

ナメコ有効成分を増強する栽培技術

(県単課題 平成16～20年度)

武井利之
小沼研二
長谷川孝則
渡部正明

目 次

要 旨	
I はじめに	2
II 実験方法	2
1 試料調製	2
2 DPPHラジカル消去能の測定	3
III 結果及び考察	3
1 子実体の収穫量	3
2 子実体のDPPHラジカル消去能	9
IV 引用文献	11

要 旨

福島県の主要な生産物であるナメコの付加価値向上を目的に、食品機能性の有無、菌株や栽培方法の違いによる影響を検討した。

福島N1号、福島N2号及び市販菌を3種類の培地（広葉樹オガ粉：米ヌカ(10:2)、広葉樹オガ粉：米ヌカ：フスマ(10:1:1)、広葉樹オガ粉：フスマ(10:2)）で空調栽培し、膜切れ直前段階とひらき段階の子実体を2回収穫した。得られた子実体について、代表的食品機能性の評価方法であるDPPHラジカル消去能を測定した。その結果、第1回目の収穫で得られた子実体では、すべての菌株と培地で膜切れ直前段階よりもひらき段階で強いDPPHラジカル消去能を示した。また、福島N1号では広葉樹オガ粉：米ヌカ(10:2)の培地で栽培した子実体が他の培地で栽培した場合よりDPPHラジカル消去能が高い傾向があった。第2回目の収穫で得られた子実体でも同様に、ほぼすべての菌株と培地で膜切れ直前段階よりもひらき段階で強いDPPHラジカル消去能を示した。

ナメコ子実体のDPPHラジカル消去能は菌株及び培地組成によって制御出来ることが示唆された。

受付日 平成21年 8月 3日

受理日 平成21年11月13日

I はじめに

福島県では各種のきのこが生産され、その粗生産額は年間約45億4千万円¹⁾に達する。なかでもナメコは年間生産量約2,150トンで、長野県、新潟県、山形県に次いで全国第4位²⁾の生産量を誇り、粗生産額も8億5千万円¹⁾に達する重要な生産物であることから、さらなる生産振興、消費拡大が求められている。

一方、近年、高齢化社会の進行や食生活の乱れなどに起因する生活習慣病の蔓延などにより、日常の食生活による疾病予防、健康の維持・増進効果に関心が高まっている。これらの食品と健康の関わりは多くの研究機関で科学的解析が実施され、知見が蓄積されつつある³⁾。きのこ類に関しても培養細胞や動物試験など様々な研究が実施され⁴⁻¹¹⁾、その食品機能性や薬理効果に期待が持たれている。

食品機能性は様々な手法で評価されているが、抗酸化性は代表的検討項目である。なかでも、1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル (DPPH) がラジカル消去能を有する物質により非ラジカル体に変化することを利用した評価手法は、多くの食品のラジカル消去能に適用されている^{12, 13)}。木村ら¹³⁾は同一の手法により野菜、果物、きのこ等について評価し、東北地方で生産される農産物のラジカル消去能を定量的に明らかにしている。しかし、農産物の含有成分は品種や栽培方法などにより異なることが予想され、食品機能性を示す成分の含量及び効果の強弱に影響すると推定されるが、この点については解明されていない。

そこで本研究では、福島県産ナメコの特性解明と、食品機能性を制御した高品質栽培品の作出による高次利用と消費拡大を目的として、DPPHラジカル消去能を指標として、品種と栽培方法が食品機能性に及ぼす影響を検討した。

II 実験方法

1 試料調製

(1) 供試菌

福島N1号、福島N2号及び空調栽培用市販菌を使用した。

福島N1号と福島N2号は広葉樹オガ粉：フスマを風乾重量比で10:1の割合で混合後、含水率を約65%に調製し121℃で1時間殺菌後植菌し、20±2℃、相対湿度約65%で培養したものを種菌として用いた。市販菌はオガ種菌を製造会社より購入後ただちに用いた。

(2) 栽培方法

供試菌を栽培する培地は、広葉樹オガ粉、米ヌカ、およびフスマを使用し、混合割合を変えて、米ヌカ培地（広葉樹オガ粉：フスマ：米ヌカ=10:0:2風乾重量比）、1:1培地（広葉樹オガ粉：フスマ：米ヌカ=10:1:1風乾重量比）、フスマ培地（広葉樹オガ粉：フスマ：米ヌカ=10:2:0風乾重量比）の3種類の培地を調製した。それぞれを含水率を65%に調整した後800ml容栽培瓶に詰め、121℃で1時間殺菌した。放冷後種菌を各供試菌当たり14本の栽培瓶に植菌し、20±2℃、相対湿度約65%で、福島N1号は70日間、福島N2号は80日間、市販菌は70日間培養した。この後、注水して1晩放置後16-18℃相対湿度95%以上で子実体を発生させた。7本の栽培瓶から膜切れ直前段階で子実体を収穫し、他の7本の栽培瓶からは子実体の傘が十分に開いた段階で収穫した。これを第一回目の収穫とし、同条件下で再度発生した子実体を同様に膜切れ直前段階とひらき段階で収穫して第2回目の収穫

