

培地組成および栽培環境がアラゲキクラゲ *Auricularia polytricha* のビタミンD含有量に及ぼす影響

誌名	新潟県森林研究所研究報告 = Bulletin of Niigata Prefectural Forest Research Institute
ISSN	13438999
著者名	池田, 裕一
発行元	新潟県森林研究所
巻/号	57号
掲載ページ	p. 37-41
発行年月	2017年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



培地組成および栽培環境がアラゲキクラゲ *Auricularia polytricha* の ビタミンD含有量に及ぼす影響

池田 裕 一¹⁾

要旨：アラゲキクラゲのビタミンD含有量について、培地組成（栄養材，基材の代替）および栽培環境（青色蛍光灯）が及ぼす影響を調べた。培地には、米ぬか，特フスマなど8種類の材料を使用し，栽培環境には青色蛍光灯を使って栽培を行い，子実体のビタミンD含有量を測定した。その結果，培地組成や青色蛍光灯の使用はビタミンD含有量へ影響を及ぼさないことがわかった。

キーワード：アラゲキクラゲ，ビタミンD，培地組成，栽培環境

I はじめに

『日本食品標準成分表2015年版（七訂）』（文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会 2015）のきのこ類において，ビタミンDが豊富な作目はアラゲキクラゲとなっている。きのこにはビタミンDの前駆物質であるエルゴステロールが含まれており，これは紫外線の作用でプレビタミンDへ変化し，さらに熱によってビタミンDとなる（紺野 2014）。各種きのこ類に紫外線を照射すると，ビタミンDが生成されることは知られている（桐淵 1990a）。通常，きのこ栽培工程の中で紫外線を照射することはないため，ビタミンDを増強したきのこを生産しようとする手間が増えることになる。

そこで，紫外線照射を行わずにビタミンD含有量を増やす方法を培地組成（栄養材，基材の代替）および栽培環境（青色蛍光灯）の面から検討を行った。

II 材料と方法

1 供試菌株

本研究では森産業株式会社の「あらげきくらげ89号」を試験に供した。

2 培地組成（栄養材，基材の代替）がビタミンD含有量に及ぼす影響

『キノコの事典』（中村 1982）や『キノコ栽培全科』（大森・小出 2001）において，アラゲキクラゲの菌床栽

培の培地材料はオガ粉（基材）および米ぬか（栄養材）となっていることから，これを基本培地（対照区）とした。代替材料としては，きのこ培地材料として使用例がある，乾燥おから，豆皮，特フスマ（小麦ぬか），ホミニーフィード（とうもろこしぬか），粉ビート（砂糖大根しぼりかす），コーンコブミール（とうもろこし穂軸粉砕物），およびコットンハル（綿実殻）を使用した。これらのうち，乾燥おから，豆皮，特フスマ，およびホミニーフィードは米ぬかの代替（栄養材の代替）とし，粉ビート，コーンコブミール，およびコットンハルはオガ粉の代替（基材の代替）とした。この区分は『日本標準飼料成分表（2009年版）』（中央畜産会 2010）に掲載の粗タンパク質含量（表-1）で分けしたものである。基本培地の栄養材である米ぬかの粗タンパク質含量に近いものおよび多いものを栄養材の代替材料とし，小さいものを基材の代替材料とした。なお，ホミニーフィードは栄養材としての使用例（伊藤 2011）があるため，本研究においては栄養材の代替材料とした。

基本培地は，コナラ主体の広葉樹オガ粉，米ぬか，および貝化石を絶乾重量比74：25：1で混合した。基材の代替では，広葉樹オガ粉の一部を各材料に置き換え，コナラ主体の広葉樹オガ粉，基材の代替材料，米ぬか，および貝化石を絶乾重量比59：15：25：1で混合した。栄養材の代替では，米ぬかの全量を各代替材料に置き換えた。培地の湿量基準含水率を64～65%に調整し，ポリエチレン製栽培袋に充填して120℃で60分間殺菌を行った。

1) 現所属：糸魚川地域振興局農林振興部林業振興課（〒941-0052 糸魚川市南押上1-15-1）
（2016年5月13日受付，2016年8月10日受理）

表-1. 培地材料の粗タンパク質含量

区分	材料	粗タンパク質含量 (%)
基 材	コナラ (蒸煮)	0.9
	コットンハル	3.8
	コーンコブミール	2.8
	粉ビート	9.6
栄養材	ホミニーフード	10.4
	特フスマ	16.2
	米ぬか	16.8
	豆皮	17.6
	乾燥おから	27.8

『日本標準飼料成分表 (2009年版)』を基に作成した。「綿実殻」を「コットンハル」、「ビートパルプ(乾)」を「粉ビート」、「特殊フスマ」を「特フスマ」、「生米ヌカ」を「米ぬか」、「大豆皮」を「豆皮」、「豆腐粕(乾)」を「乾燥おから」とした。

