

食品中の核酸成分に関する研究* — VI

水産食品の加工に伴う核酸成分の消長

毛利 威 徳 ・ 橋 田 度 ・ 志 賀 岩 雄

STUDIES ON NUCLEIC ACID RELATED SUBSTANCES IN FOODSTUFFS—VI CHANGES OF NUCLEIC ACID RELATED SUBSTANCES DURING PROCESSING OF SEA FOODS

Takenori Mouri, Wataru Hashida, and Iwao Shiga

In a previous report (Journal of Fermentation Technology, 43, 35, 1965), it was noted that the level of 5'-nucleotides extracted from some sea foods with boiling water was higher than that extracted with cold perchloric acid. Related to this observation, some factors involved in boiling extraction were investigated.

Fractions of nucleoside polyphosphate in perchloric acid extracts of Asari (*Venerupis semidecussata*) and Kurumaebi (*Penaeus japonicus*) were separated by means of a large scale column of Dowex 1×8. These fractions were identified as ADP and ATP.

The extraction of 5'-nucleotide of Asari or Kurumaebi was most effective at 50-70°C, and was highest after 5 minutes extraction. The increase of 5'-AMP in a boiling extract of sea foods was accompanied with a decrease of ATP and ADP. The increase of 5'-AMP may be attributed to an enzymatic breakdown of ATP and ADP. Decomposition of RNA was relatively small in sea-foods under experimental conditions. The formation of 5'-nucleotide of Asari was examined after autolysis in buffers of various pH at 37°C. As a result, especially at the range of pH 6.0-8.0, 5'-nucleotide was accumulated but 3'-nucleotide was found only in trace amounts.

* 本研究は大阪大学工学部醱酵工学教室教授寺本四郎先生との協同研究である。ご懇切な御助言、御協力を賜ったことに深謝いたします。

醱酵工学43巻12号 P. 409 (1965) 所載

脚注：本報においてはつぎの略号を使用する。

5'-AMP: adenosine-5'-monophosphate(5'-adenylic acid)

5'-CMP: cytidine-5'-monophosphate(5'-cytidylic acid)

5'-UMP: uridine-5'-monophosphate(5'-uridylic acid)

5'-IMP: inosine-5'-monophosphate(5'-inosinic acid)

5'-GMP: guanosine-5'-monophosphate(5'-guanylic acid)

RNA: ribonucleic acid

RNase: ribonuclease

DNA: deoxyribonucleic acid

DNase: deoxyribonuclease

ADP: adenosine diphosphate

PDase: phosphoesterase

ATP: adenosine triphosphate

PMase: phosphomonoesterase

緒 言

前報¹⁾においてきのこ類、農産食品の缶詰工程、ことに加熱処理に際し5'-ヌクレオチド類の消長が認められること、ことにシイタケ、マッシュルームなどについて加熱処理における5'-ヌクレオチドの蓄積がヌクレオシドポリリン酸からの分解、または高分子核酸からの分解によることを明らかにした。あさりなどの缶詰工程において予備蒸煮および殺菌工程で固型物中の5'-AMPなどの含量が変化し、ある場合にはむしろ増加することが認められた。

本報においては缶詰原料として主要な水産食品、えび、あさりなどを対象として加工工程中の遊離の塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、ヌクレオシドポリリン酸および高分子核酸の相対的な消長を検討した。さらにこの変化が酵素反応によるのではないかとの観点から抽出粗酵素液についてヌクレオチダーゼ、RNase、PDase、PMase活性について検討したので報告する。

実 験 の 部

I. 実 験 方 法

(1) 供試標準物質は前報¹⁾に準ずる。

(2) 試料調製法 供試あさり (*Venerupis, semidecusate*) とくるまえび (*Penaeus, japonicus*) は市販品。いずれも可食部をできるだけ均一に取り、水2倍量を加えホモジナイズした後に種々の条件で処理し、冷却し、5~10%の過塩素酸溶液で反応停止と抽出を兼ねて処理し、5N-KOHで中和し活性炭処理した後、アルコール含有アンモニア溶液にて溶出濃縮し試料とした。

(3) 分析方法 総5'-あるいは3'-ヌクレオチド量は中島ら²⁾の酵素法によった。個々のヌクレオチドはDowex 1×8を用うるカラムクロマトグラフィーで定量した。Schmidt-Thannhauser法³⁾によって全燐、酸可溶性燐、RNA燐を分画定量した。その中でRNA画分については1N-KOHで37°C、18~20時間分解してモノヌクレオチドとして構成塩基組成を調べた。また、自己分解酵素系におけるpHの影響を調べるために酢酸緩衝液とトリスアミノメタン緩衝液を使用した。自己消化はpH4.0あるいはpH8.0において50°Cで4時間保温した後、反応液は活性炭処理後カラムクロマトグラフィーで定量した。

(4) 酵素活性の測定 粗酵素液は2倍量の水を加え、氷で冷却しながらホモジナイズした後1200rpmで冷却遠心し、その上澄液を使用した。測定法は戸田ら⁶⁾の方法によった。

