オレガノ葉のポリフェノール化合物

藤江歩巳, 吉田久美*, 大羽和子[§]

名古屋女子大学家政学部

* 名古屋大学大学院人間情報学研究科

Antioxidative Phenolic Acids from Oregano (*Origanum vulgare* L.) Leaves

Ayumi Fujie, Kumi Yoshida* and Kazuko Ôba[§]

Department of Food Science and Nutrition, Nagoya Women's University, 3-40,
Shioji-cho, Mizuho-ku, Nagoya, Aichi, 467-8610

* Division of Informatics for Natural Sciences Graduate School of Human Informatics,
Nagoya University, Furou-cho, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi, 464-8601

We reported previously that fresh herbs belong to *Labiatae*, especially in oregano contained very high 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and polyphenol compounds. DPPH radical scavenging activity of fresh herbs was positively correlated with polyphenol content. DPPH radical scavenging activity and superoxide anion (O_2^-) scavenging activity measured by nitrite method of oregano fresh leaves were 13400 μmol ascorbic acid (AsA) eq./100 g fr. wt. and 7380 μmol AsA eq./100 g fr. wt., respectively. Among more than 20 peaks detected by high performance liquid chromatography (HPLC) in 80% ethanol extract of oregano leaves, rosmarinic acid, protocatechuic acid and caffeic acid were identified by retention time of HPLC and ultraviolet absorption spectrum. DPPH radical and O_2^- scavenging activities in boiled leaves were approximately 1.3 times higher than those in fresh leaves. Although the amounts of rosmarinic acid, protocatechuic acid and caffeic acid were increased after boiling, prominently increased phenolic compound in boiled leaves was a compound of peak 1. This was identified as 3-(3,4-dihydroxyphenyl) lactic acid by ultraviolet absorption spectrum, nuclear magnetic resonance spectrum and mass spectrum. Identified 4 phenolic acids contributed approximately 55% of the DPPH radical scavenging activity and approximately 30–40% of the O_2^- scavenging activity of both of fresh and boiled leaves of oregano.

(Received Mar. 17, 2003 ; Accepted Jun. 9, 2003)

近年、活性酸素ラジカルによる生体成分の酸化により老化や種々の疾病が引き起こされることが明らかになってきた。抗酸化成分を含む食品を積極的に摂取して、活性酸素傷害から体を守ることが健康維持や疾病予防に重要であると考えられている。そこで、食品に含まれる抗酸化物質に注目が集まり、多くの抗酸化成分が食品から単離されている¹⁾。

ハーブは、有史以前から経験的に食物の劣化を防止する手段に使用され、抗酸化性があることも明らかで³⁾、含有される抗酸化成分についての報告もある^{3)~5)}。我々は、1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) ラジカル捕捉活性を指標として多くの新鮮ハーブに活性酸素消去能があることを明らかにした²⁾。また、DPPH ラジカル捕捉活性とポリフェノール量の間には正の相関性があり、DPPH

ラジカル捕捉活性は主にポリフェノール化合物に起因していることが示唆された。シソ科のハーブには高いラジカル捕捉活性を有するものが多く、中でもオレガノに最も高い活性があった。オレガノ中の抗酸化成分に関する研究は、中谷らによっても報告されている⁶⁾⁷⁾。それらは食品中の抗酸化成分についての報告であり、食品の調理・加工過程における抗酸化成分の変化に関する報告はまだ限られている⁸⁾⁹⁾。そこで本研究では、ラジカル捕捉活性の高かったシソ科のオレガノに着目し、オレガノ中の抗酸化成分の同定および加熱調理に伴うその変化を解明することを目的とした。

実験方法

1. 試料

独立行政法人農業技術研究機構北海道農業研究センターで栽培されたオレガノの生葉(収穫後冷却輸送、その後凍保存)および現地で凍結乾燥した葉を用いた。

生葉を10倍量(W/V)の冷80%エタノール中で、ホモ

〒467-8610 愛知県名古屋市瑞穂区汐路町 3-40

* 〒464-8601 愛知県名古屋市千種区不老町

[§] 連絡先 (Corresponding author), koba@nagoya-wu.ac.jp

ブレンダー（佐久間製作所製）およびガラスホモジナイザーを用いて、氷冷しながら全試料を完全に磨砕した。磨砕液を冷却遠心機（久保田製作所製 KR-20000 型）を用いて分離（4℃、20 000×g、10 分間）した後、得られた上清を試料溶液とした。

