

身近な教材を用いた生物工学実験（２）
ーお茶およびコーヒー中のカフェインの抽出と同定ー

遠藤俊二*・岩波俊介**・清水祐一***・笹村泰昭****

Bioengineering Experiment using Familiar Samples (2)
-Extraction and Isolation of Caffeine from Tea and Coffee-

Shunji ENDO , Shunsuke IWANAMI , Yuichi SHIMIZU and Yasuaki SASAMURA

要 旨

「生物化学コース」四年生の生物工学実験テーマとして、身近なお茶とコーヒーを取り上げた。日頃お湯にて抽出した液を口にしているが、実験ではその水層からクロロホルムにて抽出、さらに精製は昇華法によってカフェインを得ることを試みた。薄層クロマトグラフィー、IRスペクトル測定、融点測定などの結果から両試料から得られた白色結晶が同一の物質カフェインであることを確認することが出来た。

Abstract

Tea and coffee were taken up by using familiar samples for students. Although the liquid daily extracted with hot water will be drunk, in the experiment, the sublimating method was further tried for chloroform for refining as an extraction solvent of the purpose ingredient from the water layer. The white crystal obtained from both samples was the same substance caffeine from results, such as thin layer chromatography, IR specutrum measurement and melting point measurement.

1 はじめに

本校の工業化学が物質工学科に改組され生物化学コースのための実験テーマを取り上げている。本校ならではの身近な教材、実験内容を吟味し、学生が興味深く取り組むように工夫している。本報では、前報¹⁾に引き続き身近な教材として茶とコーヒーを取り上げ、共通に含まれているカフェインの抽出と精製、確認することをテーマとした。身近な天然物を試料とし、抽出、昇華によって得られた白色結晶が全く同じ物質カフェインであることを確認することを目的とした。分析は、薄層クロマトグラフィーによる目的成分の追跡、融点およびIRスペクトルの測定などの方法によった。毎日飲んでいるお茶とコーヒー中に共通に含まれている物質の抽出、日常の生活に極々あたりまえ

に存在する試料を教材とすることで化学の実験を身近なものへと引き寄せることが出来ると考えた。

本実験での天然物中の微量成分の抽出と確認は、座学での有機化学、生化学でのアルカロイドの学習を補足することの狙いもある。

2 実験のための操作条件の検討と結果

カフェインC₈H₁₀N₄Oは、分子量194、融点238℃、178℃で昇華する白色結晶で、ジクロロメタン、クロロホルムには良く溶け、水への溶解度は22mg／ml (25℃)、180mg／ml (80℃)、670mg／ml (100℃) とあり再結晶に適するとある²⁾。

本校の実験機材等を考慮した学生実験としての操作条件を検討した。

2ー1 カフェインの抽出

お茶からのカフェイン抽出は丸山³⁾の操作に準じた。抽出液中には目的物質であるカフェイン以外の物質としてタンニン、アミノ酸、還元糖など⁴⁾が含まれているので水相とクロロホルム相の分離

*	技官	技術専門職員	物質工学科
**	助教授	物質工学科	
***	教授	物質工学科	
****	教授	物質工学科	

は速やかではない。分液ロートでの分離には時間を要した。従って抽出液層への水分の移行が必至で無視出来ない。それらを同時に除去する目的の操作方法として、乾式のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。この方法はシリカゲルの量、つめ方に個人差があり、出口の脱脂綿をしっかり詰め過ぎると溶媒が流れないことがあったり、逆に緩やか過ぎるとシリカゲルが溶媒とともに漏れてくる。シリカゲルが多いと目的成分がシリカゲルに吸着したまま展開を止めてしまう場合もあるので、溶媒のメタノール量を多くした。

コーヒーからの抽出については山本⁵⁾の操作方法に準じた。

2-2 薄層クロマトグラフィーによる カフェインの検出

抽出液はロータリ・エバポレーターで濃縮し、薄層クロマトグラフィーにてカフェインの検出、定性を行う。薄層用シートはMERCK社製蛍光検出用 (Kieselgel 60 F₂₅₄, Art.5554) を使用、展開溶媒には、メタノール：酢酸エチル (1 : 9) を用いた。検出は、Ultraviolet Transilluminator (Upland CA製MODEL NIM-10) を使用した。結果の一例を図-1に示した。スポットは左から試薬のカフェイン、お茶およびコーヒーから抽出された粗カフェインの順であり、R_f 値は0.44で一致した。即ち、お茶・コーヒー両者から抽出された成分の中にカフェインと保持比が一致する物質が含まれていることが確認できた。

