

原 著

## 還元系温泉水 (硫黄泉) によるメラニン生成抑制効果

大河内正一<sup>1)</sup>, 大網貴夫<sup>1)</sup>, 浅井邦康<sup>1)</sup>, 大波英幸<sup>1)</sup>, 池田茂男<sup>1)</sup>, 阿岸祐幸<sup>2)</sup>

(平成 21 年 1 月 23 日受付, 平成 21 年 4 月 20 日受理)

### Effect of Suppressing Melanin Formation by Reductive Hot Spring Water System (Sulfur Hot Springs)

Shoichi OKOUCHI<sup>1)</sup>, Takao OHAMI<sup>1)</sup>, Kuniyasu ASAI<sup>1)</sup>, Hideyuki OHNAMI<sup>1)</sup>,  
Shigeo IKEDA<sup>1)</sup> and Yuko AGISHI<sup>2)</sup>

#### Abstract

It has been generally said that sulfur hot spring water is effective in making the skin beautiful. Through our previous investigation of sulfur hot spring water of Nozawa spa in Nagano Prefecture, we revealed that habitual bathing in reductive water can improve or recover skin elasticity. In the present study, using samples of reductive sulfur spring water collected from Nozawa spa (sulfur spring water : pH=8.4, total S=51.6 ppm, H<sub>2</sub>S=2.2 ppm) and from Takayu spa (acidic-sulfur-containing calcium-sulfate spring water : pH=2.37, H<sub>2</sub>S=148.8 ppm) in Fukushima Prefecture, we have examined their effects of suppressing the formation of melanin that will cause blotches and freckles or pigmentary deposits at sunburn, i.e., the efficacy of reductive sulfur spring water in skin lightening.

Each water sample of Nozawa spa and Takayu spa was adjusted to pH 7, optimal for enzymatic reactions, by using a phosphoric acid buffer. To each water sample, tyrosine and tyrosinase were added, and dopachrome known as an intermediate product in the process of melanin formation was checked by observing variations in absorbance at 475 nm. In the experiments, no increase in absorbance was found with the lapse of time in the water samples collected from both of Nozawa and Takayu spas, which signifies that reductive sulfur spring water has an advantageous effect of suppressing melanin formation.

Furthermore, since melanin is formed in the skin, we have also carried out experiments to investigate cutaneous permeability of reductant components of the hot spring water samples. As a substitute for the skin, we used a nylon-polyethylene double-layered film having an equivalent-to-skin barrier function that does not allow permeation of water. The results confirmed that the reductant components (H<sub>2</sub>S) of sulfur spring water have an appreciable degree of cutaneous permeability. Hence, besides being applicable to improvement or recovery of skin elasticity, reductive sulfur hot spring water can also

<sup>1)</sup> 法政大学生命科学部 〒184-8584 東京都小金井市梶野町 3-7-2. <sup>1)</sup> Faculty of Bio Science and Applied Chemistry, Hosei University, Kajinocho 3-7-2, Koganei-shi, Tokyo 184-8584, Japan.

<sup>2)</sup> 健康保養地医学研究所 〒108-0075 東京都港区港南 4-6-8-2302. <sup>2)</sup> Research Institute of Health Resort Medicine, Konan 4-6-8-2302, Minato-Ku, Tokyo 108-0075, Japan.

suppress melanin formation to provide skin-lightening efficacy.

Key words : Melanin, dopachrome, reductive hot spring water, Nozawa spa, Takayu spa, cutaneous permeability.

## 要 旨

硫黄泉の効果として、これまで巷間では美肌効果が言い伝えられてきた。著者らはこれまでに硫黄系温泉水としてアルカリ性で還元系の野沢温泉 (長野県) に継続的に入浴することで、皮膚の弾力性の向上や回復が期待できることを明らかにしてきた。今回、さらに還元系硫黄泉が皮膚のシミ、ソバカスや日焼けなどによる色素沈着の原因物質となるメラニンの生成抑制効果、すなわち美白効果の有効性について、同じ野沢温泉に加え、酸性でより硫化水素濃度の高い高湯温泉 (福島県) について検討した。

実験では、野沢温泉 (単純硫黄泉: pH=8.4, 総 S=51.6 ppm, H<sub>2</sub>S=2.2 ppm) および高湯温泉 (酸性・含硫黄-カルシウム-硫酸塩泉: pH=2.37, H<sub>2</sub>S=148.8 ppm) の還元系の各温泉水を、酵素反応の最適 pH 7 にリン酸バッファーで調整し、チロシンおよび酸化酵素のチロシナーゼを加え、メラニン生成過程の中間体ドーパクロム (dopachrome) の生成を、475 nm の吸光度変化から観測した。その結果、還元系の両温泉水は、時間経過しても吸光度の上昇は見られず、メラニン生成の抑制効果が確認された。

