

ディリースプレッドの分析法

この分析法は、関税定率法別表第4類注2(b)に規定されている「ディリースプレッド」に該当するか否かを確認する必要があるものに適用する。

なお、この分析法のエマルジョンタイプ試験には、20において液状部分と固体部分に分離するもの等、外観上、明らかに不均一なもの（乳化していないもの）には適用しない。

1. 試験方法の概略

この方法は、ディリースプレッドの各条件について確認するため、次の手順で行う。

親油性及び親水性試薬によるエマルジョンタイプ（油中水滴型）試験

塩酸分解法による脂肪分の抽出及び定量

ガスクロマトグラフによる脂肪分の定性

2. 試薬及び器具

(1) 親油性試薬

スタンブルー (Oil Blue G Extra) 10 mg を大豆油とヘプタンを 1 : 1 で混合した液 1 mL に溶解したもの⁽¹⁾

(2) 親水性試薬

食用赤色 102 号 (Newcoccin) 10 mg を水 1 mL に溶解したもの

(3) 石油エーテル

沸点が 30 ~ 60 の範囲のもの

(4) 塩酸溶液 (比重約 1.125 / 20)

濃塩酸 (比重 1.18 / 20) 675 mL を水で 1000 mL に希釈したもの

(5) 混合溶媒

ジエチルエーテルと石油エーテルを使用直前に等量混合したもの

(6) N/2 水酸化ナトリウム-メタノール液

水酸化ナトリウム 2 g をメタノール 100 mL に溶解したもの

(7) BF₃ - メタノール液

BF₃ 125g をメタノール 1000 mL に溶解、又は 40% BF₃ ジエチルエーテル液 10 mL とメタノール 20 mL を混合したもの

(8) 抽出管

基準油脂分析試験法又は乳製品試験法に定められているマジョニア管

(9) ガスクロマトグラフ用カラム

トリグリセリド組成の定性用

DEXSIL 300GC 3 %Chromosorb WAW DMCS 80 / 100 mesh 3 mm × 20 cm Packed Column
又はこれと同等のもの

構成脂肪酸組成の定性用

DB-WAX 0.25 mm × 30 m 0.5 μm Film thickness 又はこれと同等のもの

注 1) スタンブルーが完全に溶解せず、一部不溶分として残るときは上澄液を使用する。

3. エマルジョンタイプ（油中水滴型）試験

3.1 試料の調製

試料塊が直方体状の場合、厚さが3cm以内となるように試料を採取する。試料をチャック付きのプラスチック製の袋に、できるだけ空気を抜いて封入する。さらに、同様にチャック付きのプラスチック製の袋を用いて二重に封入する。

封入した試料を20の恒温水槽中に完全に沈めて⁽²⁾、2時間放置した後、袋から試料を取り出す。

その試料を直径2~3cmのカップ又はリングに入れ、表面を平らにする。

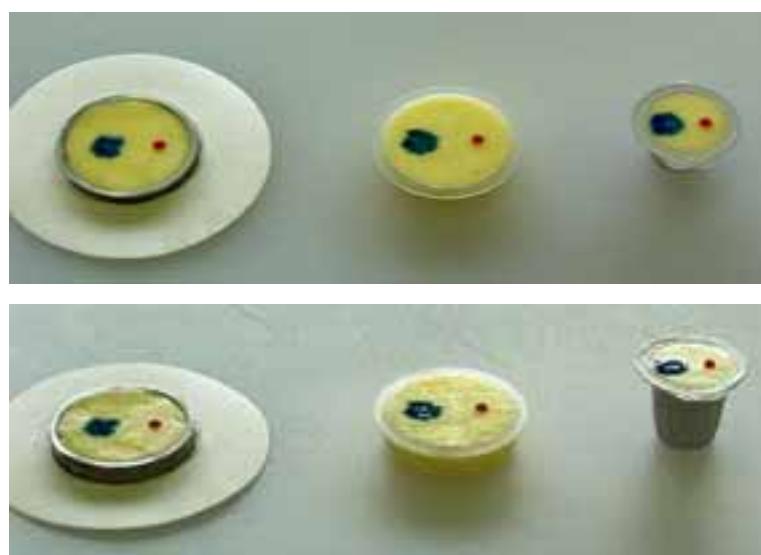
試料が展延性に乏しく表面を平らにできない場合は、さらに1時間恒温水槽中に入れた後、試料を調製する。

