

4 健増第 212 号  
4 食生第 240 号  
令和 4 年（2022 年）9 月 6 日

関係団体の長 様

長野県健康福祉部長

「食品表示基準について」の一部改正について（通知）

このことについて、令和 4 年 8 月 30 日付け消食表第 350 号により、消費者庁次長から別添のとおり通知がありましたので、御了知願います。

長野県健康福祉部健康増進課食育・栄養係  
（課長）久保田 敏広（担当）牧野 光沙  
電 話 026-235-7116（直通）  
F A X 026-232-7170  
E-mail kenko-zoshin@pref.nagano.lg.jp

長野県健康福祉部食品・生活衛生課食品衛生係  
（課長）久保田 耕史（担当）河原 慎一郎  
電 話 026-235-7155（直通）  
F A X 026-232-7288  
E-mail shokusei@pref.nagano.lg.jp



消食表第 350 号  
令和 4 年 8 月 30 日

各 

都道府県知事
保健所設置市長
特別区長

 殿

消費者庁次長  
(公印省略)

「食品表示基準について」の一部改正について

今般、消費者庁が公表した「食品表示基準における栄養成分等の分析方法等に係る調査検討事業報告書」及び文部科学省が公表した「日本食品標準成分表2020年版（八訂）分析マニュアル」を踏まえ、脂質及び食物繊維の分析方法等について見直しを行うこととしました。

また、食品衛生法施行規則（昭和23年厚生省令第23号）が一部改正され、同規則第12条の規定により別表第1に定める人の健康を損なうおそれのない添加物として、新たに「炭酸水素カリウム」が追加されたことから、別添 添加物 1 - 1 の簡略名又は類別名一覧表に「炭酸水素カリウム」を追加することとしました。

については、上記に係る事項について、別紙新旧対照表のとおり「食品表示基準について（平成 27 年 3 月 30 日消食表第 139 号）」の一部を改正しましたので、関係者に対する周知をお願いします。



(別紙)

食品表示基準について (新旧対照表)

改正後 (新)		改正前 (旧)	
食品表示基準について (平成 27 年 3 月 30 日消費表第 139 号)		食品表示基準について (平成 27 年 3 月 30 日消費表第 139 号)	
(総則関係) ~ (附則) (略)		(総則関係) ~ (附則) (略)	
別添 添加物 1-1		別添 添加物 1-1	
簡略名又は類別名一覧表		簡略名又は類別名一覧表	
物質名	簡略名又は類別名	物質名	簡略名又は類別名
(略)	(略)	(略)	(略)
炭酸カルシウム	炭酸 Ca	炭酸カルシウム	炭酸 Ca
炭酸水素カリウム	炭酸水素 K, 炭酸 K, 重炭酸 K	(新設)	(新設)
炭酸水素ナトリウム	炭酸水素 Na, 重炭酸 Na, 重曹	炭酸水素ナトリウム	炭酸水素 Na, 重炭酸 Na, 重曹
(略)	(略)	(略)	(略)
別添 添加物 1-2 ~ 別添 添加物 2-3 (略)		別添 添加物 1-2 ~ 別添 添加物 2-3 (略)	
別添 栄養成分等の分析方法等		別添 栄養成分等の分析方法等	
通則	1	通則	1
1 (略)		1 (略)	
2 脂質	8	2 脂質	8
(1) ゲルベル法	9	(1) ゲルベル法	8
(2) 溶媒抽出-重量法	10	(2) 溶媒抽出-重量法	9

1)	エーテル抽出法	10	エーテル抽出法	9
2)	クロホルム・メタノール混液抽出法	13	クロホルム・メタノール混液抽出法	12
3)	酸分解法	14	酸分解法	13
4)	レーゼゴットリーブ法	16	レーゼゴットリーブ法	15
5)	酸・アンモニア分解法	17	酸・アンモニア分解法	16
6)	ヘキサニン・イソプロパノール法	19	(新設)	
3	飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸	20	飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸	18
(1)	ガスクロマトグラフ法	20	(1) ガスクロマトグラフ法	18
1)	脂質の抽出I (けん化法)	21	1) 脂質の抽出I (けん化法)	19
2)	脂質の抽出II (酸分解法)	23	2) 脂質の抽出II (酸分解法)	20
3)	脂肪酸メチルエステルの調製	23	3) 脂肪酸メチルエステルの調製	21
4)	ガスクロマトグラフ法	24	4) ガスクロマトグラフ法	22
4	コレステロール	26	4 コレステロール	24
(1)	ガスクロマトグラフ法	26	(1) ガスクロマトグラフ法	24
5	炭水化物	29	5 炭水化物	27
ア	灰分	30	ア 灰分	27
(1)	酢酸マグネシウム添加灰化法	30	(1) 酢酸マグネシウム添加灰化法	28
(2)	直接灰化法	31	(2) 直接灰化法	28
(3)	硫酸添加灰化法	32	(3) 硫酸添加灰化法	30
イ	水分	33	イ 水分	31
(1)	カルファイシヤ法	33	(1) カルファイシヤ法	31
(2)	乾燥助剤法	36	(2) 乾燥助剤法	34
(3)	減圧加熱乾燥法	37	(3) 減圧加熱乾燥法	35
(4)	常圧加熱乾燥法	38	(4) 常圧加熱乾燥法	36
(5)	プラスチックフィルム法	40	(5) プラスチックフィルム法	38
6	糖質	41	6 糖質	39

7	糖類	41	7	糖類	39
(1)	ガスクロマトグラフ法	42	(1)	ガスクロマトグラフ法	40
(2)	高速液体クロマトグラフ法	44	(2)	高速液体クロマトグラフ法	42
8	食物繊維	47	8	食物繊維	45
(1)	プロスキュー法 (酵素-重量法)	47	(1)	プロスキュー法 (酵素-重量法)	45
(2)	高速液体クロマトグラフ法	51	(2)	高速液体クロマトグラフ法 (酵素-HPLC法)	49
1)	酵素-HPLC法1	51	(新設)		
2)	酵素-HPLC法2	55	(新設)		
9	亜鉛	61	9	亜鉛	53
(1)	原子吸光度法	61	(1)	原子吸光度法	53
(2)	キレート抽出-原子吸光度法	62	(2)	キレート抽出-原子吸光度法	54
(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	64	(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	56
10	カリウム	65	10	カリウム	57
(1)	原子吸光度法 (灰化法)	65	(1)	原子吸光度法 (灰化法)	57
(2)	原子吸光度法 (塩酸抽出法)	66	(2)	原子吸光度法 (塩酸抽出法)	58
(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	67	(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	59
11	カルシウム	68	11	カルシウム	60
(1)	過マンガン酸カリウム容量法	68	(1)	過マンガン酸カリウム容量法	60
(2)	原子吸光度法	69	(2)	原子吸光度法	61
(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	71	(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	62
12	クロム	72	12	クロム	64
(1)	キレート抽出-原子吸光度法	72	(1)	キレート抽出-原子吸光度法	64
(2)	誘導結合プラズマ発光分析法	74	(2)	誘導結合プラズマ発光分析法	65
(3)	誘導結合プラズマ質量分析法	75	(3)	誘導結合プラズマ質量分析法	67
13	セレン	77	13	セレン	69
(1)	蛍光光度法	77	(1)	蛍光光度法	69

14	鉄	(2) 水素化物 - 原子吸光度法	78	(2) 水素化物 - 原子吸光度法	70
		(3) 誘導結合プラズマ質量分析法	79	(3) 誘導結合プラズマ質量分析法	71
		(1) オルトフェナントリン吸光度法	82	(1) オルトフェナントリン吸光度法	74
		(2) 原子吸光度法	82	(2) 原子吸光度法	74
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	83	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	75
15	銅	(1) 原子吸光度法	84	(1) 原子吸光度法	76
		(2) キレート抽出-原子吸光度法	85	(2) キレート抽出-原子吸光度法	77
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	85	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	77
16	ナトリウム (食塩相当量)	(1) 原子吸光度法 (灰化法)	86	(1) 原子吸光度法 (灰化法)	78
		(2) 原子吸光度法 (塩酸抽出法)	88	(2) キレート抽出-原子吸光度法	78
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	89	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	80
17	マグネシウム	(1) ナトリウム (食塩相当量)	89	(1) ナトリウム (食塩相当量)	81
		(2) 原子吸光度法	90	(2) 原子吸光度法 (灰化法)	81
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	91	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	81
18	マンガン	(1) 原子吸光度法	92	(1) 原子吸光度法	82
		(2) キレート抽出-原子吸光度法	92	(2) 原子吸光度法 (塩酸抽出法)	82
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	93	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	83
19	モリブデン	(1) マグネシウム	95	(1) マグネシウム	84
		(2) 原子吸光度法	95	(2) 原子吸光度法	84
		(3) キレート抽出-原子吸光度法	96	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	85
20	ヨウ素	(1) 誘導結合プラズマ発光分析法	97	(1) 誘導結合プラズマ発光分析法	86
		(2) 原子吸光度法	98	(2) キレート抽出-原子吸光度法	87
		(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	98	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	89
		(1) 誘導結合プラズマ質量分析法	98	(1) モリブデン	90
		(2) 誘導結合プラズマ発光分析法	101	(2) 誘導結合プラズマ質量分析法	90
		(1) 滴定法	103	(2) 誘導結合プラズマ発光分析法	92
		(1) 滴定法	103	(1) ヨウ素	95
		(1) 滴定法	103	(1) 滴定法	95



21	リン	(2) ガスクロマトグラフ法	104	(2) ガスクロマトグラフ法	96
		(3) 誘導結合プラズマ質量分析法	105	(3) 誘導結合プラズマ質量分析法	97
	(1)	バナドモリブデン酸吸光度法	107	リン	98
	(2)	モリブデンブルー吸光度法	107	(1) バナドモリブデン酸吸光度法	98
	(3)	誘導結合プラズマ発光分析法	108	(2) モリブデンブルー吸光度法	100
22	ナイアシン	(ナイアシン当量として)	110	(3) 誘導結合プラズマ発光分析法	102
	ア	ニコチン酸及びニコチン酸アミド	111	22 ナイアシン (ナイアシン当量として)	103
	(1)	高速液体クロマトグラフ法	112	ア ニコチン酸及びニコチン酸アミド	103
	(2)	微生物学的定量法	112	(1) 高速液体クロマトグラフ法	103
	イ	トリプトファン	113	(2) 微生物学的定量法	105
	(1)	高速液体クロマトグラフ法	115	イ トリプトファン	107
	(2)	微生物学的定量法	115	(1) 高速液体クロマトグラフ法	107
23	パントテン酸		116	23 パントテン酸	108
	(1)	微生物学的定量法	117	(1) 微生物学的定量法	108
	イ	ビオチン	120	24 ビオチン	112
	(1)	微生物学的定量法	120	(1) 微生物学的定量法	112
25	ビタミンA	(レチノール活性当量として)	123	25 ビタミンA (レチノール活性当量として)	115
	ア	レチノール (ビタミンAアルコール)	124	ア レチノール (ビタミンAアルコール)	116
	(1)	高速液体クロマトグラフ法	124	(1) 高速液体クロマトグラフ法	116
	イ	カロテン	127	イ カロテン	118
	(1)	吸光度法：総カロテン	127	(1) 吸光度法：総カロテン	118
	(2)	高速液体クロマトグラフ法： $\alpha$ -カロテン、 $\beta$ -カロテン	128	(2) 高速液体クロマトグラフ法： $\alpha$ -カロテン、 $\beta$ -カロテン	120
26	ビタミンB <sub>1</sub>		132	26 ビタミンB <sub>1</sub>	123
	(1)	高速液体クロマトグラフ法	132	(1) 高速液体クロマトグラフ法	124
	(2)	チオクローム法	135	(2) チオクローム法	127
27	ビタミンB <sub>2</sub>		137	27 ビタミンB <sub>2</sub>	129

