

ニュータイプきのこの素材利用に関する研究と普及

米山 彰造, 佐藤 真由美, 宜寿次 盛生, 加藤 幸浩, 東 智則

Investigation for utilization of “New type mushroom” and promotion activities

Shozo YONEYAMA, Mayumi SATO, Seiki GISUSI*, Yukihiro KATO, Tomonori AZUMA

Keywords: *Flammulina velutipes*, *Sarcomyxa serotina*, equivalent umami concentration (EUC), evaluation of functional properties, cooking workshop
野生型エノキタケ, ムキタケ, 旨味指標値, 健康機能性評価, 料理講習会

北海道産きのこの新たな需要開拓を目的として、野生型エノキタケ、ムキタケ等 7種のきのこを“ニュータイプきのこ”と位置づけ¹⁾、優良品種選抜、増収培地の検討、機能性および嗜好性に関連する評価を行った。そのうち野生型エノキタケおよびムキタケについて優良品種の選抜およびそれらに適した栽培技術を明確にするとともに、成分に関する特徴を明らかにした。さらに、これらニュータイプきのこについては消費者への普及を目的としたレシピ作成とそれに基づく調理講習会を開催し、普及を図った。

1. はじめに

近年、道内のきのこ生産量は増加傾向にあり、シイタケ等の生産施設の増設が進んでいる。一方、異業種の企業等から、きのこ生産事業への参入に関する相談が多く寄せられており、希少価値の高いきのこの栽培技術開発が求められている。また、生鮮きのこの消費に加え、きのこを素材とする健康食品や美容関連商品等に対する消費者の関心が高く、機能性等の特徴を有する新たなきのこの開発による新規需要開拓が期待できる。

北海道内では、野生型エノキタケ（以下ユキノシタ）は昭和61年から北海道で試験生産が開始されたものの、現在も年間20トン程度の生産量にとどまっている。一方で旨味や歯ごたえが良いことから消費者からは安定した需要がある。最近の研究結果²⁾から旨味や抗酸化性が比較的高いことが示されており、品種改良による更なる収量性等の改善について検討した。

また、野生のムキタケは表皮にやや粘性があり、苦味を呈するものの、穏やかな口あたりで、淡泊な料理に合うきのこである。林産試験場では、1980年代から人工栽培に取り組んできた³⁾が、知名度が低く普及しなかった。本報では培養および子実体の品質特性

を検討した。

これらの2種に加え、希少価値が高いトキイロヒラタケ、コムラサキシメジ、ヌメリスギタケモドキ、サンゴハリタケおよびアミヒラタケの5種のきのこもニュータイプきのことして位置づけた。これらの嗜好性や健康機能性の指標について検討した。

さらに、本研究の成果をもとに、ユキノシタ、ムキタケ、トキイロヒラタケについて、レシピ作成と調理講習会を開催した。

なお本研究の一部は、第64回日本木材学会大会（2014年3月松山）⁴⁾および日本きのこ学会第19回大会（2015年9月つくば）⁵⁾で発表した。

2. 優良品種の選抜

2.1 交配株作出と選抜試験

a) ユキノシタの選抜方法

ユキノシタの育成に供試する親菌株には実生産に使用されている HfpriFv92-4 と栽培期間が短い特性を有する fpriFv82-3 を用いた。それぞれの菌株の胞子または構成核由来の一核菌糸を交配し、交配株を作出した。これら交配株のうち、収量および品質に優れ、栽培期間が短い菌株を選抜した。次に選抜菌株の単核系統と再度Fv92-4由来単核系統を交配し、

戻し交配株を作出した。戻し交配株の1~4次選抜における基本培地は、カラマツおが粉102 g（以下、絶乾重量）、米ぬか100 g、水分64%とし、850 mL容栽培瓶に560 g充填した。121°C・30分の条件で高圧殺菌後、各交配株のおが粉種菌を接種した。なお、4次選抜ではカラマツおが粉93.5 g、コーンコブミール13.5 g、米ぬか100 g、水分64%の培地（以下コーンコブ系培地とする）を調製し、コーンコブ利用の可能性について評価した。

