

# プレスハム及びソーセージのでん粉含有率測定手順書

独立行政法人農林水産消費安全技術センター

## 1. 適用範囲

この測定方法は、日本農林規格に定めるプレスハム及びソーセージに適用する。

## 2. 測定方法の概要

試料 5 g から水酸化カリウムエタノール溶液及び 50 %エタノールを用いてでん粉を分別し、塩酸を用いてぶどう糖に加水分解する。ぶどう糖をソモギー法により定量し、得られた値に 0.9 を乗じてでん粉含有率とする。

## 3. 注意事項

- (a) 酸又はアルカリを取り扱う際には、皮膚に付いたり粉塵を吸入しないように保護メガネ、不浸透性保護手袋等を使用する等、安全に注意すること。調製する際には発熱し、蒸気が発生する場合があるので、冷却しながら排気設備のある場所で操作すること。皮膚に付着した場合はすぐに洗い流すこと。固体、調製液ともそのまま流しに捨てず、別の容器に回収し適切に処理すること。
- (b) 硫酸銅、よう素又はよう素酸カリウムを取り扱う際には、皮膚に付いたり粉塵を吸入しないように保護メガネ、不浸透性保護手袋等を使用する等、安全に注意すること。皮膚に付着した場合はすぐに洗い流すこと。固体、調製液ともそのまま流しに捨てず、別の容器に回収し適切に処理すること。
- (c) 糖化又は還元操作の際、三角フラスコに冷却管を付けた状態は転倒しやすいので、沸騰水浴中で加熱する場合は、重り（フラスコダイバーリング等）を使用するか固定等して、転倒しないように注意すること。また、ガラス球は落下しやすいので取り扱いに注意すること。
- (d) 糖化又は還元操作でガスバーナー等又は熱湯を使用する際には火傷に注意すること。

## 4. 試薬等

試薬は、以下のものを用いる。JIS 番号を記載している試薬は、JIS に規定するもの又はこれと同等以上のものを用いる。

- (a) 水：蒸留法もしくはイオン交換法によって精製したもの又は逆浸透膜法、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 K 8008 に規定する A2 以上の品質を有するもの。
- (b) 水酸化カリウム：JIS K 8574 に規定するもの。
- (c) エタノール(99.5)：JIS K 8101 に規定するもの。
- (d) エタノール(95)：JIS K 8102 に規定するもの。

- (e) 塩酸：JIS K 8180 に規定するもの。
- (f) 水酸化ナトリウム：JIS K 8576 又は JIS K 8826 に規定するもの。
- (g) (+)-酒石酸ナトリウムカリウム四水和物：JIS K 8536 に規定するもの。
- (h) リン酸三ナトリウム・12水：JIS K 9012 に規定するもの。
- (i) 硫酸銅(Ⅱ)五水和物：JIS K 8983 に規定するもの。
- (j) よう素酸カリウム：JIS K 8922 に規定するもの。滴定用溶液 (0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液) を標定する場合は、JIS K 8005 に規定する容量分析用標準物質を用いる。
- (k) しゅう酸カリウム一水和物：JIS K 8522 に規定するもの。
- (l) よう化カリウム：JIS K 8913 に規定するもの。
- (m) 硫酸：JIS K 8951 に規定するもの。
- (n) 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液：容量分析用のもの。
- (o) でんぷん：溶性のものを使用する。
- (p) メチルレッド：JIS K 8896 に規定するもの。
- (q) チオ硫酸ナトリウム五水和物：JIS K 8637 に規定するもの。滴定用溶液 (0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液) を調製する場合に用いる。
- (r) 炭酸ナトリウム：JIS K 8625 に規定するもの。滴定用溶液 (0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液) を調製する場合に用いる。
- (s) 3-メチル-1-ブタノール (イソアミルアルコール又はイソペンチルアルコール)：JIS K 8051 に規定するもの。滴定用溶液 (0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液) を調製する場合に用いる。
- (t) よう素：JIS K 8920 に規定するもの。でんぷん指示薬の性能確認試験を行う際に用いる。

## 5. 器具及び装置等

試験に用いる器具及び装置は、次のとおりとする。

### 5.1 測定に使用する器具及び機器

- (a) 電子天びん：1 mg を量ることができるもの
- (b) 遠心分離機：50 mL 以上の容量の遠心沈殿管を入れて使用でき、その際の遠心力を  $1600 \times g$  以上 (最大半径 16 cm 程度のローターを使用した際の回転数が 3000 rpm 以上) に設定できるもの。
- (c) 水浴：抽出に使用する場合は、80 ~ 95 °C の水温を維持できるもの。糖化に使用する場合は沸騰した状態を維持できるもの。還元を使用する場合は激しく沸騰した状態を維持できるもの。
- (d) 加熱装置：出力可変式で三角フラスコを熱することが可能なもの。冷却器を付けた三角フラスコ (100 mL) に水 30 ml を入れ、3 分以内に沸騰させる能力を有し、火力等を弱めて、蒸気が還流する状態を持続することが可能なもの。還元に使用する。
- (e) 遠心沈殿管：容量 50 mL 以上で、使用する遠心分離機のローターに適合したも

