

キノコ類のステロールに関する研究

脇 田 正 二*

Sterols in the Mushrooms

Shōji WAKITA*

Summary

1. About 0.4~1.0 percent of unsaponifiabiles were present in the mushrooms. Some of them were insoluble in cooled acetone.
2. Experiments were made on the properties of the unsaponifiabiles in the mushrooms of 207 species by means of gas chromatography. Generally, the peaks of RRT* 0.32, 0.64, 0.69, 0.77, 0.83, 0.90, 1.00 and 1.17 were found in the unsaponifiabiles, under an experimental condition given by the author. Individual components of these peaks were identified by gas chromatography and combined gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). For these experiments the peak itself must be distinctly isolated from the other. The unsaponifiabiles of *Lentinus edodes* were prepared for the identification of the peaks of RRT 0.32, 0.77 and 0.90, the unsaponifiabiles of *Lampteromyces japonicus* were prepared for the identification of the peaks of RRT 0.32, 0.64, 0.69, 0.77, 0.90, 1.00 and 1.17 and the unsaponifiabiles of *Helvella crispa* were prepared for the identification of the peaks of RRT 0.64 and 0.83. The matter of RRT 0.32, 0.69, 0.77, 0.83 and 1.00 was identified respectively with squalene, calciferol (D₂), ergosterol, campesterol and β -sitosterol. Though the mass-chart of the peak of RRT 1.17 closely resembled that of lanosterol, the latter is not recognized to exist in a plant, and the former may be sicroaltenol- an isomer of lanosterol. Sicroaltenol is known as a plant sterol. As the mass-chart of the matter of RRT 0.90 corresponds on the whole to that of stigmasterol, the former may be stigmasterol. As the peak of RRT 0.83 is very close to the peak of RRT 0.77 (ergosterol) it is difficult to obtain the mass-chart of the former separated from the latter. In *Lycium chinense* the matter of the peak of RRT 0.83 is campesterol. The matter of the peak of RRT 0.83 of mushrooms will be campesterol. According to the mass-chart of the peak of RRT 0.64 of *Typha latifolia*, it is an unknown matter of molecular weight about 434. The matter of the peak of RRT 0.64 of the mushrooms will be a matter of molecular weight about 434. [*Relative retention time for β -sitosterol (retention time: 11.0 min) taken as 1.00.]
3. In due consideration of the result of the investigation of the sterols in mushrooms ergosterol was the greatest in quantity in many mushrooms, but this is not common to all mushrooms, there are many mushrooms that have much sterols other than ergosterol.
4. It was recognized that there was an interdependent relation between the position in the taxonomy of mushrooms and the quality and quantity of their sterols.

* 家政学教室 (Dept. of Home Economics)

緒 言

著者らは既報^{1),2)}のごとく、クコの葉にコレステロールと推定される不ケン化物を見出して以来、既に1000種をこえる植物について、そのステロール組成を精しくしらべた。その結果、ステロール類のガスクロマトグラフ（以下GCと略す）チャートのパターンは植物の種類によって、それぞれ特徴があることを見出し、これを深く検討することは植物分類学やその他の研究の上で甚だ興味あることと思われた。このキノコのステロールに関する研究も、その一部として行ったものである。

キノコはエルゴステロールを成分として含有することに特徴があり、多数のキノコにはこれが主なステロールとして存在するが、キノコの種類によってはエルゴステロールは少く、他のステロールが多いものや、ステロールの含有量が少いものなど、さまざま、また、このようなキノコステロールの性状は、その分類学上の位置とも関係のあることが認められた。従来、少数のキノコについて、ステロールの研究はあるが、在来分析法によるためにエルゴステロールに関するものが殆んど^{3,4,5,6,7)}で、GC分析等による多数のキノコを材料とした多数のステリンに関する詳細な報告には未だ接していない。また、キノコの栄養上の価値を探究する場合には、その含有成分であるステロールを避けて論ずることはできないであろう。次にその実験結果を報告する。

I. キノコ類の不ケン化物

実 験 方 法

1. 材料：関東、中部両地方を主とし、殆んど各地域で採取したもので、新鮮で虫害の少ない207種類のキノコ。採取後直ちに風乾し、減圧して塩化カルシウム上に保存した。

2. 脂質の抽出：1.の乾燥品2～3gを乳鉢にて粉碎後、ソックスレー油脂抽出器を用い、55℃の湯浴中で、エーテルにて3時間抽出した。抽出後はエーテル液を200mlのナス型フラスコにとり、次の処理をした。

3. 脂質のケン化⁸⁾：エーテルを除去後の脂質に0.5Nメタノール性KOH 20mlを加え、還流冷却器をつけて沸騰水中で2時間加熱した。

4. 不ケン化物の分離⁹⁾：3.の試料を冷却後、分液ロートに移し、等量の石油エーテルを加えて数分間振盪後、暫時放置してから石油エーテルを分離し、残液に等量の石油エーテルを加え、前のごとく抽出して石油エーテルを分離する。このように3回抽出して石油エーテル画分を集め、少量の無水硫酸ナトリウムを加えて脱水後、ロータリーエバポレーターに移し、減圧して石油エーテルを除去後、アセトン2～3mlに溶解（材料キノコの種類によって、アセトン難溶部が若干存在した）し、GC分析及びガスクロマトグラフマスマススペクトロメトリー（以下、GC-MS分析と略す）の試料とした。

5. GC分析：機種：島津 GC-5A 型

カラム：Silicon OV-1, 1%, 3mmφ×2m, ガラス製

温度：カラム 210℃, 注入ポート 270℃

キャリアーガス：N₂ 60ml/min, Inlet press. 6.0kg/cm²

Detector：FID Range：0.08V

Sens.: $10^2 M\Omega$ Chart speed: 10mm/min

上記条件で実験を行ったのであるが、さらに、コレステロールの保持時間（以下 tR (min) と略す）が6.8になるように調節して GC チャートを得た。

6. 不ケン化物の定量：GC分析でチャートに現われた不ケン化物のピークを面積法⁹⁾により測定した。但し、前記アセトン難溶部の測定は、アセトンを除去後、常法により重量を測定した。

実験結果

1. キノコには不ケン化物が少いものや、多いものなどさまざまであるが、約 0.4～1.1%存在した。

2. キノコに存在する不ケン化物のGCチャートは Fig. 1 のごとく保持時間 tR(min) 8.4(エルゴステロール) のピークと、2.5, 3.5, 4.5, 5.0, 5.6, 5.9, 7.0, 7.6, 9.1, 9.9, 11.0 及び 12.8などのピークの1個～数個とから成るのが、殆んどすべてのものについての共通的な特徴であった。これらピークのステロイド数 (S. N.)¹⁰⁾ および相対保持時間*(RRT と略す) は Table 1 のとおりである。

3. 不ケン化物のピークの中で、あるピークが不ケン化物の

40～100%を占める場合は 𠄎

20～ 39% " 𠄎

10～ 19% " 𠄎

2～ 9% " +

1%以下の場合を ± で表わすと Table 1 のとおりである。

II. キノコ類のステロール組成

前記 RRT, 0.23～1.17 のピークのステロールを同定するために GC 分析及び GC-MS 分析を行った。これらの実験のためには、ピークがシャープであること、及びピークが他のピークとよく分離して存在することが必要であるので、この二つの条件を満足する材料として、次のキノコについて実験を行った。

実験方法

1. 材料：実験 I に用いたシイタケ、ツキヨタケ、ノボリリュウ及びツチグリなど、不ケン化物のアセトン溶液。

2. GC 分析：実験 I に同じ。

3. GC-MS 分析：機種：島津 LKB 9000型

カラム：Silicon OV-1, 1%, 3mm ϕ ×2m, ガラス製

温度：カラム 200°C, セパレーター 277°C, 注入ポート 300°C, イオン源 300°C

キャリアーガス：He 30ml/min イオン化電圧：20/70eV

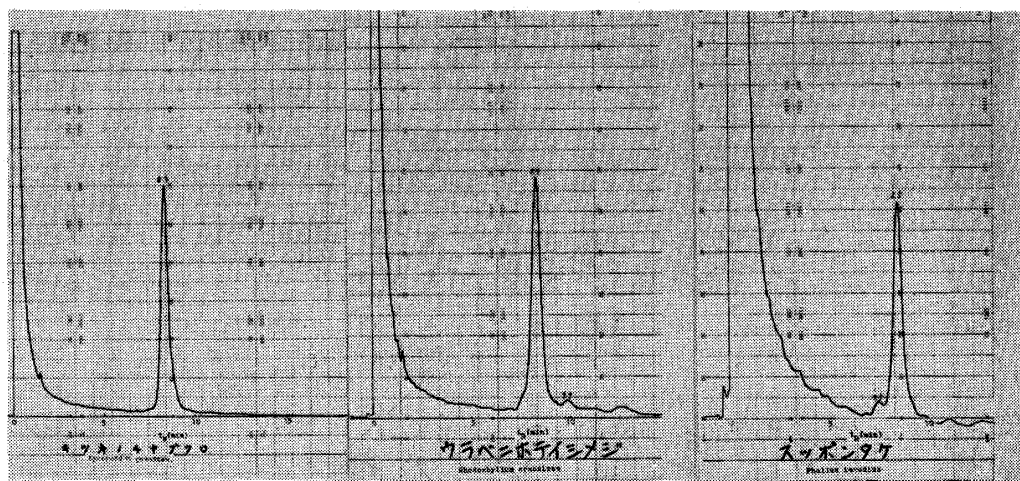
加速電圧：3.5kV, トラップ電流：65 μ A

フィルター：120Hz

Scan speed 8, paper speed 20/100 cm/sec

* β -シトステロールの保持時間 (11.0分) を 1.00 として、計算した場合の保持時間。

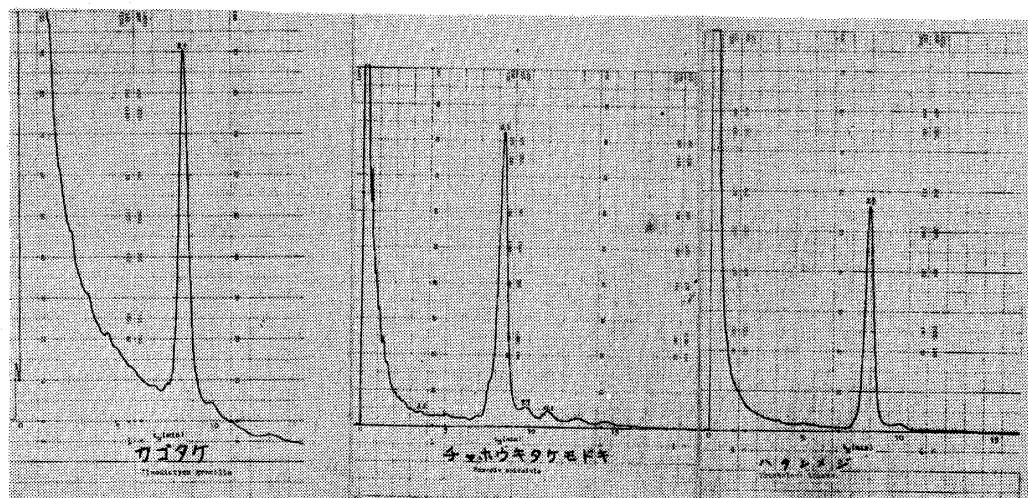
Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.



