

---

 総 説
 

---

[Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 74, No. 1, pp. 1~8, 2000]

## プロアントシアニジンの機能性解明と開発†

(1999 年度農芸化学技術賞受賞)

有賀敏明, 細山 浩\*, 徳武昌一, 山越 純

(キッコーマン(株)研究本部, \*バイオケミカル事業部)

**Key words:** proanthocyanidin; polyphenol; grape seed extract; antioxidant; disease prevention

## はじめに

食品はヒトが生きるため不可欠である。日常、ヒトは種々の食品を飲食する。しかし、それらの食品の中にいかなる成分が含まれ、いかなる作用をしており、食品の品質やヒトの健康にどのような影響を及ぼしているのかについて、いまだに、よくわかっていないことがある。

酸素もヒトが生きるため必須である。空気中の酸素は、食品中の二重結合などの不飽和結合を有する化合物、主に不飽和脂肪酸を酸化し過酸化脂質を生成する。生成した過酸化脂質は、二次的に他の食品成分と反応し、食品の有するさまざまな機能、すなわち、安全性、栄養機能(1次機能)、嗜好性(2次機能)、および生体調節機能(3次機能)<sup>(1,2)</sup>を低下させると考えられる。また、成人が一日に消費する酸素は約500リットルで、そのうち3~10%は体内で活性酸素に変換されると考えられている<sup>(3)</sup>。デナム・ハーマン博士の理論仮説によれば、ヒト体内で発生する活性酸素やフリーラジカルは老化<sup>(4)</sup>や各種成人病<sup>(5)</sup>の原因となる。

1982年、一方で合成酸化防止剤に発癌性の疑いありとの報告が食品業界を震撼させ<sup>(6)</sup>、他方では、フリーラジカルや活性酸素を消去できる抗酸化物質は、成人病抑制に応用の可能性ありと指摘され始めていた<sup>(7)</sup>。これら両面から、有効で安全性の高い天然抗酸化物質の開発は有望と考え、1983年、筆者らは食品

成分を利用した新規抗酸化物質の研究開発を開始した。

ポリフェノール的一种であるプロアントシアニン(PA)は、種々の食品<sup>(8)</sup>、例えばブドウ<sup>(9)</sup>、イチゴ、リンゴ、クランベリーなどの果実類、大麦などの麦類、黒豆<sup>(10)</sup>、小豆<sup>(11)</sup>などの豆類、およびそれらの加工食品、例えば赤ワイン<sup>(9)</sup>、ビール、リンゴ酒などに微量含まれている。これらの食品を通じて多くの人は日常的にPAを摂取している。しかし、PAは同族体や異性体が多く、分離精製が困難とされ、その機能などについては不明の点が多かった<sup>(12)</sup>。

筆者らは、1) 多くの抗酸化物質が分子内にフェノール性水酸基を有していることと 2) PAが多くの食品成分の中でも1分子当たりのフェノール性水酸基を最も多く有している物質の一種であること(Fig. 1)、この2点に注目し、研究面ではPAの抗酸化機能を調べるところから始めた。その結果、PAが特に水などの極性溶媒中で強力な抗酸化力を発揮することを証明し、その抗酸化機構および抗酸化関連機能を解明した。さらに、酸化が関与する疾病などに関する生体防御機能については動物実験やヒト介入試験を行い、そ

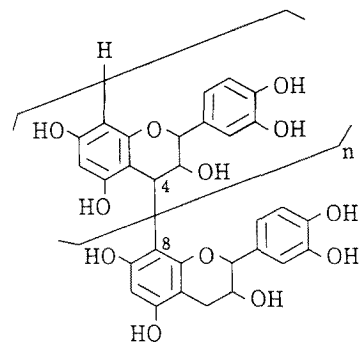


Fig. 1. Representative Structure of Procyanidin with C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> Linkage.

† Studies on Functional Properties of Proanthocyanidins and Their Practical Application  
Toshiaki ARIGA, Hiroshi HOSOYAMA,\* Shoichi TOKUTAKE and Jun YAMAKOSHI (Research & Development Division, and \*Biochemical Department, Kikkoman Corporation)

の有効性を実証した。開発面では、種々の新しい用途と製造技術を開発したうえで、ブドウ種子を原料とし、PAを主成分とするブドウ種子抽出物 (Grape Seed Extract: GSE) の大量生産法を確立し、高純度品から各種製剤までの多岐にわたるPA製品を開発した。これらの製品は、安全性や保存性を確認し、食品添加物、化粧品原料、栄養補助食品素材、健康食品素材、および健康食品 (末端製品) として実用化した。

以下に、1999年度受賞の対象になったPAの機能性 (抗酸化機能、抗酸化関連機能と生体防御機能) 解明と開発 (用途開発、製造技術開発、製品開発) につき、概略を総説する。

