

*Original article***Anti-glycation and anti-oxidation actions of soy sauce components:  
Involvement of melanoidins**

Minaho Iida, Masayuki Yagi, Chieko Sakiyama, Yoshikazu Yonei

Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center,  
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2024; 11 (4): 184-191  
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

**醤油の抗糖化・抗酸化作用に対する影響**

飯田みなほ、八木雅之、崎山智恵子、米井嘉一

同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター

**抄録**

【目的】糖化ストレスによる生体への影響の多くは、糖質や脂質由来のアルデヒドが体内の蛋白質と反応して終末糖化産物 (advanced glycation end products: AGEs) を生じることに起因する。これら一連の反応は糖化と言い、体内でAGEsの生成・蓄積が起こると、組織や細胞に様々な障害を及ぼす。一方で、メラノイジン (melanoidin) は血糖値の上昇抑制、抗酸化作用、プレバイオティクス活性 (ビフィズス菌の増殖促進) 等の報告がされている。日本人はAGEsやメラノイジンを豊富に含む醤油を摂取する習慣がある。本研究では、醤油の抗糖化・抗酸化作用への影響を検証した。

【方法】市販の醤油13品をサンプルとした。醤油サンプルは分子量3,000の限外濾過フィルターでろ過し、ろ過処理なし：画分A、膜ろ液 (非メラノイジン画分)：画分B、膜残渣 (メラノイジン画分)：画分Cの3つに分けた。サンプルの糖化反応液の蛍光性AGEs、ペントシジンを測定後、生成抑制率 (%) または50%生成阻害濃度 (IC<sub>50</sub> 値) を算出した。サンプルのDPPHラジカル消去活性を測定した。実験室内でGlycine-Glucoseメラノイジン (GGM) を合成し、醤油に含まれるメラノイジン量を吸光度法 (400 nm) で測定した。醤油の蛍光性AGEs量はアルグピリミジン当量として算出した。

【結果】全ての醤油サンプルは蛍光性AGEsとペントシジンの生成を抑制した。また、DPPHラジカル消去活性が認められた。濃口醤油 - 画分Cにおいて、蛍光性AGEsのIC<sub>50</sub> 値は画分Bより3.4倍小さかった。画分CのDPPHラジカル消去活性は、画分A, Bよりも大きかった ( $p < 0.05$ )。画分CはGGMよりも蛍光性AGEs生成

連絡先：教授 八木雅之  
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター  
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3  
TEL&FAX: 0774-65-6394 e-mail: myagi@mail.doshisha.ac.jp  
共著者：飯田みなほ ctuj2008@mail4.doshisha.ac.jp;  
崎山智恵子 csakiyam@mail.doshisha.ac.jp; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2024; 11(4): 184-191  
本論文を引用する際はこちらを引用してください。  
(c) Society for Glycative Stress Research

抑制作用が2.51倍 (0.36 mg/mL)、DPPHラジカル消去活性が1.23倍 (0.41 mg/mL) 大きかった。11種類の醤油画分Cの作用差は蛍光性AGEs生成抑制作用で大きかった。

【結論】メラノイジンは醤油の抗糖化・抗酸化作用に寄与する可能性があった。メラノイジンの作用の強さは、糖化時間や糖/アミノ酸といった原料の違いにより異なる可能性があった。

**KEY WORDS:** 醤油、メラノイジン、糖化、終末糖化産物 (advanced glycation end products: AGEs)

## はじめに

終末糖化産物 (advanced glycation end products: AGEs) は生成条件の違いから、体内で作られる『内因性AGEs』と体外で作られる『外因性AGEs (食品由来のAGEs)』の二つがある。

糖化ストレスによる生体への影響の多くは、糖質や脂質由来のアルデヒドが体内の蛋白質と反応して内因性のAGEsを生じることに起因する<sup>1)</sup>。内因性AGEsは加齢とともに身体のさまざまな組織・臓器に蓄積して炎症や着色、生理的機能低下を引き起こし、糖尿病合併症や眼疾患<sup>2)</sup>、皮膚老化<sup>3)</sup>、骨粗鬆症<sup>4)</sup>、アルツハイマー型認知症<sup>5)</sup>、動脈硬化症<sup>6)</sup>などの生活習慣病の発症や進展に関与する。一方、食品由来の外因性AGEsには、有益と考えられる物質 (メラノイジン等) と有害と考えられる物質とがある。後者としてアクリルアミドとアルグピリミジンがある。アクリルアミドは食事として摂取された場合、消化管から急速に吸収されて組織へ分布される。肝臓では、アクリルアミドの代謝産物 (活性化体であるグリシドアミドなど) がDNAと結合して傷害を惹起することで、毒性や発癌性の病因となる可能性がある<sup>7)</sup>。アルグピリミジンの有害性については、RAGEとの結合と炎症性サイトカイン産生刺激を介して、組織の炎症性病変を惹起する機序がある<sup>8,9)</sup>。主に経口投与以外の投与経路の場合が問題になる。生体内においては、細胞内蛋白質のアルギニン残基がメチルグリオキサールと結合してアルグピリミジンを形成するが、神経分化に必須である可能性がある<sup>10)</sup>。AGEsが食品に含まれる場合の消化・吸収後の影響は明らかではない。正常な腎機能を持つ人では食品由来のAGEsの約10%が血中へ移行し、そのうち48時間以内に尿中へ排泄されるのは3%であった。残りの7%は代謝されて排出されるか、肝臓の類洞系や脾臓の網内系細胞による貪食を受けると想定される<sup>11)</sup>。食品由来AGEsが組織内へ沈着、蓄積することは考えにくく、あったとしてもごくわずかであろう。このように外因性AGEsと内因性AGEsの身体への影響は同等ではないにも関わらず、食品由来のAGEsの摂取が「有害」とする説もある<sup>12,13)</sup>。

