

大徳寺瑞峯院納豆の製造過程における DPPH ラジカル消去活性の変化とその関連物質について

Changes in the DPPH radical-scavenging activity and the related components of *Daitokuji-natto* made in *Zuihoin Daitokuji* during processings

大谷貴美子*[§] 長 渡 麻 未* 柴 田 満* 富 田 圭 子* 佐 藤 健 司* 川 添 禎 浩*
Kimiko Ohtani Mami Nagato Mituru Shibata Keiko Tomita Kenji Sato Sadahiro Kawazoe

Changes in the DPPH radical-scavenging activity and related components during processing of the traditional fermented soybean food, *Daitokuji-natto*, made in *Zuihoin Daitokuji* (Kyoto) were examined. *Daitokuji-natto* was processed from the end of July to September. The contents of genistin, daidzin and glycitin in soybean (*Tsuruhime* harvested in Hokaido) were all increased by steaming. However, the contents of these components gradually decreased during fermentation and maturation, in contrast to the increases of the daidzein, genistein and glycitein contents. Fermentation for 1 week in a cellar resulted in the contents of peptides and free amino acids, especially glutamate, being increased by enzymatic degradation of the protein. The melanoidin-related compounds gradually increased during the progress of maturation under sunlight in the summer for 2 months. Although the DPPH radical-scavenging activity was significantly related to the polyphenol contents ($p < 0.01$), the components mainly responsible for the radical-scavenging activity of *Daitokuji-natto* were found to be melanoidin-related compounds.

キーワード：大徳寺納豆 *Daitokuji-natto*；ラジカル消去活性 radical scavenging activity；メラノイジン melanoidin；イソフラボン isoflavone；ポリフェノール polyphenol

大徳寺納豆は、京都の大徳寺で古くから作られている加塩納豆の一種である。加塩納豆とは、奈良時代に中国から入唐僧たちによって日本にもたらされたもので、古くに中国でつくられていた大豆を麹菌で発酵させた「鼓」がその原型だとされている。お寺の納所（台所）で僧侶が作っていたことから寺納豆、または、中国渡来ということから唐納豆ともいわれるようになった¹⁾。加塩納豆（寺納豆）は、京都では大徳寺納豆の他に、天竜寺納豆、一休寺納豆知られているが、静岡の浜名湖畔の浜納豆もよく知られている。一般的な糸引き納豆とは異なり、黒くて味噌のような風味があるのが特徴である。加塩納豆の製法としては、蒸煮した大豆に麹菌とはったい粉（麦焦がし）をふりかけて発酵させて大豆麹を作り、乾燥後、塩水につけて3ヶ月～1年熟成させて作るのが一般的である²⁾。

加塩納豆を含め味噌、醤油といった大豆発酵食品は、原料大豆より強い抗酸化作用やラジカル消去活性を示すことが報告されている^{3~5)}。その理由として、大豆には、トコフェロールやイソフラボン化合物⁶⁾といった抗酸化性物質が含まれているが、大豆発酵食品では、これらに加え、発酵あるいは熟成過程において、新たな抗酸化物質が生成するためと考えられている。例えば、大豆タンパク質が、発

酵、熟成中に、麹菌のプロテアーゼの作用によって分解され、生成したペプチドやアミノ酸が抗酸化性を示すことが報告されている⁷⁾。また、原料大豆中のイソフラボン配糖体であるダイズインやゲニスチンが発酵過程で微生物の産生するβ-グルコシダーゼによって分解され、より強い抗酸化力を示すダイゼインやゲニステインというアグリコンの形になるためとも報告されている^{8~11)}。さらに、味噌や醤油は、発酵、熟成中にメイラード反応による褐変が起き、この反応で生成されるメラノイジンにも強い抗酸化性やラジカル消去活性や抗変異源性があることが確認されている^{12~15)}。

このように、日本の伝統的な大豆発酵食品の保存性は、発酵あるいは熟成の過程で生成される様々な抗酸化物質によって高まっていると考えられる。

ところで人間を含め、生物が呼吸し新陳代謝をしているときには、呼吸に利用される酸素の約3~10%が活性酸素になるとされる¹⁶⁾。そして、近年、その活性酸素やフリーラジカルが、癌や心臓病、脳卒中などの生活習慣病をはじめ、老人病と呼ばれる数多くの疾病に関係していることが明らかにされ¹⁷⁾、こういった疾病の予防の上からも、生体内で酸素障害の抑制に働く物質に期待が集まり、大豆発酵食品が注目されている。

ところで、京都大徳寺瑞峯院の大徳寺納豆は、製造方法に特徴があり、麹菌は添加されず、熟成期間も約2ヶ月間と非常に短い。発酵、熟成は真夏に天日に干した状態で行

* 京都府立大学

(Kyoto Prefectural University)

[§] 連絡先 京都府立大学 人間環境学部 〒606-8522

京都市左京区下鴨半木町 1-5

TEL 075(703)5414 FAX 075(703)5414

なわれるなど、大徳寺瑞峯院納豆の製造方法は他の大徳寺納豆とは異なっている。

そこで、本研究では大徳寺瑞峯院の大徳寺納豆の製造過程における DPPH ラジカル消去活性の変化およびその関連物質について検討を行った。

実験方法

1. 大徳寺納豆の製法とサンプリング

京都大徳寺瑞峯院で2004年7月～10月に製造された大徳寺納豆を使用した。大徳寺納豆の製造過程およびサンプリングについては、Scheme 1に示す。まず、原料大豆（北海道産、鶴娘）360 kgを洗い一晩水に浸漬させ、浸漬した大豆を釜で約3～4時間蒸煮する。蒸すことにより大豆は赤っぽく仕上がる。次に蒸煮大豆とはったい粉（麦焦がし）90 kgをまぜ合わせ、室で1週間自然発酵させる。その後、前日に沸かして冷ましておいた塩湯とまぜ合わせ桶

に入れ、約2ヶ月間、炎天下で、毎日かき混ぜながら熟成させる。水分が蒸発し、黒い味噌のような状態になったら完成品とされる。完成品は、直径1.5 cmほどの粒状に丸めて、壺に入れ常温で保存される。