接種後、22°C±1°C、相対湿度70±5%（暗黒下）の培養室で、瓶全体に菌糸が蔓延するまで培養した。蔓延後、ただちに菌掻きを行い、13±1°C、相対湿度90±5%（照度350 Lx（12時間/日））の条件で芽出し・生育を行った。各瓶の子実体菌傘が15~20 mmに成長した時点で収穫した。

b) ムキタケの選抜方法

ムキタケの選抜に供試した菌株は1980年代に林産試験場で交配育種されたHfpriPs85-3および野生株のHfpriPs10-8である。

選抜にあたっては、基本培地としてカンバおが粉338 g、米ぬか125 g、炭酸カルシウム5 g、水分64%の培地を調製し、4,000 mL容栽培袋に1,300 g充填した。121°C・30分の条件で高圧殺菌後、各交配株のおが粉種菌を接種した。

接種後、22±1°C、相対湿度70±5%（暗黒下）の培養室で、45、60、73および90日間培養した。なお、HfpriPs10-8は本試験の前に実施した予備試験では、45日培養では収穫までの期間が50日以上と長くなることから60、73および90日の培養期間とした。

培養終了後、菌床表面の菌叢膜を除去し、13±1°C、相対湿度90±5%（照度350 Lx（12時間/日））の条件で芽出し・生育を行った。子実体菌傘が9分開き以上の成熟した時点で収穫し、子実体収量と栽培期間を調査した。

2.2 選抜結果

a) ユキノシタの選抜結果

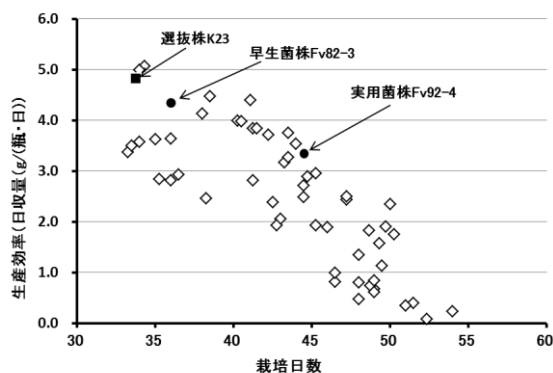
ユキノシタは、HfpriFv92-4、およびHfpriFv82-3由来一核菌糸を交配し、54株の交配株を作出した。それらのうち収量が多く、栽培期間が短く、生産効率（日収量（g/（瓶・日）））および子実体の形質に優れたK23（HfpriFv82-3の構成核KとHfpriFv92-4胞子由来#23の交配株）を1次選抜した（第1図）。次に、K23由来一核菌糸67系統とFv92-4由来一核菌糸3系統（構成核由来A,Bおよび胞子由来#38）を

交配し、和合した交配株139株を作出した。これらの菌株から、収量、生産効率、子実体の形質を指標として2~3次選抜を行い4株（E042,E242,E274,E704）選抜した。これら4株について、基本培地に加え、コーンコブ系培地における収量、生産効率、品質を評価し、有望な菌株を3株（E242,E274,E704）選抜した（第2図）。

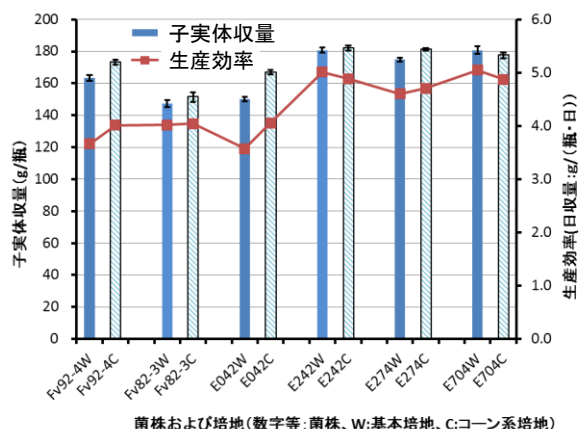
愛別町の生産施設においてこれら3菌株の現地試験を行った。現地試験の様子を第3図に示す。現地試験では既存品種と比べ、収量や形質が遜色なく、栽培期間が5日程度短いE274およびE704が生産者から高評価を得たので、これら2菌株を選抜した。

b) ムキタケの選抜

ムキタケHfpriPs85-3およびHfpriPs10-8を基本培地で栽培した結果を第4図に示す。HfpriPs85-3は45日培養で生産効率が最も高く、培養期間を短くすることが可能であることが明らかとなった。一方、



