アミロース包接錯体の利用に関する基礎的研究(Ⅲ)^{1,2)}

有機溶剤中における粉末アミロースへの有機化合物の吸着

鈴木 晴 男^{*1} 蓮 江 和 夫^{*1}

(昭和51年4月9日受理)

Basic Studies on the Utilization of Amylose Inclusion Complexes(III)

Adsorption of Organic Compounds on Dry Amylose

Powder in Organic Solvents

Haruo SUZUKI and Kazuo HASUE

*Department of Applied Chemistry, School of Science and
Engineering, Waseda University**(4 Nishiokubo, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan)*

Adsorption behavior of organic compounds on dry amylose powder in organic solvents was investigated.

(1) It was found that the adsorption of monobasic fatty acids in *n*-hexane followed LANGMUIR's adsorption isotherm. Maximum adsorbed quantities and adsorption coefficients of 14 kinds of fatty acids were estimated at 25°C. The former values (mM/g amylose) decreased with the increase of the number of carbon atoms in fatty acid molecule up to 8-9 and were almost constant thereafter.

(2) Four kinds of adsorbents, native potato and corn starches, gelatinized potato starch and potato amylose, were tested for the adsorption of ethanol in *n*-hexane, carbon tetrachloride and benzene. The weight of ethanol adsorbed by the amylose was much greater than that by the other adsorbents.

(3) Adsorption of methanol and ethanol in 5 kinds of solvents and adsorption of 14 kinds of organic compounds in *n*-hexane were tested. It seems likely that the adsorbed quantity increased with increasing dielectric constant ratio [$\epsilon(\text{adsorbate})/\epsilon(\text{solvent})$].

1. 結 言

アミロース分子が水溶液中でそのラセン構造中に種々の物質をとり込んで包接錯体をつくることはよく知られ利用されている。デンプン・ヨウ素反応としての定性および定量分析的利用、アミロースとアミロペクチンとの分離手段としての利用などがそれである。しかし、有機溶剤中でアミロースがどのような物質とり込み挙動を示

すかについてはよく知られていない^{*2}。本研究はそれを明かにすることにより、アミロースの新しい利用のいとぐちが見出されるかも知れないという期待のもとに行われたものである。

2. 実験方法

2-1) 粉末アミロースの調製法

ジャガイモ・デンプン約20gを水1ℓに懸濁し、水酸化ナトリウム溶液を用いてpH 7.0~7.5に調整したのち、かきまぜながら加熱をつづけ、糊化を経て粘度がかなり低下するまで十分に溶解した。これをさらにオートクレーブに移して加熱処理(120°C, 30min)して分子分散の完全をはかったのち、同量の熱水を加えて稀釈し(約1

^{*1} 早稲田大学理工学部応用化学科(東京都新宿区西大久保4丁目)

^{*2} この場合、アミロースは多くの有機溶剤に不溶であるから、水溶液中における分子分散状態でのとり込みとは、条件がかなり異なることに注意する必要がある。

%溶液), 熱いうちに 1 l 当りチモール 1 g または *n*-ブタノール 50 ml を加えてホモジナイザーで処理し, そのまま室温に数日間放置した。上澄液を大部分傾瀉したのち, 残部を遠心分離してアミロース錯体の沈殿を集めた。この沈殿をふたたび水に懸濁し(アミロース濃度約 0.5%), pH を 7.0~7.5 に調整したのち約 2 hr 還流して溶解し, 熱いうちにガラスフィルタ (No. 4) で濾過し, 濾液に沈殿剤を再添加して上と同様に処理し, 再沈殿したアミロース錯体を回収した。この糊状アミロース錯体に大過剰のメタノールを加え, ホモジナイザーで処理したのち遠心分離する操作を数回行って, 錯体からの沈殿剤の除去とアミロースの粉末化とを同時に行った。えられたアミロースを減圧加熱乾燥して乾いた粉末アミロースをえた。X線回折図による確認は行わなかったが, このような方法で調製されたアミロース試料はラセン型アミロース (V-アミロース) であると思なして差支えないであろう³⁾。なお, 一度使用したアミロースを減圧加熱して, 溶剤および吸着物質を除去したのち繰返し使用した場合もあるが, この場合, 吸着力がほとんど変化しないことを確かめてある。また, 粉末アミロース試料は保存中に老化を起し, それによって有機溶剤中での吸着性も当然変化するものと思われる。今回の実験では数値を比較すべき一連の実験においてはそれに必要なアミロース量を何回にも分けてつくりためてからそれらを均一に混合し, 老化状態が平均的に同一になるようにして短い期間内に実験に供したので, 以下に比較してある一連の実験に関する限り, 老化による差異はほとんど無視しうるものと思われる。

