



検査技術研修会での質問から

山口千里*

(公益財団法人日本乳業技術協会 〒102-0073 東京都千代田区九段北 1-14-19)

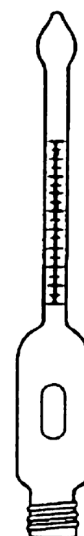
日本乳業技術協会（当協会）は、乳・乳製品にこだわった試験検査機関として長年にわたり引き継がれ培われてきた技術、経験等をもとに、検査技術などを広くお伝えするための研修会を続けてきました。全国乳質改善協会（当時）はじめ乳業団体、酪農団体等の委託を受けて各種検査実技研修会を実施してきたほか、当協会主催の検査実技（技術）研修会も実施し、近年は年間約20回、150名程度の研修生に参加していただいています。創立70周年を迎えた令和2年は、コロナ禍で多くの研修会を中止したり人数を絞ったりせざるを得ませんでした。これまでに研修を受けられた方は6500人を超えています。

実技中心、少人数制の研修会ですので、毎回たくさんのご質問を受けます。乳業技術 Vol. 66 2019から、乳技協だよりの「検査技術研修会での質問から」にご紹介しておりますが、ここでは、これまで研修生のみなさまから数多く寄せられた質問の中から、ゲルベル法における温度管理に関連した内容について、テーマを絞ってご紹介いたします。測定方法の検討や日々の試験検査のご参考になれば幸いです。

【ゲルベル法について】

脂肪分の試験方法の一つであり、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令（乳等省令）における牛乳等の乳脂肪分測定法として規定されています。また、全国飲用牛乳公正取引協議会（牛乳公取協）の標準法（公取協検査法）でもあり、飲用乳の日常検査や測定機器の校正等の目的でも広く実施されています。

サンプルを濃硫酸と混合することにより脂肪球被膜を処理して乳化状態（エマルジョン）を破壊した後、硫酸液中に浮遊する脂肪の小滴を遠心分離して集め、油層（脂肪層）と水層に分画することで脂肪量（容積）を求めます。脂肪量は、容量で読み取ってから重量％に換算する「容量-重量換算」を行うことにより測定します。



〈ゲルベル乳脂計〉

【ゲルベル法フロー/乳等省令より】

乳脂計に硫酸採取10 mL



11 mL 牛乳用ピペットにより硫酸上へ試料層積



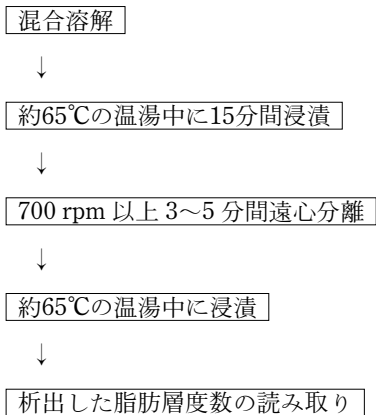
アミルアルコール 1 mL 注加



ゴム栓



* Tel : 03-3264-1921, Fax : 03-3264-1569



Q1：ゲルベル法では、「温度を守ることが大切である」とされます。どのような理由があるのでしょうか？

A1：ゲルベル法は、読み取った脂肪分の容量を重量に換え、その重量%を求める「容量-重量換算」の測定原理による方法です。

まず、容量は次式により重量に換算することができます。

$$\text{重量} = \text{容量} \times \text{比重}$$

ゲルベル法もこの考えによって容量-重量換算しますが、計算を行うことなく換算が終了するような試験方法となっています。ただし、要点を守って操作しなければこの換算が不正確なものとなり、誤差を生じるおそれがあります。

ここで注意しなければならないのが換算にかかわる「比重」です。

比重はその特徴として、温度により数値が変化します。つまり、同じサンプルであっても、10°Cでの比重と30°Cでの比重とでは、その数値は異なります。また、容量（体積）も温度により変化します。温度が高ければ容量は大きくなり、低ければ小さくなります。容量-重量換算を行うたびに温度が異なると、換算後の重量もその都度違った数値となってしまいます。これを防ぐために、ゲルベル法では ①サンプルの採取時、②分離した脂肪層度数の読み取り時の温度を正確に守ることが求められます。

