

スプラウト類のビタミンC量, ラジカル捕捉活性 および豆苗子葉部の調理性

森山 三千江, 大羽 和子*

(愛知学泉大学家政学部, *名古屋女子大学家政学部)

原稿受付平成15年2月19日; 原稿受理平成15年12月22日

Vitamin C Content and DPPH Radical-Scavenging Activity of Various Sprouts and Cooked Cotyledons of Toumyo

Michie MORIYAMA and Kazuko ÔBA*

Department of Home Economics, Aichi Gakusen University, Okazaki 444-8520

** Faculty of Domestic Science, Nagoya Women's University, Nagoya 467-8610*

Sprouts of broccoli, watercress, mustard, red cabbage, radish and toumyo (pea seedlings) contained higher levels of total vitamin C (VC) and had greater 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity than green bean and alfalfa sprouts. Broccoli and red cabbage contained more total VC and ascorbic acid (AsA) in mature vegetables than in sprouts, but there was no difference in these levels in watercress and mustard between the mature vegetables and sprouts. Toumyo contained the highest level of total VC and greatest DPPH radical-scavenging activity 4-5 days after germination. The level of L-galactonolactone dehydrogenase was positively correlated with the total VC content, while that of ascorbate oxidase was a negatively correlated with the total VC content. Cotyledons of toumyo that contained a high level of DPPH radical-scavenging activity could be eaten by frying after boiling, although the cotyledons are usually wasted.

(Received February 19, 2003; Accepted in revised form December 22, 2003)

Keywords: sprouts スプラウト, toumyo 豆苗, vitamin C ビタミンC, DPPH radical-scavenging activity ラジカル捕捉活性, L-galactonolactone dehydrogenase ガラクトノラクトンデヒドロゲナーゼ, ascorbate oxidase アスコルビン酸オキシダーゼ.

1. 緒 言

近年, 日本に古くから伝わる新鮮野菜に加えて, 西欧野菜や中国野菜, 新鮮ハーブなど新しい食材が店頭に並べられている。それらの野菜は健康増進や医食同源の食材として注目されているものもある。最近食材として出回り始めたブロッコリーのスプラウトはガン抑制作用があるという研究報告が出て¹⁾²⁾, 注目を浴びている。ブロッコリーとはほぼ同時に出回り始めたクレソン, マスタード, レッドキャベツなどの新種のスプラウトが市販されている。また, 豆苗(とうみょう; エンドウ豆の発芽幼植物)は比較的新しい食材であり, 以前から市販されているかいわれ大根, 緑豆もやしおよびアルファルファもやしとともに, 年中安定して供給される野菜として重視されてきている。新しい食材としてのスプラウト類の栄養特性, 特に抗酸化性に注

目してビタミンC(VC)量および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分析した。豆苗は栽培日数が多いのでVC量に関与すると思われるVC合成酵素, 酸化酵素活性の変化についても分析した。また一般に, 豆苗は一般に子葉の上部の幼植物部位を食しているが, 廃棄されている子葉の機能性, 嗜好性を分析した結果, 有効な食材として利用可能である事が示唆されたので報告する。

2. 実験方法

(1) 実験材料

ブロッコリー, レッドキャベツ, マスタード, クレソンの4種のスプラウトおよび豆苗は栽培業者より直接冷蔵宅配便にて入手した。アルファルファ, 緑豆もやしとブロッコリー, レッドキャベツ, マスタード,

クレソンの生長野菜（8月，ブロッコリー，レッドキャベツ，マスタードは愛知産，クレソンは岐阜産）は名古屋市内の市場で購入した。いずれの材料も入手当日に分析した。4種のスプラウトおよびかいわれ大根，豆苗の実験材料として用いた部位は播種してあるスポンジ表面から1 cm上の胚軸上で切断し，その上部（幼植物部位と呼ぶ）とした。緑豆もやしおよびアルファルファもやし，生長野菜は通常の可食部全てを用いた。

(2) ビタミンCの定量方法

試料の調製および定量は森山と大羽の前報³⁾に従い，総VC量，デヒドロアスコルビン酸（DHA：酸化型VC）量をDNP比色法で定量し，総VC量からDHA量を差し引いてアスコルビン酸（AsA：還元型VC）量を求め，mg/100 g新鮮重に換算した。また，VCのうち還元型のAsAはDPPHラジカル捕捉活性を示すが，酸化型であるDHAは活性を示さないため⁴⁾野菜中のAsAがどれくらいDPPHラジカル捕捉活性に寄与するかを換算するためにAsA量を $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ でも表示した。

