

原著論文

クズ葉における機能性成分の季節変動

團迫智子*・中野智彦・間島いつか*・野本享資*

Seasonal Change of Bioactive Compound in Kudzu Leaves

Tomoko DANSAKO*, Tomohiko NAKANO, Itsuka MASHIMA*, and Kyousuke NOMOTO*

Summary

Kudzu, *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi, is a specialty of the Yoshino area in Nara prefecture. Cultivation trials aimed to produce it consistently are underway in experimental fields in hillside branch, the Nara Prefectural Agricultural Experiment Station. Through exploration of bioactive compounds in kudzu leaves, we found that antioxidants, α -tocopherol, β -carotene, and lutein, were highly accumulated in them. These antioxidants in kudzu leaves were accumulated to the highest concentration in October. Kudzu leaves contained more α -tocopherol and β -carotene than common green and yellow vegetables and green juice materials such as *Brassica oleracea* var. *acephala* and *Angelica keiskei*. Furthermore, lutein was contained in greater amounts than in lutein-rich vegetables such as *Perilla frutescens* and *Corchorus olitorius*. Because of the richness of these compounds and the tremendous growth in the aerial part of kudzu, its use as an industrial health food material is expected to be highly productive.

Key Words: *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi, kudzu, α -tocopherol, β -carotene, lutein, functional foods

緒言

クズ (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi) はマメ科の多年生植物で、東アジアから東南アジアにかけて広く分布している。クズの根から抽出された葛粉でんぷんは日本では料理や高級和菓子の材料としても用いられているほか、生薬葛根として主に東アジア諸国で広く利用されており、その成分についても広く研究が行われている^{2, 13)}。近年、クズの蔓のエタノール抽出液を用いたマウスの実験で骨粗鬆症予防効果があることが示され、蔓においても研究が進み始めた^{11, 16, 17)}。一方、クズ葉についての研究は非常に少ない^{9, 19, 20)}。

クズの利用価値の高さにも関わらず、現状では葛粉デンプンや葛根の生産は自生個体からの採集に依存しており、農業人口の減少による生産力の低下が危惧されている。そこで著者らは、クズの工業原材料利用を目的としたクズの栽培方法を開発し¹²⁾、支柱を立てた棚作り栽培と支柱を立てない平面栽培の2方式の栽培に取り組んでいる。

日中、植物の葉は絶えず紫外線にさらされることから、フラボノイドやカロテノイドなど抗酸化活性を持つ多くの物質を生産している^{18, 21)}。近年、抗酸化活性を含む食品の機能性が注目されている^{4-6, 23)}。マメ科植物には高い抗酸化活性を持つイソフラボノイ

ドが多く含まれていることが報告されており⁷⁾、クズの根や蔓にはペエラリンというイソフラボノイドが多く含まれている。一方、クズ葉の抗酸化活性についてはクズ葉の粉末を調理に利用した報告やフラボノイドに関する報告^{9, 19, 20)}はあるものの、その他の物質や季節変動に関する報告はない。本研究では、クズ葉を工業原材料として有効利用するため、高付加価値を可能にする機能性成分を探索した。クズ葉における低極性の抗酸化活性物質に着目し、 α -トコフェロール、 β -カロテンおよびルテインが高濃度に含まれること、それらは季節変動を示し、秋にかけてもっとも蓄積量が大きくなることを明らかにしたので報告する。

材料および方法

実験 1. クズ葉における抗酸化活性とその季節変動

1. 供試材料

クズ葉は奈良県高原農業振興センター内の栽培圃場において棚作り栽培されたクズから、2007年8月23日、9月20日および10月18日に、約50枚ずつ採集された。採集したクズ葉は水洗後に葉柄を取り除き、小葉の葉身のみを -80°C のディープフリーザーで保管した。

2. クズ葉のエタノール抽出

* 財団法人奈良県中小企業支援センター

本研究は JST・奈良県地域結集型研究開発プログラム「古都奈良の新世紀植物機能活用技術の開発」の一環として実施した。

冷凍保存したクズ葉をビーズ式破碎装置（シェイクマスター、バイオメディカルサイエンス社）で1分間破碎した。破碎には予め液体窒素で冷却しておいた破碎容器と破碎用ビーズを用いた。破碎したクズ葉100gに500mlのエタノールを加え、160rpm、25℃の条件で、20時間振盪し、抽出を行った。20時間後、吸引ろ過により得られたろ液をエタノール抽出液とした。

