

バクテリアセルロースの生合成 -食品廃棄物を有効利用した培地の試作-

清水 祐一*・遠藤 俊二**・箕島 薫***

Biosynthesis of Bacterial Cellulose. -The trial preparation of the culture mediums by effective use of food waste-

Yuichi SHIMIZU, Shunji ENDO and Kaoru Minoshima

Abstract

The culture mediums for bacterial cellulose biosynthesis were experimentally prepared by effective use of the rind of fruits discarded in food processing and the vegetables disposed in order not to be a standard form.

The mediums prepared from the juice of rinds of a melon and a watermelon, and from the extract of an onion and a carrot with hot water were useful for production of bacterial cellulose by acetic acid bacteria (*Acetobacter xylinum*). But, rind of a banana was not effective. The melon medium, especially, produced bacterial cellulose with a high yield corresponding to that of Hestrin-Schram culture medium which widely used as a standard for bacterial cellulose production.

An addition of yeast extract and peptone to the mediums increased the yield of bacterial cellulose, but glucose addition showed opposite effect.

The mediums besides a banana contained sufficient quantity of reducing sugars including glucose and amino acids as component. But, the relationship between the yield and the quantity of components was not found.

The results from X-ray diffraction analysis and scanning electron microscope observation showed that bacterial cellulose made from the mediums was same as that from Hestrin-schram medium.

1. 緒 言

セルロースは地球上で最も多量に存在する天然高分子であり、しかも再生産可能な資源であることから、紙・パルプ、衣料用繊維(綿、麻など)などとして大量に使用されているばかりでなく、化学反応により各種の誘導体が合成され、繊維、プラスチック、フィルム、膜、塗料、食品、医薬・医療、建設など様々な分野で広く利用されている。

セルロースの生産の主な担い手は高等植物であり、細胞壁の構成成分として植物体重量の1/2～

1/3を占めている。一方、植物以外にもセルロースを生産する生物が知られており、その代表的なものとして*Acetobacter*属に属する酢酸菌がある。この酢酸菌が菌体外に生産する膜状のセルロースは微生物セルロースあるいはバクテリアセルロース(以下BCという)とよばれ、植物由来のセルロースに比べてヘミセルロースやリグニンを含まない非常に純度の高いセルロースであり、非常に細かいマイクロフィブリルからなり重合度や結晶性が高いため乾燥して得られるシート(フィルム)の物理的性質が優れている、未乾燥物を機械的に解繊(マイクロフィブリル化)したものは分散性に優れているなど様々な特長を有していることから、近年新しい素材として高い注目を集めている。これまでにこれらの特性を生かしてスピーカーの振動板と

* 教 授 物質工学科

** 技 官 (技術専門職員・物質工学科)

*** 長岡技術科学大学

して実用化されたのを始め、濾過膜、医療用パッド、食品・化粧品添加物、製紙などの分野についても応用研究がなされている^{1)~3)}。また生分解性素材という面からも関心が高い⁴⁾。

この様に新素材として評価の高いBCであるが、最大の問題点は生産コストが高くその利用が限られていることである。これは主として酢酸菌の培養培地が高価であること、酢酸菌のセルロース生産能が低くかつ不安定であることなどに起因している。したがってこれらの問題を解決してBCを大量、安価、安定して供給することが工業的利用の鍵となっている。現在、培地の検討、培養条件や培養方法の検討、酢酸菌の育種改良などの面から研究が進められている^{1)~3)}。

一方、農林水産業や食品加工業などから排出される大量の有機系廃棄物は、ゴミ・環境問題の面から大きな社会問題の一つであり、その削減が時代の要請となっている。現在、これらの一部は堆肥などとして利用されているが、大半は埋め立て、焼却によって処分されている。これに対して、これらの廃棄物を未利用資源としてとらえ、その有効利用を図る研究も各方面で行われている。これらの廃棄物は生物由来であるため、その成分はタンパク質、炭水化物、アミノ酸、ミネラル、ビタミン等であり飼料や肥料としての利用が可能であると同時に、微生物培養の栄養成分としても非常に高いポテンシャルをもっている。

本研究では食品廃棄物の有効利用の促進およびBCの収量増加と培地コストの低減化を目的として、果実皮などの食品加工廃棄物や規格外として処分される野菜からBC合成用の試作培地を調製し、その有効性について検討した。