(3) DPPHラジカル捕捉活性の測定

試料液の調製およびDPPHラジカル捕捉活性の測定は藤江ら⁵⁾の方法に従った。標準抗酸化物質として，AsAを用いて検量線を作成した。この検量線よりラジカル捕捉活性を試料の新鮮重量100 g当たりのAsA (μmol) 当量で表した。DPPHラジカル捕捉活性のうちAsAが寄与する割合は，野菜に含まれるAsA (μmol)/ラジカル捕捉活性 (AsA μmol 当量) で算出した。

(4) L-ガラクトノラクトンデヒドロゲナーゼ (GLDH)⁶⁾⁷⁾ 活性の測定

粗酵素液の調製および酵素活性の測定方法はOba *et al.*⁷⁾の方法に従った。1分間に2 nmolのシトクロムCを還元する，すなわちAsAを1 nmol生成する酵素量を1ユニットとした。GLDHはミトコンドリア膜に存在するタンパク質であるので，ミトコンドリア (Mt.) タンパク質 mg 当たりのユニットで示した。

(5) アスコルビン酸オキシダーゼ (AAO)⁸⁾，アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX)⁹⁾¹⁰⁾ 活性の測定

粗酵素液の調製およびAAO，APX活性の測定は森と大羽³⁾およびMiyake *et al.*の方法¹¹⁾に従った。APX抽出時にAsAを添加しても活性に変化がなかったため，ここで測定した酵素活性は葉緑体型ではなく，

細胞質型のAPXであると考えられる。1分間にAsAを1 μmol 酸化する酵素量を1ユニットとした。AAO，APXは可溶性総タンパク質 mg 当たりの活性で示した。

(6) タンパク質の定量

タンパク質の定量はBradford¹²⁾の方法に従った。日本バイオラッドラボラトリー (株) 社のProtein Assay キットを使用し，標準タンパク質としては子牛血清アルブミンを用いた。

(7) 官能検査

豆苗の官能検査は豆苗の幼植物部位20 gを10倍量の水と共に沸騰してから2分間茹でたもの，2分間バターで炒めたもの，2分間茹で後2分間炒めたものをそれぞれA，B，Cとし，子葉部は幼植物と同じ条件で水から12分間茹でたもの，12分間茹で後2分間炒めたものをD，Eとして5種類を試料とした。外観，風味，味，食感の4項目について5点評点法を用いて官能検査を行った。パネラーは栄養士養成施設の学生34名で，官能検査は食後，2時間程度経たず時間で試料と試料の間には口をゆすぐことを指示した。

(8) 統計処理

VC量，酵素活性，DPPHラジカル捕捉活性は得られた結果について有意差検定 (*t* 検定) を行った。官能検査結果は，外観，風味，味，食感について二元配置分散分析法により，試料間の有意差検定を行った。

3. 結果と考察

(1) スプラウト類のVC量およびDPPHラジカル捕捉活性

新しいスプラウトは5訂食品成分表に数値が記載されていないため各々のVC量を測定した。VCは水溶性抗酸化剤として，活性酸素・ラジカル類の消去に優れた特性を持つ¹³⁾ため指標の一つとしてラジカル捕捉活性についても測定し，スプラウトと生長野菜のVC含量，ラジカル捕捉活性をTable 1に示した。新種のスプラウト4種の総VC量はブロッコリー $\geq$ レッドキャベツ $\geq$ マスタード $>$ クレソンの順に少なくなりクレソンの総VC量が他の3種の総VC量と比較して有意に ($p<0.01$) 少なかった。マスタードのスプラウトの総VC量とかいわれ大根の間に有意差は無く，マスタードと豆苗間では豆苗が有意に ($p<0.05$) 少なかったが，クレソンよりこれら2種の総VC量が有意に ($p<0.01$) 多かった。緑豆もやしやアルファルファもやしの総VC量は顕著に少なかった。光の当たる量と総

スプラウト類のビタミン C 量, ラジカル捕捉活性および豆苗子葉部の調理性

Table 1. VC content and DPPH radical-scavenging activity of sprouts and vegetables

