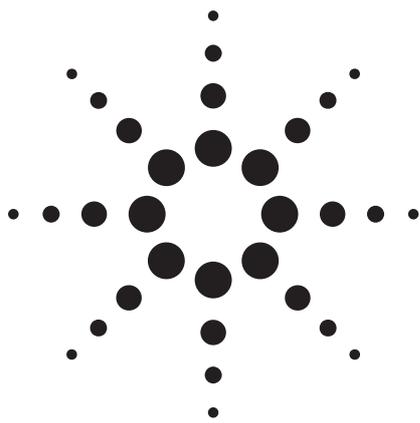


パージ&トラップを用いた ビール中の微量硫黄化合物の分析



技術概要

緒言

ビール中の微量硫黄化合物は、風味や香りに大きな影響を及ぼすことで知られています。中でもチオールなどの化合物では、0.1 ng/mL 程度の低濃度でも風味に影響を及ぼす可能性があり、醸造工程における指標物質となっています。このため、ビール中の硫黄化合物を検出し、モニタリングすることは、醸造業界にとって重要です。従来、微量硫黄化合物の検出には、化合物と装置内の配管やフィッティングとの吸着等のため、限界がありました。このため、低濃度の測定対象化合物を検出することが困難でした。

そこで、前処理装置として、Tekmar3100 パージ&トラップ (P&T) と AQUATek 70 オートサンプラを用いることで、ビール中の微量揮発性硫黄化合物の定量分析が自動化されました。分析装置としては、Agilent 355 化学発光硫黄検出器 (SCD) 付き Agilent 6890 ガスクロマトグラフ (GC) を使用しました。3100 P&T のサンプル流路は Silicosteel 製で、硫黄化合物に対して最適です。微量硫黄化合物は、不活性な Silicosteel 表面では吸収や分解を起しません。この表面は、サンプル流路の内面をコーティングしている不活性フューズドシリカ層からできています。

その結果、ビール中で検出される硫黄化合物に対し、検出下限と再現性が向上します。本分析で使用される 2 種類の GC カラム、Agilent GS-GasPro と Agilent DB-1 の比較も示しました。

実験

ビールは、茶色の 40 mL バイアルに入れます。ビールの泡を減らすため、Dow Chemical Defoamer 1520 の 20% 水溶液 0.1 ~ 1 mL をビールサンプルとブランクサンプルに加えしました。また、ビール中に存在する微量金属の影響をなくすために、エチレンジアミン四酢酸、ジナトリウム塩二水和物、99% (EDTA) 0.15 g を各バイアルに加えしました。EDTA は測定対象化合物のレスポンスに対して、測定感度は向上することはないものの、検出器内部セラミック配管の耐用年数を延ばすために使用されました。サンプルは、Tekmar AQUATek 70 の 70 ポジションバイアルトレイに置きました。サンプルは、内部標準のイソプロピルスルフィド (200,000 ng/mL) を用いて、AQUATek 70 で自動的にスパイクされ、3100 P&T に移されました。次に、サンプル 20 mL がフリットレス 25 スパージャー (P/N 14-4826-024) 内にパージされました。揮発性化合物がトラップされた後、脱着され、GC-SCD によって分離と検出を行います。

分析機器のキャリブレーションは、pH とエタノール含有量を調整し、ビールに見立てた試料を用いて行いました。水を pH 4 に調整するために、緩衝溶液を使用しました。また、水のエタノール含有量を 4% に調整するためにウォッカを使用しました。使用したパラメータは表 1 ~ 5 のとおりです。



表 1. Tekmar 3100 パラメータ

| 3100 サンプル濃縮器 | |
|--------------|----------------------------|
| バージ時間: | 7 分 |
| 脱着温度: | 225 °C |
| 脱着時間: | 2 分 |
| 空焼き温度: | 225 °C |
| 空焼き時間: | 10 分 |
| 配管とバルブの温度: | 150 °C |
| トラップ: | Tenax (P/N 14-4045-303) |

表 2. AQUATex 70 パラメータ

| AQUATek 70 | |
|------------|--------|
| サンプル容量: | 20 mL |
| 内部標準充てん: | 0.04 分 |
| 内部標準の移動: | 0.75 |
| 洗浄配管: | 0.75 分 |
| 空焼き洗浄: | 0.75 分 |
| 洗浄サイクル: | 1 |
| 内部標準充てん: | オン |

表 3. SCD パラメータ

| Agilent 355 SCD | |
|-----------------|------------------------------------|
| 圧力コントローラ: | 150 ~ 275 torr SCD: 5 ~ 10 torr |
| バーナー温度: | 800 °C |
| 水素流量: | 100 mL/min |
| 空気流量: | 40 mL/min |
| バックグラウンドシグナル: | 0.3 ~ 0.8 mV |

