

技術レポート**1 全脂粉乳及びこれを原料とする配合飼料中の粗脂肪の測定法の開発**

鈴木 知華*, 安田 紗紀恵*

**Study of Crude Fat Measurement Methods in Dried Whole Milk
and Formula Feed Using it as a Main Ingredient**

Chika SUZUKI* and Sakie YASUDA*

(* Fertilizer and Feed inspection Department, Food and Agricultural Materials Inspection Center)

The applicability of Rose-Gottlieb (RG) method and acid hydrolysis and ether extraction (AH/EE) method for the measurement of crude fat in dried whole milk for feed and formula feed mainly composed of dried whole milk was investigated.

In the RG method, a sample was weighed and transferred into a Mojonnier flask, added with 8.5 mL of water and 1.5 mL of 28 v/v% ammonia water, and heated in a water bath of 60°C to 70°C for 15 minutes. Then, the liberated fat was liquid-liquid extracted with diethyl ether and petroleum ether. After diethyl ether and petroleum ether were evaporated, the residue was dried at 100 °C to 105 °C for 1 hour, and the crude fat was weighed. In the AH/EE method, a sample was transferred into a tall beaker, dissolved in hydrochloric acid (4:1), and heated in a water bath of 70 °C to 80 °C for 1 hour. The mixture was then transferred to a separating funnel, and the liberated fat was liquid-liquid extracted with diethyl ether. After washing diethyl ether layer with water, the diethyl ether was evaporated. The residue was dried at 95 °C to 100 °C for 3 hours, and the crude fat was weighed.

Measured values which had been made available by the RG and AH/EE methods from the dried whole milk, formula feed mainly composed of dried whole milk, and a reference material were compared. The ratio of the measured value of the AH/EE method to the RG method ranged from 1.00 to 1.04. The result of the paired *t*-test was: $t(12) = 5.244$ and $p = 0.0002$, which indicated a significant difference. This suggests the AH/EE method requires some modifications to obtain equivalent results to the RG method.

Key words: crude fat ; Rose-Gottlieb method; acid hydrolysis and ether extraction method; dried whole milk

キーワード: 粗脂肪 ; レーゼ・ゴットリーブ法 ; 酸分解ジエチルエーテル抽出法 ; 全脂粉乳

1 緒 言

飼料中の粗脂肪の測定法としては、飼料分析基準¹⁾にジエチルエーテル抽出法及び酸分解ジエチルエーテル抽出法（以下「酸分解法」という。）が記載されており、現在全脂粉乳については前者の適用となっている。しかし、飼料製造事業者から、全脂粉乳及び全脂粉乳を主原料とする配合飼料においてジエチルエーテル抽出法では十分に粗脂肪が抽出されないことがあることを理由に、酸

* 独立行政法人農林水産消費安全技術センター肥飼料安全検査部

分解法の適用拡大又は分析法の改良が要請されている。一方、全脂粉乳中の脂肪の測定法としては、レーゼ・ゴットリーブ法が国際的な標準分析法として広く用いられており²⁾、我が国の乳及び乳製品の成分規格等に関する省令³⁾（以下「乳等省令」という。）にも収載されている。このため、レーゼ・ゴットリーブ法及び酸分解法による上記飼料に対する粗脂肪の測定値の改善並びに二法間の測定値の同等性を評価し、レーゼ・ゴットリーブ法及び酸分解法の適用性を確認したので、その概要を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

1 mm の網ふるいを通過した 9 種類の全脂粉乳及び全脂粉乳を主原料とする 3 種類の配合飼料を用いた。また、粉乳標準物質は公益社団法人日本分析化学会が販売し、脂質としてレーゼ・ゴットリーブ法により値付けされている粉末状の調製粉乳（付与値 19.26 g/100 g, 不確かさ 0.95 g/100 g）を用いた。

なお、検討に用いた配合飼料の例を Table 1 に示した。

Table 1 Ingredients of the formula feed

Formula feed types	Ingredient types	Proportion (%)	Ingredients
For suckling pigs 1	Animal products	98	Dried whole milk, whey protein concentrate, milk protein concentrate
	Others	2	Dry yeast cell wall, lactic acid bacteria
For suckling pigs 2	Animal products	93	Dried whole milk, dried skim milk, dried whey
	Others	7	Glucose, dry yeast cell wall, lactic acid bacteria, fructooligosaccharide syrup, silicon dioxide
For milk replacer for suckling calves	Animal products	95	Dried whole milk, dried skim milk
	Others	5	Glucose, dry yeast cell wall, lactic acid bacteria

