

## 未利用コーヒー生豆資源からクロロゲン酸類の単離

岸本 憲明・藤田 藤樹夫

(近畿大学農学部農芸化学科)

## Isolation of chlorogenic acid derivatives from green coffee beans as unused resources

Noriaki KISHIMOTO, Tokio FUJITA

*Department of Agricultural Chemistry,  
Faculty of Agriculture, Kinki University*

### Synopsis

Statistics released by the United States Department of State in December 2003 show that the world production and consumption of coffee beans are  $6.4 \times 10^6$  tons and  $3.7 \times 10^6$  tons, respectively. Forty-two percent of the harvested coffee beans include irregular or immature beans, and are not effectively utilized, because they are regarded as off-grade, and not shipped to the market. However, these immature beans contain considerable amounts of chlorogenic acid derivatives. The content of total chlorogenic acid derivatives in immature beans (6g/100g) was the same as that of mature beans, but the ratio of CQA/diCQA increased with maturity of coffee cherry. One hundred grams of raw coffee beans of the Robusta breed (Indonesia WIB) were extracted with seventy percent methanol, and seven kinds of chlorogenic acids were isolated by the formation of chlorogenic acid-K-caffeine complexes, gel-filtration using Sephadex LH-20, and preparative HPLC. Seven kinds of isolated chlorogenic acids were identified as 3-, 4-, 5-caffeoylquinic acids, 3-feruloylquinic acid, 3,4-, 3,5-, and 4,5-dicaffeoylquinic acids by FAB-MS, MS/MS analysis and  $^1\text{H-NMR}$  spectra. When the contents of chlorogenic acids were evaluated according to the breed and the area of production, they were highest at 10.5g/100g in the Robusta breed produced in Indonesia. These results indicate that the immature coffee beans, are not shipped to the market, can be expected as resources of chlorogenic acids derivatives.

## 緒 言

世界で栽培されているコーヒー豆はアラビカ種 (*Coffea arabica*) とロブスタ種 (*Coffea canephola ver. robusta*) が中心で、産地や銘柄がブランド化されて販売されている。コーヒー生豆の品質は栽培種や栽培地だけでなく、収穫期や精製方法(水洗式と乾式)、輸送や保存方法などによっても大きく影響される。なかでも未熟果の混入割合はコーヒーの等級を決定する最も大きな要因となっている。等級の低い生豆には、誤って摘果した未成熟豆や、強風などで落下した未熟果の混入率が高く、これらの生豆を焙煎して抽出しても香りや味が悪いので、コーヒー生豆市場では流通することはほとんどない。アメリカ合衆国農務省が2003年12月に公表した統計資料によると、世界のコーヒー生豆の生産量は $6.4 \times 10^6$  ton、消費量は $3.7 \times 10^6$  tonで、収穫された生豆のうち42%が等級外生豆として市場に出荷されず有効利用されていない。

コーヒー生豆にはクロロゲン酸類が4~10%含まれていて、クロロゲン酸類の有望な供給資源である。とくに有効活用されていない未熟果からクロロゲン酸類を抽出単離できれば、未利用資源を有効に活用できると期待できる。そのためには、コーヒー果実の成熟度、産地、銘柄ごとに生豆中のクロロゲン酸量を正確に把握しておくことが必要である。本研究では成熟途上のコーヒー果実から生豆を単離して、豆に含まれるクロロゲン酸類の種類と含量を測定するとともに、品種や産地、

銘柄の異なる生豆のクロロゲン酸含量を明らかにした。

## 実験方法

### 1. 材料

鹿児島県内で栽培されているアラビカ種果実を成熟度の異なる時期に採取し、測色色差計 (CR-300, Minolta 株式会社) を用いて色差 (Lab 値) を測定した。そして色調の違いに基づいて果実を7段階に分類した (Fig.1, 2)。

収穫した果実は、果肉と種殻付きコーヒー生豆に分離した後、種殻付きコーヒー生豆を天日で1日乾燥した。さらに種殻と種皮を取り除いて生豆を得た。

### 2. 試料から調製したコーヒーの官能検査

得られた生豆の一部は、テストロスター (プロバット社、BRZ-4) を用いてメディアムローストになるように焙煎した後、コーヒーミル (Bonmac, BM-570M) で細挽きに粉碎した。粉碎した焙煎豆10gに熱水150mlを注ぎペーパーフィルターで抽出したコーヒーを官能試験に用いた。官能試験はパネラー10名で行い、酸味、苦味、渋味、濃厚感、後味の5つとし、評価は-3~+3の7段階に分けて絶対評価した。また、異味と異臭の評価は0~+6の7段階で評価した。

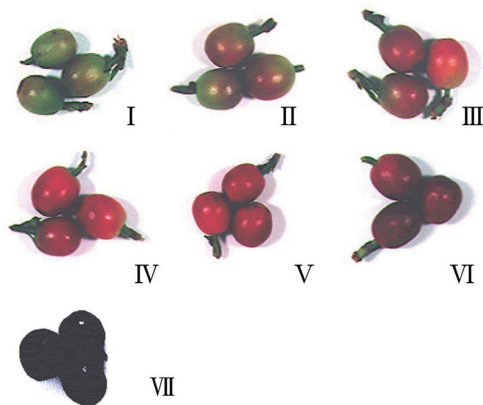


Fig. 1. Coffee cherry samples of *Coffea arabica* collected at the different harvest time.