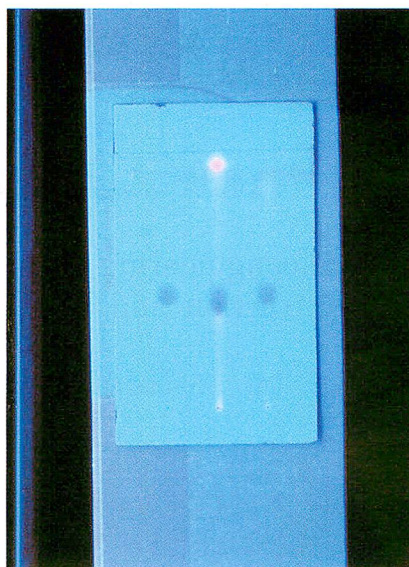


図-1 抽出物の薄層クロマトグラム

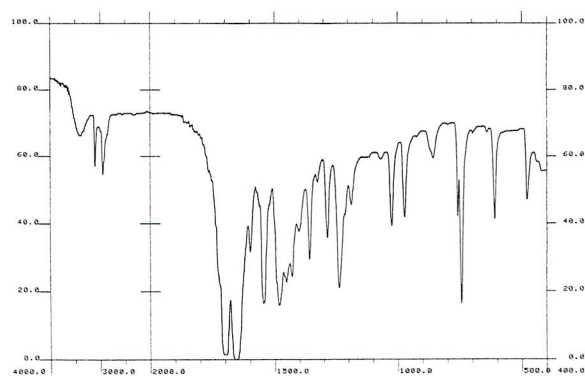


図-2 カフェイン (試薬) のIRスペクトル

2-3 IRスペクトルの測定による同定

粗カフェインのスペクトルを測定しクロロホルム抽出にて得られた物質の化学構造がカフェインであることの可能性を推測する。試薬カフェインのIRスペクトルを図-2に、また実験で得られた粗カフェインのIRスペクトルを図-3に示した。それぞれの吸収の帰属の学習は本実験の中では要求していない。得られた物質のスペクトルが、試薬のカフェインのスペクトルとほぼ一致した。

2-4 昇華による精製

2-1で得られる粗カフェインは少量であるため水からの再結晶は難しかった。そこで精製の方法として昇華法⁶⁾を用いた。昇華の操作は学生にとって初めての経験でもある。昇華装置として容積10ccのるつぼと径2cmの小シャーレを用いた。

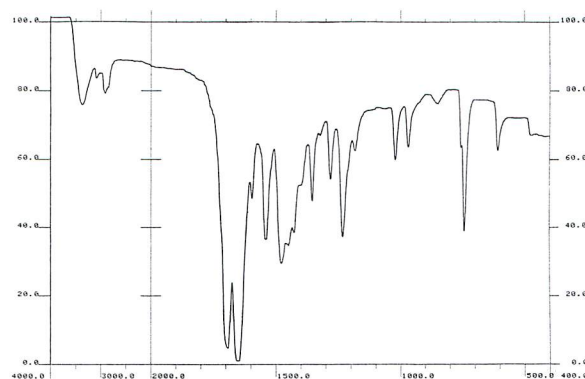


図-3 粗カフェイン(お茶から抽出)のIRスペクトル

シャーレとロートをかぶせる方法でも可能であった。(図-4)

2-5 融点測定による同定

融点測定は微量融点測定装置(柳本製MODEL MP-J3)を用い、昇華で得られた白い結晶を試料とした。

以上の様な操作手順をまとめると次のようになり、そのフローシートを図-5 および図-6 に示した。併せて、実験の結果を表-1 に示した。

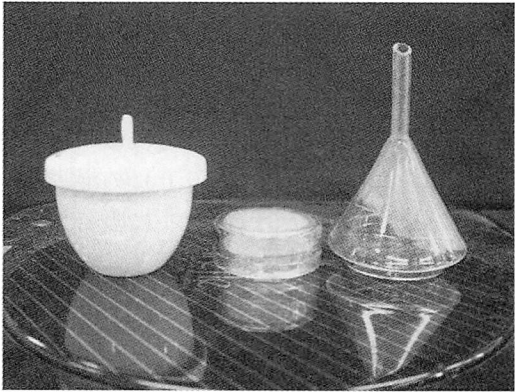


図-4 昇華装置

お茶からのカフェイン抽出

- 1 お茶の葉(5.0g)を100ml三角フラスコに秤り取る。
- 2 熱湯(80℃,60ml)を加え3分間浸とうする。
- 3 浸とう液を濾紙を用いて固形物を取り除き別の三角フラスコに移す。
さらに熱湯(20ml)にて洗い流す。
- 4 食塩を入れ完全に溶けるように振る。
- 5 冷却後、分液ロートを用いクロロホルム10mlにて2回抽出する。
- 6 抽出液を予め準備したシリカゲル(5g)を詰めたカラムに通す。
- 7 さらにこのカラムを1%メタノール/クロロホルム10mlにて溶出する。
- 8 溶出液層を合わせロータリ・エバポレーターにて溶媒を留去する。

