栗 澱 粉 の 構 造 と 性 質

竹田千重乃*, 竹田靖史**, 檜作 進**

(昭和 61 年 9 月 22 日受理)

Structure and Properties of Chestnut Starch

Chieno TAKEDA,* Yasuhito TAKEDA** and Susumu HIZUKURI**

* Kagoshima Junshin Junior Women's College
(1847, Kamoike-cho, Kagoshima 890, Japan)

** Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kagoshima University
(1-21-24, Korimoto-1, Kagoshima 890, Japan)

Starch was prepared from chestnuts (*Castanea crenata* SIEB et ZUCC.) by wet milling with dilute alkali. The starch granules were elliptical and angulate with an average size of $4 \times 6 \mu\text{m}$. The crystalline structure of the starch was of the Cb type. Its amylogram (6%) showed a pasting temperature of 64.5°C , a maximum viscosity of 460 B. U. and no breakdown. 3-Methyl-1-butanol increased the pasting temperature and slightly decreased the maximum viscosity. The amylose and phosphorus contents of the starch were 19.6% and 53 ppm, respectively. The amylopectin had an average chain length of 22.8, a β -amylolysis limit of 55% and a phosphorus content of 61 ppm, of which 71% was attached to C-6 of the glucose residue. The number and weight average degrees of polymerization of the amylose were 1,690 and 4,020, respectively. The amylose comprised branched molecules with 4.6 chains on average and was hydrolyzed 91% by β -amylase. The relatively high retrogradation tendency of the amylose appears to be due to its small molecular size and a little low degree of branching.

緒 言

栗はブナ科に属し、世界各地で栽培されている。その品種は多く、日本栗だけでも、銀寄のような大粒種から、小粒種の豊多摩早生まで 100 品種ほどある。中大粒種は主として、シラップ漬製品に加工され、菓子や料理の材料として利用されている。栗は堅果・種実類で、澱粉含量(40 %¹⁾, 17~29 %²⁾) が高いのが特徴であり、この点は穀類やいも類に類似しているが、栗澱粉の構造や性質は詳しくは研究されていない³⁻⁵⁾。本研究では、日本栗 (*Castanea crenata* SIEB et ZUCC.) で丹沢と呼ばれている中大粒種から澱粉を調製し、その構造と性質を詳細に調べた。

実験材料および方法

1. 実験材料

栗澱粉は、鹿児島県産の丹沢種(中粒, 早生)から皮を除去し、アルカリ法⁵⁾により調製した。澱粉の脱脂は、ソックスレー抽出器を用いて、80 % 1,4-ジオキサンで 48 時間抽出して行った。アミロースとアミロペクチンの分別は、Lansky らの方法⁶⁾ に準じ窒素気流下で行った。アミロースの精製は、10 % 1-ブタノール中で、結晶化を繰り返し、ゲル濾過的に均一になるまで⁷⁾, 6 回再結を行った。アミロースとアミロペクチンの収量は、澱粉 10 g (乾物重量) に対し、それぞれ乾物重で 1.71 g と 7.16 g であった。

β -アミラーゼは、Takeda らの方法⁸⁾ により甘藷から精製し、硫酸溶液から結晶化したものを用いた。Pseudo-monas イソアミラーゼとブルナーゼは、林原生物化学研究所製の結晶標品を用いた。Bio-Gel P-30 は、バイ

* 鹿児島純心女子短期大学 (890 鹿児島市鴨池町 1847)

** 鹿児島大学農学部農芸化学科 (890 鹿児島市郡元 1-21-24)

オラド社から、トーヨーパール HW-75F は、東洋曹達工業(株)から購入した。他の試薬は、和光純薬工業(株)製の最高級純度のものを使用した。

2. 方 法

X線回折は、水で湿らせた澱粉を試料とし、理学電機製超強力X線回折装置 (RAD-RB) と回転対陰極銅のX線管を用いて行った。電圧 45 kV、電流 100 mA とし、発生X線はモノクロメーターにより $K\alpha$ 線とした。スリット系は、発散スリット 1° 、受光スリット 0.15 mm、制限スリット 1° 、G-M 管の走査速度は $1^\circ/\text{min}$ とした。アミログラムは、Brabender 社のアミログラフ (Type DC3, 700 CM/GRS) を使用し、試料濃度 6 % で、 25°C から 92.5°C まで毎分 1.5°C の速度で昇温し、 92.5°C に 15 分間保持し、ついで 59.5°C まで毎分 1.5°C の速度で冷却して測定した。極限粘度は、試料約 100 mg を 1 M 苛性カリで希釈し、オストワルド粘度計 (1 M 苛性カリで流下時間が約 128 秒) を用い、 $22.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で測定した。ヨウ素親和力は、Larson らの電流滴定法⁹⁾ で 25°C で測定した。青価と最大吸光波長の測定は、Suzuki らの方法¹⁰⁾ に従った。

