

# ICP-MS による貯蔵温度および容器に起因するワイン中微量金属成分の分析

## アプリケーションノート

食品試験・農業

### 著者

Helene Hopfer and Susan E. Ebeler  
Department of Viticulture and Enology  
University of California-Davis  
Davis, CA, USA

Jenny Nelson  
Agilent Technologies, Inc.  
Santa Clara, CA, USA



### 概要

ワインの金属成分は、原料のぶどうや、ぶどう栽培およびワイン醸造により取り込まれます (参考文献 1)。現在行われている研究のほとんどは、ワインの原産地域特定のための元素のプロファイリングに焦点が当てられています。しかし、以前の研究では、ぶどう畑の土壌の微量元素のプロファイルと、その土壌で栽培されたぶどうから作られたワインとの相互関係は乏しく、ワイン製造および貯蔵の過程の中で何らかの変化が起きていることが考えられます (参考文献 2)。

これは、ワイン製造の過程において、ぶどうがステンレスやオーク材、ガラスなど他のものと接触するためであり、特別に驚くことではありません。また、希土類元素は、ガラスのボトル、樽、ステンレスタンクの違いにより濃度が異なることが分かっています (参考文献 3)。しかし、いずれの文献にも貯蔵の条件の詳細については明記されていません (ガラスボトルの種類、樽の古さや種類、洗浄方法など)。上記の結果は、貯蔵の違いによるワイン含有元素のプロファイルを示唆しています。



また、これら以外の要素もワイン中微量元素のプロファイルに影響する可能性があります。本アプリケーションノートでは、ワインの容器および貯蔵温度が赤ワインの含有元素プロファイルに及ぼす影響について検証します[1]。ICP-MS を用い、20 以上の微量元素を定量しました。Mass Profiler Professional ソフトウェアを用い、微量元素の統計解析を行い、容器と貯蔵条件の違いによるマッピングを試みました。結果では、ワインの貯蔵温度は容器の種類に比べさほど影響はなく、スクリュウキャップで密栓されたワインには、スズが多く検出されました。

## 実験手法

### 化学物質および標準試料

全ての溶液は、Milli-Q (Millipore) を用いて抵抗 $>18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  で調製しました。

### 測定条件

本研究は Agilent 7700x ICP-MS を用いて測定を行いました。装置の設定条件を表 1 に示します。

表 1-1. 標準液

薬品/標準溶液	購入先
高純度硝酸	Fisher Scientific
Claritas PPT グレード内部標準溶液 Mix 1	SPEX CentriPrep
Claritas PPT Grade マルチエレメント 検量線標準液、溶液 2A および 3	SPEX CentriPrep
エタノール、200 ブルーフ	GoldShield

表 1-2. ICP-MS 装置パラメータ条件

RF 出力	1,550 W:
キャリアガス流量	1.03 L/min
ネブライザのガス	1.1 L/min
ネブライザタイプ	マイクロミスト
サンプリング深さ	10 mm
スプレーチャンバ温度	2 °C
ORS3 コリジョンセルガス流量 (He)	4.3 mL/min、 75As および 78Se では 10 mL/min
定量された同位体	51V、52Cr、55Mn、56Fe、57Fe、58Ni、 59Co、60Ni、63Cu、66Zn、75As、78Se、 111Cd、117Sn、118Sn、119Sn、120Sn、 133Cs、205Tl、208Pb
Sweep 回数/繰り返し	100、3 回繰り返し

### サンプル

市販のカリフォルニアセントラルコースト産の 2009 年カベルネ・ソーヴィニオンを 12 種類の測定に用いました。以下の通り、10 °C、20 °C、40 °C と 3 種類の貯蔵温度と 4 種類の容器タイプを検証しました。

- 0.75 L グリーンガラスボトルに天然コルクで密閉したもの (24 × 49 mm AC-1 グレード、ACI コルク、フェアフィールド、CA)
- 0.75 L グリーンガラスボトルにスクリュウキャップで密閉したもの (アルミ Stelvin キャップ 30 × 60 mm、Federfin Tech S.R.L.、トロレモ、イタリア、28.6 × 2 mm スズ-ポリ塩化ビニリデン (PVDC) ライナー、Oenosea、シャゼ、フランス)
- バッグインボックス (3 L DuraShield 34ES、Scholle Packaging、ノースレーク、IL)

