

Agilent J&W DB-HeavyWax GC カラムによるワイン中の煙による汚染化合物の高速分析

著者

Vanessa Abercrombie
Agilent Technologies, Inc.

概要

ワイン中のグアヤコールや 4-メチルグアヤコールなどの煙による汚染化合物の分析には、選択イオンモード (SIM) やマルチリアクションモード (MRM) といった高感度の GC/MS 検出メソッドが必要です。DB-HeavyWAX GC カラムはワイン中の極性を持つ芳香族化合物の分析に最適です。DB-HeavyWAX の 280 °C の最上等温分析により、ワイン中の分子量の大きい化合物を空焼きできます。さらに、DB-HeavyWAX カラムの温度安定性の改善により、長期間にわたるワインの注入においてリテンションタイムが安定し、再現性が向上します。

はじめに

ワインの製造プロセスでは、ブドウの育成および成熟が最も重要な段階であることは間違いありません。ヴェレゾン (着色) の期間、酸の濃度は下がり糖度が上がり、同時に芳香族化合物と香り化合物が生じ始めます。さまざまな外部要因がありますが、ブドウの成熟および収穫時期の決定に最も影響を与えるのは気候条件です。近隣の火事による煙など、気温と関係しない他の環境条件がワインの官能的品質に大きな悪影響を与える場合もあります。

山林火災は、特にオーストラリアや米国西部のブドウ畑付近では珍しいものではありません。ブドウの実のヴェレゾン後に火事が起きると、葉が煙を吸収します。その後、光合成により二酸化炭素が炭水化物に変換され、実の中の糖度は上昇しますが、煙による汚染化合物のプリカーサも葉から実に移動します¹。発酵中に強酸がこれらのプリカーサを加水分解して芳香族化合物のグアヤコールと 4-メチルグアヤコールを形成します。煙を原因とするこれらの化合物の存在は、煙汚染とよく呼ばれます。煙に晒された後、実がブドウの木になったままの状態が長く続くほど、煙のプリカーサ化合物が実を汚染する可能性が高まり、最終製品のワインの汚染リスクも高まります²。

オーク樽の中で熟成させたワインもグアヤコールや 4-メチルグアヤコールの濃縮を引き起こしますが、この 2 つの化合物の比が異なります。煙汚染に晒された実の場合、4-メチルグアヤコールの約 4 倍の量のグアヤコールが含まれます³。オーク樽から移る香りは煙およびトースト香として認知されます。一方、煙汚染に由来するこの 2 つの化合物が存在する場合、キャンプファイヤーや灰皿のような臭いとなり、ワインには望ましくありません。

煙汚染化合物の分析の検出下限は 1 ppb を検出できるほどに感度が高くなければなりません。このため、GC/MS 分析で SIM が一般的に使用されます⁴。ワインの直接分析は簡単ではありません。糖類や芳香族化合物は保持力が強く、従来の WAX タイプのカラムで安定性が保証された温度よりも最終温度を高くしてカラムを空焼きしなければならぬからです。DB-HeavyWAX GC カラムの温度上限は等温分析で 280 °C、昇温分析で 290 °C と向上しており、未希釈のワインを直接注入した

後、カラムを安全に空焼きできます⁵。さらに、高速な昇温速度と 280 °C という高い最終温度によって、ワイン中の煙汚染化合物の分析時間を 15 分未満に短縮できます。

試薬と実験方法

実験ではスプリット/スプリットレス注入口付きの Agilent 7890 GC および Agilent 7010 トリプル四重極 GC/MS と、Agilent 7693 サンプラおよび Agilent MassHunter 制御ソフトウェアを使用しました。

サンプル前処理

10 % エタノール溶液は、クラス A 計測用ガラス容器を使用して純エタノール (Sigma-Aldrich 社) を蒸留水で希釈して調整しました。グアヤコールと 4-メチルグアヤコールの標準溶液は Sigma-Aldrich 社から購入し、10 % のエタノール溶液で 10 ppb の濃度に調整しました。市販の赤ワインと白ワインは地域のマーケットで購入し、そのままカラムに 0.5 µL 注入しました。

