

멸치젓의 呈味性 5'-Mononucleotides 에 關한 研究

서울大學校 農科大學

李春寧 · 李啓瑚 · 金燮洙* · 韓仁子* · 金尙淳**

(1969年 4月 30日 受理)

Studies on the Flavoring 5'-Mononucleotides of Pickle of Small Sardine

by

C. Y. Lee, K. H. Lee, H. S. Kim*, I. J. Han* and S. S. Kim**

College of Agriculture, Seoul National University, Suwon

(Received April 30, 1969)

Abstract

More than thirty kinds of sea food pickles have been eaten in Korea. Out of these, salted small sardine pickle was analyzed of their components and investigated the enzyme characteristics concerned. Also studied was the effect of enzymes on the production of flavorful 5'-mononucleotides.

The results are summarized as follows:

- 1) No accumulation of flavorful 5'-mononucleotides was demonstrated because RNA-depolymerase in the raw materials and the pickles tended to decompose RNA into nucleoside and phosphoric acid.
- 2) 5'-Inosinic acid and 5'-adenylic acid were found in large amounts in the salted small sardine pickle.
- 3) 5'-Inosinic acid was contained in the salted small sardine pickle in a significant concentration, and it might be considered to be inosinic acid-type.

緒 言

젓갈은 魚介類에 食鹽을 加하여 一定期間 熟成시킬 때 自體酵素에 依한 自家消化와 熟成微生物의 酵素作用에 依하여 原料物質이 分解되어 만들어지는 것으로 그 分解產物들이 구수한 맛과 감칠맛의 調和를 이룬 것이다.

現在 우리나라에서 알려진 젓갈種類는 約 30餘種인데 副食으로 愛用될 뿐만 아니라 김치제조에 있어서 그 熟成微生物의 營養素給源과 맛의 添加劑로 不可缺少하게

利用되고 있다.

5'-Mononucleotides가 食品에 감칠맛을 도꾸는 成分임이 밝혀진것은 Kodama⁽¹⁾가 鱈節(dried bonito)의 呈味主成分이 inosinic acid 이었음을 報告한데 비롯되며 1960年 國中⁽²⁾는 5'-Guanylic acid (5'-GMP)와 5'-Xanthylic acid (5'-XMP)도 5'-Inosinic acid (5'-IMP)와 같은 呈味性を 가지며 감칠맛의 強度는 5'-GMP > 5'-IMP > 5'-XMP의 傾向임을 報告하였다. Ogata⁽³⁾는 DNA 誘導體인 d-IMP, d-GMP도 呈味性成分임을 指摘한 바 있다.

Huang⁽⁴⁾은 Purine 環이 必須的으로 呈味性과 有關하는 양을 指摘하면서 5'-amino-4-imidazole carboxamide ribotide (AICAR)와 5'-amino-4-imidazole

*原子力廳 放射線農學研究所(Radiation Institute of Agriculture, Office of Atomic Energy)

**淑明女子大學校(Sook Myung Women's University)

나 調査하지는 못하였다.

4. 冷凍加工品에 對한 官能審査結果

딸기品種別 冷凍加工製品에 對한 嗜好程度를 알기 위하여 農漁村開發公社 職員中에서 담배를 피우지 않는 사람 15名(男5, 女 10名)을 選定하여 冷凍딸기에 對한 色調과 맛을 評點한 結果는 表 4 와 같다.

表 4. 品種別 冷凍加工品에 對한 官能審査結果

品 種 別	得 點			
	色 調			맛
Blakemore	10	(11)**	-3	(12)**
Empire	39	(3)	38	(1)
Howard	-6	(14)	-27	(14)
Earlidawn	18	(9)	26	(8)
Pocahontas	42	(2)	35	(2)
Redglow	44	(1)	33	(5)
Armcore	33	(4)	35	(3)
America	31	(6)	34	(4)
幸 玉	28	(7)	29	(7)
Victoria	33	(5)	30	(6)
鷄 冠	15	(10)	15	(11)
福 羽	25	(8)	20	(9)
大學 1號	10	(12)	16	(10)
Libby*	-2	(13)	-30	(15)
Birdseye*	-39	(15)	-9	(13)

* Libby, Birdseye 는 딸기品種名이 아니고 美國製딸기冷凍品의 商品名임. ** ()內의 數字는 得點順位임

表 4 를 볼때 色調는 客觀的인 機器分析成績에서 가장 진한 色으로 나타난 blakemore 가 10點을 얻어 順位가 11位에 있고 가장 色갈이 엷은 大學 1號도 10點을 얻어 12位를 차지하게 된것을 볼때 色갈에 對한 審査員들의 嗜好傾向이 너무 色調가 엷은것도 좋아하지 않지만 너무 진한 色갈도 좋아하지 않는다는 것으로 解釋되었다.

Libby 와 Birdseye 等の 美國製 冷凍딸기製品에 對하여도 좋은 許價를 하지 않았다는 것은 色調에 對한 嗜好性에 있어서 個性間의 差가 있겠지만 우리나라 사람들이 너무 진하게 赤色을 띤 製品을 싫어하는 傾向을 보여 주는 것이라 하겠다. 맛에 對한 審査員들의 評價를 볼때 理化學的인 分析에서 나타난 酸도와 糖度の 含量關係와 반드시 一致한다고는 할 수 없었으나 酸과 糖의 調和如否는 分明히 味覺에 影響을 준것 같이 생각되었다. 또 製品의 色調가 心理的으로 味覺에 크게 영향주고 있는 것 같이 解釋되는 點도 있었다. 이 冷凍딸기는 우리에게 아직 낯선 食品이기 때문에 審

査員들이 過去에 이러한 製品에 익숙하지 못 하였음인지 美國製 冷凍딸기가 가장 나쁜 評價를 받았다는 事實은 앞으로 製品開發을 위하여 注目할 點이라고 생각된다.

