

[連載講座]

初めてのワイン分析

横塚 弘毅 (山梨大学発酵化学研究施設)

ワインの研究を志して筆者の研究室に入ってきた学生が最初に学ぶことは初歩的なワインの分析法である。今日、多くのワイナリーや研究機関では、ワインの分析は初歩的な従来法でなくもっと進んだ機器分析法などによって行われている。しかし、分析の手軽さ、装置の簡便さに加えて、学生の訓練という観点に立てば、従来法もまた捨て難い。ここでは、筆者の研究室で修士論文や卒業論文を履修している学生が実際に使っているテーブルワインの分析法を述べた。

本稿では、ワインの比重、アルコール、エキス、全酸、揮発酸、還元糖、総窒素、灰分、アルカリ度、全フェノール、フラボノイド、アントシアニン、ワインカラー、遊離亜硫酸並びに結合亜硫酸の分析法を述べた。

なお、本文中の蒸留装置などを示した全ての絵は筆者の研究室で実際に使っている器具をスケッチしたものである。

これらの分析法は、“Methods for Analysis of Musts and Wines” (M. A. Amerine & C. S. Ough, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons Inc., New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1980)、 “Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists” (W. Horwitz, Editor, Association of Official Analytical Chemists, Benjamin Franklin Station, Washington, 1975)、 “Applied Wine Chemistry and Technology” (A. Massel, Heidelberg Publications, London, 1969) 並びに “The Science and Technique of Wine” (L. Frumkin, Patrick Stephens, Cambridge, 1964) および国税庁所定分析法注解 (第3回改正, 1974) を参考とし、各々の分析項目につき、有用かつ推奨できると思われる方法を述べた。

Basic Wine Analysis: Koki Yokotsuka, The Institute of Enology and Viticulture, Yamanashi University, Kofu 400, Japan.

この原稿は筆者が1987年11月、中国四川省成都市温江県にて中国のワイン醸造者並びに研究者に対して行った講義の一部である。

比 重

ワインを100mℓ容のメスシリンダーに入れ、15℃における比重浮ひょうの示度を読む。ワインの温度を15℃にする方法とメスシリンダーへ浮ひょうを入れる時の注意は次の「アルコール分」の測定の項目を参照のこと。メスシリンダーの3/4位までワインを入れ、浮ひょうを静かに浮かべる。浮ひょうの読み方は浮ひょうセットに付属している説明書に従うこと。比重を測定するためのワインは澄んでいなければならない。もし濁っていたら濾過する。

アルコール分

日本の酒税法ではアルコール分を温度15℃の時に於いて原容量100分中に含有するエチルアルコールの容量としている。

100mℓ容メスシリンダーにワインを入れる。ワインの温度が15℃以上ならこれよりやや低い温度の水の中に、15℃以下ならやや高い温度の水の中に置き、アルコール温度計（折れ易いので注意すること。本来は攪拌棒を使うべきであるが丁寧にすると温度計を壊すことはない）でワインを攪拌しながらその温度が15℃になるのを待ち一定量（100mℓ）とする。これを300mℓ容丸底フラスコに移す。もし、ワイン中に0.1%以上の揮発酸が存在する時には、ワインを1N NaOHで中和する（pH試験紙で中性になったことを確認する）。メスシリンダーの内部は少量の水で2回すすぎ、洗液をフラスコ内に加える。ワインの入ったフラスコを冷却器に連結し、そのメスシリンダーを受器として蒸留する（図1）。この時、沸石をいれ、1秒間に一滴蒸留されてくる位の速度にバーナーの炎を調節する。とろ火で行うとよい。留液が約80mℓになったら蒸留を止め、蒸留液に水を加えて100mℓとし、よく攪拌し、先ほどの要領で15℃にして酒精度浮ひょう（アルコールハイδροメーター）を用いてその示度を読み、アルコール度数とする。残留液は還元糖の定量に用いる。浮ひょうは壊れ易いので、メスシリンダーを斜めにして静かに入れる。浮ひょうの読み方は浮ひょうセットに付属している説明書によること。

検体の泡立ちが激しい場合は、市販のタンニン酸または水溶性シリコン消泡剤を加える。水溶性シリコンは数百倍の水に懸濁させたものを数滴添加させるだけでよい。

ワインの温度を15℃にするのは簡単であるから、温度補正が必要な他の温度での測定は避ける。

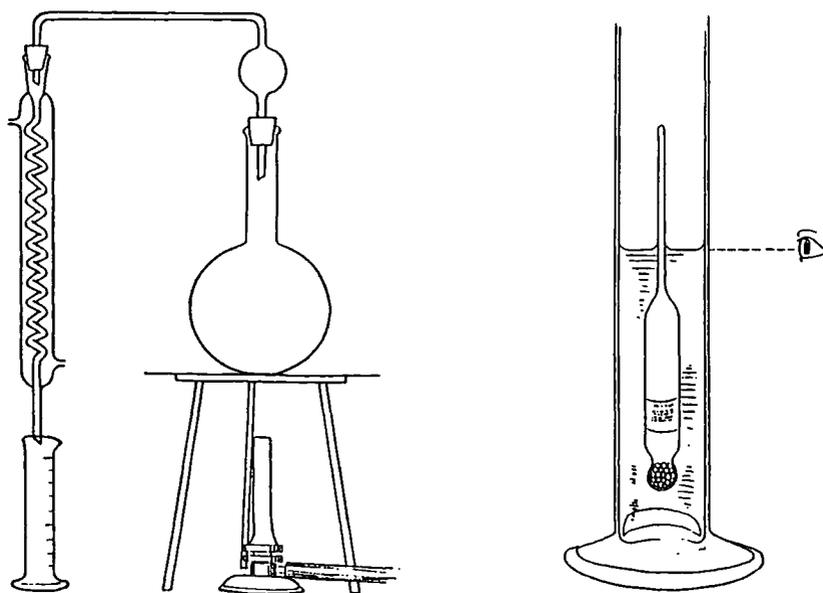


図1 アルコール蒸留装置。

エキス

[ワインの比重とアルコール量から求める方法]

