5'-リボヌクレオチドの食品化学的研究 (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

中島宣郎, 市川恒平, 鎌田政喜, 藤田栄一郎 (武田薬品工業株式会社研究所)

昭和 36 年 1 月 5 日 受理

イノシン酸 (5'-IMP) はカツオ節の旨味成分として知られている⁽¹⁾。近年ヌクレオチドの分析法が進歩するに従い斎藤^(2,3), 奥原⁽⁴⁾, 藤田^(5,6), 大石⁽⁷⁾らにより食品中の 5'-IMP の定量が行なわれた。その後 5'-グアニル酸 (5'-GMP) もまた 5'-IMP と同様に旨味をもつことが国中⁽⁸⁾ によって発表されたが, 著者らも食品の旨味に 5'-IMP, 5'-GMP を含む 5'-リボヌクレオチドの組成および含量が関与していることに注目し, いろいろの食品中の 5'-リボヌクレオチドを分離, 定量して食品の旨味における 5'-リボヌクレオチドの役割を検討した。

5'-リボヌクレオチドの定量法としては Bergkvist ら⁽⁹⁾ のイオン交換クロマトグラフィーを検討し, これを用いて 2~3 の煮出し汁について 5'-リボヌクレオチドを分離, 同定, かつ定量したのでその結果を報告する。

実 験 方 法

1. 実験材料および試料調製法 定量および定性のための標準物質としての 5'-アデニル酸 (5'-AMP), 5'-IMP, 5'-GMP, 5'-シチジル酸 (5'-CMP), 5'-ウリジル酸 (5'-UMP) はいずれもナトリウム塩を当研究所で調製した。その他のヌクレオチド, ヌクレオシド, 塩基および酵母リボ核酸としては市販品を用いた。

イオン交換クロマトグラフィーの試料としての標準物質はおのこの水を水溶液として使用した。2'- および 3'-ヌクレオチド混合物としてはリボ核酸のアルカリ分解物を用いた。すなわち酸母リボ核酸 20 mg を 1N-KOH 溶液 1 ml に溶かし, 37°, 18 時間で水解後過塩素酸で中和し, 遠心分離した後その上澄液を試料とした。

煮出し汁の材料としては市販の花かつお, 煮干し, 乾しいたけを用いた。花かつお, 煮干しのそれぞれ 3 g を細片とし 100 ml の水とともに加熱し, 沸騰してから 3 分後に火からおろして冷却し, 綿で濾過して煮出し汁とした。乾しいたけではその 3 g を細片とし, 100 ml の水に 1 時間浸けた後花かつお, 煮干しと同様に煮出し汁を得た。

2. イオン交換クロマトグラフィー Bergkvist ら⁽⁹⁾ の原報によったが, ヌクレオシドおよび塩基とヌクレオチド, とりわけ CMP とをはっきり分けるため, またポリホスフェイトの分離をできる限り簡略にするため展開液に多少の修正を行なった。すなわちイオン交換樹脂としては Dowex-1, X-8, 200~400 mesh を用い, ギ酸型に調製したものを内径 1 cm のカラムに 6 cm の高さにつめ, 85% ギ酸を約 40 ml 通した後よく水洗して用いる。試料をアンモニアで pH 9.4 (チモールブルー pH 試験紙) にし, カラムに吸着させる。溶出には第 1 図のような展開液を用い, 1 分間約 1 ml の速度で溶出しフラクションコレクターで 10 ml の画分に分けた。展開液を対照液として各画分を日立分光光度計 (EPU-2 A 型) を用い 260 mμ の紫外部吸収を測定し, なお 260 mμ の吸収の大なる画分では 250 mμ, 280 mμ における吸収も測定した。

