ノ ー ト

[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi*
Vol. 56, No. 3, pp. 209~212, 1982]

植物中のアミンについて

松本 知子, (故) 彼谷 俊夫
(千葉大学教養部)

昭和 56 年 8 月 10 日 受理

Distribution of Amines in Plants

Tomoko MATSUMOTO and Toshio KAYA*
College of Arts and Sciences, Chiba
University, Chiba 260

Free amines were found in 31 plants by paper electrophoresis and paper chromatography. Agmatine was detected in taro and komatsuna (seedling), histamine in eggplant, tomato and spinach, putrescine in passion fruit and cycad, serotonin in banana and tomato, and dopamine in banana. Ethanolamine and tyramine were found to be widely distributed in plants of this study.

(Received August 10, 1981)

ジアミンのブトレッシンおよびカダベリンは 1880 年代に腐敗した動物死体から発見され、その存在は古くから知られていた。それ以来、タンパク質の腐敗産物とされて食中毒等の原因にこれらジアミン類が擬せられたこともあった。1949 年, Herbst および Snell によってブトレッシンがある種の細菌の成長因子であることが初めて見出された。続いて Tabor らによって細菌におけるアミンの合成経路が確立され、さらに生きた細胞中にも広く存在することが認められるようになった。微生物や動物においては、その分布、代謝および機能について研究が進み、細胞増殖の調節因子として注目を浴びるようになった⁽¹⁾。またアグマチン等のグアニジン化合物が食品に伴って人体に摂取されたとき、胃内で *in vivo* にニトロソ化を受ける可能性が指摘され、またニトロソグアニジン化合物のガン原性が注目されるようになり、新しい見地から注意が払われるようになった^(2~4)。一方、植物においては、微生物や動物の場合と比較して著しく遅れていた。しかしアミンが注目されるに至って植物にお

いても関心をもたれるようになった。そして生理活性アミンを中心に研究が進められた。Udenfriend ら⁽⁵⁾によりバナナ、アボカド等 12 種の野菜および果物中からセロトニン、トリプタミン、チラミン、ドーパミンおよびノルエピネフィリンが検出された。またドーパミンはソラマメから、セロトニンはクルミから、ヒスタミンはホウレンソウから検出された報告^(6~8)がある。コリンの前駆物質と考えられるエタノールアミンは Lerch と Stegemann により 41 種の高等植物の葉から検出され、その広い分布が報告された⁽⁹⁾。カダベリンおよびブトレッシンは豆科植物中から検出された^(10,11)。また植物アミンのレビューも Werle⁽¹²⁾ および Smith^(13~16) によって発表されてきた。しかしながらアミン全般についての分布が必ずしも明らかとはいえない。本研究では植物中でとくに食用に供される植物 31 種についてアミンの存在を検討した。

試料の果実および野菜の大部分は 1968~1969 年に千葉市内の青果店から購入、パッションフルーツおよびソテツは八丈島から購入、ツクシ、イタドリ、ヨモギおよびサクラは千葉市内において採集した新鮮物を用いた。試料は各新鮮物 100g を用い、水洗した後、60% エタノール 300 ml を加えて細砕し、室温下で 3 時間放置抽出後、吸引濾過した。その濾液に等量の水を加えた後、強酸性イオン交換樹脂 Dowex 50×4 (H⁺) に吸着させた。アミンの溶出には 5% HCl を用い、その溶出液を減圧濃縮し、濾紙電気泳動 (PE) およびペーパークロマトグラフィー (PC) に供する試料とした。

アミンの定性的確認には PE を用い、緩衝液はピリジン: 酢酸: 水 (1:1:98, v/v/v), pH 4.3, 600V, 1 時間泳動させた。必要に応じ、一次元側を PC (上昇法、展開溶媒は *n*-ブタノール: 酢酸: 水, 4:1:1, v/v/v), 二次元側を PE の組合せで行った。発色剤は 0.2% ニンヒドリンエタノール溶液を用い、特定の発色試薬のあるアミンについてはニンヒドリン反応と併せて確認を行った。特定の発色試薬としてはエーリッヒ試薬 (セロトニン、トリプタミン、チラミンの検出)、赤血塩試薬⁽¹⁷⁾ (セロトニン、ドーパミンの検出)、ニトロソナフトール試薬 (チラミン、セロトニンの検出)、坂口試薬 (アグマチンの検出) およびバウリ試薬 (ヒスタミンの検出) を用いた。PE および PC において各アミン標準品とその泳動距離または *R_f* 値と発色の色調を比較して同定し、その結果は Table I および II に示した。

* Dr. Toshio Kaya died on February 19, 1980.

