

## メイラード反応由来変異発がん物質の生成に対する食塩の抑制効果

増田 修一, 島村 裕子

静岡県立大学食品栄養科学部

### 概要

メイラード反応は、還元糖とアミノ化合物を高温条件下で反応させた際に誘導され、フレーバー生成等に用いられることから、食品分野では重要な反応である。しかし、このメイラード反応により、アクリルアミド (AA)、ヘテロサイクリックアミン類 (HCAs)、5-ヒドロキシメチルフurfural (HMF) 等の変異・発がん物質が生成することから、メイラード反応を制御することが求められている。そこで、本研究では、塩類を用いてメイラード反応を制御することを目的として、メイラード反応により生成する変異・発がん物質の生成に対する塩類の抑制効果を検討した。

グルコースとアスパラギンをリン酸緩衝液 (pH7.4) に溶解し、各種塩類 (NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>) を添加した。それら溶液を 121°C, 60 分間加熱してメイラード反応液を作製し、反応液の吸光度 (450 nm) を測定した。また、メイラード反応液を固相抽出し、LC-MS/MS を用いて AA および HMF 量を測定した。メイラード反応液に各種塩類を添加したところ、いずれの塩類も濃度依存的にメイラード反応液の吸光度を減少させた。また、AA の生成に対する各塩類の効果を評価したところ、いずれの塩類も濃度依存的に抑制効果を示し、特に二価の塩類である MgCl<sub>2</sub> および CaCl<sub>2</sub> が強い抑制効果を示した。HMF の生成に対しては、KCl および NaCl は、ほとんど影響しなかったが、MgCl<sub>2</sub> および CaCl<sub>2</sub> は、濃度依存的な増加効果を示した。さらに、食品中 (ジャガイモから作製したハッシュドポテト) に食塩を添加して加熱処理した際の AA および HMF の生成に対する影響を調べたところ、AA の生成は有意に抑制されたが、HMF の生成は影響されなかった。各種塩類を添加したメイラード反応溶液中の HCAs の抽出を行い、エームス試験によってその変異原性を評価したところ、各塩類は変異原性に対して抑制効果を示し、特に二価の塩類が強い効果を示した。

本研究より、塩類はその種類や濃度により、メイラード反応における化学物質の生成に対して、抑制または促進など様々な影響を及ぼすことが明らかになった。この要因として、塩類のイオン強度や各化学物質の生成メカニズムの違いなどが考えられた。今後、食品分野におけるメイラード反応の制御に関して、化学物質の生成に対する塩類の影響やその作用メカニズムを明らかにすることで、ヒトの安全性において有用な知見を得ることができると考えられる。

### 1. 諸言

我々が摂取している食品中には様々な化学物質が存在し、ヒトに対する発がんへの関与が指摘されており、その発がん寄与率の 35% を占めている。これら変異・発がん物質の中には、植物性自然毒として知られるカビ毒以外に、食品の調理・加工・製造時における加熱等の要因により、非意図的に生成するものがある。これら変異・発がん物質の中でもアクリルアミド (acrylamide; AA) は、ジャガイ

モ、モヤシ等の食材を高温条件下で加熱調理する際に生成し、ヒトの発がんへの関与が指摘されている。その他、変異発がん物質として知られているヘテロサイクリックアミン類 (heterocyclic amine; HCAs) は、食肉や魚肉を加熱調理した際に生成する。これら変異・発がん物質は、アミノカルボニル反応 (メイラード反応) により生成する。メイラード反応は、主に還元糖とアミノ酸 (またはタンパク質) を高温条件下で反応させた際に誘導され、食品加工時にお

るフレーバー生成等に用いられるが、食品の安全性の面で特に重要視する必要がある。

我々は、これまでに畜肉に食塩を添加することで、脂質由来の変異発がん物質であるグリシドール脂肪酸エステル類の生成を抑制できることを明らかにしている<sup>(1)</sup>。また、メイラード反応が起こる際に、アミノ化合物はアニオンの形でカルボニル化合物と反応することが明らかになっていることから<sup>(2)</sup>、塩類から生じるイオンがメイラード反応に影響することが考えられる。そこで本研究では、各種塩類(NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>)を添加したメイラード反応溶液の褐変化、また、AA およびメイラード反応の中間体である 5-ヒドロキシメチルフルフラール(5-hydroxymethyl furfural; HMF)の生成に対する影響、さらに、食品中(ジャガイモから作製したハッシュドポテト)に食塩を添加して加熱処理した際の AA および HMF の生成に対する影響を評価した。また、各種塩類を添加したメイラード反応溶液中の HCAs の抽出を行い、エームス試験によってその変異原性を評価した。

## 2. 研究方法

### 2. 1. メイラード反応由来変異・発がん物質の遺伝毒性に対する食塩の抑制効果

#### 2. 1. 1. メイラード溶液の調製

D-グルコース 1.8 g, L-アスパラギン 0.75 g を 200 mM リン酸緩衝液 100 ml に溶解し、この混合液を 200 mM リン酸緩衝液で 10 倍希釈した。希釈液に、各種塩類(NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>)を 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 M になるように添加し、121°C, 1 時間オートクレーブを用いて加熱した。

