

Быстрый анализ соединений с дымовой примесью в вине с помощью колонки для ГХ Agilent J&W DB-HeavyWax

Автор

Ванесса Аберкромби
(Vanessa Abercrombie)
Agilent Technologies, Inc.

Аннотация

Анализ таких соединений с дымовой примесью, как гваякол и 4-метилгваякол, в вине требует чувствительного метода ГХ с МС-детектированием в режиме мониторинга выбранного иона (SIM) или мониторинга множественных реакций (MRM). Колонка для ГХ DB-HeavyWAX идеально подходит для анализа этих полярных ароматических соединений в вине. Повышенная максимальная изотермическая температура DB-HeavyWAX 280 °C позволяет отжигать тяжелые соединения в вине. Кроме того, повышенная термическая устойчивость колонки DB-HeavyWAX обеспечивает стабильность времени удерживания в течение продолжительных периодов ввода проб вина и повышает воспроизводимость.

Введение

В процессе виноделия рост и созревание винограда являются, возможно, наиболее важным этапом. В начале созревания винограда снижается концентрация кислот и повышается концентрация сахара; в то же время начинают образовываться ароматические и вкусовые соединения. Существует множество внешних факторов, самым значимым среди которых являются погодные условия, которые определяют созревание винограда и готовность его к уборке. Другие условия окружающей среды, не связанные с температурой, например, дым от разведенных костров, могут оказывать значительное отрицательное воздействие на органолептические показатели вина.

Пожары вблизи виноградников — не редкость, особенно в Австралии и на Американском Западе. В тех случаях, когда пожары возникают после начала созревания винограда, его листья поглощают дым. Затем фотосинтез вызывает превращение углекислого газа в углеводы, в ягодах растет содержание сахара, но также происходит перенос прекурсоров дымовых соединений из листьев в ягоды¹. В процессе брожения сильные кислоты гидролизуют эти прекурсоры, образуя ароматические соединения гваякол и 4-метилгваякол. Присутствие этих соединений из-за дыма часто характеризуется как дымовая примесь. Чем дольше ягоды остаются на лозе после воздействия дыма, тем больше вероятность загрязнения ягод соединениями-прекурсорами дыма, что делает возможным загрязнение получаемого вина².

Хотя выдерживание вина в дубовых бочках также может повысить концентрацию гваякола и 4-метилгваякола, соотношение этих двух компонентов будет отличаться. Загрязненные дымом ягоды содержат

почти в четыре раза больше гваякола, чем 4-метилгваякола³. Аромат, даваемый дубовыми бочками, будет восприниматься как дым и древесный уголь. С другой стороны, когда эти два соединения присутствуют из-за дымовой примеси, аромат вина будет напоминать о кострах и пепельницах, что нежелательно.

Пределы обнаружения для анализа соединений с дымовой примесью должны отличаться достаточной чувствительностью, чтобы детектировать 1 млрд д. примеси (ppb), поэтому в анализе ГХ-МС зачастую используется SIM⁴. Прямой анализ вина может представлять сложность, потому что сахара и ароматические соединения с более высокими значениями времени удерживания для отжига из колонки требуют более высокой конечной температуры, чем значения, безопасные для использования с традиционными колонками типа WAX. Улучшенный предел температуры колонки для ГХ DB-HeavyWAX (280 °C изотермический и 290 °C программируемый), обеспечивает безопасный отжиг колонки после прямого ввода неразбавленного вина⁵. Кроме того, при применении более высоких скоростей подъема

температуры и более высокой конечной температуры 280 °C продолжительность анализа соединений с дымовой примесью в вине может быть сокращена до 15 мин.

Материалы и методы

Для этих экспериментов использовался ГХ Agilent 7890 совместно с трехкврупольной системой ГХ-МС Agilent 7010, оборудованной испарителем с делением и без деления потока, и пробоотборник Agilent 7693 с управляющим программным обеспечением Agilent MassHunter.

Пробоподготовка

Раствор этанола (10%) был приготовлен разбавлением чистого этанола (Sigma-Aldrich) дистиллированной водой с применением мерной стеклянной посуды класса А. Стандарты гваякола и 4-метилгваякола были приобретены в компании Sigma-Aldrich и приготовлены в концентрации 10 млрд д. (ppb) в 10% растворе этанола. Образцы красного и белого вина были приобретены в местной розничной сети и вводились неразбавленными в количестве 0,5 мкл.

