

# 栄養表示基準における 栄養成分の分析方法

塩試料における操作手順書

公益財団法人塩事業センター 海水総合研究所  
2016年5月



本手順書は、消費者庁 衛新 13 号「栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について」(通知法)にもとづいた、塩試料を分析するための操作手順である。塩の性質を考慮し、通知法を一部変更している。

<<目次>>

1. たんぱく質 .....1
2. 脂質.....3
3. 炭水化物.....5
4. 熱量.....7
5. ナトリウム .....8

ゼロと表示できる基準値, 誤差範囲

栄養成分	0と表示できる基準	誤差範囲
たんぱく質	0.5 g/100 g	-20 % ~+20 % ただし, 2.5 g/100 g 未満の場合±0.5 g
脂質	0.5 g/100 g	-20 % ~+20 % ただし, 2.5 g/100 g 未満の場合±0.5 g
炭水化物	0.5 g/100 g	-20 % ~+20 % ただし, 2.5 g/100 g 未満の場合±0.5 g
熱量	5 kcal/100 g	-20 % ~+20 % ただし, 25 kcal/100 g 未満の場合±5 kcal
ナトリウム	0.005 g/100 g	-20 % ~+20 % ただし, 25 mg/100 g 未満の場合±5 mg

## 1. たんぱく質(全窒素定量換算法)

### 1.1 要旨

検塩を 850 °C で燃焼させ、発生した窒素酸化物を還元し、GC-TCD により窒素量を測定する。得られた窒素量にたんぱく質換算係数(6.25)を乗じてたんぱく質量とする。適用範囲は、0.5 g/100 g 以上とする。

### 1.2 装置および器具

- (1) 窒素測定装置(SUMIGRAPH NC-220F)
- (2) 石英ボート
- (3) 石英ろ紙

### 1.3 試薬

DL-Aspartic acid(アスパラギン酸)

### 1.4 操作

- (1) 石英ろ紙を切り取り(20 mm×30 mm)、石英ボートに敷く。また、これとは別に、ふた用の石英ろ紙を用意する(10 mm×30 mm)。これを標準物質の点数、検塩の点数、PC、NC(1.4(4)参照)および予備としてさらに2個用意する。
- (2) (1)の石英ボートを全窒素測定装置で空焼きし(パージ時間 10 秒、ポンプ作動時間 100 秒、測定時間 10 秒)、室温に戻す<sup>1)</sup>。
- (3) (2)の石英ボートに検塩 0.5 g を正しくはかり取り、(1)で用意したふた用の石英ろ紙を被せる<sup>2)</sup>。
- (4) (2)の石英ボートに塩化ナトリウムを 0.5 g はかり取ったものを NC、また、塩化ナトリウムを 0.5 g はかり取り、これに DL-Aspartic acid を 0.019 g 加えたものを PC とし、(1)で用意したふた用の石英ろ紙を被せる。
- (5) 装置を調整し、反応温度 850 °C、還元温度 600 °C、パージ時間 60 秒、ポンプ作動時間 300 秒、測定時間 100 秒として、検塩を燃焼させ、得られたクロマトグラムから、ピーク面積を読み取る。
- (6) 別に作成した検量線から、検塩に含まれる窒素量を求める。

### 1.5 検量線の作成

- (1) 1.4(2)の石英ボートに DL-Aspartic acid(アスパラギン酸)を 0.0038 g, 0.019 g, 0.038 g(窒素として、各 0.0004 g, 0.002 g, 0.004 g)秤量し、1.3(1)で用意したふた用の石英ろ紙を被せる。
- (2) 1.4(5)に従い、ピーク面積を読み取り、窒素量(g)とピーク面積の関係線を作り、検量線とする。

$$\text{窒素量(g)} = \text{アスパラギン酸量(g)} \times \frac{14}{133.1}$$

## 1.6 計算と表示

たんぱく質量は次式によって求める<sup>3,4)</sup>。また、たんぱく質量が 0.5 g/100 g 未満の場合、0 g/100 g と表示する。

$$\text{たんぱく質(g/100 g)} = \frac{\text{窒素量(g)} \times 6.25}{\text{検塩量(g)}} \times 100$$

