

キノコ類のヌクレオチドおよびその関連物質について

塩谷つね子

Nucleotides and the related compounds of Esculent Fungi

by

Tsuneko ENYA

はじめに

わが国で食用に供されているキノコの種類はかなり多く、様々な風味や感触をもつものが知られているが、数種類のキノコを除けばその利用は比較的狭い範囲に限られている。その理由として、生産量が少ないこともあろうが、変質しやすいキノコ類を貯蔵・加工する方法が確立していないことが挙げられる。

一方、キノコ類に関する食品化学的研究としては、シイタケにおけるグアニル酸（中島他，1961；橋田他，1964）、イボテングタケにおけるイボテン酸とトリコロミン酸（寺崎他，1965a；寺崎他，1965b）など呈味成分に関するものをはじめ、数多くの報告がみられる。しかしながらキノコ類の加工と関連する分野においては、1, 2のキノコ類に関するものを除けば、知見がきわめて乏しいのが現状である。

そこで本研究においては、キノコ類の利用・加工のための基礎的知見を得ることを目的として、呈味成分としての Nt 類に着目し、各種キノコ類の加熱過程における Nt 類およびその関連物質の消長について検討することとした。*

試料および実験方法

1. 試料

主として東海地方および近畿地方で採取したキノコ類を直ちに分析に供した。分析に供したキノコ類は次のとおりである。学名は今関・本郷（1968）によった。

ホンシメジ	<i>Lyophyllum aggregatum</i>
センボンシメジ	<i>L. cinerascens</i>
ホテイシメジ	<i>Clitocybe clavipes</i>
キシメジ	<i>Tricholoma flavovirens</i>
アイシメジ	<i>T. sejunctum</i>
マツシメジ	<i>T. albobrunneum</i>
ムキタケ	<i>Hohenbuehelia serotina</i>
ヒラタケ	<i>Pleurotus ostreatus</i>

* 本論文では次の略字を使用する。

ヌクレオチド：Nt 5'-Phosphodiesterase：5'-PDase, Phosphomonoesterase：PMase

シイタケ	<i>Lentinus edodes</i>
コガネタケ	<i>Phaeolepiota aurea</i>
クリタケ	<i>Naematoloma sublateritium</i>
ナメコ	<i>Pholiota nameko</i>
ショウゲンジ	<i>Rozites caperata</i>
アブラシメジ	<i>Cortinarius elatior</i>
アミタケ	<i>Suillus bovinus</i>
キチチタケ	<i>Lactarius chrysorrheneus</i>
ハウキタケ	<i>Ramaria botrytis</i>
ハナハウキタケ	<i>R. formosa</i>
トキイロラッパタケ	<i>Craterellus aureus</i>
コウタケ	<i>Sarcodon aspratus</i>
クロカワ	<i>Boletopsis leucomelas</i>

2. 抽出液の調製

a) 過塩素酸抽出液：氷冷下でキノコ類を水とともにホモゲナイズし、そのホモジネイトに等量の10%過塩素酸を添加し、充分攪拌してろ過し、そのろ液を用いた。

b) 熱水抽出液：加熱過程における Nt およびその関連物質の消長の傾向を知るために、ホモジナイズしたキノコを50°C 10分加温後さらに 100°C 5分加温する。冷却後、等量の10%過塩素酸を添加し充分攪拌してろ過し、そのろ液を用いた。

3. Nt 類分析用試料の調製

上記抽出液a) およびb) に活性炭 500mg (和光純薬工業製, 1/10N 塩酸, 水, 1.4%アンモニア-50%アルコール溶液, 水, 1/1000M-EDTA 溶液, 水の順序で処理, 洗浄したものを風乾して用いた。)を添加し、充分攪拌し、Nt 類を吸着させた後、遠心分離して活性炭をあつめる。ついで水を加えてその活性炭を洗浄した後2.8% アンモニア水を加えて攪拌し、Nt 類を脱着溶出させ、ろ過をしてろ液を蒸発乾固した。乾固物を溶解し分析用資料とした。

4. 5'-Nt 量の測定

中島他の方法(1663)に準じて 5'-ヌクレオチダーゼ液 0.6ml を試料に添加して37°C 1時間酵素反応を行ない、次に3N硫酸1ml, 2.5%モリブデン酸アンモニウム溶液1ml, 還元試薬0.4mlを加え、さらに純水を加えて全容を10mlとして攪拌混合し20~25°C 15分間放置後、660m μ の吸光度(5'-ヌクレオチダーゼ作用によって生成した無機りん酸量)を測定した。

