

博士（栄養学）学位論文

論文題目

干し椎茸についての食品化学的研究  
—特に水もどし法と呈味成分について—

Food Chemical Studies on Dried Shiitake Mushroom  
[*Lentinus edodes* (Berk) Sing.]

—Method of Rehydration and Taste Components—

1996年

指導教員 菅原龍幸教授

氏名 佐々木弘子

女子栄養大学

(1)

## 博士（栄養学）学位論文

論文題目

### 干し椎茸についての食品化学的研究 —特に水もどし法と呈味成分について—

Food Chemical Studies on Dried Shiitake Mushroom  
[*Lentinus edodes* (Berk) Sing.]  
—Method of Rehydration and Taste Components—

1996年

指導教員 菅 原 龍 幸 教 授  
氏 名 佐々木 弘 子

女子栄養大学

## 目 次

S U M M A R Y ..... 1 ~ 8

第 1 章 緒 言 ..... 1

第 2 章 水もどし過程と加熱調理における  
遊離アミノ酸の挙動

### 第 1 項 実験方法

1. 試料 ..... 11
2. 水もどしおよび加熱の方法 ..... 11
3. 窒素の定量
  - (1) 総窒素量 ..... 11
  - (2) タンパク態窒素量 ..... 12
  - (3) アミノ態窒素量 ..... 12
  - (4) 遊離アミノ酸量および  
総アミノ酸量 ..... 12

### 第 2 項 結 果

1. 水もどし過程の遊離アミノ酸 ..... 13
2. 加熱調理後の遊離アミノ酸 ..... 16

第 3 項	考 察	17
第 4 項	要 約	21

第 3 章 水もどしおよび加熱調理における  
香氣成分ならびに香氣生成関連物質

第 1 項 実験方法

1. 試 料	23
2. 水もどし、加熱調理の方法	23
3. 加熱調理中の椎茸の 内部温度の測定	24
4. $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -G T) 活性および pH の測定	24
5. レンチオニンの定量	25
6. レンチニン酸加熱生成物の確認	27

第 2 項 結 果

1. 加熱調理中の椎茸の内部温度 の変化	27
2. $\gamma$ -G T 活性の変化 (1) 各種水もどし温度条件下に における変化	27

(2) 加熱温度の相違による変化	28
(3) 加熱調理過程における変化	29
(4) レンチオニン量の変化	29
第3項 考察	31
第4項 要約	36

第4章 種々の調理条件による干し椎茸  
呈味成分量の変化が嗜好に及ぼす  
影響

第1項 実験方法

1. 試料	39
2. 水もどしおおよび加熱調理 の方法	39
3. 5'-ヌクレオチドの定量	40
4. 遊離アミノ酸の定量	41
5. 遊離糖・糖アルコールと有機酸の 定量	
(1) 抽出	41
(2) 還元糖の定量	42
(3) ガスクロマトグラフィーによる	

遊離糖・糖アルコールの定量	42
(4) 有機酸の定量	43
6. 無機質の定量	44
7. 官能検査の方法	
(1) 識別調査	45
(2) 嗜好調査	46
8. テクスチャーの測定	46
9. 多汁性の測定	47
第2項 結果	
1. 5'-グアニル酸含量および遊離アミノ酸量	47
2. 遊離糖・糖アルコール含量	48
3. 有機酸含量	49
4. 無機質含量	50
5. 官能検査	50
6. 嗜好調査	54
7. テクスチャー	55
第3項 考察	57
第4項 要約	63

## 第5章 干し椎茸様調製エキスの 呈味成分

### 第1項 実験方法

1. 干し椎茸エキスの抽出 .....	69
2. 干し椎茸エキスの作成 .....	70
3. 干し椎茸エキスと調製エキス の比較 .....	70
4. 調製エキスのオミッショントスト による有効成分の検索 .....	71

### 第2項 結果

1. 干し椎茸エキスと調製エキスの 味の比較 .....	72
2. 調製エキスによるオミッショント テスト .....	73

### 第3項 考察

1. 各成分の呈味上の役割 .....	76
2. 評価項目間の相関関係 .....	78
3. 主成分分析 .....	79
4. 干し椎茸の加熱調理品 の味の構成 .....	80

第 4 項 要 約 ..... 83

第 6 章

総 括 ..... 85

謝 辞 ..... 89

参 考 文 献 ..... 90 ~ 96

図 お よ び 表 ..... 97 ~ 140

[Summary]

Food Chemical Studies on Dried Shiitake Mushroom  
— Method of Rehydration and Taste Components —

To cook dried shiitake mushroom [*Lentinus edodes* (Berk) sing.], it is required first rehydrate. However, the fundamental conditions for the rehydration (soaking temperature, soaking time, etc) still remain undetermined and widely vary.

On the other hand, dried shiitake mushroom contains various components and strong activities of enzyme participating in the decomposition of the components remain therein. It is therefore considered that during the process of rehydration, various biochemical reactions occur and thus larger affect the taste of the shiitake mushroom.

In this study, we have paid our attention to the rehydration of dried shiitake mushroom by soaking and the following heating process and attempted to establish the most reasonable rehydration method by which the taste components can be accumulated at the maximum level.

It has been considered that 5'-GMP serves as the main taste components of dried shiitake mushroom. This study also aims at clarifying how other taste components contribute to the taste of cooked shiitake mushroom.

I. Behaviors of free amino acids during

### rehydration and heating

During the process of rehydration dried shiitake mushrooms by soaking and the following heating process, effects of the soaking temperature and the soaking time were examined.

The results thus obtained are as follows.

(1) When dried shiitake mushroom were soaked at 25 °C, the protein-form nitrogen content was decreased while the amino-form nitrogen content was increased as the soaking time was prolonged.

(2) After the rehydration, free proteinous amino acids were increased. This increase became larger as the soaking temperature was elevated and the soaking time was prolonged.

(3) Free non-proteinous amino acids showed no change due to the rehydration.

(4) Lentinic acid was decreased in both of the rehydration and heating process.

### II . Aroma components and aroma-relating substances during rehydration and heating

Behaviors of lenthionine contained in the rehydrated and heated shiitake mushrooms were studied to clarify the role on lenthionine in the formation of the aroma of cooking shiitake mushroom. At the same time, the  $\gamma$ -Glutamyl transferase ( $\gamma$ -GT) activity was examined so as to clarify the effects of the rehydration and heating of dried shiitake mushroom on the

mechanism of the formation of lenthionine.

(1) After rehydration, the  $\gamma$ -GT activity largely lowered as the soaking temperature was elevated. In the heating process, it was almost completely inactivated 5 minutes after the initiation of heating.

(2) Immediately after the rehydration, a larger lenthionine content was observed at higher soaking temperature owing to the function of  $\gamma$ -GT.

Namely, the lenthionine content was lowered with a decrease in the soaking temperature. After heating for 10 minutes (i.e., just after boiling), a sample rehydrated at higher soaking temperature and a longer soaking time, which contained only a small amount of lenthionine, showed the smaller lenthionine content. On the other hand, a sample rehydrated at a lower soaking water temperature and contained a larger amount of lenthionine content.

(3) After heating for 20 minutes (i.e., 10 minutes after boiling), lenthionine was not formed any more due to the inactivation of  $\gamma$ -GT but vaporized and decomposed. Thus the lenthionine content was rapidly decreased. In the case of a sample rehydrated by soaking in water at 5 °C, remaining lenticic acid underwent heat decomposition and thus lenthionine was formed. Therefore, it contained a relatively large amount of lenthionine.

(4) After heating for 40 minutes scarcely any lenthionine remained.

### III. Effects of changes in shiitake mushroom taste under various cooking conditions on preference

Dried shiitake mushroom were cooked in accordance with the practical methods. Then the shiitake mushrooms thus cooked were sensorially evaluated and, at the same time, the taste components were analyzed. Then the correlation between the contents of the taste components and the scores of the sensory evaluation was examined.

Further, the textures of the same shiitake mushroom as those subjected to the analysis of the components were measured. Thus factors determining the deliciousness of cooked shiitake mushrooms were examined.

(1) A sample soaked at a lower temperature for a shorter period showed the larger content of 5'-GMP. A sample rehydrated at a high soaking temperature for a long time showed the formation of little 5'-GMP.

(2) A larger content of the total free amino acids was observed as the soaking temperature was elevated and the soaking time was prolonged. Samples soaked 25 °C and 40 °C for 25 hours showed each a glutamic acid content about twice as much as the glutamic acid content of a sample rehydrate for 1 hour. A sample rehydrated at a lower

temperature for shorter period of time showed the larger lentinic acid content.

(3) The total free sugar content showed an increase as the soaking temperature was elevated. Regarding each sugar, trehalose, which was contained in a large amount, showed a decrease, while glucose showed an increase. Sugar alcohols were not affected by the soaking temperature.

(4) The total organic acid content was about 2.4 % per dry matter and malic acid amounted to the largest content (60 to 70 %) therein.

After the rehydration by soaking and cooking, no change was observed.

(5) As the results of the sensory test, a sample rehydration by soaking for 5 hours or longer was preferred among those soaked at 5 °C. Among samples rehydrated by soaking at 25 °C, those soaked for 5 to 15 hours were preferred. On the other hand, samples soaked at 40 °C got low scores in general. Among these samples, those rehydrated by soaking for shorter periods were preferred.

The evaluation of the taste related to the intensities of fruit body taste and bitterness. That is to say, a sample having an intense fruit body taste was highly evaluated, while one having an intense bitterness was poorly evaluated.

The evaluation of the intensity of the fruit body taste of cooked shiitake mushroom correlated to the intensity of the fruit body taste based on

the synergistic effects of 5'-GMP with glutamic acid.

When rehydrated at high temperature and cooked, shiitake mushrooms contained hydrophobic amino acids in a sufficient amount to express the bitterness.

A sample rehydrated for a short period get a low score in texture and not preferred because of the insufficient rehydration.

(6) A preference test was performed with the use of a sample soaked at 5 °C for 15 hours and cooked and another sample soaked at 40 °C for 25 hours and cooked. As a result, the former one was preferred to the latter.

(7) The texture were measured with the use of a sample soaked at 5 °C for 15 hours and cooked another sample soaked at 40 °C for 25 hours and cooked. As a result, the latter one showed a soft texture.

Now difference was observed in juiciness.

Based on these results, it is assumed that the deliciousness of dried shiitake mushrooms depends largely on the taste components relating to the taste and aroma rather than the texture.

#### IV. Taste components of cooked shiitake mushroom

Based on the results of the analysis of the taste components contained in the highly evaluated shiitake mushroom which had been

soaked at 5 °C for 15 hours and cooked, the taste was recomposed. Then the components largely affecting the shiitake mushroom-like taste were identified by an omission test.

(1) According to the evaluation in the omission test on the synthetic extract, a sample lacking 5'-nucleotide showed a weakened deliciousness, one lacking sugars and sugar alcohols showed a weakened sweetness and one lacking free amino acids showed weakened sweetness and bitterness in general.

(2) On the other hand, a sample lacking lenthionine and lentinic acid, which is a precursor of lenthionine, participating in the expression of the characteristic aroma of shiitake mushroom had no shiitake mushroom-like aroma.

(3) A sample lacking potassium and phosphoric acid showed a taste different from the shiitake mushroom-like extract.

(4) Based on the correlations among the evaluation items, it was concluded that the taste components of shiitake mushroom contributed to the elevation of deliciousness and preference.

(5) As the results of the analysis of the main components, it was found out that 5'-nucleotide, amino acids having the fruit body taste and sugars closely related to the shiitake mushroom-like taste.

These results suggested that the main taste

components of dried and cooked shiitake mushroom involved 5'-GMP, free amino acid (glutamic acid, aspartic acid, glycine, alanine, etc), sugars and sugar alcohols. It was further found out that inorganic ions were also important components.

On the basis of the results of this study, we have concluded that it is the most desirable to rehydrated dried shiitake mushroom by soaking at a low temperature(25 °C or berow) for the shortest period of time required for sufficient rehydration.

It is considered that a synthetic extract is usable as a shiitake mushroom-like extract and contributes to the improvement in the taste of a food with a shiitake mushroom flavor.

It is further expected that the date obtained by this study are usable as an indication in the evalution of the qualities of dried shiitake mushrooms produced by different method, for example, the wood cultivation method and medium cultivation method. It is furthermore expected to give inducations in the evalution of the qualities of other fungi from the viewpoint of taste.

## 第1章 緒 言

キノコ類は食卓において季節感を彩り、味・香り・歯ざわりを賞味する嗜好的価値が高い食材料として重宝されている。さらに血中コレステロール低下作用、抗腫瘍作用の機能をもつ食物繊維を豊富に含むこと、カルシウムの吸収に大きく関与するビタミンDの供給源となる食品の一つと考えられることによる骨粗鬆症の予防など、種々の機能をもつ食品として注目されている。

干し椎茸は文献の上に漢字<sup>1)</sup>として現われたのは道元の「典座教訓」貞応2年(1223年)に倭榎として示されたのが最初のものであろうといわれている。また安土・桃山時代から料理の材料として広く利用されているとの記録があり、江戸時代料理本集成に収録された料理本においては干し椎茸と明記されたもののみで料理法、貯蔵法が50種記載されており、昔から日本人に好まれ、利用されてきた

伝統食品である。

また干し椎茸は生椎茸を乾燥することにより作られるが、この乾燥は水分を乾燥させるだけではなく、組織の構造に変化を起こし、水にもどして実際に食するときは味、テクスチャーなど生椎茸とは異なった風味をもつ食品になっている。

干し椎茸は乾燥品であるため、調理時には水もどし過程が必須となり、その過程で各種の生化学的变化が起こると予想される。

しかしながら、古くから広く利用されているにもかかわらず、水もどしの方法は習慣、経験によるものがほとんどであり、科学的根拠に基づく方法が見いだされていない。

干し椎茸の水もどし方法は菅原ら<sup>2)</sup>の全国346所帯の調査結果では水を使用する40.7%、微温湯を使用する55.7%とほぼ半数であり、水もどし時間を決めたものではなく、一晩くらいつけるとしたものが30%であったものの、かなりまちまちであったと報告している。

一方、干し椎茸そのものの呈味成分については 5'-ヌクレオチド<sup>3), 4)</sup>、遊離アミノ酸、低分子ペプチド<sup>5), 6)</sup>、糖・糖アルコール、有機酸<sup>7)</sup>等が想定され、それら成分の分析結果が報告されている。その中でも 5'-グアニル酸（5'-GMP）は干し椎茸の特徴的な旨味成分として重要な役割を担っているものと考えられ、その生成機構を中心にして研究が行われている。中島<sup>3)</sup>、橋田<sup>8)</sup>らは干し椎茸の細片を1時間の水もどしを行った後、加熱し3分間沸騰させる煮出し抽出により90~150mg/100g程度の 5'-GMP が分析されると報告している。また冷過塩素酸（PCA）で抽出した場合には 5'-モノヌクレオチド類が少量しか存在していないことから、干し椎茸煮出し液中の 5'-GMP は高分子のリボ核酸（RNA）より核酸分解に関与する酵素系の作用により生成するのであろうと推定している。これに関して毛利<sup>9), 10)</sup> 山本<sup>11~13)</sup>らは至適温度の高い RNA 分解酵素（Ribo-nuclease:

R N a s e ) と 比 較 的 热 に 弱 い 5'-ヌクレオチド 分解 酵 素 (Phospho-monoesterase) が 椎 茸 に 存 在 す る こ と を 見 い 出 し 、 こ れ ら の 热 安 定 性 の 差 い に よ り 5'-モノヌクレオチド類 が 煮 出 し 液 中 に 生成 蓄 積 さ れ る こ と を 明 ら か に し た。

実 際 に 干 し 椎 茸 を 食 す る た め に は 水 も ど し お よ び 加 热 の 調 理 過 程 が 必 要 で あ り 、 こ れ ら の 過 程 に お け る 酵 素 的 変 化 は 呈 味 成 分 、 香 り 成 分 の 生成 、 変 化 に 多 く の 影 韻 が あ る の で は な い か と 考 え ら れ る。 し か し 、 そ れ ら に 着 目 し た 詳 细 な 研 究 は 以 下 の 5'-G M P の 消 長 に つ い て 以 外 は ほ と ん ど み ら れ な い。

干 し 椎 茸 の 調 理 条 件 と 5'-G M P の 生成 量 に つ い て は 別 所 ら <sup>14)</sup> が 13~15°C で 20 時 間 、 40°C で 2 時 間 お よ び 80°C で 30 分 間 戻 し 後 、 煮 上 げ た も の に つ い て の 比 較 を 行 い 、 低 温 で 長 く 戻 し た も の が 官 能 的 に も よ く 、 5'-G M P の 生成 量 も 多 い と 報 告 し て い る。

青 柳 ら <sup>15)</sup> は 5'-G M P が 調 理 時 に 多 く 生

成する条件を見いだすためにモデル実験を行っている。その結果によれば浸漬温度を5°C 15°C、25°C、40°C、60°Cとした時には40°Cまでは水温が高くなるほど、水もどしに要する時間は短くなる傾向があるが、60°Cの高温になると組織の変性による吸水量の減少や、もどし汁の褐変が進行するとしている。またRNA含量は水もどし中に経時的に減少し、水温が高くなるほど減少の程度は著しいとしている。RNAの分解物である5'-GMP含量は、水もどし中では低レベルであり、40°C以下の水もどしでは減少する。水もどし後の加熱調理によりRNA量は減少し、5'-GMP量は増加するが、長時間の水もどしや、高温での水もどし後の加熱では5'-GMP量の増加が小さくなるか、ほとんどなくなるとしている。すなわち5'-GMP生成量はRNAや酵素活性が保持されていると考えられる低温で短時間水もどししたもののが最も高い値を示したとしている。

5'-GMP以外に干し椎茸の呈味に関与する成分は遊離アミノ酸、糖・糖アルコール、有機酸、ミネラル成分のほか椎茸特有の香り成分などが考えられる。

特に遊離アミノ酸についてはTerasitaら<sup>16</sup>～<sup>19</sup>)が干し椎茸子実体中より酸性およびメタルプロテアーゼを精製し、その性質を検討していることから、調理過程におけるプロテアーゼの挙動が遊離アミノ酸生成に関して呈味に影響を与える可能性が考えられる。

また、椎茸の香気成分のレンチオニンは単独で椎茸の香気を強く連想させる特徴があると報告されている<sup>20～22</sup>)が、このレンチオニンはYasumotoら<sup>23～30</sup>)により椎茸中の低分子ペプチドであるレンチニン酸を前駆物質として2段階の酵素作用の後、非酵素的に生成されると報告されている。

すなわち、レンチニン酸からレンチオニンを生成する場合、最初に $\gamma$ -グルタミル基転移酵素( $\gamma$ -glutamyl transferase)が作用し

グルタミン酸が転移され、デスグルタミルレンチニン酸を生ずる。次いで、デスグルタミルレンチニン酸にシステインスルホキシドリーゼ (Cysteine sulfoxide lyase) が作用し、C-S 間の開裂が起こり、以後チオスルフィネートなどを中間物質としての化学反応を経てレンチオニンが生成されるとしている。

これらのことから水もどしや加熱過程における  $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼや C-S リアーゼの作用が予想され、レンチニン酸やレンチオニンの挙動により、干し椎茸調理品の香気に何らかの影響があると考えられる。しかし、これに関してはほとんど報告がなく、わずかにレンチオニンの性質<sup>20, 21)</sup>や定量方法<sup>31)</sup>について 2, 3 の報告があるのみである。

干し椎茸の嗜好に影響を与える要因には、呈味成分、香り成分のほかにテクスチャーが重要なものと考えられる。松本ら<sup>32)</sup>は、室温で一晩水もどし後、2 時間煮た干し椎茸の

嗜好について報告している。それによると官能検査で得られた味の良さとアミノ態窒素量および5'-GMP量の間には有意な相関は認められず、むしろ総合的な嗜好特性は菌傘の厚さに高い相関があるとしている。すなわち歯ごたえが良く、咀嚼時の汁液放出量が多いだけでなく、汁液放出の持続回数が多いなどの理由で菌傘の厚いものほど好まれたとしている。

しかし、この実験における室温で一晩の水もどしは必ずしも種々の銘柄の干し椎茸に対し、最適のものとは考えられない。また、水もどし条件によってはテクスチャーの要因、たとえば硬さなどに違いなどがでてくるものと考えられる。

以上述べてきたように、干し椎茸の水もどしと加熱調理については未だ未解明な部分が多く残されている。

本研究は水もどしと加熱調理の2つの過程における5'-GMPならびに遊離アミノ酸、

その他の呈味成分および香気成分などの挙動について検討し、同時に行った官能検査との照合により、干し椎茸の加熱調理品の味の要因について検討することとした。

また、これらの結果をもとにして干し椎茸の水もどしと加熱調理の合理的方法について考察することにした。

以上のことから、本研究はこの干し椎茸の水もどしおよびその後の加熱過程に着眼点をおき、呈味成分、香り成分およびテクスチャーにつき、詳細な検討を行い、最も望ましい調理条件を求め、その結果を基に椎茸様調製エキスを作成することとした。ついで調製エキスを基準としてシオミックションテストを行い、どのような成分が椎茸らしい味に寄与しているかを見いだすこととした。

## 第2章 水もどしと加熱調理における遊離アミノ酸の挙動

Terasitaら<sup>16~19)</sup>は生シイタケのプロテアーゼ系について検討し、子実体には至適 pH 3.1~5.7および至適 pH 7.0~7.5の二種のプロテアーゼ<sup>19)</sup>の存在を報告している。

干し椎茸のプロテアーゼについての報告は見当らないが、椎茸の乾燥条件は比較的温和であり、プロテアーゼ活性の残存が予想される。

水もどし後、加熱処理をした干し椎茸のアミノ態窒素量を予備的に測定したところ、アミノ態窒素がかなり増加していたので、水もどし条件により遊離アミノ酸量にかなりの変化があると考えられた。そこで種々の水もどしおよび加熱条件における遊離アミノ酸の挙動について検討することにした。

### 第1項 実験方法

## 1. 試料

干し椎茸は宮崎県産上冬菇、上香信の2銘柄を実験に用いた。

各試料は個体差を可及的になくすために各々1kgを菌傘と菌柄に分け、菌傘を4切片に切り良く混合した後、4～6切片を無作為に抽出して実験に供した。

## 2. 水もどしおよび加熱の方法

水もどしは20倍量の水を用い、浸漬温度は5°C、25°C、40°Cとし、それぞれ浸漬時間は1、3、5、15、25時間とした。

加熱調理は予め水もどしに用いたと同量の蒸留水を5分間で沸騰するよう温度設定したドライロックバスを用い、水もどした試料をそのままもどし汁ごと加熱し、沸騰後引き続き5分間加熱を続けた。

