

## 加熱調理方法と Trp-P-1, Trp-P-2 生成量の関係

Formation of Trp-P-1 and Trp-P-2 from  
Foods Heated by Various Cooking Methods

井口 由紀\*・渋川 祥子\*・花井 義道\*\*

Yuki INOKUCHI\*, Shohko SHIBUKAWA\*, Yoshimichi HANAI\*\*

## Synopsis

Trp-P-1 and Trp-P-2 are known mutagenic compounds existed in scorch of foods such as fish and meat. To research the dependence of cooking temperature, time and instruments for the product amounts of Trp-P-1 and Trp-P-2, fish, meat and cake were cooked under various conditions. Cooked samples (2g) were soaked in acetone (10ml) more than 24 hours. Extract solutions were cleaned using Sep-Pac Florisil Cartridges with acetone and aqueous solution of NaOH. After clean-up the extracts were condensed and analyzed by a Liquid Chromatography under the following operating conditions. LC: Shimadzu LC-6A, Column: ODS 120A, 4.6 mm  $\phi$   $\times$  15 cm, Mobile Phase: 20mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, acetonitrile, 7:3, Flow rate: 0.8ml/min, Sample: 20  $\mu$ l, Detector: Fluorescence, EX 266 nm, EM 397nm. The lower detection limits of Trp-P-1 and Trp-P-2 by this method were about 0.1ng/g. The levels of Trp-P-1 in the cooked fish were 0.28-10.2ng/g, 0.1-2.81ng/g in the cooked meat and tr-2.18ng/g in the cooked cake. The levels of Trp-P-2 in the cooked fish were 0.25-6.2ng/g, 0.20-1.97 ng/g in the cooked meat and tr-4.64ng/g in the cooked cake. These results showed products amounts of Trp-P-1 and Trp-P-2 depended on the cooking temperature and time. Assuming the first order reaction, the activation energy of Trp-P-1 and Trp-P-2 were obtained from each Arrhenius plot.

## 1. 緒言

食品は加熱調理されることによって、食べやすく、消化吸収しやすくなり、また、好ましい食感や味、香りを生じ、食品の食用価値をいっそう高める場合が多い。さらに、細菌や寄生虫による危険を避けるためにも、加熱調理は不可欠なことである。しかし、食品を加熱調理すれば、食品中の成分間に相互反応が起こり、変異原物質、化学発癌物質が生成されること、また、

近年日本人に増えてきた癌の原因の一つが食品にもあることが明らかにされてきた。つまり、人間にとって食品を加熱調理して食中毒などを防ぐという定着した安全追求がかえって発癌物質をつくっているという相反した現象を生んでいるのである。

そこで、より安全性の高い食生活をするにはどうしたらよいのかということは、現実的な問題となってきた。食品を加熱調理して摂取することは、日常の食生活の中で不可欠なことである。この加熱調理における加熱分解物質については、変異原物質の生成やその抑制効果に関して、多方面からの研究報告がなされている。

食品の加熱によって生成される変異原性に注目されたのは、煙草のタールがもとであったとSUGIMURA<sup>1)</sup>は言う。煙草の煙から出るタールに発癌性があるのならば、魚を焼いた時に部屋の中に充満する煙も有害なのではないかということになったのである。その後の実験によって、魚を焼いた時の煙の中から変異原性物

\* 横浜国立大学 教育学部 家政学教室  
Department of Home Economics, Faculty of Education, Yokohama National University

\*\* 横浜国立大学 環境科学研究センター 環境基礎工学研究室  
Department of Environmental Engineering Science, Institute of Environmental Science and Technology, Yokohama National University, 240 Yokohama.  
(1991年11月30日受領)

質が確認された。また、煙に変異原性物質が含まれているのならば、もとの魚の焦げの部分にも変異原性物質が生成されているのではないかということになった。その結果、魚を焼いた時の焦げの部分からも、変異原性物質が確認され、焼く前の魚から変異原性物質が確認されなかったことから、「焼く」という一般的な調理方法によって、変異原性物質が生成されるということが、明らかにされた。

やがて、変異原性物質は、蛋白質やアミノ酸が焦げると生成されるという見当がついた。そこで、アミノ酸の一種であるトリプトファンを焦がして生成される変異原性物質にそれぞれ Trp-P-1, Trp-P-2 と略称がつけられた。続いて、グルタミン酸から Glu-P-1, Glu-P-2 が、リジンから Lys-P-1 などが発見された。IQ, MeIQ などとも続いて発見されたが、これらはヘテロサイクリックアミンと呼ばれる一群の化合物である。

