

茸類の生化学的研究—V

茸菌系の液内培養に就て

橋本 一哉 磯部 信昭 高橋善次郎

BIOCHEMICAL STUDIES ON THE MUSHROOMS—V PRODUCTION OF MUSHROOM MYCELIUM IN SUBMERGED CULTURE

Kazuya Hashimoto, Nobuaki Isobe and Zenjiro Takahashi

The purpose of this work was to investigate the suitability of glucose-peptone medium as a source of protein and riboflavin, for the production of mushrooms, *Psalliota bispora*, *Pholiota namako* and *Cortinellus shiitake*, in submerged culture.

The following results were obtained.

- 1) Higher growth promoting efficiencies were found with the addition of yeast extract solids. The yield of mycelium almost doubled when suitable amount of yeast extract solids was added.
- 2) The protein content of these mycelia of *P. bispora*, *P. nameko* and *C. shiitake* on a dry weight basis were 35%, 42% and 40%, respectively.
- 3) The initial optimal pH of *P. bispora* was at 6.0, but *P. nameko* and *C. shiitake* grow covering a wide range of pH. Yield of latters were considerable at pH 5.0 as well as at 7.0.
- 4) The optimum glucose concentration for the growth of *P. bispora*, *P. nameko* and *C. shiitake* were 2%, 3% and 3%, respectively.
- 5) The amount of riboflavin of *P. nameko* was 70 to 90% per gr. during mycelial growth, but that of *C. shiitake* was negligible.
- 6) The composition of organic acids in mycelium were different. The amounts of malic acid were very small when compared with the fruit-bodies.

緒 論

茸類の或る種のもは料理の珍味として讚美されており、特に蛋白及びビタミンの給源として興味深いものである。

茸類の培養としては欧米では *Agaricus* の栽培が大きき、我国に於ては *shiitake* や *nameko* が重要な産業の基礎を成している。しかし compost を用いて栽培されたマッシュルームの或る割合はスープ其の他に加える前に切断パウダーとされるので、より安価な液内培養のプロセスで作られた茸類の菌糸体に対する潜在的な市場がある様に思われる。

A. campestris の液内培養による最初の研究は1948年に Humfeld によって成された。以来数多

くの研究がある然も生産された菌糸体は栄養価の点では非常に優れており茸類の子実体や食糧酵母に比して決して劣らないことも知られているにもかかわらず多くの問題点があり今だ実用の域には達していない。

我々は茸類菌糸体の大量生産方式に近ずけるために、菌体の生理研究を主として我国特産のシイタケ、ナメコを平行しつつ実験を試みた。

実 験 方 法

培地組成及び培養法は前報に準じ振盪培養を行なう。

糖の定量は Somogyi 及び Nelson の比色法に依り、総窒素はマイクロケルダール法に依った。

菌体量は汙別、水洗後、脱水し 105°C で 48 時間乾燥恒量と成した。

総 B₂ 量の測定はルミフラビン比蛍光法によった。

有機酸の分別定量は前報のシリカゲルカラムによる方法に従った。

実 験 結 果 及 び 考 察

1 酵母エキス添加の効果

茸類菌糸の培養に於て、窒素源としてペプトンを与えると比較的旺盛な生育を示すことは前報で明らかにしたが、更に酵母エキスを添加すると菌体の生育及び茸の香味を増加する傾向がある事を知ったので Table 1, 2, 3 の如く酵母エキス添加による菌体の生育の効果を見た。尚窒素源として比較的良好的な生育を示した。カザミノ酸、酒石酸アンモニウムと比較した。培養日数14日間とする。

