HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	数種北方系小果樹果実の抗酸化性に影響する諸要因の解析
Author(s)	長田, 亜梨沙
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第14800号
Issue Date	2022-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k14800
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85229
Type	doctoral thesis
File Information	Osada_Arisa.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

数種北方系小果樹果実の抗酸化性に影響する諸要因の解析

北海道大学　大学院農学院

生物資源科学専攻　作物生産生物学講座　博士後期課程

長田　亜梨沙

目次

緒言 1

第 1 章　バラ属（Rosa）果実（ローズヒップ）の抗酸化成分含量および抗酸化活性に認められる種および品種間差 5

第 1 節　果実に含まれる抗酸化成分 5

第 2 節　各種 ROS に対する果実の抗酸化活性評価 14

第 3 節　果実に含まれる抗酸化成分と各種抗酸化活性値との関連 33

第 4 節　第 1 章の考察 35

第 2 章　果実の抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値の果実発育に伴う変動 39

第 1 節　アロニア果実の発育・成熟に伴う抗酸化性の推移 40

第 2 節　数種バラ属果実の発育に伴う抗酸化性の推移 59

第 3 節　抗酸化成分含量と抗酸化活性値の関係からみたアロニアとバラ属果実の抗酸化性における特徴 69

第 4 節　第 2 章の考察 71

第 3 章　地理的環境の違いが果実の抗酸化成分および抗酸化性に及ぼす影響の評価 74

第 1 節　果実の一般形質における地域および年次間差 74

第 2 節　果実の抗酸化成分含量における地域および年次間差 78

第 3 節　果実の抗酸化性における地域および年次間差 89

第 4 節　抗酸化成分含量ならびに抗酸化性変動の標高が異なる地域間での比較　95
第 5 節　アロニア果実に含まれる抗酸化成分と各種抗酸化活性値との関連　100
第 6 節　第 3 章の考察　102

第 4 章　総合考察　104

摘要　110
謝辞　114
引用文献　115

緒言

酸化ストレスとは，生体内で発生する様々な活性酸素種（Reactive oxygen species, 以下 ROS と略記）が，細胞本体や遺伝情報を担う DNA を損傷させ，細胞死あるいは人体における発癌および動脈硬化などの成人病をもたらす引き金となる生理学的作用のことを指す．また，抗酸化とは，酸化ストレスを引き起こす ROS を除去しようとする働きのことであり，人体においては食品に含まれるビタミン C（L-ascorbic acid，以下 ASA と略記）およびポリフェノールなどの抗酸化物質が，抗酸化作用を担う重要な要素と考えられている（二木，1999）．北方系の小果樹果実には，ブルーベリーおよび赤ワイン（黒ブドウ）のアントシアニン（ポリフェノールの一群）で代表されるような抗酸化物質が豊富に含まれており，近年これらの抗酸化機能に注目が集まっている．

青果物を含め食品の抗酸化性はこれまで多様な方法により評価されてきたが，基準が異なるため材料どうしを比較できないという問題があった．その対策として，近年米国で ORAC 法を抗酸化性評価の公定法にしようとする動きがあり，これと連動して日本でも ORAC 研究会が発足し同様の活動が始まった．ORAC 法は，水溶性だけでなく脂溶性成分の抗酸化性も測定できるほか，従来広く用いられてきた DPPH ラジカル捕捉活性（人工的な DPPH ラジカルを消去する能力を指標とする測定法）と比べ，生体内で実際に生成するペルオキシラジカル（過酸化脂質の一種，以下 $ROO^{\cdot}$ と略記）捕捉活性を測定するため，生体内の反応に近いという利点を有する．一方，カロテノイドや不飽和脂肪酸など脂溶性成分が豊富な材料の水溶性 ORAC 値を，ASA やポリフェノールなど水溶性成分が豊富な材料のそれと比較できないという弱点もある．例えば，抗酸化性が高いとされるカロテノイドを多く含有するトマト（リコピン）やカボチャ（β カロテン）の水溶性 ORAC 値は，ホウレンソウ（生）の水溶性 ORAC 値の 1/5 以下と低いため（Wu, et al., 2004），一つの指標（水溶性 ORAC 値）だけで抗酸化性の強弱を論じることは難しい．また，水溶性 ORAC 値と脂溶性 ORAC 値を数値の大小だけで比較することもできない．加えて，生体内で酸化を引き起こす ROS は複数存在し（スーパーオキシドアニオンラジカル（$\cdot O_2^-$），ヒドロキシラジカル（$HO^{\cdot}$），アルコキシラジカル（$RO^{\cdot}$）およびペルオキシラジカル（$ROO^{\cdot}$），

ならびにそれ自体はラジカルではないがラジカルを発生させる能力のある過酸化水素（H_2O_2） および一重項酸素（$^1O_2$）など），捕捉される ROS の種類が評価法ごとに異なるという点も，抗酸化性の統一的評価を難しくしている．このため，米国では ORAC 法を抗酸化性分析の公定法にしようとする動きは中断し，日本においてもこれに追従する形で統一的指標の作成は棚上げされてしまった．しかし，抗酸化性を表す客観的指標の開発は，今も食品産業界において強く求められる重要なテーマの１つとなっている．

電子スピン共鳴（Electron Spin Resonance）装置を用いたスピントラップ法（ESR spin trapping, 以下 ESR-ST と略記）は，前述の DPPH 法および ORAC 法が比色定量の原理に基づき間接的（反応開始から一定時間経過後）に抗酸化性を評価するのとは異なり，試料中で発生させた ROS をスピントラップ試薬で瞬時に捕捉し，反応生成物（adduct）を直ちに ESR 装置で検出するため，不安定なラジカルの消長をより正確に追跡できる分析法といえる．また，スピントラップ試薬として，従来広く用いられてきた 3,4-dihydro-2,2-dimethyl-2H-pyrrole 1-oxide（以下 DMPO と略記）に代わり，検出信号に現れる波形の分解能が高い 2–(5,5–dimethyl–2–oxo–2λ5–[1,3,2]dioxaphosphinan–2–yl)–2–methyl–3,4–dihydro–2H–pyrrole 1–oxide（以下 CYPMPO と略記）が開発されたことで，ESR-ST の分析精度が格段に向上した（Kamibayashi et al., 2006）．また，生体内で自然に発生する ROS ごとに抗酸化性測定が可能であり，$^{\cdot}O_2^-$（Prolla and Mehlhorn, 1990），$HO^{\cdot}$（Kameya and Ukai, 2012），$RO^{\cdot}$（Ukai et al., 2009）および $^1O_2$（Jung and Min, 2009）に対する高精度の ESR-ST 技術が既に確立されている．従って，DPPH 法および ORAC 法に加えて ESR-ST の各種分析法を用いることで，果実の抗酸化性評価をより多面的に行うことが可能になるものと考えられる．

次に，果実の抗酸化性に影響する栽培に関わる要因として，種および品種間差，年次間差，樹齢，果実の成熟段階，果実成熟の早晩性，栽培環境（緯度・高度・地形の違いに伴う気温，日射量および降水量の差異ならびに肥培管理）などが想定される．これらの要因が果実抗酸化性に及ぼす影響を確かめるため，筆者はバラ属植物（*Rosa* spp.）および同じバラ科のアロニア（*Aronia melanocarpa*）果実を研究材料に選んだ．

バラ属（*Rosa*）果実はローズヒップ（Rose hip）と呼ばれ，狭義には欧州原産

のイヌバラ（*R. canina*）果実を指すが，広義にはバラ属植物全般の果実に対する呼称として用いられる．北海道には「北海道の花」に指定されているハマナス（*R. rugosa*）をはじめとして，オオタカネバラ（*R. acicularis*），カラフトイバラ（*R. davurica*）およびノイバラ（*R. multiflora*）などのバラ属植物が自生している．また，地方独立行政法人北海道総合研究機構（HRO）林業試験場（北海道美唄市）の三笠試験地には，上記の野生種に加えて南欧州原産のグラウカ（*R. glauca*）ならびにグラウカと野生種との種間交雑により育成された栽培品種‘北彩’（*R. glauca* × *rugosa*）および‘コンサレッド’（*R. davurica* × *glauca*）が栽植されている．ローズヒップは，ASA，ポリフェノールおよびカロテノイドなどの抗酸化成分を豊富に含むことで有名だが，抗酸化成分含量の種および品種間差については，不明な点が多い．従って，上記のバラ属植物は，果実抗酸化性の種および品種間差を調べる上で，好適な材料になるものと考えた．また，これらは1つの圃場にまとめて栽植されており，年次間差（または樹齢）および果実発育に伴う抗酸化成分含量および抗酸化性の変化を調べる上でも好都合であると判断した．

アロニアは北米原産の小果樹で，1976年にロシアで改良された早生種（以後ロシア型）が農林省北海道農業試験場（現国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構（NARO）北海道農業研究センター，札幌市）に導入され，次いで 1981 年に北海道林木育種場（現森林総合研究所林木育種センター，江別市）に晩生の北米型実生（以後アメリカ型）が導入された．アロニア果実は，アントシアニンを極めて多く含有し，強い抗酸化性を有する高機能性食品素材として世界的に有名である（Kulling and Rawel, 2008）．また，アロニア果実のポリフェノールおよびプロアントシアニジンは，生体内の抗菌活性および抗酸化性に関与するという報告もある（Denev et al., 2019）．札幌圏で，早生のロシア型および晩生のアメリカ型は，各々8月中旬および9月中旬に収穫適期を迎え，両者に約 1 か月の開きがある．この点は，同一種における果実発育の早晩が，抗酸化成分の消長および抗酸化性の推移に及ぼす影響を明らかにする上で有益な特徴になると考えた．また，ロシア型は，栄養繁殖（茎頂培養）で増殖されたクローン苗が北海道内各地で栽培されており，遺伝的要因を排除して，果実の抗酸化成分および抗酸化性に及ぼす地理的環境要因の影響を調べる上で，好適な材

料になるものと判断した.

そこで，本研究では，北方系小果樹のうち各種のバラ属植物およびアロニア（ロシア型およびアメリカ型）果実を材料とし，果実の抗酸化成分含量を調査するとともに，果実抗酸化性を DPPH 法，ORAC 法および各種の ESR-ST 法を用いて多面的に調査した．すなわち，第 1 章では，ローズヒップに含まれる抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値の種および品種間差ならびにその年次間差を明らかにするとともに，各種抗酸化成分とそれらが捕捉する ROS の種類との対応関係を明らかにしようとした．第 2 章では，抗酸化成分含量および抗酸化性の果実発育に伴う変化をローズヒップおよびアロニアの両方を用いて調査し，抗酸化性評価に基づく果実収穫適期を明らかにしようとした．この場合，アロニアのロシア型とアメリカ型を比較することで，果実成熟の早晩性が抗酸化成分含量および抗酸化性に及ぼす影響についても明らかにしようと考えた．第 3 章では，北海道内各地で栽培されているロシア型アロニア果実の抗酸化性を調査し，地理的環境要因が果実抗酸化性に及ぼす影響の大小を評価しようと考えた．最後に，第 4 章では，第 1 章から第 3 章で得られた結果について，総合的な考察を加えた.

第 1 章　バラ属（*Rosa*）果実（ローズヒップ）の抗酸化成分含量および抗酸化活性に認められる種および品種間差

バラ属（*Rosa*）植物は，その多くが花木として利用されている．野生種は，100 種以上が北半球のみに分布し，変種も多数存在する．果実（ローズヒップ）は，ジャムや茶などの原料として用いられるものの，イヌバラ（*R. canina*）以外の利用は少ない．ローズヒップは，ビタミン C（ASA），ポリフェノールおよびカロテノイドなどの抗酸化成分を豊富に含むことが知られている（Cunja et al., 2016; Tabaszewska and Najgebauer-Lejko, 2020）. HRO 林業試験場三笠試験地には，ハマナス（*R. rugosa*）などの北海道自生種に加え, 欧州原産のグラウカ（*R. glauca*）ならびにその種間雑種品種が維持管理されている．本章では，これらのバラ属植物が，北方系果実の抗酸化成分含量および抗酸化性の種および品種間差を調査する上で好適な研究材料になると考え，その年次間変動も併せて分析実験を行った．また，抗酸化成分の含量と各種 ROS 捕捉活性との関連についても明らかにしようとした.

第 1 節　果実に含まれる抗酸化成分

狭義のローズヒップであるイヌバラ（*R. canina*）果実は，壊血病（ビタミン C 欠乏症）の治療に利用されるほど ASA が豊富な食品素材として知られている（Pawlaczyk et al., 2009; Strzelecka and Kowalski, 2000; Czyzowska et al., 2015）．また，イヌバラ果実抽出物を摂取した人は，内臓脂肪が減少し，肝機能障害が軽減したという報告もある（Nagatomo et al., 2015）．従って，それ以外のローズヒップに関しても ASA 含量を調査する意義は大きい．ASA は，γ-ラクトン環を有する化合物で，これに結合するエンジオール基が $HO^{\cdot}$ および $^{\cdot}O_2^-$ と反応し，高い抗酸化力を発揮するといわれている．すなわち，ASA（モノアニオン状態）は，1 電子酸化によりモノデヒドロアスコルビン酸（MDA）になり，さらに 2 電子酸化によって酸化型アスコルビン酸（Dehydroascorbic acid, 以下 DHA と略記）へと変化する．その後，生体内でグルタチオンを還元剤として再び DHA は ASA に変換される（アスコルビン酸－グルタチオン回路）. このように, ASA（還

元型）は DHA（酸化型）と交互に行き来しながら存在することで，生体内の様々な生理反応に関与すると言われている．また，親水性の ASA および DHA は，これまで水溶性画分の ROS 消去のみに関与すると考えられてきたが，脂溶性画分の抗酸化反応との関わりを指摘する声も挙がっている（石川，2007）．

次に，ポリフェノールは，2 つ以上のフェノール水酸基を持つ物質の総称で，植物体内で生合成される二次代謝産物である．アントシアニンやフラボノールのように植物色素として知られる化合物も多く，紫外線への防御反応などに関与するといわれている．ハマナスのローズヒップにはフラボノイドが多く（Oszmian´ski and Chomin，1993；Czyzowskaet al.，2015)，イヌバラ種子に含まれるティリロサイド（kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside-6-p-coumaril ester）が，肥満誘発の代謝性障害改善効果を有することが報告されている（Goto et al., 2012）．ポリフェノールの各種 ROS に対するラジカル消去活性は，フェノール水酸基の数が多いほど高いと言われている．

そこで，本節ではローズヒップに含まれる水溶性抗酸化成分である ASA および DHA ならびに総ポリフェノールの含量を調査し，その種間差および年次間差を明らかにしようとした．なお，カロテノイドなど脂溶性抗酸化成分については，水溶性成分とは異なり，抗酸化活性評価法が十分に確立されておらず成分含量との比較が難しいことから，本研究における調査対象から除外した．

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

HRO 林業試験場三笠試験地（三笠市）に栽植されている北海道自生種のオオタカネバラ（*Rosa acicularis* Lindl.; 1 果重 1.06g; 含水率 63.9%），カラフトイバラ（*R. davurica* Pall.; 1 果重 0.83g; 含水率 71.4%），ハマナス（*R. rugosa* Thunb.; 1 果重 2.11g; 含水率 76.0%），ハマナスの八重咲き品種であるヤエハマナス（*R. rugosa* Thunb. f. *plena* Byhouwer; 1 果重 3.26g; 含水率 69.4%）およびノイバラ（*R. multiflora* Thunb.; 1 果重 0.20g; 含水率 65.5%），欧州自生種のグラウカ（*R. glauca* Pourret; 1 果重 0.99g; 含水率 63.7%），ならびに同試験場が育成した種間交雑品種の‘北彩’(*R. glauca* × *rugosa*; 1 果重 1.25g; 含水率 68.3%）および‘コンサレッド’（*R. davurica* × *glauca*; 1 果重 0.76g; 含水率 66.1%）から，2013 年 10 月 2 日に果実を採取し，材料とした．この場合，果実は各々異なる 4 樹から 5〜10 果

ずつ合計 20〜40 果採取した（数の違いは果実の大きさの違いに依る）．樹は，いずれも 2013 年時点で 18 年生である．また，北海道自生種を欧州自生種と比較するという観点から，グラウカ（*R. glauca*）を対照（control）とした．さらに，年次間変動を調べるため，2017 年 9 月 28 日にも上記と同じ樹から同様に果実を採取し実験に供した．なお，上記のバラ属植物は全てバラ亜属に分類され，さらにバラ亜属を構成する 10 節のうち，欧州自生種のイヌバラ（*R. canina*）およびグラウカ（*R. glauca*）は *Caninae* 節に，北海道自生種のオオタカネバラ（*R. acicularis*），カラフトイバラ（*R. davurica*）およびハマナス（*R. rugosa*）は *Rosae* 節に，同じく北海道自生種のイヌバラ（*R. multiflora*）は *Synstyllae* 節に各々類別される（野村，2010）．

採取した果実は，果実個数および生体重を計測し，直ちに液体窒素中で急速凍結後，凍結乾燥した．さらに，乾物重を計測後，果実内部の種子を取り除き，粉末化して−30°C で保存した．前述の材料に併記した含水率は，生体重と乾物重の差から算出した数値である．なお，参考のため抗酸化成分が広く調べられているイヌバラ（*Rosa canina* L.）の乾燥果実（日本の輸入業者が販売しているチリ国で生産されたもの）を 2018 年に購入し，上記の果実と同様に以下の分析実験に供した．

1-2. 抗酸化成分の定量分析

1-2-1. ASA および DHA 含量測定

ASA および DHA の測定は，ヒドラジン比色法により行った（Roe et al., 1948）．これは，ASA と 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン（DNP）を反応させることで生じるオザゾン（赤色）の生成量を比色定量する方法である．

1-2-1-1. 試薬

この分析に使用する試薬は 5%メタリン酸，2%チオ尿素- 5%メタリン酸，0.03% 2,4–ジクロロフェノリンドフェノール（DCP）溶液，2% 2,4–ジニトロフェニルヒドラジン（DNP）溶液，85%硫酸および 200 ppm ASA 溶液である．5%メタリン酸は，メタリン酸 50 g に蒸留水 950 mL を加え撹拌した後，ろ過して作製した．2%チオ尿素–5%メタリン酸はチオ尿素 2 g に 5%メタリン酸 100 mL を加え撹拌し作製した．0.03% DCP 溶液は，DCP 30 mg に温湯 100 mL を加え溶

解した後，ろ過し褐色ビンに保存した．2% DNP 溶液は DNP 2 g に 9N 硫酸 100 mL を加え撹拌した後，褐色瓶で保存した．検量線作成のため 200 ppm ASA 溶液は，ASA 0.02 g に 5% メタリン酸を加え 100 mL に定容した．この ASA 溶液を 5% メタリン酸で適宜希釈し，10，20，30，40 および 50 ppm ASA 溶液を作製した．

1-2-1-2. 分析試料の作製

各材料の乾燥粉末 5 mg に，5%メタリン酸 0.9 mL と 2%チオ尿素–5%メタリン酸 0.1 mL の混合抽出溶媒を加え，3 時間振とう抽出した．室温で 10 分間遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を分析試料とした．試料は，分析まで−30°C で冷凍保存した．なお，各材料について，分析試料を 3 個ずつ作製した（$n = 3$）．分析に際し，これらの試料は 2〜4 倍に適宜希釈し，検量線の範囲内に数値が収まるようにして分析に供した．

1-2-1-3. 分析法

分析は, 96 穴のマイクロプレート（P96F03N; As One, Osaka）を用いて行った．この場合，マイクロプレート上に総 ASA 分析用，DHA 分析用および検量線作成用の 3 区画を各々設け，同時並行で実験を行った．まず，マイクロプレートの ASA および DHA 分析用区画に試料を，同様に検量線作成用区画には ASA 標品（Fujifilm Wako Pure Chemical, Osaka）溶液（0, 10, 20, 30 および 40 mg/L）を各々 40 µL ずつ分注した（1 試料または標品につき 2 ウェル）．次に，総 ASA 分析用および検量線作成用の区画には DCP 20 µL を DHA 分析用の区画には 5%メタリン酸 20 µL を分注し，気泡を除くためタッピングを行った．最後に，全ての分析区画に 2%チオ尿素-5%メタリン酸 40 µL および DNP 20 µL を分注し，37℃で 3 時間静置した．その後，85%硫酸 100 µL を全ての分析区画に分注し，氷上でマイクロプレートを 30 分間冷却後, マイクロプレートリーダー（Powerscan HT; DS Pharma Biomedicals, Osaka）を用いて A_{520} の吸光度を測定した．この場合，2 ウェルの平均値を 1 試料または標品の測定値とした．また，各材料について作製した 3 試料を，各々別々に（マイクロプレート 3 枚を使用）測定した（$n = 3$）．

試料中の ASA および DHA 含量の算出手順は，以下のとおりである．まず，標品の測定値に基づき作成した検量線（図 1）を用いて総 ASA 含量を算出する．

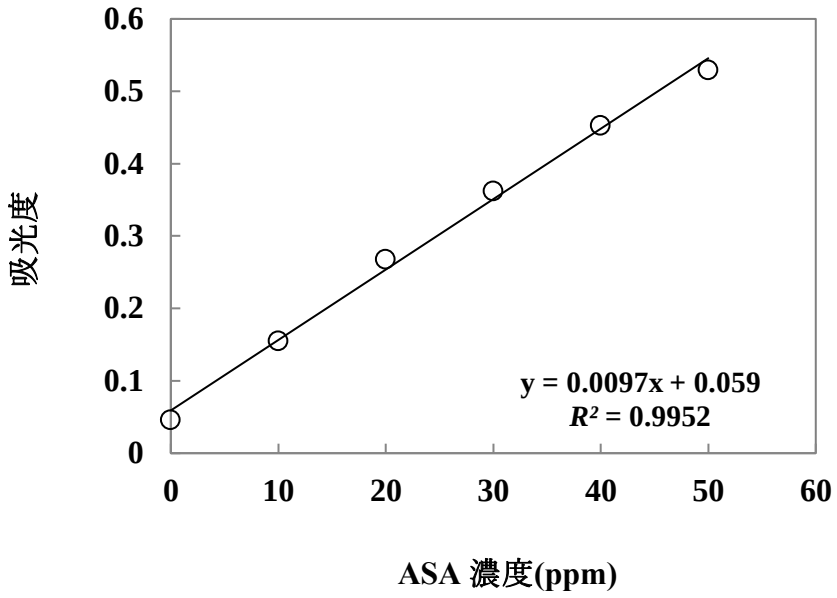


図 1　AsA 濃度と吸光度（A_{520}）の相関（検量線）.

すなわち，DCP を加えた試料では，ASA が全て酸化されて DHA に変化するため，測定値は総 ASA 含量（ASA+DHA）となる．次に，DHA 分析用区画には，酸化防止効果を持つチオ尿素を加えているため，ASA が酸化されることはなく，予め試料中に存在した DHA のみが検出される．従って，試料中の ASA 含量は総 ASA 含量（ASA+DHA）から DHA 含量を指し引くことで算出される．試料中の ASA および DHA 含量は，SI 基本単位に倣い g/kg DW として算出した．

1-2-2. 総ポリフェノール含量測定

総ポリフェノール含量の測定は，Folin–Denis 法により行った（Folin and Denis, 1915）．これは，フェノール性水酸基がモリブデン酸およびリンタングステン酸を還元する際の青色発色の程度を，比色定量するという原理に基づいている．

1-2-2-1. 試薬

分析に使用する試薬は 50%フォーリンデニス試薬，5%Na_2CO_3 溶液および 200 ppm ケルセチン溶液である．50%フォーリンデニス試薬は，ナスフラスコにタングステン酸ナトリウム 2.5 g およびリンモリブデン酸 0.5 g を蒸留水 20 mL に溶解し，さらにリン酸 1.25 mL を加え，2 時間還流煮沸を行った後，蒸留水で 50 mL に定容する方法で作製し，褐色瓶に保存した．5%Na_2CO_3 溶液は Na_2CO_3 5.0 g に蒸留水 95 mL を加えることで作製した．また，200 ppm ケルセチン溶液は，ケルセチン二水和物 200 µg に 80%メタノール溶液を加え撹拌し作製した．この 200 ppm ケルセチン溶液を適宜 30%メタノール溶液で希釈し，2，5，10，20 および 50 ppm ケルセチン溶液を作製し，検量線作成の標準液として使用した．

1-2-2-2. 試料作製

各材料の乾燥粉末 5 mg に，メタノール : 水＝80 : 20(v/v)の混合抽出溶媒 1 mL を加え 3 時間振とう抽出した．室温で 10 分間遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を分析試料とした．試料は，分析まで−30°C で冷凍保存した．なお，各材料について，分析試料を 3 個ずつ作製した（$n = 3$）．分析に際し，これらの試料は 10〜50 倍に適宜希釈し，検量線の範囲内に数値が収まるようにして分析に供した．

1-2-2-3. 分析法

分析は, 96 穴のマイクロプレート（P96F03N; As One, Osaka）を用いて行った．マイクロプレート上の分析用区画にあるウェルに，メタノール：水＝30：70(v/v)の混合溶液で適宜希釈した試料を各々150 µL ずつ（1 試料につき 2 ウェル使用）分注した．また，検量線作成用区画のウェルに，ケルセチン溶液（2，5，10，20 および 50 ppm）を 150 µL ずつ（1 濃度につき 2 ウェル使用）分注した．その後，50%フォーリンデニス試薬を各ウェルに 75µL ずつ分注し，1 分間静置後，5%Na_2CO_3 溶液を 75 µL ずつ分注した. 全ての試薬を分注しタッピングにより気泡を除去後，室温暗下に 60 分間静置し，マイクロプレートリーダー（Powerscan HT）を用いて A_{700} の吸光度を測定した．この場合，2 ウェルの平均値を 1 試料の測定値とした．また，各材料について作製した 3 試料を、各々別々に（3 マイクロプレート使用）測定した（$n = 3$）．試料中の総ポリフェノール含量は，標品の吸光度に基づき作成した検量線（図 2）を用いて，ケルセチン当量（g quercetin eq./kg DW）として算出した．

1-3. 統計解析

ASA，DHA および総アスコルビン酸含量ならびに総ポリフェノール含量については，種・品種（単年度実施のヤエハマナスおよび購入果実のイヌバラを除く 7 水準）と年次（2 水準）から成る 2 要因分散分析（$n = 3$）を行い，さらに有意差（$P < 0.05$）が認められた要因については，Tukey の多重比較検定で平均値間の比較を行った．

2. 結果および考察

2-1. ASA

ASA 分析における，検量線の一例を図 1 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の ASA および DHA 含量の種および品種間差ならびにその年次間変動（2013 および 2017 年）を見ると（表 1），顕著な種・品種間差が確認され，総アスコルビン酸（ASA+DHA）含量は，グラウカ（対照）と比べ，2013 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’ならびに 2017 年の‘コンサレッド’で有意（$P < 0.05$）に値が高く，他方 2013 年のノイバラおよびヤエハマナスならびに 2017 年のノイバラで有意（$P < 0.05$）に値が低かった．この場

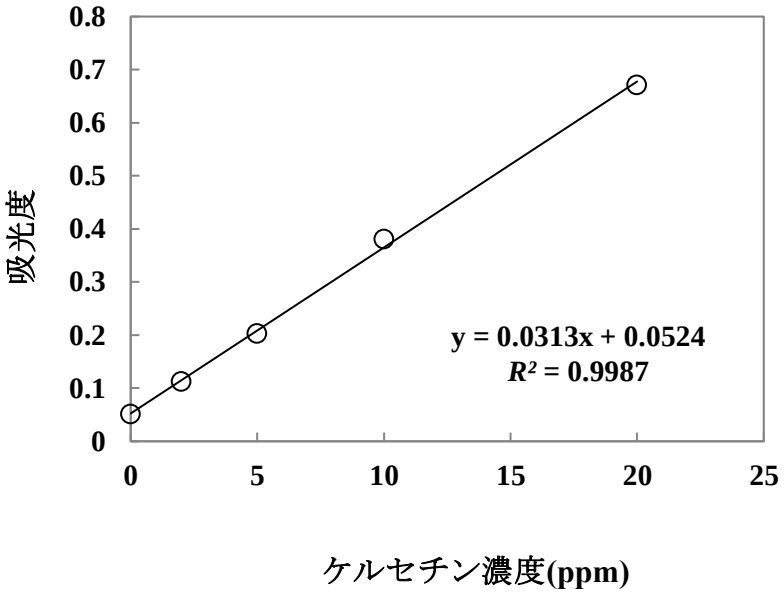


図 2　ケルセチン濃度と吸光度（A_{720}）の相関（検量線）.

表 1. 2013年および2017年に採取したバラ属植物果実のASA，DHAおよび総ポリフェノール含量の種および品種間差.

種/品種	ASA およびDHA含量 (g/kg DW)						総ポリフェノール含量 (g quercetin eq./kg DW)	
年:	2013			2017			2013	2017
	ASA	DHA	計	ASA	DHA	計		
東アジア産								
オオタカネバラ	44.1 ± 1.0 b	10.6 ± 0.2 de	54.8 ± 1.2 bc	36.5 ± 4.0 ab	2.4 ± 0.5 **	38.8 ± 3.7 b *	64.2 ± 0.3 c	35.0 ± 1.9 f
カラフトイバラ	84.6 ± 2.0 a	18.5 ± 0.7 a	103.1 ± 2.0 a	36.9 ± 3.1 ab **	3.9 ± 1.8 **	40.8 ± 1.9 b **	161.5 ± 4.2 a	139.2 ± 1.8 a
ノイバラ	0.6 ± 0.4 e	3.6 ± 0.3 g	4.2 ± 0.6 e	3.2 ± 1.3 c	3.5 ± 1.6	6.8 ± 0.8 c	34.8 ± 1.5 d	100.2 ± 2.6 c
ハマナス	41.2 ± 1.6 bc	9.3 ± 0.4 ef	50.4 ± 1.3 bc	36.6 ± 3.4 ab	5.6 ± 1.9 *	42.2 ± 1.6 b *	60.3 ± 1.2 c	80.3 ± 2.6 d
ヤエハマナス	24.0 ± 0.6 d	7.8 ± 0.1 f	31.8 ± 0.7 d	– [z]	–	–	41.7 ± 0.8 d	–
欧州産								
グラウカ(対照)	33.7 ± 1.5 c	13.7 ± 0.2 bc	47.3 ± 1.3 c	28.5 ± 5.9 b	3.8 ± 1.6 **	32.2 ± 4.4 b *	70.4 ± 1.0 c	79.3 ± 1.4 d
雑種								
‘北彩’	39.8 ± 1.4 bc	14.6 ± 0.2 b	54.4 ± 1.4 bc	39.3 ± 4.7 ab	3.4 ± 1.1 **	42.8 ± 4.2 b	64.0 ± 2.0 c	49.4 ± 2.3 e
‘コンサレッド’	46.4 ± 4.3 b	12.4 ± 0.9 cd	58.8 ± 5.1 b	54.2 ± 5.2 a	4.3 ± 2.1 *	58.5 ± 3.1 a	138.9 ± 4.2 b	119.2 ± 2.8 b
イヌバラ[y]	1.2 ± 0.2 e	2.4 ± 0.1 g	3.7 ± 0.1 e	1.2 ± 0.2 c	2.4 ± 0.1	3.7 ± 0.1 c	33.2 ± 0.8 d	33.2 ± 0.8 f

ANOVA	ASA	DHA	計	総ポリフェノール
種/品種 (S)	**	**	**	**
年 (Y)	**	**	**	ns
S × Y	**	**	**	**

平均値± SE(n = 3).
[z] 2017年のヤエハマナスは試料なし．ANOVAから除外.
[y] イヌバラは輸入果実を購入したため参考値．ANOVAから除外.
異なる英文字は同一年次の材料間に有意差があることを示す(P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
**P < 0.01; *P < 0.05 同じ種/品種間で2013年との間に有意差あり(Studentのt検定).
ANOVA表で **, P < 0.01; ns, 5% 水準で有意差なし.