2-2) 粉末 α -デンプンの調製法

ジャガイモ・デンプン約 10 g を水 500 ml に懸濁し, かきまぜながら加熱した。糊化後さらにしばらく煮沸した液 (約 2%) を室温まで冷却したのち, 約 1 l のメタノールを加えてモチ状の沈殿をえた。これをメタノール中で磨砕しながら脱水する操作を繰返して粉末化し, さらにメタノール中でホモジナイザー処理したのち, 減圧加熱乾燥して乾いた α -デンプン粉末をえた。

2-3) 吸着量測定法

アミロース約 1 g を重量既知の 50 ml 共栓三角フラスコに入れ, 80°C で減圧乾燥後密栓して室温まで冷却し, 秤量して乾燥アミロース量を求めた。これに吸着させようとする物質を溶解した有機溶剤 10 ml をピペットで加え, 時々おだやかにふりまぜながら 25°C に数時間以上放置した。上澄液を溶質の種類によって, 紫外吸光法またはガスクロマトグラフィーにより分析し, 予め作製し

ておいた検量線 (ガスクロマトグラフィーの場合はピーク面積による) から溶質の濃度を求め, 吸着前のそれから差し引いてその差を吸着によるものとみなし, アミロース 1 g 当りの吸着量に換算した。ガスクロマトグラフィーは次の装置および条件で行った。

ガスクロマトグラフ: 島津 GC-3 BT (熱電導度セル, 電流約 80 mA)

カラム: ステンレス 3 mm ϕ $\times$ 2 m, 西尾工業製 Bentone 34+DIDP, 温度 60~80°C

キャリアーガス: N₂, 流速 70~80 ml/min

2-4) 試薬

溶剤類はとくにことわりのない限り, 市販品を単蒸留しただけで使用した。その他の試薬は市販品をそのまま用いた。

3. 実験結果と考察

3-1) *n*-ヘキサン中における脂肪酸の吸着

市販の一級品をシリカゲルで処理後蒸留することにより, スペクトル測定用と同程度に精製した *n*-ヘキサン⁴⁾中に, 11 種の脂肪酸を種々の濃度に溶解し, 2-3) 項に述べたようにして吸着実験を行った (*n*-ヘキサン中の脂肪酸量は 220 nm における吸光度によって定量した)。

使用した 11 種の脂肪酸の中から 3 種の場合を抜きだして (他の脂肪酸の場合も同じ傾向を示した), えられた数値を Table 1 に示した。これらの数値を用いてアミロース 1 g 当りの吸着量と吸着平衡時の溶液の脂肪酸濃度との関係をプロットしてみたところ (図省略), この吸着が LANGMUIR の吸着等温式

$$\frac{C}{X} = \frac{1}{k_1} C + \frac{1}{k_1 k_2}$$

C : 吸着平衡時における溶液の吸着質濃度

X : 吸着剤の単位重量当りの吸着された吸着質の量

k_1 : 定数 (飽和吸着量)

k_2 : 定数 (吸着係数)

に従うようにみえたので, C/X と C との関係をプロットしてみたのが Fig. 1 である。プロットの数が少ないので正確ではないが, ほぼ直線関係がえられているように思われる。

用いた 11 種の脂肪酸全部について, 最小二乗法により定数 k_1 (アミロース 1 g 当りの飽和吸着量, mg および mM) および k_2 を算出したところ, Table 2 のようになった。これらの数値を用いて, 脂肪酸の炭素数と k_1 との関係を図示すると Fig. 2 のようになった。

Fig. 2 から mM であらわした k_1 値は, 脂肪酸の炭素

Table 1. Adsorption of fatty acid by amylose from *n*-hexane solution.

Fatty acid	Amylose (g)	Concentration of fatty acid (mg/10ml)		Weight of adsorbed fatty acid (mg/g amylose)
		Original	Equilibrium	
<i>n</i> -Butyric	0.99	5.67	0.99	4.63
	0.98	11.07	3.19	8.04
	0.97	17.00	6.40	10.90
	0.99	28.34	14.63	13.66
Capric	0.98	8.57	3.12	5.59
	1.00	17.15	8.95	8.23
	0.99	25.72	15.89	8.89
	0.98	42.87	31.51	11.54
Stearic	0.89	9.62	1.08	9.42
	0.88	24.04	9.72	16.25
	0.75	33.66	18.16	19.94
	0.99	50.30	28.22	22.20

