

# 食品中の核酸成分に関する研究\* — XVI

シイタケの乾燥中における核酸成分の消長

毛利 威徳・橋田 度・志賀 岩雄・寺本 四郎\*\*

## Studies on Nucleic Acid Related Substances in Foodstuffs - XVI

### Changes of 5'-nucleotides during the drying of shii-take (*Lentinus edodes*)

TAKENORI MOURI, WATARU HASHIDA, IWAO SHIGA  
and SHIRO TERAMOTO\*

Shii-take (*Lentinus edodes*) was dried with circulating heated air at 60, 80 or 100°C. Nucleotides and related substances were collected by an extraction with cold perchloric acid and their amounts were determined with ion exchange chromatography and phosphatase assay. RNA and acid-soluble portions were fractionated by Schmidt-Thannhauser's method.

During the drying of Shii-take at 60°C, 2.4  $\mu$ mole/g dry wt. of ATP originally existed decreased to a trace amount with an increasing of ADP, and RNA was decomposed with an accumulation of 5'-nucleotides. Under drying at 100°C, a half of the original amount of ATP remained and the ADP and 5'-nucleotide contents changed only a little. When dried Shii-take was dipped in water at 70°C or 30°C for 30 min., decreases of RNA and ATP and increases of four kinds of 5'-nucleotides were found in restored Shii-take. About a half of each activity of RNase, PDase and PMase remained in dried samples. A crude enzyme solution of dried Shii-take formed adenosine, AMP and ADP from the standard ATP, and a mixture of 5'-nucleotides from yeast RNA, respectively. It seems reasonable to consider that the accumulation of nucleotides during the drying of Shii-take and its dipping in water is due to the action of enzymes degrading nucleic acid and related substances.

---

\* 醱酵工学 48巻2号 114 (1969) 所載

\*\* Department of Fermentation Technology, Faculty of Engineering, Osaka University,  
大阪大学工学部醱酵工学教室

## 結 言

前報<sup>1-4)</sup>においてきのこ類の加熱処理、冷凍工程また冷凍乾燥工程における 5'-ヌクレオチド類の消長について報告<sup>1-4)</sup>した。きのこ類の中でもシイタケ、マッシュルームなど種類の相違に応じて 5'-ヌクレオチドの分布や消長については異なった傾向が認められた。シイタケは従来乾シイタケとして利用性が高く、5'-GMP などの 5'-ヌクレオチドが乾シイタケの重要な呈味成分であるといわれるのでシイタケ乾燥工程における 5'-ヌクレオチドならびに核酸分解酵素系の変化は興味ある問題と思われる。しかしシイタケ類の乾燥工程における核酸成分の変化についての報告は見当たらない。

本報ではシイタケの乾燥前後における 5'-ヌクレオチドの消長や復水（水戻し）に際しての変化を調べ、これが核酸分解酵素系の作用に依るのではないかとの観点からそれらの関連性について検討した。

## 実 験 方 法

1. 供試標準物質は前報<sup>1-4)</sup>に準ずる。
2. 試料調整法 シイタケを白井松製の熱風乾燥機で10時間を要して乾燥した。また乾燥は60°C、80°C、100°Cの気流中で行なった。5'-あるいは3'-ヌクレオチド測定用の試料は前報に準じて冷時過塩素酸にて抽出した。水戻しおよび抽出条件を検討するために30°C また70°Cで復水し、復水後水溶液も同時に常法通り冷時過塩素酸で抽出し試料とした。
3. 分析方法 総5'-あるいは3'-ヌクレオチド量は中島ら<sup>5)</sup>の酵素法によった。個々のヌクレオチド量はDowex 1×8を用うるカラムクロマトグラフィーで定量した。
4. 核酸分解酵素活性の測定 前報<sup>1-4)</sup>に準じた。

## 実 験 結 果

### 1. 乾燥シイタケにおける核酸系物質の組成変化

生原料中のヌクレオチド組成は前報<sup>1-4)</sup>に報告したごとくである。生シイタケ、乾シイタケの即時冷時過塩素酸抽出また30°C 30分、70°C 30分復水後過塩素酸抽出した時のヌクレオチド組成を調べた結果はTable 1のごとくである。

