SDS 添加による α -, 分岐およびヒドロキシエチル サイクロデキストリンの調製法

小林昭一, 貝沼圭二, 鈴木繁男
(農林省食品総合研究所)

昭和 52 年 7 月 21 日 受 理

Preparation of α -, Branched and Hydroxyethyl Cyclodextrins in the Presence of Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

Shoichi KOBAYASHI, Keiji KAINUMA and Shigeo SUZUKI
National Food Research Institute, Ministry of Agriculture
and Forestry, Tokyo, Japan

The authors previously reported that a large amount of α -cyclodextrin was produced by the action of *Bacillus macerans* enzyme in the presence of SDS, and inferred that the enzyme effectively acted on the helical structure of substrate. On the basis of these information, a new preparative method of various cyclodextrins was developed.

1) Using potato starch as substrate, α -, β -, and branched cyclodextrins were obtained in 60%, 13% and 10% yield, respectively.

2) Branched cyclodextrins were prepared from the branched dextrin of waxy corn starch-*macerans* enzyme digest. The branches were mainly composed of maltosyl (G_2) and maltotriosyl (G_3) residues.

The branched cyclodextrins possessing various branches from G_1 to G_6 were separated by paper chromatography. The total yield of branched cyclodextrins was 15.8% from waxy corn starch.

3) Hydroxyethyl cyclodextrins were produced by the action of *macerans* enzyme on hydroxyethyl starch (HES) and amylose (HEA) in the presence of SDS. Main product was mono-hydroxyethyl α -cyclodextrin and a small amount of di-hydroxyethyl α -cyclodextrin was also produced. The highest yield was obtained from HEA and HES of DS 0.12 among HES used in this study. The total yield of hydroxyethyl cyclodextrins was 33% from HEA.

(Received July 21, 1977)

緒 言

サイクロデキストリン (CD と略す) はグルコースが 6 個以上 α -1,4 結合した環状オリゴ糖で, 6, 7, 8 個の α , β , γ -CD が一般的に知られており, 発見者の名前に因んでシャルディンゲードキストリンまたはサイクロアミロースとも呼ばれている。

CD 調製法には各種の方法があり, 例えば French ら^(1,2), Cramer ら⁽³⁾, 河野ら⁽⁴⁾, 竹尾ら⁽⁵⁾の報告等がある。これらは, *Bacillus macerans* の生産する CD 合成酵素 (*macerans* 酵素と略す) の澱粉消化液に各種複

合体形成試薬を加えて α , β , γ -CD を分別沈殿する方法である。この他に, 著者らのアセトン沈殿による方法もある⁽⁶⁾。

CD のうち, β -CD は最近その合成酵素が *Bacillus megaterium*⁽⁷⁾ と好アルカリ性 *Bacillus* 属の菌⁽⁸⁾ から次々に発見され, 生産は比較的容易になった⁽⁹⁾。

一方, α -CD は *macerans* 酵素を用いて調製される。最近 *Bacillus stearothermophilus*⁽¹⁰⁾, *Klebsilla pneumoniae*⁽¹¹⁾ から α -CD の合成酵素が発見されたが, これらの酵素は α -CD とともに β , γ -CD も生成し, 特に CD 生成量の増加を目的として高濃度酵素を用い, ま

たは反応時間を長くした場合、 β -CD の生成量が多くなることが知られており、 α -CD の単独生産は困難であった。

その後、複合体形成試薬の存在下で *macerans* 酵素を作用し、 α または β -CD を選択的に生産する方法の特許が公開された⁽¹²⁾。それによると α -CD の生産に最適な試薬は 1-デカノールであるとされている。これに対して著者らは、基質がラセン構造をとれば分子内転移の cyclization 作用が促進されると考え、CD の生成パターンを検討してきた。そして、これまでに特に SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) の添加により CD の生成パターンが変化し、 α -CD を多量に生成することを明らかにしてきた⁽¹³⁾。

また、この原理を用いれば、分岐 CD、CD 誘導体も効果的に生成することを見出したので、以上 3 種の CD の調製法について報告する。

実験方法

原料 馬鈴薯澱粉：ホクレン中斜里工場から供与された。モチウモロコシ澱粉：市販品、日本食品化工製。ヒドロキシエチル澱粉 (HES)：味の素株式会社から供与された。ヒドロキシエチルアミロース (HEA)：市販品、Avebe 社製。

