

# サイクラミン酸塩使用缶詰に偶発する異臭の 発生原因に関する研究<sup>\*\*</sup>

沢山善二郎・下田吉夫・小野正之<sup>†</sup>・樋口亮一<sup>‡</sup>

## STUDIES ON FOUL ODOR OF CANNED FOODS SWEETENED WITH SODIUM CYCLAMATE

Zenjiro Sawayama, Yoshio Shimoda, Masayuki Ono<sup>†</sup> and Ryoichi Higuchi<sup>‡</sup>

The cause of petroleum-like odor occasionally evolved in canned products sweetened with sodium cyclamate, an artificial sweetening agent was studied.

- 1) The foul odor was evolved only by the presence of both nitrite and cyclamate in canned foods acidified with citric acid.
- 2) The odor substance was gas-chromatographically identified as cyclohexene formed by the reductive decomposition of cyclamate.
- 3) The odor was not evolved in sealed glass ampoules containing nitrate. whereas, it was emitted in cans containing nitrate, probably because of the reduction of nitrate to nitrite in the presence of tin or iron and reduction of cyclamate with nitrite thus formed.
- 4) The experimental results strongly suggested that water added in acid canned foods sweetened with cyclamate should be previously inspected as for the concentrations of nitrate and nitrite.

### 1 緒 言

砂糖に最も近い甘味をもつ人工甘味料であるサイクラミン酸塩を使用したみかん、桃、びわ等の果実シラップ漬缶詰や、缶詰ジュース類に時々石油臭又はゴム臭とでも云うような異臭が発生することは可成り以前より知られていた。そしてこの異臭についての研究も<sup>1,2</sup>行なわれていたが異臭の本体、及びその発生原因については現在迄不明であった。

我々はその異臭の発生原因が工場用水中に含まれる各種イオンの影響にあるのではないかと予想し、二、三の実験を行ない、若干の知見を得たので報告する。

### 2 実 験 方 法

#### 1) 水 質 分 析

水道協会編「飲料水の判定標準とその試験法<sup>3)</sup>」(1950年)に準じて行なった。

#### 2) 発 光 分 析

島津製 Quartz Spectrograph Type QF-60 を用いて測定した。

#### 3) シクロヘキシルアミン、シクロヘキサノール、シクロヘキセンのガスクロマトグラフィー

日立のパーキンエルマー F 6 型を用いて測定した。測定条件は以下の通りである。

\* 田辺製薬製剤研究所

<sup>†</sup> 食品衛生学雑誌 6, No. 5 1965 投稿論文

カラム充填剤 SE30 5%, 1 m  
 カラム温度 50°C  
 キャリヤーガス N<sub>2</sub>  
     流量 0.5kg/cm<sup>2</sup>  
 H<sub>2</sub> 流量 0.7kg/cm<sup>2</sup>  
 air 流量 1.2kg/cm<sup>2</sup>  
 レコーダー感度 1 × 3 mV  
 注入口温度 210°C

#### 4) 硝酸態窒素の定量

フェノールジズルホン酸法<sup>4)</sup>を用いて定量した。

#### 5) 亜硝酸態窒素の定量

ブラットン・マーシャル法<sup>5)</sup>により定量した。

#### 6) アンモニア態窒素の定量

通気蒸留後ネスラー試薬を用いて比色定量した。<sup>6)</sup>

### 3 実験結果ならびに考察

我々は異臭発生原因として果実に含まれている酵素（特にエステラーゼ等）による作用を考え試験したが否定的な結果しか得られなかった。そこで次に工場用水中に含まれる各種イオンの影響を予想して実験した。

先ず以前に数回製品に異臭を生じて困ったと云われるA工場の上水と井水を送付してもらい、その水質分析を行なった。結果を第I表、第II表に示す。尙対照として川西市の上水を用いその分析結果を同時に示した。

Table I. Analysis of city and well water.

		City water (A Factory)	Well water (A Factory)	City water (Kawanishi)
Total hardness	ppm	80	185	40-70
Alkalinity	ppm	79	139	30-45
Dry residue	ppm	175-179	570-580	120-170
Permanganate consumption	ppm	0.76	4.86	0.7-2.0
NO <sub>3</sub> -N	ppm	2.0-2.2	13	0.2-0.7
NO <sub>2</sub> -N		±	+++	-
Cl <sup>-</sup>	ppm	—	169	13-18
SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	ppm	34	123	10-20

Table II. The quartz spectrographic analysis of water.

