

日本食品標準成分表
2020年版（八訂）
分析マニュアル

令和4年2月

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

目次

第1章 一般成分及び関連成分

1. 水分	1
1-1. 常圧加熱乾燥法	1
1-1-1. 直接法	1
1-1-2. 乾燥助剤添加法	2
1-1-3. アルミニウム箔法	3
1-2. 減圧加熱乾燥法	3
1-2-1. 直接法	3
1-2-2. 乾燥助剤添加法	4
1-3. カールフィッシャー法	5
1-4. 蒸留法	7
[付表] 水分定量法：食品別試料前処理法と測定方法一覧表	9
2. たんぱく質	12
2-1. アミノ酸組成によるたんぱく質 (PROTCAA) の計算方法	12
2-2. マクロ改良ケルダール法	13
2-3. サリチル酸添加-マクロ改良ケルダール法	16
2-4. 自動分析装置を用いる方法	17
2-5. 燃焼法 (改良デュマ法)	18
3. 脂質	19
3-1. 脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質 (FATNLEA) の計算方法	19
3-2. ヘキサン-イソプロパノール法	20
3-3. ソックスレー抽出法 (1)	21
3-4. ソックスレー抽出法 (2)	22
3-5. ソックスレー抽出法 (3)	23
3-6. ソックスレー抽出法 (4)	24
3-7. 酸分解法	24
3-8. クロロホルム-メタノール混液抽出法	26
3-9. レーゼゴットリーブ法	27
3-10. 酸・アンモニア分解法	28
3-11. 液-液抽出法	28
3-12. フォルチ法	29
[付表] 脂質定量法：食品別試料採取量と測定方法一覧表	31
4. 炭水化物	33
4-1. 積み上げ法による炭水化物 (CHOCSM) の計算方法	33
4-2. 差し引き法	34
4-3. アンスロン-硫酸法 (全糖)	34
5. 食物繊維	37
5-1. AOAC.2011.25法 (1)	37
5-2. AOAC.2011.25法 (2)	41
5-3. AOAC.2011.25法 (3)	43
5-4. プロスキー変法 (1)	46
5-5. プロスキー変法 (2)	49
5-6. プロスキー法	51
5-7. 難消化性でん粉	53
6. 灰分	56
6-1. 直接灰化法	56

第2章 無機質

A. 試料溶液調製法	58
A-1. 希酸抽出法 (ナトリウム及びカリウム定量のための標準法)	58

A-2. 乾式灰化法	59
A-2-1. 白金製蒸発皿,ほうけい酸ガラス又は石英ガラスピーカーを用いる乾式 灰化法 (カルシウム, マグネシウム, リン, 鉄, 亜鉛, 銅及びマンガン 定量のための標準法)	59
A-2-2. リン酸添加乾式灰化法	59
A-3. 湿式分解法 (開放系)	61
A-3-1. 硝酸・硫酸・過塩素酸を用いる湿式分解法	61
A-3-2. 硝酸・過塩素酸を用いる湿式分解法	61
A-4. 湿式分解法 (密閉系: マイクロ波利用) [セレン, クロム及びモリブデンの 定量のための標準法]	63
7. ナトリウム	64
7-1. 原子吸光光度法	64
7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法	65
8. カリウム	66
8-1. 原子吸光光度法	66
8-2. 誘導結合プラズマ発光分析法	67
9. カルシウム	68
9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	68
9-2. 干渉抑制剤添加-原子吸光光度法	69
9-3. 過マンガン酸カリウム容量法	71
10. マグネシウム	73
10-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	73
10-2. 干渉抑制剤添加-原子吸光光度法	74
11. リン	75
11-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	75
11-2. バナドモリブデン酸吸光光度法	76
11-3. モリブデンブルー吸光光度法	77
12. 鉄	78
12-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	78
12-2. 原子吸光光度法	79
12-3. 1,10-フェナントロリン吸光光度法	80
13. 亜鉛	81
13-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	81
13-2. 原子吸光光度法	82
13-3. キレート抽出-原子吸光光度法	83
14. 銅	84
14-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	84
14-2. 原子吸光光度法	85
14-3. キレート抽出-原子吸光光度法	86
15. マンガン	87
15-1. 誘導結合プラズマ発光分析法	87
15-2. 原子吸光光度法	88
15-3. キレート抽出-原子吸光光度法	89
16. ヨウ素	90
16-1. 誘導結合プラズマ質量分析法	90
16-2. アルカリ灰化-誘導結合プラズマ質量分析法	92
16-3. 滴定法	94
17. セレン	95
17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法 (セレン, クロム及びモリブデンの一斉 分析法)	95
17-2. 蛍光光度法	97
17-3. 水素化物-原子吸光光度法	99
18. クロム	100

18-1. 誘導結合プラズマ質量分析法	100
18-2. 誘導結合プラズマ発光分析	101
18-3. キレート抽出-原子吸光光度法	102
19. モリブデン	103
19-1. 誘導結合プラズマ質量分析法	103
19-2. 誘導結合プラズマ発光分析法	104
第3章 ビタミン	
I. 脂溶性ビタミン	105
20. レチノール	105
20-1. 高速液体クロマトグラフ法	105
21. α -カロテン, β -カロテン, 及び β -クリプトキサンチン	109
21-1. 高速液体クロマトグラフ法	109
22. カルシフェロール (ビタミンD)	114
22-1. 高速液体クロマトグラフ法	114
22-2. 高速液体クロマトグラフ法 25-ヒドロキシビタミンD	119
23. トコフェロール (ビタミンE)	123
23-1. 高速液体クロマトグラフ法	123
24. フィロキノン及びメナキノン類 (ビタミンK)	126
24-1. 高速液体クロマトグラフ法	126
II. 水溶性ビタミン	134
25. チアミン (ビタミンB ₁)	134
25-1. 高速液体クロマトグラフ法	134
25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法	134
25-1-2. ミニカラム精製-ポストカラム法	138
25-1-3. カラムスイッチング法	141
26. リボフラビン (ビタミンB ₂)	144
26-1. 高速液体クロマトグラフ法	144
27. ナイアシン	147
27-1. 微生物学的定量法	147
28. ビタミンB ₆ (ピリドキシン, ピリドキサール, ピリドキサミン など)	150
28-1. 微生物学的定量法	150
29. ビタミンB ₁₂ (コバラミン類)	153
29-1. 微生物学的定量法	153
30. 葉酸	158
30-1. 微生物学的定量法	158
31. パントテン酸	163
31-1. 微生物学的定量法	163
32. ビオチン	168
32-1. 微生物学的定量法	168
33. アスコルビン酸 (ビタミンC)	172
33-1. 高速液体クロマトグラフ法	172
第4章 アミノ酸	
34. 一般のアミノ酸, ヒドロキシプロリン及びアンモニア	175
34-1. カラムクロマトグラフ法	175
35. シスチン及びメチオニン	179
35-1. カラムクロマトグラフ法 (過ギ酸酸化法)	179
36. メチオニン	183
36-1. カラムクロマトグラフ法	183
37. トリプトファン	186
37-1. 高速液体クロマトグラフ法	186
第5章 脂肪酸及びコレステロール	

38.	脂肪酸定量及び脂肪酸組成分析法	189
38-1.	脂肪酸組成分析のための脂質の抽出と定量	189
38-1-1.	クロロホルム-メタノール混液抽出法 (1)	189
38-1-2.	クロロホルム-メタノール混液抽出法 (2)	190
38-1-3.	酸分解法	191
38-1-4.	液-液抽出法	192
38-1-5.	ヘキサン-イソプロパノール法	193
38-1-6.	フォルチ法	194
38-2.	脂肪酸組成定量法 (ガスクロマトグラフ法)	195
38-2-1.	メチルエステル化法 (1)	195
38-2-2.	メチルエステル化法 (2)	198
38-2-3.	プロピルエステル化法	200
39.	コレステロール	202
39-1.	ガスクロマトグラフ法 (1) (魚介類, 肉類等)	202
39-2.	ガスクロマトグラフ法 (2) (豆類, 野菜類等)	203
39-3.	ガスクロマトグラフ法 (3) (穀類, いも類等)	205
第6章 炭水化物及び有機酸		
40.	でん粉, 単糖, 二糖, オリゴ糖, 糖アルコール	208
40-1.	高速液体クロマトグラフ法 (単糖, 二糖, オリゴ糖, 糖アルコール)	208
40-2.	酵素法 (でん粉)	211
41.	有機酸	214
41-1.	高速液体クロマトグラフ法	214
41-2.	酵素法 (グルコン酸)	216
第7章 その他の備考欄収載成分		
42.	硝酸イオン	218
42-1.	高速液体クロマトグラフ法	218
42-2.	イオンクロマトグラフ法	219
43.	アルコール	221
43-1.	浮ひょう法	221
43-2.	ガスクロマトグラフ法 (1)	222
43-3.	ガスクロマトグラフ法 (2)	222
43-4.	振動式密度計法	223
44.	酢酸	226
44-1.	直接滴定法	226
44-2.	水蒸気蒸留-滴定法	226
44-3.	高速液体クロマトグラフ法 (41-1参照)	227
45.	カフェイン	229
45-1.	高速液体クロマトグラフ法 (固形試料)	229
45-2.	高速液体クロマトグラフ法 (液体試料)	230
46.	タンニン	233
46-1.	酒石酸鉄吸光光度法	233
46-2.	フォーリン・デニス法	234
47.	テオブロミン	236
47-1.	高速液体クロマトグラフ法	236
48.	ポリフェノール	238
48-1.	フォーリン・チオカルト法 (1)	238
48-2.	フォーリン・チオカルト法 (2)	242
付録		
1.	数値の表示方法について	245
2.	食品群別の試料前処理法	247
1.	穀類	247

2. いも及びでん粉類	247
3. 砂糖及び甘味類	248
4. 豆 類	248
5. 種実類	248
6. 野菜類	248
7. 果実類	249
8. きのこと類	250
9. 藻 類	250
10. 魚介類	250
11. 肉 類	251
12. 卵 類	252
13. 乳 類	252
14. 油脂類	253
15. 菓子類	253
16. し好飲料類	253
17. 調味料及び香辛料類	254
3. 「調理した食品」の調理方法	255
4. 食品成分表のための記録表	281
表1 試料購入指示明細書	282
表2 調理指示書（植物性食品）	283
表3 調理指示書（動物性食品）	284
表4 試料来歴表	285
表5 測定用試料調製記録書（基本）	286
表6 測定用試料調製記録書（肉類（赤肉・脂身））	287
表7 廃棄率記録書（植物性食品）	288
表8 廃棄率記録書（動物性食品）	289
表9 調理記録書（植物性食品）	290
表10 調理記録書（動物性食品）	291
表11 食品成分表基礎データ《一般成分・無機質・ビタミン》基本	292
表12 食品成分表基礎データ《一般成分・無機質・ビタミン》調理した食品	294
表13 食品成分表アミノ酸編基礎データ《窒素, アミノ酸, 硝酸イオン, カフェイン, テオブロミン》基本	296
表14 食品成分表アミノ酸編基礎データ《窒素、アミノ酸》基本・補正值	298
表15 食品成分表アミノ酸編基礎データ《窒素, アミノ酸, 硝酸イオン, カフェイン, テオブロミン》調理した食品	300
表16 食品成分表脂肪酸編基礎データ《水分・脂質・脂肪酸》基本	302
表17 食品成分表脂肪酸編基礎データ《脂肪酸》調理した食品	304
表18 食品成分表炭水化物編基礎データ《利用可能炭水化物・糖アルコール・食物繊維・ 有機酸》基本	306
表19 食品成分表炭水化物編基礎データ《利用可能炭水化物・糖アルコール・食物繊維・ 有機酸》調理した食品	308
付 記 食品成分委員会 委員名簿（参考）	310

第1章 一般成分及び関連成分

1. 水分

1-1. 常圧加熱乾燥法

1-1-1. 直接法

[適用]

穀類、種実類などの粉末状のもの、比較的水分量の少ない食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：80～150℃の温度範囲において、

所定の温度の±2℃が調節可能なもの（注1）。

はかり容器：一般的には、図1-1に示すようなアルミニウム製の小型のもの（質量約10g）を用いる。

デシケーター：中板の径20～22cmのもの（注2）。

乾燥剤として、一般に135℃で加熱乾燥した青色シリカゲルを入れて用いる。

電子はかり：秤量100g以上、最小表示0.1mgのものを用いる。

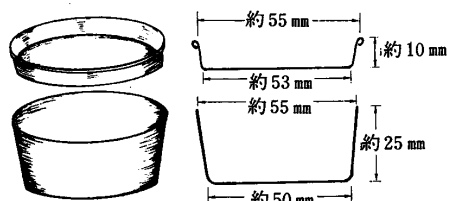


図1-1 アルミニウム製はかり容器（例）

(2) 操作

所定の温度に調節した乾燥器にはかり容器を入れ、1～2時間加熱後、デシケーターに移す。45分間放冷した後、0.1mgまではかって、恒量（ W_0 ）を求める（注3）。適量の試料をすばやく採取した後、蓋をして、0.1mgまではかる（ W_1 ）。はかり容器の蓋をとって容器の下に敷くか、横に置いて乾燥器中に入れる。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、乾燥器中ですばやく容器に蓋をする。デシケーターに移して、室温に達するまで放冷（注4）して、質量をはかる（ W_2 ）。もしも、恒量になるまで乾燥するよう測定条件が定められている場合は、再び蓋をとって乾燥器中に入れ、乾燥して質量をはかることを繰り返す。

(3) 計算

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

W_0 ：恒量としたはかり容器の質量（g）

W_1 ：試料を入れたはかり容器の乾燥前の質量（g）

W_2 ：試料を入れたはかり容器の乾燥後の質量（g）

試料形態に限らず、アルコール及び酢酸は、乾燥時に揮発するため水分の分析値に影響する。そこでこれらの成分が含まれ、かつ影響が大きいと考えられる場合は、乾燥減量（注5）から、これらを差し引きして水分値を算出する。

[注解]

（注1）種々の形式があるが、強制循環通風式のもの一般的に用いられる。通風式はかなりの風量があり、大量のものを乾燥する効率はよいが、密度の軽い試料は飛散することがあり、水分測定のためであれば、それほどの風量を必要としない。このことから、風量調節が可能で、風量を少なくしたとき、上段の棚の1/2～1/3の面積が、±2℃の温度範囲を維持できることが望ましい。一般の通風式はこれくらいの精度をもっている。棚の1/2～1/3の面積に試料を並べる。水分測定値のばらつきが、水分値そのもので0.1%以内を必要とするような場合は、乾燥後にはかり容器に蓋をする。また、取り出す間の吸湿によるばらつきを小さくする必要から、一度に

測定するはかり容器の個数は8～12点までとする。したがって、水分測定用のアルミニウム製はかり容器12個を並べたとき、占有面積として、棚面積の1/2～1/3を占めるような大きさの乾燥器を用いることが望ましい。

* 一般共通事項及び測定用試料の調製方法については、付録に記述している。

(注2) 測定点数を考え、中板の径20～22 cmの減圧コック付きがよい。あまり大きいと、余分の空間がありすぎてよくない。はかるときの開け閉めの際に、かえって吸湿の影響を大きくする。この大きさのデシケーターは、小型アルミニウム製はかり容器が8個並べられる。容器の放冷による不確かさを一定にするには、常に8個ずつを収納するように決めればよい。

(注3) 初めて使用するアルミニウム製はかり容器の場合、2回繰り返し乾燥をして恒量をみる必要がある。次回からの使用には、通常、前の恒量値を用いる。試料が穀類などの場合は、注意して使用すると、20～30回繰り返し用いても、恒量は変化しない。ただし、試料が付着して洗ったときは、もう一度恒量を求める。

(注4) はかり周辺温度と測定するアルミニウム製はかり容器の温度が異なると空気の対流が起こり、正確な質量測定ができない。放冷時間やデシケーターへの収納個数などに注意が必要である。

(注5) 「乾燥減量」は乾燥時の減量である。この減量は水分以外の揮発成分も含まれるため、「乾燥減量=水分+揮発成分」となる。

1-1-2. 乾燥助剤添加法

[適用]

粘質状、液状、ペースト状などの食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：1-1-1. 直接法に同じ。

デシケーター：1-1-1. 直接法に同じ。

電子はかり：1-1-1. 直接法に同じ。

はかり容器：目安として口径75 mm、底径70 mm、深さ35 mmの大型アルミニウム製、又はガラス製のものを用いる。かき混ぜ用のガラス棒を用意する。

(2) 試薬

乾燥助剤（精製ケイ砂）：試薬として市販されているケイ砂を用いる（注1）。

(3) 操作

はかり容器に精製ケイ砂約20～30 gを入れる。ガラス棒を入れ、所定の温度で1～2時間乾燥後、1時間放冷して、0.1 mgまではかり (W_0)、恒量を求める。ここに適量の試料を採取し、0.1 mgまではかる (W_1)。次いで、ガラス棒で試料をよく混和する。粘度が高いなど混合しにくい場合は乾燥助剤が濡れる程度の量の水を加え、試料をよく混和する。水浴上でかき混ぜながら（注2）、サラサラの状態になるまで予備乾燥を行う。その後の本乾燥は、測定条件に従って1-1-1. 直接法と同様に行い、60分間放冷してから質量をはかる (W_2)。

(4) 計算

1-1-1. 直接法に同じ。

[注解]

(注1) ケイ砂は、種々の粒度のものが市販されている。粒径は200～1000 μm 程度が使いやすい。測定対象により粒度を使い分けてもよい。ケイソウ土を用いる場合もある。粒度を指定して購入する。試薬として販売されたものでも精製度が低いものもあり、それらを使用する場合は精製してから用いる。精製方法は、ケイ砂適量を塩酸：水（1：1）に入れ、約80℃に加熱し

て、1時間放置する。冷却後、水洗を繰り返して完全に酸を取り除いた後、風乾し、さらに105℃で1～2時間乾燥して用いる。

(注2) このとき、ケイ砂の粒が容器の外に飛び出さないよう注意深く行う。念のため、水浴上から下ろし、十分な大きさのアルミニウム箔の上で操作するのもよい。

1-1-3. アルミニウム箔法

[適用]

粘質状の穀類加工品（飯、ゆでめんなど）類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：1-1-1. 直接法に同じ。

デシケーター：1-1-1. 直接法に同じ。

電子はかり：1-1-1. 直接法に同じ。

アルミニウム箔製はかり容器：一般家庭用のアルミニウム箔（やや厚手のものを用いる）を、封筒状に折って袋を作製して、はかり容器とする（図1-2）（注1）。

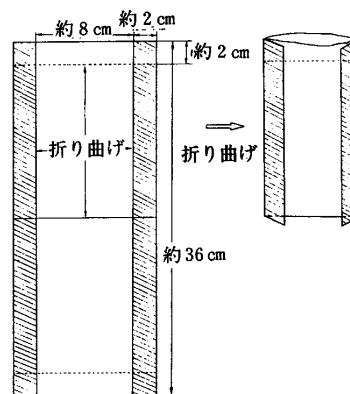


図1-2 アルミニウム箔製はかり容器（例）

(2) 操作

アルミニウム箔製はかり容器を、0.1 mgまではかり (W_0)、試料の適量を採取する。はかり容器の口を折って気密とし、0.1 mgまではかった (W_1) 後、丸い棒をローラーとして、試料をはかり容器の中に均一に薄く圧延する。はかり容器の口と底の部分は、上下1.5 cmぐらい残すように試料をのぼす。次いで、はかり容器を吹いてふくらませるか、はかり容器を開いた後、粘着試料が固着しないように「かまぼこ状」とする。金網又はアルミニウム製トレイ上のにせ、所定の温度で所定の時間乾燥する。乾燥終了後、破れないように注意しつつ、はかり容器を平らにし、はかり容器の口を折って、一応、気密にする。もしもはかり容器が破れたら、はかり容器が入る大きさのポリエチレン袋中に入れ、デシケーター中で30分間放冷後（注2）、質量をはかる (W_2)。

(3) 計算

1-1-1. 直接法に同じ。

[注解]

(注1) 封筒状に折って作製したアルミニウム箔製はかり容器は、試料を採取してはかる際に気密にできるので、試料の水分損失を防ぐことができる。アルミニウム箔は吸湿性がほとんどなく、水分測定のための目的では、予備乾燥をして恒量を出す必要はない。

(注2) ポリエチレン袋に入れずに放冷したときは15～20分間で冷える。ピンホール程度なら、ポリエチレン袋から取り出して質量をはかる。もしも、ポリエチレン袋ごとにはかった場合は、後でポリエチレン袋の質量をはかって差し引く。

1-2. 減圧加熱乾燥法

1-2-1. 直接法

[適用]

加熱によって変化しやすい食品（粉末スープ、クッキーなど）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

減圧電気定温乾燥器：60～110℃の範囲を、±2℃に自動調節できる電熱式を用いる。乾燥中に試料から蒸発した水、及び乾燥器を常圧に戻すときの空気中の水を除去するために、脱水用のトラップを連結する必要がある（注1）。

はかり容器：1-1-1. 直接法と同じ。
デシケーター：1-1-1. 直接法と同じ。
電子はかり：1-1-1. 直接法と同じ。

(2) 操作

あらかじめ恒量になったはかり容器 (W_0) に、適量の試料を採取して、0.1 mgまではかる (W_1)。常圧において、所定の温度に調節した減圧電気定温乾燥器中に、はかり容器の蓋をとるか、口を開けた状態に入れる。扉を閉じ、真空ポンプを作動させて、所定の減圧度において一定時間乾燥する。真空ポンプを止め、乾燥空気を送って常圧に戻し(注2)、はかり容器を取り出し、蓋をしてデシケーター中で放冷後、質量をはかる。一般には、恒量 (W_2 , 0.1 mgまではかる) になるまで乾燥、放冷、質量をはかる(注3) ことを繰り返す。

(3) 計算

1-1-1. 直接法と同じ。

[注解]

(注1) 減圧電気定温乾燥器は、乾燥室が円筒形のものと角形のものが市販されている。常圧下には、乾燥室内の加熱は、対流、伝導、輻射によって行われている。しかし、減圧下には、対流による加熱はごく小さくなり、壁からの伝導熱が主体となる。したがって、乾燥室内の温度分布はかなり不均一となり、壁に近い部分、特に後部の左右の隅が高くなる。これらの理由から、熱に不安定な成分を多く含有する食品の場合は、できるだけ中央部分の位置にはかり容器を置くように注意する。

(注2) 小型アルミニウム製はかり容器を用いる場合、恒量は1-1. 常圧加熱乾燥法に準ずる。乾燥終了後、空気を入れて急に常圧に戻すと、試料が舞い上がることがある。軽い粉末などのときは、蓋をとらずに、ずらして開けてのせておくほうがよい。

(注3) 繰り返しの乾燥は、普通2時間ずつ行う。試料によっては、5時間ずつのこともある。恒量は一般に、0.5 mg以上の減量がなくなったときを目標にする。試料によっては、いつまでもそれ以上の減量があり、判断を迷う場合がある。その場合、加熱による分解のためと考えられるので、減量が1 mg又は3 mgになったときを目安にして、前後の値を参照して恒量とする。

1-2-2. 乾燥助剤添加法

[適用]

野菜類、果実類、魚介類など比較的水分の多い食品や、粘質状、液状、ペースト状などの食品のうち、加熱によって変化しやすい食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

1-2-1. 直接法と同じ。

(2) 試薬

精製ケイ砂：1-1-2. 乾燥助剤添加法と同じ。

(3) 操作

あらかじめ精製ケイ砂20~30 gを入れ恒量にしたはかり容器 (W_0) に適量の試料を採取して、0.1 mgまではかる (W_1)。以下、1-2-1. 直接法と同様に操作する。

(4) 計算

1-1-1. 直接法と同じ

1-3. カールフィッシャー法

[適用]

砂糖類、油脂類、みそ類、乾燥卵、香辛料類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

カールフィッシャー水分測定装置：市販のもので、電氣的に終点を検出可能なものを用いる。

(2) 試薬

カールフィッシャー試薬：市販のカールフィッシャー試薬、力価3 mg H₂O/mL、又は 10 mg H₂O/mLのものを用いる。

脱水メタノール：市販の脱水メタノールをそのまま用いるか、メタノールをモレキュラーシーブ3Aで脱水して用いる。

含水メタノール標準液：容量500 mLの全量フラスコに脱水メタノールを約400 mLとり、水 2.000 gを正確にはかって加え、一定温度（20～25℃）下に脱水メタノールを加えて500 mL定容とする。

試料溶解用混合溶媒：試料に応じて、①クロロホルム+メタノール（5+1）、②ホルムアミド+メタノール（10+1）、③ピリジン+メタノール（5+1）などの市販のカールフィッシャー測定用脱水溶剤から選んで用いる（注1）。

酒石酸ナトリウム二水和物：カールフィッシャー試薬の力価検定に用いる。

(3) カールフィッシャー試薬の力価の検定

次のいずれかの方法で検定する。

1) 水による検定

10 mg H₂O/mLのカールフィッシャー試薬の力価検定に用いる。カールフィッシャー滴定フラスコに脱水メタノール又は試料溶解用混合溶媒を適量入れ、かき混ぜながらカールフィッシャー試薬を滴下して終点を求め、無水状態とする。ここに水50～80 mg（*W*）を正確にはかって入れ、カールフィッシャー試薬で滴定する（*A*）。

$$K \text{ (mg H}_2\text{O/mL)} = \frac{W}{A}$$

K：カールフィッシャー試薬の力価（mg H₂O/mL）

A：カールフィッシャー試薬の滴定量（mL）

W：試料採取量（mg）

2) 酒石酸ナトリウム二水和物による検定

3 mg H₂O/mLのカールフィッシャー試薬の力価検定に用いる。カールフィッシャー滴定フラスコに脱水メタノール50 mLをとり、カールフィッシャー試薬を滴下して無水状態にする。ここに酒石酸ナトリウム二水和物200～300 mg（*W*）を正確にはかって、すばやく入れ、かき混ぜて完全に溶解した後、かき混ぜながらカールフィッシャー試薬で滴定する（*A*）。

$$K \text{ (mg H}_2\text{O/mL)} = \frac{W}{A} \times 0.1566$$

K：カールフィッシャー試薬の力価（mg H₂O/mL）

A：カールフィッシャー試薬の滴定量（mL）

W：試料採取量（mg）

3) 含水メタノール標準液による検定

1)における水の代わりに標準液を用いる。3 mg H₂O/mLのカールフィッシャー試薬の検定には、標準液5mLを、10 mg H₂O/mLのときは20 mLを採取する。（注2）

$$K \text{ (mg H}_2\text{O/mL)} = \frac{f \times 5}{A} \quad \text{又は} \quad \frac{f \times 20}{A}$$

K : カールフィッシャー試薬の力価 (mg H₂O/mL)

f : 含水メタノール標準液のファクター。 f は、あらかじめ、1) 又は2) の方法で力価を求めたカールフィッシャー試薬で、含水メタノール標準液を滴定して求める。

A : カールフィッシャー試薬の滴定量 (mL)

(4) 試料溶液の調製, 測定及び計算

1) 溶媒に溶ける試料

試料の性状に応じて溶媒の種類を選ぶ。カールフィッシャー滴定フラスコに脱水メタノール又は試料溶解用混合溶媒25~50 mLをとり、カールフィッシャー試薬を滴下して終点とし、無水状態にする。適量の試料 (W) (水として10~100 mgが望ましい) をはかって、すばやく滴定フラスコ中に入れる。かき混ぜて試料を溶解し、次いで、かき混ぜながらカールフィッシャー試薬を滴下して終点 (A) を求める。

$$\text{水分 (g/100 g)} = \frac{A \times K \times 100}{W \times 1000}$$

K : カールフィッシャー試薬の力価 (mg H₂O/mL)

A : カールフィッシャー試薬の滴定量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

2) 溶媒に溶けない試料

試料 (W) をはかり、容量100 mL又は200 mLの全量フラスコ (V) に入れ、脱水メタノールを約半量加え、激しく振って試料を分散させ、次いで、脱水メタノールで定容とした後、ときどき混和して約10分間放置する。上澄み液をピペットで5~10 mL (v) 採取し、カールフィッシャー滴定フラスコに入れ、カールフィッシャー試薬で滴定する (A)。次いで、カールフィッシャー滴定フラスコに脱水メタノールを試料溶液と同量採取し、カールフィッシャー試薬で滴定し、空試験値 (B) とする (注3)。

$$\text{水分 (g/100 g)} = \frac{(A - B) \times K \times \frac{V}{v} \times 100}{W \times 1000}$$

A : カールフィッシャー試薬の滴定量 (mL)

B : 脱水メタノールによるカールフィッシャー試薬の空試験値 (mL)

K : カールフィッシャー試薬の力価 (mg H₂O/mL)

V : 全量フラスコの容量 (mL)

v : ピペットによる上澄み液の採取量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) ①は油脂類の溶解用として、②は乳糖、麦芽糖などの溶解用のほか、食品からの水の抽出用として、③はブドウ糖、水あめの溶解用として用いる。

(注2) 力価測定用として水の濃度が既知の溶液が市販されているので、これを利用してよい。

(注3) 溶媒に溶けない試料の場合でも溶媒へ容易に分散し、水分が抽出される場合は1) 溶媒に溶ける試料に準じて測定することでもよい。また、前処理として試料を加熱し、乾燥窒素をキャリアーガスとして試料溶解用混合溶媒に捕集して滴定する方法もある。

1-4. 蒸留法

[適用]

香辛料類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

蒸留式水分測定装置：水より比重の軽い溶媒を用いる場合には、図1-3のような簡易型を用いる。また、水より比重の重い溶媒（四塩化炭素）を用いる場合は、図1-4のような装置を用いる。

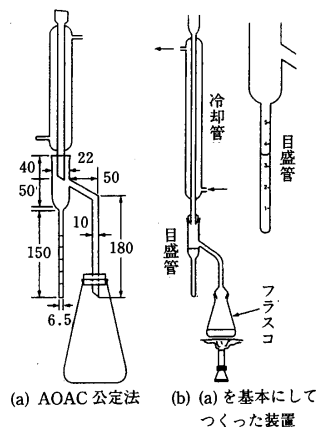


図1-3 蒸留法による水分測定用の簡易な装置
水より比重の軽い溶媒用：数字の
単位はmm

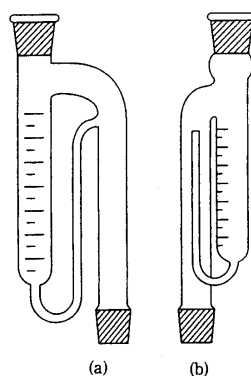


図1-4 蒸留法による水分測定装置
水より比重の重い溶媒用の
目盛り管部分の例

(2) 試薬

表1-1に示す各種有機溶媒：試薬1級以上を用いる。使用前に、溶媒150 mLに対し水2~3 mLを加え、操作と同様にして水を留去し、残った溶媒を試料の測定用とする。

表1-1 水と溶媒の共沸混合物

溶 媒	組成 (水%)	共沸点 (°C)	溶媒沸点 (°C)
四塩化炭素	4.1	66	77
クロロホルム	2.8	56.1	61
トリクロロエチレン	5.4	73.6	88~90
イソアミルアルコール	49.6	95.2	132
シクロヘキサン	9	68.95	81
ベンゼン	8.8	69.3	80
トルエン	19.6	84.1	111
<i>m</i> -キシレン	35.8	92	139

(3) 操作

適量の試料 (W) (注1) をフラスコに採取し、表1-1に示す各種有機溶媒75 mLを加えて、装置に連結して加熱する。最初は1秒間に2~3滴の割合で、水が冷却管から滴下するように加熱する(注2)。目盛り管の水の増加が目立たなくなったら、加熱を強め、1秒間に4~5滴が滴下するようにする。水が留出しなくなったら、冷却管及び目盛り管上部に付着した水を目盛り管中に落とし(注3)、次いで、もうしばらく蒸留を続ける(注4)。蒸留が終了したら、目盛り管をはずし25 °Cまで冷却後、目盛の容量 (V) を0.05 mLまで読み取る。

(4) 計算

$$\text{水分 (g/100 g)} = \frac{V}{W} \times 100$$

V : 蒸留した水の容量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 試料は、水として3~4.5 mLになるように採取することが望ましい。フラスコの口に試料が付着しないように工夫する。粘性のある試料は、1-1-3. アルミニウム箔法と同様にして採取し、試料をのばした後、筒状に巻いてフラスコ中に押し込む。

(注2) 加熱が強すぎると、冷却管の上部まで蒸気が上がり、水が付着して回収困難となる。

(注3) 長い針金の付いた細い洗浄ブラシ、又は針金の先に輪ゴムを巻き付けた用具を、冷却管の上部から挿入してガラス壁をこする。同時に、有機溶媒をスポイトで勢いよく注入し、付着した水を洗い落として回収する。このとき、用具は目盛管中の水に届くまで入れてはいけない。

(注4) まだ水が留出してくる場合、(注3)のように水の回収を行って、再び蒸留を繰り返す。

[付表] 水分定量法：食品別試料前処理法と測定方法一覧表

食 品 名	前 処 理 法	採取量	測 定 方 法 ・ 測 定 条 件
1. 穀類			
粒状	ローラーミル粗砕	3～5 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 3時間
粉類	混和均質化	3 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 1時間
パン類	予備乾燥後乳鉢粉碎	2～3 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 1時間
菓子パン類	詰物とパンを分けて粉碎	2～3 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 1時間
乾めん類	コーヒーミル粉碎	3～5 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 3時間
マカロニ, スパゲッティ類	ローラーミル粗砕	3～5 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 3時間
生めん, ゆでめん	ポリ袋中混練り	3 g	常圧加熱・アルミ箔法 135 ℃, 2時間
めし	同量加水, ミキサー粉碎	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法* 135 ℃, 2時間
もち (包装もち)	鯉節削り器, 包丁で細切り	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 135 ℃, 2時間
味付けごはん類	フードプロセッサー	5 g	常圧加熱・アルミ箔法 135 ℃, 2時間
プレミックス粉	混和均質化	3 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 5時間
2. いも及びでん粉類			
いも類	フードプロセッサー (すりおろし用刃使用)	3～5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 5時間
蒸し切り干し でん粉類	はさみ又は包丁で細切り 混和均質化	5～10 g 3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間 常圧加熱・直接法 135 ℃, 1時間
3. 砂糖及び甘味類			
砂糖類	混和均質化	5 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 3時間 又はカールフィッシャー法
水あめ・液状糖類	混和均質化	2～3 g	減圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 3時間
はちみつ類	混和均質化	2～3 g	減圧加熱・乾燥助剤法 90 ℃, 3時間
4. 豆類			
あずき, いんげん豆類	ローラーミル粗砕	5 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 3時間
ゆであずき, 煮豆類	ポリ袋中混練り	3 g	減圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 恒量
さらしあん	混和均質化	3 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 1時間
だいず	ローラーミル粗砕	5 g	常圧加熱・直接法 130 ℃, 2時間
きな粉, 脱脂大豆	混和均質化	3 g	常圧加熱・直接法 130 ℃, 1時間
豆腐類	250 μm網上30秒水切り後 ホモジナイザー	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 2時間
油揚げ	フードプロセッサー細切り	3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 恒量
納豆類	チョッパー3回	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 2時間
おから	混和均質化	3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 恒量
テンペ	チョッパー3回	3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 恒量
みそ類	混和均質化	1 g 又は	カールフィッシャー法 又は
漉しみそ 粒みそ	チョッパー3回	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 5時間
5. 種実類			
脂質少 (くり, ぎんなん など)	フードプロセッサー (すりおろし用刃使用)	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 130 ℃, 2時間
脂質多, 大粒	コーヒーミル又は乳鉢	5 g	常圧加熱・直接法 130 ℃, 2時間
らっかせい	ローラーミル粗砕	5 g	常圧加熱・直接法 130 ℃, 2時間
炒り等の加工品	コーヒーミル又は乳鉢	5 g	常圧加熱・直接法 130 ℃, 2時間
6. 野菜類 (生鮮野菜)			
かぼちゃ, きゅうり, だいこん, かぶなどすり おろし可能な試料	フードプロセッサー (すりおろし用刃使用)	5～7 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 5時間
葉菜類, 果菜類, さや豆類, 未熟豆類	フードプロセッサー細切り	5～7 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 5時間

缶, びん詰類	45° 傾斜, 2分液汁切り, フードプロセッサー細切り	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
7. 果実類				
生果	フードプロセッサー細切り	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
缶, びん詰類 (除液汁)	45° 傾斜, 2分液汁切り, フードプロセッサー細切り	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
缶, びん詰類 (含液汁)	ミキサーで細切混和	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
果実飲料	ホモジナイザー又はミキ サーで均質化	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
ジャム類	同量加水ミキサー均質化	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 5時間
8. きのご類				
生きのご類	フードプロセッサー細切り	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
乾燥きのご類	コーヒーミル粉碎	2~5 g	常圧加熱・直接法	105 °C, 5時間
味付きのご類	フードプロセッサー細切り	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	70 °C, 恒量
9. 藻類				
生	フードプロセッサー細切り	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
塩蔵品	付着の食塩を除去後, フー ドプロセッサー細切り	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
乾燥品	コーヒーミル粉碎	5 g	常圧加熱・直接法	105 °C, 5時間
こんぶ類 つくだ煮	フードプロセッサー細切り	5 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 恒量
10. 魚介類				
魚類	三枚おろし, チョッパー3 回	5~7 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
貝類	可食部, チョッパー3回	5~7 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
甲殻類	可食部, チョッパー3回	5~7 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
その他 (いか, たこなど)	可食部, チョッパー3回	5~7 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
缶詰類 水煮	45° 傾斜, 2分液汁切り, 固形分をチョッパー処理	5~7 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 5時間
味付け	召し上がり方などの表示 に従い, チョッパー処理			
11. 肉類				
食肉及び肉製品	チョッパー処理	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法	135 °C, 2時間
12. 卵類				
生鮮卵, 卵黄, 卵白	ミキサーで短時間混和	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 恒量
ゆで卵	フードプロセッサー細切り		減圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 恒量
13. 乳類				
液状乳及びクリーム	混和, 必要に応じ加温	3 g	常圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 3時間
発酵乳, 乳酸菌飲料	ミキサー混和	3 g	減圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 恒量
アイスクリーム	軟化後混和	3 g	常圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 3時間
粉乳類	混和	2~3 g	常圧加熱・直接法	100 °C, 4時間
練乳類	混和, 20 gを水で100 mL	5 mL	常圧加熱・乾燥助剤法	100 °C, 4時間
チーズ類	フードプロセッサー細切り	3~4 g	常圧加熱・乾燥助剤法	105 °C, 4時間
14. 油脂類			下記方法またはカールフィッシャー法	

液体油脂	混和均質化	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間
固体脂**	細切混和均質化	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間
脂身	フードプロセッサー細切り	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間
15. 菓子類			
生・半生菓子類	フードプロセッサー細切り	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 恒量
洋菓子	フードプロセッサー細切り	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
プリン・ゼリー	ミキサー混和	3~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
あられ, せんべい類	粗砕後, コーヒーミル	5 g	常圧加熱・直接法 135 ℃, 3時間
揚げせんべい	粗砕後, コーヒーミル	5 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 3時間
干菓子・砂糖菓子類	粗砕後, コーヒーミル	3~5 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 3時間
クッキーなどの焼菓子類	粗砕後, コーヒーミル	3~5 g	減圧加熱・直接法 100 ℃, 恒量
あめ玉, キャンデー類	粗砕後, コーヒーミル	4~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 100 ℃, 2時間
チョコレート類	包丁で細切り	4~5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
ポテトチップス	粗砕後, コーヒーミル	3~5 g	常圧加熱・直接法 100 ℃, 5時間
16. し好飲料類			
アルコール飲料***	混和	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
茶類	コーヒーミル粉碎	3 g	常圧加熱・直接法 100 ℃, 恒量
コーヒー豆	ローラーミル又はコーヒーミル粉碎	3~5 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 恒量
コーヒー粉末	混和	5 g	常圧加熱・直接法 105 ℃, 恒量
コーヒー飲料	混和	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 恒量
ココア	混和	5 g	常圧加熱・直接法 110 ℃, 恒量
17. 調味料及び香辛料類			
食塩	混和	2~3 g	常圧加熱・直接法 140 ℃, 90分
しょうゆ, ソース類	混和	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
食酢****		3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 恒量
マヨネーズ, ドレッシング類****	混和	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間
トマト加工品類	混和	5 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
風味調味料, 乾燥スープ	コーヒーミル粉碎	3 g	減圧加熱・直接法 70 ℃, 5時間
香辛料 (粉体)	混和	5~10 g	蒸留法またはカールフィッシャー法
(練り, すりおろし)	混和	2~3 g	減圧加熱・乾燥助剤法 70 ℃, 恒量
マスタード類	混和	2~3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 3時間
ラー油	混和	2~3 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 1時間 又はカールフィッシャー法
18. 調理加工食品類			
	形態に応じ, 主食材の前処理方法に準じ, チョップパー, フードプロセッサー, ローラーミル, コーヒーミルなどを適宜使用する.	原則として 3~5 g	原則として主食材の試験方法を適用する。乾燥品はおおむね常圧加熱・直接法, 湿潤品はおおむね常圧加熱・乾燥助剤法 又は減圧加熱・乾燥助剤法
カレー, コロッケ, ハンバーグ	フードプロセッサー	3~5 g	常圧加熱・乾燥助剤法 105 ℃, 恒量

* 乾燥助剤法: 本文中の乾燥助剤添加法のこと。乾燥助剤はケイ砂。

** 精製ラード, マーガリン, ショートニングなど, 規格が定められているものは, 定められた測定方法に従う。

*** 水分=乾燥減量 (g) - アルコール分 (g)

**** 水分=乾燥減量 (g) - 酢酸 (g)

2. たんぱく質

2-1. アミノ酸組成によるたんぱく質 (PROTCAA) の計算方法

[適用]

食品全般に用いる。

[計算方法]

第4章の測定法で分析した、あるいは種々の方法で推計した、可食部100 g当たりの各アミノ酸量 (mg) に、表2-1にある、そのアミノ酸残基の式量/そのアミノ酸の分子量を乗じて、可食部100 g当たりの各アミノ酸残基量 (g) を求め、その総和を求める。

$$\text{アミノ酸組成によるたんぱく質 (g/100 g)} = \sum [(W_{aa} \times FW_{aa}/MW_{aa})/1,000]$$

W_{aa} : 可食部100 g当たりの各アミノ酸量 (mg/100 g)

FW_{aa} : そのアミノ酸残基の式量 (そのアミノ酸の分子量 - 18.02)

MW_{aa} : そのアミノ酸の分子量

1,000 : mgからgへの換算係数

(18.02 : 2個のアミノ酸が、脱水縮合し、ペプチド結合を形成する際に除かれる、水の分子量)

表2-1. アミノ酸の分子量とアミノ酸残基の式量

アミノ酸	記号	分子量	残基の式量
イソロイシン	Ile	131.17	113.15
ロイシン	Leu	131.17	113.15
リシン(リジン)	Lys	146.19	128.17
メチオニン	Met	149.21	131.19
1/2 シスチン	Cys	120.15	102.13
フェニルアラニン	Phe	165.19	147.17
チロシン	Tyr	181.19	163.17
トレオニン(スレオニン)	Thr	119.12	101.10
トリプトファン	Trp	204.23	186.21
バリン	Val	117.15	99.13
ヒスチジン	His	155.16	137.14
アルギニン	Arg	174.20	156.18
アラニン	Ala	89.09	71.07
アスパラギン酸	Asp	133.10	115.08
グルタミン酸	Glu	147.13	129.11
グリシン	Gly	75.07	57.05
プロリン	Pro	115.13	97.11
セリン	Ser	105.09	87.07
ヒドロキシプロリン	Hyp	131.13	113.11

[注解]

(注1) アミノ酸について、可食部100 g当たりの各アミノ酸量 (mg/100 g) は有効数字2桁に丸めて表示する。アミノ酸組成によるたんぱく質を計算する際には、丸めた数値を用いず、丸める前の数値を用いる。

(注2) たんぱく質のN末端に付加する水素原子およびC末端に付加する水酸基の質量は考慮しない。

2-2. マクロ改良ケルダール法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分解用加熱装置：ガス又は電熱式の分解用架台を用いる。熱源の強さは、装置自体を、ガスの場合は10分間予熱し、電熱の場合は30分間予熱し、そこに200 mLのイオン交換水と4～5粒の沸とう石を入れた分解フラスコをのせて加熱したとき、約5分間で沸き立つように調整されたものが必要である（電熱の場合、約600 W）。

ケルダールフラスコ：容量200～500 mLのものを用いる。

アンモニア蒸留装置：直接蒸留用の装置を用いる。熱源の強さは、分解用加熱装置と同様に調整する。

滴定装置：自動滴定装置（多検体を自動的に滴定できる市販品がある）を用いるか、テフロンコック付きの容量25～30 mLで、0.05 mLの刻線付きのビュレットを用いる。

(2) 試薬

濃硫酸：特級

分解促進剤：硫酸カリウム（特級）と硫酸銅（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、特級）を9:1の割合で、乳鉢でよくすりつぶして混ぜ合わせる。タブレット状に成形された市販品を用いてもよい。

しょ糖：空試験に、試薬用しょ糖又は市販の精製糖を用いる。

沸とう石：1.7～1.4 mm目（10～12メッシュ）の粒度

砂状亜鉛：850 μm 目（20メッシュ）よりも大きい粒度

中和用水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）450 gをイオン交換水 500 mLに溶解後、イオン交換水でほぼ1 Lに希釈する。市販の30～40 %の溶液を使用してもよい。

4 %ほう酸溶液：ほう酸（特級）40 gにイオン交換水960 mLの割合で加温溶解後、冷却する。

混合指示薬：0.1 %メチルレッド（MR）と0.2 %ブロムクレゾールグリーン（BCG）の95 %エタノール溶液を2:1の割合で混合するが、滴定の終点近くで青緑色→汚無色→桃色の変化が明らかに起こるように、2つの指示薬溶液のいずれかを追加して調製する。

硫酸標準溶液：0.05 mol/Lの硫酸標準溶液を用いる。

(3) 操作

試料0.5～2.0 g (*W*) を0.001 gまではかってケルダールフラスコに入れる。フラスコの頸の部分に試料が付着したときは、少量のイオン交換水で洗い落とす。分解促進剤10 g、次いで濃硫酸をメスシリンダーで25 mL、沸とう石5～6粒を加え、硫酸が試料に十分に浸透するまで穏やかに振り混ぜた後、分解用加熱装置で加熱する。泡立ちが激しいときは、泡があふれ出ない程度に加熱を弱める。ケルダールフラスコの内容液が透明になってから、さらに60分加熱を続けて分解を完了させる。冷却後、イオン交換水150～200 mLをメスシリンダーで加え、25 °C以下に冷却した後、少量（耳かき1杯程度）の砂状亜鉛、又は沸とう石数個を加えてから、静かに中和用水酸化ナトリウム溶液70 mLをメスシリンダーで注加し、振り混ぜずにアンモニアの直接蒸留装置に連結する。容量300 mLの三角フラスコに4 %ほう酸溶液50 mLをメスシリンダーで入れ、混合指示薬5～6滴を加えて蒸留装置の出口に置く。このとき、蒸留装置の出口はほう酸溶液中に入っているようにする。ケルダールフラスコを揺り動かして内容物を混合する。所定の熱源の強さで30分間加熱蒸留し、留液が100 mL以上出たら、蒸留装置の出口をほう酸溶液の液面より離してから留出を続け、留液120～150 mLを集める。三角フラスコの内容液について、0.05 mol/L硫酸標準溶液で滴定する。青色→青緑色→汚無色→桃色になったところを終点（ V_1 ）とする。別に、空試験として試料の代わりに試料と同量のしょ糖を採取し、試料と同様に分解後蒸留し、次いで滴定（ V_2 ）する。

(4) 計算

たんぱく質含量 (g/100 g) = 窒素量 (g/100 g) × (窒素－たんぱく質換算係数)

ただし、

$$\text{窒素量 (g/100 g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times f \times 1.4}{W \times 1000} \times 100$$

V_1 : 本試験で中和に要した0.05 mol/L硫酸標準溶液量 (mL)

V_2 : 空試験で中和に要した0.05 mol/L硫酸標準溶液量 (mL)

f : 用いた0.05 mol/L硫酸標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

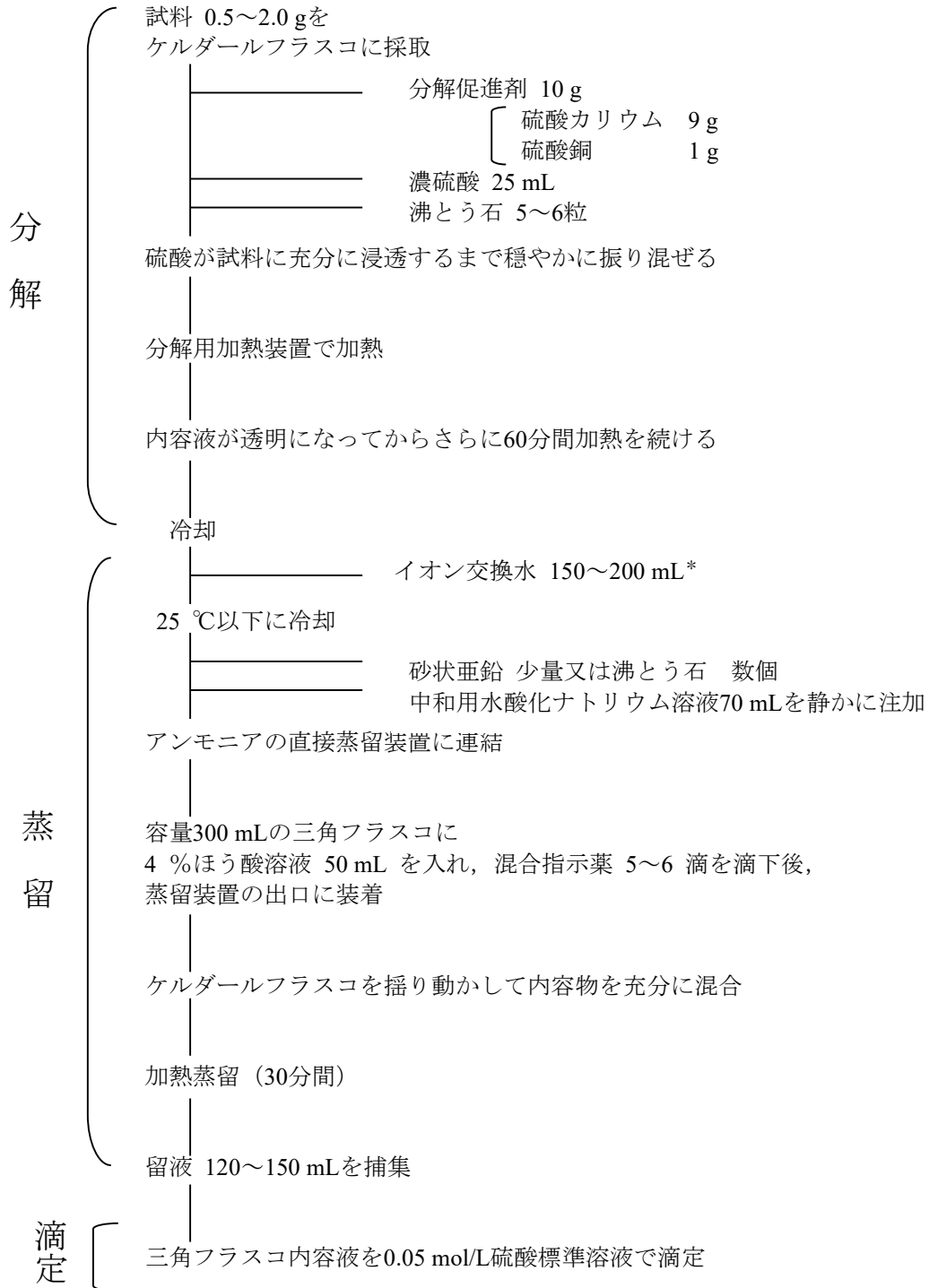
表2-1 窒素-たんぱく質換算係数

食 品 名	換 算 係 数
アマランサス	5.3
えんぱく (オートミール) . おおむぎ . こむぎ (玄穀, 全粒粉) . ライ麦 . 小麦 (粉) . フランスパン . うどん・そうめん類 . 中華めん類 . マカロニ・スパゲティ類 . ふ類 . 小麦たんぱく . ぎょうざの皮 . しゅうまいの皮	5.83
小麦はいが	5.7
こめ . こめ製品 (赤飯を除く)	5.8
だいず . だいず製品 (豆腐竹輪を除く)	5.95
アーモンド	5.71
ブラジルナッツ . らっかせい	5.18
その他のナッツ類 . あさ . えごま . かぼちゃ . けし . ごま . すいか . はす . ひし . ひまわりの各種実類	5.46
えだまめ . だいずもやし	5.3
らっかせい (未熟豆)	5.71
ふかひれ . ゼラチン . 腱 (うし) . 豚足 . 軟骨 (ぶた, にわとり)	5.46
乳 . チーズを含む乳製品 . その他の乳類 (シャーベットを除く) . バター類 . マーガリン類	5.55
しょうゆ類 . みそ類	6.38
	5.71

(注) 上記以外の食品は6.25の係数を用いる。

窒素定量法・フローチャート

(空試験は同量のしょ糖について、以下の操作を同様に行う)



*ここで定容し、その中から一定量を用いて以下の操作 (蒸留) を行うことも可能である。

2-3. サリチル酸添加-マクロ改良ケルダール法

[適用]

野菜類のうち、葉菜類及び根菜類などで硝酸態窒素化合物をかなり含有する食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

2-2. マクロ改良ケルダール法に同じ。

(2) 試薬

チオ硫酸ナトリウム五水和物：特級

粉末亜鉛：特級

サリチル酸：特級

サリチル酸硫酸溶液：サリチル酸10 gを濃硫酸300 mLに溶かしたもの

(3) 操作

試料2 g (W) を0.001 gまではかってケルダールフラスコに入れ、サリチル酸硫酸溶液30~40 mL (試料1 gに対して、サリチル酸硫酸溶液15~20 mL) を加える。振り混ぜて混和後、ときどき振り混ぜながら30分間以上おいてサリチル酸のニトロ化を行う。次いで、(1) チオ硫酸ナトリウム五水和物3 g、又は(2) 粉末亜鉛(粒状及び華状は不可) 2 gを加え、振り混ぜて5分間放置する(硝酸塩が多い試料の場合、窒素の損失を防ぐためゴム栓をすることもある。白煙が消えるまで放置する)。

泡立ちが静かになるまでゆっくり加熱して、ニトロ基のアミノ基への還元を行う。冷却後、2-2. マクロ改良ケルダール法に準拠するが、硫酸を加えることなく分解促進剤及び沸とう石を加え、硫酸が分解促進剤に十分に浸透するまで穏やかに振り混ぜた後、分解用加熱装置で加熱する。泡立ちが激しいときは、泡があふれ出ない程度に加熱を弱める。ケルダールフラスコの内容液が透明になってから、さらに60分間加熱を続けて分解を完了させる。以下、2-2. マクロ改良ケルダール法と同様に操作する。

(4) 計算

たんぱく質含量 (g/100 g) = {窒素量 (g/100 g) - 硝酸態窒素量* (g/100 g)} × (窒素-たんぱく質換算係数)

ただし、

$$\text{窒素量 (g/100 g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times f \times 1.4}{W \times 1000} \times 100$$

V_1 : 本試験で中和に要した0.05 mol/L硫酸標準溶液量 (mL)

V_2 : 空試験で中和に要した0.05 mol/L硫酸標準溶液量 (mL)

f : 用いた0.05 mol/L硫酸標準溶液のファクター

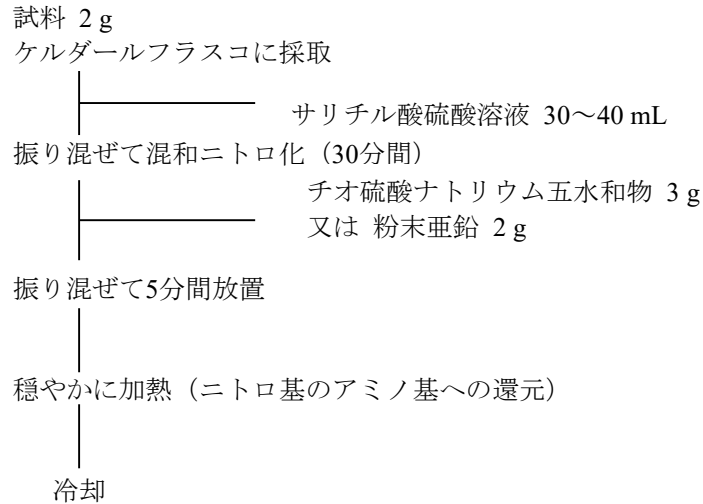
W : 試料採取量 (g)

* 硝酸態窒素量は、第7章42. 硝酸イオンの窒素量から求めた値を用いる。

全窒素定量法・フローチャート

[サリチル酸添加マクロ改良ケルダール法]

(空試験は同量のしょ糖について、以下の操作を同様に行う)



以下、2-2. マクロ改良ケルダール法の場合に同じ

2-4. 自動分析装置を用いる方法

市販の装置を用いて定量を行う。原理は、2-2. 及び2-3. の改良ケルダール法と同じであり、ケルダール法による分解装置と自動蒸留・滴定装置とを組み合わせ、自動窒素たんぱく質分析装置あるいは連続式窒素/たんぱく質迅速定量装置として市販されている。

操作方法は、装置に付属の説明書に従う。

2-5. 燃焼法（改良デュマ法）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

燃焼法全窒素測定装置（注1）：次の能力を有するもの

- ①酸素（純度 99.9 %以上のもの）中で試料を熱分解するため、最低 870 °C以上の操作温度を保持できる燃焼炉をもつこと。
- ②熱伝導度検出器による窒素（N₂）の測定のため、遊離した窒素（N₂）を他の燃焼生成物から分離することができる構造をもつこと。
- ③窒素酸化物（NO_x）を窒素（N₂）に変換する機構をもつこと。
- ④ニコチン酸を用いて 10 回繰り返し測定したときの窒素分の平均値が 理論値±0.15 %であり、相対標準偏差が 1.3 %以下であること。

(2) 試薬

検量線作成用標準品：エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、DL-アスパラギン酸など。純度99 %以上で窒素率が記載されたもの（注2）。

ニコチン酸：純度 99 %以上のもの

使用装置に必要な試薬：還元剤、除湿剤など

(3) 操作

固形の試料の場合、粉砕機で粉砕し均質化する。試料の適量（注3）を 0.1 mg 以下の単位まで正確にはかりとり、装置に適した方法で測定する。あらかじめ 0.1 mg 以下の単位まで正確にはかりとった検量線作成用標準品を測定して得られた検量線から試料中の窒素含量（g/100 g）を算出する。

(4) 計算

たんぱく質含量（g/100 g）＝窒素量（g/100 g）×（窒素－たんぱく質換算係数）

$$\text{窒素量 (g/100 g)} = \frac{A/1000 \times 100}{W}$$

A : 検量線から検出したN (mg)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 乾燥スープ、しょうゆ類など塩分濃度が高い試料を測定する場合は、ナトリウムの酸化物、遊離した塩素などによる腐食を防止する対策がとられていること。

(注2) ニコチン酸を除く、他の同純度の標準品を用いることもできる。

(注3) 通常 200～500 mg を採取する。

3. 脂 質

◎脂質及び脂肪酸等の分析に用いる有機溶媒に関する注意喚起

ジエチルエーテルは特殊引火物に指定されており（沸点35℃，引火点-45℃），火災の発生要因になる可能性があるため，その取扱いには細心の注意が必要である。

クロロフォルムは構造に塩素を含有する塩素系溶媒であり，発がん性など人体への影響と環境への負荷が指摘されており，特定化学物質に指定されている。その取扱いには適切な排気設備の使用など，人体への暴露軽減策などが必須である。

3-1. 脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質（FATNLEA）の計算方法

[適用]

食品全般に用いる。

[計算方法]

第5章の測定法で分析した，あるいは種々の方法で推計した，可食部100g当たりの各脂肪酸量（mg/100g）に，表3-1を参考にして，（その脂肪酸の分子量+12.6826）/その脂肪酸の分子量を乗じて，可食部100g当たりの各脂肪酸のトリアシルグリセロール当量（g）を求め，その総和を求める。

脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質（g/100g）

$$= \sum \{ [W_{fa} \times (MW_{fa} + 12.6826) / MW_{fa}] / 1,000 \}$$

W_{fa} ：可食部100g当たりの各脂肪酸量（mg/100g）

MW_{fa} ：その脂肪酸の分子量

12.6826：脂肪酸を脂肪酸のトリアシルグリセロール当量に換算する際の，脂肪酸当たりの式量の増加量〔グリセロールの分子量 × 1/3 - （エステル結合時に失われる）水の分子量〕

/1,000：mgからgへの換算係数

表 3-1. 脂肪酸の分子量

記号	系統名	慣用名	分子量
4:0	ブタン酸	酪酸*	88.11
6:0	ヘキサン酸*	カプロン酸	116.16
7:0	ヘプタン酸*	エナント酸	130.18
8:0	オクタン酸*	カプリル酸	144.21
10:0	デカン酸*	カプリン酸	172.26
12:0	ドデカン酸	ラウリン酸*	200.32
13:0	トリデカン酸*		214.34
14:0	テトラデカン酸	ミリスチン酸*	228.37
15:0	ペンタデカン酸*		242.40
16:0	ヘキサデカン酸	パルミチン酸*	256.42
17:0	ヘプタデカン酸*	マルガリン酸	270.45
18:0	オクタデカン酸	ステアリン酸*	284.48
20:0	イコサン酸	アラキジン酸*	312.53
22:0	ドコサン酸	ベヘン酸*	340.58
24:0	テトライコサン酸	リグノセリン酸*	368.64
10:1	デセン酸*		170.25
14:1	テトラデセン酸	ミリストレイン酸*	226.36
15:1	ペンタデセン酸*		240.38
16:1	ヘキサデセン酸	パルミトレイン酸*	254.41

17:1	ヘプタデセン酸*		268.43
18:1	オクタデセン酸 (n-9)	オレイン酸*	282.46
18:1	オクタデセン酸 (n-7)	cis-バクセン酸*	282.46
20:1	イコセン酸*	エイコセン酸	310.51
22:1	ドコセン酸*		338.57
24:1	テトラコセン酸*		366.62
16:2	ヘキサデカジエン酸*		252.39
16:3	ヘキサデカトリエン酸*		250.38
16:4	ヘキサデカテトラエン酸*		248.36
17:2	ヘプタデカジエン酸		266.43
18:2	オクタデカジエン酸		280.45
18:2 n-6	オクタデカジエン酸 (n-6)	リノール酸*	280.45
18:3	オクタデカトリエン酸		278.43
18:3 n-3	オクタデカトリエン酸 (n-3)	α -リノレン酸*	278.43
18:3 n-6	オクタデカトリエン酸 (n-6)	γ -リノレン酸*	278.43
18:4	オクタデカテトラエン酸*	パリナリン酸	276.41
20:2 n-6	イコサジエン酸*	エイコサジエン酸	308.50
20:3 n-3	イコサトリエン酸* (n-3)		306.48
20:3 n-6	イコサトリエン酸*	エイコサトリエン酸	306.48
20:4 n-3	イコサテトラエン酸 (n-3) *	エイコサテトラエン酸	304.47
20:4 n-6	イコサテトラエン酸 (n-6)	アラキドン酸*	304.47
20:5 n-3	イコサペンタエン酸*	エイコサペンタエン酸	302.45
21:5 n-3	ヘンイコサペンタエン酸*		316.48
22:2	ドコサジエン酸*		336.55
22:4 n-6	ドコサテトラエン酸*		332.52
22:5 n-3	ドコサペンタエン酸 (n-3) *		330.50
22:5 n-6	ドコサペンタエン酸 (n-6) *		330.50
22:6 n-3	ドコサヘキサエン酸*		328.49

*は、脂肪酸成分表編で用いている名称

[注解]

(注1) 脂肪酸について、可食部100 g当たりの各脂肪酸量 (mg/100 g) は、成分値が100 mg以上の場合は有効数字2桁に丸め、100 mg未満は小数第1位を四捨五入して表示する。脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質を計算する際には、丸めた数値を用いずに、丸める前の数値を用いる。

(注2) 未同定物質は、脂肪酸以外の化合物を含む可能性があるため、計算には用いない。

(注3) 脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質と脂質の比は、脂質の全てが遊離の酪酸だと仮定しても、1.144以上になることはない。従って、脂肪酸のトリアシルグリセロール当量で表した脂質と脂質の比が1.144以上の場合には、どちらかの成分値あるいは両方の成分値が誤りである可能性が高い。

3-2. ヘキサノーイソプロパノール法

[適用]

魚介類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

吸引ろ過装置

ホモジナイザー（ウルトラタラックス）

ロータリーエバポレーター

減圧デシケーター

遠心管：容量50 mL

分液漏斗：容量200 mL

なす形フラスコ：容量100 mL

(2) 試薬

ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（3：2 v/v）

ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（7：2 v/v）

6.7 %硫酸ナトリウム溶液

(3) 操作

試料1 g (W)（注1）を遠心管に正確にはかりとり、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（3：2）10 mLを加え、ホモジナイザー（ウルトラタラックス）で均質化する。ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（3：2）1.5 mLで溶媒に触れたホモジナイザーの先端部を洗い、洗液も遠心管に合わせ抽出液とする。ガラスろ過器（11G3にろ紙JIS5種Cを敷く）に抽出液を不溶物と共に移し、吸引ろ過する（受器：分液漏斗）。残渣を回収し、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（3：2）8 mLを加え、同様の抽出操作を行う。吸引を止め、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液（3：2）1.5 mLを残留物に注ぎ、2分間浸したのち、吸引ろ過する。この操作をもう一度行う。ろ液を回収した分液漏斗に6.7 %硫酸ナトリウム溶液13.5 mLを加え、1分間振り混ぜる。静置後、上層を回収し、下層にヘキサン-イソプロピルアルコール混液（7：2）20 mLを加え、1分間振り混ぜる。質量既知 (W_0) のなす形フラスコに合わせた液をとり、ロータリーエバポレーターで濃縮した後、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後（注2）、質量をはかる (W_1)（注3）。

(4) 計算

$$\text{脂質含量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 ：減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 ：なす形フラスコの質量 (g)

W ：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 脂質の量が50～500 mgになるようにする。満たない場合は採取量を増やす。その際、試液の量は比率を変えないようにスケールアップする。

(注2) 減圧デシケーターで乾燥させることで脂肪酸測定用の脂質として使用できる。脂質含量のみの測定であれば電気定温乾燥器による乾燥でもよい。

(注3) 脂質の量が100 mg未満の場合は、なす形フラスコから恒量としたアルミニウム製はかり容器に移して測定すると精度のよい結果が得られる。

3-3. ソックスレー抽出法 (1)

[適用]

種実類（多脂質）、香辛料類（粉末）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気恒温槽：温度調節範囲50～80 °Cのもの

電気定温乾燥器：温度調節範囲80～120 °Cのもの

ソックスレー抽出器：ガラス製のものを用い、試料量に応じて抽出管及び脂肪びんの容量を選択する（注1）。

円筒ろ紙：抽出管の大きさに応じて選択する（注2）。

(2) 試薬

ジエチルエーテル：特級

(3) 操作

試料 (W) をはかりとって円筒ろ紙に入れる（注3）。試料の上に脱脂綿を軽く詰めた後、100～105℃の電気定温乾燥器で1～2時間乾燥する。乾燥後、円筒ろ紙を抽出管に入れ、冷却管に連結する。あらかじめ恒量 (W_0) を求めておいた脂肪びんにジエチルエーテルを約2/3入れ、抽出管を連結して電気恒温槽上で8～16時間抽出を行う。抽出終了後、抽出管をとりはずして円筒ろ紙をピンセットで抜き出し、再び冷却管に連結して電気恒温槽上で加温し、脂肪びん中のジエチルエーテルがほとんど全部抽出管に移ったならば、脂肪びんをとりはずす（注4）。脂肪びんは横にしてなお加温するか、細いガラス管を用いて清浄空気を吹きつけるかして、ジエチルエーテルの残りを完全に除く。脂肪びんの外側をガーゼ又はタオルで拭き、100～105℃の電気定温乾燥器で1時間乾燥し、デシケーターに移し1時間放冷後、質量をはかる (W_1) （注5）。

(4) 計算

$$\text{脂質含量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_0 ：恒量とした脂肪びん質量 (g)

W_1 ：脂質を抽出した乾燥後の脂肪びん質量 (g)

W ：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 小型抽出管（内径23～25 mm）、脂肪びんの容量60～80 mL、冷却管は玉数5～10個付きのものを使用する。中型の場合は脂肪びんの容量160 mL、どちらもすり合わせのよいものを用いる。

(注2) (注1) に記述したソックスレー抽出器の小型には直径20 mm、高さ90 mmのものを用い、中型には直径35 mm、高さ120 mmのものを用いる。

(注3) 試料は円筒ろ紙の容積の2/3以上を占めてはいけない。

(注4) ジエチルエーテルの留去にロータリーエバポレーターを用いてもよい。

(注5) 脂肪びん中の脂質に不溶物が含まれる場合、エーテルや石油エーテルなどの適切な溶媒でフラスコ内の回収物を恒量にした別のフラスコに移し、溶媒留去後に同様の乾燥条件で乾燥してはかる。もしくは、適切な溶媒で分液漏斗などに全量移し、水による洗浄操作を2～3回行った後、硫酸ナトリウム（無水）などで脱水ろ過しながらエーテル層をフラスコに集め、溶媒を留去して同様の乾燥条件で乾燥してはかる。

3-4. ソックスレー抽出法 (2)

[適用]

肉類、香辛料類（練り）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

3-3. ソックスレー抽出法 (1) に同じ。

(2) 試薬

ジエチルエーテル：特級

ケイソウ土：市販品

ケイ砂：500～800 μm，市販品をそのまま用いる。
硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料(W)をビーカー(50 mL)にはかりとり、ケイソウ土2～3 gを加え、ガラス棒でかき混ぜながら水浴上や乾燥器で乾燥する。乾燥後、内容物を乳鉢に移し、ケイ砂及び硫酸ナトリウム（無水）をそれぞれ2～3 g加え、乳鉢ですりつぶす。磨砕した試料を円筒ろ紙に入れる。ビーカー、ガラス棒、乳鉢及び乳鉢はジエチルエーテルを含ませた脱脂綿でよく拭き、脱脂綿も円筒ろ紙に入れる。以下、3-3.ソックスレー抽出法(1)と同様に操作する(注1)。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法(1)に同じ。

[注解]

(注1) ただし、試料を入れた円筒ろ紙の乾燥を行わない。

3-5. ソックスレー抽出法(3)

[適用]

果汁類，砂糖類，キャンディー類，ゼリーなどに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

3-3.ソックスレー抽出法(1)に同じ。

(2) 試薬

ジエチルエーテル：特級

7%硫酸銅溶液：硫酸銅五水和物(特級)70 gを水に溶かして1 Lとする。

1%水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム10 gを水に溶かして1 Lとする。

(3) 操作

試料(W)をビーカー(200 mL)にはかりとり、水100 mLを加えて加温し、ガラス棒でかき混ぜながら試料を溶解する。7%硫酸銅溶液約10 mLを加えてかき混ぜ、次いで1%水酸化ナトリウム溶液を微酸性～中性になるまで滴下する(注1)。静置して水酸化銅の沈澱を生成させる(注2)。沈澱をろ紙(JIS 5種A)でろ過し(注3)、ビーカーに移して乾燥する(注4)。ろ紙及び内容物を円筒ろ紙に入れる。ビーカー、ガラス棒はジエチルエーテルを含ませた脱脂綿でよく拭き、脱脂綿も円筒ろ紙に入れる。以下、3-3. ソックスレー抽出法(1)と同様に操作する。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法(1)に同じ。

[注解]

(注1) pH 6前後がよい。pH試験紙で確認する。

(注2) 1%水酸化ナトリウム溶液を入れても沈澱が生じないときは、再度、7%硫酸銅溶液を加え、微酸性になるまで1%水酸化ナトリウム溶液を加えて沈澱をつくる。

(注3) ろ過後、約200 mLの水を数回に分けて沈澱を洗浄する。ビーカー、ガラス棒も洗い、その液もろ過する。

(注4) 水分が残っているとジエチルエーテルに溶け込み、値を高くするので、完全に水分を蒸発させること。

3-6. ソックスレー抽出法 (4)

[適用]

みそ類，納豆類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

3-3. ソックスレー抽出法 (1) に同じ。

(2) 試薬

3-4. ソックスレー抽出法 (2) に同じ。

(3) 操作

試料 (W) をビーカー (200 mL) にはかりとり，水100 mLを加えて加温し，ガラス棒でかき混ぜながら試料をけん濁する。ケイソウ土2~3 gを加えてかき混ぜながら桐山漏斗で手早く吸引ろ過する (注1)。ろ紙上の残留物を熱水で十分に洗浄 (注2) した後，漏斗ごとホットプレートや乾燥器を用いて乾燥する。漏斗の残留物をろ紙ごと乳鉢に移し，ケイ砂，硫酸ナトリウム (無水) を適宜加えて乳棒ですりつぶし，中型円筒ろ紙に入れる。乳鉢，乳棒はジエチルエーテルを含む脱脂綿でよく拭き，脱脂綿も円筒ろ紙に入れる。以下，3-3. ソックスレー抽出法 (1) と同様に操作する。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法 (1) に同じ。

[注解]

(注1) あらかじめ，桐山漏斗 (適合濾紙径60 mm) に桐山漏斗用ろ紙 (JIS 5種A，直径60 mm) を敷き，ビーカーに約5 gのケイソウ土をとり，水を加えてかき混ぜながら手早くろ紙上にかけ，ケイソウ土層をつくっておく。

(注2) 水溶性物質が除けるよう，ろ液300 mLになる程度まで洗浄する。

3-7. 酸分解法

[適用]

穀類及びその加工品，いも及びでん粉類，菓子類，種実類 (低脂質)，豆類 (だいずを除く)，野菜類，果実類，きのこ類，藻類，茶類，ソース類，トマト加工品類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：3-3. ソックスレー抽出法 (1) に同じ。

水浴：温度調節範囲50~100 °Cのもの

ロータリーエバポレーター

遠心分離機 (マジョニア管用) (注1)

マジョニア管 (注2)

脂肪びん：容量130~150 mL程度で，できるだけ軽量化したもの。

漏斗：径40 mm程度の小型のもの

分液漏斗：短脚のスキープ型

(2) 試薬

塩酸：特級 (35~37%)

塩酸溶液①：粉体，乾燥試料用。塩酸25容にイオン交換水11容を加えて調製する。

塩酸溶液②：ココア，チョコレート用。塩酸2容にイオン交換水1容を加えて調製する。

エタノール：特級

ジエチルエーテル：特級

石油エーテル：特級

ジエチルエーテル-石油エーテル混液（1：1 v/v）に混和する。

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料（ W ）を容量50 mLビーカーにはかりとり（注3）、エタノール2 mLを加えてガラス棒でよくかき混ぜる（注4）。次いで、多水分試料のときは濃塩酸、乾燥試料の時は塩酸溶液①、ココア、チョコレートなどは塩酸溶液②を10 mL加えて充分にかき混ぜ、ビーカーを時計皿で覆って70～80 °Cの水浴中で30～40分間加温し、その間ときどきかき混ぜる。放冷後、内容物をマジョニア管に移し、ビーカーとガラス棒は少量の水とエタノール10 mLで洗い、さらにジエチルエーテル25 mLで洗浄し、いずれの洗浄液もマジョニア管に入れる（注5）。

マジョニア管の栓をして軽く振って混和した後、栓をゆっくり回してジエチルエーテルのガスを抜く。再び栓をして栓の頭部を指で押さえ、30秒間振り混ぜる。ガス抜き操作後、石油エーテル25 mLを加え、同様にして30秒間激しく振り混ぜる。ガスを抜き、マジョニア管用遠心分離器にかけるか、静置して、エーテル混液層と水層を分離させる。分離した後、マジョニア管を傾けてエーテル混液層だけを栓に伝わらせながら、あらかじめ水30 mLを入れた分液漏斗に移す。残った水層にジエチルエーテル-石油エーテル混液（1：1 v/v）30 mLを加え、前と同様に操作してエーテル混液層を分液漏斗に移す。この操作を2回繰り返した後、マジョニア管の口の部分と栓をエーテル混液で洗い、これも分液漏斗のエーテル混液に合わせる。分液漏斗のエーテル混液と水を充分に振り混ぜた後、静置して分離した水層を捨てる。エーテル混液に水30 mLを加え、同様に操作する。この操作を2回行う。

漏斗に、JIS 5種Aのろ紙を折って入れ、この中に硫酸ナトリウム（無水）約10 gのをせたものを準備し、ここへ、水洗が終わったエーテル混液を分液漏斗から流下させ、脱水、ろ過する。受器には質量既知の脂肪びん（ W_0 ）を用いる。分液漏斗及び漏斗はジエチルエーテル約20 mLで洗い、これも同様に脱水、ろ過してエーテル混液と合わせる。脂肪びんをロータリーエバポレーターに接続し、エーテル混液を充分に留去する（注6）。脂肪びんをガーゼ又はタオルで拭き、100～105 °Cの電気定温乾燥器で1時間乾燥後、デシケーターで1時間放冷し質量をはかる（注7）。恒量（ W_1 ）になるまで、乾燥、放冷を繰り返す。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

[注解]

(注1) マジョニア管を1000回転/分ぐらいで遠心分離できるもの。

(注2) マジョニア管は細いくびれの部分から下の容量は約25 mLにつくられている。くびれより下に水層、上にエーテル層を分離し、管を傾けるとエーテル層のみを流出させることができる。すわりの悪い形なので、安定に静置できるように支持台を用意する。

(注3) 乾燥試料として1～2 gに相当するように試料を採取する（例えば、生めん類、卵類は5 g、野菜類は8 g）。また、ビーカーを用いず直接マジョニア管に採取できる試料については、直接採取し、エタノール、塩酸で壁に付着した試料を洗い入れ、マジョニア管を水浴中に入れて加温分解することもできる。

(注4) エタノールの添加は、後で塩酸を加えたとき、乾燥試料が塊状になるのを防ぐためである。液状試料、多水分試料の場合は入れなくてもよい。

(注5) 水層の液量はマジョニア管のくびれの少し下までであることが望ましい（22～23 mL）。

(注6) エーテル混液をほとんど留去した残留物中に、黒いタール状のものが認められるときは、分解物が水とともに混入したためであり、定量値増大の誤差となるので、ジエチルエーテル-石油エーテル混液（1：1 v/v）20 mLを加えて加温溶解し、ろ過して混液を別の脂肪びんに集める。もとの脂肪びんは混液で数回洗浄し、同様にして別の脂肪びんに集め、混液の留去操作を行う。

(注7) 脂肪含量の少ないもの（例えば、でん粉類）は、重い脂肪びんでは測定誤差が生じやすいので、混液の留去操作で液量が少なくなったときは、軽い容器（例えば、アルミカップ、小容量の脂肪びん、小ビーカーなど）に移し替えたのち混液の留去操作を行ったほうがよい。

3-8. クロロホルム-メタノール混液抽出法

[適用]

卵類，だいず及びびだいず加工品類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：3-3. ソックスレー抽出法 (1) に同じ。

水浴：3-7. 酸分解法に同じ。

ロータリーエバポレーター

遠心分離機：容量50 mLの遠心管が4~8本かけられるもの

遠心管：共栓ガラス遠心管で，容量50 mL，直径35 mm，高さ100 mmぐらいのもの

抽出装置：冷却管と共通すり合わせ三角フラスコ（容量200 mL）からなるもの

フラスコ：なす形フラスコまたはなし形フラスコ。共通すり合わせ共栓付き，容量200 mLのもの

脂肪びん：容量60~80 mLのもの

ガラスろ過器：プフナー漏斗型11G3，ろ過板直径40 mm，容量60~100 mLのもの

(2) 試薬

クロロホルム：特級

メタノール：特級

クロロホルム-メタノール混液（2：1 v/v）。

石油エーテル：特級

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料 (W) を共栓三角フラスコにはかりとり (注1)，クロロホルム-メタノール混液 (2：1 v/v) 60 mLを加え，フラスコと冷却管を接続後，60 °Cの水浴中で穏やかに沸とうを始めた後，約1時間加温し，この間ときどき静かに振り混ぜて抽出を行う。抽出終了後，冷却管からフラスコをとりはずし，ガラスろ過器を用いてなす形フラスコ又はなし形フラスコへ抽出した混液をろ過する。次いで，混液で抽出に用いた三角フラスコとガラスろ過器中の試料を洗う (注2)。捕集した混液をロータリーエバポレーターで留去する (注3)。

冷却後，石油エーテル25 mLを正確に加え，次いで，硫酸ナトリウム（無水）約15 gを加え，直ちに栓をして1分間振り混ぜた後，石油エーテル層を共栓遠心管に移し，遠心分離を行う。あらかじめ恒量 (W_0) とした脂肪びんに石油エーテル層10 mLを正確にはかりとり，水浴上で石油エーテルを留去する。脂肪びんを100~105 °Cの電気定温乾燥器で30分間乾燥し，デシケーター中で40~45分間放冷し，恒量 (W_1) とする。

(4) 計算

$$\text{脂質含量 (g/100 g)} = \frac{(W_1 - W_0) \times 2.5}{W} \times 100$$

W_0 : 恒量とした脂肪びん質量 (g)

W_1 : 脂質を抽出した乾燥後の脂肪びん質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

2.5 : 石油エーテル25 mL中の10 mLを分取したための係数

[注解]

(注1) 多水分試料には適量のケイソウ土を加えて分散させ，乾燥試料には2~3 mLの水を加える。

(注2) ガラスろ過器の中に7 cmぐらいの細いガラス棒を入れておき，ときどき試料をかき混ぜながら混液で洗う。フラスコは5 mLずつ3回ぐらい洗い，次いで，30 mLぐらいを用いて試料およびガラスろ過器を効率よく洗うようにする。

(注3) 完全に乾固してしまうと石油エーテルに溶けにくくなり、定量値が低くなるおそれがある。蒸発の程度は、内容物がフラスコを傾けたときドロツと動くぐらいがよい。

3-9. レーゼゴットリーブ法

[適用]