5. Nt およびその関連物質の検索

上記の分析用試料を硫酸処理した東洋ろ紙 No. 53にスポットし、75%エタノールを展開溶媒として上昇法によってペーパークロマトグラフィを行なった。Nt および関連物質を紫外線下で検出し、その部分を切りとり 0.01 N 塩酸で抽出し、紫外部における吸収スペクトルを測定した。

結果および考察

各種キノコ類の5'-Nt量を過塩素酸抽出液および熱水抽出液について測定した結果は表1~3のとおりである。

同一検体からの2種の抽出液について5'-Nt含量を測定したのは次のような理由からであ

表1 各種キノコ類の5'-ヌクレオチド含量

キノコの種類	5'-ヌクレオチド $\mu\text{mole/g}$		(B)-(A)
	過塩素酸抽出(A)	熱水抽出(B)	
シイタケ	0.02	0.575	0.555
シイタケ	0.09	0.585	0.495
ホテイシメジ	0.365	0.765	0.40
ヒラタケ	0.50	0.78	0.14
ムキタケ	0.04	0.15	0.11
ナメコ	0.105	0.215	0.11

表2 各種キノコ類の5'-ヌクレオチド含量

キノコの種類	5'-ヌクレオチド含量 $\mu\text{mole/g}$		(B)-(A)
	過塩素酸抽出(A)	熱水抽出(B)	
アイシメジ	0.18	0.235	0.055
クリタケ	0.28	0.305	0.025
センボンシメジ	0.20	0.22	0.02
アブラシメジ	0.10	0.115	0.015
トキイロラッパタケ	0.15	0.163	0.013
コガネタケ	0.471	0.48	0.009
キチチタケ	0.155	0.16	0.005
キシメジ	0.088	0.085	-0.003
ハナホウキタケ	0.115	0.10	-0.015
キチチタケ	0.205	0.175	-0.03
ホウキタケ	0.17	0.14	-0.03
マツシメジ	0.163	0.13	-0.033
ショウゲンジ	0.155	0.12	-0.035

表3 各種キノコ類の5'-ヌクレオチド含量

キノコの種類	5'-ヌクレオチド含量 $\mu\text{mole/g}$		(B)-(A)
	過塩素酸抽出(A)	熱水抽出(B)	
アマタケ	0.185	0.08	-0.105
コウタケ	0.21	0.085	-0.125
ホンシメジ	0.29	0.163	-0.127
クロカワ	0.685	0.55	-0.135

る。すなわち過塩素酸抽出液を用いた場合はキノコ中にもともと存在する 5'-Nt を測定することになり、熱水抽出液を用いた場合は加熱過程で起ると予想される諸変化(リボ核酸からの 5'-Nt の生成, 5'-Nt の分解など)を受けてからの 5'-Nt 含量を測定することになる。したがって両者を比較することによって加熱過程における 5'-Nt 含量の変化の傾向を知ることができると考えたからである。

表 1 は加熱過程において 5'-Nt がかなり増加するキノコ類についての測定結果である。このうちシイタケ, ムキタケ, ナメコの場合は 5'-Nt 量は試料そのものには少ないが, 加熱過程で急速に増加する傾向が認められ, ホテイシメジ, ヒラタケの場合は試料そのものにもかなりの量が含まれていて, 加熱によってさらにその量が増加する傾向が明らかである。加熱過程で 5'-Nt が増加するのは, すでにシイタケについて報告(中島他, 1961; 山本他, 1967; 門脇他, 1969) されているようにキノコ中のリボ核酸が核酸分解酵素(5'-PDase) によって分解されたためであろう。一般にキノコ処理過程ではリボ核酸の分解作用だけでなく, マッシュルームにおいて報告(毛利他, 1965) されているように ATP などの nucleoside polyphosphate の分解による 5'-Nt の蓄積, PMase による 5'-Nt の分解などの反応が起る可能性があるが, 本表のキノコ類の場合は, 少なくとも 50°C 加熱においては, 5'PDase 作用が PMase 作用より強いと考えられる。

