

## OIV 分析方法（アルコール分、総酸、二酸化硫黄）の仮訳

この翻訳は、国際ブドウ・ワイン機構（OIV といいます）の分析方法のうち、アルコール分、総酸、及び二酸化硫黄（亜硫酸）の分析方法について、酒類総合研究所が日本語に仮訳したものです。

なお、図表は掲載していません。原文を御確認ください。

また、今後、仮訳の修正等により内容を修正することがありますので、御留意ください。

### 翻訳対象とした分析方法

#### ○アルコール分

- Method OIV-MA-AS312-01A (OIV-MA-AS312-01A:R2016)  
Alcoholic strength by volume (Resolution Oeno 566/2016)  
※ 1~3, 4.B. の 1
- Method OIV-MA-AS312-01B (OIV-MA-AS312-01B:R2009)  
Alcoholic strength by volume (Resolution Oeno 377/2009)

#### ○総酸

- Method OIV-MA-AS313-01 (OIV-MA-AS313-01:R2015)  
Total acidity

#### ○二酸化硫黄（亜硫酸）

- Method OIV-MA-AS323-04A (OIV-MA-AS323-04A:R2012)  
Sulfur dioxide (Resolution Oeno 377/2009)
- Method OIV-MA-AS323-04B (OIV-MA-AS323-04B:R2009)  
Sulfur dioxide (Resolution Oeno 377/2009)

### <免責>

本仮訳は、御利用される方の御判断・責任において御使用ください。できるだけ正確な日本語訳の提供を心掛けておりますが、本仮訳の内容に関連して、御利用される方が不利益等を被る事態が生じたとしても、酒類総合研究所は一切の責任を負いかねますので、御了承ください。正確な理解のため、原文を参照されることをおすすめいたします。

## 目次

### OIV-MA-AS312-01A 法 I 型法

アルコール分 (Resolution Oeno 566/2016) .....	3
1. 定義 .....	3
2. 方法の原理 .....	3
3. 蒸留方法 .....	3
4.B. 振動式密度計によるワインのアルコール分の測定 .....	5

### OIV-MA-AS312-01B 法 IV 型法

アルコール分 (Resolution Oeno377/2009) .....	9
1. 定義 .....	9
2. 方法の原理 .....	9
3. 蒸留方法 .....	9
4. 浮ひょう又は屈折計を用いた留液のアルコール分の測定 (IV 型法) .....	10

### OIV-MA-AS313-01 法 I 型法

総酸 .....	12
1. 定義 .....	12
2. 原理 .....	12
3. 装置 .....	12
4. 試薬 .....	12
5. 手順 .....	12
6. 結果の表記 .....	13

### OIV-MA-AS323-04A 法 II 型法

二酸化硫黄 (亜硫酸) (Resolution Oeno377/2009) .....	15
1. 定義 .....	15
2. 遊離型および総亜硫酸 .....	15

### OIV-MA-AS323-04B 法 IV 型法

二酸化硫黄 (亜硫酸) (Resolution Oeno377/2009) .....	18
1. 定義 .....	18
2. 遊離型および総亜硫酸 .....	18

## OIV-MA-AS312-01A 法 I型法 アルコール分 (Resolution Oeno 566/2016)

### 1. 定義

アルコール分はワイン 100 リットルに含まれるエタノールのリットル数で、いずれも 20°Cの温度下で測定する。アルコール分は「% vol.」の記号で表記する。

(注) エタノールのほか、蒸留によって得られたアルコール類の化合物や、エステル化合物が含まれる。よってアルコール分は、これらも含んだ値となる。

### 2. 方法の原理

2.1 水酸化カルシウムの懸濁液によりアルカリ性にしたワインの蒸留留液のアルコール分の測定

2.2 I型法

- A. ピクノメーターによる留液のアルコール分の測定
- B. 振動式密度計によるワインのアルコール分の測定
- C. 比重計 (hydrostatic balance) によるワインのアルコール分の測定

### 3. 蒸留方法

3.1 装置

3.1.1 蒸留装置の部品：

- 1L の摺合せガラス製丸底フラスコ
- 高さ 20cm 程度の精留カラム又は類似した濃縮装置 (冷却器)
- 熱源 (適切に配置し、抽出物の熱分解を防ぐこと)
- 濃縮装置 (冷却器) は、末端が留液の受器に入る長い管の形状のもの

3.1.2 水蒸気蒸留装置の部品：

- 蒸気発生器
- 蒸気管
- 精留カラム
- 濃縮装置 (冷却器)