Table I. Distribution of Amines in Plants

Sample		Amine								
Scientific name (Common name)	Tissue ^a	Ta	5-HT	TyrA	DA	EA	Ag	Hm	Pu	
<i>Citrus Unshiu</i> Marcov. (Satsuma mandarin)	Sc			+		+				
	Pc			++		+				
<i>Eriobotrya japonica</i> Lindl. (Loquat)	Sc	±		+++		±				
	Sd	±		++		+				
<i>Prunus avium</i> L. (Sweet cheery)	Sc			+		+				
	Sd			+++		+++				
<i>Cucumis Melo</i> L. (Hybrid melon)	Sc	±	±	++		+++				
<i>Fragaria grandiflora</i> Ehrh. (Strawberry)	Fr			+++		+				
<i>Musa sapientum</i> L. (Banana)	Sc					++			+	
	Pc		+	++	++	++				
<i>Passiflora edulis</i> Sims. (Passion fruit)	Pc					+			+	
	Sd			+		+				
<i>Cycas revoluta</i> Thunb. (Cycad)	A	±				+				
	Te			+		±				
<i>Ginkgo biloba</i> L. (Ginkgo)	Sd		±			+				
<i>Arachis hypogaea</i> L. (Peanut)	Sd		±			+				
<i>Oryza sativa</i> L. (Rice)	A					+				
<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. (Tomato)	Fr		+	+++		+++		++		
<i>Solanum melongena</i> L. (Eggplant)	Fr					+		+++		
<i>Cucumis sativus</i> L. (Cucumber)	Fr			±		+				
<i>Cucurbita moschata</i> Duch. (Pumpkin)	Fr					++				
<i>Spinacia oleracea</i> L. (Spinach)	Lf, Lst					±		++		
<i>Brassica campestris</i> L. (Komatsuna)	Lf, Lst					+				
	Sl						+			
<i>Brassica pekinensis</i> Rupr. (Chinese cabbage)	Lf					+++				
<i>Allium fistulosum</i> L. (Welsh onion, blanched)	Lf, Lsh					+				
<i>Cryptotaenia canadensis</i> DC. (Japanese honewort)	Lf, Lst			+++		++				
<i>Phaseolus aureus</i> Roxb. (Green gram)	Sl					+				
<i>Equisetum arvense</i> L. (Field horsetail)	To, St			+		±				
<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc. (Japanese knotweed)	Lf, St			+++		+++				
<i>Artemisia vulgaris</i> L. (Mugwort)	Lf					+				
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn. (East indian lotus)	R			+++						
<i>Arctium Lappa</i> L. (Edible burdock)	R					+				
<i>Dioscorea japonica</i> Thunb. (Yam)	Tu		±	+++		++				
<i>Colocasia antiquorum</i> Schott. (Taro)	P-Tu			++		++	+++			
<i>Lentinus edodes</i> Sing. (Shiitake)						±				
<i>Flammulina velutipes</i> Sing. (Enokitake)				++		±		±		
<i>Prunus yedensis</i> Matsum. (Cherry)	Lf			++		+				

TyrA, Tyramine; DA, Dopamine; Ta, Tryptamine; 5-HT, 5-Hydroxytryptamine=Serotonin; EA, Ethanolamine; Ag, Agmatine; Hm, Histamine; Pu, Putrescine.

These amines were separated on paper electrophoresis and bands were visualized as described in the text. (+++), (++), (+) and (±) show the degree of the intensity of colors developed in each band.

^a Key to the tissue studied. A, albumen; Fr, fruit; Lf, leaf; Lsh, leafsheath; Lst, leafstalk; Pc, pericarp; P-Tu, parent tuber; R, root; Sc, sarcocarp; Sd, seed; Sl, seedling; St, stem; Te, testa; To, top; Tu, tuber.