3. リボヌクレオチドの同定と定量 ヌクレオチドはイオン交換樹脂のカラムからの溶出位置ならびに 260 mμ の吸収と 250 mμ および 280 mμ の吸収との比 (E_{250}/E_{260} , E_{280}/E_{260}) によって同定され, 260 mμ の吸光係数を用いて定量された。吸光係数には pH 2 に調整した場合 AMP 14200, GMP 11800, CMP 6200, UMP 9900, IMP 7400⁽¹⁰⁾ を用い, 溶出液をそのまま測定した場合 IMP は pH により吸光係数が変わるので 6900 を, その他は pH 2 の場合と同じ数値を用いた。

おのこの 260 mμ の吸収がピークとなる画分を集め, 活性炭処理で濃縮し, 化学的反應およびペーパークロマ

* Food Chemical Studies on 5'-Ribonucleotides. Part I. On the 5'-Ribonucleotides in Foods. (1) Determination of the 5'-Ribonucleotides in Various Stocks by Ion Exchange Chromatography. By Nobuo NAKAJIMA, Kōhei ICHIKAWA, Masaki KAMADA and Eiichirō FUJITA (Research Laboratories, Takeda Chemical Industries, Ltd.)

トグラフィーによって各画分の単一性と同定の確認を行なった。すなわち集めた画分を1N塩酸でpH2に調整して活性炭のカラムに吸着させる, 水洗後1.4%アンモニア含有50%エタノールで溶出し, 圧搾空気でアンモニアを追い出し, かつ濃縮する。これを希釈して紫外部の吸収曲線の測定, リボースをオルシノール-塩酸の反応⁽¹¹⁾, 全リン酸をFiske-Subbarow⁽¹²⁾およびBartlettの方法⁽¹³⁾, 5'-リン酸を牛の精液の5'-ヌクレオチダーゼ⁽¹⁴⁾で処理した後Fiske-Subbarowの方法で測定した。ペーパークロマトグラフィーには溶媒として次の4種類, (1) Markham-Smith⁽¹⁵⁾のものを修正した飽和硫酸-3級ブタノール-0.025Nアンモニア水(160:3:40)[溶媒1], (2) *n*-プロパノール-濃アンモニア水(60:30:10)⁽¹⁶⁾[溶媒2], (3) 水飽和-*n*-ブタノール⁽¹⁷⁾[溶媒3], (4) イソプロパノール-濃塩酸-水(65:16.7:18.3)⁽¹⁸⁾[溶媒4]を用い, 濾紙には東洋濾紙No.7をえらんだ。5'-リン酸の確認のため5'-ヌクレオチダーゼ処理した検液についてもペーパークロマトグラフィーを行なった。

実験結果

1. 標準物質の分離・定量 5'-AMP 6.32 μ moles, 5'-IMP 4.71 μ moles, 5'-GMP 6.12 μ moles, 5'-CMP 5.64 μ moles および 5'-UMP 5.85 μ moles を含む混液を試料としてイオン交換クロマトグラフィーを行ない, 第1図(a)に示す溶離曲線が得られた。5つの5'-リボヌクレオチドは完全に分離され, 第1表に示すような定量結果を得, 回収率もよい。

2'-および3'-ヌクレオチドが共存するとき5'-ヌクレオチドの定量を妨げるかどうかを検討するため, 酵母リボ核酸のアルカリ分解物を試料にしてイオン交換クロマトグラフィーを行なった。溶離曲線を第1図(b)に示す。これは牛の肝臓のリボ核酸のアルカリ分解物を試料にしたCohn⁽¹⁰⁾らの結果と同様であり, UMPのみは2'-と3'-とが分離されない。この結果から5'-AMPと2'-AMP, 5'-GMPと2'-GMPとはやや重なり合い, 5'-IMPと2'-および3'-UMPは完全に重なり合うことがわかった。

アデノシンジホスフェイト(ADP)が混在するアデノシントリホスフェイト(ATP)を試料としたクロマトグラフィーによるとADP, ATPの溶出位置は第1図(a)に示されるとおりである。