2. 実験方法

2.1 試料

食品廃棄物として食品加工の過程で排出される果実皮および規格外農産品として処分される野菜類に注目し、それぞれバナナ皮、メロン皮、スイカ皮およびタマネギ、ニンジンを試料として取り上げた。

2.2 標準培地の調製

試作培地の有効性については、酢酸菌によるBC合成の培地として広く用いられているHestrin-Schram培地（以下HS培地）を標準培地とし、これを対照として比較検討を行った。表1

にHS培地の成分組成を示す。ここで濃度(wt%)は調製時における培養液の体積(ml)に対する各成分の重さ(g)の割合を示す。各成分を秤量して水で溶解し1N塩酸をもちいてpHを6.0に調整後、50ml三角フラスコに15mlずつ分注、シリコ栓をしてオートクレーブ中121℃、15分間滅菌した。

表1 HS培地の成分組成

成分	濃度(wt%)
D-グルコース	2.0
酵母エキス	0.5
バクトペプトン	0.5
クエン酸	0.115
リン酸水素二ナトリウム	0.27

2.3 試作培地の調製

バナナ皮、タマネギおよびニンジンについては熱水抽出液を、メロン皮およびスイカ皮については搾汁を試作培地として調製した。

1) バナナ皮は1cm程度の幅に切断し水1ℓに対して600gを加え、家庭用ミキサーにて1分間離解した。これを2ℓビーカーに移し80℃に加温して15分間熱水抽出した後吸引ろ過で滓を除き、ろ液を試作培地とした。

2) メロン皮、スイカ皮は数cm角に切断後、家庭用ジューサーにて搾汁を調製しこれを試作培地をした。

3) タマネギ、ニンジンは家庭用おろし器ですりおろしたものに水を加え（タマネギ300g/水150ml、ニンジン100g/水100ml）、電子レンジにて1分間加熱毎に攪拌しながら合計5分間熱水抽出した。放冷後吸引ろ過により滓を除き、ろ液を試作培地とした。

4) 1)~3)で調製した試料単独の試作培地の他に、各試作培地に①グルコースを2%添加した培地、②酵母エキスとバクトペプトンをそれぞれ0.5%添加した培地を調製し、これらも試作培地とした。すべての試作培地は標準培地と同様に分注、滅菌した後、酢酸菌の培養に供した。

2.4 酢酸菌の培養

2.3で調製した各試作培地に、HS培地をもちいて継代培養してある酢酸菌（Acetobacter xylinum ATCC 10245）培養液を500μℓ植菌し、インキュベーター中で28℃、3日間および7日間静置培養してBCを合成した。得られたBCは2%

NaOH中に浸漬して除タンパク後、1%酢酸による中和および水洗にて脱アルカリを行いテフロンシート上で風乾した。その後、減圧乾燥して重量を測定した。

2.5 試作培地の成分分析

2.3 1)~3)で調製した各試作培地について、ムタローゼ・GOD法(和光純薬工業製、グルコースCII-テストワコー測定キット)によるグルコースの定量、DNS法による全還元糖の定量⁵⁾およびニンヒドリン反応による全アミノ酸の定量⁶⁾を行った。また培養中のpH変化をみるため、培養前後で培地のpH測定(東亜電波工業製、pHメーターHM-35V)を行った。

2.6 生成BC膜の性状分析

試作培地により得られたBC膜のX線回折分析(日本電子製、JDX-3532)、走査電子顕微鏡(日本電子製、JSM-6330F、以下SEM)観察を行い、HS標準培地から得られたものと比較検討した。

3. 結果および考察

各試作培地について、

- ①試料単独で調製したものを試作培地A、
- ②試作培地Aにグルコース2%を添加したものを試作培地B、そして
- ③試作培地Aに酵母エキスとバクトペプトンそれぞれ0.5%添加したものを試作培地Cとする。

3.1 試作培地によるBCの合成

各試作培地を用いて合成したBCの生成量をHS培地からの生成量とともに表2~7に示した。また各試作培地によるBCの生成量のHS培地によるBCの生成量に対する相対値を、対HS培地収率(%) (以下本文中では単に収率という)として図1~6に示した。

