

第3章 栄養実験のための理化学的分析方法

3.1 一般成分分析法

3.1.1 分析用試料の調製

分析用の試料は、供試する飼料の全体を代表するもの、いいかえれば、飼料の平均組成がえられるものでなければならない。飼料の形態は多種多様であるばかりでなく、飼料の部位により各成分の分布が異なることが多い。そのため、分析用の試料は以下の方法により採取し、新鮮試料は乾燥の過程で損失あるいは変化するおそれのある成分の定量を行なう場合を除き、通常、乾燥して風乾物とし、粉碎混合して均質なものを調製する必要がある。

3.1.1.1 粗飼料

(a) 風乾試料 乾草、ワラなどのような風乾物は、刈取時の形状を表わすものを各所から集めて3~4kgをとり、平らなビニール布上で1~2cmの長さに細断し、これをよく混合して1箇所を集めた後、平らに広げて2等分し、その1半を捨て、残りの半分はさらにによく混合して前と同様に2等分して半分を残す。この操作を繰り返して最後に約500gを試料として残す。この操作を試料の縮分という。

縮分した試料は、清掃した分析用のワイレー型粉碎机で粉碎する。終了後粉碎机に付着残留する試料も集めて、全部孔径1mmのフルイを通す。フルイを通過しないものが残れば、これをヤゲン、鉄製乳鉢など適当な方法により粉碎して全部フルイを通す。フルイを通した試料はよく混合してサンプルビンにとり、密栓して保存し分析に供する。粉碎、フルイ分け操作中、水分の増減がないよう注意しなければならない。

(b) 新鮮試料 牧草や飼料作物などは、その生育地区の数カ所から10~20株をとり、根菜類は水洗して付着水をよく拭きとってから、重量を正確にはかっておく。これを長さ約3cm位に細断して乾燥用パットにとり、60~70°Cの通風乾燥器内で乾燥後、室内に1~2日放置する。試料中の水分が外気の湿度と平衡状態になってから秤量し、つぎのようにして風乾率を求

めておく。

$$\frac{\text{乾燥後の風乾試料の重量}}{\text{新鮮試料の重量}} \times 100 = \text{風乾率(\%)}$$

サイレージはサイロの上、中、下層の各部から適量量の試料をとってよく混合し、上記と同様に操作して風乾する。

風乾した試料は、(a)の場合と同様に操作して粉碎し、分析に供する。

サイレージにおける全窒素、あるいは蒸留法による水分の定量などのように、新鮮試料を供試する必要がある場合は、試料を手早く長さ3~5mm位に細断してよく混合したものを、10~15g(風乾試料2g相当)供試する。この操作は、できるだけ手早く行なって、水分の損失による誤差を防ぐように心掛けなければならない。

3.1.1.2 濃厚飼料

(a) 風乾試料 種実、油粕、ヌカ類あるいは配合飼料などのように粒、粉状の風乾試料は、なるべく多くの箇所から平等に少量ずつとり、これを清潔なビニール布などの上でよく混合し、縮分して約500gを残し、粉碎して分析用試料とする。

(b) 水分の多い試料 未乾燥の穀類などのように水分の多い試料(水分含量が15%以上の試料は、そのままでは粉碎しにくいばかりでなく、粉碎中に水分の損失が大きい)やデンプン粕、ビール粕など生の製造粕類では、採取した試料を縮分して一定量(風乾物約500g相当量)を正確にはかりとり、3.1.1.1(b)項と同様に操作して乾燥後風乾率を求め、粉碎して分析に供する。

糖蜜、フィッシュソリュブルなどのように均質な液状飼料は、よく攪拌してそのまま分析に供する。

(c) 脂肪含量の多い試料 大豆、ゴマなどの種実のように脂肪含量が多く、そのままでは粉碎が困難なものは、縮分して約100gを正確にはかりとり、乳鉢で砕いてから乾燥した1l容フラスコに移す。乳鉢は約500mlのエーテルで洗い、この洗液は全部試料を入れたフラスコに加え、栓をして時

々振盪しながら1日間放置する。つぎにあらかじめ秤量してある濾紙で濾過し、残渣はすべて濾紙上に集め、エーテルで十分洗浄する(濾液の数滴を清潔な時計皿上にとり、蒸発して残渣が残らなければよい)。

残渣は濾紙とともに室内で乾燥して大部分のエーテルを除いてから、約60°Cの乾燥器内2~3時間乾燥後室内に1~2日間放置し、秤量、粉碎し、分析に供する。

抽出、洗浄に用いたエーテルは全部合せて一定量とし、その50mlを恒量を求めてある脂肪ビンにとり、ソックスレー脂肪抽出器に接続してエーテルを回収後、脂肪ビンを乾燥、秤量する。脂肪ビンの前後の重量の差を抽出された粗脂肪量とし、供試量に対する百分率から予備抽出で得られた粗脂肪の含量を算出しておく。

3.1.1.3 糞

消化試験期間の全量あるいは毎日の排糞量の一定割合を採取した糞は、まず、体毛、羽毛、飼料片などの夾雑物を完全に取り除いてから、よく混合して正確に重量をはかり、60°Cの通風乾燥器内で1夜乾燥する。乾燥器から取り出して1~2日間室内に放置し、風乾状態としてから秤量して風乾率を求め、風乾物約500gをとり粉碎して分析に供する。