試薬 可溶性澱粉：市販品、分析用、メルク社製。SDS：純度 100% と表示されている市販品。

***macerans* 酵素** *Bacillus macerans* (IAM 1243) をフスマ-硫酸-炭酸カルシウムの培地で 40°C、2 日間培養し、培養液を澱粉吸脱着して部分精製した酵素を用いた。本標品は無色透明液であり、320 IU/ml (CD 生成活性をグルコアミラーゼ法⁽¹⁴⁾で測定) である。

分析法 各種 CD はペーパークロマトグラフィーにより分離定性した。30×30 cm の東洋汙紙 No. 50 を用い、*n*-ブタノール/*n*-プロパノール/水 (3/5/4 および 3/5/5, v/v) の溶媒系で、70°C、2 回上昇展開して、ヨウ素のアセトン溶液で発色し、クロマトグラムを作製した。次に、発色部分を切り抜き、熱水抽出してフェノール-硫酸法⁽¹⁵⁾でのおおの糖を定量した。SDS の検出は Epton 法⁽¹⁶⁾によった。

二次元ペーパークロマトグラフィー 一次元方向に同一分岐 CD 混合物を 2 点スポットして展開分離し (S₁, S₂)、ガイドストリップ (S₁) を切り離してヨウ素発色をした後、S₂ の展開領域に酵素液を噴霧し、蒸気飽和槽中

で反応した。100°C で乾燥熱失活して、標準試料を S₂ に重ねてスポットし、二次元方向に展開した。ヨウ素発色をして生成した CD をマークした後、同一ペーパーグラムにスポット強化処理⁽¹⁷⁾をして硝酸銀発色⁽¹⁸⁾をし、S₁ 部分を合わせて二次元クロマトグラムを作製した。

実験結果

1. α -CD の選択的調製法

可溶性澱粉濃度 1%，SDS を基質に対して 10% 添加し、10 分間 40°C に静置してから *macerans* 酵素 (80 IU/g 基質) を加え、40°C、pH 6.20 で反応した結果を Fig. 1 に示した。反応液から経時的に一定量を採取し、沸騰水浴中で失活処理した後、マイクロペットで正確に 20 μ l スポットして作製したペーパークロマトグラムである。

SDS 無添加では反応 30 分まで α -CD の生成量は増加するが、その後は減少して β -CD が生成してくる。一方、

Fig. 1. Paper Chromatogram Showing Time Course of Cyclodextrin Formation from Soluble Starch in the Presence (upper) and the Absence of SDS (below).

α , β st: standard of α , β -cyclodextrin. Acetate buffer containing 0.5 mM CaCl_2 (pH 6.20), 1% of soluble starch and SDS were mixed and preincubated for 10 min, and the mixture was reacted by *macerans* enzyme at 40°C.

SDS を添加した場合は 30 分後でも α -CD はほとんど減少せず、 β -CD の生成量も非常に少ない。また、スポット原点に残る糖は SDS 添加では、ヨウ素発色によれば、反応経過とともにヨウ素呈色の青色が弱くなり、その量も減少するが、無添加では紫褐色～黄褐色を示した。常法によりペーパークロマトグラフィーで切り抜き溶出をして、フェノール硫酸法で定量した結果、スポット原点に残る糖量は、SDS 無添加の 22 時間反応では添加の場合の倍量であった。

このように可溶性澱粉に SDS を 10% 添加した場合、 α -CD の生成量は増加するが、基質濃度が高い場合は SDS 添加によってゲル状となり、反応が均一に進行しない難点があった。高濃度澱粉液の反応では α -アミラーゼで液化した澱粉液を用いる方法^(19,20)が便利であるが、 α -アミラーゼ液化澱粉では DE 2 程度の液化であっても収率が低下する。そこで、ここでは *macerans* 酵素の作用を利用し、種々の反応段階で SDS を添加して各種糖の生成率変化を検討した。

Fig. 2 は馬鈴薯澱粉 5%, 酵素濃度 4.8 IU/g 基質, 40 °C, pH 5.5~7 (pH 無調整でこの範囲内である) の反応において、種々の段階で SDS を基質の 10% 添加して全体として 24 時間反応した時のおのこの糖の生成率を

Fig. 2. SDS Addition to the Enzyme Digest at Various Stages.

