

## 1 たんぱく質

### (1) 窒素定量換算法

食品中のたんぱく質の定量では、全窒素を定量し、それに一定の係数<sup>注1)</sup><sup>注2)</sup> を乗じてたんぱく質量とする。

#### ① 機器<sup>注3)</sup>

・ドラフト

・ケルダール分解フラスコ：試料の採取量に応じて適切な容量のものを選ぶ。

・分解用加熱装置：ガス又は電熱式の分解用架台を用いる。一例として 200ml の水と 4～5 粒の沸騰石を入れた分解フラスコを載せて加熱するとき、約 5 分で沸騰し始めるように調節できる熱源が必要。

・アンモニア直接蒸留装置

・ピュレット：テフロンコック付き、容量 25ml 以下で 0.05ml の刻線付きのもの。

#### ② 試薬※<sup>注3)</sup><sup>注4)</sup>

・硫酸カリウム：特級、粉状のもの。

・硫酸銅（Ⅱ）五水和物：特級、12 メッシュ以上に粉砕したもの。

・濃硫酸：特級

・水酸化ナトリウム：特級

・ホウ酸：特級

・分解促進剤：硫酸カリウムと硫酸銅（Ⅱ）五水和物を 9：1 の割合で混合。

・沸騰石：10～12 メッシュ程度の粒度のもの。

・30%水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム 300g を水約 500ml に溶解した後、更に水を加えて 1L に希釈したもの。

・4%ホウ酸溶液：ホウ酸 40g を水 960ml に加温溶解し、冷却したもの、但し自動化した装置を使用する場合は機器の指定する濃度のものを用いる。(通常 2～4%)

・混合指示薬：0.2%メチルレッドと 0.2%ブロムクレゾールグリーンの 95%エタノール溶液を 1：5 の割合で混合したもの<sup>注5)</sup>。

・0.1mol/L 水酸化ナトリウム標準溶液：水酸化ナトリウム約 4.5g を量り、水約 950ml を加えて溶かし、新たに調製した水酸化バリウム飽和溶液を、沈殿が生じなくなるまで加える。液をよく振り混ぜた後、密栓し、一夜放置する。上澄み液を傾斜するか、又は液をろ過する。本液は、ゴム栓で密栓するか、又は二酸化炭素吸尿管（ソーダ管）を付けた瓶に保存し、たびたび標定し直す<sup>注6)</sup>。

・0.05mol/L 硫酸標準溶液：濃硫酸約 28ml に水を加えて 10L に定容する。これを 0.1mol/L 水酸化ナトリウム標準溶液で標定した後、使用する。

・ショ糖：特級

#### ③ 測定<sup>注3)</sup>

試料の適量 (Sg) をケルダール分解フラスコに精密に量り、分解促進剤<sup>注7)</sup> 5g を加え、次いで濃硫酸 15ml を加え、穏やかに振り混ぜた後、弱火で加熱する。分解が始まると、液は黒化し泡立つ<sup>注8)</sup>。黒色粘稠液になったら加熱を強める。反応が進むと、亜硫酸ガスと炭酸ガスを発生しながら液は徐々に黒褐色から褐色になり、最後に青色ないし青緑色で澄明な液になる<sup>注9)</sup>。更に、

1～2時間強熱を続けて分解を完了させる。

冷却後、分解液に脱イオン水約 120ml を加え、沸騰石数個又は粒状亜鉛を少量加えてから、静かに 30%水酸化ナトリウム溶液 70ml を加えて、蒸留装置に連結させる。蒸留液の留出口に 4%ホウ酸溶液 40ml<sup>(注10)</sup> を入れた三角フラスコを留出口がホウ酸溶液の液面より下にあるように装着した後、加熱蒸留し、液量が 120ml になったら留出口を液面から離し、更に 150ml まで蒸留する。

蒸留液に混合指示薬を数滴加え、0.05mol/L 硫酸標準溶液で滴定する。青色、青緑色を経て汚無色から桃色になったところを終点とする ( $V_1$  ml)。別に空試験として試料の代わりにショ糖を試料と同量採取し、前記同様に操作して分解、蒸留、次いで滴定する ( $V_0$  ml)。

④ 計算

$$\text{窒素 (g/100g)} = \frac{(0.0014 \times (V_1 - V_0) \times f)}{S} \times 100$$

f : 0.05mol/L 硫酸標準溶液のファクター

たんぱく質 (g/100g) = 窒素 (g/100g) × 窒素・たんぱく質換算係数

[注]

1) 窒素・たんぱく質換算係数を次表に示す。

下記以外の食品については、窒素・たんぱく質換算係数として 6.25 を用いる。

2) 食品中の窒素化合物は必ずしもたんぱく質のみでなく、食品によってはかなりのアミノ酸類、アミド類、プリン塩基類及びクレアチン類などを含有することもあるが、一般的には全窒素をたんぱく質に由来するものとみなし換算する。

したがって、たんぱく質以外の窒素成分を豊富に含む食品（例えば、白子のように核酸を豊富に含む食品、大豆レシチン含有食品のように含窒素脂質であるレシチンを豊富に含む食品）にあっては、本法の適用が必ずしも妥当ではない点を留意すべきである。

なお、緑茶、紅茶、コーヒー、ココアなどカフェインやテオブロミンを比較的多く含むもの場合には、これらを別に定量（カフェイン及びテオブロミンの定量法参照）して補正することも出来る。

3) 窒素定量換算法には、多種多様な改変・改良法がある。ここに示した機器、試薬及び測定操作は、比較的広く用いられている条件の 1 つに過ぎない。また、窒素定量換算法の操作の一部を自動化した機器も市販されており、活用できる(例 フォス・ティケーター社: ケルテックシステム)。自動化された機器類を使用する際は、装置のマニュアルに従い、指定された器具、試薬等を使用する。

4) 試薬は原則として特級を用いる。1 級で差し支えないが、その場合は購入試薬の空試験を行ってから使用すること。

5) 終点近くの汚無色が滴定時に明らかに出現するように、2 つの指示薬溶液のいずれかを追加する。

6) 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の第 2 添加物の一般試験法の C「試薬・試液」又は第十三改正日本薬局方 一般試験法「容量分析用標準液」の方法により標定する。

7) 分解促進剤、硫酸カリウム、二酸化チタン、硫酸銅（Ⅱ）五水和物を 20 : 1 : 1 の割合で混

合したもの 5.5g を用いてもよい。

8) デンプン、糖、脂質含量の多い試料は発泡が激しく、分解フラスコからあふれることがあるため、最初のうちは加熱に注意する。

9) 分解に要する時間は、試料によって異なるが、通常 1～2 時間で終了する。

10) ホウ酸は、滴定に直接関与しないので、ホウ酸溶液の濃度及び採取量を厳密にする必要はない。受器中のホウ酸が 40℃ 以上に加温されるとアンモニアの吸収が不完全になる。

## 2 脂質（変更なし 省略）

## 3 飽和脂肪酸

本試験法により個々の飽和脂肪酸含量を測定し、それらの総和を飽和脂肪酸量とする。  
また、個々の不飽和脂肪酸含量及び不飽和脂肪酸の総量も同様に測定することができる。