加熱調理試料を調製する場合は、生葉を 10 倍量の 2% 塩化ナトリウム溶液とともに 15 分間加熱した。葉と 80% エタノール溶液が 1:10 の割合になるように、加熱濃縮した茹で汁にエタノールを加えて 80% エタノール溶液を調整し、上記と同様に磨砕し、加熱調理試料とした。以後、茹で汁を含む加熱調理試料を加熱調理葉と呼ぶこととした。

2. DPPH ラジカル捕捉活性の測定

DPPH（和光純薬工業製）エタノール溶液に適宜希釈した試料溶液を同量加え、25℃（暗所）で 20 分間反応させた後、517 nm の吸光度の減少を測定した¹⁰⁾。アスコルビン酸（AsA）で DPPH ラジカル捕捉活性の検量線を作成し、新鮮重 100 g 当たりのラジカル捕捉活性を AsA 当量（ μmol ）で表した。

3. スーパーオキシドアニオン（ O_2^- ）捕捉活性の測定

(1) 亜硝酸法を用いた O_2^- 捕捉活性

キサンチン、キサンチンオキシダーゼ（XOD）反応系を用い、生成した O_2^- をヒドロキシルアミンと反応させ、その結果生成する亜硝酸イオンをアゾ色素に変え、550 nm の吸光度を測定した¹¹⁾。 O_2^- の生成を 50% 阻害する試料の濃度（ IC_{50} ）を求めた。

(2) スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）アッセイキット-WST を用いた O_2^- 捕捉活性

SOD アッセイキット-WST（同仁化学研究所製）を用いた。本法は XOD の反応で生成させた O_2^- を WST-1 と試料中の O_2^- 消去物質とで競合させる間接法である。WST-1 ホルマザンの生成に基づく 450 nm の吸光度変化はマクロプレートリーダー（日本バイオ・ラッド ラボラトリーズ製 550 型）を用いて測定した¹²⁾¹³⁾。

4. ポリフェノール化合物の分析と同定

(1) 高速液体クロマトグラフィ（HPLC）による分析

ポンプ：PU-980（日本分光製）、低圧グラジェントユニット：LG-2080-02（日本分光製）、検出器：UV-970（日本

分光製）を用いて分析した。逆相カラム：Develosil ODS-HG-5（ $\phi 4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ 、（野村化学製））を用い、40℃、流速 1.0 ml/min で 30 分間に A：0.5% トリフルオロ酢酸を含む 10% アセトニトリルから B：0.5% トリフルオロ酢酸を含む 30% アセトニトリルへのリニアグラジェント送液を行い、280 nm でポリフェノール化合物を検出した。

なお、標準物質として購入可能であったプロトカテキュ酸、コーヒー酸、ロズマリン酸（和光純薬工業製）を用い、既知濃度の標準物質のピーク面積からこれらのポリフェノールの含有量を算出した。

(2) ポリフェノール化合物の単離

オレガノ凍結乾燥葉 6.0 g の 80% エタノール抽出物を減圧下濃縮後 Amberlite XAD-7 カラム（ $\phi 40 \text{ mm} \times 370 \text{ mm}$ ）にチャージし、5%、10%、50%、99.5% メタノール水溶液で段階的に分画した。それぞれの画分を減圧下濃縮後、ポリフェノール化合物を HPLC（分析条件は上記と同様）で分画・分取した。

(3) 単離化合物の構造解析

UV 吸収スペクトル（日本分光製 V-570 型）、核磁気共鳴スペクトル（日本電子製 JNM-A600（ ^1H 600 MHz））、質量スペクトル（日本電子製 JMS-700 型）により構造解析を行った。

実験結果および考察

1. オレガノ葉の DPPH ラジカル捕捉活性および O_2^- 捕捉活性

生葉および加熱調理葉の 80% エタノール抽出試料の DPPH ラジカル捕捉活性および O_2^- 捕捉活性を新鮮重 100 g 当たりの μmol AsA 当量で示した（Table 1）。DPPH ラジカル捕捉活性は、生葉 100 g 当たり 13 400 μmol AsA 当量であったが、加熱後には 1.3 倍の 18 000 μmol AsA 当量に増加した。また、加熱後に葉と茹で汁に分けて分析した結果、葉に 45.7%、茹で汁に 54.3% のラジカル捕捉活性がみられた。亜硝酸法で測定した O_2^- 捕捉活性は、生葉 100 g 当たり 7 380 μmol AsA 当量であり、加熱後には 1.3 倍の 9 460 μmol AsA 当量に増加した。

