

氏 名	おお 大 櫛 祐 一
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1718 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	農 学 研 究 科 地 域 環 境 科 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Extraction and Structural Analysis of β -Glucans in the Fruiting Body of <i>Hericium erinaceum</i> (ヤマブシタケ子実体に含まれる β -グルカンの抽出と構造解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 東 順 一 教 授 二 井 一 禎 教 授 縄 田 栄 治

論 文 内 容 の 要 旨

キノコ類は古来より日本、中国などにおいて薬用として用いられてきた。そのうちの重要な薬効成分の一つである β -グルカンは、免疫賦活・調節作用を持ち、臨床的にも利用されている。しかし、 β -グルカンの抽出にあたっては、抽出時間が長いことや抽出効率が低いことといった問題があり、 β -グルカンを効率的に抽出する方法の開発が望まれている。本論文は、近年商業的栽培が可能となり多くの薬効成分を含んでいることから注目を集めているヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) から β -グルカンを効率的に抽出するための方法を開発することを目的として、マイクロ波照射を用いた新規な抽出方法を開発し、含まれる β -グルカンのほぼ100%を抽出することに成功したことを示したものである。また、更なる効率的抽出方法の開発の一助とすべく抽出した β -グルカンの化学構造の解析もおこなっている。主な研究成果は以下のよう要約される。

第1章では、まず β -グルカンの作用メカニズムについて触れ、商業的に生産されている β -グルカン製剤について紹介している。次いで、ヤマブシタケに注目して含まれる生物活性成分や β -グルカンを含む多糖類についてそれらの構造を含め概説している。また、新規な抽出方法として適用を検討するマイクロ波加熱法に関して、その原理・実際の適用例について概説し、キノコからの β -グルカンの抽出方法としてマイクロ波加熱法を適用する背景とその有利性について述べている。

第2章では、ヤマブシタケ子実体からの効率的な多糖類の抽出方法としてマイクロ波加熱法が適用可能であるのかを検討するために、マイクロ波加熱温度および加熱時間が多糖類の抽出に与える影響について解析をおこなっている。加熱温度の上昇とともに多糖類は低分子化しながら可溶化していくことがあきらかとなった。また、加熱時間の延伸も加熱温度の上昇と同様の効果を持っていた。マイクロ波加熱法 (140℃, 5分) と通常の湯浴熱水抽出法 (100℃, 6時間) とが同等の抽出度合いになることから、マイクロ波加熱法を用いることにより通常の湯浴熱水抽出法と比較して、キノコから多糖類を抽出するために要する時間を約70分の1に短縮できることを示している。

第3章では、前章に引き続きヤマブシタケ子実体からの効率的な多糖類の抽出方法としてマイクロ波加熱法が適用可能であるのかを検討するために、マイクロ波加熱法によって抽出される多糖類の構造と通常の熱水抽出法によって得られる多糖類の構造との比較、検討をおこなっている。マイクロ波加熱法 (140℃, 5分) により抽出される主な多糖類は、(1→3)結合に富んだ (1→3; 1→6)- β -D-グルカンであった。それに対し、通常の湯浴熱水抽出法 (100℃, 6時間) により得られる多糖類は、フコガラクトンと (1→6)結合に富んだ (1→3; 1→6)- β -D-グルカンであった。このことから、マイクロ波加熱法がヤマブシタケ子実体から (1→3)結合に富んだ β -グルカンを抽出する方法として有効であることを示している。また、フコガラクトンは140℃, 5分でのマイクロ波照射中に低分子化することをあきらかにしている。

第4章では、マイクロ波加熱法のみでは抽出することができなかった β -グルカンを抽出するために、酵素処理とマイクロ波加熱法を組み合わせた抽出方法をアルカリ処理による抽出と比較し、その適用可能性を検討している。いくつかの酵素を検討し、タンパク質分解酵素 Proteinase K とキチン分解酵素 Chitinase とを同時に用いた場合にグルカンの抽出効果が最

も高く、5%水酸化ナトリウムによって抽出されるグルカンの95.5%に相当するグルカンを抽出することが可能であることを示している。また、アルカリ処理によって抽出されるグルカンは(1→3)結合に富んだ(1→3; 1→6)-β-D-グルカンであるのに対し、酵素処理とマイクロ波加熱法を組み合わせた抽出方法によって抽出されるグルカンは(1→6)結合に富んだ(1→3; 1→6)-β-D-グルカンであり、抽出されるグルカンの構造が異なっていることをも示している。

第5章では、マイクロ波加熱法とアルカリ処理によって抽出することができなかったβ-グルカンを抽出するために、酵素処理とマイクロ波加熱法を組み合わせた抽出、アルカリ抽出を順次おこなっている。全体としてヤマブシタケ子実体に含まれているグルカンの92.7%を抽出することに成功したことを示している。また、抽出されたグルカンの構造解析の結果、ヤマブシタケ子実体には4種類の存在状態の異なる(1→3; 1→6)-β-D-グルカンが存在することを明らかにしている。

論文審査の結果の要旨

β-グルカンは、免疫系に対して重要な活性を有することが認められているが、キノコ類からの抽出において収率が低いという問題を抱えており、β-グルカンの効率的抽出方法の開発が望まれている。本論文では、近年商業的に栽培が可能となり今後の市場への普及が見込まれているヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*) に注目し、ヤマブシタケからβ-グルカンを効率的に抽出する方法の開発を目的にマイクロ波加熱法を用いた新規な抽出方法を開発するとともに、更なる効率的抽出方法の開発の一助とすべく抽出したβ-グルカンの化学構造を解析し、ヤマブシタケに4種類の存在状態の異なるβ-グルカンが存在することを示したものであり、評価すべき点は以下のとおりである。

1. ヤマブシタケ子実体からの効率的な多糖類の抽出方法としてマイクロ波加熱法を検討し、マイクロ波加熱法(140℃, 5分)と通常の湯浴熱水抽出法(100℃, 6時間)とが同等の抽出度合いを示すことから、マイクロ波加熱法によりキノコから多糖類を抽出するための時間を通常の約70分の1に短縮できることを明らかにした。
2. マイクロ波加熱法(140℃, 5分)により抽出される多糖類の構造を解析し、主として(1→3)結合に富んだ(1→3; 1→6)-β-D-グルカンが含まれており、通常の湯浴熱水抽出で抽出されるフコガラクトンは低分子化していることを明らかにした。
3. マイクロ波加熱法では抽出することができなかったβ-グルカンの抽出を酵素処理とマイクロ波加熱法を組み合わせた方法を用いて試み、Proteinase KとChitinaseとを同時に用いる酵素処理がアルカリ処理に匹敵する抽出効果を示すことを明らかにした。
4. マイクロ波加熱法とアルカリ処理によって抽出することのできなかったβ-グルカンの抽出を酵素処理とマイクロ波加熱法を組み合わせた抽出、アルカリ抽出により順次おこない、全体としてヤマブシタケ子実体に含まれるグルカンのほぼ100%を抽出することを可能とした。また、ヤマブシタケ子実体には4種類の存在状態の異なる(1→3; 1→6)-β-D-グルカンが存在することも明らかにしている。

以上のとおり、本論文は*Hericium erinaceum*に含まれるβ-グルカンのほぼ100%を抽出することに成功し、抽出した4種のβ-グルカンの構造を明らかにしたものであり、森林生化学、微生物学並びに林産物利用学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成20年2月15日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。