



ベニテングタケの保存及び加工処理過程における イボテン酸とムシモールの消長^{*1}

(平成3年6月7日受理)

角田光淳^{*2} 井上典子^{*2}
青柳康夫^{*3} 菅原龍幸^{*4}

Change in Ibotenic Acid and Muscimol Contents in *Amanita muscaria*
during Drying, Storing or Cooking^{*1}
(*¹Food Hygienic Studies of Toxicogenic Basidiomycotina. III)

Koujun TSUNODA^{*2}, Noriko INOUE^{*2}, Yasuo AOYAGI^{*3} and Tatsuyuki SUGAHARA^{*4}

(*²Suginami City Institute of Public Health Research, Tokyo: 3-20-3, Takaidohigashi,
Suginami-ku, Tokyo 168, Japan; *³Kagawa Nutrition Junior College: 3-24-3,
Komagome, Toshima-ku, Tokyo 170, Japan; *⁴Kagawa Nutrition College:
3-9-21, Sakado-City, Saitama 350-02, Japan)

It is believed by people in mountainous areas that toxins in *A. muscaria* are reduced by drying, storing or cooking. The main physiologically active substances, ibotenic acid (IBO) and muscimol (MUS), in *A. muscaria* were therefore investigated. IBO is readily transformed to into MUS through decarboxylation, and MUS is a hallucinogen. Drying *A. muscaria* in the sun or with a heater caused an increase of MUS in the mushroom, though a lot of precursor IBO was lost. It was suggested that the toxicity of the mushroom would be intensified by processing. IBO and MUS in the mushroom were stable on storage under dry or salt conditions. MUS increased in concentration while IBO decreased during heat-cooking, and the changes were more marked under acidic than alkaline conditions. However, general cooking (within 10 minutes) hardly reduced the toxic substances. Boiling or soaking *A. muscaria* in water caused most of the IBO and MUS in the mushroom to be released rapidly into the water.

Key words: イボテン酸 ibotenic acid; ムシモール muscimol; ベニテングタケ *Amanita muscaria*; 調理 cooking; キノコ中毒 mushroom poisoning; 幻覚 hallucination

緒 言

ベニテングタケは数種の有毒アルカロイド¹⁾を含み、そして、主要な生理活性成分としてイボテン酸^{2)~5)}(IBO)とムシモール^{5)~9)}(MUS)があげられる。IBOは容易に脱

炭酸^{5), 8)~10)}されて、その脱炭酸物 MUS が中枢神経系に作用し精神錯乱や幻覚等を引き起こすことが知られている^{5), 8), 9)}。一方 IBO は旨味成分でもあり、ベニテングタケのおいしさ¹¹⁾は格別であるともいわれ、実際に限られた地方であるが喫食されている¹²⁾。また自然食品、健康食品と称して野生のキノコがもてはやされている昨今¹²⁾、食用キノコと誤って喫食し、中毒を起こす例も時々報告¹³⁾されている。その中毒が個人の家庭内に限られているだけに、関係機関に報告されないケースも多いといわ

*¹ 有毒担子菌類の食品衛生学的研究 (第3報)

*² 東京都杉並区衛生試験所: 〒168 東京都杉並区高井戸東 3-20-3

*³ 女子栄養短期大学: 〒170 東京都豊島区駒込 3-24-3

*⁴ 女子栄養大学: 〒350-02 埼玉県坂戸市千代田 3-9-21

れている¹³⁾。前報¹⁴⁾において、ベニテングタケの毒性の違いをIBO及びMUSの濃度から明らかにしたが、今回は事故防止の観点から、長野県下で言い伝えられている保存法や加工処理等を参考に、IBO及びMUSの調理による濃度変化を調べた。

実験方法

1. 試料、試薬及び装置器具

1.1 試料

平成2年9～10月、長野県八ヶ岳原村、山中で自生していたベニテングタケを採取し、ごみ及び土を除き、新聞紙で1本ずつ包み当日若しくは翌日に試験室へ持ち帰り、5°で冷蔵保存した。冷蔵生試料として1週間以内に各実験に供した。