Lycoperdon gemmatum
キツネノチヤブクロ

Rhodophyllus crassipes
ウラベニホテイシメジ

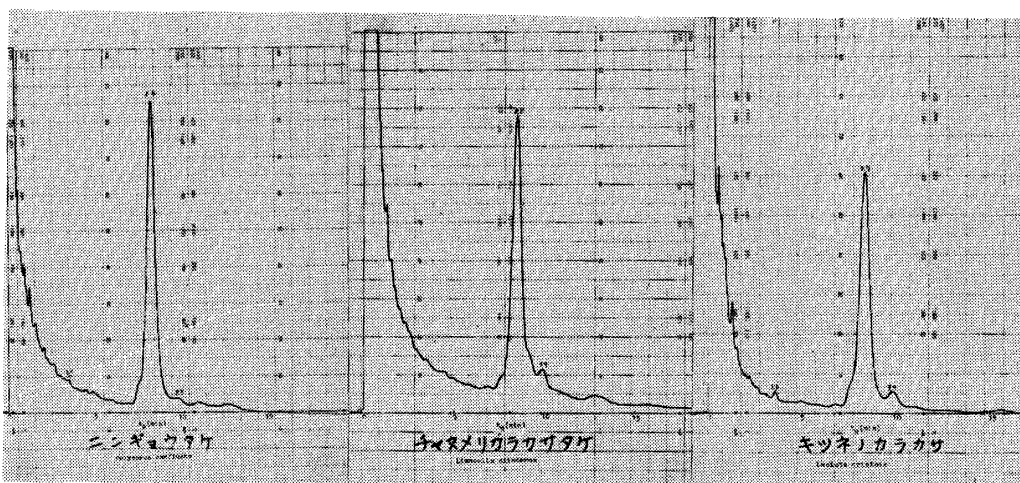
Phallus impudicus
スッポンタケ



Ileotiction gracilis
カゴタケ

Ramaria apiculata
チヤホウキタケモドキ

Tricholoma irinum
ハタシメ

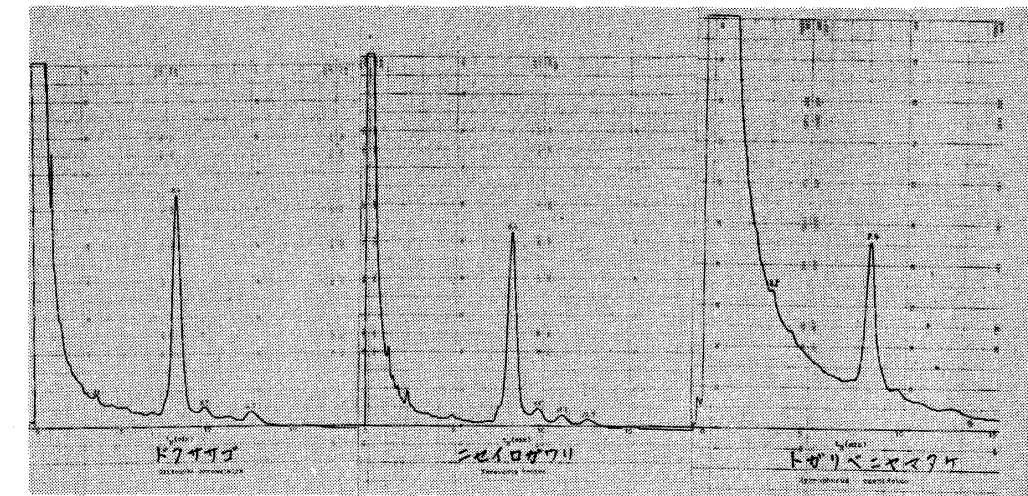


Polyporus confluens
ニンギョウタケ

Limacella glioderma
チャヌメリカラカサタケ

Lepiota cristata
キツネノカラカサ

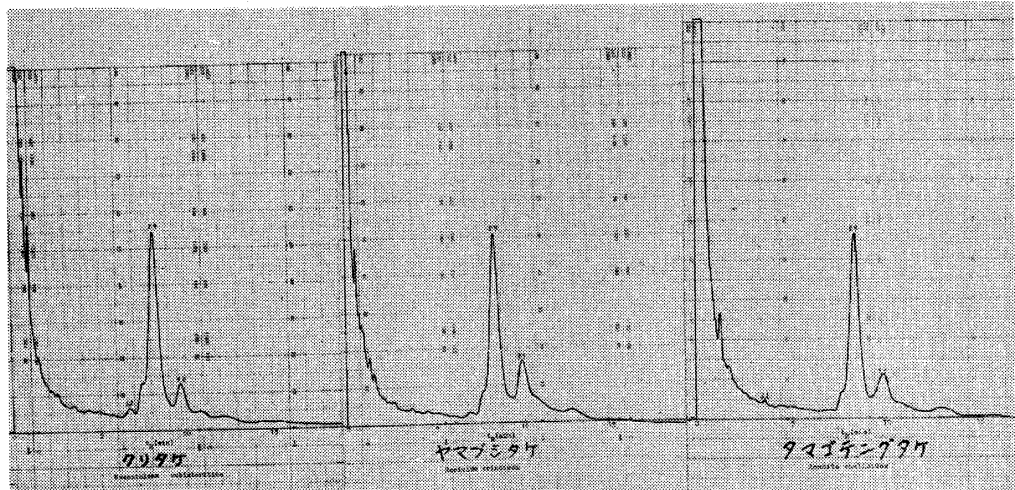
Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.



Clitocybe acromelalga
ドクササゴ

Xerocomus badius
ニセイロガワリ

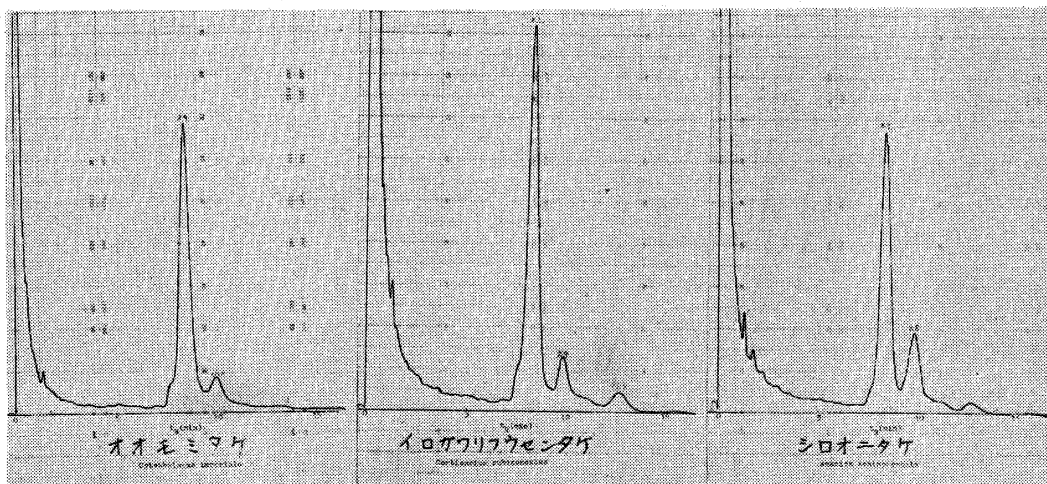
Hygrophorus cuspidatus
トガリベニヤマタケ



Naematoloma sublateritium
クリタケ

Hericium erinaceum
ヤマブシタケ

Amanita phalloides
タマゴテングタケ



Catathelasma imperiale
オオモミタケ

Cortinarius rubicundulus
イロガワリフウセンタケ

Amanita echinocephala
シロオニタケ

Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.