本研究では、7月の仕込みから10月に製品となるまでの過程で、Scheme 1に示したように9回のサンプリングを行い、試料①～⑨として分析に供した。

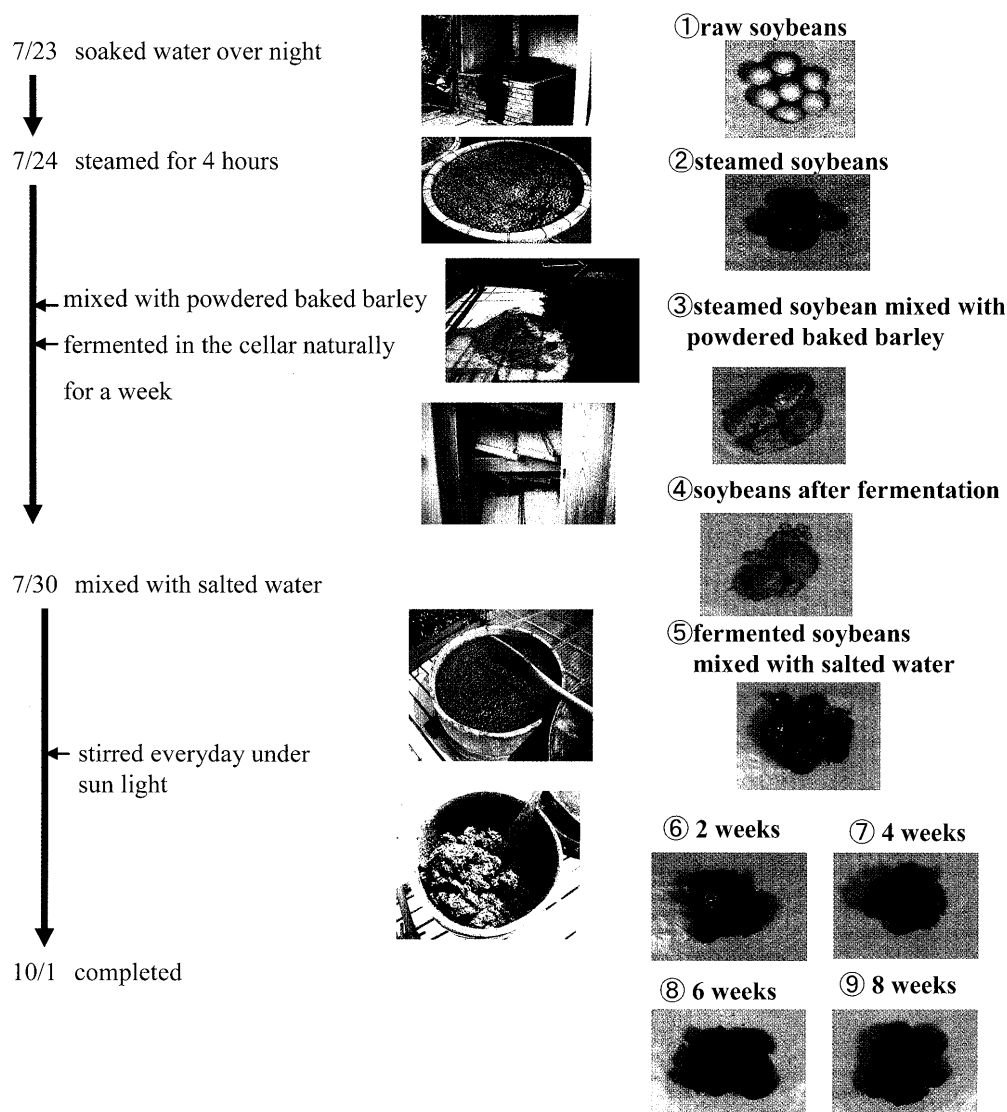
2. 分析用試料の調製

1) 水抽出画分の調製

各試料5 gをミルで粉碎後、10倍容の蒸留水で4℃ 12時間抽出し、抽出液を遠心分離した後、得られた上清を水抽出試料とした。

2) メタノール抽出画分の調製

各試料5 gをミルで粉碎後、10倍容の80% メタノールで4℃ 12時間抽出し¹⁸⁾、抽出液を遠心分離した後、得られた上清を80% メタノール抽出試料とした。



Scheme 1 The processing and sampling of Daitokuji-natto

3. 分析方法

1) 水分含量の測定

食品分析法に準じ、電気炉 (Yamato MUFFLE FURNACE FP-31) で 105℃、4 時間乾燥させ、その重量変化から水分含量を求めた。

2) 褐変度の測定

分光光度計 (JASCO 日本分光株式会社 V-550) を用い、抽出物の 470 nm の吸光度を褐変度¹⁹⁾とした。

3) ラジカル消去活性の測定

DPPH 法^{5, 20, 21)}により測定を行った。希釈した試料 0.5 ml に 0.1 M 酢酸 buffer (pH 5.5) 1.5 ml とエタノール 2 ml を加え、全量を 4 ml とした。その後、0.5 mM DPPH (1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)-エタノール溶液 1 ml を添加し、30 分間放置後、517 nm における吸光度の減少量を測定した。DPPH ラジカル消去活性は α -tocopherol 等量として求めた。

4) 総ポリフェノール含有量の測定

総ポリフェノール含有量は、Folin-Ciocalteu 法²²⁾により測定を行った。希釈した試料 1 ml に 1 N Folin-Ciocalteu 溶液 1 ml を加え、3 分間室温で放置後、10% Na₂CO₃ 2 ml を加えた。1 時間放置後、700 nm の吸光度を測定した。総ポリフェノール含有量はクロロゲン酸等量として算出した。

5) イソフラボン含有量の測定

HPLC (島津 LC-9 A) により測定を行った²³⁾。カラムは GL サイエンス社製 Unisil C 18 (4.6 mm i. d. × 250 mm) を用い、カラム温度 35℃、流速 1.0 ml/min、検出波長 245 nm で分析を行った。ダイジン、グリシチンの分離の場合、移動層には、アセトニトリル/20 mM リン酸緩衝液 (pH 2.6) (20/80) を、ゲニスチン、ダイゼイン、グリシテイン、ゲニス테인の場合には、アセトニトリル/20 mM リン酸緩衝液 (pH 2.6) (25/75) を使用した。

6) ニンヒドリン呈色性物質の測定

ニンヒドリン法により測定した²⁴⁾。試料 1 ml にニンヒドリン試薬 1 ml を加え、良く攪拌した後、沸騰水浴中にて 15 分反応させ、水冷後、50% エタノールを 5 ml 加え、30 分間静置後、570 nm にて吸光度を測定し、グルタミン酸等量として求めた。

7) 遊離アミノ酸分析

Bidlingmyer らの方法を一部改変した佐藤らの方法²⁵⁾に従って行った。一定量のサンプル (10~100 μ l) を乾固後、アルカリメタノール溶液 (メタノール:TEA:蒸留水 = 7:2:1) 10 ml 加えて真空乾固させアルカリ処理を行った。続いて、誘導化液 (メタノール:TEA:蒸留水:PITC = 7:1:1:1) を 20 μ l 加え、20 分間室温で反応させた後、真空乾固させ、Pico-Tag buffer を 10 μ l 添加した。

カラムは Superspher 100 RP-18 (e) を用い、カラム温度 45℃、流速は 0.8 ml/min、検出は 254 nm で行った。

溶離液には、A 液 (5% アセトニトリル/150 mM 酢酸アンモニウム, pH 6.0) と B 液 (60% アセトニトリル) を用いた。溶離液の構成は、B 液の比率を 0-5 分:0%, 5-25 分:10-47.5%, 25-30 分:47.5-100%, 30-40 分:100%, 40-50 分:0% とした。