## 3. 窒素の定量

### (1) 総窒素量

試料は常法により分解し三菱化成KN-03型窒素蒸留装置により定量した。

#### (2) タンパク態窒素量

試料はトリクロル酢酸(TCA)沈殿法<sup>3,3)</sup>により前処理を行った。すなわち25℃で水もどし後の試料に2.5%TCAを加えホモジナイズ後、濾過し、残渣を2.5%TCAで洗浄して試料とした。

#### (3) アミノ態窒素量

試料に70%エタノールを加え、また水もどし後の試料は70%になるようにエタノールを加え、ホモジナイズし、遠心分離により上澄をとり抽出液を得た。抽出残渣はさらに2回70%エタノールにより抽出した。上澄を合わせて40℃以下で減圧濃縮し、エーテルで脱脂後、蒸留水にて定容し試料溶液とした。この試料溶液についてホルモール滴定<sup>3,4)</sup>によりアミノ態窒素量を測定した。

#### (4) 遊離アミノ酸量および総アミノ酸量

干し椎茸の遊離アミノ酸量は試料に70%エタノールを加え、1時間加熱還流し、濾過後上澄を取り抽出液とした。抽出残渣はさらに

2回70%エタノールで還流抽出をした。上澄液を合わせて40°C以下で減圧濃縮し、エーテルで脱脂後、pH 2.2クエン酸リチウム緩衝液で定容した。水もどし後の試料およびそれを加熱調理した試料の遊離アミノ酸は70%になるようにエタノールを加え、以下同様に抽出し、pH 2.2クエン酸リチウムで定容したものを分析に供した。アミノ酸分析は日立 835型高速アミノ酸自動分析計を用い、生体分析法により非タンパク性アミノ酸11種類およびレンチニン酸を含む遊離アミノ酸32種類を分析した。レンチニン酸の定量は青柳<sup>5)</sup>が単離したものを標準品とした。

## 第2項 結 果

### 1. 水もどし時の遊離アミノ酸

干し椎茸の浸漬水温25°Cでの水もどし過程における遊離アミノ酸の消長をFig.1に示した。タンパク態窒素量は総窒素量の74%を示しており25°Cで水もどしを行うと徐々に減少

し、25時間後には40%が残存するにすぎなかつた。

またアミノ態窒素量は水もどしによって増加し浸漬時間が長くなると、より多くの増加がみられ、25°Cで25時間の水もどしでは水もどし前の2.8倍量に達した。これらのことは水もどしというプロセスが遊離アミノ酸にかなり影響することを示唆していた。そこで水もどし過程における遊離アミノ酸量の挙動を干し椎茸の主要な銘柄である上冬菇と上香信の2銘柄について検討した。Fig.2に上冬菇の主な遊離アミノ酸であるアスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、アラニン、フェニルアラニン、イソロイシンの消長について示した。Fig.3に上香信の主な遊離アミノ酸の消長を示したが、上冬菇と同じような結果を示した。すなわち、タンパク性アミノ酸類は水もどしにより増加し、浸漬水温が5°Cの場合は緩やかであるが、25°C、40°Cと水温が高くなると増加の割合が高くなる傾向がみられ

た。また同じ水温では浸漬時間が長くなる程增加していた。この傾向はFig. 2, 3に示したアミノ酸以外のバリン、メチオニン、ロイシン、アルギニンなどにも認められた。

総タンパク性アミノ酸量に対する遊離型タンパク性アミノ酸量の比は水もどし前では平均して12%であったが40℃で25時間の水もどし後では46%にも達した。特にグルタミン酸では水もどし前では約20%が遊離型であったが、40℃で25時間水もどし後では約60%が遊離型になっていた。またイソロイシン、フェニルアラニンでも水もどし前は2~3%が遊離型であったが、40℃で25時間水もどし後は60~70%が遊離型であった。

Fig. 4 に上冬菇と上香信の非タンパク性アミノ酸である $\beta$ -アラニンとオルニチンの水もどしによる挙動を示した。非タンパク性アミノ酸は水もどしによる影響は少ないようであり、大きな変化はみられなかった。シスタチオニン、 $\gamma$ -アミノ酪酸なども同様であつ

た。

Fig. 5 にレンチニン酸の水もどしおよび加熱過程による挙動を示した。レンチニン酸は水もどし中に減少していた。上冬菇の5°Cの水もどしでは5時間まではあまり変化がみられないが5時間以後は減少していた。25°C、40°Cでは水もどし1時間で減少しており、3時間になるとほとんど消失していた。上香信においても同じ傾向がみられたが、レンチニン酸の減少割合は比較的ゆるやかであった。

## 2. 加熱調理後の遊離アミノ酸

加熱調理による影響をみるために干し椎茸を各浸漬水温、浸漬時間で水もどしを行った後、加熱調理した試料の遊離アミノ酸量を測定した。水もどし後の遊離アミノ酸量を100とし、加熱調理後の遊離アミノ酸量の比率を5°C、25°C、40°Cの各浸漬水温ごとに平均したものを作成した。グルタミン酸、グリシンなどのタンパク性アミノ酸は加熱調理による増減はほとんどみられなかった。β-

アラニン、オルニチンなどの非タンパク性アミノ酸は、ほとんど変化がないか、わずかに減少している傾向がみられた。

レンチニン酸についてはFig.7に示した通り、加熱調理により減少し、浸漬水温が低いほど減少割合は大きかった。

### 第3項 考 察

干し椎茸を浸漬水温25℃で水もどしを行うと25時間後には、タンパク態窒素は水もどし前の40%に減少していた。また減少分の60%がアミノ態窒素量として回収された。

個々の遊離アミノ酸の挙動を検討したところ、タンパク性アミノ酸は浸漬時間が長くなるほど遊離型が増加し、非タンパク性アミノ酸にはほとんど変化がみられない、このことは水もどし中にタンパク質が分解され遊離アミノ酸になることを示唆しており、干し椎茸中のプロテアーゼが遊離アミノ酸の増加に関与していることが推察された。

Terasitaら<sup>16~19)</sup>はシイタケのプロテアーゼ系について検討しており、静置培養液、栄養菌糸、子実体から酸性プロテアーゼ、また栄養菌糸、子実体からメタルプロテアーゼをみいだしている。子実体には至適 pH 3.1~5.7および至適 pH 7.0~7.5の二つのプロテアーゼ<sup>19)</sup>の存在が報告されている。

一般に干し椎茸は40°C~60°Cまで1時間~2時間に1°C~2°Cずつ温度を上げ、10時間から15時間かけて乾燥して製造される<sup>35)</sup>。乾燥過程で酸性プロテアーゼあるいはメタルプロテアーゼの一方または双方の活性が残存し、干し椎茸の水もどし中に作用していると考えると理解しやすい。

本実験におけるアミノ酸の遊離率はグルタミン酸と疎水性アミノ酸類が高くなっていた。Terasitaら<sup>19)</sup>のメタルプロテアーゼは疎水性アミノ酸を含むペプチドを良く分解することから、遊離アミノ酸組成の変化が考えられ呈味の変化に影響を与えるものと推察される

しかしこれらの両酵素は至適温度は50℃であるが、熱に対し不安定であると報告されており、干し椎茸の示すプロテアーゼ活性がこれらの酵素とどのように関係しているかは検討の必要がある。

干し椎茸特有の香り成分であるレンチオニンの前駆物質であるレンチニン酸は安本・岩見ら<sup>23~30)</sup>の一連の研究において $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼとC-Sリニアーゼにより分解され、レンチオニンを生成する事が知られている。この実験でも水もどし中にレンチニン酸は経時的に減少し、40℃以下の水もどしでは水温が高いほど減少の割合が大きくなっている。レンチオニン生成系が活発に作動していることが示された。

Itoら<sup>31)</sup>は干し椎茸の水もどし中のレンチオニンの生成における最適条件はpH7~9、至適温度50~60℃であり、またpH7~9の間でレンチオニンの生成量は1~2時間で最大になり、以後徐々に減少するとしている。こ

のようなレンチオニン量の消長は吸水過程、レンチニン酸よりの酵素的生成およびレンチオニンの分解という三つの要素が組み合わさった結果であろうと考えられる。

加熱調理によってタンパク性アミノ酸はあまり変化はみられなかつたが、これは加熱調理中に酵素的に生成したアミノ酸と、アミノ酸がアミノ・カルボニル反応等より減少することが互いに相殺していると考えられ、なお検討の余地がある。一方、非タンパク性アミノ酸は酵素的に生成されないため、わずかに減少しているような傾向が認められた。

レンチニン酸は加熱調理により減少することが観察されたが、これは加熱による水温上昇過程での酵素系の作用に大部分が起因するものと推定される。また水もどし後のレンチニン酸量を100とし、加熱後のレンチニン酸量を比率で示すと浸漬温度の高い試料では加熱後のレンチニン酸の減少割合が低かった。

これは水もどし過程で大部分のレンチニン

酸が失われた後の加熱であったため、基質濃度が希薄になったと考えられる。

#### 第4項 要 約

干し椎茸の水もどしおよび加熱調理において、浸漬水温と浸漬時間に及ぼす影響について検討し、次のような結果を得た。

- (1) 干し椎茸を25°Cで水もどしを行うと、浸漬時間が長くなるに従い、タンパク態窒素量は減少し、一方、アミノ態窒素量は増加していた。
- (2) 遊離型のタンパク性アミノ酸は水もどしにより増加し、増加量は浸漬水温が高いほど、また浸漬時間が長いほど多かった。
- (3) 遊離型の非タンパク性アミノ酸は水もどしによる増減はみられなかった。
- (4) 水もどし後の加熱調理では遊離アミノ酸量の変化はほとんどみられなかった。
- (5) レンチニン酸は水もどしおよび加熱調理によっても減少した。

### 第3章 水もどしおよび加熱調理における香氣成分ならびに香氣生成関連物質

第2章において単独で椎茸特有の香氣を連想させる特徴のある<sup>20, 21)</sup>レンチオニンの前駆体であるレンチニン酸は水もどし、加熱の両過程において減少することが明らかになった。このことは椎茸加熱調理品の香りが水もどしと加熱調理において影響をうけることを示している。

Chu-Chin Chenら<sup>36)</sup>および山本ら<sup>37)</sup>は連續水蒸気蒸留抽出法によって得られる干し椎茸の香氣濃縮物は加熱調理したときに感じられる特徴ある香氣であったが、ジメチルスルフィド、ジメチルトリスルフィド、1,2,4-トリチオランを主とした硫黄化合物が香氣の特徴を示しており、レンチオニンは確認されなかったとしている。

本実験では水もどしおよび加熱調理した椎茸の中に含まれるレンチオニン量を直接に定

量して、その挙動について明らかにし、干し椎茸調理品の香氣形成におけるレンチオニンの役割を解明することとした。また酵素活性についても同時に検討し、干し椎茸の水もどし操作と加熱調理がレンチオニン生成のメカニズムに及ぼす影響を明らかにすることとした。

## 第1項 実験方法

### 1. 試料

大分県産の上香信の菌柄を切除し、菌傘のみで3kgにし、個体差を最小限にするためにすべて8等分にし、よく混合してから無作為に3~10切片を抽出し、実験に供した。

### 2. 水もどし、加熱調理の方法

試料の20倍量の水を用い、浸漬温度を5、25、40℃、浸漬時間を5、15、25時間とした。

加熱は、水もどし後、予め10分間で、試料が沸騰するように温度設定したドライプロックバスを用いて5, 10, 20, 40分間加熱した。

### 3. 加熱調理中の椎茸の内部温度の測定

試料は水もどしの温度および時間ごとに10個ずつ無作為に抽出した。

5°Cで15時間と25°Cで5時間、40°Cで25時間について水もどしした。ついで平底の鍋に重ならないように並べ、もどし汁全量を用い、1kWの電熱器で6~7分で沸騰するように加熱し、約40分加熱し、汁を煮含めた。

温度の測定は、MULTI-PEN-RECORDER(RIKA DENKI)を用いて行なった。

### 4. $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -G T) 活性およびpHの測定

無作為に抽出した3~4片(約2g)の試料は前述のように水もどしを行い、水もどし液とともに氷冷しながらポリトロンで5分間ホモジナイズした。

ホモジネートのpHを測定後15,000rpm、0°C30分間冷却遠心分離し、得られた上清を酵素液として用いた。 $\gamma$ -G T活性の測定はOrlowski<sup>38)</sup>、岩見ら<sup>39)</sup>の方法に従った。す

なわち  $3.5 \mu\text{mole}$  の  $\gamma$ -グルタミル- $\rho$ -ニトロアニリドを含む  $0.25M$  の pH 7.6 トリス塩酸緩衝液  $0.9\text{mL}$  に酵素液  $0.1\text{mL}$  を加え、 $37^\circ\text{C}$  で 1 時間反応後、 $1.5N$  酢酸  $3\text{mL}$  を加えて反応を停止させ、遊離した  $\rho$ -ニトロアニリン量を  $410\text{nm}$  で比色定量した。プランクは基質を含まないトリス塩酸緩衝液を用いて、同様に行った。 $\gamma$ -G T 活性は試料  $1\text{g}$  中の酵素が前記の反応条件で  $\gamma$ -グルタミル- $\rho$ -ニトロアニリドより遊離する  $\rho$ -ニトロアニリド量で示した。1 単位は 1 分間に  $1 \mu\text{mole}$  の  $\rho$ -ニトロアニリンを生成する酵素量とした。

加熱温度の違いによる活性の影響は試料に 20 倍量の緩衝液を加え、ただちにドライプロックバスを用いて加熱し、3 分で  $30\sim 90^\circ\text{C}$  の各設定温度に到達させた。それぞれの設定温度で 10 分間保持した後、氷冷し、酵素液の調製に供した。

## 5. レンチオニンの定量

レンチオニンの定量法を Fig. 8 に示した。

すなわち、水もどしした試料を菌傘ともどし液に分け、それぞれヘキサンで抽出した。抽出液を濃縮後、内部標準物質としてジブチルジスルフィドを添加し、ヘキサンで一定量にし、ガスクロマトグラフィーにより分析を行った。ガスクロマトグラフは島津 G C - 12 A F P D を用い、O V - 1 キャピラリーカラム  $25\text{m} \times 0.25\text{mm}$  ( $0.5\text{df}$ )、カラム温度  $100\sim 200^\circ\text{C}$  ( $5^\circ\text{C}/\text{min}$ )、キャリヤガス  $\text{N}_2$  流速  $60\text{ml}/\text{min}$ 、検出温度  $240^\circ\text{C}$ 、検出器は F P D 、インテグレーターは島津 C - R 3A を用いた。

レンチオニンは(株)高砂香料工業より分与された合成レンチオニンを含むジメチルスルホキシド溶液より、単離精製した結晶を標準物質として実験に用いた。

単離精製したレンチオニンの結晶は G C - M S により不純物のない結晶であることを確認をした。ガスクロマトグラフィーの条件は前述の通りとし、質量分析装置は日立 M 80 B を用いた。

## 6. レンチニン酸加熱生成物の確認

レンチニン酸100mgを100mlの水に溶かし、10分間煮沸後、室温まで冷まし、ヘキサン20mlで抽出を行った。無水硫酸ナトリウムで脱水後、約100μlに濃縮し、GC-MSによりレンチニン酸加熱生成物を確認した。

## 第2項 結 果

### 1. 加熱調理中の椎茸の内部温度の変化

設定条件における椎茸の内部温度測定の結果をFig. 9に示した。浸漬温度の違いに関わらず、いずれの場合も10分後には93~95°Cの高温度に達し、その後煮汁がなくなるまでの30分間、この温度を保っていた。

### 2. $\gamma$ -G T活性の変化

水もどし過程におけるpHは浸漬条件に関わらず、5.9~6.3の範囲であった。

#### (1) 各種水もどし温度条件下における $\gamma$ -G T活性の変化

5、25、40°Cで水もどしを行った時の $\gamma$ -

G T 活性の変化を Fig. 10 に示した。

5°Cにおける水もどしでは  $\gamma$ -G T 活性は 1 時間後、25% 程度の活性低下がみられたが、以後活性の低下はほとんど認められなかった。

25°Cの水もどしにおいては、水もどし 1 時間までに 25% 程度の活性低下がみられたが、以後非常にゆるやかに低下を続け、25時間後では  $\gamma$ -G T 活性は 50% 程度の低下を示した。

40°C水もどしでは短時間でも  $\gamma$ -G T 活性の低下が大きく 1 時間で 40%、15 時間では 60%、25 時間では 90% と著しく  $\gamma$ -G T 活性の低下が認められた。

## (2) 加熱温度の相違による $\gamma$ -G T 活性の変化

試料を 30~90°C でそれぞれ 10 分間加熱した時の  $\gamma$ -G T 活性の変化を Fig. 11 に示した。

加熱温度が高くなるに従い  $\gamma$ -G T 活性は低くなつており、加熱による酵素の失活が認められた。すなわち 60°C では 40% にまで低下しており、70°C 以上ではほぼ完全に酵素は失活していた。

### (3) 干し椎茸の調理過程における $\gamma$ -GT活性の変化

干し椎茸の調理過程すなわち試料を5、25、40°Cで、所定時間水もどし後、煮上がるまでの $\gamma$ -GT活性の経時的変化をFig. 12に示した。

水もどし直後の $\gamma$ -GT活性は浸漬温度が高いほど活性の低下が認められている。しかし10分間で沸騰するような条件での加熱においては5分後で、どの浸漬温度においても $\gamma$ -GT活性のほぼ完全な失活が認められた。

### (4) レンチオニン量の変化

レンチオニンの定量はItoら<sup>3,1)</sup>の方法に従い、ガスクロマトグラフィーで分析を試みたが、分離が十分ではなかったので分離能がより優れているキャピラリーカラムを用いた分析法につき検討を行った。その結果、キャピラリーカラムを用いることによってレンチオニンが単一のシャープなピークで検出され95.8±7.52% (n=4)の回収率が得られたのでキ

ヤピラリーカラムを用いて分析をすることにした。Fig. 13にレンチオニンのマススペクトグラムを示し、Fig. 14に5℃、15時間の水もどしした干し椎茸のガスクロマトグラムを示した。

試料を5、25、40℃の各温度でそれぞれ5時間、15時間水もどしを行い、水もどしの前後ならびにそれらを10分間で沸騰するような条件でそれぞれ10、20、40分間加熱した時のレンチオニン量の変化をFig. 15に示した。

加熱調理時におけるレンチオニン量は水もどし直後では、水もどし温度が高いほどレンチオニンが多く生成されていることが示された。さらに加熱したものでは加熱開始10分すなわちほぼ沸騰しあはじめる時間にいずれの水もどし条件の場合でもレンチオニン量の生成量は最高に達しその量は71～109 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。水もどしが低温のものほどレンチオニンの増加の割合は大きくなっていた。

加熱開始20分すなわち沸騰10分ではレンチ

オニンの急激な減少が見られたが、5°Cの水もどしの場合、5時間、15時間ではそれぞれ $13\mu\text{g/g}$ 、 $21\mu\text{g/g}$ と比較的多く残存していた。25°Cでは $5\mu\text{g/g}$ 以下であり、40°Cではほとんど残存していなかった。

40分の加熱ではいずれの場合もレンチオニンはほとんど残存していなかった。

#### (5) レンチニン酸加熱生成物

レンチニン酸水溶液の加熱時に生成された成分のガスクロマトグラムとマススペクトグラムをFig.16に示した。レンチニン酸が加熱により分解され、レンチオニンが生成されているのが確認できた。

### 第3項 考察

酵素反応ならびにレンチオニンの変化に深く関わりあいのある加熱時における椎茸の温度変化を検討した結果、実際の調理に則した実験条件の場合は、水もどし条件により若干異なるが、椎茸の内部は加熱開始5分後には

45~65°Cとなり、10分後には93~95°Cの高温に達し、煮上がりまでの30分間、この温度を維持していた。

調理時における $\gamma$ -GT活性は、水もどし過程においては25°C以下の低温であれば浸漬時間が長くなっても活性は残存しているが、40°Cでは短時間で活性は低下し、長時間になるとほとんど失活する。

$\gamma$ -GT活性は30~70°C、10分間の加熱では加熱温度が高いほど活性は低く、70°Cでは完全に失活することから実際の調理では加熱開始の数分間だけは $\gamma$ -GT活性は残存するが、10分後には完全に失活していると考えられる。

レンチオニンの挙動はいずれの浸漬温度および時間においても、加熱開始10分後すなわち沸騰しはじめ時間にレンチオニン量は最高に達した。その後は急激に減少していることは $\gamma$ -GTの挙動とも考え併せると加熱10分までは $\gamma$ -GT活性が強く働き、レンチオニ

ンを生成し、蓄積していくが、沸騰後は失活するため生成できず、蓄積されていたレンチオニンの分解・揮散が急激に進み、減少するためと思われる。

第2章で示したようにレンチオニンの前駆体であるレンチニン酸は水もどし、加熱の両過程で減少しており、低温で水もどししたもののほど水もどし過程での残存量が多く、加熱過程でのレンチニン酸の減少割合も高いことが明らかになっている。すなわち低温での水もどしは基質濃度が高く、 $\gamma$ -G T 残存活性が高い状態であるため、加熱開始から沸騰までの10分の間に、より多くのレンチオニンが生成されると考えられる。

沸騰以後は $\gamma$ -G T が失活しているため、レンチニン酸から酵素的にレンチオニンが生成されないが、低温の水もどしの場合は残存しているレンチニン酸が非酵素的に、すなわち加熱により分解され、レンチオニンが生成されることも考えられる。

一方、高温での水もどしのものはレンチニン酸がほとんど残存していないため、レンチオニンの生成はされず、揮散、分解のみが進むため、加熱開始20分でレンチオニンはほとんどが消失すると考えられた。

一般にレンチオニン臭は水もどしおよび加熱調理中に顕著に感じられるが、煮上がった椎茸ではあまり感じられなくなる。

山本ら<sup>36)</sup>は干し椎茸50gを1cm角程度に砕き、蒸留水750mlに浸して室温にて3時間水もどしました。それを塩化メチレンを溶媒として3時間連続水蒸気蒸留して、揮発性成分を捕集した。抽出物は脱水、濃縮した。その干し椎茸の香気濃縮物は加熱調理したときに感じられる特徴ある香気であったが、ジメチルスルフィド、ジメチルトリスルフィド、1,2,4-トリチオランを主とした硫黄化合物が香気の特徴を示しており、レンチオニンは確認されなかったとた。これはChu-Chin Chenら<sup>37)</sup>の報告と一致していたとしている。