注2) 試料が物理的に変形しないように注意する。

3.2 試験方法

3.1 で調製した試料表面に親油性試薬及び親水性試薬を各々5μl滴下し、試料と各々の試験試薬との親和性を観察する。同時に对照として油中水滴型であるバターについて同様な方法で試験を行い、各々の試験試薬ごとに試料とバターを比較する。

本試験において親油性試薬と親和性を示し、親水性試薬と親和性を示さないものを油中水滴型とする。



バター（油中水滴型）の試験結果
(各カップ又はリングの左側は親油性試薬、右側は親水性試薬)

4. 脂肪分の抽出及び定量

4.1 定量操作（塩酸分解法）

4.1.1 試料の調製

冷凍試料の場合は3.1と同様に20の状態に戻し、混和する。

4.1.2 試料の採取

試料又は4.1.1で調製した試料 約0.5g⁽³⁾を100ml容ビーカーに1mgの桁まで正確に量り採る。

注3) 脂肪量として400~500mgとなるように採取する。

4.1.3 測定⁽⁴⁾

4.1.2で試料を採取した100ml容ビーカーに塩酸溶液8mlを加え、沸騰水浴上で穏やかに動かし、粒子を完全に分散・溶解させる。時計皿でおおい、沸騰水浴上に20~30分間放置した後冷却し、ビーカー内容物を抽出管に移す。エタノール10mlでビーカーを洗浄し、洗液をすべて抽出管に移し入れる。抽出管の内

容物を十分にかつ穏やかに混合する⁽⁵⁾。

次にジエチルエーテル 25 ml で、ビーカーを洗浄し、洗液をすべて抽出管に移し入れる。水で飽和したコルク又は水で湿らせた共栓で抽出管を密栓し、1 分間水平方向に振とうする⁽⁶⁾。必要ならば流水で抽出管を冷却し、その後注意してコルク又は栓をとり、抽出管の栓及び首の内側を混合溶媒ですすぎ、洗液は抽出管に入る。

同様に石油エーテル 25 ml で、ビーカーを洗浄し、洗液をすべて抽出管に移し入れる。再び前述のコルク又は共栓で密栓し、30 秒間穏やかに振とうする。

栓をしたまま抽出管を少なくとも 30 分以上静置した後、上層が透明となり、水層とはっきり分離するようにする。必要ならば流水で冷却する。

注意してコルク又は共栓をとり、抽出管の栓及び首の内側を少量の混合溶媒ですすぎ、洗液は抽出管へ入れる。

静置・分層後、抽出管の小球の部分を持ち、注意して傾斜させてできるかぎり全量を、重量既知の三角フラスコ⁽⁷⁾へ移し入れる。

抽出管の残液に再びジエチルエーテル 15 ml 及び石油エーテル 15 ml を順次加えて、2 回目の抽出を上記と同様に行う。ただしこの時はジエチルエーテルを加える時に、抽出管の首の内側をすすぐ。

最後に 3 回目の抽出をジエチルエーテル 15 ml 及び石油エーテル 15 ml を用いて 2 回目と同様に再度繰り返し行う。

三角フラスコ中の溶媒（エタノールを含む）は、沸騰水浴上で完全に蒸発させる。三角フラスコは 102 ± 2 の乾燥器で、1 時間加熱し、放冷後ひょう量する。この操作を恒量に達するまで行う。

