豆類の発芽に伴う遊離アミノ酸含有量の変化に関する研究 (第 2 報)*

秋 (収穫) の豆類について

松 下 ア ヤ コ (熊本女子大学栄養学教室)

昭和 33 年 3 月 10 日 受 理

緒 言

著者は前報で大豆を試料として用い、その発芽に伴う遊離アミノ酸の変化状況をペーパークロマトグラフィで検したが発芽した幼植物に於てはアスパラギンのスポットが著しく大きく現われることを報告⁽¹⁾した。又白川等はえんどう種子の発芽に伴う遊離アミノ酸の変化状況を同じくペーパークロマトグラフィで調べ発芽時に現れる遊離アミノ酸のうちでは特にアスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸及びアラニン等のスポットが強く現われると報告⁽²⁾している。所で以上の報告は何れも定性的なもので定量的な研究としては A. N. Radhakrishnan⁽³⁾ 等による報告がみられるが、その他にはまだ少いようである。著者は前報⁽⁴⁾で蔬菜中の遊離アミノ酸をイオン交換樹脂及びペーパークロマトグラフィを用いて分離し呈色斑^(5~7)抽出比色法により定量を行ったが、同様の方法により秋収穫の豆 12 種類についてその発芽に伴う遊離アミノ酸含有量の変化につき研究し若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 及 び 結 果

1. 試料 試料の豆はクロマメ、キジマメ、小豆(北海道)、一寸そらまめ、米国大きぬさや、大豆、ナタマメ、三尺ささげ、十六ささげ、赤えんどう、絹さやえんどう、落花生等の 12 種類で何れも市販品を用いた。

2. 試料の調製法

(1) 種子の場合：豆種子 100 g を水洗後清潔なナイフで内部を細片に細断し乳鉢に入れて粉状に圧碎しそれに 3 倍量の水を加え約 30 分振盪後 10° 前後で 24 時間静置する。これを圧搾濾過しその濾液に飽和の中性酢酸鉛を加えて生ずる沈澱を除き、その濾液に塩基性酢酸鉛を沈澱が生じなくなるまで加えその濾液に硫化水素を通して過剰の鉛を沈澱させて除き、濾液を減圧濃縮して硫化水素を除く。この液を次に 5% HCl 溶液で活性化した強酸性陽イオン交換樹脂 Amberlite IR-120 に通してアミノ酸を吸着させ、水洗し、糖、有機酸等を分離した後 5% NH₄OH 溶液で置換溶出し、これを減圧濃縮してアンモニアを除き再蒸留水で 10 ml に容定しペーパークロマトグラフィの試料とした。尚アミノ態 N の測定 (パンスライク法による) にはこの濃縮液に水を加えて 25 cc に容定したものを用いた。Amberlite IR-120 の通過液及び洗液を合せてこれを酢酸緩衝液で pH 4.7 に調整した弱酸性陽イオン交換樹脂 Amberlite IRC-50 に通して前法で吸着されなかったアミノ酸を吸着させ、水洗後 1% HCl 溶液で溶出しこれを前同様に 10 ml に容定したものをペーパークロマトグラフィの試料とした。

(2) 発芽幼植物の場合：豆種子を一夜水に浸漬して均一なものをえらび砂土上 (明所) に播き毎日一定量の水を供給した。大体 15~20° で 2 日目には発根し 3 日目より発芽し初めたが測定に用いた試料は幼植物の葉 (1 cm 大)、茎 (3 cm 大)、根 (0.5 cm 大) 等を一所にしたものを用いた。試料を水洗後、附着水を濾紙上で除き 30 分放置後 300 g を秤量した。これを乳鉢で圧碎しそれに 3 倍量の水を加え約 30 分振盪後 10° 前後で 24 時間静置する。その後のクロマトグラフィにかけるまでの試料の調製方法は種子の場合と同様にした。

