水蒸気蒸留装置及び重量法を組合わせたアルコール分の迅速で簡便な分析法の開発

アルコール分の分析は、醗の管理や酒税にも関係する大事な分析法であるが、分析は煩雑かつ時間がかかり、サンプル量も必要である。そのため、小仕込み試験等酒税と直接関係ない場合に便利な簡易分析装置が提案され、実際に使用されている。そのような中、著者らは、水蒸気蒸留法と重量法を組み合わせることにより、迅速で簡便なアルコール分の分析法を論文として公表した（醸協 108（3），187-193，2014）。この方法は、迅速・簡便だけでなく、分析精度も高い方法であった。著者には論文で省略された部分も含め解説していただいた。ご一読いただきたい。

大 場 孝 宏

1. はじめに

九州酒造研究会は九州各県の酒類の製造販売に関与している個人等で構成され、醸造技術及び品質管理に関連する研究等を行っている。九州酒造研究会の事業の一つに分析技術講習会があり、年に1回アルコール分、日本酒度、酸度、アミノ酸度について、分析の理論等に関する講義と市販清酒を用いての分析実習を行っている。受講者は中小酒造メーカーの方である。その方々から、「造りの最中はとにかく人員不足でアルコールに限らず分析自体が後回しになる」という話が良く聞かれる。「分析をできるのが杜氏さんしかおらず、朝早くにサンプリングしたもろみの分析が仕込みや米洗いが終わってようやく夕方になって杜氏が分析する、それも面倒」といった蔵も珍しくない。そのような状況からここ数年、酒類製造業者にとって製造管理や製品規格の指標として、また酒税法上も非常に重要であるアルコール分だけでも迅速にかつ簡単に測定できる方法ないかと検討を行ってきた。公定法として国税庁所定分析法には、蒸留-密度（比重）法、ガスクロマトグラフ法、酸化法が記載されているが、ほとんどの中小酒造メーカーが採用していると考えられる蒸留法について、以下に手間や誤差の要因を整理した。

・試料の採取：検体 100～150 mL を 15℃ においてメスフラスコに正確に採取しなければならない。この作業は非常に手間がかかり、またコツや慣れが必要である。

・試料の移動：試料をメスフラスコから蒸留フラスコに移し、このメスフラスコを水で 2 回洗い、蒸留フラスコ内に合併し、そのメスフラスコを受器として蒸留を行う。この作業も少し手間がかかる。

・直火蒸留：採取量の 70% 以上が留出するまで、約 20～30 分で蒸留を行わなければならない。火加減を調整する必要がある、早くても遅くても誤差要因となる。

・原容への定容：これは最初の試料の採取と同じ手間がかかる。

このような問題への対処を考えていた時、2009 年 5 月の日本醸造学会誌に米澤先生と小山先生の論文¹⁾が掲載された。容量ではなく重量でアルコール分の定量分析を行うというものであった。容量は温度で変化するが、重量は温度で変化しない。すなわち、煩雑な温度調整を分析者が行わなくてもよい。この方法は「重量法」と呼ばれている。密度と重量が正確に計測できれば、その値から正確に容量を算出できる。近年、浮ひょうに代わり振動式密度計がかなりの中小酒造メー

A New Method for the Determination of Ethanol Concentration by Steam Distillation Equipment Using “the Gravimetric Method”

Takahiro OBA (Research Planning and Management Department, Fukuoka Industrial Technology Center)

カーに普及しており、15℃での密度を容易に測定できるようになっている。重量測定に用いる電子天秤についても、ある程度の分解能のものであれば、中小の酒造メーカーでも導入できると考えられる。そこで、我々も早速「重量法」の検討を行った。

