

水産食品의 加工 및 保藏中の 核酸關聯物質의 變化에 關한 研究

1. 마른 멸치 製造過程中的 核酸關聯物質의 變化*

李 應 昊 · 朴 榮 浩
(釜山水産大學 食品工學科)

DEGRADATION OF ACID SOLUBLE NUCLEOTIDES AND THEIR RELATED COMPOUNDS IN SEA FOODS DURING PROCESSING AND STORAGE

1. Changes of Nucleotides during Drying Process of the Anchovy, *Engraulis japonica*

by

Eung-Ho LEE and Yeung-Ho PARK

(Dept. of Food Science and Technology, Pusan Fisheries College)

The present study was directed to define the degradation pattern of the nucleotides and their related compounds in the muscle of anchovy during drying.

Three kinds of samples, fresh, sun dried and boiled-and-dried anchovy, were prepared and the contents of nucleotides and related compounds of samples were determined by ion exchange chromatography.

The results obtained are summarized as follows:

Almost all of ATP disappeared in both muscle of sun dried and boiled-and-dried anchovy, although the initial content of ATP in fresh muscle was very low (1.8μ moles/g, dry basis). But the remaining amount of ADP was considerably high while the other nucleotide almost entirely disappeared. This suggested that the residual ADP is responsible to the "bound nucleotide" of myofibrils.

In general, AMP content was comparatively lower than that of other nucleotides. Among three samples, the boiled-and-dried sample showed relatively higher AMP value than others.

The amount of IMP remained in muscle remarkably varied between the boiled-and-dried anchovy and sun dried anchovy, the former's value being sixteen times higher than that of

* 본 보문의 요지는 1970년 11월 6일 한국식품과학회 제5차 학술발표회에서 발표하였다.

latter.

In the contents of inosine and hypoxanthine, the sun dried anchovy marked an exceedingly high value equivalent to 2.7 times of the boiled-and-dried anchovy. In comparison of the ratio of inosine and hypoxanthine, hypoxanthine was accumulating in boiled-and-dried anchovy whereas inosine was in the sun-dried anchovy.

Eighty three percent of total nucleotides in the fresh anchovy retained in the boiled-and-dried anchovy and IMP ratio in total nucleotides was 73%. On the contrary, the sun dried anchovy showed barely 10% of retention rate and IMP ratio was only 38%.

Considered from the flavor quality of dried anchovy, so far as concerned IMP content, it may be said that the boiled-and-drying method is more favorable process for dried product of anchovy than the sun-drying method.

머 리 말

水産動植物中の核酸關聯物質에 관한 研究는 비단 純粹生化學的인 研究目的에서 뿐만 아니고 食品學的인 여러 가지 面, 即 呈味成分으로서, 또는, 鮮度判定의 指標物質로서, 또는 遊離 ribose로 인한 褐變現象의 發生因子로서 等 여러 觀點에서도 追求되어 새로운 많은 事實들이 究明되고 있다.

이의 結果는 漁獲物의 處理나 加工面에도 많이 應用되고 있다. 最近에 와서 flavor quality의 重要性이 強調되어 bacterial freshness보다 enzymatic freshness를 더욱 重要視하기에 이르른 것도 그 좋은 例라고 할 수 있다.

그러나, 우리 나라에 있어서는 이러한 水産物의 核酸關聯物質에 대한 研究는 極히 드물어, Lee¹⁾가 水産乾製品 製造中の IMP變化에 대하여 조사한 것과 李等^{2),3)}이 鱈갈류에 含有된 5'-mononucleotides에 대하여 調査한 것이 있을 뿐이다.

그래서, 著者들은 우리 나라 主要水産物의 核酸關聯物質에 관한 食品學的인 基礎資料를 얻고, 또, 나아가서는 水産食品加工法의 改善策을 講究하기 위한 目的으로 漁獲物에 含有된 核酸關聯物質의 種類를 分割 同定하고, 아울러 處理加工과 貯藏中에 일어나는 이들 物質의 變化를 調査하여 그 變化의 特異性을 밝히고자 一連의 實驗을 試圖하였다.

먼저, 우리 나라에서 가장 널리 食用되고, 또 產業的으로도 重要な 水産乾製品의 하나인 마른 멸치에 대하여 實驗하였으므로 그 結果를 報告한다.

材料 및 實驗

1. 試 料

(1) 試料採取

實驗에 使用한 멸치 (*Engraulis japonica*)는 1970年 8月 28日 釜山 水營灣의 定置網漁場에서 漁獲된 것으로 體長이 7~12cm의 것 23마리를 使用하였다.

(2) 試料處理^{4),5)}

試料는 漁獲即時 船上에서 비늘, 지느러미 및 內臟等을 除去하여 fillet로 하고 個體別로 fillet를 3等分하여 各 生體試料, 煮乾試料 및 素乾試料로 나누어 polyethylene주머니에 넣고 dry ice로 凍結하여 實驗實로 運搬하였다. 實驗室에 到着하여 生體試料는 即時 實驗에 使用하였고 素乾試料는 3日間 日乾하여 試料병에 넣어 室溫에서 暗所에 貯藏하였다. 煮乾試料는 沸騰하고 있는 12% NaCl 液에 投入하여 fillet가 浮上할 때 건져 올려 3日間 日乾한 後 素乾試料 때와 같은 方法으로 貯藏하였다. 乾製品은 2個月間 貯藏한 것을 實驗에 使用하였다.

2. 實驗方法

(1) 核酸關聯物質의 抽出法

(a) 生體試料⁶⁻⁹⁾: 混合磨碎한 生體試料 約 30g를 精稱하여 冷 10% perchloric acid (PCA) 100ml를 加하고 氷冷하면서 mortar에서 25分間 磨碎한 後 4,000 rpm로 10分間 遠沈하여 上澄液을 分取하였다. 殘渣는 冷 5% PCA 100ml를 加하여 氷冷하면서 mortar에서 20分間 磨碎한 後 4,000 rpm로 10分間 遠沈하여 上澄液을 分取하였다. 이 再抽出操作을 2回 反復하고 分取한 上澄液을 모두 合쳐 冷 5N-KOH로서 中和하여 生成된 KClO₄의 沈澱은 4,000 rpm로 10分間 遠沈하여 上澄液을 分取하였다. 沈澱은 冷水로 洗滌하고 洗滌液과 上澄液을 合하여 600ml로 定容한 後 14個의 ampoule에 넣어 封管하고, -20°C에서 急速凍結하여 貯藏하여 두고 實驗에 使用하였다.

