

# 味噌の DPPH ラジカル捕捉能に関する研究

竹内徳男，稲荷妙子，森本仁美，毛利光之\*

\* (社)中央味噌研究所

(2003年9月11日受理)

## Studies on the DPPH Radical Scavenging Capacity of Miso

Department of Nutrition and Food Science, Faculty of Home Economics,  
Gifu Women's University, 80 Taromaru Gifu, Japan (〒501 - 2592)

\*Central Miso Research Institute, Shinkawa1 26 19

Chuo-ku, Tokyo, Japan (〒140 0033)

TAKEUCHI Tokuo, INARI Taeko, MORIMOTO Hitomi and MOURI Mitsuyuki\*

( Received September 11 , 2003 )

### 緒 言

味噌は，わが国の食生活の基盤を形成するとともに，多様な食品機能成分の存在<sup>1)</sup>が確認されており，日本人の健康に大きく寄与してきている。特に味噌の食品機能特性のひとつに強力な抗酸化作用が挙げられるが，抗酸化物質は食品の酸化的劣化や栄養成分の損失を防ぎ，生体内でもラジカルを捕捉して生体膜脂質の過酸化反応を抑えて，種々の疾病，老化や発癌を抑制するものと考えられている。

今まで味噌の抗酸化物質としてはサポニン，イソフラボン，メラノイジン，トコフェロール，ペプチド，2,3 ジヒドロキシ安息香酸<sup>2)</sup>，8 ヒドロキシダイゼイン，8 ヒドロキシゲニステイン<sup>3)</sup>等が挙げられ，これらの総合的な作用で，強い活性を示すことは事実である。

しかし，味噌の原料配分は多様で，かつ発酵の程度も大きく異なることから，生成する

抗酸化物質やその活性は一樣ではない。またラジカル捕捉（以下 RS と略記）活性が他の味噌より 5 倍以上も強い豆味噌消費地域（東海 3 県）では，味噌の消費量の増加につれて生活習慣病死亡率が減少し，他の味噌の消費地域と異なった傾向<sup>4)</sup>が示されるなど，種類別味噌の精確な RS 活性の把握が必要となった。そこで，平成 10 年度の全国鑑評会に出品された 11 区分（A～I，平均 7 点）の味噌，計 81 点を用い，従来ともすれば，個別的で定性的な評価に留まっている味噌の RS 能を総合的かつ定量的に評価することとした。

### 実 験 方 法

1．試料：第 1 表に示した平成 10 年度全国鑑評会出品種 11 タイプの 81 点で，味噌の種類とは味噌の科学と技術，47，298（1999）記載と同一試料を用いた。なお，味噌の種類別のは淡色から濃色の順にナンバリングされている。

2．RS 活性測定法：DPPH（1,1 diphenyl 2

picrylhydrazyl) を用いる Blois<sup>5)</sup>の方法に準じた。本報では、その活性を RS50および RS OD 値で示した。

RS50: 数段階に希釈した味噌の熱水抽出液の 2 ml を試験管にとり、ついで 0.5M-AcOH buffer (pH 5) 0.4 ml, 99% EtOH 1.6 ml, 0.5mM-DPPH エタノール溶液 1 ml を混合、常温・暗所で 30 分間静置後、520nm ( $\lambda_{max}$  517nm) の OD 値をそれぞれ測定し、Blank OD 値の 50% を消去するに要する味噌の mg 数として示した。即ち、RS50 値は 0.25  $\mu$ M の DPPH を消去する味噌の mg 数である。

RS OD: ゲルろ過フラクションチューブから 1 ml 採取、水 1 ml を加えた後、上記と同様に測定した OD 値を Blank OD 値から控除した値、即ち、フラクションによる DPPH 退色量を RS OD 活性として示した。

3. Sephadex G 15によるゲルろ過: Column (3.1  $\times$  107cm, bed volume 807ml) に味噌の熱水抽出濃縮試料約 5 ml を charge (豆味噌は 2.5 g, その他の味噌は 5.0 g 相当量), 水で 60ml/hr の流速で展開、ほぼ 5 ~ 6 ml/tube で fractionate した必要部分 (40 ~ 170本) について、fraction の色度 (そのまま), Cu-Folin<sup>6)</sup> (0.2ml), Ninhydrin (0.05ml) 呈色比色し、同時に RS OD 活性 (1.0ml) を測定して、クロマトグラムを得た。カッコ内は分析採取量であり、食塩は流出のピーク位置を示した。また大豆蛋白分解液およびそのアミノカルボニル反応液の濃縮液約 5 ml (Total nitrogen で 45mg 相当量, 食塩を添加) を charge, それぞれゲルろ過した。