1.2 試薬

IBO及びMUSの標準溶液：精製したIBO¹⁵⁾とシグマ

社製MUSを5, 10, 20, 30, 50 ppmの5段階に70 v/v%メタノールで調製した。

メタノール及びアセトニトリル：HPLC用 和光純薬工業(株)製

ドデシル硫酸ナトリウム及びリン酸など：試薬特級

1.3 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ(HPLC)：ポンプCCPE、検出器UV-8010、インテグレートSC-8010 東ソー(株)製
振とう型インキュベータ：TN-303型(株)東洋製作所
プログラム式インキュベータ：TR-MC3 トリオサイエンス(株)製

送風定温乾燥器：FC-42D (株)東洋製作所製

ホモジナイザー：Urtra-Turrax T-25 Janke & Kunkel 社製

1.4 測定条件¹⁵⁾

Analytical condition of HPLC

Column: IRICA RP-18T (ODS, 5 μ m) 4.0 mm \times 25 cm,

Mobile phase: pH 2.2, 3 mM sodium dodesyl sulfate-20 mM phosphoric acid solution-methanol-acetonitrile (65:15:20, v/v),

Flow rate: 0.6 ml/min; Column temp.: 45°; Wave length: 210 nm;

Sensitivity: 0.02 AUFS; Injection vol.: 5 μ l

1.5 試験溶液の調製¹⁵⁾

各処理終了後の試料に対する試験溶液の調製は、乾燥試料は75 v/v%メタノールを加え、生試料、凍結試料及び液体試料は約75 v/v%メタノールになるようにメタノールを加えてホモジナイザーで均質化し、それをろ紙でろ過又は遠心分離し、残留物を75 v/v%メタノールで洗浄後、それぞれの実験内容に合わせて正確に定容した。それをメンブランフィルターでろ過後、適宜希釈しHPLC用試験溶液とした。なお、実験途中の試料や試験溶液の保存は-80°の冷凍庫内で保管した。

2. 実験

2.1 乾燥実験1

冷蔵生試料をひょう量後、乾燥しやすいように、菌傘部はそのまま、菌柄部は縦に2分割し、菌基部は4分割して手で割れる程に乾燥した。天日で3日間乾燥した試料(sunlight-I)、天候不順なため11日間乾燥した試料(sunlight-II)、ストーブのふく射熱で2日間乾燥した試料(heater-III)及び対照の生試料中のIBOとMUSの濃度を測定した。

2.2 乾燥実験2

冷蔵生試料(12本)を1本ずつ縦十文字に4分割して、その2分割分を乾燥実験用に、一方の2分割分を対照用に供し、2本分の4対($n=4$)を1実験試料とした。その実験試料をひょう量(g)し、片方の乾燥実験用試料を乾燥器で温度・時間別に(40°/40 hr, 50°/12 hr, 60°/10 hr, 80°/6 hr, 100°/4 hr, 120°/3 hr)手で割れる程に

風乾した。その風乾試料と対照試料中のIBO及びMUSの濃度を測定し対比した。

2.3 乾燥保存実験

冷蔵生試料100 g(3回)を凍結乾燥後粉碎し、乾燥剤シリカゲルを入れたデシケータ中で、暗所室温で保存し、0, 14, 30, 60, 90日ごとに1 gずつ採取した。採取した試料中のIBO及びMUSの濃度を測定した。

2.4 塩漬保存実験

冷蔵生試料100 g(3回)を耐熱性ポリ袋に入れ、沸騰浴中で10分間加熱した後、水道水で冷却した。それに10%になるように食塩を加えて、ホモジナイザーで均質化した。その均質試料を5°で保存し、0, 2, 5, 8, 14, 28, 74, 136日ごとに5 gずつ採取し、その塩漬保存試料中のIBO及びMUSの濃度を測定した。