また山本ら<sup>3,6)</sup>は椎茸の乾燥品にはほとんど含硫化合物がないが、水もどし品ではジメチルトリスルフィドがガスクロマトグラムのピーク面積%において58.1%となり、さらに加熱品では1,2,4-トリチオランと1-メチルチオジメチルジスルフィドの合計が56.9%と含硫化合物に大きな変化がみられたとしている。

しかし、椎茸の煮物から独特な香りとしてレンチオニン臭と思われる香りが感じられることから、レンチオニンの閾値を調べることにした。パネル16名でレンチオニンの香りの官能検査を行ったところ、Table 1に示した通り、レンチオニンの水溶液中の閾値は0.27～0.53ppmであることが確認された。これは和田ら<sup>2,1)</sup>の結果とよく一致している。この官能検査に用いたレンチオニン水溶液をヘキサン抽出しガスクロマトグラフィーに供したところ、0.5ppmぐらいの低濃度から定量可能であることが確認でき、低温で水もどし後加熱調理した椎茸に含まれるレンチオニン量を

水溶液濃度に換算すると0.5ppmくらいの濃度が残っているものと考えられた。

呈味成分の生成の観点と考えあわせると干し椎茸を低温で軟化するのに十分な程度の短時間の水もどしを行い、加熱時間も20~30分程で長すぎない事が椎茸の香り、味を最もよく引き出せる条件であろうと考えられた。

#### 第4項 要 約

干し椎茸の水もどしおよび加熱調理における $\gamma$ -GT活性、香り物質であるレンチオニン量の変化について検討を加えた。

- (1) 干し椎茸の水もどし後の $\gamma$ -GT活性の変化は、浸漬温度が高温であるほど、減少が著しく、加熱過程中においては、加熱5分後にはほぼ完全に失活していた。
- (2) 干し椎茸のレンチオニン量は、水もどし直後では $\gamma$ -GTの作用により、浸漬温度が高いものほど多く、低温のものほど少なかつた。また沸騰しはじめの10分加熱までのレン

チオニンの増加の割合は残存量の少ない浸漬温度が高いものほど小さく、レンチニン酸の残存量が多い低温のものほど大きかった。

(3) 沸騰後10分の加熱では $\gamma$ -G Tの失活によりレンチオニンは生成されず、揮散、分解のみが起こるためレンチオニンは急激に減少した。5°Cの水もどしでは蓄積後、加熱により揮散、分解はするが、残存していたレンチオニンと残存レンチニン酸が加熱分解し、レンチオニンが生成されるため比較的多く残存していた。

(4) 40分加熱ではレンチオニンはほとんど残存していなかった。

## 第4章 種々の調理条件による干し椎茸呈味 成分量の変化が嗜好におよぼす影響

前章までにおける干し椎茸の水もどしあより加熱過程における呈味成分の挙動をモデル化した実験の結果、5'-GMP量が多く生成される条件は低温で短時間の水もどしが良いが、一方、遊離アミノ酸が多く生成される条件は高温で長時間の水もどしが良く、香気成分レンチオニンが多く残存する条件は低温で短時間の水もどしであると判断された。

そこで本実験では干し椎茸を実際の調理条件に則し調理したもの、すなわち鍋、コンロを用い多量に調理した椎茸について官能検査を行うと同時に呈味成分の分析を行い、各種呈味成分の含量と官能検査のスコアとの相関を検討することとした。

また、成分分析した椎茸と同じものについてのテクスチャーを測定し、椎茸の煮物のおいしさを決定する要因を検討した。

## 第1項 実験方法

### 1. 試料

干し椎茸は宮崎県産の春子の上冬菇と上香信を用いた。それぞれの銘柄 1 kg ずつの試料は菌柄を取りのぞき、個体差による誤差を少なくするために、菌傘を4切片に切り、よく混合したものから無作為に抽出し実験に供した。

### 2. 水もどしおよび加熱調理の方法

上冬菇および上香信それぞれ25切片(約25g)ずつを試料とした。遊離アミノ酸およびヌクレオチドの分析の浸漬条件は試料の20倍量の水を用い、5、25、40℃の水温でそれぞれ1、3、5、15、25時間の計30試料とし、糖・糖アルコールおよび有機酸の定量は5℃で15時間、25℃で5時間および40℃で25時間の3試料とした。

次いで水もどした試料を平底の鍋に重ならないように並べ、もどし汁全量を用い、1

kWの電熱器で6~7分で沸騰するように加熱した。沸騰した時点で水もどし後、軽く絞った時の菌傘重量の1%に相当する食塩を加え、さらに加熱を続け、椎茸が軟らかくなるまで約30分ほど加熱し、煮汁は椎茸に含ませるよう煮上げた。

官能検査に供した煮上げた椎茸の食塩濃度は平均  $0.64 \pm 0.035\%$  ( $n=30$ ) であった。

### 3. 5'-ヌクレオチドの定量

5'-ヌクレオチドの定量は煮上げた試料を直ちに氷冷し、冷5%PCAを加え、氷冷しながらポリトロンを用いて、ホモジナイズした。次いで、0°Cで遠心分離して上澄液を得た。残渣は冷5%PCAでさらに2回抽出を繰り返し、この抽出液を活性炭カラムに通し、水洗後1.4%アンモニア-50%エタノール溶液で溶出する画分を濃縮乾固した。残渣を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)の溶出用緩衝液、0.15Mリン酸アンモニウム(pH1.5)で定容し、HPLC分析に供した。HPLC

装置はATT0コンスタメトリックⅡを用い、カラムはYanaco SCX-1001( $0.5 \times 30\text{cm}$ )を使用した。カラム温度 $61^{\circ}\text{C}$ 、流速 $1\text{ml}/1\text{min}$ で操作し、 $254\text{nm}$ の吸光度を記録した。定量は標準との面積の比較によった。

#### 4 遊離アミノ酸の定量

遊離アミノ酸の定量は第2章第1項3-(4)と同様に行った。

#### 5 遊離糖・糖アルコールと有機酸の定量

##### (1) 抽出

粉末試料は各銘柄とも $3\text{g}$ に $80\%$ エタノール $100\text{ml}$ を加え、還流加熱1時間後、吸引濾過した。残渣は更に2回同様に抽出を繰り返し濾液を合わせ抽出液とした。抽出液はロータリーエバポレーターで減圧濃縮後、 $50\text{ml}$ に定容した。加熱をしない試料は、水もどし後、菌傘をザルにのせて箸で軽く絞り、菌傘と汁とに分け、菌傘は凍結乾燥した後、粉末試料と同様に抽出を行った。汁は減圧濃縮し $50\text{ml}$ に定容した。水もどし後加熱した試料は凍結

乾燥後、粉末試料と同様に抽出を行った。

#### (2) 還元糖の定量

ソモギー変法<sup>40)</sup>にて試料中の還元糖量を測定した。

#### (3) ガスクロマトグラフィー(GLC)による遊離糖・糖アルコールの定量

遊離糖・糖アルコールの定量は吉田ら<sup>6)</sup>に準じて行った。すなわち、抽出液の20mlをDowex 50-X8(H<sup>+</sup>型, 100~200メッシュ, 2.2×5cm)カラムとDowex WGR(OH<sup>-</sup>型, 20~50メッシュ2.2×5cm)接続カラムに通し、有機酸を吸着させ、次いでカラムに約100mlの水で洗浄後、カラム通過液は減圧濃縮し、水にて20mlに定容し、その1mlに内部標準のmeso-エリトリール(1mg/ml)を0.7ml加え、減圧濃縮乾固した。乾固体はエタノールによる共沸脱水を2回繰り返した後に、TMS-PZ(東京化成工業製)1mlを加えよく混ぜ、60℃で5分間放置してトリメチルシリル(TMS)誘導体とし、GLCにて糖・糖アルコールを分析した。G

LCは島津製作所製12A型ガスクロマトグラフ(FID)を使用しカラムは3%-silicon SE-52(担体Chromosorb WAW-DMCSを充填剤とした $3\text{mm}^{\phi} \times 2.0\text{m}$ のガラスカラムを用いた。分析条件は、カラム温度 $160 \sim 250^{\circ}\text{C}$ ( $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )、注入温度 $270^{\circ}\text{C}$ 、検出温度 $270^{\circ}\text{C}$ 、キャリアガス $\text{N}_2$ 流速 $60\text{ml}/\text{min}$ とした。各ピークの同定はTMS-標準品との保持時間との比較により行った。

#### (4) 有機酸の定量

先の連結カラムのうちDowex WGRカラムに吸着させた有機酸は2Nアンモニア水 $60\text{ml}$ を流して、有機酸をアンモニウム塩として溶出させた。これを $50^{\circ}\text{C}$ 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 50W-X8カラム( $2.2 \times 5\text{cm}$ )に通して遊離酸とし、カラムを水 $50\text{ml}$ で水洗したのち、この通過液を0.1N水酸化ナトリウム溶液で中和し、減圧濃縮後 $20\text{ml}$ に定容した。そのうち一定量を減圧乾固し、山下らの<sup>4,1)</sup>の方法に準じ、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分間煮沸してブチルエステル化し、冷却後、水 5mlを加えたのち 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。同様に抽出操作を 3回繰り返し、抽出液を合し、内部標準物質として 0.5% 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 G L C 分析に供した。カラムは 5% -Reoplex 400(担体 Chromosorb WAW)を充填剤とした  $3\text{mm}^{\phi} \times 2.0\text{m}$  のガラスカラムを用いた。

分析条件は、カラム温度 50~200°C (6°C/min)、注入温度 230°C 検出温度 230°C、キャリアガス N<sub>2</sub> 流速 60ml/min とした。各ピークの同定は標準品との保持時間との比較により行った。

## 6. 無機質の定量

食塩を添加しない試料を 550°C で乾式灰化後、塩酸処理し、1% 塩酸溶液として、カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、亜鉛含量は誘導結合イオンプラズマ発

光分光計（I C P）にて測定した。

カリウム、ナトリウムは1%塩酸溶液にて抽出し、炎光光度計にて測定した。

## 7. 官能検査の方法

### (1) 識別検査法

官能検査は7段階の評点法を用い、色、香り、味、歯ごたえおよび総合評価を求めた。質問事項は色、香り、歯ごたえについてはその強さと良否、味においては旨味の強さと良否、苦味の強さおよび味の総合評価を求め、さらに全体的な総合評価を求め全11項目について質問した。形式はFig. 17に示した。

試料は上冬菇、上香信それぞれに5、25、40°Cの水温に浸漬したものを、浸漬時間別に提示することを基本としたが、1時間と3時間のもの、15時間と25時間のものは合わせて6試料を同時に提示した。合計5回官能検査を繰り返した。なお各試料は独立に評価できるように、試食順はパネル毎にラテン方格に割り付けてランダム化し、また質問用紙は1試

料に1枚を個別に用いるなどの点を配慮した。

試料の温度は室温とし、大きさによって1～2片をそれぞれ別の皿に入れて検査に供した。

パネルは女子栄養大学研究室関係職員20～30才台の女性10名で構成した。

#### (2)嗜好調査

5℃、15時間の水もどし後加熱調理した椎茸と40℃、25時間の水もどし後加熱調理した椎茸を同時に並べ、2点比較嗜好法にて官能検査を行った。

パネルは30～40才代として本学関係者の男性12名、女性13名と椎茸業界関係者男性5名である。50～60才代の男性は椎茸業界関係者18名である。

#### 8. テクスチャーの測定

水もどし後加熱調理した椎茸を菌傘の軸に平行に厚さ7mmに切り7mmの正方形に整形し、測定した。

テクスチュロメーター（全研製GTX-S型）を用いて硬さ・凝集性・ガム性・咀嚼性の測定

を行った。測定条件はプランジャー歯形型(58p-4)、クリアランス 1mm、咀嚼スピード 12B/min、出力 0.1~1V、チャートスピード 750mm/min で行った。

### 9. 多汁性の測定

水もどし後加熱調理した椎茸の菌傘の柄つきの部分を避け、直径 2cm の円の形で切り取った。中心の厚さは約 0.3cm 前後であった。

この試料をプラットホームの中心に置き、上下に東洋濾紙 No. 2 をはさみ、試料 1 個につきプランジャーを濾紙を替えながら 3 回噛ませた。濾紙はそのまま乾燥し、汁液で染まった部分の面積を比較した。測定条件はプランジャー歯形型(58p-2)、クリアランス 1mm、咀嚼スピード 12B/min、出力 0.1~1V、チャートスピード 750mm/min で行った。

## 第 2 項 結 果

### 1. 5'-GMP 量および遊離アミノ酸

5'-GMP 量、総遊離アミノ酸量、グルタ

ミン酸量およびレンチニン酸量をTable 2に示した。

5'-GMP含量は青柳ら<sup>15)</sup>および既報の結果<sup>4,2)</sup>とよく一致していた。すなわち、5'-GMP量は低温で短時間の水もどししたものほど多く生成され、高温で長時間になるとほとんど生成されていなかった。

遊離アミノ酸量は第2章の結果とよく一致していた。すなわち総遊離アミノ酸は浸漬水温が高いほど、また浸漬時間が長いほど増加した。タンパク性アミノ酸であるグルタミン酸量は、25°C、40°Cの25時間の水もどしでは1時間のものに比べ約2倍ほど増加していた。

レンチニン酸量については浸漬水温が低いほど、また浸漬時間が短いほど多く残存していた。

## 2. 遊離糖・糖アルコール含量

ソモギー変法による還元糖量の結果をTable 3に示した。上冬菇、上香信いずれも水もどし前のものは水もどし後あるいは水も

どし後加熱調理したものが増加していた。

5°Cで15時間水もどし後加熱調理した上香信のガスクロマトグラムをFig. 18に示した。上香信、上冬菇の水もどしおよび加熱調理後の遊離糖・糖アルコール含量をTable 4に示した。

上香信、上冬菇共に総遊離糖含量は浸漬温度が高くなるほど増加しており、その中で含量の多いトレハロースとグルコース量をみるとトレハロースは減少し、グルコースは増加していた。これはソモギー変法にて還元糖量の増加が観察されたこととよく一致していた。一方、糖アルコールは浸漬温度の影響はみられなかった。

### 3. 有機酸含量

水もどし前後および加熱調理後の上香信と上冬菇の有機酸含量をTable 5に示した。全有機酸量は上香信、上冬菇共に約2.4%であり、その中でリンゴ酸は一番多く、60~70%を占めていた。なお、水もどし後加熱調理

による変化はほとんどみられなかった。

#### 4. 無機質含量

Table 6 に無機質含量を示した。5°Cで15時間の水もどし後、食塩を添加せずに加熱調理した上香信と上冬菇の無機質含量はカリウムが多く、ついでリン、マグネシウムが多く含まれていた。

#### 5. 官能検査

官能検査の結果は、パネルメンバー10人の平均値をTable 7 に示した。また官能検査の得点は浸漬温度と浸漬時間を要因、パネルを繰り返しとして二元配置の分散分析を行い結果をTable 8 に示した。また有意差の認められた項目において、必要に応じてスチューデント化された範囲  $q$  を求め、試料間の有意差を検定した。

色：菌傘の表裏の色の濃さについては上冬菇、上香信共に、浸漬温度間に1%の危険率で有意差が認められ、浸漬温度が高いほうが色が濃くなる傾向が認められた。上冬菇にお

いては40°Cと5°Cの間、上香信においては40°Cと5°Cおよび25°Cとの間に1%の危険率で有意な差がみられた。しかし、上冬菇、上香信共に色の良否については各水もどし法間に大きな差はみられなかった。

香り：香りについては上冬菇、上香信共に浸漬温度、浸漬時間の両要因に有意差は認められなかった。

旨味：旨味については上冬菇の浸漬時間間にのみ5%の危険率で有意な差が認められた。上冬菇はいずれの浸漬温度においても、浸漬時間が5時間までは旨味が徐々に強くなり、以後15時間、25時間と長時間になるに従い弱くなった。

旨味の良さは上冬菇は浸漬温度間、浸漬時間間共に1%、上香信は浸漬温度間において5%の危険率で有意差が認められた。上香信の40°Cに浸漬したものを例外として、旨味の良否は旨味の強弱と一致した傾向にあり、旨味が強いものほど良いと評価された。浸漬25

時間において上冬菇では5°C、25°Cにくらべて40°Cのものが1%の危険率で、上香信は5°Cにくらべ25°C、40°Cのものが同じく1%の危険率で旨味の良さについての評価が有意に低かった。

苦味：苦味については上冬菇、上香信共に浸漬温度間、浸漬時間間に1%の危険率で有意に差が認められた。高温で長時間浸漬したものには苦味が強くなる傾向がみられ、40°Cで25時間浸漬したものは「やや苦い」と評価された。

味の総合評価：旨味、苦味を含めて味の良否を総合的に評価した結果については、上冬菇、上香信共に浸漬温度間、浸漬時間間に1または5%の危険率で有意差が認められた。5°Cで水もどしたものは上冬菇、上香信共に浸漬時間の長短による差は比較的小さく、25°C、40°Cでもどしたものに比べて、全般に高い評価を得た。味の総合評価は旨味の強さおよび苦味の強さとの関係が高く、なかでも上

冬菇では旨味の強さとの相関係数が  $r=0.8414$   
上香信では苦味の強さとの相関係数が  $r=-0.8659$  と、1% の危険率で有意な相関が認められた。

歯ごたえ：水もどしによる軟らかさについては、上冬菇は浸漬温度間、浸漬時間間共に5%、上香信は浸漬時間間に5%の危険率で有意差が認められ、浸漬時間が長くなるに従って軟らかくなる傾向が認められた。25°C および40°C に浸漬したものは5°C のものより軟化が早く、上冬菇は特にその差が大きかった。しかしテクスチャーの良否には上冬菇、上香信共に浸漬温度間、浸漬時間間に有意差は認められず、水もどし法の違いによって生じる硬軟の差は、テクスチャーの良し悪しに影響を及ぼすほどのものではなかった。

総合評価：総合評価については上冬菇は浸漬温度間は5%、浸漬時間間は1%、上香信は浸漬温度間は1%、浸漬時間間は5%の危険率で有意に差が認められた。上冬菇ではいず

れの浸漬温度においても、5時間程度の水もどしたものの評価が高く、以後5°Cでは長時間でも評価の変動は小さいが、25°C、40°Cでは著しく評価は悪くなつた。上香信では5°Cで水もどしたものの評価が高く、25°C、40°Cのものは浸漬時間の経過と共に評価が急速に低下する傾向がみられた。総合評価は味の総合的な評価と類似した傾向を示した。

浸漬水温が高いほど、また浸漬時間が長くなるほど苦味が強くなつてゐた。水もどし過程においてタンパク性アミノ酸は増加しており、その中で疎水性アミノ酸の増加の割合がおよそ水もどし前と比べ、20倍量と顯著だつたことから、疎水性アミノ酸が水もどした干し椎茸の苦味の要因の一つと考えられた<sup>42)</sup>。

## 6. 嗜好調査

官能検査の結果より好ましい条件とした5°Cで15時間の水もどし後加熱調理、好ましくない条件とした40°Cで25時間で水もどし後加

熱調理した椎茸の上冬菇、並冬菇、上香信、並香信の4銘柄について2点嗜好検査法にて官能検査を行った。その結果はTable 9に示した。30~40才代の男性の多くは冬菇系、香信系いずれにおいても5°Cで水もどしたものをおいしいと評価したが、有意差は認められなかつた。30~40才代の女性では冬菇系、香信系に関わらず0.1%あるいは1%の危険率で有意に差が認められ、明確に5°Cのものがおいしいと評価された。

50~60才代の男性には上冬菇と上香信についてのみ官能検査を行つたが、上冬菇は5%の危険率で有意に差が認められ、5°Cのものがおいしいと評価された。上香信では5°Cのものがおいしいとされたが有意差は認められなかつた。

パネル全体としてみると、銘柄に関係なく40°Cより5°Cの水もどしたものがおいしくと有意に評価された。

## 7. テクスチャー

各条件で水もどし後加熱調理した椎茸のテクスチャー特性値をTable 10に示した。5°Cで15時間の水もどし後加熱調理した椎茸と40°Cで25時間の水もどし後加熱調理した椎茸を比較すると、硬さに差がみられ、40°Cのものが軟らかであった。これは今までの官能検査の硬さの評価とよく一致していた。しかし、その他の脆さを表す凝集性、ガム性、弾力の有無を表す弾力性、粘着の程度を表す付着性咀嚼するのに必要なエネルギーを表す咀嚼性には差がみられなかった。

多汁性について、同じ銘柄の同じ干し椎茸を使って、呈味成分の上から考えられた5°Cで15時間と40°C、25時間の水もどし後加熱調理した多汁性について検討した結果をTable 11に示した。同じ銘柄の同じ干し椎茸を用いているため、厚さが同じということで含まれる汁の量に差はみられなかった。このことは5°Cの15時間の水もどしは40°Cに比べ硬さにおいてはやや硬いが、汁を吸収するのに充分

な時間であることを示していた。

### 第3項 考 察

5'-GMP量、グルタミン酸量の相乗効果の影響と官能検査における旨味の強さとの関係をFig.19に示した。すなわち山口ら<sup>43)</sup>によるグルタミン酸と5'-GMPとの相乗効果の式から計算されたグルタミン酸の濃度を横軸に取り、縦軸に官能検査における旨味の強さを示した。上香信においては1%の危険率で高い相関がみられたが上冬菇においては相関はみられなかった。

しかし、上香信と上冬菇合わせたものについては1%の危険率で相関がみられた。このことは煮上げた干し椎茸の旨味の強さは概ね5'-GMPとグルタミン酸量より評価できることを示していると考えられた。上冬菇においてこの相関がみられなかったのは、この干し椎茸が肉厚のため浸漬時間が短いものはまだ充分にもどっていないため、食べたとき汁があまり出ず、5'-GMPが多く存在してい

てもおいしいと評価されなかつたのではない  
かと推察した。旨味の強さは浸漬水温が高  
くなるほど、また浸漬時間が長くなるほど官能  
的には弱く感じられることと、5'-GMPの  
挙動がよく似ていること、さらに浸漬条件の  
違いにおける5'-GMP量の減少の割合がグルタミン酸量の増加の割合にくらべ非常に大  
きいことから、干し椎茸の旨味は5'-GMP  
量が一つの要因となっていると考えられた。