### (1) ガスクロマトグラフ法

#### 1) 脂質の抽出 I（けん化法）

##### ① 適用

魚介類や肉類など多糖類の含有量が少ない食品<sup>注1)</sup>

##### ② 機器、試薬

- ・ホットプレート
- ・ロータリーエバポレーター一式
- ・ヘプタデカン酸：純度 98% 以上のもの
- ・1mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液（ただし、エタノールには水 5% を含む。）
- ・ジエチルエーテル
- ・ヘキサン
- ・ピロガロール
- ・30% (W/V) 硫酸
- ・硫酸ナトリウム（無水）
- ・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。

##### ③ 操作

共栓付き三角フラスコに試料 0.5～5g（脂肪酸として 20～100mg）を精密に量り、ヘプタデカン酸 5～30mg を精密に加える。1mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 50ml 及びピロガロール 0.5g を加え、冷却器を付しホットプレート上で穏やかに 30 分間加熱けん化する。室温まで冷やし分液漏斗に水 150ml で移す<sup>注2)</sup>。30% (W/V) 硫酸を加え、pH を約 2 としてジエチルエーテル-ヘキサン（1：1 V/V）100ml 及び 50ml で 2 回振とう抽出する<sup>注3)</sup>。抽出液を合わせ水 40ml で 4 回洗浄した後硫酸ナトリウム（無水）で乾燥する。これをろ過して硫酸ナトリウムを除き、なす形フラスコに抽出液を集め、溶媒をロータリーエバポレーターで留去（40℃ 以下）する。

[注]

1) 糖質のグリコシド結合は酸には弱いがアルカリにはかなり安定である。アルカリによる分解は、還元末端から糖残基が 1 つずつ離れていくかたちをとり、時間がかかるとともに不完全になるため、けん化法は穀類など多糖類を多く含む食品には適さない。

また、酪酸等の低級脂肪酸は、分析操作におけるその挙動が他の脂肪酸（高級脂肪酸）と異なる（例えば、水に可溶であること、揮発性が高いこと。）。したがって本法は、後述の脂質の抽出Ⅱの方法を含め酪酸等の低級脂肪酸の測定を多く含む食品には適さない。

2)不けん化物が多い場合は、アルカリ性下で石油エーテルを用いて不けん化物を抽出、除去することでガスクロマトグラム上の不けん化物の妨害ピークを除去することができる場合がある。

3)ジエチルエーテル 100ml で 1 回抽出することで抽出が完了する場合がある。

## 2) 脂質の抽出Ⅱ（酸分解法）

### ① 適用

穀類など、多糖類を多く含む食品

### ② 機器、試薬

- ・ウォーターバス
- ・ロータリーエバポレーター一式
- ・ヘプタデカン酸：純度 98% 以上のもの
- ・塩酸溶液（濃塩酸と水を 25：11V/V の割合で混合する。）
- ・ジエチルエーテル
- ・石油エーテル
- ・硫酸ナトリウム（無水）
- ・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。

### ③ 操作

ピーカーに試料 0.5～5g（脂肪酸として 20～100mg）を量り、ヘプタデカン酸 5～30mg を正確に加える。エタノール 5ml を加えガラス棒で混和する。塩酸溶液 25ml を加え、湯浴（80℃）中で、蒸発を防ぐため時計皿を載せ、ときどきかくはんしながら 30 分間加熱<sup>注1)</sup>する。放冷後、分液漏斗に移し、エタノール 20ml とジエチルエーテル 60ml を加え振とうする。次いで石油エーテル 60ml を加え振とうする。下層を別の分液漏斗に移し、ジエチルエーテル—石油エーテル（1：1 V/V）60ml で 2 回、同様に振とう抽出する。抽出液を合わせ水 40ml で 4 回洗浄した後硫酸ナトリウム（無水）で乾燥する。これをろ過して硫酸ナトリウムを除き、なす形フラスコに抽出液を集め、溶媒をロータリーエバポレーターで留去（40℃以下）する。

[注]

1) この方法で不飽和脂肪酸の測定も可能な場合があるが、塩酸溶液による分解では、温度が高くなると多価不飽和脂肪酸の分解が促進されるので、正しく温度を調節する。また塩酸濃度が高すぎることで多価不飽和脂肪酸が分解されることが懸念される場合は塩酸濃度を下げることで適用が可能な場合がある。

## 3) 脂質の抽出Ⅲ（クロロホルム—メタノール法）

### ①適用

酪酸等の低級脂肪酸を乳類、乳製品などで測定する場合。

### ②装置、試薬

ガスクロマトグラフィー  
ホモジナイザー  
ホットプレート  
ウォーターバス  
振とう機  
ロータリーエバポレーター一式  
ガラスろ過器：11G-4  
ヘプタデカン酸：純度 98%以上のもの  
クロロホルム  
メタノール  
ハイフロスーパーセル  
硫酸ナトリウム(無水)

### ③操作

試料 1~5g を 300ml 容なす型フラスコに正確に量り取り、クロロホルム-メタノール(2 : 1)混液 150ml を加えて、ホモジナイザーで均一化する。クロロホルム-メタノール(2 : 1)混液約 10ml でホモジナイザーのシャフトを洗浄し、洗浄液もなす型フラスコに合わせる。冷却器を付しホットプレート上で穏やかに 1 時間加熱還流する。

冷却後、ガラスろ過器(ろ紙を敷き、その上にハイフロスーパーセルをのせる。)を用いて還流抽出液をなす型フラスコ(受器 1)に吸引ろ過する。また、クロロホルム-メタノール(2 : 1)混液 10~20ml で数回、抽出に用いたなす型フラスコ及びガラスろ過器を順次洗い、これら洗浄液は受器 1 に合わせる。

抽出液をロータリーエバポレーターで、内容物を乾固させない程度まで溶媒留去濃縮した後、クロロホルム 50ml を加え、ついで硫酸ナトリウム(無水)20~40g を加えて、10 分間振とう機で激しく振り混ぜる。

クロロホルム層をガラスろ過器(ろ紙を敷き、その上にハイフロスーパーセルをのせる。)で 100ml 容なす型フラスコ(受器 2)に吸引ろ過する。また、受器 1 及びガラスろ過器はクロロホルム 10ml~20ml で数回洗浄し、これらの洗浄液を受器 2 に合わせた後、受器 2 内の溶媒をロータリーエバポレーターで留去する。

### 4) 脂肪酸メチルエステルの調製<sup>註1)</sup>

#### ① 機器、試薬

- ・オイルバス又はアルミブロックヒーター
- ・スクリーキャップ (テフロンをコーティングしたもの) 付き試験管：12ml 容
- ・0.5mol/L 水酸化ナトリウム-メタノール溶液
- ・三フッ化ホウ素-メタノール試薬 (濃度約 14%)：ガスクロマトグラフ用
- ・ヘキサン
- ・飽和塩化ナトリウム溶液
- ・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。

## ② 操作

1), 2)または3) で得られた脂質約 30mg (最大 100mg)を精密に量りスクリーキャップ付き試験管にとる。0.5mol/L 水酸化ナトリウム-メタノール溶液 1.5ml を加え、容器内を窒素で置換した後キャップを締め混合してから 100℃で7分間加熱する。冷却し、三フッ化ホウ素-メタノール試薬 2ml を加える。容器内を窒素で置換した後キャップを締め混合してから 100℃で5分間加熱する。30~40℃まで放冷し、ヘキサン 1ml を加え容器内を窒素で置換した後 30 秒間激しく振とうする<sup>注2)</sup>。次いで飽和塩化ナトリウム溶液 5ml を加え容器内を窒素で置換し、よく振り混ぜる。ヘキサン層が分離したら別の試験管に移す。下層に更にヘキサン 1ml を加え振とう抽出する。抽出液を合わせた後<sup>注3)</sup>、ヘキサンで定容とし試験溶液とする<sup>注4)</sup>。

