

マツタケの栄養菌糸のマツタケオール (1-octen-3-ol)
生産におよぼす低温処理効果

寺下 隆夫¹⁾・竹内 寿男^{2)*}・若山 祥夫²⁾・関野 芳弘²⁾・
照井正三郎²⁾・吉川賢太郎¹⁾・獅山 慈孝¹⁾

¹⁾ 近畿大学農学部食品栄養学科, 〒631 奈良市中町3327-204;

²⁾ (株)紀文研究開発室, 〒104 東京都中央区銀座7-14-13

Effect of low-temperature treatment on the production of 1-octen-3-ol by
the vegetative mycelia of *Tricholoma matsutake*

Takao TERASHITA¹⁾, Tosio TAKEUCHI^{2)*}, Sachio WAKAYAMA²⁾, Yoshihiro
SEKINO²⁾, Shozaburo TERUI²⁾, Kentaro YOSHIKAWA¹⁾
and Jiko SHISHIYAMA¹⁾

¹⁾ Department of Food and Nutrition, Faculty of Agriculture, Kinki University, 3327-204
Nakamachi, Nara 631, Japan; ²⁾ Department of Research and Development,
Kibun Co. Ltd., 7-14-13 Ginza, Chuouku, Tokyo 104, Japan

(Accepted for publication 15 March 1991)

Key Words—*Tricholoma matsutake*; 1-octen-3-ol; low temperature treatment; mushroom; basidiomycete.

Summary

Effects of low-temperature treatments on the production of 1-octen-3-ol by the vegetative mycelia of *Tricholoma matsutake* were studied. The production of 1-octen-3-ol by the vegetative mycelia of five strains of *T. matsutake* were increased about 1.5–3.0 times by incubating the mycelia at 5°C for 24 h after prior incubation at 25°C for 30 days. In particular, the amount of 1-octen-3-ol produced by the mycelia of strain KBM-08 after low-temperature treatment was 101 µg/flask; whereas, the amount was 33.6 µg/flask for untreated mycelia. This increased concentration was about an equal to the average value of fruit-bodies of *T. matsutake*.

マツタケ [*Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Singer] は独特の香気を持ち、わが国の秋の味覚を代表する高価な嗜好食品のひとつとして古くから珍重されてきた。本菌の主要香気成分は1-オクテン-3-オールとメチルシンナメートであるといわれているが(岩出, 1936, 1937; 村橋, 1937; 岩見, 1985), それぞれの成分の役割については意見の分れるところである(高

* To whom correspondence should be addressed.

木ら, 1976; 小川, 1978). マツタケにはこれらの他にも数多くの香気成分の存在が指摘されており(高木ら, 1976), Yajima et al. (1981) は市販のマツタケ子実体から64種類に及ぶ揮発性香気成分を同定している。

ところで, きこのでは栄養菌糸に温度や光などの刺激を与えると子実体を形成するものがある(北本, 1977; 鈴木, 1979). しかしマツタケなどの菌根形成菌は, 人工栽培が困難であり, 純粋培養による子実体原基の形成は観察されているものの(小川・浜田, 1975; 川合・小川, 1976), 完全な子実体を形成させた例ははまだ報告されていない。

著者らはマツタケ菌糸そのものの加工食品への利用を目的として, 種々の培養条件を検討しているが, その際菌糸に十分なマツタケ香気を付与させることが, 重要な条件のひとつと考えられる。高木ら(1976)はこのような目的で本菌を液内培養し, 香気成分の生合成経路の前駆物質であるフェニルアラニン, 桂皮酸などを培養培地に添加することによって, 香気が増加することを報告している。

一方, 著者らはマツタケ菌の培養過程で液体培養菌糸体を低温にさらすと, 通常栄養成長期にはあまり生成されない1-オクテン-3-オール(1-octen-3-ol)の生成が著しく増強することを見出した。本成分はツクリタケ [*Agaricus bisporus* (J. Lange) Singer] (Picardi and Issenbeng, 1973), シイタケ [*Lentinus edodes* (Berkeley) Singer] (亀岡・樋口, 1976), ハラタケ (*Agaricus campestris* Fries) (Tressl et al., 1982) などの子実体で存在が報告されているが, 菌糸での報告はない。そこで本論文ではマツタケの栄養菌糸の1-オクテン-3-オールの生産におよぼす低温処理効果について検討した結果を報告する。