	Vitamin C content (mg/100 g fr. wt.)			AsA content	DPPH radical-scavenging activity
	Total	AsA	DHA	(μ mol/100 g fr. wt.)	(μ mol AsA eq./100 g fr. wt.)
Sprouts					
Broccoli	58.2±4.99 ^a	49.2±4.69 ^a	6.53±0.98	279.5	626.8±46.2 ^a
Red cabbage	51.9±2.21 ^a	42.3±1.18 ^b	9.62±1.15	240.3	957.8±130.4 ^b
Mustard	50.5±4.22 ^{ab}	42.4±3.48 ^{abc}	8.15±0.80	240.9	564.3±178.2 ^{ac}
Watercress	32.6±2.68 ^c	27.4±2.23 ^d	5.20±0.45	155.7	720.1±54.6 ^{ac}
Radish	44.6±2.12 ^{bd}	37.6±1.75 ^{ce}	7.03±0.47	213.6	545.0±6.5 ^c
Toumyo	41.4±1.62 ^d	35.2±1.36 ^e	6.11±0.27	200	374.4±74.0 ^d
Bean	8.18±0.15 ^e	5.62±0.39 ^f	2.55±0.30	31.9	56.4±3.9 ^e
Alfalfa	5.49±0.17 ^f	3.08±0.15 ^g	2.42±0.24	17.5	111.1±10.9 ^f
Vegetables					
Broccoli	74.9±4.11 ^{a'}	62.9±2.56 ^{a'}	11.7±0.96	357.3	729.9±93.2 ^{a'}
Red cabbage	63.2±2.19 ^{b'}	57.4±1.27 ^{b'}	5.81±0.93	326.1	1,152.7±151.3 ^{b'}
Mustard	53.3±3.35 ^{c'}	43.4±3.59 ^{c'}	10.0±0.83	246.3	648.8±283.0 ^{a'}
Watercress	32.2±2.10 ^{d'}	27.1±2.01 ^{d'}	5.10±0.10	154	863.0±117.8 ^{a'}

Each value represents the mean $\pm$ SD of 4 samples. a, b, c, d, e, f, g, a', b', c', d' Different letters in the same column show significant difference ($p < 0.05$).

VC 量には正の相関関係があると報告もされており¹⁴⁾, 緑豆・アルファルファもやしは光が当たっていないため, 総 VC 量が他のものに比べ少なかったと考えられる. また, 総 VC 量に占める AsA の割合は新種のスプラウト 4 種と, かいわれ大根, 豆苗では 81~89% であったが, 緑豆もやしでは 69%, アルファルファもやしでは 56% と低かった.

新種のスプラウトの DPPH ラジカル捕捉活性はレッドキャベツ>クレソン $\geq$ ブロッコリー $\geq$ マスタードの順に低くなり, レッドキャベツのラジカル捕捉活性はクレソン・ブロッコリー・マスタードより ($p < 0.05$) 有意に高かった. かいわれ大根のラジカル捕捉活性はレッドキャベツ・クレソン ($p < 0.01$), ブロッコリー・マスタード ($p < 0.05$) より有意に低く, 豆苗のラジカル捕捉活性もレッドキャベツ・クレソン・ブロッコリー ($p < 0.01$), マスタード・かいわれ大根 ($p < 0.05$) より有意に低かった. 緑豆もやしとアルファルファもやしのラジカル捕捉活性は新種の 4 スプラウトおよび, かいわれ大根や豆苗と比較しても顕著に低かった.

スプラウト類が持つ DPPH ラジカル捕捉活性に寄与する物質として還元型 VC である AsA およびポリフェノールがあげられている. そこで, スプラウト類に含まれている AsA が DPPH ラジカル捕捉活性にし

める割合がどれくらいであるかを分析した. その結果, 緑豆もやしの DPPH ラジカル捕捉活性に対する AsA の寄与率は 57% であったが, アルファルファもやしでは 16% と低く, 野菜によって異なった.

ブロッコリー, レッドキャベツ, マスタード, クレソンは生長野菜も市場に出回っているため, この 4 種についてはスプラウトと生長野菜の VC 量および DPPH ラジカル捕捉活性が高いのかを比較した.