1) バナナ皮試作培地によるBCの合成 (表2 および図1)

試作培地Aでは、3日および7日間培養のBC収量は1.42mgおよび4.71mgと少なく、収率は5および10%にすぎなかった。また、グルコースの添加(試作培地B)や酵母エキスとバクトペプトンの添加(試作培地C)により収量は増加するものの収率は20%以下であり、バナナ皮はBC合成に有効とはいえない。バナナ皮はメロン皮やスイカ皮に比べて水分が少なく、搾汁を得ることは困難であ

ったために多量の水を用いた熱水抽出により試作培地を調製した。したがって、培地中の有効成分の濃度が低いことが考えられる。そこで次に、試作培地Aをロータリーエバポレーターにより4倍まで濃縮して同様の培養を試みたが、収量は逆に低下する傾向を示した。グルコースや酵母エキスおよびバクトペプトンを添加しても収率がそれほど増加しなかったことから、バナナ皮中には酢酸菌の増殖やBCの合成にとって必要な成分が非常に少ない、あるいは有害な成分が含まれている可能性が考えられる。

表2 バナナ皮試作培地によるBCの生産量

培 地	平均収量(mg)	
	3日間培養	7日間培養
(対照用HS培地)	30.22	45.80
試 作 培 地 A	1.42	4.71
試 作 培 地 B	3.22	7.84
試 作 培 地 C	5.35	8.10

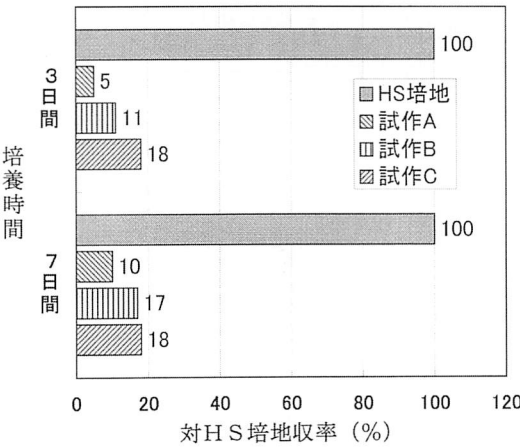


図1. バナナ皮試作培地によるBCの合成

2) メロン皮試作培地によるBCの合成 (表3 および図2)

試作培地Aでの収率は3日間培養で94%、7日間で110%を示し、HS培地に匹敵するBCが生成したことから、メロン皮搾汁は単独でもBC合成に有効であることが確認された。試作培地Cでは3日間で112%、7日間で135%とさらに多量のBCが合成され、特に培養時間が長いほど酵母エキスとバクトペプトンの添加効果がみられた。しかし、試作培地Bでの収率は、3日間で66%、7日間で78%と試作培地Aよりも低下し、グルコースの添加がBC合成にとって逆効果であることが

わかった。以上の結果はネットメロンを試料としたものであるが、プリンスメロンを試料とした場合でも同様の結果を示したことから、メロン皮搾汁には種類によらず本質的にBC合成に有効な成分が含まれていると考えられる。

表3 メロン皮試作培地によるBCの生成量

培地	平均収量(mg)	
	3日間培養	7日間培養
(対照用HS培地)	30.14	56.48
試作培地A	28.25	62.12
試作培地B	19.86	43.80
試作培地C	33.75	76.13