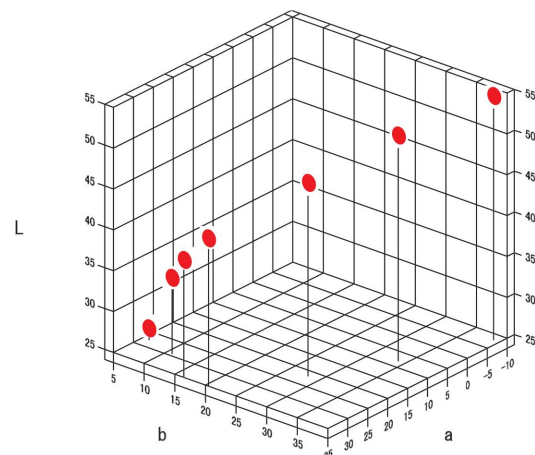


Fig. 2. Color tones of seven kinds of coffee cherry samples.

Table 1. Analytical samples of coffee bean.

<i>Coffea arabica</i>	<i>Coffea canephola var. robusta</i>
BRAZIL SANTOS No.2 #18	INDONESIA WIB
BRAZIL SANTOS No.4/5 #14/16	INDONESIA AP-1
COLOMBIA EXCELSO	INDONESIA EK-1
COLOMBIA MARAGO	INDONESIA MANDHELING
COLOMBIA SUPREMO	INDONESIA TORAJA
CUBA CRYSTAL MOUNTAIN	IVORY COAST
DOMINICA	UGANDA
EL SALVADOR	VIETNAM
ETHIOPIA MOCHA DJIMMAH	
ETHIOPIA MOCHA SIDAMO	
GUATEMALA E..P.W	
GUATEMALA SHB	
HAWAII KONA EXTRA FANCY	
HAWAII KONA No.1	
INDIA	
JAMAICA BLUE MOUNTAIN No.1	
JAMAICA PEABERRY	
JAMAICA PRIMEWASHED	
KENYA AA	
MEXICO E..P.W	
NICARAGUA	
PERU CHANCHAMAYO	
TANZANIA KIBO	

Table 2. Preparative conditions of HPLC for analysis of chlorogenic acids.

column	Inertsil ODS-3 250 × 19 mm i.d. (GL Sciences Inc.)
column temp	40°C
mobile phase	solvents A (20% CH <sub>3</sub> OH in 0.2% acetic acid) and B (methanol)
gradient	0.0 min, A=100%, 60.0 min, A: B=1:1, 70.0 min, B=100 %, 80.0 min, A=100 %
detection	UV 326 nm

※ All samples were eluted at 15 ml/min.

### 3. クロロゲン酸類の分離定量

液体窒素で凍結した生豆を粉砕機（分析粉砕機 R-8, 日本理化学機械株式会社）を用いて1.0mmのふるいを通すサイズに粉砕した。粉砕試料は70% (w/v) メタノールで20分間還流抽出を3回行った後、定容した。限外濾過したクロロゲン酸異性体は、HPLCで定量した<sup>1)</sup>。定量は市販クロロゲン酸（和光純薬）を用いてCliffordら<sup>2)</sup>の吸光度比に基づいておこなった。この方法で添加したクロロゲン酸（5-CQA）の回収率を求めたところ94.9～104% (n=5) であった。

### 4. 市場で流通しているコーヒー生豆中のクロロゲン酸異性体含量

Table 1に示した17産地、31銘柄のコーヒー生豆を試料とし、クロロゲン酸類の分離定量法にしたがって、クロロゲン酸異性体をHPLCで定量した。HPLC分析条件はKyら<sup>3)</sup>の条件にしたがった。

### 5. コーヒー生豆からクロロゲン酸類の単離

等級の異なる生豆からクロロゲン酸類を単離した。供試生豆には2002年インドネシアで収穫されたロブスタ種を用いた。等級の低い生豆にはEK-1 grade 4（ジャワ島産）を、等級の高い生豆にはWIB（スマトラ島産）を使用した。

