

水産食品의 加工 및 保藏中の 核酸 關聯物質의 變化에 관한 研究*

3. 붕장어 天日乾燥中の 核酸關聯物質의 變化

李 應 昊 · 韓 鳳 浩

釜山水産大學 食品工學科

Degradation of Nucleotides and Their Related Compounds in Sea Foods during Processing and Storage

3. Degradation of Nucleotides and Their Related Compounds in Conger-eel *Astroconger myriaster* Muscle during Drying

by

Eung-Ho LEE and Bong-Ho HAN

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

In this paper, the degradation of nucleotides and their related compounds in conger eel muscle during sun drying was studied.

The results showed that IMP was dominant in fresh conger eel, showing 75.5% of total nucleotides while the contents of ATP, ADP, AMP, inosine and hypoxanthine were low.

The nucleotides tended to degrade rapidly during drying, only 6.2% of IMP remained after seven days' sun drying and ATP, ADP and AMP were also entirely disappeared.

In consideration of flavor quality, it was consumed that sun drying is not an effective processing method of conger eel, as far as IMP is concerned.

머 리 말

魚類 低溫貯藏中の 酸可溶性 核酸關聯物質의 變化에 대하여 Saito(1957, 1958)의 잉어 凍結貯藏中の 核酸關聯物質의 變化에 관한 研究, Dyer 등 (1966, 1969)의 황새치 氷藏 및 凍結中の 核酸關聯物質의 變化에 관한 研究, Fujii 등(1966)의 넙치 氷藏中の 核酸關聯物質의 變化에 관한 研究, Dugal(1967)의 氷藏한 담수어의 hypoxanthine에 관한 研究, Fraser 등(1968a, 1968b)의 産卵期の 淸연어의 氷藏 및 0°C 부근에서 高등어를 貯

藏하였을 때의 核酸關聯物質의 變化에 관한 研究, Nowlan 등(1969)의 대구 凍結中の 核酸關聯物質의 變化에 관한 研究 등이 있다. 그리고 乾燥中の 變化에 대하여 Fujita 등(1959, 1960)의 katsubushi 製造過程中の ATP 分解生成物에 관한 研究 및 전갱이 素乾中の IMP(inosinic acid) 變化에 관한 研究가 있고, Lee (1967, 1968)는 고등어 및 전갱이를 天日乾燥, 熱風乾燥 및 凍結乾燥하였을 때의 IMP 變化에 관하여 報告하였으 며, 또한 Lee 등(1971a, 1971b)의 멸치 및 冷凍명태 乾燥中の 核酸關聯物質의 變化에 관한 報告 등이 있다.

* 제1보: 한국수산학회지, 4(1) 31-41(1971)
제2보: 한국식품과학회지, 4(2) 116-122 (1972)

그러나 우리나라에서 옛부터 생선회 또는 乾製品으로 애용되어 왔고, 最近에 이르러서는 活鮮魚로 輸出도 되고 있는 붕장어의 核酸關聯物質에 대한 報告는 찾아 보기 힘들다. 그래서 이와 같은 傳統있는 우리나라 食品의 核酸關聯物質에 대한 食品學的인 基礎資料를 얻고, 나아가서 기존 加工法의 改善 내지는 새로운 加工法의 開發策을 講究하기 위하여 붕장어의 鮮魚 및 天日乾燥中의 核酸關聯物質의 變化를 實驗하였다.

實驗材料 및 方法

1. 材料

1971年 10月 28日 慶南 가덕도 近海에서 漁獲한 體長 70cm, 體重 450g의 붕장어 *Astroconger myriaster* 를 海水가 잘 순환되는 水槽에서 4日間 蓄養한 후 살아 있는 것을 實驗에 使用하였다.

2. 試料處理

껍질을 벗긴 후 內臟을 제거하고 fillet로 한 다음, 한쪽 fillet는 生體試料, 다른쪽 fillet는 天日乾燥 試料로 使用하였다.

3. 天日乾燥 試料의 製造

試料 fillet를 나일론 그물 위에 얹어 通風이 잘 되는 곳에서 7日間 天日乾燥하였다(15~18°C).

4. 核酸關聯物質의 抽出

(1) 生體試料 混合磨碎한 生體試料 약 10g를 精稱하여 冷 10%PCA(perchloric acid)50ml를 加하여 氷冷하면서 homogenizer에서 20分間 homogenize한 후 4000 r. p. m. 에서 10分間 遠沈하여 上澄液을 分取하였다 殘渣는 45ml의 冷 5%PCA溶液을 加하여 氷冷하면서 앞에서와 같은 方法으로 15分間 homogenize한 후 10分間 遠沈하여 上澄液을 分取하였다.

