

# 身のまわりのものから取り出せる結晶性物質に関する教材開発(2)

-食品に含まれる有機化合物をテーマとして-

\* 笠井 香代子・\*\* 橋本 樹・\*\*\* 小原 典紘・\*\* 渡辺 聡

Development of Teaching Material of Crystal Substances Extracted from Commodities (II)  
-Focusing on Organic Compounds in Foods -

KASAI Kayoko, HASHIMOTO Itsuki, OBARA Norihiro and WATANABE Satoshi

## 要 旨

食品に含まれる有機化合物を結晶として取り出せる教材として、タウリンと酒石酸の教材化を行った。タウリンは健康飲料やかつお節から双性イオンの柱状結晶として、酒石酸はレーズンから酒石酸カルシウム四水和物のプリズム状結晶として簡便に取り出すことに成功した。

**Key words :** 結晶 (Crystal)

教材 (Teaching Material)

タウリン (Taurine)

酒石酸 (Tartaric acid)

X線結晶構造解析 (X-ray Crystallography)

## 1. はじめに

結晶に関する学習は、小学校5年生での食塩やミョウバンなどの身近な結晶の溶解・生成・観察などから始まり<sup>1)</sup>、中学校や高等学校では、純物質を混合物から分離する際の再結晶や昇華といった実験方法が取り上げられている。さらに高等学校では、体心立方格子・面心立方格子・六方最密構造といった結晶構造や、化学結合の種類により分類されるイオン結晶・分子結晶・共有結合の結晶・金属結晶などの種々の結晶が扱われている<sup>2), 3)</sup>。このように、結晶についての学習が長期にわたり行われていることから、結晶の理解は重要なものと言える。

結晶の学習が食品に関わる物質から始まることから、食品に含まれる結晶性物質は、児童生徒の興味

関心を引きつける魅力的な教材である。食品から物質を単離して結晶化までを行う教材としては、もやしのアスパラギン<sup>4)</sup>や、コンブのL-グルタミン酸<sup>5)</sup>などがある。本研究では、児童生徒が興味関心を抱きやすい身近な食品から抽出および分離が可能な結晶性物質として、タウリン  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$  と酒石酸カルシウム  $(\text{CH}(\text{OH})\text{COO})_2\text{Ca}$  の教材化を検討した。

## 2. タウリンの教材化

### 2-1 タウリンについて<sup>6)-8)</sup>

タウリンは1827年に牛の胆汁中から発見された硫黄を含むアミノ酸類似物であり、含硫アミノ酸の1つとして扱われることもある。動物組織に広く分布し、魚介類に高濃度で存在している。特に二枚貝類、イカ、

\* 宮城教育大学理科教育講座

\*\* 宮城教育大学大学院修士課程教科教育専攻理科教育専修

\*\*\* 宮城教育大学教育学部中等教育教員養成課程理科教育専攻 (現 仙台市立大沢中学校)

タコなどの軟体動物に多く含まれている。タウリンの結晶は柱状結晶であり、水に易溶、エタノール、エーテルなどの有機溶媒に不溶で、強酸性イオン交換樹脂に吸着しないという性質がある。

タウリンはタンパク質やペプチドの構成アミノ酸ではなく、タウリン単体で体内に存在している。タウリンの体内での作用メカニズムはいまだに十分に解明されていないが、主に浸透圧調節物質として働き、恒常性維持の作用をしており、脳発育促進、血圧低下、心機能増強などの生理作用や、心臓循環器疾患や肝炎、知機能障害などの数多くの疾患に対する効果が報告されている。また、食事と健康に関する世界的な調査研究や、タウリン摂取による高血圧の改善なども報告されている。

タウリンに関する研究は、1970年頃より盛んであり、様々な機能的性が報告されているが、細胞におけるタウリンの認識機構はいまだに不明な点も多く、今後の研究が期待されている。

## 2-2 タウリンの構造

東京化成工業株式会社製のタウリン(2-アミノエタンスルホン酸、純度98.0%以上)の柱状結晶をそのまま用いて、X線結晶構造解析を行った。Bruker AXS社製のSMART APEX IIで、Mo K $\alpha$  ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ )をX線源として単結晶を23°Cで測定した。構造解析の結果を、CrystalMaker Software社製のCrystalMaker<sup>®</sup> 9.2により結晶構造を可視化した。図1(a)に示すように、タウリン  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$  は他