数 8~9 付近までは炭素数の増加とともに減少するが、炭素数がそれ以上になるとほとんど変化しないことがわかる。Table 2 および Fig.2 の結果に関して次のような考察を試みた。

(1) この吸着がアミロース・ラセンの内部にのみ限られるものと仮定し、かつ、アミロース分子は水溶液中で比較的ルーズな短いラセンが不連続に連結している形をとるとい説⁵⁾ から類推して、水溶液中から沈殿した錯体、したがってそれからえられた粉末アミロースは、短いラセンが折りたたまれて密なミセルをつくっているも

のと考えることにする。このような仮定の下では、脂肪酸分子の長さがある程度以上になると、その長さに関係なく1つのラセン部分に入りうる脂肪酸の分子数が一定になる(たとえば1分子しか入らない)と考えれば、Fig. 2 の結果を一応はよく説明することができる。しかし、この吸着がアミロース・ラセンの内部にのみ限られるという保証はないのであり、ラセン外部での吸着も無視しえないと思われる(3-2)項参照)ので、上記の説明は完全とはいえない。

(2) Table 2 において脂肪酸の誘電率(ϵ)の数値をみると、それが大きいほど、すなわち $\epsilon(\text{脂肪酸})/\epsilon(n\text{-ヘキサン})$ の比が大きいほど、吸着が多く起る傾向を示している。炭素数が8~10以上の脂肪酸ではデータが不十分ではあるけれども、その誘電率がほとんど同程度になる

Fig. 1. LANGMUIR's plots of the adsorption of fatty acid on amylose in *n*-hexane. Fig. 2. k_1 in LANGMUIR's equation vs. number of carbon atoms in fatty acid molecule.

Table 2. LANGMUIR's constants for fatty acid adsorption by amylose from *n*-hexane solution.

Fatty acid		Constant k_1		Constant k_2	$\epsilon^{*,6)}$
Name	Number of C	mg/g	mM/g		
Acetic	2	38.1	0.634	0.760	6.15(20)
<i>n</i> -Butyric	4	16.2	0.184	0.344	2.97(20)
<i>iso</i> -Butyric	4	6.1	0.069	0.134	2.71(10)
Valeric	5	16.4	0.161	0.237	2.66(20)
Caproic	6	16.2	0.139	0.166	—
Capric	10	13.2	0.077	0.185	—
Lauric	12	17.1	0.085	0.191	—
Myristic	14	18.1	0.079	0.252	—
Palmitic	16	16.8	0.066	0.340	2.30(71)
Stearic	18	23.8	0.084	0.338	2.29(70)
Oleic	18	30.2	0.106	0.289	2.46(20)

* Figure in () indicate temperature ($^{\circ}\text{C}$).

ように思われるので、吸着量が変化しなくなるのであるとも考えられる。炭素数が同じステアリン酸とオレイン酸の k_1 値の違いも同様にして説明がつく。誘電率と吸着量との関係についてはさらに 3-3) 項においても述べてある。

(3) *n*-酪酸とイソ酪酸の k_1 値が著しく異なるのは、誘電率の違いのみならず、分子の立体的因子の影響も大いにあるのではないかと考えられる。

3-2) 形態の異なる粉末デンプン質への吸着

吸着剤として天然のジャガイモ・デンプン (PS) とトウモロコシ・デンプン (CS), α 化ジャガイモ・デンプン (α -PS), およびジャガイモ・アミロース (PA) の4種を準備し、それぞれの吸着剤に対して、*n*-ヘキサン、四塩

Table 3. Adsorption of ethanol by the four types of starchy adsorbent in organic solvents.

Adsorbent*	Solvent		
	Weight of adsorbed ethanol(mg/g)		
	<i>n</i> -Hexane	Carbon tetrachloride	Benzene
PS	15.6	9.3	3.6
CS	16.7	—	—
α -PS	18.2	21.8	7.2
PA	67.9	46.2	30.5

* PS: Native potato starch

CS: Native corn starch (extracted by methanol)

α -PS: Gelatinized potato starch

PA: Potato amylose

化炭素およびベンゼン中でのエタノールの吸着試験を行った。簡単のためエタノール初濃度を一定 (1 v/v %) とし、その一定量 (10 ml) 中に約 1 g の乾燥吸着剤粉末を精秤して投入し、吸着平衡時の上澄液中のエタノール濃度をガスクロマトグラフィーで測定し、吸着剤 1 g 当りに吸着されたエタノール量 (mg) を計算して、えられた結果を Table 3 に示した。

