

# Suomalaisten metsäscientien umamiyhdisteet

Luonnontuotealan tutkimusseminaari 2019

Minna Rotola-Pukkila, Baoru Yang, Anu Hopia

Turun yliopisto



# Tutkimuksen tavoite

- Tarkastella kypsennyksen aikana sienissä tapahtuvaa makuyhdisteiden pitoisuuden muutosta
- Tarkastella erityisesti umamimakua aikaansaavien makuyhdisteiden pitoisuutta
- Vapaiden aminohappojen ja 5-mononukleotidien pitoisuuden määrittäminen
- Tuore ja kypsennetty sieni sekä kypsennyksessä irronnut liemi

## Kemialliset analyysit

- Seinäjoen ammattikorkeakoulun (SeAMK), bio- ja elintarviketekniikan laboratoriossa

## Hanke

- In-Mushroom (Innovative Technologies and Concepts for Business Growth Based on Finnish Mushrooms InMushroom)  
Tekes

- Yksinkertaistettuna ruoka on kasa kemiaa
- Ruuassa erilaisia molekyyliä
- Tietyt molekyylit aikaansaavat tiettyjä makuja
- Ruokasienissä ainutlaatuisia maku- ja aromiominaisuuksia
- Erityisesti umamia



# Umamiyhdisteet ja maku

- Umami: Yksi ihmisen aistimista perusmauista (suolainen, makea, hapan, karvas)
- Kuvailtaan termeillä maukas, täyteläinen, lihaisa, ruokaisa
- Vapaat aminohapot
  - Glutamiinihapon suolat, erityisesti natriumglutamaatti
  - Asparagiinihapon suolat, aspartaatit
- 5'-ribonukleotidit
  - Inosiini 5'-monofosfaatti (IMP), guanosiini 5'-monofosfaatti (GMP)
- Nukleotidit maun tehostajia, synergistinen yhteisvaikutus erityisesti glutamaatin kanssa

Lähteet: Yamaguchi, S. & Ninomiya, K. The use and utility of glutamates as flavoring agents in food. *J. Nutr.* **130**, 921–926 (2000).

Mouritsen and Styrbæk (2014) Umami, Unlocking the Secrets of the Fifth Taste

# Sienten vapaat aminohapot

- Sienten kuiva-ainepitoisuus on matala, ainoastaan 60-140g/kg
- Kuiva-aineen kaksi pääkomponenttia ovat hiilihydraatit ja raakaproteiini
- Vain noin 1% kuiva-aineesta on vapaita aminohappoja
- Vapaat aminohapot edistävät sienten makuprofiilia yhdessä 5'-nukleotidien ja peptidien kanssa
- Proteiineihin sitoutuneet aminohapot edistävät sienten ravintoarvoa

Lähde: Kalac, P. Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review. *Food Chem.* **113**, 9–16 (2009).

# Vapaiden aminohappojen makuominaisuudet

Umami	Makea	Karvas	Neutraali
L-Glutamiinihappo L-Asparagiinihappo	L-Alaniini Glysiini L-Seriini L-Treoniini	L-Arginiini L-Histidiini L-Isoleusiini L-Leusiini L-Metioniini L-Fenyylialaniini L-Tryptofaani L-Valiini	L-Lysiini L-Tyrosiini L-Asparagiini L-Kysteiini L-Glutamiini L-Proliini

- Vapaat aminohapot voidaan jakaa makuominaisuuksiensa mukaan eri ryhmiin
- Taulukon luokittelu perustuu eri lähteisiin Mau et al. (2001) and Yang et al. (2001). Alkuperäinen luokitus Komata (1969)

Lähteet: Mau, J. L., Lin, H. C. and Chen, C. C. (2001) 'Non-volatile components of several medicinal mushrooms', *Food Research International*, 34(6), pp. 521–526. doi: 10.1016/S0963-9969(01)00067-9.  
 Yang, J.-H., Lin, H.-C. and Mau, J.-L. (2001) 'Non-volatile taste components of several commercial mushrooms', *Food Chemistry*, 72, pp. 465–471. doi: 10.1016/S0308-8146(00)00262-4.