이 再抽出 操作을 한번 더 反復하고 分取한 上澄液을 모두 合하여 冷 5N-KOH로서 中和하고, 生成된 KClO₄ 침전은 4000 r. p. m. 에서 10分間 遠沈하여 上澄液과 分離하였다. 침전은 冷水로 세척하고 다시 遠沈한 다음 세척액은 上澄液과 合하여 150ml로 定容한 후 一定量을 取하여 實驗에 使用하였다(Nakajima 등, 1961; Lee 등, 1971a).

(2) 天日乾燥試料 試料를 mortar에서 磨碎하여 粉末로 한 후 生體試料때와 같이 處理하였다(Lee 등, 1971a).

5. ion exchange column chromatography

(1) ion exchange resin column formic form으로 바꾼 Dowex-1, ×8(200~400 mesh)를 하단이 glass filter No.4로써 봉해진 內徑 1cm, 길이 20cm의 Liebig's condenser 형태의 jaketed column에 6cm 높이로 채우고, 약 10배량의 2M-formic acid와 2M-sodium

formate의 混合液을 흘린 후, 세척액이 中性이 될때까지 수세하여 實驗에 使用하였다(Lee 등, 1971a).

(2) 分劃溶出 Bergkvist 등(1954), Nakajima 등(1961)의 方法을 조금 改良한 Lee 등(1971a)의 方法에 따라 stepwise elution system에 의하여 分劃溶出하였다. 즉 試料의 PCA抽出液 一定量을 ammonia水로서 pH 9.4로 조절한 후 冷却하면서 樹脂 表面이 흐트러지지 않도록 column에 定量的으로 吸着시키고 少量의 물로서 水세한 후 다음과 같은 溶離液을 차례로 흘렸으며, 溶出液과 column은 low temperature thermostat를 사용하여 2~3°C로 維持시켰다.

- 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

이때 溶出速度는 1ml/min로 하고, fraction collector (MRK, model 4-66 TVD)를 사용하여 10ml씩 分劃하였다. column과 연결된 分液받대기의 上部는 大型 유리병 A의 上部와 고무관으로 연결하고, 물을 넣은 다른 大型 유리병 B로부터 A에 물을 떨어뜨려 壓力을 조절하여 流出速度를 一定하게 하였다.

(3) inosine과 hypoxanthine의 分別定量 Arai 등(1963), Seki 등(1969)의 方法을 조금 改良한 Lee 등(1971a)의 方法에 따라 Dowex-1, ×8(200~400 mesh, chloric form)을 6cm 높이로 column에 채우고, 염소이온 반응이 없을 때까지 水세한 다음 inosine과 hypoxanthine의 混合劃分을 ammonia水로서 pH10~11로 조절하여 column에 吸着시킨 후 다음과 같은 溶離液을 사용하여 stepwise elution system으로 分劃溶出시켰다.

- 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 collector를 사용하여 10ml씩 상온에서 分劃하였다.

(4) 吸光度 測定 및 濃度計算 各劃分은 해당 溶離液을 제조액으로 하여 spectrophotometer(Hitachi Perkin-Elmer 139 UV-vis)로서 260mμ에서 吸光度를 測定하였고 吸光度가 큰 것은 250mμ 및 280mμ에서도 測定하였다.

濃度는 分子吸光係數를 사용하여 計算하였다. ATP, ADP, AMP는 pH2배의 값인 14.2×10³을 IMP와 inosine은 pH2~7배의 값인 7.4×10³(Ehira 등, 1970)을 hypoxanthine은 10.4×10³(Arai 등, 1963)을 사용하였다.

6. 各分劃成分의 同定

(1) 溶出位置의 比較 column으로 부터의 溶出位置를 標準物質의 그것과 比較하였다.

(2) 吸光比의 比較 250m μ , 260m μ , 280m μ 에서의 吸光度의 比 즉 E250/E260 및 E280/260을 文献值 (Ehira 등, 1970)와 比較하였다.

