

ガスクロマトグラフ-高分解能TOFMS と統合データ解析ソフトウェア msFineAnalysis AI を用いたワイン香気成分の2検体比較について

関連製品：質量分析計(MS)

はじめに

ワインに代表される香りが重視されるアルコール飲料は、その味わいに「香り」成分が大きく関与していることが知られている。ワインにはその産地に限らず、ワインに共通した香りが存在する一方で、ワインの原料となるブドウの品種や製造産地によってその味・香りが大きく異なる。特にワインの場合、産地による味わい・香りの違いが良く議論されることもあり、その違いにどのような化学物質が寄与しているかは興味のあるところである。香気成分のみならず、揮発性の高い化学物質をより効率高感度で測定する方法として、マイクロ固相抽出 (SPME) とガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を組み合わせる方法が広く用いられている。そこで、今回、フランスワインの2大産地として代表的なボルドーとブルゴーニュの2種類の赤ワインについて、その香り成分の比較を行い、各々のワインに特有な化学成分の検出同定を試みた。また、各々のワインに特異的に含まれている化学物質を同定することを目的とし、香気成分の GC-MS 分析には、電子イオン化法 (EI法) とソフトイオン化法の一つである光イオン化法 (PI法) を組み合わせ、さらにそれらの測定データを統合して解析可能な msFineAnalysis AI ソフトウェアを用いて、それぞれのワインに特異的な成分の探索及びそれらの同定を試みたので、その結果を報告する。



JMS-T2000GC AccuTOF™ GC-Alpha

実験

スーパーマーケットで一般的に購入できる代表的なボルドー産・ブルゴーニュ産の2種類の赤ワインをテストサンプルとして用いた。容器から取り出したワイン 2mL を 15mL のガラス容器に入れ直ちに密栓した。そのガラス容器のヘッドスペース部分にマイクロ固相抽出 (SPME) を挿入し、室温で20分間抽出を行った後直ちに GC の注入口にて抽出成分を熱脱着させそのまま GC-MS で測定した。測定には、日本電子 (株) 製高性能ガスクロマトグラフ飛行時間型質量分析計 JMS-T2000GC AccuTOF™ GC-Alpha を用いた。また、2種類の香気成分の比較には、同社製データ解析ソフトウェア、msFineAnalysis AI を用いた。SPME-GC-MS による測定条件は Table 1 に示した。なお、2種類のサンプルの差異分析を行うため EI イオン化での測定は、各々3回行い、測定回数 n=3 における差異分析を実施した。

Table 1. Measurement condition

GC Condition		MS Condition	
GC	8890GC (Agilent)	Mass Spectrometer	JMS-T2000GC AccuTOF™ GC-Alpha
Injection mode	Pulsed Splitless	Ion source	EI/PI Combination Ion Source
	Purge Pressure : 100kPa	Ionization	EI+ : 70eV, 300µA
	Pulsed time : 1.0 min	Source tem.	PI+ : D2 lamp, 115-400nm
	Purge Flow : 20mL/min	GC Interface temp.	250°C
	Purge On time : 0.9 min	m/z range	m/z 40 - 550
	Septum Purge Flow : 3.0 mL/min		
Injection Temp	250°C		
Column	InertCap WAX (GL Science)	SPME condition	
	30m X 0.25mm(I.D.), 0.25µm Film Thickness	Fiber	50/30µm DVB/CAR/PDMS (Gray)
Oven	40°C (3 min) > 7°C/min > 90°C (0min)	Sampling Method	Headspace
	> 20°C/min > 240°C (7.36min)	Sample Amount	2mL
He Flow	1mL/min (Constant Flow mode)	Extraction Temp	Room temperature
		Extraction Time	20 min
		Desorption time	1 min

結果

ボルドー・ブルゴーニュそれぞれのワインの香気成分を EI イオン化にて測定した結果、得られた TICC を Fig 1 に示した。また、ボルドー産ワインを Sample A (青) とし、ブルゴーニュ産ワインを Sample B (赤) とし、差異分析を実施した結果、得られたボルケーノプロットを Fig 2 に示した。msFineAnalysis AI では、差異成分の特定を容易にするため、2サンプル間における強度比 (Log₂(B/A)) を横軸 t に、統計的再現性 (-log₁₀(p-value)) を縦軸に採用したボルケーノプロットを描画している。よって、Fig. 2 に示した青色を背景とした領域にプロットが存在するものは Sample A に特徴的で、逆に、赤色を背景とした領域のものは Sample B に特徴的であることを示している。