マウスを用いた発癌性の実験の結果より、Trp-P-1 や Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 が肝臓癌を引き起こすこと<sup>9)</sup>が分かった。また、これらの癌は雌の方に多く現れた。Glu-P-1, Glu-P-2 については、肝臓癌の他に、マウスの肩甲骨の間にある褐色脂肪組織から血管内皮細胞肉腫ができてること<sup>9)</sup>も分かった。このようにして、普通の調理で、変異原性物質が生成されていることがわかり、そのあるものは発癌物質と同定されたのである。

杉村・長尾<sup>9)</sup>が魚の焼け焦げ部分の変異原性物質について研究を行っている頃、アメリカでは Commoner<sup>9)</sup>らが、ハンバーガーから変異原性物質を発見していた。杉村・佐藤らの総説<sup>9)</sup>や Commoner らの研究の結果より、次のようなことが報告されている。加熱時間の長いものに変異原性が高く見られている。また、150°Cを越すと、変異原性が急速に増大すること、高温になっても水分含量が多ければ、収量は著しく減少すること、魚の場合は、生のものより干物のように水分含量の少ないものの方が、変異原性が高いなど、数々のことが明らかにされてきた。

また、Trp-P-1, Trp-P-2 の変異原活性については Ames 法での結果が出されている。村岡<sup>9)</sup>は調理済みの食品の変異原性を Ames 法を用いて調査を行っている。その結果より、調理済み食品における蛋白質加熱分解物の変異原活性は、単一アミノ酸加熱分解物の変異原性よりも弱いということが示されている。また、複雑な材料の組み合わせによる調理食品では、単一材料での生成物とは異なった変異原物質が生成される可能性が大きいということが示されている。

このことより、食品中の栄養素の構成物質や調理食品の材料の組み合わせによっても変異原物質の生成は影響を受けていることが明らかにされてきた。

また、Trp-P-1 および Trp-P-2 の定量については、YAMAIZUMI らの報告<sup>9)</sup>によると、丸干しいわしからは Trp-P-1 が 13.3ng/g、また Trp-P-2 が 13.1ng/g の値で検出されている。(また、彼らの報告には、調理方法によっても生成は異なるだろうということが示唆されている。) YAMAIZUMI らの報告では、Trp-P-1, Trp-P-2 の定量をガスクロマトグラフィーで試みているが、MANABE ら<sup>9)</sup>は雨水中から Trp-P-1 および Trp-P-2 の定量を液体クロマトグラフィー蛍光分析法で行い、結果を報告している。

加熱分解変異原物質の抑制についても以下のような報告がなされている。

賀田<sup>10)</sup>は有効な野菜は変異原によって異なっているが、野菜・果実類の抽出物がアミノ酸の加熱分解物の変異原性を抑制することを見出している。種々の野菜より調整した繊維類を Trp-P-1, Trp-P-2, Glu-P-1, Glu-P-2 等を含む水溶液に浸すと、1~5 時間位の間に、水溶液の変異原性が消失してしまうという結果を示している。実験に用いた繊維を回収して調べたところ、これらの変異原化合物類は、繊維に強く吸着されていることが分かった。その他に、賀田<sup>11)</sup>はさとうの変異原性抑制効果も報告している。また、唾液による抑制効果が古場<sup>12)</sup>により報告されていて、食事の咀嚼の重要性もあると考えられている。

また、ヘミン化合物の Trp-P-2 に対する活性抑制についての報告<sup>13)</sup>や、焼け焦げの部分に対して、オレイン酸やリノール酸が変異原性抑制作用をしているという報告<sup>14)</sup>もされている。ヘミンや脂肪酸は、in vitro において種々の変異原性を抑制している。しかし、これらの化合物が生体構成物質として、また、食品の成分として身体の中に入ってきた時に、はたしてどのような反応が起こるかは、まだ今後の課題とされている。

また、人の腸の内容物中にも変異原性抑制物質の存在が証明<sup>15)</sup>されている。このことは、糞便のエーテル抽出物の変異原性についての実験についても報告がされているが、糞便のエーテル抽出物からは変異原性は見られなかったと示されている報告に基づいている。

KATO ら<sup>16)</sup>の報告により、メイラード反応生成物の変異原性抑制の効果も報告されている。メイラード反応は、アミノ酸と糖の加熱分解反応によって、褐変や

匂いが生成される反応であるが、この食品を加熱した時に生成される焦げの生成、変異原性物質の生成も、このメイラード反応の一部である。つまり、メイラード反応により生成される物質に変異原性がある一方で、その変異原性を抑制する物質も生成されているということである。このことについては、アミノ酸、糖をそれぞれに熱分解すると、それぞれに突然変異原性を生ずるが、アミノ酸と糖を一緒に加熱すると、突然変異原性が激減するという報告も OMURA<sup>16)</sup> によってされている。