2.5 加熱実験

冷蔵生試料各100 g(7回)に氷水5倍量を加え、ホモジナイザーで均質化した後、リン酸及び水酸化ナトリウムでpH 4.0, 5.0, 5.98, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0のそれぞれに調整した。その試料溶液を沸騰浴中で加熱した。その加熱溶液を0, 4, 10, 20, 35, 60, 90分ごとに5 mlずつ採取し、氷水中で冷却した後、加熱実験試料とした。その試料中のIBO及びMUSの濃度を測定した。

2.6 溶出実験

冷蔵生試料(I: 37.7 g, II: 22.5 g, III: 22.7 g)を、5倍量の沸騰水中に加えて、10分間煮沸した後水出し、煮汁と加熱試料に分けひょう量した。加熱試料を約3倍量の水

Table 1. Concentration (ppm*¹) of IBO and MUS in *A. muscaria* after Drying

Sample	Raw S.* ²		Sunlight I* ³		Sunlight II* ⁴		Heater III* ⁵	
	IBO	MUS	IBO	MUS	IBO	MUS	IBO	MUS
No. 1	491	5	253	95	62	52	21	31
2	304	11	99	61	59	43	17	23
3	504	13	346	85	4	17	36	26
4	347	13	166	88	7	24	134	46
5	372	5	145	76	14	20	120	38
6	665	7	284	172	88	42	50	60
7	595	2			7	15	59	26
8	437	2			52	45	65	28
9	384	10			39	27	24	37
10	285	6			14	36	124	23
11	489	10			49	37	40	25
12	675	7					9	14
Mean	462	8	216	96	36	33	58	31
Remain (%)	100	100	47	1200	8	413	13	388

*¹ The value was reduced to the raw weight

*² Fresh raw sample

*³ Sunning for three days

*⁴ Sunning for eleven days

*⁵ Drying near the oil heater for two days

で5秒間すすいで水洗し、洗水と水洗試料をひょう量した。ついで水洗試料の10倍量の水に浸漬し、時々かく拌しながら、0, 10, 30, 70, 150, 300, 660, 1300, 2500分ごとに浸漬水を1 ml (3回) ずつ採取した。煮汁、洗水及び各浸漬水中の IBO 及び MUS の濃度を測定した。

2.7 塩漬試料の溶出実験

冷蔵生試料 (I: 40.9 g, II: 37.1 g, III: 27.7 g) を、5倍量の沸騰水中に加えて、10分間煮沸した後水冷し、煮汁と加熱試料に分けひょう量した。加熱試料に10%になるように食塩を添加して、5°で3か月間保存した。その塩漬保存試料を約3倍量の水で5秒間すすいで水洗し、洗水と水洗試料をひょう量した。ついで水洗試料の10倍量の水に浸漬し、時々かく拌しながら0, 10, 30, 70, 150, 300, 660, 1300, 2500分ごとに浸漬水を1 ml (3回) ずつ採取した。煮汁、洗水及び各浸漬水中の IBO 及び MUS の濃度を測定した。室温で拡散流出してくる食塩、IBO 及び MUS の濃度を測定した。

結果及び考察

1. 乾燥実験 1: 天日及びストーブ乾燥試料中の IBO 及び MUS の濃度

長野県下で言い伝えられている天日やストーブで乾燥すれば除毒されるということの正否を実験的に検討した。その結果を Table 1 に示した。対照としての新鮮な生試料中の両者の平均濃度は IBO 462 ppm で MUS 8 ppm であった。Sunlight-I では IBO 216 ppm, MUS 96 ppm。Sunlight-II では IBO 36 ppm で MUS 33 ppm。

Heater-III では IBO 58 ppm で MUS 31 ppm で、対照と比べて、いずれも乾燥によって IBO は減少し、MUS は増加することが認められた。

乾燥によって幻覚性物質・MUS が増し、その生理作用を強めると思われた。天日とストーブ乾燥による IBO 及び MUS の変動傾向が似ていることから、その変動は乾燥温度や時間が関与していると思われた。

