

Instrument: Pegasus BT and ChromaTOF Sync

サンプルセット解析によるトラディショナル・シャルドネとバタリー・シャルドネの比較

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

キーワード：ワイン、香気プロファイル、GC、MS、TOFMS、固相マイクロ抽出（SPME）、保持指標（RI）、デコンボリューション、ピークファインディング、アライメント、ChromaTOF Sync

Introduction

ガスクロマトグラフィー（GC）および質量分析（MS）は、複雑なサンプル中の個々の成分を明らかにする強力な分析手法です。GCにより成分が分離され、MS検出では観測されたスペクトルデータをライブラリーデータベースと照合することで、化合物の同定が可能となります。

飛行時間型質量分析（TOFMS）によるフル m/z レンジのデータ取得は、共溶出が生じた際にも数学的な分離を可能にするデコンボリューションを実施でき、サンプルからより多くの化学情報を抽出することができます。さらに、保持指標（Retention Index, RI）および溶出順序の情報を組み合わせることで、化合物同定の信頼性を一層高めることができます。単一試料の特性解析を複数試料のセットへ拡張するには、サンプル群全体を通して関連する化学情報をリンクさせる必要があります。このようなデータ統合や比較・特徴抽出には、専用のデータ処理ソフトウェアが有効です。

ChromaTOF Sync™ は、試料セット全体に対してピーク検出およびデコンボリューションを行い、ピーク情報を統合してコンポジットピークテーブルを生成するデータ解析ツールです。これにより、個々の化合物の挙動やサンプル間の全体的な傾向を容易に可視化・解析できます。

このようなワークフローは、多様なサンプルタイプや市場分野に幅広く適用可能です。本研究では、飲料試料、特に同一ブドウ園・同一ヴィンテージの2種類のシャルドネワインを対象に、化学組成を比較解析しました。

1つは従来型のトラディショナル・シャルドネ、もう1つはマロラクティック発酵など追加工程を経たバタリー・シャルドネです。一般に、バタリー・シャルドネはバター様、カラメル様、豊かな果実香を持ち、トラディショナル・シャルドネはよりフルーティで、フレッシュ、シトラス、クリスピな印象を与えるとされています。今回分析したワインもこの特徴と一致していました。

本研究では、GC-MS および ChromaTOF Sync™ を用いて、両ワインに含まれる特徴的な化学成分の傾向を調べ、それらの感覚特性（香気）と関連づけて解析しました。代表的な化合物の例を取り上げ、その違いを示します。

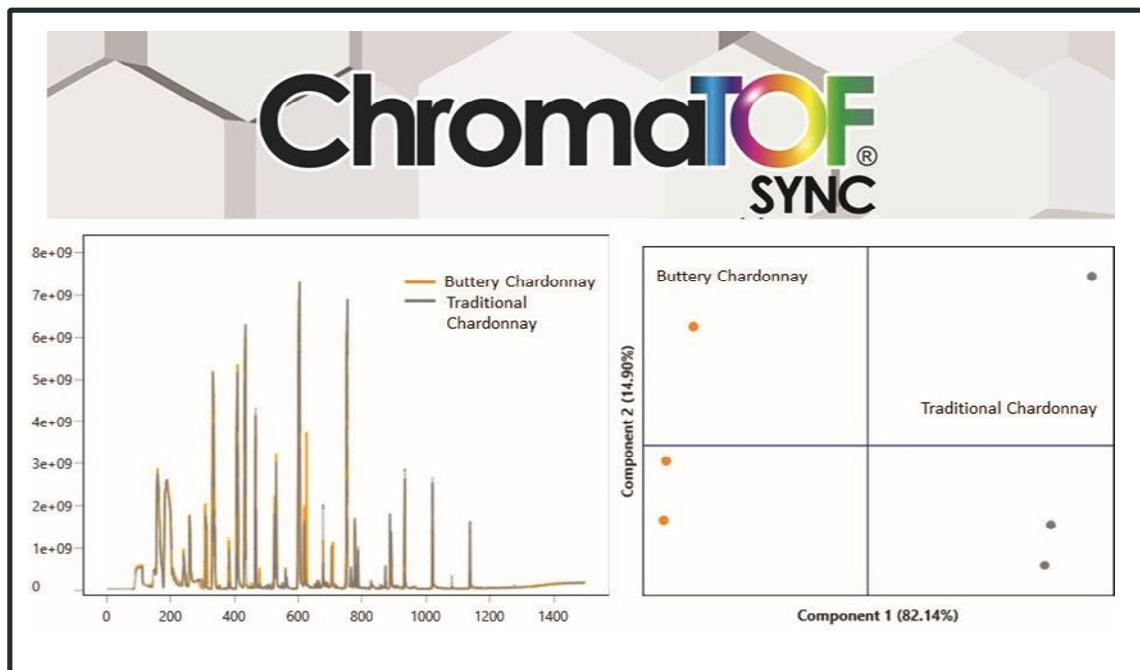


図 1. バタリー・シャルドネ（オレンジ）およびトラディショナル・シャルドネ（グレー）の3反復 TIC クロマトグラムを重ね合わせて表示。ChromaTOF Sync™ で得られたピーク情報をもとに主成分分析（PCA）を行うと、両ワインは第1主成分（PC1）上で明確に区別された。