—○—: total of α and β -cyclodextrin, —●—: α -cyclodextrin, —×—: β -cyclodextrin, —○—: sugars staying on the original spot of paper chromatogram, —○—: A mixture of branched, γ -cyclodextrin and maltodextrin (in case of SDS addition, mainly branched cyclodextrin).
Bef: SDS and starch were mixed and pre-incubated for 10 min and the mixture was reacted by *macerans* enzyme, 5 min~12 hr: After each reaction time, SDS was added to the reaction mixture.

示したものである。この反応条件では SDS 添加時期が反応 1 時間後で α -CD の生成率が最高で 60% となり、 β -CD、分岐 CD も合わせると全サイクロデキストリンの収量は初発原料の 80% にも達した。 α -CD の生成率はこれ以外の時期での添加では減少し、スポット原点に残る長鎖糖 (Or) と対称のパターンを示している。

一方 β -CD の生成率は添加時期が遅れるにつれて増大する。また、SDS を添加した場合マルトヘキサオース以上の高重合度オリゴ糖の生成は著しく抑えられる。そこで、クロマトグラムの原点を除いた r -CD より R_f 値の低い部分を合わせて分岐 CD として表わした。

以上の結果から α -CD を選択的に生成させるための SDS 最適添加時期は反応 1 時間後の液化終了時であることを見出した。

次に SDS 添加時期を反応 1 時間後に定め、前述の実験と同一条件で SDS 添加量を変化させて検討した。

Fig. 3 は基質 1g 当り SDS を 0~500mg 添加した時の各種糖生成率変化を示したものである。

24 時間反応後の CD 生成率は著しい差異を示し、特に α -CD の生成率が添加量 100 mg まで上昇して、無添加での 3 倍にも達した。これ以上に添加量を増加しても生成率にはほとんど変化はない。 α -CD の生成率曲線はここでも Or と対称性を示し、 α -CD の生成とともに長鎖糖は減少している。また、クロマトグラムによれば、Or のヨウ素呈色は添加量 0~10 mg までは紫褐色が徐々に弱くなり、50 mg では黄褐色となる。さらに 100 mg 以上

Fig. 3. Relation between the Amount of SDS Addition and the Formation of Cyclodextrin.

Symbols are as in Fig. 2. SDS was added after 1 hr reaction.

では青色であり, これらの呈色から, Or は SDS 添加量を増して行くとある量で鎖長の極小点を示した後, より長鎖糖を残すパターンが見られた。

Or を除く γ -CD より R_f 値の低い部分は, 50mg 添加までは γ -CD およびマルトオリゴ糖が主であるが, 100mg 以上では分岐 CD が急激に増加してくる。総 CD 生成量は 100mg 以上では大差はなく, 80~85% であった。 α -CD は 60% で, 分岐 α -CD も合わせれば 70% にも達した。

Table I に, 5% 馬鈴薯澱粉を用い, SDS を添加した *macerans* 酵素の消化液と, これを IRA-411, IR-120 のイオン交換樹脂に通して SDS を除去した液の組成の 1 例を示した。樹脂処理による回収率は 95% 以上である。分岐 CD は後に示すごとく (Fig. 4 および 7) マルトシル, マルトトリオシル- α -CD が多く生成する。

実際の調製は 5l の三角フラスコを用い, 以下のように行なった。馬鈴薯澱粉 150g の 6% 懸濁液を沸騰水中で振りながら予備糊化した後, 水冷しながら *macerans* 酵素 (5 IU/g 基質) を加えてあらかじめ液化し, 125°C, 30分間オートクレーブした。次に 40°C に冷却してからさらに *macerans* 酵素 (5 IU/g 基質) を加え, SDS を基質の 10% 加えて振盪培養機中で 40°C, 24 時間振盪反応した。反応終了後樹脂に通して SDS を除去し, その後濃縮することにより α -CD 含量の高い水アメ様反応液が得られた。本標品は, SDS は全く検出されず, このままでも利用可能である。

α -CD の純品は本標品をグルコミラーゼ処理した後アセトン沈殿, 再結晶によって容易に得られた。

2. 分岐 CD の調製法

1 で調製した濃縮液は分岐 CD を約 10% 含有している。

また, 分岐 CD は複合体形成試薬によっても, 複合体を形成し難いためか, 沈殿し難い。そこで, これに 1,

Table I. Composition of Potato Starch-SDS-*macerans* Enzyme Digest and the Digest after Eliminating SDS by Ion Exchange Resin

	α -CD	β -CD	Br-CD	MD (%)
Digest	60	13	10	17
Resin Treatment	58	15	11	16

Br-CD: branched cyclodextrin, MD: malto-dextrin.