以上のように食品中の変異原性物質については、抑制効果に関する報告も多数されているが、危険を回避あるいは最小限にとどめる方法として、加熱調理の面から追求していくことも重要な課題であると思われる。もし、それらの変異原性物質の生成を抑制する方法、また、生成される発癌物質がより少ない方法があるならば、より安全性の高い方を選ぶべきであろう。そして、それが調理方法によっても違いが見られるのであれば、より変異原性の生成されない調理方法が望ましいと考えられる。

そこで、本実験においては SUGIMURA, SATO らの報告をもとに、Trp-P-1, Trp-P-2 の変異原活性が高まったこと、魚を「焼く」という一般的な調理方法によって、これらの変異原物質が生成されるという結果より、Trp-P-1, Trp-P-2 の生成について加熱調理の面から、特に本実験においては焼き加熱に注目して実験を行うことにする。そして、それらの生成されやすい加熱調理方法を見出すと同時に、どのような加熱条件にすればそれらの生成を防ぐことができるかということをはっきりとすることによって、より人体に安全な調理加工の方法を検討することを目的に実験を行うことにする。

## 2. 測定方法

### 2.1. Trp-P-1, Trp-P-2 の測定法の検討

加熱調理された食品中の Trp-P-1, Trp-P-2 を共存する他の成分から分離し、精度良く検出するためには、高感度で選択性の高い測定機が必要とされる。

測定機への導入量が ng オーダーである成分の分析は、一般に微量分析と言われているが、本実験において要求されるのは、さらに微量の pg オーダーであり、超微量分析の領域となる。

これまでに YAMAIZUMI らによって、加熱調理した魚の中の Trp-P-1 および Trp-P-2 をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を用いて MID

法で定量した報告<sup>9)</sup>がされている。また、MANABE らによって雨水中の Trp-P-1, Trp-P-2 を液体クロマトグラフ (LC) 蛍光検出器を用いて定量を行った報告<sup>9)</sup>がなされている。

いずれもクロマトグラフによる分離・定量であるが、GC/MS は気体を、LC は液体を移動相とする点が異なっている。気体を移動相とする場合は、気体 (He, H<sub>2</sub> など) を充填したポンペを供給源とすれば良く、昇温分析によって、数多くの成分を分離できる。ポンペの交換は長期間必要でなく、カラムが汚れた場合も洗浄、高温でのエイジングによって容易に性能を回復することができる。しかし、蒸気圧がなく、揮発しない成分は測定できない。また、熱に不安定な成分、吸着性の高い成分は測定が困難である。

これに対して LC は測定成分に適した移動相が成分ごとに異なっており、移動相の調整を頻繁に行わなければならない。また、多量の有害な化学薬品が廃棄されることになる。しかし、GC で測定できなかった不揮発成分や熱不安定成分、吸着性の強い成分も適当なカラム、移動相を選択することによって測定可能となる。

本実験では GC/MS-SIM 法、LC 蛍光法を同時に採用し、それぞれについて最適の条件を追求し、実際の試料を分析することにした。

### 2.2 標準試料の検定

標準試料は和光純薬製の Trp-P-1 (酢酸塩)、Trp-P-2 (酢酸塩) を用いた。この標準試料については純度が不明であったため、まず GC-FID で純度を検定することにした。水素炎検出器 (FID) は、有機物の検出に使用されており、原理的に相対モル感度は、有効炭素数に比例することが知られている。

純度の検定には、Trp-P-1 や Trp-P-2 と構造式の似たカルバゾール (東京化成製、純度 100%) を用いて、ピーク面積の比から Trp-P-1, Trp-P-2 の純度を求めることにした。Trp-P-1, Trp-P-2 をそれぞれ秤量し、10ml の蓋つき試験官に入れ、アセトン 10ml を加える。さらに、1N の NaOH 水溶液を 1ml 加え、アルカリ性にし、酢酸塩から Trp-P-1, Trp-P-2 を再生した。カルバゾールについても秤量し、10ml の蓋つき試験官に入れ、アセトン 10ml を加えた。

GC-FID は HP-5880 を、カラムは HP-1 0.53 mm φ × 5m 膜厚 2.65 μm を 80°C (5min) → 20°C / min → 260°C で使用した。

測定の結果、Trp-P-1 の純度は 44.7%, Trp-

P-2の純度は、42.8%であることが分かった。

### 2.3 GC/MS-SIM法の分析条件

2.2で検出した標準試料をさらに希釈して、GC/MS-SIM法における定量分析用の $2\text{ ng}/\mu\text{ l}$ の標準溶液を作成した。GC/MSは日本電子製のDX 303 HF、カラムはHP-1  $0.53\text{ mm}\phi\times 10\text{ m}$ 膜厚 $2.65\mu\text{ m}$ を $160^\circ\text{ C}\rightarrow 20^\circ\text{ C}/\text{min}\rightarrow 240^\circ\text{ C}$ 、He  $15\text{ ml}/\text{min}$ で使用した。イオン化電圧 $70\text{ V}$ 、設定質量数は分子イオンかつ基準ピークである211(Trp-P-1)と197(Trp-P-2)とした。

