

3

一般成分組成

3-1 水分含量

水分に栄養価値はほとんどないが、栄養素や代謝産物等を血管を通じて運搬する触媒としての働きがある¹⁾。水分は動物の筋肉中でもっとも多い成分である。Hamm²⁾は新鮮肉の水分は70%が筋線維中に、20%が筋漿中に、10%が結合組織中にあることを明らかにしている。

水分の分析は、各実施場所で使用サンプル重量、器具、乾燥時間が多少異なっており、例えば、サンプル3gを用いる手法、容器にアルミ製カップを用いる手法、乾燥温度が135℃で2時間行う手法等がある。

ここでは、家畜改良センターで行っている分析方法について、以下に述べる。

①事前準備

(1)ビーカーにガラス棒および海砂を約2g入れる。1 サンプルについて、最低2個用意する。

注) 海砂を用いない場合、サンプルが固まり中心部が十分に乾燥せず、誤差を生じる可能性があるので注意する。

(2)ビーカーを135℃の恒温乾燥器に入れ、2時間乾燥する。

(3)乾燥後、るつぼはさみを用いて素早くデシケーターに移し、30分放冷する。

(4)放冷後、秤量する。(データⅠ)

②サンプルの乾燥および秤量

・手の脂や汚れがビーカーに付かないように手は清拭するか手袋等をする。

(1)秤量済みのビーカーに、サンプル（ミンチ肉）を約2g入れ、正確にサンプル重量（データⅡ）を量る。

(2)ガラス棒を用いて、ビーカー内の海砂がサンプルと十分に混ざるように静かに混合する。

(3)サンプルの入ったビーカーを105℃の恒温乾燥器に入れ、24時間乾燥する。

(4)乾燥後、るつぼはさみを用いて素早くデシケーターに移し、30分放冷する。

(5)放冷後、秤量する。(データⅢ)



海砂 サンプルと混合後



乾燥後



恒温乾燥器



デシケーター

③水分含量の算出

$$\text{水分含量 (\%)} = \{ (Ⅰ + Ⅱ) - Ⅲ \} \div Ⅱ \times 100$$

引用文献

1) 細野明義、鈴木敦士、畜産加工、朝倉書店：38-69、1989

2) Hamm,R、Fleischwirts 18：856、1966

3-2 粗脂肪含量

動物の体構成成分のうちで、脂肪は変動が大きく、その質や量は動物の品種¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、年齢、飼養条件⁶⁾等によって異なる。動物の枝肉中の脂肪は皮下脂肪、筋間脂肪、腎臓周囲脂肪、腹腔内脂肪、筋肉内脂肪に分類される。筋肉の二次筋束周囲の結合組織に沈着する脂肪が筋間脂肪であり、一次筋束の周囲の結合組織に沈着するのが筋肉内脂肪、すなわち脂肪交雑である。ここで示す粗脂肪含量とは筋肉内脂肪の割合のことである。

以下に述べる手法は、水分測定後のサンプルを用いることから、使用可能なサンプル量が限られている場合に最適であると思われる。

①事前準備

- (1)ソックスレー抽出ピンを135℃の恒温乾燥機に入れ、2 時間乾燥する。1 サンプルについて、2 個用意する。
- (2)乾燥後、るつぼはさみを用いて素早くデシケーターに移し、30分放冷する。
- (3)放冷後、秤量する。(データ I)

②抽出および秤量

- ・ 抽出作業は、有機溶媒であるエーテルを使用するためドラフト内で行う。
 - ・ 手の脂や汚れが付かないように手は清拭するか手袋等をする。
- (1)ソックスレー抽出器のサイフォン部に上部を約5 mm切った円筒濾紙を入れる。
 - (2)抽出ピンをサイフォン部にセットし、ロート等を用いてサイフォン上部から水分含量を測定したサンプルを円筒濾紙内に入れる。
注) 円筒濾紙に入れる前にサンプルは固まりがないように混ぜておく。
 - (3)サンプルが入っていたピーカー内にエーテルを約30ml注ぎ入れ、ガラス棒でピーカー壁についているサンプル片をそぎ取りながら、ロート等を用いてサイフォン上部からエーテルとともに注ぎ入れる。この操作を3 回以上行い、サイフォン内のエーテルがオーバーフローし、抽出ピンに移ったのを確認する。
 - (4)ロート壁を洗い流すように、エーテルを円筒濾紙内に注ぎ入れ、脱脂綿で円筒濾紙に栓をする。
 - (5)サンプルの入った抽出器を55℃程度の温湯が入ったソックスレー抽出用ウォーターバスにセットし、16時間以上還流する。
注) エーテルが揮発し、還流しなくなったら、ロート等を用いて冷却管上部からエーテルを注ぎ入れ、再び還流させる。この場合は、還流停止時間を考慮し、還流時間をやや長めにする。
 - (6)還流終了後、抽出ピンを外し、ドラフト室内でエーテル臭が無くなるまで放置する。
 - (7)抽出ピンを105℃の恒温乾燥機に入れ、2 時間乾燥する。
 - (8)乾燥後、るつぼはさみを用いて素早くデシケーターに移し、30分放冷する。
 - (9)放冷後、秤量する。(データ II)