合，総アスコルビン酸含量に占める ASA の割合は，ノイバラを除きいずれも DHA のそれより大きかった．また，オオタカネバラ，カラフトイバラ，ハマナスおよびグラウカ（対照）の総アスコルビン酸含量に，年次間差が認められた．これらの材料の多く（カラフトイバラ以外）で，年次間差は特に DHA 含量の差に起因することが確認できた．なお，ANOVA の結果，全ての項目で種・品種と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，年次間変動の傾向が種・品種ごとに異なっていたことを示している．

2-2. 総ポリフェノール

総ポリフェノール分析における，検量線の一例を図 2 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の総ポリフェノール含量の種および品種間差ならびにその年次間変動（2013 および 2017 年）を見ると（表 1），顕著な種・品種間差が確認され，総ポリフェノール含量は，グラウカ（対照）と比べ，2013 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’ならびに 2017 年のカラフトイバラ，ノイバラおよび‘コンサレッド’で有意（$P < 0.05$）に値が高く，他方 2013 年のノイバラおよびヤエハマナス, 2017 年のオオタカネバラおよび‘北彩’ならびに購入果実のイヌバラ（参考）で有意（$P < 0.05$）に値が低かった．また，分散分析（ANOVA）の結果，総ポリフェノール含量に年次間差は認められなかった. なお, ANOVA の結果, 種・品種と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，年次間変動の傾向は種・品種ごとに異なっていたことを示している．

第２節　各種 ROS に対する果実の抗酸化活性評価

本節では，比色定量の原理に基づく間接的抗酸化性評価法である DPPH 法（DPPH˙捕捉活性）および ORAC 法（ROO˙捕捉活性）に加え，各種 ESR-ST 法を用いて，$^{\cdot}O_2^-$，HO˙，RO˙および $^1O_2$ の各ラジカル捕捉活性を計測し，その種および品種間差ならびに年次間差を明らかにしようとした．

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

材料は，第 1 章第 1 節と同一である．

1-2. 抗酸化活性の測定法

1-2-1. DPPH 法（DPPH˙捕捉活性測定）

DPPH 法は，Sharma and Bhat（2009）の報告に従い行った．これは，人工的な DPPH ラジカルが抗酸化物質によって還元され退色する反応を, 吸光度で追跡するという原理に基づいている．

1-2-1-1. 試薬

分析には 200 mM MES buffer，400 μM DPPH 溶液，0.2 mM Trolox，20 および 80%エタノールを使用した．200 mM MES buffer は，2-Morpholinoethanesulfonic acid monohydrate 8.53 g を蒸留水で溶解後，NaOH 溶液で pH6.0 に調整し 200 mL に定容する方法で作製した．400μM DPPH 溶液は，2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl（DPPH）3.94 mg と 100%エタノール 25mL をアルミホイルで遮光したビーカーに入れ，30 分以上撹拌する方法で作製した．検量線作成のため 0.2 mM Trolox 溶液を適宜 80%エタノール溶液で希釈する方法で，0.04，0.08，0.12 および 0.16 mM 溶液を作製した。

1-2-1-2. 試料作製

各材料の乾燥粉末 5 mg にエタノール：水＝80：20(v/v)の混合溶媒 1 mL を加え 3 時間振とう抽出した．室温で 10 分間遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を分析試料とした．試料は，分析まで−30°C で冷凍保存した．試料抽出液は，いずれも 50 倍希釈したものを実験に供した．

1-2-1-3. 分析法

分析は, 96 穴のマイクロプレート（P96F03N; As One, Osaka）を用いて行った．マイクロプレート上の分析用区画にあるウェルに，各分析試料および希釈した Trolox 溶液を 50 μL ずつ（1 試料につき 2 ウェル）分注し，MES buffer：20%エ

タノール：DPPH 溶液＝1：1：1(v/v/v)の混合溶液を 150 µL ずつ分注した．タッピングにより気泡を除去し直ちに 20 分間暗所で静置させた後，マイクロプレートリーダー（Powerscan HT）を用いて A_{520} の吸光度を測定した．この場合，2 ウェルの平均値を 1 試料の測定値とした．また，各材料について作製した 3 試料を、各々別々に（3 マイクロプレート使用）測定した（$n = 3$）．試料の DPPH ラジカル捕捉活性値は，標品の吸光度に基づき作成した検量線（図 3）を用いて，Trolox 当量（g trolox eq./kg DW）として算出した．

1-2-2. ORAC 法（ROO˙捕捉活性測定）

ORAC 法はラジカル発生剤である AAPH（2,2’-Azobis(2-amidinopropane)）から発生したペルオキシラジカル（ROO˙）が蛍光物質 Fluorescein を分解するため，その分解過程を経時的に（2 分間隔で）計測することにより，試料中に ROO˙が多ければ（抗酸化物質無添加）蛍光の減衰が最も早く，逆に ROO˙が少なければ（抗酸化物質が含まれていれば）蛍光の減衰が遅くなることから，そのギャップ（面積）の大小を指標として抗酸化性の強弱を調べる測定法である（Watanabe et al., 2012）．

1-2-2-1. 試薬

分析には Assay buffer（リン酸緩衝液），FL stock solution，メタノール：蒸留水：酢酸＝90：9.5：0.5(v/v/v)（以下 MWA と略記），フェルラ酸溶液，Trolox 溶液および AAPH 溶液を使用した．Assay buffer は，75 mM K_2HPO_4 溶液 500 mL と 75 mM KH_2PO_4 溶液 155 mL を混合する方法で作製した．FL stock solution は，アルミホイルで遮光した 50 mL 容プラスチックチューブ（Falcon®; Corning, Glendale, AZ, USA）に FL sodium salt 22.5 mg と Assay buffer 50 mL を入れ，撹拌する方法で作製した（FL stock solution #1）．また，FL stock solution #1 50 µL と Assay buffer 10 mL を混合して FL stock solution #2 を作製した．フェルラ酸溶液は，フェルラ酸 50 mg を MWA 50 mL に溶解しメスフラスコを用いて定容する方法で作製した．標準物質である 500 µM Trolox 溶液は，適宜希釈したものを標準液（STD）1-4 として使用した. AAPH 溶液は, AAPH 129 mg を, 温めた Assay buffer 15 mL に加えることにより分析の都度作製した．

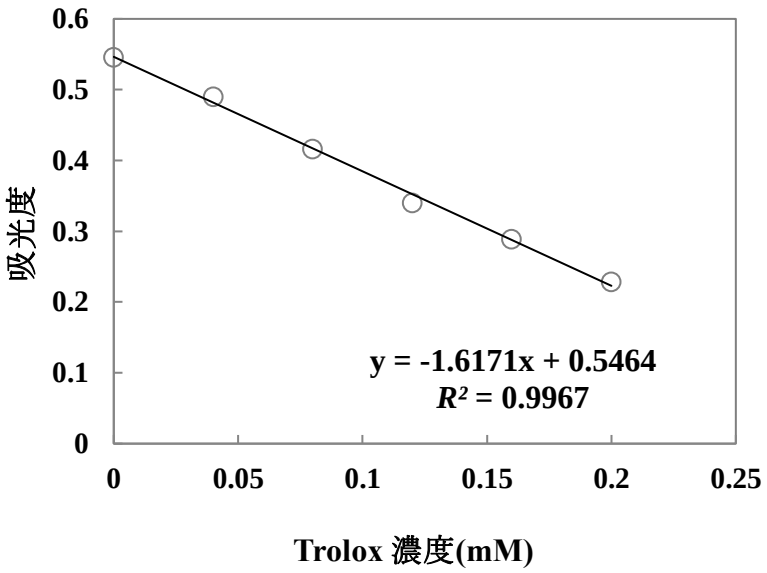


図 3　Trolox 濃度と吸光度(A_{520})の相関(検量線).

1-2-2-2. 試料作製

各材料の乾燥粉末 5 mg に MWA 1 mL を加え 3 時間振とう抽出した．室温で 10 分間遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を分析試料とした．

1-2-2-3. 分析法

分析は，全ての材料について，希釈倍率の決定および本測定の 2 回行った．分析は，96 穴のマイクロプレート（Falcon® 353072; Corning, Glendale, AZ, USA）を用いて行った．マイクロプレートの種類がこれまでと異なる理由は，本実験が他の分析法（可視光の吸光度を測定）と違って，蛍光発色を計測するためである．希釈倍率決定に際し，Assay buffer を 37℃で 30 分以上加温し，FL stock solution #2 を 470 µL 加え FL working solution を作製した. マイクロプレート上の分析用区画にあるウェルに，あらかじめ 10 倍希釈したサンプルおよびフェルラ酸，STD 1-4 を 200 µL ずつ分注し，プレート上でサンプルおよびフェルラ酸を 50，250，1250 倍に希釈した．これは，測定に最適な希釈倍率が材料ごとに異なる（含まれる抗酸化物質の量が異なる）ため，本実験に最適な希釈倍率をあらかじめ知る必要があるためである．次に，本測定時は，決定した希釈倍率のサンプル溶液とフェルラ酸を分注し，プレート上で更にそれぞれを 2 倍希釈にした後，全てのウェルに FL working solution 115 µL を分注してタッピングし，マイクロプレートリーダー（Powerscan HT）を用いて蛍光強度を測定した．次に，いったんマイクロプレートを装置から取り出し，全てのウェルに AAPH 溶液を 50 µL ずつ分注した後，各ウェルの蛍光強度を 2 分間隔で 90 分間（合計 45 回）自動測定した．この場合，2 ウェルの平均値を 1 試料の測定値とした．また，各材料について作製した 3 試料を、各々別々に（3 マイクロプレート使用）測定した（$n = 3$）．試料の ROO˙ ラジカル捕捉活性値は，標品の吸光度に基づき作成した検量線（図 4）を用いて，Trolox 当量（g trolox eq./kg DW）として算出した．

1-2-3. ESR-ST（$^{\cdot}O_2^-$，HO˙，RO˙ および $^1O_2$ 捕捉活性測定）

ESR-ST による各種 ROS 捕捉活性測定は, 以下の論文を参考に行った: $^{\cdot}O_2^-$, Prolla and Mehlhorn (1990): HO˙, Kameya and Ukai (2012) および Kameya et al. (2014); RO˙, Ukai et al. (2009); $^1O_2$, Jung and Min (2009).

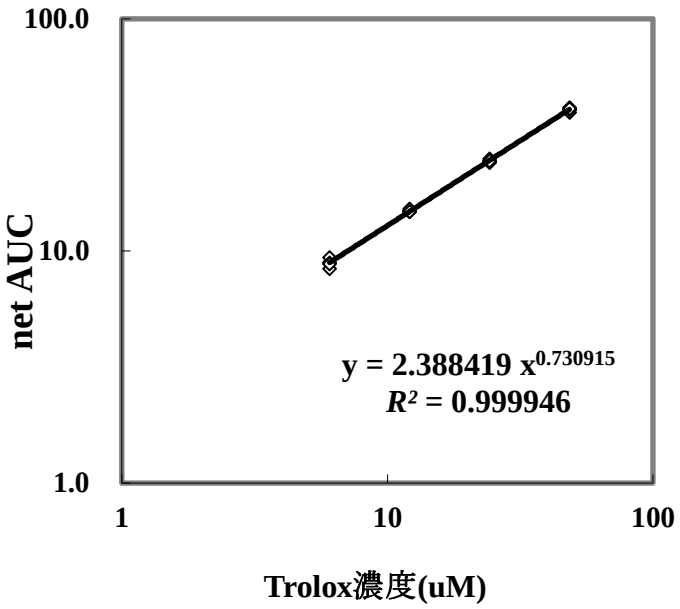


図 4　Trolox 濃度と net AUC の相関(検量線).

1-2-3-1. 試薬

$^{\cdot}O_2^{-}$捕捉活性測定 : 使用した試薬は，200 μM Riboflavin，10 mM EDTA，10 mM CYPMPO, 0.1 mM Glycine および 0.1 M PB である. 200 μM Riboflavin は Riboflavin 37.6 mg と 1/15 M Na_2PO_4（pH 9.2）1 mL 加え完全に溶かした後, そこから 100 μL とり超純水 50 mL と撹拌することで調製し，アルミホイルで遮光した．10 mM EDTA は EDTA 0.0372 g に超純水 10 mL を加える方法を用いて調製した. 分析試料は 100 から 500 倍に適宜希釈して測定に使用した.

HO˙捕捉活性測定 : 使用する試薬は，1%過酸化水素水，10 mM DTPA，10mM CYPMPO および 0.1 M PB である．1%過酸化水素水は 30%過酸化水素水 0.3 mL に超純水 8.7 mL を加え，撹拌して作製し，10 mM DTPA は DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸） 0.0393 g に超純水 10 mL を加え撹拌する方法を用いた．分析試料は 1000 倍希釈したものを測定に使用した.

RO˙捕捉活性測定 : 使用する試薬は，4 mM AAPH，10 mM CYPMPO および 0.1 M PB である．4 mM AAPH は，AAPH 10.8 mg に超純水 10 mL を加え撹拌する方法で調製した. 分析試料は 100 から 1000 倍に適宜希釈して測定に使用した.

$^1O_2$ 捕捉活性測定 : 使用する試薬は，0.6 mM Pterin，100 mM TMPD，15 mM DTPA および 0.1 M PB である．0.6 mM Pterin は，Pterin 1.63 mg に超純水 9.6 mL および NaOH 0.4 mL を加え撹拌する方法を用い，15 mM DTPA は，DTPA 59 mg に超純水 10 mL を加え撹拌する方法を用いて調製した. TMPD および DTPA は，溶けにくい物質であるため，熱湯や超音波を使用して溶解した．分析試料は 50 から 200 倍に適宜希釈して測定に使用した.

なお，スピントラップ剤の CYPMPO は，Radical Research (Hino)から購入した試薬のほか，北海道教育大学函館校中村研究室で有機合成のうえ精製した試薬を使用した.

1-2-3-2. 試料作製

各材料の乾燥粉末 5 mg と MWA 1 mL を加え，3 時間振とう抽出を行った．室温で 10 分間遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を分析試料とした．試料は，分析まで−30°C で冷凍保存した．なお，ESR-ST 分析では，2017 年採取の材料が枯渇したため，2013 年採取の材料のみを分析対象とした．このため，ESR-ST 法によ

る抗酸化性評価において，年次間比較を行うことはできなかった．

1-2-3-3. 分析法

測定は, X–band ESR 分光装置 (JES–RE1X, JEOL, Tokyo) を用い, 100 kHz field modulation で行った（図 5）．測定の概要は，Prolla and Mehlhorn（1990）に倣い，計測条件は以下のとおりである: 共鳴磁場 (resonance field)，3521 G；変調幅（field modulation width)，1.0 G；時定数（Time Constant)，0.03 秒；マイクロ波強度（microwave power)，6 mW ; 掃引時間（Sweep Time)，2 分 ; 中心磁場（Center Field)，335.500 mT；光源, 200 W medium pressure mercury/xenon arc lamp（LC–8, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu）; 周波数, 9.4 GHz ; UV ランプ, RUVF-203SR（Radical Research）; UV 照射強度, 2.78 mW/cm^2（LC–8, Hamamatsu Photonics）; UV 強度測定器（Cole–Parmer International, IL, USA）; UV 照射時間，5 秒（$^{\cdot}O_2^-$ 測定時のみ 40 秒）; band–pass filter, G–533（HOYA, Tokyo)．この場合，Gain は以下のとおりに設定した：$^{\cdot}O_2^-$，1600； HO$^{\cdot}$，400； RO$^{\cdot}$，1250； $^1O_2$，1000．なお，ESR 信号は Win-Rad 演算ソフトウェア（Radical Research) を用いて解析した．

次に，ESR-ST 分析における各種ラジカル発生条件（UV 照射で各種ラジカルが発生する試薬の組合せ）を表 2 にまとめて示した．これらの試薬を表の順番（上から下）に従って試験官に注ぎ，約 15 秒間撹拌後，専用の扁平セル（図 6）で吸い上げ, ESR 装置の試料挿込口に扁平セルを挿込み, 直ちに測定を開始（UV 照射）した．この場合，試料については，測定対象とする中央波形の振幅が検量線の範囲内で，さらに信号強度の誤差が 300 以内であることを確認のうえ，3 試料を測定した（$n = 3$）．なお，抗酸化の指標とした外部標準物質は，以下のとおりである：$^{\cdot}O_2^-$捕捉活性，α-リポ酸； HO$^{\cdot}$捕捉活性，ASA； RO$^{\cdot}$捕捉活性，グルタチオン（GSH）； $^1O_2$ 捕捉活性，GSH．外部標準物質の種類が分析法ごとに異なる理由は，表 2 に示した試薬の混合液に対する外部標準物質の溶解度が違うことにある．各 ESR-ST 分析におけるアダクト信号波形には捕捉する ROS の種類ごとに固有の特徴が確認出来る（図 7)．これらの波は，測定開始後，中央から左右方向にシンメトリックに広がるため，信号強度の測定には，測定開始直後に現れる中央波の振幅（図 7 中に「＊」で示した最大値と最小値の距離）を用いた．試料の各種捕捉活性値は，blank 測定時の信号強度の平均より試料測

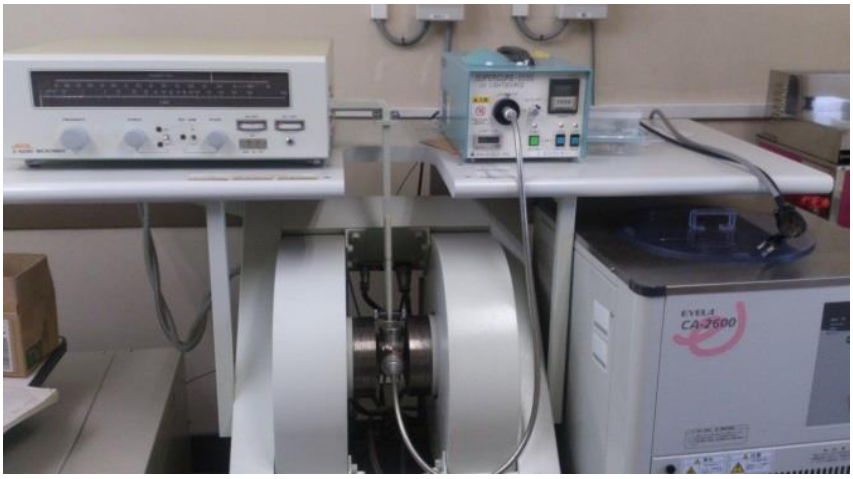


図 5　ESR 装置.

図 6　偏平セル.

表 2　各種ラジカル発生系で使用した試薬および試料の混合組成.

$HO^{\cdot}$	調製濃度	測定濃度	必要量
H_2O_2	1 %	0.25 %	50 µL
DTPA	10 mM	1.5 mM	30 µL
CYPMPO	10 mM	1.0 mM	20 µL
Sample	-	-	50 µL
PB	100 mM	25 mM	50 µL

$^{\cdot}O_2^-$	調製濃度	測定濃度	必要量
Riboflavin	200 µM	15.4 µM	20 µL
EDTA	10 mM	0.77 mM	20 µL
CYPMPO	10 mM	3.85 mM	100 µL
Glycine	0.1 mM	7.69 µM	20 µL
Sample	-	-	50 µL
PB	100 mM	19.2 mM	50 µL

$RO^{\cdot}$	調製濃度	測定濃度	必要量
AAPH	4 mM	1 mM	50 µL
CYPMPO	10 mM	1 mM	20 µL
Sample	-	-	50 µL
PB	100 mM	40 mM	80 µL

$^1O_2$	調製濃度	測定濃度	必要量
Pterin	0.6 mM	0.15 mM	50 µL
TMPD	100 mM	25 mM	50 µL
DTPA	15 mM	1.5 mM	20 µL
Sample	-	-	40 µL
PB	100 mM	25 mM	40 µL

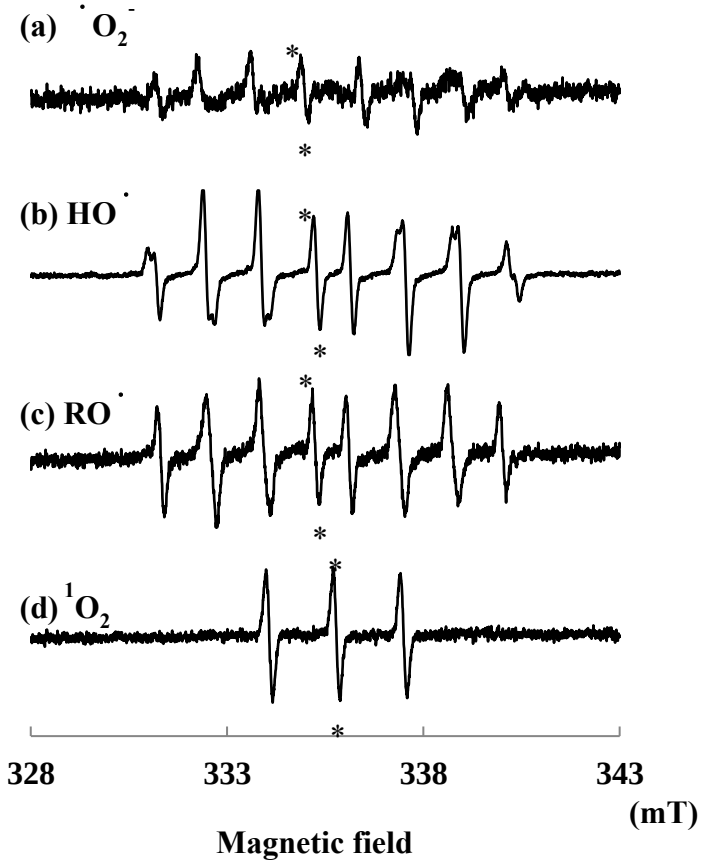


図 7　各 ESR-ST 分析におけるアダクト信号
(a) ˙O_2^-捕捉活性，(b)$HO^{\cdot}$捕捉活性，
(c)$RO^{\cdot}$捕捉活性および(d)$^1O_2$捕捉活性.

定時の信号強度がどれだけ減少したかを算出し作成した検量線（図 8,9,10,11）を用いた.

2. 結果および考察

2-1. DPPH˙捕捉活性（DPPH 法）

DPPH˙捕捉活性分析における，検量線の一例を図 3 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の DPPH˙捕捉活性値の種および品種間差ならびにその年次間変動（2013 および 2017 年）を見ると（表 3），顕著な種・品種間差が確認され，DPPH˙捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比べ，2013 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’ならびに 2017 年のカラフトイバラ，ノイバラおよび‘コンサレッド’で有意（$P < 0.05$）に値が高く，他方 2013 年のオオタカネバラおよびハマナスならびに購入果実のイヌバラ（参考）で有意（$P < 0.05$）に値が低かった．また，分散分析（ANOVA）の結果，DPPH˙捕捉活性値に年次間差は認められなかった．他方，種・品種と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，年次間変動の傾向は種・品種ごとに異なっていたことを示している.

2-2. ROO˙捕捉活性（ORAC 法）

ORAC 分析（ROO˙捕捉活性測定）における，検量線の一例を図 4 に示した．この場合，net AUC とは試料または抗酸化標準液（抗酸化物質あり）が示す曲線とブランク溶液（抗酸化物質なし）が示す曲線に挟まれた面積のことで，抗酸化活性が長く持続する（抗酸化物質の量が多い）ほどその面積は大きくなる．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の ROO˙捕捉活性値の種および品種間差ならびにその年次間変動（2013 および 2017 年）を見ると（表 3），顕著な種・品種間差が確認され，ROO˙捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比べ，2013 年ならびに 2017 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’で有意（$P < 0.05$）に値が高く，他方それ以外で有意（$P < 0.05$）に値が低かった．また，三笠試験地で栽培した‘北彩’以外の種および品種で，ROO˙捕捉活性値に年次間差が確

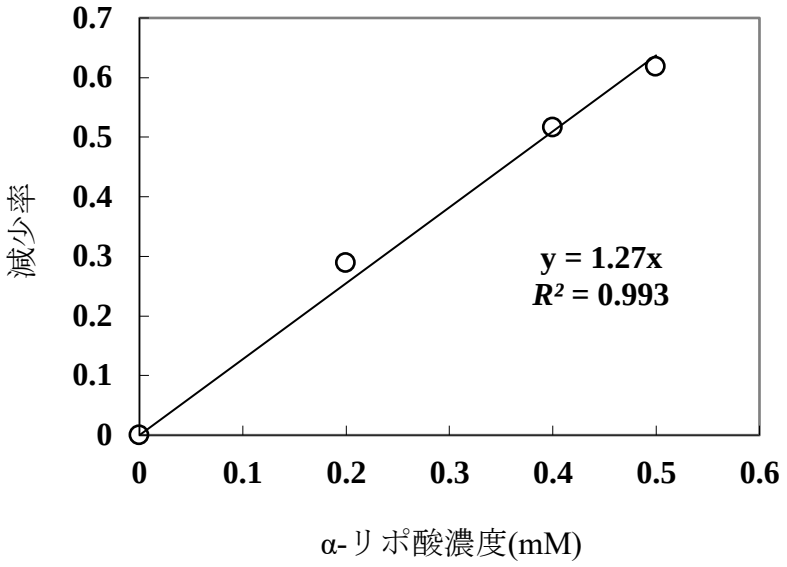


図 8　ESR-ST($^{\cdot}O_2^-$)における α-リポ酸濃度と減少率の相関(検量線).

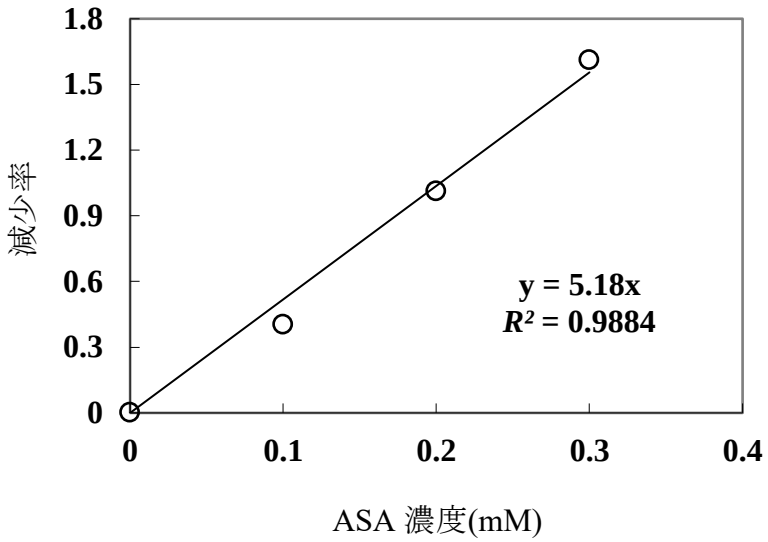


図 9　ESR-ST(HO˙)における ASA 濃度と減少率の相関(検量線).

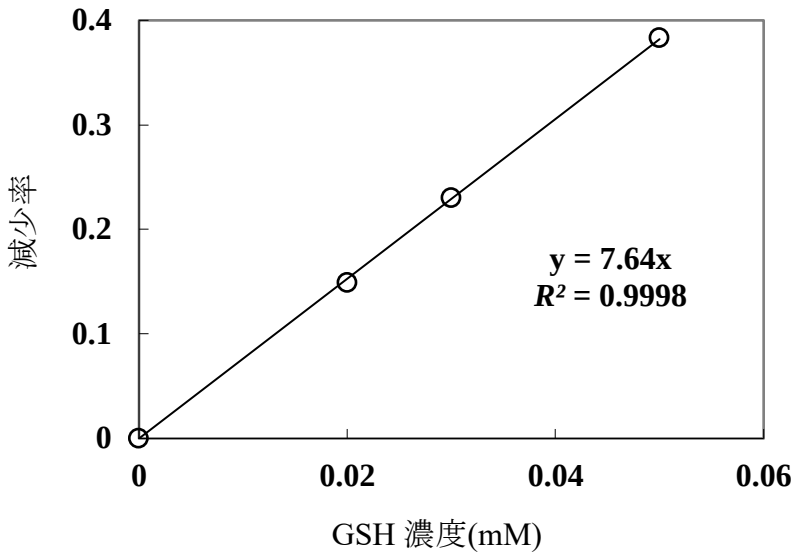


図 10　ESR-ST(RO˙)における GSH 濃度と減少率の相関(検量線).

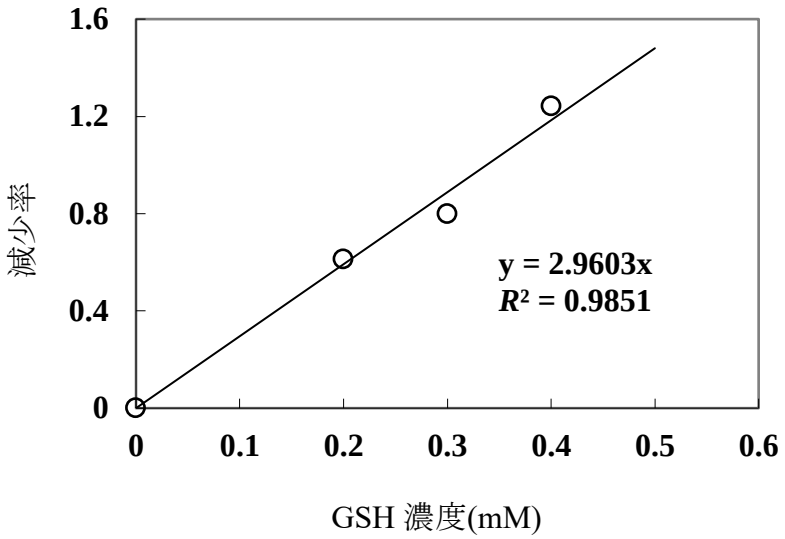


図 11　ESR-ST($^1O_2$)における GSH 濃度と減少率の相関(検量線).

表 3. 2013年および2017年に採取したバラ属果実の DPPH•, ROO•, $^{\bullet}O_2^-$, HO• , RO• および $^1O_2$ 捕捉活性の種および品種間差. .

種/品種	ラジカル捕捉活性							
	DPPH• (mmol TE/kg DW)		ROO• (mmol TE/kg DW)		$^{\bullet}O_2^-$ (mol α–lipoic acid eq./kg DW)	HO• (mol ASA eq./kg DW)	RO• (mol GSH eq./kg DW)	$^1O_2$ (mol GSH eq./kg DW)
年:	2013	2017	2013	2017	2013	2013	2013	2013
東アジア産								
オオタカネバラ	365.4 ± 8.6 de	531.7 ± 93.5 bc	478.3 ± 5.1 d	423.1 ± 19.0 e *	253.6 ± 44.4 ab	676.6 ± 13.8 abc	83.9 ± 8.0 a	63.5 ± 2.7 c
カラフトイバラ	1763.9 ± 89.1 a	1200.5 ± 66.4 a	3576.6 ± 105.4 a	2487.4 ± 53.3 a **	258.2 ± 38.6 ab	830.8 ± 83.6 a	92.2 ± 8.2 a	174.2 ± 19.0 a
ノイバラ	571.6 ± 20.6 c	1185.5 ± 98.6 a	303.0 ± 27.6 d	694.8 ± 21.7 d **	20.4 ± 12.7 c	497.5 ± 70.6 bc	111.3 ± 11.2 a	73.0 ± 4.9 c
ハマナス	335.2 ± 12.8 de	778.7 ± 98.0 b	716.6 ± 5.2 cd	943.1 ± 2.5 c **	50.3 ± 11.8 c	417.7 ± 13.9 cd	20.3 ± 0.8 b	106.0 ± 2.6 bc
ヤエハマナス	413.9 ± 27.5 cd	– z	694.2 ± 15.2 cd	–	25.0 ± 7.0 c	589.9 ± 20.7 abc	94.4 ± 8.2 a	79.8 ± 9.1 c
欧州産								
グラウカ (対照)	572.6 ± 24.2 c	731.9 ± 66.5 b	1904.9 ± 62.4 b	1626.0 ± 10.5 b *	69.2 ± 14.6 bc	707.2 ± 58.8 ab	121.5 ± 12.9 a	132.9 ± 7.1 ab
雑種								
‘北彩’	446.3 ± 7.6 cd	578.5 ± 88.7 b	1061.1 ± 87.9 c	867.6 ± 25.3 c	291.4 ± 78.6 a	659.6 ± 92.0 abc	80.3 ± 6.9 a	63.1 ± 5.6 c
‘コンサレッド’	1511.8 ± 56.0 b	1177.3 ± 40.2 a	3933.3 ± 220.4 a	2605.3 ± 71.3 a **	298.3 ± 12.1 a	694.5 ± 69.5 abc	81.9 ± 9.8 a	128.0 ± 15.1 ab
イヌバラ y	184.0 ± 18.7 e	184.0 ± 18.7 c	451.7 ± 13.2 d	451.7 ± 13.2 e	201.5 ± 61.7 abc	90.3 ± 4.3 d	3.6 ± 0.4 b	66.8 ± 6.2 c

ANOVA	DPPH•	ROO•	$^{\bullet}O_2^-$	HO•	RO•	$^1O_2$
種/品種 (S)	**	**	**	**	**	**
年 (Y)	ns	**				
S × Y	**	**				

平均値± SE(n = 3).
z 2017年のヤエハマナスは試料なし．ANOVAから除外．
y イヌバラは輸入果実を購入したため参考値．ANOVAから除外．
異なる英文字は同一年次の材料間に有意差があることを示す(P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
**P < 0.01; *P < 0.05 同じ種/品種間で2013年との間に有意差あり(Studentのt検定) .
ANOVA表で **, P < 0.01; ns, 5% 水準で有意差なし.

