

大分産県フレッシュハーブの特性把握およびその機能性に関する研究

— ハーブ類の抗酸化性について —

山本展久*・水江智子*・佐野一成*・高野 濟**
宮本安紀子**・上野洋子**・工藤恭子**・望月 聡***
*食品工業部・**㈱ファインド・ニューズ・***大分大学教育福祉科学部

Characterization of Food Composition and Functionality of Herbs Cultivated in Oita — Study on the Antioxidant Activity of Herbs —

Nobuhisa YAMAMOTO*・Satoko MIZUE*・Kazunari SANO*
Naru TAKANO **・Akiko MIYAMOTO**・Yoko UENO**・Kyoko KUDO**
Satoshi MOCHIZUKI ***

*Food Science and Technology Division・**Find News Co.,Ltd
***Faculty of Education and Welfare Science,Oita University

要 旨

大分県産フレッシュハーブの特性把握を目的として、抗酸化性の測定を行った。β-カロチン退色法では、ローズマリー類・ユーカリ類・スウィートハーブメキシカン・ステビア・ロシアンタラゴン・サラダバーネット・ローズゼラニウムなどで特徴的に高い抗酸化活性が認められた。1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) を用いたラジカル消去活性を指標にした測定法では、以上のハーブ類の他にも高い活性を示すものがあった。2種類の測定法による抗酸化活性とポリフェノールとの相関関係を検討したところ、ラジカル消去活性測定法ではポリフェノール含量に対して比例関係が認められ、ハーブ由来ポリフェノールは抗酸化機構のうちフリーラジカル連鎖反応、特に連鎖成長反応の抑制に関与していることが示唆された。2種類の測定法による抗酸化活性の測定値は広い分布となったが、単位ポリフェノール量に対する比活性ではいくつかのグループに分類できた。抗酸化活性の強度を決定する要因は、ポリフェノール量とポリフェノール自体の活性の強度であることが推察できた。

1. 緒 言

ハーブとは、オックスフォード英語辞典によると、「葉または茎と葉が食用・薬用に使われ、匂いや香料が利用される植物のこと」と定義されている。歴史的に見ると、人類とハーブの結び付きは5万年以上前に遡ると言われ、肉等の腐敗防止・エジプトでのミイラ作り・ペストなどの細菌性流行疾病の駆除といった様々な方面で利用されてきた。これらは、着香の目的の他に、抗菌性・抗酸化性などのハーブの持つ機能性を経験的に活用したものであった。

食品の機能は、摂取することにより得られる栄養性が第一次機能として考えられ、嗜好性の第二次機能とともに長く論じられてきた。近年、健康への関心が増す中、健康維持に関わる様々な生理的機能性が第三次機能として注目されるようになった。食品の生理的機能性とは、体内における体調調節・生体防御・疾病予防・治癒機能などであり、「医食同源」の言葉が指すように食生活の改

善に加え、食品中に疾病予防・自然治癒能力の増強といった機能性を求める動きも大きくなっている。そのためにも食品や食品成分の生理的機能性を解明することが求められている。

ガンや動脈硬化、糖尿病などの「生活習慣病」と呼ばれる疾患は、食生活の欧米化に伴うカロリーの過剰摂取が重要な要因であり、その発症には「酸化ストレス」、特にフリーラジカルによる生体傷害が大きな役割を果たしていることが指摘されている⁽¹⁾。そのメカニズムはしだいに明らかとなり、例えば生体膜では、活性酸素などによりリン脂質が酸化されることで膜構造が破壊され、様々な障害を引き起こすと言われている⁽²⁾。

酸化ストレスと疾患との関係が明らかになるにしたがい、「食品の抗酸化性」に多くの注目が集まることとなった。なかでも“フレンチ・パラドックス”と呼ばれる疫学的事実が知られるようになってから抗酸化食品と呼

ばれるものが市場に出回るようになった。このフレンチ・パラドックスからは、抗酸化性とポリフェノールとの関係についても知見が得られ、第7の栄養素としてポリフェノールが注目されるようになった⁽³⁾。

食物による酸化防止の観点からも、ハーブ類は古くから人間の生活の中に存在し、動物性脂肪の酸化防止剤・腐敗防止剤として経験的に広く利用されてきた。近年になり、ローズマリーの抗酸化性のように科学的に解明されたものもある⁽⁴⁾。

