

果実飲料の揮発性酸度（IFFJP装置使用）共同試験 測定手順書

1. 適用範囲

この測定手順書は、日本農林規格における果実飲料（濃縮りんご、濃縮ぶどう、りんごジュース及びぶどうジュース）に適用する。

2. 測定方法の概要

試料を水蒸気蒸留し、得られた留出液を水酸化ナトリウム溶液で滴定する。滴定に要した水酸化ナトリウム量から酢酸の相当量として算出し、揮発性酸度とする。

3. 注意事項

- (a) 試験の実施にあたっては、保護メガネ及び使用する試薬に耐性のある手袋を着用などして、安全に十分配慮すること。
- (b) 水酸化ナトリウム溶液が皮膚に付着した場合、直ちに流水で洗い、医師の処置を受ける。
- (c) 水蒸気蒸留を行うにあたっては、高温蒸気が発生することから、器具の交換等の際して、火傷に注意すること。

4. 試薬等

4.1 測定に使用する試薬等

- (a) 水：蒸留法もしくはイオン交換法によって精製した水又は逆浸透法、蒸留法、イオン交換法などを組み合わせた方法によって精製した水で、JIS K8008に規定するA2以上の品質を有するもの。
- (b) 水酸化ナトリウム：JIS K8576に規定する特級、又はこれと同等以上のもの。
- (c) 中性りん酸塩pH標準液（pH6.86）⁽¹⁾：JCSSに基づき、pH計校正用として第2種以上の値付けをされたもの⁽²⁾。又はこれに準ずるもの。これは、水素イオン指数（pH）計及び自動滴定装置の校正に用いる。
- (d) ほう酸塩pH標準液（pH9.18）⁽¹⁾：JCSSに基づき、pH計校正用として第2種以上の値付けをされたもの⁽²⁾。又はこれに準ずるもの。これは、水素イオン指数（pH）計及び自動滴定装置の校正に用いる。

(1) pH標準液は、長期間の保存によってpH値が変化することがある。特にほう酸塩pH標準液は、二酸化炭素を吸収してpH値が低下しやすいので注意すること。

(2) JCSSに基づき供給されているpH標準液には第1種と第2種のものがあるが、第2種のものでよい。

4.2 標定に使用する試薬

- (a) アミド硫酸：JIS K 8005に規定する容量分析用標準物質
- (b) ブロモチモールブルー：JIS K 8842に規定する特級、又はこれと同等以上のもの。
- (c) エタノール（95）：JIS K 8102に規定される1級、又はこれと同等以上のもの。

5. 器具及び装置

試験に用いる器具及び装置は、次のとおりとする。

5.1 試験溶液の調製に使用するもの

- (a) 糖用屈折計：0.0 ～ 30.0 ° Bx の範囲で、0.1 ° Bx の桁で計測ができ、測定精度 ± 0.2 ° Bx を有するもの。
- (b) 蒸留装置：揮発性酸度蒸留装置（IFFJP 法の装置）を使用する。
- (c) 全量ピペット：呼び容量 5mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (d) ビーカー：呼び容量 200mL

5.2 水素イオン指数 (pH) 計を用いた滴定に使用するもの

- (a) ビュレット：呼び容量 5 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (b) pH計：JIS Z 8802(1984)に規定するもの
- (c) pH測定用電極：JIS Z 8805 に規定するガラス電極と比較電極、又はこれらの複合電極。
- (d) マグネチックスターラー：回転制御機能を有するもの。
- (e) 攪拌子：全長 20 ～ 30 mm のもの。

5.3 自動滴定に使用するもの

- (a) 自動滴定装置：pH 測定用電極を備え、あらかじめ設定した pH に達したときを終点として決定できるもので、ビュレット容量 20 mL のもの。
- (b) pH測定用電極：JIS Z 8805 に規定するガラス電極と比較電極、又はこれらの複合電極。
- (c) マグネチックスターラー：回転制御機能を有するもの。
- (d) 攪拌子：全長 20 ～ 30 mm のもの。

