白糠を原料とした乳酸飲料の機能性について

菅野信男・上東治彦・森山洋憲・山崎祐三・久武睦夫
(高知県工業技術センター)

平成 12 年 3 月 24 日受理

Functionality of a Lactic Acid Beverage made from white rice flour

Nobuo SUGANO, Haruhiko UEHIGASHI, Hironori MORIYAMA,
Yuzo YAMAZAKI, Mutuo HISATAKE
(Kochi Prefectural Industrial Technology Center, 3992-3
Nunosida Kochi-shi 781-5101)

The functionality of a lactic acid beverage brewed by fermentation with lactic acid bacteria and sake yeast using white rice flour was investigated. The polyphenol concentration measured by the Folin-Dennis method was 110~130 mg/200 mℓ. These levels were much greater than those found in the seven commercial beverages used as controls. This beverage had the ability to scavenge the superoxide anion radical (O_2^-), which was measured by the method employing the xanthine-xanthine oxidase system. Prevention of autoxidation of emulsified linoleic acid was determined by measuring the rate of discoloration of beta-carotene caused by the oxidation of linoleic acid. As a result, this beverage showed an antioxidative activity superior to that of the authentic reagent, 1 mg of BHA. The Anti-allergic activity was represented by the inhibitory action on hyaluronidase. This beverage had the same activities as 250 mg/mℓ of Saiboku-To, an anti-allergic drug used in Chinese medicine. Also, it was found that this beverage had a strong ability to inhibit the Angiotensin I converting enzyme and the mutagenicity of Trp-P-2.

Key words : 白糠, 乳酸飲料, 機能性

結 言

食が単なる栄養という機能だけでなく体の生理制御機能と深く関わることから、より積極的な食品の生体調節機能に関する研究が進められてきた。食品と我々の疾病、特に高血圧症、高脂血症、糖尿病、動脈硬化症及び脳血管疾患など、いわゆる生活習慣病との間に深い関係にあることが知られつつあることから、食品の生活習慣病に対する予防効果を解明することは大事になってきている。

清酒製造における副産物である米粉（白糠）には良質な食品素材であるでんぷん、蛋白質、食物繊維等の成分を含んでいるが、十分活用されているとはいえない。

い。我々は食品への利用を図る 1 つとして、米粉を原料とし、乳酸菌と酵母の発酵による風味良好な乳酸飲料を製造したことを報告した¹⁾。本報ではこの乳酸飲料の持つ機能性即ち抗酸化性、血圧上昇抑制、抗変異原性、抗アレルギー性について、その可能性を検討した結果、有力な情報を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 試 料

前報¹⁾で報告した白糠の糖化液の G-P 液、乳酸飲料 A 及び B、対照として市販飲料の A 社製品（ウーロン茶、日本茶、リンゴジュース、果汁 20%、オレンジジュース、果汁 30%）、B 社製品（スポーツドリンク）、

Table 1 Components of a saccharified solution of white rice flour and lactic acid beverages made from white rice flour

	Saccharified solution	Lactic acid beverage	
	(G-P solution)	A	B
Acidity (mℓ)	2.10	4.50	6.70
Amino acidity (mℓ)	3.10	2.40	2.20
Alcohol (%)	—	0.40	0.50
Moisture (g/100 mℓ)	67.99	78.99	76.66
Glucose (g/100 mℓ)	25.40	15.90	18.40
Total sugar (g/100 mℓ)	31.36	20.62	22.86
Total nitrogen (g/100 mℓ)	0.25	0.19	0.18
Ash (g/100 mℓ)	0.28	0.17	0.21

C社製品（乳飲料）、D社製品（野菜ジュース）の7点、計10点。

注1. G-P液の調製法：原料白糠（精米歩合80%～70%の時にでる糠区分）に対し200%の水を加え、50℃に加温後液化酵素（アミラーゼRBII，天野製薬）を原料の1/1000重量攪拌しつつ添加し30分間で98℃まで昇温，さらに98℃で30分間液化した後，55℃に冷却後，糖化酵素（グルコザイムAF6，天野製薬）を1/1000重量とプロテアーゼA（天野製薬）を1/5000重量添加して，同温度で攪拌しつつ一晩糖化した後ろ過して清澄な糖化液（成分を第1表に示す）を調製した。