乳及び乳製品類に用いる（注1）。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

抽出管：レーリッヒ管またはマジョニア管

電気定温乾燥器：3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

水浴：3-7. 酸分解法に同じ。

ロータリーエバポレーター

脂肪びん：容量200～250 mLのもの

(2) 試薬

アンモニア水：特級，28 %

エタノール：特級

ジエチルエーテル：特級

石油エーテル：特級

ジエチルエーテル－石油エーテル混液（1：1 v/v）

(3) 操作

試料（*W*）を抽出管にはかりとり（注2），全体が10～11 mLになるように水を加え，振り混ぜて試料を完全に溶解させる。アンモニア水2 mLを加え，栓をして十分に混合する（注3）。エタノール 10 mLを加えて栓をしてよく混合する。次いで，ジエチルエーテル25 mLを加え，栓をして軽く振って混和した後，栓をゆっくりまわしてエーテルガスを抜く。再び栓をして交互に上下を逆さにしながら，1分間激しく振り混ぜる。ガス抜きをして栓をとり，石油エーテル25 mLを栓及び抽出管の内側をすすぎながら加える。再び栓をして 30秒間激しく振り混ぜる。ガス抜き栓を開放状態にして，上層が透明になり水層とはっきり分離するまで静置する。栓をとり，栓及び抽出管の内側をエーテル混液数mLですすぎ，すべてのすすぎ液を管内に注ぎ込む。抽出管の溶媒取り出し口のcockを開き（注4），あらかじめ恒量（*W₀*）にした脂肪びんに移し，残りの水層にジエチルエーテル－石油エーテル混液（1：1 v/v）30 mLを加え，1回目と同様に2回目の抽出を行う。抽出は計3回行う。抽出液を先の脂肪びんに合わせ，ロータリーエバポレーターでエーテル混液を留去する。脂肪びんの外側をガーゼ又はタオルで拭き，乾燥した清浄空気（又は窒素）を吹き込んでエーテル液を完全に蒸発させた後，100～105 °Cの乾燥器に入れ，1時間乾燥する。デシケーター中で放冷し恒量（*W₁*）を求める。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

[注解]

(注1) この方法は乳，練乳，粉乳，クリームなどの脂質定量法として国際標準化機構（ISO）においてはISO勧告として，国連食糧農業機関/世界保健機関（FAO/WHO）においては，乳及び乳製品基本法の国際検査法として，AOAC International においては公認分析法として，それぞれ採用されている。

(注2) 脂質含量として0.3～0.6 gぐらいが適当である。

(注3) 必要に応じ，60 °Cぐらいの水浴中で20～30分間加温するとよい（例：粉乳）。

(注4) 抽出管としてのマジョニア管を使用したときは，3-7. 酸分解法の操作に従って抽出液を分離，採取する。

3-10. 酸・アンモニア分解法（注1）

[適用]

チーズ類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ホットプレート

その他のものは、3-7. 酸分解法に同じ。

(2) 試薬

アンモニア水溶液：アンモニア水（特級，28 %） 1容と水9容を混和したもの

塩酸：特級（35～37 %）

ジエチルエーテル：特級

石油エーテル：特級

ジエチルエーテル-石油エーテル混液（1：1 v/v）

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料（*W*）を100 mLコニカルビーカーにはかりとり、アンモニア水溶液10 mLを加え、ガラス棒でよくつぶして均質の乳濁液にする（注2）。塩酸11 mLを加え、時計皿で蓋をして、ときどきかき混ぜながらホットプレートで加熱分解する（注3）。冷却後、分解物をマジョニア管に移し、ビーカー、ガラス棒を少量の水で洗い、洗液も分解液と合わせる（注4）。以下、3-7. 酸分解法と同様に操作する。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

[注解]

（注1） 別名Schmid - Bondzski - Ratzlaff 法といい、酸分解法とレーゼゴットリーブ法を組み合わせた方法で、乳等省令ではプロセスチーズなどに適用されている。

（注2） 溶けにくいときには、時計皿で蓋をして水浴上で温めながらつぶす。

（注3） 電気コンロにセラミック板を敷いて突沸しないように注意しながら加熱してもよい。加熱は穏やかに沸とうし始めてから5～6分間程度が目安である。分解が充分に進むと酸分解法と同様に分解溶液がサラサラとした感じの褐色液体になる。純粋なチーズの場合、あまり濃い色はつかない。

（注4） マジョニア管のくびれ以下におさまる程度（22～23 mL）に液量を加減する。もし、液量が多くなりそうときは、コニカルビーカーを水浴上に置き、時計皿をとって水分を蒸発させる。

3-11. 液-液抽出法

[適用]

しょうゆ類，食酢類（醸造），めんつゆに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気定温乾燥器：3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

ロータリーエバポレーター

脂肪びん：容量150～200 mLのもの

分液漏斗：スキープ型，容量150～200 mLのもの

(2) 試薬

エタノール：特級

ジエチルエーテル：特級
石油エーテル：特級
硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料（ W ）を容量50 mLのビーカーにはかりとり、水約20 mLとエタノール約10 mLを用いて分液漏斗に移し入れる。これにジエチルエーテル25 mLを加えて30秒間激しく振り混ぜる。次いで、石油エーテル25 mLを加えて同様に30秒間激しく振り混ぜ、静置してエーテル層と水層を分離する。水層は別の分液漏斗に移し、ジエチルエーテル15 mL及び石油エーテル15 mLを加えて30秒間激しく振り混ぜ、静置してエーテル層と水層を分離し、水層は捨てる。エーテル層に先のエーテル抽出液を合わせ、さらに水20～30 mLを加えて振り混ぜ、静置してエーテル層と水層を分離する。水層は捨て、残ったエーテル層に水20～30 mLを加え、同様の操作を行う（注1）。

漏斗に、JIS 5種Aのろ紙を折って入れ、この中に硫酸ナトリウム（無水）約15 gをのせたものを用意し、ここへ水洗の終わったエーテル混液を分液漏斗から静かに流下させ、脱水、ろ過する。ろ液は、あらかじめ恒量（ W_0 ）にした脂肪びんに受ける。分液漏斗及び漏斗はジエチルエーテル約20 mLで洗い、これも同様に脱水、ろ過してエーテル混液と合わせる。脂肪びんをロータリーエバポレーターに接続し、エーテル混液を十分に留去する。脂肪びんの外側をガーゼ又はタオルで拭き、105 °Cの電気定温乾燥器で1時間乾燥後、デシケーターで50～60分間放冷し質量をはかる。恒量（ W_1 ）になるまで、乾燥、放冷を繰り返す。

(4) 計算

3-3. ソックスレー抽出法（1）に同じ。

[注解]

(注1) エーテル層、水層の濁りがなくなるまで行う。通常3～4回程度。

3-12. フォルチ法

[適用]

魚介類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

吸引ろ過装置
ブフナー漏斗
ホモジナイザー（ウルトラタラックス）
ロータリーエバポレーター
減圧デシケーター
分液漏斗：容量500 mL
なす形フラスコ：容量300 mL

(2) 試薬

クロロホルム
メタノール
0.88 %塩化カリウム溶液

(3) 操作

試料10 g（ W ）をなす形フラスコに正確にはかりとり、メタノール60 mL及びクロロホルム55 mLを加え、ホモジナイザー（ウルトラタラックス）で粉碎する。吸引瓶上でブフナー漏斗にろ紙（JIS5種C）を敷き、減圧下で粉碎した混合物を注ぐ（受器：なす形フラスコ）。5 mLのクロロホルムを数回に分け、フラスコ上でホモジナイザーの先端部を洗浄し、得られた洗浄液を漏斗に注ぎ、ろ液約120 mL（ろ液1）を得る。残渣を回収し、クロロホルム45 mLを加え、ホモジナイザーで粉碎して再度、吸引ろ過及び洗浄を行う。残渣に10 mLのクロロホルムを数回に分け加え、ろ過する。

ろ液約60 mL (ろ液2) を得る。ろ液1及びろ液2を分液漏斗に入れ、0.88 %塩化カリウム溶液35 mLを加え、激しく振とうしてガスが出尽くしたところで3時間放置する。下層を質量既知 (W_0) のなす形フラスコに回収し、ロータリーエバポレーターで濃縮した後 (注1)、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後 (注2)、質量をはかる (W_1) (注3)。

(4) 計算

$$\text{脂質含量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 : なす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 水が残存している場合はエタノールを少量加えて共沸させる。

(注2) 減圧デシケーターで乾燥させることで脂肪酸測定用の脂質として使用できる。脂質含量のみの測定であれば電気定温乾燥器による乾燥でもよい。

(注3) 脂質の量が100 mg未満の場合は、なす形フラスコから恒量としたアルミニウム製はかり容器に移して測定すると精度のよい結果が得られる。

[付表] 脂質定量法：食品別試料採取量と測定方法一覧表

試料の前処理法：できるだけ細かく粉碎し、均質化する。原則として、水分の定量時に用いた方法によるが、ローラーミル粗砕試料はさらにコーヒーミルなどで細かく粉碎する。

食品名	試料採取量	測定方法
1. 穀類		
粉体	1～2 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
めし，ゆでめんなどの多水分試料	4～5 g	酸分解法，濃塩酸使用
2. いも及びでん粉類		
粉状	2～3 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
生（多水分）	4～5 g	酸分解法，濃塩酸使用
3. 砂糖及び甘味類		
固体粉状	5～10 g	加水溶解，ソックスレー抽出法（3）
水あめ，液状糖類，はちみつ類	10～15 g	加水溶解，ソックスレー抽出法（3）
4. 豆類		
だいずを除く一般の豆類	1～2 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
だいず，きな粉，豆腐	2～5 g	クロロホルム－メタノール混液抽出法
みそ，納豆類	3～10 g	ソックスレー抽出法（4）
5. 種実類		
脂質少（くり，ぎんなんなど）	2～3 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
脂質多（らっかせい，アーモンドなど）	1～2 g	ソックスレー抽出法（1）
6. 野菜類		
全般	3～5 g	酸分解法，濃塩酸使用
7. 果実類		
全般	5～7 g	酸分解法，濃塩酸使用
果汁	5～7 g	ソックスレー抽出法（3）

8.きのこ類		
全般	5～7 g	酸分解法，濃塩酸使用
乾燥品	3～5 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
9.藻類		
生，湯通し塩蔵品	5～7 g	酸分解法，濃塩酸使用
乾燥品	3～5 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
10.魚介類		
全般	1 g	ヘキサン-イソプロパノール法
貝類，えび・かに類，いか・たこ類	10 g	フォルチ法
11.肉類		
全般	3～5 g	ソックスレー抽出法 (2)
12.卵類		
生，ゆで卵など	3～5 g	クロロホルム-メタノール混液抽出法
乾燥卵など	2～3 g	クロロホルム-メタノール混液抽出法
13.乳類		
乳及び乳製品全般	1～5 g	レーゼゴットリーブ法
チーズ	1～2 g	酸・アンモニア分解法
14.油脂類		
液体，固体脂	5～10 g	計算。脂質含量=100-(水分+石油エーテル不溶分)
脂身	1～2 g	ソックスレー抽出法 (2)
15.菓子類		
穀粉使用の菓子類全般	2～3 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
あめ玉，キャンディー類，ゼリー	5～10 g	加水溶解，ソックスレー抽出法 (3)
ココア，チョコレート	1～2 g	酸分解法，塩酸溶液②使用
砂糖菓子類	5～10 g	加水溶解，ソックスレー抽出法 (3)
ポテトチップス	1～3 g	ソックスレー抽出法 (1)
16.嗜好飲料類		
果汁入り清涼飲料類	10～30 g	ソックスレー抽出法 (3)
アルコール飲料類	10～30 g	ソックスレー抽出法 (3)
乳成分を含むもの	5～7 g	レーゼゴットリーブ法
コーヒー 豆，粉末	2～3 g	ソックスレー抽出法 (1) 溶媒：石油エーテル使用
浸出液	10～30 g	ソックスレー抽出法 (3)
茶葉類	2～3 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
浸出液	10～30 g	ソックスレー抽出法 (3)
17.調味料及び香辛料		
しょうゆ類，めんつゆ類，食酢など	10～30 g	液-液抽出法
マヨネーズ，ドレッシング類	2～3 g	ソックスレー抽出法 (2)
トマト加工品	3～5 g	酸分解法，塩酸溶液①使用
香辛料 粉末	2～3 g	ソックスレー抽出法 (1)
練り，すりおろし	3～5 g	ソックスレー抽出法 (2)
18.調理加工食品類	2～7 g	原則として主食材の試験方法を用いる。

4. 炭水化物

4-1. 積み上げ法による炭水化物（CHOCSM）の計算方法

[適用]

食品全般に用いる。

[計算方法]

第6章の測定法で分析した、あるいは種々の方法で推計した、利用可能炭水化物（質量計）および糖アルコール、第1章の測定法で分析した、あるいは種々の方法で推計した、食物繊維総量ならびに適切な測定法で分析した、あるいは種々の方法で推計した、その他の炭水化物（g/100 g）の総和を求める。利用可能炭水化物（質量計）の成分値がない場合には、差引き法による利用可能炭水化物の成分値を用い、その他の炭水化物の成分値は加算しない。

表4-1に、日本食品標準成分表2020年版（八訂）に記載している炭水化物をまとめてある。

利用可能炭水化物（質量計）の成分値がある場合：

積み上げ法による炭水化物（g/100 g）

$$= \text{利用可能炭水化物（質量計）（g/100 g）} + \text{食物繊維総量（g/100 g）} + \text{糖アルコール（g/100 g）} + \text{その他の炭水化物（g/100 g）}$$

利用可能炭水化物（質量計）の成分値がない場合：

積み上げ法による炭水化物（g/100 g）

$$= \text{差引き法による利用可能炭水化物（g/100 g）} + \text{食物繊維総量（g/100 g）} + \text{糖アルコール（g/100 g）}$$

表 4-1. 炭水化物

利用可能炭水化物	単糖類	ぶどう糖，果糖，ガラクトース
	二糖類	しょ糖，麦芽糖，乳糖，トレハロース，イソマルトース
	オリゴ糖類	マルトトリオース等のオリゴ糖類
	多糖類	でん粉，80%エタノールに可溶性のマルトデキストリン
食物繊維		ラフィノース，1-kestose
糖アルコール		ソルビトール，マンニトール，マルチトール，マルトトリエトール（，還元水あめ）
その他の炭水化物		アラビノース

[注解]

(注1) 炭水化物について、可食部100 g当たりの成分量（g/100 g）は、小数第2位を四捨五入して表示する。積み上げ法による炭水化物を計算する際には、丸めた数値を用いず、丸める前の数値を用いる。

(注2) 80%エタノールに可溶性のマルトデキストリンには、マルトトリオース等のマルトオリゴ糖類を含む。

(注3) 還元水あめは単一の化合物ではない。ソルビトール，マルチトール，マルトトリエトールを始め、 α 1,4-および/あるいは α 1,6-結合をもつ、さまざまな重合度のグルカンの還元末端（ヘミアセタール）が還元されたアルデヒド類の混合物である。

(注4) ある食品の食物繊維総量について、AOAC.2011.25法による成分値とプロスキー変法あるいはプロスキー法による成分値とがある場合には、AOAC.2011.25法による成分値を用いる。

(注5) AOAC.2011.25法による食物繊維総量の成分値には、ラフィノースおよび1-kestoseの成分値を含む。従って、AOAC.2011.25法による食物繊維総量の成分値を用いる場合には、ラフィノースおよび1-kestoseの成分値は加算しない。

(注6) 炭水化物の定義は、原則として、国際純正・応用化学連合（IUPAC）の炭水化物の命名法（1996）に従う。しかし、成分表では、ぶどう糖のアルデヒド基（-CHO）が酸化されてカルボキシル基（-COOH）となったグルコン酸は、有機酸として扱う。

(注7) IUPACの定義によれば、サイクリトール類は炭水化物ではないが、サイクリトール類にガラクトシル基が結合した化合物は、ガラクトースの誘導体であるため、炭水化物である。このような炭水化物のうち重合度が3以上のものはAOAC.2011.25法による食物繊維として測定されている。

4-2. 差し引き法

[適用]

食品全般（魚介類，肉類及び卵類を除く）に用いる。

[測定方法]

100 g から水分，たんぱく質，脂質及び灰分の合計 g 数を差し引く。硝酸イオン，アルコール分，酢酸，タンニン，カフェイン，テオブロミン又はポリフェノールを含む食品では，これらも差し引く。

4-3. アンスロン-硫酸法（全糖）

[適用]

魚介類，肉類及び卵類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計
ホモジナイザー
遠心管
共栓試験管
遠心分離機
全量フラスコ
水浴
分注器
マイクロピペット

(2) 試薬

トリクロロ酢酸：特級
アンスロン：特級
ブドウ糖：特級
10 % (w/v) トリクロロ酢酸溶液：トリクロロ酢酸10 gを水で100 mLとする。
5 % (w/v) トリクロロ酢酸溶液：トリクロロ酢酸 5 gを水で100 mLとする。
0.2 % (w/v) アンスロン溶液：アンスロン200 mgを75 % (v/v) 硫酸で100 mLとする（用時調製）（注1）。

(3) 試料調製

可食部または必要部位をとり，包丁で細かく刻み，たたいて均質試料とする。

(4) 試料溶液の調製

試料5 g (W) をホモジナイザーのカップにとり，氷水で冷却した10 % (w/v) トリクロロ酢酸溶液を試料の2倍量加え，ホモジナイズ（10000回転/分，3分間）後に，遠心管に移す。ホモジナイザーのカップ及び刃を5 % (w/v) トリクロロ酢酸溶液20 mLで洗浄し，洗液を遠心管に集める。2000回転/分で5分間遠心分離し，上澄み液を200 mL容全量フラスコに集める。沈澱物に，試料の4倍量の5 % (w/v) トリクロロ酢酸を加え，上述のホモジナイズからの操作をさらに2回繰り返し，上澄み液を集め水で200 mL定容（V）とし，ろ過した液を測定用試料溶液とする。

(5) 操作

0.2 % (w/v) アンスロン溶液10 mLを分注器で正確に共栓試験管にとり、氷水で十分に冷却しておく。氷水中で冷却しながら試料溶液1 mLを正確にアンスロン溶液の上の層になるように静かに注ぎ込み、直ちに激しく振り混ぜる。栓をして沸とう水浴中で10分間加熱後、冷水で冷却する。620 nmで吸光度を測定する。同様にブドウ糖 (0.02~0.08 mg/mL) について行い、検量線を作成する。全糖はブドウ糖として算出する。

(6) 計算

$$\text{全糖含量 (g/100 g)} = \frac{A \times V \times C}{W \times 1000} \times 100$$

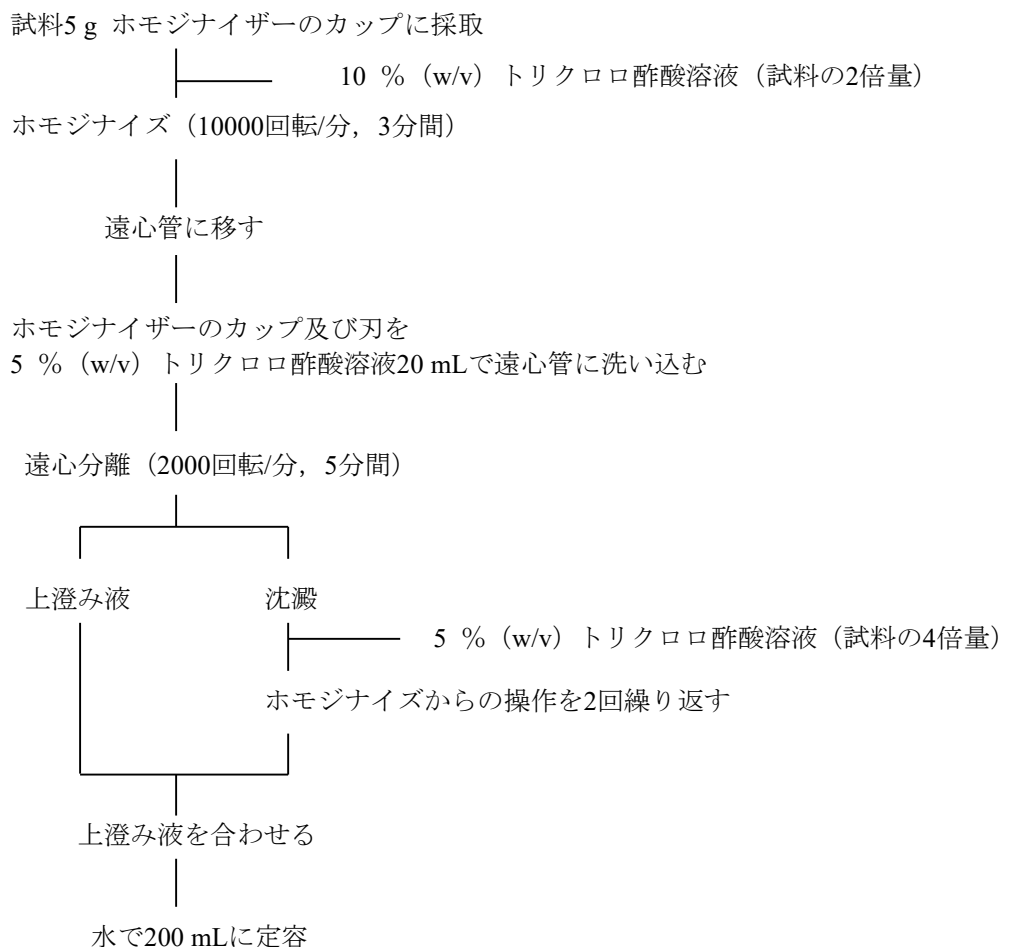
A : 検量線より求めた試料溶液中のブドウ糖濃度 (mg/mL)
V : 定容量 (mL)
C : 希釈倍数
W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) アンスロン溶液は褐変してくるため長期間の保存はできないので、用時調製する。また、溶液を試験管に入れる際、壁面につけないように正確に10 mL入れる。

全糖定量法・フローチャート

[試料溶液の調製]



ろ過
測定用試料溶液

[測定]

0.2 % (w/v) アンスロン溶液10 mLを共栓試験管に入れ、十分に冷却

測定用試料溶液1 mLを静かに注ぐ

直ちに激しく振り混ぜる

沸とう水浴中で10分間加熱

冷水で冷却

吸光度を測定 (620 nm)

5. 食物繊維

5-1. AOAC.2011.25法 (1)

[適用]

野菜類，きのこ類及び藻類とそれらの加工品を除く，すべての食品に用いる。ただし，えだまめ，そらまめ未熟豆，らっかせい未熟豆など，たんぱく質含量の高いものは本法を用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

凍結乾燥器

酵素反応用ボトル：容量250 mLプラスチック蓋付の広口ガラスボトル等。

るつぼ型ガラスろ過器：2G-2。525 °Cで1時間加熱し，十分に水洗して風乾しておく。使用前にケイソウ土約1 gを入れ，水，78 %エタノールで順次洗浄して均質なケイソウ土層を形成させ，130 °Cで1時間加熱後，デシケーター中で放冷する。質量を0.1 mgまで求め，使用するまでデシケーター中で保管する。

ろ過装置：吸引ポンプや吸引びんなどで構成されるもので，るつぼ型ガラスろ過器が装着できるもの。

水浴：振り混ぜ可能なもので，沸とう水浴と，37 °C及び60 °C定温水浴に使用できるもの。

乾燥器：105±5 °C及び130±5 °Cに調整できるもの。

電気マッフル炉：525±25 °Cに調整できるもの。

デシケーター

高速液体クロマトグラフ：示差屈折率検出器付き

遠心分離機

ロータリーエバポレーター

遠心管

なす型フラスコ

(2) 試薬

95 % (v/v) エタノール

78 % (v/v) エタノール：95 % (v/v) エタノール800 mLに水200 mLを加えたもの。

アセトン：特級

マレイン酸緩衝液：マレイン酸11.6 gを1600 mLの水に溶かし，10 W/V%水酸化ナトリウム溶液でpH 6.0に調整後，塩化カルシウム二水和物0.6 gを溶かし2 Lとしたもの。

膵臓 α -アミラーゼ：Megazyme 社製，E-PANAA (注1)

アミログルコシダーゼ：Megazyme 社製，E-AMGDF (注1)

プロテアーゼ：Megazyme 社製，E-BSPRT (注1)

膵臓 α -アミラーゼ (50 U/mL) /アミログルコシダーゼ (3.4 U/mL) 溶液：膵臓 α -アミラーゼをマレイン酸緩衝液に50 U/mLの濃度になるように溶かし，5分間攪拌後，アミログルコシダーゼを3.4 U/mLの濃度になるように加え攪拌する。用時調製する。

膵臓 α -アミラーゼ (400 U/mL) /アミログルコシダーゼ (27.2 U/mL) 溶液：膵臓 α -アミラーゼをマレイン酸緩衝液に400 U/mLの濃度になるように溶かし，5分間攪拌後，アミログルコシダーゼを27.2 U/mLの濃度になるように加え攪拌する。用時調製する。

0.275 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム11.00 gを水に溶かして1 Lとしたもの。

0.325 mol/L塩酸溶液：36 % (約11.6 mol/L) 塩酸28 mLに水を加えて1 Lとしたもの。

ケイソウ土：あらかじめ酸洗浄してから用いる〔例〕セライト545。

0.75 mol/Lトリス緩衝液：トリス90.8 gを水に溶かし 1 Lとしたもの。

2 mol/L酢酸溶液：酢酸115 mL に水を加えて1 Lとしたもの。

高速液体クロマトグラフ用内標準物質：既知質量の内標準物質をブドウ糖に代わる標準物質として用いる〔例〕D-ソルビトール，ジエチレングリコール。

高速液体クロマトグラフ用保持時間標準品：Megazyme 社製，LC Retention Time Standard (注1)

(3) 試料調製

1) 水分が少なく脂質も少ない食品（穀類，だいずを除く豆類）

そのまま均質に粉碎し500 μm目のふるいを通す。

2) 水分の多い食品（いも類，果実類）

いも類のように糖分の少ない食品は，凍結乾燥して均質に粉碎し，500 μm目のふるいを通す。なお凍結乾燥の際の乾燥減量 (W_D) は乾物から原試料への換算に必要なので，必ず記録しておく。果実類のように糖分が多く凍結乾燥の難しい食品は，そのままホモジナイズして4 mm目のふるいを通す。

3) 脂質の多い食品

脂質の多い食品（だいず種実類など脂質含量が5 %以上のもの）については，あらかじめ脱脂処理を行い，脱脂風乾減量 (W_D) を求めておく。すなわち，粗砕試料5~6 g (W) を容量200 mLの遠心管にはかりとり，石油エーテル125~150 mL (注2) を加えかき混ぜ，15 分間静置した後，遠心分離 (2,000回転/分，10分間) する。上澄み液を捨て，残りの沈澱物にさらに石油エーテル100~120 mLを加え，先と同様の操作を行う。この操作を2回繰り返した後，沈澱物の全量を石油エーテルを用いて，質量既知 (W_0) のろつぼ型ガラスろ過器 (2G-3) に移し入れ，吸引ろ過後，風乾して質量 (W_1) をはかる。得られた乾燥試料を粉碎し，500 μm目のふるいを通して均質にする。

$$\text{脱脂風乾減量 } (W_D\%) = \left(1 - \frac{W_1 - W_0}{W} \right) \times 100$$

W_0 : 質量既知のガラスろ過器の質量 (g)

W_1 : 乾燥後のガラスろ過器の質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

(4) 操作

1) 試料採取

1試料につき，必ず2点（ほぼ同質量）ずつ同時にはかりとる。1点は最後に非消化性たんぱく質含量を測定するのに用い，もう1点は灰分を測定するのに用いる。粉碎した乾燥試料1 gずつを0.1 mgまで2点はかる (W_1 , W_2)。果実類のようにそのままホモジナイズした液状もしくはペースト状のものは2~10 gずつを0.1 mgまで2点はかる。質量をはかった試料はそれぞれ酵素反応用ボトルに入れる。同時に試薬空試験用のボトルを2個用意し，試料用と同様に操作する。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には，採取量を1 gよりも少なくする (注3)。

2) 膵臓 α -アミラーゼ/アミログルコシダーゼ処理

試料を1 mLの95 %エタノールで湿らせ，膵臓 α -アミラーゼ (50 U/mL) /アミログルコシダーゼ (3.4 U/mL) 溶液40 mLをそれぞれのボトルに加えて蓋をした後，37 °Cの水浴中で振り混ぜながら16時間反応させる。ただし，「生」では食べることがない食品および「ゆで」，「蒸し」，「水煮」等，十分な水が存在する条件下で調理した食品については，試料を1 mLの95 %エタノールで湿らせ，マレイン酸緩衝液35 mLをそれぞれのボトルに加えて蓋をした後，沸とう水浴中で15分間加熱する (注4)。加熱後，約37 °Cまで冷却し，膵臓 α -アミラーゼ (400 U/mL) /アミログルコシダーゼ (27.2 U/mL) 溶液5 mLをそれぞれのボトルに加えて蓋をした後，37 °Cの水浴中で振り混ぜながら16時間反応させる (注4)。

3) pH8.2調整，膵臓 α -アミラーゼ/アミログルコシダーゼ不活性化

2) の反応後，水浴中からボトルを取り出し，直ちに0.75 mol/Lトリス緩衝液3 mLを加えて，pH7.9~8.4に調整する。すぐにボトルの蓋を少し緩め，沸とう水浴に入れ，時々軽く振り混ぜながら20分間加熱する。

4) プロテアーゼ処理

約60 °Cまで冷却後，プロテアーゼ0.1 mLをボトルに加え，60 °Cの水浴中で振り混ぜながら30分間反応させる。

5) pH4.3調整，内標準物質の添加

2 mol/L酢酸溶液4 mLを各ボトルに加え，pH4.1~4.5に調整する。さらに，既知質量の内標準物質を各ボトルに加え，よく混合する。

6) ろ過（水溶性，不溶性食物繊維の分別）

るつぼ型ガラスろ過器に吸引しながら酵素処理液を流し込み、残さ（不溶性食物繊維画分）とろ液（水溶性食物繊維画分）とに分ける。ボトルの内壁およびろ過器上の残さを少量の水（約20 mL）で洗浄し、洗液はろ液に合わせる。

7) 高分子量水溶性食物繊維の定量

ろ液にその4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 °Cに加温してから加え、室温で正確に60分間静置して高分子量水溶性食物繊維を沈澱させる。6) と同じ要領で吸引ろ過を行い、残さとろ液とに分ける。るつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール15 mLで2回、95 %エタノール15 mLで2回、アセトン15 mLで2回順次洗浄する（注5）。洗液はろ液に合わせる。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用（ R_1 ）、灰分測定用（ R_2 ）とする。残さ中のたんぱく質（ P_1 ）と灰分（ A_1 ）を、それぞれ9)、10) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

8) 不溶性食物繊維の定量

6) のろ過操作で得られたろ過器上の残さを78 %エタノール15 mLで2回、95 %エタノール15 mLで2回、アセトン15 mLで2回順次洗浄する（注5）。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用（ R_3 ）、灰分測定用（ R_4 ）とする。残さ中のたんぱく質（ P_2 ）と灰分（ A_2 ）を、それぞれ9)、10) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

9) 残さ中のたんぱく質の定量

R_1 、 R_{B1} 及び R_3 、 R_{B3} の残さをそれぞれケイソウ土とともにかきとり、ケルダール法または燃焼法によって残さ中の窒素含量を求める。得られた窒素含量に6.25を乗じて、たんぱく質量（ P_1 、 P_{B1} 及び P_2 、 P_{B2} ）とする。

10) 残さ中の灰分の定量

R_2 、 R_{B2} 及び R_4 、 R_{B4} の残さをガラスろ過器ごと525±5 °Cで5時間灰化処理し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって残さ中の灰分（ A_1 、 A_{B1} 及び A_2 、 A_{B2} ）を得る。

11) ろ液の溶媒留去

6) のろ過操作で得られたろ液について、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物を水10 mLに溶かし、カラムクロマトグラフィー用試料溶液とする。

12) カラムクロマトグラフィー

ポリプロピレンカラムに、あらかじめAmberlite®FPA53 (OH⁻) 樹脂約4 gとAmbersep®200 (H⁺) 樹脂約4 gを混合したものまたは同等品を充填する。これに11) の試料溶液2 mLを正確に流し入れ、約1 mL/分の速さで通液する。カラム上部の液がなくなる直前に水22 mLを加え、カラム壁内を洗い流す。

13) 試料溶液

溶出液をロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物を水2 mLに溶かし、メンブランフィルター（0.45 µm）でろ過したものを試料溶液とする。

14) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

〔例1〕

カラム：Waters Sugar-Pak® (Waters) , 内径6.5 mm, 長さ300 mm

移動相：Na₂Ca-EDTA (50 mg/L) を含む水

流速：0.5 mL/分

温度：90 °C

〔例2〕

カラム：TSKgel G2500PW_{XL} (東ソー) , 内径7.8 mm, 長さ300 mmを2本直列に接続

移動相：水

流速：0.5 mL/分

温度：80 °C

15) 測定（低分子量水溶性食物繊維の定量）

試料溶液50 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、内標準物質及び食物繊維画分（注6）のピーク面積を求める。同時に内標準物質を適宜希釈したものをそれぞれ50 µL注入し、内標準物質の検量線を作成する（注7）。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し、以下の8種の空試験値を得る。

高分子量水溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B1}, R_{B2}	(mg)
同	残さ R_{B1} 中のたんぱく質	P_{B1}	(mg)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_{B1}	(mg)
不溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B3}, R_{B4}	(mg)
同	残さ R_{B3} 中のたんぱく質	P_{B2}	(mg)
同	残さ R_{B4} 中の灰分	A_{B2}	(mg)

試薬空試験値は、同一ロットの試薬を使用している限り不変と考えられる。そこで、15～20回の繰り返し試験を実施して各空試験の平均値を求め、同一ロットの試薬を使用している限りにおいて、これを定数として使用するのが多検体処理の場合には合理的である。

(6) 計算

以下の式によって高分子量水溶性食物繊維と不溶性食物繊維の含量を算出する。

$$\text{高分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} - P_1 - A_1 - B_s}{\frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで

$$B_s \text{ (mg)} = \frac{R_{B1} + R_{B2}}{2} - P_{B1} - A_{B1}$$

$$\text{不溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{\frac{R_3 + R_4}{2} - P_2 - A_2 - B_1}{\frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで

$$B_1 \text{ (mg)} = \frac{R_{B3} + R_{B4}}{2} - P_{B2} - A_{B2}$$

W_1, W_2	:	試料採取量 (g)	
R_1, R_2	:	高分子量水溶性食物繊維	残さ (mg)
P_1	:	同	残さ中のたんぱく質 (mg)
A_1	:	同	残さ中の灰分 (mg)
R_{B1}, R_{B2}	:	同	空試験の残さ (mg)
P_{B1}	:	同	空試験残さ中のたんぱく質 (mg)
A_{B1}	:	同	空試験残さ中の灰分 (mg)
R_3, R_4	:	不溶性食物繊維	残さ (mg)
P_2	:	同	残さ中のたんぱく質 (mg)
A_2	:	同	残さ中の灰分 (mg)
R_{B3}, R_{B4}	:	同	空試験の残さ (mg)
P_{B2}	:	同	空試験残さ中のたんぱく質 (mg)
A_{B2}	:	同	空試験残さ中の灰分 (mg)

$$\text{低分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{P_F}{P_D} \times f \times \frac{M}{W} \times 100 \div 1000$$

P_F : 食物繊維画分のピーク面積

P_D : 添加内標準物質のピーク面積

f : 高速液体クロマトグラフにおけるブドウ糖と内標準物質の補正係数

M : 添加内標準物質質量 (mg)

W : 試料採取量 (g) (W_1 または W_2)

総食物繊維含量 (g/100 g)

= 高分子量水溶性食物繊維含量 + 不溶性食物繊維含量 + 低分子量水溶性食物繊維含量

凍結乾燥あるいは脱脂風乾処理をした試料にあつては、下記の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100} \right)$$

D : 凍結乾燥あるいは脱脂風乾試料中の高分子量水溶性、低分子量水溶性または不溶性食物繊維含量 (g/100 g)

W_D : 乾燥減量あるいは脱脂風乾減量 (%)

[注解]

(注1) Megazyme 社製のキット「K-INTDF」としても販売されている。

(注2) だいたひ及びその加工品の場合には、クロロホルム-メタノールの2:1混液を用いる。

(注3) ろ過時間が長くなり過ぎると正しい分析値が得られないので、このような場合には、むしろ採取量を少なく (0.1~0.5 g) してろ過時間を短縮する方がより誤差の少ない分析値を得ることができる。

(注4) 文献 (Starch/Stärke 67, 860-883 (2015) の2.2.3 Hydrolysis of starch containing samples with PAA and AMG and measurement of resistant starch) に従う。

(注5) 脱脂処理で脂質が完全には除去できない試料の場合は、アセトン30 mLで5回くらい洗浄する。

(注6) 原則として、2糖と3糖の境界点より前に溶出するピーク全てを食物繊維画分とする。

(注7) ブドウ糖と添加内標準物質の感度 (同質量当りのピーク面積) に差があるため、ブドウ糖の感度を基準として添加内標準物質のピーク面積を補正する必要がある。

5-2. AOAC.2011.25法 (2)

[適用]

野菜類 (えだまめ, そらまめ未熟豆, らっかせい未熟豆など, たんぱく質含量の高いものを除く), きのこと類及びそれらの加工品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(2) 試薬

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(3) 試料調製

凍結乾燥して均質に粉碎し, 500 µm目のふるいを通す。なお, 凍結乾燥の際の乾燥減量 (W_D) は, 乾物から原試料への換算に必要なので, 必ず記録しておく。トマトジュースのように糖分が多く凍結乾燥の難しい食品は, そのままホモジナイズして4 mm目のふるいを通す。

(4) 操作

1) 試料採取

凍結乾燥後に粉砕した試料は1 gを0.1 mgまではかる (W)。トマトジュースのようにそのままホモジナイズした液状もしくはペースト状のものは、2~10 gを0.1 mgまではかる (W)。質量をはかった試料を酵素反応用ボトルに入れる。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には、採取量を1 gよりも少なくする (例えば、採取量を0.1~0.5 gにする) (注1)。

2) 膵臓 α -アミラーゼ/アミログルコシダーゼ処理

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

3) pH8.2調整, 膵臓 α -アミラーゼ/アミログルコシダーゼ不活性化

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

4) プロテアーゼ処理

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

5) pH4.3調整, 内標準物質の添加

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

6) ろ過 (水溶性, 不溶性食物繊維の分別)

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

7) 高分子量水溶性食物繊維の定量

ろ液にその4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 °Cに加熱してから加え, 室温で正確に60分間静置して高分子量水溶性食物繊維を沈澱させる。6) と同じ要領で吸引ろ過を行い, 残さろ液とに分ける。ろつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール15 mLで2回, 95 %エタノール15 mLで2回, アセトン15 mLで2回, 順次洗浄する (注2)。洗液はろ液に合わせる。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し, デシケーター中で放冷後, 0.1 mgまではかる (R_1)。残さ中の灰分 (A_1) を, 9) に示す方法で定量し, 残さ質量から差し引く。

8) 不溶性食物繊維の定量

6) のろ過操作で得られたろ過器上の残さを78 %エタノール15 mLで2回, 95 %エタノール15 mLで2回, アセトン15 mLで2回, 順次洗浄する (注2)。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し, デシケーター中で放冷後, 0.1 mgまではかる (R_2)。残さ中の灰分 (A_2) を, 9) に示す方法で定量し, 残さ質量から差し引く。

9) 残さ中の灰分の定量

R_1 , R_{B1} 及び R_2 , R_{B2} の残さをガラスろ過器ごと525±5 °Cで5時間灰化処理し, デシケーター中で放冷後, 0.1 mgまではかって残さ中の灰分量 (A_1 , A_{B1} 及び A_2 , A_{B2}) を得る。

10) ろ液の溶媒留去

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

11) カラムクロマトグラフィー

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

12) 試料溶液

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

13) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

14) 測定 (低分子量水溶性食物繊維の定量)

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し, 以下の4種の空試験値を得る。

高分子量水溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B1}	(mg)
同	残さ R_{B1} 中の灰分	A_{B1}	(mg)
不溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B2}	(mg)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_{B2}	(mg)

試薬空試験値は5-1. AOAC2011.25法 (1) 参照。

(6) 計算

以下の式によって、高分子量水溶性食物繊維と不溶性食物繊維の含量を算出する。

$$\text{高分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{R_1 - A_1 - B_S}{W} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで $B_S \text{ (mg)} = R_{B1} - A_{B1}$

$$\text{不溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{R_2 - A_2 - B_I}{W} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで $B_I \text{ (mg)} = R_{B2} - A_{B2}$

$$\text{低分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{P_F}{P_D} \times f \times \frac{M}{W} \times 100 \div 1000$$

P_F : 食物繊維画分のピーク面積

P_D : 添加内標準物質のピーク面積

f : 高速液体クロマトグラフにおけるブドウ糖と内標準物質の補正係数

M : 添加内標準物質質量 (mg)

W : 試料採取量 (g)

総食物繊維含量 (g/100 g)

$$= \text{高分子量水溶性食物繊維含量} + \text{不溶性食物繊維含量} + \text{低分子量水溶性食物繊維含量}$$

凍結乾燥処理をした試料にあつては、下記の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100} \right)$$

D : 凍結乾燥試料中の高分子量水溶性、低分子量水溶性または不溶性食物繊維含量 (g/100 g)

W_D : 乾燥減量 (%)

[注解]

(注1) ろ過時間が長過ぎると正しい分析値が得られないので、このような場合には、むしろ採取量を少なくしてろ過時間を短縮する方がより誤差の少ない分析値を得ることができる。

(注2) クロロフィルを多く含む試料の場合は、アセトン30 mLで5回くらい洗浄する。

5-3. AOAC.2011.25法 (3)

[適用]

藻類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(2) 試薬

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(3) 試料調製

生の状態のものはそのまま、乾燥品は必要があれば湯戻しし、それぞれ凍結乾燥した後、均質に粉碎し、500 μm目のふるいを通す。なお、湯戻し及び凍結乾燥の際の乾燥減量 (W_D) は、原試料への換算に必要なので、必ず記録しておく。

(4) 操作

1) 試料採取

1試料につき、必ず2点（ほぼ同質量）ずつ同時にはかりとる。1点は最後に非消化性たんぱく質含量を測定するのに用い、もう1点は灰分を測定するのに用いる。粉碎した乾燥試料1 gずつを0.1 mgまで2点はかる (W_1 , W_2)。質量をはかった試料はそれぞれ酵素反応用ボトルに入れる。同時に試薬空試験用にボトルを2個用意し、試料用と同様に操作する。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には、採取量を1 gよりも少なくする（例えば、採取量を0.1~0.5 gにする）。

2) 膵臓α-アミラーゼ/アミログルコシダーゼ処理

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

3) pH8.2調整, 膵臓α-アミラーゼ/アミログルコシダーゼ不活性化

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

4) プロテアーゼ処理

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

5) pH4.3調整, 内標準物質の添加

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

6) (高分子量水溶性食物繊維+不溶性食物繊維) の定量

得られた酵素処理液に4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 °Cに加温してから加え、室温で正確に60分間静置して沈澱させる。ろつぼ型ガラスろ過器に吸引しながら酵素処理液を流し込み、残さ（総食物繊維画分）を得る。ろつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール15 mLで2回、95 %エタノール15 mLで2回、アセトン15 mLで2回、順次洗浄する。洗液はろ液に合わせる。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用 (R_1)、灰分測定用 (R_2) とする。残さ中のたんぱく質 (P_1) と灰分 (A_1) を、それぞれ7)、8) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

7) 残さ中のたんぱく質の定量

R_1 , R_{B1} の残さをケイソウ土とともにかきとり、ケルダール法または燃焼法によって残さ中の窒素含量を求める。得られた窒素含量に6.25を乗じてたんぱく質量 (P_1 , P_B) とする。

8) 残さ中の灰分の定量

R_2 , R_{B2} の残さを、ガラスろ過器ごと525±5 °Cで5時間灰化处理し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかる。得られた残さ中の灰分量 (A_1 , A_B) を得る。

9) ろ液の溶媒留去

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

10) カラムクロマトグラフィー

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

11) 試料溶液

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

12) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

13) 測定 (低分子量水溶性食物繊維の定量)

5-1. AOAC.2011.25法 (1) に同じ。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し、以下の4種の空試験値を得る。

食物繊維相当空試験	残さ	R_{B1} , R_{B2}	(mg)
同	残さ R_{B1} 中のたんぱく質	P_B	(mg)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_B	(mg)

試薬空試験値は、5-1. AOAC.2011.25法 (1) 参照

(6) 計算

以下の式によって食物繊維の含量を算出する。

(高分子量水溶性食物繊維+不溶性食物繊維) (g/100 g)

$$= \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} - P_1 - A_1 - B}{\frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで

$$B \text{ (mg)} = \frac{R_{B1} + R_{B2}}{2} - P_B - A_B$$

$$\text{低分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{P_F}{P_D} \times f \times \frac{M}{W} \times 100 \div 1000$$

P_F : 食物繊維画分のピーク面積

P_D : 添加内標準物質のピーク面積

f : 高速液体クロマトグラフにおけるブドウ糖と内標準物質の補正係数

M : 添加内標準物質質量 (mg)

W : 試料採取量 (g) (W_1 または W_2)

総食物繊維含量 (g/100 g)

= (高分子量水溶性食物繊維含量 + 不溶性食物繊維含量) + 低分子量水溶性食物繊維含量

凍結乾燥処理をした試料にあつては、下記の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100}\right)$$

D : 凍結乾燥試料中の (高分子量水溶性食物繊維+不溶性食物繊維) 又は低分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)

W_D : 乾燥減量 (%)

5-4. プロスキー変法 (1)

[適用]

野菜類、きのこ類及び藻類とそれらの加工品を除く、すべての食品に用いる。ただし、えだまめ、そらまめ未熟豆、らっかせい未熟豆など、たんぱく質含量の高いものは本法を用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

凍結乾燥器

トールビーカー：容量500 mL（容量400～600 mLであれば可）

るつぼ型ガラスろ過器：2G-2。525℃で1時間加熱し、充分に水洗して風乾しておく。使用前にケイソウ土約1 gを入れ、水、78 %エタノールで順次洗浄して均質なケイソウ土層を形成させ、130℃で1時間加熱後、デシケーター中で放冷する。質量を0.1 mgまで求め、使用するまでデシケーター中で保管する。

ろ過装置：吸引ポンプや吸引びんなどで構成されるもので、るつぼ型ガラスろ過器が装着できるもの。

水浴：振り混ぜ可能なもので、沸とう水浴と60℃定温水浴に使用できるもの。

乾燥器：105±5℃及び130±5℃に調整できるもの。

電気マッフル炉：525±25℃に調整できるもの。

デシケーター

(2) 試薬

95 % (v/v) エタノール

78 % (v/v) エタノール：95% (v/v) エタノール800 mLに水200 mLを加えたもの。

アセトン：特級

0.08 mol/Lリン酸緩衝液 (pH6.0)：リン酸水素二ナトリウム1.400 g（二水和物の場合は1.753 g）とリン酸二水素ナトリウム一水和物9.68 g（二水和物の場合は10.94 g）を水に溶かし、pH6.0に調整して1 Lとしたもの。

耐熱性 α -アミラーゼ：Novozymes 社製、termamyl 120Lまたは同等品

プロテアーゼ：Sigma社製のP-3910またはP-5380または同等品を0.08 mol/Lリン酸緩衝液に50 mg/mLの濃度に溶かしたもの。用時調製。

アミログルコシダーゼ：Sigma 社製、A-9913または同等品

0.275 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム11.00 gを水に溶かして1 Lとしたもの。

0.325 mol/L塩酸溶液：36 %（約11.6 mol/L）塩酸28 mLに水を加えて1 Lとしたもの。

ケイソウ土：あらかじめ酸洗浄してから用いる（〔例〕セライト545）。

(3) 試料調製

1) 水分が少なく脂質も少ない食品（穀類、だいずを除く豆類）

そのまま均質に粉碎し500 μ m目のふるいを通す。

2) 水分の多い食品（いも類、果実類）

いも類のように糖分の少ない食品は、凍結乾燥して均質に粉碎し、500 μ m目のふるいを通す。なお凍結乾燥の際の乾燥減量は乾物から原試料への換算に必要なので、必ず記録しておく。果実類のように糖分が多く凍結乾燥の難しい食品は、そのままホモジナイズして4 mm目のふるいを通す。

3) 脂質の多い食品

脂質の多い食品（だいずや種実類など脂質含量が5 %以上のもの）については、あらかじめ脱脂処理を行い、脱脂風乾減量 (W_D) を求めておく。すなわち、粗砕試料5～6 g (W) を容量200 mLの遠沈管にはかりとり、石油エーテル125～150 mL（注1）を加えかき混ぜ、15分間静置した後、遠心分離（2000回転/分、10分間）する。上澄み液を捨て、残りの沈澱物にさらに石油エーテル100～120 mLを加え、先と同様の操作を行う。この操作を2回繰り返した後、沈澱物の全量を石油エーテルを用いて、質量既知 (W_0) のるつぼ型ガラスろ過器 (2G-3) に移し入れ、吸引ろ過後、風乾して質量 (W_1) をはかる。得られた乾燥試料を粉碎し、500 μ m目のふるいを通して均質にする。

$$\text{脱脂風乾減量 } (W_D\%) = \left(1 - \frac{W_1 - W_0}{W} \right) \times 100$$

W_0 : 質量既知のガラスろ過器の質量 (g)

W_1 : 乾燥後のガラスろ過器の質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

(4) 操作

1) 試料採取

1試料につき、必ず2点（ほぼ同質量）ずつ同時にはかりとる。1点は最後に非消化性たんぱく質含量を測定するのに用い、もう1点は灰分を測定するのに用いる。粉碎した乾燥試料1 gずつを0.1 mgまで2点はかる（ W_1 , W_2 ）。果実類のようにそのままホモジナイズした液状又はペースト状のものは2~10 gずつを0.1 mgまで2点はかる。質量をはかった試料はそれぞれ容量500 mLのトルビーカーに入れる。同時に試薬空試験用のトルビーカーを2個用意し、試料用と同様に操作する。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には、採取量を1 gよりも少なくする（注2）。

2) 耐熱性 α -アミラーゼ処理

0.08 mol/Lリン酸緩衝液50 mL（液状試料の場合には、全量が50 mLとなる量）を加え、pH6.0 \pm 0.5に調整する。次に耐熱性 α -アミラーゼ0.1 mLをそれぞれのトルビーカーに加えてアルミニウム箔で覆い、沸とう水浴中に入れ、トルビーカー内の液温が95 $^{\circ}$ Cになってから30分間放置する。この間5分ごとにかき混ぜる。

3) プロテアーゼ処理

室温まで冷却後、0.275 mol/L水酸化ナトリウム溶液約10 mLを加えて、pH7.5 \pm 0.1に調整する。プロテアーゼ0.1 mLを加えてトルビーカーをアルミニウム箔で覆い、60 $^{\circ}$ Cの水浴中で振り混ぜながら30分間反応させる。

4) アミログルコシダーゼ処理

室温まで冷却後、0.325 mol/L塩酸溶液約10 mLを加えて、pH4.3 \pm 0.3に調整する。アミログルコシダーゼ0.1 mLを加えてトルビーカーをアルミニウム箔で覆い、60 $^{\circ}$ Cの水浴中で振り混ぜながら30分間反応させる。

5) ろ過（水溶性、不溶性食物繊維の分別）

るつぼ型ガラスろ過器に吸引しながら酵素処理液を流し込み、残さ（不溶性食物繊維画分）とろ液（水溶性食物繊維画分）とに分ける。トルビーカーの内壁およびろ過器上の残さを少量の水（約10 mL）で洗浄し、洗液はろ液に合わせる。

6) 水溶性食物繊維の定量

ろ液にその4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 $^{\circ}$ Cに加温してから加え、室温で正確に60分間静置して水溶性食物繊維を沈澱させる。5)と同じ要領で吸引ろ過を行い、残さとろ液とに分ける。るつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール20 mLで3回、95 %エタノール10 mLで2回、アセトン10 mLで2回順次洗浄する（注3）。ろ過器ごと105 \pm 5 $^{\circ}$ Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用（ R_1 ）、灰分測定用（ R_2 ）とする。残さ中のたんぱく質（ P_1 ）と灰分（ A_1 ）を、それぞれ8）、9）に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

7) 不溶性食物繊維の定量

5)のろ過操作で得られたろ過器上の残さを95 %エタノール10 mLで2回、アセトン10 mLで2回順次洗浄する（注3）。ろ過器ごと105 \pm 5 $^{\circ}$ Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用（ R_3 ）、灰分測定用（ R_4 ）とする。残さ中のたんぱく質（ P_2 ）と灰分（ A_2 ）を、それぞれ8）、9）に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

8) 残さ中のたんぱく質の定量

R_1 、 R_{B1} 及び R_3 、 R_{B3} の残さをそれぞれケイソウ土とともにかきとり、ケルダール法または燃焼法によって残さ中の窒素含量を求める。得られた窒素含量に6.25を乗じて、たんぱく質量（ P_1 、 P_{B1} 及び P_2 、 P_{B2} ）とする。

9) 残さ中の灰分の定量

R_2 , R_{B2} 及び R_4 , R_{B4} の残さをガラスろ過器ごと $525 \pm 5^\circ\text{C}$ で5時間灰化処理し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって残さ中の灰分 (A_1 , A_{B1} 及び A_2 , A_{B2}) を得る。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し、以下の8種の空試験値を得る。

水溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B1} , R_{B2}	(g)
同	残さ R_{B1} 中のたんぱく質	P_{B1}	(g)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_{B1}	(g)
不溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B3} , R_{B4}	(g)
同	残さ R_{B3} 中のたんぱく質	P_{B2}	(g)
同	残さ R_{B4} 中の灰分	A_{B2}	(g)

試薬空試験値は、同一ロットの試薬を使用している限り不変と考えられる。そこで、15~20回の繰り返し試験を実施して各空試験の平均値を求め、同一ロットの試薬を使用している限りにおいて、これを定数として使用するのが多検体処理の場合には合理的である。

(6) 計算

以下の式によって水溶性食物繊維と不溶性食物繊維の含量を算出する。

$$\text{水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{\frac{R_1+R_2}{2} \left[1 - \left(\frac{P_1}{R_1} + \frac{A_1}{R_2} \right) \right] - B_s}{\frac{W_1+W_2}{2}} \times 100$$

ただし、ここで

$$B_s \text{ (g)} = \frac{R_{B1}+R_{B2}}{2} \left[1 - \left(\frac{P_{B1}}{R_{B1}} + \frac{A_{B1}}{R_{B2}} \right) \right]$$

$$\text{不溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{\frac{R_3+R_4}{2} \left[1 - \left(\frac{P_2}{R_3} + \frac{A_2}{R_4} \right) \right] - B_1}{\frac{W_1+W_2}{2}} \times 100$$

ただし、ここで

$$B_1 \text{ (g)} = \frac{R_{B3}+R_{B4}}{2} \left[1 - \left(\frac{P_{B2}}{R_{B3}} + \frac{A_{B2}}{R_{B4}} \right) \right]$$

W_1 , W_2	:	試料採取量 (g)	
R_1 , R_2	:	水溶性食物繊維	残さ (g)
P_1	:	同	残さ中のたんぱく質 (g)
A_1	:	同	残さ中の灰分 (g)
R_{B1} , R_{B2}	:	同	空試験の残さ (g)
P_{B1}	:	同	空試験残さ中のたんぱく質 (g)
A_{B1}	:	同	空試験残さ中の灰分 (g)
R_3 , R_4	:	不溶性食物繊維	残さ (g)
P_2	:	同	残さ中のたんぱく質 (g)
A_2	:	同	残さ中の灰分 (g)
R_{B3} , R_{B4}	:	同	空試験の残さ (g)
P_{B2}	:	同	空試験残さ中のたんぱく質 (g)
A_{B2}	:	同	空試験残さ中の灰分 (g)

総食物繊維含量 (g/100 g) = 水溶性食物繊維含量 + 不溶性食物繊維含量

脱脂風乾処理をした試料にあつては、以下の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100}\right)$$

D : 脱脂風乾試料中の水溶性又は不溶性食物繊維含量 (g/100g)

W_D : 脱脂風乾減量 (%)

[注解]

(注1) だいず及びその加工品の場合には、クロロホルム-メタノールの2:1混液を用いる。

(注2) ろ過時間が長くなりすぎると正しい分析値が得られないので、このような場合には、むしろ採取量を少なく (0.1~0.5 g) してろ過時間を短縮するほうがより誤差の少ない分析値を得ることができる。

(注3) 脱脂処理で脂質が完全には除去できない試料の場合は、アセトン30 mLで5回くらい洗浄する。

5-5. プロスキー変法 (2)

[適用]

野菜類 (えだまめ、そらまめ未熟豆、らっかせい未熟豆など、たんぱく質含量の高いものを除く)、きのこ類及びそれらの加工品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

(2) 試薬

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

(3) 試料調製

凍結乾燥して均質に粉碎し、500 µm目のふるいを通す。なお、凍結乾燥の際の乾燥減量 (W_D) は、乾物から原試料への換算に必要なので、必ず記録しておく。トマトジュースのように糖分が多く凍結乾燥の難しい食品は、そのままホモジナイズして4 mm目のふるいを通す。

(4) 操作

1) 試料採取

凍結乾燥後に粉碎した試料は1 gを0.1 mgまではかる (W)。トマトジュースのようにそのままホモジナイズした液状又はペースト状のものは、2~10 gを0.1 mgまではかる (W)。質量をはかった試料は容量 500 mLのトルビーカーに入れる。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には、採取量を1 gよりも少なくする (例えば、採取量を0.1~0.5 gにする) (注1)。

2) 耐熱性 α -アミラーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

3) プロテアーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

4) アミログルコシダーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

5) ろ過 (水溶性、不溶性食物繊維の分別)

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

6) 水溶性食物繊維の定量

ろ液にその4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 °Cに加温してから加え、室温で正確に60分間静置して水溶性食物繊維を沈澱させる。5) と同じ要領で吸引ろ過を行い、残さとろ液とに分ける。ろつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール20 mLで3回、95 %エタノール10 mLで2回、アセトン10 mLで2回、順次洗浄する(注2)。ろ過器ごと105±5°Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかる(R_1)。残さ中の灰分(A_1)を、8) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

7) 不溶性食物繊維の定量

5) のろ過操作で得られたろ過器上の残さを95 %エタノール10 mLで2回、アセトン10 mLで2回、順次洗浄する(注2)。ろ過器ごと105±5 °Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかる(R_2)。残さ中の灰分(A_2)を、8) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

8) 残さ中の灰分の定量

R_1 、 R_{B1} 及び R_2 、 R_{B2} の残さをガラスろ過器ごと525±5 °Cで5時間灰化处理し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって残さ中の灰分(A_1 、 A_{B1} 及び A_2 、 A_{B2})を得る。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し、以下の4種の空試験値を得る。

水溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B1} (g)
同	残さ R_{B1} 中の灰分	A_{B1} (g)
不溶性食物繊維相当空試験	残さ	R_{B2} (g)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_{B2} (g)

試薬空試験値は5-4. プロスキー変法(1) 参照

(6) 計算

以下の式によって、水溶性食物繊維と不溶性食物繊維の含量を算出する。

$$\text{水溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{R_1 - A_1 - B_s}{W} \times 100$$

ただし、ここで B_s (g) = $R_{B1} - A_{B1}$

$$\text{不溶性食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{R_2 - A_2 - B_1}{W} \times 100$$

ただし、ここで B_1 (g) = $R_{B2} - A_{B2}$

$$\text{総食物繊維含量 (g/100 g)} = \text{水溶性食物繊維含量} + \text{不溶性食物繊維含量}$$

凍結乾燥処理をした試料にあつては、以下の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100} \right)$$

D : 凍結乾燥試料中の水溶性又は不溶性食物繊維含量 (g/100 g)

W_D : 乾燥減量 (%)

[注解]

(注1) ろ過時間が長過ぎると正しい分析値が得られないので、このような場合には、むしろ採取量を少なくしてろ過時間を短縮するほうがより誤差の少ない分析値を得ることができる。

(注2) クロロフィルを多く含む試料の場合は、アセトン30 mLで5回くらい洗浄する。

5-6. プロスキー法

[適用]

藻類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

(2) 試薬

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

(3) 試料調製

生の状態のものはそのまま、乾燥品は必要があれば湯戻しし、それぞれ凍結乾燥した後、均質に粉碎し、500 µm目のふるいを通す。なお、湯戻し及び凍結乾燥の際の乾燥減量 (W_D) は、原試料への換算に必要なので、必ず記録しておく。

(4) 操作

1) 試料採取

1試料につき、必ず2点 (ほぼ同質量) ずつ同時にはかりとる。1点は最後に非消化性たんぱく質含量を測定するのに用い、もう1点は灰分を測定するのに用いる。粉碎した乾燥試料1 gずつを0.1 mgまで2点はかる (W_1 , W_2)。質量をはかった試料はそれぞれ容量500 mLのトールビーカーに入れる。同時に試薬空試験用のトールビーカーを2個用意し、試料用と同様に操作する。粘質性の食品などでろ過時間が極端に長くなる場合には、採取量を1 gよりも少なくする (例えば、採取量を0.1~0.5 gにする)。

2) 耐熱性 α -アミラーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

3) プロテアーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

4) アミログルコシダーゼ処理

5-4. プロスキー変法 (1) に同じ。

5) 総食物繊維の定量

得られた酵素処理液に4倍量の95 %エタノールをあらかじめ60 °Cに加温してから加え、室温で正確に60分間静置して沈澱させる。ろつぼ型ガラスろ過器に吸引しながら酵素処理液を流し込み、残さ (総食物繊維画分) を得る。ろつぼ型ガラスろ過器上に捕集された残さを78 %エタノール20 mLで3回、95 %エタノール 10 mLで2回、アセトン10 mLで2回順次洗浄する。ろ過器ごと105 ± 5 °Cで一夜乾燥し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、非消化性たんぱく質測定用 (R_1)、灰分測定用 (R_2) とする。残さ中のたんぱく質 (P_1) と灰分 (A_1) を、それぞれ6)、7) に示す方法で定量し、残さ質量から差し引く。

6) 残さ中のたんぱく質の定量

R_1 、 R_{B1} の残さをケイソウ土とともにかきとり、ケルダール法によって残さ中の窒素含量を求める。得られた窒素含量に6.25を乗じて、たんぱく質量 (P_1 , P_B) とする。

7) 残さ中の灰分の定量

R_2 、 R_{B2} の残さをガラスろ過器ごと525 ± 5 °Cで5時間灰化処理し、デシケーター中で放冷後、0.1 mgまではかって、残さ中の灰分量 (A_1 , A_B) を得る。

(5) 空試験

試料を含まない系で同様に処理し、以下の4種の空試験値を得る。

食物繊維相当空試験 残さ R_{B1} , R_{B2} (g)

同	残さ R_{B1} 中のたんぱく質	P_B	(g)
同	残さ R_{B2} 中の灰分	A_B	(g)

試薬空試験値は、5-4. プロスキー変法 (1) 参照

(6) 計算

以下の式によって総食物繊維の含量を算出する。

$$\text{総食物繊維含量 (g/100 g)} = \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} \left[1 - \left(\frac{P_1}{R_1} + \frac{A_1}{R_2} \right) \right] - B}{\frac{W_1 + W_2}{2}} \times 100$$

ただし、ここで

$$B \text{ (g)} = \frac{(R_{B1} + R_{B2})}{2} \left\{ 1 - \left(\frac{P_B}{R_{B1}} + \frac{A_B}{R_{B2}} \right) \right\}$$

凍結乾燥処理をした試料にあつては、以下の式によって原試料に換算する。

$$\text{原試料中の食物繊維含量 (g/100 g)} = D \times \left(1 - \frac{W_D}{100} \right)$$

D : 凍結乾燥試料中の総食物繊維含量 (g/100 g)

W_D : 乾燥減量 (%)

5-7. 難消化性でん粉

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

凍結乾燥器

酵素反応用ボトル：容量250 mLプラスチック蓋付の広口ガラスボトル等。

水浴：振り混ぜ可能なもので、沸とう水浴と、37℃及び50℃定温水浴に使用できるもの。

遠心分離機

試験管ミキサー

マグネチックスターラ

スターラバー

分光光度計

スクリュウキャップ付試験管

ビーカー：容量500 mL

全量フラスコ：容量100 mL

(2) 試薬

99.5% (v/v) エタノール

95% (v/v) エタノール

50% (v/v) エタノール：99.5% (v/v) エタノール250 mLに水250 mLを加えたもの

マレイン酸緩衝液：マレイン酸11.6 gを1600 mLの水に溶かし、10 W/V%水酸化ナトリウム溶液でpH 6.0に調整後、塩化カルシウム二水和物0.6 gを溶かし2 Lとしたもの。

膵臓 α -アミラーゼ：Megazyme 社製，E-PANAA（注1）

アミログルコシダーゼ：Megazyme 社製，E-AMGDF（注1）

膵臓 α -アミラーゼ（50 U/mL）/アミログルコシダーゼ（3.4 U/mL）溶液：膵臓 α -アミラーゼをマレイン酸緩衝液に50 U/mLの濃度になるように溶かし、5分間攪拌後、アミログルコシダーゼを3.4 U/mLの濃度になるように加え攪拌する。用時調製する。

膵臓 α -アミラーゼ（400 U/mL）/アミログルコシダーゼ（27.2 U/mL）溶液：膵臓 α -アミラーゼをマレイン酸緩衝液に400 U/mLの濃度になるように溶かし、5分間攪拌後、アミログルコシダーゼを27.2 U/mLの濃度になるように加え攪拌する。用時調製する。

1.2 mol/L酢酸緩衝液（pH 3.8）：氷酢酸68.6 mLを200 mLの水に加え、4 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH 3.8に調整後、1 Lとしたもの。

0.1 mol/L酢酸緩衝液（pH 4.5）：氷酢酸1.16 mLを180 mLの水に加え、4 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH 4.5に調整後、200 mLとしたもの。

2 mol/L水酸化カリウム溶液：水酸化カリウム22.44 gを180 mLの水に溶解し、200 mLとしたもの。

アミログルコシダーゼ溶液（3300 U/mL）：Resistant Starch Assay Kit付属のBottle 1。

GOPOD溶液：Resistant Starch Assay Kit付属のBottle 3を水で1 Lとした溶液に、Resistant Starch Assay Kit付属のBottle 4を加え溶解したもの。

グルコース標準溶液：ブドウ糖（カールフィッシャー法にて水分値を測定したもの）0.1 gを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり、水で定容する（標準原液：1 mg/mL）。これを水で希釈して、0.1 mg/mLの標準溶液とする。

(3) 試料調製

1) 水分が少なく脂質も少ない食品（穀類，だいずを除く豆類）

そのまま均質に粉砕し500 μ m目のふるいを通す。

2) 水分の多い食品（いも類，果実類）

いも類のように糖分の少ない食品は、凍結乾燥を行い、乾燥減量（ W_{DI} %）を下記の式より求めておく。すなわち、あらかじめ風袋を測定しておいたステンレス容器（ W_0 g）に粗砕試料の十分量を採取し（ W_1 g），凍結乾燥機にかける。乾燥後、試料の入ったステンレス容器の質量を測定し（ W_2 g），均質に粉砕した後、500 μ m目のふるいを通す。果実類のように糖分が多く凍結乾燥の難しい食品は、そのままホモジナイズして4 mm目のふるいを通す。

$$\text{乾燥減量 } (W_{D1}\%) = \left(1 - \frac{W_2 - W_0}{W_1} \right) \times 100$$

W_0 : ステンレス容器の質量 (g)

W_2 : 凍結乾燥後のステンレス容器の質量 (g)

W_1 : 試料採取量 (g)

3) 脂質の多い食品

脂質の多い食品（だいたい種実類など脂質含量が5 %以上のもの）については、あらかじめ脱脂処理を行い、脱脂風乾減量 (W_{D2} %) を求めておく。すなわち、粗砕試料5~6 g (W_3) を容量200 mLの遠心管にはかりとり、石油エーテル125~150 mL (注2) を加えかき混ぜ、15 分間静置した後、遠心分離 (2000回転/分, 10分間) する。上澄み液を捨て、残りの沈澱物にさらに石油エーテル100~120 mLを加え、先と同様の操作を行う。この操作を2回繰り返した後、沈澱物の全量を石油エーテルを用いて、質量既知 (W_4) のろつぼ型ガラスろ過器 (2G-3) に移し入れ、吸引ろ過後、風乾して質量 (W_5) をはかる。得られた乾燥試料を粉碎し、500 μm 目のふるいを通して均質にする。

$$\text{脱脂風乾減量 } (W_{D2}\%) = \left(1 - \frac{W_5 - W_4}{W_3} \right) \times 100$$

W_4 : 質量既知のガラスろ過器の質量 (g)

W_5 : 乾燥後のガラスろ過器の質量 (g)

W_3 : 試料採取量 (g)

(4) 操作

1) 試料採取

ビーカーに粉碎した乾燥試料1 gを0.1 mgまではかりとり (W_6) , 試料採取後のビーカー質量を測定する (W_7) 。果実類のようにそのままホモジナイズした液状もしくはペースト状のものは2~10 gを0.1 mgまではかりとる。

2) 膵臓 α -アミラーゼ/アミログルコシダーゼ処理

試料を1 mLの95 %エタノールで湿らせ、膵臓 α -アミラーゼ (50 U/mL) /アミログルコシダーゼ (3.4 U/mL) 溶液40 mLを加えてアルミホイルで蓋をした後、37 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で振り混ぜながら16時間反応させる。ただし、「生」では食べることがない食品および「ゆで」、「蒸し」、「水煮」等、十分な水が存在する条件下で調理した食品については、採取した試料にマレイン酸緩衝液35 mLを加え、沸とう水浴中で15分間加熱した後、約37 $^{\circ}\text{C}$ まで冷却し、膵臓 α -アミラーゼ (400 U/mL) /アミログルコシダーゼ (27.2 U/mL) 溶液5 mLを加えて、37 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で振り混ぜながら16時間反応させる。

3) 遊離糖の除去及び難消化性でん粉の加水分解

2) で得られた酵素処理後のビーカーの質量をはかり (W_8) , 酵素処理後溶液4 mLをスクリーキャップ付試験管に採取し、溶液の質量を測定する (W_9) 。4 mLの99.5 %エタノールを加え、攪拌後、遠心分離 (3000回転/分, 10分間) して上澄み液を除く。沈澱物に50 %エタノール4 mLを加え、攪拌後、さらに、4 mLの50 %エタノールを加えて攪拌し、遠心分離 (3000回転/分, 10分間) して上澄み液を除く。この操作を繰り返した後、得られた沈澱物に2 mol/L水酸化カリウム溶液2 mLを入れ、氷水中で20分間攪拌し溶解させる (マグネチックスターラ使用)。1.2 mol/L酢酸緩衝液 (pH 3.8) 8 mLを加えて攪拌し、アミログルコシダーゼ溶液 (3300 U/mL) 0.1 mLを加えて十分に攪拌した後、50 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で30分間反応させる。反応後、試験管の内容物を容量100 mLの全量フラスコに移し、水で定容する。ろ紙 (JIS 5種 B) にてろ過した液を試験溶液とする。

4) 難消化性でん粉の測定

試験溶液 (注3), 水 (試薬ブランク, 0.1 mol/L酢酸緩衝液 (pH 4.5)), グルコース標準溶液1 mLを試験管に採取する。GOPOD試液3 mLを加えて攪拌し、50 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で20分間反応させる。試薬ブランクを対照として、510 nmにおける吸光度を測定し、難消化性でん粉含量を求める。

(5) 計算

難消化性でん粉含量 (g/100 g)

$$= \Delta E \times F \times \frac{100}{W_{10}} \times \frac{100}{1000000} \times \frac{\text{グルコース採取量} \times \text{水分補正值}}{0.1} \times \frac{162}{180}$$

ΔE : 試薬ブランクに対する試験溶液の吸光度

F : 標準溶液の換算係数 = $100 / \text{試薬ブランクに対する標準溶液の吸光度}$

W_{10} : 実質試料採取量 (g) = $W_6 \times W_9 / [W_8 - (W_7 - W_6)]$

凍結乾燥又は脱脂風乾処理をした試料にあつては、下記の式によって原試料に換算する。

原試料中の難消化性でん粉含量 (g/100 g)

$$= D \times \left(1 - \frac{W_{D1}}{100}\right) \times \left(1 - \frac{W_{D2}}{100}\right)$$

D : 凍結乾燥又は脱脂風乾試料中の難消化性でん粉含量 (g/100 g)

W_{D1} : 凍結乾燥減量 (%)

W_{D2} : 脱脂風乾減量 (%)

[注解]

(注1) Megazyme 製のキット「K-INTDF」としても販売されている。

(注2) だいたず及びその加工品の場合には、クロロホルム-メタノールの2:1混液を用いる。

(注3) 吸光度が1.5を超える場合は適宜希釈する。

6. 灰 分

6-1. 直接灰化法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気マッフル炉：熱電対温度計付きのもので500～600±10℃に設定できるものを用いる。

灰化容器：容量30～50 mL程度の磁製あるいは石英るつぼ，又は直径60 mm程度の磁製蒸発皿を用いる。

デシケーター：乾燥剤としてシリカゲルを用いる。

電熱式ホットプレートや電熱式コンロ。

(2) 試料の調製

【付録】2. 食品群別の試料前処理法に同じ。

(3) 予備灰化

全食品について予備灰化を行う。電熱式ホットプレートや電熱式コンロ上で加熱し、ふきこぼれないように穏やかに加熱し、部分炭化又は全炭化させる（注1）。砂糖類，はちみつなどの甘味料を多量に含む菓子類，でん粉類，魚介類などで，灰化時に膨化して容器の外へあふれるおそれのあるもの，及び穀類，豆類，種実類，乾燥食品などで，灰化時に膨化飛散するおそれのあるものなどは，特に予備炭化を煙が出なくなるまで完全に行う必要がある。水分の多い野菜類，果実類及び液体状の試料は，予備乾燥後，炭化を行う。

(4) 操作

1) 完全に灰化できる場合

あらかじめ恒量にした灰化容器 (W_0) に，適量の試料をはかりとり (W_1)，予備炭化の後，電気マッフル炉に入れて室温から徐々に昇温させ，550℃に達したら，5～6時間保持して灰化させる。電気マッフル炉の電源を切り，扉を少しあけて温度を下げる。電気マッフル炉の炉内温度が約200℃に下がったら，灰化容器を取り出し，デシケーター中に入れて，1時間放冷後に質量をはかる。灰が白色又は灰色のときは，再び550℃のマッフル炉に入れ，数時間加熱後，質量をはかり，恒量 (W_2) を求める。

2) 炭素が残る場合

1) の操作で，未灰化の炭素が認められた場合は，灰にイオン交換水を数滴加えて灰を溶解し，未灰化炭素を露出させた後，十分に乾燥させ，再び550℃で数時間灰化を行う。恒量になるまでこの操作を繰り返す。

3) かなり多量の未灰化炭素が残る場合

灰化後，炭素の塊が多い場合は，放冷後，熱水で灰を湿らせた後，炭素の塊をガラス棒で突き砕き，熱水10 mLを加え，よくかき混ぜて可溶物を抽出する。ろ紙 (JIS 5種A) を用い，傾斜法で容量50 mLのビーカーにろ液を集める。再度，灰化容器に少量の熱水を加え，同様にろ過する。ろ紙上に残った不溶物及びろ紙を灰化容器に移し，用いた漏斗を洗って，洗液をろ液と合わせる。灰化容器を乾燥後，再び550℃で灰化する。灰化後，放冷し，灰化容器に先のろ液を移し，少量の水でビーカーを洗って洗液を移し，ホットプレート上で蒸発乾固後，再び550℃で灰化し恒量 (W_2) を求める。

(5) 計算

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

W_0 : 恒量とした灰化容器の質量 (g)

W_1 : 試料を入れた灰化容器の灰化前の質量 (g)

W_2 : 試料を入れた灰化容器の灰化後の質量 (g)

[注解]

(注1) 赤外線ランプ (250~500 Wのフラット型) による加熱を同時あるいは交互に行っても良い。

第2章 無機質

A. 試料溶液調製法

試料の前処理は、【付録】2. 食品群別の試料前処理法に準じて行うが、金属製の容器や器具類の使用は、測定目的の元素によって避ける必要がある。例えば、ナトリウムを測定するときはガラス容器、鉄を測定するときは金属包丁やコーヒーミルなどの使用は避ける。

A-1. 希酸抽出法（ナトリウム及びカリウム定量のための標準法）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

振り混ぜ機

抽出容器：容量250 mLのプラスチック製容器を用いる。

遠心分離機

遠心管、漏斗などはすべてプラスチック製（注1）のものを用いる。

(2) 試薬

1 %塩酸溶液：原子吸光分析用又は精密分析用20 %塩酸を、イオン交換水（電気抵抗10 MΩ以上のもの）で希釈する（注2）。

(3) 操作

抽出容器に試料2～10 g (*W*)（乾質量として1～2 g）（注3）を0.001 gまではかりとり、1 %塩酸溶液200 mL (*V*) を正確に加える。室温で30分間振り混ぜ抽出する。抽出液を遠心管に移し、1500回転/分で15分間遠心分離し、その上澄みを集めて試料溶液とする（注4）。

[注解]

(注1) 代表的な材質は、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリスチレンなど。試験に影響のない材質を用いる。

(注2) 原子吸光分析用又は精密分析用20 %塩酸のナトリウム含量は、ロットにより変動するが、調製した1 %塩酸溶液では、普通は0.1 µg/mL以下である。しかし、原子吸光光度法によるナトリウムの測定は感度がよいため、1 %塩酸溶液でもほとんどの場合に検出される。そこで、1 %塩酸溶液は大量に調製してプラスチック製容器に保存しておき、標準溶液と試料溶液の調製には同一の1 %塩酸溶液を用いるようにする。

(注3) 測定目的元素の含有量に応じて適宜減らしてもよい。

(注4) ナトリウムが多い場合又は試料が浮遊して遠心分離が不適切な場合は、プラスチック製漏斗とJIS 5または6種のろ紙を用いてろ過し、はじめの20～30 mLのろ液は捨て、その後のろ液をプラスチック製容器に集めて、適宜希釈して試料溶液としてもよい。

A-2. 乾式灰化法

A-2-1. 白金製蒸発皿、ほうけい酸ガラス又は石英ガラスビーカーを用いる乾式灰化法 (カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、亜鉛、銅及びマンガン定量のための標準法)

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気マッフル炉：熱電対温度計付きのもので500～600℃±10℃に設定できるものを用いる。

灰化容器：口径5～6cmの白金製蒸発皿、容量50又は100mLのほうけい酸ガラス又は石英ガラス製ビーカーを用いる（注1）。

ホットプレート又は水浴：ホットプレートは家庭用を代用できる。

赤外線ランプ：200～500Wのフラット型を用いる。

(2) 試薬

20%塩酸及び1%塩酸溶液：原子吸光分析用又は精密分析用20%塩酸をそのまま、及びイオン交換水で20倍に希釈する。

(3) 操作

試料1～20g (*W*) を灰化容器に0.001gまではかりとる。水分の多い野菜類、果実類および液体状の試料は、水浴上又は乾燥器内、あるいは赤外線ランプ下で水分を蒸発させる。次いで予備灰化を行う。すなわち、ホットプレート上の加熱と赤外線ランプ下の加熱を同時又は交互に行って、ふきこぼれないように穏やかに加熱し、部分炭化又は全炭化させる。500～550℃（注2）の電気マッフル炉に入れて、5～6時間保持して灰化させる。電気マッフル炉の電源を切り、扉を少し開けて温度を下げる。電気マッフル炉の炉内温度が約200℃に下がったら、灰化容器を取り出し、放冷後（注3）、灰を数滴のイオン交換水で湿らせてから20%塩酸5mL（注4）を加えて灰を溶解させ、水浴上又はホットプレート上で加熱して、蒸発乾固させる。1%塩酸溶液約20mLを加えて水浴上又はホットプレート上で加温しながら残留物を溶かし、JIS 5又は6種のろ紙を用い（注5）容量100mL（注6）の全量フラスコにろ過する。灰化容器を3回洗浄しながらろ過した後、ろ紙上に黒色の炭素粒が残っている場合は、ろ紙ごと灰化容器に戻し、同じ条件で再灰化を行う。20%塩酸5mL（注4）を加えて、同じ操作を行い、先の全量フラスコにろ液を合わせる。冷却後、1%塩酸溶液で100mL（注6）に定容（*V*）し、試料溶液とする。空試験は、一連の操作に用いたものと同濃度、同容量の塩酸を用いて行う。

[注解]

（注1） 乾式灰化法で他の材質の灰化容器を用いる場合は、いろいろな制限があるので、必ず主成分組成の似ている組成標準物質の分析を行って、方法の妥当性を検討する。

（注2） リンを同時に測定する時は500℃までとする。

（注3） 放冷はデシケーター中で行うか、アルミホイルなどでカバーし、ほこりなどが混入しないようにする。

（注4） 灰の量に応じて塩酸量を調節してもよい。

（注5） あらかじめ漏斗にろ紙を入れ、加温した1%塩酸溶液20～30mLを通して洗浄しておく。

（注6） 目的元素の含有量に合わせて定容量を変更してもよい。

A-2-2. リン酸添加乾式灰化法

[適用]

灰がアルカリ性を示す食品に用いる（注1）。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

灰化容器：ほうけい酸ガラス又は石英ガラスビーカー（注2）
他はA-2-1. 直接灰化法と同じ。

(2) 試薬

1 mol/L リン酸溶液：85 %リン酸115 gをはかりとり、イオン交換水で1 Lに定容する。
他は、A-2-1. 直接灰化法と同じ。

(3) 操作

試料20～50 g (W)（乾質量で2.5～3 g）を容量100 mLのビーカーに0.001 gまではかりとり、1 mol/L リン酸溶液1.5 mLを加え、ほうけい酸ガラス製の棒でよく混和し、赤外線ランプを照射して、ときどきかき混ぜながら濃縮し、乾燥、次いで炭化する。以下は、A-2-1. と同様に操作するが、電気マッフル炉の温度は500 °Cにする（注2）。

[注解]