抽出ビン



ソックスレー抽出器



ソックスレー抽出用ウォーターバス



③粗脂肪含量の算出

$$\text{粗脂肪含量 (\%)} = (\text{II} - \text{I}) / \text{水分含量測定時のサンプル重量} \times 100$$

引用文献

- 1) Xie, Y.R ら Meat Sci.43 : 167-177、1996
- 2) Zembayashi, M ら Meat Sci.43 : 83-92、1996
- 3) May, S.G ら J.Anim.Sci.72 : 3110-3117、1994
- 4) Zembayashi, M ら J.Anim.Sci.73 : 3325-3332、1995
- 5) Enser, M ら Meat Sci.42 : 443-456、1996
- 6) 道後泰治、鳥飼善郎、兵庫中央技研報 28 : 7、1992

3-3 粗蛋白質含量

蛋白質は動物筋肉において筋線維や結合組織を構成しており、生体の維持や生理機能を遂行するために必要な成分である。

蛋白質の定量法として一般にケルダール法が行なわれており、これは食品中の窒素量を定量し蛋白質に換算する方法である。蛋白質は、約16%窒素（N₂）を含んでおり、その窒素はアミノ基（NH₂）に由来している。そのアミノ基に含まれる窒素を以下の方法で滴定して窒素量を定量する。得られた窒素量は蛋白質中の窒素だけではなく、無機質のアンモニア態窒素も含まれているため粗蛋白質と呼び、滴定した窒素量に16%の逆数の6.25を乗じて粗蛋白質含量とする。

①原理

(1)加熱分解

サンプル肉に硫酸（H₂SO₄）と分解促進剤（硫酸銅CuSO₄、硫酸カリウムK₂SO₄）を入れて加熱分解する。有機物が分解すると透明だが、分解促進剤の銅イオンが青いので、実際には青透明となる。この分解物は、安定性が高い。なお、促進剤がないと分解ができず、茶褐色となることから、促進剤は触媒としての役割がある。加熱の際にでる刺激臭をとまなう物質は、硫酸ミスト（硫酸は完全には気化しない）であるので取り扱いには十分注意する。

反応式：サンプル肉＋硫酸H₂SO₄ → 硫酸アンモニウム（NH₄）₂SO₄＋硫酸ミスト

(2)蒸留

加熱分解物（硫酸アンモニウム）は、強アルカリ性下で加熱蒸留することにより、アンモニアガス（NH₃）が流出する。このガスをホウ酸水溶液中に溶解する。まず、分解物に蒸留水を加え、後の中和アルカリ反応時の突沸を防ぐ。蒸留水を加えたら、水酸化ナトリウム水溶液（NaOH）で中和し、さらにアルカリ化して、アンモニアガスを流出させる。

反応式：硫酸アンモニウム（NH₄）₂SO₄＋蒸留水＋水酸化ナトリウム2NaOH → アンモニアガス2NH₃＋水2H₂O＋硫酸ナトリウムNa₂SO₄

流出したアンモニアガスをホウ酸水溶液（HBO₃）に吸着させて、NH₃-HBO₃にする。アンモニアガスは冷やされると液体になり、ホウ酸水溶液にふれると水溶液中に溶解される。

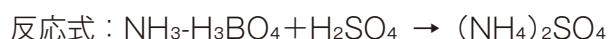
反応式：アンモニアガスNH₃＋ホウ酸HBO₃ → NH₃-HBO₃

注）ホウ酸水溶液にはあらかじめ指示薬としてメチルレッドとブロムクレゾールグリーンを混ぜて作成する。この指示薬は色によりpHの判定に用いる（アルカリ → 酸：メチルレッド；黄 → 赤、ブロムクレゾールグリーン；青 → 黄）。指示薬の判定には、pHを計測する機器と比色判定の2通りあるが、家畜改良センターで使用している機器は比色法である。