第1図 ユキノシタ(1次選抜)の栽培日数と生産効率の関係

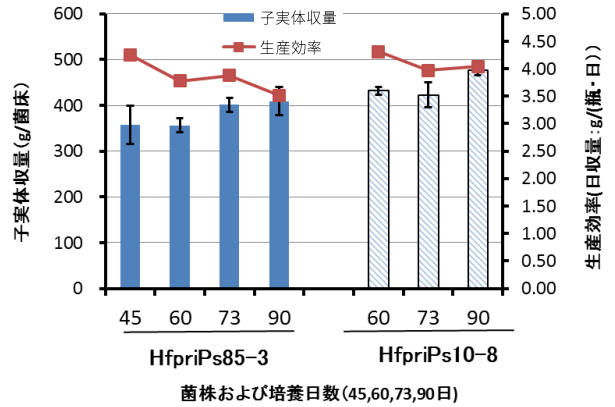


第2図 ユキノシタ(4次選抜)各条件における子実体収量と生産効率

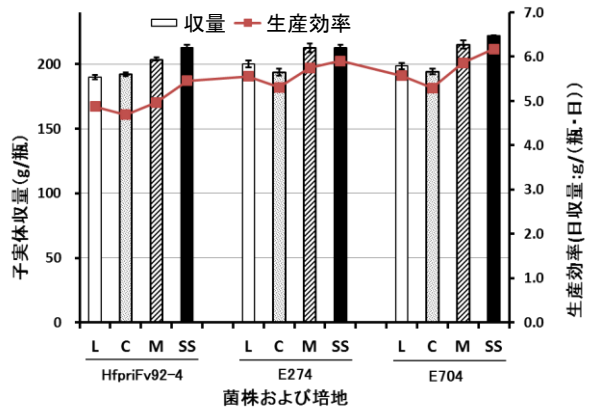


第3図 ユキノシタの現地試験の様子
(①:Fv92-4, ②:E704, ③:E242, ④:E274)

Hfpri10-8 は培養期間を60日の条件が最も生産効率が高くなった。子実体の特徴として、Hfpri85-3は傘径4~10cm程度の中型の子実体で明るい黄色の傘色を有するのに対し、HfpriPs10-8は傘径10~15cm程度の大型の子実体で傘色は暗い黄色であり、子実体の特徴は対照的であった(第4図)。生産希望者に確認したところ、HfpriPs85-3の傘色が高く評価された。一方で傘径についてはHfpriPs10-8程度の大きさが好ましいという評価を得た。上記の結果や流通後の商品性を考慮し、HfpriPs85-3を選抜した。



第4図 ムキタケ2菌株の培養日数が収量に及ぼす影響(上)と発生の様子(下)
(菌株:HfpriPs85-3, HfpriPs10-8, 培養条件:45,60,73,90日, Bar: 平均値±標準誤差)



第5図 ユキノシタ3菌株の培地組成が子実体収量に及ぼす影響 (菌株:実用株(92),選抜株(274,704) 培地:標準培地(L),コーン系(C,M),増収培地(SS))

