

シャンピニオンエキスの消臭効果と生体内 インドール、トリプタミン生成抑制効果

古泉 巖* 鈴木 嘉彦* 志村 純子*

食肉、魚介類が腐敗すると悪臭を発生し、また、これらの食品は腸内で発酵分解して悪臭源となる物質インドール、スカトールを生成する。これらの悪臭に対して種々の消臭剤が用いられてきたが、著者らはマッシュルームから抽出したシャンピニオンエキスの消臭効果およびインドール、トリプタミン生成抑制効果について *in vitro* および *in vivo* の実験を行った。本実験では、食肉などの腐敗によって生じるアンモニア性窒素の濃度、および腸管から吸収されたトリプトファンの代謝産物であるインドール酢酸とトリプタミンの血中濃度を測定し、これらを消臭効果の評価基準とした。

アンモニアはネスラー法により、トリプトファン、トリプタミンおよびインドール酢酸は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にて分析した。鶏肝ホモジネートを用いた腐敗実験では、シャンピニオンエキスがアンモニア性窒素の発生を抑制することが分かった。家兎にトリプトファンを経口投与すると血中にインドール酢酸、トリプタミンが検出されるが、シャンピニオンエキスを同時投与した家兎ではトリプタミンはまったく検出されなくなり、インドール酢酸も投与12時間目には検出されなくなった。このようにシャンピニオンエキスは、食肉の腐敗によるアンモニア生成を抑制し、家兎血中トリプタミン、インドール酢酸の代謝を早めることが分かった。今後、これを実際に応用するにはさらに研究が必要だが、シャンピニオンエキスは動物性食品などの腐敗による悪臭発生の防止に役立つものと考えられる。

Key words: シャンピニオンエキス, インドール, アンモニア, 解毒, トリプタミン, 消臭

I 緒 言

魚介類、食肉などが腐敗すると悪臭を発生し、人の生活環境を汚染する。これらの悪臭を防止するために種々の方法が報告されてきた。活性炭やゼオライトは臭気分子を多孔物質の中に閉じ込めて揮発を抑える^{1,2)}。バニリンなどの香料は強い芳香で臭気をマスキングする。また、悪臭物質を産生する腐敗菌を滅菌する方法、臭気分解酵素を用いる方法、オゾン、亜塩素酸などを用いて臭気分子を酸化する方法などがある³⁾。

Maillard (1912) は、アミノ酸、糖の加熱による褐変反応で悪臭を好ましい香りに変化させる Maillard 反応を報告した⁵⁾。

西田 (1988)、高原ら (1994) は、植物精油または木酢を消臭剤として利用する研究を行

い⁶⁻⁸⁾、白井ら (1994) は酵素に類似した触媒能を有する消臭繊維の開発を進めた^{3,4)}。高橋ら (1991) はマッシュルームエキスによる乳用子牛の下痢防止と体内臭気ガス発生抑制効果などを報告した⁹⁾。マッシュルームにはフェノール化合物のポリフェノールオキシダーゼ (フェノラーゼ、チロシナーゼ) が多く含まれ、これらの酵素機能は強力な酸化反応であることが知られている¹⁰⁾。著者らは、消臭効果の評価基準として腐敗によって発生するアンモニア性窒素または血液中のインドール酢酸、トリプタミン濃度を測定し、シャンピニオンエキスによるこれらの物質の生成抑制効果に関する実験を行った。

II 研究方法

1. シャンピニオンエキス

株式会社リコム社市販品。原液 (BASIC) を使用した。この製品はマッシュルームの子実体抽出液を有効成分とするエキスである。

* 麻布大学獣医学部生化学教室
連絡先: 〒229 相模原市淵野辺 1-17-71
麻布大学獣医学部生化学教室 古泉 巖

2. in Vitro 試験

ガラスシャーレに鶏肝ホモジネート1gと蒸留水9mlを加え混和したものを対照とし、一方、鶏肝ホモジネート1gと蒸留水8.5, 8.0, 7.0, 5.0 mlを加え、さらにシャンピニオンエキス原液0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mlをそれぞれ添加し、これを混和したものを実験群とした。各群のシャーレ数は3枚とし、シャーレにフタを施し37°Cに保温し、腐敗を進行させた。6, 12, 24, 48, 72時間経過毎に取出し、濾紙(ADBANTEC No. 2)にて濾過後、蒸留水15 mlで洗浄し、水を加えて総量を20 mlとした。この濾液に除タンパク試薬を加え濾過後、濾液中のアモニア性窒素をNessler法にて測定し¹³⁾、シャンピニオンエキス添加によるアモニア性窒素の発生抑制効果を調べた。