の。95 %エタノール、水酸化カリウム (濃度 6.8 %以上)、95 °C以上の熱に耐性のあるもの。

- (f) 三角フラスコ：呼び容量 100 mL 還元及び及び滴定に使用する。呼び容量 300 ~ 500 mL 糖化に使用する。
- (g) 冷却器：三角フラスコの口にすり合わせ又はゴム栓で接続できるもの。還流冷却器<sup>(1)</sup>又はガラス管を用いる。糖化及び還元を用いる。
- (h) ガラス球：三角フラスコの口のの上に載せられる大きさのもの。
- (i) 全量フラスコ：呼び容量 500 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (j) 全量ピペット：呼び容量 10、20 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (k) メスシリンダー：JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。呼び容量 50 ~ 100、200 ~ 250 mL 抽出に使用する。20 ~ 50 mL 糖化に使用する。100、200、250、500、1000 mL 試薬調製に使用する。
- (l) ビーカー：呼び容量 50、100、500、1000、2000 mL 試薬調製に使用する。
- (m) ビュレット：25 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (n) マイクロピペット：JIS K 0970 に規定するもの。

(1) 還流冷却器は、空冷式、水冷式のどちらでもよい。

## 5.2 滴定用溶液の標定に使用する器具

- (a) 乾燥器：130 °Cに設定した場合の温度調節精度が± 2 °Cであるもの。
- (b) 共通すり合わせ三角フラスコ：200 ~ 300 mL JIS R 3503 に規定するもの又はそれに準ずるもの。
- (c) 全量ピペット：25 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (d) 全量フラスコ：250 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (e) ビュレット：25 mL JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (f) デシケーター：JIS K 8001 に規定するもの。すなわち、乾燥剤として JIS Z 0701 に規定するシリカゲル (A 型 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、その色に変色したときには約 130 °Cで加熱して再生する。

## 6. 試薬の調製

試薬調製は、次のとおり行う。試薬調製量は必要に応じて変更してよい。また、同一組成の市販品を使用してもよい。

### 6.1 6.8 %水酸化カリウム・95 %エタノール溶液<sup>(2)</sup>

水酸化カリウム 80 g を量りとり、メスシリンダーで水 40 mL を加えて溶解し、次いでメスシリンダーでエタノール(99.5)960 mL を加えてよく混合する。耐アルカリ性の容器に入れて保存する。

### 6.2 3.4 %水酸化カリウム・50 %エタノール溶液<sup>(2)</sup>

水酸化カリウム 40 g を量りとり、メスシリンダーで水 500 mL を加えて溶解し、次いでメスシリンダーでエタノール(99.5)500 mL を加えてよく混合する。耐アルカリ性の容器に入れて保存する。

### 6.3 95 %エタノール

エタノール (99.5) 960 mL に水 40 mL を加えてよく混合する。容量を量る容器はメスシリンダーを使用する。

### 6.4 50 %エタノール

エタノール (99.5) 500 mL に水 500 mL を加えてよく混合する。容量を量る容器はメスシリンダーを使用する。

### 6.5 25 %塩酸

塩酸 675 mL に水 325 mL を徐々に加えてよく混合し、放冷した後気密容器に入れて保存する。容量を量る容器はメスシリンダーを使用する。

### 6.6 10 %塩酸

25 %塩酸 40 mL に水 60 mL を徐々に加えてよく混合し、放冷した後気密容器に入れて保存する。

### 6.7 40 %水酸化ナトリウム溶液

水酸化ナトリウム約 400 g を量りとり、ビーカー等で冷却しながら水に溶解して 1 L とする。耐アルカリ性の容器に入れて保存する。

### 6.8 10 %水酸化ナトリウム溶液

40 %水酸化ナトリウム溶液 25 mL に水 75 mL を徐々に加えてよく混合し、放冷した後耐アルカリ性の容器に入れて保存する。

### 6.9 ソモギー第 1 液<sup>(3)</sup>

- ① (+)-酒石酸ナトリウムカリウム四水和物 45 g とりん酸三ナトリウム・12 水 113 g をビーカーに量りとり、水をおよそ 700 mL の標線まで加えて加温溶解する。
- ② 新たにビーカーで硫酸銅(II)五水和物 15 g を水で加温溶解して約 100 mL とする。
- ③ ①に②を加え、よく混合して加温溶解する。
- ④ ③による素酸カリウム 1.8 g を少量の水で溶かしたものを加え、すべて溶解したことを確認してから室温まで冷却し、水で全量を 1 L とする。

