

ガスクロマトグラフィーによるワイン中のジエチレン グリコールの迅速定量と GC-MS による確認

達家 清明 ・ 末兼 幸子 ・ 小浜 正江

Rapid Gas Chromatographic Determination and GC-MS Detection of Diethylene Glycol in Wine

Kiyoaki TATSUKA , Sachiko SUEKANE , Masae KOHAMA

A rapid and simple method for quantitative determination of diethylene glycol (DEG) added to wine with range between 0.001% and 10% was developed. An assay solution for GC analysis was prepared as follows: 1 g of wine, 1 ml of 1% ethanol solution of tetraethylene glycol dimethyl ether (internal standard), and 15 g of anhydrous sodium sulfate were mixed well in a mortar, and then stand for ten minutes. The mixture was extracted twice with 10 ml of ethanol. The extract was condensed to ca. 1 ml by evaporation in a hot water bath. GC analyses were carried out with a glass column packed with PEG 20 M at 200°C isothermal condition. DEG content was determined from the calibration curve. When wine samples with 0.005, 0.05, 0.5, and 5% of DEG, were analyzed five times for each sample respectively, recoveries and coefficients of variance were 67.9% and $\pm 4.3\%$; 98.7 and $\pm 3.0\%$; 98.9% and $\pm 1.2\%$; 99.9% and $\pm 2.1\%$, respectively. The concentration limit for detection of DGE by GC-MS was 0.01%. (Received Sep. 27, 1985)

ガスクロマトグラフィーによるジエチレングリコールの定量についての報告は、メタノール、エチレングリコール及び少量のジエチレングリコール混合物中のジエチレングリコールを定量したFORLINI¹⁾のものが恐らく最初であろう。ジオールの分析については KNUTH ら²⁾及び DAVIS ら³⁾の報告があるが、ジエチレングリコールにはふれていない。当然のことながらアルコール飲料など食品中に含まれるものについての報告は見当たらない。ガスクロマトグラフィーによる定量では、ワインからの抽出方法と内部標準の選択が問題である。本研究ではこれらの点について検討し、ワイン中の含有量 0.01% から 10% の範囲において良好な結果を得たので報告する。

実験方法

1. 実験材料

試薬：ジエチレングリコール (DEG; 和光 1 級, 純度 min 98%), テトラエチレングリコールジメチルエーテル (TEGDME, 東京化成, 純度 min 98%).

ワイン：ドイツ白ワイン (Wormser Liebrawmorgen, Spätlese), オーストラリア赤ワイン (ASAHI international WINE, Mycellar).

2. ガスクロマトグラフィーの条件

柳本製作所製 G 80 形ガスクロマトグラフ及び島津製作所製データ処理装置クロマトパック E 1 A; カラム, ガラス 3 m × 3 mm (内径), 液相 PEG 20 M, 10%, 担体

注 本論文は日本食品工業学会誌・第33巻 第3号掲載論文を転載したものである。

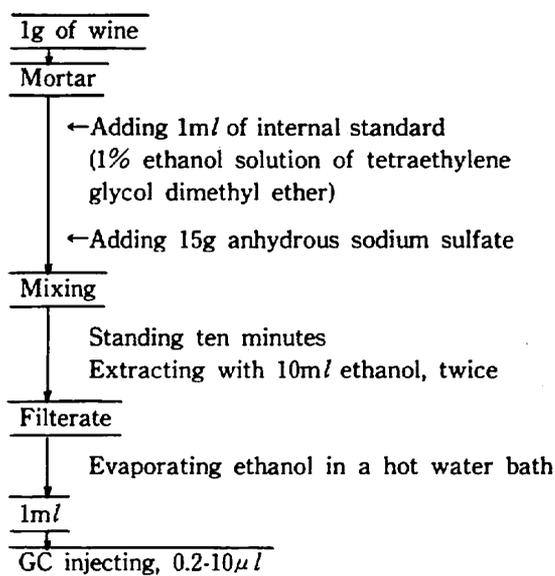


Fig. 1 Procedure for sample preparation

Chromosorb W AW DMCS, 60~80 メッシュ; キャリヤーガス, N_2 , 40 ml/min; 検出器, FID; カラム温度, 200°C; 注入口及び検出器温度, 250°C.