以上の条件にしたがって分析したSIMのクロマトグラムを図1に示す。各成分の保持時間はTrp-P-1が4分、Trp-P-2が3分50秒で、1回の分析時間が6分で終了するようにした。クロマトグラフで分かるように、Trp-P-1、Trp-P-2はピークがテーリングしており、 $1\text{ ng}/\mu\text{ l}$ 以下の試料ではテーリング部分の割合が多くなり、良好なピークは得られなかった。また実際の試料でも不検出となる場合が多く、また検出されたとしても測定値の再現性は得られなかった。

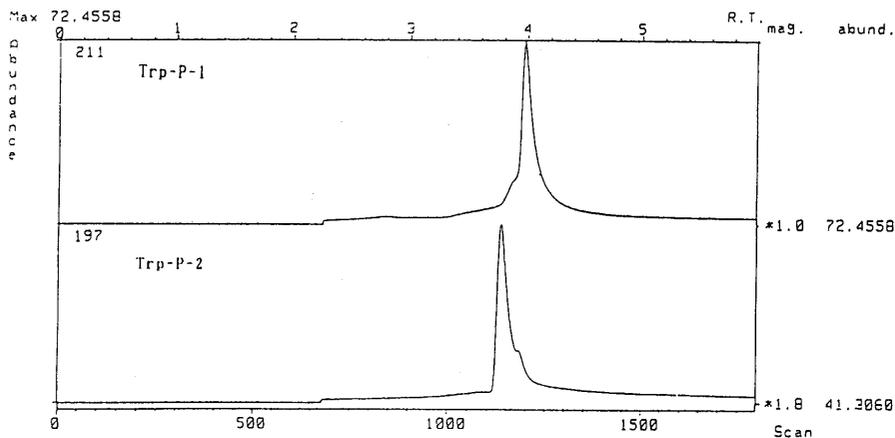


図1 GC/MS-SIM 分析のクロマトグラム  
標準溶液  $2\text{ ng}/\mu\text{ l}$

### 2.4 LC蛍光法の分析条件

LC蛍光の分析条件はMANABEらの方法<sup>9)</sup>を参考に以下のとおり設定した。

高速液体クロマトグラフィーポンプ  
島津 LC-6 A

検出器 高速液体クロマトグラフ用  
島津分析蛍光HPLCモナ RF-535

カラム ODS 120 A (東ソー株式会社製)  
 $4.6\text{ mm}\phi\times 15\text{ cm}$

データ処理 島津クロマトパック 6 A

波長 EX 266nm  
EM 397nm

移動相  $20\text{ mMol}$  リン酸水溶液 : アセトニトリル = 7 : 3

流量  $0.8\text{ ml}/\text{min}$

導入量  $20\mu\text{ l}$  サンプラーの付いたインジェクターに  $50\mu\text{ l}$  導入

LC蛍光法は、GC/MS-SIM法に比べはるかに高感度であったため、2.2の標準試料をさらに $1/1000\sim 1/10000$ に希釈した。また実際の試料を分析するときにはクリーンアップと濃縮過程を含むので、標準試料も同様な処理をしてから分析した。図2にLC蛍光法によるクロマトグラムを示す。表1に $2\text{ ng}/\text{g}$ と $20\text{ ng}/\text{g}$ に相当する標準試料を5回分析したと

表1 Trp-P-1, Trp-P-2の測定面積値の再現性  
 $n=5$ , 平均値 $\pm$ 標準偏差

試料	Trp-P-1	Trp-P-2
$2\text{ ng}/\text{g}$	$153 \pm 6.6$	$136 \pm 11$
$20\text{ ng}/\text{g}$	$1510 \pm 114$	$1590 \pm 176$

