

青森県産黒房すぐりと赤房すぐりの葉の炭水化物の比較研究

Comparative study of the carbohydrates in blackcurrant and redcurrant leaves from Aomori Prefecture

野田 聡子*・林田 大志**・島田 透***

Satoko NODA*・Taishi HAYASHIDA**・Toru SHIMADA***,

千葉 直子****・大水 達也****・加藤 陽治*

Naoko CHIBA****・Tatsuya OMIZU****・Yoji KATO*

論文要旨

弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター藤崎農場において栽培している黒房すぐりおよび赤房すぐりの葉の炭水化物組成を調べた。葉乾燥粉末1gあたりの全炭水化物量（内訳、単糖・オリゴ糖：細胞壁多糖）は、黒房すぐりで213.5 mg（67.9 mg：145.6 mg）、赤房すぐりで239.7 mg（87.0 mg：152.7 mg）であった。単糖・オリゴ糖画分のグルコース：フルクトース：スクロースの割合は黒房すぐりでは48.2：16.8：35.0で、赤房すぐりでは48.2：16.8：35.0であった。細胞壁多糖はいずれもペクチン（おもに中性糖を含むラムノガラクトツロナン）、ヘミセルロース（おもにキシログルカン、ガラクトタン系多糖およびキシラン系多糖）およびセルロースから成っており、これらの比率は黒房すぐりで35.1：35.3：29.6、赤房すぐりで28.4：45.4：26.3であった。両者での炭水化物組成に大きな違いは認められなかった。

キーワード：黒房すぐり、赤房すぐり、葉の炭水化物、カシス

1. 緒言

我々は、青森県産農林水産物の高付加価値化研究を進めている。その研究対象の一つにカシスがある。カシスはユキノシタ科スグリ属フサスグリ亜種に分類される植物で、白房すぐり、赤房すぐりとともに3種のフサスグリ亜種の中の一つである。日本では黒房すぐりと呼ばれ、カシスという呼び名はフランス語由来であり、英語名はブラックカラントである。植物としての特徴は樹高1.5～2mの落葉低木であり、葉は互生、直径1cm程の黒っぽい実を鈴なりにたくさんつけることにある。収穫は7～8月にかけて行われる。夏期の冷涼な気候がカシスの栽培に適している。1975年に

ヨーロッパの苗木が弘前大学の研究者の渡欧を機に青森市に持ち込まれた現「あおりカシス」が農協婦人部によって組織的に栽培の広がりを見せ¹⁾、ここ数年では県内各地で栽培がさらに広がりつつある。2017年の県内での収穫量は約16.5 tと見積もられており、日本一の生産量を誇っている。「あおりカシス」は地理的表示登録産品第1号（平成27年12月22日）でもあるが、青森県外でもカシスの栽培は増加している。

黒房すぐり果実に含まれる健康機能性成分の効果効能については、それらに含まれるアントシアニンやポリフェノールの効果として、緑内障進行抑制作用、眼精疲労改善、近視化抑制効果、フィトエストロゲン活

* 弘前大学教育学部家政教育講座食物学研究室

Laboratory of Food Science, Department of Home Economics, Faculty of Education, Hirosaki University

** 弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育研究センター

Fujisaki Farm, Teaching and Research Center for Bio-coexistence, Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University

*** 弘前大学教育学部理科教育講座

Department of Science, Faculty of Education, Hirosaki University

**** 弘前倉庫株式会社

Hirosaki Warehouse Co.,Ltd

性、抗インフルエンザウイルス作用、抗ヘルペスウイルス効果、抗肥満、血中コレステロール上昇抑制、筋肉疲労の軽減、筋肉損傷の軽減、筋肉回復の促進、運動後の感染症の予防、紫外線による遺伝子損傷および酸化損傷の抑制²⁻²³⁾など、また、含まれる多糖類²⁴⁾には抗アレルギー作用、抗腫瘍効果などがあることが報告されている。最近、黒房すぐりの果実には抗糖化作用を有する新規のヘテロ多糖の存在も報告²⁵⁾されている。