	Al	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Na	Si
City water (Kawanishi)	-	++	Tr	-	+	-	+	Tr
City water (A Factory)	-	+++	Tr	Tr	++	-	+	+
Well water (A Factory)	Tr	++++	+	+	++++	Tr	++	+

第I表に見られるようにA工場の井戸水の水質は測定項目すべてについて可成り大きな値を示し飲料水としては明らかに不適と考えられた。

第II表に発光分析の結果を示す。この表の結果からもA工場の井戸水の水質は悪く、特にCa, Mg等が多いことが認められた。以上の結果から異臭の発生に用水中に含まれているイオンの何れかが影響する可能性が大きいと考えられたので次の実験を行なった。

即ちサイクラミン酸ナトリウム1%、クエン酸3%の溶液に第III表に示した各塩類を終末0.05%になるように添加し、アンプルに注入、シールして100°Cで2時間加熱後開封して異臭の有無を官能的に検査した。結果を第III表に示す。

第III表に示すように各塩類の中で亜硝酸ナトリウムを添加したもののみに異臭が発生し、他の塩類では(特に硝酸ナトリウムでも)異臭は発生しないことが認められた。そこで次に亜硝酸ナトリウムの濃度を変えて同様の試験を行なったが $10^{-4}$ M(亜硝酸態窒素として1.4ppm)でも明らかに異臭が感じられた。又別に缶詰ジュース中に亜硝酸態窒素を添加したものについても試験し矢張り異臭の発生することを認めた。

以上の結果よりサイクラミン酸ナトリウムと反応し異臭物質を生成する因子の一つは亜硝酸イオンであることが確認された。

次にこの異臭物質の本体は何であるかを調べる目的でガスクロマトグラフィーを行なった。我々

Table III. Effect of inorganic ions on appearance of foul odor in glass container.

Salts	Foul odor	Salts	Foul odor
CaCO <sub>3</sub>	-	NaCl	-
NaNO <sub>2</sub>	+++	NaNO <sub>3</sub>	-
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-
NaBO <sub>3</sub>	-	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	-
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	-	Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	-

Solution of 1% sodium cyclamate, 3% citrate were treated with 0.05% salts for 2 hours at 100°C in sealed ampoules.

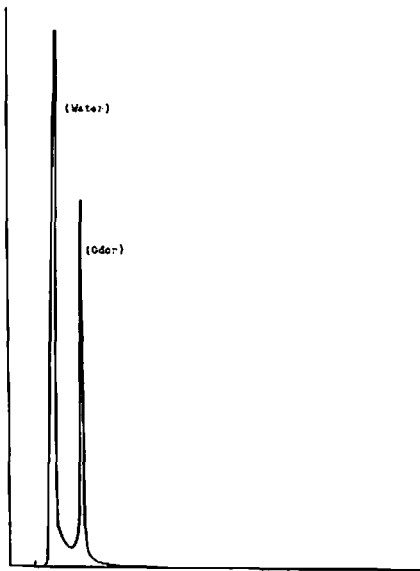


Fig. 1. Gas-chromatogram of canned juice.

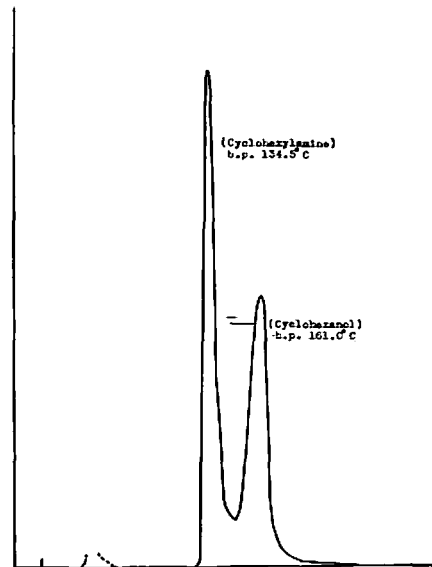


Fig. 2. Gas-chromatogram of cyclohexylamine and cyclohexanol

はこの実験を行なうに際して異臭の本体としてサイクラミン酸ナトリウムの分解産物であるシクロヘキシルアミン又はシクロヘキサノールを考え、異臭はこの何れか又は両者の混合物より生ずるのではないかと推定していた。そこでガスクロマトグラフィーの条件は前述のようにこれらの物質の測定に適したものを選んで行なった。結果を第1、2図に示す。