実験材料および方法

供試菌株 著者らが1985年から86年にかけて, 国内各地のマツタケ山から子実体を採集し, その傘部から分離培養した2核菌糸5株を供試菌株として用いた (KBM-01, -02, -06, -08, -10). これらの菌株は, 下記の組成の斜面寒天培地に6カ月毎に植え継ぎ保存した。

培地組成 保存用および接種用斜面寒天培地は, ブドウ糖(和光純薬製特級) 20 g, 酵母エキス (Difco) 1.5 g, バクトソイトン (Difco) 1.5 g, 寒天末(和光純薬製) 15 g を蒸留水 1 l に溶解し, pH 5.0 (1 N-HCl) に調整したものをを用いた。また, 培養実験には前述の組成から寒天末を除いた液体培地を使用した。これらの培地は, 120°C で15分間高圧蒸気滅菌して使用した。

液体培養 保存用斜面寒天培地で 25°C, 60日間培養した菌叢から切り出した菌糸体片をペトリ皿(直径 9 cm) に分注した寒天平板の中央部に接種し, 25°C, 暗所で約30日間培養した。つぎに 100 ml の液体培地を分注した 300 ml 容三角フラスコに, この菌叢周辺部からメスで 5×5 mm に切り出した菌糸片の5個を接種し, 25°C, 暗所で回転振とう培養した [大洋科学工業(株)製ロータリーシェーカー R-II型, 50 rpm, 振幅 70 mm]。なお, 実験はいずれも1区2連制とし, 2度行った。

低温処理の方法 低温処理は, 25°C で30日間, 振とう培養したフラスコを 5°C, 暗所に移し, 24時間静置することによって行った。

マツタケ子実体試料 1988年秋, 長野県上田市, 宮城県気仙沼市, 福島県只見市内店頭で入手未開傘の新鮮な子実体を分析試料として用いた。また, 韓国産マツタケは1988年秋に東京築

地市場で, モロッコ産は同時期に東京都内のデパートで入手した。1-オクテン-3-オールの定量にはこれら5種の子実体すべてを用いた。分析に供した栄養菌糸体はこれらの子実体組織から純粋分離した5株と, 前述の供試菌株 (KBM-01~10) 5株の計10株である。

グルコースの定量 培養液中のグルコース残量の定量には, グルコース-C-テストワコー(和光純薬製)を用いて酵素法で測定した。

菌糸体乾燥重量の測定 フラスコ内で培養した栄養菌糸体を蒸留水でよく洗浄し, 濾紙で脱水した。この菌糸の半量を 115°C で3時間乾燥し, 菌糸体乾燥重量を求めた。残りの半量は1-オクテン-3-オールの抽出試料とした。市販マツタケ子実体の乾燥は, 115°C で3時間行い, 秤量した。

1-オクテン-3-オールの抽出 きこの揮発性香気成分の抽出には一般的に水蒸気蒸留が行なわれるが (Yajima et al., 1981), 相当多量の試料を必要とするため, 本実験では少量の試料で抽出可能な溶媒 (n-ヘキサン) 抽出法を適用した。

予備的検討として, 水蒸気蒸留法とヘキサン抽出法の両法について, 培養したマツタケ菌糸体や1-オクテン-3-オールの一定量を添加して調製した魚のすり身など, 5種類の試料を材料に分析し, 抽出処理を行ったところ, どちらの方法でも1-オクテン-3-オール回収量はほぼ一致した (91~120%の範囲)。そこで, 以後の抽出は Fig. 1 に示した操作による n-ヘキサン抽出法を採用した (1回の抽出に用いた試料は, 培養液では 50 ml, 子実体では 100 g, 栄養菌糸では 10 g (新鮮重) である)。