醤油は大豆や小麦を発酵させて作られる調味料である。約400年前から日本人に親しまれており、料理には欠かせない存在である。醤油には濃口、薄口、溜、白、再仕込み<sup>14)</sup>、

透明醤油<sup>15)</sup>などの種類がある。醤油に特徴的な褐色はメラノイジンという褐色物質によって形成される。メラノイジンは食品の加熱調理や加工時にも生成され、香りや風味、色に影響を及ぼす。メラノイジンは醤油だけでなく、味噌やコーヒーなどの褐色食品に含まれている。

メラノイジンは分子量3,000～55,000 Daや10,000～140,000 Daとされている<sup>16)</sup>。しかしメラノイジンの構造は解明されていない。メラノイジンには、血糖値の上昇を抑制する効果<sup>17)</sup>、強い抗酸化作用<sup>18)</sup>、プレバイオティクス活性 (ビフィズス菌の増殖促進)<sup>19)</sup>、フレーバーの形成<sup>20,21)</sup>などがある。

糖化ストレスの抑制には、高血糖の抑制、糖化反応の抑制、糖化反応生成物の分解・排泄などが挙げられる<sup>22)</sup>。本研究では、醤油の抗糖化・抗酸化作用への影響を検証した。

## 方法

### (1) 試薬

糖化反応のモデル蛋白は、ヒト血清アルブミン (human serum albumins: HSA, lyophilized powder,  $\geq 96\%$ , agarose gel electrophoresis) を使用した。HSAはSigma-Aldrich Co. LLC (St. Louis, MO, USA) から購入した。アルグピリミジン (Argpyrimidine, TFA salt) はIRS Iris Biotech GmbH (St. Adalbert-Zoellner, Marktredwitz, Germany) から購入した。その他の試薬は特級またはHPLCグレードのものを使用した。それらは富士フイルム和光純薬株式会社 (大阪府大阪市) またはナカライテスク株式会社 (京都府京都市) から購入した。

### (2) 試料の調製

醤油は、京都府内のスーパーマーケットや通販サイトで13品目、6種類 (濃口Dark: 3品、薄口Light: 2品、溜Tamari: 2品、白White: 2品、再仕込みDouble fermented: 2品、透明Clear: 2品) を購入した (Table 1)。醤油をAmicon Ultra - 0.5 mL 3Kフィルターでろ過し、ろ過処理なし (画分A)、膜ろ液 (非メラノイジン画分: 画分B)、膜残渣 (メラノイジン画分: 画分C) の3つに分けた。各試料は乾燥前後で重量測定し、固形分濃度 (mg/mL) を算出した。

Glycine - Glucose メラノイジン (GGM) はグリシンとグルコースを 90 °C で 72 時間反応させて合成した<sup>23)</sup>。

### (3) AGEs 量の測定

蛍光性 AGEs 量は 0.025 ~ 0.50 mg/mL のアルゲピリミジン溶液<sup>24, 25)</sup>とともに励起波長 370 nm/蛍光波長 440 nm における蛍光値を測定し、アルゲピリミジン等量として算出した。ペントシジンは、糖化させた反応液を塩酸加水分解した後、逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で定量した<sup>26, 27)</sup>。

### (4) 糖化反応抑制作用の検証

糖化反応抑制作用の検証にはヒト血清アルブミン-グルコース (HSA-Glucose) 糖化反応モデルを使用した<sup>28)</sup>。糖化反応液は、0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4)、2.0 mol/L glucose、40 mg/mL HSA を調製した後、試料を添加した。その後、糖化反応液を 60 °C で 40 時間反応させた。マイクロプレートリーダーで AGEs 由来蛍光値 (励起波長 370 nm/検出波長 440 nm) を測定した。ペントシジンは HPLC 法により測定した<sup>26, 27)</sup>。対照 (reference: ref) は、試料の代わりに等量の精製水を加え、同条件で反応させた。蛍光性 AGEs 生成抑制作用の陽性対照には AGEs 生成阻害剤として知られているアミノグアニジン (AG) を使用した。蛍光性 AGEs とペントシジンの生成抑制率 (%) は以下の式に基づいて算出した。

$$\text{AGEs 生成抑制率 (\%)} = 100 - \{(\text{sample Glucose (+)} - \text{sample Glucose (-)}) / (\text{ref Glucose (+)} - \text{ref Glucose (-)}) \times 100\}$$