3. in Vivo 試験

実験動物には日本産白色在来種の家兎の雄を用いた。入荷時、体重2.0~2.5 kgの家兎25頭を自由給水給餌で15日間飼育し、この中から体重増加、外貌所見、血液検査(血清タンパク、血色素量、s-GOT)で健康な家兎21頭を選別し、3群に分けた。

第1群 5頭を対照群とした。

第2群 5頭にはトリプトファン1.0 g/kgと水10 mlの混合液をカテーテルを用いて経口投与した。

第3群 11頭にはトリプトファン1.0 g/kgを水10 mlに混和し、さらにシャンピニオンエキス原液5 ml/kgを加えた混合液をカテーテルで経口投与した。各群ともに自由給水給餌とした。各群の家兎より投与後1, 3, 6, 9, 12時間目に耳静脈から血液1 mlを採血し、直ちに3000 rpmで10分間遠心分離し、血清を分離した。

血清と等容量の25% (W/V) トリクロル酢酸

を添加し、10分間静置後、再度、3000 rpmで10分間遠心分離し、除蛋白した。上清を0.45 μm フィルター (DISMIC) で濾過し、HPLCの測定試料とした。

4. HPLC 分析¹⁴⁾

トリプトファン、トリプタミン、インドール酢酸の標準品100 μgを表1の条件で分析した結果、図1に示すようにこれら3者をHPLCで分離定量できることが分かった。

1) 標準品濃度と分析値

トリプトファン、インドール酢酸、トリプタミン200 μg/dl, 100 μg/dl, 80 μg/dl, 60 μg/dlの各濃度の標準品を分析し、標準とした。

2) 回収試験

家兎血清にトリプトファン、インドール酢酸、トリプタミン各100 μgを乳鉢にとり、プール血清を少しずつ添加し、血清総量100 mlを加え良く混和する。1時間静置後、回収試験を実施した結果、トリプトファン103.6%、インドール酢酸106.6%、トリプタミン94.3%の回収成績が得られた。

5. 有意差検定

各群間の平均値の差の検定には Student's *t*-test を用いた。

III 研究結果

1. 鶏肝ホモジネートの腐敗進行によるアモニア性窒素の発生とシャンピニオンエキスの抑制効果

図1 標準品トリプトファン、トリプタミン、インドール酢酸のHPLC法による分離分析

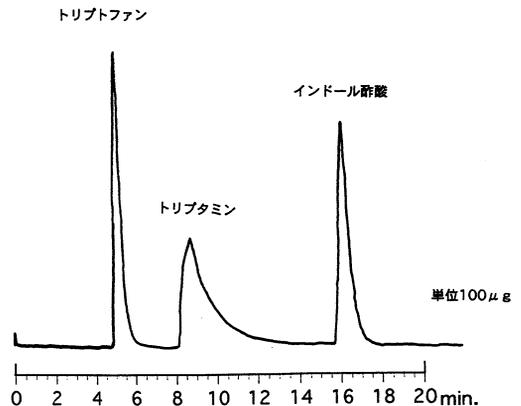


表1 HPLC 分析条件

HPLC	: VARIAN 5000
Column	: Hitati Gel#3056 (4 mm×150 mm)
移動相	: Trifluoroacetic acid (TFA) 0.1%
	Acetonitrile 15.0%
	D.W. 84.9%
流速	: 1.0 ml/min.
検出器	: UV265 nm

表2 鶏肝ホモジネートの腐敗進行によるアンモニア性窒素の発生とシャンピニオンエキスの抑制効果

鶏肝ホモジネート (g)	蒸 留 水 (ml)	シャンピニオンエキス (原液 ml)	アンモニア性窒素 (mg/dl) 37℃				
			6時間	12時間	24時間	48時間	72時間
1	9.0	0.0	3.30	7.77	19.58	56.85	109.89
1	8.5	0.5	3.66	7.57	12.16	45.44	100.54
1	8.0	1.0	4.15	7.02	9.48	11.83	20.84
1	7.0	2.0	5.01	6.08	9.33	11.70	20.08
1	5.0	4.0	6.19	7.21	9.02	11.09	14.41

