

学位請求論文要旨

食品中の機能性成分の分析と生理活性に関する
薬学的研究：アントシアニンを中心として

2022年3月

城西国際大学大学院 薬学研究科

医療薬学専攻

芝田 裕磨

緒言

WHO が発行する World Health Statistics 2021 において、WHO に加盟する 194 の国と地域の平均寿命が発表されており、その中で日本の平均寿命は世界 1 位となっている¹⁾。日本がこのような高い健康水準を持つに至った要因の一つとして、感染症などの急性期疾患による死亡数の減少が挙げられる。一方で、がんや循環器疾患などの生活習慣病が増加し、疾病構造は大きく変化した。生活習慣病は生命を奪うだけでなく、身体の機能や生活の質を低下させるものも多いため、生活習慣病患者の増加は健康寿命の低下につながる。また、健康寿命の低下は国民医療費の増加にも関係する。そのため、個人が継続的に生活習慣を改善し、病気を予防していくなど、積極的に健康を増進していくことが重要な課題となっている。

健康増進や疾病予防に対して、野菜や果物の摂取が有用であることは言うまでもないことであり、これは野菜や果物に含まれる疾病予防に関わるビタミン、ミネラル、食物繊維やファイトケミカル等の有効性に起因している。ファイトケミカルを含有する食物は抗酸化作用を有し、健康の維持・増進や疾病に対する予防効果が期待される。そこで本研究では、ファイトケミカルの中でも多くの野菜・果物などの日常食品に多く含まれるアントシアニン (ANC) に着目した。

ANC は、アグリコンである anthocyanidin が糖と結合した配糖体であり、多くの植物に含まれる天然色素成分である。ANC は、肥満²⁾や糖尿病³⁾、がん⁴⁾およびアルツハイマー病発症⁵⁾の抑制やメタボリックシンドローム⁶⁾および高コレステロール血症⁷⁾に有効であると報告されている。また、視覚機能改善作用⁸⁾⁻¹²⁾も報告されており、様々な疾患の予防に利用範囲が拡大されていく可能性がある。現在、日本における ANC を含む野菜・果実やサプリメントは主に視覚機能改善効果を期待されているが、特にサプリメントは ANC を多量に含むにも関わらず、用法・用量の規制は設けられていない。しかし、ANC には様々な効果があることが報告され、医薬品のような立ち位置に近付きつつあることから、品質や体内動態、相互作用を考慮した薬学的検討を行うことが重要であると考えられた。

そこで本論文では、ANC を中心とした食品中の機能性成分の分析と生理活性に関する研究をいくつかのアプローチで検討した。第 1 編では、ブルーベリー果実および市販 ANC 含有サプリメントの総 ANC 量、総ポリフェノール量および抗酸化能を明らかにした。第 2 編では、市販 ANC 含有サプリメントの品質評価の一環として質量偏差試験および溶出試験を実施し、製剤均一性および溶出性を検討した。第 3 編では、実験動物を用いて ANC の基礎的な体内動態を明らかにするとともに、ファイトケミカル的一种であるワサビ成分アリルイソチオシアネートによる ANC の吸収への影響を検討した。第 4 編では、ANC のアルデヒドオキシダーゼに対する代謝過程における相互作用を検討した。第 5 編では、ANC の抗酸化能以外の生理活性の評価として、有色米による糖質分解酵素阻害活性を検討した。

第1編 食品・サプリメントに含まれるポリフェノール量と抗酸化活性

第1章 東金産ブルーベリー果実

ブルーベリーに含まれる生理活性物質、特に ANC は多くの有益な作用を持つことが報告されている^{13), 14)}。ANC は植物に青色を与える天然色素であり、抗酸化作用を示す化合物である。ブルーベリーには約 400 種類の品種が存在し¹⁵⁾、ANC の含有量は品種ごとに異なる。果物の高い抗酸化活性は、主に ANC やその他のポリフェノール類に起因する。そのため、ブルーベリー果実中の ANC やポリフェノールを定量することは重要であるが、現在、日本、特に房総地域で栽培されているブルーベリー品種の ANC 含有量やポリフェノール含有量、抗酸化活性に関する情報は限られている。そこで本章では、ブルーベリー栽培品種の総 ANC 量と総ポリフェノール量を定量化した。さらにそれら品種の抗酸化活性を評価した。