3. イオン交換樹脂によるアミノ酸の回収試験 濃度約 50 mM のアミノ酸溶液 10 ml を Amberlite IR-120 を用い試料の場合と同様の方法で測定した時の回収率は前報⁽⁴⁾の通りである。回収率の測定はマイクロケルダール法により全窒素の定量を行った。尚塩基性アミノ酸の回収率は低く出たが Amberlite IRC-50 を通して得られた試料について展開及び発色操作を行った結果ではアミノ酸のスポットをみとめなかったのでこれについての回収試験は省略した。

4. 呈色斑抽出比色法によるアミノ酸の回収試験

濾紙上の原点にマイクロピペットを用いて 0.001 ml (0.001

* Studies on the Variation of Contents of Free Amino Acids during the Course of Germination of Leguminous Seeds. Part II. Experiments on the Leguminous Seeds Harvested (Ripened) in Autumn.

By Ayako MATSUSHITA (Department of Nutrition, Kumamoto Women's University)

第1表 呈色斑抽出比色法によるアミノ酸の回収試験

	アミノ酸 添加量 (γ)	アミノ酸 回収量 (γ)	回収率 (%)	回収率 平均 (%)
アスパラギン酸	15.00	15.60	104.00	104.33
	15.00	15.70	104.66	
グルタミン酸	15.00	15.00	100.00	101.66
	15.00	15.50	103.33	
セリン	15.00	13.50	90.00	90.03
	15.00	13.60	90.66	
グリシン	15.00	14.90	99.33	98.99
	15.00	14.80	98.66	
アスパラギン	15.00	12.00	80.00	79.66
	15.00	11.90	79.33	
アラニン	15.00	14.90	99.33	99.96
	15.00	15.10	100.60	
グルタミン	15.00	13.30	88.66	87.66
	15.00	13.00	86.66	
ヒスチジン	15.00	15.70	104.66	105.66
	15.00	16.00	106.66	
シトルリン	15.00	15.70	104.66	100.66
	15.00	14.50	96.66	
プロリン	15.00	15.20	101.33	101.66
	15.00	15.30	102.00	
バリン	15.00	15.40	102.66	102.99
	15.00	15.50	103.33	
チロシン	15.00	12.70	84.66	82.33
	15.00	12.00	80.00	
ロイシン	15.00	14.90	99.33	98.66
	15.00	14.70	98.00	
スレオニン	15.00	13.60	90.66	91.33
	15.00	13.80	92.00	

ml 中 15 γ の標準アミノ酸水溶液 14 種類をつけ(そのつど乾燥してつける)二次元展開を行い其の他にも試料の場合と同様の方法で測定した時の回収率は第1表の通りであった。

5. 豆種子及びその発芽幼植物中の遊離アミノ酸の検出 ペーパークロマトグラフィにより検出を行った。

溶剤: 第1次元……水 15% を含むフェノール(再蒸溜品)

第2次元……*n*-ブタノール・氷酢酸・水(4:1:5)の混合液で上層のブタノールに富む方を用いた。

濾紙: 東洋濾紙 No. 50. 実施温度: 15~17°

呈色試薬: 0.1% ニンヒドリンアセトン溶液

検出及び同定: 二次元上昇法により展開終了後濾紙を乾燥しニンヒドリン試薬を撒布し 80~90° で加温発色させた。試料クロマトグラムの各スポットの判定は同条件で著者⁽⁸⁾が実験した標準クロマトグラムに於けるスポットの R_F 値及びそれらの相対的位置とを比較することによる外文献値^(9,10)を参考にした。又 0.5% 標準アミノ酸溶液を試料と並べてつけて同様に展開し R_F 値が一致することによっても確認した。米国大き

米国大きぬさやえんどう発芽幼植物

米国大きぬさやえんどう種子

n-ブタノール: 氷酢酸: 水 (4:1:5) ←

第1図 米国大きぬさやえんどうの発芽に伴う遊離アミノ酸分布の変化状況

1. アスパラギン酸	2. グルタミン酸	3. セリン	4. アスパラギン
5. トレオニン	6. アラニン	7. グルタミン	8. チロシン
9. プロリン	10. γ -アミノ酪酸	11. バリン	12. フェニールアラニン
13. ロイシン	14. 不明物質	15. オルニチン	