II. 実 験 結 果

(1) くるまえび、あさり各画分の同定 くるまえび、あさりの抽出液の塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド類は前報¹⁾にて報告したので、ここではヌクレオシドポリリン酸の画分について同定した。まず、くるまえび200gを冷却時、過塩素酸抽出を行ない5N-KOHにて中和後、冷時遠心分離し上澄液を集め前報¹⁾どおり大型カラム(2×30cm)を通過させた。そのクロマトグラムはFig. 1のごとくである。

画分が3個(G, H, I)得られた。画分H, Iの紫外外部吸収曲線と燐酸、塩基、リボースのモル

ーパークロマトグラフィーよりヌクレオチダーゼ処理ではアデノシン，HCl分解ではアデニンになり，このことよりHはADP，IはATPであることを認めた。

(2) くるまえばい，あさりの煮出しにおける加熱温度の影響 まず種々の条件下で煮出した場合の総5'-ヌクレオチド量の変化を調べた。煮出し法はそれぞれの温度に約60mlの水を暖めた中にホモジナイズして均一にした試料を10g入れ5分間保温抽出し，その煮出し液を冷時5%過塩素酸溶液で処理し洗液ともに100mlとした。対照としてホモジナイズした試料を冷時過塩素酸で抽出したものを取った。その結果，くるまえばいはTable 2，あさりはTable 3のごとくである。

くるまえばい，あさりとともに50°C~70°Cで5'-ヌクレオチド量が多く，100°C抽出および冷時過塩素酸抽出の場合よりも多かった。くるまえばいでは60°Cで減少しているが，フォスファターゼの作用ではないかと思われる。また，3'-ヌクレオチドはほとんど認められなかった。つぎにその抽出時間について検討した。

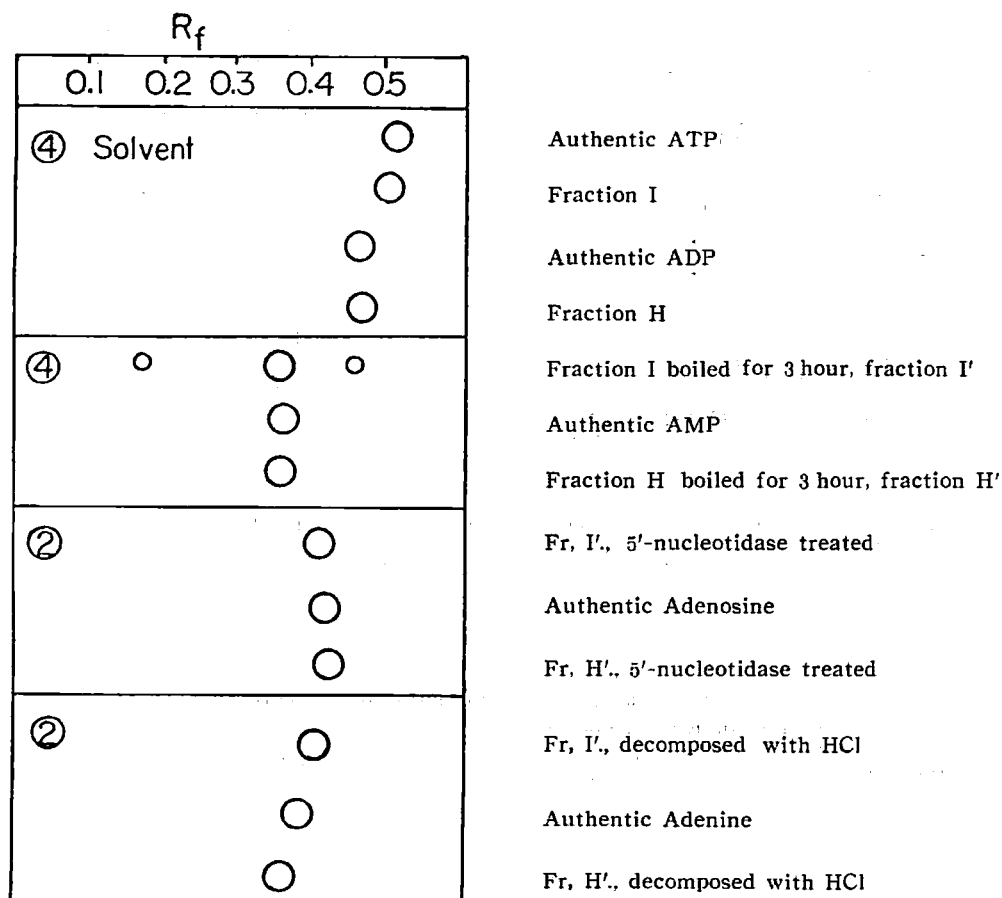


Fig. 3 Identification of Kurumaebi fraction I and H by paper chromatography.

Solvent 2; n-propanol; conc. ammonia water.

Solvent 4; saturated ammonium sulfate; 1M sodium-acetate; isopropanol.

