

サトウキビ廃糖蜜の焙煎による DPPH ラジカル消去能の増加と抗変異原性

吉元 誠¹, 木戸めぐみ¹, 杉田望美¹, 水元綾子¹, 吉崎 恵¹, 氏原邦博², 倉田理恵³

¹鹿児島女子短期大学

²九州沖縄農業研究センター

³九州沖縄農業研究センター畑作研究領域

Enhancement of DPPH-Radical Scavenging Activity and Antimutagenicity in Roasted Sugarcane Molasses

Makoto YOSHIMOTO¹, Megumi KIDO¹, Nozomi SUGITA¹, Ayako MIZUMOTO¹,
Megumi YOSHIZAKI¹, Kunihiro UJIHARA², and Rie KURATA³

¹Kagoshima Women's Junior College, Kourai-cho 6-9, Kagoshima City, Kagoshima 890-8565

²NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Suya 2421, Koushi, Kumamoto 861-1192

³NARO Kyushu Okinawa Agricultural Research Center, Upland Farming Research Division, Yokoichi 6651-2,
Miyakonojo, Miyazaki 885-0091

The potential chemopreventive properties of the molasses from sugarcane were examined to promote the demand of this residue from the sugarcane industry. Roast of the molasses at temperature between 140 and 180°C for 20 min enhanced remarkably the DPPH-radical scavenging activity in comparison with non-roast one. The molasses roasted at 160°C showed the maximum DPPH-radical scavenging activity at temperature between 100°C and 200°C for 20 min. Extract from roasted molasses at 160°C for 20 min showed stronger antimutagenicity than one from non-roast one at 10 mg additional content. The increase and decrease in DPPH-radical scavenging activity and polyphenolic contents were similar to the browning pattern by the roast, suggesting that the antioxidative components may be the polyphenolic-related one. These results indicate that the roasted molasses from sugarcane is available for the material with physiological functions.

Keywords: sugarcane, molasses, roast, DPPH-radical scavenging activity, antimutagenicity

キーワード: サトウキビ, 廃糖蜜, 焙煎, DPPH ラジカル消去能, 抗変異原性

2011年度には世界の人口が70億人を超え、今後環境問題を克服しながら、食糧を安定的に供給することが、世界的に重要な課題である。特に我が国では、食糧自給率が約40%（エネルギー

換算）と低迷し、地球環境の保全、食糧の安定供給の観点からも食品素材を安定的に確保していかねばならない。このためには、食品素材の栄養的な面だけでなく、健康に關与する機

能性を明らかにして、高付加価値を与えることは、消費者の健康の維持・増進だけでなく、需要促進の観点からも重要である。

サトウキビは鹿児島の基幹作物であり、分蜜糖や含蜜糖の原料として利用されている。分蜜糖製造時には、廃糖蜜が残渣として排出され、一部は、家畜飼料や肥料として再利用されているが、その大部分は廃棄されている。サトウキビ黒糖では、豊富なミネラルの他、少なくとも17種類のポリフェノール類の存在¹⁾、小腸からのグルコースの吸収抑制成分²⁾、脂質および糖代謝に対する影響^{3,4)}、血中インシュリンの上昇抑制⁵⁾など数多く報告されている。これらの機能性成分は廃糖蜜にも含まれていることは容易に推測出来るが、廃糖蜜の機能性に関する報告は少ない。廃糖蜜の機能性については、抗う蝕作用⁶⁾、ラジカル消去能およびチロシナーゼ阻害活性⁷⁾など機能性が報告されている。しかし、廃糖蜜の加工食品への利用はほとんどない。

本研究は廃糖蜜の高付加価値化による有効利用を目的としている。今回、サトウキビ廃糖蜜の焙煎による抗酸化能の促進と抗変異原性について報告する。アルツハイマー病を初めとした多数の病気には酸素ラジカルによる生体成分の酸化が示唆されている^{8,9)}。さらに、食事由来の抗酸化成分は癌、老化や心臓疾患を含めた多くの病気の原因とされている酸化ストレスから、ヒトの体を保護しているという理由から興味を持たれている¹⁰⁾。サトウキビ廃糖蜜の焙煎による生理的機能性の上昇に関する報告は、われわれが知る限り初めてである。