3. DPPH ラジカル消去活性によるクズ葉抗酸化活性の定性試験

DPPHの0.5mMエタノール溶液をDPPH反応液とした。クズ葉エタノール抽出液0.1mlを10倍希釈した後、0.4mlのDPPH反応液を加えて、転倒混和し、比色によって試料のDPPHラジカル消去活性を調べた。

実験2. クズ葉に含まれる抗酸化活性物質の探索

1. 供試材料

実験1において2007年10月18日に採集したクズ葉を供試材料とした。

2. クズ葉エタノール抽出物の分画

実験1において得られたクズ葉のエタノール抽出物3gを80mlのヘキサンに懸濁し、遠心分離後、ヘキサン画分と残渣に分けた。残渣に80mlのヘキサンを加え、同様の操作を5回繰り返した。得られたヘキサン画分をすべてあわせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、重量を測定した。残渣を50mlの水に懸濁して、等量の酢酸エチルを加え、液-液抽出を行った。同様の操作を3回繰り返した。得られた酢酸エチル画分をすべてあわせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、重量を測定した。残った水画分は凍結乾燥し、重量を測定した。

3. DPPHによるクズ葉抗酸化活性の定量試験

得られたヘキサン画分、酢酸エチル画分および水画分をそれぞれエタノールに溶解し、希釈して各濃度サンプルを得た。各濃度に調製した画分1mlに0.4mlのDPPH反応液を加え、転倒混和後、分光光度計(V-630、日本分光社)で515nmの吸光度を測定した。比較対照として同濃度のBHTエタノール溶液を調製し、同様に吸光度を測定した。得られた数値をもとに EC_{50} 計算ワークブック(ec0mv3, <http://www.vector.co.jp/soft/win95/edu/se248471.html>)を用いてプロビット法により50%効果濃度(EC_{50})を算出した。

実験3. クズ葉に含まれる低極性抗酸化活性物質の同

定

1. クズ葉抗酸化活性成分の精製

クズ葉の破碎とエタノール抽出は実験1と同様に行った。エタノール抽出物6gを160mlのヘキサンに懸濁し、遠心分離後、ヘキサン画分と残渣に分けた。残渣に160mlのヘキサンを加え、同様の操作を5回繰り返した。得られたヘキサン画分をすべてあわせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去し、重量を測定した。得られたヘキサン画分2.0gを少量のヘキサンに溶解し、シリカゲルカラム($\phi 20 \times 170$ mm)に負荷して、各150mlのヘキサン、酢酸エチル、アセトンおよびメタノールの順で溶出した。得られた画分をシリカゲルTLCで展開し、DPPHラジカル消去活性が検出される画分について、さらに精製した。酢酸エチル画分をエバポレーターで減圧乾固した後、500mgをシリカゲルカラム($\phi 10 \times 220$ mm)に負荷した。ヘキサン、ヘキサン-酢酸エチル(3:1)、ヘキサン-酢酸エチル(1:1)、酢酸エチルおよびメタノールの順で溶出した。ヘキサン-酢酸エチル(3:1)画分300mgをSephadex LH-20カラム($\phi 10 \times 220$ mm)に負荷してクロロホルム-メタノール(1:1)およびクロロホルムで溶出し、6つの画分を得た。94mgのFr.4をシリカゲルカラム($\phi 10 \times 200$ mm)に負荷してヘキサン-クロロホルム(2:1)およびクロロホルムで溶出し、5つの画分を得た(第1図)。

2. 薄層クロマトグラフィー(TLC)