4. クロマトの M, P, A, Y 区分への分画と RS 寄与率: ゲルろ過は表 1 の印で示した 10 種類, 計 12 試料について実施した。そのクロマトグラムには Ninhydrin 呈色で 4 個, Cu-Folin 呈色で 6 個のピークが共通的にみられるなどの類似性があり, 4 区分への分画は

容易であった。即ち、流出順に M (高分子区分もしくはメラノイジン) は着色物質の流出が完了するまで, P (中分子区分もしくはペプチド) は Ninhydrin 呈色値でペプチドからアミノ酸の流出に移る bottom まで, A (低分子区分もしくはアミノ酸) はアミノ酸の流出が完了し, Cu-Folin 呈色に移る bottom まで, Y (本区分は column 内で yellow band として移動し, ゲルとの若干の吸着反応と顕著な Cu-Folin 呈色する) は fraction の色度と Cu-Folin 呈色がなくなるまでの区分とした。また, M, P, A, Y の RS OD 値の和を求め、各区分の RS 寄与率 (%) を求めた。

また、大豆蛋白分解液のアミノカルボニル反応物には Y 区分に続き顕著な RS 活性を示す未知物質 (u) が生成するが、u の分画は第 7 図に準じた。

5. 大豆蛋白分解液とそのアミノカルボニル反応物の調製: 酸沈殿蛋白質を数回, 90% エタールに浸漬・洗浄, 乾燥粉末とした。蛋白含量は 78%, ダイジン 6.5, ダイゼイン 0.9, ゲニスチン 17.5, ゲニステイン 1.0, いずれも mg% 含有していた。酵素分解は麹菌プロテアーゼ (Protease A 天野) で 35 $^{\circ}$ C, 3 時間, 振盪下で行った。基質濃度 6%, 酵素力価 / g 基質は 1.455 Unit であり, 蛋白可溶化率 (SN/TN) 87%, 分解率 (FN/SN) は 22.3% であった。アミノカルボニル反応は大豆蛋白分解液 (TN: 719mgN%, FN: 160mgN%) と等容量の 1M グルコース液を混合, 100 シリコンオイルバス中で 7 時間加熱した。

## 実験結果

1. 各種味噌の DPPH ラジカル捕捉活性 (RS50 活性)

0.25  $\mu$ M の DPPH ラジカル消去に要した各種味噌の mg 数は第 1 表のように, 甘味噌 (A) では 500 ~ 111 (252.5), 甘口味噌 (B) では

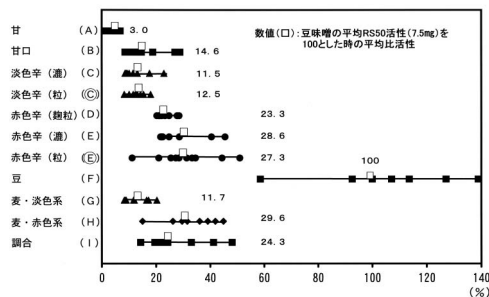
第1表 各種味噌のRS50活性 (n = 81)