市販の生長野菜の総 VC 量はブロッコリー>レッドキャベツ $\geq$ マスタード>クレソンの順に少なくなっており, クレソンの総 VC 量が他の 3 種の野菜の総 VC 量と比較して有意に ($p < 0.01$) 少なくなり, スプラウト 4 種の VC 量の関係と類似していた. スプラウトと生長野菜の総 VC 量を比較すると, ブロッコリー・レッドキャベツでは生長野菜の総 VC 量の方が有意に ($p < 0.01$) 多く, マスタード・クレソンの総 VC 量はスプラウトと生長野菜の間に有意差は見られなかった. AsA 量はブロッコリー・レッドキャベツでは生長野菜の方がスプラウトより有意に ($p < 0.01$) 多かったが, マスタード・クレソンでは両者の間に差がなかった. ブロッコリーのスプラウトはガン予防の効果があるとの報告¹⁾²⁾があるが, VC 摂取の点からは, 生長野菜の花蕾より優れているとは言えない結果であった. スプラウトと生長野菜の DPPH ラジカル捕捉活性

Table 2. Changes in the VC content, activities of GLDH, AAO and APX, and DPPH radical-scavenging activity of pea seedlings (toumyo) during germination

Days after germination	Vitamin C content (mg/100 g fr. wt.)			GLDH (unit/mg of Mt. protein)	AAO (unit/mg of protein)	APX (unit/mg of protein)	DPPH (μ mol AsA eq./100 g fr. wt.)
	AsA	DHA	Total				
2	44.9 $\pm$ 6.31	5.6 $\pm$ 0.10	50.5 $\pm$ 6.39	81.9 $\pm$ 8.78	35.0 $\pm$ 8.49	176.2 $\pm$ 20.35	617.3 $\pm$ 120.2
3	45.9 $\pm$ 3.37	6.8 $\pm$ 0.89	52.7 $\pm$ 3.16	83.2 $\pm$ 10.42	33.3 $\pm$ 1.73	142.6 $\pm$ 13.72	787.7 $\pm$ 61.0
4	50.2 $\pm$ 1.14	7.6 $\pm$ 0.63	57.8 $\pm$ 1.76	78.9 $\pm$ 4.47	36.5 $\pm$ 4.58	82.6 $\pm$ 15.1	883.6 $\pm$ 241.9
5	50.4 $\pm$ 0.59	5.8 $\pm$ 0.57	56.1 $\pm$ 1.12	76.9 $\pm$ 12.34	30.4 $\pm$ 3.72	65.6 $\pm$ 24.06	1,200.0 $\pm$ 324.3
6	39.3 $\pm$ 1.79	6.3 $\pm$ 0.73	45.6 $\pm$ 2.54	80.6 $\pm$ 17.38	49.9 $\pm$ 1.00	69.1 $\pm$ 15.92	859.5 $\pm$ 169.9
7	35.2 $\pm$ 1.36	6.1 $\pm$ 0.27	41.4 $\pm$ 1.62	40.1 $\pm$ 15.28	62.8 $\pm$ 5.53	39.7 $\pm$ 7.74	659.1 $\pm$ 73.3

Each value represents the mean $\pm$ SD of 4 samples. * p <0.05 and ** p <0.01; significant differences between both respective days. Mt. Protein: mitochondrial protein.

