ひいろたけ酵素のドレインチェリー製造への応用*

富士繩昭平, 小川浩三, 木村 博, 中谷弘実

(武田薬品工業株式会社食品研究所)

昭和 46 年 11 月 25 日 受 理

Application of *Trametes sanguinea* Enzyme to the Drained Cherry Processing (Application of *Trametes sanguinea* Enzyme to the Food Processing Part I)

By Shohei FUJINAWA, Kōzō OGAWA, Hiroshi KIMURA and Hiromi NAKATANI

Food Research Laboratories Takeda Chemical Industries, Ltd.

A method of industrial application of *Trametes sanguinea* enzyme (A-12-C) to the drained cherry processing was established. According to the treatment with A-12-C, the candling time could be reduced from 14 days to 6 days, and the product had no shrinkage in shape, excellent mouth-feel in texture. Furthermore, the product was obtained in high yield.

The main enzyme activities of A-12-C are cellulase, polygalacturonase, acid protease and β -1,3-glucanase, but the effective enzyme activities for the drained cherry processing were found to be those of cellulase and polygalacturonase.

(Received November 25, 1971)

緒 言

ひいろたけ (*Trametes sanguinea*) の生産する酵素には、酸性プロテアーゼ⁽¹⁾およびセルラーゼ、ポリガラクトクロナーゼ、 β -1,3-グルカナーゼなど⁽²⁾が含まれており、すでに種々の食品加工に利用されて効果をあげている⁽³⁻⁵⁾。

著者らは、複合酵素剤であるひいろたけ酵素のうちで、セルラーゼ活性の強い調製品 (以下 A-12-C と略す) を各種食品の加工に利用した場合の効果を確認し、同時に複合酵素剤中の有効酵素活性を検索することを目的に検討をはじめた。

本報では、ドレインチェリーの製造に A-12-C を利用する方法を検討した。すなわち、通常のドレインチェリーの製造法では、糖液漬け (キャンディング) に長期間を要することが問題となっており、短期間の糖液漬けで、品質のすぐれた製品をうる製造法の確立が望まれている。

著者らは、A-12-C の利用にあたり、糖液漬け期間の

短縮化を主目的として検討し、A-12-C の効果を確認するとともに、有効酵素活性についても 2, 3 の知見を得たので報告する。

実 験 方 法

1. 実験材料

a) **A-12-C** : 当社醗酵生産物研究所で製造した A-12-C 製剤 4 ロット (ロット名; A-18, A-40, A-100, および A-200), 精製原末 1 ロット (ロット名; HC-4S) を用いた。

A-12-C 製剤は、精製原末に乳糖を加えて酵素力価を調整したものである。

b) **チェリー** : 和歌山缶詰株式会社から分譲された輸入品 (亜硫酸漬けしたもの) を用いた。

2. 酵素活性測定法

a) **酸性プロテアーゼ** : 友田の方法⁽¹⁾を用いた。基質としてミルクカゼイン (Hammarsten) を用い、酵素反応 (40°C, 20 分, pH 3.0, 乳酸緩衝液) 後、トリクロロ酢酸 (以下 TCA と略す) 可溶の紫外部 (275 m μ) 吸収物質をチロシン (以下 Tyr と略す) として定量し、活性を測定した。活性の単位は、 μ g Tyr/min/mg で表わ

* 本報を、ひいろたけ酵素の食品加工への利用 (第 1 報) とする。

した。

b) セルラーゼ： 畚野の行なった比濁法⁽²⁾を用いた。すなわち, R. Willstätter の方法⁽⁶⁾を参考として, 局方脱脂綿から調製したハイドロセルロースを基質とし, 酵素反応 (45°C, 60分, pH 4.5, 酢酸緩衝液) 前後の濁度の変化を 660 mμ における吸光度差 (以下 ΔA_{660} と略す) で測定した。なお, 活性の算出には, 当社で保有する標準セルラーゼを用いて作成した検量線 (Fig. 1) を用いた。その際, 酵素単位は, H. C. u./mg (H. C. u.; hydrocellulase unit の略) で表わした。

c) β -1,3-グルカナーゼ： 基質として, β -1,3-グルカン, polysaccharide 13140⁽⁷⁾ (当社調製品, 以下 P. S. 13140 と略す) を用いた。

