

畜産物缶瓶詰（コーンドミート）の粗たん白質測定方法手順書

1. 適用範囲

この測定方法は日本農林規格における畜産物缶詰及び畜産物瓶詰に該当するコーンドミート缶詰及び瓶詰に適用する。

2. 測定方法の概要

試料に硫酸、分解促進剤を加え分解した後、水酸化ナトリウムを加え、水蒸気蒸留する。ほう酸溶液で留液を捕集し、硫酸で滴定して、滴定に要した硫酸の量から全窒素含有量を算出する。

3. 注意事項

- (a) 硫酸、水酸化ナトリウム及び水酸化ナトリウム溶液を使用する際には、保護メガネ及びそれらの試薬に耐性のある手袋を使用すること。
- (b) 分解は耐酸性ドラフト内で行うこと。

4. 試薬等

4.1 測定に使用する試薬等

- (a) 水：蒸留法もしくはイオン交換法によって精製した水又は逆浸透法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製したもので、JIS K8008 に規定する A2 以上の品質を有するもの。
- (b) 硫酸：日本工業規格に規定される（JIS K8951）特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (c) 硫酸カリウム：JIS K8962 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (d) 硫酸銅（Ⅱ）五水和物：JIS K8983 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (e) ほう酸：JIS K8863 に規定される特級又は同等以上のもの。
- (f) 水酸化ナトリウム：JIS K8576 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (g) ブロモクレゾールグリーン：JIS K8840 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (h) メチルレッド：JIS K8896 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (i) エタノール（95）：JIS K8102 に規定されている一級、又はそれらと同等以上のもの。

4.2 滴定溶液の標定に使用する試薬

- (a) ブロモフェノールブルー：JIS K8844 に規定される特級、又はそれらと同等以上のもの。
- (b) エタノール（95）：「4.1 (i)」と同様のもの。
- (c) 炭酸ナトリウム：JIS K8005 に規定される容量分析用標準物質を用いる。

5. 器具及び装置

5.1 測定に使用するもの

- (a) 電子天びん：0.1 mgまで量りとることのできるもの。
- (b) 分解用容器：500mL 容ケルダールフラスコ又は 250 ～ 300mL 容ケルダール分解チューブを用いる。
- (c) 分解装置：I 又は II のどちらかを用いる。
 - I 分解台：出力可変式でケルダールフラスコを熱せられるもので、ビーカーに沸石を2～3個と水 100 mL を入れ、10 分間最大出力に保った熱源にのせたとき、5 分以内に沸騰させる能力を有すること
 - II ブロック分解装置：あらかじめ 400 °C に加熱したブロックに、水 50mL と沸騰石 2 ～ 3 個を入れたケルダール分解チューブを載せた時、150 秒以内に沸騰させる能力を有すること。
- (d) 蒸留装置：I 又は II のどちらかを用いる。
 - I 水蒸気蒸留装置（塩入・奥田式蒸留装置等）
 - II 自動蒸留装置（蒸留の制御・実施を自動的に行う装置。自動蒸留装置と自動滴定装置が組み合わさった装置を含む。）
- (e) 三角フラスコ：300 mL 容
- (f) ビュレット／自動ビュレット：25 mL 容。JIS R3505 に規定されているクラス A 又は同等以上のもの。
- (g) 自動滴定装置：中和滴定を行う自動分析装置。20 mL 容以上のビュレット容量のものを用いる。

5.2 滴定溶液の標定に使用するもの

- (a) るつぼ：白金又は磁器のものを用いる。
- (b) デシケーター：JIS K8001 に規定するもの。すなわち、乾燥剤として JIS Z0701 に規定するシリカゲル(A 形 1 種) を入れたデシケーターを用いる。シリカゲルは塩化コバルト(II)で着色したものとし、その色が変色したときには約 130 °C で加熱して再生する。
- (c) マッフル炉：600 °C 以上まで加熱できるもの。
- (d) 全量ピペット：25 mL 容。JIS R3505 に規定されているクラス A 又は同等以上のもの。
- (e) 全量フラスコ：250 mL 容。JIS R3505 に規定されているクラス A 又は同等以上のもの。
- (f) 三角フラスコ：200 mL 容

6. 試薬の調製

同組成、同濃度の市販品を用いる場合は以下の調製を必要としない。

6.1 分解促進剤

硫酸カリウム 9 g と硫酸銅 (II) 五水和物 1 g を混合する。

6.2 中和用水酸化ナトリウム水溶液

水酸化ナトリウム水溶液 1 L 中に水酸化ナトリウム 400 g が溶解しているように調製

する⁽¹⁾。(40% (w/V) 水酸化ナトリウム水溶液)

(1) 調製例：水酸化ナトリウム800 gを2 L三角フラスコに量りとり、氷水で冷やしながら水を1 L加える。完全に溶かした後、良く振り混ぜながら水を加え2Lにする(40%水酸化ナトリウム水溶液)。溶解時に非常に発熱し蒸気等が発生するため、ドラフト内で行う。