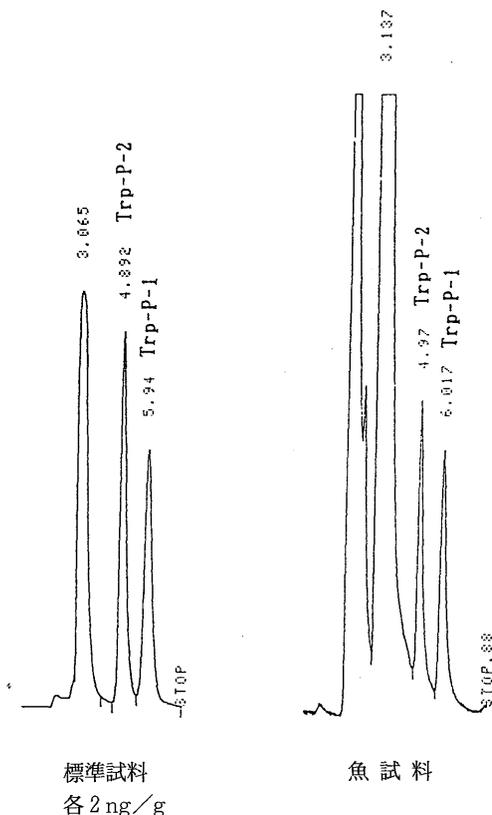


図2 LC蛍光分析のクロマトグラム

きの面積値の平均値と標準偏差を示す。濃度と面積値は比例し、再現性は良好であった。また Trp-P-1 と Trp-P-2 はほぼ等感度であった。分析は1検体10分以内に終了し、多数の試料を連続的に測定したが、ベースラインは安定し、分離性能の低下もみられなかった。したがって試料はGC/MSではなくLC蛍光法で分析することにした。

## 2.5 試料の前処理

まず問題となるのは抽出溶媒を何にするかということである。必要条件は、Trp-P-1およびTrp-P-2の溶解度が高く、しかも親水性、親油性のある溶媒であることである。食品は水分の含有量が高く、親水性でなければ、内部まで浸透し、Trp-P-1およびTrp-P-2を抽出することができない。また、脂肪組織から抽出するには親油性であることも必要である。検討の結果、アセトンが最も適していた。

測定する試料を細分化して2gをふた付き試験官に入れ、これに5mlのアセトンを加えて24時間以上浸透して抽出することにした。

食品を抽出したアセトン溶液には高級脂肪酸など、多量の有機成分が共存する。Trp-P-1やTrp-P-2はアミノ基を有する塩基性物質であり、共存する酸と反応して、塩となる可能性がある。これらの反応によって、妨害となるピークが出る場合もあり、数多くの抽出試料を導入すればカラムの劣化を早めることになる。また、検出限界を下げるために、抽出液を濃縮する場合にも、共存物質が多いとゲル状化する場合がある。

抽出試料を安定に保存し、妨害ピークを除き、カラムの劣化を防ぎ、濃縮して検出感度を上げるためにはクリーンナップ操作が必要である。

また、測定検体数が多くなるため、短時間で処理が行えるようにするために市販のカートリッジを用い、新しいクリーンナップ法を開発した。市販のカートリッジは大量生産されており均一で安定した性能が得られる。また、薬品の使用量および操作時間を大幅に短縮することが可能である。

クリーンナップ操作には Waters Division of Millipore 製品 Sep-Pak Florisil Cartoridge を用いた。フロリジルを用いたのは、Trp-P-1およびTrp-P-2を選択的に化学吸着させるためである。クリーンナップの効果と、その回収率を調べるために以下のような実験を行った。手順①10ng/μlの標準5mlをカートリッジに通す。②アセトンを2ml通す。③アセトンを2ml通す。④アセトンを2ml通す。⑤1NのNaOHを1ml通す。⑥アセトンを2ml通す。⑦アセトンを2ml通す。⑧アセトンを2ml通す。

①から⑧まで流出した溶液を分取し、GC/MS-SIMで分析した。その結果、①から⑤までは溶出しなかったが、Trp-P-1、Trp-P-2ともにフロリジルの注入した全量の90%が⑥で、10%が⑦で回収することができた。

実験の結果より、アセトンに含まれるTrp-P-1およびTrp-P-2はフロリジルに化学吸着し、アセトンでは溶出しにくいこと、1NのNaOH水溶液で離脱させた後、さらにアセトンを加えれば5ml程度で、ほぼ100%溶出できることが分かった。

実際の測定試料のクリーンナップの手順を以下に示す。

- 1) アセトン抽出の試料5mlをカートリッジに通す。
- 2) アセトン5mlをカートリッジに通す。
- 3) 1NのNaOH1mlをカートリッジに通す。
- 4) アセトン5mlをカートリッジに通し、流出する溶液を蓋つき試験官に採取する。

1)～4)の操作に必要な時間は5分程度である。実

際の試料では検出限界をさらに下げるとホットプレート上でアセトン揮発させ1mlまで濃縮することにした。標準試料溶液も試料と全く同様にクリーンナップおよび濃縮を行い、これをさらに希釈して標準とした。

### 3 実験方法

#### 3.1 通常の加熱調理による生成量

丸干しいわし、あじの開き、牛ひき肉、スポンジケーキをガスレンジ、オーブンをを用いて、通常の方法で加熱し、Trp-P-1, Trp-P-2の生成量を調べた。スポンジケーキを用いたのは、動物性蛋白質でトリプトファンの含有量がいわしや牛肉とほぼ同じである卵を使い、表面に褐変物質のできる調理であるからである。