Experimental

各ワイン試料は、ヘッドスペース固相マイクロ抽出法 (Headspace Solid Phase Microextraction, HS-SPME) と GC-TOFMS により 3 反復で分析しました。

各反復ごとに、ワイン 2 mL を 20 mL ヘッドスペースバイアルに分取し、LPAL-3 アジテーターで 40 °C・2 分間のインキュベーションを行いました。その後、同温度でトライフェーズ SPME ファイバー (DVB/C-WR/PDMS) を用い、5 分間抽出を行いました。保持指標 (RI) の算出には、同条件でアルカン標準試料も分析しました。

得られた GC-TOFMS データは LECO 社 ChromaTOF Sync™ ソフトウェアを用いて処理・解析しました。

Table 1. Instrument (*Pegasus BT*) Conditions

Auto Sampler	LECO L-PAL 3 Autosampler
注入方式	GC インレット内で 2 分間脱着、スプリットレス
ガスクロマトグラフ	LECO GC
注入口温度	250 °C
キャリアガス	He @ 1.4 mL/min
カラム	Stabilwax, 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 μm coang
温度プログラム	40 °C (2 分保持) → 10 °C/min → 250 °C (2 分保持)
トランスファーライン温度	260 °C
質量分析計	LECO <i>PegasusBT</i>
イオン源温度	250 °C
質量範囲	35-300 m/z
取得速度	10 spectra/s

Results and Discussion

図 1 に、2 種類のシャルドネワインの TIC クロマトグラムを重ね合わせて示します。オレンジ色のトレースはバタリー・シャルドネ、グレーはトラディショナル・シャルドネを表しています。

これらのクロマトグラムを初見で比較すると、多くのピークがほぼ同一のレベルで重なっており、両試料は全体として類似しているように見えます。

しかし、ChromaTOF Sync のピークファインディング機能を用いることで、各成分の同定情報および試料セット全体における相対的な変動傾向を抽出することができます。

ChromaTOF Sync によって統合された解析結果から、個々の特徴的なピークをさらに詳細に評価しました。その一例として、図 1 に示すように保持時間 $tR = 507$ 秒付近に溶出するピークがあります。このピークのピークファインディング結果を図 2 に示します。観測されたスペクトル (図 2 右下) は、NIST ライブライデータベースにおいて 3-メチル-1-ペントノール (3-methyl-1-pentanol) に一致し、類似度スコアは 946 でした。

また、保持指標 (Retention Index, RI) による裏付けも得られ、観測 RI 値 1323 はライブラリ値 1326 と良好に一致しました。

6 試料全体 (サンプル 1~3 がバタリー・シャルドネ、4~6 がトラディショナル・シャルドネ) の挙動は、図 2 左上のオーバーレイクロマトグラム、右上の並列プロット、左下の棒グラフに示されています。

この成分は両ワインでほぼ同程度の濃度で検出されており、ワインの共通した特徴に寄与していると考えられます。

このように、推定同定情報を得た上でサンプル間の傾向を可視化することで、香気成分がワインの特性にどのように関与しているかをより深く理解することができます。

例えば 3-メチル-1-ペントノールは、「フーゼル」「コニャック」「ワイン」「カカオ」「グリーン」「フルーティ」といった香気記述で知られており、両ワインの発酵香や果実香の特徴と一致します。

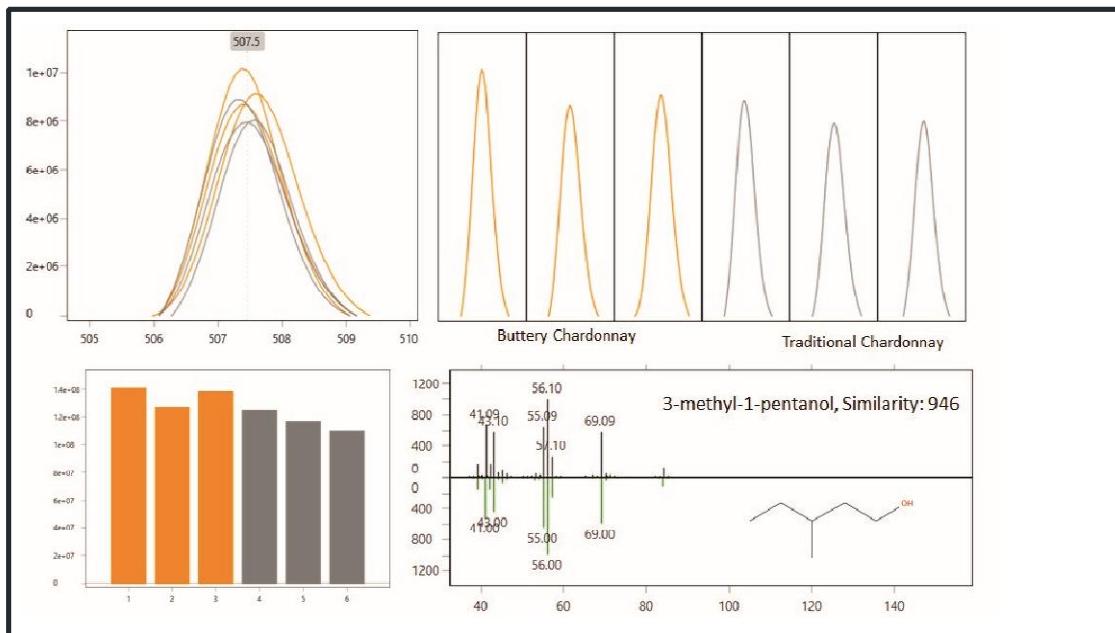


図 2. 3-メチル-1-ペントノールは、バタリー・シャルドネ（オレンジ）およびトラディショナル・シャルドネ（グレー）の両方で検出された。ChromaTOF Sync によるピークファインディング結果を示している。

