

植物性フェノール化合物の化学予防効果 慢性疾患に対するカカオポリフェノールの効果を含む

ジョン・H・ワイスバーガー (アメリカ健康財団名誉所長)

序論

西欧諸国では、喫煙や不適切な食習慣と関連して冠動脈疾患やある種のがんが主要な疾患となっている(1-7)。これらの疾患の管理には莫大なコストと予後の困難さを伴うことが多い。従って経済的にも、また倫理的にもこうした疾患の効果的予防法へのアプローチは重要なゴールとなるのである。世界的な医学および科学的な研究によって得られる知見は、近い将来、実際に行われる予防法への希望の基礎となるのである。

心臓病を生じるうえでの病因的な要素の研究によれば最も重要な反応はLDLコレステロールの酸化である(8-15)。がんの分野では、DNA反応性が高く変異原性をもつ発がん物質と、後天的にがん化を促進する非遺伝的な物質とが認識されている(16)。事実すべての人間におけるがんはまず遺伝的な発がん物質が最初の影響を持っている。やがてこうした発がん物質が酸化反応による代謝を受け、DNA反応性の高い化学物質となる。時にはさらに二次反応を受けることもある。こうした酸化過程では活性酸素系(ROS)、すなわちスーパーオキシドアニオン、ヒドロゲンパーオキシド、ペルオキシラジカル、ヒドロキシラジカルなどが形成され、DNAを傷つけたり、LDLコレステロールを酸化する(17-23)。ROS形成の危険性は細胞内のエネルギー発生に関わるミトコンドリアで特に高い。それはアデノシン三リン酸(ATP)のように生化学的に酸素反応性に富んでいるからである。従ってミトコンドリアやすべての細胞内の系において、ROSの産生を抑える効果的な抗酸化物質が必要とされるのである(24)。

重要な酸化過程を防いだり、その生成を減らすことは何百万人もの人々に影響を及ぼしている冠動脈疾患や多くのがんの危険性を軽減するうえでも大切なことは明らかである。これまでの研究で明らかになったことはいくつかの天然の食品、すなわち野菜、果物、大豆製品、お茶、ココア、チョコレートなどがこのような酸化反応を防ぐということである(25-29)。冠動脈疾患のリスクを低くするという分野のヒトおよび動物を対象とする研究では、抗酸化物質を含む食品の摂取や利用は有効であるという結果が得られている。また大豆やお茶、抗酸化物質を含む食品はその投与量に応じて発がん物質によって引き起こされる発がん性を軽減することが知られている。

今回はチョコレートやココアに含まれる成分でROSの影響を抑える抗酸化作用に関する最近の興味深い知見と関連情報を概説する。またカカオの主要脂肪酸であるステアリン酸は、他の脂肪酸と異なりコレステロール上昇作用を示さないというたいへん興味深い特徴がある。お茶に含まれる抗酸化性ポリフェノールの動物実験や、他の研究結果からは、お茶は健康を促進し、我々の疾病を予防する可能性のある飲料であるという結論が導かれる(20-25)。同じようなことはココアやチョコレートについても知見を得ており、おいちに可能性がある。

ココアとチョコレート

背景

ココア豆はカカオの木の種子である。学名をテオブロマカカオ (Theobroma cacao) というこの常緑樹は高さ6~12メートルに達する。気温18~32度の高温、多湿 (年間降雨量1~5リットル) の地方の標高30ないし300メートルに生育する。

カカオの歴史は古く、中央アメリカや南アメリカ北部では3000年以上前に先住民によって栽培されていた。先住民はこれを飲物として利用しており、またそれはしばしば祭祀用に用いられていた。カカオ豆から飲物をつくる方法は茶葉からお茶をつくるのと同様であった。豆はまず細菌の酸化をともなう発酵を受ける。さらに焙煎、その後挽いて粉状にする。アメリカ大陸の発見者コロンブスはカカオの木や豆を知っていたようである。彼は4回目の航海の後、1502年頃カカオ豆をスペインに持ち帰っている。1519年メキシコに上陸したスペイン人はアステカの人々によってカカオの飲物を振る舞われた。ココアの伝統はスペインから数百年かかってイタリアやフランスに伝えられ、17世紀中葉にはイギリスにココアを売る店が登場している。18世紀中葉にはカカオ豆とともにチョコレートの製造法が西インド諸島や中央アメリカからマサチューセッツに伝えられた。1828年オランダ人ヴァンホーテンは、焙煎、粉碎したカカオ豆からココアバターをしぼってチョコレートパウダーを製造する特許を取得した。19世紀中葉ロンドンのある会社は液体のチョコレートに砂糖とココアバターを加えて商業的にチョコレートを製造した。1876年スイスのメーカーは粉末ミルクを用いてミルクチョコレートを市場に導入した。

