

イシガニエキスの呈味成分について

上西由翁, 下西英幸, 御木英昌, 西元諄一

Flavor Components in Extracts of Crab “Ishigani” *Charybdis japonica*

Yoshio Kaminishi*¹, Hideyuki Shimonishi*¹, Hidemasa Miki*¹
and Jun-ichi Nishimoto*¹

Keywords : Extract, Crab, Flavor components

Abstract

Extracts with hot water (Ex-h) or 80% ethanol (Ex-et) from “Ishigani” crab were investigated in order to utilize “Ishigani” crab, *Charybdis japonica*, which has been discarded after catching. Nucleotides, minerals, and free amino acids in the extracts were measured and compared with those of other crabs, snow and Alaska king crabs.

Contents of nucleotides, AMP and GMP, and free amino acids, Glu, Gly, Ala, and Arg, determined by the omission taste test using extracts of snow and Alaska king crabs by Yamaguchi and Watanabe⁵⁾ were compared with those of “Ishigani” crab. AMP, Gly, Ala, and Arg contents were lower than those of snow and Alaska king crabs. Addition of AMP, Gly, Ala, and Arg to the extract of “Ishigani” crab will be expected to improve it to be used instead of extracts of snow and Alaska king crabs.

イシガニは体長数cmのガザミ科のカニで西日本沿岸に生息する¹⁾が、網漁業で混獲され漁獲時に網に絡むため除去作業に手間取り、しかも、海上投棄されているため有効利用が望ま

*1 鹿児島大学水産学部食糧保蔵学研究室 (Laboratory of Food Preservation, Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 50-20 Shimoarata 4, Kagoshima, 890 Japan)

*2 CMP, cytidine 5'-monophosphate; AMP, adenosine 5'-monophosphate;
GMP, guanosine 5'-monophosphate; UMP, uridine 5'-monophosphate;
IMP, inosine 5'-monophosphate; ADP, adenosine 5'-diphosphate.

れる。イシガニは小型のため大型のカニのように採肉できず、有効利用する際その加工利用に工夫を要する。

カニの呈味成分に関しては、鴻巣らのエキスに関する一連の研究²⁻⁴⁾があり、ズワイガニ (S. C.)、タラバガニエキス (A. C.) では、オミッショントテストよりグルタミン酸 (Glu)、グリシン (Gly)、アラニン (Ala)、アルギニン (Arg) の4つのアミノ酸とアデニル酸 (AMP)、グアニル酸 (GMP) の2つの核酸関連物質、および、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} の4つのミネラルであること⁵⁾が述べられ、エキス分利用の礎となる情報が提供された。

本研究では、イニガニの食用化をはかる手掛りを得るためエキスを調製し、その組成を上記の10成分について定量分析を行い、S. C.、A. C. のそれらと比較した。

試料および実験方法

試料

八代海で採取されたイシガニ *Charybdis japonica* を -40°C で凍結保管し用いた。今回使用した8尾のイシガニは、甲長平均で $2.95\text{cm} \pm 0.28$ 、甲幅平均で $4.13\text{cm} \pm 0.22$ 、体重平均で $18.18\text{g} \pm 3.61$ のものであった。

これらのカニの重量に占める殻の割合を粉碎したイシガニから以下の方法により求めた。すなわち、粉碎したイシガニ 20 g に 1N NaOH 300ml を加え 1 時間煮沸し、残渣をブフナー漏斗上で集め、さらに蒸留水 500ml で 30 分間煮沸後、ブフナー漏斗上で残渣を回収した。残渣を 105°C で恒量に達するまで乾燥させ殻重量を得た。その結果、殻の割合は 19.2% であり、殻を除いた他の組織重量 (湿重量) は 80.8% であった。

