

今回は、GL7700HPLCシステムを用いた魚肉中のヌクレオチドの分析をご紹介します。

動物の筋肉中にはエネルギー源として知られるATPが存在しています。

筋肉中に存在するATPは、死後時間経過と共に以下のように分解していきます。

ATP→ADP→AMP→IMP(イノシン酸)→Ino(イノシン)→Hyp(ヒポキサンチン)

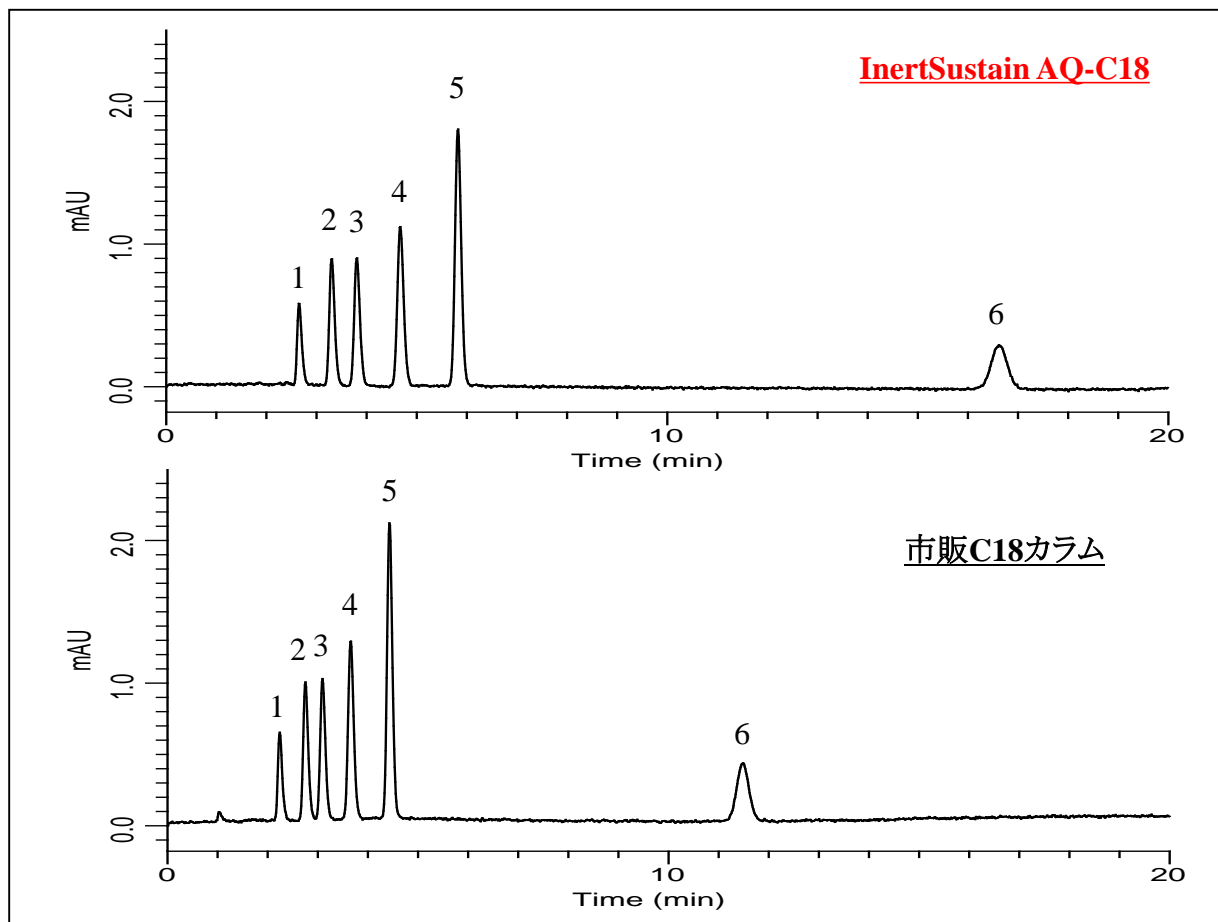
これらATP関連化合物を分析し、その種類と量を下の式に入れることで、鮮度(魚類鮮度判定恒数:K値)を算出できます。

今回、InertSustain AQ-C18を用いた魚肉中のヌクレオチドの分析において良好な結果が得られましたのでご紹介します。

$$K\text{値}(\%) = \frac{\text{Ino} + \text{Hyp}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{Ino} + \text{Hyp}} \times 100$$