注2. 乳酸飲料の製造法：乳酸飲料Aは糖化液の糖濃度をBrix 20，BはBrix 22.5に調整し，Aには乳酸菌（*Lactobacillus lactis* subsp *lactic* IAM 1198），Bには（*Lactobacillus acidophilus* IAM 10074）をBrix 15の糖化液に培養した培養液をスターターとして3.5%（V/V）加えて37℃でAは2日間，Bは3日間発酵後，ろ過して乳酸菌を除いた後，糖化液（Brix 15）に培養した清酒酵母（高知酵母）を3%（V/V）添加して15℃，2日間培養，後ろ過して清澄な飲料を得た。（成分を第1表に示す）

2. ポリフェノール含量

ポリフェノール含量はFolin-Ciocalteu法³⁾に従って行い，没食子酸相当量として算出した。即ち適宜希釈した試料2 mℓに，2倍希釈のFolin試薬2 mℓを加え，3分後，10%（w/w）炭酸ナトリウム溶液2 mℓを加え，30℃で30分放置した。遠心分離した後760 nmでの吸光度を測定した。

3. 活性酸素消去能

Rosaら⁴⁾のニトロブルーテトラゾリウム（NBT）法に従い，キサンチン-キサンチンオキシダーゼ（X/XOD）反応系を用い，生成した O_2^- とNBTとの反応で生ずるホルマザンの吸光度（560 nm）を測定した。即ち，試験管に①0.05 M Na_2CO_3 緩衝液（pH 10.2）2.4 mℓ，②3 mM キサンチン溶液（キサンチン 45.64 mgを上記緩衝液に溶解して100 mℓとした溶液）0.1 mℓ，③3 mM EDTA溶液0.1 mℓ，④BSA溶液（Bovine Serum Albumin（Sigma製）15 mgを蒸留水に溶解して100 mℓとする）0.1 mℓ，⑤0.75 mM NBT溶液（ニトロブルーテトラゾリウム 61.32 mgを蒸留水に溶解して100 mℓとする）0.1 mℓ，⑥試料0.1 mℓを加え良く混合し，⑦酵素キサンチンオキシダーゼ溶液（キサンチンオキシダーゼ懸濁液 25 units（和光純薬）0.025～0.05 mℓを蒸留水 5 mℓに希釈し，使用時に調整する）0.1 mℓを加えて混合して，25℃，20分反応後，⑧6 mM $CaCl_2$ 溶液0.1 mℓ加えて反応停止し，560 nm吸光度を測定した。活性酸素消去性の強さは下記に示す式より活性酸素の消去率として示した。従って数値の高いほど活性が強いことを示す。

$$\text{活性酸素消去活性率} = (1 - (C - D) / (A - B)) \times 100$$

A：対照（試料の代わりに蒸留水） B：対照のブランク（酵素の代わりに蒸留水） C：試料 D：試料のブランク（酵素の代わりに蒸留水）

4. 抗酸化性の測定

抗酸化性の測定は津志田らの方法²⁾により測定した。すなわち β -カロチン溶液（100 mg/100 mℓクロロホルム），リノール酸（4 mg/100 mℓクロロホルム），ツイン 40 溶液（20 g/100 mℓクロロホルム）を調製

し、それぞれ 0.55 ml, 0.55 ml, 1.1 ml ずつを 200 ml の三角フラスコに取り、窒素ガス通気によりクロロホルムを完全に除去した後、110 ml の蒸留水を加えて溶解し、リノール酸 β -カロチン溶液を作製した。この溶液 90 ml に 8 ml の 0.2 M 磷酸緩衝液 (pH 6.8) を加え、静かに攪拌後 4.9 ml を試験管に分注し、0.1 ml の試料を添加・混合し、素早く 50°C の反応層に移し、15 分後から 45 分後までの吸光度 (470 nm) の減少量を求めた。さらに求めた減少量を基準溶液の BHA (ブチルヒドロキシルアニソール) 溶液 (1 mg/100 ml 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) とメタノールの 2:8 (v/v) 混合液) を添加し作製した反応液についての吸光度の減少量で割り抗酸化活性値とした。即ち計算式は次の通りである。