8) Bio-Gel P-4 による分画

水抽出試料 1 ml を Bio-Gel P-4 カラム (ϕ 1.5 × 50 cm:分画分子量 800~4,000 ダルトン) に供し、蒸留水で展開し、2 ml ずつ分取した。得られた各画分の褐変度、総ポリフェノール含有量、ニンヒドリン呈色性量、およびラジカル消去活性を測定した。

結果と考察

1. 製造過程における大徳寺納豆の変化

蒸煮大豆を室で 1 週間自然発酵させた試料⑤は、表面に麹菌と思われる黄、緑、黒色のカビが生えていた。その後、天日に干しながら熟成させることにより、色は茶色から黒色へと変化していった。天日干し開始から 8 週目、黒い味噌のような大徳寺納豆の完成品が得られた。

各試料の水抽出画分の褐変度を測定した結果を Fig. 1 に示した。天日干し開始 6 週目の試料⑧と 8 週目の試料⑨との間で大きく値が増加し、この間に急激に水可溶性の褐変物質が生成されたことが示された。

2. 熟成に伴うラジカル消去活性の変化

池田ら⁸⁾は豆味噌発酵過程における抗酸化性の変化について、豆味噌仕込み後 30 日間は、発酵熟成の進行に従い抗酸化性が上昇することを報告しており、竹内ら⁵⁾は、豆味噌の抗酸化能には抗酸化ペプチドによる金属イオンの封鎖作用とメラノイジン関連物質の脂肪酸ラジカルの捕捉に基づくこと、味噌の DPPH ラジカル補足物質の大部分はメラノイジン関連物質によると報告している。Fig. 2 に水可溶性画分のラジカル消去活性の変化を示したが、ラジカル消去活性は、天日干し 1 日目 (塩湯と混ぜた直後) の試料⑤から⑨にかけて、天日干しの過程で高くなり、試料⑨の大徳寺納豆完成品 (天日干し 8 週目) のラジカル消去活性は、原料大豆 (①) のそれに比べ、約 20 倍高い値を示した。また、試料⑤と⑥、試料⑧と⑨の間でラジカル消去

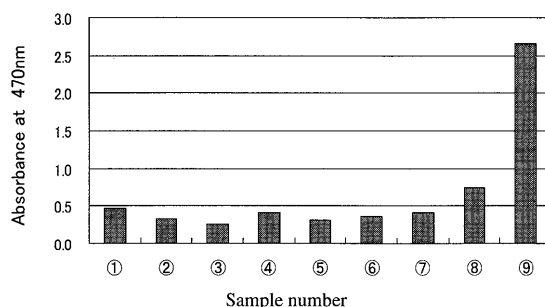


Fig. 1 Changes of the browning of water-soluble fraction of Daitokuji-natto during processing

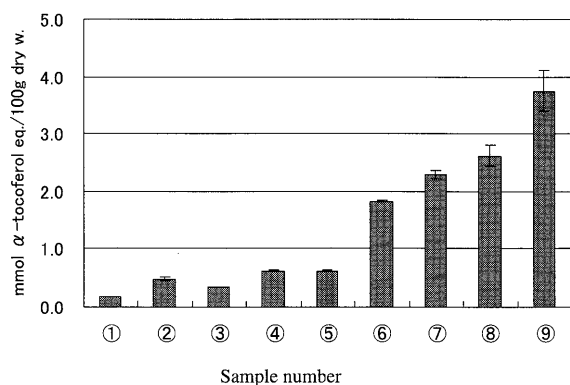


Fig. 2 Radical-scavenging activities of water-soluble fraction of *Daitokuji-natto* during processing

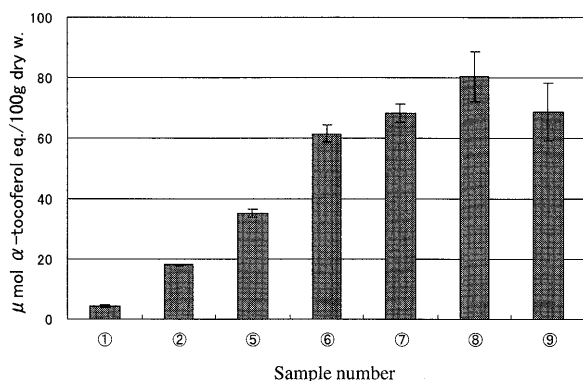


Fig. 3 Radical-scavenging activity of 80% methanol-soluble fraction of *Daitokuji-natto* during processing

活性の変化が大きくなっており、この間にラジカル消去活性に寄与する成分が生成した可能性が示唆された。Murakami らも、メイラード反応において色がつくつかないかの初期よりラジカル消去活性を示す物質が生成されていること、また褐変度と消去活性の間には相関があることを報告している¹⁴⁾。

また、Fig. 3 には、メタノール可溶画分のラジカル消去活性の変化を示した。なお、メタノール抽出においては、試料③は②と、試料④は③と大きな変化はないと考え測定しなかった。その結果、試料⑤から⑥にかけての天日干し開始から2週間のラジカル消去活性の増加が顕著であった。しかし、水抽出画分のラジカル消去活性と比較すると、80%メタノール抽出画分のラジカル消去活性はかなり低い値を示した。メタノール可溶画分にはイソフラボンが分画されていると考えられるが、イソフラボンには抗酸化性は報告されているが、DPPH ラジカル消去活性は報告されていないことから、本活性にはイソフラボン以外の例えば α -トコフェロールなどが関与しているものと思われたが、詳細については、今後の検討課題と考えている。以上の結果より、大徳寺納豆のラジカル消去活性は、主として水可溶性成分が担っていることが示された。

3. 製造過程の成分変化

まず、水分含有量の変化を、Table 1 に示した。試料③

Table 1. Changes of the water contents of *Daitokuji-natto* during processing

Samples	Water (%)
①	9.2
②	68.8
③	53.3
④	16.8
⑤	53.1
⑥	52.3
⑦	42.6
⑧	31.6
⑨	23.4

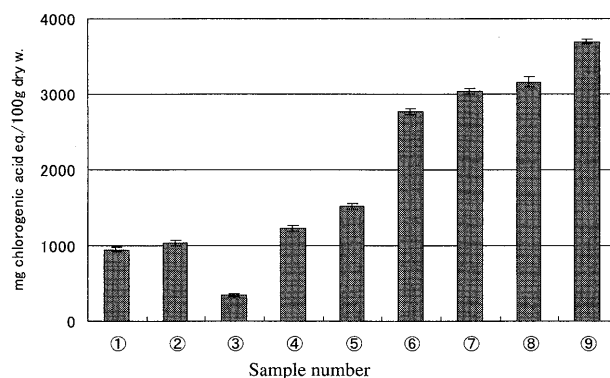


Fig. 4 Polyphenol contents of water-soluble fraction of *Daitokuji-natto* during processing