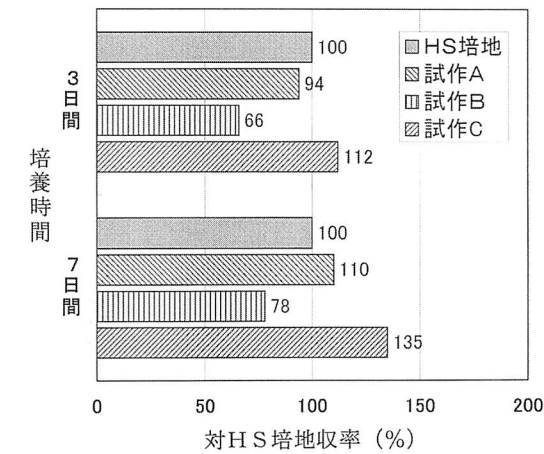


図2. メロン試作培地によるBCの合成

3) メロン試作培地における酵母エキス、バクトペプトン添加量の影響（表4および図3）

メロン皮試作培地Cにおいて酵母エキスとバクトペプトンの添加効果が認められたことから、これらの添加量がBC収量に与える影響を検討するため試作培地Cの他に、試作培地Aに酵母エキスとバクトペプトンをそれぞれ1.0%添加した試作培地D、同じく1.5%添加した試作培地Eを調製しBCの合成を行った。その結果、3日間培養では試作培地D、EはCに比べて30ポイント以上の収率増加があり添加量増加の効果が認められた。ただしDとEでは大差はなかった。一方、7日間培養では試作培地C、D、Eによる収率は試作培地Aに比べて大きく増加した。ただ収率はいずれも180%前後であり、酵母エキスとバクトペプトン添加量を増加した影響はみられなかった。したがって培養時間が長くなると添加量の差の影響は少なく、メロン皮試作培地においてはBC収量の増

加効果としての酵母エキスとバクトペプトンの添加量は各0.5%で十分であるといえる。3日間培養でのCとD、Eとの収率の差は、添加量の差による酢酸菌の初期増殖速度の差であり、培養時間が長くなり平衡に近づくと菌体濃度やBC合成速度の差は小さくなるためと考えられる。

表4 メロン皮試作培地によるBC生成量への酵母エキス、バクトペプチン添加量の影響

培地	平均収量(mg)	
	3日間培養	7日間培養
(対照用HS培地)	28.15	48.55
試作培地A	30.87	70.53
試作培地B	31.57	90.20
試作培地C	41.03	84.93
試作培地E	42.23	83.53

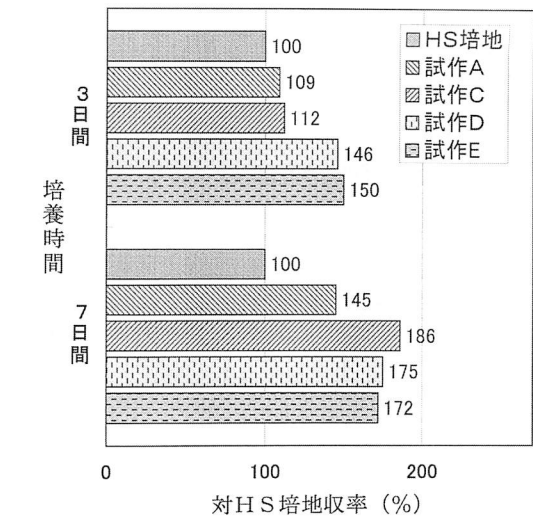


図3. メロン皮試作培地における酵母エキス、バクトペプトン添加量の影響

4) スイカ皮試作培地によるBCの合成（表5および図4）

試作培地Aにより生成したBCの収率は3日間および7日間培養でそれぞれ69%、59%であり、メロン皮の場合と比べると低いもののスイカ皮搾汁もBC合成の培地として有効であることが示された。試作培地BではAに比べて、3日間および7日間培養とも収率は若干低下し、メロン皮試作培地と同様グルコースの添加はBCの合成に逆効果であった。試作培地Cによる収率は3日間培養で85%、7日間培養で80%を示し、酵母エキスおよびバクトペプトンの添加により15~20ポイントの収率増加が認められた。

表5 スイカ皮試作培地によるBCの生成量

培 地	平均収量 (mg)	
	3 日間培養	7 日間培養
(対照用HS培地)	31.23	53.18
試 作 培 地 A	21.62	31.55
試 作 培 地 B	17.62	29.75
試 作 培 地 C	26.55	42.35

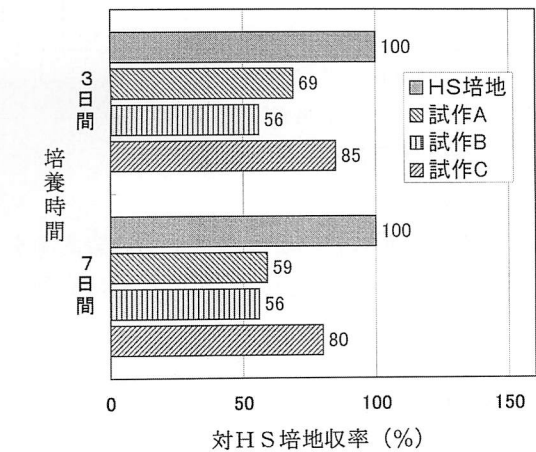


図4 スイカ試作培地によるBCの合成

5) タマネギ試作培地によるBCの合成 (表6 および図5)

