

高品質なマッシュルーム加工品の製造方法

井上 竜一, 青山 好男

Method for Production of High-quality Processed Mushroom

Ryuuichi Inoue and Yoshio Aoyama

In the processing of the mushroom, the browning by the tyrosinase (a kind of polyphenol oxidase) is a serious problem. To control the enzymatic browning, the factor on this discoloration was examined. In addition, to inhibit the decrease in the texture, the factor on this degradation was examined. On the basis of the result obtained, the processing method for control of browning and softening was proposed.

The mushroom processed by this method was evaluated. As for the color, a* value and b* value were lower than the browning sample. The firmness was decreased about half compared to fresh mushroom. However, it was more than twice the firmness of the existing products. The umami substances content increased more than the existing products in both guanylic acids and glutamic acids. Especially, the guanylic acid content was 1.8 times of fresh mushrooms and 3-4 times of the existing products.

Keywords: mushroom, blanching, polyphenoloxidase, tyrosinase, browning, texture, umami, glutamic acid, guanylic acid

マッシュルーム (*Agaricus Bisporus*: 和名 ツクリタケ) は古代ローマの時代より食されている世界一消費量が多いキノコである。17世紀半ば頃欧州で人工栽培が始まって以降, 各地に広まっていった。日本では20世紀初頭に人工栽培に成功している。

マッシュルームの販売形態には, 生鮮品および水煮缶詰がある。欧米においてその大半は生鮮品であるが, 日本では一昔前までマッシュルームの主な流通形態は水煮缶詰であった。しかし, 近年生鮮品としての需要が増加しており, より高品質なマッシュルーム加工品が求められている。

マッシュルームの加工では酸化酵素であるチロシナーゼなどのポリフェノールオキシダーゼが問題となる。この酵素はチロシンなどのフェノール化合物を基質として褐変物質を生成し (Fig. 1), 見た目を悪化させる。缶詰などの常

温保存加工品の製造時にはブランチングと呼ばれる 100°C 5分以上の加熱で失活させるが, 生鮮品の食感が失われる。レトルト処理などさらなる加熱を行う場合はこの段階での軟化は問題無いが, より高品質な加工品を製造するためには熱履歴を低減した酵素の失活方法が必要である。

熱履歴を低減する方法は, pH調整剤, ポリフェノールオキシダーゼ阻害剤などの添加物を用いたもの^{1) 2)} やマイクロ波加熱と湯中加熱を併用する方法³⁾ などが検討されている。しかし, 前者では味への影響が否めず, 後者は短時間で失活を行うことが可能だが, マイクロ波の処理時間が1分間と十分に軟化する条件であり, マイクロ波特有の加熱ムラや, 一度に処理できる量が少ないという問題がある。

そこで, 本報では酵素的褐変を防止し, 生鮮品の食感を保つ加工方法を検討した。

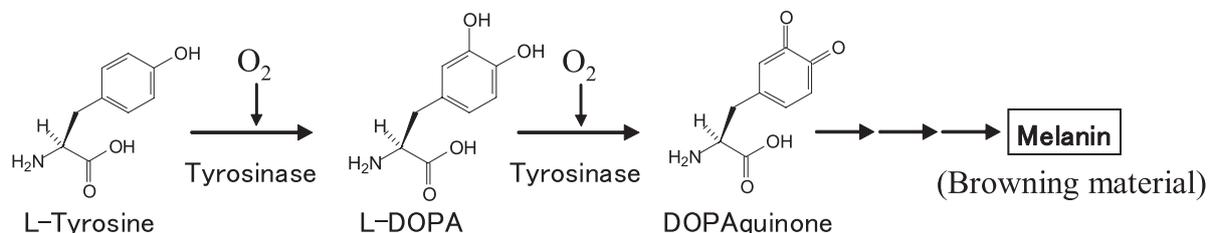


Fig. 1 Scheme of enzymatic browning by tyrosinase.