### [注]

1)データを確認していれば、本法以外のメチル化法を用いることができる。

2) 脂質量が多い場合にヘキサン量を 3ml に増やし、3 分間激しく振とうすることで分配効率を向上できる場合がある。

3)脂肪酸メチルエステルの精製が必要な場合は以下のように行う。

カラム：シリカゲル 8g (130℃で 16 時間活性化したもの)

クロマト管 (内径 1cm)

溶出液：ヘキサン 100ml (洗浄)

：ヘキサン-ジエチルエーテル (98：2 V/V) 100ml(脂肪酸メチルエステルの溶出)

なお、簡便、迅速化のためにディスポーザブルのシリカカラムを用いることもできる。この場合の操作例を以下の示す。

カラム：Sep pak SILICA (使用前にヘキサンで活性化)

試料溶液負荷：ヘキサンで溶解した脂肪酸メチルエステル溶液 (20mg 以下)

溶出液：ヘキサン 10ml (洗浄)

：ヘキサン-ジエチルエーテル (98：2 V/V) 10ml(脂肪酸メチルエステルの溶出)

4) 酪酸等の低級脂肪酸は本法では分析できないことがあるため、低級脂肪酸分析用として以下に示す脂肪酸プロピルエステル化を実施することで低級脂肪酸が分析できることがある。3) 脂質の抽出皿で抽出した脂質 100~200mg を 20ml 容メスフラスコに量り取り、ナトリウムプロピレート溶液 (金属ナトリウム 0.1g を n-プロピルアルコール 30ml に溶解) 1ml を加え、80℃のウォーターバス中で振り混ぜながら黄色の透明になるまで 1~2 分間加熱溶解する。飽和食塩水約 10ml を加え栓をして振とう後、さらに飽和食塩水を標線あたりまで加え、40℃のウォーターバス中にエステル層が清澄になるまで放置し、試験溶液とする。

5) ガスクロマトグラフィー (脂肪酸メチルエステル分析用)

### ① 機器、試薬等

・ガスクロマトグラフ (水素炎イオン化検出器、スプリット/スプリットレス注入口付き) 一式

・データ処理装置

・キャピラリーカラム：長さ 15~30m, 内径 0.2~0.32mm, フューズドシリカキャピラリーにシ

アノプロピル系又はポリエチレングリコール—20Mなどの液相を結合させたもの。

・キャリアーガス：ヘリウム

・各種の脂肪酸メチルエステル：標準品としての品質を有するもの。

## ② 測定

3)脂肪酸メチルエステルの調製で調製した試験溶液を、ガスクロマトグラフに0.5~1 $\mu$ l注入し、データ処置装置を用いてピーク面積を測定する。

## ③ ガスクロマトグラフ操作条件例<sup>注1)</sup>

カラム：フューズドシリカキャピラリーにシアノプロピル系またはポリエチレングリコールなどの液相を結合させたもの。(以下に、J&W DB-23 0.25mm x 30m, df. 0.25 $\mu$ mを用いた時の操作例を示す。)

温度：注入口及び検出器 250 $^{\circ}$ C

カラム 50 $^{\circ}$ C (1min 保持)  $\rightarrow$ 10 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 170 $^{\circ}$ C (1min 保持)  $\rightarrow$ 1.2 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 210 $^{\circ}$ C

流量：2.0ml/min

ガス流量：メイクアップガスキャリアガス：50ml/min 1.5ml/min

注入モード：スプリットレス

本条件を用いたときのガスクロマトグラフの例(図-1)を示す。

## ④ 計算<sup>注2)</sup>

$$\text{脂肪酸 (g/100g)} = (A \times C \times K) / (B \times W) \times 0.1$$

A：被定量脂肪酸メチルの面積

B：ヘプタデカン酸メチルの面積

C：ヘプタデカン酸の添加量 (mg)

K：感度補正係数<sup>注3)</sup>

W：試料採取量 (g)

## [注]

1) Qudrex 社 CPS-1—0.32mm $\times$ 15m, 膜厚 0.25 $\mu$ m を用いスプリットレス注入法での操作例である。スプリット注入法でも分析は可能である。以下に長さ 25~30m, 内径 0.20~0.35mm のキャピラリーカラムを用いたときの操作例を示す。

温度：注入口 250 $^{\circ}$ C, 検出器 270 $^{\circ}$ C

カラム 170 $^{\circ}$ C (0min 保持)  $\rightarrow$ 1 $^{\circ}$ C/min $\rightarrow$ 225 $^{\circ}$ C

ガス流量：キャリアーガス 1.0~2.0ml/min

メイクアップガス 50ml/min

注入モード：スプリット (スプリット比：1/50)

2) 植物性の食品ではヘプタデカン酸メチルと重なるピークはほとんど認められないが、魚介類を含め動物性の食品には通常少量含まれる。この場合、内標準物質をトリコサン酸 (C23:0) に変えるか、あるいは試料に内標準物質を加えずに調製した脂肪酸メチルの試験溶液 (ブランク) を用意し、ここで得られたクロマトグラムに基づき計算により内標準物質のピーク面積から重なるピーク面積を差し引き補正する。

3) 被定量脂肪酸の感度補正係数は標準品を用いて測定する。ガスクロマトグラフ操作条件が適

切ならば、通常の脂肪酸の感度補正係数は1に近い値となる。ただし、炭素鎖の短い脂肪酸は感度が低下し1より大きい値をとる。

#### 6) ガスクロマトグラフィー (脂肪酸プロピルエステル分析用)

##### ① 機器, 試薬等

・ガスクロマトグラフ (水素炎イオン化検出器,) 一式

・データ処理装置

・カラム: 長さ 2~3m, 内径 2~5mm のステンレスまたはガラス製。これに 5%Thermon-3000/Chromosorb W(AW-DMCS), 80~100mesh などを充填したもの。

・キャリアーガス: 窒素

##### ②測定

脂肪酸プロピルエステルの調製で調製した試験溶液は、以下示したガスクロマトグラフに 0.1~0.2μl 注入する。

##### ③ガスクロマトグラフ操作条件例

カラム: 内径 3mm, 長さ 2m, 5%Thermon-3000/Chromosorb W(AW-DMCS), 80~100mesh

温度: 注入口 270℃, 検出器 270℃,

カラム 100℃→4℃/min →250℃

流量: 窒素 40ml/min(12:0 の R.T が 20±2min になるように調節。)

##### ④計算

脂肪酸(g/100g)=A×D×B/C

A: メチルエステル化法におけるラウリン酸の定量値(g/100g)

B: プロピルエステル化法における酪酸等のピーク面積

C: プロピルエステル化法におけるラウリン酸のピーク面積

D: ラウリン酸プロピルエステルに対する酪酸等プロピルエステルの感度補正係数

#### [参考文献]

1) 科学技術庁資源調査会: “四訂日本食品標準成分表のフォローアップに関する調査報告Ⅱ—日本食品脂溶性成分表 (脂肪酸, コレステロール, ビタミン E) —”, 177 (1989) 文部科学省 科学技術・学術審議会 資源調査分科会 食品成分委員会: “五訂増補 日本食品標準成分表 分析マニュアル”, 100 (2005)