試作培地Aによる収率は3日間培養で34%、7日間培養で36%といずれもHS培地の3分の1程度であるが、BC合成の有効性は認められた。今回の試作培地はタマネギを5分間熱水抽出することにより調製したが、調製方法によってはさらに有効な培地の可能性も考えれる。試作培地Bではメロン皮やスイカ皮と同様に試作培地Aより収率が低下しており、やはりグルコースの添加はBC合成には逆効果であった。試作培地Cでは、メロン皮やスイカ皮の場合と同様に酵母エキスとバクトペプトンの添加効果が認められたが、その効果は二者に比べて非常に大きいことが特徴的であった。すなわち、BCの収率は3日間培養で130%、7日間培養で239%となり、それぞれ試作培地Aの約

表6 タマネギ試作培地によるBCの生成量

培 地	平均収量 (mg)	
	3 日間培養	7 日間培養
(対照用HS培地)	28.15	45.40
試 作 培 地 A	9.40	16.30
試 作 培 地 B	6.80	15.90
試 作 培 地 C	36.60	108.70

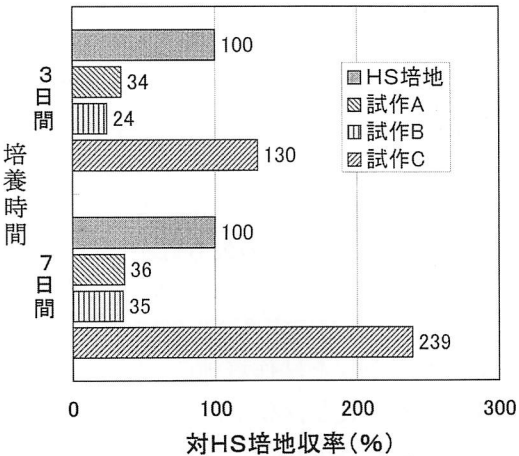


図5. タマネギ試作培地によるBCの合成

4倍および約6.6倍に達した。特に7日間培養では調製した全ての試作培地の中で最高のBC収率を示した。

6) ニンジン試作培地によるBCの合成 (表7 および図6)

試作培地Aによる収率は3日間および7日間培養でほぼ同じ値の67%および68%であった。いずれもHS培地の7割程度のBC収量があることから、ニンジン試作培地もBC合成に有効であること確認できた。収率はスイカ皮試作培地と同様の値であるが、試作培地Aはタマネギと同じく5分間の熱水抽出によって調製したものであり、調製方法によってはさらにBC収量が高くなる可能性がある。現時点では試作培地Aの結果のみしか得られていないが、他の試作培地の結果から考えて、グルコースの添加や酵母エキスおよびバクトペプトンの添加によって同様の傾向を示すものと考えられる。

