黒緑豆タンパク質画分とその発芽過程における変化について

吉田 恵子*, 四十九院 成子**, 福場 博保**

* 土浦短期大学

** お茶の水女子大学生活環境研究センター

Fractions of Black Matpe Proteins and Their Changes during Germination

Keiko YOSHIDA,* Shigeko TSURUSHIIN** and Hiroyasu FUKUBA**

*Tsuchiura Junior College, Tsuchiura, 300

**Institute of Environmental Science for Human Life, Ochanomizu University, Bunkyo-ku, Tokyo, 112

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 39, 415~421 (1986)

Storage protein in black matpe which is employed as a material for "Moyashi" (bean sprouts) was extracted and fractionated. The percentage of globulin (NaCl soluble fraction) and albumin (water soluble fraction) was 70% and 28%, respectively, of the total protein. Amino acid analyses of globulin and albumin indicated that two fractions had similar amino acid composition characterized by high contents of glutamic acid and aspartic acid and by extremely low contents of cysteine and methionine.

Crude globulin fraction was separated into four fractions (α , β , γ and δ) by column chromatography on Sephadex G-150. β -Globulin (M.W., 160,000) was the main protein of the globulin. The β -globulin was eluted as one sharp peak by ion-exchange chromatography on a DEAE-Sephadex column. However, this peak was separated into three bands on polyacrylamide gel electrophoresis.

Following the germination, a gradual decrease in protein contents, and increase of soluble nitrogen and soluble amino acid were confirmed. The following changes were also observed for protein; the decrease of bands migrated to anode by polyacrylamide gel electrophoresis, the increase of bands of lower molecular weight's proteins by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis, and the changes of elution profiles at lower molecular weight areas to be more broad by column chromatography on Sephadex G-150 and ion-exchange chromatography on DEAE-Sephadex.

(Received January 27, 1986)

豆科植物の種子は、一般にタンパク質含量が豊富で重要なタンパク質の給源である。わが国でのもやしの原料豆として大部分を占める黒緑豆もタンパク質含量が22.8%とかなり多い。森¹⁾は、黒緑豆もやしについて食品学、調理学、商品学的に考察し、近藤らは発芽過程での中性脂質画分の変動²⁾、ステロール配糖体の変動³⁾について、さらに山本⁴⁾らは発芽過程における子葉タンパク顆粒の変化とアミラーゼ活性について報告している。しかしタンパク質含量が多いにもかかわらず、黒緑豆の貯蔵タンパク質それ自体の研究はなされていない。著者らはこれまでに、黒緑豆のプロテアーゼインヒビター⁵⁾、ならびに黒緑豆のプロテアーゼ⁶⁾⁷⁾についての研究を行ってきた。今回はこれらの研究の一環として黒緑豆の

貯蔵タンパク質の分析を試みた。

同時に黒緑豆の発芽体、すなわち黒緑豆もやしについて発芽中の貯蔵タンパク質の変化についても検討した。豆類の発芽過程でのタンパク質の変化については大豆発芽体について Catsimpoilas⁸⁾ がディスク電気泳動法および免疫電気泳動法を用いて検討している。また、浅野⁹⁾も、大豆について検討し日数経過とともにグロブリンの 11S 成分が減少し低分子化していくことを示唆している。緑豆もやしのタンパク質については亀山¹⁰⁾が報告しているが、その発芽中の変化については報告していない。豆の発芽過程での貯蔵タンパク質の変化をみることは植物体内でのタンパク質の分解、合成を明らかにするために不可欠のことであり、また酵素との関連などもあわせて検討することができるのでたいへん興味深く種子の発芽機作解明に寄与するものと思われる。同時