總 括

우리나라에서 栽培되고 있는 딸기에 對하여 冷凍加工適性を 調査하기 爲하여 水原, 釜山 및 全州地方產의 딸기 13個 品種을 供試하여 冷凍加工試驗을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 過去부터 우리나라에서 널리 栽培되고 있는 딸기品種인 幸玉, 福羽, 鷄冠 및 大學 1號 等은 果肉의 色갈이 白色部分이 많아 加工用으로는 合當하지 않았다. 그중에서도 大學 1號의 品種은 白色이 強하였다.

2. 導入品種인 Blakemore 가 色갈에서는 가장 진한 赤色으로 나타났으나 香氣는 特出하지 못하였다.

3. 糖도와 酸도를 分析한 結果 導入品種이 一般적으로 糖含量이 若干 낮은 反面에 酸도는 比較的 높은 傾向을 보였고 現在 農家에서 栽培되고 있는 品種들은 이와 反對現象을 보였다.

4. 導入品種中 Blakemore 를 비롯한 Howard, Earlidawn 等은 加工品種으로서 色갈 面에서는 充分히 진한 赤色을 나타내었다.

5. 官能審査法에 依하여 冷凍딸기 製品의 色갈과 맛을 評價한 結果 製品의 色갈이 너무 진한 것은 좋은 得點을 얻지 못하였고 美國人이 좋아한다는 色갈과 香味가 반드시 우리나라 사람의 嗜好에도 適當하다고 할 수 없는 結果를 나타내었다.

引 用 文 獻

- 1) The Almanac of the canning, freezing and preserving Industries (1968)
- 2) 加藤舜郎, 石渡憲治編; 食品冷凍法(光琳書院, 日本) p. 93~98 (1968)
- 3) Gottony; Fruits Cultivation in Korea (USOM/K)
- 4) Sistrunk W. A, More J. N.; Assessment of fresh and frozen strawberry. Food Tech. 21, No. 3A 131A-135A
- 5) 松井修; 딸기加工解説, 罐詰技術, 8, 72(1967)
- 6) U. S Dept. of Commerce; U. S Imports
- 7) Hall J. E.; Strawberry test packing (Final report) USAID/KOREA (1968)
- 8) Singh L.; Industrial Eng. Chemistry, 8, No. 5 (1933)

(N-Succinyl α -carboxamide) ribotide (SAICAR)가呈味성이 있음을報告한바 있다. Shimazono⁽⁶⁾, Kuninaka⁽⁸⁾ 등은 5'-IMP, 5'-GMP 등과 monosodium glutamate (MSG)의 맛을比較하여 5'-mono nucleotides 가 MSG 보다 감칠맛이強力하고도 부드러운官能을 주며 또한 5'-IMP, 5'-GMP의少量과 MSG를混合하면 맛의相乘作用이發現됨을報告하였다.

5'-Mononucleotides가水溶液中에서 100°C까지는安定하며 100°C以上에서도中性, 弱 Alkali性에서는安定하나 pH 5.0 以下の酸性에서는不安定하여分解됨이岡本⁽⁷⁾, 栗山⁽⁸⁾ 藤田⁽⁹⁾ 등에 의하여 밝혀졌다. Tidus⁽¹⁰⁾에依하면 5'-IMP, 5'-GMP는食品의 맛을改良하는 flavor enhancer라 하였고 Kurtman^(11,12) 등은加水分解臭等 下快臭를減退시킴을指摘하였다. 魚肉中呈味成分으로 5'-IMP含量에對하여는 Fujida,^(13,14) Kassemarn⁽¹⁵⁾, Saito⁽¹⁶⁾ 등이報告하였고 Toda⁽¹⁷⁾ 등은魚肉製品中の Phosphatase가 Mononucleotides를分解함을報告한바 있다.

著者들은 우리나라 젓갈중에서代表的인 것으로 가장 많이愛用되는 멸치젓을選定, 市場에서蒐集하고成分分析 및 멸치와 젓의 RNA-depolymerase 그리고 5'-phosphodiesterase activity를測定하였으며 이들酵素에依하여核酸이分解되어 5'-Mononucleotides로되는지의與否를 5'-Mononucleotide의含量을定量하여豫想하였던結果를 얻었으므로報告하는 바이다.

實 驗

1. 材 料

멸치: *Engraulis japonicus* Temmik et Schlegel
(Small sardine)

멸치젓: Pickle of small sardine 蒐集: 1967年 10月 서울 南大門市場

2. 方 法

(1) 試料調製

젓갈의一定量을取하여 Waring blender로 3~5分間 homogenize시키고 冷蔵庫中에貯藏試料로서凍結保存하면서實驗하였다.

(2) RNA-depolymerase activity^(18,19)測定

가. 酵素液의調製: 멸치젓 및原料멸치 10g씩을取하고 0.1 M-Tris buffer solution (pH 6.5) 90 ml를加하여 Waring blender로 3分間處理하고 冷蔵庫中에서一夜放置하면서抽出하고遠沈한上澄液을粗酵素液으로하되 toluol 0.5 ml를加하여 冷蔵庫中에保管하여試料로하였다.

나. 基質調製: 國中의方法⁽¹⁸⁾에 따라 E. Merck製인 Yeast RNA 1g과 Bacto agar 2g을 Tris buffer solution

(pH 6.5) 20ml와 증류수 80ml에 녹여서 1% RNA의 固體基質로 하여使用하였다.

