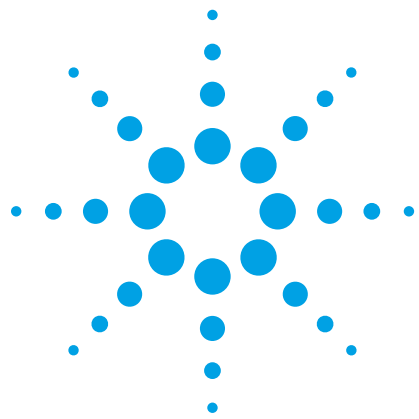




Agilent J&W DB-624 ウルトライナート キャピラリカラムを用いた GC/MS 静的ヘッドスペースによる 蒸留酒のスクリーニング

アプリケーションノート

食品試験および農業

著者

Ken Lynam
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、静的ヘッドスペース GC/MS による蒸留酒のスクリーニングにおける Agilent J&W DB-624UI カラムの有効性を説明します。カラムの不活性のおかげで、複雑な蒸留酒マトリクスに含まれる活性の高いアルデヒド分析においても、優れたピーク形状が得られます。分析したオレンジフレーバーのコニャックとバーボンの各サンプルで、明らかな違いが観察できました。DB-624UI カラムの優れた不活性と選択性により、静的ヘッドスペース GC を用いた蒸留酒のプロファイリングが簡単になります。

はじめに

蒸留酒の少量蒸留という手法は、舌の肥えた消費者向けの既存市場に食い込みつつある高級蒸留酒の製造において、ますます広く用いられるようになっていきます。こうした蒸留酒に含まれる香味成分のプロファイリングは、発酵プロセスの完了の追跡や、バッチ品質の確認、新たな成分や既存の成分が香味全体に与える影響の評価などに役立ちます。このアプリケーションノートでは、不活性の高い Agilent J&W DB-624UI キャピラリ GC カラムを用いて、いくつかの蒸留酒の成分を分析しました。

フーゼル油とそれに関連する発酵生成物は、アルコール飲料の香りと風味を決定するうえで、重要な役割を果たしています。フーゼル油や、それよりもアルコール分の高いフーゼル油のエステル、ビシナルジケトン、アルデヒドは、いずれも蒸留酒の香味特性のバランスに影響を与えます。ヘッドスペース GC/MS プロファイリングを用いれば、バッチ中の風味の特性の発生をモニタリングしたり、不快なおい成分を制御したりすることが可能です。また、研究開発ツールとして使用して、複雑なマトリクス中で目的の風味を高めるための新成分を調査することもできます。



Agilent Technologies

蒸留酒の香味プロフィールを分析する便利な手法としては、静的ヘッドスペース GC/MS があります。蒸留酒は通常、飲料中のエタノール含有割合が高いため、ヘッドスペースバイアルで 5:1 以上の希釈が必要となります。また、エタノールの近くで溶出するピークを分離する必要もあります。

使用機器

一連の実験には、スプリット/スプリットレス注入口、MSD トリブルアクシスディテクタ、Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ、MSD ChemStation E.02.02 ソフトウェアを搭載した Agilent 7890/5975C GC/MS システムを使用しました。

条件

カラム:	Agilent J&W DB-624UI、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m (p/n 123-1334UI)
キャリア:	ヘリウム、2.3 mL/min、コンスタントフロー、35 $^{\circ}$ C
オープン:	35 $^{\circ}$ C (5 分)~10 $^{\circ}$ C/min~100 $^{\circ}$ C (1.5 分)~15 $^{\circ}$ C/min~220 $^{\circ}$ C (3.0 分)~25 $^{\circ}$ C/min~250 $^{\circ}$ C (2.8 分)
注入口:	スプリット/スプリットレス、220 $^{\circ}$ C、1 μ L、スプリット 20:1
サンプル量:	1 mL
MSD:	スキャンモード 30~400 amu、ソース温度 230 $^{\circ}$ C、四重極温度 150 $^{\circ}$ C、トランスファーライン温度 260 $^{\circ}$ C
GC/MS:	Agilent 7890/5975C、MMI および FID 搭載
サンブラ:	Agilent 7697A ヘッドスペース、111 ポジショントレイ