3.1.1.4 屠体

放血しないように注意して屠殺した屠体は、重量をはかってから-5°Cで凍結して保存しておく。直ちに分析する場合でも、一たん凍結した方が操作がやりやすい。屠体はコブシの半分位の大きさに細断し、羽毛はハサミで長さ1cm位に切ったものを、肉ひき器にかける。肉ひき器の目は、最初大きい目のものを用いて碎き、よく混合してから再び肉ひき器にかける。2回目以降は小さい目を用い、少なくとも3回肉ひき器を通し、十分均質とした試料の各所から必要量をとって混合したものを直ちに分析に供する(2.3.4.1を参照)。

3.1.2 水分

乾燥法(減圧または常圧加熱、凍結など)、蒸留法、滴定法あるいは電気

的測定法など多くの定量法があって、試料の性質に応じてそれぞれ適用されるが、飼料分析では主として加熱乾燥法が用いられ、試料によっては蒸留法も利用されている。

加熱乾燥法のうち、減圧加熱乾燥法は標準法とされているが、装置や操作が煩雑なため、常用されることは少ない。日常の分析には、常圧下で加熱を行なう105~110°C恒量法、あるいは135±2°C、2時間乾燥法が用いられ、後者は簡便迅速で便利であるが、試料によっては適用できないものもある。蒸留法は、生草やサイレージなどのように水分の多い試料を、直接、短時間で測定するのに適している。

なお、水分の定量においては、同一試料でも定量法が異なると、その定量値は変動することがあるので、定量条件を付記することが望ましい。

3.1.2.1 105~110°C乾燥恒量法

試料約2gを、あらかじめ乾燥し、恒量を求めておいたアルミニウム製秤量皿(図3.1)にとり、105~110°Cの電気恒温器に入れて3時間乾燥し、放冷後秤量する。引き続き乾燥、秤量を繰返して恒量(前後の秤量差が1mg以内)を求める。

最初の重量(秤量皿+試料)と乾燥後の重量との差をもって水分量とし、この量の

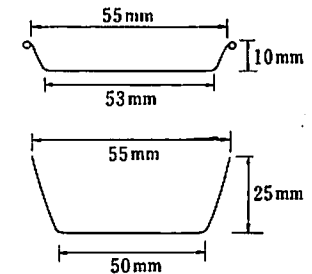


図3.1 アルミニウム製秤量皿

供試量に対する百分率を求め、これを水分含量とする。

試料が液状の場合は、秤量皿に適当量のガラス玉(径2~3mm)あるいは海砂と攪拌用の細いガラス棒(長さ4~5cm)を入れて恒量を求めておき、秤取した試料(5~10g)とよくかき混ぜて、試料の表面積を大きくして乾燥するとよい。

3.1.2.2 135°C2時間乾燥法

恒量法と同様に操作して試料を秤量皿にとり、135±2°Cの電気恒温器内で2時間乾燥し、放冷後秤量する。乾燥前後の重量差をもって水分量とする。

本法は操作が簡便な上、所要時間も短く、一般の風乾試料では恒量法の定量値とほぼ一致した値が得られるが、糖分の多い飼料（糖蜜およびその配合飼料、カブなど）、フィッシュソリュブルなどには適用できない。

注意事項

(1) 秤量皿にとった試料は、できるだけ平らに拡げるようにする。
 (2) 乾燥法では、使用する電気恒温器内の温度分布が一様であることが大切である。市販の乾燥器中には温度分布が一様でないものが少なくないが、このようなものでは定量時の誤差が大きくなる。電気恒温器は熱風水平循環式が適当である。

(3) デシケーター中での放冷時間は、できるだけ一定（30～40分）にすることが望ましい。

3.1.2.3 蒸留法

試料を水と混合しない有機溶剤（通常トルエンが用いられる）とともに加熱蒸留して、水のみを計量管に集め、その容量から試料の水分量を算出する方法である。本法は、定量に要する時間も短く、水分の多い試料の水分を直接測定できるため、水以外の揮発成分を含む試料、たとえばサイレージなどの水分定量に適するが、容量法であるため、乾燥法に比して精度はいくらか劣り、また、同時に多数の試料について行ない難い欠点がある。

試薬および装置

(1) トルエン：試薬1級（沸点111°C、比重0.867）、水分を全く含まないもの。

(2) 装置：図3.2のように、蒸留フラスコA、計量管B、還流冷却器Cよりなる水分定量装置を用いる。計量管は1mlの1/10～1/20の目盛があり、その容量は定量の精度を上げるためにできるだけ大きい方がよい。サイレージなどのように水分含量の多い試料では、容量が20ml以上のものが望ましい。

計量管にはB'のように底部にコックの付いたものがあるが、これは連続して定量を行なう場合に便利である。

操作

(1) 蒸留フラスコに適当量の試料をとり、直ちに試料を完全に覆う量のトルエンを加える。試料の採取量は、できるだけ計量管の最大目盛に近い水の量が得られるようにとると、定量の精度が上がる。

(2) 蒸留フラスコに計量管と冷却器を接続し、冷却器の上部からトルエンを加えて計量管内をトルエンで満し、冷却器の上端は軽く綿栓して外気の流入を防ぐ。

(3) フラスコを加熱して蒸留を開始する。加熱の程度は、蒸気が冷却器の中程で液化される位が適当である。滴下した水はトルエンより比重が大きいため、計量管の底部にたまる。あふれたトルエンはフラスコに戻り、繰返し蒸留される。

