

ナタネ種実の Goitrogenic Substance に関する研究 (第1報)

ナタネ種実脱脂ミール中 goitrogenic substances の抽出

箕口重義*・福沢美喜男*・磯部徹三**

Studies on the Goitrogenic Substance in Rape Seed Part I
The extraction of goitrogenic substances from defatted rape seed meal

SHIGEYOSHI MIGUCHI, MIKIO FUKUZAWA, and TETSUZŌ ISOBE

The extracting method and structure of goitrogenic substances formed in rape seed, were investigated. Oxazolidinethione content of the extracts was estimated by the spectrophotometry, and total goitrogenic activity of the extracts and residues was determined by chick feeding experiments.

Major goitrogenic substance in myrosinase-treated seed meals was an oxazolidinethione, and significant amounts of unknown goitrogenic substances were found in both the enzyme-treated meals and a control sample to which no myrosinase has been added. Total goitrogenic substances in the seed meals were extracted quantitatively by two extractions with five times its weight of water. The ether-extraction was not suitable to remove total goitrogenic substances, because the myrosinase-treated meal contained ether insoluble goitrogenic substance. However, re-extraction of the water extracts with ethyl ether was necessary for purification of the oxazolidinethiones. Formation of oxazolidinethiones by autolysis during storage seemed unlikely since no oxazolidinethiones was detected on the stored seed without the enzyme-digestion. (Received September 13, 1967)

CHESNEY ら (1928³⁾) がキャベツの葉を長期連続投与した家兎に甲状腺腫 (キャベツ甲状腺腫) が引き起こされることを見出し、以来、アブラナ科植物に甲状腺の肥大増生をひき起こす物質がかなり広く分布していることがしだいに明かにされ¹⁾²⁾⁸⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁴⁾, これら goitrogenic substances の純離, 同定などの研究も進められてきた。

ASTWOOD (1949²⁾) はナタネ, ルタバガ, キャベツなどブラシカ属作物の種子に含まれる goitrogenic substance は (I)-5-vinyl-2-thioxazolidone であるとし, その含量も 0.2% に及ぶことを述べ, KJAER ら (1959¹²⁾) はその立体構造を吟味して (-)-5-vinyl-2-oxazolidinethione (goitrin¹²⁾) であるとし, さらに oxazolidine-

thiones はその glucosidic progenitor である thioglucoside (progoitrin¹²⁾, glucorapiferin⁶⁾) から myrosinase による加水分解, 自然環化などの径路を経て生成される二次産物であることを明らかにした¹⁰⁾。

また, 種実中の goitrogenic substance はナタネの油糧および飼料資源としての利用上無視できない有害物質であり, 鈴木ら (1965²⁴⁾) は各種食用油脂の栄養価値の比較を行ない, ナタネ油投与ラットに甲状腺, 腎臓などの臓器の肥大, 発育不振などの影響があるとし, TURNER (1948²⁵⁾), 中谷ら^{16)~22)}, 上坂ら (1964²⁶⁾) は油粕中の goitrogenic substances および発育阻害因子を家畜飼養学的な立場からとり上げている。

しかし, 以上の諸研究にもかかわらずナタネ種実中の

* 聖徳栄養短期大学 (東京都葛飾区西新小岩 1-4-6)
Seitoku Junior College of Nutrition. Katsushika-ku, Tokyo.
* 東京都立赤坂高等学校 (東京都港区南青山 2-33-77)
Akasaka High School. Minato-ku, Tokyo.

goitrogenic substancesが上述の(-)-5-vinyl-2-oxazolidinethione だけなのか、またはそのほかに goitrogenic activity を有する物質が存在するのか明確でなく、また、それらの物質の種実の成熟、収穫調製、貯蔵、加工などの過程における消長、挙動などについても知見に乏しい。また、油粕の飼料的利用を目的とした goitrogenic substances に対する対策として、熱水による有害作用の防止などの手段が試みられているが必ずしも実際的ではない。

