

食品分析における分析精度に関する研究

後藤優治 ・ 櫛野智也 ・ 安部良樹 ・ 松田みゆき ・ 松田貴志 ・ 鶴岡克彦 ・
佐野一成 ・ 高木喜保 ・ 山本展久
食品産業担当

Study on analytical accuracy in food analysis

Yuji GOTO, Tomoya KUSHINO, Yoshiki ABE, Miyuki MATSUDA, Takashi MATSUDA, Katsuhiko
TURUOKA, Kazunari SANNO, Kiho TAKAKI, Nobuhisa YAMAMOTO
Food Industry Section

要 旨

食品産業担当における分析のうち、分析頻度の高い、たんぱく質の定量に用いるケルダール分析で分析精度の向上のための手法を検討した。前年度のしょうゆを用いた検討においては、ばらつきの大きい測定者も認められたものの、個人の平均値、全体の平均値ともに他の分析機関と比較しても満足できる結果となっていた。

そこで、本年度はケルダール法の手技において、各人が分析精度を評価し、手技の確認を行うための、模擬サンプルの作製と分析、評価を行った。模擬サンプルとして、尿素及び硫酸アンモニウムを用いて試験を実施し、いずれの試薬においても高い回収率が確認できた。そのため、尿素は分解及び蒸留の手技の確認、硫酸アンモニウムは蒸留の手技の確認のための模擬サンプルとできることが確認できた。

1. はじめに

食品表示法の改正により、すべての加工食品に対して栄養成分表示が義務化され、各企業では成分分析や表示変更の対応が急務となっている。また、当センターでは通常の業務として、分析の実施や表示の指導などに取り組んでいる。

食品表示は法律に基づき、各種の解説書や講習などで確認でき、分析方法は公定法や手順書、解説書などがあり参考とすることができる。しかしながら、実際の食品分析では、手分析（秤量、分解、呈色確認）によるものがほとんどであり、分析値がばらつくことが予想される。ばらつきの要因としては、各個人の手技やノウハウによるところが大きく、経験による慣れや、外部機関との精度確認試験で手技の確認が、ばらつきを小さくするには役立っている。

これまで当センターでは、分析精度の向上や手技の向上のために、外部機関との精度確認試験を行ったことはあるものの、当センター内での分析精度を評価したことはない。そのため、当センター内で分析精度を評価することにより、各人の分析手法の見直しや分析精度、分析値の信頼性の向上が期待できる。

さらに、当センターとの分析値を比較することにより、各企業での分析精度の評価、精度管理の方法について相談、

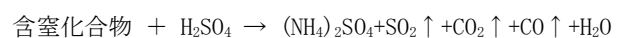
指導の指標や資料となることが期待できる。

本研究では、前年度にしょうゆの分析により、当センター職員における分析精度の検討を行い、精度の確認を行った。本年度は、ケルダール法の手技における、模擬サンプルの作製と分析、評価を行ったので報告する。

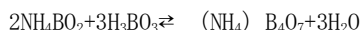
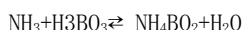
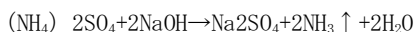
2. 方 法

当センターでは、たんぱく質の定量法としてケルダール分析を用いている。ケルダール分析は有機物中の窒素(N)量を定量することにより、たんぱく質を定量する分析方法である。

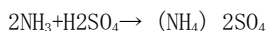
たんぱく質を含む試料に濃硫酸を加えて加熱すると、分解と同時に酸化還元反応がおこり、たんぱく質などに含まれる窒素はアンモニアに変わり硫酸アンモニウムとして分解液中に残り、同時に炭水化物、脂質などの分解に由来する亜硫酸ガス、二酸化炭素、一酸化炭素なども発生する。



この分解液に、過剰量の濃水酸化ナトリウム溶液を加え水蒸気蒸留するとアンモニアが遊離する。このアンモニアを冷却し、ホウ酸溶液に回収する。



回収したアンモニアを 0.1 規定の硫酸で滴定する。



滴定値から、たんぱく質量を計算により、算出する。

2.1 試験材料

本試験では、分子中に窒素(N)、炭素(C)、酸素(O)を含む有機物のモデルとして、尿素(試薬特級、富士フィルム和光純薬(株))、ケルダール分析における中間生成物である、硫酸アンモニウム(試薬特級、富士フィルム和光純薬(株))を模擬サンプル物質候補として検討を実施した。