東金産ブルーベリー51品種 (Highbush (HB) 系 35 種、Rabbiteye (RE) 系 16 種) の ANC 量は HPLC を用いて測定し、総ポリフェノール量は Folin-Ciocalteu 法を用いて測定した。抗酸化活性はフリーラジカル除去能を測定する DPPH 法およびペルオキシラジカルに対する抗酸化物質の除去能を測定する ORAC 法¹⁶⁾を用いて測定し、それぞれの関係性について評価した。

総 ANC 量は 0.7-4.3 mg/g fresh weight (fw) であり、最小値と最大値の間に約 6 倍の差が認められた。総 ANC 量を系統ごとに比較すると HB 系よりも RE 系の方が有意に高値を示した ($p < 0.001$)。この結果はこれまでの知見と一致していた¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。ANC はブルーベリーの果皮に多く存在する²⁰⁾。小さな果実は果肉に比べ果皮の量が相対的に大きいいため、単位重量あたりの ANC 量が高いことが示されていた^{21), 22)}。しかしながら、著者らの検討では RE の比表面積は HB と同様であった ($p = 0.284$)。したがって、総 ANC 量は必ずしも果実のサイズに起因するものではない可能性も考えられる。

Anthocyanidin 組成は品種によって違いがあった。また、Anthocyanidin 組成は系統間でも差があり、HB 系では delphinidin の割合が最も高く、RE 系では malvidin の割合が最も高かった。

総ポリフェノール量は 0.77-3.69 mg gallic acid equivalent/g fw であり、最小値と最大値の間に 4.8 倍の差が認められた。総ポリフェノール量と総 ANC 量の間に正の相関 ($r = 0.882$) が観察され、ブルーベリー栽培品種の総ポリフェノール量が増加するにつれて総 ANC 量が増加したことを示していた。

DPPH 法を使用して得られた値は 6.84-29.54 $\mu\text{mol Trolox equivalent (TE) /g fw}$ の範囲であり、ORAC 法で測定された値は 8.30-83.86 $\mu\text{mol TE/g fw}$ の範囲であった。DPPH 法により測定した抗酸化活性と総 ANC 量の相関係数は非常に高かった ($r = 0.873$)。一方、ORAC 法により測定した抗酸化活性と総 ANC 量の相関係数も高値を示した ($r = 0.802$)。また、DPPH 値と ORAC 値の間に強い正の相関が認められた ($r = 0.722$)。そのため、DPPH 法は ORAC 法の有用な代替手段となる可能性が示唆された。

ブルーベリーなどの天然物に由来する抗酸化活性は、ANC やその他のポリフェノール、ビタミン C などの幅広い構成成分の相乗効果により、活性酸素種を減らすのにより効果的であると考えられる。従って、抗酸化物質をより多く含むブルーベリー品種は、有益な特性を備えた製品の開

発に役立つと考えられる。

第2章 市販アントシアニン含有サプリメント

健康食品・サプリメントの市場規模は年々拡大しており、2020年度には8623億円となり²³⁾、今後も市場規模の増加が予想される。先行研究で行われたサプリメントに関するアンケート調査において、ANC含有サプリメントを摂取している人の割合は、ビタミン・ミネラル、グルコサミン、カルシウムに次いで4番目に多いことが報告されている²⁴⁾。このことから、ANC含有サプリメントは多くの消費者に摂取されていることが予想される。しかしながら、多くのサプリメントは医薬品崩壊性試験に不合格という報告もあり²⁵⁾、日本のサプリメントの品質について懸念が広がっている。このような製品については試験を実施して、表示されている機能性成分の含有量、崩壊性、溶出性および吸収率について試験する必要性を示唆している。そこで本章では、ANC含有サプリメントを用いて含有量およびその抗酸化活性を測定した。