3. ガスクロマトグラフ直結質量分析計 (GC-MS) の条件

島津製作所製 GC-MS QP-1000; カラム, 島津溶融シリカキャピラリー Hi Cap CBP-20, 25 m × 0.2 mm (内径), スプリット比 40 : 1, He 線速度 30 cm/sec; 注入口温度, 260°C; カラム温度, 200°C; イオン源温度, 250°C; イオン化は EI (イオン化電圧 70 eV) 及び CI (反応ガス, インプタン).

4. 試料溶液の調製

Fig. 1 に示す方法による。

5. 検量線の作製

エタノールに内標準物質としてテトラエチレングリコールジメチルエーテル (TEGDME) を 1%, ジエチレングリコール (DEG) をそれぞれ次の割合で含有する標準溶液 4 種を調製し検量線を作製した。標準溶液 1, 0.001%, 0.002%, 0.004%, 0.006%, 0.008%, 0.01%; 標準溶液 2, 0.02%, 0.04%, 0.06%, 0.08%, 0.1%; 標準溶液 3, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1%; 標準溶液 4, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 標準溶液 1, 2, 3 及び 4 をそれぞれ 10 μ l, 1 μ l, 1 μ l 及び 0.2 μ l ガスクロマトグラフに注入して検量線を作製した。

6. 回収率とくり返し精度

ドイツ白ワインに DEG をそれぞれ 0.005%, 0.05%, 0.5% 及び 5% 添加した試料について, 各々反復 5 回, Fig. 1 に示した方法によって試料調製後 GC 測定を行い標準偏差, 変動係数及び回収率を求めた。

実験結果及び考察

1. DEG の抽出方法の検討

DEG は極めて親水性であり, 液・液抽出で分離することは難しい。濃縮すると糖類が抽出を妨害する。それで迅速分析という見地から Fig. 1 のような方法を考えた。この方法では糖は殆ど溶出されない。香気成分, 有機酸などが溶出されてきて妨害もあるが, GC-MS で確認すればよいので, 本法ではその確認法を採用した。エタノール 2 回の抽出で約 80% が抽出され, DEG と

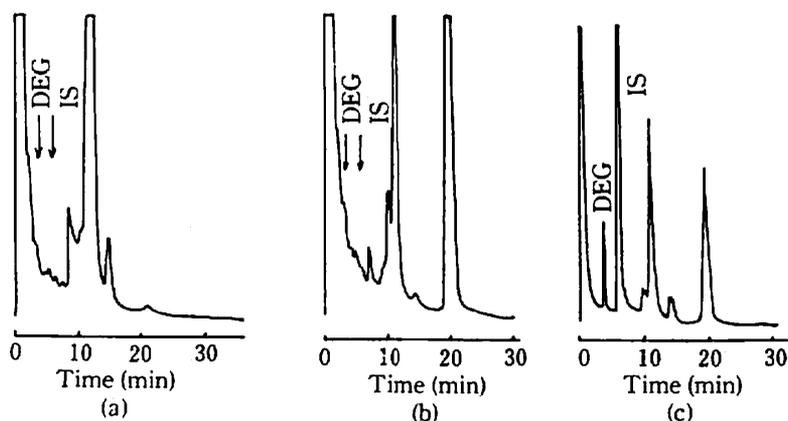


Fig. 2 Gas chromatograms for prepared samples

- (a) Red wine (Injection volume 10 μ l)
 (b) White wine (Injection volume 10 μ l)
 (c) White wine + 0.05% DGE + 1% TEGDME (Injection volume 1 μ l)
 Sample preparation procedure was shown in Fig. 1.