澱粉の糊化度は、外山らのグルコアミラーゼ法¹¹⁾ を若干変更した方法 (DG-g)¹²⁾ とヨウ素電流滴定法 (DG-i)¹³⁾ で測定した。 β -アミラーゼの分解限度の測定は、前報¹⁴⁾ に従った。有機リンの定量は、試料を過塩素酸で湿式灰

化し¹⁵⁾、無機リンとして Itaya らの方法¹⁶⁾ で測定した。グルコース残基の 6 位にエステル結合したリンは、Hizukuri らの方法¹⁷⁾ でグルコース-6-リン酸として定量した。アミロースの平均単位鎖長と数平均重合度は、迅速 Smith 分解法と改良 Park-Johnson 法¹⁸⁾ で非還元末端基と還元末端基をそれぞれ定量し、全糖をアンスロン-硫酸法¹⁹⁾ で定量して求めた。また、重量平均重合度と重合度分布は、高速液体クロマトグラフを用いるゲル濾過法^{20,21)} で測定した。アミロースの超遠心分析は、前報¹⁴⁾ に従った。アミロペクチンの平均単位鎖長は、迅速 Smith 分解法²²⁾ とイソアミラーゼ (*Pseudomonas*) による分解法¹⁰⁾ で測定した。アミロペクチンの単位鎖の分布は、イソアミラーゼで枝切りし、Bio-Gel P-30 によるゲル濾過法^{10,14)} で測定した。

結果および考察

脱脂した栗澱粉、アミロペクチンおよびアミロースの性質を Table 1 に示した。

1. 澱粉の性質

澱粉粒は長円形や角ばった形状で、大きい粒には亀裂が観察されるが、これは試料調製時の乾燥に起因する可能性がある (Fig. 1)。最大粒は $9 \times 13 \mu\text{m}$ (短径 $\times$ 長径)、最小粒は $2 \times 2 \mu\text{m}$ で、平均粒径は $4 \times 6 \mu\text{m}$ であった。トウモロコシ澱粉の約 $1/3$ 、米澱粉とはほぼ同じ大きさ

Table 1. Properties of chestnut starch, its amylopectin and amylose.

	Starch ^{a)}	Amylopectin	Amylose
Iodine affinity, g/100 g	4.32	0.51	19.9
Blue value	0.419	0.184	1.41
Amylose content, %	19.6 ^{b)} 19.4 ^{c)}		
Limiting viscosity number, ml/g		176	242
β -Amylolysis limit, %		55	91
β -Amylolysis with pullulanase, %			102
$\overline{D.p.w}^d$			4,020
$\overline{D.p.n}^e$			1,690
Chain length			
Smith degradation		22.8	370
Isoamylolysis		22.3	
Number of chains per molecule			4.6
Phosphorus			
Organic phosphorus (Po), ppm	53	61	10
P-6 ^{f)} /Po, %	66	71	

^{a)} Defatted with 80% 1,4-dioxane. ^{b)} From iodine affinity. ^{c)} From blue value. ^{d)} Weight average degree of polymerization. ^{e)} Number average degree of polymerization. ^{f)} Phosphorus attached to C-6 of the glucose residue.

Fig. 1. Scanning electron photomicrographs of chestnut starch.

The starch granules coated with gold by ion sputtering were examined in a Hitachi X-610 scanning electron microscope at an accelerating voltage of 10 kV.

Fig. 2. X-ray diffraction pattern of wet chestnut starch.

であるが大きいものも混在する。X線回折図形 (Fig. 2) は、B形の馬鈴薯やユリ澱粉に類似していたが、第4b環 (4.9 Å) が少し認められるのと、第6環 (4.0~3.7 Å) が完全に分離していないことなどから、B形に非常に近いC形 (Cb形) であると判定される。

脱脂した栗澱粉の窒素含量と有機リンは、それぞれ 0.014 % と 53 ppm であった。有機リンは、馬鈴薯澱粉 (457~754 ppm) の約 1/10、甘藷澱粉²³⁾ の約 1/3 で、ユリ澱粉¹⁴⁾ に近い。グルコース残基の6位にエステル結合

Fig. 3. Brabender amylogram of chestnut starch. —, water; ----, 5% 3-methyl-1-butanol.

