貯蔵青果物の品質変化に関する生化学的研究

(第2報) 低温障害バナナ果実の追熟に伴う CO₂ 排出の機作

能 岡 浄*・本田幸一郎**

Biochemical Studies on Changes in Quality of Post-harvest Fruits during Storage

Part II. Mechanism of CO₂ evolution during after-ripening in chilling-injured banana fruit

KIYOSHI YOSHIOKA* and KOICHIRO HONDA**

For the elucidation of CO₂ evolution mechanism, the sugar contents and enzyme activities of chilling-injured fruits which were stored at 6°C for 4 days (B) and for 9 days (C) were compared with those of mature green healthy fruit (A), during the course of after-ripening at 20°C.

In A and B, the marked increases of pyruvate decarboxylase and alcohol dehydrogenase (ADH) activities, sugar and ethanol contents were found in parallel with a drastic increase of CO₂ evolution of so called "climacteric rise" with a lag of several days. While only slight increases of isocitrate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) activities and decrease of O₂ consumption were observed during the same period. In C, however, a transient increase of CO₂ evolution accompanying an increase of sugar contents occurred immediately after storage at 20°C. In this group, G6P-DH and phosphoenolpyruvate (PEP) carboxykinase activities were relatively high even at early phase of after-ripening. As the pulp became to soften, a second peak of CO₂ evolution was seen and drastic increases of pyruvate decarboxylase and ADH activities as well as ethanol contents were observed.

These results may be suggested that the first peak of CO₂ evolution in C mainly due to G6P-DH and PEP-carboxykinase activities, and the second peak corresponding to the climacteric rise in A and B due to pyruvate decarboxylase activities. (Received May. 31, 1971)

熱帯または亜熱帯原産の果実類は低温障害を受けやすく、また多くの場合呼吸の climacteric rise の現象を示す。

バナナ果実はその中でも最も低温障害を受けやすく、追熟中に顕著な呼吸の climacteric rise を示すことが知られている¹⁾。

前報²⁾において、緑熟のバナナ果実を低温貯蔵すると glycogenic amino acids の含量が減少し、オキザロ酢酸が増加し、また phosphoenolpyruvate carboxykinase

活性も高くなることから、低温貯蔵中に gluconeogenesis が起こることを述べた。本報は引きつづき、低温貯蔵後 20°C に変温したのちの糖含量の変化と、climacteric rise と称せられる追熟中の CO₂ 排出について酵素レベルでその機作を検討したものである。

実験方法

1. 実験材料

試料は台湾(台中)産 (*Musa Sapientum* L., Sin-zun.)

* 大阪府立公衆衛生学院 (大阪市住吉区大領町3)

Department of Nutrition Science, Public Health School of Osaka Prefecture, (Sumiyoshi-ku. Osaka.)

** 大阪府立大学農学部農芸化学科生物化学研究室 (大阪府堺市百舌鳥梅町 4-808)

Department of Agricultural Chemistry College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, (Sakai-shi, Osaka)

の緑熟バナナを神戸港入荷直後に、加工業者から購入した。

2. 試 薬

NAD⁺, NADP⁺, チアミンピロリン酸 (TPP), オキザロ酢酸, alcohol dehydrogenase (Sigma); CoASH, グルコース-6-リン酸ソーダ, ITP-ソーダ塩, glucose-6-phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, pyruvate kinase (Boehringer); DL-イソクエン酸ソーダ塩, α-ケトグルタル酸, システイン, ビルビン酸 (和光); NADH (Oriental); ADP ソーダ塩 (協和発酵) はすべて市販品を使用した。

3. 実験方法

緑熟健全果を 6°C, 湿度 85 ~ 95% に 4 日間および 9 日間貯蔵して低温障害を起こさせたもの, 20°C に変温貯蔵したものと, 緑熟健全果を 20°C に所定の期間貯蔵したものについて, 以下の項目に分けて比較実験を行った。このときの各果実の状況変化は, 前報³⁾ とほぼ同様であった。

(1) hexose の定量

果実を輪切りにし, 果皮のついた (健全部) 試料に 1.5 倍量 (v/w) の水を加えて磨砕し, さらに 1/20 量 (v/w) の 70% 過塩素酸を加えて, 1 夜 5°C に放置する。その後水酸化カリウムで pH 3.5 に調整し, 3,000 × g で 10 分間遠心分離して上澄液を得た³⁾。この上澄液について DISCH⁴⁾ の方法に従い, 硫酸と 3% のシステイン水溶液を加えて発色させ, 420 mμ と 380 mμ の吸光度の差を測定することにより hexose 量を算出した。なお hexose 量は glucose に換算して表わした。