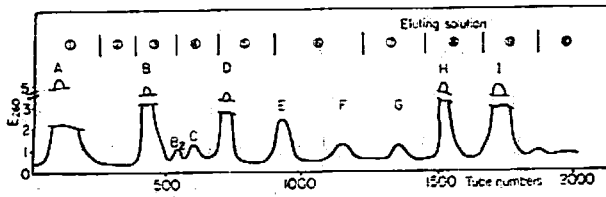


Fig. 1 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw Kurumaebi. (*Penaeus japonicus*) (a large scale column)

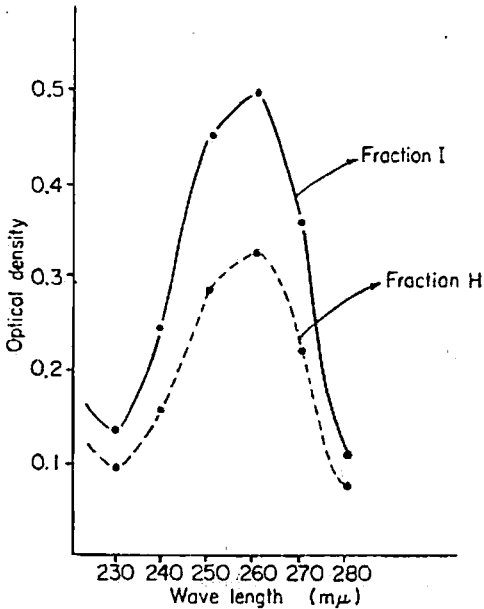


Fig. 2 Absorption curves of Kurumaebi fraction H and I.

Table 1. Molar ratio of ribose and phosphate to base in Kurumaebi fraction H and I.

Fraction	Base	Ribose	Phosphate
H	1.00	0.92	1.89
I	1.00	0.85	2.85

Table 2. Effect of temperature on the formation of nucleotides in boiled extract of Kurumaebi. (*Penaeus japonicus*)

Boiling condition	UV ₂₆₀ /100mg dry wt.	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
30°C, 5min	170	25.44	trace
50°C "	178	36.25	"
60°C "	155	23.29	"
70°C "	155	29.43	"
80°C "	155	28.92	"
100°C "	170	20.79	"
Cold perchloric-acid extraction	94	14.03	"

比は Fig. 2 と Table 1 のごとくで 260 m μ 付近に最大吸収を示し核酸成分と考えられる。

ペーパークロマトグラフィーの結果は Fig. 3 のごとくである。

画分 H, I は溶媒〔2, 3, 4〕

(前報参照) いずれによってもそれぞれ ADP ATP と一致することおよび 100°C, 3 時間分解することによって 5'-AMP に一致すること, また分解された画分は 5'-ヌクレオチダーゼを作用させるとさらに分解されてそれぞれアデノシンを生成すること, あるいは 1N-HCl で分解することによってアデニンが生成されることから H は ADP, I は ATP であることが認められた。

あさりについてもくるまえばと同様に同定した。そのクロマトグラムは Fig. 4 のごとくである。

画分が 4 個 (G, H, I, J) 得られた。紫外部吸収曲線では 260 m μ にピークを持ち, また H は塩基, リボース, 燐酸のモル比は 1 : 1 : 2 であり, I は 1 : 1 : 3 であった。また, ペ

Table 3. Effect of temperature on the formation of nucleotides in boiled extract of Asari. (*Venerupis semidecusata*)

Boiling condition	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
30°C, 5min	11.64	0
50°C "	11.64	0
60°C "	11.98	trace
70°C "	13.94	"
80°C "	7.37	"
100°C "	9.84	"
Cold perchloric-acid extraction	5.37	"

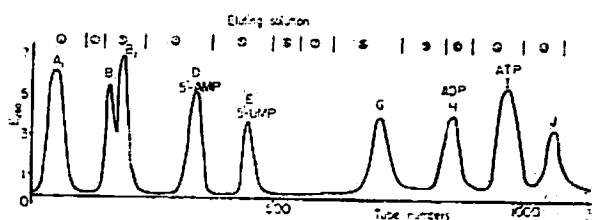


Fig. 4 Chromatogram of perchloric acid-extract of raw Asari. (*Venerupis semidecusata*) (a large scale column)

Solution; 11 { 2N-HCOOH
2N-HCOONa
12 2N-HCl

(3) くるまえび, あさりの煮出しにおける経過時間に伴う変化 試料の煮出しは 50°C で行ない, 時間を 1分~60分まで変化させた. 抽出液の処理法は煮出し温度の影響の試験と同様に行なった. その結果はくるまえびでは Table 4, あさりでは Table 5 のごとくである.

50°C ではくるまえび, あさりともに 5分間が5'-ヌクレオチド量が多く, それ以上時間を長くすると減少する傾向にあること, また前項の実験で50°C~70°Cに最高値があるということから単なる物理的な抽出現象の他に酵素反応も存在するのではないかと考えられる. そのモノヌクレオチドの多い原因が何に由来するものが興味深いと思われる.

