

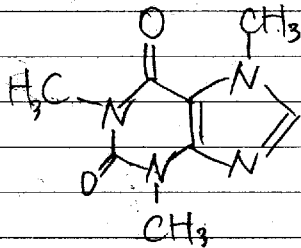
[実験日] C-1: 4月28日 C-2: 4月23日

[学籍番号] 18111122 [実馬験者] 藤原 弘道

[共同実験者] 藤田 恵, 藤田 悠介

< C-1 糸エ茶ポリカフェインの単離 >

1 目的物の構造と分子量



分子量: 194.19 g/mol
(参考文献 ①)

4-1 カフェイン

2. 緒言

今回 糸エ茶ポリカフェインの単離を行うにあたり、一般的には糸エ茶葉中に含有されるカフェインの量を調べ、また実際に示された成分表と比較し、実馬験の精確さについて考察することを目的とし、これにより分析糸エ茶の手順や精確に目的物を得るためにはどのようにしたらいいかを糸エ茶単離することにより意義がある。

3. 実験方法と実験結果

- ① 100 ml の熱湯中で糸エ茶ティーバッグ4袋を15分浸漬した。
- ② 先のティーバッグ4袋を繰り返し使い、40 ml 熱湯中で2回浸漬し、すべてを300 ml ビーカー中に合わせ、スプーンでティーバッグをこぼした。
- ③ これに硫酸アルミニウムカリウム 12 水塩 5.000 g を加えると、下には溶液の赤色が強くなり、これが溶けるまで30秒ほど攪拌し、溶解したのを攪拌をやめると褐色泥殿が生成した。3分間放置すると、さらに褐色泥殿は増加していた。
- ④ 1 M 水酸化トリウム溶液を加えると褐色泥殿が生じ、その後攪拌し合計 8 ml 加えると、みそ汁のように泥殿と溶液が二分され、5分放置すると二層に分かれた。このとき生臭と糸エ茶の臭いが混じったにおいだった。
- ⑤ 泥殿をろ去し、ろ液を得た。
- ⑥ ろ液にかき混ぜながら 1 M 水酸化トリウム水溶液を少量ずつ

加えたところ、発熱は感じられず、臭いは紅茶由来のものがし、黄色い沈殿が生じはじめ、25mL加えたところで溶液が曇り透明に近づいてきた。さらに加え合計32.1mL加えると黒色溶液となった。このとき室温まで冷却して冷えていた。

⑦ 酢酸エチル30mLを用いて抽出を2回行った。1回目の抽出操作で、酢酸エチル層(上層)と黒色溶液層(下層)の間に深緑色の染のよりのものが生じていたが、これも下層のものと判断し透明な上層のみを得た。また、2回目も同様のことか繰り返して透明な上層のみを得た。1回目、2回目のそれぞれの上層は別々に保存した。

⑧ ⑦の2つの上層をシリカゲル薄層クロマトグラフィー(展開溶媒 クロロホルム:エタノール = 9/1 (V/V))を用いて調べた。紫外光(254nm)を用いて検出すると(図1)。シリカゲルは黄色蛍光、試料は2つとも灰色だった。

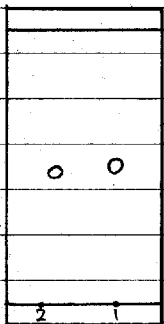


表1 Rfとb値 (a=39.0mm)

試料	b[mm]	Rf
1回目	19.8	0.508
2回目	19.0	0.487

図1

⑨ 1回目、2回目抽出で得た酢酸エチル層を1つに混合し、無水硫酸マグネシウムを少量ずつ加えた。ほんの少量加えたときは白色結晶の大きな粒が溶器の底にこびりついて溶けない様子であったので、さらに加え続け、白色結晶が小粒の砂のようにさらさらとすまじで加えた。すると合計3g加えていた。

