응용 자료

식음료 테스트

GC/MS, 수소 운반 가스 및 Agilent HydroInert 소스를 사용한 에센셜 오일의 정성 분석

저자

Bruce D. Quimby
Agilent Technologies, Inc.

개요

헬륨(He)의 가격과 공급 상황에 대한 지속적인 우려로 인해 많은 실험실에서는 가스 크로마토그래피/질량 분석법(GC/MS)분석법에 대한 대체 운반 가스를 찾고 있습니다. 이 응용 자료에서는 에센셜 오일에 포함된 조미료 및 향료(F&F) 화합물의 정성 분석을 위한 일반적인 GC/MS 분석법이 헬륨에서 수소(H_2)로 전환하는 방법을 설명합니다. Agilent 5977C GC/MSD 시스템과 결합된 Agilent 8890 GC를 수소 운반 가스 및 수소 작동에 새로운 소스인 Agilent HydroInert 소스와 함께 사용하였습니다. 대부분의 기존 전자 이온화(EI) 소스와 달리 HydroInert 소스는 수소를 사용할 때 향료 화합물에 대한 뛰어난 질량 스펙트럼 정확도를 제공합니다. 화합물 식별의 신뢰도를 더욱 높이기 위해 Agilent MassHunter Unknowns Analysis 소프트웨어의 디콘볼루션 질량 스펙트럼과 선형 머무름 지수(RI)를 NIST23 질량 스펙트럼 라이브러리에서 검색했습니다. Agilent Method Translator 도구를 사용하여 수소용 컬럼과 크로마토그래피 조건을 선택함으로써 일반적인 헬륨 분석법에 비해 분석 시간을 2.5배 단축할 수 있었습니다. 적절한 기기 구성 및 작동 조건을 선택하면, 수소 운반 가스를 사용하는 시스템에서 헬륨을 사용하는 시스템과 유사한 결과를 생성하면서 분석 시간을 크게 단축할 수 있습니다.

서론

에센셜 오일은 식품 및 비식품 소비재 모두에서 조미료 및 향료의 원료로 널리 사용됩니다. 에센셜 오일의 품질 관리 분석은 오일에 존재할 수 있는 수백 가지의 테르펜 및 테르페노이드 화합물로 인해 오랫동안 어려운 과제였습니다. 이 문제를 해결하기 위해 일반적으로 MS와 결합된 고분리능 캐필러리 GC를 사용하는 방법이 이용되고 있습니다. 식별을 위해 조미료 및 향료 화합물 라이브러리에서 획득한 질량 스펙트럼을 검색할 수 있지만 일반적으로 많은 화합물, 특히 이성질체가 유사한 스펙트럼을 제공하기 때문에 이것으로는 충분하지 않습니다. 이러한 이유로 보다 신뢰할 수 있는 식별을 위해 스펙트럼 매칭을 보완하는 수단으로 Ri가 사용되는 경우가 많습니다. 미지 물질로부터 측정된 RI는 스펙트럼 라이브러리 검색 결과와 함께 사용되어 식별을 위해 최상의 후보를 결정합니다.

이 응용 자료에서는 에센셜 오일에 포함된 조미료 및 향료 화합물의 정성 분석을 위한 일반적인 GC/MS 분석법을 헬륨에서 수소로 전환하는 방법을 설명합니다. 비교를 위해 두 가지 일반적인 에센셜 오일(브라질산 오렌지 오일과 네롤리 오일) 분석에 두 가지 분석법이 적용됩니다. 스펙트럼 정확도를 유지하기 위한 최적의 소스를 결정하기 위해 다양한 EI 소스 구성 요소를 사용하여 수소 분석법을 추가로 평가했습니다.

헬륨에서 수소 운반 가스로 분석법을 전환하려면 컬럼 선택, 컬럼 유량, 주입량 및 온도 프로그램 속도 등 크로마토그래피 파라미터를 고려해야 합니다.[1] 또한 컬럼 유량 및 MS 소스 구성의 MS 파라미터를 확인하는 것도 중요합니다. 이러한 모든 고려 사항과 파라미터는 Agilent EI GC/MS 기기에서 운반 가스를 헬륨에서 수소로 전환 사용자 가이드[1]에 수록되어 있습니다.

수소 분석법에 대한 크로마토그래피 파라미터를 결정할 때 다음과 같은 분석법을 사용하는 것이 바람직합니다:

- 정확한 유량 제어를 위해 충분히 높은 주입구 압력을 얻을 수 있는 컬럼 치수
- 기존 헬륨 분석법과 유사한 크로마토그래피 분리능
- 기존 헬륨 분석법과 동일한 분석물질 용출 순서 유지
- 사용된 최적화 컬럼 직경에 가까운 컬럼 유량 사용
- 최적화 MS 소스 감도에 가까운 컬럼 유량 사용

Agilent Method Translator 도구[2-4]는 이 과정을 크게 단순화하도록 설계된 계산기입니다. 이 응용 자료에서는 이 도구가 사용되었습니다.

MS 파라미터의 경우, MS 반응을 최대화하려면 컬럼 유량을 최적 범위인 약 0.8-1.4mL/분 내 또는 그 근처로 유지해야 합니다. MS EI 소스 하드웨어의 선택 또한 중요한 고려 사항입니다. 일부 분석물이 소스에서 수소와 반응하여 이온 비율과 스펙트럼을 변경함으로써 라이브러리 매치 스코어(LMS)가 감소하고 식별 오류가 발생할 수 있다는 것을 고려해야 합니다. Agilent 5977 시리즈 GC/MSD 시스템에 사용되는 애질런트 불활성 추출기 소스의 경우, 과거에는 9mm와 같이 더 큰 직경의 추출기 렌즈를 사용하여 이러한 효과를 감소시켰습니다. 그러나 니트로 화합물과 일부 테르펜 및 테르페노이드와 같은 많은 화합물이 여전히 반응을 나타냈기 때문에 이는 일부 문제를 해결할 뿐이었습니다. 이러한 이유로 애질런트는 상응한 반응을 크게 줄이거나 제거하는 HydroInert 소스[5,6]를 개발했습니다. HydroInert 소스의 유효성을 평가하기 위해 표준 3mm 불활성 추출기 소스를 사용한 헬륨 분석법과 9mm 렌즈를 기본 장착한 표준 HydroInert 소스를 사용한 수소 분석법으로 두 오일의 정성 분석을 수행했습니다. 또한 비교를 위해 3mm 및 9mm 추출기 렌즈를 모두 사용하여 수소 분석법과 기존의 불활성 추출기 소스로 오일을 분석했습니다.

다음으로 고려할 사항은 데이터 파일을 처리하여 각 오일 성분의 질량 스펙트럼을 얻고 이를 라이브러리와 비교하여 검색하는 방법입니다. 과거에는 주로, 피크에 대한 정점 또는 평균 스펙트럼을 얻은 다음 피크 옆에서 얻은 베이스라인 스펙트럼을 차감하는 방식으로 이 작업이 수행되었습니다. 다음, 결과 스펙트럼을 스펙트럼 라이브러리에서 검색했습니다. 이 프로세스는 상대적으로 잘 분리된 몇몇 피크를 처리하는 데에는 효과적이지만, 피크 수가 많거나 피크가 겹치면 매우 어려울 수 있습니다.

다행스럽게도, 이제 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 제품군의 일부인 Agilent MassHunter Unknowns Analysis(MHUA)라는 강력한 질량 스펙트럼 식별 솔루션이 있습니다. MHUA는 스펙트럼 디콘볼루션을 사용하여 복잡하게 겹친 피크 스펙트럼에서 분석물질 스펙트럼을 말끔하게 추출합니다. 디콘볼루션 및 라이브러리 검색 프로세스는 자동화되어 있으며 파일 크기, 라이브러리 크기, 컴퓨터 하드웨어 등에 따라 데이터 파일당 약 1-8분이 소요됩니다. 그 결과 이전 접근 방식보다 더 깨끗한 스펙트럼이 제공되므로 LMS가 높아지고 피크 식별에 대한 신뢰도가 향상됩니다.[7]

MHUA의 두 번째 주 특징은 각 피크에 대한 RI를 계산할 수 있다는 것입니다. 검색된 라이브러리에 스펙트럼 항목과 연관된 적절한 참조 RI 값이 있는 경우, 미지 스펙트럼에 대해 측정된 RI 값을 사용하여 스펙트럼 검색 결과를 필터링할 수 있습니다. 이는 스펙트럼 유사성으로 인해 에센셜 오일 성분을 식별하는 데 특히 중요합니다. 이러한 이유로 이 응용 자료에서는 RI 값이 사용되었습니다.

