[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol.60, No.10, pp.829~835, 1986]

ゴマ 13S グロブリンの加熱ゲルの示差熱分析 およびレオロジー的特性

藤野吉世, 松本幸雄*, 的場輝佳, 長谷川喜代三
(奈良女子大学家政学部食物学科, *大阪府立大学農学部農芸化学科)

昭和 61 年 5 月 21 日 受 理

Differential Scanning Calorimetric Analysis and Rheological Characteristics of Thermally Induced Gel of Sesame 13 S Globulin

Sachiyo FUJINO, Sachio MATSUMOTO*, Teruyoshi MATOBA
and Kiyozo HASEGAWA

*Department of Food Science and Nutrition, Nara Women's
University, Nara 630*

** Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture,
The University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591*

Differential scanning calorimetric analysis was carried out to investigate energy change requirements for thermal denaturation of 10% sesame 13S globulin at various pHs in water and in 5% NaCl. A single endothermic peak was observed at a pH range between 5 and 10. The maximum energy value required for denaturation was obtained at pH 10 in 5% NaCl and at pH 6 in water. The water holding capacity of sesame 13S globulin gel was lower than that of soybean 11S globulin gel. The texture parameters of both gels were determined with a rheolometer. Sesame 13S globulin gel was harder than soybean 11S globulin gel. The viscoelasticities of sesame 13S and soybean 11S globulin gels were measured with a creep meter. In a four element mechanical model, Hookean Young's modulus, E_0 , retarded elastic modulus, E_R , Newtonian flow viscosity, η , and retarded viscosity, η_R , for sesame 13S globulin gel were larger than those for soybean 11S globulin gel. These results revealed that sesame 13S globulin gel was more viscoelastic and harder than soybean 11S globulin gel. (Received May 21, 1986)

緒 言

ゲルは食品のテクスチャーの重要な形態の一つであり、食品に特有の粘弾性を与えることにより食味に大きく影響を与える。新しい食品素材を開発しようとするとき、そのゲル化条件、生成したゲルの性質の解析は重要なことである。ゴマタンパク質はメチオニンに富むことから、メチオニンの不足しているダイズタンパク質と組み合わせれば栄養価の高い食品タンパク質素材となることが期待される。著者らは、これまでゴマ種子 13S グロブリンのサブユニット構造、ゲル化特性およびゲル化に及ぼす化学修飾の効果について研究を行ったところ、ゴマ 13S グロブリンときわめて似たサブユニット

組成を有するダイズ 11S グロブリンとは両者のゲル特性に有意な差がみられることを明らかにした⁽¹⁻⁵⁾。しかし、現在のところ、これらのゲル特性の相違について十分に解析されていない。

本報においては、ゴマ 13S グロブリンの加熱変性過程における熱の出入りを示差走査熱量分析 (DSC) を用いて調べ、さらに生成したゲルのテクスチュロパラメーターの測定およびクリープ測定から、その粘弾性について検討し、ダイズ 11S グロブリンと比較して考察を行った。またそれぞれのタンパク質を還元的アルキル化したものについて、未修飾のものと比較考察した結果も、併せて報告する。

実験材料および方法

1. ゴマ 13 S, ダイズ 11 S グロブリンの調製 ゴマ 13 S グロブリンは長谷川ら⁽²⁾の方法に従って調製した。ダイズ 11 S グロブリンは Thanh と Shibasaki⁽⁶⁾の方法に従って調製した。

2. 還元的アルキル化 還元的アルキル化は前報^(4,5)と同様 Means と Feeney⁽⁷⁾の方法に従い調製し、以下の実験に用いた。ゴマ 13 S グロブリンの場合、化学修飾を6回繰り返したものを、ダイズ 11 S グロブリンの場合は3回繰り返したものを実験に用いた。