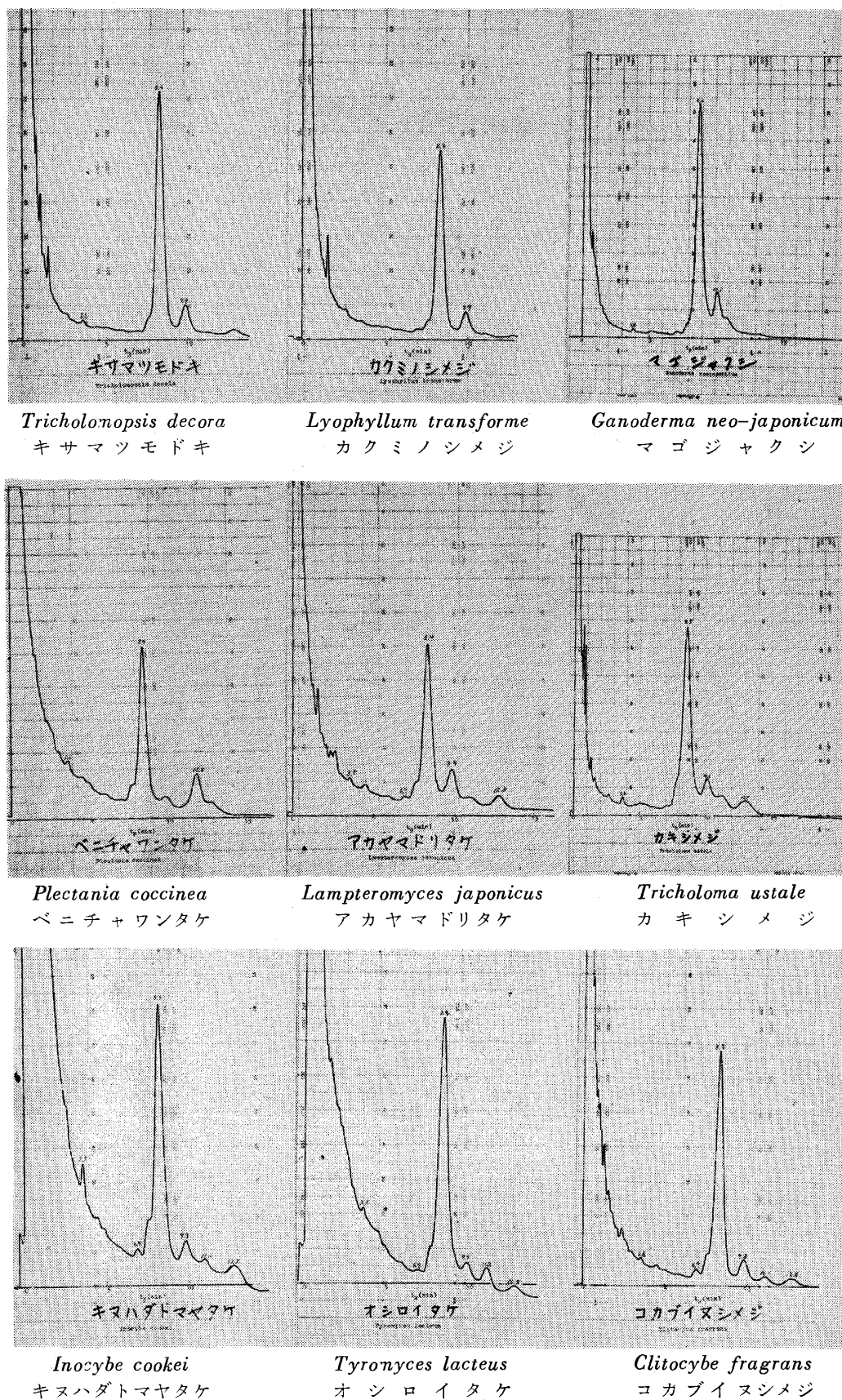
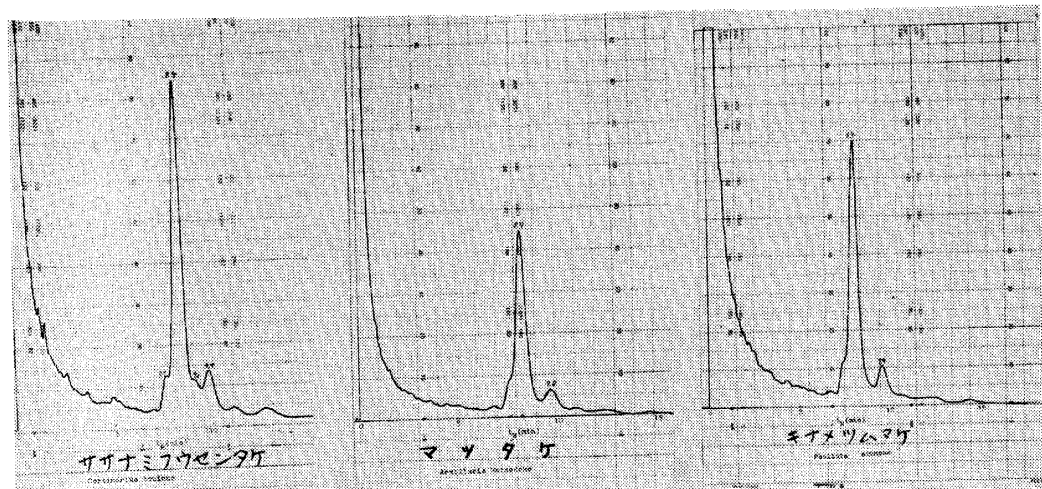


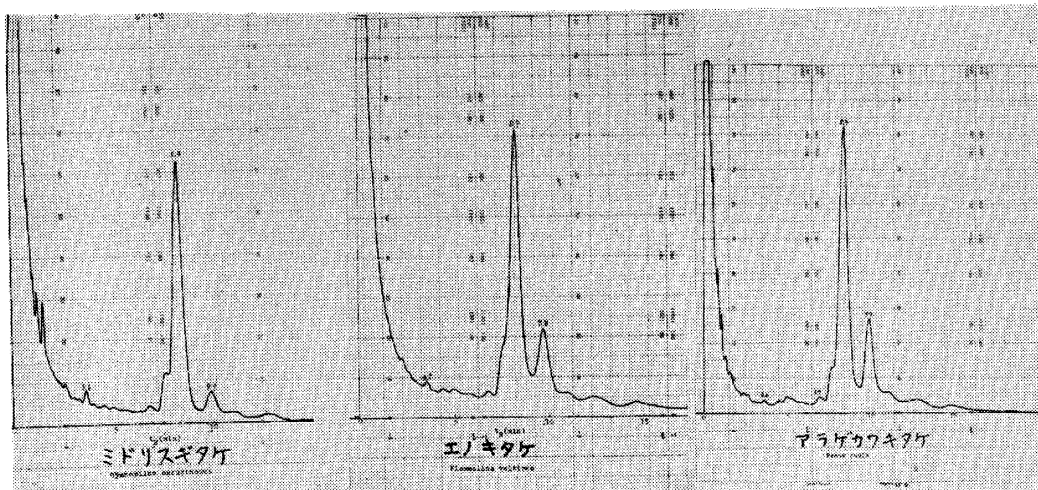
Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.



Cortinarius bovinus
ササナミフウセンタケ

Armillaria matsutake
マツタケ

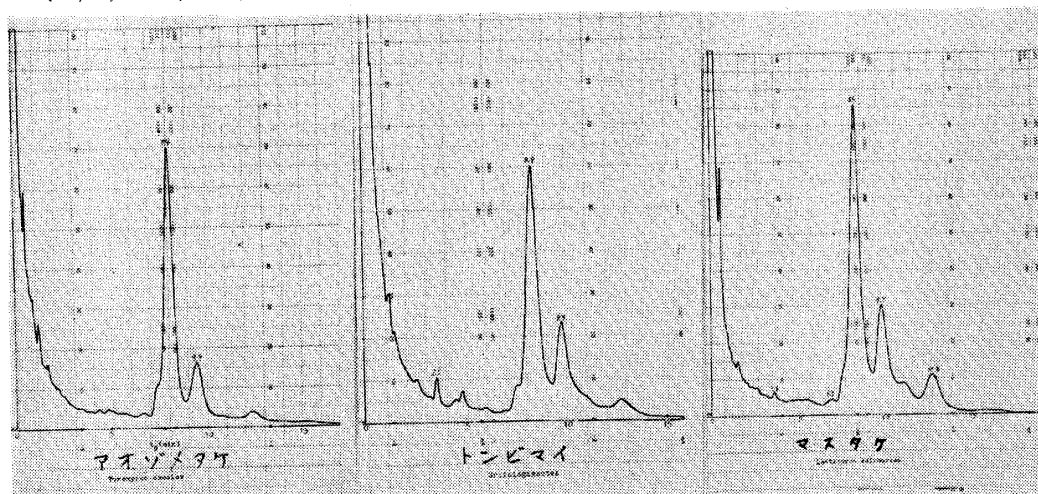
Pholiota spumosa
キナメツムタケ



Gymnopilus aeruginosus
ミドリスギタケ

Flammulina velutipes
エノキタケ

Panus rudis
アラゲカワキタケ



Tyromyces caesius
アオゾメタケ

Grifola gigantea
トンビマイ

Laetiporus sulphureus var.
miniatus
マスタケ

Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.

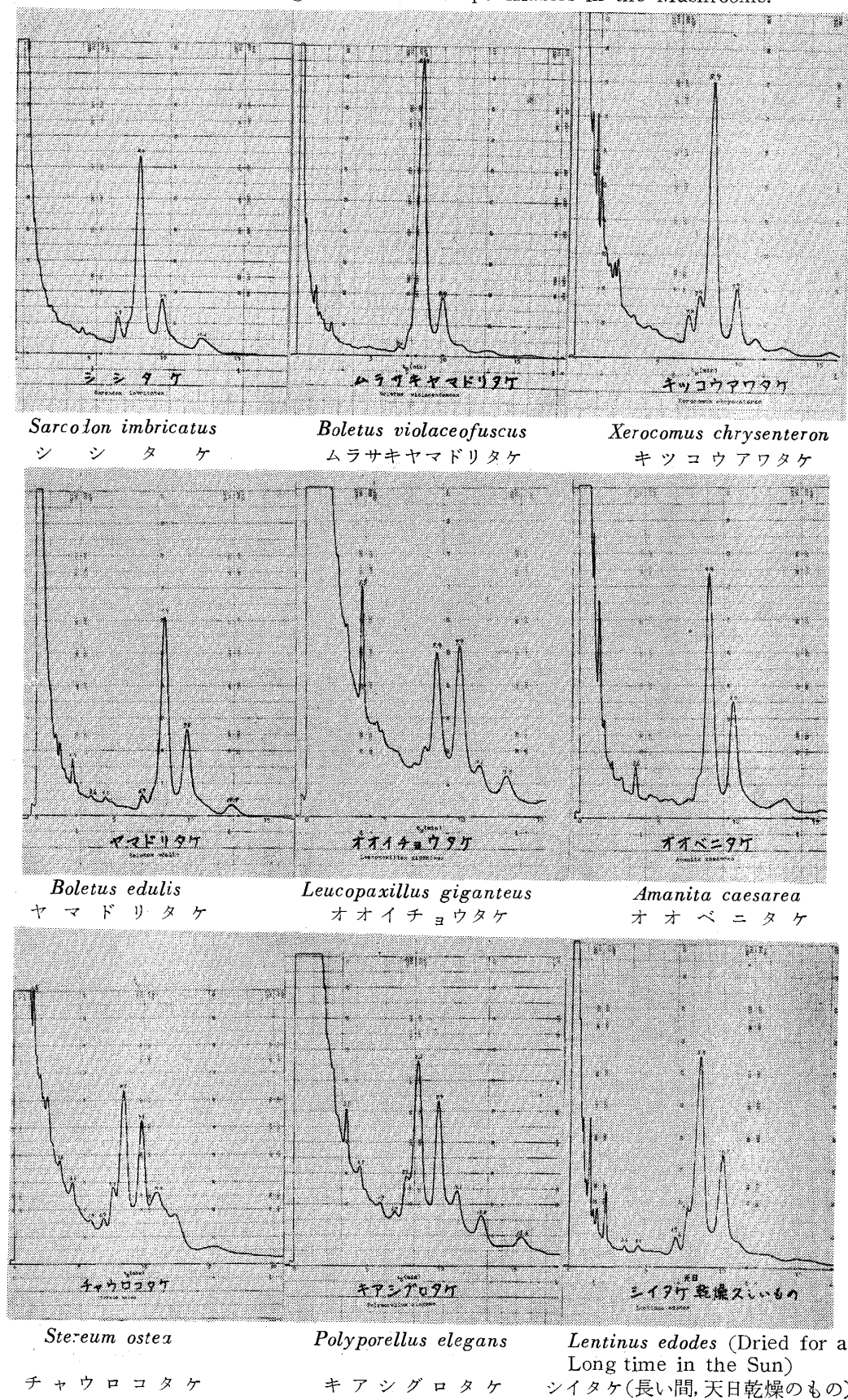


Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.

