

シイタケを用いた日本版キノコケチャップの開発検討

林 将也・三宅 俊哉

Study on the development of Japanese mushroom ketchup using shiitake mushroom (*Lentinula edodes*)

Masaya HAYASHI, Toshiya MIYAKE

Abstract

In this study, to develop “shiitake mushroom ketchup (SMK),” a prototype of SMK and two arranged dishes with SMK were made from shiitake mushroom (*Lentinula edodes*), and tasting and sensory evaluation questionnaires were conducted. The prototypes were characterized by umami and saltiness, and the arranged dishes that could compensate for the poor texture and appearance of SMK that had been pointed out were generally well received. Next, to improve the preference of SMK, we investigated the conditions for high production of 5'-guanylic acid (GMP), an umami component using dried shiitake mushrooms. As a result of quantifying GMP in the extract of dried shiitake mushrooms, the concentration of GMP in “15°C extraction (65°C, 20 min heating)” was higher than that in “5°C extraction (heating and non-heating)”. To elucidate the optimum conditions for high GMP production, it is necessary to study in detail the temperature at which dried shiitake mushrooms are rehydrated and extracted. Each maximum active temperature of ribonuclease (RNase) which generates GMP from RNA and phosphomonoesterase (PMase) which breaks down GMP should be considered. Investigation into increasing umami components of edible mushrooms is expected to contribute to improving the preference and flavor of edible mushroom dishes and to reduce food loss by converting substandard materials into high-value foods.

Key words : shiitake mushroom ketchup (SMK), shiitake mushroom (*Lentinula edodes*),
5'-guanylic acid (GMP), umami

キーワード : シイタケキノコケチャップ, シイタケ, グアニル酸 (GMP), うま味

緒言

あなたが「ケチャップ」と聞いて一番に思い浮かべるのはおそらく「トマト」だろう。18-19世紀にアメリカに渡ったヨーロッパ人が普及し始めていたトマトでトマトケチャップをつくったのが始まりと考えられている¹⁾。「ケチャップ」は、もともとナンプラーや魚醤のような調味料として生まれ、国々や文化を経て、食材が「魚→キノコ・フルーツ→トマト」と変化していったとされる。日本で「ケチャップ」が「トマト」である理由は、トマトケチャップが主流となった後にアメリカから日本に伝わったためである。

「キノコケチャップ」は、イギリスの伝統的保存調味料である。何種類かのマッシュルームを塩漬や乾燥湯戻ししたものを、ミキサーにかけ、煮詰めて作る。筆者らはイギリス式のケチャップが世界で一般的な「トマトケチャップ」ではなく、「キノコケチャップ」であることに興味を持った。

そこで「キノコケチャップ」をイギリスから輸入し試食したところ、トマトケチャップから想起される風味・食感から大きくかけ離れていた(写真1)。また、吉備国際大学農学部醸造学科の当研究室の学生とともに試食し、簡易的な官能評価アンケートを取ったところ、食べにくく感じる人が多かった。その理由として、水っぽくさらさらしており、独特の酸味が強いことが挙げられた。データ数が少なく食べ合わせも検討すべきであるため断定はできないものの、イギリスの伝統的なキノコケチャップは日本人の味覚に馴染みが薄く、日本の食シーンでの使用場面が限られると思われる。

歴史文化的な変遷を辿ると、現地で豊富に採れる食材を使い、保存性を高めた調味料であり、嗜好性の高いソースが「ケチャップ」であると考えられた。このことから、日本において日本人の口に合う日本版の「ケチャップ」を開発することは、古い歴史のルーツを辿りつつ、新しい調味料を開発することにつながり、日



写真1. イギリスの市販キノコケチャップ
(Geo Watkins Mushroom Ketchup, Geo Watkins社, Item model number: 110428)

本の新しい食シーンの開拓につながると考えた。イギリスの伝統的な「キノコケチャップ」が、マッシュルームおよびポルチーニ茸を主原料としている点に着目した。これらは日本では比較的高価で入手しにくいいため、日本の伝統的な食用キノコであり、安価で入手しやすいシイタケを日本版の「ケチャップ」の主原料として選定した。

シイタケ (*Lentinula edodes*) にはシイタケ特有の芳香成分としてレンチオニンが、うま味成分としてグアニル酸が含まれており、日本食の嗜好性における重要な役割を担っている²⁾。また、シイタケにはカルシウムや鉄分といったミネラル類や各種ビタミンなどの栄養成分の他、コレステロール低下作用があるエリタデニンなどの機能性成分が含まれている^{2,3)}。これらのことからシイタケをまるごと簡便に摂取することができる調味料を開発することで、日本の食シーンにおいてより多様な嗜好性・機能性のニーズに応えることができるようになるものと考えられる。

現在、市販されているシイタケやエノキなどに代表される食用キノコのほとんどは原木を用いた「ほだ木栽培」ではなく、容器詰または成型した菌床を用いた「菌床栽培」が主流となっている。菌床約3kgあたり

シイタケ約1kgが得られ、廃菌床約2kgが生じる⁴⁾。「菌床栽培」による栽培キノコ産業では、栽培期間の前期や後期に形状不良・成長不良などの規格外のシイタケが一定割合で生じる。「シイタケキノコケチャップ」の開発が実現すれば、規格外シイタケを産業廃棄物として有償で処理することなく、フードロスを削減し、廃棄物から新たな価値を生み出すことが期待できる。

そこで本研究では、日本人の好みに合う「シイタケキノコケチャップ」の開発を検討した。まず、「シイタケキノコケチャップ」の開発検討およびアレンジ料理を考案し、試食と官能評価アンケートを実施した。次に、嗜好性を高めた「シイタケキノコケチャップ」を作製するため、シイタケのうま味成分「グアニル酸」に着目して、加工・調理工程の改良検討を行った。具体的には、シイタケキノコケチャップの原料の1つである干しシイタケを異なる条件(抽出温度や抽出時間、干しシイタケと抽出水の量比)で加工処理し、グアニル酸の生成量が増加する条件を明らかにした。

材料と方法

1. 試料および試薬類

(1) 試料

生シイタケは、菌床生シイタケ(徳島県産)あるいは森の木しいたけ(森の木ファーム社)を購入した。干しシイタケは、国内産シイタケ無選別を浜乙女社から購入した。ショウガは、新生姜(高知県産)を購入した。ローリエは兵庫県最大級産直市場・美菜恋来屋(みなこいこいや)で購入した。S&Bオールスパイス(ホール)、S&Bクローブホール、S&BナツメグパウダーおよびS&BブラックペッパーホールはS&Bエスビー食品社から購入した。黒糖は、焚黒糖(粉末加工黒糖)を上野砂糖社から購入した。ベルギーエシャロットは食品のネットスーパーさんきん(エドン商事社)から購入した。塩はイオン社の国産しおを用いた。さ