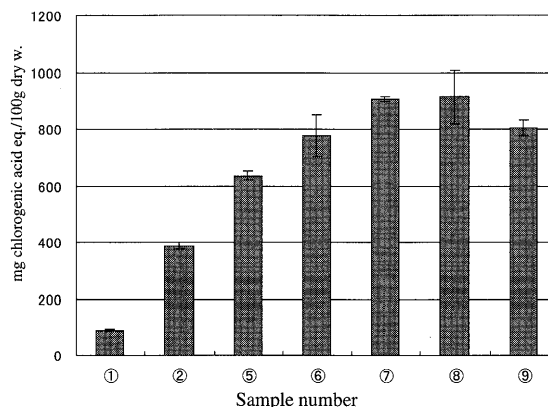


Fig. 5 Polyphenol content of 80% methanol-soluble fraction of *Daitokuji-natto* during processing

から④で水分含有量の減少がみられたが、これは室での発酵過程で乾燥が進んだためと考えられる。また、試料⑤で水分含量が増加したのは、塩湯を加えたためである。試料⑤から完成品試料⑨までは、天日干し過程であり、時間の経過とともに乾燥が進んだことがわかる。

Fig. 4 には水可溶性画分の総ポリフェノール含有量を、また Fig. 5 には、80%メタノール抽出画分の総ポリフェノール含有量を示した。ポリフェノール含有量は水可溶性画分の方が多かったが、いずれの画分も熟成に伴い増加した。

大徳寺瑞峯院納豆の製造過程における DPPH ラジカル消去活性の変化と その関連物質について

水可溶画分のポリフェノール含有量の増加は、熟成に伴い、ある種のポリフェノールの水への溶解性が増加したことや、Folin 試薬に反応するものとしてアミノ酸やタンパク質などもあることから、発酵過程において菌体の持つプロテアーゼの作用によって生じた、アミノ酸やペプチドによるものとも考えられる。なお、水可溶画分の試料③でポリフェノール含量が低下したのは、はったい粉（麦焦がし）と混ぜたため試料に占める大豆の相対重量が減少したためと考えられる。

味噌や納豆については、発酵過程においてプロテアーゼによりタンパク質が分解され、ペプチドやアミノ酸が生成することが報告されている^{5,7)}。大徳寺納豆は麹菌を入れていない点で味噌などとは異なるが、室に置いて自然発酵させた後の大豆の表面には黄、緑、黒色のカビがみられたことから、落下細菌中に含まれていた麹菌が産生するプロテアーゼによりタンパク質の分解が起こり、アミノ酸やペプチドが増加したのではないかと考えられた。Table 2 に熟成に伴う遊離アミノ酸含有量とアミノ酸組成の変化を示したが、室に入れ、1 週間自然発酵させた後の試料⑤では、蒸煮大豆②の約 10 倍もの遊離アミノ酸が含まれていることが示された。しかし試料⑤以降の熟成期間中には、遊離アミノ酸含有量に大きな変化はみられず、室での発酵期間で分解された遊離アミノ酸は比較的安定であることが示された。これは高濃度の塩湯が添加されたことと炎天下にあって水分が減少しプロテアーゼが失活したためと考えられる。またアミノ酸組成では、グルタミン酸の割合が高く、グルタミン酸の生成は、大徳寺納豆のうま味にも関与していると考えられる²⁶⁾。

メタノール可溶画分のポリフェノールの増加について

は、今後の検討課題と考えているが、この画分に抽出されるイソフラボン含有量の変化について Fig. 6 に示した。配糖体のゲニスチン、ダイジン、グリシチンは室での発酵期間と天日干し開始後の熟成 2 週目までの間で減少し、逆にアグリコンであるゲニステインとダイゼインは、徐々に増加した。つまり、室での発酵期間に、天然に存在する麹菌の β -グルコシダーゼによりイソフラボン配糖体が分解され、アグリコンが増加したことが示された。一般的に、大豆イソフラボンを摂取した場合、腸内細菌によって分解が必要とされる配糖体よりもアグリコンの方が、腸管から吸

Table 2. Changes of free amino acid compositions of water-soluble fraction of *Daitokuji-natto* during processing (mg/100 g dry w.).

	②	⑤	⑥	⑧	⑨
Asp	12.8	222.2	381.3	272.7	296.1
Glu	68.2	822.4	964.7	711.1	621.2
Ser	6.7	257.8	321.4	273.5	267.3
Gly	9.6	96.4	126.3	98.8	97.3
His	5.5	68.4	74.5	49.0	32.3
Arg	97.2	460.6	526.2	376.4	335.9
Thr	6.4	143.1	211.5	153.0	131.1
Ala	9.8	303.3	390.5	311.1	340.7
Pro	53.0	254.7	373.3	294.5	302.7
Tyr	30.8	198.0	196.2	138.9	147.1
Val	11.3	267.2	376.1	266.3	263.8
Met	44.7	59.4	79.1	77.0	82.7
Ile	6.9	172.5	284.4	181.9	180.7
Leu	12.4	327.9	487.7	326.2	319.5
Phe	22.2	242.5	276.4	157.7	136.5
Lys	29.5	212.8	268.2	183.4	162.1
Total	426.9	4,109.0	5,337.8	3,871.5	3,717.1

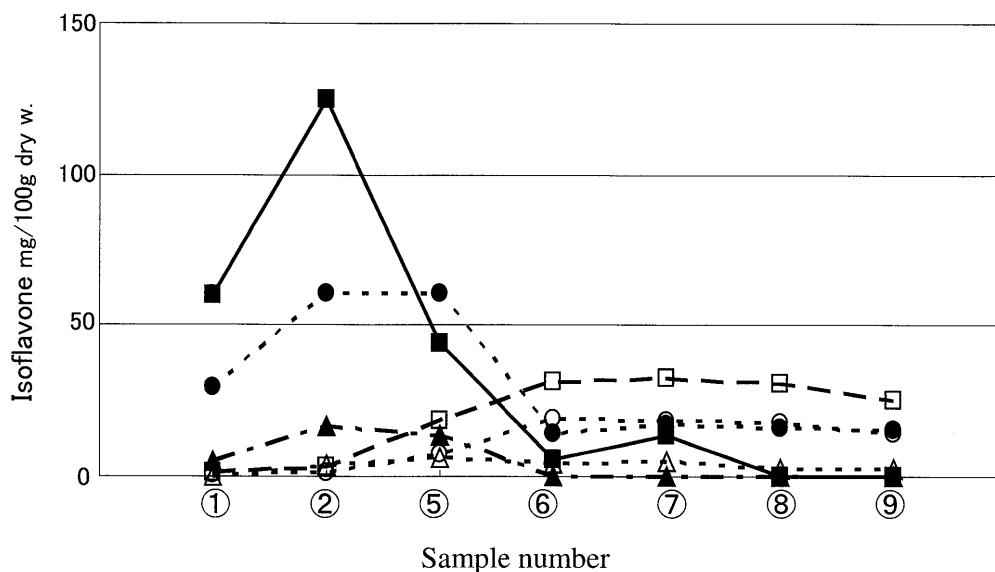


Fig. 6 Changes of isoflavone composition of *Daitokuji-natto* in 80% methanol-soluble fraction during processing