消耗品

バイアル:	平底、クリンキャップヘッドスペースバイアル、20 mL (100 個、p/n 5182-0837)
バイアルキャップ:	ヘッドスペースクリンキャップ/高性能セプタム (100 個、5190-3987)
セプタム:	ノンスティックブリード、温度最適化 (50 個、p/n 5183-4757)
注入口ライナ:	Agilent ウルトライナートライナ、1 mm ストレートシングルテーバー (p/n 5190-4047)
フェラル:	85/15 ベスベル/グラファイト、0.5 mm id、ショート (10 個、p/n 5062-3514)
クリンパ:	オートクリンパ、20 mm (p/n 5190-3189)
トランスファーライン:	不活性化フューズドシリカ、0.53 mm id (5 m、p/n 160-2535-5)
フィッティング:	リデュースフィッティング、1/6~1/32 インチ (p/n 0100-2594)
ゴールドシール:	ゴールドシール、ワッシャつき (10 個、p/n 5190-2209)
拡大鏡:	20 倍拡大ルーペ (p/n 430-1020)

サンプル前処理

発酵関連アルコール、アルデヒド、アセテート標準を Sigma Aldrich (セントルイス、ミズーリ州、米国) から購入しました。これらの標準から、エタノール (Sigma Aldrich から 200-ブルー分子生物学グレードのものを購入) 中の濃度が 1000 μ L/L の 3 つの原液を作成しました。その後、脱イオン水で希釈しました。

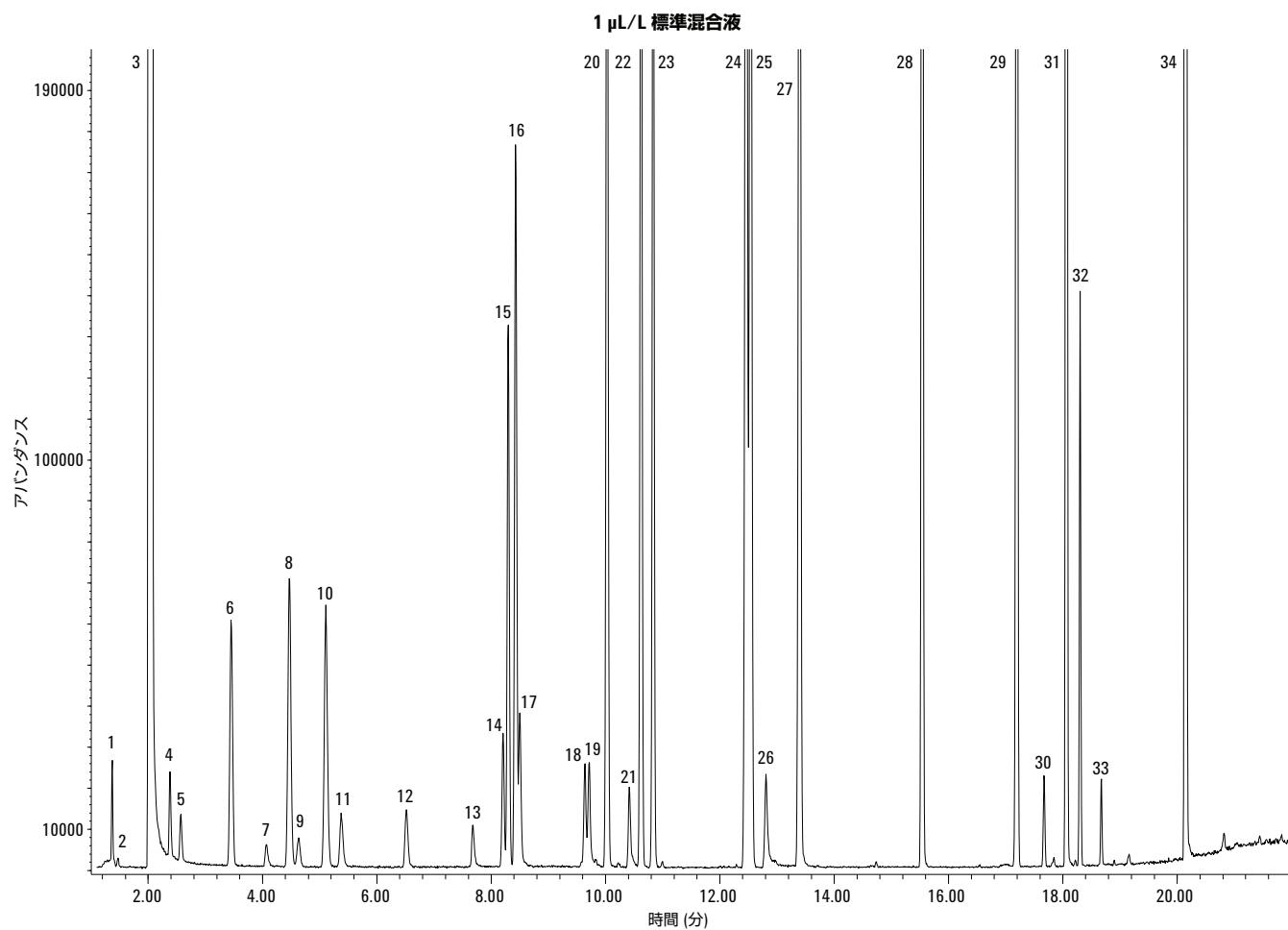
蒸留酒は地元の小売店で購入しました。プロファイリングには、高級なオレンジフレーバーコニャック、格安のオレンジフレーバーコニャック、サワーマッシュバーボンを使用しました。脱イオン水 (8 mL) を 20 mL ヘッドスペースバイアルに加え、さらに蒸留酒 2 mL を加え、最終体積を 10 mL としました。実際の希釈率は 5:1 です。

