カキ果実のインベルターゼ活性と糖組成の関係

辻 政 雄*・小宮山 美 弘*

Relationship between Invertase Activity and Sugar Composition of Persimmon Fruit

Masao TSUJI* and Yoshihiro KOMIYAMA*

* Department of Wine and Food Technology, Yamanashi Industrial
Technology Center, 312-4, Isawa-cho, Yamanashi, 406

Relationship between invertase activity and sugar composition of non-astringent persimmon 'Fuyu' and astringent persimmon 'Koshu Hyakume' was investigated. (1) When the persimmons were homogenized sucrose in 'Fuyu' was completely hydrolyzed to glucose and fructose for 20 min at 30°C, while in 'Koshu Hyakume' it was hydrolyzed for 10 min at 45°C. (2) Optimum pH and temperature of invertase was about 5.0 and 45-50°C for both of the persimmons. (3) The Km values for 'Fuyu' and 'Koshu Hyakume' persimmons were 7.85 mM and 2.25 mM respectively. (4) Invertase activity of 'Fuyu' persimmon was considerably lower than that in the astringent persimmons, i.e. 'Koshu Hyakume', 'Hachiya', 'Ebo', 'Mizugaki' 'Kairiyoshibu' and 'Yamato Hyakume'. Whereas the ratio of sucrose content to total sugar content of 'Fuyu' was higher than that of the astringent persimmons. (5) Among the six astringent persimmons, the ratio of sucrose content to total sugar content was not related to the enzyme activity. (6) In 'Fuyu' persimmon invertase activity did not change during maturation but increased during storage at room temperature. The ratio of sucrose content to total sugar content decreased gradually during maturation and storage.

(Received Jul. 31, 1986)

カキ果実の糖類に関しては古くから多くの研究^{1)~5)}が行われてきたが、いずれもそのほとんどはブドウ糖と果糖のみであると報告されてきた。しかし著者ら⁶⁾が '富有' ガキを用い、アルコールの存在下で破碎して糖の抽出を行うと多量のショ糖が検出された。また加藤⁷⁾は '平核無' で、水及びエタノールを用いて糖抽出を行うと、エタノールに比較して水で抽出した場合、非還元糖含量が著しく低下することを報告した。この意味から近年カキの糖組成の決定にはアルコール抽出が必要不可欠な手段となり、平井ら⁸⁾⁹⁾や石井ら¹⁰⁾もアルコールを用いてショ糖の存在を明らかにし、カキの種類による糖組成の違いや干しガキなどの加工品製造中の糖組成の変化を調べ、議論している。一方、糖組成の大きな変動要因

の一つと考えられるショ糖分解酵素については、ごく最近平井ら¹¹⁾によって果実の破碎液にショ糖を加え、その減少量を定量する簡易的な方法によってショ糖分解酵素の一つであるインベルターゼ活性を測定する研究が行われた程度で、詳細な報告はあまり見当たらない。

そこで本報では果実のショ糖分解酵素の一つであるインベルターゼ (E.C.3.2.1.26) の確認とその酵素化学的性質を明らかにすることを目的とし、併せて果実の成熟および貯蔵中の酵素活性の変化と糖組成との関係を甘ガキと渋ガキを用いて調べた。

* 山梨県工業技術センター食品・醸造部 (〒406 山梨県東八代郡石和町窪中島 312-4)

実験方法

1. 供試材料

甘ガキは1980年10月下旬から11月下旬にわたって山梨県石和町で収穫した‘富有’を用いた。収穫果実は現在市場出荷している熟期を収穫適期(10月29日)とし、これ以後2回の計3回同一樹から採取した。渋ガキは1981年11月上旬に山梨県塩山市で収穫した‘甲州百目’、‘蜂屋’、‘エボー’、‘みずがき’、‘改良渋’および‘大和百目’の6品種を用いた。

2. 貯蔵方法

収穫適期の‘富有’ガキを室温下で35日間貯蔵し、経時的に分析に供した。

3. 果実硬度の測定

果実硬度の測定は佐藤製作所製ユニバーサルハードネスメーターで、直径12mmの円錐形針頭を使用し、1個体3箇所を5個体について測定し、平均値で示した。

4. 果実のアセトンパウダーの調製

果肉約50gを -20°C に冷却した10倍量のアセトンとともに磨砕し、吸引ろ過後、残渣を一夜減圧下で乾燥してアセトンパウダーを得た。なおパウダーは分析に供するまで -20°C の冷凍庫に保存した。