2. 重量法を用いたアルコール分の分析法¹⁾

重量法を用いたアルコール分の分析法手順以下のとおりである。

- ① 振動式密度計で試料の15℃における密度を測定する…… ρ_1 [g/mL, 15℃]
- ② 試料採取に用いる受器の重量を測定する……M[g]
- ③ 常温の試料を受器に100 mL程度採取した後、試料と受器の合計重量を測定する…… w_1 [g]
- ④ 試料を蒸留して採取に用いた受器で約70 mLの留液を受ける（受器の残液は約15 mLの水で2回洗い入れる）
- ⑤ 留液と受器の合計重量を測定する…… w_2 [g]
- ⑥ 留液を均一に攪拌した後、振動式密度計で留液の15℃における密度を測定する…… ρ_2 [g/mL, 15℃]
- ⑦ ρ_2 [g/mL, 15℃] の値をゲイリュサックの表によりアルコール度数に変換する……A[%]（実際は振動式密度計で15℃の密度を測定しアルコール分

に自動換算する）

- ⑧ 試料のアルコール度数X[%]は次の式で算出する。

$$X[\%] = A \times [(w_2 - M) \times \rho_1] / [(w_1 - M) \times \rho_2]$$

第1表に市販の清酒を用いて実際にアルコール分を測定した結果を示す。

実際に分析操作を行った感想としては、確かに煩雑な温度調整も不要、容量の微調整も不要、データがデジタルで表示されるメリットはあったが、20分から30分程度の蒸留工程が必須なので、思ったほど迅速で誰にでもできる方法ではなかった。

3. 水蒸気蒸留装置+重量法²⁾

迅速・簡便な方法にするためには、やはり蒸留工程

第1表 重量法を用いて測定した市販清酒のアルコール分

項目	数値
ρ_1 [g/mL, 15℃]	0.9994
M[g]	59.0728
w_1 [g]	158.4673
w_2 [g]	134.1097
ρ_2 [g/mL, 15℃]	0.9745
A[%]	20.7
X[%]	15.2

(A)水蒸気蒸留装置

(B)水蒸気発生装置

第1図 国税庁所定分析法に示されている水蒸気蒸留装置

(A)水蒸気蒸留装置の構成図

(B)水蒸気蒸留装置の写真

第2図 本法で使用する一体型の水蒸気蒸留装置

がネックであるとの結論に至った。ところで、国税庁所定分析法²⁾では、焦げ付きのおそれのある検体は水蒸気蒸留法を用いてもよいと記載されている(第1図)。そこで、蒸留を水蒸気蒸留で行うこと、使用装置としてはタンパク質分析のケルダール分解などに使われる一体型水蒸気蒸留機(第2図)を用いることで迅速化・簡便化が図れると考え、検討を行った。

3.1 実験方法

(1) 水蒸気蒸留装置による試料の水蒸気蒸留

水蒸気蒸留にはアルコールの蒸留にも用いられるBUCHI社製水蒸気蒸留装置「K-355」を使用し、電源電圧 200V・steam 100%の条件で行った。本装置は、国税庁所定分析法に採用されている酒類水蒸気蒸留装置と同等の性能を有し、かつ短時間で100%以上の回収率を達成できる。ここで示す回収率は水蒸気蒸留前の試料に対する留液の百分率と定義する。

(2) 振動式密度計及び電子天秤

振動式密度計は京都電子工業製「DA-155」及び「DA-650」をJCSS認定密度標準液(純水、25%エタノール水溶液)で校正して使用した。電子天秤は標準分銅により校正したエーアンドディ製「Fz-300i」を使用した。

(3) 測定試料及び分析方法

・最少試料採取量決定及び留液採取量決定

市販の清酒(約15.5%)を用い、本法によりアルコ

ール分の測定を行った。

・併行精度

市販の清酒(約15.5%)と純水または試薬特級エタノールを混和し1%, 5%, 10%, 15%, 20%及び50%のアルコール溶液を試料として作製した。作製した試料(約30 mL)について本法(留液量36 mL)を用いてアルコール分の分析を行った。各濃度における測定回数は15回とし、その推定標準偏差を併行精度とした。