結果と考察

図 1 に、アルデヒド、フーゼラルアルコール、フーゼリアセテート標準の 1 μ L/L 混合液のトータルイオンクロマトグラムを示しています。この濃度では、スキャンモードを用いた分析により、各標準が国立標準技術研究所 (NIST) のスペクトルライブラリと優れた品質で一致しました。各ピークは Agilent J&W DB-624UI カラムで良好に分離されました。アルデヒドのピーク形状はシャープではっきりとしています。これは、カラムの不活性がきわめて高いことを示しています。

標準混合液中の分析対象化合物の選択性も良好でした。このカラムでは、位置異性体のピーク対であるイソアミルアルコールと活性アミルアルコール、およびそのエステルがはっきりと分離されています。このレベルの分離を実現するためには、60 m カラムがしばしば使われますが、その場合は分析時間が長くなります。この実験では、分析全体が 28 分で完了しました。

スキャンモードを用いて、濃度 1 μ L/L で発酵および蒸留関連の香味成分のスクリーニングを直接おこないました。エタノールの近くで溶出する分析対象化合物が分離され、NIST ライブラリマッチングにより容易に同定できました。定性および定量イオンを決定するフラグメンテーションパターンがわかっている既知のターゲット化合物セットでは、同時 SIM/スキャンまたは SIM モードのいずれかを用いた、さらに低い濃度での検出も可能であると考えられます。