(乾シイタケが市販品のために種類や乾燥工程が明らかでないので生シイタケとの比較また核酸分解酵素系の強弱について考察することができない。) 乾シイタケ即時抽出の場合 ATP が ADP として残存しているが 30°C 復水では ADP、5'-ヌクレオチド類が増加している。また 70°C 復水においては 5'-ヌクレオチド類の増加が著しいが ADP の分解はほとんどなく、このことより 5'-ヌクレオチド類の増加の原因は RNA からの分解であると考えられる。市販品では種類や乾燥法などあきらかでないので条件を共通にするために兵庫県能勢産の品種を 60°C と 100°C の 2 種の温度の熱風で

Table 1 Effect of dipping in water on the nucleotides of dried Shii-take, commercially purchased.

| Sample                         |                      | Frac. B* | 5'-AMP | 5'-UMP | 5'-GMP | ADP   | ATP   |
|--------------------------------|----------------------|----------|--------|--------|--------|-------|-------|
| Fresh                          | UV 260**             | 162.00   | 2.24   | 2.16   | 1.45   | 39.95 | 34.78 |
|                                | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 0.25   | 0.37   | 0.22   | 4.95  | 4.31  |
| Dried, immediately extracted   | UV 260               | 174.13   | 9.13   | 7.04   | 4.77   | 72.34 | 5.66  |
|                                | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 0.66   | 0.72   | 0.41   | 5.10  | 30.44 |
| Dried, dipped in water of 30°C | UV 260               | 167.64   | 6.75   | 6.46   | 4.47   | 42.24 | trace |
|                                | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 1.92   | 1.72   | 0.77   | 5.58  |       |
| Dried, dipped in water of 70°C | UV 260               | 168.48   | 54.33  | 43.30  | 33.51  | 80.71 | trace |
|                                | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 4.50   | 5.10   | 3.30   | 6.80  |       |

\* : Fraction B includes nucleosides and bases

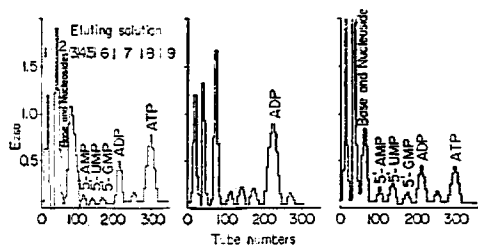
\*\* : Absorbancy at 260 m $\mu$  of each fraction

Table 2 Effect of drying condition on the nucleotides of Shii-take.

| Sample          |                      | Frac. B* | 5'-AMP | 5'-UMP | 5'-GMP | ADP   | ATP   |
|-----------------|----------------------|----------|--------|--------|--------|-------|-------|
| Fresh           | UV 260**             | 84.93    | 4.05   | trace  | 5.15   | 29.76 | 20.57 |
|                 | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 0.45   |        | 0.60   | 3.33  | 2.36  |
| Dried, at 60°C  | UV 260               | 89.37    | 13.64  | 9.14   | 9.32   | 48.17 | trace |
|                 | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 1.42   | 1.33   | 1.16   | 5.26  |       |
| Dried, at 100°C | UV 260               | 163.35   | 7.53   | 5.21   | 8.22   | 24.61 | 11.58 |
|                 | $\mu$ mole/g dry wt. |          | 0.85   | 0.84   | 1.16   | 2.76  | 1.25  |

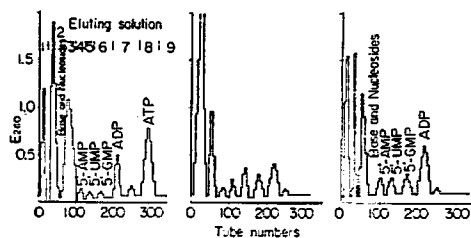
\* : Fraction B includes nucleosides and bases

\*\* : Absorbancy at 260 m $\mu$  of fraction



a) Fresh b) 60°C-dried Shii-take extracted with cold PCA c) 100°C-dried Shii-take with cold PCA

Fig. 1 Changes of nucleotides of dried Shii-take.



a) Fresh b) Dried Shii-take, dipping in water for 30 min. at 30°C. c) Dried Shii-take, dipping in water for 30 min. at 70°C.

