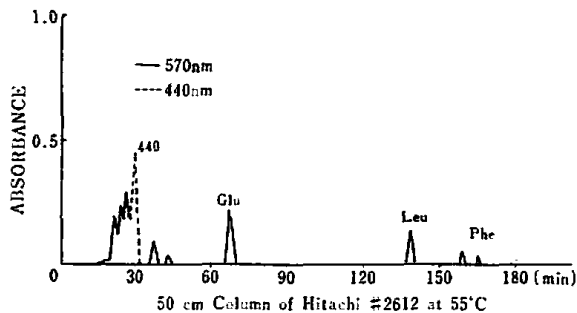


Fig. 2 Chromatogram of amino acids in chloroform-*n*-butanol eluate (fraction a) of A-2-2 by ion exchange resins.

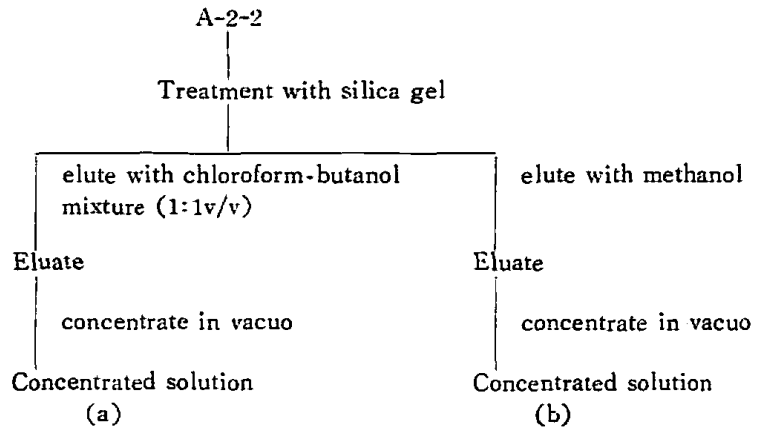


Fig. 1 Procedure for fractionating A-2-2.

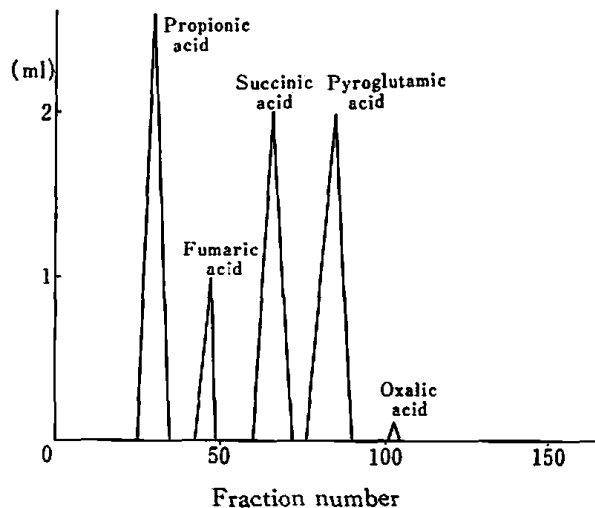


Fig. 3 Chromatogram of organic acids in chloroform-*n*-butanol eluate (fraction a) of A-2-2 by silica gel.

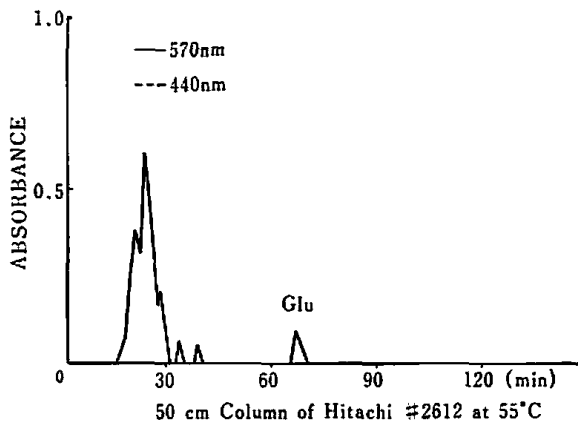


Fig. 4 Chromatogram of amino acids in methanol eluate (fraction b) of A-2-2 by ion exchange resins.

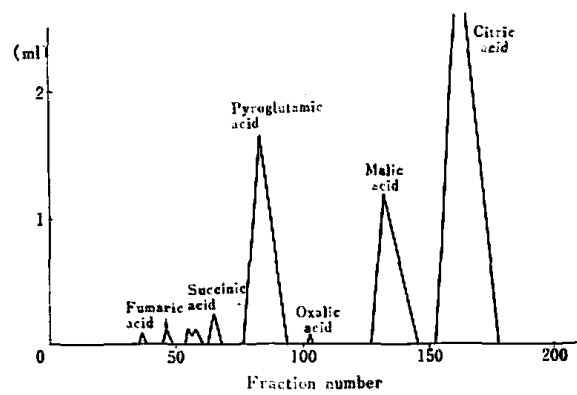


Fig. 5 Chromatogram of organic acids in methanol eluate (fraction b) of A-2-2 by silica gel.

