

シクロデキストリンと油性物質との相互作用

檜 野 悦 子, 藤 井 富美子*

(共立女子短期大学, * 徳島文理大学人間生活学部)

原稿受付平成 17 年 2 月 23 日; 原稿受理平成 17 年 6 月 4 日

Interaction of Cyclodextrins with Oily Substances

Etsuko KASHINO and Tomiko FUJII*

*Kyoritsu Women's Junior College, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8437*** Faculty of Humann Life, Tokushima Bunri University, Tokushima 770-8514*

Inclusion of α -cyclodextrin (α -CD), β -cyclodextrin (β -CD), and γ -cyclodextrin (γ -CD), which can effect a reduction of oily substances, was investigated with a view to constructing low-fat substances through this interaction. The oily substances used were cholesterol, triolein, and four saturated fatty acids having different alkyl chain lengths; namely, lauric, myristic, palmitic, and stearic acids, as well as oleic acid, an unsaturated fatty acid. Each oily substance was dissolved in ethanol, while the CDs were dissolved in water. Thereafter, inclusion was carried out by mixing each oily substance solution with a CD solution. Using a water-ethanol solvent, interaction between each water-soluble CD and the oily substances was examined. Inclusion of an oily substance was determined by a thin-layer chromatograph with hydrogen flame ionization detector (TLC-FID). α -CD did not form an inclusion compound with cholesterol and triolein, but did with oleic acid. β -CD formed a compound with cholesterol, although the amount of β -CD involved was low, owing to poor solubility in water. γ -CD formed inclusion compounds with oleic acid, cholesterol, and triolein. CDs thus demonstrated selective inclusion of oily substances. In the case of α -CD and fatty acids, the amount of saturated inclusion and the binding coefficient increased with increasing chain length of the fatty acid, forming more stable inclusion compounds as the chain length became longer. On the other hand, the amount of saturated inclusion by β -CD of cholesterol was low because β -CD has low solubility in water, but the binding coefficient was large and the β -CD-cholesterol compound was stable. In the case of γ -CD, since the cross-section area of γ -CD is too large, as a whole the inclusion amounts were small.

(Received February 23, 2005; Accepted in revised form June 4, 2005)

Keywords: cyclodextrin シクロデキストリン, interaction 相互作用, cholesterol コレステロール, triolein トリオレイン, fatty acid 脂肪酸, mixing 混合.

1. 緒 言

シクロデキストリン (以下 CD と略記する) は、D-グルコースが α -1,4 結合して環状構造を形成したオリゴ糖で、グルコースの重合度 6, 7 及び 8 の α -CD, β -CD 及び γ -CD の 3 種類がよく知られている。これらの環状分子の構造上の特徴は、環状内部に疎水性の空洞を有し、この空洞内に疎水性化合物を取り込むことが可能なことである¹⁾。この特異な機能について種々なる多くの基礎研究^{2)~7)}が行われて多方面に利用され、応用研究が進展してきている。特に薬学分野の香粧品⁸⁾、香料⁹⁾などに、また食品工業分野では臭気対

策¹⁰⁾や緑色素¹¹⁾の安定化などに広く取り入れられている。これら CD の使用目的は、元来物質中に存在する特別な機能をもつ成分を疎水性の空洞内に包接させることにより、物質の改善や安定化をはかり、また、特別な機能を持つ成分を CD で包接して付与することによりその付加価値を高めることである。しかし、これら以外の使用目的として最近、食品中の不要成分を CD によって包接し、製造工程の途中でいわゆる加工助剤として使用することが試みられている。例えば、低コレステロールの卵黄やバターなどであり、コレステロール除去を β -CD を用いて可能にしている^{12)~14)}。