Table 4. Effect of incubation time on the formation of nucleotides in boiled extract of Kurumaebi. (*Penaeus japonicus*)

Boiling condition	UV ₂₆₀ /100mg dry wt.	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
60°C, 1 min	94	17.44	0
" 5 "	142	23.23	0
" 20 "	110	16.13	0
" 60 "	96	16.25	0

(4) あさりの缶詰工程における 5'-ヌクレオチドの消長 あさりの缶詰製造工程は Fig. 5 のごとくで常法どおりに従った.

原料ブランチング後の固型物, 加圧殺菌後の固型物と液汁についてそれぞれ 5'-ヌクレオチド量を測定した結果は Table 6 のごとくである.

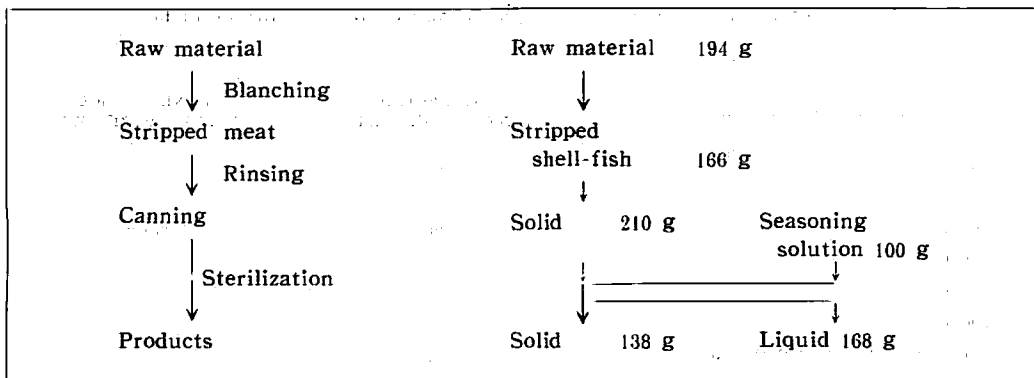


Fig. 5 Outline of Asari (*Venerupis semidecusata*) canning process.

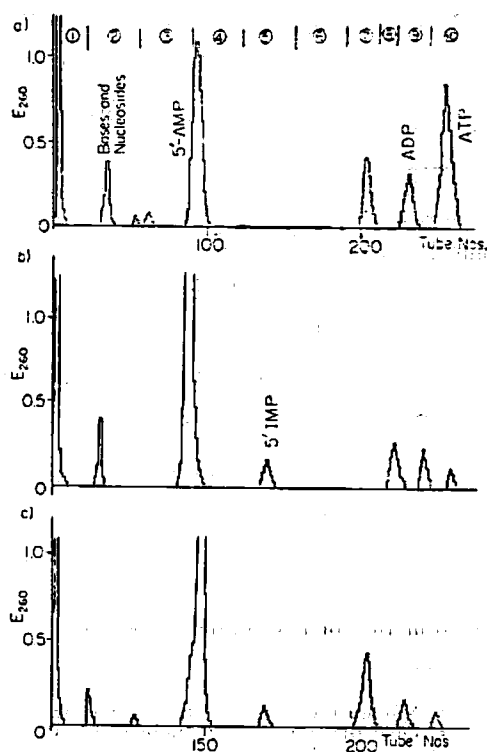


Fig. 6 Chromatogram of perchloric acid extract of Kurumaebi.

- a) Raw Kurumaebi
- b) Boiled Kurumaebi
- c) Boiled extract of kurumaebi

び、あさりについて原料をそのまま試料とするとともに、それを水から煮出して80°Cで5分間煮出しを行ない液汁と固型物とに分けて試料にした。それぞれについてカラムクロマトグラフィーでヌクレオチド組成を調べた結果は Fig. 6, Fig. 7 のごとくである。

これらはいずれも過塩素酸抽出したものであるが、g 当たり μmole で比較しブランチングして脱殻後のものが原料の約2倍～3倍に達することが認められた。これは高分子核酸または、ATP、ADPなどのポリホスフェートの分解に基づくのではないかと考えられる。蒸煮洗滌後の固型物中にはむきみの1/4量の5'-ヌクレオチドが見出された。なお、1缶当たりで総5'-ヌクレオチド量を比較すると殺菌前の固型物中の5'-ヌクレオチドは殺菌後の固型物 + 液汁中の5'-ヌクレオチドにおのおの等しいが、これには殺菌時の煮熟による高分子核酸またはポリホスフェートよりの分解と缶詰殺菌に伴う5'-ヌクレオチドの破壊とが相伴ってこのような結果になったものと思われる。

(5) くるまび、あさりの煮出しに伴う個々のヌクレオチド組成の変化 上述のごとく煮出しましたは缶詰製造における5'-ヌクレオチド量の変化、多くの場合、増加という現象はきわめて興味深いものであるが、その原因についてここではヌクレオチドポリホスフェートよりの生成という点に焦点を絞って検討した。くるま

た. このようにポリホスフェートよりの分解と 5'-AMP の生成蓄積が主体であると思われる.