다. Activity測定⁽¹⁹⁾: RNA 1%의 buffered substrates 18 ml를直徑 9cm의 Petri dish에流入放冷하여平板을 만들고 Stainless steel製 cup (height 1cm, width 0.8cm)을平板上에並置하고酵素液 0.5ml씩을接種하여 30°C, 37°C, 44°C의定溫器內에서 4時間酵素反應을시킨後 cup과 나머지酵素液을除去하고 Uranyl reagent^(20,21) (uranyl acetate 0.25g, Trichloro acetic acid 2.5g을 증류수 100ml에溶解)를平板全面에流入한後約 10分間室溫에서放置함으로써酵素活性을失活시키면酵素未反應部位는白濁이되고 RNA-depolymerase가作用하여 RNA가分解된部分은 Uranyl reagent에可溶性임으로透明한 ring을 나타냄으로透明한 ring의直徑을 vernier로測定하여 RNA-depolymerase activity를比較測定하였다. 그리고 Uranyl reagent를除去하고 Fiske-Subbarow^(22,23)의 molybden acid II solution (2.5g의 ammonium molybdate를 증류수 200ml에 녹이고 0.1N H₂SO₄ 300ml를加하여全容을 1%로함) 10ml와 amino naphthol sulfonic acid solution (0.5g의 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid을 75% NaHSO₃ solution 195ml에 녹인다음 20% Na₂SO₃·7H₂O solution 5ml를加하여混合한液)을 4ml混和한溶液을透明해진 ring部位에一滴씩加하여室溫에서 5~20分間에發現하는靑色으로 RNA-depolymerase中에遊離磷酸으로까지分解시키는 phosphomonoesterase의存在與否를確認하였다. 그리고 RNA가分離되어 mononucleotide가 5'-mononucleotide인지 isomer인 3'-mononucleotide인지는 RNA 0.5% (tris buffered solution pH 6.5)의液體基質 4.9ml에酵素 0.1ml를加하여 30°C에서 4時間反應시킨液을熱處理로不活性化시키고 Paper electrophoresis에서 anode side로 migrate한 U. V. 吸收物質을確認하여 Periodate oxidation에 따른 Schiff's reaction으로서同定한 spot가 5'-mononucleotide인 경우는 5'-phosphodiesterase, 3'-phosphodiesterase인 경우는 3'-mononucleotide活性으로確認하였다.

라. Adenylic acid deaminase activity: 基質溶液으로는 3 μ mole의 5'-AMP(Tris buffer-pH 6.5) solution을使用하였고酵素液은 위 가.項과 같으며 Activity의測定은 다음과 같이 하였다. 卽 buffered substrate 4.9ml에酵素液 0.1ml를加하여 30°C, 37°C, 44°C에서 4時間反應시킨 다음加熱處理에依하여反應停止를 하고 paper electrophoresis에 나타난 U. V 吸收 spot와泳動距離로서 AMP와 IMP를同定하고 adenylic acid deaminase活性을確認하였다.

ㄱ. UV-吸收物質의 確認⁽²⁴⁾: Paper chromatography, paper electrophoresis 에 의하여 分離된 spot 에 U. V. light (2537A filter)를 照射하여 paper 上의 UV-吸收 spot 가 검게 보이던 이것을 연필로 mark 하여 確認하였다.

ㄴ. Paper electrophoresis^(24, 25): Paper electrophoresis 는 Beckman electrophoresis spinco model R type 를 利用하였고 electrolyte 는 10% Acetic acid, constant voltage 는 400V, Constant current 는 0.5mA/cm 로 室溫에서 展開하고 paper strip 은 Whatman No. 1 (3×31 cm)을 使用하여 15.5cm 地點인 中間點을 starting line 으로 하여 여기에 sample 0.05ml 를 applicator 로서 올린것을 4時間 泳動시키면 anode side 에 migrate 하는 것은 nucleotide, cathode side 에 migrate 하는 것은 nucleoside 또는 base 임으로 U. V.吸收 band 로 確認하고 periodate 酸化에 따른 Schiff's reaction 에 의하여 確認同定하였다.

ㄷ. Paper chromatography^(25, 27, 28): Paper chromatography 는 ① Markham saturated ammonium sulfate—Tertiary butanol—0.025N Ammonia water (160:3:40). ② Hans 의 N-Propanol—conc. ammonia water—Water (60:30:10) ③ Krebs 의 Isobutylic acid—1M Ammonia water—0.1M EDTA (100:60:1.6)을 solvent system 으로 하고 Whatman No. 1 paper 를 使用하여 上昇法으로 室溫에서 約 16時間 展開시킨 다음 60°C 에서 건조하고 U. V.吸收 spot 를 確認하였다.

ㄹ. Periodate oxidation^(25, 29): Paper chromatography 나 paper electrophoresis 를 거친 paper 에 1% sodium meta periodate solution 을 UV-吸收物質이 있는 spot 에 充分히 spray 하고 60°C 에서 7時間 건조한 後 SO₂ gas 를 處理하고 미리 SO₂ gas 로 漂白한 0.1% rosaniline solution 을 spray 하고 室溫에서 1~2時間放置한 後 靑紫色 spot 또는 band 가 發現하면 5'-mononucleotide 임을 確認同定하였다. 卽 Pentose 의 2', 3'-位置에 cis form 으로 OH 基가 存在하면 NaIO₄ 로 酸化되면서 aldehyde 로 되고 rosaniline 의 Schiff's reaction 으로 靑紫色이 發現하게 됨으로 5'-位置에 磷酸이 붙은 5'-mononucleotide 임을 確認하였다.