### 1. 分離精製同定, 合成確認

(1) 精製PA標品の調製: PAは当時市販されていなかったため、代表的PAであるプロシアニジン独自に調製した<sup>(13, 14)</sup>。最初に食糧原料 (小豆) から二量体のプロシアニジンB-1およびB-3などを分離精製し同定した。次にEastmond (1974) の方法<sup>(15)</sup>に準じ、二量体のプロシアニジンB-3およびB-4を合成確認した。その際、Eastmondが未確認の三量体、四量体、五量体、六量体も合成、確認することができた<sup>(14, 16)</sup>。

(2) GSEの調製: 実験用に、ブドウ種子を原料としてPAを主成分とするGSEを2種類、すなわち、GSE (PA含有量: 38.5%) およびGSE-H (PA含有量: 73.4%) を調製した<sup>(16)</sup>。

### 2. 抗酸化機能<sup>(17~32)</sup>

(1) 抗酸化性: プロシアニジンが、特に水系において著しく強い抗酸化力を示すことを明らかにした<sup>(13, 14)</sup>。水系における抗酸化試験はリノール酸 $\beta$ -カロチンを含む水系で酸化速度を指標として測定した。その結果、測定したプロシアニジン二~五量体の範囲では、重合度が大きいほど抗酸化力は増大し、いずれのプロシアニジンもアスコルビン酸、D- $\alpha$ -トコフェロールや(+)-カテキンを上回った (Table I)。

#### (2) 抗酸化機構

1) ラジカル捕捉作用: 二木らの方法<sup>(33)</sup>に準じ、アゾ化合物をラジカル開始剤とし、酸素吸収量を指標として測定し、反応速度論的に解析した。その結果、プロシアニジン二量体は特に親水性ペルオキシラジカルに対し、強い捕捉作用を示し、二量体では1分子当たり、8個の親水性ラジカルを捕捉できることがわかった<sup>(14, 34)</sup> (Table II)。この捕捉数は、既知抗酸化物質

**Table I.** Antioxidative Activities of Procyanidins at the Concentration of  $5 \times 10^{-4}\%$  (w/v) in an Aqueous System

Compound	Relative antioxidative activity
L-Ascorbic acid	0.38
Gallic acid	1.06
L-Tryptophan	1.17
D- $\alpha$ -Tocopherol	2.17
(+)-Catechin	2.50
Oligomeric procyanidins prepared by synthetic method	
Procyanidin B-3	4.01
Mixed dimers	4.00
Mixed trimers	5.95
Mixed tetramers	6.50
Mixed pentamers	9.89

**Table II.** Radical Inhibition Rate Constants ( $k_{inh}$ ) and Stoichiometric Factors ( $n$ ) for Antioxidants in an Aqueous System<sup>a</sup>

Antioxidant	$k_{inh}$ [ $M^{-1}s^{-1}$ ]	$n$
Procyanidin B-1	$6.0 \times 10^4$	8.48
Procyanidin B-3	$5.9 \times 10^4$	8.03
(+)-Catechin	$2.7 \times 10^4$	3.65
Trolox <sup>b</sup>	$2.9 \times 10^5$	2.00
$\alpha$ -Tocopherol	$1.1 \times 10^5$	1.71
Ascorbic acid	$5.0 \times 10^4$	1.22

<sup>a</sup> The reaction mixture contained 100 mM methyl linoleate in a 10 mM Triton X-100 aqueous dispersion at 37°C and oxidation was initiated by adding 20 mM AAPH.

<sup>b</sup> A model compound ( $C_{14}H_{18}O_4$ ) of water-soluble  $\alpha$ -tocopherol.

の中で最大である。

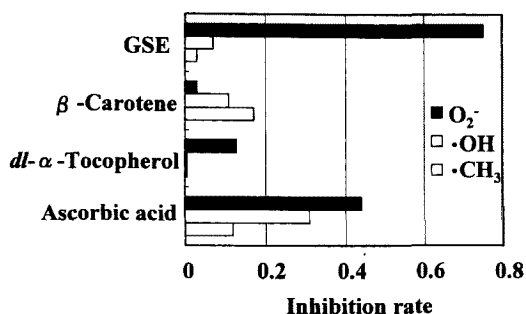
2) 一重項酸素消去作用: Youngの方法<sup>(35)</sup>に準じ測定し、解析した結果、プロシアニジン (二~五量体) は一重項酸素消去作用を有し、重合度が高いものほど効力の強いことがわかった<sup>(14, 36)</sup> (Table III)。

3) 酸化酵素阻害作用: 酸化酵素の一種であるチロシナーゼとの反応性を調べた結果、単量体の(+)-カテキンはチロシナーゼの基質となり、急速に褐変するのに対し、プロシアニジンオリゴマー (二~五量体)、GSEおよびGSE-Hは褐変せず、チロシナーゼを阻害していることが示唆された。

**Table III.** Quenching Activities of Procyanidins to Singlet Oxygen

Compound	$\beta$ Value [M]	$k_q$ [ $M^{-1}s^{-1}$ ] <sup>a</sup>
(+)-Catechin	$1.4 \times 10^{-2}$	$6.6 \times 10^6$
Procyanidin B-3	$4.3 \times 10^{-3}$	$2.2 \times 10^7$
Procyanidin trimer	$2.2 \times 10^{-3}$	$4.2 \times 10^7$
Procyanidin tetramer	$8.1 \times 10^{-4}$	$1.1 \times 10^8$
Procyanidin pentamer	$5.6 \times 10^{-4}$	$1.7 \times 10^8$
D- $\alpha$ -Tocopherol	$5.1 \times 10^{-4}$	$1.8 \times 10^8$
$\beta$ -Carotene	$1.1 \times 10^{-5}$	$8.5 \times 10^9$
2,5-Dimethylfuran	$2.6 \times 10^{-4}$	$3.6 \times 10^8$

<sup>a</sup>  $k_q$ , the rate constant for quenching.