(b) 素乾 및 煮乾試料^{10),11)}: 各試料를 mortar에서 磨碎하여 粉末로 한 것을 約 5g씩 精稱하여 生體試料 배와 같이 處理하되, 다음 點탄을 달리 하였다. 冷 10% PCA의 添加量은 30ml, 冷 5% PCA의 添加量은 20ml, 磨碎時間은 各各 30分間으로 하였고 定容量은 150ml로 하였다.

(2) Ion exchange column chromatography

(a) Ion exchange resin column^{6),12)}: Ion交換樹脂는 Dowex-1, ×8(200—400 mesh)를 使用하였으며, 450ml의 樹脂를 물에 懸濁시켜 約 30分後에도 沈澱하지 않는 極히 微細한 粒子和 夾雜物을 除去하였다. 이 水洗操作을 反復한 後 樹脂를 大型 column에 옮겨 50% acetone 1l, acetone 1l, petroleum ether 1l, acetone 1l, 50% acetone 1l의 順으로 洗滌하여 有機物을 除去하고 물로 씻은 後 2N-HCl, 물, 2N-NaOH, 물의 順으로 樹脂의 10倍容量씩을 3回 交代로 通過시켜 酸可溶性物質을 除去하였다. 다음 充分히 水洗한 後 2M-formic acid (FA)와 ② M-sodium formate (SF)의 等容混合液을 흘려 樹脂를 formate form로 바꾸어 2M-FA와 2M-SF의 混合液中에 貯藏하여 두고 使用하였다.

column은 Liebig's condenser形態의 jacketed column로서 內徑이 1cm, 길이가 20cm이며 下端은 glass filter No. 4로서 봉하였으며, 上部는 分液 깔때기를 氣密하게 連結할 수 있게 만든 것을 使用하였다.

이 column에 樹脂를 均一하게 氣泡가 들어가지 않도록 6cm 높이로 채운 後 約 10倍 容量의 2M-FA와 2M-SF의 混合液을 흘린 後 洗液이 中性이 될 때까지 水洗하여 使用하였다.

(b) 分割溶出: Bergkvist et al¹³⁾, 中島等¹⁴⁾의 方法을 一部 改良한 stepwise elution system에 의하여 分割溶出하였다.

即, PCA抽出液의 一定量을 ammonia로서 pH 9.4로 調整한 後 冷却하면서 樹脂의 表面이 허트러지지 않도록 column에 吸着시키고, 少量의 물로서 水洗하여 試料液을 定量的으로 吸着시켰다.

溶離液으로서는 다음 것을 順次的으로 흘렸으며, column과 溶出液은 low temperature thermostat(MRK)를 使用하여 2~4°C로 維持하였다.

- ① H₂O
- ② 0.005N-formic acid (FA)
- ③ 0.1N-FA
- ④ 0.1N-FA+0.08N-sodium formate (SF)
- ⑤ 0.1N-FA+0.7N-SF
- ⑥ 0.2N-FA+1N-SF

溶出速度는 1ml/min로 하고 fraction collector (MRK, model 4-66 TVD)로서 10ml의 劃分으로 分割하였으며

本報告에 使用한 略語는 다음과 같다.

- Hx(Hypoxanthine)
- HxR(Inosine)
- AMP(Adenosine 5'-monophosphate)
- IMP(Inosine 5'-monophosphate)
- ADP(Adenosine 5'-diphosphate)
- ATP(Adenosine 5'-triphosphate)

1회에 220~230個의 劃分을 分取하였고 36~39時間이 所要되었다. 流出速度의 調節은 column에 連結한 分液 機器의 上部와 大型 유리병 A의 上部를 고무管으로 連結하고 물을 넣은 다른 大型유리병 B로부터 A에 물을 滴下시켜 調節하였다.

(c) **HxR과 Hx의 分別定量**: 新井等¹⁵⁾, 關等¹⁶⁾의 方法을 一部 改良하여 HxR+Hx의 混合劃分을 分別定量하였다. 即 Dowex-1, ×8 (200-400 mesh)를 常法에 따라 chloride form으로 活性化시킨 것을 6cm 높이로 column에 채워 염소이온의 反應이 없어질 때까지 水洗하고, 溶離液A 100ml를 流過시킨 다음 HxR+Hx의 混合劃分을 ammonia로서 pH 10~11로 調整하여 column에 吸着시켰다. 吸着을 마친 後, 다음 溶離液을 使用하여 stepwise elution system으로 分劃溶出하였다.

④ 0.1N-NH₄OH+0.07N-HCl+0.005N-Na₂B₄O₇,

⑤ 0.001N-HCl+0.0002N-Na₂B₄O₇,

溶出速度는 0.5ml/min로 하고 fraction collector로서 10ml씩 分劃하였으며, 1회에 120個程度의 劃分을 分取하였고 約 40時間이 所要되었다. 其他操作은 (b)때와 같이 하였다.

(d) **吸光度測定**: 分取한 各劃分은 各各 相當하는 溶離液을 對照液으로 하여 spectrophotometer (Hitachi Perkin-Elmer 139 UV-VIS)로서 260 μ 에서의 吸光度를 測定하였고, 또 260 μ 에서의 吸收가 큰 劃分은 250 μ 및 280 μ 에서의 吸光度도 測定하였다. 濃度計算은 分子吸光係數에 依하는 方法으로 하였으며, 260 μ 에서의 分子吸光係數는 溶出液을 그대로 使用하였을 때에는 Hx는 10.4×10³을¹⁵⁾, 다른 것은 pH 2때와 같은 값인 AMP, ADP ATP는 14.2×10³, HxR, IMP는 7.4×10³을 使用하였다^{17), 18)}.

(3) **分劃成分의 同定**^{6), 14), 19), 20)}

(a) **溶出位置의 比較**: column으로부터의 溶出位置를 標準物質의 그것과 比較하였다.