조미료 및 향료 화합물에 대한 RI와 함께 사용할 수 있는 여러 질량 스펙트럼 라이브러리가 있습니다. 예를 들어, Adams 라이브러리[8]는 이 분석을 위해 수년 동안 널리 사용되고 있습니다. 최근, NIST는 많은 기능이 향상된 질량 스펙트럼 라이브러리(NIST23)의 최신 버전을 출시했습니다. 그 중에는 전체 Adams 라이브러리의 통합과 모든 EI 스펙트럼을 포괄하는 반표준, 비극성 RI 항목의 확장이 있습니다. "반표준, 비극성"은 HP-5, DB-5, HP-5ms 및 기타 5% 페닐메틸 실리콘 상(Phase)과 같은 상들을 의미합니다.[9] 새로운 RI 값은 가능한 경우 실험값 또는 인공지능(AI)에서 생성된 값입니다. AI가 생성한 값은 이전의 "추정" 값보다 정확도가 더 높습니다. 이러한 유형의 고정상은 GC/MS를 사용한 에센셜 오일 분석에 일반적으로 사용되기 때문에 새로운 반표준, 비극성 값은 여기서 특히 중요합니다. 또한 이는 현재 MHUA에서 RI 기능과 함께 사용할 수 있는 NIST23 값입니다. MHUA의 RI 함수를 사용하는 경우 실험적 반표준, 비극성 RI 값이 사용됩니다(사용 가능한 경우). 그렇지 않은 경우 AI에서 생성된 값이 사용됩니다. 따라서 여기서는 NIST23 라이브러리가 사용됩니다.

실험

컬럼 선택

기준 헬륨 분석법의 경우, 선택한 컬럼과 조건은 과거에 자주 사용된 것과 유사합니다.[8,10] 30m × 0.25mm 내경, 0.25µm Agilent J&W HP-5ms Ultra Inert (UI) 컬럼(품목 번호 19091S-433UI)이 3°C/분 승온 속도, 60-240°C의 오븐 온도 프로그램에서 사용되었습니다. 일부 이전 분석법[10]에서는 컬럼 유량으로 일정한 압력 제어 모드를 사용했지만 MS 성능 측면에서 일정한 유량 모드가 훨씬 더 좋습니다. 1.0mL/분의 일정한 헬륨 컬럼 유량이 사용되었습니다.

수소 분석법의 경우, 20m × 0.18mm 내경, 0.18µm Agilent J&W HP-5ms UI 컬럼(품목 번호 19091S-577UI)을 선택했습니다. 이 컬럼은 다음과 같은 여러 가지 이유로 인해 탁월한 선택입니다:

- 컬럼 치수는 정확한 유량 제어를 위해 충분히 높은 수소 주입구 압력을 제공합니다.
- 이 컬럼은 헬륨 분석법과 비교하여 유사하거나 더 나은 크로마토그래피 분리능을 제공합니다.
- 상(Phase) 비율이 동일하므로 원래 분석법과 동일한 분석물질 용출 순서를 유지하는 데 도움이 됩니다.
- 크로마토그래피 분리와 MS 소스 감도 모두에 최적에 가까운 수소 컬럼 유량을 사용할 수 있습니다.

분석법 변환

분석법 변환기 도구는 Agilent MassHunter 수집 소프트웨어의 일부로 포함되어 있거나 Agilent.com: https://www.agilent.com/ko-kr/support/gas-chromatography/gccalculators에서 다운로드하여 단독으로 사용할 수 있습니다. 무료 다운로드에는 분석법 변환기, 증기 부피 계산기, 압력 유속 계산기 및 용매 배출 계산기등 도구가 포함되어 있으며 모두 GC 분석법을 개발할 때 유용합니다.

설치 후, 바탕 화면의 아이콘을 통해 분석법 변환기를 열 수 있습니다. 열린 분석법 변환기는 그림 1에 표시되어 있습니다. 먼저, 기존 헬륨 분석법의 크로마토그래피 파라미터가 기존 분석법 파라미터라고 표시된 왼쪽 열에 입력됩니다. 운반 가스 유형(He), 컬럼 치수, 컬럼 배출구 압력 및 오븐 온도 프로그램 램프를 먼저 입력해야 합니다. 그런 다음 컬럼 출구 유량을 입력해야 합니다. 그림 1에 나타낸 것처럼 상(Phase) 비율, 주입구 압력과 같은 기타 값은 자동으로 계산됩니다.

다음으로, 운반 가스 종류(H_2), 수소 분석법에 대한 컬럼 치수 및 컬럼 배출구 압력이 계산기 오른쪽의 Calculated Method Parameters(계산된 분석법 파라미터) 열에 입력됩니다.

입력 후, 계산된 수소 파라미터가 표시됩니다. 왼쪽 상단 모서리에 계산된 속도 이득이 2.5877로 표시됩니다. 이는 수소 분석법의 예상 머무름 시간(RT)이 헬륨 분석법보다 약 2.6배 더 작다는

의미입니다. 수소의 계산된 오븐 승온 속도는 7.763°C/분입니다. 오븐 승온 속도와 속도 이득을 각각 7.5와 2.5에 가깝게 설정하는 것이 더 쉬울 것입니다. 이를 위해 **속도 이득**을 선택하고 필드에 2.5를 입력합니다. 파라미터가 다시 계산되어 원하는 파라미터가 생성됩니다. 그림 1은 결과를 보여주고 있습니다. 그림 1에 표시된 수소 분석법에 대해 계산된 유량은 0.84004mL/분입니다. 이 분석법을 사용하기 전에는 머무름 시간 고정(RTL)을 사용하여 수소 분석법에서 n-pentadecane의 RT를 헬륨 분석법보다 정밀히 2.5배 빠르게 만들었습니다. 그 결과 RT 비교가 더 쉬워졌습니다. RTL 이후 수소 분석법에 대한 최종 유량은 0.958mL/분이었습니다. 라이브러리 검색의 경우, RI 검량에 유량 차이가 감안되므로 이 단계는 필요하지 않습니다.

그림 1. 헬륨 분석법을 수소 분석법으로 변환하기 위한 분석법 파라미터를 결정하는 데 사용되는 Agilent Method Translator 도구

MS 소스 하드웨어

3mm 추출기 렌즈가 있는 표준 불활성 추출기 소스는 조미료 및 향료 화합물을 분석할 때 헬륨 분석법을 위한 탁월한 선택이며 이 응용 자료에서 사용되었습니다. 수소 분석법의 경우 9mm 추출기 렌즈가 있는 HydroInert 소스가 사용되었는데, 수소와의 소스 내 반응을 줄이고 개선된 피크 모양을 제공하기 때문입니다. 또한 수소 분석법은 3mm와 9mm 추출기 렌즈를 모두 사용하는 기존의 불활성 추출기 소스로 실행되었습니다. 이러한 데이터는 HydroInert 및 헬륨의 결과 데이터와 비교되어 스펙트럼 및 LMS 값을 비교함으로써 소스 내 반응에 가장 취약한 오일 성분을 식별했습니다. 그림 2는 헬륨 및 수소 분석법에 대한 시스템 구성을 보여줍니다.

화학물질 및 표준물질

수소 분석법의 운반 가스로는 순도 사양 99.9999%와 물 및 산소 사양이 낮은 수소를 운반 가스로 사용했습니다. 비슷한 사양의 사내 헬륨이 헬륨 분석법의 운반 가스로 사용되었습니다.

냉압착 오렌지 오일(브라질 원산지)과 네롤리 오일(모로코 원산지)을 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, USA)로부터 구입했습니다. 오일을 에탄올에 20:1(v:v)로 희석했습니다.

n-C_5 - n-C_{40} 및 n-C_{44}의 모든 n-alkane으로 구성된 맞춤형 RI 검량 표준을 Ultra Scientific(현재 애질런트)에서 구입했습니다. 모든 알칸은 n-hexane에 500ng/µL 농도였으며, 단 n-C_{13}, n-C_{18}, n-C_{22}, n-C_{28}, n-C_{31}, n-C_{39}의 경우만 1,000ng/µL였습니다. 그런 다음 표준물질을 이소옥탄에 50:1(v:v)로 희석했습니다.

표 1. 헬륨 및 수소 분석법에 대한 GC 및 MS 조건.