Type	No.	RS50(mg)	Type	No.	RS50(mg)
甘	1	500.0	赤色辛(漉)	53	34.5
(A)	4	133.3	(E)	61	30.3
	(8)	250.0		70	18.5
	16	111.1		76	33.9
	22	285.7		(95)	23.3
	27	333.3		102	16.5
	32	153.8		Average	26.2
Average		252.5	赤色辛(粒)	1	66.7
甘口	1	83.3	(E)	6	35.7
(B)	7	69.0		11	29.4
	10	40.0		61	22.5
	14	57.1		67	24.1
	(19)	51.3		(74)	26.3
	27	26.0		103	16.9
	32	27.8		110	16.9
Average		51.2		135	14.7
淡色辛(漉)	1	83.3		138	21.7
(C)	(7)	74.0		Average	27.5
	14	57.1	豆	(1)	12.8
	19	87.0	(F)	2	8.1
	27	80.0		15	6.6
	32	32.8		17	6.6
	43	42.6		21	7.0
Average		65.3		(25)	5.9
淡色辛(粒)	(2)	90.9		(28)	5.4
(G)	7	74.1	Average		7.5
	14	58.8	麦・淡色系	1	83.3
	15	57.1	(G)	5	90.9
	20	52.6		7	86.2
	22	52.6		9	45.5
	27	48.8		13	62.5
	34	60.6		(15)	37.0
	50	41.7		17	43.5
	51	64.5		Average	64.1
Average		60.2	麦・赤色系	1	50.0
赤色辛(漉粒)	61	37.0	(H)	(20)	28.6
(D)	63	30.3		27	23.8
	(69)	33.9		36	19.2
	77	35.7		37	20.8
	79	26.3		43	16.7
	82	35.1		46	17.9
	96	27.0		Average	25.3
Average		32.2		2	52.6
			調合	4	38.5
			(I)	10	35.7
				15	33.3
				23	22.7
				26	18.2
				29	15.6
			Average		30.9

RS50: 0.25 μM・DPPHを消去するに要した味噌mg数

87~26 (51.2), 淡色辛漉 (C) 83.3~32.8 (65.3), 淡色辛粒 (G) 90.9~41.7 (60.2), 赤色辛漉粒 (D) 37~27 (32.2), 赤色辛漉 (E) 34.5~16.5 (26.2), 赤色辛粒 (E) 66.7~14.7 (27.5), 豆味噌 (F) 12.8~5.4 (7.5), 麦味噌淡色系 (G) 90.9~37 (64.1), 麦味噌赤色系 (H) 50~16.7 (25.3), 米と麦の調合味噌 (I) 52.6~15.6 (30.9) であり, 同一種類の味噌においても, それぞればらつきがみられた。カッコ内はRS50値の平均値である。

豆味噌の平均活性 (RS50 = 7.5mg) を100とした時の各種味噌の比活性 (第1図) は豆味噌 (F) 58.6~138.9 (100) > 麦・赤色系 (H) 15.0~44.9 (29.6) > 赤色辛漉 (E) 21.7~45.5 (28.6) > 赤色辛粒 (E) 11.2~51.0 (27.3) > 調合味噌 (I) 14.3~48.1 (24.3) > 赤色辛漉粒 (D) 20.3~28.5 (23.3) > 甘

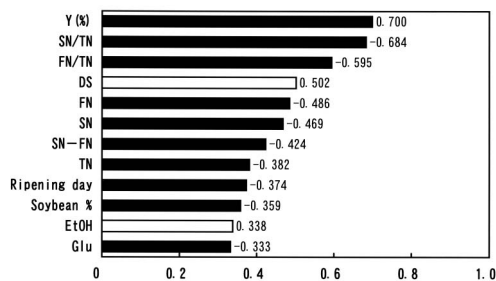


第1図 各種味噌のRS50比活性

口 (B) 8.6~28.8 (14.6) > 淡色辛粒 (G) 8.3~18.0 (12.5) > 麦・淡色系 (G) 8.3~20.3 (11.7) > 淡色辛漉 (C) 8.6~22.9 (11.5) > 甘 (A) 1.5~6.8 (3.0) の順であった。カッコ内は平均比活性値である。即ち, 豆味噌のRS活性は最も強く, 赤色系味噌の4倍, 淡色系味噌の8倍, 甘味噌の33倍となり, 濃色の味噌ほど比活性が高くなった。

## 2. ラジカル捕捉活性と一般成分との相関性

第1表に示したRS50活性 (mg数) と一般分析成分値<sup>7)</sup>との相関式を求め, その相関係数を第2図に示した。



第2図 RS50活性と味噌の一般成分との相関係数 (n = 81)

図のように, 窒素に関連した全ての成分項目および大豆割合, 熟成日数は項目の値が高いほど, また表面色 [Y (%)] が小さくなるほどRS50活性 (mg数) は低くなる (活性は強くなる)。逆にDSやEtOHは, その値が高くなるほどRS50値は高くなり, RS活性を