らし綿生地(モスリン)は吉田織物社から購入した。料理糸は、貝印社から購入した。赤ワインは、料理天国(赤)をサントリー社から購入した。

水道水および蒸留水・超純水は吉備国際大学農学部の食品加工室および実験施設からそれぞれ採取した。シイタケ抽出用の冷水(5℃あるいは15℃)は、水道水あるいは蒸留水をコンロで加熱し、煮沸させた後、氷を加えて冷却し、水温を実測して作製した。その他の調理用器具は吉備国際大学農学部の食品加工室に備え付けのものを用いた。

(2) 試薬類

テトラブチルアンモニウムブロミド(特級)(TBA-Br)、リン酸水素二アンモニウム(特級)((NH₄)₂HPO₄)、アセトニトリル(高速液体クロマトグラフ用 for HPLC)(ACN)、および、グアニル酸(GMP, グァノシン5'-リン酸二ナトリウムn水和物(特級))は、富士フイルム和光純薬社から購入した。その他の試薬はすべて特級以上のグレードの試薬を使用した。

2. 試薬の調製

(1) HPLC溶離液

ACN/TBA-Br/(NH₄)₂HPO₄混合溶液

ACN : 5.00mM TBA-Br/20.0mM (NH₄)₂HPO₄=20 : 80

- 1) 4.83gのTBA-Brを300.0mlの超純水に溶解した。滅菌フィルター(Millex-GV Syringe Filter Unit, 0.22μm, PVDF, 33mm, gamma sterilized, Millipore)でろ過後、ろ液を使用直前まで常温(25℃)で保管した。
- 2) 7.92gの(NH₄)₂HPO₄を300.0mlの超純水に溶解した。滅菌フィルター(0.22μm)でろ過後、ろ液を使用直前まで常温(25℃)で保管した。
- 3) 1)の100.0ml, 2)の100.0mlを正確にはかり取り、1L容メスシリンダーを用いて1.0Lにフィルアップした(10倍希釈)。

- 4) 3) で調製したTBA-Br/(NH₄)₂HPO₄混合希釈液 1.0Lに、250.0mlのACNを加え混合した。これをHPLC溶離液とした。
- 5) 作製したHPLC溶離液は使用直前まで常温(25℃)で保管した。使用期間は作製日から1週間以内とした。

(2) グアニル酸標準液

グアニル酸25.19mgを25.0mlの超純水に溶解した(1,000μg/ml)。溶解後、滅菌フィルター(0.22μm)でろ過した。1,000μg/mlグアニル酸標準液のろ液から10.0mlを取り、超純水10.0mlで希釈し、500μg/mlグアニル酸標準液を作製した。同様に希釈液を一部取り、超純水で段階希釈し、7種類のグアニル酸標準液を作製した(10, 20, 50, 100, 200, 500, および、1,000μg/ml)(表1)。作製したグアニル酸標準液は使用直前まで-80℃で保存した。

3. シイタケキノコケチャップの試作およびアレンジ料理の試作

シイタケキノコケチャップの材料は以下を使用した⁵⁾(写真2)。シイタケ:400g, 塩:大さじ1, 干しシイタケ:17g, 調理用赤ワイン:70ml, エシャロット:1つ, 黒砂糖:10g, ショウガ:0.8cm片, ローリエ:1枚, ブラックペッパー:1.7g, オールスパイスの実:0.8g, クロブ:0.8g, ナツメグ:0.4g。

表1. グアニル酸標準液希釈表

グアニル酸標準液濃度 (μg/ml)	希釈液グアニル酸濃度 (μg/ml)	希釈液 (ml)	超純水 (ml)
1,000	25.19*	-	25.0
500	1,000		10.0
200	500		15.0
100	200	10.0	10.0
50	100		10.0
20	50		15.0
10	20		10.0

*グアニル酸標品の重量 (mg)



写真2. シイタケキノコケチャップの試作工程

従来のレシピ⁵⁾では、シイタケではなくマッシュルームを使用し、干しシイタケではなくポルチーニ茸を使用していた。本研究ではシイタケキノコケチャップの作製を目的としているため、それぞれシイタケおよび干しシイタケを使用した。先行研究⁶⁾では、石突きは不可食部として除去されたが、本研究では石突きは除去せずに行った。

- 1) シイタケをスライスして耐酸性のボウルに層を重ねるようにして入れ、層の間に塩を振りかけた。その後ボウルをラップで覆い4℃で24時間静置して、塩漬スライスシイタケとした。
- 2) 23時間経過時、干しシイタケを小さなボウルに入れ、沸騰したお湯を80ml注ぎ、1時間お湯に浸し、穴あきスプーンですくい取った。ザルにモスリンを敷き、ジャグ(ピッチャー)に干しシイタケ抽出液を注ぐことで砂を取り除いた。
- 3) スパイスの混合物(エシャロット, ショウガ, ナツメグ, ローリエ, ブラックペッパー, オールス

パイスの実、クローブ)をモスリンの中に入れ、料理糸で結び、スパイス袋とした。

- 4) 24時間経過した塩漬スライスシイタケおよび浸出液を鍋に入れた。その後、水戻しした干しシイタケ、砂を取り除いた干しシイタケ抽出液、スパイス袋、残りの材料(赤ワイン、黒砂糖)を鍋に加えて、中火で火にかけた。材料を沸騰させたのち、弱火で時々かき混ぜながら水分が飛び、濃くなるまで約30分間煮込んだ。
- 5) スパイス袋を取りだし、ミキサーによりシイタケが滑らかになるまで粉碎した。きれいにした鍋に戻し、沸騰させて5分間煮込んだ。その後、熱湯で殺菌した耐熱ボトルにシイタケキノコケチャップのペーストを入れ、密封した。
- 6) 冷蔵庫で1週間置き、熟成させてから試食およびアレンジ料理に使用した。

アレンジ料理の試作は以下のとおり行った。

「鶏肉と根菜のソテー シイタケキノコケチャップ和え」の材料は以下を使用した⁷⁾(写真3)。鶏もも肉：300g、レンコン：100g、ブロッコリー：150g、シイタケキノコケチャップ：適量、塩：適量、コショウ：適量、サラダ油：大さじ1。