目視で特定できる成分もありますが、データ解析ツールを用いることで、TIC クロマトグラムからは判別できない多数の成分を検出することができます。

特に、共溶出成分や低濃度成分の場合、*ChromaTOF Sync* のような高度な処理によってより多くの情報を得ることが可能です。

ChromaTOF Sync のピークファインディングでは、数学的デコンボリューション (deconvolution) を組み込み、クロマトグラム上で共溶出している成分を分離・抽出します。

図 3 に示す例では、酢酸 (acetic acid) とイソペンチルヘキサノエート (isopentyl hexanoate) が共溶出していることが確認できます（青線と緑線）。

このうち酢酸はクロマト的に過剰な信号を示していましたが、デコンボリューションによって下層に隠れていたピークも明確に分離できました。

それぞれのスペクトルはライプラリーデータベースと照合され、酢酸で類似度スコア 965、イソペンチルヘキサノエートで 890 を示しました。

さらに、RI 値も酢酸で 1455 (ライプラリ値 1449)、イソペンチルヘキサノエートで 1457 (ライプラリ値 1451) と良好な一致を示しています。

両成分の相対的な挙動は、青および緑のクロマトグラムトレースや、各成分の棒グラフ（オレンジ：バタリー、グレー：トラディショナル）から確認できます。

どちらの成分も両ワインでほぼ同程度の濃度で検出されました。

酢酸は「シャープ」「刺激的」「酸味」「ビネガー」様の香りを持ち、イソペンチルヘキサノエートは「フルーティ」「バナナ」「リンゴ」「パイナップル」「グリーン」といった果実香を示します。

これらの香気はどちらのワインにも共通する特徴であり、両者の基本的な香味構成に重要な役割を果たしていると考えられます。

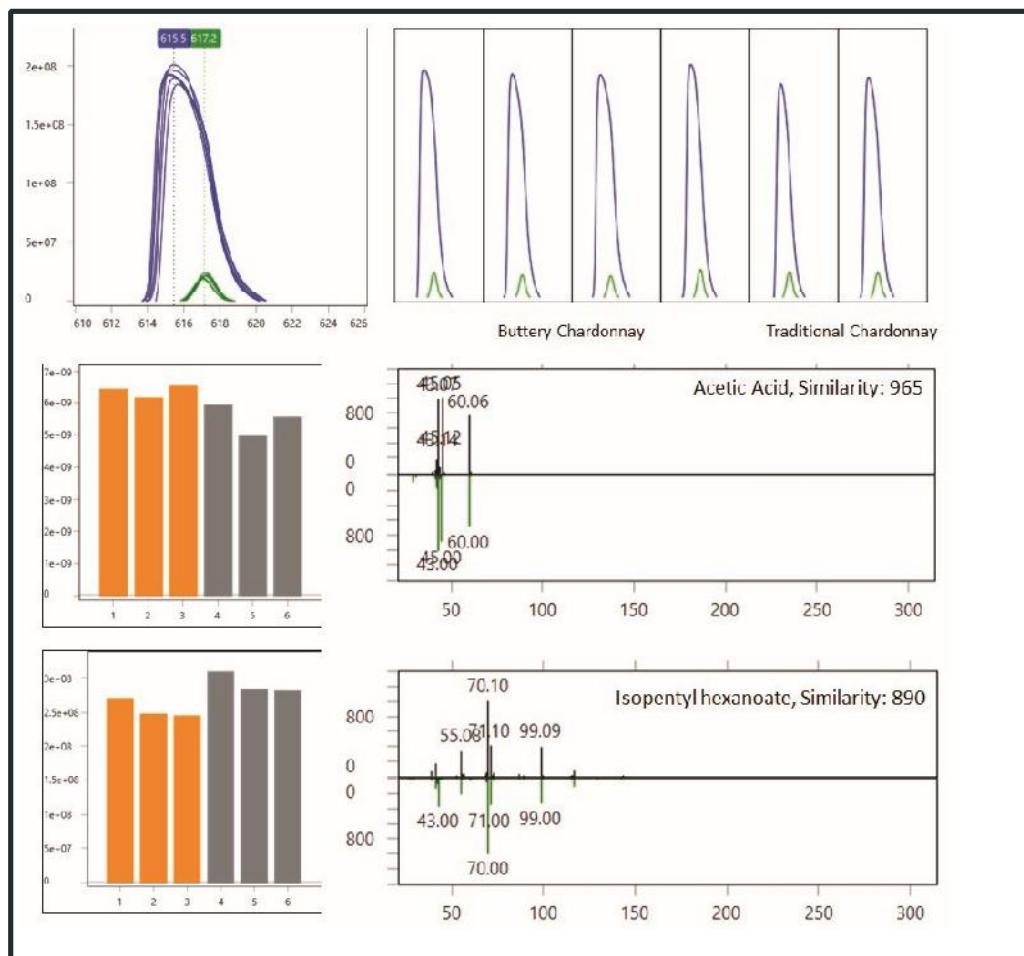


図 3. デコンボリューションにより、ワイン試料中で近接して溶出する 2 成分の情報を抽出。青線は酢酸 (acetic acid)、緑線はイソペンチルヘキサノエート (isopentyl hexanoate) を示す。両成分は、バタリー・シャルドネ（オレンジ）およびトラディショナル・シャルドネ（グレー）でほぼ同程度の濃度で検出された。