・真度

純水と試薬特級エタノールを混和して異なる濃度のアルコール水溶液(1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%)を作製した。各濃度の試料を蒸留せずにそのまま振動式密度計で3回測定したアルコール分の平均値を各試料の参照値とした。各試料(約30 mL)について本法(留液量36 mL)を用いてアルコール分の分析を行い、測定平均値と参照値との差を真度とした。

・本法と所定分析法との分析値の比較

市販清酒及び合成清酒100点を用い、それぞれ本法(試料約30 mL:留液量36 mL)と所定分析法によるアルコール分の分析を行った。

・本法と所定分析法との分析値の比較

蒸留には株式会社東芝製電気コンロ「HP-635」を用い、振動式密度計には京都電子工業株式会社製「DA-155」を用い、所定分析法に準じてアルコール分

の測定を行った。

3.2 測定原理

本法は、水蒸気蒸留装置と重量法を組み合わせ、水蒸気蒸留前後の検体の重量と密度を測定して、水蒸気蒸留前の試料の体積と水蒸気蒸留後の留液に含まれるアルコールの体積をそれぞれ計算によって導き、後者を前者で除して試料のアルコール分を算出する方法である。

具体的な手順は次の通りである。

- ① 振動式密度計で試料の15℃における密度を測定して、これを ρ_1 [g/cm³, 15℃]とする。
- ② 試料採取に用いた水蒸気蒸留装置専用の試料管（試料採取容器）の重量を測定して、これを M_1 [g]とする。
- ③ 常温の試料を試料採取容器に適当量（30 mL程度）を採取した後、試料と試料採取容器の合計重量を測定して、これを M_2 [g]とする。
- ④ 留液採取に用いる共栓付100 mL用メスシリンダー（受器）の重量を測定して、これを M_3 [g]とする。
- ⑤ 試料を水蒸気蒸留装置で蒸留して、受器で適当量（清酒であれば原容の120%程度）の留液を受ける。
- ⑥ 留液と受器の合計重量を測定して、これを M_4 [g]とする。
- ⑦ 留液のメスアップと温度調節は行わず、均一に攪拌した後、振動式密度計で留液の15℃における密度を測定して、これを ρ_2 [g/cm³, 15℃]とする。
また、国税庁所定分析法付表第2表（国際アルコール表）により留液の密度をアルコール分に変換してこれを A [vol%]とする（振動式密度計には、濃度換算機能が付属されているため、そちらを使用する）。
- ⑧ 以下の計算により試料のアルコール分 X [vol%]

第2表 市販清酒について本法で測定した場合のアルコール度数の平均と標準偏差

区分*	100 → 100 ^a	20 → 20 ^b	30 → 30 ^b
回収率 (%)	100	100	100
測定数	9	10	10
平均 (%)	15.23	14.99	15.03
標準偏差	0.046	0.077	0.047