# Umamimaisuutta löytyy luontaisesti

- Liha, kala
- Tomaatti, peruna
- Kypsennetyt juustot (parmesaani)
- Sienet
- Umami yhdistetään usein natriumglutamaattiin
- Elintarviketeollisuudessa natriumglutamaattia (E621) käytetään aromivahventeena mm. marinadeissa, lihaleikkeleissä ja valmisruuissa
- Kuluttajien asenne lisäaineita kohtaan ei välttämättä myönteinen
- Potentiaalia korvata tai vähentää synteettisten aromivahventeiden käyttöä käyttämällä raaka-aineita, joissa luontaisesti umamiyhdisteitä



Lähde: Mouritsen and Styrbæk (2014) Umami, Unlocking the Secrets of the Fifth Taste

Kuvalähde: Pixabay.com



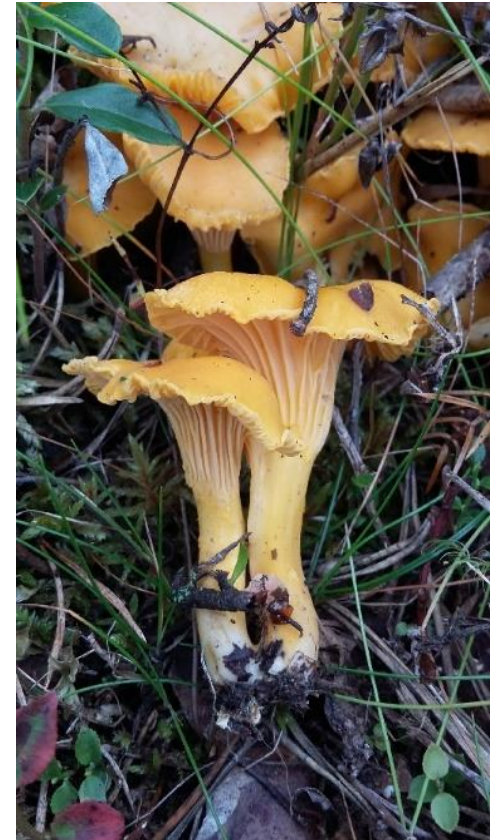
# Analysoidut sienet

## ➤ Viljellyt

- Herkkusieni (*Agaricus bisporus*)

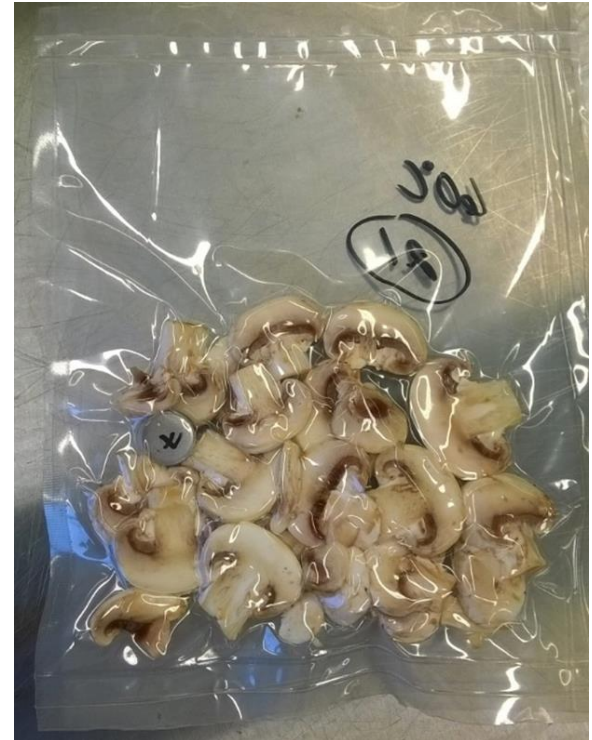
## ➤ Suomalaiset metsäsienet

- Haaparousku (*Lactarius trivialis*)
- Kangastatti (*Suillus variegatus*)
- Kanttarelli (*Cantharellus cibarius*)
- Suppilovahvero (*Cratellus tubaeformis*)



