

原著論文

湯がき温度別による栽培マッシュルーム中のアガリチンの分解

Degradation of Agaritine in Cultivated Mushroom, *Agaricus bisporus* According to Blanching Temperature

眞木俊夫^{*,**}, 川井菜菜子^{**}, 朝日直人^{*}, 岩井秀明^{*,***}

Toshio Maki^{*,**}, Nanako Kawai^{**}, Naoto Asahi^{*}, and Hideaki Iwai^{*,***}

^{*}武蔵野栄養専門学校, ^{**}元東京聖栄大学, ^{***}武蔵丘短期大学

Abstract

The amount of agaritine in mushroom (*Agaricus bisporus*), broth after blanching in 60°C, 80°C, and 100 °C hot water for 1min., 5min., and 10min., was determined by high performance liquid chromatography, as 1,523 ± 122 μg (dry weight) after 1 min. heating process at 60°C, 1,134 ± 177 μg after 5 min., and 897 ± 142 μg after 10 min., respectively. Each blanching broth was 1 μg or less after 1 min., and 5 min., and 141 ± 35 μg after 10 min., respectively. At 80 °C, amount of agaritine was 834 ± 136 μg, 584 ± 157 μg and 483 ± 128 μg after 1, 5, and 10 min., respectively. The blanching broth at that time was 70 ± 14 μg after 1 min. 498 ± 58 μg after the lapse of 5 min. and 637 ± 132 μg after 10 min. At 100 °C, amount was determined as 810 ± 131 μg, after 1 min. 456 ± 117 μg after 5 min., and 326 ± 90 μg after 10 min., respectively. The blanching broth at that time had 207 ± 48 μg after 1 min., 570 ± 71 μg after 5 min. and 814 ± 171 μg after 10 min. Agaritine content in the mushroom decreased as the blanching temperature and as its time increased and correspondingly the agaritine content in the blanching broth increased. The primary decomposition reaction rate of agaritine at that time in blanching broth was rapidly decomposed up to the first 1 minute. It was also found that the decomposition rate increased as the blanching temperature increased. In consideration of food and cooking safety it is better to refrain from the use of mushroom blanching broth on future occasions.

Key words : *Agaricus bisporus*, agaritine, cultivated mushroom, blanching time

I はじめに

マッシュルーム (和名ツクリタケ) *Agaricus bisporus* (J.Lange) Imbach. は、ハラタケ科、ハラタケ属の食用キノコである。本菌は、全体が白～帯白色、傘は球形で柄はやや短く太い。ヒダはピンクから肉褐色を呈する¹⁾。胞子は広楕円形、肉は厚く白色で、空気に触れると紅色になる特徴を有する。人工栽培が容易で、ヨーロッパや北米を中心に世界各地で最も多く生産されている²⁾。我が国の生産量は、年間約 2500t、輸入缶詰は 12,000t と消費の大部分は後者が占める。品種は、白色系、淡黄色系、褐色系などがあり、特に白色系が多く出回っている。マッシュルームにアガリチンが含有されていることを 1961 年、Levenberg³⁾ がマッシュルームの圧縮ジュースから L-グルタミン酸を含む化合物として

単離した。その後、フェニルヒドラジン誘導体である 8-(N-(γ-L(+)-glutamyl)4-hydroxymethylphenylhydrazine) と判明した。分解温度は 205-209°C、水に易溶、通常の有機溶媒に不溶、熱や酸素に対して安定性が低く⁴⁾、体内では消化管から吸収され易い特徴がある。

国際発がん研究機関 (IARC) による発がん性物質の分類に従うと、アガリチンは「ヒトに対する発癌性について分類できない」第 3 グループに分類されている。しかしながら、マウス体内でアガリチンは 4-(hydroxyl methyl)benzenediazonium ion (4-HMBD) に代謝され、Walton ら⁵⁾ は、この 4-HMBD が強い突然変異原性あるいは発がん性を有することを確認した。Hashida ら⁶⁾ もキノコ本体の抽出エキスをマウスの膀胱腔内に埋込させた試験

により発がん性を認め、一方、Toth ら⁷、Andersson ら⁸は、マウスに餌として投与しても発がん性は認められなかったものの、4成分のフェニルヒドラジン誘導体は、腫瘍を誘発し分解生成物のリスクを指摘した。さらに、2006年2月、厚生労働省⁹は、アガリクスを含む製品のラットを用いた中期多臓器発がん性試験を実施し、1製品から発がんプロモーション作用を認めた。これをもって自主的な販売停止と回収を企業側に指示した。

