



松茸の遊離アミノ酸と遊離糖類について

清原, 利文
後藤, 秀夫
吉川, 三吉

(Citation)

兵庫農科大学研究報告. 農芸化学編, 5(2):135-138

(Issue Date)

1962-12

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81008228>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008228>



松茸の遊離アミノ酸と遊離糖類について

清原利文・後藤秀夫・吉川三吉

On Free Amino Acids and Free Sugars in Pine Agaric

Toshihumi KIYOHARA, Hideo GOTO and Mitsuyoshi YOSHIKAWA

マツタケは植物分類学上、担子菌綱、真正担子菌亜綱、帽菌目に属し、学名を *Arimillaria edodes Berk*; *A. Matsutake*. S. Ito et Imai. と称し、シイタケ、シメジとともに特有の芳香ならびに美味のため秋には食膳に供されている。

マツタケの成分については、すでにかんりの研究が見受けられるが、その多くはその特殊成分¹⁻⁵⁾にむけられている。糖類についてはマンニット、トレハロース、ペントーザン、およびメチルペントーザン等が報告されており、遊離アミノ酸の研究については、著者等の知るかぎりでは、最近まで見出すことが出来なかったのであるが、今年に至り、脇田⁶⁾が多種類にわたる茸類の遊離アミノ酸および遊離糖類を比較している中の一部にそれを見出すことが出来た。著者等はかねて、当地方の特産物であるマツタケの成分につき興味をおぼえ、その遊離アミノ酸を検討してきたが、アミノ酸のほか遊離糖類の存在をも認めたので、これらについてここにあわせて報告する。

実験の部

マツタケ中の遊離アミノ酸の検索

材料 使用したマツタケは、1958年10月兵庫県多紀郡産のもので、新鮮な、しかも高さ約10cm程度の中びらきの、いわゆる極上品である。このマツタケ(1,191g)に附着している砂を落し、細刻し、酵素作用の停止、および保存のために、通風乾燥器で60~70°Cにて24時間乾燥し、乾物細片をさらに粉砕機にかけて粉末とした。この際の乾物量は143gであった。

試料の調製 Fig.1に示す如く、試料76gに水250mlを加え、一夜放置して、その浸出液に中性酢酸鉛を加え、沈澱物を濾去し、その濾液に塩基性酢酸鉛を加え、濾過し、その濾液に硫化水素を通じて鉛を除き、濾液を減圧濃縮して、その濃縮液を Amberlite IR-120(H型)のカラムに通し、水洗後、吸着区分を5%アンモニア水で溶出し、その溶出液を減圧濃縮して試料Iとした。

また、Amberlite IR-120の非吸着区分につき、松下等⁷⁾の方法に準じて行った Amberlite IRC-50 (緩衝

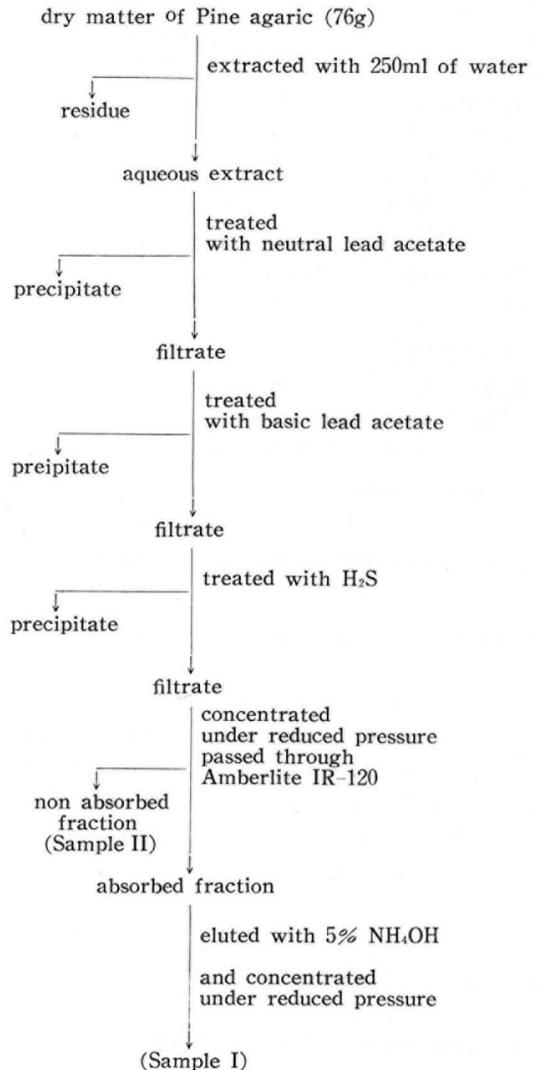
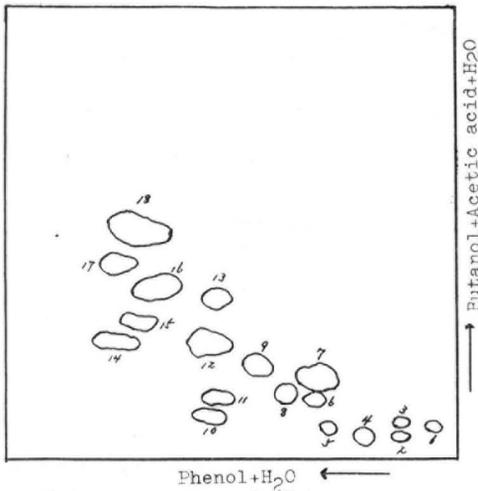