--●-- Genistin --■-- Daidzin --▲-- Glycitin
 --○-- Genistein --□-- Daidzein --△-- Glycitein

収される際に吸収性も生理活性においても優れているとされている²⁷⁾。熟成期間においてこれらのアグリコンが増加したことは、抗酸化食品としての大徳寺納豆の生理機能が期待される。

また、蒸煮大豆の試料②で原料大豆の試料①よりも配糖体であるゲニスチンとダイジンの増加がみられたが、イソフラボン配糖体には、配糖体の他にマロニル化配糖体、ア

セチル化配糖体が存在する。今回は、測定は行っていないが、マロニル化配糖体は生大豆に最も多く含まれており、これらは熱に対して不安定なため、加熱するとマロニル化配糖体が減少し、配糖体が増加することが報告されている⁶⁾ことから、今回の蒸煮大豆の場合に配糖体が増加したのもマロニル化配糖体の分解によるものではないかと考えられる。

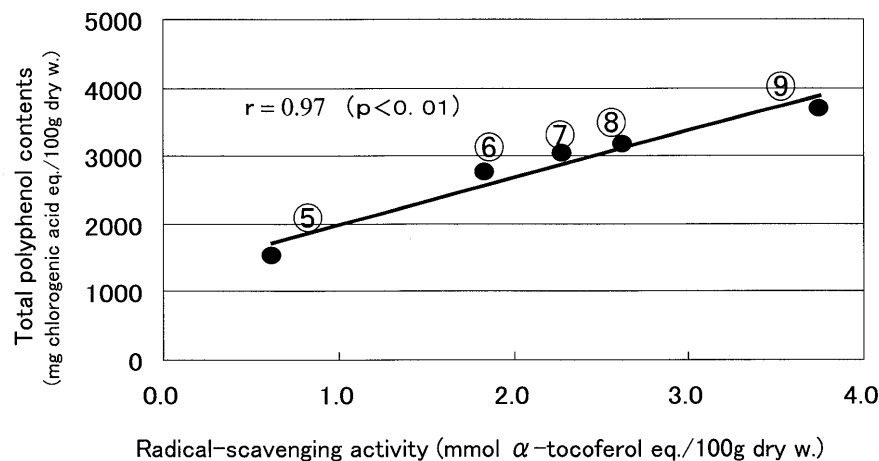


Fig. 7 Relationship between radical-scavenging activities and polyphenol contents

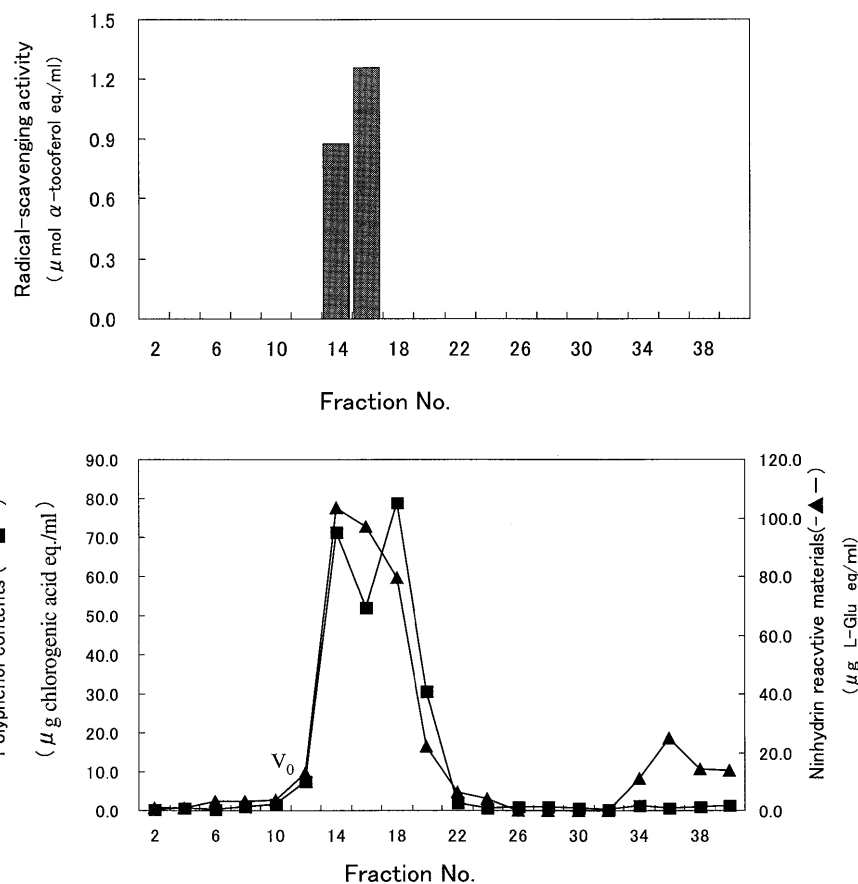


Fig. 8 Fractionation of water-soluble fraction of sample ① on Bio-gel P-4 column (ϕ 1.5×50 cm). Radical-scavenging activity and the contents of polyphenol and ninhydrin reactive materials were shown on chromatogram.

4. ラジカル消去活性と各種成分との関係

大徳寺納豆におけるラジカル消去活性は、主に水可溶性画分に認められたことから、水可溶性画分のラジカル消去活性と各種成分との関係を検討した。醤油、味噌においては、着色度（褐変度）が高いほど抗酸化性、およびラジカル消去活性が強いことが報告されている^{3,5)}。そこで、試料⑤～⑨の熟成過程における、ラジカル消去活性と褐変度、総ポリフェノール含量との関係を検討した。その結果、双方ともに相関関係が認められたが、特に、Fig.7に示すように総ポリフェノール含有量との間に高い相関 ($p < 0.01$) が認められた。そこで、より詳細にどのような成分がラジカル消去活性に寄与しているかを検討するために、試料①（原料大豆）および試料⑤、⑧、⑨の水抽出画分をBio-Gel P-4 カラムで分画し、ラジカル消去活性および、褐変度、総ポリフェノール含有量、ニンヒドリン呈色性物質量を測定した。