表 4. DB-1 カラムの GC パラメータ

| GC パラメータ | |
|------------------------|---|
| Agilent 6890 ガスクロマトグラフ | |
| カラム: | Agilent DB-1、内径 0.53 mm、長さ 30 m、 膜厚 5 µm |
| 注入口: | ゼロデッドボリュウムユニオン (P/N 14-2069-016) を用いて、トランスファラインとカラムの間を直接 接続しました。5 psi のヘッド圧を維持するために、 外部圧力調整器を使用しました。 |
| オープン: | 35 °C で 5 分間保持 1 °C/min で 50 °C に昇温 50 °C で 0 分間保持 15 °C/min で 200 °C に昇温 200 °C で 0 分間保持 |

表 5. GS-GasPro カラムの GC パラメータ

| GC パラメータ | |
|------------------------|--|
| Agilent 6890 ガスクロマトグラフ | |
| カラム: | Agilent GS-GasPro、内径 0.32 mm、長さ 60 m |
| 注入口: | ゼロデッドボリュウムユニオン (P/N 14-2069-016) を用いて、トランスファラインとカラムの間を直接 接続しました。20 psi のヘッド圧を維持するために、 外部圧力調整器を使用しました。 |
| オープン: | 50 °C で 3 分間保持 15 °C/min で 260 °C に昇温 260 °C で 25 分間保持 |

結果と考察

表 6 には、本研究のためにキャリブレーションが行われた化合物とその定量濃度を示します。これらの濃度は、化合物の風味や香りの閾値に基づいています。各化合物のキャリブレーションは、定量濃度を網羅した 5 点検量線を用いて行いました。このメソッドでの分析レスポンスにより、低濃度でも検出できるようになります。表 7 には、本研究で分析されたイギリスのライトエールの再現性を示します。表 8 には、ビールに 4 ng/mL の濃度でスパイクされた成分の回収率 (%) を示します。図 1 には、DB-1 カラムで分析した欧州のピルスナービールのクロマトグラムを示します。図 2 には、GS-GasPro カラムで同じビールを分析した結果を示します。

表 6. DB-1 カラムを用いた定量濃度とキャリブレーションデータを記載した化合物リスト

| 化合物 | 定量濃度 (QL) (ng/mL) | %RSD (QL) (n = 7) | 検量線の範囲 (ng/mL) | キャリブレーションの相関係数 (r ²) |
|-------------|-------------------|-------------------|----------------|----------------------------------|
| エタンチオール | 0.1 | 5 | 0.1-4 | 0.994 |
| 硫化ジメチル | 10 | 3 | 0.24-12 | 0.999 |
| 硫化炭素 | 15 | 3 | 4-40 | 0.967 |
| 硫化エチレン | 0.1 | 2 | 0.1-4 | 0.990 |
| プロパンチオール | 0.1 | 9 | 0.1-4 | 0.974 |
| メチルチオアセテート | 10 | 10 | 4-40 | 0.998 |
| エチルチオアセテート | 0.5 | 4 | 0.1-4 | 0.998 |
| 二硫化ジメチル | 0.5 | 3 | 0.24-12 | 0.999 |
| 三硫化ジメチル | 0.05 | 4 | 0.016-4 | 0.998 |
| エチルメチルスルフィド | 0.5 | 3 | 0.24-12 | 0.999 |
| 硫化ジエチル | 0.5 | 4 | 0.1-4 | 0.985 |

表 7. GS-GasPro カラムを用いた再現性試験結果

| 化合物 | 平均濃度 (ng/mL) | %RSD (n = 9) |
|---------------------|--------------|--------------|
| 硫化ジメチル | 8.1 | 10.2 |
| 硫化ジエチル | 0.94 | 1.1 |
| エチルメチルスルフィドと二硫化ジメチル | 0.78 | 17.7 |
| メチルチオアセテート | 0.98 | 13.0 |

表 8. GS-GasPro カラムを用いた回収率

| 化合物 | 4 ng/mL の回収率 (%) |
|---------------------|------------------|
| 硫化ジメチル | 77 |
| 硫化ジエチル | 75 |
| エチルメチルスルフィドと二硫化ジメチル | 89 |
| メチルチオアセテート | 84 |