5. 粗酵素液の調製

アセトンパウダー0.3gに0.2Mリン酸水素二ナトリウム-0.1Mクエン酸緩衝液(pH7.5またはpH5.0)を40倍量(12ml)加えた後、約2時間 3°C 下で粗酵素を抽出し $12000\times g$ で10分間遠心分離を行った。得られた上澄液に80%飽和となるように飽和硫酸溶液を加え、時々攪拌しながら20~30分放置した。これを $15000\times g$ 、10分間遠心分離後、沈澱物に上記の緩衝液を加えて、再溶解し蒸留水に対して16~19時間透析した透析内液をろ過して粗酵素液(約11ml)とした。なおこれらの操作はすべて 4°C 下で行った。

6. ショ糖分解酵素活性の測定

インベルターゼ反応はショ糖5mgまたは10mgを含む水溶液0.5ml、0.2Mリン酸水素二ナトリウム-0.1Mクエン酸緩衝液(pH5.0)2ml、粗酵素液0.2ml、蒸留水0.3mlの計3mlで行い、生成する還元糖をSOMOGYI-NELSON法により定量した。反応は 30°C で20分または10分行い、反応後 100°C で3分間の加熱処理を行って酵素を失活させた。

酵素の熱安定性の試験では、粗酵素液をそれぞれの温度で15分間インキュベイト後、前述の方法で活性を調べた。ショ糖の分解と生成に関与する酵素の一つである

シュクロースシンターゼ(UDPG + Fructose = Sucrose + UDP)反応については小宮山¹²⁾の方法に従って測定した。

酵素1単位は、1秒間に基質、ショ糖1moleの変化を表わすKatal(Kat)で示した。酵素活性は、新鮮果肉1g当り(全活性)あるいは可溶性タンパク質1mg当り(比活性)のnKat(10^{-9} Kat)で表した。

7. 果実の糖および粗酵素液中のタンパク質の定量

糖の分析試料は以下のように調製した。すなわち果実を細断して約10倍量の80%メタノールとともにホモジナイズ後1時間攪拌抽出した。これをろ過後 40°C 以下で減圧濃縮し、 $10000\times g$ 、10分間遠心分離後の上澄液を再度ろ紙さらに $0.45\mu\text{m}$ のメンブランフィルターでろ過して試料とした。分析は日立635型高速液体クロマトグラフで行った。カラムは $8\times 500\text{mm}$ 、充てん剤は陽イオン交換樹脂(Na型)2618を用いた。移動相は脱気した蒸留水、流量は 0.6ml/min 、圧力は 12kg/cm カラムおよび検出器の温度は 40°C に保持した。検出器は示差屈折計(RI)を用いた。

蛋白質は牛血清アルブミンを標準物質としてLowry¹³⁾法により定量した。

実験結果

1. カキ果実破砕液中の糖組成の変化

甘ガキおよび渋ガキ中にショ糖分解酵素が存在することを確かめるため、山梨県の代表的品種である‘富有’および‘甲州百目’を用いて、破砕液中の糖組成の変化を調べ、その結果をFig. 1に示した。破砕液は果肉に 3°C の冷却水を5倍量加えてホモジナイズしたものを用い品種及び温度による影響を調べるため‘富有’では 30°C ‘甲州百目’では 45°C でそれぞれ反応させた。なお破砕液のpHはそれぞれ5.86および5.43で両者に大差は認められなかった。反応開始時はいずれもショ糖含量が最も高かったが、時間の経過とともに急激に減少し、‘富有’では20分後、‘甲州百目’では10分後にほとんど消失した。一方ブドウ糖と果糖はこれとは対照的な変化を示し、反応初期に急増し、ショ糖の消失する時点から一定となった。

以上、‘富有’、‘甲州百目’ともpH5.5付近の破砕液で、時間の経過とともにショ糖が急激に消失したことからショ糖分解酵素が深く関与していることが示唆された。

2. インベルターゼ活性の確認

ショ糖溶液に粗酵素液を加えて、高温下での失活を防ぐため 30°C の恒温下で経時的に反応させた反応液中の

Fig. 1 Changes in sugar content in persimmon homogenates of 'Fuyu' and 'Koshu Hyakume'

Homogenates were prepared by grinding the fruit (120 g) with 600 ml of cold water (3°C) in Waring Blender. Homogenate from 'Fuyu' was incubated at 30°C and that from 'Koshu Hyakume' was incubated at 45°C.