- 1) 鶏肉は火が通りやすくなるよう、切り開いて厚みを均一にした。両面に塩、コショウをふった。レ



写真3. 鶏肉と根菜のソテー シイタケキノコケチャップ和えの試作

写真左：加熱調理前。

写真右：加熱調理後(シイタケキノコケチャップあり)。

ンコンは厚さ1cm弱の半月切りにし、ブロッコリーは小房に切り分けた。

- 2) フライパンに油を熱して鶏肉を皮目から焼いた。レンコンおよびブロッコリーをフライパンの隙間で焼き、火が通ったら取り出した。
- 3) 鶏肉が焼けたら裏返し、反対の面にも焼き色を付けた。フタをして1分ほど蒸し焼きにし、中まで火を通した。鶏肉にシイタケキノコケチャップを加えて炒めた。
- 4) 鶏肉を食べやすい大きさに切り、レンコンおよびブロッコリーとともに盛り合わせた。

「シイタケキノコケチャップ餃子」の材料は以下を使用した⁸⁾(写真4)。豚ひき肉：150g、シイタケキノコケチャップ：小30g、中50g、大70g、ニンニク：1かけ(チューブ5cm)、ショウガ：1かけ(チューブ5cm)、醤油：大さじ1、ごま油：小さじ1、砂糖：小さじ1、片栗粉：小さじ1、塩：小さじ1/2、コショウ：少々、キャベツ：180g、ニラ：30g(約1/3束)、餃子の皮：約25枚、サラダ油：大さじ1。

- 1) 豚ひき肉に調味料を加え、よく練り合わせた。その後、タネを三分割し、シイタケキノコケチャップを小(30g)、中(50g)、大(70g)とそれぞれのタネと混ぜ合わせた。さらにみじん切りにした野菜類をそれぞれに加え、軽く混ぜ合わせてから冷蔵庫で1時間ほど置いて味をなじませた。



写真4. シイタケキノコケチャップ餃子の試作

写真左：左から順に、小(30g)、中(50g)、大(70g)のシイタケキノコケチャップをそれぞれのタネと混ぜ合わせた。

写真右：タネを餃子の皮に包んだもの。

- 2) 餃子の皮の中央にタネをのせた。軽くはさむようにもち、皮の端に水をつけてつまんだ。指で上から押さえるようにひだを作り、つまんで皮を閉じた。
- 3) フライパンに油を引き火にかけ、餃子を並べ、フタをして中火で焼いた。皮の色が変わったら餃子が1/3ひたる程度に水を注いだ。その後フタをして強火で蒸し焼きにした。
- 4) 余分な水分が飛んだ後、フタをとり、餃子の上から油を少量ふりかけ、焼き目がつくまで加熱した。

4. シイタケキノコケチャップおよびアレンジ料理の試食と官能試験

吉備国際大学農学部の教職員および醸造学科・地域創成農学科の学生を対象に試食と官能試験のアンケートを実施した。実施したアンケートの質問内容は以下の4点である。

1) 試作品の五味の5段階評価

五味は、いかがですか？強いですか？弱いですか？どちらでもないですか？1～5から選び、丸で囲んでください。

2) 試作品の味で既存の商品に似ているものはあるのか

キノコケチャップの味について、既存の商品で似たものをご存知ですか？既存の商品について、「商品名」「メーカー」など手がかりになる情報があれば、ご記入ください。

3) 試作品と相性の良いと感じる食品

イギリスの伝統的なキノコケチャップは主に、ステーキの調味料やお湯に溶いてスープに利用されているようです。あなたは、日本で通常食べられる料理では、シイタケキノコケチャップは何と相性がよいと思いますか？「食材名」や「料理名」などをご記入ください。

4) 試食の感想

キノコケチャップの試食について、全体的な感想、

改善点やアドバイスなどご意見があればご記入ください。

5. シイタケグアニル酸抽出液の調製

干しシイタケと冷水（5℃あるいは15℃）を用いて、以下の手順で「干しシイタケ抽出液」を調製した。干しシイタケ抽出液（5℃）は、65℃、20分間で加熱サンプル（加熱あり）および加熱をせず氷上で保持したサンプル（加熱なし）を作製した。干しシイタケ抽出液（15℃）は、65℃、20分間で加熱したサンプル（加熱あり）のみを作製した。

- 1) 蒸留水を沸騰後、冷却し、氷を加えて5℃あるいは15℃の冷水を作製した。
- 2) ボウルに干しシイタケおよび冷水（5℃あるいは15℃）を以下の量比で加え、各抽出温度でそれぞれ5試験区を作製した（SMP1. 16：500, SMP2. 16：400, SMP3. 16：300, SMP4. 16：200, SMP5. 16：100）（表2）。このうち、SMP1が先行研究⁶⁾に最も近い量比であり、SMP5が本研究のシイタケキノコケチャップの試作レシピ⁵⁾に最も近い量比である。本実験においても石突きはシイタケキノコケチャップの試作の時と同様に除去せずに行った。

表2. 干しシイタケと水戻し用の冷水の量比

No.	量比	干しシイタケ (乾重量g)	冷水温 (℃)	冷水 (ml)
SMP1_5℃	16：500	16	5	500
SMP2_5℃	16：400			400
SMP3_5℃	16：300			300
SMP4_5℃	16：200			200
SMP5_5℃	16：100			100
SMP1_15℃	16：500	16	15	500
SMP2_15℃	16：400			400
SMP3_15℃	16：300			300
SMP4_15℃	16：200			200
SMP5_15℃	16：100			100

- 3) 干しシイタケおよび冷水 (5℃あるいは15℃) を加えたボウルを、5℃試験区は冷蔵庫にて一晚 (16時間) 抽出し、15℃試験区はワインセラーにて一晚 (16時間) 抽出した。ワインセラー (32本収納ベルチェ式, Lefier (ルフィエール) 社) は庫内温度を15℃に設定し、気温計でモニタリングして使用した。
- 4) シイタケの水戻し液と、抽出後のシイタケをモスリンで絞った汁の両方を合わせて「干しシイタケ抽出液」とした。サンプルを加熱あり用と加熱なし用に分け、それぞれ15ml容チューブに5mlずつ採取した。
- 5) 66℃設定で保持したブロックインキュベータ (15ml容チューブ用) に、5℃あるいは15℃で抽出した「干しシイタケ抽出液 (加熱用)」各5mlを採取した15ml容チューブを配置し、設定温度を1℃下げ、65℃、20分間サンプルを加熱した。加熱終了後は、氷上で数分間保持した。5℃で抽出した「干しシイタケ抽出液 (加熱なし用)」5mlは、氷上で20分間保持した。
- 6) 「干しシイタケ抽出液 (加熱あり用および加熱なし用)」各5mlをそれぞれ滅菌フィルター (0.22μm) でろ過した。
- 7) 各ろ液を1mlずつ、計4本に分注した。
- 8) 作製したサンプルはHPLC分析の直前まで-80℃で保存した。