(3) thin-layer chromatography(TLC) Avicel SF (American Viscose Co. 제) 10g를 30ml의 물과 함께 homogenizer로 15초동안 교반한 후 Kirchner-type의 TLC 박층 제조 장치로서 유리판위에 0.25mm의 박층을 만든후 40°C以下에서 乾燥시켜 實驗에 使用하였다. 各 劃分은 rotary vacuum evaporator로서 30°C이하에서 증발 농축시켜 同定用 試料로 使用하였다. 標準物質과 各 劃分을 同時에 0.15M-NaCl 溶液을 展開溶媒로 하여 90분간 展開한 후 室溫에서 乾燥시켜 暗室에서 UV-lamp로서 자외선 (2536Å)을 照射하여 spot의 位置를 確認하였다(stahl, 1963).

(4) Periodate oxidation 濃縮한 劃分을 Whatman

No.1 여지에 吸着시킨 다음 spot 부위에 1% sodium metaperiodate 溶液을 분무하여 室溫에 10分間 放置한 후 SO₂ gas를 處理하고 다음에 Schiff's reagent를 분무하여 85~90°C에서 10분간 加熱하였다. 이 때 靑紫色 spot가 나타나면 ribonucleoside 혹은 5'-ribonucleotide 임을 確認하였다.

結果 및 考察

1. 標準物質의 分割定量

ATP(第一藥品株式會社製), ADP(Sigma Chemical Co.製), AMP(Takara Kosan Co.製), IMP(Ajinomodo Co.製) inosine 및 hypoxanthine(和光純藥工業株式會社製)의 混合溶液을 만들어 ion exchange column chromatography를 행하여 Fig. 1-a, b와 같은 溶離曲線을 얻었으며, 定量한 結果 回收率은 Table 1과 같다. 단, inosine 및 hypoxanthine의 回收率은 分別定量

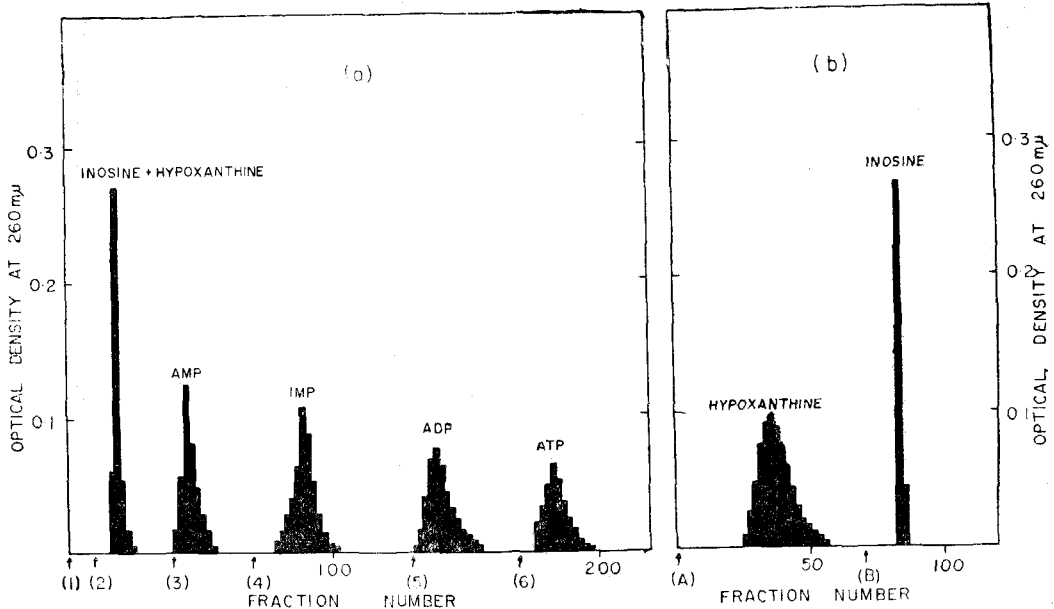


Fig. 1. (a) Elution diagram of nucleotides and their related compounds from the mixture of authentic ATP, ADP, AMP, IMP, inosine and hypoxanthine. Exchanger: Dowex-1, X8, 200-400 mesh, formic form, 1cm×6cm. Fraction size: 10ml. Flow rate: 1ml/min. Eluting solution:

- (1) H₂O,
- (2) 0.005N-FA
- (3) 0.1N-FA
- (4) 0.1N-FA+0.08N-SF
- (5) 0.1N-FA+0.7N-SF
- (6) 0.2N-FA+1N-SF

(b) Rechromatography for separation of inosine and hypoxanthine, mixture of inosine and hypoxanthine was fractionated from the mixture of authentic inosine, hypoxanthine, AMP, IMP, ADP and ATP.