市販ANC含有サプリメント12製品に含まれる15種のANCをHPLCにより分離定量した。12製品中11製品でANC組成のパターンは同様のものであり、原材料に同じものを用いていると推定される。

ANCの一日摂取量には製品間で大きな差が認められた。サプリメントのANC一日摂取量を本実験で用いたブルーベリー果実に換算すると、最もANC量が多かった品種では5~25粒(4.86~24.3g)、最も少なかった品種では11~52粒(28.3~133g)となった。また、サプリメントのANC量と抗酸化活性の間には、ブルーベリー果実と同様に高い相関関係が認められた(DPPH: $r=0.781$, ORAC: $r=0.881$)。

そのため、抗酸化能を目的としてANCを摂取する場合、ブルーベリー果実よりサプリメントのほうが、摂取重量が少なく、手軽に入手でき、簡便かつ日常的にANCを摂取できると思われる。しかしながら、サプリメントは崩壊・分散・溶出・吸収の過程を経て、生体内に取り込まれるため、ANCの摂取量と生体内での抗酸化作用を推定することは明らかではなかった。

第2編 市販アントシアニン含有サプリメントの品質評価

第1章 質量偏差試験による品質評価

著者らは第1編の結果から、ANC含有サプリメントのほうがブルーベリー果実と比較して、ANCを日常的・安定的に摂取できると考えた。しかしながら、サプリメントは食品の枠組みであるため、医薬品に課されるような品質管理に関する試験は規定されておらず、表示された量が実際に含有されているかどうかは明らかではない。そこで本章では、市販ANC含有サプリメントについて、第十八改正日本薬局方(JP18)の質量偏差試験による品質評価を試みた。

サプリメント12製品のうち4製品がJP18の質量偏差試験に適合した。ラベル表示量に対する有効成分量は48.7-146.9%であり、不適合とされた8製品のうち、2製品はラベル表示量よりも有効成分量が下回る結果であった。これらについては、市場の全製品の結果であるのか、ロットの違いによっても差が生じるのかは明らかでない。さらにこの結果は、医薬品の製剤均一性試験を

適用させたものであり、現在、サプリメントの均一性の試験法は導入されていないため、早期の基準設定と試験法の確立は必要となる可能性がある。いずれにしても、消費者の信頼性を得るためには業界基準を設定する必要があると思われた。

第2章 溶出試験による品質評価

健康食品・サプリメントは医薬品ではなく食品に分類されるが、その形状は錠剤やカプセル等医薬品に類似するものが多い。しかしながら、医薬品では固形経口製剤に規定されている溶出試験については健康食品・サプリメントでは規定されていない。固形経口製剤からの薬物の溶出は消化管吸収性ひいては有効性に影響を及ぼす重要な因子である。そこで本章では、市販 ANC 含有サプリメントを用いて、サプリメントの溶出性試験 (JP18) を検討することとした。

12 製品中 7 製品の 60 分溶出率が 50%以下であった。特にソフトカプセルでは 6 製品すべてが時間内に半分も溶出しないということが判明した。ソフトカプセルタイプは溶出試験終了時点で形状が比較的保たれていたことや、崩壊してもカプセル残渣や内容物が溶出試験器の底面に付着していたことが確認できた。そのため、カプセル皮膜の崩壊性や内容物の分散性が著しく乏しく、それが溶出性に影響を与えているものと推察された。

サプリメントはカプセルまたは錠剤として販売されているため、消費者の中には健康食品と医薬品を区別するという方法を知らない者も存在しているのは事実である²⁶⁾。そのため、製品が一定の品質で製造され、基準の策定など製品の品質を維持するよう対策を講じることが必要かもしれない。