28	(1) 高速液体クロマトグラフ法	137	(1) 高速液体クロマトグラフ法	129
	(2) ルミフラビン法	139	(2) ルミフラビン法	131
	ビタミンB <sub>6</sub>	141	ビタミンB <sub>6</sub>	132
29	(1) 微生物学的定量法	141	(1) 微生物学的定量法	132
	ビタミンB <sub>12</sub>	143	ビタミンB <sub>12</sub>	135
	(1) 微生物学的定量法	143	(1) 微生物学的定量法	135
30	ビタミンC	146	ビタミンC	138
	(1) 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法	146	(1) 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン法	138
	(2) インドフェノール・キシレン法	148	(2) インドフェノール・キシレン法	139
	(3) 高速液体クロマトグラフ法	149	(3) 高速液体クロマトグラフ法	141
	(4) 酸化還元滴定法	151	(4) 酸化還元滴定法	143
	(5) 逆相高速液体クロマトグラフ法	153	(5) 逆相高速液体クロマトグラフ法	144
31	ビタミンD	155	ビタミンD	146
	(1) 高速液体クロマトグラフ法	155	(1) 高速液体クロマトグラフ法	146
32	ビタミンE	157	ビタミンE	149
	(1) 高速液体クロマトグラフ法	157	(1) 高速液体クロマトグラフ法	149
33	ビタミンK	159	ビタミンK	151
	(1) 高速液体クロマトグラフ法	159	(1) 高速液体クロマトグラフ法	151
34	葉酸	162	葉酸	153
	(1) 微生物学的定量法	162	(1) 微生物学的定量法	153
35	熱量	165	熱量	156
	(1) 修正アトウォーター法	165	(1) 修正アトウォーター法	156
	(2) アルコール	165	(2) アルコール	157
	1) 浮ひよう法	166	1) 浮ひよう法	158
	2) 振動式密度計法	166	2) 振動式密度計法	158
	3) ガスクロマトグラフ法	167	3) ガスクロマトグラフ法	159

4) 酸化法 1 . . . . . 168

5) 酸化法 2 . . . . . 169

(3) 飽和脂肪酸の熱量 . . . . . 170

(4) 有機酸 . . . . . 171

1) 高速液体クロマトグラフ法 . . . . . 171

(5) 糖アルコール類 . . . . . 172

(6) 難消化性糖質のエネルギー換算係数 . . . . . 175

(7) 食物繊維のエネルギー換算係数 . . . . . 176

通則 (略)

1 たんぱく質

(1) 窒素定量換算法

(略)

[注]

- 1) 窒素・たんぱく質換算係数を次表に示す。

下記以外の食品については、窒素・たんぱく質換算係数として

6.25 を用いる。

食 品 名	換算係数
アーモンド	5.18
アマランサス、ナッツ類 (アーモンド、ブラジルナッツ、らっかせいを除く。)、種実類 (あさ、えごま、かぼちや、けし、ごま、すいか、はす、ひし、ひまわり)	5.30
ブラジルナッツ、らっかせい	5.46

4) 酸化法 1 . . . . . 159

5) 酸化法 2 . . . . . 160

(3) 飽和脂肪酸の熱量 . . . . . 162

(4) 有機酸 . . . . . 162

1) 高速液体クロマトグラフ法 . . . . . 162

(5) 糖アルコール類 . . . . . 164

(6) 難消化性糖質のエネルギー換算係数 . . . . . 167

(7) 食物繊維のエネルギー換算係数 . . . . . 168

通則 (略)

1 たんぱく質

(1) 窒素定量換算法

(略)

[注]

- 1) 窒素・たんぱく質換算係数を次表に示す。

下記以外の食品については、窒素・たんぱく質換算係数として

6.25 を用いる。

食 品 名	換算係数
アーモンド	5.18
アマランサス、ナッツ類 (アーモンド、ブラジルナッツ、らっかせいを除く。)、種実類 (あさ、えごま、かぼちや、けし、ごま、すいか、はす、ひし、ひまわり)	5.30
ブラジルナッツ、らっかせい	5.46

ふかひれ、ゼラチン、腱(うし)、豚足、軟骨(ぶた、にわとり)	5.55	ふかひれ、ゼラチン、腱(うし)、豚足、軟骨(ぶた、にわとり)	5.55
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・スパゲタイ類、ふ類、小麦たんぱく、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮	5.70	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・スパゲタイ類、ふ類、小麦たんぱく、ぎょうざの皮、しゅうまいの皮	5.70
だいた、だいた製品(豆腐竹輪を除く)、えだまめ、だいたもやし、しょうゆ類、みそ類	5.71	だいた、だいた製品(豆腐竹輪を除く)、えだまめ、だいたもやし、しょうゆ類、みそ類	5.71
小麦(はいが)	5.80	小麦(はいが)	5.80
オートミール、おおむぎ、小麦(玄穀、全粒粉)、ライ麦	5.83	オートミール、おおむぎ、小麦(玄穀、全粒粉)、ライ麦	5.83
こめ、こめ製品(赤飯を除く。)	5.95	こめ、こめ製品(赤飯を除く。)	5.95
乳、乳製品、バター類、マーガリン類	6.38	乳及び乳製品、バター類、マーガリン類	6.38

なお、本表に記載されていない食品については、窒素・たんぱく質換算係数として、最新版の日本食品標準成分表に記載されている数値を用いることもできる。また、アミノ酸サプリメントや食品添加物等で、製品に含まれる含窒素化合物の分子式が明確な場合は、たんぱく質として利用されるアミノ酸については分子式から窒素・たんぱく質換算係数を算出し使用してもよい。それ以外の含窒素化合物については、窒素・たんぱく質換算係数を0とする。

2) (略)

[参考文献] (略)

なお、本表に記載されていない食品については、窒素・たんぱく質換算係数として、最新版の日本食品標準成分表に記載されている数値を用いることもできる。また、アミノ酸サプリメントや食品添加物等で、製品に含まれる含窒素化合物の分子式が明確な場合は、たんぱく質として利用されるアミノ酸については分子式から窒素・たんぱく質換算係数を算出し使用してもよい。それ以外の含窒素化合物については、窒素・たんぱく質換算係数を0とする。

2) (略)

[参考文献] (略)

1)・2) (略)

2 脂質

エーテル、石油エーテル等の溶剤に可溶性成分の総量を脂質とする<sup>2)</sup>。

[注]

1) 脂溶性ビタミン、カロテノイド等も脂質として定量される。通常の食品においては、脂溶性ビタミン、カロテノイド等の含量は、脂質含量と比較してごくわずかであるため、脂質に含めて定量を行う。ただし、脂溶性ビタミン、カロテノイド等を多量に含むカプセル、錠剤等の食品や食品添加物等、その寄与が無視できない場合、脂溶性ビタミン、カロテノイド等の含量を差し引いて脂質とすることができる。

2) 脂質の分析方法を選択するための参考として、フローチャートを次図に示す。

1)・2) (略)

2 脂質

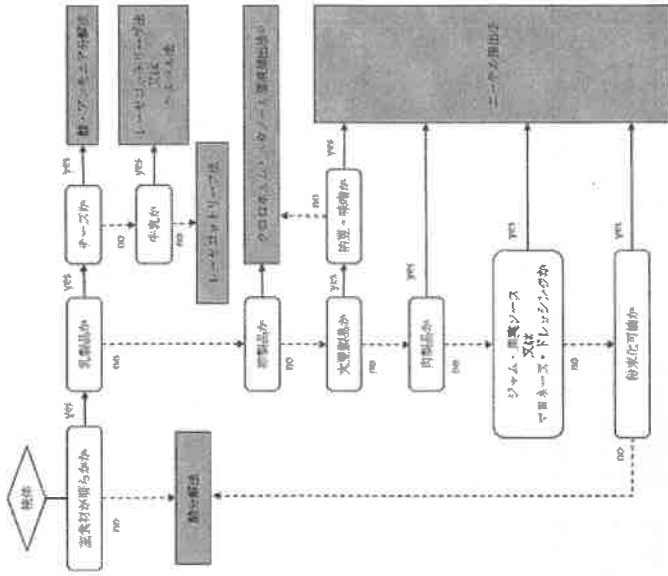
エーテル、石油エーテル等の溶剤に可溶性成分の総量を脂質とする<sup>2)</sup>。

[注]

1) 脂溶性ビタミン、カロテノイド等も脂質として定量される。通常の食品においては、脂溶性ビタミン、カロテノイド等の含量は、脂質含量と比較してごくわずかであるため、脂質に含めて定量を行う。ただし、脂溶性ビタミン、カロテノイド等を多量に含む錠剤・カプセル等のサブシメントや食品添加物等、その寄与が無視できない場合、脂溶性ビタミン、カロテノイド等の含量を差し引いて脂質とすることができる。

(新設)

(図. 参考)



1) 非常低揮発量は、ヘキサリン・ペンタリン・プロパンノール類でも代替可能。

- (1) (略)
- (2) 溶媒抽出-重量法
- 1) エーテル抽出法<sup>注1)</sup>
- ①~⑥ (略)

[注]

- 1) ~6) (略)
- 7) コーヒー焙豆、インスタントコーヒーは、AOAC 法、19 版 (30.1.17) に準じてエーテル抽出法の代わりに石油エーテル

- (1) (略)
- (2) 溶媒抽出-重量法
- 1) エーテル抽出法<sup>注1)</sup>
- ①~⑥ (略)

[注]

- 1) ~6) (略)
- 7) コーヒー焙豆、インスタントコーヒーは、AOAC 法、19 版 (30.1.17) に準じてエーテル抽出法の代わりに石油エーテルを

を用いて抽出する。

8)・9) (略)

2)・3) (略)

4) レーゼゴットリブ法

① 適用される食品

主として乳及び乳製品に用いられるが、乳脂肪を含む食品及び比較的脂質含量の高い液状又は乳状の食品にも適用される<sup>註1)</sup>。

②～⑥ (略)

[注] (略)

5) (略)

6) ヘキサシン-イソプロパノール法

① 適用される食品

卵及び卵製品に適用される。

② 装置及び器具

・吸引る過装置

・ホモジナイザー

・ロータリー-エバポレーター：一式

・電気定温乾燥器

・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

③ 試薬

・n-ヘキサシン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2 v/v)

・n-ヘキサシン-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

用いて抽出する。

8)・9) (略)

2)・3) (略)

4) レーゼゴットリブ法

① 適用される食品

主として生乳及び乳製品に用いられるが、乳脂肪を含む食品及び比較的脂質含量の高い液状又は乳状の食品にも適用される<sup>註1)</sup>。

②～⑥ (略)

[注] (略)

5) (略)

(新設)

④ 測定

試料 1 g (W) <sup>(注1)</sup> を遠心管に正確に量り取り、n-ヘキサン-イソプロピルアルコール混液 (3 : 2) 10 mL を加え、ホモジナイザーで均質化する。n-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<sup>(注2)</sup> にろ紙<sup>(注3)</sup> を敷き、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、n-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、n-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 分間浸した後、吸引ろ過する。残留物からの抽出操作をもう一度行う。ろ液を回収した分液漏斗に 6.7 % 硫酸ナトリウム水溶液 13.5 mL を加え、1 分間振り混ぜる。静置して二層に分離したことを確認後、上層を回収し、下層に n-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<sub>0</sub>) のなす形フラスコに合わせた液をとり、ロータリーエボパレーターで濃縮した後、100~105 °C の電気定温乾燥器で 1 時間乾燥し、デシケーター中で 1 時間放冷後、秤量して恒量 (W<sub>1</sub>) を求める<sup>(注4)</sup>。

⑤ 計算

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

W<sub>1</sub> : 乾燥後のなす形フラスコの質量 (g)

W<sub>0</sub> : なす形フラスコの質量 (g)

W : 試料採取量 (g)

[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。

2) 11G3 又は同等品を用いる。

3) JIS5種C 又は同等品を用いる。

4) 脂質の量が 100 mg 未満の場合は、なす形プラスチック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 飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸

(1) ガスクロマトグラフ法

(略)

1) 脂質の抽出 I (けん化法)

①・② (略)