6. グアニル酸の定量試験

(1) グアニル酸標準液および干しシイタケ抽出液のHPLC測定条件

先行研究⁶⁾のHPLC条件を用いたところ、グアニル酸標準液中のグアニル酸を10-1,000μg/mlの範囲で定量することができた。しかし、干しシイタケ抽出液では多数のノイズピークに埋もれて、グアニル酸に相当するピークを分離することができなかった。そこで、カラムの保証書の測定条件を参考に、HPLC条件を以

下のとおり改変した。この改変HPLC条件では、グアニル酸標準液および干しシイタケ抽出液中のグアニル酸の両方を定量することができた。

- ・ HPLC (高速液体クロマトグラフ) :
Chromaster[®] (日立社)
Reaction Unit: 5510
Column Oven: 5310
Auto Sampler: 5280
Pump: 5110 (×2)
FL Detector: 5440
- ・ カラム : CadenzaCD-C18 (Imtakt社)
カラム内径 : 4.6mm, 長さ : 150mm
基材 : 全多孔性球状高純度シリカ
粒子径 : 3 μm (CD-C18)
細孔径 : 約12nm
固定相 : オクタデシル基
エンドキャッピング : メチルシリル基処理
- ・ 流速 : 1.0ml/min
- ・ 最大圧力 : Max 25MPa
- ・ カラムオープン温度 : 37℃
- ・ 検出波長 : 225nm
- ・ 移動相 : HPLC溶離液
ACN/TBA-Br/(NH₄)₂HPO₄混合溶液
ACN:5.00mM TBA-Br/20.0mM(NH₄)₂HPO₄
=20 : 80
- ・ オートサンプラー設定液量 : 10μl

HPLC溶離液は、ソニケーターを使って脱気した。HPLCを起動後、パージを行い、測定条件の設定・確認を行った。カラムCadenza CD-C18にカラム体積の3倍量 (7.5ml) 以上のHPLC溶離液を通液して、カラムを平衡化した。

HPLC測定用サンプルは氷上で保持した。-80℃の保存サンプルは使用直前に融解して氷上で保持した。グアニル酸標準液あるいは干しシイタケ抽出液を遠心

分離 (10,000×g, 4℃, 5分間) して, 上清各200μl を後述のバイアル内のインサートに注入した。

バイアル (国産スクリーバイアル, 1.5ml, 富士フィルム和光純薬社) に, インサート (インサート 広口用 0.4ml 平底, 富士フィルム和光純薬社) をセットした。キャップ (9mm広口用スクリーキャップ セプタム付き, 富士フィルム和光純薬社) で封をして, オートサンプラー内に配置した。

ノイズテスト, 一分析を行ったのち, サンプル定量用の連続分析を行った。

結果

1. シイタケキノコケチャップおよびアレンジ料理の 試作・試食・官能評価

計4回のシイタケキノコケチャップの試作および試食と官能評価を行った。1回目と2回目はシイタケキノコケチャップの安定的な試作のために行い, 試作品の試食・官能評価アンケートを実施した。3回目はシイタケキノコケチャップのアレンジ料理として「鶏肉と根菜のソテー シイタケキノコケチャップ和え」を作製した⁷⁾。4回目は, 3回目の試食時アンケートで指摘された見た目の悪さを解決する料理として「シイタケキノコケチャップ餃子」を試作した⁸⁾。

吉備国際大学農学部教職員および醸造学科・地域創成農学科の学生を対象に, シイタケキノコケチャップおよびアレンジ料理について, 試食および官能評価アンケートを実施した。

(1) 官能評価アンケート1回目 (図1, 表3)

- ・実施日: 2021年7月1日
- ・性別: 男性6名
- ・年代: 20代5名, 30代1名
- ・五味の5段階評価の概要
全体的に塩味と旨味を強く感じ, 苦味, 甘味, 酸味を弱く感じた人が多かった。

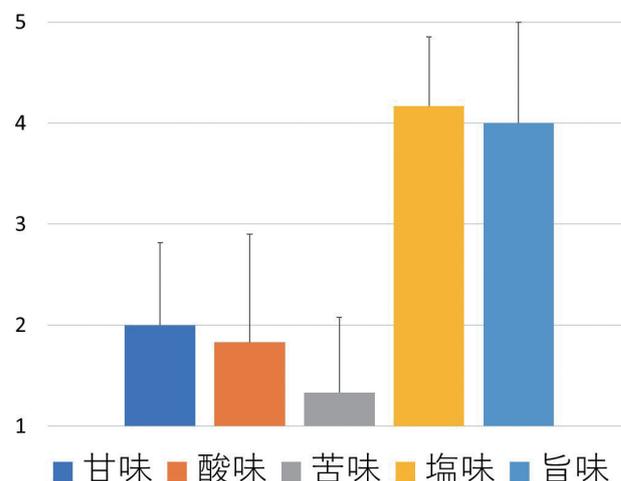


図1. 官能評価アンケート1回目

表3. シイタケキノコケチャップの試作および試食・官能評価

試作 No.	問1 五味の5段階評価 (弱1~5強)					問2 既存の商品との類似性	問3 相性の良い食品	問4 試食の感想, アドバイス
	甘	酸	苦	塩	旨			
1	2.0	1.8	1.3	4.2	4.0	・なめたけ ・松茸のお吸い物	・餃子 ・ピザ ・麺類	・輸入したイギリスの伝統的なキノコケチャップよりも酸味が抑えられている ・見た目が悪い
2	2.7	2.1	1.5	3.4	4.0	・コンビーフ ・海ノリの佃煮	・肉類 ・スープ ・麺類	・キノコの風味がよい ・色が悪い ・粘り気がある