5.4 滴定用溶液の調製及び標定に用いるもの

- (a) 電子天びん：0.1 mgの桁まで量りとることのできるもの。
- (b) ビュレット：呼び容量 25 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (c) ポリエチレン気密容器
- (d) ビーカー
- (e) メスシリンダー：呼び容量 100 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (f) 全量ピペット：呼び容量 5 mL 及び 10 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (g) 全量フラスコ：呼び容量 500 mL 及び 1000 mL。JIS R 3505 に規定するクラス A 又はそれ以上のグレードのもの。
- (h) 減圧デシケーター：JIS K 8001 に規定するもの。すなわち、乾燥剤として JIS Z 0701 に規定するシリカゲル（A形 1種）を入れ内圧を 2.0 kPa(15 mmHg)以下に保つことができるものを用いる。シリカゲルは塩化コバルト(Ⅱ)で着色したものとし、その色

が変色したときには約 130 °C で加熱して再生する。

6. 試薬の調製

試験に用いる試薬は次のように調製する。又は同等な組成を有する市販品を用いる。

6.1 二酸化炭素を含まない水

4.1 (a) の水をフラスコに入れ 15 分間沸騰させた後、空気中の二酸化炭素を遮り、冷却する。この水は使用時に調製する。

6.2 ブロモチモールブルー溶液

ブロモチモールブルー 0.10 g をエタノール(95) 50 mL で溶解し、水で 100 mL にする。この溶液は褐色ガラス瓶に保存する。

6.3 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液

ファクターが小数第 3 位まで求められている市販品を用いてもよい。その場合は、標定は行わずに試薬瓶に記載されているファクターを用いてもよい。

(a) 調製

水酸化ナトリウム 165 g をポリエチレン気密容器 500 mL にはかりとり、二酸化炭素を含まない水 150 mL を加えて溶かした後、二酸化炭素を遮り 4～5 日間放置する。その上澄み液 54 mL をポリエチレン気密容器 1 L にとり、二酸化炭素を含まない水を加え 1 L とし、混合した後、ソーダ石灰管を付けて保存する。

上記の作成溶液 5 mL を全量フラスコ 500 mL に正確にはかりとり、二酸化炭素を含まない水を標線まで加えて、混合した後、ポリエチレン気密容器に入れる。これを 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液として、使用時に調製する。これ以外の調製方法⁽³⁾でも同一濃度となるものであれば用いてよい。

(b) 標定⁽⁴⁾

アミド硫酸の必要量をめのう乳鉢で軽く砕いた後、減圧デシケーターに入れ、デシケーター内圧を 2.0 kPa {15 mmHg} 以下で約 48 時間乾燥する。その 1.0～1.2 g を 0.1 mg の桁まではかりとり、全量フラスコ 1000 mL に移し、二酸化炭素を含まない水を加えて溶かした後、さらに二酸化炭素を含まない水を標線まで加える。この溶液 10 mL を全量ピペットでビーカーにはかりとり、指示薬としてブロモチモールブルー溶液数滴を加え、(a) で調製した液で滴定する。終点は、液の色が黄色から青みの緑になる点とする。

空試験は、二酸化炭素を含まない水 10 mL により同様な滴定を行う。

(c) 計算

$$0.01 \text{ mol/L 水酸化ナトリウム溶液 のファクター} = \frac{\frac{w \times (p / 100)}{M \times 1000} \times 10}{A \times \frac{V - B}{1000}}$$

w : アミド硫酸の秤量値 (g)

p : アミド硫酸の純度 (%)

M : アミド硫酸の式量 (= 97.095)

A : 滴定に使用した水酸化ナトリウム溶液の濃度 (= 0.01 mol/L)

V : 滴定に要した水酸化ナトリウム溶液の体積 (mL)

B : 空試験に要した水酸化ナトリウム溶液の体積 (mL)