3. 栽培技術の検討

3.1 増収培地の試験方法

a) ユキノシタの試験方法

供試菌株は実用菌株のHfpriFv92-4と2.2に示した選抜株E274およびE704を使用した。

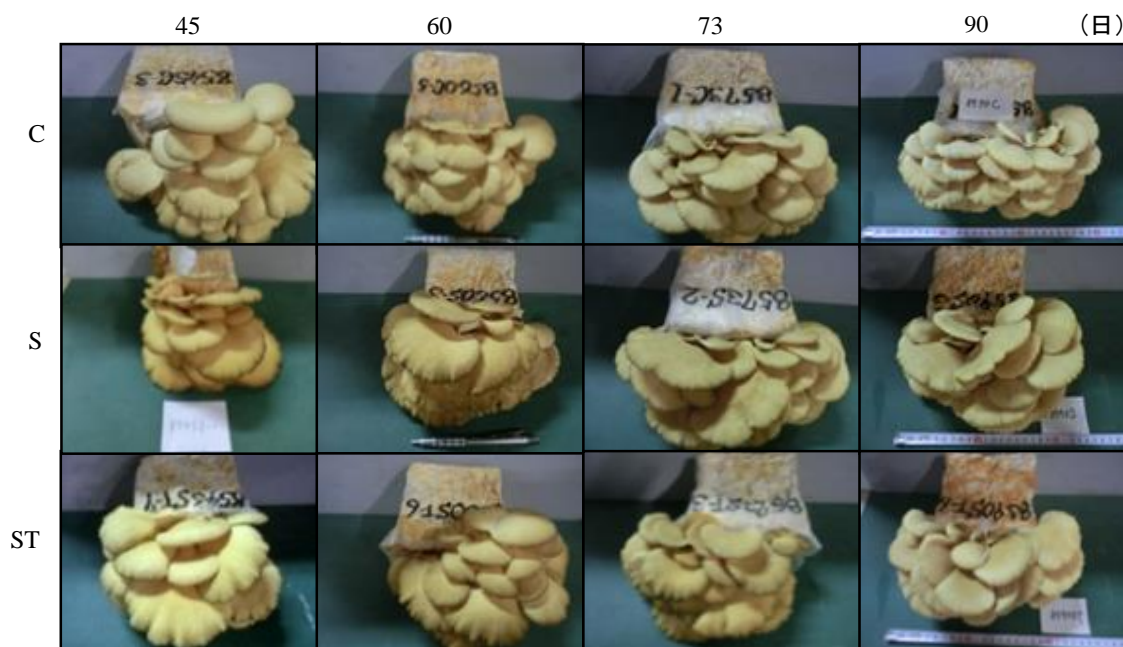
増収培地の検討にあたっては第1表に示した培地を調製し、2.1 a)と同様に栽培した。

第1表 ユキノシタの培地組成長

| 区分 | 詰め込み量 ¹⁾ (g) | カラマツ おが粉(g) | 米ぬか (g) | コーンコブ ミール(g) | 混合培地 ²⁾ (g) | 綿実殻 (g) | マメカワ (g) |
|---------------------|----------------------------|----------------|------------|-----------------|---------------------------|------------|-------------|
| 基本培地(L) | 560 | 102 | 100 | - | - | - | - |
| コーン系培地(C) | 560 | 87 | 100 | 15 | - | - | - |
| 混合培地(M) | 560 | 69 | 94 | - | 39 | - | - |
| マメカワ・綿実殻系 培地(SS) | 560 | 87 | 85 | - | - | 15 | 15 |

第2表 ムキタケの栄養材の置換割合(%)

| 試験区 | 米ぬか | マメカワ | おから |
|------------------|-----|------|-----|
| 基本培地(C) | 100 | 0 | 0 |
| マメカワ添加培地(S) | 80 | 20 | 0 |
| マメカワ・おから添加培地(ST) | 80 | 10 | 10 |



第6図 増収培地を用いたムキタケの発生状況(45,60,73,90日:培養日数、C, S, STは第2表参照)

b) ムキタケの試験方法

供試菌株はHfpriPs85-3を使用した。

増収効果の検討にあたっては、2.1b)に示した基本培地をもとに栄養材の米ぬかを第2表に示した割合で培地を調製し、2.1b)と同様に栽培した。

3.2 増収培地の試験結果

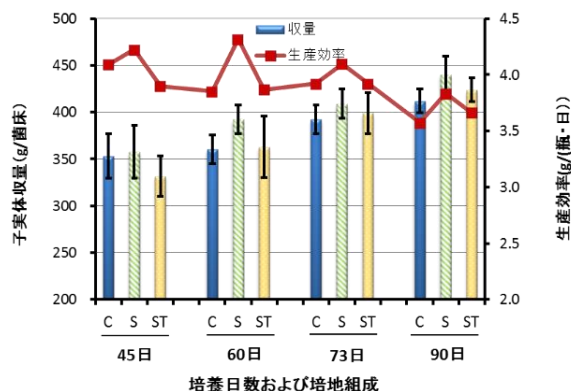
a) ユキノシタの試験結果

ユキノシタの増収培地の検討結果を第5図に示す。

供試した3菌株とも、マメカワ・綿実殻系の増収培地(SS)が基本培地(L)またはコーンコブ系培地(C)に比べ、品質は同等で収量が6~14%増加した。したがって、SS培地は増収培地として有効であることが示唆された。

b) ムキタケの試験結果

ムキタケの増収培地における発生の様子を第6図に、収量および生産効率を第7図に示した。第6図に



第7図 ムキタケの培養日数と培地組成が子実体収量および生産効率に及ぼす影響 (45,60,73,90日:培養日数、C、S、STは第2表参照)

