

乾燥シイタケ中のグアニル酸分析のための抽出について

1. はじめに

食品成分の分析は、含まれる栄養成分の把握の目的はもとより、品質評価や機能性の評価や安全性評価など、様々な場面で必要に応じて行われています。

分析の実施に際して最初に行われるのが、一般的に前処理と称される作業です。前処理の作業は、分析結果のばらつきを少なくするための均一化（粉碎や混合など）や採取、機器分析を行うための抽出、粗精製まで広範囲にわたり、分析結果に大きな影響を及ぼします。従って、分析する試料や分析方法に応じて適切な方法を選択しなければならないのは言うまでもないことです。

前処理条件の違いで分析結果にどのような差異が生じることがあるか、乾燥シイタケの核酸系の旨味成分として知られているグアニル酸を例にご紹介します。

2. 乾燥シイタケのグアニル酸の抽出

食品に含まれる特定の成分を分析するためには高速液体クロマトグラフ法（HPLC）が広く利用されていますが、そのためにはその成分を抽出液として取り出す工程が必要です。水（冷水や温水、熱水）のほか、緩衝液や、エタノールやアセトニトリルといった有機溶媒、有機溶媒と水・緩衝液の混合液が抽出に広く用いられています。

ところで、シイタケ中のグアニル酸は、リボ核酸からヌクレアーゼの作用で生成し、さらにフォスファターゼによって無味のグアノシンへと変化していきます（**図1**）。乾燥シイタケ中にはこれらの酵素が活性を保持した状態で存在しており、抽出の方法・条件によっては、抽出の工程でグアニル酸の生成や分解が起き、元々含まれていた量から増加したり減少したりする可能性があります^{1) 2)}。そのため乾燥シイタケ中のグアニル酸を正確に測定する場合、酵素を失活させてその影響

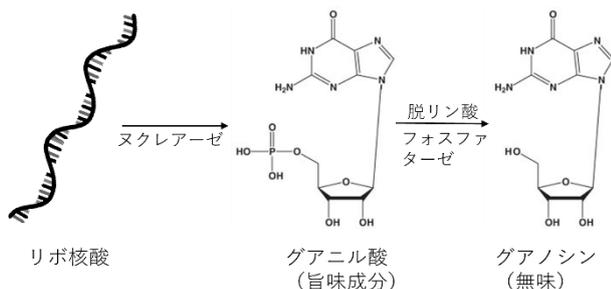


図1 グアニル酸の生成と分解

を排除する必要があります。酵素を失活させるために、過塩素酸やトリクロロ酢酸などの強酸の溶液を用いて抽出を行う方法^{3) 4)}が一般的に行われていますが、食品全般の核酸系成分の分析においてはエタノールやアセトニトリルを含む含水有機溶媒が使用されることもあります⁵⁾。

3. 抽出方法によるグアニル酸量の違い

実際に、市販の乾燥シイタケの粉碎試料から異なる条件で調製した抽出液で行ったHPLC分析のクロマトグラムでご説明します。

図2は、(a) 1%過塩素酸に浸漬後に中和、(b) 50%エタノール浸漬により抽出を行ったものです。どちらもグアニル酸は小さなピークとして確認できます。クロマトグラムは割愛しますが、抽出工程でグアニル酸標品を添加した実験や、後述のような浸漬後の加熱処理実験で、分解や生成が起きていないことを確認しており、「乾燥シイタケ中」のグアニル酸を分析する上で、内在酵素の影響を排除した抽出方法と考えられます。

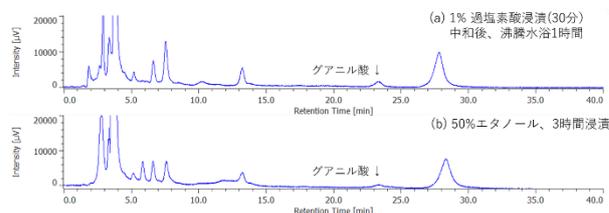


図2 乾燥シイタケの抽出条件の違いによるHPLCクロマトグラムの違い(1)

さて、乾燥シイタケを食材として調理に供する場合には「戻し」として、「冷水に浸けて数時間～一昼夜、冷蔵庫中に置く」、「ぬるま湯に浸して数時間放置する」、「急ぐときには熱水に浸す」など、さまざまな下ごしらえの方法が行われています。水を含浸させるとともに、グルタミン酸などのアミノ酸類やグアニル酸などの乾燥シイタケの旨味成分を溶出させることが大きな目的です。

図3は乾燥シイタケの調理時の「戻し」に近い条件である、(c)冷水（冷蔵庫中 4℃、約16時間）、(d)温水（40℃、3時間）、(e)熱水（沸騰水浴1時間）で抽出したものです。熱水抽出した(e)ではグアニル酸が確認できますが、冷水抽出(c)・温水抽出(d)では、グアニル酸が確認できず、抽出の開始時にグアニル酸の標品を添加して得られた抽出液でもグ

