

市販缶ワインの GC-MS 分析法による経時評価

藤川 卓哉

Changes in the Volatile Components of Commercially Available Canned Wine during Storage

Takuya Fujikawa

The majority of wine containers are “Glass bottles”, and when they are replaced with “Cans”, the flavor of the wine may deteriorate. Although hydrogen sulfide generation has been reported in patents and studies on canned wine, there are no studies reporting the detection of hydrogen sulfide in commercial canned wine. Therefore, understanding of this process remains unclear. We report here results of a wine analysis study conducted on commercially available foreign canned wine (white) using large volume headspace gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Two methods were used for analysis. Hydrogen sulfide was only detected in the refrigerated samples. Because refrigerated samples change little over time, hydrogen sulfide was detected only in the early stages of storage and not as an off-flavor substance that occurs during long-term storage. The examined canned wines were stored at room temperature for over a year, but no off-flavors were detected, and the odor seemed to have diminished. It appears that it is important to check not only for substances that have increased as off-flavors, but also for substances that have decreased.

Key words: can, wine, hydrogen sulfide, large-volume headspace method, GC/MS

1. 背景及び目的

清涼飲料水などの容器は、「びん」から「缶・ペットボトル」への置き換えが進んでいるが、ワインに関しては現在も「びん」が主流となっている。「びん」は「缶・ペットボトル」と比較すると重量が大きい傾向にあり、落とすと割れやすいという欠点を有する。ワインは6割以上が輸入品であり、輸送時のCO₂排出量を考慮すると容器の軽量化が望まれる。缶は環境面で評価が高く (Brock & Williams 2020)、脱プラスチックの追い風もあり、缶ワインを研究対象とした。ワインを缶へ保存すると、オフフレーバーを発生するリスクが高くなるため (Thompson-Witrick *et al.* 2021、腐食防食協会編 1988)、ワイン用の缶が開発され、特許にて公開されている (大和製罐株式会社 2006)。本特許では、金属とワインの酸化防止剤である亜硫酸塩の反応による硫化水素の発生が示されている。一方、上市された缶ワインにおいて硫化水素の検出を報告した論文は発表されていない。このような、缶ワインのオフフレーバー研究をしている事例は少なく、未解明な部分が多いと考えられた。

本研究では、缶ワインにおけるオフフレーバー発生のメカニズム解明を目的とする。研究成果により、フレーバー及び環境に優れた缶ワインの普及に貢献できると考える。本報では、大容量ヘッドスペース法 GC-MS を用いたワ

イン分析の検討及び市販の海外缶ワインの調査結果について報告する。

2. 実験方法

2-1. 試薬

塩化ナトリウム/富士フィルム和光純薬 (株) 特級・・・
飽和食塩水作成試薬

飽和食塩水の作成方法：36(±1) g の塩化ナトリウムを 100 ml ビーカーへ入れ、Milli-Q® 水を 100 ml の目盛りまで入れ、スターラーで 10 分間以上攪拌した。

2-2. 試料調製

(1) GC-MS (Cold Trap Dehydration: CTD) 分析用ワインの調製

CTD 仕様にてワインを GC-MS 分析する場合、高濃度のアルコールが除去される工程がないため、エタノールが分析配管などに残ってしまい、その後の分析に支障がでてしまう。そのため、希釈量を多く設定した。また、希釈液に飽和食塩水を用いることにより、ワイン中に溶存する揮発成分をヘッドスペースへ移行させやすくした (飛塚ら 2009)。飽和食塩水 19 ml に 1 ml のワインを添加したものを、GC-MS (CTD) 用試料とした。

(2) GC-MS (Microscale Purge and Trap: MPT) 分析用ワインの調製

アルコールを除去する工程がある MPT 仕様にて GC-MS 分析する場合においても、除去できるエタノールの量には制限があるため希釈する必要があった。目安としてアルコール濃度 5% 未満になるように希釈した。飽和食塩水 15 ml に 5 ml のワインを添加したものを、GC-MS (MPT) 用試料とした。

(3) 分析用ワインの選定

海外の 250 ml 缶ワインを選定した。赤ワインは果皮由来のフレーバー成分が多く、白ワインよりも検出される物質が多くなるため、オフフレーバー成分を検出しにくくなると考え、白ワインを測定対象とした。2022 年 4 月にインターネットにて購入し、5℃と室温に保管した。5℃保管品においては半年保管後分析対象とし、室温保管品は、半年・1 年・1 年半保管後品を分析対象とした。