Symbols used were: —○—, sucrose; —●—, glucose; —△—, fructose.

糖組成をペーパークロマトグラフ（展開剤；*n*-ブタノール：酢酸：水＝4：1：2，（v/v）発色剤；ベンジジントリクロル酢酸）および高速液体クロマトグラフで調べたところ、ショ糖の減少に伴い経時的にブドウ糖と果糖が増加したことから確認した。

なお、シュクロースシンターゼについては、30°Cで24時間の反応にもかかわらず、ショ糖の減少はみられず確認できなかった。

3. インベルターゼ活性に及ぼす pH の影響

‘富有’と‘甲州百目’のインベルターゼ活性に及ぼす pH の影響を Fig. 2 に示した。至適 pH は‘富有’では pH 5，‘甲州百目’では pH 4.5～5.0 付近で、両者に差異はみられなかった。

4. インベルターゼ活性に及ぼす温度の影響と熱安定性

‘富有’と‘甲州百目’のインベルターゼ活性に及ぼす温度の影響を Fig. 3 に示した。至適温度は、両者とも 50°C 付近であった。60°C 以上の高温下において、‘甲州百目’は‘富有’に比較して最適温度に対する活性が高く、80°C では後者には全く活性がみられないが、前者には約 5% の活性が認められた。

粗酵素液を pH 5.0 の緩衝液に、10～80°C の各温度で 15 分間保持した後、残存する酵素活性を調べたところ、

Fig. 2 Effect of pH on invertase activity

The reaction mixtures of 'Fuyu' persimmon containing 0.2 ml of enzyme solution, 0.5 ml (containing 5 mg sucrose) of sucrose solution, 0.3 ml of distilled water and 2 ml of buffer were incubated at 30°C for 20 min. Those of 'Koshu Hyakume' persimmon containing 0.2 ml of enzyme solution, 0.5 ml (containing 10 mg sucrose) of sucrose solution, 0.3 ml of distilled water and 2 ml of buffer were incubated at 30°C for 10 min.

The buffers used were: —○—, 0.2 M phosphate-0.1 M citrate buffer; —●—, Tris-HCl buffer; —△—, glycine-NaOH buffer.

The activity at pH 5.0 was taken as 100%.

ろ、‘富有’では 45°C から‘甲州百目’では 40°C から急激に低下し、両者とも 80°C での活性はみられなかったが、40～50°C の間では‘富有’のほうが、それ以上では‘甲州百目’のほうが安定性が高いように思われた。

5. インベルターゼ活性に及ぼす基質濃度の影響

‘富有’と‘甲州百目’のインベルターゼ活性に及ぼす基質濃度の影響を Fig. 4 に示した。還元糖が生成される速度は‘富有’ではショ糖濃度が 40 mM，‘甲州百目’では 10 mM 以後それぞれほぼ一定値に達した。これらを HOFSTEE プロットにより横軸に (s)，縦軸に (s)/V をプロットしてミハエリス定数を求めると Km 値はそれぞれ 7.85 mM および 2.25 mM であった。

6. 甘ガキと渋ガキのインベルターゼ活性と糖組成の比較

‘富有’と‘甲州百目’のインベルターゼ活性値と糖組成を Table 1 と Table 2 に示した。‘甲州百目’は‘富有’と比較し、全活性では約 5 倍、比活性では約 9 倍と著しく高かった。これは糖組成にも現われ、全糖含量に

は顕著な差は見られないものの、'甲州百目'のショ糖含有率は'富有'に比較してかなり低い値を示した。'甲

州百目'については室温で20日間貯蔵した後の活性を調べたところ、両活性とも収穫時とほとんど大差はなかったが、ショ糖の比率は顕著に低下した。なお、収穫時と比較してこの時点の果実には著しい軟化が見られた。

7. 各種渋ガキのインペルターゼ活性と糖組成

前述したように渋ガキのインペルターゼ活性が甘ガキと比較し顕著に高いことから、他の品種においても同様

Fig. 3 Temperature dependence and thermostability of invertase activity

The assay conditions were the same as in Fig. 2 except for reaction temperature. The activity was expressed as a percentage of the maximal enzyme activity.

For the determination of thermostability, the enzyme solution was kept at pH 5.0 for 15 min at different temperatures. After cooling, the remaining activity was assayed under the conditions shown in Fig. 2. The activity at 10°C was taken as 100%.