Potter-Elvehjem のホモジナイザーで5分間かきまぜ調整した P. S. 13140 の 0.5% 懸濁液 2ml に, 0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) 1ml, 0.2% 酵素液 1ml を加え, Monod 式振とう培養装置 (30 往復/分) で 40°C 1 時間反応させた。5% TCA 3ml を加えて反応を停止させた後, 反応液を遠心分離 (3000 rpm, 5分間) し, その上澄液を 0.5N 水酸化ナトリウムで中和し, 3,5-DNS 法⁽⁸⁾で生成した還元糖をグルコースとして定量した。活性の単位は, $\mu\text{g Glc/min/mg}$ で表わした。

なお, この反応液を活性炭カラム⁽⁹⁾ (Fig. 2) とペーパークロマトグラフィ⁽¹⁰⁾ (Fig. 3) で分析した結果, 反応生成物は, グルコースの量を 100% とした場合, オリゴ糖は約 5% であった。

d) ポリガラクトクロナーゼ： レモンペクチン (和光純薬) を基質とし粘度降下法^(11,12)で測定した。0.1M 酢酸緩衝液 (pH 4.5) にペクチンを 4% となるようにとかけた基質溶液 100ml を 40°C にし ($\eta=300\sim400$ cP), これに A-12-C 40mg を激しくかきまぜながら加え, 3から5分ごとに B 型粘度計 (東京計器) を用いて粘度

Fig. 1. Calibration Curve of Cellulase.

Reaction mixture: 0.1% enz. soln. 2ml, hydrocellulose/0.1M acetate (pH 4.5) 2ml, reaction: 45°C, 1hr, heat inactivation: 100°C, 4min.

Fig. 2. Carbon Column Chromatogram of P. S. 13140 Hydrolyzate by A-12-C (HC-4 S).

Assay: anthrone method, reaction mixture: 0.5% P. S. 13140 100ml, 0.01M acetate 50ml, 0.1% HC-4 S 50ml, reaction: 40°C, 1hr, carbon: granular charcoal for chromatography (Wako).

Sample was fed to column after desalted (IRA-400, IR-120) and condensed.

* Peak areas were calculated using Glc peak as standard, 100%.

を測定した。30分後の粘度が, はじめの 50% に低下する場合, その酵素のポリガラクトクロナーゼ活性を 1000 Pect. u./mg (Pect. u.; ペクチナーゼ単位の略) と定義し, 一般に θ 分後に, 反応液の粘度が反応開始時の半分になる場合には,

$$\text{ポリガラクトクロナーゼ活性} = 1000 \times \frac{30(\text{分})}{\theta(\text{分})} \text{ Pect. u./mg}$$

Fig. 3. Paper Chromatogram of P.S. 13140 Hydrolyzate by A-12-C (HC-4 S).

Solvent: *i*-ProOH-AcOH-H₂O (27:4:9).⁽¹⁰⁾

Sample: 1; glucose, 2, 3; reaction 0 time and 1 hr (spotted after desalted by IRA-400 and IR-120, and condensed), 4, 5, 6; fractions in Fig. 2 (spotted after condensed).

Ratio of *R_f*: (exp.) G₂/G=0.759, G₃/G=0.517, G'₂/G'=0.750, G'₃/G'=0.500, (ref. 10) laminaribiose/Glc=0.789, laminaritriose/Glc=0.517.

Table I. Polygalacturonase Assay by Viscosity

Enz. wt. ¹⁾ (mg)	θ ²⁾ (min)	Polygalacturonase act. ³⁾ (Pect. u./mg)
40	44	682
80	21.5	698
120	15.2	658
160	11.2	670
200	9.0	667

¹⁾ A-12-C: A-100.