エキスの抽出法

エキスの抽出は Fig. 1. に示す方法で行った。まず、凍結イシガニをナイロン袋の中に封入し、ハンマーでだまかに粉碎した。粗粉碎試料に蒸留水を加えてホモゲナイズし、 90°C 15 分間加熱後、遠心分離で上清を得た。残渣から同様の手順で上清を取り出し、この操作をさらに 1 回繰り返した。得られたすべての上清画分をエバポレーターで濃縮し 100ml に定容した。100ml を 50ml づつに分け、一方を熱水抽出エキス (Ex-h) とした。他種カニ²⁾の呈味成分と比較するため、他方の 50ml を 80% エタノール処理し遠心分離後、その上清画分 50 ml をエタノール処理エキス (Ex-et) として採取した。Ex-h および Ex-et は、5ml ずつ分取後 -70°C で凍結保管し、分析の直前に流水解凍し分析に供した。

窒素含量は Kjeldahl⁶⁾法により測定した。

核酸関連物質の定量

核酸関連物質の定量法は林らの方法³⁾に準じ、Dowex 1×4、200-400 mesh のカラム ($\phi 0.5\text{cm} \times 40\text{cm}$) を用いて、40ml の 0.005 N HCl と 600ml の 0.015 N HCl による段階的勾配溶出法で行った。

核酸関連物質の同定は、得られた各ピークの吸光度 (O. D.) の 250、260、280 および 290 nm の値からそれぞれ O. D. 250 nm / O. D. 260 nm、O. D. 280 nm / O. D. 260 nm、O. D. 290

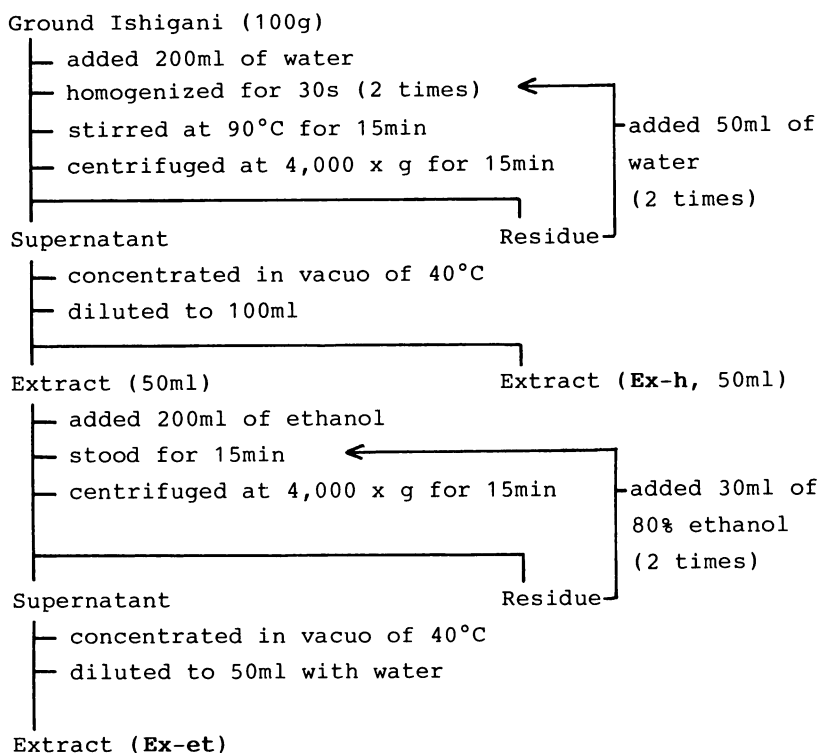


Fig.1. Preparation method of extracts from Ishigani.

nm / O. D. 260 nm 比を求め、標品物質のそれらと比較することで行った。また、定量は O. D. 260 nm で得られた値を、あらかじめ標品物質で作成した検量線を用い、さらにそれぞれの回収率で補正した後求めた。

無機イオンの定量法

Na⁺, K⁺の定量は原子吸光光度計 (HITACHI 508 A) による蛍光分光測定によった。Cl⁻の定量は Mohr 法⁷⁾に従った。PO₄³⁻は Fiske-Subbarow 法⁸⁾により定量した。

