

# ホルマリンを使わないアミノ酸度測定法

品質・安全性研究部門 藤田 晃子

## 1. はじめに

清酒等のアミノ酸度の測定については、アミノ酸を医薬用外劇物のホルマリン（ホルムアルデヒド水溶液）と反応させて酸とし、水酸化ナトリウム溶液で中和滴定する方法が国税庁所定分析法（所定法）に採用されています。近年、ホルムアルデヒドは、局所排気装置など特殊な装置がなければ使用できなくなったことから、ホルマリンを使用しないアミノ酸度の測定法の検討を行いました。

## 2. 測定法の設定

全アミノ酸の定量法のうち、高宮の方法<sup>1)</sup>は、試料にフェノールフタレイン指示薬を添加して中和し、エタノールを添加して混合した後、水酸化カリウム溶液で滴定する方法です。ホルマリンをエタノールに、水酸化ナトリウムを水酸化カリウムに置き換えれば、現行の器具・操作がそのまま使用できることから、この方法が清酒に応用できるか検討しました。

清酒にエタノールを添加すると、添加量に応じて白濁し、フェノールフタレイン指示薬の水溶液における変色域（pH 8.2～10.0）が塩基性側にシフトしました。エタノールの添加量や滴定に用いるアルカリ溶液等の条件を検討し、エタノール添加法を図1のように設定しました。

### A) 指示薬滴定法

検体 10 ml  
↓ 1% フェノールフタレインエタノール溶液数滴を添加  
N/10 水酸化ナトリウム溶液で中和(淡桃色)  
↓ 特級エタノール(99.5) 25 ml を添加  
N/10 水酸化ナトリウム溶液で滴定(淡桃色)  
↓  
アミノ酸度 = 滴定量(ml) × 水酸化ナトリウム溶液の力価

### B) pH 計による方法

検体 10 ml  
↓  
N/10 水酸化ナトリウム溶液で中和(pH 8.2まで)  
↓ 特級エタノール(99.5) 25 ml を添加  
N/10 水酸化ナトリウム溶液で滴定(pH 10.2～10.3まで)  
↓  
アミノ酸度 = 滴定量(ml) × 水酸化ナトリウム溶液の力価

図1 エタノール添加法

## 3. 市販清酒等の測定

図1の方法で市販清酒を測定すると、所定法とほぼ同等の測定値が得られました(図2)。

また、所定法とエタノール添加法では、どちらも各アミノ酸の滴定値が一定ではないことがわかりました。エタノール添加法は、合成清酒等のアミノ酸組成に偏りがある検体の測定には使用できないと考えられました。

## 4. 酒母・もろみの測定

当所で行った本醸造酒の試験醸造の酒母ともろみを数日おきに採取し、ろ液のアミノ酸度を各方法で測定した結果、酒母、もろみ共にアミノ酸度の挙動は全ての方法で概ね一致しましたが、測定値には方法による違いが見られました(図3)。エタノール添加法のうち、指示薬滴定法は所定法とほぼ同様の値を示しましたが、pH計による方法は所定法の値との差が比較的大きくなりました。