#### 2. 1. 2. ハッシュドポテトの作製

ジャガイモを電子レンジで 8 分間加熱し、ペースト状に潰した後、50 g を測り取り、重量比が 2, 4 および 10% となるように NaCl を添加し、200 回程度混捏した後、成形した(幅: 6.4 ± 0.07 cm, 厚さ: 1.0 ± 0.03 cm)。作製したハッシュドポテトをガス火加熱(フライパン調理)により加熱処理(「食べごろ」は中火で 5 分(片面 2.5 分), 「焼焦げ」は中火で 10 分(片面 5 分))し、試料とした。加熱温度は、ハッシュドポテトの縁の下を随時測定した。比較対照として、食塩を加えていない試料を同様に作製し、加熱処理したものを用意した。

#### 2. 1. 3. AA 分析用試料の作製

2. 1. 1. で作製したメイラード反応液 2 mL に内部標準として 13C3AA (250 ppm) 4 μL を添加した。また、2. 1. 2. で作製したハッシュドポテトを粉碎し、粉碎した試料 1 g に、2 M NaCl 5 mL および内部標準として 13C3AA (100 ppm) 1 μL を加えて 5 分間攪拌し、3,500 rpm で 15 分間遠心分離し、上清を回収した。これらの溶液 2 mL を Oasis-HLB カートリッジ (Waters) および Oasis-MCX カートリッジ (Waters) を用いて固相抽出し、窒素パージで乾固させた後、MilliQ 水で 1 mL に定容し、AA 分析用試料とした。

#### 2. 1. 4. HMF 分析用試料の作製

2.1.1. で作製したメイラード反応液を 0.45 μm フィルターに通して、HMF 分析用試料とした。2.1.2. で作製した試料を粉碎し、粉碎した試料 1 g に Carrez I 溶液(ヘキサシアノ鉄酸カリウム 15 g を 100 mL の MilliQ 水に溶解) 100 μL および Carrez II 溶液(硫酸亜鉛 30 g を 100 mL の MilliQ 水に溶解) 100 μL を各試料に加え、0.2 mM 酢酸で 10 mL に定容した。3 分間攪拌し、5,000 rpm で 10 分間遠心分離し、上清をろ過したものを HMF 分析用試料とした。

#### 2. 1. 5. AA および HMF の測定

LC/MS/MS による測定には、高速液体クロマトグラフには、SHIMADZU 社製 Promnence serie シリーズを、質量分析計は、Applied Biosystems 社製の API 2000 を用いた。AA の分析条件は Table 1, HMF の分析条件は Table 2 に示した。

### 2. 2. メイラード反応溶液およびのハッシュドポテトの色調の測定

2.1.1. で作製したメイラード反応液については、470 nm における吸光度を UV-mini 1240 (SHIMADZU) を用いて測定した。2.1.2. で作製したハッシュドポテトについては、ラップに包み、表面の色差をカラーアナライザー色差計 TES-135A プラス((株)佐藤商事)を用いて L\*値, a\*値, b\*値を測定した。測定の際には、特定部位 3 箇所センサーを当て、その平均値を記録した。

### 2. 3. メイラード反応溶液中に生成する変異・発がん物質の遺伝毒性に対する各種塩類の影響

#### 2. 3. 1. メイラード反応溶液の調製

D-グルコース 1.8 g, L-アスパラギン 0.75 g およびクレアチニン 0.565 g を 200 mM リン酸緩衝液 1000 mL に溶解した後、各種塩類(NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>)を 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 M になるように添加した。得られた混合液を

**Table 1:** LC/MS/MS conditions for determination of AA

Column	L-column2 ODS (CERI, 2 $\mu$ m, 75 $\times$ 2.1 mm, i.d.)
Column temperature	40°C
Flow rate	0.2 mL/min
Mobile phase	Acetic acid 0.1%, methanol 0.5%, MilliQ water 99.4%
Inject volume	5 $\mu$ L
Ionization	ESI (positive mode)
Ion-spray voltage	5500 V
Turbo gas temperature	400°C
Monitor ion	AA: 72.0-55.0, <sup>13</sup> C <sub>3</sub> AA: 75.0-58.0

**Table 2:** LC/MS/MS conditions for determination of HMF

Column	ZORBAX Bonus-RP (Agilent, 3.5 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 100 mm)
Column temperature	40°C
Flow rate	0.2 mL/min
Mobile phase	0.01 mM Acetic acid in 0.2% formic acid
Inject volume	10 $\mu$ L
Ionization	APCI (positive mode)
Ion-spray voltage	5500 V
Turbo gas temperature	400°C
Monitor ion	126.973 $\rightarrow$ 108.900 (m/z)

121°C, 1 時間オートクレーブを用いて加熱した。

### 2. 3. 2. 変異・発がん物質の抽出

2. 3. 1. で作製したメイラード反応液 50 mL をブルーコットンに吸着させ、メタノール:25%アンモニア水 = 49:1 約 50 mL 加えて 2 回振盪抽出を行った。得られた抽出液は、ロータリーエバポレーターで減圧乾固した後、濃縮物を少量のメタノールに溶解し、窒素バージで乾固させた。乾固物を DMSO で 1 mL に定量したものをエームス試験用の試料とした。