全てのサンプルを 6 か月間、直立の状態での貯蔵しました。図 1 に使用したサンプルをまとめます。

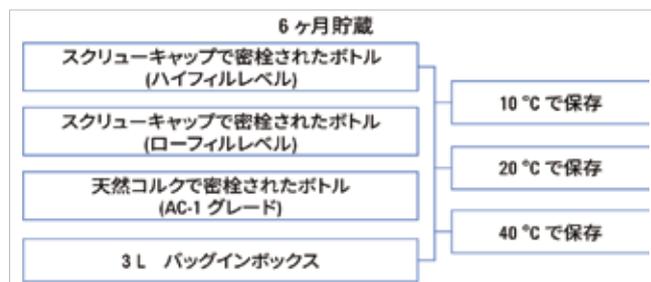


図 1. サンプルと貯蔵温度

### サンプル前処理

ワインサンプルは参考文献[1]で紹介された手順に沿って準備しました。1 % 硝酸にて 1:3 に希釈し、エタノール濃度を 4 % まで抑えましたワインは密栓されたものから直接採取され、揺れによってワインが密栓に触れないように注意しました。

### データ測定

Agilent MassHunter ソフトウェアを用いてデータ測定を行い、Mass Profiler Professional ソフトウェアにて主成分分析 (PCA) とヒートマップ分析を含む統計解析を行いました。

## 結果と考察

### 微量元素の定性と定量

測定された元素は全て 0.1 から 500 µg/L の 5 点濃度のマトリクスマッチ溶液 (1 % HNO<sub>3</sub> および 4 % エタノール) で作成した検量線から定量されました。図 2 に検量線の例を示します。R<sup>2</sup> (相関係数) は 0.999 以上でした。ワインは 3 回繰り返して分析され、0.5、1、10 µg/L の範囲でスズ (Sn) をスパイク添加したワインサンプルも品質管理用サンプル (QC サンプル) としてシーケンスに追加しました。

内部標準溶液を 1 % 硝酸にて 1 µg/L に希釈し、T コネクタにて接続してサンプルと同時にネブライザに注入しました。内部標準溶液には <sup>6</sup>Li、<sup>45</sup>Sc、<sup>72</sup>Ge、<sup>89</sup>Y、<sup>115</sup>In、<sup>159</sup>Tb、<sup>209</sup>Bi の元素が含まれていました。7 つのサンプルブランクを分析し、IUPAC に定められている手順に従って検出限界 (LOD) と定量下限 (LOQ) を算出しました。LOD および LOQ、検出下限 (DL) を表 2 に示します。