2) W. R. Morrison, S. L. Tan and K. D. Hargin: J. Sci. Food Agri., 31, 329 (1980)

3) Official Methods of the American Oil Chemists' Society Ce 1b-89

#### 4 コレステロール

##### (1) ガスクロマトグラフ法



### ① 装置, 試薬

- ・ガスクロマトグラフ一式 (水素イオン型検出器付き)
- ・ホットプレート
- ・ロータリーエバポレーター一式
- ・キャピラリーカラム: 長さ 15~30m, 内径 0.25~0.53mm, 膜厚 0.25~1.5 $\mu$ m でフューズドシリカキャピラリーに 5%ジフェニール-95%ジメチルシロキサンを結合させたもの、または 100%ジメチルシロキサンのポリマーを結合させたもの。
- ・コレステロール: 99%以上の純度を有するもの
- ・5- $\alpha$ -コレスタン-エタノール溶液: 濃度 0.5mg/ml
- ・1mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 (ただし, エタノールには5%の水を含む。)
- ・石油エーテル
- ・硫酸ナトリウム (無水)
- ・その他の試薬は, 特に指定のない限り特級を用いる。

### ② 試験溶液の調製

試料 0.1~5g (コレステロールとして約 1mg)<sup>注1)</sup> を精密に量り, 共栓付三角フラスコに入れる。内標準物質として 5- $\alpha$ -コレスタン-エタノール溶液 1ml を正確に加える。次いで, 1mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 50ml を加え, 冷却管を付し 1 時間穏やかに加熱けん化する。室温まで放冷後, 水 50ml 及び石油エーテル 50ml で分液漏斗に移し, 振とう抽出する<sup>注2)</sup>。更に, 石油エーテル 50ml で 2 回抽出する<sup>注3)</sup>。抽出液を集め, 水 40ml で 4 回洗浄する。抽出液を硫酸ナトリウム (無水) で乾燥する。硫酸ナトリウムをろ過操作で除去した後, ロータリーエバポレーターで濃縮乾固する<sup>注4)</sup>。残留物をヘキサンに溶かし 10ml の定容とし試験溶液とする。

### ③ 標準溶液の調製

段階的に濃度を変えたコレステロールに, 5- $\alpha$ -コレスタンの一定量を加えたものを調製する。コレステロールの濃度は 3 段階以上を用意する<sup>注5)</sup>。

### ④ ガスクロマトグラフ操作条件例<sup>注6)</sup>

カラム: J&W DB-5 0.53mm x 15m, df. 1.5 $\mu$ m

温度: 注入口及び検出器 280 $^{\circ}$ C

オープン 250 $^{\circ}$ C

流量: 15ml/分 (コレステロールが 8~9 分に溶出するように調節する。)

注入モード: スプリットレス

本条件で用いたときのガスクロマトグラフの例 (図-2) を示す。

### ⑤ 測定

試験溶液 1 $\mu$ l をガスクロマトグラフに注入し, 内標準物質に対するコレステロールのピーク面積比を求める。あらかじめ作成した検量線から試料中のコレステロール含量を求める。

### ⑥ 計算

コレステロール量 (mg/100g)=(A $\times$ 100)/B

A: 検量線から読みとったコレステロール量 (mg)

B: 試料採取量 (g)

[注]

1) 試料採取量は 10g まで増やせるが、この場合は、1mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液、水及び石油エーテルを倍量用いる必要がある。また、試料採取量を 10g にした場合は、1mg/100g のコレステロールの測定が可能である。

2) いも及びでんぷん類などが使用されている試料に関しては、けん化する前に酸分解を行うと抽出率が向上することがある。

3) 脂質含量が高い場合にコレステロールの回収率を向上させるために、分配溶媒としてジエチルエーテルを用いる場合がある。

4) ガスクロマトグラム上、5- $\alpha$ -コレスタンやコレステロールに近似した位置にピークが認められ、測定の妨害となる場合は以下の方法で精製する。ただし、この操作で5- $\alpha$ -コレスタンは除去されるため、精製操作後に新たに添加する必要がある。

ステロールの精製

シリカゲル（活性化：130℃，16 時間）8g をヘキサンで内径 1.5cm のカラムに詰め、先の濃縮物を下記の条件で処理しステロール画分を得る。

第1 溶出液：20%ジエチルエーテル-ヘキサン 150ml：洗淨

第2 溶出液：35%ジエチルエーテル-ヘキサン 150ml：ステロール画分

なお、簡便、迅速化のためにディスポーザブルのシリカカラムを用いることもできる。

この場合の操作例を以下の示す。

カラム：Sep pak SILICA（使用前にヘキサンで活性化）

試料溶液負荷：ヘキサンで溶解した残留物（30mg 以下）

溶出液：8%ジエチルエーテル-ヘキサン 10ml：洗淨

：20%ジエチルエーテル-ヘキサン 25ml：ステロール画分

5) 例えば、コレステロール 0.25，0.75 及び 2.0mg に、5- $\alpha$ -コレスタン 0.5mg を加え、ヘキサンで 10ml とする。

6) スプリット注入法でも分析は可能である。

カラム：J&W DB-1 0.25mm x 15m, df. 0.25  $\mu$ m

温度：注入口 290℃，検出器 290℃

カラム 240℃（0min 保持）→3℃/min→280℃

ガス流量：キャリアーガス 約 2.0ml/min

注入モード：スプリット（スプリット比：1/30）

7) ここに示したガスクロマトグラフ法の他に有用な方法として酵素法がある。例えば、コレステロール酸化酵素を用い、下記の反応系で生成する色素（ルチジン）の量がコレステロールの量に

比例するのを利用してコレステロールを定量する方法がある。なお、コレステロール酸化酵素は3位の炭素原子の水酸基がβ配位をとっているステロール類なら全て酸化できるので、スチグマステロールやシトステロール等の植物性ステロール類（フィトステロール類）を含む食品に対しては、コレステロール酸化酵素を用いる方法の適用は避けるべきである。また、コレステロール定量用の酵素法をキット化した製品も市販されている。

（酵素反応スキーム省略）

#### [文献]

- 1) 科学技術庁資源調査会：“四訂日本食品標準成分表のフォローアップに関する調査報告Ⅱ—日本食品脂溶性成分表（脂肪酸，コレステロール，ビタミンE）—”，p. 178（1989）
- 2) Adams M. L., Sullivan D. M., Smith R. L. and Richter E. F. : J. Assoc. Off. Anal. Chem., 69, 844 (1986)
- 3) Kovacs M. I. P. : J. Cereal Sci., 11, 291 (1990)

## 5 炭水化物

炭水化物は、当該食品の重量から、たんぱく質、脂質、灰分及び水分の合計量を差し引いて算出する。また、アルコール分、酢酸、タンニン、カフェイン又はテオブロミンを含む食品では、これらも考慮する（6糖質 注4参照）。

### ア 灰分

食品の灰分は、ある温度で灰化して有機物及び水分を除いた残留物の量とみなされる<sup>注1)</sup>。

#### (1) 酢酸マグネシウム添加灰化法<sup>注2)</sup>

酢酸マグネシウム添加灰化法は、リン酸を多く含む試料に有効な方法で、小麦粉を始めとして米、麦などの穀物及びその加工品に適用される。

#### ① 機器、試薬

- ・灰化容器：直径6cm程度の磁製蒸発皿，又は容量15～30ml程度の磁製のつぼを用いる。
- ・電気炉：熱電対温度計付きのもので550～600℃±10℃に設定できるものを用いる。
- ・デシケーター：2 脂質，(1) エーテル抽出法，①機器，試薬を参照。
- ・酢酸マグネシウム溶液：酢酸マグネシウム（特級）15gに脱イオン水約150mlを加え，更に酢酸2mlを添加し，かき混ぜながら湯浴上で加温して溶解する。これにメタノールを加えて1Lとする。