### 2. 3. 3. エームス試験

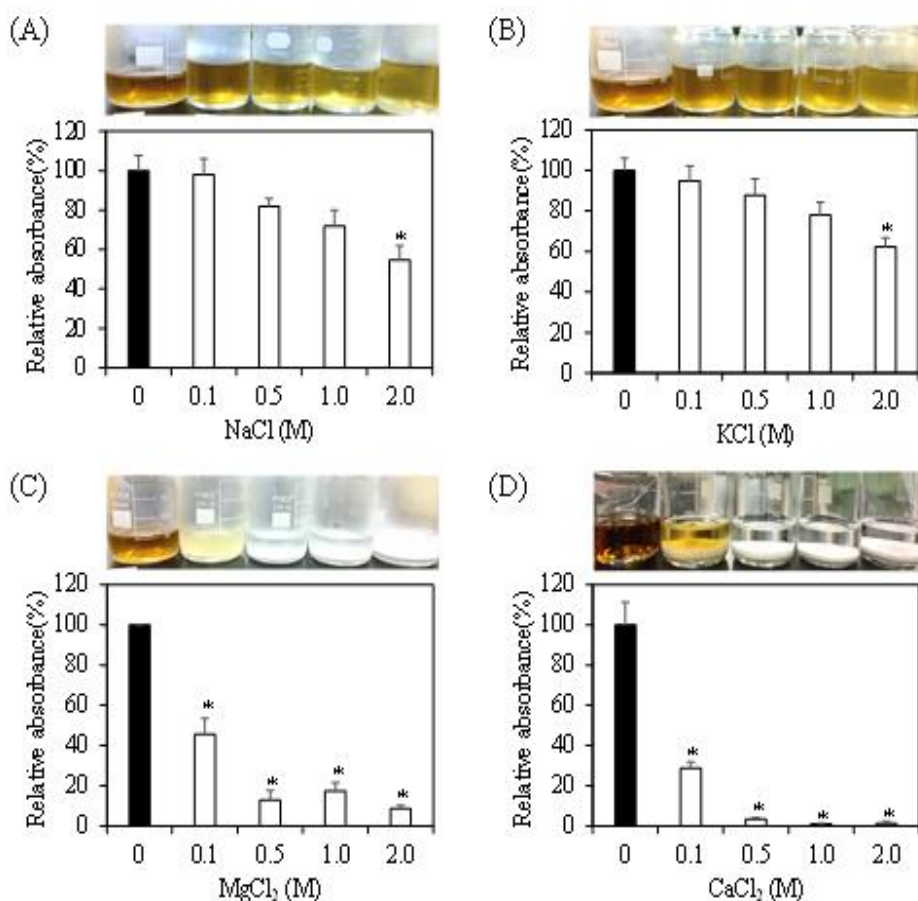
*Salmonella typhimurium* TA98 株((財)食品農医薬品安全性評価センターより提供)を解凍し、菌液 20  $\mu$ L を NB 培地 10 mL に接種し、37°C, 9 時間振とう培養(100 strokes/min)した。滅菌した試験管に 2.3.2. で調製した試料 100  $\mu$ L, S9mix 0.5 mL, 菌懸濁液 100  $\mu$ L を加え、37°C, 20 分間インキュベートした。陽性対象として MeIQx (0.3 ppm) 100  $\mu$ L を用いた。ヒスチジン/ピオチン溶液を加えたソフトアガー 2 mL を加えて十分に混和し、寒天培地シャーレの上に播いて、均一に広げた。固化後、シャーレを倒

置し、37°C, 48 時間インキュベートした。インキュベート後に誘発したコロニー数を計測した。なお、同一検体は 2 枚のプレートを使用し、その平均値を算出した。陰性対照の 2 倍以上のコロニーが生育したものを陽性と判定した。

## 3. 研究結果

### 3. 1. メイラード反応溶液中の褐変化に対する各種塩類の影響

各種塩類を添加したメイラード反応溶液の吸光度を測定した。その結果、NaCl では、添加濃度 0.1 M で 1.9%, 0.5 M で 18.2%, 1.0 M で 28.1%, 2.0 M で 45.3% 褐変化が抑制された (**Fig. 1(A)**)。KCl では、添加濃度が 0.1 M で 5.1%, 0.5 M で 12.2%, 1.0 M で 22.1%, 2.0 M で 37.8% 褐変化が抑制された (**Fig. 1(B)**)。MgCl<sub>2</sub> では、添加濃度が 0.1 M で 54.5%, 0.5 M で 87.1%, 1.0 M で 82.6%, 2.0 M で 91.3% 褐変化が抑制された (**Fig. 1(C)**)。CaCl<sub>2</sub> では、添加濃度が 0.1 M で 71.3%, 0.5 M で 96.6%, 1.0 M で 98.9%, 2.0 M で 98.7% 褐変化が抑制された (**Fig. 1(D)**)。



**Fig. 1:** Effect of various salts on browning in Maillard reaction model solution.

(A) Sodium chloride, (B) potassium chloride, (C) magnesium chloride, (D) calcium chloride. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 M.