実験方法

1. 供試試料

サトウキビ廃糖蜜は2008年に南西糖業(株)から分譲を受けた。セライトおよび1, 1-diphenyl-

2-picrylhydrazyl (DPPH) は和光純薬工業製(大阪, 日本), 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethyl-chroman-2-carboxylic acid (Trolox) は Sigma-Aldrich 社製 (Miwaukee, WI, U.S.A), 2-morpholinoethanesulfonic acid, monohydrate (MES) は同仁化学社製(熊本, 日本) を用いた。その他の試薬は、市販の特級試薬を、水は超純水を用いた。

2. 焙煎条件および試料調製

廃糖蜜の焙煎は、中林らの方法¹¹⁾を改変して行った。すなわち、超純水で3倍に希釈した廃糖蜜100 μL をガラス製試験管(直径16 mm, 長さ104 mm) に入れた150 mg のセライトに加えて吸着させ、乾熱器(アズワン社製 DO-450) で焙煎した。温度は100 $^{\circ}\text{C}$, 120 $^{\circ}\text{C}$, 140 $^{\circ}\text{C}$, 160 $^{\circ}\text{C}$, 180 $^{\circ}\text{C}$, 200 $^{\circ}\text{C}$ の6段階とし、それぞれの温度で20分間処理した。焙煎後、乾熱器から試験管を取り出し、自然放置して冷却した。室温に戻った試験管に、2 mL の超純水を加えて攪拌後、沸騰水中に1分間保ち、水中で冷却後、遠心分離して上清を得た。上清をフィルター(DISMIC-25HP, 0.20 μm , アドバンテック東洋, 東京, 日本) でろ過滅菌後供試した。なお試験管により多少のばらつきがあるので、各温度毎に3本を用い、それぞれの上清について検討した。

3. 抗酸化活性測定法

試料を適宜超純水で希釈した後、等量のエタノール(99.5%) と混合して分析に供した。DPPH ラジカル消去活性は既報¹²⁾に従って算出した。すなわち、96穴マイクロプレートに分析試料75 μL と200 mM MES 緩衝液(pH6.0) 150 μL 加え、マイクロプレートミキサー(TAITEC 社製 MicroMixer E-36) で攪拌した。これに150 μM DPPH / エタノール溶液75 μL を加え、攪拌後、

室温で2分間放置し、マイクロプレート測定付属装置 (MPA-9300) 付きのフライングスポットスキャンニング密度計 CS-9300 (島津製作所, 京都, 日本) を用いて520nmにおける吸光度を測定した。検量線は Trolox を用いて作成し, DPPH ラジカル消去活性を mL 当たりのトロロックス相当量として算出した。

4. 抗変異原性

サルモネラ菌 TA98 (*Salmonella typhimurium* TA98) は大阪発酵研究所 (IFO) から購入した。突然変異誘起性試験を行う前に, 菌をニュートリエント培地で37°Cで16時間培養した。S-9 はマウスの肝臓を phenobarbital および 5, 6-benzoflavone で活性化したホモジネート上清を用いた。コファクターはオリエンタル工業酵母 (株) (東京, 日本) のものを用いた。他の化学薬品はナカライテスク (株) (京都, 日本) で購入した。S-9mix は発癌物質活性剤であり, 50 μmol のリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4), 4 μmol MgCl_2 , 16.5 μmol KCl, 2.5 μmol グルコース 6 リン酸塩, 2 μmol NADH, 2 μmol NADPH, S-9 画分50 μL を全量0.5mL 中に含んでいる。突然変異誘起性試験は Yahagi らの方法¹³⁾に変更を加えて行った。変異原として DEGB (DMSO-extract from grilled beef, 焼き肉の DMSO 抽出画分) を用いた。