**Fig. 2.** Radical Scavenging Properties of GSE (0.01%) in  $H_2O_2/NaOH/DMSO$  System.

(3) **GSEのラジカル消去特性:** ESRを用い、スーパーオキシド、ヒドロキシルラジカル、メチルラジカルを同時発生させた系<sup>(37)</sup>でラジカル消去特性を調べた結果、アスコルビン酸、DL- $\alpha$ -トコフェロール、 $\beta$ -カロチンに比し、GSEはスーパーオキシド消去能が優れている特長を有することがわかった<sup>(38)</sup> (Fig. 2).

### 3. 抗酸化関連機能

(1) **抗変異原性:** PAがTrp-P-2に対し変異原不活性化作用を示すこと、また、(+)-カテキン<プロシアニジン二量体<プロシアニジン四量体の順、すなわち、重合度の高いほど活性が高まることを確認した<sup>(39)</sup>。

(2) **ビタミン劣化防止効果:** GSEは、飼料用ビタミン・ミネラル製剤(鉄分高含有)中のビタミンCの保存中劣化に対し著しい防止効果を示すことが判明した<sup>(40)</sup>。また、GSEはリボフラビンの蛍光灯下での光分解を強く抑制した<sup>(41)</sup>。

(3) **色素退色防止効果:** GSEは $\beta$ -カロチン<sup>(42)</sup>、鮭中のアスタキサンチン<sup>(41)</sup>、牛肉やマグロ中のミオグロ

**Table IV.** Atherosclerotic Plaque in the Aorta of Rabbits Fed Each Diet

Experimental group	% of lesion area <sup>a</sup>	
	Aortic arch	Thoracic aorta
Control	0	0
Cholesterol	68.3 $\pm$ 4.3 <sup>b</sup>	14.9 $\pm$ 12.3
1% Proanthocyanidin	52.4 $\pm$ 10.4*	7.9 $\pm$ 8.6
0.1% Proanthocyanidin	48.2 $\pm$ 4.6**	6.6 $\pm$ 7.3
1% Probucol	51.9 $\pm$ 7.3**	7.1 $\pm$ 8.4

<sup>a</sup> The surface area of atheromatous lesions were measured by Olympus SP500F image analyzer.

<sup>b</sup> Means  $\pm$  S.D.

\*  $p < 0.05$ , significant difference from cholesterol group.

\*\*  $p < 0.01$ , significant difference from cholesterol group.

ビン<sup>(42)</sup>、赤ワイン中のアントシアニン<sup>(43)</sup>に対し強い退色防止効果を示すことを明らかにした。

(4) **美白効果:** PAは(+)-カテキンやアスコルビン酸に比し、著しく強い美白効果を示すことを明らかにした<sup>(44)</sup>。

### 4. 酸化関連の疾病に対する予防機能(動物実験)

(1) **動脈硬化抑制作用:** 動脈硬化の発症にLDLの酸化が関与していると指摘されている<sup>(45)</sup>。また、赤ワインが動脈硬化抑制に有効であるとの疫学的研究報告<sup>(46)</sup>が提出された後、試験管内試験の結果、赤ワイン中のポリフェノール成分が動脈硬化の予防に有効であるとの報告<sup>(47)</sup>が提出され注目された。筆者らは赤ワイン中の主要なポリフェノールであるPAに注目し、試験管内<sup>(48)</sup>だけでなく生体内(動物モデル)でも有効性試験を行った。すなわち、GSE-Hとコレステロール負荷ウサギ用い、動脈硬化抑制試験を行った結果、赤ワインのPAを高含有するGSE-Hが、陽性対照のプロブコールに匹敵する動脈硬化抑制作用を生体内で示すことを初めて確認した<sup>(49-51)</sup> (Table IV)。

(2) **胃潰瘍抑制作用:** 胃潰瘍の発症にも酸化が関係していることが指摘されている<sup>(45)</sup>。そこで、ラットを用いてHCl/EtOH誘発胃粘膜障害に対するGSE、およびGSE-Hの抑制を検討した結果、各プロシアニジン、GSEやGSE-Hは塩酸セトラキサートやスクラルファートに匹敵する強い抑制効果を示し、特に四、五、六量体の各プロシアニジンに強い抑制作用が見いだされた<sup>(16, 52)</sup> (Fig. 3)。