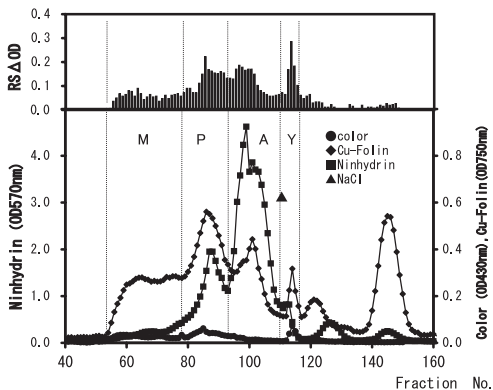
弱めることが示された。このことは味噌のRS活性に寄与する成分は主として大豆由来し、成分の溶解率、分解率が高くなるほど、また濃色の味噌ほどRS活性が高くなることを示しており、前項の結果を裏付けている。

### 3. 味噌のゲルろ過クロマトグラムとRS活性分布との関連

味噌のどのような成分がRS活性に寄与しているかを推定するために、Sephadex G-15による分子篩パターンとRS(OD)活性分布パターンを比較した。

#### (1) 淡色辛味噌のRS寄与物質

淡色辛味噌(C-2)の5g相当量の熱水抽出物をcharge(53.4mgN)した例を第3図に示した。



Sephadex G 15 column (3.1 × 107cm, bed volume 807ml)  
Development with water at a flow rate of 60ml per hr.  
Collection in ca. 5 5ml portions

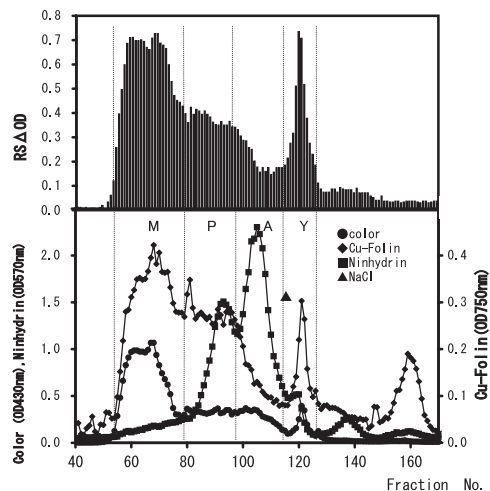
第3図 淡色辛味噌(C-2)のゲルろ過クロマトグラムとRS活性分布

図のように、色度(430nm)はM, P, A, Y区分に弱く認められ、Ninhydrin呈色ピークはFraction 88, 100前後, 125(フェニルアラニン), 146(チロシン)の4ピークがみられた。Cu-Folin呈色(Folin Lowry法)はM, P, A, Y区分に存在する4つのピークとFraction 121と146(チロシン)の6ピークがみられた。

RS活性はM, P, A, Yの幅広い分子量区分にみられるが、概してCu-Folin呈色ピークを中心とした部位で認められた。そこでM, P, A, Yを構成するRS活性を各区分のRS ODの和で示すと、それぞれ1.36, 1.96, 2.01, 0.98(計6.31)となり、RS寄与率(%)は21.6, 31.0, 31.8, 15.6となった。即ち、淡色辛味噌のRS活性は低分子から中分子に至るA, P区分の物質が中心に寄与し、ついでメラノイジン(M), 黄色物質やフェノール物質などY区分が寄与している。

#### (2) 豆味噌のRS寄与物質

豆味噌F-25の2.5g相当量の熱水抽出物(45.3mgN)をchargeし、第3図と全く同条件で行ったクロマトグラムとRS活性分布図を第4図に示した。



Sephadex G 15 column (3.1 × 107cm, bed volume 807ml)  
Development with water at a flow rate of 60ml per hr.  
Collection in ca. 5 5ml portions

第4図 豆味噌(F-25)のゲルろ過クロマトグラムとRS活性分布

図のように、色度はM区分で顕著に増大し、P, A, Y区分にも中等度の増色がみられた。Ninhydrin呈色性物質のパターンは淡色辛味噌と全く同じであり、味噌のアミノ化合物の分布形態は類似している。一方Cu-Folin呈色値で示したクロマトグラムは淡色辛味噌

第 2 表 各種味噌分画 4 区分の RS 活性構成比 (%)

