食用きのこ類の 5'-ヌクレオチド含量と 加工におけるそれらの変化†

関沢憲夫*・遠山 良*・関村照吉*

Changes in 5'-Nucleotide Content in Edible Mushrooms during Processing

(Studies on Manufacturing of Edible Mushroom part III)

Norio SEKIZAWA*, Ryo TOYAMA*, Teruyoshi SEKIMURA*

* Iwate Prefecture Brewing and Food Research Institute 26,
Tsushida, Tonan-mura, Shiwa-gun, Iwate-ken 020

Effect of primary processings on 5'-nucleotide content in seven species of mushrooms including *Hygrophorus russula* (Sakurashimeji), *Lyophyllum fumosum* (Shakashimeji), *Armillariella mellea* (Naratake), *Lentinus edodes* (Shiitake), *Lactarius hatsudake* (Hatsutake), *Ramaria botrytis* (Hokitake) *Grifola frondosa* (Maitake), were examined. Three different conditions were used to extract 5'-nucleotide from mushrooms. There was significant difference in 5'-nucleotide content among species of mushrooms. *Lac. Hatsudake*, *Lyo. fumosum*, and *G. frondosa* contained more 5'-nucleotides than *H. russula* and *R. botrytis*. 5'-Nucleotide contents of mushroom which desalted after salting stock were extremely low. No significant difference in 5'-Nucleotide of seven species of mushrooms was found among drying methods. Extraction periods with boiling water had no effect 5'-nucleotide contents. On the contrary the soaking for three hours before extraction with boiling water decreased the contents. Seven species of mushrooms showed similar change in the content of guanosine-5'-monophosphate.

(Received Oct. 1, 1990)

乾しいたけの煮出し汁中にシチジン-5'-リン酸 (5'-CMP), アデノシン-5'-リン酸 (5'-AMP), ウリジン-5'-リン酸 (5'-UMP), グアノシン-5'-リン酸 (5'-GMP) が存在することが明らかにされ, そのうち特に 5'-GMP は乾しいたけの旨味に関与しているものと考えられている¹⁾. これらの 5'-モノヌクレオチド (以下 5'-Nt と略記) は, マッシュルームや生シイタケにおいては煮出しの温度や時間²⁾, pH³⁾ 等によって含量にかなりの差があることが報告されている. この原因は 5'-Nt がキノコ中のリボ核酸等の自己消化生成物であり, 5'-Nt は分解が更に進めばヌクレオチドを生

成することによって考えられている. このような 5'-Nt の生成又は分解に係わる酵素の至適温度やpH, 更に耐熱性, 耐凍性等の性質が研究され^{4)~14)}, 各種の処理による 5'-Nt の蓄積量は, これらの酵素の性質の差として説明されている.

乾燥しいたけ中の 5'-Nt 含量は生の 2 倍量あり¹⁵⁾, また熱風, 凍結, 遠赤外の各乾燥法にくらべ冷風乾燥は 5'-Nt 含量が著しく低い¹⁶⁾. また天日乾燥は 30℃~80℃ の送風乾燥より 5'-Nt の蓄積量が多いが¹⁷⁾, この原因は乾燥期間中低温に経過したために酵素がほとんど働かなかったことによるものと考えられている. 5'-Nt

† 食用きのこの加工に関する研究 (第 3 報) (前報, 文献 22)

* 岩手県醸造食品試験場 (〒020 岩手県紫波郡都南村津志田 26)