Fig. 1. Sample Preparation



- | | |
|----------------------------------|----------------------------|
| 1. Unknown, | 2. Unknown, |
| 3. Aspartic acid | 4. Lysine, |
| 5. Unknown, | 6. Serine, |
| 7. Glutamic acid, | 8. Glycine, |
| 9. Threonine, | |
| 10. Unknown | |
| (Sakaguchi's reaction positive), | |
| 11. Arginine, | 12. Alanine, |
| 13. Tyrosine, | 14. Proline, |
| 15. Tryptophane, | |
| 16. Valine or Methionine, | |
| 17. Phenylalanine, | 18. Leucine or Isoleucine. |

Fig. 2. Paper chromatogram of free amino acids in Pine agaric.

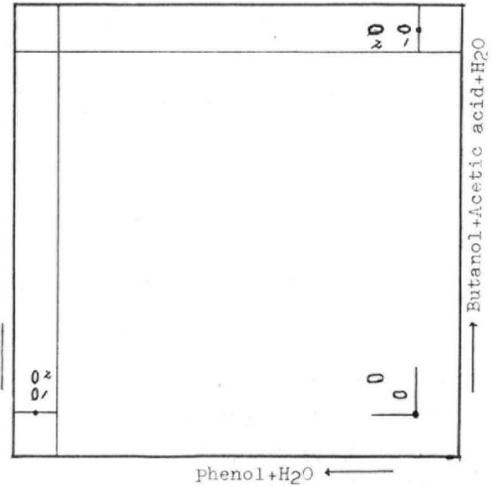
液にて PH 4.7 に調整). の吸着区分はニンヒドリン反応陰性であったので、これについては検索は行わなかった.

2次元ペーパークロマトグラフィーによる検索

試料 I につき 2次元ペーパークロマトグラフィー (以下 P.P.C. と略す) を行った. 東洋濾紙 No.50 (40cm×40cm) を用い、展開剤としては、1次元はフェノール水 (4 : 1 v/v)、2次元は n-ブタノール-酢酸水 (4 : 1 : 5 v/v) の上層液を用い、発色剤は 0.25% ニンヒドリン-ブタノール液を用いた. その結果 Fig.2 に示す如く 18個のスポットを得、それらを純粋のアミノ酸と比較してアスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、セリン、グリシン、スレオニン、アルギニン、チロシン、アラニン、バリンあるいはメチオニン、フェニールアラニン、ロイシンあるいはイソロイシン、プロリン、トリプトファンの14~16個のアミノ酸を推定し、その他に未知のスポット4個を認めた.

アミノ酸の特異呈色反応^{8),9)} による確認

著者等は、上記アミノ酸の存在をより確かにするために上記条件下で行った P.P.C. (東洋濾紙 No.50 20cm×20cm) について特異呈色反応を試みた. すなわち



- | | |
|------------------|------------------|
| 1. Standard Asp. | 2. Standard Glu. |
|------------------|------------------|

Fig. 3. Paper chromatogram of acidic amino acids.

アルギニンおよびグリシンの存在は坂口反応によりそれぞれ桃赤色、および淡青色のアルギニンおよびグリシンに一致するスポットの得られることにより同定した. なおその他に桃赤色の未知スポット1個を見出した.