材料および方法

1. 供試材料

マッシュルームは扇港興産（兵庫県神戸市）より購入したホワイトマッシュルーム（ボタン型）を使用した。購入したマッシュルームは、重量 16 ± 1 g のものを選抜して用いた。

2. チロシナーゼ活性測定法

マッシュルーム凍結乾燥粉末に冷却しながら水を加えて攪拌し、No.2 の濾紙（ADVANTEC 製）で濾過したものをチロシナーゼ粗酵素液とした。

チロシナーゼ活性は吸光度計（U-2000：日立製）を用いて測定した。2 mM チロシン溶液 1500 μ l, 250 mM リン酸緩衝液 300 μ l, MilliQ 水 900 μ l をキュベットに入れ、25 $^{\circ}$ C, 10 分間インキュベートした。粗酵素液 300 μ l を添加した（反応液：計 3000 μ l）後、経時的に 420 nm の吸光度（OD420）を測定した。活性は $1U =$ チロシンを基質として 1 分間に OD420 を 0.001 増加させる酵素量と定めた。

3. チロシン量測定法

サンプルの 2.5 倍量の 10% 5-スルホサリチル酸二水和物（SSA）を加え、8500 rpm で 2 分間ホモジナイズした。10000 rpm, 10 分間遠心した後、上清を回収して No. 2 の濾紙（ADVANTEC 製）で濾過、0.45 μ m のメンブランフィルターで濾過したものをサンプルとした。

チロシン量は HPLC（LC-20A：島津製作所製）を用い、プレカラム OPA 法により測定を行った。分析はカラム：ZORBAX Eclipse AAA 4.6 \times 150 mm（Agilent Technologies 製）、流速：1 ml/min, A 液：40 mM NaH_2PO_4 （pH 7.8）、B 液：100% アセトニトリル、サンプル注入量：3 μ l, カラムオープン：40 $^{\circ}$ C, グラジエント：B 液 0 \rightarrow 40%/40 min, 励起波長：330 nm, 検出波長：450 nm の条件にて行った。

4. マッシュルーム中の空気量の測定法

水中でマッシュルームを破碎し、流出した空気を捕集して測定を行った。

5. マッシュルーム重量変化の測定法

種々の時間加熱したマッシュルームを流水により冷却し、水切り台の上で 5 分間放置した後重量の測定を行った。加熱前の重量と比較して変化量を算出した。

6. マッシュルーム表皮の色差測定法

色の測定には色彩色差計 CR 200（MINOLTA 製）を用い、評価には $L^*a^*b^*$ 表色系を用いた。

マッシュルーム表皮から 3 点選択して測定を行い、その平均を表皮の $L^*a^*b^*$ 値とした。

7. レトルト処理条件

マッシュルーム 5 個と水 400 ml をパウチ（25 μ m ナイ

ロン /60 μ m ポリプロピレン：150 \times 210 mm）に詰め、空気が入らないようシールした（厚み約 25 mm）。120.1 $^{\circ}$ C で静置レトルトを行った（ $F_0=4.6$ 相当）。

8. テクスチャーの測定方法

コルクボーラーによりマッシュルームの中心部を直径 9 mm の円柱状に切り出した後、包丁にて高さを 10 mm にカットしたものをサンプルとして用いた。

テクスチャー測定にはテクスチュロメーター（EZ Test：島津製作所製）を用いた。測定台にサンプルを置き、直径 10 mm の円柱状プランジャーを用いて、60 mm/min の速度で歪率 30% まで変位させた時の荷重を測定値として用いた。

9. グルタミン酸の測定方法

凍結乾燥粉末 0.5 g に 2% 5-スルホサリチル酸 10 ml を加え、ホモジナイザーで 5000 rpm, 1 分間ホモジナイズした。12000 rpm, 5 分間遠心を行い、上清を回収した。沈殿に対して、同様の操作を行い上清を先ほどのものと合わせた。20 ml にメスアップし、サンプルとした。