⑩ 15分間ときどき振り混ぜながら放置した。

⑪ 乾漏斗に軽く綿栓をしてその上に0.5cm程度の無水硫酸マグネシウムの層をくっつけたものに⑩を3通り、100mLナスフラスコに入れた。

⑫ さらに0.9mLの酢酸エチルを酢酸エチル層の入っていた三角フラスコに入れ、振り混ぜたのち、先の漏斗を用いてナスフラスコに加えた。

⑬ 蒸留装置にオリゴ液を留去すが、アステレーターの個数が足りたため巻に30分程放置した。

⑭ アステレーターでかなり弱く減圧しながら、常温の状態から加熱しはじめた。リービッヒ冷却器で冷却された蒸気はその先につながらずにもう1つの100mLナスフラスコに注がれまうに「あていさか」

3液が76℃にたつたところで沸騰しはじめ、さらに加熱を続けると、88℃にたつたとき、ついでにチューブのガラス管に油状物がこぼれ始めた。このとき、かなり速いペース（1秒に2滴のペース）で油状物がこぼれはじめ、94℃まで上昇した際に蒸留が停止した。

このとき、黄白色の固体物がガラス管の壁面に析出していた。

(15) ここで蒸留装置を室温まで冷却するのを待たずに片付け（まったため、結晶が溶け出してしまった。2ATのため、もう一度アステレーターで引きながら室温まで冷却した。すると、黄白色の結晶がほとんど1/2の量に析出し、乾燥しているように見えた。また、この結晶は、白い部分とあざやかな黄色（レモン色）としている部分があり、一定の色をいえるわけではなかった。これをカサインの粗結晶と呼ぶことにした。

(16) ガラス管を秤量すると、0.0219g であり、前もって秤量した容器の質量を引くと、カサインの粗結晶は 0.0386g 析出した。このことがわかった。この一部を融点測定用に使うことにした。

(17) 熱湯にガラス管を浸し、エタールを少量から加えて溶解させると、0.90mL 用いたところ、少し黄色の透明溶液と化した。これは、粗製カサイン由来の紅茶の葉に由来するエタール

に由来するものと推定した。

(18) 糸玉を通してこのエタール溶液を吸い上げて、小試験管に移すと、すぐさまレモン色の結晶が析出しはじめ、このまま室温まで放置した。

(19) 試験管内はクリーム色と化していた。さらにこれを氷冷し吸引した。

(20) 完全に静置していたが、結晶は糸玉の柱のようになった固体で、クリーム色（黄白色）を呈していた。これはまた、黄色と白色の結晶の色が強い所縁と23

結晶があった。これを精製結晶と呼ぶことにした。

(21) 一旦以上風乾させ、収量を計ると、0.0072g があった。また融点を測定した（表2）。

表2 融点

試料	融点 [°C]
粗製結晶	223.0 ~ 227.4
精製結晶 (黄白色)	223.0 ~ 225.2
精製結晶 (白色)	229.0 ~ 230.5

4. 考察

4.1 ② 褐色沈殿

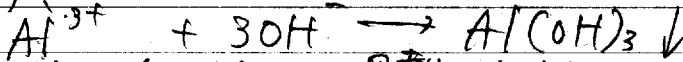
タニンを除去するために、重金属塩である酢酸亜鉛アルミニウムカリウムに水と加えた。重金属塩中でタニンは不溶のため、沈殿したのである。

4.2 ④ 褐色沈殿

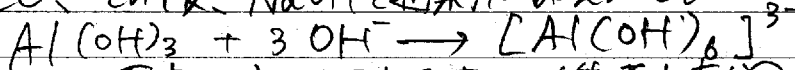
③でも褐色沈殿が生じたが、NaOHを加えるとさらに沈殿が生じた。このように、タニンの沈殿をさらに熱成させるために加えたものがある。

4.3 ⑥

アルミニウム塩の含有は水溶液中でNaOHを加えることにより、



とし、その後、NaOHを過剰に加えることにより



とまで反応を進めるためである。(参考文献②)