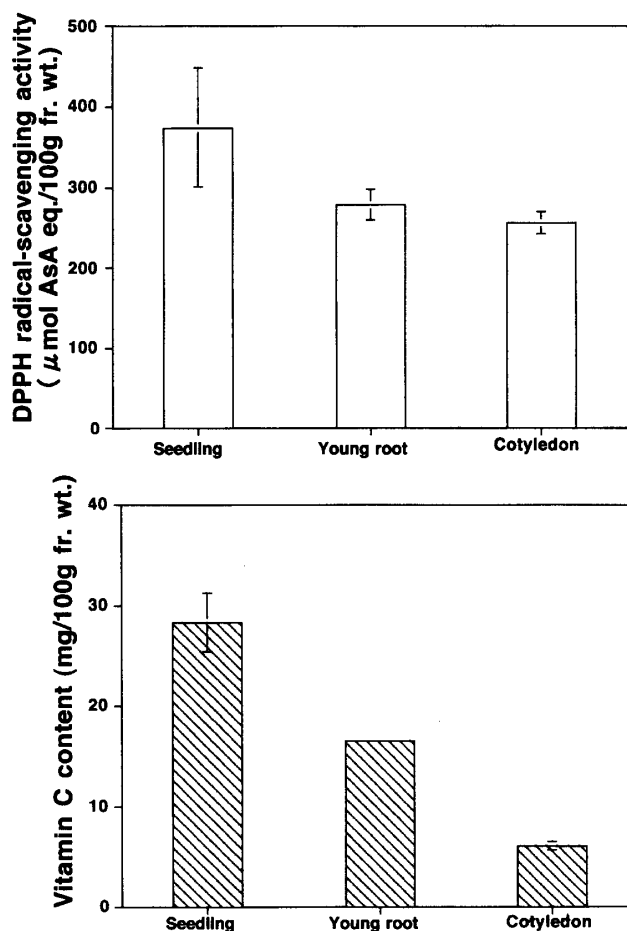


Fig. 1. Distribution of vitamin C and DPPH radical-scavenging activity in the different organs of pea seedlings (toumyo)

Each value is the mean $\pm$ SD ($n=8$).

を比較すると、生長野菜の方が全般に高い傾向にあったが、DPPH ラジカル捕捉活性に対する VC の寄与率はスプラウトと同様に 4 種間でバラツキがあった。ス

プラウト、生長野菜ともにラジカル捕捉活性に対する VC の寄与率はブロッコリー>マスタード>レッドキャベツ>クレソンの順に小さくなった。

(2) 豆苗の機能性および調理性

1) 豆苗の発芽生育にともなう総 VC 量およびその合成、酸化酵素活性の変動

豆苗は発芽後 7~8 日後に出荷されているが、何日後に収穫すると VC 量が多いかを明らかにするために VC 量および VC の合成および酸化に関する酵素 GLDH と AAO, APX 活性の経日的変化を測定し、結果を Table 2 に示した。発芽 1 日後においては幼根のみが出現するため、幼植物部が出現する発芽 2 日後から分析を行った。新鮮重 100 g 当たりの総 VC 量は 2~5 日後まで多かったが 6 日後から有意に (p <0.01) 減少した。

幼植物部の GLDH 活性は 2~6 日後まで殆ど変わらず、7 日後に有意に (p <0.05) 減少した。AAO 活性は 2~5 日後までは余り変化しなかったが、6 日以後に増加した。6, 7 日後に DHA の割合が高くなったことと矛盾しない。GLDH 活性が 2~6 日後まで殆ど変化がなく、AAO 活性が 6 日後に増加したことから、6 日後から総 VC 量が減少したことも矛盾しない。

APX 活性は発芽 2 日後に最も高かったが成長とともに減少し続け、4 日後に有意に (p <0.01) 減少し、さらに 7 日後にも減少した。これはグリンピースが発芽する際に生成される H_2O_2 とその消去に関与する APX 活性が発芽直後に高いこと^{(15)~(17)} と関係があると考えられる。

