

使用 Agilent J&W DB-HeavyWax 气相色谱柱快速分析葡萄酒中的 烟雾污染化合物

作者

Vanessa Abercrombie
安捷伦科技有限公司

摘要

分析葡萄酒中的愈创木酚和 4-甲基愈创木酚等烟雾污染化合物时需要灵敏的 GC/MS 检测方法，例如选择性离子模式 (SIM) 或多反应模式 (MRM)。DB-HeavyWAX 气相色谱柱是分析葡萄酒中这些极性芳香族化合物的理想选择。DB-HeavyWAX 的最高恒温温度已升高至 280 °C，可烘烤出葡萄酒中的高沸点化合物。此外，DB-HeavyWAX 色谱柱的热稳定性有所改善，可在长时间进样葡萄酒时保持保留时间稳定性，同时提高重现性。

前言

在葡萄酒酿造过程中，葡萄的生长和成熟无疑是最重要的步骤。在葡萄转色期间，其酸浓度降低，糖浓度升高，同时芳香与风味化合物开始生成。许多外部因素决定了葡萄成熟和收获的时机，其中天气条件影响最大。其他与温度无关的环境条件，如附近火灾产生的烟雾也会对葡萄酒的感官品质产生严重的负面影响。

葡萄园附近的森林火灾并不鲜见，在澳大利亚和美国西部更是如此。如果在转色期之后发生火灾，葡萄叶将吸收烟雾。然后，光合作用促使二氧化碳转化为碳水化合物，提高葡萄浆果中的糖浓度，但同时也会将葡萄叶中的烟雾化合物前体转移到葡萄浆果中¹。在发酵过程中，强酸会水解上述前体，生成芳香族化合物愈创木酚和 4-甲基愈创木酚。烟雾中会有上述化合物的存在，这些化合物通常被称为烟雾污染。葡萄浆果在接触烟雾后挂在葡萄藤上的时间越长，烟雾前体化合物污染葡萄浆果的可能性就越大，从而可能污染成品葡萄酒²。

虽然葡萄酒在橡木桶中陈酿时也会导致愈创木酚和 4-甲基愈创木酚的浓度升高，这两种化合物的比例会有所不同。受烟雾污染的葡萄浆果中愈创木酚含量是 4-甲基愈创木酚的近四倍³。橡木桶所产生的香气被视为烟雾和焦炭，相比之下，受到烟雾污染而出现这两种化合物时，气味更像是篝火和烟灰缸，这种气味是不希望在葡萄酒中出现的。

烟雾污染化合物分析的检测限必须足够灵敏，以检测浓度低至 1 ppb 的化合物，因此 GC/MS 分析中常使用 SIM⁴。直接分析葡萄酒难度较大，因为具有较高保留的糖类和芳香族化合物需要较高的最终温度才能从色谱柱中烘烤出来，而传统的 WAX 型色谱柱的安全温度较低。DB-HeavyWAX 气相色谱柱的温度限有所升高，可达到恒温条件 280 °C、程序升温 290 °C，因此可在直接进样未稀释葡萄酒后安全地烘烤色谱柱⁵。此外，升温速率

增大且最终温度升高至 280 °C，可使葡萄酒中烟雾污染化合物的分析时间缩短至 15 分钟以内。

材料与方法

在本实验中，Agilent 7890 气相色谱仪与配备分流/不分流进样口的 Agilent 7010 三重四极杆 GC/MS 联用，并使用 Agilent 7693 进样器和 Agilent MassHunter 控制软件。

样品前处理

用蒸馏水将纯乙醇 (Sigma-Aldrich) 稀释到 A 级定容玻璃器皿中，配制 10% 乙醇溶液。愈创木酚和 4-甲基愈创木酚标准品购自 Sigma-Aldrich，配制成浓度为 10 ppb 的 10% 乙醇溶液。市售红葡萄酒和白葡萄酒购自当地市场，以纯样品进样 0.5 µL。