Exchanger: Dowex-1, X8, 200-400 mesh, chlnric form, 1cm×6cm. Fraction size: 10ml. Flow rate: 0.5ml/min. Eluting solution:

- (A) 0.1N-NH₄OH+0.07N-HCl+0.005N-Na₂B₄O₇
- (B) 0.001N-HCl+0.0002N-Na₂B₄O₇

을 거친 값이다.

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 (%)
hypoxanthine	3.3	3.2	97.5
inosine	2.2	2.1	96.3
IMP	7.7	7.8	101.2
AMP	3.2	3.3	102.1

2. 試料抽出液의 分割定量

各 試料 抽出液에 대하여 ion exchange column chromatography를 행한 結果를 乾物重量 基準으로 溶離曲線을 그리면 生体試料는 Fig. 2-a, b, 天日乾燥試料는 Fig. 3-a, b와 같다.

Fig. 1~Fig. 3 및 Table 1의 結果를 보면 試料의 各 劃分의 溶出位置는 標準物質의 그것과 잘 一致하였으 며, E250/E260 및 E280/E260의 吸光比도 文献値와 比較的 잘 一致하였다.

또한 TLC를 行한 結果도 Fig. 4와 같이 各劃分의 Rf값이 標準物質의 그것과 잘 一致하였다. Fig. 2-b 및 Fig. 3-b의 X劃分은 溶出位置로 보아 Tarr등(1965) 이 새우에서 Hiltz등(1970)이 가리비에서 確認한 homarine과 유사한 物質이라 推測되지만 TLC에서 spot가 나타나지 않아 同定하지 못하였다.

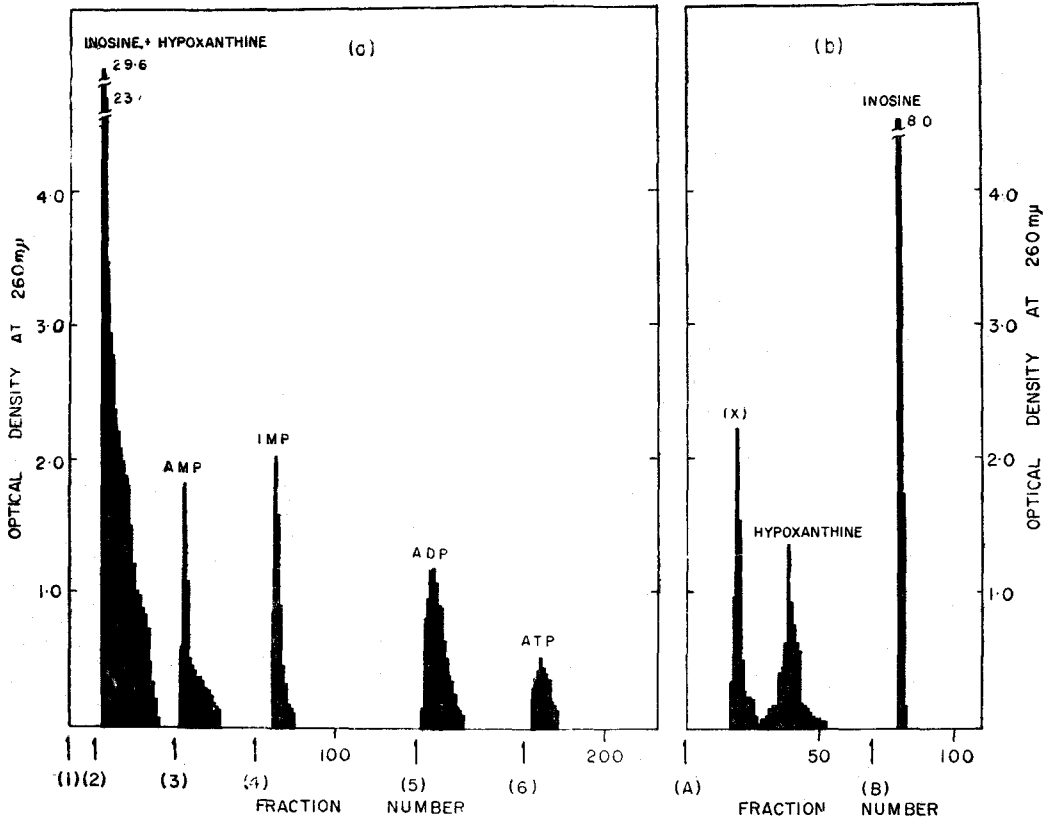


Fig. 2. (a) Elution diagram of acid soluble nucleotides and their related compounds in extract of fresh muscle of conger eel(1.7368g, dry base). Experimental conditions were same as in Fig. 1-a

(b) Rechromatography for separation of inosine and hypoxanthine was fractionated from extract of fresh muscle of conger eel (1.7368g, dry base). Experimental conditions were same as in Fig. 1-b.