アガリチンの安定性について、Hajslova ら¹⁰、Schulzova ら¹¹、Mohamed ら¹²は、アガリチンを煮沸したとき、Liu ら¹³は、5日間低温貯蔵したとき、Andersson ら¹⁴は、缶詰製造したとき、それぞれ分解・減少することを確認しアガリチンの不安定さを指摘している。これら分解・減少により生成する分解生成物の動態が懸念される。それにも関わらず、一般家庭で調理される湯がき温度とその時間によるアガリチン量と分解生成量との関係を明らかにした報告が殆ど見られない。そこで、湯がきによるマッシュルーム中のアガリチン残存量、湯がき汁中への溶出量および分解生成量の動態を明らかにし、食の安全性確保への一助とすることを目的とした。併せて HPLC 分析条件を検討した。

II 実験方法

(1) 試料

白色系のマッシュルーム（国内産：大手スーパーで購入）

(2) 試薬および標準溶液

アガリチン試薬：和光純薬工業株式会社製

アガリチン標準溶液：上記の試薬 10mg を精秤し、メタノールを加えて全量を 10mL にしたものを標準原液とした。さらにメタノールを加えて 5、30、50、100 μ g/mL の標準溶液を調製し、HPLC 用標準溶液とした。その他の試薬類は全て特級品を用いた。

(3) 装置

高速液体クロマトグラフィー LC-20AT 型

(SHIMADZU 製)

検出器 SPD-20 型 (SHIMADZU 製)

ワーリングブレンダー ULTRA TURRAX T25

(IKA 製)

(4) HPLC 用試験溶液の調製

汚れをふき取ったマッシュルーム 10g を 60 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C、100 $^{\circ}$ C にした湯 10mL にそれぞれ加え、1分、5分、10分間湯がきを行い、加熱処理したマッシュルームと湯がき汁に分けた。マッシュルームは、メタノール 30mL を加えホモジナイズ後、15分振とう抽出した。この操作を2回繰り返す、先のメタノール抽出液と合わせて、ADVANTEC2 でろ過した。ろ液を減圧濃縮しメタノールで 25mL に定容した。このメタノール抽出液全量をディスポーザブルメンブランフィルター DISMIC-25HP (0.45 μ m) でろ過し、HPLC 用試験溶液とした。また、湯がき汁は全量を減圧濃縮し移動相で 10mL に定容した。この溶液を DISMIC-25HP でろ過し HPLC 用試験溶液とした。

(5) HPLC の分析条件

カラム：LiChrosorb RP-18 10 μ m (4.6 \times 250mm)
移動相：0.01%酢酸：メタノール (9：1)、測定波長：237nm、流速：0.8mL/分、注入量：10 μ L

(6) 定量

各試料溶液を(6)の HPLC の分析条件に従って分析を行い、標準溶液 5~100 μ g/mL のピーク高法によって予め作成した検量線により定量した。

(7) 水分量

試料 1g を精秤し、110 $^{\circ}$ C の温熱乾燥器で 1 時間乾燥し、減量から水分含量を算出した。

III 結果

(1) HPLC カラムおよび移動相の検討

図 1 にアガリチン標準溶液 (50 μ g) および生マッシュルームから抽出したアガリチンの HPLC クロマトグラムを示した。HPLC 分析の移動相に水溶液やメタノールもしくは pH の変更が可能である逆相系カラム ODS-3、ODS-4、RP-18 の 3 種を用いて検討した。3 種のカラムに移動相として 50%メタノール水溶液を用いたところ、定性、定量分析に不適な 2 本の非対称形のブロードピークが得られた。そこでメタノールに各 0.01%、0.1%、0.3%酢酸を添加し両液を 1：1 に調製後分析を行った。

その結果、RP-18 カラムに 0.01%酢酸メタノール混合液により 1 本のクロマトグラムが得られた。再度、詳細に検討し 0.01%酢酸：メタノール (9：1)

の移動相のとき良好な HPLC クロマトピークを得ることができた。この条件下によるアガリチン標準溶液および試料の保持時間は確保され、20 μg ～100 μg の範囲内で直線性のある検量線が得られた。

また、マッシュルームからの分析も妨害なく安定した定量分析が可能であった。さらに、生マッシュルームにアガリチン標準溶液 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を添加し、回収率を求めたところ 82～88% が得られた。