丸干しいわしとあじの開きは横浜市内の魚屋で実験当日購入した1尾を1回試料とし、冷蔵庫内に置き、温度を安定させたものを焙焼用の試料とした。

牛ひき肉は、肉屋で実験当日購入したひき肉を直径5cm、厚さ1cmのハンバーグ状に整形し、冷蔵庫内で温度を安定させたものを焙焼用の試料とした。

スポンジケーキは小麦粉200g、卵200g、砂糖180g、水80g、起泡剤6g、バニラエッセンス少々をハンドミキサーで攪拌して焙焼用の試料とした。

加熱調理器具として丸干しいわしはグリル、ガスオー

ブン、電気オーブンを、あじの開きはグリルを、牛ひき肉はガスオーブンを、スポンジケーキはガスオーブンと電気オーブンをを用いた。

オーブンは、庫内温度が安定した後、庫内中央に試料がくるように、試料を設置し、焙焼を行った。温度は熱電対で測定した。

焙焼後、試料の重量を測定し、あらかじめ測定した重量からの減少量から水分蒸発率を求めた。それぞれの試料から2gをふたつき試験官に入れ、これにアセトン10mlを加え、24時間以上浸透抽出し、抽出液5mlを前述した。クリーンナップ処理とLC蛍光法によって分析した。

#### 3.2 加熱温度と時間が生成量に与える影響

Trp-P-1やTrp-P-2の生成について、時間別、また温度別に調べることによって、時間や温度への依存性とその生成量との関係を明らかにすることを目的とし、実験を行うことにした。

なお試料については、3.1に引き続き、魚、肉、卵を用いることにした。魚の代表には、いわしのすり身を用いた。また、肉には牛肉のひき肉を用い、卵にはスポンジケーキの種を代用した。

魚については、70℃から130℃で焙焼した。これは中心温度が70℃になった時点で、一般には食べられ

表2 通常の調理方法による Trp-P-1, Trp-P-2 の生成量

材 料	加熱機器	火力 庫内温度	時間 分	水分蒸発率 %	測定 部分	Trp-P-1 ng/g	Trp-P-2 ng/g
丸干しいわし	グリル	強火	5	32	表面	0.8	2.3
	"	"	10	50	"	0.8	3.6
	ガスオーブン	300℃	10	37	"	0.7	1.7
	電気オーブン	300℃	10	28	"	1.6	1.4
	"	"	15	54	"	5.8	2.4
あじの開き	グリル	弱火	13	37	表面	4.6	5.0
	"	"	"	37	中身	0.6	0.5
	グリル	弱火	18	47	表面	10.2	6.2
	"	"	"	47	中身	4.2	3.4
牛ひき肉	ガスレンジ	中火	1	9	全体	0.2	0.5
	"	"	2	23	"	0.1	0.4
	"	"	4	35	"	0.1	0.5
	オーブン	300℃	5	36	"	0.2	0.3
	"	"	10	51	"	0.2	0.5
スポンジケーキ 卵と小麦粉	ガスオーブン	中身が90℃で5分		10	表面	tr<0.1	tr
	電気オーブン	"		10	"	tr	tr

るとすることから、70℃を測定の最低温度とした。また、焦げができるのは100℃以上であり、またあじの開きで実験を行った結果、表面付近の温度が125℃くらいであったということより、測定の上限を130℃とした。

肉については同様に中心温度が85℃に達していれば、十分に食べられるということで、85℃とし、上限は焦げのできる温度として130℃とした。

スポンジケーキについては、一般にオーブンで焙焼した時の、焼き上がりの表面温度が130℃くらいであるということより、130℃から表面が完全に「焦げている」と言われる状態である160℃までを測定の温度とし、実験を行うことにした。材料は卵25g、小麦粉25g、砂糖23g、水10ccを用いた。

いずれの試料も5gを油浴を用いて一定条件で加熱した。それ以後の操作は3.1と同じである。

### 3.3 加熱調理方法と生成量の関係

実際に行われている調理方法を用いて、魚や肉を焙焼し、どのような加熱条件下において Trp-P-1 や Trp-P-2 が生成されやすいか調べることにした。

本実験においては、調理条件として、人が食べられることを前提にしたので、食べるのに適した時点、魚は中心温度が70℃、肉は80℃で加熱を終了することにした。

また、調理方法は、オーブン、魚焼き用のガスレンジ付属のグリラー、ガスレンジに魚焼き用の網を載せて焙焼するなど、一般家庭の調理方法として、日常生活で用いられているような方法を採用した。また、試料には魚の代表として、3.2で用いた魚のすり身35gをパイレックス型に詰めたものを用いた。