第1図に異臭発生サンプルのガスクロマトグラムを示す。このような条件では可成り短い保持時間の所に異臭のものと考えられるピークが認められた。

第2図にシクロヘキシルアミン及びシクロヘキサノールの標品のガスクロマトグラムを示す。この図にも見られるようにシクロヘキシルアミン及びシクロヘキサノールのクロマトグラムは異臭のそれより可成り保持時間が長く明らかに異臭原因物質はこれら以外のものであることが認められた。

そこでこれら以外のサイクラミン酸塩の分解産物について種々検討した結果、保持時間の短いことから低沸点の物質が考えられ、又シクロヘキシルアミンが脱アミノ反応を受けた場合に生ずる物質ということ等からシクロヘキセンを想定してみた。そしてシクロヘキセンの純品を入手したところこの標品は官能的にも銜詰に発生する異臭に類似しており、又ガスクロマトグラフィーの結果も異臭のそれと略々完全に一致した。第3図にシクロヘキセンのガスクロマトグラムを示す。

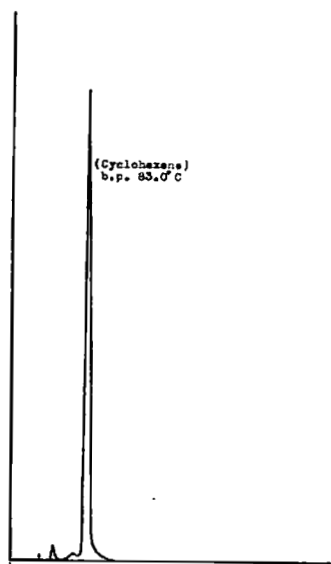


Fig. 3 Gas-chromatogram of cyclohexene.

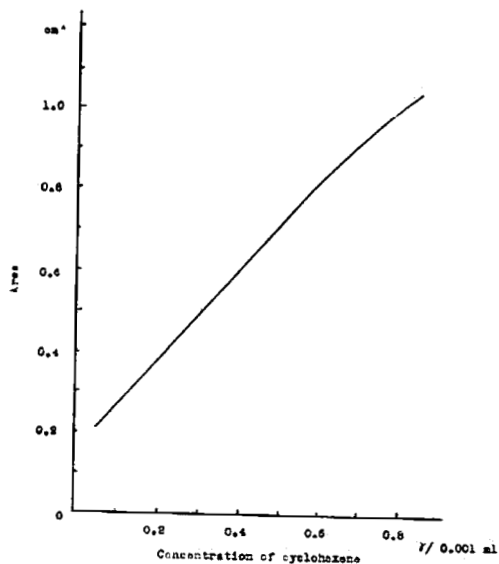


Fig. 4 Standard curve of cyclohexene determination with gas chromatography.

これらの結果より異臭原因物質がシクロヘキセンであると同定した。

第4図にシクロヘキセンの標準曲線を示す。

1 μl 中に 0.1~0.8 μg のシクロヘキセンを含む溶液を作りガスクロマトグラフィーを行ない得られたマップの面積より作成した。

第5図には亜硝酸態窒素量と生成するシクロヘキセン量の関係を示す。

第5図の結果はサイクラミン酸ナトリウム 0.5%、クエン酸 0.1%の溶液に亜硝酸態窒素として0.1~10ppm 含むものを調製し、アンプルに注入封管して、50°C、3日間放置後、開封シクロヘキセン量を測定したものである。この図にも見られるように亜硝酸態窒素として2ppm 以上添加したものは官能的にも明らかに異臭が感じられたが1ppm 以下ではガスクロマトグラフィでもシクロヘキセンの生成が認められなかった。

以上得られた結果を簡単にまとめたものが次の模式図である。

サイクラミン酸ナトリウムの水溶液に塩酸又はクエン酸等を添加し1時間煮沸還流するとシクロヘキシルアルミンが生成すること、更にサイクラミン酸ナトリウムの塩酸酸性溶液に過剰の亜硝酸を作用させるとシクロヘキサノールが生成することはよく知られている。

然しながら我々の行なった実験の結果ではサイクラミン酸ナトリウムはクエン酸酸性下で亜硝酸の存在により分解されてシクロヘキセンと  $N_2$  と  $H_2SO_4$  になる。そして現在迄の結果ではシクロヘキシルアミン及びシクロヘキサノールは認められなかった。