表7 人参試作培地によるBCの生成量

培 地	平均収量 (mg)	
	3 日間培養	7 日間培養
(対照用HS培地)	28.15	45.40
試 作 培 地 A	19.00	30.90

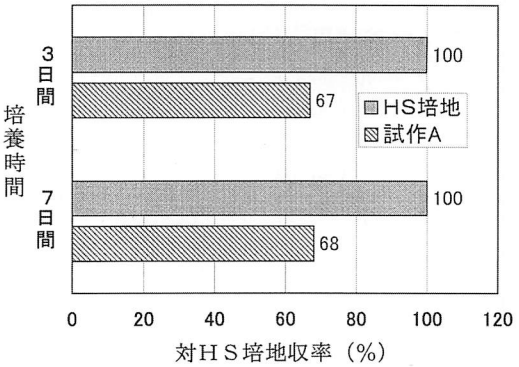


図6. 人参試作培地によるBCの合成

3.2 培地のpH変化

図7にHS培地およびメロン皮試作培地をもちいて酢酸菌を培養したときの培地のpH変化を示した。HS培地では初期pH6.0から3日間培養後で3.35まで低下し、その後やや回復して7日間培養後では3.56となった。各試作培地でも大体同様の傾向を示したが、収率の最も低かった試作培地Bでは3日後のpHが2.98と最も低下しており、7日後でもほとんど回復せず3.09であった。一方、最も収率の高かった試作培地Cでは3日後のpHは3.83と低下が最も少なく、かつ7日後のpHは最高の4.30まで回復した。試作培地AではBとCの中間の値を示した。また、このような培地のpH変化はスイカ皮やタマネギの試作培地についても全く同様に観測されたことから、グルコースや酵母エキスとバクトペプトンの添加が培地のpHに与える本質的な影響と考えられる。

HS培地による培養では、酢酸菌はグルコースを代謝する過程でグルコン酸を生成するとされており、このグルコン酸が培地のpH低下に関係していると考えられている。また、pHが回復する理由として、このグルコン酸がセルロースの合成に消費される可能性が指摘されている。そして培地中の酵母エキス濃度が高いほどBC収量が多いことから、酵母エキスがグルコン酸の利用を促進しているのではないかと考えられている^{7),8)}。

本研究の各試作培地中の炭素源の主成分は還元糖であることを考えると、今回の結果についても同様な理由である可能性が高い。一般に培地中の炭素／窒素(C/N)比は微生物の増殖等に影響を与えることが知られている。グルコースを添加した試作培地BでC/N比の炭素の割合が増加したにもかかわらずBCの収率が低下したのは、このC/N比が酢酸菌のBC合成には不利な条件になったた

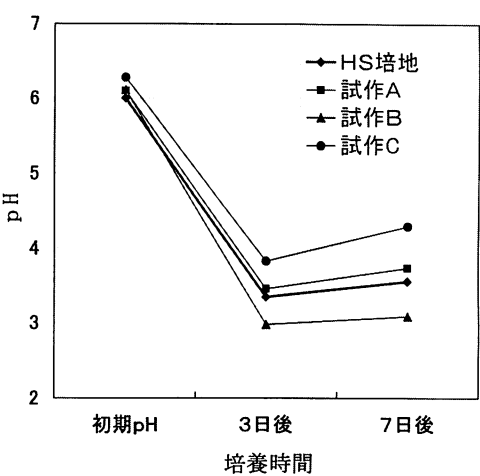


図7 メロン皮試作培地のpH変化

めと考えられる。
逆に、酵母エキスとバクトペプトンの窒素源を添加した試作培地CではC/N比がBC合成に有利な条件になったといえる。

3.3 試作培地の成分分析

表8に各試作培地Aのグルコース濃度、全還元糖濃度および全アミノ酸濃度を培地の初期pH、各試作培地Aによる対HS培地収率とともに示した。バナナ皮ではグルコースが2.25mg/mlで最も少なく、メロン皮、スイカ皮およびタマネギではいずれも16~17mg/mlでHS培地(20mg/ml)とほぼ同量のグルコースが含まれていた。ニンジンでは約10mg/mlでHS培地の半分であった。全還元糖については、グルコース量はほぼ同じであったメロン皮、スイカ皮およびタマネギでそれぞれ17.8、57.9および48.25mg/mlと差があった。グルコース以外の還元糖はスイカ皮やタマネギには多く含まれ、メロン皮には少ない。ニンジンでは31mg/mlで両者の中間の濃度であった。一方、バナナ皮はグルコースを含めて還元糖の量は少ない。

表8 各試料の試作培地Aの分析結果および試作培地Aを用いた培養結果

試料		バナナ皮	メロン皮	スイカ皮	タマネギ	ニンジン
分析、培養結果						
グルコース (mg/ml)		2.25	16.88	16.04	16.88	9.96
全還元糖 (mg/ml)		10.20	17.80	57.90	48.25	31.00
全アミノ酸 (mg/ml)		0.14	2.42	2.85	4.00	1.00
初期pH		5.15	6.10	5.35	5.30	6.24
対HS培地 収率 (%)	3日間培養	5	94	69	33	67
	7日間培養	10	110	59	36	68