また、各試料の蛍光性 AGEs 生成抑制率 (3 濃度) から 50 % 生成阻害濃度 IC<sub>50</sub> 値 (mg/mL) を算出した。IC<sub>50</sub> 値は数値が小さいほど作用が強いことを示す。

### (5) DPPH ラジカル消去活性の検証

DPPH ラジカル消去活性 (μmol-Trolox equivalent/mL) は、Trolox を標準物質としてその相当量を算出する方法で測定した<sup>29, 30)</sup>。

### (6) メラノイジン量の測定

醤油に含まれるメラノイジン量は、GGM (0.30 mg/mL) と画分 C (0.39 mg/mL) の吸光スペクトル (200 ~ 800 nm) を測定し、吸光度 (400 nm) の測定値からメラノイジン量を算出した<sup>31, 32, 33)</sup>。醤油サンプルから画分 C を得て測定した。

### (7) 解析方法

測定値は平均値 ± 標準偏差 (n = 3) で示した。統計解析は 3 群以上の場合 Tukey 多重比較検定、2 群の場合 T 検定を用いた。相関はピアソンの積率相関係数を用い 0.4 < |r| < 1 を相関性ありとした。統計解析の結果は危険率 (p 値) 5 % 未満を有意とした (\*\*p < 0.001, \*p < 0.01, \*p < 0.05)。

## 結果

### 醤油に含まれる AGEs 量

11 種類の醤油に含まれる AGEs 量、ペントシジン量を Table 2 に示した。醤油を種類別に比較すると AGEs とペントシジン量は、いずれも溜まり醤油が最も多く、白醤油が最も少なかった。

### AGEs 生成抑制作用

終濃度 1.21 mg/mL における、醤油 11 種類-A の結果を Table 2 に示した。すべての醤油が蛍光性 AGEs の生成を抑制した。抑制率を個体別に比較すると、No. 11 が最も

Table 1. Soy sauce profile.

No.	Product name	Manufacturer / Seller	Characteristics
1	Special Whole Soy Soy Sauce	Kikkoman (Tokyo, Japan)	Dark Soy Sauce
2	Whole Soybean Soy Sauce	Daitoku Shoyu (Hyogo, Japan)	
3	Naturally brewed soy sauce, dark	Shokin Shoyu (Kanagawa, Japan)	
4	Light Whole Soybean Soy Sauce	Daitoku Shoyu (Hyogo, Japan)	Light Soy Sauce
5	Naturally brewed raw soy sauce, light	Shokin Shoyu (Kanagawa, Japan)	
6	Denemon Tamari	Ito Shoten (Aichi, Japan)	Tamari Soy Sauce
7	Umino Sei Japanese Organic Tamari Soy Sauce	Umi no Sei (Tokyo, Japan)	
8	Shichifuku Brewery Organic White Soy Sauce	Shichifuku Jozo (Aichi Japan)	White Soy Sauce
9	Yuasa Soy Sauce Kurasho White Squeezed	Marushin Honke (Wakayama, Japan)	
10	Kinbue Re-brewed raw soy sauce	Kinbue (Saitama, Japan)	Double Fermented
11	Domestic Organic Double Fermented Soy Sauce	Okanaosaburo Shoten (Gifu, Japan)	
12	Muku	Ichibiki (Aichi, Japan)	Clear Soy Sauce
13	Soy sauce-style seasoning	Fundodai (Kumamoto, Japan)	

13 items across 6 types (dark soy sauce: 3 items, light soy sauce: 2, tamari: 2, white soy sauce: 2, double-brewed soy sauce: 2, and clear soy sauce: 2), details of the soy sauce samples are shown in Table 1.

**Table 2. Content of glycation reaction products and effects.**

No.	AGEs	Pentosidine	Melanoidin	Inhibition rate of fluorescent AGE production	Inhibition rate of pentosidine	DPPH radical scavenging activity
1	36.04	74.52	1.85	66.12 ± 8.05	55.89 ± 1.25	84.08
2	29.31	71.12	2.94	37.33 ± 1.09	50.34 ± 7.70	89.68 ± 26.35
3	43.67	83.57	1.02	13.89 ± 3.71	71.95 ± 1.78	77.80 ± 17.96
4	16.56	66.61	0.43	44.21 ± 1.15	63.31 ± 0.76	100.78 ± 15.77
5	20.46	114.35	1.80	0.60	75.34 ± 2.37	34.20 ± 9.25
6	80.95	103.35	7.52	72.81	64.39 ± 3.32	86.14 ± 5.88
7	63.95	105.13	2.68	77.97 ± 1.34	64.93 ± 2.00	124.19 ± 4.42
8	8.70	99.36	0.35	68.58 ± 0.56	69.60 ± 14.06	27.80 ± 10.39
9	13.10	24.98	0.21	72.40 ± 0.32	69.97 ± 4.42	1.47 ± 11.81
10	66.74	93.75	4.18	68.63 ± 3.32	71.39 ± 14.01	92.29 ± 16.74
11	54.29	101.84	8.85	83.64 ± 0.31	68.16 ± 3.57	138.91 ± 0.32