(6) くるまえば, あさりの煮出しに伴う核酸成分の変化 くるまえば, あさりを煮出す時に 5'-ヌクレオチド類が増加することはすでに認められているが, 磷酸画分として全磷, 酸可溶性磷, RNA 磷が煮出しの前後においていかなる消長を示すかを調べた.

くるまえば, あさりを水から加温し 100°C で 3 分間煮出す条件で 煮出し前後の固型物と液汁について分析した. その結果は, くるまえばについては Table 9, あさりについては Table 10 のごとくである.

くるまえば, あさり, いずれも煮出しによる変化は少ないが, 煮出しによって固型物中の全磷, 酸可溶性磷, RNA 磷が減少し液汁中の全磷として回収されている. このように RNA の減少は少なく, あまり分解はなかった. 煮出しの前後における RNA 区分についての構成塩基の組成などを調べた.

(7) あさりの煮出しに伴う RNA 核酸塩基組成の変化 あさりより 過塩素酸可溶性画分および脂溶性成分を除き, RNA 画分をアルカリで分解したものを対照とし, 水から温めて 100°C で 5 分間煮出した後, 同様の処理を行なった試料とを比較しながらカラムクロマトグラフィーを行

Table 8. Change of individual nucleotides in boiling of Asari.

Sample		Frac. A	Frac. B	Frac. C	5'-AMP	5'-UMP	Frac. F	ADP	ATP
Raw flesh of Asari	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	9.72	5.71	2.53	8.79	1.90	7.13	2.21	4.81
	μ mole /g dry wt. of material				2.34	0.73		0.58	1.24
Boiled flesh of Asari	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	11.67	3.58	0.57	12.20	8.45	1.36	0.88	0.27
	μ mole /g dry wt. of material				3.66	0.36		0.26	0.05
Boiled extract of Asari	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	10.68	7.33	2.01	11.4	2.44		0.89	0.21
	μ mole /g dry wt. of material				2.38	0.68		0.28	0.04

Distribution of UV₂₆₀ (%): % of absorbancy at 260m μ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

Frac. A and B: mixture of bases and nucleosides.

Table 9. Content of phosphorus in some fractions of raw and boiled Kurumaebi. (*Penaeus japonicus*)

Boiling condition		Phosphorus μ mole/g dry wt. of material		
		Total phosphorus	Acid-soluble fraction	RNA fraction
100°C, 3 min	Before boiling, in solid	430.1	250.2	31.8
	After boiling, in solid	282.6	177.6	26.4
	After boiling, in liquid	124.8		

Table 5. Effect of incubation time on the formation of nucleotides in boiled extract of Asari. (*Venerupis semidecusata*)

Boiling condition	UV ₂₆₀ /100mg dry wt.	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
60°C, 1 min	97.5	9.76	0
" 5 "	115	8.17	0
" 20 "	138	8.54	0
" 60 "	175	5.31	trace

個々の含量を計算すると Table 7, Table 8 のごとくである。

これよりくるまえび, あさりの煮出しにおける5'-ヌクレオチドの増加は5'-AMPの増加が主体をなしていること, それと同時にATP, ADPが煮出しに伴って減少すること, 塩基, ヌクレオシド区分もいくらか増加することが認められた。ADP, ATPの減少に伴って5'-AMPの形で蓄積されるのではないかと考えられる。くるまえびの場合, 5'-IMPが蓄積することがわかっ

Table 6. Changes of the total 5'-nucleotides in canning processes of Asari.

	Sample applied g	5'-Nucleotide μ mol/g	Content per can g	Total 5'-nucleotide μ mol/can
Raw material	5.0	0.40	194	78
Stripped shellfish (after blanching)	4.29	1.48	166	246
Solid, after (boiling and washing)	5.41	0.45	210	95
Solid, after canning	3.56	0.74	138	102
Liquid, after canning	4.33	0.74	168	124

Table 7. Change of individual nucleotides in boiling of Kurumaebi.

Sample		Frac. A	Frac. B	Frac. C	5'-AMP	5'-IMP	Frac. F	ADP	ATP
Raw flesh of Kurumaebi	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	9.18	2.18	0.89	11.73	0.33	6.14	3.47	7.93
	μ mole /g dry wt. of material				8.47			2.50	5.70
Boiled flesh of Kurumaebi	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	19.72	2.25	0.21	27.40	8.99	trace	trace	trace
	μ mole /g dry wt. of material				11.45				
Boiled extract of Kurumaebi	Distribution of UV ₂₆₀ (%)	21.25	2.73		20.10	6.26	trace	trace	4.28
	μ mole /g dry wt. of material				3.61				0.77

Distribution of UV₂₆₀(%): % of absorbancy at 260m μ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

Frac. A and B: mixture of bases and nucleosides.

