カイガラムシの脂質に関する研究 (第 11 報)

ルビーロウムシとカメノコロウムシの虫体の脂質組成

橋本 皓, 山田和彦, 向井克憲

(大阪府立大学農学部農芸化学科)

昭和 42 年 7 月 24 日 受 理

Studies on the Lipids of Coccids

Part XI. Lipid Composition of the Insect Body of *Ceroplastes rubens* (MASKELL) and *Ceroplastes japonicus* (GREEN)

By Akira HASHIMOTO, Kazuhiko YAMADA and Katsunori MUKAI

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture

The overwintering female adults of *C. rubens* and *C. japonicus* were collected from the branches of *Ilex integra* and *Euonymus japonicus*, respectively, at Sakai-shi, Osaka, and then insects were separated into the insect body and the wax-shell.

In the present paper, the composition of the lipids extracted from the insect body has been determined by chromatography. There was a marked difference in the lipid class composition between *C. rubens* and *C. japonicus*, particularly with regard to amounts of waxes, triglycerides and free fatty acids. In the *rubens* lipid, the predominant components were waxes, triglycerides and free fatty acids, amounting to about 19%, 17% and 30%, respectively. The *japonicus* lipid consisted of about 87% triglycerided and minor amounts of waxes and free fatty acids.

The fatty acids of triglycerides were analysed by gas-liquid chromatography. A similarity was found in the pattern of each fatty acid component of these two insects, by this analysis. Most fatty acids were saturated acids, and very large amounts of capric and lauric acids were noted characteristically.

(Received July 24, 1967)

1. 緒 言

ルビーロウムシ (*Ceroplastes rubens* MASKELL) もカメノコロウムシ (*Ceroplastes japonicus* GREEN) も、ともにカタカイガラムシ科に属している⁽¹⁾。両ムシの寄主植物は多く、かなりの雑食性で、注目される農業害虫である。

脂質研究は、1932~8 年、河野⁽²⁾、小山⁽³⁾らにより行なわれ、主にムシが分泌したロウ質成分について報告されている。最近、玉木ら⁽⁴⁾は、カメノコロウムシが分泌したワックスの化学組成を検討している。しかし、いまままでにルビーロウムシもカメノコロウムシも、その小さい虫体内の脂質成分については検討されていない。先に著者ら⁽⁵⁾は、同科のツノロウムシやイボタロウムシの脂質を、虫体部とロウ殻部にそれぞれわけて検討してきた

が、同様の手法をルビーロウムシとカメノコロウムシにも適用した。この報告ではまず、両ムシの虫体部脂質組成の概要を明らかにすることを目的とした。以下に記述するように、両ムシから得たトリグリセリドの構成脂肪酸組成のパターンは、既報⁽⁵⁾のツノロウムシのそれと比較して、互に近似することが判明し、*Ceroplastes* 属の脂質を特徴づける興味ある結果が得られた。

2. 実験材料と方法

2-1. 供 試 虫

Table I に示すように、堺市において 3 月上旬、モチノキに寄生しているルビーロウムシと、マサキに寄生しているカメノコロウムシを採集し実験に用いた。これらはいずれも越冬雌成虫である。Fig. 1 は、ヤツデの葉面に寄生している両ムシの外観である。ルビーロウムシの

Table I. Note on the Insects Collected in Sakai-shi, Osaka for the Study

	<i>C. rubens</i>	<i>C. japonicus</i>
Date of collection	2/28~3/1	2/28~3/1
Sex	Adult female	Adult female
Host plant	<i>Ilex integra</i> THUNB	<i>Euonymus japonicus</i> THUNB
Total weight of insects with the wax-shell* (A) (g)	28.80	20.03
Total weight of the insect bodies* (B) (g)	5.13	10.44
B/A (%)	17.8	52.1

* Wet weight

Fig. 1. The Overwintering Female Adults of *C. rubens* and *C. japonicus* on a *Fatsia japonica* (THUNB).

