松茸に関する生化学的研究 (第6報) Biochemical Studies on *Armillaria Matsutake* Mushrooms (Part 6)

アミンの分離とヒスタミンの確認 Separation of Amines and Identification of Histamine

(昭和36年11月10日受理)

井上 伊造
 (Izoh Inoue)

The amines in putrid matsutake mushrooms have been separated systematically. The results indicated the presence of tyramine, phenylethylamine and histamine in the mushrooms, the last being identified by the paperchromatography and elementary analysis of its picrate obtained.

緒 言

良質茸の不良化に伴い、ある期間すなわち自家消化が十分行なわれて初期腐敗に至る時期においては、良質茸に存在している10余種のアミノ酸のうち、フェニルアラニンおよびヒスチジンがほとんど同時に消失し、フェニルエチルアミンおよびヒスタミンの生成することをペーパークロマトグラフィ（以後P. C.と略記）ならびに濾紙電気泳動法により推定した¹⁾²⁾。本報では試料中アミン類をさらに系統的に分離して³⁾、再びP. C.法を行なって検討したほか、アミンの誘導体を製して、これらを確認した。

1. 試料：昭和35年10月、滋賀県多賀町一円の堂の谷に自生した良質茸約10kgを、第3報⁴⁾に述べたと同一方法で採集および人工不良化し、前記アミノ酸の消失する時期、すなわち初期腐敗茸（人工不良化8日）および強度腐敗茸（人工不良化63日）を、アルコールにより酵素作用を停止し、これを第3報と同じ方法で処理して得た温水抽出液を試料とし、トルオールで防腐して冷蔵庫中に保存した。

2. アミンの分離方法：第1図のようにアミン類を系統的に分離した³⁾。なおイオン交換樹脂の処理、吸着、溶出は第4報⁵⁾の方法に準じた。

実験および考察

第1図 アミン類の系統的分離法

3. 分離したアミン区分のP.C.: 分離したアミン区分のP.C.を行なったところ、初期腐敗茸、強度腐敗茸共に、画分1にはニンヒドリン呈色物質を認めなかったが、画分2, 3, 4について第1表のような結果を得た。これらのRfは文献値⁶⁾とも、また筆者が同時に行なっ

た標準試料による比較試験値とも一致した。その結果初期腐敗茸にはフェニルエチルアミン、ヒスタミンを認めたが、チラミンを認めず、また強度腐敗茸には逆にヒスタミンが全く検出されなかった。

第1表 アミン各区分の Rf と特定反応

試 料	展開剤	n-ブタノール, 酢酸, 水 (4:1:5)	フェノール 水 飽 和	ニンヒドリ ン反応	ジアゾ反応 ⁷⁾	イサチン反 応 ²⁾
画分2	フェニルエチルアミン	0.72	0.91	+ 青		+ 赤紫
画分3	チ ラ ミ ン	0.62	0.85	+ 灰赤	+ 橙赤	
画分4	ヒ ス タ ミ ン	0.19	0.68	+ 赤褐	+ 橙赤	

(註) 展開温度12°C, 15時間, 東洋濾紙No. 52による。

4. 誘導体による検索

1) P.C.による方法: P.C.により画分2からフェニルエチルアミン, 画分3からチラミン, 画分4からヒスタミンをそれぞれ検出したので, さらに誘導体を作って確認した。すなわち画分2はベンゾイルクロライドにより, フェニルエチルアミンのベンゾイル誘導体⁸⁾の生成を試みたが, 極微量のため捕捉することができなかった。

画分3, 4については, ピクリン酸のエタノール溶液で中和濃縮後冷却して⁹⁾, ピクラートと, 思われる黄色結晶を得たので, メタノールより再結晶1回を行ない, 画分3より写真1のような黄色板状結晶35.0mg,

および画分4より写真2のような黄色棒状結晶76.4mgを得た。

これらのピクラートについて, P.C.を行なった。これらのピクラートのP.C.の展開は, 市販の標準チラミンおよびヒスタミンから得たピクラートを標準にして試料のピクラートと同時に展開した。展開剤としてはn-ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:2) およびフェノール: 水 (7:3) の二つを用い, 東洋濾紙 No. 52 で12°C, 15時間展開した。その結果標準と試料のRf値は二法とも全く一致した。

(標 準)

(試料: 画分3)

写真1 チラミンのピクラート結晶

(標準)

(試料: 画分4)

写真2 ヒスタミンのピクラート結晶

2) ヒスタミンの確認: またこれらのピクラートのうち、チラミンピクラートは試料少なく再度の再結晶を行わず、ヒスタミンピクラートは再結晶を繰返して得たそれぞれの結晶について元素分析を行なった結果、チラミンピクラートは理論値となおかなりの不一致がみられたが、ヒスタミンピクラートは次の表のように一致した。したがってヒスタミンの存在は確認できた。

- a 融点 : 標準227~229°C
試料227~230°C
混合227~230°C

b 元素分析値

	H	C	N
理論値	2.64%	35.85%	22.12%
標準	2.81%	36.18%	20.58%
試料	2.82%	36.35%	20.63%

(註) 窒素の分析は Micro Dumas 法による。

要 約

初期腐敗茸(人工不良化8日目)にフェニルエチルア

ミンおよびヒスタミンが、また強度腐敗茸(人工不良化63日目)にチラミンが存在することをアミンの系統的分離とP.C法により推定した外、ヒスタミンのについてはピクラートを元素分析した結果よりその存在を確認した。

御指導と御校閲を賜った、滋賀大学々芸学部理学博士堀太郎先生ならびに御助言賜った同大学農学博士伊藤達郎先生に深謝します。また元素分析は京都大学医学部薬学科、京都大学元素分析センターにお願いした。併せて謝意を表します。

文 献

- 1) 井上伊造: 栄養と食糧, 14, 251(1961)
- 2) " : " , 14, 462(1962)
- 3) 佐竹一夫: 標準生化学実験 (文光堂), 79(1953)
- 4) 井上伊造: 栄養と食糧, 14, 404(1962)
- 5) " : " , 14, 459(1962)
- 6) J.M.Bremner and R.H. Kenten: *Biochem.* 49, 651(1951)
- 7) 辺野喜正夫, 善養寺浩: 細菌性食中毒
- 8) 浅野三千三外: 化学実験法 (南山堂) p. 336, 341 (1954)
- 9) 大高洋一, 内田勝久: 農化, 33, 680(1959)

(滋賀県立彦根西高校)