なった。そのクロマトグラムは Fig. 8 のごとくである。

あさりの RNA のアルカリ分解によって4種のモノヌクレオチドが生成され、いずれも3'-または2'-ヌクレオチドと考えられる。あさり、くるまえびにおいては煮出しによる RNA の分解

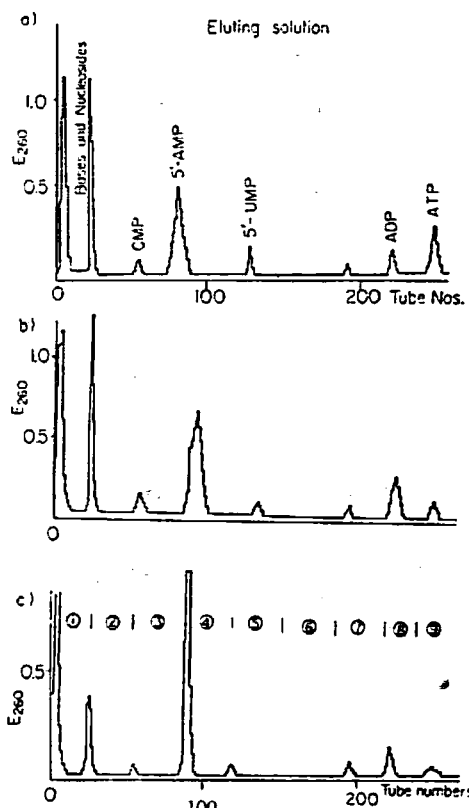


Fig. 7 Chromatogram of perchloric acid extract of Asari.

- a) Raw Asari
- b) Boiled Asari
- c) Boiled extract of Asari

の総量は少なかった。したがって、アルカリ分解によってその構成塩基を調べても煮出し前後の差異は少ない。RNA 画分の構成塩基組成を示すと Table 11 のごとくである。

AMPのモル数を1として、CMP、UMP、GMPのモル比率を示している。これらのRNAの構成比率は一般生物におけるものと比較して特異なものではない。煮出しの前後における塩基比率がおのおの同様のことから煮出しにお

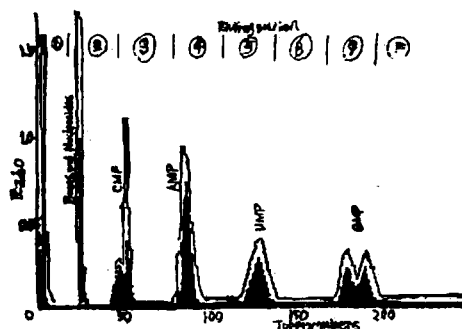


Fig. 8 Chromatogram of alkaline digest of Asari RNA after perchloric acid extraction.

- Raw Asari.
- Boiled Asari.

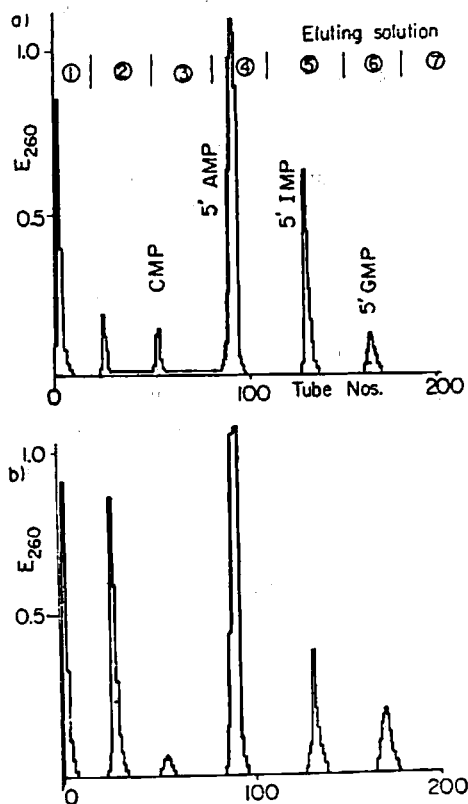


Fig. 9 Chromatogram of autolysates of Kurumaebi homogenate.

- a) pH 4.0
- b) pH 8.0

いては一樣均一な組成を持った RNA がおのおの同様な塩基比率で分解されるものと考えられる。このように煮出し条件での自己 RNA の分解はあまり考えられないが、煮出し条件以外の pH においては核酸酵素系の活動も考慮せねばならない。そこでまず核酸の自己分解における pH の影響について調べた。

(8) 核酸の自己分解における pH の影響 くるまえび、あさりをホモジナイズし 50°C で pH 3.0~10.0 の範囲の緩衝液で保温し、抽出液の紫外部吸収および蓄積された 5'-あるいは 3'-ヌクレオチド量を測定した。結果はつきのごとくである (Table 12, Table 13)。

くるまえび、あさりともに 5'-ヌクレオチドでは pH 6.0~8.0 の範囲にピークがあり、3'-ヌクレオチドはほとんど見出せなかった。つぎに pH 4.0 および pH 8.0 における自己分解液の塩基、ヌクレオチド、ヌクレオチド組成をカラムクロマトグラフィーで調べた結果は Fig. 9, Fig. 10 のごとくである。いずれも pH 4.0 と pH 8.0 を並べて示してあるが、試料採集量が互いに異なるので、量的比較はこのままではできない。その含量は Table 14 のごとくである。

くるまえびでは pH 4.0 においても 5'-ヌクレオチドは蓄積しているが、pH 8.0 のほうがその

Table 10. Content of phosphorus in some fractions of raw and boiled Asari. (*Venerupis semidecusata*)

Boiling condition		Phosphorus μ mole/g dry wt. of material		
		Total phosphorus	Acid-soluble fraction	RNA fraction
100°C, 3 min	Before boiling, in solid	450.6	126.6	72.2
	After boiling, in solid	311.1	81.3	62.1
	After boiling, in liquid	131.7		

Table 11. Molar ratio of alkaline digest of Asari RNA.