(注1) 大部分の野菜類及び果実類が相当する。

(注2) これらを石英又はほうけい酸ガラスの容器を用いて500 °Cを超える温度で灰化すると、いずれの容器ともアルカリ性でおかされやすくなり、その際、試料中の重金属元素類は容器に固着して回収率が低下する。また、ほうけい酸ガラス製の容器では、ナトリウムが溶出し、カリウムが取り込まれる。そのため、これらの試料をほうけい酸ガラスビーカーで乾式灰化するには、リン酸添加乾式灰化法を用いる。ただし、添加回収試験により目的元素の回収率を確認することで、A-2-1. の方法で作業してもよい。リン酸添加乾式灰化法は、リンの測定には使えない。

A-3. 湿式分解法（開放系）

A-3-1. 硝酸・硫酸・過塩素酸を用いる湿式分解法

[適用]

脂肪含量の多い動物性試料に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分解容器：ケルダールフラスコ（注1）

ガスバーナー

(2) 試薬

硝酸：精密分析用又は原子吸光分析用を用いる。

過塩素酸：60%，精密分析用又は原子吸光分析用を用いる。

硫酸：精密分析用

(3) 操作

分解容器に、試料1～10 g (*W*) を0.001 gまではかりとる。硝酸10 mLを加え穏やかに加熱する。激しい反応が終了したら、硝酸10 mL及び硫酸5 mLを加え、再び加熱する。内容液が褐色～黒色になったら硝酸2 mLを加える。内容液が褐色になる場合には、この操作を繰り返す。内容液が無色～淡黄色になったら、過塩素酸2 mLを加え、硫酸の白煙を生じるまで再び加熱する。放冷後、分解容器の内壁を水でよく洗い込み、硫酸の白煙が生じるまで再び加熱する。放冷後、溶液を全量フラスコに洗い込んだ後、1%塩酸溶液で定容とし、試料溶液 (*V*) とする。

[注解]

(注1) コニカルビーカーとホットプレート（試験室用）を用いることもできる。

A-3-2. 硝酸・過塩素酸を用いる湿式分解法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分解容器：容量100 mLのほうけい酸ガラス製コニカルビーカーを用いる。

時計皿：肉厚のほうけい酸ガラス製を用いる。

ホットプレート：家庭用が使用できる。

(2) 試薬

硝酸：精密分析用又は原子吸光分析用を用いる。

過塩素酸：60%，精密分析用又は原子吸光分析用を用いる。

(3) 操作

分解容器に、試料2～10 g (*W*)（乾質量として1～2 g）を0.001 gまではかりとる。最初、硝酸10 mLを加え、ホットプレートで比較的低温（100℃くらい）で加熱分解を行う。ビーカーの口にはほうけい酸ガラス製の時計皿を置いて還流させて、硝酸の過度の蒸発を防ぐ。激しく泡立つ反応がおさまったら、ホットプレートから降ろして、冷却後、60%過塩素酸2 mLを加え、加熱温度を150℃に上げて分解を続ける。液が褐色になり始めたら、ホットプレートから降ろし、放冷後、1 mLの硝酸を加えて分解を続ける。時計皿をはずし、液が褐色になる場合には、この操作を繰り返す。透明又は淡黄色になったら、乾固寸前まで濃縮する（注1）。残留物を1%塩酸溶液で加温溶解し、A-2-1.と同様に操作して、容量100 mLの全量フラスコに洗い込み、1%塩酸溶液で定容とし、試料溶液 (*V*) とする。

[注解]

(注1) 有機物が残った状態で乾固させると、爆発する可能性があるので注意する。

A-4. 湿式分解法（密閉系：マイクロ波利用）（セレン、クロム及びモリブデンの定量のための標準法）（注1）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロ波分解装置：最大試料1 g分解が可能な容器を処理でき、内部温度センサーなどを装備し、温度コントロールが可能なもの（Milestone 社製，ETHOS1同等品）。

(2) 試薬

硝酸：金属濃度100 pg/mL以下の超高純度試薬（関東化学（株），Ultrapur-100 超高純度試薬 同等以上のもの）

過酸化水素：特級

(3) 操作

試料0.1～1 (W) g（注2）をあらかじめ希硝酸で洗浄したマイクロ波分解容器（注3）にとり、硝酸5 mL及び過酸化水素1 mLを加えて密封した後、以下の条件でマイクロ波分解を行う。

マイクロ波分解条件（例）

ステップ	時間（分）	温度（℃）	出力（W）
1	0	0	0
2	2	70	1000
3	5	50	0
4	20	200	1000
5	30	200	1000

[注解]

(注1) 無機質全般の前処理にも使用することができる。

(注2) 均質化が難しい試料は、水分量によって試料量を増やすことができる。

(注3) マイクロ波分解容器にあらかじめ硝酸5 mLを加え、表の条件でマイクロ波分解を行い洗浄しておくことで空試験値を低減することができる。

7. ナトリウム

7-1. 原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

原子吸光光度計：一般的なすべての原子吸光光度計を用いることができる。

中空陰極ランプ：ナトリウム用

アセチレン：一般にボンベ入り溶解アセチレンを用いる（注1）。

コンプレッサー：助燃ガスの空気を供給する。原子吸光光度計との間でフィルターを通す。

振り混ぜ機

(2) 試薬

1 %塩酸溶液：原子吸光分析用又は精密分析用20 %塩酸をイオン交換水（電気抵抗が10 MΩ以上のもの）で希釈する（注2）。

ナトリウム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、1 %塩酸で希釈して、検量線作成用に0.5～3.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注3）。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

A-1. 希酸抽出法に従う。A-2. 乾式灰化法を用いるときは、ナトリウムの多い海藻類及び食塩を添加した加工食品を除いて、灰化容器には、白金製蒸発皿又は石英ガラス製ビーカーを用い、前処理にはすべてプラスチック製器具を用いる（注4）。また、A-3. 湿式分解法（開放系）は、ナトリウムの多い海藻類及び食塩を添加した加工食品を除いて、酸及び分解容器からの汚染があるので、用いないほうがよい。

(4) 測定

原子吸光光度計を用いて測定用試料溶液の吸光度を測定し、あらかじめ作成した検量線から試料溶液の濃度（ A ）を求める。測定波長は589.0 nmに設定する（注5）。1%塩酸試料溶液をそのまま希釈しないで測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、ネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フレイムに導入する。ナトリウムの濃度が高すぎる場合は、1%塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させて感度を落として測定する。又は、測定波長を感度の悪い330.3 nmに設定（検量線作成用の標準溶液は30～150 µg/mL）して測定する。

(5) 計算

$$\text{ナトリウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 1000} \times 100$$

A ：検量線から求めた測定用試料溶液中のナトリウム濃度（µg/mL）

V ：試料溶液量（mL）

d ：希釈倍数

f ：標準溶液のファクター

W ：試料採取量（g）

[注解]

(注1) 溶解アセチレンはボンベ内にアセトンが入っており、低圧になるとアセトンのガスも出てくるため、測定の際に、原子吸光光度計の機種によっては、ガス制御部分などに支障をきたすし、またフレイムに影響が出るので、ガス圧が0.2 MPa以下となったら使用しないほうが安全である。アセトンが入っていないものも市販されている。

(注2) 原子吸光用又は精密分析用20 %塩酸のナトリウム含量は、ロットにより変動するが、調

製した1 %塩酸溶液では、普通 0.1 µg/mL以下である。しかし、原子吸光光度法によるナトリウムの測定は感度がよいため、1 %塩酸溶液でも、ほとんどの場合検出される。そこで、1 %塩酸溶液は大量に調製してプラスチック製容器に保存しておき、標準溶液の調製と試料溶液の調製には同一の1 %塩酸溶液を用いるようにする。

(注3) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

(注4) ナトリウム含量の低いもの（生野菜、でん粉、砂糖など）は、ガラスから溶出するナトリウムにより過大な値を示すおそれがある。

(注5) 波長は589.6 nmでもよい。

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

誘導結合プラズマ発光分析装置：一般的なすべての誘導結合プラズマ発光分析装置を用いることができる。

(2) 試薬

20 %塩酸（原子吸光分析用又は精密分析用）

1 %塩酸溶液：原子吸光分析用又は精密分析用20 %塩酸をイオン交換水（電気抵抗が10 MΩ以上のもの）で希釈する。

ナトリウム及びカリウム混合標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1 %塩酸濃度となるように希釈して、検量線作成用の0～50 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

A-1.希酸抽出法又はA-2.乾式灰化法により試料溶液を調製する。脂質含量の高い試料はA-2.乾式灰化法が望ましい。試料溶液中の塩濃度が高い場合は、発光強度の低下が認められるので、希釈するか（希釈倍数：d）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある（注2）。希釈をする場合、1 %塩酸溶液となるように調製する。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度（A）を求める。測定波長は588.995 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長を用いてもよい。

(5) 計算

$$\text{ナトリウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のナトリウム濃度（µg/mL）

V：定容量（mL）

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) 混合標準溶液の一例。あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

(注2) 試料溶液中に高濃度の元素（アルカリ金属、アルカリ土類金属）が共存すると、試料溶液の装置への導入量や導入効率を低減し、発光強度が低下する。

8. カリウム

8-1. 原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：カリウム用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

カリウム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、1%塩酸溶液で希釈して、検量線作成用に2.0~10.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-1. 希酸抽出法に従う。A-2. 乾式灰化法を用いるときは、灰化容器には、白金製蒸発皿又は石英ガラス製ビーカー（試料による）を用いる。

(4) 測定

原子吸光光度計を用いて、測定用試料溶液の吸光度を測定し、あらかじめ作成した検量線から試料溶液の濃度（ A ）を求める。測定波長は766.5 nmに設定する。1%塩酸試料溶液をそのまま希釈しないで測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、ネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フレームに導入する。カリウムの濃度が高すぎる場合は、1%塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させて感度を落として測定する。または、測定波長を感度の悪い404.4 nmに設定（検量線作成用の標準溶液は100~500 µg/mL）して測定する。

(5) 計算

$$\text{カリウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A ：検量線から求めた測定用試料溶液中のカリウムの濃度（µg/mL）

V ：試料溶液量（mL）

d ：希釈倍数

f ：標準溶液のファクター

W ：試料採取量（g）

[注解]

(注1) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

8-2. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2.誘導結合プラズマ発光分析法同じ。

(2) 試薬

7-2.誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

7-2.誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は766.491 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長を用いてもよい。

(5) 計算

$$\text{カリウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中のカリウム濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

9. カルシウム

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法と同じ。

(2) 試薬

20 %塩酸（原子吸光分析用又は精密分析用）

1 %塩酸溶液：原子吸光分析用又は精密分析用20 %塩酸をイオン交換水（電気抵抗が10 MΩ以上のもの）で希釈する。

カルシウム、マグネシウム、リン、鉄、亜鉛、銅及びマンガン混合標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1 %塩酸濃度となるように希釈して、検量線作成用の0～50 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。

1000 µg/mLベリリウム標準液（原子吸光分析用）：内標準用（注2）。適宜希釈して用いる。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法又はA-3. 湿式分解法（開放系）により試料溶液を調製する。試料溶液中の塩濃度が高い場合は、発光強度の低下が認められるので、希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある（注3）。希釈をする場合、1 %塩酸溶液となるように調製する。必要に応じて、内標準元素を添加する。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度（ A ）を求める。測定波長は393.366 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長（315.887 nm, 317.933 nm, 422.673 nmなど）を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、内標準元素を用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{カルシウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A ：検量線から求めた測定用試料溶液中のカルシウム濃度（µg/mL）

V ：定容量（mL）

d ：希釈倍数

f ：標準溶液のファクター

W ：試料採取量（g）

[注解]

(注1) 混合標準溶液の一例。あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

(注2) 内標準元素としてベリリウムを使用する例を示したが、他に適切な元素がある場合は、その元素を用いてよい。ただし、試料中に含まれない元素を使用する必要がある。

(注3) 試料溶液中に高濃度の元素（アルカリ金属、アルカリ土類金属）が共存すると、試料溶液の装置への導入量や導入効率を低減し、発光強度が低下する。

9-2. 干渉抑制剤添加—原子吸光光度法

[適用]

一般的な食品に用いる（注1）。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：カルシウム用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

カルシウム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を適宜1%塩酸溶液で希釈し、測定用試料溶液に添加したと同じランタン又はストロンチウム濃度（表9-1参照）になるように、それぞれにランタン溶液又はストロンチウム溶液を加える。0.5~25 µg/mLの濃度（注2）の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

ランタン溶液：干渉抑制剤の塩化ランタン—0.1 mol/L塩酸溶液（市販の原子吸光分析用）、ランタンとして10%±0.3%（w/v）のものを用いる。

ストロンチウム溶液：干渉抑制剤の塩化ストロンチウム溶液（市販の原子吸光分析用）、ストロンチウムとして10%±0.1%（w/v）のものを用いるか、塩化ストロンチウム六水和物（SrCl₂·6H₂O）15.215 gを1%塩酸溶液に溶解して100 mLに定容する（ストロンチウムとして5%（w/v））。

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法に従い、1%塩酸試料溶液を調製する。A-3. 湿式分解法（開放系）又はA-1. 希酸抽出法を用いてもよい。希酸抽出法では、通常1%塩酸溶液で室温1時間の振り混ぜで抽出できるが、カルシウムが多い海藻類などでは、3%塩酸溶液抽出が必要になる。

(4) 測定

試料溶液中のリンとカルシウムの含量の比に応じて、測定用試料溶液中の干渉抑制剤の濃度を、表9-1のように決定する（注3）。カルシウムが50~625 µgとなるように、試料溶液の適量を容量25 mLの全量フラスコに採取し、ランタン又はストロンチウム溶液を添加し、1%塩酸溶液で定容して測定用試料溶液とする。これを原子吸光光度計を用いて、ネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン—空気フレーム又はアセチレン—酸化二窒素（亜酸化窒素）フレームに導入する。測定波長は422.7 nmに設定する。カルシウムの濃度が高すぎる場合は、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させて感度を落とすか、1%塩酸溶液で希釈する（注4）。あらかじめ作成した検量線から、測定用試料溶液中のカルシウムの濃度（A）を求める。

表9-1 リン／カルシウム比による測定用試料溶液中の最適干渉抑制剤濃度

リン／カルシウム	食品例	干渉抑制剤及びその濃度
0 ~10	だいず，野菜類，果実類，海藻類	ストロンチウム 3000 µg/mL
10~20	こむぎ	ストロンチウム 6000 µg/mL
20~60	とうもろこし，こめ，おおむぎ	ランタン 10000 µg/mL

(5) 計算

$$\text{カルシウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のカルシウムの濃度（µg/mL）

V：試料溶液量（mL）

d：希釈倍数

f : 標準溶液のファクター
 W : 試料採取量 (g)

[注解]

- (注1) カルシウムに対してナトリウムやリンが多量に含まれる食品では、高温フレイムのアセチレン-一酸化二窒素（亜酸化窒素）フレイムを用いる。通常問題となる高温フレイムにおけるカルシウムのイオン化による負の干渉は、共存する多量のナトリウムがイオン化抑制剤として働くので、除去できる。検量線を作成するためのカルシウム標準溶液にはナトリウムを500 $\mu\text{g/mL}$ 以上含有させればよい。イオン化抑制剤としては他に、カリウム250 $\mu\text{g/mL}$ 以上、ランタン又はストロンチウム5000 $\mu\text{g/mL}$ 以上を用いてもよい。バーナーヘッドは高温フレイム用のものを用いる必要がある。一酸化二窒素（亜酸化窒素）は、有害なので取り扱いに注意する。
- (注2) カルシウム濃度0～10 $\mu\text{g/mL}$ ではバーナー角度0度、それ以上の濃度にはバーナーヘッドを適宜回転させて対応する。あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。
- (注3) アセチレン-一酸化二窒素（亜酸化窒素）フレイムを用いると、干渉抑制剤の使用を少なくすることができる。
- (注4) 測定用試料溶液中の干渉抑制剤濃度は、標準溶液に合わせる。

9-3. 過マンガン酸カリウム容量法

[適用]

一般的な食品のうち、比較的カルシウム含量の高いものに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電熱器又はホットプレート

ビュレット：褐色，容量25～50 mL，テフロンコック付き
ろ過鐘

ガラスろ過器：3G4

三角フラスコ：共栓，容量300 mL

(2) 試薬

塩酸溶液：塩酸1容を水1容で希釈して用いる。

メチルレッド指示薬：0.1%エタノール溶液

3%シュウ酸アンモニウム溶液：シュウ酸アンモニウムを水に溶解して用いる。

尿素：特級

アンモニア水溶液：アンモニア水1容を水49容で希釈して用いる。

硫酸溶液：硫酸1容を水25容で希釈して用いる（注1）。

0.004 mol/L過マンガン酸カリウム標準溶液：過マンガン酸カリウム31.61 gに水800 mLを加えて加温しならかき混ぜ、溶解する。放冷後、水で1 Lに定容し、暗所に一夜放置する。ガラスろ過器（3G4）でろ過したものを水で50倍に希釈し、褐色びんに保存する。0.01 mol/Lシュウ酸ナトリウム標準溶液により標定してファクター（*f*）を求める。又は、市販の過マンガン酸カリウム溶液を0.004 mol/Lになるように希釈したものを標定し、標準溶液としてもよい。

シュウ酸ナトリウム：標準試薬

(3) 試料溶液の調製

試料3～10 g（*W*）（注2）をはかりとり、A-2. 乾式灰化法に従い、1%塩酸試料溶液を調製する。

(4) 測定

試料溶液からカルシウムとして3～8 mgを含む一定量を容量300 mL共栓三角フラスコに正確にはかりとり、メチルレッド指示薬数滴及び塩酸溶液を総量として3 mLになるように加えた後、3%シュウ酸アンモニウム溶液10 mL及び尿素約4 gを加え（注3）、水で全量を約100 mLとする。電熱器又はホットプレート上で穏やかに加熱し、沸とうさせ、溶液が赤色から黄色に変わったら加熱をやめ、一夜放置する。生成したシュウ酸カルシウムの沈殿をガラスろ過器（3G4）中に注ぎ、吸引ろ過する。アンモニア水溶液数 mLずつで三角フラスコ及びガラスろ過器を数回洗う。ガラスろ過器をもとの三角フラスコに付け、70～80 °Cに加熱してある硫酸溶液をガラスろ過器中に注ぎ、沈殿を溶解し、吸引ろ過する。この操作を数回繰り返す、ガラスろ過器内の沈殿を完全に溶解して三角フラスコに集める。三角フラスコを65～80 °Cに加熱して0.004 mol/L過マンガン酸カリウム標準溶液で滴定する（*T*）。30秒たっても赤紫色が消失しないところを終点とする。

(5) 計算

0.004 mol/L過マンガン酸カリウム標準溶液1 mLは、カルシウム0.4008 mgに相当し、このとき、試料中のカルシウム含量は次式により求める。

$$\text{カルシウム含量 (mg/100 g)} = \frac{0.4008 \times T \times f}{W \times P} \times 100$$

T：滴定に要した0.004 mol/L過マンガン酸カリウム標準溶液の量（mL）

f：0.004 mol/L過マンガン酸カリウム標準溶液のファクター

P：分取率

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) 濃硫酸を希釈するときは、濃硫酸に水を加えると発熱して沸とうし、危険である。必ず、ある程度量の水に硫酸を加えるようにしなければならない。例えば、水250 mLをまずビーカーなどに入れ、これに濃硫酸10 mLを静かに注加してかき混ぜて調製する。

(注2) カルシウム含量として10～50 mg程度が望ましい。

(注3) 尿素は加熱により分解してアンモニアを生成し、試料溶液を徐々に微アルカリ性にするため、母液を含まないシュウ酸カルシウムの大きな結晶をつくることことができる。

10. マグネシウム

10-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は279.553 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (279.800 nm, 280.270 nm, 285.213 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、内標準元素を用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{マグネシウム含量 (mg/100g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中のマグネシウム濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

10-2. 干渉抑制剤添加—原子吸光光度法（注1）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：マグネシウム用。

他は、9-2. 干渉抑制剤添加—原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

マグネシウム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、適宜1 %塩酸で希釈して、検量線作成用の0.5~2.5 µg/mLの濃度（注2）の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

他は、9-2. 干渉抑制剤添加—原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法に従い、試料溶液を調製する。A-1. 希酸抽出法又はA-3. 湿式分解法（開放系）を用いてもよい。希酸抽出法では、通常1 %塩酸溶液で室温1時間の振り混ぜで抽出できる。いずれも1 %塩酸溶液にする。

(4) 測定

測定波長は285.2 nmに設定する。1 %塩酸試料溶液に塩化ストロンチウム溶液を加えて、ストロンチウムの濃度を0.5 %溶液としたものを、測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、原子吸光光度計のネプライザーで吸入噴霧し、アセチレン—空気フレイムに導入する。測定用試料溶液の吸光度を測定し、検量線からマグネシウムの濃度（A）を求める。マグネシウムの濃度が高すぎる場合は、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させ、感度を落とし、測定する。それでも対応できない場合は、測定用試料溶液を1 %塩酸溶液で適宜希釈して測定する（注3）。

(5) 計算

$$\text{マグネシウム含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のマグネシウムの濃度（µg/mL）

V：試料液量（mL）

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) アセチレン—空気フレイムにおいては、バーナーの構造によって、リン酸イオンによる化学干渉の程度と様子が異なる。予混合バーナーでは、リン酸イオンの濃度が0.1 mol/L（リン3000 µg/mL）まではほとんど影響がないが、全噴霧バーナーでは全体的に吸光度が減少するといわれている。しかし、予混合バーナーでも、その構造によっては化学干渉が認められるので、9-2. 干渉抑制剤添加—原子吸光光度法に準じて測定する。

(注2) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

(注3) 測定用試料溶液中の干渉抑制剤濃度は、標準溶液に合わせる。

11. リン

11-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は213.618 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (214.914 nm, 253.561 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合は、内標準元素用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{リン含量 (mg/100g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中のリン濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

11-2. バナドモリブデン酸吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計：400 nm付近の波長で測定できる一般的な分光光度計を用いる。

(2) 試薬

バナドモリブデン酸試薬：①モリブデン酸アンモニウム四水和物（ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ）（特級）27 gを、熱水200 mLで溶解し冷却する。②メタバナジン酸アンモニウム（ NH_4VO_3 ）（特級）1.12 gを熱水125 mLで溶解後、冷却し、次いで硝酸250 mLを徐々に加えて混和する。②の溶液をかき混ぜながら①の溶液を徐々に注加して混和後、冷却し、水で1 L定容とする。

リン標準原液（注1）：リン酸二水素一カリウムを105 °Cで2時間乾燥後、その4.394 gをはかりとり、1 %塩酸溶液で溶解し、1 L定容とする。リンとして、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の溶液となる。

リン標準溶液：リン標準原液の2, 5, 10, 15及び20 mLを容量100 mLの全量フラスコにそれぞれ別個に採取し、1 %塩酸溶液で定容する。この溶液のリン濃度は、それぞれ20, 50, 100, 150及び200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。

2 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウムを水に溶解して用いる。

フェノールフタレイン指示薬：1 % (w/v) エタノール溶液

硝酸：硝酸1容を水9容で希釈して用いる。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法に従い、試料溶液（*V*）を調製する。A-3. 湿式分解法（開放系）を用いてもよい。

(4) 測定

各リン標準溶液5 mLを容量50 mLの全量フラスコにはかりとり、フェノールフタレインを指示薬として2 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液と硝酸で中和後、水 30 mL、次いでバナドモリブデン酸試薬10 mLを加え、水で定容して混和する。30分間放置後、分光光度計により410 nmで吸光度を測定する。同時に1 %塩酸溶液5 mLをはかりとり、同様に操作して、空試験の吸光度を測定し、検量線を作成する。検量線濃度範囲内のリン量になるように、1 %塩酸試料溶液を2~10 mL (*v*) の範囲で容量50 mLの全量フラスコにはかりとり、中和後、水を加えて約35 mLとし、バナドモリブデン酸試薬10 mLを加え、水で定容として混和する。30分間放置後、吸光度を測定し、検量線から測定用試料溶液中のリン濃度（*A*）を求める。

(5) 計算

$$\text{リン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times \frac{50}{v}}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のリンの濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

V：試料溶液量（mL）

v：試料溶液採取量（mL）

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

（注1）市販の標準液を使用してもよい。

11-3. モリブデンブルー吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計：880 nm付近の波長で測定できる一般的な分光光度計を用いる。

(2) 試薬

リン標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を水で希釈して用いる。

p-ニトロフェノール指示薬：0.1 % (w/v) エタノール溶液

発色試薬：モリブデン酸アンモニウム四水和物 ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (特級) 6 g及び酒石酸アンチモニルカリウム (特級) 0.24 gに硫酸 (2+1) 120 mLを加え、次いでスルファミン酸アンモニウム (特級) 5 gを溶かして水で500 mLとする。

1 % (w/v) アスコルビン酸溶液：L-アスコルビン酸 (特級) 1 gを水に溶かして100 mLとする。

アンモニア水：特級

アンモニア水 (1+49)：アンモニア水1容を水49容で希釈して用いる。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法又はA-3. 湿式分解法 (開放系) により試料溶液を調製する。

(4) 測定

試料溶液の適当量を正確に容量50 mL全量フラスコにはかりとり、*p*-ニトロフェノール指示薬を数滴加え、アンモニア水 (1+49) をわずかに黄色を呈するまで加えた後、水で全量を約40 mLとする。発色試薬5 mL及び1 % (w/v) アスコルビン酸溶液5 mLを加え、水で50 mLとし、15分間放置した後、波長880 nmにおける吸光度を測定する。同様に操作して作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (*A*) を求め、試料中の含量を算出する。

(5) 計算

$$\text{リン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times \frac{50}{v} \times f}{W \times 10}$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のリン濃度 (μg/mL)

V：定容量 (mL)

v：試料溶液採取量 (mL)

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量 (g)

12. 鉄

12-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は238.204 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (234.350 nm, 259.940 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合は、内標準元素用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{鉄含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中の鉄濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

12-2. 原子吸光光度法

[適用]

食塩含量が5 %以下の食品に用いる。ただし、試料溶液中の食塩含量と鉄含量の濃度比や測定に用いる装置の仕様などにより、干渉の度合いが異なる。そこで、測定に用いる装置での食塩濃度の干渉が起こらない範囲を調査したうえであれば、試料中の食塩含量が5 %以上でも測定できる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：鉄用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

鉄標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、適宜1 %塩酸溶液で希釈して、検量線作成用の1.0~5.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法又はA-3. 湿式分解法（開放系）に従い、1 %塩酸試料溶液を調製する。動物性食品では、湿式分解法のほうが効率的である。A-1. 希酸抽出法による抽出は一般には不完全であるが、食品によっては90 %以上の抽出率が得られるものもある。

(4) 測定

1 %塩酸試料溶液をそのまま測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、原子吸光光度計のネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フラームに導入する。波長248.3 nmにおける吸光度を測定する。鉄の濃度が高すぎる場合は、1 %塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させ、感度を落として測定する。あらかじめ作成した検量線から、測定用試料溶液中の鉄の濃度（*A*）を求める。

(5) 計算

$$\text{鉄含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中の鉄濃度（µg/mL）

V：試料溶液量（mL）

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

12-3. 1,10-フェナントロリン吸光光度法

[適用]

食塩含量が高い食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計：510 nm付近の波長が選択できるものを用いる。

(2) 試薬

1,10-フェナントロリン溶液：1,10-フェナントロリン塩酸塩一水和物 ($C_{12}H_8N_2 \cdot HCl \cdot H_2O$) (特級) 0.5 gを100 mLの水に溶解し、プラスチック製容器に入れ、冷暗所に保存する。

クエン酸三ナトリウム溶液：クエン酸三ナトリウム二水和物 ($Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$) 50 gを水200 mLに溶解し、プラスチック製容器に入れ、冷暗所に保存する。

ブロムフェノールブルー指示薬：ブロムフェノールブルー0.05 gを乳鉢に入れ、0.05 mol/L水酸化ナトリウム溶液1.5 mLを加え、すり混ぜて溶解し、水120 mLを加えて希釈する。プラスチック製容器に保存し、その一部を滴びんにとって用いる。

L-アスコルビン酸溶液：L-アスコルビン酸を水に溶解し、約1%とする。使用の際に調製する。

鉄標準溶液：標準溶液 (1000 $\mu\text{g/mL}$) を適宜1%塩酸で希釈して、検量線作成用の2, 10, 15及び20 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法又はA-3. 湿式分解法 (開放系) に従い、1%塩酸試料溶液を調製する。

(4) 測定

試料溶液及び空試験溶液の5 mL又は10 mL (鉄10~200 μg を含む) を全量ピペットで容量25 mLの全量フラスコにはかりとる。同時に採取した同容量の試料溶液を、容量25 mLぐらいの三角フラスコなどにとり、pH調整用の対照液とする。全量フラスコの試料溶液にL-アスコルビン酸溶液1 mLを加えて混和し、しばらく放置する。三角フラスコの対照液にはブロムフェノールブルー指示薬3滴を加え、ここにビュレットを用いてクエン酸三ナトリウム溶液を、ブロムフェノールブルーの黄色がくすんだ黄緑色になるまで滴下し、pH 3.5~4.0とする。これに要した滴下量を記録しておく。全量フラスコの試料溶液に1,10-フェナントロリン溶液2 mLを加え、対照液に要したクエン酸三ナトリウム溶液の滴下量を加え、水で定容とし、混和して60分間以上放置した後、510 nmの吸光度を測定する。検量線から測定用試料溶液中の鉄の濃度 (A) を求める。

(5) 計算

$$\text{鉄含量 (mg/100 g)} = A \times V \times \frac{25}{v} \times f \times \frac{100}{W} \times \frac{1}{1000}$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中の鉄の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V：試料溶液量 (mL)

v：試料溶液採取量 (mL)

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量 (g)

13. 亜鉛

13-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は213.856 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (202.548 nm, 206.200 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、内標準元素用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{亜鉛含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中の亜鉛濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

13-2. 原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：亜鉛用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

亜鉛標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を適宜1%塩酸で希釈して、検量線作成用の0.5～3.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法、A-3. 湿式分解法（開放系）又はA-1. 希酸抽出法に従い、1%塩酸試料溶液を調製する。

(4) 測定

1%塩酸試料溶液をそのまま測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、原子吸光光度計のネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フレームに導入して、213.8 nmの吸光度を測定する。亜鉛の濃度が高すぎる場合は、1%塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させ、感度を落として測定する。あらかじめ作成した検量線から、測定用試料溶液中の亜鉛の濃度（A）を求める。

(5) 計算

$$\text{亜鉛含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中の亜鉛濃度（µg/mL）

V：試料溶液量（mL）

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

13-3. キレート抽出-原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分液漏斗：ほうけい酸ガラス製のスキーブ形で容量200 mL，テフロンコック付きを用いる。

共栓試験管：容量10 mLのものを用いる。

(2) 試薬

50%クエン酸二アンモニウム溶液：クエン酸二アンモニウム（原子吸光分析用）50 gを水に溶かして100 mLとする。

10%ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム（DDTC）-硫酸アンモニウム混合溶液：DDTC（原子吸光分析用）10 g及び硫酸アンモニウム（原子吸光分析用）10 gを水に溶かして100 mLとする（用時調製）。

プロモチモールブルー指示薬：プロモチモールブルー0.1 gをエタノール100 mLに溶解する。変色点は約pH6.0～7.6。

メチルイソブチルケトン（MIBK）：特級

アンモニア水：原子吸光分析用

亜鉛標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を，適宜1%塩酸で希釈して検量線作成用の0.1～1.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

13-2. 原子吸光光度法に同じ。

(4) 測定

試料溶液の適当量（ v ）を正確にスキーブ形分液漏斗にとり，50%クエン酸二アンモニウム溶液10 mLを加えた後，プロモチモールブルー指示薬を用いてアンモニア水で中和し，水を加えて約100 mLとする。10%DDTC-硫酸アンモニウム混合溶液10 mLを加え，5分間放置後，MIBK10 mLを正確に加え5分間振とうする。静置後，MIBK層を共栓試験管に分取する。このMIBK溶液をアセチレン-空気フレームに吸入噴霧して，213.9 nmの吸光度を測定する。あらかじめ標準溶液について，同様の操作を行って作成した検量線から，亜鉛の濃度（ A ）を求める。

(5) 計算

$$\text{亜鉛含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times \frac{V}{v} \times f \times 10}{W \times 1000} \times 100$$

A ：検量線から求めた亜鉛濃度（µg/mL）

V ：試料溶液量（mL）

v ：試料溶液採取量（mL）

f ：標準溶液のファクター

W ：試料採取量（g）

14. 銅

14-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は324.754 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (224.700 nm, 327.395 nm, 327.396 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、内標準元素を用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{銅含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中の銅濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

14-2. 原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。調製した1 %又は3 %塩酸試料溶液中の銅濃度が0.1 µg/mL以上(注1)の場合に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：銅用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

銅標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、適宜1 %塩酸溶液で希釈して、検量線作成用の1.0~10.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する(注1)。プラスチック製容器に保存する。

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法、A-3. 湿式灰化法開放系又はA-1. 希酸抽出法に従い、1 %塩酸試料溶液を調製する。希酸抽出法では、3 %塩酸溶液、80 °Cで加温抽出が必要な試料もある。

(4) 測定

1 %塩酸試料溶液をそのまま測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、原子吸光光度計のネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フレームに導入する。銅の濃度が高すぎる場合は、1 %塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させて感度を落として測定する。波長324.7 nmにおける吸光度を測定して、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の銅の濃度(A)を求める。

(5) 計算

$$\text{銅含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中の銅濃度 (µg/mL)

V：試料溶液量 (mL)

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

14-3. キレート抽出-原子吸光光度法

[適用]

調製した試料溶液中の濃度が0.1 µg/mL未満の場合に適用する。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分液漏斗：ほうけい酸ガラス製のスキップ形で容量100～150 mL，テフロンコック付きを用いる。
共栓試験管：容量10 mLのものを用いる。

(2) 試薬

ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム (APDC)：原子吸光分析用
2,6-ジメチル-4-ヘプタノン (ジイソブチルケトン, DIBK) (注1)：原子吸光分析用
銅標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を、適宜1 %塩酸で希釈して検量線作成用の0.1～0.5 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

14-2. 原子吸光光度法に同じ。

(4) 測定

試料溶液50 mL以下 (v) をスキップ形分液漏斗にとり、1 %塩酸溶液を加えて50 mLとする。40 % (w/v) 硫酸アンモニウム10 mL及び2 %ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム溶液2 mLを加え、ときどき振り混ぜて5分間放置後、2,6-ジメチル-4-ヘプタノン10 mLを正確に加えて3分間激しく振り混ぜ、数分間静置後、2,6-ジメチル-4-ヘプタノン (ジイソブチルケトン) 層を共栓試験管に分取する。この2,6-ジメチル-4-ヘプタノン溶液をアセチレン-空気フレームに吸入噴霧して、324.7 nmの吸光度を測定する。あらかじめ標準溶液の10 mLについて、同様の操作を行って作成した検量線から、銅の濃度 (A) を求める。

(5) 計算

$$\text{銅含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times \frac{V}{v} \times 10}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた銅濃度 (µg/mL)

V：試料溶液量 (mL)

v：試料溶液採取量 (mL)

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 酢酸ブチル (特級) を用いてもよい。

15. マンガン

15-1. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

9-1. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試料溶液中の濃度 (A) を求める。測定波長は257.610 nmを用いる。必要に応じて、別の測定波長 (259.372 nmなど) を用いてもよい。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、内標準元素を用いて補正を行ってもよい。

(5) 計算

$$\text{マンガン含量 (mg/100g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 10}$$

A : 検量線から求めた測定用試料溶液中のマンガンの濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

15-2. 原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

中空陰極ランプ：マンガン用

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(2) 試薬

マンガン標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を適宜1%塩酸で希釈して、検量線作成用の0.5~2.5 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する（注1）。プラスチック製容器に保存する。

他は、7-1. 原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法、A-3. 湿式分解法（開放系）又はA-1. 希酸抽出法に従い、1%塩酸試料溶液を調製する。

(4) 測定

1%塩酸試料溶液をそのまま測定用試料溶液とすることを基本とする。直接に、原子吸光光度計のネブライザーで吸入噴霧し、アセチレン-空気フレームに導入して、279.5 nmの吸光度を測定する。マンガンの濃度が高すぎる場合は、1%塩酸溶液で希釈するか、検量線濃度を変更して原子吸光光度計のバーナーヘッドを回転させ、感度を落として測定する。あらかじめ作成した検量線から、測定用試料溶液中のマンガンの濃度（A）を求める。

(5) 計算

$$\text{マンガン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times d}{W \times 1000} \times f \times 100$$

A：検量線から求めた測定用試料溶液中のマンガン濃度（µg/mL）

V：試料溶液量（mL）

d：希釈倍数

f：標準溶液のファクター

W：試料採取量（g）

[注解]

(注1) あらかじめ最小読み取り値と直線性を確認すれば、検量線範囲は変更してもよい。

15-3. キレート抽出-原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分液漏斗：ほうけい酸ガラス製のスキープ形で容量200 mL，テフロンコック付きを用いる。

共栓試験管：容量10 mLのものを用いる。

(2) 試薬

マンガン標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を，適宜1 %塩酸で希釈して検量線作成用の0.1~1.0 µg/mLの濃度の標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

他は，13-3. 亜鉛 キレート抽出-原子吸光光度法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

15-2. 原子吸光光度法に同じ。

(4) 測定

試料溶液の適当量（ v ）を正確にスキープ形分液漏斗にとり，50 %クエン酸二アンモニウム溶液10 mLを加えた後，プロモチモールブルー指示薬を用いてアンモニア水で中和し，水を加えて約100 mLとする。10 %DDTC-硫酸アンモニウム混合溶液10 mLを加え，5分間放置後，MIBK10 mLを正確に加え5分間振とうする。静置後，MIBK層を共栓試験管に分取する。このMIBK溶液をアセチレン-空気フレームに吸入噴霧して，279.5 nmの吸光度を測定する。あらかじめ標準溶液について，同様の操作を行って作成した検量線から，マンガンの濃度（ A ）を求める。

(5) 計算

$$\text{マンガン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times \frac{V}{v} \times f \times 10}{W \times 1000} \times 100$$

A ：検量線から求めたマンガン濃度（µg/mL）

V ：試料溶液量（mL）

v ：試料溶液採取量（mL）

f ：標準溶液のファクター

W ：試料採取量（g）

16. ヨウ素

16-1. 誘導結合プラズマ質量分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

遠心分離機：コクサンH-80F 同等品（スイングローター使用）

誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）：Agilent 7500ce同等性能のもの（四重極，コリジョンセルなど分子イオン干渉を除去する機能が装備されたもの）

試料抽出容器：メタルフリープラスチック製容器（容量50 mL，SCP Science製，DigiTUBES同等品）

(2) 試薬

テトラメチルアンモニウムヒドロキシド（TMAH）：超高純度分析用試薬（TAMAPURE-AA（25%）などヨウ素濃度が1 ng/mL以下のもの）。イオン交換水で希釈して用いる。

テルル溶液：市販のテルル標準原液1000 µg/mLを0.5 mLとり，イオン交換水で250 mLとする。

ヨウ素標準溶液：ヨウ化カリウム（試薬特級）を0.1308 gはかりとり，イオン交換水を用いて100 mLに定容したものをヨウ素標準原液1000 µg/mLとする。または市販のヨウ素標準溶液〔例：Anion Standard 1000 mg/L Iodide，SPEX製〕を用いる。ヨウ素標準原液1000 µg/mLをイオン交換水で1 µg/mLとしたものを10，25，50，250及び500 µLとり，それぞれに25%TMAH 1 mLを添加した後，容量50 mLメタルフリープラスチック製容器に定容する。これらを10 mL分取し2 µg/mLテルル溶液を100 µL加えたものをヨウ素標準溶液とする。

(3) 試料溶液の調製

試料0.5～3 (W) gを容量50 mLメタルフリープラスチック製容器にとり，0.5%TMAH溶液50 mLを加え，蓋をしてよく混和し，60 °Cで1夜放置する。放冷後，1972×g（ローター半径19.6 cmの場合3000 回転/分）で10分間遠心分離した後，上澄み液10 mLをとり，2 µg/mLテルル溶液を100 µL加えたものを試料溶液とする。

(4) 測定

測定用標準溶液についてICP-MSを用い，それぞれ内標準物質とのイオンカウント比を求め，ヨウ素の濃度により検量線を作成する。同様に，試料溶液を測定し，あらかじめ作成した検量線から試料溶液中のヨウ素濃度（A）を求める。

[ICP-MS測定条件例]

機種：Agilent 7500ce（アジレント・テクノロジー（株））

導入速度：1.0 mL/分

プラズマ条件：RFパワー；1.6 kW

プラズマガス；15 L/分（アルゴン）

キャリアガス；0.70 L/分（アルゴン）

メイクアップガス；0.29 L/分（アルゴン）

ネブライザー：Micro Mist ネブライザー

測定質量数：127（内標準：テルル128）

ガスモード：ノンガスモード

(5) 計算

$$\text{ヨウ素含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times \frac{50}{W} \times \frac{1}{10}$$

A : 試料溶液のヨウ素濃度 (ng/mL)

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

16-2. アルカリ灰化-誘導結合プラズマ質量分析法

[適用]

魚類に用いる(注1)。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気炉：熱電対温度計付きで500±10℃に設定できるもの

誘導結合プラズマ質量分析装置(ICP-MS)：Agilent7500cx同等性能のもの(四重極，コリジョンセルなど分子イオン干渉を除去する機能が装備されたもの)

メタルフリープラスチック製容器(容量50 mL，SCP Science製，DigiTUBES同等品)

(2) 試薬

エタノール：試薬特級

カリウム塩溶液：100 mL容の全量フラスコに4 mol/L水酸化カリウム溶液4 mL及び25%硝酸カリウム溶液2 mLを量り取り，イオン交換水で定容する。

25%硝酸カリウム溶液：硝酸カリウム(試薬特級)250 gをイオン交換水に溶解し，1000 mLとする。

4 mol/L水酸化カリウム溶液：水酸化カリウム(試薬特級)224 gをイオン交換水に溶解し，1000 mLとする。

テトラメチルアンモニウムヒドロキシド(TMAH)：超高純度分析用試薬(TAMAPURE-AA(25%)などヨウ素濃度が1 ng/mL以下のもの)。イオン交換水で希釈して用いる。

テルル溶液：市販のテルル標準液1000 µg/mLを0.5 mLとり，イオン交換水で250 mLとする。

ヨウ素標準溶液：ヨウ化カリウム(試薬特級)を0.1308 g量りとり，イオン交換水を用いて100 mLに定容したものをヨウ素標準原液1000 µg/mLとする。または市販のヨウ素標準溶液[例：Anion Standard 1000 mg/L Iodide，SPEX製]を用いる。ヨウ素標準原液1000 µg/mLをイオン交換水で1 µg/mLとしたものを10，25，50，250及び500 µLとり，それぞれに25%TMAH溶液1 mL及びカリウム塩溶液1 mLを添加した後，容量50 mLメタルフリープラスチック製容器に定容する。これらを10 mL分取し2 µg/mLテルル溶液を100 µL加えたものをヨウ素標準溶液とする。

(3) 試料溶液の調製

試料1～10(W) gをニッケルるつぼに精密に量り，4 mol/L水酸化カリウム溶液4 mL，25%硝酸カリウム溶液2 mL及びエタノール5 mLを加えよく混合し，100℃のホットプレート上で1時間加温後，150℃のホットプレート上で水分を留去する。ホットプレート上で徐々に温度を上げ緩やかに予備灰化した後，500℃の電気炉中で約3時間灰化する。放冷後，灰にイオン交換水約30 mLを加え，時計皿で覆い30分間100℃のホットプレート上で加温した後，ろ紙を用いて100 mL容の全量フラスコ中にろ過する。イオン交換水で洗い込む操作を繰り返し，ろ紙及びるつぼを十分に洗浄した後，イオン交換水で定容する。この溶液を50 mL容メタルフリープラスチック製容器に1 mL量りとり，25%TMAH溶液1 mLを加え，イオン交換水で定容する。これを10 mL分取し，2 µg/mLテルル溶液を100 µL加えたものを試料溶液とする。

(4) 測定

測定用標準溶液についてICP-MSを用い，それぞれ内部標準物質とのイオンカウント比を求め，ヨウ素の濃度により検量線を作成する。同様に，試料溶液を測定し，あらかじめ作成した検量線から試料溶液中のヨウ素濃度(A)を求める。試料溶液中のヨウ素濃度が検量線の上限を超える場合は，(3)で50 mLに定容した液について，TMAH及びカリウム塩が標準溶液と同じ濃度になるように希釈し(希釈率d)，以下，同様に操作して測定する。

[ICP-MS測定条件例]

機種：Agilent 7500cx(アジレント・テクノロジー(株))

導入速度：1.0 mL/分

プラズマ条件：RFパワー；1.6 kW

プラズマガス；15 L/分(アルゴン)

キャリアガス ; 0.70 L/分 (アルゴン)

メイクアップガス ; 0.29 L/分 (アルゴン)

ネブライザー : Micro Mist ネブライザー

測定質量数 : 127 (内標準 : テルル128)

ガスモード : ノンガスモード

(5) 計算

$$\text{ヨウ素含量 (}\mu\text{g/100g)} = A \times f \times d \times \frac{100}{1} \times \frac{50}{W} \times \frac{1}{10}$$

A : 試験溶液のヨウ素濃度 (ng/mL)

f : 標準溶液のファクター

d : 希釈率

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) ヨウ素含量が20 $\mu\text{g/100g}$ 未満の場合は, 16-1. 誘導結合プラズマ質量分析法を適用する。

16-3. 滴定法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

電気炉：熱電対温度計付きのもので500±10℃に設定できるものを用いる。

pHメーター

ホットプレート

(2) 試薬

エタノール：特級

40% (w/v) ギ酸ナトリウム溶液：ギ酸ナトリウム（特級）400gに水を加えて1Lとする。

1 mol/L次亜塩素酸ナトリウム溶液：過マンガン酸カリウム（特級）32gを容量200 mL三角フラスコに入れ、減圧下、塩酸（特級）100 mLを徐々に滴下する。発生する塩素ガスを2% (w/v) 過マンガン酸カリウム溶液で洗い、さらに水で洗った後、水酸化ナトリウム（特級）44gを水200 mLに溶解した液に吸収させる（この溶液は約2 mol/Lである。）。0.05 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液で滴定し、1 mol/Lに調製したものを用いる。

50%水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）を水に溶解する。

0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液：市販の標準溶液を用いる。

でん粉指示薬：可溶性でん粉1gを沸騰水約60 mLに溶解し、放冷後、塩化ナトリウム（特級）20gを加え、水で100 mLとする。

フェノールフタレイン指示薬：1% (w/v) エタノール溶液。

ヨウ化カリウム：特級

3 mol/L硫酸：硫酸（特級）を水で希釈する。

(3) 試料溶液の調製

試料1～10gをニッケルるつぼに正確にはかり（ W ），50%水酸化ナトリウム溶液2 mL及びエタノール5 mLを加え、電熱器上で予備灰化した後、500℃の電気炉中で約3時間灰化する。放冷後、灰に水約20 mLを加え、時計皿で覆い30分間ホットプレート上で加温した後、ろ紙を用いて全量フラスコ中へろ過する。温水で洗い込む操作を繰り返し、ろ紙及びるつぼを十分に洗浄した後、水で50 mLに定容し（ V_1 ），試料溶液とする。

(4) 測定

試料溶液の適当量（ V_2 ）を正確に容量200 mLコニカルビーカーにはかりとり、フェノールフタレイン指示薬を用いて3 mol/L硫酸で中和後、水で約70 mLとする。1 mol/L次亜塩素酸ナトリウム溶液1 mLを加え、pHメーターを用いて3 mol/L硫酸及び50%水酸化ナトリウム溶液でpHを1.7～2.0に調整後、5分間煮沸する。40% (w/v) ギ酸ナトリウム溶液5 mLを加え、さらに5分間煮沸し、放冷後、ヨウ化カリウム0.5 g、3 mol/L硫酸6 mLを加え、5分間放置後、でん粉溶液数滴を加え、0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液で滴定する（ T ）。溶液が30秒間無色を保つ点を終点とする。

(5) 計算

0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液1 mLは、ヨウ素211.5 µgに相当し、このとき、試料中のヨウ素含量は次式により求める。

$$\text{ヨウ素含量 (}\mu\text{g/100g)} = T \times 211.5 \times f \times \frac{V_1}{V_2} \times \frac{1}{W} \times 100$$

T : 滴定に要した0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液の量 (mL)

f : 0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム標準溶液のファクター

V_1 : 定容量 (mL)

V_2 : 分取液量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

17. セレン

17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法（セレン、クロム及びモリブデンの一斉分析法）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）：Agilent 7500ce 同等性能のもの（四重極，コリジョンセルなど分子イオン干渉を除去する機能が装備されたの）。

(2) 試薬

ガリウム，インジウム及びテルルの混合内標準溶液：市販のガリウム標準原液1000 µg/mL及びインジウム標準原液1000 µg/mL それぞれ0.5 mL並びにテルル標準原液1000 µg/mLを5 mLとり，イオン交換水で250 mLとしたものを，さらに25 mLとり，硝酸2.5 mLを加えてイオン交換水で250 mLとしたもの（注1）。

セレン，クロム及びモリブデンの混合標準溶液：セレン，クロム及びモリブデンの混合標準溶液（Multi-Element Standard Cr・Mo・Se 10 µg/mL，SCP Science製）（注2）をイオン交換水で1 µg/mLに希釈したものを混合標準溶液とする。プラスチック製容器に保存する。混合標準溶液の10，25，50，250及び500 µLをメタルフリーポリプロピレン製容器に分取し，それぞれに硝酸5 mL，酢酸1 mL並びにガリウム0.2 µg/mL，インジウム0.2 µg/mL及びテルル2 µg/mLの混合内標準溶液を500 µL添加し，イオン交換水で50 mLに定容し，測定用標準溶液とする（注3）。

酢酸：精密分析用

他はA-4. 湿式分解法（密閉系）に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-4. 湿式分解法（密閉系）に従い，分解を行う。放冷後，分解液をとり酢酸1 mL及び混合内標準溶液を500 µL添加し，イオン交換水を加えて50 mLに定容する。試料溶液中の塩濃度が高い場合は，イオンカウント数の変動が認められるので，希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある。

(4) 測定

測定用標準溶液についてICP-MSを用い，内標準物質とのイオンカウント比を求め，標準溶液のセレン濃度により検量線を作成する。同様に，試料溶液を測定し，あらかじめ作成した検量線から試料溶液中のセレン濃度（ A ）を求める。ただし，食塩を高濃度に含む漬物や調味料及び海藻類は，質量数78で測定する（注4）。

[ICP-MS測定条件例]

機種：Agilent 7500ce（アジレント・テクノロジー（株））

導入速度：1.0 mL/分

プラズマ条件：RFパワー；1.6 kW

プラズマガス；15 L/分（アルゴン）

キャリアガス；0.70 L/分（アルゴン）

メイクアップガス；0.29 L/分（アルゴン）

リアクションガス；ヘリウム

ネブライザー：Micro Mist ネブライザ

測定質量数：セレン82（又は78）（内標：テルル128）

ガスモード：ヘリウムガスモード（セレン78），ノンガスモード（セレン82）

(5) 計算

$$\text{セレン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times d \times \frac{50}{W} \times \frac{1}{10}$$

A : 試料溶液のセレン濃度 (ng/mL)

f : 標準溶液のファクター

d : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 混合内標準溶液用の標準原液は単独で調製してもよい。

(注2) 市販の原子吸光分析用標準溶液を混合あるいは単独で調製してもよい。

(注3) 測定用標準溶液は用時調製する。

(注4) 通常の食品においてはヘリウムガスモードよりもノンガスモードのイオンカウント数が多く、精度良く測定できる。しかし、食塩や海藻類は微量ながら臭素を含んでおり、ノンガスモードでは溶液中の臭素と水素と反応しセレンの質量数82と重なってしまう。そのため、ヘリウムガスモードを用いて質量数78で測定する。

17-2. 蛍光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

蛍光光度計

分液漏斗：ほうけい酸ガラス製のスキップ形で容量200 mL，テフロンコック付きを用いる。

共栓試験管：容量10 mLのものを用いる。

(2) 試薬

硝酸：特級

過塩素酸：特級

シクロヘキサン：特級

10%塩酸：塩酸（特級）を水で希釈する。

0.1 mol/L 塩酸：塩酸（特級）を水で希釈して用いる。

10%アンモニア水：アンモニア水（特級）を水で希釈して用いる。

0.1 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（EDTA）溶液：EDTA（特級）37.22 gを水に溶かして1 Lとする。

20%塩酸ヒドロキシルアミン溶液：塩酸ヒドロキシルアミン（特級）100 gを水に溶かして500 mLとする。

0.1%2,3-ジアミノナフタレン溶液：2,3-ジアミノナフタレン（特級）0.1 gを0.1 mol/L塩酸100 mLに溶かした後，50℃で30分間加温する。放冷後，分液漏斗に移し，シクロヘキサン10～20 mLを加え，5分間振とうする。この操作を繰り返し行い，水層をろ過したのち使用する。この溶液は用時調製とする。

セレン標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1%塩酸で希釈し0.1 µg/mLの標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

試料約1 g (*W*) をケルダールフラスコに0.001 gまではかりとり，硝酸10 mLを加え，穏やかに加熱する。激しい反応が終了したら，過塩素酸10 mLを加え，再び加熱する。内容液が褐色～黒色となったら直ちに硝酸2 mLを加える。内容液が無色～淡黄色となったら，過塩素酸の白煙が生じるまで加熱を続ける。放冷後，ケルダールフラスコの内壁を水でよく洗い込み，過塩素酸の白煙が生じるまで再び加熱する。放冷後，10%塩酸3 mLを加え，沸とう水浴中で30分間加温する。放冷後，溶液を全量フラスコに洗い込んだ後，水で定容し (*V*) ，試料溶液とする。

(4) 測定

セレン標準溶液 (0.1 µg/mL) 0, 2.0, 5.0及び10.0 mLを正確に容量100 mLトールビーカーにとり，0.1 mol/L塩酸を加え約50 mLとする。0.1 mol/L EDTA溶液4 mL，20%塩酸ヒドロキシルアミン溶液2 mL加え，10%塩酸及び10%アンモニア水を用いてpH1.0～1.5に調整する。0.1%2,3-ジアミノナフタレン溶液5 mLを加え混合後，50℃の水浴中で30分間加温する。放冷後，容量200 mL分液漏斗に移し，シクロヘキサン10 mLを加え5分間振とうした後，シクロヘキサン層を共栓試験管に分取する。このシクロヘキサン溶液を励起波長378 nm，蛍光波長520 nmでの蛍光強度を測定し，検量線を作成する。

試料溶液の適当量 (*v*) を正確に容量100 mLトールビーカーに分取し，セレン標準溶液と同様に操作を行い，蛍光強度を測定し，検量線からセレンの濃度 (*A*) を求める。

(5) 計算

$$\text{セレン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = \frac{A \times \frac{V}{v} \times f \times 10}{W \times 1000} \times 100$$

A : 検量線から求めたセレン濃度 (ng/mL)
 V : 試料溶液量 (mL)
 v : 試料溶液採取量 (mL)
 f : 標準溶液のファクター
 W : 試料採取量 (g)

17-3. 水素化物－原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

セレン化水素発生装置
原子吸光光度計

(2) 試薬

塩酸 (5+1) : 塩酸5容に対し水1容を加え混和する (注1)。

水素化ホウ素ナトリウム溶液 : 水素化ホウ素ナトリウム (特級) 0.5 g及び水酸化ナトリウム (特級) 2.5 gを水に溶かして500 mLとする (注1)。

セレン標準溶液 : 市販の原子吸光分析用標準溶液を1 %塩酸で希釈し0.1 µg/mLの標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。

(3) 試料溶液の調製

17-2. 蛍光光度法に従う。

(4) 測定

試料溶液 (濃度により希釈, 希釈倍数: d), 塩酸 (5+1) 及び水素化ホウ素ナトリウム溶液を連続的にセレン化水素発生装置に導入し, さらに, 発生したセレン化水素を850 °Cに加熱したセルに導入し196.0 nmの吸光度を測定する。あらかじめ作成した検量線から, 測定用試料溶液中のセレンの濃度 (A) を求める。

(5) 計算

$$\text{セレン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = \frac{A \times V \times d \times f}{W \times 1000} \times 100$$

A : 検量線から求めたセレン濃度 (ng/mL)

V : 試料溶液量 (mL)

d : 希釈倍数

f : 標準溶液のファクター

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 測定機器に最適な濃度へと変更してもよい。

18. クロム

18-1. 誘導結合プラズマ質量分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(2) 試薬

17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-4. 湿式分解法（密閉系）に従い，分解を行う。放冷後，分解液をとり酢酸1 mL及び混合内標準溶液を500 µL添加し，イオン交換水を加えて50 mLに定容する。試料溶液中の塩濃度が高い場合は，イオンカウント数の変動が認められるので，希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある。

(4) 測定

測定用標準溶液についてICP-MSを用い，内標準物質とのイオンカウント比を求め，標準溶液のクロム濃度により検量線を作成する。同様に，試料溶液を測定し，あらかじめ作成した検量線から試料溶液中のクロム濃度 (A) を求める。(注1)

測定質量数：クロム52（内標：ガリウム71）

ガスモード：ヘリウムガスモード

他の条件は，17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(5) 計算

$$\text{クロム含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times d \times \frac{50}{W} \times \frac{1}{10}$$

A ：試料溶液のクロム濃度 (ng/mL)

f ：標準溶液のファクター

d ：希釈倍数

W ：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) クロムの質量数はアルゴンと溶液中の窒素または酸素が反応した質量数と重なるため，ヘリウムガスモードを用いて測定する。

18-2. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

クロム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1%塩酸で希釈し、検量線作成用として0.1～1.0 µg/mLの標準溶液を調製する。測光方式の違いや感度により、標準溶液の濃度を適宜調整する。

1000µg/mLイットリウム標準溶液（原子吸光分析用）：内標準用、適宜希釈して用いる。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法あるいはA-4. 湿式分解法（密閉系：マイクロ波利用）に従い、試料溶液を調製する。試料溶液中の塩濃度が高い場合は、発光強度の低下が認められるので、希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試料溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試料溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試験溶液中の濃度（ A ）を求める。測定波長は206.149 nmを用いる。

試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、イットリウム内標準溶液を用いて補正を行う。

(5) 計算

$$\text{クロム含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times V \times \frac{d}{W} \times 100$$

A ：検量線から求めたクロムの濃度（µg/mL）

f ：標準溶液のファクター

V ：定容量（mL）

d ：希釈倍数

W ：試料採取量（g）

18-3. キレート抽出-原子吸光光度法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-1. 原子吸光光度法に同じ。

分液漏斗：ほうけい酸ガラス製のスキップ形で容量100 mL，テフロンコック付きを用いる。

共栓試験管：容量10 mLのものを用いる。

(2) 試薬

2%ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム (DDTC) 溶液：DDTC (原子吸光分析用) 2 gをイオン交換水に溶かして100 mLとする。この溶液は用時調製する。

10%ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液：ペルオキシ二硫酸アンモニウム (特級) 10 gをイオン交換水に溶かして100 mLとする。

酢酸緩衝液：1 mol/L酢酸 (特級) 59 mLと1 mol/L酢酸ナトリウム (特級) 141 mLを混合しpH5.0に調整する。

希アンモニア水：アンモニア水 (原子吸光分析用25.0~27.9%) をイオン交換水で2倍に希釈する。

硝酸：精密分析用60.0~61.0%

10%硝酸：硝酸をイオン交換水で希釈して10%とする。

塩酸：塩酸 (原子吸光分析用35.0~37.0%)

1%塩酸：塩酸をイオン交換水で希釈して1%とする。

メチルイソブチルケトン (MIBK)：原子吸光分析用

ブロムフェノールブルー指示薬：ブロムフェノールブルー0.1 gを乳鉢に入れ，少量の0.05 mol/L水酸化ナトリウム溶液を加えて充分すり混ぜ，イオン交換水に溶かして250 mLとする。

クロム標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1%塩酸で希釈し，検量線作成用として0.5~2 µg/mLの標準溶液を調製する。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法に従い，試料溶液を調製する。

(4) 測定

試料溶液の適当量を正確に容量100 mLビーカーにはかりとる。10%硝酸10 mLを加えた後，10%ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液5 mLを加える。ブロムフェノールブルー指示薬を数滴加え，溶液の色が黄色からくすんだ黄緑色に変わるまで希アンモニア水を滴下する (pH3.0~4.0)。時計皿で蓋をして沸とう水浴上で15分加熱する。放冷後，分液漏斗に移しイオン交換水45 mLを3回に分けビーカーを洗い，洗液を分液漏斗に合わせる。酢酸緩衝液5 mLを加え振り混ぜる。DDTC 溶液5 mLを加え，5分放置後，MIBK10 mLを正確に加え5分間振とうする。静置後，MIBK層を共栓試験管に分取する。このMIBKをアセチレン-空気フレームに吸入噴霧して，357.9 nmの吸光度を測定する。同様の操作を行って作成した検量線から，クロムの濃度 (A) を求める。

(5) 計算

$$\text{クロム含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times 10 \times \frac{d}{W} \times 100$$

A：検量線から求めたクロムの濃度 (µg/mL)

f：標準溶液のファクター

d：希釈倍数

W：試料採取量 (g)

19. モリブデン

19-1. 誘導結合プラズマ質量分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(2) 試薬

17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-4. 湿式分解法（密閉系）に従い，分解を行う。放冷後，分解液をとり酢酸1 mL及び混合内標準溶液を500 µL添加し，イオン交換水を加えて50 mLに定容する。試料溶液中の塩濃度が高い場合は，イオンカウント数の変動が認められるので，希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試料溶液と近似させる必要がある。（注1）

(4) 測定

測定用標準溶液についてICP-MSを用い，内標準物質とのイオンカウント比を求め，標準溶液のモリブデン濃度により検量線を作成する。同様に，試料溶液を測定し，あらかじめ作成した検量線から試料溶液中のモリブデン濃度（ A ）を求める。ただし，缶詰食品など，スズが測定を妨害する場合はガリウムを内標準元素とする。

測定質量数：モリブデン98（内標：インジウム115あるいはガリウム78）

ガスモード：ノンガスモード

他の条件は，17-1. 誘導結合プラズマ質量分析法に同じ。

(5) 計算

$$\text{モリブデン含量 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = A \times f \times d \times \frac{50}{W} \times \frac{1}{10}$$

A ：試料溶液のモリブデン濃度（ng/mL）

f ：標準溶液のファクター

d ：希釈倍数

W ：試料採取量（g）

[注解]

（注1） 果実や野菜に含まれている空気による内容物の色や香りなどの品質の変化を防ぐため，缶詰にはスズが用いられている。通常の食品ではスズの含有量が微量であり問題ないが，スズの同位体の質量数とインジウムの質量数が重なってしまうため，缶詰の場合はガリウムを内標準元素として用いる。

19-2. 誘導結合プラズマ発光分析法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

7-2. 誘導結合プラズマ発光分析法に同じ。

(2) 試薬

モリブデン標準溶液：市販の原子吸光分析用標準溶液を1%塩酸で希釈し、検量線作成用として10~2000 ng/mLの標準溶液を調製する。プラスチック製容器に保存する。測光方式の違いや感度により、標準溶液の濃度を適宜調整する。

1000 µg/mLイットリウム標準溶液（原子吸光分析用）：内標準用、適宜希釈して用いる。

他は、A-2. 乾式灰化法又はA-4. 湿式分解法（密閉系：マイクロ波利用）に同じ。

(3) 試料溶液の調製

A-2. 乾式灰化法あるいはA-4. 湿式分解法（密閉系：マイクロ波利用）に従い、試料溶液を調製する。試験溶液中の塩濃度が高い場合は、発光強度の低下が認められるので、希釈するか（希釈倍数： d ）標準溶液の元素組成を試験溶液と近似させる必要がある。

(4) 測定

誘導結合プラズマ発光分析装置を用いて、測定用試験溶液を直接ネブライザーで吸入噴霧し、試験溶液の発光強度を測定し、あらかじめ作成した検量線から測定用試験溶液中の濃度（ A ）を求める。測定波長は202.03 nmを用いる。試料溶液中の元素組成の影響などにより測定時に干渉を受ける場合、イットリウム内標準溶液を用いて補正を行う。

(5) 計算

$$\text{モリブデン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = A \times f \times V \times \frac{d}{W} \times \frac{1}{10}$$

A ：検量線から求めたモリブデンの濃度 (ng/mL)

f ：標準溶液のファクター

V ：定容量 (mL)

d ：希釈倍数

W ：試料採取量 (g)

第3章 ビタミン

I. 脂溶性ビタミン

20. レチノール

20-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外部吸光度検出器付き）

振り混ぜ機

恒温水槽

遠心分離機

ロータリーエバポレーター

共栓褐色遠心管

褐色なす形フラスコ

クロマト管

(2) 試薬

レチノールパルミチン酸エステル標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）又は同等品（注1）

ピロガロール：特級

水酸化カリウム：特級

塩化ナトリウム：特級

活性アルミナ：Merck, Art.1097

酢酸エチル：残留農薬試験用

ヘキサン：残留農薬試験用

石油エーテル：残留農薬試験用

ジエチルエーテル：残留農薬試験用

エタノール：特級又は残留農薬試験用

メタノール：高速液体クロマトグラフ用

2-プロパノール：特級

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）：特級（注2）

dl- α -トコフェロール：特級（注2）

0.05 g/L dl- α -トコフェロール-エタノール溶液

10 g/L塩化ナトリウム溶液

600 g/L水酸化カリウム溶液

ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液（9：1.5：1 v/v/v，約24 mg/L BHT含有）

石油エーテル-ジエチルエーテル混液（95：5 v/v）

石油エーテル-ジエチルエーテル混液（8：2 v/v）

メタノール-水混液（88：12 v/v）

(3) 標準溶液の調製

標準品1カプセルを容量60 mL共栓褐色遠心管にとり、ピロガロール0.3 g及び10 g/L塩化ナトリウム溶液1 mLを加え、70 °C恒温水槽で5分間加熱膨潤する。エタノール10 mL，水酸化カリウム3 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLを加え、70 °C水浴中で時々攪拌しながら、30分間加熱する。

冷水中で速やかに室温まで冷却し、10 g/L塩化ナトリウム溶液20 mL及びヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液（9：1.5：1 v/v/v，約24 mg/L BHT含有）14 mLを加える。栓をして5分間振り混ぜ、1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。残った水層にヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液（9：1.5：1 v/v/v，約24 mg/L BHT含有）14 mLを加え、

同様の操作を2回繰り返す。有機溶媒層を合わせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物を2-プロパノール50 mLに溶解して標準原液とする。標準原液を2-プロパノールで適宜希釈し、レチノール濃度で2~3 µg/mLの希釈標準液を調製し、この液について325 nmの吸光度を測定する。次式により希釈標準液のレチノール濃度を求める。

$$\text{レチノール濃度 (}\mu\text{g/mL)} = \frac{E \times 549}{100}$$

E : 希釈標準液の325 nmにおける吸光度 (対照 : 2-プロパノール・1 cmセル)

標準原液を0.05 g/L dl- α -トコフェロール-エタノール溶液で希釈し、約0.006~3 µg/mLの溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(4) 操作

1) けん化

試料を十分に均質化し(注3)、その0.1~4 g (W)を容量60 mL共栓褐色遠心管にはかりとり、ピロガロール0.3 g及び10 g/L塩化ナトリウム溶液2 mL(注4)を加えてかき混ぜる。エタノール10 mL、水酸化カリウム2 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液1 mL(注5)を加え、70 °C水浴中で時々攪拌しながら、30分間加熱する。

2) 抽出

けん化後、冷水中で速やかに室温まで冷却し、10 g/L塩化ナトリウム溶液20 mL及びヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液(9 : 1.5 : 1 v/v/v、約24 mg/L BHT含有)14 mLを加える。栓をして振り混ぜ機で5分間振り混ぜ、1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。残った水層にヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液(9 : 1.5 : 1 v/v/v、約24 mg/L BHT含有)14 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。有機溶媒層を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物に、試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるようにエタノールを加えて溶解し、試料溶液(V)とする。

3) カラムクロマトグラフィー(注6)

アルミナは、水約10%を加え、よく振り混ぜ混合して、乾燥剤を入れないデシケーター中で一夜放置し、平衡状態にして用いる。内径1 cmのクロマト管に、アルミナを石油エーテルにけん濁させて、約7 cmの高さまで充填する。これに2)で得られた試料溶液を石油エーテルに置換した溶液を静かに流し入れ、約1 mL/分で流出する。カラム上部の液がなくなる直前に石油エーテル5 mLを加え、さらに3回繰り返す。続いて石油エーテル-ジエチルエーテル混液(95 : 5 v/v)で不純物を溶出させる。受器に褐色なす形フラスコを置き石油エーテル-ジエチルエーテル混液(8 : 2 v/v)を流し入れ、レチノール画分を溶出する。

溶出液をロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物に、試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるようにエタノールを加えて溶解し、試料溶液(V)とする。

4) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

カラム : 内径4.6 mm 長さ150 mm ODS系逆相型カラム (例えばSunFire C18, µm)

移動相 : メタノール-水混液 (88 : 12 v/v)

流量 : 1.0 mL/分

温度 : 40 °C

波長 : 325 nm

5) 測定

試料溶液20 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、レチノールのピーク面積を測定する。同時にレチノール標準溶液20 µLを注入し、レチノールの検量線を作成する。

(5) 計算

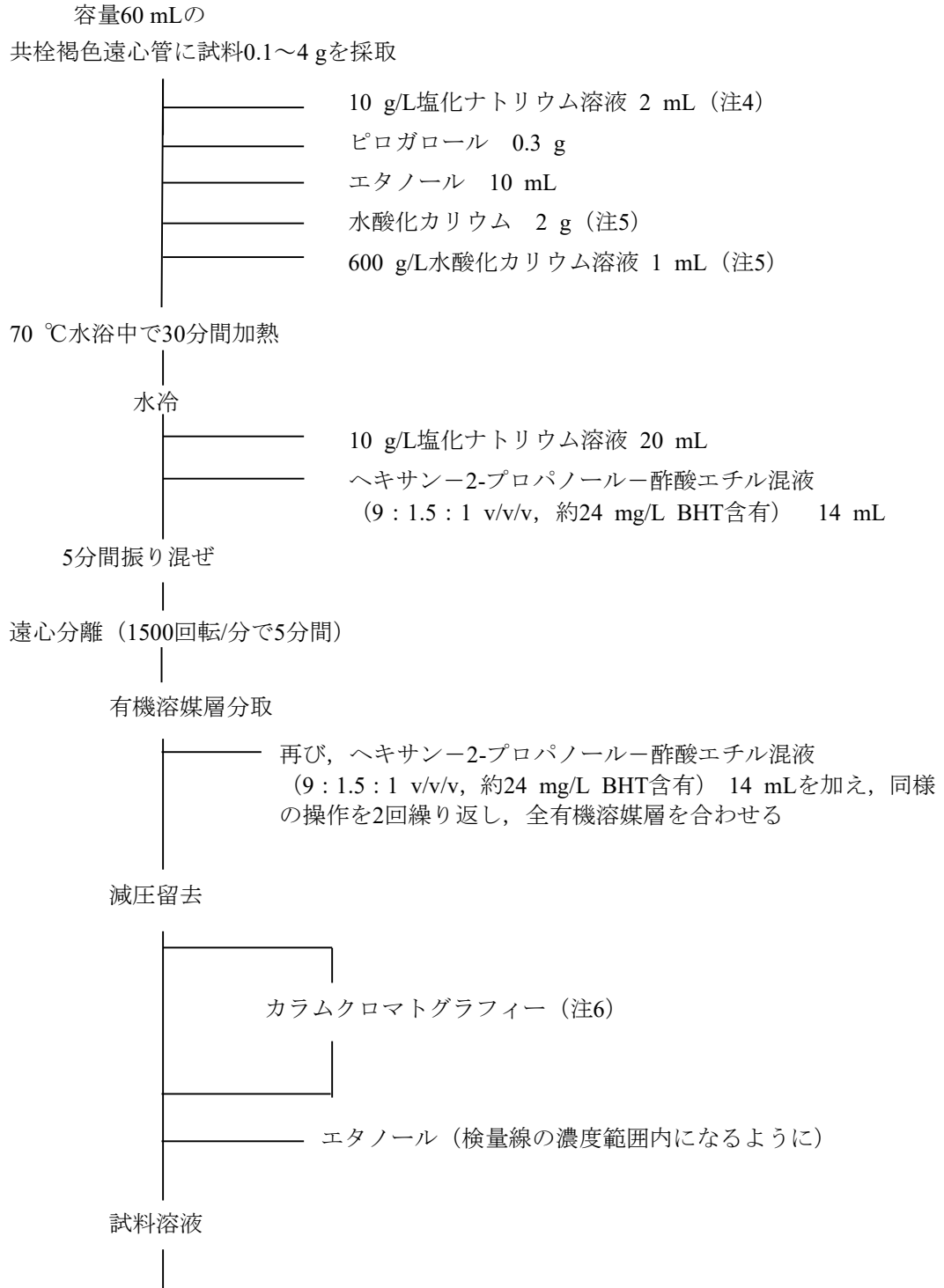
$$\text{レチノール含量 (}\mu\text{g/100 g)} = C \times V \times N \times \frac{100}{W}$$

C : 検量線より求めた試料溶液中のレチノール濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
 V : 試料溶液量 (mL)
 N : 希釈率
 W : 試料採取量 (g)

[注解]

- (注1) パルミチン酸レチノールは0.550 μg が1国際単位 (IU) に相当する。
- (注2) BHT及びdl- α -トコフェロールは酸化防止剤として加える。
- (注3) 魚介類などの試料についてはレチノールの劣化を防ぐため、ピロガロールを混ぜて均質化する。
- (注4) 肉類や惣菜など、油分の多い試料については1 mLとする。添加する水分が多いと、油分が分離してけん化が充分に行われなためである。また、試料が穀類の場合、10 g/L塩化ナトリウム溶液を加えることにより試料が凝固する場合がある。このような試料においては10 g/L塩化ナトリウム溶液は加えない。
- (注5) 肉類や惣菜など、油分の多い試料については、けん化不足を防ぐため、加えるアルカリの量を増やす場合がある (水酸化カリウム3 g, 600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLなど)。
- (注6) 高速液体クロマトグラフィーでの分離が困難な場合や妨害ピークを認めた場合は、カラムの種類を変える、またはカラムスイッチ法を行うことで改善する場合がある。いずれにおいても改善されない場合に実施する。

レチノール定量法・フローチャート



20 μ Lを高速液体クロマトグラフに注入,
紫外外部吸光光度検出器で測定

21. α -カロテン、 β -カロテン及び β -クリプトキサンチン

21-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。主に、野菜類、果実類、藻類、香辛料類及び調理加工食品はHAET（注1）抽出法を用い、それ以外は直接けん化法を用いるが、含量が200 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 以上の場合にはHAET抽出法を用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（可視部吸光光度検出器付）
振り混ぜ器
恒温水槽
遠心分離器
ロータリーエバポレーター
共栓褐色遠心管
なす形フラスコ
全量フラスコ
超音波発生器

(2) 試薬

α -カロテン標準品 高速液体クロマトグラフ用：富士フィルム和光純薬工業（株）又は同等品
 β -カロテン標準品 高速液体クロマトグラフ用：富士フィルム和光純薬工業（株）又は同等品
 β -クリプトキサンチン標準品：EXTRASYNTHÈSE S.A.又は同等品
ピロガロール：特級
塩化ナトリウム：特級
水酸化カリウム：特級
エタノール：残留農薬試験用又は特級
ヘキサン：残留農薬試験用
アセトン：特級
トルエン：特級
酢酸エチル：残留農薬試験用
2-プロパノール：特級
石油エーテル：残留農薬試験用
シクロヘキサン：特級
アセトニトリル：残留農薬試験用
テトラヒドロフラン：特級
メタノール：高速液体クロマトグラフ用
酢酸：特級
2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）：特級（注2）
dl- α -トコフェロール：特級（注2）
HAET（注1）
600 g/L水酸化カリウム溶液
10 g/L塩化ナトリウム溶液
ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液（9：1.5：1 v/v/v，約24 mg/L BHT含有）
アセトニトリル-メタノール-テトラヒドロフラン-酢酸混液
（55：40：5：0.1 v/v/v/v，0.05 g/L dl- α -トコフェロール含有）
1 g/L BHT石油エーテル溶液
1 g/L BHTシクロヘキサン溶液
1 g/L BHTヘキサン溶液
エタノール-HAET混液（6：4 v/v 約0.05 g/L dl- α -トコフェロール及び約1 g/L BHT含有）

(3) 標準溶液の調製

(a) α -カロテン標準溶液

α -カロテン標準品10 mgを1 g/L BHTの石油エーテル溶液に溶解し、100 mLに定容し標準原液とする。この標準原液を石油エーテルで40倍に希釈し444 nmの吸光度を測定する。 α -カロテンの吸光係数

($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2800$) を用いて標準原液中の α -カロテン濃度を求める。

$$\text{標準原液の}\alpha\text{-カロテン濃度 (}\mu\text{g/mL)} = \frac{E \times 10000}{2800} \times 40$$

E : 444 nmにおける吸光度 (対照 : 石油エーテル, 1 cmセル)

標準原液をエタノール-HAET混液 (6 : 4 v/v 約0.05 g/L dl- α -トコフェロール及び約1 g/L BHT含有) で希釈して約0.004~3 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(b) β -カロテン標準溶液

β -カロテン標準品10 mgを1 g/L BHTシクロヘキサン溶液で溶解し、100 mLに定容して標準原液とする。この標準原液をシクロヘキサンで40倍に希釈し、455 nmの吸光度を測定する。 β -カロテンの吸光係数 ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$) を用いて標準原液中の β -カロテン濃度を求める。

$$\text{標準原液の}\beta\text{-カロテン濃度 (}\mu\text{g/mL)} = \frac{E \times 10000}{2500} \times 40$$

E : 455 nm における吸光度 (対照 : シクロヘキサン1 cmセル)

標準原液をエタノール-HAET混液 (6 : 4 v/v 約0.05 g/L dl- α -トコフェロール及び約1 g/L BHT含有) で希釈して約0.004~8 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(c) β -クリプトキサンチン標準溶液

β -クリプトキサンチン標準品1 mgをHAET5 mLで溶解した後、1 g/L BHTヘキサン溶液で50 mLに定容し標準原液とする。この標準原液をヘキサンで10倍に希釈し、450 nmの吸光度を測定する。 β -クリプトキサンチンの吸光係数 ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2460$) を用いて標準溶液中の β -クリプトキサンチン濃度を求める。

$$\text{標準原液の}\beta\text{-クリプトキサンチン濃度 (}\mu\text{g/mL)} = \frac{E \times 10000}{2460} \times 10$$

E : 450 nmにおける吸光度 (対照 : ヘキサン, 1 cmセル)

標準原液をエタノール-HAET混液 (6 : 4v/v 約0.05 g/L dl- α -トコフェロール及び約1 g/L BHT含有) で希釈して約0.004~1.5 $\mu\text{g/mL}$ の溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(4) 操作

1) 前処理

(a) HAET抽出法 (試料が野菜類, 果実類, 藻類, 香辛料類及び調理加工食品で含量が200 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 以上と考えられる場合)

試料を十分に均質化し (注3), その0.1~8 g (W) を容量100 mL白色広口全量フラスコにはかりとり, ピロガロール2 g, 水5 mL (注4), HAET40 mL (注5) 及びエタノール20 mLを加える。栓をして15 分間振とうする。エタノールで定容し, 超音波発生器に10 分間放置する (注6)。抽出液10 mL (注7) を容量60 mL共栓褐色遠心管にとり, 600 g/L水酸化カリウム溶液2 mL (注7) を加え, 70 $^{\circ}\text{C}$ の水浴中で時々攪拌しながら, 30分間加熱する。 (注8)

(b) 直接けん化法 ((a) の対象以外の試料)

試料を十分に均質化し (注3), その約0.1~4 g (W) を容量60 mL共栓褐色遠心管にはかりとり, ピロガロール0.3 g, 10 g/L塩化ナトリウム溶液2 mL (注9) を加えてかき混ぜる。エタノール10 mL,

水酸化カリウム2 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液1 mL (注10) を加え、70 °Cの水浴中で時々攪拌しながら、30分間加熱する。

2) 抽出

けん化後、冷水中で速やかに室温まで冷却し、10 g/L塩化ナトリウム溶液20 mL、ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液 (9 : 1.5 : 1 v/v/v, 約24 mg/L BHT含有) 14 mLを加える。栓をして5分間振り混ぜ、1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層をなす形フラスコに移す。残った水層にヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液 (9 : 1.5 : 1 v/v/v, 約24 mg/L BHT含有) 14 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。有機溶媒層を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるようにエタノールを加えて溶解し、試料溶液 (I) とする。

3) 高速液体クロマトグラフの操作条件例 (注11)

カラム：内径4.6 mm 長さ250 mm ODS系逆相型カラム (例えばInertsil ODS-4, 5 µm)

移動相：アセトニトリル-メタノール-テトラヒドロフラン-酢酸混液
(55 : 40 : 5 : 0.1 v/v/v/v, 0.05 g/L dl-α-トコフェロール含有)

流量：1.5 mL/分

温度：40 °C

波長：455 nm

4) 測定

試料溶液20 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、α-カロテン、β-カロテン及びβ-クリプトキサンチンのピーク面積を測定する。同時にα-カロテン、β-カロテン及びβ-クリプトキサンチン標準溶液をそれぞれ20 µL注入し、α-カロテン、β-カロテン及びβ-クリプトキサンチンの検量線を作成する。

(5) 計算

$$\alpha-, \beta\text{-カロテン又は}\beta\text{-クリプトキサンチン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = C \times V \times N \times \frac{100}{W}$$

C：検量線より求めた試料溶液中のα-, β-カロテンまたはβ-クリプトキサンチン濃度 (µg/mL)

V：定容量 (mL)

N：希釈率

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) ヘキサン、アセトン、エタノール及びトルエンの混液 (10 : 7 : 6 : 7 v/v/v/v)