蒸留装置及び水蒸気蒸留のいずれのタイプの装置も、以下の試験を満たすことを前提として使用する。

アルコール分 10% vol.のエタノール・水混合物を 5 回連続で蒸留する。5 回目の蒸留後、留液のアルコール度数は少なくとも 9.9% vol.となっていること (各蒸留時のアルコール損失量は 0.02% vol.未満とすること)。

3.2 試薬

2M 水酸化カルシウム懸濁液

60～70℃の水 1 L を生石灰(CaO)120 g に慎重に注いで作成する。

### 3.3 検体の準備

1000 mL フラスコ内で 250～300 mL のワインを攪拌し、若ワイン又はスパークリングワインから大部分の二酸化炭素を除去する。

### 3.4 手順

#### 3.4.1 ABV>1.5% vol の飲料の手順

メスフラスコでワイン 200 mL を量りとる。ワインの温度を記録する。ワインを蒸留フラスコに移し、水蒸気蒸留装置の蒸気管を接続する。容量フラスコを 5 mL の洗浄水で連続 4 回すすぎ、それをフラスコ又は蒸気管に加える。2 mol/L の水酸化カルシウム 10 mL と不活性多孔体(軽石等)を数個加える。

ワインを量り取る際に使用した 200 mL のメスフラスコで留液を採取する。

蒸留の場合は初期容量の約 3/4、水蒸気蒸留の場合は留液 198～199 mL を採取する。留液に蒸留水を加え 200 mL に戻す際には、初期温度±2℃以内の範囲で維持する。

円を描くように、慎重に攪拌する。

(注)アンモニウムイオン濃度が特に高いワインは、上記の条件下で水酸化カルシウム懸濁液を 10/100 の硫酸希釈液 1 mL に変更して、留液を再蒸留する場合もある。

#### 3.4.1 ABV1.5% vol 以下の飲料の手順

メスフラスコで試料 200 mL を量りとる。その温度を記録する。試料を蒸留装置のフラスコ又は水蒸気蒸留装置のバブラー管に加える。メスフラスコを 5 mL の洗浄水で 4 回すすぎ、それを装置のフラスコ又はバブラー管に加える。

蒸留の場合は 2 M の水酸化カルシウム懸濁液 10 mL と、必要に応じて沸騰抑制物質(軽石等)を加える。100 mL のメスフラスコに、蒸留の場合は 75 mL 程度、水蒸気蒸留の場合は 98～99 mL 程度の留液を採取する。最初の温度の±2℃以内の範囲で留液を維持しながら、蒸留水を加え 100 mL にする。

円を描くように、慎重に攪拌する。

### 安全対策の諸注意

蒸留装置の使用や水・アルコール溶液および洗浄溶液の使用の際は安全性ガイドラインを遵守する。

#### 4. B. 振動式密度計によるワインのアルコール分の測定 (Resolution Oeno 8/2000-377/2009)

##### 1. 測定法

###### 1.1 度数及び序論

主として表示規則を順守するため、販売前にワインのアルコール分を測定しなければならない。

アルコール分はワイン 100 リットルに含まれるエタノールのリットル数と同等で、いずれの値も 20°C で測定する。これを「% vol.」の記号で表記する。

###### 1.2 安全対策の諸注意

蒸留装置の使用や水・アルコール溶液および洗浄溶液の使用の際は安全性ガイドラインを遵守する。

###### 1.3 適用の対象および分野

記述された測定法は、振動式密度計である。既存の法令における規定に従い、試験時の温度は 20°C に留める。

###### 1.4 原理および定義

測定方法の原理は、まず、容量当たりのワインを蒸留することである。蒸留手順は概要に記されている。蒸留により非揮発性物質が除かれる。この留液にはエタノールのほか、蒸留によって得られたアルコール類の化合物や、エステル化合物が含まれる。よってアルコール分は、これらも含んだ値となる。

留液の密度を測定する。ある温度での液体の密度は、その体積に対する質量の比と同等である。

$\rho = m/V$  となり、ワインの場合は g/ml で表す。

留液のような水・アルコール溶液の場合、表は、ある既知の温度におけるアルコール分と対応する(OIV 1990)。このアルコール分はワインのアルコール分と同じである(v/v の蒸留)。

本法では、留液の密度を振動式密度計で測定する。その原理は、試料を含む管を電磁気で刺激し、振動周期を測定するというものである。以下の式で、振動周期により密度が求められる。

$$\rho = T^2 \times (C/4\pi^2 V) - (M/V) \quad (1)$$

$\rho$  = 検体の密度

T = 誘起振動周期

M = 空管の質量

C = ばね定数

V = 振動サンプル体積

この関係は  $\rho = A T^2 - B$  (2) と表され、密度と周期の二乗の間には直線関係が存在する

各振動計特有の定数 A および B について、既知の密度の液体の周期を測定することで推定する。

## 1.5. 試薬および製品

### 1.5.1 標準液

2 種類の標準液を使用して密度計を調整する。標準液間の密度に、測定する留液の密度を挟むようにする。標準液間の密度は 0.01000 g/ml 以上離れていることが望ましい。密度は 20.00±0.05°C の温度下で不確かさが ±0.00005 g/ml 未満でなければならない。

