

Agilent PAL3 자동 시료 주입기 및 5977C GC/MSD를 사용한 맥주 내 알데히드 분석



저자

Yufeng Zhang 및 Lay Peng Tan
Agilent Technologies Inc.

개요

이 응용 자료에서는 Agilent PAL3(SPME) 자동 시료 주입기와 Agilent 8890/5977C GC/MSD를 사용하여 맥주의 이취를 유발하는 4가지 알데히드(hexanal, furfural, phenylacetaldehyde, *trans*-2-nonenal)를 정량화하기 위한 분석법을 설명합니다. 이 분석법은 완전 자동화된 용매가 필요 없는 추출 및 fiber 유도체화를 사용했습니다. 알데히드 화합물은 fiber 유도체화 절차를 사용하여 유도체화제 O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine hydrochloride(PFBHA)으로 유도체화되었습니다. 유도체화제는 먼저 Agilent 65 μ m PDMS/DVB fiber를 통해 흡착했습니다. 다음으로, fiber를 60°C에서 30분 동안 교반하면서 2mL 맥주 시료가 들어 있는 20mL 헤드스페이스 바이알에 삽입했습니다. 추출 및 유도체화 절차는 모두 PAL3 자동 시료 주입기를 사용하여 자동으로 수행되었습니다. 이 분석법은 hexanal의 경우 0.0009 μ g/L, furfural의 경우 0.52 μ g/L, phenylacetaldehyde의 경우 0.015 μ g/L, *trans*-2-nonenal의 경우 0.003 μ g/L의 검출 한계로 탁월한 감도를 보여주었습니다. 4가지 화합물의 정량 한계는 각각 0.003, 1.72, 0.05 및 0.01 μ g/L였습니다. 4가지 알데히드는 슈퍼마켓에서 구입한 4가지 맥주 시료에서 성공적으로 정량화되었습니다. 4가지 알데히드 모두에 대해 4가지 맥주 시료를 3회 반복 주입한 결과 RSD < 4.9%로 우수한 재현성이 입증되었습니다.

소개

알데히드는 맥주의 맛과 향 프로파일에 큰 영향을 미치는 중요한 화합물 그룹입니다. 이러한 휘발성 유기 화합물은 낮은 농도에서도 판지, 풀 냄새 또는 오래된 맛과 같은 바람직하지 않은 감각적 특성에 영향을 미칠 수 있으며, 이는 제품의 전반적인 품질과 소비자 수용도에 부정적인 영향을 미칩니다. 알데히드의 존재는 종종 양조, 포장 및 보관 중 산화 과정과 연관되어 맥주의 신선도와 안정성을 나타내는 주요 지표가 됩니다.¹ Hexanal, furfural, phenylacetaldehyde, *trans*-2-nonenal은 이취를 유발하는 가장 잘 알려진 알데히드 중 하나이며, 향미 임계값은 각각 350µg/L, 15.157mg/L, 105µg/L, 0.1µg/L입니다.²

맥주의 알데히드 수준을 모니터링하고 제어하는 것은 제품 일관성을 유지하고 고품질의 음용감을 보장하는 데 필수적입니다. 알데히드를 정확하게 정량화함으로써 양조업자는 산소 노출이나 성분 분해 등 생산 공정에서 발생할 수 있는 문제를 식별하고 시정 조치를 시행하여 이취를 최소화할 수 있습니다. 또한, 맥주의 알데히드 프로파일을 이해하면 품질 안정성과 유통기한을 향상시키는 새로운 양조 기술 및 제제 개발에 도움이 될 수 있습니다.

고체상 미량추출(SPME)은 흡착 및 탈착 원리에 따라 작동하는 널리 사용되는 용매가 필요하지 않은 시료 전처리 기법입니다. 이는 추출상으로 코팅된 fiber를 사용하여 시료에서 분석물질을 농축합니다. 분석물질의 다양한 극성을 해결하기 위해 PDMS, 아크릴레이트, 탄소 WR, DVB 및 이러한 흡착제의 조합을 포함한 다양한 유형의 섬유를 사용할 수 있습니다. SPME는 환경 특성 규명, 식품 및 향미료 분석, 제약 연구, 법과학 연구를 포함한 다양한 분석에 광범위하게 사용됩니다. 이는 자동화된 시료 전처리에 매우 적합하므로 시료당 전처리 시간이 단축되고 인적 오류 위험이 최소화되며 실험실 직원이 작업을 반복하여 실행할 필요가 없습니다.

이 응용 자료는 맥주에 포함된 4가지 알데히드 화합물 분석을 위해 SPME 도구 및 8890/5977C GC/MSD와 함께 PAL3 RTC 샘플러를 사용하는 방법을 보여줍니다. SPME 샘플링 도구에는 고정상 및 사용량 추적을 포함한 사전 설정된 파라미터가 포함된 자체 읽기 및 쓰기 칩이 장착되어 있습니다. 시료 추출과 유도체화는 모두 PAL3 RTC 샘플러를 통해 자동화되었습니다.