2. 乾燥実験 2: 乾燥温度の違いによる IBO 及び MUS の濃度変化

40, 50, 60, 100, 120° でそれぞれに風乾した試料中の IBO 及び MUS の濃度を測定した。

その結果を Table 2 に示した。40°乾燥では対照に比べて、IBO が 65% に減少し、MUS が 620% (約6倍) に増加した。50°では IBO が 64% に減り、MUS が 575% に増加した。60°では IBO 54%, MUS 650% に、80°では IBO 17%, MUS 640%, 100°では IBO 12%, MUS 290% で、温度の上昇につれ IBO の減少と MUS の増加率の減少が認められたが、120°では IBO が 0.5% に激減し MUS は 50% に半減した。各乾燥温度での IBO 及び MUS の平均残存率を Fig. 1 に示した。乾燥時間は高温ほど短くなるが、温度が高いほど IBO の減少は著しく、120°ではほとんど消失した。また MUS の増加率も減少傾向を示し、80°以後急激に減少した。

IBO と MUS の増減において、IBO が消失した分だけ MUS が増加するという当量関係は認められず、速やかな MUS の消失、又は IBO の脱炭酸による MUS の生成

Table 2. Change in Concentration of Ibotenic Acid (IBO) and Muscimol (MUS) in *A. muscaria* by Drying

Sample*1	[I] at 40°			[II] at 50°			[III] at 60°			[IV] at 80°			[V] at 100°			[VI] at 120°								
	Raw S.*2	Dry S.*3		Raw S.	Dry S.		Raw S.	Dry S.		Raw S.	Dry S.		Raw S.	Dry S.		Raw S.	Dry S.							
	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS	IBO MUS							
Conc. (ppm)*4																								
No. 1	295	2	238	23	419	2	293	27	665	7	354	56	625	6	142	57	504	13	62	43	384	11	1	4
2	285	2	224	21	437	3	274	30	686	6	407	41	675	8	127	48	487	12	60	50	342	11	1	3
3	505	10	299	53	595	5	366	23	456	6	257	32	304	5	30	29	347	13	31	21	313	10	2	8
4	489	6	266	49	605	10	393	35	491	6	235	35	372	6	38	26	379	13	52	34	304	12	2	7
Average	394	5	256	31	515	5	332	29	575	6	313	41	494	6	82	40	429	13	51	37	335	11	2	6
Remain (%)			65	620			64	580			54	683			17	666		12	280				0.6	54

*1 The samples were air-dried with a forced convection oven for 18.5 hours [I], 10.5 hours [II], 9.5 hours [III], for 5.5 hours [IV], 4 hours [V] and 4 hours [VI]; *2 Raw sample, control for dry sample; *3 Dry sample; *4 The value was reduced to the raw weight.

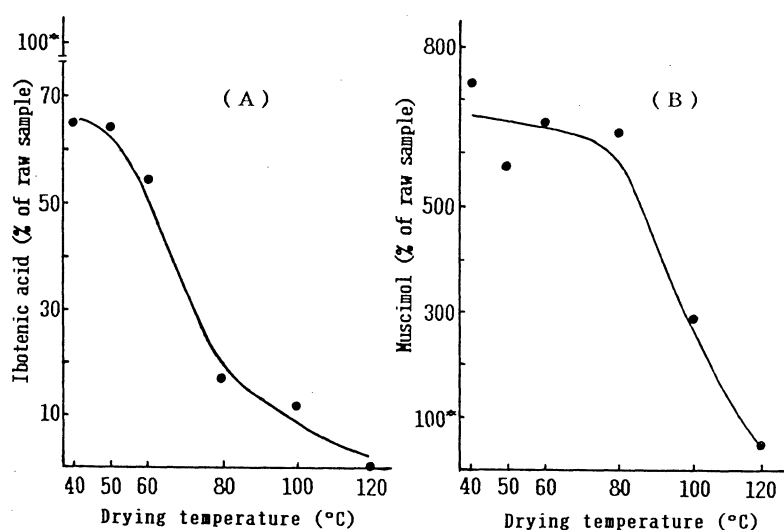


Fig. 1. Change of ibotenic acid (A) and muscimol (B) contents caused by drying

*Standard value, IBO or MUS contents in fresh raw sample

Table 3. Change in Concentration of IBO and MUS in Dry *A. muscaria* during Storage*¹

