

# 核酸成分の変化から見た缶詰原料の鮮度—Ⅲ

## かき肉中の核酸成分の変化

毛利 威徳・橋田 度・平井 厚子・川崎 陽子

### Assesment of Freshness of Marine Products Based on Composition in Nucleic Acid Related Substances in Canned Sea-Food.-III

#### Distribution of Nucleic Acid Related Substances in Oysters.

Takenori Mouri, Wataru Hashida, Atsuko Hirai and Yoko Kawasaki

In the previous paper changes of the contents of nucleotides and the related compounds in oysters during chill storage were studied with relation to the freshness of the oysters.

Oysters stored at -20°C immediately after husking were used.

Samples of oysters were taken at intervals during the thawing process at 5°C for 72 hours and were extracted with perchloric acid.

The amounts of nucleotides and related compounds in thawed oysters were determined by the ionexchange chromatography and enzymatic assay.

The rapid increase of the content of 5'-IMP was observed during thawing probably due to the deamination of 5'-AMP in fresh oysters.

It was found that the concentration of IMP is very important as the index of the quality of oyster meats because IMP is as well the major nucleotide and the flavor enhancing in fresh oysters.

The amount of IMP reach the maximum level (0.28  $\mu\text{mole/g}$ ) at 5°C after 6 hours thawing.

## 1. 緒 言

かきは缶詰原料として重要な食品である。前報<sup>1)</sup>に引き続いて核酸系成分の変化が鮮度の指標になり得るか否かを検討した。一方貝類などの軟体動物では核酸成分に対する分解酵素の分布及び作用型式が硬骨魚類と異なっていると考えられているので、かきを対象として核酸成分の分布を調べそれが種々の貯蔵条件においてどのように変化し、かつその変化がかき肉の鮮度とどのように対応するかを調べたので報告する。

## 2. 実験方法

2・1 生かきは殻つきの市販品を購入し、そのむきみを、また冷凍がきはむきみを -20°C に冷凍した日本冷蔵の市販品を使用した。学名は文献<sup>2)</sup>によった。

2・2 試料調製法 前報<sup>1)</sup>に準じた。

2・3 分析方法 個々のヌクレオシドポリホスフェイト，ヌクレオチド類の分析，ヌクレオシド，塩基類の分析は前報<sup>1)</sup>に準じて行った。5'-IMP に相当する画分について大型カラムによって同定を行った。すなわち径 2.5cm 高さ 30cm のカラムを使用した。キサンチンオキシダーゼ法，酵素法についても前報<sup>1)</sup>に準じ

た。同定にはペーパークロマトグラフィ及び薄層クロマトグラフィを用いた。

### 3. 実験結果

3・1 生カキ肉中のヌクレオチドの分布 産地を異にし，か

つ漁穫（漁場）時期を異にする生カキ試料5種について常法によりヌクレオチドの分布をしらべると Table 1 の如くである。

試料相互間では，試料 No. 1 は他の試料と分析値がかなり異っているが他の4種は大体類似した分析値であった。その結果，カキのヌクレオチドとしては ATP, ADP 及び 5'-AMP が主要なものであった。また 5'-IMP に類似したものが見出される試料もあることが認められた。クルマエビでは煮沸するか，冷凍するか，あるいは冷凍乾燥するといった操作によって 5'-IMP が生成することを見出しているが貝類では 5'-IMP は殆んど見出されないとされている。一般の軟体動物では 5'-IMP が見出された例は少ない。したがって生かき中に見出される 5'-IMP に相当する画分については改めて大型カラムにより画分を採収しその同定を行った。そのクロマトグラムは Fig 1 のごとくである。

Table 1 Amounts of the nucleotides of oyster.