以後の操作は3.2と同じである。

表3 加熱温度と時間別の Trp-P-1, Trp-P-2 生成量

材 料	加熱機器 ℃	時間 分	水分蒸発率 %	Trp-P-1 ng/g	Trp-P-2 ng/g
いわしすり身	70℃	0	5	0.73	0.33
		5	19	0.98	0.36
		10	36	0.96	0.44
	85℃	0	6	0.73	0.25
		5	28	1.04	0.30
		10	47	1.10	0.30
	100℃	0	20	0.73	0.30
		5	47	1.35	0.62
	130℃	0	48	0.98	0.83
		5	64	1.88	1.11
		10	73	3.46	2.28
	ひき肉	85℃	0	8	0.31
5			31	0.40	0.20
10			40	0.50	0.25
100℃		0	23	0.34	0.27
		5	49	0.68	0.37
		10	56	1.20	0.61
115℃		0	31	0.60	0.51
		5	55	1.15	0.49
		10	61	2.81	1.36
130℃		0	41	1.12	1.10
		5	60	2.63	1.97
スポンジケーキ		130℃	0	7	0.41
	5		30	0.50	1.14
	10		38	0.62	1.57
	145℃	0	6	0.59	0.38
		5	34	0.98	2.54
		10	38	1.24	4.05
	160℃	0	11	0.50	1.35
		5	37	2.18	4.64

#### 4. 結果と考察

3.1の実験方法による Trp-P-1, Trp-P-2の生成量の測定結果を表2に示す。いわしを異なった加熱条件下で一定時間焙焼した結果、生成量に差が見られた。また、同じ加熱条件下においても加熱時間が長い試料に、より多くの Trp-P-1, Trp-P-2が生成されていた。これらの結果より Trp-P-1, Trp-P-2の生成は加熱方法によって異なること、時間依存性があることが推察される。

あじの開きを焙焼し、表面部分と中身における Trp-P-1, Trp-P-2の生成量を比較した結果、表面部分に多く生成されていた。表面部分により多く生成されていたことより、Trp-P-1, Trp-P-2の生成の温度依存性があることが推察される。

牛ひき肉、スポンジケーキを焙焼した結果、Trp-P-1, Trp-P-2の生成量は魚より少なかった。スポンジケーキにおける生成量は検出限界に近い値であった。

次に3.2の実験方法による Trp-P-1, Trp-P-2の生成量の測定結果を表3に示す。いわしのすり身では、70℃、または85℃においては、Trp-P-1,

Trp-P-2ともに、0分から10分の間において、生成量は非常に少なかった。また、5分、10分の時間の経過を追って結果を見ると、100℃、130℃においては、時間の長い方が、生成量が多くなるという結果が得られた。このことより、Trp-P-1やTrp-P-2は、同一調理条件下においては、低温よりも高温の方で、生成されやすいということが言える。また、高温下においては、加熱時間の長い方が、より多く生成されることが実験の結果から確認された。ひき肉についても同様な結果を得た。

卵を使ったスポンジケーキでは魚、肉と比べ130℃での生成量は少なかったが、145℃、160℃の5分間で生成量が急増した。

以上の測定結果を反応速度論によって整理した。まず、原料の濃度は反応初期は一定とし、各温度での0分から5分にかけての Trp-P-1, Trp-P-2の増加したモル濃度から反応速度を求めた。

横軸は絶対温度の逆数、縦軸は各温度での反応速度の自然対数とするアレニウスプロットを試みたところ良好な直線関係が得られた。そこで直線の傾きから活性化エネルギーを求めた結果を表4に示す。

次に3.3の実験方法による Trp-P-1, Trp-P-

表4 Trp-P-1, Trp-P-2生成の活性化エネルギー

材 料	Kcal/mol	
	Trp-P-1	Trp-P-2
いわしすり身	7.0	1.05
牛ひき肉	16.5	18.4
スポンジ (卵と小麦粉)	29.4	19.8

表5 加熱調理方法と Trp-P-1, Trp-P-2生成量の関係

材 料	加熱機器	火力 庫内温度	時間 分	水分蒸発率 %	Trp-P-1	Trp-P-2
					ng/g	ng/g
いわしすり身	強制対流式オーブン	100℃	19	16	0.28	0.56
	"	300℃	6	24	0.33	0.76
	グリル	弱火	8	24	0.50	1.07
	"	強火	6	26	0.88	2.45
	ガスレンジ(鉄弓)	弱火	24	16	0.44	0.67
	"	強火	8	19	0.76	1.33
	" (直火)	弱火	12	10	0.36	0.52

2 生成量の測定結果を表 5 に示す。いわしのすり身を材料とした実験ではオープンによるものよりグリル、ガスレンジによる直火焼き加熱の強火の試料で生成量が多かった。これらの試料は焦げが多く見られた。弱火で調理した試料は生成量は少ないが、焼き魚として食べる場合は視覚的に好ましくなかった。

