

緑豆もやしの栽培に関する研究 (第3報)

緑豆種子中のビタミンCの定量に就いて

郷 千 枝 子

(大阪市立生活科学研究所)

目 次

緒 言	ル還元性
第1章 インドフェノール滴定法による数値	第1節 グルタチオンのインドフェノール に対する反応
第1節 供試液の調製	第2節 グルタチオンとビタミンCの共存 した場合
第2節 定量方法	第3節 種子中のグルタチオンの影響
第3節 定量成績	第4節 システイン等の影響
第2章 比色法による定量	第5節 結果の判定
第1節 定量方法	第5章 鐵化合物及糖質のインドフェノール 還元性に就いて
第2節 定量結果	總括並に結論
第3章 ポーラログラフ法による定量	文 献
第1節 定量方法	
第2節 定量結果	
第4章 グルタチオンのインドフェノール	

緒 言

種子の發芽に際しビタミンCの生成されることは古くから認められ、特に「もやし」はビタミンCの多い食品として扱われて來た。植物生理學上からも發芽時のビタミンCの生成に關し幾多の文献が見られる⁽¹⁻¹⁸⁾。然し發芽前の乾燥種子中にビタミンCが存在するや否や各研究者による成績^(6-9, 11-14)は夫々異り、稍々疑問に思はれる點が多い。緑豆もやしの栽培に関する研究第1報、及び第2報に於て、もやしの生長並びにビタミンC含有量に及ぼす栽培温度の影響、もやし各部のビタミンCの量について述べた。而して其等の成績はインドフェノール法によるものであつてビタミンC以外の還元性物質を含む可能性のあることを記した。本報には緑豆種子のビタミンCにつきインドフェノール法の補正及び比色法、ポーラログラフ法等による定量を試みたので其の成績を報告する。

第1章 インドフェノール滴定法による数値

第1節 供試液の調製

天然物中のビタミンC (以下 V.C と略す) の浸出法としては從來種々行はれてゐる。例へば Tillmans⁽¹⁹⁾ は 2.5 % 硫酸を用ひ窒素瓦斯中に 10 分間煮沸して抽出を試み Birch, Harris 及び Ray⁽²⁰⁾ は材料に海砂を加へ磨碎後 20% 三鹽化醋酸液にて抽出を行ひ、満田⁽²¹⁾ は $\frac{N}{10}$ 醋酸抽出液に 5 % メタ磷酸及び $\frac{N}{2}$ 硫酸の等量混液を加へ除蛋白を行つてゐる。其他蓚酸、ズルフォサルチル酸等も用ひられてゐるが食品中の酸化酵素による V.C の破壊を避ける爲と金屬鹽による V.C の酸化を防止する目的には藤田法⁽²⁴⁾ のメタ磷酸抽出法、即ち冷浸で且つ空氣との接觸を出来るだけ少くすることが最もよい方法と見做されてゐる。

(80)

(郷) 緑豆もやしの栽培に関する研究 (第3報)

緑豆種子中のV.C浸出に際し、先づ乳鉢で種子を粉碎し次の各浸出法を(試料10gに對し 100 ccを加ふ)試みた。

- (1) 2%メタ磷酸5~10倍浸出液 (pH 1.8~2.0)
- (2) 8%醋酸10倍浸出液 (pH 3.2)
- (3) 2%メタ磷酸+8%醋酸及び10倍浸出液 (pH 2.0)
- (4) $\frac{N}{10}$ 醋酸で抽出し後 $\frac{N}{2}$ 硫酸及び5%メタ磷酸液の等量混合液を試料醋酸浸出液と等量加へる。4倍浸出液 (pH 1.0以下)
- (5) 蒸溜水の10倍浸出液 (pH 5.6)

以上浸出後直ちに遠心沈澱を行ひ定量に供した。

第2節 定 量 方 法

前記浸出液の夫々につき豫め力價を檢定したインドフェノール水溶液約 $\frac{N}{10.000}$ 1ccを採り、1.5分以内に滴定を行つた。但し(4)の場合の滴定時間は2~3分を要した。常法による還元型定量後、同液につき酵素法⁽²³⁾を行ひV.C以外の還元性物質を除いた値をV.Cの眞値として現はした。

