

資料

DMSO によるココア粉中のテオブロミン及び カフェインの抽出方法の検討 (第 1 報)

前 川 仁*, 山 崎 幸 彦**, 矢ヶ崎 国 秀**

Extraction of Theobromine and Caffeine in the Cocoa Powder by DMSO (Report)

Hitoshi MAEKAWA *, Yukihiro YAMAZAKI ** and Kunihide YAGASAKI **

*Hakodate Customs Laboratory

24 - 4, Kaigan - cho, Hakodate - shi, 040 Japan

**Central Customs Laboratory , Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo - shi, Chibaken, 271 Japan

Theobromine and Caffeine were analysed by Gas Chromatography extracted by DMSO. analytical condition were as follows.

G.C. condition : Capillary column - silicone OV - 17 2%chromosorb AW - DMCS
Mesh - 60 / 80 3mm length 4.1m

Detector - FID Column temperature - 225 Carrier gas - N₂ (60ml / min)
phenacetine was used as the internal standard.

Extract condition : Sample - cocoa powder on the market (not including sugar and
milk) . Fat treatment - by Soxhlet's extractor (solvent : ethyl ether 12hour) .
Extraction by DMSO - 60min , at 60 °C on the water bath.

We found about 98% of theobromine were collected by above technique compared
for HPLC .

1 . 結 言

現在税関におけるココア粉中のテオブロミンの定量は、関税中央分析所参考分析法 No.26 により行われているが、試験操作に時間と熟練が必要である。

古川らは HPLC によるテオブロミン及びカフェインの定量について考察を行い良好な結果を得ているが

^{3) 4)}, HPLC が配備されている税関が少ないという現状にあり、各税関分析室では迅速・容易に定量分析を行うため、ガスクロマトグラフィーを活用する方法が考えられた。そのためココア粉中のテオブロミン及びカフェインを、DMSO により抽出しガスクロマトグラフィーにより定量する方法について検討したので報告する。

* 函館税関 〒040 函館市海岸町 24 - 4

**大蔵省関税中央分析所 〒271 松戸市岩瀬 531

2 実 験

(1) 標準溶液の調整

テオブロミン及びカフェイン何れも (ナカライ製) 特級を DMSO に溶解させ (テオブロミン = 5mg / 1ml, カフェイン = 10mg / 1ml) 標準溶液とし, 検量線の作成にあたっては, 適宜希釈して使用した。

(2) 内部標準溶液の調整

フェナセチン (ナカライ製) 特級を DMSO に溶解させ, (10mg / 1ml) 内部標準溶液とした。

(3) 試料中のテオブロミンとカフェインの抽出

市販の純ココア粉 (無糖, 無ミルク成分) をソックスレー抽出器で約 12 時間エチル・エーテルにより脂肪を除去し, 105 に乾燥させた後, 遠沈管に約 1g を正確に計り採り, 20ml の DMSO で 60 に保ったウォーターバス上で振とうしながら 1 時間抽出させる。

抽出後 10,000rpm で 20 分遠心分離し, 上澄液を 25ml 溶メスフラスコに 15ml 採り, 内部標準液 1ml を加え DMSO にてメスアップし, 検液とした。

