

ノート

HPLC によるテオブロミン及びカフェインの定量 及び無脂肪無水ココア分の算出

古 川 広, 鈴 木 稔, 早 野 弘 道*

Estimation of Fat-Free Dry Cocoa Calculated from Theobromine and Caffeine Content Determined by HPLC

Hiroshi FURUKAWA, Minoru SUZUKI, Hiromichi HAYANO*

Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

*531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

It was determined theobromine and caffeine contents by HPLC as well as cacao fat and moisture contents in cocoa mass and cocoa powder in order to examine a estimating methods of fat-free dry cocoa content in food preparations. It was provisionally agreed by the Customs Co-operation Council that fat-free dry cocoa content could be estimated by multiplying total of theobromine and caffeine contents by 31. Since the average empirical conversion factor from theobromine and caffeine contents to fat-free dry cocoa content obtained by this analysis was 30.6, it was confirmed that this method could produce satisfactory results. It was also appeared that employing the total of theobromine and caffeine contents would produce smaller variation than employing theobromine content only when calculating fat-free dry cocoa content.

1 緒 言

関税協力理事会において、ココア分の算出方法を検討しているが、無脂肪無水ココアはテオブロミンの含有量とカフェインの含有量の合計に 31 を掛けて算出することで合意している。

ここでは、関税協力理事会で推奨された液体クロマトグラフィーにより、カフェイン及びテオブロミンの定量を行い、無脂肪無水ココアはテオブロミンの含有

量とカフェインの含有量の合計に 31 を掛けて算出する方法により、満足される定量値を得ることが出来るかどうかを検討したので報告する。

2 実 験

2.1 試料

試料として、ココアマス 10 点、ココア粉 5 点を使用した。

* 大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

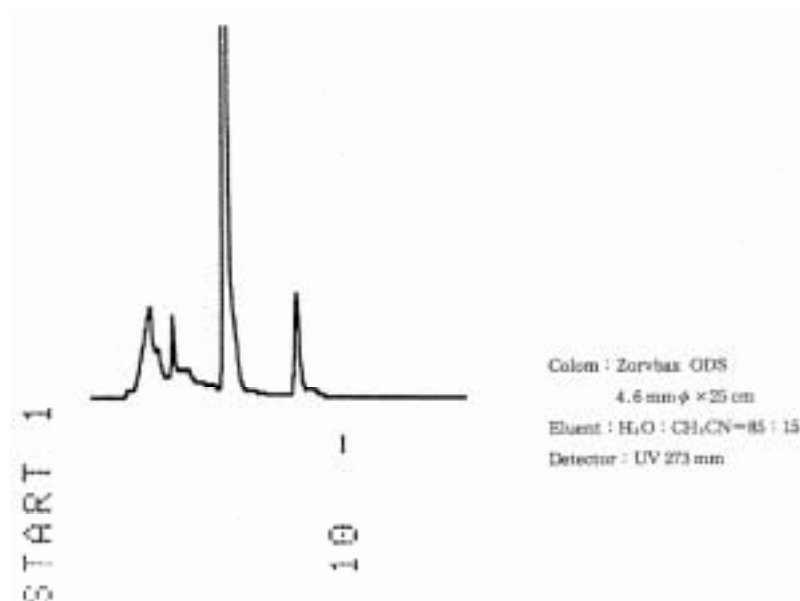


Fig.1 Liquid Chromatogram of Cacao Mass Sample Solution (Brazil 1)

Table 1 Conversion Factors From Theobromine and Caffeine Contents/Theobromine Content to Defatted Dry Cocoa Content Determined by HPLC : Cocoa Mass

Samples	Moisture (M)	Fat (F)	Defatted Cocoa (100 - M - F)	Theobromine (T)	Caffeine (C)	T + C	Conversion Factor ① (100-M-F)/(T+C)	Conversion Factor ② (100-M-F)/T
Brazil 1	1.8	55.6	42.7	1.15	0.138	1.29	33.1	37.1
Brazil 2	0.7	54.5	44.8	1.18	0.161	1.34	33.4	38.0
Ghana 1	1.4	55.6	43.0	1.32	0.087	1.41	30.5	32.6
Ghana 2	1.1	51.7	47.2	1.22	0.217	1.44	32.8	38.7
Malaysia	1.8	52.5	45.7	1.29	0.115	1.40	32.8	35.4
Colombia	1.6	54.7	43.7	1.21	0.160	1.37	31.8	36.1
Ecuador	1.7	55.2	43.1	1.31	0.290	1.60	26.9	32.9
Grenada	2.3	56.0	41.8	1.23	0.262	1.49	27.4	33.2
Trinidad & Tobago	1.8	55.0	43.2	1.17	0.288	1.45	28.8	36.9
Venezuela	1.5	55.8	42.7	1.34	0.236	1.58	27.0	31.6
Average	1.5	54.8	43.7	1.24	0.195	1.44	30.5	35.3
Maximum	2.3	58.9	40.8	1.34	0.290	1.60	26.4	38.7
Minimum	0.7	51.7	47.2	1.15	0.087	1.29	30.9	31.0