			5'-AMP	5'-IMP	ADP	ATP
Fresh	No. 1	$\mu$ mole/g	0.61	trace	0.72	0.43
	No. 2	$\mu$ mole/g	0.37	0.09	0.44	0.54
	No. 3	$\mu$ mole/g	0.36	0.05	0.44	0.50
	No. 4	$\mu$ mole/g	0.30	trace	0.42	0.30
	No. 5	$\mu$ mole/g	0.32	trace	0.45	0.46
Mean value		$\mu$ mole/g	0.39	—	0.48	0.46
Standard deviation		$\mu$ mole/g	$\pm 0.06$	—	$\pm 0.03$	$\pm 0.09$

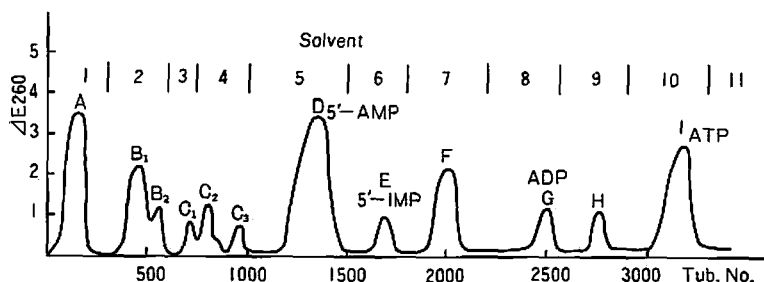


Fig 1 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw oyster.

A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> は塩基ヌクレオシド画分 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> はシチジル酸及びその周辺のものと考えられる。E, G, Iのピークは鋭いもので，それぞれ 5'-UMP, ADP, ATP に一致する。画分 A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> および D, F と仮称するそれぞれの画分を集め減圧濃縮し，活性炭処理により更に濃縮し，精製した画分試料について以下の同定を行った。

3・2 生カキ肉の画分 A, B の同定 大型カラムで採取した A, B 画分を集め前報<sup>1)</sup>と同様に Dowex 1×2 (塩酸型) カラムにより分離を行った。その結果は Fig 2 の如くである。再クロマト

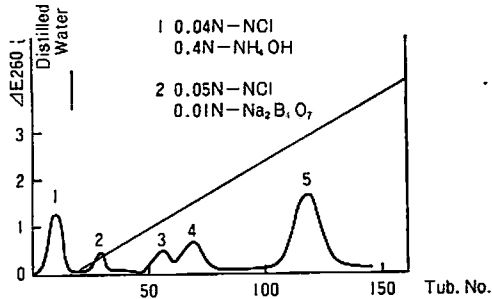


Fig 2 Dechromatogram of perchloric acid of raw oyster.

グラムの画分を1, 2, 3, 4, 5と仮称しその画分を集め, それぞれを活性炭処理後濃縮した. そのペーパークロマトグラムは Fig 3の如くである.

ペーパークロマトグラム及び紫外外部吸収曲線等より①アデノシン, ②未知物質, ③アデニン, ④ヒポキサンチン, ⑤イノシンと同定した. この様にヒポキサンチン, イノシンが見出されるので, この前駆物質である 5'-IMP, 5'-AMP が有るものと思われるので同定を行った.

3.3 生カキ肉の画分D, Eの同定 大型カラムで採取したD, F画分の紫外外部吸収曲線は Fig 4の如くである.

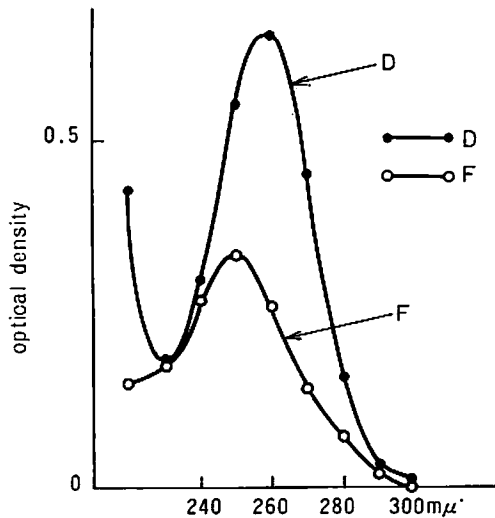
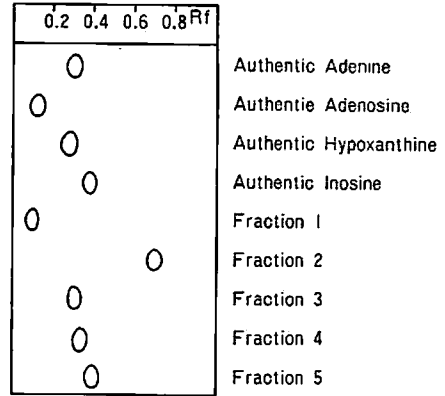


Fig 4 Absorption curves of oyster fractions D and F.