Table II. Coloration with Reagents and Migration Distance of Standard Amines in Electrophoresis

Amine	Migration distance to cathod (mm)	Color with special spraying reagents				
		Ehrlich's reagent	Ferricyanide reagent	Nitrosonaphthol reagent	Pauly reagent	Sakaguchi reagent
Ta	39	purple	—	—	—	—
5-HT	40	blue-purple	yellow-brown	brown-purple	—	—
TyrA	40	yellow	—	red-pink	yellow-orange	—
DA	40	—	pink	—	—	—
EA	80	—	—	—	—	—
Ag	85	—	—	—	—	red-pink
Hm	109	—	—	—	orange	—
Pu	112	—	—	—	—	—

Buffer, pyridine : acetic acid : water (1 : 1 : 98, v/v/v), pH 4.3.

Condition, 600 volts/60 min.

ヒスタミンはナス、トマトおよびホウレンソウから、アグマチンはサトイモおよびコマツナ芽生えから、セロトニンはバナナおよびトマトから、ドーパミンはバナナから、そしてチラミンはイタドリ、ビワ、サクランボ、イチゴ、トマト、ミツバ、レンコン、ヤマノイモ、温州ミカン、プリンスメロン、バナナ、サトイモ、エノキタケ、サクラ、パッションフルーツ、ソテツおよびツクシから検出した。エタノールアミンは3試料を除く他の試料から検出した。ブトレッシンはPEの緩衝液をpH 10.95, 1/20M ホウ砂-炭酸ナトリウム緩衝液に取りかえ、350V, 0.8mA/cm, 2時間泳動させた。2種類の緩衝液による泳動結果から、パッションフルーツ果皮およびバナナ果肉中のジアミンはブトレッシンと同定した。

前述のごとく、ヒスタミンを検出したトマト（ナス科）、ナス（ナス科）およびホウレンソウと、トマト、ナスと同じ科に属するピーマンについて、またアグマチンを検出したサトイモについておのおののアミンの含有量を測定した。試料は1971年に千葉大学教育学部農場にて栽培したものを用いた。ヒスタミンの定量はShore⁽¹⁸⁾の方法に、またアグマチンの定量はCohnおよびShore⁽¹⁹⁾の方法に準じた。両方法ともに、*o*-フタルアルデヒドとアルカリ性下でアミンを縮合させ、生成した蛍光物質を蛍光分光光度計（日立204型）で、励起波長が前者は360nm、後者は355nmとし、前者は443nmの、後者は470nmの蛍光強度を測定した。その結果はTable IIIに示した。この定量に際し、同一植物内での分布を検索するためにナス、トマトおよびピーマンではステージあるいは部位別に測定し、各100g当りのアミン含有量の差異を調べた。ナスでは結実直後の果実（個体当たり平均3.1g）がヒスタミン含量最大であった。花

にも多量に含まれていた。果実（個体当たり平均95.5g）では最大含有量の約1/5であった。芽生えではきわめて少量で、生長に従い開花結実まで増加し、その後減少傾向を示していた。トマトでは1969年以前に市販品を用いて定性的にヒスタミンを検出したが、1970年以降、同様の方法では検出不可能となった。定量の結果、著しく含有量が少なかったが、ステージあるいは部位別による差はナスに類似していた。またアミノ酸の場合、同一の科の植物間にしばしば共通して含まれるものが見られるので、ナス科におけるヒスタミンを検索する目的でピーマンについて同様に定量した。その結果、ピーマン中のヒスタミンは各部位ともにきわめて少量で、ヒスタミンはナス科に共通するものとは認められなかった。ホウレンソウでも高濃度のヒスタミンを測定した。またアグマチンはサトイモで部位別に定量した。含有量は葉で最も多く、茎および根では葉の約1/2であった。塊茎では葉の次に多く、100g中に約1mgという高濃度のアグマチンを測定した。そして親イモより子イモがやや高かった。

本研究から植物におけるアミンはヒスタミン、アグマチン、セロトニン、ドーパミンおよびブトレッシンのように限られた植物中に検出されるものと、エタノールアミンおよびチラミンのように非常に多くの植物中に検出されるものがあった。これは各アミン検出法の感度の差の影響もあると考えられるが、各アミンのもつ機能および代謝等と関係しているものと推察される。またガン原性という点から注目されているアグマチンがサトイモ中に多量に含まれていることが判明した。