CD と脂肪酸との相互作用に関する研究も多く報告されており、例えば α -又は β -CD と C_6 から C_{12} までの有機酸の水溶性増大に関する研究²⁾では、CD 水溶液中での脂肪酸溶解性の増大が得られており、CD 水溶液と脂肪酸のモル比から蒸留法を用いて CD に結合した脂肪酸を重量と滴定により定量し、結晶複合体のモル比が求められている。また、 α -及び β -CD とカルボン酸の複合体に関して熱力学特性を示すエンタルピーとエントロピーを求めた、CD 複合体の結合メカニズムについての研究¹⁵⁾がある。リノール酸及びアラキドン酸と CD との複合体の研究¹⁶⁾は、核磁気共鳴法による CD 環状構造中の脂肪酸の構造や関連する配向におけるものであり、また脂肪酸-CD 複合体の性質と応用の研究¹⁷⁾では、高速液体クロマトグラフィーや X 線回折及び熱分析を用い、化学的にメチル化した又はヒドロキシプロピル化した β -CD と脂肪酸との複合体を調べてその性質と応用について述べている。生化学的プロセスのための溶解脂質の利用として水溶液中でのリノール酸と CD の包接に関する研究¹⁸⁾では、リノール酸の臨界ミセル濃度 (c. m. c) を蛍光分光学的測定と pH 及び温度から決定する手法で求め、リノール酸 CD 包接体の平衡定数は 1:2 (脂肪酸:CD) の錯体組成のモデルを用いて解析されている。著者らは、トリオレイン・コレステロール混合油性汚れの洗浄における CD の効果を検討し、CD は油性汚れの除去に寄与するが、その寄与は CD と油性汚れの種類によって異なることを報告した¹⁹⁾。

そこで本研究では、CD による油性物質除去又は一部削減を目的とするその基礎的な事柄として、油性物質と CD との包接を主体に、CD と油性物質の相互作用について検討を試み、若干の知見を得たので報告する。

2. 実 験

(1) 試 料

1) シクロデキストリン

シクロデキストリンは、 α -CD、 β -CD (いずれも和光純薬試薬一級) 及び γ -CD (和光純薬試薬特級) をそのまま用いた。 α -CD、 β -CD、 γ -CD のグルコース数はそれぞれ 6, 7, 8 個であり、円筒空洞の内部直径はそれぞれ約 4.5~5.2, 6.0~7.0, 7.5~8.5 Å で、その深さはそれぞれ約 6.7~8.0, 7.0~8.0, 7.0~8.0 Å でドーナツ状の形をし、二級水酸基側の直径が一級水酸基側の直径よりも少し大きい。25℃における水に対

する溶解度は、それぞれ 14.5, 1.85, 23.2 g/100 ml である²⁰⁾²¹⁾。

2) 油性物質

油性物質としては、極性油であるコレステロール (和光純薬試薬特級) をそのまま用い、オレイン酸のグリセリンエステルであるトリオレイン (東京化成試薬特級) は、ベンゼンにてシリカゲルカラムにより精製し、遊離のオレイン酸を除いて用いた。また、アルキル鎖長の異なる飽和脂肪酸 4 種類、即ち、ラウリン酸 (C_{12})、ミリスチン酸 (C_{14})、パルミチン酸 (C_{16})、ステアリン酸 (C_{18}) と不飽和脂肪酸であるオレイン酸 ($C_{18=1}$) (以上ナカライテスク試薬特級 99%) をそのまま用いた。

3) 溶 媒

油性物質と水溶性 CD との相互作用を検討するための溶媒には、水・エタノール系を用いた。水は、イオン交換後の水を蒸留した蒸留水を用いた。

4) 分析用試薬

薄層クロマトグラフィー水素炎イオン化検出 (TLC-FID) 法による油性物質の定量には、*n*-ヘキサン、ジエチルエーテル、ギ酸、エタノール、クロロホルム (いずれも和光純薬試薬特級) を、また、内部標準物質には、コレステロールアセテート (東京化成試薬特級) をそのまま用いた。