仪器条件

气相色谱条件	
色谱柱	DB-HeavyWAX 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm (部件号 122-7132)
载气	氮气, 恒流模式, 1.2 mL/min
柱温箱	150 °C (2.0 分钟), 以 30 °C/min 的速率升至 280 °C (8 分钟)
进样口	分流模式, 250 °C, 分流比 200:1
进样口衬管	低压降超高惰性衬管 (部件号 5190-2295)
进样器	Agilent 7693 自动进样器
流路备件	
隔垫	流失性和温度经过优化 (BTO) 的 11 mm 隔垫 (部件号 5183-4757, 50/包)
分流平板	超高惰性分流平板 (部件号 5190-6145, 10/包)
样品瓶	2 mL, 螺口, 棕色, 带书写签, 经认证 (部件号 5182-0716, 100/包)
样品瓶内插管	250 µL 玻璃内插管, 经去活处理 (部件号 5181-8872, 100/包)
样品瓶盖	9 mm, 蓝色, 螺口盖, 带 PTFE/红色硅橡胶隔垫 (部件号 5185-5820, 500/包)
进样口/MSD	85:15 Vespel:石墨密封圈 (部件号 5062-3508, 10/包)

7010 三重四极杆 MSD 条件

峰	化合物	定量离子			定性离子			定性离子		
		母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)
1	愈创木酚	180.9	81.0	10	123.9	81.1	20	123.9	108.9	10
2	4-甲基愈创木酚	137.9	122.9	10	122.9	66.9	10	122.9	95.0	5

结果与讨论

以液体进样方式分析葡萄酒中的芳香族香精化合物十分困难。这是因为葡萄酒中的化合物种类繁多，包括较重和高沸点化合

物，这些化合物需要较高的最终温度或较长的运行时间才能从色谱柱中完全洗脱。最终温度可达到 280 °C，因此所有化合物均可在 15 分钟内从 DB-HeavyWAX 色谱柱上洗脱。图 1 展示了洗脱经 NIST 搜

索鉴定的化合物（如间苯乙醇）的能力，仅需保持 280 °C 的最终温度 8 分钟。如使用较低的最终温度，则需要更长的最终保持时间才能将该化合物从色谱柱上洗脱，进而延长了总体运行时间。

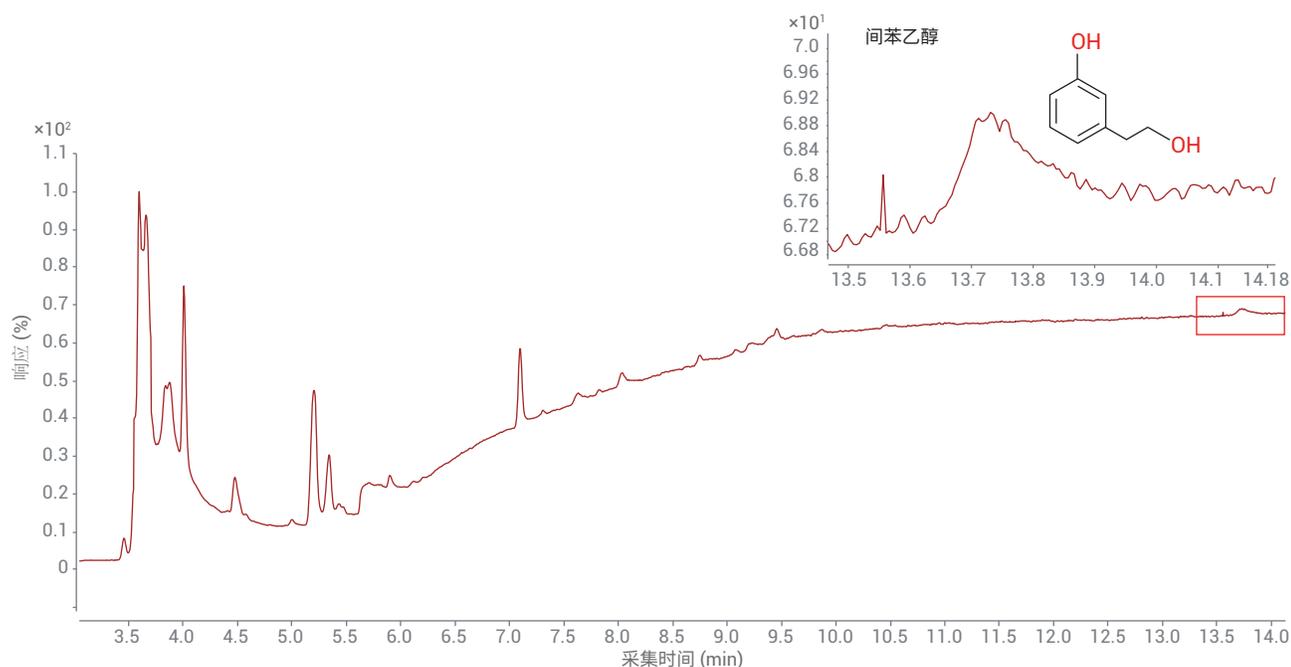


图 1. 红葡萄酒进样的全扫描

由于嗅觉系统可以检测到葡萄酒中低浓度（约 1 ppb）的烟雾污染化合物，因此需要高灵敏度的检测方法，如 SIM 或 MRM。葡萄酒不经任何前处理直接进样会产生干扰，这样会出现问题。而使用