(4) ガスクロマトグラフィーによる定量

下記の条件でフェナセチンを内部標準とし, 標準溶液により検量線を作成し, 上記検液についてテオブロミン及びカフェインの定量を行った。

検量線の作成及び同定テーブルの作成はガスクロマトグラフィー付属のクロマトパック C - R4A を使用した。

装 置 : ガスクロマトグラフ 島津 15 - A

カラム : シリコン OV - 17 2% クロモソブ
AW - DMCS

メッシュ 60 / 80 長さ 4.1m

検知器 : FID

データ処理装置 : 島津 C - R4A

条 件 : オープン温度 225 定温

FID 及びインジェクター 290

キャリアーガス N₂ 60ml / 1min

試料注入量 0.5 μ l

(5) HPLC による定量

古川らの方法により^{3), 4)} テオブロミン, カフェインを定量した。

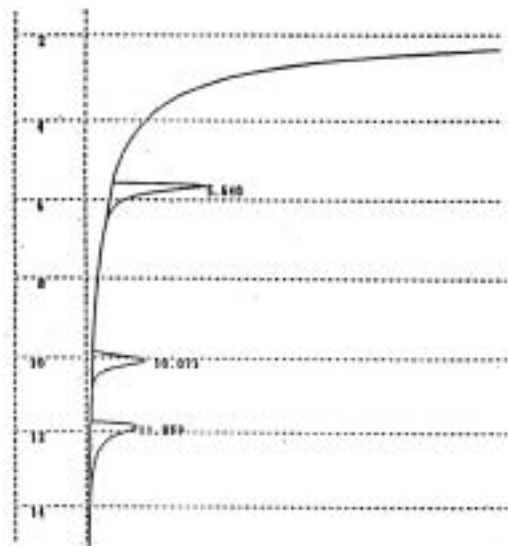


Fig. 1 Gaschromatogram of Standard Solution

Table 1 Identification Table

IDNo.	Name	R. T. (min.)	conc. (mg/ml)	F. 1	F. 2
1	Phenacetine	5.61	1st. 10	1	
			2nd. 10		
			3rd. 10		
2	Caffeine	10.03	1st. 5	1.82361	0.0856798
			2nd. 10		
			3rd. 15		
3	Theobromine	11.91	1st. 10	2.51776	0.580016
			2nd. 20		
			3rd. 30		

* R. T. : retention time, conc. : concentration, F. : factor

3 結果及び考察

(1) 標準溶液による検量線と同定テーブルについて
標準溶液による検量線と同定テーブルの作成については別添クロマトグラム (Fig.1) 及び同定テーブル

(Table 1) のとおり結果を得ることが出来た。クロマトグラムについては裾野の広いテーリング上に各ピークが乗っているが、このクロマトグラムで得た標準溶液 (カフェイン 15mg , テオブロミン 30mg 含有) の収率は、ほぼ 100% であった (Table 2) 。

Table 2 Results of calculation (3rd)

	Name	theoretical conc. (mg/ml)	found conc. (mg/ml)
1	Phenacetine	10	-
2	Caffein	15	15. 0382
3	Theobromine	30	30. 0227

(2) 試料中のテオブロミンの抽出について
ガスクロマトグラフィーの分析条件に従って試料中のテオブロミン、カフェインを定量した結果は、別表

(Table 3) のとおりであり、これを HPLC により定量した値 (Table 4) と比べるとテオブロミンで 98.60% カフェインで 96.49% の収率であった。

Table 3 Determination of Theobromine and Caffein by GC

Theobromine					
	1st. %	2nd. %	3rd. %	average %	
1	2. 12	1. 98	2. 03	2. 04	average content
2	2. 05	2. 07	2. 11	2. 07	$2. 11\% \times 20/15 = 2. 81\%$
3	2. 29	2. 28	2. 14	2. 23	
Caffein					
	1st. %	2nd. %	3rd. %	average %	
1	0. 21	0. 20	0. 20	0. 20	average content
2	0. 20	0. 20	0. 21	0. 20	$0. 20\% \times 20/15 = 0. 27\%$
3	0. 27	0. 21	0. 21	0. 21	

Table 4 Determination of Theobromine and Caffein by HPLC

1	Theobromine	average content	2. 86%
2	Caffein	average content	0. 29%

4 要 約

DMSO によるテオブロミン及びカフェイン抽出の収率がほぼ 95% 以上であること及び実験操作の簡易さ並びに時間の短縮が計られることから、ココア粉中のテオブロミン及びカフェインの定量にこの抽出法が

使用できるのではないかと期待ができる。しかし DMSO が硫黄含有物であることから、大きなテーリングを引くことについて、ガスクロマトグラフィーの条件 (例えば注入量) の検討及びカラムの検討を重ねる必要があると思料する。

文 献

- (1) 佐藤宗衛 : 関税中央分析所所報第 16, 43 (1976)
- (2) Merck Index. 11th Edi. 248. 146
- (3) 古川ら : 関税中央分析所税関分析発表会 (1991)
- (4) 古川 広・鈴木 稔・早野弘道 : 関税中央分析所報 31, 157 (1992)