アニル酸は検出できませんでした。

にも注意が必要です。

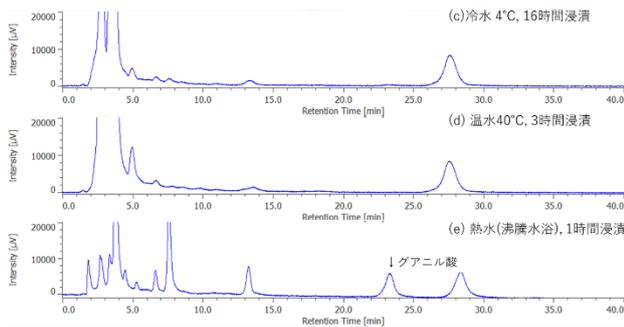


図3 乾燥シイタケの抽出条件の違いによるHPLCクロマトグラムの違い(2)

冷水～温水の温度域では、水浸漬中にグアニル酸が分解されてしまうことが示唆され、熱水による抽出が適切な抽出であるかのように思えます。

しかし、図4は図3(c)及び(d)の浸漬時間の経過後に沸騰水浴で加熱処理(30分)したのですが、冷水に浸漬後に加熱した抽出液(f)にグアニル酸の大きなピークが確認できます。これは加熱処理工程中でグアニル酸が生成したものであり、図3(e)で検出されたグアニル酸も熱水抽出時に生成した可能性があります。

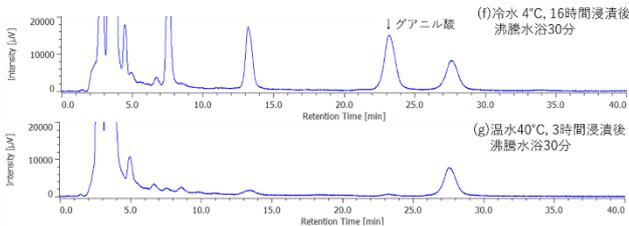


図4 乾燥シイタケの抽出条件の違いによるHPLCクロマトグラムの違い(3)

従ってこのような水(冷水～熱水)によるグアニル酸の抽出は、内在する酵素による生成・分解の影響を受けるため、「乾燥シイタケ中」のグアニル酸量を測定するための抽出法としては適切ではないと考えられます。

また、分析の結果が実際に乾燥シイタケを調理して喫食するときの含有量とは異なる点

4. まとめ

一般的に加工食品では、製造時に内在酵素が失活する加熱工程があるため分析値への残存している酵素の影響は多くはないと考えられます。しかし、生鮮食品や単に乾燥しただけの原材料等では内在酵素の活性が残っていることがあり、その影響を受ける成分を分析する際には、酵素反応による生成や分解の影響が生じないように前処理を行う必要があります。

食品工業技術センターでは、日頃、多くの企業の皆様から様々な分析の御依頼をいただいています。分析を行う際は、どのような試料のどのような成分を分析するかによって、分析方法だけでなく適切な前処理方法を選択する必要があります。場合によっては前処理方法の検討から始めることもあります。

分析の御依頼にあたっては、より良い結果を得るためにこのような点についてご理解いただき、事前に担当者と十分に相談した上で、ご利用いただきますようお願いいたします。

参考文献

- 1) 澤田崇子：日本調理科学会誌，31，89 (1998)
- 2) 遠藤金次：調理科学，22(1),58 (1989)
- 3) 日本食品科学工学会編：新・食品分析法，光琳(1996)
- 4) 胡ら：日本水産学会誌，79(2)，219 (2013)
- 5) (独法)家畜改良センター：技術マニュアル「食肉の理化学分析及び官能評価」p66-76, <http://www.nlbc.go.jp/gijutumanyuaru/manual21/> (2022.2.24)

(あいち産業科学技術総合センターニュース 2022年3月号に加筆編集して掲載)

保蔵包装技術室： 中莖秀夫
研究テーマ： 茶の利活用
担当分野： 食品の化学分析 (主に HPLC)

編集・発行

あいち産業科学技術総合センター食品工業技術センター 令和4年3月25日発行
住所 〒451-0083 名古屋市西区新福寺町2-1-1
TEL(直通) 総務課 052-325-8091 発酵バイオ技術室 052-325-8092
分析加工技術室 052-325-8093 保蔵包装技術室 052-325-8094
FAX 052-532-5791
URL: <http://www.aichi-inst.jp/shokuhin/> E-mail: shokuhin@aichi-inst.jp

フルカラーのweb版センターニュースはこちらから→