さらに、メラニン生成は皮膚内で起こるため、温泉水の還元系成分の皮膚浸透性を、水を透さず皮膚と類似のバリアー機能を有するナイロン・ポリエチレン 2 重膜を、皮膚の代替として用いて実験を行った。その結果、硫黄泉の還元系成分 (H<sub>2</sub>S) の膜透過性が確認された。それ故、還元系の硫黄系温泉水には、これまでの皮膚の弾力性の向上や回復に加え、メラニン生成抑制効果の美白効果が期待できる可能性が示された。

キーワード : メラニン, ドーパクロム, 還元系温泉, 野沢温泉, 高湯温泉, 皮膚浸透性

## 1. はじめに

これまで著者らは、酸化還元電位 (ORP ; Oxidation-Reduction Potential) に基づいた各種温泉源泉の測定 (大河内ら, 1998, 1999, 2000, 2002, 2003, 2005a, 2005b, 2008 ; 大河内, 2003 ; Okouchi *et al.*, 2002 ; Ohnami *et al.*, 2003 ; 大波ら, 2008) により、温泉源泉の特徴は還元系で、源泉湧出後の時間経過にともない酸化が進行するエイジング (aging) 現象を定量化できることを明らかにしてきた。さらに、皮膚も還元系で加齢にともない酸化されていくことから、還元系の新鮮な温泉水に継続的に入浴することは、皮膚の酸化を抑制し、それ故皮膚の老化抑制や皮膚脂質の酸化による加齢臭物質の生成抑制に期待できることを、温泉水の新たな効能として提案してきた。

そこで前報 (大波ら, 2008) では、還元系温泉水の皮膚の老化抑制、すなわち皮膚のアンチエイジング効果について検討するため、これまで巷間では美肌効果が言い伝えられてきた硫黄系温泉を対象として実験を行った。具体的には、自然湧出で源泉かけ流しの新鮮な還元系温泉水に入浴可能な野沢温泉 (長野県) で、普段余り温泉入浴していないボランティアを募り、2 ヶ月間 (10~12 月) 毎日継続的に入浴する実験を行った。その結果、時期的に冬に向かい乾燥が進み皮膚水分量が減少していくにもかかわらず、皮膚でダメージの強い手背や加齢者に、皮膚の弾力性 (西村・辻, 1992 ; 高橋, 1993) の向上、回復が観察された。一般的に、加齢に伴い皮膚の弾力性は低減していくことから、還元系の硫黄系温泉水には、皮膚のアンチエイジング効果が期待できることが示唆された。その効果の機序として、温泉水中の還元系成分 (H<sub>2</sub>S) が皮膚内に浸透し、還元系に基づく抗酸化力や末梢血流量増加効果 (阿岸, 1994) などの作用により、皮膚に好影響を与えたものと推察された。弾力性の向上は、当然美肌効果に関連していることから、硫黄系温泉水の美肌効果に対するこれま

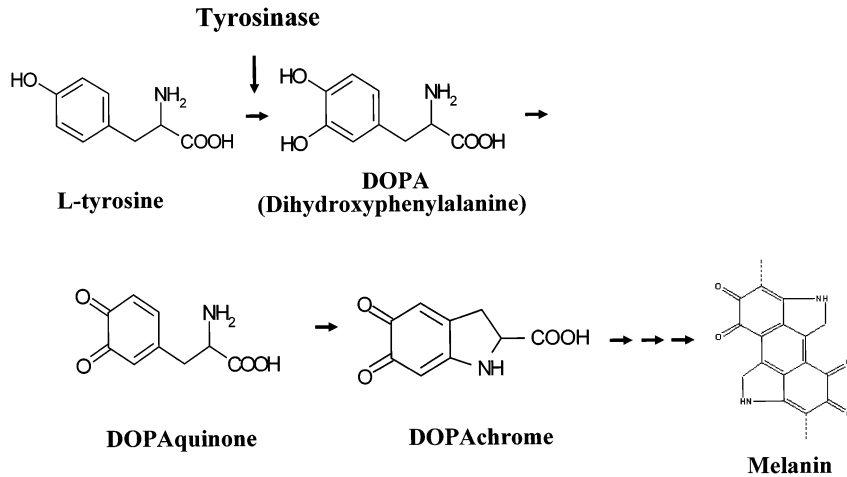


Fig. 1 Melanin formation mechanism.