(3)滴定

滴定量の算出は、ホウ酸水溶液中に溶解したアンモニアガスを正確な濃度、量の判明している硫酸（0.1 規定など）を用いて、中和させ（中和点では赤紫色指示薬）、その時の中和に用いた硫酸の量を滴定量とする。この滴定量に対する窒素量等を乗じて、全窒素量（%）算

出し、これに6.25を乗じること粗蛋白質含量(%)とする。



注) ホウ酸にアンモニアを吸着させる以外の滴定方法として、ホウ酸の代わりに正確な濃度、量の硫酸に吸着させて、水酸化ナトリウムで滴定する方法がある。

②自動分析装置の操作方法

家畜改良センターで使用している窒素滴定装置(ケルテックオート2400/2460サンプラーシステム:FOSS)および窒素分解装置(ダイジェスター 2520Auto:FOSS)を用いた操作方法について、以下に述べる。

(1)試薬の調製

ア 窒素分解装置用試薬

(ア) 酸性ガス交換溶液(20%水酸化ナトリウム溶液)

2LビーカーにDW1.4Lと水酸化ナトリウム240gを入れ、すべて解けたら1.6Lまでメスアップする。溶液が透明になったらブロムチモールブルー溶液を8ml加えよく混和する。

注) 水酸化ナトリウムは、水と反応して熱とガスを発生する。一度に反応させると熱はかなりの温度になるため、多量の水に少しずつ水酸化ナトリウムを加える。また、ガスは有害なため作業はドラフト内で行う。

(イ) ブロムチモールブルー溶液

ブロムチモールブルー 0.1gをエタノール20mlで溶かし、DW 100mlでメスアップする。

イ 窒素蒸留滴定装置用試薬

(ア) Receiver Solution(2%ホウ酸溶液)

三角フラスコにDW1.2Lとホウ酸40gを入れ、ホットスターラーで加温溶解し、溶解したら2時間ほど冷却させる。冷却後、ブロムクレゾールグリーン溶液20mlとメチルレッド[®]溶液14ml入れ、DWで2Lとする。

(イ) ブロムクレゾールグリーン溶液

ブロムクレゾールグリーン0.25gをエタノール250mlでメスアップする。

(ウ) メチルレッド溶液

メチルレッド 0.25gをエタノール 250mlでメスアップする。

(エ) Alkali Solution(40%水酸化ナトリウム溶液)

5LビーカーにDW2.8Lを入れ、ドラフト内で水酸化ナトリウム1500gを1回250gずつ溶解させる。溶解後、DWで3.6Lまでメスアップする。

(2)分析手順

ア ケルダールチューブに薬包紙で包んだサンプル1gと、分解促進剤1錠を入れる。また、Blank用として薬包紙と分解促進剤を入れた2本も作成する。

イ サンプル数が少なくてもケルダールチューブラックには、ケルダールチューブを20本セットする。

注) チューブがないところからガスが漏れるのを防ぐため。

ウ ケルダールチューブに濃硫酸を15ml加える。

エ 窒素分解装置の酸性ガス交換溶液が青色であることを確認する。この溶液は、アルカリ性（青色）、中性（緑色）、酸性（黄色）となるよう調製してある。黄色の場合は、分解前に新しい溶液と交換する。同時に水が混濁していないことを確認する（水道水使用）。