試料溶液 (O. D. 15 min - O. D. 45 min) /
BHA 1 mg/100 ml (O. D. 15 min - O. D. 45 min)
従って数値の低い程活性が強いことを示す。

5. 血圧上昇抑制

血圧上昇抑制は ACE (アンギオテンシン変換酵素) の阻害活性を Cushman らの方法⁵⁾に準じ測定して評価した。即ち、試験管に試料 0.03 ml と基質 (Hip-His-Leu 0.1 g と NaCl 1.046 g を 0.4 M 磷酸緩衝液 (pH 8.5) 29.4 ml に溶解) 0.25 ml を加え、37°C、5 分後 ACE 溶液 (60 mU/ml) を 0.1 ml 添加 37°C、50 分間反応させた後、1 NHCL 0.25 ml 添加して反応停止。さらに酢酸エチル 1.5 ml を加え、十分攪拌して生成した馬尿酸を抽出。3000 r. p. m, 10 分遠心分離して、上層の酢エチ層 0.8 ml を試験管に分取。蒸発乾固後、蒸留水 2.5 ml を加え、馬尿酸を溶解して 228 nm の吸光度を測定した。ACE の阻害率を下記の式から算出し、阻害活性とした。

ACE の阻害率 (%) = $(1 - (C - D) / (A - B)) \times 100$

A: 対照 (試料の代わりに蒸留水を加えたときの吸光度) B: 対照のブランク (蒸留水を加えたものに、酵素の代わりに緩衝液を加えたときの吸光度)
C: 試料を添加したときの吸光度 D: 試料のブランク (酵素の代わりに緩衝液を加えたときの吸光度)

6. 抗アレルギー活性

抗アレルギー活性については、掛川ら⁶⁾の方法に準じた。即ち、試料 0.1 ml に酵素溶液 (ヒアルロニダーゼ (Type IV-S From Bovine Testes. Sigma 製) 8 mg

を 0.1 M 酢酸緩衝液 (pH 4.0) 2 ml に溶解) を 0.05 ml 加え、37°C、20 分間放置後、酵素活性化液 (Compound 48/80 (Sigma 製) 2 mg, 塩化カルシウム・二水和物 15 mg を酢酸緩衝液 4 ml に溶解) を 0.1 ml 加え、さらに 37°C にて 20 分間放置。後基質溶液 (ヒアルロン酸カリウム (From Rooster Comb Potassium Salt, Sigma 製) 8 mg を酢酸緩衝液 10 ml に溶解) を 0.25 ml 加え、37°C、40 分間反応させ、0.4 N NaOH 0.1 ml を加え反応を停止した後、硼酸カリウム溶液 (0.8 M 硼酸水溶液 100 ml に水酸化カリウム 2.24 g を加え溶解) を 0.1 ml 加え、沸騰水浴中にて 3 分間加熱、室温まで冷却後、p-ジメチルアミノベンズアルデヒド溶液 (p-ジメチルアミノベンズアルデヒド 5 g を氷酢酸 44 ml, 10 N 塩酸 6 ml に溶解、本溶液は使用時、氷酢酸で 10 倍希釈する) を 3 ml 加え、37°C、20 分間放置後、585 nm における吸光度 (OD 値) を測定した。

なお、試料の代わりに、蒸留水を入れたものを対照とし、各試料、対照について酵素溶液を入れないもの (ブランク) についても吸光度を測定して、次式により阻害活性を算出した。

ヒアルロニダーゼ阻害率 =

$$(1 - (C - D) / (A - B)) \times 100$$

A: 対照吸光度 (試料の代わりに蒸留水) B: 対照ブランク吸光度 (酵素の代わりに緩衝液を加えたもの) C: 試料吸光度 D: 試料のブランク吸光度 (酵素の代わりに緩衝液を加えたもの)