(2) pentose の定量

TRACEY⁵⁾ の方法に従い, (1) と同じ方法で得た抽出液に氷酢酸, 5% のシュウ酸水溶液, アニリンおよび水 [50 : 5 : 12 : 8 (容量比)] の混液を加えて暗所で 24 時間室温に放置して発色させ, 480 mμ で比色定量した。なお pentose 量は xylose に換算して表わした。

(3) 果実切片の酸素吸収の測定

O₂ 吸収量は 25°C で, ワールブルグ検圧計を用いて測定した。果実を輪切りにして果皮のついた試料約 2 g を, 約 1 mm 立方の切片とし, 10% (v/v) の polyethylene glycol 400 を含む 0.1 M-リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.3) 4 ml に浮遊させて, 消費される酸素量を測定した。

(4) glucose-6-phosphate (G-6-P) の定量

(1) と同じ方法で得た抽出液の一部につき, 下式により生成する NADPH を測定し, G-6-P の含量を算出した。

た。

反応液は, 抽出液に Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.6) 400 μmole, NADP⁺ 0.2 μmole, MgCl₂ 5 μmole と glucose-6-phosphate dehydrogenase 1.4 unit とを加えて, 全容量を 2.0 ml とした。

(5) ethanol の定量

(1) と同じ方法で得た抽出液につき, 下式により生成する NADH を測定して ethanol を算出した。

反応液は, 抽出液に sodiumpyrophosphate 緩衝液 (pH 8.8, semicarbazide hydrochloride 152 μmole およびグリシン 44 μmole を含む) 150 μmole, NAD⁺ 1.5 μmole と alcohol dehydrogenase 18 unit を加えて 2.0 ml とした。⁶⁾

(6) phosphoenolpyruvate (PEP) carboxykinase 活性の測定

詳細は前報³⁾ に記述した。

次式に従って減少する NADH を測定し, 上式の反応により生成した PEP を算出した。

(7) isocitrate dehydrogenase (IDH) 活性の測定

果実を輪切りにして果皮のついた試料に, 0.4 M sucrose-0.1 M リン酸カリウム緩衝液 [pH 7.5, 5 mM-EDTA, 10 mM-KCN および 10% (容量比) の polyethylene glycol 400 を含む] を約 2 倍量 (v/w) 加えて磨砕し, ガーゼで滷過後 500 × g で 10 分間遠心分離して, 得られた上澄液を酵素液とした。活性は下式に従って生成する NADPH を測定し算出した。

反応液の組成は, 酵素液に Tris-酢酸緩衝液 (pH 8.0) 100 μmole, MgCl₂ 3 μmole, NADP 0.4 μmole および基質として DL-イソクエン酸 12 μmole を加え全容量を 2.0 ml にした。なおこの場合 NADP⁺ の代りに NAD⁺ を加えても吸光度の増加は認められなかった。

(8) α-ketoglutarate dehydrogenase 活性の測定

酵素液は(7)の方法で調製した。下式に従って生成する NADPH (または NADH) を測定し, 活性を調べた。

反応液は酵素液, リン酸カリウム緩衝液 (pH 8.0) 100 μmole, MgCl₂ 3 μmole, システイン 3 μmole, TPP 0.2

μmole , CoASH $0.1 \mu\text{mole}$, NADP^+ (または NAD^+) $0.4 \mu\text{mole}$ に基質として α -ケトグルタル酸 $1.0 \mu\text{mole}$ を加え全容量を 2.0 ml とした。

(9) glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) 活性の測定

試料に 0.05 M -triethanolamine 緩衝液 [pH 7.5, 10% (容量比) の polyethylene glycol 400, 1% (重量比) の 2-mercaptoethanol および 10 mM の EDTA を含む] を約 2 倍量 (v/w) 加えて磨砕する。ガーゼで濾過後、水酸化カリウムで pH 7.5 に調整して $1,000 \times \text{g}$ で 15 分間遠心分離し、得られた上澄液を酵素液とした⁷⁾。次式に従って生成する NADPH を測定し、活性を算出した。なおこのとき G6P-DH により生ずる 6-phosphogluconate が基質となり、6-phosphogluconate dehydrogenase も関与してくるが、これをも含めて G6P-DH 活性として表わした。