# Koeasetelma

- Sous vide kypsennys vakuumpussissa vesihauteessa mahdollisesti sekä sienien että kypsennyksen aikana irronneen liemen analysoinnin erikseen
- Pussi estää haihtumisen kypsennyksen aikana
- Verrattiin tuoreen sienien pitoisuuksiin
- Määritettiin kemiallisesti sienten vapaat aminohapot ja 5'-mononukleotidien pitoisuudet tuoreissa ja kypsennetyissä sienissä sekä liemissä



# Näytteiden esikäsittely

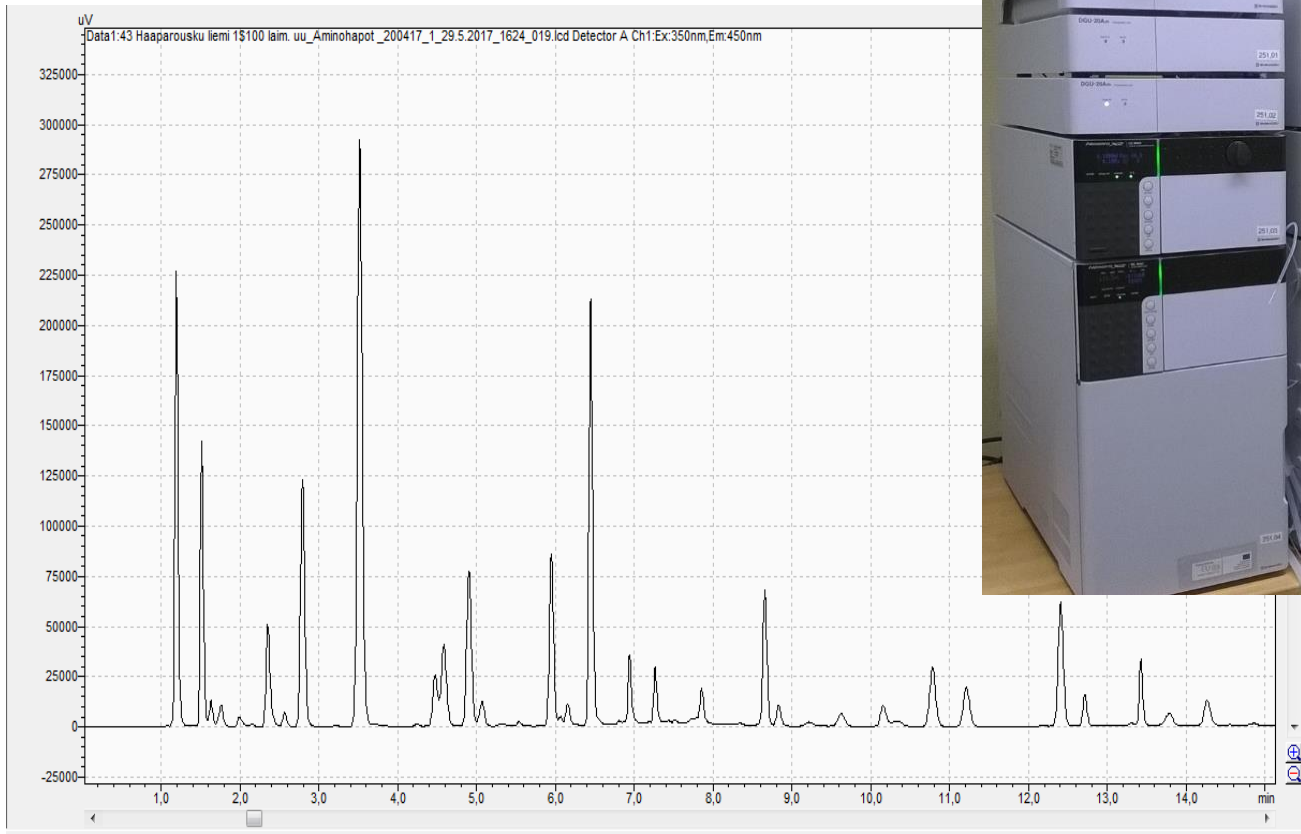
- ▶ Tuoreet ja kypsennetyt sienet
  - Kylmäkuivaus -> jauhaminen
  - Uutto 0,5g näytettä / 50 mL H<sub>2</sub>O
  - Kuumavesiuutto
  - Suodatus
  - Analysointi nestekromatografialaitteistolla (UHPLC)
- ▶ Kypsennyksessä sienestä irronnut neste
  - Suodatus
  - Analysointi UHPLC