Period (days)	0		14		30		60		90	
Conc. (ppm)* ²	M* ³	M. D* ⁴	M	M. D	M	M. D	M	M. D	M	M. D
Ibotenic acid	418	2	414	3	409	7	406	8	415	20
Muscimol	22	1	21	1	22	2	23	1	20	1

*¹ At cool and dark place; *² The value was reduced to the raw weight; *³ Mean value in triple tests;

*⁴ Mean deviation

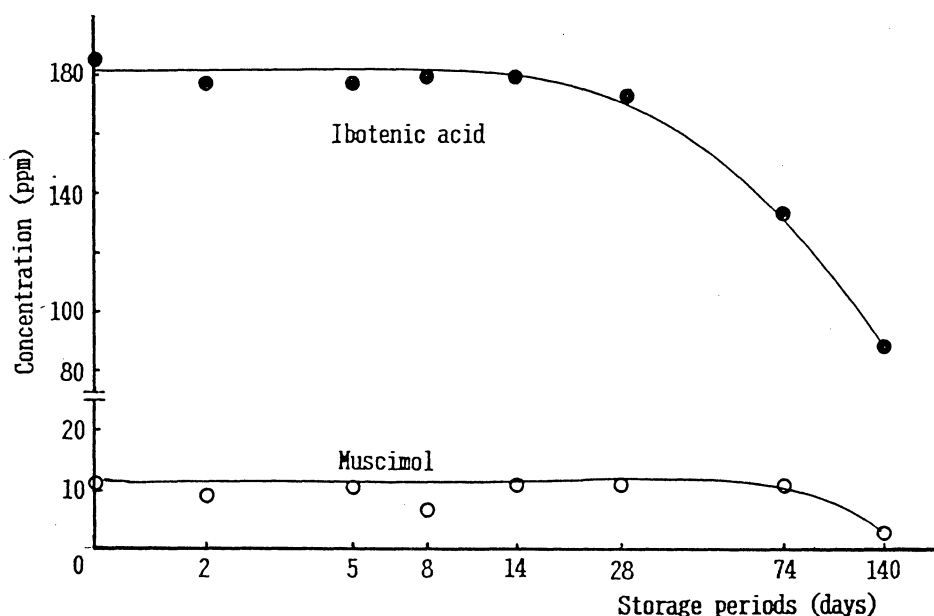


Fig. 2. Change in concentration of ibotenic acid and muscimol in *A. muscaria* during storage
The salted sample (10% NaCl-mushroom) was stored at 5°C after boiling.

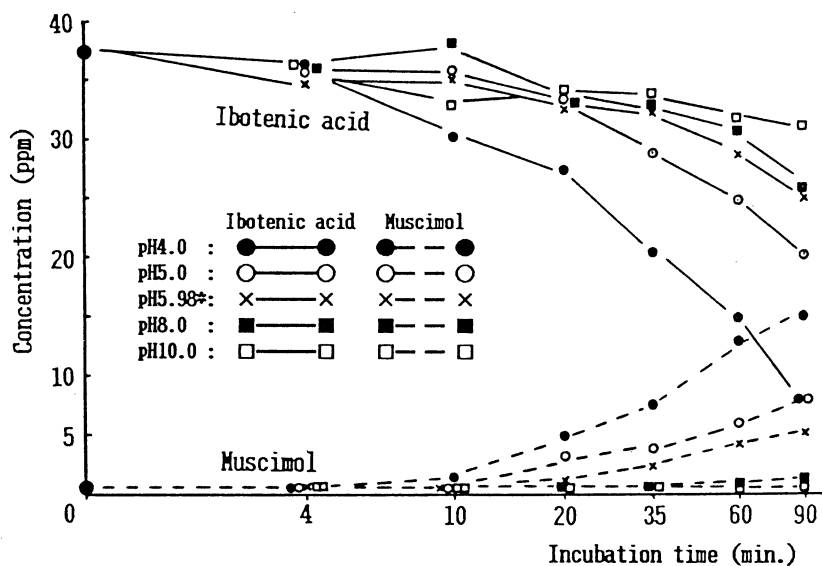


Fig. 3. Influence of pH on concentration of ibotenic acid and muscimol in boiling water. pH of the sample was adjusted with phosphoric acid or sodium hydroxide after homogenizing *A. muscaria*.