7. 抗変異原性

抗変異原性試験は、*Salmonella typhimurium* TA 98 株を用いる Ames test^{7,8)}に準じた。変異原物質には Trp-P-2 を用いた。小試験管に Trp-P-2 溶液 (0.25 μ g/ml ジメチルスルホキシド (DMSO)) を 0.1 ml, 試料を 0.1 ml, 0.1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) を 0.6 ml, S9 Mix (S9 と Cofactor I いずれもオリエンタル酵母製を Mix して使用) を 0.1 ml 入れ良く混合し、さらに TA-98 培養液 [(ニュウトリエントブロス培地 (Nutrient Broth (Difco) 8 g, NaCl 5 g を脱イオン水 1 L に溶解) 10 ml に、凍結保存した TA-98 菌を 1 白金耳接種し 37°C、14 時間振とう培養した培養液) を 0.1 ml 加え、良く混合し 37°C、20 分振とう後、45~50°C に保温したトッパアガー培地 [寒天 0.75 g, NaCl 0.54 g, 脱イオン水 100 ml, 加圧殺菌後、ビ

Table 2 Antioxidant activity of various beverages

sample	polyphenol content (mg/200 mℓ)	O ₂ ⁻ scavenging ability (%)	Antioxidant ability
G-P solution	153.8	54.3	0.57
Lactic acid beverage A	118.5	52.8	0.72
Lactic acid beverage B	130.5	38.7	0.57
Oolong tea (A Co. Ltd.)	123.3	100.0	0.08
Green tea (A Co. Ltd.)	98.3	97.8	0.18
Apple juice, fruit juice 20% (A Co. Ltd.)	37.2	42.7	0.69
Orange juice, fruit juice 30% (A Co. Ltd.)	73.5	47.4	1.37
Sports drink (B Co. Ltd.)	56.3	39.9	0.93
Yogurt drink (C Co. Ltd.)	22.4	16.0	2.41
Vegetable juice (D Co. Ltd.)	64.2	64.9	0.29

O₂⁻ scavenging ability was estimated as inhibitory activity of the superoxide anion radical in the xanthine-xanthin oxidase system by the NBT method.

Antioxidant activity was estimated by the value of B/A. A is the difference of the O. D. at 15 min and 45 min of a standard solution of 1 mg BHA/100 mℓ. B is the difference of the O. D. at 15 min and 45 min of a sample solution.

オチン-ヒスチジン溶液(D-ビオチン 30.9 mg, L-ヒスチジン 24.6 mg を脱イオン水 250 mℓ に溶解し加圧殺菌)を 10 mℓ 添加した培地]を 3 mℓ を加え、それを最小グルコース寒天培地に上層し、37°C, 48 時間培養した。増殖したコロニーを計数し、下記の式から抗変異原性率を算出した。

なお、最小グルコース寒天培地は以下の通り。50 倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液(脱イオン水 335 mℓ, K₂HPO₄ 250 g, クエン酸 1 水塩 50 g, NaH₂PO₄ 4H₂O 88 g, MgSO₄ 7H₂O 5 g), 40%グルコース水溶液を予め調製加圧殺菌し冷蔵保存。寒天 30 g, 脱イオン水 1860 mℓ を加圧殺菌し 50°C に冷却後、50 倍濃度 Vogel-Bonner 塩溶液 40 mℓ, 40%グルコース水溶液 100 mℓ を加え、30 mℓ ずつ 10 cm シャーレに分注した。

$$\text{抗変異原率} = (1 - (C - D) / (A - B)) \times 100$$

A: 試料の代わりに蒸留水と Trp-P-2 添加したときのコロニー数 B: A のブランク(試料, Trp-P-2 の代わりに蒸留水と DMSO を加えたときのコロニー数) C: 試料, Trp-P-2 を添加したときのコロニー数 D: C のブランク(試料, Trp-P-2 の代わりに DMSO を加えたときのコロニー数)