疎水性アミノ酸の挙動についてFig. 20に  
示した。その結果調理された干し椎茸でも疎  
水性アミノ酸は浸漬水温が高いものほど多く  
増加しており、苦味に関与していることが推  
察された。Fig. 21に煮上げた各試料の苦味を  
もつ遊離アミノ酸の総量と官能検査での苦味  
のスコアとの相関を示した。上冬菇、上香信  
共に相関が認められ、特に上香信においては  
危険率1%で高い相関がみられた。さらに疎  
水性アミノ酸が調理した干し椎茸の苦味に寄  
与することを明らかにするために、苦味が強

いとされている<sup>44)</sup> バリン、イソロイシン、チロシン、フェニルアラニンおよびトリプトファンの標品を用いて水もどし後、調理した干し椎茸に含まれる濃度と同じ濃度の水溶液を調製し、苦味について官能検査を行った。その結果をTable 12に示したように各種条件で水もどし後調理した干し椎茸に含まれる疎水性アミノ酸量は官能的に苦味を感知させるのに十分な量であることが明らかになった。

糖・糖アルコール含量について、個別定量されたアラビトール、フラクトース、マンニトール、グルコース、トレハロースの合計を100%とした各糖・糖アルコール類の割合をTable 13に示した。上香信において、水もどし前の試料と比較すると5°Cで15時間の水もどしではトレハロースは12.7%減少し、グルコースは15.0%増加した。水もどし後加熱調理したものはトレハロースは10.6%減少し、グルコースは12.1%増加していた。25°Cで5時間の水もどしではトレハロースが15.7%減

少し、グルコースは17.8%増加した。40℃で25時間の水もどし後加熱調理したものはトレハロースが28.5%減少し、グルコースが36.3%増加した。

すなわちトレハロースの分解酵素であるトレハラーゼが水もどし過程中に作用しグルコースが生成された可能性が示唆された。

テクスチャーについて検討したところ5℃、15時間の水もどしと40℃、25時間の水もどし後、加熱調理したものを比較すると硬さが8.20と7.29であり、40℃の水もどしのものが軟らかい傾向がみられた。凝集性は0.68と0.63、ガム性は5.06と4.97、弾力性は1.17と1.16、咀嚼性は5.95と5.81であり水もどし条件の差による影響はみられなかった。木村ら<sup>4,5)</sup>は干し椎茸の上香信を5℃、60分および120分水もどし後、40分間蒸した時の硬さは4.30と3.72と報告している。8.20と7.29に比べると約1/2の値であることは蒸す、煮含めるという加熱調理方法の違いが硬さの違いに

影響し、水もどし時間が短いにもかかわらず蒸す方法の方が軟らかい結果を示していると考えられた。

干し椎茸の香り成分レンチオニンの前駆体であるレンチニン酸と $\gamma$ -G T活性は浸漬水温が低いほど、浸漬時間が短いほど調理後も残存し、レンチオニンが多く生成されるが、官能検査における香りの評価では一定の傾向がみられていない。これは水もどし後、調理し官能検査に提示するまでに時間がかかるため、香りが揮発してしまい各試料間に差がみられなくなるのではないかと考えられた。

またレンチニン酸に由来する $\gamma$ -グルタミルペプチドには旨味や苦味などを呈するものもあり<sup>6)</sup>、これらも椎茸の味に影響してくると考えられる。

干し椎茸はだしとして一般的に使われるだけでなく、椎茸そのものの独特的の風味を味わう食品である。そのため煮物とした椎茸を食べる年代は幅広いと考えられる。

20才代の女性のパネルにおける椎茸の加熱調理品の官能検査と成分分析の結果から5°Cでは15時間の水もどしのものが好ましく、40°Cの場合はいずれの時間のものもあまり好まれないことが明らかになった<sup>46)</sup>。

さらにパネルの年代を変え、20才代の女性が好ましいとした条件の5°C、15時間の水もどしと好ましくないとした40°C、25時間の水もどし後、加熱調理した椎茸を比較しながら嗜好調査を行ったところ、年代、性別が異なっても5°C 15時間のものがおいしくと評価された。

すなわち、実際に椎茸を調理し、食べる機会の多い30~40才代の女性のパネルはほとんど全員が苦味の感じられる40°Cの25時間の水もどしのものを嫌い、5°Cの15時間の水もどしの方に旨味を感じ、おいしくと評価している。また銘柄の違いによる評価にも違いはみられなかった。男性のパネルは半数以上は女性と同様に評価した。一方残りのパネルの男

性の中には5°Cのものもおいしいがどちらかといえば苦味のある40°Cの方がおいしいと評価する人も少數いた。これは男性の中にはある程度の苦味は好ましい味と評価とする傾向があるのではないかと思われた。

以上のことから実際の干し椎茸の水もどしに適する条件はFig. 22に示した。すなわち5°Cの水もどしの場合許容時間が長く、浸漬時間が長くなっても味は悪くならないことから実際的な水もどし方法である。一方、25°C、40°Cの水もどしでは5'-GMP量は低下し、苦味が増加することから、水もどしの時間の管理に注意を必要とすると推察された。

テクスチャーにおいて5°C、15時間の水もどしと40°C、25時間の水もどしの条件では大きな差がみられなかったことから、干し椎茸のおいしさを決める要素はテクスチャーよりも、味および香りの呈味成分がより大きな影響を与えると推察した。

#### 第4項 要 約

種々の条件で水もどしした干し椎茸を調理し、成分分析を行ったところ次のような結果を得た。

##### (1) 5'-GMP 含量

青柳らのモデル系での実験結果<sup>15)</sup>と実際の調理した椎茸5'-GMPの結果はよく一致していた。すなわち、5'-GMP量は低温で短時間水もどしたものほど多く生成され、高温で長時間の水もどしになるとほとんど生成されなかつた。

##### (2) 遊離アミノ酸およびレンチニン酸

遊離アミノ酸の挙動はモデル系での実験結果と実際の調理した椎茸での結果はよく一致していた。すなわち総遊離アミノ酸量は浸漬水温が高いほど、また浸漬時間が長いほど増加した。旨味を示すグルタミン酸量は25℃、40℃の25時間の水もどしでは1時間の水もどしに比べ約2倍ほど増加した。レンチニン酸量は、浸漬時間が短く、低温での水もどしで

多く残存していた。

### (3) 遊離糖・糖アルコール類

上香信、上冬菇共に総遊離糖含量は浸漬温度は高くなるほど増加しており、その中で含量の多いトレハロースとグルコース量をみるとトレハロースが減少し、グルコースは増加していた。遊離糖アルコールは浸漬温度の影響はみられなかった。

水もどし後にトレハロースが減少し、グルコースが増加していた。水もどし後加熱調理した椎茸は、トレハロース、グルコースとも量的変化がほとんどみられなかった。これらのことから、水もどし過程での酵素の関与が推察された。

### (4) 有機酸

全有機酸量は上香信、上冬菇共に乾物当たり約2.4%であり、その中でリンゴ酸は一番多く、60~70%を占めていた。なお、水もどし後加熱調理による変化はほとんどみられなかった。

### (5) 官能検査

冬菇と香信では多少異なるが、5°Cでは5時間以上水もどしたものの、25°Cでは5~15時間水もどしたものが好まれ、40°Cでは全体的に評価は低いが短時間の水もどしたものが好まれた。味の良否は旨味および苦味の強弱と関係がみられ、旨味の強いものほど味に対する評価が高く、苦味が強いものほど評価が低くなった。

煮上げた干し椎茸の旨味の強さの評価は5'-GMPおよびグルタミン酸の相乗効果による旨味の強さと相関があった。

高温で長時間水もどし後煮上げた干し椎茸の疎水性アミノ酸量は苦味を発現するのに十分な量であった。

水もどし時間が短いともどりが悪いため、テクスチャーに対する評価が低く好まれなかつた。

### (6) 嗜好調査

5°C、15時間の水もどしと40°C、25時間の

水もどし後加熱調理した椎茸の嗜好調査を行ったところ、5℃、15時間の水もどしのものが好まれた。

#### (7) テクスチャー

上香信の銘柄の同一の干し椎茸を用い、水もどし条件を変えて加熱調理した場合におけるテクスチャーの影響を検討した。

5℃で15時間の水もどし後加熱調理した椎茸と40℃で25時間の水もどし後加熱調理した椎茸を比較検討したところ、硬さに差がみられ、40℃のものは軟らかであった。

多汁性については同じ銘柄の同じ干し椎茸を用いているため、菌傘の厚さに差がなく含まれる汁の量に差はみられなかった。

以上のことより干し椎茸のおいしさはテクスチャーの要素よりも、味および香りの呈味成分がより大きな影響を与えると推察し、望ましい水もどし条件は浸漬温度は25℃以下の低温で、浸漬時間は十分に戻るのに必要な最低限の時間が良いと考えた。

## 第5章 干し椎茸様調製エキスの呈味成分

干し椎茸を利用するための必須条件である水もどしおよび加熱の過程において、干し椎茸中に存在する酵素の働きにより、呈味成分量に大きな変動があること、またその官能検査によりおいしいと評価される椎茸の煮物は旨味成分である5'-GMP、グルタミン酸が多く、苦味を呈する疎水性アミノ酸の増加が少ないものであることを明らかにした。

すなわち5°Cの低温であれば、椎茸が充分に吸水し、軟化するのに必要な最低時間が好ましく、40°Cのやや高温になると長時間の水もどしは好ましくないと考えられた。

このように干し椎茸の水もどしと加熱により変動を受ける呈味成分が干し椎茸の嗜好に重要な役割をもつことが明らかである。しかし、これらの成分とその他の多くの成分が干し椎茸の味にどのように関与をしているのかは明らかではない。そこで本研究ではおいし

いと評価された条件の5°C、15時間の水もどし後加熱調理された椎茸に含まれる呈味成分の分析値に基づき、味の再構成をし、オミクションテストにより、その椎茸らしい味に大きな影響を与えている成分はどのようなものであるかを明らかにすることを試みた。

## 第1項 実験方法

### 1. 干し椎茸エキスの抽出

宮崎県産上香信を用いて、5°C、15時間で水もどし後加熱調理した椎茸を細かく切り、蒸留水を加え沸騰水浴中で還流加熱した。冷却後5,000rpmで遠心分離し、上清を得た。残渣はさらに2回同様に抽出操作を繰り返し、得られたすべての上清を合した。この上清液に4倍量のエタノールを加え、攪拌し、15分間放置後遠心分離した。次いで沈殿を少量の80%エタノールで洗浄後遠心分離し上清を合し、減圧下で溶媒を留去後、蒸留水にて定容し、これを干し椎茸エキスとした。

## 2. 干し椎茸様調製エキスの作成

5°Cで15時間の水もどし後、約30分間加熱調理した椎茸と40°Cで25時間水もどし後約30分間加熱調理した椎茸のそれぞれの絞り汁のおいしさを比較したところ、明らかに5°C, 15時間の水もどし後、加熱調理した椎茸が好まれた。そこで今回は5°Cで15時間の水もどし後、加熱調理した椎茸の呈味成分の分析値を基に各成分の純品を用い、椎茸様エキスを作成した。濃度は各成分が100ml中に含まれるようにし、pHは絞り汁と同じ5.90に水酸化カリウムで調製し、これを調製エキス(基準液)とした。調製エキスの組成はTable 14に示した。

## 3. 干し椎茸エキスと干し椎茸様調製エキスの比較

女子栄養大学20才代の16名のパネルで干し椎茸エキスと干し椎茸様調製エキスの類似性を知るために、似ていない、ほぼ似ている、似ている、かなり似ているの4段階評価で官

能検査を行った。

#### 4 干し椎茸様調製エキスのオミッションテスト

Table 14 に示す成分または成分群を除いた試験液を調製した。pH の調整は調製エキスと同様に水酸化カリウムで行ったが、カリウムイオンを欠く試験液については水酸化ナトリウムで調整した。

パネル 16 名に調製エキスと、そのエキスから 1 成分または成分群をのぞいた試験液（いずれも室温）について、調製エキスを基準にして試験液を旨味、甘味、苦み、味の総合、香り、全体の印象の 6 項目の比較をした。各評価項目ごとに明らかに弱い (-2)、やや弱い (-1)、差がない (0)、やや強い (+1)、明らかに強い (+2) の 5 段階で評価させた。また両エキスの風味についての印象を自由に述べさせた各試験液の評価項目ごとに  $t$ -検定を行い有意差の有無を判定し、併せて主成分分析を行った。

## 第2項 結 果

### 1. 椎茸エキスと調製エキスの味の比較

5°Cで15時間水もどし後調理した椎茸の絞り汁の官能検査を行ったところ、絞り汁はかなり全体の味が濃く、とろみが強すぎるため他の味の評価を妨げるとの意見があった。そこで呈味成分の大部分が溶出されるとされる80%エタノール抽出液を調製し、これを椎茸エキスとし、調製エキスとの呈味の比較に用いた。

椎茸エキスを基準として、調製エキスの各評価項目についてパネルに評価させた結果を平均値でFig. 23に示した。その結果調製エキスは椎茸エキスに比較し、苦みと香りが弱いがその他の項目ではほぼ似ていると評価された。パネルの印象では調製エキスは椎茸エキスに比べ、ややとろみおよびまろやかさに劣り、味が単純であるが椎茸ようの味はかなりよく再現できていると評価された。従って、この調製エキスをオミッショントレーストに使用

できると判断し、以下の官能検査を行った。

## 2. 調製エキスのオミッションテスト

オミッションテストではまず取りのぞいた成分が認識できるかどうか 2点識別検定表により有意差の検定を行い、Table 15にその結果を示した。旨味を持つといわれるアミノ酸のAグループを欠いた試験液が0.1%のレベルで有意に認識され、ヌクレオチドの5'-GMPと5'-AMPを欠いた試験液およびアミノ酸Aグループと共に欠いた試験液は1%レベルで有意に識別された。

糖・糖アルコール類を欠いた試験液、全アミノ酸を欠いた試験液、5'-GMPのみを欠いた試験液は5%レベルで有意に識別された。

干し椎茸の特有の香りであるレンチオニンまたレンチオニンの前駆体であるレンチニン酸を単独で欠いた試験液、およびレンチオニン、レンチニン酸共に欠いた試験液は5%レベルでは有意には識別されなかった。

成分および成分群を除いた試験液について

の旨味、甘味、苦味、味の総合、香り、全体の印象の平均値によるプロフィールをFig.23に示した。ヌクレオチドの5'-GMPと5'-AMPを共に欠く試験液は、旨味に最も大きく影響した。5'-GMPのみを欠く試験液は旨味に最も影響し椎茸らしさに大きな影響を及ぼしたが、5'-AMPだけを欠く試験液では旨味に対する影響が小さいばかりではなくその他の味にも影響しなかった。

旨味をもつグループのヌクレオチドとアミノ酸Aグループを欠く試験液はヌクレオチドを欠いた試験液と同様に旨味と共に甘味、椎茸らしさにも大きな影響がみられた。

全アミノ酸を欠いた試験液は香りを除くすべての味に影響を及ぼした。

アミノ酸Aグループを欠く試験液は旨味に大きく影響したが、全アミノ酸を欠く試験液より旨味に対する影響は少なかった。

苦味をもつといわれるアミノ酸を欠く試験液は苦味に最も大きく影響していた。

椎茸中に多く存在するオルニチンのみを欠く試験液は味に対してほとんど影響を及ぼしていなかった。

糖・糖アルコール類を欠く試験液については甘味に最も大きく影響し、その他の味にも影響を及ぼした。

有機酸を欠く試験液は味には大きな影響がみられなかった。

カリウムイオン、リン酸イオンを欠く試験液は甘味を強く感じ、全体の印象として調製エキスとは異質の味であると評価された。

香り成分のレンチオニンおよびレンチニン酸は香りに最も大きく影響したが、味への影響はあまり大きくなかった。レンチオニンのみが欠けた試験液は香りに最も大きな影響を与え、さらに味にもやや影響を及ぼしていた。一方、レンチニン酸のみが欠けた試験液は味にはほとんど影響は与えていないが、香りに最も大きな影響を及ぼしていた。

### 第3項 考察

#### 1. 各成分の呈味上の役割

オミクションテストの結果から得られたt値をTable 16に示した。その結果と試験液の味についてパネルが記述した意見から各成分の呈味上の役割を以下のように推察した。

##### (1) ヌクレオチド類

5'-GMPは旨味への関与が非常に高いのに比べ、5'-AMPの旨味への関与はかなり低いことがわかり、椎茸の旨味はヌクレオチド類のうち5'-GMPであることを官能検査により実証した。

##### (2) 遊離アミノ酸

Aグループとしたグルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミン、グリシン、アラニン、オルニチンのアミノ酸のうちオルニチンは味にはほとんど影響を与えていなかった。またグリシン、アラニンはホタテガイエキスの甘味やまろやかさなどに関与している<sup>4,8)</sup>ことなどと考えあわせればAグループ中でグルタ

ミン酸、アスパラギン酸が旨味に大きく関与し、椎茸の煮物の旨味は5'-GMPとの相乗作用により増大していることが明らかになった。

Bグループのアミノ酸すなわちバリン、イソロイシン、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファンは苦味に大きく関与し、総合的な味、椎茸らしい味に影響を及ぼしていることが証明された。

#### (3) 糖・糖アルコール

糖・糖アルコールは甘味に大きく関与しており、椎茸煮物の甘味に寄与していることが明らかになった。

(4) 有機酸は椎茸煮物の味に大きな影響を与えるというより、隠し味的な役割ではないかと推察された。

#### (5) ミネラル成分

カリウムイオンは水産食品において、味の形成において非常に重要な成分であると考えられている<sup>47~49)</sup>。カリウムイオンを除いた

試験液の印象が、椎茸らしくないという意見などから、昆布<sup>50)</sup>、ホタテガイ<sup>49)</sup>などと同様に椎茸の煮物においても非常に重要な成分であると考えられた。

香り成分のレンチオニンおよびレンチオニンの前駆体レンチニン酸とともに試験液の添加量が閾値程度で、薄い濃度であったため識別検査では人によっては識別することができなかつたと考えられるが、オミッションテストの結果からは椎茸の煮物の香りに寄与していることは明らかであり、単独で除いた試験液よりも、共に除いた試験液の方が非常に大きな影響がでることが明らかになった。

## 2. 評価項目間の相関関係

評価項目相互間の相関関係をTable 17に示した。

おいしさを示す味の総合の項目は旨味と強い相関があり、また甘味とも相関がみられることから、旨味と甘味がおいしさに強い影響を及ぼしていると判断できた。椎茸らしさを

示す全体の印象は旨味、苦味、味の総合に相関がみられることから椎茸の煮物のおいしさはある程度の苦味が加わることにより特徴づけられると判断された。椎茸らしい香りは旨味と負の相関があり、旨味が強いものは香りの影響が弱いとされた。

### 3. 主成分分析

前項の相関行列の固有値と固有ベクトルをTable 18に示した。第1主成分は寄与率が61.8%であり、旨味、甘味、苦味の3特性と味の総合、全体の印象の各項目の係数がいずれも0.406～0.501の値であることから、椎茸らしさに関する因子と解釈される。第2、第3主成分は寄与率がそれぞれ14.8%、12.9%であり、前者は甘味の係数が0.845、後者は香りの係数が0.795といずれも大きな値であることから、第2主成分は椎茸の煮物の味の一つの特徴である甘味に、第3主成分は香りにそれぞれ関係するものと推測された。第1～第3主成分の累積寄与率は89.5%で、第4主成分

以下の固有値は0.5以下であった。

第1～第2主成分平面に因子負荷量をプロットしたものをFig. 25に示した。ここから椎茸らしさを表していると考えられる第1主成分と旨味、苦味、味の総合、全体の印象の各項目との相関関係が非常に強いことが判断された。

各試験液の第1および第2主成分得点の散布図をFig. 26に示した。第1軸の椎茸らしさに5'-GMPと旨味をもつアミノ酸が大きく寄与し、特に5'-GMPの役割が大きいことが示された。第2軸は甘さに寄与するが、糖・糖アルコールからの甘味への寄与というより、無機質を欠いたとき何となく甘く感じ、甘いと評価されたことに関係し、無機質からの寄与が示された。

#### 4 干し椎茸の加熱調理品の味の構成

干し椎茸の加熱調理品の味の構成を考えると、椎茸の特徴的な旨味は特に5'-GMPに担うところが大きいが、グルタミン酸やアス

パラギン酸との相乗効果も顕著に発現している。甘味は多量に含まれるトレハロースやグルコースによるが、アミノ酸のグリシン、アラニンも甘味にある程度寄与している。苦味を呈するアミノ酸はおいしく煮上げることが出来る条件の水もどしおよび加熱した椎茸の煮物においてはいやな苦味を与える量の存在ではなく、むしろ椎茸らしいアクセントをつけ嗜好性を強める役割を担っていると考えられる。なお望ましくない条件で水もどしおよび加熱された場合はこの苦味アミノ酸の増加のためおいしくないと評価される因子になっていることも明らかになった。

一方、カリウムイオン、リン酸イオンなどの無機成分は呈味成分が作り出す基本的な味を強調する重要な補佐役としての役割と考えられる。

Dijkstraら<sup>51)</sup>はツクリタケのエキスについて呈味成分がどのように寄与しているかを再構成し、報告している。それによるとツク

リタケのエキスでは1-オクテン-3-オールが  
呈味に主要な役割を演じ、その他ヌクレオチ  
ド、遊離アミノ酸、糖が重要な役割であった  
としている。ツクリタケの合成エキスの成分  
には有機酸を加えていないため、有機酸の役  
割は検討されていない。椎茸においては有機  
酸を含めて再構成した結果、主成分の種類は  
同じ傾向であることが明らかになり、さらに  
有機酸は主成分というより、修飾的役割であ  
ることが考えられた。

貝類において、おいしくなるときにグリコ  
ーゲン含量が増加することが知られ<sup>5,2, 5,3)</sup>、  
味への貢献が示唆されている。

吉田ら<sup>5,4)</sup>は干し椎茸中にグリコーゲン様  
多糖含量は乾物100g当たり、4.8~5.8gが存在  
すると報告している。吉田らの方法に準じ、  
予備実験として、5℃、15時間の水もどし後  
調理した椎茸中のグリコーゲン様多糖を測定  
したところ、乾物100g当たり7.6~8.9g含ま  
れていた。干し椎茸エキスにはとろみがあり