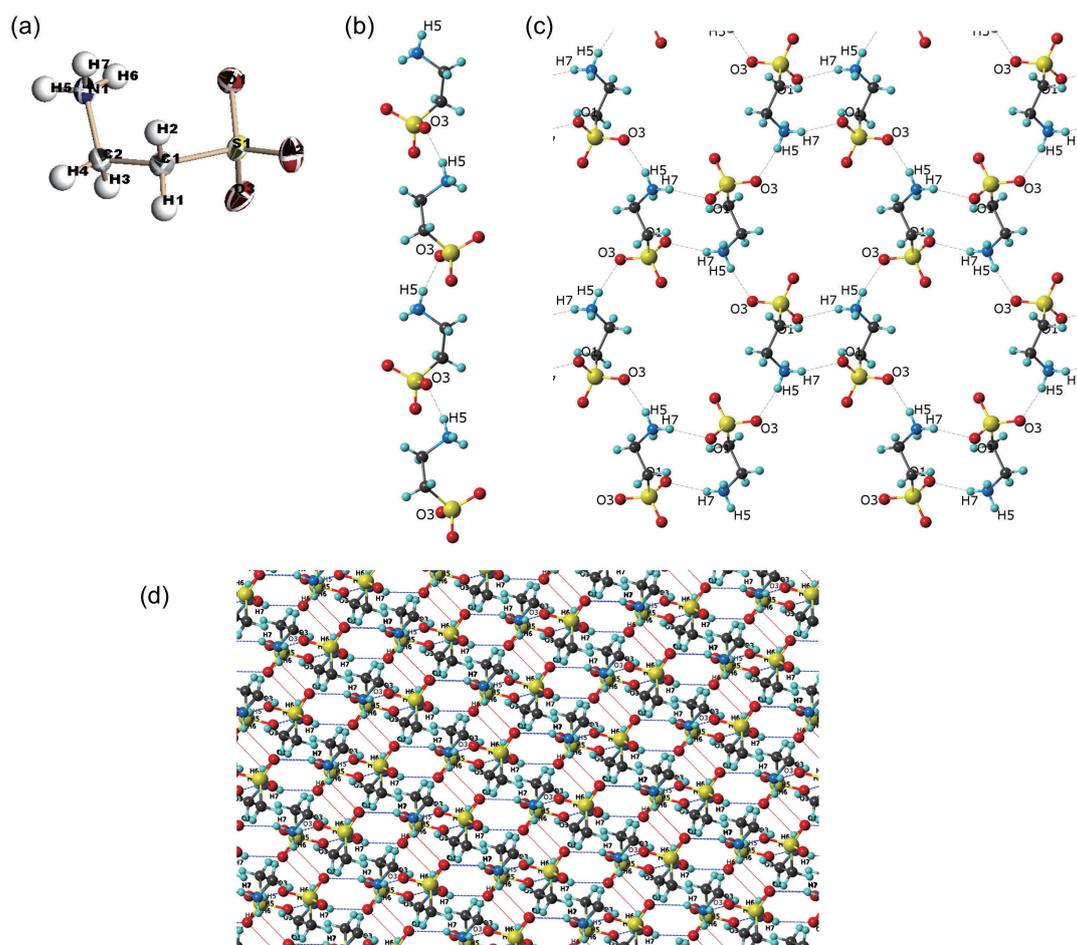


図1 市販のタウリンの結晶構造。破線は水素結合を示す。

(a) タウリンの双性イオン構造(水素以外の原子は確率50%の熱振動楕円体で示す) (b) 水素結合によるタウリン分子の一次元配列 (c) 水素結合によるタウリン分子の二次元配列 (d) 水素結合によるタウリン分子の三次元配列(破線の青色は二次元配列、赤色は三次元配列を結ぶ水素結合を示す)

のアミノ酸と同じく双性イオン<sup>+</sup>NH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub><sup>-</sup>になっていることがわかる<sup>9)</sup>。これらのイオンはスルホナト基-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>の酸素原子と-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>の水素原子との間の水素結合により様々なネットワークを形成している。図1(b)は、N(1)-H(5)⋯O(3)の水素結合(1.93 Å)でb軸方向に形成される一次元鎖状ネットワークであり、隣の鎖とN(1)-H(7)⋯O(1)の水素結合(2.06 Å)により結合して、a軸とb軸との間に広がる二次元シート状ネットワークを形成している(図1(c))。さらに、このシート同士がN(1)-H(6)⋯O(1)の水素結合(2.31および2.36 Å)により結合して、結晶全体にわたる三次元ネットワークを形成している(図1(d))。

また、<sup>1</sup>H(プロトン)-および<sup>13</sup>C(カーボン)-NMRの測定を行った。Bruker BioSpin社製のAVANCE III 400(400 MHz)で、3-(トリメチルシリル)プロピオン酸ナトリウム-2,2,3,3-d<sub>4</sub>を基準物質として、重水(D<sub>2</sub>O)中で測定した。

図2(a)の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルでは、2つのメチレン基(-CH<sub>2</sub>-)のピークが3.27 ppmと3.43 ppmに見られ、それぞれアミノ基(-NH<sub>2</sub>)とスルホン酸基(-SO<sub>3</sub>H)に結合しているメチレン基である<sup>10)</sup>。4.79 ppmの大きなピークは、溶媒のD<sub>2</sub>Oに含まれるH<sub>2</sub>Oのプロトンである。なお、アミノ基のプロトンのピークは、溶媒のD<sub>2</sub>Oとの化学交換によって消失している。