一方、黒房すぐりの葉に含まれている生理活性成分の検索とその利用も重要であると考えている。長岐らは「あおりカシス」の精油に含まれる化合物を同定している²⁶⁾。本稿では、青森県産黒房すぐりや赤房すぐりの葉が有する多糖類の機能性を明らかにするための予備的実験として葉の細胞壁多糖類について調べた。

II. 実験方法

1) 材料

弘前大学農学生命科学部附属生物共生教育センター藤崎農場にて栽培している黒房すぐりおよび赤房すぐりの葉を採取して、それぞれを凍結乾燥後乳鉢で磨砕したものを用いた。

2) 80%エタノール可溶性画分の調製²⁷⁾

黒房すぐりおよび赤房すぐりの葉粉末各1gに80%エタノール30 mLを加え、100°Cで2時間加熱した。冷却後遠心操作(30分、3,000 rpm、18°C)を行い上清と沈殿に分けた。沈殿に再び80%エタノール30 mLを加え、同様の操作を行った。沈殿にアセトン20 mLを加え攪拌後、遠心操作(30分、3,000 rpm、18°C)を行い上清(アセトン洗浄液)と沈殿に分けた。沈殿に再びアセトン20 mLを加え、同様の操作を行った。

80%エタノール抽出の上清とアセトン洗浄液をあわせて、エバポレーターにて濃縮乾固後、濃縮物を蒸留水で溶解し遠心操作(30分、5,000 rpm、18°C)した上清を単糖・オリゴ糖画分とした。また、アセトン洗浄沈殿を室温にて乾燥させたものを80%エタノール不溶性画分とした。

3) 80%エタノール不溶性画分の分画²⁷⁾

黒房すぐりおよび赤房すぐりそれぞれの80%エタノール不溶性画分に0.25%のシュウ酸アンモニウム30 mLを加え、100°Cで2時間加熱した。冷却後遠心操作(30分、3,000 rpm、18°C)を行い上清と沈殿に

分けた。沈殿に再び80%エタノール30 mLを加え、同様の操作を2度行った。得られた上清をあわせ、セルロースチューブ(三光純薬株式会社 透析膜36/32)で透析を行った。この透析内液を、ペクチン様画分(P S画分)とした。

0.25%シュウ酸アンモニウム抽出残渣に、4%の水酸化カリウム30 mLを加え、振とう機に24時間かけ、遠心操作(30分、3,000 rpm、18°C)を行い、上清と沈殿に分けた。沈殿に再び4%の水酸化カリウム30 mLを加え、同様の操作を2度行った。得られた上清をあわせ酢酸で中和した後、セルロースチューブ(三光純薬株式会社 透析膜36/32)で透析を行った。この透析内液をヘミセルロース-I画分(HC-I画分)とした。

4%の水酸化カリウム抽出残渣に24%の水酸化カリウム30 mLを加え、振とう機に24時間かけ、遠心操作(30分、3,000 rpm、18°C)を行い、上清と沈殿に分けた。沈殿に再び24%の水酸化カリウム30 mLを加え、同様の操作を2度行った。得られた上清をあわせ酢酸で中和した後、セルロースチューブ(三光純薬株式会社 透析膜36/32)で透析を行った。この透析内液を、ヘミセルロース-II画分(HC-II画分)とした。

24%水酸化カリウム抽出残渣は酢酸、水、エタノール、アセトンで順次洗浄した後凍結乾燥し、セルロース画分(CL画分)とした。

4) 全糖量の測定

フェノール・硫酸法²⁸⁾にて測定を行った。黒房すぐり、赤房すぐりの各画分を適当な濃度に希釈し0.5 mLに調製したサンプルに0.5 mLの5%フェノール水溶液と2.5 mLの濃硫酸を加えてよく混合した。室温に30~40分放置後、分光光度計U-1500で490 nmの吸収波長にて、グルコース相当量として全糖量を測定した。