実験結果及び考察

1. 抗酸化性

抗酸化性の結果を第 2 表に示す。ポリフェノール含量は乳酸飲料は他のいずれの飲料よりも高い値(A が 118.5 mg/200 mℓ, B が 130.5 mg/200 mℓ)を示した。活性酸素消去活性では、ウーロン茶、日本茶、野菜ジュースが、それぞれ 100.0%, 97.8%, 64.9% と高かったが、乳酸飲料はそれに次ぎ、A が 52.8%, B が 38.7% と活性が認められた。抗酸化剤の BHA との比較における抗酸化活性では、活性酸素消去活性と同様にウーロン茶、日本茶、野菜ジュースにおいて活性が強く、乳酸飲料はそれにつぐものであった。その強さは、A が 0.72, B が 0.57 と抗酸化剤 BHA (mg/100 mℓ 濃度) より強い活性を示した。

2. 血圧上昇抑制

食品中の ACE 阻害活性については多くの報告があり^{9)~14)}、それらから ACE 阻害物質が単離され、生体における血圧上昇抑制作用も評価されている^{15,16,17)}。乳酸飲料及び対照の飲料の ACE 阻害率と阻害率 50% を示すときの反応液中の濃度 IC₅₀ を (mℓ-飲料/mℓ) 第 3 表に示した。

乳酸飲料は他のいずれの飲料よりも強く、A が 81.0 %, B が 84.1% と強い阻害活性を示した。乳酸飲料の

Table 3 ACE inhibition of various beverages

Sample	ACE inhibition (%)	IC ₅₀ mℓ-beverage/mℓ
G-P solution	78.3	0.051
Lactic acid beverage A	81.0	0.049
Lactic acid beverage B	84.1	0.048
Oolong tea (A Co. Ltd.)	4.8	0.833
Green tea (A Co. Ltd.)	3.3	1.212
Apple juice, fruit juice 20% (A Co. Ltd.)	12.0	0.333
Orange juice, fruit juice 30% (A Co. Ltd.)	72.8	0.055
Sports drink (B Co. Ltd.)	7.5	0.533
Yogurt drink (C Co. Ltd.)	7.1	0.563
Vegetable juice (D Co. Ltd.)	48.2	0.083

ACE inhibitory activity was measured by the method⁵⁾ of Cushman and Cheung.

IC₅₀: Concentration of each beverage required to inhibit 50% of the ACE activity.

Table 4 Anti-allergic activity of various beverages

Sample	Hyaluronidase inhibition ability (%)	IC ₅₀ mℓ-beverage/mℓ
G-P solution	55.8	0.18
Lactic acid beverage A	32.6	0.31
Lactic acid beverage B	45.1	0.22
Oolong tea (A Co. Ltd.)	16.7	0.60
Green tea (A Co. Ltd.)	10.0	1.00
Apple juice, fruit juice 20% (A Co. Ltd.)	15.8	0.63
Orange juice, fruit juice 30% (A Co. Ltd.)	32.9	0.30
Sports drink (B Co. Ltd.)	0.0	—
Yogurt drink (C Co. Ltd.)	8.0	1.25
Vegetable juice (D Co. Ltd.)	1.7	5.77
Saiboku-To*	36.1	0.28
Cromoforonon ophthalmic solution**	98.6	0.010

Hyaluronidase inhibitory activity was measured by the method of Kakegawa⁶⁾

* Anti-allergenic drug used in chinese medicine

** Eye-drops of containing ante-allergic drugs

阻害活性を示す成分については今後検討する予定であるが、阻害活性 IC₅₀ 値を蛋白質濃度 (表 1 に示した全窒素量に蛋白係数 5.95 を乗じた) で示すと、G-P 液、乳酸飲料 A、B はそれぞれ、0.759 mg-protein/mℓ, 0.554 mg-protein/mℓ, 0.514 mg-protein/mℓ であった。

3. 抗アレルギー性

アレルギーは発症機序により I 型から IV 型に分類され、即時型の花粉症、アレルギー性鼻炎、アトピー性気管支喘息などアレルギーはこの I 型に属する。I 型アレルギーはヒスタミンなどのケミカルメディエータ