本研究はナタネ種実中の goitrogenic substances の種類、特性、相互関係などを明らかにするとともに実用的な除去手段を検索せんとするものであり、第1報では家鶏幼雛を用いる生物検定と、分光光度計による紫外部吸収による比色法とを併用して oxazolidinethiones の抽出、抽出剤に吟味を加え、定量的な抽出が可能な条件を見出すとともに oxazolidinethiones 以外の goitrogenic substances の存否を確かめた。試料には天然ナブスと

は多少異なった特性があり goitrogenic substances の存在が確認されていない合成ナタネ種実の脱脂ミールを用いた。

実験方法

1. 試料

試料はキャベツ×ハクサイによって得られた合成ナタネ (artificially synthesized rape, *Brassica napus var. Oleifera, commercial variety CO*) の成熟種子で収穫後約12ヵ月室温、種子保存条件で貯蔵されたもの(東京教育大学農場産)なお一部実験には収穫後約1ヵ月の新種を用いた。

2. 試料の調製脱脂

全粒種子はワイレー式粉碎機で破碎し、直ちにリグロインエタノール混液(2:1)でソックスレー装置を用いて5時間予備脱脂したのちボールミルで粉碎(約6時間)し、さらにエーテルで12時間連続抽出した。

第1表 Goitrogenic substances の抽出法と抽出物の区分

抽出法区分	要項		抽出操作と抽出物の区分
	自家ミロシナーゼの失活処理の有無	酵素処理の有無	
I	なし	あり	<p>試料 → 5倍量の水による抽出, 24hr → ① 滲液……W₁-I / ② 残渣 → 5倍量の水による抽出 → ③ 滲液……W₁-II / ④ 残渣 → 5倍量の水による抽出 → ⑤ 滲液……W₁-III / ⑥ 残渣 → 5倍量のアルコール3回抽出 → ⑦ 滲液……A₁-T / ⑧ 残渣 → 5倍量のエーテル3回抽出 → ⑨ 滲液……E₁-T / ⑩ 残渣……R₁</p>
II	水煮沸30分	なし	抽出法Iによる3回抽出の滲液を合せて W ₂ -T
III	なし	あり	抽出法Iによる3回抽出液 → エーテルで振り分ける(等量, 5回) → ⑪ エーテル層……E ₃ -T / ⑫ 水層……W ₃ -T
IV	なし	あり	酵素処理を終った試料ミール懸濁液 → エーテルで振り分ける(等量, 5回) → ⑬ エーテル層……E ₄ -T / ⑭ 残渣
V	なし	あり	<p>酵素処理を終った試料ミール懸濁液 → ⑮ 粉碎 / ⑯ 減圧乾燥 → エーテル抽出(ソックスレー装置による連続抽出, 12hr) → ⑰ エーテル抽出物……E₅-T / ⑱ 残渣 → (抽出法Iによる)水抽出, 3回 → ⑲ 滲液……W₅-T / ⑳ 残渣</p>

3. 脱脂ミールの酵素加水分解

Astwood ら (1949²¹) の oxazolidinethione の定量法は thioglucosides の酵素加水分解のための積極的な理を指示していないが、oxazolidinethione とその ucosidic progenitor たる thioglucoside との関係が明かにされた KJAER ら (1956¹⁰) 以後の研究では、試料の調製、脱脂操作中における自家 myrosinase の失活なども考慮にいれ、シロガラシから抽出した粗酵素剤を添加し、pH を調節⁷⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁴⁾²³⁾ して定量的な加水分解を行っているが、本実験では原試料 250 g 当たり 50 g のカラシ粉 (クロガラシ) を粗酵素剤として添加し 1500 ml の水を加え pH を 6.5~7.0⁴⁾⁵⁾ に調節し、室温で 24 時間加水分解した。

本実験でシロガラシから得た酵素剤を用いずカラシ粉を酵素剤として使用したのは、クロガラシには goitrogenic substances を含まないことが知られており、生成する Volatile isothiocyanate も抽出液の減圧濃縮の際に完全に除かれることを予め確かめ、簡便有利な酵素剤となり得ることを知り得たためである。