醋酸及び蒸溜水浸出の場合は白濁を生じこの液はよくインドフェノールを還元する。但し室温(10°C内外)に30分以上放置する時は還元力稍々減退する。メタ磷酸浸出の場合は除蛋白が行はれる爲か最初から澄明なる液が得られこの液は2時間放置後も變化を認められない。

第3節 定 量 成 績

前記各浸出液による可檢液のビタミンC mg%は次表の通りである。還元性物質 mg%は酵素作用前のインドフェノール滴定値より算出した結果であり、V.C以外の還元性物質 mg%は酵素作用後の値である。兩者の差異を以てビタミンCの眞値 mg%として現はした。

第1表 各種浸出法による緑豆種子中のV.C含有量の差異

可 檢 液 No.	還 元 物 質 mg%	V.C 以外 の還元物質 mg%	還元型 V.C 眞値 mg%
(1) 5 倍 液	2.48	1.46	1.02
6 "	3.25	1.16	2.09
8 "	2.52	1.12	1.40
9 "	2.84	1.66	1.18
10 "	2.35	1.32	1.03
平 均	2.68	1.34	1.34
(2) 10 倍 液	9.49	2.27	5.82
(3) "	2.84	1.13	1.71
(4) 4 倍 液	5.97	3.42	2.55
(5) 10 倍 液	7.49	2.27	5.22

夫々の數値に差異があるのは各浸出法に依りインドフェノール還元性物質抽出量が異なるためと思はれる。或ひは浸出操作中に酸化其の他の化學變化を生じた結果もあるかも知れない。又酵素法は充分吟味して行つたがアスコルビン酸々化酵素はビタミンC以外のもの例へばグルコ・レダクトン及び鐵鹽等にも影響するから、若し種子中に之等の還元性物質が存在する場合、更に検討を要する。

第2章 比色法による定量

第1節 定量方法

試験管にインドフェノール法と同じ除蛋白浸出可検液を 2.0cc とり磷酸緩衝液, モノ沃度醋酸各 0.5cc を加へ 40°C の水浴中に約 5 分間保ち, 後フオリン試薬を 0.5cc を加へて約 10 分放置の後氷水中に 10 分以上冷却する. 沈澱のある場合には遠心沈澱して上清を使用する.

定量法は可検液を液槽に入れライフオフトメーター, フィルター 600 號を用ひ, 各液槽高に於けるニコル角度を読みとり換算し定量數値を算出する.

第2節 定量結果

試験結果は次表の様である.

第2表 比色法による緑豆種子中のV.C含有量

還元物質 mg%	V.C 以外の 還元物質 mg%	還元型 V.C mg%
5.60	4.30	1.30

この値は前章第3節インドフェノール法の (1) 及び (3) の結果に近い値である. 然し文献によれば^(25, 26, 27) ビタミン C 以外

の物質でも例へばグルコレダクトンの如くフオリン試薬によつて同様の呈色を示すものがあるから, この結果を直ちにビタミン C の眞値とは速断し難い.

第3章 ポーラログラフによる定量

第1節 定量方法

前述の様に現在のビタミン C 定量法には未だ欠點が少なく殊に種子の様に, 種々の物質を共存する場合にはインドフェノール法によればインドフェノール還元性物質の影響を免れ得ないし, 比色法によればグルコレダクトンなどの呈色による誤差を伴つてゐる. 酵素法によつてビタミン C を破壊して, ビタミン C 以外の還元性物質を定量する方法は一般に行はれてゐるが之も別稿 (ビタミン C 定量法に関する研究, 未發表) に詳説する様レダクトンがビタミン C と同時に酸化されるからビタミン C とレダクトンを分離定量することが困難である.

唯ここに考へられるのはポーラログラフによるビタミン C の定量で之はビタミン C の電解壓が特異なものである爲レダクトン又は他の類似物質と分離定量の可能性が考へられる.

ビタミン C のポーラログラフ的研究については Kodicek 及び Wenig⁽²⁸⁾ (1938), Schwarz⁽²⁹⁾ (1938), Kirk⁽³⁰⁾ (1941), 岡田・館⁽³¹⁾ (1943), 等の發表がある. 之等の報告は基本電解液として 1N 醋酸, 醋酸曹達緩衝液或ひは $\frac{N}{15}$ 磷酸緩衝液を用ひ pH 3~7 に於て電解壓を測定して +0.38 ボルト (水素電極基準) に於てビタミン C の酸化によるポーラログラムを得, 其波高より計算して新鮮果汁, 人乳等のビタミン C 含有量を定量してゐる.