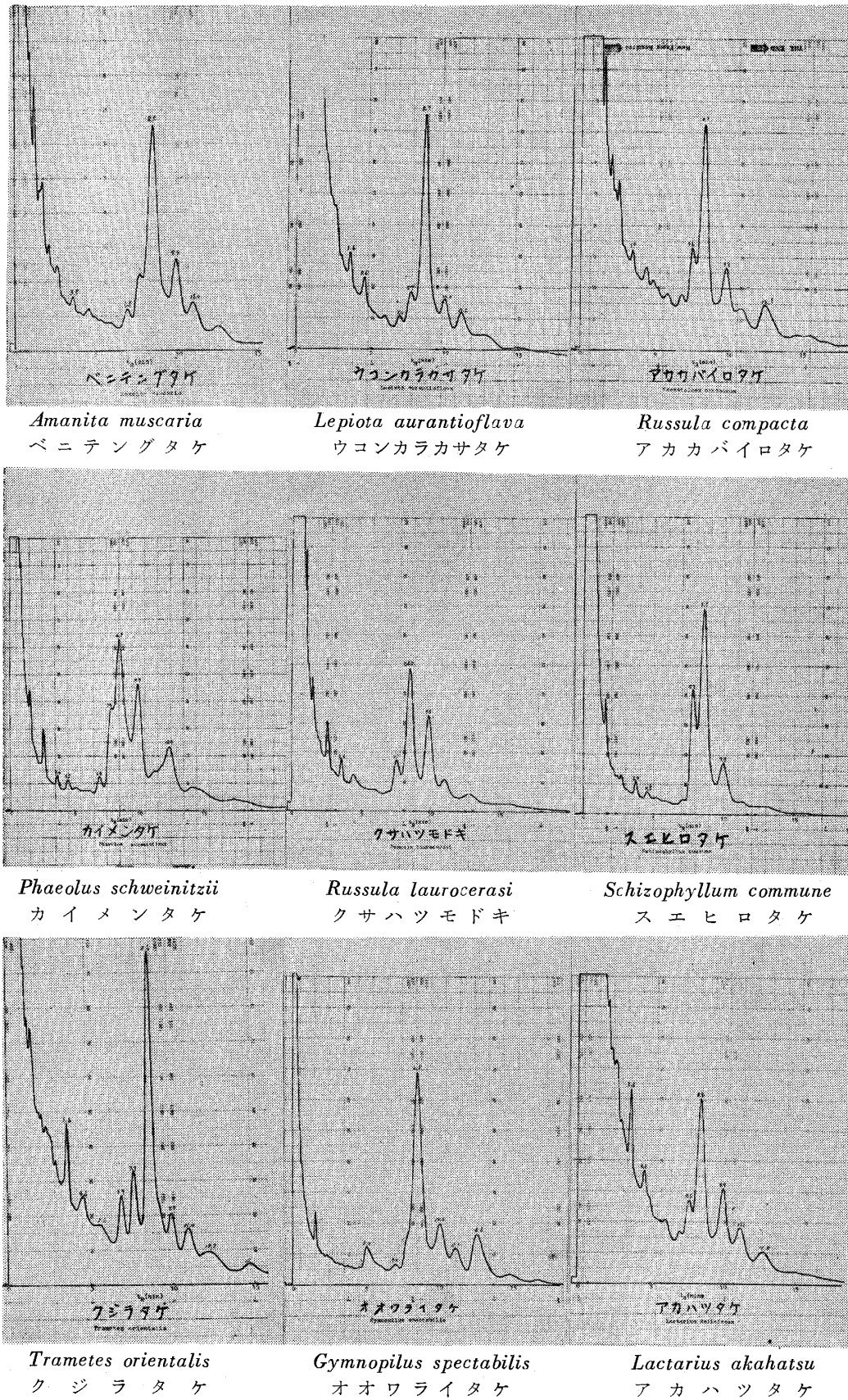


Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.

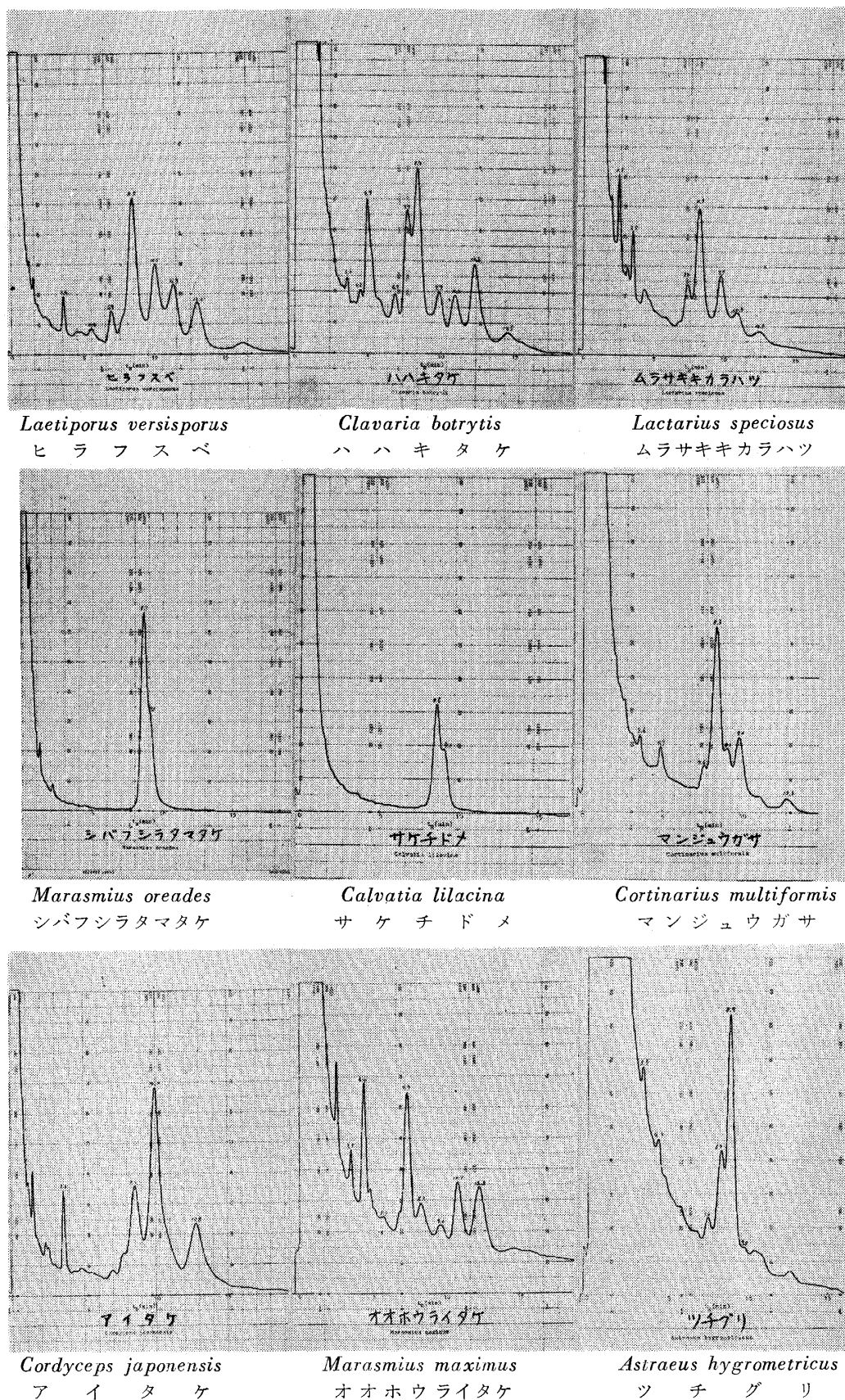
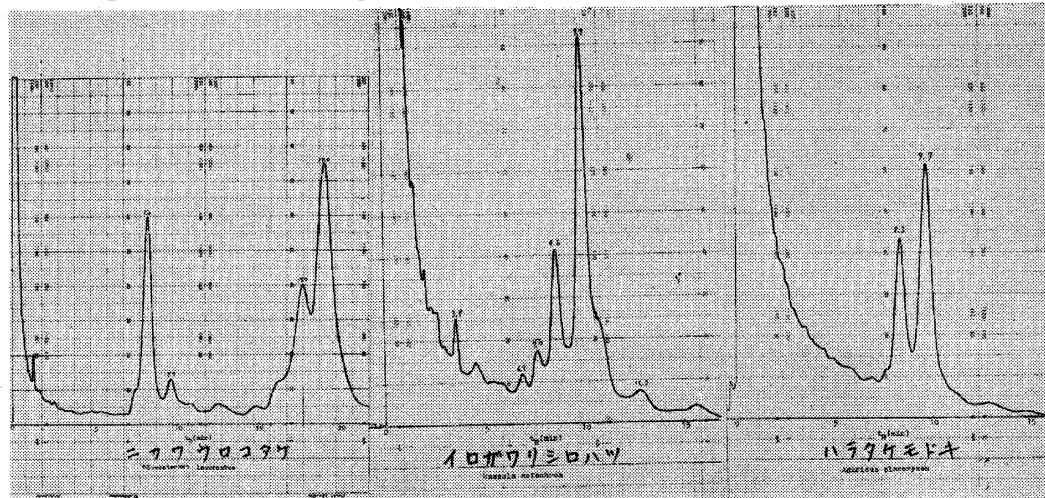