本研究をまとめるにあたり、種々のご助言、ご指導、

Table III. Histamine and Agmatine Contents of Plants Determined by the Specific Fluorometric Methods

Sample		Histamine content ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (E. W. 360 nm, A. W. 443 nm)	Agmatine content ($\text{mg}/100\text{g}$) (E. W. 355 nm, A. W. 470 nm)
Eggplant (Harutsubame)	Seedling (10 days old)	6.4	—
	Flower	357.0	—
	Fruit (3.1g/fruit)	406.0	—
	Fruit (95.5g/fruit)	77.0	—
	Leaf	74.0	—
Tomato (Fukuju-2)	Seedling (8 days old)	5.0	—
	Flower	9.1	—
	Fruit (3.1g/fruit)	22.4	—
	Fruit (100.5g/fruit)	18.4	—
	Leaf	4.3	—
Pimiento	Flower	0.7	—
	Fruit (0.7g/fruit)	0	—
	Fruit (20.1g/fruit)	1.0	—
	Leaf	1.4	—
Spinach (Leaf and leafstalk)		129.5	—
Taro	Tuber (parent)	—	1.04
	Tuber (young)	—	1.16
	Leaf	—	1.65
	Stem	—	0.75
	Root	—	0.88

ご校閲を賜った千葉大学園芸学部小倉長雄教授, 中川弘毅助教授, ならびにアミン定量に際し, 試料のご供与を賜った千葉大学教育学部小林実教授 (現在, 名誉教授) に深く感謝の意を表します。

本研究の概要は1970年度および1975年度日本農芸化学会大会で発表した。

- (1) 竹田義朗, 大工原恭: 「生化学実験講座 11, アミノ酸代謝と生体アミン (下)」, 日本生化学会編, 東京化学同人, 東京, 1977, pp.960~961.
- (2) H. Endo, K. Takahashi and H. Aoyagi: *Gann*, **65**, 45 (1974).
- (3) H. Druckrey: "Topics in Chemical Carcinogenesis," ed. by W. Nakahara, S. Takayama, T. Sugimura and S. Odashima. Univ. of Tokyo Press, Tokyo, 1972, pp. 73~101.
- (4) S. S. Mirvish: *J. Natl. Cancer Inst.*, **46**, 1183 (1971).
- (5) S. Udenfriend, W. Lovenberg and A. Sjoerdsma: *Arch. Biochem. Biophys.*, **85**, 487 (1959).
- (6) E. リンドナー: 「食品の毒性学」, 羽賀正信, 赤木満州雄訳, 講談社サイエンティフィク, 1978, pp. 60~64.

- (7) W. Appel and E. Werle: *Arzneimittel-Forsch.*, **9**, 22 (1959).
- (8) U. Haartmann, G. Kahlson, C. Steinhardt: *Life Sci.*, **5**, 1 (1966).
- (9) B. Lerch and H. Stegemann: *Z. Naturforsch.*, **21b**, 216 (1966).
- (10) T. A. Smith and G. Wilshire: *Phytochemistry*, **14**, 2341 (1975).
- (11) T. A. Smith: *Phytochemistry*, **16**, 278 (1977).
- (12) E. Werle: "Modern Methods of Plant Analysis," ed. by K. Paech and M. V. Tracey, Berlin, 1955, Vol. 4, pp. 517~623.
- (13) T. A. Smith: *Biol. Rev. Cambridge Phil. Soc.*, **46**, 201 (1971).
- (14) T. A. Smith: *Phytochemistry*, **16**, 9 (1977).
- (15) T. A. Smith: *Phytochemistry*, **16**, 171 (1977).
- (16) T. A. Smith: *Encycl. Plant Physiol.*, N. S., **8** (2nd. Plant Prod.), 433 (1980).
- (17) T. P. Waalkes, A. Sjoerdsma, C. R. Creveling, H. Weissbach and S. Udenfriend: *Science*, **127**, 648 (1958).
- (18) P. A. Shore, A. Burkhalter and V. H. Cohn: *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **127**, 182 (1959).
- (19) V. H. Cohn and P. A. Shore: *Anal. Biochem.*, **2**, 237 (1961).