我々は大分県産スウィートバジルが強い抗酸化性を有していることを確認した。その有効成分についても若干の考察を加え⁽⁵⁾⁽⁶⁾、ラット等を用いた生体内評価も試みた。今年度我々は、認知度が低く、今まであまり解明が進んでいないハーブ類を中心に県内で試験的に栽培を行い、その成分特性を明らかにした。また、それらは様々な機能性を有していることが予想され、総括的な情報が期待されている。本報では、その第一段階として抗酸化性に着目して、以下の実験を行った。

2. 実験方法

2.1 サンプルの調製

県内で7月から11月に収穫されたフレッシュ・ハーブ類について、主に利用する部位5gをエタノールとともにホモゲナイザー（日本精密工業㈱製、ヒストコロ）で磨砕し、濾過した後、残渣をエタノールで洗浄し、洗液と合わせて50mlとした。同一ハーブでも様々な部位を利用する場合はそれぞれについて調製した。このエタノール抽出液を以下の試験に供した。

2.2 抗酸化活性の測定

2.2.1 β-カロチン退色法⁽⁷⁾

リノール酸の酸化物がβ-カロチンを退色させる作用を利用した津志田等の方法を一部変更して抗酸化活性を測定した。

β-カロチンは470nmに吸収を持つ、黄色を帯びた物質であり、酸化されることで470nmの吸光度が減少する。反応系にサンプルを添加することで吸光度の減少が抑えられ、このことを指標として抗酸化活性を測定した。すなわち、β-カロチン溶液（100mg/100mlCHCl₃）、リノール酸溶液（10g/100mlCHCl₃）、Tween40溶液（20g/100mlCHCl₃）をそれぞれ0.5ml、0.2ml、1.0ml混合し、窒素気流下クロロホルムを蒸発させた。20mMリン酸緩衝液（pH6.8）100mlに静かに懸濁し、これをβ-カロチン-リノール酸溶液とした。

このβ-カロチン-リノール酸溶液を2.9mlずつ試験管に分注し、被験液100μlを添加して60℃の恒温槽中で反応させた。5分毎に470nmにおける吸光度を測定し、

60分間行った。

抗酸化性の標準物質として一般的な合成抗酸化剤Butylated Hydroxyanisole (BHA)を用いて同様な操作を行い、対照実験とした。抗酸化活性の単位としては以下に示すunitを採用した。すなわちBHA1mg/100ml

$$\text{unit} = \frac{O.D.15 \text{ min} - O.D.45 \text{ min}(\text{サンプル溶液})}{O.D.15 \text{ min} - O.D.45 \text{ min}(\text{BHA}1\text{mg}/100\text{ml})}$$

エタノール溶液の15分から45分までの吸光度減少量を1unitとし、以下の計算式によりサンプルの相対的な抗酸化活性を数値化した。

この計算式によれば、得られた数値の小さいものほど抗酸化活性は強いこととなる。

また、各種濃度（0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mg/100ml）のBHAについて抗酸化活性を測定し検量線を作成した。この検量線から各ハーブの抗酸化活性をBHA相当量として算出した。

2.2.2 DPPHを用いたラジカル消去活性測定法⁽⁸⁾

安定なラジカル剤1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)を用いたラジカル消去活性を指標に抗酸化活性を測定した。DPPHは517nmに吸収をもつ化合物（紫色）であり、ラジカルが消去されることにより、517nmにおける吸収が消滅する。高速液体クロマトグラフ（HPLC）でのDPPHのピーク面積の減少量から非ラジカル体への変換量、つまりラジカル消去活性を測定した。

すなわち、100mM Tris-HCl Buffer（pH7.4）80μl、500μM DPPHエタノール溶液100μl、被験液20μlをサンプルチューブ中で激しく攪拌し、20分間暗所で放置した。放置後、以下に示すHPLC装置を用いてDPPHを分離定量した。

Column : TSKgel Octyl-80Ts (4.6φ×150mm)

Eluent : MeOH/H₂O (70/30)

Flow rate : 0.8 ml/min

Temp. : 35℃

Detect : 517nm

Sample : 20μl

標準の抗酸化性物質として、6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)を用い同様な操作を行い、抗酸化活性をTrolox相当量として求めた。

