野生キノコ類のエタノール抽出画分
における有機酸組成

吉田 博*・菅原龍幸**・林 淳三*

Composition of Organic Acids in Ethanolic
Extracts of Wild MushroomsHiroshi YOSHIDA*, Tatsuyuki SUGAHARA**
and Junzo HAYASHI** Kanto-gakuin Women's Junior College,
Mutsuura-machi, Kanazawa-ku,
Yokohama-shi, 236** Kagawa Nutrition College, Komagome,
Toshima-ku, Tokyo, 170

Organic acids in the ethanolic extracts of 14 species of wild mushrooms were investigated by gas-liquid chromatography. The results obtained were as follows: Organic acid contents were 0.2 to 4.9% on a dry weight basis and ten kinds of organic acids (malic, succinic, fumaric, pyroglutamic, citric, oxalic, α -ketoglutaric, lactic, acetic and formic acids) were identified. Malic, succinic, fumaric, pyroglutamic and citric acids were found to be predominant in the samples, and oxalic, α -ketoglutaric, acetic and formic acids were also found in all the samples. There were remarkable differences in the distribution patterns of organic acids among the different species of wild mushrooms.

(Received Aug, 18, 1982)

著者らは各種キノコ類の嗜好特性を明らかにする目的で、それらの呈味成分¹⁾⁻⁵⁾、栄養成分⁶⁾⁻⁷⁾および嗜好性⁸⁾⁻⁹⁾などについて検討を加えてきた。前報⁵⁾においては、31種類の本邦産食用キノコについて、それらの呈味成分の一つであると考えられる有機酸について報告したが、今回、前報において未報告の14種類の野生キノコ類を入手し得たことから、それらについても同様な検討を加えた結果、若干の知見が得られたのでここに報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

分析に供したキノコ類は野生キノコの14種類である。これらのキノコは1981年秋に東北および中部地方で採取したものである。試料の産地および入手量を Table 1

に示す。いずれも子実体を凍結乾燥後、30メッシュ以下に粉碎して分析に供した。

(2) 有機酸の定量

有機酸の抽出法としては熱水抽出法およびエタノール抽出法が常用されていることから両抽出法による抽出状況の比較を数種のキノコ類(ナラタケ、ブナハリタケ、アシゲロタケおよびシロウロ)について行なった。その結果、両抽出法には顕著な差はなく、抽出液の保存上の有利さから本実験では80%エタノール抽出法を適用した。すなわち、凍結乾燥粉碎試料5.0gに80%エタノール溶液200mlを加え、還流冷却管を付した後に1時間沸騰抽出を行なった。抽出残渣はさらに2回、同様の方法で抽出を行ない、抽出液を合せて1夜静置後、生じた沈殿物を濾過法で除去した。

濾液は0.1N水酸化ナトリウム溶液で中和後、50℃以下で減圧濃縮して50ml以下とし、生じた沈殿物を濾過法で除去したのちに液量を50mlに定容し、その20mlをDOWEX 50 W-X₈ (H型, 100~200メッシュ)カラム(2.2×8cm)に通した。カラム内を100mlの水で水洗後、通過液と洗液をDowex WGR (OH型, 20~50メッシュ)カラム(2.2×8cm)に通し、有機酸を吸着させたのちにカラム内を100mlの水で洗った。カラムに吸着させた有機酸は2Nアンモニア水の60mlを用いて有機酸アンモニウム塩として溶出させ、50℃でアンモニア臭が消失するまで減圧濃縮した。この濃縮液をDowex 50 W-X₈カラム(2.2×8cm)に通して遊離酸とし、カラム内を水50mlで水洗したのちにこれら通過液を0.1N水酸化ナトリウム溶液で中和し、減圧濃縮後、濃縮液を20mlに定容した。その、5~20mlを減圧濃縮乾固し、以下、山下らの報告¹⁰⁾に準拠し、*n*-ブタノール2ml、無水硫酸ナトリウム2g、濃硫酸0.2mlを加え、30分間静かに煮沸してブチルエステル化し、冷却後、水5mlを加え、*n*-ヘキサン5mlを用いて有機酸ブチルエステルを抽出した。同様な抽出操作を3回くり返したのちに抽出液を合せ、内部標準物質として0.5%の*n*-トリデカンの*n*-ヘキサン溶液1mlを加え、*n*-ヘキサンで25mlに定容後、その10 μ lをGLCに供した。

