

# 5'-ヌクレオチド類による缶詰食品の風味改良

(第1報) 農産缶詰食品中の5'-ヌクレオチド類について\*

橋田 度・毛利威徳・青山延子

## Flavour Improvement of Canned Foods with 5'-Nucleotides

(Part I) On the 5'-Nucleotides in Canned Foods of

Agricultural Products

Wataru Hashida, Takenori Mouri, and Nobuko Aoyama

The amounts of free 5'-nucleotides existing in several materials and products of agricultural canned foods were determined in the course of study to increase the deliciousness of the processed foods by new seasonings which contain 5'-IMP and 5'-GMP.

Shii-take (*Lentinus edodes*), mushroom (*P. bisporus*), tomatoes, asparagus, sweet corn, green beans and several processed foods were extracted with boiling water. These extracts were analyzed by ion exchange column chromatography using Dowex 1-X-8.

5'-AMP and 5'-UMP were found to exist mainly in general agricultural products. About 0.1% of 5'-AMP was found in dried Shiitake, and 0.01% in tomatoes and sweet corn, 0.004% in asparagus, and 0.002% in green beans, respectively. Therefore, we think that 5'-AMP may contribute to the deliciousness of agricultural foods, under the co-existence of glutamic acid. 5'-IMP could not be found in almost any kinds of agricultural foods. Also 5'-GMP was not to be found except in Shiitake.

### 緒 言

イノシン酸、グアニル酸などの5'-ヌクレオチド類はその呈味性の本態やグルタミン酸ソーダ(M SG)の旨味との相乗性が明らかにされ<sup>1)-6)</sup>、かつその工業生産が軌道に乗るとともに、家庭調味料の他に食品工業への応用が期待されている。すでに合成清酒<sup>7), 8)</sup>醤油<sup>9)</sup>についてはその応用が報告されているが、私達は缶詰食品への応用について検討を始めた。

一般に食品には本来グルタミン酸あるいは5'-ヌクレオチド類の旨味成分が含まれている可能性と、これら旨味の他に甘、酸、鹹、苦味等の特徴が相俟って、食品そのものの風味が成立していることを考慮すべきである。したがって缶詰食品に対し5'-ヌクレオチドを添加するに当っては、私達は食品中の呈味成分の分析を行なってその呈味の本質を把握するとともに、その食品に適応した添加方法を検討し、さらに缶詰工程および保存期間における5'-ヌクレオチド類の消長について研究する予定である。

\*缶詰時報 VOL. 42 No. 1 p. 45(1963)所載

本報においては次の略号を使用する

5'-AMP : 5'-アデニル酸  
5'-GMP : 5'-グアニル酸

5'-CMP : 5'-シチジル酸  
5'-IMP : 5'-イノシン酸

5'-UMP : 5'-ウリジル酸

本報においては5'-ヌクレオチド類の分析法として中島氏ら<sup>10)</sup>が一般食品に適用したイオン交換クロマトグラフィを用いて種々の農産缶詰食品中の5'-ヌクレオチドを分離同定し食品の旨味におけるそれらの役割を検討した。

## 実 験 方 法

### 1. 実験材料および試料調整法

定性および定量のための標準物質として、5'-アデニル酸（以下5'-AMP）、5'-イノシン酸（5'-IMP）、5'-シチジル酸（5'-CMP）、5'-グアニル酸（5'-GMP）、5'-ウリジル酸（5'-UMP）はいずれもナトリウム塩を武田薬品工業研究所よりいただいたものである。ヌクレオシド類および核酸塩基類は市販品を用いた。

缶詰食品試料の調整：

グリーンピース、にんじん缶詰のように固型物、液汁を合してミキサーにかけたとき、水溶性成分の得にくい場合は過塩素酸で抽出した。すなわち粥状物20gをとりユニバーサル・ホモジナイザー（日本精機製）で10%過塩素酸20mlと氷冷下ホモジナイズする。冷却遠心分離機（久保田製）で上澄液を集め、沈殿物はさらに続けて2回5%過塩素酸20mlと氷冷下ホモジナイズし、遠心分離して上澄抽出液を合併し、これを5N-KOHで中和過塩素酸をカリウム塩として遠心沈澱させ、冷水で2回洗い中和上澄液に合し、これを定量試料とした。