表-2. 試験区と培地重量

(a) 基材の代替		(b) 栄養材の代替	
試験区	培地重量 (g)	試験区	培地重量 (g)
対照区 (広葉樹オガ粉のみ)	1,300±10	対照区 (米ぬか)	1,300±10
粉ビート区	1,200±10	乾燥おから区	1,005±5
コーンコブミール区	1,300±10	豆皮区	1,005±5
コットンハル区	1,300±10	特フスマ区	1,300±10
		ホミニーフード区	1,300±10

±は許容範囲

一晚放冷後、種菌70~100mLを接種し、温度23℃、湿度70%の培養室で56日間暗培養した。培養後、底面と側面(2面)に切れ込みを入れ、90°倒して3面から子実体を発生させた。このときの栽培環境は、温度23℃、湿度95%、二酸化炭素濃度600ppm以下とした。各培地組成(試験区)の栽培数は4袋とし、同条件の試験を2回繰り返した。各試験区と培地重量は表-2のとおりである。

3 栽培環境(青色蛍光灯)がビタミンD含有量に及ぼす影響

きのこ栽培室では通常、白色・昼白色・昼光色など白色系の蛍光灯が用いられている。蛍光灯には白色系以外のももあり、青色蛍光灯は紫外線に近い波長380~450nmの比エネルギーが大きい。本研究では、栽培室の蛍光灯を白色系にして栽培したもの(対照区)と、半分を青色蛍光灯(東芝製FLR40S・B/M)に置き換えて栽培したものとを比較した。照度は栽培棚ごとに幅があり200~600luxであった。培地組成は前項の基本培地とし、湿度基準含水率を63~64%に調整した。培養期間は56~58日間とし、それ以外の栽培条件は前項と同様にした。

4 ビタミンD含有量の測定

発生した子実体からサンプルを採取・凍結し、真空凍結乾燥装置により凍結乾燥した後に粉末化して測定に供した。ビタミンD含有量の測定は試験区ごとに3サンプルについて行った。測定方法は以下の通りとした。サンプル0.5gに1%(w/v)塩化ナトリウム溶液0.6mL、1%(w/v)ピロガロール-エタノール溶液2mL、60%(w/v)水酸化カリウム溶液1mLを加え、70℃の水浴中で60分間加温し、けん化した。冷却後、1%(w/v)塩化ナトリウム溶液3.8mL、酢酸エチル-n-ヘキサン混液(1:9v/v)3mLを加え振とうさせた後、遠心分離(3000rpm, 5分)して酢酸エチル-n-ヘキサン混液層を分取した。再び酢酸エチル-n-ヘキサン混液(1:9v/v)3mLを加え振とうさせた後、遠心分離(3000rpm, 5分)して酢酸エチル-n-ヘキサン混液層を分取した。減圧留去後の残留物を90%(v/v)メタノール溶液に溶解し、固相抽出(Bomd Elut C18 100mg, 1mL)した。この試料を高速液体クロマトグラフ(島津製作所製)により分析した。分析条件を表-3に示す。

表-3. 高速液体クロマトグラフの分析条件

項目	分析条件	
カラム	ODS-3 (4.6×250mm, ジーエルサイエンス製)	
移動相	A 液	90 % (v/v) メタノール水溶液
	B 液	メタノール
グラジエント条件	0→5 分	80% B液
	5→15 分	80 → 100% B液
	15→30 分	100% B液
	30→40 分	80% B液
流速	1 mL / min	
カラム温度	40 °C	
検出波長	265 nm	
注入量	10 µL	

表-4. 基材の種類別ビタミンD含有量測定結果

(a) 1 回目 (n = 3)		単位: µg/100g d. w.			
試験区	測定値			平均値	標準偏差
対照区	648	769	778	732	59
粉ビート区	469	556	650	559	74
コーンコブミール区	704	826	831	787	59
コットンハル区	509	617	-	563	54
(b) 2 回目 (n = 3)					
試験区	測定値			平均値	標準偏差
対照区	464	686	608	586	92
粉ビート区	682	850	637	723	92
コーンコブミール区	630	561	613	601	29
コットンハル区	462	459	695	539	110

対照区は基材が広葉樹オガ粉のみで栄養材は米ぬか。

対照区との間に平均値の有意差は認められなかった (*Dunnett test*, $p \geq 0.05$)。

III 結果

基材の種類別ビタミンD含有量の測定結果を表-4に示す。広葉樹オガ粉のみを基材とした対照区との比較では、いずれの試験区においても有意差が認められなかった (*Dunnett test*, $p \geq 0.05$)。

栄養材の種類別ビタミンD含有量の測定結果を表-5に示す。なお、ホミニーフードは追加代替材とし、他の栄養材の代替材とは別に栽培試験を行ったため、別途、対照区との比較を行った。米ぬかを栄養材とした対照区との比較では、ホミニーフード区で、1回目の試験で有意差が認められた (*t-test*, $p < 0.05$) が、2回目の試験では有意差が見られなかった (*t-test*, $p \geq 0.05$)。その他の試験区では有意差が認められなかった (*Dunnett*

test, $p \geq 0.05$)。

栽培環境別ビタミンD含有量の測定結果を表-6に示す。青色蛍光灯を使用したことによる対照区との有意差は認められなかった (*t-test*, $p \geq 0.05$)。