測定は L-グルタミン酸測定キット（ヤマサ製）を用いて行った。

10. グアニル酸の測定方法

凍結乾燥粉末 0.5 g に 5.6% 過塩素酸 20 ml を加え、ホモジナイザーで 5000 rpm, 1 分間ホモジナイズした。12000 rpm, 5 分間遠心を行い、上清を回収した。沈殿に対して、同様の操作を行い上清を先ほどのものと合わせた。5.6% 過塩素酸にて 50 ml までメスアップし、グアニル酸抽出液とした。

グアニル酸抽出液 5 ml を活性炭カラムに供して、吸着させた後、カラムを MilliQ 水 20 ml で洗浄した。カラムに 1% アンモニア水 20 ml を流し、流出液を回収した。常温にて遠心乾固した後、MilliQ 水 3 ml に懸濁したものを測定用サンプルとした。

グアニル酸の測定は LC-MS（1100 series：Agilent 製）を用いて行った。分析はカラム：Discovery HS-F5 4.6 \times 150 mm（SUPELCO 製）、流速：1 ml, 移動相：2% 酢酸溶液、サンプル注入量：3 μ l, カラムオープン：40 $^{\circ}$ C, 検出波長 250 nm の条件にて行った。

11. 旨味の相乗効果の評価法

旨味の相乗効果は、下記式⁴⁾を用いて算出した。

$$y = u + 2760uv$$

y：グルタミン酸ナトリウム単独の等価濃度

u：グルタミン酸ナトリウム濃度

v：グアニル酸ナトリウム濃度

結果と考察

1. マッシュルームの品質劣化因子の調査

酵素的褐変と食感(テクスチャー)の低下をマッシュルームの品質劣化として挙げ、それぞれに関与する因子を抽出した。

酵素的褐変では Fig. 1 のメカニズムなどから考え、チロシナーゼ活性の強さ、チロシン含量、酸素の量、温度を因子とし、食感の低下では温度を因子として抽出した。

1-1. 酵素的褐変に関与する因子

1-1-1. チロシナーゼ活性とチロシン含量の測定

マッシュルームを Fig. 2 に示す部位毎に分け、褐変に関与するチロシナーゼ活性及び、その基質であるチロシンの含量を測定した。

結果、チロシナーゼ活性は表皮が最も強く、最も弱い菌傘の6.1倍であった。チロシン含量は菌摺が多いが、その量は最も少ない菌傘の2倍程度であり、チロシナーゼ活性ほど大きな差はなかった (Table 1)。

以上より、表皮が最も褐変しやすい部位であり、表皮のチロシナーゼを先に失活させることで褐変のリスクは大幅に減少すると考えられた。

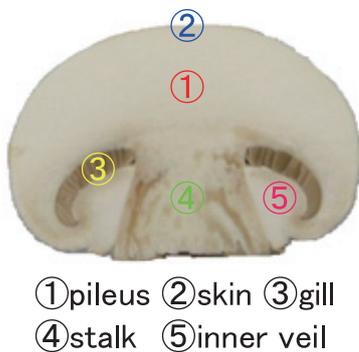


Fig. 2 Diagram of part of mushroom.

Table 1 Tyrosinase activity and tyrosine content of each part of mushroom.

	Tyrosinase activity (U/g fleshweight)	Ratio	Tyrosine (g/g fleshweight)	Ratio
①pileus	0.7	1.0	55.9	1.0
②skin	4.5	6.1	87.7	1.6
③gill	3.1	4.2	109.4	2.0
④stalk	2.2	3.0	68.9	1.2
⑤inner veil	1.5	2.0	93.5	1.7

1-1-2. 酸素量

1個のマッシュルームに含まれるチロシン量を求め、それを全てドーパキノンまで変換するために必要な酸素量を算出した結果0.14 ml, 空気量に換算すると0.7 ml (酸素濃度が大気と同じ20%とした場合) となった。