Fig. 4. Temperature dependence of pasting of chestnut starch.

The degrees of gelatinization were measured by glucoamylase (□) and iodine titration (■) methods.

したリンの有機リンに対する割合は 66 % で根茎澱粉の平均的な値²⁴⁾ であった。脱脂澱粉のヨウ素親和力は 4.32 g/100 g、青価は 0.419 であり、アミロース、アミロペクチンのヨウ素親和力と青価から、アミロース含量を求めると¹⁴⁾、それぞれ 19.6 %、19.4 % となり互によく一致した。この値は、大橋⁴⁾ の 19 % にほぼ一致し、真部⁵⁾ の 24.1 % よりも低い。このアミロース含量は、ユリ澱粉 (25.0~26.8 %¹⁴⁾) よりも低く、馬鈴薯 (20~23 %^{25,26)}) や甘藷澱粉 (19~21 %²³⁾) に近い。

栗澱粉のアミログラムを Fig. 3 に示した。粘度上昇開始温度と最高粘度は、それぞれ 64.5°C と 460 B.U. で、ブレークダウンはほとんど認められなかった。このアミログラムは、甘藷澱粉のもの²³⁾ に類似していた。3-メチル-1-ブタノール (最終濃度 5 %) の添加によって、粘度上昇開始温度が上昇し、粘度がわずかに低下した。これらの挙動は、粘度上昇開始温度が低下する穀類澱粉

Table 2. The changes of degree of gelatinization of chestnut starch paste.^{a)}

Stored time at 0°C hr	DG-g ^{b)} %	DG-i ^{c)} %
0	98	99
1	86	51
15	85	49
24	83	49
72	80	42

^{a)} Prepared by heating 5% starch suspensions at 100°C for 20 min. ^{b,c)} Degree of gelatinization measured by glucoamylase method and iodine titration method, respectively.

と異なるが²⁷⁾, ユリや馬鈴薯澱粉¹⁴⁾と同様であり, 粘度に対する影響はこれらと異なり, 甘藷澱粉²³⁾に類似している。

栗澱粉の懸濁液を所定の温度 (50~100°C) で 20 分間加熱し, その糊液の糊化度をグルコアミラーゼ法 (DG-g) とヨウ素電流滴定法 (DG-i) で測定した (Fig. 4). 全体の糊化 (DG-g) は, 58°C から 65°C の温度範囲で急速に進み, 80°C 以上でほぼ完全 (96% 以上) に糊化された。また, アミロースの糊化 (DG-i) は, いずれの温度でも, 全体の糊化とはほぼ等しかった。この糊化特性は, クズ澱粉¹⁰⁾に類似しているが, 甘藷²³⁾, ユリや馬鈴薯澱粉¹⁴⁾のアミロースの糊化が全体の糊化に比べ少し遅れるのとは異なっている。100°C で加熱し完全に糊化した糊液を 0°C に保存して, 老化性を糊化度 (DG-g と DG-i) から評価した (Table 2)。最初の 1 時間で DG-g, DG-i とも糊化度の低下が著しく, 全体, アミロースとも初期に急速に老化が進行し, 以後は徐々に進行した。全体の老化性は, タピオカ澱粉²⁸⁾より早く, クズ, 馬鈴薯²⁸⁾, ユリ¹⁴⁾や甘藷²³⁾の澱粉に近い。アミロースの老化性は, タピオカ, 馬鈴薯²⁸⁾, 甘藷²³⁾より早く, ユリ¹⁴⁾やクズ²⁸⁾のアミロースに近い。このことは, 後述するように, 栗アミロースの分子が小さく, 分岐が少ないために分子の会合が起こりやすいためと思われる。

2. アミロペクチンの構造

ヨウ素親和力は 0.51 g/100 g, 青価は 0.184 であった。平均単位鎖長 ($\bar{c}.l.$) は迅速 Smith 分解法とイソアミラーゼによる方法で, それぞれ 22.8 と 22.3 となり互いによく一致した。この鎖長は, ユリ ($\bar{c}.l.=23.6^{14)}$) や馬鈴薯 ($\bar{c}.l.=23.7^{14)}$) アミロペクチンよりも, 約 1 残基短く, クズ ($\bar{c}.l.=20.5^{10)}$) や甘藷 ($\bar{c}.l.=21\sim22^{23)}$) のものよりわずかに長く, また, 穀類のアミロペクチンより 2

Fig. 5. Chromatogram of debranched chestnut amylopectin on Bio-Gel P-30.