図2(b)の<sup>13</sup>C-NMRスペクトルでも、2つのメチレン基(-CH<sub>2</sub>-)のピークが38.24 ppmと50.28 ppmに見られ、それぞれアミノ基(-NH<sub>2</sub>)とスルホン酸基(-SO<sub>3</sub>H)に結合しているメチレン基である。

### 2-3 健康飲料からのタウリンの分離・結晶化

タウリンはエタノールにほとんど溶けないので、タウリンを多く含む水溶液にエタノールを加えることで、タウリンの結晶を析出させることができる。市販の健康飲料で、100 mL当たりのタウリンの含有量が2 g以上のものを使用し、飲料の体積に対して3倍のエタノールを加えて静置すると、30分から1時間ほどでタウリンの結晶が得られた。この結晶を顕微鏡で観察したところ、純粋なタウリンの結晶と同じ柱状の形をしており(図(a))、X線結晶構造解析を行ったところ、市販のタウリンと同じであることが確認できた(図3(b))。

また、この結晶の元素分析を行い、CHNの質

量%を測定したところ、1.2130 mg中でそれぞれC 19.262%、H 5.652%、N 11.026%であり、理論値のC 19.19%、H 5.64%、N 11.19%(示性式: NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H、分子式: C<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>S)とはほぼ一致していた。

さらに、この結晶の<sup>1</sup>H-および<sup>13</sup>C-NMRの測定を、純粋なタウリンと同じ条件で行ったところ、図2と同じスペクトルが得られた(図3(c),(d))。

以上の結果より、市販の健康飲料からタウリンの結晶を得ることができた。

### 2-4 かつお節からのタウリンの抽出・分離・結晶化

タウリンを含み、処理が簡単で身近な食品としてかつお節を選択した。かつお節にはタウリン以外にも様々なアミノ酸、特にヒスチジンが多く含まれており<sup>11)</sup>、これらを除去してタウリンを分離するために、強酸性陽イオン交換樹脂を使用した<sup>12)</sup>。手順を以下に示す。

- ① かつお節10 gをメタノール200 mLに10分間浸し、濾過した抽出液をロータリーエバポレーターにより濃縮し、溶媒のメタノールを除去する。なお、ロータリーエバポレーターのかわりに、加熱や自然蒸発などによりメタノールを除去してもよい。
- ② 溶媒をほぼ除去したのちに5 mLの蒸留水を加える。これに10 mLの3 mol/L HClを加えて放置すると、タンパク質が沈殿するので、濾過して除去する。
- ③ 強酸性陽イオン交換樹脂(H形、ダウエックス<sup>TM</sup> 50W ×4 100-200メッシュ)100 mLをカラムに充填し、以下のようにコンディショニングを行う<sup>13)</sup>。
  - (1) 2 mol/L HClを過剰量流し、その後蒸留水を過剰量流す。次に2 mol/L NaOHを過剰量流し、蒸留水を過剰量流す。これを2~3回繰り返す。
  - (2) 2 mol/L NaClを過剰量流してNa形にしたあと、蒸留水でCl<sup>-</sup>が検出されなくなるまで洗浄する。Cl<sup>-</sup>の検出は5% AgNO<sub>3</sub>により行う。
  - (3) 2 mol/L HClを過剰に流し、樹脂を酸性状態にする。溶出液が酸性であることが確認できたら、蒸留水を溶出液が中性になるまで洗浄する。