# Shimadzu nestekromatografialaitteisto

## Detektorit

- Diodirivi SPD-M20A
- Fluoresenssi RF-20AXS



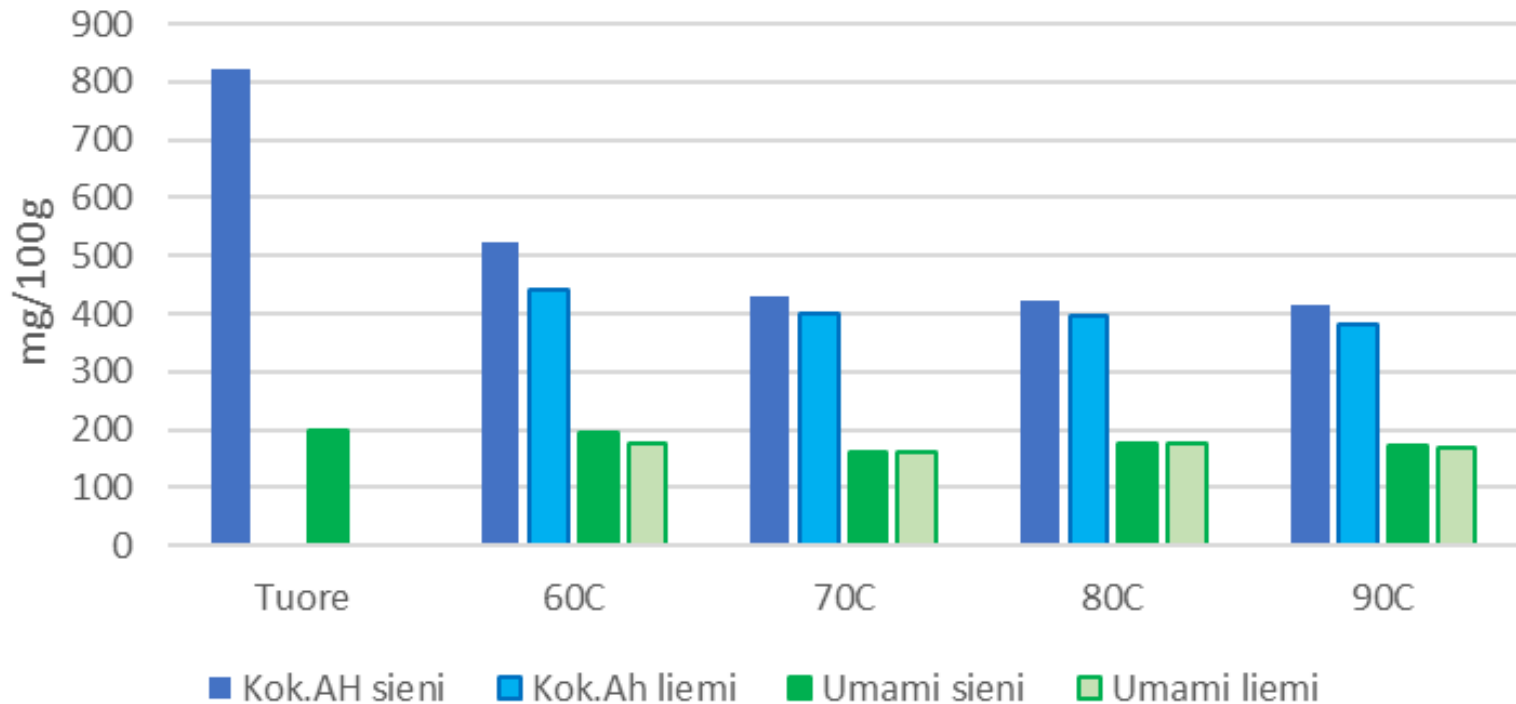
Kuva: Minna Rotola-Pukkila

# Kypsennyksen testisarja

- Kotimainen, valkoinen herkkusieni (*Agaricus bisporus*)