マッシュルームには多くの空気が含まれており、チロシナーゼ反応への酸素供給源となる可能性がある。そこで、空気量を測定した結果、マッシュルーム組織の間隙にはチロシナーゼ反応に十分な量である約6 ml (酸素濃度は大気と同じ20%程度であった) の空気が含まれていた。

以上よりマッシュルーム中の空気を除去することも効果があると思われた。

1-1-3. 温度

チロシナーゼ活性は45℃が最も活性が強いため (Fig. 3), この温度付近を短時間で通過させる必要がある。45℃での活性の30%以上の活性を示す20~52.5℃の温度帯をチロシナーゼ活性が強い温度帯とし、この温度帯の通過に要する時間を測定した結果、80℃では3分程の短時間だが、60℃では8分程と2倍以上の時間を要した (Fig. 4)。

以上より褐変の危険性という面では高温が好ましいことが分かる。

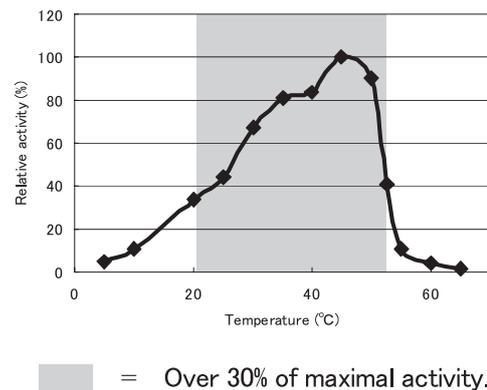


Fig. 3 Effect of temperature on tyrosinase activity.

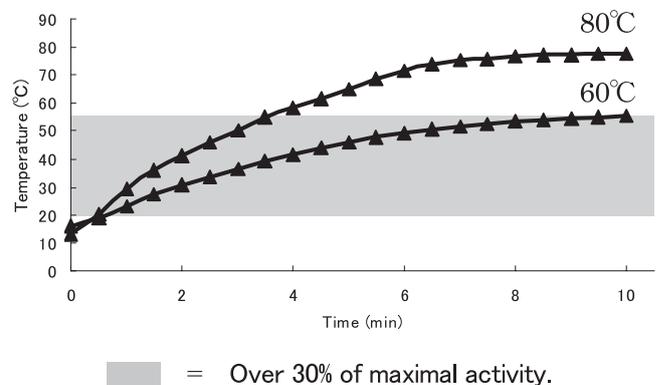


Fig. 4 Time course of increased temperature of mushroom under heating.

1-2. 食感（テクスチャー）の低下に関する因子

1-2-1. 温度

加熱温度と重量変化の関係について調べた結果、100℃では急激に重量が減少し、80℃では100℃ほどではないが、1分経過後急激に重量が減少した（Fig. 5）。60℃加熱では15分間の加熱でもあまり重量は減少しなかった。

加熱による重量減少が軟化や栄養成分の流出を示すと考えられるため、60℃程度の低温での加熱は酵素的褐変では好ましくないが、食感などの面では好ましいと予想された。

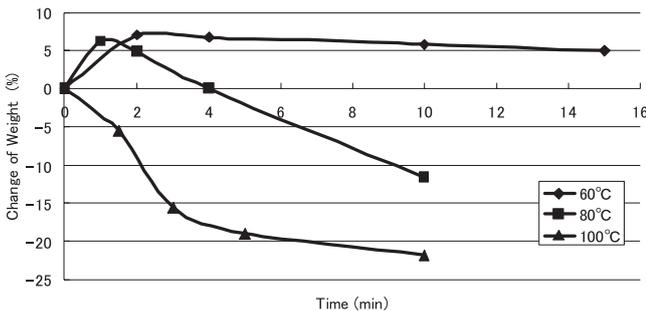


Fig. 5 Effect of heating on mushroom weight.