MRM 模式下的 GC/QQQ，无需费时的样品前处理即可达到所需灵敏度。图 2 显示使用 MRM 对进样量 10 ppb 的烟雾污染化合物标准品得到的分析结果。标准品的良好峰形证明了该方法的高灵敏度。

图 3 显示未经橡木陈酿的白葡萄酒样品或袋装白葡萄酒样品在加标和未加标 10 ppb 烟雾污染化合物后的分析结果。即使在白葡萄酒的样品基质中，也可以清晰检测出愈创木酚和 4-甲基愈创木酚峰。

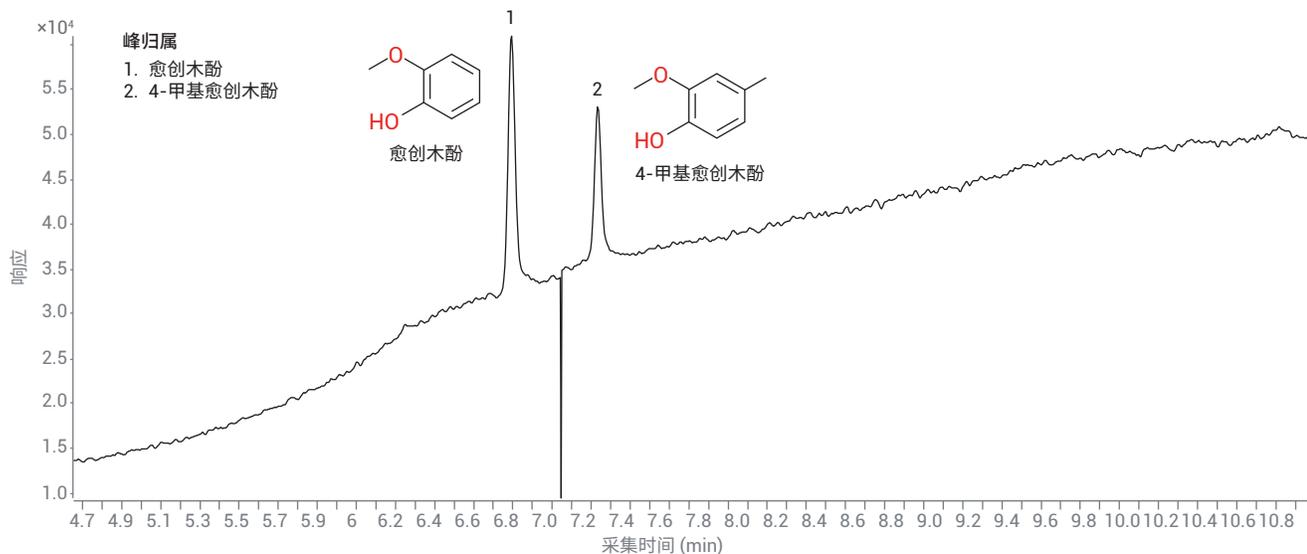


图 2. 使用 MRM 模式采集的 10 ppb 烟雾污染物标准品