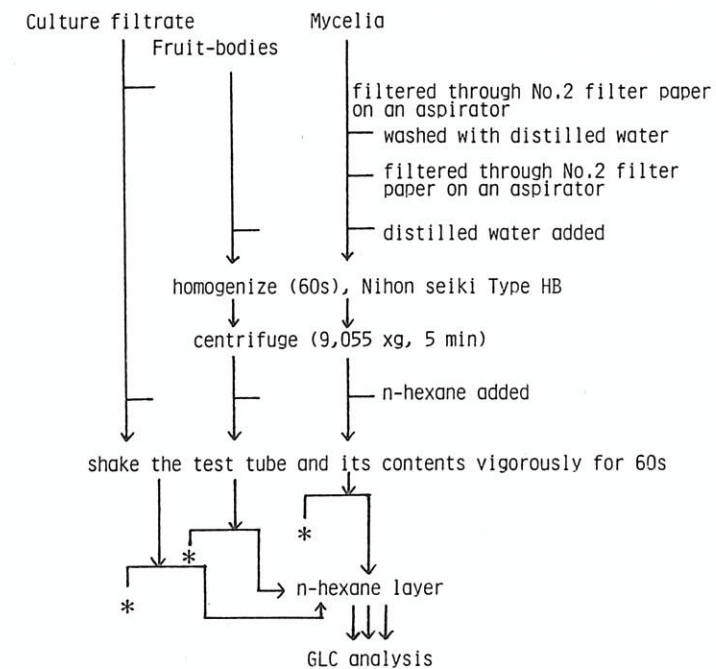


Fig. 1. Procedure for the extraction of 1-octen-3-ol from the culture filtrate, vegetative mycelia and fruit-bodies of *Tricholoma matsutake*.

* water layer and precipitate.

ガスクロマトグラフィー分析 1-オクテン-3-オールなどの定性と定量には島津 CBP-1 キャピラリーカラム (0.33 mm×25 m) を装着したガスクロマトグラフ (島津 GC-9A 型) を用いた。カラム温度は 60°C から 160°C (昇温 8°C/min), インジェクション温度は 230°C とし, He をキャリアガスに使用した。1-オクテン-3-オール, メチルシンナメートなどの試薬は東京化成(株)製を用いた。

結果および考察

主要香気成分のガスクロマトグラム マツタケの栄養菌糸および子実体中より抽出したこれらの香気成分のガスクロマトグラフィーによる分析結果を Fig. 2 に示す。既知の比較試料として, 1-オクテン-3-オール, リナロールおよびメチルシンナメートを供試したところ, リテンションタイムから 1-オクテン-3-オールと同定されるピークは栄養菌糸, 子実体のいずれからも検出されたが, メチルシンナメートに相当するピークは子実体のみで, 栄養菌糸からは検出されなかった。

1-オクテン-3-オール (マッシュルーム様の香り) (岩見, 1985) とメチルシンナメート (シソ科精油中の主成分) (岩見, 1985) は, それぞれ特異な香りを呈するが, 一方のみではマツタケ

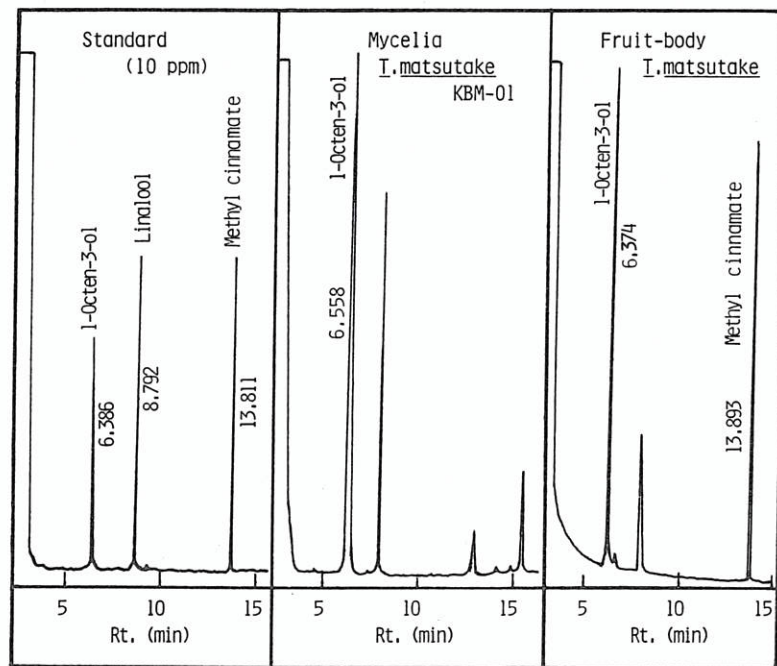


Fig. 2. Gas chromatograms of extracts from the mycelia and fruit-bodies of *Tricholoma matsutake*. 1-octen-3-ol, linalool and methyl cinnamate were the standards used. Column: Shimadzu CBP-1 0.33 mm×25 m. Column temp.: 60–160°C p.R. 8°C/min. Inj. temp.: 230°C. Carrier gas: He.