エキス分はワインの比重とアルコール度数より次式から計算する。

$$E = (S - A) \times 260 + 0.21$$

E = エキス分。

S = 15°Cにおけるワインの比重。

A = 15°Cにおけるアルコール分度数を表1により比重(15/15°C)に換算したもの。

この方法は国税庁所定分析法注解の中にある。しかし、ワイン分析にとって上の計算式中の係数と補正值に問題があり、その根拠が分かり難い。そこで、蒸発皿中のワインを蒸発させて残った固形分をひょう量してエキスとする直接法と、上の方法と同じ原理であるがその分析理論が分かり易い別の方法を述べる。

[直接法]

ワインのエキスとはそのワイン中に見いだされる不揮発性物質の総量であるとするれば、全ての揮発性物質を蒸発させた後、その残渣の重さに相当するのがエキスということになる。

筆者の研究室では、ワインの分析に際して、いつでも灰分を分析測定項目に入れるので、灰分測定の前処理中にエキス量が測定できる。下記の方法は、原法に書かれている方法よりかなり簡便なものとなっている。

『操作』

- ① 乾燥した磁性の蒸発皿(原報ではプラチナ製の皿)の重量(g)を測定する。
- ② 50mlのテーブルワインを蒸発皿に入れ、湯浴上で水分を蒸発させる(シラップ状のものが残る)。
- ③ シラップ状残留物の入った蒸発皿を95~100°Cの乾燥器の中に約6時間置き、冷えてから重さ(g単位)を測定する。これと空の蒸発皿との差がエキスである。

[ワインの比重とアルコール量から求める方法]

上述の方法と同じくワインの比重とアルコール含量から計算する。

- ① ワインのアルコール含量を測定し、この含量に相当するアルコール水溶液の比重を表2より求める。これを d_a とする。
- ② ハイドロメーターを用いてワインの比重を求め、これを d_w とする。
- ③ エキスの比重 d_r は、 $d_r = d_w - d_a + 1.000$
- ④ エキスの比重 (d_r) と量 (ワイン100mℓ中の重量 (g)) との関係の表3よりエキスを求める。

表1 アルコール度数 (15°C) と比重 (15/15°C) の換算表。

| 比重 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 0.992 | 5.00 | 5.08 | 5.15 | 5.23 | 5.31 | 5.38 | 5.46 | 5.54 | 5.62 | 5.69 |
| 0.991 | 5.77 | 5.85 | 5.92 | 6.00 | 6.08 | 6.15 | 6.23 | 6.31 | 6.38 | 6.44 |
| 0.990 | 6.54 | 6.62 | 6.69 | 6.77 | 6.85 | 6.92 | 7.00 | 7.08 | 7.17 | 7.25 |
| 0.989 | 7.33 | 7.42 | 7.50 | 7.58 | 7.67 | 7.75 | 7.83 | 7.92 | 8.00 | 8.08 |
| 0.988 | 8.15 | 8.23 | 8.31 | 8.38 | 8.46 | 8.54 | 8.62 | 8.69 | 8.77 | 8.88 |
| 0.987 | 8.92 | 9.00 | 9.09 | 9.18 | 9.27 | 9.36 | 9.45 | 9.55 | 9.64 | 9.73 |
| 0.986 | 9.82 | 9.91 | 10.00 | 10.08 | 10.17 | 10.25 | 10.33 | 10.42 | 10.50 | 10.58 |
| 0.985 | 10.67 | 10.75 | 10.83 | 10.92 | 11.00 | 11.09 | 11.18 | 11.27 | 11.38 | 11.45 |
| 0.984 | 11.55 | 11.64 | 11.73 | 11.82 | 11.91 | 12.00 | 12.09 | 12.18 | 12.27 | 12.36 |
| 0.983 | 12.45 | 12.55 | 12.64 | 12.73 | 12.82 | 12.91 | 13.00 | 13.09 | 13.18 | 13.27 |
| 0.982 | 13.36 | 13.45 | 13.55 | 13.64 | 13.73 | 13.82 | 13.91 | 14.00 | 14.10 | 14.20 |
| 0.981 | 14.30 | 14.40 | 14.50 | 14.60 | 14.70 | 14.80 | 14.90 | 15.00 | 15.10 | 15.20 |
| 0.980 | 15.30 | 15.40 | 15.50 | 15.60 | 15.70 | 15.80 | 15.90 | 16.00 | 16.10 | 16.20 |

表2 15.56℃と20℃でのアルコール%と比重との関係*。

| 比重 | アルコール(容量%) | | 比重 | アルコール(容量%) | | 比重 | アルコール(容量%) | |
|--------|------------|------|--------|------------|------|--------|------------|------|
| | 15.56℃ | 20℃ | | 15.56℃ | 20℃ | | 15.56℃ | 20℃ |
| 0.9930 | 4.86 | 4.84 | 0.9910 | 6.38 | 6.34 | 0.9890 | 7.98 | 7.90 |
| 29 | .93 | .91 | 09 | .46 | .41 | 89 | 8.07 | .98 |
| 28 | 5.01 | .98 | 08 | .54 | .49 | 88 | .15 | 8.06 |
| 27 | .08 | 5.06 | 07 | .62 | .57 | 87 | .23 | .15 |
| 26 | .16 | .13 | 06 | .70 | .65 | 86 | .32 | .23 |
| 25 | .23 | .21 | 05 | .77 | .73 | 85 | .40 | .31 |
| 24 | .31 | .28 | 04 | .85 | .80 | 84 | .48 | .39 |
| 23 | .39 | .36 | 03 | .93 | .88 | 83 | .57 | .47 |
| 22 | .46 | .43 | 02 | 7.01 | .96 | 82 | .65 | .55 |
| 21 | .54 | .51 | 01 | .09 | 7.04 | 81 | .73 | .63 |
| 20 | .61 | .58 | 00 | .17 | .12 | 80 | .82 | .71 |
| 19 | .69 | .66 | 0.9899 | .25 | .19 | 79 | .90 | .79 |
| 18 | .77 | .73 | 98 | .33 | .27 | 78 | .98 | .88 |
| 17 | .84 | .81 | 97 | .41 | .35 | 77 | 9.07 | .96 |
| 16 | .92 | .88 | 96 | .50 | .43 | 76 | .15 | 9.04 |
| 15 | .99 | .96 | 95 | .58 | .51 | 75 | .24 | .13 |
| 14 | 6.07 | 6.03 | 94 | .66 | .59 | 74 | .32 | .21 |
| 13 | .15 | .11 | 93 | .74 | .67 | 73 | .40 | .29 |
| 12 | .23 | .18 | 92 | .82 | .75 | 72 | .49 | .38 |
| 11 | .30 | .26 | 91 | .90 | .82 | 71 | .57 | .46 |