Uritaniら<sup>4)</sup>の方法を参考にして、生豆からクロロゲン酸類を単離した。供試生豆100gを粉碎し、70% (v/v) メタノール水溶液1Lを加えて80℃で20分間抽出した。抽出は3回行った。抽出液を50mlまで減圧濃縮後、4℃に48時間保ってクロロゲン酸類とカリウムイオン、カフェインが等モル会合した黄褐色の沈殿物を得た<sup>4,5)</sup>。この沈殿物に飽和酒石酸溶液を加えて生成した酒石酸カリウムの白色沈殿を除去した。ついでクロロホルムを添加してクロロホルム層に移行したカフェインを除去した。水層をSephadex LH-20 (Amersham Biosciences) カラム (450×26mm i.d.) に供し、0.2% (v/v) 酢酸溶液にメタノール濃度勾配 (0-70%) をかけて展開した (60ml/h)。溶出液の吸光度 (325nm) を測定し、各ピークを回収した。減圧濃縮後、分取 HPLC PLC-561 system (GC Science Inc.) にかけて目的のピークを分取した。分離条件を Table 2 に示した。分取したピークは、再度 Sephadex LH-20 カラムクロマトにかけて精製した。得られた精製標品は凍結乾燥して-20℃で保存した。

## 6. 単離したクロロゲン酸異性体の機器分析

高速原子衝突イオン化質量分析 (FAB-MS) には JEOL Tandem-MS station JMS-700 TKM mass spectrometer (JEOL Ltd.) を用いた。UV スペクトルは U3310 spectrometer (日立製作所)、<sup>1</sup>H-NMR スペクトルは JEOL GSX-500 (500MHz) (JEOL Ltd.) を用いて測定した。

## 実験結果および考察

### 1. 成熟度の異なる生豆中のクロロゲン酸量と組成

成熟度の異なる7種類の生豆 (Fig.1, 2) を粉碎し70% (v/v) メタノールで抽出した画分をKyら<sup>3)</sup>の条件でHPLC分析した。出現した7本のピークをそれぞれの retention time を基にKyら<sup>3)</sup>の結果と照合して7種類のクロロゲン酸に帰属した。3-カフェオイルキナ酸 (3-CQA, r.t. 14.5 min), 5-カフェオイルキナ酸 (5-CQA, r.t. 14.8 min), 4-カフェオイルキナ酸 (4-CQA, r.t. 17.7 min), 5-フェルロイルキナ酸 (5-FQA, r.t. 23.6 min), 3,4-ジカフェオイルキナ酸 (3,4-diCQA, r.t. 35.8 min), 3,5-ジカフェオイルキナ酸 (3,5-diCQA, r.t. 38.6 min), 4,5-ジカフェオイルキナ酸 (4,5-diCQA, r.t. 44.0min)。

成熟度の異なる7種類の生豆いずれからも7種類のクロロゲン酸異性体が検出され、成熟度が増すに連れて3-, 4-, 5-CQA量は増加していったが、diCQA量には大きな変化は認められなかった (Fig. 3)。

コーヒー果実の成熟度と生豆中に含まれているCQA/diCQA比の間には正の相関関係が認められた (Fig. 4,  $R^2 = 0.72$ )。未熟豆 (I, II群) のCQA/diCQA比は低く、反対に成熟豆 (VI, VII群) の比が高かったことから、生合成されたCQAとdiCQAはコーヒー豆の胚乳部に蓄積され、成熟するにつれて一部のdiCQAがCQAに生分解されると推察される (Fig. 4)。

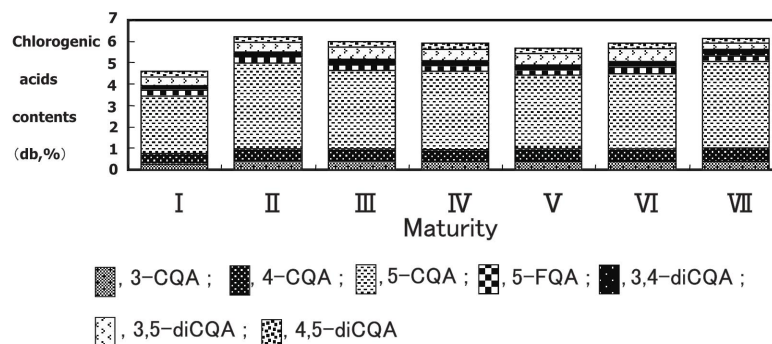


Fig. 3. Chlorogenic acid derivatives containing in the raw coffee beans with different maturity. I was the most immature bean and VII was the most mature bean. Detailed descriptions of Beans I to VII were written in Figs. 1 and 2.

未熟なコーヒー果実(成熟度Ⅱ)の生豆に含まれるクロロゲン酸類の量は、成熟果実(成熟度Ⅶ)の生豆に含まれるクロロゲン酸類の量とほぼ変わらなかった(6%)ことから、現在、市場に流通されることなく有効活用されていない未熟なコーヒー生豆が、クロロゲン酸のバイオマス資源として有望であることを明らかにすることができた。また、未熟な生豆にはCQA類よりもdiCQA類が多く含まれていることから、diCQAの資源としても期待できる。

## 2. 成熟度の異なる生豆を焙煎し抽出したコーヒー飲料の官能試験

成熟度に応じて7段階に分けたコーヒー果実から得た生豆を焙煎し抽出したコーヒー抽出液を官能検査した結果、Ⅰ群の豆から抽出したコーヒー抽出液には強い草臭(grassy)と非常に強い苦味と