表 2 は加熱による 5'-Nt の変化が著しくないキノコ類についての測定結果である。このうちコガネタケ, クリタケなど数種のキノコは試料そのものにかかなりの 5'-Nt が含まれているが, 他の多くのものは試料そのものに含まれる 5'-Nt が比較的少ない。加熱による 5'-Nt の変化が小さいのは上記の 5'-PDase 作用が弱い, 5'-PDase と PMase の作用が近似しているからであろう。

表 3 は加熱によって 5'-Nt が著しく減少するキノコ類についての測定結果である。クロカワの場合は試料そのものにかかなりの量の 5'-Nt が含まれているが, その他のキノコには 5'-Nt 量は少ない。加熱によって 5'-Nt 量が減少するのは 5'-PDase に比べて PMase の作用が強いからであろう。

表 1 ~ 3 に分析値を示したキノコ類のうち, 試料そのものに 5'-Nt が多いものはホテイシメジ, ヒラタケ, クリタケ, コガネタケ, ホンシメジ, クロカワであり, 加熱過程で 5'-Nt が著しく増加するものはシイタケ, ホテイシメジ, ヒラタケである。これらはクロカワを除けばいずれも一般的に美味なキノコとして定評のあるものであり, 5'-Nt がこれらの食味と密接に関係していることがうかがえる。クロカワの場合は苦味を呈する成分が含まれているため, 普通, ゆでこぼしをして食用に供するようである。したがって実際に食用に供するときには 5'-Nt の大部分がゆで汁中に流失していると考えられる。

上述のように 5'-Nt の分析結果からキノコ中の 5'-PDase, PMase などの作用力について推論したが, この推論を確かめるとともにキノコ中の個々の Nt およびその関連物質に関する知見を得るために, 加熱過程における 5'-Nt 量の変化の程度によって 3 大別したキノコの各グループから代表的なキノコをえらび, 過塩素酸抽出液および熱水抽出液中の Nt およびその関連物質をペーパークロマトグラフィによって検索した。ペーパークロマトグラムおよび各スポットを切りとって 0.01N 塩酸で溶出した液の吸収スペクトルの一例は図 1, 2, 3 のとおりであった。