2. オレガノ葉中のポリフェノール化合物

生葉の 80% エタノール抽出物の HPLC クロマトグラム

Table 1 DPPH radical and O_2^- scavenging activities of oregano leaves before (fresh) and after (boiled) boiling

	Fresh	Boiled
	(μmol AsA eq./100 g fr. wt.)	
DPPH radical scavenging activity	13 400 $\pm$ 300	18 000 $\pm$ 700
O_2^- scavenging activity*	7 380 $\pm$ 490	9 460 $\pm$ 270

Each data value is mean $\pm$ SD (n=4).

* Nitrite method (see text) was used for assay.

には、大小合わせて 20 以上のピークが検出された (Fig. 1). 標準物質の保持時間 (RT) および UV 吸収スペクトルと比較することにより、最も含量の多いピーク 4 の化合物をローズマリン酸、ピーク 2 の化合物をプロトカテキュ酸、ピーク 3 の化合物をコーヒー酸と同定した (Fig. 2). オレ

ガノ葉にこれらのフェノールカルボン酸が存在することは、中谷らの報告⁶⁾⁷⁾と一致する。

生葉と加熱調理葉の HPLC クロマトグラムを比較すると、加熱調理後にピーク 1 が最も顕著に増大したので、加熱調理葉における DPPH ラジカル捕捉活性および O_2^- 捕捉活性の増大にピーク 1 の化合物が関与することが推察された。

そこで、ピーク 1 の化合物を単離し構造解析を行った。オレガノ凍結乾燥葉 6.0 g から 80% エタノール抽出画分として 1.55 g の固形物が得られた。これを Amberlite XAD-7 カラムで分画した結果、ピーク 1 の化合物は 5% メタノール画分に溶出し、その画分の重量は 0.59 g であった。さらに、この画分の化合物を HPLC で分画・分取し、NMR, MS, UV, CD で構造解析を行った。その結果、3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸であると推察された。そこで、ローズマリン酸を酸性条件下 (3N HCl/MeOH), 95°C で 2 時間加熱し¹⁴⁾、ローズマリン酸の加水分解物 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸を得た。NMR, MS, UV, CD 測定を行ったところ、いずれも既知化合物の 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸のスペクトルと一致したことから、ピーク 1 の化合物は 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸であると同定した (Fig. 2)。

同定したポリフェノール化合物の含有量を、既知濃度の標準物質の HPLC ピーク面積から算出し、その結果を Table 2 に示した。3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸

Fig. 1 HPLC chromatograms of 80% ethanol extracts from fresh (A) and boiled (B) oregano leaves

The weight of fresh leaves used for one injection was 94 μ g, that corresponded to freeze dried leaves 25 μ g. Boiled leaves were obtained after boiling fresh leaves in 2% sodium chloride solution for 15 min.

Fig. 2 Chemical structures of 4 identified phenolic acids in oregano leaves

Arabic numerals in parentheses show peak number described in Fig. 1.

Table 2 Content of phenolic acids in 80% ethanol extract of oregano leaves before (fresh) and after (boiled) boiling

	Fresh	Boiled
	(mg/g fr. wt.)	
3-(3,4-Dihydroxyphenyl) lactic acid	0.81±0.03 <1.0>	4.32±0.75 <5.3>
Protocatechuic acid	0.08±0.02 <1.0>	0.51±0.10 <6.4>
Caffeic acid	0.10±0.02 <1.0>	0.13±0.01 <1.3>
Rosmarinic acid	6.41±0.26 <1.0>	6.75±0.23 <1.1>

Each data value is mean±SD (n=4).

< >, Each data value in parentheses is relative value to the content of each phenolic acid in fresh leaves as 1.0.