Параметры оборудования

Условия ГХ	
Колонка	DB-HeavyWAX 30 м × 0,25 мм, 0,25 мкм (кат. номер 122-7132)
Газ-носитель	Гелий, постоянный поток, 1,2 мл/мин
Термостат	150 °C (2,0 мин), 30 °C/мин до 280 °C (выдержка 8 мин)
Испаритель	Режим с делением потока, 250 °C, коэффициент деления потока 200:1
Лайнер испарителя	UI с малым перепадом давления (кат. № 5190-2295)
Автосамплер	Автосамплер Agilent 7693
Расходные материалы тракта	
Септа	С оптимизированными температурными и герметизирующими характеристиками (ВТО), 11 мм (кат. № 5183-4757, 50 шт./уп.)
Позолоченное уплотнение	Позолоченное уплотнение Ultra Inert (кат. № 5190-6145, 10 шт./уп.)
Флаконы	2 мл, завинчивающаяся крышка, темное стекло, с местом для надписей, сертифицированные (кат. № 5182-0716, 100 шт./уп.)
Вкладыши для флаконов	250 мкл, стеклянные, деактивированные (кат. № 5181-8872, 100 шт./уп.)
Крышки для флаконов	9 мм, голубые, винтовые, ПТФЭ/красная силиконовая септа (кат. № 5185-5820, 500 шт./уп.)
Испаритель/МСД	Феррулы Vespel/графит 85/15 (кат. № 5062-3508, 10 шт./уп.)

Параметры трехкврупольного МСД 7010

Ширина	Соединение	Квантификатор			Квалификатор			Квалификатор		
		Ион-предшественник (m/z)	Ион-продукт (m/z)	Энергия соударения (В)	Ион-предшественник (m/z)	Ион-продукт (m/z)	Энергия соударения (В)	Ион-предшественник (m/z)	Ион-продукт (m/z)	Энергия соударения (В)
1	Гваякол	180,9	81,0	10	123,9	81,1	20	123,9	108,9	10
2	4-метилгваякол	137,9	122,9	10	122,9	66,9	10	122,9	95,0	5

Результаты и их обсуждение

Анализ ароматических пахучих соединений в вине с прямым вводом жидкой пробы может быть сложной задачей. Это связано с тем, что вино содержит широкий спектр соединений, включая тяжелые соединения с высокой температурой кипения, что требует высокой

конечной температуры или более продолжительного времени анализа для полного элюирования из колонки. Благодаря возможности колонки выполнять анализ до конечной температуры 280 °С все соединения могут элюироваться за 15 мин. Рис. 1 демонстрирует возможность элюирования таких соединений, как м-фенилэтанол, определенный поиском по NIST, и удерживать

конечную температуру 280 °С в течение 8 мин. При использовании более низкого значения конечной температуры для того, чтобы соединение элюировалось из колонки, потребуется более продолжительное конечное время удерживания, что увеличит общее время анализа.

