多糖類分子鎖間および鎖内包接に関する研究 (VII)*

包接錯体調製法の改良

鈴木晴男**・天海 弘**・荻野秀一**

(昭和57年3月11日受理)

Studies on Inclusion in Intra- and Inter-chain of Polysaccharide Molecules (VII)
Improvements of the Original Method for the Preparation of the Complex

Haruo SUZUKI, Hiroshi AMAKAI and Hidekazu OGINO

*Department of Applied Chemistry, School of Science and Engineering,
Waseda University**(3 Okubo, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan)*

The original method for the preparation of inclusion complex of various polar organic compounds in the granule of polysaccharides was improved.

(1) The complex has been prepared with the system composed of anhydrous polysaccharide, methanol and guest compound, and in this system the inclusion was always inhibited by the moisture. On the other hand, it was found that on the system in which ethanol was used as a solvent, the adequate amount of moisture promoted the inclusion and that the moisture in the interior of polysaccharide granule was more effective than that in the solvent.

(2) In the original method the air-drying procedure was initiated under the condition in which large excess of solvent was present. On the basis of the elucidation of initiation conditions of the actual inclusion, the amount of solvent was reduced to 1/3 its original one. The improvement offered saving solvent, reducing air-drying period and increasing included amount of guests with lower boiling point.

(3) For the preparation of complex with high content of guest the air-drying procedure was essential.

(4) At least, with regard to benzaldehyde, the considerable amount (60 mg/g) could be included even with water as a carrier solvent.

1. はじめに

われわれの研究室では、天然多糖類粒子（おもに澱粉およびセルロース）の内部に、種々の有機化合物がかなり強固に包接される現象を、実用化（液体物質の粉末化、揮発性物質の揮散防止または遅延、空気酸化をうけやすい物質の酸化防止、酸素以外の物質との接触による化学

変化の防止または遅延などを目的とする）に結びつけるために一連の基礎研究を行っており、ゲスト化合物としてメントール¹⁾、サリチル酸メチル²⁾、代表的芳香族官能化合物類³⁾、低級脂肪酸エステル類⁴⁾、アルデヒド類⁵⁾を用いた場合の結果についてすでに報告した。本報文の目的はつぎの2つである。(1) これまでの研究結果から、包接錯体の調製法として従来法よりも合理的かつ経済的な方法が可能であると推定されたので、それについて検討し、実証した結果について述べる。(2) 従来は、ゲスト物質のキャリア溶媒としてメタノールだけが実用上使

* 前報 (VI) は文献 4)。

** 早稲田大学理工学部応用化学科 (160 東京都新宿区大久保 3)

Fig. 1. Methods for the preparation of the complex.

Procedure D: drying at 100°C under reduced pressure.

用可能であると述べてきたが、物質によってはメタノール以外の溶媒（とくにエタノール）も実用上かなり有効に使用しうることが見出されたので、これについて検討した結果を述べる。以上のように、この種の包接錯体の調製法として著者らが開発し、これまで使用してきた方法の改良とでもいうべき研究の結果について以下に述べることにする。

2. 実験方法

2-1. 試薬

ホストとして使用したジャガイモ澱粉 (PS) は市販品である。ゲストとして使用したベンズアルデヒド (BA), ペンタナル, ヘキサナル, ヘプタナル, オクタナル, *n*-酪酸 *n*-ブチル, *n*-酪酸メチルはすべて、市販の一級または特級品をそのまま使用した。溶剤類は市販の一級品をそのまま、または単蒸留したのち使用した。

2-2. 包接錯体の調製法

従来から使用してきた方法を Fig. 1A に、改良法を Fig. 1B に示した。

2-3. 包接ゲスト量の定量法

包接錯体を 100°C で 2 hr 減圧乾燥したのち、その約 1 g を精秤して L 字型共栓試験管に入れ、メタノール 10 ml を加えて密栓し、30°C で約 3 hr Monod 式振とう