カカオの木の栽培は西アフリカが最もさかんで、世界全体の70%を占め、あとは中央アメリカ、南アメリカ、西インド諸島、アジア等である。最近ココアやチョコレートに関する重要な総説が出ている (30)。

ココアおよびチョコレートの抗酸化物質

天然物としてのカカオ豆はさまざまな化学的、物理的活性に富んだ成分を含んでいる。ここではココアやチョコレートの健康への影響を考えるうえで、カテキン類に属し、抗酸化能の高い成分を特に強調しておきたい。コーヒーやお茶がカフェインを多く含んでいるのにたいし、カカオ豆のカフェイン量は非常に少ない。カカオ豆の主要メチルキサンチン化合物は重量で2~3%、一方カフェインは0.2%にすぎない。テオブロミンはカフェインと異なり中枢神経系を刺激することはない。従ってココア飲料やチョコレートは、多動行動や不眠等の心配もなく子どもにも安心して使えるのである。

最も重要なことはポリフェノール類に属する抗酸化物質 (プロシアニジン) の存在である。緑茶のエピガロカテキンガレート (モノマー) はテアフラビンであるが、さらに重要なのは緑茶ポリフェノールのテアフラビンが焙煎によって特異的なポリフェノールに変化することである。同様にカカオ・ポリフェノールは発酵によっていくつかのプロシアニジン・ポリマーとなる。この過程で生じるカテキン類としては1量体から10量体まで含まれるが、主なポリマーはジヘキサマーである (表1)。これらの成分は高速液体クロマトグラフィーによって、またその構造はマススペクトロメトリーによって確認されている。モノマーの基本

表1 ココア豆 (ブラジル産) の組成

モノマー	9.8	6量体	12.7
2量体	13.3	7量体	8.0
3量体	9.9	8量体	8.6
4量体	10.5	9量体	11.6
5量体	10.5	10量体	5.4

G.E. アダムソンら (34)

型はお茶の場合と同様に (-) -エピカテキンであり、多少 (+) -エピカテキンもある。これについての詳細は文献31-35を参照されたい。

構造上、プロシアニジンが最も抗酸化能にすぐれており、さらに健康増進効果に関連するいくつかの指標としても研究されてきた。

冠動脈疾患

血清コレステロール値と冠動脈疾患のリスクとの関係については、40年以上も前から知られていたが、さらに最近になって心臓病と関係しているリポたんぱくの中でもLDLコレステロールが重要であることが分かってきた。LDLコレステロールは容易に生化学的な酸化を受け、オキシもしくはペルオキシ誘導体となり、これが動脈硬化症をひきおこす原因となる⁽¹⁰⁾。ビタミンEやCに代表される抗酸化性ビタミンは酸化を防止する働きがある。しかしお茶のケルセチンや大豆製品に含まれるゲニステインやダイズツェインなど植物性の抗酸化物質はさらに重要である。アメリカやヨーロッパのベジタリアンや地中海地方の人々など、伝統的に植物性食品を消費している人々が心臓病のリスクの低いことは広く疫学的に証明されている。またお茶を日常的に摂取したり、大豆製品をたくさん消費しているアジア人はやはり心臓病が少ない。こうした結果はさまざまな種類の、多くのポリフェノール性抗酸化物質を含む食品を十分に摂取することに根拠を与えてくれる。このことはチョコレートを食べたり、ココアを飲むことを好む人々が心臓病罹患率の低いことを期待させるものである。実際ココアやチョコレートには抗酸化物質がたいへん多く含まれており、ココアが224±66.4マイクロモル/g、ブラックチョコレートが126±7.4、ミルクチョコレート52.2±2.04である⁽²⁹⁾(表2, 3)。ココアやチョコレートの抗酸化物質の利用率を考慮すると、5~10種類の野菜を食べたり、5~10種類のお茶か、多くの大豆製品を食べることは50グラムのチョコレートか相当量の抗酸化物質を含むココアを飲むことと同じと考えられる。そのうえココアやチョコレートは嗜好性が