第3編 アントシアニンの生体内利用率向上の試み

第1章 ラットにおける Cy-3-glc の体内動態

第2編において、市販 ANC 含有サプリメントの中には溶出性が低い製品があることが明らかとなった。ANC はバイオアベイラビリティが 1-10%と報告されており^{27), 28)}、サプリメントからの溶出が低い場合、バイオアベイラビリティのさらなる低下が予想される。そのため、ANC の生体内利用率向上に関する試みは重要となる。本章では、ANC の生体内利用率向上に先立ち、ラットを用いて ANC の体内動態について検討した。

急速単回静脈内投与後の血漿中濃度および尿中排泄量の結果から、ANC の生体からの消失が速やかであることが明らかとなった。また、投与量 1-10 mg/kg の範囲では概ね線形の体内動態を示すことが判明した。ANC のバイオアベイラビリティは約 1%であり、消化管吸収性は低いことが示唆された。

第2章 Cy-3-glc の体内動態に及ぼす AITC 併用の影響

ワサビの辛味成分であるアリルイソチオシアネート (AITC) は ANC と同様に抗酸化能を有し、これらを併用することで抗酸化能の効果増強が期待できる物質である。また、AITC は胃のタイ

トジャンクション (TJ) を開口することが報告されている²⁹⁾。従って、消化管の TJ に作用することで、消化管からの吸収を促進する可能性が考えられる。そこで本章では、ANC の吸収に及ぼす AITC の影響について検討することとした。

ワサビ成分 AITC 併用の結果、ANC の AUC は約 2.6 倍、24 hr 累積尿中排泄量は約 4.5 倍に増加した。AITC はラット培養胃粘膜細胞を用いた *in vitro* 実験において、細胞間隙に存在する TJ 関連タンパク質のひとつである *occludin* を消失させ、マンニトールの透過性を亢進させることが報告されている²⁹⁾。AITC の併用による TJ バリア機能の低下が、ラットに Cy-3-glc の吸収を促進させた可能性が考えられた。

第 4 編 アントシアニンの代謝的相互作用解析

第 1 章 アルデヒドオキシダーゼに対する ANC の代謝阻害の評価

相互作用は、医療現場において重大な問題となることがあり、薬物—薬物間だけでなく、食物—薬物間についても様々な事例が報告されている。相互作用の原因のうち、代謝過程、なかでもシトクロム P450 (CYP) の阻害や誘導に関する報告が多数ある。CYP 以外の代謝酵素に関する相互作用の報告は比較的少ないが、茶葉などに含まれるフラボノイドは *aldehyde oxidase* (AO) を阻害することが報告されている³⁰⁾。フラボノイドの一種である ANC は CYP に対する *in vitro* 阻害試験において CYP2D6³¹⁾ および CYP3A4³²⁾ に対する弱い阻害作用が報告されているものの、AO に対する阻害作用を検討した報告はない。そこで本編では、ANC による食物—薬物間相互作用に関する検討として、ANC およびブルーベリー抽出液による AO 阻害作用について検討した。

ヒト肝サイトゾールを用いた AO 基質 *vanillin* の *in vitro* 代謝実験により、ブルーベリー抽出液の IC_{50} 値は 18.6 μM であり、典型的な AO 阻害剤である *menadione* の約 10 倍、*raloxifene* の約 100 倍以上であることが明らかとなった。AO の基質となる薬物に対するブルーベリーの AO 阻害作用は、*in vitro* では極めて弱いものであることが判明した。また、ANC の IC_{50} 値は 18.1-26.7 μM であった。第 3 編におけるラットへの Cy-3-glc 経口投与実験時の C_{max} は 0.227-2.99 μM であったことから、動物実験とヒトとの間に種差はあるものの、生体内の ANC は低濃度であることが予想され、AO 代謝に対する相互作用の影響は極めて小さいものと考えられた。