4. 自家 myrosinase の失活処理

試料中の自家 myrosinase の失活のための処理は全粒重子を水煮沸、30 分処理する方法をとった⁶⁾⁷⁾。

5. Oxazolidinethiones の抽出法

抽出法および抽出物の区分は第1表のごとくである。Astwood ら (1949) は (-)-5-vinyl-2-oxazolidinethione の定量は水による抽出法を用いているが、KJAER ら¹⁴⁾ および DAXENBICHLER ら (1964⁴⁾) は、エチルエーテルによる連続抽出を行っており、中谷ら¹⁷⁾ は油粕中 goitrogens の除去には熱水が有効であるとしている。ここでは、水およびエチルエーテルを抽出剤とした抽出操作 I~V を設定してその抽出成績を比較検討した。

6. Goitrogenic substances の検出

I~V の各抽出法に係る各区分抽出物中の goitrogenic substances は分光光度計による紫外外部吸収による比色法と雛を用いる生物学的検定法を併用し、oxazolidinethiones とそれ以外の goitrogenic factor とを分別できるようにした。

(1) 分光光度計による oxazolidinethiones の検出

島津 QV50 型分光光度計を用いた。水抽出液は等量のエーテルで 4 回振り、エーテルに転溶し、エーテルを溜去したのち再び水にとかして水を溶媒とし、200~270 m μ の吸光度を 2 m μ 間隔で測定した。エーテル抽出の場合はエーテルを溜去した後、水にとかして供試した。oxazolidinethiones の吸光度は Astwood ら²⁾ の方法によって算定した。

(2) Goitrogenic activity の生物学的検定

Astwood らは (I)-5-vinyl-2-thiooxazolidone の goitrogenic activity の検定には未成熟ラットを用い、¹³¹I の甲状腺摂取率に及ぼす影響を thiourea または thiouracil を標準として検定しているが、本研究では oxazolidinethiones 以外の goitrogenic factor が検出できるよう Mixner ら (1944¹⁵⁾) の家鶏幼雛を用いる抗甲状腺物質の検定法を準用した甲状腺重量法を用いて検定し、一部の供試動物については甲状腺濾胞上皮細胞の厚径、濾胞コロイドの蓄積状態を調べる組織学的計測法²³⁾ も加えた。

i) 抽出物の処理と投与試料の調製

各区分の抽出液は一定容にメスアップし、一部を分光光度計による測定に供したのち回収し、全量を動物試験に供した。エーテルを溶媒とした抽出液はエーテルを常圧下で完全に溜去し、水による抽出物は減圧下 70°C 以下でシラップ状に至るまで濃縮した。

第2表 抽出法 I による抽出物の投与試験成績

要 項 区	羽 数	平均体 重 (g)	平均甲状腺実重 (mg)	体重100g 当たり甲状腺重量	
				甲状腺重量 (mg)	対照区との有意差の有無*
W ₁ -I	5	108.0	52.4	48.5	+
W ₁ -II	5	106.4	20.8	19.5	+
W ₁ -III	5	105.8	12.9	12.2	-
A ₁ -T	5	109.4	10.6	9.7	-
E ₁ -T	5	100.0	10.3	10.3	-
R ₁	5	98.8	9.2	9.3	-
C ₁ (Cont.)	5	114.2	9.3	8.1	-

注: * $\alpha = 0.05$

うして250gの原試料から得た各抽出物はそれぞれ3の飼料に混合した。この飼料の分量は6日齢の雛が投与期間中(7日)に摂取し得る飼料の総量に相する分量である。ただし、残渣を混合する場合は残渣だけ飼料の量を差し引いた。

1) 実験動物の飼育と甲状腺重量の測定

試雛はロードホーン(白レグ種♂×ロードアイランド種♀のF₁)初生雄雛を市販完全配合飼料(初生)を基本飼料とし、brooderの温度は全期間95°±に調節した。

6日齢から1区5羽ずつに区分し、抽出物、残渣な

第3表 抽出法Iの水抽出区分における oxazolidinethiones の分布

抽出物区分	oxazolidinethiones の分布(%)*
W ₁ -I	73.28
W ₁ -II	26.72
W ₁ -III	0.00

注: * 抽出液 50 倍希釈液の 240m μ における吸光度から算定した百分率

どを添加した供試飼料を投与し、第13日目に生体重を測定したのち剖検し、トーションバランスで甲状腺重量を測定した。

iii) 組織学的計測

組織学的検査は各区の平均重量に近い甲状腺3個を選びホルマリン固定、5 μ パラフィン切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色を施し、甲状腺中央部の濾胞20個についてそれぞれ上皮細胞厚径の最大、最小値および平均値を算定するとともにコロイドの蓄積状態を観察した。