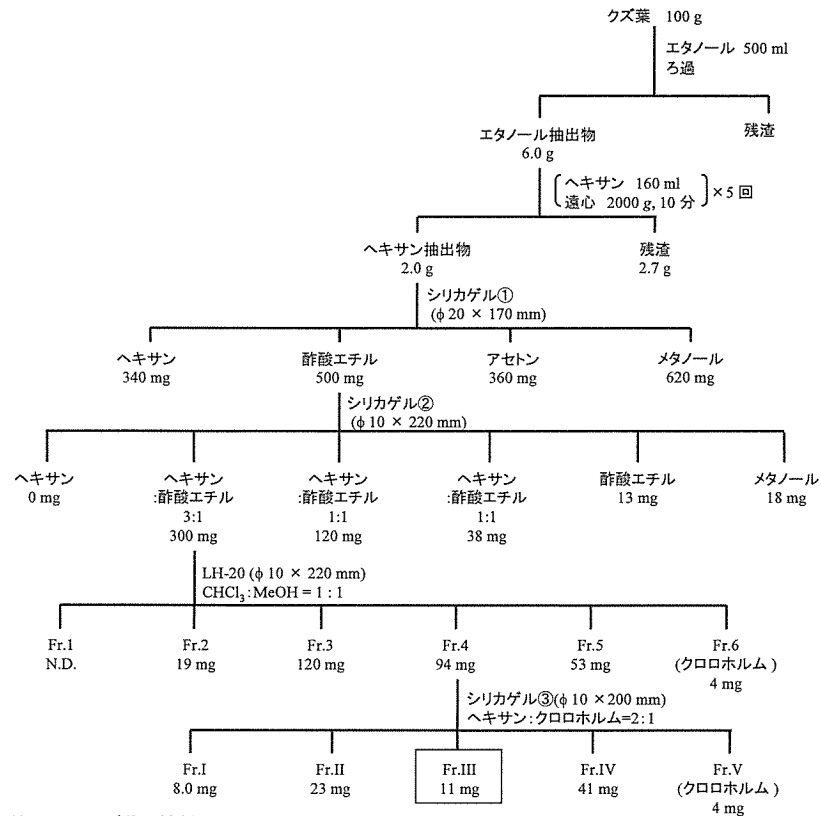
得られた画分をシリカゲルTLCにスポットし、クロロホルムを溶媒に用いて展開した。約15cm展開させた後風乾し、DPPHを噴霧して抗酸化活性成分を含む画分を追跡した。

3. 分取液体クロマトグラフィー(HPLC)による精製

上記1で得られたFr. IIIのうちメインピークと見られる物質をHPLC(分取ポンプ: PU-2086, 紫外可視検出器: UV-2075, とともに日本分光社)によって精製した。カラムはInertsil ODS-3($\phi 20 \times 250$ mm), 展開溶媒にメタノールを用い、アイソクラティック条件下流速10ml/minで展開した。UV 205nmを検出波長とし、 $t_R=29.2$ minのピークを分取、減圧濃縮し、化合物1を得た。

4. GC/TOF-MS分析条件

上記3で得られた化合物1について、ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/TOF-MS)を用いて分析を行ったGC/TOF-MS装置における、GC部は6890(Agilent社), MSD部はPegasus IV(LECO社), カラムはCP-SIL 8 CB low bleed($\phi 0.25$ mm \times 30m \times 膜厚0.25 μ m,



第1図 クズ葉の精製フローチャート

Fig. 1. Flow chart showing procedures for α -tocopherol extraction from kudzu leaves

Varian社)をそれぞれ用いた。分析条件は、カラム温度を 80°C (2 min) - 15°C/min - 330°C (6 min), 注入口温度を 230°C, キャリアーガスを He (1 ml/min), 注入方式をスプリット (1/25, v/v), 注入量を 1 μ l, トランスファーライン温度を 250°C, イオン源温度を 200°C, スキャンスピードを 50 msec, スキャンレンジを 85-650 m/z と設定し, イオン化法は EI 法とした。

実験 4. クズ葉に含まれる低極性抗酸化活性物質の定量と季節変動

1. 供試材料

クズ葉は実験 1 に用いたものと, 平面栽培されたクズから 2008 年 5 月 28 日, 6 月 26 日, 7 月 30 日, 8 月 27 日および 9 月 24 日に採集したものを供試材料とした。また, 棚作り栽培されたクズからは, 前述の日程に加え, 2008 年 10 月 22 日にクズ葉を採集して供試材料とした。