(X): nonidentified fraction

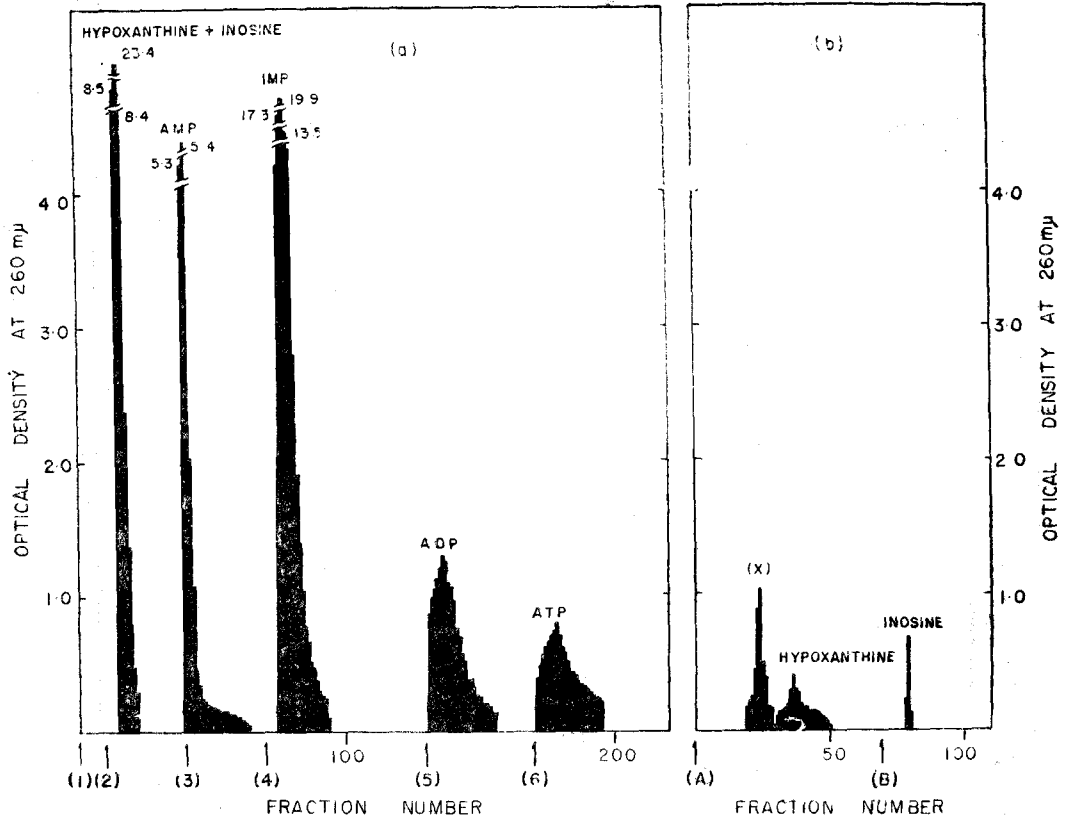


Fig. 3. a) Elution diagram of acid soluble nucleotides and their related compounds in muscle extract of sun dried conger eel (1.1596g, dry base). Experimental conditions were same as in Fig. 1-a, b.

(b) Rechromatography for separation of inosine and hypoxanthine, mixture of inosine and hypoxanthine was fractionated from muscle extract of sun dried conger eel (1.1596g dry base). (X); nonidentified fraction.

Table 2. Comparison of E250/E260 and E280/E260 absorbing ratios at pH 2 of nucleotides and their related compounds fractionated from fresh muscle of conger eel

Nucleotides and related compounds	E250/E260	E280/E260	Literature value*	
			E250/E260	E280/E260
hypoxanthine	1.63	0.06	1.40	0.07
inosine	1.72	0.22	1.63	0.24
IMP	1.70	0.25	1.63	0.24
AMP	0.86	0.19	0.85	0.22
ADP	0.85	0.20	0.85	0.22
ATP	0.86	0.19	0.85	0.22

* Ehira et al, 1970

3. 봉장어 天日乾燥中の 酸可溶性 核酸關聯物質의 變化

試料中の nucleotides 및 그 關聯物質의 含量은

Table 3. Content of acid soluble nucleotides and their related compounds in fresh and sun dried conger eel muscle

Nucleotides and related compounds	(μ moles/g. dry base)	
	Fresh	Sun dried
hypoxanthine	3.62	10.03
inosine	1.54	18.71
IMP	16.91	1.04
AMP	2.11	0.60
ADP	1.97	0.80
ATP	1.42	0.28

Table 3과 같다.