#### ② 測定

あらかじめ恒量を求めた灰化容器 ( $W_0$ g) に，試料約3gを精密に量る ( $W_1$ g)。酢酸マグネシウム溶液3mlを正確に量り，試料全体に均一にしみわたるように加える。約5分間放置して，過剰のメタノールを蒸発させ，更に予備乾燥した後，予備灰化し，600℃に達した電気炉に入れ，3～4時間灰化する。灰化後，灰化容器を取り出し，温度が200℃近くまで放冷してデシケーターに移し，室温に戻った後ひょう量する。同じ操作を恒量 ( $W_2$ g) になるまで繰り返す。

別に酢酸マグネシウム3mlを恒量を求めた灰化容器 ( $W_3$ g) に量り，以下同様に灰化操作を行った後ひょう量 ( $W_4$ g) し，空試験値を求める。

#### ③ 計算

$$\text{灰分 (g/100g)} = ((W_2 - W_0) - (W_4 - W_3)) / (W_1 - W_0) \times 100$$

[注]

1) 厳密には灰分と無機質の総量とは一致しない。たとえば、有機物に由来する炭素が灰化中に炭酸塩になることがあり、また、塩素の一部が灰化によって失われることもある。それらの程度は試料中の無機質の組成と、灰化の温度や時間などによっても異なってくる。

2) 過剰のリン酸を含む試料では、灰化時に灰が熔融して完全な灰化が困難となる。酢酸マグネシウム添加灰化法は、このリン酸を中和してマグネシウム塩とし、熔融を防いで迅速に灰化する方法である。

## (2) 直接灰化法

直接灰化法は、550～600℃で試料を灰化したとき、恒量の得られる全食品に適用される。乾燥試料はそのまま、そのほかの試料は適当な前処理を行い、灰化しやすい状態にして適用する。

### ① 機器

・灰化容器、電気炉及びデシケーター：前記(1)、①機器、試薬に同じ。

### ② 試料の調製及び前処理

試料により、次のような前処置を行う。

#### 1) 前処理不要なもの

穀類、豆類、そのほか以下に含まれない乾燥食品など。

#### 2) 予備灰化を要するもの

予備灰化は、できれば全食品に適用するのがよい。特に、砂糖、砂糖菓子類、精製デンプン、卵白、まぐろ、かつお、いか、えびなどの魚介類など、灰化時にふくれて容器の外へあふれ出るおそれのあるものはあらかじめ弱火で灰化容器の下面のみを熱し、内容物があふれ出ないように注意しながら徐々に灰化する必要がある。さらに油分の多いものは予備灰化が不十分になるものがある、そのようなものでは110℃から350℃に段階的に灰化温度を昇温し、その後550℃に進む。

#### 3) 予備乾燥を必要とするもの

野菜、果実、多くの動物性食品のように、水分の多いものや酒、ジュース、牛乳などの液体試料は湯浴上又は乾燥器内で水分を蒸発させる必要がある。

#### 4) 予備燃焼を要するもの

油脂類、バターなどは十分に乾燥後、試料を加熱し、あるいは加熱しつつ点火して燃焼させる必要がある。

### ③ 測定

あらかじめ恒量にした灰化容器 ( $W_0$ g) に、適量の試料を精密に量り ( $W_1$ g)、必要な前処理を行った後、550～600℃の温度に達した電気炉に入れ、白色又はこれに近い色になるまで灰化する。灰化後、灰化容器を取り出し<sup>(注1)</sup>、温度が200℃近くになるまで放冷してからデシケーターに移し、室温に戻った後秤量する。同じ操作(灰化、放冷、ひょう量)を恒量 ( $W_2$ g) になるまで繰り返す。

灰化した際に、炭塊の残存が認められる場合は灰に水を加えて溶かし、未灰化物を露出させた後湯浴上で蒸発乾固する。次いで、湯浴上又は100℃程度の熱板上で十分に乾燥後、再び550～600℃で灰化を行い、灰が白色となり恒量になるまで数回この操作を繰り返す。

また、残存する炭塊がかなり多い場合、放冷後熱水で灰を湿らせた後炭塊をガラス棒で突き碎き、熱水約 10ml を加えてよくかき混ぜ、可溶物を抽出する。炭塊の量に応じ、7~9cm のろ紙<sup>2)</sup>を用いて、傾斜法にてろ過し、50ml 容のビーカー中にろ液を集める。再び灰化容器に少量の熱水を加え、同様にろ過する。残さをろ紙ごと灰化容器に移し、用いた漏斗を洗ってろ液に合わせる。灰化容器は乾燥後、再び 550~600℃で灰化を行い、炭塊が残るようならこの操作をもう一度行う。灰化、放冷後、先のろ液を灰化容器に移し少量の水でビーカーを洗ってこれも移し、湯浴上又は 100℃程度の熱板上で蒸発乾固後、再び 550~600℃で灰化し、恒量を求める。

#### ④ 計算

$$\text{灰分 (g/100g)} = (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0) \times 100$$

#### [注]

- 1) 灰が舞い上がることもあるので、灰化容器にふたをしておく安全である。
- 2) アドバンテック東洋 No. 5A 又は No. 6 相当のろ紙を用い、表示されているろ紙中の灰分量を試料灰分量から差し引く。無灰ろ紙を用いた場合、ろ紙の灰分は無視して差し支えない。

#### (3) 硫酸添加灰化法<sup>注1)</sup>

精製度の高い砂糖等に適用される。

#### ① 機器、試薬

- ・灰化容器及びデシケーター：前記(1)、①機器、試薬に同じ。
- ・電気炉：熱伝対温度計付きのもので 550~800±10℃に設定できるものを用いる。
- ・濃硫酸：特級

#### ② 測定

あらかじめ恒量にした灰化容器 ( $W_0$ g) に、試料 5~30g を精密に量る ( $W_1$ g)。液状試料の場合は湯浴上で蒸発乾固する。試料に濃硫酸 0.5~5ml を加え、加温して全体を炭化膨潤させたのち、ゆっくりと加熱して過剰の硫酸を追い出す。灰化容器を電気炉に入れて 550℃でほとんど炭素分のなくなるまで灰化する。冷却後、再び数滴の濃硫酸で湿らせ、800℃で灰化する。灰化後、灰化容器を取り出し、アルミトレイなどの上で温度が 200℃近くになるまで放冷してデシケーターに移し、室温に戻ったのちひょう量する。

同じ操作を恒量 ( $W_2$ g) になるまで繰り返す。灰分含有率を硫酸灰分として算出する。

#### ③ 計算

$$\text{硫酸灰分 (g/100g)} = (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0) \times 100$$

#### [注]

1) 硫酸添加灰化法が記載されているものには、製糖便覧、ICUMSA Methods (International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis) などがある。