2. クズ葉のエタノール抽出

-80°C で冷凍クズ葉を 2 ml 容マイクロチューブに 200 mg 秤量し, 5 倍量のエタノールを加え, ジルコニアビーズを 1 粒入れて, ミキサーミル (MM310, Retsch 社) で 5 分間, 20 Hz の条件で抽出した。抽

出液は, 15000 rpm, 4°C, 10 分間遠心分離後, 上清をツベルクリン用シリンジで吸い上げ, フィルター (Millex, Millipore 社) を用いてろ過し, HPLC 分析用サンプルとした。抽出は 1 サンプルあたり 4 反復行った。

3. HPLC による抗酸化活性成分の定量

β -カロテン, ルテインおよび α -トコフェロールについて, 標準品を用いて以下の分析条件で検量線を作成した。HPLC 装置は Waters 社製 Alliance HPLC システム e2695 セパレーションモジュール, 2996 フォトダイオードアレイ検出器を用いた。カラムは Inertsil ODS-3 (ϕ 4.6 \times 250 mm)を用い, 調製したクズ葉エタノール抽出液を 10 μ l 注入し, ピーク面積から各成分の含有量を算出し, クズ葉に含まれるそれぞれの物質について定量した。

1) α -トコフェロール分析条件

展開溶媒に 100%メタノールを用い, アイソクラティック条件下流速 1.0 ml/min で分析した。カラム温度は 40°C とし, UV205 nm を検出波長とした。

2) ルテイン分析条件

展開溶媒にメタノール-水 (98 : 2) を用い, アイソクラティック条件下流速 0.50 ml/min で分析した。カラム温度は 40°C とし, UV455 nm を検出波長と

した。

3) β-カロテン分析条件

展開溶媒にメタノール-テトラヒドロフラン (80 : 20) を用い、アイソクラティック条件下流速 1.0 ml/min で分析した カラム温度は 30°C とし、UV450 nm を検出波長とした。

結果および考察

実験 1. クズ葉における抗酸化活性とその季節変動

クズ葉を抗酸化活性のある機能性食品原材料として使用することが可能であるかを、DPPH ラジカル消去活性試験を用いて調べた。奈良県高原農業振興センター内の実験圃場において、2007 年 8、9 および 10 月に採集したクズ葉のエタノール抽出物に DPPH 反応液を添加したところ、夏から秋にかけて抗酸化活性が上昇することが示された (第 1 表)。10 月に採集したクズ葉エタノール抽出物においては DPPH 反応液添加直後に DPPH 反応液の色がほぼ完全に脱色されたことから、10 月のクズ葉には強い抗酸化活性物質が蓄積している可能性が示唆された。

第 1 表 2007 年クズ葉月別サンプルの抗酸化活性
Table 1. Seasonal change in antioxidant activity of monthly samples of kudzu leaf in 2007

| 採集月 | DPPHラジカル消去活性 ¹⁾ |
|------|----------------------------|
| 8 月 | ± |
| 9 月 | + |
| 10 月 | ++ |

¹⁾ ±: 弱い, +: 強い, ++: 非常に強い

実験 2. クズ葉に含まれる抗酸化活性物質の探索

10 月に採集したクズ葉エタノール抽出物中の抗酸化活性物質の探索を行った。分画によって得られたヘキサン、酢酸エチルおよび水の 3 つの画分について DPPH ラジカル消去活性を調べた。マメ科植物における抗酸化活性成分であるイソフラボノイド配糖体や葉に多く含まれるフラボノイド配糖体の多くは、水画分や酢酸エチル画分に存在すると考えられるが、ヘキサン画分が最も DPPH ラジカル消去活性が高かった。各画分の収量から計算した結果、クズ葉エタノール抽出物が示した抗酸化活性の 86% はヘキサン画分に存在すると考えられ (第 2 表)、クズ葉が示す抗酸化活性は低極性の化合物が主要物質であることが示唆された。