2. 花かつお煮出し汁の5'-リボヌクレオチド 3gの花かつおから煮出し汁79.5mlを得た。その紫外部吸収曲線は第2図(a)のとおりで, IMP

第1図 スクレオチドのイオン交換クロマトグラフィー
カラム: Dowex-1, X-8, 200-400 メッシュ, ギ酸型, 1×6 cm
展開液: ① H₂O ② 0.005N ギ酸 ③ 0.02N ギ酸
④ 0.1N ギ酸 ⑤ {0.1N ギ酸
0.05N ギ酸ナトリウム
⑥ {0.1N ギ酸
0.1N ギ酸ナトリウム ⑦ {0.1N ギ酸
0.3N ギ酸ナトリウム
⑧ {0.1N ギ酸
0.6N ギ酸ナトリウム ⑨ {0.2N ギ酸
0.8N ギ酸ナトリウム
流速: 約1 ml/min 1画分の流量: 10 ml

第1表 イオン交換クロマトグラフィーによる5'-リボヌクレオチドの定量と回収率

	定量値	回収率 %
5'-CMP	5.73	102
5'-AMP	6.65	105
5'-UMP	5.53	94.5
5'-IMP	4.77	102
5'-GMP	6.17	101

第2図 花かつお、煮干し、乾しいたけ
煮出し汁の紫外外部吸収曲線 (pH 2)
(a) 花かつお (b) 煮干し (c) 乾しいたけ

と同様に 250 mμ 附近に極大をもち、260 mμ の総紫外外部吸収 (260 mμ の吸収と液量の ml 数との積, UV_{260} と表わす) は 981 であった。この煮出し汁の 1/3 量, 26.5 ml ($UV_{260}=327$) を用いイオン交換クロマトグラフィーを行なって第3図の溶離曲線を得、A, B, C, D, E の5画分に分離した。5つの画分をそれぞれ pH 2 (チモールブルー pH 試験紙) に調整し、活性炭処理で濃縮する。この際画分 A は UV_{260} の約半分が吸着されるのみであるが、画分 B~E はほぼ定量的に吸着、溶出される。濃縮液を N/100 塩酸で希釈し吸収曲線を測定すると第4図のとおりで、画分 A は核酸関連物

第2表 (a) 花かつお煮出し汁画分の塩基に対するリボース、全リン、5'-リンのモル比

画分	吸収	リボース	全リン	5'-リン
A	+	—	—	—
B (ヒポキサンチンイノシン)	1.00*	0.53	—	—
C	—	—	—	—
D (5'-AMP)	1.00	0.93	1.00	—
E (5'-IMP)	1.00	1.04	1.12	1.18

* イノシンの吸光係数 7400 による。

第2表 (b) 乾しいたけ煮出し汁画分の塩基に対するリボース、全リンのモル比

画分	吸収	リボース	全リン
C ₁ (5'-CMP)	1.00	...	0.77
C ₂	—	0	0
D (5'-AMP)	1.00	0.93	0.96
E (5'-UMP)	1.00	...	...
F (5'-GMP)	1.00	0.94	0.88

第3図 花かつお煮出し汁のイオン交換クロマトグラフィー

第4図 花かつお各画分の紫外外部吸収曲線

第5図 花かつお煮出し汁の画分DおよびEのペーパークロマトグラフィー

展開溶媒: 飽和硫酸アンモニウム液-3級ブタノール-0.025 N アンモニア水 (160:3:40)

濾紙: 東洋濾紙 No.7 下降法, 18 時間

① 5'-AMP, ② 画分D, ③ 2',3'-AMP, ④ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した5'-AMP, ⑤ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した画分D, ⑥ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した2',3'-AMP, ⑦ アデノシン, ⑧ 5'-IMP, ⑨ 画分E, ⑩ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した画分E, ⑪ イノシン, ⑫ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した5'-IMP

第3表 煮出し汁中のヌクレオチド含量 (使用した材料当りの含量に換算)