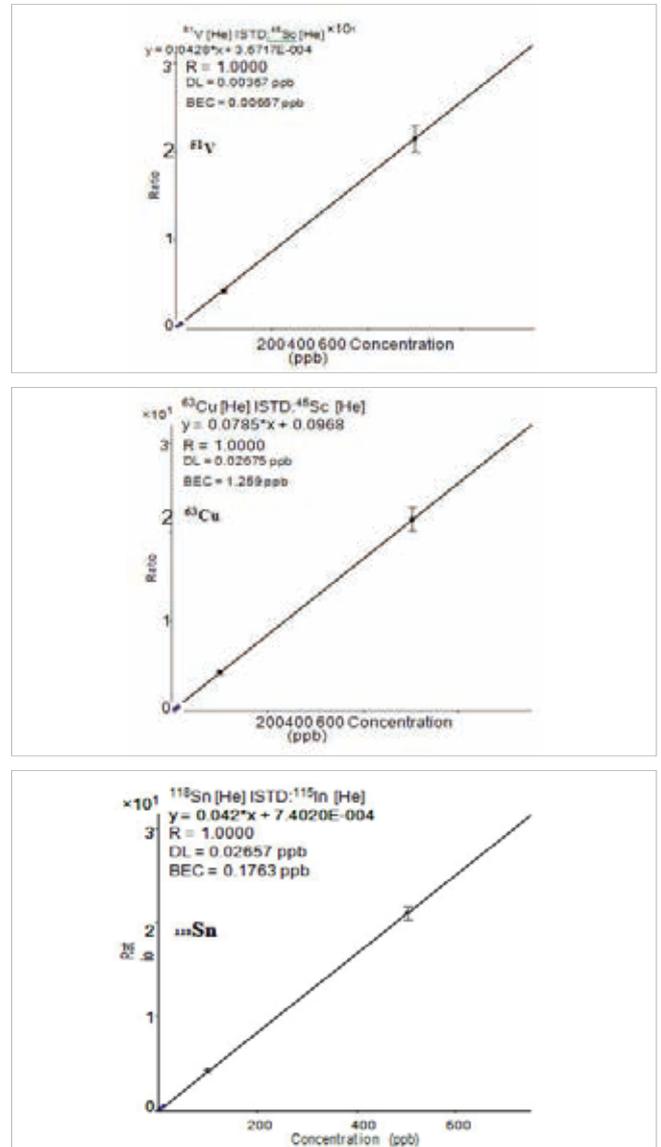
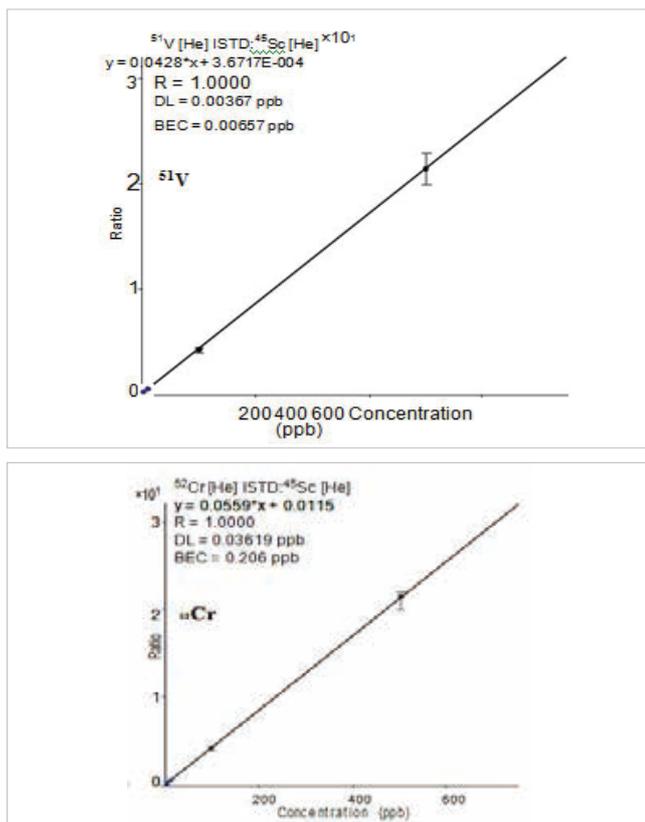


図 2. 5 元素の 0.1~500 µg/L の濃度範囲の検量線 (n = 3)。

表 2. 5 元素の検出下限 (LOD)、定量下限 (LOQ)、検出限界 (DL)。単位は µg/L (n = 7)。

	<sup>51</sup> V	<sup>52</sup> Cr	<sup>63</sup> Cu	<sup>118</sup> Sn	<sup>208</sup> Pb
LOD*	0.001	0.007	0.044	0.018	0.001
LOQ†	0.003	0.023	0.14	0.057	0.003
DL‡	0.004	0.036	0.027	0.027	0.006

\* LOD = 3.14\*sd (標準偏差)

† LOQ = 10\*sd

‡ DL は Agilent ICP-MS MassHunter Workstation ソフトウェア (v. A.01.02) により算出された値です。

### 容器および貯蔵温度による微量元素濃度の違い

表3にある通り、V、Cr、Pb、Cu、Snの5種類の元素は、容器と貯蔵温度により大きな違いがでました。バックインボックスは、一番低い微量元素濃度を示しました。ボトルサンプルでは、バッグインボックスサンプルよりクロムの濃度が高く、これは、サンプルがボトルに移し替えられる前に2日間ステンレスのボトルに保管されていたためだと考えられます。

Snのレベルは、高温でスクリーキャップで密閉されたボトルで高く、VとCuのレベルは温度が上がるほど減少しました。Cuのレベルの減少は、天然コルクとバックインボックスの場合にも見られました。ハイフィルとスクリーキャップで密閉されたボトルサンプルでは、V、CuおよびSnが全ての貯蔵温度について高い濃度となりました。全ての元素はそれぞれの規制値を下回っていました。

スクリーキャップで密閉されたサンプルのみSnのレベルの上昇が見られました。これは、スズがスズ-PVDCライナーから貯蔵されているワインに浸透したためだと考えられます。これは、暖められた際に起こる体積膨張のためにライナーにワインが接触してしまうためと考えられ、この効果は貯蔵温度が40℃の時に顕著に見られました。低温で貯蔵されたワインでは、ライナーにワインが触れないため、Snがどのようにして浸透するかは定かではありません。

容器タイプと貯蔵温度によるPbレベルの違いが見られ、特にハイフィルスクリーキャップにて10℃で保管した際は高いレベルとなりました(表3)。これらの違いは容器タイプの違いと、温度変化による金属錯体形成によるものと見られます。