Samples were incubated at 100°C in water bath.

*Fresh sample

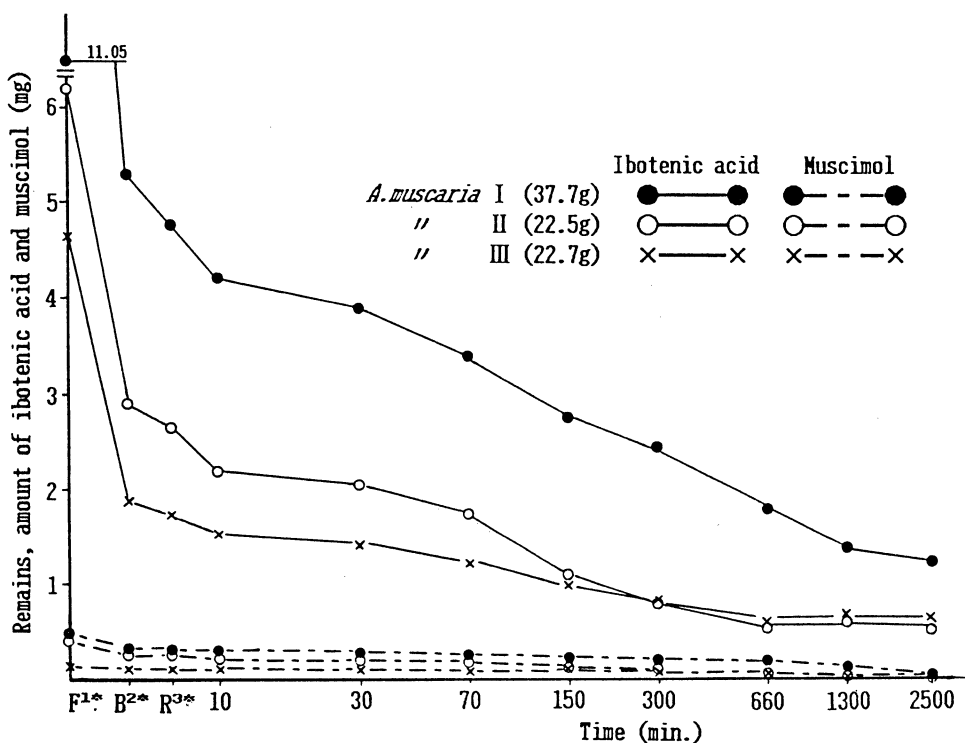


Fig. 4. Diffusion of IBO and MUS in *A. muscaria* into water

F*1: fresh raw *A. muscaria*; B*2: after boiling F*1-sample for 10 min.; R*3: after rinsing B*2-sample in a water bath for 3 sec