の含量は水戻しやその後の調理条件によっても影響され、水温下で膨潤させた後いろいろな昇温速度で加熱したところ、毎分 7℃ の昇温速度が最も 5'-Nt 含量が高かったことが報告されている¹²⁾。また調理後の物理性を加味し、水戻しの好ましい条件として、低温または室温で、必要な軟化を示す最少時間戻すのが良いとされている¹⁸⁾¹⁹⁾。干しいたけの銘柄別では 5'-Nt 含量は黒子を除き大差はなく、また部位別では菌傘部は菌柄部より著しく多い²⁰⁾。キノコの種類別の 5'-Nt 含量について橋田ら¹⁵⁾は約 10 種のキノコの 5'-Nt 含量を測定し、供試試料のうちではホンシメジに多かったことを報告している。また塩谷²¹⁾は 21 種類のキノコを供試して過塩素酸及び熱水による抽出をおこない、二つの抽出法による 5'-Nt 含量の差から熱水抽出の方が多いグループとその反対のグループ、更に両抽出法にあまり差がないグループに分類されることを示した。そしてその原因は、5'-Nt、ヌクレオシド、塩基の消長から加熱過程における 5'-Nt の生成と分解の速度の差によると推論した。筆者らは特産品開発のための資料を得ることを目的として、天然産のうち外観等の特徴や生産量などからみて加工の対象となり得ると思われるキノコに主眼をおき、5'-Nt 含量を検討してきた²²⁾。野生種のうちでも特に菌根菌を加工原料とするには、貯蔵のための一次加工は避けられず、本報ではキノコの種類ごとの乾燥や塩蔵と 5'-Nt との関連、更にこれらの要因と煮出し条件との関係について検討した結果を報告する。

実 験 方 法

1. 試料及びその調整法

(1) 試 料

サクラシメジ (*Hygrophorus russula*)、シャカシメジ (*Lyophyllum fumosum*)、ナラタケ (*Armillariella mellea*)、シイタケ (*Lentinus edodes*)、ハツタケ (*Lactarius hatsudake*)、ホウキタケ (*Ramaria botrytis*)、マイタケ (*Grifola frondosa*) の 7 種のキノコを供試した。これらのうちシイタケ及びマイタケは栽培種である。試料はすべて 9 月下旬から 10 月中旬にかけて卸売市場で購入し、購入後ただちに土砂等を除き、可食部すべてを試料とした。また大型のものは個体差を避けるためナイフで切断し各処理区に配分した。乾燥処理の各区は、乾燥完了後 2.2 mm のふるい通過程度に粗砕して 0℃ の冷蔵庫に 120 日間保管した。

(2) 加工及び分析試料の抽出

7 種の供試キノコを加工法と分析試料の抽出条件との組合せによって Table 1 のように 8 つの区とした。

i) 加工方法

a) 低温減圧乾燥：シリカゲルを入れてある真空デシケーターに試料を入れ、減圧後 0℃ の冷蔵庫に入れ、翌日シリカゲルの更新と減圧を手速くおこない、再び冷蔵庫に入れ、乾燥が完了するまで (3 日間) 同様に処理した。

b) 加熱送風乾燥：シイタケの標準的な乾燥法によった。即ち送風乾燥器の温度を 40℃ でスタートさせて乾燥が進むにつれて徐々に昇温し、60℃ で仕上げ乾燥

Table 1 Treatment for storage of mushroom and extraction conditions of 5'-nucleotides from mushroom

No	Treatment	Extraction condition
1	Drying at 0°C reduced atmosphere	Boiling for 10 min
2	"	Boiling for 30 min
3	"	After soaking in water for 3 h at 20°C, boiling for 30 min
4	Drying by heated air	Boiling for 10 min
5	"	Boiling for 30 min
6	"	After soaking in water for 3 h at 20°C, boiling for 30 min
7	Salting	After desalting (by soaking in hot water for 10 min, then soaking in water 5 h at room temp.), boiling for 30 min
8	"	After desalting (by soaking in water for 24 h at room temp.), boiling for 30 min