* 〒300 土浦市真鍋 6-7-10

** 〒112 東京都文京区大塚 2-1-1

に豆類の加工、貯蔵および調理の面でも重要な知見をもたらすものと考えられる。

実験方法

1. 実験材料

黒緑豆（ブラックマッペ, *Vigna mungo*, 旧学名 *Phaseolus mungo* L. var *radiatus* Bak）はタイ国産の輸入品をもちし業者を通じて購入した。電動ミルで粉碎後 60 メッシュのふるいを通し粉末試料とした。原料豆の一般成分は水分 10.5%, タンパク質 22.8%, 脂質 1.8%, 炭水化物 61.7%, 灰分 3.2%¹⁾であり、四訂食品成分表に示されている緑豆の成分値とは若干異なった値である。

2. もやしの発芽条件

黒緑豆 10 g を正確に秤取し水洗した後、50°C の湯浴中で 1 時間浸漬後 24°C の恒温器中で適宜水を加えながら発芽させた。発芽日数は 1, 2, 3, 5, 7 日の 5 種とした。

3. 黒緑豆タンパク質および黒緑豆もやしタンパク質の抽出、分画方法

黒緑豆粉末試料およびもやし試料に 6 倍量の 0.5 M 塩化ナトリウム溶液を加え室温で 1 時間攪拌抽出し、13,000 g で 10 分間遠心分離を行ない上澄液をタンパク質溶液とした。また、タンパク質の分画は Chen and Bushuk の方法¹¹⁾によった。

4. タンパク質量、総窒素量および可溶性窒素量の測定

各画分抽出液中およびもやし抽出液のタンパク質量は、ウシ血清アルブミン(NBC)を標準タンパク質として Lowry ら¹²⁾の方法に従って求めた。総窒素量はマイクロケルダール法¹³⁾を用いて測定した。可溶性窒素については 10% トリクロール酢酸 (TCA) をタンパク質溶液の 1/2 量加え 30 分放置後、13,000 g で 10 分間遠心分離を行ない上澄液について可溶性窒素量をマイクロケルダール法¹³⁾にて測定した。また、カラム溶出液中のタンパク質量については 280 nm の吸収から求めた。

5. アミノ酸の定量

Yemm and Cocking¹⁴⁾ のニンヒドリン法によって行なった。

6. アミノ酸分析

日立 835 型アミノ酸自動分析機を用い分析した。加水分解は 4 N メタンスルホン酸¹⁵⁾を用い、125°C で 24 時間行なった。

7. ゲルろ過およびイオン交換体

あらかじめ 0.01 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) で平衡化した Sephadex G-150 (Pharmacia) をカラム (2×51 cm) に充填し、19.5 ml/hr の流速で同緩衝液を

用いゲルろ過を行なった。またイオン交換体については DEAE-Sepharose イオン交換体 (Pharmacia) を用い、0.01 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.0) で平衡化後カラム (1.6×20.5 cm) に充填し試料を吸着させ、溶出は同緩衝液中で食塩による直線濃度勾配法を用い、流速は 57.5 ml/hr とした。

8. クロマトフォーカシング

クロマトフォーカシング用に開発された Pharmacia 社の試薬を用いた。ポリバッファー交換体は PBE 94 を用いた。開始バッファーとして 0.025 M イミダゾール-HCl (pH 7.4), 溶出バッファーとしてポリバッファー 74-HCl (pH 4.0) を用い、pH 勾配が 7~4 になる条件下で行なった。カラムサイズは 1.66×10 cm, 溶出速度は 37.5 ml/hr とした。分画は 2.5 ml とし UV モニターに接続して溶出液の 280 nm の吸光度を自記記録した。

9. 紫外外部吸収スペクトルの測定

ダブルビーム分光光電光度計 (島津製作所, UV180 型) にて紫外外部吸収曲線を求めた。

10. ポリアクリルアミドゲル (PAG) ディスク電気泳動

Davis¹⁶⁾ の方法により 7.5%, pH 9.4 の PAG を調製し室温で泳動した。

11. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動

Weber and Osborn¹⁷⁾ の方法に従い行なった。標準タンパク質としてウシ血清アルブミン (M.W. 67,000, Pharmacia), 卵白アルブミン (M.W. 45,000, 生化学工業), キモトリプシンノーゲン (M.W. 25,000, Sigma), チトクローム c (M.W. 12,500, 三共) を用いた。