本實驗には岡田氏等の滴下水銀電極に對する一方の極として 1N 硫酸水銀電極を用ひる方法を採用した. 此の方法に依ると硫酸水銀極は一規定甘汞電極に對し約 +0.38 ボルトの電位を示す. 電解液として枸橼酸緩衝液 pH 5.0~7.0 を用ひ之に可検液を一定量加へ電解電壓を測定した.

第2節 定量結果

緑豆種子の 2% メタ磷酸 2 倍浸出液 5c.c に枸橼酸緩衝液 (pH=4.08) 5c.c を加へ 1N 硫酸水銀極を補助電極として用ひ, 滴下水銀極を陽極とする方法を採用し電解電位を測定した結果, ビタミン C の波は現はれないが感度 $\frac{1}{2}$ の場合 -0.215 ボルトに於て還元グルタチオンの波を生じた.

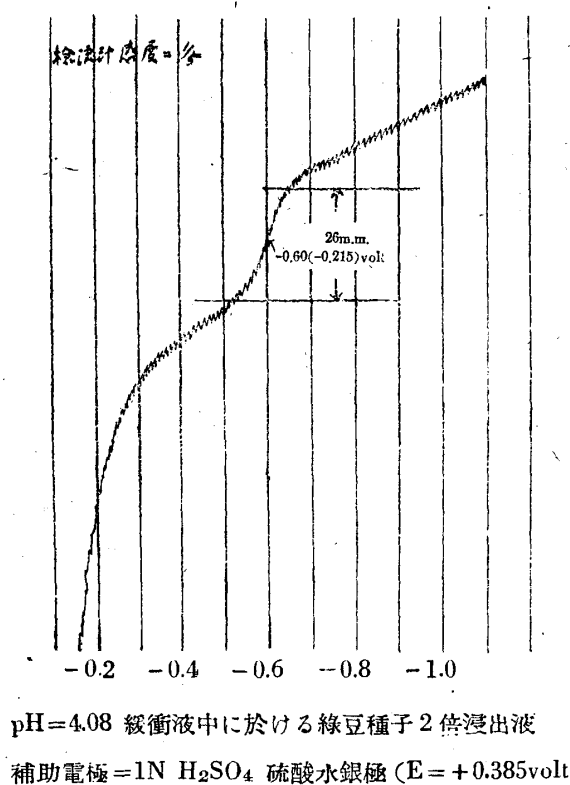
(82)

(郷) 緑豆もやしの栽培に関する研究 (第 3 報)

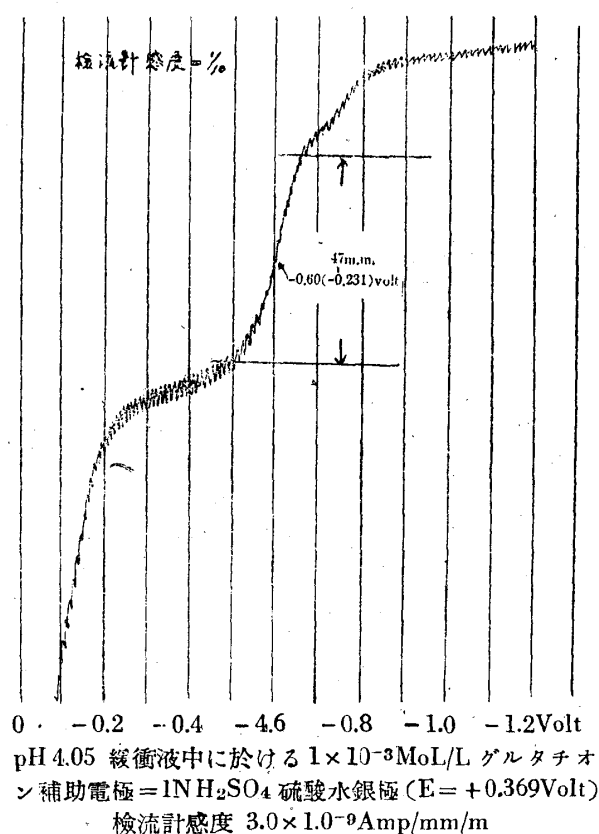
濃厚浸出液を用ひてもビタミンCの波が現はれないのは種子中にビタミンCが存在せぬか若し微量存在する場合もポーログラムにては定量なし得ない程度のものである。この定量可能の最少限は 10^{-4} Mol である。