Fig. 8 に、原料大豆の水抽出画分のゲルろ過クロマトグラムの結果を示した。原料大豆については、排除体積画分

にポリフェノールおよびニンヒドリン反応物質と同じ位置に弱いラジカル消去活性が認められた。Folin 試薬およびニンヒドリンと反応したことを考えると水溶性のタンパク質と考えられる。実態は明らかにされていないものの大豆タンパク質が抗酸化性を示すことが報告されており²⁸⁾、ラジカル消去活性の主体も、未知のタンパク質成分とも考えられ今後の検討課題である。

Fig. 9, 10, 11 には、試料⑤、⑧、⑨のクロマトグラムを示した。その結果、ラジカル消去活性は高分子量のものに加え低分子量のものと2ヵ所に確認され、完成品の試料⑨では、特に高分子量のラジカル消去活性が高値を示した。高分子量側に認められた活性は褐変のピークとも一致したことから、活性物質の本体は褐変物質であるメラノイジンと思われた²⁵⁾。さらに試料⑨では低分子画分のラジカル消去活性のピークが試料⑤、⑧と比較して高分子側にシフトしていることも確認された。

低分子画分の活性は、生大豆には存在しなかったことから、蒸煮操作または室での発酵期間に生じたことが考え

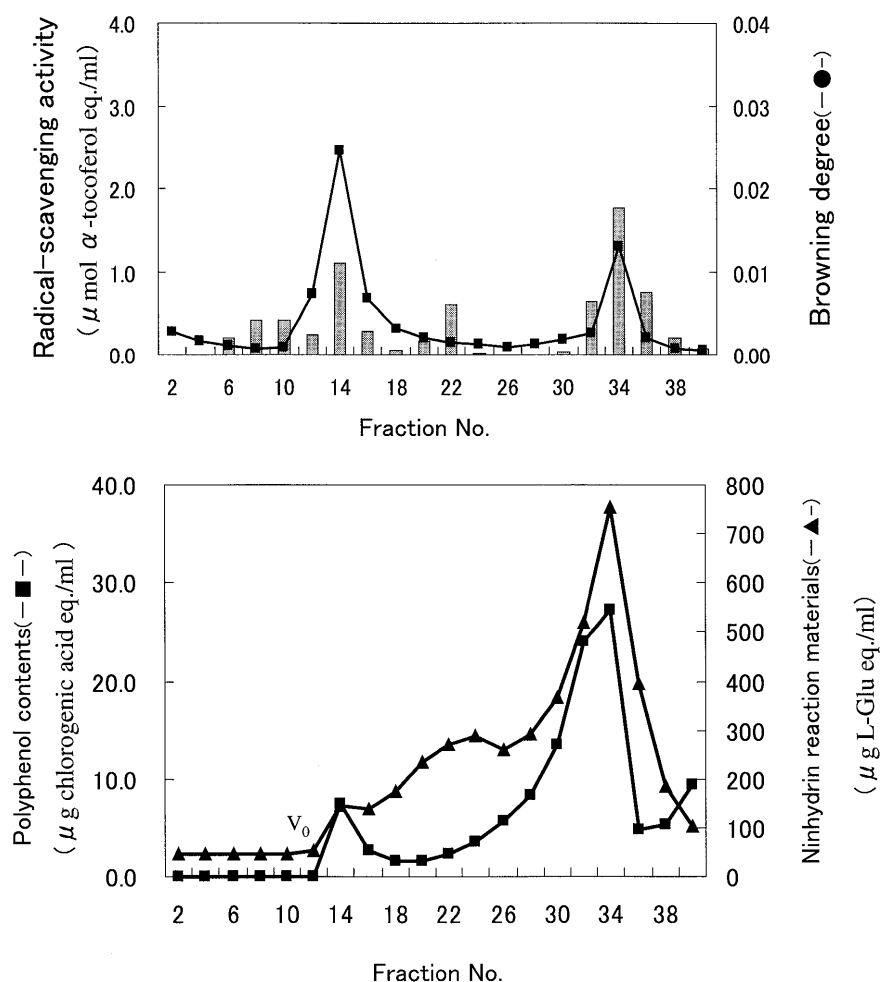


Fig. 9 Fractionation of water-soluble fraction of sample ⑤ on Bio-Gel P-4 column
Radical-scavenging activity, browning degree and the contents of polyphenol and ninhydrin reaction materials were shown on chromatogram.

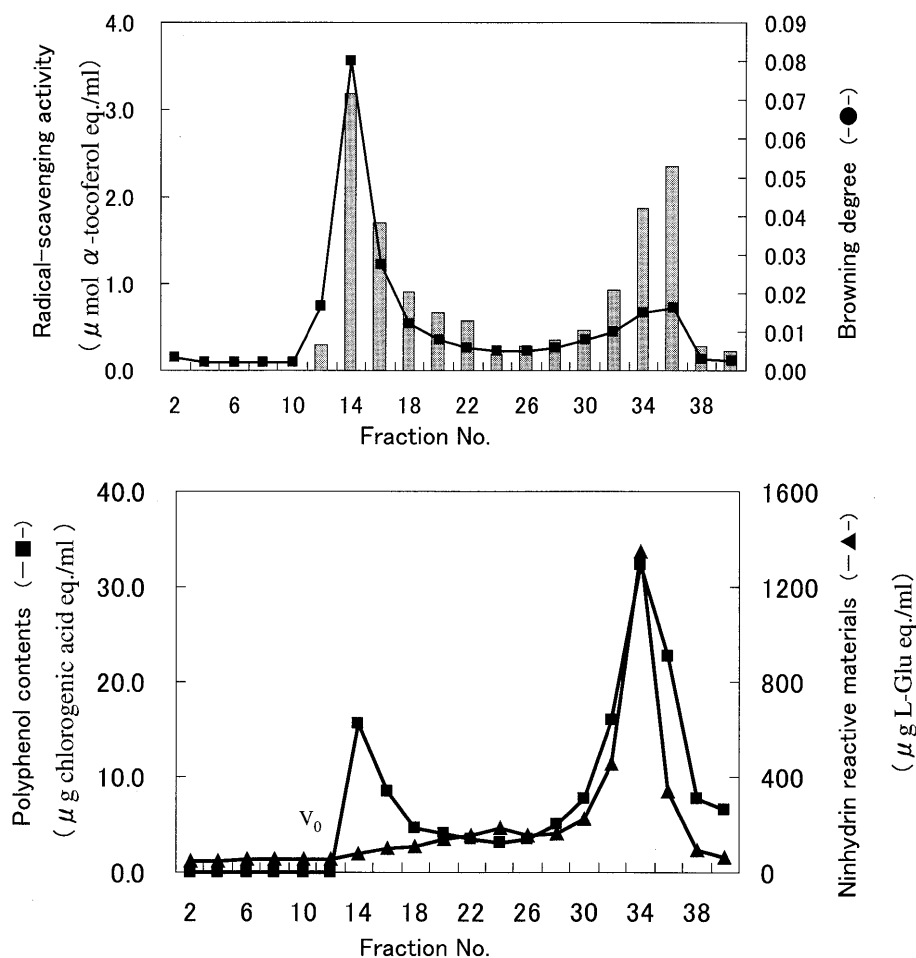


Fig. 10 Fractionation of water-soluble fraction of sample ⑧ on Bio-gel P-4 column
Radical-scavenging activity, browning degree and the contents of polyphenol and ninhydrin reactive materials were shown on chromatogram.