Fig. 4. Formation of Branched Cyclodextrin from Branched Dextrin.

α, β : α, β -cyclodextrin, 1~6: glucosyl~maltohexaosyl- α -cyclodextrin.

Branched dextrin was prepared from waxy corn starch-*macerans* enzyme digest by eliminating α, β, γ -cyclodextrins.

Irrigation: ascending twice in *n*-BuOH/*n*-PrOH/water (3/5/5).

1, 2, 2-テトラクロロエタンを加えて α, β -CD を沈殿させ, 母液から分岐 α -CD を調製することが可能である。しかし収量が少ないので, ここではモチトウモロコシ澱粉を用いて調製した。

まず澱粉を 1 と同様に液化した後, *macerans* 酵素 (5 IU/g 基質) を加え, 24 時間反応して 1/4 に濃縮した。この濃縮液に基質 150g に対して 210ml の 1, 1, 2, 2-テトラクロロエタンを加え 20°C で 1 夜往復振盪し, 遠沈して α と β -CD を除去した。上澄液には酵素作用を受け難いと思われる分岐デキストリンが初発基質の 40~50% 残存している。

そこで上澄液に SDS を全糖の 10% 添加し, さらに *macerans* 酵素 (5 IU/g 基質) を加えて, 再び 40°C で 24 時間反応し, Fig. 4 に示すごとく多量の分岐 CD を得た。本実験では α, β -CD も分岐デキストリンから 35% 生成したが, 分岐 CD はグルコシル (G_1)~マルトヘキサオシル (G_6)- α -CD を合わせて 40% 生成した。また SDS 無添加での分岐デキストリンからの CD 生成量は添加の 1/5 以下であった。

このようにして得た混合物からの分岐 CD の分離には, SDS を除去した後, 調製用ペーパークロマトグラフィーを用いた。分岐 CD の構造は 3 で述べるが, この方法によりペーパークロマトグラムで単一スポットを示す G_1 ~ G_6 までの枝をもつ分岐 α -CD が得られた。すなわち, Whatman No. 3 MM, 40 cm 幅の濾紙を用いて 500 mg 総量の分岐 α -CD の分離が可能であった。グ

Table II. Composition of Waxy Corn Starch
and Its Branched Dextrin-SDS-*macerans* Enzyme Digest

	A	B	C
α, β -CD	58	15	14
Br-CD	—	17	—
G ₁ - α -CD	—	—	13
Br-Dex	42	11	—
G ₁	—	—	19

(%)

Br-CD : branched cyclodextrin, G₁- α -CD : glucosyl- α -cyclodextrin, Br-Dex : branched dextrin

A : Waxy corn starch was reacted by *macerans* enzyme.

B : Branched dextrin which was prepared by eliminating α, β -cyclodextrin from A was reacted by *macerans* enzyme in the presence of SDS.

C : B was treated with glucoamylase.

Percent (%) represents sugars produced from the starting material (waxy corn starch).

Fig. 5. Flow Sheet of Branched Cyclodextrin Preparation.

ルコシル- α -CD は分岐 CD 混合液にグルコアミラーゼ (20IU/g 基質) を加え, 40°C, pH 5~6 で 15 時間作用させて容易に得られた。グルコアミラーゼは枝部分のみをグルコース 1 個残して加水分解する。さらにペーパークロマト法によりグルコシル- α -CD の純品を得た。この標品は還元糖を全く含まず, 収量は用いた澱粉量の 13% であった。