살아 있는 봉장어를 生体試料로 使用하였는에도 不拘하고 ATP의 量이 적은 것은 漁獲後 水槽에 있는 동안에 피로도가 커서 ATP가 많이 消失되었

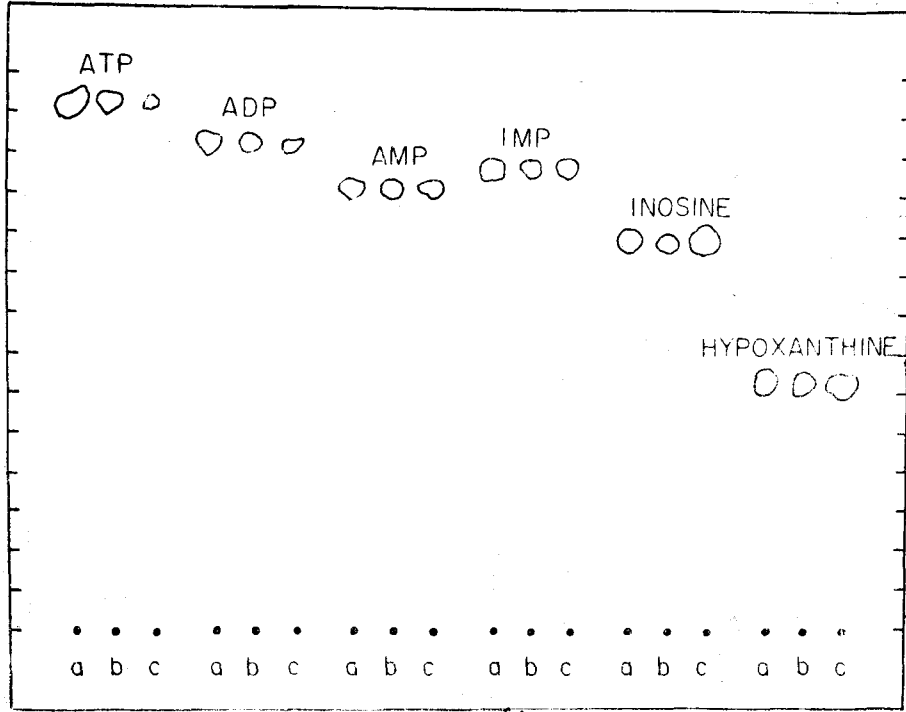


Fig. 4. Thin-layer chromatogram of nucleotides and their related compounds of fresh and sun dried conger eel muscle.

Layer: Avicel SF(0.25mm)

Solvent: 0.15M-NaCl

Time of run: 90min

a: standard substances

b: fractions from the extracts of fresh muscle

c: fractions from the extracts of sun dried muscle

기 때문이라 생각된다. ADP와 AMP의 함량이 낮은 것은 ATP 분해經路를 거치는 동안에 生成된 ADP와 AMP의 phosphatase 및 deaminase의 活性이 强하여 IMP로 分解되었기 때문이라 보아지며(Saito등, 1957; Tomiyama등, 1966a), IMP의 蓄積現象은 Saito등(1957)이 指摘한 바와 같이 IMP dephosphorylase의 活性이 AMP deaminase보다 약하여 IMP의 dephosphorylation이 천천히 일어나기 때문이라 추정된다. 우리나라에서 옛부터 붕장이 生선회를 즐겨 먹어온것도 이러한 IMP의 含量과 呈味性에 密接한 關係가 있었다고 볼 수 있다. 그러나 Tomiyama등(1966b)이 놀래기에서 確認한 바와 같이 魚種에 따라서는 AMP 蓄積型도 있다고 한다. 生体試料과 天日乾燥 試料을 比較하여 보면, 生体에 少量存在하던 ATP, ADP, AMP는 乾燥中 거의 完全히 分解되었다. 特히 生体에 있어서는 總 nucleotides中 75.5%에 달하던 IMP가 乾燥中 그 量이 1/16로 減少함에 反하여 inosine은 12배, hypoxanthine은 3배로 增

加하였다. 이는 生体에서 蓄積되었던 IMP가 時間이 경과 함에 따라 筋肉内の 5'-nucleotide phosphatase에 의하여 점차 inosine과 hypoxanthine으로 分解한 것이라 생각할 수 있으며, Lee등(1971a)이 멸치를 素乾하였을 때의 結果와 같은 傾向이었다.