実験結果および考察

1. 黒緑豆タンパク質の分画

予備実験により、0.5 M 塩化ナトリウム溶液でのタンパク質の抽出率が最も高かったのをこれを用いた。Chen and Bushuk の方法¹¹⁾に従い溶解度の違いによる分画を行なった。その結果を Table 1 に示した。各画分のタンパク質量比は水溶性画分 (アルブミン画分) は

Table 1. Fractionation of black matpe protein.

Protein fraction	Total extracted protein (mg)	Percent of extractable protein (%)
Albumin	494	27.6
Globulin	1,254	70.1
Prolamin	32	1.8
Glutelin	9	0.5

27.6%, 0.5 M 塩化ナトリウム溶液可溶画分 (グロブリン画分) は 70.1% であり全抽出タンパク質の 2/3 以上を占めていた。

栽培植物の貯蔵タンパク質のおもなものには、単子葉植物である米に存在するグルテリン, あるいはとうもろこしに存在するプロラミン, また双子葉植物である大豆, 小豆, アサなどに存在するグロブリンがある。大豆¹⁸⁾, 小豆¹⁹⁾のグロブリンについては詳細な研究がなされている。この黒緑豆の場合も主要タンパク質はグロブリンであることが明らかになった。一方, 黒緑豆の場合アルブミン画分も 28% とかなり存在しているのが特徴的である。

2. アミノ酸組成

黒緑豆のタンパク質の大部分を占めるアルブミンとグロブリンについて検討し, 結果を Table 2 に示した。対照として森¹⁾の報告している黒緑豆の全タンパク質のアミノ酸組成も掲げた。アルブミン, グロブリン, 全タンパク質ともその組成においては同様の傾向を示している。すなわちグルタミン酸, アスパラギン酸の含量が多く, 小麦²⁰⁾などに比べ, リジン, アルギニンの含量が多

Table 2. Amino acid composition of albumin, globulin and black matpe protein.^{a)}
(%)

Amino acid	Protein fraction		Black matpe protein ^{b)}
	Albumin	Globulin	
Lysine	9.0	9.8	6.8
Histidine	1.4	1.8	2.6
Arginine	6.6	6.5	4.8
Aspartic acid	12.6	11.8	10.8
Threonine	6.0	2.3	3.9
Serine	6.1	5.4	7.3
Glutamic acid	15.1	16.6	17.9
Proline	2.6	6.0	2.9
Glycine	6.3	3.2	9.7
Alanine	5.2	2.6	8.4
1/2 Cystine	0.8	0.3	0.2
Valine	6.1	5.9	5.3
Metionine	0.4	1.1	1.2
Isoleucine	5.2	4.8	4.1
Leucine	7.4	8.7	7.5
Tyrosine	4.7	3.7	2.1
Phenylalanine	4.6	9.5	4.4

^{a)} Tryptophan was not determined.

^{b)} Data from Mori.¹⁾

い。またプロリンは少なく含硫アミノ酸であるメチオニン, システインも少ない。これは大豆¹⁾, 緑豆¹⁾などと同じ傾向を示している。

3. グロブリンの精製

大豆グロブリンの精製においては超遠心分析が用いられ沈降定数を異にする四成分 (2S, 7S, 11S, 15S) が存在することが確認され²¹⁾, ゲルろ過およびディスク焦点電気泳動で得られた結果を比較しても同様な四成分の存在が明らかにされている²¹⁾。そこで本実験では少量のサンプルで簡易にできる精製手段としてゲルろ過およびイオン交換クロマトグラフィーを用いた。なおすべての操作は 5°C 以下で行なった。