2-3. 大容量ヘッドスペースガス濃縮法 GC-MS 分析

(1) 分析方法の選定

ワインの香気成分分析において GC-MS による定性・定量分析事例は多く存在する。様々な前処理による分析方

法がある中で、ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会資料 (小野 2004) や末兼ら (2006) の報告書を参照し、大容量ヘッドスペースガス濃縮法 (Large Volume Static Headspace; LVSH) による GC-MS 分析を選択した。本測定法は、特にトップノートにおける感度が高く、本研究において重要な物質と考える硫化水素のように揮発性が高い物質の検出に優れている。ワインにはアルコール成分が 10% 以上含まれる場合が多く、GC-MS 分析においては、エタノールが多量に検出され、エタノールと重複する物質は、分析が困難となる。そこで、低沸点化合物分析を得意とする① Cold Trap Dehydration (CTD) 仕様で、エタノールよりも揮発しやすい物質の分析を行い、さらにエタノールを除去する工程がある② Microscale Purge and Trap (MPT) 仕様で、エタノールよりも揮発しにくい物質を分析することにした。

(2) 分析条件

濃縮装置は、Entech 7200 (ENTECH Instruments Inc.) を用いた。共通するガス捕集条件を Table 1 に示し、各仕様での濃縮条件を Table 2 及び Table 3 に示す。GC-MS 分析条件を Table 4 に示す。

Table 1 ヘッドスペースガス捕集条件

試料瓶容量	500 mL
試料量 (希釈後)	20 mL
ガス捕集量	200 mL
捕集温度	室温

Table 2 CTD 仕様によるヘッドスペースガス濃縮条件

	モジュール	温度
工程 1	Empty	Trap -40℃→Desorb 0℃
工程 2	Tenax	Trap -50℃→Desorb 150℃
工程 3	CryoFocus	Trap -160℃→Desorb 80℃

Table 3 MPT 仕様によるヘッドスペースガス濃縮条件

	モジュール	温度
工程 1	GlassBeads/Tenax	Trap 40℃→Desorb 240℃
工程 2	Tenax	Trap 40℃→Desorb 240℃
工程 3	CryoFocus	Trap -160℃→Desorb 100℃

Table 4 GC-MS 分析条件

GC	: Agilent 8890 GC System
MS	: Agilent 5977B GC/MSD アジレント・テクノロジー (株) 製
カラム	: DB-Heavy WAX (60 m x 250 μm, 0.25 μm) Agilent 製
キャリアガス	: He, 25 cm/sec
オープン温度	: 40°C (4 min) -140°C (5°C/min) -280°C (15°C/min)
注入口温度	: 220°C
注入法	: スプリット比 20:1 スプリット流量 30 mL/min
インターフェース温度	: 250°C
イオン源温度	: 230°C
測定モード	: scan (m/z 35-500)

(3) 検出器の追加

硫化水素を含む硫黄含有物質が缶ワインのオフフレーバー物質である可能性を考慮し、検出器には、高感度で硫黄含有物質を検出可能となる炎光光度検出器 (FPD(S) : 硫黄化合物対象) を追加した。FPD 検出器設定条件は Table 5 に示す。

Table 5 FPD 検出器の条件

温度	200°C (検出器)
Air	60 mL/min
H ₂	60 mL/min
メイクアップガス (N ₂)	5 mL/min

3. 結果と考察

3-1. GC-MS 分析結果

(1) CTD 仕様分析結果 (FPD 検出器)

海外缶ワイン (白) の経時保管品サンプルに対する CTD 仕様 (FPD) から得られたクロマトグラムを Fig. 1 に示す。硫化水素 (r.t. 5.0 分)、ジメチルスルフィド (r.t. 6.1 分) が検出された。硫化水素は冷蔵保管品のみ検出されていたが、室温保管品に関しては消失していた。

(2) MPT 仕様分析結果 (MS 検出器)