²⁾ θ: time required for half decrease of pectin viscosity.

³⁾ Act. = $1000 \times \frac{30}{\theta} \times \frac{40}{\text{enz. wt.}}$, see text.

Enz. were added to 4% citrus pectin (pH 4.5, 40°C) soln. and the viscosity was recorded continuously for 60 min by rotary viscometer.

によって活性を計算した。

なお、基質の特定な変化を時間的に測定する方法としては、外山によって開発されたセルラーゼ測定用ろ紙崩壊試験法⁽¹³⁾などがあるが、この方法では、酵素量と時間との間に直線関係が得られず、酵素量が増すと活性が低く算出される欠点がある⁽¹⁴⁾。本実験に用いた粘度降下率時間測定法では、このような欠点はなく (Table I), A-12-C 中のポリガラクトナーゼの測定法として、十分に使用できるものであった。

3. A-12-C の分画 HC-4 S 20 g を 450 ml の冷水にとかし、遠心分離 (10,000 rpm, 20 分) によってわずかな不溶物を除き、これに硫酸アンモニウムを加えて、0.4 飽和 (以下 ppt. I とする) と、0.4~0.8 飽和 (以

下 ppt. II とする) で沈でんする画分を集め、それぞれを奈良らの方法⁽¹⁵⁾にしたがって、DEAE セファデックスカラムクロマトグラフィーで分画し、各区分を透析後凍結乾燥して保存した。

4. ドレインチェリーの調製法

a) チェリーの前処理: 原料チェリーを水洗して亜硫酸を除いた後、種子抜き、水洗 (1 夜, 16~20 時間)、硬果処理 (0.5% みょうばん溶液 2 昼夜, 約 40 時間浸漬)、水洗 (1 夜)、酸化漂白 (1% 亜硫酸ナトリウム溶液 2 昼夜浸漬)⁽¹⁶⁾、水洗 (2 昼夜)、還元漂白 (0.2% メタ重亜硫酸カリウム溶液 1 夜浸漬)、水洗 (1 夜) などの一連の工程でチェリーの前処理を行なった。

b) ドレインチェリーの調製法 (通常の方法): 前処理のすんだチェリーを、はじめ低い濃度の糖液に漬け、順次高い濃度の液に漬けかえる。この場合、漬けはじめの糖液に色素をとかして着色し、漬け終りの糖液に着色料を加えて、チェリーに芳香を持たせる。

本報でのキャンディングは、Fig. 4 に示したように、25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 58, 61, 65, 68, 71, 75, 75% (w/w) の各濃度の糖液に各 1 日ずつ浸漬し、計 14 日間で漬け上げる方法を用いた。なお、この通常の方法でキャンディングを行なった場合には、前処理工程も含めて、合計約 26 日間を要する。

c) ドレインチェリーの調製法 (A-12-C を用いる方法): 予備実験の後に、次のような調製方法を決めた。すなわちチェリーの前処理のうち、最終の還元漂白工程を省略しても、色素の沈着が十分に行なわれることがわかったので、この工程を省略したチェリー 1 kg に酵素液 (A-12-C 0.15~0.20% 水溶液, pH 4.5; クエン酸) 1300 ml を加え、40°C で 20 時間浸漬する。酵素処理のすんだチェリーを数回水洗し、着色液 (赤色 102 号 250 mg/1300 ml 水) に漬けて、75~80°C 1 時間加熱して着色させ、同時にチェリー中の A-12-C を失活させる。着色したチェリーは Fig. 4 に示すように、50, 60, 70, 70, 75, 75% (w/w) の各濃度の糖液に 1 日ずつ漬ける。

この方法によると、通常の方法に比較して、酵素処理で 1 日よけいに要するが、前処理で 3 日、キャンディングで 8 日短くなり、合計 10 日間の短縮が可能となる。

5. ドレインチェリーの評価法

a) 収率: キャンディングが終了した後、ドレインチェリーを 2 mm × 2 mm の金網に 90 秒間のせて漬液を切り、重量を測定し、キャンディング前の重量に対比さ