분석법 파라미터		
	헬륨 분석법	**수소 분석법**
주입구	EPC 분할/비분할	
모드	25:1로 분할	
컬럼 유량	1.0mL/분 헬륨	0.958mL/분 수소
주입량	1.0µL	
주입구 온도	250°C	
주입구 라이너	솜이 포함된 Agilent universal low pressure drop UI (품번 5190-2295)	
컬럼	Agilent J&W HP-5ms UI, 30m × 0.25mm, 0.25µm (품번 19091S-433UI)	Agilent J&W HP-5ms UI, 20m × 0.18mm, 0.18µm (품번 19091S-577UI)
컬럼 온도 프로그램	60°C(유지하지 않음) 3°C/분 속도로 240°C까지 승온 (유지하지 않음)	60°C(유지하지 않음) 7.5°C/분 속도로 240°C까지 승온 (유지하지 않음)
분석 시간	60분	24분
MSD 이온화원	애질런트 불활성 추출기 (3mm 렌즈)	Agilent HydroInert 소스 (9mm 렌즈)
이송 라인 온도	300°C	
이온화원 온도	300°C	
사중극자 온도	150°C	
EM, 게인 모드	0.1	
모드	40-400*m/z* 스캔	
TID, A/D 시료	TID ON, 8	TID ON, 4
용매 지연	2.2분	0.88분
튜닝	etune.u	

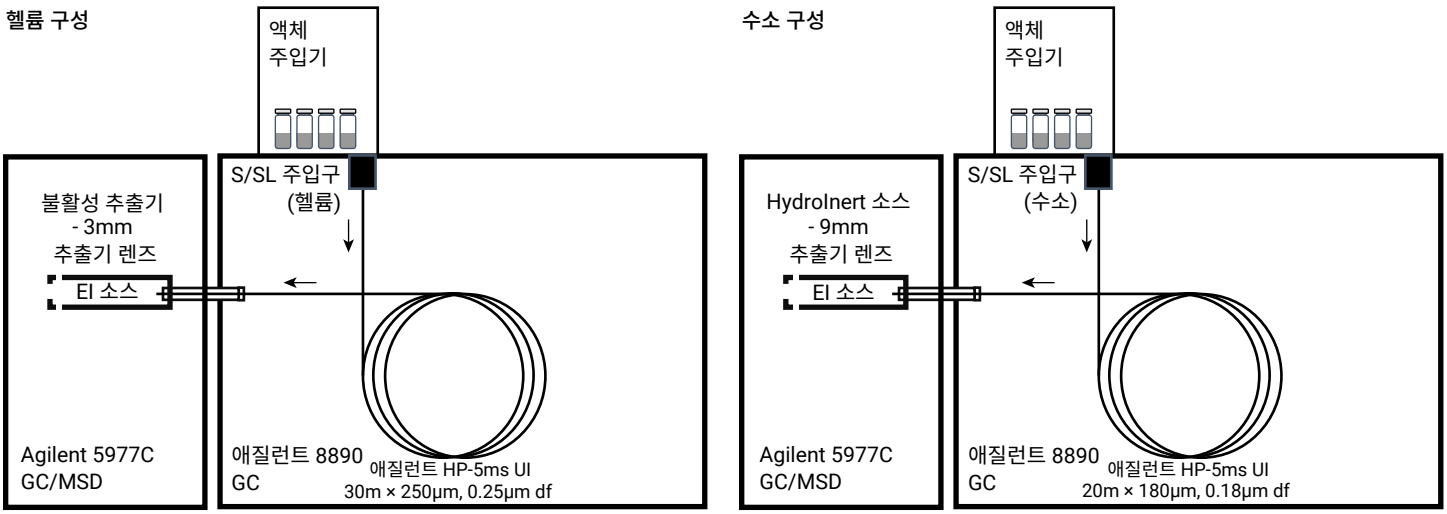


그림 2. 헬륨 및 수소 분석법에 대한 시스템 구성

결과 및 토의

머무름 지수 검량

희석된 RI 검량 표준물질은 두 분석법에서 실행되었습니다. 크로마토그램이 그림 3에 나와 있습니다. 오일 시료 분석은 n-C_{26} 이전에 끝나지만, 표준물질은 최대 n-C_{40}까지 n-alkanes을 포함합니다. 따라서 두 RI 검량 방법의 온도 램프는 300°C로 확장되었으며 후속 크로마토그램에서 교차 오염(Carryover) 피크를 방지하기 위해 n-C_{40} 용출까지 유지되었습니다. 각 크로마토그램의 빨간색 화살표는 오일 분석법의 정상적인 실행 종료를 나타냅니다. 신호대 잡음비가 더 우수하기 때문에 RI 검량 화합물의 RT를 결정하려면 *m/z* 57에 대한 EIC를 통합하는 것이 전체 이온 크로마토그램(TIC)보다 바람직합니다.

MHUA에서 RI 값을 사용하려면 각 분석법에 대한 검량 파일을 생성해야 합니다. 이 파일은 Microsoft Excel에서 .csv 파일로 생성하거나 Microsoft Windows 메모장에서 텍스트 파일로 생성할 수 있습니다. 그림 4는 메모장에서 생성한 검량 .rtc 파일을 보여줍니다. 파란색 헤더는 파일에 포함되지 않습니다. 항목 형식을 나타내기 위해 여기에 포함시켰습니다. 각 항목은 형식 이름, CAS 번호, RI 및 RT로 구성되며 관련 텍스트 파일은 파일 이름에 .rtc 확장자로 저장됩니다. 이 텍스트 파일은 일반적으로 라이브러리 디렉터리나 데이터 파일이 포함된 디렉터리에 저장됩니다.