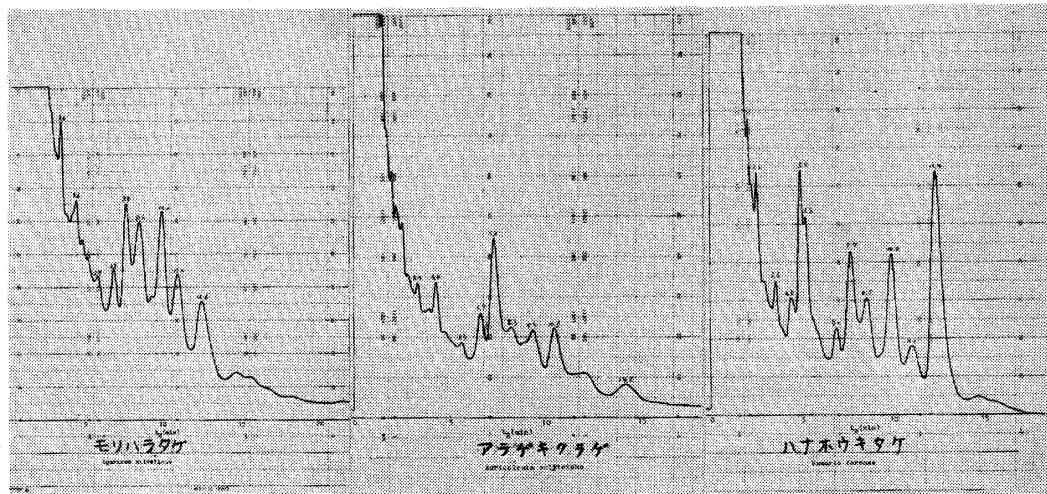
Fig. 1. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in the Mushrooms.



Gloestereum incarnatum
ニカワウロコタケ

Russula metachroa
イロガワリシロハツ

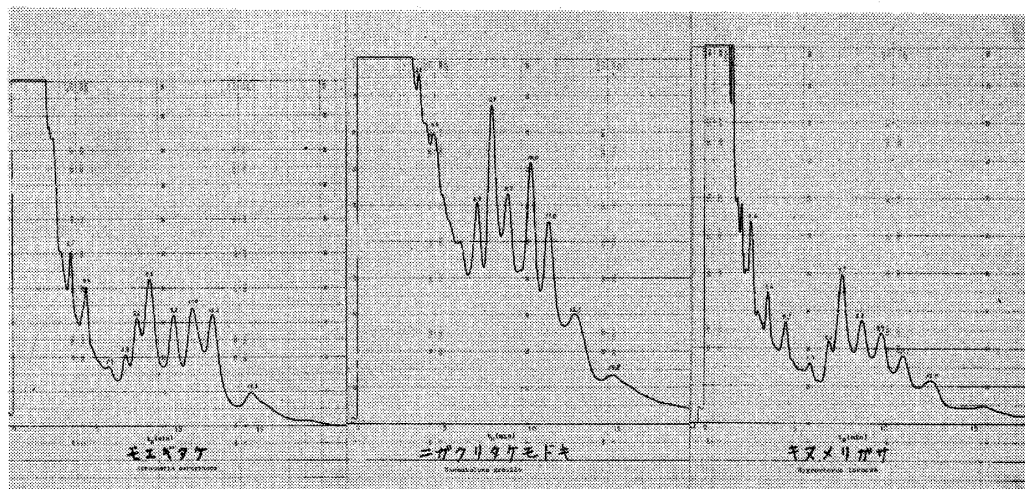
Agaricus placomyces
ハラタケモドキ



Agaricus silvaticus
モリハラタケ

Auricularia polytricha
アラゲキクラゲ

Ramaria formosa
ハナホウキタケ



Stropharia aeruginosa
モエギタケ

Naematoloma gracile
ニガクリタケモドキ

Hygrophorus lucorum
キヌメリガサ

t_R (min)	2.5	3.5	4.5	5.0	5.6	5.9	7.0	7.6	8.5	9.1	9.9	11.0	12.5		
RRT	0.23	0.32	0.41	0.45	0.51	0.54	0.64	0.69	0.77	0.83	0.90	1.00	1.17		
S.N.	25.3	26.7	27.3	27.7	28.2	28.7	29.2	29.4	29.5	29.8	30.3	30.4	31.2		
Sterols															
Mushrooms		Squa- lene						Calci- fe- rol (D ₂)	Ergo- sterol	Campe- sterol	Stigma- sterol	β -Sito- sterol	Sicro- atenol		
<i>Tricholoma virgatum</i> (Fr.) Gill. ネズミシメジ		+	+					+	≡		+	+	+		
<i>Cortinarius vibratilis</i> (Fr.) Fr. キアブラシメジ		+	+				+	+	≡		+	+	+		
<i>Rhodophyllus nitidus</i> Quél. コンイロイッポシメジ		+	+			+	+	+	≡		+	+	+		
<i>Boletus edulis</i> Fr. ヤマドリタケ		+		+				+	≡		+	+			
<i>Pholiota lubrica</i> (Fr.) Sing. チヤナメシムタケ		+	+					+	≡		+	+	+		
<i>Kuehneromyces mutabilis</i> (Fr.) Sing. et Sm. センボンイチャメガサ		+	+					+	≡		+	+	+		
<i>Laetiporus versisporus</i> (Lloyd) Imaz. ヒラフスベ		+			+			+	≡		+	+	+		
<i>Amanita pantherina</i> (Fr.) Secr. チンゲタケ		+						+	≡		+	+	+		
<i>Coriolus versicolor</i> (Fr.) Quél. カワラタケ		+	+			+	+	+	≡		+	+	+		
<i>Grifola obusta</i> (Berk.) Aoshima et Fulukawa ツガマイタケ		+	+	+			+	+	≡		+	+	+		
<i>Coriolus hirsutus</i> (Fr.) Quél. アラゲカワラタケ		+				+	+	+	≡		+	+	+		
<i>Cantharellus floccosus</i> Schw. ウスタケ		+	+				+	+	≡		+	+	+		
<i>Lactarius pominis</i> Rolland カラマツケチタケ		+	+			+	+	+	≡		+	+	+		

	* + (15.7)														
<i>Paxillus panuoides</i> (Fr.) Fr. イチヨウタケ	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
<i>Phallus impudicus</i> Pers. スッポンタケ	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
<i>Cortinarius aurantiofulvus</i> Hongo コガネフウセンタケモドキ	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
<i>Calvatia craniiformis</i> (Schw.) Fr. ノウタケ				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lactarius acris</i> Fr. ハイイロカラチタケ	+	+	+	+	+	+	+	+	+						
<i>Hygrocybe subviolaceus</i> Peck ウバノカサ				+	+	+	+	+	+						
<i>Boletinus pictus</i> (Peck) Peck ベニハナイグサ															
<i>Camarophyllus pratensis</i> . (Fr.) Karst. ハダいろガサ															
<i>Boletinus cavipes</i> (Opat.) Kalchbr. アミハナイグサ															
<i>Laetiporus sulphureus</i> (Fr.) Bond et Sing. var. <i>miniatus</i> (Jungb.) Imaz. マスダケ															
<i>Lentinus edodes</i> (Berk) Sing. シイタケ															
<i>Rozites flavoannulata</i> vasilieva キシヨウゲンジ															
アイゾメシメジ															
<i>Pholiota lenta</i> (Fr.) Sing. シロナメツムタケ															
<i>Sarcodon imbricatus</i> (Fr.) Karst. シシタケ															
<i>Tricholoma terreum</i> (Schaeffex) Fr. et Quél. クマシメジ															

* Retention time, t_R (min)

Mushrooms	t _R (min)	2.5	3.5	4.5	5.0	5.6	5.9	7.0	7.6	Ergo-sterol	8.5	Campe-sterol	9.1	Stigma-sterol	9.9	β-Sito-sterol	11.0	12.5	
		RRT	S.N.	Sterols															
<i>Xerocomus chrysenteron</i> (St. Amans) Quél. キシコウアワタケ		+	+	+	+		+	+	+	≡				+	+	+	+	+	
<i>Piptoporus betulinus</i> (Fr.) Karst. カンバタケ		±	±	±	±	±			+	≡				+	+	+	+	+	
<i>Trametes cinnabarina</i> Fr. シユタケ		±	+	+	+	±	±		+	≡				+	+	+	+	+	
<i>Sparassis crispa</i> Fr. ハナヒラタケ		±	+	+	+		+	+	±	≡				+	+	+	+	+	
<i>Naematoloma squamosum</i> (Fr.) Sing. var. <i>thraustum</i> (Kalchbr.) Imaz. et Hongo カバイロタケ		+	+	+	+	±		+	±	≡				+	+	+	+	+	
<i>Lactarius speciosus</i> (Burl.) Sacc. ムラサキカラハツ		±	±	±			+	+	+	≡				+	+	+	+	+	
<i>Lactarius deliciosus</i> (Fr.) S.F. Gray var. <i>japonicus</i> Kawam. アカハツタケ		+	±	±					±	≡				+	+	+	+	+	
<i>Schizophyllum commune</i> Fr. スエヒロタケ		±	+	+			±	+	±	≡				+	+	+	+	+	
<i>Clitocybe clavipes</i> (Fr.) Quél. ホテイシメジ		±	+	+					±	≡				+	+	+	+	+	
<i>Clavaria flava</i> (Schaeff.) Fr. ハハキタケ			+	+	+	+	+		±	≡				+	+	+	+	+	+
<i>Stropharia aeruginosa</i> (Fr.) Quél. モエギタケ			+	+		+			±	≡				+	+	+	+	+	+
<i>Pleurocybella porrigens</i> (Fr.) Sing. スギヒラタケ		+	±	±	±			+	±	≡				+	+	+	+	+	+
<i>Tubaria conspersa</i> (Fr.) Fayod チャムクエタケ								±	+	≡				+	+	+	+	+	+