全アミノ酸濃度はタマネギが4.00mg/mlで最も高く、ついでメロン皮、スイカ皮が2~3mg/ml、ニンジンが1.00mg/mlであった。バナナ皮は0.14mg/mlで、還元糖と同様、アミノ酸量も最も少なかった。初期pHはいずれも5~6程度であった。

各試作培地AによるBCの対HS培地収率を各成分濃度と比較しながらみると、いずれの成分も最も少なかったバナナ皮試作培地の収率が5~10%で最低だった理由として、培地中の栄養素の絶対量が少なかった可能性が高い。しかし、他の試作培地については、各成分濃度と収率の間には明確な相関はみられない。たとえば、タマネギではアミノ酸量が最も多く、かつグルコースを含む還元糖も多いにもかかわらず収率は30数%で他のバナナ以外と比べて最も少ない。また、ニンジンの各成分濃度はスイカ皮の半分程度でしかないにもかかわらず収率はスイカ皮に匹敵している。また、酵母エキス、バクトペプトンを添加した試作培地Cでは、試作培地Aでの収率が低かったタマネギに非常に大きな効果がみられた。

培地の栄養素としては還元糖やアミノ酸の総量だけでなくその組成も重要である。さらにミネラルやビタミンも重要な要素である。今後はこれらの点についても検討が必要である。しかし、バナナ皮を除いた各試作培地は酢酸菌によるBC合成にとって有効な炭素源、窒素源を十分含有していることが確認された。また、タマネギ、ニンジンの試作培地については調製法の改善によってさらに高い有効性を示す可能性がある。

3.4 生成BC膜の性状分析

1) X線回折分析

HS培地およびメロン皮試作培地Aで7日間培養して得られたBC膜(精製後テフロンシート上で乾燥して作成したもの)をサンプルホルダーにテープで貼り付け、反射法によりX線回折をおこなった。測定条件は、スリット系 $1^{\circ}-1^{\circ}-0.2$ 、管電圧40kV、管電流20mA、ステップスキャンモード(スキャン角度 $2\theta=5\sim30^{\circ}$ 、ステップ角度 0.04°)、計数時間1secでおこなった。

図8に示したように、メロン皮試作培地Aで合成されたBCはHS培地のBCと全く同じ、天然セルロースの結晶形であるセルロースIの回折パターンを示した。また、各ピークの強度比から簡易的に求めた結晶化度および選択的配向度もほぼ同じ値を示した。その他の試作培地Aから得られたBCについても、膜厚の違いによる回折強度

の差はあるもののいずれもメロン皮からのBCと同様な回折パターンを示した。したがって、本研究の各試作培地で合成されたBCはHS培地のものと同じであることが確認された。

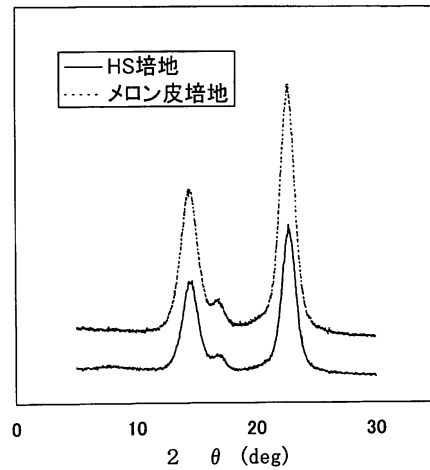


図8 HS培地およびメロン皮試作培地から合成されたBCのX線回折図

2) SEMによる観察

HS培地およびメロン皮試作培地Aで7日間培養して得られたBCについて、精製後凍結乾燥および白金蒸着をしてSEMで表面を観察した。図9に示したように、HS培地から得られたBCは、BCの特徴である無数の非常の細い($0.1\mu\text{m}$ 以下)マイクロフィブリルが絡み合い網目構造を形成しているのがわかる。メロン試作培地Aから得られたBCについても同様に非常に細いマイクロフィブリルが観察された。一部に太いボン状のマイクロフィブリルが見られるが、これは凍結乾燥の不具合により乾燥途中で細い何本かが結合して太くなったものと思われる。したがって、試作培地から得られたBCのマイクロフィブリルの形状はHS培地からのものと本質的に同じであると考えられる。ただし、網目構造に関してはHS培地のBCの方が密に集積しているのがわかる。各種果汁を成分として含む培地で合成された食用BCゲル(ナタデココとして市販されている)では、果汁の種類によりその固さ(食感)がかなり異なるという⁹⁾。今回観察された、マイクロフィブリル網目構造の集積密度の差が未乾燥BCゲルの固さの違いに関係しているのかもしれない。X線回折に用いたBC試料は風乾状態のものであるが、この状態ではHS培地からのBCと差は見られなかった。