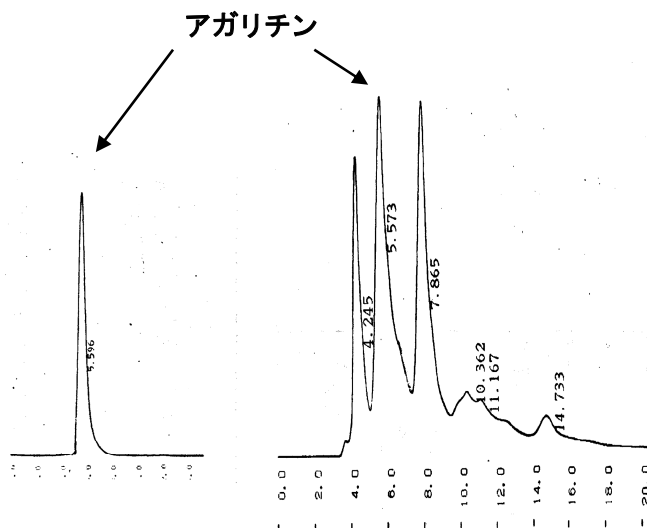


図 1. アガリチンの HPLC クロマトグラム (LiChrosorb RP-18、0.01%酢酸：メタノール (9 : 1) アガリチン標準液 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (左)、生マッシュルームのメタノール抽出液 (右))

(2) マッシュルームおよび湯がき汁中のアガリチン量

表 1 に生マッシュルームおよび湯がき温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ でそれぞれ 1 分間、5 分間および 10 分間湯がいたときのマッシュルームおよび湯がき汁中のアガリチンの分析結果を示した。実験は 3 回繰り返し、アガリチン量は、平均値 \pm 標準偏差を乾燥重量に換算し表した。尚、マッシュルームの水分は 95% から 98% であった。HPLC の検出限界は原試料に換算して 1 μg であった。実験に用いた生マッシュルームには、1,796 $\mu\text{g}/\text{g}$ のアガリチンが含有していた。

まず、1,796 $\mu\text{g}/\text{g}$ のアガリチンを含有する生マッシュルームを 60 $^{\circ}\text{C}$ の Milli Q 水に入れ、1 分間湯がいたとき、アガリチンは 1,523 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。その後、湯がき時間を長くすると残存量は減少傾向を示した。次に 80 $^{\circ}\text{C}$ の場合、1 分間では 834 $\mu\text{g}/\text{g}$ が得ら

れ、100 $^{\circ}\text{C}$ は 810 $\mu\text{g}/\text{g}$ で、双方の湯がき温度でも時間を長くすると、残存量は経時的に減少傾向を示した。特に 100 $^{\circ}\text{C}$ 、10 分間では僅か 326 μg しか残存せず全温度、全時間の中でも最低量であった。湯がき時間と温度において残存量に変動が見られたので t 検定を行った。それぞれの湯がき時間における 60 $^{\circ}\text{C}$ と 80 $^{\circ}\text{C}$ 間、60 $^{\circ}\text{C}$ と 100 $^{\circ}\text{C}$ 間で有意差 ($p < 0.05$) を認めた。しかしながら、80 $^{\circ}\text{C}$ と 100 $^{\circ}\text{C}$ 間の間では有意差は認められなかった。一方、60 $^{\circ}\text{C}$ の湯がき汁への溶出量は、比例せず 10 分間でも僅か 141 μg に留まった。80 $^{\circ}\text{C}$ になると 60 $^{\circ}\text{C}$ に比較して飛躍的に溶出量が増える傾向にあった。100 $^{\circ}\text{C}$ でも 80 $^{\circ}\text{C}$ と同様の傾向が見られた。

化学構造が未だ不明な分解生成物は、特定の分解物を分析することは不可能であった。従って、分解生成量は生マッシュルーム中のアガリチン量から残存量と溶出量を差し引いた量として算出した。

湯がき温度別による栽培マッシュルーム中のアガリチンの分解

表 1. 湯がき温度によるマッシュルーム及び湯がき汁中のアガリチン量

		湯がき時間			
湯がき温度		0分	1分間	5分間	10分間
60℃	キノコ残存量	1,796	1,523±122 ^{a1}	1,134±177 ^{b1}	897±142 ^{c1}
	湯がき汁溶出量	0	1以下	1以下	141±35
	分解生成量	0	273	662	758
80℃	キノコ残存量	1,796	834±136 ^{a2}	584±157 ^{b2}	483±128 ^{c2}
	湯がき汁溶出量	0	70±14	498±58	637±132
	分解生成量	0	892	714	676
100℃	キノコ残存量	1,796	810±131 ^{a3}	456±117 ^{b3}	326±90 ^{c3}
	湯がき汁溶出量	0	207±48	570±71	814±171
	分解生成量	0	779	770	656