第 5 編 アントシアニンの抗酸化能以外の生理活性の評価

第 1 章 有色米の糖質分解酵素阻害活性

ポリフェノール類は、消化管から吸収される過程で、唾液や膵液の α -アミラーゼや小腸粘膜上皮の α -グルコシダーゼ等の糖質分解酵素を阻害し、炭水化物の消化・吸収を遅延させるため、食後血糖値の上昇を抑制する可能性が示されている³³⁻³⁸⁾。有色米は、抗酸化活性を有するポリフェノール類を含有するため³⁹⁻⁴²⁾、体内での活性酸素の過剰発生が関与している老化や癌化、また生活習慣病の発症に対する健康食品といわれている^{43,44)}。本編では、有色米が食後血糖値の変動に及ぼす影響を推察するための基礎的研究として、千葉県東金市で栽培された有色米のポリフェノール含量と糖質分解酵素阻害活性を測定し、両者の関係について評価を試みた。

米試料の総ポリフェノール量は、赤米>黒米>玄米>白米の順で多く含まれていた。また、ANCは黒米にのみ含まれ、他の米では検出されなかった。なお、今回測定した15種のANCのうち、黒米に含まれていたのはcyanidin-3-glucosideとpeonidin-3-glucosideの2種で、前者が総ANC量の約90%を占めていた。有色米の総ポリフェノール量と α -グルコシダーゼ阻害活性の間には有意な相関が認められた($r=0.824$)。また、 α -アミラーゼ阻害活性との間にも有意な相関が認められた($r=0.603$)。このことから、有色米の α -グルコシダーゼ阻害活性および α -アミラーゼ阻害活性には、ポリフェノール類が関与している可能性が示唆された。

2型糖尿病治療薬として臨床使用されているアカルボースの α -グルコシダーゼ阻害活性および α -アミラーゼ阻害活性は、いずれの米よりも有意に高かった。Adisakwattanaら⁴⁵⁾とAkkarachiyasitら⁴⁶⁾は、anthocyanidinやその配糖体であるANCが、 α -グルコシダーゼおよび α -アミラーゼに対する阻害活性を有することと、これらをアカルボースと併用した場合に、相乗的な効果が得られたことを報告している。有色米の糖質分解酵素阻害活性はアカルボースと比較すれば、弱いものであったが、糖尿病患者に対する食事療法等への応用の可能性が示唆された。

結論

ブルーベリー果実とサプリメントはともに総ANC量と抗酸化能の間に高い相関関係が認められた。サプリメントは、摂取重量が少なく、手軽に入手でき、簡便かつ日常的にANCを摂取できるが、質量偏差試験および溶出試験による品質評価の結果、消費者が宣伝されているような、適切な量の成分を摂取できていない可能性を示された。

ANCの体内動態について検討した結果、バイオアベイラビリティは約1%であった。また、食品としてサプリメントにも利用されているワサビ成分のひとつであるAITCがANCの吸収を促進することが明らかにした。

ANCのAOに対する代謝的相互作用について検討した。*In vitro*試験において、ANCのAO阻害活性は、そのアグリコンであるanthocyanidinや陽性対照であるビタミンK誘導体のmenadioneと比較して非常に弱く、AO阻害についての懸念は少ないものと判断した。

ANCの抗酸化能以外の生理活性の評価として、糖質分解酵素阻害活性を検討した。東金産赤米と黒米には、糖質分解酵素阻害活性があることを明らかにした。これらの効果は、糖尿病治療薬であるアカルボースと比較すれば、弱いものであったが、糖尿病患者に対する食事療法等への応用の可能性が示唆された。

以上より本研究結果は、ANCを含有する食品の製品開発や消費者への健康情報提供業務に貢献できるものと考えられる。

引用文献

- 1) WHO, World Health Statistics 2021 (2021) .
- 2) Tsuda T., Horio F., Uchida K., Aoki H., Osawa T., *J Nutr.*, **133**, 2125-2130.
- 3) Matsui T., Ebuchi S., Fukui K., Matsugano K., Terahara N., Matsumoto K., *Biosci Biotechnol*