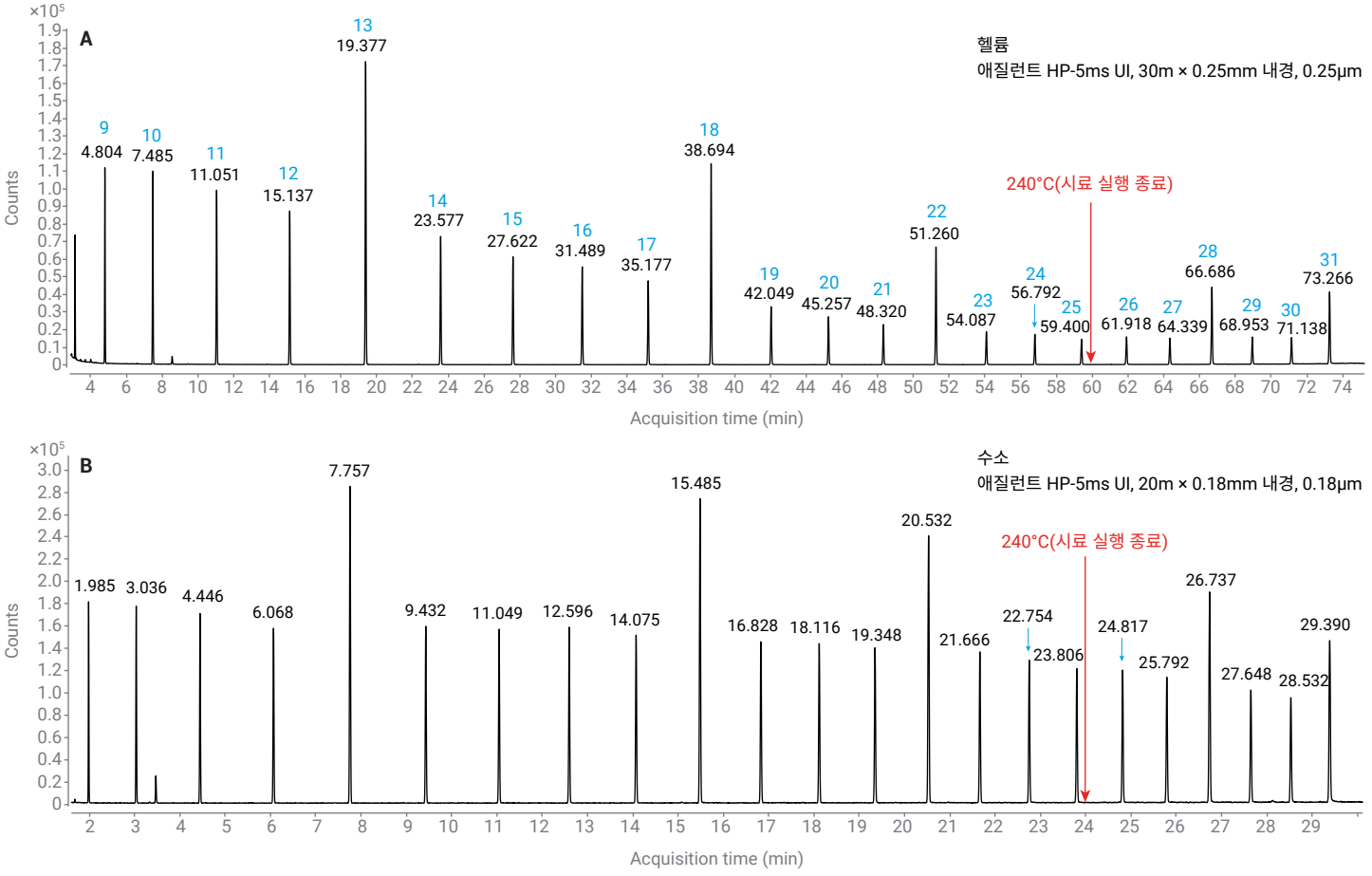


그림 3. RI 검량 표준에 대한 *m/z* 57의 EIC. (A) 헬륨 분석법; (B) 수소 분석법

헬륨 분석법

```
이름,  CAS,         RI,   RT
n-C5,109-66-0 ,500,1.602
n-C6,110-54-3 ,600,1.801
n-C7,142-82-5 ,700,2.236
n-C8,111-65-9,800,3.139
n-C9,111-84-2,900,4.804
n-C10,124-18-5,1000,7.485
n-C11,1120-21-4,1100,11.050
n-C12,112-40-3,1200,15.137
n-C13,629-50-5,1300,19.377
n-C14,629-59-4,1400,23.577
n-C15,629-62-9,1500,27.622
n-C16,544-76-3,1600,31.489
n-C17,629-78-7,1700,35.117
n-C18,593-45-3,1800,38.694
n-C19,629-92-5,1900,42.049
n-C20,112-95-8,2000,45.257
n-C21,629-94-7,2100,48.320
n-C22,629-97-0,2200,51.260
n-C23,638-67-5,2300,54.087
n-C24,646-31-1,2400,56.792
n-C25,629-99-2,2500,59.400
n-C26,630-01-3,2600,61.918
n-C27,593-49-7,2700,64.339
n-C28,630-02-4,2800,66.686
n-C29,630-03-5,2900,68.953
n-C30,638-68-6,3000,71.138
```

수소 분석법

```
이름,  CAS,         RI,   RT
n-C5,109-66-0 ,500,0.694
n-C6,110-54-3 ,600,0.774
n-C7,142-82-5 ,700,0.946
n-C8,111-65-9,800,1.299
n-C9,111-84-2,900,1.985
n-C10,124-18-5,1000,3.036
n-C11,1120-21-4,1100,4.446
n-C12,112-40-3,1200,6.068
n-C13,629-50-5,1300,7.757
n-C14,629-59-4,1400,9.432
n-C15,629-62-9,1500,11.049
n-C16,544-76-3,1600,12.596
n-C17,629-78-7,1700,14.075
n-C18,593-45-3,1800,15.485
n-C19,629-92-5,1900,16.828
n-C20,112-95-8,2000,18.116
n-C21,629-94-7,2100,19.348
n-C22,629-97-0,2200,20.532
n-C23,638-67-5,2300,21.666
n-C24,646-31-1,2400,22.754
n-C25,629-99-2,2500,23.806
n-C26,630-01-3,2600,24.817
n-C27,593-49-7,2700,25.792
n-C28,630-02-4,2800,26.737
n-C29,630-03-5,2900,27.648
n-C30,638-68-6,3000,28.532
```

그림 4. Agilent MassHunter Unknowns Analysis에 사용되는 RI 검량 텍스트 파일(.rtc)

브라질 오렌지 오일

그림 5는 브라질 오렌지 오일 시료에 대해 헬륨 및 수소 분석법으로 얻은 TIC를 비교한 내용입니다. 그림 5A는 용출의 전체 시간 범위를 보여주며, 5B는 피크 모양과 크로마토그래피 분리능을 더 잘 비교할 수 있는 확대 보기입니다. 여기서 볼 수 있듯이 분석법 변환기 기술을 사용하면 분리능과 마찬가지로 피크의 상대적 용출 순서가 유지됩니다. 수소 크로마토그램의 큰 피크 중 다수는 일부 프론팅을 나타냈습니다. 이는 분석법 변환기 도구를 통해 예측되었으며, 수소 구성이 헬륨 분석법의 원래 컬럼 수용량의 36%를 갖는다는 것을 나타냅니다. 그러나 크로마토그래피 분리능은 여전히 헬륨 분석법과 거의 동일합니다.

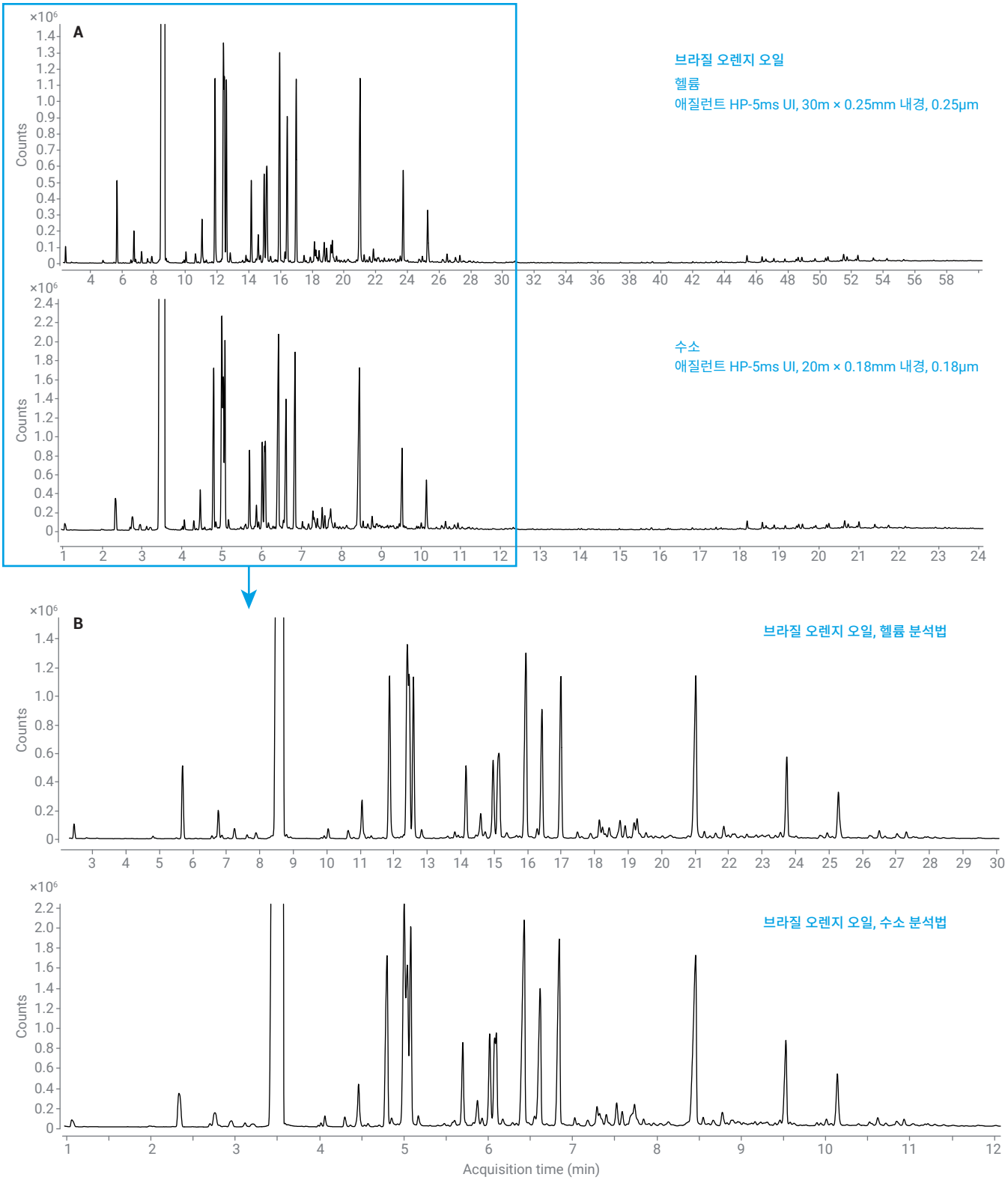


그림 5. (A) 헬륨 및 수소를 사용한 브라질 오렌지 오일 분석에서 나타난 전체 범위의 화합물 용출 (B) 이전 용출 시간 영역 확대 보기

네롤리 오일

그림 6은 헬륨 및 수소 분석법을 사용한 네롤리 오일의 TIC를 보여줍니다. 오렌지 오일의 경우와 같이 분리능과 마찬가지로 피크의 상대적 용출 순서가 유지됩니다. 수소 분석법의 컬럼 수용량 감소는 수소 크로마토그램에서 4.6분에 큰 피크의 증가한 프론팅에서 다시 한 번 분명하게 나타납니다.

MassHunter Unknowns Analysis를 통한 피크 식별

MHUA와 함께 사용된 파라미터는 표 2과 같습니다. 라이브러리에 스펙트럼 항목에 대한 적절한 RI 값이 있는 경우, RI를 라이브러리 매치 결과에 대한 필터로 사용할 수 있습니다. RI 검량 파일 이름이 RT 검량 파일 상자에 입력된 경우 프로그램에 RI가 사용됩니다. 분석을 설정하고 실행한 자세한 내용이 부록에 포함되었습니다. 또한 애질런트 YouTube 채널[7]의 동영상도 MHUA에 대한 훌륭한 정보원으로 이용할 수 있습니다.