5) 酸性糖量の測定

カルバゾール・硫酸法²⁹⁾にて測定を行った。黒房すぐり、赤房すぐりの各画分を適当な濃度に希釈し、0.5 mLに調製したサンプルに2.5 mLのカルバゾールA液(ホウ酸ナトリウム十水和物30.979 gを濃硫酸6kgに溶解したもの)を加えよく混合し、沸騰湯浴中で10分加熱し、その後室温まで水冷した。次に0.1 mLのカルバゾールB液(カルバゾール375 mgをメチルアルコール300 mLに溶解したもの)を加えよく混合し、沸騰湯浴中で15分間加熱し、その後室温まで水冷した。その後分光光度計U-1500で530 nmの吸収波長にて、ガ

ラクツロン酸相当量として酸性糖量を測定した。

6) 単糖・オリゴ糖の分析

黒房すぐりおよび赤房すぐりの葉の単糖・オリゴ糖画分において、全糖量100 μ g 相当を液量1 mL に調製し、減圧乾固後10 μ g の2-DG (2-デオキシグルコース) を加え190 μ L の蒸留水で溶解し、フィルター濾過した後分析を行った。分析にはイオンクロマト DX-300 (日本ダイオネックス社) を用いた。分離カラムは CarboPac PA1 を、ガードカラムは CarboPac PA1 GUARD を用いた。分析は溶離液 A (100 mM 水酸化ナトリウム) と溶離液 B (500 mM 酢酸ナトリウム/100 mM 水酸化ナトリウム) を用い、0 分時に A : B = 100 : 0 で、30 分時に A : B = 70 : 30 になるように直線的グラジェントで、1.0 mL/分の流速で行った。検出はパルスドアンペロメトリー検出器 (金電極) を用いた。標準物質としてグルコース (Glc)、フルクトース (Fur)、スクロース (Suc) を用いた³⁰⁾。

7) 構成糖の分析

赤房すぐり、黒房すぐりの P S 画分、H C - I 画分、H C - II 画分において、全糖量100 μ g 相当を液量1 mL に調製し、2 M TFA (トリフルオロ酢酸) 1 mL を加え、100°C のオープンで3時間加熱し加水分解を行った。その後減圧乾固し、半日デシケーターで保持し酢酸臭を取り除いた。それに内部標準物質として10 μ g の2-DG を加え190 μ L の蒸留水で溶解しフィルター濾過した後分析を行った。

C L 画分は5 mg に0.5 mL の72% 硫酸を加え超音波で1時間処理した後、硫酸濃度が1.5 M になるように蒸留水希釈して100°C で3時間加水分解した。反応物を炭酸バリウムを過剰に加え攪拌後、室温にて一晩静置し、中和したことを確認した上で内部標準物質として100 μ g の2-DG を加え、遠心操作 (30分、3,000 rpm、18°C) を行った。遠心上清に Anberlite IR-120 を加え脱塩処理を行い、濾紙で濾過した後、減圧乾固した。最後に200 μ L の蒸留水で溶解し、フィルター濾過した後分析を行った。

分析にはイオンクロマト DX-300 (日本ダイオネックス社) を用いた。分離カラムは CarboPac PA1 を、ガードカラムは CarboPac PA1 GUARD を用いた。分析は溶離液として超純水を用い、1.0 mL/分の流速で行った。検出はパルスドアンペロメトリー検出器 (金電極) を用いた。標準単糖としてフコース (Fuc)、アラビノース (Ara)、ラムノース (Rha)、ガラクトー

ス (Gal)、グルコース (Glc)、キシロース (Xyl)、マンノース (Man) を用いた³⁰⁾。

8) PS 画分の DEAE-Sephadex A-25 クロマトグラフィー

黒房すぐり PS 画分 (38.57 mg グルコース相当量) を10 mL の20 mM 酢酸緩衝液 (pH 5.5) に溶解、遠心操作 (5,000 rpm、30分) にて不溶物を除去して、上清を同緩衝液で平衡化した DEAE-Sephadex A-25 カラム (直径2.5cm \times 27cm) にのせ、20 mM 酢酸緩衝液、0.25 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液、0.5 M 食塩を含む同緩衝液、0.75M 食塩を含む同緩衝液、1 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液、1 M 水酸化ナトリウムで順次溶出した。溶出液は5 mL ずつフラクシオンコレクターにて集めた。赤房すぐり P S 画分 (38.57mg グルコース相当量) も同様に行った。