- ・既存の商品で似ているもの
なめたけ、松茸のお吸い物
- ・相性の良さそうな食材
麺類、チーズ、餃子、卵焼き、ピザ
- ・感想、アドバイス
見た目が悪い、塩味が強い

(2) 官能評価アンケート2回目 (図2, 表3)

- ・実施日：2021年7月19日
- ・性別：男性14名, 女性4名, 回答無し1名
- ・年代：20代14名, 30代2名, 60代1名, 回答無し1名
- ・五味の5段階評価の概要
全体的に旨味と塩味が強く、苦味と酸味を弱く感じる人が多かった。
- ・既存の商品で似ているもの
コンビーフ、きのこスープ、松茸のお吸い物、海ノリの佃煮等
- ・相性の良さそうな食材
パスタ、チーズ、ステーキ、ハンバーグ 等
- ・感想、アドバイス
前回よりも食べやすくなっている、食感が悪い、色が悪い

(3) 官能評価アンケート3回目 (図3, 表4)

- ・実施日：2021年8月3日

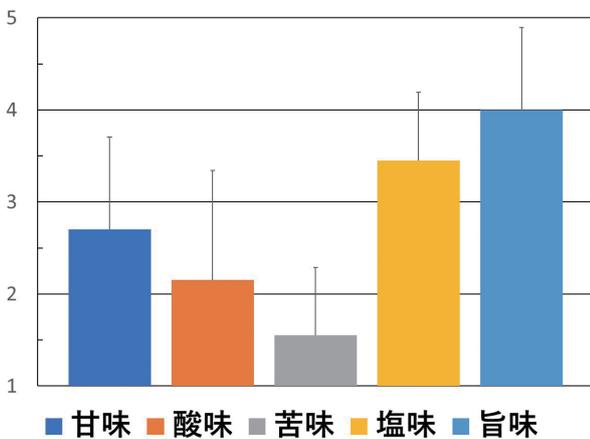


図2. 官能評価アンケート2回目

- ・性別：男性6名
- ・年代：20代5名, 30代1名
- ・五味の5段階評価の概要
全体的に旨味と塩味を強く、酸味と苦味を弱く感じる人が多かった。
- ・既存の商品で似ているもの
食感になめたけ、味は松茸のお吸い物
- ・相性の良さそうな食材
ピザ、肉類、餃子、パスタ、ブロッコリー
- ・感想、アドバイス
味はおいしい、そのまま食べるよりも良い、見た目が良くない

(4) 官能評価アンケート4回目 (図4, 表4)

- ・実施日：2021年10月19日
- ・性別：男性8名
- ・年代：20代6名, 30代1名, 70代1名
- ・五味の5段階評価の概要
小 (30g), 中 (50g), 大 (70g) の順に、塩味と旨味を強く感じる人が多いという結果になった。ケチャップ30gあるいは50gの餃子を何も付けずに食べるのが最も良かったという意見が多かった。

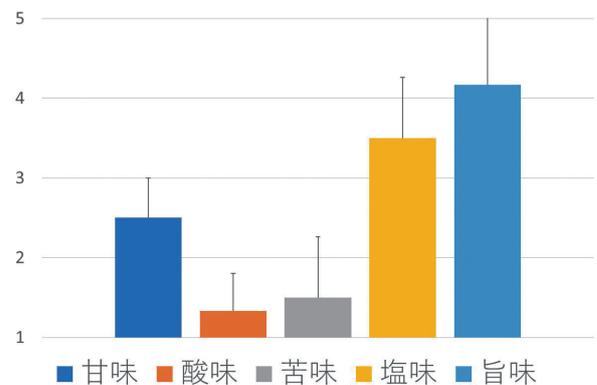


図3. 官能評価アンケート3回目

表4. シイタケキノコケチャップを用いたアレンジ料理の試食・官能評価

試作No. (ケチャップ 添加量)	問1 五味の5段階評価 (弱1～5強)					問2 既存の商品との類似性	問3 相性の良い食品	問4 試食の感想, アドバイス
	甘	酸	苦	塩	旨			
3	2.5	1.3	1.5	3.5	4.2	・なめたけ	・肉類 ・餃子 ・麺類	・そのまま食べるよりいい ・見た目が悪い ・味はいい
4	30g	2.0	2.1	1.5	4.1	・野菜餃子	・ピザ ・焼売	・ケチャップ添加量30gある いは50gに何もつけずに食 べるのがちょうど良い ・味が濃い キノコケチャップの見た 目が気にならない
	50g	2.0	2.2	1.7	4.1			
	70g	1.9	2.0	1.3	4.7			

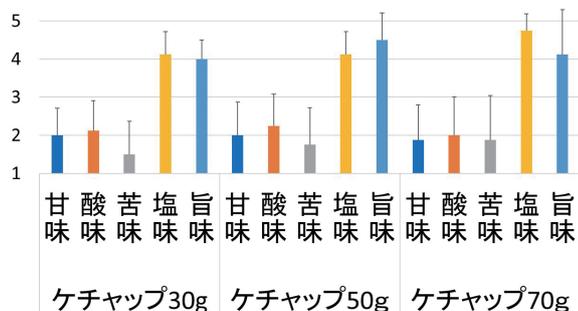


図4. 官能評価アンケート4回目

- ・既存の商品で似ているもの
ザーサイ餃子, 野菜餃子
- ・相性の良さそうな食材
ピザ, 焼売, バケット
- ・感想, アドバイス
挽肉との相性が良い, 野菜がもっとほしい, ラー油を
超える塩っ気が有る, 何も付けないのがちょうど良い

2. 干しシイタケ抽出液におけるグアニル酸の定量

(1) グアニル酸標準液の定量と検量線の作成

参考文献⁶⁾やカラムの測定条件では, グアニル酸標準液中のグアニル酸を定量できた。しかし, 干しシイタケ抽出液では多数のノイズピークに埋もれて, グアニル酸に相当するピークを分離することができず, グアニル酸を定量することができなかった。そこで,

グアニル酸標準液および干しシイタケ抽出液の両方でグアニル酸を定量するため, HPLC条件を改良した。

改良したHPLC条件を用いて, 7種類のグアニル酸標準液 (10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000 μ g/ml) を分析した。その結果, グアニル酸標準液およびサンプル中のグアニル酸の検出に成功した (図5)。グアニル酸と推定される単一ピークが一定の保持時間において観察された (RT=2.743-2.766min) (表5)。