表2のように、鶏肝ホモジネート1gに蒸留水9.0, 8.5, 8.0, 7.0, 5.0 mlとシャンピニオンエキス原液0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mlを加え37℃に保温し、6, 12, 24, 48, 72時間時の試料を採取してアンモニア性窒素量を測定した。シャンピニオンエキス原液には73 mg/dlのアンモニア性窒素を含有していたので、6時間経過時ではシャンピニオンエキス無添加で3.3 mg/dl、これに対してシャンピニオンエキス原液4.0 ml添加で6.19 mg/dlのアンモニア性窒素が測定され、シャンピニオンエキス添加で約2倍の高値を示した。しかし、12時間経過後では6.08~7.77 mg/dlの範囲となり、その差はほとんどなくなった。24時間経過後ではシャンピニオンエキス無添加試料のアンモニア性窒素量は19.58 mg/dlで、0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mlのシャンピニオンエキス添加ではそれぞれ12.16, 9.48, 9.33, 9.02 mg/dlとなり、シャンピニオンエキス添加でアンモニア性窒素生成は抑制された。48時間経過時ではアンモニア性窒素生成の抑制効果はさらに増大し、72時間時ではシャンピニオンエキス無添加試料で109.89 mg/dlとなり、0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mlの添加ではそれぞれ100.54, 20.84, 20.08, 14.41 mg/dlであった。したがってシャンピニオンエキス1.0 ml以上の添加は、24時間以後に顕著なアンモニア性窒素の生成を抑制する結果が見られた。

2. 実験家兔群の血清中のトリプトファン、インドール酢酸、トリプタミンの経時変化

1) 血清中のトリプトファン濃度の経時変化

第1群 対照群の血清中のトリプトファン量は、家兔の個体差および0, 3, 6, 9, 12時間毎の採血による採血回数の影響で多少の差異はあるも、0.15~0.23 mg/dlの範囲であった。

第2群 トリプトファン経口投与群は、実験開始時に0.22 mg/dlであったが、1時間後では7.63

mg/dlとなり、実験開始時の約30倍に増加した。さらに3時間後は8.04 mg/dlと実験開始時の40倍近い値になったが、6~9時間後では激減し、9時間後では0.33 mg/dlに減り、12時間後は実験開始時より低い値になった。

第3群 トリプトファンおよびシャンピニオンエキスの併用経口投与群は実験開始時に0.22 mg/dlであった。トリプトファンおよびシャンピニオンエキスの併用投与1時間後では8.57 mg/dlと約40倍に急増し、これをピークに3時間後では7.03 mg/dlに減少し、6時間後では1.46 mg/dlに激減した。9時間後では実験開始時より低い0.14 mg/dlになった。

トリプトファン経口投与は、投与1時間から6時間まで第1群と比較して血清トリプトファン濃度の有意な増量を示した。シャンピニオンエキスを同時投与した第3群も同様であった。

2) 血清中のインドール酢酸濃度の経時変化

第1群 対照群の家兔血清中にはインドール酢酸は検出されなかった。

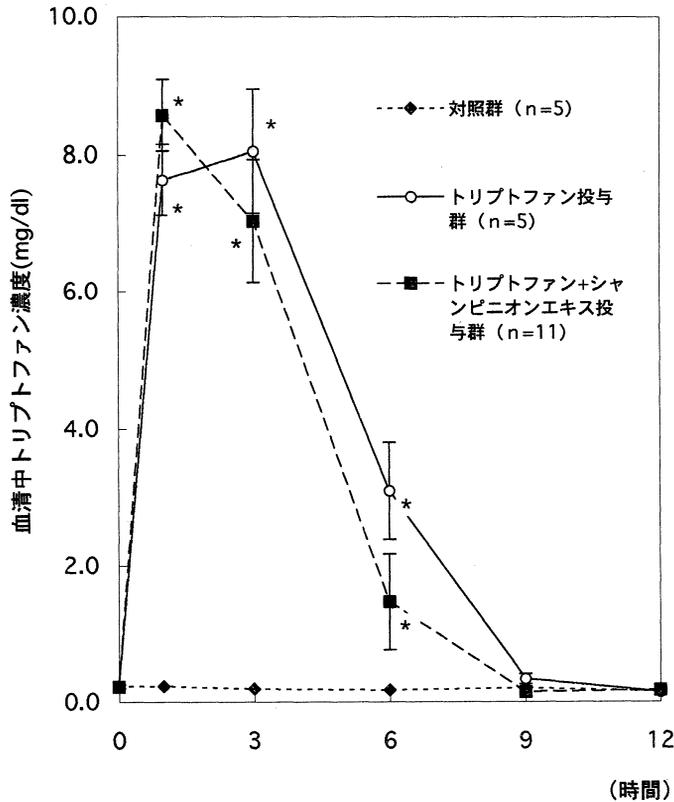
第2群 トリプトファン経口投与群では、1時間後0.04 mg/dl、3時間後0.06 mg/dl、6時間後0.06 mg/dl、9時間後0.05 mg/dl、12時間後0.09 mg/dlとなり、時間の経過とともに増加した。