DEGB の調製は以下の通りである。脂身の少ない牛肉 (ロース肉) を十分に焼き, 凍結乾燥した。凍結乾燥牛肉を粉末にし, 粉末 5 g に DMSO を10 ml 加えて攪拌後, 室温に1時間静置, 抽出した。遠心分離後, 上清をフィルター (DISMIC-25HP, 0.20 μm , アドバンテック東洋, 東京, 日本) でろ過滅菌して供試した。

5. 総ポリフェノール含量

ポリフェノール含量は, Folin-Ciocalteu 法¹⁴⁾により測定し, クロロゲン酸 (Sigma 社, St. Louis, U.S.A) 相当量とした。96穴マイクロプレートの各ウエルに25 μL を採取し, これらにフェノール試薬 (ナカライテスク (株), 京都, 日本) の希釈水溶液125 μL を添加して, 3分間攪拌した。その後, 10%炭酸ナトリウム水溶液を添加し, 15分間攪拌後, マイクロプレート測定付属装置 (MPA-9300) 付きのフライングスポットスキャンニング密度計 CS-9300 (島津製作所, 京都, 日本) を用いて660 nm の波長を測定した。

実験結果および考察

1. 焙煎廃糖蜜の DPPH ラジカル消去能

図1は各温度で20分間焙煎した廃糖蜜の DPPH ラジカル消去能を示した。25°C処理 (コントロール) に対して, 100°C処理, 120°C処理と徐々に上昇し, 140°C処理では, コントロールの約2.5倍, 160°Cでは約4.2倍のラジカル消去能を示した。180°Cの処理温度では, コントロールの約2.5倍と減少し, 200°Cの処理温度では, コントロールの半分程度に DPPH ラジカル消去能は減少した。

廃糖蜜の抗酸化能の増強については, 乳酸菌

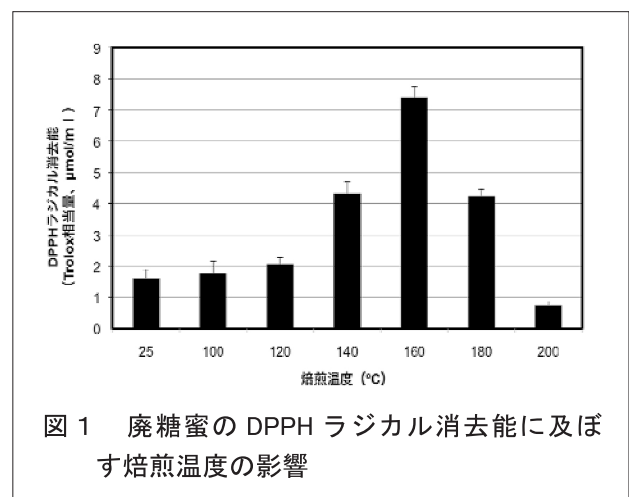


図1 廃糖蜜の DPPH ラジカル消去能に及ぼす焙煎温度の影響

または乳酸菌と酵母, 枯草菌を組み合わせ発酵させると, 抗酸化能が増強される事が報告されている¹⁵⁾. しかし, これらの方法で増強される抗酸化能は約15%にすぎない. これに比較して, 廃糖蜜の焙煎による DPPH ラジカル消去能は最大で約4倍以上上昇した. これらの結果は, 焙煎廃糖蜜が, 抗酸化食品素材として利用可能なことを示唆している.

2. 焙煎廃糖蜜の抗変異原性

ラジカル消去能と抗変異原性は正の関係がある事が解っているので, 焙煎および無処理廃糖蜜についてサルモネラ菌 (TA98) に対する抗変異原活性を比較した (表1).