そのとろみが全体の味のまとまり、こくをつけていると考えられるが、これはグリコーゲン様多糖による影響もあると推察できる。

#### 第4項 要 約

最適条件で水もどし後、調理した干し椎茸の呈味成分の分析値から、椎茸様エキスを調製した。各成分のオミックションテストにより干し椎茸における呈味有効成分について検討するため 5°Cで15時間水もどし後調理した椎茸の絞り汁と調製エキスの類似性の官能検査を行った。次いで椎茸様調製エキスから 1 成分または成分群を除いたエキスを調製し、オミックションテストの試験液とし、官能検査を行った。その結果、椎茸様調製エキスの味は絞り汁に比べ、とろみ、まろやかさに劣り単純な味であるが、ほぼ似ているという評価が得られ、煮た椎茸の味をかなりよく再現していると評価された。この調製液でのオミックションテストによると、5'-ヌクレオチドを

欠いたものは旨味が弱まり、糖・糖アルコールを欠いたものは甘さが弱まり遊離アミノ酸を欠いたものは旨味、甘味、苦味が全体的に弱ると評価された。椎茸特有の香り成分レンチオニンおよびレンチオニンの前駆体であるレンチニン酸を欠いた調製エキスは椎茸様香りがしないエキスと評価された。カリウムとリン酸を除いたエキスは椎茸様エキスとは異質の味であると評価された。

評価項目相互間の相関関係から旨味成分は椎茸のおいしさ、嗜好性などを増大させる働きがあることが示された。主成分分析でも椎茸の美味しさに5'-ヌクレオチド、旨味をもつアミノ酸、糖が密接に関係していることが示された。これらの結果から干し椎茸の加熱調理品の呈味は5'-GMPおよびグルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、アラニンなどの遊離アミノ酸と糖・糖アルコール類が主要な成分であり、また無機イオンも重要な成分であることが確認された。

## 第6章 総括

干し椎茸を種々の浸漬温度、浸漬時間で水もどし後加熱という二つの調理過程における5'-GMPならびに遊離アミノ酸などその他の呈味成分および香気成分などの挙動について検討し、同時に行った官能検査との照合により干し椎茸調理品の味の要因について検討をした。また、これらの結果を基に干し椎茸の水もどしと加熱調理の合理的な方法について考察をした。

その結果、水もどしの段階でRNAを多く残存させ、加熱操作で5'-GMPを多く蓄積させる条件は低温で、短時間の水もどしが望ましいことが明らかになった。一方、遊離アミノ酸については高温の長時間の水もどしにより、グルタミン酸、アスパラギン酸など旨味を呈するアミノ酸と、イソロイシン、ロイシンなど苦味を呈するアミノ酸がともに増加することが明らかになった。特に苦味を呈す

るアミノ酸の増加は顕著であるため戻し過ぎた椎茸は苦味が強く感じられ好まれないことから、苦味のアミノ酸が増加しすぎない浸漬温度、時間の水もどしが望ましいと考えられた。

干し椎茸の特徴的な香気成分であるレンチオニンは低温での水もどしでレンチニン酸の残存量が多く、加熱操作で残存していたレンチニン酸から $\gamma$ -GT活性が失活するまでの間、レンチオニンが生成され、 $\gamma$ -GT活性が失活後は残存したレンチニン酸から加熱分解により、レンチオニンが生成される可能性があるがレンチオニンの揮散、分解が激しく起こるため、香気成分を椎茸に残すためには低温で短時間の水もどしが望ましいと考えられた。

また、水もどし過程でトレハロースが減少し、グルコースの増加することからトレハラーゼの関与が推察された。

さらに、おいしいと評価された水もどし条

件である5°Cで15時間の水もどし後、加熱調理した椎茸の分析値から椎茸様エキスを調製し、各成分のオミッショントストにより干し椎茸の成分がどのように関与しているか検討した。その結果、5'-GMPおよびグルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン、アラニンなどの遊離アミノ酸、糖・糖アルコール類、レンチニン酸、レンチオニンが主要な成分であり、また無機イオンも重要な成分であることが確認された。有機酸は主要成分というより、味にアクセントをつける修飾的役割であることが確認された。

すなわち、干し椎茸の調理品の味に大きく影響するのは5'-GMPと遊離アミノ酸であると判断されることから、最適水もどし条件を決定するためにはこれら二つの呈味成分の挙動から推察される。さらにテクスチャーの面から考え併せると望ましい水もどし条件は浸漬温度は25°C以下の低温で、浸漬時間は十分にもどるのに必要な最低限の時間が望まし

いと判断された。

本研究の結果から、調製エキスは椎茸様風味エキスとして利用でき、椎茸風味食品の味の向上に貢献できると考えられる。

また、原木栽培、菌床栽培など異なる栽培法で生産された干し椎茸の品質判定の指標となりうると考えられ、さらに椎茸以外のキノコ類についても、味の面からそれらキノコ類の品質判断の指標が得られると期待できる。

## 謝　　辞

終わりにのぞみ、本研究に関し、ご指導賜りました女子栄養大学教授・菅原龍幸農学博士に謹んで感謝の意を表します。

本論文をまとめるにあたり、ご助言を賜りました女子栄養大学助教授・松本仲子医学博士および女子栄養短期大学教授・青柳康夫農学博士に心から感謝致します。

常にご協力を戴きました女子栄養大学栄養科学研究所の奥崎政美専任講師、専任講師根岸由紀子博士(栄養学)に深く感謝致します。

実験にご協力を頂きました中村尚子氏、酒井登美子氏、女子栄養大学食品化学研究室平成6年度卒研生の松本雅世嬢、吉澤奈々嬢に厚く御礼を申し上げます。

最後に一連の実験に使用した干し椎茸は全国椎茸共同組合連合会のご厚意により恵与されたものであり、ここに深甚なる謝意を表します。

## 参考文献

- 1) 中村克哉：シイタケ栽培の史的研究  
(東宣出版、東京) (1983)
- 2) 菅原龍幸・松本仲子：日本食生活文化調査研究報告集 p138 (1985)
- 3) 中島宣郎・市川恒平・鎌田政喜・藤田栄一郎：農化 35, 797 (1961)
- 4) 菅原龍幸・新井静子・青柳康夫・国崎直道：栄養と食糧 28, 477 (1975)
- 5) 青柳康夫・佐々木弘子・菅原龍幸：農化 54, 253 (1980)
- 6) 青柳康夫：女子栄養大学紀要 14, 111 (1983)
- 7) 吉田博・菅原龍幸・林淳三：日食工誌 26, 357 (1979)
- 8) 橋田度・毛利威徳・志賀岩雄・寺本四郎：醸酵工学 42, 434 (1964)
- 9) 毛利威徳・橋田度・志賀岩雄・寺本四郎：醸酵工学 43, 344 (1965)

- 10) 毛利威徳・橋田 度・志賀岩雄・寺本四郎 : 酿酵工学 44, 248 (1966)
- 11) 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)
- 12) 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)
- 13) Endo, K., Umeyama, Y., Nakajima, J., Kawai, H. : Agric. Biol. Chem. 44, 1545 (1980)
- 14) 別所秀子・池田 安 : 栄養と食糧 24, 396 (1971)
- 15) 青柳康夫・菅原龍幸 : 日食工誌 33, 244 (1986)
- 16) Terasita, T., Okada, k., Kono, M. and Murao, S. : Agric. Biol. Chem., 45, 1929 (1981)
- 17) Terasita, T., Okada, k., Kono, M. and Murao, S. : Agric. Biol. Chem., 45, 1937 (1981)
- 18) Terasita, T., Okada, k., Kono, M. and

- Murao, S. : Agric. Biol. Chem., 48, 2639  
(1984)
- 19) Terasita, T., Okada, K., Kono, M. and  
Murao, S. : Agric. Biol. Chem., 49, 2293  
(1985)
- 20) 和田正三・中谷弘実・富士繩昭平・木村  
博 : 栄養と食糧 20、355 (1967)
- 21) 和田正三・中谷弘実・戸田 準・芳谷道  
男 : 栄養と食糧 20、360 (1967)
- 22) K. Morita, S. Kobayashi : Tetrahedron  
Letters No. 6 573 (1966)
- 23) Yasumoto, K., Iwami, K. and Mitsuda, H.  
: Agric. Biol. Chem. 35, 2059 (1971)
- 24) Yasumoto, K., Iwami, K. and Mitsuda, H.  
: Agric. Biol. Chem. 35, 2070 (1971)
- 25) Iwami, K., Yasumoto, K., Nakamura, H.  
and Mitsuda, H. : Agric. Biol. Chem.  
39, 1933 (1975)
- 26) K. Iwami, K. Yasumoto, K. Nakamura and  
H. Mitsuda : Agric. Biol. Chem.,

- 39, 1941 (1975)
- 27) K. Iwami, K. Yasumoto, K. Nakamura and H. Mitsuda : Agric. Biol. Chem.,  
39, 1947 (1975)
- 28) Yasumoto, K., Iwami, K., Yonezawa, T.  
and Mitsuda, H. : Phytochem. 16, 1351  
(1977)
- 29) 岩見公和 : 農化 51, R39 (1977)
- 30) 岩見公和 : 化学と生物 16, 361 (1978)
- 31) Ito, Y., Toyoda, M., Suzuki, H., Iwada, M. : J. of Food Sci. 43, 1287 (1978)
- 32) 松本仲子・青柳康夫・平野雄一郎・菅原龍幸 : 日食工誌 25, 129 (1978)
- 33) 小原哲二郎・鈴木隆雄・岩尾裕之監修 :  
改訂食品分析ハンドブック (建帛社、東京) p. 44 (1982)
- 34) 小原哲二郎・鈴木隆雄・岩尾裕之監修 :  
改訂食品分析ハンドブック (建帛社、東京) p. 51 (1982)
- 35) 農耕と園芸 : 図解キノコの栽培百科

(誠文堂新光社、東京) (1990)

- 36) Chu-chin Chen et al : J. Agric. Food Chem. 32, 999 (1984)
- 37) 山本 茂・原田公博・堀内哲嗣郎・亀田 弥：第34回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、香川県高松市 日本化学会主催(1990)
- 38) Orlowski, M. and Mrister, A. : Biochem. Biophys Acta. 73, 679 (1963)
- 39) 岩見公和・安本教傳・満田久輝：栄養と食糧、27, 341 (1974)
- 40) 小原哲二郎・鈴木隆雄・岩尾裕之監修：改訂食品分析ハンドブック(建帛社、東京) p. 211 (1982)
- 41) 山下市二・田村太郎・吉川誠次・鈴木重治：分析化学 20, 1334 (1973)
- 42) 佐々木弘子・中村尚子・青柳康夫・菅原龍幸：日食工誌 35, 90 (1988)
- 43) 山口静子・吉川知子・池田真吾・二宮恒彦：農化 42, 378 (1968)

- 44) 日本化学会編集：化学総説 No.4 味とに  
おいの化学（学会センター、東京）  
p. 139 (1979)
- 45) 木村友子・菅原龍幸・福谷洋子・加賀谷  
みえ子：日本家政学雑誌 45(7), 585  
(1994)
- 46) 佐々木弘子・中村尚子・甲田道子・松本  
仲子・青柳康夫・菅原龍幸：日食工誌  
36(4), 294 (1989)
- 47) Hayashi, T., Yamaguchi, K. and  
Konosu, S. : J. of Food Sci. 46, 479  
(1981)
- 48) 鴻巣章二・渡辺勝子・郡山剛・白井隆  
明・山口勝己：日食工誌 35(4), 252  
(1988)
- 49) 渡辺勝子・藍惠玲・山口勝己・鴻巣章  
二：日食工誌 37(6), 439 (1990)
- 50) 松本仲子：未発表
- 51) Frans Y. Dijkstra and Torsten O.  
Wikén : Z. Lebensm. UntersForsch

- 160, 255 (1976)
- 52) 佐伯清子・熊谷清：日水誌 46, 341  
(1980)
- 53) 高木一郎・清水亘：日水誌 29, 66  
(1963)
- 54) 吉田博・菅原龍幸・林淳三：日食工  
誌 33(6), 414 (1986)

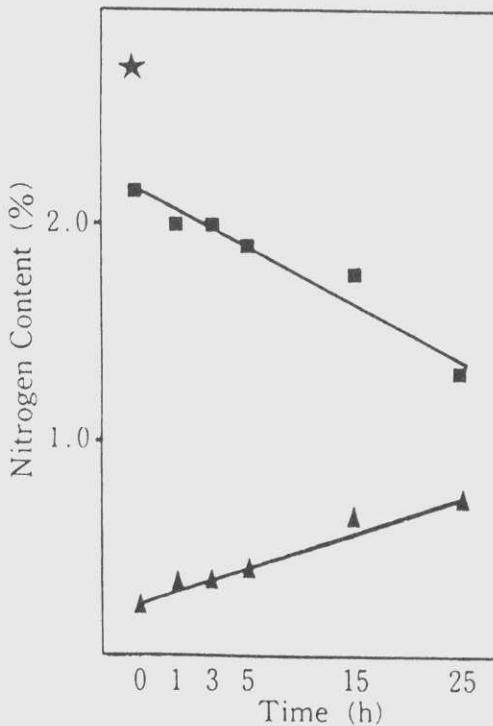


Fig. 1 Effect of soaking on protein nitrogen content and amino nitrogen content (Jyokoshin)

Soaking temperature : 25°C

★ : Crude protein content

■ : Protein nitrogen content

▲ : Amino nitrogen content

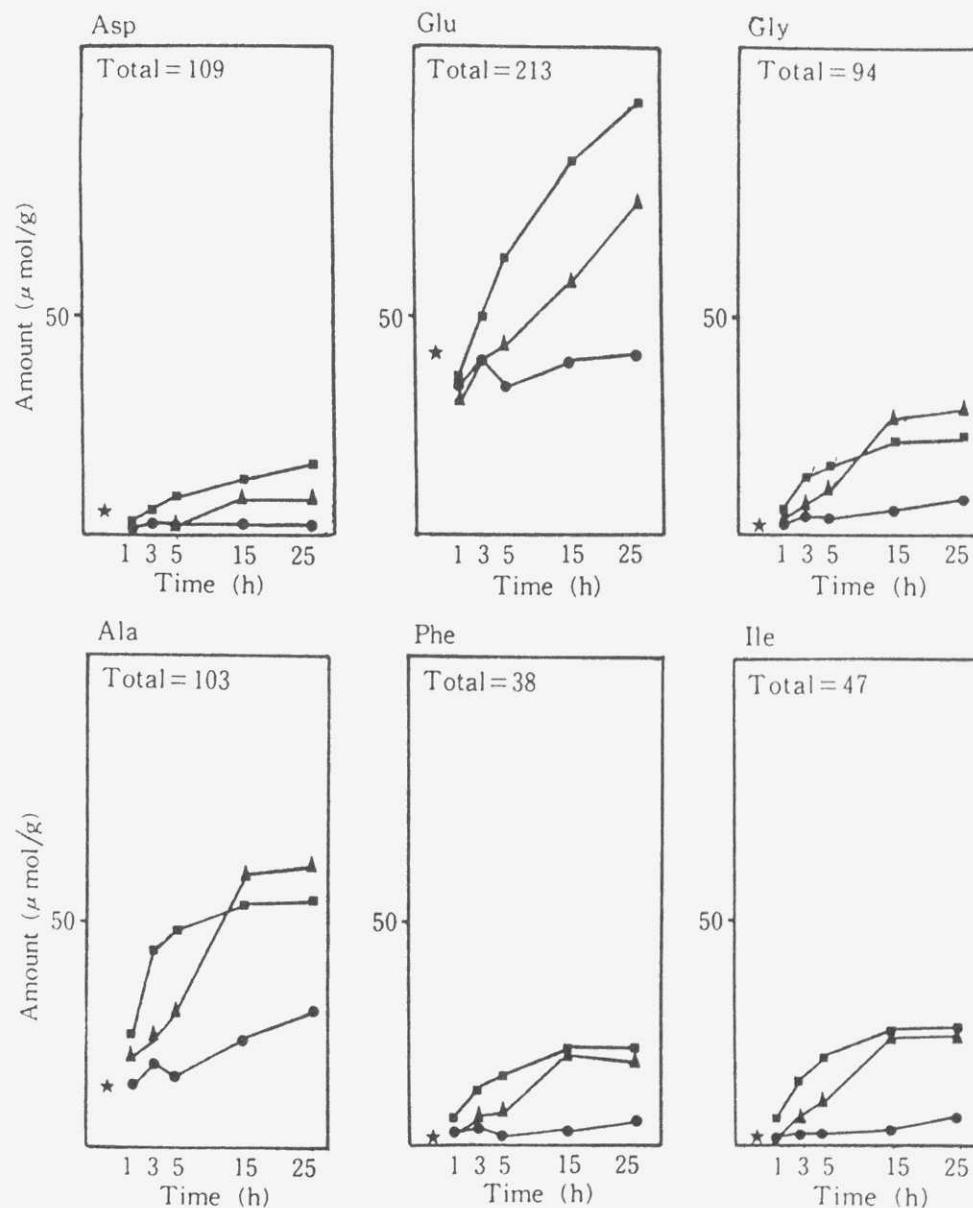


Fig. 2 Effect of soaking on free protein amino acid content of dried shiitake mushroom (Jyodonko)

★ : Not soaked

● : Soaked at 5°C

▲ : Soaked at 25°C

■ : Soaked at 40°C

Total : Hydrolyzed in 6N HCl at 110°C for 24h

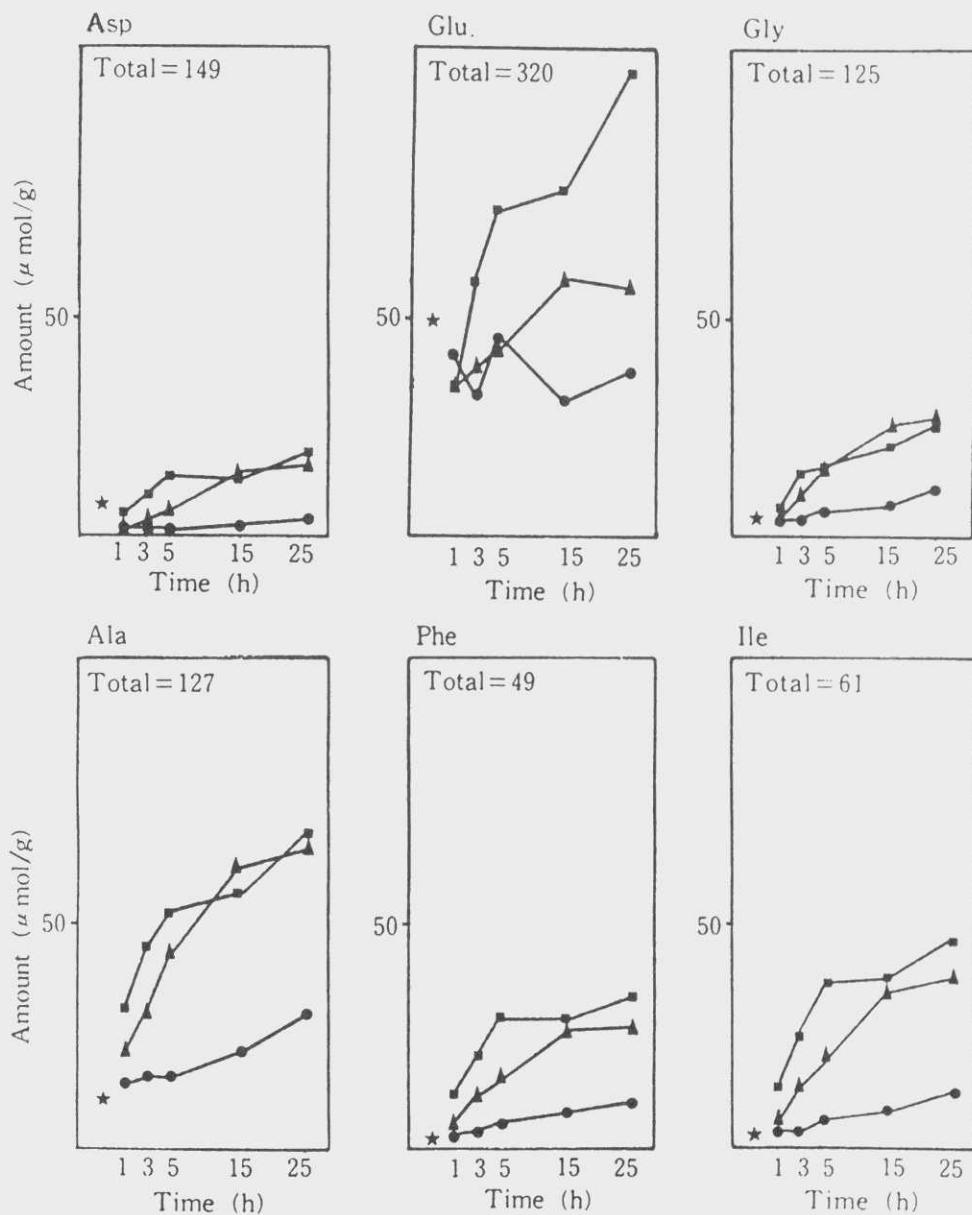


Fig. 3 Effect of soaking on free protein amino acid content of dried shiitake mushroom (Jyokoshin)