標準液を使用した振動式密度計によるワインのアルコール度数の測定：

- 乾燥空気(非汚染)
- 二度蒸留した水又は同等の純水
- ピクノメーター法(標準法)で密度が決定された水・アルコール溶液
- 粘度が 2 mm<sup>2</sup>/s 未満の国家基準を満たす溶液

### 1.5.2 洗浄・乾燥剤

- 洗剤（酸性）
- 有機溶媒：エタノール 96 % Vol. 、アセトン

## 1.6. 装置

### 1.6.1 振動式密度計

電子式密度計には以下の要素が含まれる。

- 測定管を含む測定セルと温度管理容器
- 振動管の設定と振動周期測定システム
- タイマー
- デジタル画面（計算機を伴う場合もある）

振動の影響を受けない、完全に安定性を維持した密度計

### 1.6.2 測定セルの温度管理

測定管は温度管理容器内にあること。温度の安定性は ±0.02°C の範囲でなくてはならない。

密度計の使用にあたって、測定セルの温度は結果に大きく影響するため、可能な限り温度管理することが必要である。アルコール分 10% Vol. のアルコール水溶液の密度は、20°C で 0.98471 g/ml、21°C で 0.98447 g/ml、（差が 0.00024 g/ml）である。

試験温度は 20°C に留める。温度はセルの位置で得られたものであり、0.01°C の分解能を持つ国家標準に基づく温度計で測定する。温度測定の不確かさは ±0.07°C 未満となるようにする。

### 1.6.3 装置の校正

使用前に、装置を校正する必要がある。その後 6 ヶ月ごと若しくは検証結果が不良の際に校正を行う。目的は、二つの標準液を用いて定数 A および B を算出することである（(2) 参照）。校正方法については、装置の使用マニュアルを参照する。原則として、

この校正は乾燥空気と（気圧を考慮し）超純水（2度蒸留した水、及び/又は精密ろ過による高比抵抗（例：>18 MΩ）の純水）を用いて行う。

#### 1.6.4 校正の検証

校正を検証するため、標準液の密度を求める。

- 毎日、空気の密度を確認する。理論的な密度と測定した密度が 0.00008 g/ml 以上離れている場合は、管が詰まっていることを示唆している。その場合、洗浄が必要となる。洗浄後、空気の密度を再び検証する。最終的な結論が得られない場合は装置を調整する。
- 水の密度を確認し、理論的な密度と測定した密度が 0.00008 g/ml 以上離れている場合は装置を調整する。
- セルの温度の校正が難しい場合は、アルコール水溶液の密度を、分析した留液と比較することにより、直接確認できる。

#### 1.6.5 確認

標準液の理論的な密度(不確かさ±0.00005 g/ml)と測定値の差が 0.00008 g/ml 以上離れている場合は、セルの温度を測定しなければならない。

#### 1.7. 試料の採取と準備

(Compendium of International methods of wine and musts 1990, page 59, Obtaining distillate 参照)

#### 1.8. 操作手順

留液を得た後(OIV、1990)、密度計を用い密度又はアルコール分を測定する。

分析者は測定セルの安定性と温度を確保しなければならない。密度計のセル内の留液は気泡を含まず、均質でなければならない。照明システムがある場合は、ランプで生じた熱が温度測定に影響しないよう、確認後すぐに消す。

この装置が周期のみを表示する場合は、定数 A および B(A.4.c 参照)を用いて密度を算出する。アルコール分が示されない場合、密度が分かれば表(OIV 1990)を用いてアルコール分を得ることができる。

#### 1.9. 結果の表記

留液からアルコール分を得る。これを「% vol.」として表記する。

温度条件が正しくない場合は、20°Cの温度下での表示となるよう修正する。結果は小数点以下二桁までを示す。

##### 1.9.1 ABV ≤ 1.5% vol 飲料の場合

ABV 1.5% vol 未満のアルコール含有量の低い飲料のアルコール度数は以下の式を用いて求める。

$$ABV = ABVD/2$$

ABVD は留液のアルコール分とする。

これを「% vol.」で表記する。結果は小数点以下二桁までを示す。

#### 1.10. 追記

前回使用したサンプルによる汚染を防ぐため、セル内に導入する容量は十分な量でなければならない。したがって、試験を2回行う必要がある。併行許容差内の結果が得られない場合は、3回目の試験が必要となる場合もある。通常、最後の2つの試験の結果が同等であれば、最初のファクターを削除する。

#### 1.11 信頼性

アルコール分が4~18% vol.の場合

併行精度 ( $r$ ) =0.067 (% vol.)