*ワイン先進国を含む世界の多くの国々では20℃での分析が一般的である。

表2 (続き)

| 比重 | アルコール(容量%) | | 比重 | アルコール(容量%) | | 比重 | アルコール(容量%) | |
|--------|------------|-------|--------|------------|-------|--------|------------|-------|
| | 15.56℃ | 20℃ | | 15.56℃ | 20℃ | | 15.56℃ | 20℃ |
| 0.9870 | 9.66 | 9.54 | 0.9850 | 11.37 | 11.19 | 0.9830 | 13.16 | 12.90 |
| 69 | .74 | .62 | 49 | .46 | .28 | 29 | .25 | .99 |
| 68 | .82 | .70 | 48 | .54 | .36 | 28 | .34 | 13.07 |
| 67 | .91 | .79 | 47 | .63 | .45 | 27 | .43 | .16 |
| 66 | .99 | .87 | 46 | .72 | .53 | 26 | .52 | .25 |
| 65 | 10.08 | .95 | 45 | .81 | .61 | 25 | .61 | .34 |
| 64 | .16 | 10.03 | 44 | .89 | .70 | 24 | .71 | .43 |
| 63 | .25 | .11 | 43 | .98 | .78 | 23 | .80 | .51 |
| 62 | .33 | .20 | 42 | 12.07 | .87 | 22 | .89 | .60 |
| 61 | .42 | .28 | 41 | .16 | .95 | 21 | .98 | .68 |
| 0.9860 | .50 | .36 | 40 | .25 | 12.04 | 20 | 14.08 | .77 |
| 59 | .59 | .44 | 39 | .34 | .12 | 19 | .17 | .86 |
| 58 | .68 | .53 | 38 | .43 | .21 | 18 | .26 | .95 |
| 57 | .76 | .61 | 37 | .52 | .29 | 17 | .36 | 14.04 |
| 56 | .85 | .69 | 36 | .61 | .38 | 16 | .45 | .13 |
| 55 | .93 | .78 | 35 | .70 | .47 | 15 | .55 | .22 |
| 54 | 11.02 | .86 | 34 | .79 | .55 | 14 | .64 | .30 |
| 53 | .11 | .94 | 33 | .88 | .64 | 13 | .74 | .39 |
| 52 | .19 | 11.03 | 32 | .97 | .73 | 12 | .83 | .48 |
| 51 | .28 | .11 | 31 | 13.06 | .81 | 11 | .92 | .57 |

表3 20°Cでの比重とエキス量との関係。

| 比重 | エキス (g/100ml) | 比重 | エキス (g/100ml) | 比重 | エキス (g/100ml) | 比重 | エキス (g/100ml) |
|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|------------------|
| 1.000 | 0.00 | 1.021 | 5.43 | 1.043 | 11.16 | 1.064 | 16.64 |
| 1.001 | 0.26 | 1.022 | 5.69 | 1.044 | 11.42 | 1.065 | 16.90 |
| 1.002 | 0.51 | 1.023 | 5.95 | 1.045 | 11.68 | 1.066 | 17.16 |
| 1.003 | 0.77 | 1.024 | 6.21 | 1.046 | 11.94 | 1.067 | 17.43 |
| 1.004 | 1.03 | 1.025 | 6.47 | 1.047 | 12.20 | 1.068 | 17.69 |
| 1.005 | 1.29 | 1.026 | 6.73 | 1.048 | 12.46 | 1.069 | 17.95 |
| 1.006 | 1.54 | 1.027 | 6.99 | 1.049 | 12.72 | 1.070 | 18.21 |
| 1.007 | 1.80 | 1.028 | 7.25 | 1.050 | 12.98 | 1.071 | 18.48 |
| 1.008 | 2.06 | 1.029 | 7.51 | 1.051 | 13.24 | 1.072 | 18.74 |
| 1.009 | 2.32 | 1.030 | 7.77 | 1.052 | 13.50 | 1.073 | 19.00 |
| 1.010 | 2.58 | 1.031 | 8.03 | 1.053 | 13.76 | 1.074 | 19.26 |
| 1.011 | 2.84 | 1.032 | 8.29 | 1.054 | 14.03 | 1.075 | 19.52 |
| 1.012 | 3.10 | 1.033 | 8.55 | 1.055 | 14.29 | 1.076 | 19.78 |
| 1.013 | 3.36 | 1.034 | 8.81 | 1.056 | 14.55 | 1.077 | 20.05 |
| 1.014 | 3.62 | 1.035 | 9.07 | 1.057 | 14.81 | 1.078 | 20.31 |
| 1.015 | 3.88 | 1.036 | 9.33 | 1.058 | 15.07 | 1.079 | 20.58 |
| 1.016 | 4.13 | 1.037 | 9.59 | 1.059 | 15.33 | 1.080 | 20.84 |
| 1.017 | 4.39 | 1.038 | 9.85 | 1.060 | 15.59 | 1.081 | 21.10 |
| 1.018 | 4.65 | 1.039 | 10.11 | 1.061 | 15.89 | 1.082 | 21.36 |
| 1.019 | 4.91 | 1.040 | 10.37 | 1.062 | 16.12 | 1.083 | 21.62 |
| 1.020 | 5.17 | 1.042 | 10.63 | 1.063 | 16.38 | 1.084 | 21.89 |

総酸（滴定酸度）

100mℓ容のビーカーに、沸騰させ冷却した脱イオン水80mℓを入れ、そこに、ワイン2mℓを加え、0.1N NaOH（市販の標準試薬をそのまま使用）でpH 8.2（pHメーターを使用）まで中和滴定する。発泡性ワインの時はガスを抜いてから操作を行う。滴定酸度が酒石酸として表されるとすると、

$$\text{酒石酸 (g/100mℓ)} = \frac{(V) (N) (75) (100)}{(1000) (v)}$$

V = 滴定に要したNaOH溶液の量

N = NaOH溶液の規定度

v = 試料の液量 (mℓ)

[測定例]

