

## 第4章 *Grifola gargal* のビタミンD含有量に及ぼす光照射の影響

### 1. 目的

一般的にきのこ類はビタミンやミネラル、食物繊維が豊富で、低カロリーであるため、健康・機能性食品素材として注目されている。また、免疫賦活作用やコレステロール低下作用があるとの報告に加え、最近大きな問題となってきた生活習慣病(メタボリックシンドローム)等を予防する食品としても現在盛んに研究されている。このように各種きのこの機能性については多くの検討がなされているが、*G.gargal* に関しては、分類学上の報告があるのみで、子実体の栄養特性等の報告はほとんど見られない。このため、*G.gargal* の栄養価値を明らかにするとともにその機能性についても検討する必要があると思われた。

まず、*G.gargal* の栄養価値を検討するために食品の一般成分分析を行なったところ、他のきのこに関する資料と比較して *G.gargal* のビタミンD含有量がかなり多いと思われる結果を得た。そこで本研究では、*G.gargal* 子実体の栄養成分分析の結果からビタミンD含有量に注目し、*G.gargal* の子実体形成時の光照射および収穫後の紫外線照射がビタミンD含有量に及ぼす影響を、プロビタミンD<sub>2</sub>であるエルゴステロール含有量と関連づけながら、シイタケ、マイタケなどの栽培きのこと比較検討した。

## 2. 材料および方法

### 2.1 供試菌

*Ggargal* の供試菌は、株式会社 岩出菌学研究所保有の菌株のうち、IWADE-GG010, GG006 および GG012 を用いた。この菌株を PGYA 培地で培養し、種菌として実験に供した。

また、シイタケ (*Lentinula edodes*) は松阪飯南森林組合 (三重県松坂市飯南町粥見 5725-3) より購入した完熟菌床 (北研 607 号) を、マイタケ (*G.frondosa*) は (有) 那須バイオファーム (栃木県塩谷郡高根沢町大字花岡 1626-1) より提供の完熟菌床 (SF73 号) をそれぞれ使用した。

### 2.2 培養方法

*Ggargal* の子実体形成は以下の方法により行なった。広葉樹木粉とフスマを容積比 4:1 の割合で混合し、水を加えて含水率を 62~64% に調整後、その 2.5kg をポリプロピレン製栽培袋に充填し、121°C で 120 分間滅菌した。これにあらかじめ培養しておいた種菌を約 3g 接種して、20°C の培養室にて暗黒下で 60 日間培養した後に、15°C、湿度 95%RH の発生室に移動させ子実体を発生させた。

### 2.3 光照射が子実体のビタミンD生成量に及ぼす影響

子実体形成中は、白色蛍光灯 (FL40SW: MITSUBISHI 製) を使用し、連続で光照射した。光強度はラジオメーター (SJI 製; MODEL 4090) を用いて測定し、照射量を白色蛍光灯からの

距離を調整し、さらに遮光ネットを用いて 75,000 ergs/cm<sup>2</sup> sec (照度 約 600 lx), 22,000 ergs/cm<sup>2</sup> sec (照度 約 200 lx), 120 ergs/cm<sup>2</sup> sec (照度 約 10 lx) の 3 段階に調節した。  
*Ggargal* およびシイタケでは発生室に移動後 14 日目, マイタケでは 10 日目に子実体を収穫し, ただちに 45°Cで一昼夜, 70°Cで一時間, 温風乾燥し, 分析用試料とした。

## 2.4 紫外線照射が子実体のビタミンD生成量に及ぼす影響

収穫直後の *Ggargal*, シイタケおよびマイタケの新鮮な子実体に紫外線を高さ20cmの位置から照射させた。波長は 254nm および 365nm の 2 種類とし, 光強度 23,000 ergs/cm<sup>2</sup> sec で, 0.5, 1 および 2 時間それぞれ照射した。照射後, ただちに 45°Cで一昼夜, 70°Cで一時間, 温風乾燥し, 分析用試料とした。

## 2.5 きこの成分分析

### 1) *Ggargal* の一般食品分析

*Ggargal* の一般食品分析は, 財団法人日本食品分析センター(名古屋支所:名古屋市中区大須 4-5-13)に依頼した。

### 2) エルゴステロールの定量

エルゴステロールは定法<sup>128)</sup>に従い, 定量した: 乾燥きのこ試料をシクロヘキサン 1ml で 45 分間抽出した。これに 10% (W/V) KOH のメタノール溶液 4ml を加えて 15 分間超音波処理し,