たけのこ、トマトジュース缶詰のように水溶性成分の得やすいものは粥状物20gを100mlの水とともに加熱し、100°C 3分間沸騰させ後冷却、冷却遠心分離機で9,000r.p.m. 10分間遠心分離し、その上澄液を試料とした。

生椎茸、乾椎茸、マッシュルーム、アスパラガスのような原料の場合は煮出液とした。生のきのこは20g、乾したきのこは3gを100mlの水とともに冷却下放置、水とともに加熱し100°C 3分間煮出した後、冷却し綿で濾過し、熱水で2回洗滌、洗液を合併して試料とした。

### 2. イオン交換クロマトグラフィ

イオン交換樹脂はDowex-1, X-8を使用し、カラムの調整、試料の添加、溶出法はBergkvist法<sup>11)</sup>による中島氏らの記載<sup>10)</sup>に準じた。使用した展開液組成はFig. 1の如くである。

なお、トマトおよび緑・アスパラガスについて、その同定のために大量の試料を扱う大きいカラムを使用したBergkvist<sup>12)</sup>の記載を参照して、カラムは内径2cm長さ50cmとし85%蟻酸を約300ml通過させて蟻酸型にした。展開液組成はFig. 1記載に準じ液量はFig. 7の如くである。

それぞれの画分は10mlあてで展開液を対照とし日立製分光光度計（EPU2型）で260m $\mu$ の紫外外部吸収を測定し、なほ適宜250m $\mu$ 、280m $\mu$ における吸収も測定した。

### 3. ヌクレオチドの同定および定量

中島氏ら<sup>10)</sup>の記載に準じた。ヌクレオチドはイオン交換樹脂カラムからの溶出位置と、各々260m $\mu$ の吸収がピークとなる画分を集め活性炭吸着後アンモニア含有エタノールで溶出し後濃縮してペーパークロマトグラフィにより同定した。なお画分が5'-ヌクレオチドであることは5'-ヌクレオチダーゼ（武田薬品工業研究所よりいただいたもの）を作用させ、その分解により確認した。ペー

パークロマトグラフィには溶媒として次の5種を用いた。(1)飽和硫酸・3級ブタノール・0.025Nアンモニア水(160:3:40)〔溶媒1〕<sup>10)</sup>(2)n-プロパノール・濃アンモニア水・水(60:30:10)〔溶媒2〕(3)イソプロパノール・濃塩酸・水(65:16.7:18.3)〔溶媒3〕(4)飽和硫酸・1M醋酸ソーダ・イソプロパノール(80:20:2)〔溶媒4〕<sup>13)</sup>(5)n-ブタノール・醋酸・水(4:1:5)〔溶媒5〕

## 実験結果

### 1. 標準物質の分離, 定量

5'-AMP, 5'-IMP, 5'-CMP, 5'-GMP, 5'-UMPの混合溶液を試料としてイオン交換クロマトグラフィを行ない, Fig. 1に示すような分離曲線が得られた。5つの5'-ヌクレオチドはよく分離され Table 1 のように回収率も満足なものであった。

なお標準物質でペーパークロマトグラフィの結果, 溶媒1, 4は5'-AMP, アデニン, アデニンと他の5'-ヌクレオチド, ヌクレオシド, 塩基との分離, 溶媒2は5'-ヌクレオチドとヌクレオシド, 塩基との分離, 溶媒3は5'-UMP, ウリジン, ウラシルと他の5'-ヌクレオチド, ヌクレオシド, 塩基との分離に適當であった。

