

カバノアナタケ (*Fuscoporia obliqua*) の抗酸化活性に関する研究

渡邊 治・阿部 茂・川上 誠・柿本雅史

Anti-oxidation by Water-soluble Lignin-like Substance
from a Northern Terrain Basidiomycetes, *Fuscoporia obliqua*

Osamu WATANABE, Tsutomu ABE, Makoto KAWAKAMI and Masashi KAKIMOTO

The effect of water extracts of *Fuscoporia obliqua*, which is northern terrain Basidiomycetes, on anti-oxidation were studied in vitro. The analysis was done by using a spectrogram photometer to measure the elimination of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical. Consequently, high activity was shown in comparison with well-known functional Basidiomycetes such as *Phellinus linteus* or *Agaricus blazei* Murr. The anti-oxidation of *Fuscoporia obliqua* is not due to superoxide dismutase (SOD) as is widely believed, but a water-insoluble polymer element which became stable in the heat. These results indicate that the water-soluble lignin-like substance may be the main factor in the anti-oxidation activity from the color of the extract and analysis of the ingredients. The substance could be applied to various processed foods as a functional food which contain almost no protein or lipid.

現在、我が国の健康食品市場の中で注目を集めている食材の一つとして担子菌類、いわゆるキノコがある。その代表例はアガリクス (*Agaricus blazei* Murr.) であり、市場規模は 250 億円強、関連企業は 200 社以上といわれている。他にもマンネンタケ (*Ganoderma lucidum*)、メシマコブ (*Phellinus linteus*)、ヤマブシタケ (*Hericinm erinaceum*) などがあり、これらに共通するものは β -グルカンなどの多糖類成分による免疫賦活、抗腫瘍などの薬効型機能性である^{1)~4)}。またある種の担子菌類には抗菌作用や抗ウイルス作用、強心作用、コレステロール低下作用、血糖降下作用、血圧降下作用、抗血栓作用などが認められており⁴⁾、さらに近年問題になっている活性酸素やフリーラジカルによる生体損傷についても、これら担子菌類はその成分中に抗酸化活性物質を含んでいるため、疾病予防に効果があるとされている。これらの中で最近話題となっているキノコの一つにカバノアナタケ (*Fuscoporia obliqua* Aoshima) がある (図 1)。カバノアナタケとはカンバ類の幹に寄生して白色腐朽をおこす病原菌の菌核のことであり、このキノコは子実体と

菌核からなる。菌核は樹皮を破り外に出て硬く黒い光沢のある菌核を作る³⁾⁵⁾。我々は、このカバノアナタケ抽出液による HIV-1 プロテアーゼ阻害活性について報告している⁶⁾。

本研究ではこのカバノアナタケの抗酸化活性を調べることにより、カバノアナタケを健康飲料の原材料や機能性食材として活用するための可能性について検討した。

図 1 カバノアナタケ (*Fuscoporia obliqua*)

事業名：一般試験研究

課題名：担子菌成分を付加した機能性チーズの製造

実験方法

1. 試料

カバノアナタケは、北海道産3種、ロシア産4種、中国産、モンゴル産各1種を用いた。比較対照のアガリクス、メシマコブ、マンネンタケ(霊芝)、ヤマブシタケは市販品を、ツリガネタケ(*Fomes fomentarius*)は北海道自生品を用いた。これらを試験に応じて氷冷(約4°C)、常温(約20°C)、65°C、熱水で30分、1時間、2時間抽出し、抽出液を卓上真空凍結乾燥機(LYPH LOCK, LAB-CONCO社)で粉末化したものを試料として用いた。

2. 成分測定

ロシア産カバノアナタケ粉末の一般成分(水分、灰分、たんぱく質、脂質、炭水化物、無機質)を公定法⁷⁾に従って分析した。またリグニンについてはクラソン・リグニン法⁸⁾で、 β -グルカンについては酵母菌体からの細胞壁 β -グルカンの単離法⁹⁾を参考に測定した。

