

飲料中のエチルアルコールの定量分析法（第一報）

坂東 健太郎*、藤原 健逸*、徳島 将光**、五十嵐 智大**、松本 啓嗣**

Study of quantitative analysis method for ethyl alcohol content in beverages (the first report)

BANDO Kentaro*, FUJIWARA Kenitsu*, TOKUSHIMA Masamitsu**,
IGARASHI Tomohiro**, MATSUMOTO Yoshitsugu**

*Hakodate Customs Laboratory 24-4, Kaigan-cho, Hakodate, Hokkaido 040-8561 Japan

**Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba 277-0882 Japan

We examined whether we can use an HP-INNOWAX column using the gas chromatography/Mass spectrometers for measuring low concentration alcohol solutions by the ethyl alcohol quantitative analytical method which is prescribed by the National Tax Agency. In case of the HP-INNOWAX column, the best internal standards were 2-methyl-1-propanol and 1-butanol. Furthermore, we studied the accuracy of the repetition test and found that the coefficient of variation for the quantitative analysis of ethyl alcohol content by using a DB-ALC1 (column which meets the standard of the National Tax Agency method) and an HP-INNOWAX column were both less than 1.0%, confirming there was no significant difference between the cases using the two columns.

1. 緒 言

関税定率法及び酒税法において、アルコール飲料はそのアルコール分によってアルコールを含有しない飲料とアルコール飲料に区分される。関税定率法においては、関税率表第22類注3の規定により、アルコール分0.5%を超えるものがアルコール飲料に分類され、関税率はアルコール飲料には従量税が、アルコールを含有しない飲料には従価税が設定されており、一般的にはアルコールを含有しない飲料の方が高額な関税を課せられる。また、アルコール分とは、国内分類例規第22.03項～22.08項1.により温度20度におけるアルコール容量分と規定されている。一方、酒税法においては、同法第2条第1項によりアルコール分1%以上のものが酒類に分類されて酒税が課される。また、アルコール分とは同法第3条第1項第1号により温度15度の時において原容量百分中に含有するエチルアルコールの容量と規定されている。

税関で一般的な食品中のアルコール分の定量分析法は、標準アルコール溶液のアルコール分を酒精度浮ひようにより測定し、分析試料のアルコール分を蒸留して定容したものと共にガスクロマトグラフ（GC）により測定し、定量する方法が採られている。この方法では、分析試料の蒸留による前処理が必要となるため、細心の注意を払わなければ、エチルアルコールの減失により測定値に影響が生じることがある点、また、その蒸留に約40分もの時間を要する点が難点として挙げられる。その他にも、酒精度浮ひようは平成23年4月特定計量機器検定検査規則の改定により、新しい規格が定められており、税関で現在保有している酒精度浮ひようとは新しい規格のものとの間で、測定値に差異が生じる場合があることも改善すべき点として挙げられる。

一方で、国内のアルコール含有飲料の公定分析法として、国税庁所定分析法¹⁾があり、試料を蒸留して調整した検液について、酒精度浮ひようによりアルコール分を又は振動式密度計により密度を測定する方法、試料を蒸留せずそのまま検液としてGCにより分析する方法等が規定されている。

国税庁所定分析法3-4-6に定める精度（ガスクロマトグラフ装置又は分析条件等を変更した場合に、適宜10回程度の繰り返し試験を実施し、定量値の変動係数が1%以内でなければならない（後略））が得られれば、3-4-3～3-4-9に示す以外の方法によっても差し支えない²⁾とされていることから、本研究では、税関分析で広く用いられており、かつアルコール類等高極性化合物の分離に適しているHP-INNOWAXを用いてアルコール分の測定を行い、国税庁所定分析法の精度の規定を満たしているか否か及びDB-ALC1を用いた場合の定量結果との有意差の有無を検証したので報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