今、ワイン10mℓの滴定に1/10N NaOHが10.5mℓ必要であったとすると、

$$\text{酒石酸 (g/100mℓ)} = \frac{(10.5) (0.1) (75) (100)}{(1000) (10)} = 0.7875$$

これを、上の式によらないで一般の化学量論的な計算式で求めてみると、

$$10 (mℓ) \times X (\text{ワインの規定度}) = 10.5 (mℓ) \times 1/10 (NaOH)$$

$$\therefore X = 0.105 (N)$$

酒石酸の1グラム当量は75であるので、 $0.105 \times 75 = 7.875$ となる。故に、このワインの滴定酸度は酒石酸として0.7875%である。

また、硫酸の1グラム当量は49であるので、 $0.105 \times 49 = 5.145 (g/ℓ)$ となる。酢酸換算の場合、酢酸の1グラム当量は60であるので、 $0.105 \times 60 = 6.3 (g/ℓ)$ となる。

クエン酸換算（キウイフルーツワインの時に便利である）の場合、クエン酸の1グラム当量は64であるので $0.105 \times 64 = 6.72$ （g/l）である。

これらのことから、

| | |
|----------------------|--------------------|
| 酒石酸で表した酸度を r とすると、 | |
| 硫酸として表す場合には | $= r \times 0.653$ |
| 酢酸として | $= r \times 0.800$ |
| リンゴ酸として | $= r \times 0.893$ |
| クエン酸として | $= r \times 0.853$ |
| 硫酸で表した酸度を r とすると、 | |
| 酒石酸として | $= r \times 1.531$ |
| 酢酸として | $= r \times 1.225$ |
| リンゴ酸として | $= r \times 1.367$ |
| クエン酸として | $= r \times 1.306$ |

揮発酸

[試薬]

総酸の定量と同じ試薬を用いる。

[操作]

ワインを5分間、60～70℃に暖めて炭酸ガスを除く。ガスを除去したワイン10mℓを300mℓ容フラスコ（図2のフラスコB）にとり、水蒸気蒸留を図2に示した装置を使って行う。

1. Aに沸石を入れて置く。Aの水が十分に温まるまで②を開き、①を閉じておく。
2. Aが沸騰して蒸気が上がってきたら、②を開き①を閉じる。B内の液量が増え過ぎないように下から少し温める。
3. 留液（C：蒸留液）が約80mℓになったら、A、Bを温めるのを止め、①を開く。

4. 総酸と同じように、蒸留液を1/10N NaOHを用いてpH 8.2まで滴定する。
 (原報では――蒸留液に1%フェノールフタレイン液2~3滴を加え、留液を60°Cに暖め、または留液がまだ熱い中に、1/10N NaOHで淡いピンクが約1分間消えなくなるまで滴定する――とされている。しかし、総酸と同じ方法で滴定して揮発酸量を求めても大きな差はない)。

滴定数を V_1 ml、NaOH溶液の規定度を N_1 、サンプル量を v (ml) とし、酢酸として揮発酸量を示すと、

$$\text{酢酸 (g/100ml)} = \frac{(V_1) (N_1) (60) (100)}{(1000) (v)}$$

[注意]

水蒸気蒸留によって揮発酸を回収する際の問題点は三つある。第1はごく少量の乳酸が蒸留されてくること。第2は亜硫酸が多量に存在するときは補正が必要であること。第3は多量の炭酸ガスが溶存するときは、蒸留前にワインを脱気し、また滴定前に試料液を暖め炭酸ガスを除くことが必要であることである。しかし、通常のワインの品質管理のための分析ではこれらの点はあまり問題にしないでよい。

[計算例]

中和滴定に1/10N NaOHの1.63mlを消費した時、

$$10 \times X \text{ (ワインの規定度)} = 0.1 \times 1.63$$

$$X = 0.0163 \text{ (N)}$$

$$0.0163 \times 60 \text{ (酢酸の1グラム当量)} = 0.978 \text{ g/l}$$

$$0.0978 \text{ g/100ml}$$

$$0.0163 \times 49 \text{ (硫酸の1グラム当量)} = 0.7987 \text{ g/l}$$

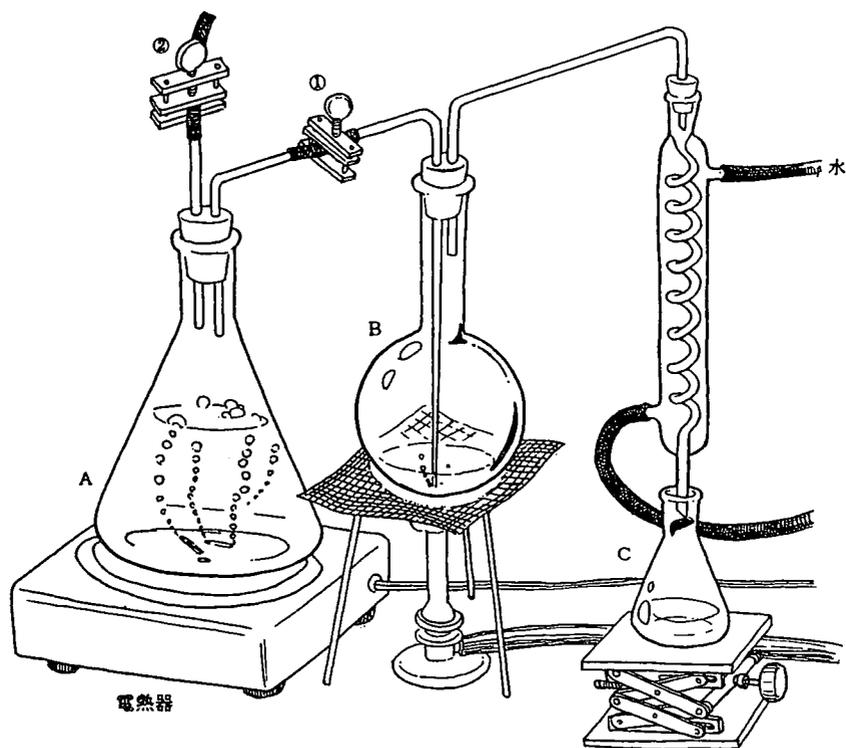


図2 揮発酸を水蒸気蒸留するための装置。

還元糖

下記の定量法は、銅 (Cu^{2+}) が還元糖によって Cu^+ となる反応に基づく。メチレンブルーが酸化-還元反応により青から無色に変わる色の变化点とこの反応の終点とはかなり近いので指示薬としてメチレンブルーが用いられる。フェーリング液に還元糖溶液を添加するとフェーリング液は還元されて酸化銅 (I) が析出する。この時メチレンブルーがあるとフェーリング液中に銅イオンが存在する間は青色が保たれ、銅イオンが全部消失すると、次にメチレンブルーが還元されるため、その青色が消えて無色となる。この点を終点として、消費した糖量から還元糖量を算出する。但し、フェーリング液による糖の酸化は定量的に進行しないので、実験条件を良く守る必要がある。