(4) 計量管に水が留出しなくなったら、加熱を止め、トルエンでしめしたピペットブラシを冷却器の上端から挿入して管内をこすり、トルエンを上から注いで管内に付着した水滴を計量管に洗い落とす。

(5) 再び蒸留を行ない、計量管に水が留出しなことを確認して操作を終了し、計量管内の水が室温になってから容量を読み取る。

B'の計量管を使用した場合は、操作終了後コックを開けて小型メスリンダーに水を移し、管内をブラシでこすって付着した水滴をトルエンで洗い落とし、室温になるまで放置後容量を読み取ってもよい。

計算

$$\text{水分(\%)} = \frac{V}{S} \times 100 \quad \text{ただし、} V: \text{計量管の水の容量の読み (ml)} \\ S: \text{試料の採取量 (g)}$$

3.1.2.4 原物の水分含量の算出

あらかじめ予備乾燥を行なって調製した試料について分析した場合は、そ

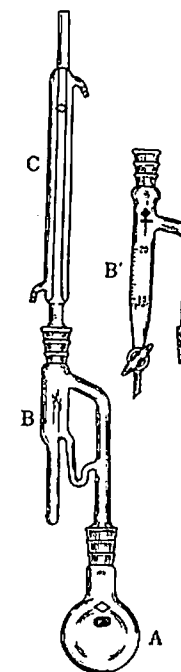


図3.2 水分定量装置

の原物の水分含量は次式によって算出する。

$$\text{原物の水分含量 (\%)} = M_1 + \frac{(100 - M_1) M_2}{100}$$

ただし M_1 : 予備乾燥における減量 (%)

M_2 : 風乾試料の水分含量 (%)

3.1.3 粗蛋白質

ケルダール法により全窒素を定量し、これに6.25 (蛋白質中の窒素含量を16%とみなす) を乗じて粗蛋白質量とする。ケルダール法では硝酸態窒素は定量できないので、試料中に硝酸態窒素が含まれる場合の全窒素の定量は、ガンニング変法による。ただし、この場合でも粗蛋白質量は、通常ケルダール法によって定量した窒素量により算出する。

3.1.3.1 ケルダール (KJELDAHL) 法

試料を濃硫酸とともに加熱分解すると、窒素は硫酸アンモニアの形となって濃硫酸中に存在する。この液を強アルカリ性として加熱蒸留するとアンモニアは留出てくるが、蒸留法には水蒸気蒸留法と蒸留フラスコを直接加熱する直接蒸留法がある。また、蒸留は分解液を希釈してその一部を用いるか、もしくは全量用いて行なう。留出するアンモニアは硫酸標準液に吸収させ、過剰の硫酸を水酸化ナトリウム標準液で滴定する方法と、ホウ酸溶液に吸収させ、アンモニアを直接硫酸標準液で滴定する方法がある。

試薬

- (1) 濃硫酸: 試薬1級以上
- (2) 分解促進剤: 粉末にした硫酸カリウム 100g と酸化水銀 (黄色) 7g をよく混合し、着色ビンに貯える。
- (3) 中和用水酸化ナトリウム溶液: 試薬1級, 約40%溶液
- (4) 硫化カリウム溶液 (4%) またはチオ硫酸ナトリウム溶液 (8%): この液2容と(3)液8容を混合しておく。
- (5) BCG・MR混合指示薬: 0.2% ブロム・クレゾール・グリーン of アルコール溶液5容と0.2% メチルレッド of アルコール溶液2容を混合する。アルコールはいずれも95%エタノールを用いる。

(6) N/10硫酸標準液: 特級硫酸約52gをとり、水約1ℓ中にかきまぜながら加え、放冷後さらに希釈して10ℓとする。

(7) N/10水酸化ナトリウム標準液: 300ml容三角フラスコに水150mlをとり、水酸化ナトリウム(特級)約180gを徐々に加えて溶解し、よく攪拌後、図3.3のような炭酸ガス吸収用のソーダライム管を付したゴム栓をして、少なくとも1週間放置する。フラスコの底に、混入した炭酸ナトリウムと過剰の水酸化ナトリウムは沈殿する。この水酸化ナトリウムの飽和溶液の濃度は、15°Cで約17N、20°Cでは20Nであるので、上澄液をとって炭酸を含まない水で希釈して約N/10水酸化ナトリウム標準液を調製する。たとえば、20°Cの場合は上澄液50ml

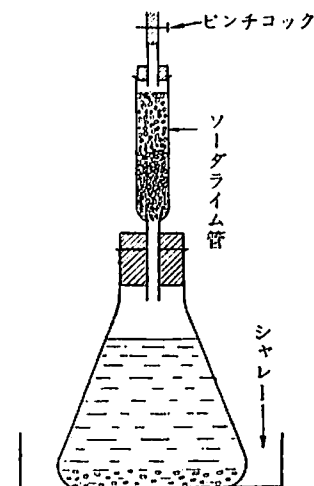


図3.3 飽和水酸化ナトリウム溶液の調製法

をとり、水を加えて10ℓとする。水に含まれている炭酸を除くには、20%水酸化ナトリウム溶液を入れた洗気ビンを通した空気を72時間通ずればよい。

標準液の標定

調製した標準液は密栓して時々振盪しつつ、少なくとも数日間放置後、希硫酸および20%水酸化ナトリウム溶液をそれぞれ入れた洗気ビンを連結して、図3.4のように設置する。ゴム管とガラス管の接続部はワセリンを塗って麻糸で堅くしばる。標準液の容量が1~2ℓの場合は自動ビュレットを用いるとよいが、水酸化ナトリウム標準液では外気と通ずる部分はソーダライム管を付しておく。