ただし、硫酸添加灰化法で得られる残留物は硫酸灰分であるため、灰分の多い黒糖、粗糖蜜などの試料では過大に評価されるので、これらの試料への適用は望ましくない。

#### イ 水分<sup>注1)</sup>

代表的な水分の分析法にカールフィッシャー法と加熱乾燥法<sup>注2)</sup>がある。加熱乾燥法には減圧

加熱乾燥法と常圧加熱乾燥法とがあり、さらにこれらの補完的な方法として乾燥助剤法とプラスチックフィルム法とがある。

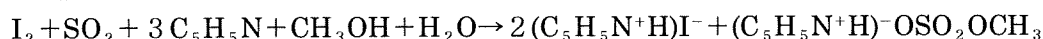
〔注〕

1) ここに記載するほか、水と混り合わない有機溶剤と試料を一緒に加熱し、共沸により留出する水の容量そのものを量り、水分とする蒸留法などがある。蒸留法はほとんどの食品に適用できるが、水分が非常に多いもの、あるいは非常に少ない試料には適さない。特に、香辛料及び水分含量の多い油脂食品に適用できる。

2) 水分以外の揮発成分（アルコール類、酢酸などの揮発酸）が含まれる場合には、これらも水分として測り込まれるので、これらのものを別途に測定し、差し引くことが必要である。

(1) カールフィッシャー法<sup>註1)</sup>

カールフィッシャー法は、メタノールなどの低級アルコール及びピリジンなどの有機塩基の存在下で、水がヨウ素及び二酸化硫黄と次の式に示すように定量的に反応することを利用して水分を測定する方法である。



① 機器，試薬

・カールフィッシャー電気滴定装置：通例，自動ピュレット，滴定フラスコ，かき混ぜ機及び定電圧分極電流滴定装置又は定電流分極電位差滴定装置からなる。カールフィッシャー試液は吸湿性が非常に強いので，装置は外部からの吸湿を防ぐようにする。防湿には，シリカゲル又は水分測定用塩化カルシウムなどを用いる。

・カールフィッシャー試液<sup>註2)</sup>

・メタノール（脱水）：特級（水分が0.05W/V%以下のもの）

・水・メタノール標準液<sup>註3)</sup>

② 測定

カールフィッシャー試液による滴定は湿気を避けて行い，原則として，これを標定したときの温度と同一の温度で行う。被滴定液中に一对の白金電極を浸し，可変抵抗器を適当に調節して電極間に微小電圧を加え，カールフィッシャー試液を滴下するとき変化する電流（ $\mu A$ ）を測定し（定電圧分極電流滴定法），滴定の進むにつれて回路中の電流が大きく変化し，数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると，この電流の変化が一定時間持続する（通例，30秒間以上）。この状態になったときを滴定の終点とする。又は電極間に微小電流を流しておき，カールフィッシャー試液を滴下するとき変化する電位差（mV）を測定し（定電流分極電位差滴定法），滴定の進むにつれて回路中の電圧計の値が数百ミリボルトの分極状態から急に減少し，消極状態となり数秒で再び元の位置に戻る。滴定の終点に達すると，消極状態が一定時間持続する（通例，30秒間以上）。この状態になったときを滴定の終点とする。ただし，逆滴定により定電圧分極電流滴定法を用いる場合は，カールフィッシャー試液が過量に存在する間は電流計の針が振り切れ，終点に達すると急に元の位置に戻る。定電流分極電位差滴定法を用いる場合はカールフィッシャー試液が過量に存在する間はミリボルトメーターの値が元の位置にあり，終点に達すると一定の電圧がかかる。

カールフィッシャー試液による滴定は，次のいずれの方法によってもよい。

### 1) 直接滴定

カールフィッシャー用メタノール(脱水) 適量を乾燥滴定フラスコにとり、これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分 5～30mg を含むような量の試料を精密に量り (Smg), 速やかに滴定フラスコに入れ、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながらカールフィッシャー試液で終点まで滴定する (Vml)。

### 2) 逆滴定

カールフィッシャー用メタノール(脱水) 適量を乾燥滴定フラスコにとり、これをあらかじめカールフィッシャー試液で終点まで滴定してフラスコ内を無水の状態にしておく。次に水分 5～30mg を含むような量の試料を精密に量り (S' mg), 速やかに滴定フラスコに入れ、過量のカールフィッシャー試液の一定量 (V' ml) を加え、かき混ぜて溶かし、激しくかき混ぜながら水・メタノール標準液で終点まで滴定する (Hml)。

## ③ 計算

### 1) 直接滴定

$$\text{試料中の水分 (g/100g)} = (V \times f) / S \times 100$$

### 2) 逆滴定

$$\text{試料中の水分 (g/100g)} = (V' \times f - H \times f') / S \times 100$$

f: カールフィッシャー試液の 1ml に対応する水 (H<sub>2</sub>O) の mg 数 (力価)

f': 水・メタノール標準液 1ml 中の水 (H<sub>2</sub>O) の mg 数

## [注]

1) 測定法には、容量測定法と電量測定法があるが、ここでは容量測定法の例を示した。容量測定法は、反応に必要なヨウ素を水分測定用試液に溶解させ、試料中の水と反応して消費されたヨウ素の滴定量より、水分を測定する方法である。電量法は、ヨウ化物イオンを混合した水分測定用試液を用い、電解によりヨウ素を発生させる。ヨウ素が定量的に水と反応することに基づき、電解に要した電気量より、水分を測定する方法である。いずれも装置、試薬の調製、取扱いに注意を要するので、取扱説明書等を参考にすること。

なお、アルコールペン酸やアルデヒドなど還元力の強いものはヨウ素を消費するので、これらが多量に存在する試料には適さない。

2) 市販品を用いることができる(三菱化学製、カールフィッシャー試液 SS など)。カールフィッシャー試液は通常ヨウ素、二酸化硫黄及びピリジンのモル比が 1 : 3 : 10 であり、これにメタノールが加わる。しかし、カールフィッシャー試液はメタノールが共存すると分解が速い。市販の試液はメタノールを含まないので、必ずメタノールを含む溶剤中で滴定する。

この試液の標定は以下を行う。

標定 測定の操作法に従い、メタノール(脱水) 25ml を乾燥滴定フラスコに入れ、カールフィッシャー試液を終点まで注意して加える。次に水約 50mg を精密に量って速やかに加え、湿気を遮り、カールフィッシャー試液で終点まで測定する。カールフィッシャー試液の 1ml に対応する水 (H<sub>2</sub>O) の mg 数 f を次式によって求める。

$$f = \text{水 (H}_2\text{O) の採取量 (mg)} / \text{水に対するカールフィッシャー試液の滴定量 (ml)}$$

3) メタノール(脱水) 500ml を量り、1,000ml の乾燥メスフラスコに入れ、水 2ml を量って加

え、メタノールを加えて1,000mlとする。この液の標定は、カールフィッシャー試液の標定に続いて行う。遮光して湿気を避け、冷所に保存する。

市販品を用いることができる（三菱化学製、標準水メタノール 2mgH<sub>2</sub>O/ml (20℃)）。

水・メタノール標準液の標定は以下のように行う。

標定 測定の方法に従い、メタノール（脱水）25mlを乾燥滴定フラスコに入れ、カールフィッシャー試液を終点まで注意して加える。次にカールフィッシャー試液 10mlを正確に量って加え、この水・メタノール標準液で終点まで滴定する。水・メタノール標準液 1ml中の水（H<sub>2</sub>O）のmg数 f' を次式によって求める。

$$f' = (f \times 10) / \text{水・メタノール標準液の滴定量 (ml)}$$

f: カールフィッシャー試液 1ml に対応する水（H<sub>2</sub>O）の mg 数

#### [参考資料]

- 1) 日本食品科学工学会 新・食品分析法編集委員会編：“新・食品分析法”，24，光琳（1996）
- 2) 日本薬学会編：“衛生試験法・注解”，258，金原出版（1990）
- 3) 食品，添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の第 2 添加物の B 一般試験法「水分測定法」（カールフィッシャー法）
- 4) 第十三改正日本薬局方 一般試験法「水分測定法」（カールフィッシャー法）