III. 結果及び考察

黒房すぐりおよび赤房すぐりの葉を乳鉢磨砕により粉末化し、それぞれ1 g を80% エタノール抽出操作に供した。抽出物を減圧濃縮乾固後、水に可溶性のものを「単糖・オリゴ糖画分」とした。乾燥粉末1 g から得られた単糖・オリゴ糖画分の糖量は黒房すぐりで67.9 mg、赤房すぐりで87.0 mg であった。これら単糖・オリゴ糖画分を構成している糖の種類を調べるために陰イオンクロマトグラフィーに供した。グルコース : フルクトース : スクロースは黒房すぐりで48.2 : 16.8 : 35.0、赤房すぐりで28.2 : 9.8 : 20.5 であった。

80% エタノール不溶性画分は細胞壁に相当するが、0.25% シュウ酸アンモニウム、4% 水酸化カリウム、24% 水酸化カリウムで順次抽出分画し、得られたペクチン画分 (P S 画分)、ヘミセルロース - I 画分 (H C - I 画分)、ヘミセルロース - II 画分 (H C - II 画分) および抽出残渣であるセルロース画分 (C L 画分) の収量と構成糖組成をまとめたのが表 1 と表 2 である。表 2 にみられる各画分の構成糖比とこれまでに知られている細胞壁構成多糖の種類³¹⁾ から判断すると、いずれもペクチン画分 (P S) はおもに中性糖を含むラムノガラクトナン、ヘミセルロース画分 (H C - I と H C - II) はおもにキシラン系多糖、ガラクトナン系多糖およびキシログルカン、セルロース画分 (C L) はセルロース (グルカン) からそれぞれ構成されていると考えることができる。黒房すぐりおよび赤房すぐりでの P S : H C - I : H C - II : C L の比率は、それぞれ35.1 : 35.3 : 29.6、および28.4 : 45.4 :

表1. 黒房すぐりと赤房すぐりの葉から得られた各画分の糖量

画 分	糖 量 (mg/ 粉末1g)	
	中性糖量 (Glc 相当量)	酸性糖量 (GalUA 相当量)
黒房すぐり (ブラックカラント)		
80%メタノール可溶性画分		
単糖・オリゴ糖	67.9	28.0
80%メタノール不溶性画分 (細胞壁多糖画分)		
PS: ペクチン質 (0.25%シュウ酸アンモニウム抽出画分)	51.1	86.6
HC-I: ヘミセルロース - I (4%水酸化カリウム抽出画分)	20.4	10.7
HC-II: ヘミセルロース - II (24%水酸化カリウム抽出画分)	31.0	5.9
CL: セルロース (24%水酸化カリウム抽出残渣画分)	43.1	2.2
合 計	213.5	133.4
赤房すぐり (レッドカラント)		
80%メタノール可溶性画分		
単糖・オリゴ糖	87.0	31.5
80%メタノール不溶性画分 (細胞壁多糖画分)		
PS: ペクチン質 (0.25%シュウ酸アンモニウム抽出画分)	43.3	91.6
HC-I: ヘミセルロース - I (4%水酸化カリウム抽出画分)	30.2	13.6
HC-II: ヘミセルロース - II (24%水酸化カリウム抽出画分)	39.2	7.5
CL: セルロース (24%水酸化カリウム抽出残渣画分)	40.0	8.3
合 計	239.7	152.5