Table 3 からわかるように、どの溶剤の場合もアミロースによる吸着が、天然デンプン粒はもとより、 α 化デンプンによる吸着よりもずっと多い。天然デンプン粒よりも α 化デンプンの方が吸着表面はずっと大きく、かつ、 α 化デンプンの中にはラセン形アミロースもかなり (約 20% 以下) 存在すると思われるのに、吸着量は α 化デンプンの方が多い場合でも2倍強でしかない。これに対して吸着表面量が似ていると思われる α 化デンプンとアミロースとの間には、吸着量に大きな差がある。これらの事実は、アミロースへの吸着は単なる表面吸着も存在するけれども、それよりもラセン内部への吸着がずっと大きいことを意味しているように思われる*3。

*3 この方法でラセン内吸着であるか表面吸着であるかを正確に推定するには、 α -PS 粉末と PA 粉末の粒度のみならず、粒中の状態までも同一になるように調製して比較しなければならないが、これは至難のわざである。また、吸着物を乾燥状態でとりだして、溶剤の種類をかえて吸着質を抽出することにより判定する方法も試みる必要があろうが、その場合にも、溶液中での吸着状態をくずすことなしに吸着物を乾燥状態でとりだすことができるかどうかに関係があろう。さらに、今回は行わなかったが非晶質アミロース³⁾についても比較実験を行うべきであろう。

なお, PS, α -PS, PA の3つの吸着剤について, エチルエーテル中からの水の吸着試験を同様な方法で行った結果, 水の吸着量はそれぞれ 89, 89, 79 mg/g となり,それほど大きな差異がなく, この場合は表面吸着が支配しているように思われた。

3-3) 吸着質の誘電率と吸着量との関係

3-1) 項で述べた実験 (n -ヘキサン中からの脂肪酸の吸着) において, 低級脂肪酸の場合に, 吸着質の誘電率がアミロースへの吸着量と並行関係にあるように思われたので, これを確かめるために, 数種の溶剤中からメタノールおよびエタノールをアミロースに吸着させてみた。

$\epsilon(\text{alcohol})/\epsilon(\text{solvent})$ と吸着量 (mg/g) との関係は Table 4 のようになった。

吸着質と溶剤との誘電率比が大きいほど吸着量が大きくなっていることがわかる。イソプロピルアルコール, n -ブチルアルコールおよびピリジンを吸着質として用いて同様な実験を行った結果は, 吸着絶対量が比較的小さく, 実験した組合せの数も少なかったので, メタノールおよびエタノールの場合ほど明瞭ではなかったが, やはり同様な傾向が認められた。また, 水はアセトン (ϵ 比

Table 4. Adsorption of alcohols on amylose in various solvents.

Name	Solvent ϵ^b (°C)	Methanol		Ethanol	
		Adsorbed weight (mg/g)	$\frac{\epsilon(\text{methanol})^*}{\epsilon(\text{solvent})}$	Adsorbed weight (mg/g)	$\frac{\epsilon(\text{ethanol})^*}{\epsilon(\text{solvent})}$
Acetone	20.7 (25)	12.7	1.58	0.0	1.17
Ethyl ether	4.335 (20)	31.0	7.52	8.1	5.61
Benzene	2.274 (25)	—	—	30.5	10.69
Carbon tetrachloride	2.228 (25)	66.8	14.65	46.2	10.91
n -Hexane	1.890 (20)	75.8	17.26	69.0	12.86

* $\epsilon(\text{methanol})=32.63(25^\circ\text{C})$

$\epsilon(\text{ethanol})=24.30(25^\circ\text{C})$

Table 5. Adsorption of various organic compounds on amylose in n -hexane.

Compound	Dielectric constant			Initial concn. (%)	Adsorbed weight (mg/g)
	ϵ^b	(°C)	$\frac{\epsilon}{\epsilon(n\text{-hexane})^*}$		
Benzene	2.284	(20)	1.2	0.88	0.0
Toluene	2.379	(25)	1.3	0.87	0.0
Bromobenzene	5.40	(25)	2.9	1.50	0.0
Chlorobenzene	5.708	(20)	3.0	1.11	0.0
Menthone ⁷⁾	8.8	(18)	4.7	0.72	25.9
Cresol (<i>p</i>)	9.9	(58)	5.2	0.71	12.8
" (<i>o</i>)	11.5	(25)	6.1	0.80	12.5
" (<i>m</i>)	11.8	(25)	6.2	0.83	13.5
Pyridine	12.3	(25)	6.5	0.98	6.8
1-Butanol	17.8	(20)	9.4	0.81	9.6
2-Propanol	18.3	(25)	9.7	0.79	19.1
Acetone	20.7	(25)	11.0	0.79	29.6
Ethanol	24.30	(25)	12.9	0.79	69.0
Methanol	32.63	(25)	17.3	0.79	75.8