2.3 ポリフェノール測定法⁽⁷⁾

フォリン試薬を用いるSwain等の方法⁽⁹⁾を一部改良し測定した。すなわち稀釈したサンプル2mlに2倍稀釈のフォリン試薬2mlを加えた後、10%Na₂CO₃溶液2mlを添加した。30℃で30分間保温した後760nmにおける吸光度を測定した。没食子酸を標準物質として、定量値は没食子

酸相当量として算出した。また、必要に応じて反応系をスケールダウンして測定した。

3. 結果及び考察

3.1 大分県産フレッシュハーブの抗酸化性について

大分県産フレッシュハーブの抗酸化性について、一例としてFig.1にバジル類の結果を示した。横軸は反応時間を、縦軸は0分での吸光度を100としたときの各時間での

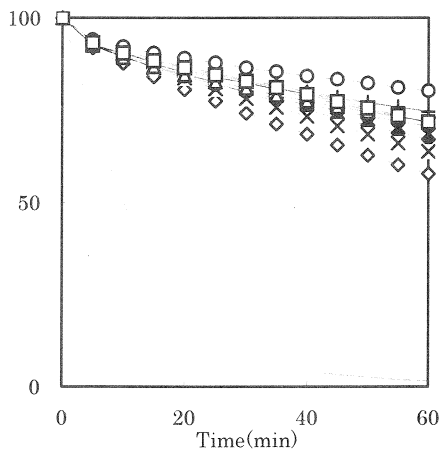


Fig.1 Antioxidant Activity of Basils in the β -Carotene/Linoleic Acid System

- ◆ Darkopal Basil
- ▲ Cinnamon Basil
- Purple Russell Basil
- + Holy Basil
- △ Lemon Basil
- Control
- ◇ Lettuce Basil
- × Licorice Basil
- Bush Basil
- Ruby Basil
- Sweet Basil

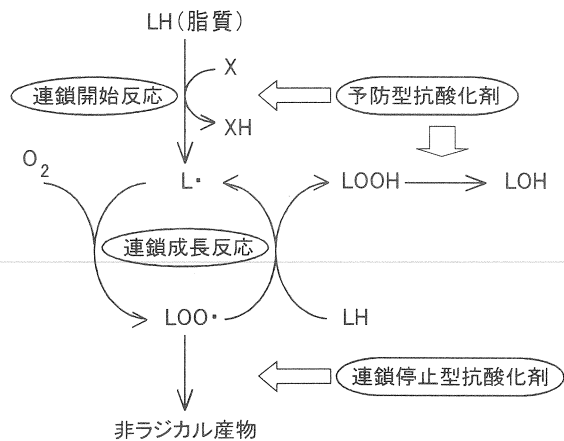
吸光度の相対値を表す。調製したサンプル原液では吸光度の減少がほとんど見られなかったため、原液をエタノールで10倍に希釈して測定した。バジル類で強い抗酸化活性が認められ、なかでもルビーバジル・シナモンバジルなどでは顕著であった。

バジル類同様他のハーブについても β -カロチン退色法で抗酸化活性を測定した。15分から45分までの吸光度の減少量からunitを求め、BHA検量線を用いて各ハーブの抗酸化活性を生葉100gあたりのBHA相当量として求めた。また、2.3.2に従ってDPPHを用いたラジカル消去活性を測定し、生葉100gあたりのTrolox相当量として求めた。同時にポリフェノール含量も生葉100gに対して求め、それらをTable Iにまとめた。 β -カロチン退色法で

は、ローズマリー類・スイートハーブメキシカン・ステビア・ロシアンタラゴン・サラダバーネット・ローズゼラニウムなどで特徴的に高い抗酸化活性が認められた。ラジカル消去活性は、以上のハーブ類の他にも高い値を示すものがあった。

津志田らは市販の野菜類43種について β -カロチン退色法で抗酸化活性を測定し、生鮮重量100gあたりBHAの量として25mg以上、5~25mg、5mg以下の3つのグループに分類している⁽⁷⁾。今回我々が測定したハーブ類については、根を除けば最も弱いものでもクラリーセージの57mg/100g生葉であり、ハーブ類の活性の高さが明らかとなった。食品添加物としてのBHAの許容限界は0.02% (200ppm) であり、この値からしてもかなりの抗酸化性であると思われる。例えば抗酸化活性で最も効力の大きかったサラダバーネットは合成抗酸化剤BHA換算で約2300mg/100g生葉であり、仮に油脂1kgを製造することを想定すると約8.7gで使用基準の上限値に達してしまう。乾燥葉にすると約2.6gとなり、かなりの少量で通常使用される合成抗酸化剤と同じ効果を発揮することができる。天然物系の有効な抗酸化剤が存在しない現状では、非常に有望なデータである。