反応液には酵素液、Tris-塩酸緩衝液 (pH 7.5) $100 \mu\text{mole}$, MgCl_2 $5 \mu\text{mole}$ および NADP^+ $0.4 \mu\text{mole}$ に基質 G-6-P を $2 \mu\text{mole}$ 加えて全容量を 2.0 ml とした。

(10) alcohol dehydrogenase (ADH) 活性の測定

酵素液は(9)と同じ方法で調製した。下式により生成する NADH を測定して活性を算出した。

反応液には酵素液、sodium pyrophosphate 緩衝液 (pH 8.8) $100 \mu\text{mole}$ および NAD^+ $5 \mu\text{mole}$ に基質として $300 \mu\text{mole}$ の ethanol を加えて、全容量を 2.0 ml とした。⁸⁾

なお(6)~(10)の酵素液調製までの操作はすべて $0 \sim 5^\circ\text{C}$ で行なった。

(11) pyruvate decarboxylase 活性の測定

試料に 10% (容量比) の polyethylene glycol 400 水溶液を約 3 倍量 (v/w) 加えて磨砕し、室温で 1 夜放置した⁹⁾。これを $1,000 \times \text{g}$ で 15 分間遠心分離して得られた上澄液を酵素液とした。反応液には酵素液、maleate 緩衝液 (pH 6.6) $200 \mu\text{mole}$, MgSO_4 $25 \mu\text{mole}$, NADH $0.7 \mu\text{mole}$ および TPP $0.2 \mu\text{mole}$ に基質としてピルビン酸 $25 \mu\text{mole}$ を加えて、全容量を 2.0 ml にした。¹⁰⁾これに ADH を 18 unit 加えて、下式に従って減少する NADH を測定することにより活性を算出した。

以上(4)~(11)の各酵素反応は、反応液に酵素または基質を添加して反応を開始させ、生成した NADH および NADPH の変化量を、日立製ダブルビーム分光光度計 124 型により、光路巾 1 cm のキュベットを用いて 25°C における $340 \text{ m}\mu$ での吸光度から測定した。なおブランクには反応液から酵素または基質のみを除いたものを用いた。IDH, G6P-DH, ADH および pyruvate decarboxylase の活性については、反応開始後の 2~3 分間は吸光度は時間に対して直線的に増加するので、直線部分の傾斜から得られる速度を初速度とし、1 分間に $1 \mu\text{mole}$ の NADH または NADPH を変化させるだけの酵素活性を 1 単位 (1 国際単位) とした。

実験結果

1. 糖含量の変化

バナナ果実を低温貯蔵したとき、gluconeogenesis に基づく糖の合成が行われることを報告したが³⁾、これを 20°C に変温した場合に、果実の糖含量がいかに変化するかを調べた。

それぞれの果実の各時期における hexose および pentose 含量を Table 1 に示した。緑熟のバナナ果実を 20°C に貯蔵しておく (対照区) とはじめての 4 日間は糖含量に変化はないが、6 日目より hexose および pentose 含量は増加し、可食状態の 8 日目になるとさらに増加する。 6°C に 4 日間貯蔵した果実 (6°C -4 日区) を 20°C に変温すると、対照区に比べて糖の増加が遅れ、果肉が軟化する 8 日目から hexose および pentose が増加し、可食状態の 10 日目にはさらに増加する。これに対し 6°C に 9 日間貯蔵した果実 (6°C -9 日区) では、対照区や 6°C -4 日区とは異なり、低温貯蔵中の gluconeogenesis の結果 hexose および pentose 量の変温直後から多く、 20°C に変温後も糖含量は増加し、5 日目に果肉が少し軟化して 7 日目に可食状態となる。

glycolysis と pentose cycle の分岐点にある G-6-P の含量を Table 2 に示した。いずれの場合においても含量は少なく、大きな変化はみられない。

gluconeogenesis の key-enzyme の一つである PEP-carboxykinase 活性を調べたのが Fig. 1 である。対照区および 6°C -4 日区では追熟に伴う活性の増加はみられない。しかし 6°C -9 日区では低温貯蔵中にすでに活性が増加しており⁴⁾、変温後も引きつづき活性は増加し、7 日目に至ると対照区の 10 倍にも達する。

この PEP-carboxykinase 活性の増加と、 $4 \sim 8^\circ\text{C}$ に 10 日間貯蔵した果実を常温にもどして $4 \sim 5$ 日置くと、

Table 1. Changes in hexose and pentose contents in healthy and chilling-injured fruit during after-ripening.

(Hexose; mmoles for glucose/100 g-fresh wt.)