(3) 멸치젓갈中的 5'-mononucleotide 의 定量

ㄱ. Ion exchange resin column chromatography 用 試料調製⁽³⁰⁻³²⁾: Waring blender 로 處理한 試料 2g 를 秤取하여 여기에 10% perchloric acid 10ml 를 加하고 氷冷下에서 一夜 放置하면서 抽出하여 遠沈하고 殘渣에 10ml 의 5% perchloric acid 를 加하여 2時間 放置하고 再次抽出, 遠沈하고 또 反復하여나온 上澄液을 原上澄液과 合치고 이것을 5N-KOH 로 中和 氷冷下에서 K-

chlorate 로 沈澱시킨것을 遠沈하여 上澄液을 氷冷고에 保管하는 한편 殘渣를 氷冷水로 洗滌한 洗液을 上記 上澄液과 合쳐서 IN-H₂SO₄ 를 加하여 pH 2.0 으로 調整하고 liquid-liquid extractor 上에서 ether 로서 48hrs 抽出한 다음 coconut active charcoal column 에 吸着시킨 後 0.01M-EDTA solution (pH7.0)을 注加하고 증류수로 洗滌한 後 5% NH₄OH 含有 50% ethanol 로 溶出하여 얻은 溶出液을 Amberite IR 120 column 에 通過시킨 다음 通過된 溶液을 IN-NH₄OH 로서 pH 9.5 로 調整하여 Dowex 1×8 column (formic type)用 試料로 하였다.

ㄴ. Ion exchange resin column 의 準備^(33, 34): Ion exchange resin 으로 Dowex 1×8 (200~400 mesh)를 使用하였으며 強鹽基性 ion 交換樹脂를 증류수에 넣어 교반한다음 水面에 浮遊되는 粒子를 傾斜除去한 後 適當한 column 에 充填하고 樹脂의 5~10 倍量(V/V)이 되는 6N-formic acid 와 1M-sodium formate 溶液의 等量混合液을 column 에 通過시킨 다음에 다시 5~6 倍量(V/V)의 88% formic acid 를 通過시키고 끝으로 再蒸溜水를 通過하되 流出液이 中性이 될때까지 계속 洗滌하였다. 以上과 같이 formic acid type 로 活性化시킨 ion 交換樹脂를 pyrex 製 column (0.9×7cm)에 弱한 壓力을 加하면서 氣泡가 生기지않게 注意하여 均一하게 充填하였다. 常壓에서 이 column 에 試料液을 徐徐히 加하여 nucleotide 成分을 樹脂에 吸着시킨 後 再증류수로 2~3回 洗滌하여 column 準備를 完了하였다.

ㄷ. Stepwise elution system⁽³⁰⁾: Ion 交換樹脂에 의한 試料中 nucleotide 의 溶出은 弱한 壓力(水壓)으로 Fig. 1 의 展開液이 1ml/1分間의 流速이 되게 調節하고 Automatic fraction collector (Rinco 社製)를 利用하여 10ml씩 分取하였다. 1回 實驗에서 200~220個의 fraction 을 分取하였으며 約 34~37時間 所要되었다.

ㄹ. Optical density 測定^(33, 34): Fraction collector 로 分取한 各 溶出液의 fraction 을 silica cell 에 넣어 Beckman spectrophotometer DU-2 를 使用하여 波長 260m μ 및 280m μ 에서 O. D. 를 測定하였고 各 fraction 의 O. D. 를 plot 하여 nucleotide 의 各 peak 를 決定하고 nucleotide 가 ion exchange resin column 에서 溶離되는 位置를 標準 nucleotide 의 各 peak 와 比較하였다.

ㄱ. 各 Nucleotide 의 同定: 260m μ 의 吸收로 peak 가 되는 各個의 fraction 을 모아 IN-HCl 로 pH 2.0 가 되게 조정하고 active charcoal column 에 吸着시켜 氷洗한 後 1.4% NH₄OH 含有 50% ethanol 로 溶出하여 rotary vacuum evaporator 에서 濃縮하여 UV-absorption spectra 測定用, paper chromatography 用 및 paper electrophoresis 用의 試料로 하였다. UV-absorption

curve는 波長 230m μ 에서 300m μ 까지 O. D.를 5m μ 간격으로 연속 측정하여 Authentic compound의 標準曲線과 比較하여 同定하였으며 paper chromatogram의 Rf值, paper electrophoresis의 migrated distance 등에 의하여 同定을 뒷받침하였다.

나. 各 Nucleotide의 mole濃度算出^(35,36): 各 peak의 O. D. 合計에서 back ground를 減한 다음 各 nucleotide의 extinction coefficient로 除하여 各 nucleotide의 mole濃度を 算出하였으며 이때 260m μ 의 extinction coefficient는 pH 2.0으로 調整된 경우의 E₂₆₀=14.2 (AMP), E₂₆₀=11.8 (GMP), E₂₆₀=6.2 (CMP), E₂₆₀=9.9 (UMP), E₂₆₀=7.4 (IMP)를 採用하였다.

結果 및 考察

1. 一般成分

Table 1. Chemical Composition of Pickle of Small Sardine

Moisture	Ash	Crude protein	Crude fat	Carboh. ydrates	NaCl	Others	pH
%	%	%	%	%	%	%	%
60.12	1.13	13.7	4.3	1.1	19.5	0.15	5.9

멸치젓의 一般成分을 分析한 結果는 Table 1에서와 같다. 이 結果를 보면 粗脂肪含量이 比較的 他 젓갈보다 많은 便이고 食鹽含量이 20% 程度인것을 보면 貯藏性이 있어 一年에 걸쳐 長期的으로 食用可能한 것으로 생각된다.