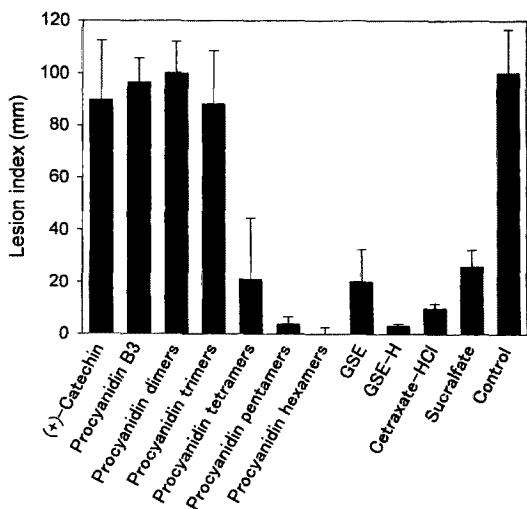


Fig. 3. Protective Effect of Procyanidin Oligomers on Gastric Injury Induced by HCl / EtOH Solution.

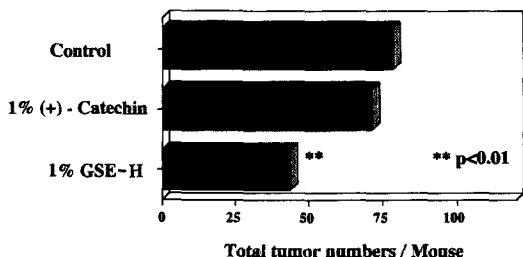


Fig. 4. Effect of Grape Seed Extract (GSE) on the Total Number of Intestinal Tumors.

(3) 大腸癌抑制作用: 発癌および癌転移にフリーラジカルが密接に関係している<sup>(45)</sup>. そこで, ヒト家族性大腸腺腫症モデルマウスを用いて発癌抑制試験を行った結果, GSE-H が有意に大腸癌発症を抑制することが判明した<sup>(53)</sup> (Fig. 4). なお, (+)-カテキンは抑制効果を示さなかった.

(4) 白内障抑制作用: 白内障の発症機構に活性酸素の関与が指摘されている<sup>(45)</sup>. そこで, 遺伝性白内障発症モデルラットに経口投与し検討した結果, GSE-H には白内障の発症を抑制する効果のあることが判明した<sup>(54)</sup>. なお, (+)-カテキンには抑制効果は認められなかった.

(5) 糖尿病合併症抑制作用: 糖尿病および糖尿病合併症の発症機構にフリーラジカル反応が関与していると報告されている<sup>(45)</sup>. そこで, 糖尿病ラットにおける

Table V. Blood Glucose and Glycohemoglobin A<sub>1c</sub> (GHbA<sub>1c</sub>) in Diabetic Rat Blood

	Blood glucose (mg dL <sup>-1</sup> )	GHbA <sub>1c</sub> (%)
Control	659.7 ± 60.1 <sup>a</sup>	21.15 ± 1.08 <sup>d</sup>
Vitamin E	619.6 ± 114.7	21.09 ± 1.26 <sup>e</sup>
GSE-H	527.1 ± 99.3 <sup>b</sup>	19.56 ± 1.38 <sup>f</sup>

Values are means ± S.D. (n=6).

Blood sugar was assayed using *o*-toluidine/boric acid method.

GHb was assayed by affinity chromatography.

Significant difference between *a* and *b*, *b* and *c* (*p* < 0.01), *d* and *f*, *e* and *f* (*p* < 0.05).

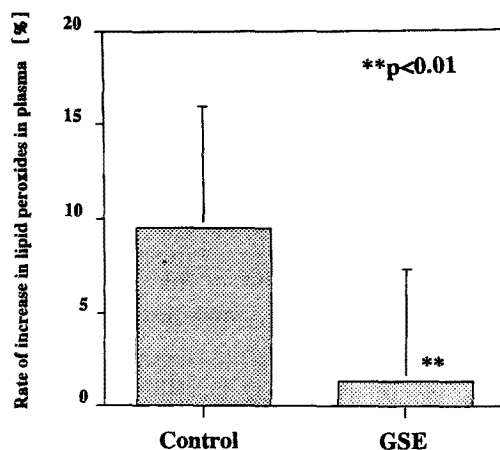


Fig. 5. Antioxidative Effect of GSE Supplementation on the Increase of Lipid Peroxides in Human Plasma after Exercise.

合併症の抑制効果を検討した結果, GSE-H は有意に血糖値改善効果を示し, 白内障 (合併症) 抑制率においてトコフェロールや (+)-カテキンよりも有効と判明した<sup>(55)</sup> (Table V).

### 5. ヒト介入試験

(1) 運動時のヒト体内での抗酸化効果: 安静時に比し, 運動時では全身の酸素消費量は 10~20 倍に急増し, 体内の活性酸素が増大する<sup>(45)</sup>. GSE (PA: 200 mg/day) を事前摂取しておくとは酸素運動直後の健康人の血中過酸化脂質上昇が, 有意に抑制されることが判明した<sup>(56)</sup> (Fig. 5).

