食用キノコ類のシロネズミコレステロール

代謝におよぼす影響 (IV)

Effect of Mushrooms on Cholesterol Metabolism in Rats (IV)

シイタケ中の有効成分の分別 (その 2)

Separation of the plasma cholesterol reducing substances from mushroom (2)

(昭和 41 年 10 月 30 日 受 理)

渋 川 尚 武 徳 田 節 子 金 田 尚 志
(Naotake Shibukawa) (Setsuko Tokuda) (Takashi Kaneda)

In a previous work*, the water soluble fraction of dried mushroom in the diets of rats remarkably reduced the plasma cholesterol. Particularly effective was a 60 per cent ethanol soluble fraction of a condensed water soluble fraction of mushroom.

In order to know the nature of the substances responsible for the effect, the water-soluble fraction of mushroom, *Lentinus edodes* Donko, was re-extracted with 80 per cent ethanol and absolute ethanol after evaporation of water (Fig. 1). In addition, the authors extracted effective substances directly from dried mushroom (Figs. 2, 3) using absolute ethanol or 80 per cent methanol.

The results indicated that both fraction II (absolute ethanol insoluble) from 80 per cent ethanol soluble fraction and the fraction III (ether insoluble) from absolute ethanol soluble fraction effectively reduced plasma cholesterol (Table 3). Although the absolute ethanol extract was ineffective, 80 per cent methanol extract reduced plasma cholesterol (Tables 3, 4).

* This Journal, 17, 297 (1964)

筆者らは本研究第 2 報¹⁾において、シイタケの水抽出区はシロネズミ血漿コレステロールを著しく低下させる作用があることを認めた。また水抽出物中 60% エタノール可溶区に有効成分は濃縮されることを見出した。

そこで今回は乾燥シイタケを水抽出したものを各種濃度のエタノール、メタノールまたはエーテルなどで処理し、有効成分の分別を行なった。

方法および結果

1. 試料の調整

A) シイタケ水溶性区分の分別

乾燥シイタケ (ドンコ) 500 g を用い、Fig. 1 に示すごとく分別した。すなわち 4~6 倍量の脱塩水を加え一夜放置して抽出すること 3 回、3 回目は 70°C で 1 時間加熱抽出した。これらのロ液は合っし減圧濃縮した後、エーテルで 3 回抽出しエーテル可溶物を除去した。エーテルを完全に除いたのち、無水エタノールを加え 80% エタノール濃度に調整した。ここで生じた沈澱をロ別し

Table 1. Yield of each fractions

(各抽出区の収量)

Fraction No. (区分)	Yield (%) (収量)	Fraction No. (区分)	Yield (%) (収量)	Fraction No. (区分)	Yield (%) (収量)
I	22.0	V	86.6	VIII	72.7
II	12.0	VI	6.6	IX	24.4
III	4.0	VII	6.8	X	2.9
IV	0.2				

区分 I とした。ロ液は濃縮し、無水エタノールに溶解し不溶部をロ別して区分 II とした。ロ液は再び濃縮しエーテルを加え、エーテル不溶部を区分 III、可溶部を区分 IV とした。

B) 無水エタノールに対する有効成分の溶解性

十分乾燥して微粉としたシイタケ (ドンコ) 500 g を用い、Fig. 2 のように無水エタノールで抽出し、分別した。すなわち 3~4 倍量の無水エタノールで一夜放置し

Fig. 1 Diagrammatic representation of the fractionation of mushroom
(シイタケ成分の分別)

Fig. 2 Diagrammatic representation of the
fractionation of mushroom with ab-
solute ethanol
(シイタケ成分の分別)

抽出すること3回、3回目は70°Cで1時間加熱した。これをろ過して、抽出残渣を区分Vとした。ロ液を合っ
て濃縮し、析出した白色結晶をロ別し、ロ液濃縮物を
区分VI、白色結晶を区分VIIとした。

C) 80% メタノールに対する有効成分の溶解性

乾燥シイタケ粉末 500 g を用い Fig. 3 のように3～

Fig. 3 Diagrammatic representation of the
fractionation of mushroom with 80%
methanol (シイタケ成分の分別)

4倍量の80%メタノールで3時間還流加熱し抽出を4
回行い、ろ過して抽出残渣を区分VIIIとした。ロ液は合っ
て濃縮し析出した白色結晶をロ別し、ロ液濃縮物を区
分IX、白色結晶を区分Xとした。

A) B) C) の分別による各区分の収率は Table. 1
の通りである。

2. 動物試験法

第 1 回試験は呑竜系, 第 2 回試験はウィスター系雄のシロネズミを用い, Table 2 に示す組成の飼料で 30 日間任意に飼料を摂取させた。ただし A] B] は同一期間

中の飼育であり, C] は A] B] とは別の時期である。各試験区の給与量は区分 I ~ IV はシイタケとして飼料中 10%, 他の区分は 5% を添加した際に相当する量を基本飼料に添加した。シロネズミ血漿の調整, およびコレス