注 4) 抽出管としてマジョニア管のかわりに、乳脂肪抽出用レーリッヒ管を用いてもよい。ただし、本測定法を参考に、同様の抽出操作を行なうものとする。

注 5) 液が抽出管の首の近くまで行かないように注意する。

注 6) 定期的に大球中の液が小球中に流れるように小球を上方に向けて激しく（しかもエマルジョンを生成しない程度）水平方向に振とうする。

注 7) 200 ml 容三角フラスコにあらかじめ沸石を入れ、102 ± 2 の乾燥機中で 1 時間乾燥し、放冷後ひょう量したもの。

4.2 計 算

$$\text{脂肪分 (\%)} = \frac{M_1 - M_0}{\text{試料重量 (g)}} \times 100$$

ただし、 M_0 ：三角フラスコの恒量 (g)

M_1 ：三角フラスコの抽出後の恒量 (g)

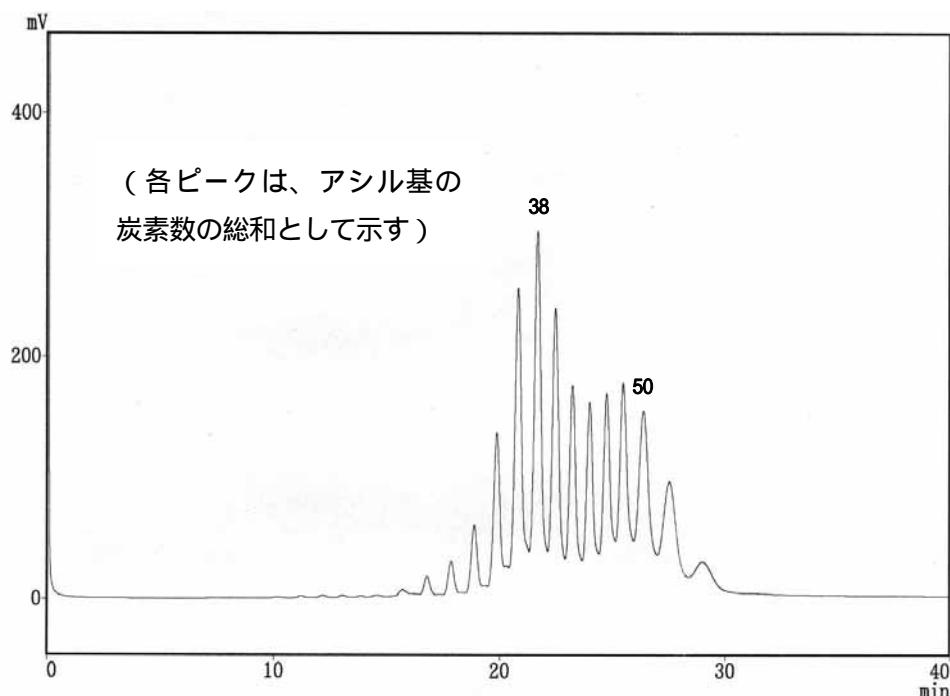
5 ガスクロマトグラフによる乳脂肪の定性

5.1 トリグリセリド組成の定性

4.1 により抽出した脂肪を加温して溶かし、均一に攪拌する。この約 70 mg を採取し、クロロホルム 1 ml を加えて溶かしたものを検液とし、直接ガスクロマトグラフに注入する⁽⁸⁾。

得られたガスクロマトグラムと同様の条件で測定した標準乳脂肪のガスクロマトグラムを比較して脂肪の同定を行う。

(参考) ガスクロマトグラムの一例



カラム : DEXSIL 300GC 2 %Chromosorb WAW DMCS 80 / 100 mesh

3 mm × 20 cm Packed Column

注入口及び検出器温度 : 360 (検出器 FID)

カラム槽温度 : 150 (5 分保持) ~ 10 / 分昇温 ~ 350 (15 分保持)