をおこなった。

c) 塩蔵: 原料の 25% の食塩を加え重石をして 0℃ の冷蔵庫に 120 日間保管した。

ii) 抽出条件

a) 熱湯 10 分 (又は 30 分) 間抽出: 2.2 mm のふるいを通過させた乾燥粗砕試料 0.5 g を三角フラスコにとり、これに沸とう水約 90 ml を加え、ただちに沸とう浴中に移し、10 分 (又は 30 分) 間抽出し、水道水で冷却後 100 ml にメスアップした。この一部を No. 6 の濾紙で濾過後更に 0.45 μ m のメンブランフィルターで濾過し液体クロマトグラフ分析用試料とした。

b) 室温水 3 時間浸漬後熱湯 30 分間抽出: 乾燥粗砕試料 0.5 g に 20℃ の水 90 ml を加え、3 時間放置した後そのまま沸とう浴中に移して 30 分間加熱し、以後は前区と同様に処理した。

c) 熱湯及び室温水脱塩後熱湯抽出: 塩蔵試料を約 10 倍量の熱湯に入れて緩やかに攪拌し、10 分間経過後室温水に移し、ときどき替水して 5 時間塩出しをおこなった後ミキサーで粉碎し、熱湯 30 分間抽出し、以後は乾燥試料の場合と同様に処理した。

d) 室温水脱塩後熱湯抽出: 塩蔵試料を室温水に入れ、日中はときどき替水して 24 時間脱塩後ミキサーで粉碎し、以後は前区と同様に処理した。

2. 高速液体クロマトグラフィーの条件

装置: ウォーターズ製高速液体クロマトグラフ

ポンプ: 6000 A, 検出器: 490 E

カラム: マイクロボンダパック C₁₈

Fig. 1 High performance liquid chromatogram of the standard mixture of 5'-nucleotides

5'-CMP: cytidine-5'-monophosphate

5'-UMP: uridine-5'-monophosphate

5'-AMP: adenosine-5'-monophosphate

5'-GMP: guanosine-5'-monophosphate

5'-IMP: Inosine-5'-monophosphate

5'-XMP: xanthosine-5'-monophosphate

流量: 1 ml/min

溶離液: 0.01 M リン酸一アンモン, 0.4% トリエチルアミンを同一溶液に含み、リン酸で pH 3.2 又は 3.1 に調整, メタノール 3% (一部 2% 又は 4%)

3. ピークの同定

Fig. 1 に標準液, Fig. 2 に試料, Fig. 3 に試料+標準 5'-ヌクレオチド各 0.25 μ g のチャートの例を示した。抽出液を直接液体クロマトグラフに注入した場合, Fig. 2 のように多数のピークを生じ、目的成分のピークと隣接するピークとの判別がむずかしいことも多い。またヌメリの多い試料等ではピークの出現が遅延することもある。

これらのことから本実験では抽出液の他に、抽出液に濃い標準液を加えて再びクロマトグラフ分析をおこない、かさ上げされているピークを目的成分とする方法をとった。Fig. 3 ではチャートの基本パターンは Fig. 2 と

Fig. 2 High performance liquid chromatogram of the solution extracted from mushroom with boiling water (*Grifola frondosa*, treat. No. 6)

Fig. 3 High performance liquid chromatogram of the solution, extracted from mushroom with boiling water, and added 0.25 μ g of six 5'-nucleotides (*Grifola frondosa*, treat. No. 6)

Table 2 5'-Nucleotide contents in mushrooms (mg/100 g dry wt)