	Sweetish sweet		Light color (rice+barley)			Reddish color (rice+barley)				Mame (soybean) miso			
	A-8	B-19	C-7	Ⓒ-2	G-15	D-69	E-95	Ⓔ-74	H-20	F-1	F-25	F-28	
Y(%)	38.56	19.57	31.15	31.52	17.44	13.94	11.48	11.98	15.51	7.90	1.77	1.59	
TN	0.99	1.51	1.75	1.73	1.16	1.74	1.92	1.91	1.53	2.69	2.83	2.89	
SN/TN	46.8	64.5	62.5	61.7	56.7	65.2	64.9	57.6	63.0	63.6	64.0	63.6	
FN/TN	15.2	24.8	22.8	28.0	22.5	26.3	25.0	25.8	24.9	29.0	25.3	25.2	
Soybean %	31.3	40.0	50.0	52.4	28.6	50.0	52.9	52.6	37.4	100	100	100	
RS50 (mg)	250.0	51.3	74.0	90.9	37.0	33.9	23.3	26.3	28.6	12.8	5.9	5.4	
Relative activity	3.0	14.6	10.1	8.3	20.3	22.1	32.2	28.5	26.2	58.6	127.1	138.9	
RS Σ Δ OD	4.76	11.81	5.63	6.31	15.04	17.78	26.33	23.41	15.56	27.21	61.06	65.78	
Contribution(%)	M	4.3	20.6	3.2	21.6	26.8	16.3	24.4	24.9	25.5	29.9	50.0	55.5
	P	32.1	30.3	54.6	31.0	24.6	35.3	41.9	44.3	26.1	26.8	23.4	20.2
	A	37.8	34.7	26.9	31.8	31.0	35.0	22.1	19.5	29.5	21.9	12.4	11.4
	Y	25.8	14.4	15.3	15.6	17.6	13.4	11.6	11.3	18.9	21.4	14.2	12.9

の P, A 区でみられたピークはみられないなど、異なっていた。

RS 活性分布パターンは図のように Cu-Folin 呈色カーブと類似の傾向がみられた。また, M, P, A, Y 区分の Σ OD 活性は, 味噌 5.0g 換算で, それぞれ 30.53, 14.30, 7.54, 8.68 (計 61.06) であり, RS 寄与率はそれぞれ 50.0, 23.4, 12.4, 14.2% となった。即ち, 豆味噌の RS 活性は M と P が主体的に作用している。

#### 4. 各種味噌の RS 活性成分の比較 (M, P, A, Y 区分の寄与率)

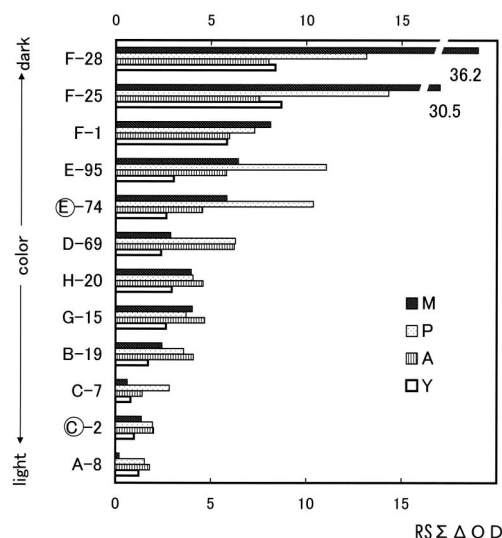
前項で淡色辛味噌と濃色の豆味噌の RS 物質を比較した結果, RS 活性は Cu-Folin 呈色値に依存的で, 淡色の味噌では低分子区分, 濃色の豆味噌では高分子区分が高かった。このことから, 味噌の RS 物質はメラノイジンもしくはアミノカルボニル反応過程で生成する還元性物質であると推定される。

そこで, 本項では, 12 品種の味噌のゲルろ過分画した M, P, A, Y 区分の RS 活性 (Σ OD 活性) と味噌の表面色 Y (%) との関係性をさらに検討した。(第 5 図)

図は各種味噌の分子量別の RS 物質 (M, P, A, Y の順に配列) の RS 活性 (Σ OD 値)