特有の香りを示さないと報告されており (高木ら, 1976; 小川, 1978; Yajima et al., 1981; Tressl et al., 1982; 高間ら, 1984; 岩見, 1985), マツタケ独自の香りが栄養菌糸で弱いのは, 後者の不足によるとも考えられる。

1-オクテン-3-オールの生成におよぼす低温処理効果 市販のマツタケから純粋分離した菌糸を培地に接種し, 25°C で30日間, 暗所で振とう培養した。つぎに, 培養後の菌糸を低温処理し, 処理前後の培養液および栄養菌糸中の 1-オクテン-3-オール量を測定した。その結果を Table 1 に示す。

培養液中の 1-オクテン-3-オール濃度は低温処理によって, 0.02 から 0.42 ppm に増加した。同様な増加が栄養菌糸でも観察され, 処理前の 8.0 ppm/mycelial fresh weight が処理後には 16.6 ppm/mycelial fresh weight に向上し, フラスコ当りの同物質の生成量は, 8.92 μg から 56.4 μg へと約 6 倍増加した。しかも, 処理後のフラスコからかなり強いマツタケ香気の発生が認められた。

1-オクテン-3-オール蓄積のタイムコース マツタケ菌株, KBM-08 株を用いて栄養菌糸体の成長と菌体中の 1-オクテン-3-オール蓄積のタイムコースを調べた結果を Fig. 3 に示す。

栄養菌糸の成長は長い lag phase ののち, 14日目頃から急速に菌体重量が増加し, 培養28日目には 120 mg/flask となった。一方, 培養濾液の糖残量は培養初期から減少が始まり, 14日目頃から急減し, 28日目には全量の75%の糖が消費された。栄養菌糸中の 1-オクテン-3-オールは, 培養14日目以降で蓄積が盛んとなり, 28日目に最大蓄積量 30.0 μg /flask になった。また, 特に図示しないが, それ以後の培養による濃度の増加はみられなかった。他のマツタケ菌株 (KBM-01, -03, -06 および -10) についても同様に検討したが, いずれも類似した蓄積の傾向を示した。

1-オクテン-3-オール蓄積能の菌株間比較 国内各地から採集, 分離した菌株 (KBM-01~ -10) を培養して, 低温処理を行い, その前後の栄養菌糸中の 1-オクテン-3-オール蓄積量を測定し, その結果を Table 2 に示す。低温処理によって, いずれの菌株でも約 1.5~3.0 倍に増加し, KBM-06 および -08 株は低温処理によって著しい蓄積量の増加を示した。蓄積量は菌株間で 11.4 μg /flask (KBM-02 株) から 43.9 μg /flask (KBM-06 株) までかなりの差異がみられた。

マツタケ子実体中の 1-オクテン-3-オール含量 低温処理により得られる栄養菌糸中の 1-

Table 1. Effect of low-temperature treatment on the amounts of 1-octen-3-ol in the culture filtrate and vegetative mycelia of *Tricholoma matsutake*

	before treatment		after treatment	
	ppm*	$\mu\text{g}/\text{flask}$	ppm*	$\mu\text{g}/\text{flask}$
Culture filtrate	0.02	2.00	0.42	42.0
Vegetative mycelia	57.7	6.92	120	14.4
Total amount		8.92		56.4

* ppm/mycelial dry weight.

Mycelia of *T. matsutake* were incubated at 25°C for 30 days, then transferred to a low-temperature (5°C) for 24 h, after which the production of 1-octen-3-ol was measured.

