

資料

DMSOによるココア粉中のテオプロミン及び 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 Caffein in the Cocoa Powder
by DMSO (Report)**

Hitoshi MAEKAWA*, Yukihiko 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 Caffein 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 length4.1m

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 suger and milk). Fat treatment - by Soxhlet's extractor (solvent : ethyl ether 12hour) . Extraction by DMSO - 60min , at 60 on the water bath.

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

1. 緒 言

現在税關におけるココア粉中のテオプロミンの定量は,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によるテオプ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關が少ないという現状にあり,各税關分析室では迅速・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プ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。

* 函館税關 〒040 函館市海岸町 24 - 4

**大蔵省税關中央分析所 〒271 松戸市岩瀬 531

2 実験

(1) 標準溶液の調整

テオプ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(テオプロミン=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) 試料中のテオプ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°Cにて乾燥させた後, 遠沈管に約1gを正確に計り採り, 20mlのDMSOで60°Cに保ったウォータ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プ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°C 定温

FID 及びインジェクター 290°C

キャリアガス N₂ 60ml / 1min

試料注入量 0.5 μl

(5) HPLCによる定量

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

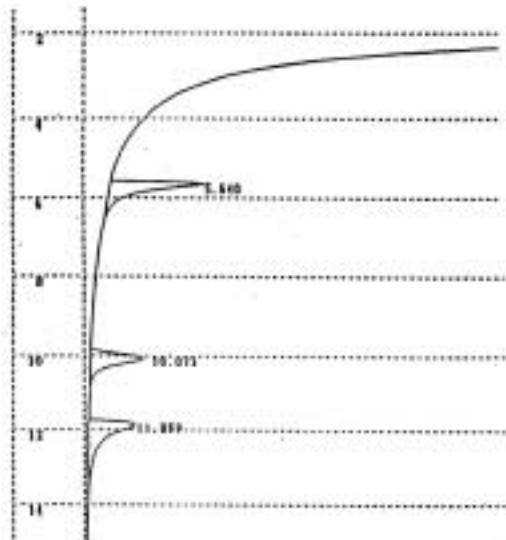


Fig. 1 Gaschromatogram of Standard Solution

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	Caffein	10.03	1st.	5	1.82361
			2nd.	10	
			3rd.	15	
3	Theobromine	11.91	1st.	10	2.51776
			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, テオプロミン 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) 試料中のテオプ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プロミン、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) と比べるとテオプロミンで 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
2	2.05	2.07	2.11	2.07
3	2.29	2.26	2.14	2.23
Caffein				
	1st.%	2nd.%	3rd.%	average %
1	0.21	0.20	0.20	0.20
2	0.20	0.20	0.21	0.20
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 によるテオプ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、ココア粉中のテオプ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 : 関税中央分析所税關分析発表会 (1991)
- (4) 古川 広・鈴木 稔・早野弘道 : 関税中央分析所報 31, 157 (1992)