(3) 調製例 : ファクターが3桁以上求められている市販の0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液10 mLを全量フラスコ100 mLに正確に量りとり、二酸化炭素を含まない水を標線まで加えて混合した後、ポリエチレン製気密容器に入れる。この場合、ファクターは0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液のファクターをそのまま用いる。

(4) JIS又は日本薬局方に規定する方法で標定してもよい。

7. 測定手順

試料は冷凍状態で配付されるので試験実施日まで冷凍庫で保管し、試験実施日にポリ袋にいたバイアル瓶を流水中につけて解凍する。室温付近になった試料をバイアル瓶中でよく混合し、測定用試料を採取する。

7.1 蒸留

(a) 蒸留の準備

図1に例示するような水蒸気発生装置により、蒸留装置へ水蒸気を導入できるように準備しておく。このとき、蒸留を始めるまではコック a を開け、コック b を閉じて蒸気装置への水蒸気の導入を防ぐ。なお B の蒸気だめを用いなくてもよい。

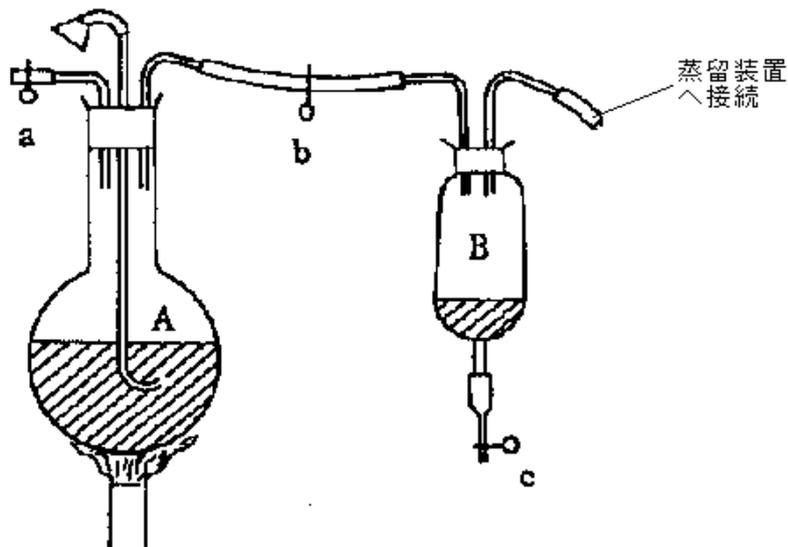


図1 水蒸気発生装置

(b) 蒸留

蒸留には、図2に示す揮発性酸度蒸留装置（IFFJP法の装置）を使用する。

試料 5 mL を(A)蒸留管の中へ正確にはかりとる。蒸留装置を図2のように組み立て、留出液を受けるために(D)留出液排出口にビーカー（200 mL）を置く。留出される蒸気が十分に冷やされるように(C)冷却管に冷却水を流しながら、(B)水蒸気導入口から水蒸気の導入を開始する。留出液が 100 mL になるまで蒸留を行う⁽⁵⁾。空試験は、試料のかわりに水 5 mL を用いて同様の操作を行う。