表3. 容器のタイプおよび温度により元素の濃度が大きく異なる (p<0.05)。

		<sup>51</sup> V	<sup>52</sup> Cr	<sup>63</sup> Cu	<sup>118</sup> Sn	<sup>208</sup> Pb
バッグインボックス	10℃	14.8	14.1	21.1	0.1	4.3
	20℃	15.4	14.7	22	0.0	4.5
	40℃	13.9	14.1	11	0.0	4.6
天然コルク	10℃	15.5	22	84.1	0.8	5.4
	20℃	15.6	22.3	59.8	0.6	5.2
	40℃	13.1	18.4	28.5	0.4	4.5
ローフィル スクリューキャップ	10℃	15.5	22.7	41.5	6.0	5.1
	20℃	15.7	23	50.5	8.7	5.5
	40℃	15.3	22.7	33.8	12.3	5
ハイフィル スクリューキャップ	10℃	34.7	22.9	152.7	6.3	8.8
	20℃	22.1	22.1	68.7	8.3	6.5
	40℃	20.4	22.5	50.2	16.0	6.4

図3のヒートマップと図4のグラフにある通り、20種類の元素が容器タイプと温度の違いによりモニターされました。これらの元素の濃度パターンは、ボトルへの注入方法と温度管理の経歴のインジケータになり得ます。ヒートマップで大きく見られた違いは、3温度とも同様にバッグインボックスとハイフィルスクリーキャップでした。

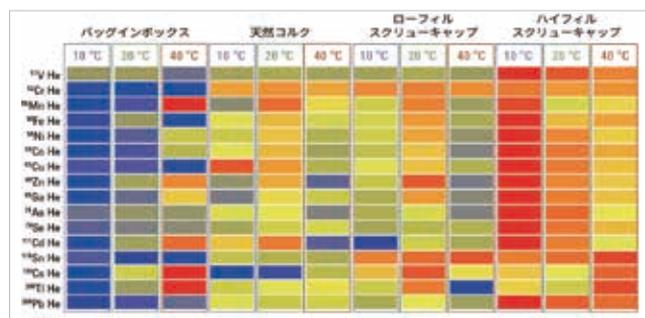


図3. 貯蔵温度および容器のタイプ別に分類された元素のヒートマップ、青=低濃度、黄色=中濃度、赤=高濃度

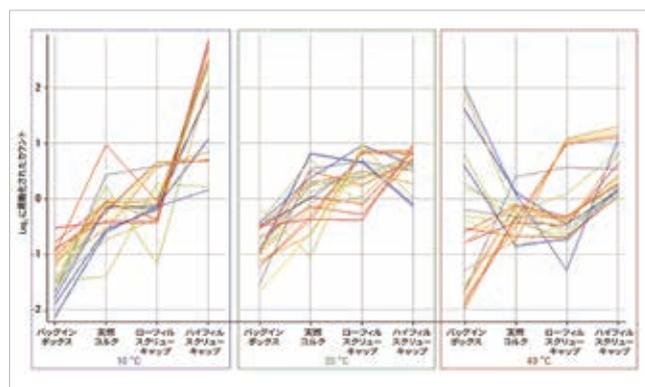


図4. 貯蔵温度および容器のタイプ別に Log2 に規格化された強度 (各線は各元素を表す)

### 主成分分析

Mass Profiler Professional ソフトウェアを用い、5種類の元素について、サンプルの類似点と相違点をグラフ化する主成分分析 (Principal Component Analysis: PCA) を行いました。最初の2つの主成分 (PC) は、全体の93.2%の寄与が見られ、PC1では76.0%、PC2では17.2%となりました。

サンプルは PC 1 に沿って容器タイプによって分別され、バッグインボックスサンプルは PCA バイプロットの左側、天然コルク密閉ボトルの隣に配置されました (図 5 参照)。2 つの密閉スクリーキャップ (ハイおよびロースクリーキャップ) はバイプロットの中央および右側に配置されました。PC 2 は、貯蔵温度の温度の違いにより分別されました。よって、PCA 分析は 4 つの容器タイプに分類され、ワインサンプルの容器の違いを元素の濃度パターンにより予想することができます。

図 6 に、異なるサンプルの PCA ローディングプロットを示します。原点から各元素の距離は、元素が容器タイプまたは貯蔵条件と関係があるかないかを示しています。今回の場合、5 元素全てが深く関与していることが分かりました。