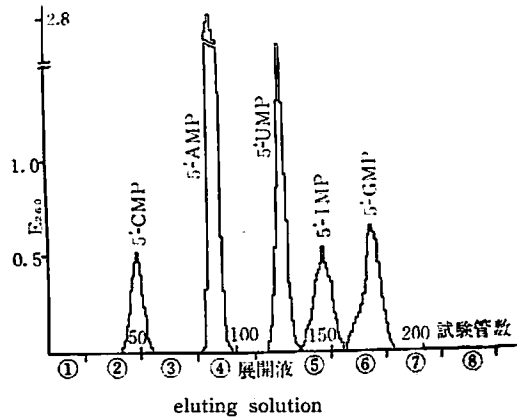


Fig. 1 Chromatogram of authentic 5'-mononucleotides

#### Composition of eluting solution

① H <sub>2</sub> O, including sample solution	200ml	⑥ 0.1N-HCOOH	150ml
② 0.005 N-HCOOH	300ml	⑦ 0.1N-HCOONa	150ml
③ 0.02 N-HCOOH	300ml	⑧ 0.1N-HCOOH	150ml
④ 0.1 N-HCOOH	300ml	⑨ 0.3N-HCOONa	150ml
⑤ 0.1 N-HCOOH	200ml	⑩ 0.1N-HCOOH	150ml
⑥ 0.05 N-HCOONa	200ml	⑪ 0.6N-HCOONa	150ml
		⑫ 0.2N-HCOOH	150ml
		⑬ 0.8N-HCOONa	150ml

Table 1. Recoveries of 5'-nucleotides by ion exchange column chromatography

	Exp. No. 1		Exp. No. 2		Exp. No. 3	
	determined μ mol.	recovery %	determined μ mol.	recovery %	determined μ mol.	recovery %
5'-CMP	5.29	100.6	3.09	102.4	4.30	102.2
5'-AMP	11.7	105.2	15.83	106.1	17.25	101.5
5'-UMP	8.12	102.0	8.25	104.8	8.21	101.9
5'-IMP	9.60	95.7	3.35	102.0	4.05	99.4
5'-GMP	6.56	96.4	10.25	94.0	8.15	96.4

### 2. 椎茸の5'-ヌクレオチド

すでに乾椎茸煮出汁の旨味が5'-GMPによることが中島氏ら<sup>10)</sup>により見出されているが一方椎茸は近年缶詰原料としても有望視されているので, 先ず原料として生の状態のものと乾燥したのものについて比較検討した。先ず生椎茸30gから310mlの煮出液を得た。その紫外吸収曲線はFig. 2の如くである。この液のml当りの260mμ吸収は12.0であった。今260mμの吸収と液量ml数との積をUV<sub>260</sub>で表わす。UV<sub>260</sub> 480に相当する煮出液を用いてカラムクロマトグラフィを行なっ

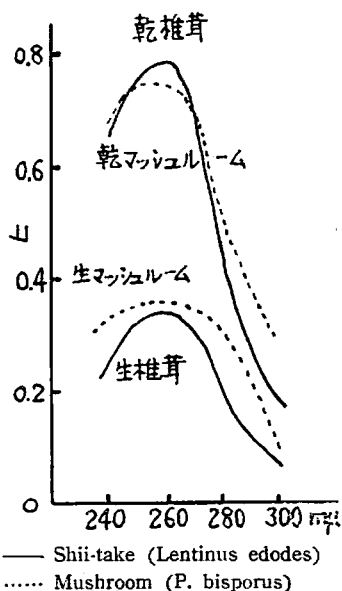


Fig. 2 Absorption curves of boiled extracts of Shii-take and mushroom.

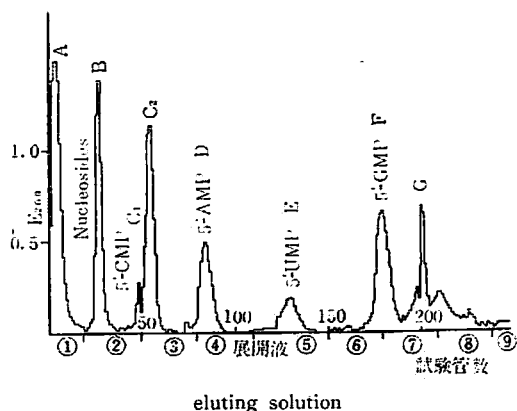


Fig. 3 Chromatogram of boiled extract of raw Shii-take.