실험

시약 및 시료

알데히드 표준물질(hexanal, furfural, phenylacetaldehyde, *trans*-2-nonenal)과 유도체화 시약 PFBHA는 Sigma-Aldrich에서 구입했습니다. HPLC 등급 메탄올은 Merck 제품입니다. 물은 Milli-Q 초순수입니다. 4가지 브랜드의 맥주는 지역 슈퍼마켓에서 구입했습니다.

표준물질 준비

10µg/mL hexanal, 10µg/mL phenylacetaldehyde, 1,000µg/mL furfural 및 1µg/mL *trans*-2-nonenal로 구성된 혼합 원액을 메탄올에서 제조했습니다.

100µg/L hexanal, 100µg/L phenylacetaldehyde, 10µg/mL furfural 및 10µg/L *trans*-2-nonenal로 구성된 2차 혼합 원액을 초순수에서 제조했습니다.

2차 혼합 원액을 사용하여 hexanal의 경우 0.05-10µg/L, furfural의 경우 5-1,000µg/L, phenylacetaldehyde의 경우 0.1-50µg/L, *trans*-2-nonenal의 경우 0.025-5µg/L의 농도 범위로 일련의 검량 표준물질을 제조했습니다.

각 검량 표준물질 2mL를 20mL 헤드스페이스 바이알에 첨가하고 분석을 위해 즉시 뚜껑을 닫았습니다.

60mg/L 농도의 PFBHA 유도체화 시약은 30.1mg의 분말 PFBHA를 500mL 부피 플라스크에 계량하고 500mL 표시선까지 초순수에 용해시켜 제조되었습니다. 시료 유도체화에 사용하기 위해 60mg/L PFBHA 용액 10mL를 헤드스페이스 바이알에 첨가했습니다.

시료 전처리

맥주 시료는 분석 전 4-6°C의 냉장고에 보관되었습니다. 맥주 250mL를 깨끗한 플라스틱 병에 붓고 뚜껑을 닫았습니다. 뚜껑이 닫힌 병을 손으로 5회 흔든 후 뚜껑을 열어 시료의 가스를 제거하고 이산화탄소(CO₂)를 방출했습니다. 시료의 가스 제거는 총 3회 수행되었습니다. 가스가 제거된 맥주 시료 2mL를 20mL 헤드스페이스 바이알로 옮겼고, 분석을 위해 즉시 뚜껑을 닫았습니다.

PAL3 RTC 및 GC/MSD 파라미터

PAL3 RTC 샘플러의 분석 파라미터는 표 1과 같습니다.

표 1. 맥주 분석을 위한 Agilent PAL3 자동 시료 주입기 및 GC/MSD 파라미터.

Agilent PAL3(SPME)	
Fiber 종류	Agilent 65 µm PDMS/DVB(품번 5610-5873)
Fiber 컨디셔닝 온도	250°C
사전 컨디셔닝 시간	5분
배양 시간	20분
배양 온도	60°C
유도체화 시간	10분
교반기 속도	250rpm
시료 추출 시간	30분
시료 탈착 시간	1분
사후 컨디셔닝 시간	5분
가스 크로마토그래피	
모델	Agilent 8890 GC
GC 컬럼	Agilent J&W DB-5ms UI, 30m × 0.25mm, 0.25µm(품번 122-5532U)
컬럼 공압	일정 유속
운반 가스	헬륨
주입기 모드	비분할
분할 배출구 퍼지 유속	2분에서 50mL/분
주입구 온도	250°C
주입기 라이너	Agilent Ultra Inert 비분할 라이너(품번 5190-4047)
유속	1.2mL/분
오븐 온도 프로그램	2분간 60°C
	10°C/분으로 140°C까지
	7°C/분으로 250°C까지, 3.0분 유지
평형 시간	3분
질량 분석기	
모델	Agilent 5977C GC/MSD
이온화 모드	EI, 70eV
수집 모드	스캔
스캔 속도	N = 2
스캔 범위	50-520amu
GC 이송 라인 온도	250°C
이온화원 온도	230°C
사중극자 온도	150 °C

결과 및 토의

화합물 식별 및 머무름 시간 확인

10µg/L 검량 표준물질은 전체 스캔 데이터 수집 모드에서 분석되었으며 총 이온 크로마토그램(TIC)은 그림 1과 같습니다.

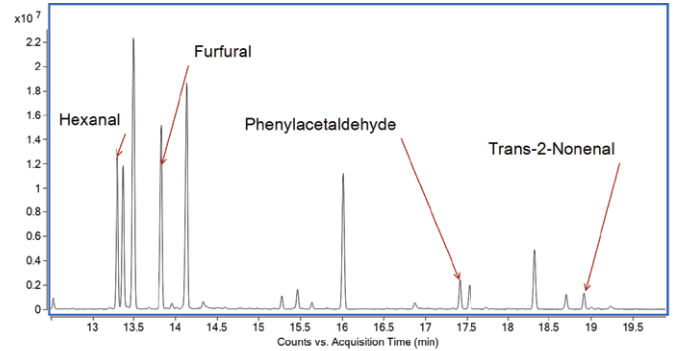


그림 1. Agilent SPME fiber PFBHA 유도체화를 통한 10µg/L 알데히드의 TIC.