表2 ココアおよびチョコレートのポリフェノールの抗酸化特性

製 品	フェノール ($\mu\text{mol/g}$)	IC ₅₀ (μM)	抗酸化指数($\times 10^9$)
ココア	224±66.4	0.32±0.07	710±213
ブラックチョコレート	126±17.4	0.25±0.03	500±20.4
ミルクチョコレート	52.2±20.4	0.41±0.04	136±36.3
ホットココアミックス	8.2±2.9		

ヴィンソン(29)より改変。ココア4製品の平均、ブラックチョコレート6製品の平均、ミルクチョコレート5製品の平均。
IC₅₀はLDLおよびVLDLの酸化第二銅イオンの酸化を50%阻害するポリフェノール濃度をあらわす。

表3 産地別にみたカカオ抽出物の総ポリフェノール、カテキンおよびエピカテキン濃度

	総ポリフェノール (%)	カテキン (%)	エピカテキン (%)
コロンビア	11.4	0.43	1.22
エクアドル	9.2	0.49	1.02
アイボリーコースト	6.7	0.31	0.35
ブラジル	13.0	0.41	1.68
ガーナ	9.7	0.31	0.82

越阪部ら(35)

高く、同時にROSを防ぐ抗酸化能を期待できる。日常的に摂取量がそれほど多くなく、国際的な規模ばかりか国内規模においてすらココアやチョコレートの抗酸化効果を評価する疫学的アプローチが困難であることは確かだが、この抗酸化物質の豊富な食品を栄養的に意義のある食習慣のひとつに加えることに十分な根拠を与える基礎的、実験的バックグラウンドを示したいとおもう。

LDL酸化は*in vitro*では酸化過程の開始を化学的手法を用いてラグタイムとして測定することで検討できる⁽³⁵⁻⁴¹⁾。ココアは赤ワインやお茶とほぼ同程度の効果を示す。同様の結果は酸素ラジカル吸収能 (ORAC) という従来方法でも得られている⁽³⁴⁾。ORACの数値とプロシアニジン1量体から10量体の分析結果とはたいへんよく相関しているが、2-5量体のほうがモノマーおよびより高次のポリマーよりも効果が大きい。お茶の抗酸化能でも主たるモノマーはエピカテキンだが、それよりも高次のエピカテキンガレートのほうが抗酸化能が高い。おそらく細胞膜からもともと選択的に吸収され、部位によって有効な濃度で効果が発揮されるのであろう。またモノマーのエピカテキンは代謝され共役型となり、硝酸エステルやグルコノシドは尿中に排泄される⁽²⁵⁾。3-5量体でみられた最大効果は共役結合の変化、排泄にともなって減少し、細胞での吸収と抗酸化的な利用率との臨界点を迎える。チョコレートを食べた人の血漿中エピカテキン濃度はすみやかに上昇し、またすぐに減少する (表4)。プロシアニジン摂取後2時間で抗酸化能は最大となり、同時にその重要な指標である血漿中の2-4チオバルビツール酸活性は減少する⁽⁴⁴⁾ (表5)。

表4 高プロシアニジン・チョコレート摂取時の血漿中エピカテキン濃度

時間 (h)	高プロシアニジン・チョコレート摂取量 (g)			
	nmol/L			
	0	27	53	80
0	1±1(9) ¹	2±2(13) ¹	4±2(13) ¹	4±3(10) ¹
2	19±1(9) ¹	133±27(13) ³	258±29(13) ³	355±49(10) ³
6	1±1(9) ¹	26±8(13) ²	66±8(13) ²	103±16(10) ²

数字は平均値±標準偏差。()内数字は被験者数を示す。
縦の欄の肩数字が異なっているものは有意差あり (p<0.05)。(46)

表5 プロシアニジン濃度の異なるブラックチョコレート摂取前後で評価した酸化ストレスの指標

指標	チョコレート摂取後の時間 (時間)		
	0	2	6
エピカテキン (nmo/L)			*
高プロシアニジン	22±4	257±66 ¹	153±69
低プロシアニジン	11±10	12±11	11±9
抗酸化能 (秒)			
高プロシアニジン	389±39	510±43 ¹	306±34
低プロシアニジン	344±41	291±23	257±30
TBARS (μmol/mmol)			
高プロシアニジン	3.14±0.52	1.87±0.26 ¹	2.20±0.38 ¹
低プロシアニジン	2.03±0.25	2.09±0.20	2.04±0.30