3. 抗酸化活性の測定法

「食品の機能性評価マニュアル集」の須田らの測定法¹⁰⁾を一部改変し測定した。改変した方法は、試験管に200 μ M DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)を300 μ l分注し、これに蒸留水150 μ lと0.2 M MES緩衝液(pH 6.0)150 μ lを加える。さらに前述の方法で得た試料抽出液 a μ l (今回は全ての試験で試料を0, 15, 30, 60, 120 μ lとした)と50%EtOHを(600-a) μ lを加え、分析試料添加約20分後に吸光度(UV-1200, 島津製作所) A_{520} を測定した。このデータを基にラジカルを50%消費する量(Radical Scavenging Concentration 50%)を RC_{50} (μ g/ml)として算出し、抗酸化活性の指標とした。 RC_{50} は数値が小さいほど抗酸化活性が強いことを意味する。

なお測定は、種類別、抽出温度・時間別、抽出回数別、部位別、分子量別の5項目について行った。

実験結果及び考察

1. 一般成分

表1に分析結果を示した。カバノアナタケの一般成分の特徴として、たんぱく質や脂質の値が低いことから水抽出液自体に「味」というものが乏しく、逆にこれにより茶様飲料として、また機能性抽出液として様々な加工製品に添加することが出来ると考えられる。灰分については、約3割がカリウムであり、腎臓に疾患を持つ人が抽出液を飲用した場合、高カリウム血症障害の可能性が危惧される¹¹⁾。しかしながら、食塩感受性やインスリン抵

表1 カバノアナタケの成分分析値

成分	分析値 (%)
水分	13.2
灰分	10.1
たんぱく質	2.4
脂質	2.4
炭水化物	71.9
カルシウム	0.06
ナトリウム	0.02
カリウム	2.98
リグニン	32.6
β -グルカン	12.0
エネルギー	159.4 kcal/100 g

抗性の患者に対してカリウムの摂取が効果的であるという報告¹²⁾もあり、一概にカリウムの含量が高いことがマイナスであるとは言えない。炭水化物は、乾燥物の約3/4を占めており、特にリグニンは30%を超える含有率を示した。リグニンはフェルラ酸やp-クマル酸の重合物であり、ポリフェノールの一種であると定義でき、これは後述するカバノアナタケの機能性において重要な意味を持つと考えられる。

2. 抗酸化活性

(1) 種類別

熱水で2時間抽出し、抽出液を真空凍結乾燥処理した、カバノアナタケ、メシマコブ、ツリガネタケ、マンネンタケ、ヤマブシタケ、アガリクスの6種類について RC_{50} を求めた(表2)。メシマコブ、カバノアナタケ、ツリガネタケの順に抗酸化活性が強かった。一方、抽出歩留まりはメシマコブで約3%であるのに対してカバノアナタケは約18% (熱水、2時間)であり、煎じて飲むことを考えると、カバノアナタケの方が効率よく有効成分を摂取することが出来ると考えられる。

(2) 抽出温度・時間別

条件が抗酸化活性に与える影響としては、抽出には温度条件が大きく影響し、高温抽出であればあるほど抗酸化活性は高かった。(図2)。これはカバノアナタケの抗酸化活性成分の抽出量が熱水以外の抽出条件では低い

表2 各種キノコの抗酸化活性

試料	RC_{50} (μ g/ml)	歩留まり (%)
カバノアナタケ	15.4	18.2
メシマコブ	10.8	3.0
アガリクス	246.1	21.2
ヤマブシタケ	184.5	14.8
マンネンタケ	80.0	3.4
ツリガネタケ	18.2	3.3

か、もしくは活性成分が難水溶性であることに起因すると考えた。また、たんぱく質の変性温度である 65°C を越えてなお抗酸化活性が強いことから、その活性成分がたんぱく質ではないことが示唆された。さらに抗酸化活性の加熱安定性を調べた。カバノアナタケ粉末 10 g から 100 ml の蒸留水を用い室温で 24 時間攪拌した抽出液を 90°C で 0 ~ 120 分間加熱し RC₅₀ を調べた。この結果、2 時間加熱しても RC₅₀ の増加は認められず、カバノアナタケの抗酸化活性を示す成分は熱に対して高い安定性を有していることがわかった(図 3)。これよりその活性成分は、熱に対して不安定である SOD (スーパーオキシドディスムターゼ) ではないと考えられる。