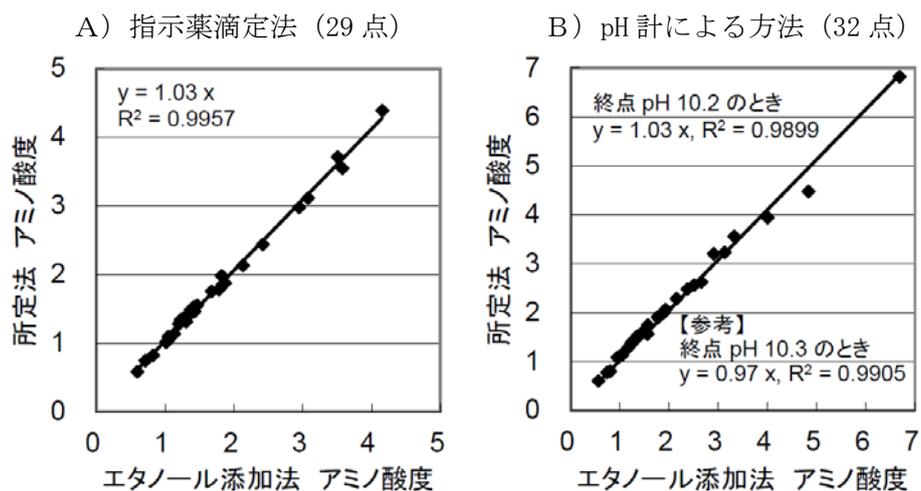


図2 所定法とエタノール添加法による市販清酒のアミノ酸度測定結果

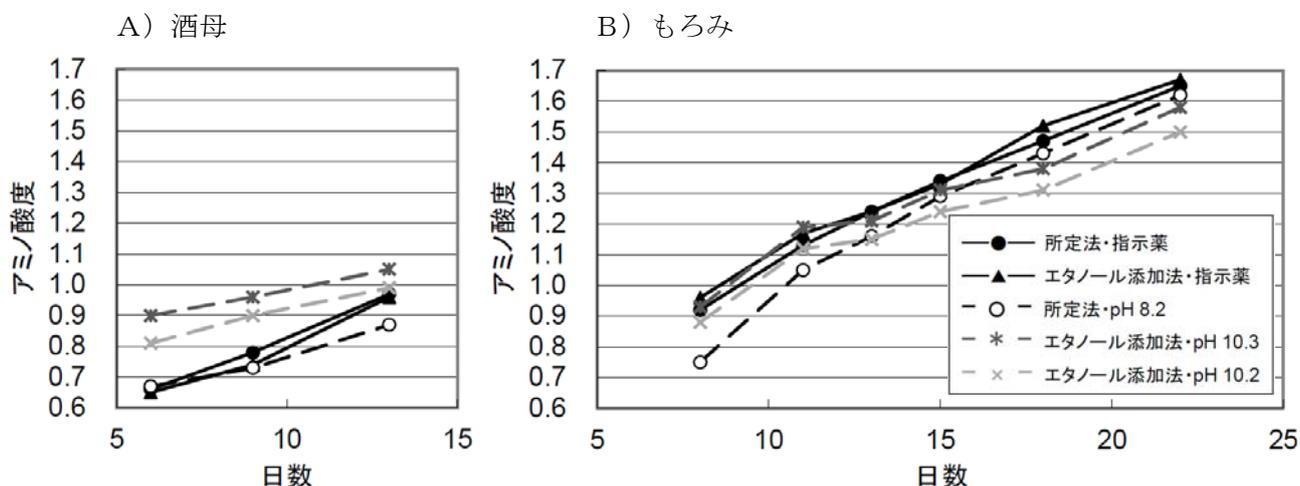


図3 酒母・もろみ仕込み中のアミノ酸度の推移

## 5. 試験室間共同試験

清酒のアミノ酸度測定法の妥当性を確認するため、12 試験室においてエタノール添加法及び所定法に定める指示薬滴定法に従って清酒のアミノ酸度を測定する共同試験を実施しました。その結果、エタノール添加法は所定法と同様に良好な再現性を示しました。

## 6. おわりに

エタノール添加法は、従来の所定法と同様の器具を使用し、同様の操作でアミノ酸度を測定することができることから、規制の厳しいホルマリンを使用する所定法に代わる方法として製造現場で活用されることが期待されます。清酒ではアミノ酸度の記帳は必須ではありませんが、記帳する場合は所定法によることとされています。今後、この方法による測定値を記帳することができるよう、必要な手続きを取る予定です。

## 7. 参考文献

- 1) 高宮, 日本農芸化学会誌, 3, p815-823 (1927)