Symbols used were: —○—, activity curve; —●—, thermostability curve.

Fig. 4 Effect of sucrose concentration on invertase activity

The assay conditions were the same as in Fig. 2 except for sucrose concentration.

The linear curves showed Hofstee plots for the determination of K_m values.

Table 1 Invertase activities of non-astringent and astringent persimmons

Cultivars	Total activity (nKat/g fruit)	Specific activity (nKat/mg protein)
Fuyu (non-astringent)	23	32
Koshu Hyakume (astringent)	102	286
Koshu Hyakume-20 (20 days of storage)	114	281

The reaction mixtures containing 0.2 ml of enzyme solution, 0.5 ml (containing 10 mg sucrose) of sucrose solution, 0.3 ml of distilled water and 2 ml of phosphate-citrate buffer (pH 5.0) were incubated at 30°C for 20 min. Reducing sugar released was measured by the method of SOMOGYI-NELSON. One Katal of invertase activity was the enzyme activity that hydrolyzed 1 mole of sucrose in one minute. Total activity was expressed as nKat (10^{-9} Kat) per 1 g of fruit. Specific activity was expressed as nKat per 1 mg of soluble protein.

Table 2 Sugar contents and compositions of non-astringent and astringent persimmons

Cultivars	Sugar content (g/100g)			
	suc	glu	fru	total
Fuyu (non-astringent)	9.2 (70)	2.7 (20)	1.3 (10)	13.2
Koshu Hyakume (astringent)	6.4 (51)	3.5 (28)	2.7 (21)	12.6
Koshu Hyakume-20 (20 days of storage)	2.7 (19)	6.2 (44)	5.2 (37)	14.1

Abbreviation: suc: sucrose, glu: glucose, fru: fructose

Sugar composition was shown in parenthesis

Table 3 Invertase activities in various astringent persimmons

Cultivars	Total activity (nKat/g fruit)	Specific activity (nKat/mg protein)
Hachiya	143	239
Ebo	110	336
Mizugaki	230	270
Kairyoshibu	99	283
Yamato Hyakume	51	186

The assay conditions were the same in Table 1.

Table 4 Sugar contents and compositions of various astringent persimmons

Cultivars	Sugar content (g/100 g)			
	suc	glu	fru	total
Hachiya	8.0 (65)	2.5 (20)	1.9 (15)	12.4
Ebo	8.9 (65)	2.7 (20)	2.0 (15)	13.6
Mizugaki	9.0 (57)	3.8 (24)	2.9 (19)	15.7
Kairyoshibu	5.4 (47)	3.4 (30)	2.7 (23)	11.5
Yamato Hyakume	4.5 (38)	4.3 (36)	3.0 (26)	11.8

Abbreviation: suc: sucrose, glu: glucose, fru: fructose

Sugar composition was shown in parenthesis

であるか否かを検討し、その結果を Table 3 と Table 4 に示した。全活性は‘みずがき’が最も高く、つぎに‘蜂屋’で、最も低いのは‘大和百目’であった。一方、

比活性は‘エボー’が最も高く、つぎに‘改良渋’、‘みずがき’の順序であった。これらの品種の両活性とも甘ガキである‘富有’より高く、‘甲州百目’も含め、渋ガキは甘ガキより酵素活性が高いことを示していると思われる。

果実の全糖含量は‘みずがき’が最も高く 15.7 g/100 g を示したが、ショ糖の比率は‘蜂屋’と‘エボー’が 65 % と最も高く、‘大和百目’が 38 % と最も低かった。インベルターゼ活性とショ糖の組成比を比較すると、活性の高いものが必ずしもその比率が低い傾向を示さず、‘大和百目’は活性が低いにもかかわらず、品種間で最もショ糖の比率が低かった。

Fig. 5 Changes in invertase activity of 'Fuyu' persimmon at three stages of maturity and during storage at room temperature

Table 5 Changes of sugar contents and compositions in Fuyu persimmons during maturation

Date	Sugar content (g/100 g)			
	suc	glu	fru	total
October-29	9.2 (70)	2.7 (20)	1.3 (10)	13.2
November-12	9.3 (63)	3.2 (22)	2.3 (15)	14.8
November-28	7.6 (57)	3.2 (24)	2.5 (19)	13.3

Abbreviation: suc: sucrose, glu: glucose, fru: fructose

Sugar composition was shown in parenthesis

Table 6 Changes of sugar contents and compositions in 'Fuyu' persimmon during storage at room temperature