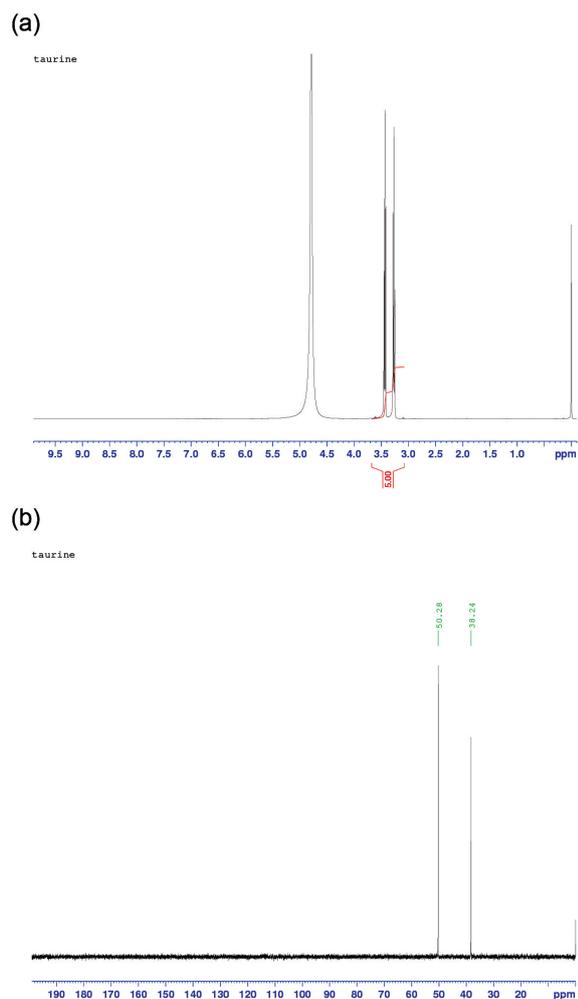


図2 市販のタウリンのNMRスペクトル (25°C、D<sub>2</sub>O)。  
(a) <sup>1</sup>H-NMR スペクトル (b) <sup>13</sup>C-NMR スペクトル (256回積算)

- ④ ②の試料をカラム上部にのせ、蒸留水で展開する。展開液を約10 mL ずつ分取し、TLC (Silica gel 60 F<sub>254</sub> ガラスプレート、Merck 社製) でタウリンの有無を確認する。展開溶媒はアセトニトリル：水=12:5、染色液はアミノ酸を検出するのによく使用されるニンヒドリン試薬 (0.5% ニンヒドリン水飽和ブタノール溶液) である<sup>14)</sup>。展開後のTLCプレートをニンヒドリン試薬に浸し、ホットプレートで加熱して確認する。タウリンは他のアミノ酸よりも早く発色するため、基準のタウリンが発色した直後に加熱を止める。
- ⑤ ④でタウリンのみを含む画分を集め、ロータリーエバポレーターで溶媒を除去する。これにメタノールあるいはエタノールを加えると粗結晶が析出するので、濾過して集める。

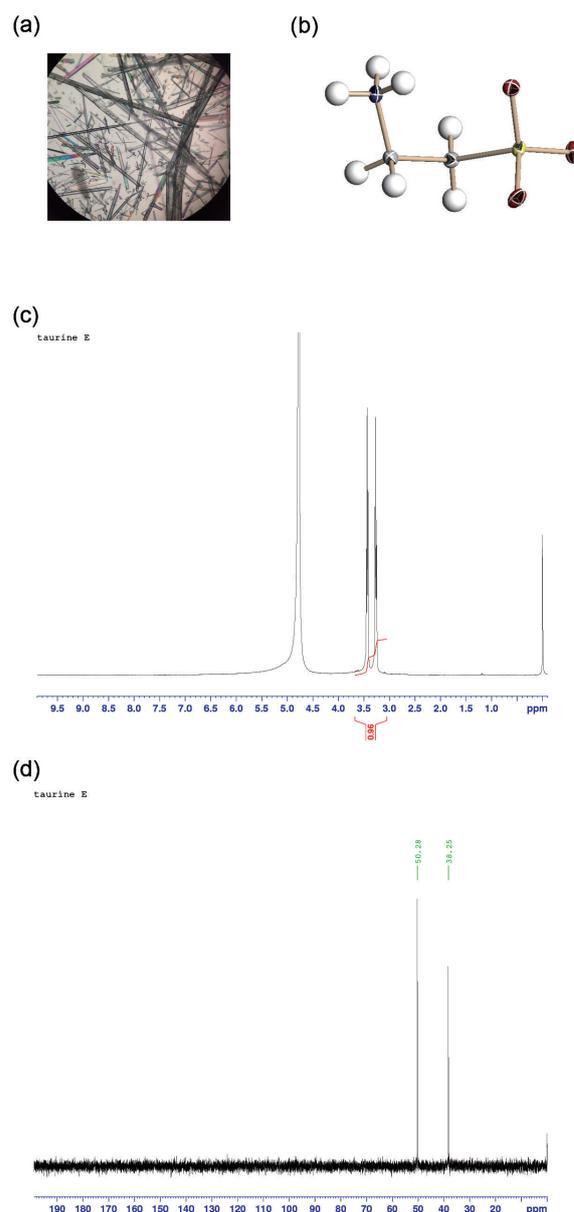


図3 健康飲料から取り出したタウリンの結晶。  
(a) 実体顕微鏡写真 (35倍) (b) X線結晶構造解析によるタウリンの構造 (c) タウリンの<sup>1</sup>H-NMR スペクトル (d) タウリンの<sup>13</sup>C-NMR スペクトル (積算256回)

- ⑥ 粗結晶2～3 mg に対して0.02 mL～0.1 mLの蒸留水に溶かす。完全に溶けなければ加熱する。これにエタノールまたは1-ブタノールを少量加えて静置すると、タウリンの柱状結晶が析出する。早く結晶化させたいときにはエタノール、大きな結晶が必要なときは1-ブタノールがよい。