酸およびアルカリ標準液の標定はつぎの方法により行なう。

- (1) 酸標準液の標定: 純結晶ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 19.072gを精秤し、蒸留水に溶かして正しく1ℓとしてN/10溶液をつくる。その25mlをとり混合指示薬2~3滴を加え、N/10硫酸標準液で滴定

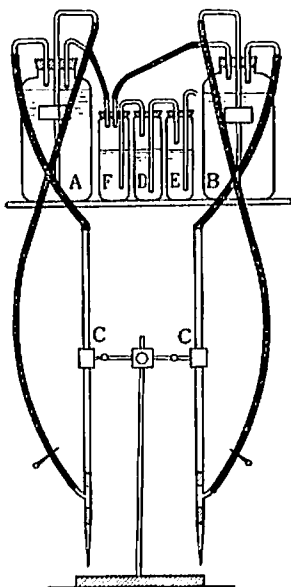


図3.4 標準液の設置例

- A: 硫酸標準液
- B: 水酸化ナトリウム標準液
- C: 50ml ビューレット
- D: 希硫酸 (1:3)
- E: 水酸化ナトリウム (20%)
- F: 空ビン

の係数

u : 採取したシュウ酸溶液の容量 (ml)

v : 滴定に要した N/10 水酸化ナトリウム標準液の容量 (ml)

注意事項

- (1) 基準物質として用いるホウ酸ナトリウムとシュウ酸は、結晶水の組成が正しいものであることが必要で、新しく再結を行なって風乾したものがよい。
- (2) ホウ酸ナトリウムの再結は 55°C 以下の液温で行なう (それ以上では 5 水物が混入してくる)。
- (3) 標定後、日数が経つに従い標準液の濃度が変化してくるので、4~

する。

$$f = \frac{u}{v} \dots\dots (\text{普通, 1 前後の数値})$$

となる)

ただし f : N/10 硫酸標準液の係数

u : 採取したホウ酸ナトリウム溶液の容量 (ml)

v : 滴定に要した N/10 硫酸標準液の容量 (ml)

(2) アルカリ標準液の標定: 純結晶シュウ酸 ($C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$) 6.303g をとり、蒸留水に溶かして正しく 1l として N/10 溶液をつくる。その 25ml をとり、フェノールフタレンを指示薬として N/10 水酸化ナトリウム標準液により、淡紅色 (30秒以上消失しない) になるまで滴定する。

$$f = \frac{u}{v} \dots\dots (\text{普通, 1 前後の数値})$$

となる。

ただし f : N/10 水酸化ナトリウム標準液

6 カ月ごとに標定をやりなおす必要がある。

試料の分解

試料約 2g を 300ml 容ケルダール分解ビンにとり、分解促進剤約 10g と濃硫酸約 30ml を加えてよく混合する。これをドラフト内で、はじめ徐々に加熱し、しだいに強く熱して内容液が透明になったら、さらに 2 時間加熱して分解を終了する。放冷後、水約 100ml を徐々に加えて混合する。液が冷えてから 250ml 定容フラスコに移し、分解ビンは水で数回洗浄し、洗液は全部定容フラスコに加え、よく混合して放冷後、標線まで水を加えて、再びよく混合して一定量を蒸留に用いる。

分解液の全量を蒸留する場合は、試料 0.5g を 100ml 容ケルダール分解ビンにとり、分解促進剤 2g と硫酸 5ml を加えて分解後、水約 50ml を加えて混合して放冷しておく。この場合は、供試量が少ないためサンプリングエラーが生じやすいので、試料の均一性に十分注意しなければならない。

1) 水蒸気蒸留法

蒸留は図 3.5 の装置

により次のようにして行なう。

A には水 (硫酸 1 滴を加え酸性としておく) を入れ、沸石 (軽石末、亜鉛末など) を加えて沸騰させ、装置に十分蒸気を通じてから、G1 を開き、H を閉じて C にたまってきた水を排除する。

300ml 容三角フラスコ

に硫酸標準液 10~20ml を正確にとり、指示薬を加えて冷却管の先端が硫

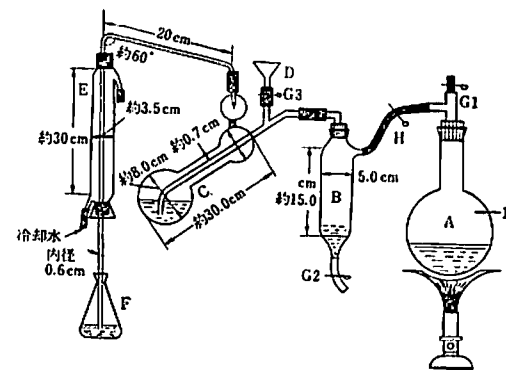


図3.5 窒素蒸留装置 (水蒸気蒸留)

H, G: ピンチコック

E: 冷却器 (外面に水滴が生ずるときはその下降防止のため冷却器に布片をまくとよい)