オ ケルダールチューブラックごと窒素分解装置にセットする。

カ 分解のメソッドは、400℃で1時間行うようにセットしてある。そのため、400℃までの時間と分解後の冷却時間を考慮すると、1時間30分前後要する。



サンプルと分解促進剤



濃硫酸の添加



酸性ガス交換溶液



分解装置にセット

キ 窒素分解を行っている間に、窒素蒸留滴定装置用試薬（2種類：②（1）イ（イ）（ウ）参照）の作成と、窒素蒸留滴定装置のウォーミングアップを行う。

ク 窒素蒸留滴定装置に備品（ケルダールチューブ進入口トレイ、飛散防止カバー、上部ゴムパッキン、金属の固定枠、吸引チューブ連結パイプ、スライドドア）を取り付ける。

ケ 上部ゴムパッキンを取り付ける際には、パッキン全体をDWでよく濡らすこと。

また、上部ゴムパッキン及び金属の固定枠の取り付けが不十分だと、液漏れを起こすため十分に注意する。

注）パッキンは濡らすことにより締め付けが強くなる。

コ プリンターの電源と窒素蒸留滴定装置の主電源を入れ、冷却水栓を開き、装置本体裏側にあるSteam Generator用排水栓を閉じる。

サ 装置の下にあるDWタンクのDW量を確認し補充を行う。

シ 吸引チューブ連結パイプ等を洗浄するため、ケルダールチューブラックにケルダールチューブを4本立て、Wing Aにセットする。

ス Manual キーを押し、Tube 1 を滴定位置にセットする。（セット後、本体のボイラーに水が満たされて稼働できる状態になるまで約5分要する。）

セ Add Receiver を選択し、Enter を3回押して滴定ベッセルを洗浄する。

注）滴定が比色法のため、ベッセルの汚れとチューブに残っているホウ酸を取り除くための洗浄。

ソ 0.1N硫酸溶液が入ったBuretteのエア抜きをEmpty BuretteとFill Buretteを選択して行う。エア抜きは、チューブを指で弾きながらEmpty Buretteを2回、Fill Buretteを2回行う。エアが抜けきれない時はもう一度行う。硫酸の量を確認し補充を行う。補充の際には、同じFactor値の硫酸を使用する。

注）滴定を正確に行うため、エア抜きをする。

タ Add Waterを選択してDWをケルダールチューブに充填させ、Steamを約 5 分間行う。

この行程を残りの 3 本も同様に行う。

チ Tube 4のSteamが終了したらケルダールチューブラックを取り出す。

ツ Registrationキーを押して、空いているBatchを選択しサンプル量を入力する。通常は、Blankを 4 回測定してからサンプル測定に入る。そのため、Tube 1 ～ 4 は [Blank] とする。また、測定条件は [PROGRAM 1] (下表) とし、Tube 1、2 は空、Tube 3、4 は薬包紙と分解促進剤を入れて分解したものとする。

テ Blankの設定が終了したら、Tube番号が [5] であることを確認し、Resultを [% protein] に合わせ、サンプル量を入力する。また、サンプルの後に洗浄用として 2 本を用いて [PROGRAM 3] (下表) [Blank] とする。

	[PROGRAM 1]	[PROGRAM 3]
RECEIVER	30 ml	30 ml
WATER	40 ml	70 ml
ALKALI	70 ml	0 ml
MODE	DERAY	DERAY
TIME	5s	5s
DISSTALLATION	VOLUME	VOLUME
TUBE DRAIN	No	No

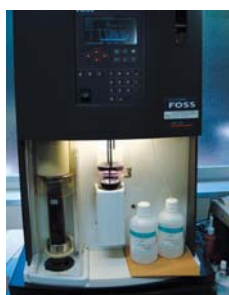
ト すべての入力終了したら、Analyseキーを押す。

ナ 二つのWingを[Wing A]、Batchを[選んだBatch番号]、Tubeを[Tube 1]に設定する。

ニ サンプルの窒素分解が終了したら、ケルダールチューブを分析する順に並び替えて、ラックごと窒素蒸留滴定装置にセットする。セットしたら、Start Analyseを選択して分析を開始する。



窒素分解の終了



窒素蒸留滴定装置



滴定中



滴定量の結果

ヌ 分析中に窒素分解装置用の酸性ガス交換溶液を作成する（作成してある場合は省略）。

ネ 最後の分析が終了すると、自動的にCleaningが 2 回（または 3 回）行われる。

この洗浄だけでは不十分なため、2回Steamを行う。

ノ Tube 2のSteamが終了しTube Downを行う前に、ケルダールチューブを支えている棒をキムワイプできれいに拭き、キムワイプにオイルを染みこませて、棒全体にまんべんなくオイルを塗る。

ハ 全ての行程が終了したら、プリンター及び装置本体のメイン電源を切り、冷却水栓を閉じ、装置本体裏側にあるSteam Generator用排水栓を開く。

ヒ 滴定装置の備品を全てはずし、ぬるま湯とスポンジで洗う。飛散防止カバーと上部ゴムパッキンを取り外す時、センサーを曲げないように気をつける。洗い終わったらかごに入れて自然乾燥させる。

フ 本体の汚れた部分は、水拭きとカラ拭きをしてきれいにする。

ヘ 窒素分解中に作成した窒素蒸留滴定装置用試薬（2種類：②（1）イ（イ）（ウ）参照）とDWを本体下のタンクに補充する。

ホ 滴定ベッセルにDWを満たす。目安は、三本目のセンサーが浸る程度。

マ 分解装置のスクラバー内の水を新しく交換して終了。

(3)結果

プリントアウトされた紙の「AMOUNT FACTOR」の列に記載してある数字（例「10.0022% Prot」）が粗蛋白質含量となる。