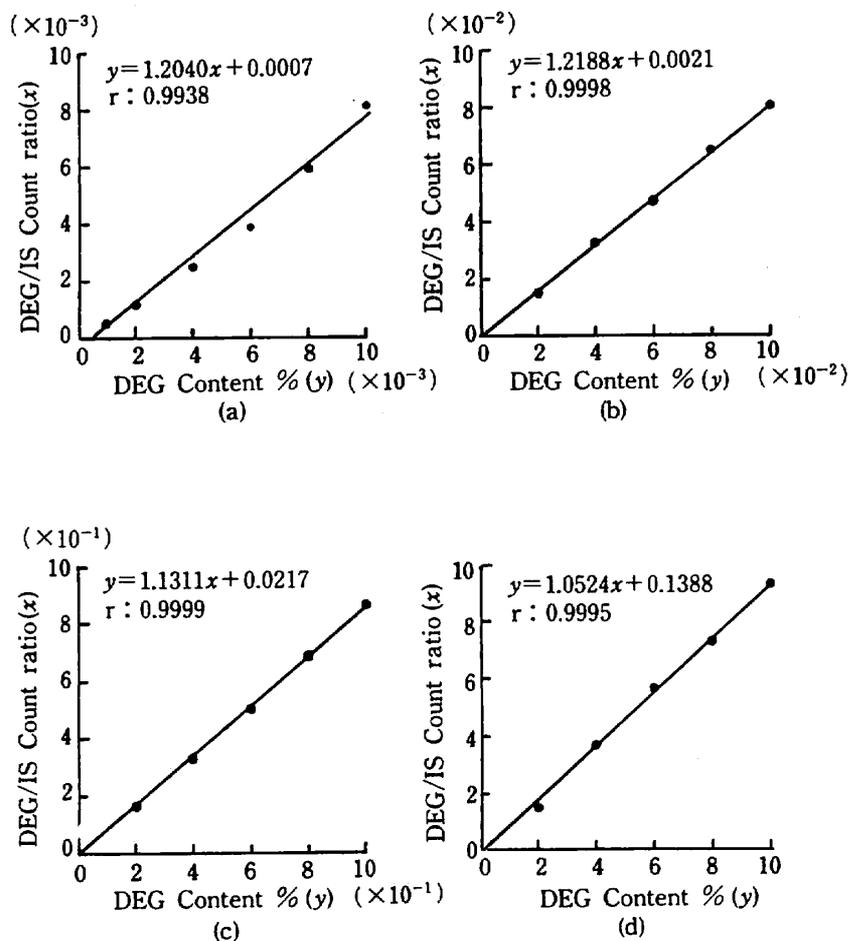


Fig. 3 Calibration curves of diethylene glycol standard solution

- (a) 0.001–0.01% (injection volume 10 μl)
 (b) 0.02–0.1% (injection volume 1 μl)
 (c) 0.2–1% (injection volume 1 μl)
 (d) 2–10% (injection volume 0.2 μl)

TEGDME との抽出量比が3回以後も、それ以前と同じであったので、迅速性を考え抽出は2回とした。

2. 内部標準物質の検討

内部標準物質としては DEG と物性（特に溶解性）が似ていて、保持時間に余り大差がなく、相対感度差も大きくなく、更にワイン抽出物のピークと重ならないことが必要である。エチレングリコール同族体及びそれらの誘導体 10 数種について調べた結果、TEGDME が Fig. 2 に示すようにほぼそれらの条件を満足した。

3. 検量線

ワイン中の DEG の含有量は予想し難いので 0.001% から 10% の範囲において 4 区間の検量線を作製した。その結果は Fig. 3 のとおりで、 x は DEG と TEGDME（内部標準）との相対面積カウント比、 y は DEG の含有

量（%）である。正確な定量が必要な場合には、その都度検量線を作製する必要がある。

4. 分析くり返し精度、回収率及び検出限界

それぞれの検量線範囲においてワインに一定量の DEG を添加した試料について、Fig. 1 の方法によって 5 回反復分析した。標準偏差、変動係数及び回収率は Table 1 のとおりである。0.005% 添加のものでは、その回収率がかなり悪い。変動係数がそう大きくないので、その理由としては内部標準との抽出挙動の差によるものと推定される。本法による検出限界は 0.002% である。