焼き魚としては、中の皆味成分を逃がさないようにするために、表面部分を早く固めて、適度に焦げ目をつけるのが好ましい。焦げは水分含有率が一定以下となり、水の蒸発による吸熱作用がなくなり高温に達した部分で生ずる。直火で加熱すると、表面温度が均一とならず部分的に高温となりやすい。強制対流式オープンでは表面は均一に加熱し、適度な焦げ目をつける上で優れており、Trp-P-1, Trp-P-2 の生成量を抑制することができる。

## 5. 結 語

実験の初期の段階では、調理材料、加熱方法の相違によって極端に Trp-P-1, Trp-P-2 の生成量が多くなる場合があるのではないかと考えていた。もし、それが判れば、発癌の防止対策として有益な情報となる。しかし実験の結果、通常の調理方法ではそうした場合はなかった。また焦げの部分にだけ生成するわけではなく、一般的な化学反応と同じく、試料の加熱温度と時間に依存して生成量が決まることが判った。焦げの中に量が多いのは部分的に温度が高くなったためである。

加熱調理は人類の発生以来、引き継がれており、加熱によって生ずる有害成分に対する抵抗力を人体は他の動物以上に備えていると思われる。エイムス法やマウスなどによって得られたデータをそのまま人体に適用することは出来ない。他にも危険物質が氾濫する現代において、加熱調理によって生成する有害物質に過度に神経質になる必要はないと思われる。とは言え、安全上は焦げの摂取を少なくした方が良く、調理方法も焦げを適度に付ける程度が望ましい。

## 文 献

- 1) Takasni Sugimura  
"Carcinogenicity of mutagenic heterocyclic amines formed during the cooking process"  
Mutation Reserch, 150(1985)33-41
- 2) Sugimura, T., Sato, S.  
"Mutagens/carsinogens in foods"  
Cancer Res.(1983)
- 3) Sugimura, T., Sato, S., and Takayama, S.  
"New mutagenic heterocyclic amines found in amino acid and prote in pyrolysates and cooked food."  
Preventive Med. (1983)
- 4) Sugimura., T., Nagao, M., Kawachi, T., Honda, M., Yahagi, T, .Seino, Y., Sato, S., Matsukura, M., Matsushima, T., Shirai, A., Sawamura, M., and Matsumoto, H.  
"Mutagen - carcinogens in food, with special reference to Cancer." Book C, Cold Spring Harbor Laboratory, (1977) 1561 - 1567
- 5) Commoner, B., Vithayathil, A.J., Dolora, P., Nair, S., Madyastha, P., and Cuca, G. C.  
"Formation of Mutagens in beef and beef extract during cooking"  
Sience, 201(1978)913-916
- 6) Sugimura, T., Sato.S.  
"Mutagens-Carsinogens in Foods"  
Cancer Res.43 (1983) 2415-2421
- 7) 村岡 知子, 高橋 仁美  
「調理食品の変異原活性の検索. I. 幼稚園児会について」  
山陽学園短期大学研究論集 13 (1982) 71-78
- 8) Ziro YAMAIZUMI, Tomoko SIOMI, Hiroshi KASAI, Susumu NISIMURA, Yuri TAKAHASHI, Minako NAGAO and Takashi SUGIMURA  
"Detection of potent mutagens, Trp-P-1 and Trp-p-2 in broiled fish"  
Cancer Letters, 9 (1980) 75-83
- 9) Shigeo Manabe, Eiji Uchino and Osamu WADA  
"Carcinogenic tryptophan pyrolysis products in airborne particles and rain water"  
Mutation Reserch, 226 (1989) 215-221

- 10) T.Kada, K.Morita and T.Inoue  
Mutation Res, 53 (1973) 351
- 11) 賀田 恒夫  
「調理と変異原性物質」  
調理科学 17 (1984) 129-135
- 12) 古場 久代, 長谷川 幸雄, 松岡 麻男, 中里 富美子, 左 篤子, 久木野 睦子, 塩田 教子  
「加熱調理によって生じる養殖ぶりの変異原性と失活性」  
日本家政学会誌, 39 (1988) 1105-1110
- 13) Arimoto, S., Ohara, Y., Namba, T., Negishi, T., and Hayatsu, H.  
“Inhibition of mutagenicity of amino acid pyrolysis products by hemin and other biological pyrrole pigments.”  
Biochem.Biopys.Res.Comm., 92 (1980) 662-668
- 14) Hayatsu, H., Arimoto, S., Togawa, K., and Makita, M.  
“Inhibitory effect of the ether extract of human feces on activities of mutagens: Inhibition by oleic and linoleic acid.”  
Mutation Res., 81 (1981) 287-293
- 15) S. B. Kim, F. Hayase and H. Kato  
Agric.Biol.Chem, 49 (1985) 785
- 16) H. Omura, N. Japan, K. Shinohara and H. Murakami  
“The Maillard Reaction in Food and Nutrition”  
ed. by Waller and Feather ACS Symp. Ser. 215 (1983) 537