

氏名(本籍)	史	敏	(中 国)
学位の種類	博士(環境学)		
学位記番号	博 甲 第 6323 号		
学位授与年月日	平成 24 年 7 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	<b>Solid-State Fermentation of Soybean Curd Residue by <i>Ganoderma lucidum</i> and <i>Lentinus edodes</i> and its Activity Evaluation</b> (万年茸及び椎茸のオカラ固体発酵とその生理活性評価)		
主査	筑波大学教授	博士(農学)	張 振 亜
副査	筑波大学教授	農学博士	杉 浦 則 夫
副査	筑波大学教授	学術博士	水 鉦 揚 四 郎
副査	筑波大学准教授	博士(生物工学)	楊 英 男

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、農産廃棄物の有効利用は、生産コストならびに環境負荷低減の有効な手法として注目されている。豆腐、豆乳、大豆タンパク質生産の副産物であるオカラ(SCR)は農産廃棄物として日本で毎年約70万トンも排出されている。そのうち、多くのオカラ(SCR)が焼却され環境汚染の原因ともなっている。その一方でオカラは栄養素が豊富で、タンパク質、脂肪、澱粉、糖類が含まれているため、高品質の微生物発酵基質として利用が可能である。一方、伝統的な漢方薬である万年茸(*G. lucidum*)に含まれる多糖類は強力な抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性を有することが分かってきた。また、椎茸(*L. edodes*)は世界市場で2番目に広く使用されている伝統的な食用キノコである。椎茸に含まれるフェノール化合物は強い抗酸化作用を有することが報告されている。この万年茸多糖類と椎茸のフェノール化合物の合成は難しく、農業廃棄物を使用して生産することが有効と考えられるがそのような研究は殆どない。

本研究は、オカラを発酵の原料として、万年茸(*G. lucidum*)及び椎茸(*L. edodes*)を用いた万年茸多糖類と椎茸のフェノール化合物を生産することを試み、かつその最適な生産条件を検討し、生産された万年茸多糖類と椎茸のフェノール化合物の抗酸化作用および免疫調節活性を評価している。(1)オカラを基質として、万年茸多糖類の生産に関する発酵条件を検討し、固体発酵の時間、接種のサイズ、C/N比などの最適化を行っている。得られた万年茸多糖類の最適な発酵条件は、14.53%の接種サイズ、C/N比10.49、21日間の発酵で48.14 mg/g(発酵物)の最大の多糖類収率が得られた。(2)(1)の結果をもとに、オカラを用いて単一要因実験法による固体発酵実験を行い、接種のサイズ、水分、発酵時間の最適化の検討を行った。その結果、12.13%の接種サイズ、76.96%の水分、24日間の発酵で、未発酵のオカラと比べて総ポリフェノール収率は没食子酸グラム当量で3.12 mg/gから22.93 mg/gまで増加し、多糖類、タンパク質、アミノ酸も著しく増加した。(3)万年茸多糖類は発酵したオカラから超音波補助法で抽出している。最適抽出条件は30分、80℃、80 W、液体(水)/固体の比は10で、非常に濃度の高い115.47 mg/g(発酵物)の万年茸多糖類が得られた。さらに、万年茸多糖類の抗酸化活性および免疫調節活性について検討している。その結果、万年茸多糖類は、DPPHラジカル、ヒドロキシルラジカル、ABTSラジカルに対して強い消去活性と還元力を示すが、

鉄キレートについては中程度、SOD 様活性については弱いことが分かった。免疫調節活性については、万年茸多糖類がマウス由来マクロファージ細胞の増殖と窒素酸化物の生産を促進し、用量依存的にマクロファージに対しドキシソルビシン (DOX) 損傷を緩和する保護効果があることが実証された。(4) 椎茸フェノール化合物 (LEPC) についても発酵オカラから超音波補助法で、10分、40%エタノール、100 W と液体/固体比 30 の条件で、44.16 mgGAE/g (発酵物) の抽出結果を得ている。椎茸フェノール化合物に対しては、さらに吸着 SP825 樹脂カラムによって精製し (LEPC-II として)、LEPC-I と LEPC-II の抗酸化活性を検討した。その結果、LEPC-II は、DPPH ラジカル、ヒドロキシルラジカル、水素酸化物、ABTS ラジカルカチオンの脱色については強い消去活性と還元力を示すが、鉄キレート、SOD 様活性については弱いことが分かった。また、LEPC-I より LEPC-II の抗酸化活性が高い結果を得ている。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、豆腐、豆乳、大豆タンパク質生産の副産物であり農産廃棄物として処理されることの多いオカラ (SCR) を原料とし、万年茸 (*G. lucidum*) 及び椎茸 (*L. edodes*) を用いてオカラの固体発酵を行い、有効多糖類やフェノール化合物を抽出することに世界で初めて挑戦したものである。

固体発酵の最適条件を明らかにし、多糖類やポリフェノール類の抽出の最適条件を確立し、高濃度で収率の高い多糖類・フェノール化合物の生産法を構築したことは高く評価される。加えて、生産された多糖類やフェノール化合物の抗酸化作用、免疫調節作用、抗腫瘍活性についても評価しており、新規性の高い実用的な有用物質生産につながる貴重な成果が得られ、農産廃棄物再資源化分野への応用、科学的かつ技術的助言が提供できる点で、オリジナリティに富む研究として高く評価できる。

平成 24 年 5 月 18 日、学位審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士 (環境学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。