3. 加熱方法の検討

酵素的褐変の抑制と食感保持を両立させるため、3つの方法で酵素的褐変を抑制し、低い温度で加熱することを考えた。①表皮が最も褐変しやすいこと、低い温度での加熱ほど褐変の危険性が高いことから、マッシュルームを高温短時間処理し、表皮のチロシナーゼを失活させる。②マッシュルーム中の空気がチロシナーゼ反応への酸素供給源となることから、減圧によりマッシュルーム中の空気を除く。③雰囲気中の酸素を除いた状態で低温加熱を行う。

この考えをベースに、処理条件を決定した。すなわち、表皮のチロシナーゼを失活させるための加熱として、より高い温度が好ましいため100℃を用い、軟化しない時間として10秒間加熱を行う。その後、マッシュルーム中の空気を除くため減圧を行い、減圧下で、軟化が起こりにくい温度である60℃、チロシナーゼを失活させる時間として12.5分間加熱した。この加熱法（以後新規法）を用いて、マッシュルームを処理した結果、褐変せず、100℃10分間加熱したものと比較して生鮮品の食感を残していると感じた。味も既存の加工品と比較して旨味が強いと感じた。

これら主観的評価を客観的データとして取得するため、機器分析による評価を行った。

4. 新規法処理を行ったマッシュルームの品質評価

4-1. 色の評価

対照品には大気圧下60℃、12.5分間加熱し、褐変したもの（以後褐変品）、及び既存のブランチング条件である100℃10分間加熱を行ったもの（以後ブランチング品）を用いた。それぞれの加工処理後の写真をFig. 6に示す。



Fig. 6 Change of mushroom color after each heat-treatment.

left : New method

center : Heating at 60°C for 12.5 minutes

right : Heating at 100°C for 10 minutes

これら3種類を比較した結果、L*値に差は無いがa*値、b*値が褐変品で高かった（Table 2）。褐色は赤と黄の混色であることが示されているため、a*値、b*値の増加が褐変を示していることがわかる。ブランチング品と新規法処理品を比較すると、両者に大きな差はないため、新規法処理品は褐変しておらず、既存品と同程度の色調であることが示された。

Table 2 L*a*b* value of mushroom after each heat-treatment.

	New method	60°C-12.5 min	100°C-10 min
L*	68.3 (±3.26)	68.2 (±3.73)	70.7 (±1.89)
a*	-1.9 (±0.55)	4.7 (±0.79)	-0.5 (±0.18)
b*	10.9 (±1.31)	18.2 (±1.61)	13.2 (±0.87)

4-2. テクスチャーの評価

測定の結果、生鮮品の約半分程度まで軟化していたが、ブランチング品やレトルト処理を行ったもの（以後レトルト品）と比較すると2倍以上の硬さを保持していた（Fig. 7）。以上より、新規法は既存の方法より軟化を抑えることができる加工法であることがわかった。

4-3. 旨味成分の評価

マッシュルームに特徴的な旨味成分はグアニル酸であるが、旨味の強さではグルタミン酸に大幅に劣る。両者が混在する時には相乗効果も期待できるため、グルタミン酸とグアニル酸の両方の測定を行った。

4-3-1. グルタミン酸の測定

結果をFig. 8に示す。生鮮品と比較すると、レトルト品は含量が3割程度減少し、ブランチング品では同程度であった。新規法では約1.2倍程度ではあるが含量が増加していた。

4-3-2. グアニル酸の測定

測定の結果、生鮮品と比較して、ブランチング品、レトルト品共に含量が減少していた（Fig. 9）。それに対し、新規法では1.8倍以上に増加していた。この含量はグアニ