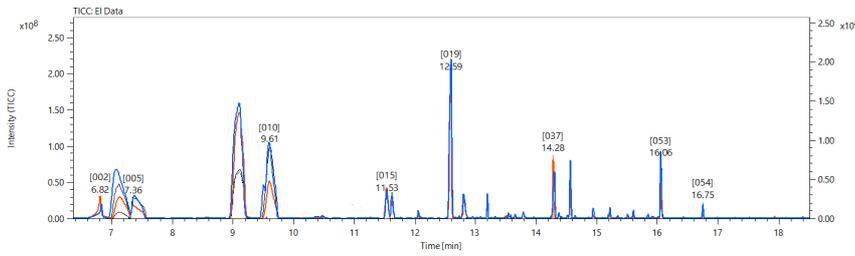


Fig.1 TICC with EI for Sample A(Blue) and B(Red)

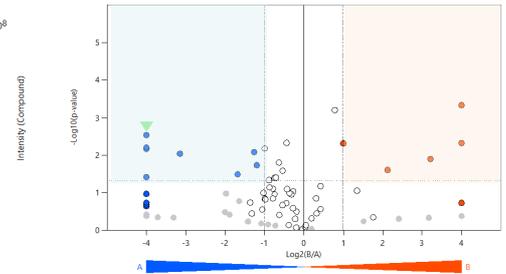


Fig.2 Volcano plot of Bordeaux(Blue) vs. Bourgogne(Red)

Table 2. Integrated qualitative analysis results for the characteristic compounds for Sample A (Bordeaux) and Sample B (Bourgogne)

Variance Component Analysis Result						Total Result						
RT [min]	Area	IM m/z	Class	Log2(B/A)	p-value	Compound Name	Similarity	Formula	Calculated m/z	Mass Error [mDa]	Isotope Matching	EI Fragment Coverage
Characteristic Compounds for Sample A												
5.36	59432816	116.08281	A Only	< -4	0.007	Butanoic acid, ethyl ester	731	C6 H12 O2	116.08318	-0.37	0.89	100
10.37	14756626	-	A Only	< -4	0.006	Acetic acid, hexyl ester	909	C8 H16 O2	-	-	-	100
11.07	2354736	-	A Only	< -4	0.003	1-Pentene, 4-methyl-	810	C6 H12	84.09335	-0.72	N/A	100
11.26	3623007	84.09313	A > B	-1.68	0.033	Cyclopropane, propyl-	746	C6 H12	84.09335	-0.22	N/A	100
13.96	2992587	-	A Only	< -4	0.109	Propylene Glycol	840	C3 H8 O2	76.05188	-0.53	0.61	100
15.35	5287901	152.04676	A Only	< -4	0.039	Methyl salicylate	763	C8 H8 O3	152.04680	-0.04	0.91	88
15.61	16329082	-	A > B	-1.26	0.008	Hexanoic acid	865	C6 H12 O2	117.09101	-0.82	N/A	100
15.85	9603910	108.05672	A > B	-3.15	0.009	Benzyl alcohol	942	C7 H8 O	108.05697	-0.24	0.89	100
16.74	27620411	144.11423	A > B	-1.19	0.019	Octanoic acid	949	C8 H16 O2	144.11448	-0.25	0.63	100
Characteristic Compounds for Sample B												
13.27	2658553	-	A < B	3.21	0.013	(S)-3-Ethyl-4-methylpentanol	931	C8 H18 O	-	-	-	100
13.50	5535502	192.15035	B Only	> 4	0.000	2(1H)-Naphthalenone, 3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-	751	C13 H20 O	192.15087	-0.52	0.81	90
14.28	110243250	200.17694	A < B	1.00	0.005	Decanoic acid, ethyl ester	921	C12 H24 O2	200.17708	-0.15	0.70	95
15.57	2263498	-	B Only	> 4	0.005	Dodecanoic acid, ethyl ester	865	C14 H28 O2	228.20838	0.17	0.81	100
17.93	4687977	206.16637	A < B	2.13	0.025	2,4-Di-tert-butylphenol	945	C14 H22 O	206.16652	-0.14	0.89	100