10µg/L 시료에 대한 데이터 파일은 MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어를 사용하여 처리되었습니다. 시료에만 존재하는 구성 요소를 식별하기 위해 Unknowns Analysis를 사용하여 데이터의 자동 디콘볼루션을 수행했습니다. 결과적으로 성분 목록에서 NIST 23 스펙트럼 라이브러리에 대한 라이브러리 매칭을 통해 4가지 표적 알데히드가 식별되었으며, 80 이상의 매치 스코어를 달성했습니다. 4가지 알데히드 유도체의 머무름 시간(RT)은 각각 13.299, 13.830, 17.419 및 18.914분으로 확인되었습니다(그림 2-5).

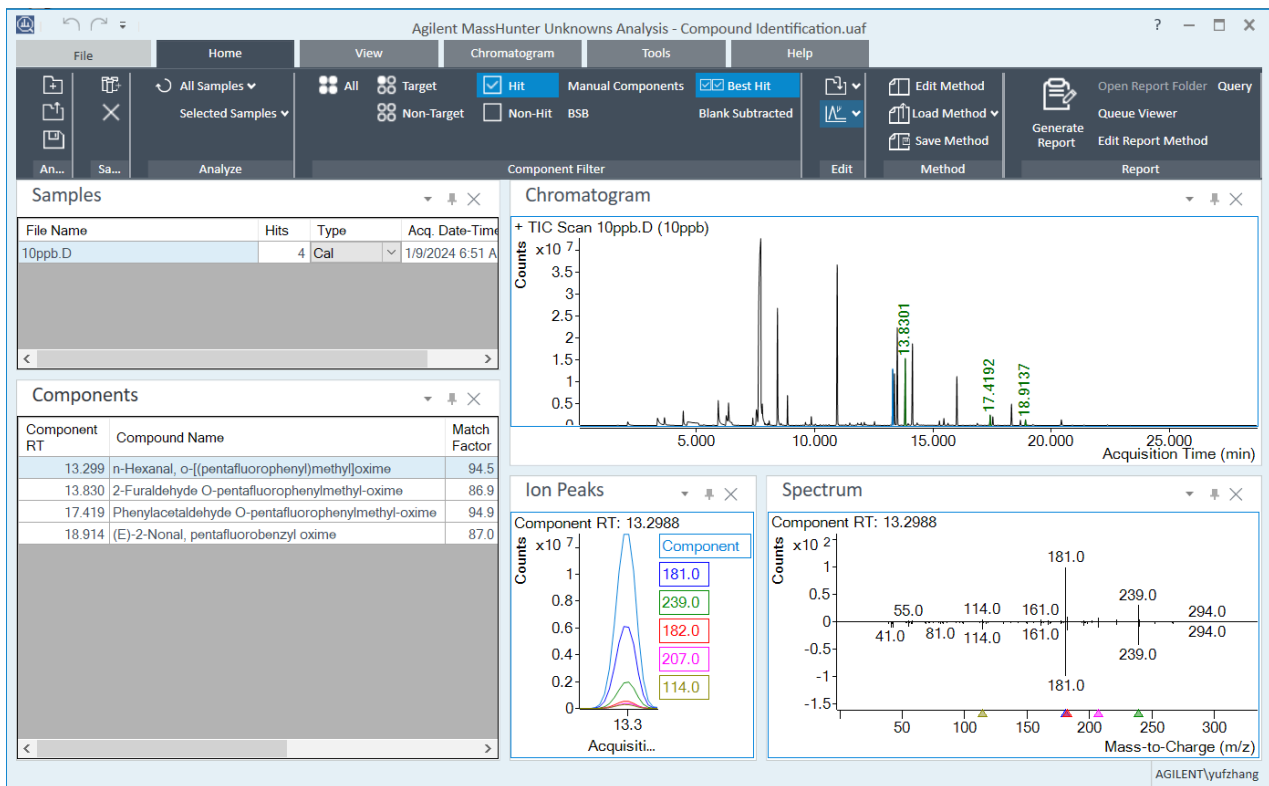


그림 2. RT가 13.299분인 것으로 확인된 hexanal 유도체.