③ 試薬

・ヘプタデカン酸：純度 98 %以上のもの

・内標準溶液：ヘプタデカン酸を 5 mg/mL の濃度となるように n-ヘキサンに溶解する。

・水酸化カリウム

・エタノール：95 v/v%

・1 mol/L 水酸化カリウム - エタノール溶液 (ただし、エタノールには水 5 v/v% を含む。)：水酸化カリウム 5.6 g をエタノールに溶解し 100 mL にする。

・エーテル

・n-ヘキサン

・ピロガロール：特級

・30 w/v% 硫酸：特級

### 3 飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸

(1) ガスクロマトグラフ法

(略)

1) 脂質の抽出 I (けん化法)

①・② (略)

③ 試薬

・ヘプタデカン酸：純度 98 %以上のもの

・内標準溶液：ヘプタデカン酸を 5 mg/mL の濃度となるように n-ヘキサンに溶解する。

・水酸化カリウム

・エタノール：95 v/v%

・1 mol/L 水酸化カリウム - エタノール溶液 (ただし、エタノールには水 5 v/v% を含む。)：水酸化カリウム 5.6 g をエタノールに溶解し 100 mL にする。

・エーテル

・n-ヘキサン

・ピロガロール：特級

・30 w/v% 硫酸：特級

<p>・硫酸ナトリウム (無水) : 特級</p> <p>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>④ 操作</p> <p>共栓付き三角フラスコに内標準溶液 1～6 mL (ヘプタデカン酸として 5～30 mg) を正確に量り取り、溶媒を留去する。試料 0.5～5 g (脂肪酸として 20～100 mg) を精密に量る。1 mol/L 水酸化カリウム - エタノール溶液 50 mL 及びピロガロール 0.5 g を加え、必要に応じて沸騰石を加えた後、冷却器を付しホットプレート上で穏やかに 30 分間加熱けん化する。室温まで冷やし分液漏斗に水 150 mL で移す。30 w/v% 硫酸を加え、pH を約 2 としてジエチルエーテル - n-ヘキサン (1:1) 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ水 40 mL で 4 回洗浄した後硫酸ナトリウム (無水) で乾燥する。これをろ過して硫酸ナトリウムを除き、なす形フラスコに抽出液を集め、溶媒をロータリーエバポレーターで留去 (40 °C 以下) する。</p>	<p>・硫酸ナトリウム (無水) : 特級</p> <p>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>④ 操作</p> <p>共栓付き三角フラスコに内標準溶液 1～6 mL (ヘプタデカン酸として 5～30 mg) を正確に量り取り、溶媒を留去する。試料 0.5～5 g (脂肪酸として 20～100 mg) を精密に量る。1 mol/L 水酸化カリウム - エタノール溶液 50 mL 及びピロガロール 0.5 g を加え、必要に応じて沸騰石を加えた後、冷却器を付しホットプレート上で穏やかに 30 分間加熱けん化する。室温まで冷やし分液漏斗に水 150 mL で移す。30 w/v% 硫酸を加え、pH を約 2 としてジエチルエーテル - n-ヘキサン (1:1) 100 mL 及び 50 mL で 2 回振とう抽出する。抽出液を合わせ水 40 mL で 4 回洗浄した後硫酸ナトリウム (無水) で乾燥する。これをろ過して硫酸ナトリウムを除き、なす形フラスコに抽出液を集め、溶媒をロータリーエバポレーターで留去 (40 °C 以下) する。</p>
<p>[注]</p> <p>1) 糖質のグリコシド結合は、酸には弱いのがアルカリにはかなり安定である。アルカリによる分解は、還元末端から糖残基が 1 つずつ離れていく形をとり、時間が掛かるとともに不完全になるため、けん化法は穀類等多糖類を多く含む食品には適さない。</p> <p>また、酪酸等の低級脂肪酸は、分析操作におけるその挙動が他の脂肪酸 (高級脂肪酸) と異なる (例えば、水に可溶であること、揮発性が高いこと)。したがって、本法は、後述の脂質の抽出 II の方法を合め低級脂肪酸を多く含む食品には適さない。乳脂肪を含む菓子類、乳類等で、飽和脂肪酸の総量に対して、酪酸等の低級脂肪酸の寄与が無視できない場合は、最新版の「日本食品標準成分表分析マニュアル」に記載された方法に準拠して測定を行</p>	<p>[注]</p> <p>1) 糖質のグリコシド結合は、酸には弱いのがアルカリにはかなり安定である。アルカリによる分解は、還元末端から糖残基が 1 つずつ離れていく形をとり、時間が掛かるとともに不完全になるため、けん化法は穀類等多糖類を多く含む食品には適さない。</p> <p>また、酪酸等の低級脂肪酸は、分析操作におけるその挙動が他の脂肪酸 (高級脂肪酸) と異なる (例えば、水に可溶であること、揮発性が高いこと)。したがって、本法は、後述の脂質の抽出 II の方法を合め低級脂肪酸を多く含む食品には適さない。乳脂肪を含む菓子類、乳類等で、飽和脂肪酸の総量に対して、酪酸等の低級脂肪酸の寄与が無視できない場合は、最新版の「日本食品標準成分表分析マニュアル」に記載された方法に準拠して測定を行</p>

う。

[参考文献] (略)

2) 脂質の抽出II (酸分解法)

① 適用される食品  
穀類等、多糖類を多く含む食品に適用される。

② (略)

③ 試薬

- ・ヘプタデカン酸：純度98%以上のもの
- ・内標準溶液：ヘプタデカン酸を5 mg/mLの濃度となるようにn-ヘキサンに溶解する。
- ・塩酸溶液：濃塩酸と水を25：11の容量比で混合する。
- ・エーテル
- ・石油エーテル：特級
- ・硫酸ナトリウム (無水)：特級
- ・その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。

④ (略)

[注] (略)

3) 脂肪酸メチルエステルの調製

① (略)

② 試薬

- ・メタノール
- ・水酸化ナトリウム
- ・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をメタノールに溶解し100 mLにする。
- ・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

う。

[参考文献] (略)

2) 脂質の抽出II (酸分解法)

① 適用される食品  
穀類等、多糖類を多く含む食品に適用される。

② (略)

③ 試薬

- ・ヘプタデカン酸：純度98%以上のもの
- ・内標準溶液：ヘプタデカン酸を5 mg/mLの濃度となるようにn-ヘキサンに溶解する。
- ・塩酸溶液：濃塩酸と水を25：11の容量比で混合する。
- ・エーテル
- ・石油エーテル：特級
- ・硫酸ナトリウム (無水)：特級
- ・その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。

④ (略)

[注] (略)

3) 脂肪酸メチルエステルの調製

① (略)

② 試薬

- ・メタノール
- ・水酸化ナトリウム
- ・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をメタノールに溶解し100 mLにする。
- ・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

<p>・<u>n</u>-ヘキサン</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・飽和塩化ナトリウム溶液</li> <li>・その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 操作</p> <p>1) 又は2) で得られた脂質 30 mg (最大 100 mg) を精密に量り、スクリュエーキヤップ付き試験管にとる。0.5 mol/L 水酸化ナトリウム - メタノール溶液 1.5 mL を加え、容器内を窒素で置換した後キヤップを締め混合してから 100 °C で 7 分間加熱する。冷却し、三フッ化ホウ素 - メタノール試薬 2 mL を加える。容器内を窒素で置換した後キヤップを締め混合してから 100 °C で 5 分間加熱する。30~40 °C まで放冷し、<u>n</u>-ヘキサン 1 mL を加え容器内を窒素で置換した後 30 秒間激しく振とうする。次いで飽和塩化ナトリウム溶液 5 mL を加え容器内を窒素で置換し、よく振り混ぜる。<u>n</u>-ヘキサン層が分離したら別の試験管に移す。下層にさらに <u>n</u>-ヘキサン 1 mL を加え、振とう抽出する。抽出液を合わせた後<sup>註1)</sup>、<u>n</u>-ヘキサン で定容とし試験溶液とする。</p> <p>[注]</p> <p>1) 脂肪酸メチルエステルの精製が必要な場合は以下のように行う。</p> <p>カラム：シリカゲル 8 g (130 °C で 16 時間活性化したもの) クロマト管 (内径 1 cm)</p> <p>溶出液：<u>n</u>-ヘキサン 100 mL (洗浄)</p> <p>：<u>n</u>-ヘキサン - ジエチルエーテル (98:2) 100 mL (脂肪酸メチルエステルの溶出)</p> <p>4) (略)</p>	<p>・ヘキサン</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・飽和塩化ナトリウム溶液</li> <li>・その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 操作</p> <p>1) 又は2) で得られた脂質 30 mg (最大 100 mg) を精密に量り、スクリュエーキヤップ付き試験管にとる。0.5 mol/L 水酸化ナトリウム - メタノール溶液 1.5 mL を加え、容器内を窒素で置換した後キヤップを締め混合してから 100 °C で 7 分間加熱する。冷却し、三フッ化ホウ素 - メタノール試薬 2 mL を加える。容器内を窒素で置換した後キヤップを締め混合してから 100 °C で 5 分間加熱する。30~40 °C まで放冷し、ヘキサン 1 mL を加え容器内を窒素で置換した後 30 秒間激しく振とうする。次いで飽和塩化ナトリウム溶液 5 mL を加え容器内を窒素で置換し、よく振り混ぜる。ヘキサン層が分離したら別の試験管に移す。下層にさらにヘキサン 1 mL を加え、振とう抽出する。抽出液を合わせた後<sup>註1)</sup>、ヘキサン で定容とし試験溶液とする。</p> <p>[注]</p> <p>1) 脂肪酸メチルエステルの精製が必要な場合は以下のように行う。</p> <p>カラム：シリカゲル 8 g (130 °C で 16 時間活性化したもの) クロマト管 (内径 1 cm)</p> <p>溶出液：ヘキサン 100 mL (洗浄)</p> <p>：ヘキサン - ジエチルエーテル (98:2) 100 mL (脂肪酸メチルエステルの溶出)</p> <p>4) (略)</p>
---	---

<p>4 コレステロール</p> <p>(1) ガスクロマトグラフ法<sup>註1)</sup></p> <p>①・② (略)</p> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>試料 0.1～5 g (コレステロールとして約 1 mg) <sup>註2)</sup> を精密に量り、共栓付三角フラスコに入れる。内標準物質として 5-<math>\alpha</math>-コレスタン-エタノール溶液 1 mL を正確に加える。次いで、1 mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 50 mL を加え、必要に応じて沸騰石を加えた後、冷却管を付し 1 時間穏やかに加熱けん化する。室温まで放冷後、水 50 mL 及び石油エーテル 50 mL で分液漏斗に移し、振とう抽出する。さらに、石油エーテル 50 mL で 2 回抽出する。抽出液を集め、水 40 mL で 4 回洗浄する。抽出液を硫酸ナトリウム (無水) で乾燥する。硫酸ナトリウムをろ過操作で除去した後、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固する<sup>註3)</sup>。残留物を <u>ヘキサン</u> に溶かし 10 mL に定容し試験溶液とする。</p> <p>④～⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1)・2) (略)</p> <p>3) ガスクロマトグラム上、5-<math>\alpha</math>-コレスタンやコレステロールに近似した位置にピークが認められ、測定の妨害となる場合は以下の方法で精製する。ただし、この操作で 5-<math>\alpha</math>-コレスタンは除去されるため、精製操作後に新たに添加する必要がある。</p> <p>ステロールの精製</p> <p>シリカゲル (活性化: 130 °C、16 時間) 8 g を <u>ヘキサン</u> で内径 1.5 cm のカラムに詰め、先の濃縮物を下記の条件で処理しステロール画分を得る。</p>	<p>4 コレステロール</p> <p>(1) ガスクロマトグラフ法<sup>註1)</sup></p> <p>①・② (略)</p> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>試料 0.1～5 g (コレステロールとして約 1 mg) <sup>註2)</sup> を精密に量り、共栓付三角フラスコに入れる。内標準物質として 5-<math>\alpha</math>-コレスタン-エタノール溶液 1 mL を正確に加える。次いで、1 mol/L 水酸化カリウム-エタノール溶液 50 mL を加え、必要に応じて沸騰石を加えた後、冷却管を付し 1 時間穏やかに加熱けん化する。室温まで放冷後、水 50 mL 及び石油エーテル 50 mL で分液漏斗に移し、振とう抽出する。さらに、石油エーテル 50 mL で 2 回抽出する。抽出液を集め、水 40 mL で 4 回洗浄する。抽出液を硫酸ナトリウム (無水) で乾燥する。硫酸ナトリウムをろ過操作で除去した後、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固する<sup>註3)</sup>。残留物を <u>ヘキサン</u> に溶かし 10 mL に定容し試験溶液とする。</p> <p>④～⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1)・2) (略)</p> <p>3) ガスクロマトグラム上、5-<math>\alpha</math>-コレスタンやコレステロールに近似した位置にピークが認められ、測定の妨害となる場合は以下の方法で精製する。ただし、この操作で 5-<math>\alpha</math>-コレスタンは除去されるため、精製操作後に新たに添加する必要がある。</p> <p>ステロールの精製</p> <p>シリカゲル (活性化: 130 °C、16 時間) 8 g を <u>ヘキサン</u> で内径 1.5 cm のカラムに詰め、先の濃縮物を下記の条件で処理しステロール画分を得る。</p>
---	---