Sample A および B それぞれに特徴的な成分をTable 2 に示した。ボルドー産ワインに特徴的な9種の化合物及びブルゴーニュ産ワインに特徴的な5種類の化合物、合計14種類の推定化合物のうち8種類の推定化合物については、いずれかのイオン化法で分子イオンが検出されており、その精密質量数が推定化合物の精密質量数とよく一致していることがわかる。また、EIマスペクトルのフラグメントイオンの精密質量数から得られた化学組成と推定化合物の化学組成の同一性を示す EI Fragment Coverage の値も非常に高い値であることから、単純なライブラリサーチ結果よりも確度の高い同定結果を得ることができている。

ワインの香りを特徴づける物質としては「カルボン酸エステル」のエステル香が知られている。今回の差異分析の結果、双方のサンプルに共通して検出されている物質としては、低級脂肪酸のメチル・エチルエステルが多く含まれており、ワインの香りにはこれらのエステル香が大きな役割を果たしていることがわかる。Fig. 3 及び Fig. 4 に示したのは、双方のワインから共通して検出された成分「Hexanoic acid, ethyl ester」の EI・PI 測定時の TICC の比較表示、及び同化合物のボルケーノプロット上での位置である。msFineAnalysis AI の2検体差異分析では、検出された個々のピークを個別に確認することが可能であり、より詳細なデータ解析が可能となっている。

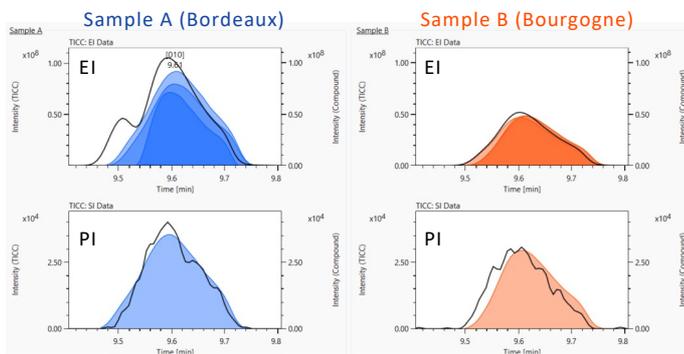


Fig.3 TICC of EI and PI for Hexanoic acid ethyl ester detected in Sample A and Sample B

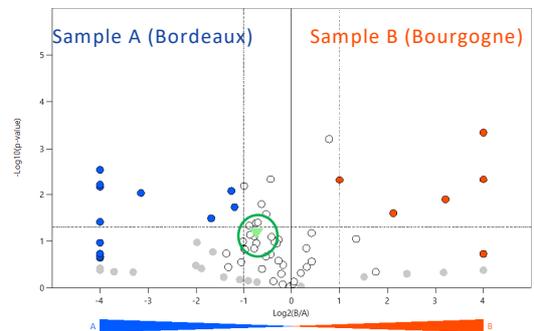


Fig.4 Relative position of Hexanoic acid ethyl ester in Volcano plot

Copyright © 2020 JEOL Ltd.

このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせ下さい。

JEOL 日本電子株式会社

本社・昭島製作所
〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL: (042) 543-1111(大代表) FAX: (042) 546-3353
www.jeol.co.jp ISO 9001・ISO 14001 認証取得



東京事務所 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル 業務統括本部 TEL: 03-6262-3564 FAX: 03-6262-3589 ブランドコミュニケーション本部 TEL: 03-6262-3560 FAX: 03-6262-3577
SI営業本部 SI販売室 TEL: 03-6262-3567 FAX: 03-6262-3577 ソリューション推進室 TEL: 03-6262-3566 産業機器営業部 TEL: 03-6262-3570 SE営業部 TEL: 03-6262-3569
MEソリューション販売室 TEL: 03-6262-3571