虫体の体長は、約 2 mm で体幅は約 0.6 mm である。虫体の背面は、あずき色のロウ状物質で被覆され、ドーム状である。その特異な色彩のため他のカイガラムシとは容易にみわけることができる。カメノコロウムシの虫体の体長は約 3.3 mm、体幅は約 2.6 mm である。灰白色のロウ状物質により被覆され、ロウ殻の外観は、いわゆる亀甲状である。

2-2. 虫体の分別と脂質の調製

ビーカーにムシを入れ、それに約 3 倍量のクロロホルムを加え、ゆるやかにふりまぜた。被覆物は容易にクロロホルムに溶解し、赤橙色の虫体が露出した。ガーゼを用いて濾過し虫体を集めた。それを少量のクロロホルムで数回くりかえし洗い、被覆しているロウ状物質を除去した。清浄なガーゼ上にムシをひろげ、溶媒を揮発させた。虫体の供試全虫に対する割合 (湿重量の比) は、

Table I のように、ルビーコロウムシは約 20%、カメノコロウムシでは約 50% であった。前者においては、ロウ殻が占めている割合の大きいことがわかる。

虫体は乳鉢を用いて充分すりつぶし、クロロホルム-メタノール (2:1) 混液を加えて、すべて先報⁽⁶⁾のように抽出処理して脂質を得た。

2-3. 分析方法

脂質のクロマトグラフィーによる分離、分析法もすべて先報^(5,6)に記載の要領で行なった。なおケイ酸カラムで、トリグリセリドと遊離脂肪酸が完全に分離し得ない場合は、両者の分離定量を Hornstein ら⁽⁷⁾の方法に準じて、イオン交換樹脂カラムにより行なった。すなわち、内径 1.5 cm、長さ 40 cm のコック付きガラス管の下端にグラスウールを詰め、これにアンバーライト IRA-400、20 g を少量の水とともに流しこみ、カラムを作製した。まず、10% 水酸化ナトリウム水溶液 80 ml を流下 (流速約 5 ml/min) し、つづいて 150 ml の純水でカラムを洗う。その水がチモールブルー試験紙に対して中性になったことをたしかめてから、無水エタノール 100 ml を流下させ、カラム内の水を除く。つぎに *n*-ヘキサン 100 ml を流しアルコールを除く。以上の前処理を経た後、試料を負荷する。その負荷量は、予備実験の結果から約 450 mg 以内とした。たとえば、332 mg のトリグリセリド (ツノコロウムシから得たもの) に、50 mg のオレイン酸と 30 mg のステアリン酸を添加した既知混合試料では、トリグリセリドは 329 mg が回収され、99% の収率であった。その展開剤は *n*-ヘキサンによったが、回収されたトリグリセリド溶液は、薄層クロマトグラフィー (TLC) で純度がたしかめられ、トリグリセリド以外の成分の存在しないことが認められた。しかし、脂肪酸の溶出は、濃塩酸-メタノールの混液で実施したが、回収率は約 60% 程度にしか得られなかった。よって再クロマトグラフィーによる分離定量は、上記条件下において負荷した試料量から回収したトリグリセリド量を差し引いた値をもって脂肪酸量とした。

3. 実験結果および考察

3-1. 脂質の収量と性状

Table II に脂質の収量と性状を示した。すなわち虫体の湿重量に対し、それぞれ 21.1%、25.1% の収率で脂質を得た。両ムシの脂質はともにケン化価が大きく、それは後記のカプリン酸、ラウリン酸含量の大であることに由来しているといえる。両ムシ脂質の性状の差異は

Table II. Yield and Properties of the Lipids obtained from the Insect Body

	<i>C. rubens</i>	<i>C. japonicus</i>
Yield (g) (%) [*]	6.1 21.1	5.0 25.1
Acid value	53.1	6.4
Saponification value	304.5	323.8
Iodine value	51.5	13.8
Melting point (°C)	44~47	16~20

* % on wet weight.

酸価, ヨウ素価そして融点にみられ, いずれもルビーロウムシは高い値を示した. すなわちルビーロウムシの虫体脂質は, カメノコロウムシのそれよりも遊離酸が多く存在すること, 不飽和成分の占める割合の大きいことがわかる. 融点の高いのは, 遊離高級飽和酸の存在によるものと考えられる.