[試薬]

フェーリング試薬A : $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 34.639 g を500mℓ 容メスフラスコにとり水を加えて500mℓ とする。これを静置して濾過する。

フェーリング試薬B : 酒石酸ナトリウム・カリウム173 g と NaOH 50 g を500mℓ 容メスフラスコにとり、500mℓ の標線まで水を加える。これを静置して濾過する。

ソックスレー試薬 : フェーリングA試薬の上にフェーリングB試薬を加える。混合比は1 : 1 とする。使用直前に混合し、一日を経たら捨てる。

[ソックスレー試薬の滴定]

滴定は非常に熱いので軍手などを使う。250mℓ 容の三角フラスコにソックスレー試薬25mℓ と0.5%グルコース溶液20mℓ (全部で24mℓ 位のグルコース溶液を滴定するのに25mℓ のソックスレー試薬が必要なのであらかじめ20mℓ のグルコース溶液を加えておく) をとる。突沸するようなら沸石をいれる。0.5%グルコース溶液で25mℓ -ビューレットを満たす。試薬の入ったフラスコを石綿のついた金網上でブンゼンバーナーを用いて3分以内に沸騰させる。火力は沸騰を続ける程度に調節し、ビューレットより0.5%グルコース溶液を滴下し、硫酸銅の青色がほとんどなくなるまで滴定する。1%メチレンブルー水溶液を5滴入れ、煮沸しつつ更にグルコース液を滴下し、沸騰によって生じている泡の青色が消失したところを終点とする(約4mℓ グルコース溶液で終点となる)。試料を煮沸始めてから滴定が終わるまでの時間は3分以内とする。滴定量が±0.2mℓ 以内になるまで繰り返して実験する。

[試料ワインの前処理]

糖以外の還元性物質がなく、糖含量が1%以下の試料ワインを次のように調製する。

脱アルコールしたワイン50mℓ（アルコールの蒸留をした時の残液全部を用いるとよい）を100mℓ容三角フラスコに入れ、5mℓの飽和酢酸鉛溶液、ワインの脱色に十分な量の活性炭及び2滴の水酢酸を加える。活性炭量は通常白ワインでは0.1g、濃い色の赤ワインで0.5g位である。余りに過剰の活性炭を加えると糖が吸着されてしまうので注意が必要である。良くかき混ぜながら10分間置く。メスフラスコの100mℓの標線まで水を加える。甘口ワインの場合には脱アルコールワイン5mℓの試料量で十分である。活性炭はごく少量、酢酸鉛溶液も2mℓで十分である。

上で使用した酢酸鉛溶液1mℓにつき0.4gの磷酸二ナトリウムあるいは蔞酸ナトリウムを200mℓ容ビーカーに入れ、これに酢酸鉛と活性炭で処理したワインを濾過しながら加える。もしも活性炭が濾紙を通り抜けたら再び濾過する。この時磷酸塩または蔞酸塩が固まるのを防ぐため、濾過中かき混ぜる。この溶液は2～3分以内にかなりきれいになる。鉛の沈澱が完全かどうか確かめるため極少量の磷酸塩か蔞酸塩を加える。この溶液の上清を用いるか、あるいは必要なら別のビーカーに再濾過する。

[前処理したワインの滴定]

前処理したワイン20mℓを25mℓのソックスレー試薬が入っている300mℓ容三角フラスコにいれる。これを沸騰させ、0.5%糖溶液で微かに青色になるまで滴定する。5滴のメチレンブルーを加えて再び0.5%グルコース溶液で滴定し、十分にレンガ色になったら終点とする。滴定に際しての操作や注意は[ソックスレー試薬の滴定]の時と同じである。試料を加えた時点でソックスレー試薬がレンガ色となった場合は、非常に多量の糖を含むので試料を希釈する。

[計算]

$$(A - B) (0.005) (100)$$

$$\text{還元糖量 (g/100mℓ)} = \frac{\quad}{\quad}$$

v

ここで、A = ソックスレー試薬の滴定に使われた 0.5% 糖溶液の量 (mℓ)

B = ワイン試料の滴定のために使われた 0.5% 糖溶液の量 (mℓ)

v = 滴定のために用いた最終のワインの量 (mℓ)

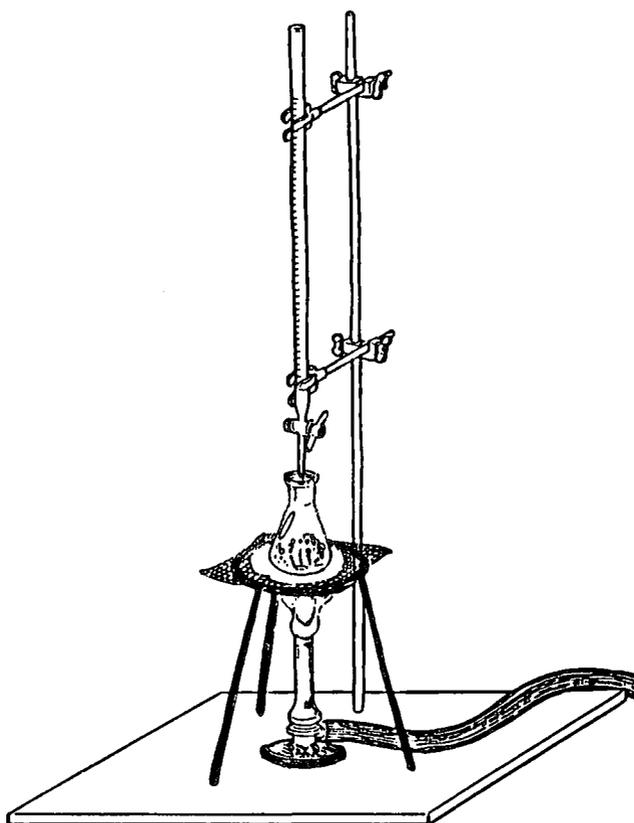


図3 還元糖のための滴定装置。

総窒素

[試薬]