(2) 抗筋肉疲労効果: 筋力トレーニング後の筋肉疲労現象に活性酸素の関与が推測されている. そこで, PA が健康人の筋疲労とその回復過程に及ぼす効果について調べた結果, GSE (PA: 180 mg/day) を事前摂

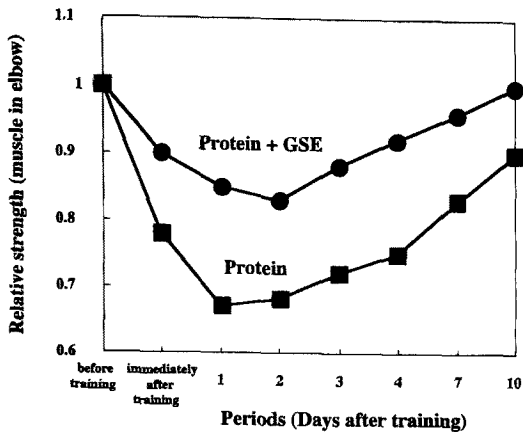


Fig. 6. Preventive Effect of GSE on Fatigue of Muscle after Training.

取しておく、伸縮性筋力発揮に伴う筋力低下を抑え、また、その回復を速める効果を有することが判明した<sup>(57-59)</sup> (Fig. 6).

## 6. 用途開発

(1) 用途発明: PA の産業的利用の開拓のため、その用途開発を検討し、下記の用途を発明した。1) 酸化防止剤<sup>(60)</sup>、2) 食肉色素 (ミオグロビン) 退色防止剤<sup>(42)</sup>、3) 鮭、鱒の肉色素 (アスタキサンチン) 退色防止剤<sup>(41)</sup>、4) 赤ワイン色素 (アントシアニン) 退色防止剤<sup>(43)</sup>、5) 醤油色素 (メラノイジン) 安定化剤<sup>(61)</sup>、6) コーヒーの品質安定化剤<sup>(62)</sup>、7) 大豆タンパクの香味改善剤<sup>(58)</sup>、8) ビタミン C 安定化剤<sup>(40)</sup>、9) 抗疲労剤<sup>(59)</sup>、10) 排泄物用経口消臭剤<sup>(63)</sup>、11) 抗変異原性剤<sup>(39)</sup>、12) 抗白内障剤<sup>(64)</sup>、13) 抗胃潰瘍剤<sup>(52)</sup>、14) 抗糖尿病剤<sup>(65)</sup>、15) ヒアルロニダーゼ阻害剤<sup>(66)</sup>、16) 美白剤<sup>(44)</sup>、17) 化粧品<sup>(67, 68)</sup>、18) 皮膚外用剤<sup>(69-73)</sup>、19) 動物飼料<sup>(74)</sup>、20) 魚類飼料<sup>(75)</sup>。

(2) 利用分野: 前記の用途の中で、現在までに実用化したものの中から利用分野例として、3 種を示す。

1) 食品添加物用酸化防止剤分野: 食品用の酸化防止剤としての利用分野を開拓した。食品添加物としての厚生省への届出名は「ブドウ種子抽出物 (簡略名または類別名: プロアントシアニジン)」(厚生省告示第 120 号: 平成 8 年 4 月 16 日告示) である。PA あるいは GSE の酸化防止剤への利用は、世界でもこれが初めてであり、バイオニアとして保有する基本特許は業界の多くの同業他社から、実施許諾を望まれ、許諾している。

2) 健康食品素材・栄養補助食品素材分野: 日本では健康食品や健康志向食品の素材の分野で、また、米国では、栄養補助食品素材の分野で利用を進めることができた。

3) 健康食品分野: 錠剤や顆粒状の末端の健康食品の主成分または有効成分として利用を進めることができた。

4) 化粧品分野: 化粧品原料として利用に至った。

## 7. 製造技術開発と工業化

### (1) 製造技術開発

1) 原料の選定: PA は通常の食品中では含有量は微量である。例えば、最も多く含まれている部類の赤ワインでも通常濃度は 0.01% のオーダーである。原料の選定に際しては、種々検討したが食品産業における未利用副産物の有効利用、安全性、安定的な大量原料確保、高収量、低コスト、保存性などの観点から検索し、ブドウ種子を最善の原料として選択した<sup>(14)</sup>。ブドウ種子中には PA が赤ワインの 100 倍レベル含まれていることが判明した。

2) 抽出法: 冷水で洗浄後、熱水で抽出し PA 高含量の抽出物を得る方法<sup>(76)</sup>、水飽和酢酸エチル抽出にて淡色の化粧品用 GSE を得る方法<sup>(77)</sup>、脱気溶媒にて高純度化する方法<sup>(78)</sup>などを開発した。

3) 精製法: 限外ろ過・逆浸透法にて精製する方法<sup>(79)</sup>、酵母処理にて高純度化する方法<sup>(80)</sup>などを開発した。

4) 品質改良法: タンナーゼ処理により渋味低減する方法<sup>(81)</sup>、デキストリンを利用した溶解性改善法<sup>(82)</sup>などを開発した。