図 1 メラニン生成メカニズム

での言い伝えの一端を証明することができた。

そこで今回, さらに硫黄系温泉水に対し, 美肌効果の中で美白効果についての検討を行った。美白をもたらすには, 皮膚の漂白作用を含めて, 当然シミ, ソバカスや日焼けによる色素沈着の原因物質となるメラニン生成を抑制することが重要となる。メラニンは皮膚表皮の基底層に存在するメラノサイトで, チロシンを基質として, 酸化酵素のチロシナーゼによりメラニンが生成 (Shirota *et al.*, 1994; 田中, 2006) される (Fig. 1)。それ故, 還元系の温泉水による抗酸化力はチロシナーゼの酸化反応を抑制し, メラニン生成を抑制することが期待される。

そのためには皮膚内への還元系物質の浸透が必要となる。美白剤として知られる還元剤ビタミン C (アスコルビン酸) は, そのままでは皮膚に浸透し難いことから, 皮膚に浸透しやすいビタミン C 誘導体の合成やビタミン C を電気的に皮膚に強制的に浸透させるイオン導入などの手法が取られてきている。温泉水もメラニンを生成抑制する成分の皮膚内への浸透が美白効果の条件となる。

硫黄系温泉水の還元系成分としての硫化水素は, これまで皮膚へ浸透し, 末梢血流量を増加 (阿岸, 1994) させることが知られている。そこで今回, 前報 (大波ら, 2008) と同様に硫黄系温泉としてアルカリ系の野沢温泉およびさらに硫化水素をより多く含む酸性系の高湯温泉 (福島県) の源泉を用いて, それらの温泉水のメラニン生成抑制効果について検討した。

## 2. 実験方法

野沢温泉 (単純硫黄泉: pH=8.4, 総 S=51.6 ppm, H<sub>2</sub>S=2.2 ppm) および高湯温泉源泉 (酸性・含硫黄—カルシウム—硫酸塩泉 (硫化水素型): pH=2.37, H<sub>2</sub>S=148.8 ppm) の試料は, エージングの進行をできるだけ抑制するため, それら源泉に空気が混じらないように現地で採取後, 直ちに冷却しながらクール宅急便で研究室まで輸送した。到着後, それら試料の ORP-pH 関係を素早く測定し, それらの ORP が十分還元系であることを確認し, 直ちに実験に供した。

メラニン生成抑制実験で, はじめにメラニン生成反応の最適 pH を決定するため, リン酸バッファーで pH を各種調製した精製水を用い, それらに基質であるチロシン (0.2 mM) および酸化酵

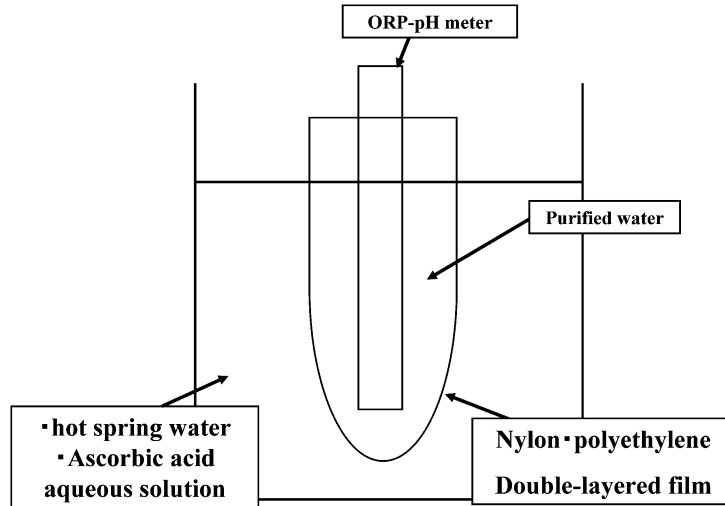


Fig. 2 Scheme of experimental arrangement for film permeation of reductant components.

図 2 還元系成分の膜透過実験の模式図

素のチロシナーゼ (5,370 U/cm<sup>3</sup>) を加え, Fig. 1 に示すメラニン生成過程の中間体であるドーパクロム (dopachrome) の吸光度 (475 nm) の経時変化を観察した (Shirota *et al.*, 1994 ; 田中, 2006). 次に上記温泉水サンプルを, 決定された最適 pH にリン酸バッファーで調製し, 同様にチロシンおよびチロシナーゼを加え, ドーパクロムの吸光度の経時変化を追跡した. なお, pH の調製で加えられるリン酸バッファーはサンプル全体の 10% 以下になるようにした.

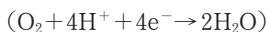
また, 温泉水の還元系のメラニン生成抑制成分が皮膚表面だけでなく皮膚の内側にまで浸透するかどうかの確認実験で, 前報 (大波ら, 2008) と同様に, 水を全く浸透しないナイロン・ポリエチレン 2 重膜 (酸素透過度 59~65 [m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>・日・atm]) を採用した. そのナイロン・ポリエチレン膜を袋状にした内側に精製水を, 外側を温泉水で満たし, それらをスターラーで攪拌しながら, 膜で仕切られた精製水側の ORP-pH 関係を経時的に測定した (Fig. 2).