室間再現精度 ( $R$ ) =0.0454+0.0105×アルコール分

(以 上)



## OIV-MA-AS312-01B 法 IV 型法 アルコール分 (Resolution Oeno 377/2009)

### 1. 定義

アルコール分はワイン 100 リットルに含まれるエタノールのリットル数で、いずれも 20°C の温度下で測定する。アルコール分は「% vol.」の記号で表記する。

(注) この留液にはエタノールのほか、蒸留によって得られたアルコール類の化合物や、エステル化合物が含まれる。よってアルコール分は、これらも含んだ値となる。

### 2. 方法の原理

2.1 水酸化カルシウムの懸濁液によりアルカリ性にしたワインの蒸留留液のアルコール分の測定

2.3 IV 型法

A. 浮ひようによる留液のアルコール分の測定

B. 屈折計による留液のアルコール分の測定

### 3. 蒸留方法

#### 3.1 装置

3.1.1 蒸留装置の部品：

- 1L の摺合せガラス製丸底フラスコ
- 高さ 20 cm 程度の精留カラム又は類似した濃縮装置 (冷却器)
- 熱源 (適切に配置し、抽出物の熱分解を防ぐこと)
- 濃縮装置 (冷却器) は、末端が留液の受器に入る長い管の形状のもの

3.1.2 水蒸気蒸留装置の部品：

- 蒸気発生器
- 蒸気管
- 精留カラム
- 濃縮装置 (冷却器)

蒸留装置及び水蒸気蒸留のいずれのタイプの装置も、以下の試験を満たすことを前提として使用する。

アルコール分 10% vol. のエタノール・水混合物を 5 回連続で蒸留する。5 回目の蒸留後、留液のアルコール度数は少なくとも 9.9% vol. となっていること (各蒸留時のアルコール損失量は 0.02% vol. 未満とすること)。

#### 3.2 試薬

2M 水酸化カルシウム懸濁液

60～70℃の水 1 L を生石灰(CaO)120 g に慎重に注いで作成する。

### 3.3 検体の準備

1000 mL フラスコ内で 250～300 mL のワインを攪拌し、若ワイン又はスパークリングワインから大部分の二酸化炭素を除去する。

### 3.4 手順

メスフラスコでワイン 200 mL を量りとる。ワインの温度を記録する。ワインを蒸留フラスコに移し、水蒸気蒸留装置の蒸気管を接続する。容量フラスコを 5 mL の洗浄水で連続 4 回すすぎ、それをフラスコ又は蒸気管に加える。2 mol/L の水酸化カルシウム 10 mL と不活性多孔体(軽石等)を数個加える。

ワインを量り取る際に使用した 200 mL のメスフラスコに留液を採取する。

蒸留の場合は初期容量の約 3/4、水蒸気蒸留の場合は留液 198～199 mL を採取する。留液に蒸留水を加え 200 mL に戻す際には、初期温度±2℃以内の範囲で維持する。

円を描くように、慎重に攪拌する。

(注)アンモニウムイオン濃度が特に高いワインは、上記の条件下で水酸化カルシウム懸濁液を 10/100 の硫酸希釈液 1 mL に変更して、留液を再蒸留する場合もある。

## 安全対策の諸注意

蒸留装置の使用や水・アルコール溶液および洗浄溶液の使用の際は安全性ガイドラインを遵守する。

## 4. 浮ひょう又は屈折計を用いた留液のアルコール分の測定 (IV 型法)

### 4.1. 浮ひょう

#### 4.1.1 装置

##### - 酒精度浮ひょう

酒精度浮ひょうは OIML (国際法定計量機関) の国際勧告 No.44「Alcoholmeters and Alcohol Hydrometers」で定義される分類クラス I 又は II の仕様と一致していなければならない。

- 温度計は 0.1℃単位で 0～40℃まで目盛りがあるもので、誤差 1/20℃以内を保証するものとする。

- 測定用シリンダーは直径 36 mm、高さ 320 mm で、整準ねじで垂直に調整したものとする。

#### 4.1.2 手順

留液 (3.4) を測定用シリンダーに注ぐ。シリンダーが垂直であることを確認する。温度計と酒精度浮ひょうを入れる。測定用シリンダー、温度計、酒精度浮ひょう及び留液