を横軸に示した。図のように, 増色に伴って, 4 区分の RS 活性はいずれも比例的に高まった。その中で, Y (%) 値が 15 以上の淡色の味噌では, 低分子の A 区分の活性が高く, Y (%) が 14~11 の D, Ⓔ, E の味噌では中分子の P 区分の活性が, 濃色の豆味噌では高分子の M 区分の活性が高いなど味噌の種類による差異がみられた。即ち 増色に伴って, 味噌の RS 活性の主体をなす物質が高分子側にシフトしていく傾向が確認された。

このことは, アミノカルボニル反応が強く



第 5 図 味噌 RS 物質の分子区分別活性

進行する味噌・醤油にあっては、メラノイジ生成の初期段階、中間段階にある反応生成物もRS活性に強く寄与し、またそれらは時間経過に伴って集積し、かつアミノ化合物と重合・高分子化すると共に量的にも増大して活性をもたらしていることを示唆する。

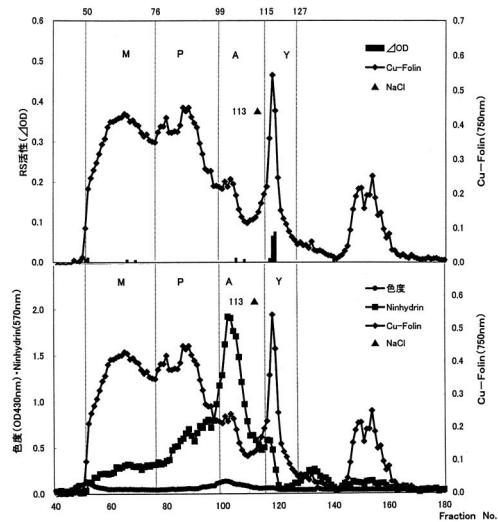
第2表に、供試味噌のRS活性と相関性の高い成分値とRS物質の構成化をまとめた。

表のように、味噌の色度は同一種類内でもY(%)に大きなふれがあった。RS50表示およびRSΣ OD表示した各種味噌のRS活性は全く一致し、その強さは味噌の色度と相関していた。各種味噌の主體的に作用するRS物質と寄与率(%)は、淡色系味噌では低分子(A)区分で35%、赤色系味噌では中分子(P)区分で40%、豆味噌では高分子(M)区分でほぼ60%であった。

### 5. 大豆蛋白分解液とそのアミノカルボニル反応物のRS活性

味噌のRS活性は色との相関が強く、豆味噌のRS活性は他の味噌と較べて強く、特にM区分(高分子区分、メラノイジン)のRS活性構成が著しく高いという特徴が示された。アミノカルボニル(以下ACと略記)反応によるメラノイジンの生成は中間段階で生成したカルボニル化合物がアミノ化合物と縮合・重合して高分子化の経過をたどる。従って、アミノ化合物の形態の差異が生成するメラノイジンに影響をもたらす、味噌のRS構成比に差異が生ずると考えられる。本項では、大豆蛋白質を麹菌プロテアーゼで分解し、豆味噌の初期段階の蛋白分解形態を有する分解液のAC反応前後のRS活性を測定し、RS物質の前駆体となるアミノ化合物を推定した。

(1) 大豆蛋白分解液のAC反応前後におけるRS物質の比較



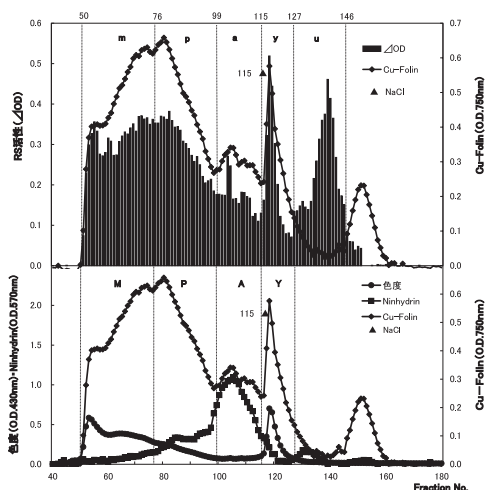
Sephadex G 15 column: 3.1 × 106cm, (B.V. 810ml)  
 展開液: H<sub>2</sub>O Fraction Volume: 5.1ml/Tube  
 Flow rate: 63ml/h Sample charge: 反応液6.3ml(45.0mgN)  
 Tube Fractionの分析: Cu-Folin(0.2ml), Ninhydrin(0.05ml), NaCl(0.1ml), 色度(そのまま)