- Herkkusienestä löytyy aikaisempia tutkimustuloksia → omiin tuloksiin vertaaminen
- Kypsennyksen testisarja 60°C, 70°C, 80°C ja 90°C
- 10 minuutin kypsennysaika
- Lisäksi analysoitiin tuore sieni



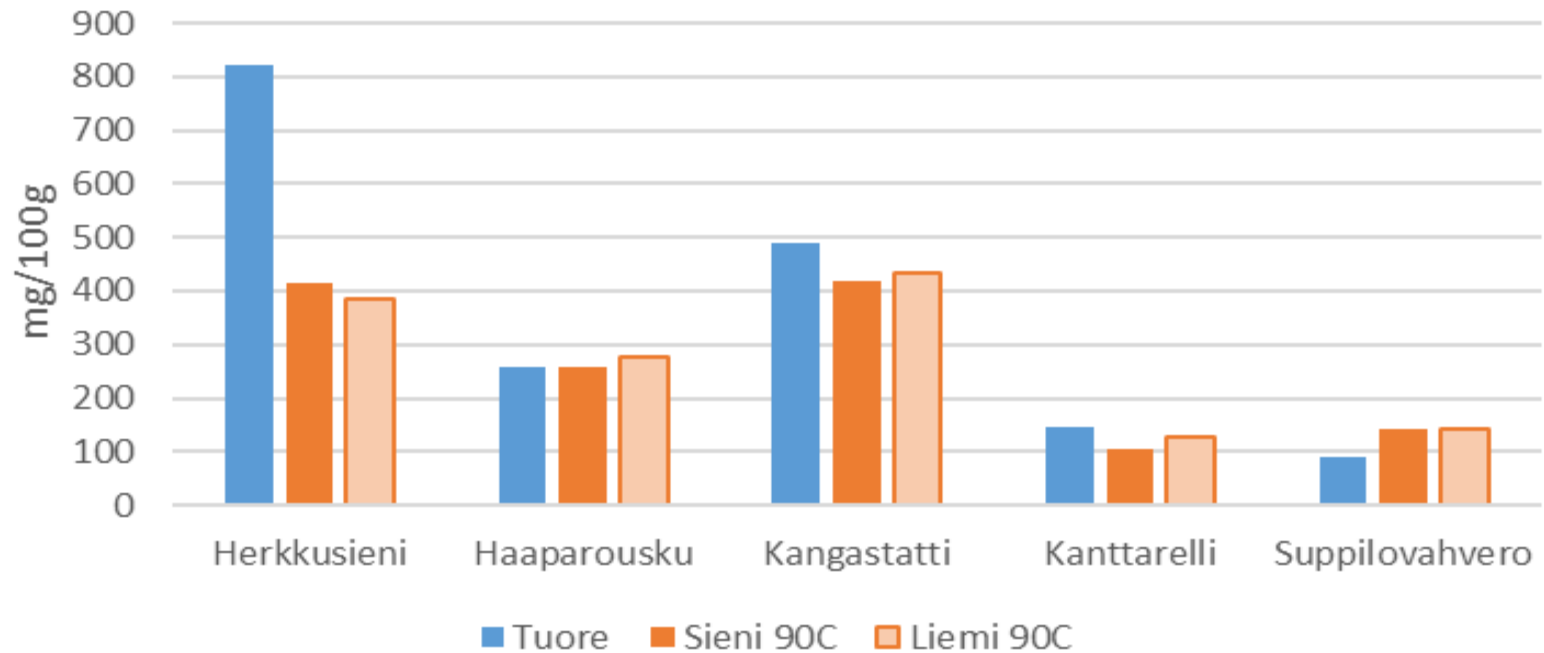
## Aminohappojen kokonaismäärä (mg/100g) TP ja umamiainohapot herkkusienen kypsyssarja