遊離アミノ酸成分分析

1.5mlのエキスに2.5mlの10%トリクロル酢酸 (TCA) と1mlの蒸留水を加え攪拌後、遠心分離 (3,000×g, 15 min) し、その上清画分を得た。TCA を除去するために、5mlのジエチルエーテルを加え、上層のジエチルエーテル画分を除去した。この操作を2回繰り返した後、下層溶液の水分をエバポレーターで取り除いた。さらに、25mlのクエン酸緩衝液 (pH 2.2) を加え、0.45 μmのフィルターでろ過し、そのろ液の10 μlを分析試料として用いた。

アミノ酸分析は島津 LC-6A アミノ酸分析システムを用い、カラムは島津 Shim-pack Isc-07 / s1054Na (4mm φ×150mm) を使用した。アミノ酸の定量は、オルトフタルアルデヒドによる蛍光検出法によった。

結果および考察

エキスの核酸関連物質含量および無機イオン含量

Ex-hとEx-etのエキスの調製方法の違いが核酸関連物質含量に及ぼす影響を調べ、さらに、S.C.とA.C.³⁾と比較した。そのため比較しやすいように、イシガニの殻の重量を差し引いた魚肉量(湿重量)に対する核酸関連物質含量(mg/100g試料肉)で示した。以下、アミノ酸組成、無機イオン含量についても同様に換算した。

エキス中の核酸関連物質含量は、Table 1.のように溶出された順に示した。イシガニのEx-hとEx-etではAMP、IMPに顕著な差がみられ、エタノール分画の核酸関連物質の溶出量は減少しており、核酸関連物質の量からみた場合、エタノール処理は好ましくないといえた。また、S.C., A.C.³⁾と比較すると、CMPの溶出量は多く、AMPは低い値であった。これは、林ら³⁾の用いた試料が脚肉だけであるのに対し、イシガニでは内臓その他を含んでいたことによると考えられる。

エキス中の無機イオン含量については、Table 2.に示すようにいずれの成分においてもイシガニのEx-hとEx-etともに有意な差はみられず、エタノール処理は無機含量の溶出に影響しなかった。無機イオン含量はS.C., A.C.⁴⁾よりNa⁺とCl⁻が1.5~2.0倍近い含量であったが、K⁺ではほとんど有意な差は見られなかった。このようにNa⁺とCl⁻含量において、

Table 1. Contents of nucleotides in extracts.

Nucleotide	Content (mg / 100 g meat)			
	Ex-h	Ex-et	S. C.*	A. C.*
CMP	74.3	64.4	6.0	25.0
AMP	19.0	5.1	32.0	46.0
GMP	5.3	0	4.0	1.0
UMP	0	0	0	0
IMP	27.9	11.0	5.0	0
ADP	0	0	7.0	3.0
Total	126.5	80.5	54.0	75.0

* Data from Hayashi *et al.*³⁾

Abbreviations used : S. C., snow crab ;

A. C., Alaska king crab.

Ex-h and Ex-et are shown in Fig. 1.

Table 2. Contents of minerals in extracts.

Minerals	Content (mg / 100 g meat)			
	Ex-h	Ex-et	S. C.*	A. C.*
Na ⁺	421.1	419.7	191.0	336.0
K ⁺	206.9	191.4	197.0	227.0
Cl ⁻	765.9	727.0	336.0	584.0
PO ₄ ³⁻	360.1	357.8	217.0	169.0

* Data from Hayashi *et al.*⁴⁾

Abbreviations are the same as Table 1.

S. C., A. C. と異なったのは, エキス抽出前のカニの洗浄方法が影響し海水が残存していたことによると思われる。

エキスの遊離アミノ酸含量および総窒素含量

アミノ酸含量は, Table 3. に示すようにイシガニの Ex-h と Ex-et との間にはいずれの遊離アミノ酸においても溶出量に顕著な差はみられなかった。A. Saifer⁹⁾ は, 人脳中の遊離アミノ酸を定量するための抽出液調製法として, 75%エタノール法, TCA 法などを選び, 調製したそれぞれの抽出液中の遊離アミノ酸組成を測定しているが, 75%エタノール抽出法では塩基性アミノ酸量が少ないことをあげている。本実験から, Ex-h と Ex-et の間で塩基性

Table 3. Composition of free amino acid in extracts.