を行った。この試験管を静置して澱粉を沈殿させたのち、上澄液の一定量を取り、BA の場合は主として紫外吸光法により、脂肪族アルデヒドおよびエステルの場合はガスクロマトグラフィーにより定量を行った。このような 1 回のメタノール抽出によって、完全とはいえないにしても、大部分のゲストが抽出されることがわかっているので、便宜上この量を包接量とみなして比較を行った。

2-4. 溶媒の水分含量測定法

各溶媒 1 ml をガスシリンジで採取し、カール・フィッシャー電量滴定型の微量水分自動測定装置（平沼産業, AQ-3 型）で測定した。

2-5. BA の水に対する溶解度

水 5 ml を含む試験管 5 本にそれぞれ異なった量（1～5 滴）の BA を加え、40°C でよくふりまぜて溶かし、各上澄液の BA 濃度をガスクロマトグラフィーで測定し、ほぼ一定値を示したものを平均しておおよその溶解度を求めた。

3. 実験結果と考察

3-1. メタノール以外のキャリア溶媒による包接

3-1-1. はじめに 多糖類粒子の内部に人為的に有機化合物を包含させるのであるから、多糖類粒子のなかにある余分な物質は、あらかじめできるだけ除去してお

Fig. 2. Effect of moisture content of solvent upon inclusion of BA.

Host: □, dried PS; ■, undried PS (moisture content: 17%).

いたほうが有利であるに違いないという発想のもとに、包接操作に先立って多糖類を減圧下で加熱乾燥（水分の除去）し、場合によってはさらにその前に有機溶媒で抽出（脂質の除去）することにした。このような乾燥多糖をホストとして使用する限り、ゲストのキャリア溶媒としてメタノール以外に実用になるものを見出すことができなかったこと、およびメタノールを用いる限り、包接操作において水分が少しでも存在すると、常に包接阻害が起ることを報告^{1,2,4,5)}してきた。その結果、水分はこの種の包接においてはもっぱら阻害因子としてのみ働くという先入観が生じ、他の溶媒の場合にも水分は当然阻害作用だけを及ぼすものと錯覚した。ところがあるとき、未乾燥の澱粉を用いエタノールをキャリア溶媒としてBAの包接を試みたところ、意外にも乾燥澱粉を用いたときにくらべてかなり多量のBAを包接させることが見出されたので、すぐに速報⁶⁾をだした。それとともに、水は常に阻害因子であるという先入観をすてさり、メタノール以外の溶媒による包接の可能性について検討を開始した。以下に述べるのはその二、三の結果である。

3-1-2. 水の存在下におけるエタノールによるBAの包接 ホスト多糖として乾燥PSを用い、従来法でBAの包接を行うとき、キャリア溶媒としてメタノールだけが有効であり、水の存在は包接を阻害する効果だけしかなかった(Fig. 2A)。ところが、同一条件下でエタノールをキャリア溶媒として包接を行うと、無水エタノールではほとんど包接が起らないのに、含水エタノールでは包接が促進され、10~20%含水エタノールでかなり高い包接量（無水メタノールの約1/2）がえられた(Fig. 2B

□印)。また、ホスト多糖として未乾燥PS（水分含量17%）を用いると、無水エタノールでも高い包接量がえられ、5%含水エタノールで最高値（乾燥PS：無水メタノール系の約90%）を示した(Fig. 2B ■印)。このように、エタノールの場合には少量の水が存在すると、キャリア溶媒としてメタノールに匹敵するほど有効であり、とくに多糖類粒子中に最初から存在する水が有効であることがわかった。