- Analyysitulosten perusteella metsäsienille valittiin kypsennyslämpötila 90°C, 10minuutin kypsennysajalla

Lähde: Rotola-Pukkila, M., Yang, B. & Hopia, A. The effect of cooking on umami compounds in wild and cultivated mushrooms. Food Chem. 278, 56-66 (2019). doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044.

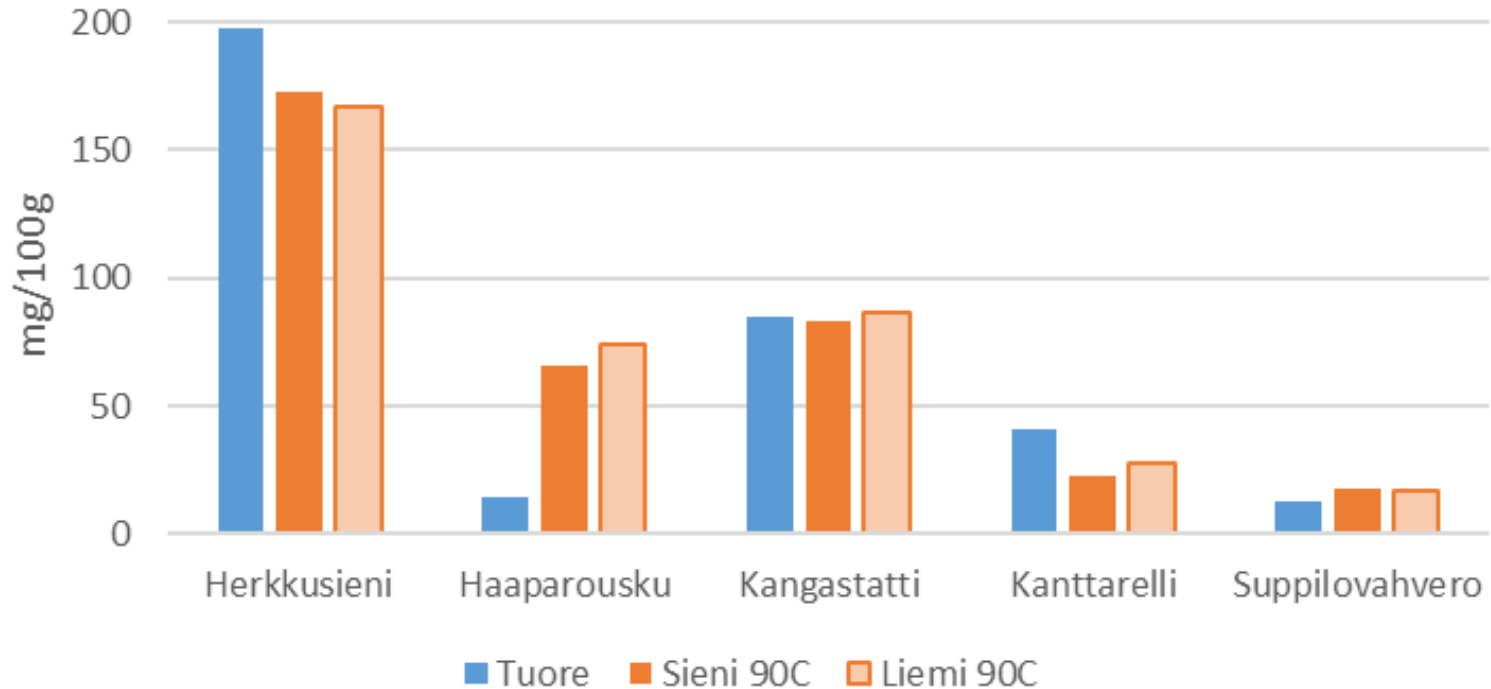
## Vapaat aminohapot kokonaismäärä (mg/100g TP) tuore ja 90C kypsennetty sieni ja liemi



- Metsäsienten vapaiden aminohappojen kokonaismäärät pääasiassa matalampia kun viljellyn herkkusienen
- Metsäsienistä vapaiden aminohappojen kokonaismäärä korkein kangastatilla ja haaparouskulla

Lähde: Rotola-Pukkila, M., Yang, B. & Hopia, A. The effect of cooking on umami compounds in wild and cultivated mushrooms. Food Chem. 278, 56-66 (2019). doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044.