### 留意事項

- 1) 空焼き後の石英ボートおよび石英ろ紙を取り扱う際には、手袋を着用し、金属製のピンセットを用いる。
- 2) ハロゲンを多く含む試料を測定する場合は、配管を腐食させるため、試料量は 0.5 g までとする。また、塩化ナトリウムの昇華を抑制するため、石英ろ紙でふたを被せる。
- 3) 6.25 は、窒素をたんぱく質に換算するための係数である。
- 4) NC は約 0 %、PC は 80 % 以上の回収率が得られることを確認する。

## 2. 脂質(エーテル抽出法)

### 2.1 要旨

検塩をジエチルエーテル, または, 石油エーテルなどの溶剤で抽出し, 溶剤を留去後, 乾燥させて残った抽出物量を脂質量とする. 本法の適用範囲は, 0.01 g/100 g 以上とする.

### 2.2 装置および器具<sup>1)</sup>

- (1) 電気定温乾燥器<sup>2)</sup>
- (2) ホットスターラー
- (3) ロータリーエバポレーター
- (4) ナスフラスコ 200-mL
- (5) ビーカー 200-mL
- (6) 脱水用ろ紙 Whatman 製 1PS

### 2.3 試薬

- (1) 水 超純水を用いる
- (2) 塩化ナトリウム(残留農薬・PCB 試験用)
- (3) ジエチルエーテル(残留農薬・PCB 試験用)
- (4) 石油エーテル(残留農薬・PCB 試験用)

### 2.4 操作

- (1) ナスフラスコを 100 °C に設定した乾燥器に入れて 1 時間乾燥させ, デシケーターで 1 時間放冷後, 重量( $W_0$  g)をはかる<sup>3)</sup>.
- (2) ビーカーに検塩 20 g を正しくはかりとり, 水 100 mL を加えて溶解する. また, かん水の場合は, ビーカーに 100 g をはかりとる. なお, 不溶解分がある場合は, ビーカーに時計皿を被せて, 70~80 °C で 30~40 分間加熱する.
- (3) (2)の溶液を三角フラスコに移し, ビーカーをエーテル 20 mL で洗浄し, 洗液を三角フラスコに加える. 石油エーテル 25 mL を三角フラスコに加えて, 30 分間攪拌する.
- (4) 静置後, 駒込ピペットやパストゥールピペットでエーテル層(上層)を分取し, 脱水用ろ紙 1PS をセットしたロートにより脱水しながらナスフラスコに移す.
- (5) 再び, エーテルと石油エーテルを各 15 mL ずつ三角フラスコに加えて, 30 分間攪拌する<sup>4)</sup>.
- (6) (4)と同様に, エーテル層を分取し, 脱水しながらナスフラスコに合わせる.
- (7) (6)のナスフラスコをロータリーエバポレーターに設置し, 濃縮, 乾固させる.
- (8) (7)のナスフラスコ外側の水分を拭き取り, 100 °C に設定した乾燥機で 1 時間乾燥, デシケーターで 1 時間放冷する.
- (9) (8)のナスフラスコの重量( $W$  g)を求める<sup>5)</sup>.

## 2.5 計算と表示

脂質量は次式によって求める。また、脂質量が0.5 g/100 g未満の場合、0 g/100 gと表示する。

$$\text{脂質量(g/100 g)} = \frac{W(\text{g}) - W_0(\text{g})}{\text{検塩量(g)}} \times 100$$

### 留意事項

- 1) 使用する器具は、予めメタノール(1級)とアセトン(1級)で洗浄する。
- 2) 100℃の設定が可能なものを用いる。
- 3) 測定は Blank と試料(×2)で行う。
- 4) 2回目の抽出時、界面が分かりにくい場合は、水を入れると確認しやすい(水相がナスフラスコに入ると、濃縮・乾固時に NaCl が析出する為、注意する)。
- 5) ナスフラスコの重量( $W$  g)は5分置きにはかり、同じ値(0.02 g以内)を保つことを確認する。