位置に3つの普通のアミノ酸のピークが検出された。また、それよりもやや後に2つの普通のアミノ酸のピークが検出された。有機酸はクエン酸、リンゴ酸、ピログルタミン酸、シュウ酸、コハク酸およびフマル酸が検出された。

2. 加水分解物のアミノ酸ならびに有機酸組成

各区の加水分解物のアミノ酸ならびに有機酸組成は図6～8に示したように、a区の加水分解物のアミノ酸としては、グルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、チロシンおよびフェニールアラニンが検出確認された。その他に、システイン酸に当る位置に1つの普通のアミノ酸のピークと440nmの吸光度のほうが高い1つのアミノ酸のピークが検出された。有機酸としては、クエン酸、コハク酸のスポットが確認された。その他にリンゴ酸、シュウ酸の位置に当るスポットが検出されたが、ピログルタミン酸は検出されなかった。

b区の加水分解物のアミノ酸としては、グルタミン酸、グリシン、アラニン、バリン、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、チロシンおよびフェニールアラニンが検出された。その他にシステイン酸に当る位置に1つの普通のアミノ酸のピークと440nmの吸光度のほうが高い2つのアミノ酸のピークが検出された。有機酸はクエン酸、コハク酸が確認された。その他にリンゴ酸、シュウ酸、リン酸に相当するスポットが検出されたが、ピログルタミン酸は検出されなかった。

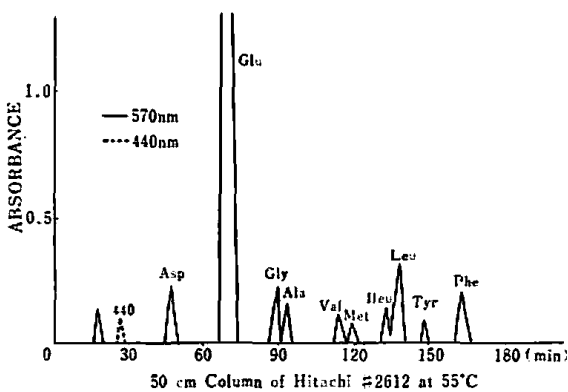


Fig. 6 Chromatogram of amino acids in hydrolyzate of chloroform-n-butanol eluate (fraction a) of A-2-2 by ion exchange resins.

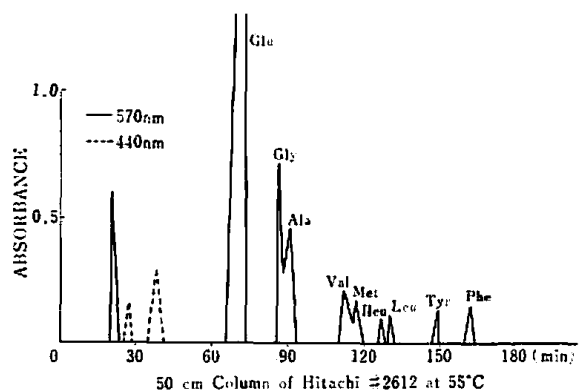


Fig. 7 Chromatogram of amino acids in hydrolyzate of methanol eluate (fraction b) of A-2-2 by ion exchange resins.

a, b区ともに加水分解前にはピログルタミン酸が検出されたにもかかわらず加水分解後にはその検出を見なかったが, それは, 加水分解によりピログルタミン酸がグルタミン酸に変化したためではないと考えられる<sup>5)</sup>.

### 3. 各区分のグルタミン酸含量

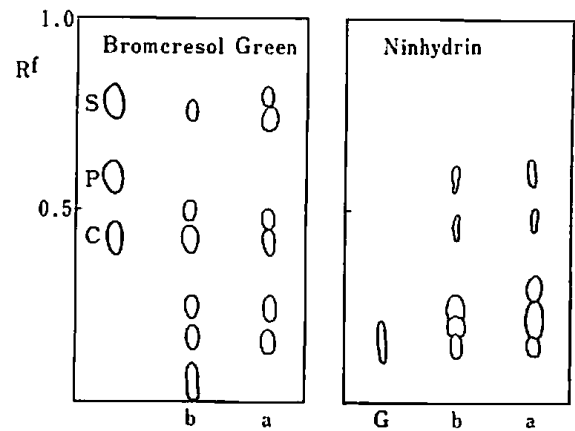
各区分のグルタミン酸含量は表1に示したように, A-2-2区では0.04mg/mlと非常に少ない値であったが, これを加水分解すると43.88mg/mlと非常に多い値を示した. A-2-2区をシリカゲルカラムで分別すると, グルタミン酸の大部分はb区に集まり, それを加水分解すると非常に多量のグルタミン酸が検出される. このように加水分解することにより多くのグルタミン酸が検出されるのは, グルタミン酸のアミノ基が有機酸等の物質と結合しているため, ならびにピログルタミン酸が加水分解によりグルタミン酸に変化したためであろうと考えられる.