第3群 トリプトファンとシャンピニオンエキス併用経口投与群の1時間後0.02 mg/dl、3時間後0.02 mg/dlで、6時間後、9時間後に痕跡が見られ、12時間後はインドール酢酸はまったく検出されなかった。シャンピニオンエキスは投与3時間以降、有意に血清インドール酢酸の生成を抑制した。

3) 血清中トリプタミン濃度の経時変化

第1群 対照群の家兔血清にはトリプタミンは検出されなかった。

図2 トリプトファン経口投与後の家兎血清中トリプトファン濃度の経時変化



*: 対照群に対して有意差あり ($p < 0.05$)

第2群 トリプトファンの経口投与群では、1時間後の家兎血清トリプトファン量は0.023 mg/dl、3時間後0.025 mg/dl、6時間後0.013 mg/dlであった。

第3群 トリプトファンとシャンピニオンエキス併用経口投与群の家兎血清にはトリプトファンは検出されなかった。したがって1時間、3時間、6時間時の2群の家兎血清は3群に対して有意差が見られ、シャンピニオンエキスがトリプトファンの生成を抑制することが示された。

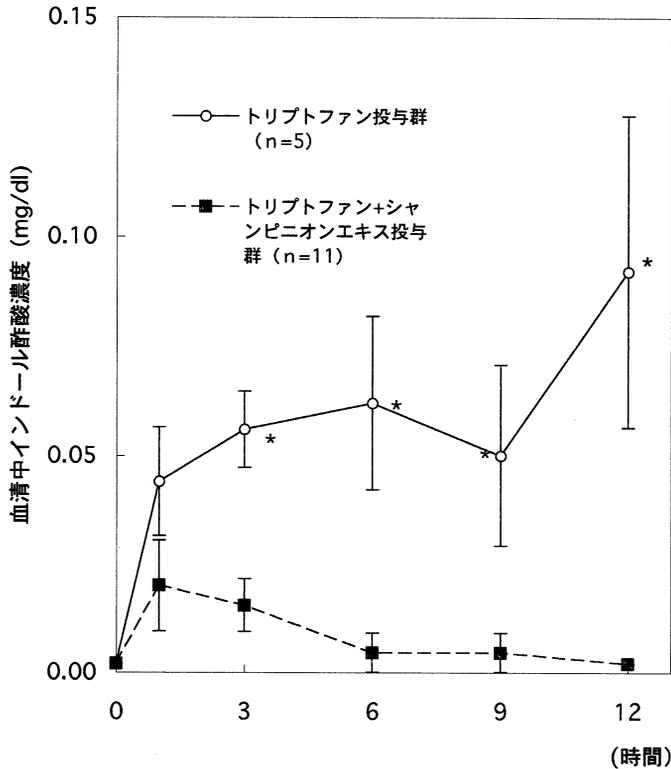
IV 考 察

鶏肝ホモジネートの37°C保温による腐敗進行で、アンモニア性窒素が生成される。このアンモニア性窒素の生成量を評価基準として臭気測定を実施したところ、24時間後にはアンモニア性窒素が多量生成するが、シャンピニオンエキス1.0 ml以上の添加でその生成を抑制する効果が見られ

た。食肉の鮮度検査には官能検査が行われるが、シャンピニオンエキスの機能は、消臭とアンモニア性窒素の生成を抑制することにある。腐敗臭の存在は一面では食品の腐敗を警告する意味があるが、臭気の消失は官能的には新鮮度を保持していることになる。したがって、食品の安全性を確認するには細菌検査、低級脂肪酸、アミン等の検査が必要になり、臭気の消失に伴って新たな問題が生じることに注意しなければならない。