2. RNA-depolymerase activity

젓갈이 熟成됨에 따라 原料中 核酸이 酵素分解되어 5'-mononucleotide로 되는데 核酸分解酵素根源이 原料인 魚體인지 熟成微生物의 것인지를 안기위한 實驗結果는 Table 2에서와 같다.

Table 2. RNA-depolymerase Activity of Pickle of Small Sardine

Sample	RNA-depolymerase activities (pH 6.5) (cm)			Molybden blue reaction
Raw material	+	*	**	+
Pickle		0.9	1.6	+

* fermented 1 month
** fermented 2 months

原料中에 酵素活性이 若干 있었으나 1個月에서 增加가 始作되어 2個月인때 1.6cm로 많은 增加를 나타냈

다. 이것은 熟成 1個月에 耐鹽性이 아닌 微生物이 쇠퇴하고 그후 耐鹽性細菌들만이 增殖함과 더불어 酵素가 生成되는것 같다. 그런데 젓갈의 RNA-depolymerase가 molybden blue reaction이 全部 positive로 된 現象은 核酸이 RNA-depolymerase, phosphomonoesterase, nucleosidase等 여러 共存하는 酵素들에 의하여 nucleotide로 되고 더 分解가 進行되어 nucleoside와 磷酸으로까지 됨을 나타내는 것이다. 그러므로 呈味性 5'-mononucleotide로 蓄積되기는 어려울을 알수 있다. 따라서 젓갈中 呈味性 5'-mononucleotide의 含量은 항상 一定한 값을 가지지 아니라 核酸이 分解되는 途中의 流動的인 含量值일수 밖에 없다.

Adenylic acid deaminase 活性을 보았더니 멸치 및 멸치젓의 粗酵素中에는 5'-AMP의 purine ring 2位置에 있는 NH₂基를 deamination하는 酵素에 의하여 5'-IMP로 해주는 adenylic deaminase 活性이 있음을 Fig. 1에서 보여주고 있어서 멸치 및 멸치젓에 5'-IMP의 存在를 미리 暗示해주고 있다. 5'-AMP 基質에 효소를 作用시킨 後 Authentic compound인 5'-AMP, 5'-IMP와 같이 paper electrophoresis와 Periodate oxidation을 處理하였더니 adenylic deaminase에 의하여 5'-AMP가 5'-IMP로 轉化됨을 보여주는 것임을 알수 있다.

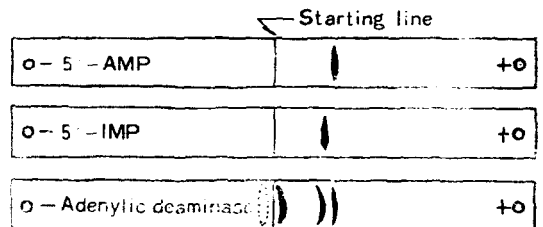


Fig. 1. Paper electrophoresis of 5'-AMP deaminase activity

3. 멸치젓中 5'-Mononucleotides

Standard nucleotides로서 Sigma社製 5'-AMP 3.16 μ mole, 5'-IMP 4.71 μ mole, 5'-GMP 6.12mole, 5'-CMP 2.82 μ mole 및 5'-UMP 2.92 μ mole을 含有하는 混合液을 試料로 ion exchange column chromatography를 行하여 그 分離相으로서 Fig. 2와 같은 溶離曲線을 얻었다.

即 5種의 5'-mononucleotide는 完全히 分離되고 Table 3에 表示한바와 같은 定量結果를 얻었으며 回收率도 良好하였다. 2', 3', mononucleotide가 共存할 때 5'-mononucleotide의 定量이 妨害되는지의 與否를 檢討하기 위하여 yeast RNA의 alkali 分解物을 試料로 하여 얻은 溶離曲線을 Fig. 3에 表示하였다. 이것은 소肝藏 RNA의 alkali 分解物을 試料로 하여 위와같이

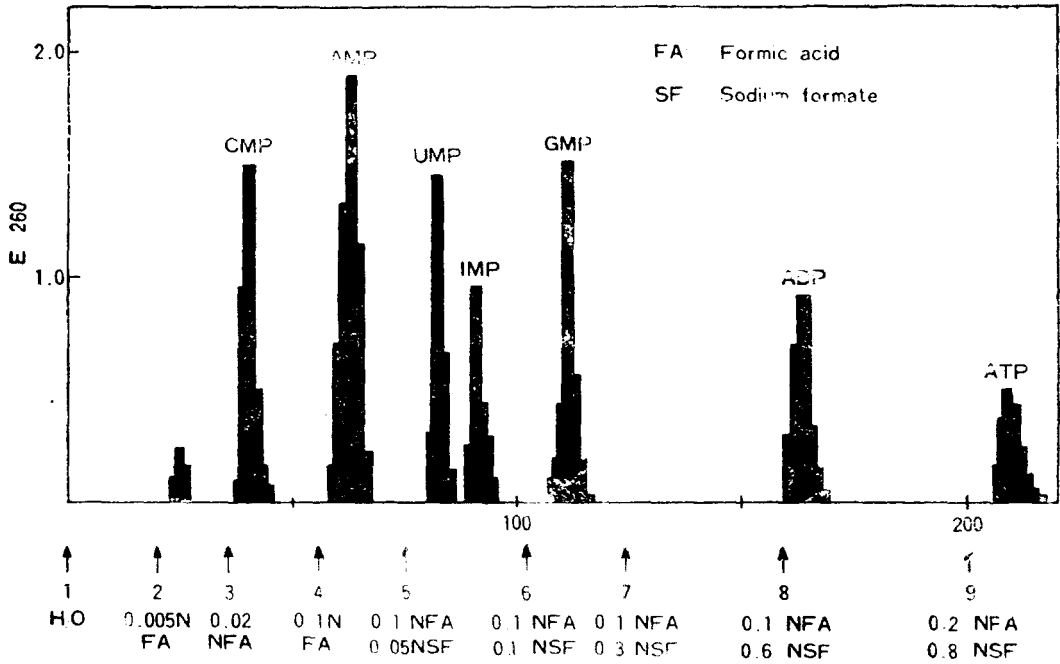


Fig. 2. Ion exchange chromatography of 5'-nucleotide

Column: Dowex-1×8, 200~400 mesh, Formic type 1×7cm.

