

A-5

高校化学における実試料を用いたアミノ酸の定量実験の開発 —発酵調味料中の旨味の成分であるアミノ酸の定量—

Development of Teaching Material for High School Students with Quantitative Experiment of Amino Acids in Foods Fermented Seasoning is Rich in Amino Acids for Savory Tastes

井上みどり
Midori Inoue

Abstract: The teaching material for high school students was developed. This material was composed of quantitative experiment of amino acids in foods especially fermented seasoning as application of Sørensen Formol titration method. Nowadays, amino acids have been attracted as supplements or isotonic drinks. In addition to that, Chiba Pref. is famous for production of soy sauce or sweet sake (mirin in Japanese) thanks to its genial climate and ease access to consumption area. Therefore, it is valuable for high school students to study amino acids using familiar fermented seasoning in the point of view that they can get useful knowledge for daily life and they can know their local. In this time, grain vinegar was utilized for natural sample but this material can be applicable for other foods which is rich in amino acids.

1. はじめに

高等学校では理科離れが進んでいる。これは高学年になるに従い、分子や原子、化学結合などの目に見えない概念や濃度計算・モル計算などの興味の持ちにくい分野が増加するためである。身近な食品を用いた実験は誰にでも取り組みやすく、興味を持たせやすい。タンパク質・アミノ酸などの天然高分子化学は高校3年生で学習するが、この単元では実験が特に少なく、知識の定着に乏しい。一方、アミノ酸飲料やサプリメントなど近年アミノ酸は注目されている。また、本校の所在地である千葉県は古くから、温暖な気候や利根川の水運を生かし、銚子・野田の醤油・佐原の酒・流山のみりんなどの醸造業が盛んである。身近な食品を用いたアミノ酸の定量実験を通じ、化学に対するハードルを下げるだけでなく、生きた知識の習得や、地域教育にも繋がる教材を目指して開発を行った。

2. ホルモール法

ホルモール法は国税庁が酒などに含まれる総アミノ酸量を測定するために用いる分析法の1つである。今回の実験教材開発では、高校生でも扱えるように食酢を実試料に用いることとした。

アミノ酸は水溶液中では双性イオンとして存在し、アミノ基が陽イオン、カルボキシ基が陰イオンとなっているため、水酸化ナトリウムなどの塩基で中和することができない。しかしアミノ酸の中性水溶液にホルマリンを加えると、アミノ基がホルムアルデヒドと反応し、安定なオキシメチレン誘導体になるため、水酸化ナトリウム水溶液で滴定できるようになる。

本実験教材を開発するに当たり、ホルモール法の測定精度の確認を行った。各種アミノ酸単体を標準試料とし、滴定を行ったところ、アルギニン・リシンのようにアミノ基を2個持つ塩基性アミノ酸では、誤差が大きく出るが、酸性アミノ酸や中性アミノ酸は、ほぼ正確に滴定できることが分かった。実試料中には20数種類のアミノ酸を含むので、実験教材として総アミノ酸量の測定を行うには十分な精度が得られると考えられる。

3. 授業用資料・試薬及び装置

授業用資料：実験手順書・千葉県の醸造業の資料

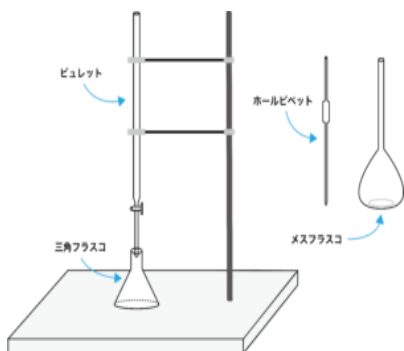
試薬：食酢（醤油やみりんなども可）

1M及び0.1M水酸化ナトリウム水溶液

中性ホルマリン：1%フェノールフタレインを指示薬とし、保存中に生じたギ酸を0.1M水酸化ナトリウム水溶液で微紅色になるまで中和したもの。作業はドラフトチャンバー中で行う。