第1圖は緑豆種子中のグルタチオンのポーログラムである。第2圖は標準グルタチオンのポーログラムで pH=4.05 に於て酸化電位は -0.231 ボルトである、感度 $1/10$ 、波高 47m.m であるから、之より算出すれば緑豆種子 100g 中のグルタチオンは 37.5mg に相當する。

第1圖 緑豆種子中のグルタチオンのポーログラム



第2圖 グルタチオンのポーログラム



第4章 グルタチオンのインドフェノール還元性

前記の様に、ポーログラフ的研究によつて緑豆種子中にグルタチオンの存在を知り、之がインドフェノールを還元して、第1章の成績の紛雜を招いた恐れがあることを豫想せしめたので、グルタチオンのインドフェノールに對する反應をこの見地から討究してみた。

第1節 グルタチオンのインドフェノールに對する反應

結晶グルタチオンを 1×10^{-4} mol, 2×10^{-4} mol, 4×10^{-4} mol, の濃度に夫々 2% メタ燐酸液に溶解し各々の pH に於てインドフェノールを還元した結果は第3表の様に pH 4.0 以下では反應の微弱になることを認めた。

第2節 グルタチオンとビタミンCの共存した場合

次にグルタチオンとビタミンCとが共存した場合インドフェノールに對する反應を見る爲次の實驗を行つた。

4×10^{-4} mol グルタチオンのメタ燐酸溶液に 1-アスコルビン酸 7.7mg% 溶液を夫々 0.2cc. 0.4

第3表 還元グルタチオンのインドフェノール反応

(約 $\frac{N}{100,000}$ インドフェノール 1cc に對する滴度値 cc)

濃度 \ pH	2.4	3.0	3.4	3.8	4.0	4.2	4.6	4.8	5.0	5.2
4×10 ⁻⁴ Mol	1.07	1.01	0.91	0.88	0.75	0.65	0.56	0.50	0.43	0.37
(V.Cmg%に換算)	(0.13)	(0.14)	(0.15)	(0.16)	(0.19)	(0.22)	(0.25)	(0.28)	60.33	(0.38)
2×10 ⁻⁴ Mol	1.05	1.05	1.05	1.01	0.88	0.86	0.80	0.70	0.56	0.48
(V.Cmg%に換算)	(0.13)	(0.13)	(0.13)	(0.14)	(0.16)	(0.16)	(0.17)	(0.20)	(0.25)	(0.29)
1×10 ⁻⁴ Mol	1.21	1.10	1.10	1.10	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93
(V.Cmg%に換算)	(0.12)	(0.13)	(0.13)	(0.13)	(0.15)	(0.15)	(0.15)	(0.15)	(0.15)	(0.15)

cc, 0.8cc 添加した場合は第4表の様に 0.8cc 添加の場合に pH による差異を認められない。即ちグルタチオンのインドフェノール液に對する反應は pH 4.0 より上位に於て認められた。尙ビタミンCが共存する場合グルタチオンはインドフェノール反應には殆ど影響せぬものと思はれる。

第4表 グルタチオンと V.C の共存した場合のインドフェノール反應

(約 $\frac{N}{100,000}$ インドフェノール 1cc に對する滴定値 cc)

濃度 \ pH	2.4	3.0	3.4	3.8	4.0	4.2	4.6	4.8	5.0	5.2
グルタチオン	1.07	1.01	0.91	0.88	0.75	0.65	0.56	0.50	0.43	0.37
4×10 ⁻⁴ Mol	1.07	1.01	0.91	0.88	0.75	0.65	0.56	0.50	0.43	0.37
V.C 0.2cc 添加	0.77	0.70	0.68	0.65	0.58	0.58	0.42	0.42	0.39	0.32
(V.Cmg%に換算)	(0.18)	(0.20)	(0.21)	(0.21)	(0.24)	(0.24)	(0.33)	(0.33)	(0.36)	(0.34)
V.C 0.4cc 添加	0.34	0.34	0.34	0.32	0.31	0.29	0.29	0.29	0.29	0.23
(V.Cmg%に換算)	(0.41)	(0.41)	(0.41)	(0.44)	(0.45)	(0.48)	(0.48)	(0.48)	(0.48)	(0.61)
V.C 0.8cc 添加	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
(V.Cmg%に換算)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)	(0.67)