アンモニア、トリメチルアミン、 α -酪酸などの脱臭剤として木酢液、植物油を利用した消臭効果の研究が実施されている^{6-8,15}。シャンピニオンエキスのアンモニア性窒素発生の抑制機能については、マッシュルームに含まれるチロシナーゼ中の鉄あるいは銅イオンが酵素類似の機構として働き、例えばアンモニア成分は Fe^{2+} イオンと反応し $[\text{Fe}(\text{NH}_3)_6]^{2+}$ の錯イオンとなって除去されたものと推察されている^{4,16}。

図3 トリプトファン経口投与後の家兎血清中インドール酢酸濃度の経時変化



*: トリプトファン投与群に対して有意差あり ($p < 0.05$)

トリプトファンは、動物体内の大腸菌由来のトリプトファナーゼ、カルボキシラーゼで分解され、糞便中の悪臭源とされるインドール、スカトール、トリプタミン等を生成する^{17,19)}。家兎に多量のトリプトファンを経口投与すると、腸内細菌の酵素で生成されたトリプタミン、インドール酢酸は吸収されて血液中に出現する。シャンピニオンエキスは血液中のトリプトファンには影響を与えないが、トリプタミン、インドール酢酸量を減少させた。

トリプトファンの代謝にはピロリン酸カルボキシラーゼと呼ばれる分岐点の酵素活性の支配により、キノリン酸を経てNADになるか、炭酸ガスを生成する¹⁹⁾。また、トリプトファンからインドール酢酸が生成され体内で酸化されインドキシルとなり、さらに硫酸抱合をうけインドキシル硫酸になって尿中に排泄される¹⁸⁾。

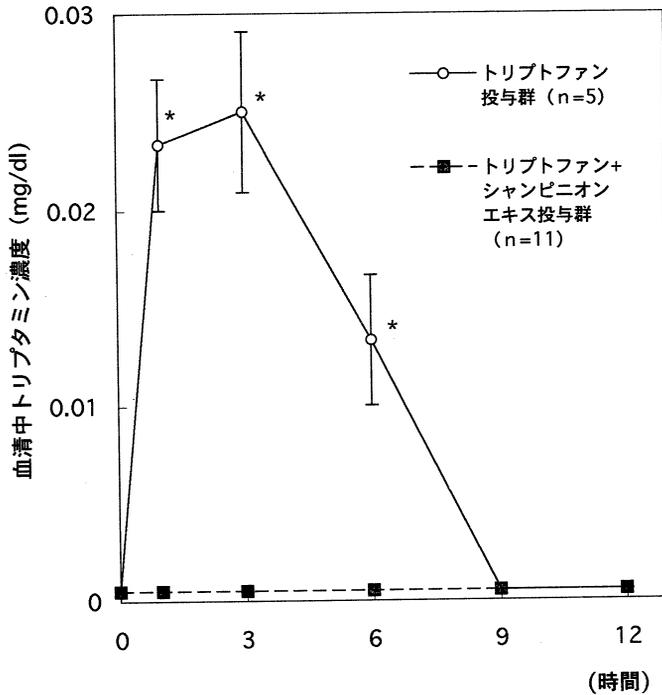
シャンピニオンエキス投与でインドール酢酸、

トリプタミンの血中出現が抑制されたのは、シャンピニオンエキス中のチロシナーゼと呼ばれる酸化酵素の作用で酸化されて消滅したか、また非酵素的に Maillard 反応によって窒素配糖体生成により消滅したかは推察の域を出ない。

シャンピニオンエキスにはチロシナーゼ、Maillard 反応以外にも臭気物質の発生を抑制する、例えばアルカリ性悪臭成分に対してはカルボキシル基による中和反応、酸性悪臭成分に対してはコレスタン骨格による付加反応の消臭効果が推察される。in Vivo の実験からシャンピニオンエキスがインドール酢酸、トリプタミンを除去できたことは、臭気物質の代謝が促進されたものと言える。

1) 鶏肝ホモジネートの腐敗により生成するアンモニア性窒素の生産量を評価基準とした消臭試験ではシャンピニオンエキスは消臭効果を示した。

図4 トリプトファン経口投与後の家兎血清中トリプタミン濃度の経時変化



*: トリプトファン投与群に対して有意差あり ($p < 0.05$)

2) 家兎に多量のトリプトファンを投与するとインドール酢酸、トリプタミンが血液中に生成される。シャンピニオンエキスの経口投与でこれらの物質が血液から急速に減少した。以上のことから、今後、消臭に伴う食品の安全性の確保についてはさらに研究が必要だが、当面、生ゴミ容器、ペット用品等環境の悪臭防止には利用できるものと推察する。