Days of storage	Sugar content (g/100 g)			
	suc	glu	fru	total
0	9.2 (70)	2.7 (20)	1.3 (10)	13.2
7	8.3 (67)	2.6 (21)	1.5 (12)	12.4
14	7.6 (58)	3.5 (27)	2.0 (15)	13.1
21	7.0 (52)	3.9 (29)	2.5 (19)	13.4
28	7.1 (51)	4.1 (29)	2.7 (20)	13.9
35	5.8 (42)	4.7 (34)	3.4 (24)	13.9

Abbreviation: suc: sucrose, glu: glucose, fru: fructose

Sugar composition was shown in parenthesis

Fig. 6 Changes in flesh hardness of 'Fuyu' persimmon at three stages of maturity and during storage at room temperature

The hardness was expressed as a value measured by Universal hardness meter (SATO SEISAKUSHO).

8. 成熟及び貯蔵中におけるインペルターゼ活性と糖組成

「富有」の成熟及び貯蔵中におけるインペルターゼ活性の変化を Fig. 5 に、糖組成の変化を Table 5 と Table 6 にそれぞれ示した。成熟中においてインペルターゼ活性はほとんど変化なく推移したが、ショ糖の比率は減少傾向で、これとは対照的にブドウ糖と果糖は増加した。一方、貯蔵中では、インペルターゼ活性は 28 日後までは増加傾向を示し、その後急減した。糖組成はショ糖が徐々に減少し、35 日後にはその組成比が収穫時の 70% から 42% まで低下した。

成熟及び貯蔵中における果実硬度の変化を Fig. 6 に示したが、両者とも減少傾向が見られ、特に貯蔵中における果実の軟化が著しかった。

考 察

植物中にはショ糖の分解に関与する酵素としてインペルターゼ^{12)15)~17)}並びにシュクロースシンターゼ¹²⁾¹⁴⁾が存在することが知られている。そこで今回、著者らは塩析、透析により部分精製した粗酵素液を用いて両者の酵素活性を調べた。その結果、シュクロースシンターゼ反応では長時間の反応にもかかわらずショ糖の減少がみられず、その存在については明確な結論を得ることは出来なかったが、インペルターゼ反応ではショ糖の減少に伴い、当初全く認められなかったブドウ糖と果糖がほぼ同量生成されることが確認された。このことからショ糖の酵素的分解にはインペルターゼの作用が主要因となっているものと思われる。

著者らは、今回アセトンパウダーを調製し、塩析、透析後に得られた酵素抽出液を用いてインペルターゼ活性の測定を行ったが、平井ら¹¹⁾は果実に同量の緩衝液を加えて、磨砕、ろ過して得られた抽出液にショ糖を加え、その減少量を定量する手法を用いて、酵素活性の測定を行っている。この方法は煩雑な操作を必要としないことから、インペルターゼ活性の簡易測定法として有用かもしれない。

本酵素は「富有」、「甲州百目」の両品種とも至適 pH がほぼ一致しており、他の植物中のインペルターゼとはほぼ同様であった。また至適温度については両品種とも至適 pH 同様ほぼ一致しており、テンサイ¹⁵⁾やアサガオ¹⁶⁾、カキ¹⁷⁾カルス中のインペルターゼと同様であったが、スモモ¹²⁾果実のそれと比較すると低かった。平井ら¹¹⁾も「富有」ガキの破砕液を用いて、24 時間の反応条件でインペルターゼの至適 pH と至適温度を検討し、前者が 5.5 付近、後者が 30~40°C であるとしているが、著者らの結果とは異なっている。これについては明確ではないが、松井ら¹⁰⁾が「富有」ガキから得られた透析内液を粗酵素として、15 分間の反応条件でインペルターゼの至適 pH と至適温度を測定したところ、著者らの結果とほぼ同様な値を得ていることから、酵素の抽出方法、反応時間などが異なったためと考えられる。

本酵素の熱安定性はスモモ¹²⁾果実より低いものの、他の植物中^{10)~17)}のインペルターゼよりは高い傾向にあった。また、ショ糖に対する Km 値は「富有」のほうが「甲州百目」より高いが、スモモ¹²⁾果実のそれよりは