Data: mean ± standard deviation (n = 3), details of the soy sauce samples are shown in **Table 1**. AGE content (mg Argpyrimidine equivalent/mL), pentosidine content (ng/mL) and melanoidin content (mg/mL) in 11 types of soy sauce samples. Inhibition rate of fluorescent AGE formation and pentosidine at a final concentration of 1.21 mg/mL. DPPH radical scavenging activity at solid content 3.03 mg/mL. AGEs, advanced glycation end products; DPPH, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

大きく、No. 5が最も小さかった。1.21 mg/mLのNo. 12, 13-Aにおいて、 $18.84 \pm 3.53\%$  (平均値 ± SD)、 $37.24 \pm 7.82\%$ であった。No. 12, 13の透明醤油においても抗糖化作用があった。

また、No.1-A, B, Cについての蛍光性AGEs生成抑制率とIC<sub>50</sub>値を**Table 3**に示した。すべての画分で糖化反応抑制が認められた。抗糖化作用の強さは画分C、A、Bの順であった。IC<sub>50</sub>値は、メラノイジン画分Cが非メラノイジン画分Bより3.4倍小さかった。

1.21 mg/mLにおける、11種類の醤油のペントシジン生成抑制率 (n = 3) を**Table 2**に示した。すべての醤油がペントシジンを抑制した。抑制率を個体別に比較すると、No. 5が最も大きく、No. 2が最も小さかった。

### DPPHラジカル消去活性

固形分濃度3.03 mg/mLにおける醤油11種類-Aの結果を**Table 2**に示した。すべての醤油がDPPHラジカルを消去した。消去活性を個体別に比較すると、No. 11が最も大きく、No. 9が最も小さかった。No. 12-Aが $9.14 \pm 9.50 \mu\text{mol-Trolox 当量/mL}$ 、No. 13-Aが $14.12 \pm 11.24 \mu\text{mol-Trolox 当量/mL}$ であった。透明醤油においても抗酸化作用があった。

No. 1-A, B, Cの2.0 mg/mLにおけるDPPHラジカル消去活性の結果を**Table 3**に示した。画分Cで最も強い抗酸化作用があった (\*\*p < 0.01)。No. 1-B, Cの結果より、メラノイジン画分は非メラノイジン画分に対して5.8倍高値であった。

### 醤油に含まれるメラノイジン量

メラノイジン量を**Table 2**に示した。種類別に比較すると、再仕込み、溜まり、濃口、薄口、白醤油の順で多かつ

**Table 3. Inhibition rate of fluorescent AGE production of Dark Soy Sauce.**

	Final Concentration (mg/mL)	Inhibition rate of fluorescent AGEs	IC50
Fraction A)	0.61	44.16 ± 5.56	0.73
	1.21	66.12 ± 8.05	
	2.42	85.34 ± 7.93	
Fraction B)	0.50	35.05 ± 3.92	0.98
	0.99	47.07 ± 6.70	
	1.98	68.93 ± 5.24	
Fraction C)	0.23	44.64 ± 2.10	0.27
	0.46	66.93 ± 1.93	
	0.70	82.15 ± 1.25	
AG			0.056

Data: mean ± standard deviation (n = 3), sample is shown is No.1 in **Table 1**. Inhibition rate of fluorescent AGEs (%) and IC<sub>50</sub> (mg/mL) of each fraction and AG. AGEs, advanced glycation end products; AG, aminoguanidine.

た。なお、No. 12および13 (いずれも透明醤油) のメラノイジン濃度は、検出感度 (0.01 mg/mL) 未満であった。

GGMとNo.1-Cの吸収スペクトルを**Fig. 1**に示した。両サンプルに明確な極大吸収は認められなかった。2つのスペクトルは、既報<sup>34)</sup>に記載されているメラノイジンの紫外・可視吸収スペクトルとほぼ一致していた。