5) 工業化: GSE の安定的大量生産のため、工場建設も含め生産拠点を春、秋の二シーズン、すなわち北半球と南半球の外国において構築し、世界トップクラスの年産 30 t 以上の生産力を確立した。当社は PA あるいは GSE のメーカーとして日本ではバイオニアとなった。

### 8. 製品開発と実用化

(1) 製品開発: 先に述べた製造技術を用い、また、各用途に対応できるよう、種々の PA (GSE) 製品を開発した。製造法の詳細については省略するが、その製造フロー概略は Fig. 7 に示したとおりである。安全性、保存性を確認し、品質の管理分析法確立、製品規格設定などを経て商品化した。Table VI にはその製

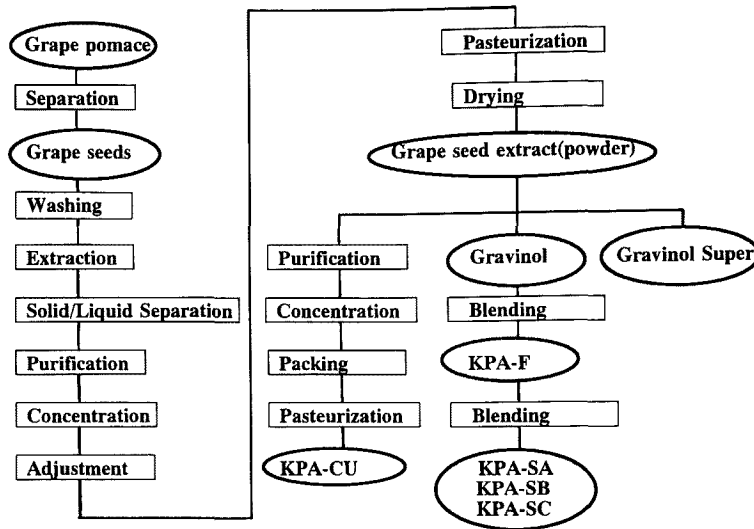


Fig. 7. Manufacturing Process for Proanthocyanidin Products.

Table VI. Developed Products of Grape Seed Extract (Proanthocyanidins).

Trade name	Date of release (year)	Purity [%] TF (PA)	Use
Gravinol Super	1998	95 (83)	Supplements, food additives
Gravinol	1994	40 (38)	Supplements, health foods, food additives
KPA-F	1994	15	Health foods, food additives
KPA-SA	1995	4	Food additives
KPA-SB	1995	8	Food additives
KPA-SC	1995	4	Food additives
Vino Power	1999	20	Health food
Vino Protein	1998	0.4	Health food
KPA-CU	1995	10	Cosmetics

TF, total flavanols; PA, proanthocyanidins.

品のリストを示した。高純度品から、各種製剤まで、また、食品添加物用、栄養補助食品素材用、化粧品原料用など、世界中の同業他社に比し極めて多面的な品ぞろえを実施した。このなかで最も高純度の製品である Gravinol Super の PA 含有量（製品規格は PA 含有量 83% 以上；備考：各ロットの実測値年間平均値は 91%）は世界最高レベルである。開発した 9 種の製品はすべて市場導入した。これらの製品の市場導入は、すでに日本、米国、豪州、韓国の 4 カ国において実施している。

おわりに

以上のように、研究面では、日常、多くのヒトが食品微量成分として摂取している PA が特長ある優れた抗酸化機能を有することを明らかにし、酸化に起因す

る種々の疾病などに対し注目すべき生体防御機能を有することを確認することができた。これは「食と健康」のテーマにおいて食品成分による生体高次機能の調節の観点から意義があると考えられる。開発面では、PA の用途開発を徹底的に進める一方、ブドウ・ワイン工業の未利用副産物のブドウ種子を有効利用し、製造技術を種々開発し、業界トップレベルの高純度品から当社独自の各種製剤まで多岐にわたる PA 製品群の大量生産を確立した。そして、世界で初めて酸化防止剤として実用化を達成したのをはじめ、各種新用途において、PA 製品を国内外で実用化することができた。

本研究開発の成果は、主としてキッコーマン(株)研究開発部門において、茂木賢三郎専務取締役、石井茂孝取締役研究本部長をはじめとする歴代役員ならびに

山次信幸前第二研究部長をはじめとする歴代上司、諸先輩のご指導、ご支援の下、多数の共同研究者と研究補助員のご協力によって達成されたものである。また開発の際には当社バイオケミカル事業部をはじめとする各関連部門、(株)盛進およびマンズワイン(株)などの当社関連企業、(株)コーセーなどの企業の関係者に数々のご協力をいただいた。以上の皆様に衷心より謝意を表す。

本研究の一部はグェン・ヴァン・チュエン日本女子大学教授、中澤裕之星薬科大学教授、吉村吉博星薬科大学講師、石井直方東京大学教授らの諸先生方との共同研究による成果である。また、本研究の基盤構築の段階で加藤博通東京大学名誉教授、荒井綜一前東京大学教授、二木鋭雄東京大学教授、森田牧朗日本女子大学教授、藤巻正生東京大学名誉教授をはじめとする各先生方に多くのご指導をいただいた。以上の先生方に厚く御礼申し上げる。