2.2 試薬

- アンモニア水（質量分率 28 %）、エタノール、塩酸、ジエチルエーテル、石油エーテル及びフェノールフタレインは特級を用いた。水は Milli-Q Integral 5（Merck Millipore 製）により精製した精製水（JIS K 0557 の A3 に分類される水）を用いた。
- フェノールフタレイン試液
フェノールフタレイン 1 g をエタノールに溶かして 100 mL とした。

2.3 測定方法

1) レーゼ・ゴットリーブ法

分析試料 1.0 g を量ってマジョニア管に入れ、水 8.5 mL を加え、加温しながら溶解するまで振とうした後、アンモニア水 1.5 mL を加え、60~70 °C の水浴中でときどき振り混ぜながら 15 分間加熱した後放冷した。

エタノール 10 mL を加え混合した後フェノールフタレイン試液 3 滴及びジエチルエーテル 25 mL を加え、手で 1 分間激しく振り混ぜた。更に石油エーテル 25 mL を加え、同様に振り混ぜた後静置し、上層（ジエチルエーテル・石油エーテル層）を 200 mL トールビーカー（あ

らかじめ 100~105 °C で 1 時間乾燥し、デシケーター中で放冷後、重さを正確に量っておいたもの) に入れ、75 °C 以下の水浴で乾固した。

マジョニア管にエタノール 4 mL を加え、手で 15 秒間激しく振り混ぜた後、ジエチルエーテル 15 mL を加え、手で 1 分間激しく振り混ぜた。更に石油エーテル 15 mL を加え、同様に振り混ぜた後静置し、上層を先のトールビーカーに加え、75 °C 以下の水浴で乾固した。

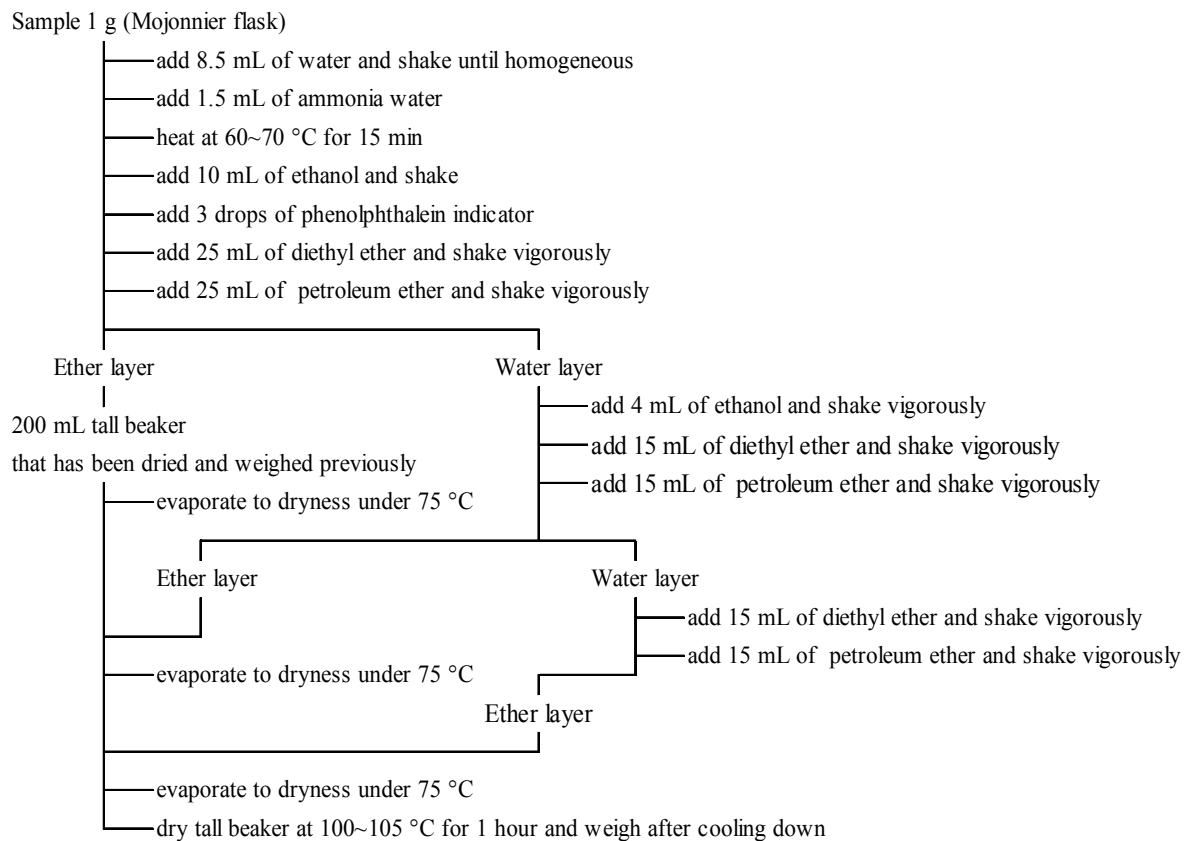
次に、エタノールの添加を省略し、同様に操作した。トールビーカー内の溶媒を 75 °C 以下の水浴で乾固し、100~105 °C で 1 時間乾燥し、デシケーター中で放冷後、重さを正確に量り、試料中の粗脂肪量を算出した。