Table I. Effect of yeast extract solids on the growth of *Psalliota bispora*

nitrogen source 4g/L	Yeast extract %	Nitrogen		Mycelium		Glucose		pH		Economic coefficient %	C: N ratio
		Original mg	Utilized %	Dry wt. mg	Crude protein %	Original %	Consumed %	Initial	Final		
Peptone	—	55.4	72.6	288.3	33.7		41.4		4.64	24.0	21
	0.2	78.5	58.2	714.5	35.9	2.9	39.7	5.5	4.62	62.1	15
	0.4	108.0	37.3	822.2	36.6		40.4		5.29	69.7	10
Casamino acid	—	41.8	55.5	422.8	33.2		17.3		5.70	84.5	28
	0.2	65.5	41.1	442.2	36.7	2.9	28.3	5.5	5.42	52.0	18
	0.4	99.4	38.1	627.9	38.0		36.1		5.68	57.1	12
NH ₄ -tartrate	—	64.1	10.0	20.8	33.9		6.1		5.18	11.6	18
	0.2	89.6	12.9	141.7	34.2	2.9	14.4	5.5	5.69	33.0	13
	0.4	115.9	17.3	204.9	37.9		14.8		5.95	47.7	10

$$* \text{Economic coefficient} = \frac{\text{cell substance}}{\text{glucose consumed}} \times 100$$

Incubation time 14 days

Table II. Effect of yeast extract solids on the growth of *Pholiota nameko*

nitrogen source 4g/L	Yeast extract %	Nitrogen		Mycelium		Glucose		pH		Economic coefficient %	C: N ratio
		Original mg	Utilized %	Dry wt. mg	Crude protein %	Original %	Consumed %	Initial	Final		
Peptone	—	55.4	57.9	463.7	42.9		48.5		4.01	30.3	22
	0.2	88.1	48.1	683.3	42.4	3.1	63.5	5.5	4.26	34.7	14
	0.4	119.1	44.0	869.7	42.7		71.9		4.25	39.0	10
Casamino acid	—	45.4	33.7	297.9	37.0		18.4		3.84	52.3	27
	0.2	82.8	35.0	488.5	37.5	3.1	40.3	5.5	4.03	39.1	15
	0.4	113.8	31.5	572.9	38.4		43.5		4.14	42.4	11
NH ₄ -tartrate	—	63.4	17.7	212.1	33.6		16.1		4.01	42.4	20
	0.2	107.3	20.0	367.1	42.0	3.1	27.4	5.5	4.27	43.2	12
	0.4	141.1	51.9	487.9	42.5		38.7		4.23	40.7	9

Table III. Effect of yeast extract solids on the growth of *Cortinellus shiitake*

nitrogen source 4g/L	Yeast extract %	Nitrogen		Mycelium		Glucose		pH		Economic coefficient %	C: N ratio
		Original mg	Utilized %	Dry wt. mg	Crude protein %	Original %	Consumed %	Initial	Final		
Peptone	—	64.5	32.6	368.4	40.0		21.9		3.02	52.6	20
	0.2	98.5	35.1	485.6	42.8	3.2	24.1	5.4	3.03	63.1	13
	0.4	121.6	57.7	761.2	39.0		31.9		3.03	74.6	10
Casamino acid	—	56.2	22.6	138.2	40.9		25.3		3.24	17.1	23
	0.2	93.3	58.0	976.0	39.6	3.2	39.1	5.4	3.34	78.1	14
	0.4	118.6	44.2	913.2	37.4		38.2		3.22	47.8	10
NH ₄ -tartrate	—	67.6	88.8	136.0	28.5		8.5		3.56	50.4	19
	0.2	106.1	33.7	871.6	34.7	3.2	32.8	5.4	3.26	83.0	12
	0.4	142.6	4.2	19.4	64.6		9.4		4.82	6.5	9

1) 菌体の生産

マッシュルームとナメコに於ては、窒素源の如何にかかわらず、酵母エキスを添加した時に良好な生育を示した。シイタケ菌糸は酒石酸アンモニウム、カザミノ酸を窒素源とした培地では過剰の酵母エキスの添加は菌糸の生育を阻害した。

2) 培地の pH

14日培養後、pH はマッシュルーム、ナメコ、シイタケの順序で低下する。この事は前報でも明らかな如く、シイタケが旺盛な脂肪酸生成菌である事に原因する。

3) 菌体含有粗蛋白

生産された菌体は必須アミノ酸を多量に含有し、この事が茸菌の食品への可能性を有する重要な理由の一つであるが、粗蛋白量としては、マッシュルームが培地の窒素源及び濃度に関係なく35%前後である。ナメコではペプトンの時に多くカザミノ酸、酒石酸アンモニウムの時には少ない、シイタケでは酒石酸アンモニウムの時に少ない。