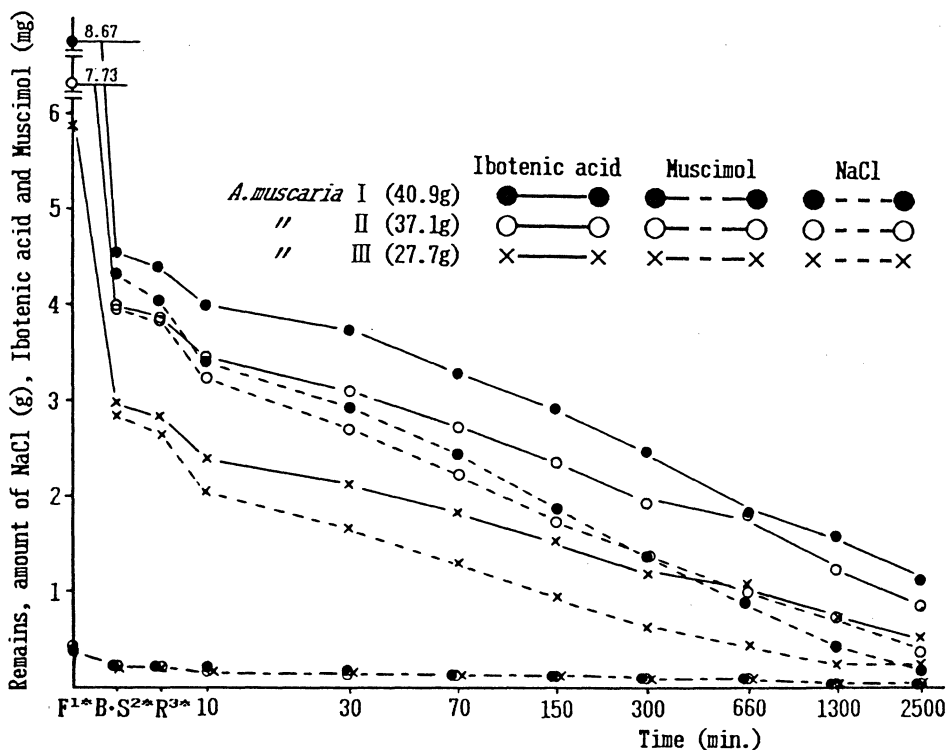


Fig. 5. Diffusion of NaCl, IBO and MUS in the salted *A. muscaria* into water

F*1: fresh raw *A. muscaria*

B·S*2: The salted sample (10% NaCl), it was salted with sodium chloride after boiling

F*1-sample with water for 10 min.

R*3: after rinsing *2B·S-sample in a water bath for 3 sec

率は低いことが同われる。以上のことから、伝えられる天日やストーブなどによる乾燥温度では IBO は減る、しかし MUS は当量に満たないが増し、MUS による作用が強まると思われる。

3. 乾燥保存実験: 乾燥試料中の IBO 及び MUS の濃度変化

ベニテングタケの保存方法は乾燥と塩漬が伝えられている。乾燥した試料について、90 日間の保存試験をした。その結果を Table 3 に示した。貯蔵期間中において、よく乾燥した試料中の IBO 及び MUS の濃度変化は両者共に認められなかった。乾燥保存によって MUS は減少せず、前駆体 IBO の減少も認められず、保存による無毒化は全く期待されなかった。

4. 塩漬保存実験: 10% 塩漬保存試料中の IBO 及び MUS の濃度変化

塩漬試料の 136 日間の冷蔵保存を通して、両者の濃度は徐々に減少する傾向を示した。その結果を Fig. 2 に示した。ベニテングタケの長期保存はその生理作用を弱めると思われるが、短期保存ではほとんど期待できない。

5. 加熱実験: 煮沸における pH の違いによる IBO 及び MUS の濃度変化

一般的な調理方法を仮定して、pH と煮沸に関する IBO 及び MUS の経時変化について試験した。その結果を Fig. 3 に示した。沸騰浴中において、時間の経過に伴って、IBO は減少し、MUS は増加する傾向を示した。pH が低いほど、IBO の減少及び MUS の増加傾向が大きくなることが認められた。しかしながら、10 分程度の加熱や酢を用いた一般的な調理加工ではほとんど無毒化されないことが明らかになった。

6. 溶出実験: 調理加工過程における IBO 及び MUS の流出拡散

調理加工過程における IBO 及び MUS の流出拡散のモデル実験をした。その結果を Fig. 4 に示した。F が生試料の時点 (初期値) で、B は 5 倍量の湯で 10 分間煮沸した時点、R は B 試料を 3 秒間水洗いした時点、そして以降 2500 分間の水さらしによる流出拡散を経時的に調べた。B 時点つまり 10 分間の煮沸で IBO は 50% 以下に減少した。この急激な減少はひだが多くて薄い菌傘部からの溶出が大部分と考えられる。B 時点の水洗では

5%程が流出し、以後一昼夜(1440分)の水さらしでは約25%が漸次流出し、トータルでは初期値の約1/8に減少した。MUSについても低レベルであるがIBOと同様な挙動を示しているものと考えられる。