た。全く同様にして計3本分のカラムについて、溶出区分はその溶出位置の一致するものをそれぞれ合併した。そのクロマトグラムはFig. 3に示す如くである。

これからA, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D, E, F, Gの8個の画分を分離した。これらをそれぞれpH 2に調整し活性炭処理で濃縮する。画分Aはほとんど回収されないがBからFまではほぼ完全に吸着される。ペーパークロマトグラフィの結果、溶媒2, 3, 4のいずれによっても画分C<sub>1</sub>, D, E, Fはそれぞれ5'-CMP, 5'-AMP, 5'-UMP, 5'-GMPに一致することが認められた。画分Bは塩基およびヌクレオシドの混合物と考えられるが、溶媒2, 4によってウリジンの存在が確認され、他にウラシル、シチジンの存在が推定される。画分Gは流出順序からはウリジン誘導体と考えられるが同定はしなかった。画分C<sub>2</sub>も既知のものと同定できなかった。

市販の生椎茸、乾椎茸、および生椎茸を当研究室で乾燥して乾椎茸としたもの、それぞれ時期を異にする数種のものについての定量結果を示すと Table 2 の如くである。

Table 2 Amounts of 5'-nucleotides in Shii-take.

		Fraction B**	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-GMP
Boiled extract of raw Shii-take (4 samples)	distribution of UV <sub>260</sub> (%)(min.~max.)*	5.3~11.0	1.5 ~ 2.2	7.5 ~ 10.0	3.4 ~ 6.2	5.1 ~ 10.9
	μmol/g material (min.~max.)		0.28~0.45	0.62~0.87	0.41~0.78	0.51~1.25
	μmol/g dried matter(min.~max.)		0.64~1.02	1.41~1.87	0.92~1.66	1.16~2.84
	μmol/g dried matter(min.~max.)		0.91	1.58	1.16	1.93
Boiled extract of dried Shii-take (2 samples)	distribution of UV <sub>260</sub> (%)(min.~max.)*	14.0~16.3	1.5 ~ 2.3	4.3 ~ 7.8	6.9 ~ 8.4	10.5~10.9
	μmol/g material (min.~max.)		1.4 ~ 1.6	2.0 ~ 3.4	2.8 ~ 3.2	3.4 ~ 3.6
	μmol/g dried matter(min.~max.)		1.58~1.86	2.28~3.88	3.23~3.62	3.96~4.12
	μmol/g dried matter(min.~max.)		1.72	3.08	3.43	4.04

\* Percentages of UV<sub>260</sub> in each fraction to all absorbancy of applied sample.

\*\* mixture of uridine, cytidine, uracil, and guanosine.

生および乾椎茸では5'-GMP, 5'-AMP, 5'-UMPが代表的な5'-ヌクレオチドであり, なお5'-CMPも相当量あった。生椎茸と乾椎茸を比較すると, UV<sub>260</sub>の分布では画分Bの占める割合が乾した方が多かった。また乾物量当りの4種の5'-ヌクレオチド含量をみると乾した方が生の場合の約2~3倍に達することが認められた。

### 3. マッシュルームの5'-ヌクレオチド

マッシュルームについては先ずこれを基本にして, 標準の5'-ヌクレオチド類の回収率を求めた。生マッシュルーム(当研究所栽培)細断物20gに5種の5'-ヌクレオチド標準品溶液(それぞれ約2mgに相当)計25mlを添加し常法通り過塩素酸抽出処理した。なお対照として生マッシュルーム細断物20gに蒸留水25mlを添加し, 同様に過塩素酸で抽出した。この両者について全く同様にしてカラムクロマトグラフィを行ない, そのクロマトグラムを比較した。その結果はFig. 4の如くである。

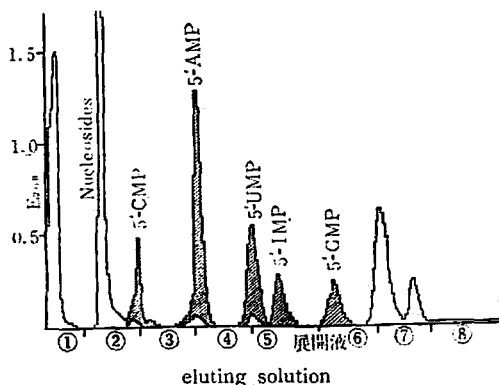


Fig. 4 Recovery test of 5'-nucleotides (section of oblique line) added to perchloric acid-extracted raw mushroom sample.