なお、測定法の概要を Scheme 1 に示した。

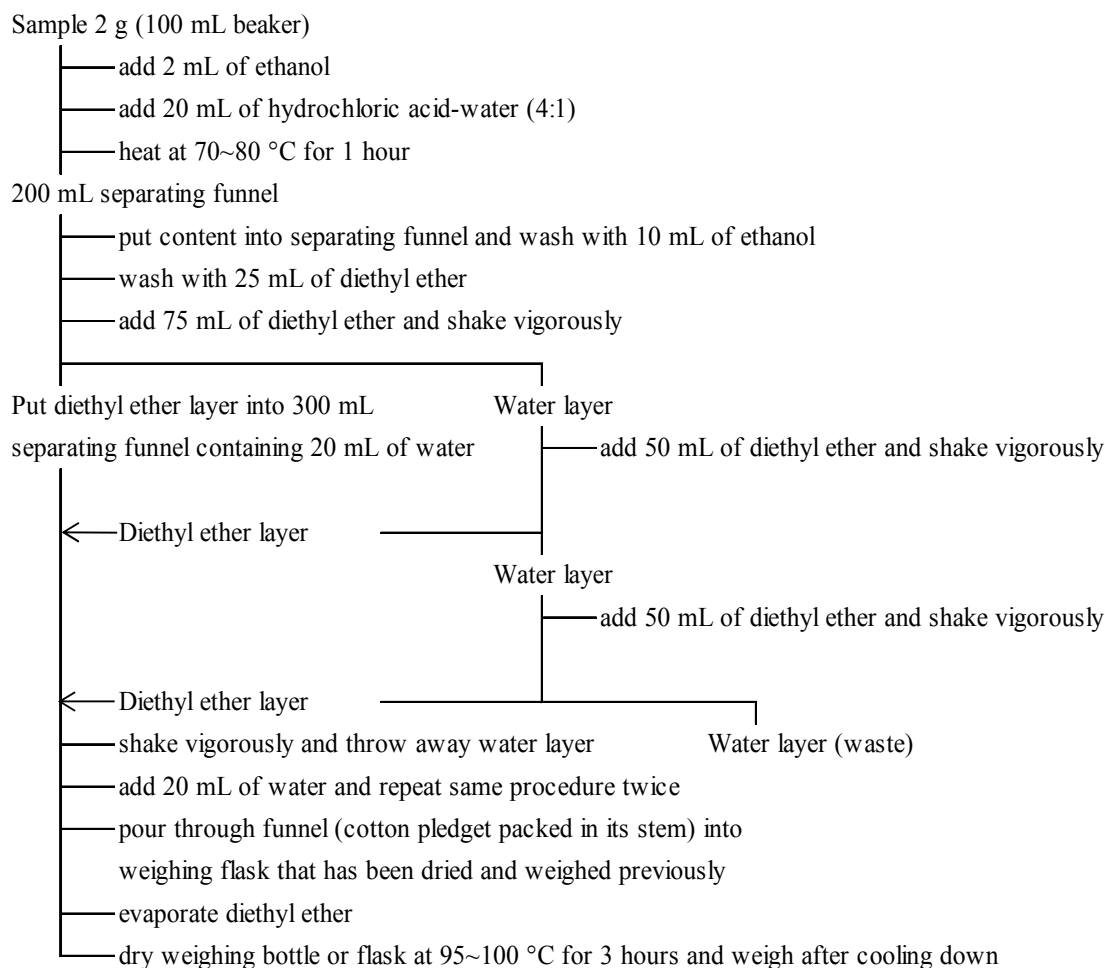
2) 酸分解法

飼料分析基準第 3 章 3.2 の方法によった。

なお、測定法の概要を Scheme 2 に示した。



Scheme 1 Measurement procedure (Rose-Gottlieb method)



Scheme 2 Measurement procedure (acid hydrolysis and ether extraction method)