数値は平均値±標準偏差(高プロシアニジン・チョコレート摂取群10名、低プロシアニジン・バナナミルクチップ摂取群3名)。2時間および6時間は0時間(ベースライン)と比較し、検定を行った。(44)

腫瘍性の病気

がんは病因的要素に原因を求められる数多くの病気の中でも代表的なものであり、たばこや過度の飲酒、さらにはその地方特有の伝統的食習慣に基づく栄養特徴などに影響される。生活習慣と関連する原因としてはDNAを変化させイニシエーターとして働く発がん物質と変異原物質とである。ついで重要な役割を演じるプロモーターは多くの場合、遺伝的なものではない⁽¹⁶⁾。これらの過程で重要なのはROSの関与であり、すでに述べたLDLコレステロールの酸化でもそのとおりである。一方、がん発生のメカニズムとは無関係に、野菜や果物、お茶、大豆製品など抗酸化能にすぐれた食品を日常的に摂取することがさまざまな種類のがん発生の可能性を低くするという疫学的研究はこれまでに数多くなされてきた^(1, 2, 25, 26)。こうした抗酸化性食品に加えてココアやチョコレートを摂取することは発がん物質が持つ危険性を減らすメリットを主張しうるといえよう。しかしココアやチョコレートの愛好者がそこから抗酸化成分を日常的に摂取したとしても、ヒトのデータはまだ不十分であり、その長所を支持する仮説は研究所レベルのヒトや動物試験、試験管試験によるものであって、この点でお茶をよく飲んでいる人が慢性疾患のリスクを軽減できるという議論とよく似ている。

発がん物質はエームスによって開発されたサルモネラ菌を用いる変異原活性測定法によって容易に検査できる⁽¹⁸⁾。こうしてお茶のポリフェノールが多くの発がん物質の変異原性を減らすことはよく知られるようになった^(25, 47)。ココア抽出物が発がん物質の変異原性を減らすというデータはいくつかあるが、毒性については5%濃度のココア粉末のラットにおける慢性毒性試験データがある程度で、副作用についてのデータもまだ少ない⁽⁴⁸⁾。しかしカカオ・ポリフェノールはペルオキシ亜硝酸塩の作用を阻害することから、おそらくココアもプロシアニジンの安全性は高く、抗酸化活性もきわめて高いと推測される。発がん過程のメカニズムに関係なく、がんのイニシエーションやプロモーションの過程で活性酸素が関与していることは明らかである。従って疫学的、地勢病理学的にも、またラボスケールの試験からも、合成、天然いずれであれ抗酸化物質が有効なことは確かである。ココアの抗酸化物質も発がん過程におけるROSの作用を阻害すると期待される。これまでに述べたようにいくつかの例証も示されてきている。

カフェイン同様テオブロミンも抗酸化作用を持っている^(50, 51)。しかしココアのテオブロミン量は少なく、プロシアニジンと比較した場合、その効果は小さいとおもわれる。

カカオの脂質

ココア・チョコレートの抗酸化能という本発表のトピックとは直接関係するわけではないが、ココアやチョコレートの健康増進にたいする影響に関連してカカオの脂質についても触れておこう。たいていの飽和脂肪酸は動脈硬化症さらには心臓病の高リスクファクターとしてよく知られている⁽¹⁰⁻¹⁵⁾。またがん化の過程においても総エネルギー中の脂肪の摂取エネルギー比率が重要な役割を果たしていることは明らかである。欧米ではこの比率は40~45%にもなる。目標値は35%にまで減らすこととされているが、地勢病理学的研究やラボスケールのアプローチによれば、心臓病やがんのリスクを減らすための望ましいエネルギー比率は25%であり、しかもカノーラ油やオリーブ油などの1価不飽和脂肪酸の摂取が強調されている。

カカオ脂で最も重要なことは主要脂肪酸が飽和型のステアリン酸ということである。ステアリン酸は心臓病のリスクを高めないことと、がんとの関連性が少ない脂肪という特徴がある。それは他

の脂肪酸が速やかに吸収されるのにたいし、ステアリン酸は腸管からの吸収が低いからである。最近の研究では脂質が腸内フローラを変化させることも分かってきた。欧米で摂取される脂肪の多くは腸内細菌をふやし、胆汁酸の分泌を高め、大腸がんの危険性を高めるのである。またこのような腸内細菌はエストロゲンなどのホルモン循環を活発にし、内分泌系の腫瘍発生のリスクを高める。ステアリン酸は抗酸化性プロシアニジンとの相乗効果によって、腸内フローラや免疫系の維持に重要な働きをする物質の腸内吸収にたいして好ましい影響を与え、健康維持に大切な役割を果たしている⁽²³⁾。