図 7 のベン図は、5 元素がそれぞれ大きく異なることから、貯蔵条件よりも容器のタイプが元素成分を決定する上で一番影響を及ぼすことを示しています。

## 結論

ICP-MS にてワインを分析し、ワインの容器や保管方法など外因性因子によりワイン中の含有元素のプロファイルが異なることが分かりました。容器のタイプが PC 1 に影響を及ぼし、貯蔵温度は銅の濃度に大きく影響を及ぼすことが分かりました。更に、製造と貯蔵段階ごとに詳細に分析することで、ワイン製造過程による元素成分の影響をより明確に把握することができます。

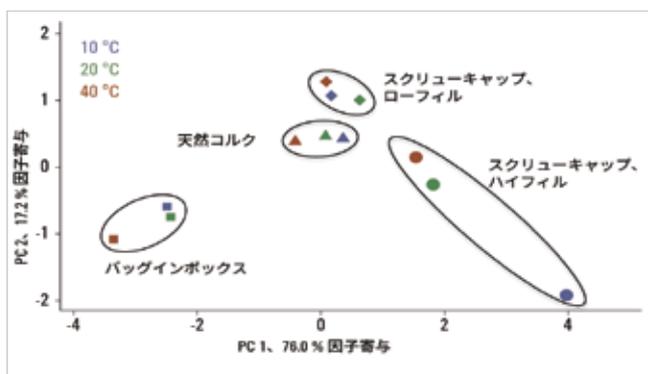


図 5. PCA バイプロット。容器タイプ別 PC 1 と温度別 PC 2。

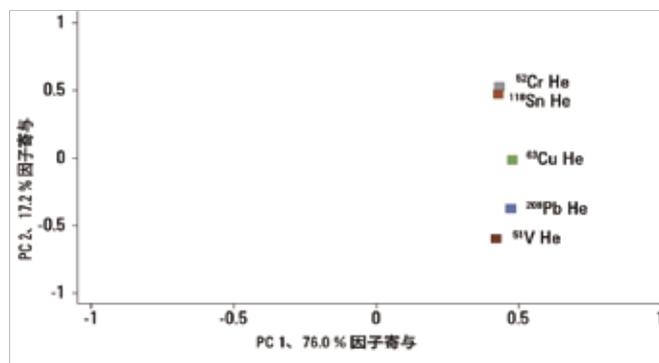


図 6. PC 1、PC 2 について貯蔵と容器の違いによる元素成分を表した PCA ローディングプロット。

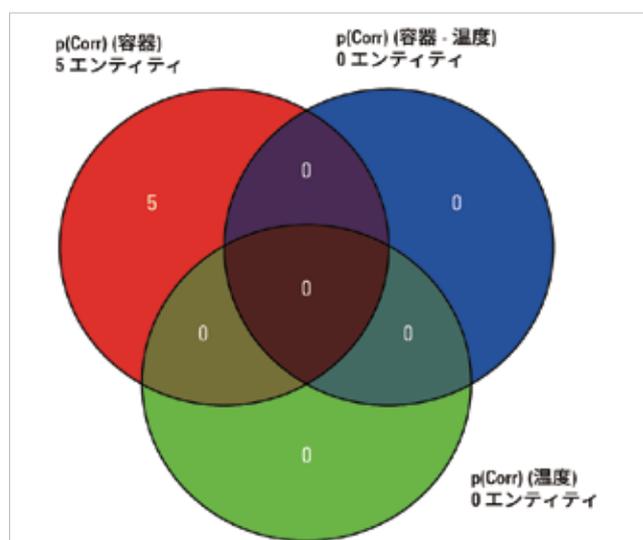


図 7. 容器のタイプが、温度または容器・温度より、元素成分に影響を及ぼすことを示すベン図。

## 参考文献

1. H. Hopfer, et al., "Profiling the trace metal composition of wine as a function of storage temperature and pack-aging type", *J. Anal.At.Spectrom.*, 28, 1288-1291 (2013).
2. V. F. Taylor, et al., "Multielement analysis of Canadian wines by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and multivariate statistics", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 856-860 (2003).
3. E. C. Rossano, et al., "Influence of winemaking practices on the concentration of rare earth elements in white wines studied by inductively coupled plasma mass spectrometry", *J. Agric.Food Chem.*, 55, 311-317 (2007).



ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンタ

**0120-477-111**

**email\_japan@agilent.com**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、  
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。  
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は  
予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2017

Printed in Japan, July 4, 2017

5991-2570JAJP