渋味を感じられ、酸味はまったく感じる事ができなかった(Fig. 5)。また後味も悪く、コーヒー独特の風味に欠けていた。Ⅱ群より成熟度の高い豆では、成熟度が高くなるにつれて苦味や渋味が減少し、酸味が強く感じられるようになってきた。そしてコーヒー飲料としての風味に調和がとれるようになってきた。

Fig. 4と5の結果から、CQA/diCQA値が上昇すると官能評価も高くなっていった。つまり、diCQAよりもCQA含量の高い豆が風味のよいコーヒー飲料を提供できることを明らかにした。Ohiokephiら<sup>6)</sup>もコーヒーを評価するときには、カップテストと合わせて生豆中のCQA/diCQA値がコーヒー飲料の品質を示す指標になると述べている。しかし、生豆中のCQAやdiCQAは焙煎によって分解してしまっており、コーヒー抽出液からはほとんど検出されない。したがって、生豆中のCQAや

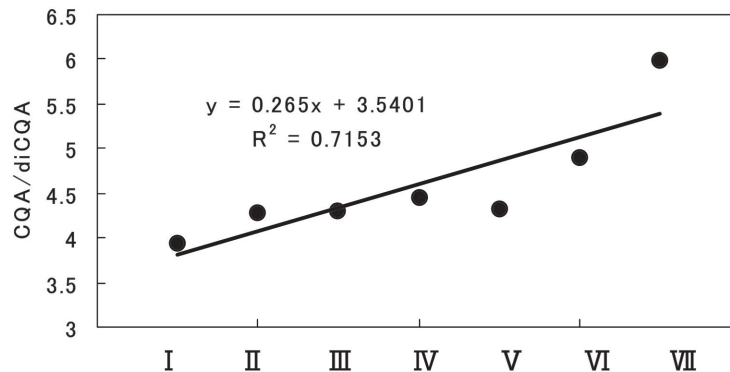


Fig. 4. Relationships between the maturity of coffee cherry and CQA/diCQA value.

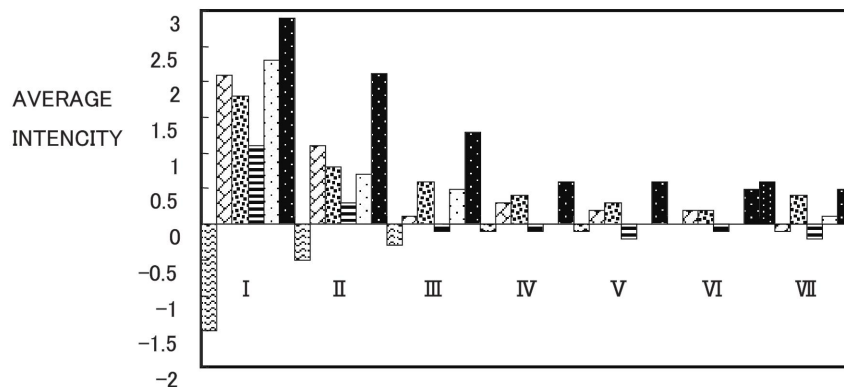


Fig. 5. Sensory evaluation of coffee drinks prepared from coffee beans with different maturity (I to VII). , acidity; , bitterness; , astringency; , body; , after taste; , glassy

Fig. 5. Sensory evaluation of coffee drinks prepared from coffee beans with different maturity (I to VII).

diCQAがコーヒー抽出液の官能評価を直接左右する要因とは考えにくい、それらの熱分解物あるいは重合物の種類や量が官能検査に影響を与えた可能性が考えられる。

このように、生豆中のCQA/diCQA値は、コーヒーの成熟度や抽出液の品質を示す指標となることを明らかにすることができた。

### 3. 生豆からクロロゲン酸類の単離と機器分析

粉碎した生豆のメタノール水溶液抽出物をSephadex LH-20カラムにかけたところ、326nmに吸収をもつ5つのピークが得られた (Fig. 6)。ピークBとEは分取HPLCでさらに2つのピークに分かれた。このようにSephadex LH-20カラムクロマトと分取HPLCを組み合わせることにより、コーヒー生豆から7種類のクロロゲン酸類を効率よく分離することができた。

また、7種類のクロロゲン酸類をOhiokpehaiら<sup>6)</sup>やKyら<sup>3)</sup>らの条件でHPLC分析すると、ピークが近接して明瞭に分離させることが難しかったが、移動相に添加している2mMリン酸を33mM酢酸に置き換えたところ、ピークの分離が改善されて、7種類のクロロゲン酸類を容易に分離することができた。

生豆から単離した7種類のクロロゲン酸類のHPLC retention timeとFAB-MSおよびMS-MS分析の結果をTable 3に、UV吸収スペクトルをFig. 7に、<sup>1</sup>H-NMRスペクトル結果をTable 4にまとめた。