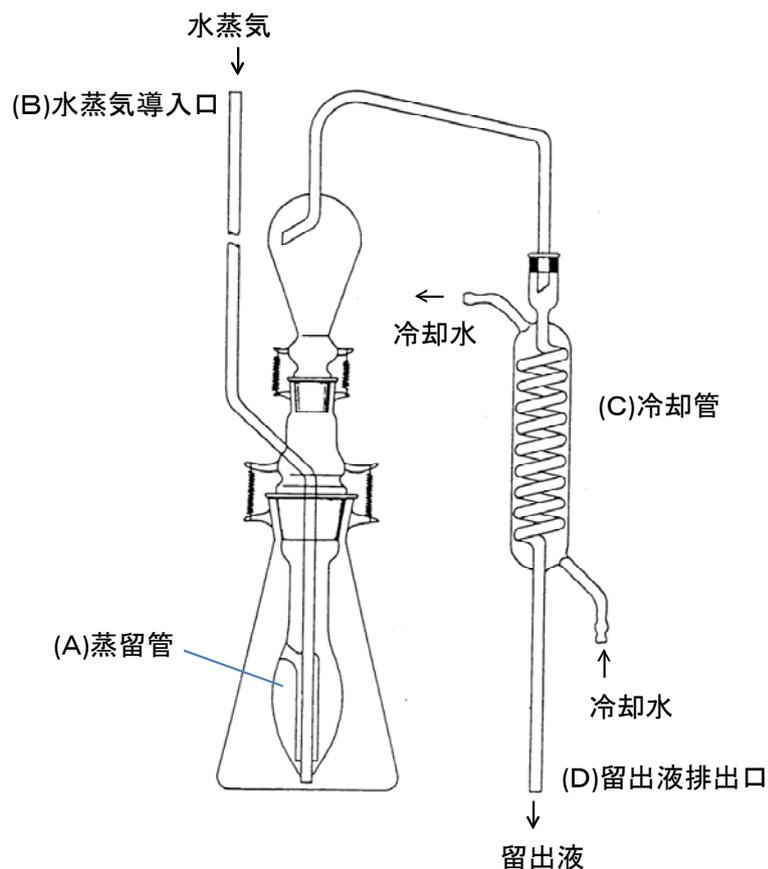


図2 揮発性酸度蒸留装置（IFFJP法の装置）

(5) 水蒸気の導入を開始してから20分以内に留出液が100 mLとなるよう蒸留する。

(c) 蒸留終了後

続けて次の蒸留を行う場合、(A)蒸留管の中を水で洗浄し、蒸留管内部が冷えてから⁽⁶⁾行う。

(6) 温かいまま次の蒸留を行うと揮発することがあるので手で触れて温かくないことを確認する。

7.2 滴定

蒸留で得られた留出液を水酸化ナトリウム溶液で滴定する。7.2.1もしくは7.2.2のいずれかを用いて滴定を行う。

7.2.1 水素イオン指数 (pH) 計を用いた滴定の場合

(a) 水素イオン指数 (pH) 計の校正

使用前にあらかじめ pH 計の電源を入れておき、電極⁽⁷⁾は水で繰り返し 3 回以上洗い、柔らかい紙や脱脂綿等でぬぐっておく。中性りん酸塩 pH 標準液とほう酸塩 pH 標準液を用いて、装置の操作方法に従って 2 点校正⁽⁸⁾を行う。

(b) 滴定

留出液をビーカー (200 mL) にとり、pH 計の電極が溶液に浸るように、滴定に適した一定の水位まで水を加える⁽⁹⁾。これをマクネチックスターラーで攪拌⁽¹⁰⁾しながら pH 計の数値を読みながら 5 mL ビュレットを用いて滴定する。終点は pH=8.1 ± 0.1 のところ⁽¹¹⁾とする。

(7) ガラス電極や複合電極が長い間乾燥状態にあった場合は、あらかじめ一夜水中で浸した後使用する。

(8) この滴定の終点は pH8.1 なので、これを挟むように中性りん酸塩 pH 標準液 (pH6.86) とほう酸塩 pH 標準液 (pH9.18) を用いて校正する。

(9) 一連の測定を行う際、加える水の量は試験測定と空試験で同じ量とする。

(10) 激しく攪拌すると、空気中の二酸化炭素が溶解する。攪拌により生じる渦の深さは 10 mm 以内が適当である。

(11) pH8.1 の手前と pH8.1 を超えた直後の滴定量を書き留め、より 8.1 に近い pH を示した滴定量を総酸度の計算に用いる。

7.2.2 自動滴定の場合

(a) 自動滴定装置の校正

使用前にあらかじめ自動滴定装置の電源を入れておき、電極⁽¹²⁾は水で繰り返し 3 回以上洗い、柔らかい紙や脱脂綿等でぬぐっておく。中性りん酸塩 pH 標準液とほう酸塩 pH 標準液を用いて、装置の操作方法に従って 2 点校正を行う⁽¹³⁾。