(b) **吸光比의 比較**: 260 μ 에서의 吸光도와 250 μ 및 280 μ 에서의 吸光도의 比 E₂₆₀/E₂₅₀, E₂₈₀/E₂₆₀을 文獻值^{17), 18)}와 比較하였다.

(c) **紫外部吸收曲線의 比較**: 各劃分을 1N-HCl로서 pH 2로 調整하여 活性炭을 加하고 (3g/500ml) 30分間 교반한 後 4,000 rpm에서 10分間 遠沈하여 上澄液을 버리고 活性炭을 水洗한 다음 活性炭 1g당 ammonia性 alcohol (ammonia : 95% ethanol : H₂O=2 : 48 : 50), 150ml로서 溶出시켰다. 溶出液은 rotary vacuum evaporator (MRK)로서 30°C以下에서 濃縮하여 紫外部吸收曲線測定用 및 paper chromatography用 試料로 하였다^{21) 22)}.

이와 같이 濃縮한 劃分을 0.1 N-HCl에 녹여 波長 220 μ 에서 300 μ 까지의 UV absorption spectra를 作成하여 標準試藥에 對한 從來의 文獻曲線²³⁾과 比較하였다.

(d) **Paper chromatography**: 濃縮한 劃分을 HCOOH液에 녹여 標準物質과 同時 展開하여 比較하였다. 展開 溶媒로는 다음 세 가지를 쓰고, 여지는 Whatman No.1을 썼으며 室溫에서 上昇法으로 22時間 展開하였다. spot 位置는 UV light를 여지에 照射하여 確認하였다^{23), 24)}.

① isopropanol+sat. (NH₄)₂SO₄+H₂O (2 : 79 : 19)^{19), 25)}

② isopropanol+conc. HCl+H₂O (170 : 41 : 39)²²⁾

③ ethanol+1M-ammonium acetate buffer, pH 3.8 (75 : 30)^{19) 22)}

(e) **Periodate oxidation**: paper chromatography를 마친 여지를 乾燥한 다음 spot部位에 sodium metaperiodate 溶液을 분무하여 10分間 室溫에 放置한 後 SO₂ gas處理를 하고, 다음에 Schiff's reagent를 분무하여 85~90°C에서 10分間 加熱한다. 이때, 靑紫色 spot가 나타나면 ribonucleoside나 또는 ribonucleoside 5'-phosphate임을 確認하였다^{19), 24), 26)}.

結果 및 考察

1. 標準物質의 分劃 定量

Hx 및 HxR은 和光純藥工業株式會社製, AMP는 Takara Kohsan Co. 製, IMP는 味の素株式會社製, ADP는 Sigma Chemical Co. 製, ATP는 第一化學藥品株式會社製를 各名 使用하여 混合溶液을 만들어 ion exchange column chromatography를 行한 結果 Fig.1-a,b와 같은 溶離曲線을 얻었으며, 定量結果의 回收率은 Table 1과 같았다. 但, Hx 및 HxR의 回收率은 分別定量을 거친 값이다.

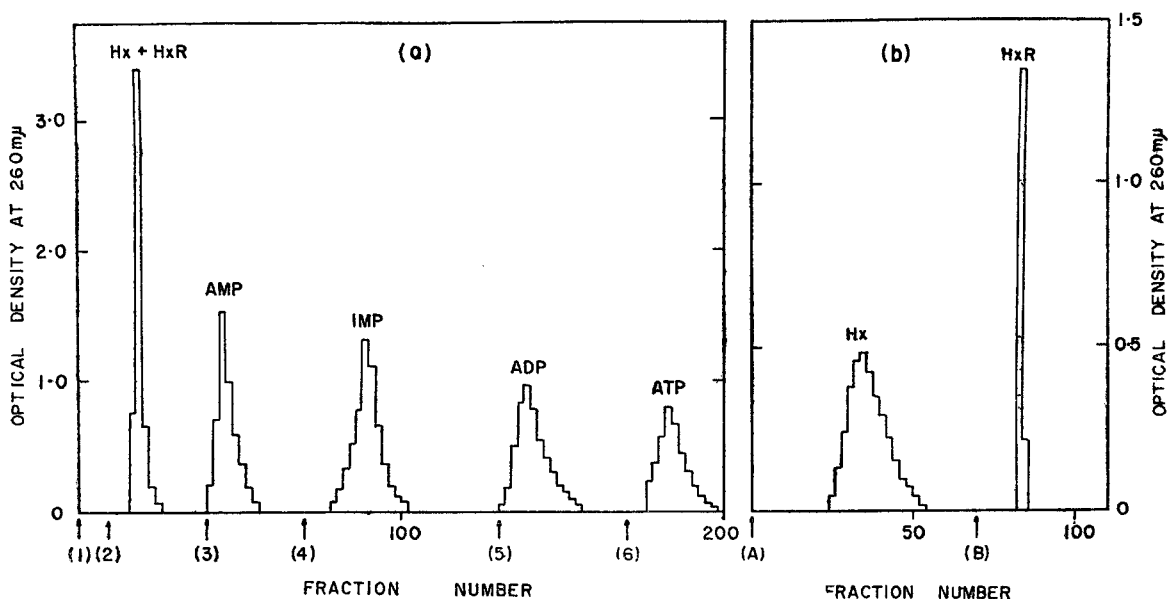


Fig.1 a. Elution diagram of nucleotides and their related compounds from the mixture of authentic Hx, HxR, IMP, AMP, ADP, and ATP.

Exchanger : Dowex-1,x8, 200-400 mesh, formate form, $\phi 1\text{cm} \times 6\text{cm}$

Fraction size : 10ml. Flow rate : 1ml/min.

Eluting solution : (1) H_2O , (2) 0.005N-FA, (3) 0.1N-FA, (4) 0.1N-FA+0.08N-SF,
 (5) 0.1N-FA+0.7-SF, (6) 0.2N-FA+1N-SF

b. Rechromatography for separation of Hx and HxR, mixture of Hx and HxR was fractionated from the mixture of authentic Hx, HxR, AMP, IMP, ADP, and ATP.