Ehira등(1969)은 魚類를 inosine 蓄積型 hypoxanthine 蓄積型 및 그 中間型으로 나눌 수 있다고 報告하는데, 붕장어의 경우는 inosine과 hypoxanthine이 모두 增加하였으나, 增加 比率로 보아 inosine 蓄積型이라고 보아진다. 全体的으로 보아 生体の nucleotides는 乾燥中 거의 消失되었으며, IMP의 生試料에 대한 殘存率은 6.2% 밖에 되지 않았다. 이는 5'-mononucleotides가 魚類의 呈味性에 重要한 구실을 하며(Kuninaka, 1960), IMP dephosphorylation은 肉의 呈味性을 低下시킨다는 Fraser등(1968b)의 報告 및 ATP, AMP도 肉中の 아미노산과 함께 맛을 내는 相乘作用이 있다는 Hashimoto(1964)의 報告등으로 미루어 보아 呈味

성이 심하게 低下되었다고 볼 수 있다. 또 hypoxanthine이 쓴맛을 나타낸다고 하는 報告(Kassermarsarn 등, 1963), inosine과 hypoxanthine이 모두 맛이 없다는 報告(Komata, 1964)와 inosine이 전혀 맛이 없다는 Kuninaka(1967)의 報告 및 IMP의 含量이 많을수록, hypoxanthine 含量이 적을수록 맛이 좋다는 Frasser 등(1968b)의 報告로 미루어 보아 flavor quality면으로 판단한다면 天日乾燥는 붕장어의 加工法으로서 効果의인 方法이 못된다고 할 수 있다.

要 約

붕장어의 鮮魚 및 天日乾燥中의 酸可溶性 核酸關聯物質의 變化를 實驗하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 생붕장어에는 IMP含量이 월등하게 많았고, ATP, ADP, AMP 및 inosine, hypoxanthine은 量이 적었다.
2. 天日乾燥中 ATP, ADP, AMP는 거의 完全히 消失되었고, 生原料中에 가장 많았던 IMP(16.9 μ moles/g, dry base)도 1/16로 減少하였다. 한편 inosine은 12배로 hypoxanthine은 약 3배로 增加하였다.
3. flavor quality 면으로 판단한다면 天日乾燥法은 붕장어 加工法으로서 効果의인 方法이 못된다고 볼 수 있다.

文 獻

- Arai, K. and Saito T. 1963. Determination of adenine, hypoxanthine, adenosine and inosine by ion exchange chromatography. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **29**, 168-173.
- Bergkvist, R. and A. Deutsch. 1954. Ion exchange chromatography of nucleoside polyphosphates. Acta. Chem. Scand. **8**, 1877-1879.
- Dugal, L. C. 1967. Hypoxanthine in iced fresh water fish. J. Fish. Res. Bd. Canada. **24**, 2229-2239.
- Dyer, W. J., D. I. Fraser and D. P. Lohness. 1966. Nucleotide degradation and quality in ordinary and red muscle of iced and frozen swordfish(*Xiphias gladius*). J. Fish. Res. Bd. Canada. **23**, 1821-1823.
- Dyer, W. J. and D. I. Hiltz. 1969. Nucleotide degradation in frozen swordfish muscle. J. Fish. Res. Bd. Canada. **26**, 1957-1603.
- Ehira, S. and H. Uchiyama. 1969. Rapid estimation of freshness of fish by nucleoside phosphorylase and xanthine oxidase. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **35**, 1080-1085.
- Ehira, S., H. Uchiyama, F. Uda and H. Matsumiya. 1970. A rapid method for determination of the acid-soluble nucleotides in fish muscle by concave gradient elution. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **36**, 491-496.
- Fraser, D. I., S. C. Simpson and W. J. Dyer. 1968a. Very rapid accumulation of hypoxanthine in the muscle of red fish stored in ice. J. Fish. Res. Bd. Canada. **25**, 817-821.
- Fraser, D. I., D. P. Pitts and W. J. Dyer. 1968b. Nucleotide degradation and organoleptic quality in fresh and thawed mackerel muscle held at and above ice temperature. J. Fish. Res. Bd. Canada. **25**, 259-253.
- Fujii, Y., H. Uchiyama, S. Ehira and E. Noguchi. 1966. Change of nucleotide substances in plaice muscle during ice storage. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **32**, 410-416.
- Fujita, T. and Y. Hashimoto. 1959. Inosinic acid content of foodstuffs-II. Kastuwobushi (dried bonito). Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **25**, 312-315.
- Fujita, T. and Y. Hashimoto. 1960. Inosinic acid content of foodstuffs III. Marine products. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **26**, 907-910.
- Hashimoto, Y. 1964. Taste giving substances in marine products. FAO symposium on the significance of fundamental research in the utilization of fish. Husum, Germany, Paper No. WP/116.
- Hiltz, D. F. and W. J. Dyer. 1970. Principal acid-soluble nucleotides in adductor muscle of the scallop *Placopecten magellanicus* and their degradation during postmortem storage in ice. J. Fish. Res. Bd. Canada. **27**, 83-92.
- Kassemarsarn, B., B. S. Perez, J. Murray and N. R. Jones. 1963. Nucleotide degradation in the muscle of iced haddock, lemon sole and plaice. J. Food Science. **28**, 28-37.