第6図 大豆蛋白分解液のゲルろ過クロマトグラムとRS活性分布

大豆蛋白分解液とそのAC反応物のゲルろ過クロマトグラムとRS活性分布図を第6, 7図に示した。

大豆蛋白分解液のクロマトグラム(第6図)で、Ninhydrin呈色やCu-Folin呈色のパターンは第4図の豆味噌のパターンに極似していた。しかし、着色がみられず、RS分布パターンは豆味噌と全く異なり、Y区分に認められた弱い活性以外は殆んど皆無もしくは極微弱であった。(別に行った大豆分解液では、Y区分にはかなり強い活性が現われることから、本区分にはイソフラボン類の混在が推定される。)

一方、大豆蛋白分解液のAC反応物のクロマトグラム(第7図)はNinhydrin呈色性物質が顕著に減少し、着色の増加とCu-Folin呈色値が高まり、RS活性が顕著に高くなり、RS分布パターンは、第4図の豆味噌のパターンに近似したものとなった。AC反応におけるアミノ化合物の減少率はM>P>Aの順で



第7図 大豆蛋白分解液 AC 反応物のゲルろ過クロマトグラムと RS 活性分布

あり, 生成する Cu-Folin 呈色値当りの RS 活性は M (2.25) > P (2.05) > A (1.65) の順であった。即ち, 麹菌酵素の作用で生成する豆味噌様の窒素形態を持つペプチドのメラノイジン化は速く, RS 活性も高いと云える。

また, 第7図の RS 分布パターンで, フラクション140の部位に, 未知の RS 活性物質 (u) が生成した。この物質は豆味噌熟成の中期段階で生成するが, 後期には消失する興味ある物質である。

(2) 豆味噌 RS 物質の前駆体

大豆蛋白分解液を構成するアミノ化合物には, 原則的に RS 活性はないが, AC 反応で RS 物質が生成し, 豆味噌と類似の RS 分布形態となった。そこで豆味噌の多様な RS 物質がどのようなアミノ化合物に由来するかを知る目的で実験した。即ち, 大豆蛋白分解液から, M, P, A, Y の4区分を分画し, その AC 反応物から, 第7図の上段の指標に準じ, 生成した RS 物質 m, p, a, y, u の RS 活性

第3表 AC 反応で分画区分から生成する RS 活性 (OD)

RS物質	分画区分				計	大豆蛋白分解液	
	M	P	A	Y			
高分子 ↑ ↓ 低分子	m	3.04 (47.5)	3.20 (44.4)	0.12 (21.8)	0.22 (13.6)	6.58 (41.7)	7.72 (31.6)
	p	0.93 (14.5)	1.88 (26.1)	0.21 (38.2)	0.31 (10.1)	3.33 (21.1)	6.92 (28.3)
	a	0.43 (6.7)	0.58 (8.1)	0.09 (16.4)	0.07 (4.3)	1.17 (7.4)	2.75 (11.2)
	y	0.41 (6.4)	0.74 (10.3)	0.01 (1.8)	0.58 (35.8)	1.74 (11.0)	2.39 (9.8)
	u	1.59 (24.8)	0.80 (11.1)	0.12 (21.8)	0.44 (27.2)	2.95 (18.7)	4.68 (19.1)
計	6.40 (99.9)	7.20 (100.0)	0.55 (100.0)	1.62 (100.0)	15.77 (99.9)	24.46 (100.0)	

( ) : パーセント分布

(Σ OD) を測定した。その結果を第3表に示した。表のように, ①高分子の M 区分からは, 48% の m-RS 物質と25% の u-RS 物質, その他を生成した。②中分子の P 区分からは44% の m-RS 物質と26% の p-RS 物質, その他を生成, ③低分子の A 区分からは38% の p-RS 物質と各22% の m-, u-RS 物質を生成した, ④Y 区分からは, 36% の y-RS 物質と27% の u-RS 物質, その他を生成した。上記のように, 味噌の DPPH ラジカル捕捉物質は大豆蛋白分解物の AC 反応で生ずるメラノイジン関連物質であるが, それらは単に重合のみでなく, 高分子物質の低分子化や低分子物質の高分子化により生ずることを認めた。