	ヒポキサンチン イノシン	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-IMP	5'-GMP	ADP	ATP	その他	5'-IMP	5'-GMP
		μ moles/g								mg/100 g	
花 かつ お	15.3	—	1.68	—	18.1	—	—	—	?	632	—
煮 干 し	11.5	—	0.75	—	8.73	—	—	—	?	304	—
乾しいたけ I	—	3.54	3.79	4.17	—	4.31	—	—	+	—	157
〃 II	—	(2.24)	2.61	2.84	—	2.59	—	—	+	—	94.6

第6図 煮干し煮出し汁のイオン交換クロマトグラフィー

以上の結果, 画分Aは核酸関連物質としてはアデニンまたはアデノシン, 画分Bはヒポキサンチンとイノシンとの混合物, 画分Dは5'-AMP, 画分Eは5'-IMPと同定された。この定量結果を第3表に示す。

3. 煮干し煮出し汁の5'-リボヌクレオチド 3gの煮干しから煮出し汁75.0mlを得たが, この UV_{260} は828で紫外外部吸収曲線は花かつおのそれと類似している(第2図(b))。この1/3量, 25ml ($UV_{260}=276$)を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行ない第6図のように花かつおと同様A~E5つの画分を得た。

4. 乾しいたけ煮出し汁の5'-リボヌクレオチド 3gの乾しいたけから70.7mlの煮出し汁を得た。

第7図 乾しいたけ煮出し汁のイオン交換クロマトグラフィー

質と考えられない。画分A~Eの濃縮液をペーパークロマトグラフィーにかけた。溶媒1で画分Aにはアデニンまたはアデノシンと思われるスポットのほかさらに1つ微かな未同定のスポットが認められた。画分Bはイノシンとヒポキサンチン, 画分Dは5'-AMP, 画分Eは5'-IMPに一致するスポットを示す。画分Cは微量のため検討できなかった。なお画分D, Eを5'-ヌクレオチダーゼで処理した後ペーパークロマトグラフィーにかけ, 5'位のリン酸を確認した(第5図)。また各画分のリボース, 全リンおよび5'-リンを定量した。塩基(吸収)に対するモル比は第2表(a)のとおりである。

第8図 画分Cの再クロマトグラフィー
カラム:Dowex-1, X-8, 200~400メッシュ, ギ酸型, 1×6cm
展開液: ① H₂O, ② 0.005 N ギ酸, ③ 0.01 N ギ酸
1画分の液量: 5.2ml

第 9 図 乾しいたけの各画分の紫外外部吸収曲線 (pH 2)

第 10 図 乾しいたけ煮出し汁の画分 C₁ および画分 F のペーパークロマトグラフィー

展開溶媒: n-プロパノール-濃アンモニア水-水 (60:30:10)

濾紙: 東洋濾紙 No. 7 下降法, 18 時間

① 5'-CMP, ② 画分 C₁, ③ 3'-CMP, ④ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した 5'-CMP, ⑤ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した画分 C₁, ⑥ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した 3'-CMP, ⑦ シチジン, ⑧ 5'-GMP, ⑨ 画分 F, ⑩ 3'-GMP, ⑪ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した 5'-GMP, ⑫ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した画分 F, ⑬ 5'-ヌクレオチダーゼ処理した 3'-GMP, ⑭ グアノシン