このようにすることにより、アルミニウム塩を水溶液中に除去する次の実験操作の準備としたのである。

4.4 ⑦ 抽出操作

今、この系には水分、カゼイン、 $[\text{Al}(\text{OH})_6]^{3-}$ と他の不純物が混在している(四訂日本食品標準成分表より)。ここで、酢酸亜鉛を加えるとき、水分による水層には $[\text{Al}(\text{OH})_6]^{3-}$ 、他の不純物が溶け込む。油層にはカゼインと水分の一部がとけ込む。水分の一部が溶け込むのは、油層の酢酸亜鉛はカルボニル基を有するため、水との水素結合により水分子が油層に少量溶け込むためである。これを2回繰り返すことにより、分離能を高め、抽出を行うことが出来る。

ところで、油層と水層との間に発生した深緑色の泡であるが、これは、四訂日本食品標準成分表によれば、水分、カゼイン、タニンを除いても他の成分に0.45%もの不純物が存在するといわれる。この不純物とはカゼインや $[\text{Al}(\text{OH})_6]^{3-}$ が酢酸亜鉛との反応により深緑色を呈したと考えられる。その理由は、酢酸亜鉛を加える前は、このような深緑色の泡は生じなかった。したがって、酢酸亜鉛がこの反応に必ず関与していると言える。この反応が載っている資料は深緑色が、得たのはこのあたりである。

4.5 ⑧ 薄層クロマトグラフィー

Rf値を比べると1回目の方が2回目より大きなRf値をとり、したがって、分離能は2回目の方が高いことから、不純物はほとんどないと言える。これは、タニンを除去してしまっただけの場合、タニンは複雑な芳香族環を持つ物質の集合体であるから、カゼインとは別の

灰色の点が表出はすいである。4.6から芳香族環をこのような不純物は除去できたと考えられる。このため、RF値の大小はシリカゲル表面の凸凹などによるものと考えよ。このとき、2つの点は同一物質由来のものと考えられ、ときにカフェインであるはずである。

4.6⑨

無水硫酸マグネシウムにより微量混在する水分子の除去ができる。

4.7(14) 蒸留

酢酸エチルの沸点は 77.1°C であるため、それに近づいたとき、沸騰はじめる。そこで計測している温度は湯浴に与りつけられたものである。決して酢酸エチルのそれと等しいわけではないが、 88°C 以上の湯浴中に酢酸エチルは液体に戻りやすくなり、冷却器まで戻りやすくなるようである。

4.8(15) 粗製結晶

粗製結晶は理想である無色、無臭の針状結晶とはかけ離れたものである。これはやはり前記した 0.45% の不純物の影響によるものと考えられる。薄層クロマトグラフィーで検出されたのは、芳香族環をもつため、酢酸エチルに易溶であるが十分説明できず、さらに沸点が 94°C より大きければ粗製結晶中に含まれているか不思議ではない。臭いがあることから、不純物が含まれていることは間違いない。

4.9(20) 精製結晶の外観について

エタノールには再結晶でも、この不純物は除去できないと示唆している。

4.10(21) 収量・収率

理論収量を計算すると、四訂日本食品標準成分表と、今回使用したティーバックは紅茶 9g に相当するから、カフェインの理論収量は、

$$\frac{9}{2.5} \times \left(\frac{2.7 + 0.05}{100} \right) = 0.099 \text{ g}$$

である。実際には、 0.0072 g であった。

$$\frac{0.0072}{0.099} \times 100 \approx 7.27 \approx 7.3\%$$

うち、不純物が含まれるので、カフェインは実際にはもっと少ないということになる。このために収率が悪いのは、まず、茶葉にカフェインがまだ残っている場合や、ティーバック自体の個体差がある場合が考えられる他に、水層も微量溶であるため、収率は下がると考えられる。