Free amino acid	Content (mg / 100 g meat)			
	Ex-h	Ex-et	S. C.* ¹	A. C.* ¹
Tau	161.5	158.7	243.0	372.0
Asp	11.4	9.2	10.0	10.0
Thr	53.4	51.7	14.0	35.0
Ser	19.2	18.2	17.0	17.0
Asn	- * ²	- * ²	0	225.0
Sarcosine	0	0	77.0	0
Glu	22.5	19.1	19.0	72.0
Pro	67.3	65.8	327.0	502.0
Gly	491.5	463.4	623.0	611.0
Ala	120.5	116.9	187.0	186.0
α -a-n-b* ⁴	0	0	2.0	3.0
Val	39.5	38.1	30.0	54.0
Met	48.1	43.0	19.0	38.0
Ile	26.8	25.3	29.0	31.0
Leu	51.7	49.6	30.0	31.0
Tyr	34.5	32.8	19.0	56.0
Phe	38.7	36.8	17.0	54.0
β -Ala	1.1	1.0	0	5.0
γ -a-n-b* ⁵	0	0	0	3.0
His	25.5	24.1	8.0	31.0
1-methylhis	- * ³	- * ³	0	1.0
3-methylhis	- * ³	- * ³	3.0	0
ornithin	57.3	52.8	1.0	3.0
Lys	85.9	79.4	25.0	56.0
Arg	243.2	225.3	579.0	775.0
Total	1,599.6	1,511.2	2,279.0	3,189.0

*¹ Data from Konosu *et al.*²⁾

Abbreviations are the same as Table 1.

*² Calculated as Thr.

*³ Calculated as His.

*⁴ α -a-n-b : α -amino-n-butyric acid.

*⁵ γ -a-n-b : γ -amino-n-butyric acid.

遊離アミノ酸組成に顕著な差がみられなかったことから、塩基性アミノ酸の抽出性は熱水抽出も80%アルコール抽出も差がないことがわかった。オミッショントテストにより求めた⁵⁾呈味成分であるGlu, Gly, Ala, ArgについてA.C., S.C.²⁾と比較したところ、100g試料中の含量はいずれにおいても低い値を示した。総遊離アミノ酸量に対する呈味成分含量の和は、イシガニのEx-h, Ex-etで55%, A.C.で52%, S.C.で62%であり大差はみられなかった。

各カニエキスの総窒素含量は、Table 4.のようにA.C.³⁾, Ex-h, S.C.³⁾, Ex-etの順に多く、Ex-etではA.C.の60%と低い値であった。各遊離アミノ酸分析試料液から窒素含量を得て、総窒素含量に占める割合を求めたところ、Fig. 2.に示すようにエタノール処理を行ったものはいずれも高い割合であり、その値は、Ex-hで38.8%, Ex-etで51.7%, A.C.で70.5%, S.C.で71.2%であった。また、核酸関連物質の総窒素含量に占める割合は、いずれのエキスにおいても2%以下と低いものであった。イシガニエキスの80%エタノール処理ではかなりの沈澱が生じるが、これはグリコーゲンのような多糖類¹⁰⁾の他に、Fig. 2.のように遊離アミノ酸含量にほとんど差異がないことから、沈澱にはタンパク質、ペプチド成分¹¹⁾も含まれていると考えられた。

Table 4. Contents of total nitrogen.

Extracts	Content (mg / 100 g meat)
Ex-h	721.1
Ex-et	521.6
S. C.*	618.0
A. C.*	863.0

* Data from Hayashi *et al.*³⁾

Abbreviations are the same as Table 1.