約1.0% (v/v)エタノール水溶液

約0.5% (v/v)エタノール水溶液

2.1.2 試薬

エタノール（和光純薬、試薬特級）

2-プロパノール（和光純薬、試薬特級）

1-ブタノール（和光純薬、試薬特級）

2-メチル-1-プロパノール（東京化成、試薬特級）

* 函館税関業務部 〒040-8561 北海道函館市海岸町24-4

** 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉6-3-5

2.2 装置及び測定条件

2.2.1 密度測定

振動式密度計：DMA-4500M（ANTONPAAR 社製）

2.2.2 GC 法

ガスクロマトグラフ：7890A（Agilent Technologies 社製）

分離カラム：

(a)DB-ALC1, 30 m×0.53 mm i.d., 膜厚 3.00 μ m

(b)HP-INNOWAX, 30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μ m

検出器：水素炎イオン化型検出器 検出器温度：250℃

注入口温度：250℃ 注入量：1 μ L

スプリット比：(a) 10:1 (b) 25:1

カラム流量：(a) 6 mL/分 (b) 0.75 mL/分

キャリアーガス：ヘリウム

カラム温度：(a) 40℃(8分) (b) 40℃(4分)-(15℃/分)-210℃

内部標準：(a) 2-プロパノール (b) 1-ブタノール

2.3 実験方法

2.3.1 標準液の調製

(1) 検量線用標準溶液

エタノール約 0.32 g, 約 0.64 g 及び約 0.96 g をそれぞれ異なるメスフラスコに量りとり、蒸留水を加えて約 100g とし、容量濃度約 0.4%, 約 0.8% 及び約 1.2% のエタノール水溶液を調製し、15℃における密度を振動式密度計により測定し、国際アルコール表²⁾を用いて容量濃度を求めた。

(2) 内標準液

1-ブタノール、2-プロパノール及び2-メチル-1-プロパノール約 1g ずつをそれぞれ異なるメスフラスコに測りとり、各々蒸留水を加えて 100mL に定容した。

(3) アルコール分約 0.5% 及び約 1.0% 水溶液の調製

15℃におけるアルコール分の容量濃度が、約 0.5%, 約 1.0% となるように、エタノールを蒸留水に加えた。

2.3.2 HP-INNOWAX を使用する場合の内標準物質の検討

2.2.2 の(b)の条件の GC において、2.3.1(2)の内標準液を測定し、エタノールとの分離を確認することにより、内標準物質として使用可能な物質を検討した。

2.3.3 DB-ALC1 を使用する場合（以後、GC 法(a)とする）と HP-INNOWAX を使用する場合（以後、GC 法(b)とする）の定量結果の比較

2.3.1 で調製した各試料について、以下の手順により GC で測定し、2.2.2 の GC 法(a)の条件による結果と GC 法(b)の条件による結果を比較した。

- ・2.3.1(1)で調製した検量線用標準溶液 0.1mL 及び(2)で調製した内標準液 0.9mL を 2mL 容スクリーバイアルに移し入れてよく混ぜ、その 1 μ L を GC に注入して測定した。得られた内標準物質とエタノールのピーク面積比をエタノール濃度に対してプロットし、検量線を作成した。

- ・2.3.1(3)で調製した溶液 0.1mL について、上記と同様の操作により GC に注入して測定し、得られた内標準物質とエタノールのピーク面積比から、検量線を用いて溶液中のアルコール分を算出した。

3. 結果及び考察

3.1 GC 法(b)の内標準物質の検討結果

2.3.1(2)の 3 種類の溶液及び 2.3.1(3)のアルコール分 1.0% 水溶液のクロマトグラムを Fig. 1 に、保持時間等を Table 1 に示す。2-プロパノールとエタノールの分離度は約 1.4 であり、一般的にピークの完全分離の目安となる 1.5 に満たなかった。一方、1-ブタノール及び2-メチル-1-プロパノールはいずれもエタノールと十分に分離し、不純物としてエタノールを含有していないことも確認できた。

本研究では、税関分析で一般的に使用されている 1-ブタノールを、GC 法(b)の内標準物質として選択した。

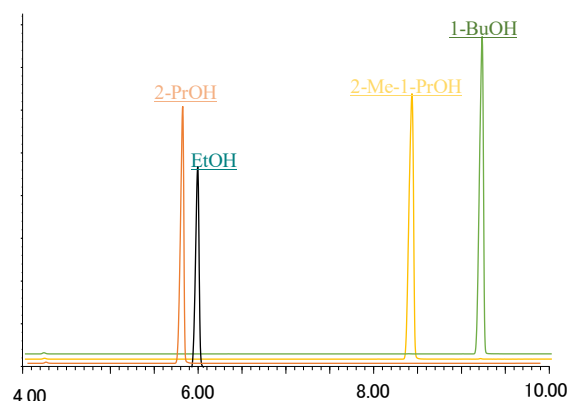


Fig.1 Chromatograms of internal standards and ethanol aqueous solution
(2-PrOH: 2-propanol, EtOH: Ethanol,
2-Me-1-PrOH: 2-Methyl-1-propanol, 1-BuOH: 1-Butanol)

Table1 Research result of internal standard

Compound name	2-PrOH	2-Me-1-PrOH	1-BuOH	EtOH
Retention time	5.816	8.404	9.212	5.930
Full width at half maximum	0.052	0.060	0.041	0.045
Resolution from Ethanol	1.386	27.803	45.032	-

3.2 GC 法(a)及び GC 法(b)の変動係数

2.3.3 の実験により得られた繰り返し測定の変動係数は Table 2 と Table3 のとおりであった。

国税庁所定分析法では、分析条件を変更した場合に、10 回程度の繰り返し試験を実施し、定量値の変動係数が 1% 以内になる精度を要求している。今回の実験では、エタノール 0.5% 水溶液及び