5種の5'-ヌクレオチドがそれぞれ吸収の増加(斜線部分)となってあらわれており, この場合過塩素酸抽出, カラムクロマトグラフィを通じた回収率は5'-CMP 101.8%, 5'-AMP 99.0%, 5'-GMP 97.6%, 5'-IMP 103.2%, 5'-GMP 96.1%であった。いずれも満足なものと考えられる。なお既知標準品の溶出位置と比較してマッシュルームでは5'-AMPと5'-UMPが主なるヌクレオチドであることが認められた。

生マッシュルームとこれを約1カ月室内で乾燥した状態のもの, それぞれの煮出液について5'-ヌクレオチド類を定量した結果はTable 3の如くである。

生の場合も乾した場合も主要な5'-ヌクレオチドとしては5'-AMP, 5'-UMPが存在したが, 5'-CMP, 5'-GMPは痕跡に過ぎない。生のものよりも乾した方が5'-AMPは増加した。

Table 3 Amounts of 5'-nucleotides in boiled extract of mushroom

		Fraction B**	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-GMP
Raw mushroom	distribution of UV <sub>260</sub> (%)*	18.3	0.9	4.3	2.1	1.2
	μmol./g material		trace	0.325	0.196	trace
	μmol./g dried matter			3.35	2.02	
Dried mushroom	distribution of UV <sub>260</sub> (%)*	18.2	1.3	7.7	2.1	1.1
	μmol./g material		trace	4.33	1.84	trace
	μmol./g dried matter			5.84	2.22	

\* Percentages of UV<sub>260</sub> in each fraction to all absorbancy of applied sample.

\*\* mixture of uridine, cytidine, uracil, and guanosine.

#### 4. 農産食品の5'-ヌクレオチド

缶詰のにんじん、グリーンピース、アスパラガスは固型量、液汁を合してミキサーで粥状にしたものを冷時過塩素酸抽出し、缶詰のスイートコーン、たけのこは同じく粥状にした後煮出した。原料の白および緑アスパラガス、トマト、グリーン・ビーンズはミキサーで粥状にした後に煮出した。これらを試料として次の分析に供した。

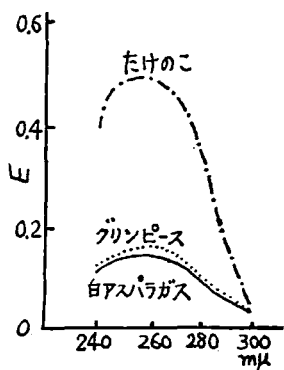


Fig. 5 Absorption curves of several agricultural foods (Part 1)

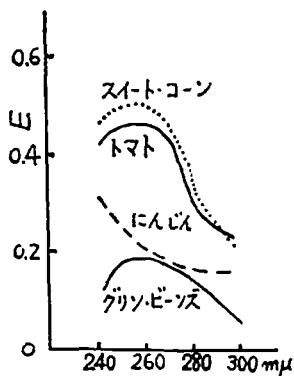


Fig. 6 Absorption curves of several agricultural foods (Part 2)

##### (1) 試料の紫外外部吸収曲線

試料の25倍、または50倍希釈液 (pH 2.0) の紫外外部吸収曲線は Fig. 5, Fig. 6 に示す如くである。にんじんを除いてはいずれも 260m $\mu$  付近に peak が認められ、核酸物質の存在を示すものと考えられる。

##### (2) カラムクロマトグラフィによる定量

###### a) トマト煮出液について

原料 600g 相当量 (UV<sub>260</sub> = 9625) について 2 $\times$ 50cm の大カラムでクロマトグラフィした結果は Fig. 7 に示すごとくである。溶出初期に現われる塩基類またはヌクレオシド類の 2 つの peak の他には大きなものとしては画分 D がある。その溶出位置について常法カラムについても同様にしない対比したが、5'-AMP に相当した。その画分のペーパークロマトグラフィの結果、溶媒