(2) 実験方法

1) 包接実験

水不溶性の油性物質と水溶性 CD を用いて包接を行うためには、油性物質を溶解し、水とも混和性をもち、CD に対しては不溶性でかつ包接体を形成しない溶媒が必要である。そして、油性物質が CD 中に包接されるためには少なくとも油性物質は均一に溶解している状態であることが望ましい。これらの条件を満たす溶媒としてエタノールを用いて包接実験を行った。包接は、油性物質をエタノールに溶解し、CD を水に溶解して、その後両者を混合させる方法で行った。油性物質及び CD の濃度やその混合比を変化させて予備実験を行い、油性物質は、エタノール水溶液中に均一に溶解し、CD は、混合した瞬間から濁り始めて沈殿となるような包接の最適条件を求めてから実験を行った。まず、0.1~4 mmol/l のコレステロール、0.2 mmol/l のトリオレイン、2~20 mmol/l の脂肪酸のエタノール溶液をそれぞれ調整し、各 20 ml を容量 50 ml の共栓付遠沈管に採取した。次に、 α -及び γ -CD では、5~120 mmol/l、 β -CD は、2~14 mmol/l の水溶液を

シクロデキストリンと油性物質との相互作用

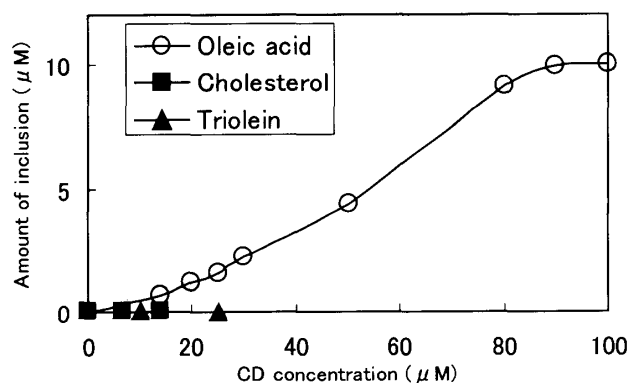


Fig. 1. Relationship between α -CD concentration and the amount of inclusion of oily materials (each initial concentration; oleic acid 10 mmol/l, cholesterol 1 mmol/l, triolein 0.2 mmol/l)

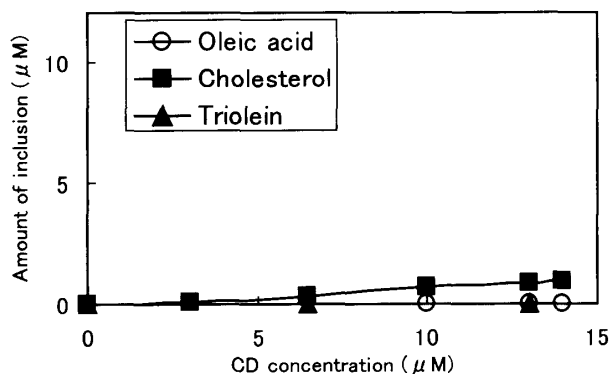


Fig. 2. Relationship between β -CD concentration and the amount of inclusion of oily materials (each initial concentration; oleic acid 10 mmol/l, cholesterol 1 mmol/l, triolein 0.2 mmol/l)

用いて、CD 濃度が α -及び γ -CD では 4~100 μ mol/l, β -CD では 3~14 μ mol/l となるように各遠沈管に加えた。25℃で 30 min シェーカーにてよく振盪後、遠心分離を行い沈殿包接物を得た。

2) 包接物の定量

沈殿包接物をエタノールでかるくすすぎ、塩酸 5 ml を加えて CD を加水分解し、包接された油性物質をジエチルエーテルで抽出した。ジエチルエーテルを留去した後、内部標準物質コレステロールアセテートを溶解したクロロホルム溶液 (1 g/ml) 10 ml に溶解し、この混合試料溶液を固定相 (クロマロッド) 上にスポットし、移動相において二段階展開を行った。

第一段階には、クロロホルム/エタノール/水 (40:20:2.5, v/v/v) を用い、コレステロール、トリオレイン及びラウリン酸は 0.5 cm, ミリスチン酸とパルミチン酸は 3.5 cm, ステアリン酸とオレイン酸は 4.5 cm 展開して風乾した。