濃硫酸

50% NaOH、30% H₂O₂

触媒：CuSO₄ · 5H₂O 10g と K₂SO₄ 90g を混ぜ、乳鉢ですり合わせたもの。

1/100N NaOH、1/100N H₂SO₄

[分解]

試料ワインの適量（2～5mℓ：窒素として3～5mg）を正確に200mℓ容のケルダール・フラスコにとる。触媒0.25g、濃硫酸5mℓ、30%H₂O₂1mℓを加え、少量の水で管壁を洗う。これをドラフトの中のケルダール分解炉でバーナーを用いて加熱沸騰させる。突沸に注意して始めは弱火で行う。泡が沢山生じるようならシリコン系消泡剤を添加する。分解が起ると炭素の遊離により黒色となるが反応が進むにつれて、炭素は炭酸ガスとなって、液は透明となり、ついには硫酸銅の青色となる。青色となってから更に約1時間加熱し、火を一旦止める。

放冷後、塩類の結晶が析出しない中に蒸留水約20mℓを管壁を洗うようにしながら添加する。再び加熱して、再度青色になり、3時間位加熱したら火を止める。放冷後、分解フラスコの中身を別のガラス容器に移し、分解フラスコを少量の蒸留水で洗う。全量が15mℓ以上にならないようにする。

これらの操作に用いる分解装置は図5に示されている。

[蒸留]

図4に示した蒸留装置を使う。

1. ①、③、④、⑤のコックを開け、②を閉じた状態にしておく。
2. E内の水を沸騰させておく。
3. Dは蒸留されてくるアンモニアの受器である。この受器に予め1/100NH₂SO₄ 10mℓをいれておく。この時受器内の1/100NH₂SO₄溶液の中に冷却管Fの口をつける。アンモニアはNaOHを加えるとすぐに発生するので逃がさぬように注意が必要である。

4. コック⑤を閉じてBを温める。
5. ブランク用の水または試料をロートCから入れる。
6. 約10mℓの50%NaOHをCから加える。
7. すばやく、少量の蒸留水でロートを洗い、コック①と③を閉じ、コックを開ける。
8. 受器D内の液量が50mℓ以上になったら、冷却管Fの口を洗い、しばらくそのままにしておき、硫酸の液滴が落ちるのを待つ。
9. コック⑤を開けて、コック④を閉じ、Aの内容物を出す。Aが全部なくなるしない中に、冷却管Fの口より純水を入れ、A内を洗う。これを3回繰り返す。
10. コック③を開き、B内をからにして最初の状態に戻す。

[滴定]

蒸留したサンプルを1/100N NaOHでpH7.0まで滴定する。

[計算]

$$\text{総窒素量 (mg/ℓ)} = (a - b) \times 1.4 \times F \times K$$

a : ブランクの滴定量 (mℓ)

b : サンプルの滴定量 (mℓ)

F : 1/100N NaOHのファクター

K : 1000/分解サンプルの液量 (mℓ)

灰分

50mℓ容の磁性るつぼ（原報ではプラチナ皿）を540℃で3時間加熱し、炉の温度が200℃以下（原報では300～400℃であるが、これでは危険な時がある）で取り出し、デシケーター中で放冷する。0.1mgの単位まで秤量

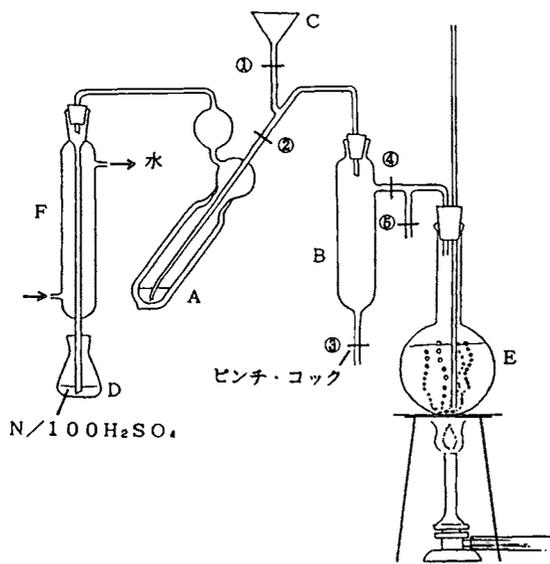
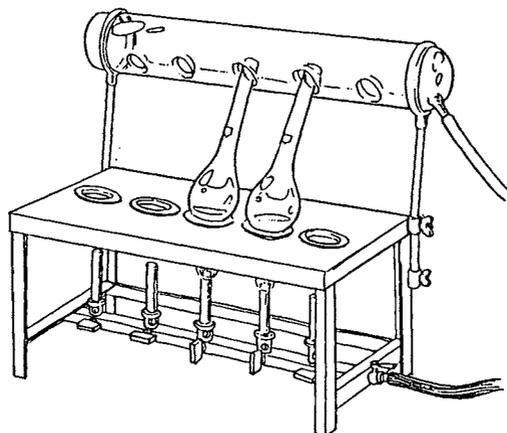


図4 窒素定量のための分解及び蒸留装置。

する。秤量したるつぼの中に25mℓのワインを入れ、蒸発乾固させる。この時、初めは湯浴上で蒸発させると2～3時間でシロップ状となるので、次にオープンに入れ100℃で約半日加熱し乾固させる。（エキス分を直接秤量して求めるときは、この重さを計るとよい。）

このるつぼをマッフル炉に入れ、525±25℃で約6時間（原報では5分間であるが、これでは効果がない）加熱する。炉から取り出し冷却後、5mℓの水を滴下する（側壁を洗うようにしながら滴下）。突沸に注意しながらオープン中で乾燥させる。乾燥後、再びマッフル炉で525±25℃、約6時間加熱する。取り出したるつぼの内容物がまだ黒ければ再度水を加え、再乾燥、再灰化する。灰分が灰色または白色となったらデシケター内で乾燥し、重さを計る。重量変化が0.3mg以内になるまで525℃、約6時間の加熱を繰り返す。灰分の単位はg/ℓとする。