3 結果及び考察

9 種類の全脂粉乳及び全脂粉乳を主原料とする 3 種類の配合飼料を用い、2.3 に従って粗脂肪の測定値を得た。なお、乳等省令に定められている全脂粉乳中の乳脂肪分の成分規格は 25.0 %以上（全脂粉乳 2 は山羊の乳であるため除く）であり、このときの配合飼料の設計値はほ乳期子豚育成用 1 で 19.25 %，ほ乳期子豚育成用 2 及びほ乳期子牛育成用代用乳用では 18.75 %である。結果は Table 2 のとおりであり、両法ともに成分規格及び設計値を上回る結果であった。また、レーゼ・ゴットリーブ法に対する酸分解法の測定値の比は 1.00~1.04 であった。測定値について対応のある *t*-検定を行った結果、 $t(12) = 5.244$, $p = 0.0002$ であり、有意水準 5 %で測定値に有意な差が認められた。酸分解法がレーゼ・ゴットリーブ法よりも高い測定値を示したことは、分解物が水とともにエーテル層に混入しているためと考えられ、レーゼ・ゴットリーブ法と同等の結果を得るには、酸分解法の改良が必要であることを示唆した。

なお、レーゼ・ゴットリーブ法の繰返し精度は、相対標準偏差 (RSD_r) として 0.40 %以下、酸分解ジエチルエーテル抽出法の繰返し精度は、 RSD_r として 1.4 %以下であった。

Table 2 Content of crude fat measured by Rose-Gottlieb method and acid hydrolysis and ether extraction method

Sample types	Rose-Gottlieb method		Acid hydrolysis method		Ratio of the measured value (Acid hydrolysis method /Rose-Gottlieb method)
	Crude fat ^{a)}	RSD _r ^{b)}	Crude fat ^{a)}	RSD _r ^{b)}	
	(%)	(%)	(%)	(%)	
Dried whole milk 1	25.46	0.13	25.64	0.25	1.01
Dried whole milk 2	30.89	0.11	31.06	0.27	1.01
Dried whole milk 3	26.55	0.18	27.07	0.17	1.02
Dried whole milk 4	26.43	0.17	26.58	0.39	1.01
Dried whole milk 5	25.90	0.20	26.25	0.44	1.01
Dried whole milk 6	26.32	0.22	26.91	0.31	1.02
Dried whole milk 7	25.43	0.04	26.01	0.35	1.02
Dried whole milk 8	25.83	0.19	26.21	0.38	1.01
Dried whole milk 9	25.81	0.08	26.28	0.47	1.02
Formula feed for suckling pigs 1	20.86	0.37	20.88	0.46	1.00
Formula feed for suckling pigs 2	20.01	0.17	20.67	0.42	1.03
Formula feed for milk replacer for suckling calves	20.63	0.12	20.82	0.27	1.01
Reference material	20.18	0.40	21.01 ^{c)}	1.4	1.04

a) Mean ($n = 3$)

b) Relative standard deviation of repeatability

c) Mean ($n = 6$)

4 まとめ

全脂粉乳及び全脂粉乳を主原料とする配合飼料において、レーゼ・ゴットリーブ法及び酸分解法の同等性を確認したところ、以下の結果が得られた。

- 1) 9種類の全脂粉乳及び全脂粉乳を主原料とする3種類の配合飼料について、レーゼ・ゴットリーブ法及び酸分解法による測定を行った結果、測定値の比は1.00~1.04であった。
- 2) レーゼ・ゴットリーブ法及び酸分解法による測定値について対応のある t -検定を行った結果、 $t(12) = 5.244$, $p = 0.0002$ であり測定値に有意な差が認められた。
- 3) 酸分解法は、レーゼ・ゴットリーブ法と同等の結果を得るには、改良が必要であることが示唆された。
- 4) レーゼ・ゴットリーブ法の繰返し精度は、相対標準偏差 (RSD_r) として 0.40 %以下、酸分解ジエチルエーテル抽出法の繰返し精度は RSD_r として 1.4 %以下であった。

文 献

- 1) 農林水産省消費・安全局長通知：飼料分析基準の制定について，平成 20 年 4 月 1 日，19 消安第 14729 号 (2008).
- 2) AOAC Int. (2016). AOAC Official Method 932.02 Fat (crude) or Ether Extract in Dried Milk Products. In official methods of analysis of AOAC Int. 20 ed., Gaithersburg, MD, USA.
- 3) 厚生省令：乳及び乳製品の成分規格等に関する省令，昭和 26 年 12 月 27 日，厚生省令第 52 号 (1951).