표 2에 나열된 설정과 분석된 데이터 파일을 사용하여 프로그램은 전체 스캔 파일을 디콘볼루션하고 감지 가능한 각 피크(성분)가 어디에 있는지 결정합니다. 그런 다음 각 성분의 디콘볼루션된 (정리된) 스펙트럼을 가져와 라이브러리(NIST23)와 비교 검색합니다. 성분의 스펙트럼과 가장 잘 일치하는 라이브러리 항목을 검사하여 최소 매치 계수 파라미터인 70을 넘는지 확인합니다. 70을 넘는 경우, 다음으로 성분의 측정된 RI가 페널티 없는 범위(이 경우 ± 10초) 내에 속하는지 확인합니다. RT 불일치 페널티가 Additive로 설정되고 최대 RT 페널티가 100으로 설정된 경우, 측정된 RT와 라이브러리 RI (RT로 변환됨) 간의 차이가 10초보다 크면 항목이 완전히 폐기됩니다. 차이가 10초 미만이고 LMS가 70보다 크고 다른 가능한 매치 결과보다 높은 경우, 해당 매치 결과가 결과 테이블에 포함됩니다.

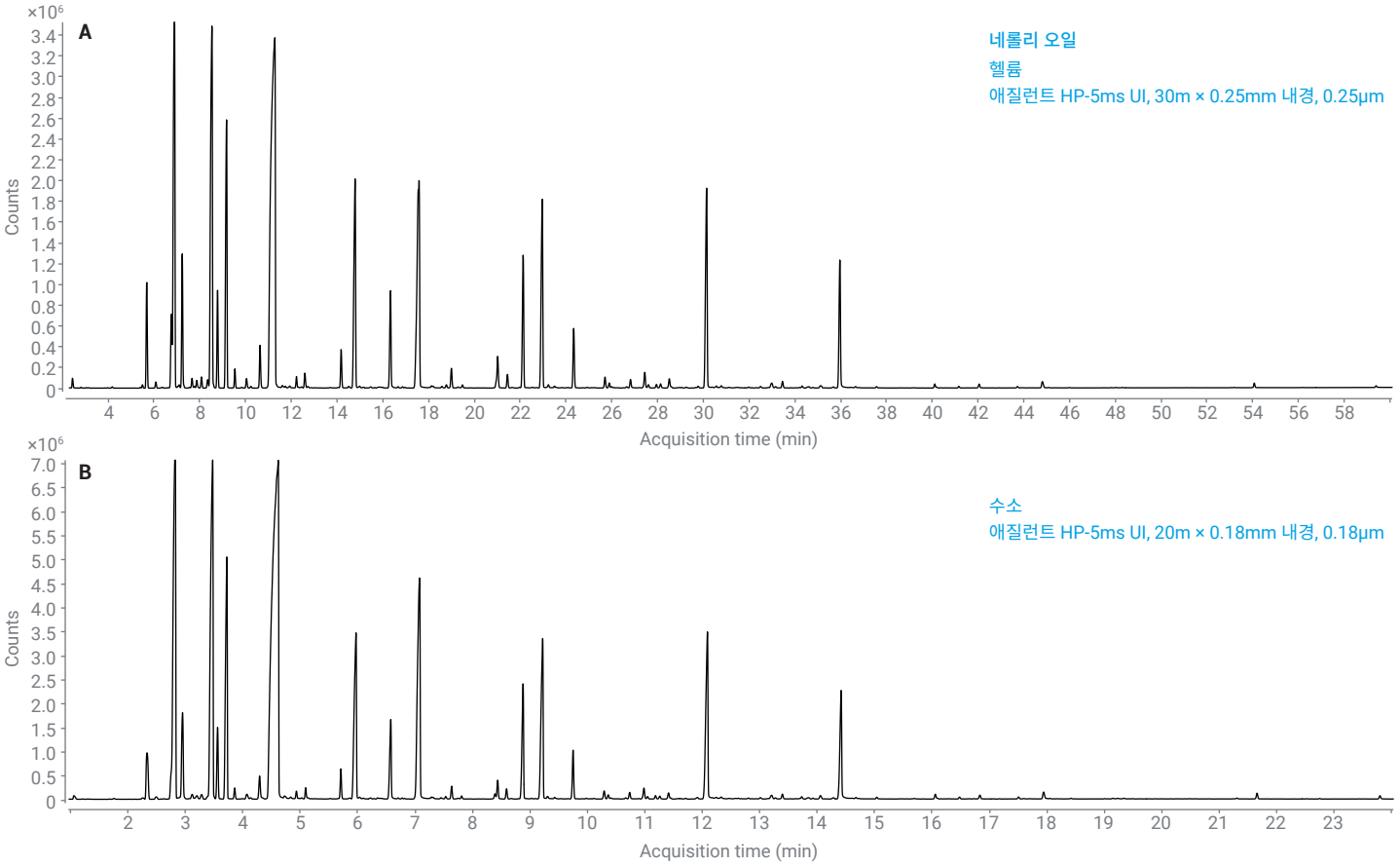


그림 6. (A) 헬륨 분석법과 (B) 수소 분석법으로 분석한 네롤리 오일

표 2. Agilent MassHunter Unknowns Analysis 분석법 파라미터.

파라미터	설정
RT 범위 크기 인자	10, 25, 50, 100, 200, 400, 600, 800
라이브러리	NIST23.L
RT 페널티 기능	사다리꼴
RT 범위	10초
페널티 없는 범위	10초
RT 불일치 페널티	첨가제
최대 RT 페널티	100
최소 매치 계수	70

전체 데이터 파일이 처리되면 결과를 검토할 수 있습니다. 그림 7은 헬륨 분석법을 사용한 브라질 오렌지 오일의 결과를 나타냅니다. 나열된 결과 중 하나에 대한 화합물 명칭을 마우스 왼쪽 버튼으로 클릭하면 라이브러리 스펙트럼과 함께 헤드에서 테일까지 디콘볼루션된 성분 스펙트럼이 표시됩니다.

16.989분에 선택된 성분 피크는 TIC 크로마토그램에서 빨간색으로 강조 표시되며, 확대하여 자세히 검사할 수 있습니다. 가장 풍부한 5개의 이온이 추출되어 스펙트럼 디스플레이 왼쪽 상자에 표시됩니다. 이를 통해 피크 모양과 정점 머무름 시간을 검사할 수 있습니다. 추출된 이온 중 하나의 정점 RT 또는 모양이 다른 이온과 상당히 다른 경우, 이는 간섭이 있을 수 있음을 의미하므로 ID를 해석할 때 이를 고려해야 합니다.

실제로 결과를 검토할 때는 매치 결과 목록을 내려가면서 매치 계수(라이브러리 매치 스코어), 델타 RI 및 기본 피크 면적을 확인하는 과정을 거칩니다. 16.989의 피크를 예로 들어보면, 스펙트럼이 표기된 98.2의 D-carvone에 대해 고품질의 매칭 작업을 가지며 머리-꼬리 요소와 라이브러리 스펙트럼이 시각적으로 잘 일치합니다. 주요 이온의 EIC를 겹쳐보면 모두 동일한 모양과 정점 RT를 갖습니다. 피크에 대해 측정된 RI와 라이브러리에서 얻은 RI 간의 차이인 델타 RI 값은 2로서 아주 작습니다. 마지막으로, TIC 크로마토그램에서 관찰된 피크 크기와 기본 피크 면적은 반응이 좋은 품질의 스펙트럼을 생성할 만큼 충분히 크다는 것을 나타냅니다. 이러한 관찰로부터 D-carvone의 ID는 높은 신뢰도로 확인되었습니다.