化合物1, 2 および4はFAB-MS分析で  $m/z$  354に分子イオンピークを与え、このピークをMS/MS分析すると、ポジティブイオンモードで  $m/z$  163に、ネガティブイオンモードで  $m/z$  191にフラグメントピークが出現した。 $m/z$  163フラグメントは陽イオン化にともなうカフェオイル基由来のカルボニル酸素と、また  $m/z$  191フラグメントはキナ酸由来のフラグメントと同定した<sup>7)</sup>。これらのMS分析結果から、3種類の化合物はモノカフェオイルキナ酸と同定した。

さらに、化合物1, 2 および4の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは、カフェ酸とキナ酸を合わせたもので (Table 4)、キナ酸のC-3、C-4およびC-5プロトンのいずれかのケミカルシフト値が低磁場側にシフトしていた。Corseら<sup>8)</sup>は、フェルロイルキナ酸類の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを調べ、キナ酸のC-3、C-4およびC-5プロトンのケミカルシフト値は、キナ酸とフェルラ酸との結合位置と直接的に関係していると述べている。また、Morishitaら<sup>9)</sup>

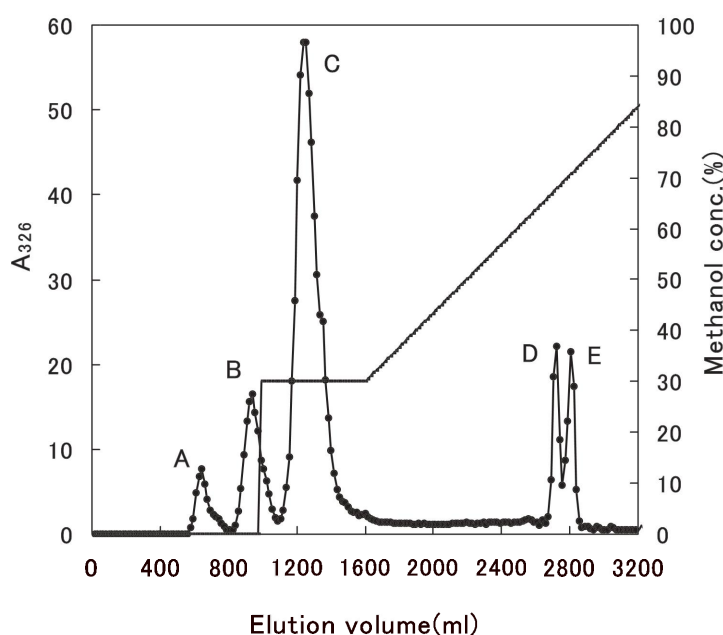


Fig. 6. Chromatogram of the 70% MeOH extract from green coffee beans by Sephadex LH-20 column chromatography. The fractions containing hydroxycinnamic acid derivatives were eluted with a linear gradient of methanol (0-70%) in 0.2% (v/v) acetic acid aqueous solution at 60ml/hr.

Table 3. Identification of hydroxycinnamic acid derivatives isolated from green coffee beans using their spectral characteristics in HPLC, positive and negative ions in FAB-MS and MS-MS.

compd	HPLC retention time(min)	positive ions		negative ions		estimated MW	identification
		MS[M+1] <sup>+</sup>	MS-MS(m/z)	MS[M-1] <sup>-</sup>	MS-MS(m/z)		
1	14.5	355	163	353	191	354	3-CQA
2	17.7	355	163	353	191	354	4-CQA
3	23.6	355	177	367	191	354	5-FQA
4	14.8	369	163	353	191	368	5-CQA
5	38.6	517	163,355	515	135,173,173,179,191,353	516	3,5-diCQA
6	35.8	517	163,355		135,173,173,179,191,353	516	3,4-diCQA
7	44.0	517	163,355		135,173,173,179,191,353	516	4,5-diCQA

Table 4. <sup>1</sup>H-NMR spectral data of compounds 1-7, QA, CA, and FA.

carbon	compound						
	1	2	3	4	Quinic acid(QA)	Cafeic acid(CA)	Ferulic acid(FA)
2	2.18	2.19	2.22	2.18	2.18		
3	5.66	4.32	4.21	4.30	4.01		
4	3.94	5.04	3.82	3.94	3.68		
5	4.32	4.35	5.42	4.32	4.18		
6	2.28,2.01	2.29,2.02	2.29,2.02	2.29,2.02	2.21,1.94		
2	6.99	7.00	7.21	7.00		7.02	7.19
5	6.73	6.75	6.81	6.75		6.76	6.79
6	6.88	6.91	7.08	6.91		6.93	7.05
7	6.19	6.21	6.32	6.21		6.18	6.36
8	7.50	7.52	7.58	7.52		7.51	7.55
1-OH	4.82	4.83	4.88	4.81	4.80		
4-OH	4.07 or 4.66	4.07 or 4.65	4.08 or 4.66	4.12 or 4.65	4.01 or 4.61		
5-OH	4.07 or 4.66	4.07 or 4.65	4.08 or 4.66	4.12 or 4.65	4.01 or 4.61		
7-OH	12.10	12.06	12.09	12.04	12.01		
3-OH	9.49	9.46		9.42		9.40	
4-OH	9.11	9.10	9.11	9.06		9.02	9.02
OCH <sub>3</sub>			4.07				4.12

