

# マンネンタケの抗酸化能に関する研究

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

藤浪未采 沖元文穂 灰谷悠太郎 難波勇多 長野颯太 江口直希 増田考佑 樽谷和華 寺谷春紀 川崎裕斗

## 1. はじめに

マンネンタケは霊芝とも呼ばれ、マンネンタケ科の一種で、山地の樹木や切り株に自生する。天然のマンネンタケは発芽率が低く希少品であるが、近年、人工栽培による量産化が可能となった。私達は、種菌をもとに、おが培地菌床栽培において子実体形成に成功した。マンネンタケは健康食品として市販され免疫力強化、ガン予防などの健康効果が謳われており、近年問題になっている活性酸素やフリーラジカルによる生体損傷についても、その成分中に抗酸化物質を含むために疾病予防に効果があるとされている。本研究部では生育したマンネンタケの抗酸化活性を調べることで、食・美容分野の機能性素材として活用するための可能性について検討した。

## 2. マンネンタケの人工培養

マンネンタケの種菌(図1)は大和菌学研究所(奈良県磯城郡三宅町)より購入し、おが培地(おがくず:米ぬか=4:1、含水率65%)に種菌を接種し室温(25~30℃)で培養した。尚、おが培地は専用プラスチック容器に入れ121℃、45分間滅菌し作成した。1ヶ月後、芽が形成され(図2)、3ヶ月後、傘(子実体)に成長した(図3)。



図1



図2



図3

## 3. 試料調製

### 1) 材料の加熱乾燥

人工栽培のマンネンタケ、比較対照の市販キノコ(乾燥シイタケ、エノキタケ、エリンギ、マイタケ)を用いた。これら一定量(図4 マンネンタケとシイタケは5g、他キノコ30g)を乾熱器を用い105℃、16時間の条件で乾燥した(図5)。重量測定(表1)後はデシケーターにて保存した。



図4



図5

### 2) 成分の抽出

耐熱容器に水500mlと乾燥後のキノコを入れ、95℃、10分間加熱し成分を抽出(図6)。冷却後、抽出量を測定し(表2)、上澄み液を試料とした(図7)。



図6

表1 キノコの乾燥前後の重量(g)

種類	乾燥前	乾燥後
マンネンタケ	5	4.6
シイタケ	5	4.6
エノキタケ	30	3.2
エリンギ	30	2.3
マイタケ	30	2.0

表2 加熱法による抽出量

種類	加水量(ml)	加熱後抽出量(ml)
マンネンタケ	500	440
シイタケ	"	440
エノキタケ	"	445
エリンギ	"	450
マイタケ	"	450



図7 抽出液(試料)

(左からマンネンタケ、シイタケ、エノキタケ、エリンギ、マイタケ)

## 4. 試料の抗酸化活性測定

方法: マンネンタケ等の試料液とラジカル物質であるDPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジド)を反応させて、517nmでの吸光度を測定することによりDPPHの消去率を求めた。又、標準の抗酸化物質としてビタミンE誘導体であるトロロックス(6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸)相当量を求めることで抗酸化能を判定した。



図8 エタノールに溶解したDPPH

(準備) 200 μM DPPH(II液)を調整(図8)

1) EtOHと抽出液の混合液を下表の通りに配合し試料(I液)とした。(空試験用も作成)

試験管No.	1	2	3	4	5	6
EtOH(μl)	2000	1800	1600	1400	1200	1000
試料溶液(μl)	0	200	400	600	800	1000

2) II液(DPPH 200 μM) 1mlをI液に添加し(1分おきに順次添加) 20分後に吸光度(517 nm)を測定(図9)。(空試験のII液はDPPH液の代わりにエタノール1mlを加えた。)

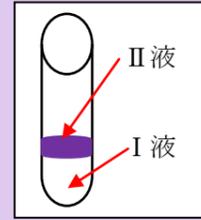


図9 吸光度測定

3) 標準物質トロロックス(図10)の抗酸化活性測定は0.2 mM Trolox溶液(エタノール)を調製し、下表の通りエタノールに希釈して試料とした(I液)。2)と同様の方法で吸光度を測定した。