表1 焙煎廃糖蜜の抗変異原性

試料	添加量	コロニー数*	阻害率(%)
無処理	1.0mg	244±24	38
	5.0mg	200±6	49
	10.0mg	171±18	56
焙煎 (160℃, 20分間)	1.0mg	244±46	38
	5.0mg	188±22	52
	10.0mg	125±20	68

*変異原として DEGB を用い, コントロールのコロニー数は395±20

変異原としては, 焙煎した牛肉からの DMSO 抽出画分 (DEGB) を用いた. 焙煎条件は, 最も DPPH ラジカル消去活性が高かった160℃, 20分間処理した廃糖蜜抽出液を抽出後, 抽出液を凍結乾燥した. 得られた凍結乾燥品を所定の濃度に超純水で溶解し, 溶液をフィルター (DISMIC-25HP, 0.20μm, アドバンテック東洋, 東京, 日本) でろ過滅菌後供試した.

廃糖蜜を添加していないコントロールのコロニー数は395±20で, 無処理区では添加濃度を1.0 mg, 5.0 mg および10.0 mg として測定した結果, 各々244±24, 200±6 および171±18のコロニー数を示した. これは変異原の阻害率にして, 38%, 49%および56%に相当し, 廃糖蜜

の添加量の増加に従って阻害率も増加することが明らかとなった. また, 160℃, 20分間焙煎した廃糖蜜では, 添加濃度1.0 mg, 5.0 mg および10.0 mg に対して, 各々244±46, 188±22および125±20のコロニー数を示した. これも変異原の阻害率にして, 38%, 52%および68%に相当し, 廃糖蜜の添加量の増加に従って阻害率も増加することが明らかとなった. 焙煎した廃糖蜜と無処理の廃糖蜜では, 添加量10 mg では焙煎処理したほうが強い阻害率を示した.

我々が毎日摂取している食品には様々な発癌物質や変異原成分が含まれている¹⁶⁾. これらの変異原はヒトの癌の発生や形成に関係している因子と考えられている¹⁷⁾. 癌はイニシエーション, プロモーションさらにプログレッションの各過程を経て起こり, イニシエーションは, 変異原や発癌物質による癌遺伝子や癌抑制遺伝子に変異が起こる最初の過程である. このイニシエーションの過程に起こる遺伝子の変異を抑制できれば, 癌の発生を抑えることが可能となる¹⁸⁾. 一方, 食品中には発癌物質や変異原成分の作用を抑制する成分も含まれている¹⁹⁾. 廃糖蜜および焙煎廃糖蜜が抗変異原性を示したことは, 発癌の最初の過程であるイニシエーションを抑制する可能性のあることを示唆している. 通常, 抗変異原性試験では Trp-P-1 等の試薬が変異原として用いられるが, Trp-P-1 はトリプトファンの熱分解生成物であり, 焼いた牛肉から単離され, ラットでの発癌性が立証されている²⁰⁾. そこで今回実際調理したものを想定し, DEGB を変異原として用いた.

3. 廃糖蜜の焙煎による褐色色素の形成

焙煎と褐色度の研究は, コーヒーで良く検討されている. コーヒーは焙煎の程度により, 3種類の褐色色素成分 (黒褐色, 赤褐色および黄

褐色)の消長が確認されている²¹⁾。そこで、廃糖蜜についても各焙煎温度における褐色度の変化について検討した(図2上段)。褐色度は、180℃までは、褐色度が高くなり、200℃では急激に減少した。試験管内では、沈殿のセライトが焙煎未処理(25℃)から焙煎温度100℃-160℃までの試験管の底には、セライトが白色の沈殿として観察されるが、焙煎温度180℃-200℃では沈殿が黒色に着色していた(図2下段)。

廃糖蜜の着色に関する糖蜜色素の主要な構成着色物質は、糖とアミノ酸のアミノカルボニル反応により生成するメラノイジン、熱処理された糖が脱水縮合することにより生成するカラメル、ポリフェノール類の酵素のおよび非酵素的褐変反応による生成するポリフェノール酸化物質の3種が知られている^{22,23)}。