(注2) BHT, dl-α-トコフェロールは酸化防止剤として加える。

(注3) 野菜類などの試料については劣化を防ぐため、ピロガロールを混ぜて均質化することがある。

(注4) 試料が水分を多く含む場合には水の添加は不要。試料が糖分を多く含む場合は有機溶媒を加えると固まる可能性があるため、水を加えて薄めると良い。水分の総量が8 mLを超えると水分と有機溶媒が分離するので8 mLを超えないようにする。試料が藻類の場合、水を加えて70 °Cの水浴で5分程度加熱すると抽出しやすくなる。

(注5) 10 mLずつ加え、そのたびによく攪拌する。

(注6) 色素が試料から抽出液に抜けていることを確認する。

(注7) カロテンやクリプトキサンチンの含量が低い試料の場合は抽出液を20 mL分取する。その場合は水酸化カリウム溶液を2 mL及び水酸化カリウム1 gを加える。

(注8) 人参、人参ジュース等が試料の場合はけん化は省略できる。

(注9) 肉類や加工品など、油分の多い試料においては1 mLとする。添加する水分が多いと油分が分離してけん化が充分におこなわれないためである。また、試料が穀類の場合、10 g/L塩化ナトリウム溶液を加えることにより試料が凝固する可能性があるため10 g/L塩化ナトリウム溶液を加えない。

(注10) 肉類や加工品など、油分の多い試料においてはけん化不足を防ぐため、アルカリの量を増やす場合がある。(水酸化カリウム3 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLなど)

(注11) 高速液体クロマトグラフィーでの分離が困難な場合や妨害ピークを認めた場合は、カラムの種類を変えることで改善する場合がある。

α-カロテン、β-カロテン及びβ-クリプトキサンチン定量法・フローチャート-1
-HAET抽出法-

容量100 mL 白色広口全量フラスコに試料 0.1~8 gを採取

ピロガロール 2 g
水 0~8 mL (注4)
HAET 40 mL (注5)
エタノール 20 mL

15 分間振とう

エタノールで定容

超音波 10 分間 (注6)

抽出液10 mLを容量60 mL褐色遠心管に移す (注7)

600 g/L水酸化カリウム溶液 2 mL (注7)

70 °C水浴中で30分間加熱

水冷

10 g/L 塩化ナトリウム溶液 20 mL
ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液
(9 : 1.5 : 1 v/v/v 約24 mg/L BHT含有) 14 mL

5分間振り混ぜ

遠心分離 (1500回転/分で5分間)

有機溶媒層分取

再び、ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液
(9 : 1.5 : 1 v/v/v 約24 mg/L BHT含有) 14 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す、全有機溶媒層を合わせる

減圧留去

エタノール (検量線の濃度範囲内になるように)

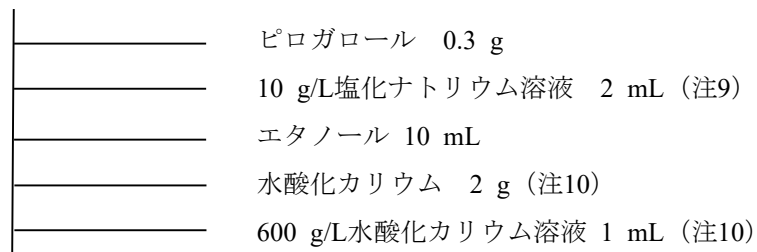
試料溶液

20 µLを高速液体クロマトグラフに注入し

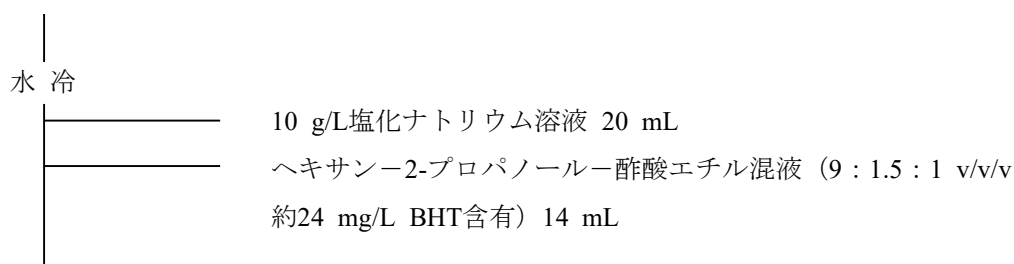
可視部吸光光度検出器で測定

α-カロテン、β-カロテン及びβ-クリプトキサンチン定量法・フローチャート-2
ー直接けん化法ー

容量60 mLの共栓褐色遠心管に試料0.1～4 gを採取



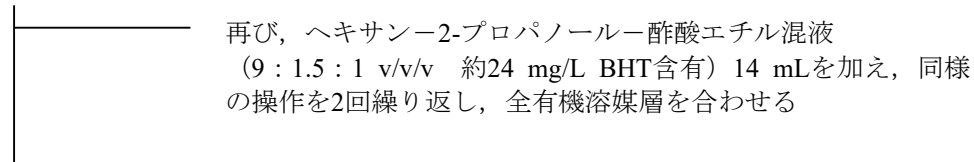
70 °C水浴中で30分間加熱



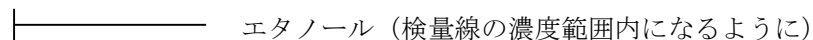
5分間振り混ぜ

遠心分離 (1500回転/分で5分間)

有機溶媒層分取



減圧留去



試料溶液

20 μLを高速液体クロマトグラフに注入し

可視部吸光光度検出器で測定

22. カルシフェロール（ビタミンD）

22-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる（注1）。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外外部吸収検出器付き）

振り混ぜ機

恒温水槽

遠心分離機

ロータリーエバポレーター

遠心管

なす形フラスコ

フラクションコレクター

(2) 試薬

エルゴカルシフェロール標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）又は同等品

コレカルシフェロール標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）又は同等品

エタノール：特級

2-プロパノール：特級

塩化ナトリウム：特級

ピロガロール：特級

6-エトキシ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン（エトキシキン）（注2）

dl- α -トコフェロール：特級（注2）

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）：特級（注2）

水酸化カリウム：特級

アセトニトリル：残留農薬試験用，特級又は高速液体クロマトグラフ用

酢酸エチル：残留農薬試験用又は特級

ヘキサン：残留農薬試験用又は特級

ジエチルエーテル：残留農薬試験用又は特級

10 g/L塩化ナトリウム溶液

30 g/Lピロガロール-エタノール溶液（0.01 %エトキシキン及び0.005 %dl- α -トコフェロール含有）

600 g/L水酸化カリウム溶液

ヘキサン-酢酸エチル混液（9：1 v/v）

第1段階高速液体クロマトグラフィー用移動相：ヘキサン-2-プロパノール（99：1 v/v，0.002 %エトキシキン含有）

第2段階高速液体クロマトグラフィー用移動相：アセトニトリル-水混液（9：1 v/v）

(3) 標準溶液の調製

エルゴカルシフェロール標準品（ビタミンD2）及びコレカルシフェロール標準品（ビタミンD3）各50 mgをそれぞれヘキサンに溶解し，200 mLに定容する。これらの溶液をそれぞれ一定量分取し，溶媒留去後，それぞれの濃度が0.25 μ g/mLになるようにアセトニトリルで希釈し，カルシフェロール標準溶液とする（目安としてBHTを0.04 %添加する）。標準品はあらかじめエタノール溶液として230 nmの吸光度/265 nmの吸光度を測定し，0.65以下であることを確認する。

(4) 操作

1) けん化

試料0.5~10 g (*W*) を遠心管にはかりとる。別に、カルシフェロール標準溶液2 mLを遠心管に分取し、試料と同様に以下の操作を行う。遠心管に10 g/L塩化ナトリウム溶液3 mL (注3), 30 g/Lピロガロールエタノール溶液 (0.01 %エトキシキン及び0.005 %dl- α -トコフェロール含有) 10 mL, 水酸化カリウム3 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLを加え、70 °C水浴中でときどき攪拌しながら60分間加温する。

2) 抽出

けん化後、冷水中で速やかに室温まで冷却し、10 g/L塩化ナトリウム溶液19 mL (注3) 及びヘキサノール酢酸エチル混液 (9 : 1 v/v) 15 mLを加え、栓をして5分間振り混ぜ、1500~3000回転/分で5分間遠心分離後、上層をなす形フラスコに移す。残った水層にヘキサノール酢酸エチル混液 (9 : 1 v/v) 15 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物をジエチルエーテルに溶解し、共栓付き小試験管に移した後、溶媒を留去する。残留物をヘキサノール500~5000 μ L (ただし、カルシフェロール標準溶液は1000 μ L) に溶解し、カルシフェロール画分分取用試料溶液及びカルシフェロール画分分取用標準溶液とする。

3) 第1段階高速液体クロマトグラフィー

得られたカルシフェロール画分分取用試料溶液及びカルシフェロール画分分取用標準溶液の150 μ Lをフラクションコレクターを連結した高速液体クロマトグラフに注入し、カルシフェロール画分を分取する。

[操作条件例]

カラム：内径4.6~6.0 mm, 長さ250 mm, 順相型カラム (例えばPOLYGOSIL 60, 5 μ m)

移動相：ヘキサノール-2-プロパノール混液 (99 : 1 v/v, 0.002 %エトキシキン含有)

流量：1.5 mL/分

波長：265 nm

カルシフェロール画分：あらかじめ、けん化していないコレカルシフェロールのヘキサノール溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、保持時間を確認後、分取する画分を決めておく (例えば、保持時間の30秒前から2分間)。

4) 第2段階高速液体クロマトグラフィー

第1段階で分取したカルシフェロール画分の溶媒を留去し、残留物をアセトニトリル400 μ Lに溶解する。この50 μ Lを高速液体クロマトグラフに注入し、カルシフェロールのピークの高さを測定する。同様にカルシフェロール標準溶液50 μ Lを注入し、標準溶液のピーク高さから試料中の含量を求める。

[操作条件例]

カラム：内径4.6~6.0 mm, 長さ150~250 mm, ODS系 逆相型カラム (例えばYMC-Pack ODS-AL)

移動相：アセトニトリル-水混液 (9 : 1 v/v)

流量：1.5 mL/分

波長：265 nm

(5) 計算

$$\text{カルシフェロール含量 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times V \times N \times \frac{100}{W}$$

C : 検量線より求めた試料溶液中のカルシフェロール濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

V : カルシフェロール画分分取用試料溶液の定容量 (mL)

N : 希釈率

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 卵類, 乳類については, エルゴカルシフェロールあるいはコレカルシフェロールよりも活性の高い代謝物 (25-ヒドロキシカルシフェロール, 24,25-ジヒドロキシカルシフェロール, 1,25-ジヒドロキシカルシフェロール) が含まれているが, 本試験法ではこれらの物質は測定できない。

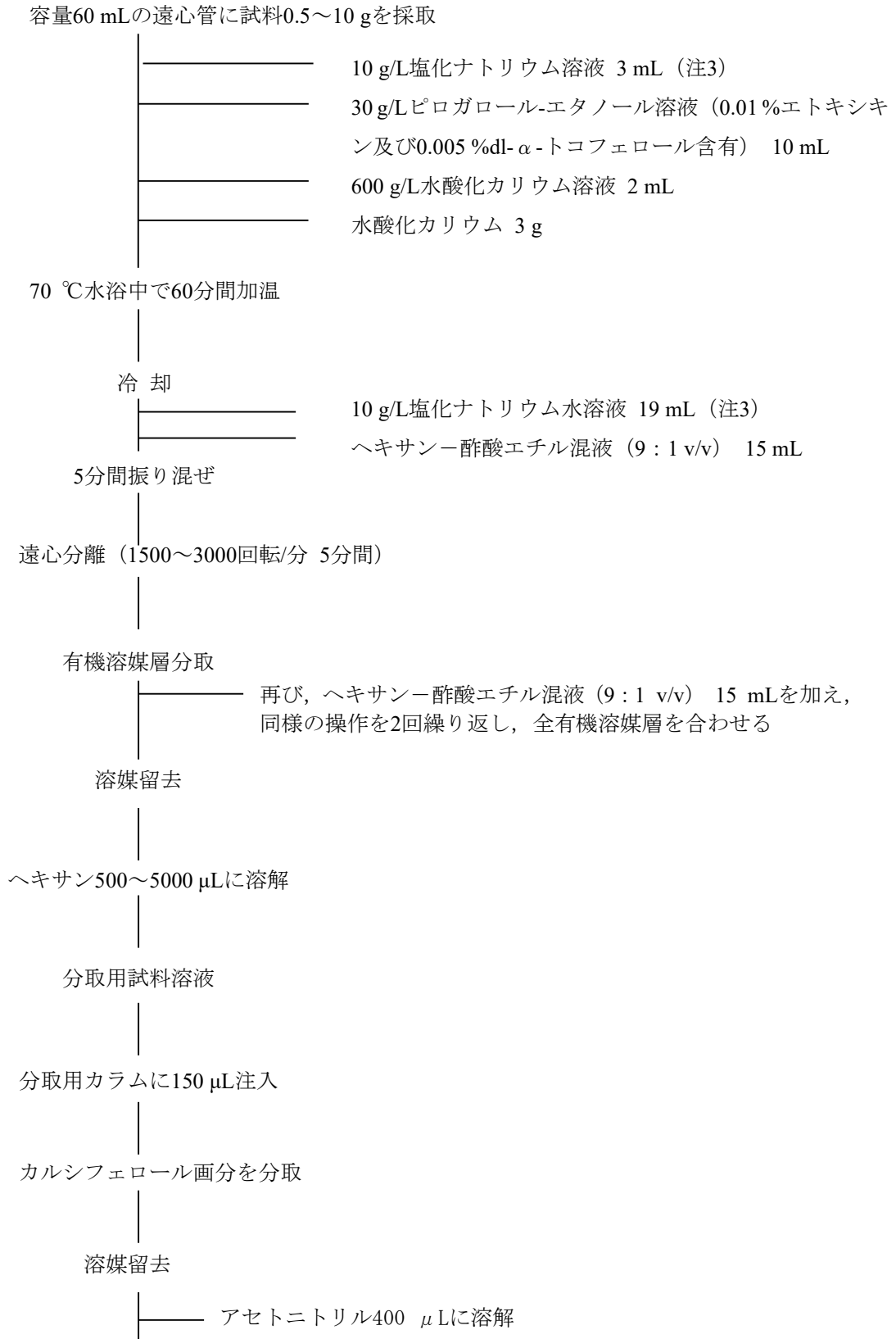
(注2) エトキシキン, dl- α -トコフェロール, BHTは酸化防止剤として加える。

(注3) 液体の場合は採取量に応じて5~7.5 mL加える。ただし, 脂質含量が高い食品には加えない

方がよい。また，試料採取後に加えた10 g/L塩化ナトリウム溶液の量により，けん化後は合計量として22 mLになるように適宜加える。

カルシフェロール定量法・フローチャート

(カルシフェロール標準溶液について、以下の操作を同様に行う。)



分析カラムに50 μ L注入，測定
紫外外部吸収検出器で測定

22-2. 高速液体クロマトグラフ法 25-ヒドロキシビタミンD

[適用]

卵類，乳類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外外部吸収検出器付き）

振り混ぜ機

恒温水槽

遠心分離機

ロータリーエバポレーター

遠心管

なす形フラスコ

フラクションコレクター

(2) 試薬

カルシフェジオール：生化学用（富士フィルム和光純薬（株））又は同等品

25-ヒドロキシビタミンD₂標準液（50 µg/mL）：Sigma-Aldrich又は同等品

エタノール：特級

2-プロパノール：特級

塩化ナトリウム：特級

ピロガロール：特級

6-エトキシ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン（エトキシキン）（注1）

dl- α -トコフェロール：特級（注1）

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）：特級（注1）

水酸化カリウム：特級

アセトニトリル：残留農薬試験用，特級又は高速液体クロマトグラフ用

酢酸エチル：残留農薬試験用又は特級

ヘキサン：残留農薬試験用又は特級

ジエチルエーテル：残留農薬試験用又は特級

10 g/L塩化ナトリウム溶液

30 g/Lピロガロール-エタノール溶液（0.01 %エトキシキン及び0.005 %dl- α -トコフェロール含有）

600 g/L水酸化カリウム溶液

ヘキサン-酢酸エチル混液（9：1 v/v）

0.04 %BHT含有アセトニトリル

ヘキサン及び2-プロパノールの混液（95：5 v/v）

第1段階高速液体クロマトグラフィー用移動相：ヘキサン-2-プロパノール（97：3 v/v，0.01 %BHT含有）

第2段階高速液体クロマトグラフィー用移動相：アセトニトリル-水-メタノールの混液（6：3：1 v/v/v）

(3) 標準溶液の調製

25-ヒドロキシビタミンD₂標準液（50 µg/mL）1 mLを全量フラスコに分取し，溶媒留去後，0.04 %BHT含有アセトニトリルで50 mLに定容する。カルシフェジオール（25-ヒドロキシビタミンD₃）3 mgを0.04 %BHT含有アセトニトリルに溶解し，20 mLに定容後，0.04 %BHT含有アセトニトリルで100倍に希釈する。これらの溶液をそれぞれ一定量分取し，溶媒留去後，濃度が0.0075～0.15 µg/mLになるように0.04 %BHT含有アセトニトリルで希釈し，25-ヒドロキシビタミンD標準溶液とする。

(4) 操作

1) けん化

試料0.2～3 g（*W*）を遠心管にはかりとる。別に，25-ヒドロキシビタミンD標準溶液1～2 mLを遠

心管に分取し、試料と同様に以下の操作を行う。遠心管に10 g/L塩化ナトリウム溶液3 mL、30 g/Lピロガロール-エタノール溶液（0.01 %エトキシキン及び0.005 %dl- α -トコフェロール含有）10 mL、水酸化カリウム3 g及び600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLを加え、70 °C水浴中でときどき攪拌しながら60分間加温する。

2) 抽出

けん化後、冷水中で速やかに室温まで冷却し、10 g/L塩化ナトリウム溶液19 mL及びヘキサン-酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え、栓をして振り混ぜ機で5分間振り混ぜ、1500～3000回転/分で5分間遠心分離後、上層をなす形フラスコに移す。残った水層にヘキサン-酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。残留物をジエチルエーテルに溶解し、共栓付き小試験管に移した後、溶媒を留去する。残留物をヘキサン及び2-プロパノールの混液（95：5 v/v）500～1000 μ Lに溶解し、25-ヒドロキシビタミンD画分分取用試料溶液及びカルシフェロール画分分取用標準溶液とする。

3) 第1段階高速液体クロマトグラフィー

得られた25-ヒドロキシビタミンD画分分取用試料溶液の200 μ Lをフラクションコレクターを連結した高速液体クロマトグラフに注入し、25-ヒドロキシビタミンD画分を分取する。

[操作条件例]

カラム：内径4.6～6.0 mm、長さ250 mm、順相型カラム（例えばCAPCELL PAK NH2 UG80）

移動相：ヘキサン-2-プロパノール（97：3 v/v、0.01 %BHT含有）

流量：1.5 mL/分

波長：265 nm

25-ヒドロキシビタミンD画分：あらかじめ、けん化していない25-ヒドロキシビタミンDのヘキサン溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、保持時間を確認後、分取する画分を決めておく（例えば、保持時間の1分前から2分間）。

4) 第2段階高速液体クロマトグラフィー

第1段階で分取した25-ヒドロキシビタミンD画分の溶媒を留去し、残留物をアセトニトリル150 μ Lに溶解する。この100 μ Lを高速液体クロマトグラフに注入し、25-ヒドロキシビタミンDのピークの面積を測定する。同時に25-ヒドロキシビタミンD標準溶液100 μ Lを注入し、標準溶液のピーク面積から試料中の含量を求める。

[操作条件例]

カラム：内径4.6～6.0 mm、長さ250 mm、ODS系 逆相型カラム（例えばCadenza CL-C18）

移動相：アセトニトリル-水-メタノールの混液（6：3：1 v/v/v）

流量：1.5 mL/分

波長：265 nm

(5) 計算

$$25\text{-ヒドロキシビタミンD含量} (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times V \times N \times \frac{100}{W}$$

C：検量線より求めた試料溶液中の25-ヒドロキシビタミンD濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

V：25-ヒドロキシビタミンD画分分取用試料溶液の定容量 (mL)

N：希釈率

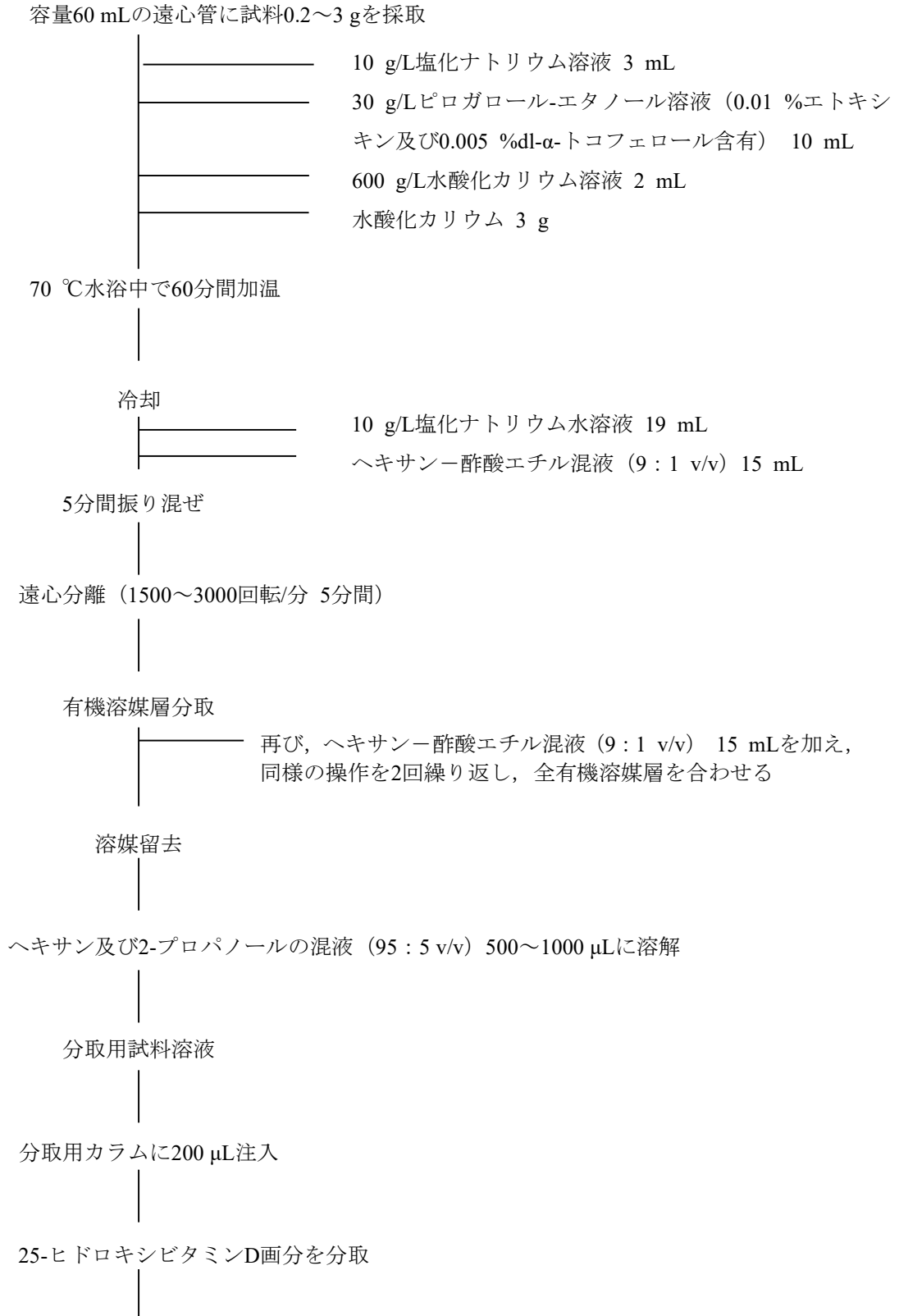
W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) エトキシキン、dl- α -トコフェロール、BHTは酸化防止剤として加える。

25-ヒドロキシビタミンD定量法・フローチャート

(25-ヒドロキシビタミンD標準溶液について、以下の操作を同様に行う。)



溶媒留去

┆ アセトニトリル150 μL に溶解

分析カラムに100 μL 注入，測定

紫外外部吸収検出器で測定

23. トコフェロール（ビタミンE）

23-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に食品に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（蛍光検出器付）

振り混ぜ機

恒温水槽

ロータリーエバポレーター

遠心分離機

共栓遠心管

褐色なす形フラスコ

全量フラスコ

(2) 試薬

ビタミンE定量用標準試薬（ α -、 β -、 γ -及び δ -トコフェロール）：三菱ケミカル（株）又は同等品

酢酸エチル：残留農薬試験用

ヘキサン：残留農薬試験用

エタノール：特級または残留農薬試験用

2-プロパノール：特級

メタノール：高速液体クロマトグラフ用

ピロガロール：特級

水酸化カリウム：特級

塩化ナトリウム：特級

酢酸：特級

6-エトキシ-2,2,4-トリメチル-1,2-ジヒドロキノリン（エトキシキン）（注1）

2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（BHT）：特級（注1）

0.1 g/Lエトキシキンのヘキサン溶液

10 g/L塩化ナトリウム溶液

600 g/L水酸化カリウム溶液

ヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液（9：1.5：1 v/v/v，約24 mg/L BHT含有）

ヘキサン-2-プロパノール-酢酸混液（1000：6：5 v/v/v，約5 μ g/mL BHT含有）

メタノール及び水の混液（9:1 v/v）

(3) 標準溶液の調製

各トコフェロール約200 mgをそれぞれはかりとり，エタノールを加え溶解後100 mLに定容する。

これらの溶液をそれぞれ50 mLずつ容量250 mL褐色全量フラスコに分取し，エタノールで定容し，混合原液とする。混合原液をなす形フラスコに分取し，ロータリーエバポレーターを用いて減圧留去後，0.1 g/Lエトキシキンのヘキサン溶液に溶解し各トコフェロール濃度約0.1～50 μ g/mLの溶液を数点調製し，高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(4) 操作

1) けん化

試料を十分に均質化し（注2），その約0.1～3 g（*W*）を容量60 mL遠心管に精密にはかり取り，ピロガロール0.3 g及び10 g/L塩化ナトリウム溶液2 mL（注3）を加えてかき混ぜる。エタノール10 mL及び600 g/L水酸化カリウム溶液2 mLを加え，70 °Cの水浴中で時々攪拌しながら30分間加熱する。

2) 抽出

けん化後，冷水中で速やかに室温まで冷却し，10 g/L塩化ナトリウム溶液20 mL及びヘキサン-

2-プロパノール-酢酸エチル混液 (9 : 1.5 : 1 v/v/v, 約24 mg/L BHT含有) 14 mLを加える。振り混ぜ機で5分間振り混ぜ、1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層をなす形フラスコに移す。残った水層にヘキサン-2-プロパノール-酢酸エチル混液 (9 : 1.5 : 1 v/v/v, 約24 mg/L BHT含有) 14 mLを加え、同様の操作を2回繰り返す。有機溶媒層を合わせ、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物に、試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように0.1 g/Lエトキシキンのヘキサン溶液を加えて溶解し、試料溶液 (V) とする。

3) 高速液体クロマトグラフの操作条件例 (注4)

カラム：内径4.6 mm, 長さ250 mm 順相カラム (例えばYMC-Pack SIL-06 S-5, 5 μ m)
移動相：ヘキサン-2-プロパノール-酢酸混液 (1000 : 6 : 5 v/v/v, 約5 μ g/mL BHT含有)
流量：1.5 ml/分
カラム温度：40 $^{\circ}$ C
波長：励起波長298 nm, 測定波長325 nm

4) 測定

試料溶液20~50 μ Lの一定量を高速液体クロマトグラフに注入し、各トコフェロールのピーク面積を測定する。同時にトコフェロール標準溶液20~50 μ Lの一定量を注入し、各トコフェロールの検量線を作成する。

(5) 計算

$$\alpha\text{-}, \beta\text{-}, \gamma\text{-}, \delta\text{-トコフェロール含量 (mg/100 g)} = \frac{C \times V \times N \times 100}{1000 \times W}$$

C: 検量線より求めた試料溶液中の α -、 β -、 γ -、 δ -トコフェロール濃度 (μ g/mL)
V: 試料溶液量 (mL)
N: 希釈率
W: 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) エトキシキン、BHTは抗酸化剤として加える。

(注2) 種実類などの試料においては、劣化を防ぐことを目的としてピロガロールを加えて均質化する。

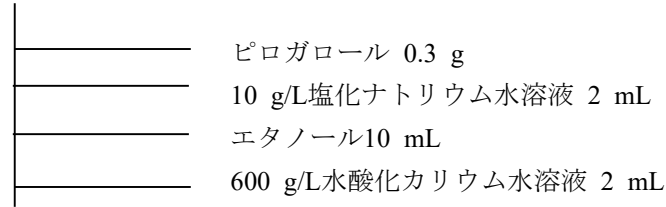
(注3) 試料が穀類の場合、10 g/L塩化ナトリウム溶液を加えることにより試料が凝固する場合がある。このような試料においては10 g/L塩化ナトリウム溶液は加えない。

(注4) 高速液体クロマトグラフィーで妨害ピークを認めた場合は、カラムの種類を変える (ODS系逆相型カラムなど) ことで改善する場合がある。または、以下の精製操作を行うと改善する場合がある。ODS系逆相型シリカゲルミニカラム (例えば、BOND ELUT LRC-C18 (アジレント・テクノロジー株式会社)) にメタノール10 mLを流し、次にメタノール及び水の混液 (9:1v/v) 10 mLを流しコンディショニングを行う。抽出で得られた試料溶液 (V) の一定量をなす形フラスコに分取し、溶媒を減圧留去後、メタノール及び水の混液 (9:1v/v) を5 mL加える。超音波発生器で溶解後、全量ODS系逆相型シリカゲルミニカラムに負荷する。さらにこの操作を2回繰り返した後、受け器を変え、メタノール5 mLを流して溶出液を回収する。回収した液を、メタノールを用いてなす形フラスコに洗いこみ、溶媒を減圧留去後、0.1 g/Lエトキシキンヘキサン溶液で定容し、試料溶液とする。

トコフェロール定量法・フローチャート

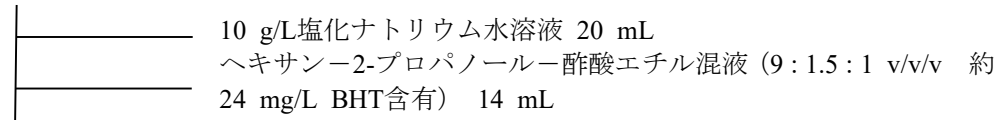
容量60 mLの共栓遠心管に

試料 0.1~3 g 採取



70 °C水浴中で30分間加温

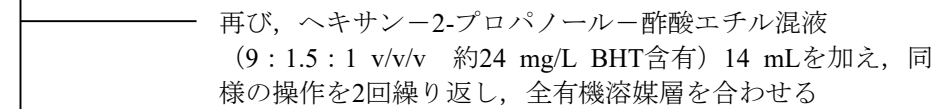
水 冷



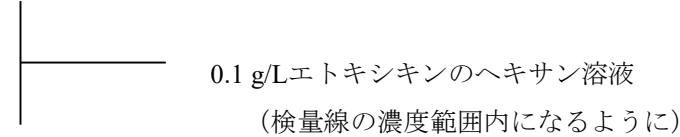
5分間振り混ぜ

遠心分離 (1500回転/分で5分間)

有機溶媒層分取



減圧留去



試料溶液

20~50 μLの一定量を高速液体クロマトグラフに注入,
蛍光分光検出器で測定

24. フィロキノン及びメナキノン類（ビタミンK）

24-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（蛍光検出器及びカラムスイッチングシステム付き）

振り混ぜ機

恒温水槽

遠心分離機

共栓褐色遠心管（注1）

ロータリーエバポレーター

シリカゲルミニカラム：Sep-Pak Silica Plus Long Cartridge（Waters, WAT020520）または同等品

ボルテックスミキサー

超音波発生器

乳鉢

乳棒

ガラスろ過器

褐色なす形フラスコ（注1）

褐色全量フラスコ（注1）

褐色広口全量フラスコ（注1）

褐色クロマト管（注1）

(2) 試薬

フィロキノン（ビタミンK1）標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団（フィトナジオン標準品））又は同等品

メナキノン-4（ビタミンK2）標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団（メナテトレノン標準品））又は同等品

メナキノン-7（ビタミンK2）標準品：富士フィルム和光純薬（株）又は同等品

クエン酸一水和物：特級

アセトン：特級

硫酸ナトリウム（無水）：特級

2-プロパノール：特級

ジエチルエーテル：残留農薬試験用

ヘキサン：残留農薬試験用

エタノール：特級または残留農薬試験用

メタノール：残留農薬試験用または高速液体クロマトグラフ用

酢酸エチル：残留農薬試験用

塩化ナトリウム：特級

シリカゲル：Merck, Art.7734または同等品

海砂

10 g/Lクエン酸溶液

ヘキサン-酢酸エチル混液（9：1 v/v）

ヘキサン-ジエチルエーテル混液（85：15 v/v）

(3) 標準溶液の調製

フィロキノン標準溶液：フィロキノン標準品約10 mgを容量100 mL褐色全量フラスコに正確にはかりとり、2-プロパノールで定容する。2-プロパノールで希釈し約0.0005～0.4 µg/mLの溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

メナキノン-4標準溶液：メナキノン-4標準品約10 mgを容量100 mL褐色全量フラスコに正確にはかりとり、2-プロパノールで定容する。2-プロパノールで希釈し約0.0005～0.4 µg/mLの溶液を数点

調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

メナキノン-7標準溶液：メナキノン-7標準品約20 mgを容量100 mL褐色全量フラスコに正確にはかりとり、2-プロパノールで定容する。2-プロパノールで希釈し約0.0003~0.5 µg/mLの溶液を数点調製し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

(4) 操作

1) 抽出

(a) アセトン浸漬法（注2）

試料0.1~4 gを容量50 mL褐色全量フラスコもしくは褐色広口全量フラスコにはかりとる。10 g/Lクエン酸溶液（注3）5 mLを加え、ボルテックスミキサーや超音波発生器などを用いて溶解又は分散させる。56 °Cの水浴中で5分間加熱し、アセトンを容量の8割程度加えて超音波発生器で10分間抽出した後、アセトンで定容する。抽出液を容量50 mL共栓褐色遠心管に10 mL又は20 mLとり、分取量が10 mLの場合のみエタノール10 mLを加える。10 g/Lクエン酸溶液10 mL、ヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）

15 mLを加え栓をして10分間振り混ぜる。1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。残った水層にヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え5分間振り混ぜる。

1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。同様の操作をさらに1回繰り返す。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。共存する妨害物質が多い場合は減圧留去後に精製操作を行う。残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように2-プロパノールを加えて溶解し、試料溶液とする。

(b) 磨砕抽出法（注4）

試料（注5）0.1~4 gを乳鉢にはかりとり、イオン交換水2~3 mL、海砂適量及びメタノール約10 mLを加え乳棒で磨砕する。容量100 mL褐色広口全量フラスコにガラスろ過器をセットし、吸引ろ過する。残留物を乳鉢に戻し、メタノール10 mLを入れ同じ操作を3回以上繰り返す。試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるようにメタノールを加え、試料溶液とする。試料溶液中の濃度が検量線の範囲から外れる場合は（c）磨砕抽出-液-液分配法を行う。

(c) 磨砕抽出-液-液分配法

(b) 磨砕抽出法により抽出した抽出液を容量50 mL共栓褐色遠心管に20 mLとる。10 g/Lクエン酸溶液10 mL（注3）、ヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え栓をして10分間振り混ぜる。1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。残った水層にヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え5分間振り混ぜる。1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。同様の操作をさらに1回繰り返す。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。共存する妨害物質が多い場合は減圧留去後に精製操作を行う。残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように2-プロパノールを加えて溶解し、試料溶液とする。

(d) 液-液分配法（注6）

試料0.1~4 gを容量50 mL共栓褐色遠心管にはかりとり、10 g/Lクエン酸溶液5 mLを加え（注3）、かき混ぜる。56 °Cの水浴中で5分間加熱した後、さらに10 g/Lクエン酸溶液5 mLを加え（注3）、エタノール20 mL（注7）、ヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え栓をして10分間振り混ぜる。1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。残った水層にヘキサナー酢酸エチル混液（9：1 v/v）15 mLを加え5分間振り混ぜる。1500回転/分で5分間遠心分離後、有機溶媒層を褐色なす形フラスコに移す。同様の操作をさらに1回繰り返す。抽出液を合わせ、ロータリーエバポレーターで減圧留去する。共存する妨害物質が多い場合は減圧留去後に精製操作を行う。残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように2-プロパノールを加えて溶解し、試料溶液とする。

2) 精製（注8）

(a) シリカゲルミニカラムによる精製（注9）

1) (a)、(c) または (d) の残留物に、ヘキサン5 mLを加えて溶解し、シリカゲルミニカラムに通す。次にヘキサンジエチルエーテル混液（85：15 v/v）30 mLを用い数回に分けてなす形フラスコを洗いながらシリカゲルミニカラムに通す。全溶出液を褐色なす形フラスコに回収する。減圧留去し、残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように2-プロパノールを加えて溶解し、試料溶液とする。

(b) シリカゲルカラムによる精製

褐色クロマト管（内径1.0 cm,長さ15 cm）に脱脂綿を詰め、シリカゲル3 gをヘキサン湿式法で充填する。その上に硫酸ナトリウム（無水）を少量加える。1) (a), (c) または (d) の残留物に、ヘキサン10 mLを加えて溶解し、クロマト管に流し込む。さらにヘキサン10 mLで洗い込む。ヘキサソージエチルエーテル混液（85：15 v/v）10 mLで残さを溶解させクロマト管に流し込む。同じ操作をさらに2回繰り返し、ヘキサソージエチルエーテル混液（85：15 v/v）で溶出させた溶出液（注10）を褐色なす形フラスコに回収する。減圧留去し、残留物に試料溶液の濃度が検量線の範囲内になるように2-プロパノールを加えて溶解し、試料溶液とする。

3) 測定

試料溶液50 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、ピーク面積を測定する。同時にフィロキノロン、メナキノロン-4及びメナキノロン-7標準溶液50 µLを注入し、検量線を作成する。

4) 空試験値の測定（注11）

高速液体クロマトグラフの系より還元カラムを外した状態で試料溶液50 µLを高速液体クロマトグラフに注入し、空試験の測定を行う。

5) 高速液体クロマトグラフ操作の条件例

(a) フィロキノロン及びメナキノロン-4

カラム：内径4.6 mm 長さ150 mm ODS系逆相型カラム（例えばL-Column, 5 µm）

還元カラム：白金カラム（例えばRC-10）

移動相：メタノール

流量：0.8 mL/分

温度：40 °C

励起波長：240 nm（注12）

測定波長：430 nm

(b) メナキノロン-7

カラム：内径4.6 mm 長さ150 mm ODS系逆相型カラム（例えばL-Column, 5 µm）

還元カラム：白金カラム（例えばRC-10）

移動相：メタノール-エタノール（7：3 v/v）

流量：1.0 mL/分

温度：40 °C

励起波長：240 nm（注12）

測定波長：430 nm

(5) 計算

$$\text{試料中のフィロキノロン, メナキノロン-4又はメナキノロン-7含有量 } (\mu\text{g}/100 \text{ g}) = C \times V \times N \times \frac{100}{W}$$

C ：検量線より求めた試料溶液中のフィロキノロン，メナキノロン-4又はメナキノロン-7濃度（µg/mL）

V ：定容量（mL）

N ：希釈率

W ：試料採取量（g）

[注解]

(注1) ビタミンKは紫外線により分解されるので、操作は褐色のガラス器具を使用する。

(注2) 納豆類及びみそ類などを除くほぼ全ての試料に適用。

(注3) ビタミンKは酸性下で安定なため、クエン酸を加える。

(注4) 納豆類及びみそ類などに適用。

(注5) 納豆は水を加えて粉碎混合すると均質化できる。その場合、(a) 摩砕抽出法におけるイオン交換水の添加は不要。

(注6) 緑色野菜・肉類・穀類・豆類など以外の一般食品に適用。

(注7) 卵類や乳類など油分の多い試料についてはエマルジョンの形成を防ぐため、塩化ナトリウムを約0.5 g加える。

(注8) 抽出液中の定量妨害物質の種類や量によりカラム精製を実施する。精製方法の選択の基準を以下に示す。

カラム精製の種類	適用検体等
(a) シリカゲルミニカラム	植物由来の緑色が濃いもの
(b) シリカゲルカラム	油脂が多いもの及び (a) では精製が不十分なもの

(注9) シリカゲルミニカラムはあらかじめ、ヘキサン-ジエチルエーテル混液 (85 : 15 v/v) 20 mL, ヘキサン10 mLを順次通液しコンディショニングしておく。

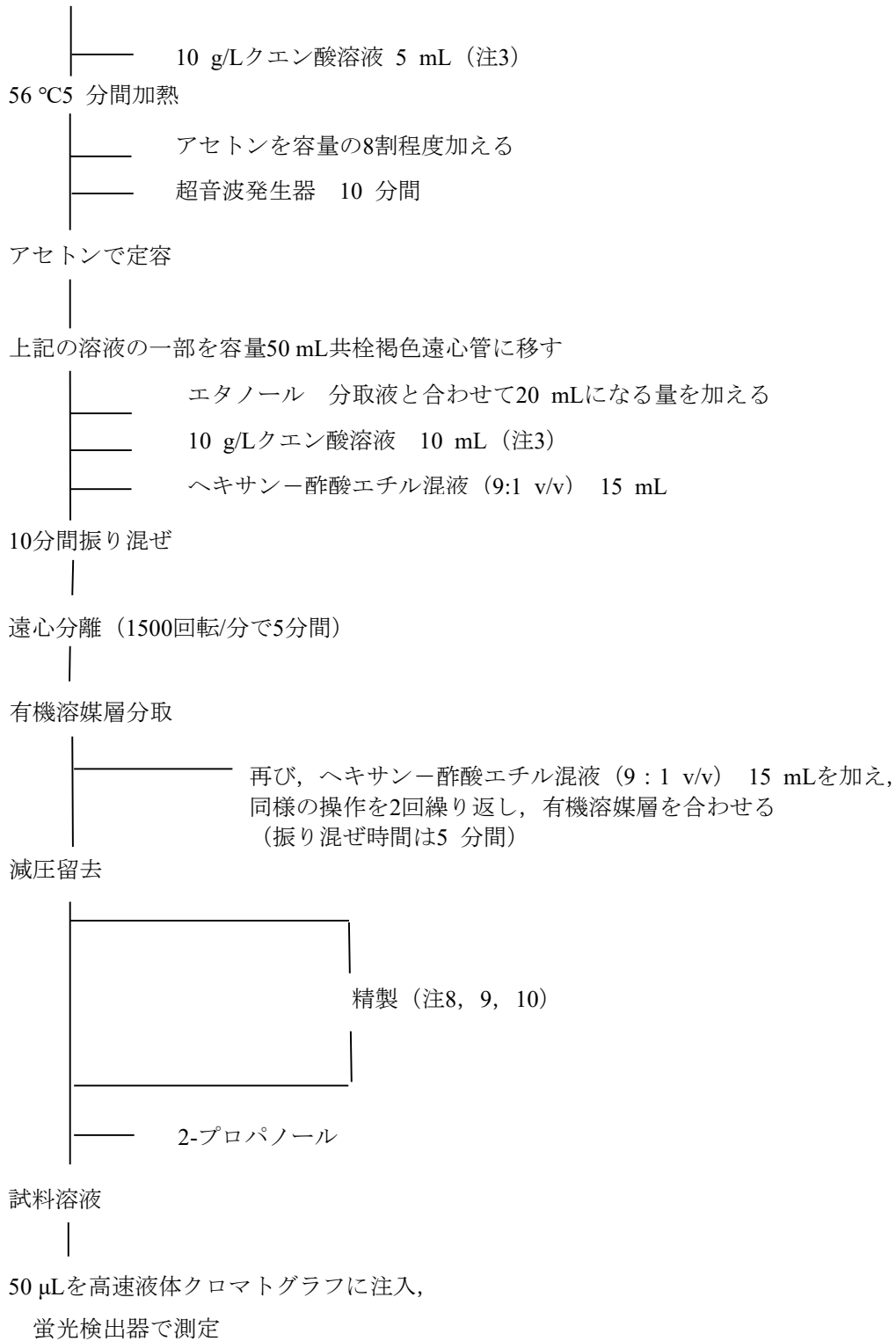
(注10) 抽出物に油分が多く含まれる場合は、ヘキサン溶液も回収し、試験に用いる。

(注11) フィロキノン, メナキノン-4またはメナキノン-7の検出位置付近に妨害ピークがある場合に空試験値の測定を行う。

(注12) 320 nmも使えるが夾雑物のピークが検出される場合がある。

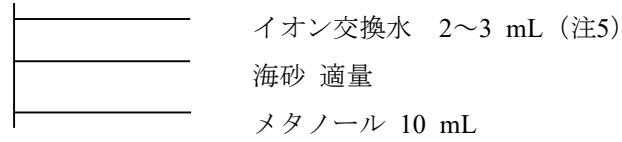
フィロキノン及びメナキノン類定量法・フローチャート-1
-アセトン浸漬法-

容量50 mL褐色全量フラスコもしくは褐色広口全量フラスコに試料0.1~4 gを採取



フィロキノン及びメナキノン類定量法・フローチャート-2
- 磨砕抽出法 -

乳鉢に試料 0.1~4 gを採取



磨砕抽出



抽出液

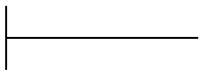


ガラスフィルターでろ過



ろ液

残留物



メタノール 10 mL

磨砕抽出



同様の操作を3回以上繰り返す



抽出液



メタノールで100 mLに定容



メタノールで適宜希釈



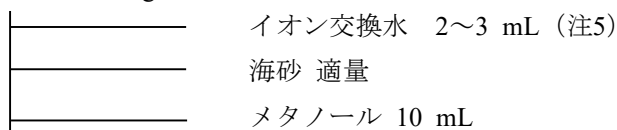
試料溶液



50 μ Lを高速液体クロマトグラフに注入,
蛍光検出器で測定

フィロキノン及びメナキノン類定量法・フローチャート-3
- 磨砕抽出-液-液分配法-

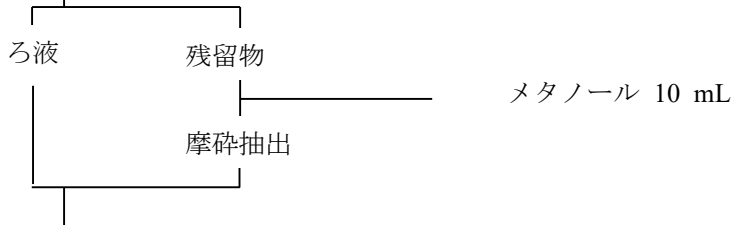
乳鉢に試料 0.1~4 gを採取



磨砕抽出

抽出液

ガラスフィルターでろ過



同様の操作を3回以上繰り返す

メタノールで100 mLに定容

上記の溶液の一部を容量50 mL共栓褐色遠心管に移す

10 g/Lクエン酸溶液 10 mL (注3)
ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1 v/v) 15 mL

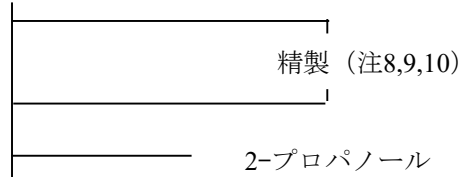
10分間振り混ぜ

遠心分離 (1500回転/分で5分間)

有機溶媒層分取

再び、ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1 v/v) 15 mLを加え、
同様の操作を2回繰り返す、全溶媒層を合わせる
(振り混ぜ時間は5分間)

減圧留去



50 μ Lを高速液体クロマトグラフに注入,
蛍光検出器で測定

フィロキノン及びメナキノン類定量法・フローチャート-4
-液-液分配法-

容量50 mL共栓褐色遠心管に

試料適量0.1~4 gを採取

10 g/Lクエン酸溶液 5 mL (注3)

56 °C5 分間加熱

10 g/Lクエン酸溶液 5 mL (注3)
エタノール 20 mL (注7)
ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1 v/v) 15 mL

10分間振り混ぜ

遠心分離 (1500回転/分で5分間)

有機溶媒層分取

再び, ヘキサン-酢酸エチル混液 (9 : 1 v/v) 15 mLを加え,
同様の操作を2回繰り返し, 全溶媒層を合わせる
(振り混ぜ時間は5 分間)

減圧留去

精製 (注8, 9, 10)
2-プロパノール

試料溶液

50 µLを高速液体クロマトグラフに注入,
蛍光検出器で測定

II. 水溶性ビタミン

25. チアミン (ビタミンB₁)

25-1. 高速液体クロマトグラフ法

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ (蛍光検出器付)

ウォーターバス

恒温器

容量100 mL褐色抽出びん

精製用褐色クロマト管：内径約7 mm

(2) 試薬

チアミン塩化物塩酸塩標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）または同等品

ヒドロキシエチルチアミン (HET) 塩酸塩標準品：市販品（富士フィルム和光純薬（株））または同等品

塩酸：特級

酢酸：特級

酢酸ナトリウム三水和物：特級

チオ尿素：特級

リン酸加水分解酵素：ビタミンB₁・B₂定量用酸性ホスファターゼ（富士フィルム和光純薬（株））

または同等品（ホスファターゼ活性を有するもの）

陽イオン交換樹脂：パームチット，活性ビタチェンジ ビタミンB₁定量用（富士フィルム和光純薬（株））

塩化カリウム：特級

水酸化ナトリウム：特級

フェリシアン化カリウム：特級

りん酸二水素ナトリウム二水和物：特級

過塩素酸ナトリウム（無水）：特級

60%過塩素酸：特級

メタノール：HPLC用

4 mol/L酢酸ナトリウム溶液：酢酸ナトリウム三水和物544 gに水を加えて溶解し1000 mLに定容する。

50%酢酸：酢酸250 mLをとり，水で500 mLに定容する。

酢酸緩衝液（pH4.5）：水2000 mLに4 mol/L酢酸ナトリウム溶液40 mL及び50%酢酸30 mLを加え攪拌する。pH試験紙（BCG）でpH4.5であることを確認し，pH4.5でない場合は4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50%酢酸でpHを調整する。

10%チオ尿素溶液：チオ尿素100 gを量りとり，水を加えて溶解し，1000 mLに定容する。

酵素溶液：酵素0.25 gを酢酸緩衝液（pH4.5）10 mLに用事溶解し，ろ過または遠心分離して，その上澄み液を使用する。

塩化カリウム含有塩酸溶液：水1800 mLに塩化カリウム500 g，1 mol/L塩酸200 mLを加えて溶解し，ろ過（ろ紙JIS2種）する。

チアミン塩酸塩標準原液：チアミン塩化物塩酸塩標準品を，105℃で2時間乾燥し，30分間デシケーターで放冷する。100 mgを容量1 L全量フラスコに正確にはかり取り，1 mol/L塩酸100 mLを加えて溶解した後，水で定容し，標準原液（100 µg/mL）とする。

チアミン塩酸塩標準溶液：チアミン塩酸塩標準原液を塩化カリウム含有塩酸溶液で希釈し、1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液：チアミン塩酸塩標準溶液を塩化カリウム含有塩酸溶液で次のように希釈し、高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液とする。

(希釈例)

0.1 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液5 mLを50 mLに定容する。

0.02 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液4 mLを200 mLに定容する。

HET塩酸塩標準原液：HET塩酸塩標準品を、105 °Cで2時間乾燥し、30分間デシケーターで放冷する。100 mgを容量1 L全量フラスコに正確にはかり取り、1 mol/L塩酸100 mLを加えて溶解した後、水で定容し、標準原液（100 µg/mL）とする。

HET塩酸塩標準溶液：HET塩酸塩標準原液を塩化カリウム含有塩酸溶液で希釈し、1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液：HET塩酸塩標準溶液を塩化カリウム含有塩酸溶液で次のように希釈し、高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液とする。(注1)
(希釈例)

0.1 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液5 mLを50 mLに定容する。

0.02 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液4 mLを200 mLに定容する。

(3) 操作

1) 抽出

試料0.5~10 g (W) (注2) (注3) を容量100 mL褐色抽出びんにはかり取り、1 mol/L塩酸を5 mL、10%チオ尿素溶液を1 mL加え、水を加えて約50 mLにした後、沸騰水浴中でときどきガラス棒を用いてかき混ぜながら、15分間加熱抽出する。加熱抽出後、水冷して室温に戻し、4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50%酢酸でpH4.5に調整する(注4)。酵素溶液3 mL(注5)を加え、酢酸緩衝液(pH4.5)で100 mLに定容(V)し、38~42 °Cの恒温器中で、約16時間酵素分解を行う(注6)。室温に戻し、ろ過(ろ紙JIS6種)後、試料溶液とする。

2) 精製

精製用クロマト管の下部に脱脂綿を詰め、水洗したパームチット1.6~1.7 gを水と共に流し込む。試料溶液2~25 mLを正確に加え、1 mL/分の速度で流し、さらに水約5 mLを加え、クロマト管壁内を洗い流す。沸騰水50~60 mLでカラムを洗浄した後、カラムが冷めないうちに、あらかじめ60~90 °Cに温めておいた塩化カリウム含有塩酸溶液をカラムに流し込み、チアミン及びHETを脱着させ、容量25 mL全量フラスコに受ける(注7)。室温に戻し、塩化カリウム含有塩酸溶液で25 mLとする。

3) 測定用試料溶液の調製

定容した液を塩化カリウム含有塩酸溶液で適宜希釈する。

4) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

カラム：内径4.6 mm、長さ250 mm、ODS系カラム(例えば、L-column ODS)

移動相：0.01 mol/Lリン酸二水素ナトリウム溶液-0.15 mol/L過塩素酸ナトリウム(pH 2.2)及びメタノールの混液(95:5 v/v) (注8)

流量：1 mL/分

反応液：0.03%フェリシアン化カリウム含有15%水酸化ナトリウム溶液

反応液流量：0.5 mL/分

温度：40 °C

波長：励起波長375 nm、蛍光波長440 nm

注入量：20 µL

5) 測定

測定用試料溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンB₁のピーク面積を測定する。同様に高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液をそれぞれ注入し、チアミン塩酸塩の検量線を作成する(注9)。

(4) 計算

$$\text{チアミン塩酸塩含量 (ビタミンB}_1\text{相当量)} \quad (\text{mg}/100 \text{ g}) = \frac{A \times V \times N}{W \times 1000} \times 100$$

A : 検量線より求めた試料溶液中のビタミンB₁濃度 (μg/mL)

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

[ヒドロキシエチルチアミン (HET) を含む食品の場合] (注10)

高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液を用いて定量を行う。HET含量をビタミンB₁に換算するには、モル換算係数 0.8845を乗じてビタミンB₁相当量とする。

$$\frac{\text{チアミン塩酸塩分子量}(337.28)}{\text{HET塩酸塩分子量}(381.32)} = 0.8845$$

[注解]

(注1) 高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液及び高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液は混合して調製してもよい。

(注2) 生鮮食料品 (魚介類, きのこと類, 野菜類など) は, 新鮮な試料を入手次第, すぐに抽出することが重要である。特に魚介類においては, チアミナーゼ (アノイリナーゼ) を含むものが多く, 時間経過に伴いチアミンが分解される。また, きのこと類, 野菜類などでもチアミンの減少が見られるものがある。試料を粉碎, 調製することでチアミンの減少は加速される。これらに対しては0.1 mol/L塩酸を試料 (対象食品の荒切りしたもの。重量測定しておく) が浸る程度に加え, 20分間沸騰加熱する。水冷後, 0.1 mol/L塩酸で一定量とする。ホモジナイザー等で粉碎後, この一部を秤取し, 以下, 加熱抽出, 酵素分解操作を付加する。

(注3) 油分を含む試料を採取した場合, 乳化剤を0.3 g加える。

(注4) アリチアミンを含む食品 (にんにくなど) は, 加熱抽出後, 塩酸システイン50 mgを添加し, pH 4.5に調整する。この後, 酵素分解操作以降を付加する。

(注5) 酵素溶液中には定量上無視できないチアミンが含まれることがある。そのため, あらかじめ使用酵素由来のチアミン量を測定し, 定量値から差し引くために空試験を行う必要がある。また, 酵素量が不足と考えられる場合は酵素量を増やしてもよい。その際には, 空試験も同様に行う。

(注6) 海藻類 (乾燥品のわかめ, 昆布など) は, 多糖類が多いため一般にろ過が遅く, カラム精製に支障をきたす場合がある。また, 吸着などによりチアミンの回収が悪いことがあるので, 次のような方法がある。

加熱抽出し, 定容せずに酵素分解操作を行った後, 濃塩酸2 mLを加えて沸騰水浴中で30分間加熱する。水冷後, 水で定容する。この場合, 併行して添加回収試験を行うとよい。

(注7) パームチットカラム操作においては, 脱着液は沸騰直前まで加熱して使用する。しかし, あまり長く加熱すると, 塩濃度が上がり析出しやすくなるので注意する。この操作はカラムが熱いうちにすばやく行うことが大切である (カラムが冷えると塩化カリウムが析出し, カラムがつまってしまう可能性がある)。

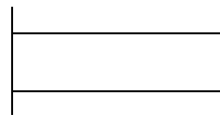
(注8) 0.01 mol/Lリン酸二水素ナトリウムと, 0.15 mol/L過塩素酸ナトリウムを含む溶液を調製後, 60 %過塩素酸でpH 2.2に調整する。これにメタノールを所定の割合で混合する。

(注9) 反応液にアルカリを使用するので, 分析終了後は必ず経路を水洗する。

(注10) HETは豚肉, 魚介類に多く含まれる。

チアミン定量法（パームチットカラム精製－ポストカラム法）・フローチャート

容量100 mL褐色抽出びんに
試料 0.5~10 g 採取



1 mol/L塩酸 5 mL

10 %チオ尿素溶液 1 mL

水を加えて約50 mLにする



加熱抽出（沸騰水浴中，15分間）



冷却後，pH 4.5に調整



酵素溶液 3 mL

酢酸緩衝液（pH 4.5）で100 mLに定容



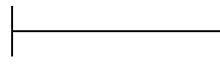
38~42 °C，約16時間静置



ろ過



試料溶液2~25 mLを吸着させる（パームチットカラム）



沸騰水 50~60 mL

塩化カリウム含有塩酸溶液により脱着



塩化カリウム含有塩酸溶液で25 mLに定容



高速液体クロマトグラフに注入，測定

25-1-2. ミニカラム精製-ポストカラム法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

固相抽出用吸引マニホールド

シリンジ (10~25 mL)

ミニカラム：強酸性陽イオン交換カラム (例えば, InertSep Slim-J SCX-2 500 mg)

他は25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法と同じ。

ただし精製用褐色クロマト管は使用しない。

(2) 試薬

メタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (2:8) : メタノール100 mL, 塩化カリウム含有塩酸溶液400 mLを混合し攪拌する。

メタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (1:9) : メタノール50 mL, 塩化カリウム含有塩酸溶液450 mLを混合し攪拌する。

チアミン塩酸塩標準溶液：チアミン塩酸塩標準原液をメタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (1:9) で希釈し, 10 µg/mL, 1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液：チアミン塩酸塩標準溶液をメタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (1:9) で次のように希釈し, 高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液とする。

(希釈例)

0.8 µg/mL標準溶液：10 µg/mL標準溶液4 mLを50 mLに定容する。

0.05 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液5 mLを100 mLに定容する。

0.002 µg/mL標準溶液：0.05 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

HET塩酸塩標準溶液：HET塩酸塩標準原液をメタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (1:9) で希釈し, 10 µg/mL, 1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液：HET塩酸塩標準溶液をメタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (1:9) で次のように希釈し, 高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液とする。

(希釈例)

0.8 µg/mL標準溶液：10 µg/mL標準溶液4 mLを50 mLに定容する。

0.05 µg/mL標準溶液：1 µg/mL標準溶液5 mLを100 mLに定容する。

0.002 µg/mL標準溶液：0.05 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

他は25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法と同じ。

(3) 操作

1) 抽出

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (3) 1) に同じ。

2) 精製

固相抽出用吸引マニホールドにミニカラムとシリンジをセットし, 減圧下で吸引しながらメタノール, 水を5 mLずつ流した後, 酢酸緩衝液 (pH 4.5) を15 mL流し, カラムのコンディショニングを行う。試料溶液2~20 mLを正確に加え, 減圧下で吸引しながらカラムに吸着させる。水5 mLを用いてシリンジの壁についた試料溶液を流し込み, 吸着及び洗浄をする。メタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液 (2:8) を10 mL流し, 容量20 mL全量フラスコにチアミン及びHETを脱着させ回収し, 塩化カリウム含有塩酸溶液で定容したものを測定用試料溶液とする。

3) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (3) 4) に同じ。

4) 測定

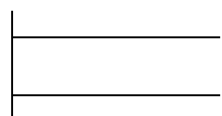
25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (3) 5) に同じ。

(4) 計算

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (4) に同じ。

チアミン定量法（ミニカラム精製-ポストカラム法）・フローチャート

容量100 mL褐色抽出びんに
試料 0.5~10 g 採取



1 mol/L塩酸 5 mL

10 %チオ尿素溶液 1 mL

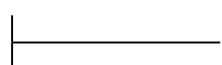
水を加えて約50 mLにする



加熱分解（沸騰水浴中，15分間）



冷却後，pH 4.5に調整



酵素溶液 3 mL

酢酸緩衝液（pH 4.5）で100 mLに定容



38~42 °C，約16時間静置



ろ過



試料溶液2~20 mLを吸着させる（ミニカラム）



メタノール及び塩化カリウム含有塩酸溶液の混液（2:8）10 mL
により脱着



塩化カリウム含有塩酸溶液で20 mLに定容



高速液体クロマトグラフに注入，測定

25-1-3. カラムスイッチング法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法と同じ。

ただし精製用褐色クロマト管は使用しない。

(2) 試薬

酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) : チオ尿素3.7gを量りとり, 水3000 mL, 4 mol/L酢酸ナトリウム溶液450 mL及び50%酢酸370 mLを加え攪拌する。pH試験紙 (BCG) でpH 4.5であることを確認し, pH 4.5でない場合は4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50%酢酸でpHを調整する。

チアミン塩酸塩標準溶液: チアミン塩酸塩標準原液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) で希釈し, 10 µg/mL, 1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液: チアミン塩酸塩標準溶液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) で次のように希釈し, 高速液体クロマトグラフ用チアミン塩酸塩標準溶液とする。

(希釈例)

0.4 µg/mL標準溶液: 10 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

0.05 µg/mL標準溶液: 0.4 µg/mL標準溶液25 mLを200 mLに定容する。

0.002 µg/mL標準溶液: 0.05 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

HET塩酸塩標準溶液: HET塩酸塩標準原液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) で希釈し, 10 µg/mL, 1 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液: HET塩酸塩標準溶液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) で次のように希釈し, 高速液体クロマトグラフ用HET塩酸塩標準溶液とする。

(希釈例)

0.4 µg/mL標準溶液: 10 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

0.05 µg/mL標準溶液: 0.4 µg/mL標準溶液2 mLを200 mLに定容する。

0.002 µg/mL標準溶液: 0.05 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

他は25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法と同じ。

ただし塩化カリウム含有塩酸溶液は使用しない。

(3) 操作

1) 抽出

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (3) 1) に同じ。

2) 測定用試料溶液の調製

試料溶液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1%チオ尿素含有) で適宜希釈する。

3) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

プレカラム: 内径4.0 mm, 長さ10 mm, 陽イオン交換カラム (例えば, Guard Cartridge CAPCELL MF SCX S-5)

カラム: 内径4.6 mm, 長さ250 mm, ODS系カラム (例えば, L-column ODS)

移動相: 0.01 mol/Lリン酸二水素ナトリウム溶液-0.15 mol/L過塩素酸ナトリウム (pH 2.2) 及びメタノールの混液 (95:5 v/v)

流量: 1 mL/分

反応液: 0.03%フェリシアン化カリウム含有15%水酸化ナトリウム溶液

反応液流量: 0.5 mL/分

温度: 40 °C

波長: 励起波長375 nm, 蛍光波長440 nm

注入量: 20 µL

カラムスイッチングプログラム例

注入0分：測定用試料溶液注入，水にのせてプレカラムへ吸着，通過した水は廃液へ流れる

注入2分後：水から移動相に切り替え，プレカラムからチアミン及びHETを脱着し，同時に分析カラムへ流路を切り替え，試料溶液をプレカラムから分析カラムに導入する

注入6分後：廃液流路へ流路を切り替える（プレカラムを系から外す）

注入11分後：移動相から水に切り替え，プレカラムの洗浄及びコンディショニングを行う

注入14.5分後：分析終了

4) 測定

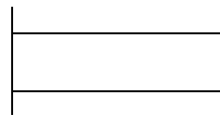
25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (3) 5) に同じ。

(4) 計算

25-1-1. パームチットカラム精製-ポストカラム法 (4) に同じ。

チアミン定量法（カラムスイッチング法）・フローチャート

容量100 mL褐色抽出びんに
試料 0.5~10 g 採取



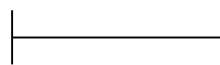
1 mol/L塩酸 5 mL

10 %チオ尿素溶液 1 mL

水を加えて約50 mLにする

加熱抽出（沸騰水浴中，15分間）

冷却後，pH 4.5に調整



酵素溶液 3 mL

酢酸緩衝液（pH 4.5）で100 mLに定容

38~42 °C，約16時間静置

ろ過

高速液体クロマトグラフに注入，測定

26. リボフラビン（ビタミンB₂）

26-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（蛍光検出器付）

ウォーターバス

恒温器

容量100 mL褐色抽出びん

(2) 試薬

リボフラビン標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）または同等品

塩酸：特級

酢酸：特級

酢酸ナトリウム三水和物：特級

チオ尿素：特級

リン酸加水分解酵素：ビタミンB₁・B₂定量用酸性ホスファターゼ（富士フィルム和光純薬（株）または同等品（ホスファターゼ活性を有するもの）

メタノール：HPLC用

4 mol/L酢酸ナトリウム溶液：酢酸ナトリウム三水和物544 gに水を加えて溶解し1000 mLに定容する。

50 %酢酸：酢酸250 mLをとり、水で500 mLに定容する。

酢酸緩衝液（pH4.5）：水2000 mLに4 mol/L酢酸ナトリウム溶液40 mL及び50 %酢酸30 mLを加え攪拌する。pH試験紙（BCG）でpH 4.5であることを確認し、pH 4.5でない場合は4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50 %酢酸でpHを調整する。

酢酸緩衝液（pH4.5, 0.1 %チオ尿素含有）：チオ尿素3.7 gを量りとり、水3000 mL、4 mol/L酢酸ナトリウム溶液450 mL及び50 %酢酸370 mLを加え攪拌する。pH試験紙（BCG）でpH 4.5であることを確認し、pH 4.5でない場合は4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50 %酢酸でpHを調整する。

10 %チオ尿素溶液：チオ尿素100 gを量りとり、水を加えて溶解し、1000 mLに定容する。

酵素溶液：酵素0.25 gを酢酸緩衝液（pH4.5）10 mLに用時溶解し、ろ過または遠心分離して、その上澄み液を使用する。

リボフラビン標準原液：リボフラビン標準品を105 °Cで2時間乾燥し、30分間デシケーター中で放冷後、チオ尿素1 gをとった容量1 L褐色全量フラスコに50 mgを正確にはかり、酢酸4 mLを加え、さらに熱水を用いて溶かす。冷却後、水で定容して標準原液（50 µg/mL）とする。

高速液体クロマトグラフ用リボフラビン標準溶液：リボフラビン標準原液を酢酸緩衝液（pH4.5, 0.1 %チオ尿素含有）で次のように希釈し、高速液体クロマトグラフ用標準溶液とする。

（希釈例）

1.0 µg/mL標準溶液：標準原液2 mLを100 mLに定容する。

0.05 µg/mL標準溶液：1.0 µg/mL標準溶液5 mLを100 mLに定容する。

0.002 µg/mL標準溶液：0.05 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

(3) 操作

1) 抽出

試料0.5～10 g (*W*)（注1）を容量100 mL褐色抽出びんにはかり取り、1 mol/L塩酸を5 mL、10 %チオ尿素溶液を1 mL加え、水を加えて約50 mLにした後、沸騰水浴中でときどきガラス棒でかき混ぜながら、15分間加熱抽出する。加熱抽出後、水冷して室温に戻し、4 mol/L酢酸ナトリウム溶液及び50 %酢酸でpH4.5に調整する（注2）。酵素溶液3 mL（注3）を加え、酢酸緩衝液（pH4.5）で

100 mLに定容 (V) し、38～42 °Cの恒温器中で約16時間酵素分解を行う (注4)。室温に戻し、ろ過 (ろ紙JIS6種) 後、試料溶液とする。

2) 測定用試料溶液の調製

試料溶液を酢酸緩衝液 (pH 4.5, 0.1 %チオ尿素含有) で適宜希釈する。

3) 高速液体クロマトグラフの操作条件例

ガードカラム：内径4.0 mm, 長さ10 mm, ODS系カラム (例えば, Develosil ODS-MG)

カラム：内径4.6 mm, 長さ250 mm, ODS系カラム (例えば, Develosil ODS-MG-5)

移動相：酢酸緩衝液 (pH 4.5) 及びメタノールの混液 (65:35 v/v)

流 量：1.0 mL/分

温 度：40 °C

波 長：励起波長 445 nm 蛍光波長 530 nm

注入量：20 µL

4) 測定

測定用試料溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、リボフラビンのピーク面積を測定する。同様にリボフラビン標準溶液をそれぞれ注入し、リボフラビンの検量線を作成する。

(4) 計算

$$\text{リボフラビン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times N}{W \times 1000} \times 100$$

A：検量線より求めた試料溶液中のリボフラビン濃度 (µg/mL)

V：定容量 (mL)

N：希釈倍率

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 油分を含む試料を採取した場合、乳化剤を0.3 g加える。

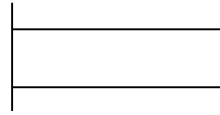
(注2) アリチアミンを含む食品 (にんにくなど) は、25. チアミンの25-1-1. (注4) の方法で調製した試料溶液をリボフラビンの測定に用いることができる。

(注3) 酵素溶液中には定量上無視できないリボフラビンが含まれることがある。そのため、あらかじめ、使用酵素量由来分のリボフラビン量を測定し、定量値から差し引くために空試験を行う必要がある。また、酵素量が不足と考えられる場合は酵素量を増やしてもよい。その際には、空試験も同様に行う。

(注4) 海藻類 (乾燥品のわかめ、昆布など) は、25. チアミンの25-1-1. (注6) の方法で調製した試料溶液をリボフラビンの測定に用いることができる。

リボフラビン定量法・フローチャート

容量100 mL褐色抽出びんに
試料 0.5~10 g 採取



1 mol/L塩酸 5 mL

10 %チオ尿素溶液 1 mL

水を加えて約50 mLにする



加熱抽出（沸騰水浴中，15分間）



冷却後，pH 4.5に調整



酵素溶液 3 mL

酢酸緩衝液（pH 4.5）で100 mLに定容



38~42 °C，約16時間静置



ろ過



高速液体クロマトグラフに注入，測定

27. ナイアシン

27-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート
マイクロプレート振り混ぜ機
三角フラスコ
孵卵器
オートクレーブ
遠心分離機
pHメーター
マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

ニコチン酸標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団頒布）

硫酸：特級

ニコチン酸標準原液：ニコチン酸標準品100 mgを25 % (v/v) エタノールに溶かし100 mLとする。ニコチン酸として1 mg/mLになる。

ニコチン酸標準溶液：ニコチン酸標準原液を、用時、水で希釈し、0.1 µg/mLの濃度に調製する。

0.5 mol/L硫酸溶液：濃硫酸30 mLを水1050 mLに徐々に加えて調製する。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製（注1）

水1000 mLに下記のを加え、水浴中で加熱溶解する。必要があればろ過する。

基礎培地組成 (pH6.8±0.1)

カザミノ酸	14 g	パントテン酸カルシウム	400 µg
ブドウ糖	40 g	パラアミノ安息香酸	200 µg
無水酢酸ナトリウム	20 g	塩酸ピリドキシン	800 µg
L-シスチン	400 mg	DL-トリプトファン	200 mg
硫酸アデニン	20 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
塩酸グアニン	20 mg	リン酸一水素カリウム	1 g
ウラシル	20 mg	硫酸マグネシウム	400 mg
リボフラビン	400 µg	硫酸第一鉄	20 mg
塩酸チアミン	200 µg	硫酸マンガン	20 mg
ビオチン	0.8 µg		

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地（注2）

水100 mLに酵母エキス0.55 gを溶かし、これにペプトン1.25 g, ブドウ糖1.1 g, リン酸二水素カリウム 0.025 g, リン酸一水素カリウム0.025 g, 酢酸ナトリウム1.0 g, 硫酸マグネシウム0.01 g, 硫酸マンガン0.5 mg, 硫酸第一鉄0.5 mgを加えpH6.8に調整した後、水浴上で加熱溶解する。溶解後かき混ぜ、この液約4 mLずつを試験管に分注し、121 °Cで10分間加圧滅菌後、放冷する。

(b) 接種菌溶液

Lactobacillus plantarum ATCC 8014 の保存菌株を接種菌用培地に継代し、37 °C±1 °Cで20時間

±3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し、37℃±1℃で20時間±3時間培養する。培養した菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料 (*W*) を三角フラスコにはかりとる。0.5 mol/L硫酸100 mL又は50 mLを加え、121℃で30分間加圧抽出する。冷却後、pH6.8に調整する。水で200 mL又は100 mLに定容 (*V*) し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、ニコチン酸標準溶液 (0.1 µg/mL) 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 40及び60 µLをマイクロプレートの2ウェルずつにとり、それぞれに接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLとする。別に1試料溶液につき3段階の希釈液 (試料溶液20, 40, 80 µL) を2ウェルずつにとる。次に接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLにする。マイクロプレートを振り混ぜ機で2~3分攪拌し、マイクロプレートリーダーでblankを測定した後、37℃±1℃で18時間±3時間培養 (培養条件: 嫌気培養) する。培養後、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌した後、菌の増殖をマイクロプレートリーダー (600 nmの吸光度を測定) で測定する。検量線はマイクロプレートの各ウェルに加えたニコチン酸の量と濁度 (吸光度) をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液のニコチン酸含量を求める。また各試料中のニコチン酸含量については、試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中のナイアシン含量とする (注3)。

(4) 計算

$$\text{ナイアシン含量 (mg/100 g)} = (A \times V \times N) \times \frac{100}{(W \times 1000000)}$$

A : 検量線より求めた試料溶液1 mL中のナイアシン濃度 (ng/mL)

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。なお日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「ニコチン酸定量用基礎培地」が使用できる。

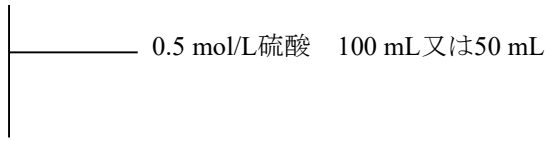
(注2) 日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「一般乳酸菌接種用培地」が使用できる。

(注3) 得られた各値の中で、それらの平均値から目安として±10 %以内の4点以上の値を用いて計算する。

ナイアシン定量法・フローチャート

[試料溶液の調製]

試料採取



加圧抽出 121 °C 30分



冷却



pH 6.8に調整

定容

水で200 mL又は100 mLに定容



ろ過

(ろ紙JIS2種)



試料溶液

水で適宜希釈

[培養・測定]

前培養

菌株 *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014
 培地 接種菌用培地
 培養 37 °C±1 °C 20時間±3時間

接種菌溶液

滅菌生理食塩水にて適宜希釈

滅菌

培地 (基礎培地)

分注

標準溶液又は適宜希釈した試料溶液
 水
 培地及び接種菌溶液 0.15 mL

全量 0.25 mL

培養

37 °C±1 °C 18時間±3時間 嫌気培養

測定

波長 600 nm

計算

28. ビタミンB₆ (ピリドキシン, ピリドキサル, ピリドキサミンなど)

28-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート
マイクロプレート振り混ぜ機
三角フラスコ
孵卵器
オートクレーブ
遠心分離機
pHメーター
マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

ピリドキシン塩酸塩標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団頒布）

ピリドキシン塩酸塩標準原液：ピリドキシン塩酸塩標準品200 mgを、25 % (v/v) エタノールに溶かし、200 mL（ピリドキシン塩酸塩として1 mg/mL）とする。

ピリドキシン塩酸塩標準溶液：ピリドキシン塩酸塩標準原液を用時、水で希釈し、5 ng/mLの濃度に調製する。

0.055 mol/L塩酸：塩酸25 mLを水5425 mLに徐々に加えて調製する。

0.5 mol/L硫酸：硫酸30 mLを水1050 mLに徐々に加えて調製する。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製（注1）

水1000 mLに下記のを溶かし、必要があればろ過する。

基礎培地組成 (pH5.0±0.1)

カザミノ酸	4 g	塩化カルシウム	125 mg
イノシトール	25 mg	硫酸マグネシウム	125 mg
塩酸チアミン	250 µg	硫酸マンガン	2.5 mg
ニコチン酸	2.5 mg	リン酸二水素カリウム	550 mg
パントテン酸カルシウム	2.5 mg	塩化第二鉄	2.5 mg
ビオチン	8 µg	クエン酸カリウム	5 g
塩化カリウム	425 mg	クエン酸	1 g
ブドウ糖	50 g		

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地（注2）

水100 mLにブドウ糖2.0 gを溶かし、これに酵母エキス0.2 g, 硫酸マグネシウム0.05 g, ペプトン0.5 g, リン酸二水素カリウム0.1 gを加えpH5.7に調整した後、水浴上で加熱溶解する。溶解後かき混ぜ、この液約4 mLずつを試験管に分注し、121 °Cで15~20分間加圧滅菌後、放冷する。

(b) 接種菌溶液

Saccharomyces cerevisiae ATCC 9080（注3）の保存菌株を接種菌用培地に継代し、30 °C±1 °Cで21時間±3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し、30 °C±1 °Cで21時間±3時間培養する。

培養した菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料 (W) を三角フラスコにはかりとる。動物性試料の場合は0.055 mol/L塩酸溶液180 mL又は70 mLを加え、121 °Cで4時間加圧抽出する。植物性試料の場合は、0.5 mol/L硫酸180 mL又は70 mLを加え、121 °Cで1時間加圧抽出する。冷却後、pH5.0に調整する。水で250 mL又は100 mLに定容 (V) し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、ピリドキシン塩酸塩標準溶液 (5 ng/mL) 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 40及び60 μ Lをマイクロプレートの2ウェルずつにとり、それぞれに接種菌溶液を含む基礎培地0.10 mL及び水を加えて全量を0.20 mLとする。別に1試料溶液につき3段階の希釈液 (試料溶液20, 40, 80 μ L) を2ウェルずつにとる。次に接種菌溶液を含む基礎培地0.10 mL及び水を加えて全量を0.20 mLにする。マイクロプレートを振り混ぜ機で2~3分攪拌し、マイクロプレートリーダーでブランクを測定した後、30 °C \pm 1 °Cで21時間 \pm 3時間培養 (培養条件: 好気培養) する。培養後、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌した後、菌の増殖をマイクロプレートリーダー (600 nmの吸光度を測定) で測定する。検量線はマイクロプレートの各ウェルに加えたピリドキシン塩酸塩の量と濁度 (吸光度) をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液のピリドキシン塩酸塩含量を求める。また各試料中のピリドキシン塩酸塩含量については、試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中のピリドキシン塩酸塩含量とする (注4)。

(4) 計算

$$\text{ビタミンB}_6\text{含量 (mg/100 g)} = (A \times V \times N) \times 0.8227 \times \frac{100}{(W \times 1000000)}$$

A : 検量線より求めた試料溶液1 mL中のピリドキシン塩酸塩濃度 (ng/mL)

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。なお日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「ビタミンB₆定量用基礎培地」が使用できる。

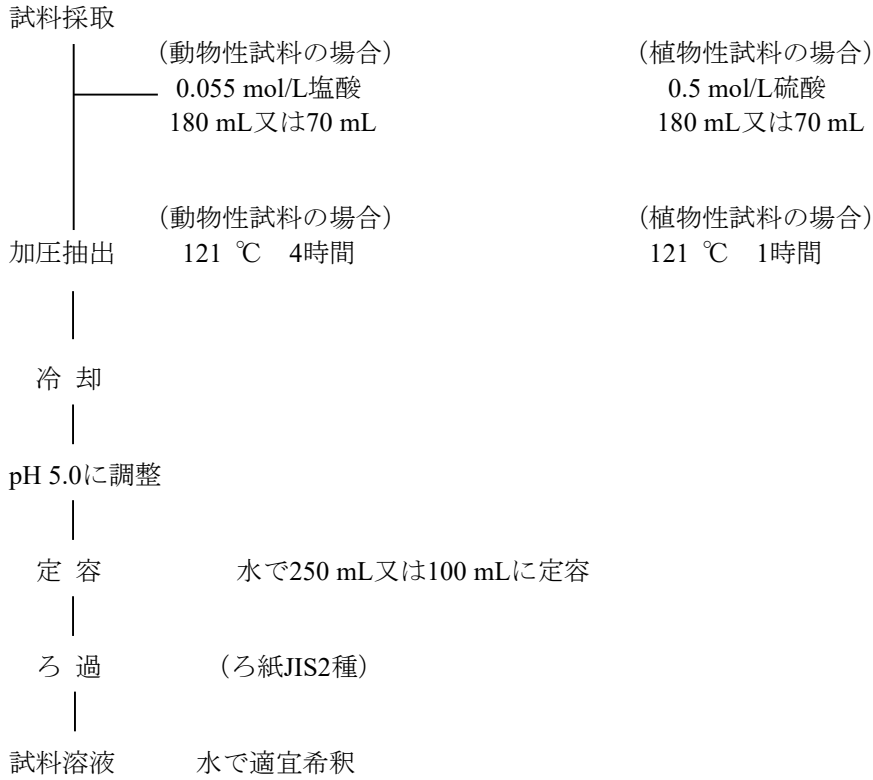
(注2) 日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「ブドウ糖ペプトン培地」が使用できる。

(注3) 本法で用いる酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9080) は、ピリドキシン、ピリドキサール及びピリドキサミンに対して、同程度の菌の増殖を示す。