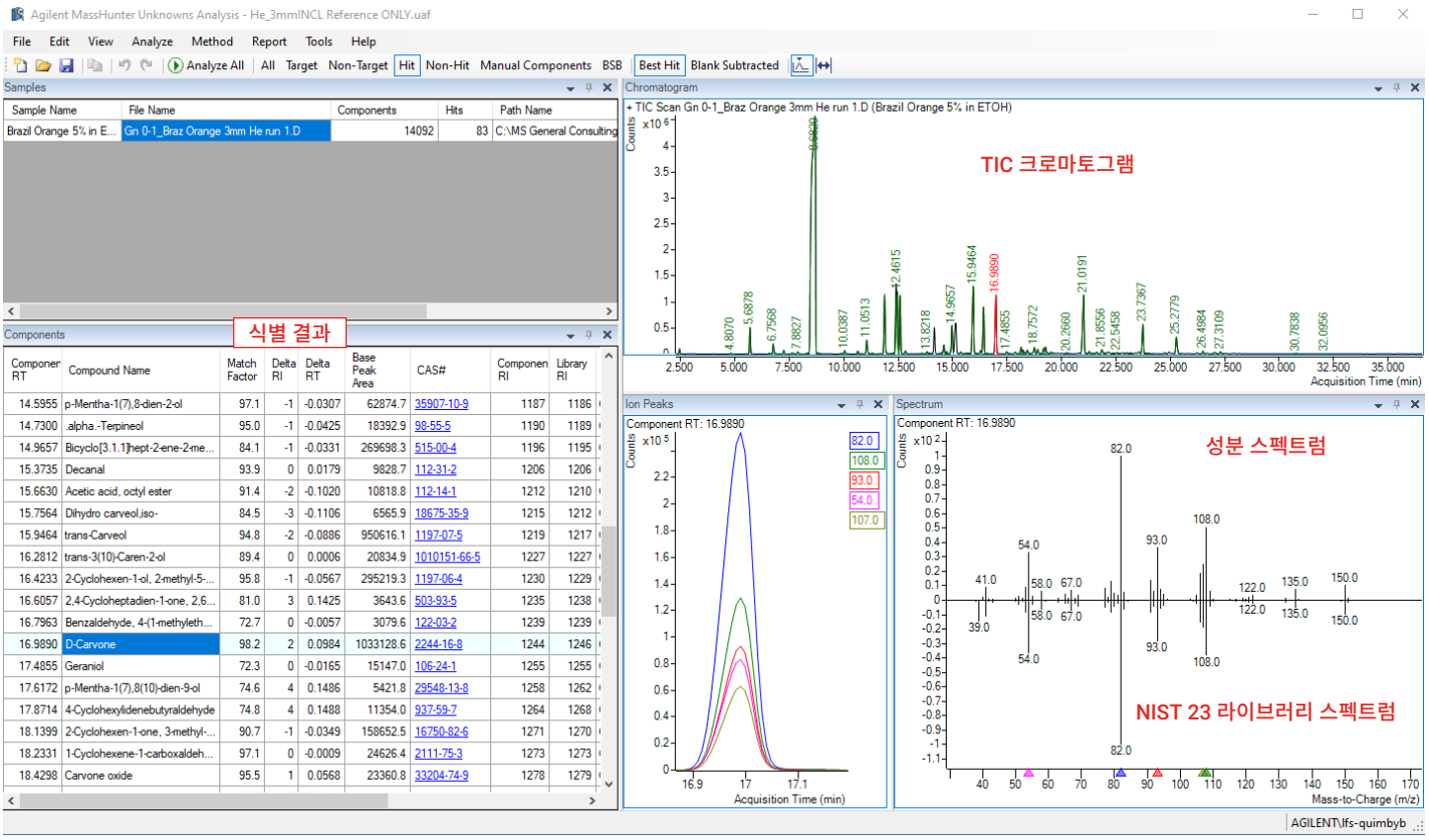


그림 7. 헬륨 분석법 사용 시 Agilent MassHunter Unknowns Analysis로 얻은 브라질 오렌지 오일의 분석 결과

대조적으로, p-mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol로 식별되는 17.6172의 피크는 74.6의 낮은 LMS와 4라는 큰 델타 RI를 갖고, EIC 중 하나는 정점 RT가 눈에 띄게 다르며 기본 피크 면적은 D-carvone 피크보다 약 190배 작습니다. 이는 신뢰도가 낮은 식별입니다. 검토자가 이를 보고하지 않기로 결정한 경우, 이름을 마우스 오른쪽 버튼으로 클릭하고 **Delete Components/Hits(성분/매치 결과 삭제)**를 선택하여 결과에서 이 매치 결과를 제거할 수 있습니다.

다른 정보에 근거하여 식별 정보가 의심되는 경우, 검토자는 결과 테이블에서 이름을 마우스 오른쪽 버튼으로 클릭하고 **Show Alternate Hits(대체 매치 결과 표시)**를 선택할 수 있습니다. 이렇게 하면 LMS 및 RI 기준을 충족하지만 LMS가 나열된 최고 매치 결과보다 작은 라이브러리의 다른 스펙트럼 목록이 표시됩니다. 때로는 적은 매치 결과의 LMS가 1포인트도 채 안 되게 작기 때문에 이렇게 하는 것이 유용합니다. 원하는 경우 검토자는 대체 매치 결과 중 하나를 선택하고 이를 ID로 설정할 수 있습니다.

이 검토 프로세스는 모든 매치 결과를 평가하는 데 사용됩니다. 완료되면 검토된 분석을 저장할 수 있으며 원하는 경우 보고서를 생성할 수 있습니다.

수소와의 소스 내 반응 평가

3mm 렌즈가 사용된 불활성 추출기 소스는 헬륨 사용 시 표준이지만, 수소 운반체 사용 시에는 선택되지 않습니다. 소스 내의 금속 표면은 수소와 소스의 일부 분석물 분자 사이의 반응을 촉진하는 경향이 있으며, 이로 인해 일부 화합물에 대한 피크 테일링과 스펙트럼 변화가 발생합니다. 과거에는 3mm 렌즈를 9mm 추출기 렌즈로 대체 사용하여 테일링과 스펙트럼 변화를 어느 정도 줄였으나 제거하지는 못했습니다. 이러한 이유로 HydroInert 소스가 개발되었습니다.

이 섹션에서는 Carvone oxide (CAS 번호 33204-74-9)에 대해 HydroInert 소스, 3mm 및 9mm 렌즈를 장착한 불활성 추출기 소스에서 수소로 얻은 스펙트럼과 헬륨으로 얻은 스펙트럼을 비교함으로써 소스 반응성의 영향을 설명합니다. 부록에 몇 가지 다른 예가 나와 있습니다.

그림 8은 최적화된 조건에서 헬륨 및 수소 분석법을 사용한 Carvone oxide 피크의 크로마토그램과 스펙트럼을 보여줍니다. NIST23의 라이브러리 참조 스펙트럼은 비교를 위해 거꾸로 표시되었습니다. 두 가지 분석법 모두에서 디콘볼루션된 스펙트럼의 LMS 값은 > 95로 높아 수소 운반 가스의 HydroInert 소스가 제공하는 탁월한 스펙트럼 정확도를 입증합니다.

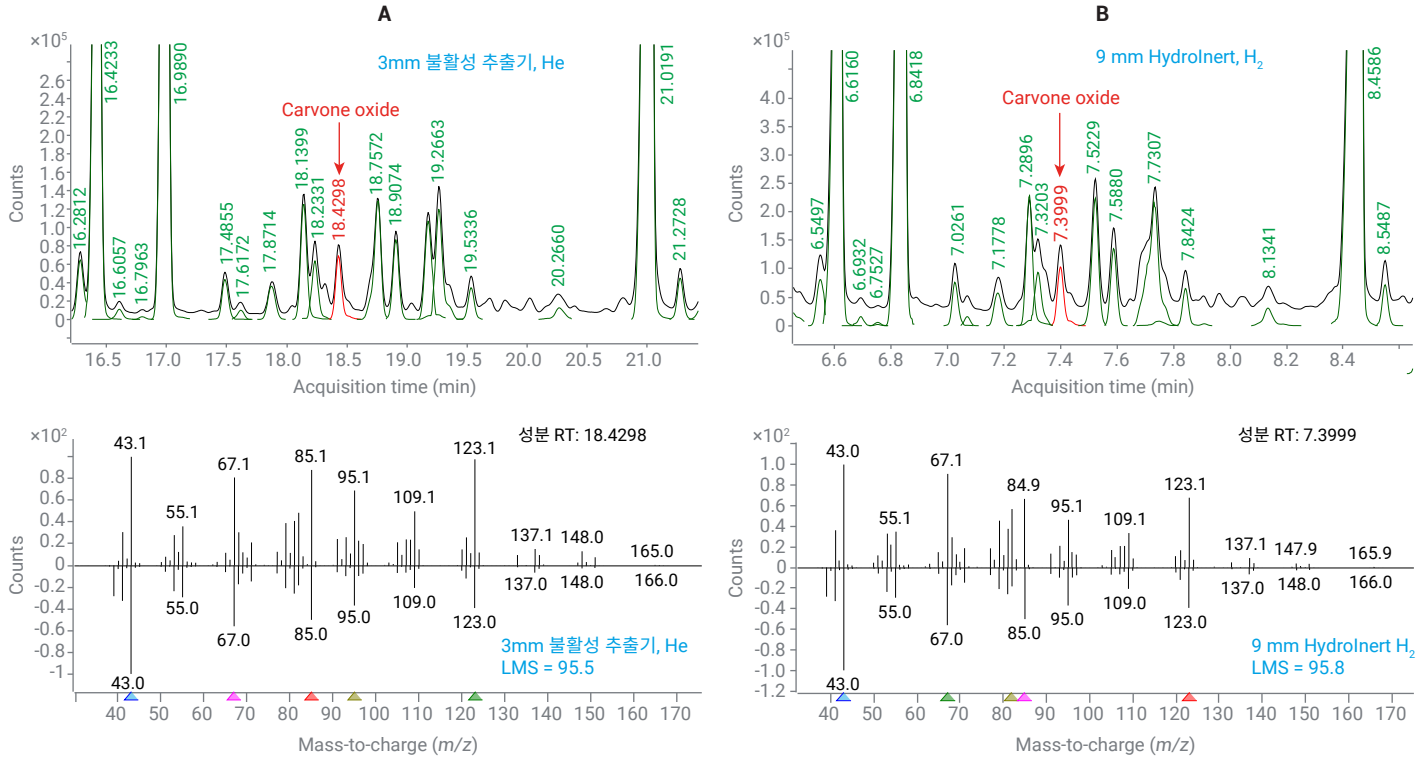


그림 8. (A) 헬륨 분석법을 사용한 Carvone oxide 피크의 크로마토그램과 스펙트럼 (B) 수소 분석법과 Agilent HydroInert 소스를 사용한 Carvone oxide 피크의 크로마토그램과 스펙트럼

비교를 위해 그림 9에는 HydroInert 소스와 9mm 및 3mm 추출기 렌즈를 모두 사용하는 불활성 추출기 소스를 사용하여 수소 운반체로 얻은 Carvone oxide 피크의 스펙트럼을 나타내었습니다.