Table 2. Composition of diets (%) (飼料組成)

Dietary constituents (成分)	Chole. free (無コレ ステロール)	Chole. added (含コレ ステロール)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Sucrose (蔗糖)	62.25	64.01	61.81	62.81	63.61	63.69	62.68	63.68	63.67	63.41	62.81	63.86
Casein (カゼイン)	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22	22
Cellflour (コ紙粉)	3	3	3	3	3	3		3	3		3	3
Salt mixture (マ氏塩)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Choline chloride (塩化コリン)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
Vitamin mixture* (ビタミン混合物)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Cholesterol (コレステロール)		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Bile salts (胆汁酸塩)		0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Cottonseed oil (綿実油)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Water soluble fr. (水溶性区)												
80% EtOH insol. fr. I (80% エタノール不溶区)			2.2									
Abs. EtOH insol. fr. II (無水エタノール不溶区)				1.2								
Ether insol. fr. III (エーテル不溶区)					0.4							
Ether sol. fr. IV (エーテル可溶区)						0.02						
Abs. EtOH extract (無水エタノール抽出)												
Residue V (残渣)							4.33					
Abs. EtOH sol. fr. VI (無水エタノール可溶区)								0.33				
Crystal VII (結晶)									0.34			
80% MeOH extract (80% メタノール抽出)												
Residue VIII (残渣)										3.6		
80% MeOH sol. fr. IX (80% メタノール可溶区)											1.2	
Crystal X (結晶)												0.15

* The vitamin mixture had the following composition; casein 44 g, p-aminobenzoic acid 1 g, Ca-pantothenate 400 mg, inositol 1 g, tocopherol acetate 1 g, ascorbic acid 1 g, niacin 400 mg, vitamin B₁₂ 0.3 mg, riboflavin 200 mg, pyridoxine 100 mg, vitamin A 20000 I. U., vitamin D 2000 I. U., folic acid 20 mg, menadione 50 mg, biotin 10 mg.

テロール定量法は前報¹⁾と同じである。

3. 還元糖の定量, および定性試験

区分Ⅱ, Ⅲについてそれぞれ還元糖の定量, コレステロール沈澱反応, Liebermann-Burchard 反応, 塩基性酢酸鉛による沈澱反応, Salkowski 反応, Dragendorff 反応を行った。還元糖の定量は Bertrand 法によった。

シロネズミ血漿コレステロール量は Table 3, 4 のとおりである。シイタケ水抽出物のうちでは区分Ⅱ (80% エタノール可溶無水エタノール不溶物), 区分Ⅲ (無水

Table 3. Plasma cholesterol levels
(血漿コレステロール量)

Group No. (区分)	Total* (mg%) (全)	Free* (mg%) (遊離型)	% Free
Cholesterol added (control) 含コレステロール	179±2	102±1.3	57.0
I 80% EtOH insoluble fr. (80%エタノール不溶区)	170±2	85.1±2.6	50.0
II Abs. EtOH insoluble fr. (無水エタノール不溶区)	124±2	71.5±1.4	57.3
III Ether insoluble fr. (エーテル不溶区)	147±2	77.9±1.2	53.0
IV Ether soluble fr. (エーテル可溶区)	233±4	85.7±1.5	36.7
Abs. EtOH ext. (無水エタノール抽出)			
V Residue (残渣)	126±0	63.8±2.5	50.6
VI Abs. EtOH solub- le fr. (無水エタノール 可溶区)	226±2	84.9±1.6	37.3
VII Crystal (結晶)	178±2	84.2±2.5	47.2

* Including standard error of the mean.
(標準偏差をふくむ)

Table 4. Plasma cholesterol levels
(血漿コレステロール量)

Group No. (区分)	Total* (mg%) (全)	Free* (mg%) (遊離型)	% Free
Cholesterol free (control) (無コレステロール)	161±2	45.0±1.2	28.0
Cholesterol added (control) (含コレステロール)	352±3	95.0±1.3	26.0
80% MeOH ext. (80%メタノール抽出)			
VIII Residue (残渣)	275±2	56.4±0.9	20.5
IX 80% MeOH soluble fr. (80%メタノール 可溶区)	137±1	30.0±0.7	22.0
X Crystal (結晶)	290±3	73.2±1.4	25.3

* Including standard error of the mean.
(標準偏差をふくむ)

エタノール可溶エーテル不溶物)が対照区(含コレステロール群)より低く, とくに区分Ⅱの低下は著しかった。区分Ⅰ (80% エタノール不溶物) はコントロールとほぼ同じで, 区分Ⅳ (無水エタノール可溶エーテル可溶物) はむしろ高くなった。

また, 無水エタノールによる抽出では区分Ⅵ (無水エタノール可溶区) にまったく効果が認められず, 有効成分を直接無水エタノールで抽出することは不可能である。80% メタノール抽出によると有効成分の大部分は抽出された。