TIC クロマトグラム上では、図 2 および図 3 に示したように両ワインの差はわずかに見えますが、*ChromaTOF Sync* による詳細解析では、いくつかの成分に明確な違いが確認されました。

その一例として、保持時間 $tR = 624$ 秒付近のピークは、トラディショナル・シャルドネ（グレー）に比べ、バタリー・シャルドネ（オレンジ）で明らかに高い強度を示しました。

このピークのピークファインディング情報を図 4 に示します。観測スペクトルは、NIST ライブラリーデータベースにおいてフルフラール (furfural) と一致し、類似度スコアは 924 でした。また、算出された保持指標 (RI) は 1466 で、ライブラリ値 1461 と良好な一致を示しています。

この化合物は、ワインの香気特性を理解する上で重要な指標成分です。フルフラールは、「甘い」「ウッディ」「アーモンド」「焼きたてのパン」様の香調を持ち、さらに「キャラメル」香とも関連します。オーク樽熟成ワインでしばしば検出される成分であり、バタリー・シャルドネの製造工程および風味特性と密接に関係しています。

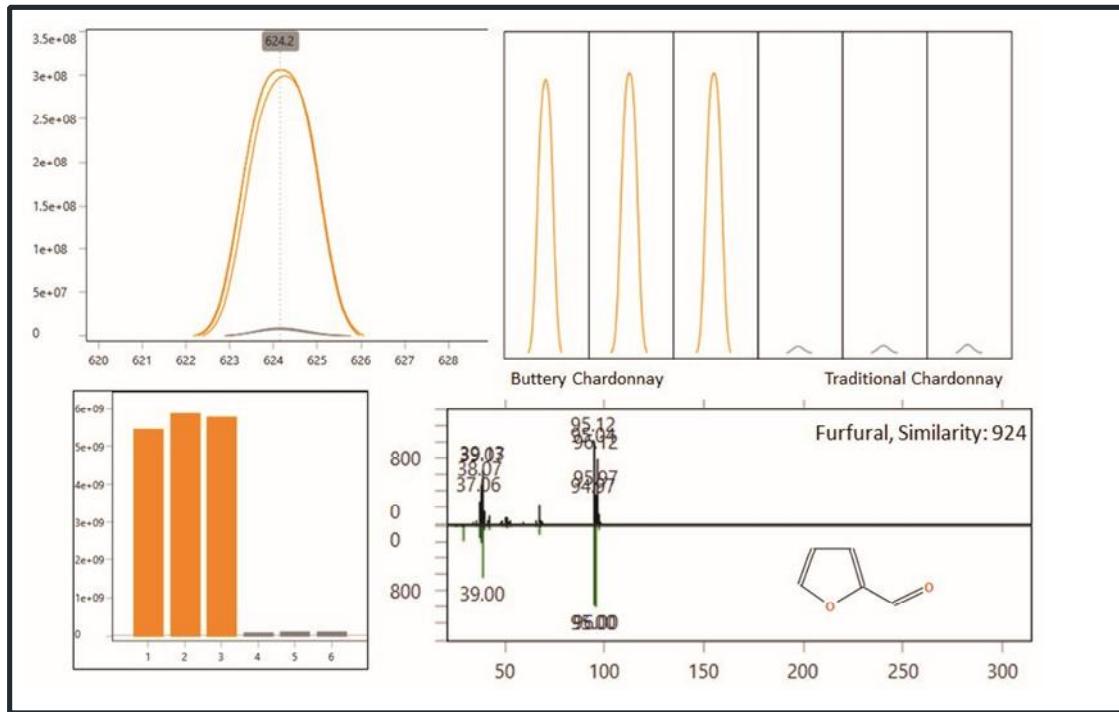


図 4. フルフラールはバタリー・シャルドネ（オレンジ）で高濃度に検出され、重ね合わせたクロマトグラムからも視覚的にその差異が確認できる。

さらに、*ChromaTOF Sync* によるピークファインディングを進めることで、サンプル間の違いがより明確になりました。全体の化学情報を主成分分析 (PCA) で評価したところ、両ワインは第 1 主成分 (PC1) 上で明確に分離し、TIC クロマトグラムだけでは見えなかった組成上の差異が可視化されました（図 1 参照）。

この解析では、信号対雑音比 (S/N) が 30 以上、かつライプラリ類似度が 800 以上のピークを変数として使用しました。この結果、*ChromaTOF Sync* のピークファインディング機能が、両ワインの化学プロファイルの差を明らかにする上で極めて有用であることが示されました。