アルカリ度 (alkalinity)

灰化の秤量の終わったるつぼ（灰分が入っている）を250mℓ容のビーカーに入れる。予め蒸留水を沸騰させて炭酸ガスを除き、冷ました少量の水と25mℓの1/20N H₂SO₄をるつぼに加える。時計皿で蓋をして湯浴上で15分間加熱する。攪拌棒を使って灰分の全部が酸液に浸るようにかき混ぜる。時計皿とビーカーの内壁を脱CO₂水（煮沸して炭酸ガスを追い出した蒸留水）で洗う。るつぼの試料液をビーカーに移し、るつぼを脱CO₂蒸留水で洗いビーカーに加える。これを1/20N NaOHでpH7.0まで滴定する。

$$(V_1N_1 - V_2N_2) (10) (100)$$

$$\text{Alkalinity (meq)} = \frac{\quad}{\quad}$$

v

$V_1 = 1/20N \text{ H}_2\text{SO}_4$ の容量 (mℓ)

$N_1 = 1/20N \text{ H}_2\text{SO}_4$ のファクター

$V_2 = 1/20N \text{ NaOH}$ の容量 (mℓ)

$N_2 = 1/20N \text{ NaOH}$ のファクター

V = 使用した試料ワインの容量 (mℓ)

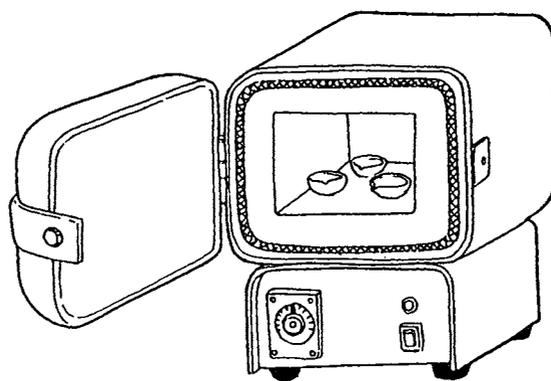
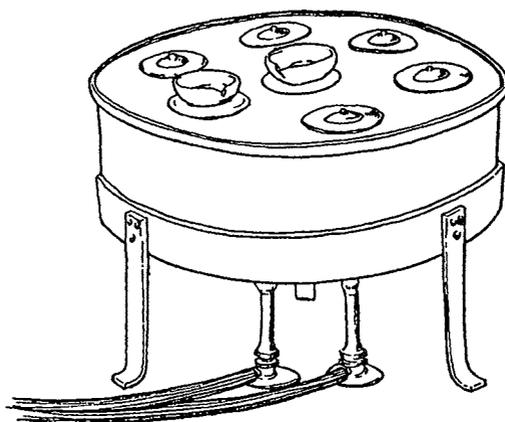


図5 灰分定量に用いる湯浴とマッフル炉。

全フェノール

[試薬]

1. フォーリンーシオカルト試薬 (F-C試薬) : 市販のタンパク質測定用フェノール試薬を10倍に希釈して使用。冷暗所に保存。
2. 炭酸ナトリウム溶液
75gの無水炭酸ナトリウムを水1ℓに溶かす。
3. 没食子酸標準水溶液 --- 0~50mg/ℓ。

[操作]

標準フェノール溶液または白ワインを1/10に水で希釈する。赤ワインの場合は1/50に希釈する。この試料液1mℓを15mℓ容試験管にとり、10倍希釈F-C試薬5mℓを加える。F-C試薬添加後30秒以上8分以内に炭酸ナトリウム溶液4mℓを加えてよく攪拌する。室温で2時間あるいは50℃の恒温槽中で5分間保温する。室温に戻してから765nmの吸光度を測定する。没食子酸標準液の検量線より全フェノール量を算出する。

フラボノイド

10mℓのワインまたは標準没食子酸溶液を5mℓの塩酸溶液(100mℓの濃塩酸を蒸留水で薄めて250mℓとする)と5mℓのフォルムアルデヒド水溶液(37% HCHOの13mℓを水で薄めて100mℓとする)と混合する。スクリー栓の付いた試験管上部(ヘッドスペース)の空気を窒素ガスで置換し(2~3分間窒素ガスを吹き込む)、栓をして室温で24時間放置する。遠心してその上清を0.45μmのメンブランフィルターで濾過し、濾液のフェノール量(非フラボノイド型フェノールに相当する)を上記のF-C法で定量する。全フェノールからこの値を引くと沈澱したフェノール量(フラボノイド型フェノール)が算出できる。

アントシアニン

赤ワイン1~2mℓを0.1N塩酸で100mℓとし、520nmの吸光度を測定する。

$$C (g/l) = \frac{(A) (MW) (F)}{(e)}$$

C : 色素の重量 (g/l) A : 520 nmの吸光度

e : 分子吸光係数 MW : 色素の分子量

F : ワインの希釈倍数

上の式で、ワインがヴィテス・ヴィニフェラ種ブドウの場合は、マルビジン-3-モノグルコシドの分子吸光係数 (e=28,000) と分子量529を使い、交配種またはヴィテス・ラブラスカ種の場合にはマルビジン-3,5-ジグルコシドのe値 (37,700) と分子量691を使う。

ワインカラー

[白ワインの色] 420 nmか430 nmでの吸光度を測定する。ワインの褐変と関係した色である。

20 mlの白ワインを0.45 μmのメンブラン・フィルターで濾過し、水を対照として420 nmの吸光度を測定する。

[赤ワインの色] ワインの420 nmと520 nmの吸光度を測定する。

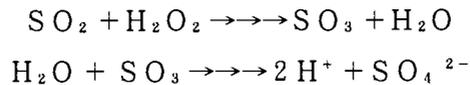
520 nmに対する420 nmの吸光度の比はワインの色相と関連し、二つの吸光度の和はワインの照り、輝きの度合に関連したものである。

赤ワインを0.45 μmのメンブラン・フィルターで濾過し、そのpHを測定する。このワインを1:10に水で希釈し、そのpHを元のワインのpHと同じにする。このためには0.2 Mクエン酸緩衝液と0.1M磷酸緩衝液を使用する。pHを調整したワインの420 nmと520 nmの吸光度を測定する。

亜硫酸

[H₂O₂酸化によるSO₂の定量]