1) Sephadex G-150 ゲルろ過 分画したグロブリンについてゲルろ過を行ない, 同時に Andrews²²⁾の方法に準じてゲルろ過による分子量の測定を行なった。その結果, Fig. 1 に示すように四つの明瞭なピークが認められた。これを分子量の高い順に α , β , γ , δ グロブリンとした。分子量を推定すると β については 16 万程度であった。また, おおののピークについて紫外部吸収スペクトルの測定を行なった。 α と β は 280 nm に最大吸収をもち典型的なタンパク質の性質を示したが, γ と δ は 260 nm に最大吸収をもち核酸様物質の混在も考えられた。これらのことより, グロブリンは前述の四成分のうち α 画分と β 画分とからなり, Fig. 1 に示すようにピークの大きさ, 形などの点から分子量 16 万の β 画分が主要成分と考えられた。

2) DEAE-Sephacrose クロマトグラフィー ゲルろ

Fig. 1. Sephadex G-150 column chromatography of the black matpe globulin.

One ml of globulin (26.4 mg) was applied on the column (2×51 cm), equilibrated with 0.01 M Tris-HCl buffer (pH 8.0), and eluted with the same buffer. The flow rate was 19.5 ml/hr.

A, blue dextran; B, γ -globulin (M.W.=160,000); C, bovine serum albumin (M.W.=67,000); D, chymotrypsinogen (M.W.=25,000); E, cytochrome c (M.W.=12,500).

Fig. 2. DEAE-Sephadex ion-exchange chromatography of the β -globulin.

Sixty ml of the β -globulin fraction (fraction No. 30-37) obtained from Sephadex G-150 chromatography was applied on the column (1.6 $\times$ 20.5 cm), equilibrated with 0.01 M Tris-HCl buffer (pH 8.0). The β -globulin was eluted at first with the same buffer and then a linear NaCl gradient from 0 to 0.5 M in the same buffer. The flow rate was 57.5 ml/hr.

過で得られた β グロブリンを DEAE-Sephadex カラムによるイオン交換クロマトグラフィーに供した。食塩濃度勾配は 0~0.5 M とした。その結果 Fig. 2 に示すように食塩濃度 0.17~0.22 M 付近にシャープなピークが溶出した。Fig. 1 と Fig. 2 の結果で示されたように β グロブリンはクロマ的に単一のタンパク質よりなるものとの推察も可能であるが、このタンパク質の均一性を調べるためにディスク電気泳動を行なった。

3) ディスク電気泳動 粗グロブリンおよびおのおのの精製段階での α および β グロブリンについてディスク電気泳動を行ない、タンパク質の均一性を検討した (Fig. 3)。この結果、 β グロブリンは単一のタンパク質よりなるのではなく多数のタンパク質の混合物であることが明らかとなった。Fig. 3 の 4 の泳動図は DEAE-Sephadex クロマトグラフィーで溶出したシャープな部分である。カラムクロマトグラフィーにおいて単一と思われたタンパク質も電気泳動的には 4 本のバンドが認められた。そこでさらに精製を行なうために以下の操作を試みた。

4) DEAE-Sephadex 再クロマトグラフィー Fig. 2 に示したピーク部を集め、食塩濃度勾配を 0.15~0.3 M とゆるやかにして溶出を行なった。その結果を Fig. 4 に示した。Fig. 2 と同様 0.17~0.22 M 付近にシャープなピークが溶出したが、このピーク部についてディスク電気泳動を行なったところ、Fig. 3 の 5 に示したようにバンドは明瞭になってきたものも 3 本観察され

Fig. 3. Polyacrylamide gel electrophoresis of the black matpe globulin.

1, Crude globulin; 2, α -globulin (gel filtration); 3, β -globulin (gel filtration); 4, β -globulin (ion-exchange chromatography); 5, β -globulin (second ion-exchange chromatography).

Fig. 4. Second DEAE-Sephadex ion-exchange chromatography of the β -globulin.