(Pentose; mmoles for xylose/100 g-fresh wt.)

Days in storage at 20°C	Healthy fruit stored at 20°C		Chilling-injured fruit stored at 6°C for 4 days 6°C for 9 days			
	Hexose	Pentose	Hexose	Pentose	Hexose	Pentose
0	4.9	0.06				
1					6.2	0.07
2	4.4	0.09	4.9	0.07		
3					10.4	0.14
4	4.6	0.09	3.8	0.08		
5					23.9	0.49
6	21.0	0.21	4.8	0.09		
7					24.4	0.72
8	25.3	0.43	19.2	0.29		
10	38.7	0.56	28.6	0.50		
12	25.1	0.99	28.8	1.03		

Hexose was colorimetrically determined according to the method of Disch et al and pentose was determined by the colorimetric method of Tracey.

Table 2. Change in glucose-6-phosphate contents in healthy and chilling-injured banana fruit during after-ripening.

(μmoles/100 g-fresh wt.)

Days in storage at 20°C	Healthy fruit stored at 20°C	Chilling-injured fruit stored at 6°C for 4 days	Chilling-injured fruit stored at 6°C for 9 days
0	8.6		
1			11.4
2	8.1	7.5	
3			8.8
4	7.6	7.2	
5			11.7
6	10.7	8.6	
7			8.7
8	10.7	12.8	
10	7.5	8.1	
12	7.3	7.8	

対照区に比べてデンプンの減少以上に還元糖が増加すると判断される邨田らの実験結果¹¹⁾とを考え合わせると、6°C-9日区において、対照区の果実に比べて変温直後より hexose 含量が多く、その後も hexose および pentose 含量が増加することは、単にデンプンの分解のみに起因するものではなく、一部は前報³⁾のごとく gluconeogenesis に由来するものと思われる。

Fig. 1. Change in phosphoenolpyruvate (PEP) carboxykinase activity in healthy and chilling-injured banana tissues.

The conditions were the same as reported in the previous paper²⁾

- Control (at 20°C)
- 6°C-4 days
- ×-----× 6°C-9 days

2. CO₂ 排出機作

追熟に伴う果実全体の CO₂ 排出については、邨田らの報告¹²⁾によると Fig. 2 に示したように、対照区では 8 日目に典型的な climacteric rise を示して可食状態になる。6°C-4 日区では climacteric rise は少し遅れて変温 10 日目位になる。これに対し 6°C-9 日区では変温直後から CO₂ 排出量は急増し、3 日目にはやや減少する

Fig. 2. CO_2 production by green bananas at 20°C after exposure to 6°C for various periods.

●—● Control (at 20°C)
○---○ 6°C -4 days
x-----x 6°C -9 days
(J. of Food Sci. and Tech. 14, 348, 1967.
T. MURATA et al.)

Fig. 3. O_2 consumption by healthy and chilling-injured banana slice tissues.

●—● Control (at 20°C)
○---○ 6°C -4 days
x-----x 6°C -9 days

が、5日目には再び増加して7日目ぐらいで可食状態となる。

この CO_2 排出が次式のように TCA cycle に関連するか、しないかを検討するため果実切片の O_2 吸収を測定したのが Fig. 3 である。

対照区では CO_2 排出の急増する8日目に、 O_2 吸収はかえって減少する。 6°C -4 日区でも変温8日目までは O_2 吸収は少しずつ減少し、 CO_2 排出の急増する変温10日

Table 3. Change in isocitrate dehydrogenase activity in healthy and chilling-injured banana tissues.

(units/100 g-fresh wt.)

Days in storage at 20°C	Healthy fruit stored at 20°C	Chilling-injured fruit stored at 6°C for 4 days	fruit stored at 6°C for 9 days
0	1.9		
1			2.9
2	1.9	2.9	
3			3.0
4	2.5	3.3	
5			4.2
6	3.9	3.9	
7			4.1
8	4.7	4.9	
10	4.7	5.4	
12	4.9	5.8	

目になると O_2 吸収はさらに減少する。 6°C -9 日区では 20°C に変温直後は前二者と同様の O_2 吸収量であるが、 CO_2 排出の増加する変温5日目には O_2 吸収は減少する。このように三者とも、 CO_2 排出と O_2 吸収の増減とは逆の関係になっている。