4. 廃糖蜜ポリフェノール含量に及ぼす焙煎温度の影響

黒糖は少なくとも17種類のポリフェノール類とショ糖を含有している¹⁾。ショ糖とカフェ酸

またはクロロゲン酸と加熱すると、着色した抗変異原成分が生成されることが報告されている²⁴⁾。図3に廃糖蜜のポリフェノール含量と焙煎温度の関係について示した。コントロールに比較して、100℃および120℃では、徐々にポリフェノール含量が高くなり、140℃では約2倍弱に上昇した。160℃、20分間の焙煎では、ポリフェノール含量はコントロールの3倍程度となり、180℃では140℃のポリフェノール含量と同程度に減少した。さらに、200℃ではさらにポリフェノール含量は減少し、コントロールの半分程度であった。廃糖蜜の焙煎によるポリフェノール含量の変化とDPPHラジカル消去活性の増加・減少は傾向が良く似ている。そこでポリフェノール含量とDPPHラジカル消去活性の相関関係を図4に示した。

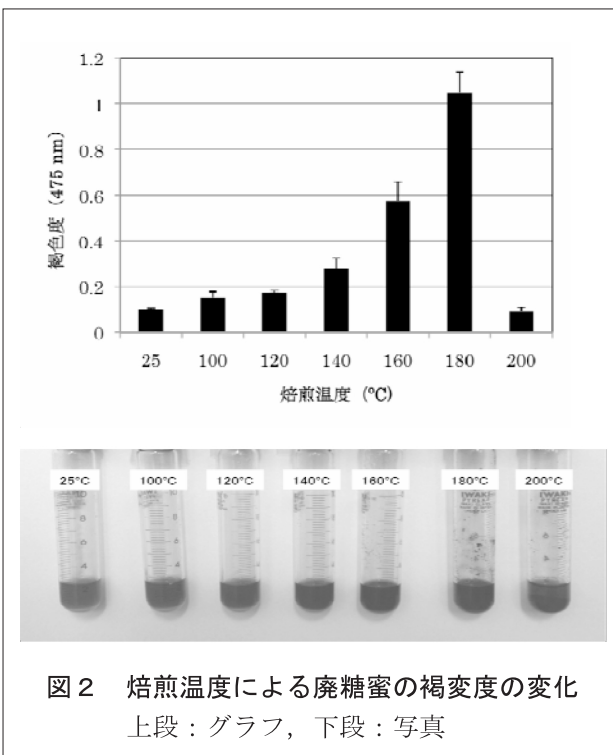


図2 焙煎温度による廃糖蜜の褐変度の変化
上段：グラフ，下段：写真

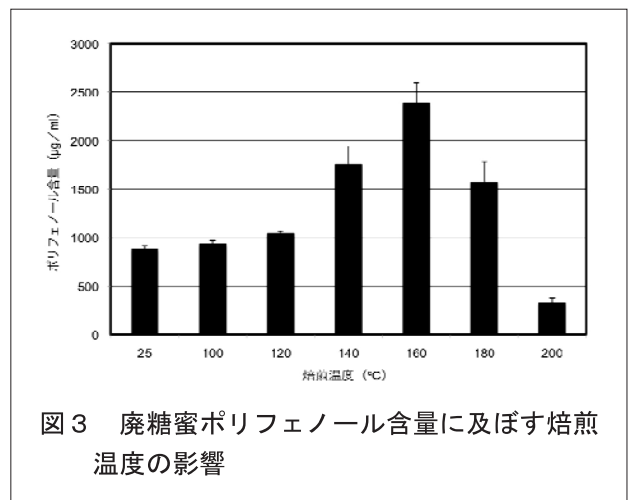


図3 廃糖蜜ポリフェノール含量に及ぼす焙煎温度の影響

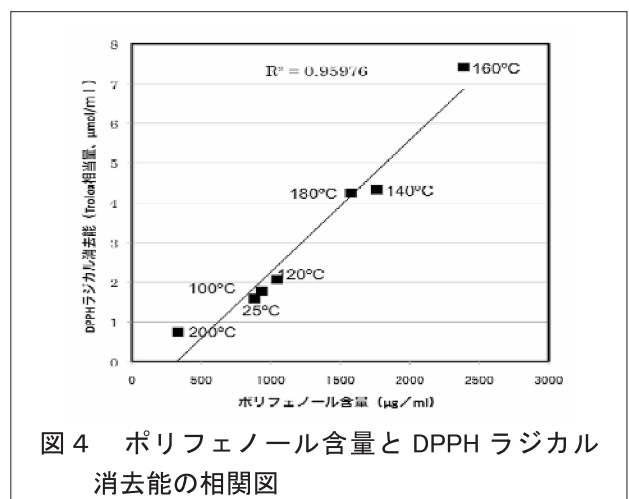


図4 ポリフェノール含量とDPPHラジカル消去能の相関図

ポリフェノール含量と DPPH ラジカル消去活性は、ほぼ直線的な関係 ($R^2=0.95976$) を示した。これらの結果は、焙煎廃糖蜜の DPPH ラジカル消去能の増加は、ポリフェノール成分の変化によることを示唆している。

5. 褐変度とポリフェノール含量