%ニンヒドリン水溶液 2ml, 及び 10% ピリジン水溶液 1ml を加える。これを沸騰水浴中で 25 分加熱し抽出と発色を完全にする。次に 10ml のメスフラスコに移し微湯で濾紙を洗って一定量にする。尚ブランクはクロマトグラム中の発色しなかった部分からほぼ同一面積の濾紙を切りとり、同様の操作によって得た溶液を使用した。次に島津の Photoelectric spectrophotometer により 570m μ 於ける透過率を測定し同様に操作して作った標準曲線からアミノ酸の濃度を求めた。尚プロリン及びオキシプロリンは 440m μ に於ける透過率を測定した。結果は第2表(A), (B)に示す。アミノ酸の標準溶液は 0.001ml 中の γ 数を基準としたがその標準曲線は前報告⁽⁴⁾に示した通りである。又前報告に示さなかったカナバニンの標準曲線は第2図の通りでその R_F 値は溶媒がフェノール(15% 水添加)の場合に 0.52~0.54, ブタノール: 酢酸: 水 (4:1:5) の混合液の場合に 0.18~2.0

ぬさやえんどうの発芽に伴う遊離アミノ酸分布の変化状況の一例を示せば第1図のようである。

6. 豆種子及びその発芽幼植物中の遊離アミノ酸の定量

J. Awapara⁽⁷⁾ のペーパークロマトグラフィによる呈色斑抽出比色法を用いて定量を行った。

濾紙(27cm $\times$ 20cm)上の原点にマイクロピペットを用いて 0.001ml の試料をつけ二次元展開を行い、濾紙を乾かして後ニンヒドリンで発色させ各発色部を稍広いめに略同面積に切りとり、細かく切って試験管に入れ、1

