

氏名	鮫島 由香
学位の種類	博士（食物栄養学）
学位記の番号	乙第 84 号
学位授与年月日	令和元年 11 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 号該当
学位論文の題目	<i>Schizophyllum commune</i> による 抗酸化活性物質生産に関する研究
論文審査委員	主 査 松井 徳光 副 査 伊勢川 裕二 副 査 戸田 登志也

論文内容の要旨

本論文は、担子菌の一種であるスエヒロタケ(*Schizophyllum commune*)による抗酸化活性物質生産に関して論述したものである。

担子菌は古くから漢方として用いられ薬効が報告されているだけでなく、我々が罹患するおそれのある疾患の予防や治療効果、医薬品との相互的な利用による副作用軽減や機能の相乗・相加効果なども確認されている。また、担子菌は様々な酵素を有し、松井や本間らによってアルコール飲料や発酵豆乳、味噌、味醂などの発酵食品が調製され、それらの新たな機能性に関しては報告しているが、抗酸化活性を示す物質の生産については詳細に検討されていない。

担子菌または担子菌によって調製された発酵食品は、脳梗塞などの血管疾患の予防に有効と考えられている線溶活性や抗トロンビン活性、抗酸化活性を示すものが多く、特にスエヒロタケを用いて調製した発酵食品が各種活性において優れていることが報告されている。スエヒロタケは世界でも一般的な担子菌の一種であり、南極大陸を除く全ての大陸で発見されている。また、スエヒロタケの産生するシゾフィランは主に乳がんにおける放射線治療と併用されている。さらに、スエヒロタケを用いて発酵することによって、抗酸化活性などの機能性の付加が示唆されていることから、これまでに報告されている機能性物質のみならず、スエヒロタケが生成する酵素により、従来とは異なる抗酸化物質の生産も期待される。

そこで、本研究では、スエヒロタケが生成する酵素による抗酸化物質の生産を詳細に検討するために、①鰹出汁を用いたエルゴチオネインの生産、②茶葉の発酵および茶葉中の

カテキン類の含有量や組成の変化，③発酵黒大豆中のイソフラボンの変化について明らかにした。

本論文は，スエヒロタケによる抗酸化物質生産に関して考察を述べており，3章から構成されている。

まず，緒論として本研究の背景および目的を述べた。

第1章では，鰹出汁を培地としてスエヒロタケの菌糸体を用いたエルゴチオネイン高生産の培養条件を検討した。

第1節では，鰹出汁培地およびマルト培地にアミノ酸を添加した場合におけるエルゴチオネイン生産への影響について論述した。

第2節では，鰹出汁培地にアミノ酸を添加した場合におけるエルゴチオネイン生産への影響について述べた。

第3節では，鰹出汁培地およびマルト培地にアミノ酸および酵母エキスを添加した場合におけるエルゴチオネイン生産への影響について考察した。

第1章においての結果および結論の概要は以下の通りである。スエヒロタケは鰹出汁培地でエルゴチオネインを生産した。鰹出汁培地にアミノ酸を加えた場合は，乾燥菌糸体 1g 当りのエルゴチオネイン量は増加しなかったが，培養器 100mL 当たりの総エルゴチオネイン量は，鰹出汁にアミノ酸を添加していない場合と比較して約 2 倍となった。さらに，鰹出汁培地にアミノ酸および酵母エキスを添加した場合は，乾燥菌糸体 1g 当たりおよび培養器 100mL 当たりの総エルゴチオネイン量は著しく増加した。また，鰹出汁培地および鰹出汁培地にアミノ酸を添加した場合は，太く長い菌糸からなる大きな菌糸体を形成し，エルゴチオネインはほとんど生産しなかった。一方，鰹出汁培地にアミノ酸および酵母エキスを添加した場合は，細く短い菌糸からなる小さな菌糸体を形成し，エルゴチオネインを多く生産した。

鰹出汁培地を用いた場合のエルゴチオネイン高生産のための培地条件は，鰹出汁培地にグルコース 3%，ヒスチジン・システイン・メチオニンを各 10mM，酵母エキス 3%を添加したものであった。さらに，本章で鰹出汁中の成分がエルゴチオネインの生合成に大きく関与していることを推察した。

第2章では，スエヒロタケ後発酵茶中のカテキン類の変化について論じた。

第1節では，スエヒロタケ後発酵茶の調製とスエヒロタケ後発酵茶の抗酸化活性について言及した。

第2節では，スエヒロタケ後発酵茶中の総ポリフェノール量および総カテキン量の定量を行った。

第3節では，スエヒロタケ後発酵茶中のカテキン類の組成について明らかにした。

第2章においての結果および結論の概要は以下の通りである。市販の番茶をスエヒロタケによって発酵させたところ，スエヒロタケ後発酵茶の抗酸化活性，総ポリフェノール量，カテキン量の値がいずれも未発酵の茶葉抽出液に比べて高値を示した。スエヒロタケ後発