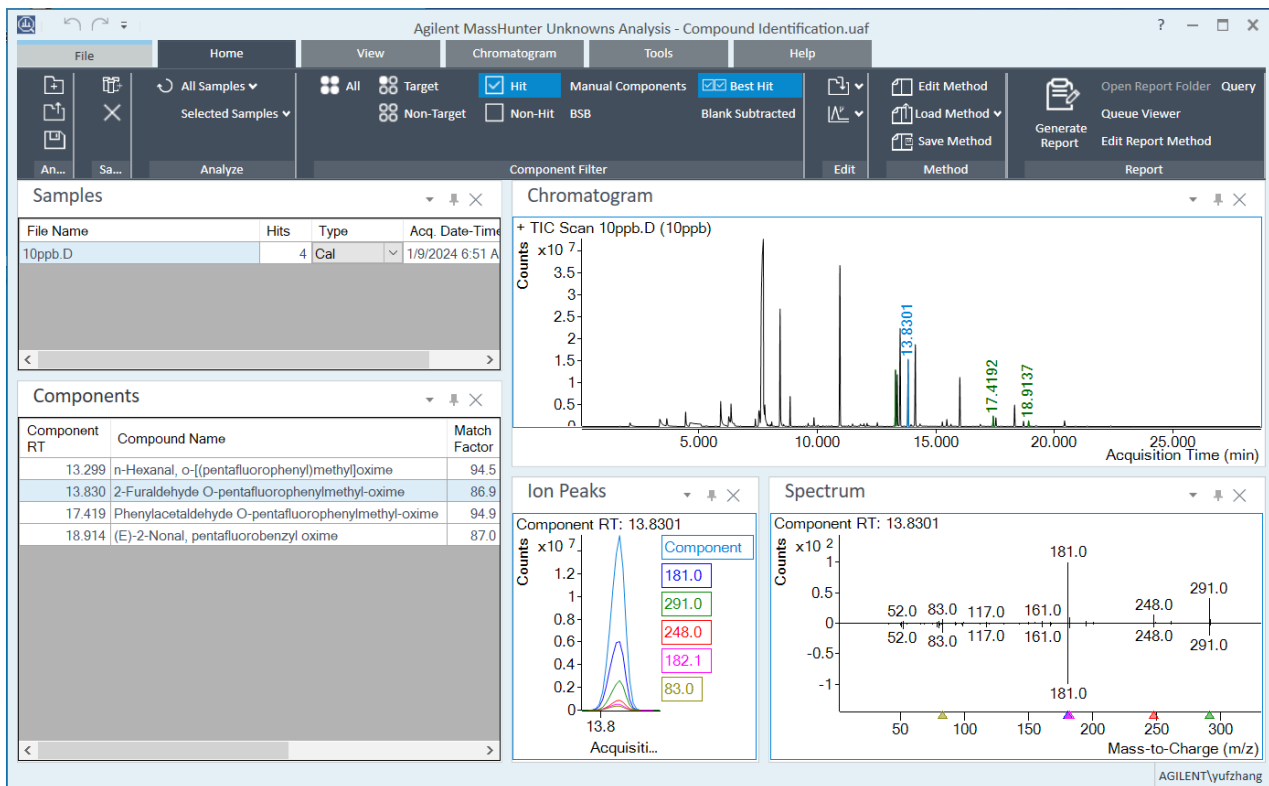


그림 3. RT가 13.830분인 것으로 확인된 furfural 유도체.



그림 4. RT가 17.419분인 것으로 확인된 phenylacetaldehyde 유도체.