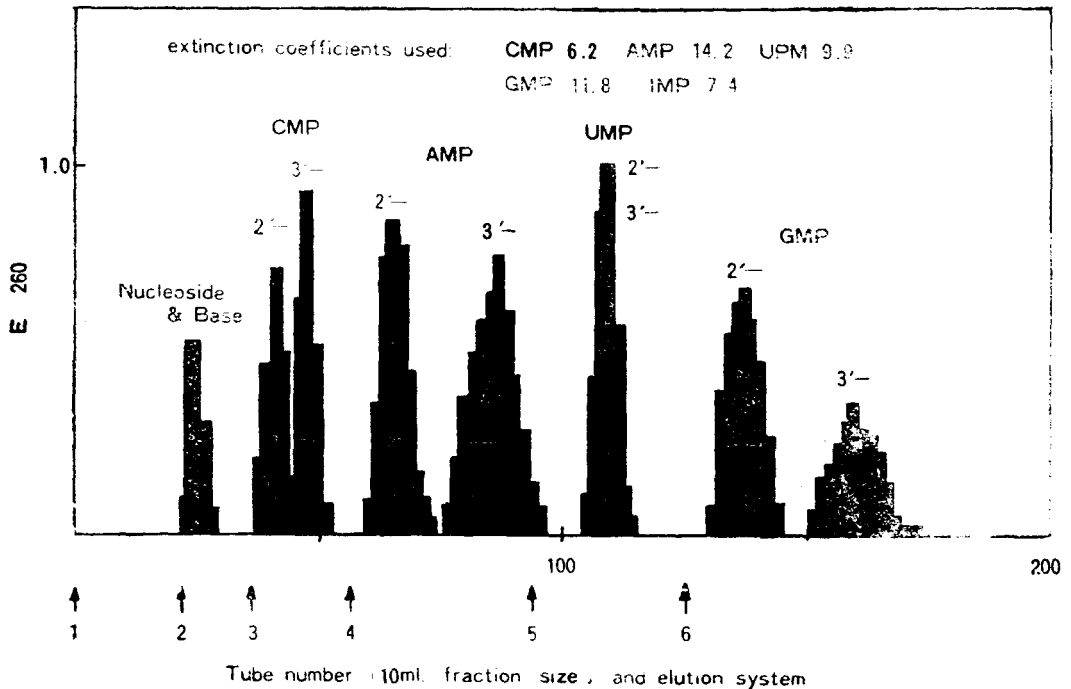


Fig. 3. Ion exchange column chromatography of 2'- and 3'-nucleotide

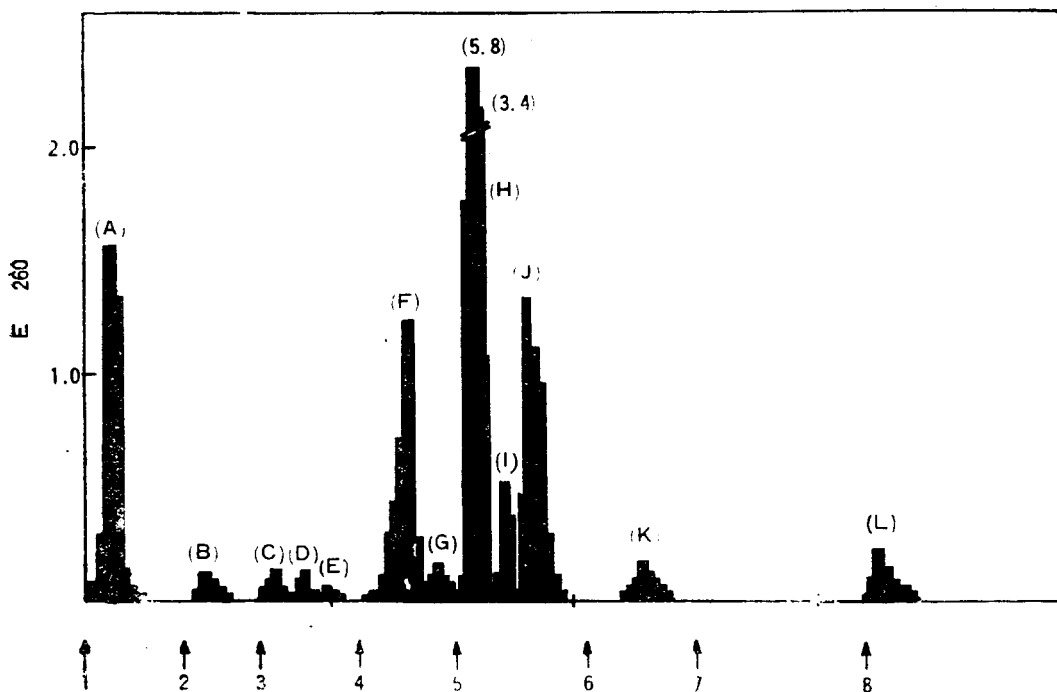


Fig. 4. Ion exchange column chromatography of salted small sardine pickle

Table 3. Recovery Test of 5'-Mononucleotides by Column Chromatographic Assay Method