酵茶においては、カテキン類の中でも-EGCのみ大幅な増加がみられた。スエヒロタケの有するフェルラ酸エステラーゼにより、-ECgと-EGCgが加水分解され没食子酸が遊離し-EGCが生成され、スエヒロタケによりほとんど変換されないことから蓄積することが推察された。総ポリフェノール量が発酵期間の初期で著しく増加していたことから没食子酸が抗酸化活性の増加に関与していたこと、後半では-EGC等が抗酸化活性の増加に関与していた可能性を示唆した。

第3章ではスエヒロタケを用いた発酵黒大豆中のイソフラボンの挙動について論述した。

第1節では、スエヒロタケ発酵黒大豆の調製および抗酸化活性について言及した。

第2節では、スエヒロタケ発酵黒大豆のイソフラボン類の変化について論述した。

第3節では、スエヒロタケ発酵黒大豆懸濁液のイソフラボン類の変化について考察した。

第4節では、スエヒロタケ粗酵素液によるダイゼインの変化について述べた。

第3章においての結果および結論の概要は以下の通りである。まず、スエヒロタケ発酵黒大豆中の抗酸化活性およびイソフラボンの総量が増加していることを明らかにした。さらに、黒大豆中のイソフラボン前駆体がスエヒロタケの発酵によって、イソフラボンへと変化し、イソフラボン総量の増加につながることを推察した。発酵黒大豆中には、アグリコン型のイソフラボンが増加しており、抗酸化活性の増加に関与していることを推察した。スエヒロタケによる黒大豆の発酵でダイジンがダイゼインだけでなく、さらにCompound Aへと変化していることを明らかにした。

以上の結果から、オートクレーブ直後の黒大豆に含まれているアントシアニン、ダイジンなどの抗酸化活性を示す物質が4週間放置することによって酸化されたために、抗酸化活性の著しい減少を導くことが推察された。一方、スエヒロタケによる発酵がアグリコン型のイソフラボン、イソフラボンの総量の増加、Compound Aの生成を促進し、高い抗酸化活性を維持する要因になることを解明した。

結論では第1章から第3章を通して論述してきたことを総括し、スエヒロタケによる発酵の可能性について述べた。

本論文において、特に、鰹出汁にヒスチジンおよびシステイン、酵母エキスを添加して培養することによりエルゴチオネインの高生産が認められたこと、鰹出汁に含まれる成分がエルゴチオネインの生合成を促進させることを初めて明らかにした。また、スエヒロタケで茶葉および黒大豆を発酵させることにより、発酵前と比較して、カテキン類およびイソフラボンの総量が増加していたことから、発酵期間中にスエヒロタケの有する様々な酵素により、茶葉および黒大豆に存在する前駆体からカテキン類やイソフラボン類などの機能性成分が生産されることを明らかにした。さらに、発酵期間中に生じたカテキン類やイソフラボン類の抗酸化物質生産および構造変化について科学的に解明した。

論文審査並びに最終試験の要旨

本論文は、担子菌の一種であるスエヒロタケ(*Schizophyllum commune*)による抗酸化活性物質生産に関して論述したものである。

担子菌は古くから漢方として用いられ、薬効のみならず健康食材としても注目されている。これまでに松井や本間らによって担子菌を用い発酵食品が調製され、その機能が報告されている。特に、スエヒロタケを用いて発酵させた鰹節粉末、茶葉、黒大豆が、未発酵のものと比較して機能が優れていることが報告されているが、生成する物質に関しては詳細に検討されていない。

そこで本論文では、スエヒロタケによる抗酸化物質生産に関する研究を実施し、考察を述べている。本論文は3章から構成され、第1章ではスエヒロタケが鰹出汁培地においてエルゴチオネインを生産すること、また鰹出汁を用いた高生産培養条件を確立したこと、第2章ではスエヒロタケ後発酵茶中のカテキン類の変化について明らかにしたこと、第3章ではスエヒロタケ発酵黒大豆中のイソフラボンの変化について明らかにしたことを述べている。

本論文においては、特に、鰹出汁にアミノ酸（ヒスチジンおよびシステイン）、酵母エキスを添加して培養することによりエルゴチオネインの高生産が認められたこと、鰹出汁に含まれるアミノ酸や酵母エキス以外の成分がエルゴチオネイン生産を促進させることを初めて明らかにしている。また、スエヒロタケで茶葉および黒大豆を発酵させることにより、発酵前と比較して、カテキン類およびイソフラボンの総量が増加していたことから、発酵期間中にスエヒロタケの有する様々な酵素により、茶葉および黒大豆に存在する前駆体からカテキン類やイソフラボン類などの機能性成分が生産されることを明らかにした。さらに、発酵期間中に生じたカテキン類やイソフラボン類の構造変化について科学的に解明すると共に、抗酸化活性の増加との関係について推察している。

学位論文審査においては部分的な修正が行われ、公聴会においては質疑応答を含み適切に対応できた。

以上のことから、学位論文審査の結果、若干の修正を加えたことにより、科学的手法で得られた成果に新規性が認められる内容となり、学位論文に値すると評価した。