Twenty-three ml of the β -globulin fraction (fraction No. 71-82) obtained from DEAE-Sephadex ion-exchange chromatography. Linear NaCl gradient: 0.15-0.3 M. Detailed conditions were the same as those described in the legend to Fig. 2.

た。このことより β グロブリンは 3 種のタンパク質よりなることが明らかとなった。さらにこれら 3 種のタンパク質を単離するために次の操作を行なった。

5) クロマトフォーカシング Fig. 4 のピーク部を集めクロマトフォーカシングを行なった。pH 勾配 7~4 を用い溶出させたところ pH 5.15 と pH 4.81 に二つのピークがみられた (Fig. 5)。さらに、おのおののピークについてディスク電気泳動を行なったところ、前のピークでは 3 本、後のピークでは 2 本のバンドが観察された。3 種のタンパク質の分離はなされなかったが二つのピークが溶出したことにより精製の手がかりを得たと考えられる。今後よりいっそうの精製を試み、黒緑豆グロブリンの構成を明らかにする予定である。

Fig. 5. Chromatofocusing of the β -globulin obtained from the 2nd DEAE-Sephrose ion-exchange chromatography.

Ten ml of the sample (fraction No. 22-24) was applied on the column (1.6×10 cm), equilibrated with starting buffer (0.025 M imidazole-HCl, pH 7.4). Eluting buffer was polybuffer 74-HCl (pH 4.0). The flow rate was 37.5 ml/hr.

4. 黒緑豆もやしのタンパク質について

1) 発芽過程での重量, タンパク質量, 総窒素量, 可溶性窒素量および可溶性アミノ酸量の変化について

Fig. 6 に発芽日数ごとの標記の各値の変化を示した。豆の重量は日数とともに水分を吸収し増加している。7 日目には 10 g の原料豆が総重量 74 g となり 7.4 倍となっている。一方, タンパク質量は発芽とともに減少しとくに 3 日目に急激に減少している。総窒素量についてみると発芽とともに減少はしているが 7 日発芽体においても未発芽のものに比べ 3 分の 2 は残っている。総窒素量は豆が発芽体に変化しても量的には変わらないものと予測したが, この減少は浸漬液中へ窒素の一部が流出したものである。

可溶性窒素量を示す非タンパク態窒素は発芽とともに増加している。これは豆中の貯蔵タンパク質が発芽とともに分解し可溶性窒素として遊離してきたためであろう。著者らのこれまでの研究において酸性プロテアーゼ活性, カルボキシペプチダーゼ活性, アミノペプチダーゼ活性がいずれも発芽 2 日目に最高の活性⁹⁾を示していることを考えあわせると, 豆に水分が付与され組織の軟化と膨潤により各酵素が発芽体のタンパク質に作用し分解物としての可溶性窒素が多くなるものと推察される。

TCA 可溶画分中の窒素のかなりの部分はアミノ酸として存在することが予想されるので可溶性アミノ酸量を測定したところ発芽とともに増加していた。これはタンパク質がかなり急激に低分子化されてアミノ酸が増加したものである。

Fig. 6. Changes of weight, protein contents, total nitrogen contents, soluble nitrogen contents and soluble amino acid contents in black mame during germination.

2) ディスク電気泳動 Fig. 7 に未発芽種子および一定日数発芽させたもやしの全タンパク質の泳動写真をのせた。おのおのについてタンパク質を抽出し, タンパク質量として 100 μ g を用い泳動を行なった。未発芽種子においてはタンパク質のバンドが数多く認められた。発芽にともない中央部のバンドの変化はないが陽極側のバンドが減少した。Fig. 6 の結果とあわせて考えると貯蔵タンパク質が分解をうけ, 量的に減少するとともに, タンパク質の構成成分が質的にも変化していくのが示唆された。