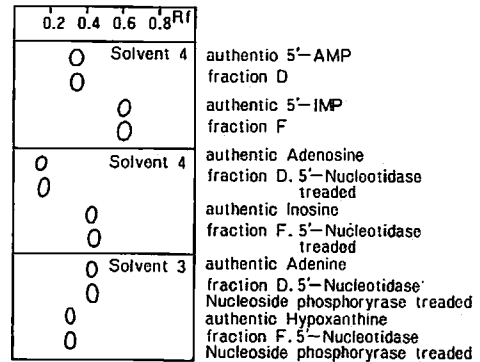
画分Dでは 260m $\mu$  に画分Fでは 250m $\mu$  にそれぞれ紫外外部吸収の最大吸収を示していた. それぞれ 5'-AMP, 5'-IMP の特徴的な曲線である. さらに画分D, Fを濃縮し, ペーパークロマトグラフィ, 薄層クロマトグラフィにより同定を行った. その結果は Fig 5のごとくである.

ペーパークロマトグラムを示した画分DおよびFは夫々 5'-AMP, 5'-IMP と一致した. また画



Solvent : Saturated ammonium sulfate, IM-sodium acetate, iso-propanol (80 : 20 : 2)

Fig 3 Identification of oyster fraction 1-5 by paper chromatogram.



Solvent : Saturated ammonium sulfate, IM-sodium acetate, iso-propanol. Solvent : n-propanol, H<sub>2</sub>O

Fig 5 Identification of oyster D and F by paper chromatogram.

分D, Fに5'-ヌクレオチダーゼを作用させるとアデノシンとイノシンに一致した。またヌクレオシドホスホリラーゼで分解するとアデニンとヒポキサンチンに一致した。これらの事から画分D Fはそれぞれ5'-AMP, 5'-IMPであることが確認された。この様にかき肉中に5'-IMPの存在することを確めた。しかし一般に市販されているかきのむき身また缶詰かきにおいては、5'-IMPは非常に少ないことが前報<sup>1)</sup>にて判明しているため、それらの原因と5'-IMPの含量について検討を行った。

3・4 生かきの5°C貯蔵中におけるヌクレオチドの消長 殻付きかきからむき身を取り出し、5°Cに保存し、経時的にヌクレオチド量を測定した結果、Table 2のごとくである。

Table 2 Changes of the nucleotides of oyster under storage at -5°C.

Hours		Hx	HxR	5'-AMP	5'-IMP	ADP	ATP
2 hrs.	UV <sub>260</sub>	4.73	8.25	49.78	5.90	62.87	35.11
	μmol/g	0.09	0.28	0.48	0.12	0.61	0.33
5 hrs.	UV <sub>260</sub>	1.78	13.18	44.16	8.35	45.17	21.45
	μmol/g	0.01	0.45	0.43	0.14	0.38	0.18
24 hrs.	UV <sub>260</sub>	5.46	13.06	56.05	18.58	37.24	32.01
	μmol/g	0.12	0.59	0.43	0.28	0.28	0.24
48 hrs.	UV <sub>260</sub>	15.48	20.22	46.27	3.05	31.91	trace
	μmol/g	0.57	0.97	0.29	0.04	0.20	

直後では5'-IMPはほとんど認められないが、5'-AMPはすでに存在している。2時間~24時間までは5'-IMPの存在は認められるが、48時間では5'-IMPはほとんど認められなくなっている。またイノシン、ヒポキサンチンの量も時間と共に増加していることが明らかであり、

Table 3 Changes of the nucleotides of frozen oysters under storage at -5°C.