以上アンプルテスト及び缶詰中でのサイクラミン酸塩と亜硝酸イオンの反応について実験した結果を示した。然しながら水道法又は飯料水の判定規準では硝酸態窒素は10ppm 迄認められているが亜硝酸態窒素は検出してはいけないとされている。又実際に各地の水質分析結果を調べても亜硝酸態窒素がそれ程大量(2ppm 以上)に存在することは認められていない。それなのに何故缶詰において偶にはあるが異臭が発生するのであろうか。我々はこの原因は缶詰内部の還元状態により硝酸イオンが亜硝酸イオンに還元されることにあるのではないかと考えて次の実験を行なった。

即ち硝酸態窒素又は亜硝酸態窒素をサイクラミン酸ナトリウムを含む水又は果汁と共に缶詰にし(PH3.5) 80°C 10分の回転殺菌を行なった後37°Cに10日間貯蔵してから開缶し異臭発生の有無を調べた。結果を第IV表に示す。

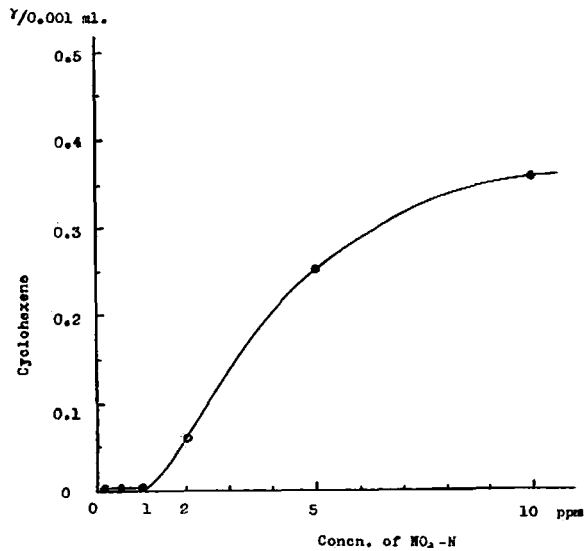


Fig. 5 Formation of cyclohexene on varying concentration of nitrite. (in glass container)

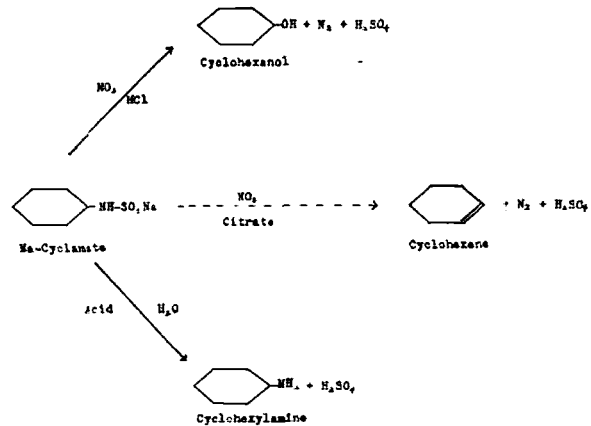


Table IV. Effect of nitrate and nitrite on appearance of foul odor in metal container.

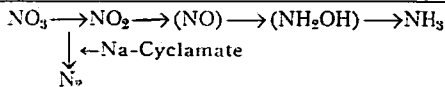
No.	Dilution*	NaNO <sub>2</sub> (NO <sub>2</sub> -N) ppm	NaNO <sub>3</sub> (NO <sub>3</sub> -N) ppm	Na-Cyclamate %	Citrate %	Foul odor	Cyclohexene	
							Liquid γ/0.001ml	Gas γ/0.01ml
1	1: 2	—	—	0.4	0.2	—	—	—
2	"	—	5	"	"	+	0.28	0.55
3	"	—	25	"	"	+++~++++	0.81	2.10
4	"	2.5	—	"	"	+~++++	0.21	0.32
5	"	12.5	—	"	"	+~++++	0.54	1.65
6	"	2.5	5	"	"	~++	0.25	1.12
7	water	—	—	0.5	0.1	—~±	—	—
8	"	—	15	"	"	+++	0.76	1.74
9	"	—	7.5	"	"	±~++++	0.09	0.82
10	"	7.5	—	"	"	+~++	0.22	0.78
11	"	3.75	—	"	"	±~++	0.19	0.12
12	1: 2	—	—	Sucrose	0.2	—~±	—	—
13	"	2.5	—	"	"	—	—	—

\*Ratios of fresh orange juice to diluting water.