6.3 ほう酸水溶液

ほう酸を水で加温溶解し、1 L中に40 g含まれるように調製する⁽²⁾。

(2) 調製例：ほう酸120 gを3L三角フラスコに量りとり、水を2L加えホットプレート等で40～60℃に加温しながら溶解させる。完全に溶かした後、良く振り混ぜながら水を加え3Lにする(4%ほう酸水溶液)。

6.4 ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬溶液

エタノール(95)200 mL中に、ブロモクレゾールグリーン 0.15 g及びメチルレッド 0.10 gを含むように調製する。

6.5 0.1 mol/L硫酸

ファクターが小数第3位まで求められている市販品を用いる場合は、標定する必要はない。

(a) 調製

水1 Lをビーカー等に量りとり、硫酸6 mLをかき混ぜながら徐々に加えて放冷した後、気密容器に入れて保存する。

(b) 標定

炭酸ナトリウムの必要量をるつぼに入れて600℃で約60分加熱した後、デシケータに入れて放冷する。その中から、2.0～2.5 gを0.1 mgまで量りとり、炭酸を含まない水に溶解して250 mLとする。その25 mLを全量ピペットで200 mL容三角フラスコ等に正確にとり、ブロモフェノールブルー溶液(ブロモフェノールブルー0.10 gをエタノール(95)50 mLで溶解し水で100 mLにしたもの)を2～3滴加えて0.1 mol/L硫酸で滴定する。

(JIS K8001 もしくは日本薬局方に準じて実施しても良い。)

(c) 計算

$$0.1 \text{ mol/L 硫酸のファクター} = (1000 \times w \times p) / (V \times A \times M) \times (25 / 250)$$

w：炭酸ナトリウム秤量 (g)

p：炭酸ナトリウム純度

V：滴定に要した0.1 mol/L硫酸の体積 (mL)

A：滴定に使用した硫酸の濃度 (= 0.1 mol / L)

M：炭酸ナトリウムの式量 (= 105.99)

7. 測定手順

7.1 試料調製

試料200gをフードプロセッサー等で均一にする。

7.2 サンプリング

- (a) 冷蔵していた試料を常温に戻す（約 1 時間）。
- (b) 電子天びんに薬包紙をのせ、天びんの指示値をゼロにする。
- (c) 試料約 1 g を正確に量りとり、その重量を 0.1 mg まで測定し、記録する。
- (d) 薬包紙ごと、試料をケルダール分解フラスコ又はケルダール分解チューブに入れる。
- (e) 試料とは別に、薬包紙のみをケルダール分解フラスコ又はケルダール分解チューブに入れ、空試験試料とする。

7.3 分解

(a) 又は (b) のうちどちらかで分解を行う。

(a) 分解台（出力可変電熱式）を用いた場合

- ① 試料を入れたケルダール分解フラスコに分解促進剤 10 g 及び硫酸 15 mL を加え、あらかじめ保温しておいた分解台の熱源の上に設置する。
- ② はじめ、弱出力で加熱し泡立ちがおさまったら、出力を徐々に最大にする。
- ③ 時々、分解液を振り混ぜてフラスコの壁面についた炭化物を洗い落とす。
- ④ 分解液が青色透明になっているのを確認後、約 90 分間そのまま沸騰させる。
- ⑤ 分解終了後は放冷する。
- ⑥ 室温まで放冷後、水を 50 mL 加えて、分解物を溶解する。
- ⑦ ①～⑥までの操作を空試験試料についても同様に行う。

(b) ブロック分解装置を用いた場合

- ① 試料を入れたケルダール分解チューブに分解促進剤 10 g 及び硫酸 15 mL を加え、あらかじめ保温しておいた分解装置に設置する。
- ② 最初は 200 °C で加熱し泡立ちがおさまったら（30 ～ 40 分）400 °C にする。分解液が青色透明になっているのを確認後、約 90 分間そのまま沸騰させる。
- ③ 沸騰終了後は放冷する。
- ④ ①～③までの操作を空試験試料についても同様に行う。

7.4 蒸留

(a) 又は (b) のうちどちらかで蒸留を行う。

(a) 塩入・奥田式蒸留装置を用いた方法

以下の説明は図の塩入・奥田式蒸留装置を例としている。

水蒸気発生用フラスコ(A)中に容量の 2/3 程度の水を入れ、これに硫酸を少量加えて微酸性にし、沸石を入れて沸騰させ、ピンチコック (b) を開け、(a) 及び (c) を閉じ、あらかじめ (B)、(C)、(E) に水蒸気を送ってよく洗浄した後、ピンチコック (a) 及び (c) を開け、(b) を閉じる。300 mL 三角フラスコ (F) に 4 % ほう酸水溶液を 25 mL とり、ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬 2 ～ 3 滴を加え、冷却管 (E) の先端が液中に深く入るように固定する。

次に、分解液の入ったケルダール分解フラスコを (C) の位置に接続し、ピンチコック (d) を開き、リザーバー (G) から 40 % 水酸化ナトリウム水溶液約 60 mL を流入させ、アルカリ性にした後、ピンチコック (d) を閉じ、ピンチコック (b) を開け、(a) を閉じて、蒸気だまり (B) に水蒸気を通す。(B) の中に水蒸気が満たされたら、ピンチコック (c) を閉じて水蒸気を (C) に通し、蒸留を行う⁽³⁾。