2) 豆苗の発芽生育にともなう DPPH ラジカル捕捉活性の変化

Table 2 に示すように、豆苗の DPPH ラジカル捕捉

スプラウト類のビタミンC量, ラジカル捕捉活性および豆苗子葉部の調理性

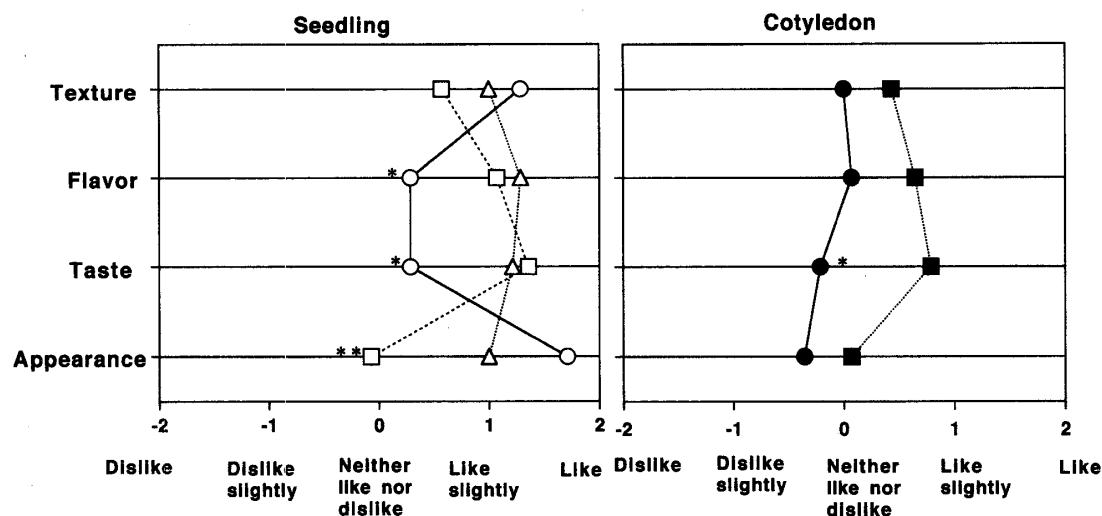


Fig. 2. Sensory evaluation of the desirability of pea seedlings (toumyo) after cooking

○, △ and □: boiled, fried and fried after boiling the seedlings, respectively. ● and ■: boiled and fried after boiling the cotyledons. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Each value is the mean $\pm$ SD ($n = 34$).

活性は発芽2日後以降増加し、5日後に最大になり、6、7日後に大きく減少した。DPPH ラジカル捕捉活性に対する AsA の寄与率は茶飲料中では 20% 程度という報告¹⁸⁾や、新鮮ハーブにおいても低いという報告もある⁵⁾が、豆苗では、AsA の寄与率が高く、30～45%であった。DPPH ラジカル捕捉活性が発芽5日後に最大になったことと総 VC 量、AsA 量共に発芽4、5日後が最も多かったことと矛盾しない。

3) 豆苗の VC および DPPH ラジカル捕捉活性の局在性

Fig. 1 に示すように、総 VC 量は 100 g 新鮮重当たり幼植物部には 28 mg、幼根部には 16 mg、子葉部には 6 mg 含有されたので幼植物部位の総 VC 量が幼根部、子葉部より有意に ($p < 0.01$) 多かったが、幼根部、子葉部にも VC が含有されることが明らかになった。DPPH ラジカル捕捉活性は、100 g 新鮮重当たり幼植物部では 374 μmol (AsA 当量)、幼根部では 278 μmol (AsA 当量)、子葉部には 256 μmol (AsA 当量)であったが、総 VC 量が少なかった子葉部や幼根部にも、比較的高い DPPH ラジカル捕捉活性が存在した。

4) 豆苗子葉部の調理性

豆苗の子葉部は一般に廃棄されているが、エンドウ豆が水浸漬されたものである。本研究の結果 VC も含有されておりラジカル捕捉活性も比較的高かったので、廃棄しないで摂取することができないかと考え、幼植物部位と子葉部を別々に調理して嗜好検査を行い、結果を Fig. 2 に示した。幼植物部位では、バターで炒

めた B や茹で後炒めた C が茹でただけの A より風味、味において有意に ($p < 0.05$) 好まれ、外観においては茹でた A や炒めた B が茹で後炒めた C より有意に ($p < 0.01$) 好まれた。C は加熱時間が長く、一番しんなりとしていたため外観では好まれなかったが、食すると B 同様炒め調理が加わったため好まれる結果となった。

子葉部については茹でた D と茹でてからバターで炒めた E の間に食感、外観、風味では有意差はみられなかったが、味では E が有意に ($p < 0.05$) 好まれた。したがって、廃棄されている子葉部は茹でてからバターで炒めると、十分おいしく食することができると考えられた。又、今回嗜好検査は行わなかったが、油で揚げたフライビーンズも好まれる傾向にあった。エコクッキングの観点からも、可食部分を無駄なく利用し、廃棄量を少なくすることができる子葉部の利用を推奨したい。

4. 要 約

新種スプラウトであるブロッコリー、レッドキャベツ、マスタード、クレソン、かいわれ大根および豆苗の総 VC 量および DPPH ラジカル捕捉活性は緑豆もやしやアルファルファもやしに比べると高かった。4 種の新スプラウトのうちブロッコリー・レッドキャベツの総 VC 量、AsA 量は、生長野菜より少なかったが、マスタード・クレソンでは差がなかった。豆苗は発芽4、5日後に総 VC 含量が最も多くなり、AsA 含

成酵素活性と正の, AsA 酸化酵素活性とは負の相関性が見られた。また, 総 VC 量の多い発芽 5 日後には DPPH ラジカル捕捉活性も高く, 現在市販されている生育日数 (7~8 日) よりも 2 日程早い時期の方が機能性が高いことが示唆された。また, 廃棄されている豆苗の子葉部には, 可食部の 68% の DPPH ラジカル捕捉活性と 21% の VC 量が存在した。茹でてバターで炒めるなど調理法次第で美味しく食することができるので, 子葉の利用を提案したい。