- ★ : Not soaked
- : Soaked at 5°C
- ▲ : Soaked at 25°C
- : Soaked at 40°C

Total : Hydrolyzed in 6N HCl at 110°C for 24h

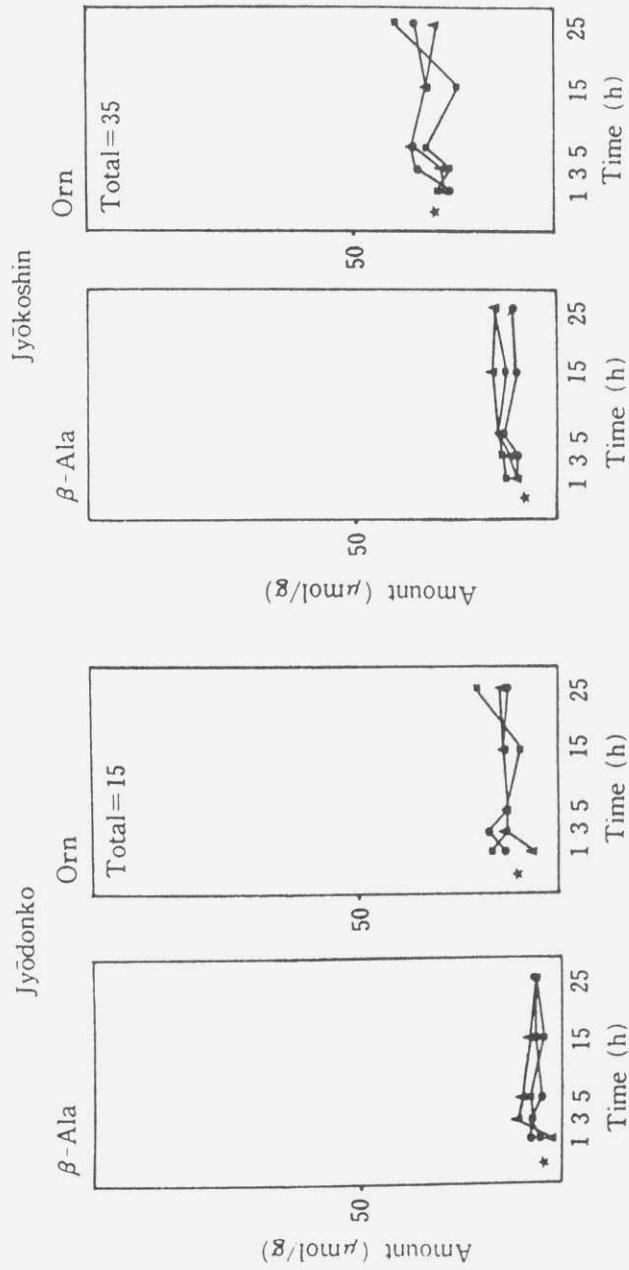


Fig. 4 Effect of soaking on non-protein amino acid content of dried shiitake mushroom

★ : Not soaked  
 ● : Soaked at 5°C  
 ▲ : Soaked at 25°C  
 ■ : Soaked at 40°C  
 Total : Hydrolyzed in 6N HCl at 110°C for 24h

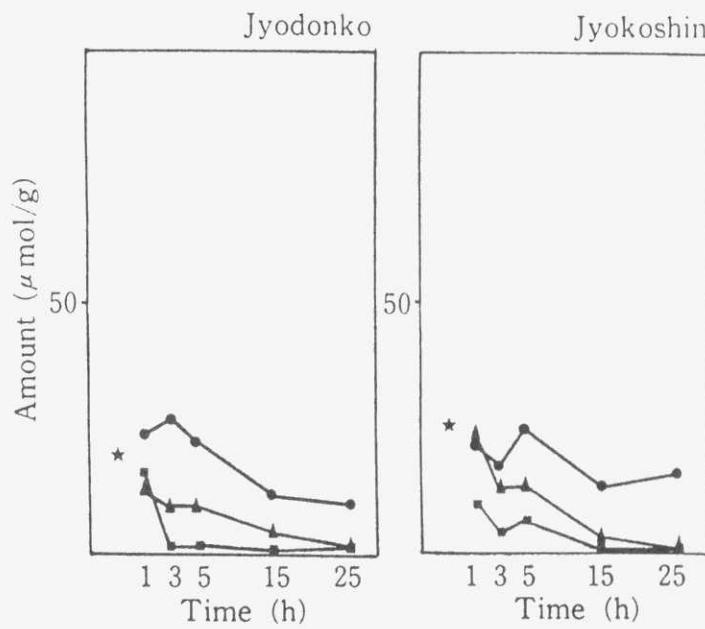


Fig. 5 Effect of soaking on lentinic acid content of dried shiitake mushroom

- ★ : Not soaked
- : Soaked at 5°C
- ▲ : Soaked at 25°C
- : Soaked at 40°C

Total : Hydrolyzed in 6N HCl at 110°C for 24h

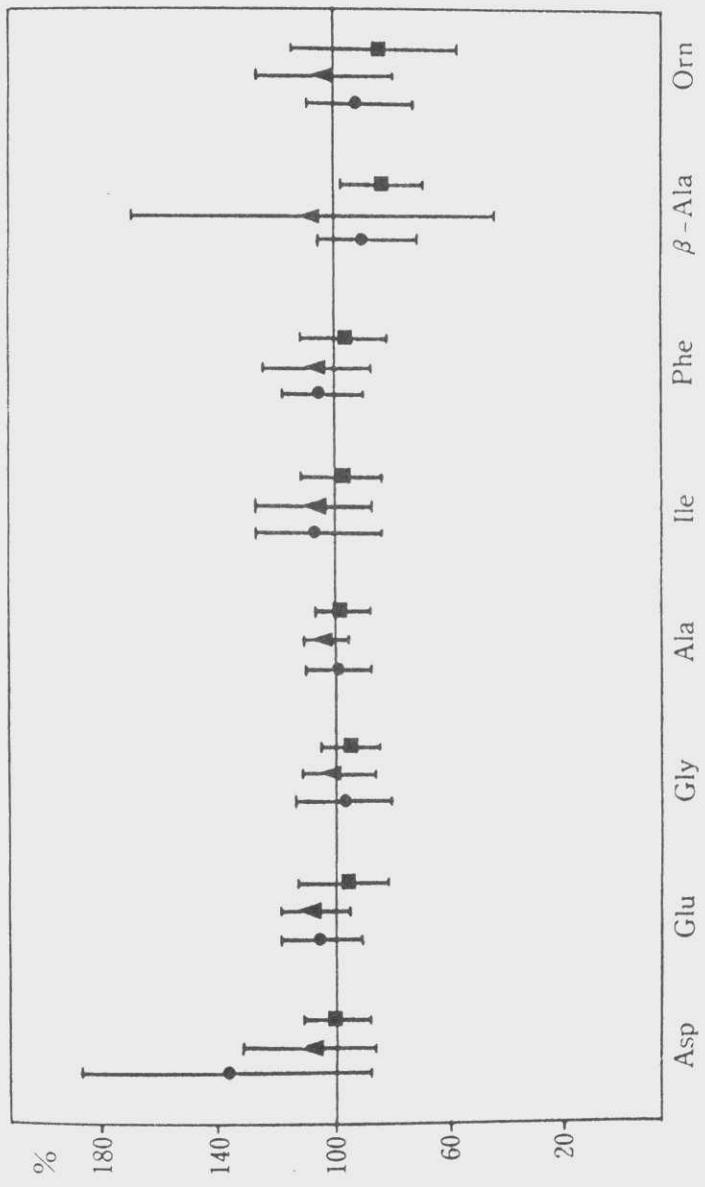


Fig. 6 Ratio of amino acid contents of soaked dried shiitake mushroom before and after cooking  
 Values were average and S.D. of Jyodonko soaked for 1, 3, 5,  
 15, 25h respectively  
 ● : Soaked at 5°C  
 ▲ : Soaked at 25°C  
 ■ : Soaked at 40°C

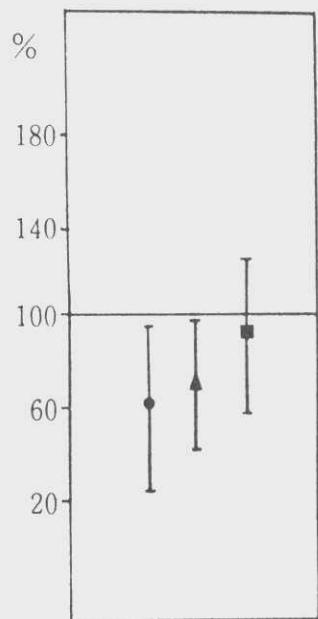
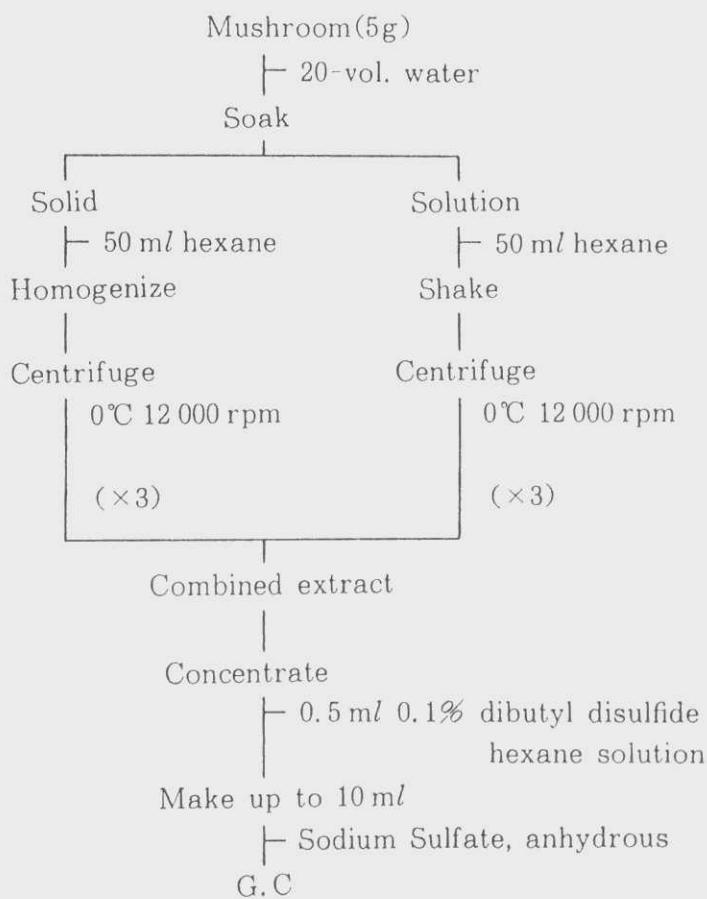


Fig. 7 Ratio of amino acid contents of soaked dried shiitake mushroom before and after cooking  
Values were average and S.D. of Jyodonko soaked for 1, 3, 5, 15, 25h respectively.  
● : Soaked at 5°C  
▲ : Soaked at 25°C  
■ : Soaked at 40°C



#### G.C conditions

Model : Shimazu GC12AFPD  
 Detector : FPD  
 Column : 25 m × 0.25 mm(1.5 df) OV-1  
 Column temp : 100~200°C(5°C/min)  
 Detector & injector temp. : 240°C  
 Carrier gas : N<sub>2</sub> 60 ml/min

Fig. 8 Scheme of isolation of lenthionine from dried shiitake mushroom

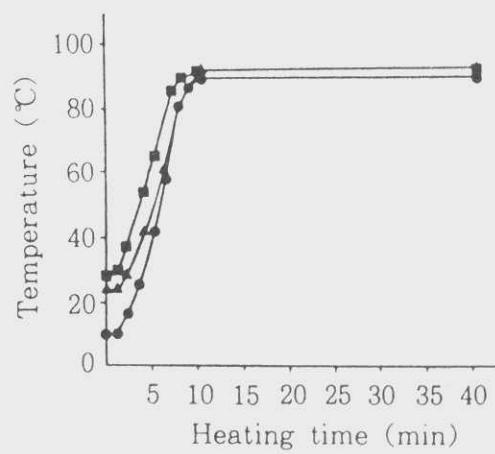


Fig. 9 Change in internal temperature of dried shiitake during cooking mushroom

- : Soaked at 5°C then cooked
- ▲-▲ : Soaked at 25°C then cooked
- : Soaked at 40°C then cooked

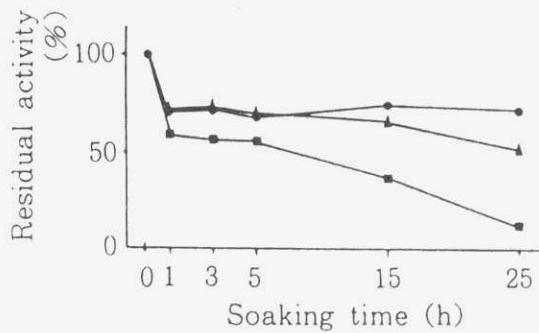


Fig. 10 Effect of soaking time on  $\gamma$ -GT activity of dried shiitake mushroom

●-● : Soaked at 5°C

▲-▲ : Soaked at 25°C

■-■ : Soaked at 40°C

Dried shiitake mushroom was soaked in 20-vol water, then the mushroom together with the soaking water was homogenized. The homogenate was separated by centrifugation, and the resulting supernatant was used for the enzyme preparation. For the enzyme activity, 0.9ml of a substrate solution containing 3.4 $\mu$ moles of  $\gamma$ -glutamyl- $\rho$ -nitroanilide in 0.5M Tris-HCl buffer (pH7.6) was incubated with 0.1ml of the enzyme solution at 37°C for 1h. The reaction was terminated by adding 3ml of 1.5M acetic acid. The amount of  $\rho$ -nitroaniline released was determined by measuring absorbance at 410nm.

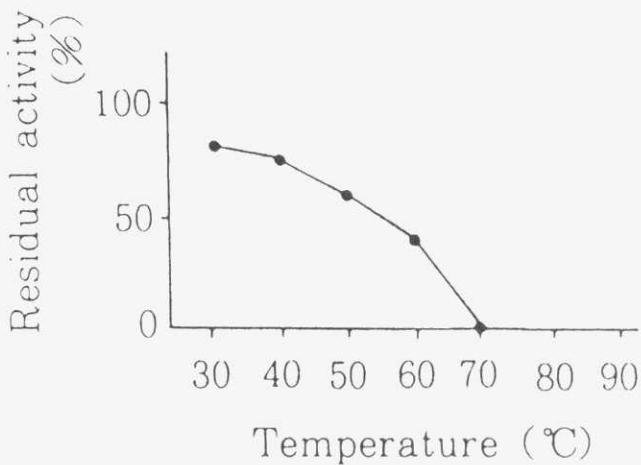


Fig. 11 Effect of temperature on  $\gamma$ -GT activity of dried shiitake mushroom

Two grams of powdered dried shiitake mushroom soaked in 20-vol. of the buffer(pH7.6) reached to the intended temperature for 3min and was maintained for 10min.  $\gamma$ -GT activity assay was the same as in Fig. 10

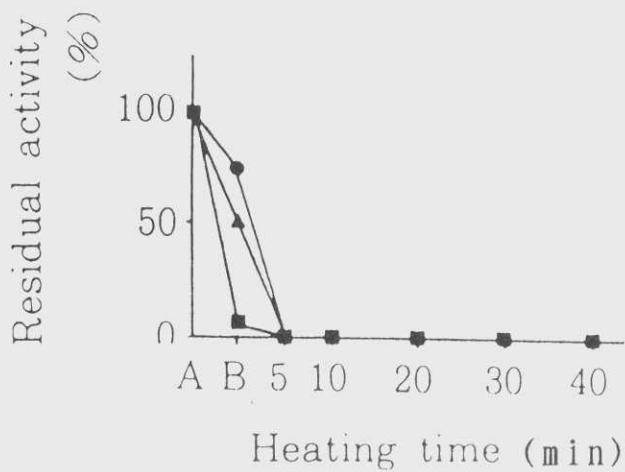


Fig. 12 Effect of heating time on  $\gamma$ -GT activity of dried shiitake

A:Not soaked

B:After soaked

●-● : Soaked at 5°C

▲-▲ : Soaked at 25°C

■-■ : Soaked at 40°C

$\gamma$ -GT activity assay was the same as in Fig. 10.

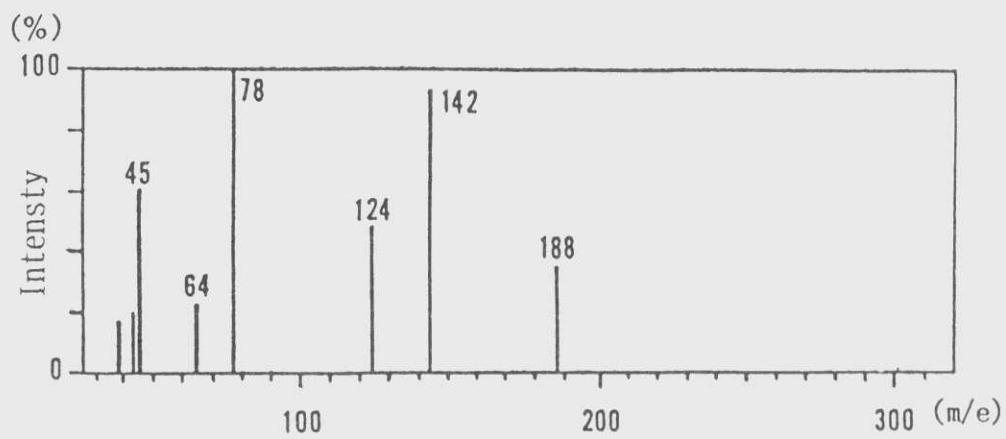


Fig. 13 Mass spectrum of lenthonine obtained from soaked dried shiitake mushroom

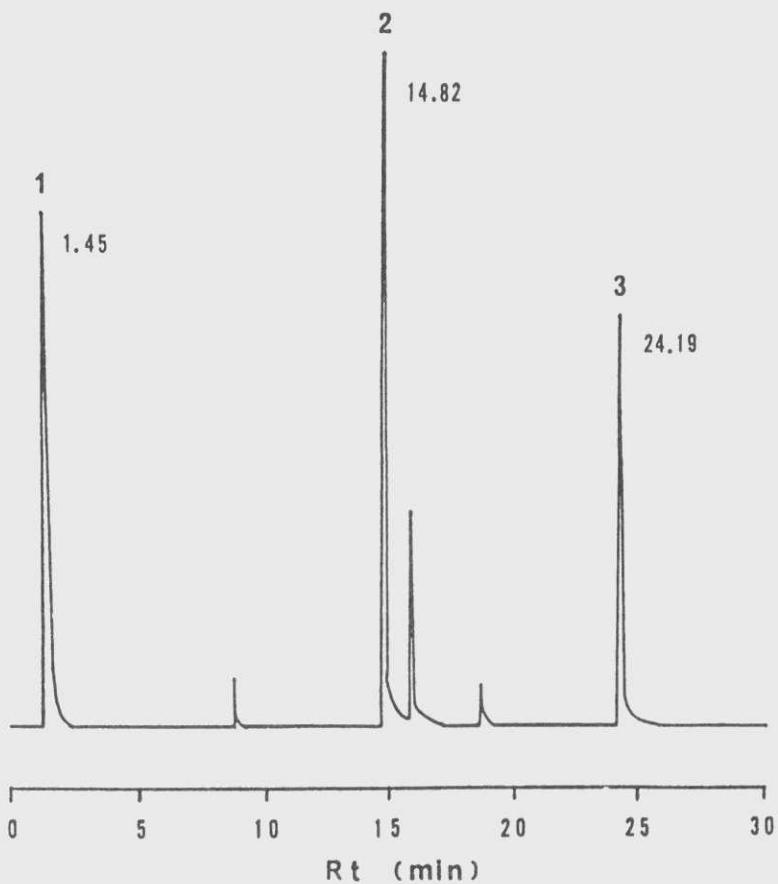


Fig. 14 Gas chromatogram of soaked at 5°C for 15h of dried shiitake mushroom (Jyokoshin)  
peak 1 : Hexane, peak 2 : I.S,  
peak 3 : lenthionine

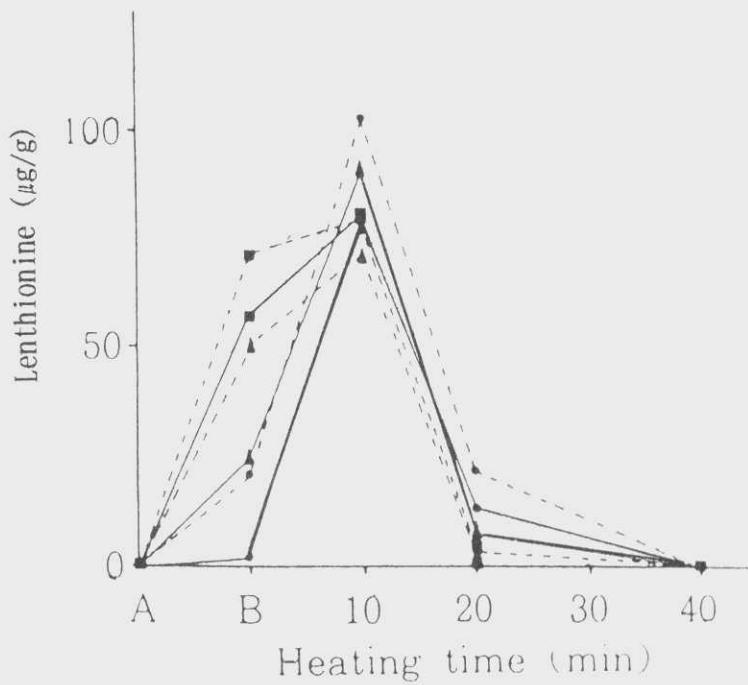


Fig. 15 Effect of soaking and cooking process of lenthionine content of dried shiitake mushroom  
 A:Not soaked, B:After soaked  
 ●—●: Soaked at 5°C, 5h then cooked  
 ●···●: Soaked at 5°C, 15h then cooked  
 ▲—▲: Soaked at 25°C, 5h then cooked  
 ▲···▲: Soaked at 25°C, 15h then cooked  
 ■—■: Soaked at 40°C, 5h then cooked  
 ■···■: Soaked at 40°C, 15h then cooked

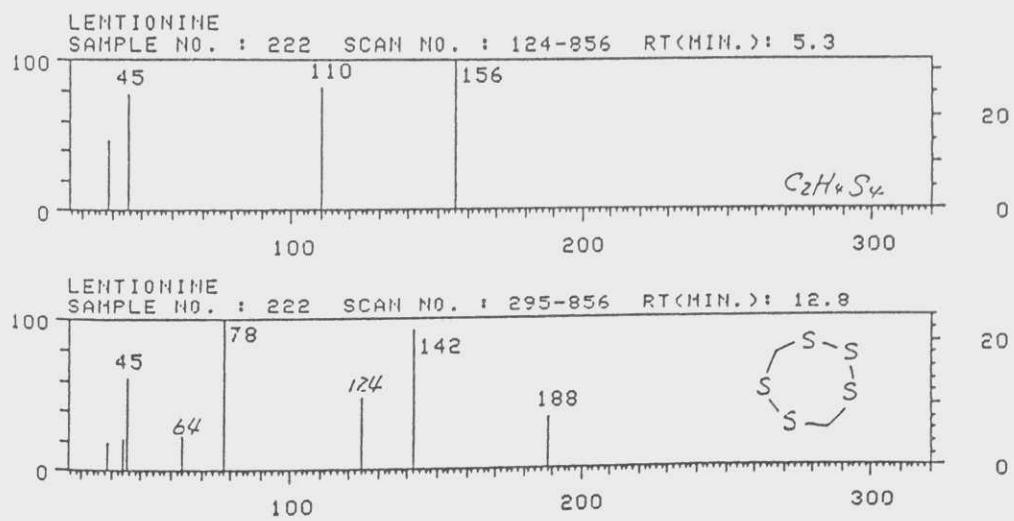
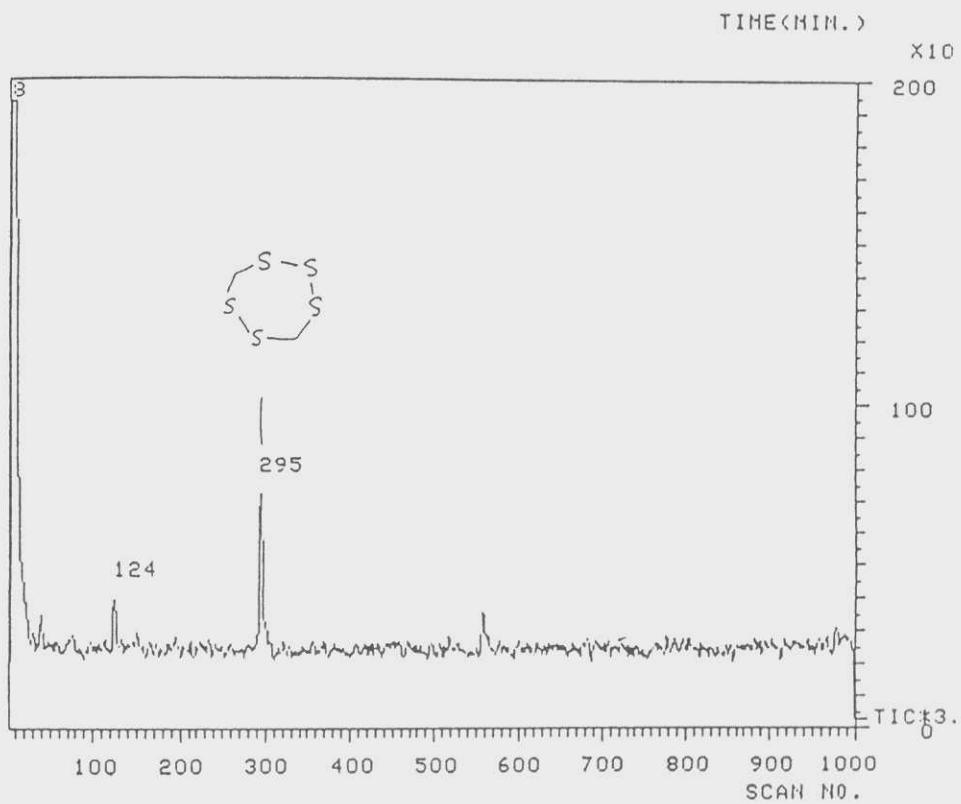


Fig. 16 Gas chromatogram and mass spectrum of heated lentinic acid solution

Table 1 Sensory test of lenthionine solution

Concentration of lenthionine	0.07	0.13	0.27	0.54	1.06	2.13	4.25	8.50
	<	————— ppm —————						>
Smelled								
number of panel	0	3	11	16	16	16	16	16

Lenthionine was dissolved in water

The number of panel was sixteen persons.