그림 9B의 스펙트럼에 표시된 9mm 불활성 추출기 렌즈를 사용하면 LMS 값은 여전히 91.2로 상당히 높습니다. 그러나 일부 스펙트럼이 변화되었다는 것은 분명합니다. 가장 주목할 만한 점은 이온 82와 108의 존재비가 스펙트럼의 나머지 이온에 비해 증가했다는 것입니다. 이는 스펙트럼 정확도의 정도가 여전히 유용하고 비록 제한적이라도 소스 내 반응이 발생하고 있음을 보여줍니다.

대조적으로, 3mm 불활성 추출기 렌즈와 수소 운반체를 사용했을 때의 스펙트럼은 크게 달라졌습니다. Carvone oxide 매칭의 LMS가 70 한계선 미만이어서 대체 매치 결과 목록에도 나열되지 않을 정도로 스펙트럼이 변경됩니다. 검색 결과, 피크는 pinane-3-(methylamine)으로도 알려진 (2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1] heptan-3-yl)methanamine (CAS 61299-72-7)으로 식별되었습니다. LMS 값이 84.8이고 델타 RI가 -1에 불과한 근접한 RI 매치를 보면 이 식별이 그럴듯해 보이지만 올바르지는 않습니다.

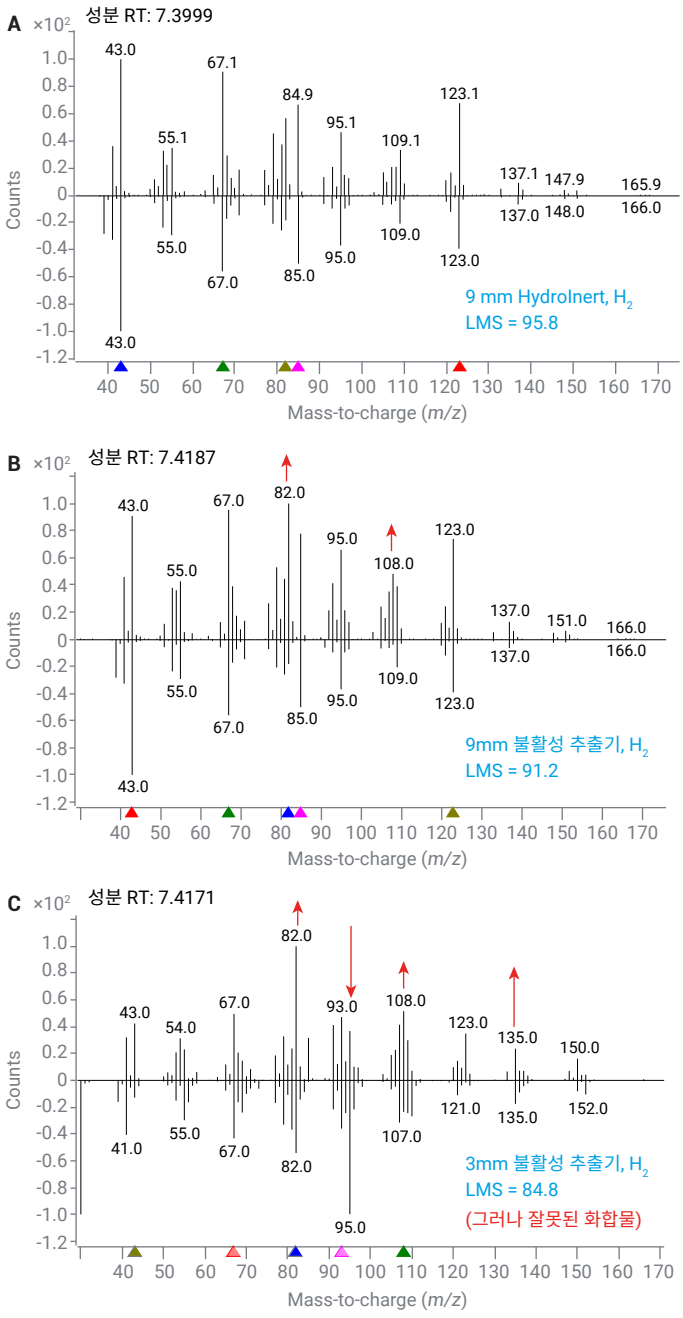


그림 9. (A) 수소 운반체와 Agilent HydroInert 소스를 사용한 Carvone oxide의 스펙트럼. 기준 스펙트럼은 NIST23의 Carvone oxide입니다 (B) 애질런트 불활성 추출기 소스와 9mm 렌즈를 사용한 스펙트럼. 기준 스펙트럼은 NIST23의 Carvone oxide입니다 (C) 애질런트 불활성 추출기 소스와 3mm 렌즈를 사용한 스펙트럼. 기준 스펙트럼은 NIST23의 (2,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]heptan-3-yl) methanamine입니다

3mm 불활성 추출기 소스를 사용한 소스 내 반응의 특성을 추가적으로 조사하기 위해 RI 매치 기준을 사용하지 않는 것을 제외하고 동일한 파라미터를 사용하여 MHUA로 데이터 파일을 다시 분석했습니다. 그러면 LMS에서만 최고의 매치 결과가 나열됩니다. Carvone oxide가 소스의 수소와 반응하여 반응 생성물을 생성하는 경우 스펙트럼 검색을 통해 그것이 무엇인지 밝힐 수 있습니다. 그림 10은 (A) Carvone oxide RT에서 3mm 렌즈를 사용하여 얻은 스펙트럼을 (B) 최상 매칭 및 (C) Carvone oxide 라이브러리 스펙트럼과 비교한 것을 나타낸 것입니다.

3mm 불활성 추출기 소스로 얻은 스펙트럼은 Carvone oxide 및 3-hydroxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohexanone의 조합과 매우 유사해 보입니다. 그림 10의 구조를 살펴보면 Carvone oxide의 에폭사이드 구조가 수소와 반응하여 OH 그룹을 형성하는 것으로 보입니다.

이 예는 수소와 분석물 사이의 반응을 허용하는 GC/MS 소스 사용의 위험성과 수소 운반 가스를 사용할 때 HydroInert 소스가 최선의 선택인 이유를 명확하게 보여줍니다. 몇 가지 다른 예가 부록에 나와 있습니다.