### 3. 結果および考察

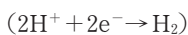
#### 3.1 ORP-pH 関係

Fig. 3 に, アルカリ性の野沢温泉 (●印) および酸性の高湯温泉 (▲印) サンプルの ORP-pH 関係をそれぞれ示す. なお, 図中の上下の実線は, それぞれ(1)および(2)式で示す水の酸化および還元分解する境界線を表す.

$$\text{ORP} = 1.23 - 0.059 \text{ pH} \dots\dots\dots(1)$$



$$\text{ORP} = -0.059 \text{ pH} \dots\dots\dots(2)$$



また, 図中の破線は, 著者ら (大河内ら, 1998 ; Okouchi *et al.*, 2002) が実験的に明らかにした水を酸化系と還元系に分ける (3)式に示す平衡 ORP 線 (ORP<sub>eq</sub>) を表す.

$$\text{ORP}_{\text{eq}} = 0.84 - 0.047 \text{ pH} \dots\dots\dots(3)$$

すなわち, (3)式の平衡 ORP 線より高い ORP 領域は酸化系, 低い領域は還元系, 線上は平衡系をそれぞれ意味する. 野沢および高湯の両温泉サンプルは, pH ではアルカリ性と酸性にそれぞれ分かれるが, ORP 値は共に低く, 還元系を示した. また, それら温泉水を pH7 に調製したサンプル (○および△印) も十分還元系にあることを確認できた.

### 3.2 メラニン生成抑制

Fig. 4 に, pH を各種調製した精製水にチロシンと酵素チロシナーゼを加えた際の, 精製水の pH が吸光度 (475 nm) に及ぼす経時変化を示す. なお, 精製水の pH を変化させても, ORP 値はいずれも (3)式に沿って変化する平衡 ORP 値にあった. これらの吸光度の変化は, Fig. 1 に示す基質のチロシンが酸化酵素のチロシナーゼによりメラニン生成過程の中間体として生成したドーパクロムを, 475 nm の吸光度変化から観測したもので, そのドーパクロムはさらに自動的に重合を繰り返しメラニンが生成される. pH の影響は, 酵素の最適条件の pH7 よりずれることにより, 吸光度は上昇し難く, 反応が抑制されていることが分かる. それ故, 温泉サンプルはいずれも pH7 に調製し, それらの ORP-pH 関係を Fig. 3 に示してある. なお, Fig. 5 には, メラニン生成反応の進行にともなう代表的な水溶液の色の变化を示した. 初めの無色から, 明るいエンジ色, 茶系, 最後にメラニン生成による黒色となった.

Fig. 6 に, pH7 に調整した野沢 (○印) および高湯 (△印) 温泉サンプルに対して, チロシン, チロシナーゼの酵素反応させて生成するドーパクロムの吸光度 (475 nm) の経時変化を示す. pH7 に調製した精製水 (◆印) では時間の経過とともに吸光度は上昇しドーパクロムが生成し, メラニン生成反応が進行した. 一方, 両温泉サンプル (○, △印) 共に, 吸光度は上昇せず, ドーパクロムは生成されず, メラニン生成反応が抑制される結果を示した.

Fig. 7 には, 還元剤として代表的なアスコルビン酸水溶液 (100 mM) を加えて, 両温泉サンプルの時間経過にともなう水溶液の色の变化を示した. いずれも pH7 に調製したサンプルである. 精製水では, ドーパクロムが時間とともに生成し, 着色が進行しているのに反し, 両温泉サンプルおよ

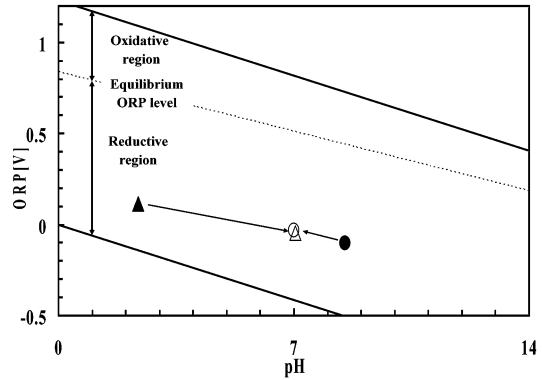


Fig. 3 ORP-pH relationships of hot spring water samples and their pH-adjusted samples (pH 7).