Table II に以上の調製法での分岐 CD の収率の 1 例を示した。また Fig. 5 には分岐 CD 調製法のフローシートを示した。

3. 分岐 CD の構造

French らはプルラナーゼの作用を用いて, ペーパークロマトグラフィーにより分岐 CD には *exo* 型と *endo* 型の 2 種があると説明している⁽²¹⁾。すなわち, CD のグルコース残基の C₆ 位に枝部分が α -1, 6 グルコシド結合したものを *exo* 型, CD 環内に α -1, 6 結合が含まれるものを *endo* 型としている。

しかし著者が分子モデルを組み立てて検討した結果では *endo* 型は環構造に強い歪みがかかり, 本構造をとることは困難であると考えた。そこでプルラナーゼとグルコアミラーゼを用いて 2 で得た標品の構造解析を試みた。

Fig. 6 はマルトシル- α -CD 以上の分岐 CD 混合物にグルコアミラーゼを作用させた時の生成糖を示したクロマトグラムである。ヨウ素発色によりグルコシル- α -CD が単一スポットとして現われ, 枝が 1 本の α -CD である

Fig. 6. Treatment of Mixture of Branched Cyclodextrin (Or) with Glucoamylase (GA).

St : standard of α, β -cyclodextrin, G₁- α -CD : glucosyl- α -cyclodextrin.

Fig. 7. Two Dimensional Paper Chromatogram of Pullulanase Action on Branched Cyclodextrins.

Dotted circle : branched cyclodextrins ($G_2 \sim G_6$), Shaded circle : α -cyclodextrin.

Branched cyclodextrins (total sugar 200 μ g) were separated (first direction), treated with pullulanase on paper (sprayed enzyme 10 IU, at 50°C, for 2 hr) and the paper was irrigated to second direction.

Irrigation : ascending 3 times in n -BuOH/ n -PrOH/water (3/5/4, v/v) to first direction and twice in 65% n -PrOH to second direction.

ことが示された。なお、グルコシル- α -CD は以下のようにして同定した。まず、プルラナーゼで完全水解することによりマルトースと α -CD を等モル生成する糖、すなわち、マルトシル- α -CD をペーパークロマトグラフィーで単離し、次にマルトシル- α -CD をグルコアミラーゼに作用させてグルコースとヨウ素発色で紫褐色を示す糖が等モル得られた。この紫褐色を示す糖はマルトシル- α -CD からグルコースが 1 個外れたものであるからグルコシル- α -CD である⁽²²⁾。これを標準糖として用い、 R_f 値およびヨウ素発色による呈色を比較して同定した。

Fig. 8. The Pattern of Cyclodextrin Formation from Various Substrates by the Action of macerans Enzyme in the Presence and the Absence of SDS.

St : standard of α, β, γ -cyclodextrin, SS : soluble starch, A : HES of DS 0.75, B : HES of DS 0.52, C : HES of DS 0.66, D : HES of DS 0.12, H : HEA, + : in the presence of SDS, - : in the absence of SDS.

また、分岐 CD 混合物にプルラナーゼ (origin : *Aerobacter aerogenes*, code No. EN 200, 林原製) を酵素濃度 1 IU/mg 基質、基質終濃度 1%, pH 6.0 で 4 時間作用させて枝を完全に切断した場合、分岐 CD は消失し、ヨウ素発色によって α -CD を検出した。マルトシル以上の枝であることは Fig. 7 の二次元クロマトグラムからも明らかである。すなわち、おのおのから α -CD と $G_2, G_3 \dots$ の枝部分を生成している。

さらに endo 型分岐 CD の検索には $G_1 \sim G_6$ の枝をもつ分岐 α -CD を分離して用いた。しかしプルラナーゼで完全に α -CD と枝部分に分解した場合でも、枝部分 + G_6 の重合度の直鎖糖は検出されなかった。このことから著者の得た分岐 CD は exo 型のみであり、endo 型は含まないと結論した。

4. ヒドロキシエチル CD の調製法

各種置換度 (置換度 : ヒドロキシエチル基が 1 グルコース残基に 1 個置換した時 DS 1 とする) の HES を用いて CD 生成量を比較した結果、DS 0.16 で最高収量を得たが、HEA ではさらに高収量であった。Fig. 8 は基質終濃度 5%, 酵素濃度 100 IU/g 基質、SDS を基質に対して 10% に添加および無添加で、pH 5.50, 50°C, 24 時間反応した際の CD 生成パターンを示したクロマトグラムである。対照として可溶性澱粉に対して SDS 添加、無添加についての結果を示したが、このようなパターンを示す条件で、HES および HEA からは上昇展開法によるクロマトグラムで α -CD の上方に紫色と紫

Fig. 9. The Formation of Cyclodextrins from Various Substrates in the Presence and the Absence of SDS.