セリンおよびスレオニンは過ヨード酸カリによるオキシアミノ酸の反応を用い黄色のスポットとして検出した. プロリンはイサチン反応により黄色地に青色のスポットとして、またニンヒドリンにより黄色のスポットとして検出した.

チロシンは α- ニトロソ β- ナフトールにより、緑色地に褐色のスポットとして観察した.

トリプトファン、チロシン、プロリンは過マンガン酸カリと炭酸ソーダーにより、赤紫色地に黄色のスポットとして検出した.

トリプトファンは試験管に試料 I をとり Adamkiewicz 反応により、界面に赤紫色の環として、また Neubauer-Rhode 反応により、赤紫色として検出した.

また2次元 P.P.C. でメチオニンあるいはバリンの Rf 値に近いスポットが見られたので1次元 (n-ブタノール-酢酸水 4 : 1 : 1 v/v) および2次元 P.P.C. に塩化白金酸法を試みたが、含硫アミノ酸の存在を認めることが出来なかったので、それは恐らくバリンの存在を意味するものと想像した.

濾紙電気泳動法によるアミノ酸の分離

濾紙電気泳動法によりアミノ酸を酸性、中性、塩基性の3群に分離し、その各部を切りとり、50%エタノールにて溶出し、これを減圧濃縮して2次元 P.P.C. に供した.

なお、紙電気泳動法は下記の条件で行った。

緩衝液 酢酸-酢酸ソーダ-緩衝液 (pH 5.0, $\mu=0.2$)
 紙 東洋紙 No. 50 (巾4.5cm 長さ35cm)
 電圧 14 V/cm (一定)
 電流 0.67~1.0 mA/cm
 泳動時間 3時間

紙電気泳動法によって酸性、中性、塩基性、の各アミノ酸群に分離したもののうち、塩基性のアミノ酸群のペーパークロマトグラムについて Pauly 反応を試みたが、ヒスチジンの存在を認めることが出来なかった。

酸性アミノ酸群の2次元 P.P.C. (Fig. 3) によりアスパラギン酸とグルタミン酸の存在を認めた。

マツタケ中の遊離糖類の検索

試料 Fig. 1 に於ける Amberlite IR-120(H型)の非吸着区分(試料II)について検索した。

P.P.C. による検索

下記の条件下で P.P.C. を行った結果 Fig. 4 a に示す如くフタル酸アニリン液では2個のスポットを得、またアンモニア性硝酸銀では8個のスポットを認めた。

展開条件

使用紙 東洋紙 No. 50 1.5cm×40cm,

展開剤 ブタノール-エタノール-水 (5:3:2 v/v)
 水飽和ピリジン
 発色剤 フタル酸アニリン液
 アンモニア性硝酸銀 (時としてアンモニア性硝酸銀の噴霧後10%苛性ソーダ液を噴霧して発色させた。)

さらに40cm×40cmの紙を用い、1次元で3重展開後スポット3、4、5、(Fig. 4 b)に相当する部分を切りとり、水にて溶出し、それぞれのフラクション〔スポット3、4、5、に相当する各区分をf(3)、f(4)、f(5)とする〕について既知の糖を対照にして展開し、f(3)、f(4)、f(5)、からは、それぞれマンニット、グルコース、トレハロースに一致するスポットを得た。なおフタル酸アニリン液で発色すると対照グルコース、およびそれに一致するスポット4のみが発色し、またアンモニア性硝酸銀液では対照グルコース、マンニット、トレハロース、およびそれに一致するスポット、すなわちスポット3、4、5、を見出すことが出来た。

糖酸とフェニールグルコサゾーンの調製

a) 硝酸酸化による糖酸の調製

試料 10ml に 6ml の濃硝酸 (比重 1.40) を加え、沸騰水浴上で酸化し、約 2ml 程度にまで蒸発させて、炭酸カリで中和した後、酢酸で酸性にしたものの中に酸性砂糖酸カリ特有の結晶形を観察した。