代表的な成分の一部を図 5 に示します。これらは、質量スペクトル照合（類似度スコア）および保持指標 (RI) の一致によって支持された推定同定結果です。

図 5 のヒートマップには、成分ごとの相対傾向が示されており、赤が高濃度、青が低濃度を表します。サンプル列 1~3 はバタリー・シャルドネ、4~6 はトラディショナル・シャルドネに対応しています。

また、これら代表成分のうちいくつかについては、図 6~図 8 で詳細情報を示します。

Name	Formula	Similarity	CAS	R.I. calc	R.I. lab	S/N	Aroma	Notes	Med RT	1	2	3	4	5	6
Acetoin	C ₃ H ₆ O ₂	862	513-86-0	1287	1285	28022.28	buttery	sweet buttery creamy dairy milky fatty	476.2	63.02	38.12	190.06	228.94	26.28	11.84
Furfural	C ₅ H ₈ O ₂	924	98-01-1	1466	1461	45074.62	bread	sweet woody almond fragrant baked bread	624.2	154.55	74.64	842.68	020.43	84.74	75.68
Ethanone, 1-(2-furanyl)-	C ₈ H ₁₀ O ₂	858	1192-62-7	1507	1499	3940.17	balsamic	sweet balsam almond coco caramel coffee	655.4	116.00	129.28	600.59	500.26	66.53	33.13
2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	C ₈ H ₁₀ O ₂	944	620-02-0	1577	1570	17280.68	caramellic	spice caramel maple	706.9	191.67	70.99	301.16	363.12	92.66	81.14
Creosol	C ₈ H ₁₀ O ₂	897	93-51-6	1961	1956	2047.50	spicy	spicy clove vanilla phenolic medicinal leathery woody smoky burnt	960.4	178.02	190.43	107.86	375.93	32.97	60.00
2(3H)-Furanone, 5-butylidihydro-4-methyl-, cis-	C ₉ H ₁₂ O ₃	954	55013-32-6	1967	1957	3575.72	spicy	sweet spicy coconut vanilla	964.4	52.29	129.70	116.63	356.66	10.12	68.13
Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	862	97-53-0	2169	2169	375.98	spicy	sweet spicy clove woody	1082.7	182.66	126.24	313.63	915.53	60.29	62.23
Vanillin	C ₈ H ₈ O ₃	954	121-33-5	2548	2568	517.53	vanilla	sweet vanilla creamy chocolate	1290.5	191.86	181.35	667.71	735.86	26.76	65.20
Benzaldehyde, 2-hydroxy-	C ₇ H ₈ O ₂	936	90-02-8	1686	1670	1425.60	medicinal	medical spicy cinnamon wintergreen cooling	783.3	140.09	75.25	542.59	713.26	22.67	08.07
Phenol, 2-methoxy-	C ₇ H ₈ O ₂	914	90-05-1	1866	1860	2030.93	phenolic	phenolic smoke spice vanilla woody	900.8	199.63	196.65	157.92	321.50	95.29	14.64
trans-3-Methyl-4-octanolide	C ₉ H ₁₈ O ₂	959	39638-67-0	1898	N.A.	4058.02	coconut	spicy coconut clove celery incense	920.8	129.35	143.09	120.36	968.81	24.06	54.83
Benzaldehyde	C ₇ H ₈ O	957	100-52-7	1527	1520	4563.35	fruity	strong sharp sweet bitter almond cherry	670.9	175.82	149.50	153.44	397.16	28.08	04.22
Benzaldehyde, 4-methyl-	C ₈ H ₁₀ O	894	104-87-0	1630	1648	325.25	fruity	fruity cherry deep phenolic	744.0	162.35	142.25	235.52	733.29	11.74	01.18
Methyl 2-furoate	C ₆ H ₈ O ₄	892	611-13-2	1580	1563	5318.14	fungal	fruity mushroom fungus tobacco sweet	708.8	101.61	497.17	740.03	819.65	94.72	96.34
Acetic acid, methyl ester	C ₄ H ₈ O ₂	965	79-20-9	822	828	7020.43	etheral	ether sweet fruity	131.7	111.18	102.79	420.40	868.23	01.03	31.83
Ethyl Acetate	C ₄ H ₈ O ₂	882	141-78-6	884	888	26568.33	etheral	etheral fruity sweet weed green	156.0	196.44	190.05	330.97	302.51	90.48	53.04
1-Propanol, 2-methyl-	C ₅ H ₁₂ O	947	78-83-1	1095	1092	61939.22	etheral	etheral winy corex	308.2	143.54	302.14	854.11	026.15	00.51	80.75