70°Cで1.5時間加熱後、45分間放置してけん化した。冷却後、蒸留水1mlとシクロヘキサン2mlを加え、十分に攪拌し、遠心分離(2,500rpm, 10分)した。上層のシクロヘキサンを40°C、窒素気流下で濃縮乾固し、エルゴステロール分析用試料とした。エルゴステロール含量はHPLC(島津製作所製, LC-6A)を用いて定量した[カラム; 信和化工製 STR ODS-II (150mm × 4.6mm i.d.), 移動相; メタノール, 流速; 1.0 ml / min, 波長; 272 nm ]。

### 3) ビタミンDの定量

ビタミンDは定法<sup>129)</sup>に従い、定量した: 乾燥きの試料に1%(W/V)塩化ナトリウム溶液3ml, 3%(W/V)ピロガロール-エタノール溶液10ml, 60%(W/V)水酸化カリウム溶液2mlを加え、70°Cの水浴中で60分間加温し、けん化した。冷却後、1%(W/V)塩化ナトリウム溶液19mlおよび酢酸エチル-n-ヘキサン混液(1:9 V/V)15mlを加えて振とうさせた後、遠心分離(1,500rpm, 5分)して酢酸エチル-n-ヘキサン混液層を分取した。減圧留去後の残留物をヘキサン-2-プロパノールの混液(99:1, V/V)に溶解し、ビタミンD分取用試料とした。この試料からHPLC(島津製作所製 SPD-10AV VP)を用いて、ビタミンD画分を分取した[カラム; ケコム社製 LiChrosorb Si 60(250mm × 4.6mm i.d.), 移動相; ヘキサン-2-プロパノール混液(99:1, V/V), 流速; 1.5ml/min, 波長; 265nm]。このビタミンD画分をHPLC(島津製作所製 SPD-20<sup>®</sup>)にて分析し、ビタミンDを定量した[カラム; ワイエムシ社製 YMC-Pack ODS-AL(250mm × 4.6mm i.d.), 移動相; アセトニトリル-水混合液(9:1, V/V), 流速; 1.5ml/min, 波長; 265nm]。

### 3. 結果および考察

#### 3.1 一般食品分析

菌床栽培によって形成させた *Ggargal* GG010 の子実体を温風乾燥させたのち粉碎した試料を用いて成分分析を行なった。その結果を **Table 4-1** に示した。なお比較のために、*Ggargal* と同属のマイタケ (*Gfrondosa*) と日本の代表的なきのこであるシイタケ (*Lentinula edodes*) の主な成分分析結果を五訂食品成分表<sup>130)</sup> から抜粋して示した。その結果、たんぱく質や脂質などの主要成分、およびナトリウムやリンなどミネラル分には大きな差がなく、比較した2種のきのこと同程度であった。ただ、ビタミンB群は *Ggargal* 中に比較的多く含まれており、特にナイアシンは 65.1mg と、含有量の高いことで知られるシイタケ ( 16.9mg ) の約 4 倍含まれており、その値は同属のマイタケとほぼ同等で、他の食物と比較してもかなり多いことがわかった。これらの結果を比較すると、*Ggargal* は同属のマイタケと栄養成分的にもかなり類似しているものの、ビタミンDは *Ggargal* に特徴的であり、その含有量は資料に示されるマイタケおよびシイタケの 20~25 倍にも達していた。ビタミンDは、腸からカルシウムを吸収し骨へ吸着させる骨の形成維持に関与する脂溶性のビタミンである。骨粗鬆症の患者数はアメリカ合衆国で2,500万人以上、我が国でも1,100万人と推測されているが、この骨粗鬆症を予防するためには、適量のカルシウムとビタミンDの摂取、および適度な運動が重要とされており、ビタミンDは今後ますます注目されるビタミンの一つであるといえる。

また、その他の成分では、主に宿主の細胞性免疫系に作用することが報告されているβ-グ

Table 4-1 Comparison of food composition of *G. gargal* with those of *G. frondosa* and *L. edodes*