および G の活性炭処理による回収はともに約 50% で, その他の画分は定量的に回収された。各画分の pH 2 における紫外外部吸収曲線を第 9 図 (a), (b), (c) に示す。また濃縮された各画分をペーパークロマトグラフィーにかけたが, 画分 A は溶媒 4 でアデノシンに相当する 1 つのスポットを, 画分 B は溶媒 1, 3 および 4 の 3 つの溶媒でグアノシンおよびウリジンに相当する 2 つのスポットを与える。画分 C₁, D, E および F は溶媒 1, 2 および 4 の 3 つの溶媒でそれぞれ 5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMP と同定された。またこれら 4 画分を 5'-ヌクレオチダーゼで処理するとそれぞれシチジン, アデノシン, ウリジンおよびグアノシンを生成することがペーパークロマトグラフィーで確認された。画分 C₁ および F のペーパークロマトグラムを第 10 図に示す。すなわち画分 C₁, F は 5'-CMP, 5'-GMP と同様 5'-ヌクレオチダーゼ処理でシチジンおよびグアノシンに変るが, 3'-CMP, 3'-GMP は変化を受けない。画分 G は溶媒 1 でウリジンまたはシチジンに相当する位置にスポットを生成し, イオン交換クロマトグラフィーの溶出位置 (第 7 図), 紫外外部吸収曲線 (第 9 図 G) から UDP またはその関連物質と思われるが, 微量のため同定できなかった。

各画分のリボース, 全リンの定量結果は第 2 表 (b) に示す。画分 C₂ からはリボース, 全リンとも検出されなかった。

以上の結果からヌクレオチドとして画分 C₁, D, E, F がそれぞれ 5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMP と同定された。定量結果を第 3 表 (しいたけ II) に示す。表中しいたけ I は 5'-GMP の含量が最も高い値を示した試料の結果である。

UV₂₆₀ は 1800 で紫外外部吸収曲線は第 2 図 (c) のように 260 mμ 附近に極大をもち, 花かつお, 煮干しと異なっている。この 1/4 量, 17.7 ml (UV₂₆₀ = 450) を用いてイオン交換クロマトグラフィーを行なうと第 7 図の溶離曲線が得られ, これも花かつお, 煮干しの場合といちじるしく異なっている。

分離した画分のうち画分 C を再クロマトグラフィーにかけ第 8 図に示すように, これを C₁ と C₂ の 2 画分に分離した。各画分を活性炭で濃縮したが, 画分 A

考 察

以上の結果から Bergkvist らのイオン交換クロマトグラフィーで食品中の 5'-リボヌクレオチドを分離定量しうることがわかった。藤田ら⁽⁶⁾もこの方法により食品中の 5'-IMP の定量法を検討しているが、5'-IMP を含む 5'-リボヌクレオチドを分離定量するためには原報に近い条件がよいと思われる。2'- および 3'-ヌクレオチドが存在するときは定量の妨げとなるが、天然物中に 2'- および 3'-ヌクレオチドが存在することはほとんど考えられないから、実際の定量法としては問題とならないであろう。ただ高分子のリボ核酸が化学的ならびに酵素的に分解される場合も考えられるので、食品中の 5'-リボヌクレオチドの分析に際して 2'- および 3'-ヌクレオチドの溶出位置に注意する必要がある。

この方法を用いて花かつお、煮干し、乾しいたけの煮出し汁について分析し第3表の結果を得たが、呈味成分としては花かつお、煮干しには 5'-IMP が、乾しいたけの煮出し汁には 5'-GMP が存在する。

花かつお、煮干しについては藤田⁽⁶⁾、大石ら⁽⁷⁾と同様にヒポキサンチン、イノシン、5'-AMP および 5'-IMP を同定し定量したがポリホスフェイトを検出し得なかった。これらの煮出し汁は一般の調理条件で調製したが、5'-IMP の高い含有率を示した。