<p>第1 溶出液：20 v/v%ジエチルエーテル - <u>n</u>-へキサン 150 mL： 洗淨</p> <p>第2 溶出液：35 v/v%ジエチルエーテル - <u>n</u>-へキサン 150 mL： ステロール画分</p> <p>4) 例えば、コレステロール0.25、0.75及び2.0 mgに、5-<math>\alpha</math>-コレスタン0.5 mgを加え、<u>n</u>-へキサンで10 mLとする。</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>5 炭水化物 (略)</p> <p>[注]</p> <p>1)・2) (略)</p> <p>3) エネルギーとして利用されない成分 (抹茶に含まれるタンニン及びカフェイン、ココアに含まれるテオブロミン、チョコレート及びココアに含まれるポリフェノール、<u>カプセル</u>、<u>錠剤</u>等の食品に含まれる水溶性ビタミン等) が炭水化物として算出され、その寄与が無視できない場合、これらの成分を別途に測定し、差し引いたものを炭水化物とすることもある。なお、カフェイン、テオブロミン及びポリフェノールの分析は「日本食品標準成分表マニユアル」に記載された方法に準拠する。</p> <p>4) (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>ア・イ (略)</p> <p>6・7 (略)</p>	<p>第1 溶出液：20 v/v%ジエチルエーテル - <u>n</u>-へキサン 150 mL： 浄</p> <p>第2 溶出液：35 v/v%ジエチルエーテル - <u>n</u>-へキサン 150 mL： テロール画分</p> <p>4) 例えば、コレステロール0.25、0.75及び2.0 mgに、5-<math>\alpha</math>-コレスタン0.5 mgを加え、へキサンで10 mLとする。</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>5 炭水化物 (略)</p> <p>[注]</p> <p>1)・2) (略)</p> <p>3) エネルギーとして利用されない成分 (抹茶に含まれるタンニン及びカフェイン、ココアに含まれるテオブロミン、チョコレート及びココアに含まれるポリフェノール、<u>錠剤</u>・<u>カプセル</u>等の立プリメントに含まれる水溶性ビタミン等) が炭水化物として算出され、その寄与が無視できない場合、これらの成分を別途に測定し、差し引いたものを炭水化物とすることもある。なお、タンニン、カフェイン、テオブロミン及びポリフェノールの分析は「日本食品標準成分表マニユアル」に記載された方法に準拠する。</p> <p>4) (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>ア・イ (略)</p> <p>6・7 (略)</p>
--	--

<p>8 食物繊維 (略)</p> <p>(1) プロスキュー法 (酵素-重量法) <sup>註1)</sup></p> <p>①・② (略)</p> <p>③ 試料の調製</p> <p>穀類、豆類、種実類等、水分の少ない食品では、そのまま粉砕器で粉末とする。果物や糖分の多い加工食品等、乾燥しにくい食品ではホモナイザーで処理してそのまま試験操作に移る。野菜、きのこ類等水分が多く、そのままでは均一化が難しい食品では、直接又はホモジナイザーで処理した後、凍結乾燥するか、70℃で一夜乾燥して粉末とする。いずれの場合も、本法では試料の粒度が定量値に影響するので、粒度は目安として0.5 mm (30メッシュ) 以下になるようにする。</p> <p>固体試料でおよそ10%以上の脂質を含む場合は、脱脂を次のような操作によって行う。粉末試料の5gを200 mL容遠心管に精密に量り、1gにつき25 mLの石油エーテル、ジエチルエーテル、ヘキサン等の抽出溶媒を加え、時々かくはんしながら15分間放置した後、遠心分離し、上澄み液をガラスろ過器(G-3)に流し込む。さらに、同様の操作を2回繰り返す、最後は全量をガラスろ過器に流し込み、風乾の後、秤量し粉末とする。</p> <p>乾燥及び脱脂による質量の変化を記録し、それぞれ生試料に対しての減量割合を求め、脂質及び水分を多く含む試料では、あらかじめ脱脂試料を調製するのではなく、測定操作の中にエーテルによる脱脂処理を組み込んでよい。</p> <p>④・⑤ (略)</p> <p>[注] (略)</p>	<p>8 食物繊維 (略)</p> <p>(1) プロスキュー法 (酵素-重量法) <sup>註1)</sup></p> <p>①・② (略)</p> <p>③ 試料の調製</p> <p>穀類、豆類、種実類等、水分の少ない食品では、そのまま粉砕器で粉末とする。果物や糖分の多い加工食品等、乾燥しにくい食品ではホモナイザーで処理してそのまま試験操作に移る。野菜、きのこ類等水分が多く、そのままでは均一化が難しい食品では、直接又はホモジナイザーで処理した後、凍結乾燥するか、70℃で一夜乾燥して粉末とする。いずれの場合も、本法では試料の粒度が定量値に影響するので、粒度は目安として0.5 mm (30メッシュ) 以下になるようにする。</p> <p>固体試料でおよそ10%以上の脂質を含む場合は、脱脂を次のような操作によって行う。粉末試料の5gを200 mL容遠心管に精密に量り、1gにつき25 mLの石油エーテル、ジエチルエーテル、ヘキサン等の抽出溶媒を加え、時々かくはんしながら15分間放置した後、遠心分離し、上澄み液をガラスろ過器(G-3)に流し込む。さらに、同様の操作を2回繰り返す、最後は全量をガラスろ過器に流し込み、風乾後、秤量し粉末とする。</p> <p>乾燥及び脱脂による質量の変化を記録し、それぞれ生試料に対しての減量割合を求め、脂質及び水分を多く含む試料では、あらかじめ脱脂試料を調製するのではなく、測定操作の中にエーテルによる脱脂処理を組み込んでよい。</p> <p>④・⑤ (略)</p> <p>[注] (略)</p>
--	---

(2) 高速液体クロマトグラフ法

1) 酵素-HPLC法<sup>(注1)</sup>

①~⑥ (略)

[注] (略)

[参考文献] (略)

2) 酵素-HPLC法2

① 適用される食品

難消化性でん粉の含有量が多い食品に適用される。

② 装置及び器具

・凍結乾燥器

・酵素反応用ボトル：容量 250 mL のプラスチック蓋付の広口ガラスボトル等

・るつぼ形ガラスろ過器：耐熱性るつぼ形ガラスろ過器 C-2<sup>(注1)</sup> をよく洗浄し、525±5℃で1時間加熱したものをを用いる。けいそう土(セライト) 約 0.5 g<sup>(注2)</sup> を入れ、水 20 mL で3回以上、さらに78 v/v%エタノール 20 mL で3回以上洗浄して風乾した後、130±5℃で1時間加熱して恒量を求める。使用前までデシケーター中で保存する。

・ろ過装置：るつぼ形ガラスろ過器が装着できるもの。

③ 試薬

・エタノール：95 v/v%

・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 としたものを。

・酵素 α-アミラーゼ：Megazyme 社製、E-PANAA 又は同等品<sup>(注3)</sup>

・アミログルコシダーゼ：Megazyme 社製、E-AMGDF 又は同等品<sup>(注3)</sup>

(2) 高速液体クロマトグラフ法 (酵素-HPLC法)<sup>(注1)</sup>

(新設)

①~⑥ (略)

[注] (略)

[参考文献] (略)

(新設)



・プロテアーゼ：Megazyme 社製、E-BSPPT 又は同等品<sup>註3)</sup>

・酵素 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：酵素 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 分間かくはん後、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かくはんする。用時調製する。

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

・2 mol/L 酢酸溶液：酢酸 115 mL に水を加えて 1 L としたものである。

・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、ジエチレンジグリコール

・高速液体クロマトグラフ用保持時間標準品：マルトトリオースの溶出位置が確認できるもの<sup>註3)</sup>。

・その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。

#### ④ 試料調製

穀類、豆類、種実類等、水分の少ない食品では、そのまま粉砕器で粉末とす。果物や糖分の多い加工食品等、乾燥しにくい食品ではホモジナイザーで処理してそのまま試験操作に移る。野菜、きのこ類等水分が多く、そのままでは均一化が難しい食品では、直接又はホモジナイザーで処理した後、凍結乾燥するか、70 °C で一夜乾燥して粉末とする。いずれの場合も、本法では試料の粒度が定量値に影響するので、粒度は目安として 0.5 mm (30 メッシュ) 以下になるようにする。

固体試料でおよそ 10 % 以上の脂質を含む場合は、脱脂を次のような操作によって行う。粉末試料の 5 g を 200 mL 容量心管に精密に量り、1 g につき 25 mL の石油エーテル、ジエチルエーテル、n-ヘキサン等の抽出溶媒を加え、時々かくはんしながら 15 分間放置した後、遠心

分離し、上澄み液をガラスろ過器 (G-3) に流し込む。さらに、同様の試料の脱脂操作を2回繰り返し、最後は全量をガラスろ過器に流し込み、風乾後、秤量し粉末とする。

乾燥及び脱脂による質量の変化を記録し、それぞれ生試料に対しての減量割合を求める。脂質及び水分を多く含む試料では、あらかじめ脱脂試料を調製するのではなく、測定操作の中にエーテルによる脱脂処理を組み込んでよい。

#### ⑤ 測定

##### 1) 試料採取

試料 (採取する量は1~10 g) は、0.0001 gまで精密に、ほぼ同質量となるように量ったものを2つ用意する。それぞれ酸素反応用ボトルに入れ、一方 ( $W_1$ ) を非消化性たんぱく質測定用、他方 ( $W_2$ ) を灰分測定用とする。ただし、採取する量について、乾燥試料は1 gとし、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とし、粘質性の食品などろ過時間が極端に長くなるものは1 g未満とする<sup>註4)</sup>。

##### 2) 糜臓 $\alpha$ -アマミラーゼ/アミログルコシダーゼ処理

試料を1 mLの95 v/v %エタノールで湿らせ、糜臓  $\alpha$ -アマミラーゼ (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<sup>註5)</sup>。

##### 3) pH8.2調整、糜臓 $\alpha$ -アマミラーゼ/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）

ろっぽ形ガラスろ過器に吸引しながら酵素処理液を流し込み、残渣（不溶性食物繊維画分）とろ液（水溶性食物繊維画分）に分ける。ボトルの内壁及びろ過器上の残渣を少量の水（約 20mL）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 v/v% 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殿させる。6) と同じ要領で吸引ろ過を行い、残渣とろ液とに分ける。ろっぽ型ガラスろ過器上に捕集された残渣を 78 v/v% エタノール 15 mL で 2 回、95 v/v% 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<sup>註6)</sup>。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 の単位で量って、この残渣を非消化性たんぱく質測定用 (R<sub>1</sub>)、灰分測定用 (R<sub>2</sub>) とする。これらの残渣中のたんぱく質 (P<sub>1</sub>) と灰分 (A<sub>1</sub>) を、それぞれ 9)、10) に示す方法で定量し、残渣質量から差し引く。

