

5'-ヌクレオチド類による缶詰食品の風味改良—VIII

食品加工における核酸成分の変化と考察

水産食品・農産食品・きのこ類・醗酵食品

毛利威徳・寺田潤子・橋田 度

FLAVOR IMPROVEMENT OF CANNED FOODS WITH 5'-NUCLEOTIDES. VIII

CHANGES OF NUCLEIC ACID RELATED SUBSTANCES DURING PROCESSING OF FISHERY, AGRICULTURAL, MUSHROOM AND FERMENTATION PRODUCTS.

Takenori Mouri, Junko Terada, and Wataru Hashida

Identification and determination of 5'-nucleotides in perchloric acid extracts of five kinds of foodstuffs were carried out with ion exchange chromatography. Some discussions are made on the change in the amounts of nucleotides during heat processing.

Three peaks of nucleotide fractions on the chromatograms obtained from the extracts of the prawn (*Penaeus japonicus*) and the tuna-fish were identified as those of 5'-IMP, 5'-AMP and 5'-UMP, respectively. (Fig. 1 and 2) Four fractions from raw shii-take (*Lentinus edodes*) were identified as 5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP and 5'-GMP, respectively, (Fig. 3) and two from mushroom (*Psalliota bisporus*) as 5'-AMP and 5'-UMP. (Fig. 4) Nucleosides and bases were found also in brewed saké. (Fig. 5)

The increases of 5'-AMP during heat processing of oyster, green beans, and mushroom may be attributed to an enzymatic breakdown of ATP and ADP originally contained. (Table 1, 2 and 3). Decomposition of RNA was relatively slow in sea foods during heat treatment. (Table 4). In the case of shii-take, a mixture of four kinds of nucleotides which are known to be the constituents of its own RNA accumulated during heating in water. In the case of mushroom the increases of 5'-nucleotides due to the decomposition of RNA were relatively small.

It is reasonable to consider that 5'-AMP and 5'-IMP contained and accumulated in foodstuffs contribute to their flavor.

* 脚註：缶詰時報 Vol. 45 No. 7, 38 (1966) 所載

本報では次の略号を使用した。

5'-AMP：5'-アデニル酸

5'-IMP：5'-イノシン酸

5'-UMP：5'-ウリジル酸

ATP：Adenosine-triphosphate

5'-GMP：5'-グァニル酸

5'-CMP：5'-シチジル酸

ADP：Adenosine-diphosphate

GDP：Guanosine-diphosphate

はじめに

5'-ヌクレオチド類を缶詰に応用する研究に関連して、原料食品中の既存 5'-ヌクレオチド類の分布と、その旨味効果の検討も行なってきたが、本報ではこれを総括して水産・農産・きのこ類・醸酵食品について食品の種類による分布型式の特徴を検討するとともに、缶詰製造の煮熟工程で起る 5'-ヌクレオチドの消長について述べる。さらにその原因として、この変化が単なる熱分解のほか、酵素的作用によるのではないかとの観点から、高分子核酸の分解による 5'-ヌクレオチドの生成と、ATP・ADP よりの 5'-AMP の生成の二方向について検討したので報告する。

実験の部

1. 実験方法

1-1 供試標準物質

定性、定量のための 5'-ヌクレオチド類はいずれもナトリウム塩で、武田薬品工業株式会社より恵与されたものである。ヌクレオチド、塩基類、ADP、ATP などは市販品を用いた。

1-2 試料

水産食品はくるまえび、まぐろ、かき、農産食品はトマト、グリーンビーンズ、きのこ類はマッシュルーム、しいたけ、醸造食品では清酒について分析した。試料の調製法は前報^{1,2)}に準ずる。清酒は共存成分の影響を除くために活性炭処理後濃縮して試料とした。

1-3 分析方法

個々の 5'-ヌクレオチド量は Dowex 1×8 を用うるカラムクロマトグラフィによった。方法は前報^{1,2)}に準じた。総 5'-ヌクレオチド量は中島ら³⁾による酵素法によった。核酸分析は Schmidt-Thannhauser⁴⁾法によった。