Mono-nucleotides	Assay values (μ mole)	Recovery (%)
5'-IMP	4.77	102
5'-AMP	3.20	101
5'-GMP	6.17	101
5'-UMP	2.91	99.6
5'-CMP	2.84	101

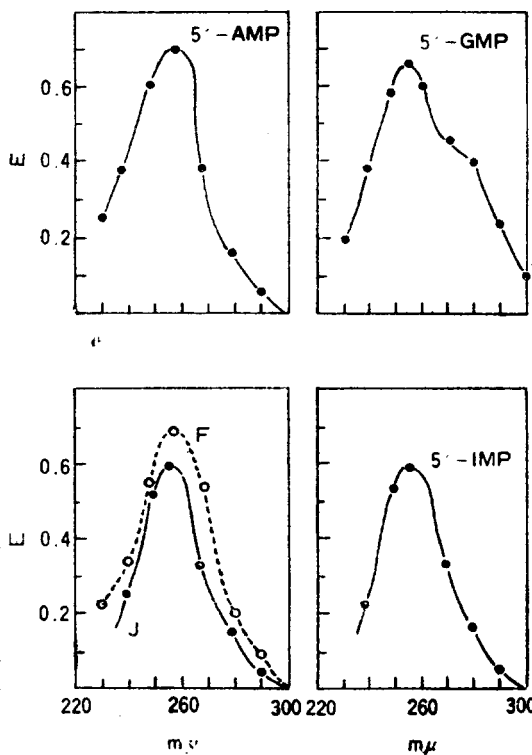


Fig. 5. UV-absorption spectra of the 5'-mononucleotides

行한 Cohn 等の 結果와 비슷한 傾向을 보여주고 있다.

멸치젓을 試料로 ion exchange column chromatography 를 行하고 fraction number 에 對하여 O. D. 를 plot 하여 얻은 溶離曲線은 Fig. 4 와 같다. 여기에서 A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L 등 12 fraction 이 分離된 時 이것을 Fig. 2 의 standard 와 對照하여 보면 C fraction 은 5'-CMP, D fraction 은 2'-CMP, E fraction 은 3'-CMP, F fraction 은 5'-AMP, G fraction 은 2'-AMP, H fraction 은 3'-AMP 이며 가장 많은 量이 存在하고 I fraction 은 5'-UMP, J fraction 은 5'-IMP, K fraction 은 5'-GMP, L fraction 은 ADP 인 것을 standard series 의 溶離位置와 對照하여 우선 인정할 수가 있다. 그리고 A, B 두 fraction 은 Cohn 等の 結果와 比較

하여 nucleoside 및 base의 混合物들임을 확인하였다. 그러나 呈味性 5'-mononucleotides는 5'-IMP와 5'-GMP인데 5'-GMP인 K fraction은 너무 적은 량임으로 無視하고 5'-IMP인 J fraction과 5'-AMP인 F fraction을 各各 모았다.

이들 두 fraction을 active charcoal로 處理하여 pH 2.0으로 하고 各 peak의 nucleotide를 同定하는데 使用한 波長 230m μ 에서 300m μ 까지의 連續인 UV-absorption spectra를 測定한 O.D. 曲線은 Fig. 5와 같다. 卽 F fraction은 5'-AMP, J fraction은 5'-IMP임을 各各 同定하고 Fig. 6, Fig. 7에서와 같이 paper electrophoresis에 依하여 starting line으로부터 anode side에, migrated distance를 Authentic compound와 對照하고 paper chromatography에 依한 R_f 值로서 Authentic compound인 5'-AMP, 5'-IMP와 對照하고

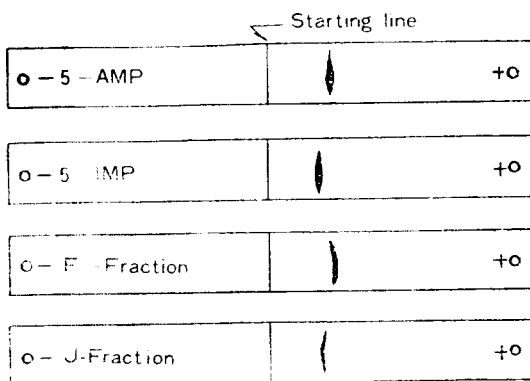


Fig. 6. paper electrophoresis of 5'-mononucleotides

Table 4. 5'-Mononucleotide Contents of Salted Small Sardine Pickle

Sample	μ mole/g					mg/100g	
	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-IMP	5'-GMP	5'-IMP	5'-GMP
Salted small sardine pickle	0.08	1.02	0.32	1.51	0.09	52.4	0.93

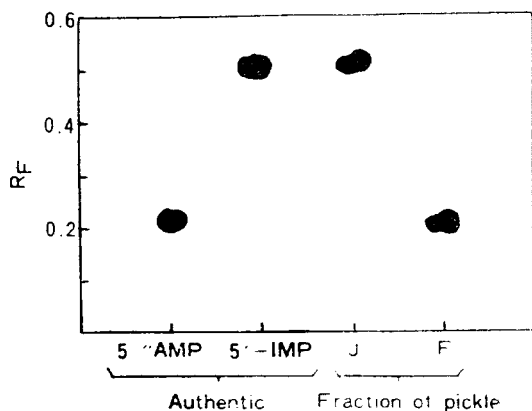


Fig. 7. Paper chromatograms of 5'-mononucleotides.