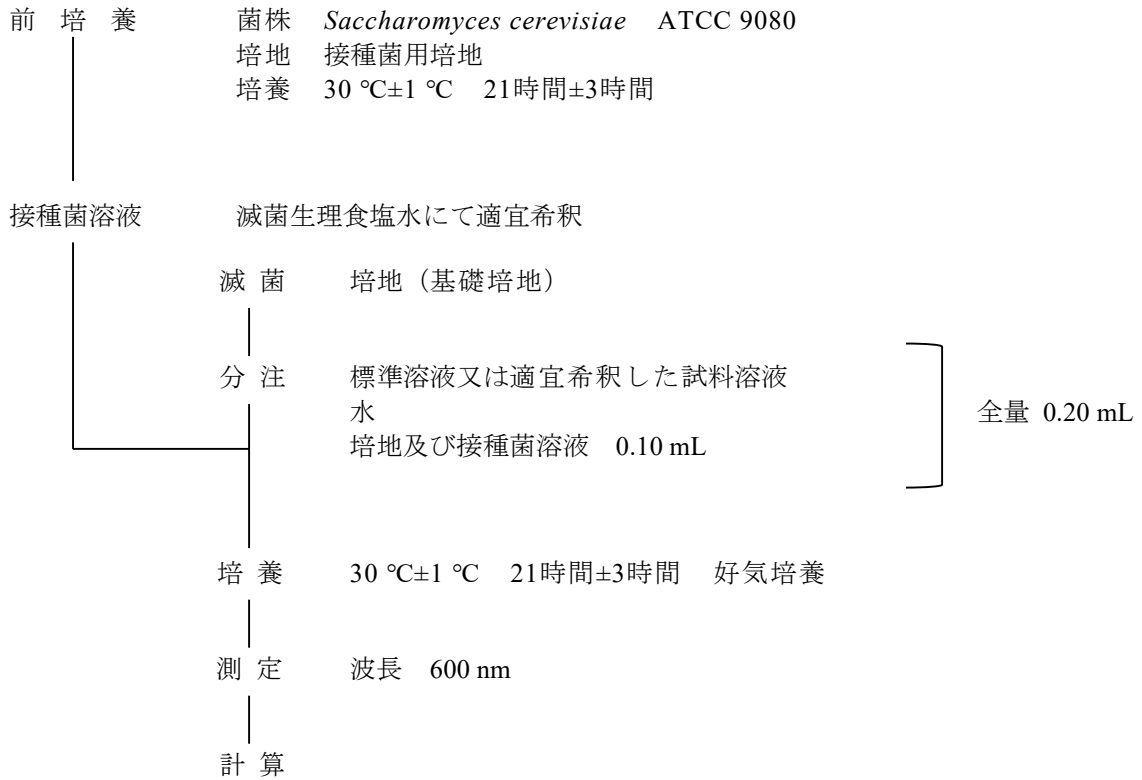
(注4) 得られた各値の中で、それらの平均値から目安として ± 10 %以内の4点以上の値を用いて計算する。

ビタミンB₆定量法・フローチャート

[試料溶液の調製]



[培養・測定]



29. ビタミンB₁₂ (コバラミン類)

29-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート
マイクロプレート振り混ぜ機
三角フラスコ
孵卵器
オートクレーブ
遠心分離機
pHメーター
マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

シアノコバラミン標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団頒布）

シアノコバラミン標準原液：シアノコバラミン標準品100 mgを25 % (v/v) エタノールに溶かし、1000 mL（シアノコバラミン0.1 mg/mL）とする。シアノコバラミンは、使用する標準品中に水分が含まれるため、日本薬局方に従い乾燥減量を求め（注1），これからファクターを算出して補正する。

シアノコバラミン標準溶液：シアノコバラミン標準原液を用時，水で希釈し，0.1 ng/mLの濃度に調製する。

酢酸緩衝液：酢酸75 mLと酢酸ナトリウム三水和物133 gを水に溶かし，酢酸でpH4.5に調整し，水を加えて2000 mLとする。

0.5 mg/mLシアン化カリウム溶液：シアン化カリウム50 mgを0.2 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液に溶かし，100 mLにする。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製（注2）

水1000 mLに下記のものを溶かし，水浴上で加熱溶解する。溶解後，必要があればろ過する。

基礎培地組成（pH6.0±0.2）

カザミノ酸	15 g	ニコチン酸	2 mg
ブドウ糖	40 g	パラアミノ安息香酸	2 mg
アスパラギン酸	0.2 g	パントテン酸カルシウム	1 mg
酢酸ナトリウム	20 g	塩酸ピリドキシリン	4 mg
アスコルビン酸	4 g	塩酸ピリドキサール	4 mg
L-シスチン	0.4 g	塩酸ピリドキサミン	800 µg
DL-トリプトファン	0.4 g	葉酸	200 µg
硫酸アデニン	20 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
塩酸グアニン	20 mg	リン酸一水素カリウム	1 g
ウラシル	20 mg	硫酸マグネシウム	0.4 g
キサンチン	20 mg	塩化ナトリウム	20 mg
リボフラビン	1 mg	硫酸第一鉄	20 mg
塩酸チアミン	1 mg	硫酸マンガン	20 mg
ビオチン	10 µg	ポリソルベート 80	2 g

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地 (注3)

水100 mLに酵母エキス0.85 gを溶かし、これにペプトン0.85 g, ブドウ糖1.1 g, リン酸二水素カリウム 0.2 g, トマトジュース末0.37 g及びポリソルベート80 0.1 gを加え、水浴上で加熱溶解した後、pH6.8に調製する。この液約4 mLずつを試験管に分注し、121 °Cで10分間加圧滅菌した後、放冷する。

(b) 接種菌溶液

Lactobacillus delbrueckii subsp.lactis ATCC 7830 の保存菌株を接種菌用培地に接種し、37 °C ± 1 °Cで20時間 ± 3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し、37 °C ± 1 °Cで9時間 ± 3時間培養する。培養した菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料 (*W*) を三角フラスコにはかりとる。水40 mL, 酢酸緩衝液10 mL及び0.5 mg/mLシアン化カリウム溶液0.4 mL (注4) を加え、100 °Cで30分間抽出する。冷却後、10 % (w/v) メタリン酸溶液0.6 mLを加え、水で100 mLに定容 (*V*) し、ろ過する。

(a) 試料溶液A (ビタミンB₁₂測定用)

ろ液25 mL又は40 mL (*a*) をはかりとり、pH6.0に調整した後、水で50 mLに定容 (*b*) し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

(b) 試料溶液B (アルカリ耐性因子測定用・魚類以外に適用)

ろ液25 mL又は40 mL (*a*) をはかりとり、pH11~12に調整した後、121 °Cで30分間加熱する。冷却後、pH6.0に調整し、水で50 mLに定容 (*b*) し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、シアノコバラミン標準溶液0, 40, 80, 120, 160, 200, 240, 280, 400及び600 µLを試験管2本ずつに取り、それぞれに基礎培地1 mL及び水を加えて全量を2 mLとする。別に本試験のため、試料溶液A及び試料溶液B 200, 400及び800 µLをそれぞれ試験管2本ずつにとり、次に各試験管に基礎培地1 mL及び水を加えて全量を2 mLとする。121 °Cで5分間加熱滅菌し、冷却後、各試験管に接種菌溶液1滴 (20 µL) ずつを無菌的に接種し、37 °C ± 1 °Cで19時間 ± 3時間培養する。培養後、試験管から200 µLずつマイクロプレートに分注し、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌後、濁度を600 nmの吸光度を用いて測定する。検量線はシアノコバラミンの量と濁度 (吸光度) をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液のシアノコバラミン含量を求める。また各試料中のシアノコバラミン含量については、試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中のシアノコバラミン含量とする (注5)。試料溶液Aから求めたビタミンB₁₂量より試料溶液Bから求めたアルカリ耐性因子量を差し引き試料中の含量を算出する。

(4) 計算

$$\text{ビタミンB}_{12}\text{量} (\mu\text{g}/100\text{g}) = (A \times V \times N \times b) \times \frac{100}{(a \times W \times 1000)}$$

$$\text{アルカリ耐性因子含量} (\mu\text{g}/100\text{g}) = (B \times V \times N \times b) \times \frac{100}{(a \times W \times 1000)}$$

$$\text{ビタミンB}_{12}\text{含量} (\mu\text{g}/100\text{g}) = (\text{ビタミンB}_{12}\text{量}) - (\text{アルカリ耐性因子含量})$$

A: 検量線より求めた試料溶液1 mL中のビタミンB₁₂濃度 (ng/mL)

B: 検量線より求めた試料溶液1 mL中のアルカリ耐性因子濃度 (ng/mL)

V: 定容量 (mL)

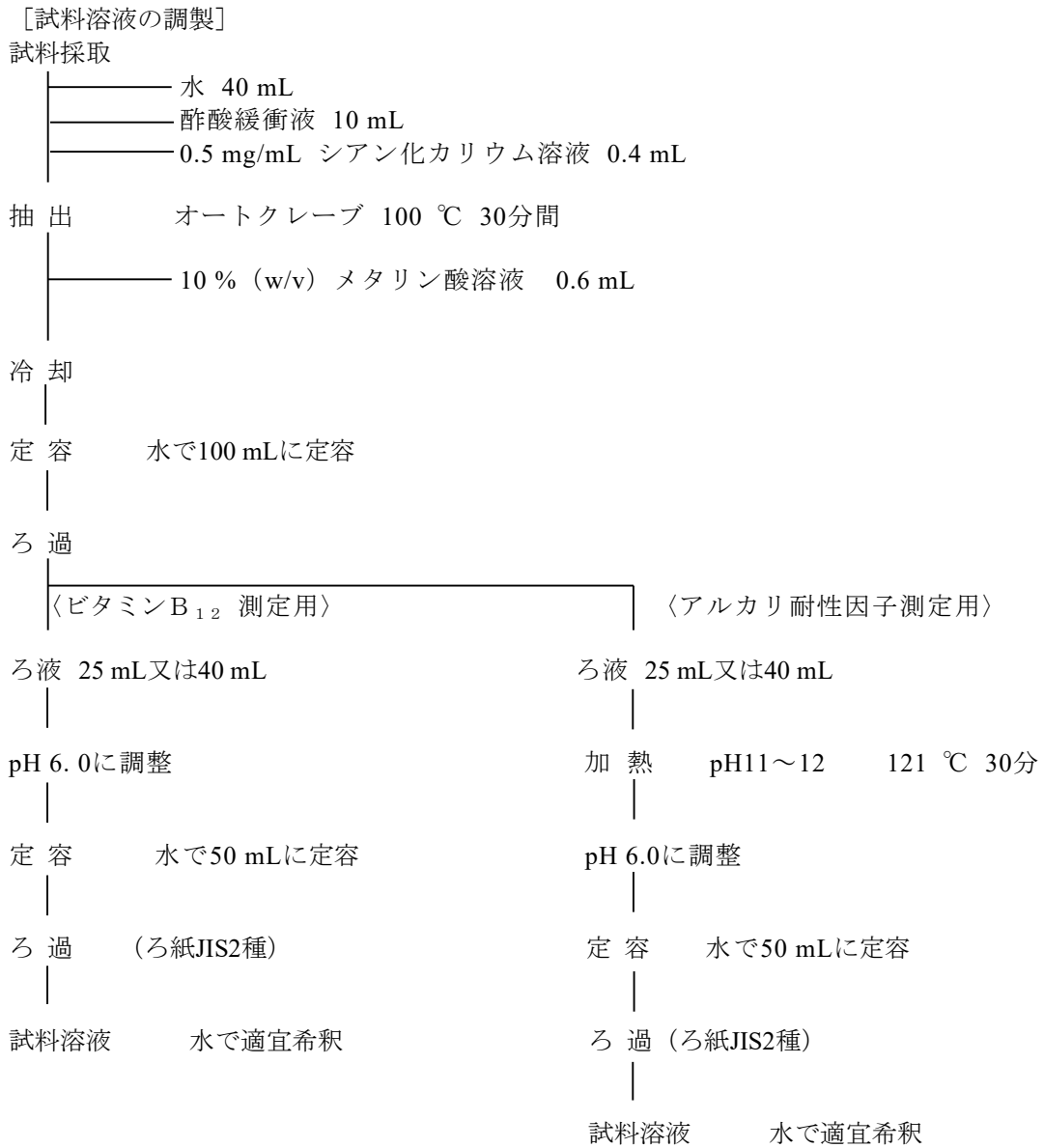
N: 希釈倍数

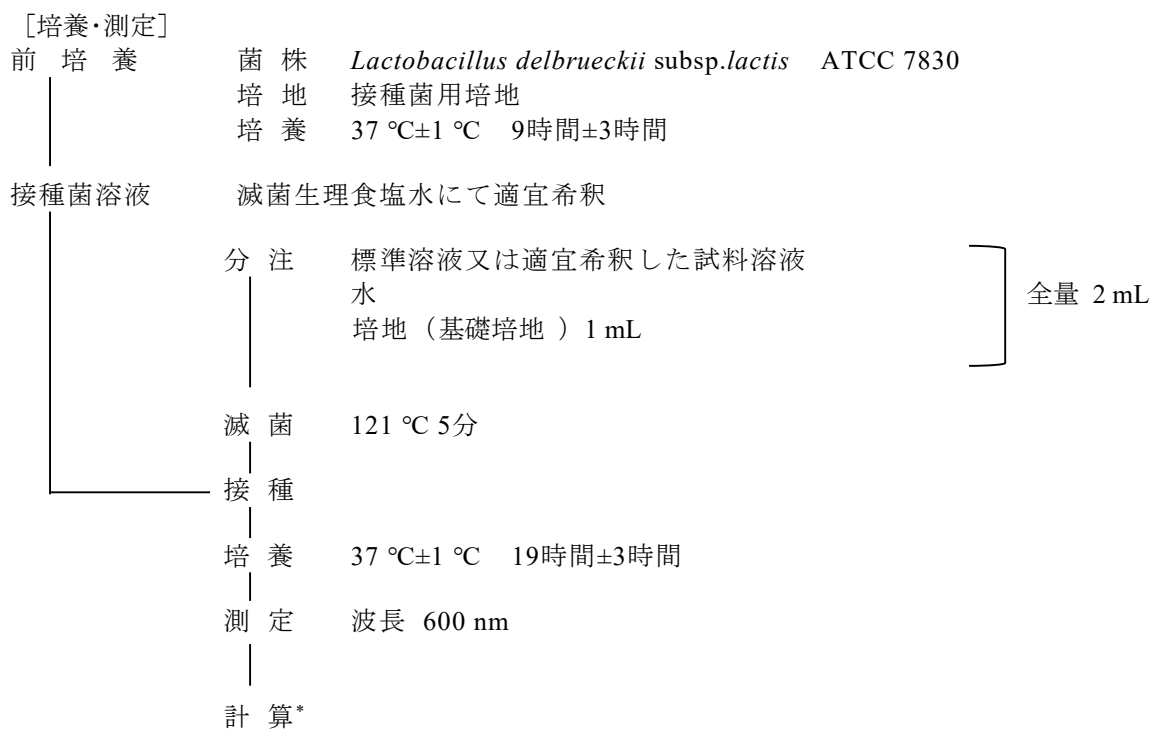
W : 試料採取量 (g)
 a : 分取量 (mL)
 b : 定容量 (mL)

[注解]

- (注1) 乾燥減量12 %以下 (0.05 g, 減圧0.67 kPa (5 mmHg) 以下, 五酸化リン, 100 °C, 4時間) (日本薬局方)。
- (注2) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。なお日水製薬(株)ほかから既成培地が市販されている。日水製薬(株)の場合, 「ビタミンB₁₂定量用基礎培地」が使用できる。
- (注3) 日水製薬(株)ほかから既成培地が市販されている。日水製薬(株)の場合, 「ライヒマニ接種用培地」が使用できる。
- (注4) 推定されるB₁₂含量の1000倍以上のシアン化カリウム量であること。
- (注5) 得られた各値の中で, それらの平均値から目安として±10%以内の4点以上の値を用いて計算する。

ビタミンB₁₂定量法・フローチャート





* アルカリ耐性因子を差し引いたものをビタミンB₁₂とする。

30. 葉酸

30-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート
マイクロプレート振り混ぜ機
三角フラスコ
孵卵器
オートクレーブ
遠心分離機
pHメーター
マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

葉酸標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団頒布）
葉酸標準原液：葉酸標準品200 mgを全量フラスコにはかりとり、25% (v/v) エタノール約100 mLで洗い込み、10 mol/L水酸化ナトリウム溶液を2, 3滴加えて溶解させる。1 mol/L塩酸でpH7.0に調整し、25% (v/v) エタノールで200 mLに定容し、これを原液（1000 µg/mL）とする。葉酸は、使用する標準品中に水分が含まれるため、日本薬局方に従い乾燥減量を求め、これからファクターを算出して補正する。

葉酸標準溶液：葉酸標準原液を0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）で希釈し、1 ng/mLの濃度に調製する。

アスコルビン酸：特級

イオン交換樹脂（Dowex 1X8相当品）：樹脂をイオン交換水で洗浄する。

プロテアーゼ溶液：科研製葉製アクチナーゼE（1000000チロジン単位/g）を0.1% (w/v) 溶液として用いる。

コンジュガーゼ溶液：容量1000 mL三角フラスコにトリ胼臓凍結乾燥末6 gを入れる。水1000 mLを加え、10分間攪拌後、容量250 mL遠心管に入れ、3000回転/分で遠心分離する。容量1000 mL三角フラスコにDowex 1X8 (Cl⁻) 50 gを入れ、遠心分離した上清を加え、冷所で1時間攪拌する。その後、容量250 mL遠心管に入れ、3000回転/分で遠心分離した上清を酵素溶液とする（注1）。

0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）：リン酸二水素カリウム13.61 g、水酸化ナトリウム5.30 g、アスコルビン酸20 gを水1000 mLに加えてpH6.1に調整する。

1% (w/v) システイン塩酸塩溶液：システイン塩酸塩100 mgを水10 mLに加えて溶解する。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製（注2）

水1000 mLに下記のものに加え、水浴中で加熱溶解する。

基礎培地組成（pH6.7±0.1）

カザミノ酸	10 g	パラアミノ安息香酸	2 mg
ブドウ糖	40 g	パントテン酸カルシウム	800 µg
L-アスパラギン	600 mg	グルタチオン	5 mg
塩酸ピリドキシン	4 mg	L-トリプトファン	200 mg
L-システイン塩酸塩	500 mg	塩酸グアニン	10 mg
硫酸アデニン	10 mg	ウラシル	10 mg
リン酸一水素カリウム	1 g	キサンチン	20 mg

硫酸マグネシウム（無水）	200 mg	リボフラビン	1 mg
酢酸ナトリウム	40 g	塩酸チアミン	400 µg
硫酸第一鉄	20 mg	ビオチン	20 µg
硫酸マンガン（Ⅱ）五水和物	24 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
ポリソルベート80	100 mg	塩化ナトリウム	20 mg
ニコチン酸	800 µg		

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地（注3）

水100 mLに酵母エキス0.55 gを溶かし、これにペプトン1.25 g、ブドウ糖1.1 g、リン酸二水素カリウム0.025 g、リン酸一水素カリウム0.025 g、酢酸ナトリウム1.0 g、硫酸マグネシウム0.01 g、硫酸マンガン0.5 mg、硫酸第一鉄0.5 mgを加えpH6.8に調整した後、水浴上で加熱溶解する。溶解後かき混ぜ、この液約4 mLずつを試験管に分注し、121 °Cで10分間加圧滅菌後、放冷する。

(b) 接種菌溶液

Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469の保存菌株を接種菌用培地に継代し、37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し、37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。培養した菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料（*W*）を三角フラスコにはかりとる。0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）40 mLを加え、121 °Cで15分間加圧抽出する。冷却後、プロテアーゼ溶液1 mLを加え37 °C±1 °Cで2時間反応し、オートクレーブで100 °C、10分間加熱する。冷却後、コンジュガーゼ溶液5 mL及び1%（w/v）システイン塩酸塩溶液2.5 mLを加え、さらにトルエン2～3滴を加えて37 °C±1 °C、15～20時間反応させる。これをオートクレーブで100 °C、10分間加熱し、冷却後、0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）で100 mLに定容（*V*）し、ろ過（ろ紙JIS2種）する。必要に応じて、測定時さらに0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、葉酸標準溶液（1 ng/mL）0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 40及び60 µLをマイクロプレートの2ウェルずつにとり、それぞれに接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）を加えて全量を0.25 mLとする。別に1試料溶液につき3段階の希釈液（試料溶液20, 40, 80 µL）を2ウェルずつにとる。次に接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH6.1）を加えて全量を0.25 mLにする（注4）。マイクロプレートを振り混ぜ機で2～3分攪拌し、マイクロプレートリーダーでブランクを測定した後、37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養（培養条件：嫌気培養）する。培養後、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌した後、菌の増殖をマイクロプレートリーダー（600 nmの吸光度を測定）で測定する。検量線はマイクロプレートの各ウェルに加えた葉酸の量と濁度（吸光度）をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液の葉酸含量を求める。また各試料中の葉酸含量については、各試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中の葉酸含量とする（注5）。

(4) 計算

$$\text{葉酸含量 (µg/100 g)} = (A \times V \times N) \times \frac{100}{(W \times 1000)}$$

A : 検量線より求めた試料溶液1 mL中の葉酸濃度 (ng/mL)

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

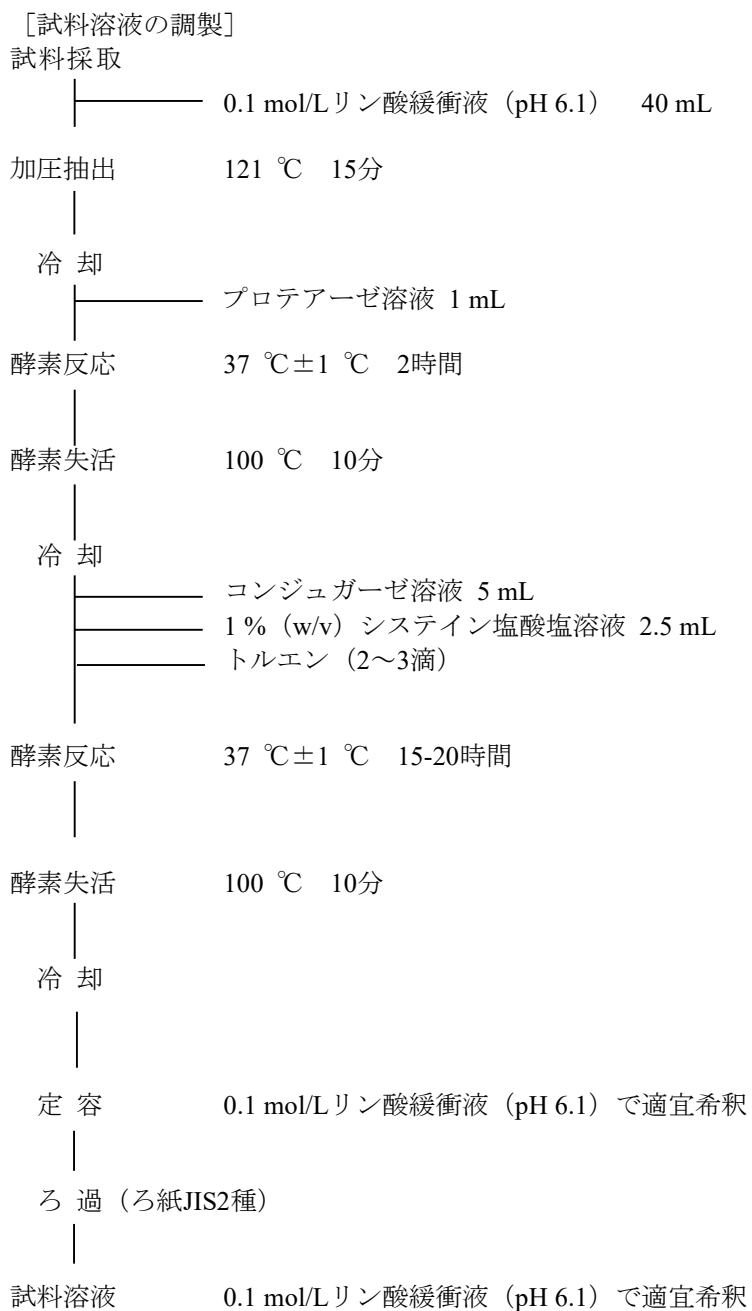
W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。

- (注2) 酵素溶液には、Kidney acetone powder porcine, Type II (Sigma) を用いてもよい。
- (注3) 日水製薬(株)ほかから既成培地が市販されている。日水製薬(株)の場合、「一般乳酸菌接種用培地」が使用できる。
- (注4) 培地分注量は試験菌株の生育に応じて調節する。
- (注5) 得られた各値の中で、それらの平均値から目安として±10%以内の4点以上の値を用いて計算する。

葉酸定量法・フローチャート



[培養・測定法]

前培養

菌株 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469
培地 接種菌用培地
培養 37 °C±1 °C 20時間±3時間

接種菌溶液

滅菌生理食塩水にて適宜希釈

滅菌 培地 (基礎培地)

分注 標準溶液又は適宜希釈した試料溶液
0.1 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 6.1)
培地及び接種菌溶液 0.15 mL

全量0.25 mL

培養 37 °C±1 °C 20時間±3時間 嫌気培養

測定 波長 600 nm

計算

3 1. パントテン酸

31-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート

マイクロプレート振り混ぜ機

透析用セルロースチューブ (分画分子量：約10000～14000)

遠心式限外ろ過フィルターユニット (分画分子量：10000)

三角フラスコ

孵卵器

オートクレーブ

遠心分離機

pHメーター

マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

パントテン酸カルシウム標準品：日本薬局方標準品 ((一財) 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団頒布)

パントテン酸カルシウム標準原液：パントテン酸カルシウム標準品100 mgを、25% (v/v) エタノールに溶かし、100 mL (パントテン酸カルシウムとして1 mg/mL) とする。

パントテン酸カルシウム標準溶液：パントテン酸カルシウム標準原液を用時、水で希釈し、50 ng/mLの濃度に調製する。

ハト肝臓アセトンパウダー：Liver acetone powder, PIGEON, Sigma 社製又は同等品

ハト肝臓アミダーゼ溶液の調製 (注1)：ハト肝臓アセトンパウダー10 gに氷冷した0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液を50 mL加え、氷冷しながらすり鉢でつぶし、懸濁液を作成する。これを50 mLの氷冷した0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液で遠心管に移し、3000回転/分、10分間、冷却遠心分離する。上澄み液を透析用セルロースチューブに移し、0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液10 L中で2時間、遮光冷蔵下で透析する。透析用セルロースチューブを取り出し、新しい0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液10 L中で15時間、遮光冷蔵下で透析する。透析した溶液を遠心管に移し、3000回転/分、10分間、冷却遠心分離する。上澄み液を遠心式限外ろ過フィルターユニットに移し、3000回転/分、1時間、冷却遠心分離する。上澄み液に0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液を加え100 mLにしたものをハト肝臓アミダーゼ溶液とする。

アルカリホスファターゼ：Phosphatase alkaline bovine and calf intestinal Mucosa Type1 (pfs), Sigma 社製又は同等品

2% (w/v) アルカリホスファターゼ溶液：アルカリホスファターゼ100 mgを水5 mLに加えて溶解する。

2-アミノ-2- (ヒドロキシメチル) -1,3-プロパンジオール：特級

トリス塩酸緩衝液：2-アミノ-2- (ヒドロキシメチル) -1,3-プロパンジオール24.2 gを水200 mLに溶解する。18%塩酸溶液でpH8.3に調整する。

炭酸水素ナトリウム溶液：炭酸水素ナトリウム850 mgを水に溶かし、100 mLとする。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製 (注2)

水1000 mLに下記のを加え、水浴中で加熱溶解する。

基礎培地組成 (pH7.1±0.1)

カザミノ酸

14 g

ニコチン酸

1 mg

L-シスチン	400 mg	塩酸ピリドキシン	800 µg
DL-トリプトファン	200 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
硫酸アデニン	20 mg	リン酸一水素カリウム	1 g
塩酸グアニン	20 mg	硫酸マグネシウム	400 mg
ウラシル	20 mg	硫酸第一鉄	20 mg
塩酸チアミン	200 µg	硫酸マンガン	20 mg
リボフラビン	400 µg	酢酸ナトリウム (無水)	20 g
パラアミノ安息香酸	200 µg	ブドウ糖	40 g
ビオチン	0.8 µg		

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地 (注3)

水100 mLに酵母エキス0.55 gを溶かし、これにペプトン1.25 g, ブドウ糖1.1 g, リン酸二水素カリウム0.025 g, リン酸一水素カリウム0.025 g, 酢酸ナトリウム1.0 g, 硫酸マグネシウム0.01 g, 硫酸マンガン0.5 mg, 硫酸第一鉄0.5 mgを加えpH6.8に調整した後、水浴上で加熱溶解する。溶解後かき混ぜ、この液約4 mLずつを試験管に分注し、121 °Cで10分間加圧滅菌後、放冷する。

(b) 接種菌溶液

Lactobacillus plantarum ATCC 8014 の保存菌株を接種菌用培地に継代し、37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し、37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。培養した菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料 (W) に水20 mL及びトリス塩酸緩衝液10 mLを加え、121 °C15分間加圧抽出する。冷却後、水で100 mLに定容 (V) する。次に25 mL又は40 mL (a) をはかりとり、炭酸水素ナトリウム溶液0.1 mL又は0.16 mL, 2% (w/v) アルカリホスファターゼ溶液0.4 mL又は0.64 mL, ハト肝臓アミダーゼ溶液0.2 mL又は0.32 mLを添加し、静かに混合する。その後トルエンを2~3滴加え、37 °C±1 °Cで15時間反応し、オートクレーブで100 °C, 10分間加熱する。冷却後、pH4.5に調整し、水で50 mL (b) に定容し、ろ過する。ろ液25 mL又は40 mL (c) をはかりとり、pH6.8に調整した後、水で50 mL (d) に定容し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、パントテン酸カルシウム標準溶液 (50 ng/mL) 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 40及び60 µLをマイクロプレートの2ウェルずつにとり、それぞれに接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLとする。別に1試料溶液につき3段階の希釈液 (試料溶液20, 40, 80 µL) を2ウェルずつにとる。次に接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLにする。マイクロプレートを振り混ぜ機で2~3分攪拌し、マイクロプレートリーダーでブランクを測定した後、35 °C±2 °Cで21時間±3時間培養 (培養条件: 嫌気・振とう培養) する。培養後、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌した後、菌の増殖をマイクロプレートリーダー (600 nmの吸光度を測定) で測定する。検量線はマイクロプレートの各ウェルに加えたパントテン酸カルシウムの量と濁度 (吸光度) をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液のパントテン酸カルシウム含量を求める (注4)。また各試料中のパントテン酸カルシウム含量については、試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中のパントテン酸カルシウム含量とする (注5)。

(4) 計算

$$\text{パントテン酸含量 (mg/100 g)} = (A \times V \times N \times b \times d) \times 0.92 \times \frac{100}{(a \times c \times W \times 1000000)}$$

A: 検量線より求めた試料溶液1 mL中のパントテン酸カルシウム濃度 (ng/mL)

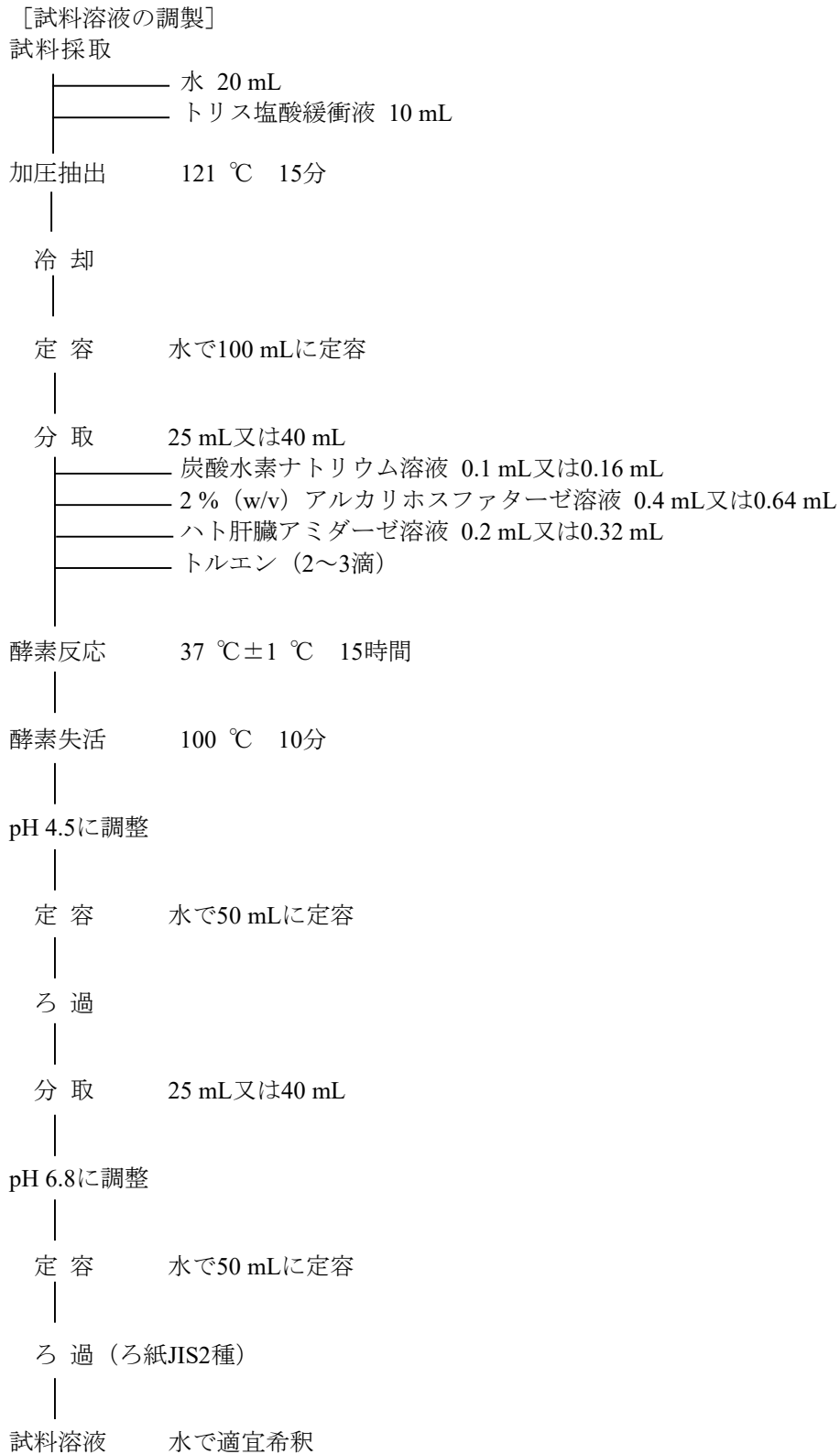
V: 定容量 (mL)

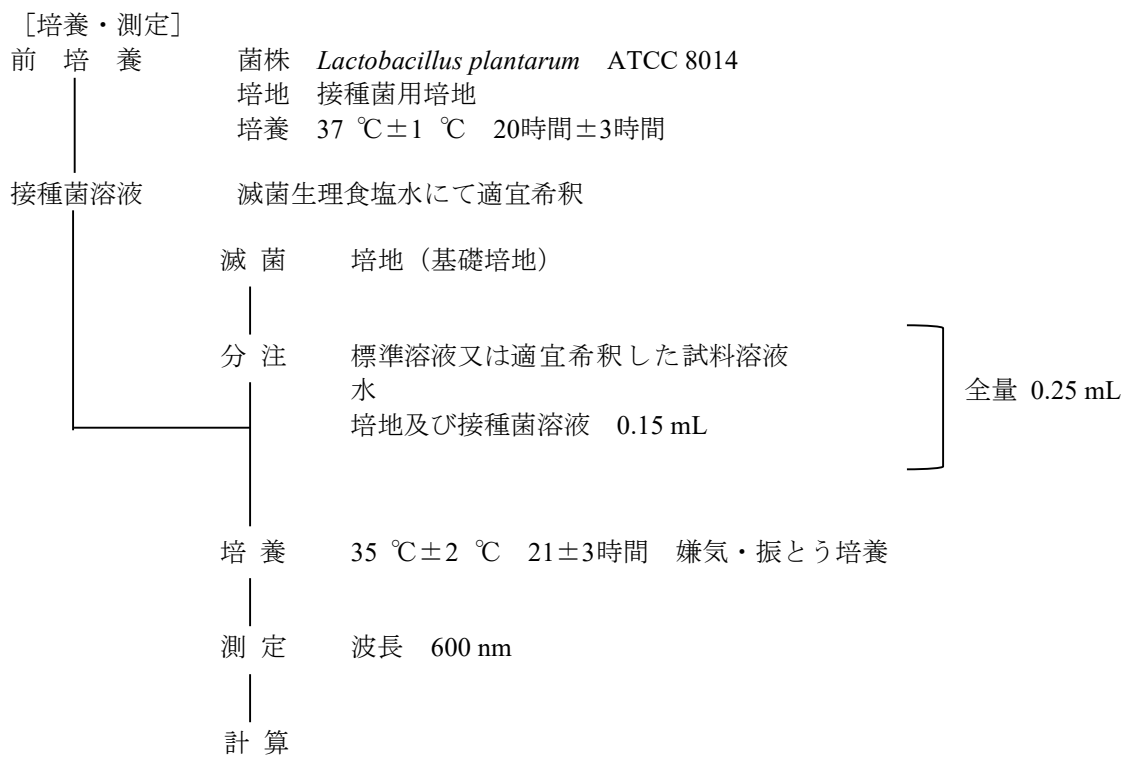
N : 希釈倍数
 W : 試料採取量 (g)
 a, c : 分取量 (mL)
 b, d : 定容量 (mL)

[注解]

- (注1) 本文記載の操作より精製効果は高くないが、以下の操作もできる。
ハト肝臓のアセトンパウダー10 gに、氷冷した0.02 mol/L炭酸水素カリウム水溶液50 mLを加え、氷冷しながらすり鉢でつぶし、懸濁液を作る。これを50 mLの氷冷した0.02 mol/L炭酸水素カリウム溶液で遠心管に移し、3000回転/分、10分間、冷却遠心分離する。上澄み液に活性化したイオン交換樹脂5 gを加え、1時間氷冷しながらかき混ぜる。この操作を3回繰り返す。3000回転/分、10分間冷却遠心分離し、その上澄み液をハト肝臓アミダーゼ溶液とする。
(イオン交換樹脂 (Dowex 1 X 8相当品) : イオン交換樹脂100 gに、1 mol/L塩酸溶液1Lを加え、10分間かき混ぜる。JIS5種Aのろ紙を用いて吸引ろ過する。1 mol/L水酸化カリウム溶液1Lを加えて10分間かき混ぜ、さきと同様にろ過して水洗する。再び1 mol/L塩酸溶液1Lを加え、同様に吸引ろ過する。水で塩酸を十分に洗い流し、同様に吸引ろ過する。これに水を加えて、トリス塩酸緩衝溶液を用いてpH8.0に調整する。冷蔵庫で懸濁液を保管し、2日以内に使用する。)
- (注2) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。なお日水製薬(株)ほかから既成培地が市販されている。日水製薬(株)の場合、「パントテン酸定量用基礎培地」が使用できる。
- (注3) 日水製薬(株)ほかから既成培地が市販されている。日水製薬(株)の場合、「一般乳酸菌接種用培地」が使用できる。
- (注4) 酵素ブランク溶液を調製し、パントテン酸含量から差し引く必要がある。
- (注5) 得られた各値の中で、それらの平均値から±10 %以内の4点以上の値を用いて計算する。

パントテン酸定量法・フローチャート





32. ビオチン

32-1. 微生物学的定量法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

マイクロプレート
マイクロプレート振り混ぜ機
三角フラスコ
孵卵器
オートクレーブ
遠心分離機
pHメーター
マイクロプレートリーダー

(2) 試薬

D-ビオチン標準品：特級（関東化学（株））または同等品

ビオチン標準原液：D-ビオチン標準品20 mgを25%（v/v）エタノールに溶かし，200 mL（ビオチンとして0.1 mg/mL）とする。

ビオチン標準溶液：ビオチン標準原液を用時，水で希釈し，0.2 ng/mLの濃度に調製する。

2 mol/L硫酸：硫酸100 mLを水800 mLに徐々に加えて調製する。

3 mol/L硫酸：硫酸100 mLを水500 mLに徐々に加えて調製する。

(3) 操作

1) 基礎培地の調製（注1）

水1000 mLに下記のものに加え，水浴中で加熱溶解する。

基礎培地組成（pH7.1±0.1）

カザミノ酸	14 g	ニコチン	1 mg
L-シスチン	400 mg	塩酸ピリドキシン	800 µg
DL-トリプトファン	200 mg	リン酸二水素カリウム	1 g
硫酸アデニン	20 mg	リン酸一水素カリウム	1 g
塩酸グアニン	20 mg	硫酸マグネシウム	400 mg
ウラシル	20 mg	硫酸第一鉄	20 mg
塩酸チアミン	200 µg	硫酸マンガン	20 mg
リボフラビン	400 µg	酢酸ナトリウム（無水）	20 g
パラアミノ安息香酸	200 µg	ブドウ糖	40 g
パントテン酸カルシウム	400 µg		

2) 接種菌溶液の調製

(a) 接種菌用培地（注2）

水100 mLに酵母エキス0.55 gを溶かし，これにペプトン1.25 g，ブドウ糖1.1 g，リン酸二水素カリウム0.025 g，リン酸一水素カリウム0.025 g，酢酸ナトリウム1.0 g，硫酸マグネシウム0.01 g，硫酸マンガン0.5 mg，硫酸第一鉄0.5 mgを加えpH6.8に調整した後，水浴上で加熱溶解する。溶解後かき混ぜ，この液約4 mLずつを試験管に分注し，121 °Cで10分間加圧滅菌後，放冷する。

(b) 接種菌溶液

Lactobacillus plantarum ATCC 8014 の保存菌株を接種菌用培地に継代し，37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。さらに接種菌用培地に継代し，37 °C±1 °Cで20時間±3時間培養する。培養し

た菌浮遊液を遠心分離し、滅菌生理食塩水で2回洗浄する。洗浄後、滅菌生理食塩水で希釈し、接種菌溶液とする。

3) 試料溶液の調製

試料 (W) を三角フラスコにはかりとり。2 mol/L硫酸又は3 mol/L硫酸25 mLを加え、121 °Cで1時間加圧抽出する。冷却後、pH4.5に調整し、水で100 mLに定容 (V) し、ろ過する。ろ液25 mL又は40 mL (a) をはかりとり、pH6.8に調整した後、水で50 mL (b) に定容し、ろ過 (ろ紙JIS2種) する。必要に応じて、測定時さらに水を加えて、希釈し、試料溶液とする。

4) 測定

検量線作成のため、ビオチン標準溶液 (0.2 ng/mL) 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 40及び60 μ Lをマイクロプレートの2ウェルずつにとり、それぞれに接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLとする。別に1試料溶液につき3段階の希釈液 (試料溶液20, 40, 80 μ L) を2ウェルずつにとる。次に接種菌溶液を含む基礎培地0.15 mL及び水を加えて全量を0.25 mLにする。マイクロプレートを振り混ぜ機で2~3分攪拌し、マイクロプレートリーダーでブランクを測定した後、35 °C \pm 2 °Cで21時間 \pm 3時間培養 (培養条件: 微好気・振とう培養) する。培養後、マイクロプレートを十分に振り混ぜ機で攪拌した後、菌の増殖をマイクロプレートリーダー (600 nmの吸光度を測定) で測定する。検量線はマイクロプレートの各ウェルに加えたビオチンの量と濁度 (吸光度) をプロットして作成する。この検量線を用いて試料溶液のビオチン含量を求める。また各試料中のビオチン含量については、試料溶液の分注量に応じた段階的な菌の応答性があることを確認してから、各試料溶液から得られた値の平均値を求め、これを試料中のビオチン含量とする (注3)。

(4) 計算

$$\text{ビオチン含量 (}\mu\text{g/100 g)} = (A \times V \times N \times b) \times \frac{100}{(a \times W \times 1000)}$$

A : 検量線より求めた試料溶液1 mL中のビオチン濃度 (ng/mL)

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

a : 分取量 (mL)

b : 定容量 (mL)

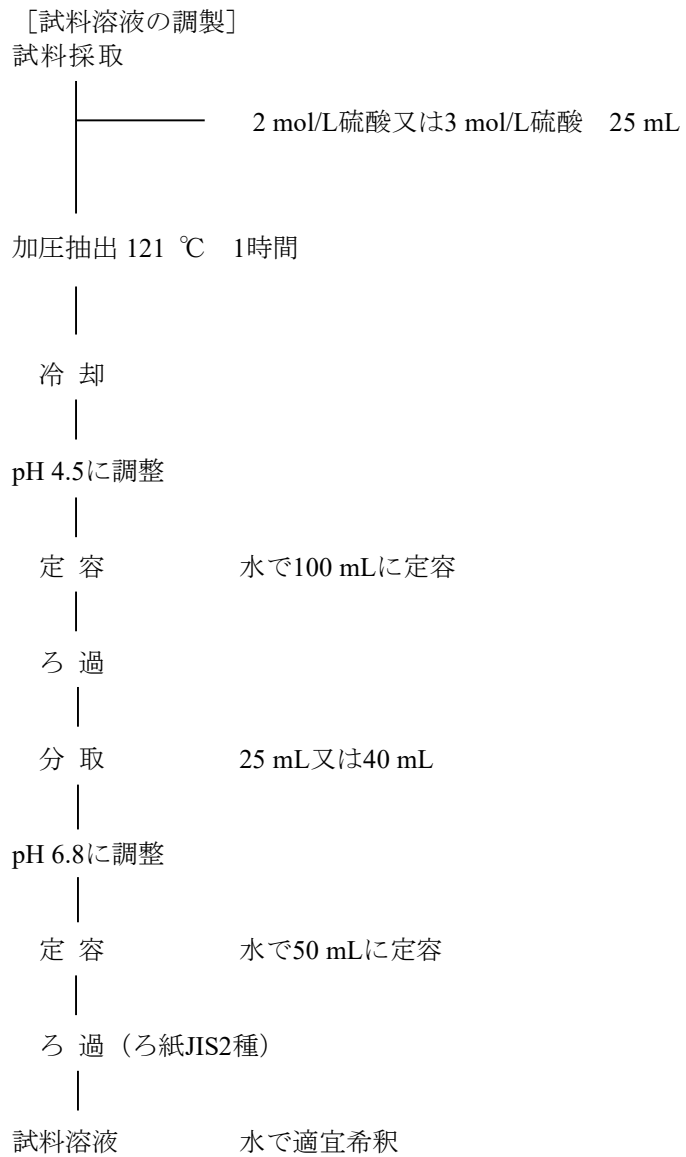
[注解]

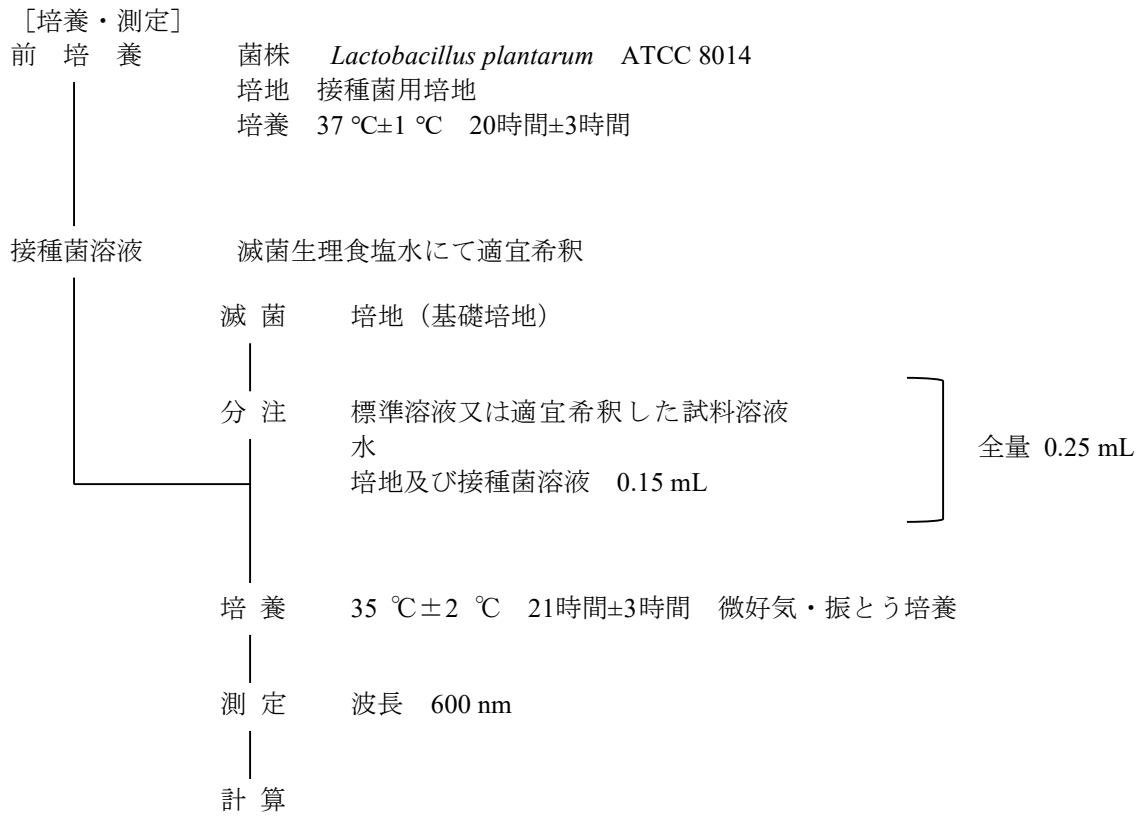
(注1) 試験菌株の生育に応じて組成を調節する。なお日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「ビオチン定量用基礎培地」が使用できる。

(注2) 日水製薬 (株) ほかから既成培地が市販されている。日水製薬 (株) の場合、「一般乳酸菌接種用培地」が使用できる。

(注3) 得られた各値の中で、それらの平均値から目安として ± 10 %以内の4点以上の値を用いて計算する。

ビオチン定量法・フローチャート





33. アスコルビン酸（ビタミンC）

33-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（可視部吸光検出器付）

振り混ぜ機

恒温器

遠心分離器

ホモジナイザー

共栓試験管

遠心管

(2) 試薬

アスコルビン酸標準品：日本薬局方標準品（（一財）医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団）または同等品

メタリン酸：特級

硫酸：特級

2,4-ジニトロフェニルヒドラジン：特級

チオ尿素：特級

酢酸エチル：残留農薬試験用

酢酸：特級

n-ヘキサン：残留農薬試験用

2,6-ジクロロフェノールインドフェノールナトリウム*n*水和物：2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム塩水和物（Sigma）または同等品

硫酸ナトリウム（無水）：特級

2%チオ尿素-5%メタリン酸溶液：10%メタリン酸溶液50 mLにチオ尿素2 gを溶解し、水を加えて100 mLとした後、ろ過（ろ紙JIS2種）する。

2%2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-4.5 mol/L硫酸溶液：2,4-ジニトロフェニルヒドラジン4 gを4.5 mol/L硫酸に溶解し、100 mLとした後、ろ過（ろ紙JIS2種）する。

アスコルビン酸標準原液：アスコルビン酸標準品100 mgを容量100 mL全量フラスコにとり、5%メタリン酸溶液で定容し、標準原液（1 mg/mL）とする。

アスコルビン酸標準溶液：アスコルビン酸標準原液を5%メタリン酸溶液で次のように希釈し、標準溶液とする。

（希釈例）

100 µg/mL標準溶液：標準原液10 mLを100 mLに定容する。

10 µg/mL標準溶液：100 µg/mL標準溶液10 mLを100 mLに定容する。

0.4 µg/mL標準溶液：10 µg/mL標準溶液4 mLを100 mLに定容する。

インドフェノール溶液：2,6-ジクロロフェノールインドフェノールナトリウム*n*水和物0.2 gを温水に溶解し、100 mLとした後、ろ過（ろ紙JIS6種）する。

(3) 操作

1) 抽出

試料1~10 g (*W*) を容量50 mL遠心管にはかり取り、5%メタリン酸溶液を加え、ホモジナイズ抽出する。5%メタリン酸溶液で洗い込み、50 mLに定容 (*V*) し、遠心分離（1500回転/分、5分間）、ろ過（ろ紙JIS3種）する。液体試料は、1~10 gを容量50 mL全量フラスコにはかり取り、5%メタリン酸溶液で定容し、ろ過する（注1）、（注2）。

2) 試料溶液の調製

抽出後のろ液を5%メタリン酸溶液で適宜希釈して、共栓小試験管に1 mL分注し、5%メタリ

ン酸溶液1 mLを加える。インドフェノール溶液を100～200 μL滴下し、2 %チオ尿素 - 5 %メタリン酸溶液 2 mLを加え、最後に2 %2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-4.5 mol/L 硫酸溶液 0.5 mLを加え、よく振り混ぜる。試験管に栓をし、38～42 °Cの恒温器中で約16時間静置し、オサゾンを生じた後、室温に戻す。酢酸エチル3 mLを加えて30分間振り混ぜ、生成したオサゾンを酢酸エチル層に転溶する。静置後、下層を除き、硫酸ナトリウム（無水）で酢酸エチル層を脱水し、試料溶液とする。

3) 高速液体クロマトグラフ用アスコルビン酸標準溶液（以下、HPLC用標準溶液）の調製

100 μg/mL, 10 μg/mL, 0.4 μg/mLアスコルビン酸標準溶液をそれぞれ共栓小試験管に1 mL分注し、5 %メタリン酸溶液1 mLを加える。(3) 2)と同様にインドフェノールを滴下し、以降も同様に調製した液をHPLC用標準溶液とする。

4) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

カラム：内径4.6 mm, 長さ100 mm, シリカゲル, 順相系カラム（例えば, Inertsil SIL-100A）

移動相：酢酸エチル-*n*-ヘキサン-酢酸-水の混液（60:40:5:0.05 v/v/v/v）（注3）

流 量：1.5 mL/分

温 度：35 °C

波 長：495 nm

注入量：10 μL

5) 測定

試料溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、アスコルビン酸のピーク高さを測定する。同様にHPLC用標準溶液をそれぞれ注入し、アスコルビン酸の検量線を作成する。

(4) 計算

$$\text{アスコルビン酸含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V \times N}{W \times 1000} \times 100$$

A：検量線より求めた試料溶液中のアスコルビン酸濃度（μg/mL）

V：定容量（mL）

N：希釈倍数

W：試料の採取量（g）

[注解]

(注1) 青汁粉末などの溶解しやすい粉末試料又はペースト状でホモジナイズが困難な試料は、振とう抽出することもできる。すなわち、全量フラスコに試料を採取し、5 %メタリン酸溶液を半量程度加え、振とうして溶解させた後、5 %メタリン酸溶液で定容し、ろ過する。

(注2) 油分を含む試料では、ヘキサン洗浄することもできる。すなわち、5 %メタリン酸溶液で定容した後、遠心管に移し、ヘキサンを50 mL加え、十分に振とうした後遠心分離し、下層をろ過する。

(注3) 食肉加工品には酸化防止剤としてエリソルビン酸を使用する場合がある。2,4-ジニトロフェニルヒドラジンとの反応で生成するオサゾンを、次の移動相条件で分離できる。

酢酸-*n*-プロパノール-酢酸エチル-*n*-ヘキサン混液（0.1:0.2:3:4 v/v/v/v）

アスコルビン酸定量法・フローチャート

試料 1~10 g 採取

5 %メタリン酸溶液を加え
ホモジナイズ抽出

5 %メタリン酸溶液で定容

遠心分離

ろ過

ろ液 (適宜希釈) 1 mLを採取, 別にアスコルビン酸標準溶液1 mLを採取

5 %メタリン酸溶液 1 mL

インドフェノール溶液 100~200 μ L

2 %チオ尿素-5 %メタリン酸溶液 2 mL

2 %2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-4.5 mol/L 硫酸溶液 0.5 mL

38~42 $^{\circ}$ C, 約16時間静置

酢酸エチル 3 mL

30分間振り混ぜ抽出

下層を除き, 酢酸エチル層を硫酸ナトリウム (無水) で脱水

高速液体クロマトグラフに注入, 測定

第4章 アミノ酸

34. 一般のアミノ酸*, ヒドロキシプロリン及びアンモニア

*イソロイシン, ロイシン, リシン (リジン), フェニルアラニン, チロシン, トレオニン (スレオニン), バリン, ヒスチジン, アルギニン, アラニン, アスパラギン酸 (注1), グルタミン酸 (注1), グリシン, プロリン, セリン

34-1. カラムクロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

アミノ酸自動分析計

恒温乾燥器

ガラス細工用バーナー

封管用試験管

真空ポンプ

(2) 試薬

アミノ酸混合標準溶液：アミノ酸混合標準液（富士フィルム和光純薬（株）Type H）及びヒドロキシプロリン標準原液をクエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で希釈して各アミノ酸濃度が0.1 $\mu\text{mol/mL}$ となるようにする。

ヒドロキシプロリン標準原液：ヒドロキシプロリン標準品（富士フィルム和光純薬（株））

81.95 mgを0.01 mol/L塩酸で250 mLに定容する。

12 mol/L塩酸：アミノ酸自動分析用36%塩酸を使用する。

6 mol/L塩酸：精密分析用20%塩酸を使用する。

2-メルカプトエタノール：1級

6 mol/L塩酸（0.04%（v/v）2-メルカプトエタノール含有）：20%塩酸（精密分析用）500 mLに2-メルカプトエタノール0.2 mLを加えて混合する。

クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）：クエン酸三ナトリウム二水和物（アミノ酸自動分析用）980 gに水約3.5 Lを加えて溶かし，12 mol/L塩酸約700 mL及びオクタン酸（アミノ酸自動分析用）5 mLを加え，6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後，水で5 Lに定容し，クエン酸ナトリウム緩衝液原液とする。

クエン酸ナトリウム緩衝液原液500 mLにチオジエチレングリコール（アミノ酸自動分析用）100 mL及び水4 Lを加え，6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後，水で5 Lに定容する。

3 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）120 gを水に溶解し，1 Lに定容する。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

試料0.2～1.5 g (*W*) を封管用試験管に正確にはかりとり，6 mol/L塩酸（0.04%（v/v）2-メルカプトエタノール含有）20 mLを加える。この試験管を減圧下（2.0 kPa（15 mmHg）以下）で15分間脱気後，封管し，110 $^{\circ}\text{C}$ （恒温乾燥器）で24時間加水分解を行う。加水分解後，冷却，開管し，加水分解液を容量100 mL全量フラスコに移し水で定容 (*V*) する。定容した加水分解液の適当量を取り，3 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpHを2.2に調整後，クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で定容し0.45 μm のフィルターでろ過したものを試料溶液（注2）とする。

2) 測定

試料溶液30 μL をアミノ酸自動分析計に注入し，各アミノ酸のピーク面積又は高さを測定し，あらかじめ標準溶液30 μL をアミノ酸自動分析計に注入して得られたピーク面積又は高さから，

試料中の各アミノ酸含量及びアンモニア含量を求める。

[アミノ酸自動分析計 (注3) の操作条件例]

カラム：強酸性陽イオン交換樹脂，内径4 mm，長さ120 mm，ステンレス製 (注4)

移動相：クエン酸ナトリウム緩衝液 (注5)

反応液：ニンヒドリン試薬 (注6)

波長：570 nm又は440 nm

本条件によるアミノ酸混合標準溶液のクロマトグラム例を図4-1に示した。

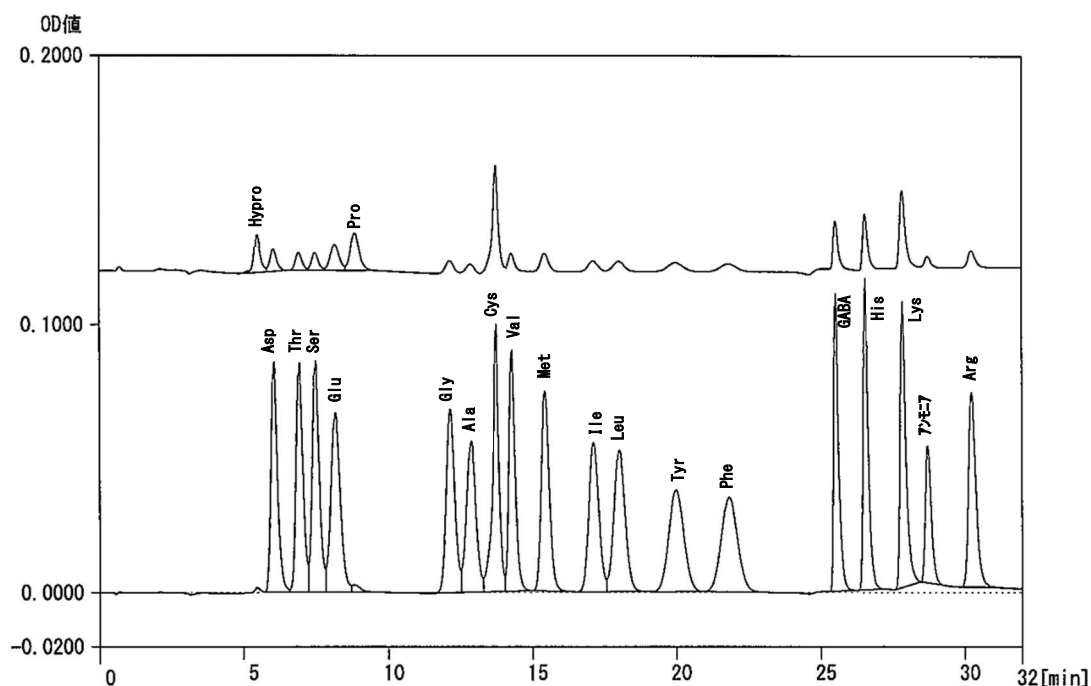


図4-1 アミノ酸混合標準溶液のクロマトグラム例

Asp:アスパラギン酸，Thr:トレオニン (スレオニン)，Ser:セリン，Glu:グルタミン酸，Pro:プロリン，Gly:グリシン，Ala:アラニン，Cys:シスチン*，Val:バリン，Met:メチオニン，Ile:イソロイシン，Leu:ロイシン，Tyr:チロシン，Phe:フェニルアラニン，His:ヒスチジン，Lys:リシン (リジン)，Arg:アルギニン，Hypro:ヒドロキシプロリン，GABA:γ-アミノ酪酸*

* Cys, GABAは定量には使用せず。

(4) 計算

アミノ酸自動分析計によって得られたクロマトグラムから積分計でピーク面積又は高さを求め，以下の式により試料中のアミノ酸含量及びアンモニア含量を計算する。

アミノ酸含量及びアンモニア含量 (mg/100 g)

$$= 0.1 \times MW \times \frac{A}{B} \times V \times N \times \frac{10^{-3}}{W} \times 100$$

0.1 : 標準溶液の濃度 (μmol/mL)

MW : 各アミノ酸及びアンモニアの分子量

A : 試験溶液のピーク面積又は高さ

B : 標準溶液のピーク面積又は高さ

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

計算に使用した各アミノ酸及びアンモニアの分子量
アスパラギン酸133.1, トレオニン (スレオニン) 119.1,
セリン105.1, グルタミン酸147.1, プロリン115.1,
グリシン75.1, アラニン89.1, バリン117.2,
イソロイシン131.2, ロイシン131.2, チロシン181.2,
フェニルアラニン165.2, ヒスチジン155.2,
リシン (リジン) 146.2, アルギニン174.2,
ヒドロキシプロリン 131.1, アンモニア17.0

(5) 補正值

分析法の加水分解時間によるアミノ酸量の過小評価を補正する場合は、(4) で計算した各アミノ酸含量に下記の補正係数を乗じて、補正したアミノ酸量を算出する。

なお、算出値は分析値 (補正值) として扱う。

[各アミノ酸の補正係数]

イソロイシン1.03, ロイシン1.01, リシン (リジン) 1.01,
フェニルアラニン1.01, チロシン1.04, トレオニン (スレオニン) 1.08, バリン1.03,
ヒスチジン1.01, アルギニン1.02, アラニン1.01, アスパラギン酸1.01,
グルタミン酸1.01, グリシン1.01, プロリン1.02, セリン1.13, ヒドロキシプロリン1.06

[注解]

(注1) アスパラギン, グルタミンは加水分解の際にそれぞれアスパラギン酸, グルタミン酸になるため, アスパラギン酸はアスパラギンを, グルタミン酸はグルタミンを含んだ量となる。

(注2) 標準溶液と比較してピークが小さい場合は, 濃縮してもよい。加水分解液の適当量を取り, 減圧濃縮乾固後, 内容物をクエン酸ナトリウム緩衝液 (0.067 mol/L, pH 2.2) で溶解する。

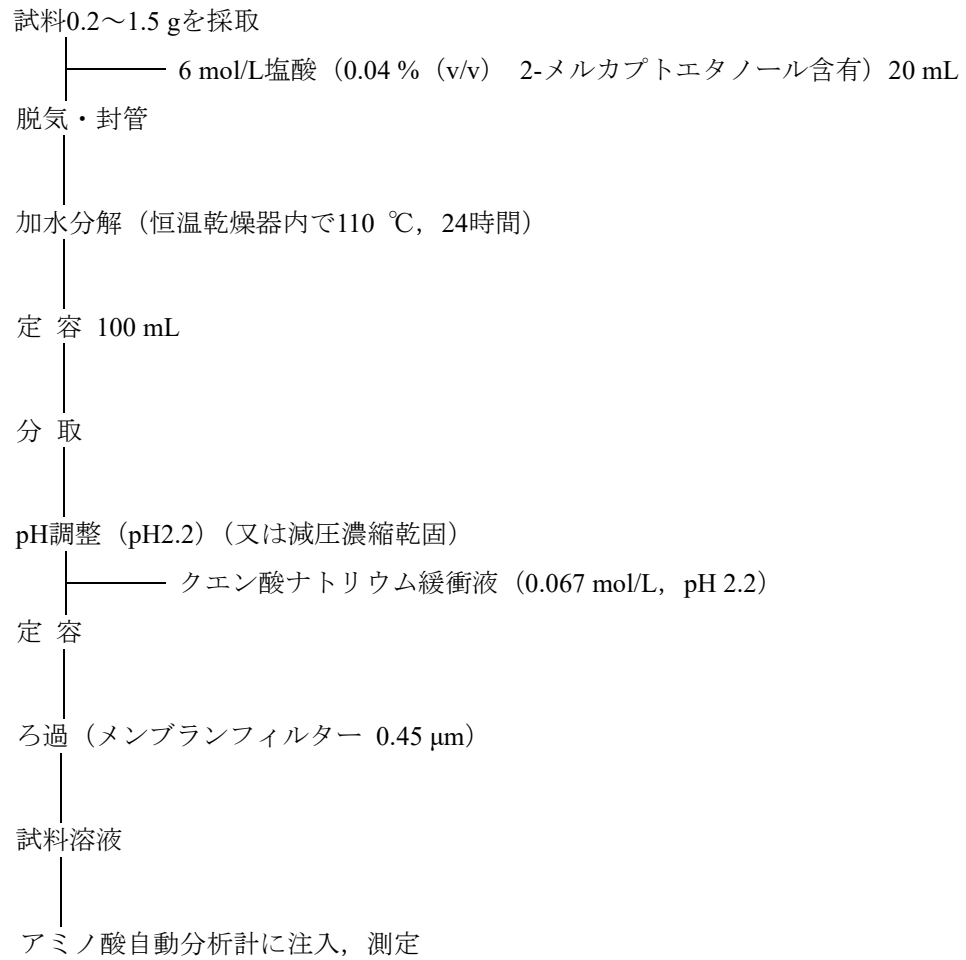
(注3) アミノ酸自動分析計はJLC-500/V (日本電子 (株)), L-8800 ((株) 日立ハイテクサイエンス) 又は相当品を用いる。

(注4) LCR-6 (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。

(注5) クエン酸ナトリウム緩衝液 (H-01, H-02, H-03, H-04) (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。

(注6) 日本電子用ニンヒドリン発色溶液キット-II (富士フイルム和光純薬 (株)) 又は相当品を用いる。

一般のアミノ酸、ヒドロキシプロリン及びアンモニア定量法・フローチャート



35. シスチン及びメチオニン

35-1. カラムクロマトグラフ法（過ギ酸酸化法）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

アミノ酸自動分析計

油浴

冷蔵庫

なす形フラスコ：容量200 mL

ロータリーエバポレーター

(2) 試薬

標準溶液：L-システイン酸標準品84.58 mg及びDL-メチオニンスルホン標準品90.60 mgを正確にはかり取る。0.01 mol/L塩酸に溶解後、200 mLに定容し、クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で25倍希釈する（シスチン0.05 $\mu\text{mol/mL}$, メチオニン0.1 $\mu\text{mol/mL}$ 相当）。

過ギ酸溶液：ギ酸（特級）と過酸化水素水（特級）を9：1の容量割合で混合し、室温で1時間放置後、使用する。

12 mol/L塩酸：アミノ酸自動分析用36 %塩酸を使用する。

6 mol/L塩酸：精密分析用20 %塩酸を使用する。

クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）：クエン酸三ナトリウム二水和物（アミノ酸自動分析用）980 gに水約3.5 Lを加えて溶かし、12 mol/L塩酸約700 mL及びオクタン酸（アミノ酸自動分析用）5 mLを加え、6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後、水で5 Lに定容し、クエン酸ナトリウム緩衝液原液とする。

クエン酸ナトリウム緩衝液原液500 mLにチオジエチレングリコール（アミノ酸自動分析用）100 mL及び水4 Lを加え、6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後、水で5 Lに定容する。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

試料0.3～1.5 g (*W*) を容量200 mLなす形フラスコに正確にはかりとり、過ギ酸溶液25 mLを加え、冷蔵庫で16時間過ギ酸酸化を行う（注1）。酸化処理後、減圧濃縮乾固し、6 mol/L塩酸50 mLを加え、130～140 °C油浴中で20時間加水分解する。冷却後、加水分解液を容量100 mL全量フラスコに移し定容 (*V*) する。定容した加水分解液の適当量を取り、減圧濃縮乾固し、内容物をクエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で溶解し0.45 μm のフィルターでろ過したものを試料溶液とする。

2) 測定

試料溶液100 μL をアミノ酸自動分析計に注入し、システイン酸及びメチオニンスルホンのピーク面積又は高さを測定し、あらかじめ標準溶液100 μL をアミノ酸自動分析計に注入して得られたピーク面積又は高さから、試料中のシスチン含量及びメチオニン含量を求める。

[アミノ酸自動分析計（注2）の操作条件例]

カラム：強酸性陽イオン交換樹脂、内径4 mm、長さ120 mm、ステンレス製（注3）

移動相：クエン酸リチウム緩衝液（注4）

反応液：ニンヒドリン試薬（注5）

波長：570 nm

本条件による混合標準溶液のクロマトグラム例を図4-2に示した。

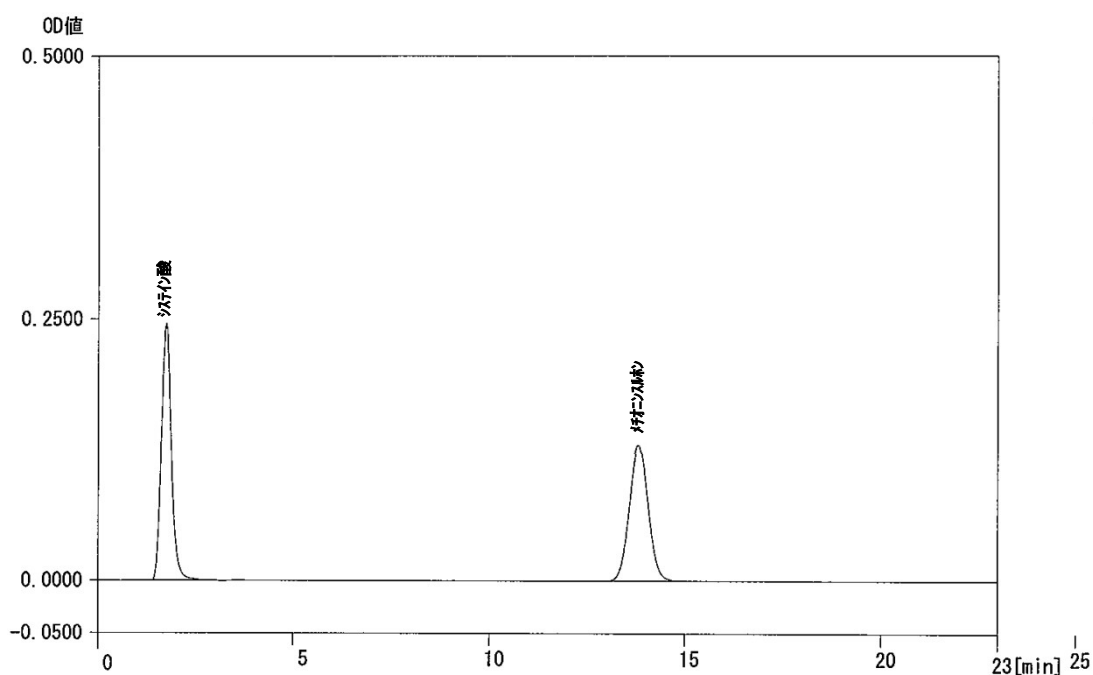


図4-2 混合標準溶液のクロマトグラム例

(4) 計算

アミノ酸自動分析計によって得られたクロマトグラムから積分計でピーク面積又は高さを求め、以下の式により試料中のシスチン含量又はメチオニン含量を計算する。

$$\begin{aligned} & \text{シスチン含量又はメチオニン含量 (mg/100 g)} \\ & = 0.1 \times MW \times \frac{A}{B} \times V \times N \times \frac{10^{-3}}{W} \times 100 \end{aligned}$$

- 0.1 : 標準溶液の濃度 (μmol/mL)
- MW : 各アミノ酸の分子量
- A : 試験溶液のピーク面積又は高さ
- B : 標準溶液のピーク面積又は高さ
- V : 定容量 (mL)
- N : 希釈倍数
- W : 試料採取量 (g)
- 計算に使用した各アミノ酸の分子量
1/2シスチン240.3/2, メチオニン149.2

(5) 補正值

分析法の加水分解時間によるアミノ酸量の過小評価を補正する場合は、(4)で計算したシスチン及びメチオニン含量に下記の補正係数を乗じて、補正值を算出する。

なお、算出値は分析値(補正值)として扱う。

[シスチン及びメチオニンの補正係数]

シスチン1.01, メチオニン1.01

[注解]

(注1) シスチンはシステインが酸化されて2分子結合したもの。シスチン(システインを含む)及びメチオニンは塩酸による加水分解では破壊されるため、加水分解前に過ギ酸酸化を行い、それぞれ安定なシステイン酸及びメチオニンスルホンとする。

(注2) アミノ酸自動分析計はJLC-500/V(日本電子(株)), L-8800((株)日立ハイテクサイエン

ス) 又は相当品を用いる。

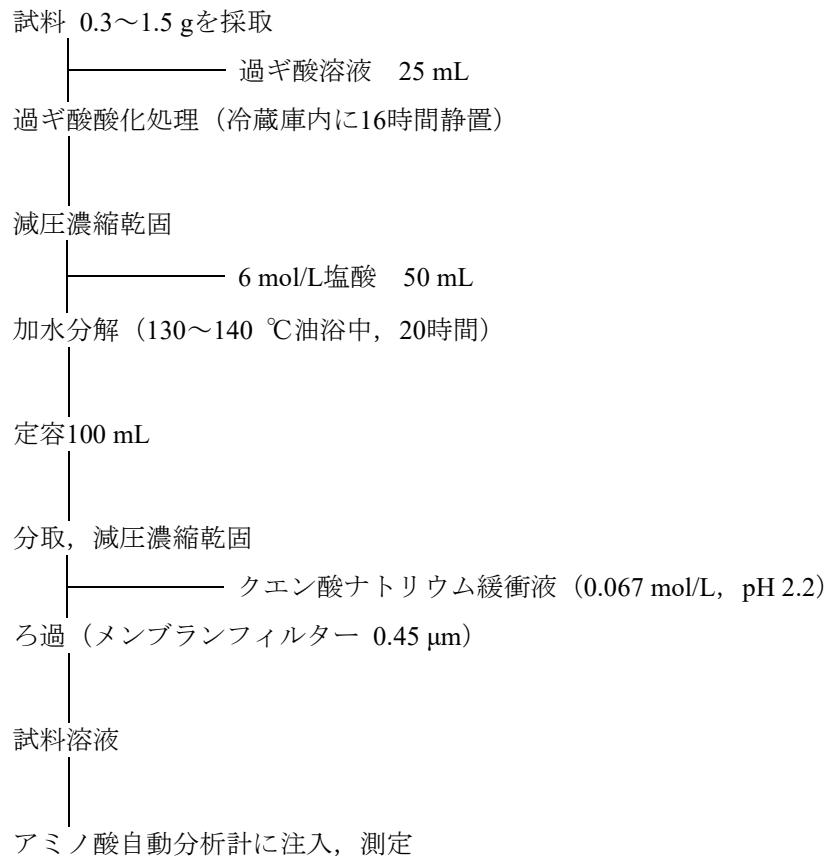
(注3) LCR-6 (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。

(注4) クエン酸リチウム緩衝液 (P-21) (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。

ただし、P-11は6 mol/L塩酸でpHを2.83に調整後使用する。

(注5) 日本電子用ニンヒドリン発色溶液キット-II (富士フイルム和光純薬 (株)) 又は相当品を用いる。

シスチン及びメチオニン定量法・フローチャート



36. メチオニン

36-1. カラムクロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。ただし、前35. シスチン及びメチオニンの方法に従って分析を行ったとき、メチオニンが妨害ピークの影響により分離できない場合に限る。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

アミノ酸自動分析計

油浴

なす形フラスコ：容量100 mL

(2) 試薬

アミノ酸混合標準溶液：アミノ酸混合標準液（富士フィルム和光純薬（株） Type H）をクエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で希釈して各アミノ酸濃度が0.1 $\mu\text{mol/mL}$ となるようにする。

12 mol/L塩酸：アミノ酸自動分析用36 %塩酸を使用する。

6 mol/L塩酸：精密分析用20 %塩酸を使用する。

2-メルカプトエタノール：1級

6 mol/L塩酸（0.1 % (v/v) 2-メルカプトエタノール含有）：20 %塩酸（精密分析用） 500 mLに2-メルカプトエタノール0.5 mLを加えて混合する。

クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）：クエン酸三ナトリウム二水和物（アミノ酸自動分析用）980 gに水約3.5 Lを加えて溶かし、12 mol/L塩酸約700 mL及びオクタン酸（アミノ酸自動分析用）5 mLを加え、6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後、水で5 Lに定容し、クエン酸ナトリウム緩衝液原液とする。

クエン酸ナトリウム緩衝液原液500 mLにチオジエチレングリコール（アミノ酸自動分析用）100 mL及び水4 Lを加え、6 mol/L塩酸でpH 2.2に調整した後、水で5 Lに定容する。

3 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）120 gを水に溶解し、1 Lに定容する。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

試料0.2～2.5 g (*W*) を容量100 mLなす形フラスコに正確にはかりとり、6 mol/L塩酸（0.1 % (v/v) 2-メルカプトエタノール含有） 50 mLを加え、窒素ガスを吹き込みながら、130～140 °C油浴中で20～24時間加水分解する。冷却後、加水分解液を容量100 mL全量フラスコに移し定容 (*V*) する。定容した加水分解液の適量を取り、3 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpHを2.2に調整後、クエン酸ナトリウム緩衝液（0.067 mol/L, pH 2.2）で定容し0.45 μm のフィルターでろ過したものを試料溶液（注1）とする。

2) 測定

試料溶液30 μL をアミノ酸自動分析計に注入し、メチオニンのピーク面積又は高さを測定し、あらかじめ標準溶液30 μL をアミノ酸自動分析計に注入して得られたピーク面積又は高さから、試料中のメチオニン含量を求める。

[アミノ酸自動分析計（注2）の操作条件例]

カラム：強酸性陽イオン交換樹脂、内径4 mm、長さ120 mm、ステンレス製（注3）

移動相：クエン酸ナトリウム緩衝液（注4）

反応液：ニンヒドリン試薬（注5）

波長：570 nm

本条件による標準溶液のクロマトグラム例は図4-1を参照。

(4) 計算

アミノ酸自動分析計によって得られたクロマトグラムから積分計でピーク面積又は高さを求め、以下の式により試料中のメチオニン含量を計算する。

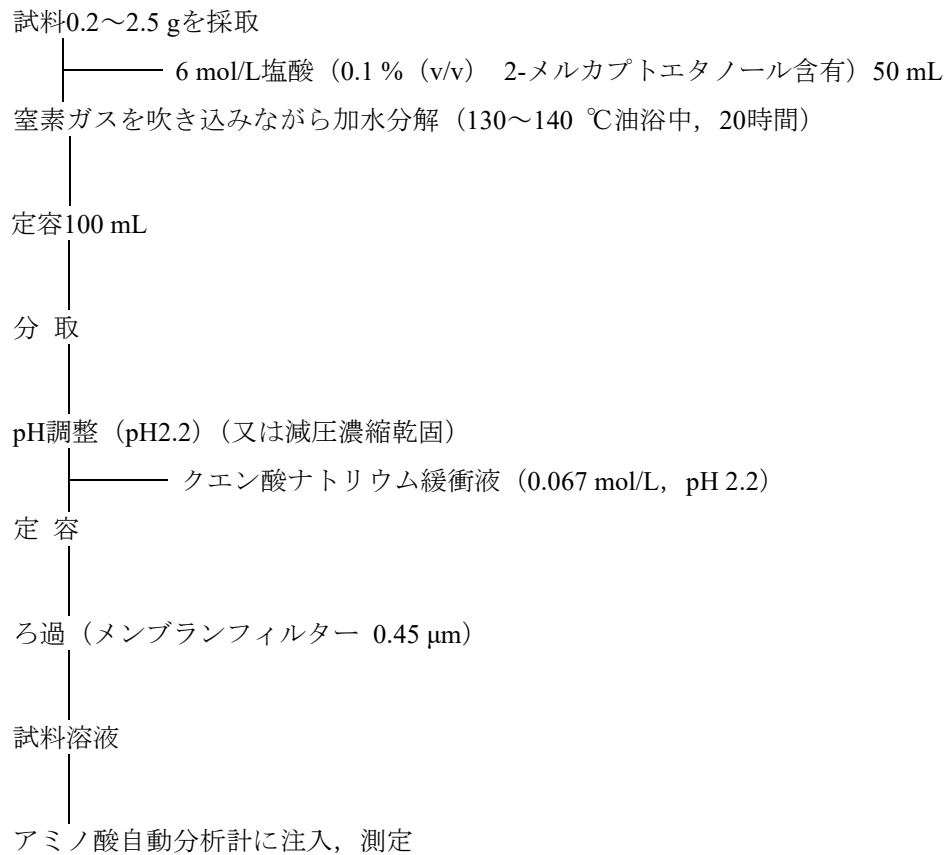
$$\begin{aligned} & \text{メチオニン含量 (mg/100 g)} \\ & = 0.1 \times MW \times \frac{A}{B} \times V \times N \times \frac{10^{-3}}{W} \times 100 \end{aligned}$$