生体内における脂質の過酸化反応は、ラジカル反応によるものと非ラジカル反応によるものとに大別できる。非ラジカル反応によるものには酵素的な過酸化が考えられるが、ラジカル反応による脂質の過酸化反応はScheme1に示すようにフリーラジカル連鎖反応(自動酸化)として進行する。この反応機構において、連鎖開始反応として不飽和脂肪酸(LH)から何らかの原因(X)によって水素(H)が引き抜かれ、脂質ラジカル(L \cdot)が生じる。次に脂質ラジカル(L \cdot)と酸素分子とが結合した脂質ペルオキシラジカル(LOO \cdot)が生成し、新たな脂質(LH)から水素を引き抜く反応が連鎖的に継続し、



Scheme1 脂質のラジカル連鎖過酸化機構

Table I The Relationship between Antioxidant Activity and Polyphenol Concentration of Herbs Cultivated in Oita

	Antioxidant Activity (per 100g Fresh Weight)		Polyphenol conc. (mg / 100g Fresh Weight)	Specific Activity (per mg Polyphenol)	
	mg BHA Equ.	mmol Trolox Equ.		mg BHA Equ.	μ mol Trolox Equ.
Sweet Basil	273	2.72	316	0.86 **	8.60 **
Darkopal Basil	238	3.76	397	0.60 **	9.47 **
Lettuce Basil	207	2.21	134	1.54 **	16.51 ***
Cinnamon Basil	401	2.87	271	1.48 **	10.60 **
Licorice Basil	231	1.22	121	1.91 **	10.12 **
Purple Russell	274	3.63	329	0.83 **	11.04 **
Bush Basil	268	1.63	98	2.73 ***	16.66 ***
Holy Basil	262	3.03	277	0.95 **	10.95 **
Ruby Basil	546	5.21	493	1.11 **	10.57 **
Lemon Basil	276	2.09	161	1.71 **	12.95 **
Yellow Flower Lavender	145	0.20	112	1.29 **	1.76 *
Summer Lavender	305	1.39	182	1.68 **	7.63 **
Hidcote Lavender	261	0.76	148	1.76 **	5.11 *
French Lavender	291	8.35	828	0.35 *	10.09 **
French Stoechas Lavender	556	6.77	756	0.74 **	8.95 **
Spike Lavender	269	0.89	118	2.28 ***	7.55 **
English Lavender	447	1.48	173	2.58 ***	8.57 **
Apple Mint	258	2.85	333	0.77 **	8.55 **
Water Mint	242	5.09	855	0.28 *	5.95 **
eau de cologne Mint	262	3.73	454	0.58 **	8.22 **
Orange Mint	270	4.78	518	0.52 *	9.22 **
Cool Mint	432	3.97	404	1.07 **	9.84 **
Spear Mint	266	7.78	636	0.42 *	12.23 **
Pineapple Mint	242	2.14	235	1.03 **	9.10 **
Bush Mint	311	5.16	1089	0.29 *	4.74 *
Pepper Mint	513	5.43	505	1.02 **	10.74 **
Rosemary Tuscanablue	1066	5.90	386	2.76 ***	15.30 ***
Rosemary Wood	1378	10.53	613	2.25 ***	17.18 ***
Rosemary Dreamyblue	1492	11.98	759	1.97 ***	15.78 ***
Apple Eucalyptus	233	5.81	590	0.39 *	9.85 **
Lemon Eucalyptus	352	7.62	1688	0.21 *	4.51 *
Lemongrass	99	1.30	144	0.69 **	9.00 **
Lemon Thyme	254	6.53	641	0.40 *	10.19 **
Lemon Scented Verbena	436	3.85	319	1.37 **	12.07 **
Lemon Balm	282	7.79	808	0.35 *	9.64 **
Dill	244	1.33	167	1.46 **	7.99 **
Fennel(Leaf)	224	0.69	75	2.99 ***	9.24 **
Wild Strawberry(Leaf)	465	1.68	347	1.34 **	4.83 *
Sweet Herb MEXICAN	1479	9.40	1005	1.47 **	9.36 **
Hop	225	1.17	265	0.85 **	4.42 *
Stevia	1396	13.21	1310	1.07 **	10.09 **
Nasturtium(Leaf)	199	3.36	274	0.73 **	12.25 **
Oregano	267	7.72	690	0.39 *	11.19 **
Sweet Marjoram	229	2.52	381	0.60 **	6.62 **
Common Mallow	180	0.56	82	2.20 ***	6.85 **
Lamb's Ears	173	3.23	302	0.57 **	10.69 **
Echinacea	258	0.84	107	2.41 ***	7.88 **
Chives	108	0.26	45	2.40 ***	5.78 **
Chives(Root)	24	0.46	133	0.18 *	3.43 *
Chicory	178	0.54	97	1.84 **	5.55 **
Echinacea(Flower)	184	0.52	83	2.22 ***	6.28 **
Echinacea(Leaf)	257	3.12	307	0.84 **	10.17 **
Echinacea(Stem)	43	0.65	54	0.80 **	12.02 **
Echinacea(Root)	4	2.27	79	0.05 *	28.77 ***
Roman Chamomile	257	5.26	349	0.74 **	15.06 ***
Common Yarrow	262	4.88	474	0.55 *	10.30 **
Russian Tarragon	1256	12.58	556	2.26 ***	22.63 ***
Bergamot(Flower)	205	2.44	498	0.41 *	4.90 *
Bergamot(Leaf)	360	4.80	564	0.64 **	8.51 **
Hyssop(Flower)	362	4.16	545	0.66 **	7.63 **
Hyssop(Leaf)	487	4.23	673	0.72 **	6.28 **
Pineapple Sage	540	7.45	781	0.69 **	9.54 **
Cherry Sage	377	6.17	558	0.68 **	11.06 **
Amethyst Sage	222	4.29	493	0.45 *	8.70 **
Clary Sage	57	2.44	264	0.22 *	9.25 **
Rhubarb	105	2.31	35	3.00 ***	65.94 ***
Common Soapwort	83	0.54	63	1.32 **	8.60 **
Salad Burnet	2280	13.16	838	2.72 ***	15.71 ***
Common Comfrey	255	6.33	682	0.37 *	9.28 **
Wild Rocket	127	0.57	68	1.87 **	8.40 **
Common Mullein(Leaf)	249	0.62	420	0.59 **	1.48 *
Common Mullein(Fruit)	236	2.90	444	0.53 *	6.52 **
Chervil	108	2.57	193	0.56 **	13.32 **
Rose Geranium	1817	7.45	719	2.53 ***	10.37 **
Black Mallow	119	2.61	295	0.40 *	8.85 **