酸性にしたワインに室温で空気を吹き込み（通気）、この気流と共に離れてきたSO₂を過酸化水素で酸化し、生成されたH⁺を滴定する。



試 薬

0.01N NaOH標準液：炭酸ソーダ管をつけて保存する。
(市販の試薬をそのまま使用)

0.3%過酸化水素水：市販の30% H₂O₂溶液1mlを水で薄めて100mlとする。
毎日新しく調製し、冷蔵庫に保存せよ。

指 示 薬：メスフラスコに0.1gのメチルレッドと0.05gのメチレンブルーをいれ、50%エタノールで100mlとする。

25% 燐 酸：280mlの燐酸(90%)を水で薄めて1lとする。

[操作]

(遊離亜硫酸)

50ml容の梨型フラスコ(図6のD)へ0.3%過酸化水素水の10mlを入れる。3滴の指示薬を液が紫色になるように落とす。数滴の0.01N NaOHを加えて液の色を青緑色に変える(約1滴の添加で青緑色になる)。

アダプターCにバキュームラインを取り付ける。丸底フラスコGへ20mlのワインと25%燐酸をいれる。結合亜硫酸の解離を防ぐため、水中に浸す。コンデンサーBに水を通し始める。これは揮発性有機酸の蒸留を抑制するためである。バキュームを開始し(水流ポンプで引いてもよい)を開始し、15分間1000から1500ml/分の空気をこの反応系に

いれる。フラスコDをはずし、生成された酸を青緑色の終点になるまで、10mℓ容ビュレットを用いて0.01N NaOHで滴定する。ブランクテストは行ったほうがよい。

$$\text{遊離のSO}_2 \text{ (mg/ℓ)} = \frac{(N)(V)(32)(1000)}{v}$$

N = NaOHの規定度
 V = 滴定に要したNaOHの量 (mℓ)
 v = ワインの量 (mℓ)

(結合亜硫酸)

遊離の亜硫酸の測定を終わった梨型フラスコDを洗い、これに新しく0.3%過酸化水素水10mℓと3滴の指示薬を加える(紫色)。これに約1滴の0.01N NaOHを加えて青緑色とする。フラスコDを蒸留装置に再び取り付ける。遊離亜硫酸の測定に使用した試料が残っているフラスコGを穏やかな沸騰が起こるまで加熱して前と同様な方法で15分間蒸留する。加熱は突沸しないようにバーナー操作を注意する。注意しなければならないのは、コンデンサーBに十分に冷たい水を流す(還流)ことである。還流は揮発酸の蒸留を防ぐ。滴定には25mℓ容ビュレットを使う。結果の計算は前項と全く同じである。

(全亜硫酸)

結合亜硫酸量と遊離亜硫酸量を加算すれば、全亜硫酸量となる。

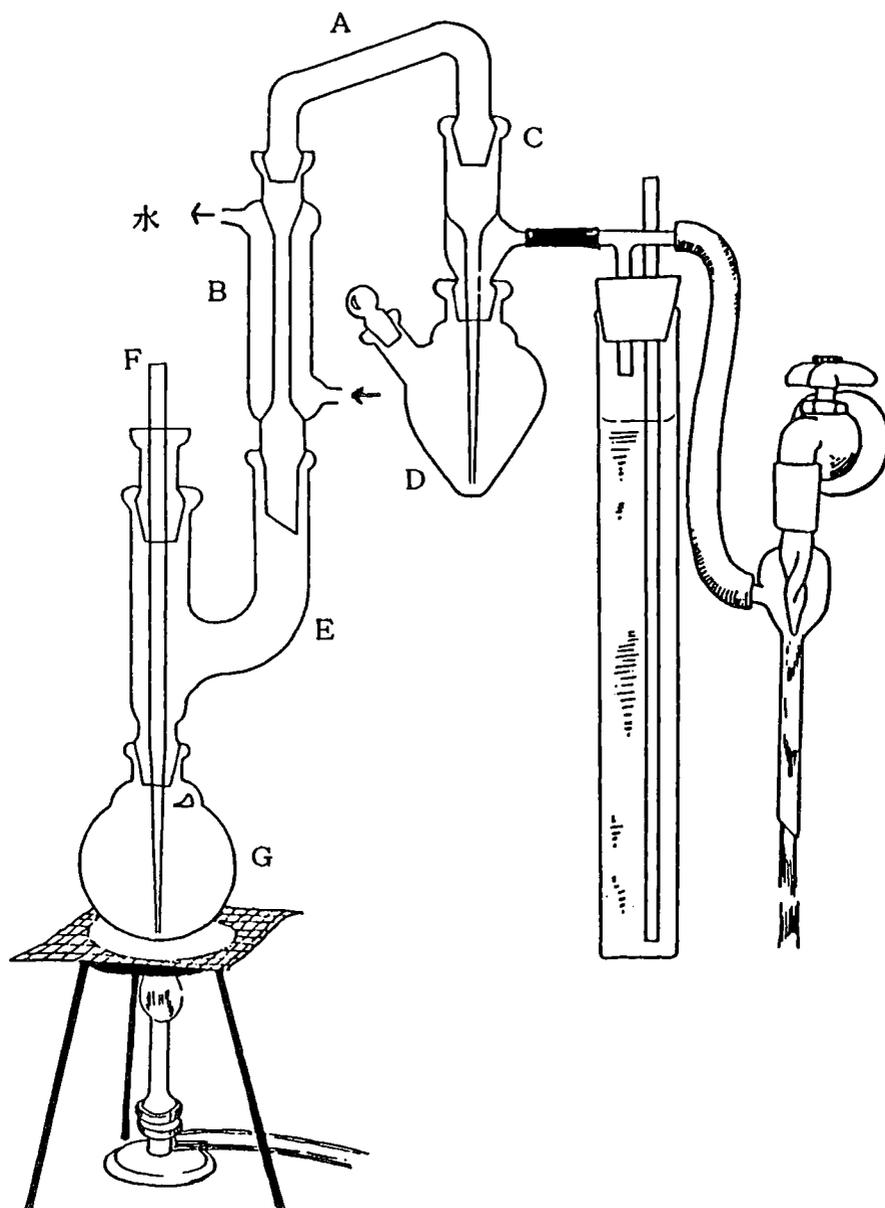


图6 SO_2 定量装置。