いっぽう上記の反応式に従って、好氣的 CO_2 排出に関連する IDH 活性を調べ Table 3 に示した。対照区では4日目までは大きな変化はなく、 CO_2 排出の急増する8日目には約2倍となる。 6°C -4 日区では変温後、活性は徐々に増加し、 CO_2 排出の急増する10日目には約1.8倍となる。 6°C -9 日区では変温3日目まで活性変化はなく、 CO_2 排出が増加し O_2 吸収が減少する変温5日目にやや増加する。

これに対し α -ketoglutarate dehydrogenase 活性は、いずれの場合においても痕跡程度であった。

以上のように TCA cycle の CO_2 排出に関連する IDH 活性の変化は、対照区と 6°C -4 日区において、 CO_2 排出の急増する時期に一応は増加するけれども、増加率は約2倍にとどまり、 O_2 吸収量はかえって減少する。このことから climacteric rise は TCA cycle による好氣的分解のみに基づくものでなく、他の機作をも考えねばならない。

Fig. 4 に pentose cycle の入口に当る G6P-DH 活性の変化を示した。対照区においては8日目に少し増加し、それ以後はげしく減少する。 6°C -4 日区でも最初の間は変化なく、変温10日目に増加し、以後変化はない。 6°C -9 日区では変温1日目で対照区のいずれの場合に比

Fig. 4. Change in glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in healthy and chilling-injured banana tissues.

●—● Control (at 20°C)
○---○ 6°C-4 days
x-----x 6°C-9 days

べても活性は高く、変温5日目にはさらに高くなる。

このように対照区と 6°C-4 日区では、G6P-DH の活性変化の時期と CO₂ 排出の急増時期とは一致しているけれども、活性変化量が少ないので、この酵素のみによって climacteric rise を説明することは困難である。しかし 6°C-9 日区における変温直後の CO₂ 排出の急増時には、PEP-carboxykinase 活性は他の果実に比べてすでに高く、また後記する pyruvate decarboxylase にも変化のないことを考慮すると、変温直後の CO₂ 排出は G6P-DH と PEP-carboxykinase の両者によるものと考えられる。

各時期におけるエタノール含量の変化を Table 4 に示した。対照区では6日目より増加しはじめ、6°C-4 日区ではこれより遅れて変温8日目に増加が始まり、以後両者とも同じように増加する。これに対し 6°C-9 日区では、変温後5日目から増加しはじめる。

このアルコール生成に寄与する pyruvate decarboxylase および ADH 活性の変化を Fig. 5 と Fig. 6 に示した。対照区では pyruvate decarboxylase 活性は6日目まで少しずつ増加し、climacteric rise に達する8日目には急増して約5倍の活性となる。ADH 活性も全く同じように高くなっている。6°C-4 日区においても変温8日目までは、その活性にほとんど変化なく、

Table 4. Change in ethanol contents in healthy and chilling-injured fruit during after-ripening.

(μmoles/100 g-fresh wt.)

Days in storage at 20°C	Healthy fruit stored at 20°C	Chilling-injured fruit stored at 6°C for 4 days	fruit stored at 6°C for 9 days
0	6.9		
1			5.2
2	6.5	5.7	
3			7.5
4	5.6	5.7	
5			27.1
6	12.6	9.2	
7			231.7
8	73.2	13.9	
10	272.5	52.6	
12	635.0	744.8

Fig. 5. Change in pyruvate decarboxylase activity in healthy and chilling-injured banana tissues.

●—● Control ○---○ 6°C-4 days
x-----x 6°C-9 days

climacteric rise がみられる10日目には約5倍に増加し、ADH 活性も3倍の増加を示す。6°C-9 日区では変温直後の CO₂ 排出が増加する3日間は pyruvate decarboxylase 活性に変化はなく、5日目に至って増加する。ADH 活性もこれと同じような挙動を示す。

Fig. 6. Change in alcohol dehydrogenase activity in healthy and chilling-injured banana tissues.

●—● Control ○---○ 6°C-4 days
×-----× 6°C-9 days

以上エタノール含量の変化と pyruvate decarboxylase 活性の変化から、対照区および 6°C-4 日区における追熟に伴う climacteric rise での CO_2 排出の急増は、おもに pyruvate decarboxylase に起因するものと考えられる。これに対し 6°C-9 日区における変温直後の CO_2 排出の急増は pyruvate decarboxylase 以外の活性、すなわち G6P-DH と PEP-carboxykinase に起因し、変温 5 日目以降の CO_2 排出増加はおもに pyruvate decarboxylase によるものと考えられる。