- (1) 藤巻正生監修: “食品機能 機能性食品創製の基盤”, 学会出版センター, 1988, pp. 1-513.
- (2) 千葉英雄, 荒井綜一: 化学と生物, **26**, 34-40 (1988).
- (3) 井上正康編著: “活性酸素と医食同源”, 共立出版, (1996), pp. 1-13.
- (4) D. Harman: *J. Gerontol.*, **11**, 298-300 (1956).
- (5) D. Harman: *Agging*, **7**, 111-131 (1984).
- (6) N. Ito, S. Fukushima *et al.*: *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 343-348 (1982).
- (7) G. W. Burton, A. Joyce, and K. U. Ingold: *Lancet*, Aug. 7, 327-332 (1982).
- (8) 木村 進, 中林敏郎, 加藤博通編著: “食品の変色の化学”, 光琳 (1995), pp. 44-157.
- (9) M. Bourzeix, D. Weyland, and N. Heredia. *Bulletin de l'O.I.V.*, **669-670**, 1170-1254 (1986).
- (10) T. Ariga, Y. Asao, H. Sugimoto, and T. Yokotsuka: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2705-2708 (1981).
- (11) T. Ariga and Y. Asao: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2709-2712 (1981).
- (12) 西岡五夫: 薬誌, **103**, 125-142 (1983).
- (13) T. Ariga, I. Koshiyama, and D. Fukushima: *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 2717-2722 (1988).
- (14) 有賀敏明: 博士論文「プロアントシアニジン少量体の抗酸化性とその応用に関する研究」, 東京大学 第9952号 (1990).
- (15) R. Eastmond: *J. Inst. Brew.*, **80**, 188-192 (1974).
- (16) M. Saito, H. Hosoyama, T. Ariga, S. Kataoka, and N. Yamaji: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1460-1464 (1998).
- (17) 有賀敏明, 湯浅克己: 月刊食品流通技術, **21**(2), 16-19 (1991).
- (18) 有賀敏明, 湯浅克己: *Fragrance J.*, **22**(7), 52-56 (1994).
- (19) 細山 浩, 有賀敏明: 食品と開発, **31**(10), 8-10 (1996).
- (20) 細山 浩, 有賀敏明: “新食品機能素材の開発”, シーエムシー (1996), pp. 369-374.
- (21) 細山 浩, 有賀敏明: *New Food Industry*, **39**(11), 54-60 (1997).
- (22) 細山 浩, 有賀敏明: 月刊フードケミカル, **14**(1), 59-64 (1998).
- (23) 細山 浩, 有賀敏明: *Food Style 21*, **2**(2), 66-70 (1998).
- (24) 細山 浩, 有賀敏明: “植物資源の生理活性物質ハンドブック”, サイエンスフォーラム (1998), pp. 271-275.
- (25) 有賀敏明, 細山 浩: 栄養と健康のライフサイエンス, **3**, 768-771 (1998).
- (26) 有賀敏明, 細山 浩: “ファイトケミカルズの生理的機能性”, 農林水産省食品総合研究所 (1998), pp. 29-32.
- (27) 有賀敏明, 細山 浩: “成人病予防食品の開発”, シーエムシー (1998), pp. 189-194.
- (28) 有賀敏明: *Health Sciences*, **15**, 145-149 (1999).
- (29) 有賀敏明: 日本油化学会誌, **48**, 1087-1096 (1999).
- (30) 有賀敏明: 食衛誌, **40**(6), 印刷中 (1999).
- (31) 有賀敏明: 食品工業, **42**(20), 44-52 (1999).
- (32) 有賀敏明: 食品工業, **42**(22), 51-55 (1999).
- (33) E. Niki, A. Kawakami, M. Saito, Y. Yamamoto, J. Tsuchiya, and Y. Kamiya: *J. Biol. Chem.*, **260**, 2191-2196 (1985).
- (34) T. Ariga and M. Hamano: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2499-2504 (1990).
- (35) R. H. Young and R. L. Martin: *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 5183-5185 (1972).
- (36) T. Ariga and K. Yuasa: Abstracts of Papers, International Conference of Food Factors (Hamamatsu), p. 178 (1995).
- (37) Y. Yoshimura, T. Inomata, H. Nakazawa, H. Kubo, F. Yamaguchi, and T. Ariga: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 4653-4656 (1999).
- (38) F. Yamaguchi, Y. Yoshimura, H. Nakazawa, and T. Ariga: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2544-2548 (1999).
- (39) 杉本勝俊, 有賀敏明, 大下克典, 菊地 護: 日本特許, 2857646 (1998).
- (40) 細山 浩, 関根多博, 有賀敏明, 今村儀佐, 吉濱公人: 公開特許, 平10-316566.
- (41) 細山 浩, 有賀敏明, 西山信夫, 湯浅克己: 公開特許, 平8-332052.
- (42) 細山 浩, 関根多博, 斉藤 涉, 井澤紋庸, 有賀敏明: 公開特許, 平10-4923.
- (43) 長尾公明, 佐藤陽子, 有賀敏明: 公開特許, 平9-51971.
- (44) 山越 純, 大下克典, 有賀敏明: 日本特許, 2528087 (1996).