● : Water sample from Nozawa spa. ○ : Water sample from Nozawa spa adjusted in pH7. ▲ : Water sample from Takayu spa. △ : Water sample from Takayu spa adjusted in pH7.

図 3 温泉サンプルおよびそれらの pH 調整 (pH 7) したサンプルの ORP-pH 関係

● : 野沢温泉 (アルカリ性), ○ : 野沢温泉 (pH7), ▲ : 高湯温泉 (酸性), △ : 高湯温泉 (pH7)

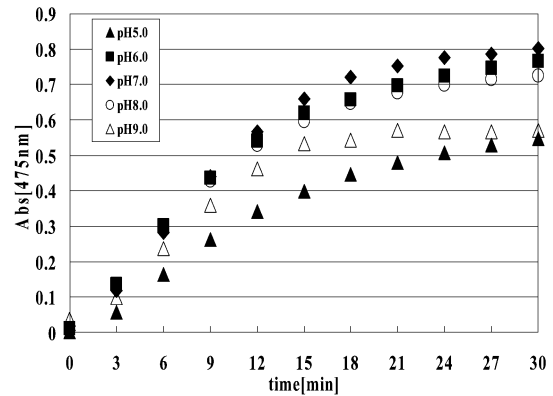


Fig. 4 Effects of pH on variations in absorbance (475 nm) due to dopachrome produced as an intermediate in melanin formation reaction.

図 4 メラニン生成反応における中間体ドーパクロム生成による吸光度 (475 nm) の pH による影響

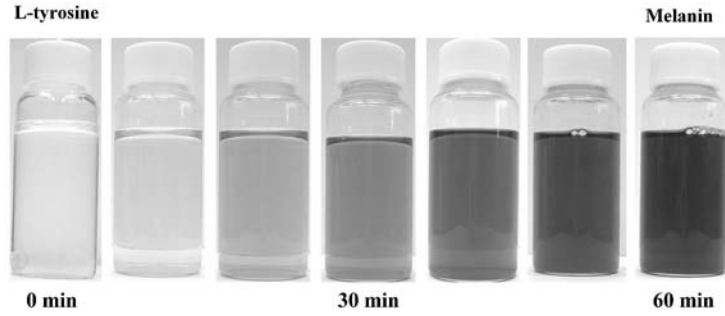


Fig. 5 Chromatic change of aqueous solution with time in melanin formation reaction.

図 5 メラニン生成反応における水溶液の色の变化

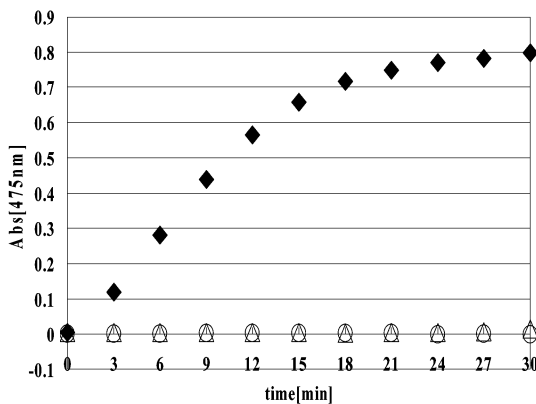


Fig. 6 Variation in absorbance (475 nm) with time of water samples from Nozawa and Takayu spas in melanin formation reaction.

◆ : Purified water (pH 7). ○ : Water sample from Nozawa spa (pH 7). △ : Water sample from Takayu Spa (pH 7).

図 6 メラニン生成反応における野沢および高湯温泉水による吸光度 (475 nm) の経時変化

◆ : 精製水 (pH7), ○ : 野沢温泉 (pH 7), △ : 高湯温泉 (pH 7)

びアスコルビン酸水溶液とともに、着色は見られずメラニン生成反応が抑制される結果を示した。すなわち、還元系の硫黄系温泉水およびアスコルビン酸水溶液は、メラニン生成を抑制することが分かる。酸化系酵素、チロシナーゼの作用をそれと逆の還元成分が抑制した結果と思われる。

なお、pH 未調整の両温泉源泉およびアスコルビン酸水溶液のサンプルについても、当然メラニン生成反応が抑制されることを確認した。

### 3.3 温泉水中の還元系物質の膜透過

アスコルビン酸水溶液および野沢、高湯温泉水に対する還元系物質の膜透過性実験の結果を Fig. 8~Fig. 10 にそれぞれ示した。Fig. 8 に示す酸性で還元系にあるアスコルビン酸水溶液 (■印) では、膜の内側の精製水 (◆印) の ORP-pH 関係は時間経過 (□印) させても変化せず、アスコルビン酸が膜を浸透し