1-Butanol, 3-methyl-	C ₆ H ₁₄ O	852	123-51-3	1206	1209	39140.36	fermented	fuel oil alcoholic whisky fruity banana	407.5	301.49	191.32	310.19	963.57	14.32	88.05
1-Pentanol, 3-methyl-	C ₆ H ₁₄ O	946	589-35-5	1323	1326	4016.88	fermented	fuel cognac wine cocoa green fruity	507.5	159.20	111.38	216.67	711.10	62.95	33.47
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	965	64-19-7	1455	1449	42113.64	acidic	sharp pungent sour vinegar	615.5	115.50	170.30	334.74	589.19	17.85	48.31
Benzeneacetic acid, ethyl ester	C ₉ H ₁₂ O ₃	876	101-97-3	1789	1783	956.85	floral	sweet floral honey rose balsam cocoa	852.2	168.43	159.49	084.26	550.61	47.03	20.06
Phenylethyl Alcohol	C ₈ H ₁₀ O	943	60-12-8	1915	1907	28839.54	floral	floral rose dried rose flower rose water	932.0	166.43	147.36	590.14	982.22	42.20	65.85
Octanoic acid, ethyl ester	C ₉ H ₁₈ O ₂	837	106-32-1	1438	1435	138360.60	waxy	fruity wine waxy sweet apricot banana brandy pear	602.1	151.81	196.25	039.62	359.79	21.52	81.44
Isobutyl acetate	C ₇ H ₁₄ O ₂	951	110-19-0	1012	1012	14702.07	fruity	sweet fruity ethereal banana tropical	238.6	167.32	104.46	582.17	679.26	99.99	02.88
Butanoic acid, ethyl ester	C ₅ H ₁₀ O ₂	937	105-54-4	1034	1036	29400.40	fruity	fruity juicy fruit pineapple cognac	257.0	119.67	130.13	276.23	088.58	45.49	35.81
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	890	7452-79-1	1049	1052	2934.18	fruity	sharp sweet green apple fruity	269.5	191.61	199.38	018.59	135.58	52.99	47.44
Acetic acid, pentyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂	957	628-63-7	1170	1176	1532.96	fruity	etheral fruity banana pear banana apple	375.5	111.22	102.43	487.88	548.92	29.24	23.30
Acetic acid, hexyl ester	C ₇ H ₁₄ O ₂	969	149-19-7	1272	1273	95014.43	fruity	fruit green apple banana sweet	463.8	122.86	102.73	753.06	017.80	01.94	81.99
Isopentyl hexanate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	890	2198-61-0	1457	1451	7477.12	fruity	fruity banana apple pineapple green	617.2	132.85	143.73	130.09	368.75	29.75	30.63
Acetic acid, heptyl ester	C ₈ H ₁₆ O ₂	804	112-06-1	1371	1377	1637.77	green	fresh green rum ripe fruit pear apricot woody	548.4	196.58	147.42	311.97	788.21	28.69	03.38
Acetic acid, octyl ester	C ₉ H ₁₈ O ₂	930	112-14-1	1473	1475	1135.78	floral	green earthy mushroom herbal waxy	629.3	178.19	157.68	394.66	171.87	11.55	13.22
Acetic acid, phenylmethyl ester	C ₉ H ₁₀ O ₂	920	140-11-4	1733	1720	330.07	floral	sweet floral fruity jasmin fresh	814.7	128.19	137.64	771.88	832.18	90.04	33.48
Acetic acid, 2-phenylethyl ester	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	958	103-45-7	1820	1813	15813.03	floral	floral rose sweet honey fruity tropical	872.0	112.94	163.47	534.85	602.06	15.64	32.00
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylene)-	C ₁₀ H ₁₄	822	586-62-9	1282	1284	1211.65	herbal	fresh woody sweet pine citrus	472.0	332.07	377.41	961.26	348.61	39.90	23.88
Ethyl 9-decanoate	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	884	67233-91-4	1690	1694	9248.96	fruity fatty	fruity fatty	785.7	192.03	105.74	139.67	551.91	95.95	02.88