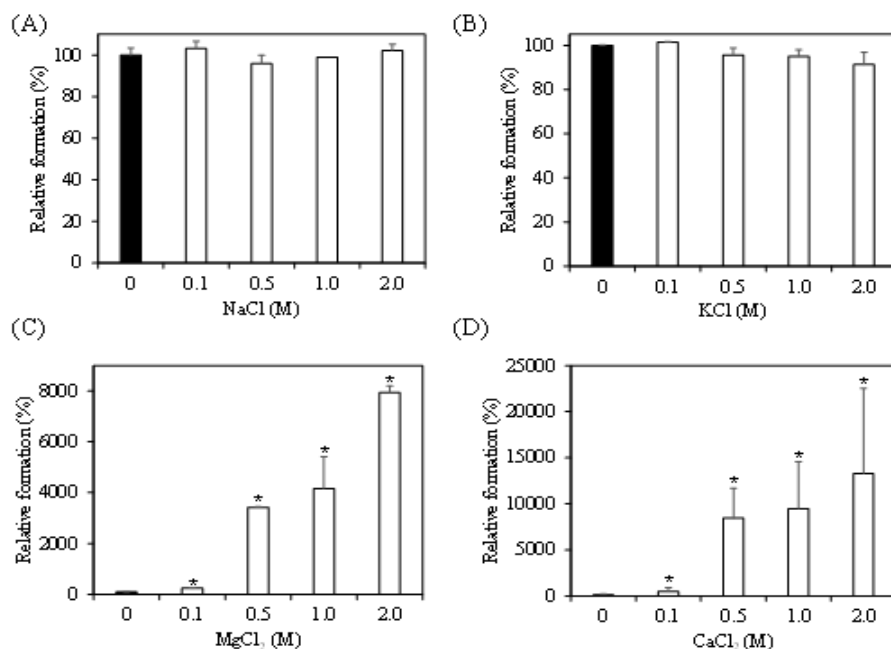
### 3. 2. メイラード反応溶液中の AA および HMF の生成に対する各種塩類の影響

#### 3. 2. 1. メイラード反応溶液中の AA の生成に対する各種塩類の影響

メイラード反応溶液中での AA の生成に対する各種塩類の影響を調べたところ、NaCl では、添加濃度 0.1 M で -0.5%, 0.5 M で 8.0%, 1.0 M で 9.3%, 2.0 M で 27.8%減少した (**Fig. 2(A)**)。KCl では、AA 生成量は、添加濃度 0.1 M で 9.0%, 0.5 M で 16.6%, 1.0 M で 28.3%, 2.0 M で 28.7%減少した (**Fig. 2(B)**)。MgCl<sub>2</sub> では、AA 生成量は、添加濃度 0.1 M で 98.4%, 0.5 M で 99.0%, 1.0 M で 99.1%, 2.0 M で 98.7%減少した (**Fig. 2(C)**)。CaCl<sub>2</sub> では、AA 生成量は、添加濃度 0.1 M で 59.5%, 0.5 M で 86.6%, 1.0 M で 87.3%, 2.0 M で 89.2%減少した (**Fig. 2(D)**)。

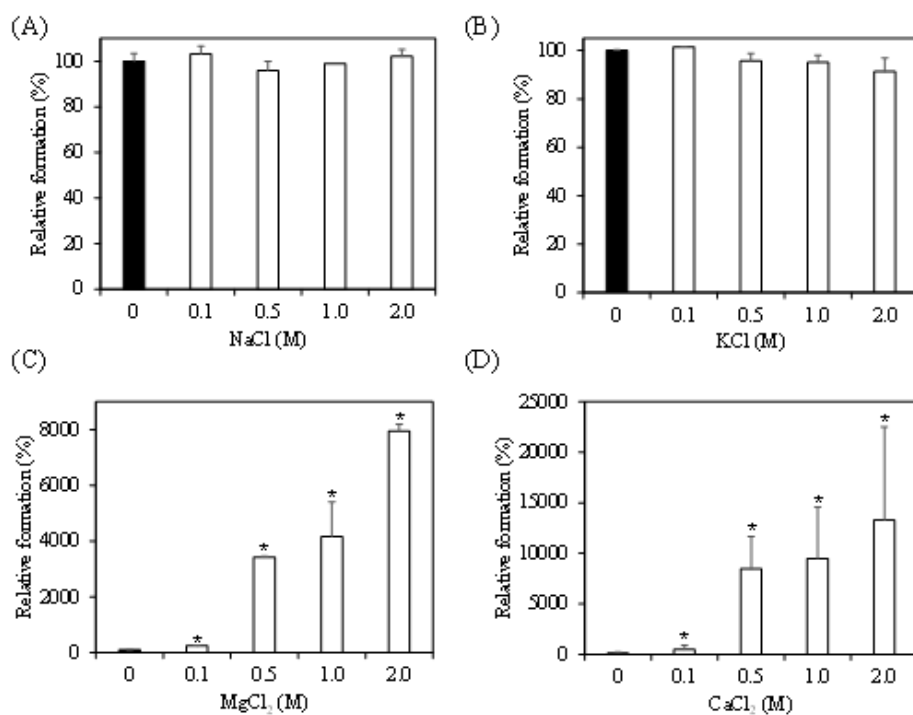
#### 3. 2. 2. メイラード反応溶液中の HMF の生成に対する各種塩類の影響