とした。

収穫した子実体は栽培瓶ごとに総子実体重量、有効子実体（傘の直径5mm以上）重量、有効子実体数を測定した。続いて、子実体を -80°C で凍結後、凍結乾燥器により乾燥し、五酸化リン入り真空デシケーター中に保管した。この後ミルで粉碎してラジカル消去能測定用試料とした。

2 DPPHラジカル消去能の測定^{12, 13)}

(1) 試料液の調製

試料500mgを80%エタノール8.9mlに懸濁後 20°C で一晩放置した後、3100gで20分遠心分離し、上精を試料液とした。

(2) ラジカル消去能の測定

試料液をジメチルスルホキシドで1.78倍ずつ11段階希釈し、それぞれから $10\mu\text{l}$ を96穴マイクロプレートに分取した。これに $400\mu\text{M}$ DPPH/エタノール、 $400\mu\text{M}$ 2-モルフォリノエタンスルホリックアシッド、蒸留水を4:1:3の容量比で混合したDPPH試料液を $190\mu\text{l}$ を加えた。5分間攪拌後30分放置し、マイクロプレートリーダーを用いて530nmの吸光度を測定した。トロロックスを標準品として同様に測定し、吸光度を半減させる濃度をトロロックス相当量として求めた。

III 結果及び考察

1 子実体の収穫量

福島N1号を供試菌として異なる組成の培地で栽培し、第1回目の収穫で得られた子実体の総重量、有効子実体重量、有効子実体数、有効子実体1個当たりの重量及び有効子実体の乾燥重量を図1-A、B、C、D及びEにそれぞれ示した。また、第2回目発生で得られた子実体を同様に図2-A、B、C、D及びEにそれぞれ示した。同様に福島N2号を供試菌として栽培した第1回目収穫と第2回目収穫の子実体について図3と図4に、市販菌を供試菌として栽培した第1回目収穫と第2回目収穫の子実体について図5と図6にそれぞれ示した。

福島N1号の第1回目の発生で得られた子実体の有効子実体重量は約120~150g、有効子実体数は約110~160個、有効子実体1個当たりの重量は約1g、有効子実体の乾燥重量は約8~11gで、含水率は92-93%であった。第2回目の収穫で得られた子実体の有効子実体重量は約40~60g、有効子実体数は約20~30個、有効子実体1個当たりの重量は約1.5~2.5g、有効子実体の乾燥重量は約3~4gで、含水率は92-94%であった。第1回目と第2回目の収穫を比較すると、有効子実体重量は第2回目第1回目の約1/5、有効子実体1個当たりの重量は第2回目第1回目の約2倍、有効子実体の乾燥重量は第2回目第1回目の約1/3であった。

福島N2号の第1回目の収穫で得られた子実体の有効子実体重量は膜切れ直前段階の子実体で約70g、ひらき段階の子実体で約130g、有効子実体数は約15~30個、有効子実体1個当たりの重量は約2~8g、有効子実体の乾燥重量は膜切れ直前段階の子実体で約5g、ひらき段階の子実体で約8gで、含水率は92-94%であった。第2回目の収穫で得られた子実体の有効子実体重量は約40~70g、有効子実体数は約2~20個、有効子実体1個当たりの重量は約2.5~20g、有効子実体の乾燥重量は約3~6gで、含水率は91-93%であった。第1回目と第2回目の収穫を比較すると、有効子実体重量は膜切れ直前の子実体は第1回目と第2回目ではほぼ同一、ひらきの子実体では第2回目第1回目の約1/2、有効子実体1個当たりの重量は第2

回目が第1回目の約3倍、有効子実体の乾燥重量は第2回目が第1回目のほぼ同一～1/2であった。

市販菌の第1回目の収穫で得られた子実体の有効子実体重量は約80～120g、有効子実体数は約50～100個、有効子実体1個当たりの重量は約1～2.5g、有効子実体の乾燥重量は約7～9gで、含水率は91-93%であった。第2回目の収穫で得られた子実体の有効子実体重量は約40～60g、有効子実体数は約20個、有効子実体1個当たりの重量は約2～4g、有効子実体の乾燥重量は約3～4gで、含水率は92-94%であった。第1回目と第2回目の収穫を比較すると、有効子実体重量は第1回目と第2回目ではほぼ同一～1/2、有効子実体1個当たりの重量は第2回目が第1回目の約2倍、有効子実体の乾燥重量は第2回目が第1回目の約1/2であった。