の温度を均等にするため、攪拌 1 分後に温度計の温度を読む。温度計を取り出し、1 分後にアルコール分を確認する。拡大鏡を用いて少なくとも 3 回確認する。温度の影響については表 II を用いて  $t$  °C で測定したアルコール分を補正する。

液体の温度と室温の差異は極めて小さいものとする(最大 5°C)。

## 4.2. 屈折計

### 4.2.1 装置

- 屈折計は 1.330~1.346 の範囲で屈折率を測定できるものとする。  
装置のタイプにより、以下のいずれかの条件で測定を行う。
  - ・適切な装置で 20°C の条件下で測定する
  - ・少なくとも 0.05°C の範囲内で測定可能な温度計を有する装置（温度補正表が付属しているもの）を用いて  $t$  °C の条件下で測定する。

### 4.2.2 手順

上記 3.3 で得られたワイン留液の屈折率は、使用する器具の種類ごとに決められた手順に従って測定される。

### 4.2.3 結果の表記

表 IV は、20°C における屈折率に対応するアルコール分を知るための表である。

(注) 表 IV は、純粋なアルコール-水混合物とワイン留液の両方の屈折率に対応するアルコール分を示す。ワインの留液の場合、留液中に不純物（主に高級アルコール）があることを考慮する。メタノールが存在すると、屈折率が低下し、アルコール分が低くなる。

(注) 留液の密度からアルコール度数を求める場合は、本章の本項目に関する別添 II の表 I、II、III を使用する。これらは、国際法定計量機関が 1972 年に勧告 No.22 で発表し、OIV(1974 年総会)で採用された「国際アルコール度数表」から算出したものである。別添 I はアルコール度数や、温度と相関するアルコール・水混合液の密度に関する一般式を示している。

## 参考文献

(略)

(以 上)

## OIV-MA-AS313-01 法 I型法 総酸

### 1. 定義

ワインの総酸は、標準アルカリ水溶液に対し pH 7 に滴定した場合の滴定酸度の合計である。二酸化炭素はこの総酸度には含まれない。

### 2. 原理

電位差測定による滴定若しくはブロモチモールブルー指示薬を使用した終点の色との比較による滴定。

### 3. 装置

- 3.1 水流吸引ポンプ（アスピレーター）
- 3.2 吸引フラスコ 500 mL
- 3.3 pH 値の目盛りと電極が付いた電位差測定器。ガラス電極は常時蒸留水に浸しておくこと。塩化水銀(I)・飽和塩化カリウム電極（カロメル電極）は常時飽和塩化カリウム溶液に浸しておくこと。
- 3.4 直径 12 cm のビーカー若しくは他の適切な容器

### 4. 試薬

- 4.1 pH 7.0 緩衝液：  
リン酸二水素カリウム  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ..... 107.3 g  
水酸化ナトリウム水溶液  $\text{NaOH}$ , 1 mol/L ..... 500 mL  
水 ..... 1,000 mL に定容  
若しくは市販の緩衝液
- 4.2 水酸化ナトリウム水溶液  $\text{NaOH}$ , 0.1 mol/L
- 4.3 ブロモチモールブルー指示薬 4 g/L  
ブロモチモールブルー ..... 4 g  
中性エタノール 96%(v/v) ..... 200 mL  
以下を溶解して添加：  
水（ $\text{CO}_2$  を含まない水） ..... 200 mL  
水酸化ナトリウム水溶液 1 mol/L、青緑色(pH 7)を呈するために十分な量、~7.5 mL  
水 ..... 1,000 mL に定容

### 5. 手順

## 5.1 サンプルの準備：二酸化炭素の除去

吸引フラスコに約 50 mL のワインを加える。揺らし続けながら 1～2 分間かけて水流吸引ポンプで吸引フラスコを真空にする。CO<sub>2</sub> を確実に除去できれば、他の CO<sub>2</sub> 除去システムでもよい。

## 5.2 電位差測定による滴定

### 5.2.1 pH メーターの校正

説明書に従い、20°C の pH7 緩衝液を用い、pH メーターの校正を 20°C で行う。

### 5.2.2 測定法

ビーカーに、5.1 のように調整したサンプル溶液（ワインの場合は 10 mL、濃縮還元果汁の場合は 50 mL）を加える。蒸留水を約 10 mL 加え、20°C で pH 7 となるようにビュレットから 0.1 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液を加える。溶液を攪拌しながら、水酸化ナトリウム水溶液をゆっくりと加える。加えた 0.1 mol/L 水酸化ナトリウムの容量は  $n$  mL とする。