### 6.10 ソモギー第 2 液

ビーカーにしゅう酸カリウム一水和物 90 g とよう化カリウム 40 g を量りとり、水で溶解して 1 L とする。褐色瓶に保存する。この溶液は一週間程度で黄色に着色する。黄色に着色した場合は劣化しているので、再調製する。

### 6.11 1 mol/L硫酸

あらかじめ水を入れたビーカーに、メスシリンダーで硫酸 60 mL を加えて放冷し、水で 1 L とする。

## 6.12 でんぷん指示薬

### (a) でんぷん指示薬の調製

でんぷん 1 g を水約 10 mL とよく混和し、100 °C 付近の熱水 100 mL 中にかき混ぜながら加える。これを引き続き煮沸し、透明になったら<sup>(4)</sup>室温で冷却して上澄みを取るか又はろ紙でろ過する。調製したでんぷん指示薬はガラス若しくは樹脂製のフタ付容器に移し、冷蔵で保管する。室温に戻してから使用する。

### (b) 0.05 mol/L よう素溶液の調製

0.05 mol/L よう素溶液は、(c) のでんぷん指示薬の性能確認で必要となる。

ビーカーによう化カリウム 40 g を量りとり、水約 25 mL とよう素 13 g を入れて溶解した後、水を加えて 1 L とする。これに塩酸 3 滴を加えて混合した後、気密容器に入れて保存する。

### (c) でんぷん指示薬の性能確認

でんぷん指示薬 1 mL をマイクロピペットで採取して、メスシリンダーで水 20 mL を加え、これにマイクロピペットで 0.05 mol/L よう素溶液 0.01 mL を加えて青色を呈することを確認する。

## 6.13 メチルレッド指示薬

メチルレッド 0.2 g をメスシリンダーで 95 % エタノール 100 mL を加えて溶解する。この溶液は褐色ガラス瓶に保存する。

## 6.14 硫酸 (1+1)

メスシリンダーで水 1 容をビーカー等に量りとり、これを冷却し、かき混ぜながらメスシリンダーで硫酸 1 容を徐々に加え、放冷する。

## 6.15 滴定用溶液

滴定用溶液には 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液を使用する。市販品を用いてもよい。また、JIS K 8001 又は日本薬局方に規定する方法で調製及び標定してもよい。

### (a) 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の調製

チオ硫酸ナトリウム五水和物 12.5 g と炭酸ナトリウム 0.2 g を量りとり、メスシリンダーで新たに 15 分間沸騰させて冷却した水 1 L を加えて溶解し、3-メチル-1-ブタノールを 5 ~ 8 mL を加えて混合した後、気密容器に入れて保存する。調製後 2 日間放置したものを用いる。

### (b) 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の標定

ファクターが 3 桁以上記載されている市販品を用いる場合は、標定を行わなくてもよい。ただし、開封してから時間が経過している場合は標定を行う。

容量分析用標準物質のよう素酸カリウム 1 g を 130 °C で 2 時間加熱した後、デシケーターに入れて放冷する。その 0.3 ~ 0.4 g を全量フラスコ (250 mL) に 0.1 mg の桁まで量りとり、水を加えて溶かし、水を標線まで加える。その 25 mL を全量ピペット (25 mL) で共通すり合わせ三角フラスコ (200 ~ 300 mL) に量り取る。これによう化カリウム約 2 g と硫酸 (1+1) 2 mL を加え、直ちに栓をして穏やかに振り混ぜて、暗所に 5 分間放置する。ビュレット (25 mL) を用い、0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。終点間際で液の色がうすい黄色になったときにでんぷん指示薬約 0.5 mL を加える。終点は、液の青が消える点とする。

別に、水を 25 mL を全量ピペット (25 mL) で共通すり合わせ三角フラスコ (200 ~ 300 mL) に量りとり、これによう化カリウム 2 g と硫酸(1+1) 2 mL を加え、直ちに栓をして穏やかに振り混ぜて、暗所に 5 分間放置し、同一条件で空試験を行う。

### (c) 計算

ファクターは次の式によって算出する。

$$0.05 \text{ mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター} = \frac{a \times 25 / 250}{0.0017833 \times V} \times \frac{A}{100}$$

a : 量りとしたよう素酸カリウムの質量 (g)