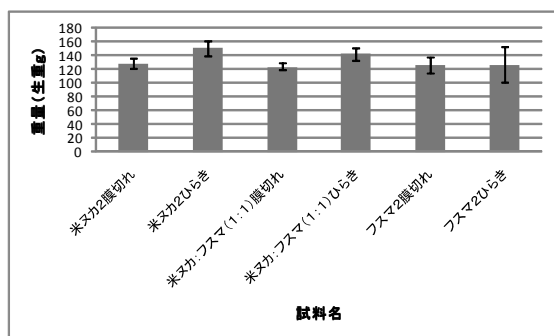


図1-A 福島N1号の第1回目収穫の子実体総重量

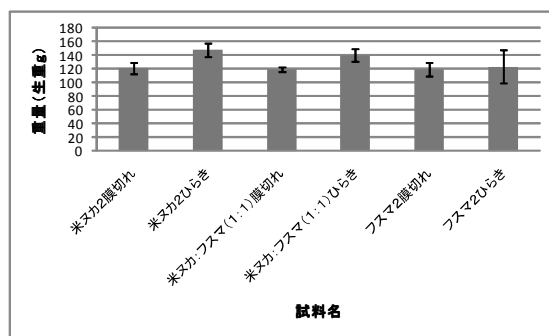


図1-B 福島N1号の第1回目収穫の有効子実体重量

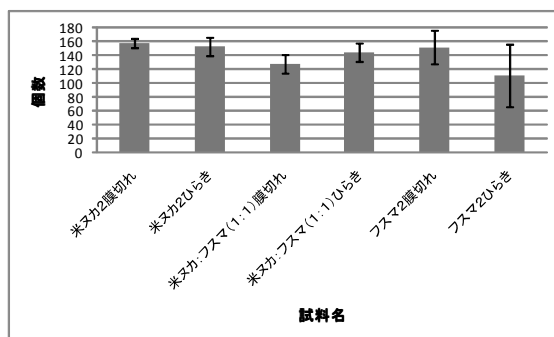


図1-C 福島N1号の第1回目収穫の有効子実体数

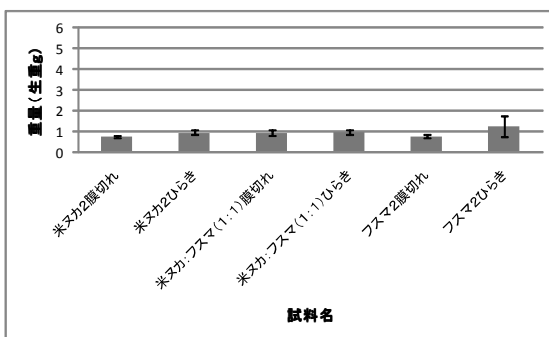


図1-D 福島N1号の第1回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

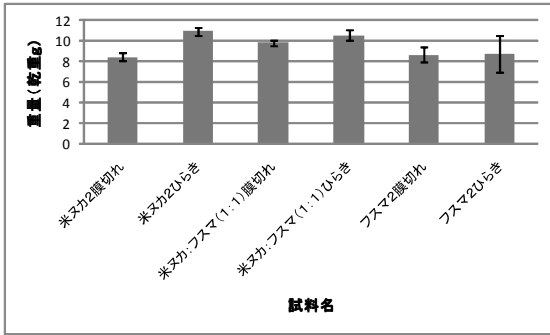


図1-E 福島N1号の第1回目収穫の有効子実体の乾燥重量

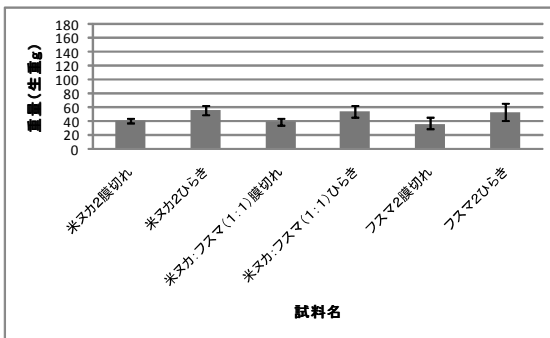


図2-A 福島N1号の第2回目収穫の子実体総重量

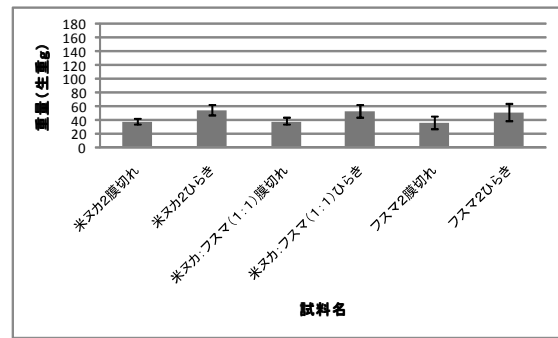


図2-B 福島N1号の第2回目収穫の有効子実体重量

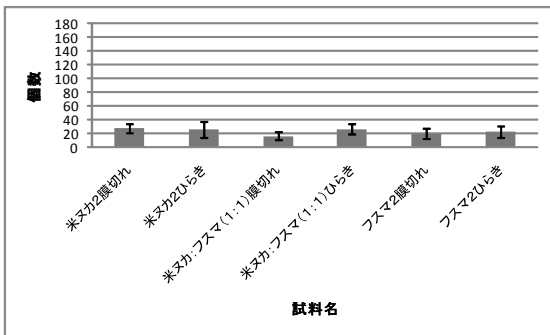


図2-C 福島N1号の第2回目収穫の有効子実体数

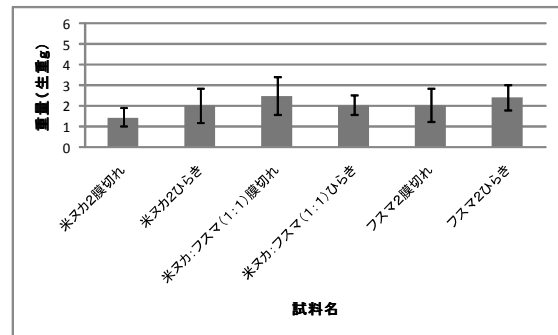


図2-D 福島N1号の第2回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

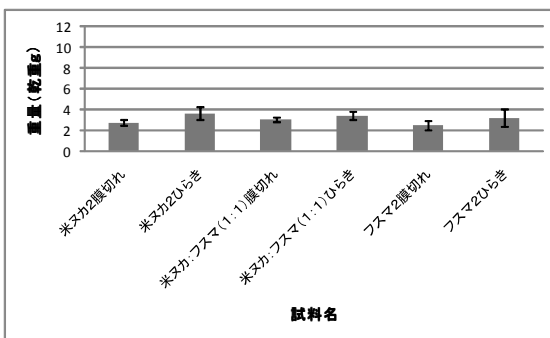


図2-E 福島N1号の第2回目収穫の有効子実体の乾燥重量

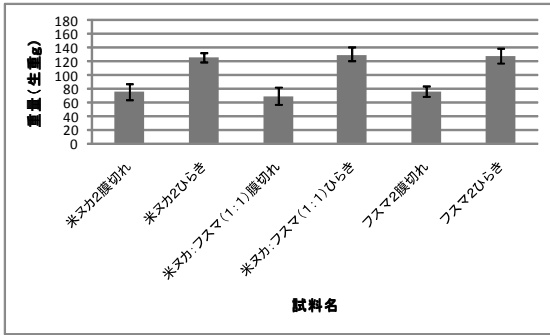