は、新鮮重 1.0 g 当たり生葉に 0.81 mg 存在したが、加熱調理葉には 4.32 mg (生葉の含量の 5.3 倍) 存在した。プロトカテキュ酸は生葉に 0.08 mg, 加熱調理葉に 0.51 mg (生葉の 6.4 倍) 存在した。コーヒー酸は生葉に 0.10 mg, 加熱調理葉に 0.13 mg (生葉の 1.3 倍) 存在した。ロズマリン酸は生葉に 6.41 mg と最も多く含有され、加熱調理葉に 6.75 mg (生葉の 1.1 倍) 存在した。ロズマリン酸は、シソ科に特異的に多く存在し、セージ¹⁷⁾、赤シソなどに存在することが報告されている。赤シソ葉中のロズマリン酸含量は 4.65 mg/g fr. wt. であるという報告¹⁶⁾もある。本実験で測定したオレガノ葉中のロズマリン酸含量はその 1.5 倍であったので、オレガノ葉には赤シソ葉より高含量のロズマリン酸が含有されると考えられる。

3. 加熱調理葉における 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸の増加のメカニズム

2% 食塩水中で生葉を加熱する間に、含有されるロズマリン酸が加水分解されて 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸が生成するかを明らかにするために、ロズマリン酸を 2% 食塩水中で 15 分間加熱し、加熱後の抽出物の HPLC クロマトグラムを Fig. 3 に示した。ロズマリン酸のみをこの条件下で加熱してもピーク 1 の面積に変化は見られなかった。凍結乾燥生葉とロズマリン酸を一緒に加熱した場合も、凍結乾燥生葉のみを加熱した場合とピーク 1 の面積は変わらなかった。したがって、2% 食塩水中で 15 分間加熱する間にロズマリン酸が加水分解して 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸が生成したのではないことが判明した。

ロズマリン酸シンターゼ (2. 3. 1. 140) によって 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸からロズマリン酸が生成される経路が報告されている¹⁵⁾。したがって、加熱中にペクチンの可溶化がおり、細胞壁がルーズになり、ロズマリン酸の生合成の中間体としてプールされていた 3-(3, 4-

Fig. 3 HPLC chromatograms of 80% ethanol extracts from boiled leaves (A), boiled rosmarinic acid without (B) and with (C) oregano leaves

The weight of freeze dried leaves used for one injection was 20 μ g. The weight of rosmarinic acid used for one injection was 1 μ g. Boiling condition of the leaves were the same as described in Fig. 1.

ジヒドロキシフェニル) 乳酸またはその配糖体などが、80% エタノール溶液中に抽出され易くなったと考えられる。

4. 生葉および加熱調理葉の DPPH ラジカル捕捉活性に対する 4 種のポリフェノール化合物の寄与率

本研究で同定した 4 種のポリフェノール化合物の DPPH ラジカル捕捉活性を Table 3-A に示した。各ポリフェノール化合物 1.0 g 当たりの DPPH ラジカル捕捉活性は、3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸 : 5 600 μ mol

AsA 当量, プロトカテキュ酸: 5 000 μmol AsA 当量, コーヒー酸: 6 780 μmol AsA 当量であった. ロズマリン酸のラジカル捕捉活性はこれらの約 2 倍の 10 600 μmol AsA 当量であった.

生葉および加熱調理葉の DPPH ラジカル捕捉活性を各々 100% とし, 4 種のポリフェノール化合物がそのラジカル捕捉活性に何% 寄与するかを, 葉に存在するこれらの化合物の含有量から算出した (Table 3-B). その結果, 生葉のラジカル捕捉活性のうち, 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸, プロトカテキュ酸, コーヒー酸およびロズマリン酸の寄与率は, 各々 3.4%, 0.3%, 0.5%, 50.7% であった. 加熱調理葉のラジカル捕捉活性に対する 4 種の化合物の寄与率は 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸が 13.4%, プロトカテキュ酸 1.3%, コーヒー酸 0.5%, ロズマリン酸 39.8% であった. したがって, 本研究で同定された 4 種の化合物によってオレガノ葉のラジカル捕捉活性の約 55% が説明されたことになる.

5. 生葉および加熱調理葉の O_2^- 捕捉活性に対する 4 種のポリフェノール化合物の寄与率

4 種のポリフェノール化合物の O_2^- 捕捉活性を亜硝酸法

と SOD アッセイキット-WST 法の 2 つの方法で測定した結果を Table 4-A に示した. 亜硝酸法で測定したこれらの化合物の IC_{50} 値は, 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸: 101 μM , プロトカテキュ酸: 175 μM であり, コーヒー酸: 40 μM , ロズマリン酸: 45 μM であった. SOD アッセイキット-WST 法で測定した IC_{50} 値は, 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸: 37 μM であったが, コーヒー酸: 15 μM , ロズマリン: 13 μM であり, 後 2 者で活性が強かった. 亜硝酸法と SOD アッセイキット-WST 法で測定した IC_{50} 値は異なったが, ポリフェノール化合物間の相対的な値はどちらの方法で測定しても類似していた.