*：例えば、区分100 → 100の意味は、試料100 mL、留液100 mLを採取したことを示す。

※ aとbの試料は異なる。

を算出する。

採取した試料の重量を m_1 [g]、留液の重量を m_2 [g]とすると、

$$m_1 = M_2 - M_1 \quad (1)$$

$$m_2 = M_4 - M_3 \quad (2)$$

である。

したがって、蒸留前の試料の15℃における体積を V_1 [cm³]とすると、

$$V_1 = m_1 / \rho_1 \quad (3)$$

蒸留後の検体に含まれるアルコールの15℃における体積を V_2 [cm³]とすると、

$$V_2 = (A/100) \cdot (m_2 / \rho) \quad (4)$$

したがって、蒸留前の試料のアルコール濃度 X [vol%]は

$$X = (V_2 / V_1) \cdot 100 \quad (5)$$

となる。

さらに、Eq. (5)は

$$X = A(m_2 \cdot \rho_1) / (m_1 \cdot \rho_2) \quad (6)$$

で表される。

第3図に試料のアルコール分算出についての模式図を示す。

3.3 結果及び考察

(1) 水蒸気蒸留における留液採取量の検討・試料最少量の検討

国税庁所定分析法中の水蒸気蒸留法の規定は、検体100～150 mLを採取すること及び留液採取量は98%以上となっている。そこで、水蒸気蒸留法として水蒸気蒸留装置による蒸留法を採用した。市販の清酒を約100 mL採取し、留液採取量約100 mLの条件で水蒸気蒸留を行った。アルコール分測定方法は重量法で行った（第2表、実験区分100 → 100）。試料のアルコ

第3図 本法で使用する一体型の水蒸気蒸留装置

ール分の平均値は15.23%，標準偏差0.046であった。これは第3表に示す所定分析法における10%程度（0.039）と20%程度（0.069）との間の推定標準偏差であり，本法は所定分析法と同等の精度を有することがわかった。

アルコール分分析において，酒母やもろみ初期の試料のろ液を100 mL以上調製するまでに，かなりの時間を要する。また，100 mLの試料について水蒸気蒸留装置を用いて留液採取量を100 mL回収するのに約5分の時間を要する。そこで，ろ液の調製時間の短縮及び水蒸気蒸留時間の短縮を目的に，試料の少量化を検討した（第2表）。実験区分20→20では分析値の平均が14.99%：標準偏差が0.077となり，実験区分100→100より標準偏差が大きくなったが，実験区分30→30では平均が15.03%：標準偏差が0.047となり，実験区分100→100と同等の精度であることがわかった。したがって，最少試料量は30 mLと決めた。一方，アルコール分は低めであった。その原因は試料採取量が30 mLと少ないため，水蒸気蒸留の際に留液にすべてアルコール分が回収されていないためではないかと考えた。そこで，市販の清酒（約15.5%）に対し試料採取量30 mLで本法を用いてアルコール分を分析し，併行精度を検討した（第3表）。留液量36 mLと39 mLでは，標準偏差が0.017と同等の併行精度であった。また留液量を42 mLに増やした場合，標準偏差が0.012となり，留液量36 mL及び39 mL

第3表 市販清酒について本法で測定した時の留液の併行精度

留液量 (mL)	36	39	42
回収率 (%)	120	130	140
測定回数	12	12	12
平均 (%)	15.59	15.59	15.63
標準偏差	0.017	0.017	0.012

と比較すると併行精度は良くなったが大差はなく，留液量は36 mLで十分であると結論づけた。

(2) 本法と所定分析法との比較

①併行精度

実験方法のとおり，市販の清酒と純水または精製アルコールを混和して作製した試料について本法（採取試料約30 mL／留液約36 mL）を用いてアルコール分の分析を行った（第4表）。推定標準偏差を各濃度それぞれで確認し，所定分析法の測定結果との比較を行った。ここで所定分析法の分析結果については，重量法の論文¹⁾に記載されているものを用いた。どちらの方法においても，試料のアルコール分の増加に伴い，推定標準偏差もおおよそ直線的に増加しているが，各測定水準において本法の方が小さい値となった。したがって，アルコール1%～50%の範囲において，本法が所定分析法よりも精度が高いと結論づけた。

②真度

実験方法のとおり，異なる濃度のアルコール水溶液を作製し，各濃度の試料を蒸留せずにそのまま振動式密度計で3回測定したアルコール分の平均値を各試料の参照値とした。それぞれの試料について本法（採取試料約30 mL／留液約36 mL）に従い15回のアルコール分の分析を行い，測定平均値と参照値との差を真度とした。測定結果と所定分析法での分析結果の比較を行った（第5表）。所定分析法での測定結果については，重量法の論文¹⁾に記載されているものを用いた。アルコール分1%～30%の範囲において本法（試料30 mL）は，所定分析法（試料100 mL）よりも真度が高く，推定標準偏差が小さいことがわかった。以上からアルコール分1%～30%の範囲において本法は振動式密度計法と同等以上の真度があると結論付けた。