GLCは島津5A型を使用し、カラムは、5%-Reoplex 400を充てん剤とした ϕ 3mm×2mのガラスカラムを用い、分析条件は前報⁵⁾に準拠した。定量は有機酸の標準品各1 μ g/ μ lを使用し、タケダリケン製インテグレーター-TR 2217を用いて内部標準法¹¹⁾により検量線を作成

* 関東学院女子短期大学 (〒236 横浜市金沢区六浦町 4834)

** 女子栄養大学 (〒170 東京都豊島区駒込 3-24-3)

Table 1 Summary of samples

Japanese name	Scientific name	Collected prefecture	Sample size (kg)
Haritake-ka			
1. Bunaharitake	<i>Creolophus pergameneus</i>	Miyagi	0.3
2. Ezoharitake	<i>Creolophus septentrionalis</i>	Yamagata	0.4
Ibotake-ka			
3. Kerouji	<i>Sarcodon scabrosus</i>	Nagano	0.3
Iguchi-ka			
4. Beniiguchi	<i>Boletellus retisporus</i>	Fukushima	0.3
5. Nigaiguchimodoki	<i>Tylopilus neofelleus</i>	Saitama	0.4
Kikobutake-ka			
6. Kaimentake	<i>Phaeolus schweinitzii</i>	Yamagata	0.3
Moegitake-ka			
7. Tsuchisugitake	<i>Pholiota terrestris</i>	Yamagata	0.3
Sarunokoshikake-ka			
8. Ashigurotake	<i>Polyporellus picipes</i>	Fukushima	0.2
Shimeji-ka			
9. Naratake	<i>Armillaria mellea</i>	Fukushima	0.6
10. Naratakemodoki	<i>Armillaria tabescens</i>	Fukushima	0.5
11. Shiroshimejimodoki	<i>Clitocybe geotropa</i>	Fukushima	0.4
12. Tsukiyotake	<i>Lampteromyces japonicus</i>	Yamagata	0.5
Shōro-ka			
13. Shōro	<i>Rhizopogon rubescens</i>	Fukushima	0.3
Tengutake-ka			
14. Shiroonitake	<i>Amanita echinocephala</i>	Nagano	0.3

した。なお、コハク酸とフマル酸の分離は本法ではできないので、両有機酸については TMS 誘導体¹²⁾にして分離させたのちに既報²⁾に準拠して定量した。なお、有機酸類の定性はブチルエステル誘導体および TMS 誘導体の2条件による標準品との GLC 保持時間の比較の他に薄層クロマトグラフィー¹³⁾により行なった。

2. 実験結果および考察

各種キノコ類の乾物重量 100 g 当りの各種有機酸含量を Table 2 に、ナラタケの有機酸ブチルエステルのガスクロマトグラムを Fig. 1 に示す。

ナラタケのガスクロマトグラムからは 10 個のピークが検出され、同定の結果、ピーク 1~7, 9 および 10 はそれぞれギ酸、酢酸、乳酸、シュウ酸、コハク酸（フマル酸）、リンゴ酸、 α -ケトグルタル酸、ピログルタミン酸およびクエン酸であることを確認した。ピーク 8 は小ピークではあるが数種のキノコ類（ブナハリタケ、エゾハリタケ、ニガイグチモドキ、ナラタケ、ナラタケモドキ、シロオニタケ）からも検出されており、酒石酸、ピルビ