3-2. ケイ酸カラムクロマトグラフィーによる分画

両ムシの脂質構成成分を分離同定するために, 常法によりカラムクロマトグラフィーを行なった. その結果は Table III, IV に示すとおりである. 表に記載の各溶媒をもって順次連続展開した. 溶出液は 25 ml 単位に回収して溶出物を精秤し, その収量曲線上に 8 個以上のピークが得られた. 各チューブの溶出物は, すべて TLC により成分をチェックしてから適宜合一し, それぞれの分画となし, 以後の実験に供した. ルビーロウムシは遊離脂肪酸含量が大であったため, Table III のチューブ No. 64~68 の溶出分には, トリグリセリドと脂肪酸が混在して流出した. よって, 2-3. に記したイオン交換樹脂による再カラムクロマトを行なった. すなわち, 上記の溶出分 187.30 mg から 77.66 mg のトリグリセリドを得た. よって脂肪酸はその差 109.64 mg が吸着されていることになる. またチューブ No. 69~77 の溶出分には, 少量のジグリセリドと遊離脂肪酸が混在して溶出した. よって試料 33.3 mg を再カラ

ムクロマトグラフィーにより 8.03 mg のジグリセリドを得た. すなわち吸着されている脂肪酸は 25.3 mg となる.

3-3. ルビーロウムシの脂質構成成分

Fig. 2 および 3 は, カラムクロマト分画物質について行なった TLC の 1 例である. 各スポットの同定法は先報^(5,6) のとおりである. スポット 1 および 2 は炭化水素で, 室温においては液状であった. 抽出直後は Fig. 2 のように, R_f 0.8 と 0.65 を示したが, 放置すれば両スポットは原点にとどまる物質が生成し, 酸化されやすい不飽和成分の存在が予想された.

スポット 3 は, 融点が 63.0~65.3 のワックスである. またスポット 4 はトリグリセリドで, その脂肪酸組成は 3-6. で述べる.

スポット 5 は遊離脂肪酸で, その組成は Table V のようである. この分析のための試料調製は, イオン交換

Table III. Chromatography of the Lipids from *C. rubens*

Eluent	Volume of eluate (ml)	Peak number	Tube number	Yield	
				(g)	(%)
<i>n</i> -Hexane	200	1	1~8	0.0036	0.85
<i>n</i> -Hexane-benzene (80 : 20)	175	2	9~15	0.0059	1.40
<i>n</i> -Hexane-benzene (50 : 50)	575	3	16~38	0.0582	13.81
<i>n</i> -Hexane-benzene (10 : 90)	325		39~51	0.0111	2.63
Benzene	300		52~63	0.0163	3.86
Benzene-ether (95 : 5)	125	4	64~68	0.1873	44.46
Benzene-ether (90 : 10)	200	4'	69~77	0.0333	7.90
Benzene-ether (70 : 30)	250	5	78~87	0.0336	7.97
Benzene-ether (50 : 50)	150	6	88~93	0.0161	3.82
Ether	250	7	94~103	0.0205	4.86
Methanol	350	8	104~117	0.0587	13.93
Total				0.4446	105.49

Sample lipids : 0.4212 g.

Column : 3 cm diam. containing 40 g of 100~200 mesh silica gel.

Table IV. Chromatography of the Lipids from *C. japonicus*

Eluent	Volume of eluate (ml)	Peak number	Tube number	Yield	
				(g)	(%)
<i>n</i> -Hexane	250	1	1~10	0.0050	0.55
<i>n</i> -Hexane-benzene (50 : 50)	300	2	11~22	0.0088	0.96
Benzene	950	3	23~60	0.7379	80.79
Benzene-ether (90 : 10)	250	4	61~70	0.0471	5.16
Benzene-ether (70 : 30)	150	5	71~76	0.0072	0.79
Benzene-ether (50 : 50)	150	6	77~82	0.0047	0.51
Ether	450	7	83~100	0.0134	1.47
Methanol	450	8	101~118	0.0787	8.62
Total				0.9028	98.85

Sample lipids : 0.9134 g.

Column : 3 cm diam. containing 60 g of 100~200 mesh silica gel.

Fig. 2. Silicic Acid Thin-Layer Chromatograms of the Fractions Separated by Column Chromatography of *C. rubens* Lipids.

Solvent systems: (a), *n*-hexane: (b), *n*-hexane-ether-acetic acid (70 : 30 : 1).

Detection methods: Sulfuric acid spray followed by charring etc.

Peak numbers correspond to those in Table III.

Compounds: 1 and 2, hydrocarbons; 3, waxes; 4, triglycerides; 5, free fatty acids; 6 and 7, diglycerides; The spots 8 and 9 were composed of several unidentified compounds.

Intensity of spots: ● strong; ○ medium; ○ weak.