2. 実験結果と考察

2-1 各種食品中の個々の 5'-ヌクレオチドの分布

水産食品として、くるまえびとまぐろについて、径 2 cm、長さ 30 cm の大型カラムによるクロマトグラフィを行なった結果は、Fig 1、Fig 2 のごとくである。前報^{1,2)}に準じて各画分の同定を行なったが、5'-ヌクレ

オチドの主体は 5'-IMP と 5'-AMP であった。なお、くるまえびには 5'-UMP も見出された。

なお、農産食品として、トマトなどで

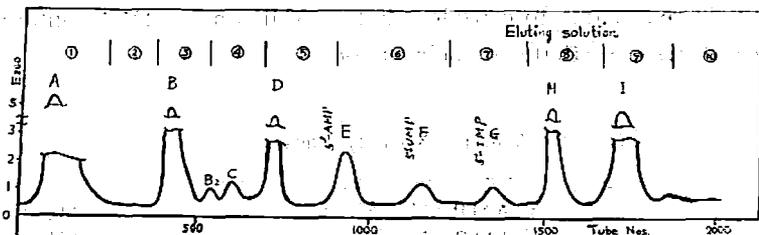


Fig. 1 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw Kurumaebi (*Penaeus japonicus*), a large scale column.

は 5'-ヌクレオチドの主体は、5'-AMPと5'-UMPであった。(前報¹⁾参照)

きのこ類ではしいたけ、マッシュルームの大型カラムによるクロマトグラムはFig3, Fig 4のごとくであり、しいたけでは5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMPの4種の5'-ヌクレオチドが見出され、マッシュルームでは5'-AMPと5'-UMPが主要なものであった。

なお、5'-ヌクレオチド誘導体のGDP, ADP, ATPの存在も認められた。

なお醗酵食品の清酒では Fig 5のごとく、核酸塩基、ヌクレオシドが多く、それに比べてヌクレオチド類は少なく、かつ酵素法によってヌクレオチドの内でも3'-型が主要なものとも認められた。

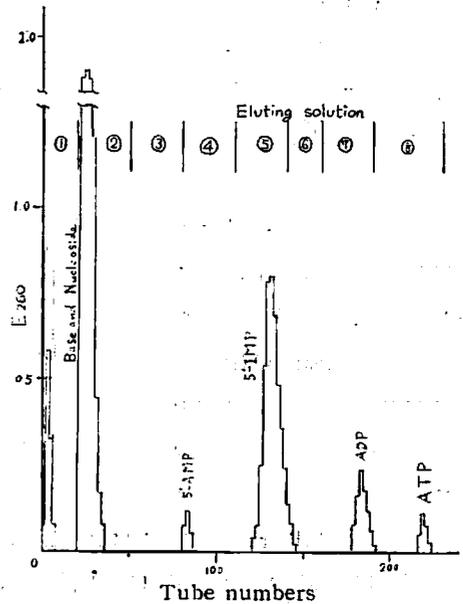


Fig. 2 Chromatogram of perchloric acid extract of raw tuna-fish.

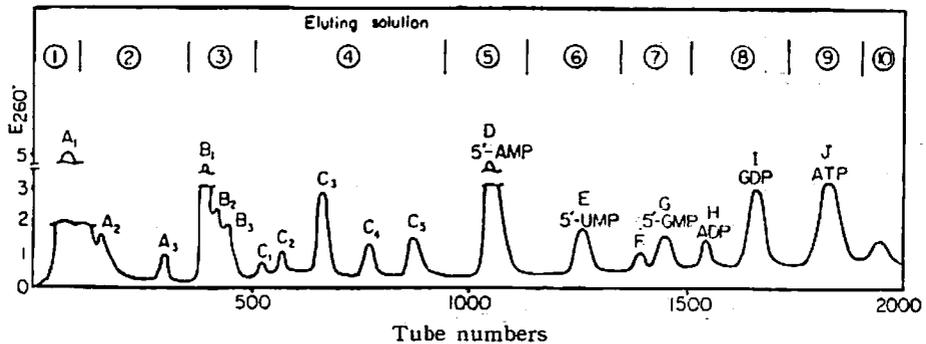


Fig. 3 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw Shiitake. (*Lentinus edodes*) (A large scale column)