Exchanger: Dowex-1, x8, 200-400 mesh, chloride form, $\phi 1\text{cm} \times 6\text{cm}$

Fraction size: 10ml. Flow rate: 0.5ml/min.

Eluting solution: (A) 0.1N- NH_4OH +0.07N- HCl +0.005N- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$
 (B) 0.001N- HCl +0.0002N- $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$

Table 1. Recoveries of Acid Soluble Nucleotides and Their Related Compounds from Authentic Mixture by Column Chromatographic Method

Nucleotides and related compounds	Charged (μ moles)	Detected (μ moles)	Recovery (%)
Hx	3.3	3.2	97.5
HxR	2.2	2.1	96.3
AMP	3.2	3.3	102.1
IMP	7.7	7.8	101.2

2. 試料抽出液의 分割 同定

各試料抽出液에 對하여 ion exchange column chromatography를 行한 結果 生體試料는 Fig. 2—a,b, 煮乾試料는 Fig. 3—a,b, 素乾試料는 Fig. 4—a,b와 같은 溶離曲線을 얻었다.

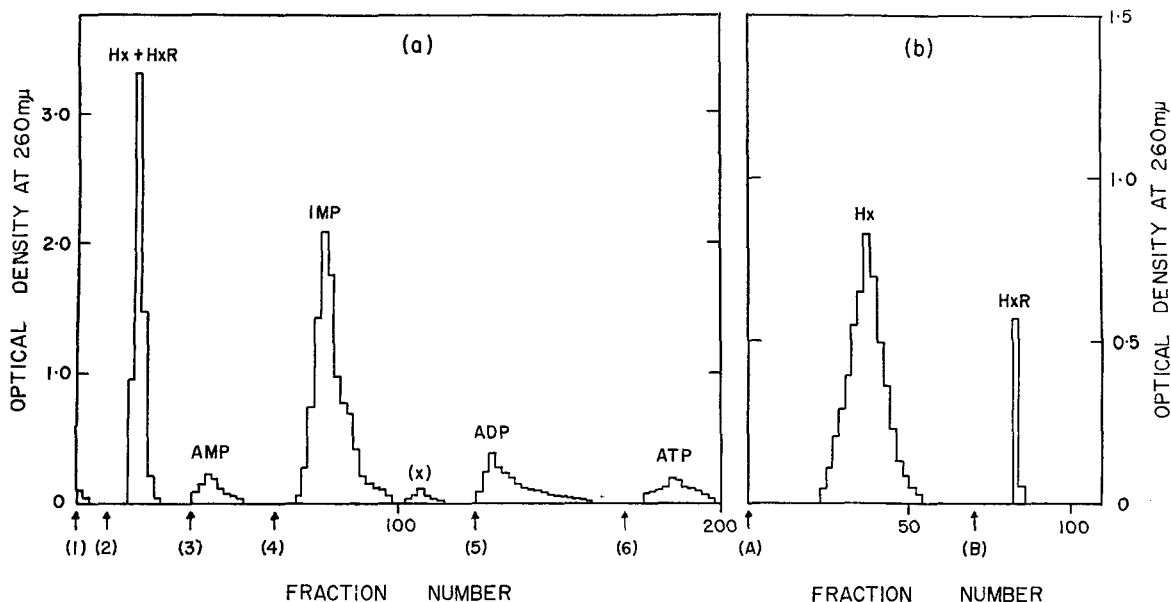


Fig. 2. a. Elution diagram of acid-soluble nucleotides and their related compounds in extract of fresh muscle of anchovy (0.5g, dry basis). Experimental conditions were same as in Fig.1—a. (X): nonidentified fraction.

b. Rechromatography for separation of Hx and HxR, mixture of Hx and HxR was fractionated from extract of fresh muscle of anchovy (0.5g, dry basis). Experimental conditions were same as in Fig. 1—b.

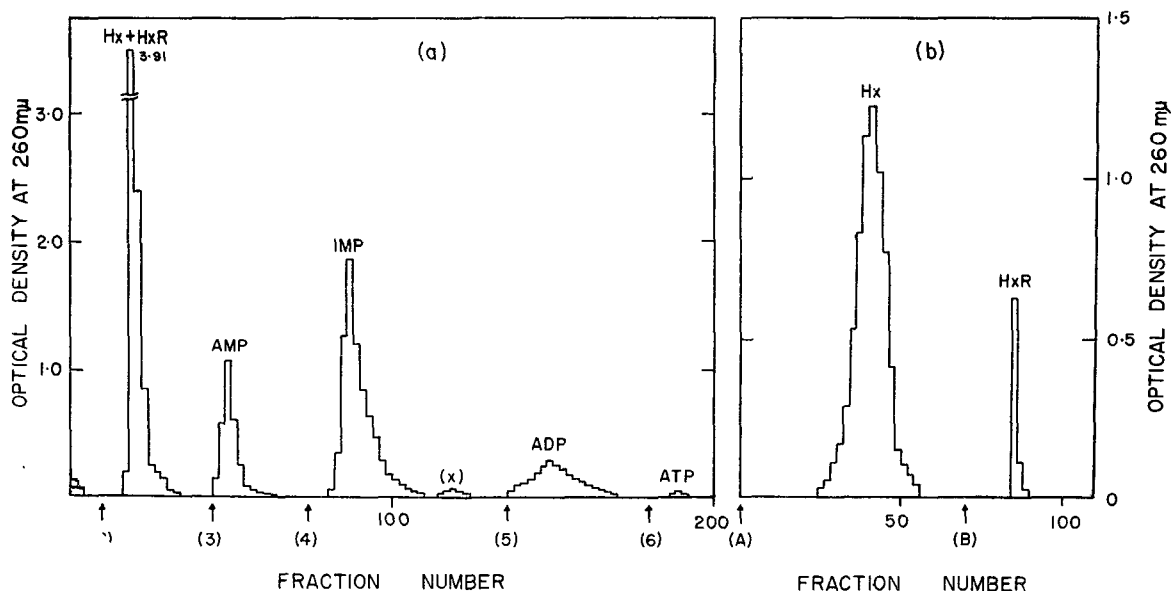


Fig.3. a. Elution diagram of acid-soluble nucleotides and their related compounds in muscle extract of boiled-and-dried anchovy (0.5g, dry basis). Experimental conditions were same as in Fig.1—a. (X): nonidentified fraction.

b. Rechromatography for separation of Hx and HxR, mixture of Hx and HxR was fractionated from muscle extract of boiled-and-dried anchovy (0.5g, dry basis). Experimental conditions were same as in Fig. 1—b.