図3-A 福島N2号の第1回目収穫の子実体総重量

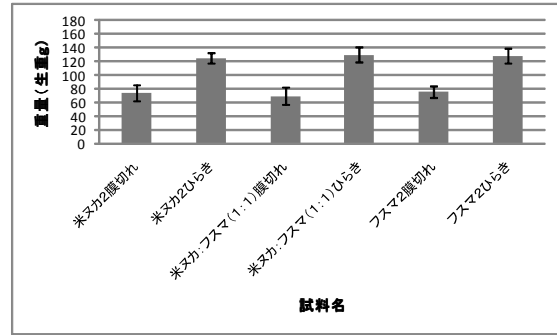


図3-B 福島N2号の第1回目収穫の有効子実体重量

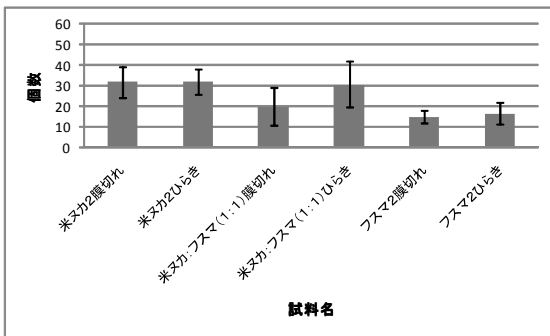


図3-C 福島N2号の第1回目収穫の有効子実体数

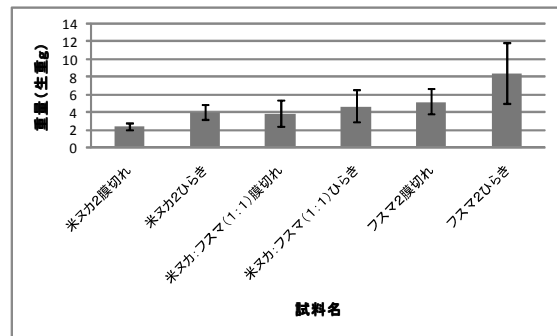


図3-D 福島N2号の第1回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

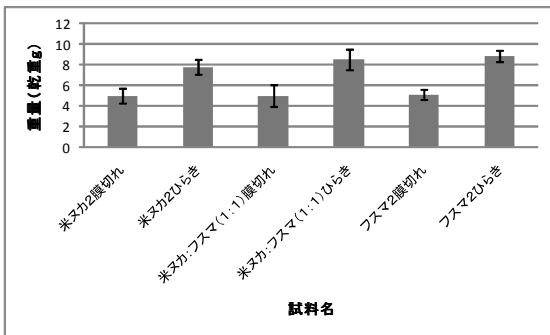


図3-E 福島N2号の第1回目収穫の有効子実体の乾燥重量

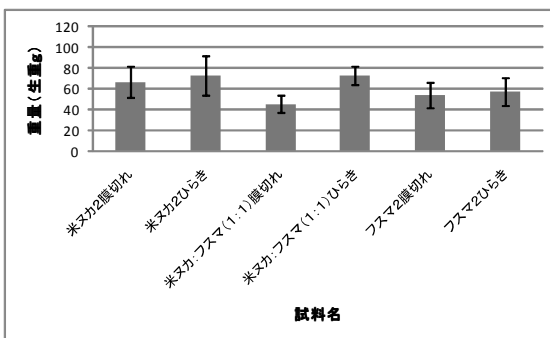


図4-A 福島N2号の第2回目収穫の子実体総重量

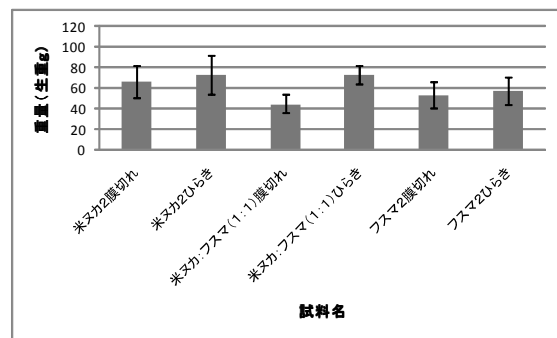


図4-B 福島N2号の第2回目収穫の有効子実体重量

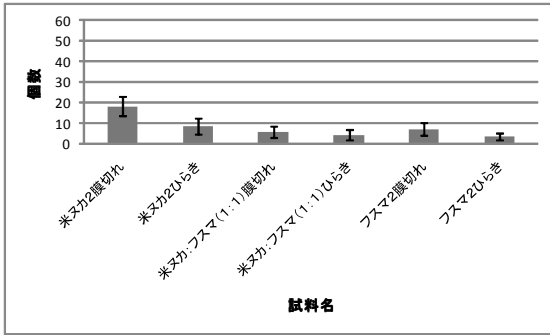


図4-C 福島N2号の第2回目収穫の有効子実体数

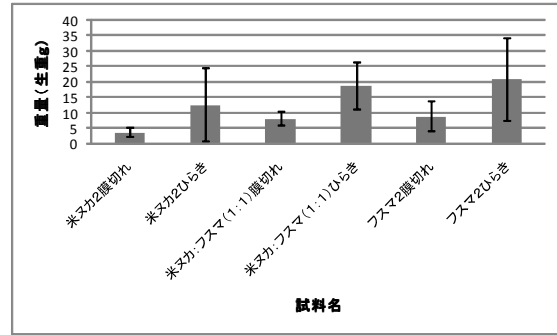


図4-D 福島N2号の第2回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

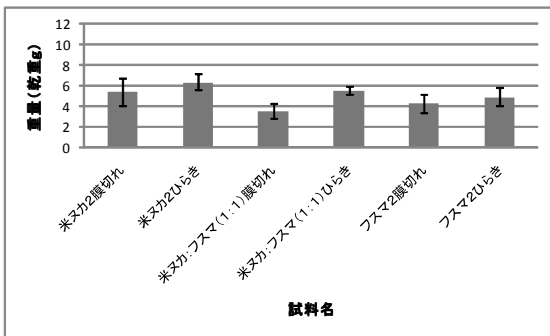


図4-E 福島N2号の第2回目収穫の有効子実体の乾燥重量

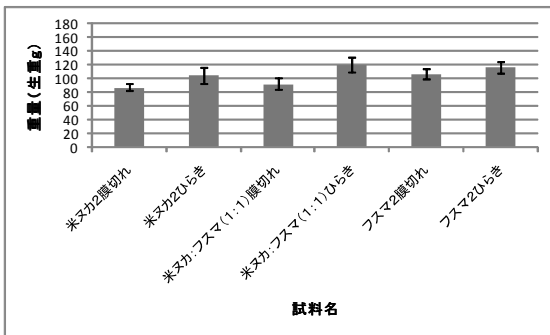


図5-A 市販菌の第1回目収穫の子実体総重量