Analytical components (/100 g dry weight)	<i>G. gargal</i> GG010	<i>G. frondosa</i>	<i>L. edodes</i>
Moisture	7 g	9.3 g	9.7g
Protein	28.2 g	21.9g	19.3g
Fats	4.8 g	3.9g	3.7g
Ash	6.7 g	5.0g	3.9g
Dietary fibre	36.7 g	40.9g	41.0g
Energy	185 k cal	181kcal	182kcal
Sodium	4.6mg	3mg	6mg
Phosphorus	705mg	700mg	310mg
Iron	4.97mg	2.6mg	1.7mg
Calcium	4.6mg	2.0mg	10mg
Potassium	2.69g	2.5g	2.1g
Thiamine (Vitamin B <sub>1</sub> )	1.18mg	1.24mg	0.50mg
Rivoflavin (Vitamin B <sub>2</sub> )	2.33mg	1.92mg	1.40mg
Niacin	65.1mg	64.1mg	16.8mg
Vitamin D	345µg	14.4µg	16.8µg
$\beta$ - glucan*	22.6g	-	-

These data on *G.frondosa* and *L.edodes* were quoted from Standard Tables of Food Composition in Japan<sup>7)</sup>.

\*The enzymatic method

ルカン<sup>131)</sup>は *Ggargal* 子実体 100g (乾燥重量;以下略)中に 22.6g 含まれていることもわかった。

### 3.2 子実体中のビタミンDおよびエルゴステロール含有量との関係

*Ggargal* 子実体中のビタミンD含有量が実際にマイタケやシイタケよりも多いことを確かめるために、市販のマイタケおよびシイタケのビタミンD含有量を測定し、*Ggargal* のビタミンD含有量と比較した。さらに、ビタミンDの前駆体であるエルゴステロール量も併せて測定した。

その結果、Table 4-2 に示したように、100g 中のビタミンD含有量は GG006 で 253 μg, GG010 で 258μg, GG012 で 237μg と、*Ggargal* の 3 菌株はいずれも、マイタケ(47μg)のおよそ 5 倍、シイタケ(9μg)のおよそ 30 倍ものビタミンDを含有していることが確認された。これらのことから、菌株の違いにかかわらず *Ggargal* は、他のきのこと比較してかなり多くのビタミンDを含むことが明らかとなった。

Mattila ら<sup>132)</sup> は、きのこの種類、菌株、あるいは光照射および培地組成などの外的な栽培環境要因により、エルゴステロール含有量に違いがみられると報告しているように、*Ggargal* でも菌株および生育状況(天然・人工)の違いで含有量に差がみられた。GG006 および GG010 のエルゴステロール含有量は、100g 中 271mg および 291mg とほぼ同様の値をとっていたが、GG012 では 939mg と約 3 倍も含有量が多かった。小川ら<sup>133)</sup>によると、各種きのこのエルゴステロール含有量は 100g 中 19~780mg であると報告されていることから GG012 の 939mg という値

Table 4-2 Vitamin D and ergosterol contents in *G. gargal*, *G. frondosa* and *L. edodes*

Mushrooms	Moisture (g / 100 g)	Vitamin D ( $\mu\text{g}$ / 100 g)	Ergosterol (mg / 100g)
<i>G. gargal</i> (cultivated mushroom)			
GG006	5.0 $\pm$ 0.3	253.3 $\pm$ 10.7	270.9 $\pm$ 65.3
GG010	4.5 $\pm$ 0.1	258.0 $\pm$ 20.6	290.6 $\pm$ 53.1
GG012	4.6 $\pm$ 0.0	236.6 $\pm$ 0.9	938.8 $\pm$ 109.0
<i>G. gargal</i> (wild mushroom)	5.2 $\pm$ 0.1	73.5 $\pm$ 1.2	82.4 $\pm$ 116.6
<i>G. frondosa</i> (cultivated mushroom)	4.7 $\pm$ 0.1	47.0 $\pm$ 1.6	272.6 $\pm$ 54.8
<i>L. edodes</i> (cultivated mushroom)	5.2 $\pm$ 0.1	8.7 $\pm$ 0.7	109.6 $\pm$ 26.1