酸の液面下にあるように装置に接続する。HとG3を開き、定容フラスコから25mlの分解液をとってDを通じてCに入れ、Dを洗浄後中和用水酸化ナトリウム混液約20mlを加え、再び水で洗いこむ。

G1とG3を閉じて水蒸気を通じ、約20分間蒸留（留液は約100mlを得る）後フラスコを下げて冷却管の先端を液面から離して1～2分蒸留を続けた後、冷却管の先端を洗浄してフラスコを外し、G1を開きHを閉じてCの廃液を排除して次回の蒸留にそなえる。留液を受けたフラスコは直ちに水酸化ナトリウム標準液で滴定する。

計算

$$\text{全窒素量(\%)} = n \times (e - t) \times \frac{V}{v} \times \frac{100}{W}$$

ただし n : 水酸化ナトリウム標準液 1ml に相当する窒素量 (g)
 $= 0.0014 \times f$

e : 用いた硫酸標準液の量に相当する $N/10$ 水酸化ナトリウム標準液の ml 数

t : 滴定値 (ml)

V : 分解液の希釈容量 (ml)

v : 蒸留に供した容量 (ml)

W : 供試量 (g)

2) 直接蒸留法

図3.6のような装置により、100ml/容ケルダール分解ビンを、そのまま蒸留フラスコとして用い、同時に6本蒸留することができる。

100ml/容三角フラスコに硫酸標準液10～20mlをとり、指

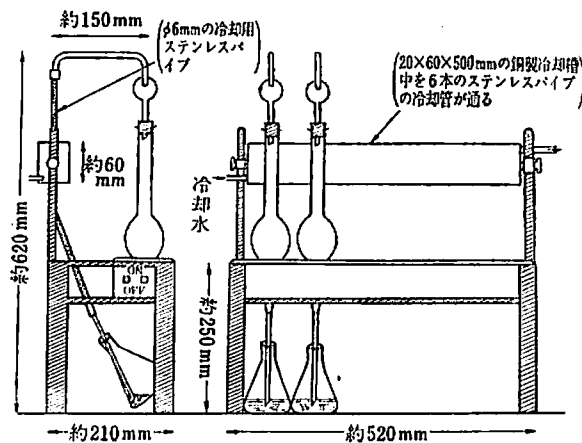


図3.6 窒素蒸留装置（直接蒸留）

示薬を加えてから冷却管の先端が硫酸の液面下にあるように装置し、電熱器のスイッチを入れ冷却水を通して置く。

分解液 25ml を 100ml/容ケルダール分解ビンにとり水を加えて約 50ml としたもの、あるいは分解液全量を希釈放冷してある分解ビンに、粒状亜鉛 1 粒を加え、中和用水酸化ナトリウム混液約 15ml を器壁をつたわせて静かに加えた後、直ちに蒸留装置に接続してから振りまぜ、沸騰を始めたときから約 30 分間蒸留する。蒸留速度は毎分 1ml 程度が適当である。

蒸留が終わったら、受器のフラスコを下げて冷却管の先端を液面よりはなし、さらに 1 分間蒸留後先端を洗浄してフラスコを外し、水酸化ナトリウム標準液で滴定する。計算は水蒸気蒸留法と同様に行なう。

この方法では、中和用水酸化ナトリウム混液を加える際に、分解液の温度が高い (25°C 以上) か、硫酸濃度が高すぎると、直ちに反応が起こり、アンモニアの一部が失なわれるおそれがあるので、注意しなければならない。

3) ホウ酸吸収法

蒸留に際し、留出するアンモニアを硫酸標準液に吸収させる代りに、ホウ酸溶液に吸収させる方法である。この方法では、ホウ酸溶液に吸収されたアンモニアを直接硫酸標準液で滴定するため、水酸化ナトリウム標準液が不用であり、ホウ酸溶液の採取量は正確でなくともよいので、操作が楽な利点がある。

試薬

(1) 4%ホウ酸溶液：特級ホウ酸 (H_3BO_3) 40g を蒸留水に溶解して 1l とし、BCG・MR 混合指示薬 20ml を加えてよく混合する。

その他の試薬は水蒸気蒸留法に同じ

操作

蒸留の際の受器に 4%ホウ酸溶液約 10ml をとり、1) 水蒸気蒸留法または 2) 直接蒸留法によって蒸留を行なう。留液が出はじめると、ホウ酸溶液は赤色から青緑色に変色する。ホウ酸溶液 10ml は窒素量 25mg まで定量可能である。

蒸留が終了したら、受器をはずし N/10 硫酸標準液で滴定する。滴定は、あらかじめ試料を加えないで空蒸留を行なったものを微赤色を帯びた灰色まで滴定し、その色を終点の基準とする。

計 算

$$\text{全窒素量 (\%)} = n \times (t - t') \times \frac{V}{v} \times \frac{100}{W}$$

ただし、 n : 硫酸標準液 1ml に相当する窒素量 (g)

t : 滴定値 (ml)

t' : 空蒸留の滴定値 (ml)

V : 分解液の希釈容量 (ml)

v : 蒸留に供した容量 (ml)

W : 供試量 (g)

3.1.3.2 ガンニング (GUNNING) 変法

生育初期の牧草、青刈飼料あるいは根菜類の茎葉などには、硝酸態窒素がかなり含有されることがある。この場合は、ケルダール法では硝酸態窒素は定量されないので、全窒素の定量はガンニング変法を用いる必要がある。