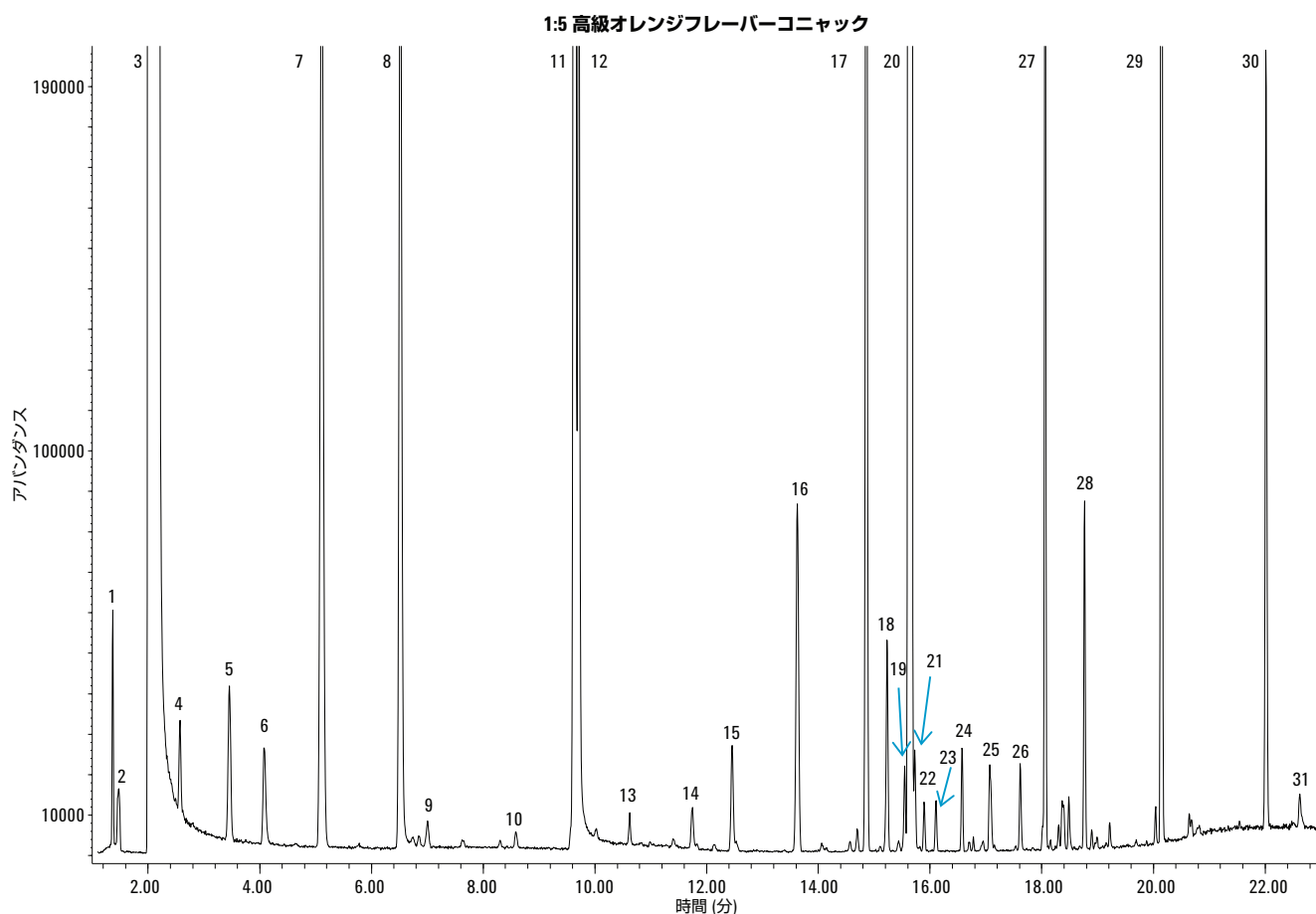


ピーク番号					
1.	アセチルアルデヒド	12.	イソブチルアルコール	24.	酢酸イソアミル
2.	メタノール	13.	1-ブタノール	25.	活性酢酸アミル
3.	エタノール	14.	2,3 ペンタンジオン (ビシナルジケトン)	26.	1-ヘキサノール
4.	アセトン	15.	プロピオン酸エチル	27.	ヘプタナール
5.	イソプロパノール	16.	酢酸プロピル	28.	オクタナール
6.	イソブチルアルデヒド	17.	3-ペンタノール	29.	1,3,5-トリオキサン不純物
7.	1-プロパノール	18.	イソアミルアルコール	30.	1,3,5-トリオキサン不純物
8.	ブチルアルデヒド	19.	活性アミルアルコール	31.	カプリル酸エチル
9.	2,3 ブタンジオン (ビシナルジケトン)	20.	酢酸イソブチル	32.	1-酢酸フェニルエチル
10.	酢酸エチル	21.	1-ペンタノール	33.	ベンズアルデヒド, 3 メトキシ
11.	2-ブタノール	22.	酪酸エチル	34.	カプリン酸エチル
		23.	ヘキサナール		

図 1. Agilent J&W DB-624UI, 30 m x 0.32 mm, 1.8 μ m カラムを用いて分析したアルデヒド、フーゼルアルコール、フーゼルアセテート標準混合液のトータルイオンクロマトグラム。

図2の高級オレンジフレーバーコニャックのトータルイオンクロマトグラムでは、良好なスクリーニングプロファイルが得られています。サンプル中には、標準混合液に含まれる多くの成分のほか、その他のピークも存在していました。特に目立つのが、ミリスチン酸エチル (C₁₆) までの長鎖有機酸の酢酸エチルです。

クロマトグラムのピーク1、5、10、14、19では、アルデヒドで良好なピーク形状が得られていることが示されています。アルデヒドは反応性が高いため、クロマトグラフィー分離が難しい物質です。この例では、反応性の高い化合物の分析で生じやすいピークテーリングは見られませんでした。