2.2 試薬の調製

尿素(分子式: CH_4N_2O , 分子量: 60.06)を 12.012g 秤量し、蒸留水にて 200ml にメスアップし、1mol/L の溶液を調製した。

硫酸アンモニウム(分子式: $(NH_4)_2SO_4$, 分子量: 132.14)を 26.428g 秤量し、蒸留水にて 200ml にメスアップし、1mol/L の溶液を調製した。

2.3 分子中窒素の定量

2.3.1 蒸留の検討

(a) 秤量 1mol/L の硫酸アンモニウム溶液を、マイクロピペットにて 1mL, 0.5mL, 0.25mL 採取した。併行試験として、同時に 3 系列の試験とした。

(b) 蒸留 濃水酸化ナトリウム溶液を加え水蒸気蒸留し、溜液をホウ酸水溶液に回収した。

(c) 滴定 0.1 規定の硫酸 (F=1.028) で滴定し、滴定値をもとめた。

2.3.2 分解、蒸留の検討

(a) 秤量 尿素溶液 (1mol/L)、および硫酸アンモニウム溶液 (1mol/L) を用いた。1mol/L の尿素溶液を、マイクロピペットにて 1mL, 0.5mL 採取した。併行試験として、同時に 3 系列の試験とした。1mol/L の硫酸アンモニウム溶液を、マイクロピペットにて 1mL, 0.5mL 採取した。併行試験として、同時に 2 系列の試験とした。

(b) ケルダール分解 分解促進剤、濃硫酸約 12mL を加え、分解液が透明になるまで加熱した。

(c) 蒸留 濃水酸化ナトリウム溶液を加え水蒸気蒸留し、溜液をホウ酸水溶液に回収した。

(d) 滴定

0.1 規定の硫酸 (F=1.028) で滴定し、滴定値をもとめた。

3. 結果および考察

3.1 蒸留試験結果について

硫酸アンモニウムによる蒸留試験の結果を、Table. 1 に示した。また、滴定値と理論値を、Fig. 1 に示した。

各測定値を見ると、理論値に対して測定値はほぼ一致しており、回収率としてみるとすべて 97%以上であり、ばらつきも小さかった。

Table 1 硫酸アンモニウムによる蒸留試験の結果

添加量 (mL)	理論値 (計算値) (mL)	滴定量 (mL)			回収率 (%)	
		測定値	平均値	2SD		平均値
1.0	19.46	19.20	19.20	0.0115	98.69	98.7
		19.20			98.69	
		19.21			98.74	
0.5	9.73	9.60	9.68	0.150	98.69	99.5
		9.68			99.51	
		9.75			100.23	

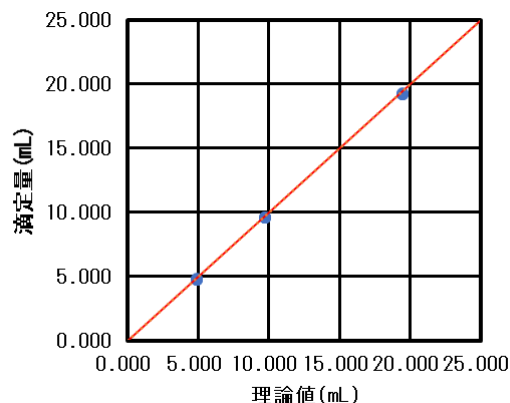


Fig. 1 蒸留試験の滴定値と理論値

3.2 分解、蒸留試験結果について

硫酸アンモニウムによる分解、蒸留試験の結果を、Table 2 に、尿素による分解、蒸留試験の結果を、Table 3 に示した。また、硫酸アンモニウムの滴定値と理論値を Fig. 2 に、尿素的の滴定値と理論値を Fig. 3 に示した。

Table 2 硫酸アンモニウムによる分解、蒸留試験の結果

添加量 (mL)	理論値 (計算値) (mL)	滴定量 (mL)			回収率 (%)	
		測定値	平均値	2SD		平均値
1.0	19.46	19.30	19.24	6.20×10^{-6}	99.20	98.9
		19.25			98.95	
		19.18			98.59	
0.5	9.73	9.60	9.59	2.37×10^{-6}	98.69	98.6
		9.56			98.28	
		9.60			98.69	
0.25	4.86	4.80	4.78	2.59×10^{-6}	98.69	98.4
		4.75			97.66	
		4.78			98.28	