表2. 黒房すぐりと赤房すぐり細胞壁各画分の構成糖組成

画分	構 成 糖 (%)							
	U.A.	Fuc	Ara	Rha	Gal	Glc	Xyl	Man
黒房すぐり								
PS	75.6	0.2	8.3	2.0	9.5	2.7	0.8	0.9
HC-I	20.8	0.9	15.7	2.5	19.0	11.1	29.0	1.0
HC-II	0	2.7	14.8	3.6	19.5	25.9	31.4	2.1
CL	0	0.8	3.3	0	1.9	86.2	7.1	0.8
赤房すぐり								
PS	71.9	0.2	8.3	2.2	5.6	10.6	0.7	0.6
HC-I	12.6	0.5	10.7	1.9	11.7	44.7	16.9	1.0
HC-II	0	2.4	14.5	3.2	15.2	36.2	26.3	2.3
CL	0	0.5	2.4	0	0.9	90.5	4.7	1.0

26.3で大きな差はなく類似していることがわかった。

さらに細胞壁多糖の主要画分であるPS画分を詳細に比較するために、DEAE-Sephadex A-25クロマトグラフィーに供した。20 mM 酢酸緩衝液、0.25 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液、0.5 M 食塩を含む同緩衝液、0.75 M 食塩を含む同緩衝液、1 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液、1 M 水酸化ナトリウムで順次溶出した。黒房すぐりでは、0.25 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (PS-2、-3)、0.5 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (PS-4)、1 M 水酸化ナトリウム (PS-5) で溶出した4画分に糖の溶出が認められた (図1A)。一

方赤房すぐりでは0.25 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (PS-1、-2、-3)、0.5 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (PS-4)、1 M 水酸化ナトリウム (PS-5) で溶出した5画分に糖の溶出が認められた (図1B)。それぞれの画分の収量と構成糖比をまとめたのが表3である。黒房すぐりと赤房すぐりのPS-4画分がそれぞれPSの約80%と約50%と多くを占めるが、共に構成糖はガラクトン酸が85~88%を占め、ラムノースを構成糖として有することからラムノガラクトナンであると考えられる。また、黒房すぐりのPS-2および、赤房すぐりPS-1と-2はアラビノガラクトン側鎖