第3節 緑豆種子中のグルタチオンの影響

以上の結果からグルタチオンは pH 4.0 以下ではインドフェノール液と反應せずビタミンCと分離定量することが可能なのを知つたので緑豆浸出液について各 pH に於けるインドフェノール滴定結果を検したのに次のやうになつた。

即ち一定量の 2% メタ燐酸 10 倍浸出液に之と等量の枸橼酸緩衝液を加へ pH 1.8~5.0 に於けるインドフェノール滴定値を求めた。

滴定時間は夫々 1.5 分間に行つた。

各 pH に於ける緩衝液自體の還元性は全然認められないが可檢液の反應は pH 3.0 以下に於て稍々強くなる。

第5表 緑豆種子 10 倍浸出液 (2% HPO₃) のインドフェノール反應

pH	1.8	2.4	3.0	3.4	3.8	4.0	4.2	4.6	4.8	5.0
$\frac{N}{10,000}$ インドフェノール 1cc に對する滴定數 cc	0.7	0.75	0.80	0.80	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93	0.93
ビタミン C mg % に換算	(2.48)	(2.31)	(2.25)	(2.25)	(1.86)	(1.86)	(1.86)	(1.86)	(1.8)	(1.80)

(84)

(郷) 緑豆もやしの栽培に関する研究 (第3報)

第4節 システイン等の影響

グルタチオンの化学構造式より、グリシン、グルタミン酸、システイン等もインドフェノールに反応し得ることが豫想されるので此等につき夫々インドフェノール反応を試みた結果前二者は全然還元性なくシステインのみは反応することを認めた。従つてSH基の部に反応が起るものと解される。又第6表のインドフェノール液に對する滴定値よりシステインはpH 4.0より上位に於て反応が強くなることを認めた。

第6表 システインのインドフェノール反応
($\frac{N}{100.000}$ インドフェノール 1cc に對する滴定値 cc)

濃度 \ pH	2.4	3.0	3.4	3.8	4.0	4.2	4.6	4.8	5.0	5.2
2×10^{-5} Mol	0.48	0.46	0.45	0.44	0.43	0.38	0.36	0.18	0.16	0.12
(V.C mg% に換算)	(0.29)	(0.31)	(0.31)	(0.33)	(0.33)	(0.38)	(0.39)	(0.78)	(0.88)	(1.17)
20mg% V.C 0.3cc 添加	0.17	0.17	0.16	0.16	0.16	0.11	0.10	0.10	0.10	0.09
(V.C mg% に換算)	(0.82)	(0.82)	(0.91)	(0.91)	(0.91)	(1.27)	(1.40)	(1.40)	(1.40)	(1.56)

第5節 結果の判定

以上グルタチオン等のインドフェノール液に對する還元性を討究したが緑豆種子中に存在するグルタチオンは果してインドフェノール反応に影響したであらうか。前記緑豆浸出液の反応はpH 4.0より酸性側に於て強化されること、及びポーラログラフ法による定量の結果グルタチオンの含有量が38mg%であることから、この程度の濃度では可検液のグルタチオンはpH 1.8~2.0に於てインドフェノール反応に影響せぬものと思はれる。従つて第1章のインドフェノール滴定による結果は種子中のグルタチオンによつては影響されてゐないものと認められる。

第5章 鐵化合物及び糖質のインドフェノール還元性について

前記グルタチオン及びシステイン以外にインドフェノール還元性に關與するものとして考へられるものは鐵及び糖質がある。

緑豆の鐵含有量は分析の結果痕跡が認められた。鐵鹽の分析は硫青化鹽比色法により0.02mg以下である。又硫黄含有量は SO_4 として0.22g%である。 1×10^{-4} Mol 硫酸第一鐵のインドフェノール反応は第7表の様に可検液の酸性側に於て反応が強くなり、その還元値は酵素法によりV.Cと同様酵素の影響を受ける。

然し以上の結果から見て緑豆の場合痕跡の鐵がV.Cの滴定値に影響するとは考へられない。

第7表 硫酸第一鐵のインドフェノール反応

pH	2.4	3.0	3.4	3.8	4.0	4.2	4.6	4.8
1×10^{-4} Mol FeSO_4 2% HPO_3 溶液 $\frac{N}{10,000}$ インドフェノール 1cc に對する 滴定數 cc	0.39	0.39	0.40	0.42	0.44	0.44	0.45	0.45
V.C mg% に換算	(0.36)	(0.36)	(0.35)	(0.33)	(0.32)	(0.32)	(0.31)	(0.31)