Table 3 尿素による分解, 蒸留試験の結果

添加量 (mL)	理論値 (計算値) (mL)	滴定量 (mL)			回収率 (%)	
		測定値	平均値	2 S D		平均値
1.0	19.46	19.15	19.17	0.0424	98.43	98.5
		19.18			98.59	
0.5	9.73	9.60	9.57	0.0990	98.69	98.4
		9.53			97.97	

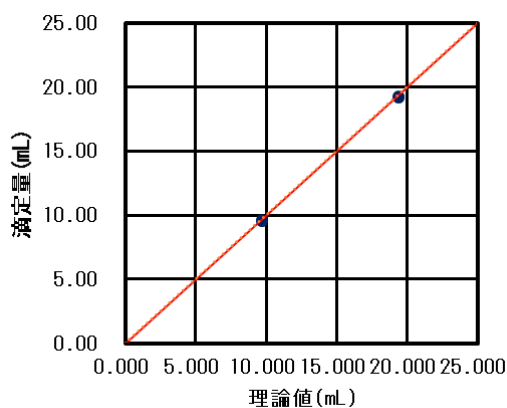


Fig. 2 硫酸アンモニウムの滴定量と理論値

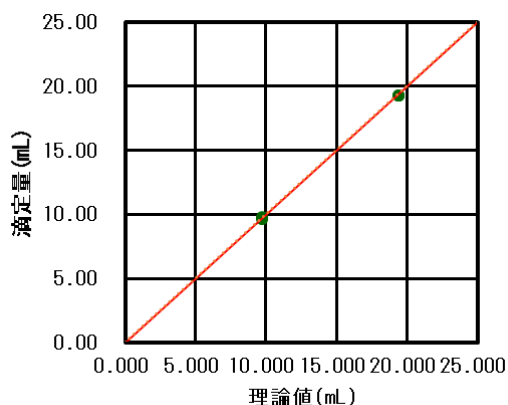


Fig. 3 尿素有滴定量と理論値

硫酸アンモニウムの各測定値を見ると, 理論値に対して測定値はほぼ一致しており, 回収率としてみるとすべて97%以上であった. また, 蒸留のみの場合と比較しても, 同等の結果となっており, 分解による滴定量への影響もないことが確認できた.

さらに, 尿素有の各測定値を見ると, 理論値に対して測定値はほぼ一致しており, 回収率としてみるとすべて98%以上であった.

4. まとめ

ケルダール分析における有機物の模擬サンプルとして定容した尿素が利用できることが確認できた. 尿素におい

ては窒素の定量のために, 分解及び蒸留を要し, 分解, 蒸留を行っても, 理論値と同等の結果が得られることから, 蒸留, 分解において想定される反応のみが生じ, 窒素の揮散や他の化合物への変換が生じていないと考えられた. このことから, 尿素がケルダール分析における手技の確認に利用できると考えられる.

また, 標準品, 低濃度サンプルにおける添加回収試験, 測定誤差確認のためのブランク測定, 試薬のロット間差比較確認などへの応用が期待できる.

また, 定容した硫酸アンモニウムは, 分解, 蒸留を行った場合でも, 蒸留のみを行った場合でも理論値と同等の結果が得られることから, 蒸留, 分解において想定される反応のみが生じ, 窒素の揮散や他の化合物への変換が生じていないと考えられた.

このことから, 硫酸アンモニウムがケルダール分析における蒸留の手技確認に利用できると考えられた.

この, 尿素, 硫酸アンモニウムの模擬サンプルの作製により, 分解, 蒸留, 滴定のすべての段階で標準品が確保できることから, ケルダール分析の各段階において, 測定者の手技の確認, 及び分析精度の向上のための確認が行えると考えられた.

5. 今後の方向性

種々の試験を実施している, 当センターにおける分析精度向上のためには, 本研究のような精度確認を定期的に行うとともに, 外部試験を利用したプロフィシエンス試験への参加や, 同一サンプルや標準品を用いた当センター内での確認試験の実施が重要であると考えられる.