メイラード反応溶液中で HMF の生成に対する各種塩類の影響を調べたところ、NaCl では、添加濃度 0.1 M で -3.2%, 0.5 M で 4.2%, 1.0 M で 1.1%, 2.0 M で 2.1%減少した (**Fig. 3(A)**)。KCl では、HMF 生成量は、添加濃度 0.1 M で -1.5%, 0.5 M で 4.5%, 1.0 M で 5.0%, 2.0 M で 8.7%減少した (**Fig. 3(B)**)。MgCl<sub>2</sub> では、HMF 生成量は、添加濃度 0.1 M で 140%, 0.5 M で 3327%, 1.0 M で 4062%, 2.0 M で 7842%増加した (**Fig. 3(C)**)。CaCl<sub>2</sub> では、HMF 生成量は、添加濃度 0.1 M で 385, 0.5 M で 8358%, 1.0 M で 9371%, 2.0 M で 13192%増加した (**Fig. 3(D)**)。CaCl<sub>2</sub> を添加したメイラード反応液中の AA および HMF の生成量の相関関係を調べたところ、メイラード反応



**Fig. 2:** Effect of various salts on the formation of acrylamide in Maillard reaction model solution.

(A) Sodium chloride, (B) potassium chloride, (C) magnesium chloride, (D) calcium chloride. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 M.



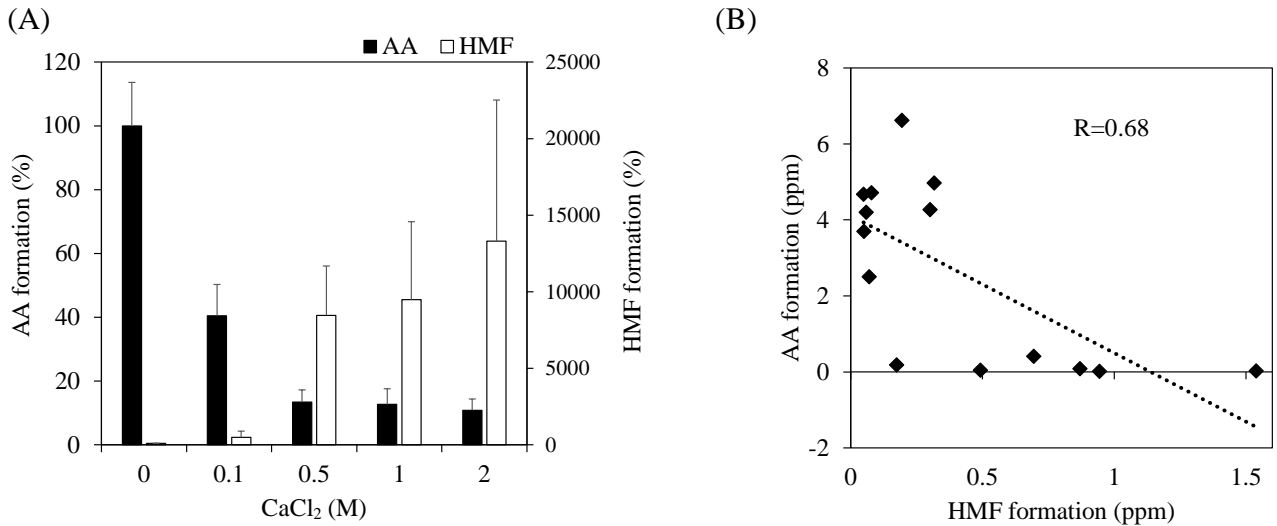
**Fig. 3:** Effect of various salts on the formation of 5-hydroxymethyl furfural in Maillard reaction model solution. (A) Sodium chloride, (B) potassium chloride, (C) magnesium chloride, (D) calcium chloride. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 M.

液中のAAとHMFの生成量は逆相関関係を示した (Fig. 4)。

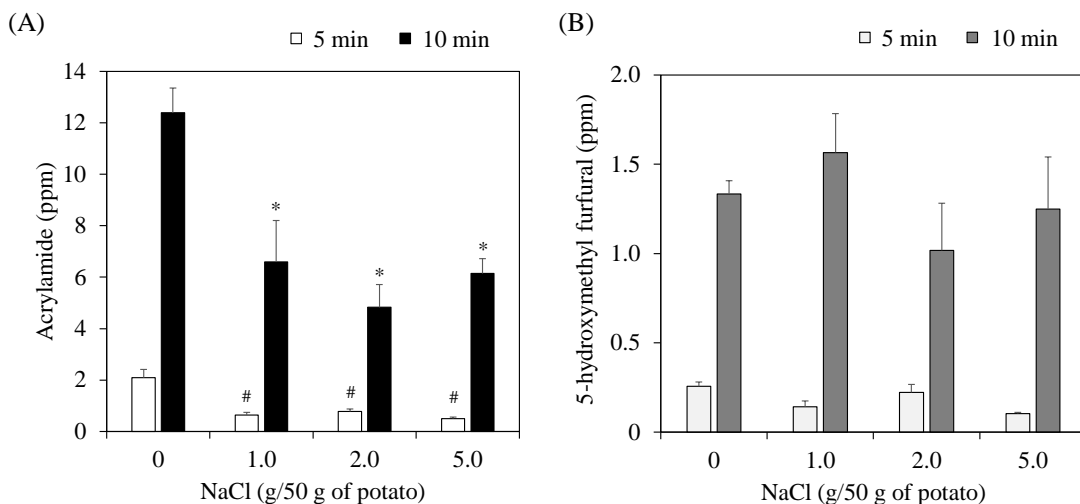
### 3. 3. 加熱処理したハッシュドポテト中のAAおよびHMFの生成に対するNaClの影響