[illegible]* Retention time, t_R (min)

[illegible]* Retention time, t_R (min)

	* # * (17.9)				* # * (19.2)				* + * (16.1)				* + * (14.8)				* + * (14.2)				* # * (15.6)			
<i>Craterellus cornucopioides</i> (Fr.) Pers. クロラッパタケ	+																							
<i>Hebeloma mesophaeum</i> (Pers.) Quél. ワカフサタケ	+	+	+	+	+	+			+	+			+								+	+	+	+
<i>Gloeostereum incarnatum</i> S. Ito et Imai ニカワウロコタケ	+	+	+	+	+	+			+	+			+								+	+	+	+
<i>Lyophyllum semitale</i> (Fr.) Kühn. スミゾメシメジ																								
<i>Hygrophorus lucorum</i> Kalchbr. キヌメリガサ																								
<i>Ramaria formosa</i> (Fr.) Quél. ハナホウキタケ																								
<i>Clavulinopsis pulchra</i> (Peck) Corner カベンタケ																								
<i>Lycoperdon pyriforme</i> Pers. タヌキノチャブクロ																								
<i>Naematoloma gracile</i> Hongo ニガクリタケモドキ																								
<i>Ramaria aurea</i> (Fr.) Quél. コガネホウキタケ																								
<i>Agaricus campestris</i> Fr. ハラタケ																								
<i>Russula virescens</i> (Zanted.) Fr. アイタケ																								
<i>Marasmius maximus</i> Hongo オオホウライタケ																								
<i>Hygrophorus pantoleucus</i> Hongo シロヒガサ																								
<i>Auricularia polytricha</i> (Mont.) Sacc. アラゲキクラゲ																								
<i>Lactarius deliciosus</i> (Fr.) S.F. Gray var. <i>japonicus</i> Kawam. アカモミタケ																								
アイイロウスタケ																								

* Retention time, t_R (min)

実験結果

1. エルゴステロールについて

(1) シイタケからのエルゴステロールのGC分析：エルゴステロールは Fig. 2 のごとく、 t_R (min), 8.4 (RRT, 0.76) で、純品試薬エルゴステロール（和光純薬）も t_R (min), 8.4 (RRT, 0.77) であった。前報¹¹⁾のように、試料に微量のエルゴステロールを加えて GC 分析を行うと、二つのピークは一致した。ツキヨタケ、ノボリリュウ、ツチグリなどによる結果も同様であった。

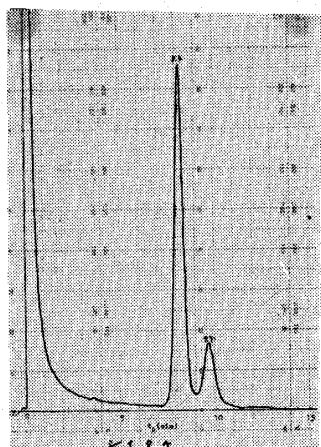


Fig. 2. Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in *Lentinus edodes*.

(2) シイタケからのエルゴステロールの GC-MS 分析：Fig. 2 のごとく t_R (min), 8.4 (RRT, 0.76) になったとき、質量分析を行うと、Fig. 3 (A) のマスチャートが得られた。Fig. 3 (B) は純品試薬エルゴステロールによるマスチャートで、両者は殆んど一致した。すなわち、シイタケのエルゴステロールと推定する物質の親ピークは m/e 396 で、対照の純品試薬エルゴステロール $C_{28}H_{44}O$ 分子量 396 のそれと一致した。純品試薬による m/e 363, 364 のピークが、シイタケからの試料のものは 365, 366 にある以外は、前者の m/e 68, 80, 81, 91, 93, 95, 110, 120, 131, 144, 158, 159, 172, 185, 198, 199, 212, 214, 253, 272 及び 337 など、殆んどすべて、後者のピークと一致した。また、これらの結果は、文献¹²⁾記載のエルゴステロールのマスチャートにほぼ一致した。ツキヨタケ、ノボリリュウ、ツチグリなどによる結果も、ほぼ同様であった。

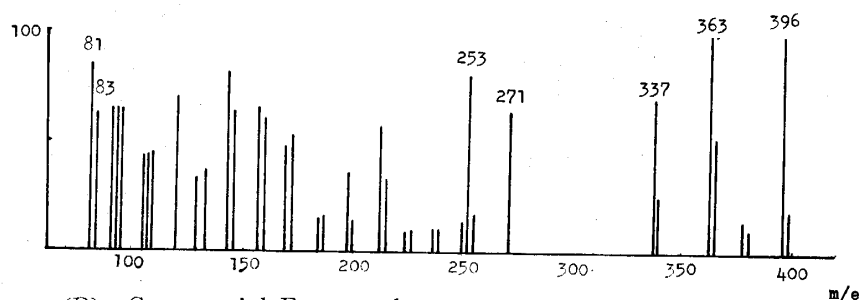
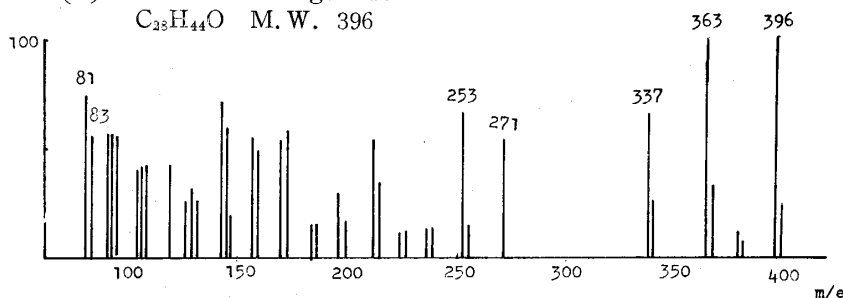
(A) Ergosterol from *Lentinus edodes*(B) Commercial Ergosterol
 $C_{28}H_{44}O$ M. W. 396

Fig. 3. Mass Spectra of the peak of t_R (min) 8.5 in Fig. 2 and of the Commercial Ergosterol.

2. スチグマステロールについて

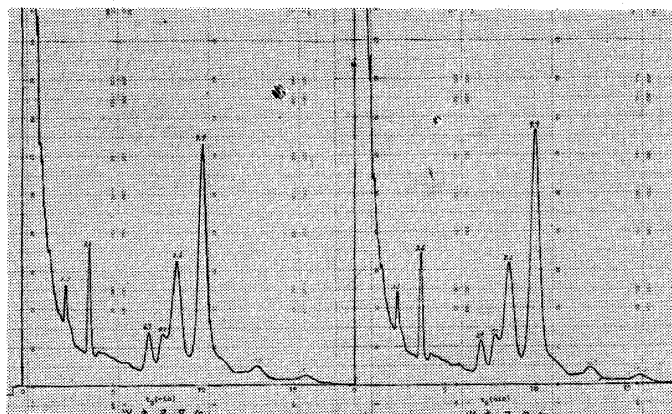


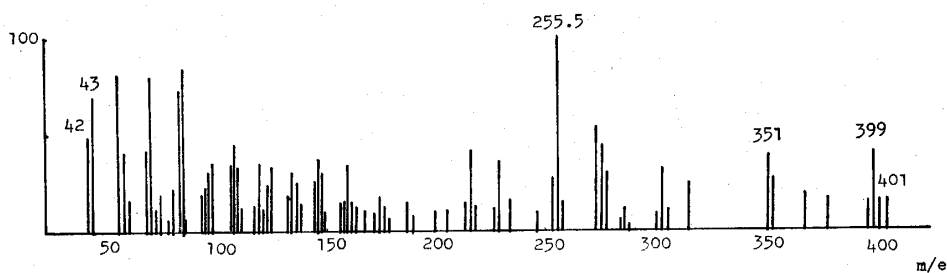
Fig. 4. (A). Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in *Lampteromyces japonicus*. (B). In the case of adding Trace Commercial Stigmasterol in advance.

(1) ツキヨタケからのスチグマステロールの GC 分析：純品試薬スチグマステロール（和光純薬）の $t_R(\text{min})$ は 9.9 (RRT, 0.90) であった。Fig. 4 (A) のごとく、ツキヨタケは GC 分析で $t_R(\text{min})$, 9.9 (RRT, 0.90) にスチグマステロールと思われるピークを示した。そこで、これと等量の試料にスチグマステロールの純品試薬を微量加えて GC 分析を行うと、Fig. 4 (B) のごとく、二つのピークは一

致した。シイタケ試料でも同様であった。

(2) シイタケからのスチグマステロールの GC-MS 分析：Fig. 2 のごとく、シイタケ試料の GC チャートが $t_R(\text{min})$ 9.9 (RRT, 0.90) になったとき、質量分析を行うと Fig. 5 (A) の GC-MS チャートが得られた。これによると、親ピークの m/e は明確でなかったが、Fig. 5 (B) のごとく、純品試薬スチグマステロール $C_{29}H_{48}O$ 分子量 412 の親ピークの m/e も明確でなかった。しかし、 m/e 56, 65, 70, 83, 95, 108, 120, 134, 146, 159, 173, 185, 199, 213, 231, 256, 272, 274, 350, 369 及び 379

(A) Stigmasterol from *Lentinus edodes*



(B) Commercial Stigmasterol
 $C_{29}H_{48}O$ M.W. 412

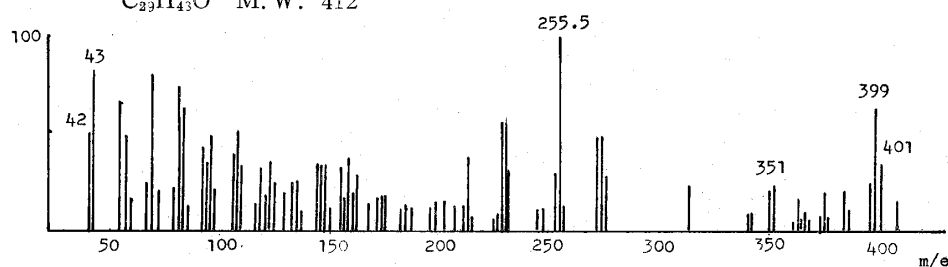


Fig. 5. Mass Spectra of the Peak of $t_R(\text{min})$ 9.9 in Fig. 2 and of the Commercial Stigmasterol.