ないことが分かる。一方、アルカリ性の還元系の野沢温泉水 (●印) では、前報 (大波ら, 2008) で示したように時間経過により、膜内の精製水 (◆印) の ORP 値は時間経過に伴い矢印の方向に沿って低下 (○印) し、還元系成分の硫化水素が膜を透過し、膜内精製水の ORP 値を下げるのが確認された (Fig. 9)。さらに、Fig. 10 に示す酸性の還元系高湯温泉水 (▲) でも、時間経過とともに硫化水素が膜を通り、膜内精製水 (◆印) の pH をやや酸性側にシフトさせると同時に、ORP 値を矢印の方向に沿って低下 (△印) させた。pH が酸性側にシフトするのは、膜浸透した硫化水素の解離による結果である。また、二酸化炭素を含む温泉水でも、同様の膜透過実験で膜内の精製水を酸性側にシフトさせた (大網ら, 2008 ; 沼田ら, 2008)。このことは、二酸化炭素も膜を浸透したことを意味する。このことから、本実験で用いたナイロン・ポリエチレン 2 重膜は、水、アスコルビン酸を透過させず、硫化水素、二酸化炭素を透過させる皮膚と類似したバリアー機能を有する膜

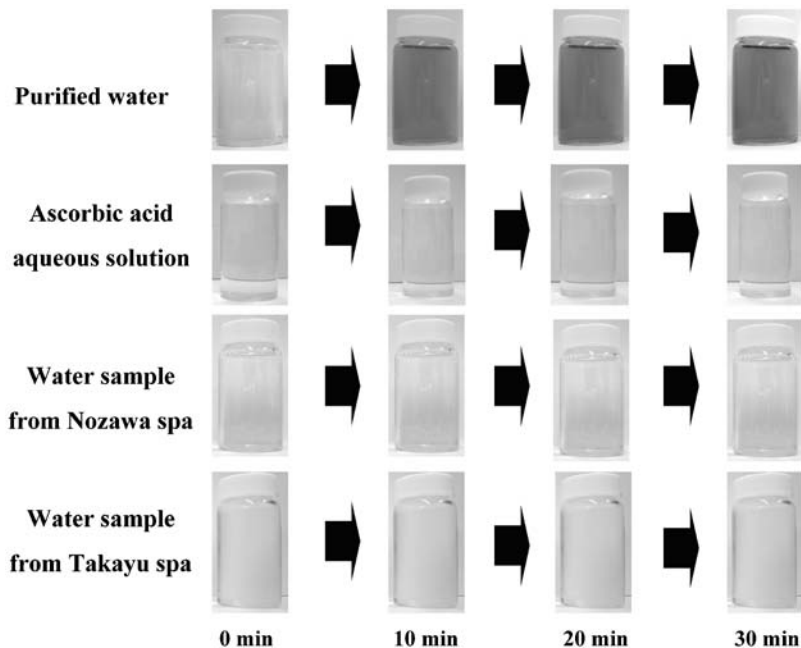


Fig. 7 Chromatic change with time of water samples from Nozawa and Takayu spas, and ascorbic acid aqueous solution in melanin formation reaction.

図 7 メラニン生成反応における還元系の野沢, 高湯温泉水およびアスコルビン酸水溶液による色の経時変化

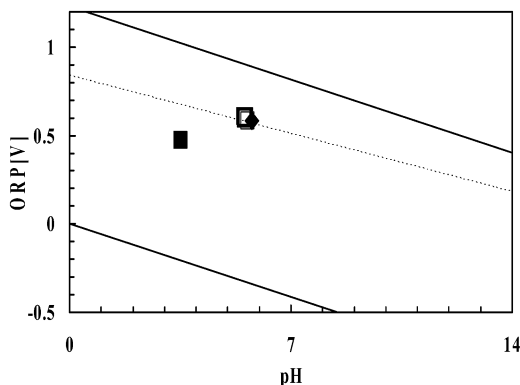


Fig. 8 Variations in ORP-pH in film permeation experiment on ascorbic acid aqueous solution.

◆: Purified water in film enclosure at time 0. □: Variation with time in purified water in film enclosure. ■: Ascorbic acid aqueous solution.

図 8 アスコルビン酸水溶液の膜浸透に及ぼす ORP-pH 変化

◆: 膜内初期精製水, □: 膜内精製水の経時変化, ■: アスコルビン酸水溶液

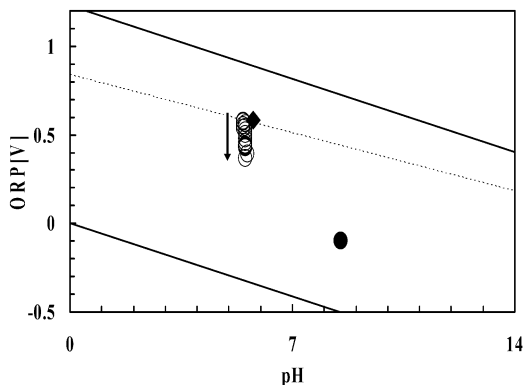


Fig. 9 Variations in ORP-pH in film permeation experiment on water samples collected from Nozawa spa.