20 g のかつお節から得られたタウリンは11 mg であった。1-ブタノールからの結晶についてはX線結

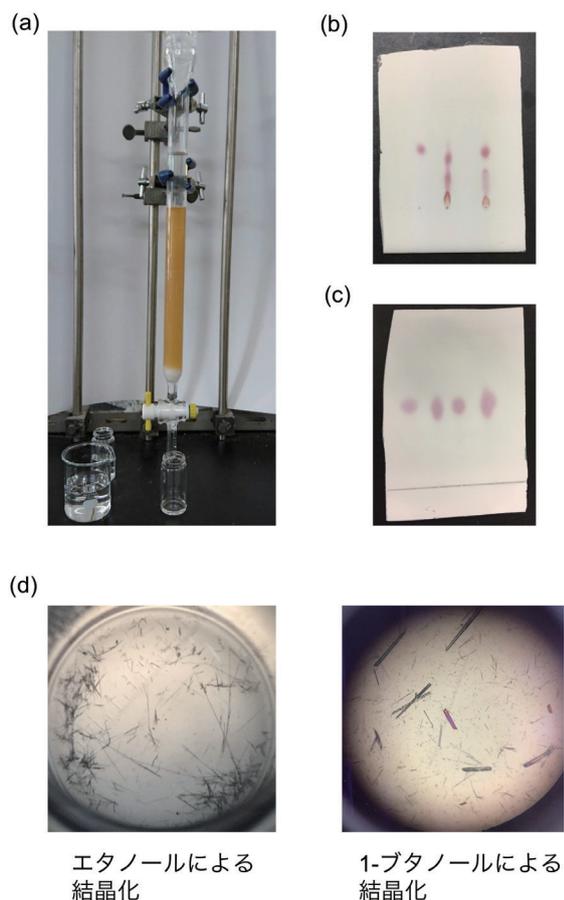


図4 かつお節からのタウリンの分離の様子。

(a) イオン交換樹脂カラムによるタウリンの分離 (b) カラム分離前の TLC プレートによるタウリンの検出 左から市販のタウリン、カラム分離前の試料、市販のタウリンとカラム分離前の試料を重ねたもの (c) カラム分離前の TLC プレートによるタウリンの検出 左から市販のタウリン、3つの分画 (d) アルコールによるタウリンの結晶化

晶構造解析を行い(図5(a))、エタノールからの結晶については元素分析、 $^1\text{H}$ - および $^{13}\text{C}$ -NMR の測定を行った。CHN の質量%は、1.0062 mg 中でそれぞれ C 19.324%、H 5.672%、N 10.811%であり、理論値とおおむね一致していた。 $^1\text{H}$ - および $^{13}\text{C}$ -NMR のスペクトルは、市販のタウリンのスペクトルのピーク位置がほぼ一致していた(図5(b),(c))。以上の実験結果より、かつお節から取り出した結晶がタウリンであることが確認できた。

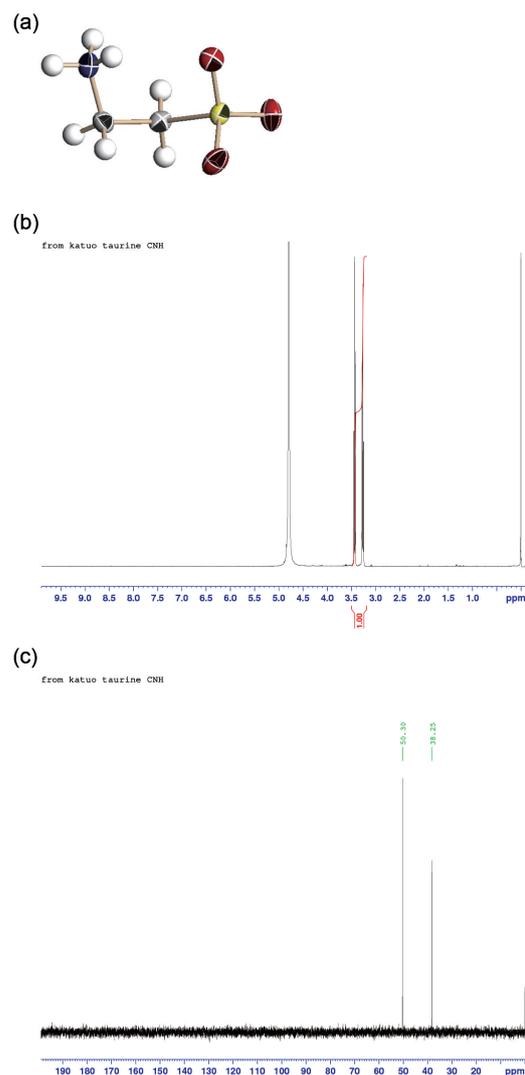


図5 かつお節から取り出したタウリンの結晶。

(a) X線結晶構造解析によるタウリンの構造 (b) タウリンの $^1\text{H}$ -NMR スペクトル (c) タウリンの $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (積算1024回)