b) フェニールグルコサゾーンの調製

試料 10ml に酢酸ソーダーと塩酸フェニールヒドラジンを加え、沸騰湯浴上で30分間加熱して黄色のフェニールグルコサゾーンを調製した (m.p. 204°)。

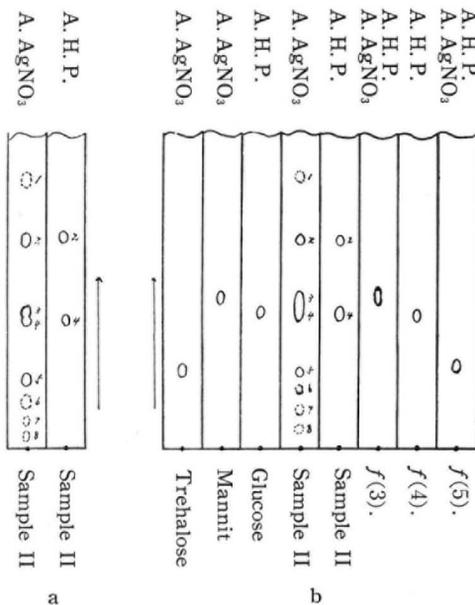
考察および要約

マツタケ中の遊離アミノ酸と遊離糖類についての報告は甚だしい。

脇田⁶⁾はマツタケ中の遊離アミノ酸として、9種のアミノ酸を報告しているが、著者等は14種を見出し、脇田のメチオニンの存在は確認することはできなかったが、その他にアスパラギン酸、リジン、グリシン、スレオニン、トリプトファンのアミノ酸を検出した。

すなわち、著者等は、2次元 P.P.C. に紙電気泳動法およびアミノ酸の特異呈色反応を併用して、アスパラギン酸、リジン、セリン、グルタミン酸、グリシン、スレオニン、アルギニン、アラニン、チロシン、プロリン、トリプトファン、バリン、フェニールアラニン、ロイシンあるいはイソロイシン、の遊離アミノ酸を認めた。

マツタケ中の糖類については、マンニット、トレハロ



A. H. P. : Aniline-hydrogen-phthalate
 A. AgNO₃: Ammoniacal silver nitrate
 Solvent.: Butanol-Ethanol-H₂O (5:3:2 v/v)

Fig. 4. Paper chromatogram of free sugars in Pine agaric.

ース, ペントーザン, メチルペントーザンの存在についての報告,⁴⁾ ならびに脇田⁶⁾ の還元糖 (グルコースとして) 非還元糖 (トレハロースとして) の定量結果についての報告もあるが, 著者等の結果では遊離糖類として, マンニット, トレハロース, の他にグルコースの存在をペーパークロマトグラフィー, フェニールグルコサゾン, と酸性砂糖酸カリの調製等により認めた.

終りに臨み本研究に御懇篤な御指導をいただいた前学長三宅捷先生, 故渡辺憲教授に衷心より謝意を表します.

(生物化学講座 昭 37. 8. 31 受理)

文 献

- 1) 横山正美: 食品と栄養の化学, p. 67 (昭31).
- 2) 岩出亥之助: 三重大学報, **11**, 95 (1956).
- 3) 矢野元照: ビタミン, **8**, 20 (1955).
- 4) 三浦伊八郎他: 林学, **18**, 415 (1936).
- 5) 三浦伊八郎他: 林学, **19**, 421 (1937).
- 6) 脇田正二: 農化, **36**, 96 (1962).
- 7) 松下アヤコ: 農化, **32**, 833 (1958).
- 8) 赤堀, 水島: 蛋白質化学, 1 卷, p. 140 昭 29.
- 9) 大須賀昭夫: 化学の領域, **8**, 181 (1954).

Summary

Free amino acids and free sugars in Pine agaric (*Arimillaria edodes* Berk) were investigated.

On the presence of free amino acids, following results were obtained by paper partition chromatography combined with the specific color reactions and by paper electrophoresis: aspartic acid, glutamic acid, lysine, serine, glycine, threonine, arginine, tyrosine, valine, phenylalanine, leucine, and/or isoleucine proline, alanine, and four unknowns were detected.

And any spot was not identified with that of methionine, sulfur-containing amino acids, or histidine on the specific color reactions.

As free sugars, mannit, glucose, trehalose and unknown reducing sugars were found by paper partition chromatography from the non-absorbed fraction passed through cation-exchange resin (Amberlite IR-120).

In order to be sure of the presence of glucose, phenylglucosazone and hydrogen potassium salt of glucosaccharic acid were prepared from sample.

(Biochemical Laboratory)