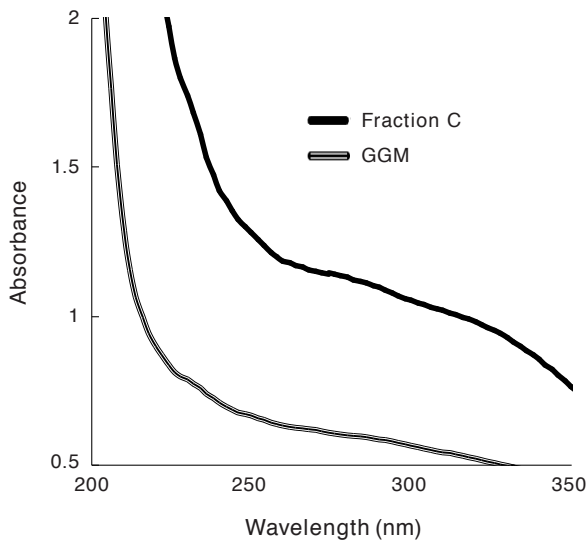
### 糖化反応生成物量とAGEs生成抑制作用/DPPHラジカル消去活性の関係

糖化反応生成物量とAGEs生成抑制作用、およびDPPHラジカル消去活性には相関性は認められなかった。



### メラノイジンの抗糖化・抗酸化作用

GGMの蛍光性AGEs生成抑制率は、0.065, 0.163, 0.244 mg/mLでは $7.2 \pm 3.2$  (平均値  $\pm$  SD)、 $26.7 \pm 1.8$ 、 $60.1 \pm 3.2$  %であった。GGMは濃度依存的に蛍光性AGEs生成抑制を示した。醤油におけるメラノイジンの寄与率は、メラノイジン濃度0.146、0.364、0.544 mg/mLで16.0、39.9、48.6 %であった。No. 1 - CはGGMよりも蛍光性AGEs生成抑制作用が2.51倍 (メラノイジン濃度0.36 mg/mL) 大きかった。測定した3濃度全てにおいて、GGMよりNo.



**Fig. 1.** Absorption spectrum of soy sauce fraction C and GGM.

Results shows absorption spectrums measured at 200 nm to 800 nm. Samples are “Fraction C of dark soy sauce (No.1 in Table 1)” and “GGM (Glycine - Glucose Melanoidin)”.

1 - Cが高値だった ( $***p < 0.001$ )。醤油画分Cに含まれるメラノイジンの蛍光性AGEs生成抑制率の結果をFig. 2-aに示した。同量のメラノイジンが含まれていても、種類間では最大2.09倍の差異があった。さらに全5種類の個体間でp値が異なった ( $***p < 0.001$ 、 $**p < 0.01$ )。抗糖化作用は個体別に見るとNo.9が最も大きかった。

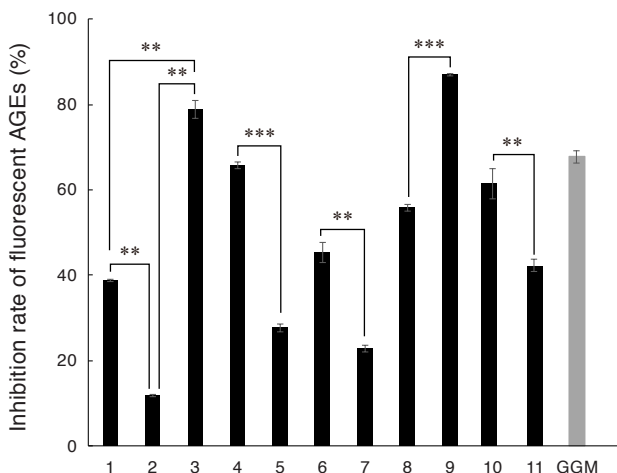
GGMのDPPHラジカル消去活性は、固形分濃度0.131、0.408、0.639 mg/mLでは $29.4 \pm 11.9$ 、 $72.8 \pm 15.6$ 、 $85.4 \pm 14.3$   $\mu\text{mol-Trolox 当量/mL}$ であった。GGMは濃度依存的にDPPHラジカル消去活性を示した。醤油におけるメラノイジンの寄与率は、メラノイジン濃度0.131、0.408、0.639 mg/mLでは41.6、81.0、73.8 %であった。No.1 - CはGGMよりもDPPHラジカル消去活性が1.23倍 (メラノイジン濃度0.41 mg/mL) 大きかった。DPPHラジカル消去活性は測定したメラノイジン濃度0.13 mg/mLのみで、GGMよりNo.1 - Cが高値であった ( $*p < 0.05$ )。メラノイジンのDPPHラジカル消去活性の結果をFig. 2-bに示した。同量のメラノイジンが含まれていても、醤油の種類によって活性が異なっていた ( $**p < 0.01$ )。種類間では最大1.57倍の差異があった。濃口醤油のみ試料間に差異が認められた ( $**p < 0.01$ )。抗酸化作用は個体別に見るとNo.3が最も大きく、No.2が最も小さかった。