第 2 表 クズ葉抽出画分における抗酸化活性の比較

Table 2. Contribution of fractions to the total antioxidant activity in kudzu leaves

| 画分 | エタノール抽出物中の存在比 (%) | EC ₅₀ (mg) | 抗酸化活性に占める比率 (%) |
|-------|-------------------|-----------------------|-----------------|
| ヘキサン | 57 | 4.0 | 86 |
| 水 | 39 | 32 | 7.3 |
| 酢酸エチル | 4.6 | 4.0 | 6.9 |

実験 3. クズ葉に含まれる低極性抗酸化活性物質の同定

もっとも高い抗酸化活性を示したヘキサン画分を、シリカゲルオープンカラムクロマトグラフィによって分画した。得られた画分をシリカゲル TLC にスポットしてクロロホルムで展開して、風乾後、DPPH を噴霧し、活性を追跡した (第 1 図)。分取 HPLC で精製した画分を GC/TOF-MS を用いて分析した。GC/TOF-MS 分析によって得られたマススペクトル情報および標準品との同時注入による HPLC 分析の結果から、Fr. III のメインピークであった化合物 1 は α-トコフェロールであると同定された。また、TLC で展開した際のスポットの色や HPLC 分析によって得られた UV スペクトルと、標準品との同時注入による HPLC 分析の結果から、α-トコフェロールのほかに強い抗酸化活性を示した物質は、カロテノイドの一種である β-カロテンとルテインであると同定された。

α-トコフェロールはビタミン E と総称されるものの 1 種で、メチル基の位置によって α, β, γ, δ の 4 種が存在し、体内でもっとも活性が高いのが α-トコフェロールである^{3, 15)}。また、β-カロテンはカロテノイドの一種でプロビタミン A とも呼ばれ、動物の体内でビタミン A に変換される。ビタミン A の過剰摂取は胎児の奇形などを引き起こすが、β-カロテンは体内に必要量のビタミン A が存在する場合、ビタミン A に変換されないため、過剰摂取の心配がなく、安全であるといわれている²²⁾。ルテインは、従来目の健康によいとされており、近年、1 日 10 mg のルテイン摂取による加齢性黄斑変性患者の視覚機能改善効果について報告された¹⁴⁾。以上のことから、クズ葉は青汁などの健康食品原材料として有望であると考えられる。

また植物が持つクロロフィルにも抗酸化活性がある。クロロフィルも低極性の物質でヘキサン画分に存在することから、ヘキサン画分が示した高い抗酸化活性は上記 3 つの化合物に加え、クロロフィルも寄与しているものと考えられる。

実験 4. クズ葉に含まれる低極性抗酸化活性物質の定量と季節変動

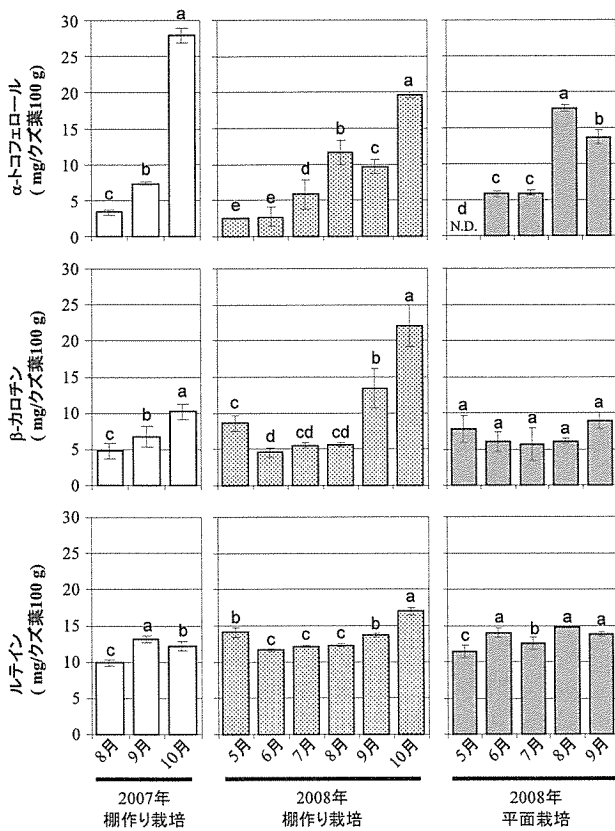
実験 1 において、クズ葉の抗酸化活性は夏から秋にかけて上昇していることが示されたため、2007 年 8～10 月と 2008 年 5～10 月の棚作り栽培、2008 年 5～9 月の平面栽培について、クズ葉に含まれる低極性の抗酸化活性成分の年次変動、季節変動および栽培条件による変動を定量的に調べた (第 2 図)。その結果、定量的にもクズの抗酸化活性成分の蓄積量は夏から秋にかけて増加する傾向があった。棚作り栽培におけるこの抗酸化活性成分の季節変動は異なる年次においても同じように観察された。特に 2008 年 10 月サンプルにおいて β -カロテンおよび α -トコフェロールの蓄積量が大きく増加しており、Tukey の多重検定の結果、これらの蓄積量が他の月と比較して、有意に高いことが示された (第 2 図)。また、 β -カロテンおよび α -トコフェロールほど大きな増加はなかったものの、ルテインにおいても有意差が認められた。一方、平面栽培では 10 月に入ると黄化し始める葉が多かったため、10 月分のサンプリングは行わなかつ