以上の結果から、本法によってワインに添加された DEG は 0.01% から 10% の範囲において迅速かつ簡易に、かなりの精度で定量できる。

Table 1 Precision and accuracy in the GLC analysis of diethylene glycol in wine

Sample No.	DEG content (%)			Standard deviation	Variance of coefficient (%)	Recovery (%)
	Original	Added	Found*			
1	0	0.005	0.0034	0.0001	4.3	67.9
2	0	0.05	0.0494	0.0013	3.0	98.7
3	0	0.5	0.4945	0.0057	1.2	98.9
4	0	5	4.9950	0.0980	2.1	99.9

* Average of five determinations

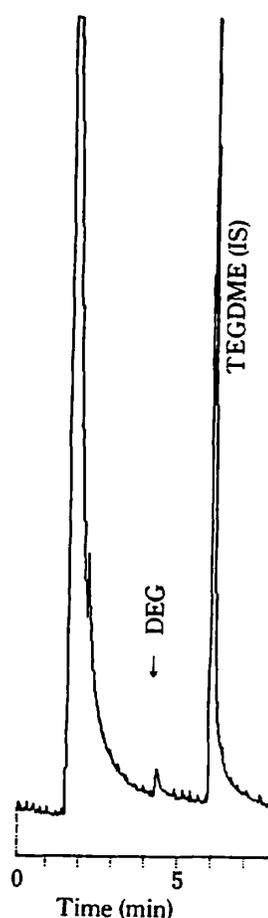


Fig. 4 Total ion chromatogram obtained by GC-MS Sample: White wine+0.05% DEG +1% TEGDME

Sample preparation procedure was shown in Fig. 1.

5. GC-MSによる同定

ドイツ産白ワインに DEG を 0.05%, TEGDME を 1% 添加した試料を Fig. 1 の方法で処理し、その 5 μ l を GC-MS に注入した。その場合の EI 全イオンクロマトグラムを Fig. 4 に示す。EI 及び CI マスペクトル

による確認限界は約 0.01% であった。

要 約

ワインに添加されたジエチレングリコール (DEG) をガスクロマトグラフィーで定量する方法について検討した。PEG-20 M 充填カラム, 3 m \times 3 mm (内径) を用い、200°C 定温で測定した。N₂ 流速は 40 ml/min, 検出器は FID.

試料の調製は次の方法によった。ワイン 1 g を乳鉢に入れ、それに内部標準としてテトラエチレングリコールジメチルエーテル (TEGDME) の 1% エタノール溶液 1 ml, 無水硫酸ナトリウム 15 g を添加してよく混和する。10 分間放置後、エタノール 10 ml で 2 回抽出する。抽出液を湯浴上で約 1 ml まで濃縮し、その 0.2~10 μ l を GC に注入する。あらかじめ TEGDME を内部標準として、DEG 含有量 0.001~10% の範囲について作製した検量線から DEG の含有量を求めた。ワインに DEG をそれぞれ 0.005%, 0.05%, 0.5% 及び 5% 添加した試料について、それぞれ 5 回反復測定した。変動係数と回収率はそれぞれ 4.3%, 67.9%; 3%, 98.7%; 1.2%, 98.9% 及び 2.1%, 99.9% であった。DEG の含有率 0.01% から 10% の範囲において精度の良い迅速な分析が可能である。

シリカキャピラリーカラム Hi Cap CBP-20, 25 m \times 0.2 mm (内径) を用いカラム温度 200°C で測定した GC-MS (EI 及び CI) では、この抽出方法によって約 0.01% までの DEG の確認が可能である。

文 献

- 1) FORLINI, J. D.: *J. Chromatogr.*, 7, 319 (1969).
- 2) KNUTH, M. L., HOGGLUND, M. D., *J. Chromatogr.*, 285 (1984).
- 3) DAVIS, A., GOLDEN, H. J.: *J. Chromatogr.*, 26, 255 (1967).

(昭和 60 年 9 月 27 日受理)