(3) 抽出回数別

10 g のカバノアナタケ粉末を 300 ml の蒸留水を用い熱水で 2 時間抽出した(1 回目)。その後、抽出残渣を遠心分離で集めて同様に熱水で 2 時間再抽出し、この作業を合計 5 回繰り返す。それぞれの抽出液について RC₅₀ を調べた。図 4 に示されるように、抽出回数の増加に伴い抗酸化活性が増加した。抽出物のうち水溶性成分は抽出回数が少ない初期段階に多く回収されるため、抽出回数が増した後期では回収量が減少していると考えられる。一方、抽出物に占める難水溶性成分の割合は抽出回

数の後期ほど多くなると考えられ、それと共に抗酸化活性も増加していることから、カバノアナタケの抗酸化活性を示す成分は、難水溶性物質を中心とするものであると考えられた。

(4) 部位別

カバノアナタケの全粉末(全体)、菌核表皮(黒色部分)、菌核内部(コルク質部分)の 3 種類を熱水 2 時間の条件で抽出した液について RC₅₀ を測定した(図 5)。菌核表皮部位からの活性成分の回収が最も多い傾向にあったがその差はわずかであり、煎じ茶状の製品化をする際には、部位を分けることにメリットはないと考えられる。

(5) 分子量別

カバノアナタケ抽出液(熱水、2 時間)を遠心フィルター(Ultrafree-MC、ミリポア社)で分子量 8,000 以下、8,000 ~ 1 万、1 万 ~ 5 万、5 万 ~ 10 万、10 万 ~ 30 万、30 万以上の 6 画分に分け、それぞれの RC₅₀ について調べた(図 6)。分子量の大きい画分により多くの活性が保持されており、特に 10 万以上の画分が強い活性を示したことから、抗酸化活性の中心成分は分子量 10 万以上の高分子であると考えられる。またこれとは別にカバノアナタケと水溶性リグニン等のポリフェノールの RC₅₀ を比較した結果(図 7)から、カバノアナタケの抗酸化活性は水溶性リグニンと同等であることがわかった。