試 薬

(1) サルチル酸 : 試薬特級

(2) チオ硫酸ナトリウム : 特級, 結晶

その他の試薬はケルダール法と同じ

操 作

(1) 試料 2g をケルダール分解ビンにとり、硫酸 30ml とサルチル酸 1g を加えよく振盪して混合後、30分以上放置する。

(2) 結晶チオ硫酸ナトリウム約 5g を加えて、ゆるやかに加熱し、泡がでなくなったら加熱を強め煮沸する。

(3) 分解ビンの口から白煙が出なくなったら加熱を止め、分解促進剤約 10g を加える。

(4) 以下ケルダール法と全く同様に、分解、蒸留を行なって窒素を定量する。

3.1.4 粗脂肪

ソックスレー (Soxhlet) 脂肪抽出装置を用い、エーテルで 16 時間抽出することにより定量されたものを粗脂肪 (エーテル抽出物) とする。粗脂肪中には脂肪のほかに、色素類、ロウ、有機酸などが含まれることがある。

試 薬

(1) エーテル : 試薬 1 級以上、水を含まないもの

操 作

脂肪定量ビン B (図 3.7) は、あらかじめ 100°C で乾燥し恒量を求めておく。試料 2~3g を円筒濾紙 (抽出管 a の直径よりやや小さく、吸収管 b の頂点より約 5mm 低いもの) にとり、その上に脱脂綿を少量ずつ数回に分け軽くおさえるようにして栓をする。これを 95~100°C で 2 時間乾燥してから図 3.7 のソックスレー脂肪抽出装置に入れる。脂肪定量ビンにエーテルを、還流するために必要な量より大目に入れ、装置に接続して 16 時間抽出を行なう。

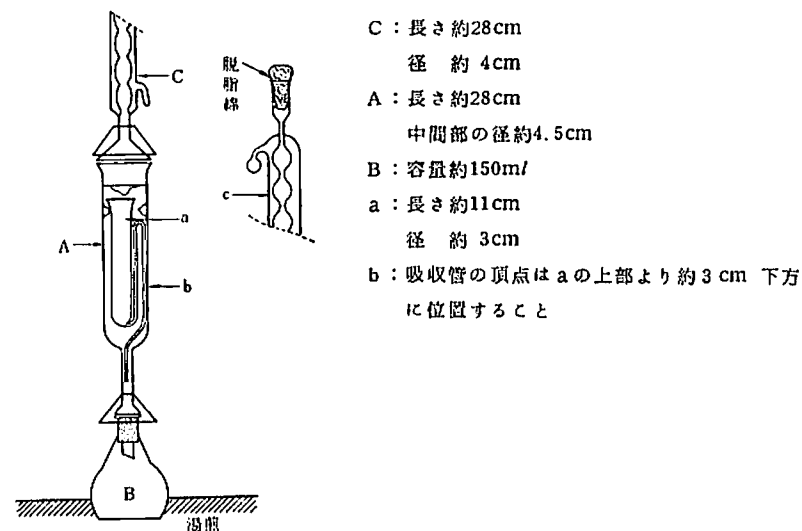


図 3.7 ソックスレー脂肪抽出装置

抽出が終れば円筒濾紙を取り除き、ビン中のエーテルを a に集めて回収し、定量ビンをはずして熱水中につけて完全にエーテルを逸散させてから清潔なガーゼで拭き、100°C で3時間乾燥して放冷後秤量する。抽出前後の定量ビンの重量の差を粗脂肪量とし、供試量に対する百分率を求め、これを粗脂肪含量とする。

乾燥酵母などのように堅い細胞膜に覆れ、そのままでは脂肪の抽出が不完全となるものは、抽出前に塩酸で処理し、細胞膜を破壊してから抽出する。前処理の操作は、試料 2~5g をビーカーにとり、25% 塩酸 (比重 1.125) 100ml を加えて5分間煮沸する。水 100ml を加えて冷却後、細かく切った濾紙片を約 5g 加え攪拌し、濾紙 (No. 5C) で濾過、濾液が酸性を呈しなくなるまで水で洗浄する。漏斗ごと 95~100°C で乾燥後、濾紙を円筒濾紙に入れ、漏斗はエーテルで洗い、その洗液は脂肪ビンに加え、抽出装置に接続して前と同様に脂肪を抽出する。

3.1.5 粗繊維

試料を1.25%硫酸および1.25%水酸化ナトリウム液で処理した残渣から、その灰分量を減じたものを粗繊維とする。定量操作中、酸およびアルカリ処理後の液の排除法には各種の方法が提唱されているが、ここでは静置法と濾過法について述べる。定量に際しては、原則として、試料はあらかじめ脱脂を行なうか、もしくは粗脂肪定量後の残渣を用いるが、飼料では一般に脂肪含量が少ないので、秤取した試料は直ちに硫酸処理を行なっても差支えない。

3.1.5.1 静置法

試薬

(1) 1.25%硫酸溶液：硫酸 130g を水に溶解して 10l とする。N/10 NaOH 標準液で滴定して濃度を定め、水あるいは硫酸を加えて 1.25% (0.255N) になるよう調製する。

(2) 5%水酸化ナトリウム溶液：水酸化ナトリウム (炭酸ナトリウムをほとんど含まないもの) 約 520g を水に溶解して 10l とする。N/10 H₂SO₄ 標