### 3. 酒石酸カルシウムの教材化

#### 3-1 酒石酸について

酒石酸(2,3-ヒドロキシブタン二酸)は、ブドウやその加工品に多く含まれている有機酸である。酒石酸には2つの不斉炭素原子があり、右旋性のL-(+)酒石酸、左旋性のD-(-)酒石酸およびこれらの等量混合物であるラセミ体の(±)酒石酸(ブドウ酸あるいはラセミ酸)がある。L-(+)酒石酸とD-(-)酒石酸はエナンチオマー(鏡像異性体)の関係にある。ラセミ体では右旋性と左旋性が完全に相殺されるので、光学不活性である。酒石酸の立体異性体には、このほかに2,3位の炭素間の結合に直交した対称面を持ち、不斉炭素原子

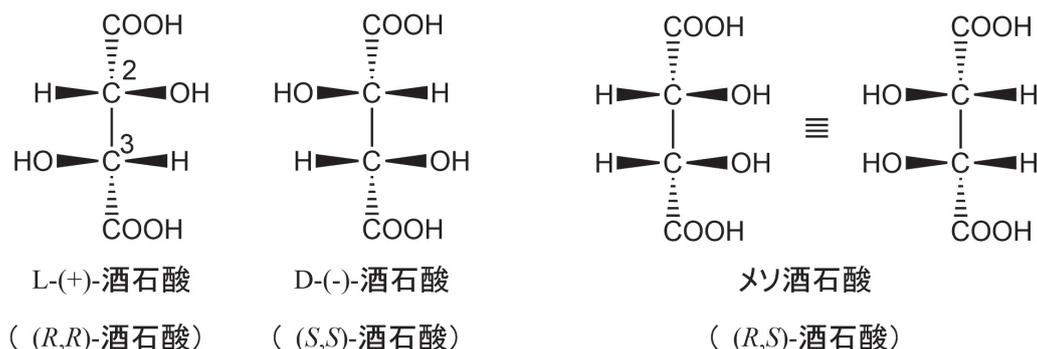


図6 酒石酸の構造

があるにもかかわらず光学不活性であるメソ酒石酸がある。下にこれらの構造を示す。なお、不斉炭素原子などのキラル中心の立体配置を区別する *R/S* 表示法も示す。

酒石酸は炭素の四面体構造の発見や立体化学の発展に大いに貢献した物質である。Louis Pasteur (パスツール) はラセミ酸のアンモニウムナトリウム塩の結晶の中に、非対称で鏡像異性体の関係にある形の結晶があることに気づき、1848年に虫メガネとピンセットで2つに分離した。この分離した結晶を溶液にして、それぞれの旋光度を測定したところ、一方が偏光面を右に回す右旋性で、もう一方が左旋性であり、どちらも光学活性であることを見出した。さらに、これらの溶液が偏光面を回す回転の度数が同じで、一方が右に回し、もう一方が左に回すため、これらの2つの等量混合物の溶液が光学不活性であることも明らかにした。これらの実験結果より、初めて鏡像異性体の分子の存在を実証した<sup>15),16)</sup>。

酒石酸の立体異性体の中で、自然に存在するものはその多くがL-(+)-酒石酸であり、単に「酒石酸」というときは、通常このL-(+)-酒石酸のことを指す。酒石酸は、現在では酸味料としての食品添加物や、医薬品の調剤で緩衝や発泡などの目的で用いられている。天然には遊離酸(-COOH)としてだけでなく、金属イオンなどの塩(-COO-M<sup>n+</sup>)としても存在する。ワイン製造の際に得られる酒石は、酒石酸水素カリウムを多く含んだ結晶である。酒石酸カルシウムは四水和物として結晶が得られ、難溶性であるため、酒石から酒石酸を分離精製するのに用いられる。そのほかの酒石酸塩などは文献を参照されたい<sup>17),18)</sup>。

### 3-2 酒石酸カルシウムの構造

和光純薬株式会社製の酒石酸カルシウム四水和物(和光一級)のプリズム状結晶をそのまま用いて、X線結晶構造解析を行った<sup>19)</sup>。図7に構造を示す。図7(a)では、1つのCa<sup>2+</sup>の周りに配位結合している原子を主に示している。酒石酸のカルボキシレートイオンの酸素(O1)と、隣の炭素原子(C2)のヒドロキシ基の酸素(O3)がCa<sup>2+</sup>にキレート配位して五員環を形成している。2個の水分子の酸素(O7、O8)がCa<sup>2+</sup>に配位している。もう一つのカルボキシレートイオンの酸素(O6#)とヒドロキシ基の酸素(O4#)は、別のCa<sup>2+</sup>にキレート配位している。さらに別のCa<sup>2+</sup>に、カルボキシレートイオンの酸素(O5#)が単座配位している。このように、酒石酸イオン-OOCCH(OH)CH(OH)COO<sup>-</sup>の6つのすべての酸素は、4つのCa<sup>2+</sup>と配位結合をしていることがわかる。