3. 熱分析 示差走査熱量分析 (DSC) は、真空理工社 BSC 50 を用いて、室温から 110°C まで 5°C/min の昇温で行った。試料溶液の条件は、未修飾のゴマ 13 S グロブリンの場合は水または 5% NaCl 溶液を溶媒とし、タンパク質濃度 10% のものについて、それぞれ pH 2.0~10.0 の範囲について測定した。還元的アルキル化したゴマ 13 S グロブリンはタンパク質濃度 10%、ゴマタンパク質がゲル化しやすい条件 (pH 10, 5% NaCl)⁽³⁾ で測定した。還元的アルキル化したダイズタンパク質についてはタンパク質濃度 10% のものをダイズタンパク質がゲル化しやすい条件 (pH 7, 2% NaCl)⁽³⁾ およびゴマタンパク質がゲル化しやすい条件 (pH 10, 5% NaCl)⁽³⁾ で測定した。試料量は各溶液 1 ml を金属容器 (1.5 ml 用) に採取し密封した。対照としては水を用いた。変性に要した熱量 (ΔH mcal) は基線からはずれた点 (開始点) ともどった点 (終了点) を直線で結び、この直線と DSC 曲線で囲まれたピーク面積 (A) を重量法で測定し、次式より算出した。 $\Delta H \text{ mcal} = A \times 1.14 \text{ mcal}$ 。 ΔH は吸熱量、 A はピーク面積、1.14 mcal はチャート単位面積当りの吸熱量で、ベンゾフェノン (文献値⁽⁸⁾ 23.5 cal/g) を実測し算出した。

4. 離水率 ゴマとダイズゲルの保水性を調べるため、両タンパク質ゲルの離水率を測定した。ゲル化条件は、それぞれのタンパク質がゲル化しやすい条件、すなわち、10% および 15% ゴマ 13 S グロブリン溶液 (pH 10, 5% NaCl) と 15% ダイズ 11 S グロブリン溶液 (pH 7, 2% NaCl) を調製した。この際、溶液の pH は 0.1 N あるいは 1 N NaOH を用いて調整した。それぞれの液 600 μ l ずつをサンプルチューブ (内径 7 mm $\times$ 長さ 50 mm) に分注し、90°C、20 分加熱後、30 分氷冷しゲル化させた。生成したゲルを 0~10,000 rpm で 20 分遠心

後、遊離した溶液の液量から離水率、(離水量(μ l)/タンパク溶液量 (600 μ l)) $\times$ 100 (%), を算出した。

5. テクスチャー特性値の測定 ゴマとダイズのゲルのテクスチャー特性値を得るため、レオメーター (不動工業 NRM-2010 J-CW) を用い、見かけのかたさ、凝集性、弾性等を比較測定した。10%, 15% ゴマ 13 S グロブリン溶液 (pH 10, 5% NaCl) と 15% ダイズ 11 S グロブリン溶液 (pH 7, 2% NaCl) をそれぞれ 300 μ l ずつ直径 5 mm のガラス管に分注し、90°C、20 分加熱後、氷冷 30 分、室温 30 分放置後、ゲルを取り出し、直径 15 mm のプランジャーを用いてクリアランス 2 mm、スリーブ速度 12 cm/min、テスト速度 5 cm/min の条件で測定した。

6. 粘弾性測定 粘弾性は山電のレオナ-RE-3305 (クリープメーター) を用いてゲルのクリープ挙動を測定した。供試ゲルは、12% ゴマ 13 S グロブリン溶液 (pH 10, 5% NaCl) および pH 7, 2% NaCl) および 12% ダイズ 11 S グロブリン溶液 (pH 7, 2% NaCl), ならびに各タンパク質を還元的アルキル化したものについては 12% 還元的アルキル化ゴマ 13 S グロブリン溶液 (pH 10, 5% NaCl) および 12% 還元的アルキル化ダイズ 11 S グロブリン溶液 (pH 10, 5% NaCl) でそれぞれ直径 3 cm の秤量ビンに高さ 1 cm のゲルを作成し (90°C, 20 分加熱後、氷冷 30 分), 冷蔵庫内に一夜放置し、測定温度 20°C に放置した後、直径 16 mm のプランジャーで一定荷重 (5 g または 1 g) で試料を圧縮変形させ 10 分後除重したときの圧縮応力に対する試料面の瞬間変形およびクリープ変形を記録し、クリープ曲線を求め、この曲線を四要素力学模型に従って解析し、各粘弾性パラメーターを試算した。