### 3. 炭水化物

#### 3.1 スクリーニング(フェノール硫酸法)

##### 3.1.1 要旨

検液にフェノール溶液を混合し、濃硫酸を添加することで橙色に発色させ、490 nm の吸光度を測定する。

##### 3.1.2 装置および器具

- (1) 分光光度計
- (2) 吸収セル 光路長 10 mm の石英製のものをを用いる。

##### 3.1.3 試薬

- (1) フェノール溶液(5%)  
フェノール 5 g を水 100 mL に溶解する。
- (2) グルコース標準液(30 mg/L)  
グルコース 0.03 g をメスフラスコ(1-L)に移し入れ、溶解後、標線まで水を加える。
- (3) グルコース標準液(3 mg/L)  
メス線付プラスチック容器(50-mL)に塩化ナトリウム 5 g を入れ、水を加えて溶解する。これに(2)のグルコース標準液(30 mg/L)5 mL を正しくはかりとり、水を加え、50 mL に定容する。
- (4) 濃硫酸

##### 3.1.4 操作

- (1) 検塩 0.1 g をビーカー(30-mL)にはかり、水 1 mL で溶解する。また、塩化ナトリウム 0.1 g を同様に処理し、ブランク溶液とする。
- (2) フェノール溶液(5%)1 mL を加え、攪拌する。
- (3) ドラフト内で、濃硫酸 5 mL を素早く液面に加え、約 10 秒スターラーで攪拌後、30 分間静置し、測定溶液とする<sup>1)</sup>。
- (4) ブランク溶液を対照液として、490 nm の吸光度を測定する<sup>2,3)</sup>。
- (5) グルコース標準液(3 mg/L)1 mL をビーカー(30-mL)に分取し、(2),(3),(4)を実施する。

##### 3.1.5 表示

検液の吸光度が、グルコース標準液(3 mg/L)の吸光度以上であった場合は、3.2 定量を実施し、検液の吸光度がグルコース標準液(3 mg/L)の吸光度未満であった場合は、炭水化物量を 0 g/100g と表示する。

#### 留意事項

- 1) 濃硫酸を使用する際は、手袋、保護メガネおよび白衣を着用し、ドラフト内で作業する。また濃

硫酸を添加する際に、発熱および発泡を伴うので注意を要する。

- 2) 沈殿が生成した場合、遠心分離後、上澄み液を用いる
- 3) セルに溶液を入れるときはパスツールピペットを用いる。溶液を出すときおよび水で洗浄するときも同様にパスツールピペットを用いる。これは、溶液の粘性が高く、溶液の出し入れによるばらつきを抑制するためである。

### 3.2 定量(差し引き法)

#### 3.2.1 要旨

試料 100 g 当たりのたんぱく質量、脂質量、灰分量及び水分量を、100 から差し引いて炭水化物量とする。本項は、3.1.5(1)において、グルコース標準液(3 mg/L)の吸光度以上であった試料について実施する。

#### 3.2.2 水分量

- (1) 塩試験方法第 4 版 A 4.2 乾燥減量(140 °C 乾燥法)の測定値を水分量とする。

#### 3.2.3 灰分

- (1) 塩試験方法第 4 版 A 8.1 加熱減量(600 °C 加熱法)の測定値を 100 から差し引いた値を灰分量とする。

#### 3.2.4 計算と表示

- (1) 炭水化物量は次式によって求める。また、炭水化物量が 0.5 g/100 g 未満の場合、0 g/100 g と表示する。

$$\text{炭水化物量(g/100 g)} = 100 - \text{たんぱく質量(g/100 g)} - \text{脂質量(g/100 g)} - \text{水分量(g/100 g)} - \text{灰分量(g/100 g)}$$



#### 4. 熱量(修正アトウォーター法)

##### 4.1 要旨

熱量は、試料 100 g 当たりのたんぱく質量、脂質量および炭水化物量に、成分ごとに定められた換算係数を乗じて算出する。

##### 4.2 計算と表示

熱量は次式によって求める。また、熱量が 5 kcal/100 g 未満の場合、0 kcal/100 g と表示する。

$$\begin{aligned} \text{熱量(kcal/100 g)} = & \text{たんぱく質量(g/100 g)} \times 4 \text{ kcal/g} + \text{脂質量(g/100 g)} \times 9 \text{ kcal/g} \\ & + \text{炭水化物量(g/100 g)} \times 4 \text{ kcal/g} \end{aligned}$$