3-1-3. BAエタノール溶液の濃度と包接量 ホスト多糖として未乾燥PS、キャリア溶媒として無水エタノール、ゲスト化合物としてBAを用いて従来法で錯体を調製する場合に、BAエタノール溶液の濃度と包接量との関係をしらべた。結果は、乾燥PSにメタノールを溶媒として用いた場合⁵⁾とほぼ同様であったが、最高包接量がやや低い（約90 mg/g）こと、およびBA濃度が高くてかなりの包接が起る（90% BAで約60, 100% BAで約30 mg/g）ことが異なっていた。このように、キャリア溶媒なし（100% BA）でさえも包接が行われるのは、未乾燥PSを使用しているため、澱粉中の水分がキャリア溶媒の役目を果たすためと思われる（3-4-3項参照）。

3-1-4. 水の存在下における各種溶媒によるBAの包接 エタノールをキャリア溶媒としたとき、水の存在が包接を促進することがわかったので、他の5種の有機溶媒についても水の存在の影響をしらべてみた。すなわち、ホスト多糖として乾燥PSおよび未乾燥PSを用い、従来法でBAの包接を行って包接量を比較した(Table 1)。メタノール以外はいずれも未乾燥PSのほうが包接

Table 1. Inclusion of BA into dried and undried potato starch with various organic solvents.

Solvent	Moisture content of solvent ($\mu\text{g/ml}$)	Included amount of BA (mg/g starch)	
		Dried	Undried
Methanol	462	116	86
Ethanol	2780	2	68
1-Propanol	700	0	28
Acetone	—	0	18
Acetonitrile	142	0	13
Chloroform	55	0	8
Ethyl ether	410	0	7

Method for preparation of complex: Fig. 1A.

量が増加していることがわかるが、ここで試験した溶媒のなかではエタノールほど顕著な増加を示すものは見当らなかった。

3-2. キャリヤ溶媒量の節約

3-2-1. はじめに 錯体の調製のために著者らが従来用いてきた方法は Fig. 1A に示すようなものであった。このようなプロセスのなかで、包接が実際に起るのは風乾操作においてであり、また風乾操作のなかでも、ある限られた時期においてであることがこれまでの研究で明らかとなった。すなわち、過剰の溶媒が揮散し、主として多糖類粒子の内部にだけ溶媒が残存する時期に共存するゲストの包接が開始され、以後、多糖類粒子内部の溶媒が出てゆくにつれて、あたかもそれと入れかえになるかのようにゲストが粒子内部へ浸入し、比較的短い時間 (40°C で 2~3 hr) の間に包接が終了することがわかったのである。このような事情が明らかとなれば、最初に過剰な溶媒を与えることは無意味であるばかりか、かえって風乾時間を長びかせ、溶媒やゲスト (とくに揮散性が大きい物質の場合) を無駄にするというマイナス効果を与えるものといわなければならないのである。そこで、最初から包接開始時に近い組成を与えてやれば、風乾時間を短縮し、溶媒使用量を節約しうるのであることが容易に推察される。これを実証するための実験を行ったので、以下にその結果を報告する。

3-2-2. ゲスト量を一定にして溶媒量を変化させたときの包接量 ゲストとして BA, 溶媒としてメタノール (ホスト: 乾燥 PS) およびエタノール (ホスト: 未乾燥 PS) を用いて、溶媒量以外は従来法に準じて包接を行い包接量を比較した。すなわち、乾燥または未乾燥

Fig. 3. Effect of amount of solvent upon inclusion of BA.

□, Dried PS, methanol; ■, undried PS, ethanol.

Fig. 4. Effect of amount of BA employed upon amount and rate of included BA.

PS 5 g (無水物として) に溶媒 1~5 ml を加えたのち、BA 1 g を加えてよく混合し (従来法では 10% BA 溶液 10 ml を加える)、以下従来法と同様にして錯体を調製した。結果は Fig. 3 のとおりであって、溶媒量は 2~3 ml ではほぼ十分であった。とくにエタノールの場合には 1 ml でも最高値の 80% が包接された。

ゲストとして *n*-酪酸 *n*-ブチルを用いた実験 (ホスト: 乾燥 PS, 溶媒: メタノール) でも、同様な結果がえられた。

3-2-3. 溶媒量を一定にしてゲスト量を変化させたと

Fig. 5. Inclusion of pentanal, hexanal, heptanal and octanal.