ピーク番号

1. アセチルアルデヒド
2. メタノール
3. エタノール
4. ギ酸エチル
5. イソブチルアルデヒド
6. 1-プロパノール
7. 酢酸エチル
8. イソブチルアルコール
9. アリルエチルエーテル
10. アセチルアルデヒド

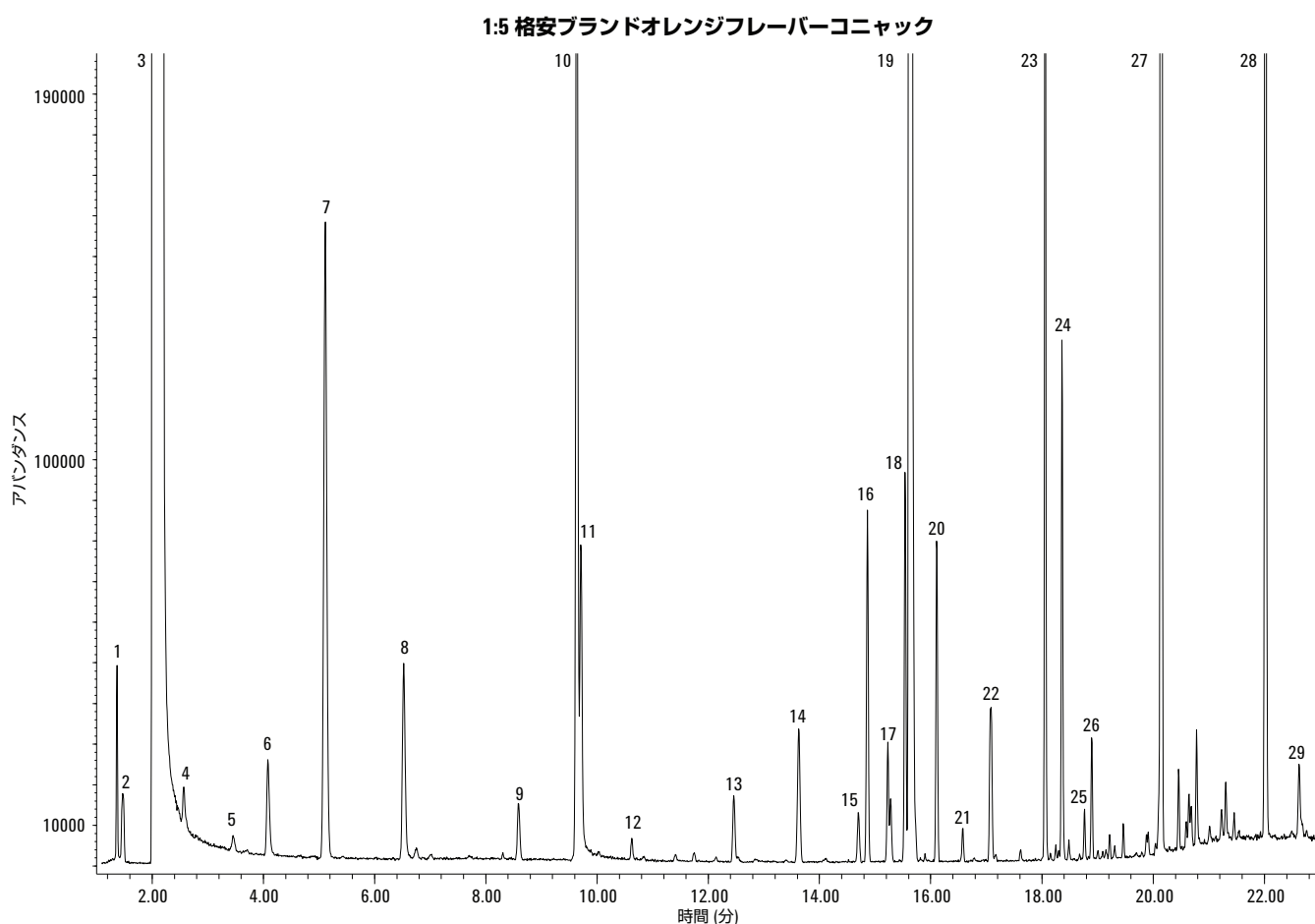
11. イソアミルアルコール
12. 活性アミルアルコール
13. 酪酸エチル
14. イソブチルアルデヒド
15. 酢酸イソアミル
16. α -ピネン
17. β -ピネン
18. カプロン酸エチル
19. オクタナール
20. D-リモネン
21. β -フェランドレン