1%フェノールフタレイン指示薬：フェノールフタレイン 1gをエタノール 80 mLに溶かし、水を加えて 100 mLとする。

器具：50 mLと25 mLビュレット、25 mLホールピペット、コニカルビーカー、マグネチックスターラー、ロート、ピペッター、メートルグラス



実験器具

4. 定量実験

発酵食品中のたんぱく質は分解されて旨味成分のグルタミン酸などのアミノ酸に変化している。食酢・醤油・酒などに含まれるアミノ酸は味や風味を左右する重要なもので、ホルモール法により、その量を測定できる。アミノ酸をホルムアルデヒドと反応させるとオキシメチレン誘導体となり、アミノ基の塩基性が失われる。この誘導体のカルボキシ基を酸として水酸化ナトリウム水溶液と中和させることで、滴定により遊離アミノ酸量を定量することができる。

実験方法

- ① 食酢 25 mL¹⁾ をホールピペットで 200 mL コニカルビーカーに取る。1%フェノーフタレイン指示薬を数滴加える。
- ② 1M水酸化ナトリウム水溶液²⁾ を 50 mL ビュレットに入れ、①のコニカルビーカー内が微紅色になるまで滴下し、酢酸などの食酢に含まれる有機酸を中和させる。(ここまでの操作は高校 1 年の化学基礎で学習・実験している。)
- ③ 別の 25 mL ビュレットに 0.1M水酸化ナトリウム水溶液を用意する。②のコニカルビーカーに中性ホルマリン 20 mL 加える。アミノ酸がオキシメチレン誘導体となり、溶液は酸性となるため、指示薬の微紅色は消える。これを 0.1M水酸化ナトリウム水溶液で再度微紅色になるまで中和滴定する。

計算

$$\text{ホルモール窒素 (\%)} = t \times F \times 0.0014 \times 4$$

t : 滴定値 (ホルマリン添加後の量)

F : 水酸化ナトリウム水溶液のファクター

0.00140. : 0.1M水酸化ナトリウム水溶液 1 mL と完全中和する中性アミノ酸に含まれる窒素原子の質量

- 1) 一般的な食酢の中和滴定では 10 倍希釈したものをを用いるが、アミノ酸濃度が薄いため、本実験においては原液を用いる。

- 2) 水酸化ナトリウム水溶液の濃度は反応する酸の濃度に合わせて、調整する。有機酸を滴定するには 1 Mを使用し、アミノ酸を滴定するには 0.1Mを使用することとした。

5. 実験結果

実際に食酢を用いて実験した結果を表 2 にまとめた。結果に示す通り、食酢中のアミノ酸濃度は酢酸濃度に比べて 2 桁ほど薄いものであったが、ホルモール法を用いた滴定を行うことで、有機酸とアミノ酸と分けて測定することが可能である。

表 2 食酢中の酢酸とアミノ酸

| | 酢酸 モル濃度 | 酢酸 質量%濃度 | 総アミノ酸 モル濃度 | ホルモール 窒素% |
|---|------------|-------------|---------------|--------------|
| 酢 | 0.703 | 4.22 | 0.00528 | 0.0074 |

6. 終わりに

ホルモール法はみそ・醤油・酒・本みりんなどの発酵食品中の総アミノ酸量を簡便に測定する方法として古くから利用されている。高額な分析機器がなくても、酸の中和滴定として、アミノ酸も定量することができる。発酵食品以外にもアミノ酸を多く含む食品 (アミノ酸飲料・トマト果汁) にも応用可能である。ホルマリンを使うことから、換気に注意しドラフトチャンバー内で行うことなどの配慮が必要である点を除けば、簡便かつ安全に定量が可能である。身の回りの多くの食品にアミノ酸が含まれることを学べ、課題研究の材料としても応用範囲が広く、取り組みやすい教材と言える。

本研究は平成 30 年度日本大学学術助成 (一般研究) の助成を受けたものです。

参考文献

- [1] 国税庁所定分析法注解, 国税庁, 1999.
- [2] 谷口亜樹子ほか編著: 「基礎から学ぶ食品化学 実験テキスト」, pp56~57, 2014.
- [3] 安藤達彦他編著: 「身の回りの食品分析実験」, pp117~119, pp133~135.
- [4] 田中芳和: 「飲料に含まれるアミノ酸の量を調べる」, 化学と教育, Vol56, 4号, pp168~169, 2008