(R. Hirano)

標準液測定例



HPLC条件

カラム	: 上図に記載 (5 μm, 150 x 4.6 mm I.D.)
溶離液	: 50 mM K ₂ HPO ₄ in H ₂ O (pH 7.0, H ₃ PO ₄)*
流量	: 1.0 mL/min
カラム温度	: 40 °C
検出	: UV 260 nm
注入量	: 1 μL(感度が足りない場合は5-10 μL程度に注入量を多くして分析してください)

Analyte

1.IMP (イノシン酸)	5 mg/L
2.ATP (アデノシン3リン酸)	5 mg/L
3.ADP (アデノシン2リン酸)	5 mg/L
4.AMP (アデノシン1リン酸)	5 mg/L
5.Hyp (ヒポキサンチン)	5 mg/L
6.Ino (イノシン)	5 mg/L

*分析終了後、カラムはCH₃CN/H₂O =1/1, v/v 等に置換してください。

長期保管する場合は、さらにCH₃CN 100%等の有機溶媒に置換して保管してください。

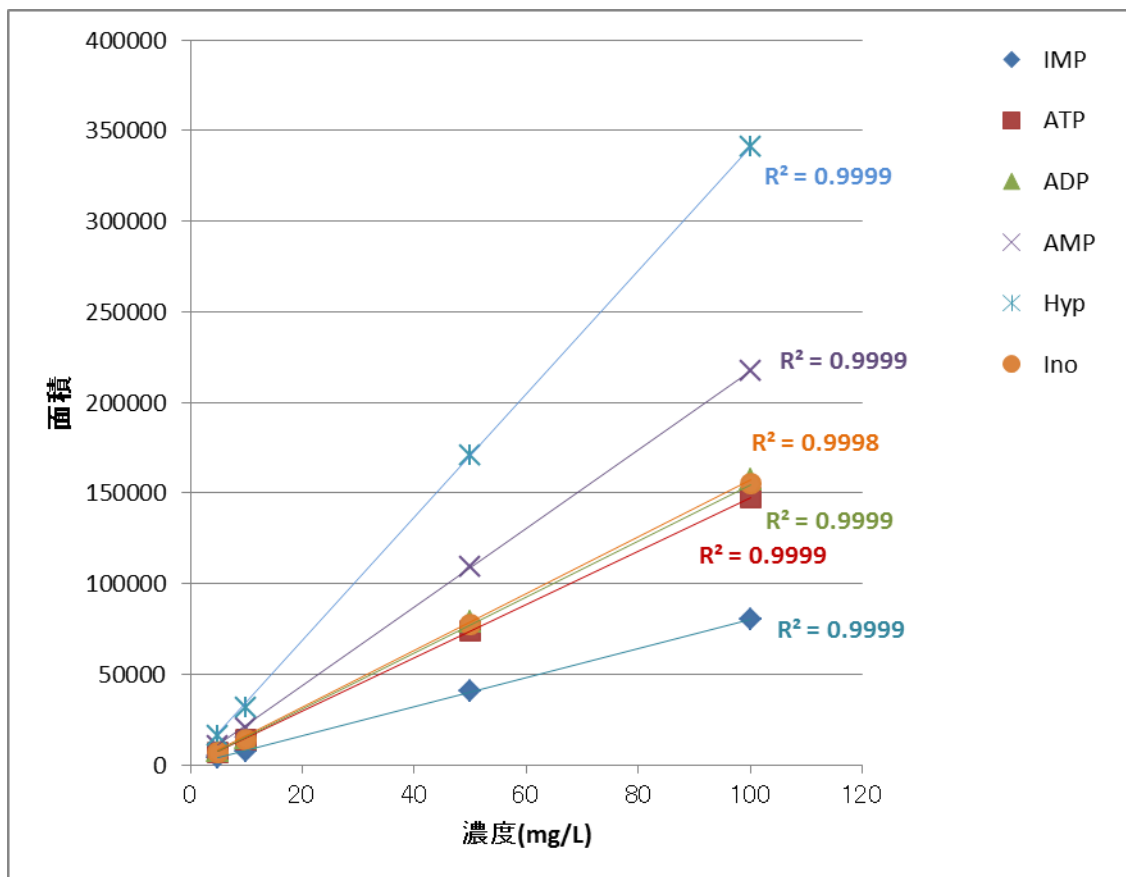
ヌクレオチドは親水性化合物のため、C18(ODS)カラムには保持しづらいという問題があります。