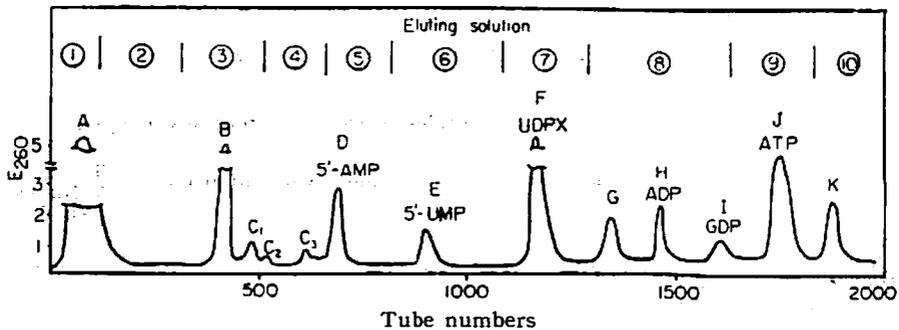


Fig. 4 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw mushroom. (*P. bisporus*) (A large scale column).

以上の結果と前報^{1,2)}での分析結果とを併せ考察すると島菌⁵⁾の提案による5'-ヌクレオチド分布型式の分類によく一致している。すなわち、まぐろなどの一般魚類は Meat-IMP型で5'-IMP, 5'-AMPが主体、かき・あさりなど貝類では Meat-AMP型で5'-AMPが主体で5'-IMPはほとんど見出されない。農産食品(野菜類)、ならびにマ

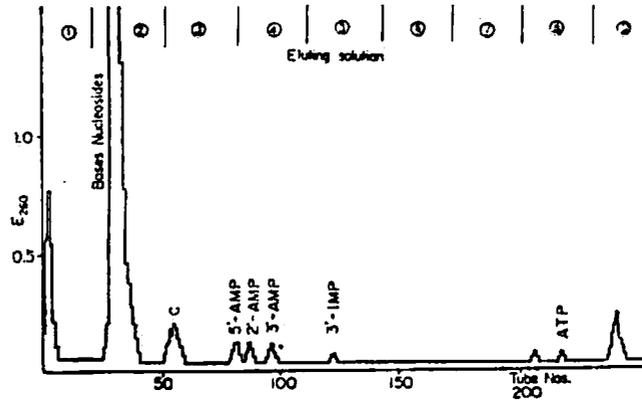


Fig. 5 Chromatogram of perchloric acid-extract of brewed-Sake.

ッシュルームは Plant型で5'-AMPと5'-UMPが主体、しいたけなどきのこ類は Autolysate型で5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMPが見出される。清酒など醸造食品では核酸成分が二次的に醸造微生物の作用を受けるために、分布型式が複雑で5'-系のほかにかなりの3'-ヌクレオチドも認められる。このように食品の種類によって、呈味成分として含有される5'-ヌクレオチド類に大きな差違のあることが認められるのである。

このように原料食品中に存在している5'-ヌクレオチド類が、缶詰製造の加工々程中にどのように消長するのか、また消長の原因について二、三の考察を行なった。

2-2 缶詰工程中の5'-ヌクレオチドの消長

水産食品としてかき水煮、農産食品ではグリーンビーンズ、きのこ類ではマッシュルームのそれぞれの缶詰を試作し、各工程における総5'-ヌクレオチド量を酵素法により求めた。缶詰の製造方法は常法⁶⁾によった。

a) かき水煮缶詰：果実7号缶に固形物 200g, 注入液(4%食塩水) 50g, 工程中の試料の総5'-ヌクレオチド量は Table 1のごとくである。1缶当りで計算して殺菌後固形物中の5'-ヌクレオチドは生かきより若干減少した。

b) グリーンビーンズ缶詰：7号缶に固形物 200g, 注入液(2%食塩水) 120gで製造した。Table 2に示すように原料中に元来あった5'-ヌクレオチドは、80°C, 5分間(ただし品温は室

Table 1. Changes of total 5'-nucleotides in canning processes of oyster.