Table V. Fatty acid Composition of Total and Fractionated Lipids from *C. rubens*

Fatty acid	Free fatty acid (%)	Polar lipids* (%)	Total lipids (%)
8 : 0			2.2
10 : 0	0.7	4.8	32.7
12 : 0	0.5	2.1	15.7
14 : 0	0.4	0.5	2.4
16 : 0	0.9	0.9	4.9
16 : 1			trace
18 : 0	3.9	10.0	4.7
18 : 1	6.6	20.6	11.6
18 : 2	6.0	38.0	6.5
20 : 0	trace	2.0	1.0
A**	45.6	7.0	10.0
B	9.1		1.5
22 : 0	1.5		
C	trace		
D	12.0	4.6	2.6
E	12.7	4.4	4.2

* The polar lipids correspond to peak number 8 in Table III.

** A~E: unidentified acids.

GLC conditions: App. Yanagimoto GCG-2; 2 m column packed with Daisolid S (80~100 mesh) containing polydiethylene glycol succinate; column temp., 220°C; flow rate of helium gas, 60 ml/min; bridge current, 150 mA; chart speed, 10 mm/min.

Fig. 3. Two-Dimensional Thin-Layer Chromatograms of the Polar Lipids obtained from *C. rubens*.

The polar lipids correspond to peak number 8 in Table III.

Coating material: Wako gel B-5.

Solvent system: first direction, chloroform-methanol-7N ammonium hydroxide (60 : 35 : 5); second direction, chloroform-methanol-7N ammonium hydroxide (35 : 60 : 5).

The plate was exposed to iodine vapor, the iodine-stained spots were allowed to fade completely, and the plate was sprayed with the ninhydrin, molybdc acid, Dragendorf and other reagents.

Compounds: 12, phosphatidyl ethanolamine; 15, lysophosphatidyl ethanolamine; 10, 11, 13 and 14, unidentified compounds.

樹脂から溶離した脂肪酸は使用せずに、別途に総脂質から TLC で脂肪酸を分離し、組成分析試料とした。それは前記のように、イオン交換樹脂からの脂肪酸の回収が良くなかったので、組成的にかたよりがあってはいけないうし、いま1つは、樹脂自身の溶出物から生じるピークがあるとの報告⁽⁸⁾もあるので使用をさけたわけである。遊離脂肪酸には Table V のように、A~E の未同定のものが存在し、とくに A は主成分で約 46% の高率を占めた。これはアセチル化処理しても、その前後において保持時間に差異は認められず、ヒドロキシン酸ではないようである。水素添加前後のピークの消失有無から、A は不飽和酸であることを確認したが、目下のところ詳細は不明である。一応分枝鎖脂肪酸と考えているが、さらに検討したい。スポット 6, 7 はジグリセリドである。

スポット 8, 9 は褐色物質である。この分画には、微量成分がいくつも存在した。そして、ルビーロウムシの

脂質を特徴づける成分も存在するように思われたが、これらについても今回は未同定のままである。なお、スポット 9 には微量のモノグリセリドが存在した。

Fig. 3 は、極性脂質分画 (Table III のメタノール溶出分) を二次元展開して得た薄層クロマトグラムである。ホスファチジルエタノールアミン (PE) と、リゾホスファチジルエタノールアミン (LPE) を同定した。しかし、ホスファチジルコリン (PC) は数回試みたけれども検出できなかった。このムシのリン脂質構成が真に単純なのかは疑問がある。よって、さらに大量の試料調製を行ない精査することが必要である。なおスポット 10, 11, 13, 14 は非リン脂質化合物である。14 のミニヒドリ試薬に対して赤色を呈した。

以上のメタノール溶出分画の構成脂肪酸組成は Table V のようである。C₁₈ 酸、とくにオクタデセン酸とオクタデカジエン酸が高率を占めた。なお前記未確認の A, D, E 脂肪酸はこの分画にも存在した。