carbon	compound		
	5	6	7
2	2.18	2.20	2.18
3	5.49	5.68	4.33
4	3.95	5.12	5.06
5	5.43	4.35	5.64
6	2.30,2.12	2.29,2.03	2.35,2.14
2,2	7.11,7.09	7.03,7.00	7.06,7.03
5,5	6.80,6.78	6.74,6.73	6.76,6.73
6,6	7.00,6.98	6.91,6.88	6.91,6.88
7,7	6.38,6.28	6.29,6.21	6.24,6.21
8,8	7.63,7.61	7.62,7.53	7.59,7.56
1-OH	5.07	5.04	5.02
4-OH	4.41 or 4.95	4.38 or 4.92	4.36 or 4.89
5-OH	4.41 or 4.96	4.38 or 4.92	4.66 or 4.89
7-OH	12.39	12.39	12.36
3,3-OH	9.79,9.76	9.81,9.77	9.78,9.76
4,4-OH	9.48,9.42	9.45,9.42	9.44,9.41

Table 5. Yield of hydroxycinnamic acid derivatives in WIB and EK-1 Grade 4 (Grams per 100g of Dry Weight Basis)

compounds	WIB	EK-1grade4
3-CQA	0.69 ± 0.03	0.85 ± 0.04
4-CQA	1.53 ± 0.13	1.46 ± 0.06
5-CQA	5.55 ± 0.31	4.38 ± 0.19
5-FQA	1.40 ± 0.08	1.12 ± 0.03
3,4-diCQA	0.31 ± 0.01	0.33 ± 0.04
3,5-diCQA	0.52 ± 0.03	0.50 ± 0.04
4,5-diCQA	0.34 ± 0.07	0.44 ± 0.12

やIslamら<sup>10)</sup>は、ケミカルシフト値が低磁場側にシフトしたキナ酸のOH基にカフェ酸がエステル結合していると報告している。また、化合物1と4の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは、Morishitaら<sup>9)</sup>の3-CQAと4-CQAのスペクトルと酷似していた。さらに化合物1, 2と4のHPLCリテンションタイムはKyら<sup>3)</sup>の結果と類似していた。これらの結果から、化合物1, 2, および4を3-CQA, 5-CQA, 4-CQAと同定した。5-CQAの<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは市販の5-クロロゲン酸と一致した。

化合物3はFAB/MS分析で $m/z$  354に分子イオンピークを与えた。このフラグメントをMS/MS分析すると、ポジティブイオンモードで $m/z$  177に、ネガティブイオンモードでは $m/z$  191と194にフラグメントを与えた。 $m/z$  177フラグメントはフェルロイル基に由来し、 $m/z$  191フラグメントはキナ酸由来、 $m/z$  194はフェルロイル基由来のフラグメントと同定した<sup>8)</sup>。また化合物3の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルは、キナ酸の5位のHのケミカルシフト値がシフトしていたことと、Morishitaら<sup>9)</sup>の5-フェルロイルキナ酸の結果に酷似していたことから、化合物3は5-FQAと同定した。

化合物5～7はFAB-MSで $m/z$  516に分子イオンピークを与えた。このフラグメントをMS/MS分析すると、ポジティブイオンモードで $m/z$  355と163に、ネガティブイオンモードでは $m/z$  353、191、179、173、135にフラグメントが出現した。 $m/z$  355と163のフラグメントはカフェオイル基が遊離して生成したクロロゲン酸とカフェオイル基由来のカルボニル酸素と考えられる。一方、 $m/z$  353のフラグメントはカフェオイル基が遊離した

クロロゲン酸、 $m/z$  191と173はキナ酸由来、 $m/z$  179と135はカフェ酸に由来すると同定した<sup>7)</sup>。これらのMS分析結果から、化合物5～7はジカフェオイルキナ酸の異性体と同定した。さらに化合物5～7の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルでキナ酸のC-3, C-4およびC-5位のプロトンのケミカルシフト値が低磁場側にシフトしていたことと、Morishitaら<sup>9)</sup>、Basnetら<sup>11)</sup>、Islamら<sup>10)</sup>のdiCQA類の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルと酷似していたことから、化合物5～7をそれぞれ3, 4-diCQA, 3, 5-diCQA, 4, 5-diCQAと同定した。

つぎに、gradeの異なる2種類の生豆(EK-1 grade 4とWIB) 100gに含まれる7種類のクロロゲン酸類を定量したところ9.28gと10.3gで、5-CQAは高品質なWIB生豆に多く含まれていた(4.38gと5.55g)が、diCQA量は2種類の生豆で差が認められなかった(1.27gと1.17g, Table 5)。この結果は、コーヒー果実の成熟にともなってCQA異性体が増加するというFig. 3と4の結果およびDe Menezesの結果<sup>12)</sup>を支持していた。