認された．しかし，この場合 ROO˙捕捉活性値の大小と年次間に，種および品種で共通する一定の傾向は認められなかった．この点は，ANOVA で，種・品種と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことからも裏付けられる．

2-3. ˙O_2^-捕捉活性（ESR-ST 法）

˙O_2^-捕捉活性測定における，検量線の一例を図 8 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の˙O_2^-捕捉活性値の種および品種間差を見ると（表 3），グラウカ（対照）と比べ，‘北彩’および‘コンサレッド’で有意（$P < 0.05$）に値が高かったのに対し，それ以外に差は認められなかった．

2-4. HO˙捕捉活性（ESR-ST 法）

HO˙捕捉活性測定における，検量線の一例を図 9 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の HO˙捕捉活性値の種および品種間差を見ると（表 3），グラウカ（対照）と比べ，ハマナスならびに購入果実のイヌバラ（参考）で有意（$P < 0.05$）に値が低かったのに対し，それ以外に差は認められなかった．

2-5. RO˙捕捉活性（ESR-ST 法）

RO˙捕捉活性測定における，検量線の一例を図 10 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の RO˙捕捉活性値の種および品種間差を見ると（表 2），グラウカ（対照）と比べ，ハマナスならびに購入果実のイヌバラ（参考）で有意（$P < 0.05$）に値が低かったのに対し，それ以外に差は認められなかった．

2-6. $^1O_2$ 捕捉活性（ESR-ST 法）

$^1O_2$ 捕捉活性測定における，検量線の一例を図 11 に示した．検量線は，いずれも高い正の相関を示し，定量分析を行うのに十分な精度を有していた．これに基づき算出した各種バラ属植物果実の $^1O_2$ 捕捉活性値の種および品種間差を

見ると（表 3），グラウカ（対照）と比べ，オオタカネバラ，ノイバラ，ヤエハマナスおよび‘北彩’ならびに購入果実のイヌバラ（参考）で有意（$P < 0.05$）に値が低かったのに対し，それ以外に差は認められなかった．

第 3 節　果実に含まれる抗酸化成分と各種抗酸化活性値との関連

本節では，第 1 節で示した果実抗酸化成分含量と第 2 節で示した各種抗酸化活性値との関連を，回帰分析により明らかにしようとした．

1. 材料および方法

1-1. 解析に用いたデータ

本章，第 1 および 2 節に示したデータの全てを解析対象とした．

1-2. 統計解析

ASA 含量と各抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値），ならびに総ポリフェノール含量と各抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）との間で Pearson の回帰分析を行った．

2. 結果および考察

2-1. ASA 含量と各種抗酸化活性値の相関

ASA 含量と各種抗酸化活性値の相関図を図 12 に示した．この場合，DHA（酸化型）は抗酸化活性を有しておらず，加えて in vitro においてグルタチオンーアスコルビン酸回路は機能しない（DHA が ASA に転換されることはない）ので，各種抗酸化活性値との比較は，各材料の ASA 含量のみの（DHA 含量を除外した）値を用いて行った．その結果，ASA 含量と DPPH˙，ROO˙，HO˙および $^1O_2$ の各種ラジカル捕捉活性値との間に，統計的に有意（$P < 0.05$）な相関係数（$r = 0.533$〜0.746）を持つ，正の相関関係が認められた．

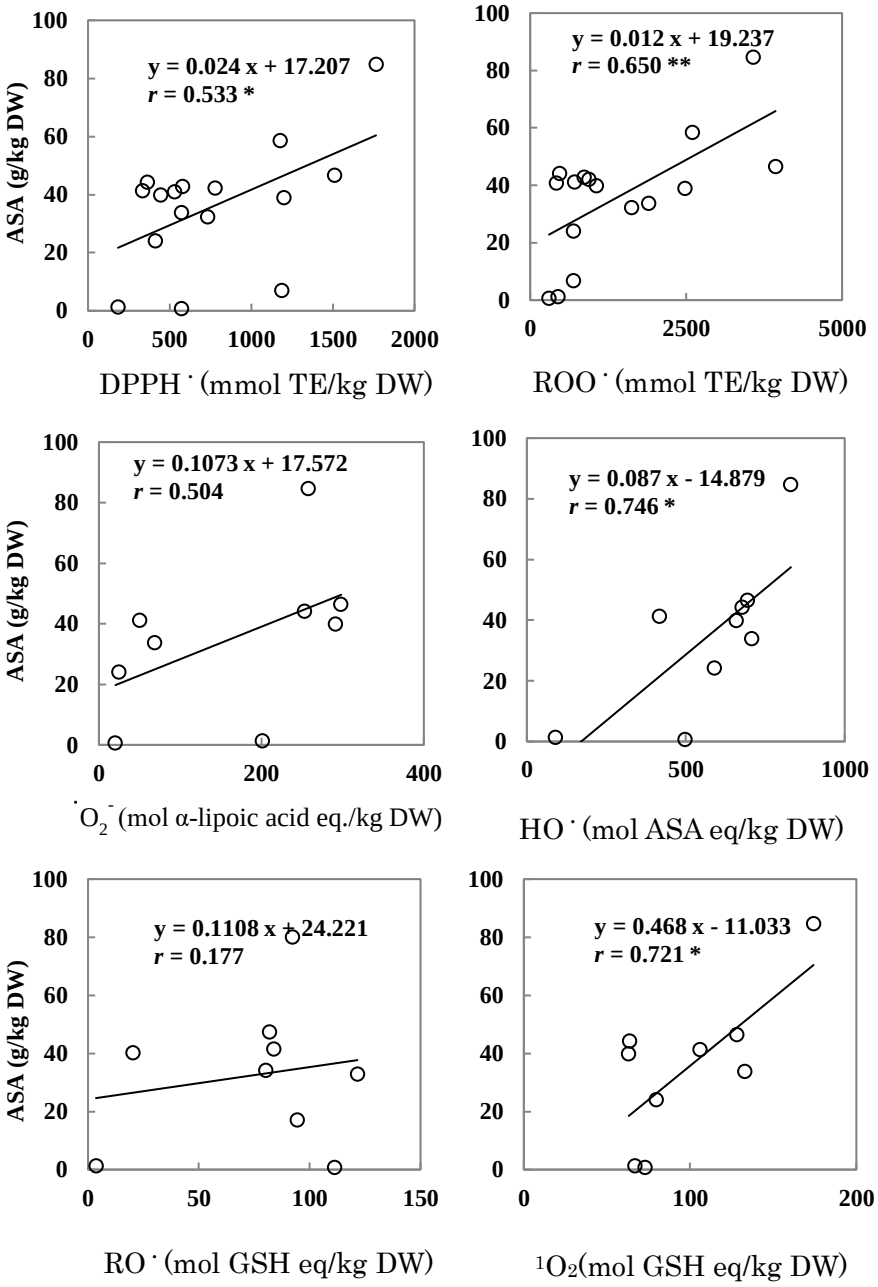


図 12 ASA 含量と各種抗酸化活性値の相関.

$P < 0.05$, $P < 0.01$(ピアソンの積率相関係数検定で有意差あり).

2-2. 総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値の相関

総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値の相関図を図 13 に示した．その結果，総ポリフェノール含量と DPPH˙，ROO˙および $^1O_2$ の各種ラジカル捕捉活性値との間に，統計的に有意（$P < 0.05$）な相関係数（$r = 0.835$〜0.932）を持つ，正の相関関係が認められた．

第 4 節　第 1 章の考察

第 1 章では，各種バラ属果実（ローズヒップ）に含まれる水溶性抗酸化成分の ASA および総ポリフェノール含量に着目し，同時に果実水溶性抽出液の抗酸化活性を様々な評価法を用いて多面的に評価した．これらの結果に基づき，水溶性抗酸化成分含量と各種抗酸化活性値との相関を調べた結果，ASA および総ポリフェノールの両方が，DPPH˙，ROO˙および $^1O_2$ ラジカル捕捉活性値との間に，統計的に有意（$P < 0.05$）な正の相関関係を有することが明らかになった．この場合，相関係数の数値は，総ポリフェノール（$r = 0.835$〜0.932）が ASA（$r = 0.533$〜0.746）に比べて総じて高い値を示したことから，ASA よりも総ポリフェノールの方が，これらのラジカル消去により強く働いているものと考えられる．堀川（2019）は，学位論文の中で，ハスカップおよびヤマブドウ果実の総ポリフェノール含量および総アントシアニン含量と DPPH˙および ROO˙捕捉活性の相関を調べ，両果実とも総ポリフェノール含量は DPPH˙および ROO˙捕捉活性と強い正の相関を示すが，総アントシアニン含量が DPPH˙および ROO˙捕捉活性と正の相関を示すのはハスカップだけで，ヤマブドウ果実の場合そのような関係が認められないことを報告した．この結果は，ヤマブドウ果実においてアントシアニン以外のポリフェノールが抗酸化に寄与していることを示している．本研究ではポリフェノールの種類について調査していないので，ローズヒップ中にあって抗酸化性に大きく関わるポリフェノールの種類を，今後明らかにする必要がある．

次に，年次間差について考察する．抗酸化成分のうち ASA 含量に年次間差が認められたのはカラフトイバラのみであった．一方，DHA 含量には多くの種および品種で年次間差が認められた．従って，年次が異なり気象条件等に違いが

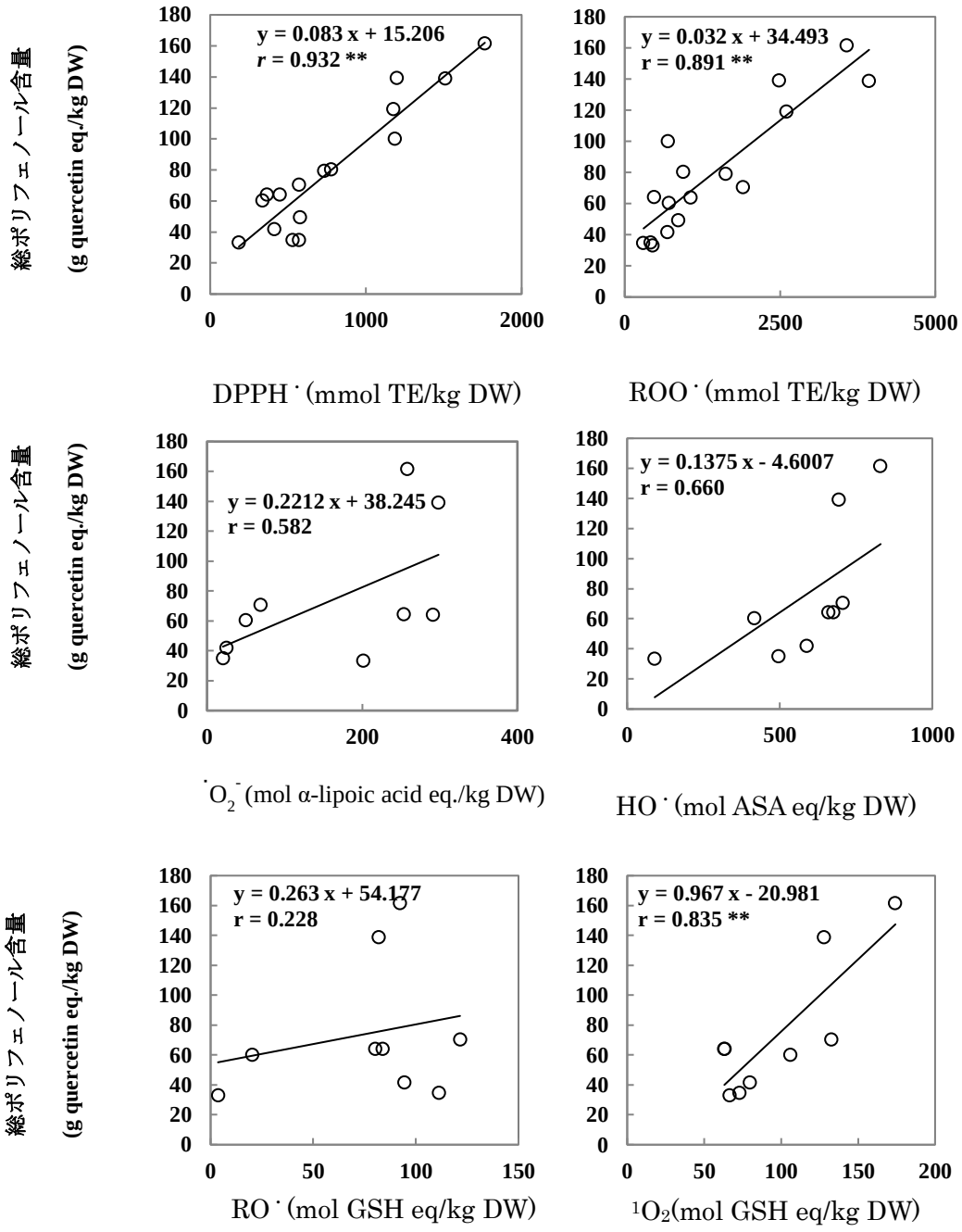


図 13 総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値の相関. $P < 0.05$, $P < 0.01$(ピアソンの積率相関係数検定で有意差あり).

生じた場合にも，ASA 含量は比較的安定して維持される仕組みがあるものと推測できる．また，各材料の総ポリフェノール含量には顕著な年次間差が認められた．しかし，含量の多少には材料間に共通する特徴は認められなかったことから，総ポリフェノール含量はもともと数値の変動幅が大きい項目と考えられる．つまり，ポリフェノールに属する化合物の種類は多いので，個々の成分の変動幅の累積値として総ポリフェノール含量の変動幅が大きくなるものと予想される．抗酸化性については，$ROO^{\cdot}$ 捕捉活性値に年次間差が認められた．この理由は不明であるが，$ROO^{\cdot}$ を捕捉しやすい抗酸化成分の年次変動が大きかったものと予想される．

次に，第 1 章で最も注目したかったローズヒップにおける抗酸化性の種および品種間差について考察する．種および品種間比較を行う上で，本章において調査した抗酸化成分含量および抗酸化活性値の全 8 項目，すなわち総アスコルビン酸含量（ASA+DHA），総ポリフェノール含量，$^{\cdot}O_2^{-}$，$DPPH^{\cdot}$，$ROO^{\cdot}$，$HO^{\cdot}$，$RO^{\cdot}$ および $^1O_2$ の各種ラジカル捕捉活性値について，調査した種・品種の中の最大値を 100 とした場合の各数値の割合（%）を指標に，レーダーチャートを作成した（図 14）．その結果，材料が持つ抗酸化性を多面的に比較できるようになり，カラフトイバラおよび‘コンサレッド’が，全ての指標で高い数値を示すことが明白になった．このように，レーダーチャートを用いた抗酸化性表示は，今後，材料が持つ抗酸化性を多面的に比較し得る新しい表示法として有用である．また，これら 2 種類のローズヒップは，異なる種類の ROS に対しても万能的に抗酸化性を発揮し得るので，これらは高い抗酸化機能を持つ食素材になり得るものと考えられる．加えて，‘コンサレッド’は，カラフトイバラ（*R. davurica*）× グラウカ（*R. glauca*）の種間交雑品種であることから，カラフトイバラは高い抗酸化性を有するローズヒップを育成するための育種母本としても，優れた種であると考えられる．

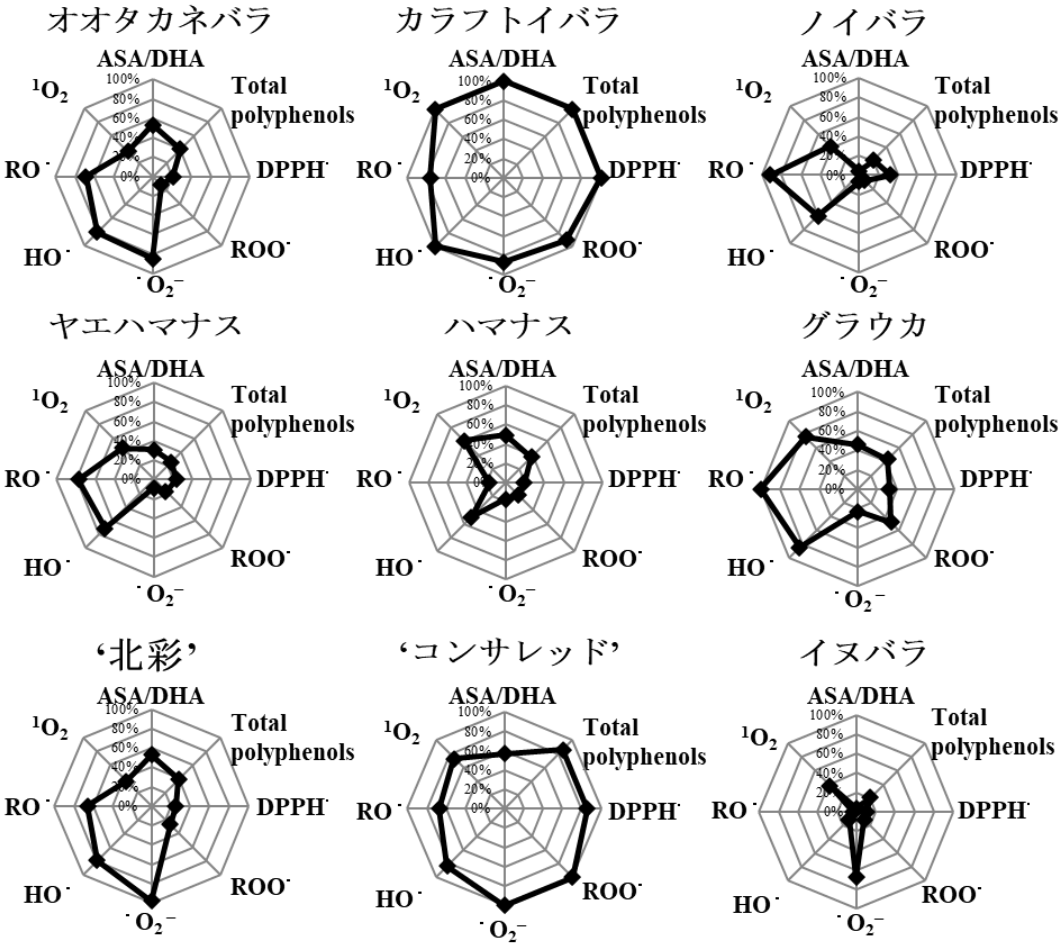


図 14　バラ属果実の各種抗酸化成分含量および抗酸化活性値における種および品種間差の総合的評価.

第 2 章　果実の抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値の果実発育に伴う変動

果実の発育・成熟に伴い，一般に果皮着色および内生成分組成の変化などが認められる．内生成分の中でも抗酸化性に関わるポリフェノールの濃度について，Tarun et al.（2019）は，インドのヒマラヤ地域に自生する *Myrica esculenta*，*Berberis asiatica*，*Rubusellipticus*，*Pyracantha crenulata* および *Morusalba* 果実の抗酸化成分を調査し，傾向は種ごとに異なるものの，全ての種でカテキンおよびp-クマル酸濃度の低下が認められたことを報告している．果実発育に伴う抗酸化成分および抗酸化性の変化を明らかにすることは，果実抗酸化性の利用を図る上で，収穫適期などの有益な情報をもたらすものと考えられる．

アロニア（*Aronia melanocarpa* (Michs.) Elliott）は，バラ科の小果樹で早生のロシア型および晩生のアメリカ型に大別される．北海道で，ロシア型およびアメリカ型は，各々8 月中・下旬および 9 月中旬に収穫される．果実はポリフェノール（特にアントシアニン）を豊富に含み，高い抗酸化性を有する食素材として世界の研究者の注目を集めている（Ruginǎ, et al., 2012）．田中ら（2001）は，アメリカ型果実のポリフェノール含量が，ロシア型のそれと比べて多いことを報告した．また，鈴木ら（2009）は，果実の発育に伴いロシア型およびアメリカ型果実の両方で総アントシアニン含量は増加するが，その組成に果実発育に伴う変化は認められないことを報告している．しかし，アロニア果実の高い抗酸化性に関する報告は多いものの，果実発育に伴う抗酸化性の推移を調査した報告は少ない．アロニアは，前述のように早生（ロシア型）および晩生（アメリカ型）という早晩性の異なる２つの系統が同一種の中に存在するため，発育・成熟段階を異にする果実間で，抗酸化成分および抗酸化性の推移を比較する材料として，優れた特徴を有している．

そこで，第 2 章では，アロニア果実の抗酸化成分および抗酸化性を複数年次にわたり調査し，その果実発育に伴う変動を明らかにしようとした．また，第 1 章で扱ったバラ属果実についても同様の調査を行い，アロニアのそれと比較しようと考えた．

第１節　アロニア果実の発育・成熟に伴う抗酸化性の推移

第１項　果実発育・成熟過程における諸形質の変化

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

北海道大学北方生物圏フィールド科学センター生物生産研究農場（札幌市，以下北大農場と略記）に栽植されている（2018 年時点で）19 年生のアロニア樹（アメリカ型およびロシア型）から，2018 年 7 月 10 日～ 9 月 11 日，2019 年 7 月 3 日～ 9 月 25 日および 2020 年 7 月 10 日～10 月 2 日の期間，いずれも 1 週間ごとに，その時期の平均的な果実（約 10～80 果，未熟果ほど数が多い）を採取し材料とした．この場合，1 花叢あたり 20 果程度着生しているので，果実はなるべく異なる花叢から満遍なく採取するように心がけた．

1-2. 果実発育状況の調査

採取後，直ちに果実の横径および生体重を計測後，液体窒素で急速凍結し，凍結乾燥・粉末化して分析実験の材料とした．なお，分析まで，材料は－30°C で保存した．含水率は，生体重および凍結乾燥後の乾物重に基づき算出した．果実の着色状況は，果皮および果実内部の着色状況に基づき判断した．すなわち，果皮の一部が緑色から赤色に変化した時期を着色開始期とし，果実の切断面（果実内部）が斑なく黒紫に着色した時期を着色完了期と定義した．

2. 結果および考察

アロニア果実の発育に伴う外観および着色状況の推移（2018～2020 年）を図 15 および図 16 に示した．年次を問わず，着色開始日はロシア型が 7 月 17 日～24 日，アメリカ型が 8 月 14 日～21 日，着色完了日はロシア型が 8 月 21 日～28 日，アメリカ型が 9 月 4 日～11 日であった．従って，早生のロシア型と晩生のアメリカ型では，着色開始に約 1 か月，着色完了に約 2 週間の差があることが明らかになった．

果実横径の推移（2018～2020 年）を表 4 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 17 に示した．果実横径は，ロシア型が 0.70～1.32 cm（2018 年），0.72～1.32 cm（2019 年）および 0.63

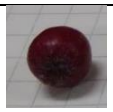
採取日	7/3	7/10	7/17	7/24	7/31	8/7	8/14
2018 年							
2019 年							
2020 年							
	8/21	8/28	9/4	9/11	9/18	9/25	10/2
2018 年							
2019 年							
2020 年							

図 15　アロニア果実(ロシア型)の外観(2018～2020 年).

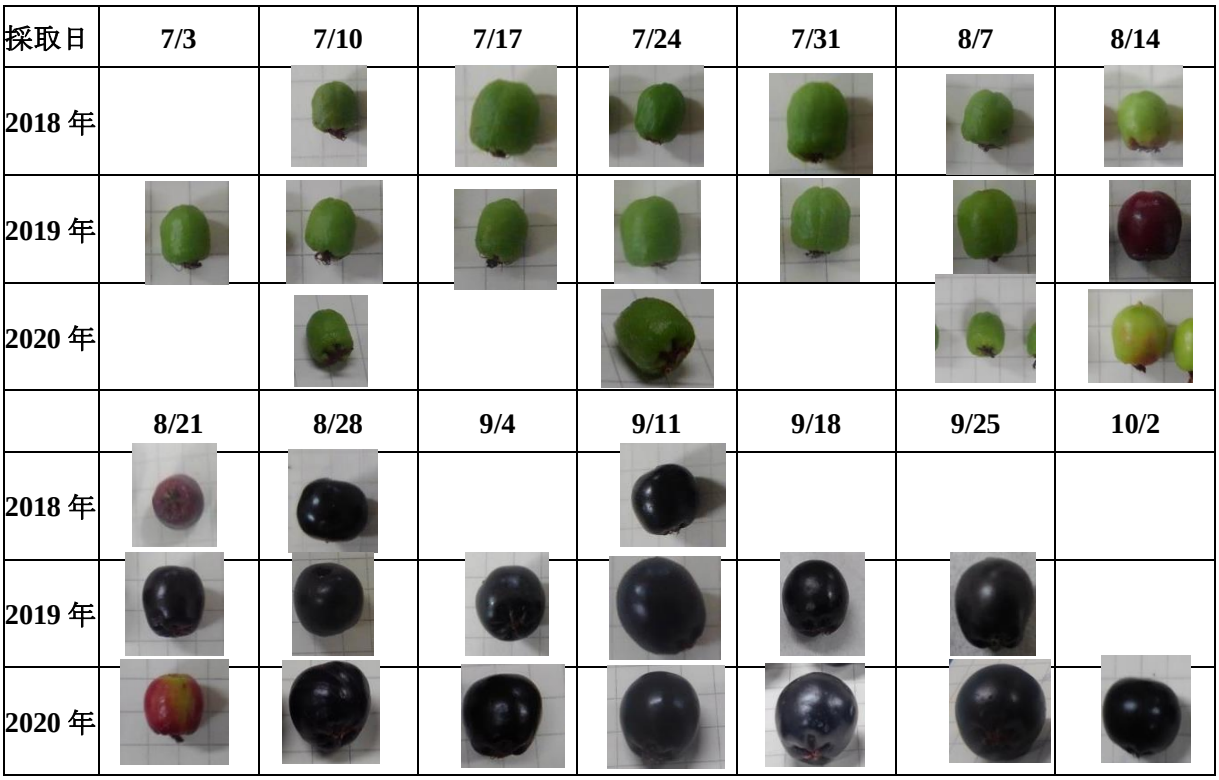


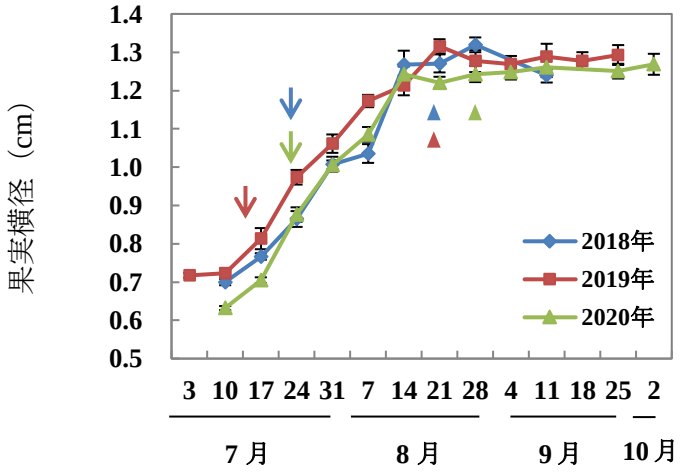
図 16　アロニア果実(アメリカ型)の外観(2018～2020 年).

表4　アロニア果実の発育に伴う横径の推移.

	横径(cm)						
	ロシア型				アメリカ型		
	採取年				採取年		
採取日(月/日)	2018	2019	2020	採取日(月/日)	2018	2019	2020
7/3	-[z]	0.72±0.006 f	-	7/3	-	0.58±0.005 g	-
7/10	0.70±0.008 cB	0.72±0.012 efA	0.63±0.005 fB	7/10	0.59±0.005 fB	0.61±0.008 fgA	0.57±0.006 gB
7/17	0.77±0.009 dA	0.81±0.028 efA	0.70±0.007 eB	7/17	0.63±0.005 e	0.61±0.008 fg	-
7/24	0.86±0.021 eB	0.97±0.019 dA	0.88±0.019 dB	7/24	0.65±0.006 deA	0.61±0.012 fgB	0.62±0.008 fgB
7/31	1.01±0.019 b	1.06±0.024 d	1.01±0.012 c	7/31	0.67±0.010 de	0.65±0.008 ef	-
8/7	1.04±0.024 bB	1.17±0.016 cA	1.09±0.019 bAB	8/7	0.66±0.005 dB	0.69±0.008 efA	0.67±0.009 fAB
8/14	1.27±0.036 a	1.21±0.026 bc	1.24±0.020 a	8/14	0.82±0.013 cA	0.84±0.023 dA	0.74±0.020 eB
8/21	1.27±0.024 aAB	1.32±0.019 aA	1.22±0.016 aB	8/21	0.90±0.025 b	0.96±0.012 c	0.90±0.020 d
8/28	1.32±0.019 a	1.28±0.029 ab	1.24±0.021 a	8/28	1.10±0.015 aA	1.06±0.014 bA	1.01±0.013 cB
9/4	-	1.27±0.021 ab	1.25±0.019 a	9/4	-	1.07±0.014 ab	1.08±0.015 b
9/11	1.24±0.018 a	1.29±0.033 ab	1.26±0.026 a	9/11	1.12±0.020 a	1.11±0.012 ab	1.17±0.019 ab
9/18	-	1.28±0.023 ab	-	9/18	-	1.08±0.011 ab	1.14±0.013 ab
9/25	-	1.29±0.026 ab	1.25±0.019 a	9/25	-	1.12±0.016 a	1.20±0.022 a
10/2	-	-	1.27±0.027 a	10/2	-	-	1.20±0.026 a
ANOVA		ロシア型				アメリカ型	
採取日(D)		**				**	
採取年(Y)		**				**	
D×Y		**				**	

平均値± SE(n = 10～80).
[z] 採取せず．ANOVAから除外.
異なる英大文字は年次間に，英小文字は採取日間に有意差があることを示す (P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
ANOVA表で **, P < 0.01.

ロシア型



アメリカ型

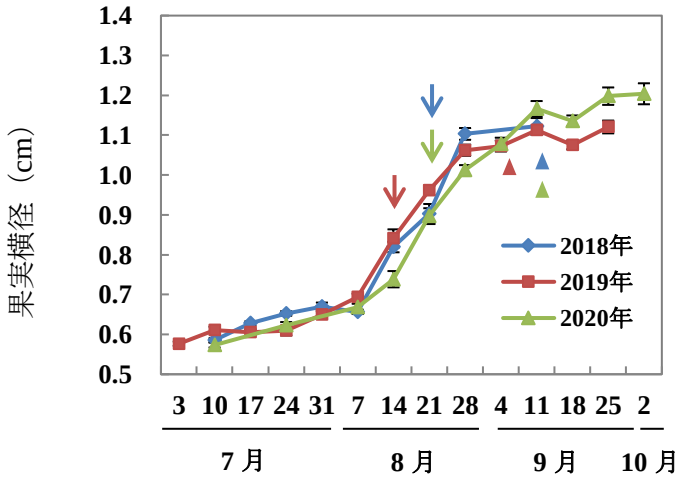


図 17　アロニア果実の発育に伴う横径の推移.

矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

～1.26 cm（2020 年），アメリカ型が 0.59～1.12 cm（2018 年），0.58～1.12 cm（2019 年）および 0.57～1.20 cm（2020 年）で推移し，全ての年次において成熟果の横径は，ロシア型がアメリカ型よりも大きかった．また，果実肥大は着色開始期の 1～2 週間ほど前から始まり，着色期間中継続するが，着色完了期頃から果実横径はほぼ横ばいとなり，この傾向に年次間差は認められなかった．

1 果重の推移（2018～2020 年）を表 5 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 18 に示した．1 果重は，ロシア型が 0.19～0.88 g（2018 年），0.23～1.27 g（2019 年）および 0.17～1.13 g（2020 年），アメリカ型が 0.14～0.70 g（2018 年），0.14～0.90 g（2019 年）および 0.14～1.13 g（2020 年）で推移し，成熟果の 1 果重には，ANOVA で年次間差（$P < 0.01$）が認められた．また，1 果重の増大も，果実横径と同様に着色開始期の 1～2 週間ほど前から始まり，着色期間中継続するが，着色完了期頃から横ばいとなることがわかった．この場合，果実収穫時期と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，果実発育に伴う変動の傾向に年次間差が見られたことを示している．果実含水率の推移（2018～2020 年）を表 6 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 19 に示した．含水率は，ロシア型が 68.2～84.4%（2018 年），66.3～80.3%（2019 年）および 67.6～84.1%（2020 年），アメリカ型が 67.7～82.9%（2018 年），67.1～82.3%（2019 年）および 69.5～82.7%（2020 年）で推移した．含水率は，果実肥大開始前（70%以下）と比べ肥大が始まると急速に増大し，着色開始期頃には 74～79%の範囲にあった．そして，2019 年のロシア型を除き，着色完了期以降は，ほぼ 80%前後で推移した．

以上のことから，果実の着色は，ロシア型またはアメリカ型を問わず果実肥大開始以降に始まり果実肥大終了と同時に完了すること，ならびに含水率は，果実肥大開始と同時に増加を始め，着色完了期よりも前に上限（80%前後）に達することが明らかになった．

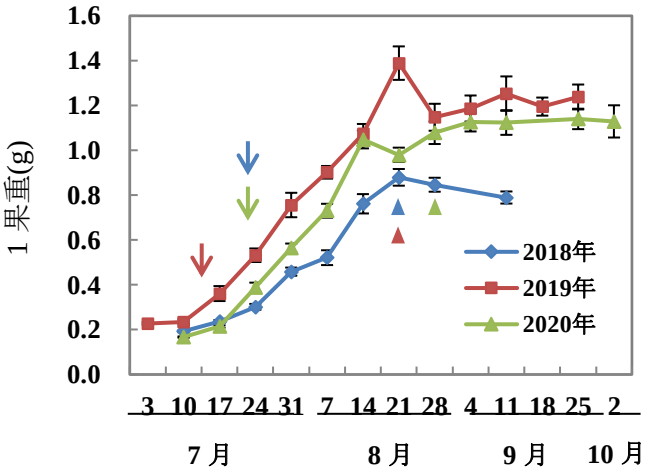
第 2 項　果実発育・成熟に伴う抗酸化成分含量の推移

アロニア果実には，アントシアニンなどのポリフェノールは多いが，バラ属果実と違って ASA は少ない．そこで，本項では，抗酸化成分として総ポリフェ

表5　アロニア果実の発育に伴う1果重の推移.

1果重(g)							
	ロシア型				アメリカ型		
	採取年				採取年		
採取日(月/日)	2018	2019	2020	採取日(月/日)	2018	2019	2020
7/3	-[z]	0.23±0.005 f	-	7/3	-	0.14±0.042 g	-
7/10	0.19±0.004 fB	0.24±0.012 fA	0.17±0.003 eC	7/10	0.14±0.003 eB	0.16±0.006 fgA	0.14±0.004 gB
7/17	0.24±0.006 efB	0.36±0.033 efA	0.21±0.005 eB	7/17	0.16±0.003 de	0.16±0.005 fg	-
7/24	0.30±0.013 efC	0.53±0.030 efA	0.39±0.021 dB	7/24	0.17±0.003 de	0.17±0.009 fg	0.17±0.005 fg
7/31	0.46±0.018 dC	0.76±0.055 dA	0.56±0.020 cB	7/31	0.18±0.005 de	0.19±0.006 fg	-
8/7	0.52±0.033 bcB	0.90±0.028 cdA	0.73±0.031 bB	8/7	0.17±0.003 deB	0.22±0.006 fgA	0.21±0.007 fgA
8/14	0.76±0.043 cB	1.07±0.044 bcA	1.05±0.040 aA	8/14	0.25±0.009 cB	0.35±0.021 eA	0.26±0.019 fB
8/21	0.88±0.037 aB	1.39±0.074 aA	0.98±0.032 aB	8/21	0.39±0.015 bB	0.54±0.019 dA	0.39±0.027 eB
8/28	0.85±0.031 abB	1.15±0.060 abA	1.08±0.050 aA	8/28	0.57±0.011 aB	0.70±0.020 cA	0.58±0.018 dB
9/4	-	1.19±0.058 ab	1.13±0.042 a	9/4	-	0.84±0.023 ab	0.72±0.030 c
9/11	0.79±0.027 cB	1.25±0.077 abA	1.12±0.055 aA	9/11	0.70±0.023 aB	0.87±0.024 abA	0.90±0.038 bA
9/18	-	1.20±0.040 ab	-	9/18	-	0.76±0.020 bc	0.89±0.039 b
9/25	-	1.24±0.056 b	1.14±0.046 a	9/25	-	0.90±0.032 a	1.04±0.046 a
10/2	-	-	1.13±0.072 a	10/2	-	-	1.00±0.051 ab
ANOVA		ロシア型				アメリカ型	
採取日(D)		**				**	
採取年(Y)		**				**	
D×Y		**				**	

平均値± SE(n = 10～80).
[z]採取せず．ANOVAから除外.
異なる英大文字は年次間に，英小文字は採取日間に有意差があることを示す (P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
ANOVA表で **, P < 0.01.