ポリフェノール含量とラジカル消去能の間には直線的な関係が得られたので (図4), 次にポリフェノール含量と褐変度の関係について検討した。図5にこれらの相関図を示した。焙煎未処理と全ての焙煎温度でのポリフェノール含量と褐変度のデータをプロットすると、相関係数が $R^2=0.36996$ であった。一方、焙煎処理した後抽出時の沈殿したセライトが黒変を起こす温度、 180°C および 200°C を削除してプロットし直すと $R^2=0.93793$ と良好な直線関係が得られた。以上の結果から、 180°C 以上の温度で20分間焙煎すると、ラジカル消去成分が消失することが明らかとなった。

焙煎による成分の変化は、コーヒーで良く研究されている^{11,21,25}。コーヒー豆を焙煎すると、

クロロゲン酸の減少や褐色度の増加に先だって、ショ糖含量が速やかに減少することが報告されている²⁵。さらに、クロロゲン酸と糖との熱反応による褐色色素の形成は、ポリフェノール類の非酵素的褐変反応の新しい型であることも中林ら¹¹)により報告されている。このような褐変反応はコーヒーに限らず、チョコレートや煎じ茶等糖とポリフェノールを含む多くの焙煎食品にも起こると予想される。廃糖蜜は、サトウキビ搾汁液を煮詰めた後ショ糖を取り出した残渣であり、残渣にはショ糖が含有されている。しかも、クロロゲン酸ではないが、多種類のポリフェノール類が含まれていることも明らかにされている¹⁾。我々の結果からも、焙煎温度の上昇により褐色度の増加とともにポリフェノール成分が増加することが明らかとなった (図3, 5)。このことは、廃糖蜜中のショ糖とポリフェノール類の反応により、ポリフェノール酸化着色物質が生成されたことを示唆している。