- (45) 吉川敏一: “フリーラジカルの科学”, 講談社, 1995, pp. 125-198.
- (46) S. Renaud and M. De Lorgeril: *Lancet*, **339**, 1523-1526 (1992).
- (47) E. N. Frankel, J. Kanner, J. B. German, E. Parks, and J. E. Kinsella: *Lancet*, **341**, 454-457 (1992).
- (48) T. Koga, K. Moro, K. Nakamori, J. Yamakoshi, H. Hosoyama, S. Kataoka, and T. Ariga: *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1892-1897 (1999).
- (49) J. Yamakoshi, S. Kataoka, T. Koga, and T. Ariga: *Atherosclerosis*, **142**, 139-149 (1999).
- (50) 片岡茂博, 有賀敏明: *ファルマシア*, **34**, 998-1002 (1998).
- (51) 山越 純, 山次信幸: *化学と生物*, **37**, 4-5 (1999).
- (52) 齊藤 實, 石川廣晴, 細山 浩, 有賀敏明, 片岡茂博: 公開特許, 平 11-29465.
- (53) M. Arii, R. Miki, H. Hosoyama, T. Ariga, N. Yamaji, and S. Kataoka: Abstracts of Papers, Proc. 89th Annual Meeting of American Association for Cancer Research (New Orleans), p. 20 (1998).
- (54) 山越 純, 徳武昌一, 有賀敏明, 片岡茂博: 日本薬学会第 119 年会講演要旨集 (徳島市), 2, p. 109 (1999).
- (55) グェン・ヴァン・チュエン, ジマイマ・ヴェイシキアキ・ジャレ, 大泉亜紀, 有賀敏明, 片岡茂博: 日本農芸化学会 1999 年度大会講演要旨集 (福岡市), p. 133 (1999).
- (56) 有井雅幸: 第 53 回日本体力医学会大会予稿集 (横浜市), p. 252 (1998).
- (57) 石井直方, 工藤麻衣子, 山田雄太: 第 53 回日本体力医学会大会予稿集 (横浜市), p. 210 (1998).
- (58) 有賀敏明, 山崎恵美子, 山下加恵子, 佐々木正興, 山次信幸, 石井直方: 公開特許, 平 11-75708.
- (59) 有賀敏明, 有井雅幸, 石井直方: 特許願, 平 10-127169.
- (60) 有賀敏明, 越山育則, 福島男児: 日本特許, 1643101 (1992).
- (61) 佐々木正興, 逆井房子, 有賀敏明: 公開特許, 平 11-56294.
- (62) 細山 浩, 有賀敏明, 湯浅克己, 西山信夫: 公開特許, 平 9-71773.
- (63) 山越 純, 片岡茂博, 細山 浩, 有賀敏明: 特許願, 平 10-101720.
- (64) J. Yamakoshi, T. Ariga, H. Ishikawa, Y. Iwai, T. Manaka, S. Kataoka, K. Yuasa, and M. Kikuchi: US Patent, 5804597 (1998).
- (65) 有賀敏明, 岩井幸彦, 片岡茂博, 山次信幸, グェン・ヴァン・チュエン: 特許願, 平 10-214996.
- (66) 山口典男, 有賀敏明: 特許願, 平 10-197893.
- (67) 笠 明美, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336418.
- (68) 亀山久美, 近藤千春, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336420.
- (69) 笠 明美, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336419.
- (70) 近藤千春, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平-6336421.
- (71) 近藤千春, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336422.
- (72) 近藤千春, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336423.
- (73) 亀山久美, 木村喜実江, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 6-336430.
- (74) 山越 純, 片岡茂博, 古賀拓郎, 細山 浩, 有賀敏明: 公開特許, 平 10-225266.
- (75) 細山 浩, 竹内昌昭, 有賀敏明: 公開特許, 平 10-225266.
- (76) 有賀敏明, 浜野光年, 茂田井宏, 八須澄人, 山田宗樹, 宮地道男: 日本特許, 2694748 (1997).
- (77) 内田理一郎, 齊藤しのぶ, 細山 浩, 有賀敏明: 特許願, 平 10-144067.
- (78) 徳武昌一, 有賀敏明, 細山 浩: 公開特許, 平 11-80148.
- (79) 有賀敏明, 浜野光年, 福島男児: 日本特許, 1904929 (1995).
- (80) T. Ariga, H. Hosoyama, and K. Yuasa: US Patent, 5814494 (1998).
- (81) T. Ariga, H. Hosoyama, and K. Yuasa: US Patent, 5773262 (1998).
- (82) 細山 浩, 有賀敏明, 湯浅克己: 公開特許, 平 8-228685.