アメリカ型

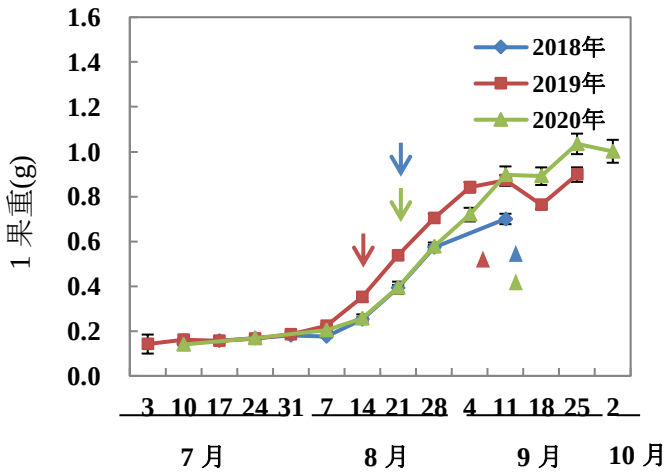


図 18　アロニア果実の発育に伴う 1 果重の推移.

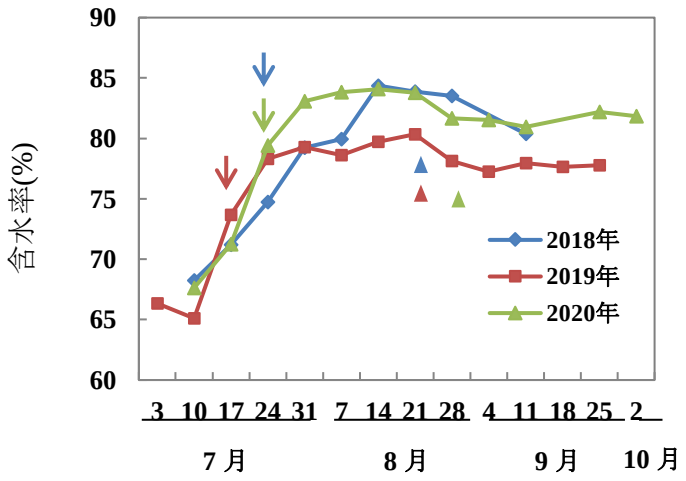
矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

表6　アロニア果実の発育に伴う含水率の推移.

含水率(%)							
	ロシア型				アメリカ型		
	採取年				採取年		
採取日(月/日)	2018	2019	2020	採取日(月/日)	2018	2019	2020
7/3	-[z]	66.3	-	7/3	-	70.1	-
7/10	68.2	65.1	67.6	7/10	71.7	67.9	71.0
7/17	71.2	73.7	71.3	7/17	70.6	68.8	-
7/24	74.8	78.3	79.4	7/24	69.6	66.1	69.5
7/31	79.2	79.3	83.1	7/31	68.8	67.4	-
8/7	80.0	78.6	83.8	8/7	67.7	67.1	69.5
8/14	84.4	79.7	84.1	8/14	73.4	76.8	73.2
8/21	83.9	80.3	83.8	8/21	79.9	80.1	78.9
8/28	83.5	78.1	81.6	8/28	82.9	82.3	81.2
9/4	-	77.2	81.5	9/4	-	81.8	82.0
9/11	80.5	78.0	81.0	9/11	80.9	81.5	82.4
9/18	-	77.7	-	9/18	-	82.1	82.0
9/25	-	77.8	82.2	9/25	-	82.0	82.7
10/2	-	-	81.8	10/2	-	-	82.4

[z]採取せず.

ロシア型



アメリカ型

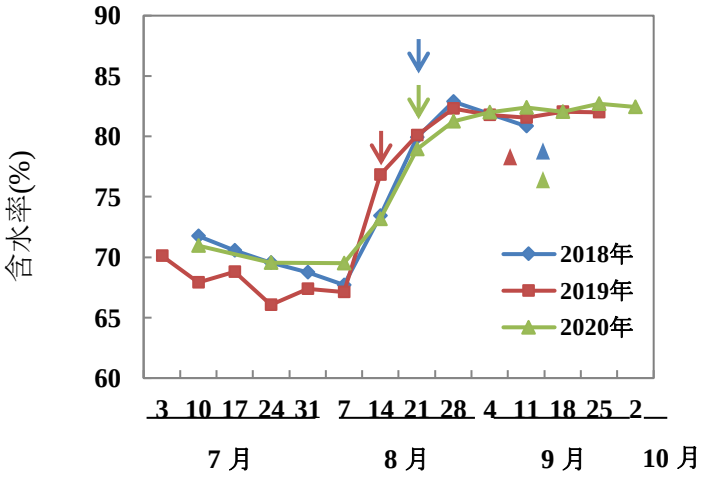


図 19　アロニア果実の発育に伴う含水率の推移.

矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

ノール含量のみを測定した.

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

本章，第 1 節と同じ材料を用いた.

1-2. 総ポリフェノール含量の測定

第 1 章，第 1 節と同様に行った.

1-3. 統計解析

総ポリフェノール含量については，果実採取日（3 年分のデータが揃っている 7 月 10 日，24 日，8 月 7 日，14 日，21 日，28 日および 9 月 11 日の 7 水準）と年次（3 水準）に関する 2 要因分散分析（$n = 3$）を行い，さらに有意差（$P < 0.05$）が認められた要因については，Tukey の多重比較検定で平均値間の比較を行った.

2. 結果および考察

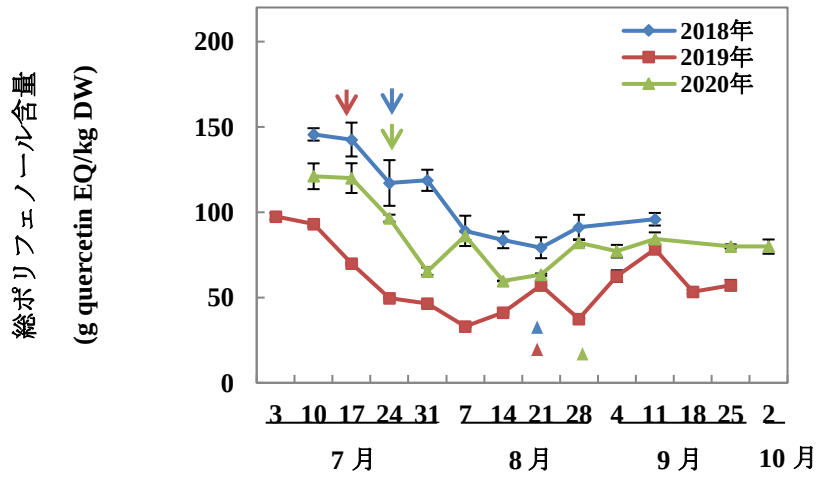
アロニア果実の発育に伴う総ポリフェノール含量の推移（2018 から 2020 年）を表 7 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 20 に示した. 総ポリフェノール含量（g quercetin eq./kg DW）は，ロシア型が 79.2～145.6（2018 年），33.0～97.6（2019 年）および 59.8～121.1（2020 年），アメリカ型が 100.7～191.3（2018 年），59.7～87.0（2019 年）および 78.5～149.5（2020 年）で値が推移した．この場合，2018 および 2020 年は同様の傾向を示し，果実肥大開始期（着色開始期の 1～2 週間前）の値（121.1～191.3 g quercetin eq./kg DW）が最も高く，果実肥大期に漸減し，果実肥大が止まる着色完了期以降は，低い値のまま 80 g quercetin eq./kg DW 前後で推移した．この傾向は，ロシア型およびアメリカ型の両方で同様に確認された．また，2019 年は，果実肥大開始期から常時 100 g quercetin eq./kg DW 以下の低い値を推移し，ANOVA で顕著な年次間差（$P < 0.01$）が確認された．この点に関して，2019 年の 1 果重は高めに推移しており（図 18），果実肥大が例年よりも早く進んだことが伺える．また，含水率にも，他の年次とやや異なる変動パターンが確認できる（図 19）．このことは，ANOVA で，果実収穫時期と年次の交互作用に有意差

表7　アロニア果実の発育に伴う総ポリフェノール含量の推移.

	総ポリフェノール含量 (g quercetin EQ/ kg DW)						
	ロシア型				アメリカ型		
	採取年				採取年		
採取日 (月/日)	2018	2019	2020	採取日 (月/日)	2018	2019	2020
7/3	- [z]	97.6± 2.0 a	-	7/3	-	84.4± 0.7 abc	-
7/10	145.6± 3.6 aA	93.0± 1.4 aC	121.1± 7.5 aB	7/10	152.0± 1.8 abcA	80.4± 0.4 bcB	138.6± 8.0 abA
7/17	142.6± 9.9 aA	69.8± 0.6 bcB	120.0± 8.7 aA	7/17	155.9± 2.7 abc	86.2± 0.5 a	-
7/24	117.1±13.4 abcA	49.7± 0.7 efgB	96.5± 2.1 bA	7/24	141.4±11.8 bcdA	80.5± 0.3 bcB	130.3± 7.7 abA
7/31	118.7± 6.2 abA	46.6± 1.1 fgC	65.4± 2.2 cdeB	7/31	171.5± 2.3 ab	79.4± 0.2 bcd	-
8/7	89.8± 8.9 bcA	33.0± 0.4 hB	86.2± 2.5 bA	8/7	191.3± 8.7 aA	78.9± 0.6 cdC	149.5± 1.5 aB
8/14	83.8± 4.9 bcA	41.1± 0.6 ghC	59.8± 0.2 eB	8/14	151.2±10.1 bcdA	69.4± 0.5 efC	121.4± 0.5 bcB
8/21	79.2± 6.1 cA	57.0± 0.4 deB	63.4± 0.7 deB	8/21	125.0±10.0 cdeA	62.9± 0.3 gB	99.9± 5.8 cdA
8/28	91.1± 7.4 bcA	37.6± 0.2 hB	82.3± 1.9 bcdA	8/28	112.0± 3.1 deA	59.7± 0.4 gC	78.9± 3.4 dB
9/4	-	62.6± 3.4 cd	77.2± 3.7 bcde	9/4	-	74.7± 1.1 de	91.5± 4.8 d
9/11	95.9± 3.7 bcA	78.4± 3.0 bB	84.5± 3.7 bcAB	9/11	100.7±11.9 e	87.0± 2.3 a	84.6± 1.9 d
9/18	-	53.5± 1.1 ef	-	9/18	-	84.9± 1.2 ab	78.5± 3.4 d
9/25	-	57.3± 3.0 de	80.0± 1.2 bcde	9/25	-	65.6± 2.4 fg	79.4± 6.2 d
10/2	-	-	79.8± 4.2 bcde	10/2	-	-	86.7± 3.5 d
ANOVA		ロシア型				アメリカ型	
採取日(D)		**				**	
採取年(Y)		**				**	
D×Y		**				**	

平均値± SE(n = 3).
[z] 採取せず．ANOVAから除外.
異なる英大文字は年次間に，英小文字は採取日間に有意差があることを示す (P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
ANOVA表で **, P < 0.01.

ロシア型



アメリカ型

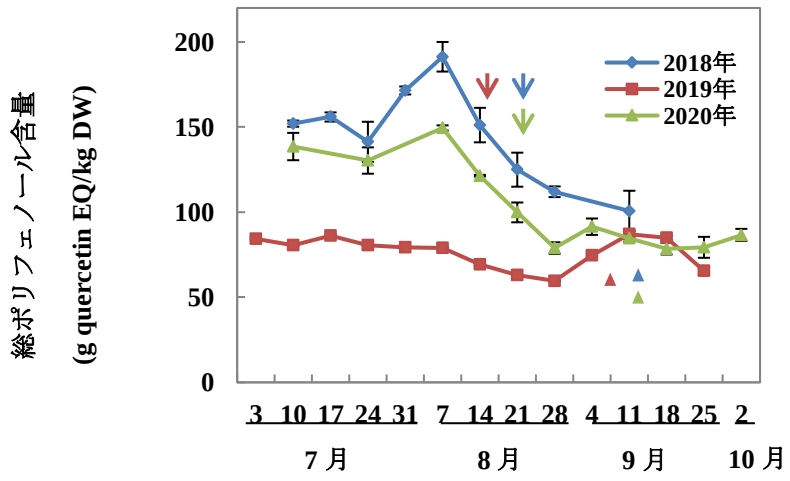


図 20　アロニア果実の発育に伴う総ポリフェノール含量の推移.
矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

（$P < 0.01$）が認められたことからも裏付けられる．これらの事実と気温および降水量などの環境条件との因果関係は不明であるが，果実発育の態様が僅かでも変化すれば，果実内成分の含有量にも影響が出ることを示す事例であると考えられる．

さらに，着色完了期（収穫適期）における果実の総ポリフェノール含量は，アメリカ型（82.3〜100.7）がロシア型（63.4〜74.7）よりも値が高く，この点は田中ら（2001）の報告と一致した．

第 3 項　果実発育・成熟に伴う抗酸化活性の推移

本節では，第 1 節，第 1 章と同様に 3 つの分析手法（DPPH 法，ORAC 法および ESR-ST 法）を用いて各種ラジカル捕捉活性を調査し，果実発育に伴う抗酸化性の変化を明らかにしようとした．

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

植物材料は，本章，第 1 節で用いたものと同じアロニア果実（アメリカ型およびロシア型）である．なお，ESR-ST 法では，2018 年の着色前（果実肥大開始期），着色開始期および着色完了期のみを分析対象とした．

1-2. 抗酸化活性の測定法

第 1 章，第 1 節と同様に行った．

1-3. 統計解析

DPPH˙および ROO˙捕捉活性値については，果実採取日（3 年分のデータが揃っている 7 月 10 日，24 日，8 月 7 日，14 日，21 日，28 日および 9 月 11 日の 7 水準）と年次（3 水準）に関する 2 要因分散分析（$n = 3$）を行い，さらに有意差（$P < 0.05$）が認められた要因については，Tukey の多重比較検定で平均値間の比較を行った．

2. 結果および考察

2-1. DPPH˙捕捉活性（DPPH 法）

アロニア果実の発育に伴う DPPH˙捕捉活性値の推移（2018 から 2020 年）を表 8 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 21 に示した．DPPH˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）は，ロシア型が 714.8～2124.1（2018 年），445.3～1319.0（2019 年）および 488.0～1419.2（2020 年），アメリカ型が 1027.6～2066.4（2018 年），815.3～1428.3（2019 年）および 427.1～1638.3（2020 年）で値が推移した．肥大開始以前の 7 月上・中旬の果実における DPPH˙捕捉活性値には顕著な年次間差（Tukey 検定，$P < 0.05$）が認められ， 2018 年は早生・晩生を問わず 2000 mmol TE/kg DW 前後の高い値を示した．また，果実肥大開始期から着色完了期にかけて値はいずれも漸減し，果実肥大開始期の値（100）に対する着色完了期の割合は，ロシア型が 42.2～60.3%アメリカ型が 46.3～75.9%と，減少率にばらつきが認められた．着色完了期以降は，いずれもほぼ横ばいで推移した．また，ANOVA で，果実収穫時期と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，果実発育に伴う変動の傾向に年次間差が見られたことを示している．

2-2. ROO˙捕捉活性（ORAC 法）

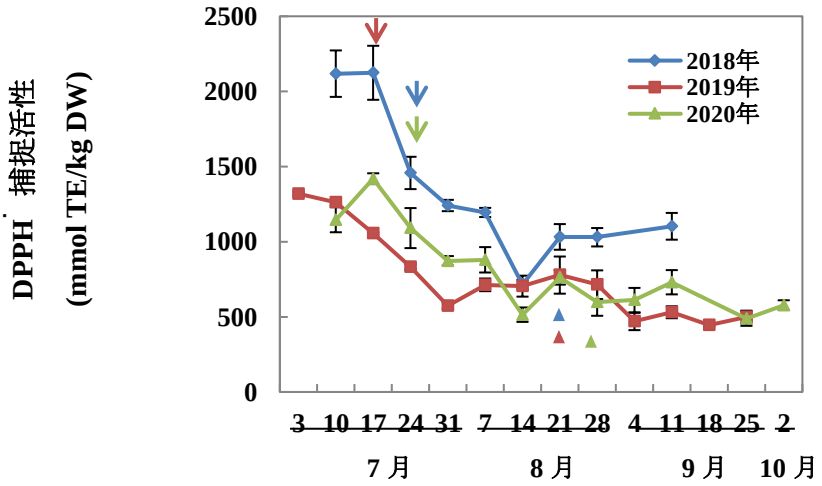
アロニア果実の発育に伴う ROO˙捕捉活性値の推移（2018 から 2020 年）を表 9 に示した．この場合，経時的変化の態様を見やすくするため，同じデータをグラフ化して図 22 に示した．ROO˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）は，ロシア型が 901.9～1445.8（2018 年），901.8～1445.8（2019 年）および 966.8～1682.2（2020 年），アメリカ型が 847.1～1802.6（2018 年），649.5～1554.6（2019 年）および 1071.0～2253.6（2020 年）で値が推移し，変動幅は各年次ともアメリカ型の方が大きかった．ROO˙捕捉活性値は，早生・晩生および年次を問わず，肥大開始以前の 7 月上・中旬の果実で最も高かった．値は，果実着色開始期頃にかけていずれも低下し，その後横ばい，或いはやや増加する傾向を示した．また，年次間差が認められ，2020 年の果実は，早生・晩生とも全期間を通して比較的高い値で推移した．なお，ANOVA で，果実収穫時期と年次の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，果実発育に伴う変動の傾向に年次間差が見られたことを示している．

表8　アロニア果実の発育に伴うDPPH˙捕捉活性の推移.

	DPPH˙捕捉活性 (mmol TE/ kg DW)					
	ロシア型				アメリカ型	
	採取年				採取年	
採取日 (月/日)	2018	2019	2020	採取日 (月/日)	2018	2019	2020
7/3	-[z]	1319.0± 13.4 a	-	7/3	-	1316.9± 80.9 a	-
7/10	2118.3±154.6 aA	1263.1± 21.0 aB	1146.6± 83.7 abB	7/10	1890.7±114.6 abc	1357.7± 72.8 a	1357.5±191.3 a
7/17	2124.1±179.7 aA	1055.3± 8.1 abB	1419.2± 36.1 aB	7/17	2066.4± 71.4 aA	1181.3± 75.2 abB	-
7/24	1457.5±107.5 bA	832.2± 19.8 bcB	1090.6±133.2 abcAB	7/24	1912.5±145.5 ab	1239.3±101.8 ab	1308.1±123.6 abB
7/31	1240.9± 37.7 bA	573.7± 20.1 cdeC	873.1± 31.3 bcdB	7/31	1693.2± 63.1 abc	1170.7± 81.0 ab	-
8/7	1194.7± 30.5 bcA	713.0± 42.1 cdeB	879.5± 84.4 abcdB	8/7	1513.0±187.9 bcd	1428.3± 91.5 a	1638.3±110.4 a
8/14	714.8± 31.0 c	704.2± 69.7 cde	514.4± 48.0 de	8/14	1428.6± 77.4 bcd	1171.7± 42.6 ab	1382.1± 72.5 a
8/21	1031.8± 85.4 bc	777.8±123.6 bcd	763.0± 48.7 cde	8/21	1378.6± 89.3 cd	1187.5± 88.3 ab	1276.7± 80.1 ab
8/28	1029.7± 61.2 bcA	713.8± 95.5 cdeAB	599.5± 92.4 deB	8/28	1027.6± 68.9 dB	1334.6± 28.8 aA	718.8± 67.5 cC
9/4	-	469.2± 57.7 e	611.1± 81.4 de	9/4	-	940.2± 35.3 bc	800.2 ± 91.8 bc
9/11	1102.5± 89.0 bcA	530.6± 40.0 deB	730.3± 80.7 cdeB	9/11	1084.7± 80.4 dA	971.6± 37.1 bcA	641.0± 12.3 cB
9/18	-	445.3± 7.5 e	-	9/18	-	910.3± 37.3 bc	506.3± 52.2 c
9/25	-	498.5± 42.6 de	488.0± 47.9 e	9/25	-	815.3± 29.1 c	427.1±111.0 c
10/2	-	-	577.8± 32.6 de	10/2	-	-	509.0± 86.6 c
ANOVA	ロシア型				アメリカ型		
採取日(D)	**				**		
採取年(Y)	**				**		
D×Y	**				**		

平均値± SE(n = 3).
[z] 採取せず．ANOVAから除外.
異なる英大文字は年次間に，英小文字は採取日間に有意差があることを示す (P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
ANOVA表で **, P < 0.01.

ロシア型



アメリカ型

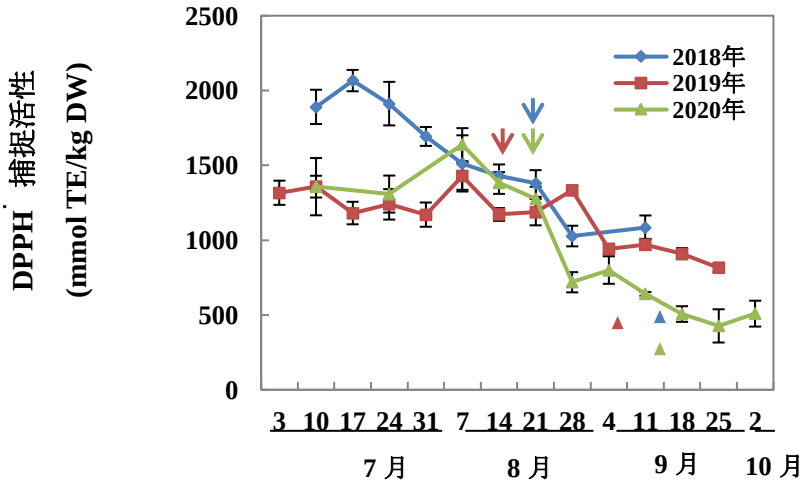


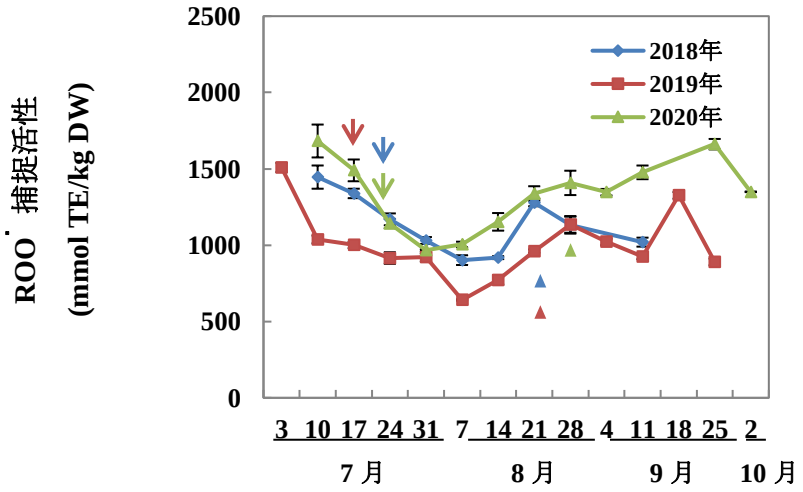
図 21　アロニア果実の発育に伴う DPPH· 捕捉活性の推移.
矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

表9　アロニア果実の発育に伴うROO･捕捉活性の推移.

	ROO･捕捉活性 (mmol TE/ kg DW)						
	ロシア型				アメリカ型		
	採取年				採取年		
採取日 (月/日)	2018	2019	2020	採取日 (月/日)	2018	2019	2020
7/3	-[z]	1508.6±29.7 a	-	7/3	-	1554.6±24.1 a	-
7/10	1445.7±76.0 aA	1037.3±25.3 cdB	1682.2±107.6 aA	7/10	1433.9± 19.0 bB	1480.0±35.0 aB	2253.6± 61.8 aA
7/17	1338.7±31.0 abA	1001.2±20.0 cdeB	1489.9± 71.3 abcA	7/17	1802.6±103.9 a	1364.4± 7.8 a	-
7/24	1169.1±38.8 bcA	915.5±38.1 deB	1141.6± 30.0 deA	7/24	1356.7± 16.0 bC	1510.0±13.0 aB	1797.1± 26.0 bA
7/31	1030.5±22.6 cdA	920.5±28.0 deB	966.8± 6.4 eAB	7/31	1269.6± 65.2 b	1145.0±94.0 bc	-
8/7	901.9±31.9 dB	640.8± 4.5 gC	1004.7± 17.9 eA	8/7	1363.8± 46.1 bB	1082.9±68.4 cdB	1750.9±108.9 bA
8/14	918.4± 9.7 dB	771.2±28.4 fgB	1152.6± 57.6 deA	8/14	1278.3± 43.8 bA	840.4±43.7 efB	1424.3± 50.4 bcdeA
8/21	1279.4±24.7 abB	960.9±10.9 deB	1338.4± 47.5 cdA	8/21	847.1± 56.9 cB	691.8±39.5 efB	1071.0± 34.0 eA
8/28	1131.1±55.7 cd	1135.9±54.7 c	1407.8± 79.8 bcd	8/28	959.4± 15.9 cA	649.5±12.5 fB	1099.6± 59.9 deA
9/4	-	1021.7±20.9 cde	1346.9± 21.3 cd	9/4	-	784.6±18.8 ef	1170.9 ± 99.6 cde
9/11	1019.6±29.5 cdB	926.6±18.6 deB	1476.8± 44.9 abcA	9/11	1084.7± 21.4 cC	1452.7±59.9 aA	1146.9± 5.9 deB
9/18	-	1326.1±21.9 b	-	9/18	-	1347.3± 8.1 ab	1186.6± 83.3 cde
9/25	-	890.3±21.7 ef	1661.4± 34.2 ab	9/25	-	894.2±22.2 de	1541.8± 96.0 bc
10/2	-	-	1349.4± 2.0 cd	10/2	-	-	1466.4±126.0 bcd
ANOVA	ロシア型				アメリカ型		
採取日(D)	**				**		
採取年(Y)	**				**		
D×Y	**				**		

平均値± SE(n = 3).
[z] 採取せず．ANOVAから除外.
異なる英大文字は年次間に，英小文字は採取日間に有意差があることを示す(P < 0.05, Tukeyの多重比較検定).
ANOVA表で **, P < 0.01.

ロシア型



アメリカ型

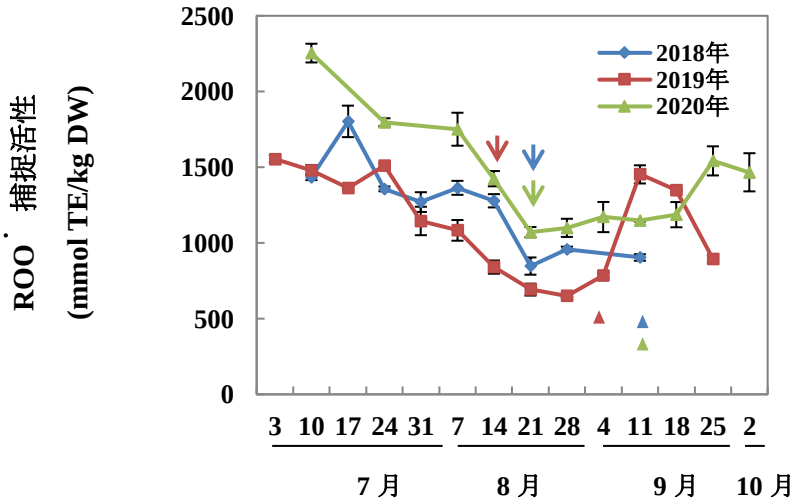


図 22　アロニア果実の発育に伴う ROO・捕捉活性の推移.
矢印は着色開始日，矢頭は着色完了日を各々示す.

2-3. $^{\cdot}O_2^-$，HO$^{\cdot}$，RO$^{\cdot}$および $^1O_2$ 捕捉活性（ESR-ST 法）

アロニア果実の発育に伴う $^{\cdot}O_2^-$，HO$^{\cdot}$，RO$^{\cdot}$および $^1O_2$ 捕捉活性値の推移を図 23 に示した．

$^{\cdot}O_2^-$捕捉活性値（mol α–lipoic acid eq./kg DW）は，ロシア型は 667.6～854.0，アメリカ型は 98.0～793.1 で推移した．ロシア型果実で，発育に伴う顕著な変動は認められなかった．一方，アメリカ型果実は，着色前（果実肥大開始期）から着色開始期にかけて有意（$P < 0.05$）に値が低下し，その後着色完了期まで低く推移した．

HO$^{\cdot}$捕捉活性値（mol ASA eq./kg DW）は，ロシア型は 79.6～91.2，アメリカ型は 81.9～93.6，RO$^{\cdot}$捕捉活性値（mol GSH eq./kg DW）は，ロシア型は 25.1～33.5，アメリカ型は 26.2～41.4 および $^1O_2$ 捕捉活性値（mol GSH eq./kg DW）は，ロシア型は 208.5～367.1，アメリカ型は 300.4～469.3 で推移した．いずれの果実にも，発育に伴う顕著な変動は認められなかった．

第 2 節　数種バラ属果実の発育に伴う抗酸化性の推移

第 1 項　果実発育・成熟過程の形態学的変化

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

第 1 章，第 1 節と同じバラ属植物のうち，三笠試験地に栽植されている北海道自生種のオオタカネバラ，カラフトイバラ，ハマナスおよびノイバラ，欧州自生種のグラウカ，ならびに交雑品種の‘北彩’および‘コンサレッド’から，2017 年 7 月 18 日，8 月 1 日，8 月 15 日，9 月 1 日，9 月 15 日，9 月 28 日および 10 月 13 日に果実を採取し実験に供した．なお，‘コンサレッド’の 7 月 18 日および 8 月 1 日の果実は，欠損している．果実採取の方法および採取後の取り扱いについては，第 1 章，第 1 節と同様である．

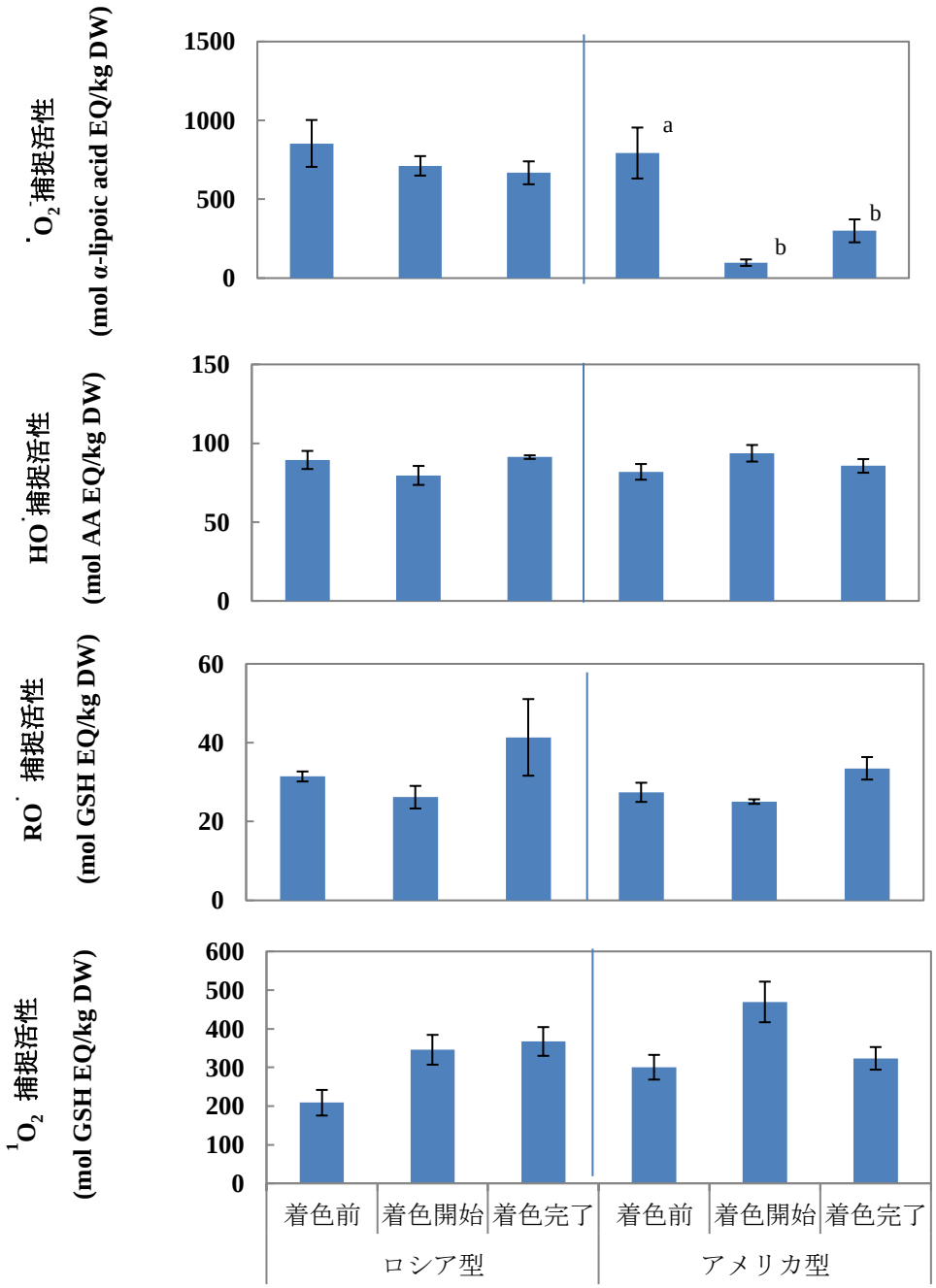


図 23　2018 年のアロニア果実に伴う$^{\cdot}O_2^{-}$，HO$^{\cdot}$，RO$^{\cdot}$および$^1O_2$捕捉活性値の推移．平均値±SE(n =3)..

異なる英字間に有意差あり(P < 0.05，Tukey の多重比較検定より).

1-2. 果実発育・成熟状況の観察

採取後，果実の外観を写真撮影しておき，後日それらの写真を並べて比較することにより，果実発育・成熟状況の変化を目視で確認した.