分析条件

GC 分析条件	
カラム	DB-HeavyWAX 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm (p/n 122-7132)
キャリアガス	ヘリウム、定流量、1.2 mL/min
オープン	150 °C (2 分間)、30 °C/分で 280 °C まで昇温 (8 分間)
注入口	スプリットモード、250 °C、スプリット比 200:1
注入口ライナ	ウルトラライナート低圧力損失 (p/n 5190-2295)
サンブラ	Agilent 7693 オートサンブラ
消耗品	
セプタム	ブリード/温度最適化 (BTO)、11 mm セプタム (p/n 5183-4757、50 個)
ゴールドシール	ウルトラライナートゴールドシール (p/n 5190-6145、10 個)
バイアル	2 mL、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、(p/n 5182-0716、100 個入り)
バイアルインサート	250 µL ガラスインサート、不活性化 (p/n 5181-8872、100 個)
バイアルキャップ	9 mm 青色スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5185-5820、500 個)
注入口/MSD	85:15 ポリイミド: グラファイトフェラル (p/n 5062-3508、10 個)

7010 トリプル四重極 MSD 分析条件

ピーク	化合物	定量			定性			定性		
		プリカー サイオン (m/z)	プロダクトイ オン (m/z)	コリジョン エネルギー (V)	プリカー サイオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	コリジョン エネルギー (V)	プリカー サイオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	コリジョン エネルギー (V)
1	グアヤコール	180.9	81.0	10	123.9	81.1	20	123.9	108.9	10
2	4-メチルグアヤコール	137.9	122.9	10	122.9	66.9	10	122.9	95.0	5

結果と考察

ワインに含まれる芳香性化合物の分析は、液体注入では難しい場合があります。これは、ワインには分子量の大きな化合物や沸点が高い化合物など、さまざまな化合物が含まれ、最終温度を高くするか、カラムから完全に溶出

するまでの分析時間を長くする必要があるためです。280 °C という最終温度の分析能力により、すべての化合物を 15 分未満で DB-HeavyWAX カラムから溶出させることができます。図 1 は NIST 検索で同定した *m*-フェネチルアルコールなどの化合物を溶出できることを示しています。280 °C の最終温度は 8

分間のみ保持されました。最終温度が低くなると、この化合物がカラムから溶出するのに必要な最終保持時間は長くなり、分析時間全体も長くなります。

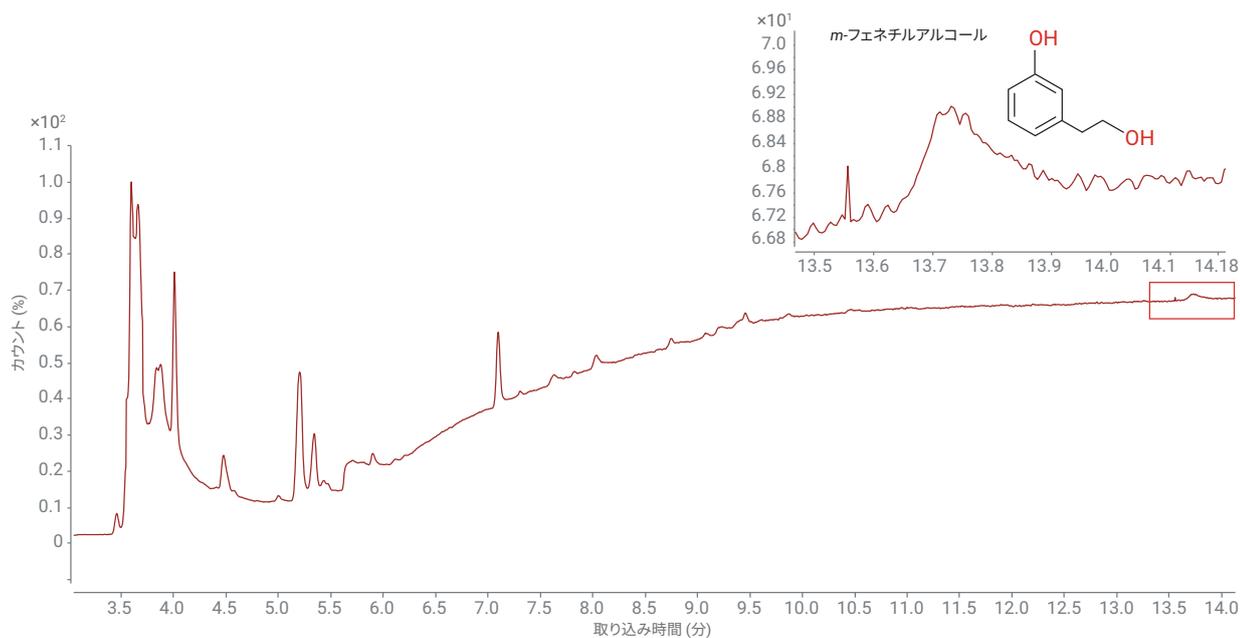


図 1. 赤ワインの注入のフルスキャン

嗅覚系はワイン中の約 1 ppb という低濃度の煙汚染化合物を検出するため、SIM や MRM などの高感度メソッドを使用する必要があります。サンプル前処理なしでワインを注入すると、問題となり得る干渉が生じることがあります。しかし、GC/QQQ を MRM で動作させることによって、時間のかかるサンプル前処理