A: HEA, B: HES of DS 0.12, C: soluble starch, 1: hydroxyethyl- α -cyclodextrin, 2: hydroxyethyl- β -cyclodextrin, 3: α -cyclodextrin, 4: sugar staying on the original spot of paper chromatogram.

褐色のスポットが現われた。

SDS 添加によって生成量が著しく増大したこれらの未知糖を分離精製し、完全酸分解によって構造を決定した。すなわち、Bollenback らの方法⁽²³⁾に準じ 2-および 6-O-ヒドロキシエチルグルコース (HEG) とグルコース (G) を分離して定量した結果、紫色を示す糖は HEG: G=1.2:5 であり、紫褐色の糖は 2.3:4 でおのおの HEG を 1 個および 2 個をもつ α -CD であると決定された。分子モデルでの検討によれば 2-および 6-O-HEG は環構造の形成には影響を及ぼさない。

Fig. 9 には前記の条件で 48 時間反応した際の各種糖の生成率を示した。HEA からのヒドロキシエチル CD の生成率は 1 置換体が 24%, 2 置換体が 9% に達した。これらの糖の生成は SDS を用いた今回の実験で初めて明らかにされたものである。

考 察

本法では α -CD の含有量が非常に高いシラップが得られ、実際の用途にはこの状態で利用可能である。一方、

複合体形成沈殿剤を用いる方法についての著者らの検討では、1-デカノールを用いた場合 CD 総収量は 60% には達するが、 α -CD が 50%, β -CD が 10% 生成した。

さらに分岐 CD は生成するが SDS 添加の場合に比較して著しく少ない。SDS の添加によるこのような生成率の増大効果は、基質分子が SDS の疎水部分に適合してラセン構造をとり⁽²⁴⁻²⁷⁾、分子内転移を有利にすることによると考えられる。また、疎水部分にイソオクチルフェニル基をも、Triton X-100、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムなどでは β -CD を多量に生成する。

SDS の添加量が基質に対して 10% が適当であるのは、SDS 1 分子に基質が 6₁-ラセン (グルコース残基 6 個で 1 ラセンを形成) で 2 巻きできることから理解できる。すなわち、すべての基質がラセン構造をとるに必要な SDS の量は 14.8% と計算される。

分岐 CD の生成も同様にして説明できる。French らは α , β , γ -CD の調製残液から ϵ 以上の CD を得たが、環状糖、分岐環状糖、分岐非環状糖の混合物であると述べている⁽²¹⁾。また Stark はモチトウモロコシ澱粉を部分酸分解して β -アミラーゼとプルランナーゼに作用させて限界デキストリンを調製し (収量 5~10%), これに *macerans* 酵素を作用させてグルコシルおよびマルトシル CD を初発基質の 1~0.5% の収率で得ている⁽²⁸⁾。以上 2 つの方法に比較すれば著者らの方法では 10 倍以上の収量であり、しかも G₆ 以上の枝をもつ分岐 CD も得られ、澱粉分解酵素の作用機作の研究のための特殊な基質の調製が可能となった。

また分岐 α -CD は複合体形成試薬によっても α -CD より沈殿し難い性質があり、乳化剤としての利用も期待される。

ヒドロキシエチル CD については、炭素原子 2~6 個のエポキシドを用いて、化学反応で調製する方法も報告されているが、生成物については全く触れられていない⁽²⁹⁾。特に一定の低置換度 CD の調製は非常に困難であろう。この点、著者らの方法は有利であり、6 グルコース残基に置換基が 1 個の基質、すなわち DS 0.17 の HES または HEA を用いて、さらに多量の 1 置換 α -CD の生成が予想される。

以上、分岐およびヒドロキシエチル CD の生成から、*macerans* 酵素の作用は環構造の形成に障害とならない枝または置換基を 1 個巻き込んで進行すると推察され、