3-4. カメノコロウムシの脂質構成成分

カメノコロウムシの脂質について得た薄層クロマトグラムは、Fig. 4, 5 のとおりである。先のルビーロウムシの構成成分と比較して特徴的なことのみ記すと、大体つぎのとおりである。第 1 は、カメノコロウムシの脂質中には緑色を呈する物質が存在することである。これは TLC において、Fig. 4 のスポット 8 に、また Fig. 5 のスポット 9 の中に含まれてくるが未同定である。ルビーロウムシにおいてはこれは微弱であり、カメノコロウムシの方がはるかに強く呈色した。ただし、緑色物質はかなり不安定で褪色がすみやかである。比較的安定であったのは、虫体の総脂質をカセイカリでケン化処理した際得られる粗脂肪酸溶液は強く緑色を呈することであった。ルビーロウムシの虫体からは同様処理しても緑色は呈しないで褐色であった。なお、カメノコロウムシのロウ殻脂質成分にも、カセイアルカリでケン化すると、とくに強烈に緑色を呈する物質が存在した。このようなことから、未同定の緑色物質はカメノコロウムシに固有の微量脂質成分であると思う。第 2 は、極性脂質は主にリン脂質から構成されていることである。すなわち、PE, LPE, PC そして微量のリゾホスファチジルコリンが同定された。第 3 の特徴は、極性脂質の脂肪酸組成におけるパターンである。すなわち Table VI のように、カブリン酸とラウリン酸の含有率のとくに大きい点が注目され、ルビーロウムシの極性脂質の脂肪酸組成とはいちじ

Fig. 4. Silicic Acid Thin-Layer Chromatograms of the Fractions Separated by Column Chromatography of *C. japonicus* Lipids.

Peak numbers correspond to those in Table IV. Solvent systems and detection method are the same as in Fig. 2.

Compounds: 1, hydrocarbons; 2, waxes; 3, triglycerides; 4, free fatty acids; 5 and 6, diglycerides. The spots 7 and 8 were composed of several unidentified compounds.

Fig. 5. Two-Dimensional Thin-Layer Chromatograms of the Polar Lipids obtained from *C. japonicus*.

The polar lipids correspond to peak number 8 in Table IV.

Coating material, solvent system and detection method are the same as in Fig. 3.

Compounds: 12, phosphatidylethanolamin; 14, lysophosphatidylethanolamine; 15, phosphatidylcholine; 16, lysophosphatidylcholine; 9, 10, 11 and 13, unidentified compounds.

Table VI. Fatty acid Composition of Total and Fractionated Lipids from *C. japonicus*

Fatty acid	Polar lipids* (%)	Total lipids (%)
8 : 0	0.8	0.6
10 : 0	44.1	40.8
12 : 0	28.3	35.9
14 : 0	8.3	10.9
16 : 0	2.6	2.6
16 : 1	trace	trace
18 : 0	3.4	2.7
18 : 1	5.5	3.7
18 : 2	6.8	2.7
20 : 0	0.4	0.3
Saturated	87.7	93.6
Unsaturated	12.3	6.4

* The main components are phospholipids.
GLC conditions are the same as in Table V.

Table VII. The Composition of Lipids obtained from the Insect Body of *C. rubens* and *C. japonicus*

Lipid class	Composition of lipids, % of total*	
	<i>C. rubens</i>	<i>C. japonicus</i>
Hydrocarbons	2.1	0.6
Waxes	19.3	1.0
Triglycerides	17.2	86.7
Free fatty acids	29.7	0.2
Mono- and diglycerides** + uncharacterized lipids	18.5	2.8
Phospholipids + uncharacterized polar lipids	13.2	8.7

* Expressed as percentage of total weight recovered from the column. Overall recovery 98.9~105.5%.

** The amounts of mono- and diglycerides were small.

Table VIII. Fatty Acid Composition of Triglycerides obtained from Several Coccids

Fatty acid	<i>Ceroplastes</i>			<i>Lecanium horii</i> ^{a)} (%)	<i>Ericerus pela</i> ^{a)} (%)	<i>Icerya purchasi</i> ^{b)} (%)
	<i>rubens</i> (%)	<i>japonicus</i> (%)	<i>pseudocerciferus</i> ^{a)} (%)			
8 : 0	3.9	0.4	2.8	trace		trace
10 : 0	53.5	41.2	33.9	1.7		trace
12 : 0	25.1	34.6	38.5	95.8	0.1	0.1
14 : 0	2.6	11.7	12.4	2.2	8.6	0.1
14 : 1					0.1	
16 : 0	1.2	3.4	1.9	0.1	7.9	1.6
16 : 1	0.1	trace	trace	trace	1.3	trace
17 : 0					trace	
18 : 0	2.4	2.6	1.4	0.2	6.2	44.1
18 : 1	8.5	4.2	5.6	trace	58.6	13.8
18 : 2	2.7	1.9	3.5	0.1	17.2	26.2
20 : 0				0.1	trace	9.6
22 : 0				trace		4.5

a) Results from previous paper^(5,6).

b) A. Hashimoto *et al.* : from unpublished paper.