留液の温度に注意（手で触れて熱くない程度）しながら、三角フラスコ (F) の留液

が約 150mL になるまで蒸留を続け、三角フラスコ (F) を下げて冷却管の先端を液面から離し、さらに 2 分間蒸留を続けた後、水で冷却管の先端を洗いながら三角フラスコ (F) を取り出す。ピンチコック (a) を開き、(b) を閉じて蒸留を終える。

(3) ほう酸水溶液のアンモニアの捕集率の低下を防ぐため水溶液の温度が40°Cを超えない範囲で蒸留を行う。

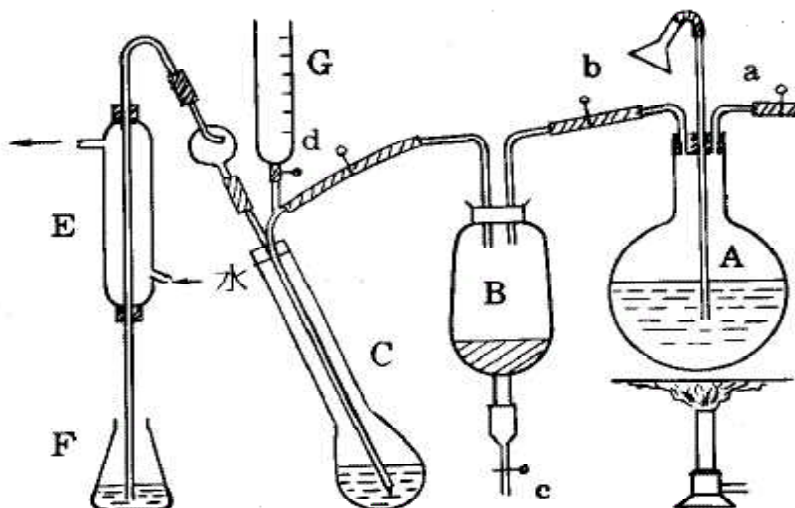


図1 塩入・奥田式蒸留装置

(b) 自動蒸留装置を用いた方法

- ① 分解液の入ったチューブをそのまま自動蒸留装置に装着する。
- ② レシーバー部に 4% ほう酸水溶液 25 mL 及びプロモクレゾールグリーン・メチルレッド混合指示薬 2~3 滴加えた 300 mL 三角フラスコを装着し、以下の条件で蒸留を行う。

蒸留水 : 50 mL

水酸化ナトリウム水溶液 : 60 mL

蒸留時間 : 5 分

7.5 滴定

(a) 又は (b) のうちどちらかで滴定を行う。

(a) ビュレットによる滴定の場合 (比色による目視)

- ① 0.1 mol/L 硫酸で滴定する。
- ② 留液が緑色→汚無色→うすい灰赤色を呈したところを終点とする。
- ③ 滴定値は小数第 2 位までを記録する。
- ④ ①~③までの操作を空試験用試料についても同様に行う。

(b) 自動滴定装置による滴定の場合

- ① 0.1 mol/L 硫酸で滴定する。
- ② 滴定装置の操作に従い、終点を検出する。
- ③ 滴定値は小数第 2 位までを記録する。

- ④ ①～③までの操作を空試験用試料についても同様に行う。

8. 計算

次の式により粗たん白質⁽⁴⁾を算出する。

$$\text{粗たん白質 (\%)} = ((T - B) \times F \times M \times A \times 2 / 1000W) \times 6.25 \times 100$$

T：終点までの滴定に要した滴定液の体積 (mL)

B：空試験値 (mL)⁽⁵⁾

F：滴定液のファクター

W：試料の測定重量 (g)

M：窒素の原子量 14.007

A：滴定に用いた硫酸の濃度 (mol/L)

6.25：窒素－たん白質換算係数

(4) 粗たん白質は小数第2位を四捨五入して小数第1位まで算出する。

(5) 空試験の滴定で、1滴で明らかに終点を越えたと判断できた場合は、空試験の滴定値を0とする。

共同試験結果

畜産物缶瓶詰（コーンドミート）の粗たん白質（ケルダール法）共同試験結果

	コーンドミート	コーンドミート	コーンドミート	コーンドミート	コーンドミート
参加試験室数	10	10	10	10	10
有効試験室数	10	10	10	10	10
粗たん白質 (%)	16.9	18.9	21.2	24.2	26.9
併行標準偏差 (S_r , %)	0.24	0.31	0.22	0.15	0.18
室間再現標準偏差 (S_R , %)	0.31	0.35	0.24	0.23	0.32
併行相対標準偏差 (RSD_r , %)	1.44	1.66	1.04	0.63	0.67
室間再現相対標準偏差 (RSD_R , %)	1.86	1.86	1.11	0.95	1.18
HorRat value	0.76	0.81	0.51	0.47	0.61

報文：

浅野正博, JAS 分析法の試験室間共同試験, "食品分析法の妥当性確認ハンドブック (永田忠博ら編)", サイエンスフォーラム, p.147-155, (2007),