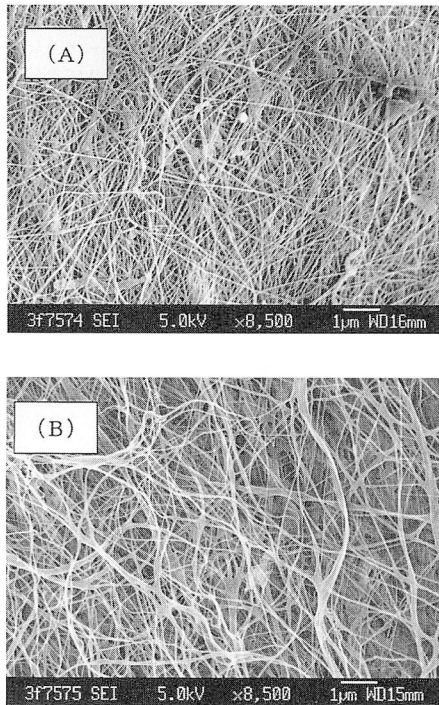


図9. HS培地(A)およびメロン皮試作培養地(B)から合成されたBCのSEM写真

4. 結 論

バナナ皮、メロン皮およびスイカ皮などの食品加工廃棄物やタマネギ、ニンジンなど規格外野菜を有効利用したBC合成用試作培地を調製した結果、次のことを明らかにした。

1) バナナ皮以外のメロン皮、スイカ皮、タマネギおよびニンジンから調製した試作培地は酢酸菌によるBC合成に有効であることが確認された。特に、メロン皮の試作培地AはHS培地に匹敵するBC収量を与えた。

2) 試作培地Aへのグルコース(炭素源)の追加はBC合成に逆効果であったが、酵母エキスとバクトペプトン(主として窒素源)の追加はBC合成に有効であり、特にタマネギ試作培地Aには非常に効果的であった。

3) バナナ皮を除いた各試作培地にはグルコースが10~17mg/ml、全還元糖が18~58mg/ml、全アミノ酸1~4mg/ml含まれており、これらがBC合成の主な有効成分と考えられる。しかし、各成分濃度とBC収率との間には明確な相関は認められなかったことから、これら以外の微量成分も収率に関与している可能性がある。

4) X線回折およびSEM観察の結果から、試作培地から合成されたBCはHS培地から合成されたものと同じであることが確認された。

本研究の成果は平成11年度苫小牧工業高等専門学校卒業研究発表会(平成12年3月7日、苫小牧グランドホテルニュー王子)において発表された。

参考文献

- 1) 吉永文弘, バイオサイエンスとバイオインダストリー, 54, 9, p22 (1996)
- 2) 吉永文弘, 外内尚人, 渡部乙比古, 化学と生物, 35, 11, p772 (1997)
- 3) 中山 茂, 渡部乙比古, 井口正俊, 西 美緒, Nippon Nogeikagaku kaishi, 72, 9, p1039 (1998)
- 4) 田島健次, バイオサイエンスとインダストリー, 57, 6, p391 (1996)
- 5) 福井作蔵, “還元糖の定量法第2版”, 学会出版センター, p23 (1990)
- 6) 広田 望, “新版 食品栄養実験”, 地球社, p209 (1997)
- 7) 高井光男, 枝川滋, (財)北海道科学・産業振興財団, 産学官共同研究推進事業研究成果報告書“農産加工副産物による新製品開発”, p13 (1995)
- 8) 高井光男, 森屋和仁, (財)北海道科学・産業振興財団, 産学官共同研究推進事業研究成果報告書“農産加工副産物による新製品開発”, p14 (1996)
- 9) 桑名好恵, Cell. Commun., 4, 1, p25 (1997)

(平成13年11月30日受理)