実験結果ならびに考察

1. 示差走査熱量分析

本実験においてはゴマ 13 S グロブリンを試料として示差走査熱分析を行い、変性、凝集に伴う熱の出入りを分析した。

a. ゴマ 13 S グロブリンの示差走査熱量分析

Fig.1 に pH 2.0~10.0 における 10% ゴマ 13 S グロブリン溶液の DSC サーマグラムを示す。溶媒が水の場合も、5% NaCl の場合も pH 4.0 以下では熱の出入りはほとんど観察されなかった。両者とも pH 5.0~10.0 の範囲で吸熱のピークを示した。吸熱ピークの最高値を与

Fig. 1. DSC Thermograms of Sesame 13S Globulin. Experiment was carried out using 10% protein solution in 5% NaCl or H₂O. A: in 5% NaCl. B: in H₂O. Numbers shown in figure were pHs. Heating rate was 5°C/min. T_d , denaturation temperature; T_{max} , temperature at peak maximum.

える温度 (T_{max}) とカーブが基線からはずれた点、つまり変性が始まった温度 (T_d) をまとめてみると Table I に示すようになる。まず T_{max} をみてみると水の場合は pH 6.0 と pH 7.0 において最高温度 (102°C) を示し、また 5% NaCl の場合は pH 7.0 において最高温度 (104°C) を示した。溶媒 5% NaCl のときの最高温度が相対的に 2~5°C 水を上回っていた。 T_d についても、pH 6.0~9.0 では水を溶媒とした場合に比べ、NaCl を溶媒とした場合のほうが有意に高かった。このことは食塩がゴマ 13S グロブリンの熱変性に対して安定化効果があることを示唆している。Hermansson⁽⁹⁾ はダイズタンパク質を試料として、水および 0.2 M NaCl を溶媒としたときの示差走査熱量を pH 2.0~10.0 の範囲で測定して、いずれの場合も pH が中性に近いほど吸熱のピークの T_{max} は高温側に移るが、水の場合は T_{max} は pH 5.0 で 95°C、0.2 M NaCl の場合は pH 6.0 で 98°C であること、また NaCl はその濃度が 1 M までは熱変性に対して安定化効果があることを報告している。今回の結果を Hermansson⁽⁹⁾ の結果と比較すると、ゴマ 13S グロブリンは、水と 5% NaCl 中での測定では pH に関しては同様の挙動を示し、また変性に対する NaCl の安定化効果も同様に認められた。

吸熱ピークと基線にはさまれた面積から熱変性に要したエネルギー (ΔH) を計算した結果を Table II に示

す。溶媒 5% NaCl の場合、pH が高いほど変性に要するエネルギーが大きい。このことは pH が高いほど等電点 (ゴマ α -グロブリンは $pI=4.9^{(10)}$) からずれるためタンパク質と溶媒との相互作用が大きくなるので、タンパク質が加熱によりほぐれる部分の絶対量が大きであると考えられる。また加熱後のセル内容物は pH 6.0~10.0 までは外観上ゲル状態を呈していたが、pH が低いほど離水が大きかった。これは、pH が 10.0 より低くなるに従い、タンパク質の溶解性が低くなるためであると考えられる。次に溶媒が水の場合、中性付近つまり等電点付近で変性に要するエネルギーが大きくなっている。ゴ

Table I. Endothermic DSC Peak Characteristics of Sesame 13S Globulin

pH	5% NaCl		H ₂ O	
	T_d (°C)	T_{max} (°C)	T_d (°C)	T_{max} (°C)
10	70.0	97.0	76.5	93.5
9	80.0	100.5	79.0	95.0
8	87.0	103.5	81.5	100.5
7	89.5	104.0	80.5	102.0
6	88.0	103.0	79.5	102.5
5	76.0	94.5	77.5	100.0

Experimental conditions were the same as those of Fig. 1.

T_d : denaturation temperature.

T_{max} : temperature at peak maximum.

Table II. Energy Required for Denaturation of Sesame 13S Globulin

pH	5% NaCl (cal/g)	H ₂ O (cal/g)
10	3.77	2.10
9	3.24	2.19
8	2.89	2.78
7	2.26	3.42
6	2.39	4.23
5	1.27	2.56

Experimental conditions were the same as those of Fig. 1.