### 考察

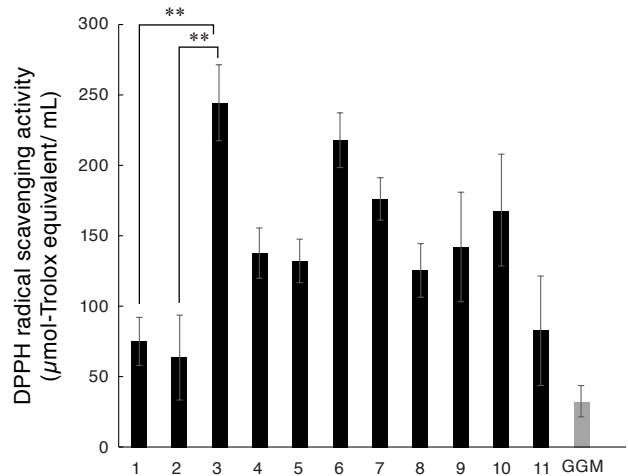
#### 醤油の抗糖化・抗酸化作用

測定した13種類すべての醤油にはAGEs生成抑制作用、DPPHラジカル消去活性が認められた。また、測定した11種類すべての醤油でペントシジン抑制作用があった。

a)



b)



**Fig. 2.** Inhibition/scavenging effects of soy sauce melanoidins on AGEs and DPPH radicals.

Results are expressed as mean  $\pm$  standard deviation ( $n = 3$ ),  $***p < 0.001$ ,  $**p < 0.01$ , Tukey test, Melanoidin content of the 11 types were standardized. (a) Inhibition of fluorescent AGE production. (b) DPPH radical scavenging activity. AGEs, advanced glycation end products; DPPH, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

これらの結果から、醤油は糖化と酸化反応を抑制する可能性がある食品と考えられた。

一般的に使用される濃口醤油 (No.1) の平均蛍光性AGEs生成抑制率およびDPPHラジカル消去活性は、画分Cが最も高かった (Table 3, 4)。このことから、特に分子量 3,000以上の成分に糖化と酸化反応を強く抑制する効果を持つ可能性があった。画分Cは、画分Bに対して蛍光性AGEs生成抑制率が3.4倍、DPPHラジカル消去活性が5.8倍高値であった。メラノイジンには抗糖化と抗酸化作用があった。画分Cにはメラノイジンが含まれ、画分Bは含まれない。以上から、醤油における抗糖化・抗酸化作用成分としてメラノイジンが関与している可能性がある。

一方、透明醤油 (No.12,13) にはメラノイジンが検出できなかった。しかし、透明醤油において抗糖化と抗酸化作用があった。さらに、No.1-Bにも抗糖化および抗酸化作用があった (Table 3, 4)。先行研究より、L-アルギニンやL-システイン等の遊離アミノ酸<sup>35,36)</sup>や大豆イソフラボン<sup>37,38,39)</sup>は抗糖化や抗酸化作用を有することが報告されている。これらのことからメラノイジンに加えて、分子量 3,000未満のアミノ酸やイソフラボンもこれらの作用に寄与している可能性がある。よって、メラノイジンが存在しない透明醤油であっても抗糖化や抗酸化作用を有する可能性がある。

本研究において、アミノグアニジン (AG) のIC<sub>50</sub>は濃口醤油 No.1の原液画分Aより13.0倍小さかった (Table 3)。No.1の固形分濃度が327.87 mg/mLであることから、糖化反応阻害薬AGと同等の効果を得るために必要な醤油の量は約0.0022 mLである。また、日本人の濃口醤油の推奨摂取量は、成人男性で45 mL (大さじ3弱)、成人女性で37.5 mL (大さじ2.5) である<sup>40)</sup>。よって、醤油は少量で糖化反応抑制の効果を発揮する可能性がある。

以上より、醤油は抗糖化・抗酸化作用を有する可能性があり、メラノイジンは作用成分の一つである可能性が高い。

### メラノイジンの抗糖化・抗酸化作用

メラノイジンは醤油や味噌、コーヒー等の褐色食品に含まれる。メラノイジンには血糖値の上昇抑制<sup>17)</sup>、プレバイオティクス活性 (ビフィズス菌の増殖促進)<sup>19)</sup> 等がある。特に抗酸化作用<sup>16,41,42)</sup> については多くの論文がある。一方、抗糖化作用を有する研究報告は少ない。今回我々は、実験室で合成したメラノイジン (GGM) の抗糖化および抗酸化作用を検証した。その結果、GGM、醤油のメラノイジン画分には抗糖化と抗酸化作用があった。

No.1-CとGGMで蛍光性AGEs生成抑制率およびDPPHラジカル消去活性に差があった。また、同じ醤油であっても上記の作用に差があった (Fig. 2)。さらに、白醤油No.9-Cはメラノイジン量が少ないのに対して抗糖化作用が大きく、濃口醤油No.2-Cはメラノイジン量が比較的多いのに対して抗酸化作用は最も小さかった (Fig. 2)。以上から、メラノイジンには様々な種類があり、作用の強さは種類により異なる可能性がある。醤油メラノイジンとGGM、また

Table 4. DPPH radical scavenging activity of Dark Soy Sauce.