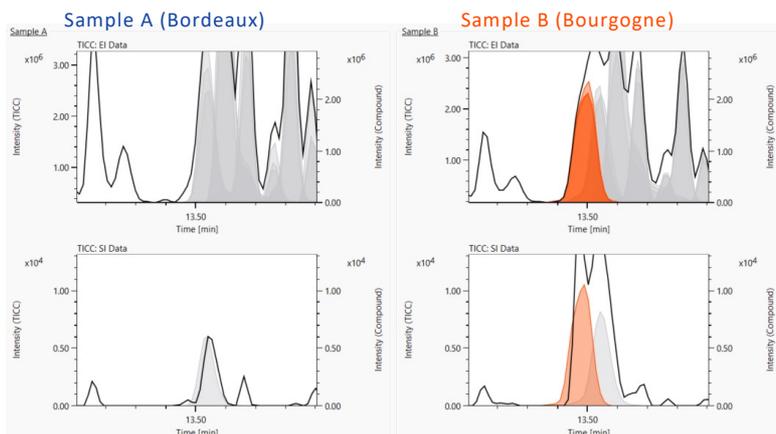


Fig.5 TICC of EI and PI for 3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-2(1H)-Naphthalenone detected only in Sample B (not in Sample A)

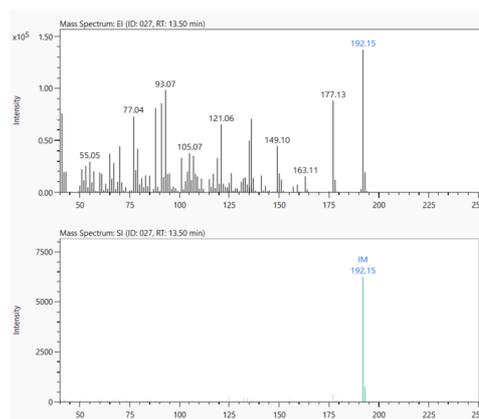


Fig.6 Mass spectrum of 3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-2(1H)-Naphthalenone detected in Sample B

一方で、同じ脂肪酸のエステルであっても比較的炭素数の多い脂肪酸のエステル類がブルゴーニュ産ワインに特徴的な物質として検出されている点は興味深い。また、ボルドー産ワイン中の Propylene Glycol や Methyl salicylate、ブルゴーニュ産ワインに特徴的な 3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-2(1H)-Naphthalenone のように、片方のワインからのみ検出される化合物が見い出された。3,4,4a,5,6,7-hexahydro-1,1,4a-trimethyl-2(1H)-Naphthalenone についての EI・PI 測定における TICC を Fig.6 に示した。検出されたピークは EI測定での TICC において隣接ピークのショルダーの形で検出されているが、msFineAnalysis AI のデコンボリューションの結果明確なピークとして検出されている。またPI測定での TICC 上では明確なピークがブルゴーニュ産ワインからのみ検出されており、この物質が今回測定に用いたブルゴーニュ産のワインに特徴的に含まれる物質であることが示唆された。同ピークに対して得られた EI・PI測定でのマススペクトルを Fig.6 に示した。

今回、双方のワインに特徴的に見いだされた成分の種類は14種類であったが、これらの化合物が双方のワインの香り・味わいに何らかの寄与を果たしていることが示唆された。

結論

本MSTipsでは、msFineAnalysis AIの差異分析機能を用いた異なる産地のワイン香り成分差異分析例について紹介した。本機能により、サンプル間の差異成分と共通成分を容易に抽出することができ、各成分の定性も容易に行うことが可能であった。msFineAnalysis AIを用いることで、GC-TOFMSを用いた定性解析の定性確度向上や効率的な解析作業が期待される。

Copyright © 2020 JEOL Ltd.

このカタログに掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせ下さい。

JEOL 日本電子株式会社

本社・昭島製作所
〒196-8558 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL: (042) 543-1111(大代表) FAX: (042) 546-3353
www.jeol.co.jp ISO 9001・ISO 14001 認証取得

東京事務所 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目1番1号 大手町野村ビル 業務統括本部 TEL: 03-6262-3564 FAX: 03-6262-3589 ブランドコミュニケーション本部 TEL: 03-6262-3560 FAX: 03-6262-3577
SI販売本部 SI販売室 TEL: 03-6262-3567 FAX: 03-6262-3577 ソリューション推進室 TEL: 03-6262-3566 産業機器営業部 TEL: 03-6262-3570 SE営業部 TEL: 03-6262-3569
MEソリューション販売室 TEL: 03-6262-3571

▼ 支店はこちら