第 2 表 (A) 豆類の発芽に伴う遊離アミノ酸含有量の変化状況

	ク ロ マ ム			キ ジ マ ム			小豆(北海道)			一寸そらまめ			米国大きぬきや			大 豆		
	種	子	芽 幼植物	種	子	芽 幼植物	種	子	芽 幼植物	種	子	芽 幼植物	種	子	芽 幼植物	種	子	芽 幼植物
アスパラギン酸	0.56 (0.70)	7.92 (79.04)	0.95 (10.74)	+	0.95 (10.74)	3.57 (4.24)	3.57 (4.24)	1.73 (18.73)	+	1.59 (20.62)	2.16 (2.52)	3.33 (26.44)	4.85 (5.77)	31.31 (441.47)	+	+	+	+
グルタミン酸	0.76 (0.95)	2.00 (19.96)	0.57 (6.44)	+	0.57 (6.44)	5.81 (6.91)	5.81 (6.91)	1.28 (13.86)	+	3.66 (47.47)	3.26 (3.81)	+	2.59 (3.08)	+	+	+	+	+
グルタミン	2.56 (3.29)	3.92 (39.12)	7.50 (84.82)	7.59 (9.18)	7.50 (84.82)	20.12 (23.94)	20.12 (23.94)	10.02 (108.51)	3.69 (4.28)	3.66 (47.47)	52.07 (60.91)	26.67 (211.75)	39.75 (47.30)	+	+	+	+	+
アラニン	0.95 (1.18)	3.92 (39.12)	4.40 (44.10)	+	4.40 (44.10)	5.06 (6.02)	5.06 (6.02)	3.76 (40.72)	+	4.75 (61.60)	3.35 (3.35)	38.80 (308.07)	4.59 (4.59)	7.90 (111.39)	+	+	+	+
アスパラギン	0.13 (0.16)	53.38 (532.73)	26.58 (300.61)	+	26.58 (300.61)	9.35 (11.12)	9.35 (11.12)	27.34 (296.09)	+	17.70 (229.56)	15.59 (18.24)	3.47 (3.47)	6.23 (7.42)	10.91 (153.83)	+	+	+	+
バリン	1.11 (1.38)	3.52 (35.12)	5.22 (59.03)	+	5.22 (59.03)	4.42 (5.25)	4.42 (5.25)	5.35 (57.94)	0.89 (1.32)	7.56 (98.05)	5.19 (6.07)	2.23 (2.23)	2.61 (3.10)	6.78 (95.59)	+	+	+	+
ロイシン	2.00 (2.50)	3.12 (31.13)	4.53 (51.23)	+	4.53 (51.23)	3.94 (4.68)	3.94 (4.68)	2.38 (25.77)	0.97 (1.12)	3.19 (41.37)	1.93 (2.25)	17.70 (17.70)	3.10 (3.10)	3.67 (51.74)	+	+	+	+
セリン	1.08 (1.15)	2.78 (27.74)	1.85 (20.92)	+	1.85 (20.92)	15.86 (179.37)	15.86 (179.37)	10.53 (114.03)	1.13 (1.31)	3.07 (39.81)	2.62 (3.06)	5.01 (39.77)	1.24 (1.47)	+	+	+	+	+
ヒスチジン	+	5.82 (58.08)	15.86 (179.37)	+	15.86 (179.37)	+	+	15.79 (171.00)	8.61 (9.98)	21.00 (272.37)	9.45 (11.05)	+	21.98 (26.15)	+	+	+	+	+
プロリン	+	+	2.68 (30.31)	+	2.68 (30.31)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
スレオニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チロシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グアニジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
シスチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
フェニルアラニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
γ-アミノ酪酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
β-アラニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
リジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
オルニチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
不明物質	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アミノ N 計	9.15 (11.51)	82.46 (822.92)	8.39 (10.14)	8.39 (10.14)	8.39 (10.14)	56.18 (66.81)	56.18 (66.81)	79.59 (861.92)	15.29 (18.01)	62.52 (805.85)	85.69 (100.21)	79.51 (631.28)	85.72 (101.97)	108.20 (1525.60)	+	+	+	+
アミノ態 N	11.00 (13.00)	126.38 (1159.66)	14.38 (17.25)	14.38 (17.25)	14.38 (17.25)	74.34 (89.17)	74.34 (89.17)	83.63 (903.20)	24.44 (26.88)	102.18 (1318.12)	91.37 (100.50)	103.16 (814.96)	100.24 (120.28)	199.99 (2819.85)	+	+	+	+
水分 (%)	20.05	89.98	17.56	17.56	17.56	16.61	16.61	90.77	13.92	92.29	14.93	87.41	16.32	92.91	+	+	+	+

註 1. 各試料についてその 100g 中の各遊離アミノ酸の α-アミノ N (プロリンはイミノ N) の mg 数で表した。() 内の数字は各試料の乾重量 100g 中の α-アミノ N (プロリンはイミノ N) の mg 数である。+ は存在を示す。