られ、ニンヒドリンとも反応することからタンパク質の分解により生じたアミノ酸やペプチドによるものではないかと考えられる。しかし、竹内らの報告によると、大豆タンパク質の麹菌プロテアーゼ分解液には DPPH ラジカル消去活性は殆ど認められないとしていることから、同じ位置に溶出したメイラード初期生成物によるものではないかと考えられる^{5,14)}。また、完成品である試料⑨では、低分子画分から高分子画分にかけて、ニンヒドリン呈色物質が広範囲に分布していることが示されが、同じく竹内らの研究⁵⁾によると、メラノイジン生成の初期および中間生成物は、時間の経過に伴い集積し、かつアミノ化合物と重合・高分子化し、また量的にも増大して活性に寄与していることから、大徳寺納豆の場合も、熟成に伴いアミノ化合物と重合・高分子化したメラノイジンの中間反応生成物ではないかと考えられた。

メラノイジンは重合が進むに従い黒味を帯びるといわれており、活性酸素消去作用は高分子メラノイジンのほうが低分子メラノイジンよりも高いことが知られている²⁹⁾。したがって、大徳寺納豆の場合も天日干しによる熟成期間に

おいて進行したメイラード反応によってラジカル消去活性が強くなったものと考えられた。

大徳寺瑞宝院の寺納豆は、代々受け継がれてきた経験と勘により、毎年祇園祭が終わる時期に仕込まれ、約2ヶ月という短期間に完成される。褐変が進み、ラジカル消去活性が急激に上昇するのは、完成までのわずか2週間である。今回、抗酸化性については測定しなかったが、先人の勘と技が、様々な抗酸化物質を始め、ラジカル消去活性物質を産み出し、保存期間の長い伝統食品となっていたことが、本研究から明らかとなった。

まとめ

伝統食品である京都大徳寺瑞峯院の大徳寺納豆について、そのラジカル消去活性の高さを解明するために、製造過程の DPPH ラジカル消去活性の変化とその関連成分について検討を行った。

ラジカル消去活性を測定したところ、主たる活性は水溶性画分に存在することが示された。そこで、ラジカル消去活性に寄与している成分を推定するために Bio-gel P-4

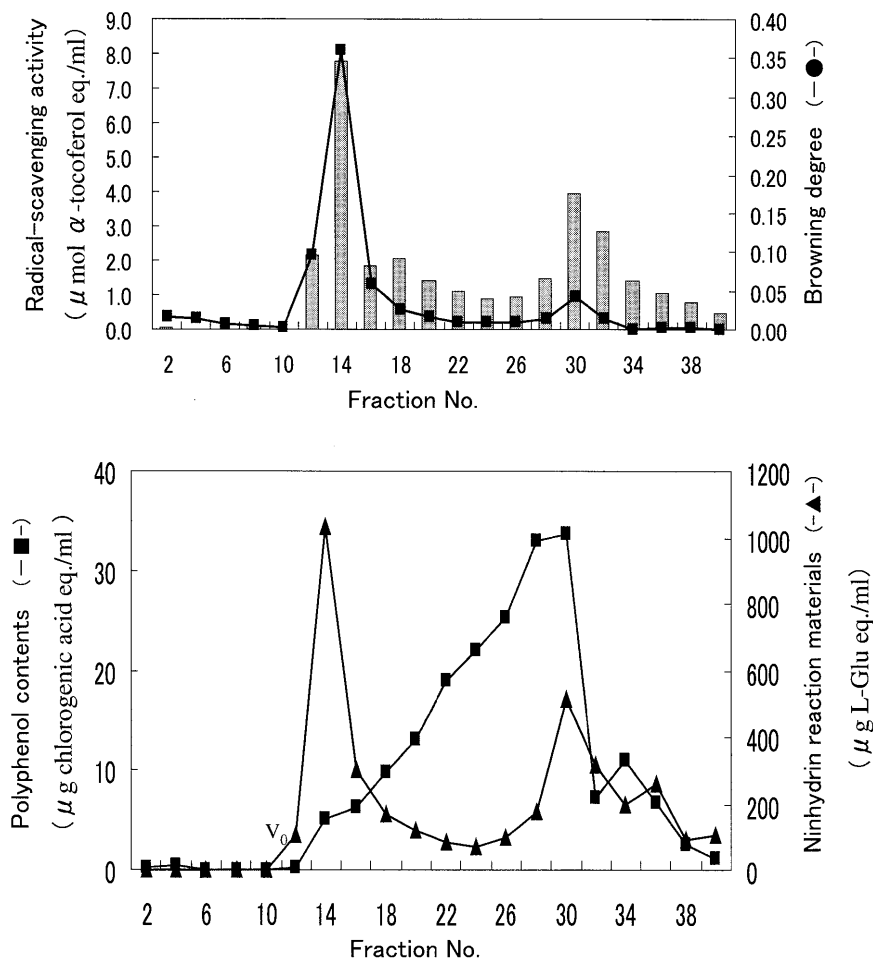


Fig. 11 Fractionation of water-soluble fraction of sample ⑨ on Bio-Gel P-4 column
Radical-scavenging activity, browning degree and the contents of polyphenol and ninhydrin reactive materials were shown on chromatogram.

カラムにて水可溶性画分の分画を試みた結果、原料大豆では、水溶性の未知のタンパク質の可能性が示唆されたが、煮沸後の室での発酵過程初期においては、麹菌等のプロテアーゼによってタンパク質が分解されて生じた遊離アミノ酸やペプチドがカルボニール化合物と反応し生成したメラノイジン初期生成物ではないかと考えられた。そして、天日干しによる熟成にともなってメイラード反応が進行し、メラノイジン生成の初期および中間生成物がアミノ化合物と重合・高分子化し、また量的にも増大して活性を高めていることが示唆された。

京都大徳寺瑞峯院の 大徳寺納豆は、天然に存在する麹菌等を利用して作られ、天日干ししながら短期間に完成される食品であるが、その間に生成されるさまざまな成分によって、その保存性が高まっていることが示された。