本研究において、廃糖蜜を焙煎することにより DPPH ラジカル消去能および抗変異原性が増進されることを明らかにした。アルツハイマー

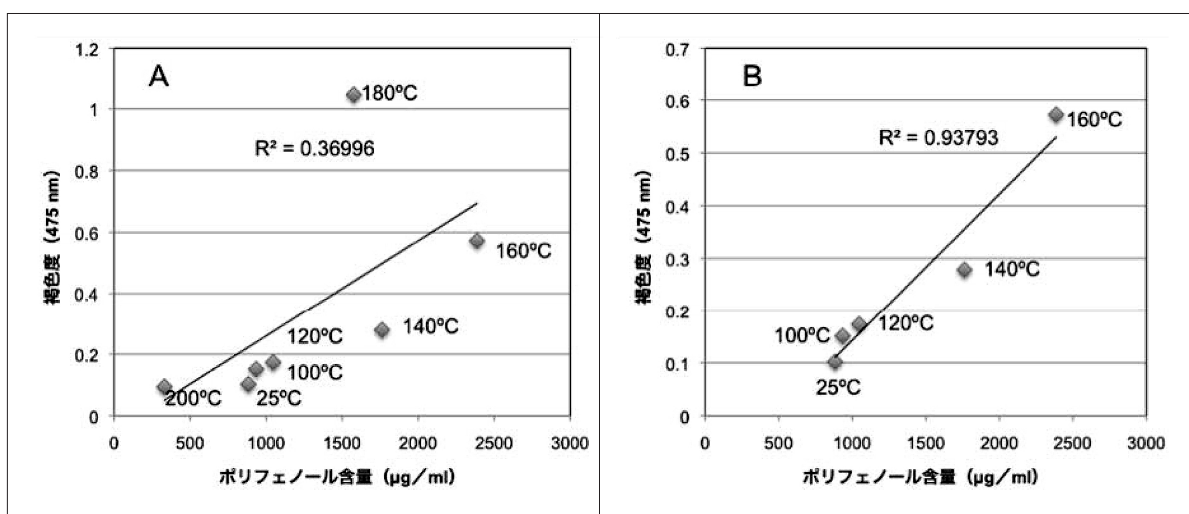


図5 ポリフェノール含量と褐変度の相関図

A : 焙煎未処理 (25°C), 焙煎温度100°C, 120°C, 140°C, 160°C, 180°C, 200°C

B : 焙煎未処理 (25°C), 焙煎温度100°C, 120°C, 140°C, 160°C

および生活習慣病等多くの疾患が酸素ラジカルによる生体成分の酸化が関与していることが示唆されている¹⁰⁾。抗酸化能を強化した各種加工食品も多数開発されている。しかし、廃糖蜜に関しては現在そのような製品は開発されていない。今後は焙煎廃糖蜜を原料とした製品の開発を目指すべく、その他の健康機能性および動物実験でのデータ作成を集積していきたい。

要 約

サトウキビ廃糖蜜の有効利用を目的として、焙煎による DPPH ラジカル消去能、抗変異原性、ポリフェノール含量および褐変度に対する焙煎温度(100°C, 120°C, 140°C, 160°C, 180°C, 200°C)の影響について検討した。焙煎時間は20分間とした。焙煎無処理のものに比較して、焙煎温度の上昇によりラジカル消去能、ポリフェノール含量、褐変度ともに上昇し、180°C以上の温度では、逆に減少した。この焙煎条件で最も高いラジカル消去能およびポリフェノール含量を示したのは、160°C、20分間の焙煎処理であった。焙煎廃糖蜜(10mg 添加)は牛焼き肉の DMSO 抽出液を変異原とするサルモネラ菌(TA98)の復帰突然変異を抑制した。焙煎温度におけるポリフェノール含量および褐変度は、100°Cから160°Cの間で高い相関関係を示したことから、高いラジカル消去活性を有する褐変成分は、ポリフェノールの酸化化合物であることが推察された。

今回の研究結果から、焙煎廃糖蜜が高い抗酸化機能をもつ食品素材として利用可能な事が明らかとなった。今後は、活性成分の同定および他の機能性について検討するとともに、焙煎廃糖蜜を利用した加工食品の開発を目指す。

文 献

- 1) Nakasone, Y., Takara, K., Wada, K., Tanaka, J., and Yogi, S. Antioxidative compounds isolated from Kokuto, non-centrifugal cane sugar. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1714-1716 (1996).
- 2) Matuura, Y., Kimura, Y., and Okuda, H. Effect of aromatic glucosides isolated from black sugar on intestinal absorption of glucose. *和漢医薬学会誌*, **7**, 168-172 (1990).
- 3) Kimura, Y., Okuda, H., and Arichi, S. Effects of non-sugar fraction in black sugar on lipid and carbohydrate metabolism ; part I. *Planta Medica.*, **92**, 465-468 (1984).
- 4) Kimura, Y., Okuda, H., and Arichi, S. Effects of non-sugar fraction in black sugar on lipid and carbohydrate metabolism ; part I. *Planta Medica.*, **92**, 465-468 (1984).
- 5) Kimura, Y., Okuda, H., and Arichi, S. Effects of non-sugar fraction in black sugar on lipid and carbohydrate metabolism ; part II. New compounds inhibiting elevation of plasma insulin. *Planta Medica.*, **92**, 469-473 (1984).
- 6) Takara, K., Ushijima, K., Wada, K., Iwasaki, H., and Yamashita, M. Phenolic compounds from sugarcane molasses possessing antibacterial activity against cariogenic bacteria. *J. Oleo Sci.*, **56**, 611-614 (2007).
- 7) Takara, K., Otsuka, K., Wada, K., Iwasaki, H., and Yamashita, M. 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory effects of constituents from sugarcane molasses. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 183-191 (2007).
- 8) Halliwell, B. The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to vascular system. *Haemostasis* **23** (Suppl. 1), 118-126 (1992).
- 9) Rogers, J., Kirby, L.C., Hempelman, S.R., Berry, D.L., McGeer, P.L., Kaszniak, A.W., Zalinski, J., Cofield, M., Mansukhani, L. and Willson, P. Clinical trial of indomethacin in Alzheimer's disease. *Neurology* **43**, 1609-1611 (1993).