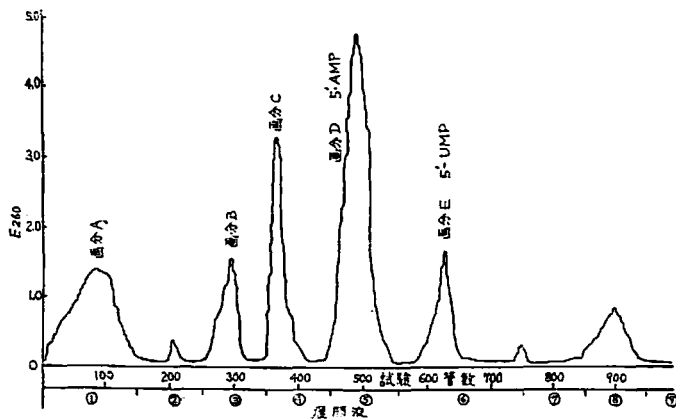


Fig. 7 Chromatogram of boiled extract of tomato.

Composition of eluting solution : See Fig. 1

Volume of solution : ① 1.5l ⑥ 2l ②,③,④,⑤,⑦ and ⑧ 1l

2, 4, 5により5'-AMPに一致することが認められた。なおこの画分の紫外外部吸収曲線、5'-ヌクレオチダーゼによる分解 (方法については中島氏<sup>14)</sup> 参照)、1N-HClによる分解 (方法については Bergkvist<sup>15)</sup> 参照) によっても裏付けされた。(Fig. 8 参照) また画分Eは溶出位置から5'-UMPに相当しペーパークロマトグラフィで溶媒 2, 4, 5により5'-UMPに一致することが認められた。

b) 緑アスパラガス煮出液について 2 $\times$ 50cmの大カラムで吸着展開したものも常法カラムの場合 (Fig. 9) とほぼ同様のものであった。溶出初期の塩基・ヌクレオシド画分の次に画分Dおよび

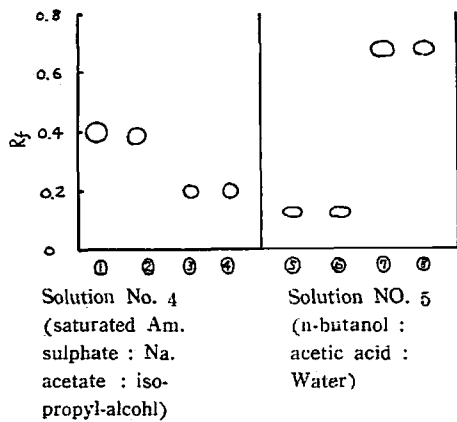


Fig. 8 Identification of Fraction D of tomato (paper chromatogram)

- ① authentic 5'-AMP ② fraction D ③ fraction D, 5'-nucleotidase treated ④ authentic adenosine ⑤ authentic 5'-AMP ⑥ fraction D ⑦ fraction D, decomposed with 1N-HCl ⑧ authentic adenine

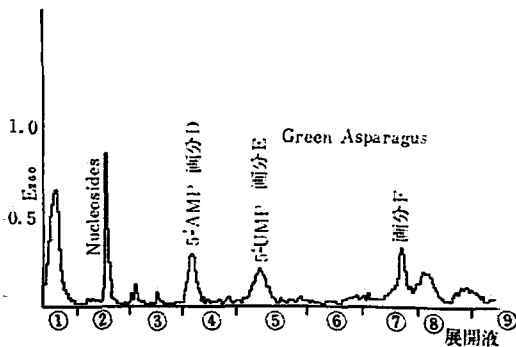


Fig. 9 Chromatogram of green asparagus

らも 5'-UMP であると同定された。画分 G は 5'-GMP ではなくウリジン酸系の物質と考えられる。

c) なお缶詰スイート・コーン及び原料グリーン・ビーンズのクロマトグラムはそれぞれ Fig. 10 Fig. 11 に示す如くであるが、いずれも 5'-AMP, 5'-UMP の存在が認められた。

d) 農産原料の 5'-ヌクレオチド含量 これらのクロマトグラムから原料アスパラガス (白および緑), トマト, グリーン・ビーンズ, および缶詰のスイートコーンについてヌクレオチド類を定量した結果は Table 4 に示す如くである。