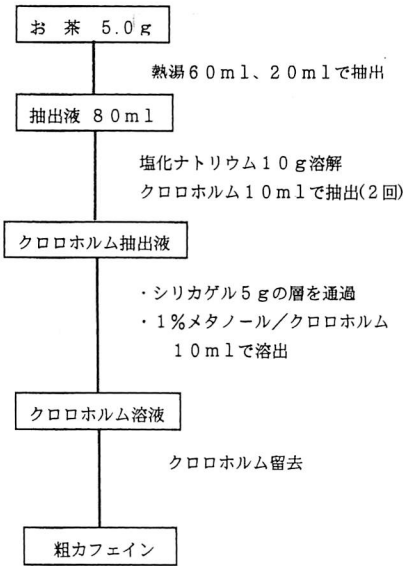


図-5 お茶からのカフェインの抽出

コーヒーからのカフェイン抽出

- 1 コーヒー(20.0g)を300mlビーカーに秤り取る
- 2 水100mlを加え15分間煮沸する。
- 3 ミョウバン飽和溶液30mlを入れ熱いうちに市販のコーヒフィルター、次いで濾紙で濾過する。
- 4 濾液に水酸化ナトリウムを3粒加える。
- 5 濾液を放冷後、分液ロートに移す。
- 6 クロロホルム20mlで2回抽出する。
- 7 着色が著しい場合には、抽出液に活性炭を加え脱色する。
- 8 無水硫酸ナトリウムを加え乾燥し濃縮する。

表-1 学生実験の結果

班	お茶		コーヒー	
	含有量(%)	融点(℃)	含有量(%)	融点(℃)
1	0.73	221~224	1.05	226~231
2	0.20	210~225	0.70	225~229
3	0.09	237~239	1.00	228~231
4	0.40	230~234	0.73	233~237
5	0.80	231~235	0.45	220~223
6	5.80	232~234	0.81	220~234
7	3.20	225~230	1.10	231~234
8	1.00	229~232	0.79	218~226

濃縮して得られた結晶を粗カフェインと称することとした。本学生実験は2人1組8班16人を対象としている。得られた粗カフェインの量にばらつきがある。考えられる原因として、多い班にはシリカゲル（ワコーゲルC-300）の混入が、少ない班はカラムの中のシリカゲルに吸着し目的物が流出しきれなかったものと推察される。

融点が文献値と比較し少し低いが、薄層クロマトグラフィー、IRスペクトルデータから、抽出物がカフェインであることを確認出来たと受け止めた。

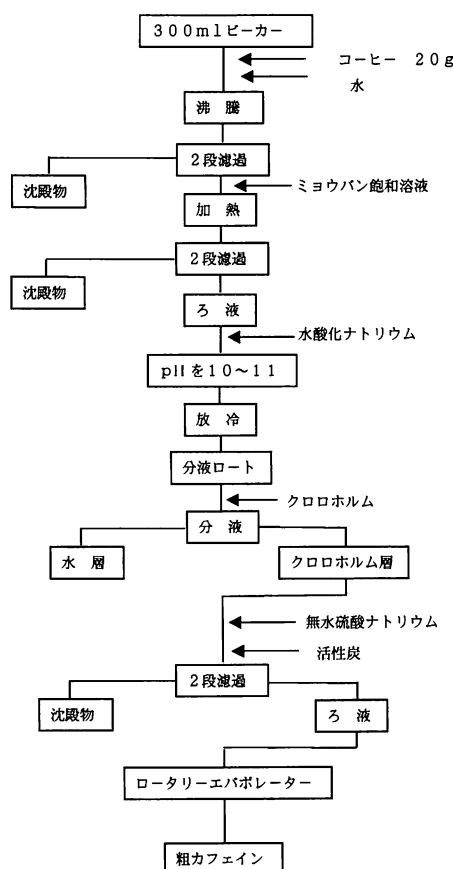


図-6 コーヒーからのカフェイン抽出

成分に接するための追跡操作としての定性試験、薄層クロマトグラフィーを経験させることが出来た。その後の卒業研究に利用の機会を期待したい。時間的に可能であればカラムクロマトグラフィーによる分画を経験させたい。

③実際のIRスペクトルの解析は二年生の有機化学実験で一部の学生はアセトアニリドで経験しているが充分ではない。今回それを補足出来たが、帰属の解析は「応用有機化学」「機器分析」の授業に譲ることにした。

④有機化学・生化学ではアルカロイドを勉強する機会がないので この実験を通じて学習することになる。プリン環に親しめたと受け止めている。

以上身近なお茶、コーヒーを教材とした天然物化合物を扱ったテーマとして有意義な実験であった。

参考文献

- 1) 笹村・遠藤・岩波・清水, 本校紀要, 第37号, p.109-113(2002)
- 2) 日本化学会編「実験で学ぶ化学の世界3」丸善, p.102-104(1996)
- 3) 丸山雅雄, 化学と教育, 39, p.38-39(1991)
- 4) 山西貞著「お茶の科学」裳華房, p.148(1997)
- 5) 山本勝博, 化学と教育, 44, p.335-336(1996)
- 6) 広部千恵子, 功刀章, 田部井克巳, 化学と教育, 41, p.470-473(1993)

(平成14年11月29日受理)

3 まとめ

- ①お茶の中とコーヒーの中から抽出された物質が同一物質であり、プリン環を持つアルカロイドカフェインであることを融点測定、赤外吸収スペクトル測定、薄層クロマトグラフィーによって確認できた。
- ②天然物を扱う場合の薬効を示す物質などの微量