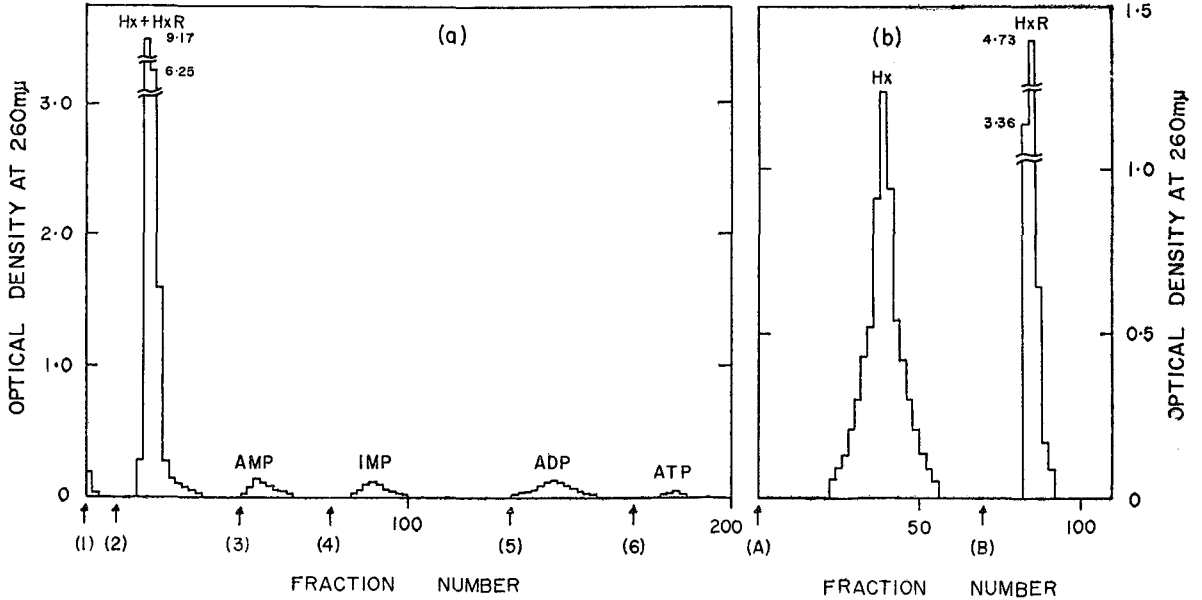


Fig. 4. a. Elution diagram of acid-soluble nucleotides and their related compounds in muscle extract of sun-dried anchovy (0.5g, dry basis).

Experimental conditions were same as in Fig. 1—a.

b. Rechromatography for separation of Hx and HxR, mixture of Hx and HxR was fractionated from muscle extract of sun-dried anchovy (0.5g, dry basis).

Experimental conditions were same as in Fig. 1—b.

各分割成分에 對한 同定試驗의 結果를 보면 各分割의 溶出位置는 極히 正確하였고, E_{250}/E_{260} 및 E_{280}/E_{260} 의 吸光比는 文獻値와 比較的 一致하였다. 生體試料에의 結果를 例示하면 Table 2와 같다. 紫外外部吸收曲線에 있어서 文獻曲線과 比較하여 多少一致하지 않는 點이 있는 것도 있었으나, 吸收極大波長 및 pH에 依한 吸收曲線의 變化모양等은 一致하였다.

Table 2. Comparison of E_{250}/E_{260} and E_{280}/E_{260} Absorbing Ratios at pH 2 of Nucleotides and Their Related Compounds Fractionated from Fresh Muscle of Anchovy

Nucleotides and related compounds	E_{250}/E_{260}	E_{280}/E_{260}	Literature value	
			E_{250}/E_{260}	E_{280}/E_{260}
Hx	1.62	0.05	1.40	0.07
HxR	1.75	0.20	1.68	0.24
AMP	0.87	0.18	0.85	0.22
IMP	1.75	0.22	1.68	0.24
ADP	0.86	0.20	0.85	0.22
ATP	0.86	0.19	0.85	0.22

Fig. 2-a과 Fig. 3-a에 있어서의 割分(X)은 그 溶出位置와 紫外外部吸收曲線等으로 미루어 보아 GMP 또는 그 關

聯物質이라고 생각되었으나 同定하지 못 하였다.

3. 마른 멸치 제조 과정중의 核酸關聯物質의 變化

各試料中の nucleotides 및 그 關聯物質의 含量을 表示하면 Table 3과 같다.

Table 3. Contents of Acid Soluble Nucleotides and Their Related Compounds in Fresh and Dried Anchovy Muscle (μ moles/g, dry basis)

Nucleotides and related compounds	Fresh anchovy*	Boiled-and-dried anchovy**	Sun-dried anchovy**
Hx	10.0	13.4	14.2
HxR	1.7	2.1	27.0
IMP	26.4	19.7	1.3
AMP	1.2	4.2	0.7
ADP	3.4	3.2	1.3
ATP	1.8	0.1	0.1
	11.7	15.5	41.2
	32.8	27.2	3.4

* Fresh anchovy was analyzed immediately after catch by set-net fishing.

** Boiled-and-dried and sun-dried anchovy were analyzed after two month storage.

ATP의 含量을 보면 煮乾 및 素乾試料에 있어서는 거의 消失되었고, 漁獲直後에 採取한 生體試料에 있어서도 1.8μ moles/g라는 대단히 낮은 값을 나타내고 있는데, 이것은 멸치가 定置網 속에서 悶死할 때까지의 疲勞도가 커서 ATP의 損失이 많은 데 起因한 結果라고 推定된다.