考 察

対照区では追熟とともに糖が増加し、glycolysis が盛んとなり、8 日目には pyruvate decarboxylase および ADH 活性の著しい増加に伴ってアルコールが生成され、IDH 活性も増加し、その上 G6P-DH 活性も高くなるため CO_2 排出が盛んとなり、いわゆる climacteric rise の現象が起こるものと考えられる。しかし 10 日目以後は G6P-DH 活性が急に減少するため、 CO_2 排出量も減少するものと思われる。

6°C-4 日区でも対照区と同様に、変温 10 日目の CO_2 排出の急増は主として pyruvate decarboxylase 活性が関与し、一部 IDH および G6P-DH 活性も寄与する。すなわち 6°C-4 日区においては、糖の増加および CO_2 排出は対照区と同様の機作によるものではあるが、低温処理によりその発現が遅れるものとする。

これに対し 6°C-9 日区では変温直後に糖が増加し、 CO_2 排出が急増するのは、pyruvate decarboxylase 活性の増加が少なく、PEP-carboxykinase および G6P-

Fig. 7. Changes of metabolic carbon path in chilling-injured banana fruit.

DH 活性が高いことから、前二者とは異なりこの両酵素活性に起因するものと考えられる。変温 3 日目にやや CO_2 排出が減少するのは G6P-DH の活性低下に起因し、以後再び CO_2 排出が増加するのは pyruvate decarboxylase と G6P-DH 活性の急増によるものと考えられる。さらに可食状態になると、糖およびエタノール含量が増加し、PEP-carboxykinase 活性も急増することから、Fig. 7 の太字の矢印のように gluconeogenesis により生成されていた PEP が糖に変わっていくと同時にピルビン酸、アセトアルデヒドを経てエタノールに変化してゆく際の活性も高くなるため pyruvic decarboxylase による CO_2 排出の増加現象が起こるものと推論できる。

要 約

台湾(台中)産の緑熟バナナを 6°C に 4 日間 (6°C-4 日区) および 9 日間 (6°C-9 日区) 貯蔵したのち 20°C に変温貯蔵したのと、20°C に貯蔵した果実(対照区)について糖含量の変化と、 CO_2 排出に寄与する酵素活性を調べた。

(1) 対照区および 6°C-4 日区に比べて、6°C-9 日区では変温直後から hexose および pentose 含量は多く、

PEP-carboxykinase 活性も高く、引きつづき増加する。
G-6-P の含量は三者とも各時期を通じてあまり変化はみられない。

(2) 対照区, 6°C-4 日区 および 6°C-9 日区とも果実全体の CO₂ 排出量が多いとき, 果実切片の O₂ 吸収はかえって少ない。対照区と 6°C-4 日区においては climacteric rise の時期に IDH と G6P-DH 活性は少し増加するが, pyruvate decarboxylase および ADH 活性は急増しエタノール含量も増加する。6°C-9 日区では変温直後から G6P-DH 活性は高く, 果肉が軟化する時期には対照区の climacteric rise のときと同様に IDH 活性は少し増加し, pyruvate decarboxylase と ADH 活性は急増してエタノール含量も増加する。

α -ketoglutarate dehydrogenase 活性はいずれの場合においても痕跡程度であった。

以上の結果に基づき CO₂ 排出の機作を検討した。

文 献

- 1) 邨田卓夫・古 衡山・緒方邦安: 食品工誌, 12, (4), 121 (1965).
- 2) 能岡 淨・本田幸一郎: 食品工誌, 17, (11), 489 (1970).
- 3) HOHORST, H.J. et al.: *Biochem. Z.*, 18, 332 (1959).
- 4) DISCH, Z. et al.: *Arch. Biochem.*, 22, 169 (1949).
- 5) TRACEY, M.V.: *Biochem. J.*, 47, 433 (1950).
- 6) BONNICHSEN, R.: *Methods of Enzymatic Analysis*, p. 285 (1963).
- 7) LÖHR, G.W., et al.: *Methods of Enzymatic Analysis*, p. 744 (1963).
- 8) RACKER, E.: *J. Biol. Chem.*, 184, 313 (1950).
- 9) COHEN, P.P.: *J. Biol. Chem.*, 164, 685 (1946).
- 10) HOLZER, E. et al.: *Methods of Enzymatic Analysis*, p. 602 (1963).
- 11) 邨田卓夫・緒方邦安: 食品工誌, 13, (9), 367 (1966) (第5表).
- 12) 邨田卓夫・小机信行・緒方邦安: 食品工誌, 14, (8), 348 (1967) (第2図).

(1971年5月31日受理)