■, Original method (Fig. 1A); □, improved method (Fig. 1B).

きの包接量 PS 5g (無水物として) に対して, 溶媒としてメタノール (ホスト: 乾燥 PS) またはエタノール (ホスト: 未乾燥 PS) 3 ml, ゲストとして BA 0.5~2.0 g を用いて錯体を調製し, 包接量を測定し包接率を計算した. メタノールを用いたときの結果は Fig. 4 に示すとおりであり, BA 1g で最高包接量に達しているが, 包接率は BA 量が多いほど低下している. したがって, 実用上は包接量と包接率の両方を考慮して, 適当なゲスト使用量が決定されることになる. エタノールを用いた場合も, 包接量が全般に 20~30% 低下する以外は, ほとんど同様な結果がえられた.

3-3. 低沸点ゲストの包接量の増加

3-3-1. はじめに 従来法で錯体を調製すると, 比較的沸点の低いゲスト化合物では, 低い包接量しかえられないのが常であった. これは風乾の初期段階でゲスト化合物がキャリア溶媒とともに揮散してしまい, 実際に包接が開始される時期にゲスト化合物が残り少なくなってしまうことに一因があることがわかった. そこで, ゲストの量はそのままにして溶媒量だけをへらし, 実際の包接開始条件に近い状態を最初から与えてやれば, ゲストの量が肝心なときに不足する心配がないので, 包接量を増大させることができるであろうことが容易に推定される. このことを実証するために行った 2 つの実験の結果をつぎに述べる.

3-3-2. *n*-酪酸メチルの包接 ゲストとして *n*-酪

酸メチル (bp 102.3°C) を用い, つぎの 3 つの方法で包接を行った.

(1) 乾燥 PS 5g にエステル の 10% メタノール溶液 10 ml を用いる従来法. (2) 風乾開始 2 hr 後にさらにエステル 1 ml を追加する以外は (1) と同じ方法. (3) 乾燥 PS 5g に十分量のメタノールを加えて吸収させたのち, 汙過してえられるメタノールでよく湿った PS にエステル 1 ml を加え, 乳鉢中でよく混合し, 以後従来法と同じにする方法. これら 3 つの方法でえられた錯体の包接量は (1) 9, (2) 29, (3) 26 mg/g であった. このように, 風乾操作における実際の包接開始時にゲストが十分に存在すれば, 低沸点のゲストでも従来法よりはかなり多くの量を包接させることが実証された.

3-3-3. 脂肪酸アルデヒドの包接 鎖長の異なる 4 種の脂肪酸アルデヒドについて, 従来法 (10% メタノール溶液 10 ml) と改良法 (メタノール 3 ml + アルデヒド 1 g) とで, 包接量がどのように変わるかをしらべた (Fig. 5). 低沸点の C₅ アルデヒド (bp 103°C) および C₆ アルデヒド (bp 128°C) では, 改良法のほうが明らかに包接量が增大しており, とくに C₅ アルデヒドにおいてそれが顕著である. これに反して, 高沸点の C₇ (bp 152.8°C) および C₈ (bp 171°C) アルデヒドでは, 両法の間で包接量にほとんど差がない. C₈ アルデヒドの包接量が低いのは本質的なものであり, 長い鎖長による立体障害とメタノールへの溶解度の低下とが主原因であると推定される. 溶媒としてエタノールを用いた場合も, 包接量が全般に低いことを除いては全く同様な結果がえられた.

3-4. 風乾操作の必要性

従来法では錯体調製の全操作のなかで風乾操作がとくに重要であった. すなわち, ゲストの 10% メタノール溶液に乾燥 PS を単に浸漬しただけでは大きな包接量はえられなかった. 溶媒量の少ない改良法でも同様であるかどうかを知るために, つぎのような実験を行った.