全體的으로 보아 3試料에 共通인 傾向이라고 할 수 있는 것은 ATP가 거의 消失된 後에도 相當量의 ADP는 殘存하고 있으며, AMP의 含量이 極히 낮은 데 比하여 IMP의 含量은 極히 높다는 事實이다. 素乾試料의 경우를 보면, ATP 및 AMP는 거의 消失되었으나 ADP는 相當量이 殘存하고 있는 것을 볼 수 있다. 이것은 齊藤等²⁷⁾ 28)이 밝히고 있는 魚類筋肉에서의 ATP의 主要分解經路인 $ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow IMP \rightarrow HxR \rightarrow Hx$ 만으로서는 說明하기 힘든 點이 있다. 即, 魚肉中の ATP의 分解過程에 있어서 ADP의 蓄積性有無에 對하여 富山等²⁹⁾이 實驗한 것을 보면 잉어肉의 食鹽水 homogenate에 ADP를 添加하였을 때 ADP는 急速히 減少하고 이에 따른 IMP의 增加를 보고 있으므로, ATP가 分解하여 ADP로 되면 이 ADP는 곧 分解하여 버린다고 볼 수 있다. 그러므로, ATP 消失後에도 長期間 殘存하는 ADP는 ATP의 分解生成物로서의 遊離 ADP가 아니고 Perry³⁰⁾가 토끼 筋肉에 對하여 報告하고 있는 것과 같은 myofibril과 結合한, 酵素에 對하여 安定한 狀態의 ADP 即 "bound nucleotide"라고 볼 수 있다. Tomlinson et al.³¹⁾도 이 "bound nucleotides"에 對하여 報告하고 있으며, 또 魚肉中の 5'-nucleotides의 定量에 있어서 5'-nucleotidase法에 依한 結果가 恒常 낮은 값을 나타내는 데 注目하여 그 酵素阻害物質을 追求한 結果, 本體가 魚肉中에 殘存하는 ADP인 것을 確認하고 있는 報告도 있다³²⁾. 이러한 點으로 보아, ADP의 長期殘留現象은 "bound nucleotides"에 屬하는 stable ADP에 起因하는 結果라고 볼 수 있다.

AMP의 含量이 낮은 것은 勿論 AMP deaminase의 活性이 強力하여 ATP分解經路에서 生成된 AMP가 곧 IMP로 分解하여 버리는 結果라고 볼 수 있으나²⁹⁾, 富山等³³⁾에 依하면 이러한 分解速度는 魚種에 따라 相當한 差異가 있어 AMP의 蓄積型도 있다고 한다. 煮乾試料에 있어서 AMP含量이 他試料에 比하여 相當히 높은 것은 煮乾處理로 인한 AMP deaminase의 不活性化에 起因한 結果가 아닌가 생각된다.

IMP의 蓄積現象은 AMP deaminase의 作用力이 強力한 데 比하여 phosphatase의 作用이 弱하여 IMP의 脫磷酸作用이 緩慢하기 때문에 일어난 結果라고 볼 수 있다^{34), 35)}. IMP의 蓄積에 있어서 煮乾試料과 素乾試料을 比較하면, 煮乾試料의 경우는 生體試料 때의 2/3以上이 殘存하는 데 比하여 素乾試料에 있어서는 거의 消失되어 煮乾試料의 1/16의 含量에 지나지 않았다. 이러한 傾向은 藤田等³⁶⁾의 報告에서도 볼 수 있는데, 이것은 煮乾試料은 生體 때 IMP가 蓄積되어 있는 狀態에서 煮熟되므로 IMP의 分解에 關與하는 酵素系는 破壞되고^{37), 38)} 또한, IMP는 熱에 對하여 높은 安定성을 가지므로 安定하게 維持되는 데 比하여 素乾品은 筋肉內의 phosphatase 또는

5'-nucleotidase의 活性에 따라 漸次分解하여 간다고 볼 수 있다.

Lee¹⁾ ⁴²⁾는 고등어의 전갱이를 凍結乾燥하였을 때는 IMP가 거의 減少하지 않지만, 天日乾燥法 또는 熱風乾燥法으로 素乾하였을 때는 乾燥初期에 IMP가 급격히 減少하고, 乾製品의 水分 30~50%에서 약 80~90% IMP가 消失하는 것을 확인하고 있다.

H_xR과 H_x의 含量에 있어서는 素乾試料가 他試料에 比하여 월등히 많아 生體試料의 3.5배, 煮乾試料의 2.7배에 相當하였고, 또한, H_xR과 H_x의 含量比率로 보아 生體試料와 煮乾試料의 경우는 H_x蓄積型을 나타 내었고, 反面 素乾試料는 H_xR蓄積型을 나타내었다. 丙山等, ^{39~42)} Spinelli⁴³⁾에 依하면 魚種에 따라 H_xR과 H_x의 生成比率가 달라 그 蓄積型을 3種類로 나눌 수 있다고 하나, 本實驗의 結果와 같이 同一試料가 處理方法에 따라 그 蓄積型이 變化한다는 것은 比較生化學的으로 興味있는 事實로서 今後 더욱 檢討되어야 할 것으로 생각된다.

總括적으로 볼 때 生體試料를 基準으로 乾燥後의 nucleotides의 殘存率을 보면 煮乾試料는 83%나 되며, 그 中の 73%가 IMP의 形態로 存在하는 데 比하여 素乾試料에 있어서는 殘存率이 겨우 10%程度에 不過하였고, 이 中の IMP의 比率는 38%에 지나지 않았다. 即, 素乾試料에 있어서는 nucleotides는 거의 消失되어 버리고 大部分이 H_x와 H_xR의 形態로 殘存하고 있고, 反面 煮乾試料에 있어서는 ATP를 除外한 nucleotides, nucleoside 및 base에 걸쳐 比較的 高르게 殘存하고 있으며, 特히, IMP의 殘存率이 높다는 것은 flavor quality의 維持面으로 보아 重要한 事實이라고 할 수 있다. 勿論 IMP의 含量이 맛과 반드시 併行한다고 할 수 없다는 報告^{44), 45)}도 있으나 IMP 그 自體의 呈味性에 對하여 이미 詳細히 究明되어 있고^{45~50)}, 또한, 魚肉에는 GMP含量이 極히 微量이며⁵¹⁾ ATP나 AMP는 分解速度가 빨라서 곧 消失되므로 實際 呈味性 nucleotides로서는 IMP만이 對象이 된다고 할 수 있다. 그러므로 마른 멸치의 flavor quality를 IMP含量만으로 判斷한다고 하면 煮乾法은 素乾法에 比하여 보다 效果的인 製造法이라고 할 수 있다.