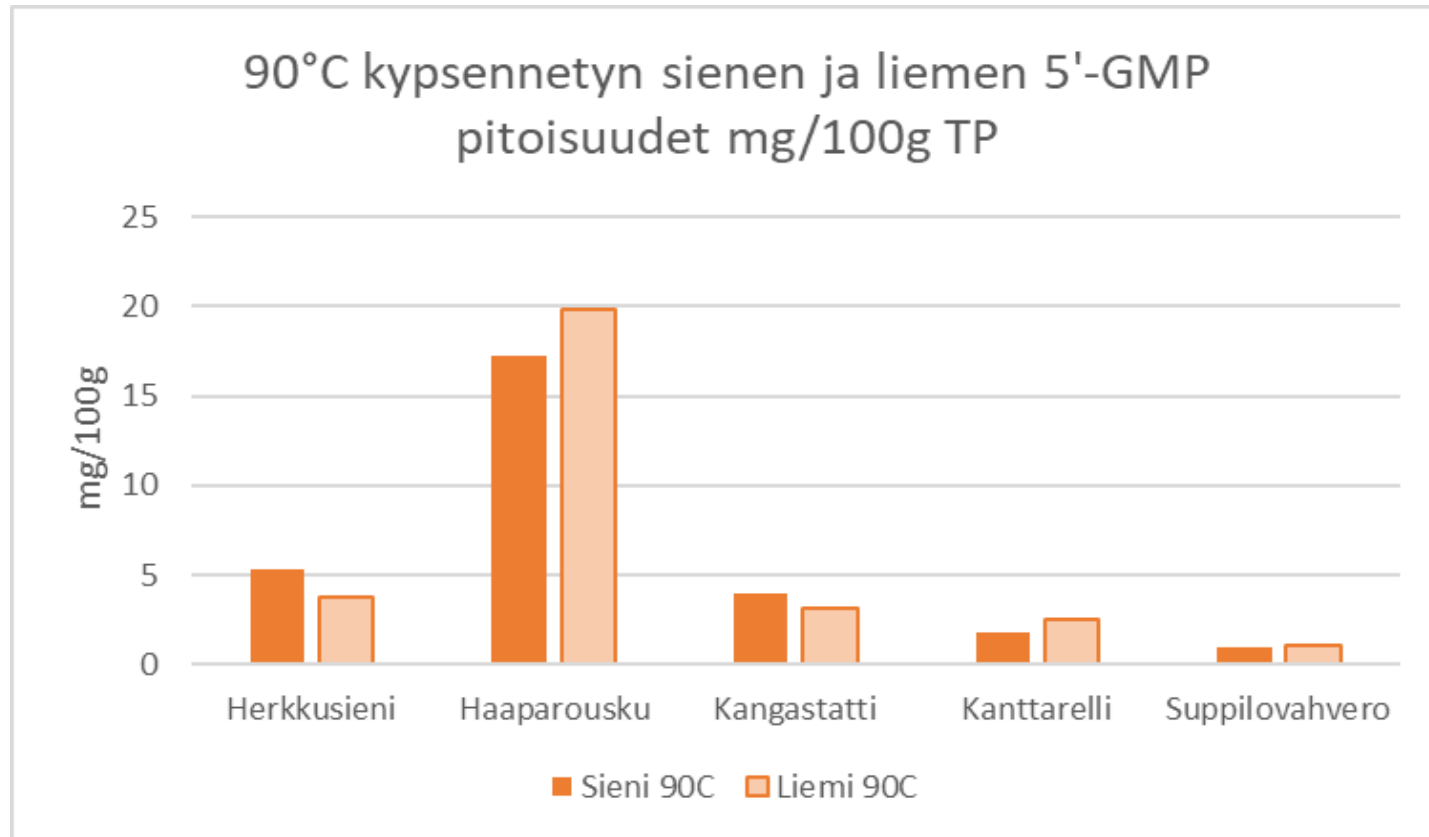
## Umamiainehapot (mg/100g TP) tuore ja 90C kypsennetty sieni ja liemi