は一般的なきのこと比較しても多い。さらに、菌株は不明であるが、天然の *G.gargal* のエルゴステロール量は 100g 中 82 mg で、栽培した *G.gargal* と比較して 1/3～1/12 程度と低かった。

一方、GG006 および GG010 のエルゴステロール含有量は、マイタケ(273mg)と比較し同程度の含有量であったが、シイタケは約 110mg と低値であった。田中ら<sup>134)</sup>の報告によると、シイタケのエルゴステロール含有量は 100g 中 320～460mg とあり、小川ら<sup>133)</sup>は 325mg と報告している。これらのことから、今回測定したシイタケのエルゴステロール含有量はかなり低値であったが、一般的には *G.gargal*、マイタケおよびシイタケの 3 種において含有量に著しい差はないものと考えられる。

以上のことから、*G.gargal* は他のきのこと比較してビタミンD含有量が著しく高いことが確認されたが、エルゴステロール含有量に関しては GG006 および GG010 で市販されているマイタケおよびシイタケと大差がないことが明らかとなった。逆に、GG012 のエルゴステロール含有量は GG006 や GG010 の約 3 倍にもかかわらず、ビタミンD含有量にはほとんど差が見られない。これらのことから、ビタミンD含有量と前駆体であるエルゴステロールの含有量との間には直接的な関係は無いのではないかと考えられた。

また、Takaku<sup>100)</sup> は、*Agaricus blazei* から抽出されたエルゴステロールには抗腫瘍活性があることを報告しており、ガン細胞の血管新生を阻害するためと考えられている。このことが確かめられれば、エルゴステロールはビタミンDの前駆体としてだけでなく、それ自体の機能性にも優れていることになり、一般的なきのこよりもエルゴステロール含有量が多い *G.gargal* GG012

は今後エルゴステロールの供給源としても大いに期待される。

### 3.3 光照射量の影響

多数の菌床を一斉に培養した場合、発生室の棚の異なる場所から収穫しているため、GG010の子実体のビタミンD含有量は標準偏差の値が大きく、シイタケやマイタケと比較してかなり大きなバラツキが観察された(**Table 4-2**)。また、*Ggargal*のビタミンD含有量は、もとのエルゴステロール含有量に大差ないのにも関わらず、他のきのこと比較してかなり多かった。これらのことから、*Ggargal*のビタミンD含有量は蛍光灯の光によっても影響を受けるのではないかと考えられた。きのこ類に含まれるエルゴステロールは紫外線によりビタミンDに変換されるため、紫外線の照射量によってきのこ中のビタミンD含有量が大きく影響を受けることはよく知られている<sup>135)</sup>が、蛍光灯などによる可視光の影響についての報告は見あたらない。

そこで、子実体発生期間中の光照射量を調整し、GG010を使用し、*Ggargal*のビタミンD含有量に及ぼす影響をマイタケおよびシイタケと比較検討した(**Fig. 4-1**)。その結果、*Ggargal*のビタミンD含有量は、実験の範囲内では光照射量が多いほど増加する傾向が見られ、蛍光灯の光照射量の影響を非常に強く受けることが明らかとなった。マイタケおよびシイタケでも*Ggargal*と同様に光照射量が多いほどビタミンDの含有量が増加する傾向は示したが、その効果は*Ggargal*と比較してごく小さかった。また、*Ggargal*は**Table 4-3**に示したように、ビタミンD含有量が著しく増加しても、エルゴステロール量にはほとんど変動が見られなかった。これ