た。採集時期が早い試料には葉齢の若い葉の比率が多く、時期が遅くなるにしたがって老熟葉の比率が多くなる。本研究で示されたクズ葉における低極性抗酸化活性成分の季節変動には、葉齢などの生育段階、気温や日照量などの環境要因が関係するものと考えられる。今回の結果から、機能性成分の利用を目的とする場合のクズ葉の収穫は、成分の蓄積量が増加する 10 月以降に行うことが望ましいと考えられる。

奈良県ではクズの地上部は 4 月から 5 月にかけて新芽が出始め、11 月以降に枯れる。平面栽培では黄化の開始時期が早かったため、抗酸化活性成分が高蓄積に至る前に枯死した。棚作り栽培クズは 2004 年 11 月から、平面栽培クズは 2006 年 4 月から栽培されており、平面栽培は棚作り栽培より栽培期間が 1 年半程度短い。棚作り栽培と平面栽培における黄化の開始時期の違いは栽培期間および栽培方式の違いが複合的に影響しているものと考えられる。

葉は冬季に枯死し、4 月に出芽して更新されるが、シンク器官である根は更新されず年々生長している。棚作り栽培と平面栽培の根を 3 個体ずつ採集して重量を測定したところ、棚作り栽培したクズの根の方が平均乾物重量で 1 kg 程度重く、棚作り栽培でのみ主根部の肥大化が認められた (第 3 表)。供試株齢が 1 年半ほど異なるため、平面栽培クズにおける黄化の開始時期や根の肥大化については、今後も継続した調査が必要だが、抗酸化活性成分が高蓄積した葉に加え、肥大化した根を得られることから棚作り栽培は有効な栽培方式であると考えられる。

クズ葉における α -トコフェロール、 β -カロテンおよびルテインの含有量を、青汁素材としてよく使用されているケールやアシタバなどと比較した (第 4 表)。さらに、 α -トコフェロールと β -カロテンについては、五訂増補日本食品標準成分表⁸⁾に記載されているそれぞれの含有量が高いとされている野菜と比較した。ルテインについては Aizawa¹⁾、Mangels¹⁰⁾によ



第 2 図 クズ葉における定極性抗酸化物質の季節変動
Fig. 2 Seasonal changes in the contents of α -tocopherol, β -carotene, and lutein in kudzu leaves

図中の縦棒は標準偏差 (n=4)。N.D. は非検出。Tukey の多重検定により同一記号間には 5%水準での有意差なし。

第 3 表 栽培方式がクズ根に及ぼす影響

Table 3. Influence of cultivation method on kudzu root growth

| 栽培方式 | 凍結乾燥後の重量 (kg) | 主根部の肥大化 | |
|------|---------------|---------|---|
| 棚作り | No.1 | 2.00 | 有 |
| | No.2 | 1.60 | 有 |
| | No.3 | 0.95 | 有 |
| 平面 | No.1 | 0.83 | 無 |
| | No.2 | 0.48 | 無 |
| | No.3 | 0.35 | 無 |