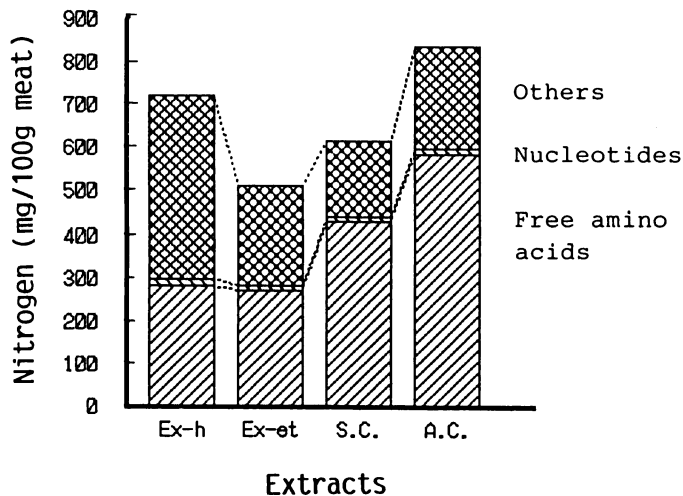


Fig. 2. Distribution of nitrogen in the extracts of crabs. Abbreviations are the same as Table 1.

以上より, 海上投棄されているイシガニの有効利用法として, エキス化の可能性を模索した。エキスの抽出方法は, 熱水抽出法とそれにより得られたエキスのエタノール処理法の兩者について行い比較したところ, 呈味成分中の核酸関連物質で熱水抽出法が優れていたが, アミノ酸組成, 無機イオン含量ともに両者に有意な差はみられなかった。

大型の A. C., S. C. と小型の未利用イシガニのエキス呈味成分を比較したところ, イシガニで無機イオンを除きいずれにおいても低い値を示した。これは, 大型のカニでは脚肉 100 g 中での表示であるのに対し, 本実験では脚肉以外の内臓他を含んだ 100 g 重量当りで呈味成分を計算していることによると考えられた。呈味成分の濃度については, 抽出溶媒の量を調整するか, もしくは濃縮するなどの工夫により改善できると思われる。また, イシガニ抽出液に AMP, Ala, Gly, Arg を添加することにより S. C., A. C. 抽出液類似のものを作ることが可能ではないかと考えられ, より商品価値の高いものへと利用も考えられる。

謝 辞

本実験の試料を提供下さいました本学部漁法学講座の川村軍蔵教授, また, アミノ酸分析をして下さった本学部生物化学講座の山田章二先生に深く感謝申し上げます。

参 考 文 献

- 1) 三宅貞祥 (1983): 原色日本大型甲殻類図鑑 (Ⅱ). 保育社, 大阪, pp. 85-86.
- 2) S. Konosu, K. Yamaguchi and T. Hayashi (1978): Studies on Flavor Components in Boiled Crabs- I Amino acids and related compounds in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**, 505-510.
- 3) T. Hayashi, K. Yamaguchi and S. Konosu (1978): Studies on Flavor Components in Boiled Crabs- II Nucleotides and organic bases in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**, 1357-1362.
- 4) T. Hayashi, A. Asakawa, K. Yamaguchi and S. Konosu (1979): Studies on Flavor Components in Boiled Crabs- III Sugars, organic acids, and minerals in the extracts. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **45**, 1325-1329.
- 5) 山口勝巳・渡辺勝子 (1988): 魚介肉の味とエキス成分。「魚介類のエキス成分」(坂口守彦編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 66-76.
- 6) 菅原 潔・副島正美 (1981): タンパク質の定量法・第2版 (瓜谷郁三・志村憲助・中村道徳・船津 勝編), 生物化学実験法7, 学会出版センター, 東京, pp. 25-38.
- 7) 桂 敬 (1976): 分析化学 I (中埜邦夫・吉野論吉編). 新実験化学講座9, 丸善, 東京, pp. 240-243.
- 8) C. H. Fiske and Y. Subbarow (1925): The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66**, 375-400.
- 9) A. Saifer (1971): Comparative study of various extraction methods for the quantitative determination of free amino acids from brain tissue. *Anal. Biochem.*, **40**, 412-423.
- 10) 吉沢善作 (1976): 糖質の化学 (日本生化学会編). 東京化学同人, 東京, pp. 12-18.
- 11) 須山三千三 (1974): 非タンパク態窒素成分を定量するための組織抽出液の調製。「水産生物化学・食品学実験書」(齊藤恒行・内山 均・梅本 滋・河端俊治編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 2-7.