示したように、明らかにマメカワ (S) を添加することで、培養日数にかかわらず、子実体の大型化の傾向が認められた。子実体の収量についてはマメカワとおからを添加したST培地の効果は得られなかったが、マメカワを米ぬかに20%添加したS培地では、60日以上培養日数で増収効果が認められた。また、S培地の60日培養が最も生産効率が高かったことから、この条件が増収かつ子実体の大型化に効果的であることが示された。

4. 成分特性の把握

4.1 食味成分の評価と機能性評価

a) 食味成分の評価方法

供試材料は2.1a)および2.1b)の条件で発生させたユキノシタ (E274,E704) およびムキタケ (HfpriPs10-8) に加え、第3表の条件で発生させたトキイロヒラタケ (HfpriPsm10-1)、コムラサキシメジ (64FA)、ヌメリスギタケモドキ (HfpriPa97-

6)、サンゴハリタケ (HfpriHc73-3)、アミヒラタケ (HfpriPsg82-22) および対照としてマイタケ (HfpriGf433)、タモギタケ (HfpriPc05-3)、シイタケ (購入市販品) の凍結乾燥粉末1.0 gを用いた。食味成分としてアミノ酸および核酸 (5'-ヌクレオチド) は既報⁶⁾に準じて分析し、Yamaguchiらの手法⁷⁾により下記の旨味指標値 (EUC) を算出した。

$$EUC = \sum ai bi + 1.218 (\sum ai bi) (\sum aj bj)$$

(ai : Asp, Gluの含量(g/100g), aj : GMP, IMP, XMP, AMPの含量, bi : Asp, Gluの旨味強度, bj : GMP等核酸の旨味強度)

b) 機能性の評価方法

機能性評価は、抗酸化活性の指標となるDPPHラジカル消去活性およびSOD阻害活性を、皮膚の老化抑制に関与する項目としてエラスターゼ阻害活性およびチロシナーゼ阻害活性を評価した。

供試材料は4.1a)と同一の凍結乾燥物1.0 gに10 mLの抽出溶媒を加えて5~10°Cで1時間超音波抽出を行い、遠心分離後、上清を採取した。抽出操作は3回行い、合わせた抽出液をろ過した。各抽出物を1.0 mg/mL (チロシナーゼ阻害活性は0.5 mg/mL) に調製し、機能性試験に供試した。各試料につき、それぞれ水抽出、50%エタノール抽出、100%エタノール抽出、50% 1,3-ブチレングリコール抽出および100% 1,3-ブチレングリコール抽出を行った。

DPPHラジカル消去活性は須田ら⁸⁾の方法に準じて行った。すなわち、マイクロプレートを用い、50%エタノール溶液となるようにあらかじめ調整した試料液100μLに、0.1 M 2-morpholinethanesulfonic acid (MES) buffer 50 μL, 200 μM DPPH 50 μLを加え、10分後に520 nmでの吸光度を測定し、DPPHラジカルの退色を測定した。SOD様活性はSOD Assay Kit-WST (株) 同仁化学研究所) を使用して測定し