A : よう素酸カリウムの純度 (%)

0.0017833 : 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1mL に相当するよう素酸カリウムの質量 (g)

V : 滴定に要した 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の体積 (mL)

- (2) JIS K 8574 に規定する水酸化カリウムの品質は純度85 %以上となっている。試薬の純度に応じて採取量を調整すること。
- (3) 従来の濃度の1/2となっているので注意すること。
- (4) 冷却前に食塩30 gを加えて溶解すると劣化しにくい。

## 7. 測定手順

### 7.1 抽出

- ① 試料約 5 g を遠心沈殿管に 1 mg の桁まで量りとり、メスシリンダーで 6.8 %水酸化カリウム・95 %エタノール溶液 30 mL を加えて、80 ~ 95 °C の水浴中でときどき攪拌しながら 30 分間加熱し、95 %エタノールを加熱前の液量まで加え、室温まで冷却する。
- ② 遠心分離機を用いて遠心力 1600 × g 以上で 5 分間遠心分離する。上澄み液は傾斜して静かに捨てる。
- ③ 沈殿に 3.4 %水酸化カリウム・50 %エタノール溶液を加え、沈殿を葉さじ等を用いて懸濁し、沈殿に粘りがある場合は押しつぶすようにして、砂糖など測定する上で邪魔になる物質を溶出させ、沈殿から除去する。遠心分離機を用いて遠心力 1600 × g 以上で 5 分間遠心分離する。上澄み液は傾斜して静かに捨てる。
- ④ ③の操作をもう一度繰り返す。
- ⑤ 沈殿に 50 %エタノールを加え、沈殿を葉さじ等を用いて懸濁し、沈殿に粘りがある場合は押しつぶすようにして、砂糖など測定する上で邪魔になる物質を溶出させ、沈殿から除去する。遠心分離機を用いて遠心力 1600 × g 以上で 5 分間遠心分離する。上澄み液は傾斜して静かに捨てる。
- ⑥ ⑤の操作をもう一度繰り返す。遠心分離が終了した時の上澄み液の状態が透明で、沈殿に粘りがなければ洗浄は終了とする。上澄み液が茶色に濁り、沈殿に粘りがある

場合は、さらに⑤の操作を繰り返す。

- ⑦ 洗浄が終了した沈殿を 200 mL<sup>(5)</sup> の水を用いて三角フラスコ (300 ~ 500 ml) に移す。

(5) 塩酸の濃度が変わると糖化の効率が悪くなるため、メスシリンダー又は同等以上の精度を有する器具を用いる。

## 7.2 糖化

- ① 三角フラスコに移した沈殿に 25 %塩酸 20 mL<sup>(6)</sup> を加え<sup>(7)</sup>、冷却器をつけて、沸騰水浴中で 150 分間加水分解し、冷却する<sup>(7)</sup>。
- ② 40 %水酸化ナトリウム溶液、10 %水酸化ナトリウム溶液<sup>(8)</sup> を用いて、pH5 ~ 6 に中和する<sup>(9)</sup>。溶液がアルカリ性になってしまった場合は、10 %塩酸<sup>(8)</sup> を用いて pH5 ~ 6 に調整する<sup>(7)</sup>。
- ③ 三角フラスコの内容物を全量フラスコ (500 mL) に移す。三角フラスコ及び移し替えに使用した器具を水で洗い、その洗液を全量フラスコに合わせた後、水を標線まで加え、栓をしてよく振り混ぜ、試験溶液<sup>(10)</sup> とする。

(6) 塩酸の濃度が変わると糖化の効率が悪くなるため、メスシリンダー又は同等以上の精度を有する器具を用いる。

(7) 試験を 2 日間に分ける場合、この段階で試験を中断してもよい。溶液はパラフィルムなどでふたをして冷蔵 (5 °C 以下) で保存すること。

(8) pH の調整が困難な場合は、5 %程度の溶液を使用してもよい。

(9) メチルレッド指示薬や pH メーターなどを用いて中和を確認する。メチルレッド指示薬の場合は、溶液の色が赤からやや黄味を帯びたところが pH5 ~ 6 となる。

(10) この試験溶液は冷蔵 (5 °C 以下) で 1 週間程度保存可能である。

## 7.3 還元

- (a) 加熱装置<sup>(11)</sup> により直火相当で加熱する場合<sup>(12)</sup>

試験溶液 10 mL を全量ピペット (10 mL) で三角フラスコ (100 mL) にとり、ソモギー第 1 液 20 mL を全量ピペット (20 mL) で加えて、冷却器をつけて加熱装置で強く加熱し、3 分以内に沸騰させ、沸騰後直ちに火力等を弱めて、蒸気が還流する状態で 15 分間沸騰を持続した後、冷却器をはずさずに速やかに流水中で冷却する。なお、このとき空気との接触を避けるため、溶液を動揺させないようにする<sup>(13)</sup>。