したがって本法によればヒドロキシエチルに限らず, 他の 1 置換 CD 誘導体も調製可能と思われる。

要 約

(1) SDS 添加による α -CD の選択的調製法を検討した。馬鈴薯澱粉を予備糊化して *macerans* 酵素により液化し, オートクレーブして SDS を基質に対して 10% 添加し, さらに *macerans* 酵素を加えて反応して総 CD 含量 83% (α -CD : 60%, β -CD : 13%, 分岐 CD : 10%) の消化液を得た。

(2) 基質としてモチトウモロコシ澱粉を用いて, *macerans* 酵素作用により生成する分岐デキストリン部分にさらに *macerans* 酵素と SDS を加え, $G_1 \sim G_6$ の枝をもつ分岐 α -CD を分離調製した。

(3) 基質として HES および HEA を用い, SDS を添加して, ヒドロキシエチル 1 および 2 置換 α -CD を調製した。主生成物は 1 置換体であった。

終りに, 本研究を行なうにあたり, 種々ご指導を賜りました東京大学農学部, 中村道徳教授, 東京農工大学農学部, 小林恒夫教授に感謝いたします。

なお, 本報告の要旨は昭和 50 年, 51 年度日本農芸化学会大会, 50 年度日本澱粉学会大会で発表した。

- (1) D. French, M.L. Levine, J.H. Pazur and E. Norberg : *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 353 (1949).
- (2) D. French, A.O. Pulley and W.J. Whelan : *Stärke*, **15**, 280 (1963).
- (3) F. Cramer and F.M. Henglein : *Chem. Ber.*, **91**, 308 (1958).
- (4) 河野啓一, 二国二郎 : 澱工誌, **9**, 23 (1961).
- (5) 竹尾健一, 近藤陽太郎, 久下 喬 : 京都府立大学学術報告・農学, 第 22 号, 106 (1970).
- (6) 小林昭一, 貝沼圭二, 鈴木繁男 : 澱粉科学, **22**, 6 (1975).
- (7) 岡田茂孝, 津山直人, 北畑寿美雄 : アミラーゼシンポジウム, **7**, 61 (1972).
- (8) 堀越弘毅 : アミラーゼシンポジウム, **8**, 37 (1973).
- (9) 堀越弘毅, 安藤忠彦 : 日特公, 昭 52-93 (1977).
- (10) 塩坂 誠, 文屋秀雄 : アミラーゼシンポジウム, **8**, 43 (1973).
- (11) H. Bender : *Arch. Microbiol.*, **111**, 271 (1977).
- (12) CPC International Inc. : USP 3640837 (1972).
- (13) 小林昭一, 貝沼圭二, 鈴木繁男 : アミラーゼシンポジウム, **8**, 29 (1973).
- (14) 小林昭一, 貝沼圭二, 鈴木繁男 : 澱粉科学, **21**, 131 (1974).
- (15) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith : *Anal. Chem.*, **28**, 350 (1956).
- (16) S.R. Epton : *Nature*, **160**, 795 (1947).
- (17) K. Kainuma and D. French : *FEBS Letter*, **5**, 257 (1969).
- (18) J.F. Robyt and D. French : *Arch. Biochem. Biophys.*, **100**, 451 (1963).
- (19) Corn Products Company : USP 3,425,910 (1969).
- (20) 松谷化学工業 : 日特公 46-2380 (1971).
- (21) D. French, A.O. Pulley, J.A. Effenberger, M.A. Rougvie and M. Abdullah : *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 153 (1965).
- (22) P.M. Taylor and W.J. Whelan : *Arch. Biochem. Biophys.*, **113**, 500 (1966).
- (23) G.N. Bollenback, R.S. Golik and R.W. Parrish : *Cereal Chem.*, **46**, 304 (1969).
- (24) V.S.R. Rao and J.F. Foster : *Biopolymers*, **1**, 527 (1963).
- (25) S. Szejtli, S. Augstat and M. Richter : *Biopolymers*, **5**, 5, 17 (1967); **6**, 27 (1968).
- (26) T. Takagi and T. Isemura : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **33**, 437 (1963).
- (27) K. Sakon, T. Watanabe and S. Ono : *Bull. Chem. Soc. Japan*, **43**, 1000 (1970).
- (28) J.R. Stark : *Biochem. J.*, **102**, 27p (1967).
- (29) L. Gotts and J.R. Brown : USP 3,510,471 (1970).