- 10) Huang, M.T. and Ferraro, T., Phenolic compounds in food and cancer prevention. In “Phenolic compounds in food and their effects on health II: Antioxidants and cancer prevention”, eds. Huang, M.T., Ho, C.T., and Lee, C.Y., ACS Symposium. Series 507. Amer. Chem. Soc., Washington, D.C., pp.8-34 (1992).
- 11) 中林敏郎, 渡辺千賀子. コーヒーの品質に関する化学的研究 (第4報) 焙煎によるクロロゲン酸より褐色色素の形成, 日食工誌, **24**, 124-129 (1977).
- 12) 須田郁夫, 緒方裕子, 水城尚美, 高畑康浩, 西場洋一, DPPH 分光法による有色農産物・食品のラジカル消去能の測定. 九州農業研究, **61**, 32 (1999).
- 13) Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T., and Odaka, M., Mutagenicities of N-nitrosoamines on *Salmonella*. *Mutat. Res.*, **48**, 121-129 (1977).
- 14) Islam, M.S., Yoshimoto, M., Yahara, S., Okuno, S., Ishiguro, K., and Yamakawa, O., Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) genotypes. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 3718-3722 (2002).
- 15) 稲福直, 藤野哲也, 与那覇恵, 有銘興博, 抗酸化作用が増強された廃糖蜜, 出願特許, 2004-286254 (2004).
- 16) Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E., Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella* / mammalian microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* **31**, 347-364 (1975).
- 17) McCann, J., Choi, D., Yamasaki, E. and Ames, B.N., Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella* / microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**, 5135-5139 (1975).
- 18) Berenblum, I., The mechanism of carcinogenesis. A study of the significance of co-carcinogenic action and related phenomena. *Cancer Res.* **1**, 807-814 (1941).
- 19) Shinohara, K., Kurogi, M., Miwa, M., Kong, Z., and Hosoda, H., Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.*, **52**, 1369-1375 (1988).
- 20) Yamazumi, Z., Shimoi, T., Kasai, H., Nishimura, S., Takahashi, Y., Nagao, M., and Sugimura, T., Detection of potent mutagenic, Trp-P-1 and Trp-P-2, in broiled fish. *Cancer Lett.*, **9**, 75-83 (1980).
- 21) 中林敏郎. コーヒーの品質に関する化学的研究 (第1報) 焙煎による褐色色素の生成と変化, 日食工誌, **22**, 507-512 (1975).
- 22) 早瀬文孝. メライノイジンの化学, 日本農芸化学会誌, **61**, 970-973 (1987).
- 23) 木村 進, 中村敏郎, 加藤博通, 光琳テクのブックス**18**, 食品の変色の化学 (光琳, 東京), p.328 (1995).
- 24) Yamaguchi, T. and Iki, M., Inhibitory effect of coffee extract against some mutagens. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2983-2988 (1986).
- 25) 中林敏郎. 焙煎によるコーヒー豆の蔗糖含量の変化, 日食工誌, **24**, 479-483 (1975).

(2011年12月6日 受理)