UV<sub>260</sub> の分布からこれらの農産食品については 5'-ヌクレオチドの中ではいずれも, 5'-AMP, 5'-UMP が主要なものであることが認められた。食品の種類によってその割合は異なるが画分 B はウリジン, ウラシル, グアノシン, シチジン等の混合物と考えられる。5'-AMP はトマト, スイート・コーンに比較的多く 0.3 μM/g (約 0.01%) に達した。なお, たけのこについては 5'-AMP, 5'-UMP に相当する画分と 2, 3 の他の画分が認められたがいずれも量的に少く, 同定できなかった。定量値としては示さなかった。

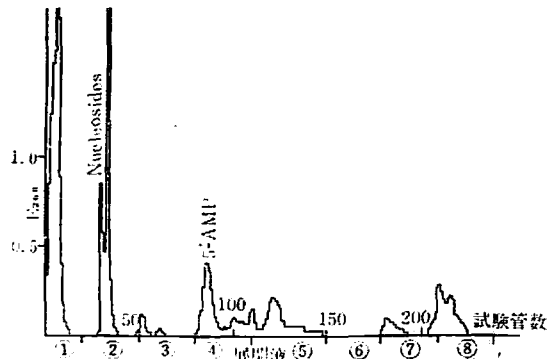


Fig. 10 Chromatogram of canned sweet corn

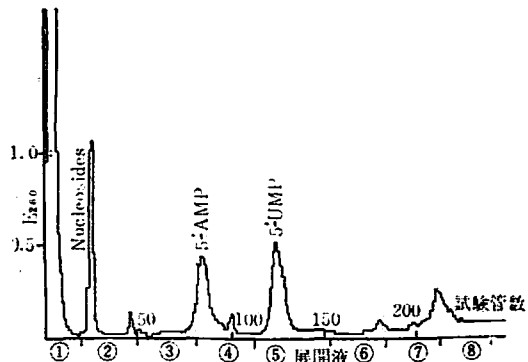


Fig. 11 Chromatogram of green beans

E が得られたがペーパークロマトグラフィで溶媒 2, 3, 4 によりそれぞれ 5'-AMP, 5'-UMP と認められた。なお画分 E は 5'-ヌクレオチダーゼ処理によりウリジンを生成したが、これか

Table 4 Amounts of 5'-nucleotides in agricultural foods

		Fraction	5'-CMP	5'-AMP	5'-UMP	5'-GMP
		B** Nucleosides				
green asparagus	distribution of UV <sub>260</sub> (%)* μmol./g material	4.4	1.1 0.06	4.2 0.11	4.3 0.16	0
white asparagus	distribution of UV <sub>260</sub> (%)* μmol./g material	5.8	1.0 0.04	4.1 0.07	3.1 0.08	0
tomato	distribution of UV <sub>260</sub> (%)* μmol./g material	11.5	0.2 0.01	18.3 0.31	2.8 0.07	0
green beans	distribution of UV <sub>260</sub> (%)* μmol./g material	11.1	1.1 0.03	4.9 0.05	3.7 0.08	0
sweet corn (canned)**	distribution of UV <sub>260</sub> (%)* μmol./g	6.8	0.8 0.04	8.1 0.30	8.4 0.30	0

\* Percentages of UV<sub>260</sub> in each fraction to all absorbancy of applied sample

\*\* mixture of solid and liquid, 1:1

## 考 察

Bergkvist 法<sup>11)</sup>はヌクレオチド類の monophosphate のみでなく di-または tri-phosphate の分析も可能であるが、本報では対象を食品の呈味成分に限ったので分析も diphosphate 以上については行わなかった。なお 5'-ヌクレオチド以外に 2'-または 3'-ヌクレオチドの存在にも注意したが中島氏ら<sup>10)</sup>も示唆する如く、分析した農産食品においては測定しうる量の 2', 3'-ヌクレオチドは認められなかった。