マ 13S グロブリンは食塩を含まない水のみでは溶媒との相互作用が少なく等電点付近で最も構造が密になっているので、中性付近では加熱変性に要するエネルギーが大であると考えられる。また加熱後のセル中では中性付近でタンパク質は凝固し完全に離水してセルの下部に沈殿していた。

b. 還元的アルキル化ゴマ 13S グロブリンおよびダイズ 11S グロブリンの示差走査熱量分析 前報^(4,5)でゴマ 13S グロブリンおよびダイズ 11S グロブリンのゲル化に及ぼす還元的アルキル化の効果について報告した。本報においてはさらにその示差走査熱量分析を行った。pH 10, 5% NaCl で未修飾ゴマ 13S グロブリンと還元的アルキル化ゴマ 13S グロブリンの比較、ならびに pH 7, 2% NaCl および pH 10, 5% NaCl で未修飾ダイズ 11S グロブリンと還元的アルキル化ダイズ 11S グロブリンの分析結果を Fig. 2 に示す。いずれの場合も修飾したものは未修飾のものに対して吸熱のピークがなだらかであり、吸熱の最高ピークを与える温度 ($T_{\max}$) も低温側 (約 85°C 付近) に移行していた。この理由は修飾によりタンパク質があらかじめ、ある程度の変性を受けていたためであると推定される。

タンパク質の熱量測定は食品タンパク質の構造形態の変化に含まれる小さなエネルギー変化を観察することができる。一般に球状タンパク質がゲルのネットワークを形成する場合、タンパク質の凝集過程に先立って変性が必要である。したがってこれらの変性-凝集反応がどのような速度で起こるかが生成したゲルの性質を決定する。また凝集は変性とは逆に発熱を伴うため、示差走査熱量分析により凝集と変性の現象を区別することは可能なのである。しかし今回の実験においても、Hermansson⁽⁹⁾ のダイズタンパク質の示差走査熱量分析の結果からも、見かけ上、発熱のピークはみられなかったの

で、おそらく凝集による発熱ピークは無視できるほど小さいものであろう。Hermansson⁽⁹⁾ のダイズタンパク質の分析と比較すると、ゴマ 13S グロブリンのほうが相対的に変性の最高値 ($T_{\max}$) が高温側にずれている。また pH 4.0 以下ではゴマ 13S グロブリンは熱の出入りがなかった。また Lakshmi と Nandi⁽¹¹⁾ は加熱によるゴマ α -グロブリンの凝集と解離について、40°C でのゴマ α -グロブリンの解離、会合は可逆的であること、また 50~98°C の加熱では凝集と解離が起こることを観察している。今回の示差走査熱量分析からは、凝集と解離に関する知見は得られなかった。以上の結果からゴマ 13S グロブリンとダイズ 11S グロブリンとを比較した場合、ゴマ 13S はダイズ 11S よりも稠密な構造を持ち、またタンパク質分子間のつながりが強く、タンパク質と溶媒との相互作用が少ないものと思われる。しかしながら、これらの差を量的に述べることはできない。このことは今後の検討課題の一つであると考えられる。

2. 離水率

著者らは、走査型電子顕微鏡の観察⁽⁵⁾の結果から、ゴマ 13S グロブリンのゲルは、ダイズゲルのような親水性ゲルに特徴的な、三次元網目構造はみられず、やや疎水性のタンパク質から作られるゲルの一つの特徴を示し

Fig. 2. DSC Thermograms of Sesame 13S, Soybean 11S Globulins and Their Reductively Alkylated Globulins. $T_{\max}$, temperature at peak maximum; A, 10% sesame 13S globulin (pH 10, 5% NaCl); B, 10% reductively alkylated 13S globulin (pH 10, 5% NaCl); C, 10% soybean 11S globulin (pH 7, 2% NaCl); D, 10% reductively alkylated 11S globulin (pH 10, 5% NaCl); E, 10% reductively alkylated 11S globulin (pH 7, 2% NaCl).