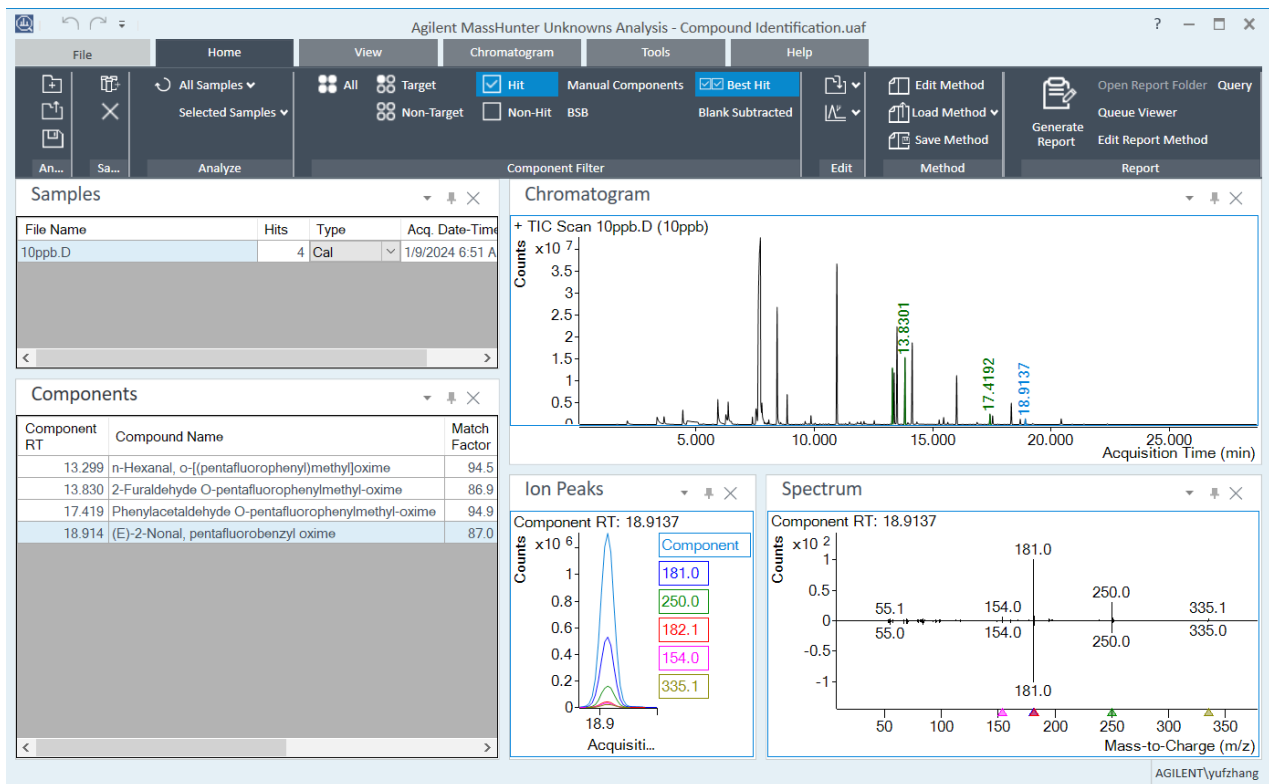


그림 5. RT가 18.914분으로 확인된 trans-2-nonenal 유도체.

검량선

검량 표준 용액의 반응을 바탕으로 네 가지 알데히드 유도체에 대한 검량선을 플롯팅했습니다. 결과는 표 2와 그림 6-9에 나와 있습니다.

표 2. 4가지 알데히드에 대한 검량 범위 및 R².

번호	화합물 명칭	검량 범위(μg/L)	R ²
1	Hexanal	0.05-10	0.999
2	Furfural	5-1,000	0.998
3	Phenylacetaldehyde	0.1-50	0.996
4	<i>trans</i> -2-Nonenal	0.025-5	0.998

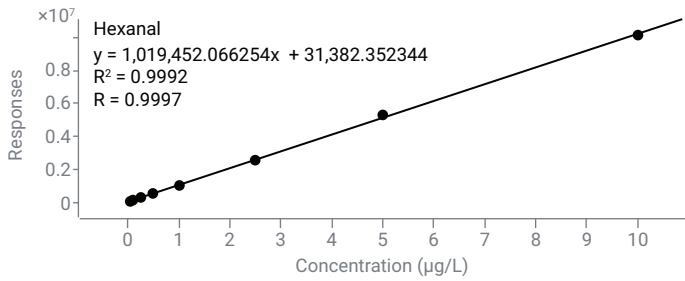


그림 6. Hexanal 0.05-10μg/mL에 대한 검량선(정량 이온: 181; 정성 이온: 239, 114).

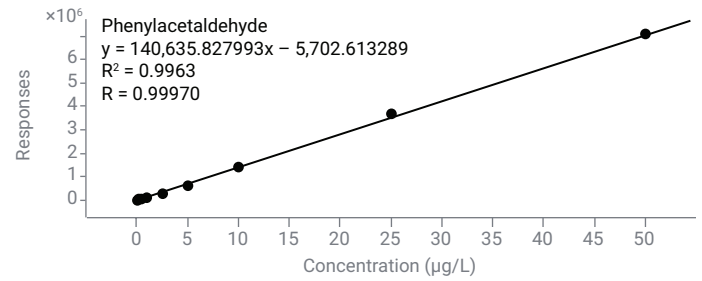


그림 8. Phenylacetaldehyde 0.1-50μg/mL에 대한 검량선(정량 이온: 181; 정성 이온: 297, 91)

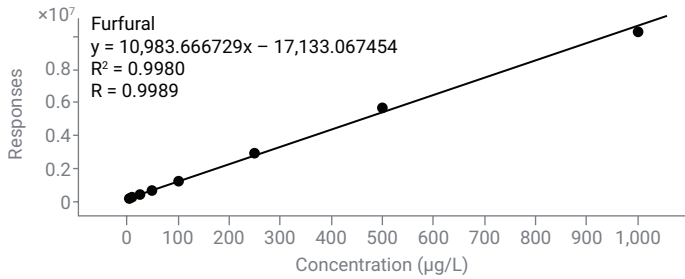


그림 7. Furfural 5-1,000μg/mL에 대한 검량선(정량 이온: 181; 정성 이온: 291, 195).

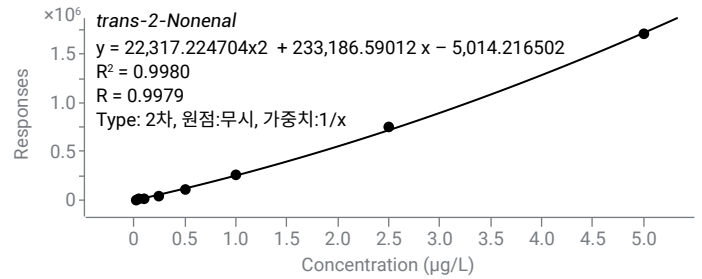


그림 9. *trans*-2-nonenal 0.025-5μg/mL에 대한 검량선(정량 이온: 250; 정성 이온: 181).