4) 培地中の糖

培地中のグルコースの消費は大体に於て菌の生育量と比例する。

以上茸菌体の生育と窒素源及び酵母エキス添加量より次の事が推定出来る。即ちマッシュルーム、ナメコは窒素源をペプトンとし酵母エキスを0.4%添加する。シイタケは窒素源としてカザミノ酸に0.2%の酵母エキスを添加した時最高の菌体量を得る。又含有蛋白量も多い。

2. 初期 pH との関係

基本培地に0.4%酵母エキスを添加した培地(G.P.Y 培地)の初期 pH を硫酸(又は苛性ソーダ)で3~6.5迄種々変化させて25°Cで培養するとTable 4の如くであった。

Table IV. Effect of initial pH on the growth of mushroom mycelia

species	initial pH	final pH	Dry wt. of mycelium mg/100ml	Crude protein of dry wt. %
Psalliota bispora	3.0	3.10	no growth	—
	4.0	3.98	+	—
	5.0	5.29	150.3	42.83
	5.5	5.39	302.4	42.73
	6.0	5.67	764.7	42.02
	6.5	5.70	613.2	40.18
Pholiota nameko	3.0	2.42	47.4	40.52
	4.0	3.07	483.0	50.78
	5.0	3.09	1048.6	45.38
	5.5	3.57	1121.7	42.03
	6.0	4.33	1296.5	38.67
	6.5	4.46	1447.1	33.75
Cortinellus shiitake	3.0	2.90	41.7	60.00
	4.0	3.16	389.6	36.65
	5.0	3.23	413.9	38.28
	5.5	3.22	429.1	38.53
	6.0	3.24	407.9	38.26
	6.5	3.33	371.7	36.69

Incubation time 14 days. Average of three flasks.

培養後の pH はマッシュルーム、ナメコ、シイタケの順序で低下し、夫々 6, 6.5, 5.5 に最適 pH を示し、ナメコでは 5.0~6.5, シイタケでは 4.0~6.0 の広い pH 域を有する。

3. 糖濃度との関係

G.P.Y 培地のグルコースを 1~10% の濃度に変化させて培養の結果は Table 5, 6, 7 の如くである。

菌体生育の最適濃度はマッシュルーム 2%, ナメコ及びシイタケが夫々 3% であったが、ナメコ、シイタケでは 2%~7% の間で良く生育したのに反しマッシュルームでは 3% 以下で旺盛に生育しそれ以上では単糖類の過剰は菌体の生育を著しく阻害する傾向が認められた。

Table V. Effect of glucose concentration on the growth of *Psalliota bispora*

glucose content %	nitrogen utilized %	glucose consumed %	dry wt. of mycelium mg/100ml	crude protein of dry wt. %	pH		C: N ratio
					initial	final	
1.0	37.3	95.0	628.2	40.90	6.0	6.36	4
2.0	43.4	61.5	791.8	39.66		5.21	8
3.0	44.6	39.7	730.5	40.08		5.12	12
5.0	14.6	20.0	173.6	43.33		5.62	20
7.0	14.0	3.6	287.7	37.52		5.69	28
10.0	17.9	1.0	51.2	47.70		5.40	40

Incubation time 14 days. Nitrogen content 101.3mg/flask

Table VI. Effect of glucose concentration on the growth of *Pholiota nameko*

glucose content %	nitrogen utilized %	glucose consumed %	dry wt. of mycelium mg/100ml	crude protein of dry wt. %	pH		C: N ratio
					initial	final	
1.0	35.6	100	495.6	35.73	6.0	5.95	4
2.0	72.9	95.0	885.6	35.52		5.54	8
3.0	75.2	67.7	1171.5	42.51		4.37	12
5.0	61.2	22.6	901.1	42.06		4.01	20
7.0	62.0	11.4	929.0	38.21		4.39	28
10.0	19.5	8.6	275.2	31.45		4.92	40