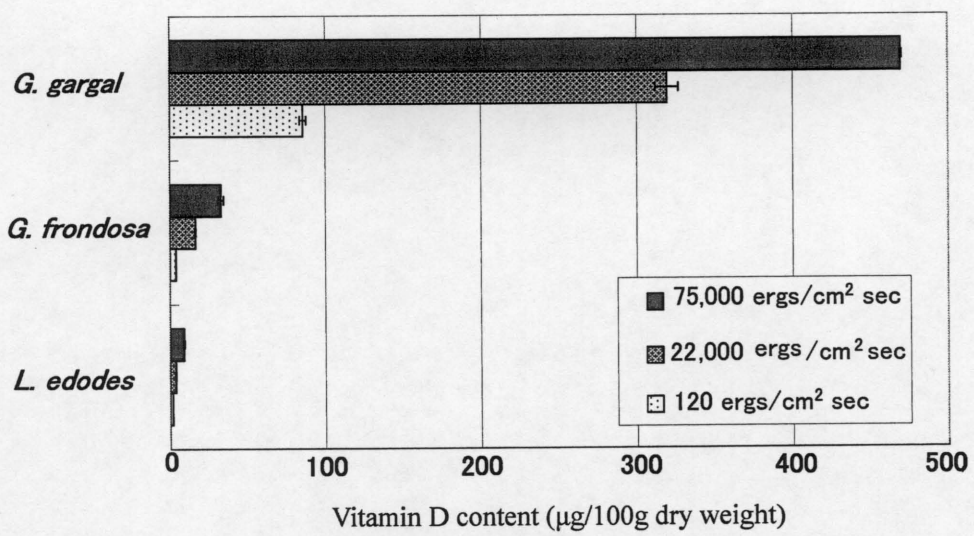


Fig.4-1 Effect of light irradiation on vitamin D contents in cultivated mushrooms

Table 4-3 Effects of light irradiation on the vitamin D and ergosterol contents in *G. gargal* GG010 during a period of fruit-body formation

Light intensity (ergs /cm <sup>2</sup> sec)	Moisture (g / 100 g)	Vitamin D ( $\mu$ g / 100 g )	Ergosterol (mg / 100g)	Incubation period (days)	Yield of fruit-body (g / bag)
75,000	3.9 $\pm$ 0.2	469.7 $\pm$ 0.6	463.1 $\pm$ 97.0	94.0 $\pm$ 0.0	201.8 $\pm$ 21.5
22,000	5.0 $\pm$ 0.0	319.7 $\pm$ 7.4	430.8 $\pm$ 58.7	95.7 $\pm$ 0.8	227.7 $\pm$ 27.9
120	5.4 $\pm$ 0.1	85.7 $\pm$ 2.0	402.9 $\pm$ 11.6	95.3 $\pm$ 1.0	163.1 $\pm$ 47.3

は、両者の単位の比較からも明らかなように、ビタミンDはエルゴステロールの 1/1000 程度しかきのこ中に存在しないため、ビタミンD含有量が比較的大きな変動をしてもエルゴステロール含有量自体にはさほど影響を及ぼさないためと考えられた。

120 ergs/cm<sup>2</sup> sec (照度 約 10 lx) 程度の弱い光の下で *Ggargal* の子実体を発生させた場合にも、ビタミンD含有量は他のきのこに比べてなお高い値を示すが、この光環境下では子実体収量が落ち、形態的にも貧弱なものになり品質が低下した。これらのことから *Ggargal* は、マイタケやシイタケなどの発生室でごくふつうに用いられる蛍光灯による照射量 22,000 ergs/cm<sup>2</sup> sec, 照度 200 lx 程度の光によって、その収量および品質も向上し、さらにはビタミンD含有量が同属のマイタケの 15~20 倍、シイタケの 50~80 倍も多く含まれるようになることが判明した。

以上の結果より、*Ggargal* のエルゴステロールは他のきのこよりも可視光に対してはるかに高い感受性を示し、紫外線よりもエネルギーの低い培養室の蛍光灯の光によっても容易にビタミンDに変換されるものと考えられた。

### 3.4 紫外線照射の影響

きのこ類に含まれるプロビタミンD<sub>2</sub> であるエルゴステロールは紫外線を照射することにより、ビタミンDに変換されることが知られており、各種きのこのビタミンD含有量に及ぼす紫外線照射の影響について様々な検討<sup>136)-138)</sup> がなされている。そこで、収穫後の *Ggargal* GG010, マイタケおよびシイタケに、波長 254nm および 365nm の紫外線を一定時間照射することにより、

子実体中のビタミンDおよびエルゴステロール含有量がどのような影響を受けるのかを検討した(**Table 4-4**).