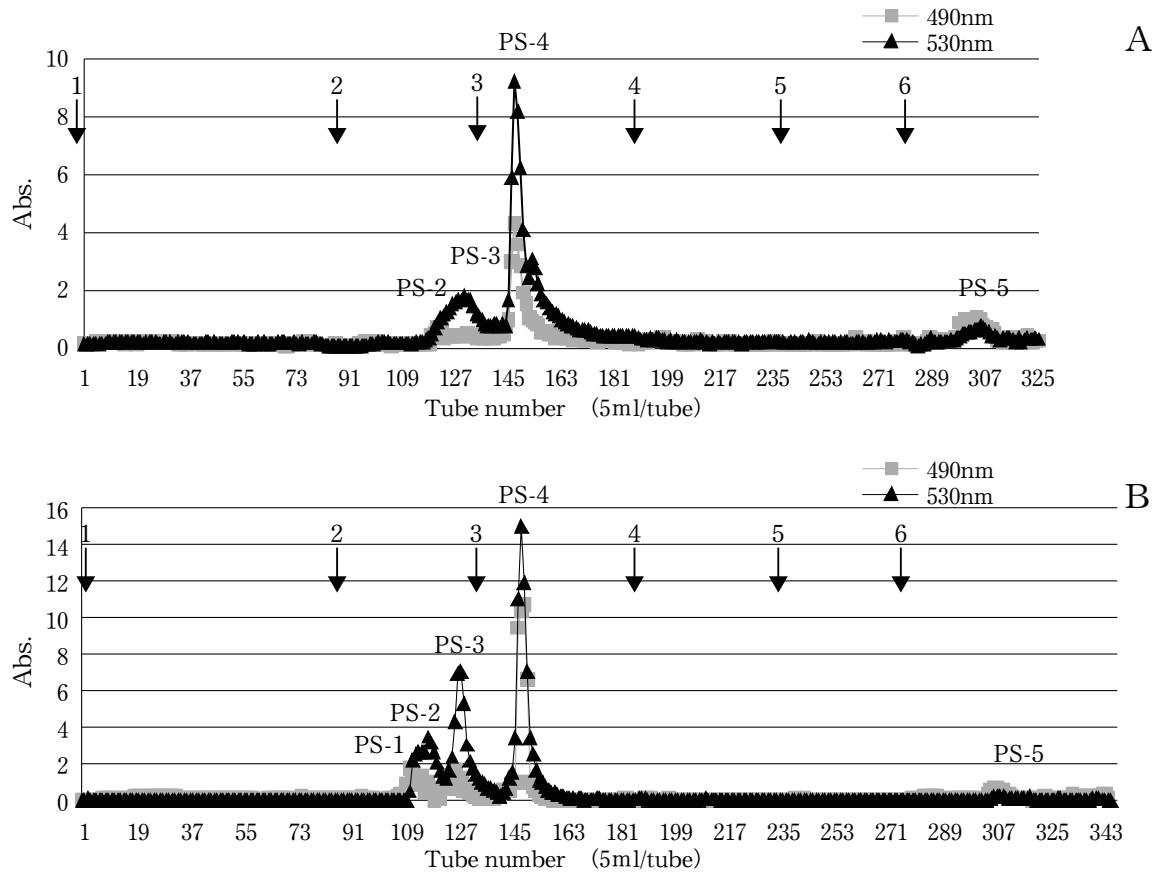


図1. 黒房すぐり (A) と赤房すぐり (B) のペクチン (PS) 画分の DEAE-Sephadex A-25 クロマトグラフィーによる分画
 20 mM 酢酸緩衝液 (矢印1)、0.25 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (矢印2)、0.5 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (矢印3)、
 0.75 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (矢印4)、1 M 塩化ナトリウムを含む同緩衝液 (矢印5)、1 M 水酸化ナトリウム (矢印6) で順次溶出した。各試験管内液をフェノール・硫酸法 (Abs 490 nm) およびカルバ
 ザール・硫酸法 (Abs 530 nm) で定量した。各ピーク (PS-1~ PS-5) は脱塩水に対し透析後凍結乾燥した。

表3. 黒房すぐりと赤房すぐりのペクチン (PS) 画分の DEAE-Sephadex A-25 クロマトグラフィー分画で得られた各画分の
 構成糖組成

画分	酸性糖量 GalUA 相当量	中性糖量 Glc 相当	構 成 糖 (%)							
			U.A.	Fuc	Ara	Rha	Gal	Glc	Xyl	Man
黒房すぐり	mg	mg								
PS-1										
PS-2	0.6	0.8	29.5	0.1	12.4	3.6	34.9	8.2	7.7	3.7
PS-3	5.5	2.6	80.1	0.1	8.2	1.5	8.8	1.7	1.1	0.6
PS-4	28.6	10.5	87.8	0.2	4.3	1.5	4.9	0.7	0.6	0.1
PS-5	1.6	1.8	47.6	0.4	11.9	3.4	22.3	10.7	1.9	1.8
赤房すぐり	mg	mg								
PS-1	3.3	2.4	50.1	0.2	21.3	3.8	17.2	4.6	2.6	0.3
PS-2	6.3	2.6	71.2	0.2	1.9	3.5	10.3	1.6	1.2	0.3
PS-3	12.0	3.3	87.7	0.1	4.9	1.4	4	1.2	0.5	0.2
PS-4	20.7	6.3	85.3	0.2	5.9	2.0	5.1	0.8	0.7	0.1
PS-5	0.4	0.4	1.4	0.1	12.1	1.7	14.4	66.8	1.8	1.8

を有するラムノガラクトツロナンであると考えられる。

今回の結果から、黒房すぐりと赤房すぐりの細胞壁を構成している多糖類の組成には大きな違いがないことがわかった。黒房すぐり果実エキスから得られる多糖²⁴⁾の抗アレルギー作用、抗腫瘍効果は、エキスから分離した多糖の部分分解物であるが、ペクチン様多糖である。両すぐりに含まれるペクチンの詳細な構造解析と機能性研究が必要である。