(3) 本法と所定分析法との分析値の比較

100種類の清酒及び合成清酒について，本法（試料量30 mL）と所定分析法による分析を行い，測定値を比

第4表 併行精度

測定方法	従来法*				本法					
アルコール濃度	1% 程度	10% 程度	20% 程度	50% 程度	1% 程度	5% 程度	10% 程度	15% 程度	20% 程度	50% 程度
測定平均値 (%)	1	10.07	19.86	49.97	0.99	4.93	10	15.59	20.14	51.2
推定標準偏差	0.006	0.039	0.069	0.134	0.005	0.007	0.022	0.017	0.049	0.042

*：文献1)より引用

第5表 アルコール水溶液の分析

測定方法	従来法*				本法					
参照値 (%)	1.29	10.32	20.08	47.26	1.04	4.98	9.88	14.85	20.16	29.66
測定平均値 (%)	1.30	10.07	19.86	49.97	1.03	4.96	9.84	14.8	20.07	29.56
推定標準偏差	0.005	0.025	0.042	0.162	0.005	0.009	0.017	0.017	0.036	0.02
真度 (%)	(0.01)	- 0.05	- 0.10	(- 0.07)	- 0.01	- 0.02	- 0.04	- 0.05	- 0.09	- 0.10

*：文献1) より引用

第4図 本法と所定分析法との分析値の比較

較した（第4図）。本法の標準偏差は0.014であり、本法と所定分析法の平均値の差は-0.01%であった。さらに第4図に示すように、90点以上が誤差±0.05%以内に収まり、99点において、±0.1%以内に収まった。したがって、本法と所定分析法との間に有意差は見られず、本法と所定分析法との整合は十分取れていると考えられる。誤差が±0.1%以内に収まらなかった1点にはごり酒で、測定値との差は-0.11%であった。原因としてにごり酒中の固形分が影響したと考えられるが、希釈することにより固形分の影響は排除で

きると考えられる。

(4) 不確かさの見積

米澤・小山の報告を参考に、本法の不確かさを見積った。考えられる要因としては、蒸留後の密度測定、留液のアルコール分算出、及びアルコール分算出の四捨五入であり、それに由来する測定値の不確かさ、また各要因を合成した測定系全体の合成標準不確かさを算出した。ここで、不確かさの計算にあたっては試料のアルコール分を15%、試料量／留液量を30 mL/36 mLと設定した。蒸留後の密度測定及び留液のアルコール分算出の際の不確かさの算出過程は原著³⁾に記述しているので参照されたい。結果を第6表に示す。本法の不確かさの主要因は、蒸留後の密度測定であると考えられる。また、アルコール分15%の試料においては、重量法の拡張不確かさ¹⁾は0.046であるのに対し、本法では0.024であることから、本法は重量法と比較して、同等以下の拡張不確かさを有すると考えられる。

(5) 本法に用いる振動式密度計比較

振動式密度計の不確かさは、DA-650：0.000010、DA-155：0.000050である。このように、DA-650の不確かさはDA-155に比べて小さいが高価である。そこで、DA-650より不確かさは大きいが高価格で、かつすでに多数の酒造製造業者に導入されているDA-155との比較を行った。市販清酒（約15.5%）について、水蒸気蒸留を行い、留液を回収し重量を測定した後、同一の留液についてDA-650とDA-155を用いて密度を測定し、アルコール分を算出した（第7表）。その結果、両方法の平均値は15.07%とほぼ同じ値であり、

第6表 本法と所定分析法との分析値の比較

品目	点数	差の平均 (%) (所定分析法－従来法)	本法の標準偏差 の平均
清酒・合成清酒	100	- 0.01	0.014

第7表 振動式密度計の比較

	DA-650	DA-155
測定回数	17	17
平均値 (%)	15.07	15.07
標準偏差	0.085	0.079

第8表 重量法と本法の作業時間の比較

項目	重量法 (分)	本法 (分)
試料の密度測定	2～3	2～3
試料の重量測定	< 1	< 1
蒸留	20	2～3
留液の重量測定	< 1	< 1
留液の密度測定	2～3	2～3
おおよその合計時間	25～30	6