せて収率を算出した。なお後述するように、この収率はチェリーへの糖の浸透度を示している。

b) 収縮と色調 : 300 g のドレインチェリー (40~50 個) を皿にひろげ、20 人のパネルによって、丸いものから順に 1, 2, 3, ……と順位をつけ、順位合計を求めて Kramer の表⁽¹⁷⁾ で検定した。

色調については、パネルの意見から、定性的な判定を行なった。

c) 硬さ : テクスチュロメーター (General Foods Corp.) を用い、クリアランス ; 6 mm, プランジャー ; ルサイト 22mm, プラットホーム ; 58 PC-3 の条件で測定した。サンプルは、ノギスで直径 (柄を通る軸に垂直な横断面) を測定して、ほぼ同じ大きさのものを選び、その 10 個を用いた。測定値は 10 個の平均値を、また単位はテクスチュロユニット (T. u.) で表示した。

d) 糖度 : 屈折糖度計を用いた。

6. チェリーの化学分析 水分は 105°C 4 時間の乾燥減量として求め、粗蛋白はケルダール法、粗繊維は常法⁽¹⁸⁾ により測定した。

実験結果

1. ドレインチェリー製造における A-12-C の効果

a) キャンディング条件の決定 : 前処理したチェリーを用いて、キャンディング期間の短縮化について検討した (Fig. 4)。Fig. 4 のように、最初から 75% 糖液に浸漬すると、5 日間でチェリーの糖度は JAS 規格の 70% に達するが、でき上ったドレインチェリーは、へこみの生成など品質的な問題が多く、収率も低かった。また、Fig. 4 の第 2 の方法、すなわち 50% 糖度から浸漬していく方法では、6 日間で果肉糖度は 70% に達し漬け上がったが、この場合もドレインチェリーはへこみが多く、品質的に悪いものであった。

一方、通常のキャンディング法にしたがうと、14 日間を要したが、製品はへこみのない球状で、収量も高く、浸透した糖の絶対量も多かった。

したがって以後の検討では、前処理したチェリーを酵素で処理することにより、第 2 の方法で製造しても、通常の方法で製造したものと同様、またはそれよりすぐれた品質の製品を得ることを目標とした。

b) A-12-C 処理条件とその効果 : A-

Fig. 4. Relationships between Candling Period and Sugar Content in Cherry.

—○— conventional candling, —△—, —●— accelerated candling, — in syrup, ---- in cherry.

Candling was run at room temperature.

12-C 中の主な酵素活性 (酸性プロテアーゼ, セルラーゼ, ポリガラクトナーゼ, β -1,3-グルカナーゼ) のうち、酸性プロテアーゼを除いた他の 3 種の活性は、いずれも pH 4~5 にブロードな Opt. pH を示す^(1,2)。そこで、A-12-C によるチェリーの処理は、pH 4.5 (クエン酸で調節 ; 食品添加物) で行なった。

温度と時間は、相互に影響しあう条件であるが、実際の作業性から考えて、A-12-C による処理条件は一応 40°C 20 時間とした。また、酵素液の濃度は一時的に 0.18% とし、前記のような条件で A-12-C 処理をし、さらに 6 日間のキャンディングを行なって、ドレインチェリーを試製した。評価の結果を Table II に、またその際用いた A-12-C の酵素活性を Table III に示した。

Table II から明らかなように、A-12-C 処理の効果は収率と収縮性で見られ、果肉糖度や硬さについては、A-

Table II. Effect of A-12-C on Drained Cherry Preparation by Accelerated Candling Process

Evaluation ¹⁾	Yield (%)	Shrinking ²⁾ (rank sum)	Sugar content (°brix)	Hardness (T. u., n=10)
A-12-C				
A-18	141	48	71.9	2.51
A-40	140	58	71.1	2.40
A-100	138	53	69.8	2.52
A-200	139	54	69.9	2.72
Control	125	87**	70.1	2.60

1) Experimental conditions were explained in text.