◆: Purified water in film enclosure at time 0. ○: Variations with time in purified water in film enclosure. ●: Water sample from Nozawa spa.

図 9 野沢温泉水の膜浸透に及ぼす ORP-pH 変化

◆: 膜内初期精製水, ○: 膜内精製水の経時変化, ●: 野沢温泉水

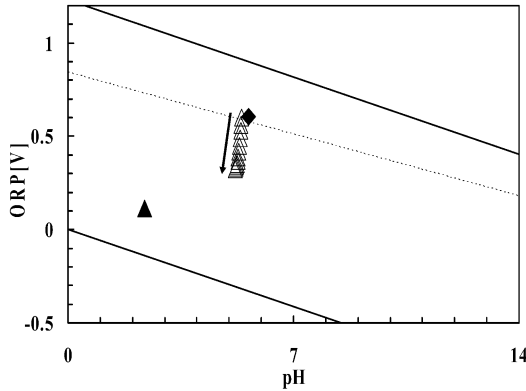


Fig. 10 Variations in ORP-pH in film permeation experiment on water samples collected from Takayu spa. ◆ : Purified water in film enclosure at time 0. △ : Variations with time in purified water in film enclosure. ▲ : Water sample from Takayu spa.

図 10 高湯温泉水の膜浸透に及ぼす ORP-pH 変化  
◆ : 膜内初期精製水, △ : 膜内精製水の経時変化,  
▲ : 高湯温泉水

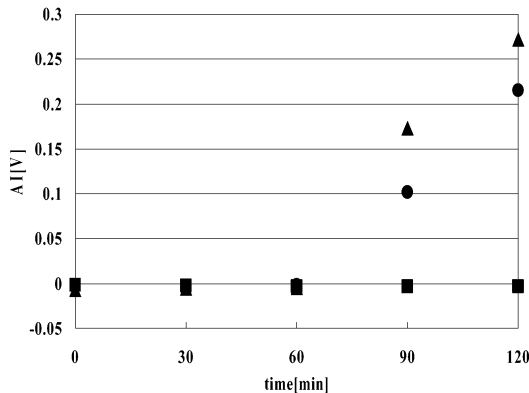


Fig. 11 Variations with time in AI in film permeation experiment. ▲ : Water sample from Takayu spa. ● : Water sample from Nozawa spa. ■ : Ascorbic acid aqueous solution.

図 11 膜浸透における AI の経時変化  
▲ : 高湯温泉, ● : 野沢温泉, ■ : アスコルビン酸水溶液

が皮膚バリアー機能を有する代替膜を浸透することを確認した。これにより、硫黄泉の巷間言い伝えられてきた美肌効果について、皮膚の弾力性の向上や回復に加え、美白効果も期待できる可能性が示された。

であることが確認できた。

Fig. 11 には, Fig. 8~Fig. 10 のそれぞれのデータを, (4) 式で定義した平衡 ORP ( $ORP_{eq}$ ) との差に換算した AI 値 (大河内ら, 1998) と時間の関係で示した。

$$AI = (ORP_{eq} - ORP) \dots\dots\dots(4)$$

すなわち, ORP 値は pH 値の変動を受けて変化することから, その影響を受けない AI 値を用いて整理した。その AI 値が大きい程, より還元系を示し, ゼロは平衡系を意味する。アスコルビン酸水溶液 (■印) は, 時間経過しても AI 値はほぼゼロ付近で, アスコルビン酸は膜を浸透しないことを示している (Fig. 11)。一方, 硫黄系の野沢 (●印) および高湯 (▲印) 温泉水では, 還元系の硫化水素が膜を浸透し, AI 値が時間とともに上昇し, 特に酸性で硫化水素濃度の高い高湯温泉の方が, 硫化水素の膜浸透速度は大きい結果を示した。しかし, 高湯温泉と比較して硫化水素濃度がかなり低い野沢温泉で, 前報 (大波ら, 2008) で示したように皮膚の弾力性の向上や回復効果を報告したが, これは皮膚が弱酸性であることから,  $H^+ + HS^- \rightarrow H_2S$  のように皮膚近傍で, 分析表 (2.2 ppm) 以上の  $H_2S$  が生成され, 皮膚により多くの硫化水素が浸透した可能性も考えられる。しかし, 硫化水素は毒性も有することから, 今後皮膚にとっての最適な硫化水素濃度や浴用時間を含めた浴用法の確立が必要と思われる。