第二段階移動相には、*n*-ヘキサン/ジエチルエーテル/ギ酸 (67:3:0.3, v/v/v) により 10 cm 展開した。展開後、固定相を 120℃で 3 min 乾燥し、TLC-FID 法により、それぞれの油脂成分を定量した。

(3) TLC-FID 分析

1) 分析機器

ヤトロン製の TLC-FID 分析装置イアトロスキャン TH-10 及びイアトロコーダー TC-11 を使用した。

2) 分析条件

内部標準物質としてコレステロールアセテートを用い、固定相にはクロマロッド SIII (ヤトロン製) を用いた。水素ガス流量 160 ml/min, 空気流量 2,000 ml/

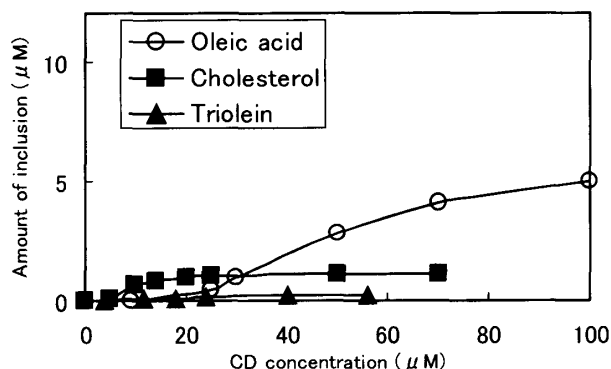


Fig. 3. Relationship between γ -CD concentration and the amount of inclusion of oily materials (each initial concentration; oleic acid 10 mmol/l, cholesterol 1 mmol/l, triolein 0.2 mmol/l)

min, スキャン速度 30 s で行い、クロマトグラムのピーク面積をイアトロコーダーで測定した。各油脂成分の重量は、各油脂成分と内部標準物質の重量比とクロマトグラムにおけるそれぞれの面積比からあらかじめ求めた検量線に基づき算出した。

3. 実験結果及び考察

(1) 各種油性物質の包接性

コレステロール、トリオレイン及び二重結合をもつ直鎖脂肪酸であるオレイン酸について、各 CD との包接を試み、包接量を求めた結果を Fig. 1~3 に示す。Fig. 1 の α -CD との包接では、コレステロールやトリオレインはまったく包接されなかったが、オレイン酸は包接された。Fig. 2 の β -CD との包接ではコレステロールのみが包接されたが、包接量は小さかった。 β -CD は、他の CD に比べて水への溶解度が極めて低い

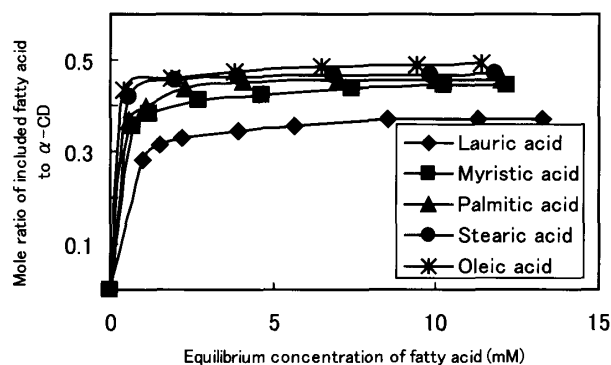


Fig. 4. Effects of chain length of fatty acid on the amount of inclusion with α -CD (initial concentration of α -CD; 0.6 mmol/l)