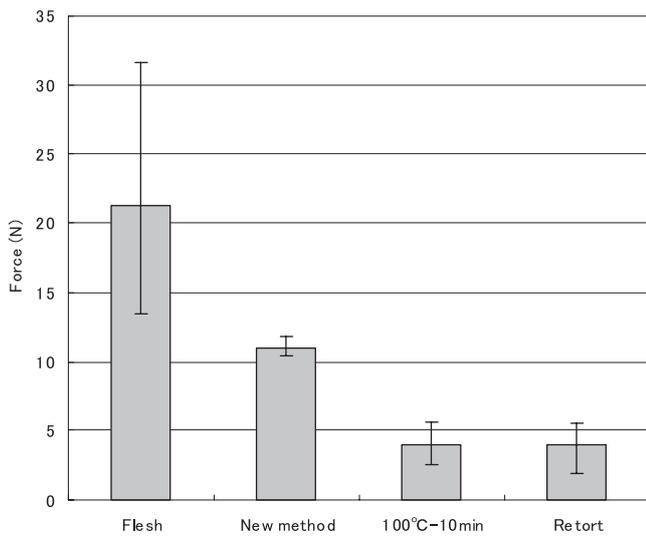


Fig. 7 Firmness of mushroom after each heat-treatment.

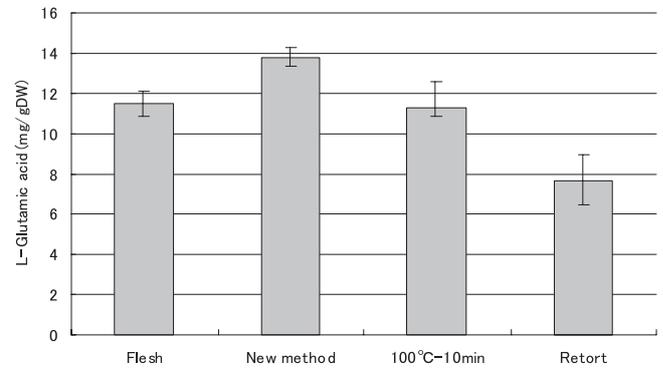


Fig. 8 L-glutamic acid content of mushroom after each heat-treatment.

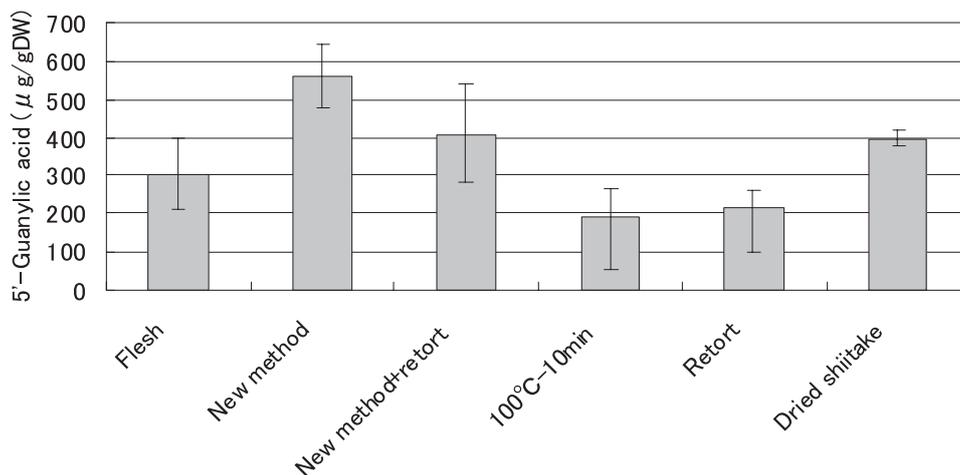


Fig. 9 5'-Guanylic acid content of mushroom after each heat-treatment.