#### 3. 3. 1. 加熱処理したハッシュドポテト中のAAの生成に対するNaClの影響

加熱処理したハッシュドポテトにおけるAAの生成に対するNaClの影響を Fig. 5 (A) に示した。「食べごろ」においては、AA生成量は、添加濃度2%で69.3%、4%で62.8%、10%で75.9%減少した。また、「焼焦げ」においては、AA生成量は、添加濃度2%で46.8%、4%で61.0%、10%で50.4%減少した。



**Fig. 4:** Relationship between acrylamide (AA) and 5-hydroxymethyl furfural (HMF) formation in Maillard reaction solution containing calcium chloride. (A) Production of AA and HMF in Maillard reaction mixture containing calcium chloride, (B) Correlation between AA and HMF production. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 M.



**Fig. 5:** Effect of sodium chloride on the formation of acrylamide and 5-hydroxymethyl furfural in hash browns. (A) Acrylamide, (B) 5-hydroxymethyl furfural. Hash browns were heated in a frying pan for 5 or 10 min. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. # represents  $p < 0.05$  compared with 0 g (heat for 5 min). \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 g (heat for 10 min).

### 3. 3. 2. 加熱処理したハッシュドポテト中の HMF の生成に対する NaCl の影響

加熱処理したハッシュドポテトにおける HMF の生成に対する NaCl の影響を Fig. 5(B) に示した。「食べごろ」においては、HMF 生成量は、添加濃度 2% で 44.5% 減少、4% で 56.0% 増加、10% で 53.0% 減少した。また、「焼焦げ」においては、HMF 生成量は、添加濃度 17.4% 増加、4% で 35.0% 減少、10% で 22.8% 増加した。

### 3. 4. 加熱処理したハッシュドポテトの色差測定

加熱処理したハッシュドポテト (Fig. 6) を色差計にて測定した。その結果、加熱処理後の「食べごろ」のハッシュドポテトは、NaCl 無添加と NaCl を各濃度で添加した試料を比較して、明るさを示す L\*値が減少傾向を示し、また、食塩を 5 g 添加したハッシュドポテトでは、黄色さを示す b\*値が減少した (Table 3)。一方、「焼焦げ」のハッシュドポテトは、色差に有意な差は認められなかった。

### 3. 4. メイラード反応溶液中に生成する変異・発がん物質の遺伝毒性に対する各種塩類の影響

各種塩類を 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 M 添加したメイラード反応溶液の変異原性をエームス試験で検定した。陰性対象 (DMSO) のコロニー数は、 $67 \pm 6.4/\text{plate}$ 、塩類を添加していないメイラード反応溶液のコロニー数は  $276 \pm 36.4/\text{plate}$  であり、メイラード反応溶液は、陰性対象の二倍以上のコロニー数を確認されたことから変異原性あり (陽性) と判断

した。塩類無添加と各濃度の NaCl を加えたメイラード反応溶液の培地のコロニー数 (NaCl 0.1 M 添加溶液:  $223 \pm 65.9$ , NaCl 0.5 M 添加溶液:  $221 \pm 29.2$ , NaCl 1.0 M 添加溶液:  $182 \pm 48.7$ , NaCl 2.0 M 添加溶液:  $172 \pm 41.2/\text{plate}$ ) を比較したところ、NaCl の添加により、コロニー数は減少傾向を示した (Fig. 7 (A))。塩類無添加と各濃度の KCl を加えたメイラード反応溶液の培地のコロニー数 (KCl 0.1 M 添加溶液:  $247 \pm 23.5$ , KCl 0.5 M 添加溶液:  $208 \pm 19.9$ , KCl 1.0 M 添加溶液:  $281 \pm 46.9$ , KCl 2.0 M 添加溶液:  $179.8 \pm 23.5/\text{plate}$ ) を比較したところ、0.5 および 2.0 M において、コロニー数の有意な減少が認められた (Fig. 7 (B))。塩類無添加と各濃度の MgCl<sub>2</sub> を加えたメイラード反応溶液の培地のコロニー数 (MgCl<sub>2</sub> 0.1 M 添加溶液:  $79 \pm 9.0$ , MgCl<sub>2</sub> 0.5 M 添加溶液:  $64 \pm 10.9$ , MgCl<sub>2</sub> 1.0 M 添加溶液:  $74 \pm 6.0$ , MgCl<sub>2</sub> 2.0 M 添加モデル溶液:  $49 \pm 3.1$ ) を比較したところ、MgCl<sub>2</sub> を添加した全てのメイラード反応溶液において有意な減少が認められた (Fig. 7 (C))。塩類無添加と各濃度の CaCl<sub>2</sub> を加えたメイラード反応溶液の培地のコロニー数 (CaCl<sub>2</sub> 0.1 M 添加溶液:  $49 \pm 17.1$ , CaCl<sub>2</sub> 0.5 M 添加溶液:  $25 \pm 3.1$ , CaCl<sub>2</sub> 1.0 M 添加溶液:  $20 \pm 1.4$ , CaCl<sub>2</sub> 2.0 M 添加モデル溶液:  $28 \pm 2.6$ ) を比較したところ、CaCl<sub>2</sub> を添加した全てのメイラード反応溶液において有意な減少が認められた (Fig. 7 (D))。