などのマスチャートは、シイタケからの試料も、純品試薬による結果も共にほぼ一致し、また、文献¹²⁾スチグマステロールのマスチャートとも、ほぼ一致した。ツキヨタケでも同様な結果を得た。

3. カルシフェロール (D₂) について

(1) ノボリリュウからのカルシフェロールの GC 分析：純品試薬カルシフェロール (和光純薬) の t_R (min) は 7.6 (RRT, 0.69) であった。ノボリリュウからの試料を

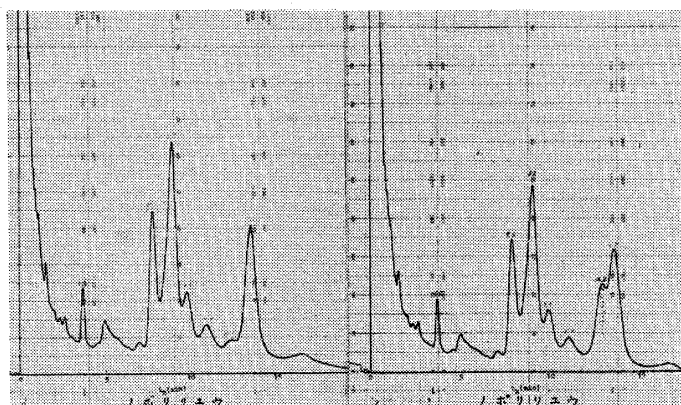
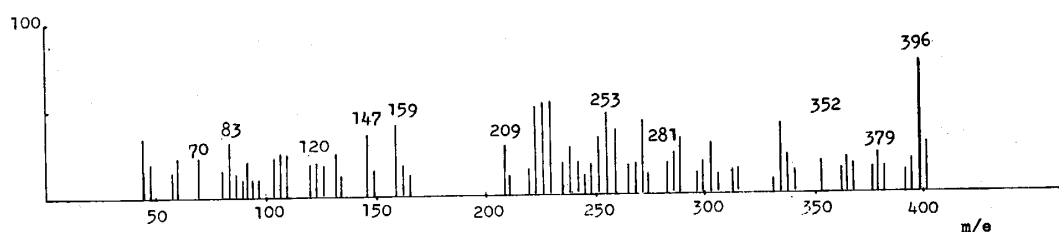


Fig. 6. (A) Gas Chromatogram of the Unsaponifiables in *Helvella crispa*. (B) In the case of adding Trace Commercial Siroaltenol in advance.

GC分析すると、Fig. 6 (A)のごとく t_R (min) 7.6 にカルシフェロールと思われるピークを示した。これと等量の試料に微量のカルシフェロールを加えてGC分析を行うと二つのピークは一致した。

(2) GC-MS 分析：ノボリリュウからの試料の t_R (min) が 7.6 になったとき、質量分析を行うと Fig. 7(A)のマスチャートが得られた。カルシフェロール純品試薬のマスチャートは Fig. 7 (B) のとおりであった。Fig. 7. (A) 及び (B) を比較するに、親ピークは共に 396 で、カルシフェロール $C_{28}H_{44}O$ の分子量 396 に一致し、その他、 m/e , 70, 83, 120, 147, 159, 209, 253, 281, 352, 363 及び 379 等は両者共に一致し、強度比もほぼ一致した。ただ、若干、 m/e 及び強度比に於て異なる点も認められた。

(A) Calciferol from *Helvella crispa*



(B) Commercial Calciferol (D₂)

$C_{28}H_{44}O$ M. W. 396

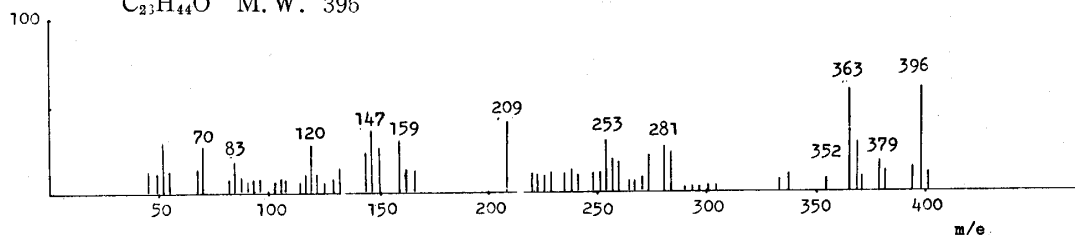
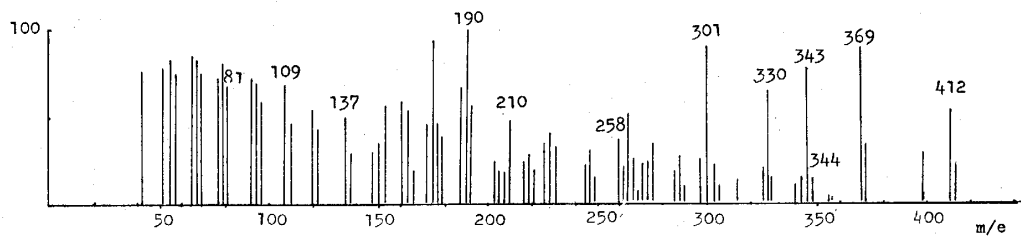
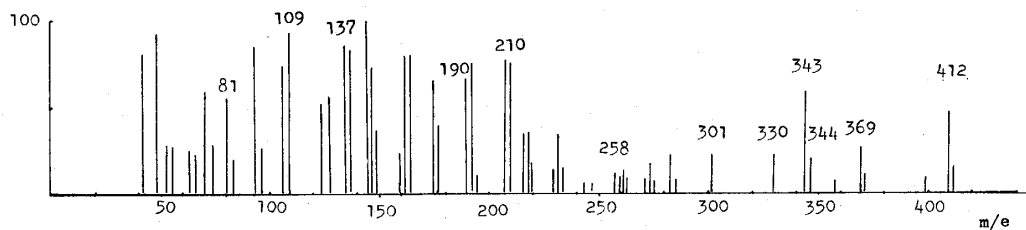


Fig. 7. Mass Spectra of the Peak of t_R (min) 7.6 in Fig. 6 and of the Commercial Calciferol.

4. スクワレンについて

(1) ツキヨタケからの試料のGC分析：純品試薬スクワレン（東京化成）の $t_R(\text{min})$ は3.6 (RRT, 0.32)であった。Fig. 4 (A)のごとくツキヨタケからの試料も $t_R(\text{min})$, 3.6 (RRT, 0.32)にシャープなピークを生じた。ツキヨタケからの試料の等量に、微量のスクワレン純品試薬を加えてGC分析を行うと、RRT, 0.32で二つのピークは重なった。

(2) ツキヨタケからの試料のGC-MS分析：ツキヨタケからの試料が $t_R(\text{min})$, 3.6 (RRT, 0.32)になったとき質量分析を行うと、Fig. 8 (A)のマスチャートが得られた。スクワレン純品試薬によるマスチャートはFig. 8 (B)のとおりであった。両者の親ピークの m/e は412で、スクワレン $C_{30}H_{50}$ の分子量412に一致した。さらに、 m/e 109, 137, 190, 210, 258, 301, 330, 343, 344, 369及び398等は両者共に一致し、強度比もほぼ一致した。ただ、若干 m/e 及び強度比に於て一致しないものが認められた。

(A) Squalene from *Lampteromyces japonicus*(B) Commercial Squalene $C_{30}H_{50}$ M.W. 412Fig. 8. Mass Spectra of the Peak of $t_R(\text{min})$ 3.6 in Fig. 4 and of the Commercial Squalene.5. β -シトステロールについて

β -シトステロール純品試薬(和光純薬)をGC分析すると $t_R(\text{min})$, 11.0 (RRT, 1.00)で、多数のキノコにもRRT, 1.00の不ケン化物が少量ずつ存在することが認められた。

6. シクロアルテノールについて

シクロアルテノール純品試薬（東京化成）をGC分析すると $t_R(\text{min})$, 12.8 (RRT, 1.17)であった。Fig. 6 (A)のごとくノボリリュウの不ケン化物にも $t_R(\text{min})$, 12.8のピークが存在し、等量の試料に微量のシクロアルテノール純品試薬を加えてGC分析を行うと、二つのピークは一致した (Fig. 6(B))。なお、GC-MS分析によるマスチャートは、シクロアルテノールの異性体であるラノステロールのマスチャートにほぼ一致

Table 2. Classification of Mushrooms according to the Quality and the Quantity of their Unsaponifiables.

Mushrooms	*	Classification**									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Hygrophoraceae スメリガサ科	7		4 2 1 1			1					2
Tricholomataceae キンメジ科	41	12 1 3 3 5				21 5 8 8			3		5
Amanitaceae テングタケ科	11		5 2 1 2				5				1
Agaricaceae ハラタケ科	10		4 2 2			1	1		2		2
Coprinaceae ヒトヨタケ科	6			1			4 2 2				1
Bolbitiaceae オキナタケ科	2		1		1						
Strophariaceae モエギタケ科	11		6 2 2 2			3 1 2					2
Cortinariaceae フウセンタケ科	19	8 1 1 2 4				5 1 1 3			5		1
Crepidotaceae チャヒラタケ科	1							1			
Rhodophyllaceae イッポンシメジ科	3	1		1		1					
Paxillaceae ヒダハタケ科	2				1	1					
Boletaceae イグチ科	13		7 1 6			5 2 2 1					1
Strobilomycetaceae オニイグチ科	1				1						
Russulaceae ベニタケ科	23		3 1 3			13 2 3 6					7
Clavariaceae ホウキタケ科	10	4 1 2 1					3				3
Hydnaceae ハリタケ科	6		3 1 2			3					
Cantharellaceae アンズタケ科	4			1							3
Corticaceae コウヤクタケ科	2							1			1

Phylacteriaceae イボタケ科	1	1							
		10	8	2	3				
Polyporaceae サルノコシカケ科	23	2	5	3	4	3	1		
		3							
Gasteromycetes 腹菌類	5	1		2					2
Heterobasidiae 異担子菌亜綱	3					2			1
Ascomycetes 子のう菌類	3							3	

* The number of materials for experiment.