準液で滴定、補正して 5% (1.25N) になるように調製する。

操作

- ① 試料 2~3g を 500ml 容トルビーカーにとり、1.25%硫酸溶液 200ml を加

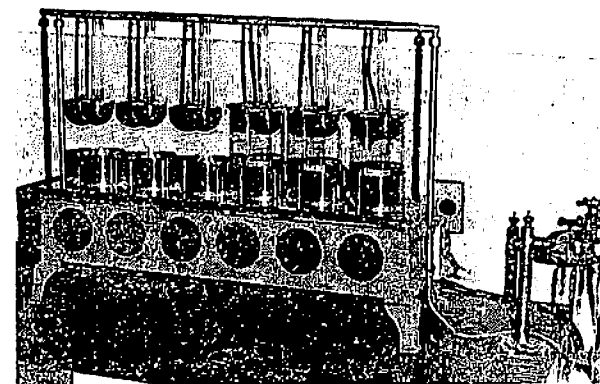


図3.8 粗繊維定量用煮沸装置

え、液面にそって正確に標線を付し、粗繊維定量用煮沸装置 (図 3.8) により加熱、沸騰はじめてから正確に30分間煮沸する。煮沸装置が使用できない場合は、ビーカーの口を時計皿で覆い加熱中蒸発する水分は熱水をもって絶えず補い、常に液面を標線にたもち硫酸の濃度の上昇を防がなければならない。また内容物が容器の壁に付着する場合はこれをおとし液外に残らないように注意する。沸騰30分後、300ml の水を加えて希釈し一昼夜放置する。このようにすれば不溶物が沈降するから上澄液をできるだけいねいに吸引管 (図3.9参照) を用いて吸引排除する。もし容器の壁に残渣が付着する場合は、ポリスマンを用い洗浄ビンによって洗いおとしながら最後に 200ml の標線まで水を加える。

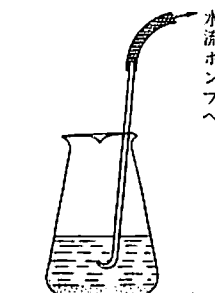


図3.9 静置法における吸引の仕方
吸引管は長さ約 25cm、内径 2mm のガラス管を少し上むきに挿げたものを使用、これをゴム管で水流ポンプに連結して静かに吸引する。

次に前と同様正確に30分間の煮沸を行なった後、希釈、放置、吸引などの操作を行なう。吸引後、水を加えて液量を 130~140ml とし、5%水酸化ナトリウム溶液 50ml を加え、水を補って 200ml とする (水酸化ナトリウムの濃度は 1.25% になる)。正確に30分間沸騰させてから、あらかじめアルミニウム

製秤皿量に入れて $135\pm 2^{\circ}\text{C}$ で2時間乾燥、秤量した濾紙(東洋濾紙No. 5A)で濾過、濾液のアルカリ性反応がなくなるまで熱水で洗浄後、95%アルコール、エーテルの順にそれぞれ2~3回洗浄する。風乾してエーテルを除いてから、もとの秤皿に移し、 $135\pm 2^{\circ}\text{C}$ で2時間乾燥、放冷後秤量して前後の差から残渣の量を求める。つぎに、あらかじめ恒量を求めてあるルツボに移し、ガスバーナーまたは電気炉中で灰化、放冷後秤量して灰分量を求める。残渣の量から灰分量を減じ、供試量に対する百分率を求め、これを粗繊維含量とする。

3.1.5.2 濾過法

試薬

3.1.5.1 と同じ

操作

3.1.5.1 と全く同様に操作して、1.25%硫酸溶液で煮沸後、直ちにナイロン濾紙(#1025, 特殊製紙製)で濾過、濾液がリトマス試験紙で酸性を呈しなくなるまで熱水で洗浄する。残渣は130~140mlの水で完全にもとのピーカーに移し、5%水酸化ナトリウム溶液50mlを加え、200mlの標線まで水を補う。その後は3.1.5.1と同様に操作すればよい。

注意事項

蛋白質含量の高い試料(魚粉、大豆粕など)では、硫酸溶液で煮沸後放置して液温が下ると、濾過が困難となりやすいので、直ちに濾過を行なう。

3.1.6 粗灰分

試料を一定の条件で灼熱灰化して得られた灰の重量を定量し、粗灰分とする。試料の灰化法としては、電気炉による方法とガスバーナーを用いる方法とがあるが、加熱温度を一定に保つことができる電気炉を用いることが望ましい。

操作

試料2~3gを、あらかじめ $550\sim 600^{\circ}\text{C}$ で恒量を求めてある磁製ルツボ(内径3.7cm, 高さ3.5cm)にとり、ガスバーナーでゆるやかに加熱する。

試料が炭化し煙が出なくなったら、電気炉に入れ $550\sim 600^{\circ}\text{C}$ で2時間灰化し、放冷後秤量する。この重量からルツボの重量を減じたものを粗灰分量とし、供試量に対する百分率から粗灰分含量を求める。

電気炉が使用できない場合は、ガスバーナーで試料を炭化後、ルツボの底が暗赤色になる程度に加熱する。2~3時間加熱後、放冷、秤量し、再び加熱、放冷、秤量を繰返して恒量を求め、ルツボの重量を減じて粗灰分量とする。

注意事項

(1) 電気炉を用い、 $550\sim 600^{\circ}\text{C}$ で2時間灰化して求めた粗灰分量とガスバーナーを用いた恒量法による粗灰分量とは、ほとんど一致した値が得られる。