引用文献

- 1) Lingxiang, Y., Alben, T. D., Wade, K. L., Zhang, Y., Theresa, A. S., and Talalay, P.: Quantitative Determination of Dithiocarbamates in Human Plasma, Serum, Erythrocytes and Urine: Pharmacokinetics of Broccoli Sprout Isothiocyanates in Humans, *Clin. Chim. Acta*, **316**, 43-53 (2002)
- 2) Shapiro, A. T., Fahey, W. J., Wade, L. K., Stephenson, K. K., and Talalay, P.: Chemoprotective Glucosinolates and Isothiocyanates of Broccoli Sprouts: Metabolism and Excretion in Humans, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, **10**, 501-508 (2001)
- 3) 森山三千江, 大羽和子: 大根 3 品種の VC 量およびその合成・酸化酵素活性の貯蔵中の変化, *家政誌*, **53**, 1145-1151 (2002)
- 4) Takamura, H., Yamaguchi, T., Terao, J., and Matoba, T.: Change in Radical-Scavenging Activity of Spices and Vegetables during Cooking, in *Effects of Processing on Bioactive Compounds in Foods* (ed. by Lee, T.-C., and Ho, C.-T.), American Chemical Society, Washington, DC, 34-43 (2002)
- 5) 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, *調理科学*, **34**, 380-389 (2001)
- 6) Mapson, L. W., and Breslow, E.: Biological Synthesis of Ascorbic Acid: L-Galactono- γ -lactone Dehydrogenase, *Biochem. J.*, **68**, 395-406 (1958)
- 7) Oba, K., Ishikawa, S., Nishikawa, M., Mizuno, H., and Yamamoto, T.: Purification and Properties of L-Galactono- γ -lactone dehydrogenase, a Key Enzyme for Ascorbic Acid Biosynthesis, from Sweet Potato Roots, *J. Biochem.*, **117**, 120-124 (1995)
- 8) 東野哲三, 藤田修二: 差スペクトル法による温州ミカンのアスコルビン酸酸化酵素活性の測定, *日食工誌*, **31**, 248-253 (1984)
- 9) Miyake, C., and Asada, K.: Inactivation Mechanism of Ascorbate Peroxidase at Low Concentrations of Ascorbate; Hydrogen Peroxide Decomposes Compound I of Ascorbate Peroxidase, *Plant Cell Physiol.*, **37**, 423-430 (1996)
- 10) Arrigoni, O., and De Tullio, C. M.: Ascorbic Acid: Much More than Just an Antioxidant, *Biochem. Biophys. Acta*, **1569**, 1-9 (2002)
- 11) Miyake, C., Cao, W., and Asada, K.: Purification and Molecular Properties of the Thylakoid-Bound Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts, *Plant Cell Physiol.*, **34**, 881-889 (1993)
- 12) Bradford, M.: A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254 (1976)
- 13) Bendich, A., Machlin, L. J., and Scandurra, O.: The Antioxidant Role of Vitamin C, *Adv. Free Radic. Biol. Med.*, **2**, 419-444 (1992)
- 14) Foyer, C. H.: *Antioxidants in Higher Plants*, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL 32-58 (1993)
- 15) Pallanca, J. E., and Smirnoff, N.: The Control of Ascorbic Acid Synthesis and Turnover in Pea Seedlings, *J. Exp. Bot.*, **345**, 669-674 (2000)
- 16) Ogawa, K., and Iwabuchi, M.: A Mechanism for Promoting the Germination of *Zinnia elegans* Seeds by Hydrogen Peroxide, *Plant Cell Physiol.*, **42**, 286-291 (2001)
- 17) Mino, M., Maekawa, K., Ogawa, K., Yamagishi, H., and Inoue, M.: Cell Death Processes during Expression of Hybrid Lethality in Interspecific F1 Hybrid between *Nicotiana glauca* Domin and *Nicotiana tabacum*, *Plant Physiol.*, **130**, 1776-1787 (2002)
- 18) 石渡仁子, 高村仁知, 的場輝佳: 市販飲料の DPPH ラジカル捕捉活性, *調理科学*, **33**, 483-493 (2000)