ペーパークロマトグラムの R_f 値および吸収曲線から各スポットを同定し, さらに各化合物

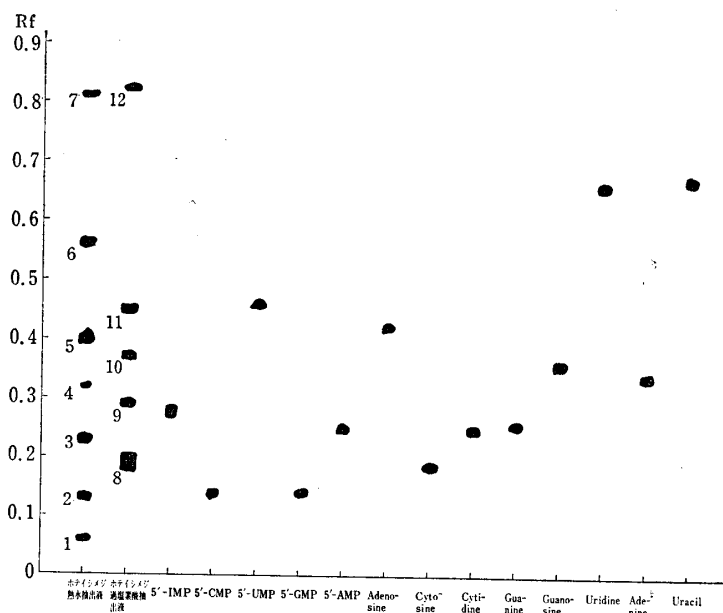


図1 ペーパークロマトグラム

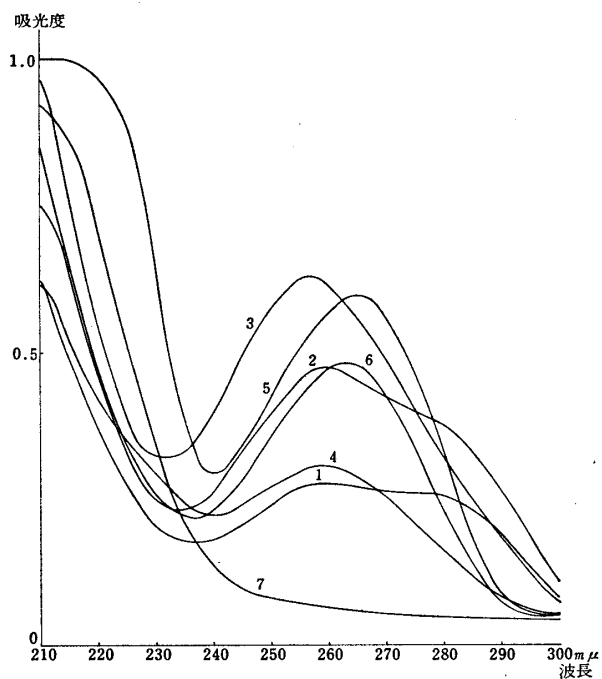


図2 各スポットの吸収曲線
ホテイシメジ熱水抽出液

注1. 各吸収曲線の番号は図1のクロマトグラムのスポット番号と同じである

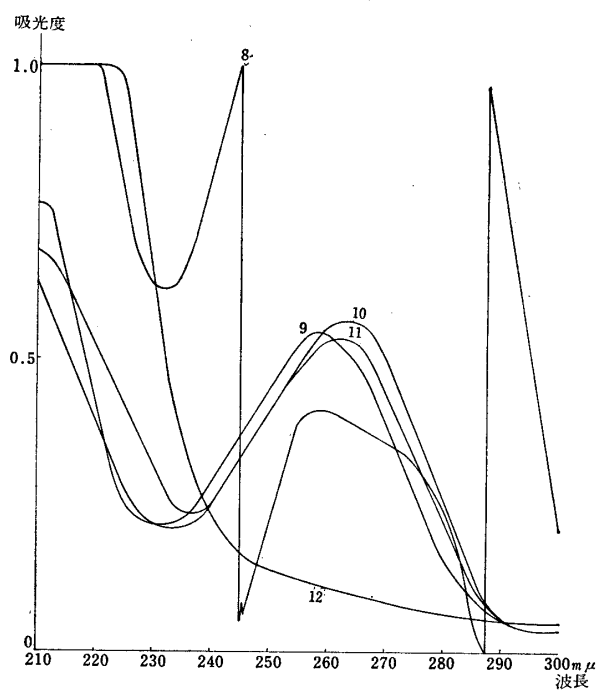


図3 各スポットの吸収曲線
ホテイシメジ過塩素酸抽出液

注1. 各吸収曲線の番号は図1のクロマトグラムのスポット番号と同じである

注2. 吸収曲線8の波長 245m μ ~287m μ の部分のみは吸光度1~2の範囲の吸収を示す

量のためやすを得るために溶出液の吸光度を測定した結果をまとめると表4のとおりである。

表4 各種キノコのヌクレオチドとその関連物質*

** グループ	キノコの種類	抽出方法	ヌクレオチド				ヌクレオシド, 塩基							
			AMP	CMP	GMP	UMP	その他	Adenine	Cytosine	Guanine	Uridine	Uracil	その他	
1	ホテイシメジ	過塩素酸抽出	+++			+++	+++						++	
		熱水抽出	+++	++	++	+++	++							++
1	ヒラタケ	過塩素酸抽出				++								
		熱水抽出	++			++								±
1	ムキタケ	過塩素酸抽出				±								±
		熱水抽出				±	+							±
1	ナメコ	過塩素酸抽出				++								
		熱水抽出				+								+
2	ハナホウキタケ	過塩素酸抽出		++		+							++	
		熱水抽出		+		±	+						+	±
2	シヨウゲンジ	過塩素酸抽出		±		+								
		熱水抽出		+		±							+	
3	アミタケ	過塩素酸抽出				±								±
		熱水抽出				±	±						±	±
3	コウタケ	過塩素酸抽出				++							++	±
		熱水抽出				±							±	±