第3表 各菌種ごとの培地組成

| 菌種 | 栽培容器 | 詰め込み量 (g) | 培地基材 | | 培地添加物 | | 培養期間 ¹⁾ (22°C) | 生育期間 ²⁾ (18±1°C) |
|------------------------|---------|-----------|------|------|-------|------|---------------------------|-----------------------------|
| | | | 種類 | 量(g) | 種類 | 量(g) | | |
| トキイロヒラタケ | 850ml瓶 | 500 | カンバ | 95 | フスマ | 80 | 27±1 | 6±1 |
| コムラサキシメジ ³⁾ | コンテナ埋設 | 800 | カンバ等 | 192 | フスマ等 | 88 | 42 ⁴⁾ | 28以上 ⁵⁾ |
| ヌメリスギタケモドキ | 850ml瓶 | 480 | カンバ | 113 | フスマ | 55 | 26 | 32±2 |
| サンゴハリタケ | 850ml瓶 | 600 | カンバ | 136 | 米ヌカ | 80 | 20±1 | 13±1 |
| アミヒラタケ | 850ml瓶 | 500 | カンバ | 95 | フスマ | 80 | 26±1 | 6±1 |
| マイタケ | 2.5kg用袋 | 2,500 | カンバ | 675 | フスマ | 200 | 52 | 17±2 |
| タモギタケ | 850ml瓶 | 460 | カラマツ | 80 | フスマ | 80 | 10±1 | 6±1 |

1) 培養の照明条件: 暗黒下 2) 生育の照明条件: 350 lx (12h)

3) コムラサキシメジはカンバおが粉にパーク堆肥混合菌床に有機土を覆土し、発生させた

4) 菌床の培養終了後、覆土処理を行い、再度培養する期間まで含む 5) 発生操作後の日数

た。エラスターゼ阻害活性はSensoLyte® Green エラスターゼアッセイキットを用い、エラスターゼ活性阻害作用を評価した。濃度を調製した抽出物を添加し、DQエラスチンがエラスターゼに切断される量を測定した。エラスターゼの基質を加えてから60分後に、励起波長 490 nm、測定波長520 nmで蛍光を測定した。ポジティブコントロールとして、ライチ種子エキスLC (BG50%溶液, O社) を試験に供した。チロシナーゼ阻害活性は豊川ら⁹⁾の方法を参考にチロシナーゼ阻害率を算出した。

4.2 食味成分の評価と機能性評価の結果

各指標の評価結果を第4表に示した。旨味指標値はタモギタケが最も高く、ユキノシタおよびコムラサキシメジが比較的高い値を示した。機能性評価について、チロシナーゼ阻害活性の評価では顕著に活性が高い菌種は見出せなかったが、DPPHラジカル消去能はサンゴハリタケが、SOD阻害活性では、マイタケ、タモギタケ、トキイロヒラタケが、エラスターゼ阻害活性ではコムラサキシメジが比較的高い値を示した。本研究では限られた菌株で評価を行った

第4表 各菌種の旨味指標と機能性評価の結果

| 菌種 | 項目 供試濃度 | 旨味指標値 (EUC) ¹⁾ (g/MSG/100g-dry) | 抗酸化活性 | | 皮膚関連指標 | |
|---------------------------|------------|---|--|---------------------------------------|---|--|
| | | | DPPHラジカル 消去活性 ²⁾ 0.125mg/mL | SOD阻害 活性 ³⁾ 1.0mg/mL | エラスターゼ 阻害活性 ⁴⁾ 1.0mg/mL | チロシナーゼ 阻害活性 ⁵⁾ 0.5mg/mL |
| シイタケ | | + | - ^{c)} | + | - ^{a)} | - |
| マイタケ | | + | - ^{e)} | ++ | - | - |
| タモギタケ | | +++ | + ^{c)} | ++ | * ^{a)} | - |
| トキイロヒラタケ | | + | + ^{c)} | ++ | - ^{a)} | + |
| ユキノシタ(E274) | | ++ | - ^{c)} | + | - ^{a)} | - |
| ユキノシタ(E704) | | ++ | + ^{c)} | + | - ^{a)} | - |
| ムキタケ(Ps10-1) | | - | - ^{a)} | + | - ^{d*)} | + |
| コムラサキシメジ | | ++ | + ^{c)} | + | ++ ^{c)} | - |
| ヌメリシギタケモドキ | | - | + ^{d)} | + | - ^{a)} | - |
| サンゴハリタケ | | + | ++ ^{d)} | - | - ^{b)} | + |
| アミヒラタケ | | + | - ^{c)} | + | - ^{b)} | - |
| 対照物質 (対照物質名) 対照物質濃度 | | | +++ ^{b)} (カテキン) | +++ (カテキン) 0.2mg/mL | +++ ^{b)} (ライチ種子エキス) 1.0mg/mL | - ^{b)} (コウジ酸) 0.5mg/mL |