2) Rank sums were tested the significance with the Kramer's table.⁽¹⁷⁾ n=5, panel=20, $\alpha=1\%$; 42~78, $\alpha=5\%$; 45~75.

** means statistical significance at $\alpha=1\%$.

Table III. Enzyme Activities of A-12-C Preparations

Enz. activity	Opt. pH	Enz. lot			
		A-18	A-40	A-100	A-200
Acid protease μg Tyr/min/mg	2.5	145	52.3	55.9	50.1
Cellulase H. C. u./mg	4.0	1208	963	809	869
Polygalacturonase Pect. u./mg	5.0	3000	1322	675	857
β-1,3-Glucanase μg Glc/min/mg	4.3	35.3	10.7	7.9	10.5

Acid protease : TCA soluble UV absorbing material liberated from milk casein was measured at 275mμ as Tyr.

Cellulase : turbidmetry of hydrocellulose.

Polygalacturonase : viscometry using citrus pectin as substrate.

β-1,3-Glucanase : aqua-soluble reducing sugar liberated from P. S. 13140 was measured as Glc.

12-C を用いない対照品との差は認められなかった。

一方, A-12-C を用いて糖液浸漬時間を短縮した試験品と, 通常の方法によるドレインチェリーを比較すると, 前者では収率が 2~5% 向上した。また, 製品の丸味・色調などについては差が見られなかったが, ドレインチェリーメーカーによる官能検査では, A-12-C を用いた製品の方が, 柔らかくおいしいという評価であった。

c) 酵素濃度と効果の関係 : 前項で, A-12-C 処理の効果判定するためには, 製品の収率と収縮性の 2 特性を測定すればよいことがわかったので, 次にこの 2 特性を判定基準とし, A-12-C 液の濃度と効果との関係を

Fig. 5. Relationships between Enz. Conc. and Enzymatic Effect of A-12-C.

A-12-C : A-200, * from Kramer's table,⁽¹⁷⁾ yield : candling yield, rank sum : by visual sensory test.

しらべた (Fig. 5).

Fig. 5 に示すように, 酵素の濃度が低くなると効果が徐々に減少した。

2. A-12-C 中の有効酵素活性の検索

A-12-C はすでに述べたように, 主に 4 種類の酵素活性からなる複合酵素である。そこで, 前項で確認された A-12-C の効果が, その中のどの酵素活性によって発揮されるのかをしらべた。

まず, 精製原末 (HC-4S) を出発原料として, 既述の方法で A-12-C を分画し, その酸性プロテアーゼ, セルラーゼ, β-1,3-グルカナーゼおよびポリガラクトクロナーゼの 4 種の酵素活性を測定した。ついで, この 4 種の測定値を基にして, チェリー処理用の酵素液

を調整し, ドレインチェリーを試製して各画分の効果をしらべた。酵素液の調整は, 次のようにして行なった。

まず, A-12-C ロット A-100 の 0.2% 溶液をつくり, これを標準酵素液とし, さらに分画物については, 4 種の酵素活性のうちで最も強いものを指標として, 標準酵素液の同種の酵素活性濃度と同じになるように溶液を調製した。たとえば Table IV で示したカラム分画物 I は β-1,3-グルカナーゼの強い画分であるが, この酵素液は β-1,3-グルカナーゼ活性に関しては, 標準酵素液中のそれと同じ活性濃度になるように調製してある。この場合, 他の 3 種の活性は, 標準酵素液中のそれぞれに比較して, 酸性プロテアーゼは 2%, セルラーゼは 27%, ポリガラクトクロナーゼは 14% の活性濃度となっている。なお, 実験の対照としては, すでに述べた標準酵素液の他に, 酵素濃度をその 1/10 の 0.02% にしたもの, および水を用いた。効果の判定は, 収率および収縮性・色調について行ない, ×, △, ○ の 3 段階に判定した。

結果を Table IV に示すが, ドレインチェリーの製造に有効な酵素活性は, セルラーゼとポリガラクトクロナーゼ活性であり, β-1,3-グルカナーゼと酸性プロテアーゼ活性は, 効果にほとんど関係しないことが推定された。