考 察

大豆蛋白質の麹菌プロテアーゼ分解液や豆味噌の熱水抽出液中には, Sephadex G-15によるゲルろ過で, 分子量1,100~280の中分子区分(本報で示したP区分)にリノール酸の過酸化を強く抑制する抗酸化性ペプチド<sup>8)</sup>が存在する。しかし, 第6図に示した大豆蛋白分解液 P 区分には RS 活性が全く認められないことから, ペプチドの抗酸化性は金属キレート能<sup>9)</sup>に基づくとする説が支持できる。また豆味噌の熱水抽出液の中分子区分には, 酸

性～塩基性に亘る少なくとも7種以上の抗酸化ペプチドが認められたが、その活性はペプチドの塩基性度が高いものほど強い。得られた3種の抗酸化ペプチド<sup>10)</sup>では(Glu, Arg) < (Ala, His) < (Met, Ile, His, His)の順に活性が強く、ヒスチジンの寄与が高い。

いずれにしても、豆味噌の優れた抗酸化能は抗酸化ペプチドによる金属イオンの封鎖作用と脂肪酸ラジカルの捕捉に役立つメラノイジン関連物質等の還元作用の2段階からなることに基づくと考えられる。

### 要 約

味噌のラジカル捕捉(RS)能を総合的かつ定量的に評価することを目的に、平成10年度全国味噌鑑評会出品種81点のRS活性やその構成を評価すると共に大豆蛋白質の麹菌プロテアーゼ分解液を用いてRS活性の生因について解析した。得られた結果は次のとおりである。

1) 味噌のラジカル捕捉活性の測定法としてRS50法を設定した。それは0.25μMのDPPH(測定系DPPHの50%相当量)を消去に必要な味噌のmg数をRS50とした。

2) 種別味噌のRS50平均値は豆味噌7.5(100)、赤色系味噌25.3(29.6)～32.2(23.3)、甘口味噌51.2(14.6)、淡色系味噌60.2(12.5)～65.3(11.5)、甘味噌252.5(3.0)であり、濃色の味噌ほどRS活性は強くなる。カッコ内は豆味噌を100とした時の比活性である。

3) RS活性物質は低～高分子の幅広い分子区分に存在し、濃色化につれて、いずれの区分も活性が増加した。しかし、淡色系では低分子、赤色系では中分子、豆味噌では高分子(メラノイジン)物質の寄与が高いなど、RS構成には差異がみられた。

4) 大豆蛋白質(酸沈澱蛋白質)の麹菌プロテアーゼ分解液にはRS活性物質の存在は

殆んど認められないが、アミノカルボニル反応を施すとRS物質が生成し、豆味噌と類似のRS活性分布形態となった。従って、味噌のDPPHラジカル捕捉物質の大部分はメラノイジン関連物質に由来すると考えられた。

(本研究は全国味噌工業協同組合連合会から研究費補助を得てなされたことを付記し、御礼申し上げます)

### 文 献

- 1) 海老根英雄：味噌の科学と技術，43，339～361(1995)
- 2) Hideo Esaki, Hiromichi Onozaki, Shunro Kawakishi and Toshihiko Osawa：J. Agric. Food Chem.，45，2020～2024(1997)
- 3) Hideo Esaki, Hiromichi Onozaki, Y. Morimitsu, Shunro Kawakishi, Toshihiko Osawa：Biosci. Biotechnol. Biochem.，62，740～746(1998)
- 4) 竹内徳男，稲荷妙子，森本仁美：岐阜女子大学地域文化研究，17，66～74(2000)
- 5) Marsden S. Blois：Nature，181，1199～2000(1958)
- 6) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall：J. Biol. Chem.，193，265(1951)
- 7) 小川由高，岩崎雅美，藤波博子，毛利光之：味噌の科学と技術，47，298～338(1999)
- 8) 竹内徳男，稲荷妙子，森本仁美：岐阜女子大学紀要，27，87～96(1998)
- 9) 柘植信昭，永川由美，野村幸弘，山本正典，杉澤公：農化，65，1635～1641(1991)
- 10) 竹内徳男，稲荷妙子：日本食品科学工学会第42回大会講演集，P.102「豆味噌の抗酸化性 Peptide の性状(1995.3.29,名城大学)