乾しいたけの煮出し汁には 5'-IMP は含有されず、5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP および 5'-GMP がほぼ等モルずつ存在する(第3表)。ポリホスフェイトはウリジン系と思われるものが存在する(画分 G)が、同定、定量することはできなかった。また 5'-CMP と 5'-AMP との間に溶離されてくる画分 C₂ を得たが、これはヌクレオチドと考えられない。Bergkvist^(19,20)によって茸類の酸可溶性ヌクレオチドが詳細に検討されているが、多くの茸類にはウリジン-5'-ホスフェイト類、アデノシン-5'-ホスフェイト類は多いが、シチジンおよびグアノシン系のヌクレオチドは少量しか含有されておらず、著者らの乾しいたけの定量結果といちじるしく異なっている。画分 C₂ は Jonsen ら⁽²¹⁾が微生物から検出した未同定の新物質と吸収曲線、ペーパークロマトグラフィーの R_F 値などの点できわめて類似しているが、微生物よりも乾しいたけの中にははるかに多量に存在する。画分 C₂ についてはあらためて検討する予定である。5'-IMP とともに旨味をもつ 5'-GMP の各種食品における分布はほとんど解っていないが、乾しいたけの煮出し汁中にこれが存在することは興味ある事実である。花かつお、煮干し中の 5'-IMP にくらべて乾しいたけ煮出し汁中の 5'-GMP 含有量はやや低い、5'-GMP は乾しいたけの微妙な美味を構成する呈味成分の重要な一つであることが考えられる。なお乾しいたけ煮出し汁中の 5'-リボヌクレオチドの含有比率がほぼ等モルであること、茸類のヌクレオチドについての Bergkvist の定量値が小さいことから、乾しいたけ煮出し汁中の 5'-リボヌクレオチドは高分子のリボ核酸がこわれて生成したものと考えられる。この点については画分 C₂ とともに他の機会に報告する。

要 約

(1) Dowex-1 のギ酸型樹脂を使うイオン交換クロマトグラフィーによって食品中の 5'-リボヌクレオチドが定量できる、ただし 2'- および 3'-ヌクレオチドが共存すると定量が妨げられる。

(3) 花かつお、煮干し煮出し汁に多量の 5'-IMP が存在するが、5'-GMP は存在しない。

(3) 乾しいたけ煮出し汁中に 5'-GMP が存在することが明らかにされ、乾しいたけの美味に参与していることが推定される。

終りにのぞみ終始御指導御鞭撻をたまわりました桑田所長、立岡、渡辺両副所長、神沢部長、大村室長に深謝いたします。

(1) 小玉新太郎：東化，34，751 (1913)。

(2) T. Saito, K. Arai: *Arch. Biochem. Biophys.*, 73, 315 (1958)。

(3) 斎藤恒行：化学，13，101 (1960)。

(4) 奥原尚孝，麻生 清：農工，37，149 (1959)。

(5) 藤田孝夫，橋本芳郎，森高次郎：日水誌，25，147 (1959)。

(6) 藤田孝夫，橋本芳郎：同上，25，312 (1959)。

(7) 大石圭一，田村祐子，村田喜一：同上，25，644 (1959)。

(8) 国中 明：本誌，34，489 (1960)。

(9) R. Bergkvist, A. Deutch: *Acta Chem. Scand.*, 8, 1877 (1954)。

(10) E. Volkin, W. E. Cohn: "Methods of Biochemical Analysis", 1, 287 (1954)。

(11) W. R. Fernell, H. K. King: *Analyst*, 78, 80 (1953)。

(12) C. H. Fiske, Y. Subbarow: *J. Biol. Chem.*, 81, 629 (1929)。

(13) G. R. Bartlett: *ibid.*, 234, 466 (1959)。

- (14) L. A. Heppel, R. J. Hilmoe : *Methods in Enzymology*, 2, 546 (1955).
 (15) R. Markham, J. D. Smith : *Biochem. J.*, 49, 401 (1951).
 (16) C. S. Hans, F. A. Isherwood : *Nature*, 164, 1107 (1949).
 (17) G. R. Wyatt : "The Nucleic Acid", 1, 243 (1955).
 (18) W. E. Cohn, E. Volkin : *Nature*, 167, 483 (1951).
 (19) R. Bergkvist : *Acta Chem. Scand.*, 12, 1549 (1958).
 (20) R. Bergkvist : *ibid.*, 12, 1554 (1958).
 (21) J. Jonsen, S. Lahand, I. Smith-Kieland, R. Sömme : *ibid.*, 13, 838 (1959).