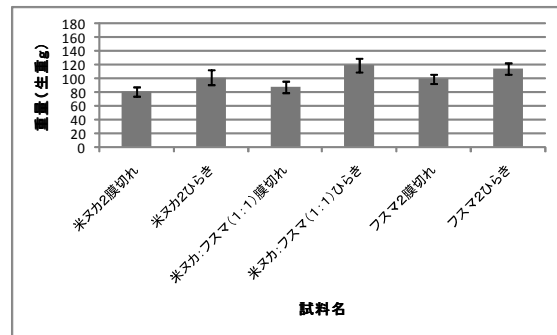


図5-B 市販菌の第1回目収穫の有効子実体重量

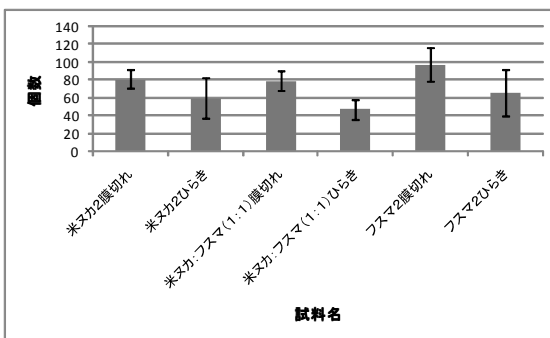


図5-C 市販菌の第1回目収穫の有効子実体数

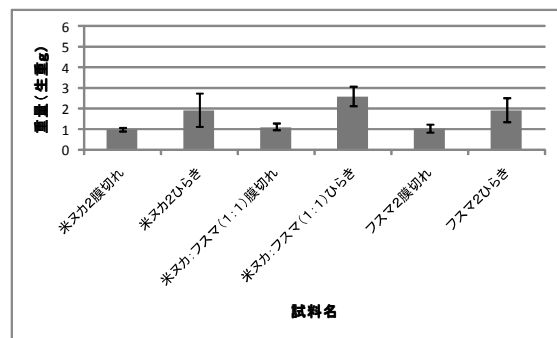


図5-D 市販菌の第1回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

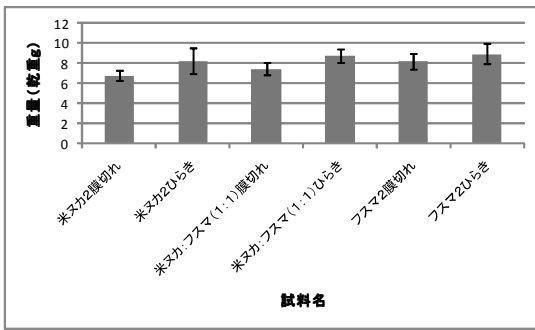


図5-E 市販菌の第1回目収穫の有効子実体の乾燥重量

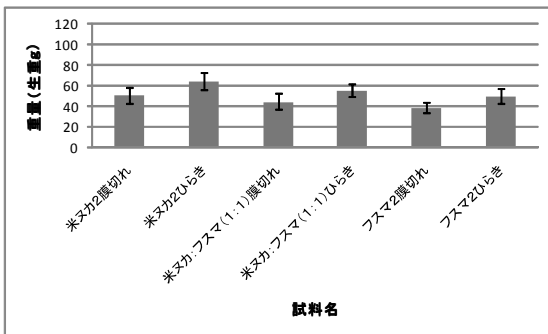


図6-A 市販菌の第2回目収穫の子実体総重量

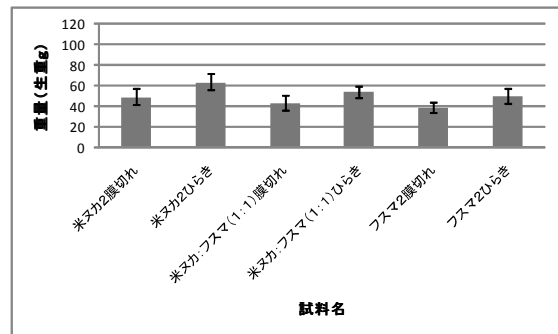


図6-B 市販菌の第2回目収穫の有効子実体重量

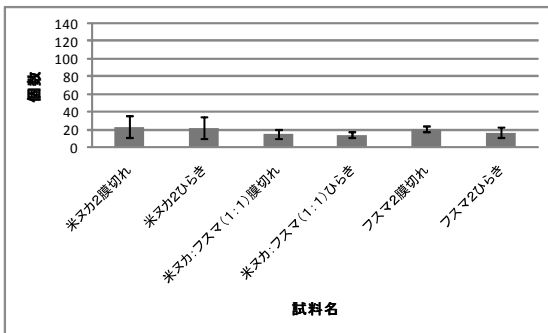


図6-C 市販菌の第2回目収穫の有効子実体数

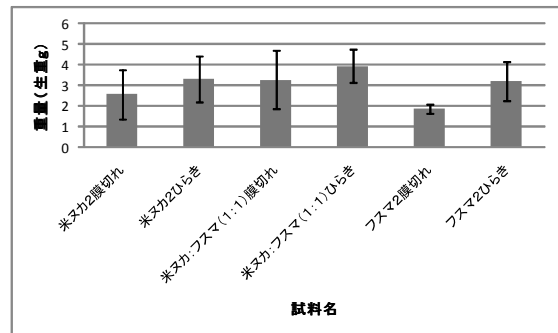


図6-D 市販菌の第2回目収穫の有効子実体1個当たりの重量

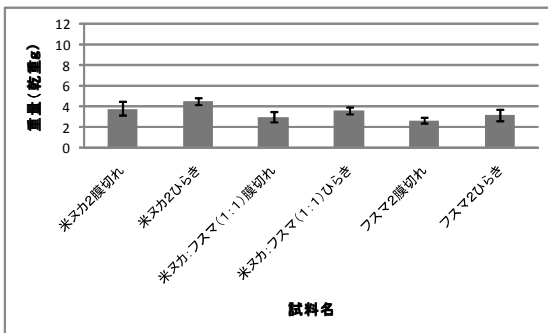


図6-E 市販菌の第2回目収穫の有効子実体の乾燥重量

2 ナメコ子実体のDPPHラジカル消去能

福島N1号を培地組成を変えて栽培し、第1回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図7-Aに示した。福島N1号は米ヌカ培地、1:1培地及びフスマ培地のいずれの培地で栽培しても膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意にDPPHラジカル消去能が強いことが明らかとなった。