ていると思われる小球体からなる微細構造であることを見出した。そこで本実験ではゴマ 13S グロブリンのゲルの保水性をダイズ 11S グロブリンのゲルと比較した。ゴマ 13S グロブリンのゲルは Fig. 3 に示すように 7000rpm の遠心分離を行うことにより約 40% 離水し、10,000rpm では約 60% 離水した。一方ダイズ 11S グロブリンのゲルは離水しなかった。このことからゴマ 13S グロブリンのゲルは保水性がダイズ 11S グロブリンのゲルに比べて非常に弱いことがわかる。

3. テクスチャー特性値

各種の条件でゲル化させたゴマ 13S とダイズ 11S グロブリンのゲル特性の違いをレオメーターによる咀嚼試験から、見かけのかたさ（硬度）、凝集性等 5 種類のテクスチャー特性値を求め Table III に示した。レオメーターによるゲルの破壊に対する抵抗、すなわちかたさは、ゴマタンパク質が大きく、また咀嚼性、ガム性においても高い値を示した。このことからゴマタンパク質のゲルはダイズのゲルに比べかたく、タンパク質分子間のつながりが強く、保型性の高いゲルであることがわかる。

4. 粘弾性測定

桑畑と中浜⁽¹²⁾はダイズ分離タンパク質の加熱ゲルについて、クリープ曲線、テクスチャー記録曲線の解析を

Table III. Texture Parameters of Sesame 13S Globulin Gel and Soybean 11S Globulin Gel

	Sesame 13S globulin gel		Soybean 11S globulin gel
	10%	15%	15%
Hardness (g)	65.8	176.0	39.8
Cohesiveness	0.86	0.87	0.74
Elasticity	0.90	0.90	0.81
Chewiness (g)	50.9	137.8	23.9
Gumminess (g)	56.6	153.1	29.5

Table IV. Elasticity, Viscosity and Retardation Time of Gels at 20°C

Sample, gelation condition	$E_0 (\times 10^4 \text{ dyne/cm}^2)$	$E_R (\times 10^4 \text{ dyne/cm}^2)$	$\eta (\times 10^7 \text{ poise})$	$\eta_R (\times 10^6 \text{ poise})$	$\tau (\text{sec})$
A Sesame 13S, pH 10, 5% NaCl	24.4	5.67	5.13	4.54	80
B R. A. Sesame 13S, pH 10, 5% NaCl	24.4	8.12	4.30	3.90	48
C Sesame 13S, pH 7, 2% NaCl	0	0.78	0.82	0.23	30
D Soybean 11S, pH 7, 2% NaCl	8.12	2.92	4.18	1.90	65
E R. A. Soybean 11S, pH 10, 5% NaCl	12.19	9.95	5.84	2.98	30

E_0 , Young's modulus of Hookean body; E_R , Young's modulus of Voigt body; η , viscosity of Newtonian body; η_R , viscosity of Voigt body; $\tau = \eta_R/E_R$, retardation time; R. A., reductive alkylated.

Fig. 3. Syneresis of Sesame 13S and Soybean 11S Globulin Gels. Gel was made in a tube (7 mm i.d. $\times$ 50 mm lengths). Centrifugation was carried out at 0~10,000 rpm for 20 min. Syneresis was calculated by dividing the volume of supernatant of gel after centrifugation by the volume of gel before centrifugation. ●—●, 10% sesame 13S globulin gel; ○—○, 15% sesame 13S globulin gel; ▲—▲, 15% soybean 11S globulin gel.

行い、その粘弾性について検討している。本報ではゴマ 13S グロブリン、ダイズ 11S グロブリンおよびそれらの還元アルキル化したものについて、クリープの測定により微小応力下でのゲルのレオロジー的性質を調べた。得られた各試料のクリープ曲線は Fig. 4 に示すとおりである。各測定においては、試料ゲルの最大ひずみが 10% 以下になるように応力を選び、クリープ挙動を比較観察した。この種の試料で常に問題になる非線形性挙動の程度については、今回は考慮していない。クリープ曲線は、いずれも四要素力学模型に従って解析し、その結果得られた各粘弾性パラメーターを Table IV に示した。まずゴマ 13S グロブリン (Fig. 4-A) とダイズ 11S グロブリン (Fig. 4-D) のゲルを比較してみると、

Fig. 4. Creep and Recovery Curves for Gels. See Table IV for A, B, C, D and E.