Species	No*	5'-Nucleotides						Total
		5'-CMP	5'-UMP	5'-AMP	5'-GMP	5'-IMP	5'-XMP	
<i>Hygrophorus russula</i>	1	—	15	10	7	—	—	32
	2	—	12	6	11	—	—	29
	3	57	12	—	22	39	—	130
	4	—	2	13	2	—	—	17
	5	—	2	—	2	—	—	4
	6	43	—	5	3	2	—	53
	7	3	2	—	—	—	—	5
	8	—	—	—	—	—	—	0
<i>Lyophyllum fumosum</i>	1	—	137	91	209	—	—	437
	2	—	204	76	191	—	—	471
	3	—	115	—	78	—	—	193
	4	—	127	133	184	—	—	444
	5	—	161	155	196	—	—	512
	6	—	107	—	39	—	—	146
	7	—	2	—	—	—	—	2
	8	—	—	—	—	—	—	0
<i>Armillariella mellea</i>	1	—	32	33	147	3	—	215
	2	—	44	62	140	5	—	251
	3	—	14	7	70	10	9	110
	4	—	38	36	166	—	—	240
	5	—	37	31	254	—	—	322
	6	—	21	14	86	3	5	129
	7	—	—	—	—	—	—	0
	8	—	—	—	—	—	—	0
<i>Lentinus edodes</i>	1	151	40	51	145	—	—	387
	2	161	58	59	123	—	—	401
	3	144	67	50	79	—	—	340
	4	—	49	54	102	—	—	205
	5	—	97	97	144	—	—	338
	6	—	62	55	79	—	—	196
	7	39	5	—	—	—	—	44
	8	23	10	6	9	—	—	48
<i>Lactarius hatsudake</i>	1	198	136	217	262	—	—	813
	2	198	249	120	154	—	—	717
	3	73	101	—	32	—	—	206
	4	228	465	374	396	38	—	1,501
	5	242	286	203	251	27	—	1,009
	6	—	137	—	—	—	—	137
	7	—	3	6	6	—	—	15
	8	—	—	21	5	—	—	26

Table 2 (つづき)

Species	No*	5'-Nucleotides						Total
		5'-CMP	5'-UMP	5'-AMP	5'-GMP	5'-IMP	5'-XMP	
Ramaria botrytis	1	—	—	2	22	—	—	24
	2	—	—	14	54	—	—	68
	3	—	—	—	7	—	—	7
	4	—	—	6	40	—	—	46
	5	—	3	13	50	—	—	66
	6	—	—	—	18	—	—	18
	7	—	2	—	—	—	—	2
	8	—	6	11	11	—	—	28
Grifola frondosa	1	—	77	129	232	—	—	438
	2	—	84	91	212	—	—	387
	3	81	57	65	199	—	—	402
	4	—	51	77	141	5	—	274
	5	—	47	72	167	6	—	292
	6	108	50	102	108	—	—	368
	7	—	2	—	—	—	—	2
	8	—	—	—	—	—	—	0

* The conditions (No. 1~8) of treatment for storage of mushroom and extraction of 5'-nucleotides from mushroom are shown in Table 1.

同じであるが、6種の5'-Ntの付加によって増量されたピークのみがかさ上げされていることが示されている。しかしこのようにして目的成分であるとされたピークは、当該成分を含んである可能性が高いことは明らかであるが、そのピークの全量が目的成分であるかどうかは断定できない。数多くのピークが近接する場合は、標準液の添加によって、溶離時間が偶然に一致する別の成分のピークをかさ上げしていることも考えられる。そこでpHを3.1に調整した溶離液を使用して試料液と試料液+標準0.25μgのチャートを再びとり、ピークの相対的な位置や形の変化をみた。その結果稀に一部のピークが分離することもあり、その場合はピークの分離部分がチャートの上でできるだけ見やすい溶離時間になるようにメタノール量を調節し、同じ条件の標準液と比較した。

実験結果及び考察

Table 2にキノコの種類、処理、抽出法別の5'-Ntの分析結果を示した。5'-UMP、5'-AMP及び5'-GMPは広く存在し、また量的にもかなり多く含まれている場合もあった。次いで5'-CMPも比較的広く認められたが5'-IMPと5'-XMPは稀に少量見出される