をせずに必要な感度を達成できます。図 2 は 10 ppb の煙汚染化合物の標準溶液を注入して MRM で分析した結果です。標準溶液の適切なピーク形状はこのメソッドの感度を示しています。

図 3 は、オーク樽を使用しないバググインボックスの白ワインのサンプルと、これに 10 ppb の煙汚染化合物をスパイクしたものを分析した結果です。白ワインのサンプルマトリックスにおいても、グアヤコールと 4-エチルグアヤコールが明らかに検出されました。

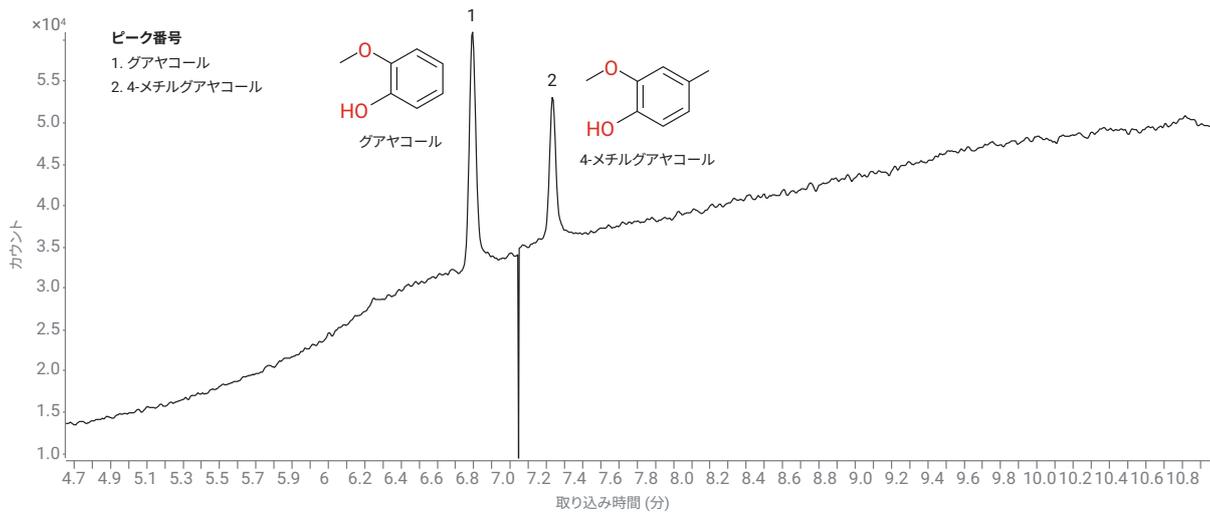


図 2. MRM モードで測定した 10 ppb の煙汚染化合物の標準溶液

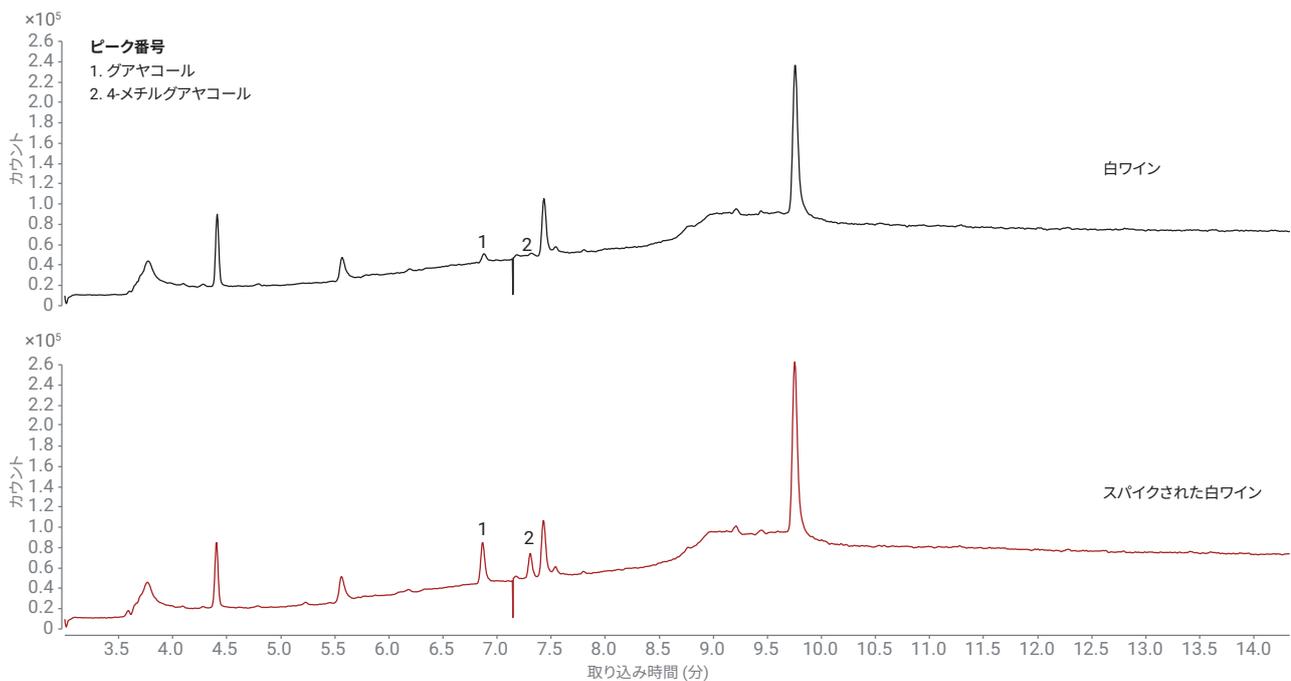


図 3. 10 ppb の煙汚染化合物をスパイクした白ワインとスパイクしない白ワインを MRM モードで測定

再現性

図 4A と 4B は、煙汚染化合物の分析での水溶液マトリックスの 100 回の注入における DB-HeavyWAX カラムの再現性と耐久性を示しています。図 4A の 10 ppb 煙汚染の標準溶液と図 4B の赤ワインは、10 % エタノール水溶液の 100 回注入の前と後に注入しました。10 % エタノール水溶液中の標準溶液と赤