ーが放出されることにより発症することが知られている。掛川ら⁶⁾ は、ヒスタミンの放出とヒアルロニダーゼ活性が相関することを、また田中ら¹⁸⁾ は抗アレルギー素材の食品としてコンフリー及びタイムのヒアルロニダーゼの阻害活性 (活性の強さの比較対照として抗アレルギー剤の漢方薬の柴朴湯を使用) を報告している。

対照に抗アレルギー剤の市販漢方薬、柴朴湯エキ (喘息、気管支炎等に効能) を水抽出し、濃度 250 mg/mℓ に調整して測定} と結膜性アレルギー薬のクロモフェロモン点眼液 (主成分のクロモグリク酸ナトリウムを 20mg/mℓ 含有、10 倍希釈して測定) を用いた。

Table 5 Antimutagenic effect of the various beverages on Trp-P-2 toward *Salmonella typhimurium* TA 98

Sample	Inhibition (%) of mutagenicity
G-P solution	87.7
Lactic acid beverage A	87.8
Lactic acid beverage B	83.6
Oolong tea (A Co. Ltd.)	87.5
Green tea (A Co. Ltd.)	68.4
Apple juice, fruit juice 20% (A Co. Ltd.)	10.8
Orange juice, fruit juice 30% (A Co. Ltd.)	51.9
Sports drink (B Co. Ltd.)	0
Yogurt drink (C Co. Ltd.)	0
Vegetable juice (D Co. Ltd.)	75.6

Inhibition (%) of mutagenicity was measured by the Ames test^{7,8)}

各飲料のヒアルロニダーゼ阻害率と阻害率50%を示すときの反応液中での濃度 IC_{50} を (mℓ-飲料/mℓ) で第4表に示した。対照の柴朴湯はヒアルロニダーゼ阻害率36.1%に対し、クロモフェロモン点眼液は98.6%と強い活性を示した。乳酸飲料は他のいずれの飲料より強い活性、Aが32.6%、Bが45.1%を示し、柴朴湯とはほぼ同等の活性を示した。抗アレルギーを示す成分にポリフェノールが報告されている¹⁸⁾。G-P液、乳酸飲料A、Bの IC_{50} 値のポリフェノール濃度で示すと、それぞれ、0.277 mg/mℓ、0.367 mg/mℓ、0.287 mg/mℓであった。

4. 抗変異原性

Dollら¹⁹⁾はがんの約80%は食物を含む環境因子に原因すると指摘している。しかし、発がんを抑制する食品もあり、緑黄色野菜、淡色野菜、高繊維食等が注目されている²⁰⁾。その発がん抑制作用を検討する手段として抗変異原性試験が行われている。

ビーフステーキや焼き魚の焦げ部分は変異原物質と知られているが、その変異原活性物質はアミノ酸の加熱分解物で、たとえばトリプトファンの加熱分解物にTrp-P-1、Trp-P-2がある。Trp-P-2に対する抗変異原性試験の結果を第5表に示す。

乳酸飲料は、Aが87.8%、Bが83.6%と強い抗変異原性を持つことが認められた。他の飲料では、ウーロ

ン茶、日本茶、野菜ジュースが高い抗変異原率を示した。賀田ら²¹⁾は緑茶の葉の中に強い抗変異原物質があることを、また野菜の抗変異原性についても多くの研究者^{22~26)}の報告がある。

以上、白糠を糖化した液の乳酸菌と酵母とによる発酵飲料は、抗酸化性、抗アレルギー性、血圧上昇抑制、抗変異原性等の機能性を有する可能性がIn-Vitroの結果より示唆された。これらの機能性は白糠糖化液のG-P液においても認められたことから、原料の白糠に起因しているものと考えられるが、今後詳細に検討したい。