2. アミノ態 N の測定はヴァンスライク法による (mg%)。() 内の数字は各試料の乾重量中のアミノ態 N の含有量である (mg%)。

第 2 表 (B) 豆類の発芽に伴う遊離アミノ酸含有量の変化状況

	ナ タ マ ム		三尺ささげ		十六ささげ		赤えんどう		絹さやえんどう		落 花 生	
	種 子	芽 幼植物	種 子	芽 幼植物	種 子	芽 幼植物	種 子	芽 幼植物	種 子	芽 幼植物	種 子	芽 幼植物
アスパラギン酸		8.07 (64.07)	+	0.23 (2.94)	0.30 (0.35)	0.27 (3.12)	4.93 (5.81)	15.62 (173.69)	1.79 (2.11)	1.80 (22.19)		6.11 (44.17)
グルタミン酸	6.27 (7.39)	3.85 (30.56)	+	0.91 (11.66)	17.44 (20.40)		4.11 (4.84)		7.05 (8.31)		4.99 (5.43)	4.64 (33.54)
グルタミン	?	18.00 (142.92)	9.00 (10.53)	1.92 (24.61)	21.31 (24.93)	3.24 (37.56)	20.90 (24.66)	18.52 (205.92)	22.93 (27.05)	7.20 (88.77)	134.08 (146.14)	9.33 (67.45)
アラニン	5.18 (6.11)	8.95 (71.15)		+	4.79 (5.60)	+	1.88 (2.21)	3.30 (36.69)	4.03 (4.75)	4.35 (53.63)	0.75 (0.81)	3.53 (25.52)
アスパラギン	9.29 (10.96)	23.06 (183.08)	2.45 (2.86)	4.48 (57.43)	1.94 (2.26)	1.71 (19.83)	14.93 (17.61)	32.82 (364.95)	11.51 (13.58)	11.00 (135.63)	2.88 (3.13)	25.17 (181.97)
バ * リン	6.54 (7.71)	9.46 (75.11)	1.25 (1.46)	0.78 (9.99)	5.56 (6.50)	1.29 (14.94)	1.94 (2.28)	5.01 (55.71)	5.43 (6.40)	6.54 (80.67)	1.27 (1.38)	2.00 (14.46)
ロ イ シン	6.98 (8.23)	11.66 (92.58)	2.22 (2.59)	0.23 (2.94)	3.61 (4.22)	0.81 (9.29)	1.45 (1.71)	3.74 (41.47)	2.32 (2.76)	2.76 (34.02)	1.85 (2.01)	3.97 (28.70)
セ リン	14.85 (17.52)	2.14 (16.99)	+	0.70 (8.97)	12.00 (14.04)	0.36 (4.17)		2.84 (31.54)	2.31 (2.72)		2.36 (2.57)	1.50 (10.84)
ヒスチジン	13.47 (106.63)	9.02 (115.63)		9.02 (115.63)	66.81 (774.99)		+	25.00 (278.00)	14.66 (17.29)	40.74 (502.32)	+	12.00 (88.20)
プロリン	2.66 (3.13)	6.08 (48.27)			3.91 (4.57)		2.57 (3.03)	7.22 (80.28)	3.79 (4.47)		2.13 (2.32)	11.39 (82.34)
スレオニン	+	+	+	+	1.46 (1.70)		+	+	+	+	+	+
チロシン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
タウリン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
グ リ シン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
シスチン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
フェニルアラニン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
γ-アミノ酪酸	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
β-アラニン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
リジン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
オルニチン	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
カネバニン	212.85 (251.16)	?	+		+		+	+	+	+	+	+
アミノ N 計	264.62 (312.21)	98.62 (783.01)	14.92 (17.44)	18.27 (234.17)	72.32 (84.54)	74.49 (869.00)	52.71 (62.15)	119.40 (1327.65)	75.82 (89.41)	74.39 (917.23)	150.31 (163.73)	79.84 (577.19)
アミノ態 N	282.79 (336.17)	146.78 (1157.56)	21.64 (25.96)	22.98 (294.14)	99.88 (109.86)	97.53 (1072.83)	74.21 (81.63)	148.53 (1648.68)	91.75 (100.92)	82.74 (1017.70)	204.68 (223.10)	95.54 (687.88)
水分 (%)	15.88	87.41	15.00	92.20	15.15	91.38	15.93	91.01	15.27	91.89	8.34	86.18

註 1. 各試料についてその 100g 中の各遊離アミノ酸の α-アミノ N (プロリンはイミノ N) の mg 数で表した。() 内の数字は各試料の乾重量 100g 中の α-アミノ N (プロリンはイミノ N) の mg 数である。+ は存在を示す。

2. アミノ態 N の測定はヴァンスタライク法による (mg%)。() 内の数字は各試料の乾重量中のアミノ態 N の含有量である (mg%)。

第 2 図 カナパニンの標準曲線

位であった。又ナタマメにはニンヒドリンで黄色に発色する（時間がたつと赤黄色になる）不明物質（フェノールでの R_F 値 0.29, ブタノール, 酢酸での R_F 値 0.09 の場所）が見出された。

考 察 及 び 要 約

1. 豆類の遊離アミノ酸分布状況 試験豆類中に大体共通して存在するアミノ酸はアスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, アラニン, アスパラギン, バリン, ロイシン, セリン, ヒスチジン, スレオニン, チロシン, フェニールアラニン等の 12 種類であったがプロリン, γ -アミノ酪酸等も可成り広く分布するアミノ酸であった。その他共通でないアミノ酸としてグリシン, β -アラニン, リジン, タウリン, シスチン, オルニチン等が見出された。北川氏はナタマメからカナパニンを検出したが著者もアミノ酸のクロマトグラム中にカナパニンらしきスポットを見出した。その含有量は著しく多く総アミノ態 N の 75% であったが, カナ