図 5. ChromaTOF Sync により統合されたサンプルセットのピークテーブル情報。バタリー・シャルドネで高濃度、両者で同程度、またはトラディショナル・シャルドネで高濃度といった、異なる傾向を示す代表的化合物を表示。ヒートマップでは赤が高濃度、青が低濃度を表す。各化合物の香気特性も併記。

図 5 の上部に示された化合物は、バタリー・シャルドネで高濃度に検出されました。これらのうち 2 成分の詳細情報を図 6 および図 7 に示します。

図 6 に示す アセトイン (Acetoin) は、類似度スコア 862 で推定同定され、保持指標 (RI) でも支持が得られました（観測 RI=1287、ライブラリ RI=1285）。

この化合物は、「甘い」「バタリー」「クリーミー」「乳製品様」「ミルキー」「脂肪様」といった香りを持つと記述されています。¹

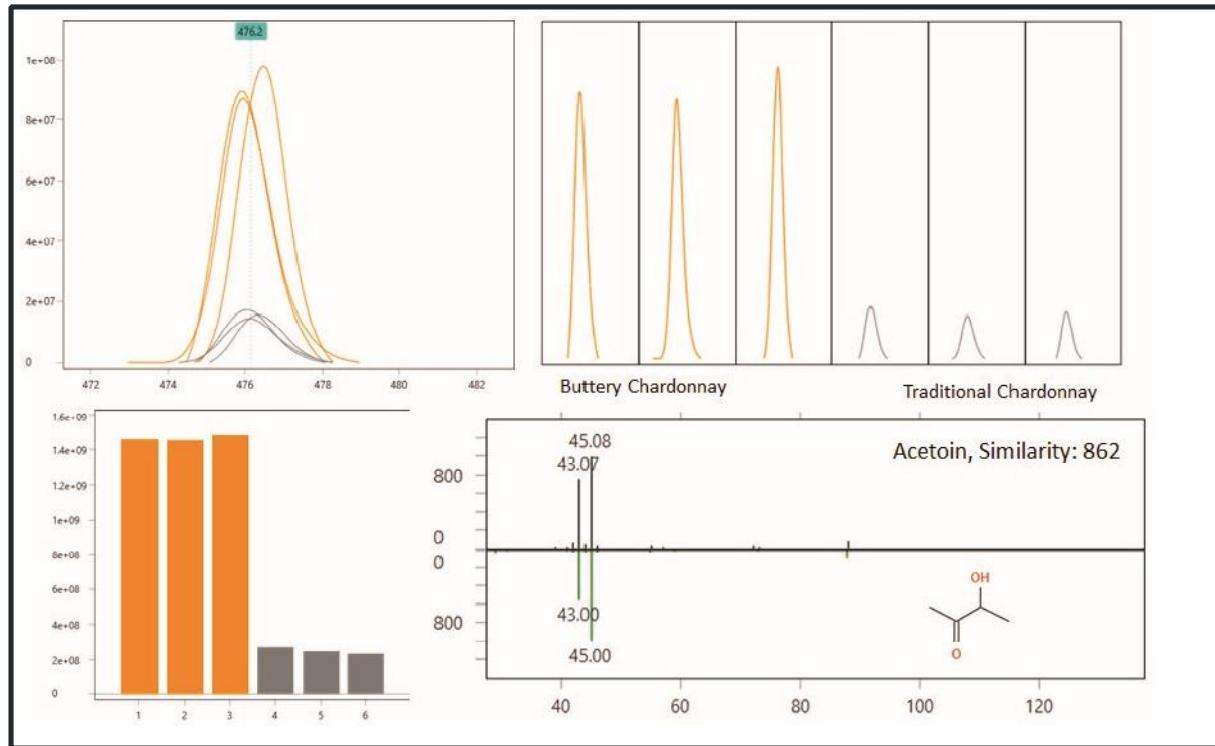


図 6.アセトインがバタリー・シャルドネ（オレンジ）で高濃度に検出。ChromaTOF Sync のピークファインディング機能により示された。

クレオソール (Creosol) もバタリー・シャルドネで高濃度に検出され、図 7 に示しています。

類似度スコア 897 で推定同定され、保持指標（観測 RI=1961、ライブラリ RI=1956）により裏付けられました。

クレオソールは、「スパイシー」「クローブ」「バニラ」「フェノール」「メディシナル」「レザー様」「ウッディ」「スモーキー」「焦げた香り」など、多彩なスパイシー系香調を持つとされています。¹