要 約

마른 멸치 製造에 있어서 酸可溶性 核酸關聯物質의 變化와 또 製造에 따른 變化의 差異를 알기 위하여 生體試料, 煮乾試料 및 素乾試料로 나누어 分析 檢討하였다.

1. ATP는 煮乾 및 素乾試料에 있어서는 거의 消失되었고, 漁獲直後에 採取한 生體試料에 있어서도 大部分 分解되어 含量은 대단히 적었다(1.8 μ moles/g, dry basis).

2. ADP는 ATP와 AMP가 거의 消失된 後에도 相當량이 長期 殘存하였는데, 이것은 myofibril과 結合한 bound nucleotide인 것으로 推定된다.

3. AMP는 全般的으로 微量 檢出되는데 지나지 않았으나 煮乾試料가 他試料에 比하여 比較的 含量이 높았다.

4. IMP는 煮乾試料에 있어서 그 蓄積性이 顯著하게 認定되었으나 素乾試料에 있어서는 거의 分解되어 煮乾試料의 1/16의 含量에 지나지 않았다.

5. H_xR과 H_x는 素乾試料에 있어서는 含量이 월등히 많아 生體試料의 3.5배, 煮乾試料의 2.7배였고, H_xR과 H_x의 含量比에 있어서는 生體試料와 煮乾試料는 H_x蓄積型이었는데 比하여 素乾試料는 反對로 H_xR蓄積型을 나타내었다.

6. 生體試料를 基準으로 乾燥後의 nucleotides의 殘存率은 煮乾試料는 83%이고 그 中の IMP의 比率가 73%인 데 比하여 素乾試料는 殘存率이 겨우 10%에 不過하였으며, 이 中の IMP比率는 38%에 지나지 않았다. 即, 煮乾試料에 있어서는 ATP를 除外한 nucleotides, nucleoside 및 base가 比較的 高르게 殘存하는 데 比하여 素乾試料에 있어서는 nucleotides는 거의 消失되고 大部分이 nucleoside와 base의 形態로 殘存하였다.

7. 마른 멸치의 flavor quality를 IMP含量만으로 判斷한다면 煮乾法은 素乾法에 比하여 보다 效果的인 製造法이라고 할 수 있다.

參 考 文 獻

- 1) Lee, E. H. (1968): A study on taste compounds in certain dehydrated sea foods. Bull. Pusan Fish. Coll. 8, 63-86.

- 2) 李啓瑚(1969) : 젓갈等屬의 呈味成分에 關한 微生物學的 및 酵素學的 研究. 韓農化誌 11, 1—27.
- 3) 李春寧, 李啓瑚, 金榮洙, 韓仁子, 金尙淳(1969) : 멸치젓의 呈味性 5'-mononucleotides에 關한 研究. 韓食料誌 1, 66—73.
- 4) Spinelli, J., M. Eklund and D. Miyauchi (1964): Measurement of hypoxanthine in fish as a method of assessing freshness. *J. Food Sci.* 29, 710—714.
- 5) 江平重男, 姉川昌彦(1966) : ヒラメ, カツオの水藏中におけるヌクレオチドの消長と鮮度との關係について. 日水會誌 32, 716—722.
- 6) 藤田孝夫, 橋本芳郎, 森高次郎(1959) : 食品のイノシン酸含量—I. 定量法の検討. 日水會誌 25, 147—152.
- 7) 中島宣郎, 市川恒平, 鎌田政喜, 藤田榮一郎(1961) : 5'-リボヌクレオチドの食品化學的研究(第2報). 食品中の 5'-リボヌクレオチドについて(その 2). 魚貝肉および食肉中の 5'-リボヌクレオチド. 日農化誌 35, 803—808.
- 8) 藤井豊, 内山均, 江平重男, 野口榮三郎(1966) : 水藏中のヒラメ筋肉ヌクレオチド關聯物質の消長と鮮度との關係. 日水會誌 32, 410—416.
- 9) 中尾 眞(1958) : 代謝物質の微量分析—2, リン酸化合物の定量法—4. 蛋白質 核酸 酵素 3, 203—207.
- 10) 小泉千秋(1962) : かつお節のシラタに關する研究—V. シラタのだしの呈味成分について(その 2). 日水會誌 28, 431—434.
- 11) 藤田孝夫, 橋本芳郎(1959) : 食品のイノシン酸含量—II. かつお節. 日水會誌 25, 312—315.
- 12) 田中兼太郎(1964) : リボ核酸の微量成分の分析. 蛋白質 核酸 酵素 9, 283—286.
- 13) Bergkvist, R and A. Deutsch(1954): Ion exchange chromatography of nucleoside polyphosphates. *Acta Chem. Scand.* 8, 1877—1879.
- 14) 中島宣郎, 市川恒平, 鎌田政喜, 藤田榮一郎(1961) : 5'-リボヌクレオチドの食品化學的研究(第1報). 食品中の 5'-リボヌクレオチドについて(その 1). イオン交換クロマトグラフィーによる 煮出し汁中の 5'-リボヌクレオチドの定量. 日農化誌 35, 797—803.
- 15) 新井健一, 齊藤恒行(1963) : アデニン, ヒポキサン, アデノシンおよびイノシンのイオン交換クロマトグラフィーによる定量法について. 日水會誌 29, 168—173.
- 16) 關 伸夫, 金谷俊夫, 齊藤恒行(1969) : 水産動物臟器の有機燐酸化合物に關する研究—VI. プリン, ペリミジンおよびヌクレオシドの分離定量法について. 日水會誌 35, 690—694.
- 17) Volkin, E. and W. E. Cohn (1954) : *Methods of biochemical analysis* Vol. 1 (Glick, D. ed.) pp. 287, Interscience Publishers.
- 18) Cohn, W. E. (1957) : *Methods in enzymology* Vol. III (Colowick, S. P. and N. O. Kaplan eds.) pp. 724, Academic Press.
- 19) Bergkvist, R. (1956): The acid soluble nucleotides of wheat plants. *Acta. Chem. Scand.* 10, 1303—1316.
- 20) 鈴木 旺(1963) : 酸可溶性ヌクレオチドの化學, 生化學 35, 737—752.
- 21) 大山重信, 小林邦男, 富山哲夫(1968) : 藻類の燐代謝に關する研究—I. アサクサノリのヌクレオチドについて. 日水會誌 34, 59—64.
- 22) 林 征一, 齊藤恒行(1968) : 魚皮の生化學的研究—I. 直皮の酸可溶性核酸成分. 日水會誌 34, 816—825.
- 23) Chargaff, E. and J. N. Davidson (1955) : *The nucleic acid* Vol. 1. pp. 243—265, pp. 493—553, Academic Press.
- 24) Markham, R. (1955) : Nucleic acids, their components and related compounds, in "Modern method of plant analysis" pp. 246—304, Springer-Verlag.
- 25) 新井健一, 齊藤恒行(1962) : 水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に關する研究. 第13報 魚類筋肉中の尿酸及び Nicotinamide adenine dinucleotideについて. 北大水産彙報 13, 193—199.
- 26) Buchanan, J. G., C. A. Dekker and A. G. Long (1950): The detection of glycosides and non-reducing