- Biochem.*, **68**, 2239-2246 (2004) .
- 4) Benavente-García O., Castillo J., *J Agric Food Chem.*, **56**, 6185-6205 (2008) .
 - 5) Shih PH., Chan YC., Liao JW., Wang MF., Yen GC., *J Nutr Biochem.*, **21**, 598-605 (2010) .
 - 6) Curtis PJ., Velpen VVD., Berends L., Jennings A., Feelisch M., Umpleby AM., Evans M., Fernandez BO., Meiss MS., Minnion M., Potter J., Minihane AM., Kay CD., Rimm EB., Cassidy A., *Am J Clin Nutr.*, **109**, 1535-1545 (2019) .
 - 7) Zhu Y., Xia M., Yang Y., Liu F., Li Z., Hao Y., Mi M., Jin T., Ling W., *Clin Chem.*, **57**, 1524-1533 (2011) .
 - 8) Matsumoto H., Nakamura Y., Tachibanaki S., Kawamura S., Hirayama M., *J Agric Food Chem.*, **51**, 3560-3563 (2003) .
 - 9) Matsumoto H., Kamm KE., Stull JT., Azuma H., *Exp Eye Res.*, **80**, 313-322 (2005) .
 - 10) Nakaishi H., Matsumoto H., Tominaga S., Hirayama M., *Altern Med Rev.*, **5**, 553-562 (2000) .
 - 11) Yoshida K., Ohguro I., Ohguro H., *J Ocul Pharmacol Ther.*, **29**, 480-487 (2013) .
 - 12) Song XL., Li MJ., Liu Q., Hu ZX., Xu ZY., Li JH., Zheng WL., Huang XM., Xiao F., Cui YH., Pan HW., *J Agric Food Chem.*, **68**, 8286-8294 (2020) .
 - 13) Mazza G., Kay CD., Cottrell T., Holub BJ., *J Agric Food Chem.*, **50**, 7731-7737 (2002) .
 - 14) Zhou F-H., Deng X-J., Chen Y-Q., Ya F-L., Zhang X-D., Song F., Li D., Yang Y., *J Nutr Sci Vitaminol.*, **63**, 237-243 (2017) .
 - 15) Routray W., Orsat V., *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, **10**, 303-320 (2011) .
 - 16) Tai L., Huang S., Zhao Z., Huang G., *Chem Biol Drug Des.*, **97**, 711-720 (2021)
 - 17) Pertuzatti PB., Barcia MT., Rodrigues D., da Cruz PN., Hermosin-Gutierrez I., Smith R., Godoy HT., *Food Chem*, **164**, 81-88 (2014) .
 - 18) Gao L., Mazza G., *J Food Sci.*, **59**, 1057-1059 (1994) .
 - 19) Wang SY., Chen H., Camp MJ., Ehlenfeldt MK., *Food Chem.*, **132**, 855-864 (2012) .
 - 20) Lee J., Wrolstad RE., *J Food Sci.*, **69**, 564-573 (2004) .
 - 21) Ehlenfeldt M., Prior RL., *J Agric Food Chem.*, **49**, 2222-2227 (2001) .
 - 22) Reque PM., Steffens RS., Martins da Silvia A., Jagblonski A., Flores SH., Rios AO., Vogt de Jong E., *Food Sci Technol.*, **34**, 773-779 (2014) .
 - 23) 株式会社矢野経済研究所, 「健康食品市場に関する調査 (2021年)」 (2021) .
 - 24) 佐藤英治, 安楽誠, 岡村信幸, 秦季之, 吉富博則, 田口勝英, 村上信行, *YAKUGAKU ZASSHI*, **131**, 1117-1125 (2011) .
 - 25) NUTRA ingredients-asia, 40%以上が医薬品崩壊性試験に不合格、日本の健康食品の品質に対する懸念 (2019) .
 - 26) 独立行政法人国民生活センター, 錠剤・カプセル状の健康食品の品質等に関する実態調査—形状から、医薬品だと思いませんか?— (2019) .
 - 27) Ichiyaniagi T., Shida Y., Rahman MM., Hatano Y., Konishi T., *J Agric Food Chem.*, **54**, 6578-6587 (2006) .
 - 28) Czank C., Cassidy A., Zhang Q., Morrison DJ., Preston T., Kroon PA., Botting NP., Kay CD., *Am J*