Sample		CMP	AMP	UMP	GMP
Raw Asari	μ mole/g dry wt.	18.70	20.48	12.67	16.61
	Molar ratio	0.91	1.00	0.61	0.81
Boiled Asari	μ mole/g dry wt.	13.01	14.94	11.61	12.25
	Molar ratio	0.87	1.00	0.77	0.81

Table 12. Formation of nucleotides in the autolysates of Kurumaebi at various pH.

Buffer solution	pH		UV ₂₆₀ /100mg dry wt.	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
	Initial	Final			
Acetate	4.0	4.0	81	10.00	0
	5.0	5.1	64	11.10	0
	6.0	6.2	87	13.53	0
Tris-amino methane	7.0	6.9	85	12.77	0
	8.0	8.2	100	13.29	0
	9.0	9.3		6.35	0

量は多かった。とくに5'-IMP の存在を認めた。

あさりでは pH 4.0 では塩基、ヌクレオシドが主体でほとんど5'-ヌクレオチドは認められなかった。pH 8.0 では5'-ヌクレオチドは pH 4.0 に比べて多かった。

(9) 粗酵素液による5'-AMPの分解 粗酵素液が5'-AMP を分解する活性があるか否かを調べた。

くるまえばい、あさりをホモジナイズし、水で透析した粗酵素液を authentic の5'-AMPに作用させ、その分解を調べたのが Fig. 11, Fig. 12 である。

あさり、くるまえばいともに pH 5.0~6.0 と pH 8.0 に活性のピークを持つことがわかった。

Table 13. Formation of nucleotides in the autolysates of Asari at various pH.

Buffer solution	Initial pH	Final	UV ₂₆₀ /100mg dry wt.	5'-Nucleotide μ mole/g dry wt.	3'-Nucleotide μ mole/g dry wt.
Acetate	3.0	3.4	52	3.77	0
	4.0	4.2	43	4.76	0
	5.0	5.0	56	7.80	trace
	6.0	6.1	77	10.58	"
Tris-amino methane	7.0	7.0	97	11.50	trace
	8.0	7.8	106	11.42	"
	9.0	9.1	114	7.35	"
	10.0	9.8	119	5.97	"

Table 14. Contents of nucleotides and lerated substance in the autolysates of Asari and Kurumaebi homogenate at pH 4.0 or 8.0

Sample		Fraction B	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-IMP	5'-GMP
Asari, at pH 4.0	Distribution of UV ₂₆₀ (%) μ mole/g dry wt.	13.26	0.86	0.97	trace	trace	2.04
			0.41	0.40			0.68
Asari, at pH 8.0	Distribution of UV ₂₆₀ (%) μ mole/g dry wt.	22.81	1.62	trace	6.61	4.65	2.25
			0.40		1.43	1.60	0.22
Kurumaebi, at pH 4.0	Distribution of UV ₂₆₀ (%) μ mole/g dry wt.	1.67	1.33	25.75	trace	1.85	trace
			0.50	5.00		0.79	
Kurumaebi, at pH 8.0	Distribution of UV ₂₆₀ (%) μ mole/g dry wt.	5.63	trace	54.75	trace	3.59	trace
				14.88		2.15	

Distribution of UV₂₆₀(%): % of absorbancy at 260m μ of each fraction to a total absorbancy of the sample which was applied on column.

Frac. B: mixture of bases and nucleosides.

考 察

斎藤⁴⁾、小俣⁵⁾らは数種の水産食品においてADPおよびATPを見出しているが、私達はくるまえび、あさりにおいてもこれらの存在を認めた。くるまえび、あさりの煮出しによって5'-ヌクレオチドが増加することは興味深い。すでに水産食品や鳥獣肉類においてATP分解酵素系が広く存在し、5'-AMPの生成経路はこれによると説明されている^{7,8)}。また私達はシイタケ、マッシュルームにおいてもこの経路によってATP、ADPが減少し5'-AMPが生まれることを明らかにした¹⁾。シイタケの煮出しの場合は30°Cに対して60°Cでは約15倍も抽出量が増加したが、くるまえび、あさりにおいてはphosphatase活性もシイタケより弱いためか、シイタケ、マッシュルームのように著しい変化はないが、過塩素酸抽出に比べて2倍程度増加した。シイタケのように5'-AMP以外の他の5'-ヌクレオチドの増加も認められないことからリボ核酸の分解系の活動は煮出し条件では予想されない。他の条件でのリボ核酸分解酵素系の活性を調べた結果、くるまえび、あさりとともにpH 6.0~8.0にピークを持つことが認められる。くるまえび、あさりの粗酵素液についてphosphomonoesterase, phosphodiesterase, RNAase, DNAaseの活性を測定し