生葉および加熱調理葉の亜硝酸法で測定した O_2^- 捕捉活性を各々 100% とし, 4 種のポリフェノール化合物がその活性に何% 寄与するかを, 葉に存在するこれらの化合物の含有量から算出した (Table 4-B). 生葉の O_2^- 捕捉活性のうち 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸, プロトカテキュ酸, コーヒー酸およびロズマリン酸による寄与率は各々 2.8%, 0.2%, 0.9%, 27.0% であった. 加熱調理葉の O_2^- 捕捉活性に対する 4 種の化合物の寄与率は, 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸 11.4%, プロトカテキュ酸

Table 3-A DPPH radical scavenging activity of 4 phenolic acids

	DPPH radical scavenging activity (μmol AsA eq./g)
3-(3,4-Dihydroxyphenyl) lactic acid	5 600
Protocatechuic acid	5 000
Caffeic acid	6 780
Rosmarinic acid	10 600

Data values are mean value of 2 experiments.

Table 3-B DPPH radical scavenging activity of oregano leaves and contribution of 4 phenolic acids to the activity of leaves before (fresh) and after (boiled) boiling

	DPPH radical scavenging activity (μmol AsA eq./100g fr. wt.)	
	Fresh	Boiled
leaves	13 400	18 000
	< 100 >	< 100 >
3-(3,4-Dihydroxyphenyl) lactic acid	454	2 420
	< 3.4 >	< 13.4 >
Protocatechuic acid	40	225
	< 0.3 >	< 1.3 >
Caffeic acid	88	88
	< 0.5 >	< 0.5 >
Rosmarinic acid	6 790	7 160
	< 50.7 >	< 39.8 >

< >, Each data value in parentheses is relative to fresh and boiled leaves as 100.

Table 4-A O_2^- scavenging activity of 4 phenolic acids

	O_2^- scavenging activity (IC ₅₀) (μ M)	
	Nitrite method	SOD assay kit-WST method
3-(3,4-Dihydroxyphenyl) lactic acid	101	37
Protocatechuic acid	175	—
Caffeic acid	40	15
Rosmarinic acid	45	13

Data values are mean value of 2 experiments.

Table 4-B O_2^- scavenging activity of oregano leaves and contribution of 4 phenolic acids to the activity of leaves before (fresh) and after (boiled) boiling

	O_2^- scavenging activity (IC ₅₀) (μ mol AsA eq./100 g fr. wt.)	
	Fresh	Boiled
leaves	7 380 < 100 >	9 460 < 100 >
3-(3,4-Dihydroxyphenyl) lactic acid	203 < 2.8 >	1 080 < 11.4 >
Protocatechuic acid	15 < 0.2 >	94 < 1.0 >
Caffeic acid	70 < 0.9 >	91 < 1.0 >
Rosmarinic acid	1 990 < 27.0 >	2 090 < 22.1 >

Data values of leaves are mean value of 4 experiments and the other data values are mean value of 2 experiments.

< >, Each data value in parentheses is relative to fresh and boiled leaves as 100.

1.0%, コーヒー酸 1.0%, ロズマリン酸 22.1% であった。したがって、葉の O_2^- 捕捉活性の 30~40% が、4 種の化合物の O_2^- 捕捉活性によって説明されたことになる。

以上の結果、オレガノ葉では、生よりも加熱調理葉の方がポリフェノール化合物の抽出量が多くなり、抗酸化性が高くなることが明らかになった。この結果は、Maeda ら¹⁸⁾ の報告と矛盾しない。健康を維持するために、「健康日本 21」では 1 日 350 g 以上の野菜を摂取することを推奨している。本研究結果をふまえると、野菜類は生で食するよりも加熱調理した後、汁と共に摂取することが好ましいといえる。