(2) 液状の試料は、あらかじめ湯煎上で蒸発乾固してから加熱燃焼する。

(3) 糖分の多い試料や動物性試料では、炭化の際膨化してルツボ外へあふれ出るものがあるので、注意して加熱する。

3.1.7 可溶無窒素物

可溶無窒素物(NFE)は直接定量を行わず、100から水分、粗蛋白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分の各成分の含量(%)の合計を差し引いたものを可溶無窒素物含量(%)とする。

可溶無窒素物としてあらわされているものの主成分は糖類であるが、そのほか糊精、有機酸、ペクチン、ゴム質など、さらに粗飼料ではペントサン、リグニンの一部が含まれる。必要な場合には、糖類、デンプン、ペントサン、リグニンなどを直接定量することもある。

3.1.8 原物の各成分の算出

予備乾燥を行なって調製した試料の各成分の定量値を、原物の成分量に換算するには、つぎのようにする。

(1) 粗蛋白質、粗脂肪、粗繊維、粗灰分の各成分の定量値に、3.1.1.2(b)で求めた風乾率を乗じて、原物の各成分含量を算出する。

(2) この各成分含量と原物の水分含量の合計を100から減じて、可溶無

窒素物含量とする。

参考文献・図書

- 1) 東京大学農学部農芸化学科教室編：実験農芸化学上巻，朝倉書店（1960）
- 2) 京都大学農学部農芸化学科教室編：農芸化学実験書（増補）第二巻，匯業図書（1965）
- 3) Methods of Analysis of the A. O. A. C., 9th Ed., A. O. A. C. Washington, D. C. (1960)

3.2 無機成分分析法

3.2.1 試料調製法

試料の調製法は、一般成分の場合と同様であるが、とくに微量無機元素の定量の場合には、試料調製の操作中に、汚染のないように十分注意すべきである。一般に無機成分の分析には、前処理として試料の灰化が必要である。灰化の方法には、乾式法と湿式法の2種がある。

3.2.1.1 乾式灰化法

風乾試料1～5gを磁製蒸発皿にとり、ガスバーナーでゆるやかに加熱しほとんど炭化させる。つぎに蒸発皿を電気炉に入れ、500～550°Cで内容物が白色または灰白色になるまで数時間加熱する。内容物が白色または灰白色にならない場合は、冷却後内容物を水で湿して、湯浴上で蒸発乾固し、再び500～550°Cで加熱する。白色または灰白色の内容物が得られたら、内容物を少量の水で湿し、塩酸(1:1)5mlを蒸発皿の内壁に伝わらせて静かに注ぎ、湯浴上で蒸発乾固してケイ酸を脱水して塩酸不溶物とする。つぎに塩酸(1:1)5mlを加え、数分間加熱し、5mlの水を加えさらに数分間加熱し、塩類を溶解し、濾紙(No. 5B)を用いて濾過し(除ケイ酸操作)、十分水洗し、濾液および洗液を定容フラスコに集め、冷却後標線まで水を注ぎ、これを陽イオンの各元素の定量に用いる。乾式灰化法では、高温による成分の揮発、不溶性化による成分の損失などが問題となる。銅、モリブデンの定量では、灰化温度は450°C以下にする必要がある。またリン、マンガンの定

量には、湿式灰化法が望ましい。

3.2.1.2 湿式灰化法

風乾試料1～5gを300mlのトルビーカーにとり、試料1gにつき濃硝酸5mlを加え、時計皿でおおい、一夜放置する。つぎに砂皿上で90～100°Cの温度で激しい反応が終るまで加熱する。冷却後、時計皿を蒸留水で洗い、これを取り除き、ほとんど乾固するまで加熱し、硝酸を蒸発させる。冷却後、過塩素酸・硫酸混液(60%過塩素酸4容と濃硫酸1容を混合したものを試料1gにつき5mlの割合で加え、再び時計皿でおおい、砂皿上で180～200°Cの温度で加熱する。無色の分解液が得られたら、加熱をやめ、冷却し、時計皿を蒸留水で洗って除き、再び砂皿上でほとんど乾固するまで加熱を続ける。冷却後、塩酸(1:1)5mlを加え、塩類を加熱溶解し、よく水洗してその内容を定容フラスコに移し、これを陽イオン、陰イオンの各元素の定量に用いる。しかし、塩素、イオウの定量には用いられない。

注意事項

(1) 湿式灰化は操作中に多量のガスが発生するので、操作はドラフト中で行なう必要がある。

(2) 無機成分の分析では、試薬は特級品を使用し、水はガラス製蒸留装置により採取した再蒸留水またはイオン交換樹脂を通した脱イオン水を使用する。

3.2.2 カルシウム(Ca)

カルシウムイオンをアンモニア性あるいは微酸性でシュウ酸イオンと反応させ、難溶性のシュウ酸カルシウムの沈殿として、これを重量法または容量法により定量する方法が、最も精度がよく、標準的な方法として広く用いられている。その他、キレート滴定法、炎光あるいは原子吸光分光光度法などが使用されることもある。

ここでは、沈殿生成の操作を、尿素の加水分解によるpHの連続的変化を応用することにより、沈殿の形状を大きくして、沈殿の洗浄を効率よく行なえる方法を用いた定量法と、精度はいくらか劣るが、多数の試料を短時間で