#### 4. 市場で流通しているコーヒー生豆中のクロロゲン酸異性体含量

市場で流通している31銘柄(Table 1)の生豆いづれから7種類のクロロゲン酸が検出された。ロブスタ種の総クロロゲン酸類量は9.2～10.5%で、アラビカ種の6.3～7.7%に比べると多く含まれていた(Fig. 7)。また産地で見るとアフリカ産の生豆にはクロロゲン酸量が少なく、インドネシアやベトナム、ハワイ産の生豆に多く含まれる傾向が認められた。これらの値はすでに報告されて

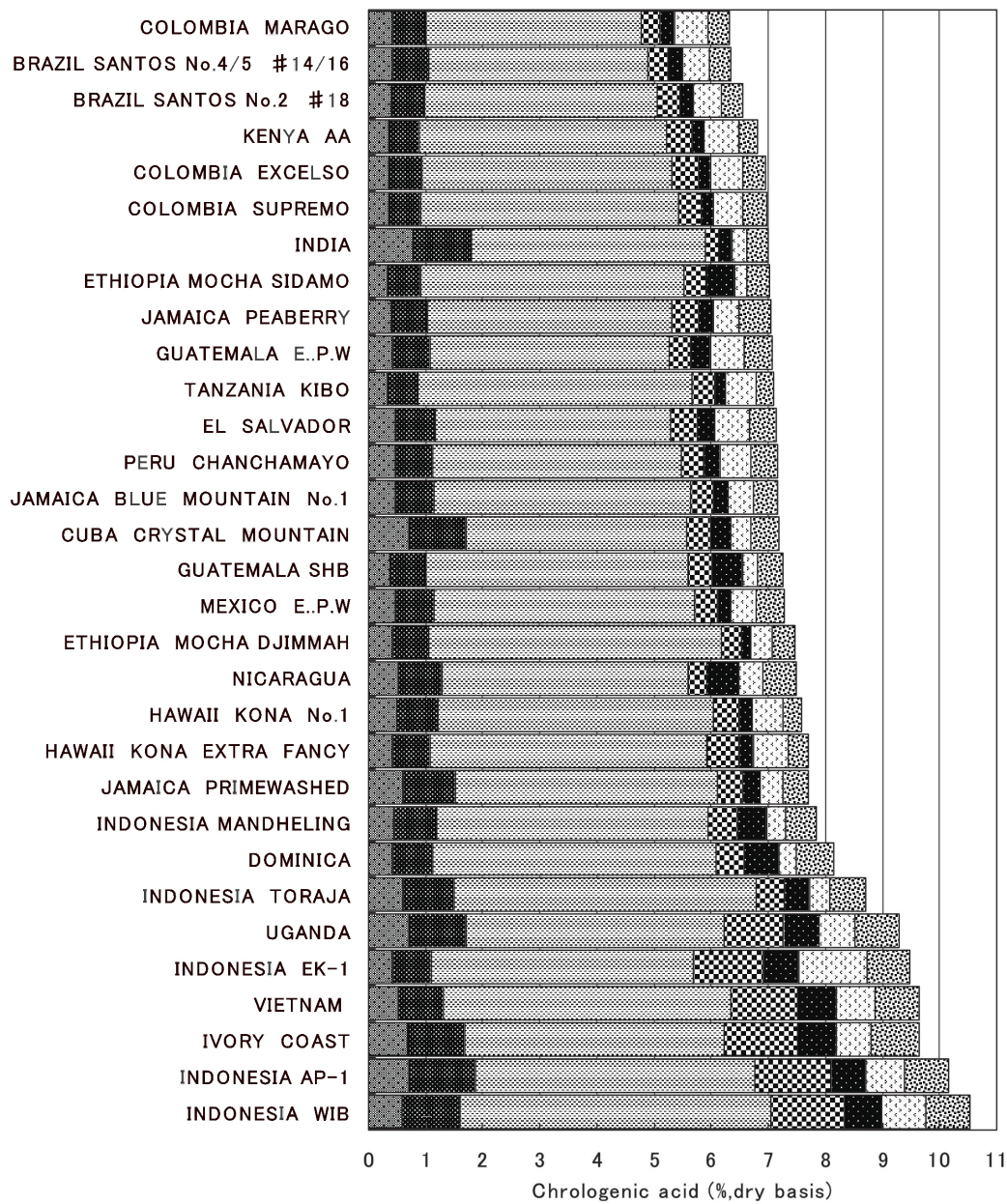


いるクロロゲン酸量<sup>13)</sup>とほぼ一致していた。とくにインドネシア産ロブスタ種にはdiCQA類が多く含まれていた(1.4~2.2%)ことから、インドネシア産ロブスタ種の未熟豆は、新たなクロロゲン酸類の有望な資源になると期待される。

### 要約

コーヒーの樹につけた果実は一斉に熟するのではなく経日的に熟していく。多くのコーヒーの樹はプランテーション栽培され、人の手で果実が収

穫されているが、成熟した果実だけを収穫するのではなく、未成熟な果実や風などで落下した未熟な果実も合わせて収穫されることが多い。したがって、収穫されたコーヒー果実の約40%が未熟な果実であると言われている。未熟な果実から得られるコーヒー生豆を焙煎し、抽出しても、コーヒー飲料の風味を大きく損なうことから、コーヒー市場には出荷されない。未熟なコーヒー生豆は、プランテーションではたらく人たちに飲まれるぐらいで、バイオマス資源として有効に利用されていない。しかし、成熟度の異なる果実から得



■ 3-CQA ■ 4-CQA ■ 5-CQA ■ 5-FQA ■ 3,4-diCQA ■ 3,5-diCQA ■ 4,5-diCQA

Fig. 7. Contents of chlorogenic acid derivatives in commercial green coffee beans.