標準偏差も DA-650 が 0.085, DA-155 が 0.079 と同程度の値であったことから, DA-155 を用いても DA-650 と同等の精度を有することが示された。

(6) 作業時間

重量法において, 蒸留時間は 20～30 分必要であるが, 本法では水蒸気蒸留での 2～3 分に置き換わるため, 合計時間も重量法の 25～30 分に対し, 本法では約 6 分へと大幅に短縮される (第 8 表)。したがって, 煩雑な蒸留前後の体積と品温調節及び蒸留が必須であるため合計時間が 40～50 分かかかる所定分析法に比べると約 1/10 に短縮できる。そのため, 特に仕込み時期の酒母やもろみのアルコール分の分析時間を大幅に短縮でき, 作業の効率化が可能となる。

(7) データ処理

実際のアルコール分を算出する際, 測定原理に記述するような計算を行わないといけないため, 電卓等での手計算では時間がかかり, 現実的でない。通常, パソコンの表計算ソフトを用い, 試料の 15℃における密度 ρ_1 [g/cm³, 15℃], 試料採取容器重量 M_1 [g], 試料+試料採取容器重量 M_2 [g], 受器重量 M_3 [g], 留液+受器重量 M_4 [g], 留液の 15℃における密度 ρ_2 [g/cm³, 15℃], 留液のアルコール分 A [%] を入力し, Eq. (6) の計算式によりアルコール分を算出する。さ

らに, 振動式密度計や電子天秤にパソコンを接続して数値を直接転送することができれば数値入力にかかる時間と労力も削減できる。

7. おわりに

九州酒造研究会では本方法 (水蒸気蒸留装置と重量法を組合わせた振動式密度計によるアルコール分の測定方法) の測定手順を規定し, 会員に推奨している。また, 本方法は水蒸気蒸留を用いているので, 清酒や酒母, もろみの濾液など清澄な試料以外でも応用できる。例えば, 数%のアルコールが含まれる醤油, あるいは洋酒を使った洋菓子中のアルコール濃度が測定可能である。したがって, 酒類分野にとどまらず, 様々な分野でのアルコール分の分析に応用できると考えている。

謝 辞

本方法を発案された九州酒造研究会会長の勝木慶一郎先生 (五町田酒造 (株)) に深く敬意を表します。また実験にご協力いただいた九州酒造研究会顧問の鈴木正柯先生 (福岡県酒造組合), 九州酒造研究会副会長・技術委員長村田匠氏 ((株) 杜の蔵), 技術委員の横尾正敏氏 ((資) 若竹屋酒造場), 忽那信太郎氏 (山の壽酒造 (株)), 後藤潤 (天山酒造 (株)), 澤田和敬氏 (佐賀県工業技術センター), 高浜圭誠氏 ((株) 熊本県酒造研究所), 樋口宗由氏 ((株) 久家本店), 並びに松岡武志氏 (京都電子工業 (株)) に厚く御礼申し上げます。最後に, 我々の研究開発を紹介する機会を与えていただいた日本醸造協会編集部の方々にお礼を申し上げます。

〈福岡県工業技術センター〉

参考文献

- 1) 米澤慎雄, 小山淳: 醸協, **104**, 387-392 (2009)
- 2) 国税庁所定分析法: <http://www.nta.go.jp/shiraberu/zeiho-kaishaku/tsutatsu/kobetsu/sonota/kaisei070622/01.pdf>
- 3) 大場孝宏, 村田匠, 勝木慶一郎, 鈴木正柯, 松岡武志: 醸協, **109**, 187-193 (2014)