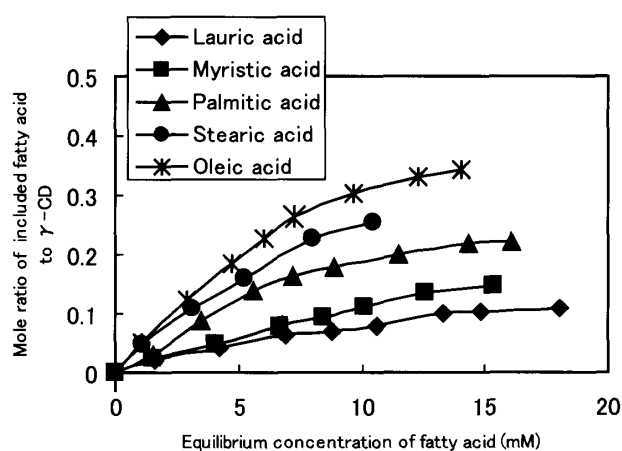


Fig. 5. Effects of chain length of fatty acid on the amount of inclusion with γ -CD (initial concentration of γ -CD; 0.6 mmol/l)

ためと考えられる。Fig. 3 の γ -CD との包接においては、コレステロール、トリオレイン、オレイン酸はいずれも包接され、包接量はオレイン酸>コレステロール>トリオレインの順に小さくなった。これらの結果から CD は、油性物質を選択的に包接することが認められた。油性物質分子の立体構造及び分子の断面積と各 CD の環状構造の空洞断面積及び形状との関係によるものと考えられる。そこで、CD の空洞の大きさと油性物質の断面積の相関性を確めるために文献値を用いてそれぞれの大きさを比較してみた。 α -CD の空洞断面積の大きさは、内部直径からの計算により約 $15.9 \sim 21.2 \text{ \AA}^2$ で脂肪酸の炭化水素鎖断面積 $20.5 \text{ \AA}^2$ とほぼ一致する。一方、コレステロールの断面積 $37 \sim 40 \text{ \AA}^2$ やトリオレインの 1,3 ジグリセリドの $80 \text{ \AA}^2$ は、合致しない。また、 β -CD の空洞断面積の計算値は、約 $28.3 \sim 38.5 \text{ \AA}^2$ となり、コレステロール

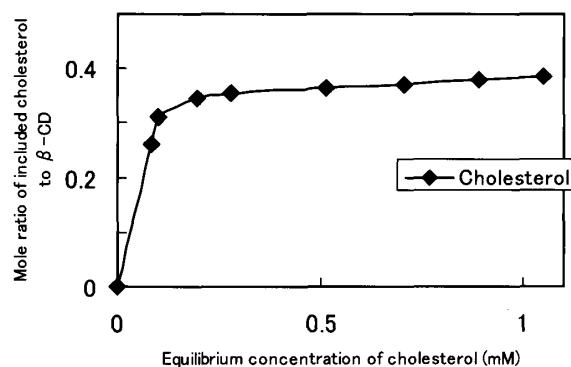


Fig. 6. Effects of cholesterol on the amount of inclusion with β -CD (initial concentration of β -CD; 70 mmol/l)

の断面積とはほぼ一致する。 γ -CD の空洞断面積は、約 $44.2 \sim 56.7 \text{ \AA}^2$ で脂肪酸、コレステロール、そしてトリオレインの一部は、いずれも包接されると考えられる。

(2) 油性物質の平衡濃度における包接性

油性物質の包接性において、オレイン酸が比較的多く包接された α -CD と γ -CD について、炭素数の異なる飽和脂肪酸の包接性について実験を行い、油性物質の平衡濃度と包接量の関係として求めた結果を Fig. 4 及び Fig. 5 に示す。Fig. 4 の α -CD による包接量は、脂肪酸の濃度の増加と共に増大して飽和に達し、炭素鎖長の長いステアリン酸やパルミチン酸に包接量は多く、炭素鎖長が短くなるにつれて包接量は減少した。そして、二重結合を含む不飽和脂肪酸であるオレイン酸の包接量は、同じ炭素鎖長のステアリン酸よりもわずかに多いことが認められた。また、 α -CD におけるこれら油性物質の平衡濃度曲線の立ち上がりの勾配が急速であり、これらの包接曲線は、一般的な溶液内での沈殿平衡現象と類似の曲線であると考えられる。一方、Fig. 5 の γ -CD による包接量は、脂肪酸の濃度の増加と共に増大し、炭素鎖長の長いほど大きくなるが、 α -CD による包接量と比較すると、いずれの脂肪酸についても少なく、平衡濃度曲線の立ち上がりの勾配はゆるやかであり、 α -CD の場合の包接曲線とは明らかに異なり、溶液内での低親和型の沈殿平衡現象に類似の曲線である。