- 0.1 : 標準溶液の濃度 (μmol/L)
MW : メチオニンの分子量 (149.2)
A : 試料溶液のピーク面積又は高さ
B : 標準溶液のピーク面積又は高さ
V : 定容量 (mL)
N : 希釈倍数
W : 試料採取量 (g)

[注解]

- (注1) 標準溶液と比較してピークが小さい場合は、濃縮してもよい。加水分解液の適当量を取り、減圧濃縮乾固後、内容物をクエン酸ナトリウム緩衝液 (0.067 mol/L, pH 2.2) で溶解する。
(注2) アミノ酸自動分析計はJLC-500/V (日本電子 (株)), L-8800 ((株) 日立ハイテクサイエンス) 又は相当品を用いる。
(注3) LCR-6 (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。
(注4) クエン酸ナトリウム緩衝液 (H-01, H-02, H-03, H-04) (日本電子 (株)) 又は相当品を用いる。
(注5) 日本電子用ニンヒドリン発色溶液キット-II (富士フイルム和光純薬 (株)) 又は相当品を用いる。

メチオニン定量法・フローチャート



37. トリプトファン

37-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（蛍光検出器付き）

恒温乾燥器

水浴

ガラス細工用バーナー

封管用試験管

真空ポンプ

(2) 試薬

標準溶液：トリプトファン標準品50 mgを正確にはかりとる。0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液に溶解後、100 mLに定容し、水で50倍希釈する（10 µg/mL）。

水酸化バリウム八水和物：特級

0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）40 gを水に溶解し、1 Lに定容する。

これを100 mL分取し、水で1 Lに定容する。

6 mol/L塩酸：精密分析用20 %塩酸を使用する。

60 % (v/v) チオジエチレングリコール：チオジエチレングリコール（アミノ酸自動分析用）

120 mLに水80 mLを加えて混合する。

3 mol/L水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）120 gを水に溶解し、1 Lに定容する。

1 % (w/v) フェノールフタレイン溶液：フェノールフタレイン（特級）1 gをエタノール（特級）に溶解する。

過塩素酸（60 %）：特級

メタノール：高速液体クロマトグラフ用

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

試料0.2～2 g (*W*) 及び水酸化バリウム八水和物7.8 gを封管用試験管に正確にはかりとり、水4.5 mL及び60 % (v/v) チオジエチレングリコール0.5 mLを加え、沸とう水浴中で水酸化バリウム八水和物を加熱溶解する（注1）。溶解後、減圧下（5.0 kPa（38 mmHg）以下）で脱気し、封管後、110 °C（恒温乾燥器）で12時間加水分解する。冷却後、開管し、加水分解液を容量50 mL、100 mL又は200 mL全量フラスコ（1 % (w/v) フェノールフタレイン溶液を数滴加えておく）に移した後、6 mol/L塩酸で中和し、3 mol/L水酸化ナトリウム溶液で微アルカリに調整後、定容（*V*）し、0.45 µmのフィルターでろ過したものを試料溶液とする。

2) 測定

試料溶液を高速液体クロマトグラフに注入し、トリプトファンのピーク面積又は高さを測定し、あらかじめ高速液体クロマトグラフ用標準溶液を高速液体クロマトグラフに注入して得られたピーク面積又は高さから、試料中のトリプトファン含量を求める。

[高速液体クロマトグラフ操作条件例]

カラム：内径4.6 mm，長さ250 mm，ステンレス製（注2）

移動相：20 mmol/L過塩素酸－メタノール（80：20v/v）

検出器：蛍光分光光度計

測定波長：励起波長285 nm，蛍光波長348 nm

流量：0.7 mL/分

温度：40 °C

注 入 量 : 20 μ L

本条件による標準溶液のクロマトグラム例を図4-3に示した。

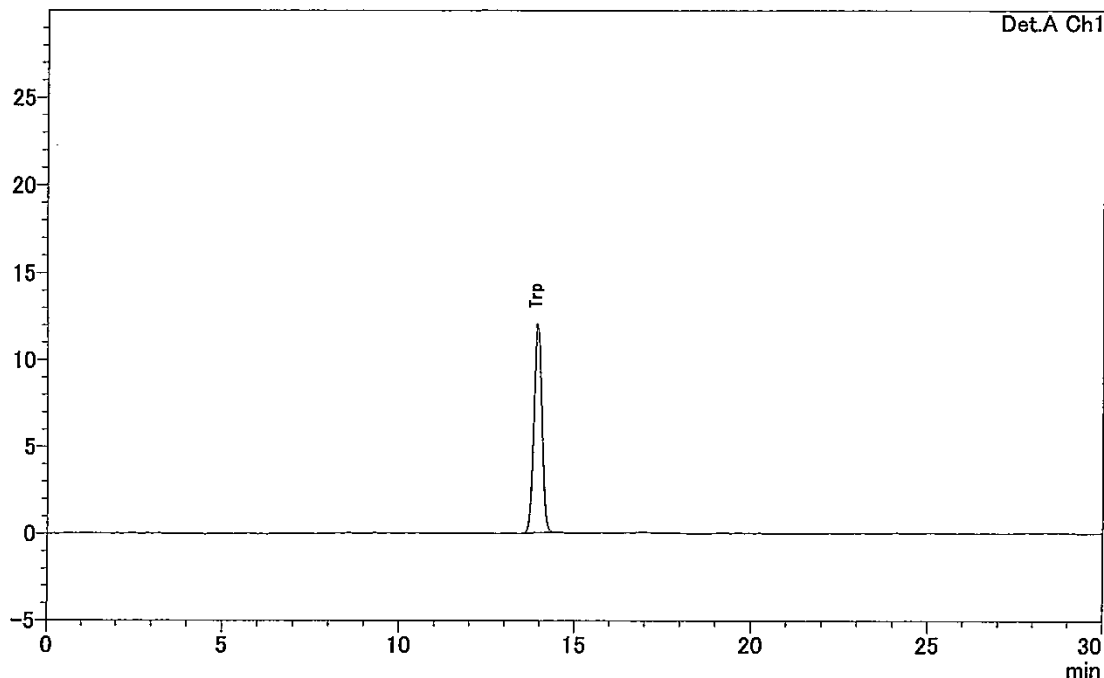


図4-3 標準溶液のクロマトグラム例

Trp:トリプトファン

(4) 計算

高速液体クロマトグラフによって得られたクロマトグラムから積分計でピーク面積又は高さを求め、以下の式により試料中のトリプトファン含量を計算する。

トリプトファン含量 (mg/100 g)

$$= 10 \times \frac{A}{B} \times V \times N \times \frac{10^{-3}}{W} \times 100$$

10 : 標準溶液の濃度 (μ g/mL)

A : 試料溶液のピーク面積又は高さ

B : 標準溶液のピーク面積又は高さ

V : 定容量 (mL)

N : 希釈倍数

W : 試料採取量 (g)

(5) 補正值

分析法の加水分解時間によるアミノ酸量の過小評価を補正する場合は、(4)で計算したトリプトファン含量に下記の補正係数を乗じて、補正值を算出する。

なお、算出値は分析値(補正值)として扱う。

[トリプトファンの補正係数]

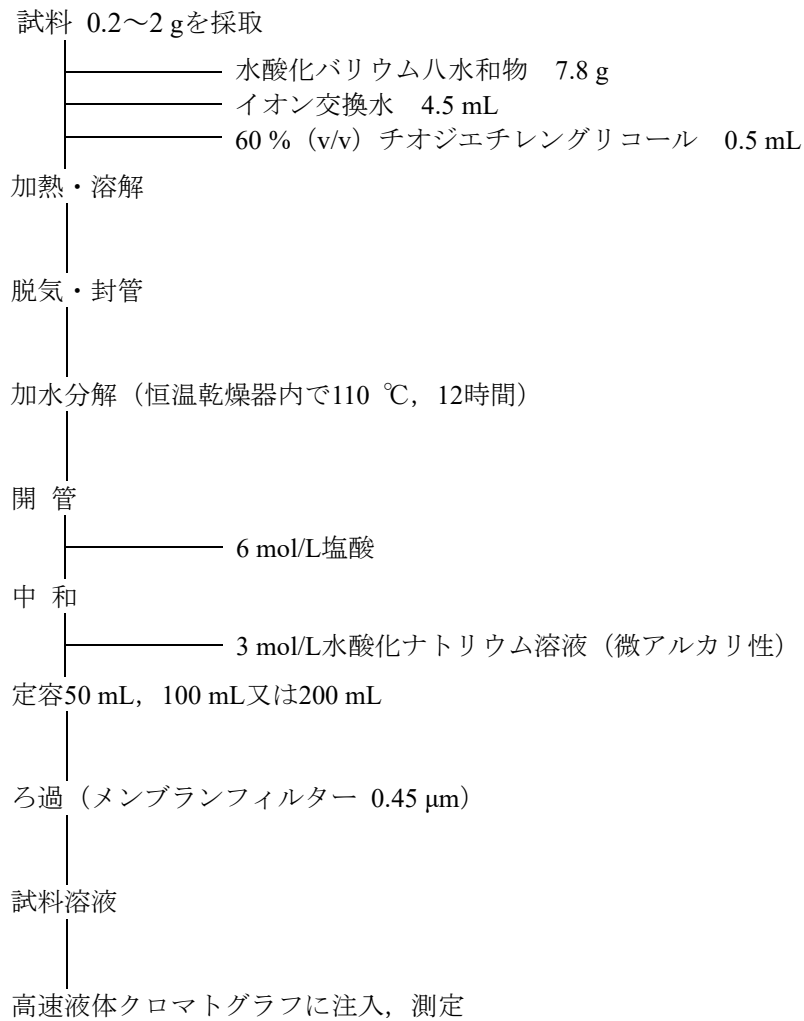
トリプトファン1.01

[注解]

(注1) トリプトファンは塩酸加水分解では破壊されるため、アルカリを用いた加水分解を行う。

(注2) CAPCELL PAK C18 AQ ((株)大阪ソーダ)あるいは相当品を用いる。

トリプトファン定量法・フローチャート



第5章 脂肪酸及びコレステロール

◎脂質及び脂肪酸等の分析に用いる有機溶媒に関する注意喚起

ジエチルエーテルは特殊引火物に指定されており（沸点35℃，引火点-45℃），火災の発生要因になる可能性があるため，その取扱いには細心の注意が必要である。

クロロホルムは構造に塩素を含有する塩素系溶媒であり，発がん性など人体への影響と環境への負荷が指摘されており，特定化学物質に指定されている。その取扱いには適切な排気設備の使用など，人体への暴露軽減策などが必須である。

3.8. 脂肪酸定量及び脂肪酸組成分析法

38-1. 脂肪酸組成分析のための脂質の抽出と定量

38-1-1. クロロホルム-メタノール混液抽出法(1)

[適用]

菓子類（主原料が穀類，砂糖類以外），種実類（多脂質），豆類（だいず及びだいず製品），肉類，卵類，乳類，調味料類（マヨネーズ，ドレッシング），調理加工食品類（主原料が穀類以外のもの），香辛料類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

遠心分離器

ホモジナイザー（ウルトラタラックス）

ロータリーエバポレーター

水浴

なす形フラスコ：容量300 mL及び100 mL

冷却管

遠心管：共栓，容量50 mL

減圧デシケーター

(2) 試薬

クロロホルム-メタノール混液（2：1 v/v）：窒素ガスを通気し酸素を除去したもの

石油エーテル

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

試料2～10 g (*W*)（注1）を容量300 mLなす形フラスコに正確にはかりとり，クロロホルム-メタノール混液 90～150 mLを加え，ホモジナイザー（ウルトラタラックス）で均質化する。クロロホルム-メタノール混液10～20 mLで溶媒に触れたホモジナイザーの先端部を洗い，洗液もなす形フラスコに合わせる。冷却管の上部から窒素ガスを吹き込みながら水浴上で1時間還流抽出する。

冷後，ガラスろ過器（11G4にろ紙JIS5種Cを敷く）を用いて還流抽出液をろ過（受器：容量300 mLなす形フラスコ）する。次いで，クロロホルム-メタノール混液50 mLを数回に分けて，抽出に用いたフラスコ及びろ過器を順次洗い，受器のフラスコに捕集する。捕集したる液をロータリーエバポレーターで濃縮した後，水浴（65～70℃）中で，窒素ガスを吹き込みながら内容物を乾固させない程度（厳守）まで溶媒を蒸発させる。冷後，石油エーテル50 mL (*V*) を正確に加え，次いで，硫酸ナトリウム（無水）30 gを加えて直ちに栓をして2分間激しく振り混ぜる。石油エーテル層を遠心管に移し，遠心分離（3000回転/分，5分間）する（注2）。

質量既知 (*W*₀) の容量100 mLなす形フラスコに，上澄み液の一定量 (*D*)（注3）をとり，ロータリーエバポレーターで濃縮した後，窒素ガスを吹き込みながら石油エーテルを留去し，減圧デシケーター中に一夜放置した後，質量 (*W*₁) を測定（注4）し，脂肪酸測定用の脂質とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times \frac{V}{D} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 : 容量100 mLなす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

V : 残留物の溶解に用いた石油エーテル量 (mL)

D : 分取した石油エーテルの量 (mL)

[注解]

(注1) 脂質の量が50~500 mgになるようにする。水分含量が低い試料は少量の水を加え膨潤させる。

(注2) 石油エーテルではなくクロロホルムに転溶する手法として以下の通り行ってもよい。冷後、クロロホルム50 mL及び硫酸ナトリウム(無水) 30 gを加え、栓をして2分間激しく振り混ぜる。次いで、ガラスろ過器を用いて重量既知の容器に吸引ろ過を行う。エバポレーター及び窒素ガスを吹き込みながらクロロホルムを留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量を測定し、脂肪酸測定用の脂質とする。

(注3) 脂質の量が少ないと思われるときは、全量を用いてもよい。

(注4) 脂質の量が100 mg未満の場合は、容量100 mLなす形フラスコから恒量としたアルミニウム製ばかり容器に移して測定すると、精度のよい結果が得られる。

38-1-2. クロロホルム-メタノール混液抽出法(2)

[適用]

調味料類(しょうゆ類、食酢類などの液体を除く)及び香辛料類(多水分)に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

遠心分離器

ホモジナイザー(ウルトラタラックス)

ロータリーエバポレーター

水浴

なす形フラスコ: 容量100 mL及び300 mL

トールビーカー: 容量300~500 mL

冷却管

遠心管: 共栓, 容量50 mL

減圧デシケーター

(2) 試薬

クロロホルム-メタノール混液(2:1 v/v): 窒素ガスを通気し酸素を除去したもの

石油エーテル

硫酸ナトリウム(無水): 特級

(3) 操作

試料50~100 g (W) (注1) をトールビーカーに正確にはかりとる。ホモジナイザー(ウルトラタラックス)で均質化する。さらに、ケイソウ土を適量(5~10 g: 水に一樣に分散する程度)を加え、よく混和して試料分散液をつくる。ケイソウ土5 gを50 mLの水にけん濁し、ろ紙(JIS5種B, 9 cm)を敷いたブフナー漏斗の上に注ぎ込み、吸引ろ過して均一なケイソウ土の層を作る。これに試料分散液を静かに注ぎ込み、吸引ろ過する。さらに、水50 mLを数回に分けて、ビーカーとろ過層を洗い、十分に吸引して水を切る。ろ紙上の残さをろ紙ごと容量300 mLなす形フラスコに移し、クロロホルム-メタノール混液150 mLを加え、冷却管を付け、水浴上で1時間還流抽出する。冷後、

ガラスろ過器（11G4にろ紙JIS5種Cを敷く）を用いて還流抽出液をろ過（受器：容量300 mLなす形フラスコ）する。次いで、クロロホルム－メタノール混液50 mLを数回に分けて、抽出に用いたフラスコ及びろ過器を順次洗い、受器のフラスコに捕集する。捕集したろ液をロータリーエバポレーターで濃縮した後、水浴（65～70 ℃）中で、窒素ガスを吹き込みながら内容物を乾固させない程度（厳守）まで溶媒を蒸発させる。冷後、石油エーテル50 mLを加えて内容物を溶かし、次いで、硫酸ナトリウム（無水）30 gを加えて直ちに栓をして、2分間激しく振り混ぜる。質量既知（ W_0 ）の容量100 mLなす形フラスコにろ過器（11G4にろ紙JIS5種Cを敷く）を用いてろ過し、石油エーテル10～20 mLを数回に分け、フラスコ及びろ過器を洗い、洗浄液も先のろ液と合わせる。ロータリーエバポレーターで濃縮した後、窒素ガスを吹き込みながら石油エーテルを留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量（ W_1 ）を測定し、脂肪酸測定用の脂質とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 : 容量100 mLなす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) うまく分散するように加水してもよい。

38-1-3. 酸分解法

[適用]

穀類、いも及びでん粉類、菓子類（穀類、いも及びでん粉類、砂糖類を主原料としたもの）、野菜類、果実類、種実類（少脂質）、豆類（だいず及びだいず製品を除く）、きのこ類、藻類、調味料類（トマト加工品）、嗜好飲料類（茶葉、粉末コーヒーなど）、調理加工食品類（穀類を主原料としたもの）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ロータリーエバポレーター

水浴

分液漏斗：容量500 mL

なす形フラスコ：容量300 mL

ビーカー：容量50 mL, 100～200 mL

減圧デシケーター

(2) 試薬

エタノール

ジエチルエーテル

石油エーテル

ジエチルエーテル－石油エーテル混液（1：1 v/v）

塩酸溶液：水11容と濃塩酸25容を混合したもの（a）、または、濃塩酸そのまま（b）を用いる。

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

粉碎均質試料2～40 g (W)（注1）を容量100～200 mLビーカーに正確にはかりとり、エタノール2～5 mLを加え、ガラス棒で混和する。塩酸溶液50 mLを加え（注2）、ビーカーを時計皿で覆って水浴中（約80 ℃）でときどきかき混ぜながら30分間加温する。放冷後、酸分解溶液を分液漏斗に移し、エタノール8～30 mL（注3）とジエチルエーテル60 mLを加えて1分間振り混ぜる。次いで、石油エーテル60 mLを加えて1分間振り混ぜ、静置する。水層を別の分液漏斗に移し、ジエチルエーテル－石油エーテル混液60 mLを加えて1分間振り混ぜ、静置して水層を別の分液漏斗に移

す。この操作を2回行い、ジエチルエーテル-石油エーテル混液（脂質抽出液）をすべて集める。

脂質抽出液に水50 mLを加え、30～60秒間振り混ぜたのち静置し、下層の水を捨てる。さらにこの操作を2回行い、抽出液を水洗する（注4）。漏斗に脱脂綿をつめ（注5）、硫酸ナトリウム（無水）約40 gをのせ、脂質抽出液を脱水ろ過する（受器：なす形フラスコ）。ジエチルエーテル約40 mLを数回に分け、分液漏斗及び、漏斗を洗浄し、洗浄液も先のろ液に合わせる。ろ液をロータリーエバポレーターで濃縮後、既知質量（ W_0 ）の容量50mLビーカーに、ジエチルエーテルで定量的に移す。ビーカーを水浴上に置き、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を完全に蒸散させる。ビーカーを減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量（ W_1 ）を測定し、脂肪酸測定用の脂質とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のビーカーの質量 (g)

W_0 : 容量50 mLビーカーの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 脂質の量が50 mg以上あることが望ましいが、20 mg程度でも測定は可能である。乾燥品は1 g程度でもよいが、果実類や生鮮野菜類など水分が多い試料は40～50 g程度採取する必要がある。脂質含量が少なく脂質量として50 mg以下と予想されるときは、あらかじめ2個のビーカーを用意し、それぞれに同質量の試料を採取し、まったく同じ操作を並行して行い、2個の脂肪酸測定用の脂質を得、そのうち1個を内標準物質添加用脂質とする。

(注2) 穀類、でん粉などの乾燥試料は塩酸溶液 (a)、果実類、生鮮野菜類などの水分の多い試料は塩酸溶液 (b) を用いる。

(注3) 分解の前に加えるエタノールは試料が塊になるのを防ぐのが目的である。乾物として、試料1 gに対して2 mLが適当である。分解後に加えるエタノールは液-液分配時にエマルジョンの生成を防ぐためである。下層の水とエタノールの比は1:1がよい。したがって、水分含量の高い試料ではエタノールの添加量を増やす。

(注4) 抽出液中に酸が残らないよう、メチルオレンジ等で確認しながら、適宜水洗の回数を増やすことが望ましい。

(注5) 脱脂綿は漏斗の脚の付け根に詰めるが、きつくしないようにする。きつく詰めすぎると、ろ過速度が遅くなり、効率が悪くなると同時に、脱脂綿に脂質が吸着したままの状態になることがある。

38-1-4. 液-液抽出法

[適用]

調味料類（しょうゆ類、みりん、めんつゆなど）、嗜好飲料類（インスタントコーヒー、茶抽出液、アルコール飲料など）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ロータリーエバポレーター

水浴

分液漏斗：容量1000 mL

なす形フラスコ：容量500 mL

ビーカー：容量50 mL, 500 mL

減圧デシケーター

(2) 試薬

エタノール

ジエチルエーテル

石油エーテル

ジエチルエーテル－石油エーテル混液（1：1 v/v）

硫酸ナトリウム（無水）：特級

(3) 操作

インスタントコーヒーは50 g (W) を容量500 mLビーカーに正確にはかりとり、水220 mLを加えて、温めて溶かした後、エタノール180 mLを用い、分液漏斗に移す。しょうゆ類、アルコール飲料などの液体試料は 300 g (W) を直接分液漏斗にはかりとる。ジエチルエーテル150 mLを加えて10分間振り混ぜる。さらに、石油エーテル150 mLを加えて、10分間振り混ぜ、静置する。下層を別の分液漏斗に移し、ジエチルエーテル－石油エーテル混液200 mLを加え、10分間振り混ぜ、静置する。下層をさらに別の分液漏斗に移し、ジエチルエーテル－石油エーテル混液200 mLを加え、10分間振り混ぜたのち静置し、下層は捨てる。ジエチルエーテル－石油エーテル混液を合わせ、水150 mLを加えて10分間振り混ぜ、静置して下層は捨てる。この操作を3回行う。漏斗に脱脂綿を詰め、硫酸ナトリウム（無水）約40 gをのせ、脂質抽出液を脱水ろ過する（受器：なす形フラスコ）。ジエチルエーテル約40 mLを数回に分け、分液漏斗及び漏斗を洗浄し、洗浄液も先のろ液に合わせる（注1）。ろ液（脂質抽出液）をロータリーエバポレーターで濃縮後、既知質量 (W_0) の容量50 mLビーカーにジエチルエーテルを定量的に移す。ビーカーを水浴上に置き、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を完全に蒸散させる。ビーカーを減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量 (W_1) を測定し、脂肪酸測定用の脂質（注2）とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のビーカーの質量 (g)

W_0 : 容量50 mLビーカーの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 脂質抽出液（溶媒）の総量が約750 mLになるので、容量300 mLなす形フラスコではろ液が一度では全部入らない。ある程度ろ液が溜まった時点で、ロータリーエバポレーターで濃縮し、さらに同じ容器にろ液を取り、順次濃縮し、最後に洗浄液も合わせて濃縮する。

(注2) 脂質含量が少なく脂質量として50 mg以下と予想されるときは、あらかじめ2個のビーカーを用意し、それぞれに同質量の試料を採取し、まったく同じ操作を並行して行い、2個の脂肪酸測定用の脂質を得、そのうち1個を内標準物質添加用脂質とする。

38-1-5. ヘキサン－イソプロパノール法

[適用]

魚介類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

吸引ろ過装置

ホモジナイザー（ウルトラタラックス）

ロータリーエバポレーター

減圧デシケーター

遠心管：容量50 mL

分液漏斗：容量200 mL

なす形フラスコ：容量100 mL

(2) 試薬

ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2 v/v)

ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (7 : 2 v/v)

6.7 %硫酸ナトリウム溶液

(3) 操作

試料1 g (W) (注1) を遠心管に正確にはかりとり、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2) 10 mLを加え、ホモジナイザー (ウルトラタラックス) で均質化する。ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2) 1.5 mLで溶媒に触れたホモジナイザーの先端部を洗い、洗液も遠心管に合わせ抽出液とする。ガラスろ過器 (11G3にろ紙JIS5種Cを敷く) に抽出液を不溶物と共に移し、吸引ろ過する (受器 : 分液漏斗)。残渣を回収し、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2) 8 mLを加え、同様の抽出操作を行う。吸引を止め、ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2) 1.5 mLを残留物に注ぎ、2分間浸したのち、吸引ろ過する。この操作をもう一度行う。ろ液を回収した分液漏斗に6.7 %硫酸ナトリウム溶液13.5 mLを加え、1分間振り混ぜる。静置後、上層を回収し、下層にヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (7 : 2) 20 mLを加え、1分間振り混ぜる。質量既知 (W_0) のなす形フラスコに合わせた液をとり、ロータリーエバポレーターで濃縮した後、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量 (W_1) を測定 (注2) し、脂肪酸測定用の脂質とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 : なす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 脂質の量が50~500 mgになるようにする。満たない場合は採取量を増やす。その際、試液の量は比率を変えないようにスケールアップする。

(注2) 脂質の量が100 mg未満の場合は、なす形フラスコから恒量としたアルミニウム製はかり容器に移して測定すると精度のよい結果が得られる。

38-1-6. フォルチ法

[適用]

魚介類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

吸引ろ過装置

ブフナー漏斗

ホモジナイザー (ウルトラタラックス)

ロータリーエバポレーター

減圧デシケーター

分液漏斗 : 容量500 mL

なす形フラスコ : 容量300 mL

(2) 試薬

クロロホルム

メタノール

0.88 %塩化カリウム溶液

(3) 操作

試料10 g (W) をなす形フラスコに正確にはかりとり、メタノール60 mL及びクロロホルム55 mLを加え、ホモジナイザー（ウルトラタックス）で粉碎する。吸引瓶上でブフナー漏斗にろ紙（JIS5種C）を敷き、減圧下で粉碎した混合物を注ぐ（受器：なす形フラスコ）。5 mLのクロロホルムを数回に分け、フラスコ上でホモジナイザーの先端部を洗浄し、得られた洗浄液を漏斗に注ぎ、ろ液約120 mL（ろ液1）を得る。残渣を回収し、クロロホルム45 mLを加え、ホモジナイザーで粉碎して再度、吸引ろ過及び洗浄を行う。残渣に10 mLのクロロホルムを数回に分け加え、ろ過する。ろ液約60 mL（ろ液2）を得る。ろ液1及びろ液2を分液漏斗に入れ、0.88 %塩化カリウム溶液35 mLを加え、激しく振とうしてガスが出尽くしたところで3時間放置する。下層を質量既知 (W_0) のなす形フラスコに回収し、ロータリーエバポレーターで濃縮した後（注1）、窒素ガスを吹き込みながら溶媒を留去し、減圧デシケーター中に一夜放置した後、質量 (W_1) を測定（注2）し、脂肪酸測定用の脂質とする。

(4) 計算

$$\text{脂肪酸測定用の脂質量 (g/100 g)} = \frac{W_1 - W_0}{W} \times 100$$

W_1 : 減圧デシケーターで乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W_0 : なす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 水が残存している場合はエタノールを少量加えて共沸させる。

(注2) 脂質の量が100 mg未満の場合は、なす形フラスコから恒量としたアルミニウム製はかり容器に移して測定すると精度のよい結果が得られる。

38-2. 脂肪酸組成定量法（ガスクロマトグラフ法）

38-2-1. メチルエステル化法（1）

[適用]

対象とする脂肪酸を $C_{10} \sim C_{24:1}$ とし、穀類、種実類、豆類、魚介類、肉類、卵類、乳類、野菜類、果実類、嗜好飲料類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ガスクロマトグラフ（水素炎イオン化検出器付、キャピラリーカラムを使用する場合はスプリット/スプリットレス注入口付き）

共栓三角フラスコ：容量50 mL

冷却管

水浴（又はホットプレート）

ロータリーエバポレーター

シリカゲルミニカラム：Sep-Pak Silica Plus Long Cartridge又は同等品

ガラス注射筒：容量20 mL

(2) 試薬

ヘプタデカン酸（内標準用）：純度98 %以上（注1）

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

n-ヘキサン

ジエチルエーテル－*n*-ヘキサン混液（5：95 v/v）

飽和食塩水

硫酸ナトリウム（無水）：特級

0.5 mol/L水酸化ナトリウム－メタノール溶液：水酸化ナトリウム2 gをメタノール100 mLに溶

解して調製する。

(3) 操作

共栓三角フラスコ（注2）2個に、抽出脂質20～500 mg（*G*）を正確にはかりとる。2個のうち1個に、内標準物質としてヘプタデカン酸（脂質の約1/5量、*F*）を正確に加える。それぞれに0.5 mol/L水酸化ナトリウム-メタノール溶液を、表38-1に従って加える。冷却管を付け、油滴が消失し均質な溶液となるまで加熱してけん化する（5～10分間）。三フッ化ホウ素-メタノール試薬を表38-1に従って加える。2分間沸とうさせた後、*n*-ヘキサン2～5 mLを冷却管の上から加え、1分間沸とうさせる。加熱を止め、冷却後、*n*-ヘキサン溶液がフラスコの頸に達するまで、飽和食塩水を加える。*n*-ヘキサン層（メチルエステル溶液）2～5 mLをとり、硫酸ナトリウム（無水）を加えて脱水する。脱水したメチルエステル化物の*n*-ヘキサン溶液1～2 μLを、ガスクロマトグラフに注入する（注3）。

表38-1 脂質量と試薬使用量

脂質量 (mg)	0.5 mol/L水酸化ナトリウム-メタノール溶液 (mL)	三フッ化ホウ素-メタノール試薬 (mL)
20～100	2	2.5
100～250	4	5.0
250～500	6	7.0

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

カラム：内径0.20～0.32 mm，長さ15～30 m，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，膜厚は0.25 μm（注4）

温度：注入口及び検出器250 °C，カラム60 °C（1分間保持）→160 °C（6 °C/分，昇温）→200 °C（1.8 °C/分，昇温）

流量：2.0 mL/分（ヘリウム）

注入モード：スプリットレス

(5) 計算

$$1) \text{ 脂質中の各脂肪酸含量 (mg/g)} = \frac{A \times E \times F \times H}{(A \times D - B \times C) \times G} \times 1000 \quad (\text{注5})$$

A：内標準物質無添加のパルミチン酸の面積（注6）

B：内標準物質無添加の内標準物質の保持時間に一致するピーク面積

C：内標準物質添加のパルミチン酸の面積

D：内標準物質添加の内標準物質の面積

E：内標準物質添加の被定量脂肪酸の面積

F：内標準物質添加量 (mg)（注7）

G：脂質採取量 (mg)

H：各脂肪酸の内標準物質に対する感度補正係数（注8）

$$2) \text{ 脂質中の総脂肪酸含量 (mg/g)} = \text{各脂肪酸含量 (mg/g) の総和}$$

$$3) \text{ 脂肪酸組成 (\%)} = \frac{\text{各脂肪酸含量(mg/g)}}{\text{総脂肪酸含量(mg/g)}} \times 100$$

[注解]

- (注1) 内標準物質のみをメチルエステル化し、事前に不純物の有無を確認する。
- (注2) 以下の試験管を用いた方法でもメチルエステル化が可能である。
 スクリューキャップ付き試験管2本に、抽出脂質20～100 mgを正確にはかりとる。2本のうち1本に、内標準物質としてヘプタデカン酸を正確に加える。0.5 mol/L水酸化ナトリウム-メタノール溶液を1.5 mL加えて、100 °Cで9分間加熱してけん化する。冷却後、三フッ化ホウ素-メタノール試薬2 mLを加え、100 °Cで7分間加熱する。冷却後、*n*-ヘキサン3 mLを加えて攪拌する。飽和食塩水5 mLを加えて攪拌した後、1500 r/minで10分間遠心分離する。ヘキサン層を分取し、試験溶液とする。
- (注3) 脂肪酸の定量に影響を及ぼす妨害物質由来のピークがクロマトグラム上にある場合、下記の精製操作によって妨害ピークを除去できることがある。
 ミニカラムにガラス注射筒を接続し、*n*-ヘキサン5 mLを流しコンディショニングする。このミニカラムに脱水したメチルエステル溶液を負荷し吸着させる。*n*-ヘキサン10 mLで洗浄した後、ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液10 mLでメチルエステル化物を溶出する。溶媒を留去後、*n*-ヘキサンに溶解する。
- (注4) Quadrex社CPS-1, 0.32 mm×15 m, 膜厚0.25 μmを使用した時の操作例である。液相の種類によってはC_{22:6}とC_{24:0}またはC_{24:1}が重なる場合があるので、事前に調べておく必要がある。なお、キャピラリーカラムでスプリットレス注入を行う場合、メチルエステル溶液の濃度を4 mg/mL程度まで、*n*-ヘキサンで希釈する。
- (注5) 植物油などのヘプタデカン酸が含まれない脂質では、空試験補正が不要となり、以下の式で計算できる。

$$\text{脂質中の各脂肪酸含量 (mg/g)} = \frac{E \times F \times H}{D \times G} \times 1000$$

- (注6) 空試験補正のための基準のピークとしてパルミチン酸を用いる。主要な脂肪酸であり、ほとんどすべての試料に含まれるものであれば、他の脂肪酸を基準としてもよい。
- (注7) 内標準の添加量は純度を考慮すること。
- (注8) すべての脂肪酸について、厳密に言えば感度補正係数を求めることが望ましいが、標準品として市販されていない脂肪酸も少なくない。そのため、そのような脂肪酸については、感度補正係数を1として計算しても良い。

脂肪酸定量法・フローチャート
 -ガスクロマトグラフ法・メチルエステル化法 (1) -

共栓三角フラスコ2個に抽出脂質20～300 mg採取

┌────────── 片方だけにヘプタデカン酸 (脂質の約1/5量)
 │────────── 0.5 mol/L水酸化ナトリウム-メタノール溶液 (表38-1の量)

加熱けん化 (油滴が消失するまで5～10分間)

┌────────── 三フッ化ホウ素・メタノール試薬 (表38-1の量)

再沸とう, 2分間

┌────────── *n*-ヘキサン 2～5 mL

沸とう, 1分間

┌───
 │─── 冷却

n-ヘキサン溶液がフラスコの頸に達するまで飽和食塩水を加える

|
n-ヘキサン溶液部（メチルエステル溶液）採取（上層2～5 mL）

|
硫酸ナトリウム（無水）で脱水

|
1～2 μLをガスクロマトグラフに注入，測定

38-2-2. メチルエステル化法（2）

[通用]

対象とする脂肪酸をC₁₀～C₂₄:₁とし，不けん化物の除去が必要な試料に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

38-2-1. メチルエステル化法（1）に同じ。

(2) 試薬

1 mol/L塩酸溶液

1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液：水酸化カリウム6.6 gを95 %エタノール100 mLに溶解する。

石油エーテル

メチルオレンジ指示薬：メチルオレンジ100 mgを95 %エタノール100 mLに溶解する。

その他の試薬は，38-2-1. メチルエステル化法（1）に同じ。

(3) 操作

共栓三角フラスコ2個に，抽出脂質20～300 mg (*G*) を正確にはかりとる。2個のうち1個に，内標準物質としてヘプタデカン酸（脂質の約1/5量，*F*）を正確に加える。それぞれに1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液15 mLを加える。冷却管を付け，30分間加熱して，けん化する（注1）。けん化溶液を水15 mLで分液漏斗に洗い込んだ後，石油エーテル30 mLで2回振り混ぜ抽出して，不けん化物を除去する。水層に水30 mL及びメチルオレンジ指示薬を数滴加えて，1 mol/L塩酸溶液で酸性とした後，ジエチルエーテル30 mLを加えて振り混ぜ，脂肪酸を抽出する。この操作を2回行う。ジエチルエーテル層を合わせ，水洗し，硫酸ナトリウム（無水）で脱水した後，ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。得られた脂肪酸に三フッ化ホウ素-メタノール試薬を表38-1に従って加える。2分間沸とうさせた後，*n*-ヘキサン2～5 mL（脂肪酸量によって異なる）を冷却管の上から加え，1分間沸とうさせる。加熱を止め冷却後，*n*-ヘキサン溶液がフラスコの頸に達するまで，飽和食塩水を加える。*n*-ヘキサン層（メチルエステル溶液）2～5 mLをとり，硫酸ナトリウム（無水）を加えて脱水する。さらに，*n*-ヘキサンを加えて，メチルエステルの濃度を10～40 mg/mLに希釈し，その1～2 μLをガスクロマトグラフに注入する。

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

38-2-1. メチルエステル化法（1）に同じ。

(5) 計算

38-2-1. メチルエステル化法（1）に同じ。

[注解]

(注1) 穏やかに沸とうさせながら行う。

脂肪酸定量法・フローチャート
ーガスクロマトグラフ法・メチルエステル化法 (2) ー

共栓三角フラスコ2個に抽出脂質20~300 mg採取

片方のみにヘプタデカン酸 (脂質の約1/5量)
1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液15 mL

加熱けん化 (30分間)

けん化溶液を水15 mLで分液漏斗に移す

石油エーテル30 mLで2回抽出, 不けん化物を除去

水層

水 30 mL
メチルオレンジ指示薬 数滴
1 mol/L塩酸溶液で酸性に

ジエチルエーテル30 mLで2回脂肪酸を抽出

ジエチルエーテル層を水洗

硫酸ナトリウム (無水) で脱水

溶媒を減圧留去

三フッ化ホウ素-メタノール溶液

沸とう, 2分間

n-ヘキサン2~5 mL

沸とう, 1分間

冷却

n-ヘキサン溶液がフラスコの頸に達するまで飽和食塩水を加える

n-ヘキサン溶液5 mL採取

硫酸ナトリウム (無水) で脱水

n-ヘキサンの希釈 (約10~40 mg/mLの濃度)

試料溶液

1～2 μLをガスクロマトグラフに注入，測定

38-2-3. プロピルエステル化法

[適用]

菓子類，乳類などの乳脂肪を含む脂質に用いる（注1）。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ガスクロマトグラフ（水素炎イオン化検出器付き）

全量フラスコ：容量20 mL

水浴

(2) 試薬

ナトリウムプロピレート溶液：金属ナトリウム0.1 gを1-プロパノール30 mLに溶解する。

飽和食塩水

(3) 操作

容量20 mL全量フラスコに，抽出脂質100～200 mgをはかりとる。ナトリウムプロピレート溶液1 mLを加え，約80 °Cの水浴中で1～2分間振り混ぜる。次いで，飽和食塩水10 mLを加えて振り混ぜた後，さらに飽和食塩水を全量フラスコの頸まで加えて，40 °Cの水浴中に脂肪酸プロピルエステル層と下層が分離するまで放置する。脂肪酸プロピルエステル層0.1～0.2 μLをガスクロマトグラフに注入する。

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

カラム：内径3 mm，長さ2 m，5 %Thermon3000/Chromosorb W (AW-DMCS)（注2），80～100メッシュ

温度：注入口および検出器270 °C，カラム100 °C→250 °C（4 °C/分，昇温）

流量：30 mL/分（窒素）（ラウリン酸プロピルの相対保持時間16～19分間）

(5) 計算

$$1) \text{ 脂質中の } C_4 \sim C_8 \text{ の脂肪酸含量 (mg/g)} = \frac{A \times C}{B}$$

A：プロピルエステル化法における各脂肪酸の面積（ $C_4 \sim C_8$ ）

B：プロピルエステル化法におけるラウリン酸の面積

C：メチルエステル化法（1）におけるラウリン酸の脂肪酸含量（mg/g）

$$2) \text{ 脂質中の総脂肪酸含量 (mg/g)} = A + B$$

A：プロピルエステル化法における各脂肪酸（mg/g）の合計（ $C_4 \sim C_8$ ）

B：メチルエステル化法（1）における各脂肪酸（mg/g）の合計（ $C_{10} \sim$ ）

$$3) \text{ 脂肪酸組成 (\%)} = \frac{A}{B} \times 100$$

A：プロピルエステル化法（ $C_4 \sim C_8$ ）または38-2-1. メチルエステル化法（1）

（ $C_{10} \sim$ ）における各脂肪酸量（mg/g）

B：総脂肪酸含量（mg/g）

[注解]

(注1) 乳脂肪に含まれる酪酸などの脂肪酸は炭素鎖長が短く、水への溶解による損失が大きいいため、プロピルエステル化した後、脂肪酸を分析する。C₁₀以上の脂肪酸については38-2-1.メチルエステル化法(1)により分析する。

(注2) Chromosorb W (AW-DMCS) は現在入手困難なため、同等以上の性能を有するカラムを用いても良い。

脂肪酸定量法・フローチャート
ーガスクロマトグラフ法・プロピルエステル化法ー

(C₁₀以上の脂肪酸については、38-2-1.メチルエステル化法(1)による)

容量20 mL全量フラスコに抽出脂質100~200 mg採取

┌────────────────── ナトリウムプロピレート溶液 1 mL

水浴(約80 °C)中で1~2分間振り混ぜる

┌────────────────── 飽和食塩水10 mL

振り混ぜる

┌
フラスコの頸に達するまで飽和食塩水を加える

┌
脂肪酸プロピルエステル層が分離するまで水浴(約40 °C)中に放置する

┌
上層(脂肪酸プロピルエステル層)

┌
0.1~0.2 μLをガスクロマトグラフに注入, 測定

39. コレステロール

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)(魚介類, 肉類等)

[適用]

魚介類（さつま揚げは除く），肉類，乳類，卵類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ガスクロマトグラフ（水素炎イオン化検出器付き）

共栓三角フラスコ：容量100 mL

冷却管

水浴（又はホットプレート）

分液漏斗

ロータリーエバポレーター

(2) 試薬

コレステロール標準品：純度99 %以上

コレステロール標準溶液：コレステロール0.20 mg, 1.0 mg及び2.0 mgに，それぞれ5 α -コレストラン0.5 mgを加え，*n*-ヘキサンで10 mLとする（注1）。

5 α -コレストラン-エタノール溶液（内標準物質用）：5 α -コレストランをエタノールに溶解して，0.5 mg/mLとする。

石油エーテル

n-ヘキサン

1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液：水酸化カリウム6.6 gを95 %エタノール100 mLに溶解する。

硫酸ナトリウム（無水）

(3) 操作

共栓三角フラスコに，試料0.3～5 g (*W*)（ただし，卵黄は0.1～0.15 g）を正確にはかりとる。内標準物質として，5 α -コレストラン-エタノール溶液1 mLを正確に加える。次に1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液50 mLを加え，冷却管を付け1時間加熱してけん化する（注2）。冷却後，水50 mL及び石油エーテル50 mLで分液漏斗に移し，振り混ぜ抽出する。さらに石油エーテル50 mLで2回抽出する。石油エーテル層を集め，水40 mLで4回洗う。石油エーテル層を硫酸ナトリウム（無水）で脱水し，ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物に*n*-ヘキサン10 mLを加えて溶解した後，ガスクロマトグラフに1 μ Lを注入する。

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

カラム：内径0.53 mm，長さ15 m，フェーズドシリカキャピラリーに5 %ジフェニル-95 %ジメチルシロキサンのポリマーを結合させたもの，膜厚1.0～1.5 μ m。

温度：注入口及び検出器280 $^{\circ}$ C，カラム250 $^{\circ}$ C

流量：15 mL/分（ヘリウム，コレステロールの保持時間約8.5分）

注入モード：スプリットレス

(5) 検量線の作成

各濃度の標準溶液1 μ 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面積比を求め，検量線を作成する。

(6) 計算

$$\text{コレステロール含量 (mg/100 g)} = \frac{A}{W} \times 100$$

A : 検量線より求めた試料溶液中のコレステロール量 (mg)

W : 試料採取量 (g)

[注解]

(注1) コレステロール含量が低い食品の定量にはコレステロール0.02 mgの標準溶液を使用する。

(注2) 穏やかに沸とうさせながら行う。

コレステロール定量法・フローチャート
—ガスクロマトグラフ法(1)—

共栓三角フラスコに試料0.3~5 g採取

5 α -コレスタン-エタノール溶液 1 mL
1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液 50 mL

1時間加熱

|

冷却

| 水 50 mL

石油エーテル50 mLで3回抽出

|

石油エーテル層

|

水40 mLで4回水洗

|

硫酸ナトリウム(無水)で脱水

|

溶媒を減圧留去

|

残留物を*n*-ヘキサン10 mLに溶解

|

1 μ Lをガスクロマトグラフに注入, 測定

39-2. ガスクロマトグラフ法(2)(豆類, 野菜類等)

[適用]

さつま揚げ, 豆類, 野菜類, 果実類, きのこと類, 藻類, 油脂類, 菓子類, し好飲料類, 調味料類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

共栓三角フラスコ: 容量200 mL

クロマト管 (内径15 mm)

その他は39-1. ガスクロマトグラフ法 (1) に同じ。

(2) 試薬

シリカゲル: クロマトグラフ用 (130 $^{\circ}$ C, 16時間活性化したもの)

ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液 (1:4 v/v)

ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液 (35 : 65 v/v)
その他の試薬は、39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

(3) 操作

共栓三角フラスコに、試料1~10 g (*W*) を正確にはかりとる。1 mol/L水酸化カリウム-エタノール溶液100 mLを加え、冷却管を付け、1時間加熱してけん化する(注1)。冷却後、水100 mL及び石油エーテル100 mLで分液漏斗に移し、振り混ぜ抽出する。さらに石油エーテル50 mLで2回抽出する。石油エーテル層を集め、水40 mLで4回洗う。石油エーテル層を硫酸ナトリウム(無水)で脱水し、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。シリカゲル8 gを*n*-ヘキサンにけん濁させ、かき混ぜながらクロマト管に充填する。このカラムに、残留物の*n*-ヘキサン溶液を注ぎ、吸着させる。次いで、ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液 (1 : 4 v/v) 150 mLで洗浄した後、ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液 (35 : 65 v/v) 150 mLを用いてステロール画分を溶出する。ステロール溶出画分に、5 α -コlestタン-エタノール溶液1 mLを正確に加え、ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物を*n*-ヘキサン10 mLに溶解し、その1 μ Lをガスクロマトグラフに注入する。

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

(5) 検量線の作成

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

(6) 計算

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

[注解]

(注1) 穏やかに沸とうさせながら行う。

コレステロール定量法・フローチャート
-ガスクロマトグラフ法(2)-

共栓三角フラスコに試料1~10 g採取

1時間加熱 1 mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 100 mL

冷却

振り混ぜ抽出 水 100 mL
石油エーテル 100 mL

さらに石油エーテル50 mLで2回抽出

石油エーテル層

水40 mLで4回水洗

硫酸ナトリウム(無水)で脱水

溶媒を減圧留去

残留物を n -ヘキサンに溶解

シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ジエチルエーテル- n -ヘキサン混液 (35 : 65 v/v) 150 mL

ステロール画分を溶出

5α -コレスタン-エタノール溶液 1 mL

溶媒を減圧留去

残留物を n -ヘキサン 10 mL に溶解

1 μ L をガスクロマトグラフに注入, 測定

39-3. ガスクロマトグラフ法(3) (穀類, いも類等)

[適用]

穀類, いも及びでん粉類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

39-2. ガスクロマトグラフ法(2)に同じ。

(2) 試薬

エタノール

95 %エタノール

水酸化カリウム

5 mol/L塩酸 : 水 70 mL に塩酸 50 mL を加える。

その他の試薬は, 39-2. ガスクロマトグラフ法(2)に同じ。

(3) 操作

共栓三角フラスコに, 試料 1~10 g (W) を正確にはかり取る。エタノール 2 mL を加え, ガラス棒で混和する。5 mol/L塩酸 10 mL を加え, 30分間加熱して酸分解を行う。放冷後 95 %エタノール 50 mL, 水酸化カリウム 6.6 g を加え, 冷却管を付け, 1時間加熱してけん化する (注1)。冷却後, 水 100 mL 及び石油エーテル 100 mL で分液漏斗に移し, 振り混ぜ抽出する。さらに石油エーテル 50 mL で 2回抽出する。石油エーテル層を集め, 水 40 mL で 4回洗う。石油エーテル層を硫酸ナトリウム (無水) で脱水し, ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。シリカゲル 8 g を n -ヘキサンにけん濁させ, かき混ぜながらクロマト管に充填する。このカラムに, 残留物の n -ヘキサン溶液を注ぎ, 吸着させる。次いで, ジエチルエーテル- n -ヘキサン混液 (1 : 4 v/v) 150 mL で洗浄した後, ジエチルエーテル- n -ヘキサン混液 (35 : 65 v/v) 150 mL を用いてステロール画分を溶出する。ステロール溶出画分に, 5α -コレスタン-エタノール溶液 1 mL を正確に加え, ロータリーエバポレーターで溶媒を減圧留去する。残留物を n -ヘキサン 10 mL に溶解し, その 1 μ L をガスクロマトグラフに注入する。

(4) ガスクロマトグラフの操作条件例

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

(5) 検量線の作成

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

(6) 計算

39-1. ガスクロマトグラフ法(1)に同じ。

[注解]

(注1) 穏やかに沸とうさせながら行う。

コレステロール定量法・フローチャート
ーガスクロマトグラフ法(3)ー

共栓三角フラスコに試料1~10 g採取

30分間加熱
エタノール 2 mL
5 mol/L 塩酸 10 mL

冷却

1時間加熱
95 %エタノール 50 mL
水酸化カリウム 6.6 g

冷却

振り混ぜ抽出
水 100 mL
石油エーテル 100 mL

さらに石油エーテル50 mLで2回抽出

石油エーテル層

水40 mLで4回水洗

硫酸ナトリウム(無水)で脱水

溶媒を減圧留去

残留物を*n*-ヘキサンに溶解

シリカゲルカラムクロマトグラフィー

ステロール画分を溶出
ジエチルエーテル-*n*-ヘキサン混液 (35 : 65 v/v) 150 mL

5 α -コレスタン-エタノール溶液 1 mL

溶媒を減圧留去

|

残留物を*n*-ヘキサン10 mLに溶解

|

1 μ Lをガスクロマトグラフに注入，測定

第6章 炭水化物及び有機酸

40. でん粉，単糖，二糖，オリゴ糖，糖アルコール

40-1. 高速液体クロマトグラフ法（単糖，二糖，オリゴ糖，糖アルコール）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ：示差屈折率検出器付き（注1）

カラム（注2）：アミノプロピル基を結合させたシリカゲルを充填したカラム（単糖，二糖，オリゴ糖），配位子交換カラム（糖アルコール）

超音波洗浄器

ロータリーエバポレーター

遠心分離機

全量フラスコ

遠心管

(2) 試薬

標準品：水分を測定し（注3），無水物に換算する（例：D (+) -グルコース試薬特級）。

アセトニトリル：高速液体クロマトグラフ用又は残留農薬・PCB試験用

石油エーテル：特級

50 % (v/v) エタノール：99.5 % (v/v) エタノール（特級）－水（1：1）

10 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム（特級）10 gを水で100 mLにしたもの
標準溶液の調製：標準品約100 mgを採取し，水で25 mLに定容する。この液を2，5及び10 m採取して，水で20 mLに定容する（注4）。

(3) 操作

1) 基本操作

容量50 mLビーカーに試料（0.5～5 g）を正確にはかりとり（*W*），水約30 mLを加え，液性が酸性の場合には10 % (w/v) 水酸化ナトリウム溶液で中和する（注5）。30分間超音波抽出した後，全量を容量50 mL（*V*）全量フラスコに移して水で定容する。不溶物がある場合はろ紙でろ過し，ろ液をメンブランフィルター（0.45 μm）でろ過して試料溶液とする（注6）。

2) たんぱく質又は多糖類を多く含む試料の場合

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，試料溶液はロータリーエバポレーターで減圧乾固した後，水に再溶解したものとする（注7）。

3) 脂質を多く含む試料の場合

容量50 mL遠心管に試料（0.5～5 g）を精密にはかりとる（*W*）。これに石油エーテル40 mLを加えて，ときどき攪拌しながら15分間放置した後，遠心分離（2000回転/分，10分間）して上澄み液を傾斜法により除去する。この脱脂操作を繰り返した後，40 °Cの水浴中で残存する石油エーテル分を完全に蒸散させる。得られた残留物について，1)又は2)と同様の操作を行う。

4) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

単糖，二糖

カラム：シリカ系アミノカラム（例えば，Inertsil NH2，内径3.0 mm，長さ150 mm）（注8）

移動相：アセトニトリル－水（8：2）（注9）

検出器：示差屈折率検出器

流速：0.7 mL/分
温度：室温
注入量：20 μ L

オリゴ糖

カラム：シリカ系アミノカラム（例えば，Inertsil NH₂，内径3.0 mm，長さ150 mm）（注8）
移動相：アセトニトリル-水（73：27）（注9）
検出器：示差屈折率検出器
流速：0.5 mL/分
温度：25 $^{\circ}$ C
注入量：5 μ L

糖アルコール

カラム：配位子交換カラム（例えば，Shodex SUGAR SP0810，内径8 mm，長さ300 mm）
移動相：水
検出器：示差屈折率検出器
流速：0.6 mL/分
温度：80 $^{\circ}$ C
注入量：5 μ L

(4) 測定

試料溶液を上記条件の高速液体クロマトグラフに注入し，各糖若しくは各糖アルコールのピーク高さ又は面積を測定する。同様に標準溶液を注入し，検量線を作成する。

(5) 計算

$$\text{糖若しくは糖アルコール含量 (g/100 g)} = \frac{C \times V \times D \times 100}{W \times 1000}$$

C ：検量線より求めた各糖若しくは各糖アルコールの濃度 (mg/mL)

V ：定容量 (mL)

W ：試料採取量 (g)

D ：希釈倍数

[注解]

(注1) 単糖，二糖及びオリゴ糖の検出には，示差屈折率検出器のほかに蛍光検出器（蛍光誘導体化が必要）又はパルス電気化学検出器なども利用できる。

(注2) 測定する糖の種類や試料により種々のカラムが利用可能であるが，ここでは汎用性の高い代表的なもののみを示す。

(注3) カールフィッシャー法により測定する。標準品が少量の場合は，減圧加熱乾燥法（例えば60 $^{\circ}$ C，5時間）で乾燥したものを用いる。

(注4) 標準溶液の濃度は，使用する検出器の感度を考慮して設定する。

(注5) 酸性のまま抽出すると糖が一部分解してしまうおそれがあるため，あらかじめ pH5~7 に調整する。また，水酸化ナトリウムの濃度は適宜変更する。

(注6) 検量線の範囲内となるように，水で希釈，あるいはロータリーエバポレーターを用いて濃縮する。

(注7) 溶媒の種類はクロマトグラムのピーク高さに影響するので，試料溶液と標準溶液の溶媒を統一する。

(注8) 例えば，Shodex Asahipak NH2P-50 4E，内径4.6 mm，長さ250 mm等のポリマー系アミノカラムも使用可能。

(注9) シリカ系アミノカラムは徐々に溶出時間が短くなるので，溶出時間をほぼ一定に保つように混合比率を調整する。

単糖，二糖，オリゴ糖，糖アルコール定量法・フローチャート
(抽出溶媒が水の例)

試料を容量50 mLビーカーに採取 (0.5～5 g)

↓
中和： 水 約30 mL

↓
超音波抽出 (30分間)

↓
定容 (容量50 mL全量フラスコ)

↓
ろ過 (ろ紙)

↓
ろ過 (メンブランフィルター)

↓
高速液体クロマトグラフに注入，測定

40-2. 酵素法（でん粉）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計
遠心分離機
ボルテックスミキサー
沸とう水浴
恒温水槽
全量フラスコ
試験管
マイクロピペット

(2) 試薬

80 % (v/v) エタノール：95 %エタノール（特級）80 mLを水で95 mLにしたもの。

3- (N-モルホリノ) プロパンスルホン酸緩衝液（50 mM, pH 7.0）：900 mLの水に、11.55 gの3- (N-モルホリノ) プロパンスルホン酸ナトリウム塩（純度99.5 %以上）を溶解し、1 mol/L塩酸（容量分析用）を用いてpH 7.0に調整する。0.74 gの塩化カルシウム二水和物（特級）を加えて溶解し、水で1 Lにしたもの。

耐熱性アミラーゼ溶液：Total Starch Assay Kit（Megazyme社製）付属のBottle 1を3- (N-モルホリノ) プロパンスルホン酸緩衝液で30倍に希釈したもの。

200 mmol/L酢酸ナトリウム緩衝液：900 mLの水に氷酢酸（特級）11.8 mLを加え、1 mol/L水酸化ナトリウム（容量分析用）でpH 4.5に調整したもの。

アミログルコシダーゼ溶液：Total Starch Assay Kit付属のBottle 2

グルコース標準溶液（1.0 mg/mL）：Total Starch Assay Kit付属のBottle 5

GOPOD溶液：Total Starch Assay Kit付属のBottle 3を水で1 Lとした溶液に、Total Starch Assay Kit付属のBottle 4を加え溶解したもの。

(3) 操作（注1）

1) 抽出

試料90~100 mg (*W*) を試験管に採取し、80 % (v/v) エタノール10 mLを加え、80 °Cで10分間加温する。加温後、遠心分離（1000×*g*, 10分間）し、上澄みを除去する。沈澱物に、さらに80 % (v/v) エタノール10 mLを加え、同様の操作をもう1回繰り返す、上澄みを除去する。

得られた沈澱物に、80 % (v/v) エタノール0.2 mLを加え、試料がよくなじむようにボルテックスミキサーを用いて激しく攪拌する。耐熱性アミラーゼ溶液3 mLを加え、ボルテックスミキサーを用いて攪拌後、直ちに沸とう水浴で2分間加温する。加温後、ボルテックスミキサーで激しく攪拌し、再び沸とう水浴で3分間加温する。加温後、ボルテックスミキサーで激しく攪拌する（注2）。

試験管を50 °Cの恒温水槽で5分間加温後、200 mmol/L酢酸ナトリウム緩衝液4 mL及びアミログルコシダーゼ溶液0.1 mLを加え、ボルテックスミキサーで激しく攪拌する。攪拌後、栓をして50 °Cの恒温水槽で30分間加温する。加温後、直ちに試験管の内容物を容量100 mL (*V*) 全量フラスコに移す（注3）。水を用いて試験管内を洗い込み、試験管の内容物を全量フラスコに移し、水で定容する。

全量フラスコの内容物の一部を試験管に移し遠心分離（1000×*g*, 10分間）後、上澄みを採取し測定用試料溶液とする。

2) 測定

測定用試料溶液0.1 mLを2本の試験管に分注する。別に、水0.1 mLを2本、グルコース標準溶液0.1 mLを4本、試験管に分注する。GOPOD溶液3 mLをそれぞれの試験管に加え、50 °Cの恒温水槽で20分間加温する。水0.1 mLを反応させた液を対照として、510 nmにおける吸光度を測定する（注4）。

(4) 計算

$$\begin{aligned} \text{でん粉含量 (g/100 g)} &= A \times f \times \frac{V}{0.1} \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180} \\ &= A \times \frac{f}{W} \times \frac{V}{100} \times 90 \end{aligned}$$

A : 測定用試料溶液の吸光度 ($n=2$) の平均値
 f : グルコース (μg) に対する吸光度から求められるファクター、
すなわち、100/グルコース標準溶液の吸光度 ($n=4$) の平均値
 V : 定容量
 $V/0.1$: V mLから0.1 mLを採取したことの係数
 $1/1000$: μg からmgへの換算
 W : 試料採取量 (mg)
 $100/W$: 試料採取量の100 mgへの換算
 $162/180$: グルコースからでん粉への換算

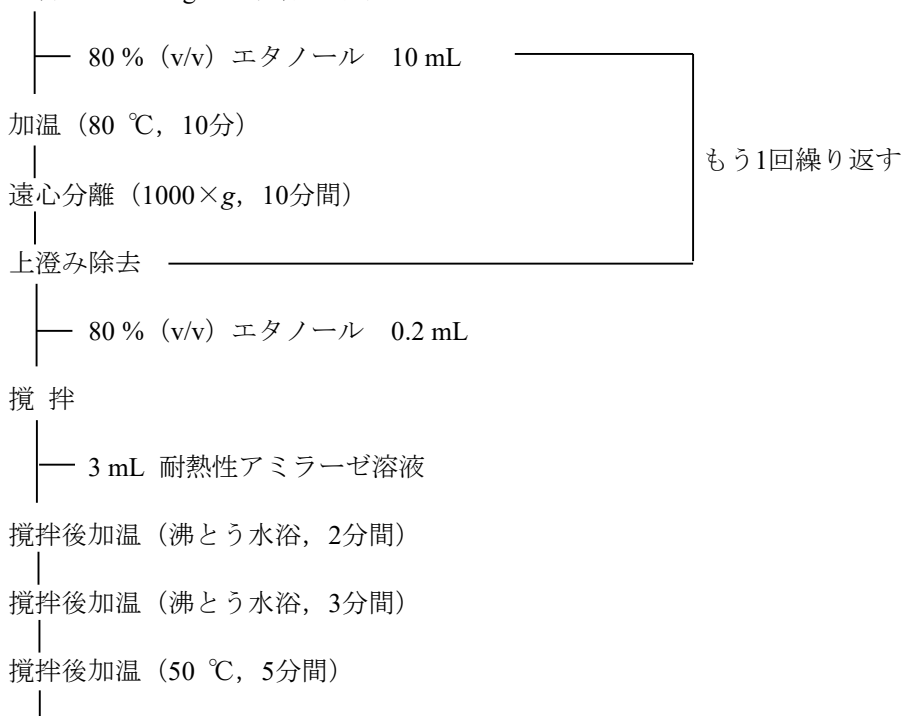
[注解]

- (注1) 本試験法は、McCleary B V, Gibson TS, Mugford DC : J AOAC Int 80 : 571-579, 1997を参考としている。
(注2) 試験管の壁に試料が付着することがあるが、この段階では分析に影響しない。
(注3) 試料のでん粉含量が10 g/100 g未満ならば、容量を10 mL (V) に変更する。
(注4) 測定前に、水0.1 mLを反応させた液2本を用いて、分光光度計の吸光度 (510 nm) をゼロと設定して測定を開始する。

でん粉定量法・フローチャート

[測定用試料溶液の調製]

試料90~100 mgを試験管に採取



├── 200 mmol/L酢酸ナトリウム緩衝液 4 mL
└── アミログルコシダーゼ溶液 0.1 mL

撈拌後、密栓し加温 (50 °C, 30分間)

└── 水で定容 (でん粉含量が10 g/100 g以上の場合容量100 mL全量フラスコ,
でん粉含量が10 g/100 g未満の場合容量10 mL全量フラスコ)

遠心分離 (1000×g, 10分間)

└── 上澄み採取

測定用試料溶液

[測定]

測定用試料溶液 (n=2) , 水 (n=2) 及びグルコース標準溶液 (n=4) 0.1 mL

└── GOPOD溶液 3 mL

加温 (50 °C, 20分間)

└── 吸光度測定 (510 nm)

4 1. 有機酸

41-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外可視吸光度検出器付き）

振り混ぜ機

遠心分離機

ホモジナイザー

なす型フラスコ

全量フラスコ

遠心管

金網漏斗

ガラス棒

三角フラスコ

(2) 試薬

5% (w/w) 過塩素酸：60%過塩素酸（特級）を80 g採取し，水を880 g加える。

0.5% (v/v) 過塩素酸：5% (w/w) 過塩素酸10 mLを水で100 mLにしたもの。

ヘキサン：特級

リン酸水素二ナトリウム：特級

ブロモチモールブルー：特級

リン酸：特級

標準溶液（例えばクエン酸標準溶液）

クエン酸三ナトリウム二水和物（特級）0.1531 gを容量100 mL全量フラスコにはかりとり，水で定容する（1.0 mg/mL）。この液を0.01, 0.1, 0.2及び0.5 mg/mLとなるように水で希釈し調製する。

(3) 操作

1) 抽出（注1）

(a) 乾物試料の場合

試料約5 g (*W*) を容量100 mLなす型フラスコにはかりとり，5% (w/w) 過塩素酸5 mL及び水を約20 mL加え，10分間振り混ぜた後，容量50 mL (*V*) 全量フラスコに移し，水で定容する。定容後，ろ過したものを測定用試料溶液とする。

(b) 液体試料の場合

試料約5 g (*W*) を容量50 mL (*V*) 全量フラスコにはかりとり，5% (w/w) 過塩素酸を5 mL加えた後，水で定容する。定容後，ろ過したものを測定用試料溶液とする。

(c) バターなど油分を多く含む試料の場合

試料約2 g (*W*) を遠心管にはかりとり，0.5% (v/v) 過塩素酸を20 mL (*V*) 加えた後，ヘキサン20 mLを加え10分間振り混ぜる。遠心分離（2000回転/分，5分間）後，上層を除去し，上記の操作（ヘキサン添加～上層除去）を2回繰り返す。最後の上層除去後，水層を採取しろ過したものを測定用試料溶液とする。

(d) 肉や野菜など不均質な固形試料の場合

試料約2 g (*W*) を遠心管にはかりとり，0.5% (v/v) 過塩素酸を20 mL (*V*) 加え，ホモジナイザーで攪拌後，金網漏斗とガラス棒を用いてすりつぶしながら容量100 mL三角フラスコに移し，ろ過したものを測定用試料溶液とする。

2) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

カラム：内径8.0 mm，長さ300 mm，イオン排除及び逆相型カラム（例えばShodex RSpak KC-811

を2本連結)
カラム温度：40 °C
移動相：3 mmol/L過塩素酸
反応液：0.2 mmol/Lブロムチモールブルー含有15 mmol/Lリン酸水素二ナトリウム溶液
流速：移動相 1.0 mL/分，反応液 1.4 mL/分
測定波長：445 nm
注入量：20 μL

3) 測定

測定用試料溶液を上記条件の高速液体クロマトグラフに注入し，各有機酸のピーク高さを測定する。同様に標準溶液を注入し，検量線を作成する。

(4) 計算

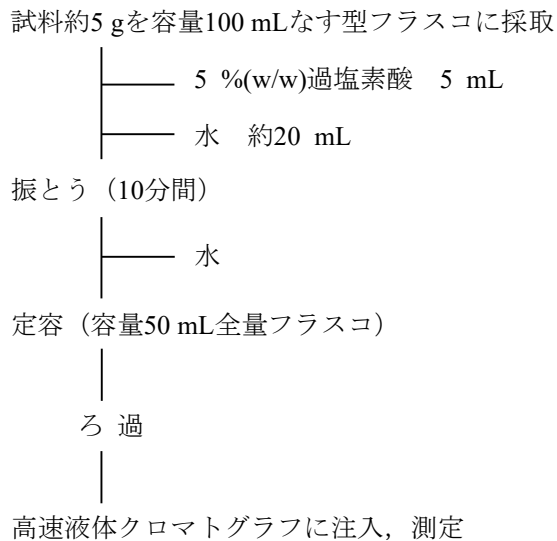
$$\text{有機酸含量 (g/100 g)} = \frac{A \times V \times C}{W \times 1000} \times 100$$

A : 検量線より求めた測定用試料溶液中の有機酸濃度 (mg/mL)
 V : 定容量 (mL)
 W : 試料採取量 (g)
 C : 希釈倍数

[注解]

(注1) 抽出は測定用試料溶液中の過塩素酸終濃度が0.5%となるように行う。ただし，分析対象がシュウ酸の場合は，測定用試料溶液の過塩素酸終濃度が5%となるように行う。

有機酸定量法・フローチャート (乾物試料の例)



41-2. 酵素法（グルコン酸）

[適用]

食品全般に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ビーカー
マグネチックスターラー
pHメーター
全量フラスコ
分光光度計

(2) 試薬

5% (w/w) 過塩素酸：60%過塩素酸（特級）を80 gはかりとり，水を880 g加える。

2 mol/L水酸化カリウム：水酸化カリウム（特級）を66.01 gはかりとり，水で500 mLに定容する。

1 mol/L塩酸：塩酸（特級）88 mLを水で1000 mLに定容する。

F-キット D-グルコン酸/D-グルコノ-δ-ラクトン（Roche Diagnostics社製）

グルコン酸標準溶液：グルコン酸ナトリウム（純度>99.0%）0.1112 gを容量200 mL全量フラスコにはかりとり，水で定容する（0.5 mg/mL）。この液を0.01, 0.05, 0.1及び0.2 mg/mLとなるように水で希釈し調製する。

(3) 操作

1) 抽出

試料約5 g (*W*) を容量50 mLビーカーにはかりとり，5% (w/w) 過塩素酸を5 mL及び水を約20 mL加え，マグネチックスターラーで20分間，なじむまで攪拌する（注1）。2 mol/L水酸化カリウムで，溶液をpH 10以上に調整し，再びマグネチックスターラーで15分間攪拌後（注2），1 mol/L塩酸でpH 7.5~8.5に調整する（注3）。pH調整後，マグネチックスターラーで10分間攪拌後，容量50 mL (*V*) 全量フラスコに移し，水で定容する。定容後，ろ過したものを測定用試料溶液とする。

2) 測定

測定用試料溶液及びグルコン酸標準溶液について，F-キット D-グルコン酸/D-グルコノ-δ-ラクトンを用いて酵素反応させた後，分光光度計で340 nmにおける吸光度を測定する。なお，酵素反応はキットの方法に従い行う。

(4) 計算

$$\text{グルコン酸含量 (g/100 g)} = \frac{A \times V \times C}{W \times 1000} \times 100$$

A：検量線より求めた測定試料溶液中のグルコン酸濃度（mg/mL）

V：定容量（mL）

W：試料採取量（g）

C：希釈倍数

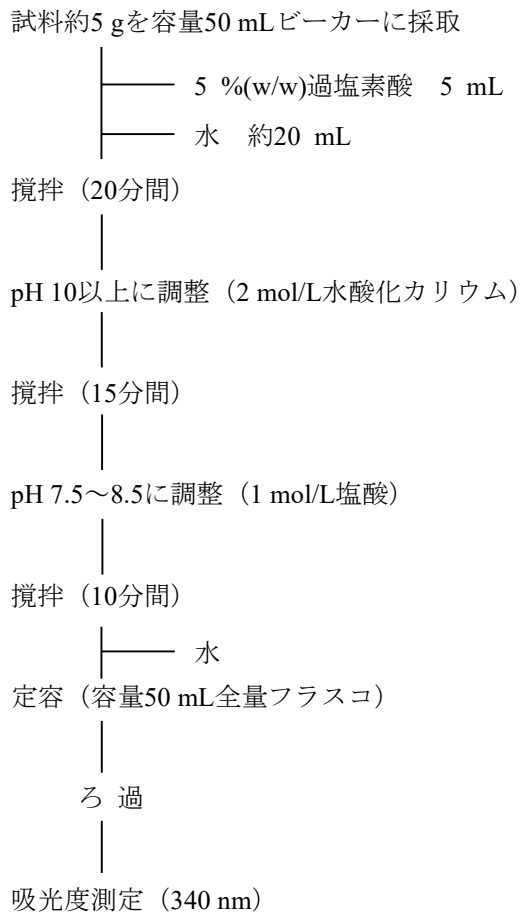
[注解]

（注1） 20分でなじまない場合は，時間を延長して良い。

（注2） 15分間攪拌後，溶液のpHが10以下に下がっていた場合は，2 mol/L水酸化カリウムでpH 10以上に再調整し，再びマグネチックスターラーで15分間攪拌するところからやり直す。

（注3） 溶液をpH 7.5~8.5に調整する際に，一度でもpH 7.5を下回った場合は，2 mol/L水酸化カリウムでpH 10以上に再調整し，再びマグネチックスターラーで15分間攪拌するところからやり直す。

グルコン酸定量法・フローチャート



第7章 その他の備考欄収載成分

4.2. 硝酸イオン

42-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

野菜類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外可視吸光度検出器付き）

(2) 試薬

硝酸カリウム

硝酸イオン標準原液：硝酸カリウム407 mgをイオン交換水に溶解して500 mL定容とする（500 µg/mL）。

測定用硝酸イオン標準溶液：標準原液をイオン交換水で適宜希釈し、1～50 µg/mLの標準溶液を調製する。

高速液体クロマトグラフ用溶離液：リン酸水素二ナトリウム・12水塩1.79 g，リン酸二水素ナトリウム・2水塩0.78 g及び過塩素酸ナトリウム・1水塩14.04 gをイオン交換水に溶解して1000 mLに定容する。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

細切りした試料5 g (*W*) をポリエチレン又はポリプロピレンなどのプラスチック製容器にとり、イオン交換水100 mLを加えて1時間振り混ぜて抽出する。

ろ紙（JIS 5種C）でろ過したろ液，又は遠心分離した上澄み液をとり，0.45 µmのメンブランフィルターを通したものを試料溶液 (*V*) とする。

2) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

カラム：内径4.6 mm，長さ250 mm，アミノカラム（例えばAsahipak NH₂P-50・4E）

移動相：上記溶離液

流速：0.8 mL/分

温度：50 °C

波長：210 nm

3) 測定

試料溶液5 µLを高速液体クロマトグラフに注入し，硝酸イオンのピーク面積を測定する。あらかじめ標準溶液を用いて作成した検量線から試料溶液中の硝酸イオンの濃度を求める。

(4) 計算

$$\text{硝酸イオン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W \times 1000} \times 100$$

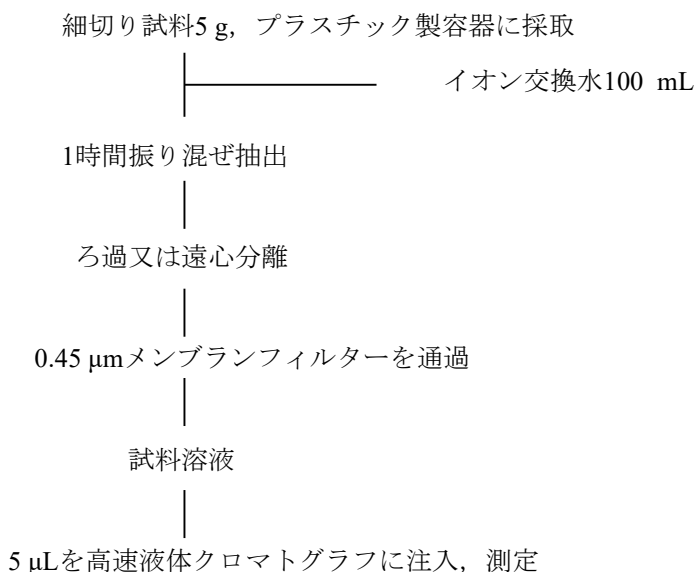
A：検量線から求めた試料溶液中の硝酸イオン濃度（µg/mL）

V：試料溶液量（mL）

W：試料採取量（g）

$$\text{硝酸態窒素含量 (mg/100 g)} = \text{硝酸イオン含量 (mg/100 g)} \times 0.226$$

硝酸イオン定量法・フローチャート
—高速液体クロマトグラフ法—



42-2. イオンクロマトグラフ法

[適用]

野菜類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

イオンクロマトグラフ（電気伝導度検出器又は紫外可視吸光光度検出器付き）

(2) 試薬

硝酸イオン標準溶液：市販のイオンクロマトグラフ用硝酸イオン標準溶液を、イオン交換水で適宜希釈し、1～5 μg/mLの標準溶液を調製する。

イオンクロマトグラフ用溶離液（1.8 mmol/L炭酸ナトリウム，1.7 mmol/L炭酸水素ナトリウム溶液）：下記の溶液を調製する。この溶離液はAS4A-SC（Thermo Fisher Scientific Inc.）に適した溶離液である。現在はさまざまな種類の分離カラムが市販されているため、装置やカラムに適した溶離液を選択すること。

0.1 mol/L炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム10.6 gをイオン交換水に溶解して1000 mLに定容する。

0.1 mol/L炭酸水素ナトリウム溶液：炭酸水素ナトリウム8.4 gをイオン交換水に溶解して1000 mLに定容する。

0.1 mol/L炭酸ナトリウム溶液18 mL及び0.1 mol/L炭酸水素ナトリウム溶液17 mLを、脱気したイオン交換水に溶解して1000 mLに定容し溶離液とする。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

細切りした試料5 g (*W*) をプラスチック製容器にとり、約80 °Cのイオン交換水50 mLを加えた後、ディスペンザーで破碎する。さらに約80 °Cのイオン交換水50 mLでディスペンザーを洗いながら加えて、100 mLに定容 (*V*) する。80 °Cで1時間振り混ぜ、抽出する。ろ紙（JIS 5種A）でろ過したろ液，又は遠心分離した上澄み液をとり、適宜希釈 (*N*) し、0.45 μmのメンブランフィルターを通したものを試料溶液とする。

2) イオンクロマトグラフィー

[操作条件例]

装置：DIONEX ICS-1500

検出器：電気伝導度検出器又は紫外可視吸光光度検出器

サンプルループ容量：25 μ L

カラム：IonPac AG4A-SC (ガードカラム)

：IonPac AS4A-SC (分離カラム)

溶離液：上記の溶離液

流量：1.0 mL/分

サブプレッサー：AERS-500

3) 測定

試料溶液25 μ Lを陰イオン分析用のカラム及び電気伝導度検出器又は紫外可視吸光光度検出器を装備したイオンクロマトグラフに注入する。あらかじめ標準溶液を用いて作成した検量線から試料溶液中の硝酸イオンの濃度を求める。

(4) 計算

$$\text{硝酸イオン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times N \times V \times 100}{W \times 1000}$$

A ：検量線から求めた試料溶液中の硝酸イオン濃度 (μ g/mL)

N ：希釈倍数

V ：定容量 (mL)

W ：試料採取量 (g)

$$\text{硝酸態窒素含量 (mg/100 g)} = \text{硝酸イオン含量 (mg/100 g)} \times 0.226$$

硝酸イオン定量法・フローチャート —イオンクロマトグラフ法—

細切り試料5 g, プラスチック製容器に採取

┆────────── イオン交換水50 mL

ディスペンザーで破砕

┆────────── イオン交換水50 mL

1時間振り混ぜ抽出 (80 °C)

┆

ろ過又は遠心分離後, 適宜希釈

┆

0.45 μ mメンブランフィルターを通過

┆

試料溶液

┆

25 μ Lをイオンクロマトグラフに注入, 測定

4 3. アルコール

43-1. 浮ひょう法 (注1)

[適用]

清酒・合成清酒，しょうちゅう，みりん，ビール，果実酒，ウイスキー，スピリッツ類，リキユール類などアルコール飲料類，酒かすに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

全量フラスコ：容量100 mL

メスシリンダー：容量100 mL

丸底フラスコ：容量300～500 mL

冷却管

マントルヒーター

浮ひょう：酒精度用，検定合格品又は基準器検査合格品

(2) 操作

15 °Cで試料を容量100 mL (注2) 全量フラスコの標線までとり，これを丸底フラスコに移し，この全量フラスコを毎回15 mLの水で2回洗い，洗液を丸底フラスコ内に合わせ，冷却管に連結し，試料採取に用いた全量フラスコを受器として蒸留する (注3)。留液が約70 mLに達した時点で蒸留を止め (注4)，水を加えて15 °Cにおいて標線まで満たし，よく振り混ぜてシリンダーに移した後，15 °Cにおいて酒精度浮ひょうを用いてその示度を読み，アルコール分 (注5) の度数とする。

アルコール分 (度=v/v) を100 gあたりのアルコール (エタノール) 濃度に換算する場合，以下のとおり計算する。

$$\text{アルコール分 (g/100 g)} = \text{アルコール分 (v/v)} \times \frac{0.794}{\text{比重}}$$

[注解]

(注1) 浮ひょう法は簡便であるが，少なくとも100 mL以上の試料量を必要とし，アルコール分が2度以下の場合には誤差が大きくなり，そのような試料には用いられない。

(注2) 試料の採取量は，浮ひょうを浮かべたとき，浮ひょうの胴部からシリンダーの内面まで5 mm以上の距離がなければならない。100 mLの留液を用いて測定するので，胴径が20 mm以下の浮ひょうを用いる。胴径が大きい場合は適宜容量を増やしてもよい。しょうちゅう (エキス分を含まない) は蒸留操作をしないで，試料を直接シリンダーに採取して，浮ひょうを用いて測定する。50度を超えるものは希釈して測定後，その希釈倍率を乗じて算出する。酒かすは100 gをはかりとり，水300 mLを加えてよく混合してから蒸留する。

(注3) 焦げ付きのおそれのあるものは水蒸気蒸留法を用いてもよい。

(注4) フラスコへの洗い込み水量はエキス分が高いものは液量を多くし，留液を多くとる。また，アルコール度数の高いものは留液の採取量を多くする。

例：みりん (洗いこみ水量：40 mL 2回，留液採取量80 mL)

ウイスキー (希釈後測定，洗いこみ水量：15 mL 2回，留液採取量98 mL)

(注5) 酒税法によるアルコール分とは温度15 °Cにおいて，原容量100分中に含有するエチルアルコールの容量をいい，計量法でいう15 °Cのもとにおける酒精と水の混合液中の酒精の体積百分率で，濃度を表す値の酒精度と一致する。

43-2. ガスクロマトグラフ法 (1)

[適用]

試料量が少なく、浮ひょう法が適用できないか、又はアルコール分が2度以下の試料に用いる(注1)。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ガスクロマトグラフ (水素炎イオン化検出器付き)
ねじ蓋試験管：容量15～20 mL

(2) 試薬

エタノール標準溶液：試薬特級品 (99.5) を水で希釈し、20 % (v/v) 溶液とする。
アセトン溶液：試薬特級品を水で希釈し、1 % (v/v) 溶液とする。