ま と め

白糠を原料とし、乳酸菌と酵母による発酵から造った飲料の機能性を調べた。

1. ポリフェノール含量は対照に用いた他の飲料より多かった。
2. NBT法による活性酸素消去活性が認められた。
3. β -カロチンの退色の防止活性を指標とする試験法で抗酸化剤、BHAの抗酸化性との比較で、BHAMg/100 mℓより強い抗酸化性を示した。
4. ヒアルロニダーゼ阻害試験で抗アレルギー作用のある漢方薬、柴朴湯 (250 mg/mℓ) と同等の阻害率を示した。
5. アンギオテンシン変換酵素阻害試験で高い阻害活性を有することが認められた。
6. 抗変異原性試験で強い抗変異原活性を示した。

文 献

- 1) 菅野信男・上東治彦・森山洋憲・久武睦夫：高知県工業技術センター研究報告, **28**, 87 (1999)
- 2) 津志田藤治郎・鈴木雅博・黒木柁吉：日食工誌, **41**, 611 (1994)
- 3) FOLIN, O. and CIOCALTEAU, V.: *J. Biol. Chem.*, **73**, 627 (1927)
- 4) DE ROSA, G., DUNCAN, D. S., KEEN, C. L., and HURLY, L.: *Biophys. Acta*, **556**, 32 (1979)
- 5) CUSHMAN, D. W. and CHEUG, H. S.: *Biochem. Pharmacol.*, **20**, 1637 (1971)
- 6) 掛川寿夫, 松本仁, 佐藤利夫：炎症, **4**, 437 (1984)
- 7) AMES, B. N., DURSTON, W. E., YAMASAKI, E. and LEE, F. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*,

- 70, 2281 (1973)
- 8) AMES, B. N., McCANN, J. and YAMASAKI, E. : *Mutation Res.*, **31**, 347 (1975)
 - 9) OCAMOTO, A., HANAGATA, H., MATUMOTO, E., KAWAMURA, Y., KOIZUMI, Y. and YANAGIZA, F. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1147 (1995)
 - 10) 斉藤義幸, 中村圭子, 川戸章嗣, 今安聰 : 農化, **66**, 1081 (1992)
 - 11) 原征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫 : 農化, **61**, 803 (1987)
 - 12) YOKOYAMA, K., CHIBA, H. and YOSHIZAWA, M. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1223 (1992)
 - 13) 松本清, 荻久保温子, 吉野貴唯, 松井利郎, 箴島豊 : 日食工誌, **41**, 589 (1994)
 - 14) 受田浩之, 松田秀喜, 黒田浩之, 箴島克裕, 松藤寛, 箴島豊 : 農化, **65**, 1223 (1991)
 - 15) FUJITA, H., SASAKI, R. and YOSIKAWA, M. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 2344 (1995)
 - 16) FUJI, M., MATSUMURA, N., MITO, K., SHIMIZU, T., KUWAHARA, M., SUGANO, S. and KARAKI, H. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 2186 (1993)
 - 17) 原征彦, 外岡史子 : 日栄養・食糧学誌, **43**, 345 (1990)
 - 18) 田中善晴, 日比野英彦, 仁科淳良, 細越政敏, 中野裕之, 菅原達也 : 食品産業技術研究報告, **25**, 115 (1999)
 - 19) R. Doll and R. Peto : *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191 (1981)
 - 20) 厚生省公衆衛生局栄養課編 : 循環器・がん・糖尿病の予防と食生活—疾病予防と栄養に関する検討委員会報告, P. 19-28, P. 115-156 (1983)
 - 21) T. Kada, K. Kaneko, S. Matsuzaki, T. Matsuzaki, and Y. Hara : *Mutation Res.*, **150**, 127 (1985)
 - 22) T. Kadaa, K. Morita, and T. Inoue : *Mutation Res.*, **53**, 351 (1978)
 - 23) K. Morita, M. Hara, and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1235 (1978)
 - 24) T. Inoue, M. Morita and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 345 (1981)
 - 25) K. Morita, H. Yamada, S. Iwamoto, H. Sotomura, and A. Suzuki : *J. Food Safety*, **4**, 139 (1982)
 - 26) K. Morita, T. Kada and M. Namiki : *Mutation Res.*, **129**, 25 (1984)
 - 27) K. Morita, Y. Nishiyama and T. Kada : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 925 (1985)