パニンとグルタミンは溶媒がフェノールの場合も, ブタノール, 酢酸, 水の混合液の場合も R_F 値が近似しているので含有量が多い時には重なる部分の生ずることも考えられる。従ってこのスポットにグルタミンが重なっているかどうかについては尚研究中である。

2. 豆類の発芽に伴う遊離アミノ酸分布の変化状況 試験豆類が発芽して幼植物になると遊離アミノ酸の分布に変化を生じた。種子とその発芽幼植物中に大体変化なく共通して存在するアミノ酸は, アスパラギン, バリン, ロイシン等の 3 種類であった。又種子中に存在するが発芽して幼植物になれば大体消失するらしいアミノ酸はグルタミン酸, シスチン, オルニチン等で逆に発芽後の幼植物中に新たに見出されたアミノ酸は大体アラニン, ヒスチジン, タウリン, β -アラニン等のようである。

3. 豆類の発芽に伴う遊離アミノ酸含有量の変化状況 試験豆類が発芽して幼植物になると遊離アミノ酸の含有量に変化を生じた。

試験豆類に大体共通して発芽後の幼植物中に含有量の著しく増大するアミノ酸はアスパラギンであり, ヒスチジン, アスパラギン酸, アラニン, バリン等がこれに次ぎ, ロイシン, セリン等も多少増量するようである。又各試料についてその乾燥重量中のアミノ酸の絶対量は各種のアミノ酸についてその発芽後の幼植物中に著しく増量してくる。又逆に発芽後の幼植物中に大体含有量の減少がみられるアミノ酸はグルタミン酸とグルタミンである。

4. アミノ態 N の含有量の変化状況 豆類が発芽して幼植物になるとアミノ態 N の含有量が増量する。種子及びその発芽幼植物の各々についてその乾燥重量中のアミノ態 N の絶対量は発芽後の幼植物中に著しく増量してくる。試験豆類の中ではクロマメの場合が最も増加率が高く, キジマメ, 一寸そらまめ, 赤えんどうの場合がこれにつぎ, 絹さやえんどう, 落花生の場合が最少であった。

本実験に際し御親切な御教示を頂き色々の点で一方ならぬ御世話になった山田教授, 又 Photoelectric spectrophotometer 使用にあたり御援助を頂いた熊本通信病院の竹屋博士, 熊本大学医学部の喜多村教授の方々に謝意を表す。又貴重な標準カナパニンを御恵与下さった九州大学の島, 岩田両教授に厚く御礼を申し上げる。

本研究は昭和 33 年 2 月 15 日, 日本農芸化学会西日本支部総会 (第 69 回) で報告した。

- (1) 松下アヤコ, 山田 晃: 栄養と食糧, 7, 262 (1955).
- (2) 白川正治, 大宝 明: 本誌, 30, 158 (1956).
- (3) A. N. Radhakishnan, C. S. Vaidyanathan, K. V. Giri: *J. Indian Inst. Sci.*, 37(2), 178 (1955).
- (4) 松下アヤコ, 山田 晃: 本誌, 31, 578 (1957).
- (5) 丸田芳樹, 鮫島広年, 田中正生: 本誌, 28, 775 (1954).
- (6) 赤堀四郎, 水島三一郎: 蛋白質化学, 1,

- p. 209, 共立出版 (1954).
- (7) J. Awapara: *J. Biol. Chem.*, 178, 113 (1949).
- (8) 松下アヤコ, 山田 晃: 栄養と食糧, 9, 210 (1956).
- (9) R. Consden, A. H. Gordon, A. J. P. Martin: *Biochem. J.*, 38, 224 (1944).
- (10) 佐竹一夫: クロマトグラフィ, p. 105, 共立出版 (1955).
- (11) M. Kitagawa: *J. Biochem.*, 11, 265 (1929).