引用文献

- 1) 宮入隆：小果樹類の生産振興と市場創出の可能性：あおもりカシスを事例に。開発論集, 99, 133-157 (2017)
- 2) H. Nakaishi, H. Matsumoto, S. Tominaga, M. Hirayama: Effects of black currant anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alteration in healthy humans: *Altern. Med. Rev.*, 5(6)553-562 (2000)
- 3) H. Matsumoto, H. Inabe, M. Kishi, S. Hirayama, T. Tsuda: Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. *J. Agric. Food Chem.*, 49(3) 1546-1551 (2001)
- 4) Y. M. Knox, K. Hayashi, T. Suzutani, M. Ogasawara, I. Yoshida, R. Shiina, A. Tsukui, N. Terahara, M. Azuma: Activity of antocyanins from fruit extract of *Ribes nigrum* L. against influenza A and B viruses. *Acta Virol.*, 45, 209-215 (2001)
- 5) M. P. Kahkonen, J. Heinamaki, V. Ollilainen, M. Heinonen: Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *J. Sci. Food Agric.*, 83(14) 1403-1411 (2003)
- 6) H. Matsumoto, Y. Nakamura, S. Tachibanaki, S. Kawamura, M. Hirayama: Stimulatory effect of cyanidin 3-glycosides on the regeneration of rhodopsin. *J. Agri. Food Chem.*, 4, 51(12) 3560-3563 (2003)
- 7) H. Matsumoto, K. Ito, K. Yonekura, M. Ichihashi: Improvement of shade ring under the eyes by blackcurrant polyphenol intake (in Japanese). *Hifu no Kagaku* 4(5), 49-497 (2005)
- 8) A. Noguchi, T. Takeda, T. Watanabe, H. Yasui: Inhibitory effect of cassis extract against influenza virus infection. *J. Fac. Agric. Shinshu Univ.*, 44, 1-8 (2008)
- 9) K. A. Lyall, S. M. Hurst, J. Cooney, D. Jensen, K. Lo, R. D. Hurst, L. M. Stevenson: Short-term blackcurrant extract consumption modulates exercise-induced oxidative stress and lipopolysaccharide-stimulated inflammatory responses. *Ann. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 297(1)R70-81 (2009)
- 10) V. Nour, I. Trandafir, M. E. Ionica: Ascorbic acid, anthocyanins, organic acids and mineral content of some black and red currant cultivars. *Fruits*, 66(5), 353-362 (2011)
- 11) V. Gavrilova, M. Kajdzanoska, V. Gjamovski, M. Stefova: Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC-DAD-ESI-MSn. *J. Agric. Food Chem.*, 59(8), 4009-4018 (2011)
- 12) A. Yamamoto, S. Kawaguchi, K. Nakashima, Y. Kamitai, Y. Kato: The Anti-mutagenic activities of blackcurrant extract; Evaluation using *Saccharomyces cerevisiae* LOH system. *Genes and Environment*, 34, 115-122 (2012).
- 13) H. Ohguro, I. Ohguro, M. Katai, S. Tanaka: Two-year randomized, placebo-controlled study of black currant anthocyanins on visual field in glaucoma. *Ophthalmologica*, 228, 26-35 (2012)
- 14) B. Djordjevic, K. Svikin, G. Zdunic, T. Vulic, D. Pljevljakusic, C. Oparnica: Biochemical properties of the fresh and frozen black currants and juices. *J. Med. Food*, 16(1), 73-81 (2013)
- 15) B. Miladinovic, M. Kostic, K. Savikin, B. Dordevic, T. Mihajilov-Krstev, S. Zivanovic, D. Kitic: Chemical profile and antioxidative and antimicrobial activity of juices and extracts of 4 black currants varieties (*Ribes nigrum* L.). *J. Food Sci.*, 79(3) C301-309 (2014)
- 16) M. Butnariu: Detection of the polyphenolic components in *Ribes nigrum* L.. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 21(1) 11-14 (2014)
- 17) B. S. Dordevic, D. S. Pljevljakusic, K. P. Savikin, T. R. Stevic, D. J. Bigovic: Essential oil from blackcurrant buds as chemotaxonomy marker and antimicrobial agent. *Chem. Biodivers.*, 11(8), 1228-1240 (2014)
- 18) A. Yamamoto, K. Nakashima, S. Kawamorita, A. Sugiyama, M. Miura, Y. Kamitai, Y. Kato: Protective effects of raw and cooked blackcurrant extract on DNA damage induced by hydrogen peroxide in human lymphoblastoid cells. *Pharmaceutical Biology*, 52, 782-788 (2014).
- 19) 藤田俊文, 富澤登志子, 北島麻衣子, 高間木静香, 七島直樹, 前多隼人, 加藤陽治, 岩田学: カシスアントシアニン摂取が酸化ストレスに及ぼす影響. 第51回日本理学療法学会大会抄録 (2015)
- 20) N. Nanashima, K. Horie, T. Tomisawa, M. Chiba, M. Nakano, T. Fujita, H. Maeda, M. Kitajima, S. Takamagi, D. Uchiyama, J. Watanabe, T. Nakamura, Y. Kato: Phytoestrogenic activity of blackcurrant (*Ribes nigrum*) anthocyanins is mediated through estrogen receptor alpha. *Mol. Nutr. Food Res.*, 00, 1-13 (2015) DOI 10.1002/mnfr.201500479
- 21) A. Yamamoto, T. Hirouchi, S. Kawamorita, K. Nakashima, A. Sugiyama, Y. Kato: Radio- protective activity of blackcurrant extract evaluated by in vitro micronucleus and gene mutation assays in TK6 human lymphoblastoid cells. *Genes and Environment*, 39, 22 (2017)
- 22) N. Nanashima, K. Horie, M. Chiba, M. Nakano, H. Maeda, T. Nakamura: Anthocyanin-rich black- currant extract inhibits proliferation of the MCF10A healthy human breast epithelial cell line through induction of G0/G1 arrest and apoptosis. *Molecular Medicine Reports*, <https://doi.org/>