- carbohydrate derivatives in paper partition chromatography. J. Chem. Soc. 4, 3162—3167.
- 27) 齊藤恒行, 新井健一(1957): 水産動物筋肉中の有機磷酸化合物に関する研究—Ⅲ. コイ筋肉中の Adenosine polyphosphate に及ぼす貯藏温度の影響. 日本會誌 22, 569—573.
 - 28) 齊藤恒行, 新井健一(1957): 水産動物筋肉中の有機磷酸化合物に関する研究—Ⅳ. コイ筋肉中の核酸系化合物の凍結貯藏中における變化に就いて. 日本會誌 23, 265—268.
 - 29) 富山哲夫, 小林邦男, 北原慶子, 白石悦子, 大庭信良(1966): 低温貯藏中におけるコイ肉ヌクレオチドの變化と鮮度について. 日本會誌 32, 262—266.
 - 30) Perry, S. V. (1952): The bound nucleotides of the isolated myofibril. Biochem. J. 51, 495—499.
 - 31) Tomlinson, N. and S. E. Geiger. (1963): The bound nucleotides of freshly frozen and severely denatured frozen lingcod muscle. J. Fish. Res. Board. Canada 20, 187—194.
 - 32) 小林邦男(1966): 魚肉のヌクレオチド. 日本會誌 32, 166—170.
 - 33) 富山哲夫, 小林邦男, 北原慶子, 小橋昌裕(1966): 低温貯藏中のベラの筋肉におけるヌクレオチドの變化について. 日本會誌 32, 600—604.
 - 34) 齊藤恒行(1961): 水産動物筋肉におけるATPならびに關聯化合物. 日本會誌, 27, 461—470.
 - 35) Kemp, B. and J. Spinelli (1969): Comparative rates of IMP degradation in unfrozen and frozen-and thawed (slacked) fish. J. Food Sci. 34, 132—135.
 - 36) 藤田孝夫, 橋本芳郎(1960): 食品のイノシン酸含量—Ⅲ. 各種水産食品. 日本會誌 26, 907—910.
 - 37) 戸田 準, 中谷弘實, 石井清文, 藤田榮一郎(1965): 食品中のフォスファターゼに関する研究(第2報). 魚肉中のフォスファターゼに関する研究. 栄養と食糧 18, 63—67.
 - 38) 戸田 準, 澤田幸七, 中谷弘實, 和田正三, 藤田榮一郎(1965): 食品中のフォスファターゼに関する研究(第3報). 水産無脊椎動物のフォスファターゼの性質. 栄養と食糧 18, 210—213.
 - 39) 内山 均, 江平重男(1968): 低温流通機構に関する総合研究 Ⅲ. pp. 3—46, 日本科學技術廳研究調整局編.
 - 40) 江平重男, 内山 均(1969): 魚類鮮度簡易判定法としてのイノシン, ヒポキサンチンの迅速定量法. 日本會誌 35, 1080—1085.
 - 41) 江平重男, 内山 均(1969): 魚類筋肉におけるイノシン, ヒポキサンチンの蓄積性について—Ⅱ. 1969年度日本水産學會大會要旨.
 - 42) 内山 均, 江平重男(1970): 核酸關連化合物からみた魚類鮮度化學研究の現状. 日本會誌 36, 977—992.
 - 43) Spinelli, J. (1967): Degradation of nucleotides in ice-stored halibut. J. Food Sci. 32, 38—41.
 - 44) 菊池武昭, 岩澤進吾, 岡田郁之助(1965): 魚肉エキスの研究(第1報)魚肉エキスと鯨肉エキスの比較. 栄養と食糧 18, 176—179.
 - 45) 大石圭一, 田村祐子, 村田喜一(1959): カツオブシの品質—Ⅲ. 品質とイノシン酸および類似物質. 日本會誌 25, 644—645.
 - 46) 國中 明(1960): 核酸關聯化合物の呈味作用に関する研究. 日農化誌 34, 489—492.
 - 47) 鴻巢章二, 前田安彦, 藤田孝夫(1960): かつお節だし中のイノシン酸および遊離アミノ酸の呈味効果について. 日本會誌 26, 45—48.
 - 48) Hashimoto, Y. (1964): Taste giving substances in marine products. FAO symposium on the significance of fundamental research in the utilization of fish. Paper No.WP/II/6.
 - 49) Yamaguchi, S. (1967): The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. J. Food Sci., 32, 473—478.
 - 50) Shimazono, H. (1964): Distribution of 5'-ribonucleotides in foods and their application to foods. Food Technol. 18, 294—297.
 - 51) Jones, N. R. and J. Murray (1960): The acid-soluble nucleotides of codling (*Gadus callarias*) muscle. Biochem. J. 77, 567—571.
 - 52) 李 應昊・野中順三九(1967): 水産乾燥食品の食味に関する研究—Ⅱ. 乾燥に伴う呈味成分の變化について, 日本水産學會年會講演要旨, p.98.