官能検査回答用紙

色	濃さ	大変 淡い	やや 淡い	やや 淡い	大変 濃い	濃い
	良否	大変 悪い	やや 悪い	やや 悪い	大変 良い	良い
香	強さ	大変 弱い	やや 弱い	やや 弱い	大変 強い	強い
	良否	大変 悪い	やや 悪い	やや 悪い	大変 良い	良い
味	旨味	大変 弱い	やや 弱い	やや 弱い	大変 強い	強い
	良否	大変 悪い	やや 悪い	やや 悪い	大変 良い	良い
苦味	強さ	大変 弱い	やや 弱い	やや 弱い	大変 強い	強い
	良否	大変 悪い	やや 悪い	やや 悪い	大変 良い	良い
総合		大変 悪い	やや 悪い	やや 普通	大変 良い	良い
歯ごたえ	軟らかさ	たいへん 軟らかい	やや 軟らかい	やや 軟らかいふつう	たいへん かたい	かたい
	良否	大変 悪い	やや 悪い	やや 普通	大変 良い	良い
総合		大変 悪い	やや 悪い	やや 普通	大変 良い	良い

年 月 日  
氏名 \_\_\_\_\_

Fig. 17 Score sheet for sensory test

Table 2 Contents of 5'-GMP, total amino acid, glutamic acid and lentinic acid in cooked mushrooms<sup>1)</sup>

Temp.(°C)	Soaking condition	5'-GMP		T.A.A. <sup>2)</sup>		Glu		L.A. <sup>3)</sup>	
		JD <sup>4)</sup>	JK <sup>5)</sup>	JD <sup>4)</sup>	JK <sup>5)</sup>	JD <sup>4)</sup>	JK <sup>5)</sup>	JD <sup>4)</sup>	JK <sup>5)</sup>
5	1	18.16	20.34	408.7	352.0	111.5	61.8	89.28	89.76
	3	17.07	19.25	420.5	336.8	111.4	53.6	68.53	55.50
	5	19.98	19.25	494.8	390.5	117.1	58.0	75.29	65.63
	15	16.71	17.43	391.7	414.7	95.1	54.9	33.30	51.63
	25	18.52	18.16	453.9	588.1	86.4	73.0	33.30	51.16
	1	15.98	18.16	406.6	407.8	89.8	58.2	67.56	69.49
25	3	14.17	12.71	464.0	541.5	90.9	57.9	45.85	41.50
	5	12.35	10.53	503.4	800.2	84.4	84.9	17.86	44.40
	15	7.26	1.45	728.8	1 047.2	104.7	101.6	13.03	13.51
	25	3.63	0.73	855.6	1 207.1	121.3	130.6	8.20	9.65
	1	11.26	9.08	620.6	454.6	100.5	57.8	24.13	49.71
	3	6.54	1.39	631.8	642.7	101.0	74.7	24.61	18.82
40	5	5.09	0.73	695.0	830.2	98.0	95.8	16.41	14.48
	15	0.73	1.09	1 177.3	1 202.5	192.6	188.4	4.34	9.17
	25	0.73	1.09	1 118.8	1 186.0	167.7	139.9	10.13	6.76

<sup>1)</sup> mg/100 g in wet matter

<sup>2)</sup> Thirty three kinds of amino acid determined by an automatic amino acid analyzer were summed up.

<sup>3)</sup> Lentinic acid

<sup>4)</sup> Jyōdonko

<sup>5)</sup> Jyōkōshin

Table 3 Contents of reducing sugar by somogyi method  
in cooked dried shiitake shiitake

(g/100g Dry matter)

		Soaked	Soaked		
		solution	mushroom	Total	then cooked
JK	N. S	2.13			
	5°C, 15h		2.36	1.47	3.83
	25°C, 5h		2.17	2.28	4.45
JD	N. S	1.50			
	5°C, 15h		2.93	2.74	5.67
	25°C, 5h		2.98	3.56	6.54
					4.15
					4.76

JK:Jyokoshin, JD:Jyodonko, N.S:not soaked

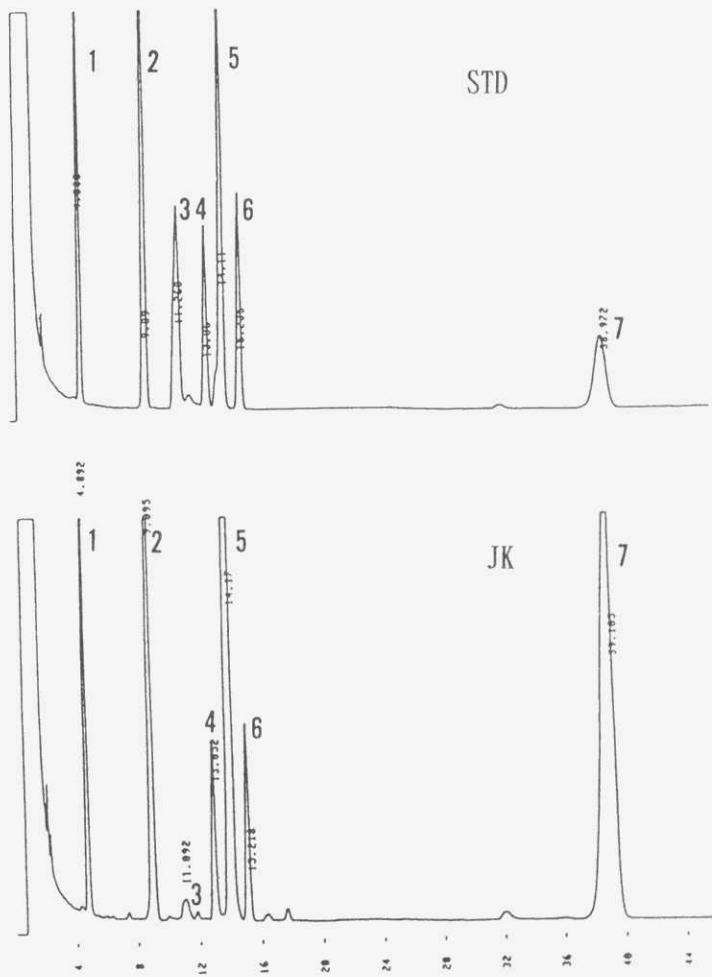


Fig. 18 Gas chromatogram of TMS-sugars obtained from soaked at 5°C, 5h and then cooked dried shiitake mushroom

STD:standard, JK:Jyokoshin

1:I.S., 2:Arabitol, 3:Fructose, 4: $\alpha$ -Glucose  
5:Mannitol, 6: $\beta$ -Glucose, 7:Trehalose

Table 4 Contents of free sugar and sugaralchol of the cooked shiitake (g/100g Dry matter)

		Arabitol	Fructose	Mannitol	Glucose	Trehalose	Total sugar	sugaralcho	Total sugar
	Not soaked	2.60	0.12	6.71	0.48	15.27	9.31	15.87	
5°C, 15h	Soaked solution	1.77	0.15	3.99	2.69	7.01	5.76	9.85	
	Soaked mushroom	1.17	0.15	3.04	2.28	7.05	4.21	9.48	
	Total	2.94	0.30	7.03	4.97	14.06	9.97	19.33	
Jyo koshin	Soaked then cooked	2.04	0.24	6.77	3.54	12.63	8.81	16.41	
	Soaked solution	1.23	0.15	2.92	2.75	4.62	4.15	7.52	
	Soaked mushroom	1.27	0.24	4.18	2.84	8.10	5.45	11.18	
25°C, 5h	Total	2.50	0.39	7.10	5.59	12.72	9.60	18.70	
40°C, 25h	Soaked then cooked	2.54	0.38	6.46	5.22	12.91	9.00	18.51	
	Soaked solution	2.56	0.29	6.71	12.37	10.39	9.27	23.05	
	Not soaked	2.67	0.07	6.53	0.25	14.88	9.20	15.20	
5°C, 15h	Soaked solution	2.04	0.19	3.81	4.28	6.81	5.85	11.28	
	Soaked mushroom	1.33	0.17	3.48	3.27	8.54	4.81	11.98	
	Total	3.37	0.36	7.29	7.55	15.35	10.66	23.26	
Jyo Donko	Soaked then cooked	2.58	0.35	6.24	4.51	12.76	8.82	17.62	
	Soaked solution	1.44	0.15	3.50	4.06	5.22	4.94	9.43	
	Soaked mushroom	1.19	0.23	4.49	3.63	9.29	5.68	13.25	
25°C, 5h	Total	2.63	0.38	7.99	7.69	14.51	10.62	22.58	
	Soaked then cooked	2.68	0.37	7.12	6.17	13.15	9.80	19.69	
40°C, 25h	Soaked then cooked	2.74	0.38	6.73	9.28	9.87	9.47	19.53	

Table 5 Contents of organic acids of cooked  
dried shiitake mushroom (mg/100g Dry matter)

	Jyokoshin		
	Not soaked	5°C, 15 h <sup>1)</sup>	25°C, 5h <sup>2)</sup>
Lactic acid	80.4± 2.6	93.5± 22.8	116.0± 7.3
Oxalic acid	4.1± 1.0	6.7± 1.7	8.1± 3.6
Fumaric acid	267.0± 57.8	183.4± 54.6	208.6± 57.6
Malic acid	1697.4±442.5	1620.6±324.9	1778.5±433.7
α-Keto-glutaric acid	182.6± 49.0	100.1± 41.5	192.3± 59.4
Pyroglutamic acid	159.2±179.5	188.8± 88.8	203.6±119.5
Citric acid	23.7± 10.9	28.7± 19.6	30.9± 7.3
Total	2414.4±106.2	2221.8± 80.6	2548.0± 98.3
	Jyodonko		
	Not soaked	5°C, 15 h <sup>1)</sup>	25°C, 5h <sup>2)</sup>
Lactic acid	100.9± 15.4	303.0± 64.7	5.6±105.2
Oxalic acid	3.5± 0.7	6.5± 1.8	10.5± 0.3
Fumaric acid	206.8± 35.6	170.1± 18.8	160.7± 60.7
Malic acid	1340.4±232.8	1736.9±180.8	1417.7±455.5
α-Keto-glutaric acid	224.5± 69.4	213.1± 19.0	187.6± 39.9
Pyroglutamic acid	314.4±224.3	224.9±122.6	294.5±203.9
Citric acid	56.2± 27.1	54.6± 13.1	52.4± 13.0
Total	2246.7± 86.5	2709.1± 60.1	2379.0±125.5

Values were average and S.D. of 4 determination.

<sup>1)</sup> Soaked at 5°C, 15h and then cooked.

<sup>2)</sup> Soaked at 25°C, 5h and then cooked.

Table 6 Mineral contents of soaked at 5℃, 15h  
and then cooked dried shiitake  
mushroom (mg/100g)

	Jyokoshin		Jyodonko	
	wet wt.	dry wt.	wet wt.	dry wt.
Ca	1.99	16.58	0.94	7.83
P	45.5	377.7	45.4	376.8
Fe	0.59	4.90	0.43	3.57
Na	9.0	74.7	20.8	172.6
K	269	2233	97	805
Mg	16.3	135.3	13.9	115.4
Zn	0.39	3.24	0.43	3.57
Cu	0.07	0.58	0.18	1.49
Mn	0.19	1.58	0.19	1.58

Table 7 Effect of soaking condition on sensory panel score of the cooked dried Shiitake mushrooms (n=10)

Sample	Soaking condition	Color				Flavor				Umami				Bitter	Taste	Texture	Overall Impression
		Temp. (°C)	Time(h)	Intensity	Impression	Intensity											
Jyodonko	1	0.1	0.4	-0.2	-0.4	0.3	-0.4	-0.9	-0.1	0.3	-0.2	-0.6	-0.6	-0.2	-0.3	-0.3	-0.6
	3	-0.6	-0.3	-0.1	-0.4	0.2	-0.1	-0.1	-0.1	0.4	-0.1	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3
	5	0.1	-0.1	0.1	0.1	0.9	0.9	0.6	0.6	0.4	0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.4	-0.2
	15	-0.1	0.1	-0.2	-0.2	0.5	-0.2	0.5	-0.5	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.4
	25	-0.9	-0.2	0.1	0.1	0.3	0.1	0.3	-0.1	0.3	-0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-0.1
40	1	0.2	0.2	-0.2	-0.2	-0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-1.0	-0.2	-0.2	-0.5	-0.7	-0.7	-0.5	-0.5
	3	-0.2	-0.2	0.2	0.2	-0.5	-0.4	-0.4	-0.2	-1.1	-0.3	-0.3	-0.3	-0.1	-0.1	-0.1	-0.4
	5	0.4	0	0.6	0.6	0.7	1.3	0.3	0.3	-0.7	0.8	0.8	0.8	0.1	0.1	0.1	0.1
	15	0.4	0.2	0	0	0	0.3	0.3	0.1	-0.3	0.1	0.1	0.1	-0.4	0	0	-0.4
	25	-0.2	0.5	0.5	0.2	0.5	0.5	-0.2	0.4	-0.4	0	0	0	0	0	0	-0.6
5	1	0	0	0.2	0.2	-0.1	-0.1	-0.4	-0.4	-0.9	-0.1	-0.1	-0.3	-0.8	-0.8	-0.4	-0.4
	3	0.4	0.4	0.2	0.2	-0.4	-0.4	-0.5	-0.7	-0.6	0.6	0.6	0.6	0.2	0.2	0.2	-0.6
	5	0.5	0.1	0.3	0	0.8	0.8	0.3	0.3	0.1	0.4	0.4	0.4	0	0	0.4	0.4
	15	0.8	0.4	-0.1	0	-0.2	-0.2	-0.5	0	-0.8	-0.8	-0.8	-0.8	0	0	0	-0.4
	25	0.6	-0.5	0	-1.1	-1.0	-2.0	1.1	1.1	-1.6	-1.6	-1.6	-1.6	-1.0	-1.0	-1.0	-1.8
Jyokoshin	1	-0.6	-0.2	-0.1	-0.3	0.1	-0.2	-0.7	-0.7	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	0.1	0.1	0.3	-0.5
	3	-0.7	-0.5	-0.6	-0.5	-0.5	-0.5	-0.6	-0.6	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	0	0	0.1	-0.6
	5	-0.5	-0.5	-0.4	-0.4	-0.4	-0.7	-0.6	-0.6	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.3	-0.3	-0.3	-0.5
	15	-0.6	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	0	-0.1	-0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-0.2	-0.6	-0.6	-0.6	-0.3
	25	-0.3	-0.1	-0.2	-0.3	0	0.1	-0.4	-0.4	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.3	-0.3	-0.3	-0.1
40	1	-0.7	-0.3	-0.5	-0.5	-0.4	-0.5	-0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.7	-0.3	-0.3	-0.5
	3	-0.2	0	-0.2	0	-0.5	-0.5	-0.4	-0.4	-0.2	-0.2	-0.2	-0.2	-0.5	-0.2	-0.2	-0.5
	5	-0.5	-0.2	-0.2	0	0	0	-0.4	-0.4	-0.3	-0.3	-0.3	-0.3	-0.4	-0.1	-0.1	-0.4
	15	-0.8	-0.4	-0.4	-0.4	-0.5	-0.5	-0.8	-0.8	-1.2	-1.2	-1.2	-1.2	-0.8	-0.8	-0.8	-1.2
	25	0.1	0.1	-0.5	-0.5	-0.5	-0.8	-1.5	1.0	1.0	-1.5	-1.5	-1.5	-0.9	-0.9	-0.9	-1.6
40	1	-0.2	-0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	-0.3	-0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	-0.6	-0.6	-0.6	-0.5
	3	-0.2	-0.2	-0.7	-0.7	-0.7	-0.7	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.3	-1.0
	5	-0.1	-0.2	-0.3	-0.6	-0.6	-0.6	-0.8	-0.8	-1.4	-1.4	-1.4	-1.4	-1.9	-1.9	-1.9	-1.9
	15	0.7	-0.1	-0.4	-0.4	-0.6	-0.6	-0.6	-0.6	-1.8	-1.8	-1.8	-1.8	-0.8	-0.8	-0.8	-0.5
	25	1.3	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-0.9	-0.9	-0.5	-0.5	-0.5	-0.5	-1.7	-1.7	-1.7	-1.9

Table 8 Result of analysis of variance

Item		Temperature		Time	
		JD <sup>1)</sup>	JK <sup>2)</sup>	JD <sup>1)</sup>	JK <sup>2)</sup>
Color	Intensity	**	**	n. s	n. s
	Impression	n. s	n. s	n. s	n. s
Flavor	Intensity	n. s	n. s	n. s	n. s
	Impression	n. s	n. s	n. s	n. s
Umami	Intensity	n. s	n. s	*	n. s
	Impression	**	**	**	n. s
Bitter	Intensity	*	**	**	*
Taste	Impression	*	**	**	*
Texture	Intensity	*	n. s	*	*
	Impression	n. s	n. s	n. s	n. s
Overall		*	**	**	*

<sup>1)</sup> Jyodonko, <sup>2)</sup> Jyokoshin

n. s : non significant

\* : significant at 5% level

\*\* : significant at 1% level

Table 9 Paired preference test of cooked dried shiitake mushroom<sup>1)</sup>

Panel	Jyodonko			Nami donko			Jyokoshin			Nami koshin		
	5°C	40°C	n	5°C	40°C	n	5°C	40°C	n	5°C	40°C	n
Man	26**	9	35	8	4	12	21	13	34	6	5	11
Woman	13***	0	13	12**	1	13	12**	1	13	11**	1	12
Total	39**	9	48	20**	5	25	33**	14	47	17*	6	23

<sup>1)</sup> Dried shiitake Mushroom rehydrated under various conditions were cooked.

5°C : Soaked at 5°C, 15h and Heated 25min with 1% NaCl.

40°C : Soaked at 40°C, 25h and heated 25min with 1% NaCl.

\* : p<0.05 \*\* : p<0.01 \*\*\* : p<0.001

Table 10 Texture characteristics of the cooked of dried shiitake mushroom

	5°C, 15 h <sup>1)</sup>	40°C, 25h <sup>2)</sup>
Hardness	8.20±0.988	7.29±2.166
Cohesiveness	0.68±0.140	0.63±0.213
Gumminess	5.06±1.206	4.97±1.859
Springness	1.17±0.133	1.16±0.191
Chewiness	5.95±1.195	5.81±2.170

Sample: Jyokoshin

Values were average and S.D. of 15 determinations.

<sup>1)</sup> Soaked at 5°C, 15h and then cooked.

<sup>2)</sup> Soaked at 40°C, 25h and then cooked.

Table 11 Effect of soaking on juice release. (cm<sup>3</sup>)

	Chew No.			Total
	1	2	3	
5°C <sup>1)</sup>	22.14±6.09	16.98±3.91	14.26±3.57	53.4±10.90
40°C <sup>2)</sup>	20.89±5.39	16.73±3.17	14.27±4.19	51.9±11.05

Sample: Jyokoshin

Values were average and S.D. of 10 determinations.

<sup>1)</sup> Soaked at 5°C, 15h and then cooked.

<sup>2)</sup> Soaked at 40°C, 25h and then cooked.