単位：μg/g 乾燥重量

湯がき時間 1 分間；60℃(a1) vs 80℃(a2) (p<0.05)、60℃(a1) vs 100℃(a3) (p<0.05)
 湯がき時間 5 分間；60℃(b1) vs 80℃(b2) (p<0.05)、60℃(b1) vs 100℃(b3) (p<0.05)
 湯がき時間 10 分間；60℃(c1) vs 80℃(c2) (p<0.05)、60℃(c1) vs 100℃(c3) (p<0.05)

分解生成量は 60℃では 10 分間がピークとなったが、80℃、100℃では 1 分間をピークに 5 分間以降減少に転じ、10 分間まで殆ど一定で推移した。さらに、分解生成量を生マッシュルーム中に存在するアガリチン量で割った値をアガリチン分解生成率とし、温度との関係を図 2 に示した。湯がき開始 1 分間の

分解生成率は、極めて異なる動態を示した。即ち、60℃は 15%、80℃が 50%、100℃は 43%であった。その後、60℃は緩慢であるが上昇した。しかしながら、80℃、100℃は殆ど上昇することもなく、分解までの時間に差があるものの、10 分間ではどの温度でも 40%程度とほぼ一定になった。

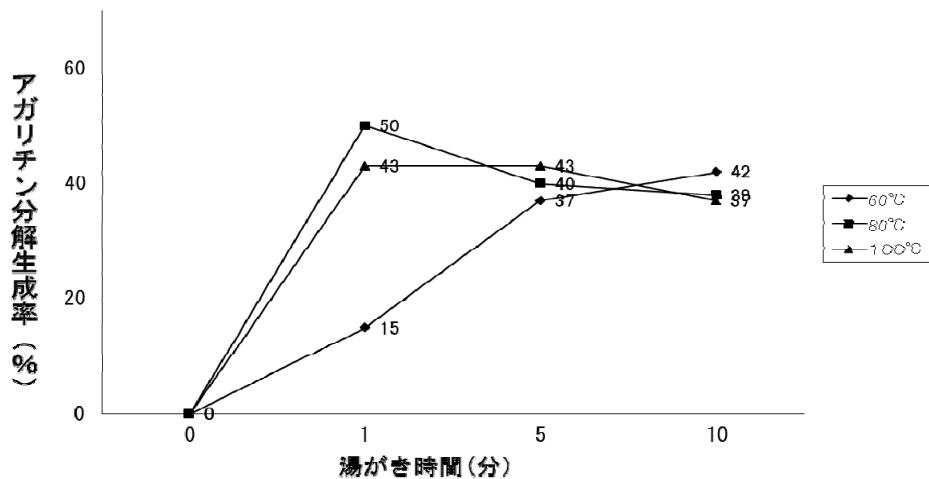


図 2. 湯がき時間における湯がき温度とアガリチン分解生成率との関係

表 2. 湯がき温度によるアガリチンの一次分解反応速度

湯がき温度	1 分間湯がき	5 分間湯がき	10 分間湯がき
60°C	1.7×10^{-5} mol/s	8.0×10^{-6} mol/s	5.5×10^{-6} mol/s
80°C	6.0×10^{-5} mol/s	1.5×10^{-5} mol/s	8.2×10^{-6} mol/s
100°C	6.2×10^{-5} mol/s	1.7×10^{-5} mol/s	9.2×10^{-6} mol/s

(3) 湯がきによるアガリチンの一次分解反応速度

生マッシュルーム中のアガリチン残存量は、湯がきにより減少することから、湯がき温度とその時間との関係から一次分解反応速度を求めた。まず、得られたアガリチン量(μg)をモル濃度に換算し、湯がき時間で割って1秒当たりの一次分解反応速度を算出した。その結果を表2に示した。いずれの湯がき温度も1分間の場合が 10^{-5} mol/s レベルで最も高いアガリチン一次分解反応速度であることが分かった。また、いずれの湯がき温度でも時間を長くすると、一次分解反応速度は徐々に緩慢となり、1分間のときの約1/10の 10^{-6} mol/s レベルに減少した。60°Cの1分間の一次分解反応速度を1とすると、5分間が1/2倍、10分間では1/4倍と遅くなり、80°Cは5分間が1/4倍、10分間は1/7倍と遅くなり、100°Cになると5分間が1/4倍、10分間は1/7倍に遅くなった。即ち、いずれの湯がき温度でも開始1分間の速度が最速を示し、湯がき温度が100°Cのときが最速であった。このことから、アガリチン残存量が多量であると一次分解反応速度は速く、時間が長くなると分解速度は緩慢になった。また、湯がき温度が高いほどアガリチン残存量は増加し、一次分解反応速度は速くなった。

IV 考察

(1) HPLC カラムおよび移動相の選択

図1に $50\mu\text{g/mL}$ のアガリチン標準溶液および生マッシュルーム抽出液のHPLCクロマトグラムを示した。アガリチン標準溶液のクロマトピークは対称形が得られ、また、試料からも殆ど妨害もなく実用的な分析条件であった。