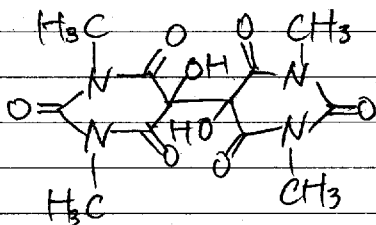
4.11 ② 融点

粗製結晶が223.0~227.4℃と理論値235~238℃より低く、幅が広いに反し、精製結晶(黄白色)、精製結晶(白色)の順に融点は理論値に近く、こうに幅が狭くなるという。このことからわかることは、順に不純物が少なくなっているといえる。

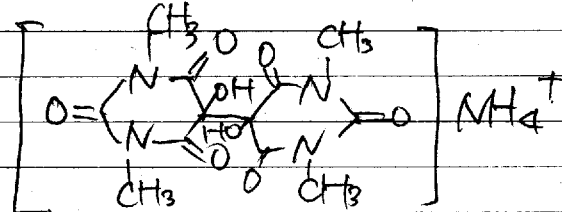
5. 問題の解答

1. 通常、カフェインはカフェイン-水和物として存在している。
 ため、解凍状態のある結晶体から、乾燥空気中^{この}で無水カフェインとすれば、無色柱状結晶となる。このために、金針が結晶の状態は失われる。(参考文献③)

2. ムルキッド反応が起こっている。カフェインは酸化によりアマリニ酸(黄赤色)を生じ、次にアミノ基が酸化されてアマリニ酸がアミノ塩となりムルキニン(赤紫色)を生じる。



アマリニ酸



ムルキニン

(参考文献①)

6 参考文献

- ① 化学大辞典 第6刷 2001.6.1 発行 東京化学同人
- ② 化学選書 金属体化学 2000.2.20 改訂第5版 吉川広一 徳華房
- ③ 化学辞典 1981.3.9 第1版 第1刷 森北出版 森北肇

黄色溶液が橙赤色へと変化してきた。その後さらに加熱を続けると3分で沈殿が生じ始め、溶液は再び黄色となり、この沈殿はセルロースの粉末のように白色沈殿であった。5分後、さらに沈殿が生じ続け、小試験管中の溶液部分が(手のわすか)になり、固体が上昇し、小試験管下部に空間が生じた。この後、特に変化はなかったが、合計20分間加熱を続けた。

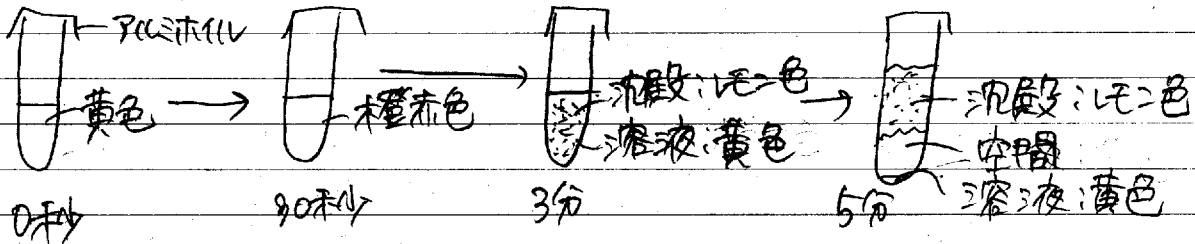


図1 ②の変化

③ 室温まで冷却すると、沈殿が試験管下部へと下がってきた。その後氷水冷した。

④ 吸引3回ほど、結晶は粘土のような質感の黄色沈殿であり、溶液は橙赤色であった。3紙上の結晶に氷を加えて水洗した。

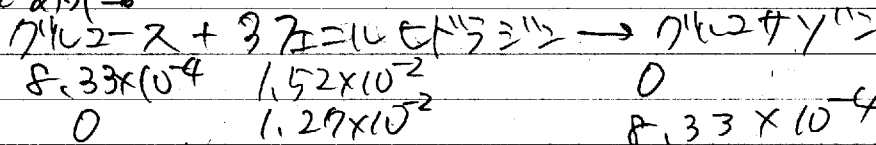
⑤ この粗製グリコサリンを沸騰石を入れた100mLフラスコに入れ、エタノール10mLを加えたが溶ける様子はなかった。