- 10.3892/nmr.2017.7391 (2017)
- 23) N. Nanashima, K. Horie, Hayato Maeda: Phytoestrogenic activity of blackcurrant anthocyanins is partially mediated through estrogen receptor beta. *Molecules*, 23(1) 74 (2018)
- 24) 足海洋史, 川地孝康治, 矢内隆章, 山本玲子, 高田良二: カシス多糖の健康機能性に関する研究. 果汁協会報, 691, 10-16 (2016)
- 25) Y. Xu, G. Liu, Z. Yu, X. Song, X. Li, Y. Yang, L. Wang, L. Liu, J. Dai: Purification, characterization and antiglycation activity of a novel polysaccharide from black currant. *Food Chemistry*, 199, 694-701 (2016)
- 26) M. Nagaki, M. Kasai, Y. Goto, S. Kudo: Phytochemical analysis of the leaf of the blackcurrant (Aomori Cassis) “*Ribes nigrum* L.” and the antioxidant effect of catechins. *J. Hirosaki Univ. Health Welfare*, 8(1), 15-23 (2017)
- 27) Y. Kato, K. Matsuda: Presence of a xyloglucan in the cell wall of *Phaseolus aureus* hypocotyls. *Plant Cell Physiol.*, 17, 1185-1198 (1976)
- 28) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-356 (1956)
- 29) T. Bitter, H. M. Muir: A modified uronic acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.*, 4, 330-334 (1962)
- 30) 加藤陽治, 伊藤聖子, 渡辺敏幸: 植物細胞壁多糖構成中性糖及び各種グルコ二糖類の陰イオンクロマトによる分析. 弘前大学教育学部紀要, 94, 47-52 (2005)
- 31) 桜井直樹, 山本良一, 加藤陽治: 植物細胞壁と多糖類, 培風館 (1991)

(2018. 8. 8 受理)