まず、①サンプルの採取時ですが、ゲルベル法では必ず11 mL 容量の牛乳用ピペットを使用して15～20°Cでサンプルを採取します。この際、ピペット内壁に0.1 mL が付着して残るとして、実際の採取量は11 mL - 0.1 mL = 10.9 mL となります。

ゲルベル法は仮定の前提条件として、サンプルの比重を1.032と考えますので、容量-重量換算による採取重量は10.9 mL × 1.032 = 11.25 g となります。

次に、②分離した脂肪層度数の読み取り時ですが、乳脂計の度数1%分の容量は0.125 mL です。分離した脂肪分はこの度数部分にあり、約65°Cの温湯中に保持し、温度を一定にして読み取ります。乳脂肪の比重（密度）は60°C付近では0.9 (g/mL) であるため、容量-重量換算によってその重量は0.125 mL × 0.9 g/mL = 0.1125 g となります。

この①と②の重量を比較すると、乳脂計の度数1%に相当する脂肪量 (0.1125 g) はサンプル採取量

(11.25 g) に対して 1/100の重量，割合として 1%の数値になります。この重量対比がゲルベル法の容量-重量換算に相当します。計算によることなく，読み取った乳脂計の度数がそのままサンプル脂肪分の重量%として表されることとなりますので，度数の読みが「3.5」であれば，脂肪分は3.5%（重量%）です。この際，サンプル採取量と乳脂計度数部分にある脂肪量との重量対比が正確に保たれていることが必要です。温度が異なると比重の数値が変化することにより計算上の重量は変わり，重量対比が崩れるため正確な結果が得られません。そのため，「温度を守ることが大切である」とされます。

脂肪層度数の読み取り時には，恒温槽から乳脂計を取り出した瞬間から温度低下が始まります。重量対比を保つため，素早く正確に読み取ることが大切です。

Q2：サンプルの比重が1.032でない場合，ゲルベル法は実施してはいけないのでしょうか？

A2：ゲルベル法は，サンプルの比重が1.032であることを前提条件として実施します。サンプルの特性（濃厚タイプや低脂肪タイプの製品など）によっては異なる比重となることもあり，特に加糖された乳飲料では1.040を超えるものも少なくありません。この場合，11 mL 牛乳用ピペットを使用して容量-重量換算したサンプル採取量は11.25 g となりませんので，乳脂計度数部分にある脂肪量との重量対比が崩れ，精度に影響します。このため，実際には11.25 g を最初から重量で採取することも行われています。規定された試験方法とは異なりますので，比重に影響されない重量法※による結果と比較することで検査の同等性を確認することが必要です。

※目的成分を分離後，重量測定により含有率を求める定量分析法：レーゼゴットリーブ法など。

Q3：遠心機を60℃程度に設定して使用し，前後のウォーターバスによる加温を省略してもよいでしょうか？

A3：ゲルベル法は，硫酸との混合後と遠心分離後の二度，ウォーターバスでの浸漬加温を行う手順とされています。混合後の加温は脂肪分離を促すことが目的であり，遠心分離後の加温は脂肪層度を60℃付近で読み取り，比重0.9により容量-重量換算を行うことが目的です。より重要なのは後半の遠心分離後の加温です。遠心分離中は温度が低下しますので，60℃付近で温度を一定にして脂肪層度を読み取るため加温します。度数の読み取り温度は容量-重量換算に直接影響するため，必ず守らなければなりません。この際，遠心機チャンバー内を加温できる遠心機を用いて遠心分離中の温度低下を防ぎ，改めて加温することなしに度数を読み取ることが行われています。理論上は問題がなくとも，規定された試験方法と異なるため同等性の確認が必要です。また，遠心機チャンバー内は温浴（ウォーターバス）に比べて温度低下が起りやすいため，読み取りはより速やかに行うことが求められます。