また、米ヌカ培地から収穫した膜切れ直前段階の子実体は、1:1培地及びフスマ培地の同子実体に比べて有意にDPPHラジカル消去能が強く、培地組成によってDPPHラジカル消去能に差が生じることが示唆された。第2回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図7-Bに示した。第2回目に収穫した子実体は第1回目と同様に膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意に高いDPPHラジカル消去能を示した。また、米ヌカ培地のひらき段階の子実体が1:1培地及びフスマ培地のひらき段階の子実体より有意に高いDPPHラジカル消去能を示した。

福島N2号を培地組成を変えて栽培し、第1回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図8-Aに示した。福島N2号の場合も米ヌカ培地、1:1培地及びフスマ培地いずれの培地で栽培しても膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意にDPPHラジカル消去能が強いことが明らかとなった。しかし、福島N1号のような培地組成による差異は認められなかった。第2回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図8-Bに示した。第1回目同様いずれの培地で栽培しても膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意にDPPHラジカル消去能が強いことが明らかとなった。また、培地組成による有意な差は認められなかった。

市販菌を培地組成を変えて栽培し、第1回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図9-Aに示した。市販菌も福島N1号及びN2号同様に、米ヌカ培地、1:1培地及びフスマ培地いずれの培地で栽培しても膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意に強いDPPHラジカル消去能を示した。しかし、福島N1号のような培地組成によるDPPHラジカル消去能の差異は認められなかった。第2回目に収穫した膜切れ直前段階とひらき段階の子実体のDPPHラジカル消去能を図9-Bに示した。第1回目同様、米ヌカ培地とフスマ培地で膜切れ直前段階よりもひらき段階の子実体で有意に高いDPPHラジカル消去能を示した。しかし、1:1培地ではひらき段階が高い傾向が見られたが、有意な差ではなかった。

福島N1号、福島N2号及び市販菌を供試菌とし、組成の異なる培地で栽培し、第1回目及び第2回目で、異なる成長段階で収穫した子実体のDPPHラジカル消去能を測定した結果、供試菌及び培地組成に関わりなく、膜切れ直前段階よりもひらき段階でDPPHラジカル消去能が高い共通した特徴を有していた。ナメコ子実体のDPPHラジカル消去能は代表的抗酸化性物質であるポリフェノールを豊富に含む果実類¹⁴⁾に比較して低い^{13), 14)}が、子実体の収穫時期によって差異が生じることが明らかとなった。木村ら¹³⁾は、きのこ類のラジカル消去能の測定結果から、同一種であっても個体差が大きく、その原因として成熟度合いや生育条件の影響を推定している。本報告によって、栽培条件や子実体の成長度合いによってラジカル消去能に差があることを明らかにしたことは、この見解を支持すると考える。さらに本実験の結果は、ナメコ生産において種菌や栽培方法によって抗酸化機能を制御できることが可能であり、抗酸化機能のより高い子実体生産に可能性を示したものと考えられる。