調製したグアニル酸標準液の濃度とHPLC分析により得られたグアニル酸に相当するピークの面積値からなる検量線は, 10-1,000 μ g/mlの範囲において高い直線性を示した (n=4) (図6)。10-1,000 μ g/mlの範囲におけるグアニル酸の検量線の関係式を以下に示す。

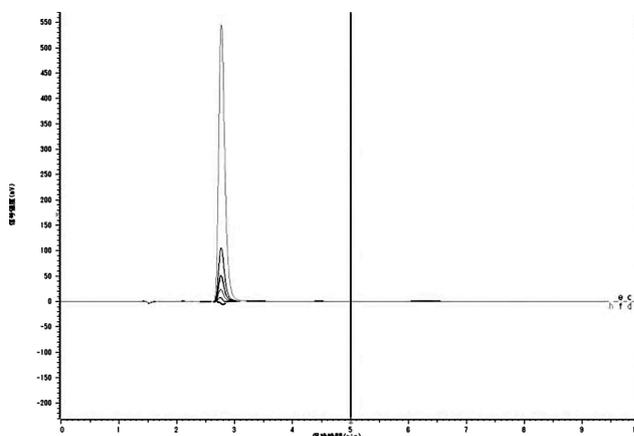


図5. HPLCクロマトグラフ (グアニル酸標準液, 測定4回目, マルチ表示)

表5. グアニル酸標準液のHPLC定量 (n=4)

No.	グアニル酸標準液濃度 (μg/ml)	保持時間 (min)	ピーク面積平均 (mV)	ピーク面積標準偏差 (mV)
water	0	-	0	0
STD1	10	2.743	41,306	16,535
STD2	20	2.751	108,886	79,865
STD3	50	2.759	307,468	60,132
STD4	100	2.761	414,879	40,801
STD5	200	2.763	824,066	25,601
STD6	500	2.764	1,998,149	77,331
STD7	1,000	2.766	4,006,699	62,184

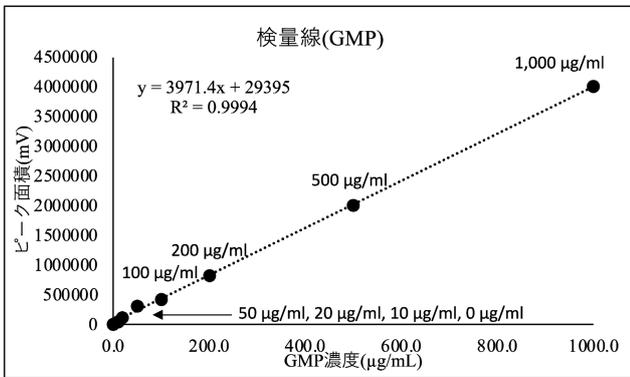


図6. グアニル酸標準液のHPLC定量により作成した検量線 (n=4)

$$y = 3971.4x + 29395 \quad (R^2 = 0.9994)$$

y : グアニル酸に相当するピークの面積値
 x : 調製したグアニル酸標準液の濃度

(2) 干しシイタケ抽出液におけるグアニル酸の定量

本実験では、以下の条件で干しシイタケの下処理を行い、干しシイタケ抽出液を作製した。それぞれのグアニル酸量をHPLCにより定量することで、調理時におけるシイタケのグアニル酸の高生成条件を明らかにすることとした。

5℃の抽出温度で調製した干しシイタケ抽出液のうち、65℃、20分間加熱したサンプルを「サンプル5℃ (加熱あり)」, 加熱せず氷上で20分間保持したサンプルを「サンプル5℃ (加熱なし)」とした。「サンプル5℃ (加熱あり)」および「サンプル5℃ (加熱なし)」

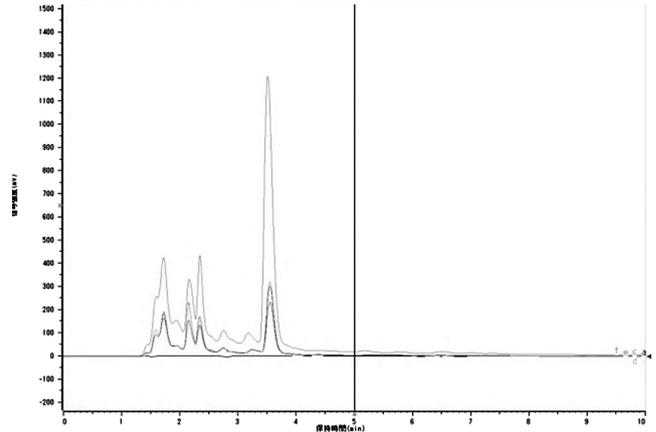


図7. HPLCクロマトグラフ (5℃抽出, 加熱あり, 測定4回目, マルチ表示)

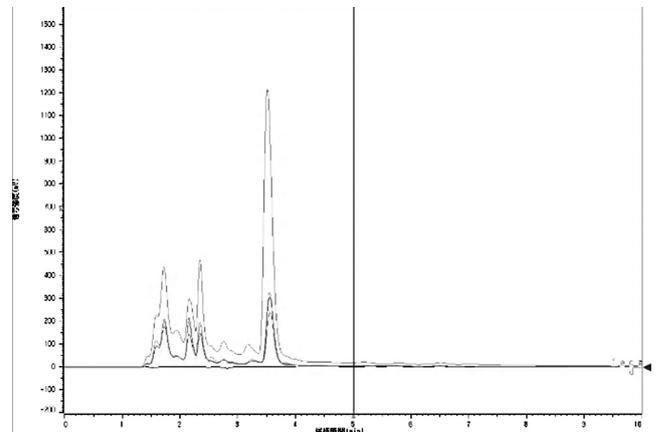


図8. HPLCクロマトグラフ (5℃抽出, 加熱なし, 測定4回目, マルチ表示)

のグアニル酸濃度をHPLCで定量した (n=4) (図7, 図8)。

「サンプル5℃ (加熱あり)」および「サンプル5℃ (加熱なし)」において、干しシイタケに対する抽出水量を減らせば減らすほど、干しシイタケ抽出液は高いグアニル酸濃度を示した (図9)。ただし、「サンプル5℃ (加熱あり)」のSMP2および「サンプル5℃ (加熱なし)」のSMP2については、グアニル酸濃度が想定される濃度よりもそれぞれ高いおよび低いことからサンプル調製のミスの可能性が考えられた。

また、SMP1からSMP5のいずれにおいても「サンプル5℃ (加熱あり)」のグアニル酸濃度が「サンプル5℃ (加熱なし)」のグアニル酸濃度を上回っていた (図9)。

