

氏名	馬 堅		
学位の種類	博 士 (環境学)		
学位記番号	博 甲 第 7790 号		
学位授与年月日	平成 28 年 3 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	薬用キノコ多糖類の超音波破碎抽出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	筑波大学准教授	工学 博士	雷 中方
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	山路 恵子
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	内海 真生

論 文 の 要 旨

オカラは産業廃棄物の中でも栄養が豊富で、タンパク質、脂肪、澱粉、糖類に富み、高品質の微生物発酵基質としての利用が可能である。一方、食用キノコ類は中国の伝統的な漢方薬として昔から病気の治療、寿命の延命、体力の促進及び体調の改善に利用されてきた。近年になって、抗ガン作用、抗酸化作用など、さまざまな機能が新たに解明されている。しかし、発酵物から有効成分の熱水抽出過程には、長時間、低抽出率などのデメリットがある。本研究では人工栽培した冬虫夏草及び霊芝菌糸体発酵物の有効成分である多糖類の抽出過程に着目し、抽出物の抗酸化活性及び免疫向上効果を評価し、効率的な抽出法を確立させ、有機産業廃棄物であるオカラの再資源化や付加価値化、機能性食品開発の可能性について検討した。

本研究では、発酵産物である冬虫夏草子実体を用いて、超音波破碎抽出条件の最適化及び熱水抽出法との比較を行った (第 2 章)。抽出された冬虫夏草子実体由来の多糖類の抗酸化活性及び免疫調節活性を検討した (第 3 章)。更にオカラの霊芝菌糸体発酵物を用い、超音波破碎抽出条件の最適化及び従来法 (低出力超音波抽出法と熱水抽出法) との比較を行った (第 4 章)。抽出された霊芝菌糸体発酵物由来の多糖類の抗酸化活性及び免疫調節活性を検討した (第 5 章)。最後に、超音波の多糖類抽出促進効果及びそのメカニズムについて検討した (第 6 章)。

1. 冬虫夏草子実体の多糖類抽出過程に対して応答曲面分析法で解析した結果、38.53 min、604.61 W 及び 4 mL/g という最適条件が得られ、抽出率の予測値が 7.35 % であった。実際に 39 min、603 W 及び 4 mL/g という類似条件を用いて得られた実測抽出率は 7.29 % であり、予測値に合致した。超音波破碎抽出法は熱水抽出法より、抽出率を 142 % 向上したとともに、抽出時間を 67.5 % 短縮し、溶媒を 86.7 % 節約し、エネルギーコストを 63.4 % 節約した。

2. 超音波破碎抽出法及び熱水抽出法により得られた冬虫夏草子実体由来の多糖類は、同程度の高い抗酸化活性を示した。更にマウスマクロファージ細胞に対する顕著な保護作用を示し、細胞毒性は示さなかった。

3. 霊芝菌糸体発酵物の多糖類抽出過程に対して応答曲面分析法で解析した結果、43.72 min、496.90 W 及び 13.21 mL/g という最適条件が得られ、抽出率の予測値が 10.13 % であった。実際に 44 min、495 W 及び

13.21 mL/g という類似条件を用いて得られた実測抽出率は 10.01 % であり、予測値に合致した。報告された低出力超音波抽出法および熱水抽出法の抽出率は、それぞれ 8.90 % および 7.19 % であったため、高出力超音波破碎抽出法は抽出率をそれぞれ 12.5 % 及び 39 % 向上させた。また、熱水抽出法により、抽出時間を 63.3 % 短縮し、溶媒を 56 % 節約し、エネルギーコストを 58.7 % 節約した。

4. 最適化された超音波破碎抽出法、低出力超音波抽出法および熱水抽出法により得られた霊芝菌糸発酵物由来の多糖類は同程度の高い抗酸化活性、マウスマクロファージ細胞に対して顕著な保護作用を示したとともに、マウスマクロファージ細胞に対する増殖促進効果を示した。特に、最適化された超音波破碎抽出法の多糖類の場合、39 % という最も高い増殖促進効果が観察された。

5. 超音波の利用で冬虫夏草子実体、冬虫夏草菌糸発酵物、霊芝子実体及び霊芝菌糸発酵物の多糖類抽出率は熱水抽出よりそれぞれ 142 %、73 %、255 % 及び 39 % 向上されたため、超音波は菌糸発酵物より、子実体に対する抽出促進効果が明らかに顕著であると考えられる。また、二段抽出により得られた多糖類の組成成分を分析した結果、超音波を利用した場合に限り、細胞壁の組成成分である多糖類（セルロース、キチン、キトサンなど）が含まれることが示された。よって、超音波は細胞壁を破壊し、細胞内部に存在する多糖類及び細胞壁の組成成分を抽出できると考えられる。

以上の研究成果により、超音波破碎抽出法は多糖類の抗酸化活性及び免疫調節活性の保持や向上、且つ省エネルギー的・効率的な抽出法であると考えられる。オカラを再資源化した産物である冬虫夏草子実体、および霊芝菌糸体発酵物を機能性食品素材として期待できる。

審 査 の 要 旨

本研究では人工栽培した冬虫夏草及び霊芝菌糸体発酵物の有効成分である多糖類の抽出過程に着目し、抽出物の抗酸化活性及び免疫向上効果を評価し、効率的な抽出法を確立し、有機産業廃棄物であるオカラの再資源化や付加価値化、機能性食品開発の可能性について検討したものである。特に熱水抽出法と比べ、超音波破碎抽出法は抽出率を大幅に向上され、抽出時間も短縮され、溶媒の量も節約できる利点を持ち、非常に有効かつ省エネ的な抽出方法として考えられる。

また、冬虫夏草子実体由来多糖類の抗酸化活性及び免疫調節効果を検討した結果、従来の熱水抽出法の多糖類には同様な高抗酸化活性を持ち、マクロファージ細胞に対する保護作用があり、毒性がないことが確認できた。さらに、霊芝菌糸体発酵物の多糖類抽出過程において超音波処理時間、超音波出力及び溶媒量の 3 つの要素を選択し、応答曲面解析法で解析し、超音波破碎抽出の最適抽出条件が確立された。二段抽出（熱水抽出と超音波破碎抽出の順）により得られた多糖類の組成成分を FTIR（フーリエ変換赤外分光法）分析した結果、超音波を利用した場合に限り、細胞壁の組成成分である多糖類（セルロース、キチン、キトサンなど）が含まれることが示された。よって、超音波は細胞壁を破壊し、細胞内部に存在する多糖類及び細胞壁の組成成分を抽出できると考えられ、その抽出率の促進メカニズムを明となった。本研究では貴重な実験データが得られ、有機廃棄物の再資源化技術研究開発分野への応用に、科学的かつ技術的な助言を提供できた点が、オリジナリティとして高く評価される。

平成 28 年 1 月 20 日、学位論文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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。