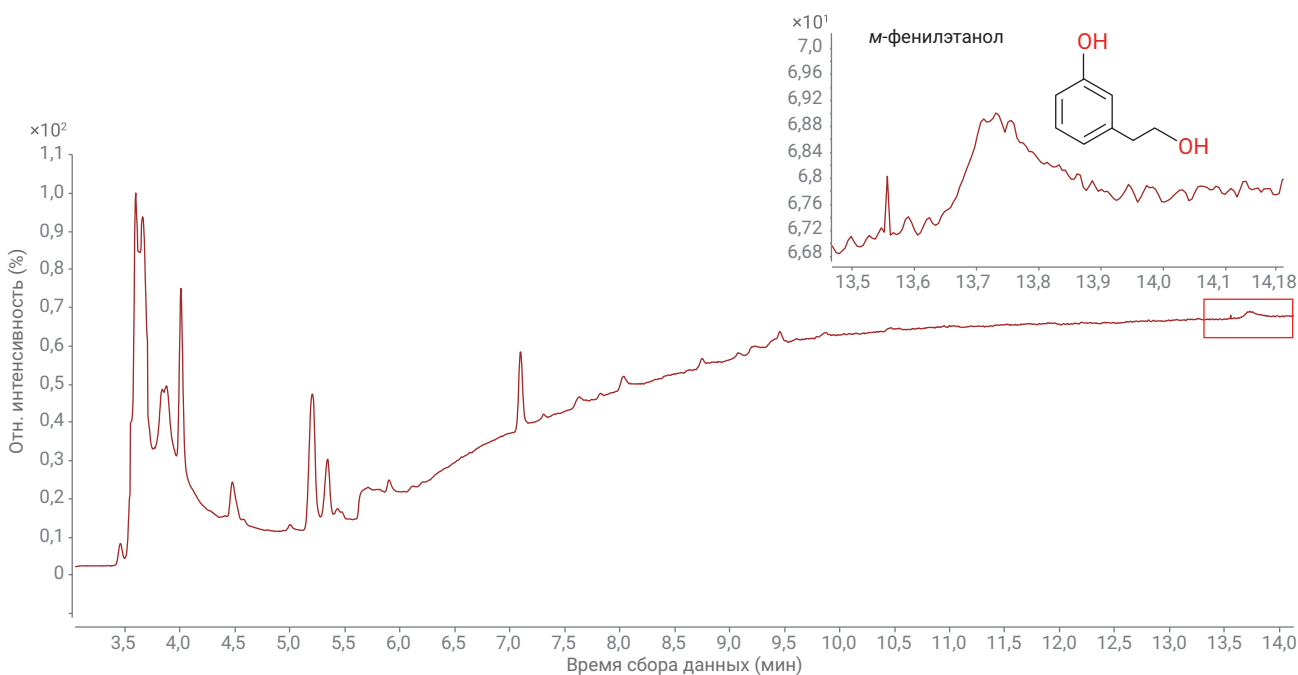


Рис. 1. Полное сканирование ввода пробы красного вина.

Так как система органов обоняния может обнаружить соединения с дымовой примесью в низких концентрациях, приблизительно 1 млрд д. (ppb) в вине, требуются такие чувствительные методы детектирования, как SIM или MRM. Ввод вина без пробоподготовки может привести к помехам, которые могут вызвать затруднения. Однако при использовании трехквартупольного

ГХ, работающего в режиме MRM, требуемая чувствительность достижима без необходимости времязатратной пробоподготовки. Стандарт соединений с дымовой примесью с концентрацией 10 млрд д. (ppb) был введен и проанализирован с помощью MRM (рис. 2). Хорошая форма пика стандарта свидетельствует о чувствительности этого метода.

Рис. 3 демонстрирует пробу белого вина без выдержки в дубе, продаваемое в герметичной упаковке с краном, проанализированную с добавкой 10 млрд д. (ppb) соединений с дымовой примесью и без нее. Даже в матрице пробы белого вина пики гваякола и 4-метилгваякола были четко детектированы.