これまでアガリチンのHPLCのカラムとしてSperoniら¹⁵⁾、Fischerら¹⁶⁾は、陽イオン交換カラムを、Schulzovaら¹⁷⁾、Kondoら¹⁸⁾は逆相カラムを、Nagaokaら¹⁹⁾は蛍光誘導体化法を用いてい

る。移動相はSchulzovaらは、メタノール水溶液を、Kondoらは、酢酸とメタノールの混合液で検討している。

今回、移動相に水溶液を用いることができ、かつ応用範囲が広い逆相系カラム ODS-3、ODS-4、RP-18 の3種を用いて検討した。まず、ODS-3カラムに50%メタノール水溶液を移動相として分析を行ったところ、2本のブロードピークが得られた。これは吸脱着の関係が良好でないことを示した。この関係はODS-4、RP-18でも同様であった。そこで、吸脱着の改善を試みるためにメタノール・酢酸溶液で分析を行った。しかし、酢酸濃度によっては2本のピークに割れて、双方のピークが重なり合うショルダーピークを描き定性、定量分析には不適な結果になった。この現象はODS-4カラムでも同様であった。次にRP-18カラムで試みたところ、前の2種のカラムと異なる1本の対称形のピークを得たので、両溶液の混合比を再度詳細に検討し、0.01%酢酸：メタノール(9:1)の移動相のとき良好なピークが得られた。マッシュルームからのアガリチンは、ややテーリングが見られたものの定量分析に支障はなかった。

(2) 湯がきによるマッシュルームおよび湯がき汁中のアガリチンの変量

白色系のマッシュルームは、収穫時の取り扱いが悪いと短時間で褐変が発生する。また、開傘も20°Cの貯蔵では1~2日で劣化が起きる。この劣化を抑えるには、収穫後できるだけ早く品温を下げることや包装内を窒素ガスで置換するなどの対策が必要であるとされている²⁰⁾。今回、劣化が起きないうちに実験を開始した。Schulzovaら¹¹⁾は、アガリチンは傘の上皮とヒダに多く含まれ、柄の部分は少ないと述べている。採取時期、生育環境、キノコの部位など部位によってアガリチン含有量に大きな違いが見られた。実験に供するキノコの選定に長時間を要

したが、白色系の同一ロット品かつ同濃度のアガリチンを確保することを最優先にした。

これまで報告されているアガリチン含有量の実態調査は、Lovenberg ら³⁾は 400 $\mu\text{g/g}$ 、Hajslova ら¹⁰⁾は 200~450 $\mu\text{g/g}$ 、Liu ら¹³⁾は 880 $\mu\text{g/g}$ 、Andersson ら¹⁴⁾は 212 $\mu\text{g/g}$ 、Hashida ら⁶⁾は 228 $\mu\text{g/g}$ 、Fischer ら¹⁶⁾は 2,110~6905 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量、Schulzova ら¹⁷⁾は 272 $\mu\text{g/g}$ 、Kondo ら¹⁸⁾は 198 $\mu\text{g/g}$ (2,017 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)、Sharmann ら²¹⁾は 100~250 $\mu\text{g/g}$ が含有していると報告している。今回、実験に用いた生マッシュルーム含有量は 1,796 $\mu\text{g/g}$ 乾燥重量で報告されている範囲内であった。

キノコ類や葉物類の湯がきは一般的に沸騰水が用いられる。このことを考慮して、60 $^{\circ}\text{C}$ 、80 $^{\circ}\text{C}$ および 100 $^{\circ}\text{C}$ の3段階に設定した。湯がき時間は長くても数分以内であることから1分、5分および10分間を設けた。また、湯がきに用いる上水は塩素などが含有されることから、アガリチンへの分解の影響を限りなく抑えるために MilliQ 水を用いた。表1に示したように、湯がき温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、1分間のときの残存量が最も多く、温度の影響がまだ見られないことが分かった。一方、80 $^{\circ}\text{C}$ 、100 $^{\circ}\text{C}$ の場合は強い影響を受けていた。その減少は、60 $^{\circ}\text{C}$ と80 $^{\circ}\text{C}$ 間では大幅な差が観察された。即ち、100 $^{\circ}\text{C}$ 、1分間湯がいたとき、残存量は開始前の約2分の1量を示し、80 $^{\circ}\text{C}$ とほぼ等しい量であった。ここから80 $^{\circ}\text{C}$ はアガリチンの温度の影響を強く受ける下限ではないかと思われた。さらに、湯がき時間が長くなるにつれて残存量は減少していた。100 $^{\circ}\text{C}$ 、10分間では僅か326 μg しか残存しておらず最低量であり、その反面、溶出量はどの温度でも時間を掛けると増加し、分解生成量はどの温度でも変化しないことが分かった。その傾向は80 $^{\circ}\text{C}$ と100 $^{\circ}\text{C}$ とが酷似したが100 $^{\circ}\text{C}$ の方が顕著であった。