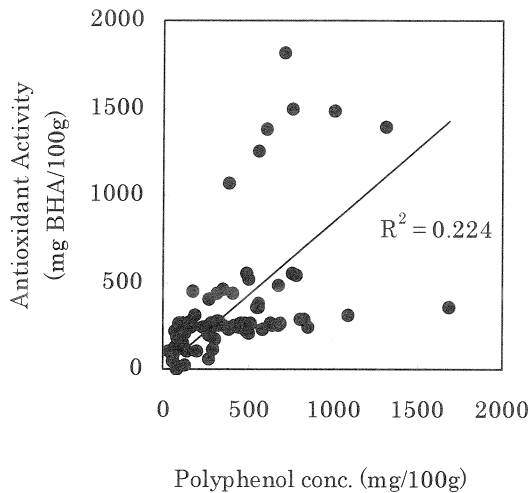


Fig.2 The Relationship between Antioxidant Activity in the β -Carotene/Linoleic Acid System and Polyphenol Concentration

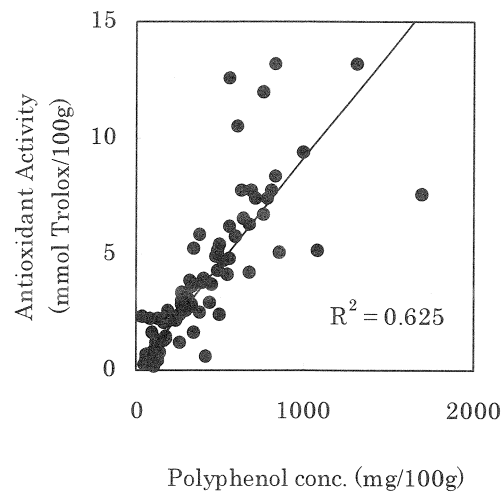


Fig.3 The Relationship between Radical Scavenging Activity and Polyphenol Concentration