実験結果と考察

1. 水による抽出について

抽出例Iは水抽出に際して抽出操作の反復回数をどの程度に定めるべきかを知り、水不溶、エーテルまたはアルコール可溶の goitrogenic substance の存否を知るために行なったものであり、第2表の投与試験の結果に明らかなく、W₁-I、W₁-IIに陽性反応が認められ、W₁-III、A₁-T、E₁-TおよびR₁の残渣投与区は反応陰性を示すに至っている。また分光光度計による oxazolidinethione の検定でも第3表にみられるように動物試験とよ

第4表 抽出法I, IIによる抽出物投与雛の甲状腺の組織学的計測

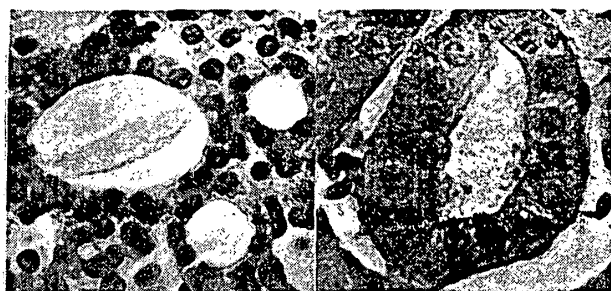
要項 区	観察 個体 数	上皮細胞厚径				濾胞コロイド の蓄積状態
		最大(μ)	最少(μ)	平均値		
				平均(μ)	対照区との有意差の有無*	
W ₁ -I	3	16.2	10.5	13.3	+	-
W ₁ -II	3	9.1	6.4	7.7	+	-
W ₁ -III	2	6.3	4.4	5.3	-	++
W ₂ -T	3	15.3	10.1	12.7	+	-
A ₁ -T	2	4.7	3.0	3.9	-	+++
E ₁ -T	2	4.7	2.8	3.8	-	+++
R ₁	3	5.0	3.2	4.1	-	+++
C ₁ (Cont.)	2	6.6	4.1	5.4		+++

注: * $\alpha=0.05$

第5表 抽出法III, IVによる抽出物の投与試験成績

要項 区	羽 数	平均体 重 (g)	平均甲状腺実重 (mg)	体重100g当たり甲状腺重量	
				甲状腺重量 (mg)	対照区との有意差の有無*
E ₃ -T	5	91.2	18.9	20.7	+
W ₃ -T	5	99.6	9.2	9.2	+
E ₄ -T	5	88.3	16.1	18.2	+
C ₂ (Cont.)	5	132.3	8.2	6.2	

注: * $\alpha=0.05$



第1図 甲状腺組織像
A : C₁×150
B : W₁-I×150

A : C₁×150
上皮細胞は小さく扁平で濾胞コロイドの蓄積がみられる
B : W₁-I×150
上皮細胞が著しく肥厚し濾胞コロイドの蓄積はみられない

く一致した結果が得られている。以上の結果から合成ナタネ種実、脱脂ミール中の goitrogens は水で完全に抽出ができ、本実験のような条件では反復2回の抽出で定量的抽出の目的を達するものと認められた。

甲状腺の組織学的観察結果（第4表および第1図）もこのことを裏づけており、W₁-I、W₁-II 区の動物では濾胞上皮細胞は有意に肥大し、濾胞コロイドの蓄積も見られないが、W₁-III、A₁-T、E₁-T、R₁ 区は対照区と差が認められなかった。

2. エーテルによる抽出について

抽出例III、IV、Vはエーテルを抽出剤とした場合であり、IIIは一たん水で完全に抽出した抽出液をバッチ法で

第6表 バッチ法による oxazolidinethiones のエーテル転溶 (W₁-I 50 倍稀釈液使用)

抽出回数	エーテル層への oxazolidinethiones の転溶*(%)	
	水層に食塩添加 (2 M)	食塩無添加
第1回目	96.14	65.96
2	3.86	34.04
3	0.00	0.00
4	0.00	0.00
5	0.00	0.00