⑥ 2Lに4-セルシ冷却管を付け沸騰水浴に浸し、加熱した。攪拌したか、溶ける様子はなかったため、さらにエタノール少量を加え、2g、2mLを加えたが、加熱によりエタノールが気化しているように感じた(注)ので、セルシ冷却管に水を通し始めた。さらにエタノールを加え、合計43.7mL加えたところ、完全に溶解した。(注: 4-セルシ冷却管からエタノール臭がする白いけりが出ていた。)

⑦ 綿玉を通してパステルフィルターで吸い上げ、別の50mL三角フラスコに移した。

⑧ 三角フラスコを静置し室温まで放冷すると、黄色結晶が生成し始めた。さらに8分間氷水冷却すると、黄色結晶は沈殿し、溶液は白色の二層に分かれた。

⑨ 吸引3回し結晶を得ると、黄色結晶を得た。1日以上風乾し、重量を測ると0.0586g、融点は202.5~203.2℃であった。



$$\text{おと収率は } 0.0586 / (8.33 \times 10^{-4} \times 358.31) = 19.7\%$$

4 考察

4.1 ① 反応しなかった点
この反応は加熱を要するため、反応は進行しなかった(参考文献②)。

4.2 ② 粗結晶の生成
黄色溶液が橙赤色へと変化した理由は、グリコールフェニルエトドラジンが生成したためと考えられる(参考文献①)。これは2当量のフェニルエトドラジンが反応することでグリコサミンが生成する。このためにエトドラジンは減少し、赤橙色が消失し、無色溶液となったのである。

空間が生じたのは、水分子が蒸発し、また発生したNH₃が溶解することが出来ずに気体となりそのガスによる空間である。

少量減った溶液は、フェニルエトドラジン(アニリン)と考えられる。これは、融点が沸騰水溶液よりも高いためである(参考文献①)。

4.3 ③ 冷却後④ 吸引ろ過
吸引ろ過を行い、粗結晶を得たが、この溶液が濃い橙赤色を呈している。つまり、グリコールフェニルエトドラジンが溶解減っていることを示唆している。つまり、これは参考文献②中のp.1170にあるように、エトドラジンからグリコサミンへは完全に反応が進行するわけではない。また、p.816にあるように、この反応は平衡反応である。したがって、グリコールフェニルエトドラジンがこの溶液に含まれていることは不自然ではない。

4.4 ⑥ エタノール量
観察結果にあるように、エタノールは気体していたと考えられる。

4.5 ⑧
溶液の様子を見ると、無色の溶液であることから、粗結晶にはフェニルエトドラジンが含まれていたことがわかる。

4.5 ⑨ 収率、融点
収率はかなり低いのは、アンモニア、水分は系から除去しながら反応を進めようとしたため、このような結果となった。これはやはり再結晶のエタノール量であろう。蒸留液が上手に行きわたらなかつたために、過剰にエタノールを加えてしまい、グリコサミンを3溶液に残してしまった。

融点の理論値は、208°Cとである。このように、結晶を生成させたが、融点の幅が大きいことで分離しやすくなっている。実際には202.5 ~ 203.2°Cと、とても幅が狭く理論に近づいていると言える。しかし、208°Cより低い値をとったのは不純物による融点降下が考えられる。

5 問題の解答

1. グルコースフェルクトロース

2. グルコースとマンノースは互いにα-糖素上の系色対配糖置けが異なるとC²の関係にある。よって、α-OH基は酸化を受けC=N系結合が形成し立体化学が失われるので生成物は同一のオキシムを与える。

6. 参考文献

① 化学大辞典 2001. 6. 1 第6刷 東京化学同人

② 杉山伸一 現代有機化学(下) 2007. 9. 20 第5刷 化学同人