IV 考察

本研究においては、培地組成および青色蛍光灯の使用によるビタミンD含有量への影響はないとの結果になった。ビタミンDの前駆物質であるエルゴステロールはきのこに多量に含まれており、紫外線照射によってビタミンDが増加するという研究結果は多数でている (竹内ら 1985, 桐淵 1990b)。このことから、ビタミンDを増加させるには光が重要であり、培地組成の面からエルゴス

表-5. 栄養材の種類別ビタミンD含有量測定結果

		単位: $\mu\text{g}/100\text{g d.w.}$			
(a) 1回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区 (米ぬか)	422	469	480	457	25
乾燥おから区	408	423	479	437	31
豆皮区	468	468	539	492	33
特フスマ区	319	403	430	384	47
(b) 2回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区 (米ぬか)	467	424	538	476	47
乾燥おから区	557	514	506	526	22
豆皮区	320	388	453	387	54
特フスマ区	461	429	603	498	75
(c) ホミニーフード 1回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区 (米ぬか)	648	769	778	732	59
ホミニーフード区	920	885	950	918*	26
(d) ホミニーフード 2回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区 (米ぬか)	464	686	608	586	92
ホミニーフード区	610	598	705	637	48

*は対照区との間に有意差が認められた (t -test, $p < 0.05$) もの。

表-6. 栽培環境別ビタミンD含有量測定結果

		単位: $\mu\text{g}/100\text{g d.w.}$			
(a) 1回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区	620	702	654	659	34
青色蛍光灯区	663	694	753	703	38
(b) 2回目 (n=3)					
試験区	測定値	測定値	測定値	平均値	標準偏差
対照区	456	499	558	504	42
青色蛍光灯区	604	596	519	573	38

いずれも対照区との間に有意差が認められなかった (t -test, $p \geq 0.05$)。

テロールをビタミンDへと変換させることは難しいようである。紫外線の中でも波長によってビタミンDへの変換量が異なるようで、田中ら (2002) は、シイタケにおいて254nmよりも310nmの方が効率がよいと報告している。原田ら (2007) は、シイタケ、マイタケにおいて365nmでは全く増加しないと報告している。また、原田ら (2007) は、シイタケ、マイタケ、チリ産食用担子菌において蛍光灯の照度を大きくするとビタミンD含有量が増加する傾向があり、チリ産食用担子菌で特に顕著で

あることを報告し、弱いエネルギーの可視光を利用してエルゴステロールを効率よくビタミンDに変換できる仕組みが備わっているのではと考察している。今回試験に用いた青色蛍光灯は、380~450nmの比エネルギーが大きいですが、これはアラゲキクラゲのエルゴステロールがビタミンDへと変換できる条件ではなかったと考えられる。

V おわりに

培地組成, 青色蛍光灯のビタミンD含有量への影響について試験を行った。しかし, その影響がない結果となった。エルゴステロールがビタミンDに変換するには光の波長, 照度, きのこの種類, 菌株が大きく影響しているようである。今後はアラゲキクラゲにおいても照度の影響について試験するとともに, ビタミンDへの変換効率が良い菌株があるかどうかの探索もおこなっていきたい。

VI 謝辞

ビタミンD含有量測定について, 新潟県農業総合研究所食品研究センターの西脇俊和氏をはじめ, 園芸特産食品科の皆様には, 測定手順から機器の操作まで様々なところでご協力いただいた。この場をお借りして感謝申し上げます。

引用文献

- 原田栄津子・西岡宏樹・川出光生・目黒貞利・河内進策 (2007) チリ産食用担子菌 *Grifola gargal* のビタミンD含有量に及ぼす光照射の影響. 日本きのこ学会誌 15: 137-143
- 伊藤幸介 (2011) ナメコ優良系統の選抜試験(Ⅱ) - 菌床特性調査による二次, 三次選抜および現地栽培試験 - . 新潟森林研報 52: 35-39
- 桐瀨壽子 (1990a) キノコ中のエルゴステロールおよびビタミンD₂の定量. 日本家政学会誌 41: 395-400
- 桐瀨壽子 (1990b) 紫外線照射による各種キノコ中のビタミンD₂含量に関する研究. 日本家政学会誌 41: 401-406
- 紺野勝弘 (2014) きのこの化学雑記帳 (15) - 食用きのこの機能性 - . 菌草 60 (3): 18-21
- 文部科学省科学技術・学術審議会資源調査分科会 (2015) 日本食品標準成分表2015年版(七訂).
- 中村克哉 (1982) キクラゲ類. (キノコの事典, 中村克哉編, 朝倉書店). 425-430
- 大森清寿・小出博志 (2001) キクラゲ. (キノコ栽培全科, 大森清寿・小出博志編, 農文協). 137-142
- 竹内敦子・岡野登志夫・鳥居まゆみ・畠中由美・小林正 (1985) 各種キノコ中のビタミンD₂の同定及び定量. ビタミン59: 195-201
- 田中徳夫・豊増哲郎・野沢康郎・生野泰文・中沢 武・星野浩子・高村一知 (2002) ビタミンD₂強化シイタケ製造装置の開発. 日本応用きのこ学会誌 10: 213-220