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渣を 78 v/v%エタノール 15 mL で 2 回、95 v/v%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<sup>註6)</sup>。ろ過器ごと 105 ± 5 °C で一夜乾燥し、デシケータ一中で放冷後、0.1 mg の単位で量って、この残渣を非消化性たんばく質測定用 (R<sub>3</sub>)、灰分測定用 (R<sub>4</sub>) とする。これらの残渣中のたんばく質 (P<sub>2</sub>) と灰分 (A<sub>2</sub>) を、それぞれ 9)、10) に示す方法で定量し、残渣質量から差し引く。

9) 残渣中のたんばく質の定量

残渣 (R<sub>1</sub> 及び R<sub>3</sub>) をそれぞれけいそう土とともにかき取り、ケルダール法又は燃焼法によって、これらの残渣中の窒素含量を求めらる。得られた窒素含量に 6.25 を乗じて、たんばく質量 (P<sub>1</sub> 及び P<sub>2</sub>) とする。

10) 残渣中の灰分の定量

残渣 (R<sub>2</sub> 及び R<sub>4</sub>) をガラスろ過器ごと 525 ± 5 °C で 5 時間灰化処理し、デシケータ一中で放冷後、0.1 mg の単位で量って、これらの残渣中の灰分 (A<sub>1</sub> 及び A<sub>2</sub>) 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一中で溶媒を蒸発乾固する。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®PPA53 (OH<sup>-</sup>) 樹脂約 4 g と Ambersep®200 (H<sup>+</sup>) 樹脂約 4 g を混合したもの又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蒸発乾固する。残留物を水2 mL に溶かし、メンブランフィルター (0.45  $\mu$ m) 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<sup>®</sup> (Waters)、内径 6.5 mm、長さ 300 mm

移動相 : Na<sub>2</sub>Ca-EDTA (50 mg/L) を含む水

流速 : 0.5 mL/分

温度 : 90 °C

注入量 : 50  $\mu$ L

〔例 2〕

カラム : TSKgel G2500PW<sub>XL</sub> (東ソー株式会社又は同等品)、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

注入量 : 50  $\mu$ L

15) 測定 (低分子量水溶性食物繊維の定量)

試料溶液一定量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<sup>(註 7)</sup> のピーク面積を求める。

⑥ 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。

⑤ 7) における R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>を R<sub>B1</sub>、R<sub>B2</sub>に、P<sub>1</sub>を P<sub>B1</sub>に、A<sub>1</sub>を A<sub>B1</sub>に、8) における R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>を R<sub>B3</sub>、R<sub>B4</sub>に、P<sub>2</sub>を P<sub>B2</sub>に、A<sub>2</sub>を A<sub>B2</sub>に置き換えて定量を行う。

高分子量

水溶性食物繊維 残渣  $R_{B1}$ 、 $R_{B2}$  (mg)

相当空試験

同 残渣 $R_{B1}$ 中のたんぱく質  $P_{B1}$  (mg)

同 残渣 $R_{B2}$ 中の灰分  $A_{B1}$  (mg)

不溶性

食物繊維 残渣  $R_{B3}$ 、 $R_{B4}$  (mg)

相当空試験

同 残渣 $R_{B3}$ 中のたんぱく質  $P_{B2}$  (mg)

同 残渣 $R_{B4}$ 中の灰分  $A_{B2}$  (mg)

試験空試験値は、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。

① 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。

高分子量水溶性食物繊維含量 (g/100 g)

$$= \frac{(R_1 + R_2) - P_1 - A_1 - B_s}{(W_1 + W_2)} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで

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

不溶性食物繊維含量 (g/100 g)

$$= \frac{R_3 + R_4 - P_2 - A_2 - B_1}{W_1 + W_2} \times 100 \div 1000$$

ただし、ここで、

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

$W_1, W_2$ : 試料採取量 (g)

$R_1, R_2$ : 高分子量水溶性食物繊維 残渣 (mg)

$P_1$ : 同 残渣中のたんぱく質 (mg)

$A_1$ : 同 残渣中の灰分 (mg)

$R_{B1}, R_{B2}$ : 同 空試験の残渣 (mg)

$P_{B1}$ : 同 空試験残渣中のたんぱく質 (mg)

$A_{B1}$ : 同 空試験残渣中の灰分 (mg)

$R_3, R_4$ : 不溶性食物繊維 残渣 (mg)

$P_2$ : 同 残渣中のたんぱく質 (mg)

$A_2$ : 同 残渣中の灰分 (mg)

$R_{B3}, R_{B4}$ : 同 空試験の残渣 (mg)

$P_{B2}$ : 同 空試験残渣中のたんぱく質 (mg)

$A_{B2}$ : 同 空試験残渣中の灰分 (mg)

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<sup>(注8)</sup>

$M$  : 添加内標準物質質量 (mg)

$W$  : 試料採取量 (g) ( $W_1$ 又は $W_2$ )

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

凍結乾燥又は脱脂風乾処理をした試料にあつては、下記の式によつて食品中の食物繊維含量に換算する。

食品中の食物繊維含量 (g/100 g)

$$= D \times \left(1 - \frac{W_D}{100}\right)$$

$D$  : 凍結乾燥又は脱脂風乾試料中の食物繊維含量 (g/100 g)

$W_D$  : 乾燥減量又は脱脂風乾減量 (%)

[注]

- 1) フィルターの直径約4cmのもの(2G2)がよい。
- 2) るつぽ形ガラスろ過器として2G2を使用する場合には、約1g程度のけいせい土が必要。
- 3) Mezazyme 社製のキット「K-INTDF」等としても販売されている。
- 4) る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(0.1~0.5g)してる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。

5) 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。

6) 脱脂処理で脂質が完全に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。

7) 原則として、二糖類の一つであるマルトトリオースのピーク溶出位置を指標とし、これと同じかこれより前に溶出するものを食物繊維画分とする。

8) ブドウ糖と添加内標準物質の感度 (同質量当たりのピーク面積) 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。補正は、あらかじめ求めた補正係数 (有効数字 2 桁) を乗ずることによるものとする。補正係数は一度求めておけば、クロマトグラフ操作条件を変更しない限り同一の係数を用いてよい。

9~19 (略)

20 ヨウ素

(1) (略)

2) ガスクロマトグラフ法

①・② (略)

③ 試薬

・硫酸 (1+1) : 水 1 容に対し硫酸 (原子吸光分析用) 1 容を加

え、混和する。

・水酸化ナトリウム

9~19 (略)

20 ヨウ素

(1) (略)

(2) ガスクロマトグラフ法

①・② (略)

③ 試薬

・硫酸 (1+1) : 水 1 容に対し硫酸 (原子吸光分析用) 1 容を加

え、混和する。

・水酸化ナトリウム

<p>・エタノール</p> <p>・メチルエチルケトン：特級</p> <p>・50 %水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウムを水に溶かして用いる。</p> <p>・<u>正</u>へキサン</p> <p>・200 ppm 亜硝酸ナトリウム溶液：亜硝酸ナトリウム（特級）を水で希釈して用いる。</p> <p>・ヨウ素標準溶液：市販のイオンクロマトグラフ分析用の標準溶液又はヨウ化カリウム（特級）130.8 mg を正確に量り、水に溶かして正確に 100 mL としたものを標準原液とし、水で希釈して用いる。標準原液 1 mL 中にヨウ素 1 mg を含む。</p> <p>④ (略)</p> <p>⑤ 測定</p> <p>試験溶液最大 10 mL を正確に共栓付き試験管に量り取り、硫酸 (1+1) 0.7 mL、メチルエチルケトン 0.5 mL 及び 200 ppm 亜硝酸ナトリウム溶液 0.5 mL を加え混和し、20 分間放置後、<u>正</u>へキサン 20 mL を正確に加え、5 分間振とうする。<u>正</u>へキサン層 2 <math>\mu</math>L を ECD-ガスクロマトグラフに注入する。標準溶液について同様に操作して作成した検量線から、試験溶液中の濃度 (C <math>\mu</math>g/mL) を求め、試料中の含量を算出する。</p> <p>&lt;ガスクロマトグラフ測定条件例&gt;</p> <p>検出器：ECD</p> <p>カラム：20 %DEGS+1 %リン酸/Chromosorb WAW 60~80 mesh</p> <p>ガラス管、3 mm<math>\times</math>1.5 m</p> <p>温度：試料注入口 250 <math>^{\circ}</math>C、カラム 120 <math>^{\circ}</math>C、検出器 250 <math>^{\circ}</math>C</p> <p>⑥ (略)</p>	<p>・エタノール</p> <p>・メチルエチルケトン：特級</p> <p>・50 %水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウムを水に溶かして用いる。</p> <p>・へキサン</p> <p>・200 ppm 亜硝酸ナトリウム溶液：亜硝酸ナトリウム（特級）を水で希釈して用いる。</p> <p>・ヨウ素標準溶液：市販のイオンクロマトグラフ分析用の標準溶液又はヨウ化カリウム（特級）130.8 mg を正確に量り、水に溶かして正確に 100 mL としたものを標準原液とし、水で希釈して用いる。標準原液 1 mL 中にヨウ素 1 mg を含む。</p> <p>④ (略)</p> <p>⑤ 測定</p> <p>試験溶液最大 10 mL を正確に共栓付き試験管に量り取り、硫酸 (1+1) 0.7 mL、メチルエチルケトン 0.5 mL 及び 200 ppm 亜硝酸ナトリウム溶液 0.5 mL を加え混和し、20 分間放置後、へキサン 20 mL を正確に加え、5 分間振とうする。へキサン層 2 <math>\mu</math>L を ECD-ガスクロマトグラフに注入する。標準溶液について同様に操作して作成した検量線から、試験溶液中の濃度 (C <math>\mu</math>g/mL) を求め、試料中の含量を算出する。</p> <p>&lt;ガスクロマトグラフ測定条件例&gt;</p> <p>検出器：ECD</p> <p>カラム：20 %DEGS+1 %リン酸/Chromosorb WAW 60~80 mesh</p> <p>ガラス管、3 mm<math>\times</math>1.5 m</p> <p>温度：試料注入口 250 <math>^{\circ}</math>C、カラム 120 <math>^{\circ}</math>C、検出器 250 <math>^{\circ}</math>C</p> <p>⑥ (略)</p>
---	---

[参考文献] (略)	[参考文献] (略)
(3) (略)	(3) (略)
21~24 (略)	21~24 (略)
25 ビタミンA (レチノール活性当量として) (略)	25 ビタミンA (レチノール活性当量として) (略)
[注]	[注]
1) (略) 2) <u>カプセル、錠剤等の食品</u> として摂取するβ-カロテンは、ビタミンAとしての生体利用率が1/2程度なので、2μgがレチノール1μgに相当し、食品由来のβ-カロテンとは扱いが異なる。	1) (略) 2) <u>錠剤・カプセル等のサプリメント</u> として摂取するβ-カロテンは、ビタミンAとしての生体利用率が1/2程度なので、2μgがレチノール1μgに相当し、食品由来のβ-カロテンとは扱いが異なる。
ア レチノール (ビタミンAアルコール)	ア レチノール (ビタミンAアルコール)
(1) 高速液体クロマトグラフ法	(1) 高速液体クロマトグラフ法
① (略)	① (略)
② 試薬	② 試薬
<ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。・標準レチノール：日本薬局方標準品「レチノールパルミチン酸エステル」又は同等品を次の試験法に従ってけん化抽出し、標準溶液の検定を行う。フリーのレチノールを使用する場合でもイソプロピルアルコールに溶解した後、標準溶液の検定を行う。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。・標準レチノール：日本薬局方標準品「レチノールパルミチン酸エステル」又は同等品を次の試験法に従ってけん化抽出し、標準溶液の検定を行う。フリーのレチノールを使用する場合でもイソプロピルアルコールに溶解した後、標準溶液の検定を行う。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> </ul>