The column (2.6×100 cm) was eluted with water. —, carbohydrate; ●, d. p.

Table 3. D. p. values of the peak fractions and the amounts of the fractions (Fig. 5) of the debranched chestnut amylopectin.

Fraction	D. p. of peak fraction	Amount(%)
F1	140±45*	4±1
F2	64±5	9±1
F3	43±1	25±1
F4	15±1	62±1

* Mean±SD (three experiments).

残基以上長い²⁹⁾。この事実は, Hizukuri ら²⁹⁾の見出した平均単位鎖長と結晶型との関係を支持する。β-アミラーゼの分解限度は 55% で, 他種のものと同様であった。有機リンは 61 ppm で, 馬鈴薯 (604 ppm), 甘藷 (117~144 ppm)²³⁾ やクズ (158 ppm)¹⁰⁾ のアミロペクチンよりも少なく, ユリアミロペクチン¹⁴⁾に近い値であった。有機リンの 71% がグルコース残基の 6 位にエステル結合しており, 残りのリンは, 馬鈴薯¹⁷⁾や甘藷²³⁾と同様にグルコース残基の 3 位に結合しているものと思われる。栗アミロペクチンをイソアミラーゼで枝切りし, 得られた単位鎖を Bio-Gel P-30 でゲル濾過を行い鎖長分布を調べた (Fig. 5)。溶出順に F1~F4 の四つの画分とした。栗アミロペクチンの各画分の炭水化物量の比率 (Table 3) は, ユリアミロペクチン¹⁴⁾とよく一致した。栗の F1 の炭水化物量の比率は, 馬鈴薯 (15%)¹⁴⁾や甘藷 (6~8%)²³⁾ のものより少ない。栗アミロペクチンのリンがほぼ定量的に F1 に溶出されたことから, この画分には, クズ¹⁰⁾, ユリ, 馬鈴薯¹⁴⁾や甘藷²³⁾と同様に, リ

Fig. 6. Chromatogram of chestnut amylose on TOYOPEARL HW-75F.

The column (2.6×100 cm) was eluted with 50 mM NaCl. —, carbohydrate; ●, β -amylytic.

ン酸化された単位鎖が主として含まれているものと思われる。栗の F3 は馬鈴薯 (21%)¹⁴⁾ や甘藷 (20~23%)²³⁾ のものより多いが、F4 では馬鈴薯 (55%) よりも甘藷 (62~67%) のものに近い。また、栗アミロペクチンの各画分のピークの重合度は、ユリや馬鈴薯アミロペクチン¹⁴⁾ よりも若干低い値であった。F3 は長い B 鎖、F4 は A 鎖と短い B 鎖に由来すると考えられているので^{30,31)}、これらの結果から、栗アミロペクチンは長い B 鎖が馬鈴薯や甘藷よりも若干多く、短い B 鎖と A 鎖は甘藷のアミロペクチンとはほぼ同じであることが示唆される。

3. アミロースの構造

根茎^{7,14,18,23)} および米³²⁾ アミロースは、わずかに分岐した分子で、平均的には 4~8 本の鎖からなっていることが知られている。アミロースの分岐構造の研究には、アミロペクチンを含まない高純度標品を調製することが必要である。本研究では、アミロース標品を 10% 1-ブタノールで 6 回再結して高度に純化し、トヨーパール HW-75F のゲル濾過法⁷⁾ で純度の検討を行った⁷⁾。Fig. 6 に示すように本標品は、ポイドポリウムに溶出する成分がなく単一の溶出曲線を示し、アミロペクチンを含まない高純度標品であることが確かめられた。このアミロースのヨウ素親和力、青価と最大吸光波長 (λ_{max}) の値はアミロースの標準値である。リン含量は他のアミロース⁷⁾ よりもごくわずか高かった。沈降速度係数は 2.55×10^{-13} sec で、沈降図形 (Fig. 7) は、非対称で低分子側に広がっており、後に示す高速液体クロマトグラフの溶出曲線に類似している。極限粘度は、242 ml/g で、

Fig. 7. Sedimentation pattern of chestnut amylose.

The amylose was sedimented at 57,000 rpm at 25°C with an ultracentrifuge (Hitachi model 282). The photograph was taken 2 hr after the maximum speed was reached. The concentration of the amylose was 5 mg/ml of 90% dimethyl sulfoxide.