맥주 시료의 정량화 결과

검량선 설정을 기반으로 테스트한 4가지 브랜드의 맥주 시료에 포함된 4가지 알데히드에 대한 정량화가 수행되었습니다. 정량화 결과를 표 3-6에 요약했습니다. 4가지 맥주 시료의 모든 알데히드는 각각의 향미 임계값보다 낮았습니다. 테스트한 4가지 브랜드의 맥주 시료 중 브랜드 4에는 hexanal 0.45µg/L, furfural 6.26µg/L, phenylacetaldehyde 6.64µg/L, *trans*-2-nonenal 0.031µg/L로 가장 낮은 수준의 알데히드가 포함되어 있었습니다.

표 3. 4가지 브랜드의 맥주 시료에서 hexanal의 정량화 결과.

번호	맥주	Hexanal 농도(µg/L)			평균 농도 (µg/L)	농도 %RSD (n = 3)
1	브랜드 1	0.67	0.67	0.69	0.68	1.7
2	브랜드 2	1.53	1.54	1.61	1.56	2.8
3	브랜드 3	0.99	1.03	1.04	1.02	2.6
4	브랜드 4	0.45	0.46	0.45	0.45	1.3

표 4. 4가지 브랜드의 맥주 시료에서 furfural의 정량화 결과.

번호	맥주	Furfural 농도(µg/L)			평균 농도 (µg/L)	농도 %RSD (n = 3)
1	브랜드 1	18.45	18.75	18.45	18.55	0.9
2	브랜드 2	49.46	49.39	52.27	50.37	3.3
3	브랜드 3	24.81	26.53	25.04	25.46	3.7
4	브랜드 4	6.10	6.37	6.30	6.26	2.2

표 5. 4가지 브랜드의 맥주 시료에서 phenylacetaldehyde의 정량화 결과.

번호	맥주	Phenylacetaldehyde 농도(µg/L)			평균 농도 (µg/L)	농도 %RSD (n = 3)
1	브랜드 1	11.07	10.41	10.05	10.51	4.9
2	브랜드 2	8.36	8.26	8.07	8.23	1.8
3	브랜드 3	8.72	8.63	8.92	8.76	1.7
4	브랜드 4	6.84	6.59	6.48	6.64	2.8

표 6. 4가지 브랜드의 맥주 시료에서 *trans*-2-nonenal의 정량화 결과.

번호	맥주	Trans-2-Nonenal 농도(µg/L)			평균 농도 (µg/L)	농도 %RSD (n = 3)
1	브랜드 1	0.034	0.035	0.034	0.034	1.7
2	브랜드 2	0.061	0.063	0.063	0.062	2.8
3	브랜드 3	0.034	0.034	0.035	0.034	1.7
4	브랜드 4	0.030	0.031	0.031	0.031	1.3

각 맥주 시료에 대해 3번의 반복 주입을 통해 농도 %RSD는 4.9% 미만으로 계산되었습니다. 세 번의 반복 주입의 EIC 오버레이는 그림 10-13에 나타내었습니다.

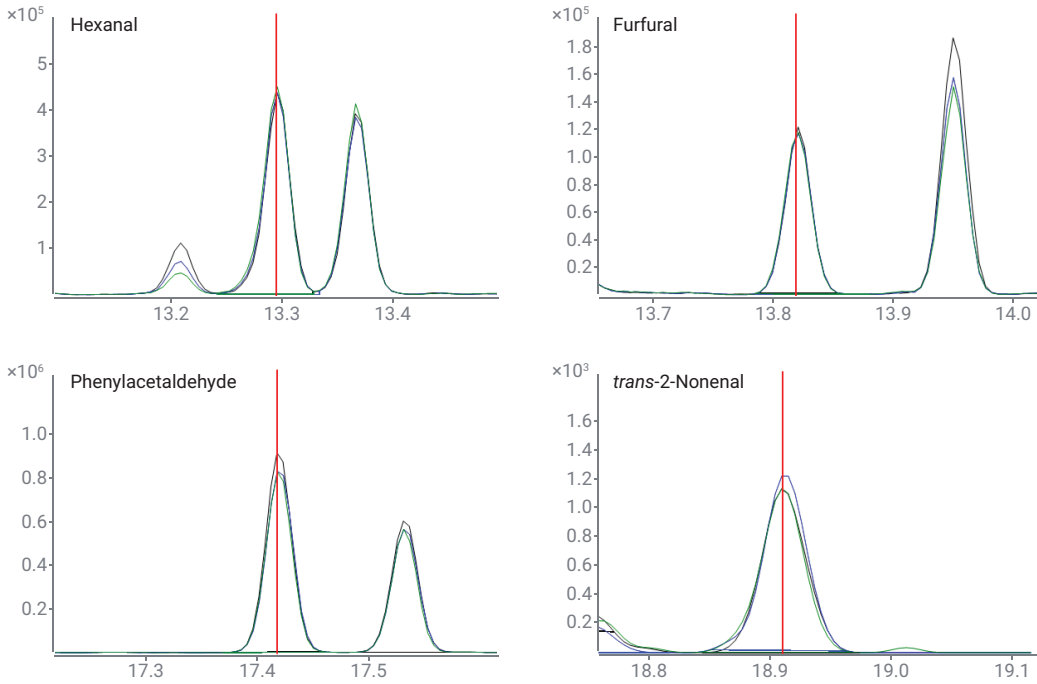


그림 10. 브랜드 1 맥주 시료에 있는 4가지 알데히드의 EIC 오버레이.