のみであった。キノコの種類による5'-Nt含量の差は極めて大きく、供試キノコのうちではハツタケ、シメジ、マイタケが多く、シイタケ、ナラタケがこれに次ぎ、ホウキタケ及びサクラシメジは極めて少なかった。加工法が5'-Nt含量にあたえる影響についてみると、塩蔵の場合は、以後の脱塩方法にあまり関係なく5'-Nt含量が少なく、旨味に殆んど寄与しないと思われる水準であった。Table 3に乾燥法と抽出条件による5'-Nt含量の差を7種のキノコの平均値で示した。二つの乾燥法を比較すると、加熱通風乾燥の方が5'-Nt含量が幾分高いようであるが、室温水に浸漬した場合は逆に低温減圧乾燥の方が高く、全体としては大差とはならなかった。また10分間と30分間との抽出時間による差も僅少であった。しかし20℃の水に3時間浸漬した後に加熱抽出した場合は減少幅が大きく、またこのことを個々のキノコについてみると、特にハツタケが顕著であった。本実験ではキノコを浸漬した室温水は棄てることなく、そのまま加熱抽出に移行しているので、室温水浸漬区が熱湯のみによる抽出区にくらべて5'-Nt含量が少ない原因は流失によるものでないことは明らかである。5'-Ntの酵素的な生成量と、生成された5'-Ntの分解量

Table 3 Effect of drying methods and extraction conditions of mushrooms on 5'-nucleotide contents

Drying method	5'-Nucleotide contents (Av. of 7 species of mushrooms) (mg/100 g dry wt)		
	Boiling for 10 min	Boiling for 30 min	After soaking in water for 3 h at 20°C, boiled for 30 min
Drying at 0°C reduced atmosphere	335	332	198
Drying by heated air	390	363	150

Table 4 Effect of drying methods and extraction conditions of mushrooms on 5'-GMP contents

Drying method	5'-GMP contents (Av. of 7 species of mushrooms) (mg/100 g dry wt)		
	Boiling for 10 min	Boiling for 30 min	After soaking in water for 3 h at 20°C, boiled for 30 min
Drying at 0°C reduced atmosphere	146	126	70
Drying by heated air	147	152	40

との差が少なかったことによるものと推察されるが、今回はヌクレアーゼ及びアシドフォスファターゼ活性を測定していないため、この点を明確にはできなかった。

5'-Nt の中で含量や閾値からみて食味に対する影響が最も大きいと思われる 5'-GMP の要因別平均値を Table 4 に示した。この場合も 5'-Nt の総量の場合と殆んど同じ傾向であり、乾燥法や抽出時間の影響は少なく、室温水3時間浸漬後の熱湯抽出が著しく少なかった。

以上のことから業界で行われている塩蔵や、家庭での乾燥品の水戻しは、旨味成分の大きな損失を招いているものと推察される。このことは単に 5'-GMP の減少としての問題ではなく、本成分に相乗的に作用するグルタミン酸等の流失や分解を伴うことも考えられるので、加工にあたっては味のバランスや旨味成分の相互作用も念頭におかなければならない。乾燥きのこを最終製品として市販する場合、あるいは二次加工品の原料とする場合に、5'-Nt 含量だけからみれば乾燥の方法にはあまりこだわらなくても良い様にみえる。しかし乾燥品はいずれ水戻しがおこなわれることになり、5'-Nt 以外の成分や物理的要因がマイナスとならない範囲で水戻し時間

は短かいことが望ましい。また低温減圧乾燥は加熱送風乾燥にくらべ外観がすぐれ、乾燥による組織の収縮が少なく多孔質であった。このことは水戻しの時間が少なくすむことを示しており有利であると考えられる。なお塩蔵はヌクレアーゼを失活させるためかキノコの種類にかかわらず 5'-Nt 含量は極めて少なかった。これらの点を明らかにするためにはヌクレアーゼ及びアシドフォスファターゼ活性と、これらの酵素の性質について詳細に検討する必要がある。しかし塩蔵の場合、外観と歯ざわりは良好に保たれており、これらを生かした製品への加工のための一次加工としての利用が考えられる。