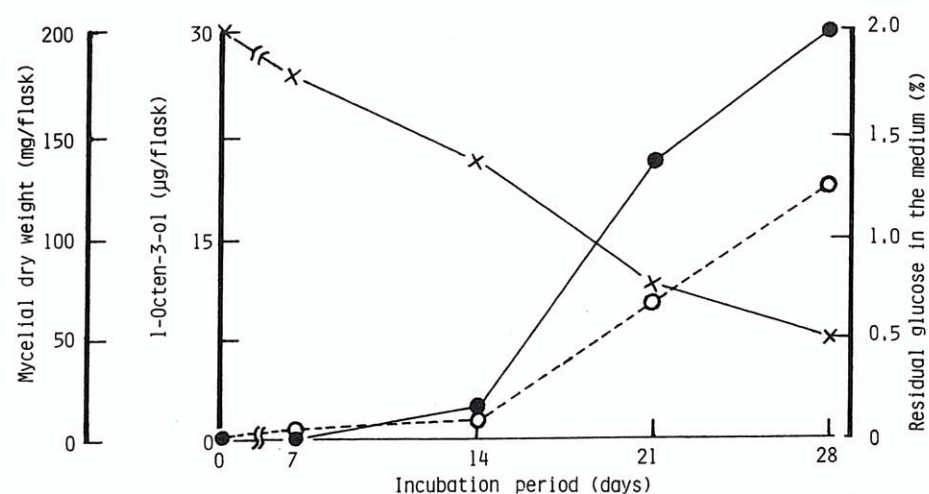


Fig. 3. Time course of the accumulation of 1-octen-3-ol in the vegetative mycelia of *Tricholoma matsutake* KBM-08.

The mycelia of *T. matsutake* were cultured at 25°C for 28 days.

---○---: mycelial dry weight.

—●—: 1-octen-3-ol.

—×—: glucose concentration in the medium.

Table 2. Effect of low-temperature treatment on accumulation of 1-octen-3-ol in the vegetative mycelia of five strains of *Tricholoma matsutake*

Stock No.	Habitat	Mycelial dry weight mg/flask	1-octen-3-ol			
			before treatment		after treatment	
			ppm*	µg/flask	ppm*	µg/flask
KBM-01	Kyoto	110	121	13.3	214	23.5
KBM-02	Kyoto	98	116	11.4	170	16.7
KBM-06	Okayama	133	330	43.9	729	97.0
KBM-08	Hiroshima	120	280	33.6	843	101.0
KBM-10	Hiroshima	115	363	41.7	564	64.9

* ppm/mycelial dry weight.

Mycelia of *T. matsutake* were incubated at 25°C for 30 days, then transferred to a low-temperature (5°C) for 24 h, after which the production of 1-octen-3-ol was measured.

1-octen-3-ol 含量と子実体中の同成分のレベルを比較するため、市販のマツタケから抽出、分析を行い、高間ら (1984) の報告にある結果と合わせて総括した結果を Table 3 に示す。

今回分析した市販マツタケ子実体中の 1-octen-3-ol 含量は宮城産のものが高くて高く 186 ppm/fresh weight を示し、韓国産では 18.9 ppm/fresh weight の低い値を示し、菌株間で約 10 倍の差異がみられた。また、高間らの値でも約 2 倍の差があり、栄養菌糸含量も菌株間で同様の傾向を示した。一方、これらの子実体から分離した栄養菌糸体中の含量は 44.5

Table 3. 1-octen-3-ol contents of the vegetative mycelia and fruit-bodies of *Tricholoma matsutake* obtained from various commercial sources

Habitat	1-octen-3-ol				Extraction procedures
	mycelia		fruit-bodies		
	ppm/dry weight	µg/flask	ppm/fresh weight	ppm/dry weight	
Japan					
Nagano	183	22.0	104	813	Solvent ext.
Miyagi	275	33.0	186	1280	Solvent ext.
Fukushima	86.4	10.4	42.8	446	Solvent ext.
Korea	44.5	5.34	18.9	189	Solvent ext.
Morocco	79.6	9.55	24.0	216	Solvent ext.
Japan					
Nagano ^{a)}	—	—	107.0	—	Distillate ext.
Korea ^{a)}	—	—	62.5	—	Distillate ext.