#### (2) 乾燥助剤法

乾燥助剤法は、加熱すると融解し、表面に堅い被膜を形成し、内部の水分が蒸発しにくい食品に適用する。ケイ砂等の乾燥助剤を用いて表面積を大きくし、水蒸気が食品組織から抜け出る道を作って乾燥させる。

##### ① 機器，試薬

・電気定温乾燥器<sup>注1)</sup>

（又は、真空乾燥器）

・ひょう量皿：アルミ製又はガラス製，上部の直径 55mm，底部の直径 55mm，深さ 40mm 程度のもの。

・デシケーター：2 脂質，（1）エーテル抽出法，①機器，試薬に同じ。

・乾燥助剤：精製ケイ砂（40～60 メッシュ）又はけいそう土<sup>注2)</sup>

##### ② 測定

ひょう量皿にケイ砂約 30g，あるいはけいそう土約 10g をとり，かき混ぜ用ガラス棒を 1 本入れ，所定の温度<sup>注3)</sup> で 1～2 時間乾燥後室温まで放冷し，試料を入れないときの恒量（W<sub>0</sub>g）を求めておく。これに適量の試料（通常 2～3g）を採取し，ひょう量（W<sub>1</sub>g）する。次いで，試料と乾燥助剤がよく混和するように，ガラス棒でかき混ぜながら湯浴上で加熱する<sup>注4)</sup>。必要があれば，少量の水を加えて混和をうながす。その後の本乾燥は，試料によって常圧加熱乾燥法又は減圧加熱乾燥法を適用し，室温まで放冷しひょう量する（W<sub>2</sub>g）。

##### ③ 計算

$$\text{試料中の水分 (g/100g)} = (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 100$$

[注]

- 1) 60～150℃の温度範囲において所定の温度の±2℃に調節可能なもので，器内の温度分布の均



一なものが望ましく、強制循環通風式が一般的に用いられる。

2) ケイ砂は種々の粒度のものが市販されている。吸湿性の高いものは、次のように精製する。すなわち、希塩酸(1→4)を加え、湯浴上で加温し、希塩酸を除いた後、酸性反応がなくなるまで水洗する。これを乾燥後 600~700℃に強熱した後、デシケーター中で放冷し、密栓して保存する。けいそう土(商品名:セライト)も吸湿性が少なければ、特に精製する必要はない。吸湿性の高いものは、約2倍量の希塩酸(1→2)を加えて沸騰前後の温度で数時間加温した後、酸性反応がなくなるまで水洗し、次いで 135℃前後で乾燥後、ポリエチレン容器などに保存する。

3) 試料を加熱乾燥するときと同じ温度で行う。

4) 本乾燥を 60℃で行う試料のときは、湯浴上の加熱温度も 60℃付近で行うが、非常に時間がかかる。かき混ぜるとき、助剤が飛散しないよう細心の注意が必要である。

### (3) 減圧加熱乾燥法

減圧加熱乾燥法は、多くの食品に基準的な方法として適用できる。一般に水銀柱 5~100mm の減圧度で、熱によって変化しやすい食品は 60~70℃で、比較的安定な食品は 90~100℃で加熱する。

#### ① 機器

・真空乾燥器

・アルミ製ひょう量皿<sup>注1)</sup>: 上部の直径 55mm, 底部の直径 50mm, 深さ 25mm, 厚さ 0.2~0.3mm 程度, ふたの深さは約 10mm で, そのうち 5mm ぐらいが容器にはまるようになっているもの。

・デシケーター: 乾燥剤を入れておく<sup>注2)</sup>。

#### ② 測定

所定の温度に調節した定温乾燥器にひょう量皿を入れ, 1~2時間加熱後デシケーターに移す。放冷して室温に達したら, 直ちにひょう量する。再び加熱, 放冷, ひょう量の操作を繰り返し恒量 ( $W_0g$ ) を求める。次に, 適量の試料(通常 2~3g)を精密に量り ( $W_1g$ ), ふたをわずかにずらし<sup>注3)</sup>, 所定の温度に調節した減圧乾燥器に入れ, 真空ポンプで吸引しながら, 所定の減圧度に設定する<sup>注4)</sup>。一定時間(約 5時間)減圧乾燥後に真空ポンプを止め, 洗気瓶中の濃硫酸を通して除湿した空気を乾燥器内に静かに導入して常圧に戻し, ひょう量皿を取り出し, ふたをしてデシケーター中で放冷後ひょう量する。一般には, 恒量 ( $W_2g$ ) に達するまで減圧, 乾燥, 放冷, ひょう量を繰り返す<sup>注5)</sup>。ケイ砂やけいそう土などの乾燥助剤を用いるべき食品は, 乾燥助剤法の場合と同じ操作で, 一度湯浴上でほとんど乾燥させたものを所定の温度と減圧下で乾燥する。

#### ③ 計算

(2), ③計算と同様に行う。

#### [注]

1) ガラス製のはかり瓶でもよいが, 重量が大きいので, 測定の正確さに影響する。

2) デシケーター用の乾燥剤として硫酸, シリカゲル, 塩化カルシウム, 五酸化リンなどがある。青色シリカゲルの場合, コバルト塩の青色が減退したら, 135℃で 2~3時間乾燥し再生して使用することができる。

3) 乾燥終了後, 急激に空気を入れて常圧に戻すと, 試料が舞い上がることがある。軽い粉末などのときはふたを取らずに, ずらしたほうがよい。

4) 乾燥器の温度は、減圧にするといったん5℃ぐらい降下するが、徐々に設定温度に戻るので、調節し直さずそのまま放置してよい。

5) 繰り返しの乾燥は、普通2時間ずつ行う。室温に達しないうちにひょう量を行うと、空気の対流のため、実際の重量よりも軽く量られる。前後2回の重量差が0.5mg以下となったら恒量とみなす。試料によっては熱分解のために、ひょう量のたび、数mg以上重量減をきたす場合があるので、水分(%)として0.1%以内の減量になったときを恒量とみなすこともある。

#### (4) 常圧加熱乾燥法

一般に100~135℃の範囲の一定の加熱温度及び乾燥時間が適用される。常圧加熱乾燥法は操作が容易であるため、多くの食品に適用されている。減圧加熱乾燥法も含めた加熱乾燥法による水分定量条件の例を表1に示す。

##### ① 機器

・電気定温乾燥器<sup>注1)</sup>

・その他：ひょう量皿及びデシケーターは(3)、①と同様のものを用いる。

##### ② 測定

ひょう量皿の恒量( $W_0$ g)を(3)、②試験操作と同様の方法で求める。適量の試料(通常2~3g)を素早く精密に量り、平らに広げ、ふたをしひょう量( $W_1$ g)する。定温乾燥器の中にふたをずらして入れる。定温乾燥器が所定の温度に達してから、定められた時間乾燥後、乾燥器中で素早く容器にふたをし、デシケーターに移し放冷する。室温に達したら直ちにひょう量する( $W_2$ g)。一般には、恒量が得られるまでこの操作を繰り返し行う<sup>注2)</sup>。