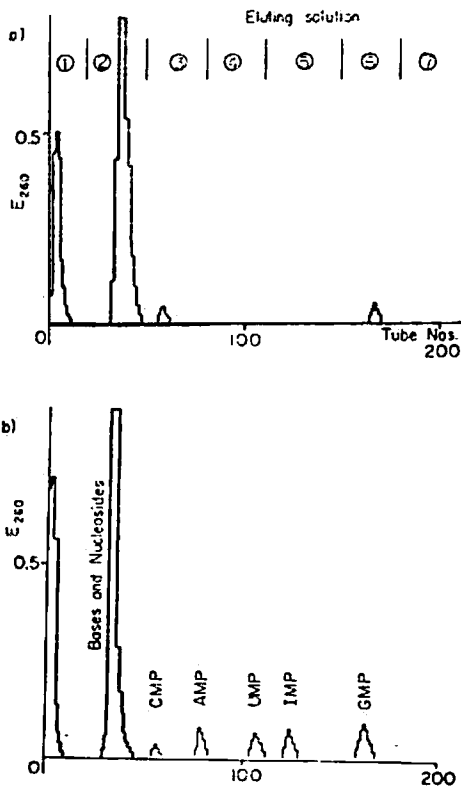


Fig. 10 Chromatogram of autolysates of Asari homogenate.
a) pH 4.0 b) pH 8.0

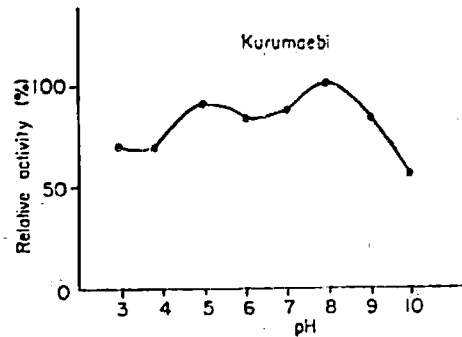


Fig. 11 pH-activity curves of 5'-AMP deaminase of Kurumaebi.

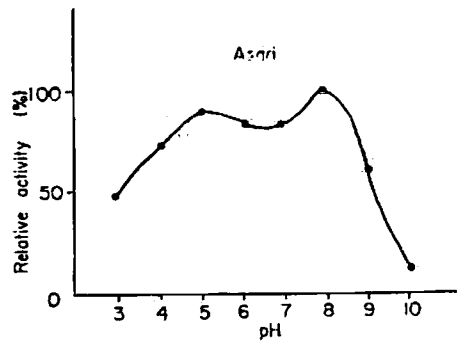


Fig. 12 pH-activity curves of 5'-AMP deaminase of Asari.

た結果は pH 6.0 では phosphomonoesteraseのみ見出すことができた。

このことから煮出し条件においては5'-ヌクレオチドの蓄積はATP, ADPによる分解が主体であると認められた。核酸分解酵素系については今後検討するつもりである。

要 約

Dowex 1×8を用うる大型カラム (2.×30cm) によって前報に引続きヌクレオシドポリホスフェート画分について同定した。くるまえば、あさり抽出液において、ATP, ADPの存在を認めた。煮出しにおいて抽出される総5'-ヌクレオチド量に対しては温度の影響があり、60°C~70°Cで5分間の時が最も5'-ヌクレオチド量が多かった。このような5'-ヌクレオチドの増加の原因は、くるまえば、あさりにおいては煮出し条件においてATP, ADPの分解に伴う5'-AMPの増加が主体をなしていると思われる。また、リボ核酸分解酵素系の作用はほとんど煮出し条件においては認められなかった。

終りに臨み貴重な薬品、酵素類など多大のご援助を賜った武田薬品工業株式会社の方々および実験に協力された当短大寺田潤子嬢に深謝いたします。

本報は昭和40年度日本農芸化学会大会で発表した。

文 献

- 1) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 43, 35 (1965)
 - 2) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 43, 335 (1965)
 - 3) 毛利, 橋田, 志賀, 寺本: 醗酵工学, 43, 344 (1965)
 - 4) 斎藤ら: 化学, 13, 101 (1960)
 - 5) 小俣ら: 日水誌, 28, 630 (1962)
 - 6) 戸田ら: 栄養と食糧, 18, 60 (1965)
 - 7) Jones, N.R., Murray, J.: *Biochem. J.*, 16, 59 (1956)
 - 8) Nazir, D.J., Magar, N.G.: *J. Food Science*, 28, 1 (1963)
- 毛利, 寺田, 橋田: 日本缶詰協会技術会
第13回大会講演 (1964)
- 中島ら: 農化, 35, 797 (1961)
- 中島ら: 農化, 37, 558 (1963)
- Schmidt, G., Thannhauser, S.T.: *J. Biol. Chem.*, 161, 83 (1945)