注：240 m μ における吸光度から算定

第7表 抽出法Vによる抽出物の投与試験成績

要項区	羽数	平均体重 (g)	平均甲状腺実重 (mg)	体重100g 当たり甲状腺重量	
				甲状腺重量 (mg)	対照区との有意差の有無*
E ₅ -T	5	101.9	34.8	34.2	+
W ₅ -T	5	112.8	37.9	33.6	+
C ₃ (Cont.)	5	111.3	6.3	5.7	

注：* $\alpha=0.05$

エーテルで振り goitrogens が定量的に転溶するかどうかを確かめたもので投与試験の結果は第5表のごとくであり、goitrogenic substances は大部分はエーテル層に転溶するが一部のものは水層に残存することが知られた。なお、第6表の分光光度計による測定で明らかな様に水層の oxazolidinethiones はバッチ法で等量のエーテルを用いて2回振ればほぼ完全にエーテルに転溶することが示され、この実験例ではエーテル抽出は5回くりかえしているから oxazolidinethiones は E₅-T に完全に転溶し、W₅-T の goitrogenic substance は oxazolidinethiones と異なり、水溶性ではあるがエーテルに親和性をもたない物質と推定された。なお、Astwood らも述べているように水層における中性塩の存在は oxazolidinethiones のエーテル転溶を容易にすることが認められた（第6表）。

抽出例IVは脱脂ミール懸濁液を濾過しないで等量のエーテルと振った場合であり、水層との分離が悪く5回の抽出に90時間を要した。

E₄-T の投与試験の反応は陽性で甲状腺重量は E₅-T との間有意差がなかった。したがって、この方法も長時間かけて抽出すれば抽出例IIIと同程度の抽出効果が期待されるであろう。

抽出例Vは乾燥ミールからソックスレー装置による連続抽出の場合であり、第7表の投与試験の結果ではエーテル抽出物投与区 (E₅-T) とエーテル抽出残渣の水抽出物を投与した区 (W₅-T) のいずれにもほぼ同程度の陽性反応が見られた。分光光度計による検定結果も第8表のごとく E₅-T、W₅-T にほぼ同量の oxazolidinethiones の分布がみられた。

第8表 抽出法Vの両分画における oxazolidinethiones の分布

抽出物区分	oxazolidinethiones の分布(%)*
E ₅ -T	46.30
W ₅ -T	53.70

注：* 抽出液250倍稀釈液の240 m μ における吸光度から算定した百分率

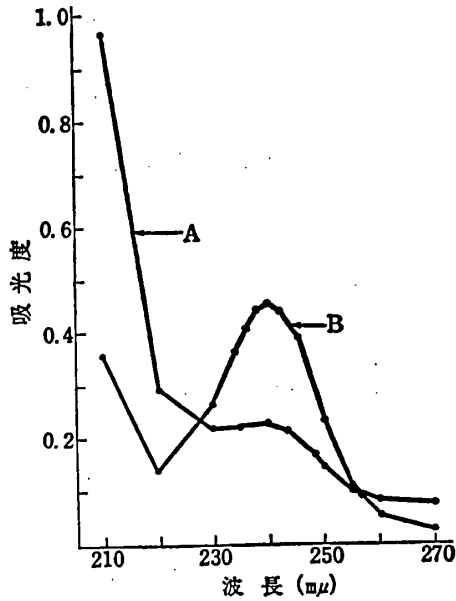


図2 水抽出液の紫外外部吸収曲線とエーテル転溶後の変化
 A...W₁-T の 250倍稀釈液
 B...W₁-T の 50倍稀釈液にエーテル転溶操作を施したもの

以上から乾燥ミールからエーテルで直接 goitrogenic stances を定量的に抽出することは困難であると推定される。

抽出剤としての水およびエーテルの比較

以上1, 2で考察したように oxazolidinethiones とその他の goitrogenic factor を包括した goitrogenic stances の抽出には水抽出法を用いるべきであり、zolidinethiones のみを対象とする場合も、エーテルによる定量的抽出も可能であるが、概して水抽出法が操縦容易である。ただし、分光光度計による oxazoli-