[農化 第 35 卷, 第 9 号, p. 803~808, 1961]

5'-リボヌクレオチドの食品化学的研究 (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

中島宣郎, 市川恒平, 鎌田政喜, 藤田栄一郎 (武田薬品工業株式会社研究所)

昭和 36 年 1 月 5 日 受理

カツオ節の旨味成分は小玉⁽¹⁾によりイノシン酸ヒスチジン塩とされた。近年斎藤⁽²⁾, 藤田^(3~5)および Jones⁽⁶⁾らにより魚肉中のイノシン酸 (5'-IMP) および他のヌクレオチド類が定量され, 旨味成分としての 5'-IMP の役割が明らかにされつつある。著者らは食品の旨味に 5'-IMP および 5'-GMP を含む 5'-リボヌクレオチドの組成と含量とが関与していることに注目し, 前報⁽⁷⁾で“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”について報告した。ひきつぎ魚貝肉および食肉中の 5'-リボヌクレオチドを分離定量したので, その結果を報告する。

実 験 方 法

1. 材料および 5'-リボヌクレオチドの抽出法 魚貝肉, 食肉ともに市販品を用い, クルマエビのみは生鮮のものを用いた。魚肉はマグロ (若魚) の血合肉を除きすべて背の肉を材料とした。

魚貝肉は 3g, 食肉は 5g を Potter-Elvehjem type のホモジナイザーまたはユニバーサルホモジナイザー (日本精機製作所) で 10% 過塩素酸 10 ml と氷冷下にホモジナイズした後, 冷却しながら遠心分離して酸可溶性ヌクレオチドを抽出した。沈澱物をさらに 2 回 5% 過塩素酸 10 ml と氷冷下ホモジナイズし, 遠心分離して抽出液を得, 各抽出液を合併する。これを 5N-KOH で中和し, 過塩素酸をカリウム塩として沈澱させ, 遠心分離する。沈澱を冷水で 2 回洗い, 洗液を中和上澄液に合し, これを定量の試料とした。

2. イオン交換クロマトグラフィー 定量法としては前報⁽⁷⁾に報告した Bergkvist のイオン交換クロマトグラフィーを用いた。上記の過塩素酸抽出によって得られた試料の全量ないし半量をアンモニアで pH 9.4 に調整してカラムに吸着させ, イオン交換クロマトグラフィーを行なった。

3. ヌクレオチドの同定 前報⁽⁷⁾に報告した方法によった。ペーパークロマトグラフィーの溶媒としてポリホスフェイトの同定にイソ酪酸-1M アンモニア-0.1M-EDTA (100:60:1.6)⁽⁸⁾を用いた。

実 験 結 果

1. 過塩素酸による酸可溶性ヌクレオチドの抽出

過塩素酸による抽出は第 1 表に示すように紫外外部吸収物質として 95% 以上が抽出される。魚肉, 食肉抽出液は 250 mμ 附近に極大をもち, IMP と同様の吸収曲線を示し, イカ, 貝柱, クルマエビは 260 mμ 附近

第 1 表 過塩素酸により抽出される総紫外外部吸収 (UV₂₆₀)

材料	アジ	タイ	イカ
抽出			
第 1 回抽出	253.0	265.0	486.0
第 2 回抽出	52.0	43.5	91.3
第 3 回抽出	21.4	13.2	27.3
第 4 回抽出	7.5	6.0	7.8

} これを合して抽出液とする

* Food Chemical Studies on 5'-Ribonucleotides. Part II. On the 5'-Ribonucleotides in Foods. (2) 5'-Ribonucleotides in Fishes, Shellfishes and Meats.

By Nobuo NAKAJIMA, Kōhei ICHIKAWA, Masaki KAMADA and Eiichirō FUJITA (Research Laboratories, Takeda Chemical Industries, Ltd.)