## 5. ナトリウム(ICP-OES 法)

### 5.1 要旨

高周波により形成されたアルゴンの誘導結合プラズマ(ICP)中に検液を噴霧し、ナトリウムの特定波長の発光を測定してナトリウムを定量する。本法の適用範囲は、28~39 %とする。

### 5.2 装置および器具

- (1) 誘導結合プラズマ発光分光分析装置
- (2) 振盪器

### 5.3 試薬

- (1) 水 超純水を用いる。
- (2) ナトリウム標準液(1000 mg/L)
- (3) イットリウム標準液(1000 mg/L)
- (4) 塩酸(10 %)

### 5.4 操作

- (1) 試料 1 g を 50-mLメス線付プラスチック容器にはかり、塩酸(10 %) 5 mL を加え、水で 50 mL に定容する。
- (2) 振盪器で 15 分間振盪させ検液とする。
- (3) 検液 2.5 mL をメスフラスコ(100-mL)に入れ、超純水で定容する。
- (4) 検液をプラズマ中に噴霧させ、ナトリウムの波長 330.237 nm の発光強度を測定し、別に作成した検量線から目的成分の含有量を求める。

### 5.5 検量線の作成

- (1) 5.3(1)の標準原液をメスフラスコに段階的に正しくはかりとり、塩酸(10 %) 5 mL 加え、140, 160, 180, 200 mg/Lとする。
- (2) ナトリウム標準原液の各濃度に対する、ナトリウムの発光強度とイットリウム(10 mg/L)の発光強度の比の関係線を作成し、検量線とする。

### 5.6 計算と表示

ナトリウム量は次式によって求める。

$$\text{ナトリウム量(g/100g)} = \frac{\text{ナトリウム濃度(mg/L)} \times \frac{100 \text{ mL}}{2.5 \text{ mL}} \times 0.05 \text{ L}}{\text{検塩量(g)} \times 1000} \times 100$$

## 文献

### たんぱく質

- ・ 厚生省生活衛生局食品保健課, “栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について 衛新第 13 号” (1999)
- ・ 社団法人日本食品衛生協会, “食品衛生検査指針 理化学編” (2005)
- ・ Y. Nakayama and Y. Noda, “Development and improvement of method for inspecting road deicing salt (Part 2) -Examination of a total nitrogen measuring method based on thermal decomposition-”, *Bull. Soc. Sea Water Sci., Jpn.*, **67**, 229-231 (2013)
- ・ 東京都福祉局, “食品に栄養表示するときは……—栄養表示基準について—” (2005)

### 脂質

- ・ 厚生省生活衛生局食品保健課, “栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について 衛新第 13 号” (1999)
- ・ 東京都福祉局, “食品に栄養表示するときは……—栄養表示基準について—” (2005)

### 炭水化物

- ・ M.Dubois, K.A.Gilles, J.K.Hamilton, P.A.Rebers and F.Smith, “Colorimetric method for determination of sugars and related substances” *Anal. Chem.*, **28**, pp 350–356 (1956)
- ・ 安本教傳、竹内昌昭、安井明美、渡邊智子編, “五訂増補日本食品標準成分表分析マニュアル” (2006)
- ・ 厚生省生活衛生局食品保健課, “栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について 衛新第 13 号” (1999)
- ・ 財団法人 塩事業センター, “塩試験方法第 4 版” (2013)
- ・ 東京都福祉局, “食品に栄養表示するときは……—栄養表示基準について—” (2005)
- ・

### 熱量

- ・ 厚生省生活衛生局食品保健課, “栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について 衛新第 13 号” (1999)
- ・ 東京都福祉局, “食品に栄養表示するときは……—栄養表示基準について—” (2005)

### ナトリウム

- ・ 厚生省生活衛生局食品保健課, “栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について 衛新第 13 号” (1999)
- ・ 東京都福祉局, “食品に栄養表示するときは……—栄養表示基準について—” (2005)