ル酸が多いと言われる干し椎茸の約 1.4 倍であることから、新規法で加工したマッシュルームは多くのグアニル酸を含んでいると言える。

新規法で加工する事で増加したグアニル酸量はレトルト処理で7割程度まで減少するが、生鮮品や他の加工品と比較しても多い量を保っていた。以上より、新規法をブランチングに用いることで、既存のレトルト品よりグアニル酸量が多い製品を作る事ができる可能性が示唆された。

生鮮品と比べてグアニル酸含量が増加した原因については、加熱中に食材内の酵素が働いたためと考えられる。グアニル酸は Fig. 10 のように、核酸がヌクレアーゼに分解されて生成し、ホスファターゼにより旨味の無いグアノシンまで代謝される。この経路から、ヌクレアーゼを強く働かせ、ホスファターゼをあまり働かせないようにすることでグアニル酸が増加すると予想される。

しいたけでは 60 ~ 75°C でグアニル酸が増加しやすいことが報告されている⁵⁾ ことから、新規法で用いた 60°C 12.5 分間の加熱が、グアニル酸増加の条件を満たしていたことが考えられる。

4-3-3. 旨味の評価

グルタミン酸とグアニル酸の相乗効果は計算式により求めることができる。その式に今回測定したグルタミン酸、グアニル酸含量を代入した結果を Table 3 に示す。

新規法で加工したマッシュルームは生鮮品の 2.2 倍の旨味の強さを持つ。これはレトルト品の 4 倍、ブランチング品の 3.5 倍の旨味の強さであった。

以上の結果から、既存の加工品と比較して旨味が強いことがわかった。

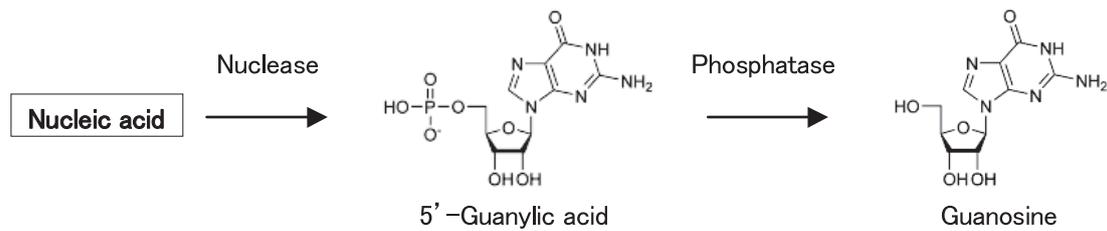


Fig. 10 Metabolic pathway of 5'-Guanylic acid each heat-treatment.

Table 3 Synergy effect of UMAMI in mushroom after each heat-treatment.

	L-Glutamic acid ($\mu\text{g/g dryweight}$)	5'-Guanylic acid ($\mu\text{g/g dryweight}$)	Total UMAMI ^{※1} ($\mu\text{g/g dryweight}$)	ratio
Fresh	11548	304	9.7×10^9	1.00
New method	13780	557	2.1×10^{10}	2.19
100°C-10 min	11328	190	5.9×10^9	0.61
Retort	7653	215	4.5×10^9	0.47

※1 L-Glutamic acid equivalent

まとめ

新規法を用いる事で、生鮮品に近い食感を持ち、かつ旨味成分であるグアニル酸を多く含む、これまでに無い特徴を持った加工品を製造できることを示した。この加工品はマッシュルームの性質上、冷凍ではテクスチャーが著しく低下するため、チルドでの流通が好ましいと考えている。

本加工品ではグアニル酸が生鮮品と比較して増加したが、この増加は酵素によるものと推測した。増加に関わる酵素の特性を詳細に調べることで、よりグアニル酸を増加させる条件を見出すことができると考えられる。

参考文献

- 1) J. D. McCord, A Kilara: *J. Food Sci.* (1983) Vol. 48, 1479-1483
- 2) G. M. Sapers, R. L. Miller, F. C. Miller, P. H. Cooke, S. Choi: *J. Food Sci.* (1994) Vol. 59, No.5, 1042-1047
- 3) C. Devence, J. N. Rodriguez-Lopez, L. G. Fenoll, J. Tudela: *J. Agric. Food Chem.* (1999) Vol. 47, 4506-4511
- 4) 太田静行：うま味調味料の知識 (幸書房)
- 5) 遠藤金次：調理科学 (1989) Vol. 22, No. 1, 58-62