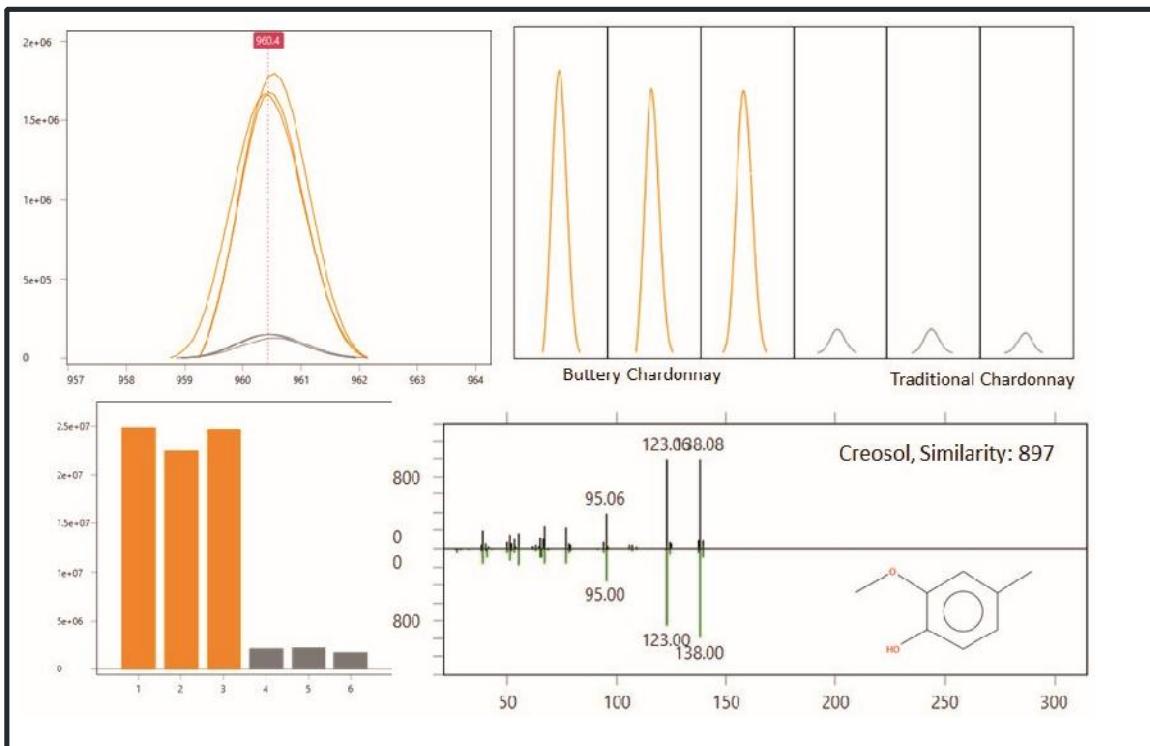


図 7. クレオソールがバタリー・シャルドネ（オレンジ）で高濃度に検出。ChromaTOF Sync のピークファインディング機能により示された。

図 5 の下部に示されている化合物は、トラディショナル・シャルドネで高濃度に検出されました。その代表例として、図 8 に示す **2-フェニルエチル酢酸エステル (2-phenylethyl ester acetic acid)** があり、類似度スコア 958 で推定同定され、保持指標（観測 RI = 1820、ライプラリ RI = 1813）により支持されました。この化合物は、「フローラル」「ローズ」「スイート」「ハニー」「フルーティ」「トロピカル」といった華やかな香気を持つと記述されています。¹

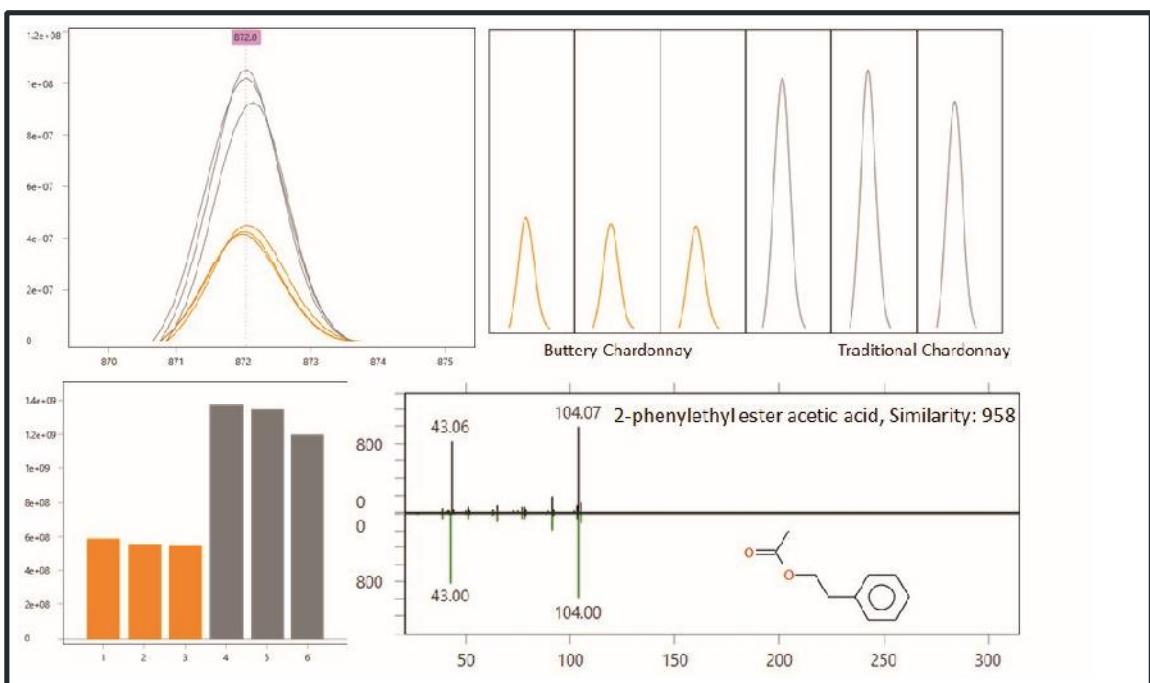


図 8. 2-フェニルエチル酢酸エステルがバタリー・シャルドネ（オレンジ）で高濃度に検出。ChromaTOF Sync のピークファインディング機能により示された。

全体として、バタリー・シャルドネで高濃度に観察された化合物は、「バタリー」「ミルキー」「キャラメル」「バニラ」「メープル」「スパイシー」「ココナッツ」「チェリー」「フルーティ」など、リッチで甘く温かみのある香調を示しました。一方、両ワインで同程度に存在した成分としては、「フルーティ」「フローラル」「アルコール系」「ハニー」「発酵香」などが挙げられます。

さらに、トラディショナル・シャルドネで高濃度に検出された成分は、「フレッシュ」「フローラル」「フルーティ」「シトラス」といった軽快で爽やかな香調を特徴としていました。

これらの化学的特徴は、官能的な印象として知られるバタリー・シャルドネとトラディショナル・シャルドネの一般的な香りの違いと一致しており、その詳細な比較には *ChromaTOF Sync* が大きく貢献しました。

Conclusion

本研究では、HS-SPME と GC-TOFMS を用いて、同一ヴィンテージ・同一ブドウ園由来のバタリー・シャルドネとトラディショナル・シャルドネを比較しました。

ChromaTOF Sync によるサンプルセット全体のピークファインディングにより、ワインの官能特性と関連する多数の特異的な香気成分を明らかにすることができました。

本稿では、その代表的な例を取り上げて解説しました。

References

¹Good Scents database, <http://www.thegoodscentscompany.com>



LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496

info@leco.com • www.leco.com | ISO-9001:2015 Q.994 | LECO is a registered trademark of LECO Corporation.

Pegasus, ChromaTOF are registered trademarks of LECO Corporation.