## 5.3 指示薬(プロモチモールブルー)を用いた滴定

### 5.3.1 予備試験：終点の色の決定

ビーカー(3.4)に沸騰した蒸留水 25 mL、プロモチモールブルー溶液 1 mL、および「5.1 サンプルの準備：二酸化炭素の除去」で調整したサンプル溶液（ワインの場合は 10 mL、濃縮還元果汁の場合は 50 mL）を加える。0.1 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液を青緑色に変色するまで加えた後、pH7 の緩衝液 5 mL を加える。

### 5.3.2 測定

ビーカー(3.4)に沸騰した蒸留水 30 mL、プロモチモールブルー溶液 1 mL、および「5.1 サンプルの準備：二酸化炭素の除去」で調整したサンプル溶液（ワインの場合は 10 mL、濃縮還元果汁の場合は 50 mL）を加える。0.1 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液を上述の予備試験(5.3.1)と同じ色を呈するまで加える。加えた 0.1 mol/L 水酸化ナトリウムの容量は  $n$  mL とする。

## 6. 結果の表記

### 6.1 算出法

- ・総酸度を 1 リットルあたりのミリ当量で表す場合：

$$A = 10 \times n$$

小数点第一位まで記録する。

- ・総酸度を 1 リットルあたりの酒石酸のグラム数で表す場合：

$$A' = 0.075 \times A$$

小数点第二位まで記録する。

- ・総酸度を 1 リットルあたりの硫酸のグラム数で表す場合：

$$A' = 0.049 \times A$$

小数点第二位まで記録する。

6.2 指示薬滴定法（5.3）の併行精度（ $r$ ）：

$$r = 0.9 \text{ meq/L}$$

$$r = 0.04 \text{ g/L (硫酸換算)}$$

$$r = 0.07 \text{ g/L (酒石酸換算)}$$

6.3 指示薬滴定法（5.3）の室間再現精度（ $R$ ）：

白ワイン及びピロゼワイン：

$$R = 3.6 \text{ meq/L}$$

$$R = 0.2 \text{ g/L (硫酸換算)}$$

$$R = 0.3 \text{ g/L (酒石酸換算)}$$

赤ワイン：

$$R = 5.1 \text{ meq/L}$$

$$R = 0.3 \text{ g/L (硫酸換算)}$$

$$R = 0.4 \text{ g/L (酒石酸換算)}$$

### 参考文献

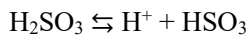
(略)

(以 上)

**OIV-MA-AS323-04A 法 II 型法**  
**二酸化硫黄（亜硫酸）（Resolution Oeno 377/2009）**

**1. 定義**

遊離型亜硫酸は  $\text{H}_2\text{SO}_3$  又は  $\text{HSO}_3^-$  の状態で果汁やワイン中に存在する二酸化硫黄（亜硫酸）と定義され、その平衡は pH と温度の関数として、以下のとおり表される。



$\text{H}_2\text{SO}_3$  は二酸化硫黄分子である。

総亜硫酸は、遊離型若しくは結合型のワイン中に含まれる、多様な構造を有する二酸化硫黄（亜硫酸）の総計として定義される。

**2. 遊離型および総亜硫酸**

**2.1 原理**

遊離型亜硫酸は空気又は窒素気流下で、過酸化水素の希釈・中性溶液による気泡により固定され酸化される。生成した硫酸は水酸化ナトリウムの標準溶液により滴定する。

遊離型亜硫酸は低温下（10°C）の吸引によりワインからパーズされる。

総亜硫酸は高温下（約 100°C）の吸引によりワインからパーズされる。

**2.2 方法**

**2.2.1 装置**

使用装置は、特に濃縮装置（冷却器）に関しては次頁の図と一致するものとする(図 1 参照)。

バブラー管 B へのガス供給管は、最大水平円周の周囲に直径 0.2 mm の穴を 20 個有する直径 1 cm の小球体へ繋がるようにする。若しくは、小球体の代わりに、多くの微細な泡を発生させ、液体とガスがよく接触する焼結ガラスプレートに繋がるようにしてもよい。

装置を通るガス流量はおおよそ 40 L/h とする。装置の右側にあるボトルは水流吸引ポンプにより生じる減圧量を 20~30 cm の水で制限するものである。流量を制御するためバブラー管とボトルの間に半毛細管を有する流量計を取り付ける。

**2.2.2 試薬**

2.2.2.1 リン酸：リン酸 85% ( $\rho_{20} = 1.71 \text{ g/mL}$ )

2.2.2.2 過酸化水素水溶液 9.1 g  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{L}$  (3 容量※)