また、アガリチンの分解は、湯がき温度よりキノコ中の酵素が促進させるのではないかと懸念された。しかし、Hajslova ら¹⁰⁾、Gigliotti ら²²⁾は、キノコ中の α -グルタミルトランスフェラーゼは、加熱により失活されたにも関わらずアガリチンの分解は停止することはなかったと報告している。このことから、今回の湯がき温度 100 $^{\circ}\text{C}$ での分解は、酵素によるも

のでないと推察した。キノコ類や葉物類の湯がきは、鍋など調理器具を用いて開放系で行うが、Hajslova ら¹⁰⁾はアガリチンを開放系の水溶液中に放置すると48時間で完全に分解し、酸素の影響があることを指摘した。しかし、本研究の湯がき時間は、Hajslova らの実験より極めて短い10分間であること、また、湯がき温度が高くなるほど残存量が減少することなどを考え合わせると、酸素の影響より加熱による影響の方が大きいと思われた。

(3) アガリチンの湯がき汁への溶出速度

湯がき汁への溶出量は、全般的に湯がき温度に比例していた。60 $^{\circ}\text{C}$ の場合は 1 $\mu\text{g/g}$ 以下と HPLC 分析の検出限界であった。また、80 $^{\circ}\text{C}$ でさえも 70 $\mu\text{g/g}$ と低レベルを示した。しかも、アガリチンは水溶性が高いことから、大部分が湯がき汁に溶出するものと思われたが、全体に低く推移した。しかしながら、100 $^{\circ}\text{C}$ になるとマッシュルームの表面は、柔らかくなっていくことを認めた。この状態を Biekman ら²³⁾も5分以内にキノコの中心部まで熱が伝わり、表面が収縮し水溶性化合物は、湯がき汁へ移行し易くなることを明らかにした。この現象は温度が高い方が顕著であると考えた。事実、100 $^{\circ}\text{C}$ での溶出量は一気に増量していることから伺えた。つまり、アガリチンは、マッシュルームの組織から外部に溶出する速度が変わってくると考え溶出速度を求めた。その結果、100 $^{\circ}\text{C}$ でみると1分間の溶出量を1としたとき、Biekman らの5分間における2倍よりやや低い1.5倍の速度で溶出していることが分った。

(4) アガリチンの湯がき温度による分解生成率

表1に示したように、湯がき温度とその時間が関与しているにも関わらず、60 $^{\circ}\text{C}$ 、1分以外の分解生成量は殆ど一定であった。そこで、その変化から分解生成率を求め図2に示した。80 $^{\circ}\text{C}$ の分解生成率は湯がき開始から50%と高率を示した。これは60 $^{\circ}\text{C}$ と大きく異なる点であった。しかし、5分間以降では上昇することはなく、むしろ下降傾向が見られた。60 $^{\circ}\text{C}$ で湯がき開始した場合、分解生成率を1とすると、5分間では2.4倍、10分間で2.8倍であった。80 $^{\circ}\text{C}$ では5分間は1.1倍、10分間は0.9倍に、100 $^{\circ}\text{C}$ であると5分間は0.8倍、10分間が1倍であり、60 $^{\circ}\text{C}$ 以外は殆ど分解生成率が増加していなかった。このことからアガリチン分解の下限は、60 $^{\circ}\text{C}$ 、10分間辺

りであることが示唆された。このようにアガリチンは、家庭内で行う湯がき温度としては低い60°Cでも湯がき時間が長くと容易に分解し分解生成量は多くなることが分かった。Schulzova ら¹¹⁾、Liu ら¹³⁾、Fisher ら¹⁶⁾も沸騰水で5分以内の湯がきで分解生成率は54%から75%の範囲を示している。分解までの時間は程度の差はあるものの、家庭内でキノコ類や葉物類を湯がくときは100°Cを用いることが想定される。本研究では開始1分間の分解生成率は43%で、最終的にどの温度でも分解生成率は40%程度に落ち着くことが明らかになった。