1) 旨味指標値 -:100<、+: ≥100 <300、++: ≥300 <500、+++ :500 ≤

2-5) -:25<、+: ≥25 <50、++: ≥50 <75、+++ :75 ≤

2),4) a):50%エタノール抽出物、b):100%エタノール抽出、c):50%ブチレングリコール抽出、d):100%ブチレングリコール抽出

e):冷水抽出、*:濃度0.5mg/mL

3) 100%エタノール抽出物の評価 5) 100%ブチレングリコール抽出物の評価



第8図 調理例(左からムキタケのハッシュド・ブッフ、ユキノシタの吹き寄せ玉子、トキイロヒラタケの鶏ささみ・クラゲたっぷりソースがけ)



第9図 調理講習会の様子(プロの料理人による実演と参加した消費者の調理・試食の様子)

たが、菌種によって旨味や機能性の特徴が異なることを確認した。

5. レシピ作成と調理講習会による普及

5.1 レシピ作成

ユキノシタ、ムキタケおよびトキイロヒラタケの3種のきのこについて、それぞれ和食・洋食・中華の計9種のレシピと料理例(第8図)を作成し、林産試験場ホームページ上に公開した¹⁰⁾。

5.2 調理講習会

平成26年10月29日に、ニュータイプキノコ調理講習会(第9図:札幌市中央卸売市場調理室,一般消費者36名ほかマスコミ、道庁関係者出席)を開催し、レシピの中からムキタケのハッシュ・ド・ブッフ(洋食)の実演およびユキノシタの吹き寄せ玉子(和食)、トキイロヒラタケと鶏ささみ・くらげたっぷりソースがけ(中華)の試食を行った(第8,9図)。一般消費者の反応も良く、アンケートの結果、きのこの味や健康機能性に関心が高いことを確認した。

6. まとめ

本研究では、短期栽培可能なユキノシタの優良の品種を選抜し、それらの増収培地を見出すとともに、ムキタケ子実体の大型化条件を明らかにした。これらについては、今後、生産施設での実生産における活用が期待される。また、その他の菌種についても、基盤的な栽培条件や成分的な特徴が示されており、今後、ニュータイプの生鮮きのこことしての実用生産や加工による健康食品への展開が期待できる。

消費者への普及として実施したレシピ作成と調理講習会では、普及範囲は限定されるものの、その後マスコミ等による広報効果が得られた。

新規開発品種の普及は、研究と消費者等への普及

の一体的な取組が、有効な手段と考えられた。

謝 辞

レシピ作成を快諾頂いた札幌市調理師団体連合会 高橋 広夫事務局長に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 米山彰造: 林産試だより2015年4月号, ニュータイプきのこの調理講習会, 9-10(2015).
- 2) Yoneyama, S., Gisusi, S., Sato, M., Watanabe, O., : International Society for Mushroom Science Congress (Proceedings of ISMS) , 815-821 (2012).
- 3) 伊東英武, 瀧澤南海雄, 中村米松, 押切靖: 林産試験場報, 3(2), 18-25 (1989).
- 4) 米山彰造, 宜寿次盛生, 佐藤真由美: 第64回日本木材学会大会研究発表要旨集, 松山市, (2014).
- 5) 米山彰造, 加藤幸浩, 東智則, 佐藤真由美, 渡邊治: 日本木材学会第19回大会研講演要旨集, つくば市, 60 (2015).
- 6) 原田陽, 宜寿次盛生, 米山彰造: 日本きのこ学会誌, 20 (1), 16-21, (2012).
- 7) Yamagichi, S., Yoshikawa, T., Ikeda, S., et al. : J. Food Sci., 36: 846-849, (1971).
- 8) 須田郁夫: 食品の機能性マニュアル集, 16 (1999).
- 9) 豊川哲也, 与那嶺郁乃: 沖縄県工業技術センター報告書第10号, 61-63 (2008).
- 10) 林産試験場ホームページ, マニュアル特集, 道産ニュータイプきのこレシピ集: <http://www.hro.or.jp/list/forest/research/fpri/manual/kinoko5/kinoko.htm>

一利用部 微生物グループ
(原稿受理: 15.11.19)