4つの水分子のうち、2つの水分子の酸素(O7、O8)がCa<sup>2+</sup>に配位しており、図7(a)の中心のCa<sup>2+</sup>を見ると8つの酸素と配位結合をしている。残りの2つの水分子は、酒石酸イオンやCa<sup>2+</sup>に配位している水分子との間の水素結合を形成している。

これらの結合により結晶全体で形成している三次元ネットワーク構造を図7(b)に示す。これはネットワークが重なるb軸方向から見た構造である。Ca<sup>2+</sup>は酒石酸イオンにより4方向に架橋されており、Ca<sup>2+</sup>同士を直接結んだ線を見ると、ゆがんだ六角柱がハチの巣状に並んでいる様子がわかる。この隙間に包接された水分子が水素結合で結合している。

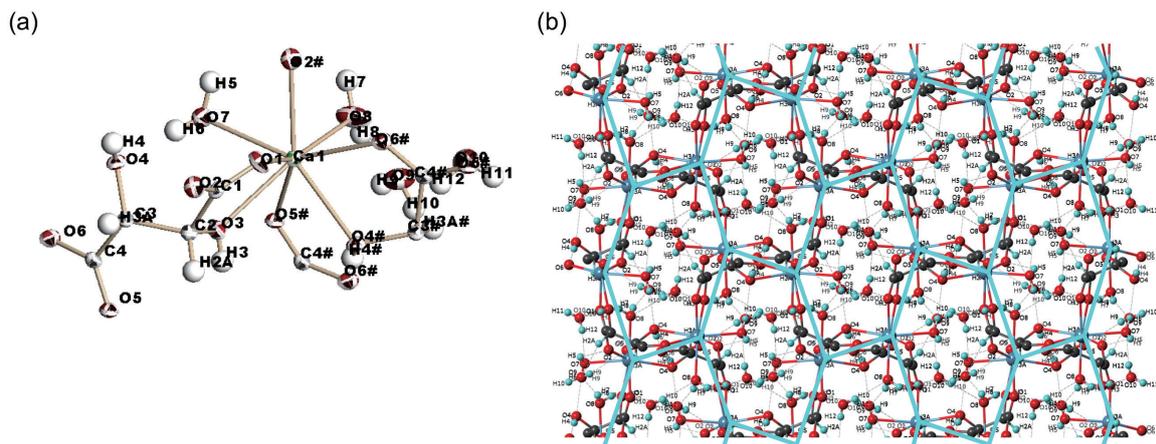


図7 市販の酒石酸カルシウム四水和物の構造

(a)  $\text{Ca}^{2+}$  を中心とした配位構造(水素以外の原子は確率50%の熱振動楕円体で示す) (b) 酒石酸カルシウム四水和物の三次元ネットワーク構造(水色の太線はカルシウムイオンを直接結んだ線を示す)

### 3-3 レーズンから酒石酸カルシウムの抽出・結晶化

レーズン2 g(8粒程)を60~80℃の水道水10 mL中で粗く潰しながら酒石酸を抽出した。レーズンを潰すには、すり鉢と挿粉木を用いた。これを濾過して得られた濾液に、 $\text{CaCl}_2$  0.014 gを加え軽く攪拌し、 $\text{CaCl}_2$ を溶かした。これを放置して酒石酸カルシウムのプリズム状結晶を得た。早く結晶化させたいときには、冷蔵庫で約1時間冷却すると、30~100倍の顕微鏡で観察できる結晶が得られた。大きな結晶が必要なときには室温で1~2日静置した。室温で静置して得られた結晶のX線結晶構造解析を行った結果が図8(a)であり、これは図7(a)と同じ構造であった。

また、この結晶の元素分析を行い、CHNの質量%を測定したところ、0.9643 mg中でそれぞれC 18.687%、H 4.789%、N 0.00%であり、理論値のC 18.46%、H 4.65%、N 0.00%(示性式: $(\text{CH}(\text{OH})\text{COO})_2\text{Ca}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、分子式: $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{O}_{10}\text{Ca}$ )とほぼ一致していた。

以上の結果より、レーズンから酒石酸カルシウム四水和物の結晶を得ることができた。

## 4. 結論

教育現場において扱われる結晶の多くは、塩やミョウバン、炭酸ナトリウムなどの無機化合物や金属であり、結晶としての有機化合物を扱った例はほとんどない。本研究では、有機化合物であるタウリンや酒石酸