また中央部の太いバンドについてみると, 発芽中に多少の変化をしているものの, つねに存在している。このバンドを Fig. 3 の泳動図と対応させるとグロブリンの主成分と推定される β 画分に相当するものと考えられる。このことより β 画分は通常の発芽条件下では容易に分解されないことが示唆された。著者らの行なった実験においてこのタンパク質を酸性条件下で泳動させると酸性プロテアーゼの作用によってこのバンドはすみやかに減少していた²³⁾。このことはさきに著者らが明らかにした酸性プロテアーゼが貯蔵タンパク質の分解に関与しているものと推察される。

3) SDS 電気泳動 次に発芽中のタンパク質の変化について分子量的に検討した。前述のディスク電気泳動での試料と同じものを調製し, 量は一定 (90 μ g/150 μ l) とした。すべてのゲルに分子量 67,000 と分子量 45,000 の間に太いバンドが存在し, このバンドがグロブリンを構成するタンパク質の主成分と推察される。このように前述のディスク電気泳動と同様グロブリンの主要なタンパク質は通常の発芽条件下では変化をうけないことが観察された。また分子量 25,000 以下の低分子領域に発芽にともないバンドが増加していた。これはタンパク質が発芽とともにプロテアーゼなどの作用をうけ低分子化する

Fig. 7. Polyacrylamide gel electrophoresis of total black matpe proteins of ungerminated seeds (0) and of seeds germinated for a period of 1 day (1), 2 days (2), 3 days (3), 5 days (5) and 7 days (7).

Fig. 8. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis of total black matpe proteins of ungerminated seeds (0), and of seeds germinated for a period of 1 day (1), 2 days (2), 3 days (3), 5 days (5), 7 days (7) and standard proteins (S).

The standard proteins are bovine serum albumin (M.W.=67,000), ovalbumin (M.W.=45,000), chymotrypsinogen (M.W.=25,000) and cytochrome c (M.W.=12,500).

るためと推察される。

4) ゲルろ過による変化 Fig. 9 に未発芽種子および一定日目発芽させたもやしの全タンパク質のゲルろ過での溶出曲線を示した。上部に標準タンパク質の溶出位置を示した。タンパク質量は未発芽種子、1, 2, 3 日目のもやしについては、11.44 mg/4 ml とした。5, 7 日目のもやしについてはタンパク質濃度がうすく体積を一定にしたためタンパク質量は少なく、5 日目もやしは 4.88 mg/4 ml, 7 日目もやしは 4.43 mg/4 ml であった。未発芽種子についてみると高分子量領域にも低分子量領域にも二つずつのはっきりしたピークが認められる。発芽にともない高分子量領域のピークは量的に減少している。また低分子量領域の質的な変化は顕著である。発芽 1 日目、2 日目には二つのピークの存在は明らかであるが 3 日目には肩のようになり 7 日目になるとピークは一つになっている。これは発芽によりタンパク質が分解され低分子化するとともに、さらに低分子のペプチド、ア

ミノ酸なども分解をうけ中間分子量のフラクションがピークとしてあらわれたものと思われる。

またこれらの試料についてイオン交換クロマトグラフィーを用いその変化を検討したところ、未発芽種子においてはかなりはっきりしたピークが四つみられたが発芽にともないそのピークは幅広くなることが観察された。前述のディスク電気泳動、SDS 電気泳動、ゲルろ過でみられた現象と同じく貯蔵タンパク質が分解をうけ種々のタンパク質、ペプチド、アミノ酸が増加したためと思われる。

本実験においては黒緑豆発芽体の全タンパク質についての変化を検討したが、今後黒緑豆の主要タンパク質であるグロブリンの精製を進めおのおのの画分についてより詳細な変化を検討し著者らが先に発表したインヒビター、各種プロテアーゼとの関連を調べ植物体内における発芽とのかかわりあい等についても検討する予定である。

Fig. 9. Sephadex G-150 column chromatography of total black mame protein of ungerminated seeds and of seeds germinated for a period of 1 day, 2 days, 3 days, 5 days and 7 days.