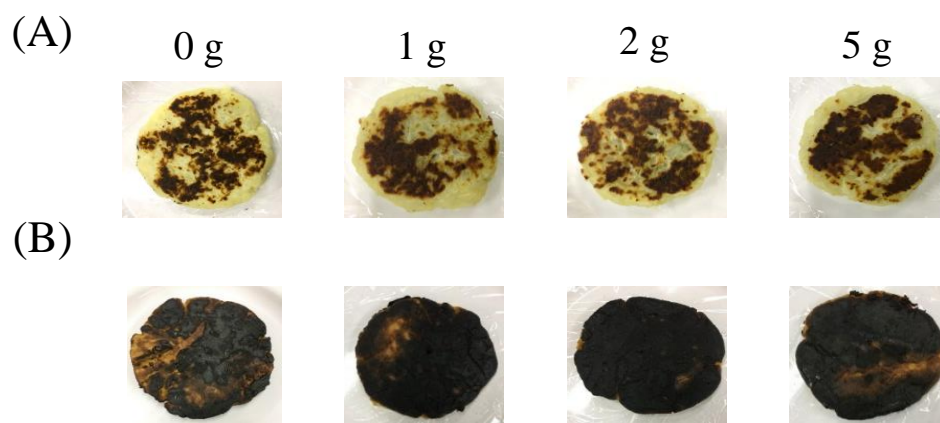
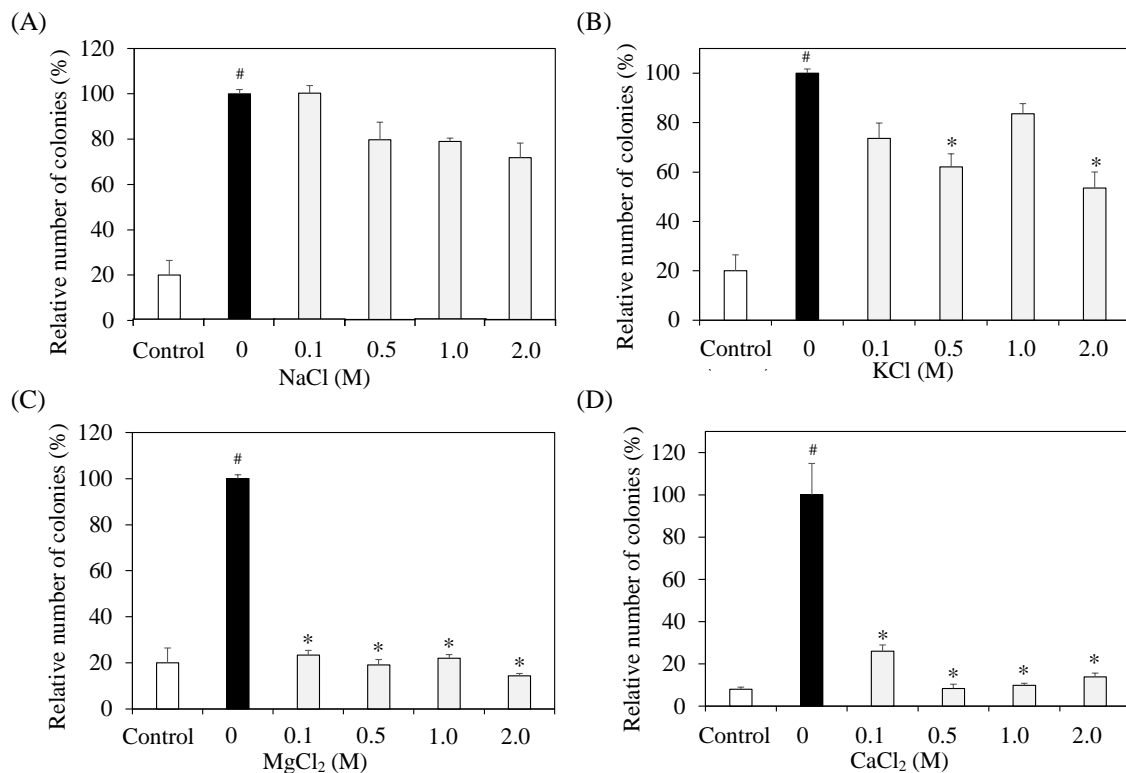


Fig. 6: Effect of sodium chloride on browning of heated hash browns. (A) Heat for 5 min, (B) heat for 10 min. Weight (g) indicates the amount of sodium chloride per 50 g of potato.

**Table 3:** Change of color on surface of heated hash browns with sodium chloride

Heating time		Sodium chloride (per 50 g of potato)			
		0 g	1.0 g	2.0 g	5.0 g
5 min	L*	43.8 ± 2.5	36.0 ± 1.5	35.7 ± 2.3	33.2 ± 3.1
	a*	4.4 ± 2.7	3.9 ± 3.3	6.9 ± 0.6	5.8 ± 0.7
	b*	17.5 ± 0.9	13.3 ± 1.3	14.2 ± 0.6	9.8 ± 2.9*
10 min	L*	22.5 ± 1.5	25.1 ± 1.0	22.9 ± 0.8	24.8 ± 1.4
	a*	2.5 ± 0.9	2.4 ± 0.5	2.7 ± 0.3	2.4 ± 0.7
	b*	1.9 ± 0.6	3.0 ± 1.5	0.7 ± 0.1	1.6 ± 0.3

Values represent the mean ± SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 g (heat for 5 min).