要約

ラボスケールの試験ばかりでなく、世界的規模での地勢病理学や疫学的研究から、主要な慢性病は活性酸素系（ROS）との関連が強く、それが生体中の重要な細胞を傷つけ、生体機能を破壊したり、阻害していることが明らかになってきている。従ってROSの働きを制限する抗酸化物質を補給する栄養成分の必要性が高いわけである。ここから抗酸化物質を豊富に含む野菜や果物を摂取することが推奨される。公衆栄養ではそれは抗酸化ビタミンであるビタミンCやE、カロテンなどの摂取を心がけることと説明される。さらに研究が進んだ結果、天然のポリフェノールを含む抗酸化性食品を摂取することは抗酸化ビタミンの摂取よりも有効であり、体組織や細胞の機能を正常に保つうえで重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。

また同様な研究が進んだ結果、ごく最近になってお茶フラボノイド類のある種のポリフェノールがきわめて望ましい供給源であることや、大豆製品（アジアではよく食べられている）は冠動脈疾患ばかりでなく、欧米人に多い大腸がんや乳がん、肺がんのリスクすらも軽減する可能性が高いことが分かってきた。お茶はアジアでは多量に消費されているが、これも疾病予防の効果があるとおもわれる。

今回報告したのはカカオ豆やそれに由来するチョコレートは重要な抗酸化物質であるモノマーのカテキンやポリマーのプロシアニジンを多く含んでいるものであるが、これらはお茶の抗酸化物質と同様に大きな役割を果たしているとおもわれるが、一方ではその化学構造や代謝面での機能、役割はさらに究明されなくてはならない。

おそらくは2-5量体ポリマーが最も有効であるとおもわれるが、それはモノマーではすみやかに代謝、排泄されるし、またもっと高次のポリマーは細胞膜浸透性が悪く、吸収率が極めて低いと考えられるからである。

お茶ポリフェノールの作用機作はカカオ・ポリフェノールよりも解明されている。それらを要約すると(1)抗酸化能が高いこと(2)酵素系の第二段階における解毒作用(3)細胞の分裂成長期に、とりわけ腫瘍細胞を効果的に抑制すること(4)腸内菌叢をより健康に好ましい環境に調整しうること、である。プロシアニジンの抗酸化能が研究され、明らかにされたという点では、ココア・チョコレート製品がはじめてであるが、それ以外についても将来さらに研究が進むことを期待したい。

それでもチョコレート・ココア製品の作用に関して分かってきたことは、健康栄養施策を促進するうえで重要な役割を担うものということができるし、食習慣との関連の大きな疾病を予防するうえで大切な抗酸化物質をわれわれに提供してくれる有用な素材と考えられるのである。

文献

1. Weisburger JH. Food in the third millennium: Nutrition and lifestyle. *Nutrition* 16:000-000, 2000.
2. Weisburger JH. Prevention of cancer and other chronic diseases worldwide based on sound mechanisms. *BioFactors* 12:1-9, 2000.
3. Beaglehole, R. International trends in coronary heart disease mortality and incidence rates. *J Cardiovas Risk* 6:63-68, 1999.
4. Grundy SM, Cleeman JI, Rifkind BM, Kuller LH. Cholesterol lowering in the elderly population. Coordinating Committee of the National Cholesterol Education Program. *Arch Intern Med* 159:1670-1678, 1999.
5. Sugimura T. An overview of cancer prevention. *Eur J Cancer Prev* 5:1-8, 1999.
6. International Agency for Research on Cancer Monograph: Tobacco Smoking. 38:3-394, 1986.
7. Tominaga S, Kuroishi T. An ecological study on diet/nutrition and cancer in Japan. *Int J Cancer* 10:2-6, 1997.
8. Zock PL, Katan MB. Diet, LDL oxidation, and coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 68:759-760, 1998.
9. Fuller CJ, Jialal I. Effects of antioxidants and fatty acids on low-density-lipoprotein oxidation. *Am J Clin Nutr* 60 (Suppl.6) :1010S-1013S, 1994.
10. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol : Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New Engl J Med* 312:478-481, 1996.
11. Cox DA, Cohen ML. Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: Clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 48:3-19, 1996.
12. Abuja PM, Albertini R, Esterbauer H. Stimulation of the induction of oxidation of low-density lipoprotein by high copper concentrations: Evidence for a non-constant rate of initiation. *Chem Res Toxicol* 10:3-19, 1996.
13. Ishikawa T, Suzukawa M, Ito I, Yoshida H, Ayaori M, Nishiwaki M, Yonemura A, Hara Y, Nakamura H. Effect of tea flavonoids supplementation on the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Clin Nutr* 66:261-266, 1997.
14. Knekt P, Jarvinen R, Reunanen A, Maatela J. Flavonoids intake and coronary mortality in Finland: A cohort study. *Br Med J* 312:478-481.
15. Hertog MGL, Kromhout D, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, Fidanza F, Giampaoli S, Jansen A, Menotti A, Nedeljkovic S, Pekarinen M, Simic BS, Toshima H, Feskens EJM, Hollman PCH, Katan M. Flavonoids intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the Seven Countries Study. *Arch Intern Med* 155:381-386, 1995.
16. Weisburger JH, Willians GM. Profiles in Toxicology: The distinction between genotoxic and epigenetic carcinogens and implication for cancer risk. *Toxicol Sci* 57:000-000, 2000.
17. Shahidi F (Ed) . *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects, and Applications*. AOCS