海外缶ワイン (白) の経時保管品サンプルに対する MPT 仕様 (MS) から得られたクロマトグラムにおいて

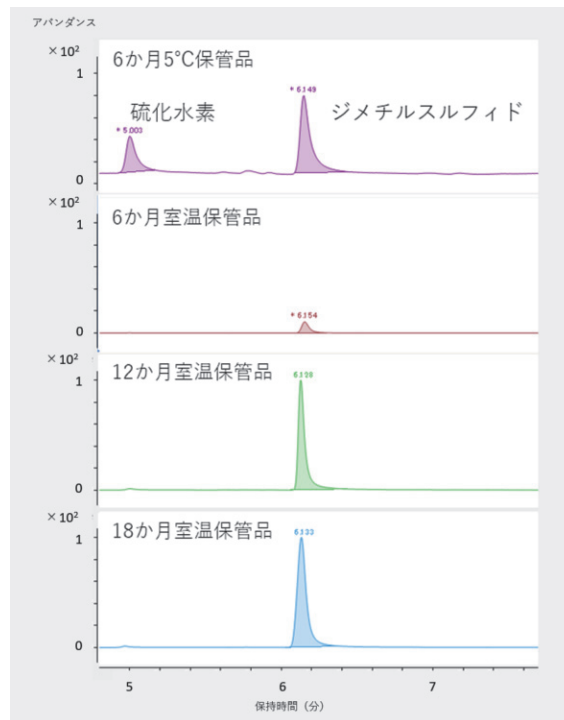


Fig. 1 海外缶ワインの CTD 仕様 (FPD) から得られたクロマトグラム

は、ピーク変化が顕著であった r.t.27 分以降のクロマトグラムを Fig. 2 に示す。

経時変化において増加しているピーク A (r.t. 29.2 分) と減少しているピーク B (r.t. 29.9 分) について、ライブラリ検索を実施した。ピーク A は、1,1,5-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (1,1,5-トリメチル-1,2-ジヒドロナフタレン) との検索結果になったが、本物質のフレーバー情報は無く、本物質の検出を報告した文献 (Moniruzzaman *et al.* 2014, Liu *et al.* 2021) は 2 件のみであった。ピーク B は、Acetic acid, 2-phenylethyl ester (酢酸 2-フェニルエチル) との検索結果になり、においのタイプとしてはフローラル・ローズ・甘い・蜂蜜・フルーティー等とさ

れている。

3-2. 海外缶ワイン経時保管品のフレーバー確認

各経時区においてフレーバーの確認を実施し、主なコメントとして Table 6 に示す。本データは統計的な官能評価を実施していないため、参考程度のデータとなる。

フレーバーの確認方法

所員 12 名より、ジメチルジスルフィドを異臭物質としてワインに 10、100 ppb 添加し、識別できるパネラーを選抜した。選抜 2 名以上のパネラーによる、缶ワインの各経時保管品の匂い (鼻先香) を確認した。

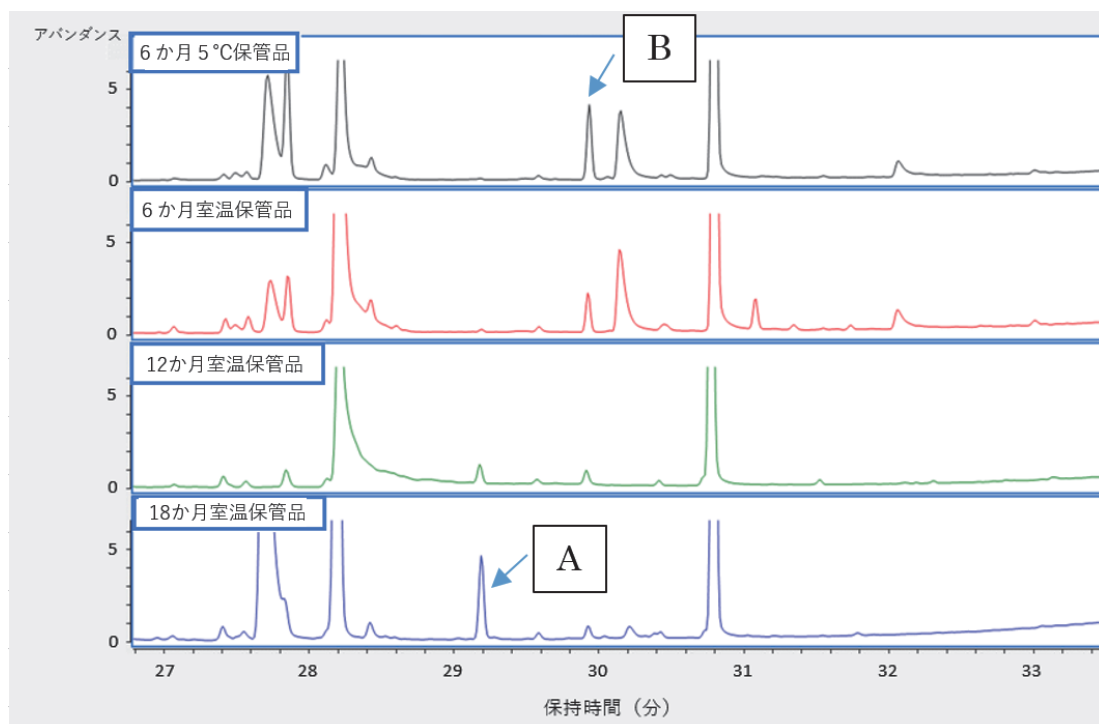


Fig. 2 海外缶ワインの MPT 仕様 (MS) から得られたクロマトグラム

Table 6 海外缶ワイン (白) の各経時保管品のフレーバー確認

	フレーバーコメント
6 か月 5°C保管品	果実らしいフレッシュ感あり・異臭なし
6 か月室温保管品	果実らしいフレッシュ感あり・異臭なし
12 か月室温保管品	フレーバーの減衰感あり・果実らしいフレッシュ感薄れる・異臭なし
18 か月室温保管品	フレーバーの減衰感あり・果実らしいフレッシュ感薄れる・異臭なし