本研究を遂行するに当たり、試料の提供に協力して頂きました京都大徳寺瑞峯院の住職、並びに瑞峯院の皆様に感謝いたします。

文 献

- 1) 田中國介, 松井裕, 京の旨味を解剖する, pp. 20, 人文書院 (2004)
- 2) 豆類食品の加工販売と農村起業, pp. 27, 社会法人全国農業改良普及協会 (1995)
- 3) 山口真彦, 横尾良夫, 藤巻正生, 味噌及びしょう油のリノール酸に対する抗酸化力, 日本食品工業学会誌, **26**, 20-24 (1979)
- 4) 田村貴起, 竹中哲夫, 納豆菌及びテンペ菌発酵おから由来水溶性物質の抗酸化性, 日本食品科学工学会誌, **46**, 561-569 (1993)
- 5) 竹内徳男, 稲荷妙子, 森本仁美, 毛利光之, 味噌のDPPH ラジカル補足能に関する研究, 岐阜女子大学紀要, **33**, 115-122 (2004)
- 6) 家森幸男, 太田静行, 渡邊昌編, 大豆イソフラボン, pp. 18, 幸書房 (2001)
- 7) 河村幸雄, 大久保一良, ダイズのヘルシーテクノロジー, pp. 147, 光琳 (1999)
- 8) 池田稜子, 太田直一, 渡辺忠雄, 大豆発酵過程における抗酸化性物質イソフラボンの変化, 日本食品科学工学会誌, **42**, 322-327 (1995)
- 9) 江崎秀男, 川岸舜朗, 井上昂, 大澤俊彦, 味噌中のオルトジヒドロキシイソフラボンとその抗酸化性, 日本食品科

- 学工学会誌, **48**, 51-57 (2001)
- 10) 江崎秀男, 渡部綾子, 増田均, 大澤俊彦, 川岸舜朗, 味噌醸造中のオルトジヒドロキシイソフラボンの生成と変動, 日本食品科学工学会誌, **48**, 189-195 (2001)
 - 11) 江崎秀男, 大澤俊彦, 川岸舜朗, 醤油中のオルトジヒドロキシイソフラボン含量とその抗酸化性, 日本食品科学工学会誌, **49**, 476-483 (2002)
 - 12) 橋場弘長, 醤油の褐変物質 (メラノイジン) について, 農芸化学会誌, **47**, 727-732 (1973)
 - 13) 高宮和彦 (編集委員長), 醤油, 味噌, メイラード反応生成物, 色からみた食のサイエンス, pp. 298-301, サイエンスフォーラム (2004)
 - 14) M. Murakami, A. Shigeeda, K. Danjo, T. Yamaguchi, H. Talkamura and T. Matoba, Radical-Scavenging Activity and Bright Colored Pigments in the Early Stage of the Maillard Reaction, *J. Food Sci.*, **67**, 93-96 (2002)
 - 15) F. Hayase, S. Hirashima, G. Okamoto and H. Kato, Scavenging of Active Oxygens by Melanoidins, *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 3383-3385 (1989)
 - 16) 井上正康, 生命の内景と医食の接点を求めて, 活性酸素と医食同源, pp. 1-13, 共立出版 (1996)
 - 17) 坂倉弘重, 抗酸化食品が体を守る, pp. 87-94, 河出書房新社 (1998)
 - 18) 菊池洋子, 島村保洋, 広門雅子, 安田和男, 西島基弘, HPLC による食品中の Daidzin, Daizein, Genistin 及び Genistein の分別定量, 食衛誌, **40**, 444-454 (1999)
 - 19) 酒向史代, 勝田啓子, 練り味噌調製による褐変化と抗酸化性, 日本調理科学会誌 **34**, 73-79 (2001)
 - 20) Y. Takahata, M. Onishi-Kameyama, S. Furuta, M. Takahashi, I. Suda, High Polymerized Procyanidins in Brown Soybean Seed Coat with a High Radical-Scavenging Activity, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 5843-5847 (2001)
 - 21) S. Furuta, M. Takahashi, Y. Takahata, Y. Noshiha, T. Oki, M. Masuda, M. Kobayashi I. Suda, Radical-Scavenging Activity of Soybean Cultivars with Black Seed Coats, *Food Sci. Technol. Res.*, **9**, 73-75 (2003)
 - 22) M. P. Kahkonen, A. I. Hopia, H. J. Vuorela, J. P. Rauha, K. Pihlaja, T. S. Kujala, M. Heinonen, Antioxidant Activity of Plant Extracts containing Phenolic Compounds, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 3954-3962 (1999)
 - 23) 川添禎浩, 那賀和奈, 北條康司, 鈴木隆, 川角祐介, 石橋弘志, 有菌幸司, 健康食品の安全性に関する研究 杜仲茶とアセトアミノフェンの相互作用 大豆イソフラボンとエチルエストロジオールの相互作用, 第33回生薬分析シンポジウム 講演要旨, 48-61, 2004
 - 24) 京都大学農学部食品工学教室編, 食品工学実験書, 上巻, 371-372, 養賢堂 (1979)
 - 25) K. Sato, Y. Tsukamasa, C. Imai, K. Ohtsuki, Y. Shimizu, M. Kawabata, Improved Method for Identification and Determination of ϵ -(γ -Glutamyl) Lysine cross-Link in Protein Using Proteolytic Digestion and Derivation with PITC followed by HPLC Separation, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 806-810 (1992)
 - 26) 大槻耕三, 久保山晶子, 遠藤英子, 佐藤健司, 中村孝志, 麴納豆 (塩納豆, 浜納豆, 大徳寺納豆) に含まれる総アミノ酸および遊離アミノ酸の分析, 京都府立大学学術報告「人間環境学, 農学」, **52**, 1-6 (2000)
 - 27) 久保田芳郎, 斉藤實, 松山旭, [II] 各論: 臨床におけるサプリメント 9. 大豆イソフラボン, *Progress in Medicine*, **24**, 1487-1494 (2004)
 - 28) 大久保一良, 知られざる大豆パワー, 大豆の健康宣言, 日本食品出版 (2001)
 - 29) 茂田井宏, 井上進, 味噌の色について, 農芸化学会誌, **48**, 579-584 (1974)

(平成 19 年 2 月 19 日受付, 平成 19 年 5 月 2 日受理)

和文抄録

伝統食品である京都大徳寺瑞峯院の大徳寺納豆について, ラジカル消去活性の強さを解明するために, 製造過程のラジカル消去活性の変化とその関連成分について検討を行った。大徳寺納豆は, 7 月下旬から 9 月下旬にかけて仕込まれる。大豆 (鶴姫) を蒸煮することで, ゲニステイン, ダイジン, グリシチンが増加した。しかし, 室での発酵期間に減少し, 熟成期間では, 代わってゲニステイン, ダイゼインが増加した。また, 室での 1 週間の発酵期間に, プロテアーゼの働きにより, 遊離アミノ酸, 特にグルタミン酸やペプチドが増加した。炎天下における 2 ヶ月間の熟成期間には, 徐々にメラノイジン関連物質が産生された。またラジカル消去活性は, ポリフェノール含有量と高い相関を示したが, ラジカル消去活性に寄与している主な成分はメラノイジン関連物質であることが示唆された。