第4表 クズ葉抗酸化活性成分と他の食品との比較¹⁾Table 4. α -tocopherol, β -carotene and lutein contents in kudzu leaves and other vegetables

| 品名 | α -トコフェロール (mg/100 g 新鮮重) | β -カロテン (mg/100 g 新鮮重) | ルテイン (mg/100 g 新鮮重) |
|-------------------|-------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| クズ葉 ²⁾ | 19.6 \pm 0.5 | 22.1 \pm 2.9 | 17.0 \pm 0.5 |
| ケール | 2.4 | 2.9 | 21.9 ³⁾ |
| 明日葉 | 2.6 | 5.3 | 4.25 \pm 0.20 ⁴⁾ |
| とうがらし | 8.9 | 6.6 | - ⁵⁾ |
| 落花生 | 7.2 | 0.005 | - ⁵⁾ |
| モロヘイヤ | 6.5 | 10 | 13.63 \pm 1.13 ⁴⁾ |
| かぼちゃ(西洋) | 4.9 | 3.9 | 1.5 ³⁾ |
| にんじん | 0.5 | 7.7 | 0.26 ³⁾ |
| ほうれん草 | 2.1 | 4.2 | 10.2 ³⁾ |
| しそ | 3.9 | 11 | 14.25 \pm 2.11 ⁴⁾ |
| パセリ | 3.3 | 7.4 | 10.01 \pm 0.40 ⁴⁾ |

1) 表中、クズ葉とケール以外の α -トコフェロール量および β -カロテン量は文献(8)より引用。

2) 2008年10月棚作り栽培での各成分の含有量。数値は平均値 \pm 標準偏差 (n=4)。

3) 文献(10)より引用。改変

4) 文献(1)より引用

5) 未調査

って報告されている含有量の高い野菜と比較した。 α -トコフェロールと β -カロテンは青汁素材であるケールやアシタバ、その他野菜などに比べて非常に多く含まれていた。ルテインは青汁素材のケールより低いもののシソ、モロヘイヤ、パセリおよびホウレンソウよりも高い値だった。これらの結果から、クズ葉が健康食品素材としての利用価値が高いことが示された。すでにクズの根は漢方薬や食品の重要な原材料であり、蔓も骨粗鬆症予防剤として将来的な需要が見込まれる。現在、奈良県では遊休農地を利用したクズの栽培試験を実施しており、今後、クズの安定供給が可能になれば、クズ葉の健康食品素材としての利活用が期待できるだろう。

摘 要

奈良県産の吉野クズは非常に知名度が高く、奈良県高原農業振興センターでは原料の安定生産を目指した栽培に取り組んでいる。旺盛な生長力を持つクズ地上部の有効利用を目指して、クズ葉中の機能性成分を調べたところ、抗酸化活性成分である β -カロテン、ルテインおよび α -トコフェロールを非常に多く含むことが示された。2007年と2008年のクズ葉における各化合物の含有量の季節変動について調べたところ、10月に最も蓄積量が増加することが示された。また α -トコフェロールと β -カロテンの含有量は、青汁素材であるケールやアシタバ、およびそれらを多

く含むとされる緑黄色野菜などと比較して非常に多く、ルテインもシソやモロヘイヤなど高ルテイン含有とされる野菜よりも多く含まれていた。これらのことから、クズ葉が健康食品原材料として非常に有用であることが示された。

謝 辞

EC₅₀ 計算ワークブックをご提供いただいた福岡県工業技術センター生物食品研究所奥村史朗研究員、抗酸化活性成分の単離について適切な助言をくださった鷲田和人研究員 ((財)奈良県中小企業支援センター 地域結集型共同研究 コア研究室) に感謝いたします。

引用文献

1. Aizawa, K., and T. Inakuma. 2007. Quantitation of Carotenoids in Commonly Consumed Vegetables in Japan. Food Sci Tech Res. 13:247-252.
2. Arao, T., M. Udayama, J. Kinjo, and T. Nohara. 1998. Preventive effects of saponins from the *Pueraria lobata* root on in vitro immunological liver injury of rat primary hepatocyte cultures. Planta Med. 64:413-6.
3. Bunyan, J., H. D. Mc, J. Green, and S.