次に, この推定を裏付けるために, 酵素処理によるチェリーの成分変化をしらべた。

前処理のすんだチェリー 300 g を A-12-C (ロット A-18) 0.18% 溶液 (pH 4.5 ; クエン酸) 360 ml に浸漬し, 1 夜 40°C で処理したものを調製し, 数回水ですすぎ洗

Table IV. Effect of Various Fractions of A-12-C on Drained Cherry Preparations by Accelerated Candling Process

Enz. fract.		Relative activity				Evaluation		
		Acid protease	Cellulase	Polygalacturonase	β -1,3-Glucanase	Yield	Shrinking ¹⁾ color	Estimation ²⁾
Control	A-100	100%	100%	100%	100%	139%	±	○
	A-100	10	10	10	10	133	—	△
	water	0	0	0	0	129	—	×
(NH ₄) ₂ SO ₄ ppt. I		18	73	18	100	139	+	○
	Fractionate ppt. II	65	84	100	2	143	+	○
Column fractionate	I	2	27	14	100	135	±	△
	II	4	100	48	11	144	+	○
	III	100	7	6	2	134	—	△

¹⁾ +, ±, — show that they were distinguished each other by sensory test with 5% significance.
+ spherical, — shrunk.

²⁾ Estimation was divided to 3 ranks. ○ very effective, △ effective, × no effective.

Table V. Chemical Changes in Cherry during A-12-C Treatment

Treatment Assay	A-12-C (A-18)	Control (water)
Moisture	97.9%	97.7%
Crude protein (dry base)	11.45	9.27
Crude fiber (dry base)	35.2	66.7

Moisture : 105°C 4hr, crude protein : Kjeldahl method, crude fiber : usual method.

Samples were analyzed after one night treatment in enz. soln. or water (pH ; 4.5, temp. ; 40°C).

った後, 分析に供した。対照として, 酵素液のかわりに同量の水 (pH 4.5 ; クエン酸) で処理したチェリーを用いた。結果を Table V に示すが, 酵素処理をしたチェリーでは, 対照に比較して, 粗繊維含量が約半量に低下していることが明らかになり, 先の推定を支持している。なお, 酵素処理したチェリーで粗蛋白含量が増加しているが, この増加は, 使用した A-12-C の酵素蛋白の一部由来したと同時に, 粗繊維の減少により相対的に増加したものと考えられる。また, チェリー中のペクチン質については, 分析をしなかった。

考 察

1. A-12-C 処理の効果について

ドレインチェリーは糖果 (candied fruit) の一種であるが, 糖果の製造に酵素を用いると, 糖の浸透が早まるという報告⁽¹⁹⁾がある。著者らは, キャンディングの工程で毎日チェリーの糖度を測定し, その上昇速度をしらべたが, 対照品と酵素処理品との間で糖度の上昇速度に差はなく (Fig. 6), また Table II のようにドレインチ

Fig. 6. Relationship between Sugar Percentage and Total Sugar Weight in Cherry by Accelerated Candling Process.

○ treated by A-12-C, ● control (treated by water).

ェリーとしたときにおいても, 糖度の差は認められなかった。したがって先の報告で, 酵素処理品では対照品に比較して糖の浸透が早くなるというのは, チェリーの場合, その中で糖濃度の上昇が促進されるという意味ではなく, チェリー中に浸透する糖の溶液量の増加, すなわち糖の絶対量の増加が促進されたと考えた方がよい。このことは, 酵素処理によって製造したドレインチェリーの収率が, 対照品よりも高い事実から裏付けられる。以上の関係を Fig. 6 に示した。

2. A-12-C 中の有効酵素活性について

A-12-C を分画し, 得られた画分を用いてドレインチェリーを試製して, Table IV の結果を得たが, この結果から A-12-C 中の有効活性は, セルラーゼとポリガラクトナーゼであり, 酸性プロテアーゼと β -1,3-グルカナーゼは, ほとんど関与していないものと推定され