**

- I The peak of $t_R(\text{min})$ 8.5 (ergosterol) is notable and the other peaks of $t_R(\text{min})$ 7.0, 7.6, 9.9, 11.0 and 12.8 exist less than 1%.
- II Furthermore the peak of $t_R(\text{min})$ 3.5 increases less than 1%.
- III Furthermore the peaks of $t_R(\text{min})$ 4.5 and 5.0 increase less than 1%.
- IV Furthermore the peaks of $t_R(\text{min})$ 2.5 and 5.6 increase less than 1%.
- V The peak of $t_R(\text{min})$ 8.5 is notable and the other peak of $t_R(\text{min})$ 9.9(stigmastrol) exists less than 20% and the peaks of $t_R(\text{min})$ 3.5, 4.5, 5.0, 5.9, 7.0, 7.6, 11.0 and 12.8 exist less than 1%.
- VI Furthermore the peaks of $t_R(\text{min})$ 7.6 and the others increase less than 20% and the peaks of $t_R(\text{min})$ 2.6 and 5.6 increase less than 1%.
- VII Furthermore the peaks of $t_R(\text{min})$ 9.9 and the others increase less than 50% in total.
- VIII The peak of $t_R(\text{min})$ 8.5 is notable and the peak of $t_R(\text{min})$ 9.1 (campesterol) is noticeable.
- IX The peaks of other than $t_R(\text{min})$ 8.5 (ergosterol) are notable.

した。

7. カンペステロールについて

カンペステロール純品試薬(ガスクロ工業)をGC分析すると $t_R(\text{min})$, 9.1 (RRT, 0.83) でノボリリュウなど若干のキノコに RRT, 0.83 の不ケン化物が存在し、微量のカンペステロール純品試薬を加えてGC分析を行うとピークは一致することが認められた。

III キノコの分類学上の位置とステロール組成

ステリン類がキノコにどのように存在するか、その存在の状態を9種類に分けキノコの分類学上の位置との関係を Table 2 に示した。

考 察

キノコの不ケン化物はGC分析によると主にRRT, 0.23, 0.32, 0.41, 0.46, 0.51, 0.54, 0.64, 0.69, 0.77, 0.83, 0.90, 1.00 及び 1.17 などのピークの物質であることが認められた。GC 分析及び GC-MS 分析によって物質の同定を行うためには、ピークがシャープで、しかも、他のピークと離れて存在する場合に良好な結果が得られるので、このような条件に合ったキノコとしてシイタケ、ツキヨタケ、ノボリリュウ及びツ

チグリなどを材料として実験を行い、次の結果を得た。

1. GC-MS 分析に於て、RRT, 0.76 の物質のマスチャートは、エルゴステロール純品のマスチャートにほぼ一致し、然も親ピークの m/e は 396 でエルゴステロールの分子量に一致した (Fig. 3)。キノコにエルゴステロールが存在することは、相当数のものについて既に認められている⁷⁾ので、RRT, 0.76 の物質はエルゴステロールである。

2. GC 分析に於て、キノコには RRT, 0.90 の物質が少量認められることが多い。スチグマステロール純品の RRT も 0.90 で、GC-MS 分析では、親ピークの m/e が明確でなかったとは言え、その他の m/e 及び強度化については Fig. 5 (A) (B) のごとく、両者がほぼ一致するので、キノコに認められる RRT, 0.90 の物質は恐らく、スチグマステロールであろう。

3. Fig. 7 のごとく GC-MS 分析を行って、カルシフェロール純品試薬とノボリリュウ不ケン化物の RRT, 0.69 の物質のマスチャートを比較するに、両者の親ピークの m/e は 396 でカルシフェロールの分子量 396 に一致し、その他の m/e 及び強度比もほぼ一致した。ただ若干、 m/e 及び強度比が一致しないものも認められたが、これは測定条件の相違によるものと思はれるので、キノコに存在する RRT, 0.69 の物質はカルシフェロール (D_2) である。シイタケを天日乾燥すると、RRT, 0.69 の物質の増加することが認められた。

4. ツキヨタケの試料を GC 分析すると、RRT, 0.32 にシャープなピークが認められた。スクワレン純品の RRT も 0.32 で、両者につき Fig. 8 のごとく GC-MS 分析を行うに、 m/e 及び強度比共ほぼ一致した。ただ両者の m/e 及び強度比の間に若干の相違が認められたが、これは測定条件の差によるものと思われたので、RRT, 0.32 の物質はスクワレンである。スクワレンはステリン形成の中間物質であることが、動物体でも植物体でも共に認められている。

5. キノコには RRT, 1.00 の物質が少量認められた。GC 分析で RRT の一致から β -シトステロールと推定したが、別の実験ではクコの葉の場合、RRT, 1.00 に顕著で、シャープなピークを認め、GC-MS 分析の結果 β -シトステロールと決定²⁾したが、キノコの場合でも、RRT, 1.00 の物質は β -シトステロールと思われる。

6. キノコには RRT, 1.17 の物質が少量認められた。GC-MS 分析でのマスチャートはラノステロールとほぼ同様であった。しかし、ラノステロールの異性体であるシクロアルテノールは RRT, 1.17 ($t_R(\min)$, 12.8) で殆んどラノステロールに等しく、植物体に存在し¹⁴⁾、そのステリン類の代謝中間物質として推定¹³⁾されているので、これは恐らくシクロアルテノールであろう。

7. 少数のキノコには GC 分析に於て RRT, 0.83 の物質が認められた。このピークは RRT, 0.76~0.77 のエルゴステロールと常に接近しているので、GC-MS 分析は困難であった。カンペステロールの RRT は 0.83 で、クコの葉の場合、RRT, 0.83 の物質は GC-MS 分析の結果カンペステロールであった²⁾ので、キノコの場合も、RRT, 0.83 の物質はカンペステロールと思われる。

前記のごとく、キノコの不ケン化物には、スクワレン、カルシフェロール (D_2)、エルゴステロール、カンペステロール、 β -シトステロール、及びシクロアルテノール (或はラノステロール) その他のステロールが存在し、一般にはエルゴステロールがとくに

著量に存在するものが多いが、エルゴステロール以外のステロールが多いものも総数の18%あった。ノボリリユウはエルゴステロールの殆んど認められない唯一のキノコであった。カンペステロールは比較的少数(7%)のキノコにその存在が認められた。その他、Table 1のごとく、25種のキノコは RRT, 1.29, 1.34, 1.40, 1.43, 1.46, 1.58 及び 1.97 など、保持時間の比較的長い不ケン化物を含有しており、とくに、マツシメジ、カイメンタケ、チャウロコタケ、モリハラタケ、ウスベニフチタケ及びシワカラカサタケにはこのような不ケン化物2種類を含有していることが認められた。

また、さらに検討すべき問題はあるが Table 2 が示すように、キノコの分類学上の位置と、そこに存在するステリンとは、質的及び量的に密接な関係のあることが認められた。すなわち、不ケン化物をその特徴から9種類に分類するとき、1—4はエルゴステロールが、とくに著量に存在する点で共通であり、5—7はエルゴステロールは著量に存在するが、他のステロールも多い点が共通しているので、共通しているものを、それぞれ一括すれば、例えば、ヌメリガサ科のキノコには、エルゴステロールだけが顕著に存在するものも多く、ヒトヨタケ科のキノコには、エルゴステロールも多いが、他のステロールも多い傾向があり、ベニタケ科のキノコも、同様な傾向があるものと、ステロール含量の少ないものが50%位の割合で存在するなど、キノコの種類によって、それに存在するステロールが推定できるという興味ある事実が明らかとなった。

要 約

207種のキノコの不ケン化物を GC 分析及び GC-MS 分析で検討し、スクワレン、カルシフェロール、エルゴステロール、カンペステロール、 β -シトステロール、シクロアルテノールその他少数の未知物質を検出した。一般にエルゴステロールはキノコの主なステロールであるが、その他のステロールが多いキノコも相当数あり、ステロール含量の比較的少ないキノコも少数あった。なお、キノコに存在するステロールの種類などはキノコの種類と深い関係のあることが認められた。

終りに、キノコの鑑定につき御教示を載いた今関六也博士、前横浜国立大学教授故今井三子博士、神奈川県林業試験場技官七宮清氏、貴重な試薬を分与して載いた日本大学理工学部教授松本太郎博士、通産省高分子科学研究所技官田中芳雄博士、GC-MS 分析の機会を与えられた本学環境科学研究センター並びに分析につき御援助載いた猪子正憲氏に深く感謝致します。なお本研究には食品学栄養学研究室を巢立たれた諸君の積極的な協力があつたことを付言させて戴きます。

1. 脇田正二：農化，投稿中
2. 脇田正二：環境化学研究センター紀要，第3巻 P. (1977)
3. 宮道悦男：植物成分研究法，P.447 (1970)，広川書店
4. 木島正夫，柴田承二，下村孟，東丈夫：薬用植物大事典 P.162, 223, 341(1962)，広川書店
5. 稲垣 勲：植物化学，P.141 (1958)，医歯薬出版 K. K.
6. 刈米達夫：植物化学，P.155 (1969)，広川書店
7. 平尾子之吉：日本植物成分総覧（第3巻）P.728~788 (1956)，佐々木書店
8. 山川民夫，西沢一俊，寺山宏，安藤鋭郎：生化学研究法（第1巻）P.93 (1967)，朝倉書店
9. 舟阪渡，池川信夫：最新ガスクロマトグラフィー（第1巻）P.311~314 (1970)，広川書店
10. W.J.A. Vandenheuve, E.C. Horning : Biochim, Biophys, Acta, 64, 416~429 (1962).
11. 脇田正二：農化，50, 373 (1976).

12. E. Stenhagen, S. Abrahamsson and F.W. McLafferty : Registry of mass spectral data, Vol. 6 and 7 (1974). JOHN WILEY & SONS.
13. 津田恭介 : ステロイド, P.150 (1972), 朝倉書店
14. T. Itoh, T. Tamura and T. Matsumoto : Lipids, 9, No. 3, 173 (1974).