要 約

キノコの加工適性を知る資料とするため、野生種を中心にキノコの種類、乾燥又は塩蔵条件、抽出条件による 5'-Nt 含量の差を検討した。

(1) キノコ中の 5'-Nt としては 5'-UMP, 5'-AMP, 5'-GMP が最も広く存在し、また量的にも多かった。これら三成分の多少はほぼ並行的であった。次いで 5'-CMP が比較的多く認められ、稀に 5'-IMP, 5'-XMP

も少量見出される場合もあった。

(2) キノコの種類による 5'-Nt 含量の差は極めて大きく、供試試料のうちではハツタケ、シャカシメジ、マイタケに多く、次いでシイタケ、ナラタケに多く、サクラシメジ及びホウキタケには少なかった。

(3) 塩蔵後脱塩をおこなった試料には 5'-Nt は殆んど含まれていなかった。

(4) 低温減圧乾燥と加熱通風乾燥との比較では 5'-Nt 含量は両者の間に大差は認められなかった。

(5) 熱湯による 10 分間と 30 分間の抽出時間が 5'-Nt 含量にあたる影響も少なかった。しかし 3 時間室温水に浸漬した後そのまま加熱し、30 分間抽出した場合は大幅に減少した。

(6) 5'-GMP も 5'-Nt 全体の傾向とほぼ同一であった。

終りに本研究をおこなうにあたり御指導をいただいた岩手県醸造食品試験場山崎 恵場長に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 中島宣郎・市川恒平・鎌田政喜・藤田栄一郎：農化, 35, 797 (1961).
- 2) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄：発酵工学, 43, 335 (1965).
- 3) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄：発酵工学, 43, 344 (1965).
- 4) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄：発酵工学, 44, 248 (1966).
- 5) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄：発酵工学, 44, 925 (1966).
- 6) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄・寺本四郎：発酵工学, 45, 362 (1967).
- 7) 毛利威徳・下田吉夫・橋田 度・寺本四郎：発酵工学, 45, 725 (1967).
- 8) 山本喜男・遠藤金次・門脇蓉子・上村隆子・高山直子：家政誌, 18, 388 (1967).
- 9) 門脇蓉子・鄭 秀麗・尾藤温子・遠藤金次・山本喜男：家政誌, 20, 86 (1969).
- 10) ENDO, K., UMEYAMA, Y., NAKAJIMA, J. and KAWAI, H.: Agri. Biol. Chem., 44, 1545 (1980).
- 11) 梅山葉子・末田香里・中島純子・河合弘康・遠藤金次：家政学研究, 27, 83 (1981).
- 12) 池内ますみ・中島純子・河合弘康・遠藤金次：家政誌, 36, 943 (1985).
- 13) 沢田崇子・遠藤金次：日食工誌, 34, 801 (1987).
- 14) 沢田崇子・遠藤金次：家政誌, 40, 347 (1989).
- 15) 橋田 度・毛利威徳・志賀岩雄：発酵工学, 42, 434 (1964).
- 16) 門屋重治・上岡康達・別所康守：愛媛工技センター研究報告, 24, 47 (1986).
- 17) 高崎政則・武田至行・井坂洋司：農林規格検査所調査研究報告, 12, 51 (1988).
- 18) 青柳康夫・菅原龍幸：日食工誌, 33, 244 (1986).
- 19) 佐々木弘子・中村尚子・甲田道子・松本伸子・青柳康夫・菅原龍幸：日食工誌, 36, 293 (1989).
- 20) 菅原龍幸・新井静子・青柳康夫・国崎直道：栄食誌, 28, 477 (1975).
- 21) 塩谷つね子：名古屋女子大学紀要 20, 7 (1974).
- 22) 関沢憲夫・大沢純也・遠山 良・関村照吉：岩手県醸造食品試験場報告, 23, 85 (1989).

(平成 2 年 10 月 1 日受理)