Fig. 2 Effect of dipping in water on the nucleotides of Shii-take dried at 60°C.

乾燥実験を行なった。それぞれの試料について即時過塩素酸抽出を行なった結果 Fig. 1, Table 2のごとくである。

60°C 乾燥によると ATP はほとんどなくなり、ADP, 5'-ヌクレオチド類が増加している。100°C 乾燥においては ATP は $\frac{1}{2}$ に減少するがなお残存しわずかながら 5'-ヌクレオチド類も増加しているが前報での 100°C 煮出しにおいて 5'-ヌクレオチド類が著しく増加するような現象は見出さ

れない。なお乾シイタケの食用に当っては水戻し（復水）することが普通であるから 60°C で乾燥したシイタケの復水に際しての 5'-ヌクレオチドの変化を検討した。

## 2. 水戻し（復水）における核酸系物質の組成と変化

60°C 乾燥シイタケを 30°C または 70°C で復水し抽出したシイタケと即時過塩素酸抽出したものと比較すると Fig. 2, Table 3 のごとくである。

Table 3 Effect of dipping in water on the nucleotides of dried Shii-take, dried at 60°C.

| Sample                  |                            | Frac. B | 5'-AMP | 5'-UMP | 5'-GMP | ADP   | ATP   |
|-------------------------|----------------------------|---------|--------|--------|--------|-------|-------|
| Dried                   | UV 260                     | 89.37   | 13.64  | 9.14   | 9.32   | 48.17 | trace |
|                         | $\mu\text{mole/g dry wt.}$ |         | 1.42   | 1.33   | 1.16   | 5.26  |       |
| Dipped in water of 30°C | UV 260                     | 74.32   | 8.10   | 7.78   | 12.91  | 9.03  | trace |
|                         | $\mu\text{mole/g dry wt.}$ |         | 1.03   | 1.42   | 2.30   | 1.16  |       |
| Dipped in water of 70°C | UV 260                     | 129.32  | 11.75  | 6.53   | 20.03  | 25.09 | trace |
|                         | $\mu\text{mole/g dry wt.}$ |         | 2.30   | 1.82   | 4.39   | 4.66  |       |

市販品の乾シイタケと類似の条件にするために 60°C で乾燥した直後の乾シイタケとそれを 30°C または 70°C で復水したものを比較すると 30°C 復水では ADP は減少しまたわずかながら 5'-ヌクレオチドが増加している。70°C では ADP は乾燥直後とほとんど変りないが 5'-ヌクレオチドが著しく増加していることが認められた。その原因として高分子核酸すなわち RNA の分解が主体をなしていると考えられるので生シイタケ、60°C 乾燥直後、60°C 乾燥シイタケを 70°C 30分復水したものについて酸可溶性、RNA など核酸成分の分画、分析を行なった。

## 3. 乾燥シイタケの水戻しに伴う核酸成分の変化

生シイタケ、60°C 乾燥直後、70°C 30分復水後のシイタケについて Schmidt-Thanhauser 法で核酸分析を行なった結果 Table 4 のごとくである。

Table 4 Content of phosphorus in some fractions of fresh and dried Shii-take.

| Sample   | Phosphorus $\mu\text{mole/g dry wt. of material}$ |                       |              |
|--|---|-----------------------|--------------|
|  | Total phosphorus                                  | Acid-soluble fraction | RNA fraction |
| Fresh shii-take  | 175.0   | 62.5                  | 22.3         |
| Dried shii-take, dried at 60°C                                 | 174.1   | 63.4                  | 17.8         |
| Dried shii-take, heated in water at 70°C for 30 min ; in solid | 147.7   | 59.5                  | 13.3         |
| Dried shii-take, heated in water at 70°C for 30min ; in liquid | 27.8  |                       |              |

60°C 乾燥直後のシイタケではその RNA 量は生シイタケの RNA の  $\frac{2}{3}$  に減少し、また 60°C 乾燥シイタケを 70°C で復水したものでは約  $\frac{1}{2}$  に減少したことを認めた。したがってシイタケの場合 ATP からの分解また RNA からの分解が共に起こるものと思われる。このような変化には核酸分