Amounts of proteins applied : 11.44 mg (ungermination, 1 day, 2 days, 3 days), 4.88 mg (5 days), 4.43 mg (7 days).

要 約

黒緑豆の貯蔵タンパク質およびその発芽体のタンパク質について分析を試み以下のことが明らかとなった。

1) 黒緑豆の貯蔵タンパク質の主要なものはグロブリンであるがアルブミンもかなり存在しているのが特徴的である。

2) グロブリン、アルブミンのアミノ酸組成はグルタミン酸、アスパラギン酸が多くプロリン、メチオニン、システインは少なかった。

3) グロブリンを精製したところ、分子量 16 万のものが主要なタンパク質であり、これは単一のタンパク質よりのなるのではなく 3 種のタンパク質より成りたっている。

4) 豆の発芽体は日数とともにタンパク質含量が減少し、可溶性窒素量および可溶性アミノ酸量が増加した。

5) 発芽体のタンパク質の変化をディスク電気泳動、

SDS 電気泳動で調べたところ主たるタンパク質の変化はほとんどみられなかったが、他のタンパク質は分解されディスク電気泳動においては陽極側のバンドが減少し、SDS 電気泳動においては低分子量のバンドが増加していた。

6) ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィーでその変化をおうと発芽にともない両者ともピークがはっきりせず幅広いピークとなり低分子量のペプチド、アミノ酸の増加が示唆された。

本研究の一部は第 38 回日本栄養・食糧学会において発表した。またこの研究は昭和 57 年度、58 年度私学研修福祉会の援助によって行なったものであり謝意を表します。

文 献

- 1) 森 雅央：調理科学，11，167 (1978)
- 2) 近藤泰男：農化，52，181 (1978)
- 3) 近藤泰男，増田和子，黒岩千恵子：農化，53，17 (1979)
- 4) 山本知子，川上いつゑ：筑紫女学園短期大学紀要，第 15 号別冊，149 (1980)
- 5) 四十九院成子，吉田恵子，福場博保：栄養と食糧，32，321 (1979)
- 6) 四十九院成子，吉田恵子，福場博保：栄養と食糧，34，373 (1981)
- 7) 四十九院成子，福場博保：栄養と食糧，35，201 (1982)
- 8) Catsimpoilas, N., Cambell, T.G. and Meyer, E.W. : *Plant Physiol.*, 43, 799 (1968)
- 9) 浅野三夫，柴崎一雄：食工誌，20，126 (1973)
- 10) 亀山真美，増田 勉：家政学雑誌，35，370 (1974)
- 11) Chen, C.H. and Bushuk, W. : *Can. J. Plant Sci.*, 50, 9 (1970)
- 12) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
- 13) Horwitz, W. : *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 11th Ed., 858 (1970), Association of Official Analytical Chemists (Washington, D.C.)
- 14) Yemm, E.W. and Cocking, E.C. : *Analyst*, 80, 209 (1955)
- 15) Simpson, R.H., Neuberger, M.R. and Liu, T.-V. : *J. Biol. Chem.*, 251, 1936 (1976)
- 16) Davis, B.J. : *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 404 (1964)
- 17) Weber, K. and Osborn, M. : *J. Biol. Chem.*, 224, 4406 (1969)
- 18) 越山育則：別冊蛋白質 核酸 酵素，456 (1976)
- 19) 田中 弘：家政学雑誌，30，159 (1979)
- 20) 製粉振興会：小麦一生産と利用一，150 (1975)
- 21) 越山育則，福島男児：栄養と食糧，23，297 (1970)
- 22) Andrews, P. : *Biochem. J.*, 96, 595 (1965)
- 23) 四十九院成子，福場博保，吉田恵子：第 39 回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集，153 (1985)，(東京)

(昭和 61 年 1 月 27 日受理)