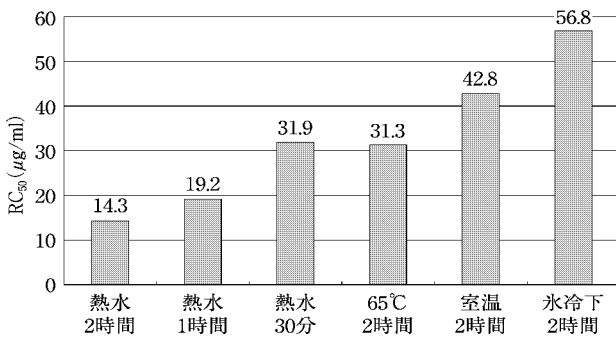


図 2 抗酸化活性に対する抽出条件の影響

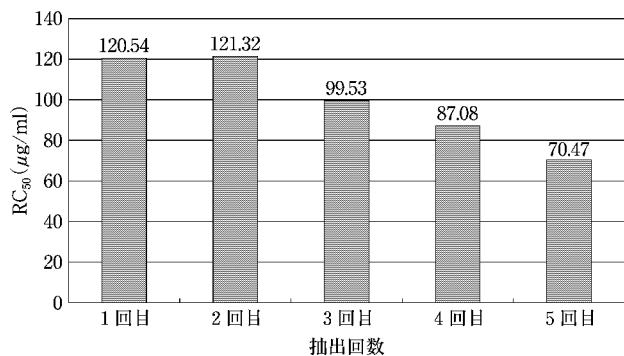


図 4 抗酸化活性に対する抽出回数の影響

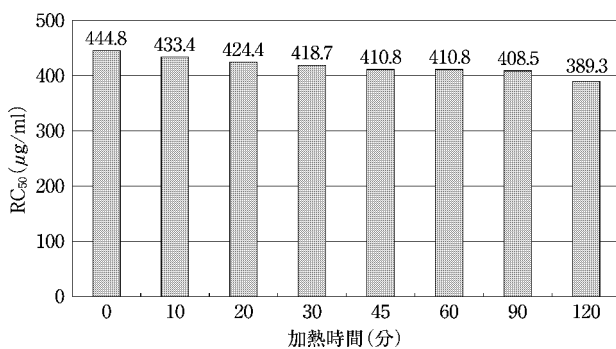


図 3 抗酸化活性成分の熱に対する安定性

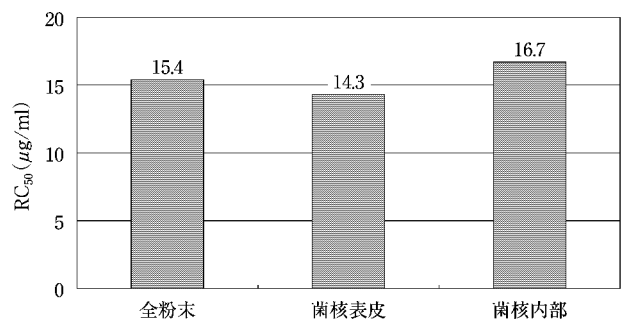


図 5 部位別の抗酸化活性

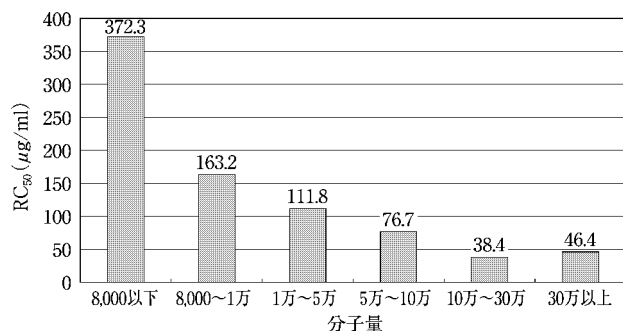


図6 分子量別の抗酸化活性

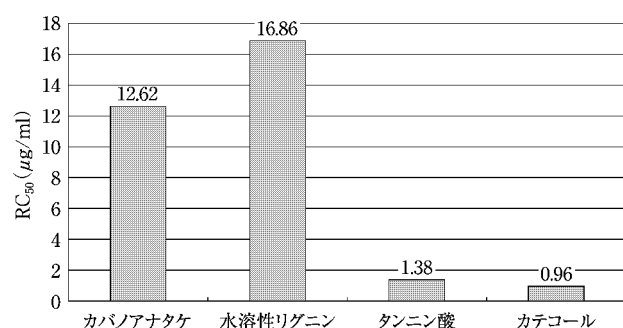


図7 各種ポリフェノールの抗酸化活性

要 約

北方系担子菌類であるカバノアナタケ水抽出物の抗酸化活性について DPPH 法を用いて調べた。その結果、メシマコブやアガリクスなどの主要な機能性担子菌類と比べて高い活性を示した。また、カバノアナタケの抗酸化活性は熱に対して安定であり、その主成分は、一般に言われている SOD などの酵素ではなく、高分子量の難水溶性物質であり、抽出液の色や一般成分分析の結果から水溶性リグニンが抗酸化活性の主成分である可能性が高

い、ことなどが推測された。さらに、水抽出物は、たんぱく質や脂質含量が少なく、ほとんど無味無臭であり、他の食品へ添加した際に与える影響も少ないことから、機能性食品素材として様々な加工食品への添加が可能であると考えられた。

文 献

- 1) 川合正充：きのこの利用（築地書館，東京），p 83（1988）。
- 2) 宮崎利夫：多糖の構造と生理活性（朝倉書店，東京），p 1（1990）。
- 3) 中村克哉：キノコの事典（朝倉書店，東京），p 8（1991）。
- 4) 水野卓他：キノコの化学・生化学（学会出版センター，東京），p 35（1992）。
- 5) 水野 卓： *The Chemical Times*, **1**, 9（1997）。
- 6) Ichimura, T., Watanabe, O., Maruyama, S.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 575（1998）。
- 7) 小原哲二郎他：食品分析ハンドブック（建帛社），p 21, p 36, p 120, p 259, p 281（1991）。
- 8) 飯塚堯介他：リグニン化学研究法（ユニ出版），p 21（1994）。
- 9) 立花太郎他：新実験化学講座 20 生物化学 II（丸善），p 1049（1978）。
- 10) 農林水産省農林水産技術会議事務局：食品の機能性評価マニュアル集（農林水産省農林水産技術会議事務局），p 16（1999）。
- 11) 鈴木継美他：ミネラル・微量成分の栄養学（第一出版），p 281（1998）。
- 12) 藤田敏郎：味噌の科学と技術，**52**, 4（2004）。