2. 結果および考察

各種ローズヒップの発育に伴う外観の変化を図 24 に示した．果皮着色は，ハマナス，グラウカおよび‘北彩’が 7 月 18 日の時点で既に始まっており，オオタカネバラおよびカラフトイバラが 8 月 1 日, ノイバラが 9 月 15 日に始まった．また，‘コンサレッド’は 8 月 15 日以前に着色を開始したと考えられるが，その時期は不明である．9 月 1 日には，ノイバラを除く全ての果実で果皮全面が赤色となり，果実の成熟が進んだものと判断される．ノイバラ果実も，9 月 15 日に果皮全面が赤色へと変化した. また, 9 月 28 日以降のオオタカネバラ果実で，果皮にしわが認められた.

第 2 項　果実発育・成熟に伴う抗酸化成分の推移

第 1 章, 第 1 節で述べたように, ローズヒップにはポリフェノールに加え ASA が豊富に含まれることから，総ポリフェノール含量ならびに ASA および DHA 含量を調査した.

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

植物材料は，本節，第 1 項と同じである．採取後，直ちに果実の生体重を計測し，液体窒素で急速凍結後，凍結乾燥・粉末化して分析実験の材料とした．なお，分析まで，材料は-30°C で保存した.

1-2. 抗酸化成分の定量分析

ASA および DHA ならびに総ポリフェノール含量の測定は，第 1 章，第 1 節と同様に行った.

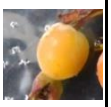
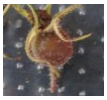
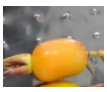
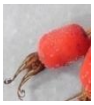
採取日(月/日)	7/18	8/1	8/15	9/1	9/15	9/28	10/13
カラフトイバラ (*Rosa Davurica*)							
オオタカネバラ (*Rosa Acicularis*)							
ノイバラ (*Rosa Multiflora*)							
ハマナス (*Rosa rugosa Thunb.*)							
グラウカ (*R. Glauca*)							
北彩 (*'Kitaayaka'*)							
コンサレッド (*'Consared'*)							

図 24　バラ属果実の外観(2017 年).

2. 結果および考察

各種ローズヒップの発育に伴うASAおよびDHA含量の推移を図25に示した．ノイバラは，ASA+DHA 含量が他のローズヒップに比べて低く，ほとんど変動しなかった．また，ノイバラ以外のローズヒップにはDHA よりもASA が多く含まれており，DHA が全体に占める割合は16.1%以下で，果実発育期間を通してその傾向は変わらないことが明らかになった．ノイバラ以外のローズヒップにおいて，ASA+DHA 含量は7 月18 日採取の果実で最も値が低く，果実成熟に伴い増加し，その後横ばいまたは減少した．ASA+DHA 含量が特に高い値を示したのは，カラフトイバラ（9 月15 日の76.0 g/kg DW）および‘コンサレッド’（9 月15 日の67.8 g/kg DW）で，この2 つのローズヒップにおいてASA+DHA 含量が高いという第1 章，第1 節の結果と一致した．ただ，第1 章で種および品種間比較に供したのは9 月28 日に採取した果実であり，本項の結果から，これはASA+DHA 含量がやや減少しつつある時期の材料だったと判断できる．従って，果実の ASA+DHA 含量が最も高くなる時期は，種および品種ごとに異なることが考えられる．その他の材料を見ると，オオタカネバラは，8 月中旬から9 月上旬の果実でASA+DHA 含量が高かった．また，ハマナス，グラウカおよび‘北彩’でASA+DHA 含量が最も高い値を示したのは，果実全体が着色した9 月 1 日以降の材料であった．従って，ノイバラを除き，ローズヒップのASA+DHA 含量は，果実全体が着色した時期またはそれ以降に最も高くなり，その後やや減少に転じるものと考えられる．

各種ローズヒップの発育に伴う総ポリフェノール含量の推移を図 26 に示した．総ポリフェノール含量は，果実全面が着色した9 月1 日（ノイバラは9 月15 日）前後の果実で最も値が低く，これを境に着色前は漸減し，着色後は漸増する傾向を示した．総ポリフェノール含量が特に高い値を示したのは，10 月13 日に採取したカラフトイバラ（148.8 g quercetin EQ/kg DW）および‘コンサレッド’（131.8 g quercetin EQ/kg DW）で，この2 つのローズヒップにおいて総ポリフェノール含量が高いという第1 章，第1 節の結果と一致した．この2 つを含む多くの種または品種（オオタカネバラを除く）で，総ポリフェノール含量が最も高い値を示したのは，9 月28 日または10 月13 日に採取した果実だった．従って，ローズヒップの総ポリフェノール含量は，果実全体が着色した時期に最も低くなり，その後増加に転じ，9 月下旬～10 月中旬に最も高くなるものと

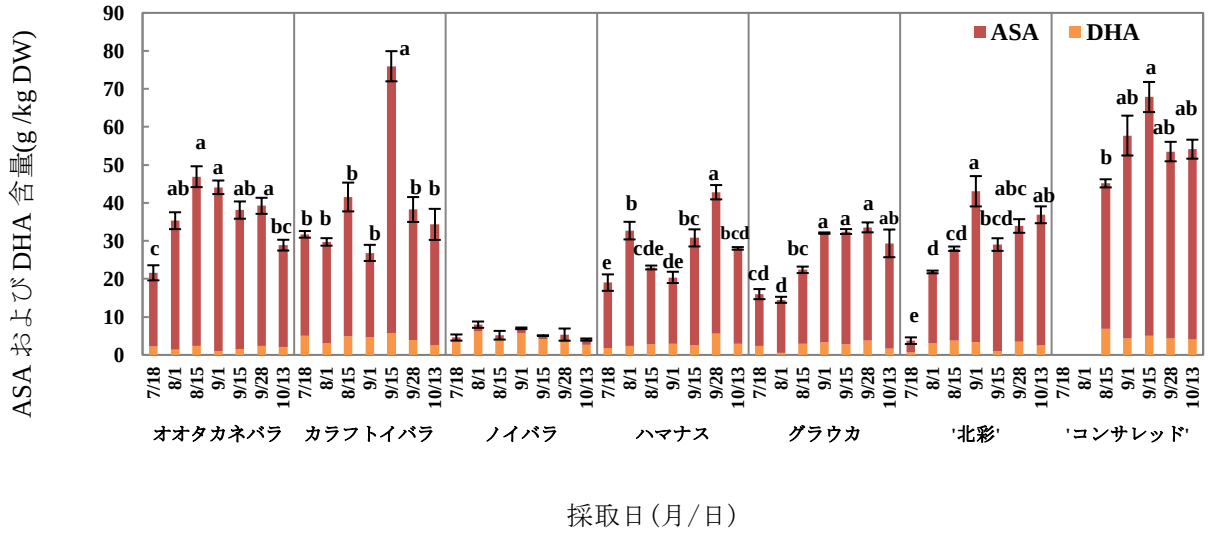


図 25　各種ローズヒップの発育に伴う ASA および DHA 含量の推移(2017 年).
平均値±SE(n = 3). 各種および品種内での異なる英字間では有意差あり
(P < 0.05, Tukey の多重比較検定より).

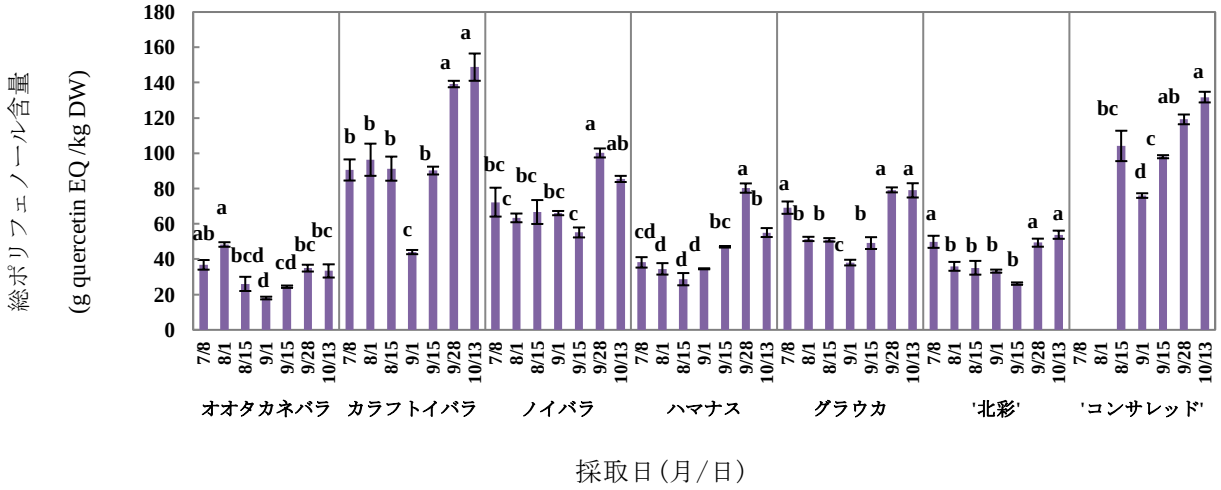


図 26　各種ローズヒップの発育に伴う総ポリフェノール含量の推移(2017 年). 平均値±SE(n = 3). 各種および品種内での異なる英字間では有意差あり (P < 0.05, Tukey の多重比較検定より).

考えられる．これは，本章，第 1 節のアロニアとは異なり，Shiow et al.（2000）が示したブラックラズベリーに近い変動パターンである．

第 3 項　果実発育・成熟に伴う抗酸化活性の推移

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

植物材料は，本節，第 2 項と同じである．

1-2. 抗酸化活性の測定法

第 1 章，第 1 節と同様に行った．なお，本項では ESR-ST による抗酸化測定は実施しなかった．

2. 結果および考察

2-1. DPPH˙捕捉活性（DPPH 法）

各種ローズヒップの発育に伴う DPPH˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）の推移を図 27 に示した．カラフトイバラ，ノイバラおよび‘コンサレッド’は，果実発育期間全体を通して，高い DPPH˙捕捉活性値（概ね 1,000 以上の数値）を示し，この点は第 1 章，第 1 節の結果と一致した．この場合，カラフトイバラおよび‘コンサレッド’では，果実発育に伴う数値の変動に統計的な有意差（$P < 0.05$）が確認され，果実全体が着色した 9 月 1 日の値は，7 月中旬および 10 月中旬と比べ低かった．この傾向は，本節，第 2 項の総ポリフェノール含量の推移（図 20）と一致している．また，オオタカネバラで 8 月 1 日が高く 10 月 13 日が低かったほか，その他のローズヒップに果実発育に伴う数値の変動は確認できなかった．

2-2. ROO˙捕捉活性（ORAC 法）

各種ローズヒップの発育に伴う ROO˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）の推移を図 28 に示した．カラフトイバラおよび‘コンサレッド’は，果実発育期間全体を通して，高い ROO˙捕捉活性値（概ね 2,000 以上の数値）を示し，この点は第 1 章，第 1 節の結果と一致した．この場合，果実発育に伴う数値の変動に統

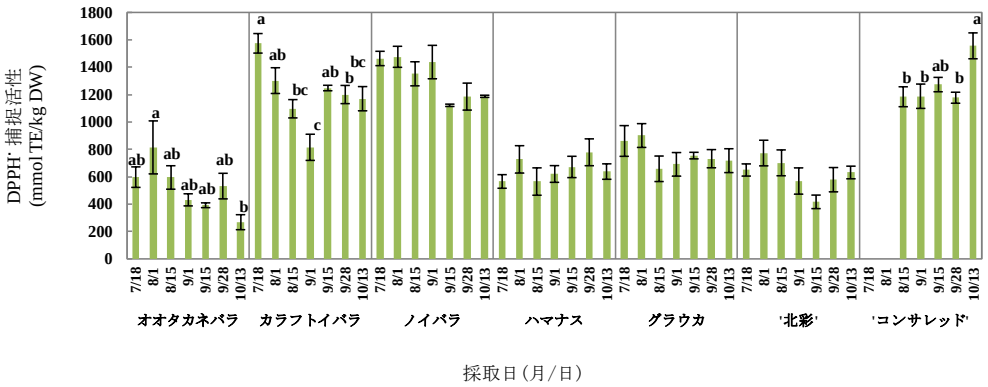


図 27　各種ローズヒップの発育に伴うDPPH· 捕捉活性の推移(2017年).
平均値±SE(n = 3). 異なる英字間では有意差あり(P < 0.05, Tukeyの多重比較検定より).

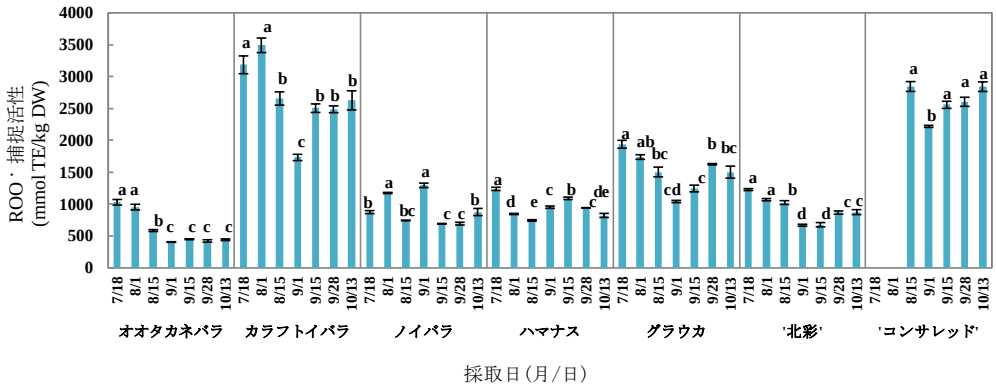


図 28　各種ローズヒップの発育に伴うROO･捕捉活性の推移(2017年).
平均値±SE(n = 3). 異なる英字間では有意差あり(P < 0.05, Tukeyの多重比較検定より).

計的な有意差（$P < 0.05$）が確認され，果実全体が着色した 9 月 1 日の値は，7 月中旬および 10 月中旬と比べ低かった．この傾向は，本節，第 2 項の総ポリフェノール含量の推移（図 20）と一致しており，グラウカおよび‘北彩’も，これと同様の推移を示した．また，オオタカネバラおよびハマナスでは果実着色前の 7 月 18 日が最も高く，ノイバラに果実発育と連動した一定の傾向は認められなかった．

第 3 節　抗酸化成分含量と抗酸化活性値の関係からみたアロニアとバラ属果実の抗酸化性における特徴

本章，第 1 および 2 節では，アロニアおよびローズヒップの抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値の果実発育に伴う変動を調べた．このうち，総ポリフェノール含量および抗酸化活性（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）は，両方に共通する測定項目であることから，アロニア果実およびローズヒップが持つ抗酸化性の特徴を明らかにし，両者を比較するため，各々の総ポリフェノール含量と抗酸化活性値について回帰分析を試みた．

1. 材料および方法

1-1. 解析に用いたデータ

本章，第 1 および 2 節に示したデータのうち，アロニアおよびローズヒップそれぞれの，総ポリフェノール含量ならびに DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の全データを用いた．

1-2. 統計解析

総ポリフェノール含量と各抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）について Pearson の回帰分析を行った．

2. 結果および考察

総ポリフェノール含量と各抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）の相関図を図 29 に示した．総ポリフェノール含量と DPPH˙捕捉活性値ならびに総ポリフェノール含量と ROO˙捕捉活性値の間には，アロニアおよびローズヒップのどちらも正の相関関係が確認され，どちらの材料のポリフェノールも抗

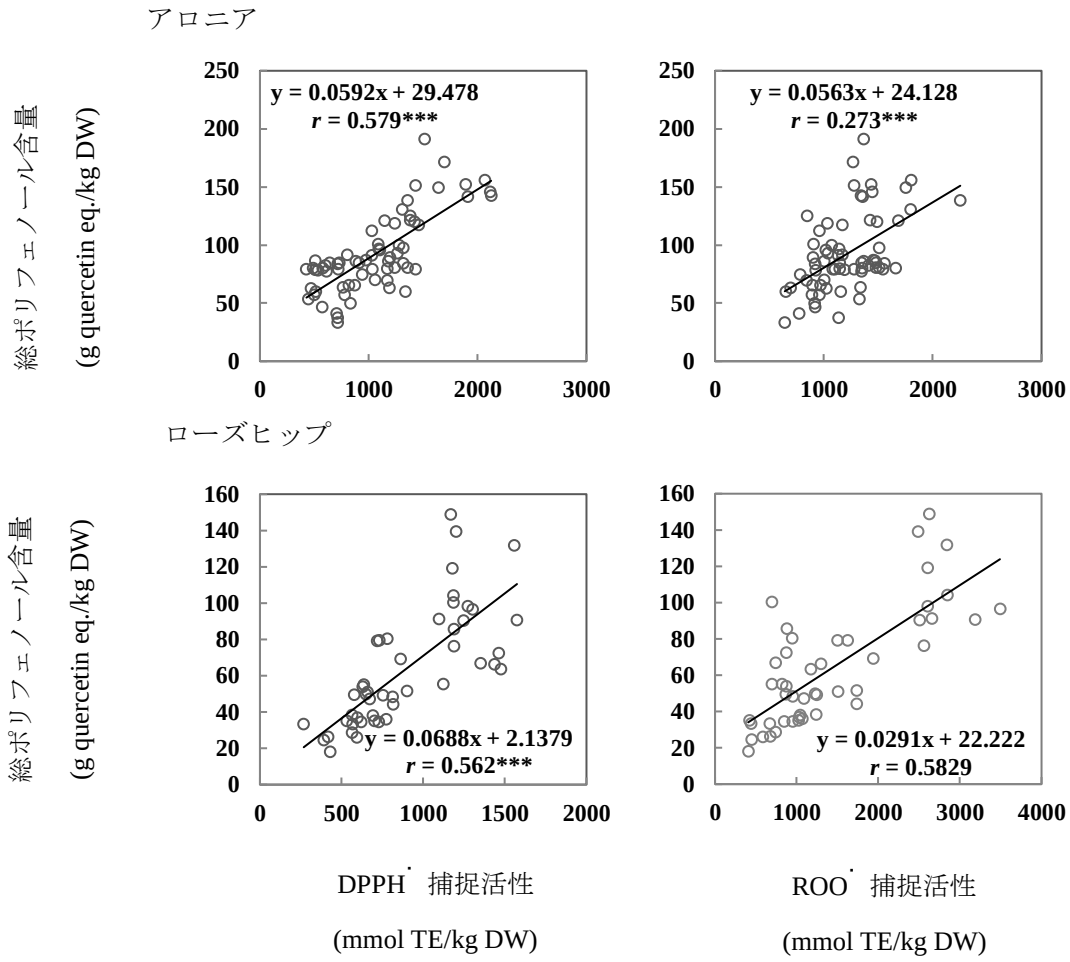


図 29　アロニア果実およびバラ属果実の総ポリフェノール含量と
各種抗酸化活性値の相関．アロニア(n = 67)，ローズヒップ(n = 47).
***： P < 0.001(ピアソンの積率相関関係数検定).

酸化性を有していることが確認された．この場合，どちらの材料についても相関係数（*r*）は近い値を示したが，その数値はいずれも DPPH˙の方が ROO˙よりも高く，ポリフェノールが DPPH˙を捕捉しやすいことがわかった．また，図 29 で，縦軸を 100 とした（同量のポリフェノールが発揮するラジカル捕捉活性を比べた）場合，捕捉される DPPH˙はアロニアおよびローズヒップで各々1191 および 1422 mmol TE/kg DW，捕捉される ROO˙はアロニアおよびローズヒップで各々1348 および 2673 mmol TE/kg DW と計算され，どちらもローズヒップの方で値が大きい．この事実は，ローズヒップに含まれるポリフェノールの方が，アロニアのそれよりも強い抗酸化活性を有することを示している．

第 4 節　第 2 章の考察

果実発育に伴う抗酸化成分含量の変動と関連して，Wang et al.（2000）は，バラ科キイチゴ属（*Rubus*）果実の抗酸化性に関する報告の中で，ブラックベリー（*Rubus* spp.，野生種を含む複数の種）果実の総ポリフェノール含量はいずれも着色前で高く，着色が進むにつれて低くなるが，レッドラズベリー（*R. idaeus*）果実は着色が進むほど値が高くなり，ブラッククラズベリー（*R. occidentalis*）果実は着色前が高く，着色開始後に減少し，その後再び高くなる傾向を示すことを報告した．ここで認められた種間差は，果実に含まれるポリフェノール化合物の種類の違いなどに起因すると考えられるが，第 1 節のアロニア果実発育に伴う抗酸化性の推移は，ブラックベリーのそれと類似する傾向を示した．また，アロニア果実の着色は，アントシアニン（主に，Cyanidin 3-galactoside および Cyanidin 3-arabinoside）の集積によることが明らかにされているが（Oszmianski and Sapis, 1988; 鈴木ら, 2009），本研究で，果実着色（アントシアニン集積）が起こる果実発育期に総ポリフェノール含量が減少したという事実から，アントシアニン以外のポリフェノール化合物が果実発育に伴い大きく減少したことが考えられる．一方，第 2 節で示したように，ローズヒップの総ポリフェノール含量は，果実全体が着色した時期に最も低く，その後増加に転じ，9 月下旬～10 月中旬に最も高くなるという，ブラッククラズベリーに近い変動パターンを示した．また，ローズヒップの ASA+DHA 含量は，ノイバラを除き，果実全体が着

色した時期またはそれ以降に最も高くなり，その後やや減少に転じることを明らかにした．この傾向は，ローズヒップにおける総ポリフェノール含量の果実発育に伴う推移と真逆であり，ASA またはポリフェノールのどちらを利用するかによって，果実の収穫適期が異なることを示している．

次に，抗酸化活性に着目すると，アロニアでは，年次間差は大きいもののDPPH˙捕捉活性値が果実肥大開始期から着色完了期にかけて漸減することを確認した．この結果は，上で述べた総ポリフェノール含量の変動と概ね一致する．一方，ROO˙捕捉活性値は，果実着色開始期頃にかけて低下した後，横ばいかやや増加する傾向を示し，DPPH˙捕捉活性値とは異なる変動パターンが認められた．この理由として，各々のラジカルに対し，捕捉する水溶性抗酸化物質の種類が異なることが考えられる．また，$\cdot O_2^-$，HO˙，RO˙および $^1O_2$ 捕捉活性については，これらがあくまで単年度の試験結果であり，加えて果実発育段階の一部を分析したにすぎないため，果実発育期間全体を通した複数年次にわたる調査が，今後必要と思われる．一方，ローズヒップでは，DPPH˙および ROO˙捕捉活性値が，他に比べともに高かったカラフトイバラおよび‘コンサレッド’において，果実全体が着色した 9 月 1 日の値が 7 月中旬および 10 月中旬と比べ低い傾向を示し，両者の総ポリフェノール含量の推移とほぼ一致した．従って，これらのローズヒップが示す高い抗酸化性はポリフェノールによるものと考えられ，この点は第 1 章の考察とも一致する．それ以外のローズヒップについては，必ずしもポリフェノール含量の推移と DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の推移が一致するわけではなく，種間差が大きいものと考えられる．

ところで，第 1 節で用いたアロニアのロシア型とアメリカ型は，同一種で果実成熟の早晩性が異なる系統である．この場合，果実の成熟期には約 1 か月の開きがあるにもかかわらず，ポリフェノール含量，DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の果実発育に伴う推移は，両者で極めて類似していた．従って，同一種内の変動幅は小さいものと推測される．一方，第 2 節のローズヒップは，バラ属の異なる種および品種間を比較したものであり，果実発育に伴う抗酸化成分および抗酸化活性の推移は，種および品種ごとに大きく異なることが明らかになった．この点は，Wang et al.（2000）がキイチゴ属の多数の種を比較した場合にも確認されており，果実発育に伴う抗酸化性の変動パターンの種間差は大きいものと考えられる．そして，これは果実が含有する抗酸化成分組成の種間差に

起因するものと考えられる．

最後に，第 3 節で示したとおり，アロニアおよびローズヒップから抽出した総ポリフェノールの抗酸化活性を重さベースで比べると，ローズヒップの方がアロニアよりも強い活性を有していることが明らかになった．この差は，ポリフェノール組成の違いに起因すると考えられるため，今後この点を明らかにする必要がある．

第 3 章　地理的環境の違いが果実の抗酸化成分および抗酸化性に及ぼす影響の評価

北海道内各地で栽培されているロシア型アロニア樹の多くは，ホクサン（株）（旧北海三共（株））が茎頂培養により栄養繁殖したクローン苗を栽培したもので，遺伝的要因を排除して，果実の抗酸化成分および抗酸化性に及ぼす地理的環境要因の影響を調べる上で，好適な材料である．第 3 章では，北海道内各地で栽培されているロシア型アロニア樹から果実を採取し，その抗酸化性を調査することで，地理的環境要因が果実抗酸化性に及ぼす影響を評価するとともに，その年次間差も明らかにしようと考えた．

第 1 節　果実の一般形質における地域および年次間差

本節では，果実の一般形質として，発育の指標となる 1 果重および含水率を調査した．

1．材料および方法

1-1．植物材料

北海道内の地域間比較を行うため，網走市，余市町，北広島市および伊達市市街地，ならびに伊達市大滝区内の 3 か所（愛地町，上野町および宮城町）に栽植されているロシア型アロニア樹(いずれも植栽から 10 年以上経過したもの)から 2017～2020 年にわたり，各時期の平均的な果実（約 50～80 果）を採取し材料とした（図 30)．これらの果樹園では，全てホクサン（株）の苗木を用いて栽培を開始しており，果実採取に際しても，ホクサン（株）の協力を得た．また，肥培管理もホクサン（株）の指導の下同様に行われている．採取地のうち，伊達市大滝区内の 3 か所のみが標高 400～800 m の比較的高地で半径 8 km 以内の狭い範囲に立地し，それ以外は標高 20 m 以下の平地に立地する．果実発育には地域および年次ごとに早晩の差が生じるため，1，未熟；2，成熟；3，完熟；

図 30　アロニア果実採取地の北海道地図上の位置.

4，過熟；5，老化の 5 段階（ステージ）に分けて採取し，地域間比較に用いた．この 1〜5 ステージは，第 2 章の図 15 に示した果実に置き換えると以下の採取日に該当する：1，7 月 17 日；2，8 月 14 日；3，8 月 28 日；4，9 月 11 日；5，10 月 2 日．なお，地域および年次は異なるが，上記 1〜5 ステージの果実採取日は全て以下の範囲内にあった：1，7 月 17〜20 日；2，8 月 15〜21 日；3，8 月 26〜28 日；4，9 月 9〜18 日；5，10 月 2〜14 日．この場合，通常の果実収穫適期は，ステージ 3（完熟）に相当する．採取した果実は直ちに冷蔵し，低温のまま北海道大学大学院農学研究院（札幌市）に移送した．

1-2. 果実発育状況の調査

採取後，直ちに果実の個数および生体重を計測し，液体窒素中で急速凍結後，凍結乾燥・粉末化して分析実験の材料とした．なお，材料は，分析まで–30°C で保存した．含水率は，生体重および凍結乾燥後の乾物重に基づき算出した．

2. 結果および考察

各地域における 1 果重の推移を図 31 に示した．この場合，第 2 章，第 1 節，第 1 項で示した北大農場栽植のアロニア（ロシア型）における 1 果重がステージ 3（完熟）で最大値に達したのとは異なり，ステージ 4（過熟）で最大値に達したものが多かった．この理由として，果実採取を同一人物が行ったわけではなく，ホクサン（株）の指導のもと現地スタッフの協力を得て実施したため，採取者の選果眼の違いが 1 果重の推移に反映したことが考えられる．この点を考慮した上で最大値を成熟果の 1 果重と考え，その数値を比較すると，網走市が 0.78 g（2018 年）および 0.59 g（2019 年），余市町が 1.25 g（2018 年），北広島市が 0.97g（2018 年），1.02 g（2019 年）および 1.23 g（2020 年），伊達市市街地が 0.92 g（2018 年），0.73 g（2019 年），および 1.17g（2020 年），伊達市大滝（愛地町）が 1.21 g（2018 年）および 1.31 g（2020 年），伊達市大滝（上野町）が 1.06 g（2017 年），1.28 g（2018 年），0.80 g（2019 年）および 1.13 g（2020 年），ならびに伊達市大滝（宮城町）が 1.19 g（2017 年）および 0.98 g（2019 年）を示し，地域および年次ごとに大きく異なることがわかった．特に，網走市は，調査した 2 か年ともに値が小さく，他の地域より寒冷であることが果実肥大に

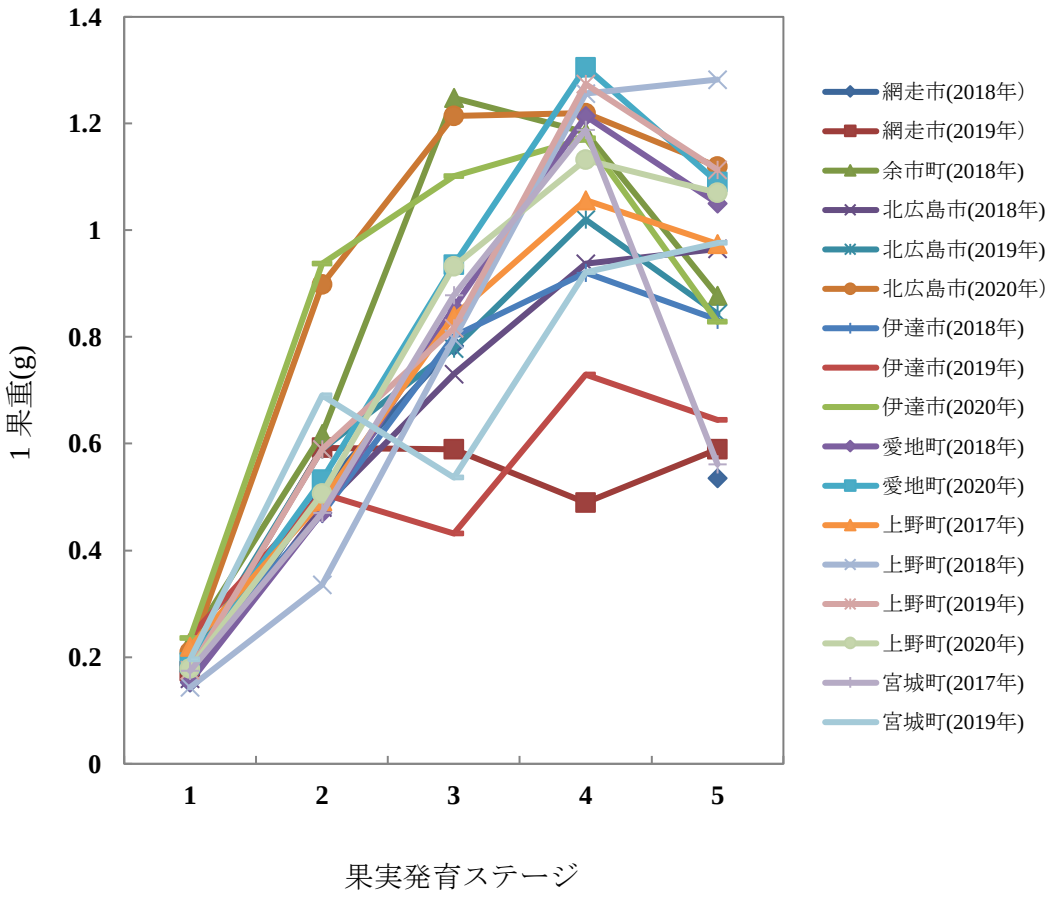


図 31　各地で栽培したロシア型アロニア果実 1 果重の果実発育に伴う推移 (2017～2020 年). 各シンボルは平均値(n = 10～80)を表す.

影響した可能性がある．この点は，リンゴの同一品種において，寒冷地ほど積算気温が少なく果実肥大が悪いという一般的知見と一致する．また，2019 年には，北広島市を除く各地で 1.0 g を下回るやや小さい値を示しており，2019 年が他の年次と比べやや異なり，果実肥大に不適な環境条件にあった可能性が考えられる．2019 年が，他の年次と異なる変化を示した点は，図 18 の北大農場ロシア型にも認められるが，北大農場ロシア型の 2019 年における果実肥大（最大 1 果重）は，他地域と異なり良好であった．

次に，各地域における果実含水率の推移を図 32 に示した．網走市が 66.9～80.9%（2018 年）および 66.0～85.2%（2019 年），余市町が 71.0～87.6%（2018 年），北広島市が 67.9～86.5%（2018 年），70.0～85.5%（2019 年）および 67.0～82.5%（2020 年），伊達市市街地が 63.5～87.7%（2018 年），69.8～86.3%（2019 年）および 69.0～83.0%（2020 年），伊達市大滝区（愛地町）が 71.0～81.3%（2018 年）および 68.1～83.1%（2020 年），伊達市大滝区（上野町）が 71.1～83.1%（2017 年），72.7～82.5%（2018 年），67.7～83.6%（2019 年）および 69.6～82.2%（2020 年），伊達市大滝区（宮城町）が 70.3～82.9%（2017 年）および 64.5～84.2%（2019 年）で推移した．これらの数値およびその推移は，図 19 で示した北大農場ロシア型のそれ（68.2～84.4%（2018 年），66.3～80.3%（2019 年）および 67.6～84.1%（2020 年））と類似しており，果実含水率の地域および年次に伴う差異は，1 果重のそれほど大きくないものと考えられる．

第 2 節　果実の抗酸化成分含量における地域および年次間差

抗酸化成分として，総ポリフェノール含量およびアントシアニン含量を各々測定した．

1．材料および方法

1-1．植物材料

本章，第 1 節で用いたものと同じアロニア果実（ロシア型）を実験に供した．なお，アントシアニン分析は，網走市，北広島市，伊達市市街地および伊達市

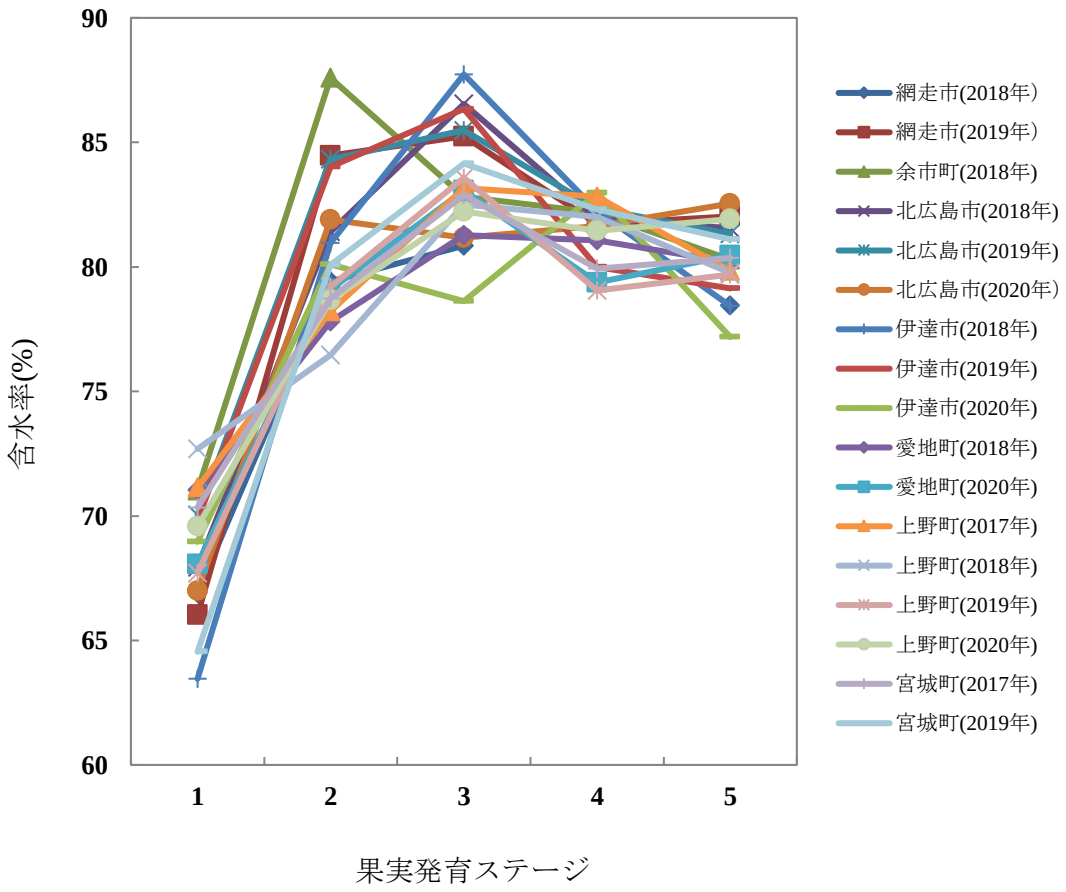


図 32　各地で栽培したロシア型アロニア果実含水率の果実発育に伴う推移(2017～2020 年). 各シンボルは平均値(n = 10～80)を表す.