結果的に脂質ヒドロペルオキシド (LOOH) が蓄積する。連鎖開始反応に関わる活性種 (X) としてはヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$)、ペルヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OOH}$)、アルコキシラジカル ($\text{LO}\cdot$)、脂質ペルオキシラジカル ($\text{LOO}\cdot$) などの活性物質があげられる。これらの活性種のラジカルを捕捉する物質は、予防型抗酸化剤として作用する。また、これらの活性物質の発生に関与すると考えられるスーパーオキシドや過酸化水素、金属イオン (鉄イオンや銅イオン) などを捕捉するものも予防型抗酸化剤と考えられる。これに対して生じたフリーラジカルを捕捉して連鎖成長反応を停止させるものを連鎖停止型抗酸化剤と呼んでいる⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾。

本報で安定なフリーラジカルとして使用したDPPHは脂質ラジカル ($\text{L}\cdot$) や脂質ペルオキシラジカル ($\text{LOO}\cdot$) のモデルとして考えることができ、ラジカル消去活性を指標とした活性測定法 (Trolox相当量) は、ラジカル反応の連鎖成長反応を停止させるか否かを中心に評価する方法である。一方、 β -カロチン退色法 (BHA相当量) はリノール酸の自動酸化物が β -カロチンを退色させる方法であり、2つの反応が組み合わされたものと考えることができる。この相違が2種の方法で測定した抗酸化活性に相関性がないハーブが見られる理由であると考察した。

3.2 ポリフェノール量と抗酸化性

Fig.2およびFig.3に β -カロチン退色法とラジカル消去活性測定法でのそれぞれの抗酸化活性とポリフェノール含量との相関関係をグラフ化した。横軸はポリフェノール

ール含量を、縦軸はそれぞれの測定法での活性量 (相当量) を表す。ラジカル消去活性測定法でポリフェノール含量に対して比例関係が認められた (Fig.3)。相関係数は $R^2=0.625$ であったが、ウォーターミント・ブッシュミント・ローズマリーウッド・ローズマリードリーミーブルー・レモンユーカリ・ロシアンタラゴン・サラダバーネット・コモンマーレインなどを除くと極めて高い相関性があることがわかった。このことからハーブ由来ポリフェノールは抗酸化機構のうちフリーラジカル連鎖反応、特に連鎖成長反応の抑制に関与していると推察した。緑茶に多く含まれるカテキン類などのフラボノイド類は、 $\text{LOO}\cdot$ の捕捉剤としてだけでなく、活性酸素種の捕捉剤や金属キレート剤、さらにリポキシゲナーゼ阻害剤として作用することが報告⁽¹²⁾されており、複数の作用点をもつ多機能型抗酸化剤であるとされている。しかしながら今回の結果だけでは、ハーブ由来ポリフェノールは多機能型抗酸化剤であるとは言えず、今後さらに多方面からの解析が必要である。

3.3 比活性について

次にそれぞれのポリフェノール含量で抗酸化活性を除いた比活性 (mgポリフェノールあたりの抗酸化活性) を算出した (Table I)。 β -カロチン退色法では、0.5以下のグループ (Table中*を付加)、1.0前後の値を示すグループ (同**), 2.0を超えるグループ (同***) の3つに大別でき、また、ラジカル消去活性測定法では5.0より小さいもの (同*), 10.0前後のもの (同**), 15.0以上のもの (同***) の3種に分類できた。わかりやすくするため

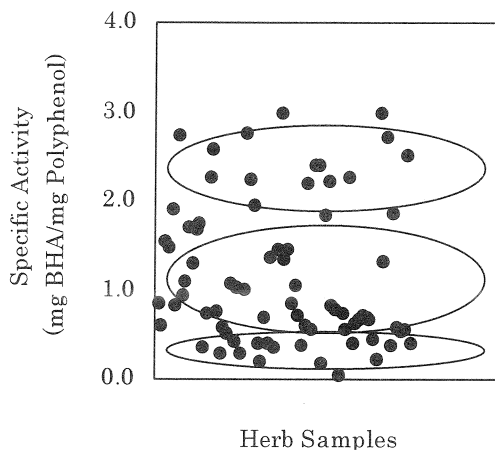


Fig.4 The Classification of Herb Antioxidant by Specific Activity in β -Carotene/Linoleic Acid System