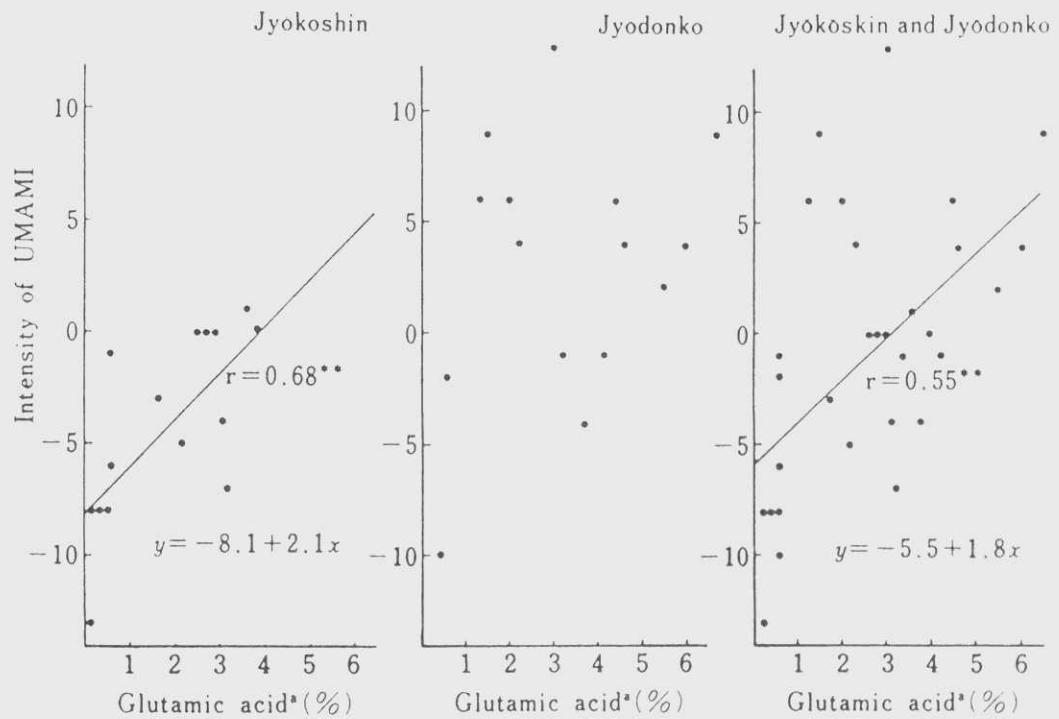


Fig. 19 Interrelationship between synergistic taste effect of Glu-GMP mixture and score for intensity of Umami

a : Calculated according to Yamaguchi's equation

\*\* : Significant at 1% level

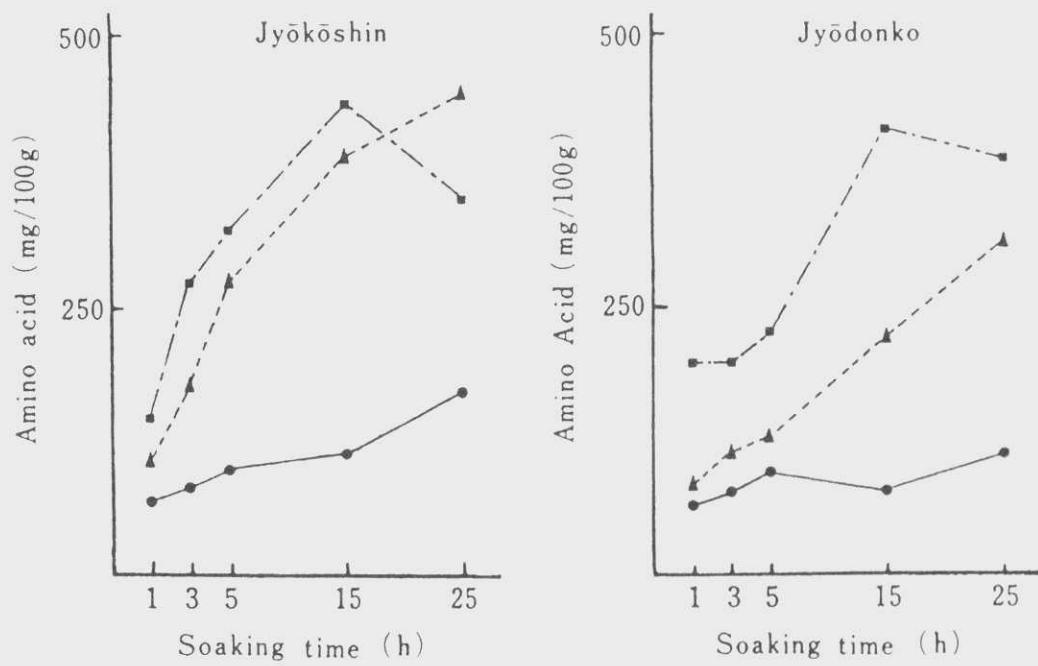


Fig. 20 Total amounts of bitter taste amino acids in cooked mushrooms

Bitter amino acid = Arg + Pro + Val + Ile + Leu + Tyr + Phe + Trp

- : Soaked at 5°C then cooked
- ▲---▲ : Soaked at 25°C then cooked
- : Soaked at 40°C then cooked

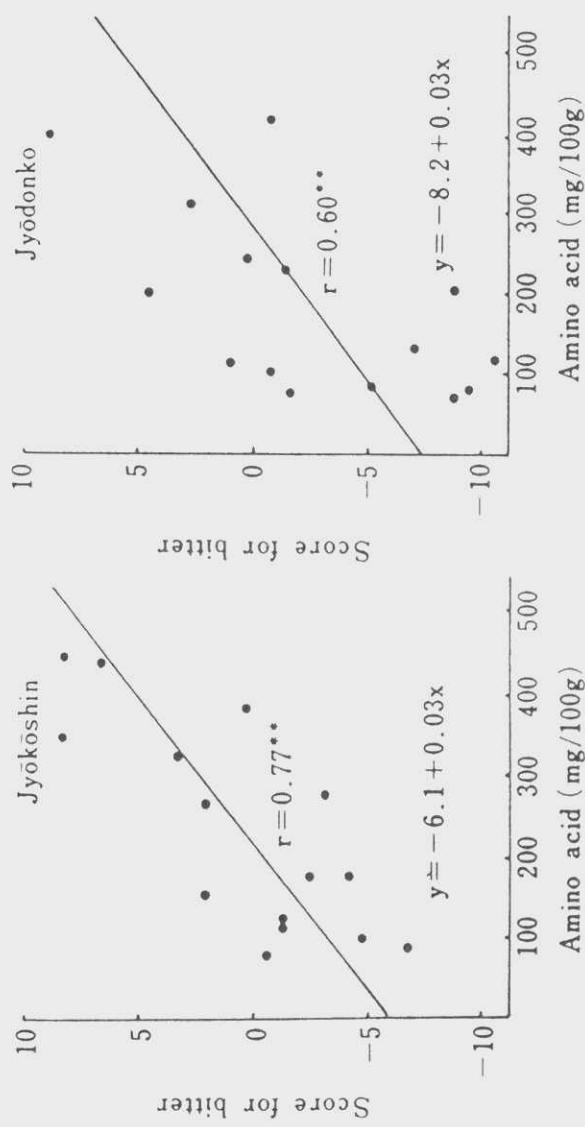


Fig. 21 Interrelationship between the content of bitter taste free amino acid and sensory score for bitter  
 Bitter taste amino acid = Arg + Pro + Val + Ile + Tyr + Phe + Trp  
 \*\* : Significant at 1% level  
 \* : Significant at 5% level

Table 12 Bitter taste Intensity of hydrophobic amino acid mixture

	Composition of test solution (mg/100 ml)				Mean score for bitter*
	Val	Ile	Tyr	Phe	
A	9.75	14.86	8.01	11.25	6.99
B	24.30	35.29	12.79	22.43	11.01
C	64.34	98.46	9.83	57.69	19.23
					2.50

A : The same concentration as that of Shitake (Jyōkōshin) cooked after soaking at 5°C for 5 h.

B : The same concentration as that of Shitake (Jyōkōshin) cooked after soaking at 25°C for 3 h.

C : The same concentration as that of Shitake (Jyōkōshin) cooked after soaking at 40°C for 25 h.

\* : Scored on a 4 point scale (0 : flat, 3 : weakly bitter)

Table 13 Effects of soaking and cooking on free sugar and sugaralchol compositions of shiitake mushroom (%)

	Arabitol	Fructose	Mannitol	Glucose	Trehalose
<b>(Jyokoshin)</b>					
Not Soaked	10.3	0.4	26.6	1.9	60.6
5℃, 15h Soaked	10.0	1.0	23.9	16.9	47.9
Soaked then cooked	8.0	0.9	26.8	14.0	50.0
25℃, 5h Soaked	8.8	1.3	25.0	19.7	44.9
Soaked then cooked	9.2	1.3	23.4	18.9	46.9
40℃, 15h Soaked then cooked	7.9	0.8	20.7	38.2	32.1
<b>(Jyodonko)</b>					
Not Soaked	10.9	0.2	26.7	1.0	60.9
5℃, 15h Soaked	9.9	1.0	21.4	22.2	45.2
Soaked then cooked	9.7	1.3	23.6	17.0	48.2
25℃, 5h Soaked	7.9	1.1	24.0	23.1	43.7
Soaked then cooked	9.0	1.2	24.1	20.9	44.5
40℃, 25h Soaked then cooked	9.4	1.3	23.2	32.0	34.0

Table 14 Composition of extract simulating  
cooked dried shiitake mushroom\*

	mg/100mℓ		mg/100mℓ
Flavor		Nucleotide	
Lentinic acid	51.63	5'-GMP	17.43
Lenthionine	0.027	5'-AMP	11.02
Amino acid A-group		Sugar-Sugaralchol	
Glutamic acid	54.9	Glucose	470
Aspartic acid	5.32	Trehalose	1670
Glutamine	46.18	Arabitol	270
Glycine	6.46	Mannitol	890
Alanine	22.10	Fructose	30
Ornithine	52.28		
Amino acid B-group		Organic acid	
Valine	14.37	Pyroglutamic acid	28.13
Leucine	21.71	Citric acid	28.55
Isoleucine	12.20	Fumaric acid	27.33
Tyrosine	6.26	Malic acid	241.47
Phenylalanine	15.28	Mineral	
Tryptophan	8.33	$\text{PO}_4^{3-}$	138.7

\* The concentration of component is equivalent to 100g of dried shiitake mushroom soaked at 5°C, 15h then cooked. The pH of the extract was adjusted to 5.90 with KOH.

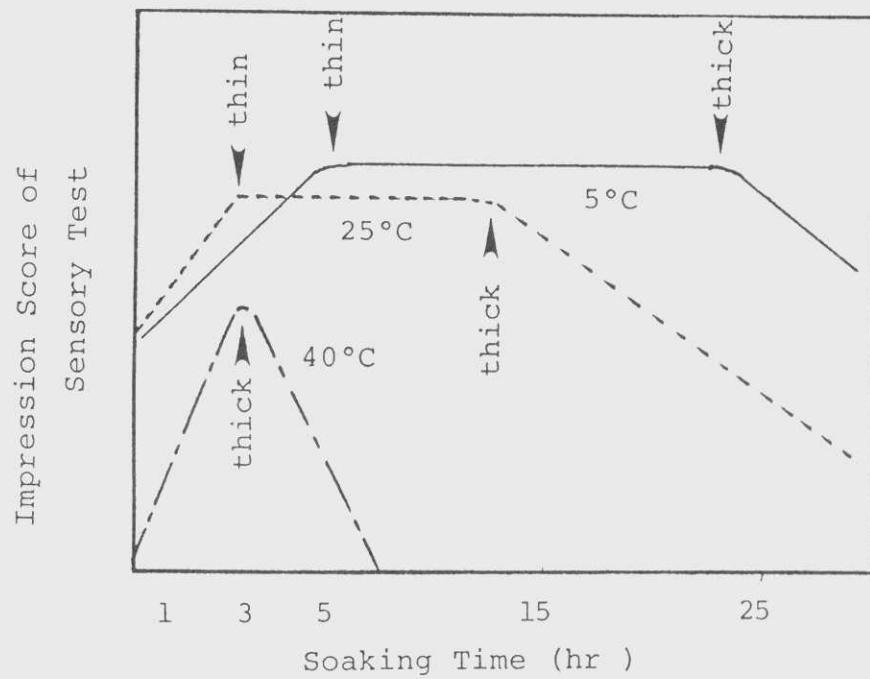


Fig. 22 Suitable condition for soaking of dried shiitake mushroom

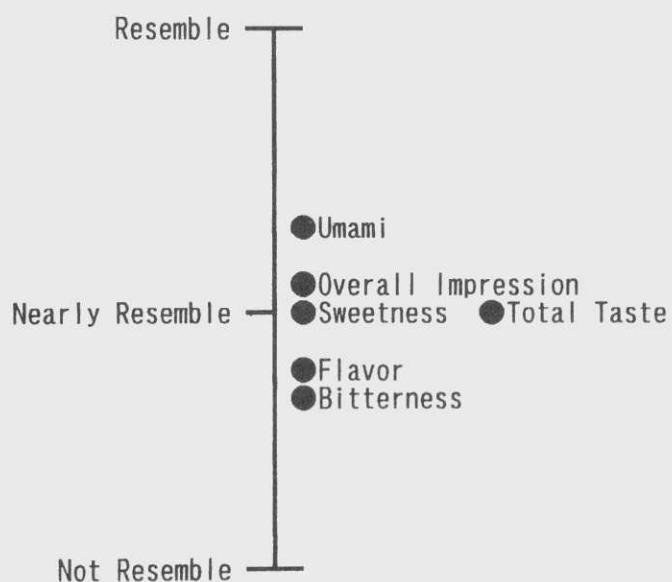
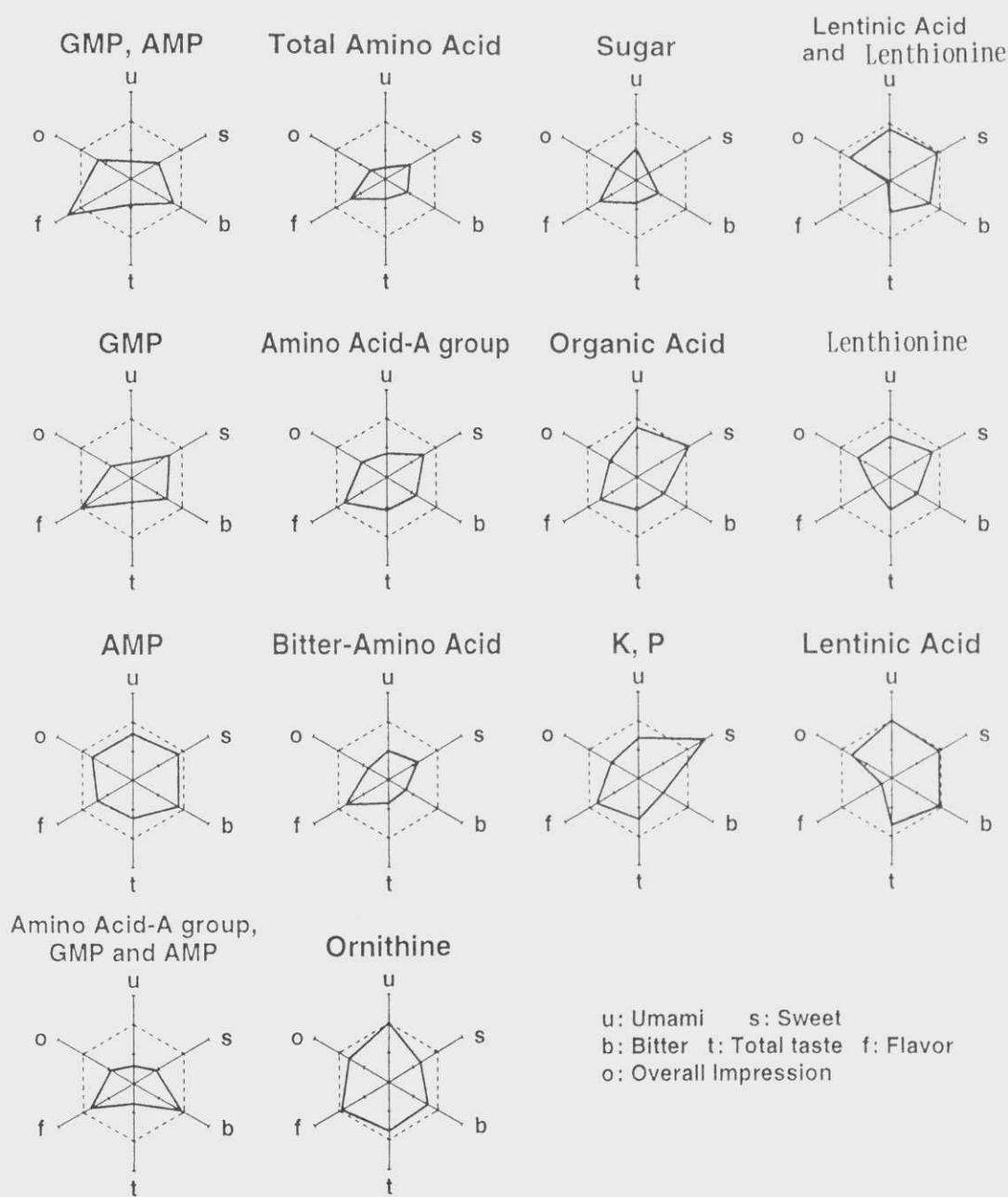


Fig. 23 Taste test of synthetic extract using natural extract as reference(n=16)

Table 15 Paired differences test of cooked dried shiitake mushroom

Omitted Component	No. of correct identifications (No. of panel)	Level of significance <sup>a</sup>
5'-GMP	11 (n=14)	*
5'-AMP	5 (n=14)	-
Amino Acid A-group	13 (n=14)	***
Amino Acid B-group	6 (n=14)	-
Ornithine	6 (n=14)	-
Sugar	13 (n=16)	*
Organic Acid	8 (n=14)	-
Lentinic Acid	7 (n=14)	-
Lenthionine	7 (n=14)	-
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , K <sup>+</sup>	4 (n=16)	-

a: \*;p<0.05    \*\*;p<0.01



u: Umami    s: Sweet  
 b: Bitter    t: Total taste    f: Flavor  
 o: Overall Impression

Fig. 24 Profile of cooked dried shiitake mushroom by sensory evaluation

Table 16 Results of the omission tests of 10 taste-active components (t-value)

Omitted Component	Umami	Sweetness	Bitterness	Total Taste	Flavor	Overall Impression
5'-GMP	-9.24**				-4.49**	-4.49**
5'-AMP	-2.53*				-4.00**	
Amino Acid A-group	-11.08**		-2.74*		-4.38**	-4.42**
Amino Acid B-group	-3.87**		-6.32**		-7.00**	-7.00**
Ornithine		-2.63*				
Sugar	-5.20**	-10.16**	-4.50**	-5.20**	-3.74**	-5.20**
Organic Acid					-4.30**	-4.30**
Lentilnic Acid			-3.63**			
Lenthionine				-7.78**		
P0 <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , K <sup>+</sup>	-2.83*		-2.52*	-6.97**	-3.29*	-3.41*
			-3.00*			

\* : p&lt;0.05      \*\* : p&lt;0.01

Table 17 Correlation among descriptors

Descriptor	1	2	3	4	5
1 Umami					
2 Sweet	-				
3 Bitter	-	-			
4 Total Taste	**	*	-		
5 Flavor	[*]	-	-	-	
6 Overall Impression	*	-	*	*	-

Level of significance : \*\*, 0.01; \*, 0.05;  
 -, insignificant at 0.05;  
 [ ], negative correlation.

Table 18 The principal component analysis of results of omission tests

	Eigenvector		
	I	II	III
Umami	0.458	-0.066	-0.053
Sweet	0.248	0.845	-0.364
Bitter	0.406	-0.191	0.399
Total Taste	0.478	0.177	0.227
Flavor	-0.289	0.449	0.795
Overall Impression	0.501	-0.114	0.147
Eigenvalue	3.71	0.89	0.77
Contribution ratio(%)	61.8	14.8	12.9
Cumulative Contribution ratio(%)	61.8	76.6	89.5

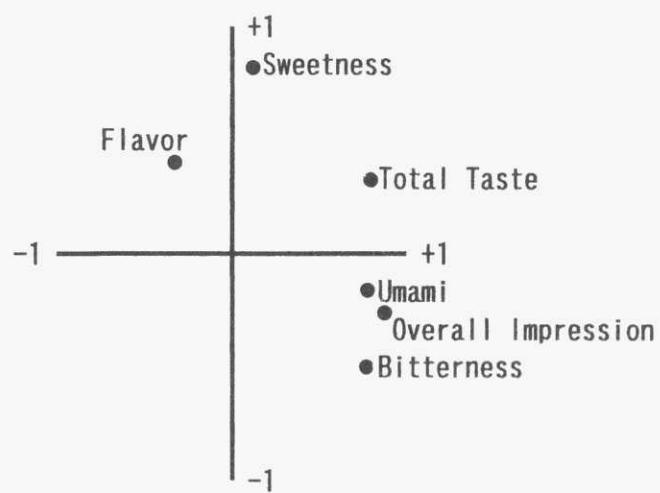


Fig. 25 Factor Loading for the  
principal components I and II

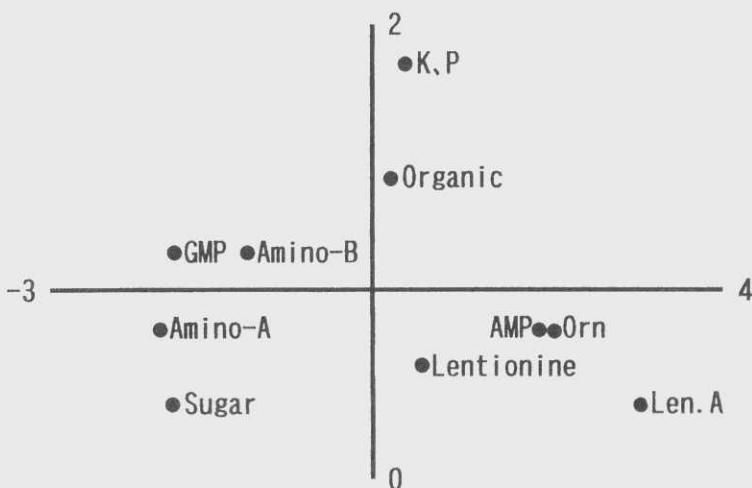


Fig. 26 Factor scores for the principal components I and II of the test solutions lacking in the indicated components

Amino-A : Amino acid A group

Amino-B : Amino acid B group

Organic : Organic acid

Len. A : Lentinic acid