3-3. GC-MS 分析結果より缶ワイン経時変化の考察

特徴的な変化として、硫化水素は冷蔵保管品のみ検出されていたが、室温保管品に関しては消失していた。室温経時保管により、硫化水素がさらに反応し、他の物質に変換されたと考える。

公開されている反応式



フレーバーコメントとの相関を考慮すると、経時により減少していた物質は、Acetic acid, 2-phenylethyl ester (酢酸 2-フェニルエチル) であり、フレーバーの減衰感を示した理由は、本物質が寄与している可能性がある。

4. まとめ

缶ワインのオフフレーバー発生メカニズム解明を目的として、海外市販缶ワインの揮発成分を大容量ヘッドスペース法 GC-MS 分析にて実施した。調査した海外市販缶ワインにおいて、硫化水素の検出は、購入後冷蔵保管したサンプルのみであった。冷蔵保管サンプルは、経時による変化が少ないと考えられるため、硫化水素の検出は、経時保管の初期段階のみであり、長期保管時のオフフレーバー物質そのものではないと示唆された。調査した海外市販缶ワインは、1年以上室温にて長期保管したが、異臭としてのオフフレーバーは確認されず、匂いの減衰が確認された。経時により減少していた物質は、Acetic acid, 2-phenylethyl ester (酢酸 2-フェニルエチル) であり、フレーバーの減衰感には、本物質が寄与している可能性がある。異臭としての増加物質だけでなく、減少物質の確認も重要であると考えられた。今後は他の市販缶ワイン調査や容器種毎にワインをリパックし、ワインの保存性 (フレーバー) を比較し、缶ワインのフレーバー変化メカニズム解明につなげる。

5. 参考文献

Brock, Alice; Williams, Ian, 2020, Life Cycle Assessment of Beverage Packaging., *Detritus*,

13(13), p.47-61. DOI: 10.31025/2611-4135/2020.14025.

大和製罐株式会社, 笠戸 英一郎; 君塚 崇; 白杵 佳恭; 平安 大地, 2006, ワイン缶詰用金属缶, 特許第4514119号, <https://www.j-platpat.inpit.go.jp/c1801/PU/JP-4514119/15/ja>.

腐食防食協会編, 1988, 金属の腐食・防食Q&A, 丸善出版, p.61.

Liu, Xiaobo; Liu, Yawen; Li, Pan; Yang, Jiangfan; Wang, Fang; Kim, Eunhye; Wu, Yuanyuan; He, Puming; Li, Bo; Tu, Youying, 2021, Chemical characterization of Wuyi rock tea with different roasting degrees and their discrimination based on volatile profiles., *RSC Advances*, **11**(20), p.12074-12085. DOI: 10.1039/D0RA09703A.

Moniruzzaman, M.; Rodríguez, I.; Ramil, M.; Cela, R.; Sulaiman, S. A.; Gan, S. H., 2014, Assessment of gas chromatography time-of-flight accurate mass spectrometry for identification of volatile and semi-volatile compounds in honey., *Talanta*, **129**(1), p.505-515. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.06.019.

小野 由紀子, 2004, “大容量ヘッドスペース/GCによる匂い成分の高感度分析”, “におい”とガスクロマトグラフィー, 第265回ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会資料, C-22 - C-31.

末兼 幸子; 隅谷 栄伸; 沖浦 文; 奈賀 俊人, 2006, 大容量静的ヘッドスペースガスGC-MS分析法による無菌化包装米飯のにおい成分評価, *缶詰時報*, **85**(9), p.143-153.

Thompson-Witrick, Katherine A.; Pitts, Eric R.; Nemenyi, John L.; Budner, Drew, 2021, The Impact Packaging Type Has on the Flavor of Wine., *Beverages*, **7**(2), p.36. DOI: 10.3390/beverages7020036.

飛塚 幸喜; 安食 雄介; 野内 義之, 2009, ラ・フランス果汁及びアルコール-エステル混合水溶液のヘッドスペースGC分析における塩析効果, *日本食品工学会誌*, **10**(3), p.155-162. DOI: 10.11301/jsfe.10.155.