図10 Trolox (ビタミンE誘導体)

試験管No.	1	2	3	4	5	6
EtOH(μl)	2000	1980	1950	1940	1920	1900
0.2 mM Trolox(μl)	0	20	50	60	80	100

結果: 1)、2)においては反応後の混合液(図11)を測定した吸光度(本試験から空試験を差し引いた値)からDPPHの消去率をグラフ化した(図12)。

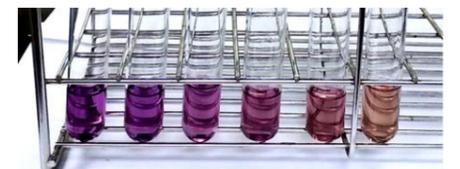
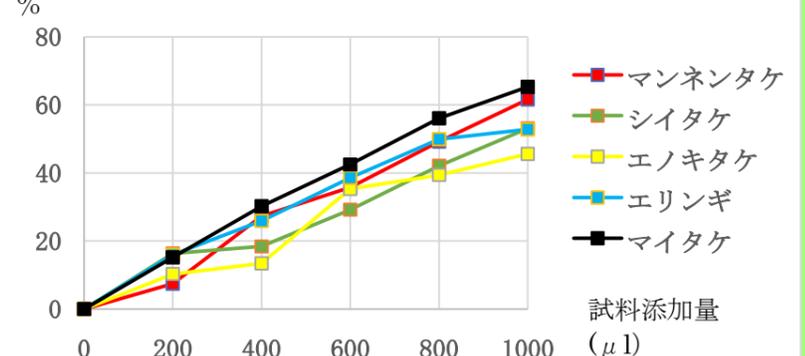


図11 反応後の混合液(ex マンネンタケ) (試験管No.左から1~6)

図12 試料溶液添加によるDPPH消去率(%)



3)のトロロックス抗酸化活性測定(図13)値を基に検量線(図14)を作成し、吸光度差からトロロックス相当量を算出した。

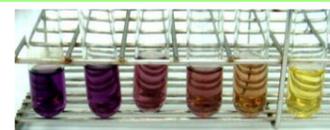
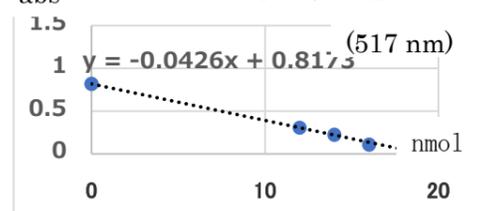


図13 Trolox溶液によるDPPHの反応(左から試験管No.1~6)

4 nmolが0.171 absに相当

図14 Trolox抗酸化活性測定



### 考察:

① 実験結果から5種類のキノコにDPPH消去能がみられたことから、抗酸化機能を保持していると考えられる。各試料1ml当たりのトロロックス相当量を算出し、又、加熱抽出量から換算して各キノコ材料1g当たりのトロロックス相当量を表3に纏めた。

試料	吸光度差 abs (1mlあたり)	トロロックス相当量 (nmol/ml)	(μmol/g)
マンネンタケ	0.547	12.8	1.13
シイタケ	0.473	11.1	0.979
エノキタケ	0.372	8.70	0.129
エリンギ	0.428	10.0	0.138
マイタケ	0.571	13.4	0.181

1g当たりのキノコを比較すると、マンネンタケが他キノコより抗酸化活性が高かった。マンネンタケの機能性素材としてドリンクや美容液など、食や美容分野に利用できる可能性が示唆された。但し、抗酸化能を正しく評価するには複数の測定方法が必要とされており、ORAC法(活性酸素吸収能力測定)などの調査が求められる。

② マンネンタケの抗酸化成分の抽出方法(有機溶媒、温度、時間、回数)による影響を調べ、最適な抽出条件を確立したい。又、市販されている健康食品のマンネンタケについても調べ本研究部製品と比較したい。