次に糖類について緑豆種子一般分析の結果は直接還元糖 0.09g%, 非還元糖 2.88g%, 澱粉として 48.77g%, である。

三木⁽³²⁾によれば粗纖維 4.66%, ペントーザン 5.27%, ガラクタン 1.03%, 澱粉として 66.02%,

還元糖メチルペンターゼンは存在せずと、又ヘミセルローズとしてキシローズ、アラビノーズ、ガラクトーズ、及びウロン酸の存在することを證明されてゐる。

糖類がそのまゝ或ひはレダクトン⁽³³⁾の型として種子中に存在し、インドフェノールを還元することは豫想される。尙レダクトンがインドフェノールを還元すること及びフオリン試薬に呈色し、比色法によるもインドフェノール法を同様の結果を得られる事は藤田、沼田⁽³⁴⁾及び大島⁽³⁷⁾氏等の述べる處である。

本實驗の緑豆種子浸出液のインドフェノール滴定値をみるに pH により異り、酸性側に於て高くなる。緩衝液自體の還元性は認められないが、反應速度を一定にした場合常に酸性側に於て反應が強くなつてゐる。斯様な現象が糖類の存在により起るものと假定して果糖、葡萄糖、乳糖のアルカリ處理液につき pH 2.4~4.0 に於てインドフェノール反應を試みた。結果は第8表の通りである。

第8表 各種糖類のアルカリ處理に對するインドフェノール反應

($\frac{N}{10.000}$ インドフェノール 1cc に對する滴定數 cc)

pH	2.4	3.0	3.4	3.6	3.8	4.0	5.0
1% 果糖液	0.070	0.086	0.096	0.096	0.099	0.100	—
V.Cmg%に換算	(7.35)	(6.00)	(5.36)	(5.36)	(5.20)	(5.15)	—
1% 葡萄糖液	0.070	0.092	0.112	0.112	0.117	0.117	—
V.Cmg%に換算	(7.35)	(5.60)	(4.59)	(4.59)	(4.40)	(4.40)	—
1% 乳糖液	2.600	3.600	3.200	3.200	3.200	3.400	3.800
V.Cmg%に換算	(1.14)	(1.14)	(0.93)	(0.93)	(0.93)	(0.87)	(0.80)

即ち之等糖類のアルカリ處理液は酸性側に於てインドフェノール反應が強い。

更に重要なことはレダクトンの存在する場合、海老原⁽²⁵⁾、松川⁽²⁶⁾等の指摘する様にレダクトンはアスコルビン酸酸化酵素の作用を受けるからアスコルビン酸と共存する場合、酵素法によつてもアスコルビン酸との區別が出来ないと云ふ事である。

果糖を飽和炭酸溶液でアルカリ性となし加熱冷却後アスコルビン酸又は大根、みかん汁等を添加して酵素法を試みた結果作用前後に於てインドフェノール滴定値に差異を認めた。即ちアスコルビン酸々化酵素はレダクトンに對しても V.C と同様に酸化を促進するものである。

總括並に結論

1. 緑豆發芽の際の V.C 生成の機轉を研究する基礎として、緑豆種子中の V.C の存在するや否や、その濃度はどの位のものであるかを検討した。
2. インドフェノール滴定法による數値は浸出方法により異つてゐるが酵素法を併用して V.C 眞値に近いものとして一應 1.2~1.7mg% なる數字を得た。
3. 比色法による數値は 1.3mg% で前者の値に近い。
4. ボーラログラフ法によつては緑豆種子中に V.C の存在を認めぬか或ひはあるとしても微量で本法によつては検出出来ない數値であることを知つた。(天然物中のビタミン C の検出範圍は 5mg% 以上である) 尙ボーラログラフでは緑豆種子中にグルタチオンの存在を確認した。
5. グルタチオンはインドフェノールを還元する。V.C と共存する場合も反應する。従つて緑豆種子浸出液のインドフェノール還元値に影響を及ぼすことも考へられるが研究の結果、本實驗の浸出液の濃度範圍では pH 4.0 以上でないと還元力を示さないことを知つた。前記 1.3~1.7 mg% の成績は pH 1.2~2.0 の範圍で得られたものでグルタチオンの影響を受けてゐない。