た生豆には6g/100gのクロロゲン酸類総量が含まれており、この値は未熟果実と成熟果実で変わらないこと、CQA/diCQA比は成熟度が増すに連れて大きくなることを明らかにした。また、未熟な生豆からクロロゲン酸類を抽出しHPLC分析で7種類のクロロゲン酸を検出した。そこで生豆から7種類のクロロゲン酸類を単離して、機器分析を行った結果、3-, 4-, 5-CQA, 5-FQA, 3, 4-, 3, 5-および 4, 5-diCQAと同定することができた。これらの結果をもとに、gradeの異なる2種類の生豆に含まれるクロロゲン酸類を定量したところ、高品質な生豆には5-CQAが多く含まれていたが、diCQA量には差が認められなかった。また、市場に流通している産地や品種の異なる31銘柄の生豆いずれからも7種類のクロロゲン酸類が検出され、アラビカ種(6.3~7.7%)よりもロブスタ種(9.2~10.5%)に多く含まれていた。調査した銘柄の中でクロロゲン酸類が最も多く含まれていたのは、インドネシア産ロブスタ種であった。これらの結果から、コーヒー未熟生豆とくにインドネシア産ロブスタ種はクロロゲン酸類の有望な資源であることを明らかにすることができた。

## 謝 辞

成熟度の異なるコーヒー果実を調達して下さいました鹿児島県大島郡 林 茂氏、機器分析をして下さいました近畿大学共同利用センター 森田 全律助教授と峯松敏江博士に厚くお礼申し上げます。

## 参考文献

- 1) Van der stegen, G.H.D.; van Duizn, J. Analysis of chlorogenic acids in coffee. ASIC 9th Colloque, London, 1982, pp.107-112.
- 2) Clifford, M N.; Ramirez-Martinez, J R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of Mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chem.* **35**,13-21 (1990).
- 3) Ky, C. L.; Noirot, M.; Hamon, S. Comparison

- of five purification methods for chlorogenic acids in green coffee beans (*Coffea sp.*). *J.Agric. Food Chem* **45**, 786-790 (1997).
- 4) Uritani, I.; Muramatsu, K. Phytopathological chemistry of black-rotted sweet potato. part 4. Isolation and identification of polyphenols from injured sweet potato. *Nippon Nougeikagaku kaisi.* **27**, 29-33 (1952).
- 5) Martin, R.; Lilley, T. H.; Falshaw, C. P.; Haslam, E.; Begley, M. J.;Magnolato, D. The caffeine-potassium chlorogenate molecular complex. *Phytochemistry.* **26**, 273-279 (1994).
- 6) Ohiokepehai, O.; Brumen, G.; Clifford, M. N. The Chlorogenic acids content of some peculiar green coffee beans and the implications for beverage quality. ASIC 10th Colloque, Salvador, 1982, pp.177-185.
- 7) Fang, N.; Yu, S.; Prior R. L. LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3579-3585 (2002).
- 8) Corse, J.; Sondheimer E.; Lundin, R. 3-feruloyquinic acid A 3'-methyl ether of chlorogenic acid. *Tetrahedron.* **78**, 1207-1210 (1962).
- 9) Morishita, H.; Iwashita, H.; Osaka, N.; Kido, R. Chromatographic separation and identification of naturally occurring chlorogenic acids by 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy and mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **315**, 253-260 (1984).
- 10) Islam M. S.; Yoshimoto, M.; Yahara, S.; Okuno, S.; Ishiguro, K.; Yamakawa, O. Identification and characterization of foliar polyphenolic composition in Seetpotato (*Ipomoea batatas L.*) genotypes. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 3718-3722 (2002).
- 11) Basnet, P.; Matsushige, K.; Hase, K.; Kadota, S.; Namba, T. Potent antihepatotoxic activity of dicaffeoyl quinic acids from propolis. *Biol. Pharm. Bull.* **19**, 655-657 (1996).

- 12) De Menezes, H.C. The relationship between the state of maturity of raw 20 coffee beans and isomers of caffeoylquinic acid. *Food Chem.* **50**, 293–294 (1994).
- 13) Clifford, M. N. (1985). Chapter 5, Chlorogenic acids. In “Coffee. Vol.1:Chemistry,” ed. by Clarke R. J., Macrae, R., Elsevier Applied Science, London, pp.186–187, (1985).