ン酸、グリコール酸、グリオキシル酸、カブロン酸、オキザル酢酸、レブリン酸、 ϵ -アコニット酸およびキナ酸等の標準有機酸を用いて検討したが、いずれのピークとも保持時間は合致せず、上記の有機酸以外のピークであると考えられる。

分析に供した 14 種のキノコ類のガスクロマトグラムからは、8~10 個のピークが検出され、それらのピークはナラタケにおいて検出されたピークより構成されており、各種キノコ類の構成有機酸は比較的限られた有機酸より構成されていることが見出された。このような構成有機酸の特徴は前報²⁾において報告した 31 種のキノコ類についても同様であった。

各種キノコ類の乾物重量 100 g 当りの有機酸含量は 0.2~4.9 g（平均 2.8 g）の間に分布し、カイメンタケ、アシゲロタケおよびエゾハリタケのように 1.0 g 以下の低含量を示すものから、ナラタケモドキ、ツキヨタケおよびツチスギタケのように 4.0 g 以上の高含量を示すものまで、その含量はキノコの種によりかなりの差異が認

Table 2 Organic acid contents in the various mushrooms

Species	(mg/100g dry weight)										
	Formic	Acetic	Lactic	Oxalic	Succinic	Fumaric	Malic	α -Keto-glutaric	Pyro-glutamic	Citric	Total
Haritake-ka											
1. Bunaharitake	8	6	3	411	912	684	1 185	45	167	213	3 634
2. Ezoharitake	5	15	4	27	594	15	150	5	42	27	884
Ibotake-ka											
3. Kerouji	11	13	—	31	189	918	405	7	15	71	1 660
Iguchi-ka											
4. Beniiguchi	4	11	25	30	318	720	1 368	30	102	129	2 737
5. Nigaiguchimodoki	5	6	3	27	540	459	1 377	54	189	243	2 903
Kikobutake-ka											
6. Kaimentake	4	8	—	15	123	60	6	5	8	6	235
Moegitake-ka											
7. Tsuchisugitake	8	8	6	27	297	1 107	2 295	27	135	96	4 006
Sarunokoshikake-ka											
8. Ashigurotake	5	8	—	32	28	45	420	5	45	120	708
Shimeji-ka											
9. Naratake	9	12	70	42	729	690	1 419	9	135	60	3 175
10. Naratakemodoki	8	6	125	27	459	1 242	2 709	27	162	135	4 900
11. Shiroshimejimodoki	5	15	5	23	216	1 473	1 620	29	135	204	3 725
12. Tsukiyotake	4	8	5	96	1 080	675	1 998	27	702	42	4 637
Shōro-ka											
13. Shōro	13	11	—	42	351	258	675	27	1 527	1 014	3 918
Tengutake-ka											
14. Shiroomitake	11	18	—	63	30	477	30	63	318	337	1 347

められた。試料は凍結乾燥処理したのちに分析に供したが、この処理により揮発酸（ギ酸および酢酸）の揮散が危惧されたことから数種のキノコ類（ナラタケ、ブナハリタケ、アシグロタケおよびショウロ）の生および凍結乾燥試料について有機酸分析を行った。その結果、ギ酸および酢酸以外の有機酸類の定量値には顕著な差は認められなかったがギ酸および酢酸の定量値はやや低値を示し、一部は揮散していることが知られた。以上のように、揮発酸の分析値には多少問題があるが、キノコ類中の揮発酸（ギ酸および酢酸）は量的にも少なく、また、主要な構成有機酸ではないことなどから本報告のように呈味成分の関連を知ることを目的とする場合、その評価への影響は少ないものと考えられた。