Solvent: Saturated (NH₄)₂SO₄,
—tert-butanol—0.025N
NH₄OH (160 : 3 : 40)

Periodate 酸化와 Schiff's reaction에 依한 靑紫色 band를 確認함으로써 5'-AMP와 5'-IMP임을 同定하는데 뒷받침하였다.

멸치젓에 對한 5'-mononucleotide의 定量結果는 Table 4에서와 같다. 呈味性 5'-monocleotide인 5'-IMP가 가장 많고 다음이 5'-AMP임을 알수 있다. 이

것은 李⁽³⁷⁾, 齋藤⁽³⁸⁾, 藤田^(39,40) 등이 脊椎動物 魚肉中에는 死後 數時間에 AMP-deaminase가 活性化되어 5'-AMP가 deamination되어 5'-IMP로 轉化하여 5'-IMP가 많은 特有한 nucleotide pattern임을 報告한 바와 大體로 一致되는 結果임을 알수 있으며 한편 熟成微生物에서 오는 것도 있으리라 생각되는 바이다.

總 括

우리나라에 잘 알려진 젓갈中에서 代表的인 멸치젓의 一般成分 分析, 酵素의 特性을 調査하는 同時에 5'-mononucleotide生成에 미치는 영향을 조사하여 다음의 結果를 얻었다.

1. 젓갈原料 및 젓갈의 RNA-depolymerase는 젓갈中 RNA를 nucleoside 및 遊離磷酸까지 分解시키므로 呈味性 5'-mononucleotides로 蓄積되기 어렵다.
2. 멸치젓에 5'-inosinic acid와 5'-adenylic acid가 많이 들어있다.
3. 멸치젓에 5'-inosinic acid含量이 현저하게 많았으므로 adenylic deaminase가 있어 5'-inosinic acid가 많은 inosinic acid type임을 알았다.

引用 文 獻

1. Kodama, S.: *J. Tokyo Chem. Soc.*, 34, 751(1913)

2. 國中 明 : 日農化誌, 34, 489 (1960)
3. Ogata, K. and Nakao, Y.: *Agr. Biol. Chem.*, 26, 1118 (1962)
4. Huang, H. T.: *Biochemistry*, 4, 58 (1965)
5. Shimazono, H.: *Food Tech.*, 18, 294 (1964)
6. Kuninaka, A. *Food Tech.*, 18, 287 (1964)
7. 岡本 武 : 日農協誌, 56, 628 (1961)
8. 栗山千枝子 : 榮養斗食糧, 17, 337 (1965)
9. 藤田榮一 : 榮養斗食糧, 18, 98 (1966)
10. Tidus, D. S.: *Food*, 24, 150 (1963)
11. Kurtman, C. H.: *Food Tech.*, 18, 221 (1964)
12. Caul, J. F.: *Food Tech.*, 18, 353 (1964)
13. Fujida, A., Hashimoto, Y. and Mori, T.: *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, 25, 147, 312 (1959)
14. *ibid.* 26, 907 (1960)
15. Kassemarn, B., Perez, B. S., Murray, J. and Jones, N. R.: *J. Food Sci.*, 28, 28 (1963)
16. Saito, T.: *Ribotide Japan*, 1, 60 (1964)
17. Toda, J., Nakadani, H. and Fujida, E.: *J. Japan Soc. Food and Nut.*, 18, 63 (1965)
18. 國中 明 : 日農化誌, 29, 52, 797 (1955)
19. 金浩植, 李啓瑚 : 韓農化誌, 4, 11 (1963)
20. Kuninaka, A.: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 3, 55 (1957)
21. Kaplan, H. S. and Heppel, L. B.: *J. Biol. Chem.*, 222, 907 (1956)
22. Fiske Subbarow. Y.: *J. Biol. Chem.*, 66, 375 (1925)
23. 赤堀四郎 : 酵素研究法 (朝食書店, 東京) p. 943 (1956)
24. Kuninaka, A.: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 23, 239 (1959)
25. Buchanan, J. G. and Dekker, C. A.: *J. Chem. Soc.*, 3162 (1950)
26. Markahm, R. and Smith, J. D., *Biochem. J.*, 49, 401 (1951)
27. Hans, C. S. and Isherwood, F. A. : *Nature*, 164, 1107 (1949)
28. Krebs, H. A. and Hems, R.: *Biochim. Biophys. Acta*, 12, 172 (1953)
29. Markahm, R.: *Modern Method of Plant Analysis*, 4, 269 (1955)
30. 中島宣郎, 藤田榮一郎 : 日農化誌, 35, 9, 803 (1961)
31. Pontis, H. G., Cabib, Eand Leloir, L. F.: *Bioc-him. Biophys. Acta*, 26, 146 (1957)
32. 杉本 洋, 岩淺 孝, 石山二郎 : 日農化誌, 36, 690 (1962)
33. Bergkvist, R. and Deutch, A.: *Acta. Chem. Scand.*, 8, 1877 (1954)
34. Nakajima, N., Ichikawa, K. and Fujida, E.: *J. Agr. Chem. Soc. (Japan)*, 35, 797 (1961)
35. Volkin, E. and Cohn, W. E.: *Methods of Bioc-hemical Analysis*, 1, 287 (1954)
36. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O.: *Methods in Enzymology*, Vol. III (Academic press) p. 724(1957)
37. 李啓瑚 : 韓農化誌, 11, 1 (1969)
38. 齊藤恒行 : 化學(日本), 13, 101 (1960)
39. 藤田孝夫, 橋本芳郎, 森高次郎 : 日水誌, 25, 147-312 (1959)
40. *ibid* : 26, 907 (1960)