22. β -オシメン
23. γ -テルピネン
24. (+) 4 カレン
25. β -リナロール
26. *trans*-2-ビナノール
27. カプリル酸エチル
28. α -テルピネオール
29. カプリン酸エチル
30. ラウリン酸エチル
31. ミリスチン酸エチル

図2. ヘッドスペースバイアル中で蒸留水により1:5に希釈し、Agilent J&W DB-624UI、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m カラムを用いて分析した高級オレンジフレーバーコニャックのトータルイオンクロマトグラム

図3の格安ブランドのオレンジフレーバーコニャックのトータルイオンクロマトグラムでも、良好なスクリーニングプロファイルが得られており、図2の高級コニャックとの違いが見てとれます。イソブチルアルデヒド、酢酸エチル、イソアミルアルコール

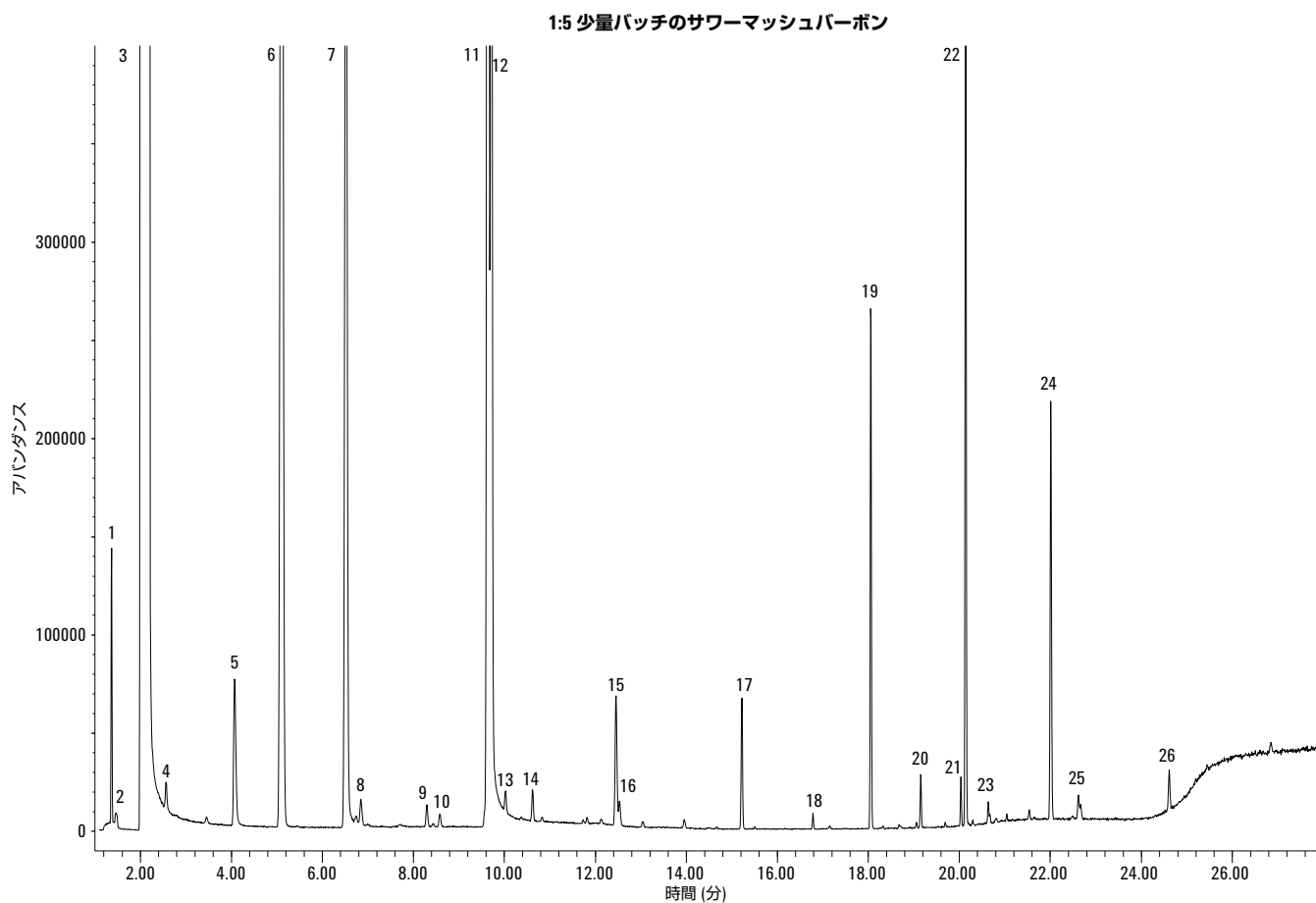
の濃度は、高級ブランドのサンプルよりも明らかに低くなっています。 β -ピネン濃度は格安ブランドでは大幅に低く、その違いは驚くほどです。14～22分の範囲で溶出するテルペノイドのプロファイルも大きく異なっています。