サンプル抽出時の温度の違いによるグアニル酸の生成量の違いを調べることを目的として、「サンプル5℃（加熱あり）」と比較する試験区を作製した。干しシイタケを15℃の抽出温度で調製して、65℃、20分間加熱した干しシイタケ抽出液サンプルを作製し、これを「サンプル15℃（加熱あり）」としてグアニル酸をHPLCで定量した（n=4）（図10）。

サンプル調製ミスが疑われるSMP2を除き、「加熱サンプル」（65℃、20分間）において「サンプル15℃」のグアニル酸濃度は「サンプル5℃」のグアニル酸濃度よりも高い値を示した（図11）。

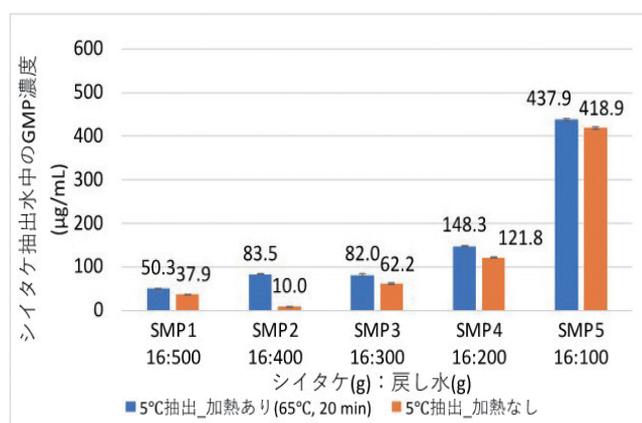


図9. 干しシイタケ抽出液中のグアニル酸濃度の比較（5℃抽出，加熱あり；5℃抽出，加熱なし）
 平均値，標準偏差はn=4で算出した。ただし、「5℃抽出，加熱あり」区のSMP1およびSMP4はQ検定により外れ値を棄却してn=3で算出した。

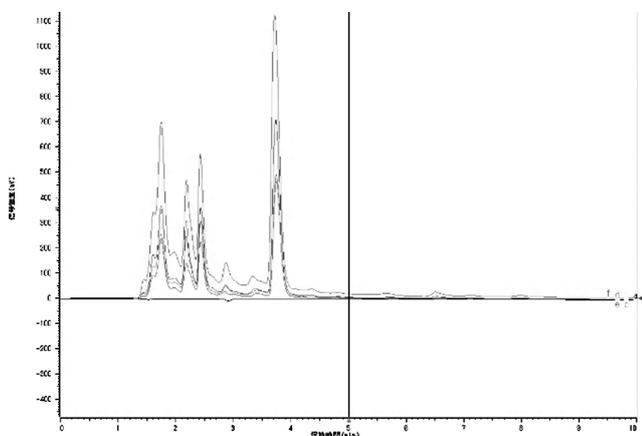


図10. HPLCクロマトグラフ（15℃抽出，加熱あり，測定4回目，マルチ表示）

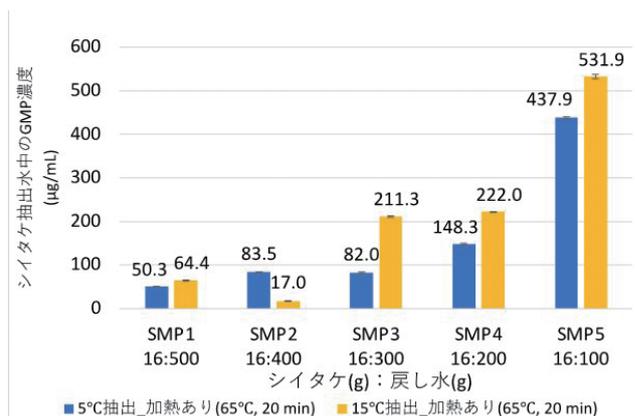


図11. 干しシイタケ抽出液中のグアニル酸濃度の比較（5℃抽出，加熱あり；15℃抽出，加熱あり）
 平均値，標準偏差はn=4で算出した。ただし、「5℃抽出，加熱あり」区のSMP1およびSMP4，および、「15℃抽出，加熱あり」区のSMP3はQ検定により外れ値を棄却してn=3で算出した。

考察

本研究の前半部分では，シイタケキノコケチャップおよびアレンジ料理を試作し，試食および官能評価アンケートを実施した。

官能評価アンケート1回目について，塩味が強く，それ以外の五味を弱く感じた人が多かった（図1，表3）。もともと調味料として試作したため，使用時に味が薄まる。よって，シイタケキノコケチャップの味が濃くこと自体は問題がないと考えられるが健康志向の高まりや健康寿命の延伸に資する「低塩」を意識する必要がある。日本人成人の塩分摂取量は10g前後/日であり，世界保健機関/食糧農業機関（WHO/FAO）が定める目標値5g/日および「食事摂取基準（厚生労働省，2020年版）」の目標値である成人男性7.5g/日と成人女性6.5g/日を大幅に上回っているからだ⁹⁾。官能評価アンケート2回目について，1回目と同様に塩味を強く感じる人が多くいた（図2，表3）。実際の食シーンに近い条件で味を評価するため，アレンジ料理の調味料としての使用を検討した。試作3回目では，「鶏肉と根菜のソテーシイタケキノコケチャップ和え」を作製した。風味が改善しているという意見を

得たため、実際の食シーンを意識したアレンジ料理を考案することができた(図3, 表4)。しかし、見た目が良くないという指摘があったため、シイタケキノコケチャップが目立たないアレンジ料理を考案した。試作4回目として、「シイタケキノコケチャップ餃子」を作製した。挽肉との相性が良い、野菜がもっとほし、ラー油を超える塩っ気が有る、何も付けないのがちょうど良いとの意見があり、概ね好評であった(図4, 表4)。

試作の当初は、シイタケキノコケチャップの見た目や食感への課題に関する意見が多くみられたが、試作を経るにつれて、見た目や食感の課題を解決し得るシイタケキノコケチャップの利用方法を検討することができた。シイタケキノコケチャップ餃子の試作においては、シイタケキノコケチャップの添加量を30g, 50g, 70gの3種類の他に、0g(未添加)を準備し、比較対照とすべきであった。