(※標準状態において 9.1 g  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{L}$  の分解により生じる酸素 ( $\text{O}_2$ ) の体積がおおよそ 3 L であることを意味する。)

2.2.2.3 指示薬

メチルレッド.....100 mg

メチレンブルー.....	50 mg
エタノール 50%(v/v) .....	100 mL

#### 2.2.2.4 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液

#### 2.2.3 遊離亜硫酸含有量の測定

ワインは、測定前の2日間、フラスコに満量にして栓をした状態で 20°C に保たなければならない。

##### 2.2.3.1 手順

- ・ 検体 50 mL とリン酸 15 mL(2.2.2.1)を装置の 250 mL フラスコ(A)に入れる。フラスコを装置に繋ぐ。
- ・ バブラー管(B)に過酸化水素水溶液 2~3 mL(2.2.2.2)と指示薬 2 滴(2.2.2.3)を入れ、過酸化水素水溶液を 0.01 M の水酸化ナトリウム水溶液(2.2.2.4)で中和させる。バブラー管を装置に繋ぐ。

空気(又は窒素)で 15 分間通気させる。遊離型亜硫酸は酸化され硫酸となる。装置からバブラー管を取り除き、反応する酸を 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液(2.2.2.4)で滴定する。

使用量を  $n$  mL とする。

##### 2.2.3.2 結果の表記

遊離型亜硫酸は整数に丸め、mg/L で表す。

##### 2.2.3.2.1 算出

使用した 0.01 M 水酸化ナトリウム水溶液(mL)の数値を  $n$  とすると、遊離型亜硫酸の量(mg/L)は  $6.4 \times n$  となる。

#### 2.2.4 総亜硫酸量の測定

##### 2.2.4.1 手順

- ・ 総亜硫酸の亜硫酸含有量が  $\leq 50$  mg/L の検体の場合 :  
試料 50 mL とリン酸 15 mL(2.2.2.1)を 250 mL の丸底吸引フラスコ(A)に入れる。フラスコを装置に繋ぐ。  
(注)果汁の場合、1978 年版の概要に記載された操作法に進む(367 頁参照)。
- ・ 総亜硫酸含有量  $\geq 50$  mg/L の検体の場合 :  
試料 20 mL とリン酸 5 mL(2.2.2.1)を 250 mL の丸底吸引フラスコ A に入れ、フラスコを装置に繋ぐ。  
バブラー管 B に過酸化水素水溶液 2~3 mL(2.2.2.2)を入れ、前述のように中和し、高さ 4~5 cm の弱火でフラスコ(A)のワインを直火で沸騰させる。フラスコは金網ではなく、直径 30 mm の穴を有するマントル上に置く。これは、ワインから過熱物質が抽出され、フラスコ壁に堆積するのを避けるためである。  
空気(又は窒素)気流下、沸騰状態を保つ。15 分以内に総亜硫酸が流出し、酸化される。生成した硫酸を 0.01 M の水酸化ナトリウム水溶液(2.2.2.4)で滴定し、測定す



る。

使用量は  $n$  mL とする。

#### 2.2.4.2 結果の表記

##### 2.2.4.2.1 算出

総亜硫酸 (mg/L)

・ 総亜硫酸含有量が低い検体(50 mL の試料) :  $6.4 \times n$

・ その他の検体(20 mL の試料) :  $16 \times n$

##### 2.2.4.3 併行精度 ( $r$ )

(<50 mg/L) 50 mL 試料  $r = 1$  mg/L

(>50 mg/L) 20 mL 試料  $r = 6$  mg/L

##### 2.2.4.4 室間再現精度 ( $R$ )

(<50 mg/L) 50 mL 試料  $R = 9$  mg/L

(>50 mg/L) 20 mL 試料  $R = 15$  mg/L

#### 参考文献

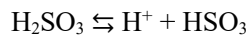
(略)

(以 上)

**OIV-MA-AS323-04B 法 IV 型法**  
**二酸化硫黄（亜硫酸）（Resolution Oeno 377/2009）**

**1. 定義**

遊離型亜硫酸は  $\text{H}_2\text{SO}_3$  又は  $\text{HSO}_3^-$  の状態で果汁やワイン中に存在する二酸化硫黄（亜硫酸）と定義され、その平衡は pH と温度の関数として以下のように表される。