(3) 操作

15℃において、エタノール標準溶液0.5 mLを試験管にとり、これにアセトン溶液10 mLを正確に加えてよく混合し、この1～2 µLをガスクロマトグラフに注入し、得られるアセトンとエタノールのピーク面積から、次式により補正係数 (F) を算出する。

$$\text{補正係数 (F)} = \frac{\text{アセトンのピーク面積}}{\text{エタノールのピーク面積}}$$

次に、試料0.5 mLを同様に処理して得られるアセトンとエタノールのピーク面積から、次式により試料中のアルコール分を求める。

$$\text{アルコール分 (度)} = F \times \frac{\text{エタノールのピーク面積}}{\text{アセトンのピーク面積}} \times 20$$

1) ガスクロマトグラフィ (注2)

[操作条件例]

カラム：内径3 mm，長さ2 m，ポーラスポリマー系 (例えば，Gasukuropack55など)
温度：注入口及び検出器250℃，カラム125℃
ガス流量：窒素又はヘリウム30.0 mL/min

[注解]

(注1) アルコール分が40度以下及びエキス分が20度以下の試料について適用する。したがって、アルコール分が40度，エキス分が20度を超える試料は、あらかじめ、アルコール分が40度，エキス分が20度以下になるように希釈しなければならない。

(注2) 国税庁所定分析法では、カラム充填剤にはポリエチレングリコール1000 (10 %，60～80メッシュ)，注入口温度が150～200℃，カラム温度100℃，キャリアーガスは窒素，流速30～40 mL/分となっている。使用するガスクロマトグラフによって分析条件が異なるので、あらかじめ、適宜10回程度の繰り返し試験を実施し、定量値の相対標準偏差が1 %以内となるように分析条件を設定する。

43-3. ガスクロマトグラフ法 (2)

[適用]

しょうゆに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

ガスクロマトグラフ (水素炎イオン化検出器付き)

全量フラスコ：容量20 mL， 100 mL

全量ピペット

(2) 試薬

エタノール標準溶液：試薬特級品（99.5）0.2 gを容量20 mL全量フラスコに正確にはかりとり，水で定容する（標準原液：10000 µg/mL）。これを水で希釈して，10～200 µg/mLの標準溶液を調製する。

(3) 操作

1) 試料溶液の調製

試料約1 g (*W*)（注1）を容量100 mL (*V*) 全量フラスコにはかりとり，水で定容する。標準溶液の濃度範囲に収まるように水で適宜希釈（*D*）した後，孔径0.45 µmメンブレンフィルター（セルロース）にてろ過した液を試料溶液とする。

2) ガスクロマトグラフィー

[操作条件例]

カラム：内径3.2 mm，長さ3.1 m，ポラスポリマー系（例えば，Gasukuropack55など）

温度：注入口及び検出器250 °C，カラム130 °C（14 min保持）→40 °C/min→200 °C（3 min保持）

ガス流量：窒素又はヘリウム25.0 mL/min

3) 測定（注2）

標準溶液2 µLをガスクロマトグラフに注入し，標準溶液の濃度とピーク面積から検量線を作成する。同様に試料溶液について測定を行い，ピーク面積と検量線から試料溶液中のエタノール濃度（*A* µg/mL）を求める。

(4) 計算

$$\text{アルコール (g/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times D \times \frac{1}{10000}$$

[注解]

(注1) 試料採取量は適宜変更してよい。また，試料採取時は揮発を防ぐため少量の敷き水をする
とよい。

(注2) 測定を妨害する成分が含まれる場合は温度条件及び注入量を適宜変更し，最適な分離及び感度が得られるようにする。

43-4. 振動式密度計法

[適用]

43-1. 浮ひょう法に同じ。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

全量フラスコ：容量100 mL

丸底フラスコ：容量300～500 mL

冷却管

マントルヒーター

振動式密度計

(2) 操作

43-1. 浮ひょう法と同様に試料を蒸留し，定容する。得られた留液を，振動式密度計を用いて測定し，密度を求め，アルコール度数を算出する。

アルコール分定量法・フローチャート

43-1. 浮ひょう法

15 °Cにて試料を容量100 mL全量フラスコの標線まで採取

|

丸底フラスコに移す

|

水15 mLで2回洗い、
洗液を合わせる

|

先の全量フラスコを受器
として蒸留

|

留液が70 mLに達した時点
で蒸留を止める

|

15 °Cにて100 mLの標線まで水を満たし
十分に振り混ぜる

|

シリンダーに移し、15 °Cにて
酒精度浮ひょうを用いて示度を読む

43-2. ガスクロマトグラフ法 (1)

[補正係数の算出]

15 °Cにて20 % (v/v) エタノール標準溶液
0.5 mLを試験管に採取

|—————

1 % (v/v) アセトン溶液10 mL

十分に混合後、1~2 μLを
ガスクロマトグラフに注入、測定

|

補正係数を算出

[定量]

15 °Cにて試料0.5 mLを試験管に採取

|—————

1 % (v/v) アセトン溶液10 mL

十分に混合後、1~2 μLを
ガスクロマトグラフに注入、測定

|

先に求めた補正係数とピーク面積比
からアルコール分を算出

43-3. ガスクロマトグラフ法 (2)

試料約1 gを容量100 mL全量フラスコに採取

——— 水
|
定容 (100 mL)

|
適宜希釈

|
メンブレンフィルターろ過 (孔径0.45 μm, セルローズ)

|
試料溶液

|
2 μLをガスクロマトグラフに注入, 測定

43-4. 振動式密度計法

15 °Cで試料を容量100 mL全量フラスコ
の標線まで採取

|
丸底フラスコに移す

|
水15 mLで2回洗い,
洗液を合わせる

|
先の全量フラスコを受器
として蒸留

|
留液が70 mLに達した時点
で蒸留を止める

|
15 °Cにて100 mLの標線まで水を満たし
充分に振り混ぜる

|
15 °Cにて振動式密度計を用いて密度を求め, アルコール分を算出

44. 酢酸

44-1. 直接滴定法

[適用]

食酢に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

三角フラスコ：容量200 mL

ビュレット

(2) 試薬

0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液

フェノールフタレイン溶液

(3) 操作

試料10 g (注1) を三角フラスコにはかりとり、約20 mLの水を加えて希釈する。次にフェノールフタレイン溶液を数滴加えた後、ガラス棒でかき混ぜながら、0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液で微赤色になるまで滴定する。

(4) 計算

$$\text{酢酸含量 (g/100 g)} = 0.03 \times \frac{A \times f}{10} \times D \times 100$$

A : 0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液の滴定量 (mL)

f : 0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液のファクター

0.03 : 0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液1 mLに相当する酢酸のg数

D : 希釈倍数

[注解]

(注1) 希釈倍数が表示されているもの(高酸度酢)にあつては、その希釈倍数に応じて、水を用いて正確に希釈したものを試料とする。また、ぶどう酢など、色が濃すぎて終点が見えにくいものにあつては、次のようにしてもよい。試料10 gを容量100 mLビーカーにはかりとり、水40 mLを加え、pHメーターを用い、マグネチックスターラーでかき混ぜながら、0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液を滴下する。pH 8.2を示すところを滴定の終点とする。

44-2. 水蒸気蒸留-滴定法

[適用]

ドレッシング類、ソース類、トマト加工品類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

水蒸気蒸留装置

丸底フラスコ：容量150~200 mL

全量ピペット：容量100 mL

全量フラスコ：容量500 mL

三角フラスコ：容量300 mL

ビュレット：容量25 mL, 0.1 mL目盛

(2) 試薬

塩化ナトリウム

0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液

フェノールフタレイン溶液

(3) 操作

試料を10 g (注1) になるように丸底フラスコにはかりとり、塩化ナトリウム40 g及び水約50 mLを加え、水蒸気蒸留装置に接続し、全量フラスコを受器とし、留液が約500 mLになるまで蒸留する(注2)。全量フラスコの標線まで水を満たした後、よく混合し、この中から全量ピペットで100 mLを三角フラスコにはかりとる。フェノールフタレイン溶液を数滴加えた後、かき混ぜながら、0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液で微赤色になるまで滴定する。

(4) 計算

$$\text{酢酸含量 (g/100 g)} = 0.006 \times \frac{A \times f}{10} \times D \times 100$$

A : 0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液の滴定量 (mL)

f : 0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液のファクター

0.006 : 0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液1 mLに相当する酢酸のg 数

D : 分取率 (ここでは500 mL/100 mL=5)

[注解]

(注1) ドレッシング類の中には、分離液状タイプのものがあり、そのままでは均質化がきわめて難しいものがある。この場合は、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル (ポリソルベート80, 商品名 ; Tween80) などの乳化剤を0.2~0.3 %になるように正確に加えてよく混合し、もとのドレッシングとして10 gになるように採取する。

(注2) このとき、丸底フラスコ中の水量が一定、かつ塩化ナトリウムの結晶が残る状態になるように丸底フラスコの加熱を調節しなければならない。

44—3. 高速液体クロマトグラフ法 (41—1. 参照)

酢酸定量法・フローチャート

44-1. 直接滴定法

試料10 gを三角フラスコに採取し、水約20 mLで希釈

フェノールフタレイン溶液 数滴

ガラス棒でかき混ぜながら
0.5 mol/L水酸化ナトリウム溶液で滴定
(微赤色になった時点を終点)

44-2. 水蒸気蒸留-滴定法

試料10 gを丸底フラスコに採取

塩化ナトリウム 40 g
水 約50 mL

全量フラスコを受器として
水蒸気蒸留装置に接続

留液が500 mLになるまで蒸留

全量フラスコの標線まで水を満たし
十分に混合

全量ピペットで100 mLを
三角フラスコに採取

フェノールフタレイン溶液 数滴

ガラス棒でかき混ぜながら
0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液で滴定
(微赤色になった時点を終点)

45. カフェイン

45-1. 高速液体クロマトグラフ法（固形試料）

[適用]

緑茶類，発酵茶類（紅茶，ウーロン茶），コーヒーに用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外可視吸光光度検出器付き）

振り混ぜ機

ロータリーエバポレーター

全量フラスコ：容量100 mL，1 L，2 L

共栓遠心管：容量200 mL

なす型フラスコ：容量300 mL

(2) 試薬

カフェイン標準原液：カフェイン（105℃，1時間乾燥）100 mgを正確にはかりとり，内標準物質含有メタノールに溶かして100 mLに定容し，標準原液（1000 µg/mL）とする。

カフェイン標準溶液：標準原液50 mL及び25 mLを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり，内標準物質含有メタノールに溶かして100 mLに定容し，標準溶液①（500 µg/mL）及び②（250 µg/mL）とする。別に，容量100 mL全量フラスコにベンゾトリアゾール10 mgを正確にはかりとり，内標準物質含有メタノールを加えて溶かした後，標準原液10 mLを正確に加え，さらに内標準物質含有メタノールを加えて定容し，標準溶液③（ベンゾトリアゾール100 µg/mL，カフェイン100 µg/mL）とする。さらに，標準溶液①から10 mL，②から4 mLを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり，内標準物質含有メタノールを加えて定容し，標準溶液④（50 µg/mL）及び⑤（10 µg/mL）とする。標準溶液④から10 mLを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり，内標準物質含有メタノールを加えて定容し，標準溶液⑥（5 µg/mL）とする。

内標準物質含有メタノール溶液：β-フェネチルアルコール8.00 gをメタノール2 Lに溶解する（4 mg/mL）。

ベンゾトリアゾール溶液：ベンゾトリアゾール0.5 gを正確にはかりとり，1%（w/v）水酸化ナトリウムに溶解して1 Lとする。

n-ヘキサン：酢酸エチル（2：8，v/v）

1%（w/v）水酸化ナトリウム溶液

硫酸ナトリウム（無水）

(3) 操作

できるだけ細かく粉碎した試料0.1～0.2 g (*W*) を共栓遠心管にはかりとり，ベンゾトリアゾール溶液5 mLを加え（注1），混合する。次いで，*n*-ヘキサン：酢酸エチル（2：8，v/v）100 mLを加え，振り混ぜ機で5分間振り混ぜた後，静置する。上澄み液を別の容器に移し替え，残留物に1%（w/v）水酸化ナトリウム溶液1 mLを加えて混合し，さらに，*n*-ヘキサン：酢酸エチル（2：8，v/v）100 mLを加え，先と同様に操作し，上澄み液を合わせる。漏斗の脚部に綿栓をし，硫酸ナトリウム（無水）約70 gをのせ，先の上澄み液をろ過する（受器：なす形フラスコ）。容器と共栓遠心管を少量の*n*-ヘキサン：酢酸エチル（2：8，v/v）で洗浄し，洗液もすべてろ過する。ロータリーエバポレーターで*n*-ヘキサン：酢酸エチル（2：8，v/v）を留去（減圧，40℃）し，残留物に内標準物質含有メタノール溶液10～20 mL（注2）を加えて溶かし，試料溶液（*V*）とする。試料溶液15 µLを高速液体クロマトグラフに注入する。

1) 高速液体クロマトグラフィ

[操作条件例]

カラム：内径4.6 mm，長さ250 mm，逆相型カラム（例えば，Nucleosil C₁₈（10 µm））

移動相：①水-メタノール-1 mol/L過塩素酸（800：140：50 v/v/v）

②0.1 mol/Lリン酸水素ナトリウム緩衝液(pH 5.8)－アセトニトリル(850:50 v/v)
(注3)

流速：移動相①；1.5 mL/分，移動相②；2.0 mL/分

カラム温度：50 °C

測定波長：270 nm

2) 検量線の作成

カフェイン標準溶液①，②，③，④，⑤及び⑥の15 µLを高速液体クロマトグラフに注入し，内標準物質として加えてあるβ-フェネチルアルコールとカフェインのピーク高の比を求めて作成する。

(4) 計算

$$\text{カフェイン量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W \times 1000} \times 100$$

A ：検量線から求めた試料溶液中のカフェイン濃度 (µg/mL)

V ：定容量 (mL)

W ：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) ベンゾトリアゾールの添加は抽出操作による損失を検定するために加えるものである。最終試料溶液中のベンゾトリアゾールの濃度をみることにより，試験操作における回収率を検定することができる。

(注2) 試料溶液の液量は検量線の範囲に収まるように適宜増減する必要があるが，液量は正確でなければならない。

(注3) 移動相は2種類あるが，最初に①を用いて試験する。このとき，カフェインの保持時間付近にピークが現れたときは，②を用いて再度試験をしてカフェインのピークであることを確認する必要がある。同一条件の高速液体クロマトグラフを2台用意しておき，それぞれ異なる移動相で同時に試験すると便利である。

45-2. 高速液体クロマトグラフ法 (液体試料)

[適用]

緑茶類，発酵茶類 (紅茶，ウーロン茶)，コーヒーの浸出液に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ (紫外可視吸光度検出器付き)

全量フラスコ：容量10 mL，100 mL，1 L，2 L

(2) 試薬

カフェイン標準原液：45-1. 高速液体クロマトグラフ法 (固形試料) に同じ。

カフェイン標準溶液：45-1. 高速液体クロマトグラフ法 (固形試料) に同じ。

内標準物質含有メタノール溶液：45-1. 高速液体クロマトグラフ法 (固形試料) 同じ。

(3) 操作

試料0.5～0.8 g (W) を容量10 mL全量フラスコに正確にはかりとり，内標準物質含有メタノール溶液を加え10 mL (V) に定容する。十分に振り混ぜた後，15 µLを高速液体クロマトグラフに注入する。

1) 高速液体クロマトグラフィ

45-1. 高速液体クロマトグラフ法 (固形試料) に同じ。

2) 検量線の作成

45-1. 高速液体クロマトグラフ法（固形試料）に同じ。

(4) 計算

$$\text{カフェイン量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W \times 1000} \times 100$$

A : 検量線から求めた試料溶液中のカフェイン濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

V : 定容量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

46. タンニン

46-1. 酒石酸鉄吸光光度法

[適用]

緑茶類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計

水浴

三角フラスコ：容量150～200 mL

全量フラスコ：容量25 mL, 100 mL

(2) 試薬

没食子酸エチル標準溶液：100 °Cで1時間乾燥後、放冷した没食子酸エチルの5～25 mg/100 mL 溶液を5 mgおきに5段階調製する。

酒石酸鉄試薬：硫酸第一鉄・七水和物100 mgと酒石酸カリウムナトリウム・四水和物500 mgを水に溶かして100 mLとする。

リン酸緩衝液：1/15 mol/Lリン酸水素二ナトリウム溶液 (11.867 g/L) と1/15 mol/Lリン酸二水素カリウム溶液 (9.073 g/L) を84：16の割合で混合し、pHメーターでpH 7.5になるように微調整する。

(3) 操作

試料0.1 g (*W*) を三角フラスコにはかりとり、熱水50～60 mLを注加し、80 °C以上の水浴中で30分間加熱する。冷却後、全量フラスコに移して100 mLに定容 (*V*) する (注1)。ろ紙 (JIS 5種A) を用いてろ過し、最初のろ液約20 mLを捨て、以後のろ液から5 mL (*B*) を容量25 mL全量フラスコに採取する。酒石酸鉄試薬5 mLを加え、リン酸緩衝液で定容する。水5 mLを用いた試薬空試験を対照として、540 nmの吸光度を測定し、検量線から没食子酸エチル量を求め、その値を1.5倍してタンニン量とする。

1) 検量線の作成

容量25 mL全量フラスコに水5 mL及び没食子酸エチル標準溶液各5 mLをとり、これに酒石酸鉄試薬5 mLを加えた後、リン酸緩衝液で定容する。540 nmの吸光度を測定し、没食子酸エチル量に対する吸光度をプロットして検量線を作成する。没食子酸エチル1 mgの示す吸光度は茶タンニン1.5 mgに相当する。

(4) 計算

$$\text{タンニン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times 1.5 \times V}{W \times B} \times 100$$

A：検量線から求めた没食子酸エチル量 (mg)

V：定容量 (mL)

B：分取量 (mL)

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) 試料が茶浸出液の場合は5～10 g をとり、水を加えて100 mLとした後、茶葉と同様に操作する。

46-2. フォーリン・デニス法

[適用]

発酵茶，コーヒー，野菜，果物に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計

遠心分離機

水浴

三角フラスコ：容量150～200 mL

全量フラスコ：容量100 mL

共栓遠心管：容量25 mL

(2) 試薬

タンニン酸標準溶液：タンニン酸の0.5～2.0 mg/100 mL溶液を0.5 mgおきに4段階調製する(注1)。

フォーリン試薬：タングステン酸ナトリウム・二水和物25 g，リンモリブデン酸・n水和物5 g，

リン酸12.5 mLに水180 mLを加えて2時間煮沸還流し，冷却後，水で1 Lとする。

10 % (w/v) 炭酸ナトリウム溶液：用時調製。

(3) 操作

試料1～5 g (*W*) を三角フラスコにはかりとり，熱水50～80 mLを注加し，80 °C以上の水浴中で50～60分間，還流抽出する。冷却後，全量フラスコに移して100 mLに定容 (*V*) とする(注2)。ろ紙(JIS 5種A)を用いてろ過し，最初のろ液約20 mLを捨て，以後のろ液から5 mL (*B*) (注3)，水，タンニン酸標準溶液それぞれ5 mLずつを共栓遠心管にとり，フォーリン試薬5 mLを加えて3分間放置する。10 % (w/v) 炭酸ナトリウム溶液5 mLを加えて60分間放置後，遠心分離(3000回転/分，5分間)し，上澄み液の700 nmの吸光度を測定する。タンニン酸の量は同時に操作して得た検量線から求める。

(4) 計算

$$\text{タンニン含量 (タンニン酸としてmg/100 g)} = A \times D \times \frac{V}{W} \times \frac{100}{B}$$

A：検量線から求めたタンニン酸量 (mg)

V：定容量 (mL)

B：分取量 (mL)

D：希釈倍数

W：試料採取量 (g)

[注解]

(注1) タンニン酸は分子中に *n* 個の水分子を含むので，あらかじめ，カールフィッシャー法により水分を測定し，水分補正係数を乗じた量を採取して，無水物として正しく0.5～2.5 mgになるようにしなければならないが，計算式に補正係数を組み込んでもよい。

(注2) 試料が浸出液の場合は5～10 gをとり，水を加えて100 mLとした後，茶葉またはコーヒー豆と同様に操作する。

(注3) タンニン酸の量として10～15 µg/mL程度が精度よく測定できるので，濃度が高い場合は希釈する必要がある。また，濃度が低い場合は試料採取量を増やして最初から操作をやり直す。

タンニン定量法・フローチャート

46-1. 酒石酸鉄吸光度法

試料0.1 gを三角フラスコに採取

熱水50～60 mL
80 °C以上の水浴中で30分間加熱

放冷後、全量フラスコに移し100 mLとする

ろ過（ろ紙JIS 5種A）

最初のろ液約20 mLを捨て、以後のろ液5 mLを容量25 mL全量フラスコに採取

酒石酸鉄試薬 5 mL

リン酸緩衝液で定容

水5 mLを用いた試薬空試験を対照として540 nmの吸光度を測定
検量線より没食子酸エチル量を求め、タンニン量を算出

46-2. フォーリン・デニス法

試料1～5 gを三角フラスコに採取

熱水 50～80 mL
80 °C以上の水浴中で50～60分間還流抽出

放冷後、全量フラスコに移し、100 mLとする

ろ過（ろ紙JIS 5種A）

最初のろ液約20 mLを捨て、以後のろ液5 mLを遠心管に採取

フォーリン試薬 5 mL

3分間放置

10 % (w/v) 炭酸ナトリウム溶液 5 mL

60分間放置

遠心分離（3000回転/分、5分間）

上澄み液の700 nmの吸光度を測定

検量線よりタンニン酸量を求め、タンニン量を算出

47. テオブロミン

47-1. 高速液体クロマトグラフ法

[適用]

ピュアココア（純ココア）、ミルクココア（インスタントココア）に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

高速液体クロマトグラフ（紫外可視吸光度検出器付き）

振り混ぜ機

遠心分離器

水浴

メンブランフィルター（0.45 μm）

全量フラスコ：容量100 mL, 500 mL

共栓遠心管：容量50 mL

三角フラスコ：容量200～300 mL

(2) 試薬

テオブロミン標準溶液：テオブロミン0.050 gを正確にはかりとり、水500 mLで定容し、標準原液とする（100 μg/mL）。原液を水で希釈して、テオブロミン80 μg/mL, 50 μg/mL, 20 μg/mL, 10 μg/mL, 及び5 μg/mLの標準溶液を調製する。

(3) 操作

試料0.6～1.0 g（*W*）を共栓遠心管にはかりとり、石油エーテル30 mLを加え、振り混ぜ機で30分間振り混ぜる。遠心分離（2000回転/分、10分間）後、石油エーテル層を除去し、沈殿物に再び石油エーテル30 mLを加え、前と同じ操作を繰り返す（注1）。わずかに残った石油エーテルは水浴中で完全に揮散させる。残留物を水で三角フラスコに移し、さらに水を加えて90～95 mLとした後、沸とう石を入れ、100 °Cで25分間加熱する。冷却後、全量フラスコに移し100 mLに定容（*V*）する。よく混合した後、その50～60 mLを遠心管に分取し、遠心分離（2000回転/分、10分間）後、上澄み液をメンブランフィルターでろ過し、ろ液を試料溶液とする。試料溶液15 μLを高速液体クロマトグラフに注入する。試料溶液の濃度が高い場合は、標準溶液の濃度範囲に収まるように試料溶液を水で適宜希釈する（*D*）。

1) 高速液体クロマトグラフィー

[操作条件例]

カラム：内径4.6 mm, 長さ250 mm, 逆相型カラム（例えば, Nucleosil C₁₈ (10 μm)）

移動相：水-メタノール-1 mol/L過塩素酸（800 : 140 : 50 v/v/v）

流速：1.5 mL/分

カラム温度：50 °C

測定波長：270 nm

2) 検量線の作成

テオブロミン標準溶液それぞれの15 μLを高速液体クロマトグラフに注入し、得られたクロマトグラムピーク高とテオブロミン濃度の関係をプロットして作成する。

(4) 計算

$$\text{テオブロミン含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W \times 1000} \times D \times 100$$

A：検量線から求めた試料溶液中のテオブロミン濃度（μg/mL）

V：定容量（mL）

W：試料採取量（g）

D：希釈倍率

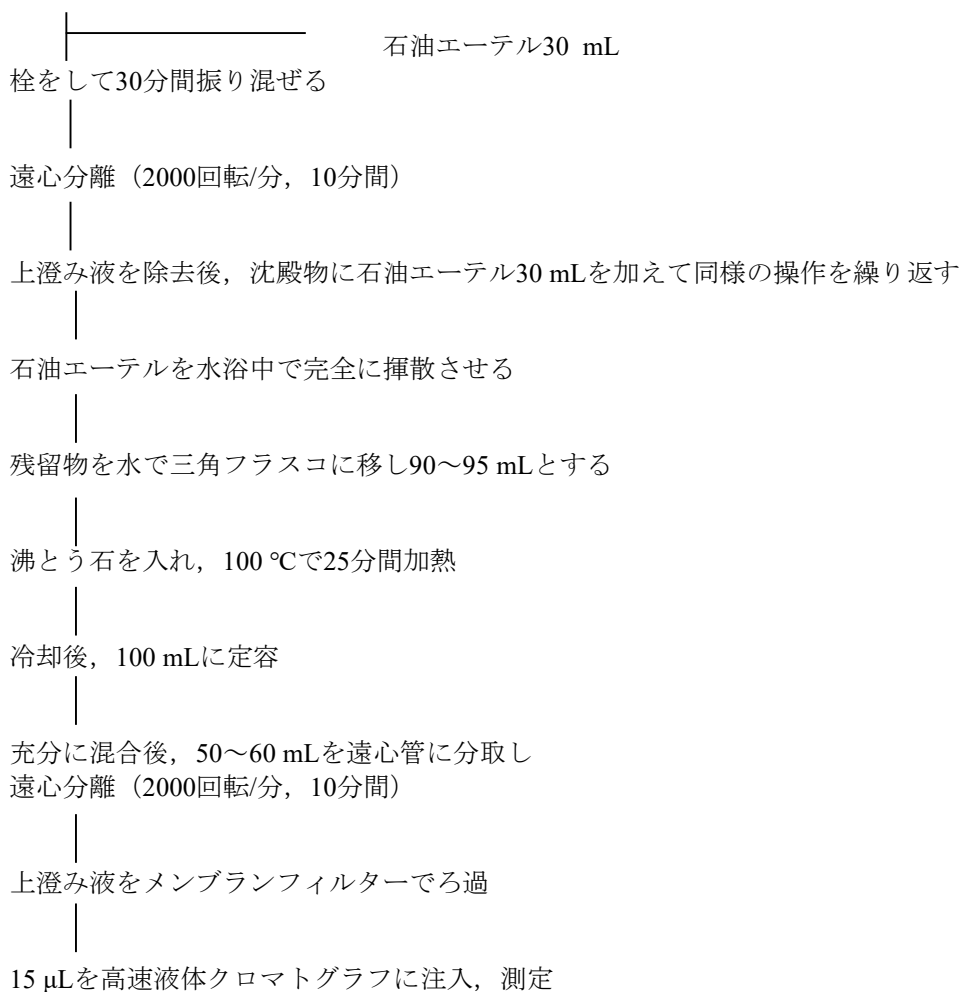
[注解]

(注1) 石油エーテルを加えて振り混ぜるのは脱脂のためであり、試料を石油エーテルに充分に分散させた後に振り混ぜる。遠心分離後に石油エーテルを除去するには駒込ピペットを用い、沈殿物を舞い上がらせないように注意深く行う必要がある。テオブロミンは石油エーテルにはほとんど不溶で沈殿物とともに存在する。

(注2) 試料採取量は適宜変更してもよい。

テオブロミン定量法・フローチャート

試料0.6～1.0 gを共栓遠心管に採取



48. ポリフェノール

48-1. フォーリン・チオカルト法 (1)

[適用]

チョコレート, ココア類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計

振り混ぜ機

ロータリーエバポレーター

蒸気乾燥機

ソックスレー抽出機

恒温水槽

褐色全量フラスコ：容量50 mL, 100 mL

共栓遠心管：容量250 mL

なす型フラスコ：容量100 mL

クロマト用ガスタイトシリンジ

円筒ろ紙

(2) 試薬

エピカテキン標準溶液：エピカテキン100 mgを容量100 mL褐色全量フラスコに正確にはかりとり、50%メタノールで溶解・定容する。50%メタノールで希釈して、0.05~0.4 mg/mLの標準溶液を調製する。

n-ヘキサン：特級

メタノール：特級

フォーリン・チオカルト, フェノール試薬

20%炭酸ナトリウム溶液：特級, 70~80℃で加温して溶解する。

(3) 操作

1) 脱脂

a. バッチ法 (1)

試料約10 g (*W*) を共栓遠心管に正確にはかりとり、*n*-ヘキサン50 mLを加え、振り混ぜ機で30分間振り混ぜる。遠心分離 (3000回転/分, 15分間) 後、上澄みの*n*-ヘキサン溶液をあらかじめ質量をはかった容量100 mLのなす型フラスコ (注1) にとる (必要なら, JIS5種B のろ紙を通過させる)。この操作を2回繰り返す。脱脂試料は、風乾, 又は60℃以下の蒸気乾燥機内でヘキサンを完全に除去し、ポリフェノール抽出用試料とする。抽出脂質含有*n*-ヘキサンはロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮し、試料と同様に蒸気乾燥機内で*n*-ヘキサンを完全に除去し、デシケーター内に30分以上静置後質量をはかり、試料中の脂質重量 (*Lg*) を測定する。

b. バッチ法 (2)

試料約1 g (*W*) を共栓遠心管に正確にはかりとり、上記と同様に処理し、その全量をポリフェノール抽出用試料とする。水分が多い試料でも水分、脂質の補正を必要としない方法である。

c. ソックスレー法

試料約5 g (*W*) をろ紙 (JIS5種B, 直径185 mm) に正確にはかりとり、円筒ろ紙 (No.84, 28×100 mm) に挿入し、ソックスレー抽出器により、ヘキサン抽出 (恒温水槽温度 83~85℃) を12時間行う。バッチ法 (1) と同様に脂質質量 (*Lg*) を測定し、脱脂試料を得る。

2) 抽出

バッチ法 (1) またはソックスレー法で得られたポリフェノール抽出試料を0.5 g (*W1*), バッチ法 (2) は全量を容量100 mLのなす型フラスコにはかりとり、50%メタノール50 mLを加え、

82～85 °Cで1時間還流抽出を行う。冷却、静置後、50 %メタノール層を共栓遠心管に移し、3000回転/分で15分間遠心分離し、上澄み液を100 mL (*V*) 全量フラスコに移す。35～40 mLの50 %メタノールを用いて、共栓遠心管の残留物を先のなす型フラスコに戻す。再度還流抽出を1時間行い、冷却、遠心分離し、先の100 mL全量フラスコに移して50 %メタノールで定容し、試料溶液とする。

3) 測定

50 mL全量フラスコに水約35 mL及び先の試料溶液0.5 mL (注2) を正確にはかりとる。次にフォーリン・チオカルト、フェノール試薬を5 mL加え、かき混ぜ、静置1分後に20 %炭酸ナトリウム溶液を5 mL加え (発泡するので注意する)、直ちに水で定容する。混合後1時間静置し、分光光度計で、765 nmの吸光度を測定する。あらかじめ、検量線作成用エピカテキン標準溶液 (注3) から0.5 mL (注4) を正確にはかりとり、上記と同様に測定して作成した検量線から試料溶液中のポリフェノール濃度 (*A*) を求める。

4) 水分測定

水分による補正を行うため、試料を別に採取して水分を測定し、水分値 (*M*) を得る。また、ポリフェノール抽出用試料を別にはかりとって水分を測定し、水分値 (*M_I*) を得る (注5)。

(4) 計算

$$\text{ポリフェノール含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times \frac{[W (100 - M) / 100 - L]}{[W_I (100 - M_I) / 100]} \times 100$$

ただし、脱脂にバッチ法 (2) を用いる場合は、以下の計算式を使用する。

$$\text{ポリフェノール含量 (mg/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times 100$$

A : 検量線から求めた抽出試料溶液中のポリフェノール濃度 (mg/mL)

V : 試料溶液量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

W_I : ポリフェノール抽出用試料採取量 (g)

M : 水分値 (g/100g)

M_I : ポリフェノール抽出用試料の水分値 (g/100g)

L : 脂質重量 (g)

[注解]

(注1) 質量を正確にはかりとるために容量100 mLのなす型フラスコの恒量を前もって得ておく必要がある。

(注2) クロマト用ガスタイトシリンジがホールピペットより正確に採取可能である。または試料溶液を水で10倍希釈した溶液5 mLを全量ピペットで正確に採取してもよい。

(注3) 検量線作成用エピカテキン標準溶液の濃度範囲は0.05～0.4 mg/mLが望ましい。

(注4) (注2) で5 mLはかりとった場合は、標準溶液も水で10倍希釈し、5 mLはかりとる。

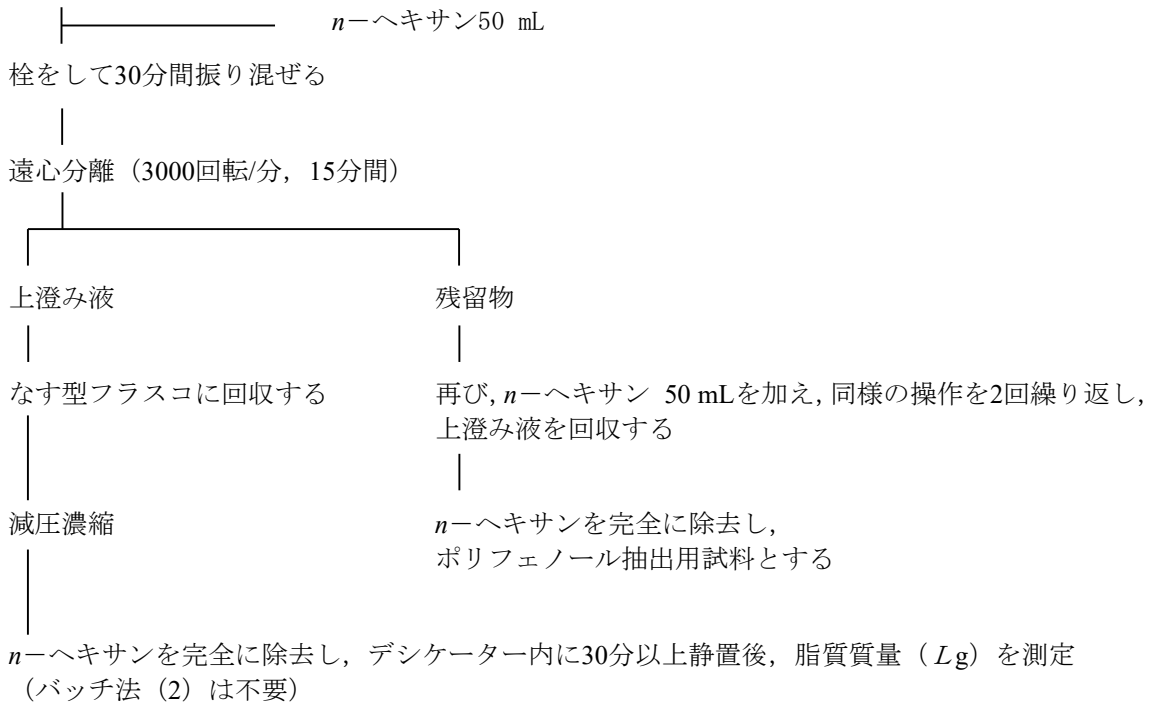
(注5) バッチ法 (2) は全量使用する為、脱脂後の水分値測定は不要。

ポリフェノール定量法・フローチャート

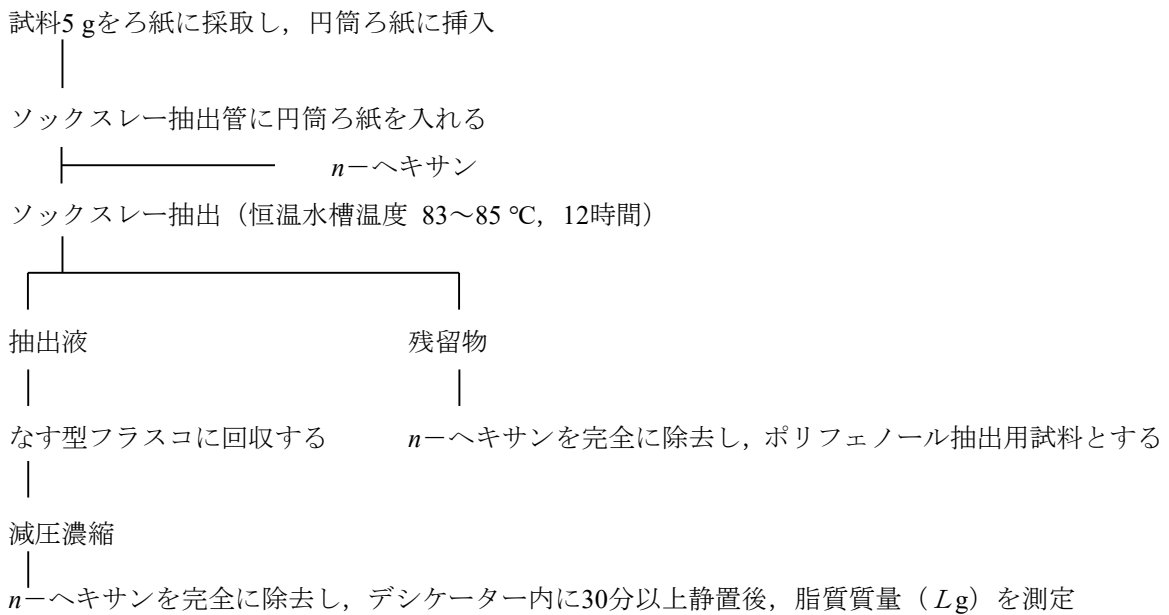
1) 脱脂

a. バッチ法 (1), b. バッチ法 (2)

試料10 g (バッチ法 (2) は1 g) を共栓遠心管に採取

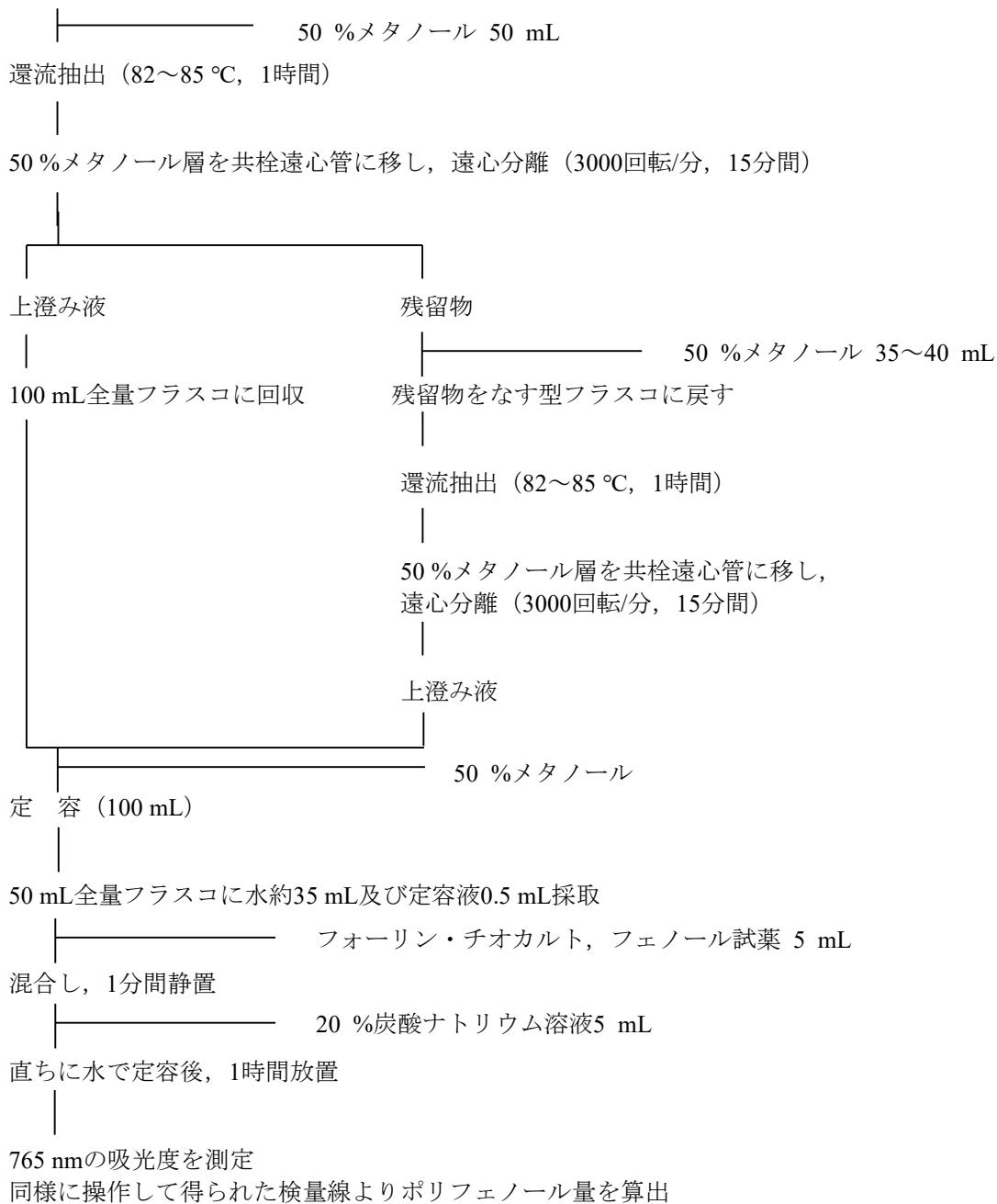


c. ソックスレー法



2) 抽出・測定

ポリフェノール抽出用試料0.5 g (バッチ法 (2) は全量)



別途, 水分による補正が必要なため, 試料を別に採取して水分を測定し, 水分値 (M) を得る。また, ポリフェノール抽出用試料の水分値 (M_1) も測定する (バッチ法 (2) は脱脂後の水分値の測定は不要)。

48-2. フォーリン・チオカルト法 (2)

[適用]

種実類, 野菜類, 果実類に用いる。

[測定方法]

(1) 装置及び器具

分光光度計

遠心分離機

超音波洗浄機

ホモジナイザー

試験管

全量フラスコ：容量100 mL, 250 mL

共栓遠心管：容量250 mL

(2) 試薬

没食子酸標準溶液：あらかじめ100℃で1時間乾燥した没食子酸水和物100 mgを容量100 mL全量フラスコに正確にはかりとり, 50 %エタノールで定容する (標準原液：1000 µg/mL)。これを50 %エタノールで希釈して, 1~50 µg/mLの標準溶液を調製する。

フォーリン・チオカルト, フェノール試薬：2 mol/Lを水で10倍希釈 (容量) する。

0.7 mol/L炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム (無水) 7.4 gを水に溶解し, 100 mLに定容する。

(3) 操作

1) 抽出

試料約4 g (*W*) (注1) を250 mL共栓遠心管にはかりとり, 50 %エタノール約80 mLを加え1分間ホモジナイズする。遠心分離 (2500回転/分, 5分間) 後, 上澄み液を容量250 mL全量フラスコに移す。共栓遠心管の残留物に50 %エタノール50 mLを加え, 5分間超音波抽出する。遠心分離 (2500回転/分, 5分間) 後, 上澄み液を容量250 mL全量フラスコに移す。同様の操作を更に2回繰り返す。上澄み液を先の容量250 mL (*V*) 全量フラスコに移して50 %エタノールで定容する (注2)。適量を分取し, ろ紙にてろ過した液 (注3) を試料溶液とする。試料溶液は, 標準溶液の濃度範囲に収まるように50 %エタノールで適宜希釈 (*D*) する。

2) 測定

試験管に試料溶液1 mLを正確にはかりとる。次にフォーリン・チオカルト, フェノール試薬を5 mL及び 0.7 mol/L炭酸ナトリウム溶液を4 mL加え, 混合する。混合後1時間静置し (注4), 分光光度計で765 nmの吸光度を測定する。あらかじめ, 検量線作成用没食子酸標準溶液から1 mLを正確にはかりとり, 上記と同様に測定する。

試料溶液自体の着色などの影響を排除するために, フォーリン・チオカルト, フェノール試薬5 mLに代えて水5 mLを加え, それ以外は試料溶液と同様にサンプルブランクを実施する。試料溶液の吸光度から, サンプルブランクの吸光度を減じ (注5), 作成した検量線から試料溶液中のポリフェノール濃度 (*A* µg/mL) を求める。

(4) 計算 (注6)

$$\text{ポリフェノール含量 (g/100 g)} = \frac{A \times V}{W} \times D \times \frac{100}{1000000}$$

A : 検量線から求めた抽出試料溶液中のポリフェノール濃度 (µg/mL)

V : 試料溶液量 (mL)

W : 試料採取量 (g)

D : 希釈倍率

[注解]

(注1) 試料採取量は適宜変更してよい。なお, 野菜類, 果実類の生鮮試料は, ポリフェノールの減衰を防ぐために, 試験部位を粗切りにした後, 試料と同重量の20 %メタリン酸溶液 (液状

試料は5 %メタリン酸溶液)を加え、粉砕するとよい。

(注2) 試料により、工程を適宜省略・変更してよい。例えば、果実飲料などは、ホモジナイズ、遠心分離及び超音波抽出工程を省略できる。均質な粉体試料は、ホモジナイズ及び遠心分離工程に代えて、30分間の超音波抽出に変更できる。脂質が多い試料は、ホモジナイズ及び遠心分離工程に代えて、*n*-ヘキサンによる脱脂及び30分間の超音波（振とう）抽出に変更できる。

(注3) 浮遊物等を除くことができない場合は、ろ過前に遠心分離を行うとよい。

(注4) 溶液に濁りがある場合は、吸光度の測定前に遠心分離を行うとよい。

(注5) サンプルブランクの吸光度がマイナスの場合、減じない。

(注6) 原理上、本試験法はポリフェノール以外の還元性物質が多く含まれると結果に影響を及ぼす可能性がある。特にアスコルビン酸（ビタミンC）は植物等に広く含まれており、ポリフェノール類と同程度の発色強度を有することから、結果に影響を及ぼしやすい。したがって、別途求めたアスコルビン酸の量を、フォーリン・チオカルト法における値に換算し減算する。つまり、アスコルビン酸を50 %エタノールに溶解した液（アスコルビン酸標準溶液）について、フォーリン・チオカルト法で発色・測定し、以下の式で計算すると良い。

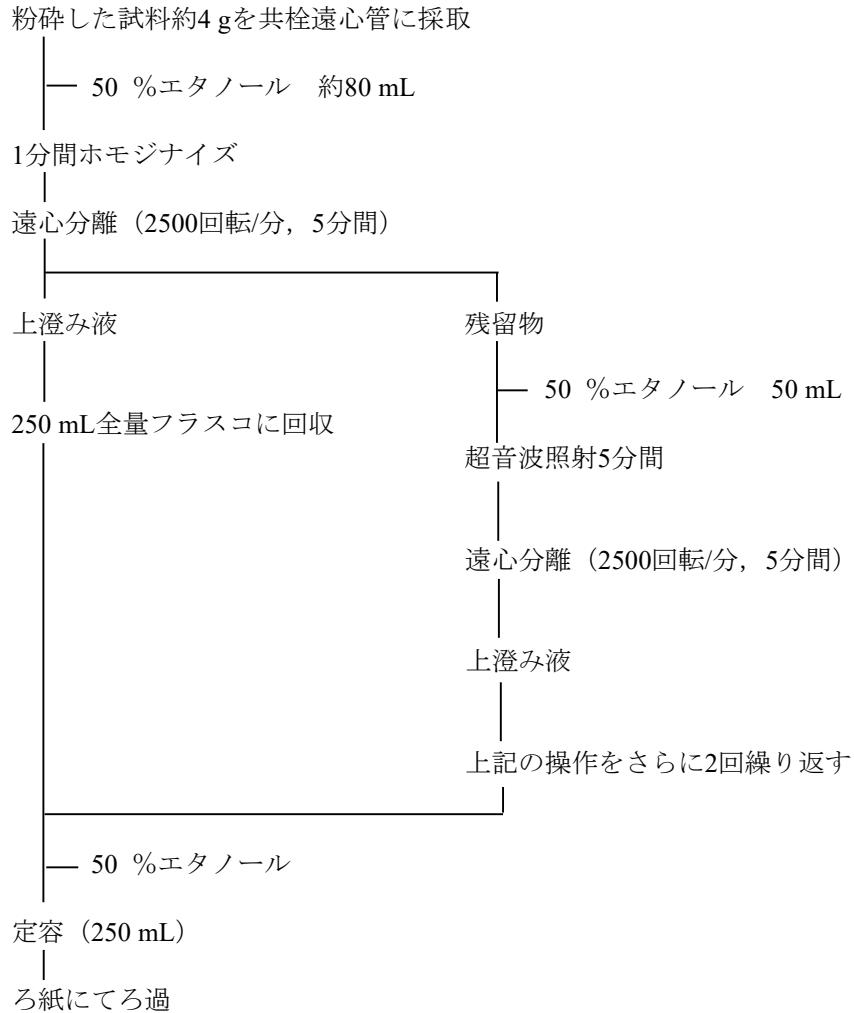
計算式

ポリフェノール含量 (g/100 g) = ポリフェノール測定値 (g/100 g) - アスコルビン酸量 (g/100 g) × 没食子酸の検量線で測定したアスコルビン酸の値*1 (g/100 g) / 100

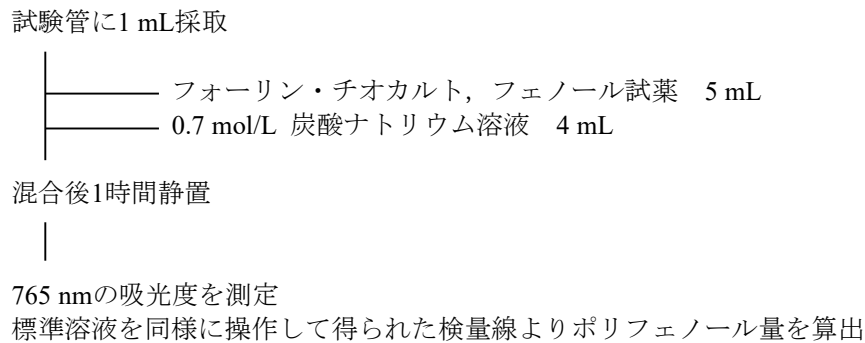
*1 アスコルビン酸標準溶液をフォーリン・チオカルト、フェノール試薬で発色後、没食子酸の検量線で測定した値。

フォーリン・チオカルト法 (2) フローチャート

[抽出]



[測定]



【付録】

1. 数値の表示方法について

日本食品標準成分表2020年版（八訂）における成分値（可食部100g当たり）の数値の表示方法は以下のとおりである。

一般成分表（本表）

項 目	単位	最小表示の位	数値の丸め方等			
廃棄率	%	1の位	10未満は小数第1位を四捨五入。 10以上は元の数値を2倍し、10の単位に四捨五入で丸め、その結果を2で除する。			
エネルギー	kcal kJ	1の位	小数第1位を四捨五入			
水分	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入			
たんぱく質						
アミノ酸組成によるたんぱく質						
たんぱく質						
脂質						
トリアシルグリセロール当量						
脂質						
炭水化物						
利用可能炭水化物（単糖当量）						
利用可能炭水化物（質量計）						
差引き法による利用可能炭水化物						
食物繊維総量						
糖アルコール						
炭水化物						
有機酸						
灰分						
無機質	ナトリウム	mg	1の位	整数表示では、大きい位から3桁目を四捨五入して有効数字2桁。ただし、10未満は小数第1位を四捨五入。 小数表示では、最小表示の位の一つ下の位を四捨五入。		
	カリウム					
	カルシウム					
	マグネシウム					
	リン					
	鉄	mg	小数第1位			
	亜鉛		小数第2位			
	銅					
	マンガン	μg	1の位			
	ヨウ素					
	セレン					
クロム						
モリブデン						
ビタミン	レチノール	μg	1の位	整数表示では、大きい位から3桁目を四捨五入して有効数字2桁。ただし、10未満は小数第1位を四捨五入。 小数表示では、最小表示の位の一つ下の位を四捨五入。		
					β-カロテン	
						β-クリプトキサンチン
						レチノール当量
						ビタミンD
	α-トコフェロール	mg	小数第1位			
					β-トコフェロール	
						γ-トコフェロール
					δ-トコフェロール	
	ビタミンK	μg	1の位			
	ビタミンB ₁	mg	小数第2位			
	ビタミンB ₂		小数第1位			
	ナイアシン					
	ナイアシン当量					
	ビタミンB ₆	小数第2位				
	ビタミンB ₁₂	μg	小数第1位			
葉酸	μg	1の位				
パントテン酸	mg	小数第2位				
ビオチン	μg	小数第1位				
ビタミンC	mg	1の位				
アルコール	g	小数第1位				

食塩相当量	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入
備考欄	g	小数第1位	

アミノ酸成分表編

項目	単位	最小表示の位	数値の丸め方等
水分	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
アミノ酸組成によるたんぱく質			
たんぱく質			
各アミノ酸	mg	整数表示 (ただし、10未満は小数第1位)	整数表示では、大きい位から3桁目を四捨五入して有効数字2桁。 小数第1位表示では、小数第2位を四捨五入。
アミノ酸合計			
アンモニア			

脂肪酸成分表編

成分項目	成分項目の内訳	単位	最小表示の位	数値の丸め方等
水分		g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
脂肪酸のトリアシルグリセロール当量				
脂質				
脂肪酸	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">可食部100g当たり</div> 脂肪酸総量 飽和脂肪酸 一価不飽和脂肪酸 多価不飽和脂肪酸 n-3系多価不飽和脂肪酸 n-6系多価不飽和脂肪酸 各脂肪酸、未同定物質	g	小数第2位	小数第3位を四捨五入。
	各脂肪酸、未同定物質			
	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">脂肪酸総量100g当たり</div> 脂肪酸総量 飽和脂肪酸 一価不飽和脂肪酸 多価不飽和脂肪酸 n-3系多価不飽和脂肪酸 n-6系多価不飽和脂肪酸 各脂肪酸、未同定物質	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">脂質1g当たり</div> 脂肪酸総量 飽和脂肪酸 一価不飽和脂肪酸 多価不飽和脂肪酸 各脂肪酸、未同定物質			

炭水化物成分表編

成分項目	成分項目の内訳	単位	最小表示の位	数値の丸め方等
水分		g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
利用可能炭水化物				
利用可能炭水化物(単糖当量)				
糖アルコール				
食物繊維	不溶性食物繊維、難消化性でん粉、高分子量水溶性食物繊維、低分子量水溶性食物繊維、水溶性食物繊維	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
有機酸	ギ酸、酢酸、グリコール酸、乳酸、グルコン酸、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、 α -ケトグルタル酸、クエン酸、サリチル酸、キナ酸、オロト酸、プロピオン酸及びピログルタミン酸	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。
	p-クマル酸、コーヒー酸、フェルラ酸及びクロロゲン酸			
	合計	g	小数第1位	小数第2位を四捨五入。

【付録】

2.食品群別の試料前処理法

[調製方法]

1. 穀 類

1-1. 穀粒

試料を混和し、その約200~300 gをフードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

1-2. 穀粉類 (500 µm以下の粒度の穀類)、さらしあん

試料を混和し、その約200~300 gを測定用試料とする。

1-3. 乾めん類, マカロニ, スパゲティ類, 即席めん類 (スープ含浸のめん及び具などを除く)

1-3-1. マカロニ, スパゲティ類以外のめん類

試料全体を代表するように、試料の100~250 gを試験用ミルで粉砕し、測定用試料とする。

1-3-2. マカロニ, スパゲティ類又は手指では折れにくいめん類

厚手 (0.08 mm) のフィルム袋に試料を採取し、袋ごと乳鉢中に入れて乳棒で砕き、別の容器に移し、測定用試料とする。

1-4. 生めん, ゆでめん

試料を代表するように、150~300 gを厚手 (0.08 mm以上) のフィルム袋にとり、袋の外側から試料をもんで混和する。次いで、袋の外側から、めん棒をローラーにして圧延を繰り返してよく混和し、測定用試料とする。

1-5. めし

試料を混和し、200~300 gに同重量の水を加えて、ミキサーでホモジナイズし、測定用試料とする。成分値の計算にあたっては、添加した水の量を考慮する。

1-6. もち (包装もち)

削る一边を3~4 cmの長さとしたもちを、受け口にフィルム袋を装着したかつお節削り器のような削り器で、0.5 mm以下の厚さに削って、薄片状の測定用試料とし、直ちに測定する。または、包丁などで細切する。

1-7. パン類 (食パン, コッペパン, フランスパンなどの固形異種素材を混ぜていないパン)

試料全部又は4分割し、対の2片をフードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

2. いも及びでん粉類

2-1. いも類

5個体以上をとり、縮分して250~300 gをはかりとり、フードプロセッサーで粉砕、混和して測定用試料とする。

2-2. 蒸し切り干し

5~10個体をとり、縮分して100~150 gをはかりとり、1~2 mm角に細切り、混和して測定用試料とする。

2-3. でん粉類

試料を混和し、その約200~300 gを測定用試料とする。

3. 砂糖及び甘味類

3-1. 砂糖類

試料全体を混和し、150～200 gをフィルム袋に入れ、再混和して測定用試料とする。

3-2. 水あめ類、液状糖類

試料を十分に混和し、100～200 gをポリびんにはかりとり測定用試料とする。

3-3. はちみつ類

3-3-1. 結晶が析出している試料

密封状態のまま、全量を60℃前後で加温して結晶を溶解し、十分に混和する。25℃前後に冷却後、測定用試料とし、直ちに測定する。

3-3-2. 完全に結晶し固化している試料

表層約1cmをはぎとって捨てた後、測定用試料とする。

4. 豆 類

4-1. 大豆

試料を混和均質化後、その約200～300 gをはかりとり、試験用ミルで粉砕したものを測定用試料とする。

4-2. 小豆、いんげんまめ類（粒状）

試料を混和し、その約200～300 gをフードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

4-3. ゆであずき、その他の煮豆

試料を十分に混和し、150～300 gを、厚手（厚さ0.08 mm）のフィルム袋にはかりとり、袋の外側から試料をもんで混和する。次いで、袋の外側から、めん棒をローラーにして圧延を繰り返してよく混和し、測定用試料とする。

4-4. きな粉、脱脂大豆

試料を混和し、その約200～300 gをフードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

4-5. 豆腐類

1個体全量を、プラスチック製の250 µm目の網上に30秒間置き、水を落とす。全量をホモジナイザーで均質にし、ビーカーなどに移して測定用試料とする。

4-6. 納豆

5個体以上の全量を混和し、その300 gをはかりとり、フードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

5. 種 実 類

5-1. らっかせいを除く種実類

らっかせい程度の大きさの種実は、5-2. らっかせいに準ずる。くり、ぎんなんなどの脂質が少ない種実の生は、30～50 gをはかりとり、フードプロセッサー又は試験用ミルで粉砕して測定用試料とする。加工品は、乳鉢またはフードプロセッサーで粉砕し、測定用試料とする。脂質の多い種実は、30～50 gをとり、乳鉢で摩砕し測定用試料とする。

5-2. らっかせい

試料を混和・均質化後、その約200～300 gをはかりとり、試験用ミルで粉砕したものを測定用試料とする。

6. 野 菜 類

野菜類は葉菜類、果菜類、根菜類、その他に分類されるが、品目により形状が相違するので、試料の調製は形状により分類する。

6-1. すりおろし可能な試料

野菜類（かぼちゃ、きゅうりなど）、及び根菜類（かぶ、しょうが、だいこん、たまねぎ、にんじん、れんこんなど）は、一般的に5個体、不揃いな試料は10個体を採取する。水洗い後、水を拭き取り、廃棄部位を除去した後、図1 (a) のように試料の形状に応じて、4~8分割し、対になる部分を採取し、300~500 gに縮分する。

採取した試料を、調理用のプラスチック製おろし器ですりおろし、二重のフィルム袋に入れ十分に混和し、測定用試料とする。ただし、フードプロセッサーで均一化できる場合は使用してもよい。

6-2. フードプロセッサーで均質化する試料

すりおろしができない野菜類全般に適用する。すべての葉菜類、果菜類のピーマン、オクラなど、未熟豆類のさやえんどう、さやいんげん、えだまめ、グリーンピース、そらまめなど、とうもろこしに適用する。

6-2-1. 葉菜類

キャベツ、はくさい、のぎわな、たかななどの大型の葉菜類は3個体を取り、廃棄部位を除去した後、縮分採取する（図1 (b)）。ほうれんそう、こまつななどは3把以上を用意し、10株以上で約700 gをはかりとり、廃棄部位を除去する。採取試料は1~2 cmに粗切りして約500 gをはかりとり、フードプロセッサーで2~3 mm片に細切りし、測定用試料とする。

6-2-2. 果菜類、さや豆

オクラ、ししとう、ピーマン、さやえんどう、さやいんげんなどは、廃棄部位を除去し約500 gを採取する。1~2 cmに粗切りした後、フードプロセッサーで2~3 mm片に細切りし、測定用試料とする。

6-2-3. さや豆を除く未熟豆類など

そらまめ、えだまめ、グリーンピース、とうもろこしは、廃棄部位を除去し約300 gを採取する。フードプロセッサーで2~3 mm片に細切りし、測定用試料とする。

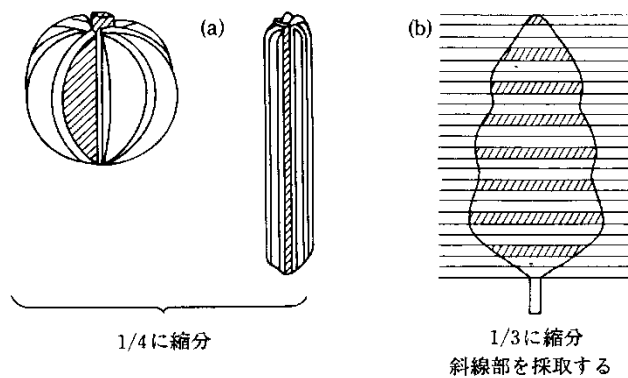


図1 野菜類及び果実類の縮分法

6-3. 缶詰類

アスパラガス水煮、グリーンピース水煮、たけのこ水煮、トマト類の缶詰ホールなどに通用する。一般4号缶（内容総量425~450 g、固形量225~250 g）で2缶採取する量を基準とし、より小さい缶の場合は3缶以上の試料を用意する。缶を切り、45度に傾斜し、2分間そのまま放置して、液汁を除いたものを試料とする。試料約500 gをフードプロセッサーで1~2 mm片に細切りし、測定用試料とする。

7. 果実類

7-1. 生果

すいか、パインアップル、メロンなど大型のものは3個体、かき、なし、もも、りんごなどは一般に5個体、不揃いな試料は10個体を採取する。水洗い、水を拭き取り、廃棄部位を除去して縮分し、300~500 gをはかりとりフードプロセッサーで細切りし、測定用試料とする。いちご、さくらんぼ、びわは、1 kgくらいの中から約500 gを適宜にはかりとり、廃棄部位を除去し、フードプロセッサーで細切りする。ぶどうは5房の各房について、上部から下部への粒を均等に採取し、廃棄部位を除去後、フードプロセッサーで細切りし、測定用試料とする。

7-2. 加工品類

7-2-1. 缶詰類

液汁を除いて分析する場合は、6.野菜類、6-3. 缶詰類に準じて、測定用試料とする。液汁とも分析する場合は、缶の内容全量をフードプロセッサーで細切りし、測定用試料とする。

7-2-2. 果実飲料

果汁100～20 %の飲料、又は果肉（ピューレ）飲料は、よく混和して測定用試料とする。果粒または果肉入り飲料は、容器から全量を採取し、ホモジナイザーまたはミキサーで均質化して、測定用試料とする。

7-2-3. ジャム類

容器から全量を採取し、採取した量と同量の水を加え、ホモジナイザーまたはミキサーで均質化し、測定用試料とする。成分値の計算にあたっては、添加した水の量を考慮する。

8. き の こ 類

8-1. 生きのこ類

廃棄部位を除去して約300 gをはかりとり、1～2 cm片に切断して、フードプロセッサーで1～2 mm片に細切りし、測定用試料とする。

8-2. 乾燥きのこ類

廃棄部位を除去して約50 gをはかりとり、約5 mmに細切りし、試験用ミルで2～3 mm片に粗砕し、測定用試料とする。

9. 藻 類

9-1. 生藻類

塩蔵品は、飽和食塩水に浸して、付着している食塩を洗い落とし、水を拭き取る。約300 gをとり1～2 cm片に切断し、フードプロセッサーで2～3 mm片に細切りし、測定用試料とする。

9-2. 乾燥藻類

廃棄部位を除去し約50 gをはかりとり、約5 mmに細切りし、試験用ミルで2～3 mm片に粗砕し、測定用試料とする。

10. 魚 介 類

10-1. 生

同一漁獲水域の同一魚種について、以下のように行う。また、混和調製した測定用試料は、速やかに分析に供する。やむを得ない場合は、ガスバリアー性フィルム袋に詰め、脱気密封をして、-30℃以下で保存する。用時によく混和して、分析に供する。

10-1-1. 小型魚類（体長約20 cm未満、例えば、あゆ、はぜ、あなご、いわし類など）

原則として10個体を選び、表面を軽く水洗いした後、ペーパータオルなどで付着水を拭きとる。それぞれの可食部（三枚おろし）を細切りし、約30 gずつをはかりとって、フードプロセッサーで混和（以下同様）する。約300 gを測定用試料とする。

1個体の可食部が、約30 g未満の小型魚類又は切り身などは、可食部の総量が、300 gに相当する個体数をもって混和し、測定用試料とする。

10-1-2. 中型魚類（体長約20 cm以上60 cm未満の魚類、例えば、たい、さば、はまちなど）

原則として3～5個体を選び、表面を軽く水洗いした後、ペーパータオルなどで付着水を拭きとる。それぞれの可食部（三枚おろし）を代表する部位を約1 cm角に細切して、その60～100 gずつをはかりとり約300 gとする。以下、10-1-1. 小型魚類と同様に操作して混和し、測定用試料とする。

10-1-3. 大型魚類（体長約60 cm以上の魚類、例えば、ぶり、さけ、さめなど）

原則として3個体を選び、表面を軽く水洗いした後、ペーパータオルなどで付着水を拭きとる。それぞれの可食部（三枚おろし）を代表する部位を、約1 cm角に細切して、その100 gずつをはかりとる。以下、10-1-1. 小型魚類と同様に操作して混和し、測定用試料とする。

10-1-4. 貝類（例えば、ほっきがい、しじみ、かき、はまぐりなどの二枚貝、またはあわび、さざえ、とこぶしなどの巻貝）

10-1-1. 小型魚類の場合に準じて、調製混和して測定用試料とする。通常、むき身を食する大型の殻付き貝の場合は、内臓などを傷つけないように注意しながら、ナイフなどで閉殻筋（貝柱）を切り開殻し、可食部を採取する。目の細かい金網（約2 mm）などにのせ、約2分間水切りを行った後、フードプロセッサーで混和し、測定用試料とする。

小型の殻付き貝でむき身全体を食する場合は、必要に応じて砂抜きを行い、上記同様に水切りを行った後、開殻して内容物を混和し、測定用試料とする。

10-1-5. その他の魚介類

a. いか、たこ類などの軟体動物類

その大きさにより、10-1-1. ～10-1-3. に準じて、それぞれ個体数を揃えて、内臓などを除き、混和し、測定用試料とする。

b. あみ、えび、かに類、しゃこなどの甲殻類

その大きさにより、10-1-1. ～10-1-3. に準じて、それぞれ個体数を揃えて、頭部、殻および尾部などを除いた可食部を混和し、測定用試料とする。また、小えび、あみのような場合は、全体を混和し、測定用試料とする。

c. うに、なまこなどのきょく皮動物

その大きさにより、10-1-1. ～10-1-3. に準じて、それぞれ個体数を揃えて、可食部を混和し、測定用試料とする。

10-1-6. 切り身および部分的に食品となる副食品（例えば、すじこ、たらこ）

10-1-1. 小型魚類の場合に準じて、混和し測定用試料とする。

10-2. 冷凍品

フィルム袋などを用いて、流水中で半解凍状態まで解凍した後、それぞれ10-1. 魚介類（生）に準じて調製混和し、測定用試料とする。ただし、氷衣（グレーズ）したものは、25℃の水中で氷を融解させた後、ペーパータオルなどで表面の水分をよく拭きとり、試料に混入しないようにする。また組織から溶出する液汁（ドリップ）は、測定用試料に含めるようにする。

10-3. 塩干品、くん製品、塩蔵品など、加熱処理のない一次加工品

その大きさにより、10-1-1. ～10-1-3. に準じて、それぞれ個体数を揃え、また必要に応じて頭部、骨、皮などを除き、可食部を調製混和し、測定用試料とする。ただし、さきいかなど容器包装詰市販品などは、製品の種類及び加工年月日などが同一とみなされるものから、6包装個体を無作為に選び、それぞれから約50 gずつをはかりとる。それらを細切混和して約300 gとし、測定用試料とする。なお、塩づけなどは付着している結晶塩を飽和食塩水でぬぐい、食塩水を拭きとってから調製する。

10-4. 缶詰、びん詰など加熱処理のある二次加工品

製品の種類及び製造年月日などが同一とみなされるものから、6個を無作為に選び、それぞれから約50 gずつをはかりとる。それらを細切り混和して約300 gとし、測定用試料とする。水煮、味付け缶詰などの調製は、「召し上がり方」などの表示を参照して、これによって調製混和し、測定用試料とする。液汁を含めない場合は、缶またはびんを45°程度傾けて、2分間液汁を捨て、残った固形分について試験する。

10-5. 水煮、焼き、蒸しなどの調理品

その大きさにより、10-1-1. ～10-1-3. に準じて、それぞれ個体数を揃えて、必要に応じて頭部、骨、内臓及びひれなどを除く。その魚介類について、一般的な調理を行った後（水煮については、目の細かい金網（約2 mm）などにのせ、約2分間水切りを行った後）混和し、測定用試料とする。また、その他の調理を行った場合は、上記の金網上で冷まして、この可食部を集めて混和し、測定用試料とする。

11. 肉 類

11-1. 食肉

骨を除いた300～500gをはかりとり、包丁で2～3 cm角程度に切った後、フードプロセッサーで混和する。筋がある場合は、あらかじめ包丁で細かく切る。

また、混和調製した測定用試料は、速やかに分析に供する。やむを得ない場合は、 -30°C 以下で保存し、用時によく混和して、分析に供する。

冷凍肉を用いる場合は、液汁（ドリップ）が出ない程度に半解凍してから調製を行う。液汁（ドリップ）は、測定用試料に含めるようにする。

うし・ぶたの赤身について分析する場合は、皮下脂肪と筋間脂肪を除いたものを用いる。なお、筋膜は赤身に含めない。

全体について分析する場合は、皮下脂肪と筋間脂肪の割合が分析結果に影響を及ぼす成分があるため皮下脂肪のトリミングには注意が必要である。

皮なしのにとりについて分析する際は、皮に付随する脂及び筋を除いたものを用いる。

11-2. 肉製品

全体を代表する部分から300～500 gを採取し、以下、11-1. 食肉と同様に処理し、測定用試料とする。

11-3. チキンナゲット、つくね

可食部150～300 gを採取し、フードプロセッサーで細切り混和し、測定用試料とする。

12. 卵 類

12-1. 全卵生

5個体をととり、割卵し、内容物をフィルム袋に入れ、殻に付着する卵白も入れる。袋を密閉し袋ごともんで、混和均質化して測定用試料とする。

12-2. 卵黄，卵白

5個体をととり、個別に割卵して卵黄と卵白を分離し、卵黄はろ紙上に転がして付着する卵白を除く。それぞれをフィルム袋に入れ、12-1. 全卵生と同様に処理し、測定用試料とする。

12-3. 全卵，卵黄，卵白ゆで

5個体をととり、全卵と卵白は、フードプロセッサーで水分が損失しないようにすばやく細切り混和し、測定用試料とする。卵黄はフィルム袋に入れ、混和均質化して、測定用試料とする。

13. 乳 類

13-1. 液状乳類，クリーム類

試料をはかりとる前に十分に混和して均質化する。クリームが分離している液状乳の場合は約 40°C に加熱して十分に混和均質化後、室温まで冷却する。濃厚なクリームは $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ に加熱して混和均質化後、すばやく室温まで冷却する。冷却後、ポリエチレンなどのプラスチック製容器に移して、測定用試料とする。

13-2. 発酵乳，乳酸菌飲料

13-2-1. 発酵乳

液が分離している場合があるので、3～5個体の全量をホモジナイザーで均質化し、その250～300 gをはかりとり、測定用試料とする。

13-2-2. 乳酸菌飲料

3～5個体の全量を混和する。試料が入っていた容器の底の沈殿物を入れ、混和する。その200～250 gをはかりとり、測定用試料とする。

13-3. アイスcream類

3～5個体を室温に放置して軟化させ、全量を合わせ、スプーンなどで十分に混和し、測定用試料とする。

13-4. 粉乳類

大きめの二重にしたフィルム袋に試料を移し、密封し振り混ぜて混和し、測定用試料とする。

13-5. 練乳類

無糖練乳は、容器を逆さにして振りまぜた後、開封して内容物を取り出す。容器の内部に付着している脂肪その他の成分を、試料でよく共洗いし、前の試料と合わせて混和し、測定用試料とする。加糖練乳は、開封してスプーンなどで混和し、特に底や壁の付着成分がよく混和するように、注意して均質にし、測定用試料とする。

13-6. チーズ類

試料は、1包装個体以上から縮分して250～300 gをはかりとる。ナチュラルチーズは、リンド（表面の硬い外皮）やカビの生えた表層を除き、細切りする。チーズおろし器、フードプロセッサーなどを用いて粉砕し、均質にして測定用試料とする。

14. 油 脂 類

試料をよく混和し、その100～150 gをプラスチック製容器にはかりとり、測定用試料とする。日本農林規格など規格基準によって測定方法が定められているものは、それに従う。

15. 菓 子 類

15-1. 生・半生菓子類，洋菓子類

5～10個体をとって縮分し、フードプロセッサーで細切り、混和して均質化後、測定用試料とする。

15-2. 米菓類

15-2-1. あられ，柔らかいせんべい

あられは30～50 gを、せんべいは10枚をとり、フィルム袋中で割って縮分した後、30～50 gをはかりとる。袋ごと乳鉢中におき、乳棒でたたいて粗砕後、試験用ミルで粉砕し測定用試料とする（吸湿に注意し、できるだけすばやく処理する）。

15-2-2. 堅いせんべい

堅くて1 mmに粉砕しにくいせんべいは、15-2-1. あられ，柔らかいせんべいと同様に粉砕したものを測定用試料とする。

15-3. 和干菓子類，ビスケット類

5～10個体をフィルム袋にとり、フィルム袋中で粗砕後、試験用ミルなどで粉砕し、測定用試料とする。

15-4. あめ玉，キャンディー類

50～100 gをフィルム袋にとり、フィルム袋ごと乳鉢に入れて乳棒で粗砕する。その後、試験用ミルなどで粉砕し、測定用試料とする。測定は直ちに行う。

15-5. チョコレート類

50～100 gをはかりとり、包丁で約2 mm角以下に細切りし、測定用試料とする。測定は直ちに行う。

15-6. あんパン，クリームパン，ジャムパンなどの菓子パン類

数個の試料をフードプロセッサーで粉砕したものを測定用試料とする。

16. し好飲料類

16-1. 茶類

一般的な緑茶類，発酵茶類に適用する。200～300 gをはかりとり、試料が1 mm前後の粒度なら、そのまま測定用試料とする。粒度が粗大な場合は約50 gを分取し、試験用ミルで、試料の90 %が0.5～1.0 mm目のふるいを通過するように粉砕し、測定用試料とする。

16-2. コーヒー・ココア類

16-2-1. インスタントコーヒー

混和し、約200 gを採取し、測定用試料とする。

16-2-2. ココア

混和し、約200 gを採取し、測定用試料とする。

16-3. アルコール飲料類

試料を十分に混和均質化後、約200 gをはかりとり、測定用試料とする。

17. 調味料及び香辛料類

17-1. しょうゆ類、ウスターソース類、トマト加工品類

混和し、約200 gをはかりとり、測定用試料とする。

17-2. みそ類

17-2-1. 漉しみそ

袋詰、カップなどから全量をフィルム袋に移し、フィルム袋をよくもんで均質化した後、約200 gをはかりとり、測定用試料とする。

17-2-2. 粒みそ

約500 gをはかりとり、フードプロセッサーで粉碎したものを測定用試料とする。

【付録】

3. 「調理した食品」の調理方法

食品成分表に記載されている「調理した食品」の調理方法は、『日本食品標準成分表2020年版（八訂）』の表12「調理方法の概要及び重量変化率」（p.34～p.57）に示されている。加熱調理では、火力及び調理時間の記載はしていない。これは、食品ごとに硬さや成分量に相違があることに加え、加熱器具、鍋など調理方法の諸条件により火力及び調理時間が異なるためである。「調理した食品」は、適切に火が通った状態を出来上がりとした。調理した食品の重量変化率も同様に表12に記載している。

野菜類の「ゆで」のように同じ調理名でも、調理方法が異なる場合があるので調理過程（例：ほうれんそう「ゆで」：ゆで→湯切り→水冷→手絞り，えだまめ「ゆで」：ゆで→湯切り）をご覧ください。

なお、工業的につくられた加工食品を分析し掲載した食品や原材料配合割合により栄養計算した食品もある。それらの食品は、成分表では、「調理済み流通食品類」として、18類に記載している。

食品成分表における「質量 (mass)」と「重量 (weight)」

国際単位系 (SI) では、単位記号に g を用いる基本量は質量であり、重量は、力 (force) と同じ性質の量を示し、質量と重力加速度の積を意味する。このため、各分野において、「重量」を質量の意味で用いている場合には、「重量」を「質量」に置き換えることが進んでいる。本分析マニュアルでも、分析法の記述であるので、これに従い「質量」を使用している。

食品成分委員会の作業部会においても、食品成分表の記述中の「重量」を「質量」に改めることが検討されたが、利用者にとってはなじみが薄い用語への変更であるため、さらに検討を要する課題であるとされた。そのため、成分表における「重量」は、多くの場合、「質量」に改めるべきではあるが、従来どおり、「重量」を使用し、本マニュアルでも調理などにかかわる付録の3以降では、同様に「重量」を使用している。

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
01170	1 穀類 おおむぎ 押麦 めし	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →蒸気がおさまるまで冷却	-	そのまま	洗米：5倍 炊き：1.2倍	280
01009	大麦めん ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水洗い→水切り	-	そのまま	10倍	260
01172	こむぎ [小麦粉] プレミックス粉 天ぷら用、バター、揚げ	揚げ	-	揚げ→油切り	-	そのまま	植物油：等倍 (天ぷら粉)	85
01174	[パン類] 食パン 焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	そのまま	-	92
01039	[うどん・そうめん類] うどん ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	180
01042	干しうどん ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	240
01044	そうめん・ひやむぎ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	10倍	270
01046	手延そうめん・手延ひやむぎ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	10倍	290
01048	[中華めん類] 中華めん ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	190
01051	干し中華めん ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	250
01053	沖縄そば ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	170
01055	干し沖縄そば ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	10倍	230
01064	[マカロニ・スパゲッティ類] マカロニ・スパゲッティ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	20倍 (1.5%食塩水)	220
	ソテー	ソテー	-	ゆで→湯切り→ソテー	-	そのまま	植物油5% (ゆで質量に対して)	100
01180	[その他] 春巻きの皮 揚げ	揚げ	-	油揚げ→油切り	-	春巻きの形に整える	植物油：4倍	115
01085	こめ [水稲めし] 玄米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	1.8倍	210

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
01086	半つき米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	1.5倍	210
01087	七分つき米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	1.5倍	210
01088	精白米、うるち米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 1.4倍	210
01154	こめ [水稲めし] 精白米、もち米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	0.8倍 1.0倍	180
01168	精白米、インディカ米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×1回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 1.0倍	200
01089	はいが精米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	1.5倍	210
01155	発芽玄米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	1.4倍	210
01183	赤米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 2倍	232
01184	黒米	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 2倍	231
01090	[水稲全かゆ] 玄米***	-	-	-	-	-	-	500
01091	半つき米***	-	-	-	-	-	-	500
01092	七分つき米***	-	-	-	-	-	-	500
01093	精白米***	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 5倍	500
01094	[水稲五分かゆ] 玄米***	-	-	-	-	-	-	1000
01095	半つき米***	-	-	-	-	-	-	1000
01096	七分つき米***	-	-	-	-	-	-	1000
01097	精白米***	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →冷却	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 10倍	1000
01098	[水稲おもゆ] 玄米***	-	-	-	-	-	-	-
01099	半つき米***	-	-	-	-	-	-	-
01100	七分つき米***	-	-	-	-	-	-	-
01101	精白米***	炊き	-	洗米 (5回かくはん) ×3回 →炊飯 (IHジャー炊飯器) →漉したスープ→室温に冷 却(得られたおもゆ: 米と加水 量の40%)	-	そのまま	洗米: 5倍 炊き: 10倍	-
01106	[陸稲めし] 玄米****	-	-	-	-	-	-	210
01107	半つき米****	-	-	-	-	-	-	210