ユリ (312 ml/g)¹⁴⁾、馬鈴薯 (384 ml/g)⁷⁾、甘藷 (324~334 ml/g)²³⁾ アミロースよりも低い値が、クズアミロース (228 ml/g)¹⁰⁾ よりもわずかに高い値である。還元末端基当りの数平均重合度 ($\bar{d.p.n}$) は 1,690 で、馬鈴薯 (4,920⁷⁾、6,340¹⁸⁾、甘藷 (3,100~4,400)²³⁾、タビオカ (2,660)⁷⁾ やユリ (2,310)¹⁴⁾ のアミロースより小さく、米アミロース (920~1,110)³²⁾ より大きい値が、クズアミロース (1,540)⁷⁾ に近い。これらのアミロースの平均重合度は大きいほど極限粘度が高く、アミロースの形状は互いに類似していることが示唆される。 β -アミラーゼの分解限度は、91% でユリアミロースに近いが、他のアミロースより若干高い。 β -アミラーゼで限度まで分解した後、プルラーゼを加え同時に作用させると、栗アミロースは完全に分解された。この事実は、 β -アミラーゼによる不完全な分解が基質の老化によるものではなく、分岐結合の存在によるもので、また、この分岐結合が α -1,6 グルコシド結合であることを示唆している。非還元末端基当りの平均重合度すなわち平均単位鎖長は 370 で、これと数平均重合度から求めた平均的な枝の数は 4.6 であった。この値は、馬鈴薯 (7.3)⁷⁾ や甘藷 (10~13)²³⁾ アミロースに比べて少なく、ユリ¹⁴⁾、クズ⁷⁾ や米³²⁾ のアミロースにはほぼ等しい。栗アミロースにイソアミラーゼを限度まで作用させて得た生成物の数平均重合度は 512 で、平均単位鎖長 370 よりもかなり高い。これは、イソアミラーゼで分岐結合が完全に分解されないことを示し、馬鈴薯¹⁸⁾ や米³²⁾ のアミロースの場合と同様で、マルトースの枝や、イソアミラーゼが作用しにくい分岐構造、たとえば、分岐の密な部位の存在が考えられるが、

Fig. 8. H. p. l. c. elution curves for chestnut amylose.

The amylose solution (1 ml, 0.4 mg) was injected to three sequentially linked columns (TSK-GEL G6000PW, G4000PW and G3000-PW). The elution solvent was 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.1) containing 0.02 % sodium azide and a flow rate was 0.54 ml/min. The elution curves were monitored with a low-angle laser-light-scattering photometer (—) and a differential refractometer (---). ●, D. p.

詳細については検討中である。

高速液体クロマトグラフを用いるゲル濾過法^{20,21)}で、栗アミロースの重量平均重合度 ($\overline{d.p.n.}$) と重合度分布を調べた (Fig. 8)。重量平均重合度は 4,020 で、糖の溶出濃度の最も高い位置では 3,770 であった。重量平均重合度と数平均重合度の比は 2.38 で、馬鈴薯 (1.29) や甘藷 (1.31)²³⁾ よりもかなり高く、ユリ (2.17)、クズ (2.08)、タピオカ (2.51)²¹⁾、米 (2.79)³²⁾ に近い。このことは、分子量分布が馬鈴薯や甘藷のものに比べ比較的広いことを示唆している。栗アミロースの重合度分布は、分子の小さいもの (10 % 重量) と大きいもの (10 % 重量) で、重合度 440 から 14,900 の範囲であった。以上の結果は、栗アミロースは分子が小さく、枝の数が少ないのが特徴で、クズのアミロースに近い構造をもつことを示唆している。

要 約

日本栗 (丹沢種) から栗澱粉を調製し、その構造と性質を調べた。澱粉粒は長円形や角ばった形状をしており、

平均粒径は $4 \times 6 \mu\text{m}$ 、澱粉の結晶構造は Cb 形であった。ブラベンダーアミログラムの澱粉の粘度上昇開始温度は 64.5°C 、最高粘度は 460 B. U. で、ブレークダウンは認められなかった。3-メチル-1-ブタノールを添加すると、粘度上昇開始温度が上昇し、最高粘度がわずかに減少した。澱粉中のアミロースとリンの含量はそれぞれ 19.6 % と 53 ppm であった。アミロペクチンの平均単位鎖長は 22.8、 β -アミラーゼ分解限度は 55 % であり、リン含量は 61 ppm でその 71 % がグルコース残基の 6 位にエステル結合していた。アミロースの数平均重合度と重量平均重合度は、それぞれ 1,690 と 4,020 であった。平均単位鎖長と数平均重合度から求めた枝の数は 4.6 で、 β -アミラーゼ分解限度は 91 % であった。