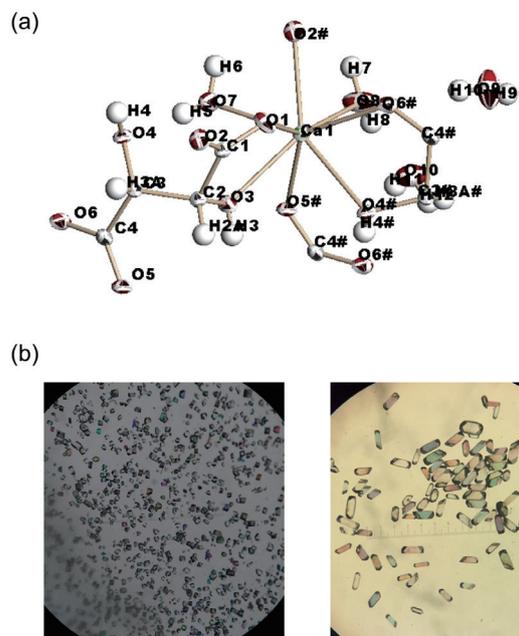


図8 レーズンから取り出した酒石酸カルシウム四水和物  
(a)  $\text{Ca}^{2+}$  を中心とした配位構造(水素以外の原子は確率50%の熱振動楕円体で示す) (b) 結晶の顕微鏡写真(実体顕微鏡、35倍) 右: 冷蔵庫で1時間 左: 室温で1日

を、それぞれ双性イオンとカルシウム塩の結晶として食品から取り出す教材を開発することに成功した。身の回りにも結晶になる有機化合物があることを体感し、化学や結晶に対する児童生徒の興味関心を引くことができると考えられる。

## 参考文献

- 1) 毛利衛・黒田玲子 他 (2015). 小学校理科用 文部科学省検  
定済教科書 新編 新しい理科5年 東京書籍.
- 2) 岡村定矩・藤嶋昭 他 (2015). 中学校理科用 文部科学省  
検定済教科書 新編 新しい科学1 東京書籍.
- 3) 竹内敬人 他 (2012). 高等学校理科用 文部科学省検定済  
教科書 化学 東京書籍.
- 4) 島弘則 (1993). もやし中に含まれる遊離アミノ酸の同定と  
単離に関する生徒実験の開発 化学と教育 41巻 622-625  
ページ.
- 5) 知地英征・後藤千津子・松本恵・土佐孝文 (2002). コンブ  
からうま味成分(L-グルタミン酸)を結晶化する簡単な実験  
方法 日本調理科学会誌 35巻 79-83ページ.
- 6) 村上茂 監修 国際タウリン研究会日本部会 編著 (2016).  
読んで効くタウリンのはなし. 成山堂.
- 7) 清水誠・薩秀夫 (2008). 第6章 機能素材としてのアミノ  
酸 1 タウリン. アミノ酸の科学と最新応用技術 シーエ  
ムシー出版.
- 8) 小沢 昭夫・青木 滋・鈴木 香都子・杉本 昌明・藤田 孝夫・  
辻 啓介 (1984). 魚介類のタウリン含量 日本栄養・食糧学  
会誌 37巻 561-567ページ.
- 9) Y. Okaya (1966). Refinement of the Crystal Structure  
of Taurine, 2-Aminoethylsulfonic Acid. An Example  
of Computer-Controlled Experimentation, Acta  
Crystallographica, **21**, 726-735.
- 10) 有機化合物のスペクトルデータベース SDBS. 国立研究開発  
法人産業技術総合研究所 <https://sdb.sdb.aist.go.jp> 2018年  
9月26日閲覧.
- 11) 前川隆嗣・甘庶志帆乃・野村直孝・榎原周平・渡邊敏明 (2006).  
削りぶしの抽出液におけるアミノ酸組成の比較検討 Trace  
Nutrients Research 23巻 93-97ページ.
- 12) 古俣智江・野原健吾・渡辺勝子 (2007). 魚介類のタウリンに  
関する研究: 1. 軟体類の調理過程におけるタウリン含量の変  
化について 国際学院埼玉短期大学研究紀要 28巻 73-77  
ページ.
- 13) 松下聿宏・渡辺純哉 (2002). 有機イオン交換樹脂の扱い方  
とその機能(その1)日本イオン交換学会誌 13巻 53-59ペー  
ジ.
- 14) 日本化学会 編 (1992). 第4版 実験化学講座 22 有機合  
成 IV 酸・アミノ酸・ペプチド 丸善.
- 15) 奥山格・石井昭彦・箕浦真生 (2016). 有機化学 改訂2版  
丸善.
- 16) R. T. Morrison & R. N. Boyd 著 中西香爾 他 訳 (1994).  
モリソン・ボイド 有機化学(上・中・下) 第6版 東京  
化学同人.
- 17) 大木道則 他 編 (1994). 化学辞典 東京化学同人.
- 18) 長倉三郎 他 編 (1998). 理化学辞典 第5版 岩波書店.
- 19) F. C. Hawthorne, I. Borys and R. B. Ferguson (1982).  
Structure of Calcium Tartrate Tetrahydrate, Acta  
Crystallographica, **B38**, 2461-2463.

(平成30年9月28日受理)