(b) 滴定

電極が浸る高さまで水を加える⁽¹⁴⁾。ビーカーを自動滴定装置に装着し、終点は pH=8.1 に設定し、装置の説明書に従って、攪拌しながら⁽¹⁵⁾ 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で滴定する⁽¹⁶⁾。滴定量は装置に表示された値を丸めずに記録する。終点を検出しない場合及び滴定量が 0.01 mL 以下の場合は、滴定量は 0 mL とする。

(12) ガラス電極や複合電極が長い間乾燥状態にあった場合は、あらかじめ一夜水中で浸した後使用する。

(13) この滴定の終点は pH8.1 なので、これを挟むように中性りん酸塩 pH 標準液 (pH6.86) とほう酸塩 pH 標準液 (pH9.18) を用いて校正する。

(14) 一連の測定を行う際、加える水の量は試験測定と空試験で同じ量とする。

(15) 激しく攪拌すると、空気中の二酸化炭素が溶解する。攪拌により生じる渦の深さは 10 mm 以内が適当である。

(16) 自動滴定装置にブランク用の測定モードがある場合は、空試験はブランク測定用モードに滴定

方法を変更して行う。今回の空試験のように滴定量が1 mL以下となる滴定には、1滴入れた後電位が安定するまで待ってから次の1滴を入れる測定モードが適している。

7.3 試料の比重測定

糖用屈折計を用いて20℃における試料の示度を0.1° Bxの桁まで計りとる。この値を別表1に当てはめて試料の比重を算出する。温度補正のできない糖用屈折計を用いる場合であって測定時の試料の温度が20℃でない場合は別表2により示度を20℃に補正する。

8. 計算

次の式により揮発性酸度を算出する。

$$\text{揮発性酸度 (g/kg)} = \frac{\left(\frac{T - B}{1000} \times A \times f \right) \times M}{\frac{\rho \times 5}{1000}}$$

T：滴定に要した水酸化ナトリウム溶液の体積 (mL)

B：空試験に要した水酸化ナトリウム溶液の体積 (mL)

A：滴定に使用した水酸化ナトリウム溶液の濃度 (= 0.01 mol/L)

f：滴定に使用した水酸化ナトリウム溶液のファクター

M：酢酸の式量 (= 60.05)

ρ：7.3で算出した試料の比重

9. JIS引用規格

JIS K 8005 : 2006	容量分析用標準物質
JIS K 8102 : 1994	エタノール(95) (試薬)
JIS K 8576 : 2006	水酸化ナトリウム (試薬)
JIS K 8842 : 1992	ブロモチモールブルー (試薬)
JIS R 3503 : 1994	化学分析用ガラス器具
JIS R 3505 : 1994	ガラス製体積計
JIS Z 0701 : 2005	包装用シリカゲル乾燥剤
JIS Z 8802 : 1984	pH 測定方法
JIS Z 8805 : 1978	pH 測定用ガラス電極
JIS K 8001 : 2009	試薬試験法通則
JIS K 8008 : 1992	生化学試薬通則

試験用試料の調製

市販の製品をよくかきまぜそのままを試料とする。

共同試験結果

果実飲料の揮発性酸度 (g/kg)

- (1) 参加試験室数 : 9 試験室
- (2) マテリアル数 : 6
- (3) 濃度 : 0.0381 g/kg ~ 0.507 g/kg
- (4) 併行標準偏差 (S_P) : 0.0023 g/kg ~ 0.014 g/kg
- (5) 室間再現標準偏差 (S_R) : 0.0050 g/kg ~ 0.018 g/kg
- (6) 併行相対標準偏差 (RSD_P) : 1.4 % ~ 6.2 %
- (7) 室間再現相対標準偏差 (RSD_R) : 2.6 % ~ 17 %