ピーク番号		
1. アセチルアルデヒド	10. イソアミルアルコール	20. D-リモネン
2. メタノール	11. 活性アミルアルコール	21. γ -テルピネン
3. エタノール	12. 酪酸エチル	22. (+) 4 カレン
4. ギ酸エチル	13. 酢酸イソアミル	23. β -リナロール
5. イソブチルアルデヒド	14. α -ピネン	24. カプリル酸エチル
6. 1-プロパノール	15. β -ピネン	25. デカナール
7. 酢酸エチル	16. β -ミレン	26. オクタナールジエチルアセタール
8. イソブチルアルコール	17. カプロン酸エチル	27. カプリン酸エチル
9. アセチルアルデヒド	18. 3 カレン	28. ラウリン酸エチル
	19. オクタナール	29. ミリスチン酸エチル

図3. ヘッドスペースバイアル中で蒸留水により1:5に希釈し、Agilent J&W DB-624UI、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m カラムを用いて分析した格安ブランドのオレンジフレーバーコニャックのトータルイオンクロマトグラム

図 4 は、少量バッチのサワーマッシュバーボンのトータルイオンクロマトグラムを示しています。バーボンのスクリーニングプロフィールは、図 2 および 3 に示したオレンジフレーバーコニャックサンプルのプロフィールよりもシンプルになっています。バーボンサンプルでは、酢酸エチル、イソブチルアルコール、イソアミルアルコール、活性アミルアルコール、カプリン酸エチル (C12) の濃度が高い点がおもな特徴です。



ピーク番号		
1. アセチルアルデヒド	9. プロピオン酸エチル	18. ヘプタン酸、エチルエステル
2. メタノール	10. ジエチルアセタール	19. カプリル酸エチル
3. エタノール	11. イソアミルアルコール	20. ノナン酸エチル
4. ギ酸エチル	12. 活性アミルアルコール	21. エチル trans-4-デセノエート
5. 1-プロパノール	13. 酢酸イソブチル	22. カプリン酸エチル
6. 酢酸エチル	14. 酪酸エチル	23. オクタン酸イソアミル
7. イソブチルアルコール	15. 酢酸イソアミル	24. ラウリン酸エチル
8. ジエチルホルマール	16. 活性酢酸アミル	25. イソアミル n-デカノエート
	17. カブロン酸エチル	26. ミリスチン酸エチル

図 4. ヘッドスペースバイアル中で蒸留水により 1 : 5 に希釈し、Agilent J&W DB-624UI、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m カラムを用いて分析した少量バッチのサワーマッシュバーボンのトータルイオンクロマトグラム

結論

Agilent J&W DB-624UI 30 m x 0.32 mm、1.8 µm カラムは、複雑な蒸留酒マトリクスに含まれる発酵および蒸留関連化合物の分析に対応できる、優れた不活性と選択性を備えています。1 µL/L 標準とオレンジフレーバーコニャックサンプルの両方において、アルデヒド成分で左右対称のシャープなピーク形状が得られたことは、このカラムの不活性の高さを明らかに示しています。このアプリケーションノートでは、静的ヘッドスペース GC/ MS を用いた複雑な蒸留酒マトリクスのプロファイリングにおいて、不活性と選択性に優れた J&W DB-624 UI カラムが有効であることが実証されています。

詳細情報

本書に記載のデータは、代表的な結果です。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。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書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。

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。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、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2012

Printed in Japan June 7, 2012

5991-0659JAJP



Agilent Technologies