3-4-1. メタノール含量の異なる PS への BA の包接 乾燥 PS 5g にメタノール 3~10 ml を加え, 密栓して 1 夜放置後 40°C で適当な時間風乾し, 種々の量のメタノールを含む PS を調製した. このような PS を 2 群に分けて異なった方法で包接を行い, 包接量を比較した. 第 1 群では, 種々の量のメタノールを含む PS に BA 1g を加えてよく混合し, 密栓して 40°C に 1 夜放置後, 風乾を行うことなくただちにヘキサンで洗浄して過剰の溶媒と非包接 BA を除去したのち減圧乾燥 (100°C, 2 hr) し, さらにヘキサンで Soxhlet 抽出してからふたたび

Fig. 6. Inclusion of BA into PS which contain various amount of methanol.

BA, 1g: (A) with air-drying procedure; (B) without air-drying procedure.

Fig. 7. Effect of amount of BA employed upon inclusion into PS with or without air-drying procedure.

Methanol content of PS, 1.5-1.6 g/5 g starch: (A) with air-drying; (B) without air-drying.

減圧乾燥して錯体Bを調製した。第2群では、メタノール含量の異なるPSにBA 1gを添加してよく混合し、密栓して40℃に1夜放置後、40℃で1夜風乾を行う操作をつけ加え、以後は第1群と同様にして錯体Aを調製した。このようにしてえられた錯体AおよびBのBA包接量を比較した結果がFig. 6に示してある。この図から明らかなように、PSが含んでいるメタノール量が少ないと、風乾の有無によらず同程度の包接量がえられ、風乾なしでも最高約50 mg/gの包接量がえられている。しかし、メタノール含量がそれより多くなると、風乾の有無による包接量は大きく開いてくる。すなわち、高い包接量をうるには、メタノール量のある程度十分としたうえで、風乾を行うことが必須であることがわかる。

同様な実験を未乾燥PS、エタノール、BAを用いた系でも行った。包接量が全般に低い点を除いては全く同じ傾向の結果がえられた（最高包接量は錯体Aが40、錯体Bが77 mg/gであった）。

3-4-2. 一定少量のメタノールを含むPSへのBA添加量の影響 乾燥PS 5g当りメタノール1.5~1.6gを含む試料を前項と同じ方法で調製し、これにBA 1~5gを加え、前項と同様にして錯体AおよびBを調製し、包接量を比較した結果がFig. 7に示してある。風乾なしの錯体Bでは、BA量に比例して包接量が増加しているが、BA量がこの範囲では最高50 mg/gであった。これに反して錯体Aでは、BA量1gですでにその約2

倍の最高包接量に達している。包接量がばらついているのは、PSのメタノール含量が厳密に同一でない*からであると思われる。この場合も、高い包接量をうるには、BA量を単に増加させるだけではあまり効果がなく、風乾操作（澱粉粒内のメタノールを徐々に追い出す操作）がより有効であることが明らかである。

3-4-3. 水を溶媒とするBAの包接 3-1-3項で述べたように、少なくともBAの場合には水をキャリア溶媒として使用しうる可能性があったので、3-4-1項の実験と同様なことを、メタノールの代りに水を用いて行った。この場合もFig. 6と同じ傾向の結果がえられ、最高包接量は風乾を行った錯体では60、風乾なしの錯体では20 mg/gであった。ただ、PS 5gに対して水が2g以上になると、風乾操作を行っても水量の増加とともに包接量が急激に低下し、水量が6gでは包接量がわずか6 mg/gに落ちてしまった点が、メタノール使用の場合と異なっていた。しかし、少なくともBAの場合には有機溶媒を使用しないでも、風乾操作によってかなりの量のBAを包接させることが明らかになった。BAの水に対する溶解度は40℃で0.8%程度である。PS 5gに