* $\epsilon(n\text{-hexane})=1.890(20^\circ\text{C})$

3.79)*⁴ 中からは 26 mg/g, エチルエーテル(ϵ 比 18.5)*⁵ 中からは 79 mg/g が吸着されたのも、同様な傾向といえよう。

つぎに、 n -ヘキサン中から14種の有機化合物をアミロースに吸着させてみた。その結果は Table 5 のようになったが、この表では吸着質として用いた化合物を、誘電率(または n -ヘキサンとの誘電率比)が小さいものから大きいものへと順に記載してある。この実験では吸着質の初濃度が厳密には一定となっていないが、傾向を比較するには支障がない程度の差異であると思われる。アミロースへの吸着量をみると、誘電率比との間に並行関係が成立している部分もあるし、そうでない部分もあることがわかる。

Table 2, 4 および 5 の結果を総合して考察すると、次のような解釈が成立するように思われる。

(1) 1つの特定物質を異なった溶媒中から吸着させる場合には、溶媒との誘電率比が大きいほど吸着量が多くなる傾向を示す。

(2) 1群の同族物質を1つの特定溶媒中から吸着させる場合にも、(1)と同様な傾向が認められる。

(3) 異なったグループに属する物質の吸着性を比較する場合には、誘電率比以外の因子(親水性基の有無や位置、分子全体の形や大きさなど)も関与し、誘電率比だけでは吸着量を予想することができない。

誘電率比が大きいということは分子の極性の差が大きいことを示すものであり、そのような場合には一般に溶質の溶解性が小さく、溶質分子は会合状態にあることが多いので、表面吸着が起りやすいと考えられるが、ラセン内吸着に関しては分子の会合はむしろ阻害的に働く場合が多いと考えられるので一義的説明は困難であろう。

*⁴ $\epsilon(\text{水}) = 78.54(25^\circ\text{C})$

$\epsilon(\text{アセトン}) = 20.7(25^\circ\text{C})$ ⁶⁾

*⁵ $\epsilon(\text{水}) = 80.37(20^\circ\text{C})$

$\epsilon(\text{エチルエーテル}) = 4.335(20^\circ\text{C})$ ⁶⁾

4. 要 約

有機溶剤中での乾燥粉末アミロースへの有機化合物の吸着挙動について実験した。

(1) ジャガイモ・アミロース粉末を用いての、 n -ヘキサン中での一塩基性脂肪酸の吸着は、LANGMUIR の吸着等温式にしたがった。14種の脂肪酸について飽和吸着量と吸着係数を求めた。飽和吸着量(mM/g アミロース)は脂肪酸の炭素数 8~9 までは炭素数の増加とともに減少したが、それ以上の炭素数ではほとんど変化がなかった。

(2) 天然のジャガイモおよびトウモロコシ・デンプン、 α 化ジャガイモ・デンプン、ジャガイモ・アミロースの4種の乾燥粉末を吸着剤として、3種の溶媒中からエタノールの吸着試験を行った。ジャガイモ・アミロースへの吸着量が他の3つへのそれに比べて著しく大きかった。

(3) ジャガイモ・アミロース粉末を用いて、5種の溶剤中でメタノールおよびエタノールの吸着、および n -ヘキサン中で 14 種の有機化合物の吸着を行った。特定の1つの化合物を種々の溶媒中で吸着させる場合、および1群の同族化合物を特定の溶媒中で吸着させる場合には、化合物と溶媒との誘電率比が大きいほど吸着量が多くなる傾向を示した。

文 献

- 1) 鈴木晴男, 岡崎 彰: 旭硝子工業技術奨励会研究報告, **21**, 143(1972).
- 2) 鈴木晴男, 小林幸治: 同上, **22**, 25(1973).
- 3) 久下 喬: 本誌, **16**(4), 150(1969).
- 4) 日本公定書協会編「第八改正日本薬局方 第一部解説書」広川書店(1971), B-360.
- 5) M. B. SENIOR, E. HAMORI: *Biopolymers*, **12**, 65(1973).
- 6) R. C. WEAST(ed.): "Handbook of Chemistry and Physics," 54th ed., CRC Press, Cleveland, Ohio(1973), E 54.
- 7) 日本化学会編: 「化学便覧基礎編」改訂版, 丸善(1975), p. 1168.