Table VII. Effect of glucose concentration on the growth of *Cortinellus shiitake*

glucose content %	nitrogen utilized %	glucose consumed %	dry wt. of mycelium mg/100ml	crude protein of dry wt. %	pH		C: N ratio
					initial	final	
1.0	56.9	93.3	358.1	40.05	6.0	3.15	4
2.0	37.2	51.0	520.8	41.16		3.26	8
3.0	46.5	34.9	559.2	35.89		3.14	12
5.0	42.7	23.8	549.8	32.16		3.22	20
7.0	35.6	18.9	378.6	32.83		3.42	28
10.0	34.2	12.4	286.3	33.44		3.57	40

三茸菌糸の内ではナメコの生育が特に旺盛で含有蛋白量も多く、茸の芳香を強く感じられた。しかし芳香に関しては更に検討を要する問題である。

4. 総 B₂ 量

一般に茸類には野菜、果実類に比較して B₂ 含量が著るしく高い事が認められている。⁶⁾ 茸類菌体中の B₂ 含量に関しては Humfeld²⁾ Block³⁾ の報告が見られるが、菌体培養中の B₂ 変化に於ては全く報告が見られない然も B₂ は生体酸化に於て酸化酵素の補酵素として、又水素伝達体として重要な役割を果しており、単に食品としてのみならず生理学的にも興味がある。

培養条件として酵母エキス中には各種ビタミンを多量に含有するので、酵母エキスを除いた基本培地に菌体を培養し生成せる B₂ 量は Fig. 1, 2, 3 に示す如くであった。

マッシュルームでは菌体の生育と比例して増加し特に、15日以後は急速に増加する。ナメコに於ても培地中の B₂ 量は菌体の生育と共に増加し菌体中 B₂ 含量は 50~70 r/g を保った。

シイタケに於ては培地中菌体中共に生成された B₂ 量は極めて少なく培養中の変化は殆んど認められない。

菌体 B₂ 含有量はその生育量と密接な関係があるが、シイタケに見られる様に pH の著しい低下は B₂ の生成を阻害するものと推定される。従ってシイタケ菌を B₂ 源とすることは不適当である。

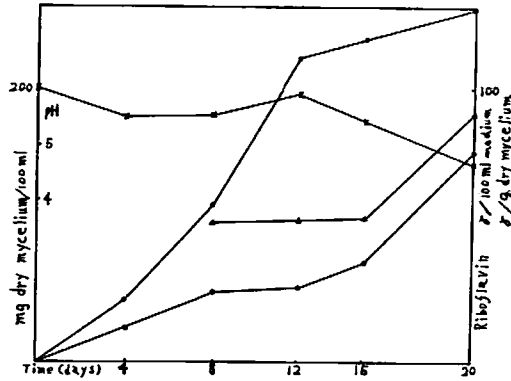


Fig. 1 The formation of riboflavin during cultivation of *P. bispora*

Symbols; × pH • dry mycelium
 ○ riboflavin in medium
 Δ riboflavin in mycelium

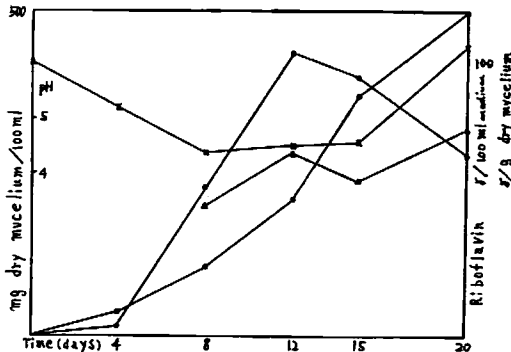


Fig. 2 The formation of riboflavin during cultivation of *P. nimeko*. Symbols were the same as Fig. 1