^{a)}: Takama F. et al., *Nihon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 31: 14-18, 1984.

The vegetative mycelia were isolated from these fruit-bodies, respectively.

~275 ppm/dry weight の範囲を示し、子実体に比較すると 1/3~1/5 程度であった。Table 2 の結果から推算されるように、これらの菌糸は低温処理により、1-octen-3-ol 含量を増大させることが可能と考えられ、菌糸中の含量を子実体中に近い濃度まで高められることが期待される。

ところで、本報告で著者らは、マツタケの栄養菌糸の低温処理によって 1-octen-3-ol の生成が著しく増加することを明らかにした。いくつかのきのこで栄養成長過程を経た菌糸を低温下に移すと、子実体形成が促進されることが知られており (北本, 1977; 鈴木, 1979)、マツタケにおける 1-octen-3-ol の増加も生殖生長と関係することが考えられる。揮発性 C₈ 脂肪族化合物の生成について Tressl et al. (1982) はハラタケを対象に、リノール酸やリノレン酸からリポキシゲナーゼやヒドロペルオキシド分解酵素の関与する反応を経て、生成することを明らかにしており、今後の詳細な培養条件の検討が望まれる。

謝辞—本稿を草するにあたり御校閲を賜った鳥取大学教授、北本 豊博士に深甚なる謝意を表します。

摘 要

マツタケの栄養菌糸の 1-octen-3-ol 生産におよぼす低温処理効果について検討した。マツタケ菌 5 株について検討した結果、1-octen-3-ol の生産性は、栄養菌糸を 25°C で 30 日間培養後、5°C に移して 24 時間低温処理することによって、それぞれ約 1.5~3.0 倍に向上した。特に低温処理後における KBM-08 株の栄養菌糸中における 1-octen-3-ol の蓄積量は、処理前の 33.6 µg/flask から、101 µg/flask へと増加した。この濃度はマツタケの子実体の平均的濃度にはほぼ等しいものであった。

引用文献

- 岩出亥之助. 1936. 菌茸類の特殊成分に関する研究 (第二報). 林学会誌 18: 528-536.
- 岩出亥之助. 1937. 菌茸類の特殊成分に関する研究 (第三報). 林学会誌 19: 414-420.
- 岩見 公和. 1985. キノコの匂い. 遺伝 39: 37-40.
- 亀岡 弘・樋口 光基. 1976. 椎茸の水蒸気揮発性成分. 農化 50: 185-186.
- 川合 正允・小川 真. 1976. まつたけの培養に関する研究 第4報 種菌培養の検討と菌床栽培の試み. 日菌報 17: 499-505.
- 北本 豊. 1977. キノコと光. 遺伝 31: 14-18.
- 村橋 俊介. 1937. 松茸香气成分の研究 (続報). 理化研彙報 16: 548-561.
- 小川 真・浜田 稔. 1975. 純粋培養によるマツタケ子実体原基の形成. 日菌報 16: 406-415.
- 小川 真. 1978. "マツタケの生物学," pp. 202-203. 築地書館, 東京.
- Picardi, M. S. and Issenberg, P. 1973. Investigation of some constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*): changes which occur during heating. J. Agr. Food Chem. 21: 959-962.
- 鈴木 彰. 1979. 同担子菌類の子実体原基形成に関する環境要因. 日菌報 20: 253-265.
- 高木 広明・小倉 勉・門脇 清. 1976. 松茸菌の液内培養に関する研究 第2報 松茸フレーバーの産生について. 昭和51年度農化大会講要集: p. 273.
- 高間 総子・石井 濤・村木 繁. 1984. 日本産・韓国産マツタケ *Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. の香气成分および貯蔵による香气成分の変化. 日食工誌 31: 14-18.
- Tressl, R., Bahri, D. and Engel, K. H. 1982. Formation of eight-carbon and ten-carbon components in mushrooms (*Agaricus bisporus*). J. Agric. Food Chem. 30: 89-93.
- Yajima, I., Nakamura, M., Sakakibara, H. and Hayashi, K. 1981. Volatile flavor compounds of Matsutake-*Tricholoma matsutake* (S. Ito et Imai) Sing. Agric. Biol. Chem. 45: 373-377.