次に、 β -CD に包接したコレステロールについて、平衡濃度曲線を Fig. 6 に示す。この平衡濃度曲線の形は、Fig. 4 の α -CD の包接曲線と類似しており、平衡濃度曲線の立ち上がりの勾配は、平衡濃度が低いために Fig. 4 の α -CD 包接曲線よりも急である。これら

シクロデキストリンと油性物質との相互作用

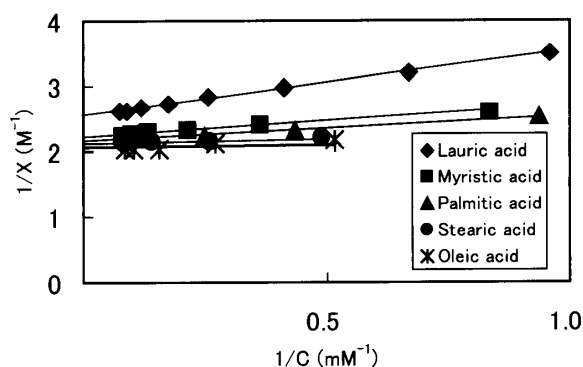


Fig. 7. Relationship between reciprocal amount of precipitated inclusion complexes of α -CD and reciprocal concentration of fatty acids bearing a variety of alkyl chain length (initial concentration of α -CD; 0.6 mmol/l)

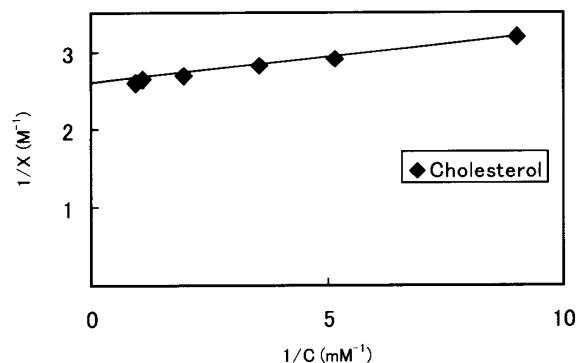


Fig. 8. Relationship between reciprocal amount of precipitated inclusion complexes of β -CD and reciprocal concentration of cholesterol (initial concentration of β -CD; 70 mmol/l)

の結果は、CD の包接作用における油性物質の選択性とも関連しており、断面積のはほぼ等しい α -CD と脂肪酸、 β -CD とコレステロールの系での包接は、溶液内での沈殿平衡現象と類似の包接曲線を示し、一方、 γ -CD の断面積は、脂肪酸の断面積よりもはるかに大きいので、脂肪酸を包接するものの包接量は少なく、溶液内での低親和型の沈殿平衡現象に類似の曲線となると考えられる。

(3) シクロデキストリンによる油性物質の飽和包接量と結合定数

α -CD と脂肪酸及び β -CD とコレステロールの系について、CD による油性物質の包接は CD の空洞内部への一種の吸着沈殿であり、溶液相にある包接錯体はすべて沈殿であるとして油性物質を FA、シクロデキストリンを CD とし、沈殿したものを Q とすると次の平衡式となる。