Hours	μ mole/g						K-Value
	Hx	HxR	5'-AMP	5'-IMP	ADP	ATP	
0	0.02	0.24	0.38	0.09	0.21	0.32	20.6
6	0.16	0.33	0.84	0.28	0.16	trace	27.7
24	0.16	0.58	0.53	0.22	0.08	trace	47.1
30	0.20	0.69	0.15	0.10	0.05	trace	74.8
48	0.39	0.61	0.13	trace	trace	trace	88.5
96	0.52	0.64	0.06	trace	trace	trace	95.1

貝類に一般に認められないと言われている5'-AMP Deaminaseがかきにおいては存在するのではないかと考える。

3・5 冷凍かき5°C保存中のヌクレオチド量の消長 市販の冷凍(-20°C)かきの核酸成分の消長を調べた結果 Table 3のごとくである。

表の様に直後ではATPが存在しているが、6時間後はほとんどATPは見られなくなり、ADP→5'-AMP→5'-IMP→アデノシン→イノシン→ヒポキサンチンと時間が経過するにした

がって低分子が増加している。5'-IMPは6時間目にピークがあり48時間後には5'-IMPはほとん

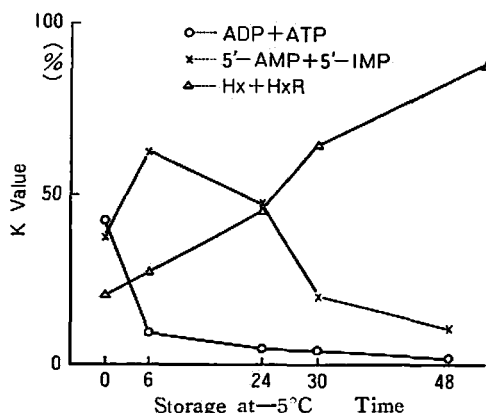


Fig 6 Amounts of individual nucleotide in perchloric acid extracts of oysters.

どなくなっている。この事は市場にカキが出ている状態では温度が18°C前後であり5°Cで保存するよりもホスファターゼが良く作用するために5'-IMP等のヌクレオチドが6~12時間程度でほとんど消滅するのではないかと考えられる。市販のむき身を買った場合に5'-IMPが存在しない理由をうらずけていると思われる。冷凍カキにおけるヌクレオチド、ヌクレオシド、塩基の割合について図示するとFig 6のごとくである。

これからして冷凍カキの鮮度は良いものと思われる。

3・6 酵素法による冷凍カキのヒポキサンチン、イノシン、5'-IMP、総5'-ヌクレオチド量 前項で報告したごとくカラム法にて定量を行ったが、実際の工場では、迅速、かつ簡単でなければ測定法として取り上げられないので酵素法で定量を行った結果 Table 4 のごとくである。

Table 4 Amount of hypoxanthine, inosine, and 5'-IMP in measurement with enzymatic method.

		Hx	HxR	5'-IMP	Total 5'-Nucleotide
0 hr.	μ mole/g	0.02	0.29	0.08	0.73
6 hrs.	μ mole/g	0.16	0.40	0.28	1.51
24 hrs.	μ mole/g	0.16	0.50	0.22	1.18
30 hrs.	μ mole/g	0.20	0.59	0.09	0.57
48 hrs.	μ mole/g	0.39	0.53	trace	0.38
96 hrs.	μ mole/g	0.52	0.49	trace	0.45

カラム法とよく一致した結果を得ることができたので、カキ

においては酵素法で測定することは可能であると考え、この様にカキでは、5'-IMPを生成するので、ヒポキサンチン、イノシン、5'-IMPを定量することにより鮮度を判定できるのではないかとと思われる。

#### 4. 考 察

貝類に見出されていなかった5'-IMPをカキにおいて見出した。また市販品の分析を行った場合5'-IMPは認められなかった。その原因としては保存中(約24時間)に5'-IMPは分解し、イノシン、ヒポキサンチンが生成されることが明らかになった。この事は著者らと同時にJ. Guardia<sup>9)</sup>らによっても報告されている。また塩基、ヌクレオシドにおいて、アデノシン、アデニン、イノシンヒポキサンチンが主体であることも確認した。この様にカキにおいては酵素法によりヒポキサンチン、イノシン、5'-IMPを測定することができ魚類と同様にヒポキサンチン、イノシン、5'-IMPを測定することによって鮮度を判定することが可能であると考え。

#### 5. 要 約

カキの販売される時期及び産地によって多少の変化はあるがヒポキサンチン、イノシン、5'-IMPが存在することがわかった。特に生カキでは、1日後、また解凍時直後より数時間後において5'-IMPが多く見出された。

#### 文 献

- 1) 毛利: 日本食品工会誌投稿中
- 2) 溝原: 原色日本魚類図鑑(1965).
- 3) J. GGUARDID: J. Food Sci. 35, 22 (1970).