低かった。

甘ガキは渋ガキに比較してインペルターゼ活性は顕著に低く、ショ糖の組成比は高いことから、インペルターゼ活性の大小がカキ果実中のショ糖比率に影響を及ぼしていることが推察される。しかし、6品種の渋ガキの間には両者に関連性が認められないこと、また平井ら⁸⁾¹¹⁾もインペルターゼ活性に差異が見られないにもかかわらずショ糖の組成比が著しく異なる結果を得ていることから考え合わせると、両者の関係を結論づけるのは早計すぎるかもしれない。これについてはさらに検討を要する。

カキ果実の成熟および貯蔵中におけるショ糖の組成比は徐々に低下し、果実の軟化とほぼ平行的であった。これは、IKI 法¹⁹⁾のトマト果実に含まれるインペルターゼが細胞壁に内在するという報告から考えると、カキ果実も同様に、細胞壁に局在していると考えられるインペルターゼが、果肉の軟化により細胞組織に変化が生じた結果、基質と接触しやすくなり、ショ糖が加水分解されたものと考えられる。

要 約

甘ガキの‘富有’と渋ガキの‘甲州百目’を用いて両者のインペルターゼ活性の差異や酵素化学的性質さらに成熟および貯蔵中の変化と糖組成について調べた。

(1) ‘富有’および‘甲州百目’の破砕液を30℃および45℃下に放置したところ前者では20分、後者では10分でそれぞれショ糖が完全に加水分解された。

(2) ‘富有’と‘甲州百目’のインペルターゼは両者とも至適 pH は5付近、至適温度は45～50℃であった。また15分間の熱安定性を調べると前者では45℃以下、後者では40℃以下であった。

(3) ‘富有’と‘甲州百目’のインペルターゼの Km 値はそれぞれ7.85 mM および2.25 mM であった。

(4) 甘ガキ‘富有’のインペルターゼ活性は‘甲州百目’、‘蜂屋’、‘エボー’、‘みずがき’、‘改良渋’及び‘大和百目’の6品種の渋ガキと比較して著しく低く、それとは対照的にショ糖の組成比は高かった。

(5) 渋ガキのインペルターゼ活性とショ糖の組成比を比較すると、活性の高いものが必ずしもその比率が低い傾向を示さなかった。

(6) ‘富有’ガキの成熟および貯蔵中のインペルター

ゼ活性は、前者では変化は認められないが、後者では増加傾向が認められ、いずれもショ糖の組成比は徐々に減少した。

なお本報告の概要は昭和56年度園芸学会春季大会並びに1982年の日本食品工業学会第29回大会において発表した。

文 献

- 1) 田崎桂一郎・熊谷八十三：農学会報，235号，(1922)。
- 2) 小松 茂：農学研究第6巻，大原奨農会(1924)。
- 3) 伊藤三郎・逆瀬川浩：東海近畿農業試験場報告園芸部，1，225(1952)。
- 4) 麻生 清・渡辺敏幸・大久保増太郎・山崎哲雄：農化，30，187(1956)。
- 5) HULME, A.C.: The Biochemistry of Fruits and Their Products (Acad. Press, London and N.Y.) Vol. 2 p. 287 (1971)。
- 6) 小宮山美弘・原川 守・辻 政雄：日食工誌，32，522(1985)。
- 7) 加藤公道：園学雑，53，127(1984)。
- 8) 平井俊次・山崎喜美江：日食工誌，31，24(1984)。
- 9) 平井俊次・山崎喜美江：日食工誌，30，178(1983)。
- 10) 石井靖子・山西 貞：日食工誌，29，720(1982)。
- 11) 平井俊次・六波羅明香・清水純夫：日食工誌，33，369(1986)。
- 12) 小宮山美弘・原川 守・辻 政雄：日食工誌，31，726(1984)。
- 13) 菅原 潔・副島正美：蛋白質の定量法(学会出版センター)，p. 98(1981)。
- 14) 久島 繁・新井勇治・伊藤達郎：澱粉科学，25，223(1978)。
- 15) 増田宏志・菅原四郎：農化，47，147(1973)。
- 16) HISAJIMA, S. and ARAI, Y.: J. Jap. Soc. Starch Sci., 25, 163(1978)。
- 17) 久島 繁・新井勇治・伊藤達郎：澱粉科学，25，198(1978)。
- 18) 松井年行・北川博敏：昭和61年度園芸学会春季大会講演要旨，p. 440(1986)。
- 19) IKI, K., NAKAGAWA, H., OGURA, N. and TAKEHANA, H.: Agric. Biol. Chem., 41, 1311(1977)。

(昭和61年7月31日受理)