1.0%水溶液の測定において、GC 法(a)及び GC 法(b)の変動係数を比較すると、エタノール 0.5%水溶液及び 1.0%水溶液のどちらにおいても、GC 法(b)の変動係数が大きくなり、GC 法(a)の定量精度が GC 法(b)より高いという結果ではあったが、GC 法(b)は変動係数 1.0%以内という精度の規定を満たしていた。

以上のことから、国税庁所定分析法において、カラムを HP-INNOWAX に変更した場合でも、要求される精度でのアルコール分の測定が可能であることがわかった。

Table2 Result of analysis by GC method(a) and GC method(b) at 10times measurement

10 times measurement	Ethanol 0.5%aq			
	GC method(a) Column:DB-ALC1		GC method(b) Column:HP-INNOWAX	
	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)
1	0.5022	0.108	0.5051	0.908
2	0.5034		0.4961	
3	0.5021		0.4923	
4	0.5028		0.5027	
5	0.5034		0.4982	
6	0.5029		0.5080	
7	0.5038		0.5003	
8	0.5032		0.5027	
9	0.5029		0.5016	
10	0.5034		0.4983	
10 times measurement	Ethanol 1.0%aq			
	GC method(a) Column:DB-ALC1		GC method(b) Column:HP-INNOWAX	
	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)
1	1.0092	0.119	1.0056	0.411
2	1.0073		1.0128	
3	1.0068		1.0057	
4	1.0086		1.0148	
5	1.0087		1.0167	
6	1.0089		1.0088	
7	1.0086		1.0107	
8	1.0070		1.0092	
9	1.0068		1.0043	
10	1.0056		1.0126	

Table3 Result of analysis by GC method(a) and GC method(b) at 10 samples measurement.

10 Samples measurement	Ethanol 0.5%aq			
	GC method(a) Column:DB-ALC1		GC method(b) Column:HP-INNOWAX	
	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)
1	0.5048	0.450	0.4986	0.894
2	0.5053		0.5073	
3	0.5069		0.4966	
4	0.5094		0.5018	
5	0.5044		0.5016	
6	0.5017		0.5039	
7	0.5073		0.4983	
8	0.5062		0.5028	
9	0.5076		0.5076	
10	0.5031		0.5105	
10 Samples measurement	Ethanol 1.0%aq			
	GC method(a) Column:DB-ALC1		GC method(b) Column:HP-INNOWAX	
	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)	Alcoholic Strength Determined (vol%)	Coefficient of Variation (%)
1	1.0047	0.475	1.0050	0.629
2	0.9981		1.0172	
3	1.0073		1.0051	
4	0.9984		1.0005	
5	1.0008		0.9973	
6	1.0018		0.9989	
7	0.9940		1.0024	
8	0.9976		0.9942	
9	0.9919		1.0036	
10	1.0032		1.0069	

3.3 GC 法(a)及び GC 法(b)の定量値比較

GC 法(a)及び GC 法(b)の定量値を統計的手法である t 検定によって比較した。なお、有意水準には、一般的な水準である 5%(p=0.05)を採用した。

エタノール 0.5%水溶液の 10 回測定における t 検定では p 値が 0.122, エタノール 0.5%水溶液 10 検体の測定における t 検定では p 値が 0.103 であり、いずれにおいても有意差が認められない。エタノール 1.0%水溶液の 10 回測定、10 検体測定においても、p 値がそれぞれ 0.109, 0.202 となり、いずれにおいても有意差が認められなかった。

4. 要 約

国税庁所定分析法中の 3-4 アルコール分 B)ガスクロマトグラフ分析法により、低濃度アルコール溶液(約 0.5% (v/v), 約 1.0% (v/v))のアルコール分を定量する場合、税関分析で広く用いられている HP-INNOWAX が使用可能か検討した。アルコール分約 0.5%及び 1.0%の水溶液について、国税庁所定分析法の基準を満たす DB-ALC1 による定量結果と比較したところ、有意差は認められず、繰り返し測定の精度についても国税庁所定分析法に定める基準を満たしていた。この結果から、カラムを HP-INNOWAX に変更しても、国税庁所定分析法の規定に従い分析することが可能であることが判明し、関税分類上の確認が必要とされるアルコール分 0.5%前後の物品について、国税庁所定分析法を適用できる可能性が示唆された。

今後は、既知量のアルコールを添加した飲料試料について、カラムを HP-INNOWAX に変更した国税庁所定分析法の結果と税関で一般的に採用されている蒸留したサンプルのガスクロマトグラフ分析の結果を比較し、有意差の有無や精度を検証する必要がある。

文 献

- 1) 国税庁：国税庁所定分析法（平成29年3月9日付一部改正）
- 2) 国際法定計量機関（OIML）：国際アルコール表（1975）