<p>・塩化ナトリウム</p> <p>・石油エーテル：特級</p> <p>・<u>正</u>ヘキサン</p> <p>・酢酸エチル</p> <p>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</p> <p>・メタノール</p> <p>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>試料約 0.5 g (注1) を 60 mL 容遠心管 (共栓付き) に精密に量り (W/g)、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、<u>正</u>ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層を <u>正</u>ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40 °C で減圧濃縮する。</p> <p>残留物をエタノールに溶解し (V mL)、レチノールとして約 0.3 μg/mL となるように希釈し (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>高速液体クロマトグラフによる測定において妨害成分の影響が出る場合は、残留物を石油エーテル (特級) 5 mL に溶解し、以下に示すアルミナカラムを用いた精製を行う (注2) (注3)。</p> <p>④～⑥ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>イ カロテン</p>	<p>・塩化ナトリウム</p> <p>・石油エーテル：特級</p> <p>・ヘキサン</p> <p>・酢酸エチル</p> <p>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</p> <p>・メタノール</p> <p>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>試料約 0.5 g (注1) を 60 mL 容遠心管 (共栓付き) に精密に量り (W/g)、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層をヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40 °C で減圧濃縮する。</p> <p>残留物をエタノールに溶解し (V mL)、レチノールとして約 0.3 μg/mL となるように希釈し (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>高速液体クロマトグラフによる測定において妨害成分の影響が出る場合は、残留物を石油エーテル (特級) 5 mL に溶解し、以下に示すアルミナカラムを用いた精製を行う (注2) (注3)。</p> <p>④～⑥ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>イ カロテン</p>
--	---

<p>(1) 吸光度法：総カロテン<sup>注1)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・弱活性アルミナ：活性アルミナ<sup>注2)</sup> 500 g に水 50 mL を滴下して加え、振り混ぜて均一にし、密栓、一夜放置する。活性度を測定し、一定の活性度<sup>注3)</sup> のものを使用する。活性度は水の量を加減して調整する。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) けん化</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管（共栓付き）に精密に量り（W g）、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、へキサン-酢酸エチル混液（9：1）15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移</p>	<p>(1) 吸光度法：総カロテン<sup>注1)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・弱活性アルミナ：活性アルミナ<sup>注2)</sup> 500 g に水 50 mL を滴下して加え、振り混ぜて均一にし、密栓、一夜放置する。活性度を測定し、一定の活性度<sup>注3)</sup> のものを使用する。活性度は水の量を加減して調整する。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・<u>正</u>ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) けん化</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管（共栓付き）に精密に量り（W g）、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、<u>正</u>ヘキサン-酢酸エチル混液（9：1）15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移</p>
<p>(1) 吸光度法：総カロテン<sup>注1)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・弱活性アルミナ：活性アルミナ<sup>注2)</sup> 500 g に水 50 mL を滴下して加え、振り混ぜて均一にし、密栓、一夜放置する。活性度を測定し、一定の活性度<sup>注3)</sup> のものを使用する。活性度は水の量を加減して調整する。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) けん化</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管（共栓付き）に精密に量り（W g）、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、へキサン-酢酸エチル混液（9：1）15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移</p>	<p>(1) 吸光度法：総カロテン<sup>注1)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・弱活性アルミナ：活性アルミナ<sup>注2)</sup> 500 g に水 50 mL を滴下して加え、振り混ぜて均一にし、密栓、一夜放置する。活性度を測定し、一定の活性度<sup>注3)</sup> のものを使用する。活性度は水の量を加減して調整する。</li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・<u>正</u>ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・エーテル：過酸化物を含まないもの。</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) けん化</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管（共栓付き）に精密に量り（W g）、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加えた後、<u>正</u>ヘキサン-酢酸エチル混液（9：1）15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移</p>

に移す。水層を  $n_2$ ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに2回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。

残留物を石油エーテル (特級) 5 mL に溶解し、以下に示すアルミナカラムに供する。

2) アルミナカラムクロマトグラフィークロマト管にあらかじめ活性度を調整したアルミナ約 7 g を石油エーテルに懸濁させ、約 7 cm の高さの充填する。受器に 100 mL 容量なす形フラスコを置き、カラムの上に先の残留物の石油エーテル溶液を静かに流し入れ、流量 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 (カラム画分)。

カロテン画分<sup>註4)</sup>を 40 °C で減圧濃縮する。残留物を一定量の  $n_2$ ヘキサンに溶解し (V mL)、1 mL 中にカロテンを約 1  $\mu$ g 含むように  $n_2$ ヘキサンで希釈する (希釈倍数: D)。

④ 測定

分光光度計により  $n_2$ ヘキサンを対照にして、試験溶液の 453 nm の吸光度を測定する。

⑤ 計算

$\beta$ -カロテンの吸光係数  $E_{1cm}^{1\%} = 2592$  (溶媒、 $n_2$ ヘキサン) を用いて次式により試料中の含量を求めめる。

試料中の総カロテン含量 ( $\mu$ g/100 g)

$$= A \times \frac{1000000}{2592} \times \frac{V \times D}{W}$$

A : 試験溶液の吸光度  
V : 定容量 (mL)  
D : 希釈倍率

す。水層をヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに2回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。

残留物を石油エーテル (特級) 5 mL に溶解し、以下に示すアルミナカラムに供する。

2) アルミナカラムクロマトグラフィークロマト管にあらかじめ活性度を調整したアルミナ約 7 g を石油エーテルに懸濁させ、約 7 cm の高さの充填する。受器に 100 mL 容量なす形フラスコを置き、カラムの上に先の残留物の石油エーテル溶液を静かに流し入れ、流量 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 (カラム画分)。

カロテン画分<sup>註4)</sup>を 40 °C で減圧濃縮する。残留物を一定量のヘキサンに溶解し (V mL)、1 mL 中にカロテンを約 1  $\mu$ g 含むようにヘキサンで希釈する (希釈倍数: D)。

④ 測定

分光光度計によりヘキサンを対照にして、試験溶液の 453 nm の吸光度を測定する。

⑤ 計算

$\beta$ -カロテンの吸光係数  $E_{1cm}^{1\%} = 2592$  (溶媒、ヘキサン) を用いて次式により試料中の含量を求めめる。

試料中の総カロテン含量 ( $\mu$ g/100 g)

$$= A \times \frac{1000000}{2592} \times \frac{V \times D}{W}$$

A : 試験溶液の吸光度  
V : 定容量 (mL)  
D : 希釈倍率

<p>W：試料摂取量 (g)</p> <p>[注] (略)</p> <p>(2) 高速液体クロマトグラフ法：<math>\alpha</math>-カロテン、<math>\beta</math>-カロテン<sup>註1)</sup>、<math>\beta</math>-カロテン<sup>註2)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・<math>\alpha</math>-カロテン標準溶液：<math>\alpha</math>-カロテン標準品<sup>註3)</sup></li> <li>・<math>\beta</math>-カロテン標準溶液：<math>\beta</math>-カロテン標準品<sup>註3)</sup></li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・シクロヘキサン：特級</li> <li>・イソプロピルアルコール</li> <li>・<u>n</u>-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・メタノール</li> <li>・クロロホルム</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) 試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管 (共栓付き) に精密に量り (W g)、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加</p>	<p>W：試料摂取量 (g)</p> <p>[注] (略)</p> <p>(2) 高速液体クロマトグラフ法：<math>\alpha</math>-カロテン、<math>\beta</math>-カロテン<sup>註1)</sup>、<math>\beta</math>-カロテン<sup>註2)</sup></p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・水酸化カリウム溶液：粒状水酸化カリウム 60 g を冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 100 mL とする。</li> <li>・<math>\alpha</math>-カロテン標準溶液：<math>\alpha</math>-カロテン標準品<sup>註3)</sup></li> <li>・<math>\beta</math>-カロテン標準溶液：<math>\beta</math>-カロテン標準品<sup>註3)</sup></li> <li>・ピロガロール：特級</li> <li>・エタノール</li> <li>・塩化ナトリウム</li> <li>・石油エーテル：特級</li> <li>・シクロヘキサン：特級</li> <li>・イソプロピルアルコール</li> <li>・<u>n</u>-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・メタノール</li> <li>・クロロホルム</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) 試料約 0.5 g を 60 mL 容遠心管 (共栓付き) に精密に量り (W g)、これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL と水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL を加</p>
---	---

えた後、 $n$ -ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層を  $n$ -ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。

残留物をエタノールに溶解し (V mL)、 $\beta$ -カロテンとして約 2 ~ 4  $\mu$ g/mL となるように希釈し (希釈倍数:D)、試験溶液とする。

2) 野菜、果物又は藻類等の場合は次の操作で試験溶液を得る。試料 0.5~8 g を容量 100 mL 全量フラスコに精密に量り (W g)、ピロガロール 2 g、水 5 mL、HEAT ( $n$ -ヘキサン:アセトン:エタノール:トルエン=10:7:6:7) 40 mL 及びエタノール 20 mL を加え、15 分間振とうする。エタノール液で定容し (V<sub>1</sub> mL)、10 分間超音波槽で処理する。溶液の一部 (10 mL、V<sub>2</sub> mL) を 60 mL 容の遠心管 (共栓付き) に正確に量り、エタノール 10 mL 及び 60% 水酸化カリウム溶液 2 mL を加え、70°C の水浴中で 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL  $n$ -ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上澄み液を 100 mL 容のなす形フラスコに移す。水層を  $n$ -ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。残留物をエタノールに溶解し (V<sub>3</sub> mL)、必要に応じてエタノールで適宜希釈して (希釈倍数:D) 試験溶液とする。ただし、ニンジンジュースのように  $\beta$ -カロテン含量の高い場合はけん化操作を省略する。

④~⑥ (略)

[注] (略)

えた後、ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層をヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。

残留物をエタノールに溶解し (V mL)、 $\beta$ -カロテンとして約 2 ~ 4  $\mu$ g/mL となるように希釈し (希釈倍数:D)、試験溶液とする。

2) 野菜、果物又は藻類等の場合は次の操作で試験溶液を得る。試料 0.5~8 g を容量 100 mL 全量フラスコに精密に量り (W g)、ピロガロール 2 g、水 5 mL、HEAT ( $n$ -ヘキサン:アセトン:エタノール:トルエン=10:7:6:7) 40 mL 及びエタノール 20 mL を加え、15 分間振とうする。エタノール液で定容し (V<sub>1</sub> mL)、10 分間超音波槽で処理する。溶液の一部 (10 mL、V<sub>2</sub> mL) を 60 mL 容の遠心管 (共栓付き) に正確に量り、エタノール 10 mL 及び 60% 水酸化カリウム溶液 2 mL を加え、70°C の水浴中で 30 分間加熱する。水冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 20 mL ヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL を加える。5 分間振とうし、遠心分離後、駒込ピペットで上澄み液を 100 mL 容のなす形フラスコに移す。水層をヘキサン-酢酸エチル混液 (9:1) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 40°C で減圧濃縮する。残留物をエタノールに溶解し (V<sub>3</sub> mL)、必要に応じてエタノールで適宜希釈して (希釈倍数:D) 試験溶液とする。ただし、ニンジンジュースのように  $\beta$ -カロテン含量の高い場合はけん化操作を省略する。

④~⑥ (略)

[注] (略)