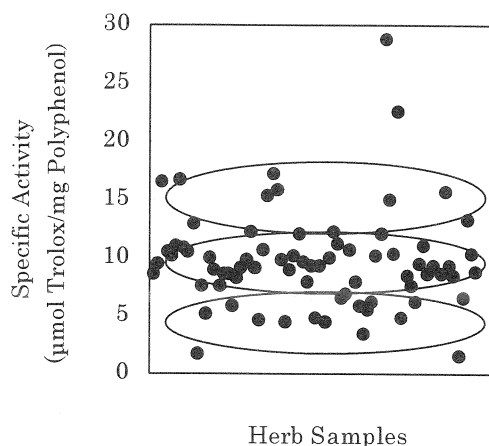


Fig.5 The Classification of Herb Antioxidant by Specific Activity in DPPH Scavenging System

に各比活性のばらつきをグラフ化した (Fig.4,5). 生葉 100gあたりで比べたときに同程度に抗酸化活性が強いものでも、ブッシュミントやレモンユーカリのようにポリフェノール含量が多くて強いものとブッシュバジルやルバーブのように高活性のポリフェノール、もしくは他の活性物質を含むものがあると考えられる。我々が以前検討したスイートバジルには、香気成分の1種Eugenolが抗酸化性に効果的に作用していた⁽⁵⁾。また、強い抗酸化性を有することで知られているローズマリー類は、高活性なポリフェノールを大量に含むために非常に効果的な活性を示すことが理解できる。

本報では2種の方法で基準となる標準物質が異なっていた。今後は同じ標準物質を用いて総合的に抗酸化性を評価する必要があると思われる。

4. まとめ

大分県産フレッシュハーブの特性把握を目的として、抗酸化性の測定を行ったところ、次のような結果を得た。

1. β -カロチン退色法では、ローズマリー類・ユーカリ類・スイートハーブメキシカン・ステビア・ロシアンタラゴン・サラダバーネットなどで特徴的に高い抗酸化活性が認められた。ラジカル消去活性は、以上のハーブ類の他にも高い活性を示すものがあった。
2. β -カロチン退色法とラジカル消去活性測定法でのそれぞれの抗酸化活性とポリフェノール含量との相関関係を検討したところ、ラジカル消去活性ではポリフェノール含量に対して比例関係が認められ、ハーブ由来ポリフェノールは抗酸化機構のフリーラジカル連鎖反応、特に連鎖成長反応の抑制に関与していることが強く示

唆された。

3. 抗酸化活性の測定値は広い分布となったが、比活性ではいくつかのグループに分類できた。抗酸化活性の強度を決定する要因は、ポリフェノール量とポリフェノール自体の活性の強度であることが推察できた。

参考文献

- 1) 大澤俊彦：食品工業，41(14)，(1998)，p18-25
- 2) 山口迪夫，中嶋洋子：「栄養の生活科学」，(1990)，p110-111，同文書院
- 3) 食品と開発，34(6)，(1999)，p21-29
- 4) 岩井和夫，中谷延二：「香辛料成分の食品機能」，(1989)，p69，光生館
- 5) 山本展久，水江智子，佐野一成，高野 済，望月 聡：平成10年度大分県産業科学技術センター研究報告，(1999)，p181-184
- 6) 山本展久，水江智子，佐野一成，高野 済，望月 聡：平成11年度大分県産業科学技術センター研究報告，(2000)，p180-185
- 7) 津志田藤二郎，鈴木雅博：日本食品工業学会誌，41(9)，(1994)，p611-618
- 8) T.YAMAGUCHI, H.TAKAMURA, T.MATOBA, J.TERAOKA : *Biosci.Biotechnol.Biochem.*, 62(6), (1998), p1201-1204
- 9) T.SWAIN,W.E.HILLIS : *J.Sci.Food Agric.*, 10 (1959), p63
- 10) 山内 亮：食品工業，41(14)，(1998)，p26-32
- 11) 東 敬子：食品工業，41(14)，(1998)，p56-64
- 12) 寺尾純二：食品と開発，28(10)，(1993)，p10-13