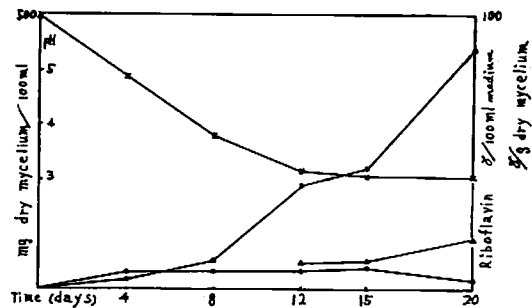


Fig. 3 The formation of riboflavin during cultivation of *C. Shiitake*. Symbols were the same as Fig. 1

5. 有機酸

Table 8 の如く菌体の有機酸組成は子実体に比較してその含有割合が異なる。特に茸の子実体は一般にその有機酸組成として全有機酸の約50%がリンゴ酸であり、菌体はその風味に於て非常に劣る理由の一つはこれに起因するものと思われる。又シイタケが脂肪酸を多量に含有して食品として好ましくないとされた。

Table VII. Change in oranic acids during cultivation of mushroom mycelium

species	Incubation time (days)	Unidentified acid	acetic acid	pyruvic acid	fumaric acid	Succinic acid	Unidentified acid	oxalic acid	malic acid
Psalliota bispora	4	0.08	0.13	—	—	1.96	3.74	0.48	0.63
	8	0.05	0.33	—	—	1.29	5.55	1.28	1.69
	12	0.16	0.60	1.06	0.66	3.27	3.95	1.17	4.78
	15	0.07	—	—	0.50	0.76	5.21	2.77	1.34
	20	0.11	—	—	1.84	0.78	4.85	3.92	1.46
Pholiota nameko	4	0.09	—	—	0.82	1.45	—	1.08	0.47
	8	0.08	1.40	—	0.40	0.79	2.01	1.62	0.87
	12	0.16	1.74	—	0.40	0.33	—	1.38	0.72
	15	0.17	5.82	—	0.45	3.25	—	1.63	1.39
	20	0.45	0.59	—	0.75	—	—	2.80	1.25
Cortinellus shiitake	4	0.17	—	—	0.27	1.52	2.13	3.41	—
	8	0.10	—	—	0.29	1.17	3.16	29.06	0.92
	12	0.14	—	—	0.74	0.51	3.29	71.60	1.02
	15	0.14	—	—	0.36	0.97	3.47	75.59	0.74
	20	0.14	—	—	—	—	3.53	67.86	—

要 旨

茸類菌糸の液内培養に就て基礎的な実験を行ない、3の知見を得た。

1. 酵母エキスの添加によって菌体の生育は促進されたシイタケでは過剰の酵母エキスの添加は菌体の生育を阻害した。
2. 菌体の含有蛋白量は、マッシュルームが35%、ナメコが42%、シイタケが40%であった。
3. 最適 pH はマッシュルーム 6.0、ナメコ 6.5、シイタケ 5.5 であるが、ナメコ、シイタケでは幅広い pH 域を有し 5 から 6.5 で殆んど同様によく生育した。
4. 最適糖濃度はマッシュルーム 2%、ナメコ、シイタケは 3% であった。
5. 総 B₂ 量はマッシュルーム、ナメコでは培養中 70~90 r/g 生成されるが、シイタケでは極めて微量であった。
6. 菌体の有機酸組成は子実体に比して少く又含有の割合も異なり特にリンゴ酸の量が少ない。

文 献

1. Humfeld, H. 1948 The production of mushroom mycelium in submerged culture Science 107 373
2. Humfeld, H., and T. F. Sugihara 1949 Mushroom mycelium production by submerged propagation Food technol 3, 355-356
3. Block, S. S., Steans T.W., Stephens, R. L., and Mc Candless, R.F.J. 1953 Mushroom mycelium experiments with submerged culture J. Agr. Food Chem 1, 890-893
4. Falanghe, H. 1962 Production of mushroom mycelium as a protein and fat source in submerged culture in medium of vinasse Appl. Microbiol. 10, 572-576
5. Nelson N. 1944 A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose J. Biol. Chem 153, 375-380
6. 橋本, 生川 1955 食用キノコ類のビタミン B₂ 量について ビタミン 11, 369