解酵素系が関与するのではないかと考え核酸分解酵素の経時的变化を調べた。

#### 4. 乾燥シイタケにおける核酸分解酵素系の経時的变化

前項までの乾燥シイタケにおける ATP→ADP→AMP→アデノシンの変化と RNA の分解の原因は核酸分解酵素系が主体をなすと考えられるので経時的に乾シイタケより粗酵素液を抽出して RNase, PDase, PMase 活性を測定した。

前報と同様に RNase, PMase 活性は pH 4.5 で PDase 活性は pH 7.5 で測定した結果は Table 5, 6, 7 のごとくである。

Table 5 RNase activity of the crude extracts of dried Shii-take.

| Sample          | RNase (unit) | Protein (mg) | Specific activity (unit/mg protein) |
|-----------------|--------------|--------------|-------------------------------------|
| Fresh           | 1400         | 32.9         | 42.5                                |
| Dried, at 60°C  | 918          | 43.2         | 21.2                                |
| Dried, at 80°C  | 712          | 66.7         | 13.6                                |
| Dried, at 100°C | 315          | 40.2         | 7.8                                 |

Table 6 PDase activity of the crude extracts of dried Shii-take.

| Sample          | PDase (unit) | Protein (mg) | Specific activity (unit/mg protein) |
|-----------------|--------------|--------------|-------------------------------------|
| Fresh           | 640          | 32.9         | 19.4                                |
| Dried, at 60°C  | 374          | 43.2         | 8.6                                 |
| Dried, at 80°C  | 342          | 66.7         | 5.1                                 |
| Dried, at 100°C | 18           | 40.2         | 0.4                                 |

Table 7 PMase activity of the crude extracts of dried Shii-take.

| Sample          | PMase (unit) | Protein (mg) | Specific activity (unit/mg protein) |
|-----------------|--------------|--------------|-------------------------------------|
| Fresh           | 31,000       | 32.9         | 942.4                               |
| Dried, at 60°C  | 27,800       | 43.2         | 640                                 |
| Dried, at 80°C  | 21,510       | 66.7         | 323                                 |
| Dried, at 100°C | 590          | 40.2         | 15                                  |

乾燥の前後では核酸分解酵素の活性に相違が認められた。RNase 活性では 60°C 乾燥シイタケで約 1/2 に活性が低下し 100°C では 1/6 程度の活性が認められた。PMase 活性では 60°C 乾燥で約 1/2 に活性が低下し 100°C ではほとんど活性は失われた。このように 60°C 乾燥シイタケでは活性が残っていることから ATP や RNA が酵素により分解される可能性が考えられる。酵母 RNA に対して RNase 区分を作用させたときは前報において報告したごとく 5'-GMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-CMP が生成することが認められた。ここでは ATP に対する作用をみるために標品の ATP に対して粗酵素液を作用させた。この反応条件は Fig. 3 のごとくである。

酢酸緩衝液 (pH 5.0) で 37°C 1 時間反応させてクロマトグラフィーを行なうと Fig. 4 のごとく

ATP (20mg/20ml) 5.0ml  
 —enzyme 2.0ml  
 —IM buffer 1.0ml  
 incubation, 37°C, 1 hr  
 HClO<sub>4</sub> treatment  
 —active carbon treatment  
 Sample for chromatography

Fig. 3 Degradation of ATP

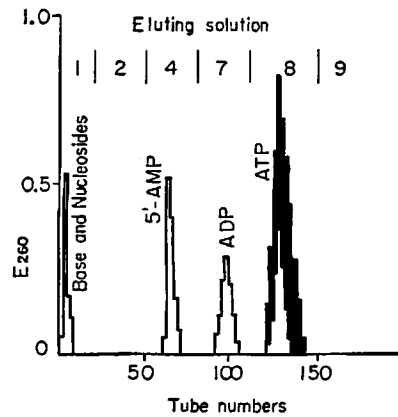


Fig. 4 Degradation of ATP with crude enzyme extract from frozen Shiitake.