(5) 湯がき時間による一次分解反応速度

湯がき温度や短時間の湯がきでアガリチンは容易に分解することが分かった。しかし、その分解は温度や時間に必ずしも比例していないことも分かった。その要因の一つに、アガリチンの分解する速度の違いがあるからと考え、表1に示したアガリチン残存量から湯がき時間で割って1秒当たりの一次分解反応速度を算出した(表2)。即ち、一定の湯がき温度であっても時間を長くすると分解速度は遅くなり、一定の湯がき時間でも温度が高くなると分解速度は速くなることが分かった。

Schulzova ら¹¹⁾もツクリタケを用いて25°Cから60°Cのとき、アガリチンの一次分解反応速度は、 10^2 mol/s から 10^7 mol/s の範囲で算出されたが、今回の実験温度は、Schulzova らの温度とかなり異なるために一概に比較はできなかった。また、Hajslova ら¹⁰⁾は、アガリチンの分解速度は、4°Cから22°Cの水温度範囲ではほぼ同一であったが、水溶液のpHが中性より酸性になると遥かに速く、模擬胃酸(pH1.2)中でインキュベートして確認している。しかし、今回、キノコ類の湯がきに焦点を合わせたことから、酸性またはアルカリ性水溶液を用いた実験は試みていないが、酸やアルカリ濃度の違いによる検討も必要と思われる。キノコ類の湯がきに60°C以下は現実的ではないものの、60°C以下の様に低温で5分以内の湯がきであれば、一次分解反応速度をできるだけ抑制させる可能性が示された。

(6) アガリチンの分解生成物

これまで分解生成物について、Hajslova ら¹⁰⁾は、複数の紫外外部吸収のクロマトピークを得ているが、著者らも生マッシュルームから複数のピークを検出

している。加熱により得られる分解生成物と体内での代謝産物とが同一であるか確認できていない。

アガリチンの分解を抑制する調査としては、酸化防止剤であるジチオスレイトールの添加、アルゴンガスの充填、メタノールに溶解させた場合など分解は抑制的あるいは安定であったとする報告⁵⁾があるが、これらは実験レベルの薬剤であり実用的とは思えない。また、開放系と非開放系のそれぞれのデュアル瓶を用いて室温放置したとき、開放系の方が遥かに速く分解することを観察している。しかし、調理鍋に蓋をして湯がいてもアガリチンの分解に十分な抑制効果が期待できるとは考えにくい。

マッシュルームは、戦後、わが国の食生活の欧米化に伴い広く料理に用いられるようになった。欧米では生のままサラダに使われ、シコシコした歯ざわりが好まれている。一方、我が国ではスープなど加熱料理に用いられることが多い。生のままサラダにして喫食することはアガリチンを直接摂取することになる。日本人の年間マッシュルームの消費量は、 $0.27 \sim 0.55 \text{ g/日}$ ²⁰⁾である。従って、一生涯食べ続けた場合、生マッシュルームは7人/100万人、100°C、5分加熱した場合、2人/100万人の確率でガンが発生すると考えられる²⁰⁾。

アガリチンは如何なる時間に分解が起こるか正確なところは不明だが、湯がきによる分解生成物が生じることは確かである。食の安全性を鑑みると、発がん性や突然変異原性の疑いを有する分解生成物についての確認および生成抑制法など検討が必要である。最小限の分解生成量を得る条件を見出すことは食の安全性のために重要なことと思われる。

V 結論

マッシュルーム中のアガリチンのHPLC分析条件を検討し、湯がきによるアガリチンの残存量、溶出量および分解生成量の実態調査を時系列で明らかにした。湯がき温度60°Cでも長く行えばアガリチンは速やかに減少したが、温度が高い方が著しかった。また、アガリチンの分解速度は、各湯がき温度でも1分間のときが最速であったが、同一温度でも湯がき時間を長くすれば1秒当たりの速度は下降することが分かった。湯がき汁への溶出率が50%に達するには100°Cでも10分間以上必要であった。化学構