本研究の後半部分では、嗜好性を高めた「シイタケキノコケチャップ」を作製するため、シイタケの主要なうま味成分「グアニル酸」に着目して、加工・調理工程でグアニル酸の生成量が増加する条件を検討した。イギリスの伝統的なキノコケチャップのレシピ⁵⁾を参考として作成したシイタケキノコケチャップの試作方法では、干しシイタケの戻し水・抽出水は沸騰直後の温度であり、干しシイタケの抽出時間は1時間程度であった。しかし、先行研究⁶⁾は、「干しシイタケを冷水で戻し抽出処理した後、加熱(65-70℃, 20分間)工程を経ることによって、グアニル酸の生成量が増加した」と報告した。これは、RNAを分解してグアニル酸を生成するリボ核酸分解酵素(リボヌクレアーゼ, RNase)が、65-70℃で最大活性を示すことが関連していると考えられる¹⁰⁻¹⁶⁾。その一方で、グアニル酸を分解するヌクレオチド分解酵素(ホスホモノエステラーゼ [ホスファターゼ, PMase])が40-60℃で最大活性を示すとされている¹²⁾。このことから、グアニル酸を高生成するためには、干しシイタケの抽出温度

を40℃未満で行う、かつ、抽出後に65-70℃で20分間加熱する必要があるとされた⁶⁾。

本実験では、「サンプル5℃(加熱あり:65℃, 20分間)」のグアニル酸濃度が「サンプル5℃(加熱なし)」のグアニル酸濃度を上回っていた(図9)。この結果は、先行研究⁶⁾の結果を支持し、65℃で20分間の加熱が、干しシイタケ抽出液中でRNAからグアニル酸が高生成する条件の一つであることを示唆した。

また、「加熱サンプル」(65℃, 20分間)において15℃で抽出した「サンプル15℃」のグアニル酸濃度は5℃で抽出した「サンプル5℃」のグアニル酸濃度よりも高い値を示した(図11)。これはグアニル酸の原料であるRNAが、5℃よりも15℃の比較的高温下で抽出されやすくなったためと考えられる。先行研究⁶⁾では、干しシイタケの水戻し・抽出試験を5℃と25℃のみで行い、より低温の5℃がグアニル酸の高抽出条件であるとした。本実験の結果は、5℃よりも15℃の方が干しシイタケからより多くのRNAが抽出される条件であることを示唆した。今後は、ヌクレオチド分解酵素(ホスホモノエステラーゼ [ホスファターゼ, PMase])が高活性を示さないと考えられる5℃以上40℃未満の温度帯において、干しシイタケの水戻し・抽出温度の条件を詳細に検討して、RNAの高抽出およびグアニル酸の高生成に資する最適条件を解明する必要がある。

今後の展望として、グアニル酸生成条件の最適化に加えて、シイタケキノコケチャップの他の加工・調理条件の改良によって、合理的なレシピ開発を行う。これにより、科学的知見の集積によりうま味を增強し、分子レベルでの新しい加工・調理技術の創成を目指した分子調理版シイタケキノコケチャップを開発することが期待される。本研究の実験結果は、シイタケや他の食用キノコを用いた他の料理の風味改善にも寄与すると思われる。また、原料のキノコの形状を問わないキノコケチャップは、矮小・形状不良・不揃いにより有償で廃棄される規格外の食用キノコを有効活用でき

るため、フードロス削減し、廃棄物から新たな価値を生み出すことができると考えられる。シイタケキノコケチャップをはじめとして、日本の食シーンにおいて、より多様な嗜好性・機能性のニーズに応えることができる食品の開発に取り組んでいきたい。

謝辞

シイタケキノコケチャップの試作のために、シイタケサンプルを快くご提供くださいました森の木ファーム株式会社・代表取締役の松本守史様に心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 長野美根. トマトケチャップの歴史, 株式会社Dole, 2010.09.21. (引用日: 2022.07.26) <https://www.dole.co.jp/column/detail/27>
- 2) シイタケの秘密. 株式会社北研. (引用日: 2022.07.28) <https://www.hokken.co.jp/trivia/shiitake.php>
- 3) きのご類/しいたけ/乾しいたけ/甘煮_一般成分表-無機質-ビタミン類, 食品成分データベース (出典: 日本食品標準成分表 (八訂) 増補2023年), 文部科学省. (引用日: 2022.07.28) https://fooddb.mext.go.jp/details/details.pl?ITEM_NO=8_08053_7
- 4) 林将也ほか. シイタケ廃菌床の培養土への利用検討. 2012年度「課題解決インターンシップ」報告書, 2013.
- 5) Recipe Mushroom ketchup. LE PARFAIT. (引用日: 2022.07.28) https://www.leparfait.com/recipe/mushroom-ketchup_502#page/1
- 6) 黒須泰行, 岩黒大志. シイタケ中のグアニル酸に関する研究 (研究ノート), 国際学院埼玉短期大学研究紀要, 29, 87-91, 2008.
- 7) 瀬戸由美子. 「マッシュルームケチャップ」かけの「鶏肉と根菜のソテー」, OurAge, 2018.12.15. (引用日: 2022.07.28)
- 8) 美味しい餃子の作り方, 手作り餃子サイトモランボン, モランボン株式会社. (引用日: 2022.07.28)
- 9) 味の素株式会社. トコトンやさしいアミノ酸の本, 日刊工業新聞社, 2017.
- 10) 河野友美. 新食品事典5: 野菜・藻類, 真珠書院, 179-183, 1992.
- 11) 船瀬俊介. 自然流「だし」読本, 農山漁村文化協会, 126-134, 1991.
- 12) 毛利威徳ほか. 食品中の核酸成分に関する研究: (第8報) しいたけ子実体の核酸分解酵素系, 醗酵工學雑誌, 44, 248-258, 1966.
- 13) Goodsell S. David, 工藤高裕. リボヌクレアーゼA, PDBjの生体高分子学習ポータルサイト PDBj入門, 2008.09.01. (引用日: 2023.01.30) <https://numon.pdbj.org/mom/105?l=ja>
- 14) ENDO Kinji et al. Purification and Some Properties of Nucleases from Shii-take, *Lentinus edodes*, Agricultural and Biological Chemistry, 44(7), 1545-1551, 1980.
- 15) 沢田崇子. シイタケの核酸関連物質に関する調理科学的研究. 日本調理科学会, 31 (2), 89-95, 1998.
- 16) Kurata Daisuke et al. Quality Evaluation of Shiitake Mushrooms Dried by Vacuum Microwave Treatment, Food Science and Technology Research, 26(3), 339-350, 2020.