大滝区（上野町）の 2018 および 2019 年に採取したステージ 5 の果実を用いて行った．その理由は，予備実験でステージ 5 の果実を用いた場合に，ステージ 3 および 4 の果実と比べ，MALDI-TOF MS におけるアントシアニン分子のイオン強度が高かったためである．

1-2. 抗酸化成分の定量分析

1-2-1．総ポリフェノール含量測定

総ポリフェノール分析の方法は，第 1 章，第 1 節と同様である．

1-2-2．アントシアニン含量測定

アントシアニン分析は，堀川（2019）に倣い，マトリックス支援レーザー脱離イオン化－飛行時間型質量分析法（Matrix-assisted laser desorption/ionization–time of flight mass spectrometry, 以下 MALDI–TOF MS と略記）を用いて行った．

1-2-2-1．検量線作成に向けた標準溶液の作製

検量線作成に向け, Mavidin 3-*O*-glucoside（Mv3-glc；Extrasynthese, Lyon, France）および Cyanidin 3-*O*-glucoside（Cy3-glc；Extrasynthese，Lyon，France）の 1 mM 溶液（80%メタノールに溶解）を各々用意し, Mv3-glc/Cy3-glc 濃度比が 1/9, 1/4, 1/2，1/1，2/1，4/1，9/1 となるように混合した 7 種類の 1mM 溶液を作製した．

1-2-2-2．試料作製

各材料の粉末 10 mg に，メタノール：水：ギ酸＝88：12：2(v/v/v)の抽出溶媒 500 μL を加え振とう抽出し，遠心分離（12,000 × *g*）後の上清を回収した．残渣に，上記抽出溶媒 500 μL を加え懸濁し，再度 30 分間振とう抽出し，遠心分離後の上清を回収することを 2 回繰り返した．回収した上清の総量（約 1,500 μL）を試料とした．内部標物質として 1 mM Mv3-glc（80%メタノールに溶解）を試料：内部標準物質が 4：1 となるよう混合し分析に供した．

1-2-2-3．MALDI–TOF MS を用いた分析

標準溶液と 80%メタノールに溶解した 100 mM 2’,4,6’-Trihydroxyacetophenone mono-hydrate（MALDI-TOF MS 用のマトリックス試薬，以下 THAP と略記）溶液を，1.5 mL 容プラスチックチューブ内で 1 : 1 の割合で混合した．抽出試料については, 試料と上記 THAP 溶液を 1 : 1 で混合した．これらを, MALDI-TOF MS 専用ターゲットプレート（MTP AnchorChip 384 BC, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany）のサークル内に 0.5 µL ずつ上層し，自然乾燥させた．

分析は，MALDI-TOF MS（ultrafleXtreme, Bruker Daltonics）を用いて，以下の条件で行った：レーザー，337 nm 窒素レーザー（3 ns, 20Hz）；加速電圧, 15 kV; モード, 陽イオン・リフレクターモード; 遅延抽出，100 ns; レーザー照射回数, 500 回; キャリブレーション，ヨウ化セシウム．1 スポットにつきランダムにレーザー照射を 500 回繰り返す測定を 3 回行い，それらを積算したピーク高（イオン化強度）をそのスポットの測定値とした．結果は，4 スポットの平均値で表した（$n = 4$）．

2．結果および考察

2-1．総ポリフェノール含量

各地で栽培されたロシア型アロニア果実の総ポリフェノール含量の果実発育に伴う推移（2017～2020 年）を図 33 に示した. 総ポリフェノール含量（g quercetin eq./kg DW）は，網走市が 36.4～118.5（2018 年） および 74.7～101.5（2019 年），余市町が 53.6～119.7（2018 年），北広島市が 55.9～83.2（2018 年），43.8～77.0（2019 年）および 55.7～137.1（2020 年）, 伊達市市街地が 57.9～107.9（2018 年），27.6～54.4（2019 年）および 59.4～128.7 2020 年），伊達市大滝区（愛地町）が 58.2～130.1（2018 年）および 55.1～120.0（2019 年），伊達市大滝区（上野町）が 51.4～125.1（2017 年），39.5～113.3（2018 年），49.8～84.2（2019 年）および 57.2～116.9（2020 年），伊達市大滝区（宮城町）が 59.2～99.6（2017 年）および 57.6～117.7（2019 年）で推移した．第 2 章で示したとおり，北大農場（札幌市）ロシア型アロニアの総ポリフェノール含量は，79.2～145.6（2018 年），33.0～97.6（2019 年），59.8～121.1（2020 年）の値で推移し，いずれも着色前で最も値が高く，着色開始から完了期にかけて漸減する傾向が認められている．これと比

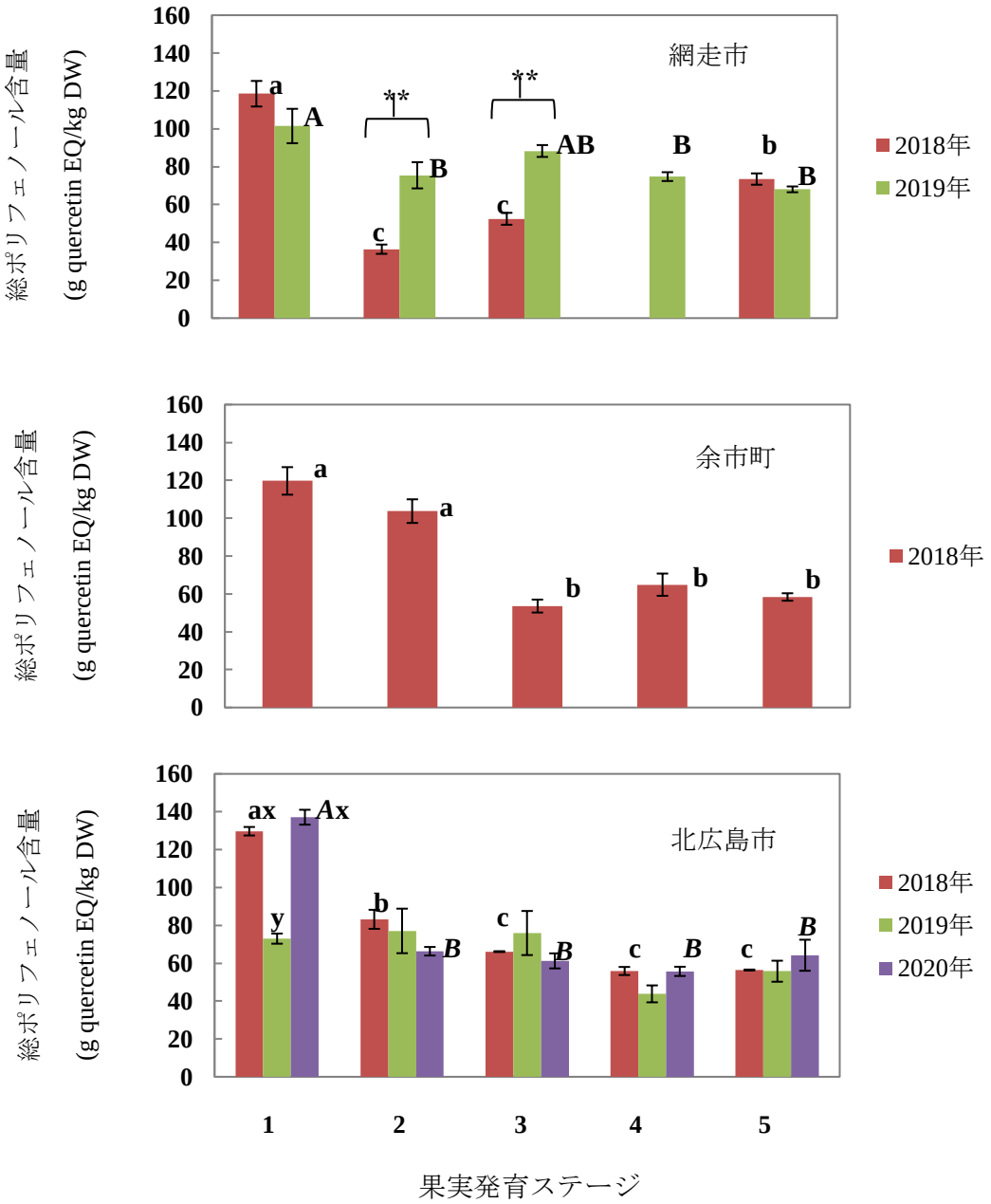


図 33　各地で栽培したロシア型アロニア果実総ポリフェノール含量の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定，$P < 0.05$).** : $P < 0.01$ (t 検定).

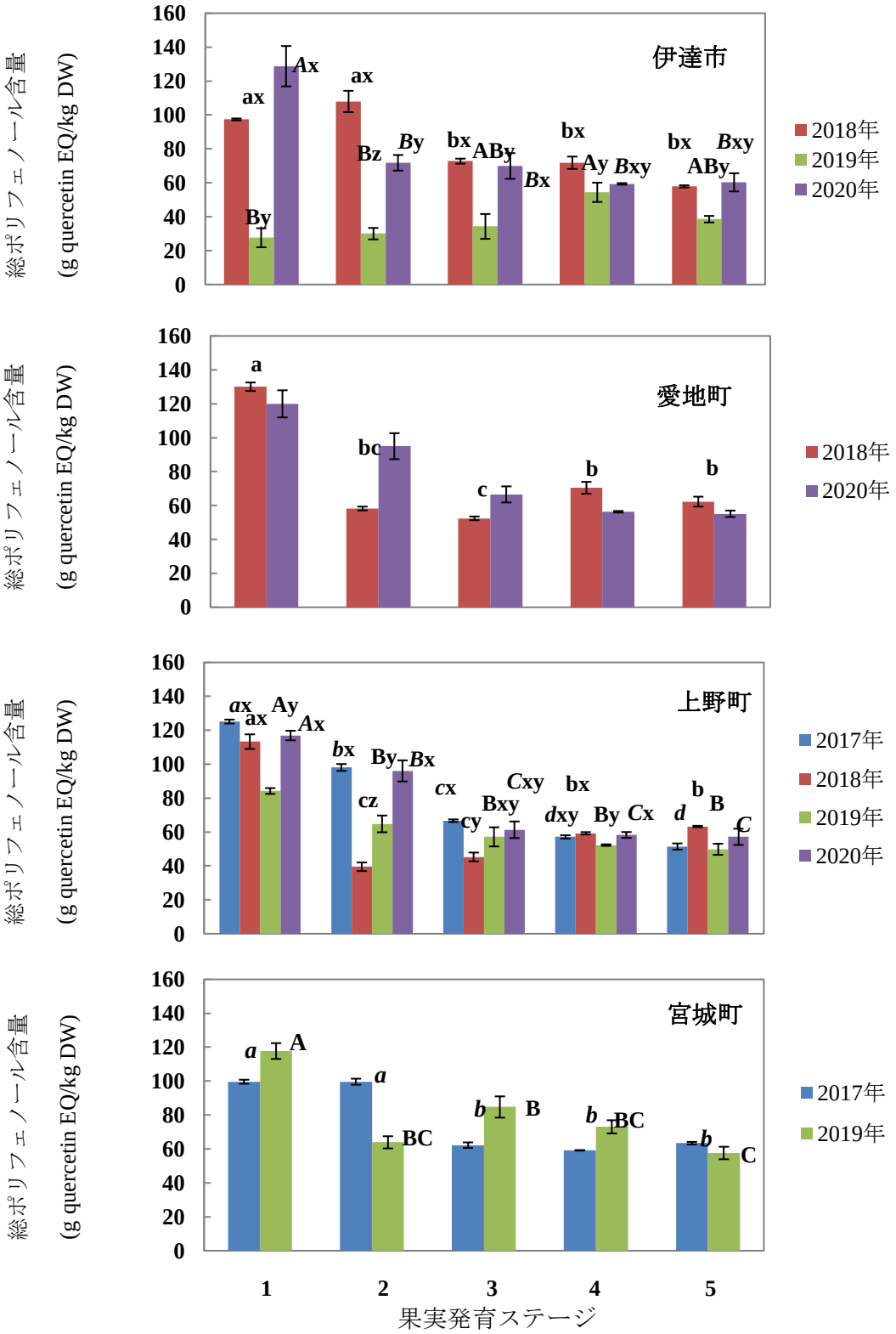


図 33(続き)　各地で栽培したロシア型アロニア果実総ポリフェノール含量の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字(斜体):2017 年;小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定，P < 0.05).
**：P < 0.01 (t 検定).

較して，一部に例外はあるものの（2019 年の伊達市市街地など），着色開始前の含量が高く，その後減少するという傾向は，多くの採取地および年次で一致していた．また，北大農場のロシア型と同様に，ポリフェノール含量の推移に年次間差が確認された．

2-2．アントシアニン含量

MALDI-TOF MS でアントシアニン標準物質（Mv3-glc/Cy3-glc＝1/1 の混合溶液）を測定した際のマススペクトラムの一例を図 34 に，それに基づき作成した検量線を図 35 に各々示した．検量線は，極めて正確に直線回帰しており，Mv3-glc を内部標準物質として試料に添加することにより Cy3-glc が定量できる．また，mono-glucoside のアントシアニン標品は，ほぼ同一の検量線上に載ることが確認されていることから（Wang and Sporns, 1999; 堀川, 2019），他の mono-glucoside アントシアニンも，この方法を用いて定量可能と判断した．次に，アロニア果実抽出試料のマススペクトラムの一例を図 36 に示した．アロニア果実含有アントシアニンの主体は，Cyanidin 3-galactoside（Cy3-gal）であり，次いで Cyanidin 3-rabinoside（Cy3-ara）が多く，Cyanidin 3-glucoside（Cy3-glc）および Cyanidin 3-xyloside（Cy3-xyl）も微量含まれることが報告されている（Oszmianski and Sapis, 1988）．この場合，Cy3-gal および Cy3-ara が全体の 93%を占めることが確認されている．陽イオンモードの質量分析において，芳香族オキソニウムイオンであるアントシアニン（プラス 1 価の陽イオン）は，その他の陽イオン（H^+，Na^+，K^+）を付加することなくイオン化して検出されるため，m/z が分子量そのままの数値で検出される．また，Cy3-gal と Cy3-glc ならびに Cy3-ara と Cy3-xyl は，各々分子量が同じであるため，同一ピークとして検出される．Oszmianski and Sapis（1988）によれば，Cy3-glc および Cy3-xyl の含有量は極めて微量であるため，本研究では，これら 2 つのピークを Cy3-ara（m/z = 419）および Cy3-gal（m/z = 449）として定量することにした．

各地で栽培されたロシア型アロニア果実のアントシアニン含量の差異（2018 年および 2019 年）を図 37 に示した．アントシアニン含量（g Cy3-glc eq./kg DW）の平均値を見ると，Cy3-gal は，網走市が 14.6（2018 年）および 12.8（2019 年），北広島市が 9.3（2018 年）および 17.1（2019 年），伊達市市街地が 22.4（2018

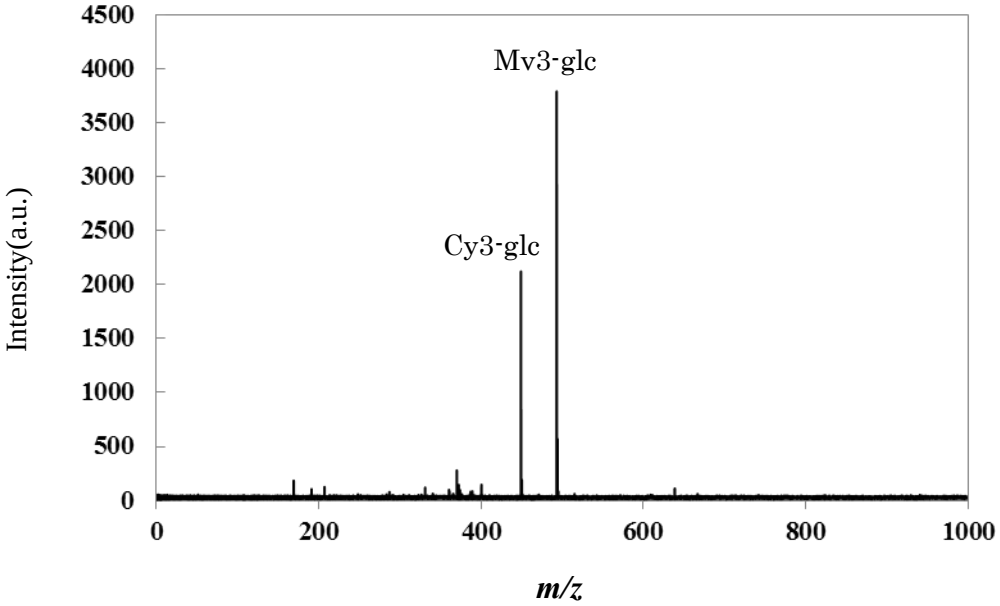


図 34　アントシアニン標品(Mv3-glc および Cy3-glc)の MALDI-TOF-MS におけるマススペクトラムの一例．Mv3-glc/Cy3-glc = 1/1 の溶液.

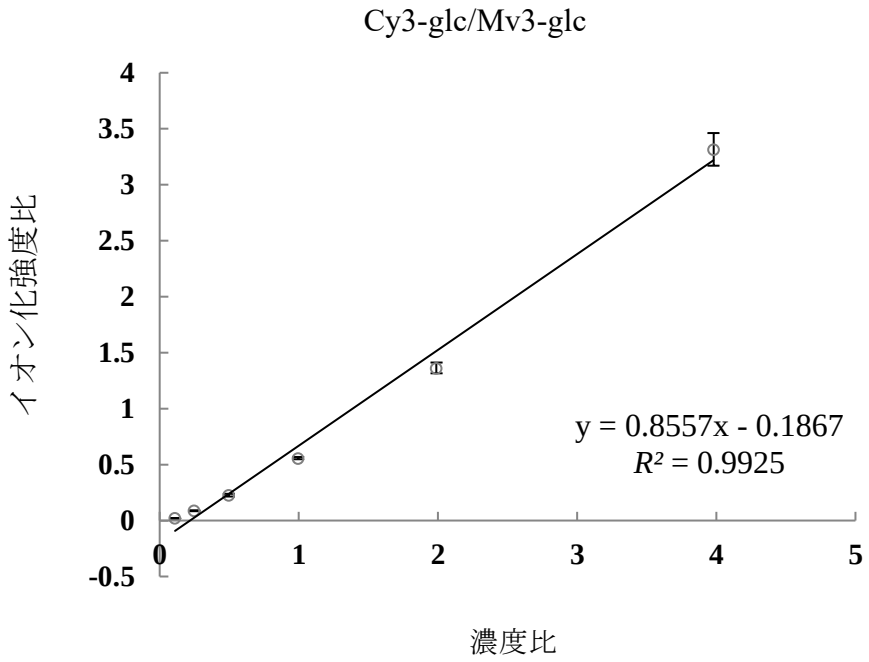


図 35　Cy3-glc/Mv3-glc の濃度比とイオン化強度比の相関(検量線).

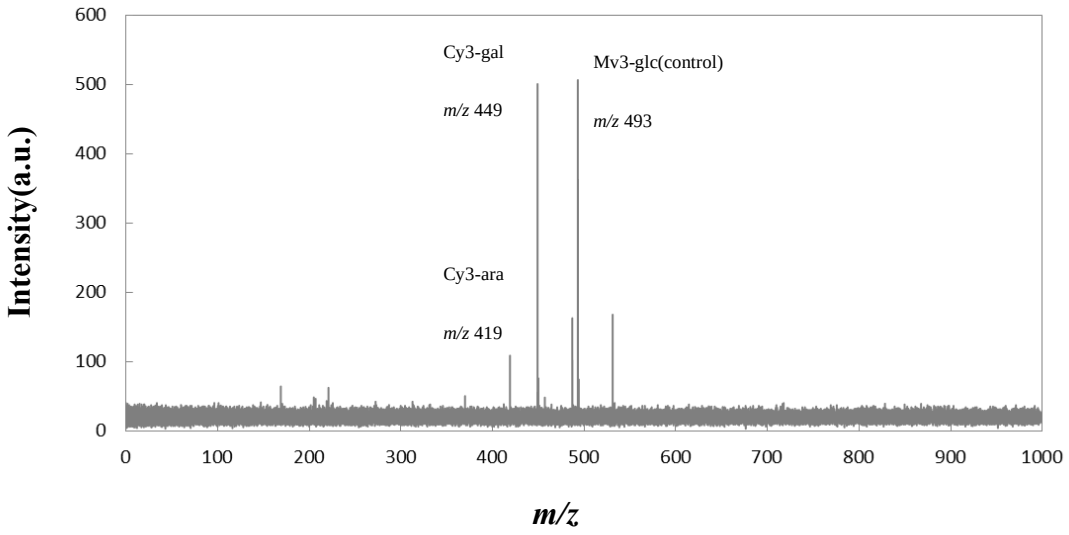


図 36　アントシアニン分析(試料)の一例

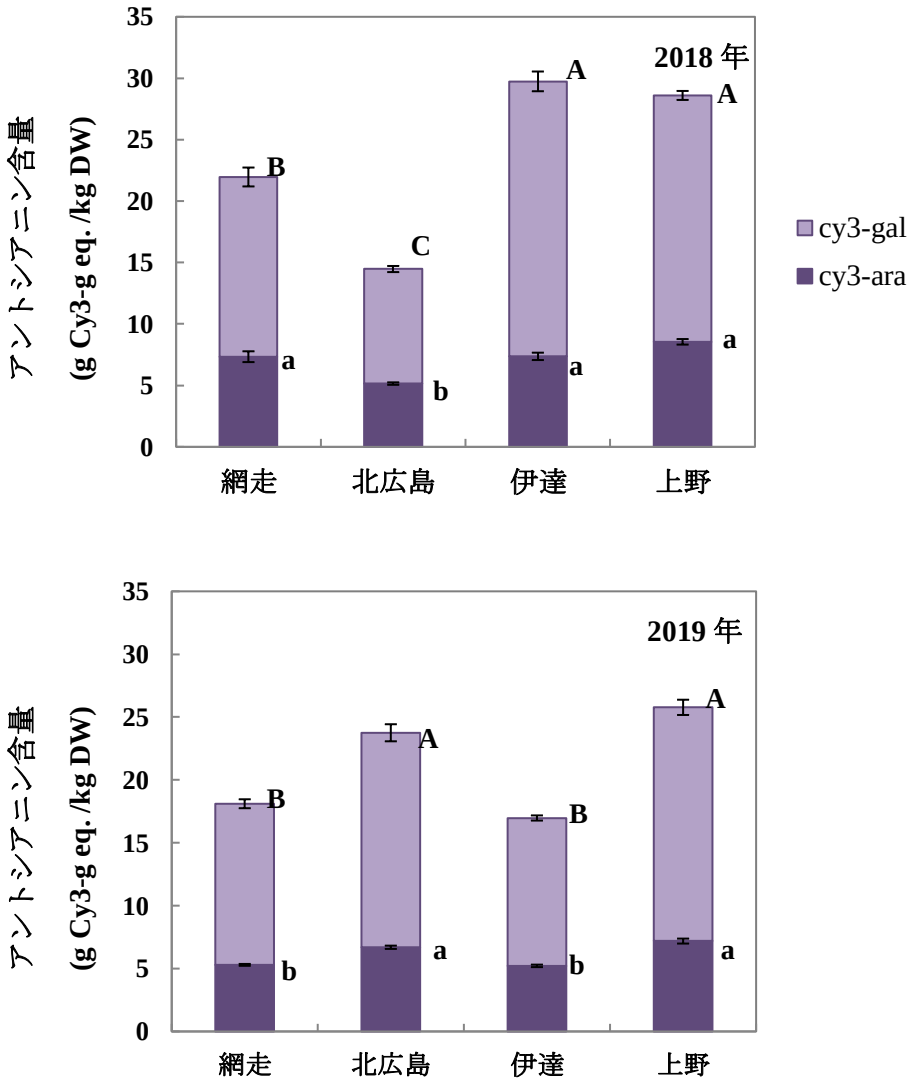


図 37　各地で栽培したロシア型アントシアニン含量の差異.
平均値±SE(n = 4). 異なる英字(小文字,cy3-ara;大文字,cy3-gal)
間に有意差あり(P < 0.05,Tukey の多重比較検定).

年）および 11.8（2019 年），伊達市大滝区（上野町）が 20.1（2018 年）および 18.6（2019 年）だった．Cy3-ara は，網走市が 7.3（2018 年）および 5.3（2019 年），北広島市が 5.1（2018 年）および 6.7（2019 年），伊達市市街地が 7.4（2018 年）および 6.7（2019 年），伊達市大滝区（上野町）が 8.5（2018 年）および 7.2（2019 年）だった. アントシアニンの組成を見ると, 採取地にかかわらず Cy3-gal の占める割合が最も高く，この点は Oszmianski and Sapis（1988）の報告と一致した．アントシアニンの総含量には，採取地および年次に伴う差異が確認されたが，その値はおよそ 15〜30 g Cy3-glc eq./kg DW の範囲に収まっていた．この場合，量的変化が激しいのは，Cy3-gal であった．

第 3 節　果実の抗酸化性における地域および年次間差

抗酸化性の指標として，DPPH˙および ROO˙捕捉活性を各々測定した．

1. 材料および方法

1-1. 植物材料

植物材料は，第 1 項 1-1 と同様のアロニア果実を用いた．

1-2. 抗酸化活性の測定法

1-2-1. DPPH 法（DPPH˙捕捉活性測定）

DPPH˙捕捉活性分析の方法は，第 1 章，第 2 節と同様である．

1-2-2. ORAC 法（ROO˙捕捉活性分析）

ROO˙捕捉活性分析の方法は，第 1 章，第 2 節と同様である．

2. 結果および考察

2-1. DPPH˙捕捉活性（DPPH 法）

各地で栽培されたロシア型アロニア果実の DPPH˙捕捉活性値の果実発育に伴う推移（2017〜2020 年）を図 38 に示した．DPPH˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）

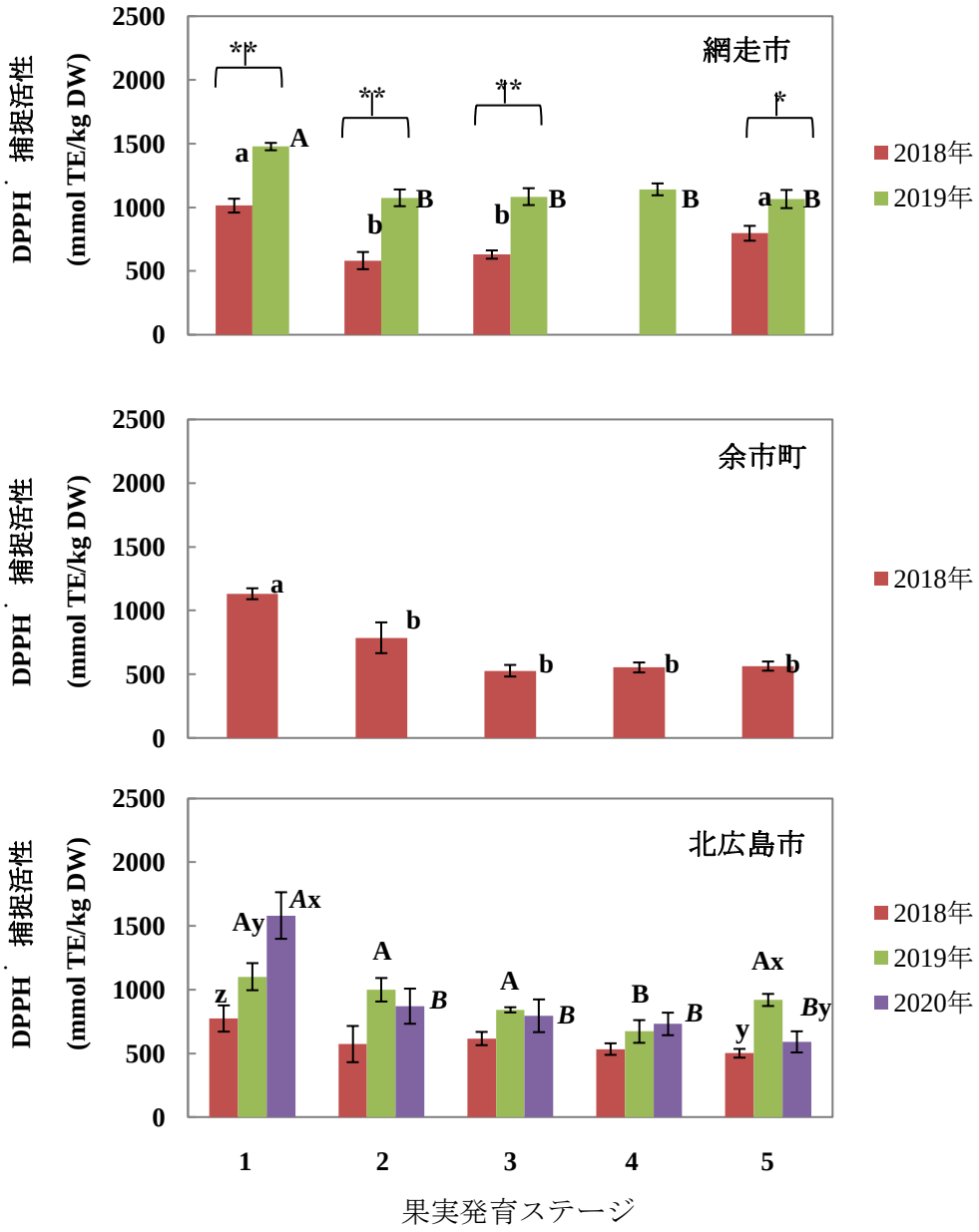


図 38　各地で栽培したロシア型アロニア果実 DPPH・捕捉活性の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定，$P < 0.05$).