グルタチオン類似の物質例へばシステイン等もグルタチオンと同様の影響を示すことを認めた。

6. 鐵鹽 (FeSO_4) 等もインドフェノールを還元する。緑豆種子中には微量の鐵を含有してゐるがこの場合決定的影響を與へてゐるものとは考へられない。

7. 糖質中直接還元糖のあるもの並にレダクトン等はインドフェノールを還元する。殊に後者は pH 4.0 以下に於て還元力が強くなりグルタチオンの様に pH を變化させて、分別することも出来ない。又 V.C 酸化酵素の作用も V.C と同様に受けるから酵素法による分離も不可能である。比色法によつても區別し得ない。V.C とレダクトンとの分離については目下研究を進めてゐるから近く別報で發表したい。

8. 以上の結果から次の結論を得た。

緑豆種子中には V.C を含有しないか含有するとしてもポーラログラス法にかからない程度に少量である。インドフェノール滴定法に酵素法を併用したり比色法を用ひれば一應 1.3~1.7mg % の成績を得るがこの兩法ともレダクトンが V.C と同様に反應するのでこの兩者を分別し難い。従つてこの値はレダクトン等の値を含むものと考へたい。

終りに臨み御校閲を賜つた所長茶珍博士並びにポーラログラフ法を御指導戴いた京大教授館博士並びに同教室の方々に深謝する。

参 考 文 献

1. Chick, Delf: Biochem J., 13 (1919) 199.
2. 松岡: 日農化 5, (昭和 4) 885, 891, 7, (昭 6) 19, 1070, 8, (昭 7) 72, 9, (昭 8) 81, 12, (昭 11) 1202.
3. Heller: J. Biol. Chem., 76, (1928) 499.
4. 中井: 醸學, 12, (昭 9) 504.
5. 川上, 青木: 滿洲農會, 2, (康德 7) 27.
6. Harris, Ray: Biochem J., 27, (1933) 589.
7. Ray: Biochem J., 28, (1934) 996.
8. Bogart, Hughes: Jour. Nat. 10, (1935) 157.
9. 紫藤: 滿洲醫, 27, (1937) 527.
10. Bonner, Bonner: Proc. Nat. Acad. Sci 24, (1938) 70.
11. 吉居, 名和田: 東京醫新, 62, (昭 13) 228.
12. 満田: 日農化, 14, (昭 13) 1485.
13. 海老原: 東京醫新, 62, (昭 13) 590.
14. 井藤: 醸學, 18, (昭 15) 171, 379.
15. 三輪: 醸學, 18, (昭 15) 371.
16. 田所: 日農化, 16, (昭 15) 82, 963.
17. 野口, 川田: 農業及演藝, 17, (昭 17) 691.
18. 片井: 日農化 19, (昭 18) 837.
19. Tillmans: Z. Unters. Lebensm., 60, (1930) 34, 63, (1932) 1, 257.
20. Harris, Ray: Biochem J. 26, (1932) 2067, 27, (1933) 303, 590.
21. 満田: 日農化, 14, (昭 13) 1228.
22. 藤田, 海老原: 東京醫新, 2892, (1934) 1941, 3 月 11, (1936) 3519.
23. 藤田: 醫學と生物學, 2, (昭 17) 276.
24. 藤田, 海老原: 東京醫新, 3010, (昭 11) 3445, 3011, (昭 11) 2.
25. 海老原: J. Biochem, 29, (1939) 199.
26. 松川: J. Biochem, 32, (1940) 257.
27. 大島: 農學 17, (1948) 375.
28. Kodicek, Wenig: Nature, 142, (1938) 35.
29. Schwarz: Zeit. analyt. Chem., 115, (1938) 164.
30. Kirk: Ind. Eng. Chem., analyt. Ed., 13, (1941) 625.
31. 岡田: 日農化, 19, (昭 18) 749, 955, 20, (昭 19) 325.
32. 三木: 日農化, 7, (昭 6) 965.
33. Reichstein, Oppenauer: Helv. Chim. Act. 16, (1933) 988.
34. 藤田, 沼田: 醫學と生物學, 1, (昭 17) 558.
35. Show, Pascoe: Nature. 164, (1949) 624.