#### 4. ま と め

還元系硫黄泉で, アルカリおよび酸性系共にメラニン生成抑制効果を有することが確認された。さらに, メラニンは皮膚内で生成されるため, 皮膚への有効成分の浸透が重要となることから, それら還元系有効成分 ( $H_2S$ )



## 引用文献

- 阿岸祐幸 (1994) : 温泉と人の生体機能, 日本医師会, **111**, 1561-1565.
- 西村正広, 辻 卓夫 (1992) : ニュータイプの皮膚弾力測定器による人皮膚弾力性の測定, 日皮膚科学, **102**, 1111-1117.
- 沼田恒平, 大河内正一, 大網貴夫 (2008) : 温泉水のエイジングが及ぼすメラニン生成抑制効果への影響, 第 61 回温泉学会大会講演要旨集, p. 13.
- 大網貴夫, 大網英幸, 沼田恒平, 池田 涉, 大河内正一 (2008) : 温泉水の還元系物質によるメラニン生成抑制効果の相違, 第 61 回温泉科学講演要旨, p. 12.
- 大河内正一 (2003) : 生きている温泉とは何か—身体にやさしい生体に近い水を検証する—, くまざき出版, 東京.
- 大河内正一, 水野 博, 草深耕太, 石原義正, 甘露寺泰雄 (1998) : 温泉水のエイジング指標としての酸化還元電位, 温泉科学, **48**, 29-35.
- 大河内正一, 大波英幸, 甲村和之, 森本卓也, 池田茂男 (2005a) : ORP 評価に基づく塩素殺菌した温泉水の泉質変化, 温泉科学, **54**, 155-162.
- 大河内正一, 大波英幸, 庄司未来, 大野慶晃, 池田茂男, 阿岸祐幸, 萩原知明, 鈴木 徹 (2005b) : 電解還元系の人工温泉水の皮膚および髪に与える効果, 温泉科学, **55**, 55-63.
- 大河内正一, 菅野こゆき, 勝本雅之, 鈴木雅樹, 甘露寺泰雄, 漆畑 修 (1999) : 温泉水および皮膚の ORP (酸化還元電位) と pH の関係, 温泉科学, **49**, 59-64.
- 大河内正一, 菅野こゆき, 鈴木雅樹, 甘露寺泰雄 (2000) : 二酸化炭素の ORP と pH の関係, 温泉科学, **50**, 94-101.
- Okouchi, S., Suzuki, M., Sugano, K., Kagamimori, S. and Ikeda, S. (2002) : Water desirable for the human body in terms of oxidation-reduction potential (ORP) to pH relationship, J. Food Sci., **67**, 1594-1598.
- 大河内正一, 竹崎大輔, 大波英幸, 阿岸祐幸, 甘露寺泰雄, 池田茂男 (2003) : 電解還元系の人工温泉について, 温泉科学, **53**, 1-9.
- 大河内正一, 竹崎大輔, 大波英幸, 首藤祐樹, 池田茂男, 見城由紀夫, 阿岸祐幸 (2002) : 二酸化炭素による末梢血流量増加の 2 次元的可視化について, 温泉科学, **52**, 12-19.
- 大河内正一, Aileem Tamura, 外山知子, 大波英幸, 大網貴夫, 森本卓也, 阿岸祐幸, 安部寛史, 池田茂男 (2008) : ヨーロッパと日本の温泉 (飲泉) 水およびミネラルウォーターの ORP (Oxidation-Reduction Potential) と pH の関係, 温泉科学, **57**, 185-195.
- Ohnami, S., Koumura, K., Ikeda, S. and Okouchi, S. (2003) : ORP (oxidation-reduction potential) —pH relationship between hot spring waters and human body fluids, Proceedings of the 38th Conference of Societe Internationale des Techniques Hydrothermales (Beppu, Ohita, Japan), 320-325.
- 大波英幸, 森本卓也, 漆畑 修, 池田茂男, 大河内正一 (2008) : 還元系温泉水の入浴による皮膚の弾力性に与える影響—野沢温泉—, 温泉科学, **57**, 215-225.
- Shirota, S., Miyazaki, K., Aiyama, R., Ichioka, M. and Yokokura, T. (1994) : Tyrosinase Inhibitors from Crude Drugs, Biol. Pharm. Bull., **17**, 266-269.
- 高橋元次 (1993) : 最近の皮膚老化の測定法, Fragrance J., No. **10**, 16-25.
- 田中良昌 (2006) : 皮膚の抗老化最前線 (アンチエイジングシリーズ 2), 87-93, エヌ・ティー・エス, 東京.