第IV表に明らかなように缶詰の場合はアンブルと異り硝酸態窒素の添加区でも異臭の発生が認められた。即ち硝酸態窒素 5ppm, 亜硝酸態窒素 2.5ppm 以上の添加では明らかに異臭が発生しており同時にシクロヘキセンの生成もガスクロマトグラフィーで確認された。この結果より缶詰中では硝酸イオンは缶内の還元的雰囲気の影響で還元され亜硝酸イオンを生じ、生じた亜硝酸イオンがサイクラミン酸と反応してシクロヘキセンを生成することが略々確かめられた。更にこの点を明確にするために行なったのが次の実験である。

Table V. Reduction of nitrate nitrogen in metal container.

No.	Initial			After 10-day presevation at 37°C				
	Na-Cyclamate %	NO <sub>3</sub> -N ppm	NO <sub>2</sub> -N ppm	NO <sub>3</sub> -N ppm	NO <sub>2</sub> -N ppm	NH <sub>3</sub> -N ppm	Total N ppm	N Recovery %
1	—	10.90	0.002	4.50	0	5.60	10.10	91.2
2	1.0	10.90	0.002	8.30 (2.60)	0.015	0.75	9.065	81.9 (25.4)
3	—	0.12	5.25	0	0.005	5.25	5.255	95.9
4	1.0	0.12	5.25	0.20	0.011	0.10	0.311	2.5
5	—	0.05	0.003	0	0.006	0.15	0.156	—
6	1.0	0.05	0.003	0.750	0.005	0.10	0.180	—



第V表に缶詰中での硝酸態及び亜硝酸態窒素の変化を示す。即ち 0.1%クエン酸溶液 (PH3.5に調節) に硝酸態窒素 10ppm 又は亜硝酸態窒素 5ppm を添加し缶詰にし 80°C 10分の殺菌を行なったから 37°C 10日貯蔵後の硝酸態窒素の値を定量したものである。

この表に見られるように硝酸態窒素、亜硝酸態窒素は缶詰中では速かに還元を受けアンモニア態

窒素に還元される。そして缶内にサイクラミン酸塩が共存する場合には最初に加えた亜硝酸イオン又は硝酸イオンが還元されて生じた亜硝酸イオンはサイクラミン酸と反応して窒素ガスを生じアンモニウムイオンは殆んど生成しないことが認められた。

#### 4 要 約

- 1) 人甘（サイクラミン酸塩）使用缶詰に発生する異臭原因物質はシクロヘキセンである。
- 2) サイクラミン酸塩と亜硝酸イオンがクエン酸々性下で共存するとシクロヘキセンを生じ異臭が発生する。
- 3) 缶詰中では硝酸イオンが存在すると還元されて亜硝酸イオンを生じこれがサイクラミン酸と反応して異臭を生ずる。

ことが明らかになった。要するに人工甘味料としてサイクナミン酸塩を使用して缶詰を製造する場合には亜硝酸イオンは勿論、硝酸イオン含量の多い水を用いると異臭発生危険の多いことが認められた。

この試験に際し当所堀尾・岩木氏から多大の御協力御援助を得たことを深謝します。

#### 文 献

- 1) 原田・山田・新井：日本缶詰協会 昭和35年度缶詰研究発表会講演会要旨 P10 (1960)
- 2) 服部・大橋：日本缶詰協会 昭和35年度缶詰研究発表会講演会要旨 P10 (1960)
- 3) 水道協会編 飲料水の判定標準とその試験法、水道協会 (1950)
- 4) F. D. Snell and C. T. Snell: Colorimetric Methods of Analysis (Third Edition,) D. Von Nostrand Company, Inc., New York, Vol. II, p.792 (1954)
- 5) F. D. Snell and C. T. Snell: Colorimetric Methods of Analysis (Third Edition,) D. Von Nostrand Company, Inc., New York, Vol. II, p. 804 (1954)
- 6) 関根等編、生化学領域における光電比色法 (各論 2) P 43 南紅堂 (1960)
- 7) 丸山・川鍋：食衛誌, 4, 265 (1963)
- 8) 菰田・末永・長田：衛生化学, 4, 33 (1965)