### 4. 各区分の有機酸含量

各区分の有機酸含量は表2に示したように, A-2-2区に含まれていた有機酸の約90%はb区に集まり, その約55%はクエン酸であり, 26%はピログルタミン酸, 14%はリンゴ酸であった. これら有機酸の大部分はアミノ酸と結合した状態で存在しているものと考えられる.

### 5. 各区分の腐食性

各区分の腐食性は表3に示したように, a, b区ともに硫化黒変を伴う腐食性を有しているが, b区のほうが著しく, 溶出スズ量もa区の約倍



C: Citric acid. G: Glutamic acid.  
P: Pyroglutamic acid. S: Succinic acid.  
a: Hydrolyzate of chloroform-n-butanol eluate of A-2-2.  
b: Hydrolyzate of methanol eluate of A-2-2.  
Solvent: n-Butanol-Acetic acid-Water(4:1:1)

Fig. 8 Paper chromatograms of each eluate hydrolyzate of A-2-2.

Table 1 Glutamic acid content of each fraction of tomato fruit extractives

Sample	Glutamic acid (mg/ml)
A-2-2	0.04
A-2-2'	43.88
A-2-2(a)	0.006
A-2-2(a')	4.13
A-2-2(b)	0.04
A-2-2(b')	38.34

Sample 200kg → Extractives 500ml

A-2-2': Hydrolyzate of A-2-2.

A-2-2(a): Chloroform-n-butanol eluate of A-2-2.

A-2-2(a'): Hydrolyzate of A-2-2(a).

A-2-2(b): Methanol eluate of A-2-2.

A-2-2(b'): Hydrolyzate of A-2-2(b).

Table 2 Organic acids contents of each fraction of tomato fruit extractives

	Propionic acid	Acetic acid	Fumaric acid	Succinic acid	Pyroglutamic acid	Oxalic acid	Malic acid	Citric acid
A-2-2	0	0.1	0.6	2.05	17.5	0.2	9.35	35.25
A-2-2(a)	1.72	0	0.78	2.50	1.91	0	0	0
A-2-2(b)	0	Trace	0.35	1.70	16.6	Trace	9.00	34.25

Sample 200kg → Extractives 500ml

A-2-2(a): Chloroform-n-butanol eluate of A-2-2.

A-2-2(b): Methanol eluate of A-2-2.

量であった。A-2-2区を加水分解すると腐食性が全く消失することが認められたが、この結果より腐食因子はグルタミン酸を主とするアミノ酸とクエン酸、ピログルタミン酸、リンゴ酸等の有機酸との化合物であると考えられる。

以上の結果のようにトマト果実の腐食因子はシリカゲルカラムによる分画により、その大部

分はメタノール溶出区に集まり、その構成アミノ酸および有機酸は主としてグルタミン酸、クエン酸、ピログルタミン酸、リンゴ酸であり、これらの複合化合物の作用によって腐食が生じ、硫黄を含む物質の作用によって硫化黒変が生じるものと考えられる。

### 要 約

トマト果実のエタノール抽出液をイオン交換樹脂で処理して得られた腐食因子区A-2-2をシリカゲルカラムによりクロロホルム-ブタノール溶出区(a区)とメタノール溶出区(b区)に分け、両者のアミノ酸、有機酸組成を調べた。その結果、アミノ酸としては両者とも少量のグルタミン酸と数種のアミノ酸が検出された。有機酸としてはa区ではプロピオン酸、フマル酸、コハク酸、ピログルタミン酸を、b区ではフマル酸、コハク酸、クエン酸、リンゴ酸、ピログルタミン酸が検出された。

a、b区ともに加水分解すると多量のグルタミン酸が検出された。一方、ピログルタミン酸は消失した。腐食因子の大部分はb区に集まり、この区分は硫化黒変を伴う著しい腐食性を有していた。

### 文 献

- 1) 岩本喜伴・堀尾嘉友：栄養と食糧, 21, 50 (1968).
- 2) 長田博光・前淵絹子：本誌, 11, 36 (1974).
- 3) 長田博光・岡屋忠治：本誌, 6, 54 (1964).
- 4) 小田久三：分析化学, 10, 881 (1961).
- 5) 佐橋佳一：生物化学, 産業図書, 東京, 1957, p. 100.

Table 3 Effect of fractions of A-2-2 on corrosion of tin

Fraction	Sulfur stain	Corrosion degree	Tin dissolved (ppm)
Control	—	—	59.0
A-2-2	++	++	244.0
A-2-2'	—	—	62.0
A-2-2(a)	++	+	123.0
A-2-2(b)	++	++	256.0

Control : McIlvaine buffer (pH 6.2).

A-2-2' : Hydrolyzate of A-2-2.

A-2-2(a) : Chloroform-n-butanol eluate of A-2-2.

A-2-2(b) : Methanol eluate of A-2-2.