DPPH radical scavenging activity				
Fraction A)	33.04	±	3.51	] ** ] **
Fraction B)	26.38	±	12.17	
Fraction C)	153.13	±	13.42	

Data: mean ± standard deviation (n = 3), \*\*p < 0.01, Tukey test, sample is shown is No.1 in Table 1. DPPH radical scavenging activity (μmol-Trolox equivalent/mL) in 2.0 mg/mL of each fraction. DPPH, 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

醤油の種類によって、メラノイジンを構成する糖・アミノ酸の配合や製造方法に違いがある。よって、これらが作用差の要因である可能性がある。

醤油メラノイジンとGGM、また醤油間での作用差は特に蛍光性AGEs生成抑制率において大きかった。これは、製造方法の違いが大きく影響している可能性がある。高血糖が原因の一つである血圧上昇<sup>43)</sup>を抑制するACE阻害効果は、発酵時間によって変化する<sup>44)</sup>。このため、発酵時間が抗糖化作用に影響を及ぼし、作用差を生む可能性がある。また、抗糖化と抗酸化で反応経路が異なる可能性がある。以上の結果から、メラノイジンの作用差は原材料や製造方法の違いに起因する可能性がある。

### 研究限界

今回得られた結果は糖化・酸化反応の抑制作用を示している。今後は、摂食試験による食後高血糖の抑制や糖化反応生成物の分解・排泄<sup>22)</sup>に関する更なる検証が求められる。