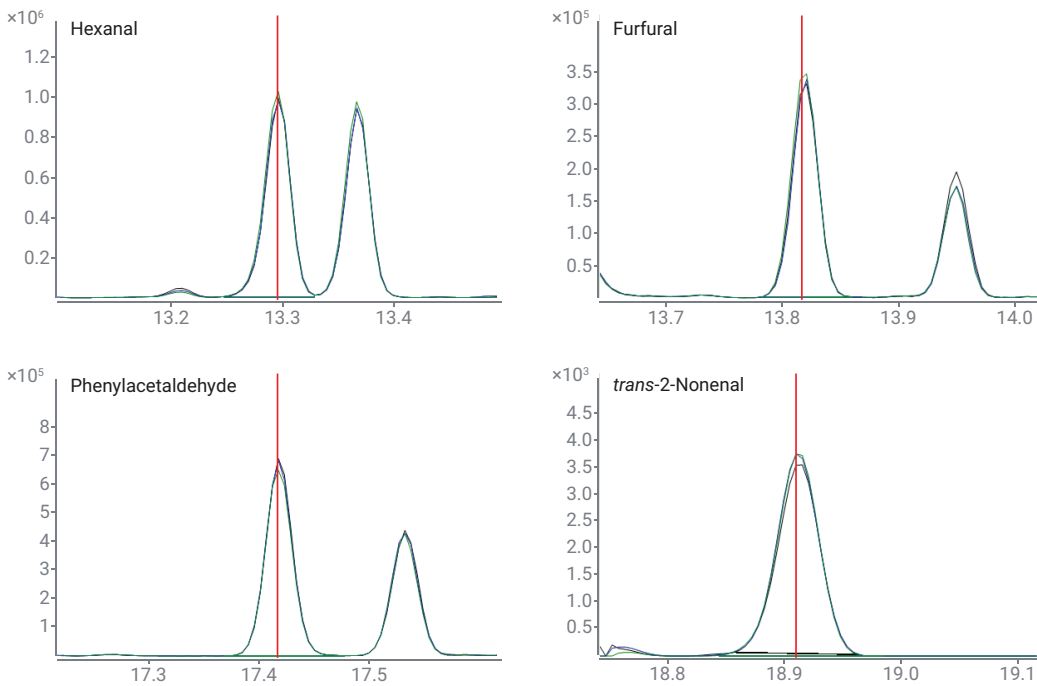


그림 11. 브랜드 2 맥주 시료에 있는 4가지 알데히드의 EIC 오버레이.

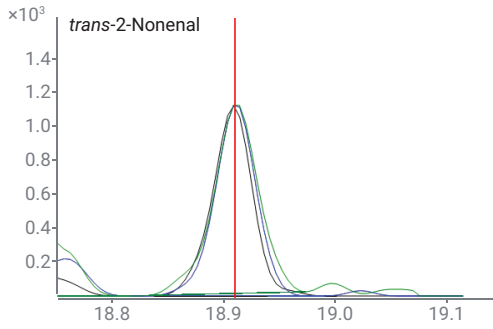
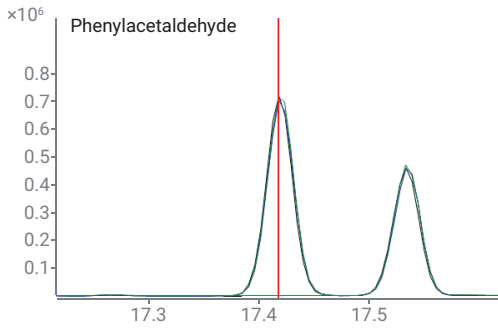
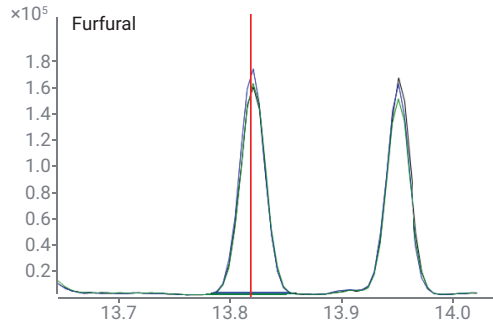
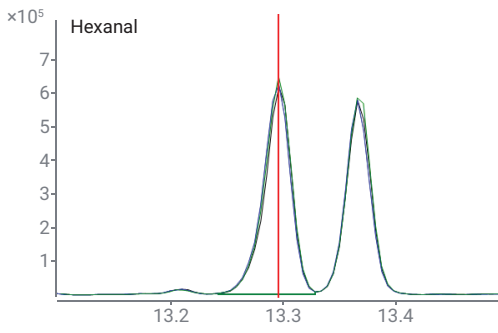


그림 12. 브랜드 3 맥주 시료에 있는 4가지 알데히드의 TIC 오버레이.