**：$P < 0.01$,*:$P < 0.05$(t 検定).

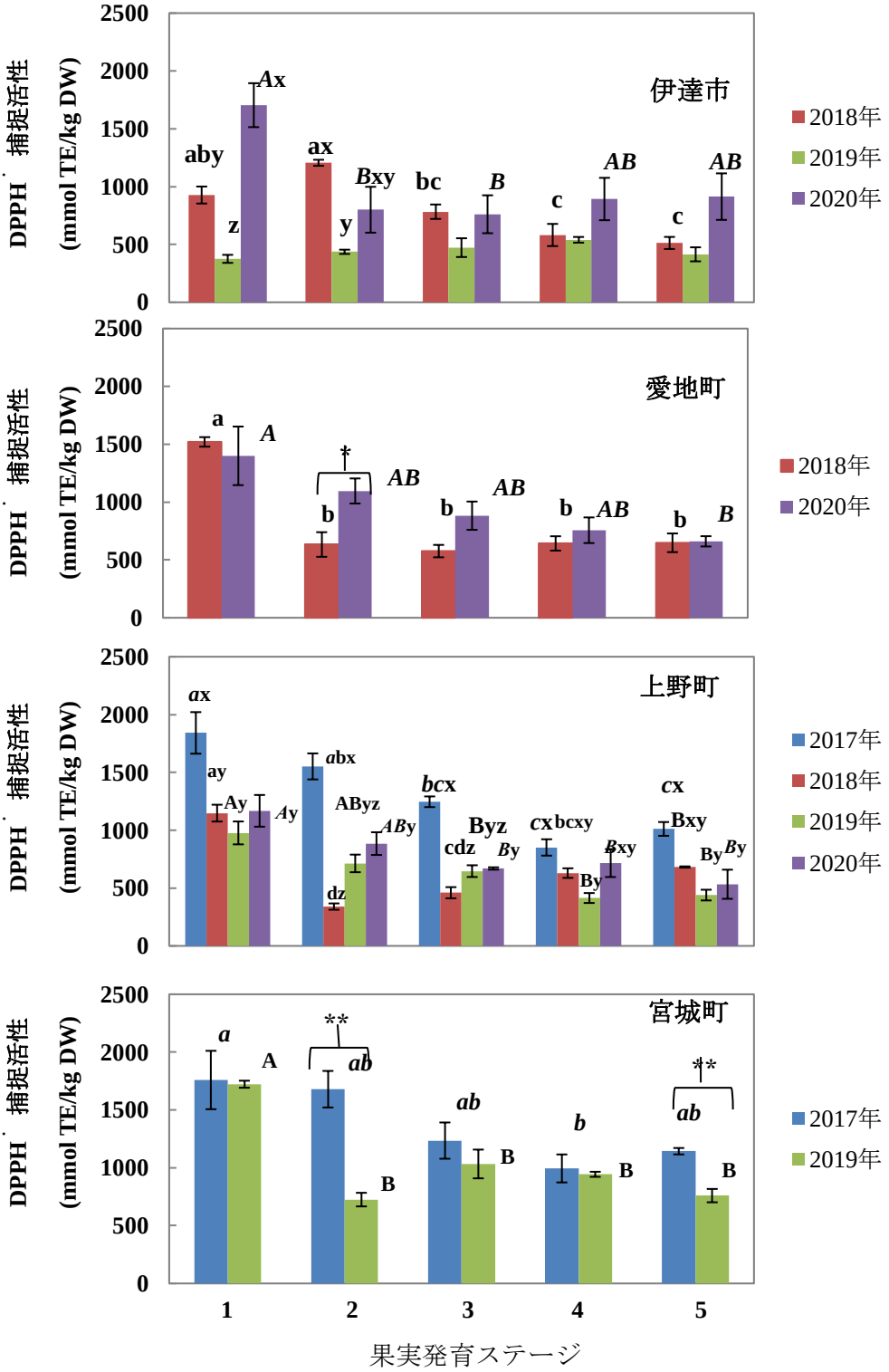


図 38(続き)　各地で栽培したロシア型アロニア果実 DPPH・捕捉活性の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字(斜体):2017 年;小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定, $P < 0.05$).** : $P < 0.01$,*:$P < 0.05$(t 検定).

は，網走市が 581.9～1013.4（2018 年）および 1065.0～1476.9（2019 年），余市町が 527.7～1131.9（2018 年），北広島市が 500.9～773.5（2018 年），671.9～1101.9（2019 年）および 590.1～1581.8（2020 年），伊達市市街地が 513.1～1206.1（2018 年）375.5～540.3（2019 年）および 761.1～1704.2（2020 年），伊達市大滝区（愛地町）が 642.5～1520.2（2018 年）および 756.6～1399.6（2020 年），伊達市大滝区（上野町）が 851.3～1841.5（2017 年），340.1～1148.1（2018 年），414.1～976.8（2019 年），および 533.1～1167.8（2020 年），伊達市大滝区（宮城町）が 994.1～1758.6（2017 年）および 724.8～1722.3（2019 年）で推移した．第 2 章で示したとおり，北大農場（札幌市）ロシア型アロニアの DPPH˙捕捉活性値は，714.8～2124.1（2018 年），714.8～2124.1（2019 年），488.0～1419.2（2020 年）の値で推移し，いずれも着色前で最も値が高く，着色開始から完了期にかけて漸減し，着色完了期以降は，いずれもほぼ横ばいで推移する傾向が認められている．これと比較して，一部に例外はあるものの（2019 年の伊達市市街地など），着色開始前の含量が高くその後減少するという傾向は，多くの採取地および年次で一致していた．また，北大農場のロシア型と同様に，DPPH˙捕捉活性値の推移に年次間差が確認された．

2-2．ROO˙捕捉活性分析（ORAC 法）

各地で栽培されたロシア型アロニア果実の ROO˙捕捉活性値の果実発育に伴う推移（2017～2020 年）を図 39 に示した．ROO˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）は，網走市が 435.1～1170.6（2018 年）および 933.0～1582.1（2019 年），余市町が 907.1～1094.7（2018 年），北広島市が 764.6～1213.3（2018 年），921.9～1302.7（2019 年）および 917.9～1295.1（2020 年），伊達市市街地が 973.5～1278.5（2018 年），500.8～971.6（2019 年）および 1047.9～1219.1（2020 年），伊達市大滝区（愛地町）が 598.4～1441.1（2018 年）および 846.2～1320.2（2020 年），伊達市大滝区（上野町）が 848.6～1350.2（2017 年），543.9～1596.5（2018 年），672.8～1277.9（2019 年）および 752.3～1813.5（2020 年），伊達市大滝区（宮城町）が 766.0～1205.6（2017 年）および 744.9～1506.1（2019 年）で推移した．第 2 章で示したとおり，北大農場（札幌市）ロシア型アロニアの ROO˙捕捉活性値は，901.9～1445.8（2018 年），640.8～1508.6（2019 年），966.8～1682.2（2020 年）の値で

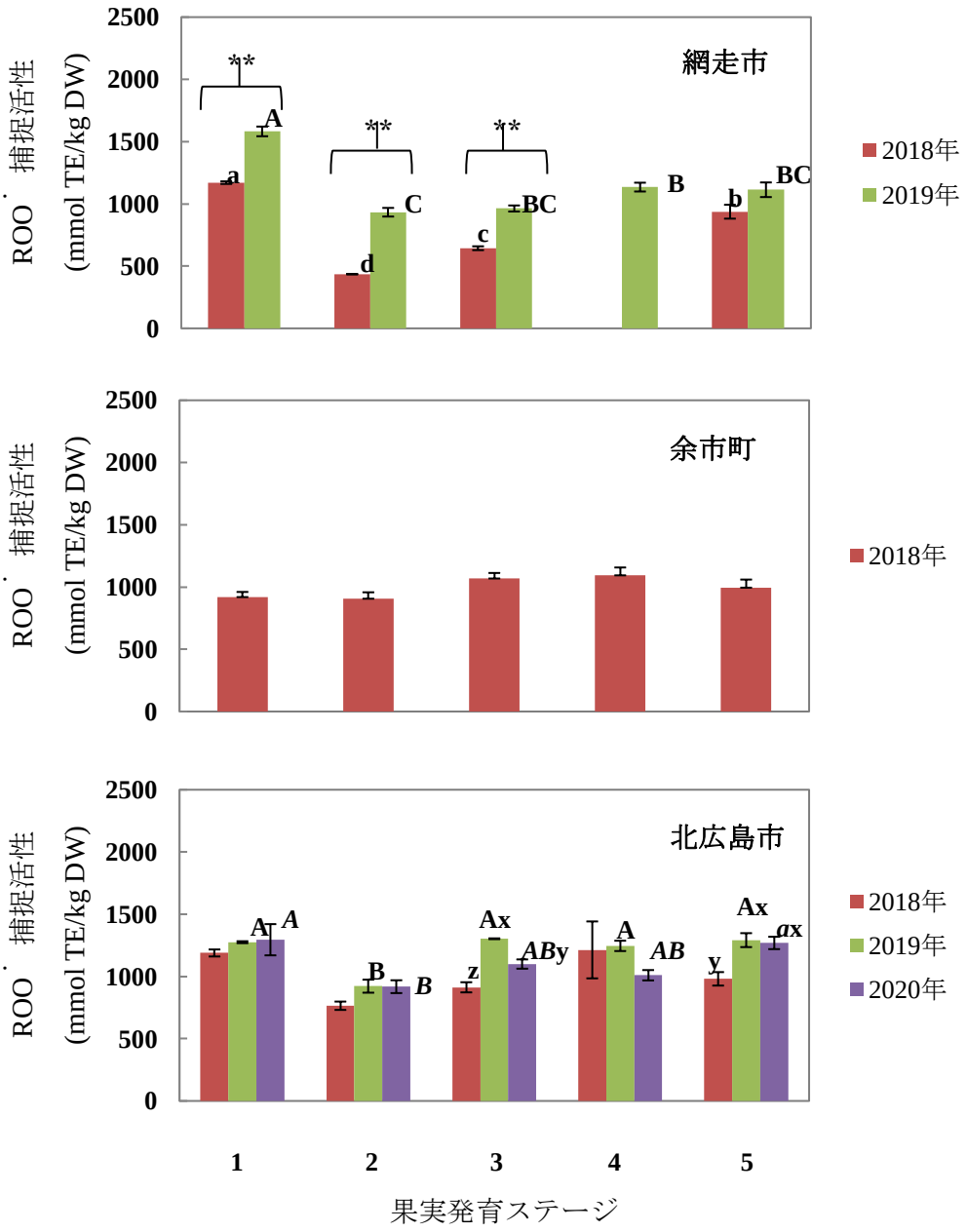


図 39　各地で栽培したロシア型アロニア果実 ROO・捕捉活性の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定，$P < 0.05$).

**：$P < 0.01$,*:$P < 0.05$(t 検定).

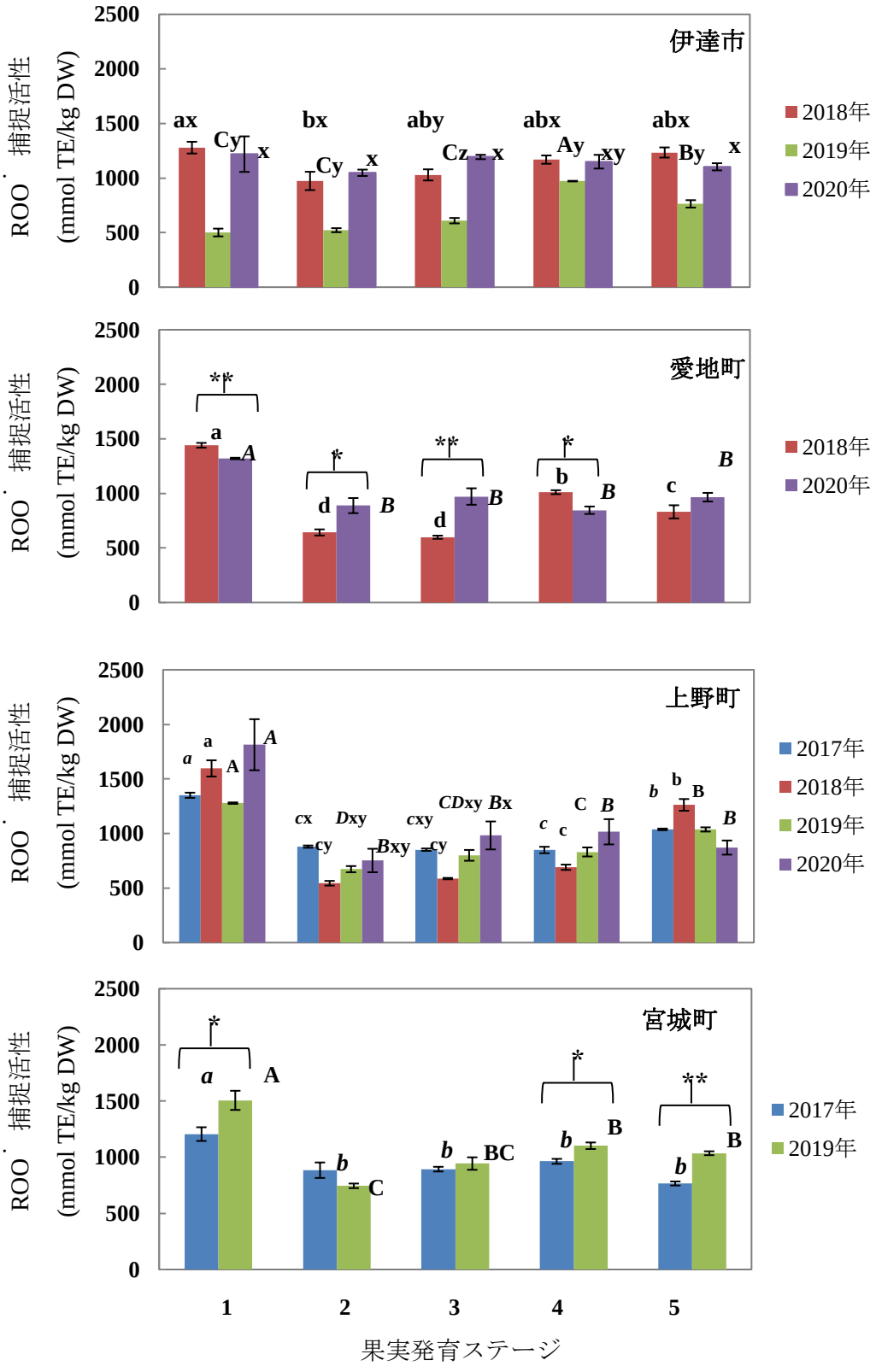


図 39(続き)　各地で栽培したロシア型アロニア果実 ROO・捕捉活性の果実発育に伴う変動．平均値±SE(n = 3)．異なる英字(小文字(斜体):2017 年;小文字:2018 年;大文字:2019 年;大文字(斜体):2020 年;x,y,z:年次)間に有意差あり(Tukey 検定, $P < 0.05$).** : $P < 0.01$,*:$P < 0.05$(t 検定).

推移し，いずれも肥大開始以前の 7 月上・中旬の果実で最も高く，果実着色開始期頃にかけていずれも低下し，その後横ばい，或いはやや増加する傾向を示した. これと比較して, 一部に例外はあるものの (2019 年の伊達市市街地など), 着色開始前の含量が高く，その後減少し，その後横ばいかやや漸増するという傾向は，多くの採取地および年次で一致していた．また，北大農場のロシア型と同様に，ROO˙捕捉活性値の推移に年次間差が確認された.

第 4 節　抗酸化成分含量ならびに抗酸化性変動の標高が異なる地域間での比較

本章，第 2 および 3 節では，北海道内各地で複数年次にわたり採取したロシア型アロニア果実の総ポリフェノール含量および抗酸化性（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）を比較した．この場合，果実発育に伴うこれらの数値の変動は，採取地を問わず年次間差が大きいことを確認したが，これらは採取地ごとに年次が異なるため，単純に比較することはできない．そこで，同一年次のデータのみを集めて，比較しようと考えた．この場合，地理的要因を明確化するため，標高 400〜800 m で隣接する伊達市大滝区（高地）と，標高 20 m 以下の地域（低地）にわけて比較を試みた.

1. 材料および方法

1-1. 解析に用いたデータ

本章，第 2 および 3 節に示したデータのうち，低地および高地の両方で比較可能な果実採取地が複数ある 2019 年および 2020 年のデータを用いた．すなわち，2019 年の低地が北広島市および伊達市市街地，高地が伊達市大滝区の上野町および宮城町， 2020 年の低地が北広島市および伊達市市街地，高地が伊達市大滝区の上野町および愛地町である.

1-2. 統計解析

総ポリフェノール含量ならびに DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の同一採取年

における比較については，果実発育ステージ（5 水準）と採取地（2 水準）から成る 2 要因分散分析（$n = 3$）を行い，さらに有意差（$P < 0.05$）が認められた要因については，Student の t 検定で平均値間の比較を行った．さらに，同じ採取年の高地と低地間で一元配置の分散分析（$n = 30$）を行った．

2．結果および考察

果実発育に伴う総ポリフェノール含量の推移における同一年次（2019 および 2020 年）の地域間比較を図 40 に，その分散分析結果を表 10 に示した．2019 年の総ポリフェノール含量の推移には，低地・高地を問わず地域間に統計的有意差（$P < 0.001$）が認められたのに対し，2020 年のそれに有意差は認められず，低地・高地とも同様に推移した．なお，2019 年のみ地域間と採取時期の交互作用に有意差（$P < 0.01$）が認められたことは，2019 年の変動傾向が地域間で異なっていたことを示している．低地と高地を比べると，変動が激しかった 2019 年は低地と高地間にも統計的有意差（$P < 0.001$）が確認されたが，2020 年は差がなくほぼ同様に推移した．

果実発育に伴う DPPH˙捕捉活性値の推移における同一年次（2019 および 2020 年）の地域間比較を図 41 に，その分散分析結果を表 11 に示した．2019 年の DPPH˙捕捉活性値の推移にも，低地・高地を問わず地域間に統計的有意差（$P < 0.001$）が認められたのに対し，2020 年のそれに有意差は認められなかった．なお，2019 年のみ地域間と採取時期の交互作用に有意差（$P < 0.01, 0.001$）が認められたことは，2019 年の変動傾向が地域間で異なっていたことを示している．低地と高地を比べると，両年とも統計的有意差は確認されなかった．

果実発育に伴う ROO˙捕捉活性値の推移における同一年次（2019 および 2020 年）の地域間比較を図 42 に，その分散分析結果を表 12 に示した．2019 年の ROO˙捕捉活性値の推移にも，低地・高地を問わず地域間に統計的有意差（$P < 0.001$）が認められたのに対し，2020 年のそれに有意差は認められなかった．なお，2019 年のみ地域間と採取時期の交互作用に有意差（$P < 0.001, 0.05$）が認められたことは，2019 年の変動傾向が地域間で異なっていたことを示している．低地と高地を比べると，両年とも統計的有意差は確認されなかった．

以上述べたように，抗酸化成分の総ポリフェノール含量，ならびに抗酸化性

表 10　図 40 の分散分析表.

	低地		高地	
	2019 年	2020 年	2019 年	2020 年
地域(A)	2.3E-06 ***	0.772712	1.43E-06 ***	0.834435
ステージ(S)	0.768549	1.76E-10 ***	4.62E-09 ***	5.49E-11 ***
A×S	0.001471 **	0.607434	0.002904 **	0.923087
低地×高地	0.000609 ***	0.912482		

T 検定で有意差あり(** : $P < 0.01$,　*** : $P < 0.001$).

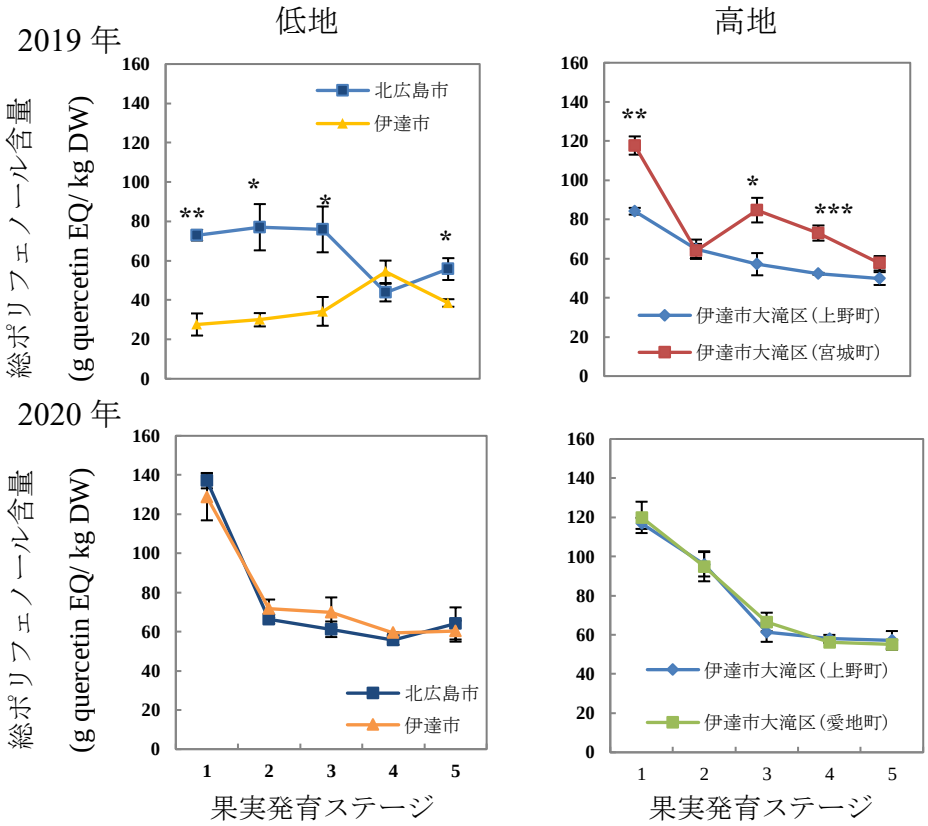


図 40　ロシア型アロニア果実の発育に伴う総ポリフェノール含量の推移に認められる地域間差(2019 および 2020 年).

平均値±SE($n = 3$).　T 検定で有意差あり(*:$P < 0.05$, **:$P < 0.01$,***: $P < 0.001$,Student の t 検定).

表 11　図 41 の分散分析表

	低地		高地	
	2019 年	2020 年	2019 年	2020 年
地域(A)	5.43E-10 ***	0.334322	1.04E-08 ***	0.055366
ステージ(S)	0.309108	6.32E-05 ***	3.47E-09 ***	0.0003 ***
A×S	0.002818 **	0.745169	0.000503 ***	0.936977
低地×高地	0.064389	0.372177		

T 検定で有意差あり(** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$).

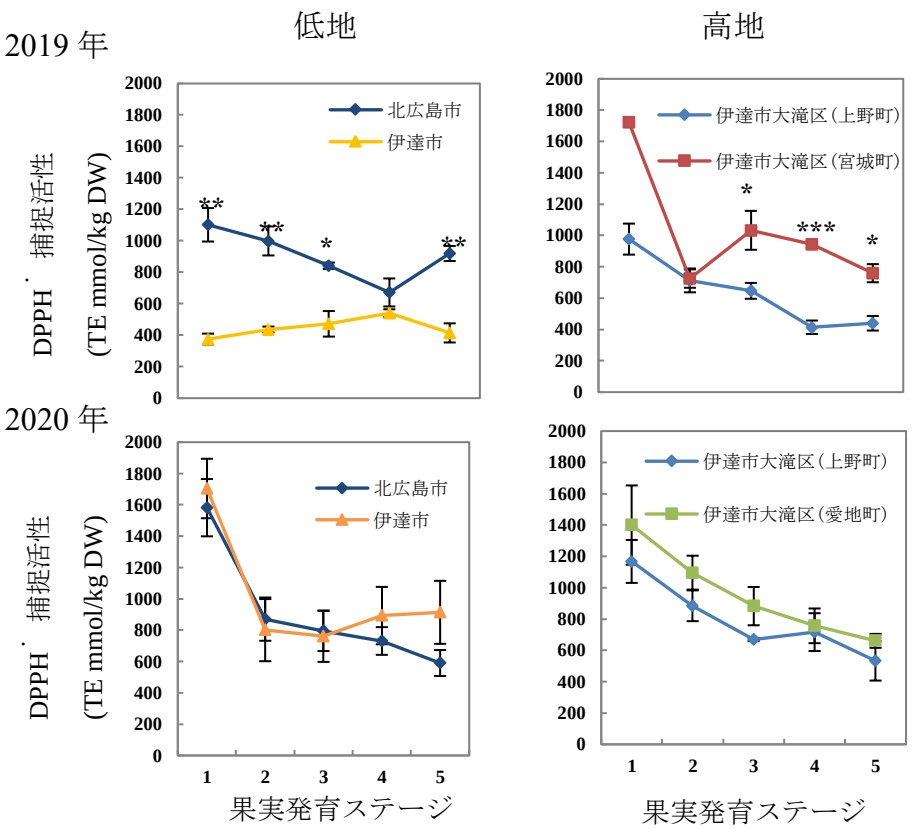


図 41　ロシア型アロニア果実の発育に DPPH・捕捉活性の推移に認められる地域間差(2019 および 2020 年). 平均値±SE($n = 3$). T 検定で有意差あり (*:$P < 0.05$, **:$P < 0.01$,***: $P < 0.001$,Student の t 検定).

表 12　図 42 の分散分析表

	低地		高地	
	2019 年	2020 年	2019 年	2020 年
地域(A)	1.06E-16***	0.615952	2.61E-05 ***	0.204883
ステージ(S)	3.36E-09***	0.017701 *	1.02E-11 ***	5.8E-06 ***
A×S	1.3E-06 ***	0.196745	0.023052 *	0.049812
低地×高地	0.46826	0.199956		

T 検定で有意差あり(* : $P < 0.05$, *** : $P < 0.001$).

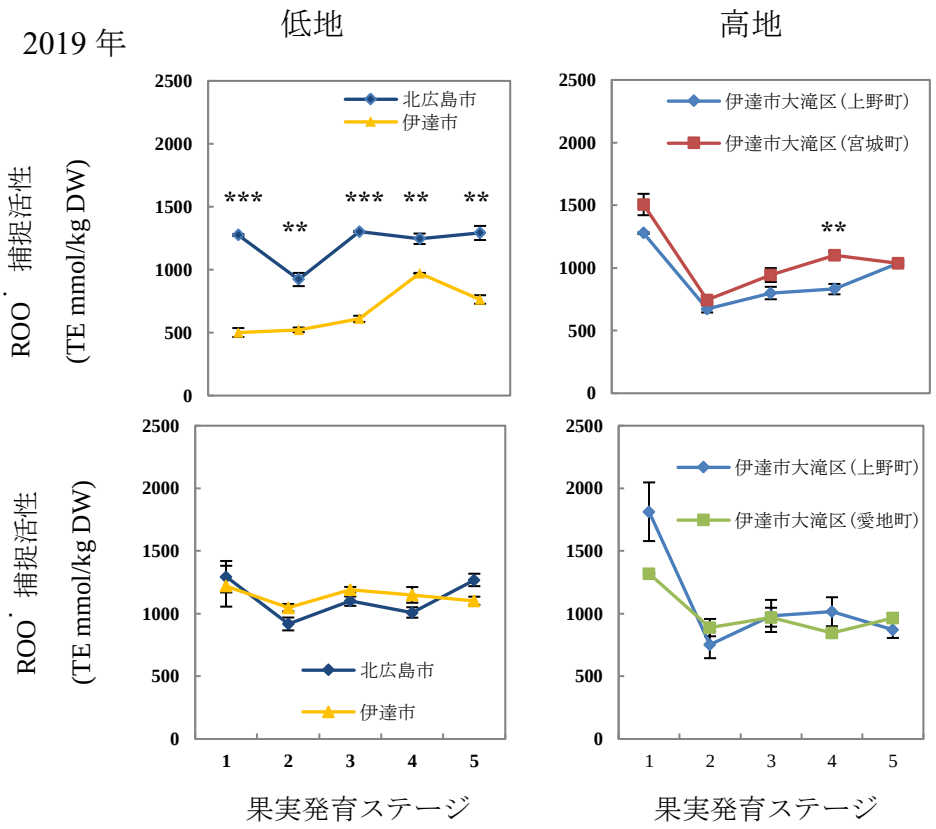


図 42　ロシア型アロニア果実の発育に ROO・捕捉活性の推移に認められる地域間差(2019 および 2020 年). 平均値±SE($n = 3$). T 検定で有意差あり(*:$P < 0.05$, **:$P < 0.01$,***: $P < 0.001$,Student の t 検定).

の指標である DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の推移には，低地・高地を問わず，いずれも地域間差は 2019 年のみに認められ，2020 年には認められなかった．また，低地および高地の各々で地域間差が大きかった 2019 年でも，高地と低地の間に有意差が確認されたのは，総ポリフェノール含量のみであった．これらの事実から，果実抗酸化性の変動に最も強く影響する要因は年次の違いであるが，変動が激しい年次にあっても，低地と高地の違いに基づく地域間差は小さいものと考えられる．

第 5 節　アロニア果実に含まれる抗酸化成分と各種抗酸化活性値との関連

本節では，北海道内各地で複数年次（2017～2020 年の 4 年間）にわたり栽培された多数のロシア型アロニア果実に関して測定した，抗酸化成分含量（第 1 節）および各種抗酸化活性値（第 2 節）の回帰分析を行い，両者の関係を明らかにしようとした．

1. 材料および方法

1-1. 解析に用いたデータ

本章，第 1 および 2 節に示したデータの全てを解析対象とした．

1-2. 統計解析

総ポリフェノール含量およびアントシアニン含量と各抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）との間で Pearson の回帰分析を行った．

2. 結果および考察

2-1. 総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値の相関

ロシア型アロニア果実の総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値の相関図を図 43 に示した．総ポリフェノール含量と DPPH˙捕捉活性値との間に，統計的に有意な正の相関関係（$P < 0.001$, $r = 0.600$）が認められた．また，総ポリフェノール含量と ROO˙捕捉活性値との間にも，統計的に有意な正の相関関係（$P <$

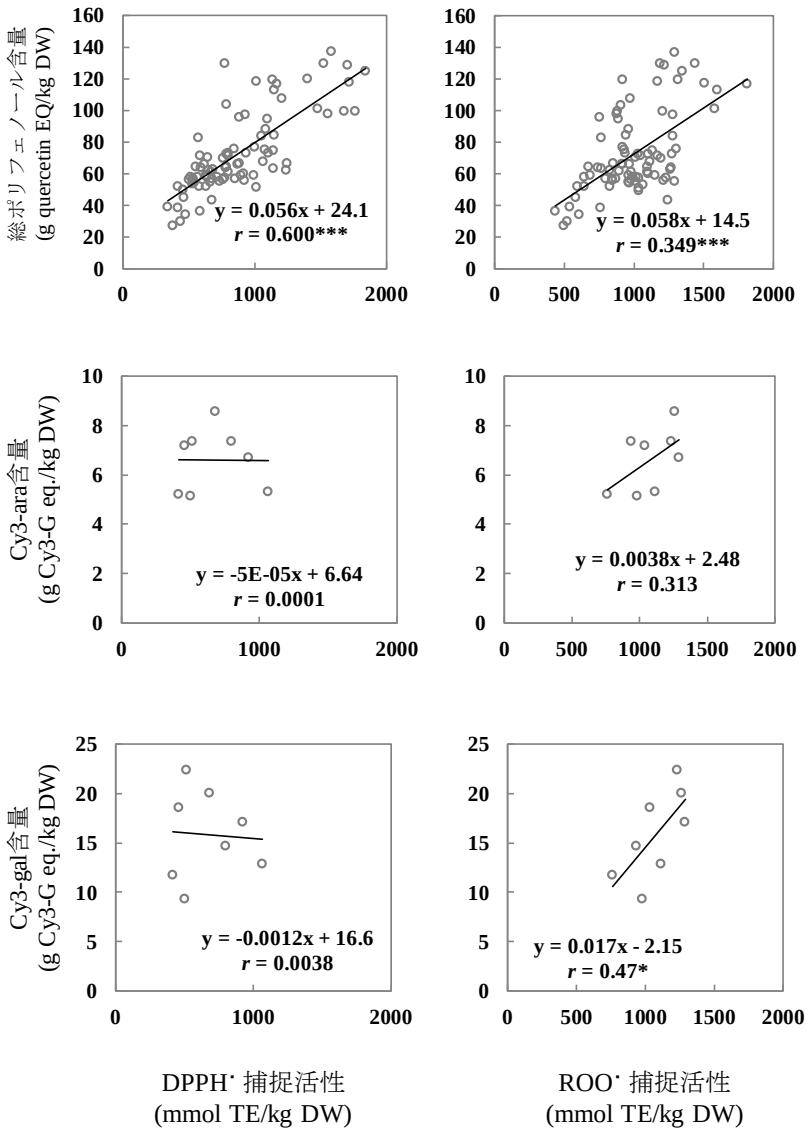


図43　各種抗酸化成分含量と抗酸化活性値の相関.
*P < 0.05，**P< 0.001 (ピアソンの積率相関係数検定).