第9表 抽出法IIによる水抽出物の oxazolidinethiones の検定

抽出物区分	吸光度* (240mμ)
W ₂ -T (古種)	0.0000
W ₂ -T (新種)	0.0000

* 抽出液 50倍稀釈液の 240mμ における吸光度

第10表 抽出法IIIによる抽出物の投与試験成績

要項 区	羽数	平均体重 (g)	平均甲状腺実重 (mg)	体重100g 当たり甲状腺重量	
				甲状腺重量(mg)	対照区との有意差の有無*
W ₂ -T	5	102.0	15.0	14.7	+
3 (Cont.)	5	111.3	6.3	5.7	

注: * α=0.05

dinethiones の測定を行なうには紫外域における妨害物質除去のため、水抽出の場合もエーテル転溶による精製が必要であり、第1図は水抽出液の 210~270mμ の吸収曲線とエーテル転溶後の変化を示したものである。

4. Autolysis について

KJAER ら (1956¹⁰⁾ が明らかにしたように oxazolidinethione は thioglucoside の加水分解によって生じた二次産物であり、自家 myrosinase による autolysis は組織の破碎、吸水、発芽などを契期として急速に進行するが、種実の収穫、調製、貯蔵などの過程で autolysis による oxazolidinethione の生成がみられるか否かを知るために行なったのが抽出例IIである。結果は第9表のごとくであり、種子の新古にかかわらず、自家酵素を失活させ、加水分解処理をしない試料の抽出物中に oxazolidinethiones は検出されなかった。VAN ETEN ら (1966²⁷⁾ が crambe seed では室温で autolysis を起こす最低の関係湿度は 7~16% の範囲にあると述べているが、種子用として比較的丁寧な扱いをした合成ナタネでは収穫、調製、貯蔵の過程で autolysis による oxazolidinethiones の生成はみられないものと判断される。

5. Oxazolidinethiones 以外の goitrogenic substance について

抽出例IIの W₂-T, 抽出例IIIの W₃-T の各分画は oxazolidinethione が含まれないが投与試験の結果が陽性であり(第5, 9, 10表), oxazolidinethione 以外の goitrogenic substance の存在が推定された。

W₂-T は酵素加水分解を受けない試料の抽出物であり、oxazolidinethione (goitrin) の precursor としての thioglucoside (progoitrin) が大量に含まれており、GREER (1962⁹⁾ は非反芻獣の腸内である種の細菌のもつ myrosinase により progoitrin の加水分解が行なわれ、goitrin に転化することを見出している。雛体内でも同じ現象がみられるならば W₂-T の goitrogenic activity の少なくとも一部は thioglucoside に起因するものと推定される。

さらに、W₃-T の goitrogenic substance は水溶性でエーテル不溶であり、この点 thioglucoside の溶解性と

合致しており、W₂-T と同一物質であるかも知れない。

いずれにしても、脱脂ミール中に oxazolidinethione 以外の goitrogenic substance の存在を確認できたがその種類と本体を明らかにすることは本研究では困難であり目下別途検討中である。

摘 要

ナタネ種実中に形成される goitrogenic substance の抽出法とその性状を水およびエーテルを用いた5種の浸出法を用いて検討した。

本実験において、goitrogenic substances のうち oxazolidinethiones の測定には紫外外部吸収を利用した吸光度分析法を用い、抽出物や残渣の goitrogenic activity は家鶏幼雛を用いる投与試験で検定した。

結果を要約すると次のごとくである。

(1) 酵素 (myrosinase) 処理をしたミール中の主要な goitrogenic substance は oxazolidinethione であった。さらに酵素処理ミールおよび対照ミール (酵素未処理) 中に明らかに生物検定陽性を示す量の性状未詳な goitrogenic substance の存在が認められた。

(2) 水による抽出ではバッチ法による浸出法で5倍量の水で2回の抽出を反復すれば、total goitrogenic substances の量的抽出の目的を達することを知り、抽出剤としての水はエーテルよりすぐれているものと認められた。