3種のきのこの子実体中のビタミンD含有量は、波長 365nm の紫外線照射においては全く増加せず、むしろ長時間照射するに従い減少する傾向が見られた。Jasighe ら<sup>137)</sup>は、Button mushroom (*Agaricus bisporus*: ツクリタケ) に波長 365nm の紫外線 A を照射してもビタミンDが増加しない原因の1つとして、エルゴステロールからいったん生成したビタミンDが紫外線 A によって光分解をうけることの可能性を示している。

一方、波長 254nm の紫外線 C を照射することでビタミンD含有量は急激に増加した。Ggargal では波長 254nm の紫外線を 0.5 時間照射することにより、ビタミンD含有量が 100g 中 241 $\mu$ g から 2421 $\mu$ g となり、約 10 倍に増加した。さらに 2 時間照射後には 5276 $\mu$ g と約 20 倍にまで増加した。この値は同属のマイタケとほぼ同様の値であり、シイタケのビタミンD含有量の 2 倍以上であった。さらに Teichmann ら<sup>136)</sup> が報告している *A. bisporus* のビタミンD含有量と比較すると、約 5 倍も多く含まれていた。このようにエネルギーの強い紫外線 C の照射では Ggargal とマイタケのビタミンD含有量がほぼ一致することから、Ggargal には弱いエネルギーの可視光を利用して、エルゴステロールを効率よくビタミンDに変換できる仕組みが備わっているものと考えられる。たとえば、きのこ表面におけるエルゴステロールの分布状態の違い、光増感物質の存在などのほか、きのこ表面の色がマイタケやシイタケの濃い褐色と異なり、淡いクリーム色であることも何らかの影響を与えているかもしれないと思われる。

Table 4-4 Ergosterol and vitamin D contents in *G. gargal*, *G. frondosa* and *L. edodes* with UV-light irradiation at the wavelength 254 and 365nm

	254nm				365nm			
	0h	0.5h	1h	2h	0.5h	1h	2h	2h
<i>G. gargal</i> GG010								
Ergosterol (mg / 100g)	443.7±29.6	357.2±47.3	481.8±56.2	345.4±76.3	311.4±61.9	376.9±26.4	393.7±34.6	393.7±34.6
Vitamin D (µg / 100g)	240.5±6.1	2420.5±115.3	3592.5±197.3	5275.5±293.4	264.1±0.4	237.3±1.0	211.6±5.0	211.6±5.0
<i>G. frondosa</i>								
Ergosterol (mg / 100g)	462.4±59.0	499.2±45.6	419.9±43.2	491.4±33.4	345.9±49.3	393±61.4	390.1±27.2	390.1±27.2
Vitamin D (µg / 100g)	68.1±4.1	2390.5±62.9	3174.0±2.8	5509.5±197.3	52.7±1.7	36.0±0.5	46.1±2.2	46.1±2.2
<i>L. edodes</i>								
Ergosterol (mg / 100g)	308.8±43.7	369.9±37.5	377.8±11.7	374.4±43.0	387.5±5.2	280.4±97.8	325.6±34.7	325.6±34.7
Vitamin D (µg / 100g)	12.0±0.4	1567.5±12.0	1338.5±0.7	2199.5±7.8	32.1±1.0	20.3±1.5	16.3±0.2	16.3±0.2

Jasighe ら<sup>137)-138)</sup> は、きのこの種類によってエルゴステロールからビタミンDへの変換効率は異なると報告しており、温度35°C、子実体含水率80%の条件下において、波長190-290nmの紫外線Cを照射したヒラタケ (*Pleurotus ostretus*) では他のきのこと比較して非常に多くのビタミンDを含んでいた。このことから、*Ggargal* においても紫外線の照射方法、温度および含水率などの照射時の環境を変化させれば、ビタミンD含有量をさらに増加させることも可能と考えられる。



#### 4. まとめ

栽培した *Ggargal* の子実体はビタミンDをマイタケ(47.0 $\mu$ g)の15~20倍, シイタケ(8.7 $\mu$ g)の50~80倍も多量に含むことが明らかとなった. そのビタミンD含有量に関しては *Ggargal* 子実体形成時の蛍光灯の照射量に大きく影響されることが明らかとなり, さらに収穫後の *Ggargal* に波長254nmの紫外線Cを2時間照射することによってさらに含有量が約20倍, 約5,300 $\mu$ gにも増加することが判明した. したがって, 食用きのこ *Ggargal* は杏仁様の香気を有するだけでなく, 生活習慣病である骨粗鬆症を防ぐためにもきわめて重要なビタミンDの供給源となると考えられ, 食味特性だけではなく, 栄養特性から見ても有用な食品であるといえる.