- Komata, Y. 1964. Studies on the extractives of "Uni" -IV. Taste of each component in the extractives. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **30**, 749-756.
- Kuninaka, A. 1960. Studies on taste of ribonucleic acid derivatives. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **34**, 489-492.
- Kuninaka, A. 1967. Flavor potentiators. From Schultz, H. W., E. A. Day and L. M. Libbey. 1967. The chemistry and physiology of flavors. AVI Pub. Co. pp. 515-535.
- Lee, E. H., C. Koizumi and J. Nonaka. 1967. Studies on the taste and texture of dehydrated marine foods-2, Changes of taste compounds of sea foods during dehydration., presented at the annual meeting of the Japan. Soc. Sci. Fish., April.
- Lee, E. H. 1963. A study on taste compounds in certain dehydrated sea foods. Bull. Pusan Fish. Coll. **8**, 63-86.
- Lee, E. H. and Y. H. Park. 1971 a. Degradation of acid soluble nucleotides and their related compounds in sea foods during processing and storage. I. Changes of nucleotides during drying process of the anchovy, *Engraulis japonica*. Bull. Korean Fish. Soc. **4**, 31-41.
- Lee, E. H., B. H. Han, Y. K. Kim, S. T. Yang and Y. H. Park. 1971 b. Degradation of acid soluble nucleotides and their related compounds in sea foods during processing and storage. 2. Changes of nucleotides of Alaska pollack during hot-air dehydration and storage. Korean Soc. Food Sci. Technol. **4**, 116-122
- Nakajima, N., K. Ichikawa, M. Kodama and E. Fujita. 1961. Food chemical studies on 5-ribonucleotides. Part II. On the 5'-ribonucleotides in foods. (2) 5'-ribonucleotides in fishes, shellfishes and meats. J. Agr. Chem. Soc. Japan. **35**, 803-808,
- Nowlan, S. S. and W. J. Dyer. 1969. Glycolytic and nucleotide changes in the critical freezing zone, -0.3 to -5°C, in prerigor cod muscle frozen at various rates. J. Fish. Res. Bd. Canada. **26**, 2621-2632.
- Saito, T. and K. Arai. 1957. Studies on the organic phosphates in muscle of aquatic animals-V. Changes in muscular nucleotides of carp during freezing and storage. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **23**, 265-268.
- Saito, T. and K. Arai. 1958. Further studies of inosinic acid formation in carp muscle. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **24**, 579-580.
- Seki, N., T. Kanaya and T. Saito. 1969. Studies on the organic phosphates in viscera of aquatic animals-IV. An improved method for the determination of purines, pyrimidines and nucleosides. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **35**, 690-694.
- Stahl, E. 1969. Thin-layer chromatography. Springer-Verlag Berlin. Heidelberg. New York, pp. 34-36, 797-801.
- Tarr, H. L. A. and A. G. Comer. 1965. Nucleotides and related compounds, sugars, and homarins in shrimp. J. Fish. Res. Bd. Canada. **22**, 307-311.
- Tomiyama, T., K. Kobayashi, K. Kitahara, E. Shiraishi and M. Ocha. 1969 a. A study on the changes in nucleotides and freshness of carp muscle during the chill-storage. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **32**, 262-266.
- Tomiyama, T., K. Kobayashi, K. Kitahara and M. Kohashi. 1966 b. A study on change in nucleotides of muscle of wrasse kept in chill storage. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. **32** 600-604.