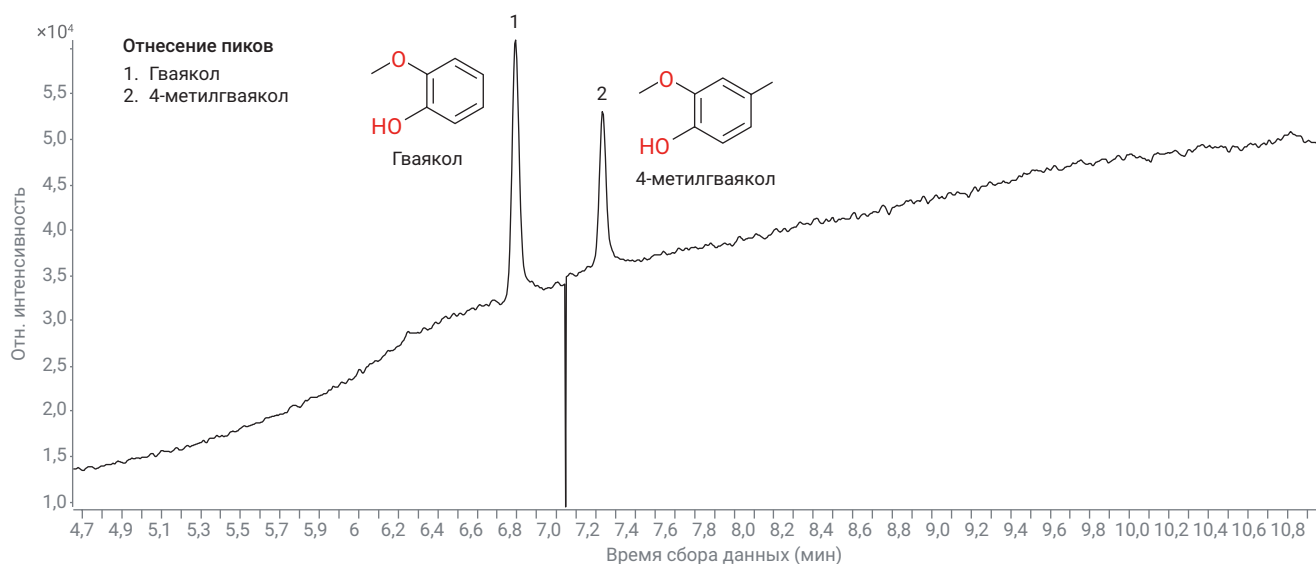


Рис. 2. Стандарт соединений с дымовой примесью с концентрацией 10 млрд д., собранных с помощью режима MRM.

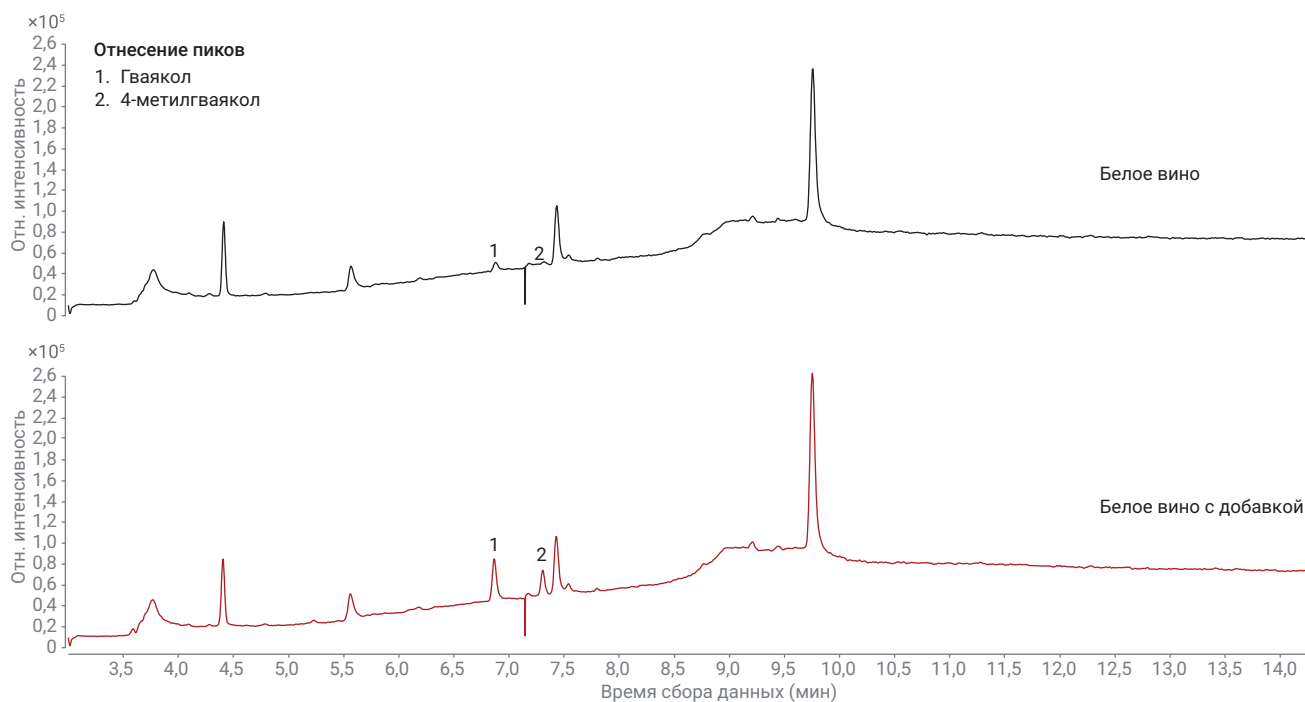


Рис. 3. Белое вино с добавкой соединений с дымовой примесью с концентрацией 10 млрд д., собранных с помощью режима MRM, и без нее.