- Clin Nutr.*, **97**, 995-1003 (2013) .
- 29) Tashima K., Kabashima M., Matsumoto K., Yano S., Hagen SJ., Horie S., Capsaicin - Sensitive Neural Afferentation and the Gastrointestinal Tract, *Intech*, 77-99 (2014) .
- 30) Tayama Y., Sugihara K., Sanoh S., Miyake K., Morita S., Kitamura S., Ohta S., *Drug Metab Pharmacokinet.*, **26**, 94-101 (2011) .
- 31) Dreiseitel A., Schreier P., Oehme A., Locher S., Rogler G., Piberger H., Hajak G., Sand PG., *Methods Find Exp Clin Pharmacol.*, **31**, 3-9 (2009) .
- 32) Dreiseitel A., Schreier P., Oehme A., Locher S., Hajak G., Sand PG., *Mol Nutr Food Res.*, **52**, 1428-1433 (2008) .
- 33) Guo H., Ling W., Wang Q., Liu C., Hu Y., Xia M., Feng X., Xia X., *Plant Foods Hum Nutr.*, **62**, 1-6 (2007) .
- 34) 齋藤優介, 西繁典, 小疇浩, 弘中和憲, 小嶋道之, 日本食品科学工学会誌, **54**, 563-567 (2007) .
- 35) Hanhineva K., Törrönen R., Bondia-Pons I., Pekkinen J., Kolehmainen M., Mykkänen H., Poutanen K., *Int J Mol Sci.*, **11**, 1365-1402 (2010) .
- 36) Yao Y., Sang W., Zhou M., Ren G., *J Agric Food Chem.*, **58**, 770-4 (2010) .
- 37) Wu Y., Zhou Q., Chen XY., Li X., Wang Y., Zhang JL., *Food Res Int.*, **100**, 312-324 (2017) .
- 38) Kalita D., Holm DG., LaBarbera DV., Petrash JM., Jayanty SS., *PLoS One* , 2018 Jan 25;13(1):e0191025., doi: 10.1371/journal.pone.0191025. eCollection 2018.
- 39) Oki T., Masuda M., Kobayashi M., Nishiba Y., Furuta S., Suda I., Sato T., *J Agric Food Chem.*, **50**,7524-7529 (2002) .
- 40) Laokuldilok T., Shoemaker CF., Jongkaewwattana S., Tulyathan V., *J Agric Food Chem.*, **59**, 193-199 (2011) .
- 41) 菊池奈緒美, 松本かおり, 堀聖一, 長谷川哲也, 秋元雅之, *The Journal of Holistic Sciences*, **10**, 23-32 (2016) .
- 42) Mingyai S., Kettawan A., Srikaeo K., Singanusong R., *J Oleo Sci.*, **66**, 565-572 (2017) .
- 43) 大澤俊彦, *Japanese journal of Dairy and Food Science*, **42**, A27-34 (1996) .
- 44) Zhu F., *Food Research International*, **109**, 323-249 (2018) .
- 45) Adisakwattana S., Yibchok-anun S., Charoenlertkul P., Wongsasiripat N., *J Clin Biochem Nutr.*, **49**, 36-41 (2011) .
- 46) Akkarachiyasit S., Charoenlertkul P., Yibchok-anun S., Adisakwattana S., *Int J Mol Sci.*, **11**, 3387-3396 (2010) .