- Press, Champaign, IL, pp. 1-414, 1997.
18. Rice-Evans CA, Packer L (Eds) . Flavonoids in Health and Disease. Marcel Dekker, Inc, New York, NY, pp. 1-525, 1998.
 19. Pryor WA, Cornicelli JA, Devall LJ, Tait B, Trivedi BK, Witiak DT, Wu M ingdan. A rapid screening test to determine the antioxdant potencies of natural and synthetic antioxdants. *J Org Chem* 58:3521-3532, 1993.
 20. Dreosti IE. Antioxdant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition* 16:692-694, 2000.
 21. Cao G, Verdon CO, Wu AHB, Wang H, Prior RL. Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II. *Clin Chem* 41:1738-1744, 1995.
 22. Long LH, Lan AN, Hsuan FT, Halliwell B. Generation of hydrogen peroxide by "antioxidant" beverages and the effect of milk addition. Is Cocoa the best beverage? *Free Rad Res* 31:67-71, 1999.
 23. Sanbongi C, Suzuki N, Sakane T. Polyohenols in chocolate, which have antioxiadnt activity, modulate immune functions in humans in vitro. *Cellul Immunol* 177:129-136, 1997.
 24. Cadenas E, Packer L (Eds) *Understanding the Process of Aging: The Roles of Mitochondria, Free Radicals, and Antioxidants*. Marcel Dekker, Inc. New York, NY, pp. 1-366, 1999.
 25. Weisburger JH. Tea and health: The underlying mechanism. *Proc Soc Exptl Biol Med* 220:271-275, 1999.
 26. Weisburger JH. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. *Food Chem Toxicol* 37:943-948, 1999.
 27. Messina MJ. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. *Am J Clin Nutr* 70 (Suppl) :439S-450S.
 28. Adlercreutz H, Mazur W, Bartels P, Elomaa V, Watanabe S, Wahala K, Landstrom M, Lundin E, Bergh A, Damber JE, Aman P, Widmark A, Johansson A, Zhang, JX, Hallmans G. Phytoestrogens and prostate disease. *J Nutr* 130:658S-659S, 2000.
 29. Vinson JA, Proch J, Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods:Cocoa, dark chocolate, and milk chocolate. *J Ag Food Chem* 47:4821-4824, 1999.
 30. Erdman JW, Wills J, Finley D.(Eds) . *Chocolate: Modern Science Investigates an ancient medicine*. *J Nutr* 130:2057S-2126S, 2000.
 31. Porter LJ, Ma Z, Chan BG. Cacao procyanidins: Major flavanoids and identification of some minor metabolites. *Phytochem* 30:1657-1663, 1991.
 32. Hammerstone JF, Lazarus SA Mitchell AE, Rucker R, Schmitz HH. Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem* 47:490-496, 1999.
 33. Lazarus SA, Adamson GE, Hammerstone JF, Schmitz HH. High-performance liquid chromatography/mass spectrometry analysis of proanthocyanidins in foods and beverages. *J Agr Food Chem* 47:3693-3701, 1999.
 34. Adamson GE, Lazarus SA, Mitchell, AE, Prior RL, Cao G, Jacobs PH, Kremers BG, Hammerstone JF, Rucker RB, Ritter KA, Schmitz H. HPLC method for the quantification of

- procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J Agr Food Chem* 47:4184-4188, 1999.
35. Osakabe N, Yamagishi M, Sanbongi C, Natsume M, Takizawa T, Osawa T. The antioxidative substances in cacao liquor. *J Nutr Sci Vitaminol* 44:313-321, 1998.
 36. Kondo K, Hirano R, Matsumoto A, Igarashi O, Itakura H. Inhibition of LDL oxidation by cocoa. *The Lancet* 348:1514, 1996.
 37. Kondo K, Kurihara M, Miyata N, Suzuki T, Toyoda M. Mechanistic studies of catechins as antioxidants against radical oxidation. *Arch Biochem Biophys* 362:79-86, 1999.
 38. Plumb GW, De Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Cheynier V, Williamson G. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: effect of polymerization, galloylation and glycosylation. *Free Rad Res* 29:351-358, 1998.
 39. Waterhouse AL, Shirly JR, Donovan JL. Antioxidants in chocolate. *The Lancet* 348:834, 1996.
 40. Arts ICW, Hollman PCH, Kromhout D. Chocolate as a source of tea flavanoids. *The Lancet* 354:488, 1999.
 41. Lazarus SA, Hammerstone JF, Schmitz HH. Chocolate contains additional flavanoids not found in tea. *The Lancet* 354:1825, 1999.
 42. Ardevol A, Blad C, Salvado MJ, Arola L. Changes in lipolysis and hormone-sensitive lipase expression caused by procyanidins in 3T3-L1 adipocytes. *Internatl J Obesity Rel Metab Dis* 24:319-324, 2000.
 43. Richelle M, Tavazzi I, Enslen M, Offord EA. Plasma kinetics in man of epicatechin from black chocolate. *Eur J Clin Nutr* 53:22-26, 1999.
 44. Rein D, Lotito S, Holt R.R., Keen CL, Schmitz HH, Fraga CG. Epicatechin in human plasma: In vivo determination and effect of chocolate consumption on plasma oxidation status. *J Nutr* 130:2109S-2114S, 2000.
 45. Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130:2073S-2085S, 2000.
 46. Wang JF, Schramm DD, Holt RR, Ensunsa JL, Fraga CG, Schmitz HH, Keen CL. A dose-response effect from chocolate consumption on plasma epicatechin and oxidative damage. *J Nutr* 130:2115S-2119S, 2000.
 47. Shiraki M, Hara Y, Osawa T, Kumon H, Nakayama T, Kawakishi S. Antioxidative and anti-mutagenic effects of theaflavins from black tea. *Mutat Res* 323:29-34, 1994.
 48. Tarka SM, Morrissey RB, Apgar JL, Hostetler KA, Shively CA. Chronic Toxicity/carcinogenicity studies of cocoa powder in rats. *Food Chem Toxic* 29:7-19, 1991.
 49. Arteel GE, Schroeder P, Sies H. Reactions of peroxynitrite with cocoa procyanidin oligomers. *J Nutr* 130:2100S-2104S, 2000.
 50. Weisburger JH, Dolan L, Pittman B. Inhibition of PhIP mutagenicity by caffeine, lycopene, daidzein, and genistein. *Mutat Res* 416:125-128, 1998.
 51. Shi X, Dalal NS, Jain AC. Antioxidant behaviour of caffeine: Efficient scavenging of hydroxyl radicals. *Food Chem Toxic* 29:1-6, 1991.

52. Review articles. Stearic acid and cholesterol. *Am J Clin Nutr* 60(6 Suppl):986S-1044S, 1994.
53. Decker EA. The role of stereospecific saturated fatty acid-positions on lipid nutrition. *Nutr Rev* 54:108-110, 1996.
54. Connor WE. Harbingers of coronary heart disease: dietary saturated fatty acids and cholesterol. Is chocolate benign because of its stearic acid content? *Am J Clin Nutr* 70:951-952, 1999.
55. Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Ascherio A, Coloditz GA, Speizer FE, Hennekens CH, Willett WC. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr* 70:1001-1008, 1999.
56. Hammerstone JF, Lazarus SA, Schmitz HH. Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J Nutr* 130:2086S-1092S, 2000.