るしく相違した。

3-5. 脂質組成

以上, 両ムシ脂質のカラムクロマト, TLC など得た成績から, 両ムシ脂質成分の組成を概括すれば Table VII のようになる。ルビーロウムシにおいては, ワックス, トリグリセリド, 遊離脂肪酸が主要成分である。一方, カメノコロウムシではトリグリセリドが主であって, 両ムシの脂質クラスはかなり量的な差異があった。

3-6. トリグリセリドの脂肪酸組成

両ムシから得たトリグリセリドの構成脂肪酸組成は, Table VIII のようである。比較のために両ムシと同属であるツノロウムシ, ならびにカタカイガラムシ科, *Lecanium* 属のモミジワタカイガラムシ, 同科, *Ericerus* 属のイボタロウムシ, そしてワタフキカイガラムシ科のイセリヤカイガラムシから得たトリグリセリドの脂肪酸組成も, あわせて Table VIII にかかげた。この表から明らかなように, 上記 *Ceroplastes* 属三者の脂肪酸組成のパターンは互に近似し, 他の属のパターンとは異なることがわかる。ルビーロウムシ, カメノコロウムシ, ツノロウムシは, 形, 大きさ, 色など外観的には互に全く異なっている。また寄主植物も互に異なるようにムシの採集を配慮した。もちろんムシの発育状態により脂質成分の量的, 組成的変動のあることも考慮しなければならないが, 一応今回の越冬雌成虫について得た脂肪酸組成の近似性, とくに互にカプリン酸, ラウリン酸の高率を占めているパターンは, 明らかに *Ceroplastes* 属の特徴の1つと考えられるのである。著者らはこのムシについ

て, さらにトリグリセリド組成のレベルで比較するために検討中である。カイガラムシのトリグリセリドの脂肪酸組成や分布様式などは, ほとんどわかっていないのが現状であるが, 著者らはいままでに手がけている数種のカイガラムシについての脂質組成の知見から, その分類上の属の特徴性は, トリグリセリドの脂肪酸組成やその分布様式にみられるのではないかと考えている。多種のカイガラムシの脂質をたんねんに分離分析し, その構成成分とムシの分類上の位置との関連性の追求は興味があり, 今後の実験に待たれる。

4. 要 約

ルビーロウムシとカメノコロウムシの虫体の脂質組成を明らかにした。前者の主要構成成分は、遊離脂肪酸 29.7%, ワックス 19.3%, トリグリセリド 17.2% である。後者のそれは、トリグリセリドが 86.7% の高率を占め、遊離脂肪酸は 0.2%, ワックスは 1.0% にすぎず、両ムシの脂質クラスは量的にかなりの差異があった。

両ムシのトリグリセリドの脂肪酸組成は、カプリン酸、ラウリン酸がとくに高率を占め、そのパターンは非常に近似した。両ムシと同属であるツノロウムシのトリグリセリドの脂肪酸組成もまた同様であったことから、このような脂肪酸組成のパターンは、カイガラムシ類における *Ceroplastes* 属の特徴であると考えた。

本研究に際し、ご高配を賜りました本学教授岩狭与三郎博士、有益なご助言を賜りました京都府立大学教授野田万次郎博士に深く感謝いたします。

- (1) 石井 悌ら編：日本昆虫図鑑，北隆館，1950，p. 369.
- (2) 河野通男：農化, 8, 1150(1932) ; 12, 512(1936) ; 13, 177, 191 (1937) ; 14, 318 (1938).
- (3) 小山亮清：日化, 56, 365 (1935).
- (4) 玉木佳男，河合省三：日本応用動物昆虫学会大会講演要旨，1967 年 4 月.
- (5) 橋本 皓，向井克憲：農化, 39, 489 (1965) ; 41, 506 (1967).
- (6) 橋本 皓，山田和彦，向井克憲：農化, 41, 393 (1967).
- (7) I. Hornstein, J. A. Alford, L. E. Elliott and P. F. Crowe : *Anal. Chem.*, 32, 540 (1960).
- (8) M. Kuchmak : *Lipids*, 2, 192 (1967).