このような場合、移動相にイオンペア試薬を添加することで保持時間を増大させることができます。

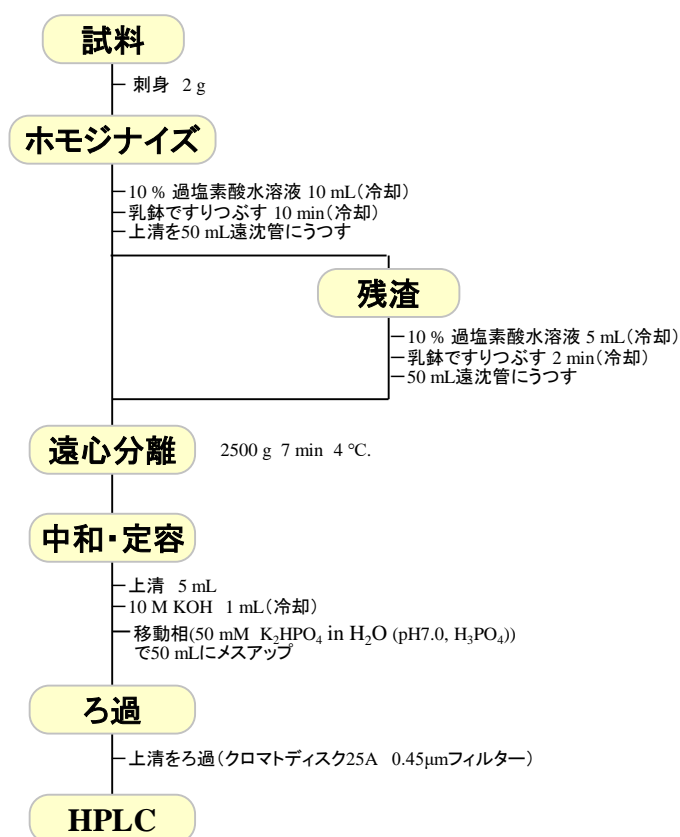
しかし、イオンペア試薬はカラムへの残存の懸念があることや平衡化に時間がかかること等いくつかの問題があります。

今回使用したInertSustain AQ-C18は、親水性化合物の保持が増大するように設計されたカラムのため、イオンペア試薬を使用することなく十分な保持が得られるカラムです。

検量線(5~100 mg/L)