▬ before incubation  
 ▨ after incubation

である。

乾燥品より抽出された粗酵素液を作用させた場合のクロマトグラムで ATP が減少するのに対して ADP 5'-AMP, アデノシンが生成した。この酵素実験より乾シイタケにおいてもクルマエビ、マッシュルームなどの冷凍乾燥中と同様に核酸分解酵素系による変化であることが明らかになった。

## 考 察

前報においてマッシュルームの冷凍乾燥の操作中にヌクレオチドが変化することを報告したがシイタケの場合は乾燥中またその復水中、共に変化があらわれた。

乾燥中では ATP が生シイタケで 2.36  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  から 60°C 乾燥シイタケでは痕跡量となり ADP, 5'-ヌクレオチド量が増加した。しかし 100°C 乾燥の場合 ATP が生シイタケで 2.36  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  から乾燥後 1.25  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  と残存している。また ADP, 5'-ヌクレオチド量ではあまり大きな差はなかった。一方 RNA の分解は乾燥中に、生シイタケで 22.3  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  から 17.8  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  まで減少している。このことより乾燥の過程を通じてシイタケの pH は 6.0~6.2 の範囲にあり RNase, PMase の作用に好適の状態にあったために分解が起こるものと考えられる。

復水中においては 30°C で復水の場合 ADP は 5.26  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  から 1.16  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  と減少しているが 5'-ヌクレオチド量はほとんど変化がなかった。70°C で復水の場合では ADP は 4.66  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  と殆んど変化ないが 5'-ヌクレオチド類すなわち 5'-GMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-CMP は 60°C 乾燥直後に較べて 2~3 倍程度 70°C で 30分復水した方が増加していた。この変化は前報<sup>1-4)</sup>で報告した加熱加工中の変化とよく類似するものでありその原因についても前報の考察を引用するのが妥当であると考えられる。すなわちシイタケ冷凍工程中ではヌクレオシドポリリン酸からの分解が主体であるが、乾燥シイタケにおいては核酸分解酵素活性の残

存による高分子核酸すなわち RNA の分解が 5'-ヌクレオチド増加の原因と考えられる。Kronman<sup>7)</sup> は冷凍乾燥品においても蛋白分解酵素が作用する可能性について述べているが、著者らは核酸分解酵素系のように比較的耐熱性の酵素では乾燥する温度が 60°C 程度まで上昇しても酵素が存在し核酸系物質の変化が起こり得るものと考えている。

## 要 約

乾燥シイタケは乾燥中にも核酸成分にかなりの変化が認められるが復水によってヌクレオチド組成の変化がより一層大きいことが認められた。

乾燥中では 60°C で ATP は減少し ADP, 4 種の 5'-ヌクレオチドが増加した。100°C では ATP が 1.78  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  と残存しているが ADP 4 種のヌクレオチドはあまり変化がなかった。60°C で乾燥したシイタケの復水においては 30°C 30分復水で ADP が 2.26  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  から 1.16  $\mu\text{mole/g dry wt.}$  と減少しているがヌクレオチドはあまり変化はなかった。70°C 30分復水で ADP はわずかながら減少したが 4 種の 5'-ヌクレオチドすなわち 5'-GMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-CMP が蓄積した。乾燥 (60°C) シイタケでの RNase, PDase, PMase 活性は約 1/2 に低下した。また 100°C では RNase 活性は約 1/6 まで低下し残存しているが PDase, PMase 活性はほとんど失活した。乾燥温度が 60°C 程度で行なわれ、70°C 程度で復水されるときには 5'-GMP などのヌクレオチドの蓄積が著しく呈味成分として大なる貢献をすることであろう。

## 文 献

- 1) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 44, 248 (1966).
- 2) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 44, 925 (1966).
- 3) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 45, 362 (1967).
- 4) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 45, 725 (1967).
- 5) 中島, 市川, 鎌田, 藤田: 農化, 37, 558 (1957).
- 6) 須原, 草葉, 大村: 酵素化学シンポジウム第16号 115 (1964).
- 7) Kronman, M. T.: *J. Agr. Food chem.* 8, 67 (1960).