- Erittäin erittäin umamiainehaposta aikaan saavien aminohappojen pitoisuus herkkusienessä korkea
- Metsäsienistä umamiainehappojen kokonaismäärä korkein kangastatilla ja haaparouskulla

Lähde: Rotola-Pukkila, M., Yang, B. & Hopia, A. The effect of cooking on umami compounds in wild and cultivated mushrooms. Food Chem. 278, 56-66 (2019). doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044.





- Nukleotideille mitattavia pitoisuuksia ainoastaan kypsennetyistä sienistä
- Flavorinukleotideista ainoastaan 5'-GMP mitattavia pitoisuuksia
- Pitoisuus todennäköisesti riippuu entsyymiaktiivisuudesta
- Korkeimmat nukleotidi (5'-GMP) pitoisuudet mitattiin kypsennetystä haaparouskusta (jopa korkeammat kun herkkusienestä)

Lähde: Rotola-Pukkila, M., Yang, B. & Hopia, A. The effect of cooking on umami compounds in wild and cultivated mushrooms. Food Chem. 278, 56-66 (2019). doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044.

# Yhteenvedoa tuloksista

- Makuyhdisteiden pitoisuudet sienissä, monen tekijän vaikutus
- Kypsennyksen vaikutus makuyhdisteiden pitoisuuksiin vaihteli sienilajista riippuen
- Kypsennetyin sienien ja vapautuneen liemen pitoisuuksissa ei suuria eroja
- Tuoreissa sienissä makua aikaansaavia yhdisteitä tai esiasteita
- Kypsennyksen vaikutus
  - Rakenteiden rikkoutuminen
  - Yhdisteiden vapautuminen
  - Yhdisteiden kemialliset ja entsyymaattiset reaktiot
- Entsyymaattiset reaktiot
  - Entsyymit ja aktiivisuus, olosuhteet (pH ja lämpötila)
- Kemialliset reaktiot
  - Mm. vapaiden aminohappojen ja sokerien välillä

# Tutkimuksen uutuusarvo

- Useimmat makuyhdisteiden tutkimukset on tehty viljellyille sienille, erityisesti herkkusienelle (*Agaricus bisporus*)
- Kypsennyksen vaikutusta makuyhdisteiden pitoisuuksiin ja mahdollisiin muutoksiin tutkittu vähän
- Tutkimuksia pohjoismaisten metsäsienten makuyhdisteistä vähän
- Ei aikaisempia tutkimuksia haaparouskun ja kangastatin makuyhdisteiden pitoisuuksista

# Lisätietoja:

- Rotola-Pukkila, M., Yang, B. & Hopia, A. The effect of cooking on umami compounds in wild and cultivated mushrooms. *Food Chem.* 278, 56-66 (2019).  
[doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.044).
- Manninen, H., Rotola-Pukkila, M., Aisala, H., Hopia, A. & Laaksonen, T. Free amino acids and 5'-nucleotides in Finnish forest mushrooms. *Food Chem.* 247, 23–28 (2018).  
[doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.014](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.12.014)
- Aisala, H., Manninen, H., Laaksonen, T., Linderborg, K.M., Myoda, T., Hopia, A., Sandell, M. Linking volatile and non-volatile compounds to sensory profiles and consumer liking of wild edible Nordic mushrooms. *Food Chem.* 304 (2020).  
[doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125403](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125403).

# Kiitos!



Kuva: Minna Rotola-Pukkila