##### ③ 計算

(2)、③計算と同様に行う。

#### [注]

1) 60~150℃の温度範囲において所定の温度の±2℃に調節可能なもので、器内の温度分布の均一なものが望ましく、強制循環通風式が一般的に用いられる。

2) 室温に達しないうちにひょう量を行うと、空気の対流のため、実際の重量よりも軽く量られる。前後2回の重量差が0.5mg以下となったら恒量とみなす。試料によっては熱分解のために、ひょう量のたび、数mg以上重量減をきたす場合があるので、水分(%)として0.1%以内の減量になったときを恒量とみなすこともある。

#### (5) プラスチックフィルム法

プラスチックフィルム法<sup>注1)</sup>は、粘質状、ペースト状などの食品に適用する。

##### ① 機器

・ポリエチレンフィルム製袋：硬質ポリエチレンフィルム製で、幅5~7.5cm、長さ12~14cm、厚さ0.04~0.06mmくらいの低圧~中圧重合のもの<sup>注2)</sup>。

・その他：前記(3)減圧加熱乾燥法又は(4)常圧加熱乾燥法に用いるものと同じでよい。

##### ② 測定

袋の重量を精密に量り( $W_0$ g)、これに適量の試料<sup>注3)</sup>を採取後、袋の口を三つ折りにして、ひょう量( $W_1$ g)する。丸い棒をローラーにして、袋の折りしろを残し、外側から試料を圧延し、

試料を袋の内面に薄く伸ばす。袋の口を開き袋をふくらませ、乾燥中閉じないようにする。所定の温度に調節された電気定温乾燥器又は真空乾燥器に入れ、所定の時間加熱乾燥する。次いで、フィルム袋の口を三つ折りにして閉じ、クリップで止めてデシケーター中で放冷する。室温に達したらクリップをはずし、ひょう量 ( $W_2g$ ) する。通常は、一度で恒量に達するが、必要ならば袋の口を開き、再び所定の時間乾燥を行い放冷、ひょう量を繰り返す。

### ③ 計算

(2), ③計算と同様に行う。

[注]

1) フィルム袋のみで乾燥する直接フィルム法と、乾燥助剤としてけいそう土を添加混合してフィルム袋で乾燥するけいそう土添加フィルム法がある。乾燥は常圧加熱及び減圧加熱のいずれも適用できるが、ポリエチレンフィルムの耐熱限度から加熱温度は  $105^{\circ}\text{C}$  以下に限定される。 $105^{\circ}\text{C}$  以上の加熱乾燥が必要で、かつ粘質状の食品の水分測定にはアルミニウムはく製袋を用いて測定する方法もある。

2) 市販のハイゼックス (低圧法, 三井東圧化学), ショウレックス (中圧法, 昭和油化) などは吸湿はごくわずかであるため、食品の水分測定には恒量を出す必要がなく、使用時に重量を量って用いる。ただし、プラスチックは静電気を帯びやすく、帯電するとひょう量誤差が大きくなるので、不必要に擦ったりすることは避けなければならない。

3) 乾物量として  $1\sim 2.5g$ , 袋の内面に薄く伸びる程度。

## 6 糖質

糖質は、当該食品の重量から、たんぱく質<sup>注1)</sup>, 脂質, 食物繊維<sup>注2)</sup>, 灰分<sup>注3)</sup> 及び水分量を除いて算出する。

アルコール分, 酢酸, タンニン, カフェイン又はテオブロミンを含む食品では、これらも考慮する<sup>注4)</sup>。

ア たんぱく質, 脂質, 食物繊維

イ 灰分及び水分の分析方法等は、それぞれ 1, 2, 8 並びに 5 のア及びイによる。

[注]

1) たんぱく質以外の窒素成分を豊富に含む食品 (例えば、白子のように核酸を豊富に含む食品, 大豆レシチン含有食品のように含窒素脂質であるレシチンを豊富に含む食品) にあつては、窒素定量換算法を適用して得られたたんぱく質量は実際量より過大である点に留意すべきである。

2) 食物繊維の分析法に用いるプロスキー法では、処理残さ中の灰分を補正することになっている。ところが、試料中にカルシウムが含まれると、これがプロスキー法で用いられるリン酸緩衝液と反応してリン酸カルシウムの沈殿を形成し、しかもリン酸カルシウムは結晶水を含むので灰分として 100% 回収できない。

このため、「カルシウム含有食品」の様にカルシウムを豊富に含む食品にあつては、リン酸緩衝液を用いて得られた食物繊維量は実際量より過大である点に留意すべきである。

3) 大豆レシチン含有食品など含リン脂質であるレシチンを豊富に含む食品にあつては、リンが脂質と灰分の両方に重複して測り込まれる点に留意すべきである。

4) 抹茶にはタンニンとカフェインが 100g 当たりでそれぞれ 10g 前後と 3g 前後含まれている。また、ココアにはテオブロミンが 100g 当たりで 2g 前後含まれている。これらの成分はエネルギーとして利用されないため、抹茶やココアなどの熱量を算出するには、これらの成分を別途に測定(##タンニン, ##カフェイン, ##テオブロミン各定量法)し、糖質(炭水化物)量から差し引くことも可能である。

## 6 糖質(変更なし 省略)

### 7 糖類

糖類は、単糖類又は二糖類であって、糖アルコールでないもの。

#### (1) ガスクロマトグラフ法<sup>注1)</sup>

##### 1) 単糖類、二糖類及び糖アルコール類

##### ① 機器、試薬

- ・ガスクロマトグラフ(GC):水素炎イオン化検出器(FID)付き
- ・ロータリーエバポレーター
- ・標準品:水分を測定し<sup>注2)</sup>無水物に換算する。
- ・エタノール,石油エーテル,水酸化ナトリウム:特級
- ・50%(V/V)エタノール:99.5%(V/V)エタノール-水(1:1V/V)
- ・水酸化ナトリウム溶液<sup>注3)</sup>
- ・塩酸溶液<sup>注3)</sup>

・ピリジン:特級試薬に水酸化カリウム(粒状)を加え、よく振り混ぜて脱水する。

- ・トリメチルクロロシラン(TMCS)  
:GC用トリメチルシリル化試薬
- ・ヘキサメチルジシラザン(HMDS)  
:GC用トリメチルシリル化試薬
- ・ピレン:内標準物質

##### ② 試料の調製

固体試料はコーヒーミルなどで粉碎する。

##### ③ 試験溶液の調製

###### 1) 基本操作

50ml容ビーカーに試料の適当量(0.5~5g)<sup>注4)</sup>を精密に量り、約30mlの水を加え、液性を中性にする<sup>注5)</sup>。必要に応じて30分間超音波抽出した後、水で全量を50ml容メスフラスコに移して定容する。不溶物がある場合はろ紙<sup>注6)</sup>でろ過し、ろ液をメンブランフィルター(0.45 $\mu$ m)でろ過して試験溶液とする。不溶物の量が多い場合は、定容する前にろ紙でろ過し、ビーカー及びろ紙を水で洗浄してからろ液を集めて定容する。試験溶液は目的成分の濃度によって適宜希釈又は濃縮して試験用液とする<sup>注7)</sup>。

###### 2) たんぱく質又は多糖類を多く含む食品の場合

水の代わりに50%(V/V)エタノールを用いて1)と同様の操作を行う。ただし定容には