	Sample applied g	5'-Nucleotide μmole/g	Content per can g	Total 5'-Nucleotide μmole/can
Raw oyster stripped shellfish	5.0	0.69	383	264.3
solid, after canning	2.06	1.46	158	231.2
Liquid, after canning	2.12	1.36	92	135.8

Table 2 Changes of the total 5'-nucleotides in canning processes of green beans.

	Sample applied g	5'-Nucleotide μmole/g	Content per can g	Total 5'-Nucleotide μmole/can
Raw material	5.0	0.122	204	24.9
Solid, after blanching	4.9	0.167	200	33.4
Liquid, after blanching	4.8	0.032	194	6.2
Solid, after canning	5.2	0.111	213	23.7
Liquid, after canning	2.6	0.128	107	13.7

Table 3 Changes of total 5'-nucleotides in canning process of mushroom.

	Sample applied g	5'-Nucleotide μmole/g	Content per can g	Total 5'-Nucleotide μmole/can
Raw material	5.00	0.161	120	19.3
Solid, after blanching	3.50	0.461	85	39.1
Solid, after canning	3.27	0.246	79	19.4
Liquid, after canning	2.76	0.279	65.5	19.8

Table 4 Content of phosphorus in some fractions of Oyster, Asari and Kurumaebi.

Sample	Boiling condition		Phosphorus μmole/g dry wt. of material		
			Total phosphorus	Acid-soluble fraction	RNA- fraction
Oyster	100°C 3min.	Before boiling in solid	196	98	28
		After boiling in solid	182	92	26
Asari	100°C 3min.	Before boiling in solid	451	127	72
		After boiling in solid	311	81	62
Kurumaebi	100°C 3min.	Before boiling in solid	430	250	32
		After boiling in solid	283	178	26

温より上昇させる)の予備蒸煮によって約1.5倍量に増加した。缶詰殺菌後の固形物と液汁とを合算すると、予備蒸煮後の原料をわずかに上回る程度であった。これには、缶詰殺菌時の品温が低温から漸次上昇する間の5'-ヌクレオチドの増加と、121°Cで15分間殺菌する間の5'-ヌクレオチドの分解(加熱殺菌での5'-ヌクレオチドの安定性については前報⁷⁾参照)を考えねばならない。

c) マッシュルーム缶詰: 8号缶に固形物85g, 注入液(2.5%食塩水)60gで試作した缶詰の5'-ヌクレオチド量は、Table 3に示すごとくである。80~85°C, 10分間の予備蒸煮によって5'-ヌクレオチドが約2倍量となり、前項グリーンビーンズと同様に加熱殺菌後の固形物と液汁中の合算は、ほぼ缶詰充填時の原料中の5'-ヌクレオチドに等しかった。

このように、加熱操作における5'-ヌクレオチドの増加の原因としては、高分子核酸あるいはヌクレオシドポリリン酸からの加熱による化学的分解のほかに、酵素的な分解による5'-ヌクレオチドの蓄積が考えられる。著者らはこの観点から、酵素実験的な温度およびpH条件の下で、高分子核酸ここではRNAと、ヌクレオシドポリリン酸の加水分解の可能性について検討した。

2-3 煮熟に伴うリボ核酸の加水分解

a) 水産食品：かき、あさり、くるまえばいについて、それぞれを冷水から加温して 100°C で 3 分間煮熟した場合、その前後の RNA 量を Schmidt-Thannhauser 法で比較した結果、Table 4 のように加熱に伴う RNA 量の変化はあまり認められなかった。

b) きのご類：水から加熱して 100°C、3 分間あるいは 70°C、30 分間加温した場合の、マッシュルームまたは、しいたけの RNA の変化をしらべると Table 5 のごとくであって、マッシュルームでは RNA の減少は少ないが、しいたけでは加熱前にくらべて RNA がほぼ 1/2 量に減少していることが見出された。この原因として著者らはしいたけより、核酸分解酵素系を分離し、粗酵素液が RNA を加水分解して、4 種の 5'-ヌクレオチドを生成することを確認して、別途に報告した⁸⁾。この反応はしいたけを 50~70°C で煮出す場合に認められるものである。「しいたけの味」と呼ばれる 5'-GMP がこの状態で多く蓄積することが認められた。マッシュルームや水産食品では、RNA の加水分解が主要な反応になるとは考えられない。ヌクレオシドポリリン酸からの経路について次項で検討する。

Table 5 Amounts of phosphorus in fractions of raw mushroom, and Shii-take.