[参考文献] (略)	[参考文献] (略)
<p>26～29 (略)</p> <p>30 ビタミンC (略)</p> <p>(1)・(2) (略)</p> <p>(3) 高速液体クロマトグラフ法<sup>注1)</sup></p> <p>①～⑤ (略)</p> <p>⑥ 測定</p> <p>試験溶液一定量を高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンCのオサゾンのピーク面積を測定し、あらかじめ同量の HPLC 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検量線を用いて試験溶液中の濃度を求め、試料中のビタミンC含量を算出する。</p> <p>&lt;高速液体クロマトグラフ操作条件例<sup>注4)</sup>&gt;</p> <p>カラム：Silica 2150-N (100) (センシユー科学) あるいは相当品、 内径 6.0 mm、長さ 150 mm、ステンレス製</p> <p>移動相：酢酸エチル-n-ヘキサン-酢酸 (5：4：1)</p> <p>検出器：紫外可視分光光度計</p> <p>測定波長：495 nm</p> <p>流量：1.5 mL/分</p> <p>温度：35 °C</p> <p>注入量：20 µL</p> <p>⑦ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) ～3) (略)</p>	<p>26～29 (略)</p> <p>30 ビタミンC (略)</p> <p>(1)・(2) (略)</p> <p>(3) 高速液体クロマトグラフ法<sup>注1)</sup></p> <p>①～⑤ (略)</p> <p>⑥ 測定</p> <p>試験溶液一定量を高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンCのオサゾンのピーク面積を測定し、あらかじめ同量の HPLC 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検量線を用いて試験溶液中の濃度を求め、試料中のビタミンC含量を算出する。</p> <p>&lt;高速液体クロマトグラフ操作条件例<sup>注4)</sup>&gt;</p> <p>カラム：Silica 2150-N (100) (センシユー科学) あるいは相当品、 内径 6.0 mm、長さ 150 mm、ステンレス製</p> <p>移動相：酢酸エチル-n-ヘキサン-酢酸 (5：4：1)</p> <p>検出器：紫外可視分光光度計</p> <p>測定波長：495 nm</p> <p>流量：1.5 mL/分</p> <p>温度：35 °C</p> <p>注入量：20 µL</p> <p>⑦ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) ～3) (略)</p>

<p>4) 本測定条件では、アスコルビン酸とエリソルビン酸の分別はできない。エリソルビン酸の分別定量をする場合の測定条件の例を次に示す。</p> <p>移動相：n-ヘキサン-酢酸エチル-プロピルアルコール-酢酸 (40:30:2:1)</p> <p>保持時間：アスコルビン酸は約 10 分間、エリソルビン酸は約 10.5 分間</p> <p>(4)・(5) (略)</p> <p>31 ビタミンD (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンD：日本薬局方標準品「エルゴカルシフェロール」(ビタミンD<sub>2</sub>) 又は「コレカルシフェロール」(ビタミンD<sub>3</sub>)<sup>註1)</sup> 又は同等品を用いる。植物性食品の分析にはビタミンD<sub>2</sub>を、動物性食品の場合にはビタミンD<sub>3</sub>を用いる。強化食品<sup>註2)</sup>に関しては、添加された製剤に応じて、ビタミンD<sub>2</sub>又はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。なお、添加製剤が不明の場合はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。</li> <li>・ビタミンD標準溶液：エタノールで0.2 μg/mLになるように溶解する。</li> <li>・n-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・アセトニトリル</li> <li>・エーテル</li> </ul>	<p>4) 本測定条件では、アスコルビン酸とエリソルビン酸の分別はできない。エリソルビン酸の分別定量をする場合の測定条件の例を次に示す。</p> <p>移動相：n-ヘキサン-酢酸エチル-プロピルアルコール-酢酸 (40:30:2:1)</p> <p>保持時間：アスコルビン酸は約 10 分間、エリソルビン酸は約 10.5 分間</p> <p>(4)・(5) (略)</p> <p>31 ビタミンD (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンD：日本薬局方標準品「エルゴカルシフェロール」(ビタミンD<sub>2</sub>) 又は「コレカルシフェロール」(ビタミンD<sub>3</sub>)<sup>註1)</sup> 又は同等品を用いる。植物性食品の分析にはビタミンD<sub>2</sub>を、動物性食品の場合にはビタミンD<sub>3</sub>を用いる。強化食品<sup>註2)</sup>に関しては、添加された製剤に応じて、ビタミンD<sub>2</sub>又はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。なお、添加製剤が不明の場合はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。</li> <li>・ビタミンD標準溶液：エタノールで0.2 μg/mLになるように溶解する。</li> <li>・n-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・アセトニトリル</li> <li>・エーテル</li> </ul>
<p>4) 本測定条件では、アスコルビン酸とエリソルビン酸の分別はできない。エリソルビン酸の分別定量をする場合の測定条件の例を次に示す。</p> <p>移動相：ヘキサン-酢酸エチル-プロピルアルコール-酢酸 (40:30:2:1)</p> <p>保持時間：アスコルビン酸は約 10 分間、エリソルビン酸は約 10.5 分間</p> <p>(4)・(5) (略)</p> <p>31 ビタミンD (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンD：日本薬局方標準品「エルゴカルシフェロール」(ビタミンD<sub>2</sub>) 又は「コレカルシフェロール」(ビタミンD<sub>3</sub>)<sup>註1)</sup> 又は同等品を用いる。植物性食品の分析にはビタミンD<sub>2</sub>を、動物性食品の場合にはビタミンD<sub>3</sub>を用いる。強化食品<sup>註2)</sup>に関しては、添加された製剤に応じて、ビタミンD<sub>2</sub>又はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。なお、添加製剤が不明の場合はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。</li> <li>・ビタミンD標準溶液：エタノールで0.2 μg/mLになるように溶解する。</li> <li>・ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・アセトニトリル</li> <li>・エーテル</li> </ul>	<p>4) 本測定条件では、アスコルビン酸とエリソルビン酸の分別はできない。エリソルビン酸の分別定量をする場合の測定条件の例を次に示す。</p> <p>移動相：n-ヘキサン-酢酸エチル-プロピルアルコール-酢酸 (40:30:2:1)</p> <p>保持時間：アスコルビン酸は約 10 分間、エリソルビン酸は約 10.5 分間</p> <p>(4)・(5) (略)</p> <p>31 ビタミンD (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンD：日本薬局方標準品「エルゴカルシフェロール」(ビタミンD<sub>2</sub>) 又は「コレカルシフェロール」(ビタミンD<sub>3</sub>)<sup>註1)</sup> 又は同等品を用いる。植物性食品の分析にはビタミンD<sub>2</sub>を、動物性食品の場合にはビタミンD<sub>3</sub>を用いる。強化食品<sup>註2)</sup>に関しては、添加された製剤に応じて、ビタミンD<sub>2</sub>又はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。なお、添加製剤が不明の場合はビタミンD<sub>3</sub>を用いる。</li> <li>・ビタミンD標準溶液：エタノールで0.2 μg/mLになるように溶解する。</li> <li>・n-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・アセトニトリル</li> <li>・エーテル</li> </ul>

<p>・ 1 w/v%ピロガロール-エタノール溶液：ピロガロール 1 g にエタノール 100 mL を加え溶解する。この溶液は用時調製とする。</p> <p>・ 60 w/v%水酸化カリウム溶液：水酸化カリウム 600 g に冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 1 L とする。</p> <p>・ その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>③ 試験溶液の調製<sup>注3)</sup></p> <p>1) けん化<sup>注4)</sup></p> <p>試料が油状の場合は 0.2~0.5 g、粉末の場合は 1~2 g、液体の場合は 5~10 g を 60 mL 容共栓付き遠心管に精密に量る (W g)。粉末については 1 w/v%塩化ナトリウム溶液 3~5 mL を加え、70 °C で 3 分間膨潤させる。</p> <p>1 w/v%ピロガロール-エタノール溶液 10 mL、60 w/v%水酸化カリウム溶液 2 mL、水酸化カリウム 2 g を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 1 時間加熱する。冷水中で速やかに室温まで冷却する。1 w/v%塩化ナトリウム溶液を合計で 22 mL になるように加え (例えば、粉末の試料で、けん化の前に 3 mL 加えた場合は 19 mL を加える。また液体の試料 10 g を採取した場合は 12 mL を加える。)、酢酸エチル-<u>n</u>-ヘキサン混液 (1:9) 15 mL を加えて栓をし、5 分間振とうする。遠心分離 (1,500 回転/分、5 分間) 後、駒込ビペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層を酢酸エチル-<u>n</u>-ヘキサン混液 (1:9) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 35 °C で減圧濃縮する。残留物をジエチルエーテルに溶解し、10 mL 容共栓付き試験管に移した後、窒素気流下で溶媒を留去する。残留物をメタノール-アセトニトリル (1:9) の適量 (0.5 mL 以上) に正確に溶解し (V mL)、必要に応じてメタノール-アセトニトリル (1:9) で適宜希釈して (希釈倍数: D) 試験溶液</p>	<p>・ 1 w/v%ピロガロール-エタノール溶液：ピロガロール 1 g にエタノール 100 mL を加え溶解する。この溶液は用時調製とする。</p> <p>・ 60 w/v%水酸化カリウム溶液：水酸化カリウム 600 g に冷却しながら水を加えて溶解し、正確に 1 L とする。</p> <p>・ その他の試薬は、特に指定のない限り特級を用いる。</p> <p>③ 試験溶液の調製<sup>注3)</sup></p> <p>1) けん化<sup>注4)</sup></p> <p>試料が油状の場合は 0.2~0.5 g、粉末の場合は 1~2 g、液体の場合は 5~10 g を 60 mL 容共栓付き遠心管に精密に量る (W g)。粉末については 1 w/v%塩化ナトリウム溶液 3~5 mL を加え、70 °C で 3 分間膨潤させる。</p> <p>1 w/v%ピロガロール-エタノール溶液 10 mL、60 w/v%水酸化カリウム溶液 2 mL、水酸化カリウム 2 g を加え、70 °C 水浴中でガラス棒で時々かき混ぜながら 1 時間加熱する。冷水中で速やかに室温まで冷却する。1 w/v%塩化ナトリウム溶液を合計で 22 mL になるように加え (例えば、粉末の試料で、けん化の前に 3 mL 加えた場合は 19 mL を加える。また液体の試料 10 g を採取した場合は 12 mL を加える。)、酢酸エチル-<u>n</u>-ヘキサン混液 (1:9) 15 mL を加えて栓をし、5 分間振とうする。遠心分離 (1,500 回転/分、5 分間) 後、駒込ビペットで上層を 100 mL 容なす形フラスコに移す。水層を酢酸エチル-<u>n</u>-ヘキサン混液 (1:9) 15 mL でさらに 2 回、同様に抽出する。抽出液を合わせ 35 °C で減圧濃縮する。残留物をジエチルエーテルに溶解し、10 mL 容共栓付き試験管に移した後、窒素気流下で溶媒を留去する。残留物をメタノール-アセトニトリル (1:9) の適量 (0.5 mL 以上) に正確に溶解し (V mL)、必要に応じてメタノール-アセトニトリル (1:9) で適宜希釈して (希釈倍数: D) 試験溶液</p>
--	--

とする。

試料と同時にビタミンD標準溶液1、2、4mLをそれぞれ正確に量り、けん化処理を行う。

2) 分取<sup>注5)</sup>

逆相型カラム (Nucleosil 5C 18 (ナーゲル社製)、内径7.5 mm、長さ300 mmあるいは相当品) を付けた高速液体クロマトグラフに紫外部検出器、フラクシヨコレクター (ドロップカウンター) を連結する。高速液体クロマトグラフの条件は、移動相にメタノール-アセトニトリル (1:9) を用い、流量は1.5 mL/分とする。あらかじめ、けん化していない標準ビタミンDを高速液体クロマトグラフに注入し、保持時間を確認しておく。

次に、1) で得られた試験溶液及びビタミンD標準溶液 150  $\mu$ L をそれぞれ高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンDを含む画分 (保持時間の前後約90秒間) を分取する。減圧濃縮後、残留物をn-ヘキサン-イソプロピルアルコール (99.6:0.4) 200  $\mu$ Lに溶解し、測定用試験溶液及び測定用標準溶液とする。

④ 測定<sup>注5)</sup>

測定用試験溶液の一定量を順相型カラムを付けた高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンDのピーク高さを測定し、あらかじめ同量の測定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検量線から、試験溶液中の濃度 (C  $\mu$ g/mL) を求め、試料中のビタミンD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: Nucleosil 100-5 (ナーゲル社製) 又は相当品、内径4.6 mm、長さ250 mm、ステンレス製

移動相: n-ヘキサン-イソプロピルアルコール (99.6:0.4)

とする。

試料と同時にビタミンD標準溶液1、2、4mLをそれぞれ正確に量り、けん化処理を行う。

2) 分取<sup>注5)</sup>

逆相型カラム (Nucleosil 5C 18 (ナーゲル社製)、内径7.5 mm、長さ300 mmあるいは相当品) を付けた高速液体クロマトグラフに紫外部検出器、フラクシヨコレクター (ドロップカウンター) を連結する。高速液体クロマトグラフの条件は、移動相にメタノール-アセトニトリル (1:9) を用い、流量は1.5 mL/分とする。あらかじめ、けん化していない標準ビタミンDを高速液体クロマトグラフに注入し、保持時間を確認しておく。