(受付 '96.3.11)
(採用 '96.10.22)

文 献

- 阿部恭一. ゼオライトおよび活性炭の子豚試料の添加による悪臭防止効果. 福井畜産試験場研究速報 1994; 70: 12-13.
- 小林嗣郎. 有害ガス吸着剤の研究(1), ポリアミン金属キレート樹脂について. 日薬会 1990; 8(4): 202.
- 白井汪芳. 臭いを消す繊維ができた. 化学 1987; 5: 307-313.
- 白井汪芳. 酵素の機能に学ぶ消臭繊維の開発. 日本化学会誌 1994; 1: 1-11.
- Maillard L. C. Action des acides amines sur les sures: Formation des melanoidienes par vioc merhodique. C.R. Acad. Sci. 1912; 154: 66-68.
- 西田耕之助, 大迫政浩. 植物精油を利用した消臭臭剤の機能と効果に関する研究. 臭気の研究 1988; 19(6): 313-327.
- 高原康光他. 木酢液による悪臭の除去に関する研究. 日本公衆衛生雑誌 1993; 40: 29-37.
- 高原康光他. 木酢液による悪臭の除去に関する研究(第2報). 日本公衆衛生雑誌 1994; 41: 147-156.
- 高橋淳根, 田中智英, 高橋 清. 乳用子牛などに対するマッシュルームエキスの経口投与効果. 畜産の研究 1991; 45(5): 595-598.
- 河合正充. きのこの生物学, きのこの利用. 東京: 築地書館 1989; 128-129.
- 赤堀四郎. 酵素ハンドブック. 東京: 朝倉書店 1966; 598.
- Happold, FC. Hoyle L. The coli-tryptophan indole reaction. 1. Enzyme preparation and their action on tryptophan and some indole derivatives. Biochem. J. 1935; 129: 918-205.
- 厚生省生活衛生局水道環境部監修. 上水試験方

- 法. 東京: 日本水道協会 1985; 276-280.
- 14) 日立化学機器分析データ集編集委員会. 日立液体クロマトグラフ分析データ集. 茨城; 日立計測エンジニアリング株式会社テクノロジーセンター 1988; 517.
- 15) 西田耕之助, 小橋俊文. 植物精油によるアミン, アンモニアの吸収について. PPM 1986; 178: 34-43.
- 16) 草壁. 水産物への利用. VL-100S, 試料 CF8C. 東京; Calfa ケミカル株式会社 1988; 1-3.
- 17) Mitoma C. Wessbach H. and Udenfriends. 5 Hydroxytryptophan formation and tryptophan metabolism in chromobacterium violaceum. Arch Biochem. Biophys. 1956; 63: 122-126.
- 18) Bayland L. Manson D. The metabolites of 2-naphthyl amin produced by rats and rabbits. Biochem. J. 1955; 60.
- 19) Methler A. H., McDaniel E. G., Hundley J. M. Changes in Enzymatic composition of liver. 1. Increase of picolinic carboxylase in diabestes. J. Biol. Chem. 1958; 232: 323-326.

DEODORANT EFFECTS OF CHAMPIGNON EXTRACT AND REPRESSIVE EFFECTS ON PRODUCTION OF INDOLE AND TRYPTAMINE IN VIVO

Iwao KOIZUMI*, Yoshihiko SUZUKI*, Sumiko SHIMURA

Key words: Champignon extract, Indole, Ammonia, Detoxication, Tryptamine, Deodorization

Champignon extract has potent deodorant effects, and its repressive effects on bad smells generated by the decomposition of fishery products are especially marked. Utilizing the amount of ammonical nitrogen, indoleacetic acid and tryptamine generated as the standard criteria, the deodorant effects of champignon were evaluated.

In an in vitro test, chicken liver homogenate was decomposed by incubating at 37°C and with the progress of its decomposition, ammonical nitrogen was generated. Champignon extract was shown to have the ability to repress the generation of ammonical nitrogen.

For an in vivo test, an excessive amount of tryptophan was orally administered to domestic rabbits resulting in an increase in blood levels of indoleacetic acid and tryptamine. Champignon extract given concomitantly rapidly reduced blood levels of the two compounds to negligible levels.

* Department of Biochemistry, School of Veterinary Medicine, Azabu University