要 約

(1) オレガノ葉の DPPH ラジカル捕捉活性および亜硝酸法で測定した O_2^- 捕捉活性は、生葉 100 g 当たり 13 400 μ mol AsA 当量および 7 380 μ mol AsA 当量であり、両者とも加熱調理後に活性が 1.3 倍に増加した。

(2) オレガノ葉の主なポリフェノール化合物はロズマリ

ン酸であった。加熱調理後にロズマリン酸を始め、プロトカテキュ酸、コーヒー酸が増大したが、中でも顕著に増大したポリフェノール化合物を分取し、機器分析により 3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸と同定した。これは、加熱調理操作中にロズマリン酸が加水分解して生成されたものではなかった。

(3) オレガノ葉の DPPH ラジカル捕捉活性の約 55% が、 O_2^- 捕捉活性の約 30~40% が、本研究で同定した 4 種のポリフェノール化合物、3-(3, 4-ジヒドロキシフェニル) 乳酸、プロトカテキュ酸、コーヒー酸およびロズマリン酸によって説明できた。

文 献

- 1) 大澤俊彦, 酸化ストレス制御を中心とする食品機能因子の化学と作用機構に関する研究, 農化, **76**, 804-813 (2002).
- 2) 藤江歩巳, 久保田真紀, 梅村芳樹, 大羽和子, 新鮮ハーブのビタミン C 量, DPPH ラジカル捕捉活性およびポリフェノール量, 調理科誌, **34**, 380-389 (2001).
- 3) 吉川敏一, ハーブ, 抗酸化物質のすべて, (先端医学社, 東

- 京), pp. 148-155 (1998).
- 4) 藤巻正生監修, スパイス類の抗酸化成分, 食品機能, (学会出版センター, 東京), pp. 344-349 (1988).
 - 5) 寺沢なお子, 山崎 希, 福井優美子, ハーブ水抽出成分の抗酸化活性, 食科工, **48**, 99-104 (2001).
 - 6) Nakatani, N. and Kikuzaki, H., A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 2727-2732 (1987).
 - 7) Kikuzaki, H., and Nakatani, N., Structure of a new antioxidative phenolic acid from Oregano (*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **53**, 519-524 (1989).
 - 8) 高村仁知, 山口智子, 林恵理奈, 藤本さつき, 的場輝佳, カレーの調理過程におけるラジカル捕捉活性の変化, 家政誌, **50**, 1127-1132 (1999).
 - 9) 西堀すき江, 並木和子, 野菜ジュースのスーパーオキシドアニオンラジカル消去能とその加熱処理による変化, 食科工, **45**, 144-148 (1998).
 - 10) M.S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200 (1958).
 - 11) Oyanagui, Y., Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, **142**, 290-296 (1984).
 - 12) 浅田浩二, 中野 稔, 柿沼カツ子編, 活性酸素測定マニュアル, (講談社, 東京), pp. 184-188 (1992).
 - 13) 受田浩之, 森山洋憲, 川名大介, 片山泰幸, 中林錦一, 沢村正義, スーパーオキシドアニオン消去活性新規測定法の食品への応用, 食科工, **49**, 25-31 (2002).
 - 14) Lu, Y. and Foo, L.Y., Salvianolic acid L., a potent phenolic antioxidant from *Salvia officinalis*. *Tetrahedron Letters*, **42**, 8223-8225 (2001).
 - 15) Petersen, M.S., Characterization of rosmarinic acid synthase from cell cultures of *coleus blumei*. *Phytochemistry*, **30**, 2877-2881 (1991).
 - 16) 夏目みどり, 安田亜紀子, 越阪部奈緒美, 赤シソ中のロスマリン酸含量の分析, 日本食品科学工学会第 49 回大会講演要旨集, p. 104, 名古屋 (2002).
 - 17) Lu, Y. and Foo, L.Y., Rosmarinic acid derivatives from *Salvia officinalis*. *Phytochemistry*, **51**, 91-94 (1999).
 - 18) Maeda, H., Katsuki, T., Akaike, T. and Yasutake, R., High correlation between lipid peroxide radical and tumor-promoter effect: Suppression of tumor promotion in the Epstein-barr virus/B-lymphocyte system and scavenging of alkyl peroxide radicals by various vegetable extracts. *Jpn. J. Cancer Res.*, **83**, 923-928 (1992).
- (平成 15 年 3 月 17 日受付, 平成 15 年 6 月 9 日受理)
-