次に、1) で得られた試験溶液及びビタミンD標準溶液 150  $\mu$ L をそれぞれ高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンDを含む画分 (保持時間の前後約90秒間) を分取する。減圧濃縮後、残留物をn-ヘキサン-イソプロピルアルコール (99.6:0.4) 200  $\mu$ Lに溶解し、測定用試験溶液及び測定用標準溶液とする。

④ 測定<sup>注5)</sup>

測定用試験溶液の一定量を順相型カラムを付けた高速液体クロマトグラフに注入し、ビタミンDのピーク高さを測定し、あらかじめ同量の測定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検量線から、試験溶液中の濃度 (C  $\mu$ g/mL) を求め、試料中のビタミンD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: Nucleosil 100-5 (ナーゲル社製) 又は相当品、内径4.6 mm、長さ250 mm、ステンレス製

移動相: n-ヘキサン-イソプロピルアルコール (99.6:0.4)

<p>測定波長：254 nm 又は 265 nm</p> <p>流量：1.6 mL/分</p> <p>温度：室温</p> <p>注入量：100 <math>\mu</math>L</p> <p>⑤ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>32 ビタミンE (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンE：日本薬局方標準品「<math>\alpha</math>-トコフェロール」又は同等品を用いる。</li> <li>・<u>n</u>-ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) 一般食品の場合</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容の遠心管に精密に量り取る (W g)。これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL 及び 60 w/v% 水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 <math>^{\circ}</math>C で 30 分間けん化する。速やかに冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液を 20 mL 及び <u>n</u>-ヘキサン-酢酸エチル混液 (9 : 1) 15 mL を加え、栓をして 5 分間激しく振とうし、不けん化物を抽出</p>	<p>測定波長：254 nm 又は 265 nm</p> <p>流量：1.6 mL/分</p> <p>温度：室温</p> <p>注入量：100 <math>\mu</math>L</p> <p>⑤ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>32 ビタミンE (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>① (略)</p> <p>② 試薬</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・標準ビタミンE：日本薬局方標準品「<math>\alpha</math>-トコフェロール」又は同等品を用いる。</li> <li>・ヘキサン</li> <li>・酢酸エチル</li> <li>・その他の試薬は特に指定のない限り特級を用いる。</li> </ul> <p>③ 試験溶液の調製</p> <p>1) 一般食品の場合</p> <p>試料約 0.5 g を 60 mL 容の遠心管に精密に量り取る (W g)。これに 1 w/v% 塩化ナトリウム溶液 2 mL を加えてかくはん後、3 w/v% ピロガロール-エタノール溶液 10 mL 及び 60 w/v% 水酸化カリウム溶液 1 mL を加え、70 <math>^{\circ}</math>C で 30 分間けん化する。速やかに冷却後、1 w/v% 塩化ナトリウム溶液を 20 mL 及び <u>n</u>-ヘキサン-酢酸エチル混液 (9 : 1) 15 mL を加え、栓をして 5 分間激しく振とうし、不けん化物を抽出</p>
---	--

<p>抽出する。2,000回転/分で5分間遠心分離し、上層をなす形フラスコに移す。下層はn-ヘキサン-酢酸エチル混液 15 mL でさらに2回同様に抽出する。得られた上層を集め、減圧濃縮後、一定量のn-ヘキサンに溶解し (V mL)、必要に応じてn-ヘキサンで適宜希釈して (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>2) 油脂の場合</p> <p>試料が油脂の場合は、1) のけん化操作を省き HPLC に直接注入することができる。この場合、油脂約 1g を精密に量り取り (W g)、一定量のn-ヘキサンに溶解・定容 (V mL) し、必要に応じてn-ヘキサンで適宜希釈して (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>④ 標準溶液の調製</p> <p>1) (略)</p> <p>2) HPLC 用標準溶液</p> <p>一定量の <math>\alpha</math>-トコフェロール標準原液を褐色なす形フラスコ又は褐色全量フラスコに正確に量り、溶媒を濃縮乾固又は窒素気流下で留去した後、n-ヘキサンに溶解する。全量フラスコを用いて正確に希釈し、HPLC 用標準溶液とする。冷蔵保存し、1 か月ごとに調製する。</p> <p>⑤ 測定</p> <p>試験溶液の一定量 (5~50 <math>\mu</math>L) を HPLC に注入し、試料中の <math>\alpha</math>-トコフェロールのピーク面積を測定する。同様に HPLC 用標準溶液を HPLC に注入し、ピーク面積から <math>\alpha</math>-トコフェロールの検量線を作成する。検量線から試験溶液中の濃度 (C <math>\mu</math>g/mL) を求め、試料中のビタミン E 含量を求める。</p> <p>&lt; 高速液体クロマトグラフ操作条件例注 1 ) &gt;</p> <p>カラム：JASCO Finepak SIL 5 (日本分光製) 又は相当品、内径 4.6</p>	<p>する。2,000回転/分で5分間遠心分離し、上層をなす形フラスコに移す。下層はヘキサン-酢酸エチル混液 15 mL でさらに2回同様に抽出する。得られた上層を集め、減圧濃縮後、一定量のヘキサンに溶解し (V mL)、必要に応じてヘキサンで適宜希釈して (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>2) 油脂の場合</p> <p>試料が油脂の場合は、1) のけん化操作を省き HPLC に直接注入することができる。この場合、油脂約 1g を精密に量り取り (W g)、一定量のヘキサンに溶解・定容 (V mL) し、必要に応じてヘキサンで適宜希釈して (希釈倍数：D)、試験溶液とする。</p> <p>④ 標準溶液の調製</p> <p>1) (略)</p> <p>2) HPLC 用標準溶液</p> <p>一定量の <math>\alpha</math>-トコフェロール標準原液を褐色なす形フラスコ又は褐色全量フラスコに正確に量り、溶媒を濃縮乾固又は窒素気流下で留去した後、ヘキサンに溶解する。全量フラスコを用いて正確に希釈し、HPLC 用標準溶液とする。冷蔵保存し、1 か月ごとに調製する。</p> <p>⑤ 測定</p> <p>試験溶液の一定量 (5~50 <math>\mu</math>L) を HPLC に注入し、試料中の <math>\alpha</math>-トコフェロールのピーク面積を測定する。同様に HPLC 用標準溶液を HPLC に注入し、ピーク面積から <math>\alpha</math>-トコフェロールの検量線を作成する。検量線から試験溶液中の濃度 (C <math>\mu</math>g/mL) を求め、試料中のビタミン E 含量を求める。</p> <p>&lt; 高速液体クロマトグラフ操作条件例注 1 ) &gt;</p> <p>カラム：JASCO Finepak SIL 5 (日本分光製) 又は相当品、内径 4.6</p>
--	--

<p>mm、長さ 250 mm、ステンレス製</p> <p>移動相：酢酸-イソプロピルアルコール-n-ヘキサン (5:6:1000)</p> <p>検出器：励起波長 (Ex) 298 nm          蛍光波長 (Em) 325 nm</p> <p>流量：1.2 mL/分          温度：40 °C          注入量：5 ~ 50 µL</p> <p>⑥ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p>	<p>mm、長さ 250 mm、ステンレス製</p> <p>移動相：酢酸-イソプロピルアルコール-n-ヘキサン (5:6:1000)</p> <p>検出器：励起波長 (Ex) 298 nm          蛍光波長 (Em) 325 nm</p> <p>流量：1.2 mL/分          温度：40 °C          注入量：5 ~ 50 µL</p> <p>⑥ (略)</p> <p>[注] (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p>
<p>33 ビタミン K (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>①~⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) ~ 4) (略)</p> <p>5) 極性成分を多く含み、測定対象物が定量できない場合、シリカゲル固相抽出カートリッジ (Sep-pak silica cartridge, waters 等) を用いてきよ雑物を除去する。メーカーの説明に従ってコソニドイシヨニングした Sep-pak silica 690 mg (ウオターズ、WAT020520) 又は同等品に、試験溶液の全量を通液し、さらに 30 mL の n-ヘキサン・ジエチルエーテル混液 (85:15) で数回に分けて容器を共洗いしながらカートリッジに通液する。全溶出液を回収し、減圧留去の後、2-プロパノールを用いて定容し (V mL)、必要に応じて 2-プロパノールで適宜希釈して (希釈倍数: D)、試</p>	<p>33 ビタミン K (略)</p> <p>(1) 高速液体クロマトグラフ法</p> <p>①~⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) ~ 4) (略)</p> <p>5) 極性成分を多く含み、測定対象物が定量できない場合、シリカゲル固相抽出カートリッジ (Sep-pak silica cartridge, waters 等) を用いてきよ雑物を除去する。メーカーの説明に従ってコソニドイシヨニングした Sep-pak silica 690 mg (ウオターズ、WAT020520) 又は同等品に、試験溶液の全量を通液し、さらに 30 mL の n-ヘキサン・ジエチルエーテル混液 (85:15) で数回に分けて容器を共洗いしながらカートリッジに通液する。全溶出液を回収し、減圧留去の後、2-プロパノールを用いて定容し (V mL)、必要に応じて 2-プロパノールで適宜希釈して (希釈倍数: D)、試</p>

<p>験溶液とする。</p> <p>6) (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>34 (略)</p> <p>35 熱量</p> <p>(1) ~ (3) (略)</p> <p>(4) 有機酸<sup>注1)</sup></p> <p>1) 有機酸<sup>注2)</sup></p> <p>①~⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) (略)</p> <p>2) 油脂を多く含むドレッシング類には、以下の方法で高速液体クロマトグラフ用の試験溶液を調製することが勧められる。</p> <p>すなわち、試料 20 g を共栓付き三角フラスコに量り、水分の全量が 100 mL となるように水を加えた後、よく振とう混合する。遠心分離 (3,000 回転/分、10 分間) 後、傾斜法ないし駒込ピペットを用いて水層を分液漏斗に移す。この水層部に n-ヘキサン (特級) 50 mL を加えて静かに振とう後、静置して得た水層部を試験溶液とする。</p> <p>* 適当な一定量の水を加え、別途求めた試料の水分含量値を用いて水層量を補正し、定容量としてもよい。</p> <p>3) (略)</p> <p>(5) ~ (7) (略)</p>	<p>験溶液とする。</p> <p>6) (略)</p> <p>[参考文献] (略)</p> <p>34 (略)</p> <p>35 熱量</p> <p>(1) ~ (3) (略)</p> <p>(4) 有機酸<sup>注1)</sup></p> <p>1) 有機酸<sup>注2)</sup></p> <p>①~⑥ (略)</p> <p>[注]</p> <p>1) (略)</p> <p>2) 油脂を多く含むドレッシング類には、以下の方法で高速液体クロマトグラフ用の試験溶液を調製することが勧められる。</p> <p>すなわち、試料 20 g を共栓付き三角フラスコに量り、水分の全量が 100 mL となるように水を加えた後、よく振とう混合する。遠心分離 (3,000 回転/分、10 分間) 後、傾斜法ないし駒込ピペットを用いて水層を分液漏斗に移す。この水層部に n-ヘキサン (特級) 50 mL を加えて静かに振とう後、静置して得た水層部を試験溶液とする。</p> <p>* 適当な一定量の水を加え、別途求めた試料の水分含量値を用いて水層量を補正し、定容量としてもよい。</p> <p>3) (略)</p> <p>(5) ~ (7) (略)</p>
---	---



別添 アレルゲンを含む食品に関する表示～別添 Shellfish Growing Areas  
Classified for Harvest for Human Consumption in Accordance with  
Regulation 48 of the Animal Products (略)

別添 アレルゲンを含む食品に関する表示 ～ 別添 Shellfish Growing  
Areas Classified for Harvest for Human Consumption in Accordance with  
Regulation 48 of the Animal Products (略)