### 結語

メラノイジンは、醤油の抗糖化・抗酸化作用成分としての可能性があった。メラノイジンの作用の強さは、糖化時間や糖/アミノ酸の原料の違いにより異なる可能性がある。

### 利益相反申告

本研究の遂行にあたり、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

### 研究助成

競争的研究資金による助成はありません。

## 参考文献

- 1) Negre-Salvayre A, Salvayre R, Augé N, et al. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal*. 2009; 11: 3071-3109.
- 2) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med*. 2010; 7: 112-119.
- 3) Reiser KM. Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1998; 218: 23-37.
- 4) Saito M, Fujii K, Tanaka T. Reductions in degree of mineralization and enzymatic collagen cross-links and increases in glycation induced pentosidine in the femoral neck cortex in cases of femoral neck fracture. *Osteoporosis Int*. 2006; 17: 986-995.
- 5) Reddy VP, Obrenovich ME, Atwood CS, et al. Involvement of Maillard reactions in Alzheimer disease. *Neurotox Res*. 2002; 4: 191-209.
- 6) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science*. 1986; 232(4758): 1629-1632.
- 7) Pedreschi F, Mariotti MS, Granby K. Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment. *J Sci Food Agric*. 2013; 94: 9-20.
- 8) Cipollone F, Iezzi A, Fazia M, et al. The receptor RAGE as a progression factor amplifying arachidonate-dependent inflammatory and proteolytic response in human atherosclerotic plaques: Role of glycemic control. *Circulation*. 2003; 108: 1070-1077.
- 9) 吉村和修, 細谷龍男, 山本 博. AGE 特異的受容体 (RAGE). 糖尿病. 2005; 48: 411-414.
- 10) Nakadate Y, Uchida K, Shikata K, et al. The formation of argpyrimidine, a methylglyoxal-arginine adduct, in the nucleus of neural cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009; 378: 209-212.
- 11) Koscinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, et al. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): An environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94: 6474-6479.
- 12) 伊藤里恵, 楠本真広, 宮澤栞, 他. 食事由来 AGEs は炎症を増悪させる外的要因である. 日本食品化学学会誌. 2023; 30, 54-67.
- 13) 竹内正義, 瀧野純一, 逆井亜紀子, 他. 生活習慣病の発症・進展における Toxic AGEs (TAGE) の関与 - 新たな予防戦略 - ~ 食事性 AGEs および糖毒性の真実 ~. 金医大誌. 2015; 40: 95-103.
- 14) 農林水産省. 日本農林規格の改正について「しょうゆ」. 2014. [https://www.maff.go.jp/j/jas/kaigi/pdf/140529\\_sokai\\_c.pdf](https://www.maff.go.jp/j/jas/kaigi/pdf/140529_sokai_c.pdf)
- 15) 記事. 熊本の透明醤油: 食材の色変えない強み、外国人が支持. 日本経済新聞. 2023-12-28; <https://www.nikkei.com/article/DGXZQOJC218NX0R21C23A2000000/>, 閲覧日: 2024-10-28
- 16) Yang S, Fan W, Xu Y. Melanoidins present in traditional fermented foods and beverages. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022; 21: 4164-4188.
- 17) 三浦理代.メラノイジンの生理機能.日本醸造学会誌.2002; 97: 253-256.
- 18) Borrelli RC, Fogliano V. Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients. *Mol Nutr Food Res*. 2005; 49: 673-678.
- 19) Pérez-Burillo S, Rajakaruna S, Pastoriza S, et al. Bioactivity of food melanoidins is mediated by gut microbiota. *Food Chem*. 2020; 316: 126309.
- 20) Diaz-Morales N, Ortega-Heras M, Diez-Maté A, et al. Antimicrobial properties and volatile profile of bread and biscuits melanoidins. *Food Chem*. 2022; 373: 131648
- 21) Gigl M, Hofmann T, Frank O. NMR-based studies on odorant-melanoidin interactions in coffee beverages. *J Agric Food Chem*. 2021; 69: 15334-15344.
- 22) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo aging in skin. *Anti-Aging Med*. 2011; 8: 23-29
- 23) Hirano M, Miura M, Gomyo T. A tentative measurement of brown pigments in various processed foods. *Biosci Biotechnol Biochem*. 1996; 60: 877-879.
- 24) Yagi M, Hara H, Mifuru R, et al. Suppression of glycation protein cross-linking formation and cross-linking cleavage reaction of edible purple Chrysanthemum flower extract. *Glycative Stress Res*. 2022; 9: 7-14.
- 25) 八木雅之, 高部稚子, 石崎 香, 他. 糖化ストレスと抗糖化作用の評価. オレオサイエンス. 2018; 18: 67-73.
- 26) Yagi M, Isshiki K, Takabe W, et al. Measurement of pentosidine in human plasma by the high-performance liquid chromatography. *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 119-128.
- 27) Scheijen JLM, van de Waenburg MPH, Stehouwer CDA, et al. Measurement of pentosidine in human plasma protein by a single-column high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009; 877: 610-614.
- 28) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Experimental models for advanced glycation end product formation using albumin, collagen, elastin, keratin and proteoglycan. *Anti-Aging Med*. 2012; 9: 125-134.
- 29) Oki T, Osame M, Masuda M, et al. Simple and rapid spectrophotometric method for selecting purple-fleshed sweet potato cultivars with a high radical-scavenging activity. *Breeding Science*. 2003; 53: 101-107.
- 30) 沖 智之, 増田真美, 古田 収, 他. 紫サツマイモを原材料としたチップスのラジカル消去活性. 日本食品科学工学会誌. 2001; 48: 926-932.
- 31) Martins SIFS, Van Boekel MAJS. Kinetics of the glucose/glycine Maillard reaction pathways: Influences of pH and reactant initial concentrations. *Food Chem*. 2005; 92: 437-448.
- 32) 玉木雅子, 鶴飼光子, 本間清一. 玉葱汁がモデル系アミノ-カルボニル反応のメラノイジン形成に及ぼす影響. 日本食品科学工学会誌. 1998; 45: 52-57.
- 33) 村田容常. メイラード反応により形成される多様な色素. 日本醸造学会誌. 2022; 117: 66-75.
- 34) 村田容常. メイラード反応と着色・褐変: 糖とアミノ酸が反応すると茶色くなる化学. 日本農芸化学会. 2019; 57: 213-220.
- 35) 杉原 憲, 加藤志郎. 遊離アミノ酸の抗糖化作用. 微量栄養素研究. 2023; 40: 103-106.
- 36) 藤城貴史. 新たな抗酸化機能性アミノ酸「L-システインペルシルフィド」の生産系の確立に向けた人工酵素の開発. NEDO. <https://wakasapo.nedo.go.jp/seeds/seeds-3147/>, 閲覧日: 2024-10-28.
- 37) 江崎秀男, 川岸舜朗. 大豆発酵食品におけるO-ジヒドロキシイソフラボンの形成とその抗酸化的作用. 日本醸造協会誌. 2002; 97(1): 39-45.

- 38) Lv L, Shao X, Chen H, et al. Genistein inhibits advanced glycation end product formation by trapping methylglyoxal. *Chem Res Toxicol*. 2011; 24: 579-586.
- 39) Silvan JM, Srey C, Ames JM, et al. Glycation is regulated by isoflavones. *Food Funct*. 2014; 5: 2036-2042.
- 40) 厚生労働省. 日本人の食事摂取基準 (2020年版) - 「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書 -. 2020.  
<https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf>
- 41) Wang H, Qian H, Yao W. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chem*. 2011; 128: 573-584.
- 42) 山本 靖彦, 棟居 聖一. 糖化制御と生活習慣病の予防. 日本食生活学会誌. 2015; 25: 237-240.
- 43) 井上 昂. 白醤油について. 日本醸造協会誌. 2007;102: 24-30.
- 44) 伊部さちえ, 吉田恵子, 熊田 薫. 納豆のアンギオテンシンI変換酵素阻害活性. 日本食品科学工学会誌. 2006; 53: 189-192.