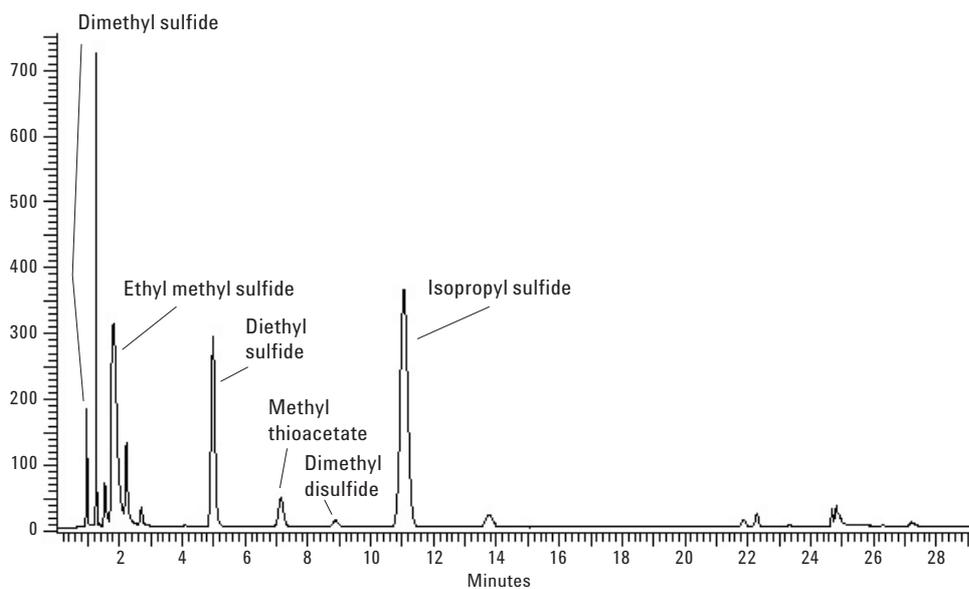


図 1. 欧州のピルスナーの DB-1 クロマトグラム

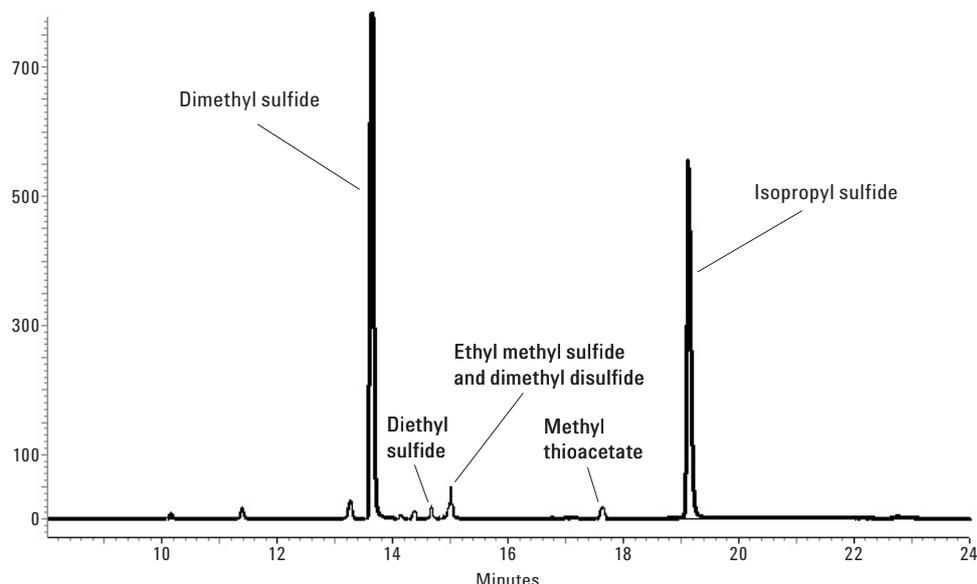


図 2. 欧州のピルスナーの GS-GasPro クロマトグラム

結論

本研究の結果からは、風味や香りの閾値以下の濃度であっても、ビール中の硫黄化合物を高い精度で定量できることが示されました。定量濃度では再現性 (n=7) の相対標準偏差パーセント (%RSD) に関して、表 6 に表示された結果から、メソッドの精度が良いことがわかります。また、検量線の相関係数が、キャリブレーションの直線性を実証しています。表 7 に、欧州のピルスナーの分析に直接適用される場合のメソッドの再現性を示します。再現性 (n=9) の %RSD により、メソッドの精度が良いことが確認されました。回収率 (%) から、このメソッドの真度が良いこともわかります。

図 1 と図 2 のクロマトグラフに、GS-GasPro カラムと比較して DB-1 カラムを用いたビール分析の結果を示します。DB-1 カラムはピーク分離が良いという利点を示しています。GS-GasPro カラムには、ピーク形状が良く、ブリードが少ないという利点があります。

本分析で使用されたメソッドにより、ビール品質に影響を及ぼす微量硫黄化合物を検出、定量することが可能です。優れた精度と真度につながる自動化されたシステムを用いて、低濃度の硫黄化合物を分析することが可能になります。

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

アジレントは、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。また、本資料掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

本資料に記載の情報、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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本資料を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
June 22, 2007
5989-6797JAJP