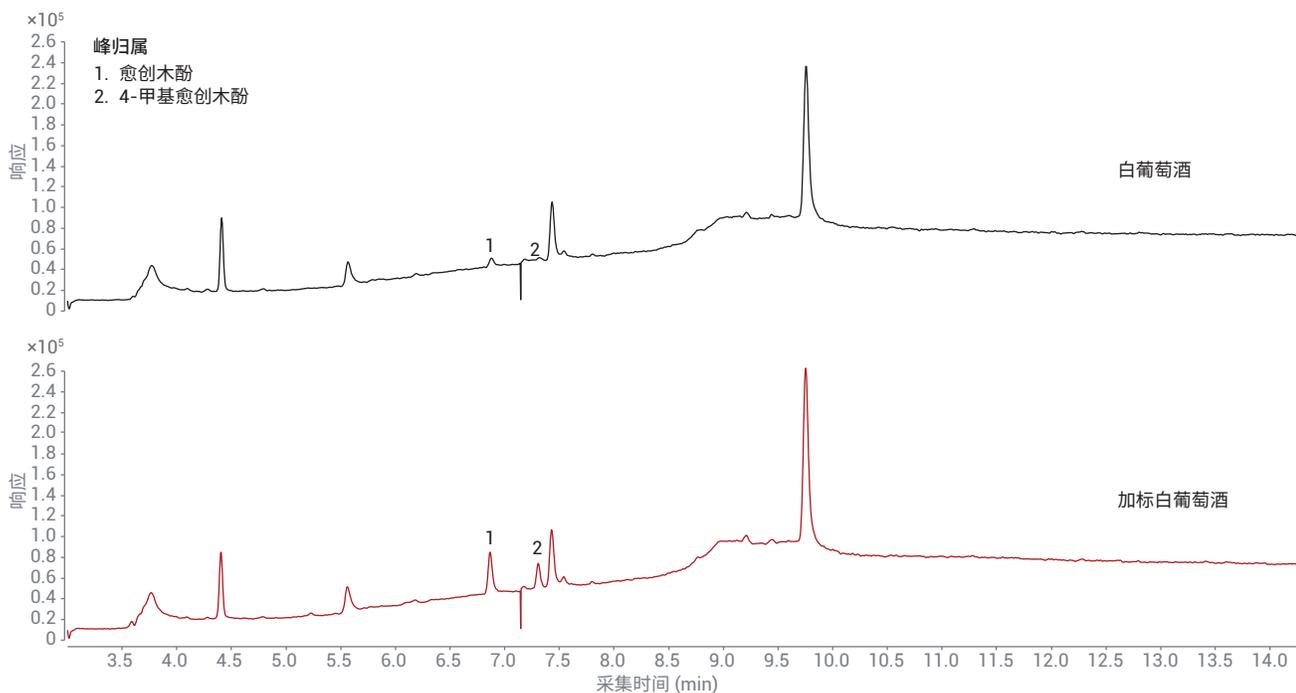


图 3. 使用 MRM 模式采集的未加标和加标 10 ppb 烟雾污染物的白葡萄酒

重现性

图 4A 和图 4B 证实了 DB-HeavyWAX 色谱柱通过 100 次以上含水基质进样分析烟雾污染化合物得到的重现性和耐用性。在 10% 乙醇水溶液 100 次进样前后分别进样 10 ppb 烟雾污染标准品 (图 4A) 和

红葡萄酒 (图 4B)。两种基质 (标准品的 10% 乙醇溶液和红葡萄酒) 在多次水溶液进样后均获得了可重现结果, 证明 DB-HeavyWAX 色谱柱在多次水溶液进样中的耐用性。