Table 2 に示すように、各種キノコ類の主要有機酸類はリンゴ酸、コハク酸、フマル酸、ピログルタミン酸お

よびクエン酸で、各種キノコ類の総有機酸量の8割以上がこれら有機酸の2～3種より構成されており、その構成パターンもキノコの種により特徴のあることが認められた。すなわち、ブナハリタケ、クロウジ、ベニイグチ、ニガイグチモドキ、ツチスギタケ、ナラタケ、ナラタケモドキおよびツキヨタケはリンゴ酸、コハク酸およびフマル酸が主体を占め、エゾハリタケはコハク酸とリンゴ酸が、シロシメジモドキはリンゴ酸とフマル酸が、カイメンタケはコハク酸とフマル酸が、アシグロタケはリンゴ酸とクエン酸が、シロオニタケはフマル酸、クエン酸およびピログルタミン酸が主体を占める種であった。一方、ショウロはピログルタミン酸とクエン酸が主体を占め、とくにピログルタミン酸は最高分布率を示し、前記のキノコ類には見られない有機酸分布傾向を有していた。

以上、エタノール抽出画分における各種キノコ類の有

Fig. 1 Gas chromatogram of butyl derivatives of acids contained in Narataka mushroom (*Armillaria mellea*)

Condition: column, 5%-Reoplex 400 on chromosorb W AW, 3mm i. d. $\times$ 2m, inject. & detect. temp., 235°C, column temp. 50~200°C at 6°C/min starting from 6 min after injection. carrier, N₂, 60 ml/min, detector, FID.

1. formate, 2. acetate, 3. lactate, 4. oxalate, 5. succinate, 6. malate, 7. α -ketoglutarate, 8. unknown, 9. pyroglutamate, 10. citrate, B. butyl ether, I.S. *n*-tridecane

機酸組成は種により、それぞれ特徴を有し、各種キノコ類の呈味に微妙な差異を与える一要因となっているものとする。

3. 要 約

14種の野生キノコ類のエタノール抽出液中の有機酸組成をガスクロマトグラフィーにより検討し、以下の結果を得た。

(1) 各種キノコ類の乾物重量 100 g 当りの有機酸含量は 0.2~4.9 g (平均 2.8 g) の範囲に分布し、キノコの種により含量に顕著な差異があった。

(2) キノコ類の有機酸としてリンゴ酸、コハク酸、フマル酸、ピログルタミン酸、クエン酸、 α -ケトグルタル酸、シュウ酸、乳酸、酢酸およびギ酸が確認された。各種キノコ類を構成する有機酸は 9~10 種類の有機酸よりなり、総有機酸量の 8 割以上が 2~3 種類の有機酸で構成され、その分布パターンもキノコの種により特徴を有していた。

終りにキノコ類の鑑別に当り御指導をいただいた東京都衛生研究所青木実先生に深く感謝致します。

文 献

- 菅原龍幸・新井静子・青柳康夫・国崎直道: 栄養と食糧, **28**, 477 (1975).
- 吉田 博・菅原龍幸・林 淳三: 日食工誌, **26**, 356 (1979).
- 高田宮子・佐々木弘子・松本伸子・青柳康夫・菅原龍幸: 日食工誌, **27**, 573 (1980).
- 青柳康夫・佐々木弘子・菅原龍幸: 農化, **54**, 253 (1980).
- 吉田 博・菅原龍幸・林 淳三: 日食工誌, **29**, 451 (1982).
- 吉田 博・林 淳三・青柳康夫・菅原龍幸: 日食工誌, **26**, 221 (1979).
- 青柳康夫・正田悦子・菅原龍幸: 栄養と食糧, **29**, 460 (1976).
- 松本伸子・青柳康夫・平野雄一郎・菅原龍幸: 日食工誌, **25**, 129 (1978).
- 松本伸子・青柳康夫・菅原龍幸: 日食工誌, **26**, 193 (1979).
- 山下市二・田村太郎・吉川誠次・鈴木重治: 分析化学, **20**, 1334 (1973).
- 鹿又和郎: 食品の機器分析, p. 647, (光琳書院, 東京) (1971).
- SWEELY, C. C., BENTLEY, R., MAKITA and WELLS, W. W.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 2497 (1963).
- PETROWITZ H. J., PASTUSKA G.: *J. Chromatog.*, **7**, 128 (1962).

(昭和 57 年 8 月 18 日受理)