* 検出したスポットからの溶出液の吸収極大における吸光度から相対的な含量を±, ++, +++で示した。

** 表1に記載した, 加熱過程において5-Nt量の増加の著しいキノコをグループ1, 表3に記載した加熱過程において5-Nt量の減少の著しいキノコをグループ3, その他のものをグループ2とした。

表1のキノコ類ではホテイシメジの場合に特徴的な傾向がもっとも明瞭に認められた。すなわち過塩素酸抽出液では Nt として AMP, UMP しか認められなかったが、熱水抽出液ではその他に CMP, GMP が検出され、加熱過程で RNA が分解されたことが明らかである。一方 Nt 分解物としては過塩素酸抽出液には2種のヌクレオシドが、熱水抽出液では2種の塩基が認められた。このことから加熱過程で Nt の分解は顕著には起らず、主として、ヌクレオシドの塩基への分解が起ったものと考えられる。表1のキノコ類に属する他のキノコについては、このような傾向は明瞭には認めがたかったが、ムキタケ、ヒラタケの場合は加熱処理によって検出されるヌクレオシドないし塩基の種類が増加する、または個々の成分の量が増大する傾向が認められたので、ホテイシメジの場合に比べると PMase 作用がやや強いと考えられる。

表2のキノコ類では、Nt とその関連物質の組成の加熱による変化はほとんど認められず、5'-PDase および PMase の作用がいずれも弱いとのさきの推論がこの結果からも確かめられた。

表3のキノコ類では、アマタケにおいて、加熱によってヌクレオシドないし塩基の増加が認められることから、さきにも推論したように、PMase の作用が比較的強いことがうかがえる。

以上の結果から 5'-Nt がキノコ類の食味と密接な関係にあること、5'-Nt の含量はキノコの種類によって違うばかりでなく、加熱過程による変化の傾向もキノコの種類によって違うことが明らかになった。したがってシイタケやホテイシメジのように加熱によって 5'-Nt が増加する傾向の強いキノコにあっては、リボ核酸の分解を助長するような加熱条件をさらにくわしく検討することによって、より有利な加工法を確立する道がひらかれよう。またアマタケのように RNA の分解が起りにくく、Nt の分解が起りやすいキノコにあっては、できるだけ速かに加熱処理することが望ましいといえる。

ただし、この推論は 50°C 10分間という加熱条件における 5'-Nt 量の変化を調べた結果から導かれたものであり、各種キノコ類の最適加熱条件を決定するには、加熱時間および加熱温度の影響を含めて、今後さらに詳細な研究の積み重ねが必要であろう。

稿を終るにのぞみ、終始ご懇切にご指導下さいました奈良女子大学、遠藤金次教授、河合弘康助教授、富岡和子先生に深謝いたします。

要 約

1. 21種のキノコ類の 5'-Nt の加熱過程における変化を 5'-ヌクレオチダーゼ法で測定したところ、5種のキノコ類では 5'-Nt の増加、4種のキノコ類では 5'-Nt の減少が認められた。また12種のキノコ類では 5'-Nt の変化は認められなかった。

2. 美味なキノコ類では 5'-Nt 量が多いか、あるいは加熱過程での 5'-Nt の増加が顕著である傾向が認められた。

3. 加熱過程におけるキノコ類 5'-Nt の変化の原因を推定するために、Nt およびその関連物質をペーパークロマトグラフィによって分離し、その紫外部吸収スペクトルを測定した。その結果、加熱過程において、Nt の生成と分解が認められ、両速度がキノコの種類によって異なることが明らかになった。また、両速度の差によって加熱過程における Nt の変化が規定されることを推論した。

引用文献

- 1) 橋田度他, 1964, 食品中の核酸成分に関する研究 (第2報), 醸酵工学雑誌42, 7, p. 434—441
- 2) 今関六也他, 1968, 原色日本菌類図鑑
- 3) 門脇春子他, 1969, 干椎茸水抽出液の RNA 分解作用について, 家政学雑誌20, 2, p. 86—89
- 4) 毛利威徳他, 1965, 食品中の核酸成分に関する研究 (第4報), 醸酵工学雑誌43, 5, p. 335—343
- 5) 中島宣郎他, 1961, 5'-リボヌクレオチドの食品化学的研究 (第1報), 日本農芸化学会誌35, 9, p. 797—803
- 6) _____, 1963, 同上 (第3報), 同上37, 9, p. 558—561
- 7) 寺崎衛他, 1965a, トリコロミン酸, イボテン酸の呈味性に関する研究 (第1報), 栄養と食糧18, 3, p. 172—175
- 8) _____, 1965b, 同上 (第2報), 同上, p. 222—225
- 9) 山本喜男他, 1967, 食品の呈味成分に関する研究 (第5報), 家政学雑誌18, 6, p. 388—391