- (b) 沸騰水浴により加熱する場合

試験溶液 10 mL を全量ピペット (10 mL) で三角フラスコ (100 mL) にとり、ソモギー第 1 液 20 mL を全量ピペット (20 mL) で加えて、ガラス球を口の上に乗せ<sup>(14)</sup>、激しく沸騰している水浴中で 25 分間加熱した後、ガラス球を口の上に乗せたまま速やかに流水中で冷却する。なお、このとき空気との接触を避けるため、溶液を動揺させないようにする<sup>(13)</sup>。

- (c) 空試験

空試験は試験溶液の代わりに水 10 mL を用い、それ以外は試験溶液を分析する場合と同様の試薬・器具を用い、同一の操作を行って求める。

- (11) ガスバーナーやケルダール分解台等。
- (12) 沸石や消泡剤を使用してもよい。ただし、使用しても空試験の滴定値に変動がないことを確認すること。
- (13) 生成した酸化銅が空気にふれない様に注意する。
- (14) 冷却器を用いてもよい。

#### 7.4 滴定

- ① 冷却後、冷却器またはガラス球をはずし、ソモギー第 2 液 10 mL<sup>(15)</sup> を静かに加え、次に 1 mol/L 硫酸 10 mL<sup>(15)</sup> を加えてよく混合して赤色沈殿を溶解し、2 分間放置する。
- ② ビュレット (25 mL) を用いて 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定する。試験溶液が褐色から緑色にかわり、さらに滴定を進め微青緑色になったら、でんぷん指示薬 0.5 mL<sup>(15)</sup> を加え混合し、0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で再び滴定する。滴定の終点は黒色が消失し明るい青色<sup>(16)</sup> となった点とし、0.01 mL の桁まで記録する。

- (15) オートピペット、駒込ピペット等を用いて加える。
- (16) 過剰にチオ硫酸ナトリウムを加えても、この色は変化しないので、注意すること。

### 8. 計算

$$\text{でん粉含有率(\%)} = \frac{(B - A) \times F \times 0.001449 \times 500 / 10}{S} \times 0.9 \times 100$$

A : 本試験における 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量 (mL)

B : 空試験における 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液の滴定量 (mL)

F : 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液のファクター

S : 量りとした試料の質量 (g)

0.001449 : 0.05 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液 1 mL に相当するぶどう糖の重量 (g)

0.9 : ぶどう糖からでん粉に換算するための係数

### 試験用試料の調製

製品を粉碎器等で均質化し試料とする。

## **共同試験結果**

### **加熱装置により直火相当で加熱する方法**

- (1) 参加試験室数 : 10
- (2) マテリアル数 : 6
- (3) 濃度 : 0.2 ~ 7.3 %
- (4) 併行標準偏差 ( $S_f$ ) : 0.054 ~ 0.11
- (5) 室間再現標準偏差 ( $S_R$ ) : 0.095 ~ 0.25
- (6) 併行相対標準偏差 ( $RSD_f$ ) : 1.2 ~ 38.4 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) : 3.5 ~ 64.1 %

### **沸騰水浴により加熱する方法**

- (1) 参加試験室数 : 10
- (2) マテリアル数 : 6
- (3) 濃度 : 0.1 ~ 7.4 %
- (4) 併行標準偏差 ( $S_f$ ) : 0.060 ~ 0.18
- (5) 室間再現標準偏差 ( $S_R$ ) : 0.10 ~ 0.22
- (6) 併行相対標準偏差 ( $RSD_f$ ) : 1.4 ~ 56.4 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 ( $RSD_R$ ) : 2.6 ~ 96.7 %

履歴

年月日	改訂内容等
2009/02/09	プレスハム、ソーセージ及び混合ソーセージのでん粉含有率について、規格の記載に比べて詳細な手順書を用いた共同試験(2008/08-09)の結果を妥当性確認調査検討・評価委員会で評価し、測定方法の妥当性が確認された。
2009/07/13	プレスハム、ソーセージ及び混合ソーセージの日本農林規格のでん粉含有率測定方法改正。(手順を詳細に記載。)
2010/08/30	手順書(2009)新規作成(2008年共同試験手順書の体裁変更)。
2014/08/14	混合ソーセージの日本農林規格廃止。
2014/08/19	手順書(2009)から混合ソーセージの記載を削除し、手順書(2014)を作成。