Sample	Boiling condition		Phosphorus μ mole/g dry wt. of material		
			Total phosphorus	Acid-soluble fraction	RNA-fraction
Mushroom	100°C 3min.	Before boiling, in solid	391	188	50
		After boiling, in solid	299	152	38
Shii-take	100°C 3min.	Before boiling, in solid	113	74	16
		After boiling, in solid	87	30	9
Shii-take	70°C 30min.	Before boiling, in solid	167	121	18
		After boiling, in solid	140	41	8

Table 6 Amounts of individual nucleotides in raw and boiled oyster.

		A	B	C	5'-AMP	5'-UMP	F	ADP	ATP
Raw oyster	Distribution of UV260(%) μ mole/g	24.1	4.8	1.0	10.3 0.61	1.0 0.08	1.7	12.1 0.72	7.5 0.43
Solid of boiled oyster	Distribution of UV260(%) μ mole/g	20.1	2.6	0.6	4.8 0.17	0.4 0.018	2.0	10.6 0.37	4.9 0.17
Extract of boiled oyster	Distribution of UV260(%) μ mole/g	15.6	2.8	0.6	5.4 0.36	0.5 0.04	0.8	6.6 0.41	3.3 0.20

Table 7 Amounts of individual nucleotides in raw and boiled mushroom.

		Base Nucleoside	5'-AMP	5'-UMP	ADP	ATP
Raw mushroom	Distribution of UV260(%) μ mole/g dry wt	40.1	0.48 0.32	0.50 0.42	7.82 3.84	14.10 6.59
Solid of boiled mushroom	Distribution of UV260(%) μ mole/g dry wt	68.8	1.15 0.36	2.20 0.79	1.44 0.46	1.20 0.38
Extract of boiled mushroom	Distribution of UV260(%) μ mole/g dry wt	40.2	6.30 2.33	0.92 0.49	6.88 2.40	11.28 4.62

2-4 煮熟に伴うヌクレオシドポリリン酸の分解

a) 水産食品：かきの煮熟に伴う個々のヌクレオチド組成の変化は Table 6 のごとくであるが、ATP、ADPの変化は少なく、また遊離の5'-ヌクレオチドの増加も認められない。その他にあきりやずわいがにでは、前報²⁾のように5'-AMPの増加とATP、ADPの減少が認められており、食品の種類によって相違があることが認められた。

b) マッシュルーム：個々のヌクレオチド組成の変化は Table 7 のごとくで、ATP、ADPの減少に伴う5'-AMPの増加と、また5'-ヌクレオチドのヌクレオシドおよび核酸塩基への分解も認められた。ATP→5'-AMPの経路の反応が強いため5'-AMPを蓄積すると考えられる。

マッシュルームの場合のように、煮熟に際してヌクレオシドポリリン酸より5'-ヌクレオチドを生成する酵素系については、著者らが別途に報告する予定である。

2-5 加熱処理に伴う5'-ヌクレオチドの成因についての考察

食品工業ことに缶詰原料処理工程中のヌクレオチド関連成分の変化については報告がほとんど見られないので、私達はまず原料中の5'-ヌクレオチド組成をしらべるとともに、その処理工程中の消長について検討した。イオン交換カラムクロマトグラフィによって5'-ヌクレオチドの分布をしらべたが、水産、農産、きのこ類、醸造食品のそれぞれにおいて特徴あるパターンを示した。島菌³⁾は、既往の研究を要約して食品中の5'-ヌクレオチドの分布型式を示し、その成因にもふれているが、私達が加熱工程での5'-ヌクレオチドの変化をしらべた結果では、これらの食品中で島菌³⁾の指摘するような方向で非加熱的に潜在的に行なわれている反応が、水とともに酵素作用の適温で加熱するという操作によって促進され、5'-ヌクレオチドの蓄積としてあらわれるものと考えられる。もちろん、5'-ヌクレオチドの生成とともに分解反応も伴うわけで、これら消長については、個々の食品についての特異的な酵素系の反応性の吟味が必要である。