Воспроизводимость

Рис. 4А и 4В демонстрируют воспроизводимость и устойчивость колонки DB-HeavyWAX при анализе соединений с дымовой примесью в течение 100 вводов водной матрицы. Стандарт дымовой примеси концентрацией 10 млрд д. (ppb) на рис. 4А и красного вина на рис. 4В

был введен до и после 100 вводов 10% раствора этанола в воде. Сигналы обеих матриц, стандарта в 10% растворе этанола и красного вина были воспроизводимы после многочисленных водных вводов, демонстрируя устойчивость колонки DB-HeavyWAX в этих условиях.

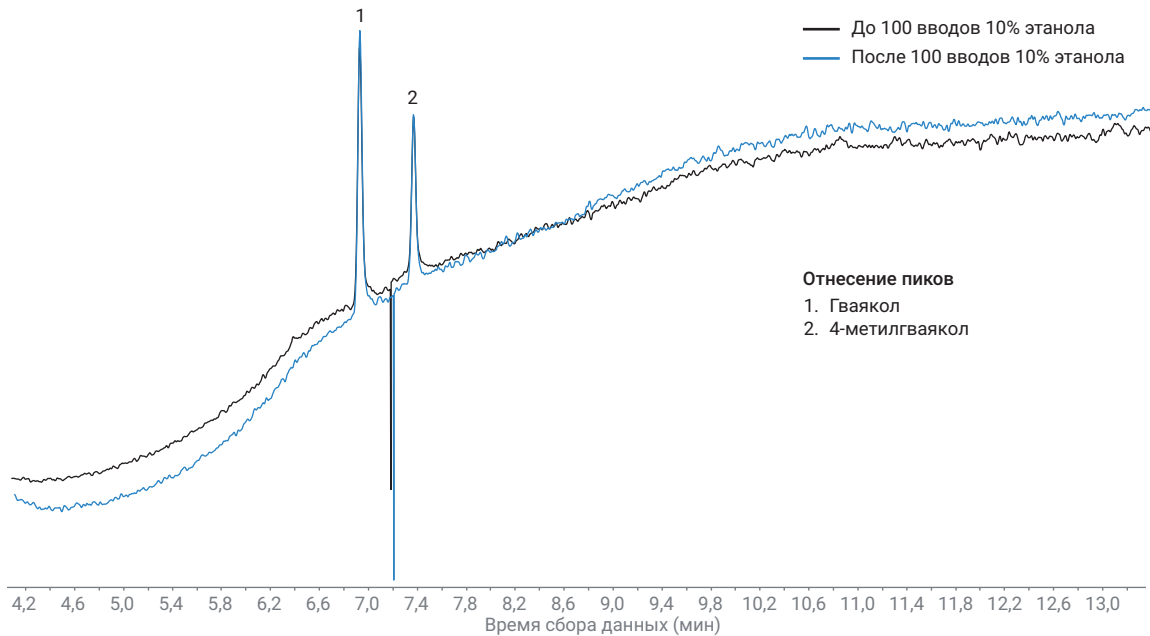


Рис. 4А. Стандарт дыма в концентрации 10 млрд д. в течение 100 вводов 10% этанола, собранного с помощью MRM.