FA, CD の初濃度をそれぞれ c , d とし、混合溶液の単位容積あたりの Q の量を x とし、吸着沈殿の結合定数を K とすると、 K は次式のように表すことができる。

$$K = \frac{x}{(c-x)(d-x)} \quad (1)$$

測定条件から

$$c \gg x \quad (2)$$

と考えられるので、

$$c-x \approx c \quad (3)$$

となり、また、Q の飽和量を x_∞ とすると、

$$x_\infty = d \quad (4)$$

となる。 d を固定すると x_∞ も一定となる。これらを (1) 式に代入すると、

$$K = \frac{x}{c(x_\infty - x)} \quad (5)$$

となり、 x を求めると

$$x = \frac{Kcx_\infty}{1 + Kc} \quad (6)$$

となる。(6) 式を書き換えると (7) 式となる。

$$\frac{1}{x} = \frac{1}{x_\infty} + \frac{1}{Kx_\infty} \cdot \frac{1}{c} \quad (7)$$

即ち、包接平衡時における x と c の逆数をそれぞれ、縦軸及び横軸としてグラフにあらわすと直線が得られることが予想され、 x_∞ 及び K が求められる。 α -CD と脂肪酸、 β -CD とコレステロールの系について x と c の逆数をプロットしたところ Fig. 7, 8 のように直線が得られた。最小二乗法により直線の切片と勾配を求め、 x_∞ の飽和包接量と K の結合定数を算出した。その結果を Table 1 に示す。

飽和包接量は、脂肪酸の鎖長の増加につれて多くなり、不飽和脂肪酸であるオレイン酸の飽和包接量は最も多い。また、 α -CD と脂肪酸の結合定数は、脂肪酸の鎖長の増加と共に増大し、鎖長が長いほど安定な包接化合物になるといえる。このことは、ラウリン酸よりもステアリン酸のほうが α -CD の低濃度で包接されることを示している。即ち、包接物の同じ量を得るためには、 α -CD 濃度が一定の場合において、ラウリン酸では高濃度が必要であり、ステアリン酸では低濃度で可能である。

一方、 β -CD とコレステロールの系についての飽和包接量と結合定数は、 β -CD の水に対する溶解度が低

Table 1. The parameters for the interpretation of the interaction of cyclodextrins with oily materials

CD	Oily materials	Amount of saturated inclusion compound (M)	Binding constant (M^{-1})
α -CD	Lauric acid C_{12}	0.39	2.49×10^3
	Myristic acid C_{14}	0.45	5.07×10^3
	Palmitic acid C_{16}	0.47	5.22×10^3
	Stearic acid C_{18}	0.48	6.63×10^3
	Oleic acid $C_{18:1}$	0.50	6.59×10^3
β -CD	Cholesterol	0.39	23.19×10^3

いため、飽和包接量は少ない。しかし、結合定数は、比較的大きく、コレステロールは β -CDに安定に包接される。

これらの成果をもとに、 α -CD、 β -CDの包接による油性物質の低脂肪化というような発展的研究が期待される。

4. 要 約

3種類のシクロデキストリン (α -, β -, γ -CD) を用い、油性物質として、コレステロール、トリオレイン、アルキル鎖長の異なる飽和脂肪酸のラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、及び不飽和脂肪酸のオレイン酸の7種類を用いて、CDによる油性物質の包接について検討した。

CDを水に溶解し、油性物質をエタノールに溶解した後、両者を混合して包接し、包接された油性物質を溶媒に溶解してTLC-FID法により、それぞれの油脂成分を定量した。

α -CDは、オレイン酸を包接するがコレステロール、トリオレインを包接しなかった。 β -CDは、コレステロールを包接した。 γ -CDは、オレイン酸、コレステロール、トリオレインを包接した。これらの結果よりCDは油性物質を選択的に包接することがわかった。

α -CDによる脂肪酸の飽和包接量及び結合定数は、脂肪酸の鎖長の増加につれて増大し、鎖長が長いほど安定な包接化合物となった。一方、 β -CDとコレステロールの系での飽和包接量は、 β -CDの水に対する溶解度が低いため少ないが、結合定数は大きく、コレステロールは β -CDに安定に包接された。しかし、 γ -CDと油性物質の系では、 γ -CDの断面積が大きすぎるため、その包接量は全体に少ないことがわかった。