* 乾燥PS 5gを含むフラスコを多数準備し、おのにおに過剰のメタノールを加えてから風乾によって蒸発させてメタノール量を調節しているためである（メタノール含量が低い場合、各粒の含量が不均一になることをおそれてこのような方法をとった）。

対し約 2 g の水量で最大包接量 (60 mg/g) がえられているが、この 2 g の水が全部澱粉粒内にあると仮定しても、そのなかに溶解しうる BA 量はせいぜい 16 mg 程度であるから、PS 粒内の水に BA が単にとけ込むだけでは 60 mg/g という包接量を説明することはできない。すなわち、PS 粒内に BA を捕捉する機構が存在することになる。最もふつうに考えられる機構は、ヘリックス構造の澱粉分子鎖 (アミロースおよびアミロペクチンの末端鎖) への BA のとり込みである。このような捕捉が行われるならば、粒内の水中の BA 濃度は減少し、粒外から新しい BA を溶解することができるようになるであろう。しかし、このような機構だけで全部を説明しうるかどうか疑問が残る。すなわち、(1) このような機構が風乾操作によって促進される理由、(2) 澱粉粒中に天然に存在するヘリックス鎖の量と粒中での新たなヘリックス形成の可否などについて明らかにしなければならないからであるが、今回はこれ以上ふれないでおきたい。要するに、著者らが取扱っている種類の錯体の生成機構は、著者らが最初考えたほど単純なものではなさそうであるといえよう。

4. 要 約

天然の多糖類粒子内に種々の有機化合物を包接させるためにこれまで使用してきた方法の改良についておもに述べてある。

(1) 従来はもっぱら、絶乾多糖、メタノール、ゲスト化合物からなる系で包接錯体を調製してきたが、この場合には、水の存在は常に包接を阻害し、また、メタノールの代りに無水エタノールを用いると、ほとんど包接が起らなかった。ところが、多糖、エタノール、ゲスト化合物からなる系では、少量の水の存在が包接を著しく促進し、エタノールも溶媒として使用しうることがわかつ

た。この場合、エタノール中の水よりも多糖粒子中の水が、とくに有効であることが見出された。

(2) 従来は溶媒がかなり過剰に存在する状態で風乾を開始したが、実際の包接開始時の状態が解明された (既報) ことに基ついて、溶媒量を約 1/3 にへらすことにより、溶媒の節約、風乾時間の短縮、比較的沸点が低いゲストの包接量増加が、可能であることが実証された。

(3) 密べいした状態で多糖、溶媒、ゲストの 3 者を接触させておいても、高い包接量は決してえられなかった。この種の包接において大きな包接量をうるには、従来から行ってきた風乾という操作 (ゲストの存在下で多糖粒子内から溶媒を徐々に取除く操作) が、必須であることが改めて確認された。

(4) 少なくともゲストがベンズアルデヒドの場合には、有機溶媒を全く使用せずに水だけで、かなりの量 (約 60 mg/g) がジャガイモ澱粉に包接された。これは澱粉粒内の水に溶解しうるベンズアルデヒドの量よりも、ずっと大きい量であった。

本研究は昭和55および56年度文部省科学研究費補助金 (一般研究) の交付を受けて行われたものである。

文 献

- 1) 鈴木晴男, 秋元秀司, 鴨川 俊: 澱粉科学, **24**, 112 (1977).
- 2) 鈴木晴男, 磯 圭子: 澱粉科学, **27**, 16 (1980).
- 3) 鈴木晴男, 田口信夫: 旭硝子工技, **36**, 311 (1980).
- 4) 鈴木晴男, 長井 久: 旭硝子工技, **38**, 263 (1981).
- 5) 鈴木晴男, 天海 弘, 荻野秀一: 澱粉科学, **28**, 245 (1981).
- 6) H. SUZUKI, H. AMAKAI and H. OGINO: *Bull. Sci. Eng. Res. Lab., Waseda Univ.*, **92**, 116 (1980).