水産食品では、重要な呈味成分の5'-IMPの蓄積は、その食品中にアデニル酸デアミナーゼ活性があるか否かにかかっており、脊椎動物に属する一般魚類では、デアミナーゼ活性が強く、5'-IMPが蓄積するに対し、非脊椎動物のいか、たこ類ではデアミナーゼ活性が弱く、ほとんど5'-IMPは蓄積しない。私達の実験結果は、斎藤⁹⁾、新井ら¹⁰⁾、Jones¹¹⁾らの知見と同様なものであった。

水産食品、野菜類のうちで私達の実験した範囲では、蒸煮においては高分子核酸を分解するRNase系がほとんど作用せず、したがってRNAの分解による5'-ヌクレオチドの生成はほとんど見られないが、しいたけなどのきのこ類では、50~70°Cに加熱することによってRNase系の活性が強くあらわれ、自己RNAの分解にもとづく5'-GMP、5'-AMP、5'-CMP、5'-UMP計4種の5'-ヌクレオチドの蓄積がみられた。5'-GMPは「しいたけの味」と呼ばれ、重要な呈味成分であるが、穏和な加熱条件によってこのような旨味成分が蓄積することは興味深いことである。

マッシュルームや野菜類では、加熱に際して、ATP分解酵素系が作用し5'-AMPの蓄積が

みとめられた。私達の別報¹²⁾での結果とあわせ、一般にこれらの食品では、加熱処理に際してATPの分解によって5'-AMPが生成すると考えられる。

このように食品中の5'-ヌクレオチド類の、加熱処理における消長については、それらの含有する核酸成分々酵素系の作用が著しいことが認められた。

要 約

種々の食品で5'-ヌクレオチドの分布をしらべた。くるまえば、まぐろでは5'-IMP、5'-AMP、かきでは5'-AMP、トマト、グリーンビーンズでは5'-AMP、5'-UMP、マッシュルームでは5'-AMP、5'-UMP、しいたけでは5'-GMP、5'-AMP、5'-CMP、5'-UMPが主要なものであると認められた。このように、水産・農産・きのこ類など食品の種類によって、著しい特徴があることが考えられる。醗酵食品の清酒では量的にはヌクレオチドは少なく、しかも5'-の他に3'-型も認められた。食品中の5'-ヌクレオチドは、缶詰製造に関連する煮熟などの工程で種々に消長するが、その原因として酵素的な高分子核酸の分解による5'-ヌクレオチドの生成とATPよりの5'-AMPの生成が考えられる。このようにして生成される旨味成分が、食品の風味に影響することであろう。

終りに臨みて懇篤なご指導を賜っている大阪大学寺本教授、当短大学長志賀博士ならびに発表を許可された東洋食品研究所長稲本氏に深謝致します。

文 献

- 1) 橋田, 毛利, 青山: 缶詰時報 42 (1) 45 (1963)
- 2) 毛利, 寺田, 青山, 橋田: 缶詰時報 44 (2) 62 (1965)
- 3) 中島, 市川, 吉村, 栗山, 鎌田, 藤田: 農化 37 558 (1963)
- 4) Schmidt, G. and S. J. Thannhauser: J. Biol. Chem. 161 83 (1945)
- 5) 島蘭: Food Technol. 18 (3) 36 (1964) Amino acids and Nucleic acids No.10, 179 (1964)
- 6) 熊倉ら: 缶詰製造講義 (1961)
- 7) 橋田, 毛利, 青山: 缶詰時報 43 (1) 65 (1964)
- 8) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 昭和40年度日本醗酵工学会大会核酸シンポジウム要旨 p.63 (1965) 醗酵工学投稿中 (1966)
- 9) 斎藤: 化学 15 101 (1960) 水産学会誌 27 461 (1961)
- 10) 新井ら: 北大水産発報 9 121 (1958) 11 67 (1960) 11 225 (1961) 昭和40年度日本水産学会秋期大会シンポジウム (清水, 1965)
- 11) Jones, N.R. and J. Murray: Biochem. J. 77 567 (1960) 80 269 (1961)
- 12) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学 43 335, 344 (1965) 一部投稿中