0.001, $r = 0.349$）が認められた．この結果は，第 2 章，第 3 節の北大農場栽植ロシア型アロニアとほぼ同じであり（図 29），相関係数（r）の値も近いことから，採取地および年次が違っても，アロニア果実のポリフェノールは，ROO˙に比べ DPPH˙をより強く捕捉しやすいことが裏付けられた．

2-2. アントシアニン含量と各種抗酸化活性値の相関

ロシア型アロニア果実のアントシアニン含量（Cy3-ara および Cy3-gal）と各種抗酸化活性値の相関図を図 43 に示した．Cy3-ara 含量と種抗酸化活性値との間に，統計的に有意な相関関係は認められなかった．一方，Cy3-gal 含量と ROO˙捕捉活性値との間には，統計的に有意な正の相関関係（$P < 0.05$, $r = 0.47$）が確認された．従って，アロニア果実に含まれるアントシアニンのうち，含有量が多い Cy3-gal は抗酸化機能を発揮しているものと考えられる．

第 6 節　第 3 章の考察

第 3 章では，北海道内の複数の地域で栽培されているロシア型アロニア果実を複数年次にわたり採取し，その抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値を地域間で比較することにより，地理的環境の違いが果実抗酸化性に及ぼす影響を明らかにしようとした．

果実発育に関する地域間差を調べた結果，網走は，調査した両年とも 1 果重が小さく，果実肥大に地域間差があるものと考えられる．一方，果実含水率は，地域や年次にかかわらずよく似た変動を示したので，環境や年次の影響を受けにくい形質であると考えられる．

果実発育と抗酸化成分および抗酸化性について，乾物あたりの総ポリフェノール含量は，1 果重が小さく推移した網走の果実においても，他地域と比べ特に低い値を示したわけではないので，果実肥大の良否と抗酸化成分含量の多少には関連がないと考えられる．また，総ポリフェノール含量の果実発育に伴う変動は，第 2 章に示した北大農場栽植ロシア型アロニア果実のそれと類似していたが，各採取地においても北大農場と同様に年次間差が確認された．この点は，

果実抗酸化性（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）に関しても同様であった．また，アロニア果実にはアントシアニンが豊富に含まれることが知られていることから MALDI-TOF MS で定量し地域間で比べたところ，その総含量は 15〜30 g Cy3-glc eq./kg DW の範囲にあり，最大値と最小値に約 2 倍の開きがあった．この理由として，本研究ではステージ 5 の果実を比較しており，果実の成熟および老化が進んだことで，アントシアニンの一部が分解あるいは構造変化を来たしていた可能性は排除できない．従って，アントシアニン含量の地域間差を明らかにするには，今後，着色完了期の果実を用いた複数年次にわたる調査が必要である．

次に，抗酸化成分含量と各種抗酸化活性値の関係について考察する．北海道内各地で栽培したロシア型アロニア果実の総ポリフェノール含量と DPPH˙捕捉活性値との間にも，北大農場栽植ロシア型アロニアと同様に，有意な正の相関関係（$P < 0.001, r = 0.600$）が認められた．また，総ポリフェノール含量と ROO˙捕捉活性値との間にも，同様に正の相関関係（$P < 0.001, r = 0.349$）が認められた．これらの相関係数（r）は，北大農場のそれと近い値であることから，採取地および年次が違っても，アロニア果実は強い抗酸化性を有することが裏付けられた．また，アントシアニンの抗酸化性について，Cy3-gal 含量と ROO˙捕捉活性値との間には，統計的に有意な正の相関関係（$P < 0.05, r = 0.47$）が確認され，Cy3-gal は抗酸化機能を発揮していることがわかった．

最後に，第 3 章で最も比較したかった地域間差について考察する．本章，第 4 節で，多くの果実採取地の中から採取年次が同じものを選び出し，それを標高差に基づき低地と高地に分けて比較したところ，低地および高地内の変動幅が 2019 年は大きく 2020 年は小さかった．このような年次間差が認められた中で低地と高地を比較すると，2019 年の総ポリフェノール含量を除き，DPPH˙および ROO˙捕捉活性値に有意差は認められなかった．このことから，低地と高地という違った栽培環境が原因の差は，年次間差と比べ小さいものと考えられる．

第 4 章　総合考察

米や麦などの穀物が主食（エネルギー源）であるのに対し，副食の野菜や果物は，ビタミンやミネラルの供給源として人の健康維持に重要な役割を担う．近年，人の健康志向の高まりを受けて，野菜やフルーツに豊富に含まれる化合物（phytochemical）の多様な機能性に注目が集まるようになった．その一つに，ASA やポリフェノールが持つ抗酸化性が挙げられる．抗酸化性の化合物は人体内で発生する各種の ROS を除去する役割を担い, 消化管にあっては ROS がもたらす上皮細胞の発癌誘導リスクを軽減し，血中にあっては低密度リポタンパク質（LDL）の酸化変性を抑え，マクロファージが変性 LDL を貪食することで生じるアテローム性動脈硬化（心筋梗塞や脳梗塞の引き金）の発症を防ぐ機能を発揮する．従って，抗酸化成分が豊富な食材を日常的に摂取することで，三大成人病予防効果が高まると考えられるようになった．1990 年代に米国で始まったデザイナーフーズ計画は，このような理論に基づいていた（大澤，2009）．野菜やフルーツの中でも，特にブルーベリーなどの北方系小果樹には，アントシアニンを始めとする抗酸化物質を豊富に含むものが少なくない．本研究で実験材料にしたローズヒップおよびアロニア果実は，いずれも抗酸化性が強い食材として有名である（Kulling and Rawel, 2008; Cunja et al., 2016; He et al., 2016; Tabaszewska and Najgebauer-Lejko, 2020）．ただ，これらの果実が持つ抗酸化性の種および品種間差，年次間差，果実発育に伴う変動ならびに抗酸化性に及ぼす栽培環境の影響などに関する報告は少ないため，本研究ではこれらの諸点を明らかにし，強い抗酸化性を持つ果実の生産に向けた基礎的知見を得ようと考えた．

まず，抗酸化成分の種および品種間差について考察する．第 1 章では，東アジア原産のバラ属数種と欧州原産のグラウカおよびそれらの交雑品種を用いて, ローズヒップに含まれる水溶性抗酸化成分の ASA および総ポリフェノール含量を測定するとともに，その抗酸化性を DPPH 法，ORAC 法および各種 ESR-ST 法を用いて多面的に調査した．Cunja et al. (2016) は狭義のローズヒップであるイヌバラ（*R. canina*）果実の総アスコルビン酸（ASA+DHA）含量が 18.4 g/kg DW で, 選抜した種および品種のそれは 2.4〜47.1 g/kg DW であったと報告している．

Roman et al. (2013) は，ルーマニア北西部の Transylvania 地方で採取した野生のイヌバラ凍結果肉中に 1.1〜3.6 g/kg のビタミン C（原文のまま表記）が含まれることを示した．Ercis¸li (2007) は，ローズヒップのビタミン C 含量は種，遺伝子型および環境要因によって変動するが，3〜40 g/kg DW の範囲内にあると推定している．本研究で，購入したイヌバラ果実の ASA+DHA 含量は，3.7 g/kg DW と上記の下限値に近い数値を示した．従って，乾燥，加工または貯蔵中に，ASA および DHA の一部が損なわれていた可能性が考えられる（Tabaszewska and Najgebauer-Lejko, 2020)．また，イヌバラと同じカニーナ節（*Caninae*）に分類される欧州原産のグラウカ（*R. glauca*）の ASA+DHA 含量は，47.3 g/kg DW（2013 年）および 32.2 g/kg DW（2017 年）と上記推定値の上限付近にある高い値を示した．これに対し，東アジア原産のバラ属のうちローザ節（*Rosae*）に分類されるオオタカネバラ，カラフトイバラ，ハマナスおよびヤエハマナスの ASA+DHA 含量は 31.8〜103.1 g/kg DW と，上記推定値の上限またはそれを凌ぐ高い値を示した．一方，シンステラ節（*Synstyllae*）のノイバラ果実で ASA+DHA 含量の値は小さかった．Ercis¸li and Es¸itken (2004) は，トルコ Erzurum 州に自生する *R. dumalis*，*R. canina*，*R. pulverulanta* および *R. montana* から集めた 10,000 実生のうち，選抜した有望な 12 系統の果実に含まれる総アスコルビン酸含量は 10.74〜25.57 g/kg FW であったことを報告しているが，東アジア原産ローザ節（*Rosae*）のそれ（各材料の含水率を基に生体重あたりに換算すると 9.7〜29.5 g/kg FW）は同等の高い値であることが明らかになった．この値は，ビタミン C 含量が高いとされるシーベリー（*Hippophae ramnoides*）の 4.1〜4.4 g/kg FW (Gutzeit et al., 2008)，グァバの 2.2 g/kg FW（七訂日本食品成分表，2015）およびアセロラの 17.0 g/kg FW（七訂日本食品成分表，2015）よりも高いことから，東アジア原産ローザ節（*Rosae*）ローズヒップは，ASA+DHA を極めて高濃度で含有する優れた果実であると考えられる．この中で，カラフトイバラおよびこれを母本とする‘コンサレッド’が，特に高い値を示した．従って，ローズヒップにおける ASA+DHA 含量の種および品種間差は，大きいものと考えられる．

総ポリフェノール含量について，Cunja et al. (2016) はイヌバラ果実の含量は 5.6 g/kg DW で，選抜した種および品種のそれは 3.0〜44.7 g/kg DW であったと報告している．本研究で，購入したイヌバラ果実の総ポリフェノール含量（33.2 g

quercetin eq./kg DW）は，この範囲内にあった．また，グラウカはこれより高い値を示した．これに対して，東アジア原産のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’は, 両調査年とも 119.2〜161.5 g quercetin eq./kg DW の極めて高い数値を示し，他のローズヒップとの間に有意差 ($P < 0.05$) も確認された．この数値は，ポリフェノール含量が多いことで有名なアロニア果実のそれ 37.6〜78.5 g/kg DW (Kulling and Rawel, 2008) と比べても大きかった．一方，第 2 章では，果実発育の早晩性が異なるロシア型とアメリカ型アロニアを比較したが，果実着色完了期における総ポリフェノール含量（g quercetin eq./kg DW）は，表 7 および図 20 からロシア型が 57.0〜82.3，アメリカ型が 74.7〜100.7 の値を示し，果実発育に伴う変動幅を考えると両者に大きな違いがあるとは言えなかった．さらに，上記の Kulling and Rawel (2008) の数値と比べても大差がない値と考えられる．このことから，種が同じ場合果実成熟の早晩が違っていても，適熟果における総ポリフェノール含量の差異は小さいものと考えられる．

抗酸化活性の種および品種間差については，カラフトイバラおよび‘コンサレッド’の DPPH˙および ROO˙捕捉活性値（mmol TE/kg DW）は，採取年次にかかわらず桁外れに高い値（DPPH˙捕捉活性値が 1177.3〜1763.9，ROO˙捕捉活性値が 2487.4〜3933.3）を示した．従って，この 2 つは，ASA だけでなくポリフェノールも多量に含み，抗酸化性に優れた特筆すべき果実であると言える．それ以外のラジカル捕捉活性値についても，この 2 つは値が高かった．一方，アロニア果実の着色完了期における DPPH˙捕捉活性値はロシア型が 599.5〜1031.8，アメリカ型が 641.0〜1084.7，ROO˙捕捉活性値はロシア型が 960.9〜1407.8，アメリカ型が 784.6〜1146.9 の値を示した（表 8 および 9）．年次をまたぐこれらの数値の幅も，ロシア型とアメリカ型で重なりが大きく，抗酸化性に関しても同一種内での差異は小さいものと考えられる．

ローズヒップの抗酸化性における，種および品種間差をよりわかりやすくするために，本研究で調査した抗酸化性に関わる全ての項目をレーダーチャート上に表し比較したところ，やはりカラフトイバラおよび‘コンサレッド’が多くの項目で高い値を示し，抗酸化性に優れる果実であることが視覚的に浮き彫りになった．このように，抗酸化性を一つではなく複数の項目を用いて多面的に捉えることで，各々の食材が持つ抗酸化性の特徴を捉えやすくなるものと考えら

れる．本研究で，その強い抗酸化性が明らかになったカラフトイバラ果実は，アトピー性皮膚炎の改善効果（Hwang et al., 2021）および高脂肪食給餌マウスの肥満および肝機能障害防止効果（Shen et al., 2021）を有することが，最近続けて報告されており，これらの効果もカラフトイバラ果実が持つ強い抗酸化性によってもたらされているものと推測される．また，カラフトイバラの種間交雑後代である‘コンサレッド’が同様に強い抗酸化性を示したことから，カラフトイバラは，強い抗酸化性のローズヒップを結実する品種を作出するための育種母本としても有用と考えられる．

次に，各種抗酸化成分が捕捉しやすい ROS の種類について考察する．ローズヒップの ASA および総ポリフェノールは，どちらも人工的な DPPH˙に加えて，自然に生体内で発生する ROO˙および $^1O_2$ を捕捉することが，回帰分析により明らかになった（図 12 および 13）．この場合，相関係数はいずれも総ポリフェノールが ASA よりも高く，ASA と比べ総ポリフェノールの方がローズヒップの抗酸化性への寄与の度合いが大きいものと考えられる．このことは，第 2 章のローズヒップ未熟果から過熟果までを通した分析実験においても，同様に確認された（図 29）．これまで，$^1O_2$ を捕捉する主な化合物はカロテンなどの脂溶性抗酸化物質であることが報告されており（寺尾，2015），水溶性抗酸化物質（ASA および総ポリフェノール）も $^1O_2$ 捕捉能を有するという本研究結果は，予想外である．また，ASA のエンジオール基は HO˙や˙O_2^-を消去する働きを持つとされるが，本研究結果に基づけば，その効果は小さいものと推測される．

一方，第 2 および 3 章では，アロニア果実のポリフェノールも，DPPH˙および自然に生体内で発生する ROO˙を捕捉することを確認した（図 29 および 43）．図 29 で，総ポリフェノール含量と DPPH˙および ROO˙捕捉活性との相関係数はアロニアとローズヒップでほぼ同じであったが，ローズヒップから抽出されたポリフェノールの方が，より多くのラジカルを捕捉する能力を有していることがわかった．この差は，含まれるポリフェノールの種類の違いに起因すると考えられるので，ポリフェノール組成を明らかにすることが今後の課題である．

果実発育と抗酸化性に話を移すと，果実の成熟程度が抗酸化性に影響を及ぼすという指摘がある（Uggla et al., 2005）．濱渦ら（1999）は，リンゴ‘つがる’果実の発育に伴う果肉組織のポリフェノール含量および抗酸化性（リノール酸自

動酸化系におけるチオバルビツール酸形成阻害活性）を調査し，どちらも開花66 日後の値が最も高く，93 日後および 121 日後と果実発育が進むにつれて，減少することを報告した. また, Fu et al.（2021）は, 中国原産サクラ属野生種（*Prunus humilis*）果実の総ポリフェノール含量が，果実発育初期の Stone hardening stage をピークに，果実肥大期から成熟期まで漸減し，抗酸化性（DPPH˙捕捉活性）も同様の推移を示したことを報告した．第 2 章で，果実発育に伴うアロニア果実の総ポリフェノール含量の推移には顕著な年次間差が認められたものの，総じて果実肥大開始期頃の値が最も高く果実着色期間中漸減し，その後横ばいとなる傾向が認められた．さらに，第 3 章で異なる場所および年次で栽培されたロシア型アロニアの多くでも，同様の推移が確認された．この変動パターンは，上記のリンゴおよびサクラ属果実と共通している．一方，ローズヒップの多くでは，果実肥大開始期から着色完了期にかけて漸減した後，再び増加するというアロニアとは違った変動パターンが認められた．従って，同じバラ科植物といえども，ポリフェノール含量の変動パターンには種ごとに違いがあるものと考えられる．この場合，本研究も含め多くの果樹で，未熟果の総ポリフェノール含量の高い傾向が認められており，機能性があれば，未熟果の段階で乾燥・粉末化しサプリメントに利用することも一案である．また，多くのローズヒップで, ASA 含量は, ポリフェノールとは逆に着色完了期頃の値が最も高かった．従って，ローズヒップでは，ASA とポリフェノールのどちらの抗酸化性を利用するかによって，収穫のタイミングを変える必要がある．

最後に，栽培地域の違いが果実抗酸化性に及ぼす影響について考察する．堀川（2019）は，北海道内各地から採集した野生のヤマブドウ果実の総ポリフェノール含量および総アントシアニン含量を調査し，いずれも地域的な偏りが認められることに言及した．ただ，この場合の調査対象は野生種であり，成分に現れた違いが環境の差に起因するのか，あるいは遺伝的要因が大きいのかの 2 つを分けて考えるのが難しい．本研究では，この点をクリアにするため，組織培養（栄養繁殖）でクローン増殖し，道内各地で栽培されているロシア型アロニアを対象に, 果実ポリフェノール含量および抗酸化性を調査した. その結果, 各地域の果実ポリフェノール含量ならびに DPPH˙および ROO˙捕捉活性値は，年次間差は大きいものの，総じてステージ 1（未熟果）で高くその後低下すると

いう，北大農場のアロニア（第 2 章）と共通した変動パターンを示すことがわかった．この場合，調査年次が一致しないため，全ての地域を比較するのが難しい．そこで，比較が可能な年次（2019 および 2020 年）の調査地を，標高 20m 以下の低地および標高 400m 以上の高地に分けて比較した．その結果，地域間変動が 2019 年は大きく 2020 年は小さいという特徴の中で，高地と低地の間に統計的有意差が認められたのは 2019 年の総ポリフェノール含量のみで，それ以外の指標に有意差は認められなかった．このことから，低地と高地という違った栽培環境が原因の差は，年次間差と比べ小さいものと考えられる．

以上述べたとおり，本研究は数種バラ属果実（ローズヒップ）およびアロニア果実の抗酸化性に関わる諸要因について，複数年次にわたり検討した結果，抗酸化成分含量および抗酸化性の強弱に関しては，種・品種間差および年次間変動が大きいことを明らかにした．一方，地域間差ならびに同一種内の果実成熟の早晩に伴う差は，比較的小さいこともわかった．また，果実発育に伴う変動も認められ，これには果実の種類または抗酸化成分ごとに変動パターンがあり，利用する成分ごとに果実収穫適期が異なることを明らかにした．さらに，各種 ROS に対する抗酸化活性を複数の測定技術を駆使して計測することにより抗酸化性の多面的評価を試み，東アジア原産カラフトイバラ（*Rosa davurica*）のローズヒップが複合的で強い抗酸化性を併せ持つ，優れた果実であることを見出した．これらの結果は，北方系小果樹の抗酸化性に着目した栽培および品種改良技術の開発，ならびに果実の利用・加工に際し，貴重な情報を提供するものである．本研究で得られた知見が，果樹園芸および食品産業の発展に役立つ日が来ることを切に願う．

摘要

1. バラ属（*Rosa*）果実（ローズヒップ）の抗酸化成分含量および抗酸化活性値に認められる種および品種間差

バラ属果実について抗酸化成分（ASA，総ポリフェノール）含量および抗酸化活性（DPPH˙，ROO˙および ESR-ST 法を用いた各種ラジカル捕捉活性）を調査した結果，以下のような特徴が認められた．

（1） 抗酸化成分含量

ASA および DHA 含量に種および品種間差がみられ，総アスコルビン酸（ASA＋DHA）含量は，グラウカ（対照）と比較すると，2013 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’ならびに 2017 年の‘コンサレッド’で値が高く，2013 年のノイバラおよびヤエハマナスならびに 2017 年のノイバラで値が低かった．ノイバラを除き，総アスコルビン酸に占める ASA の割合は DHA より大きかった．また，オオタカネバラ，カラフトイバラ，ハマナスおよびグラウカ（対照）で年次間差が確認され，DHA 含量の差に起因することが明らかになった．

総ポリフェノール含量にも種・品種間差がみられ，グラウカ（対照）と比較すると 2013 年のカラフトノイバラおよび‘コンサレッド’ならびに 2017 年のカラフトイバラ，ノイバラおよび ‘コンサレッド’で値が高く，2013 年のノイバラ，ヤエハマナス，2017 年のオオタカネバラおよび ‘北彩’，ならびにイヌバラ（参考）で値が低かった．また，年次間差は確認されなかった．

（2） 抗酸化活性値

DPPH˙捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比較すると，2013 年のカラフトイバラおよび ‘コンサレッド’ならびに 2017 年のカラフトイバラ，ノイバラおよび ‘コンサレッド’で高い値を示した．一方，2013 年のオオタカネバラおよびハマナス，ならびにイヌバラ（参考）で低い値を示した．DPPH˙捕捉活性値に年次間差はみられなかった．

ROO˙捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比較すると，2013 年ならびに 2017 年のカラフトイバラおよび‘コンサレッド’で高い値を示した．それ以外のバ

ラ属果実では低い値を示した．また，年次間差は‘北彩’以外の種および品種に認められたが，共通する一定の傾向はみられなかった．

$\cdot O_2^-$捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比較すると，‘北彩’および‘コンサレッド’で高い値を示した．一方，それ以外の種および品種において，差は認められなかった．

$HO\cdot$捕捉活性値および$RO\cdot$捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比較すると，ハマナスおよびイヌバラ（参考）で低い値を示した．

$^1O_2$捕捉活性値は，グラウカ（対照）と比較すると，オオタカネバラ，ノイバラ，ヤエハマナスおよび‘北彩’で低い値を示した．

（3）抗酸化成分含量と各種抗酸化活性値との関連

ASA 含量（DHA を除く）と DPPH$\cdot$，ROO$\cdot$，HO$\cdot$および$^1O_2$の各種ラジカル捕捉活性値との間に正の相関関係がみられた．

総ポリフェノール含量と DPPH$\cdot$，ROO$\cdot$および$^1O_2$の各種ラジカル捕捉活性値との間に正の相関関係がみられた．

この場合，総ポリフェノールの相関係数が，ASA に比べ総じて高かった．

2．果実発育に伴う抗酸化成分含量および各種抗酸化活性値の変動

アロニア果実ならびに第 1 章で扱ったバラ属果実において，抗酸化成分含量および各種抗酸化活性を複数年次にわたり調査し，その果実発育に伴う変動を比較した．

（1）アロニア

アロニア果実のロシア型（早生）とアメリカ型（晩生）では，着色開始に約 1 か月，着色完了に約 2 週間の差があることが明らかとなった．果実横径は，全ての年次の成熟果においてロシア型がアメリカ型より大きかった．1 果重には年次間差が認められた．果実肥大および 1 果重の増大は，着色開始期の 1～2 週間ほど前から開始し，着色期間中継続するが，着色完了期から横ばいとなった．また，含水率は，果実肥大開始と同時に増加し，着色完了期よりも前に 80%前後（上限）の値に達した．

2018 および 2020 年のロシア型およびアメリカ型果実で, 総ポリフェノール含量は，果実肥大開始期（着色開始期の 1〜2 週間前）が最も高く，肥大中に漸減し，着色完了期以降は低い値のまま推移した．2019 年のそれは，果実肥大開始期から常に低い値を推移し，年次間差がみられた．

DPPH˙捕捉活性値は，果実肥大開始以前の 7 月上・中旬の値に，年次間差がみられた．また，果実肥大開始期から着色完了期にかけて値は漸減し，着色完了期以降はほぼ横ばいで推移した．

ROO˙捕捉活性値は，早生・晩生および年次を問わず，7 月上・中旬に高い値を示した．果実着色期頃に値は低下し，その後横ばい，またはやや増加する傾向を示した．

$\cdot O_2^-$捕捉活性値は，アメリカ型で果実肥大開始期から着色開始期にかけて値が低下し，その後着色完了期まで低く推移する傾向を示した．

アメリカ型の HO˙，RO˙および $^1O_2$ 捕捉活性値，ならびにロシア型の $\cdot O_2^-$，HO˙，RO˙および $^1O_2$ 捕捉活性値に，果実発育に伴う変動はみられなかった．

（2）バラ属果実

ASA＋DHA 含量は，ノイバラを除き，果実全体が着色した時期またはそれ以降に最も高くなり，その後やや減少に転じた．この場合，果実の ASA＋DHA 含量が最も高くなる時期は，種および品種ごとに異なっていた．

総ポリフェノール含量は，果実全体が着色した時期に最も低い値を示し，その後増加して 9 月下旬から 10 月中旬に最も高い値を示した．

DPPH˙捕捉活性値は，カラフトイバラ，ノイバラおよび‘コンサレッド’で，果実発育期間全体を通して高い値を示した．また，オオタカネバラで，8 月 1 日に高い値，10 月 13 日に低い値を示した．

ROO˙捕捉活性値は，カラフトイバラおよび‘コンサレッド’で，果実発育期間全体を通して高い値を示した．

（3）抗酸化成分含量と抗酸化活性値の関係からみたアロニアとバラ属果実の抗酸化性における特徴

総ポリフェノール含量と各種抗酸化活性値（DPPH˙および ROO˙捕捉活性値）

には，アロニアおよびローズヒップの両方で，正の相関関係が認められた．

この場合，ポリフェノールの一定重量あたりの抗酸化活性値は，ローズヒップがアロニアよりも高かった．

3．地理的環境の違いが，果実抗酸化成分含量および抗酸化活性に及ぼす影響の評価

北海道内の網走市，余市町，北広島市，伊達市市街地および伊達市大滝区（上野町，愛地町および宮城町）で栽培されているロシア型アロニア樹（クローン植物）から果実を採取し，その抗酸化性を調査することで，地理的環境要因が果実抗酸化性に及ぼす影響を評価し，その年次間差も明らかにしようとした．

（1）果実の抗酸化成分含量における地域および年次間差

総ポリフェノール含量は，一部に例外はあるものの（2019 年の伊達市市街地など），第 2 章で扱った北大農場のアロニア果実と同様に，着色開始前の値が高くその後減少する傾向を示した．また，年次間差もみられた．

アントシアニンは，採取地にかかわらず Cy3-ara および Cy3-gal が検出され，Cy3-gal が占める割合が高かった．アントシアニン総含量には，採取地および年次に伴う差異がみられ，量的変化が激しかったのは Cy3-gal だった．

DPPH˙および ROO˙捕捉活性値は，例外はみられるものの，第 2 章で扱った北大農場のアロニア果実と同様の傾向を示した．

（2）抗酸化成分含量ならびに抗酸化活性の標高が異なる地域間での比較

総ポリフェノール含量，DPPH˙および ROO˙捕捉活性値の推移には，低地と高地の間で，2019 年の総ポリフェノール含量のみに差が認められ，それ以外に差は認められなかった．

謝辞

本研究の遂行および本論文の執筆にあたり，終始多大なるご指導およびご鞭撻いただいた北海道大学大学院農学院教授の鈴木　卓 博士に心より感謝の意を表します．また，本研究を取りまとめるにあたって，ご指導いただいた同教授の藤野　介延　博士，同講師の実山　豊　博士ならびに志村　華子　博士に対し，感謝の意を表します．

本研究の材料に関して，北海道林業試験場の脇田　陽一　博士ならびにホクサン株式会社の井上　壽哉　氏にご協力いただきました．また，北海道教育大学函館校教授の鵜飼　光子　博士ならびに中村　秀夫　博士には，実験に関する様々なご指導，ご助言をいただきました。謹んで御礼申し上げます．

最後に，実験遂行に際して，お世話になった北海道大学大学院農学院園芸学研究室の大学院生，ならびに家族に心より感謝いたします．

引用文献

Czyzowska, A., Klewicka, E., Pogorzelski, E., Nowak, A., 2015, Polyphenols, vitamin C and antioxidant activity in wines from *Rosa canina* L. and *Rosa rugosa* Thunb., *Journal of Food Composition and Analysis,* 39: 62–68.

Cunja, V., Mikulic-Petkovsek, M., Weber, N., Jakopic, J., Zupan, A., Veberic, R., Stampar, F., Schmitzer, V., 2016, Fresh from the ornamental garden: hips of selected rose cultivars rich in phytonutrients. *J. Food Sci*., 81: C369–C379.

Denev, P., Číž, M., Č., Kratchanova, M., Blazheva, D., 2019, Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities, *Food Chemistry*, 284: 108–117.

Ercisli, S., Es¸itken, A., 2004, Fruit characteristics of native rose hip (*Rosa* spp.) selections from the Erzurum province of Turkey, *New Zealand J. Crop Hort. Sci.*, 32: 51–53.

Ercişli, S., 2007, Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chem.*, 104: 1379–1384.

Folin, O., Denis, W., 1915, A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. *J. Biological Chem*., 22: 305–308.

Fu, H., Qiao, Y., Wang, P., Mu, X., Zhang, J., Fu, B., Du, J., 2021, Changes of bioactive components and antioxidant potential during fruit development of *Prunus humilis* Bunge, *PLoS ONE,* 16: e0251300.

Goto, T., Teraminami, A., Lee, J., Ohyama, K., Funakoshi, K., Kim, Y., Hirai, S., Uemura, T., Yu, R., Takahashi, N., Kawada, T., 2012, Tiliroside, a glycosidic flavonoid ameliorated obesity-induced metabolic disorders via activation of adiponectin signaling followed by enhancement of fatty acid oxidation in liver and skeletal muscle in obese-diabetic mice. *J. Nutritional Biochemistry*, 23:

768-776.

Gutzeit, D., Baleanu, G., Winterhalter, P., Jerz, G., 2008, Vitamin C content in sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *rhamnoides*) and related products: a kinetic study on storage stability and the determination of processing effects. *J. Food Sci.*, 73: C615–C620.

濱渦康範・上田裕子・伴野 潔，1999，リンゴ‘つがる‘果実の抗酸化能と含有ポリフェノール成分の関係，*園芸学会雑誌*，68: 675-682.

He, J.Y., Zhang, Y.H., Ma, N., Zhang, X.L., Liu, M.H., Fu, W.M., 2016, Comparative analysis of multiple ingredients in *Rosa roxburghii* and *R. sterilis* fruits and their antioxidant activities. *J. Functional Foods*, 27: 29–41.

堀川謙太郎, 2019, 園芸作物果実の成分分析における MALDI-TOF-MS の利用に関する研究, *北海道大学博士学位論文*. https://doi.org/10.14943/doctoral.k13594

Huo, Y., Gao, Y., Mi, J., Wang, X., Jiang, H., Zhang, H., 2017, Isolation and simultaneous quantification of nine triterpenoids from *Rosa davurica* Pall., *J. Chromatographic Science*, 55: 130–136.

Hwang, D.H., Koh, P.O., Kang, C., Kim, E., 2021, *Rosa davurica* Pall. improves DNCB-induced atopic dermatitis in mice and regulated TNF-Alpa/IFN-gamma-induced skin inflammatory responses in HaCaT cells, *Phytomedicine*, 91: 153708.

石川祐子，2009，食品素材・成分の抗酸化性，平成 20 年度農水産物機能性活用推進事業報告書，財団法人食品産業センター 編（東京），pp.19-58.

Jung, M.Y., Min, D.B., 2009, ESR study of the singlet oxygen quenching and protective activity of torolox on the photodecomposition of riboflavin and lumiflavin in aqueous buffer solutions. *J. Food Sci.*, 74: 449–455.

Kamibayashi, M., Oowada, S., Kameda, H., Okada, T., Inanami, O., Ohta, S., Ozawa, T.,Makino, K., Kotake, Y., 2006, Synthesis and characterization of a practically better DEPMPO‐type spin trap, 5‐(2,2‐dimethyl‐1,3‐propoxy cyclophosphoryl) ‐5‐methyl‐1‐pyrroline N‐oxide (CYPMPO). *Free Radical Res.*, 40: 1166‐1172.

Kameya, H., Ukai, M., 2012, Hydroxyl radical scavenging ability of instant coffee evaluated by ESR Spin trapping. *J. Cookery Sci. Japan*, 45: 33–36.

Kameya, H., Watanabe, J., Takano–Ishikawa, Y., Todoriki, S., 2014, Comparison of scavenging capacities of vegetables by ORAC and EPR. *Food Chem.*, 145: 866–873.

Kulling, S.E., Rawel, H.M., 2008, Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*, 74: 1625–1634.

Nagatomo, A., Nishida, N., Fukuhara, I., 2015, Daily intake of rosehip extract decreases abdominal visceral fat in preobese subjects: a randomized, double–blind, placebo–controlled clinical trial. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 8: 147–156.

日本食品成分表2015年版（七訂），2015，文部科学省，https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1365297.htm

二木鋭雄，1999，活性酸素・フリーラジカルに対する防御システム 作用メカニズムとダイナミクス，*化学と生物*，37: 554-561.

野村和子，2010，バラの原種の分類と分布，恵泉女学園大学園芸文化研究所報告：*園芸文化*，7: 24-30.

大澤俊彦，2009，がん予防と食品ーデザイナーフーズからファンクショナルフーズへー，*日本食生活学会誌*，20: 11-16.

Oszmian'ski, J., Chomin, W., 1993, Proby otrzymywania w skali przemysłowej

wysokowitaminowego soku me¸tnego z owoco´ w *Rosa rugosa*. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, 1: 16–17.

Oszmian'ski, J., Sapis, J.C., 1988, Anthocyanins in fruits of *Aronia melanocarpa* (Chokeberry), *J. Food Science*, 53: 1241-1242.

Pawlaczyk, I., Czerchawski, L., Pilecki, W., Lamer-Zarawska, E., Gancarz, R., 2009, Polyphenolic–polysaccharide compounds from selected medicinal plants of Asteraceae and Rosaceae families: chemical characterization and blood anticoagulant activity, *Carbohydrate Polymers*, 77: 568–575.

Prolla, T.A., Mehlhorn, R.J., 1990, A photochemical system for generating free radicals:superoxide, phenoxyl ferry and methyl. *Free Radical Res. Commun*, 9: 135‑146.

Roe, J.H., Mills, M.B., Oesterling, M.J., Damron, C.M., 1948, The determination of kiketo–1–gulonic acid, dehydro–1–ascorbic acid, and 1–ascorbic acid in the same tissue extract by the 2,4–dinitrophenylhydrazine method. *J. Biological Chem.*, 174: 201–208.

Roman, I., Stănilă, A., Stănilă, S., 2013, Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chem. Central J.*, 7: 73.

Rugină, D., Sconţa, Z., Leopold, L., Pintea, A., Bunea, A., Carmen, S., Socaciu, A., 2012, Antioxidant activities of chokeberry extracts and the cytotoxic action of their anthocyanin fraction on HeLa human cervical tumor cells, *J. Med. Food*, 15: 700–706.

Sharma, O.P., Bhat, T.K., 2009, DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.*, 113: 1202–1205.

Shen, C.Y., Hao, Y.F., Hao, Z.X., Liu, Q., Zhang, L., Jiang, C.P., Jiang, J.G., 2021, Flavonoids from *Rosa davurica* Pall. fruits prevent high-fat diet-induced obesity and liver injury via modulation of the gut microbiota in mice, *Food and Function*, 20: 10097-10106. https://doi.org/10.1039/D1FO01373D

Strzelecka, H., Kowalski, J., 2000, Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa. PWN, Warszawa, Poland.

鈴木 卓・栗本和茂・横田 蘭・宮坂佳世・阪井悠介・鈴木正彦，2009，アロニア果実の発育および保存に伴うアントシアニン組成の変化，*北海道園芸研究談話会報*，42: 6-7.

Tabaszewska, M., Najgebauer-Lejko, D., 2020, The content of selected phytochemicals and in vitro antioxidant properties of rose hip (*Rosa canina* L.) tinctures. *NFS J.*, 21: 50-56.

田中常雄・田中 彰，2001，アロニアの化学成分含量と特性値，*日本食品化学工学会誌*，48: 606‐610.

寺尾純二，2015，酸化ストレスを制御する食品機能成分の活性発現機構に関する統合研究，*日本栄養・食糧学会誌*，68: 3-11.

Uggla, M., Gustavsson, K. -E., Olsson, M.E., Nybom, H., 2005, Changes in colour and sugar content in rose hips (*Rosa dumalis* L. and *R. rubiginosa* L.) during ripening. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 80, 204–208.

Ukai, M., Kameya, H., Nakamura, H., Shimoyama, Y., 2009, Radical scavenging activities of plant food of alkyl–oxy and superoxide radicals. *Food Sci. Technol. Res.*, 15: 619–624.

Wang, J., Sporns, P., 1999, Analysis of anthocyanins in red wine and fruit juice using MALDI-MS, *J. Agric. Food Chem.*, 47: 2009-2015.

Wang, S.Y., Jiao, H., 2000, Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen, *J. Agric. Food Chem.*, 48: 5677-5684.

Watanabe, J., Oki, T., Takebayashi, J., Yamasaki, K., Takano–Ishikawa, Y., Hino, A., Yasui, A., 2012, Method validation by interlaboratory studies of improved hydrophilic oxygen radical absorbance

capacity methods for the determination of antioxidant capacities of antioxidant solutions and food extracts, *Anal. Sci.*, 28: 159–165.

Wu, X., Beecher, G.R., Holden, J.M., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Prior, R.L., 2004, Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States, *J. Agric. Food Chem.*, 52: 4026-4037.