**Fig. 7:** Effect of various salts on the mutagenicity of Maillard reaction model solution. (A) Sodium chloride, (B) potassium chloride, (C) magnesium chloride, (D) calcium chloride. Values represent the mean ± SD for three independent experiments. # represents  $p < 0.05$  compared with control. \* represents  $p < 0.05$  compared with 0 M.

#### 4. 考察

メイラード反応は、還元糖とアミノ化合物を高温条件下で反応させた際に誘導され、フレーバー生成等に用いられることから、食品分野では重要な反応である。しかし、メイラード反応により、AA, HCAs, HMF 等の変異・発がん

物質が生成することから、メイラード反応を制御することが求められている。また、日常的に摂取している食品には調味料として塩類が使用されており、塩類は味付け以外にも脱水作用、防腐作用、タンパク質の変性作用等、食品の加工や保存にも用いられている。本研究では、塩類を用



いてメイラード反応を制御することを目的として、メイラード反応により生成する変異・発がん物質の生成に対する塩類の抑制効果を検討した。

メイラード反応液に各種塩類を添加したところ、いずれの塩類も濃度依存的にメイラード反応液の吸光度を減少させた。また、AAの生成に対する各塩類の効果を評価したところ、いずれの塩類も濃度依存的に抑制効果を示し、特に二価の塩類である $MgCl_2$ および $CaCl_2$ が強い抑制効果を示した。また、HMFの生成に対しては、KClおよびNaClはほとんど影響しなかったが、 $MgCl_2$ および $CaCl_2$ は、濃度依存的な増加効果を示した。これは、メイラード反応が阻害されたことにより、アミノ酸と還元糖の結合により生じるシッフ塩基の形成が阻害され、遊離の還元糖が加熱により分解されたことにより、HMFの生成が促進されたと考えられた<sup>(3)</sup>。さらに、ハッシュドポテトにNaClを添加して加熱したところ、AAの生成は有意に抑制されたが、HMFの生成は影響されなかった。また、メイラード反応液に塩類を添加して、その変異原性の誘導に対する効果を評価したところ、各塩類は変異原性に対して抑制効果を示し、特に二価の塩類が強い効果を示した。これらのことから、塩類の種類を選択し、加熱温度などを調整することにより、食品加工におけるメイラード反応の制御に繋がることが期待される。

## 5. 今後の課題

本研究成果より、塩類はその種類や濃度により、メイラード反応における化学物質の生成に対して、抑制または促進など様々な影響を及ぼすことが明らかになった。この要因として、塩類のイオン強度や各化学物質の生成メカ

ニズムの違いなどが考えられた。今後、食品分野におけるメイラード反応の制御に関して、化学物質の生成に対する塩類の影響やその作用メカニズムを明らかにすることで、ヒトの安全性において有用な知見を得ることができると考えられる。

## 6. 文献

- (1) Inagaki, R., Ito, F., Shimamura, Y., Masuda, S. Effect of chloride on the formation of 3-monochloro-1, 2-propanediol fatty acid diesters and glycidol fatty acid esters in fish, meats and acylglycerols during heating. *Food. Addit. Contam. A*, 36(2): 236–243 (2019).
- (2) Gökmen, V., Şenyuva, H. Z. Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. *Food Chem.*, 103(1): 196–203 (2007).
- (3) Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., Sérot, T. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Res. Int.*, 90: 154–176 (2016).

## 7. 謝辞

本研究は、公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団2019年度研究助成の支援を受けて行いました。ここに記して感謝致します。

## Inhibitory Effect of Salts on the Formation of Mutagens/Carcinogens from Maillard Reaction

Shuichi Masuda, Yuko Shimamura

School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka

### Summary

The Maillard reaction is induced when a reducing sugar is reacted with amino compounds under high-temperature conditions, and is an important reaction in the food fields. However, since the Maillard reaction produces mutagen/carcinogens such as acrylamide (AA), heterocyclic amines and 5-hydroxymethylfurfural (HMF), it is required to control the Maillard reaction. In this study, we examined the inhibitory effect of salts on the formation of mutagens/carcinogens from the Maillard reaction.

D-Glucose and L-asparagine were dissolved in phosphate buffer (pH7.4) and salts (NaCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>) were added. The solutions were heated at 121°C for 60 min to prepare Maillard reaction model solutions. The absorbance (450 nm) of the reaction solution was measured. When salts were added to the Maillard reaction model solution, all salts decreased the absorbance. The formation of AA and HMF in Maillard reaction model solutions were measured using LC-MS/MS. As a result, all salts decreased the formation of AA. Especially, MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> showed the strong inhibitory effects. Hash browns were cooked by adding NaCl. The change of color, the formation of AA and HMF were measured. Hash browns containing NaCl significantly decreased AA formation, while HMF formation unchanged. The mutagenicity of Maillard reaction model solution prepared by adding various salts to D-glucose, L-asparagine, and creatinine and heating at 121°C for 60 min was evaluated using the Ames test. The addition of salts to the Maillard reaction solution inhibited the mutagenicity. The divalent salts showed the strong inhibitory effect. These results suggest that salts have various effects such as inhibition or promotion on the formation of mutagens/carcinogens from Maillard reaction.