現地で行われている調理方法の一過程である湯がき後の湯こぼしや水さらしは、ベニテングタケ中の既知の有毒アルカロイド¹⁾(muscarine, muscaridine, bufotenineなど)が水易溶性であることから、除毒に大きな効果をあげているものと推察された。

7. 塩漬試料の溶出実験: 10% 食塩保存試料の水さらしによるIBO及びMUSの流出拡散

食塩保存品は食塩の濃度が高いことから、脱塩されるさいにIBOやMUSの流出効果が促進されるのではないかと予想されたので検討した。その結果をFig.5に示した。水さらしによるNaClの流出拡散は速やかで、IBOの流出勾配よりも急激で、24時間で約25%が溶出した。IBOの流出拡散率はNaClに比べて低いことが認められた。しかし、前記「溶出実験7」の煮沸直後の無塩試料のIBO及びMUSの流出傾向とほとんど同じ減少勾配を示していることから、食塩による流出拡散の相乗効果はないと思われた。

なお、伝えられる保存や調理加工は、上記のような除毒のされ方に加え、個体差、喫食量及び他成分の影響などにも大きく左右されると思われるので、ベニテングタケを食用に供することは推奨されるべきではない。

まとめ

本実験の結果から、1) 天日やストーブによる乾燥はIBOを激減させるが、幻覚物質、MUSを増加させ、その作用を強めるものと思われる。2) よく乾いた状態での保存はIBO及びMUSを変化させることなく安定であった。また、長期にわたる塩漬保存は両物質を漸次減少させるが1~2か月の短期保存では変化は認められず、無毒化にほとんどつながらない。3) 沸騰浴中において、IBOの減少、MUSの増加はpHが低いほど顕著であっ

たが、酢を加えたり、煮沸による10分程度の加熱調理では両者の増減レベルはわずかで、無毒化にはつながらなかったものであった。4) 調理時の湯がきや水さらしは両物質の含量を激減させ、水溶性である他の有毒アルカロイドの除去と共に除毒に大きく寄与するものと推察された。

文 献

- 1) Theodor, W.: Science **159**, 946~952 (1968).
- 2) Johnston, G. A. R., Curtis, D. R., De Groot, W. C., Duggan, A. W.: Biochem. Pharmacol. **17**, 2,488~2,489 (1968).
- 3) 竹本常松, 横部哲朗, 中島 正: 薬誌. **84**, 1,186~1,188 (1964).
- 4) Bowden, K., Drysdale, A. C., Moge, G. A.: Nature (London) **206**, 1,359~1,360 (1965).
- 5) Gore, M. G., Jordan, P. M.: J. Chromatogr. **243**, 323~328 (1982).
- 6) Onda, M., Fukushima, H., Akagawa, M.: Chem. Pharm. Bull. **12**, 751 (1964).
- 7) Bowden, K., Drysdale, A. C.: Tetrahedron Lett. **12**, 727~728 (1965).
- 8) Muller, G. F. R., Eugster, C. H.: Helv. Chim. Acta **48**, 910~926 (1965).
- 9) Eugster, C. H., Muller, G. F. R., Good, R.: Tetrahedron Lett. **23**, 1,813~1,815 (1965).
- 10) 竹本常松, 中島 正: 薬誌. **84**, 1,232~1,233 (1964).
- 11) 寺崎 衛, 藤田栄一郎, 和田正三, 竹本常松, 中島 正, 横部哲朗: 栄養と食糧 **18**, 172~175 (1965).
- 12) 上小食品衛生協会編: “長野県のきのこ”, 第1版(1986).
- 13) 厚生省生活衛生局食品保健課編: “全国食中毒事件録”(1977~1986).
- 14) 角田光淳, 井上典子, 青柳康夫, 菅原龍幸: 食衛誌. **34**, 18~24 (1993).
- 15) 角田光淳, 井上典子, 青柳康夫, 菅原龍幸: 同上 **34**, 12~17 (1993).