引 用 文 献

- 1) 久下 喬：アミロースおよびシクロデキストリンの構造と包接現象，表面，**10**，422-434 (1972)
- 2) Schlenk, H., and Sand, D. M.: The Association of α - and β -Cyclodextrins with Organic Acids, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 2312-2320 (1961)
- 3) 御船 昭： β -サイクロデキストリン，有機合成化学，**32**，889-894 (1974)
- 4) 御船 昭，島 淳之：シクロデキストリンとその応用，有機合成化学，**35**，116-130 (1977)
- 5) 原田一明：シクロデキストリン複合体の構造化学，澱粉科学，**26**，198-209 (1979)
- 6) 小宮山真：シクロデキストリンの分子認識能と化学センサへの応用，表面，**27**，382-389 (1989)
- 7) 井上義夫：シクロデキストリンの構造と機能，化学と工業，**43**，907-909 (1990)
- 8) 松田 伯，伊藤建三，田中宗男：ヒドロキシ- β -CDの香粧品への利用，第12回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集，24-25 (1993)
- 9) 福田義夫：サイクロデキストリンの香料への利用，第12回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集，26-27 (1993)
- 10) 衣笠 仁，竹尾忠一：サイクロデキストリンによる緑茶ドリンクのレトルト臭生成防止，第12回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集，30-31 (1993)
- 11) 瀬戸美江，中西洋子，佐伯俊子，梶田武俊：サイクロデキストリンの包接作用によるクロロフィル光分解の安定化，調理科学，**23**，392-396 (1990)
- 12) Smith, D. M., Awad, A. C., Bennink, M. R., and Gill, J. L.: Cholesterol Reduction in Liquid Egg Yolk Using β -Cyclodextrin, *J. Food Sci.*, **60**，691-694 (1995)
- 13) 橋本 仁：シクロデキストリンの利用技術における最近の動向，第12回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集，22-23 (1993)
- 14) 近藤征男：サイクロデキストリン利用技術における最近の動向，食品工業，**37** (6)，48-53 (1994)
- 15) Gelb, R. I., and Schwartz, L. M.: Complexation of

シクロデキストリンと油性物質との相互作用

- Carboxylic Acids and Anions by Alpha and Beta Cyclodextrins, *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **7**, 465-476 (1989)
- 16) Jyothiramay, N., Ramadoss, C. S., and Divakar, S.: Nuclear Magnetic Resonance Studies of Cyclodextrin Complexes of Linoleic Acid and Arachidonic Acid, *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2123-2127 (1991)
 - 17) Szente, L., Szejtli, J., and Szeman, J.: Fatty Acid-Cyclodextrin Complexes: Properties and Applications, *J. Incl. Phenom. Mol. Recognit. Chem.*, **16**, 339-354 (1993)
 - 18) Lopez-Nicolas, J., Bru, R., Sanchez-Ferrer, A., and Garcia-Carmona, F.: Use of "Soluble Lipids" for Biochemical Processes: Linoleic Acid-Cyclodextrin Inclusion Complexes in Aqueous Solutions, *Biochem. J.*, **308**, 151-154 (1995)
 - 19) 檉野悦子, 藤井富美子: 油性汚れの洗浄におけるシクロデキストリンの効果, 家政誌, **44**, 855-860 (1993)
 - 20) Bender, M. L., and Komiyama, M. (平井英史, 小宮山真訳): 『シクロデキストリンの化学』, 学会出版センター, 東京, 8 (1983) (*Cyclodextrin Chemistry, Reactivity and Structure*, Springer-Verlag (1978))
 - 21) 白石幸英, 平井英史: シクロデキストリンを用いた芳香族ジカルボン酸の選択的合成反応, 表面, **34**, 293-301 (1996)
 - 22) 稲葉恵一, 平野二郎: 『新版脂肪酸化学』, 幸書房, 東京, 49 (1990)
 - 23) Borgström, B., and Brockmon, H. L.: *Lipases*, Elsevier, Amsterdam, 17 (1984)
 - 24) Borgström, B., and Brockmon, H. L.: *Lipases*, Elsevier, Amsterdam, 21 (1984)