これらの性質を他の澱粉と比較すると、小粒で、アミログラムの性質は甘藷に類似しており、アミロペクチンは馬鈴薯のものより平均単位鎖長がやや短く、リン含量が少ない。アミロースの構造と老化性はクズのものとよく似ていた。

本研究は、一部昭和 61 年度文部省科学研究費 (一般研究 C・60560101) の援助を受けて行われた。ここに謝意を表す。

文 献

- 1) 住江金之, 小原哲二郎監修: 「原色食品図鑑」, 建帛社, 東京, p. 160 (1974).
- 2) 藤本滋生: 澱粉科学, **24**, 148 (1977).
- 3) 大橋一二: 岐阜大学農学部研究報告, **5**, 63 (1955).
- 4) 大橋一二: 岐阜大学農学部研究報告, **6**, 107 (1956).
- 5) 真部孝明, 久保 進: 日本食品工業学会誌, **13**, 471 (1966).
- 6) S. LANSKY, M. KOOI and T. J. SCHOCH: *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 4066 (1949).
- 7) Y. TAKEDA, K. SHIRASAKA and S. HIZUKURI: *Carbohydr. Res.*, **94**, 83 (1984).
- 8) Y. TAKEDA and S. HIZUKURI: *Biochim. Biophys. Acta*, **185**, 469 (1969).
- 9) B. L. LARSON, K. A. GILLES and R. JENNESS: *Anal. Chem.*, **25**, 802 (1953).
- 10) A. SUZUKI, S. HIZUKURI and Y. TAKEDA: *Cereal Chem.*, **58**, 286 (1981).
- 11) 外山忠男, 檜作 進, 二國二郎: 澱粉工誌, **13**, 69 (1966).
- 12) 竹田千重乃, 檜作 進: 農化, **48**, 663 (1974).
- 13) 檜作 進, 外山忠男, 二國二郎: 澱粉工誌, **18**, 16 (1971).
- 14) C. TAKEDA, Y. TAKEDA and S. HIZUKURI: *Cereal Chem.*, **60**, 212 (1983).
- 15) R. J. L. ALLEN: *Biochem. J.*, **24**, 858 (1940).

- 16) K. ITAYA and M. UI: *Clin. Chim. Acta*, **14**, 361 (1966).
- 17) S. HIZUKURI, S. TABATA and Z. NIKUNI: *Stärke*, **22**, 338 (1970).
- 18) S. HIZUKURI, Y. TAKEDA, M. YASUDA and A. SUZUKI: *Carbohydr. Res.*, **94**, 205 (1981).
- 19) L. D. OUGH: *Methods Carbohydr. Chem.*, **4**, 91 (1964).
- 20) T. TAKAGI and S. HIZUKURI: *J. Biochem.*, **95**, 1459 (1984).
- 21) S. HIZUKURI and T. TAKAGI: *Carbohydr. Res.*, **134**, 1 (1984).
- 22) S. HIZUKURI and S. OSAKI: *Carbohydr. Res.*, **63**, 261 (1978).
- 23) Y. TAKEDA, N. TOKUNAGA, C. TAKEDA and S. HIZUKURI: *Stärke*, **38**, 345 (1986).
- 24) 田端司郎, 檜作 進: 澱粉科学, **22**, 27 (1975).
- 25) D. M. W. ANDERSON and C. T. GREENWOOD: *J. Chem. Soc.*, 3016 (1955).
- 26) C. T. GREENWOOD and J. THOMSON: *J. Chem. Soc.*, 222 (1962).
- 27) S. HIZUKURI and C. TAKEDA: *Stärke*, **30**, 228 (1978).
- 28) 鈴木綾子, 竹田靖史, 檜作 進: 澱粉科学, **32**, 205 (1985).
- 29) S. HIZUKURI, T. KANEKO and Y. TAKEDA: *Biochim. Biophys. Acta*, **760**, 188 (1983).
- 30) A. AKAI, K. YOKOBAYASHI, M. MISAKI and T. HARADA: *Biochim. Biophys. Acta*, **254**, 427 (1971).
- 31) S. HIZUKURI: *Carbohydr. Res.*, **147**, 342 (1986).
- 32) Y. TAKEDA, S. HIZUKURI and B. O. JULIANO: *Carbohydr. Res.*, **148**, 299 (1986).