造が不明で、かつ突然変異性が疑われている分解生成物が高濃度に生成され、湯がき汁に溶出することから可能な限り湯がき汁を別の料理に使用しない方がよいことが分かった。

【参考文献】

- 1) 原色日本新日本菌類図鑑(I)、今関六也 本郷次雄、p148、保育社、東京 (1987).
- 2) The Agaricales in Modern Taxonomy, Singe R., p484, Germany (1982).
- 3) Levenberg, B. Structure and enzymatic cleavage of agaritine, a phenylhydrazine off-L-glutamic acid isolated from Agaricaceae. J. Am. Chem. Soc. 83, 503 (1961).
- 4) The MERCK INDEX p.174 (1976). Ninth Edition published by MERCK & Co. Inc. RAHWAY, N.J. U.S.
- 5) Walton K., Coombs M.M., King L.T., Walken R., Ioannides C. Fate of the mushroom hydrazine agaritine in the rat and mouse. Nutr. Cancer 37(1), 55-64 (2000).
- 6) Hashida, C., Hayashi, K., Jie, L., Haga, S., Sakurai, M., and Shimizu, H. Quantities of agaritine in mushrooms (*Agaricus bisporus*) and the carcinogenicity of mushroom methanol on the mouse bladder epithelium. Nippon-Koshu Eisei-Zasshi 37(6), 400-405 (1990).
- 7) Toth, B. Sornson, H. Lack of carcinogenicity of agaritine by subcutaneous administration in mice Mycopathology 85(1), 75-79 (1984).
- 8) Andersson, H.C., and Gry, I. Phenyl-Hydrazine in the Cultivated Mushroom (*Agaricus bisporus*) occurrence, biological properties, risk assessment and recommendations. TemaNord 558 (2004).
- 9) 厚生労働省、アガリクス (カワリハラタケ) を含む製品の安全性に関する食品安全委員会への食品健康影響評価の依頼について www.mhlw.go.jp/houdou/2006/02/h0213-3.html
- 10) Hajslova J., Hajkova L., Schulzova V., Frandsen H., Gry J., Andersson H.C. Stability of agaritine - a natural toxicant of *Agaricus mushrooms*. Food Additives and Contaminants 19(11), 1028-1033 (2002).
- 11) Schulzova V., Hajslova J., Peroutka R., Gry J., Andersson H.C. Influence of storage and household processing on the agaritine content of the cultivated *Agaricus mushroom*. Food Additives and Contaminants 19(9), 853-862 (2002).
- 12) Mohamed, E. M. Chemical profile, agaritine and selenium content of *Agaricus bisporus*. Braz. Arch. Boil. Tech-nol. 55(6), 911-920 (2012).
- 13) Liu J.W., Beelman R. B., Lineback D., R., Speroni J.J. Agaritine content of fresh and processed mushroom *Agaricus Bisporus*. Food Science 47(5), 1542-1544 (1982).
- 14) Andersson H.C., Hajslova J., Schulzova V., Panovska Z., Hajkova L., Gry J. Agaritine content in processed foods containing the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) on the Nordic and the Czech market. Food Additive and Contaminants. 16(10), 439-446 (1999).
- 15) Speroni, J. J. and Beelman, R.B. High performance liquid chromatographic determination of agaritine in cultivated mushrooms. J. Food Sci. 47, 1539-1541 (1982).
- 16) Fischer, B. Luthy, J. and Schlatter, C. Gehaltsbestimmung von agaritin im zuchtchampignon (*Agaricus bisporus*) mittels hochleistungs-flussigchromatographic (HPLC). Z. Lebensm Unters Forsch. 179, 218-223 (1984).
- 17) Schulzova, V. Hajslova, J. Peroutka, R. Hlavasek, J. Gry, J. and Andersson, H.C. Agaritine content of 53 *Agaricus* species collected from nature. Food Additives and

- Contaminants 26(1), 82-93 (2009).
- 18) Kondo, K. Watanabe, A. Iwanaga, Y. Abe, I. Tanaka, H. Hamano, M. Akiyama, H. and Maitani, T. Analysis of agaritine in mushrooms and in agaritine-administered mice using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Life Sci.* 834, 55-61 (2006).
 - 19) Nagaoka M.H., Nagaoka H., Kondo K., Measurement of a Genotoxic Hydragine, Agaritine, and Its Derivatives by HPLC with fluorescence Derivatization in the *Agaricus* mushroom and its products. *Chem. Pharm. Bull.* 54(6), 922-924 (2006).
 - 20) キノコの科学、菅原龍幸編、p22、129、朝倉書店、東京 (2003)
 - 21) Scharman M., Patey A. L., and Gilbert J. A survey of the occurrence of agaritine in U.K. cultivated mushrooms and processed Mushroom products. *J. Food Additives and Contaminants* 7(5), 649-656(1990).
 - 22) Gigliotti H.J., and Levenberg B. Studies on the γ -Glutamyltransferase of *Agaricus bisporus*. *J. Bio. Chem.* 239 (7), 2274-2284 (1964).
 - 23) Biekman, e.S.a., Kroese-Hoedeman, H.I and Schijvens, E.P. H.M. Loss of solutes during blanching of mushrooms (*Agaricus bisporus*) as a result of shrinkage and extraction. *J. Food Engineering* 28, 139-152 (1996).
 - 24) 穂山浩、近藤一成、マッシュルームおよびアガリクス中のアガリチンおよびフェニルヒドラジン誘導体について *食衛誌* 48(5), J397-400 (2007).