(3) 酵素処理ミール懸濁液からエチルエーテルを用いる浸出法による抽出では oxazolidinethiones の定量的抽出は可能であるが、加水分解ミール中にはエーテル不溶の goitrogenic substance があり、さらに乾燥ミールに対しては oxazolidinethiones の完全抽出も困難であり、概してエーテルはすぐれた抽出剤とはいえない。しかし、水抽出物中の oxazolidinethiones の分離精製にはエーテルによる再抽出は欠くことができない手段である。

(4) 本実験の試料では保蔵中の autolysis に基づく oxazolidinethione の存在が認められなかった。

文 献

- 1) ALTAMURA, M. R., LONG, L. JR. and HASSLSTROM, T.: *J. Biol. Chem.*, **234**, (7), 1847(1959).
- 2) ASTWOOD, E. B., GREER, M. A. and ETTLINGER, M. G.: *J. Biol. Chem.*, **181**, 121 (1949).
- 3) CHESNEY, A. M., CLAWSON, T. A. and WEBSTER, B.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **43**, 261(1928).

- 4) DAXEBICHLER, M. E., VAN ETEN, C. H. and BROWN, F. S.: *J. Agr. Food Chem.*, **12**, (2), 127 (1964).
- 5) 福沢美喜男・箕口重義・碓谷令子・本田智恵子: 未発表.
- 6) GREER, M. A.: *Recent Progr. Hormone Research*, **18**, 187 (1962).
- 7) 石本真・山科郁男: 酵素化学シムポジウム, **2**, 36 (1949).
- 8) KENNEDY, T. H. and PURVES, H. D.: *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **22**, 241 (1941).
- 9) KJAER, A., CONTI, J. and LARSEN, I.: *Acta Chemica Scandinavica*, **7**, (9), 1276 (1953).
- 10) KJAER, A., GMERIN, R. and JENSEN, R. B.: *Acta Chemica Scandinavica*, **10**, 432 (1956).
- 11) KJAER, A. and GMELIN, R.: *Acta Chem. Scand.*, **12**, (8), 1963 (1958).
- 12) KJAER, A., CHRISTENSEN, B. W. and HANSEN, S. E.: *Acta Chem. Scand.*, **13**, 144 (1959).
- 13) KJAER, A. and CHRISTENSEN, B. W.: *Acta Chem. Scand.*, **16**, 71 (1962).
- 14) KJAER, A. and THOMSEN, E.: *Acta Chem. Scand.*, **16**, 591 (1962).
- 15) MIXNER, J. P., REINEKE, E. P. and TURNER, C. W.: *Endocrinology*, **34**, 168 (1944).
- 16) 中谷哲郎・田中亮一・中村亮八郎: 茨城大農, **10**, 57 (1962).
- 17) 中谷哲郎・中村亮八郎: 日畜会報, **34**, (4), 253(1963).
- 18) 中谷哲郎・中村亮八郎: 日畜会報, **34**, (4), 263 (1963).
- 19) 中谷哲郎・中村亮八郎: 日畜会報, **34**, (5), 323 (1963).
- 20) 中谷哲郎: 日畜会報, **35**, (2), 107 (1964).
- 21) 中谷哲郎・田上末四郎: 日畜会報, **36**, (8), 324 (1965).
- 22) 中谷哲郎: 日畜会報, **36**, (12), 534 (1965).
- 23) RAWSON, R. W. and SALTER, W. T.: *Endocrinology*, **27**, 155 (1940).
- 24) 鈴木秀雄・太田富貴雄・管家祐輔・大島寿美子・鈴木慎次郎: 栄養誌, **24**, (1), 9 (1965).
- 25) TURNER, C. W.: *Poultry Sci.*, **27**, (1), 118(1948).
- 26) 上坂章次・川島良治・加藤啓介・大崎豊彦・岡田通子: 日畜会報, **35**, (特別号), 167 (1964).
- 27) VAN ETEN, C. H., DAXENBICHLER, M. E., PETERS, T. E. and TOOKEY, H. L.: *J. Agr. Food Chem.*, **14**, (4), 426 (1966).
- 28) WETTER, L. R.: *Canadian J. Biochem. Physiol.*, **33**, 980 (1955).

(1967年9月13日受理)