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
01108	七分つき米****	-	-	-	-	-	-	210
01109	精白米****	炊き	-	-	-	そのまま	-	210
01128	そば そば ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	10倍	190
01130	干しそば ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	10倍	260
02069	2 いも及びでん粉類 <いも類> アメリカほどいも 塊根、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	表皮、剥皮の際に表皮に付着する表皮、両端	そのまま	2倍	98
02041	きくいも 塊根、水煮	水煮	皮、表皮	水煮→湯切り	-	厚さ1 cm	2倍	92
02044	こんにゃく 凍みこんにゃく ゆで	ゆで	-	浸漬→水洗い・水切り→ゆで→搾り	-	そのまま	水戻し：50倍 ゆで：3倍（水戻し後の凍みこんにゃくに対し）	430
02046	(さつまいも類) さつまいも 塊根、皮つき、蒸し	蒸し	-	蒸し	両端	2分割 (100 g程度)	-	99
02047	塊根、皮つき、天ぷら	天ぷら	両端	油揚げ→油切り	-	1 cm輪切り	植物油：5倍 衣（天ぷら粉）	98 (83)
02007	塊根、皮なし、蒸し	蒸し	-	蒸し	表皮、両端	2分割 (100 g程度)	-	98
02049	むらさきいも 塊根、皮なし、蒸し	蒸し	-	蒸し	表皮、両端	2分割 (100 g程度)	-	99
02011	(さといも類) さといも 球茎、水煮	水煮	表皮	水煮→湯切り	-	厚さ1 cm 半月切り	2倍	95
02051	セレベス 球茎、水煮	水煮	表皮	水煮→湯切り	-	一口大	2倍	100
02053	たけのこいも 球茎、水煮	水煮	表皮	水煮→湯切り	-	一口大	2倍	100
02014	みずいも 球茎、水煮	水煮	表皮、両端	水煮→湯切り	-	一口大	2倍	97
02016	やつがしら 球茎、水煮	水煮	表皮	水煮→湯切り	-	一口大	2倍	110
02063	じゃがいも 塊茎、皮つき、生	-	-	-	-	-	-	-
02064	塊茎、皮つき、電子レンジ調理	電子レンジ調理	芽	電子レンジ調理	-	そのまま	-	99
02065	塊茎、皮つき、フライドポテト (生を揚げたもの)	素揚げ	芽	油揚げ→油切り→油揚げ→油切り	-	くしがた (1.5 cm×1.5 cm×5.0 cm)	2倍	71
02019	塊茎、皮なし、水煮	水煮	表皮	水煮→湯切り	-	2分割 (75 g程度)	2倍	97
02018	塊茎、皮なし、蒸し	蒸し	-	蒸し	表皮	そのまま	-	93
02066	塊茎、皮なし、電子レンジ調理	電子レンジ調理	-	電子レンジ調理	表皮	そのまま	-	93

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
02067	塊茎、皮なし、フライドポテト (生を揚げたもの)	素揚げ	表層	油揚げ→油切り→油揚げ→ 油切り	-	くしがた (1.5 cm×1.5 cm× 5.0 cm)	2倍	71
02020	塊茎、皮なし、フライドポテト (市販冷凍食品を揚げたもの)	油揚げ	-	油揚げ	-	細切り	-	52
02055	ヤーコン 塊根、水煮	水煮	表層、両端	水煮→湯切り	-	一口大	2倍	94
02024	(やまのいも類) ながいも ながいも 塊根、水煮	水煮	表層、ひげ 根、切り口	水煮→湯切り	-	厚さ3～5 cm 半月切り	2倍	81
02037	<でん粉・でん粉製品> (でん粉製品) くずきり ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切 り	-	そのまま	10～15倍	250
02057	タピオカパール ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切 り	-	そのまま	15倍	410
02060	でん粉めん 乾、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切 り	-	そのまま	10倍	440
02061	はるさめ 緑豆はるさめ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切 り	-	そのまま	15倍	440
02062	普通はるさめ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切 り	-	そのまま	15倍	410
04002	4 豆類 あずき 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	230
04008	いんげんまめ 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	220
04013	えんどう 全粒、青えんどう、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	220
04075	全粒、赤えんどう、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	220
04018	ささげ 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	230
04105	だいず [全粒・全粒製品] 全粒 国産、青大豆、ゆで	ゆで	-	浸漬 (16時間) →ゆで→湯 切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	217
04024	国産、黄大豆、ゆで	ゆで	-	浸漬 (12～16時間) →ゆで →湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	220
04106	国産、黒大豆、ゆで	ゆで	-	浸漬 (16時間) →ゆで→湯 切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍 (浸漬 後の豆に対し)	223
04084	[豆腐・油揚げ類] 油揚げ 油抜き、油揚げ	油抜き	-	油抜き→手搾り	-	そのまま	10倍	140
04086	油抜き、ゆで	ゆで	-	油抜き→手搾り→切る→ゆ で→湯切り	-	そのまま	油抜き：10倍 ゆで：5倍	210

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
04085	油抜き、焼き	焼き	-	油抜き→手搾り→焼き（電気ロースター）	-	そのまま	10倍	99
04087	凍り豆腐 水煮	水煮	-	浸漬（40～50℃）→手搾り→水煮→湯切り	-	そのまま	浸漬：5倍 水煮：3倍 （浸漬後の凍り豆腐に対し）	430
04091	[その他] 湯葉 干し、湯戻し	湯戻し	-	沸騰水かけ→水切り（ペーパータオル）	-	そのまま	10倍	320
04092	つるあずき 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	210
04066	ひよこまめ 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	220
04069	べにばないんげん 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	260
04093	らいまめ 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	210
04072	りよくとう 全粒、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	240
04094	レンズまめ 全粒、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	6倍	200
05040	5 種実類 アーモンド いり、無塩	焼き	-	焼き（電気オーブン）	-	そのまま	-	96
05009	ぎんなん ゆで	ゆで	殻、薄皮	ゆで→湯切り	-	そのまま	6倍	99
05011	(くり類) 日本ぐり ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	殻、渋皮	そのまま	2～4倍	97
05043	はす 成熟、ゆで	ゆで	-	浸漬（12～16時間）→ゆで→湯切り	幼芽	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：2倍（浸漬後の豆に対し）	230
05048	(ひし類) とうびし ゆで	ゆで	-	浸漬（16時間）→ゆで→湯切り	皮	そのまま	浸漬：3倍 ゆで：5倍（浸漬後の実に対し）	89
06002	6 野菜類 アーティチョーク 花らい、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	花床の基部、総包の一部	そのまま	2.5倍	110
06004	あさつき 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	96
06006	あしたば 茎葉、ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り→水さらし→水切り→手搾り	-	そのまま	3倍	100
06008	アスパラガス 若茎、ゆで	ゆで	株元	ゆで→湯切り	-	2分割	5倍	96
06327	若茎、油いため いんげんまめ さやいんげん	油いため	株元	油いため	-	長さ3cm	植物油：5%	90

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
06011	若ざや、ゆで	ゆで	すじ、両端	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	94
06013	(うどん類) うどん 茎、水さらし	水さらし	株元、葉、 表皮	水さらし→短冊切り→水さらし→水切り	-	長さ5 cm、 厚さ2~3 mm 短冊切り	12倍	100
06016	えだまめ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	さや	そのまま	5倍	96
06330	(えんどう類) トウモロコシ 芽ばえ、ゆで	ゆで	根部	ゆで→水冷→手搾り	-	そのまま	8~10倍	65
06331	芽ばえ、油いため	油いため	根部	油いため	-	長さ3 cm	植物油：5%	72
06021	さやえんどう 若ざや、ゆで	ゆで	すじ、両端	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	98
06024	グリーンピース ゆで	ゆで	さや	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	88
06374	冷凍、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	92
06375	冷凍、油いため	油いため	-	ゆで→湯切り→油いため	-	そのまま	ゆで：5倍 植物油：5%	94
06028	おおさかしろな 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	81
06029	塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→手搾り	株元	そのまま	食塩4%	59
06031	おかひじき 茎葉、ゆで	ゆで	茎基部	ゆで→湯切り	-	そのまま	6倍	93
06033	オクラ 果実、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	へた	そのまま	5倍	97
06035	かぶ 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り→手搾り	葉柄基部	葉全体	2倍	93
06037	根、皮つき、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部	ゆで→湯切り	-	2分割 (75 g程度)	2倍	87
06039	根、皮なし、ゆで	ゆで	根端、葉柄 基部、皮	ゆで→湯切り	-	2分割 (40 g程度)	同量	89
06040	漬物 塩漬 葉	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→水切り→手搾り	葉柄基部	葉全体	食塩4%	82
06041	根、皮つき	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→水切り→手搾り	-	2分割 (60 g程度)	食塩4%	80
06042	根、皮なし	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→水切り→手搾り	-	2分割 (60 g程度)	食塩4%	70
06043	ぬかみそ漬 葉	ぬかみ そ漬け	-	ぬかみそ漬け→水洗い→水切り→手搾り	葉柄基部	葉全体	いりぬか35% 食塩10%	74
06044	根、皮つき	ぬかみ そ漬け	-	ぬかみそ漬け→水洗い→水切り	-	2分割 (60 g程度)	いりぬか35% 食塩10%	77
06045	根、皮なし	ぬかみ そ漬け	-	ぬかみそ漬け→水洗い→水切り	-	2分割 (60 g程度)	いりぬか35% 食塩10%	71
06047	(かぼちゃ類) 日本かぼちゃ 果実、ゆで	ゆで	わた、種 子、両端	ゆで→湯切り	-	40 g程度に分割	2倍	94
06049	西洋かぼちゃ 果実、ゆで	ゆで	わた、種 子、両端	ゆで→湯切り	-	40 g程度に分割	2倍	98

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
06332	西洋かぼちゃ 果実、焼き	焼き	わた、種 子、両端	焼き	-	長さ5 cm 厚さ1 cm 楕形	-	79
06053	からしな 塩漬	塩漬け	株元	塩漬け→水洗い→手搾り	-	そのまま	食塩4%	76
06055	カリフラワー 花序、ゆで	ゆで	茎葉	ゆで→湯切り	-	2分割 (380 g程度)	5倍	99
06057	かんぴょう ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	15倍	530
06059	きく 花びら、ゆで	ゆで	花床	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	25倍	96
06062	(キャベツ類) キャベツ 結球葉、ゆで	ゆで	しん	ゆで→湯切り	-	200 g程度に分割	5倍	89
06333	結球葉、油いため	油いた め	しん	油いため	-	長さ3 cm 幅0.5 cm 粗い千切り	植物油：5%	80
06066	きゅうり 漬物 塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→水切り	両端	そのまま	食塩3～4%	85
06068	ぬかみそ漬	ぬかみ そ漬け	-	ぬかみそ漬け→水洗い →水切り	両端	そのまま	いりぬか37% 食塩11%	83
06076	キンサイ 茎葉、ゆで	ゆで	株元	ゆで→水冷 →水切り	-	そのまま	5倍	84
06079	くわい 塊茎、ゆで	ゆで	皮、芽	ゆで→湯切り	-	そのまま	2倍	97
06082	コールラビ 球茎、ゆで	ゆで	根元、葉柄 基部	ゆで→湯切り	-	40 g程度に分割	3倍	86
06085	ごぼう 根、ゆで	ゆで	表皮、葉柄 基部、先端	ゆで→湯切り	-	長さ5 cm、 4分割	2倍	91
06087	こまつな 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷 →水切り→手搾り	株元	そのまま	5倍	88
06090	さんとうさい 葉、ゆで	ゆで	根	ゆで→湯切り→手搾り	株元	そのまま	5倍	75
06091	塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→手搾り	株元	そのまま	食塩4%	63
06094	ししとう 果実、油いため	油いた め	へた	油いため	-	2分割 (2 g程度)	植物油：5%	99
06098	じゅうろくささげ 若ぎや、ゆで	ゆで	へた	ゆで→湯切り	-	長さ10 cm	5倍	96
06100	しゅんぎく 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷 →水切り→手搾り	-	そのまま	5倍	79
06365	しょうが 根茎、皮なし、生、おろし	おろし	皮	おろし→濡れ布で手搾り	おろし汁	そのまま	-	24
06366	根茎、皮なし、生、おろし汁	おろし	皮	おろし→濡れ布で手搾り	おろし	そのまま	-	76
06107	しろうり 漬物 塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→手搾り	両端	2分割 (150 g程度)	食塩3～4%	76

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
06110	ずいき 生ずいき、ゆで	ゆで	株元、表皮	水さらし→ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	長さ1 cm	5倍	60
06112	干しずいき、ゆで	ゆで	-	浸漬→水切り→手搾り→ゆで→湯切り→水洗い→水切り→手搾り	-	長さ1 cm	50倍	760
06118	せり 茎葉、ゆで	ゆで	根	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	92
06121	ぜんまい 生ぜんまい 若芽、ゆで	ゆで	株元、裸葉	ゆで→湯切り→水さらし→水切り	-	そのまま	5倍	100
06123	干しぜんまい 干し若芽、ゆで	ゆで	-	浸漬(12~13時間)→水切り→ゆで→湯切り	-	そのまま	浸漬: 15倍 ゆで: 25倍	630
06125	そらまめ 未熟豆、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	種皮	そのまま	5倍	100
06127	タアサイ 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り→手搾り	株元	そのまま	5倍	90
06131	(だいこん類) だいこん 葉、ゆで	ゆで	葉柄基部	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	79
06133	根、皮つき、ゆで	ゆで	根端、葉柄基部	ゆで→湯切り	-	厚さ3 cm 半月切り	2倍	86
06135	根、皮なし、ゆで	ゆで	根端、葉柄基部、皮	ゆで→湯切り	-	厚さ3 cm 半月切り	2倍	86
06367	根、皮なし、生、おろし	おろし	皮	おろし→濡れ布で手搾り(得られたおろしの割合: 18%)	おろし汁	そのまま	-	18
06368	根、皮なし、生、おろし汁	おろし	皮	おろし→濡れ布で手搾り(得られたおろし汁の割合: 82%)	おろし	そのまま	-	82
06369	根、皮なし、生、おろし水洗い	おろし	皮	おろし→濡れ布に包み水洗い→手搾り	おろし汁	そのまま	-	20
06334	切干しだいこん ゆで	ゆで	-	水洗い→浸漬(20℃で15分)→手搾り→ゆで→手搾り	-	長さ3 cm	5倍	560
06335	油いため	油いため	-	水洗い→浸漬(20℃で15分)→手搾り→油いため	-	長さ3 cm	浸漬: 20倍 植物油5% (水戻し後質量に対し)	350
06137	漬物 ぬかみそ漬	ぬかみそ漬	-	ぬかみそ漬け→水洗い→水切り	-	縦半分、4分割 (125 g程度)	いりぬか40% 食塩12%	73
06146	(たいさい類) たいさい 塩漬	塩漬	-	塩漬→水洗い→手搾り	-	そのまま	食塩4%	68
06150	たけのこ 若茎、ゆで	ゆで	竹皮、基部	ゆで→湯切り	-	縦2分割 (400 g程度)	5倍	90
06152	めんま、塩蔵、塩抜き	ゆで	-	塩抜き(水洗い→水切り)→ゆで→湯切り→水洗い	-	そのまま	10倍	140
06154	(たまねぎ類) たまねぎ りん茎、水さらし	水さらし	皮(保護葉)、底盤部、頭部	水さらし→水ふき	-	薄切り	12倍	100
06155	りん茎、ゆで	ゆで	皮(保護葉)、底盤部、頭部	ゆで→湯切り	-	20 g程度に分割	2倍	89
06336	りん茎、油いため	油いため	皮(保護葉)、底盤部、頭部	油いため	-	縦2分割 薄切り	植物油5%	70

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
06389	りん茎、油いため (あめ色たまねぎ)	油いため	皮(保護葉)、底盤部、頭部	油いため	-	縦2分割 薄切り	植物油：5%	31
06158	たらのめ 若芽、ゆで	ゆで	木質部、りん片	ゆで→湯切り→手搾り	-	そのまま	5倍	96
06377	ちぢみゆきな 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	75
06161	チンゲンサイ 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	しん	2分割	5倍	71
06338	葉、油いため	油いため	-	ゆで→湯切り→油いため	-	長さ3 cmの薄切り	5倍熱湯 植物油：5%	87
06163	つくし 胞子茎、ゆで	ゆで	基部、はかま	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	2倍	86
06166	つるむらさき 茎葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	73
06168	つわぶき 葉柄、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水さらし→水切り	-	長さ6～7 cm	5倍	99
06170	とうがらし 葉・果実、油いため	油いため	硬い茎、へた	油いため	-	2分割 (2 g程度)	植物油：5%	91
06174	とうがん 果実、ゆで	ゆで	果皮、わた、へた	ゆで→湯切り	-	80 g程度に分割	3倍	91
06176	(とうもろこし類) スイートコーン 未熟種子 ゆで	ゆで	包葉、めしべ	ゆで→湯切り	穂軸	そのまま	2倍	110
06339	電子レンジ調理	電子レンジ調理	包葉、めしべ、手元部分の穂軸	電子レンジ調理(600 Wで5分)	穂軸	そのまま	-	88
06378	カーネル、冷凍、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	97
06379	カーネル、冷凍、油いため	油いため	-	ゆで→湯切り→油いため	-	そのまま	ゆで：5倍 植物油：5%	98
06190	ながさきはくさい 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→手搾り	株元	4分割	3.5倍	78
06192	(なす類) なす 果実 ゆで	ゆで	へた	ゆで→湯切り	-	2分割	5倍	100
06342	油いため	油いため	へた、先端	油いため	-	幅3 cm 輪切り	植物油5%	76
06343	天ぷら	天ぷら	へた	油揚げ→油切り	-	長さ10 cm 幅3 cm 厚さ1 cm	植物油：5倍 衣(天ぷら粉)	110 (79)
06194	べいなす 果実、素揚げ	油揚げ	へた、果皮	油揚げ	-	2分割 (250 g程度)	植物油：5倍	93
06195	漬物 塩漬	塩漬	-	塩漬→水洗い→水切り	-	そのまま	食塩4%	82
06196	ぬかみそ漬	ぬかみそ漬	-	ぬかみそ漬→水洗い→水切り	-	そのまま	いりぬか40% 食塩12%	84
06202	(なばな類) 和種なばな 花らい・茎、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り→手搾り	-	そのまま	5倍	98
06204	洋種なばな 茎葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り→手搾り	-	そのまま	5倍	96
06206	にがうり 果実、油いため	油いため	両端、わた、種子	油いため	-	縦半分、 厚さ5 mm	植物油：5%	91

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
06208	(にら類) にら 葉、ゆで	ゆで	株元	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	63
06344	葉、油いため	油いため	株元	油いため	-	長さ3 cm	植物油：5%	83
06213	(にんじん類) にんじん 根、皮つき、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部	ゆで→湯切り	-	長さ5 cm 2分割、又は4分割	2倍	90
06215	根、皮なし、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部、 皮	ゆで→湯切り	-	長さ5 cm 2分割、又は4分割	2倍	87
06345	根、皮なし、油いため	油いため	根端、 葉柄基部、 皮	油いため	-	長さ3 cm 幅2 mm 厚さ2 mm	植物油5%	69
06346	根、皮なし、素揚げ	素揚げ	根端、 葉柄基部、 皮	油揚げ→油切り	-	長さ4 cm 幅1 cm 厚さ1 cm	植物油5倍	72
06348	グラッセ	甘煮	根端、 葉柄基部、 皮	調味液煮（グラッセ）	-	長さ4 cm 幅1 cm 厚さ1 cm	バター10% 砂糖2% 食塩0.7%	86
06380	冷凍、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	90
06381	冷凍、油いため	油いため	-	ゆで→湯切り→油いため	-	そのまま	ゆで：5倍 植物油：5%	87
06219	きんとき 根、皮つき、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部	ゆで→湯切り	-	長さ5 cm 2分割、又は4分割	2倍	88
06221	根、皮なし、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部、 皮	ゆで→湯切り	-	長さ5 cm 2分割、又は4分割	2倍	88
06349	(にんにく類) にんにく りん茎、油いため	油いため	りん皮、頭部	油いため	-	縦2分割 1 mm薄切り	植物油：5%	83
06225	茎にんにく 花茎、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま	5倍	99
06350	(ねぎ類) 根深ねぎ 葉、軟白、ゆで	ゆで	株元、緑部分	ゆで→湯切り	-	長さ3 cm 厚さ5 mm 斜め切り	5倍	100
06351	葉、軟白、油いため	油いため	緑部分	油いため	-	長さ3 cm 厚さ5 mm 斜め切り	植物油：5%	94
06352	葉ねぎ 葉、油いため	油いため	株元	油いため	-	厚さ1 mm 斜め切り	植物油：5%	84
06234	はくさい 結球葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	8分割 (200 g程度)	3倍	72
06235	漬物 塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→手搾り	株元	4分割 (400 g程度)	食塩4%	73
06242	はやとりのり 果実、白色種、塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→水ふき	-	4分割 (75 g程度)	食塩4%	89
06244	ビーツ 根、ゆで	ゆで	根端、 葉柄基部	ゆで→湯切り	皮	2分割 (100 g程度)	2.5倍	94

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
	(ピーマン類)							
06246	青ピーマン 果実、油いため	油いため	へた、しん、種子	油いため	-	8分割 (4 g程度)	植物油5 %	96
06248	赤ピーマン 果実、油いため	油いため	へた、しん、種子	油いため	-	縦半分、 8分割 (6 g程度)	植物油5 %	96
06394	オレンジピーマン 果実、油いため	油いため	へた、しん、種子	油いため	-	縦2分割後、 乱切り (2~3 cm程度)	植物油：5 %	85
06250	黄ピーマン 果実、油いため	油いため	へた、しん、種子	油いため	-	縦半分、 8分割 (6 g程度)	植物油：5 %	96
	(ふき類)							
06257	ふき 葉柄、ゆで	ゆで	葉、 葉柄基部	ゆで→湯切り→水さらし→ 水切り	表皮	長さ約20 cm	5倍	98
06259	ふきのとう 花序、ゆで	ゆで	花茎	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	140
06262	ふだんそう 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	77
06264	ブロッコリー 花序、ゆで	ゆで	茎葉	ゆで→湯切り	-	小房に分ける	5倍	111
06395	花序、電子レンジ調理	電子レンジ調理	茎葉	電子レンジ調理	-	小房に分ける	-	91
06396	花序、焼き	焼き	茎葉	焼き (ロースター)	-	小房に分ける	-	55
06397	花序、油いため	油いため	茎葉	油いため	-	小房に分ける	植物油：5 %	76
06266	へちま 果実、ゆで	ゆで	両端、皮	ゆで→湯切り	-	厚さ1 cm 半月切り	5倍	54
06268	ほうれんそう 葉、通年平均、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	70
06357	葉、夏採り、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	70
06358	葉、冬採り、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	株元	そのまま	5倍	70
06359	葉、通年平均、油いため	油いため	株元	ゆで→水冷→手搾り→油いため	-	長さ3 cm	5倍	58
06372	葉、冷凍、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	市販品の形態 (カットほうれんそう)	5倍	66
06373	葉、冷凍、油いため	油いため	-	油いため	-	市販品の形態 (カットほうれんそう)	植物油：5 %	80
06073	みずな 葉、ゆで	ゆで	株元	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	200 g程度	3倍	83
06074	塩漬	塩漬け	-	塩漬け→水洗い→手搾り	株元	10 g程度に分割	食塩4 %	85
	(みつば類)							
06275	切りみつば 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	81
06277	根みつば 葉、ゆで	ゆで	根、株元	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	82
06279	糸みつば 葉、ゆで	ゆで	株元	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	72
06284	めキャベツ 結球葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	5倍	100

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
06288	(もやし類) だいずもやし ゆで	ゆで	種皮	ゆで→水冷→水切り	-	そのまま	5倍	85
06290	ブラックマツペもやし ゆで	ゆで	種皮	ゆで→水冷→水切り	-	そのまま	5倍	83
06398	油いため	油いため	種皮	油いため	-	そのまま	植物油：5%	93
06292	りょくとうもやし ゆで	ゆで	種皮	ゆで→水冷→水切り	-	そのまま	5倍	84
06294	モロヘイヤ 茎葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	150
06297	ゆりね りん茎、ゆで	ゆで	根、根盤部	ゆで→湯切り	-	小片	2倍	96
06299	ようさい 茎葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	91
06302	よもぎ 葉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→手搾り	-	そのまま	5倍	89
06304	らっかせい 未熟豆、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	さや	そのまま	2倍	97
06309	リーキ りん茎葉、ゆで	ゆで	株元、 緑葉部	ゆで→湯切り	-	縦半分、 長さ5 cm	5倍	98
06311	ルバーブ 葉柄、ゆで	ゆで	表皮、両端	ゆで→湯切り	-	厚さ1.5 cm 輪切り	5倍	78
06318	れんこん 根茎、ゆで	ゆで	節部、皮	ゆで→湯切り	-	厚さ1 cm 輪切り	2倍	91
06321	わけぎ 葉、ゆで	ゆで	株元	ゆで→湯切り	-	そのまま	2倍	91
06325	わらび 生わらび、ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り →水さらし→水切り	-	そのまま	5倍	110
07177	7 果実類 パインアップル 焼き	焼き	はく皮、果 しん部	焼き	-	縦に4分割 厚さ1 cm	-	72
07180	りんご 皮つき、焼き	焼き	果しん部	焼き	-	厚さ3 cm	-	67
08002	8 きのこと類 えのきたけ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	1束を8分割	2倍	86
08037	油いため	油いため	基部	油いため	-	長さ3 cm	植物油：5%	90
08005	(きくらげ類) あらげきくらげ ゆで	ゆで	-	水戻し(30分)→水洗い ・水切り→ゆで→湯切り	-	そのまま	水戻し：80倍 ゆで：水戻し後 質量の同量	490
08038	油いため	油いため	基部	水戻し(30分)→水切り→ 油いため	-	そのまま	水戻し：80倍 植物油5%(水戻 し後質量に対し て)	290
08007	きくらげ ゆで	ゆで	-	水戻し→水洗い・水切り→ ゆで→湯切り	-	そのまま	水戻し：80倍 ゆで：水戻し後 質量の同量	1000
08009	しろきくらげ ゆで	ゆで	-	水戻し→水洗い・水切り→ ゆで→湯切り	-	そのまま	水戻し：100倍 ゆで：水戻し後 質量の10倍	1500

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
08040	しいたけ 生しいたけ 菌床栽培、ゆで	ゆで	柄	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま (直径5 cm以上の場合は2分割)	3倍	110
08041	菌床栽培、油いため	油いため	柄	油いため	-	そのまま (直径5 cm以上の場合は2分割)	植物油5 %	92
08057	菌床栽培、天ぷら	天ぷら	柄	油揚げ→油切り	-	そのまま (直径6 cm以上の場合はそぎ切りし、2分割)	植物油：等倍衣(天ぷら粉)	150 (90)
08043	原木栽培、ゆで	ゆで	柄	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	そのまま (直径5 cm以上の場合は2分割)	3倍	110
08044	原木栽培、油いため	油いため	柄	油いため	-	そのまま (直径5 cm以上の場合は2分割)	植物油：5 %	84
08014	乾しいたけ ゆで	ゆで	柄	水戻し→ゆで→湯切り	-	そのまま	水戻し：10~20倍 ゆで：水戻し後質量の同量	570
08045	(しめじ類) はたけしめじ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	小房分け	3倍	77
08017	ぶなしめじ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	小房分け	3倍	88
08046	油いため	油いため	基部	油いため	-	小房分け	植物油：5 %	90
08055	素揚げ	素揚げ	基部	油揚げ→油切り	-	小房分け	植物油：2倍	63
08056	天ぷら	天ぷら	基部	油揚げ→油切り	-	小房分け	植物油：等倍衣(天ぷら粉)	191 (83)
08047	ほんしめじ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	小房分け	3倍	69
08021	なめこ 株採り、ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	小房分け	3~5倍	100
08048	(ひらたけ類) エリンギ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り→水冷→水切り	-	長さ3 cm 幅1 cm 厚さ0.3 mm	3倍	76
08049	焼き	焼き	基部	焼き	-	長さ3 cm 幅1 cm 厚さ0.3 mm	-	65
08050	油いため	油いため	基部	油いため	-	長さ3 cm 幅1 cm 厚さ0.3 mm	植物油：5 %	89
08027	ひらたけ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	子房分け	3倍~5倍	94
08029	まいたけ ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	子房分け	2倍	86
08051	油いため	油いため	基部	油いため	-	子房分け	植物油：5 %	73
08032	マッシュルーム ゆで	ゆで	基部	ゆで→湯切り	-	そのまま	3倍	69
08052	油いため	油いため	基部	油いため	-	厚さ2 mm 薄切り	植物油5 %	79

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
09010	9 藻類 おごのり 塩蔵、塩抜き	水戻し	-	浸漬→水洗い→水切り	-	そのまま	10倍	-
09056	(こんぶ類) まこんぶ 素干し、水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	長さ3 cm 幅3 cm	10倍	350
09024	すいぜんじのり 素干し、水戻し	水戻し	-	浸漬（一昼夜）→水切り	-	そのまま	30倍	-
09028	てんぐさ 寒天	水煮、 凝固	-	水戻し→水切り→水煮→こ す→凝固	-	そのまま	160倍	-
09029	とさかのり 赤とさか 塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	水洗い→水切り	-	そのまま	-	-
09030	青とさか 塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	水洗い→水切り	-	そのまま	-	-
09051	ひじき ほしひじき ステンレス釜、ゆで	ゆで	-	浸漬（30分）→水洗い→手 搾り→ゆで→水切り	-	そのまま（長い ものは3 cm程度 に切る）	浸漬：20倍 ゆで：10倍	990
09052	ステンレス釜、油いため	油いた め	-	浸漬（30分）→水洗い→手 搾り→ゆで→水切り→油い ため	-	そのまま（長い ものは3 cm程度 に切る）	浸漬：20倍 ゆで：10倍 植物油5%	870
09054	鉄釜、ゆで	ゆで	-	浸漬（30分）→水洗い→手 搾り→ゆで→水切り	-	そのまま（長い ものは3 cm程度 に切る）	浸漬：20倍 ゆで：10倍	990
09055	ほしひじき 鉄釜、油いため	油いた め	-	浸漬（30分）→水洗い→手 搾り→ゆで→水切り→油い ため	-	そのまま（長い ものは3 cm程度 に切る）	浸漬：20倍 ゆで：10倍 植物油5%	870
09036	むかでのり 塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	浸漬（10分）→水洗い→水 切り	-	そのまま	10倍	-
09037	(もずく類) おきなわもずく 塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	浸漬（10分）→水洗い→水 切り	-	そのまま	10倍	-
09038	もずく 塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	水洗い→水切り	-	そのまま	10倍	-
09041	わかめ 乾燥わかめ 素干し、水戻し	水戻し	-	浸漬（8分）→水切り	-	そのまま	100倍	590
09043	灰干し、水戻し	水戻し	-	水洗い→水戻し	-	そのまま	-	-
09058	カットわかめ、水煮（沸騰 水で短時間加熱したもの）	水煮	-	水煮→湯切り	-	そのまま	100倍	1173
09057	湯通し塩蔵わかめ 塩抜き、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	塩抜き:20倍 ゆで:3倍(塩抜き 後に対し)	250
09046	くきわかめ 湯通し塩蔵、塩抜き	塩抜き	-	浸漬（5分）→水洗い→水 切り	-	そのまま	10倍	-

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
10004	10 魚介類 <魚類> (あじ類) まあじ 皮つき、水煮	水煮	内臓等	水煮→湯切り	頭部、骨、 ひれ等	全体	2倍	87
10005	皮つき、焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	72
10390	皮つき、フライ	フライ	-	油揚げ→油切り	-	三枚おろし	植物油：5倍 衣（小麦粉、卵 液、パン粉）	116 (94)
10007	開き干し、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	80
10392	小型、骨付き、から揚げ	素揚げ	内臓等	油揚げ→油切り	-	全体	植物油5倍	79 (76)
10394	まるあじ 焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	72
10009	にしまあじ 水煮	水煮	内臓等	水煮→湯切り	頭部、骨、 ひれ等	全体	2倍	90
10010	焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	78
10012	むろあじ 焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	73
10016	あなご 蒸し	蒸し	-	蒸し	-	切り身	-	87
10019	あまだい 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	80
10020	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	74
10022	あゆ 天然、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、内 臓、骨、ひ れ等	全魚体	-	67
10024	天然、内臓、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	内臓以外全 て	全魚体	-	73
10026	養殖、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、内 臓、骨、ひ れ等	全魚体	-	71
10028	養殖、内臓、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	内臓以外全 て	全魚体	-	76
10048	(いわし類) まいわし 水煮	水煮	頭部、内臓 等	水煮→湯切	骨、ひれ 等	全体	2倍	81
10049	焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	75
10395	フライ	フライ	-	油揚げ→油切り	-	三枚おろし	植物油：5倍 衣（小麦粉、卵 液、パン粉）	118 (92)
10054	めざし 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、ひれ 等	全魚体	-	75
10081	かじか 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	全魚体	1.5倍	83

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
10398	(かじき類) めかじき 焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	65
10099	かます 焼き	焼き	内臓等	焼き (電気ロースター)	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	78
10101	(かれい類) まがれい 水煮	水煮	内臓等	水煮→湯切り	頭部、骨、 ひれ等	全体	1.5倍	91
10102	焼き	焼き	* 内臓等	焼き (電気ロースター)	* 頭部、骨、 ひれ等	*切り身 全体	-	81
10399	まこがれい 焼き	焼き	* 内臓等	焼き (電気ロースター)	* 頭部、骨、 ひれ等	*切り身 全体	-	61
10105	子持ちがれい 水煮	水煮	頭部、内臓 等	水煮→湯切り	骨	全体	1.3倍	83
10400	きす 天ぷら	天ぷら	鱗、内臓等	油揚げ→油切り	尾	背開き	植物油：5倍 衣 (天ぷら粉)	105 (79)
10401	ぎんだら 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	骨等	切り身	2倍	81
10118	ぐち 焼き	焼き	内臓等	焼き (電気ロースター)	頭部、骨、 ひれ等	全体	-	77
10120	こい 養殖、水煮	水煮	頭部、尾、 内臓等	水煮→湯切り	骨、ひれ等	輪切り	3倍	90
10127	(さけ・ます類) からふとます 焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	76
10131	ぎんざけ 養殖、焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	78
10133	さくらます 焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	71
10135	しろさけ 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	83
10136	焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	75
10138	新巻き、焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	-	切り身	-	79
10433	たいせいようさけ 養殖、皮つき、水煮	水煮	-	水煮→湯切り	小骨	切り身	2倍	86
10434	養殖、皮つき、蒸し	蒸し	-	蒸し	小骨	切り身	-	84
10435	養殖、皮つき、電子レンジ 調理	電子レ ンジ調 理	-	電子レンジ調理	小骨	切り身	-	91
10145	養殖、皮つき、焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	小骨	切り身	-	78
10436	養殖、皮つき、ソテー	ソテー	-	ソテー	小骨	切り身	植物油5%	79
10437	養殖、皮つき、天ぷら	天ぷら	-	油揚げ→油切り	小骨	切り身	植物油：等倍 衣 (天ぷら粉)	102 (84)
10439	たいせいようさけ 養殖、皮なし、水煮	水煮	-	水煮→湯切り	小骨、皮	切り身	2倍	77
10440	養殖、皮なし、蒸し	蒸し	-	蒸し	小骨、皮	切り身	-	78
10441	養殖、皮なし、電子レンジ 調理	電子レ ンジ調 理	-	電子レンジ調理	小骨、皮	切り身	-	83
10442	養殖、皮なし、焼き	焼き	-	焼き (電気ロースター)	小骨、皮	切り身	-	75
10443	養殖、皮なし、ソテー	ソテー	-	ソテー	小骨、皮	切り身	植物油5%	68
10444	養殖、皮なし、天ぷら	天ぷら	-	油揚げ→油切り	小骨、皮	切り身	植物油：等倍 衣 (天ぷら粉)	96 (78)

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
10147	にじます 海面養殖、皮つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	74
10150	べにざけ 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	78
10153	ますのすけ 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	73
10155	(さば類) まさば 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	84
10156	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	77
10403	フライ	フライ	-	油揚げ→油切り	-	切り身	植物油：5倍 衣（小麦粉、卵液、パン粉）	112 (96)
10405	ごまさば 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	88
10406	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	73
10159	たいせいようさば 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	90
10160	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	77
10172	さわら 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	79
10174	さんま 皮つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、内臓、骨、ひれ等 **内臓等	全魚体	-	78
10181	(ししゃも類) ししゃも 生干し、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、尾	全魚体	-	81
10183	からふとししゃも 生干し、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	全魚体	-	81
10194	(たい類) まだい 養殖、皮つき、水煮	水煮	頭部、内臓等	水煮→湯切り	骨、ひれ等	輪切り	3.3倍	85
10195	養殖、皮つき、焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、ひれ等	輪切り	-	82
10409	(たら類) すけとうだら フライ	フライ	-	油揚げ	骨等	切り身	植物油：5倍 衣（小麦粉、卵液、パン粉）	105 (89)
10203	たらこ 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	そのまま	-	86
10206	まだら 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	65
10214	どじょう 水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	全魚体	2倍	90
10239	ふな 水煮	水煮	内臓等	水煮→湯切り	頭部、骨、ひれ等	全体	2倍	83
10242	ぶり 成魚 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	82
10412	ほっけ 開き干し 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、骨、ひれ等	開き干し	-	89

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
(まぐろ類)								
10451	くろまぐろ 養殖、赤身、水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	3倍	87
10452	養殖、赤身、蒸し	蒸し	-	蒸し	-	切り身	-	84
10453	養殖、赤身、電子レンジ調 理	電子レン ジ調理	-	電子レンジ調理	-	切り身	-	78
10454	養殖、赤身、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	82
10455	養殖、赤身、ソテー	ソテー	-	ソテー	-	切り身	植物油：5%	86
10456	養殖、赤身、天ぷら	天ぷら	-	油揚げ→油切り	-	切り身	植物油：3倍 衣（天ぷら粉）	97 (83)
むつ								
10269	水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	切り身	2倍	77
<貝類>								
かき								
10293	養殖、水煮	水煮	-	水煮→湯切り	-	むき身	2倍	64
10430	養殖、フライ	フライ	-	油揚げ→油切り	-	むき身	植物油：2倍 衣（天ぷら粉、パ ン粉）	119 (84)
さざえ								
10296	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	貝殻、内臓	全体	-	88
しじみ								
10413	水煮	水煮	-	水煮→湯切り	貝殻	全体	2倍	78
(はまぐり類)								
はまぐり								
10307	水煮	水煮	-	水煮→湯切り	貝殻	全体	2倍	64
10308	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	貝殻	全体	-	65
ほたてがい								
10312	水煮	水煮	-	水煮→湯切り	貝殻	全体	2.5倍	82
貝柱								
10414	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	貝殻、内臓	全体	-	66
<えび・かに類>								
(えび類)								
くるまえび								
10322	養殖、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	頭部、殻、 内臓、尾部 等	全体	2倍	95
10323	養殖、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	頭部、殻、 内臓、尾部 等	全体	-	73
パナメイエビ								
10416	養殖、天ぷら	天ぷら	殻、背腸等	油揚げ→油切り	尾	全体	植物油：5倍 衣（天ぷら粉）	102 (77)
(かに類)								
毛がに								
10334	ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	殻、内臓等	全体	2倍	82
ずわいがに								
10336	ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	殻、内臓等	全体	2倍	74
たらばがに								
10339	ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	殻、内臓等	全体	2倍～7倍	74
<いか・たこ類>								
(いか類)								
するめいか								
10346	水煮	水煮	内臓等	水煮→湯切り	-	胴と足	3倍	76
10347	焼き	焼き	内臓等	焼き（電気ロースター）	-	胴と足	-	70
10419	胴、皮なし、天ぷら	天ぷら	胴体以外	油揚げ→油切り	-	胴体部分	植物油：5倍 衣（天ぷら粉）	119 (93)
ほたるいか								
10349	ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	全体	2.5倍	46

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、 植物油、 食塩等の量及び用 いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ 廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後 廃棄部位			
10362	(たこ類) まだこ ゆで	ゆで	内臓等	ゆで→湯切り	-	全体	2倍	81
11249	11 肉類 <畜肉類> うし [和牛肉] リブローズ 脂身つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	79
11248	脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	78
11251	もも 皮下脂肪なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	65
11250	皮下脂肪なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	66
11301	[乳用肥育牛肉] かた 赤肉、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	70
11302	赤肉、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	76
11039	リブローズ 脂身つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	78
11038	脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	70
11252	[乳用肥育牛肉] ばら 脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	81
11050	もも 皮下脂肪なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	66
11049	皮下脂肪なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	71
11253	ヒレ 赤肉、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	71
11256	[交雑牛肉] リブローズ 脂身つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	78
11255	脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	79
11264	もも 皮下脂肪なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	66
11263	皮下脂肪なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	72
11269	[輸入牛肉] リブローズ 脂身つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	66
11268	脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	72
11271	もも 皮下脂肪なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	58
11270	皮下脂肪なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	67
11272	[ひき肉] 焼き	焼き	-	焼き（テフロン<フッ素樹 脂>加工したフライパン）	-	そのまま	-	65

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
11296	[副生物] 横隔膜 ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	切り身	5倍	65
11297	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	切り身	-	69
11273	舌 焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ1 cm	-	71
11125	ぶた [大型種肉] ロース 脂身つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	77
11124	脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	72
11276	脂身つき、とんかつ	とんかつ	-	油揚げ→油切り	-	厚さ1 cm (100 g程度)	植物油：5倍 衣（天ぷら粉、パン粉）	91 (75)
11277	ばら 脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	74
11132	もも 皮下脂肪なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	71
11133	ぶた [大型種肉] もも 皮下脂肪なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	厚さ0.2 cm 薄切り	10倍	71
11278	ヒレ 赤肉、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	58
11279	赤肉、とんかつ	とんかつ	-	油揚げ→油切り	-	厚さ1 cm (100 g程度)	植物油5倍 衣（天ぷら粉、パン粉）	97 (75)
11280	[ひき肉] 焼き	焼き	-	焼き（テフロン<フッ素樹脂>加工したフライパン）	-	そのまま	-	69
11303	[ハム類] ロースハム ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	20倍	86
11304	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	そのまま	-	79
11305	フライ	フライ	-	フライ→油切り	-	そのまま	植物油：15倍 衣（天ぷら粉、パン粉）	132 (87)
11306	[ソーセージ類] ウインナーソーセージ ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	そのまま	15倍	98
11307	焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	そのまま	-	93
11308	フライ	フライ	-	フライ→油切り	-	そのまま	植物油：7倍 衣（天ぷら粉、パン粉）	102 (95)
11281	めんよう [マトン] ロース 脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	67
11282	[ラム] ロース 脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	73
11283	もも 脂身つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	厚さ0.2 cm 薄切り	-	66

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
	<鳥肉類> にわとり [若鶏肉] むね							
11287	皮つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	長さ3 cm 幅3 cm 厚さ1 cm	-	62
11288	皮なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	長さ3 cm 幅3 cm 厚さ1 cm	-	61
11223	もも 皮つき、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	4分割 (70 g程度)	10倍	70
11222	皮つき、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	4分割 (70 g程度)	-	61
11289	皮つき、から揚げ	から揚げ	-	油揚げ→油切り	-	厚さ2 cm (25 g程度)	植物油：5倍 衣（から揚げ粉）	75 (65)
11226	皮なし、ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り	-	4分割 (70 g程度)	10倍	70
11225	皮なし、焼き	焼き	-	焼き（電気ロースター）	-	4分割 (70 g程度)	-	72
11290	皮なし、から揚げ	から揚げ	-	油揚げ→油切り	-	厚さ2 cm (25 g程度)	植物油：5倍 衣（から揚げ粉）	82 (70)
11229	ささ身 ゆで	ゆで	すじ	ゆで→湯切り	-	縦に2分割、そぎ切り(25～45 g)	5倍	76
11228	焼き	焼き	すじ	焼き（電気ロースター）	-	縦に2分割、そぎ切り(25～45 g)	-	73
11298	ソテー	ソテー	すじ	ソテー	-	縦に2分割、そぎ切り(25～45 g)	植物油：5%	64
11299	天ぷら	天ぷら	すじ	油揚げ→油切り	-	縦に2分割、そぎ切り(25～45 g)	植物油：2倍 衣（天ぷら粉）	92 (74)
11300	フライ	フライ	すじ	フライ→油切り	-	縦に2分割、そぎ切り(25～45 g)	植物油：2倍 衣（天ぷら粉、パン粉）	91 (79)
11291	にわとり [ひき肉] 焼き	焼き	-	焼き（テフロン<フッ素樹脂>加工したフライパン）	-	そのまま	-	62
	12 卵類 鶏卵 全卵							
12005	ゆで	ゆで	-	ゆで→湯切り→水冷→水切り	殻	そのまま	2.5倍	99.7
12006	ポーチドエッグ	ゆで	殻	ゆで→湯切り	-	そのまま	18倍 (食酢5%)	95
12021	目玉焼き	焼き	殻	焼き（ガラス鍋）	-	割卵	植物油：5%	86
12022	いり	油いため	殻	油いため	-	割卵を攪拌	植物油：5%	95
12023	素揚げ	揚げ	殻	油揚げ→油切り	-	割卵	植物油：20倍	88
12017	たまご豆腐	蒸し	-	蒸し	-	卵豆腐型 (14 cm×11 cm×4.7 cm)	-	99
12018	たまご焼 厚焼きたまご	焼き	-	焼き	-	-	-	80
12019	だし巻きたまご	焼き	-	焼き	-	-	-	86

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率(%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
17130	17 調味料及び香辛料類 <調味料類> (だし類) あごだし	抽出	-	だしをとる(得られただし:95%)	-	頭とはらわたをとり除いたもの	水に対して2%	-
17019	かつおだし、荒節	抽出	-	だしをとる(得られただし:86%)	-	そのまま	水に対して3%	-
17131	かつおだし、本枯れ節	抽出	-	だしをとる(得られただし:86%)	-	そのまま	水に対して3%	-
17020	昆布だし、水出し	抽出	-	だしをとる(得られただし:88%)	-	そのまま	水に対して3%	-
17132	昆布だし、煮出し	抽出	-	だしをとる(得られただし:35%)	-	そのまま	水に対して3%	-
17021	かつお・昆布だし	抽出	-	だしをとる(昆布だしとかつおだしを当量混合した)	-	そのまま	水に対して3%	-
17022	しいたけだし	抽出	-	だしをとる(得られただし:70%)	-	そのまま	15倍	-
17023	煮干しだし	抽出	-	だしをとる(得られただし:90%)	-	頭とはらわたをとり除いたもの	水に対して3%	-
17024	鳥がらだし	抽出	-	だしをとる(得られただし:66%)	-	熱湯をかけて内臓と脂肪をとり除いたもの	2倍	-
17025	中華だし	抽出	-	だしをとる(得られただし:50%) (材料:脂肪を除いた骨付き鶏肉200g、豚もも肉200g、ねぎ30g、しょうが7g、清酒20g)	-	薄切り	材料に対して4.4倍	-
17026	洋風だし	抽出	-	だしをとる(得られただし:50%) (材料:牛もも肉350g、にんじん200g、たまねぎ200g、セロリ—200g、塩5g)	-	薄切り	材料に対して2.1倍	-
18024	18 調理済み流通食品類 和風料理 和え物類 青菜の白和え	-	-	下ごしらえ→和え衣で和える (主な材料:木綿豆腐、ほうれんそう、にんじん、砂糖、こんにゃく、つきこんにゃく等)	-	-	-	94
18025	いんげんのごま和え	-	-	下ごしらえ→和え衣で和える (主な材料:さやいんげん、こいくちしょうゆ、しょうゆ、すりごま、白ごま、いりごま、にんじん、砂糖等)	-	-	-	95
18026	わかめとねぎの酢みそ和え	-	-	下ごしらえ→和え衣で和える (主な材料:長ねぎ、ねぎ、わかめ(生)、砂糖、みそ、こんにゃく等)	-	-	-	83
18027	酢の物類 紅白なます	-	-	下ごしらえ→和える (主な材料:大根、穀物酢、酢、にんじん、砂糖、油揚げ)	-	-	-	100
18028	汁物類 豚汁	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:煮干しだし、だいこん、みそ、さといも、にんじん等)	-	-	-	94
18029	煮物類 卵の花いり	-	-	下ごしらえ→いり煮 (主な材料:おから、かつおだし、こんにゃく、つきこんにゃく、にんじん、砂糖等)	-	-	-	103

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
18030	親子丼の具	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:卵、とり肉(もも)、たまねぎ、かつおだし、本みりん、みりん等)	-	-	-	89
18031	牛飯の具	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:牛肉、たまねぎ、こんにゃく、つきこんにゃく、かつおだし、こいくちしょうゆ、しょうゆ等)	-	-	-	92
18032	切り干し大根の煮物	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:切干しだいこん(乾)、にんじん、かつおだし、油揚げ、こいくちしょうゆ等)	-	-	-	207
18033	きんぴらごぼう	-	-	下ごしらえ→炒め煮 (主な材料:ごぼう、ささがきごぼう、にんじん、こいくちしょうゆ、しょうゆ、だし汁、サラダ油、油等)	-	-	-	92
18034	ぜんまいのいため煮	-	-	下ごしらえ→炒め煮 (主な材料:ぜんまい(水煮)、にんじん、こいくちしょうゆ、しょうゆ、厚揚げ、油揚げ等)	-	-	-	105
18035	筑前煮	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:とり肉(もも)、ごぼう、こんにゃく、にんじん、れんこん等)	-	-	-	92
18036	肉じゃが	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:じゃがいも、ポテト、たまねぎ、肉、にんじん、こいくちしょうゆ、しょうゆ等)	-	-	-	89
18037	ひじきのいため煮	-	-	下ごしらえ→煮る (主な材料:にんじん、ひじき(乾)、油揚げ、うす揚げ、こいくちしょうゆ、しょうゆ、かつおだし等)	-	-	-	240
18038	その他 アジの南蛮漬け	-	-	下ごしらえ→から揚げ→調味漬け (主な食材:あじ(開き、三枚おろし)、たまねぎ、酢、にんじん、その他等)	-	-	-	93
18040	洋風料理 カレー類 チキンカレー	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:とり肉(もも)、たまねぎ、トマトジュース、にんじん、カレーフレーク等)	-	-	-	89
18001	ビーフカレー	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:カレールウ、たまねぎ、牛肉(ばら)、ラード、にんじん等)	-	-	-	94
18041	ポークカレー	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:豚肉(小間)、カレーフレーク、たまねぎ、じゃがいも、にんじん等)	-	-	-	90
18043	クロック類 かにクリームクロック	-	-	下ごしらえ→成形→衣付け→油揚げ (主な材料:パン粉、油、小麦粉、かに(ゆで)、たまねぎ等)	-	-	-	99
18044	コーンクリームクロック	-	-	下ごしらえ→成形→衣付け→油揚げ (主な材料:とうもろこし、パン粉、油、小麦粉、たまねぎ、牛乳等)	-	-	-	102
18018	ポテトクロック	-	-	下ごしらえ→成形→衣付け→油揚げ (主な材料:じゃがいも、パン粉、たまねぎ、油、豚肉(ひき肉)等)	-	-	-	96

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率 (%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
18045	シチュー類 チキンシチュー	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:とり肉(もも)、ホワイトソース、たまねぎ、牛乳、じゃがいも等)	-	-	-	91
18011	ビーフシチュー	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:牛肉(バラ、肩ロース)、たまねぎ、じゃがいも、にんじん、デミグラスソース等)	-	-	-	90
18015	素揚げ類 ミートボール	-	-	下ごしらえ→成形→油揚げ (主な材料:とり肉(ひき肉)、たまねぎ、豚肉(ひき肉)、パン粉、だし汁等)	-	-	-	86
18042	スープ類 かぼちゃのクリームスープ	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:かぼちゃペースト、牛乳、たまねぎ、ホワイトシチュー、バター等)	-	-	-	97
18005	コーンクリームスープ コーンクリームスープ	-	-	下ごしらえ→煮込む (主な材料:牛乳、クリームコーン、スイートコーン、たまねぎ、コーンクリームスープの素等)	-	-	-	99
18050	ハンバーグステーキ類 合いびきハンバーグ	-	-	下ごしらえ→成形→焼き (主な材料:牛肉(ひき肉)、豚肉(ひき肉)、たまねぎ、パン粉、とり肉(ひき肉)等)	-	-	-	79
18051	チキンハンバーグ	-	-	下ごしらえ→成形→焼き (主な材料:とり肉(ひき肉)、たまねぎ、とり肉(むね)、パン粉、ラード等)	-	-	-	78
18052	豆腐ハンバーグ	-	-	下ごしらえ→成形→焼き (主な材料:押し豆腐、たまねぎ、とり肉(ささみ)、卵、パン粉等)	-	-	-	78
18019	フライ類 いかフライ	-	-	下ごしらえ→衣付け→油揚げ (主な材料:いか、パン粉、油、小麦粉、卵等)	-	-	-	66
18020	えびフライ	-	-	下ごしらえ→衣付け→油揚げ (主な材料:えび、パン粉、油、小麦粉、卵等)	-	-	-	94
18022	メンチカツ	-	-	下ごしらえ→衣付け→油揚げ (主な材料:パン粉、牛肉(ひき肉)、たまねぎ、油、豚肉(ひき肉)等)	-	-	-	97
18003	その他 えびグラタン	-	-	下ごしらえ→焼き(オープン) (主な材料:牛乳、マカロニ(ゆで)、たまねぎ、えび、ほうれんそう等)	-	-	-	100
18014	えびピラフ	-	-	下ごしらえ→炒め (主な材料:米、たまねぎ、えび、にんじん、ピーマン等)	-	-	-	98

食品番号	食品名	調理法	調理過程			調理形態	調理に用いた水、植物油、食塩等の量及び用いた衣の素材等	重量変化率(%)
			下ごしらえ廃棄部位	重量変化に関する工程	調理後廃棄部位			
18002	中国料理 点心類 ぎょうぎ	-	-	下ごしらえ→焼き (主な材料:キャベツ、小麦粉、豚肉(ひき肉)、とり肉(ひき肉)、ラード等)	-	-	-	88
18012	しゅうまい	-	-	下ごしらえ→蒸し (主な材料:たまねぎ、豚肉(ひき肉)、とり肉(ひき肉)、小麦粉、植物性たんぱく等)	-	-	-	87
18046	中華ちまき	-	-	下ごしらえ→蒸し (主な材料:もち米、とり肉(ひき肉)、しいたけ、しょうゆ、砂糖等)	-	-	-	93
18047	菜類 酢豚	-	-	下ごしらえ→油揚げ→油いため (主な材料:豚肉、たまねぎ、にんじん、たけのこ(水煮)、ピーマン等)	-	-	-	91
18048	八宝菜	-	-	下ごしらえ→炒め煮 (主な材料:白菜、豚肉、むきえび、たけのこ(ゆで、水煮)、中華だし(スープ)等)	-	-	-	82
18049	麻婆豆腐	-	-	下ごしらえ→炒め煮 (主な材料:木綿豆腐、豚肉(ひき肉)、こいくちしょうゆ、しょうゆ、たまねぎ、長ねぎ、ねぎ等)	-	-	-	95
18039	韓国料理 和え物類 もやしのナムル	-	-	下ごしらえ→茹で→湯切り→水冷→手搾り→和える (主な材料:大豆もやし、もやし、こまつな、ほうれんそう、こいくちしょうゆ、しょうゆ、きゅうり、にんじん等)	-	-	-	87

【付録】

4. 食品成分表のための記録表

食品分析を行うにあたり、該当する食品について諸データを一定の形式で記載することは重要である。食品成分表のための記録表は、食品を分析するまでの記録表と分析結果の記録表の2つに区分できる。

4-1. 食品を分析するまでの記録表

食品成分表のための試料は、下記の手順で分析用試料に調整される。分析手順とそれに対応する記録表を示した。

- ① 試料購入指示明細書（表1）により試料の購入案が示される。
- ② 食品を調理する場合（「調理した食品」）は、調理指示書（植物性食品用（表2）、動物性食品用（表3））が示される。
- ③ 分析機関は、購入試料の詳細を試料来歴表（表4）に記載する。
- ④ 試料の前処理は、測定用試料調製記録書（基本用（表5）、肉類（赤肉・脂身用（表6））に記載する。
- ⑤ 廃棄部位のある食品は、廃棄率記録書（植物性食品用（表7）、動物性食品用（表8））に記載する。
- ⑥ 「調理した食品」は、調理方法の詳細を調理記録書（植物性食品用（表9）、動物性食品用（表10））に記載する。

表1～10の記録表を用い、各表の各項目に必要事項を記入することにより、食品成分表のための試料表及び試料調製の詳細を把握することができる。

4-2. 食品の分析結果記録表

食品の分析結果の記録表は、食品成分表2020年版用、アミノ酸成分表編用、脂肪酸成分表編用、炭水化物成分表編用の4つに区分できる。それぞれ、基本編（生鮮食品、加工食品等）のほか、調理した食品用の追加の記録表がある。調理した食品用の記録表では、生100gに対応する重量当たりの成分値を記載する。これにより、調理前の食品の成分値との比較検討ができる。各成分表の記録表は下記のとおりである。

- ① 食品成分表2020年版用：基礎データ《一般成分・無機質・ビタミン》基本（表11）、基礎データ《一般成分・無機質・ビタミン》調理した食品（表12）。
- ② アミノ酸成分表編用：アミノ酸データ《窒素、アミノ酸、硝酸イオン、カフェイン、テオブロミン》基本（表13）、アミノ酸データ《窒素、アミノ酸》基本・補正值（表14）、アミノ酸データ《窒素、アミノ酸、硝酸イオン、カフェイン、テオブロミン》調理した食品（表15）。
- ③ 脂肪酸成分表編用：脂肪酸データ《水分・脂質・脂肪酸》基本（表16）、脂肪酸データ《脂肪酸》調理した食品（表17）。
- ④ 炭水化物成分表編用：炭水化物データ《利用可能炭水化物・糖アルコール・食物繊維・有機酸》基本（表18）、炭水化物データ《利用可能炭水化物・糖アルコール・食物繊維・有機酸》調理した食品（表19）。

各成分値の記載は、成分表の表示桁より1つ多い桁の記載を行う。表を電子化し表計算ソフトを用い必要な計算式を入力しておくとう便利である。

なお、記録表の成分項目の並び順は、『食品成分表2020年版』の各成分表と異なっているので注意が必要である。記録表は『四訂成分表』『五訂成分表』など過去の成分表のデータを比較検討するため観点などを考慮した配列であり、成分表は、栄養指導上の目的から栄養成分がグループ化されて収載されている。

試料購入指示明細書

食品群 : _____

購入指示者		所属機関名	
分析機関名		記録者	
食品番号			
食品名			
試料番号	①	②	③
購入方法 または 試料斡旋先			
購入時期			
購入先別点数 (原料・製品別)			
品種・銘柄名 または 産地生産国名			
各種規格等の表示			
包装形態			
廃棄部位			
分析試料の 均質化条件			
分析・縮分単位			
購入後の保存方法			
備考			

調 理 指 示 書
(植 物 性 食 品)

食品群： _____

指示者氏名		Eメールアドレス 指示連絡先	
食品番号			
食品名			
調理の種類	<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> 蒸し <input type="checkbox"/> ゆで <input type="checkbox"/> 油いため <input type="checkbox"/> 塩漬 <input type="checkbox"/> ぬかみそ漬 <input type="checkbox"/> その他 ()		
調理実施日			
試料形態	<input type="checkbox"/> 丸のまま <input type="checkbox"/> 半割 <input type="checkbox"/> 四割 <input type="checkbox"/> 八割 <input type="checkbox"/> その他		
調理方法 (調理工程 下記参照) ↓ ↓ ↓ ↓	前処理 廃棄部位	<input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> 損傷葉 <input type="checkbox"/> 根 <input type="checkbox"/> 茎 <input type="checkbox"/> 株元 <input type="checkbox"/> 種子 <input type="checkbox"/> さや <input type="checkbox"/> 芯 <input type="checkbox"/> その他 ()	
	調理法	<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> 蒸し <input type="checkbox"/> ゆで <input type="checkbox"/> 油いため <input type="checkbox"/> 塩漬 <input type="checkbox"/> ぬかみそ漬 <input type="checkbox"/> その他 ()	
	加水量		
	熱源	<input type="checkbox"/> ガス <input type="checkbox"/> 電気	
	加熱媒体	<input type="checkbox"/> 沸騰水 <input type="checkbox"/> 油	
	調理器具		
	調理方法の 詳細	(火力・時間)	
	調理後 廃棄部位	<input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> 損傷葉 <input type="checkbox"/> 根 <input type="checkbox"/> 茎 <input type="checkbox"/> 株元 <input type="checkbox"/> 種子 <input type="checkbox"/> さや <input type="checkbox"/> 芯 <input type="checkbox"/> その他 ()	
特記事項			

(表 3)

調 理 指 示 書
(動 物 性 食 品)

食品群： _____

指示者氏名		Eメールアドレス 指示連絡先	
食品番号			
食品名			
調理の種類	<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> その他 ()		
調理実施日			
試料形態	<input type="checkbox"/> 一匹 <input type="checkbox"/> 三枚下ろし <input type="checkbox"/> 切り身 <input type="checkbox"/> その他 ()		
調理方法 (調理工程 下記参照) ↓ ↓ ↓ ↓	前処理 廃棄部位	<input type="checkbox"/> 内臓 <input type="checkbox"/> 背骨 <input type="checkbox"/> 中骨 <input type="checkbox"/> 腹腔骨 <input type="checkbox"/> ひれ <input type="checkbox"/> 尾 <input type="checkbox"/> うろこ <input type="checkbox"/> 甲殻 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> その他 ()	
	調理法	<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> 蒸し <input type="checkbox"/> ゆで <input type="checkbox"/> その他 ()	
	加水量		
	熱源	<input type="checkbox"/> ガス <input type="checkbox"/> 電気 <input type="checkbox"/> どちらでも	
	加熱媒体	<input type="checkbox"/> 沸騰水 <input type="checkbox"/> 油	
	調理器具		
	調理方法 の詳細	(火力・時間)	
調理後 廃棄部位	<input type="checkbox"/> 内臓 <input type="checkbox"/> 背骨 <input type="checkbox"/> 中骨 <input type="checkbox"/> 腹腔骨 <input type="checkbox"/> ひれ <input type="checkbox"/> 尾 <input type="checkbox"/> うろこ <input type="checkbox"/> 甲殻 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> その他 ()		
特記事項			

試料来歴表

食品群： _____

前処理担当： _____

分析機関名		記録者名	
食品番号			
食品名			
試料番号	①	②	③
記録日			
購入年月日			
購入場所			
購入単位			
購入価格			
購入重量			
寸法 (体長、重量等)			
生産地、生産者			
品種、系統			
銘柄			
規格			
※製造者			
※販売者			
※商品名			
※加工内容			
※その他 原材料等			

※加工品の場合

測定用試料調製記録書
(基本)

食品群： _____

前処理担当： _____

分析機関名		記録者氏名	
食品番号			
食品名			
試料番号	①	②	③
調整日			
分析試料単位			
分析試料部位			
分析試料保存方法			
分析試料解凍方法			
備考			

測定用試料調製記録書

(肉類(赤肉・脂身))

食品群： 肉類

分析機関名		記録者氏名	
食品番号			
食品名			
試料番号	①	②	③
記録日			
分析試料単位			
分析試料部位			
分析試料保存方法			
分析試料解凍方法			
備考			
	脂 肪 割 合		
全体の重量(g) (枚数) 一枚の大きさ			
皮下脂肪の重量(g) (※皮及び皮下脂肪)	－ [－ %]	－ [－ %]	－ [－ %]
筋肉間脂肪の重量(g)	－ [－ %]	－ [－ %]	－ [－ %]
脂肪全体の重量(g)	－ [－ %]	－ [－ %]	－ [－ %]
赤身の重量(g) (※皮及び皮下脂肪を除いた肉)	－ [－ %]	－ [－ %]	－ [－ %]

[] 内は全体の重量に対する割合
※鶏肉類の場合

廃棄率記録書

(動物性食品)

 生 調理

食品群： _____

前処理担当： _____

分析機関名		記録者氏名		
食品番号				
食品名				
廃棄率測定日				
試料形態				
廃棄部位	<input type="checkbox"/> 頭部 <input type="checkbox"/> 内臓 <input type="checkbox"/> 背骨 <input type="checkbox"/> 中骨 <input type="checkbox"/> 腹腔骨 <input type="checkbox"/> ひれ <input type="checkbox"/> 尾 <input type="checkbox"/> うろこ <input type="checkbox"/> 甲殻 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> ぜいご <input type="checkbox"/> その他 ()			
廃棄方法 (器具)				
廃棄前		試料数 (n =)	重量 (g)	備考 体長 (cm)
	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	平均値			
標準偏差				
廃棄後	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	平均値			
	標準偏差			
廃棄率 (%)	1			
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	平均値			
	標準偏差			

※調理する場合は調理後の廃棄率

(表10)

調 理 記 録 書
(動 物 性 食 品)

食品群： _____

調理担当： _____

分析機関名			記録者氏名		
食品番号					
食品名					
調理の種類	<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> その他 ()				
調理実施日					
試料形態	<input type="checkbox"/> 一匹 <input type="checkbox"/> 三枚下ろし <input type="checkbox"/> 切り身 <input type="checkbox"/> その他 ()				
調理方法	前処理 廃棄部位		<input type="checkbox"/> 内臓 <input type="checkbox"/> 背骨 <input type="checkbox"/> 中骨 <input type="checkbox"/> 腹腔骨 <input type="checkbox"/> ひれ <input type="checkbox"/> 尾 <input type="checkbox"/> うろこ <input type="checkbox"/> 甲殻 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> その他 ()		
	調理法		<input type="checkbox"/> 焼き <input type="checkbox"/> 水煮 <input type="checkbox"/> 蒸し <input type="checkbox"/> ゆで		
	加水量				
	熱源		<input type="checkbox"/> ガス <input type="checkbox"/> 電気		
	加熱媒体		<input type="checkbox"/> 沸騰水 <input type="checkbox"/> 油		
	調理器具				
	火力と 時間	1 2 3 4			
調理後 廃棄部位		<input type="checkbox"/> 内臓 <input type="checkbox"/> 背骨 <input type="checkbox"/> 中骨 <input type="checkbox"/> 腹腔骨 <input type="checkbox"/> ひれ <input type="checkbox"/> 尾 <input type="checkbox"/> うろこ <input type="checkbox"/> 甲殻 <input type="checkbox"/> 皮 <input type="checkbox"/> その他 ()			
調理後内部温度(°C)					
調理前		試料数 (n =)	重量 (g)	備考	
	1				
	2				
	3				
	4				
	平均値 標準偏差				
調理後				調理後・廃棄後	
	1			1	
	2			2	
	3			3	
	4			4	
	平均値 標準偏差			平均値 標準偏差	
重量変化率 (%)				調理後・廃棄率	
	1			1	
	2			2	
	3			3	
	4			4	
	平均値 標準偏差			平均値 標準偏差	

11 食品成分表基礎データ《 一般成分・無機質・ビタミン 》基本

整理番号		食品名	試料番号	廃棄率	水分	たんぱく質	全窒素	硝酸態窒素	脂質		炭水化物	灰分	無機質										
分委分析年度	分託機関先								コレストロール	脂質			ナトリウム	カリウム	カルシウム	マグネシウム	リン	鉄	亜鉛	銅	マンガン	ヨウ素	セレン
			報告最小値(B)	—	0.01	0.01	0.001	0.3	0.1	0.01	0.01	0.01	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.01	0.01	0.001	0.001	0.3	0.3
			記載最小値(A)	—	0.1	0.1	0.01	3	1	0.1	0.1	0.1	1	1	1	1	1	0.1	0.1	0.01	0.01	1	1
分 析 結 果																							
			C1																				
			C2																				
			C3																				
			C4																				
			C5																				
			C6																				
			AV																				
			(A)~(B)																				
			SD																				
			RSD (%)																				
乾 物																							
			C1																				
			C2																				
			C3																				
			C4																				
			C5																				
			C6																				
			AV																				
			SD																				
			RSD (%)																				
測																							
			分析マニュアル項番																				
			備考	記載最小値(A)未滿、報告最小値(B)以上の値のコメント										(A)~(B) : 分析値が報告最小値から記載最小値の間に入ったデータ数									
				・項目名 :																			
				・項目名 :																			
				・項目名 : , 理由 :																			
				・項目名 : , 理由 :																			

※ AV……平均値 SD……標準偏差 RSD (%)……相対標準偏差 : SD/AV × 100

(表11)

		ビタミ ン																						
ク ロ ム	モ リ ブ デ ン	A					D	E				K		B ₁	B ₂	ナイ ア シ ン	B ₆	B ₁₂	葉 酸	パ ン ト テ ン 酸	ビ オ チ ン	C	ア ル コ ー ル	
		レ チ ノ ー ル	α - カ ロ テ ン	β - カ ロ テ ン	β - キ リ フ ト キ サ ン チ ン			α - ト コ フ エ ロ ー ル	β - ト コ フ エ ロ ー ル	γ - ト コ フ エ ロ ー ル	δ - ト コ フ エ ロ ー ル	K ₁	K ₂											
μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	mg	mg	mg	mg	μg	μg	mg	mg	mg	mg	μg	μg	mg	μg	mg	g	
0.3	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.1	0.1	0.001	0.001	0.01	0.001	0.01	0.01	0.1	0.001	0.01	0.1	0.01
1	1	1	1	1	1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	1	1	0.01	0.01	0.1	0.01	0.1	1	0.01	0.1	1	0.1	
の 基 礎 数 値																								
換 算 値																								
定 法																								
窒素-たんぱく質換算係数： <input type="text"/>																								

(表12)

																ビ タ ミ ン										
銅	マンガン	ヨウ素	セレン	クロム	モリブデン	A			D	E				K ₁	K ₂	B ₁	B ₂	ナイアシン	B ₆	B ₁₂	葉酸	パントテン酸	ビオチン	C	アルコール	
						レチノール	α-カロテン	β-カロテン		β-クリプトキサンチン	α-トコフェロール	β-トコフェロール	γ-トコフェロール													δ-トコフェロール
mg	mg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	μg	mg	mg	mg	mg	μg	μg	mg	mg	mg	mg	μg	μg	mg	μg	mg	g	
果 の 基 礎 数 値																										
理 重 量 変 化 率 考 慮 値																										

13 食品成分表アミノ酸編基礎データ《 窒素、アミノ酸、硝酸イオン、カフェイン、テオブロミン 》基本

整理番号		食品名	アミノ酸																		
分委分 析託機 年機 度先関	食品 番号		試料 番号	廃 業 率	水 分	全 窒 素	※ ※ 基準 窒 素	イ ソ ロ イ シ ン	ロ イ シ ン	リ ジ ン	※※※ メ チ オ ニ ン	過 メ チ 酸 化 処 理 ン	シ ス チ ン	合 含 硫 ア ミ ノ 計 酸	フェ ニ ル アラ ニ ン	チ ロ シ ン	合 芳 香 族 ア ミ ノ 計 酸	ス レ オ ニ ン	トリ プト ファン	パ リ ン	ヒ ス チ ジ ン
								%	g	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
			報告最小値(B)	-	0.01	1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
			記載最小値(A)	-	0.1	10	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1
分析結果の基礎数値(可食部)																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			(A)~(B)																		
			SD																		
			RSD (%)																		
乾物100gあたり																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			SD																		
			RSD (%)																		
基準窒素※1gあたり																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			SD																		
			RSD (%)																		
測定																					
			分析マニュアル項順																		
			備考	記載最小値(A)未満、報告最小値(B)以上の値のコメント(A)~(B)：分析値が報告最小値から記載最小値の間に入ったデータ数																	
				・項目名： ，理由：																	
				・項目名： ，理由：																	
				・項目名： ，理由：																	

※ AV……平均値 SD……標準偏差 RSD (%)……相対標準偏差：SD/AV×100

(3)……再試験結果

※※基準窒素量……日本食品標準成分表における、全窒素量から、緑茶類はカフェインを、野菜類は硝酸イオンを、チョコレート・ココア類はテオブロミンを別に定量し、
 ※※※メチオニン……過干酸化処理によらず当該欄で定量値を報告する場合は、備考欄に理由を記入する。

14 食品成分表アミノ酸編基礎データ《窒素、アミノ酸》基本・補正值

整理番号		食品名	アミノ酸																		
分委分 析託機 年機 度先関	食品 番号		試料 番号	水 分	全 窒 素	※ 基 準 窒 素	イ ソ ロ イ シ ン	ロ イ シ ン	リ ジ ン	※※※ メ チ オ ニ ン	過 メ チ 酸 化 処 理	シ ス チ ン	合 含 硫 ア ミ ノ 計 酸	フ エ ニ ル ア ラ ニ ン	チ ロ シ ン	合 芳 香 族 ア ミ ノ 計 酸	ス レ オ ニ ン	ト リ プ ト フ ア ン	パ リ ン	ヒ ス チ ジ ン	ア ル ギ ニ ン
										mg	mg										
			報告最小値(B)	0.01	1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	0.1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
			記載最小値(A)	0.1	10	-	1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	1	1	1	1
分析結果 (補正值) (可食部 100gあたり)																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			(A)~(B)																		
			SD																		
			RSD (%)																		
分析結果 (補正值) 乾物100gあたり																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			SD																		
			RSD (%)																		
分析結果 (補正值) 基準窒素※1gあたり																					
			C1																		
			C2																		
			(C3)																		
			AV																		
			SD																		
			RSD (%)																		
			備考	「日本食品標準成分表2020年版(八訂)アミノ酸成分表編」アミノ酸の測定法に記載のある右表の補正係数を乗じてアミノ酸量を算出した補正值。												アミノ酸	補正係数	アミノ酸			
																イソロイシン	1.03	フェニルアラニン			
																ロイシン	1.01	チロシン			
																リジン	1.01	スレオニン			
																メチオニン	1.01	トリプトファン			
																シスチン	1.01	バリン			

※ AV……平均値 SD……標準偏差 RSD (%) ……相対標準偏差: SD/AV×100

(3) ……再試験結果

※基準窒素量……日本食品標準成分表における、全窒素量から、緑茶類はカフェインを、野菜類は硝酸イオンを、チョコレート・ココア類はテオブロミンを別に定量し、
 ※※メチオニン……過ギ酸酸化処理によらず当該欄で定量値を報告する場合は、備考欄に理由を記入する。

16 食品成分表脂肪酸編基礎データ《水分・脂質・脂肪酸》基本

整理番号	食品番号	食品名	試料番号	廃棄率	水分	脂質	脂肪酸量				脂肪酸組成				n3/n6比	P/S比	4:0	6:0	7:0	8:0	10:0	10:1	12:0	13:0	14:0	14:1	15:0	15:0 ant	15:1		
							総量	飽和	不飽和		飽和	一価	多価	飽和																一価	多価
									一価	多価																					
可食部 100g 当たり							脂質 1g 当たり																								
%							g				(..... mg)																				
報告最小値(B)							—				0.01																				
記載最小値(A)							—				0.1																				
C1																															
C2																															
C3																															
AV																															
(A)~(B)							/																								
SD																															
RSD (%)																															
											脂																				
C1																															
C2																															
C3																															
AV																															
SD																															
RSD (%)																															
							可食部 100g 当たり				(..... %)																				
							(..... g)				(..... %)																				
C1																															
C2																															
C3																															
AV																															
SD																															
RSD (%)																															
分析マニュアル 項順							/																								
備考							記載最小値(A)未滿、報告最小値(B)以上の値のコメント (A)~(B):分析値が報告最小値から記載最小値の間に入ったデータ数																								
							・項目名: 理由:																								
							・項目名: 理由:																								
							・項目名: 理由:																								

※ AV……平均値 SD……標準偏差 RSD (%)……相対標準偏差: SD/AV×100

(表16)

各 脂 肪 酸 量																												未 同 定 物 質								
16:0	16:0 iso	16:1	16:2	16:3	16:4	17:0	17:0 ant	17:1	18:0	18:1 n-9	18:1 n-7	18:2 n-6	18:3 n-3	18:3 n-6	18:4 n-3	20:0	20:1	20:2 n-6	20:3 n-3	20:3 n-6	20:4 n-3	20:4 n-6	20:5 n-3	21:5 n-3	22:0	22:1	22:2		22:4 n-6	22:5 n-3	22:5 n-6	22:6 n-3	24:0	24:1		
パ ル ミ チ ン 酸	パ ル ミ チ ン 酸	ト バ レ イ ル ン 酸 ミ	デ カ ジ エ ン 酸 サ	ト ヘ キ エ サ ン デ 酸 力	テ ヘ キ ラ エ ン デ 酸 力	デ ヘ カ ブ ン 酸 タ	デ ヘ カ ブ ン 酸 タ	デ ヘ セ ブ ン 酸 タ	ス テ ア リ ン 酸	オ レ イ ン 酸	シ ス バ ク セ ン 酸	リ ノ ー ル 酸	α ・ リ ノ レ ン 酸	γ ・ リ ノ レ ン 酸	テ オ ク ラ エ ン デ 酸 力	ア ラ キ ジ ン 酸	イ コ セ ン 酸	ジ イ コ セ ン 酸 サ	ト イ リ エ コ ン 酸 サ	ト イ リ エ コ ン 酸 サ	テ イ ト ラ エ ン 酸 サ	ア ラ キ ド ン 酸	ペ イ ン タ エ ン 酸 サ	ペ ン タ イ エ ン 酸 サ	ベ ヘ ン 酸	ド コ セ ン 酸	ジ ド エ コ ン 酸 サ	テ ド ラ エ ン 酸 サ	ベ ド ン タ エ ン 酸 サ	ベ ド ン タ エ ン 酸 サ	ヘ ド キ サ エ ン 酸 サ	セ リ ゲ ン 酸 ノ	コ セ ト ン 酸 ラ			
脂 質 1g 当 た り																																				
mg																																				
0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	—
0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	—
脂 酸 総 量 100g 当 た り																																				
g																																				
可 食 部 100g 当 た り																																				
mg																																				
定 法																																				

(表18)

食 部 100 g 当 た り																				
有 機 酸																				
酢 酸	グ リ コ ー ル 酸	乳 酸	グ ル コ ン 酸	シ ユ ウ 酸	マ ロ ン 酸	コ ハ ク 酸	フ マ ル 酸	リ ン ゴ 酸	酒 石 酸	グ α ル タ ケ ル 酸 ト	ク エ ン 酸	サ リ チ ル 酸	p ク マ ル 酸	コ ー ヒ ー 酸	フ エ ル ラ 酸	ク ロ ロ ゲ ン 酸	キ ナ 酸	オ ロ ト 酸	グ ビ ル タ ミ ン 酸 口	プ ロ ビ オ ン 酸
g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	g	g	g	g
0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.0001	0.05	0.1	0.05	0.1	0.001	0.001	0.001	0.001
0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.001	0.5	1	0.5	1	0.01	0.01	0.01	0.01
果 の 基 礎 数 値																				
換 算 値																				
定 法																				

(表19)

可食部 100g 当たり																						
有機酸																						
総量	ギ酸	酢酸	グリコール酸	乳酸	グルコン酸	シュウ酸	マロン酸	コハク酸	フマル酸	リンゴ酸	酒石酸	α-グルタリク酸	クエン酸	サリチル酸	p-クマル酸	コヒー酸	フェルラ酸	クロロゲン酸	キナ酸	オロト酸	グルタミン酸	プロピオン酸
g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	mg	mg	mg	mg	g	g	g	g
結果の基礎数値																						
理重量変化率考慮値																						

付 記

科学技術・学術審議会 資源調査分科会 食品成分委員会 委員名簿

(五十音順、肩書は任命当時)

臨時委員	齋藤 洋昭	石川県立大学生物資源環境学部食品科学科教授(第6,7,8,9期専門委員、第10期臨時委員)
〃	佐々木 敏	東京大学大学院医学系研究科教授(第6,7,8,9期専門委員、第10期臨時委員)
〃	◎安井 明美	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門アドバイザー(第6期専門委員、第7,8,9,10期臨時委員、第6,7,8,9,10期主査)
〃	安井 健	(元)独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構近畿中国四国農業研究センター上席研究員(第6,7,8,9期専門委員、第10期臨時委員)
〃	○渡邊 智子	千葉県立保健医療大学健康科学部栄養学科教授(第6,7期専門委員、第8,9,10期臨時委員、第7,8,9,10期主査代理)
専門委員	東 敬子	独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜茶業研究所野菜病害虫・品質研究領域 野菜品質・機能性研究グループ主任研究員(第6,7,8期)
〃	生駒 吉識	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所企画管理部業務推進室長(第6,7,8期)
〃	石原 賢司	国立研究開発法人水産研究・教育機構中央水産研究所水産物応用開発研究センター主任研究員(第10期)
〃	石見 佳子	独立行政法人国立健康・栄養研究所食品保健機能研究部長(第6,7,8期)
〃	上田 浩史	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構野菜花き研究部門野菜病害虫・機能解析研究領域品質機能ユニット長(第9,10期)
〃	大坪 研一	新潟大学大学院自然科学研究科教授(第6,7,8期)
〃	小河原 雅子	一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所栄養科学部ビタミン分析一課課長(第6,7,8期)
〃	久保田 紀久枝	東京農業大学総合研究所教授(第6,7,8,9期)
〃	小竹 英一	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研

- 究部門食品分析研究領域成分特性解析ユニット上級研究員（第9,10期）
- 〃 小林 美穂 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門畜産物研究領域上級研究員（第8,9,10期）
- 〃 佐々木 啓介 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門畜産物研究領域食肉品質ユニット長（第7,8,9,10期）
- 〃 鈴木 亜夕帆 株式会社レオック安全・衛生管理本部栄養・衛生マネージャー（第9,10期）
- 〃 関谷 敦 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所九州支所チーム長（特用林産担当）（第6,7,8,9期）
- 〃 高橋 文人 一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所栄養科学部ビタミン分析一課課長（第8,9,10期）
- 〃 瀧本 秀美 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所栄養疫学・食育研究部長（第8,9,10期）
- 〃 竹林 純 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所国立健康・栄養研究所食品保健機能研究部食品分析研究室長（第9,10期）
- 〃 立木 美保 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門上級研究員（第10期）
- 〃 内藤 成弘 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門食品分析研究領域長（第9,10期）
- 〃 長尾 昭彦 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所食品素材科学研究領域上席研究員（第6,7,8期）
- 〃 中村 ゆり 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構果樹茶業研究部門生産・流通研究領域長（第8,9期）
- 〃 野村 将 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所畜産物研究領域上席研究員（第6,7,8期）
- 〃 平出 政和 国立研究開発法人森林研究・整備機構森林総合研究所きのこ・森林微生物研究領域領域チーム長（第10期）
- 〃 本田 佳子 女子栄養大学大学院医療栄養学研究室教授（第8,9,10期）
- 〃 村田 昌一 長崎大学大学院 水産・環境科学総合研究科教授（第6,7,8,9期）
- 〃 門間 美千子 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構食品研究部門加工流通研究領域長（第8,9,10期）

（◎は主査、○は主査代理）

本マニュアルの作成にあたっては、一般財団法人日本食品分析センターより多大なるご協力を得た。深く謝意を表す。