

ホルマリンを使用しないアミノ酸度の分析法

清酒等のアミノ酸度の分析については、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、アルカリ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分析法の検討を行い、所定法において使用しているホルマリンをエタノールに替えて行う、エタノール添加法を開発しました（別添1）。

この方法は、「国税庁所定分析法と異なる測定方法で合理的かつ正確であると認められる方法」として認められましたので、今後は国税庁所定分析法に代えて酒類製造者が記帳義務を履行する際の測定方法として使用できることとなりました（別添2）。

清酒のアミノ酸度を分析するエタノール添加法が、「国税庁所定分析法と異なる測定方法で合理的かつ正確であると認められる方法」として認められた。

酒類総合研究所標準分析法

ホルマリンを使用しない清酒のアミノ酸の分析法（エタノール添加法）の追加

国税庁所定分析法及び酒類総合研究所標準分析法において、清酒のアミノ酸の分析には医薬用外劇物のホルムアルデヒド水溶液（ホルマリン）を使用する方法（ホルモール滴定法）が採用されています。特定化学物質障害予防規則等の改正（平成 20 年 3 月、厚生労働省）により、ホルムアルデヒドの取り扱いに対する規制が強化されていますので、ホルマリンを使用しないアミノ酸度の分析方法の検討を行い、酒類総合研究所標準分析法の清酒のアミノ酸に次の方法を追加しました。

ただし、合成清酒の分析には使用できないことにご注意ください。

【分析方法】

3-6 アミノ酸

B) エタノール添加法¹⁾

3-6-3 試薬

フェノールフタレイン指示薬²⁾

フェノールフタレイン 0.5 g をエタノール 50 mL に溶解する。

N/10 水酸化ナトリウム溶液³⁾

エタノール⁴⁾

エタノール(99.5) (特級) (JIS K 8101:2006 の規定による)

3-6-4 試験操作

検体 10 mL をとり、フェノールフタレイン指示薬数滴を加えて N/10 水酸化ナトリウム溶液で淡桃色を呈するまで中和する。これにエタノール 25 mL を加え⁵⁾、無色に戻った溶液を N/10 水酸化ナトリウム溶液で再度淡桃色を呈するまで滴定する。この滴定値を a mL とし、次式によって検体のアミノ酸度⁶⁾ として表示する。

アミノ酸度 = $a \times F$ (小数点以下 2 けたを四捨五入)

(注) 3-5-2 (総酸) で滴定を終わった検体にフェノールフタレイン指示薬数滴を加え、以下 3-6-4 と同様に滴定してアミノ酸度を求めても良い。ただし、終点は赤紫色とする。⁷⁾

【注】

- 1) この方法は、はじめに Willstätter と Waldschmidt-Leit(1921)により報告され、高宮(1927)により検討が加えられたアルコール・水酸化カリウム滴定法（アルコール溶液においてアルカリ滴定によりアミノ酸を定量する方法）を清酒に応用したものである。

この方法の原理は明らかではないが、中和後の検体にエタノールを添加すると（終濃度約70%）、溶液の誘電率が低下する（自己解離定数が上昇する）ことにより、アミノ酸と指示薬フェノールフタレインの解離平衡が酸性側にずれ、フェノールフタレインの水溶液における変色域（pH 8.2～10.0）が塩基性側（pH 10～）にずれてアルカリで滴定できるようになると推測されている。

この方法では各アミノ酸の滴定値が一定ではないため、合成清酒等のアミノ酸組成に偏りのある検体の測定には適用できない。

- 2)3) ホルモール滴定法と同じ。
- 4) エタノールは消防法上の危険物であるので、火気の近くでは測定を行わないこと。
- 5) 検体にエタノールを添加すると白濁するが、測定を継続して差し支えない。
- 6) この方法はホルモール滴定法による清酒のアミノ酸度と同等の値が得られるように設定されている（藤田ら 2015）。
- 7) 注の方法は酸度の測定に続いてアミノ酸度を測定するときの方法である。3-5-2 の清酒の酸度の滴定が終わった検体にフェノールフタレイン指示薬を5滴加え、更にN/10水酸化ナトリウム溶液によって赤紫色になるまで中和し、これにエタノールを加え、再び赤紫色になるまで滴定し、これをアミノ酸度とする。

Willstätter, R., Waldschmidt-Leitz, E.: *Ber. d. Deutsch. Chem. Ges.*, **54**, 2988 (1921)

高宮悦雄：日本農芸化学会誌, **3**, 815 (1927)

藤田晃子, 塚本 香, 橋本知子, 遠藤路子, 松丸克己, 藤井 力：醸協, **110**, 591 (2015)

別添 2

国税庁所定分析法と異なる測定方法で合理的かつ正確であると認められる方法

- 1 測定方法番号 7
- 2 測定方法名 酒類総合研究所標準分析法 3-6 アミノ酸B) エタノール
添加法によるアミノ酸度の測定
- 3 対象とする酒類等の品目等 清酒、酒母、もろみ
- 4 測定方法の内容

(1) 分析用検体

対象とする酒類等の品目等について、国税庁所定分析法に規定するアミノ酸度測定法における検体と同一のものを、「酒類総合研究所標準分析法 3-6 アミノ酸B) エタノール添加法」によるアルコール分測定用の検体とする。

(2) アミノ酸度の測定

(1) の検体について、「酒類総合研究所標準分析法 3-6 アミノ酸B) エタノール添加法」(別紙)(独立行政法人酒類総合研究所 平成 27 年 5 月 25 日制定)によりアミノ酸度を測定する。