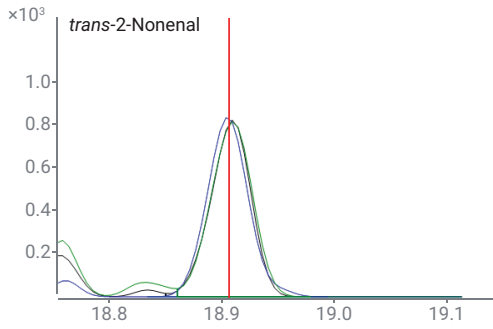
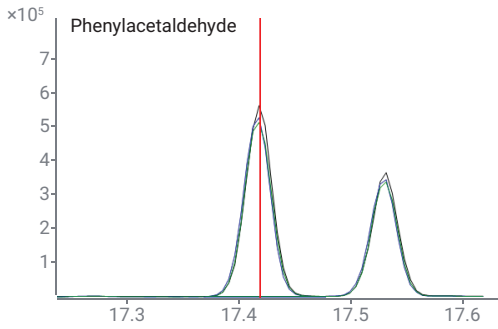
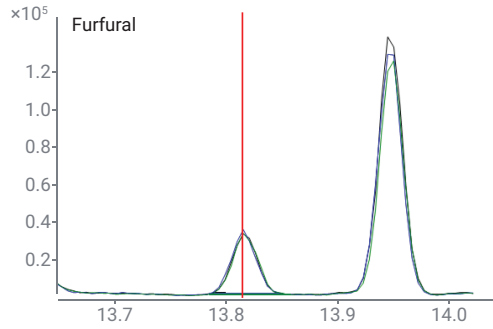
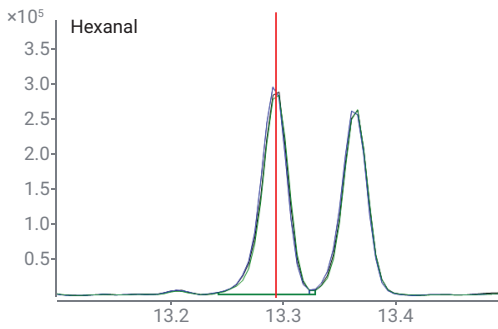


그림 13. 브랜드 4 맥주 시료에 있는 4가지 알데히드의 TIC 오버레이.

검출 한계 측정

각 화합물의 가장 낮은 검량 농도를 사용하여 전체 스캔 모드에서 신호 대 잡음비(S/N)를 계산했습니다. 정량 한계(LOQ)는 S/N 10에서 측정되었고, 검출 한계(LOD)는 S/N 3에서 측정되었습니다. LOQ 및 LOD 결과 요약은 표 7과 같습니다.

표 7. 알데히드의 LOQ 및 LOD.

알데히드	S/N	LOQ($\mu\text{g/L}$)	LOD($\mu\text{g/L}$)
Hexanal(0.05 $\mu\text{g/L}$)	161	0.003	0.0009
Furfural(5 $\mu\text{g/L}$)	29	1.72	0.52
Phenylacetaldehyde(0.1 $\mu\text{g/L}$)	20	0.05	0.015
trans-2-Nonenal(0.025 $\mu\text{g/L}$)	24	0.01	0.003

결론

이 응용 자료에서는 PAL3(SPME) 자동 시료 주입기와 Agilent 8890/5977C GC/MSD를 사용하여 맥주의 이취를 유발하는 4가지 알데히드(hexanal, furfural, phenylacetaldehyde 및 trans-2-nonenal)의 정량 분석에 대해 설명합니다. 이 분석법은 완전 자동화, 신속한 분석, 용매가 필요하지 않은 추출 및 섬유상 유도체화와 같은 이점을 제공합니다. 이 자동화 솔루션을 사용하여 hexanal(0.0009 $\mu\text{g/L}$), furfural(0.52 $\mu\text{g/L}$), phenylacetaldehyde(0.015 $\mu\text{g/L}$) 및 trans-2-nonenal(0.003 $\mu\text{g/L}$) 검출에 대한 우수한 감도가 입증되었습니다. 4가지 다른 브랜드의 맥주가 분석되었으며, hexanal은 0.45-1.56 $\mu\text{g/L}$ 범위에서, furfural은 6.62-50.37 $\mu\text{g/L}$ 범위, phenylacetaldehyde는 6.64-10.51 $\mu\text{g/L}$ 범위, trans-2-nonenal은 0.031-0.062 $\mu\text{g/L}$ 범위에서 검출되었습니다. 4가지 알데히드 모두에 대해 4가지 맥주 시료를 3회 반복 주입한 결과 RSD < 4.9%로 우수한 재현성이 입증되었습니다.

참고 문헌

1. Aguiar, D.; *et al.* Assessment of Staling Aldehydes in Lager Beer under Maritime Transport and Storage Conditions. *Molecules* **2022**, 27(3), 600.
2. Moreira, M. T. G.; *et al.* Aldehyde Accumulation in Aged Alcoholic Beer: Addressing Acetaldehyde Impacts on Upper Aerodigestive Tract Cancer Risks. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, 23(22), 14147.

www.agilent.com/chem/5977c

DE58984949

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 7월 18일 한국에서 발행
5994-7633KO

한국에질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com