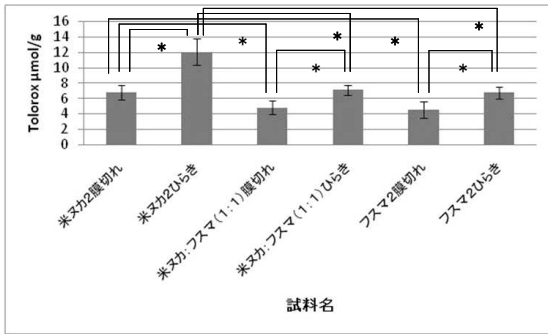


図7-A 福島N1号の第1回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定

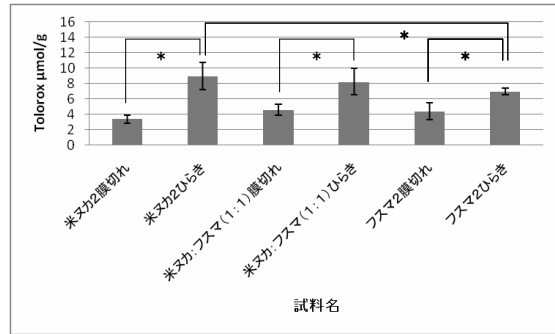


図7-B 福島N1号の第2回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定

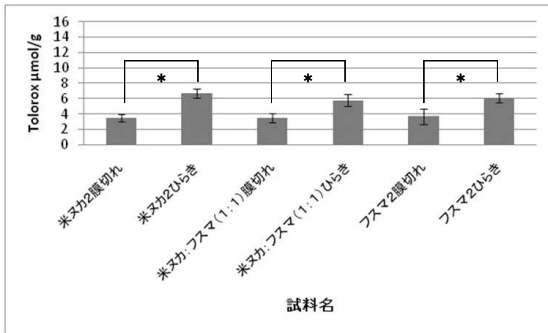


図8-A 福島N2号の第1回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定

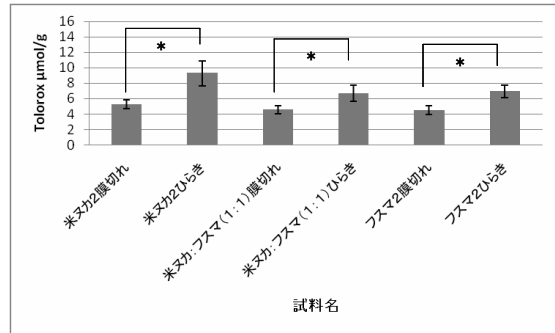


図8-B 福島N2号の第2回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定

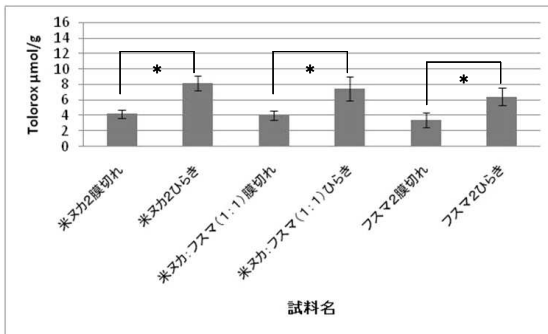


図9-A 市販菌の第1回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定

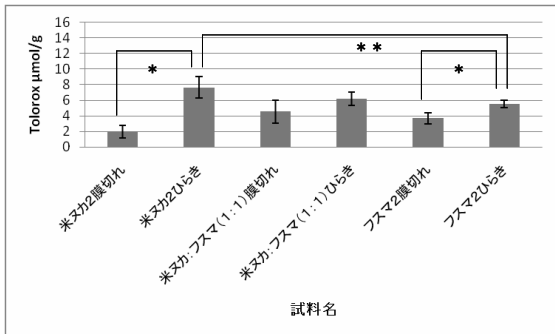


図9-B 市販菌の第2回目収穫子実体のDPPHラジカル消去能
* : $p < 0.01$ Mann-Whitney検定
* * : $p < 0.05$ Mann-Whitney検定

IV引用文献

- 1) 福島県農林水産部林業振興課：「平成20年度特用林産統計書（平成19年度）」, 1.
- 2) 福島県農林水産部林業振興課：「平成20年度特用林産統計書（平成19年度）」, 25.
- 3) 食品機能性編集委員会：食品機能性の科学 株式会社産業技術サービスセンター 2008.
- 4) 北本豊：*FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, 211(2), 97-97 (2006).
- 5) 武井利之：*FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, 211(2), 117-123 (2006).
- 6) 清水邦義、ほか3名：*FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, 211(2), 124-133 (2006).
- 7) 江口文陽：*FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, 211(2), 134-140 (2006).
- 8) 藤原道広、ほか2名：*FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN*, 211(2), 141-147 (2006).
- 9) T. Takei, M. Yoshida, M. Ohnishi-Kameyama and M. Kobori：*Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69, 212-215 (2005).
- 10) K. Hata, *et al*：*Biol. Pharm. Bull.*, 23, 962-967 (2000).
- 11) K. Hata, *et al*：*Biol. Pharm. Bull.*, 25, 1040-1044 (2002).
- 12) 農林水産省農林技術開発会議事務局食品総合研究所：食品の機能性評価マニュアル集 平成11年1月
- 13) 木村俊之、ほか3名：食品科学工学会誌, 49, 257-266, (2002).
- 14) 関澤春仁、ほか7名：地域連携軸形成事業（平成18～20年度）研究成果報告書「福島・山形・新潟三県共同研究開発事業研究報告書」平成21年3月, 2-11