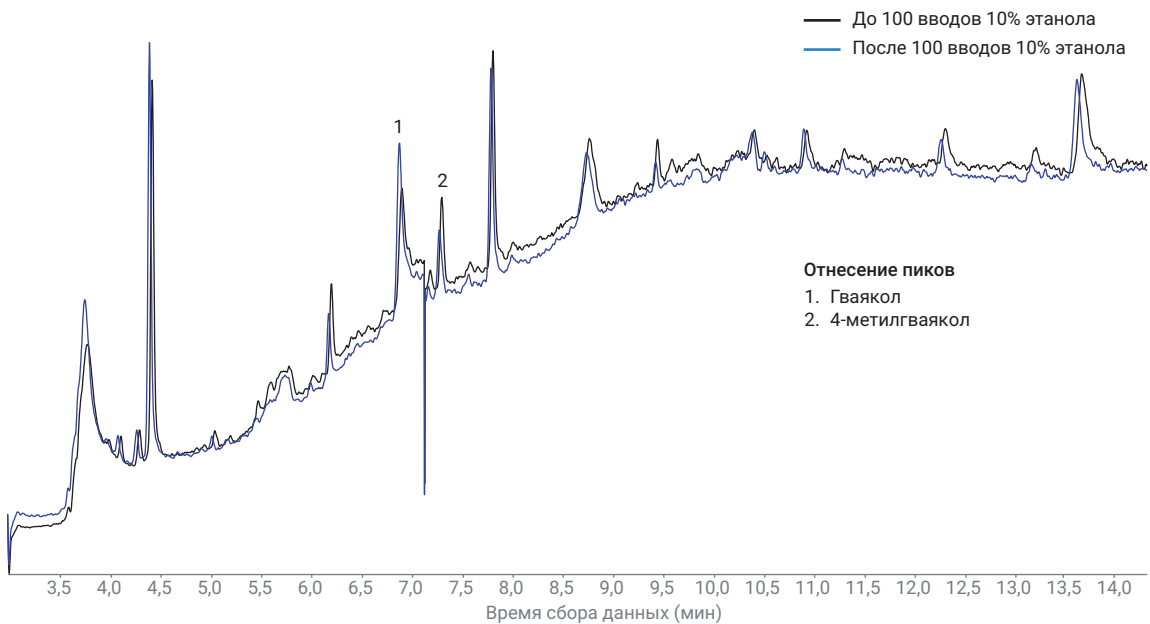


Рис. 4В. Красное вино до и после 100 вводов 10% этанола, собранного с помощью MRM.

Выводы

Анализ соединений с дымовой примесью в вине посредством масс-спектрометрии в режиме мониторинга множественных реакций с помощью колонки для ГХ DB-HeavyWAX представляет собой чувствительный и надежный метод. Повышенный диапазон температур колонки DB-HeavyWAX, а именно до 280 °С изотермический и до 290 °С программируемый, гарантирует, что сильноудерживаемые соединения в пробах вина элюируются из колонки, обеспечивает более безопасный отжиг колонки и снижает риск эффекта памяти соединений. Благодаря повышенной термической устойчивости колонки DB-HeavyWAX значения времени удерживания отличаются стабильностью даже после 100 водных вводов, демонстрируя устойчивость DB-HeavyWAX.

Литература

1. Pollnitz, A. P.; *et al.* The Effects of Sample Preparation and Gas Chromatograph Injection Techniques on the Accuracy of Measuring Guaiacol, 4-Methylguaiacol and Other Volatile Oak Compounds in Oak Extracts by Stable Isotope Dilution Analyses. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 3244–3252.
2. Kennison, K. R.; *et al.* Effect of timing and duration of grapevine exposure to smoke on the composition and sensory properties of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2009**, *15*, 228–237.
3. Herve, E.; Price, S.; Burns, G. Free Guaiacol and 4-Methylguaiacol as Markers of Smoke Taint in Grapes and Wines: Observations from the 2008 Vintage in California. *Proceedings of the 9e Symposium International d'Enologie*, Бордо, Франция, **2011**.
4. Wilkinson, K. L.; *et al.* Comparison of methods for the analysis of smoke related phenols and their conjugates in grapes and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **2011**, *17*, S22–S28.
5. Abercrombie, V.; Provoost, L. Increased Thermal Stability and Maximum Temperature of the Agilent J&W DB-HeavyWAX Column, *рекомендации по применению Agilent Technologies*, номер публикации 5991-9035EN, **2018**.

www.agilent.com/chem

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2018.
Напечатано в США 17 июля 2018 г.
5994-0081RU