た。また、この推定を裏付けるものとして、Table V のように、酵素処理によってチェリー中の粗繊維が、約半減していることが認められた。

一方、M. Blakemore⁽¹⁹⁾ は、糖果製造に有効な酵素として proteolytic なものが良いとしており、具体的にはパパインをあげている。そこで著者らは、パパイン、ペプシン、細菌のプロテアーゼ（電気泳動的に単一なもの）などを用いて、A-12-C の場合と同じ方法でドレインチェリーを試製したが、いずれのプロテアーゼの場合でも、M. Blakemore が述べているような効果は認められなかった。

要 約

ひいろたけ (*Trametes sanguinea*) の生産する酵素 (A-12-C) を、ドレインチェリーの製造に利用した。

(1) 通常 26 日間を要する製造期間が、A-12-C を利用することによって、16 日間に短縮できることが明らかになり、A-12-C を使用するドレインチェリーの製造方法を確立した。

(2) このような糖果製造に酵素を用いた場合には、収率、収縮性、色調などでその効果を判定するのが良い。糖度、硬さなどでは、効果の判定はできなかった。

(3) ドレインチェリーの製造に有効な A-12-C 中の酵素活性は、セルラーゼとポリガラクトナーゼであり、プロテアーゼと β -1, 3-グルカナーゼは、ほとんど関与していない。

(4) A-12-C をドレインチェリー製造に利用した場合の利点として、漂白の省略、キャンディング期間の短縮、収率の向上などがあげられる。

終りに本研究にあたり、種々御助言を賜った日本ドレインチェリー協議会の諸氏に深謝いたします。

なお、本研究は日本農芸化学会昭和 46 年度大会（東京）において講演した。

- (1) K. Tomoda and H. Shimazono : *Agr. Biol. Chem.*, **28**, 770 (1964).
- (2) 畚野 剛, 奈良 潔, 吉野 弘 : 醸工, **42**, 405 (1964).
- (3) 堀 四郎, 畚野 剛 : 特公昭 40-6383, 果実類の加工法.
- (4) 堀 四郎, 畚野 剛 : 特公昭 40-15789, ドレインチェリーの製造法.
- (5) 安松克治, 堀 四郎, 畚野 剛 : 特公昭 44-6201, 飲食品の製造法.
- (6) R. Willstätter und L. Zechmeister : *Ber. deut. Chem. Ges.*, **46**, 2401 (1913).
- (7) 木村 博ら : IFT 32nd Annual Meeting (1972) にて発表予定.
- (8) J. B. Summer : *J. Biol. Chem.*, **160**, 61, 74 (1945).
- (9) S. Peat, W. J. Whelan and J. G. Roberts : *J. Chem. Soc.*, **1956**, 2258.
- (10) "Enzymatic Hydrolysis of Cellulose and Related Materials," ed. by Elwyn T. Reese, Pergamon Press Inc., New York, N. Y., 1963, p. 203.
- (11) E. Roboz, R. W. Barratt and E. L. Tatum : *J. Biol. Chem.*, **195**, 459 (1952).
- (12) 斎藤日向 : 農化, **28**, 814 (1954).
- (13) 北御門敬之, 外山信男 : 醸工, **40**, 45 (1962).
- (14) 中川 越, 若沢 正, 安部政弘, 丹羽富造 : 同上, **40**, 45 (1962).
- (15) 奈良 潔, 畚野 剛, 吉野 弘 : 同上, **42**, 410 (1964).
- (16) A. C. Wagenknecht and J. P. Van Buren : *Food Technol.*, **19**, 658 (1965).
- (17) A. Kramer : *ibid.*, **17**, 1596 (1963).
- (18) 東京大学農学部農芸化学教室編 : 実験農芸化学上巻, 朝倉書店, 東京, 1962, p. 124.
- (19) Samuel M. Blakemore : U. S. Patent, 3, 307, 954 (1967) [C. A., **66**, 94092 U (1967)].