前処理例

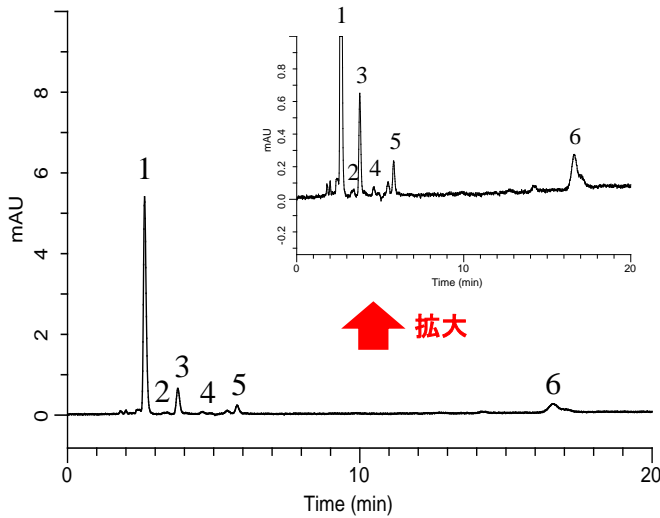


試料測定例

市販のタイとマグロの刺身を購入日に前処理したものと2日間冷蔵保存してから前処理したものを分析し、K値を算出しました。

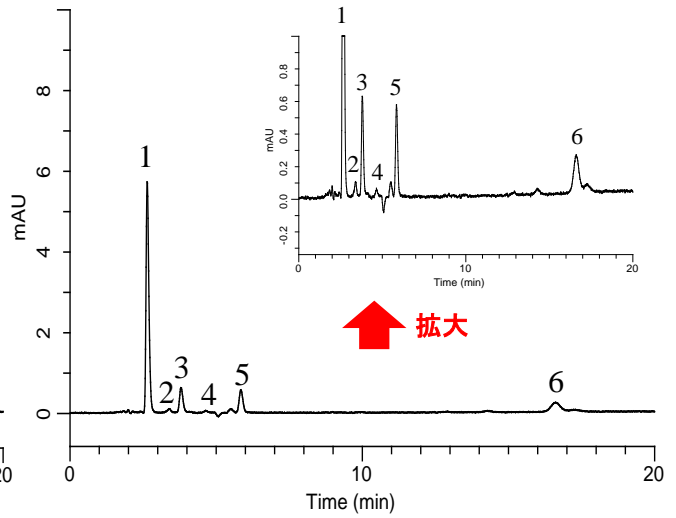
タイ刺身のK値測定

購入日に前処理



K値=5.1%

2日間冷蔵保存後前処理

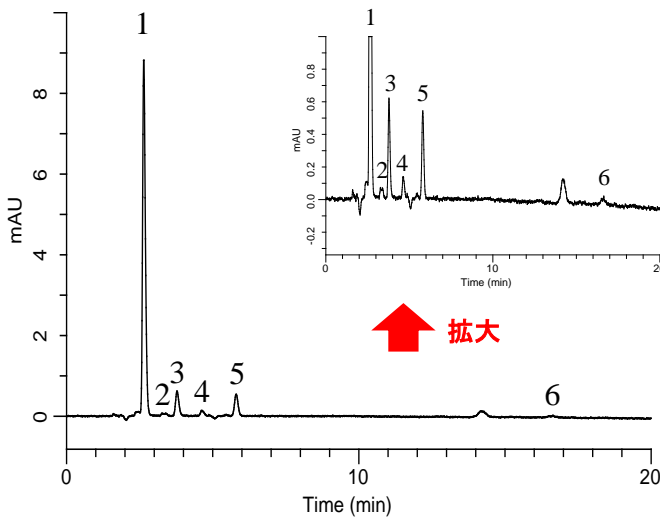


K値=7.5%

2日後

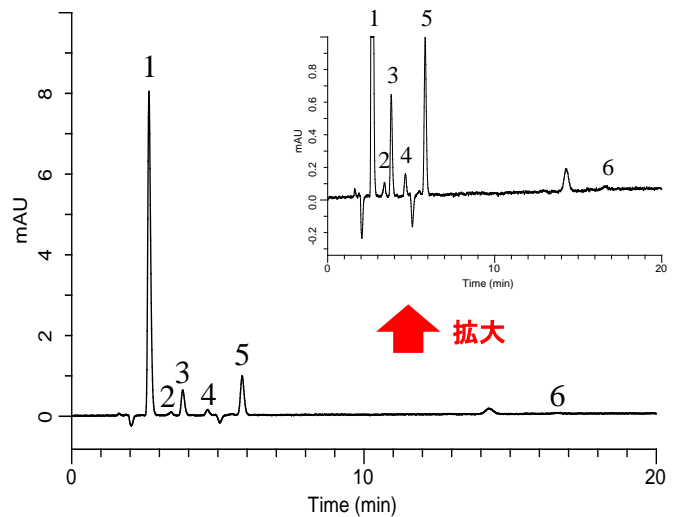
マグロ刺身のK値測定

購入日に前処理



K値=2.1%

2日間冷蔵保存後前処理



K値=5.1%

2日後

カラム

InertSustain AQ-C18 5 μm, 150 x 4.6 mm I.D.
Cat.No. 5020-89730



GLクロマトディスク

水系25A 0.45 μm
Cat.No. 5040-28512



分析装置: GL7700 シリーズ

番号	品名	型式
①	脱気装置	DG7760
②	送液ポンプ	PU7710
③	オートサンプラー	AS7720C
④	PDA検出器	PD7752
⑤	カラムオープン	CO7730

Coffee Break

K値の指標はおおよそ以下のようになっています。

- ～20% 刺身用
- ～40% 煮魚用
- ～60% 焼き魚用
- 60%～ 腐敗の兆候

また、K値の変化は魚の種類によっても異なります。

サバやアジなどの青魚に比べ、白身魚は比較的K値が上がりにくい(鮮度が長持ちする)事がわかっています。

そして、分解過程で生成するイノシン酸はうまみ成分として有名です。腐り始める少し手前がおいしさのピーク・・・というも納得です。