$\text{H}_2\text{SO}_3$  は二酸化硫黄分子である。

総亜硫酸は、遊離型若しくは結合型のワイン中に含まれる、多様な構造を有する二酸化硫黄（亜硫酸）の総計として定義される。

**2. 遊離型および総亜硫酸**

**2.1 原理**

遊離型亜硫酸はヨウ素の直接滴定により定量される。結合型亜硫酸は、アルカリ加水分解後のヨウ素滴定により定量される。その値に遊離型亜硫酸を加算すると総亜硫酸となる。

**2.2 迅速法**

**2.2.1 試薬**

2.2.1.1 EDTA：エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム塩

2.2.1.2 4M 水酸化ナトリウム水溶液（160 g/L）

2.2.1.3 硫酸希釈液：10%硫酸（ $\rho_{20}=1.84$  g/mL）。10%（v/v）に希釈されたもの

2.2.1.4 でんぷん溶液 5 g/L

でんぷん 5 g をおよそ 500 mL の水と混合する。攪拌し続けながら 10 分間沸騰させる。塩化ナトリウム 200 g を加える。冷却して 1 L にする。

2.2.1.5 0.025 M ヨウ素溶液

**2.2.2 遊離型亜硫酸**

500 mL の三角フラスコに以下を入れる。

- ・ワイン 50 mL
- ・でんぷん液 5 mL
- ・EDTA 30 mg
- ・ $\text{H}_2\text{SO}_4$  3 mL

すぐに 0.025 M のヨウ素で滴定する。青色が 10～15 秒はつきりと持続するまで行う。ヨウ素の使用量は  $n$  mL とする。

**2.2.3 結合型亜硫酸**

4 M 水酸化ナトリウム水溶液 8 mL を加え、混合液を一回振って 5 分間放置する。強

く攪拌しながら、小型ビーカー内の硫酸 10 mL を一回の作業で加える。すぐに 0.025 M のヨウ素で滴定する。使用量を  $n'$  mL とする。

水酸化ナトリウム溶液 20 mL を加え、一度振って 5 分間放置する。氷冷した水 200 mL で希釈する。

強く攪拌しながら、事前に準備していた試験管中の硫酸 30 mL を一回の操作で加える。すぐに 0.025 M のヨウ素で遊離型亜硫酸を滴定する。ヨウ素の使用量は  $n''$  mL とする。

## 2.2.4 結果の表記

### 2.2.4.1 算出

遊離型亜硫酸(mg/L)は  $32 \times n$  となる。

総亜硫酸(mg/L)は  $32 \times (n + n' + n'')$  となる。

(注)

1.  $\text{SO}_2$  濃度の低い赤ワインについては、0.025 M ヨウ素を希釈する場合もある（例：0.01 M）。その場合、上述の式の係数 32 を 12.8 に置き換える。
2. 赤ワインの場合は、クロム酸カリウム溶液に通した通常の電球又はナトリウムランプの黄色光を底から照射するのが有用である。測定は暗室で行い、ワインの透明度を観察する。でんぷんの終点に達すると不透明になる。
3. 亜硫酸の量が法規制値に近いか、若しくはそれを超える場合、参照法※を用いて総亜硫酸を測定する。

(※OIV-MA-AS323-04A 法 II 型法 (15 ページ参照) のことを指します。)

4. 遊離型亜硫酸の測定が特に必要となる場合は、分析前に検体を  $20^\circ\text{C}$  において嫌気的な条件下、二日間放置した後、測定する。測定は  $20^\circ\text{C}$  で行う。
5. 特定の物質は酸性溶液においてヨウ素により酸化されるため、より正確に測定するにはこのように使用されるヨウ素の使用量を査定する必要がある。その際には、ヨウ素滴定を開始する前に過剰なエタナール（アセトアルデヒド）又はプロパナール中で遊離型亜硫酸を結合させる。300 mL の三角フラスコにワイン 50 mL を入れ、7 g/L のエタナール（アセトアルデヒド）溶液 5 mL 又は 10 g/L のプロパナール溶液 5 mL を加える。

フラスコに栓をして少なくとも 30 分間放置する。硫酸 3 mL とでんぷんを変色させるために必要な 0.025 M のヨウ素を加える。ヨウ素の使用量は  $n'''$  mL とする。この値を  $n$ （遊離亜硫酸）および  $n + n' + n''$ （総亜硫酸）から減ずる。

$n'''$  は通常小さく、0.025 M のヨウ素 0.2~0.3 mL に由来する。アスコルビン酸がワインに添加されている場合は  $n'''$  がはるかに高くなり、0.025 M のヨウ素 1 mL がアスコルビン酸 4.4 mg を酸化させるものと仮定して、 $n'''$  の値からこの物質の量のおおよその値を測定することができる。 $n'''$  を測定することで、ワインに添加されているアスコルビン酸の残存量（20 mg/L を超えるもの）を容易に求めることができる。

## 参考文献

(略)

(以 上)