区分Ⅱ, Ⅲについての還元糖の量, 各定性試験の結果は Table 5 の通りである。

考 察

本実験において, シイタケのシロネズミ血漿コレステロールを低下させる有効成分は, 水抽出物のうち 80%

Table 5. Amounts of reducing sugar and qualitative tests (還元糖の量および定性試験)

Fraction No. (区分)	Reducing sugar (mg glucose/g) (還元糖)		Cholesterol ppt. reaction コレステロール沈澱反応	Liebermann-Burchard reaction リーベルマン-ブールヒアルト反応	Ppt by basic lead acetate 塩基性酢酸鉛沈澱試験	Salkowski reaction サルコフスキー反応	Dragendorff reaction ドラージェンドルフ反応
	Direct reducing sugar (直接還元糖)	Whole reducing sugar (全糖)					
II Abs. ethanol insoluble fr. (無水エタノール不溶区)	137.4	150.2	—	—	+	Yellow	—
III Ether insoluble fr. (エーテル不溶区)	0.0	23.6	—	—	+	Brown	—

エタノールに溶解し、無水エタノールに不溶の区分（区分Ⅱ）、および無水エタノール可溶エーテル不溶の区分（区分Ⅲ）に存在することがわかった。そして各々の区分には、Dragendorff 反応、コレステロール沈澱試験、Liebermann-Burchard 反応からアルカロイド、サポニン様物質は存在せず、塩基性酢酸鉛溶液によって沈澱を生じ、加水分解したものに還元糖が検出されることから配糖体様の物質が存在することが認められた。しかし、この配糖体様物質が血漿コレステロールを低下させる作用を有するのかどうかはなお不明である。

80% エタノール可溶で無水エタノール不溶区分を分けたロ液にエーテルを加えたのは、アルカロイドの有無を検討したためである。

区分Ⅱ（無水エタノール不溶物）と区分Ⅲ（エーテル不溶物）に含まれる有効成分は、溶媒に対する挙動から見るとまったく違う二つの物質であると思われるが、しかし同一物質であって無水エタノールにいくらか溶解し、エーテルに不溶なものとも考えられる。

無水エタノールで抽出した場合はその有効成分は抽出されず、無水エタノール可溶でエーテル不溶の区分Ⅲに存在する有効成分は、水抽出したものからしか得られなかった。

80% メタノールで有効成分が抽出されることは 80% エタノール可溶ということからみても当然と思われる。

なお、第 1 回試験が呑竜系シロネズミを使用したのに対し、本試験はウィスター系を使用しているため血漿コレステロール値に差があり両試験の値をそのまま比較し得ない。

いずれにしても有効成分はそれほど分子量の大きくないものと思われるが、この成分が何であるかは不明であり、今後の研究にまたねばならない。

摘 要

シタケ中のシロネズミ血漿コレステロールを低下させる有効成分は、水抽出物のうち 80% エタノールに溶解し、無水エタノール不溶のもの、および水抽出物中無水エタノール可溶エーテル不溶物中に存在することを認めた。さらにこの有効成分は 80% メタノールで抽出されるが、無水エタノールでは抽出されないことも認めた。

本研究を行なうにあたり、試料シタケを提供された日本椎茸振興会、森産業株式会社、動物実験に協力された長谷川ツヤ子、大川邦子の両氏に厚く謝意を表する。

文 献

- 1) 金田尚志、徳田節子：栄養と食糧，17，297（1964）

（東北大学農学部食糧化学科）
（経費著者負担）

タンパク質欠乏食およびメチオニン、シスチン添加 によって生ずる肝臓中の脂肪酸の変化

無タンパク質食あるいはそれにメチオニン、シスチン、バリン、ロイシンのいずれかのアミノ酸を添加した飼料で 8 週間飼育したシロネズミの肝臓の脂肪酸の変化を調べた。脂肪は、中性脂肪、リン脂質、コレステロールに分別し、前二者について脂肪酸組成をガスクロマト法で測定した。

無タンパク質食のネズミでは、コントロールに比べてリン脂質中の脂肪酸が減少するが、メチオニン 0.3% あるいはシスチン 0.24% を添加したネズミでは脂肪酸の減少が少なかった。メチオニン、シスチン、バリンの添加によっておこる脂肪肝の脂肪は、中性脂肪のパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸の増加が主で、アラキドン酸も増加の傾向があった。一方、ロイシン添加の場合

には肝臓の脂肪酸の増加はなく、アラキドン酸は減少した。

無タンパク質食で飼育したのちタンパク質を与えると肝臓中のリノール酸とアラキドン酸以外の脂肪酸量が極度に高くなるが、その前に無タンパク質にメチオニンを補足していたネズミでは、肝臓における脂肪酸の増加の程度はずっと小さかった。（表 1，図 3）

Fatty Acid Change in Liver Produced by Protein Deficiency and by Methionine or Cystine Fed to Rats in a Protein-free Ration.

by Williams, J. N., Hurllebaus, A. J.: *J. Nutrition*, 89, (4), 477~486 (1966)

（堀井）