Table 2 Conversion Factors From Theobromine and Caffeine Contents/Theobromine Content to Defatted Dry Cocoa Content Determined by HPLC : Cocoa Powder

Samples	Moisture (M)	Fat (F)	Defatted Cocoa $100 - M - F$	Theobromine (T)	Caffeine (C)	T+C	Conversion Factor ① $(100 - M - F) / (T + C)$	Conversion Factor ② $(100 - M - F) / T$
High Fat Cocoa 1	6.9	21.3	71.8	2.23	0.202	2.43	29.5	32.2
High Fat Cocoa 2	4.8	22.3	72.9	2.60	0.096	2.70	27.0	28.0
High Fat Cocoa 3	6.2	24.0	69.8	2.05	0.140	2.19	31.9	34.0
Low Fat Cocoa 1	7.9	10.0	82.1	2.07	0.712	2.78	29.5	39.7
Low Fat Cocoa 2	6.8	12.8	80.4	1.90	0.372	2.27	35.4	42.3
Average	6.5	18.1	75.4	2.25	0.384	2.47	30.7	35.2
Maximum	7.9	24.0	82.1	2.60	0.712	2.78	35.4	42.3
Minimum	4.8	10.0	69.8	1.90	0.096	2.19	29.5	28.0

2.2 試料の調製

AOAC⁹⁾の方法に従い、試料調製を下記の通り行った。

(1) テオブロミン及びカフェインの標準試料

テオブロミン（和光純薬）及びカフェイン（シグマ社）を昇華により精製したものを蒸留水に溶解し、標準試料とした。

(2) 測定試料

カカオマス（約 1g）及びココア粉（約 0.5g）を正確に量り取り、石油エーテルにより脂肪分を除去した。95ml の水で熱水抽出を 25 分間行い、冷後試料中の水の量を 100.0g に調整した後遠心分離し、上澄液のろ液を 0.45 μ l のフィルターでろ過したものを測定試料とした。

Table 3 Variation of Conversion Factors of 15 Samples

	Conversion Factor ① $(100 - M - F) / (T + C)$	Conversion Factor ② $(100 - M - F) / T$
Average	30.6	35.3
Maximum	35.4	42.3
Minimum	26.9	28.0
Standard Deviation	2.61	3.53
Coefficient of Variation	0.0853	0.100

2.3 高速液体クロマトグラフィー

下記の条件で液体クロマトグラフィーを行い、標準試料の検量線を作成し、測定試料のテオブロミン及びカフェインの定量を行った。

装置：島津高速液体クロマトグラフ LC6A

カラム：ズルボックス ODS 4.6mm ϕ $\times$ 25cm

溶離相：水：アセトニトリル＝85：15 流速：1ml/min

検出：UV273nm

2.4 水分及び粗脂肪の定量

(1) 水分の定量：80℃減圧乾燥

(2) 粗脂肪の定量：ソックスレー抽出法

3 結果及び考察

Fig.1 にココアの液体クロマトグラムをしめす。

Table1 及び 2 に示すように、テオブロミン及びカフェインの含有量から無脂肪無水のココア分を算出する換算係数の平均は 30.6 となり、関税協力理事会で暫定的に合意されている算出法方かなり近い値となった。また、テオブロミン及びカフェインの含有量に 31 を掛けて無脂肪無水のココア含有量を計算し、その平均値をとると、真の無脂肪無水のココア含有量（試料から水分と粗脂肪を控除した値）の平均値とほぼ一致した。

Table 3 に示すように、実験から求めた換算係数の変動係数はかなり大きいものの、テオブロミンの含有量から単独で算出するよりも小さな値を示す。このことから、テオブロミン及びカフェインの含有量の合計を計算の基数値として使用するほうが、テオブロミンの含有量のみを計算に用いる場合に比べ、より変動の少ない結果がもたらされるものと思われる。

4 要 約

液体クロマトグラフィーによりテオブロミン及びカ
フェインの含有量を定量し、この定量値の合計に 31

を掛けて無脂肪無水のココア含有量を算出するという
関税協力理事会の方法は、ココア分の定量方法として
適当なものであると考えられる。

文 献

- 1) Official Methods of Analysis (1984) 14 th Ed., AOAC, Washington DC, 13. 066