遠心前の加温は時間短縮等の目的から省略される場合があります。この場合も同等性の確認が必要です。

Q3-2：遠心機を60℃に設定して使用し，前後のウォーターバスによる加温も省略せず規定された通りに実施しています。問題ないでしょうか？

A3-2：問題ありません。遠心分離の操作自体に温度に関する規程はなく，理論上の問題もありません。

Q4：脂肪層度数の読み取りは、規定された温度を保っていれば長時間経過後に行ってもよいでしょうか？

A4：乳等省令に遠心後の加温時間は規定されていませんが、公取協検査法には5分間加温後に読み取る、またISO19662/IDF238共同規格（2018年）には、 $65\pm 2^{\circ}\text{C}$ のウォーターバスで10分の加温後取り出して読み取る、と規定されています。長時間の加温は脂肪の褐変や、予期せぬ誤差を生じる原因となることも考えられますので望ましくありません。

Q5：サンプルの脂肪分が粒状に分離しており、 $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ で攪拌しても均一にならない場合、加温してもよいでしょうか？

A5：乳等省令にサンプル均一化の際の温度は規定されていませんが、公取協検査法には共通の注意事項として、ノンホモ製品でクリーム層の分離が認められた場合は約 40°C に温めて均一化後に指定温度に冷却する、また、ISO19662/IDF238共同規格（2018年）には $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ に加温後、穏やかに混合してその後速やかに約 20°C にするように規定されています。

以上のことから、加温する場合は 40°C 程度を限度とし、均一化後速やかに $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ に冷却してサンプルを採取してください。また、サンプルによっては攪拌時の衝撃によりチャーニングを起こして逆に脂肪が凝集してしまう場合がありますので、攪拌に際しては静かにそっと取り扱うようにしてください。均一化されない場合、正確な測定ができませんので、十分注意する必要があります。

Q6：脂肪分の測定をゲルベル法ではなくバブコック法で実施しています。バブコック法でも「温度を守ることが大切である」と注意されましたが、ゲルベル法と同様の理由があるのでしょうか？

A6：バブコック法もゲルベル法と同様、容量-重量換算の測定原理による方法です。硫酸により被膜処理された脂肪分を遠心分離して集め、読み取った度数を換算してサンプルの脂肪重量%として表します。温度は正確に守る必要があります。

バブコック法では、サンプルの採取時に17.6 mLの牛乳用ピペットを使用します。ピペット内壁に0.16 mLが付着して残るとして、採取量は $17.6\text{ mL} - 0.16\text{ mL} = 17.44\text{ mL}$ となります。サンプルの比重を1.032とすると、容量-重量換算後の重量は $17.44\text{ mL} \times 1.032 = 18\text{ g}$ です。バブコック乳脂計度数1%の容量は0.2 mLのため、1%度数内の脂肪重量は 60°C 付近の比重0.9から、 $0.2\text{ mL} \times 0.9 = 0.18\text{ g}$ となり、試料採取量に対して1%の重量割合となります。

このように、ゲルベル法では測定に際して温度を正確に守ることが精度を維持する上で大変重要な要素となります。しかしながら、サンプルの比重が1.032であることが前提条件のため、真の値からのカタヨリが大きくなりやすい欠点があります。このため、比重の異なるサンプルを測定する場合には、採取方法を変更する等、精度を維持するための様々な工夫がなされています。このような工夫をするときは、乳等省令法や公取協検査法に規定された手順とは異なることから、必ず同等性の確認をすることが求められます。日常検査の場合は、それぞれの責任のもとに変法として実施されていますが、温度条件が測定原理や結果にどのように影響するかを理解した上で、目的に応じた方法を選択してください。

また、硫酸や3-メチル-1-ブタノール（アミルアルコール）といった試薬も、サンプルと同様、15～20℃で使用することが必要です。夏期や冬期の取り扱いには十分留意してください。