瞬間弾性率 E_0 、遅延弾性率 E_R がゴマのゲルのほうが大であり弾性に富んだゲルといえる。また遅延粘度 η_R 、定常流粘度 η も大であり、ダイズゲルに比べて保型性の高いゲルであり、ひずみに対する回復、すなわち弾性変形は、タンパク質分子間の架橋による寄与が大きいと考えられる。さらにゴマ 13S グロブリンおよびダイズ 11S グロブリンのゲル化に及ぼす還元的アルキル化の効果について報告^(4,5)した。本報ではさらにそれらの粘弾性について調べた。まずゴマ 13S グロブリンを修飾したものの (Fig. 4-B) では未修飾のもの (Fig. 4-A) に比べて、弾性的回復はよくなっており、応力除去後のひずみの回復はよく、よりミクロなゲルになっているのではないかとと思われる。また示差熱分析でみられるようにゲル化の生成過程も関係しているものと思われる。次にダイズタンパク質の還元的アルキル化では未修飾では本来ゲル化しなかった pH 10, 5% NaCl の条件でゲル化させたものを測定した (Fig. 4-E)。各粘弾性パラメーター E_0 , E_R , η_R , η が未修飾ダイズ (Fig. 4-D) に比べて大きくになっている。ひずみの回復の程度も増し、このことは修

飾によりジメチル基による疎水性相互作用によって破壊に対して抵抗性のあるしっかりした網目構造を作り、またゲルの生成過程も関係するものと思われる。Fig. 4-A との比較のため、pH 7, 2% NaCl でゴマタンパク質をゲル化させたものを測定した。この条件はゴマのゲル化に適した条件ではないので生じたゲルは非常に不均一でもろいものであった。変形の過程を Fig. 4-C に示す。弾性および粘性が小さく、ひずみの回復がほとんど観察されなかった。この条件では先の電子顕微鏡観察で、粒状のタンパク質粒子が集まって凝集体を作っている状態が観察されたが⁽⁶⁾、今回のクリープ挙動の測定結果からは、これらの凝集体間に保型性の高いゲルの形成に寄与するような網目構造はほとんど存在しない状況が示唆された。

要 約

(1) 10% ゴマ 13S グロブリンの熱変性に要するエネルギー変化を調べるため、水および 5% NaCl 中で pH 2~10 において示差走査熱量分析を行ったところ、

pH 5~10 において単一の吸熱ピークがみられた。変性に要したエネルギーは水の場合は pH 6 で最大であり、5% NaCl では pH 10 において最大であった。

(2) ゴマ 13 S グロブリンのゲルはダイズ 11 S グロブリンのゲルに比べて、水をゲル内に抱き込む力が弱かった。

(3) レオメーターでテクスチュロパラメーターを測定したところ、ゴマ 13 S グロブリンのゲルはダイズ 11 S グロブリンのゲルよりかたかった。

(4) クリープメーターで測定した粘弾性を四要素力学模型に従って解析したところ、瞬間弾性率 E_0 、遅延弾性率 E_R 、定常流粘度 η 、遅延粘度 η_R の値から、ゴマ 13 S グロブリンのゲルはダイズ 11 S グロブリンより粘弾性が大で、かたいゲルであることが明らかになった。

本研究は昭和 60 年度文部省科学研究費（一般研究 B）に負うところが大きい。ここに記して謝意を表する。

- (1) K. Hasegawa, M. Murata and S. Fujino: *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 2291 (1978).
- (2) 長谷川喜代三, 前田香織, 藤野淑子, 脇長田鶴, 藤野吉世: 農化, **52**, 341 (1978).
- (3) 長谷川喜代三, 大脇 薫, 富田晶子, 藤野吉世: 農化, **53**, 375 (1979).
- (4) 藤野吉世, 塚田扶美子, 益本美千代, 長谷川喜代三: 農化, **55**, 333 (1981).
- (5) 藤野吉世, 上口容子, 横井祐子, 長谷川喜代三: 農化, **55**, 975 (1981).
- (6) V. H. Thanh and K. Shibasaki: *J. Agric. Food Chem.*, **24**, 117 (1976).
- (7) G. E. Means and R. E. Feeney: "Chemical Modification of Proteins," Holden-Day, Inc., San Francisco, Calif., 1971, p. 216.
- (8) Wendlandt, W. W.: "Thermal Method of Analysis," Wiley-Interscience, New York, 1974, p. 184.
- (9) A. M. Hermansson: *J. Texture Stud.*, **9**, 33, (1978).
- (10) V. Prakash and P. K. Nandi: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 2 (1978).
- (11) T. S. Lakshmi and P. K. Nandi: *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 4 (1979).
- (12) 桑畑美沙子, 中浜信子: 農化, **49**, 129 (1975).