- Marcinkiewicz. 1961. Biological potencies of epsilon- and zeta-1-tocopherol and 5-methyltolcol. *Br J Nutr.* 15:253-7.
4. Devasagayam, T. P., J. C. Tilak, K. K. Bloor, K. S. Sane, S. S. Ghaskadbi, and R. D. Lele. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India.* 52:794-804.
 5. Ferrari, C. K. 2007. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. *Maturitas.* 58:327-39.
 6. Grajek, W., A. Olejnik, and A. Sip. 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochim Pol.* 52:665-71.
 7. Kaufman, P. B., J. A. Duke, H. Brielmann, J. Boik, and J. E. Hoyt. 1997. A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *J Altern Complement Med.* 3:7-12.
 8. 科学・学術審議会資源調査分科会報告. 2005. 五訂増補日本食品標準成分表. 国立印刷局.
 9. Lau, C. S., D. J. Carrier, R. R. Beitle, L. R. Howard, J. O. Lay, R. Liyanage, and E. C. Clausen. 2005. A glycoside flavonoid in Kudzu (*Pueraria lobata*): identification, quantification, and determination of antioxidant activity. *Appl Biochem Biotechnol.* 121-124:783-94.
 10. Mangels, A. R., J. M. Holden, G. R. Beecher, M. R. Forman, and E. Lanza. 1993. Carotenoid content of fruits and vegetables: an evaluation of analytic data. *J Am Diet Assoc.* 93:284-96.
 11. Michihara, S., S. Suzuki, H. Tang, T. Moriyama, and Y. Kawamura. 2008. Kudzu (*Pueraria lobata*) Extracts Depress Bone Absorption of Ovariectomized Mouse by Downregulating NFATc1 of Osteoclast. *J Clin Biochem Nutr.* 43:141-144.
 12. 中野智彦. 2009. クズの茎葉部利用を目的とした挿し木繁殖と栽培方法. *近中四農研報.* 14:85-88.
 13. Oh, S. R., J. Kinjo, Y. Shii, T. Ikeda, T. Nohara, K. S. Ahn, J. H. Kim, and H. K. Lee. 2000. Effects of triterpenoids from *Pueraria lobata* on immunohemolysis: beta-D-glucuronic acid plays an active role in anticomplementary activity in vitro. *Planta Med.* 66:506-10.
 14. Richer, S., J. Devenport, and J. C. Lang. 2007. LAST II: Differential temporal responses of macular pigment optical density in patients with atrophic age-related macular degeneration to dietary supplementation with xanthophylls. *Optometry.* 78:213-9.
 15. Sies, H., and M. E. Murphy. 1991. Role of tocopherols in the protection of biological systems against oxidative damage. *J Photochem Photobiol B.* 8:211-8.
 16. 清水浩美・都築正男・松澤一幸. 2007. クズ茎中のイソフラボノイド. *奈良工技セ研報.* 33:46-48.
 17. 清水浩美・松澤一幸. 2010. クズ蔓中のイソフラボノイド (第2報). *奈良工技セ研報.* 36:19-22.
 18. Stahl, W., U. Heinrich, O. Aust, H. Tronnier, and H. Sies. 2006. Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochem Photobiol Sci.* 5:238-42.
 19. 杉山薫・三村優・尾原宏美・富岡和子. 2004. 乾燥粉末系における葛根水抽出物および葛葉の抗酸化能. *日食保蔵誌.* 30:243-246.
 20. 杉山薫・富岡和子. 2008. 健康茶を添加したクッキーの抗酸化能. *日本食生活学会誌.* 19:55-59.
 21. Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biol.* 7:581-91.
 22. van Vliet, T., M. F. van Vliissingen, F. van Schaik, and H. van den Berg. 1996. beta-Carotene absorption and cleavage in rats is affected by the vitamin A concentration of the diet. *J Nutr.* 126:499-508.
 23. Wong, M. C., P. W. Emery, V. R. Preedy, and H. Wiseman. 2008. Health benefits of isoflavones in functional foods? Proteomic and metabonomic advances. *Inflammopharmacology.* 16:235-9.