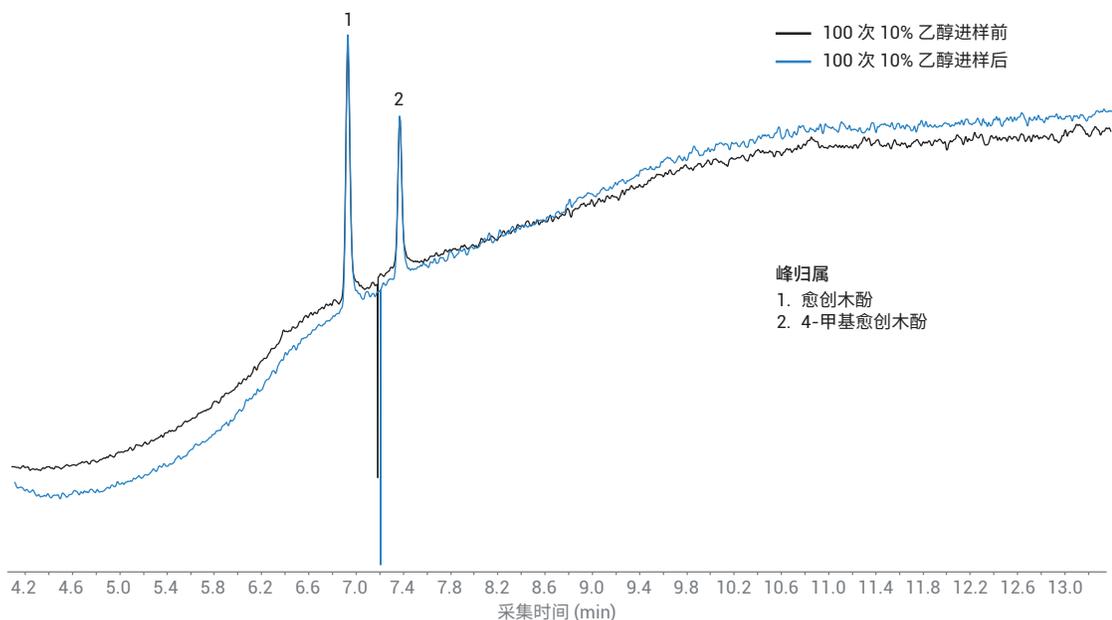


图 4A. 在超过 100 次 10% 乙醇进样后, 由 MRM 采集的 10 ppb 烟雾标准品

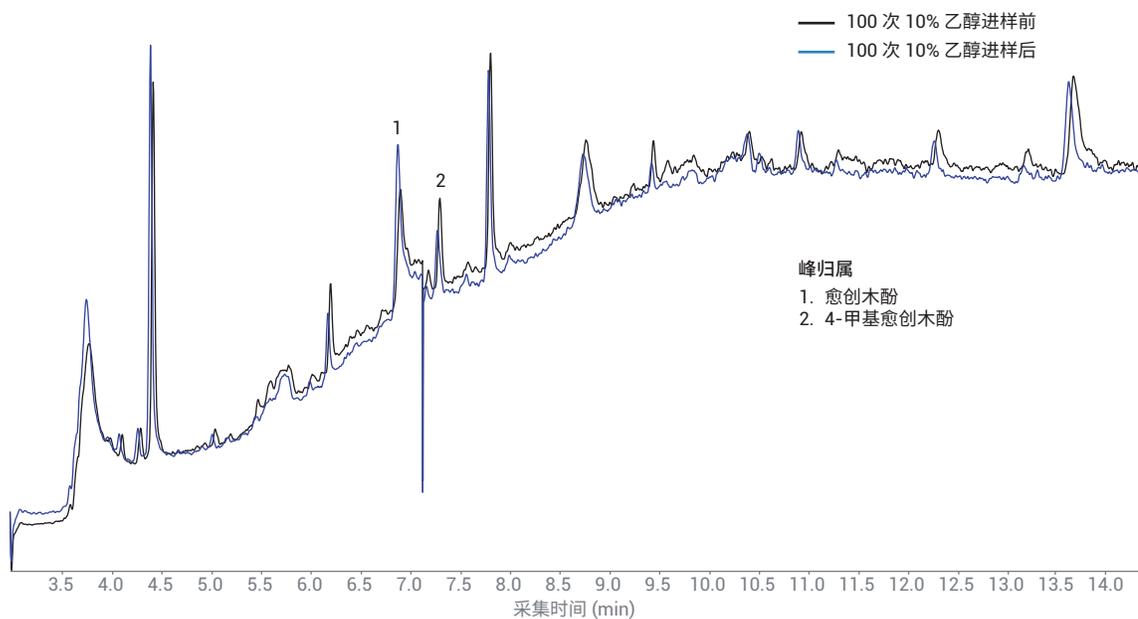


图 4B. 在 100 次 10% 乙醇进样前后, 由 MRM 采集的红葡萄酒

结论

使用 DB-HeavyWAX 气相色谱柱通过多反应模式质谱分析葡萄酒中的烟雾污染化合物，是一种灵敏而稳定的方法。为确保葡萄酒样品中的晚洗脱化合物从色谱柱中洗脱，DB-HeavyWAX 色谱柱的温度范围升高至恒温条件 280 °C 和程序升温条件 290 °C，可以更安全地烘烤色谱柱，并降低化合物交叉污染的风险。DB-HeavyWAX 色谱柱的热稳定性得到改善，即使在 100 次水溶液进样后保留时间仍保持稳定，证明了 DB-HeavyWAX 的稳定性。

参考文献

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, Bordeaux, France*, **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. 提高 Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的热稳定性和最高温度，安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-9035ZH-CN, **2018**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2018
2018 年 7 月 17 日, 中国出版
5994-0081ZH-CN