ワインのどちらのマトリックスでも、100 回の水溶液マトリックス注入後に再現性が示され、DB-HeavyWAX の耐久性が実証されました。

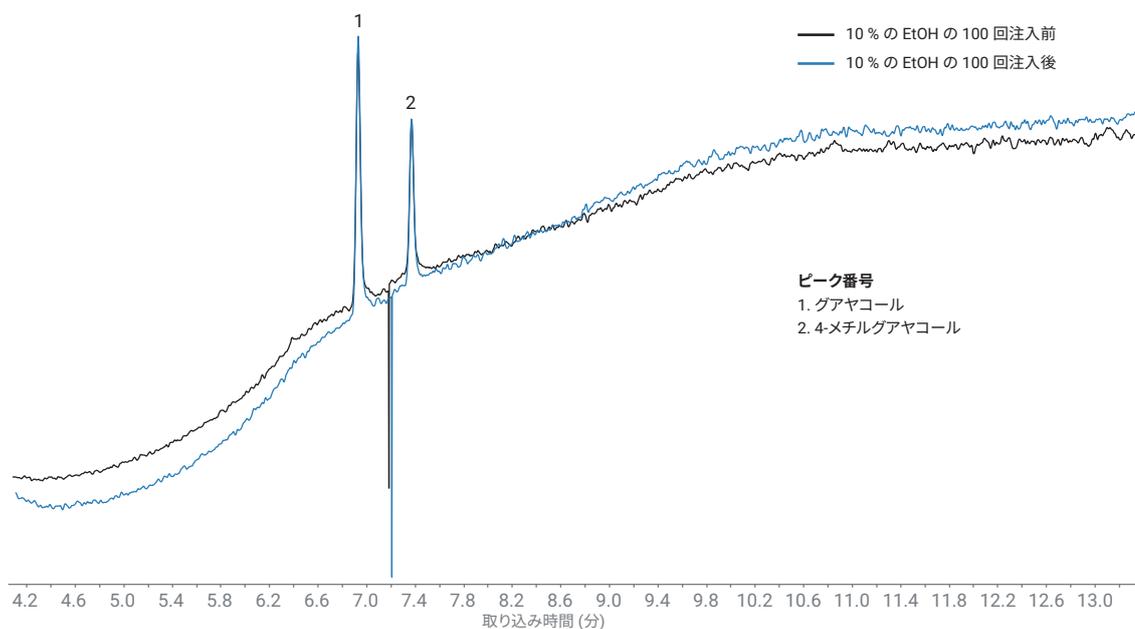


図 4A. 10 ppb の煙汚染物質の標準溶液に 10 % エタノール水溶液を 100 回注入し、MRM モードで測定

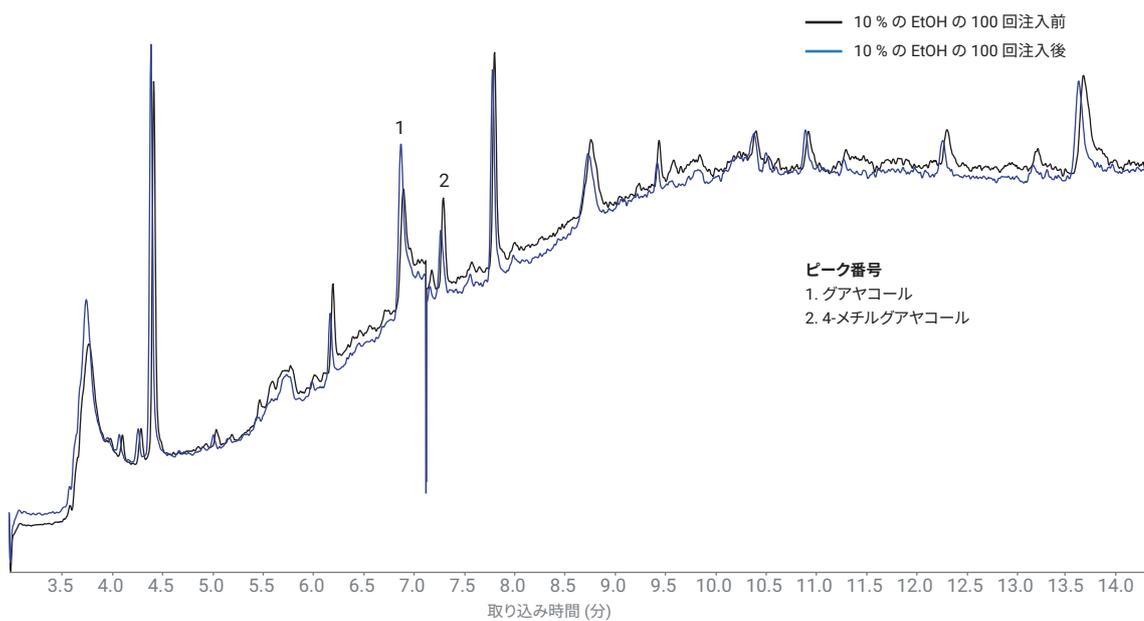


図 4B. 赤ワインに 10 % エタノール水溶液を 100 回注入する前と後で MRM モードで測定

結論

DB-HeavyWAX GC カラムを用いたマルチリアクションモードの質量分析でワイン中の煙汚染化合物を分析することで、高感度で耐久性のあるメソッドが実現します。ワインサンプル中の後半に溶出する化合物をカラムから確実に溶出させるには、等温分析で 280 °C、昇温分析で 290 °C まで温度上限が向上した DB-HeavyWAX が使用できます。これによりカラムの安全な空焼きを実現し、化合物のキャリーオーバーのリスクを低減できます。DB-HeavyWAX の温度安定性の向上によってリテンションタイムは 100 回の水溶液注入後も安定し、DB-HeavyWAX の耐久性が実証されました。

参考文献

1. Pollnitz, A. P.; *et al.* The Effects of Sample Preparation and Gas Chromatograph Injection Techniques on the Accuracy of Measuring Guaiacol, 4-Methylguaiacol and Other Volatile Oak Compounds in Oak Extracts by Stable Isotope Dilution Analyses. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3244-3252.
2. Kennison, K. R.; *et al.* Effect of timing and duration of grapevine exposure to smoke on the composition and sensory properties of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2009**, *15*, 228–237
3. Herve, E.; Price, S.; Burns, G. Free Guaiacol and 4-Methylguaiacol as Markers of Smoke Taint in Grapes and Wines: Observations from the 2008 Vintage in California. *Proceedings of the 9e Symposium International d'Œnologie*, Bordeaux, France, **2011**.
4. Wilkinson, K. L.; *et al.* Comparison of methods for the analysis of smoke related phenols and their conjugates in grapes and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2011**, *17*, S22–S28
5. Abercrombie, V.; Provoost, L. Increased Thermal Stability and Maximum Temperature of the Agilent J&W DB-HeavyWAX Column, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-9035EN, **2018**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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. 2018
Printed in Japan, July 17, 2018
5994-0081JAJP