一般植物中の遊離または酸可溶性ヌクレオチド類の存在についてはすでにきのこ類<sup>10)12)16)</sup>、小麦大麦、裸麦の地上部分<sup>15)17)</sup>、発芽期の豆<sup>18)19)</sup>、じゃがいも塊茎<sup>20)</sup>についての報告がある。これらの報告では 5'-AMP と 5'-UMP が頻度高く見出されている。本報でもマッシュルーム、トマト、スイートコーン等の煮出液中では 5'-AMP、5'-UMP が主要なものと見出された。5'-IMP および 5'-GMP はほとんど認められないので直接の呈味成分ではないが、農産食品によく見出される 5'-AMP はグルタミン酸ソーダ共存時の呈味性も認められており<sup>21)</sup>、旨味成分として寄与するものと考えられる。農産食品中における 5'-AMP の存在は注目すべきものと考えている。

## 要 約

呈味性 5'-ヌクレオチド類によって缶詰食品の旨味を増強することを目標とし、まず農産原料および缶詰食品中に既存する遊離の 5'-ヌクレオチド類を定量した。椎茸、マッシュルーム、トマト、アスパラガス、スイートコーン、グリーン・ビーンズ等を煮出し法によって抽出し、Dowex 1-X-8 を使用するイオン交換クロマトグラフィにより分析した。

農産原料を通じて 5'-AMP と 5'-UMP が主要な成分で、5'-AMP は乾椎茸に大略 0.1%、生マッシュルーム、トマト、スイートコーンには 0.01%、アスパラガスに 0.004%、グリーン・ビーンズに 0.002% 含まれており、かなり食品の旨味に寄与していると考えられる。さらに旨味の強い 5'-GMP、5'-IMP はほとんど含まれていない。



終りに臨み、終始懇篤なご指導を賜っている大阪大学寺本四郎教授、当学学長志賀岩雄博士および種々ご配慮を賜った常務理事稲本宇一氏に深謝いたします。

なお貴重な試料をいただいた武田薬品工業株式会社の方々、種々ご教示を賜った武田薬品工業研究所の方々に深謝いたします。

#### 文 献

- (1) 国中明：農化34 489(1960)
- (2) 戸井文一・前田清一ら：農化関東支部講演会(1960 11月 東京)
- (3) 藤田栄一郎ら：農化大会シンポジウム(1961年 4月 福岡)
- (4) 池田真吾：New Food Industry 3 No. 1 41 (1961)
- (5) 国中明：醸造協会誌 56 12 (1961)
- (6) 国中明：蛋白質・核酸・酵素 6 403 (1961)
- (7) 高橋剛：醸造協会誌 56 404 (1961)
- (8) 飯田茂次：醸酵協会誌 19 53 (1961)
- (9) 岡本武：醸造協会誌56 628 (1961)
- (10) 中島宜郎・藤田栄一郎ら：農化 35 797 , 803 (1961)
- (11) R. Bergkvist and A. Deutsch : Acta Chem. Scand. 8 1877 (1954)
- (12) R. Bergkvist : Acta Chem. Scand. 12 1549 (1958)
- (13) R. Markham, J. D. Smith : Biochem. J. 49 401 (1951)
- (14) 中島宜郎ら：昭和37年度農化大会講演会(1962 4月 仙台)
- (15) R. Bergkvist : Acta Chem. Scand. 10 1303 (1956)
- (16) 中島宜郎ら：昭和36年度農化大会講演会(1961 4月 福岡)
- (17) R. Bergkvist : Acta Chem. Scand. 11 1457 (1957)
- (18) V. V. Luu and J. Gregoire : Compt. rend. Soc. biol. 152 1260 1262 (1958)
- (19) K. Sebesta and F. sorm : Collection Czechoslov. Chem. Commun. 24 2781 (1957)
- (20) K. M.ri, M. Nakamura. and S. Funahashi : Agr. Biol. Chem. (Japan) 24 344 (1960)
- (21) 池田真吾ら：農化大会シンポジウム(1961 4月 福岡)