キャリアーガス : ヘリウム 50 kPa

注入量 : 1 μl

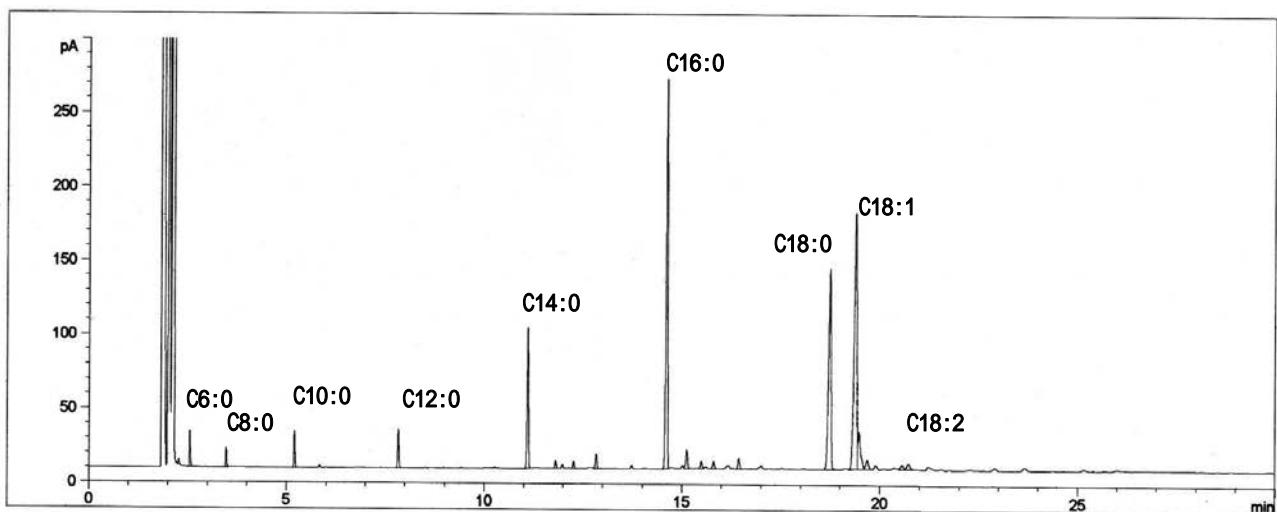
注 8) 測定条件は、使用するガスクロマトグラフの種類により異なるので、各ピークが良好に分離するように最適条件に設定する。

5.2 構成脂肪酸組成の定性⁽⁹⁾

4.1 により抽出した脂肪を加温して溶かし、均一に攪拌する。この約 200 mg を 50 ml 容共栓付三角フラスコに採取し、N/2 水酸化ナトリウム-メタノール液 4 ml を加えて溶かし、沸石を加えたのち、還流冷却器を付けて油滴が消失して均一な溶液になるまで（通常 5 ~ 10 分間）沸騰水浴上で加熱する。冷却器上部から BF₃ - メタノール液 5 ml を加え、2 分間沸騰を続ける。ヘキサン 2 ~ 5 ml を冷却器上部から加え、さらに 1 分間沸騰する。加熱を止め、冷却器を外し、塩化ナトリウム飽和水溶液約 15 ml を加え、共栓をして 15 秒間強く振り、室温になるまで静置する。ヘキサン層がフラスコの首に達するまでさらに塩化ナトリウム飽和水溶液を加える。フラスコよりヘキサン層約 1 ml を試験管に採り、少量の無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、これを直接ガスクロマトグラフに注入する⁽⁸⁾。

得られたガスクロマトグラムと同様の条件で測定した標準乳脂肪のガスクロマトグラムを比較して脂肪の同定を行う。

(参考) ガスクロマトグラムの一例



カラム : DB-WAX 0.25 mm × 30 m 0.5 µm Film thickness

注入口及び検出器温度 : 230 (検出器 FID)

カラム槽温度 : 150 (1 分保持) ~ 5 / 分昇温 ~ 220 (15 分保持)

キャリアーガス : ヘリウム 30 cm / 秒 (定流量)

注入方法 : スプリット 25:1

注入量 : 1 µl

注9) これに準じる方法でメチルエステル化を行ってもよい。