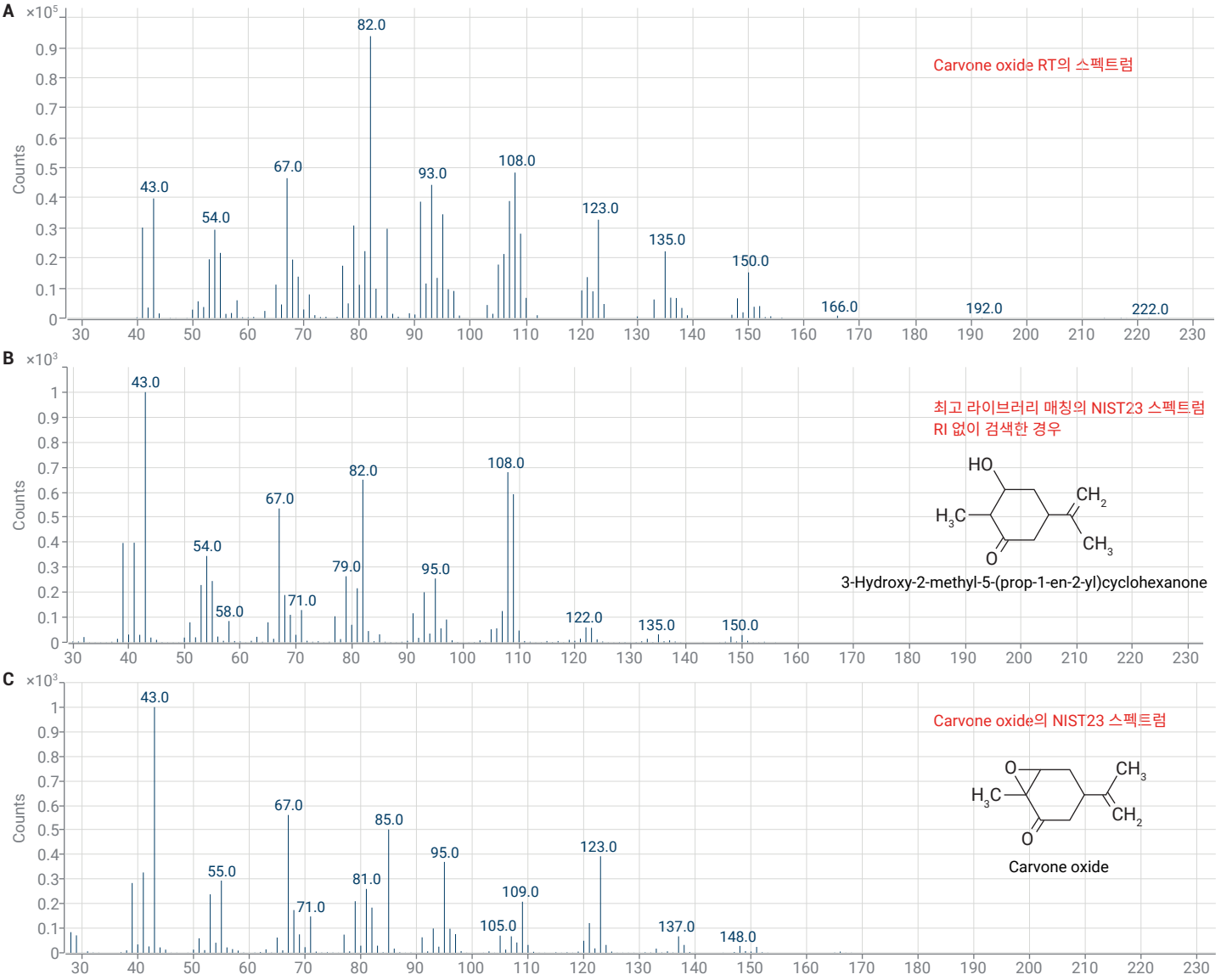


그림 10. (A) Carvone oxide RT에서 3mm 렌즈로 얻은 스펙트럼 (B) RI 필터링 없이 검색할 때 최고 매칭에 대한 NIST23 라이브러리 참조 스펙트럼인 3-hydroxy-2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohexanone (C) Carvone oxide에 대한 NIST23 라이브러리 참조 스펙트럼

브라질 오렌지 및 네롤리 오일의 분석 결과

표 3은 3mm 불활성 추출기 소스를 사용한 헬륨 분석법과 9mm HydroInert 소스를 사용한 수소 분석법을 사용하여 브라질 오렌지 오일을 분석한 결과를 나타냅니다. 표 4는 동일한 방법으로 네롤리 오일을 분석한 결과를 나타냅니다.

헬륨을 수소 운반 가스로 전환하는 방법과 관련된 질문을 해결하기 위해 결과를 검토했습니다.

- **NIST23과 비교한 RI:** 두 가지 분석법으로 측정된 RI는 대부분의 화합물에 대해 NIST23 라이브러리의 RI와 거의 일치했습니다. 그러나 MassHunter Unknowns Analysis에 사용되는 RI 인식 윈도우는 매치 결과 목록을 나열할 때 최대 델타 RI를 제한한다는 점을 알아야 합니다. 두 번째 고려 사항은 NIST23 RI 값이 실제 실험 값이 아닌 AI 예측 값인 경우 오류, 즉 델타 RI가 더 커질 수 있다는 것입니다.
- **헬륨 및 수소 분석법 간의 RI 비교:** 헬륨으로 측정한 RI와 수소로 측정한 RI의 차이를 나열한 열에서 볼 수 있듯이 (RI He-RI H_2로 표시됨), 두 분석법으로 측정된 RI는 일치도가 양호합니다. 유일한 예외는 가장 초기 피크와 크로마토그래피에서 과부하가 발생하여 RT가 이동하는 linalool 및 D-limonene과 같은 피크입니다. 이는 분석법 변환기 도구를 사용하여 수소 분석법에 대한 크로마토그래피 파라미터를 선택할 때의 이점 중 하나입니다. 두 분석법 간에 분석물질과 RI 검량 물질에 대한 상대적 용출 순서가 동일하게 유지되기 때문입니다.
- **LMS vs NIST23:** 일반적으로 디콘볼루션 프로세스는 더 깔끔한 스펙트럼을 생성하므로 이전 접근 방식과 비교할 때 LMS 스코어가 향상됩니다. 헬륨 결과에 대한 LMS 스코어 열을 보면 대부분 >85입니다. 더 작은 값은 더 작은 반응 화합물, 스펙트럼 간섭을 일으키는 중첩 피크 또는 분석물질이 라이브러리에 없고 잘못된 매치 결과가 나열된 검색 결과로 인해 발생할 수 있습니다.
- **헬륨 및 수소 분석법 간의 LMS 비교:** 헬륨으로 측정한 LMS와 수소로 측정한 LMS 간의 차이를 나열하는 열(LMS He-LMS H_2로 표시)은 일반적으로 두 분석법 간에 양호한 일치도를 보여줍니다. 수소 분석법 값이 현저히 낮은 예외는 신호 응답이 낮거나 피크가 겹치는 스펙트럼 간섭 때문입니다. 일반적으로, 수소에서 얻은 신호대 잡음비는 헬륨보다 2-5배 적으며 이는 가장 작은 피크의 LMS 스코어가 낮은 결과로 반영됩니다.

표 3. 헬륨 분석법과 수소 분석법에서 브라질 오렌지 오일의 분석 결과. (LR = 낮은 응답, Int = 간섭)

화합물 명칭	CAS	Lib RI	헬륨				Hydroinert를 이용한 수소				RI He-RI H_2	LMS He-LMS H_2	
			RT	RI	델타 RI	LMS	RT	RI	델타 RI	LMS			
Ethane, 1,1-diethoxy-	105-57-7	726	2.445	723	3	98	1.061	732	-6	96	-9	2	
Nonane	111-84-2	900	4.807	900	0	95	1.983	900	0	91	0	4	
(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	7785-70-8	932	5.688	933	-1	99	2.332	933	-1	97	0	2	
1-Heptanol	111-70-6	970	6.566	966	4	98	2.699	968	2	95	-2	2	
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	3387-41-5	974	6.757	973	1	98	2.759	974	0	98	-1	0	
beta-Myrcene	123-35-3	991	7.240	991	0	97	2.953	992	-1	95	-1	2	
Octanal	124-13-0	1,003	7.616	1,004	-1	98	3.116	1,006	-3	97	-2	1	
3-Carene	13466-78-9	1,011	7.883	1,011	0	98	3.211	1,012	-1	89	-1	9	
D-Limonene	5989-27-5	1,031	8.682	1,034	-3	99	3.562	1,037	-6	99	-3	0	
1-Methylbicyclo[2.2.1]heptan-exo-2-ol	766-25-6	1,039	8.796	1,037	2	76	3.593	1,039	0	74	-2	2	
trans-Sabinene hydrate	17699-16-0	1,070	9.837	1,066	4	74	3.985	1,067	3	77	-1	-3	
1-Octanol	111-87-5	1,070	9.919	1,068	2	98	4.016	1,070	0	97	-2	1	
cis-Linalool oxide	5989-33-3	1,074	10.039	1,072	2	94	4.063	1,073	1	94	-1	0	
trans-Linalool oxide (furanoid)	34995-77-2	1,086	10.630	1,088	-2	95	4.297	1,089	-3	94	-1	0	
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1195-32-0	1,090	10.665	1,089	1	91	4.306	1,090	0	92	-1	-1	
Epoxymyrcene,6,7-	29414-55-9	1,090	10.804	1,093	-3	73	4.365	1,094	-4	79	-1	-6	
Linalool	78-70-6	1,099	11.051	1,100	-1	97	4.462	1,101	-2	95	-1	1	
Nonanal	124-19-6	1,104	11.232	1,104	0	96	4.533	1,105	-1	86	-1	10	LR
cis-Pinen-3-ol	1010292-85-2	1,108	11.324	1,107	1	81	4.574	1,108	0	73	-1	8	
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, *trans*-	7212-40-0	1,123	11.872	1,120	3	95	4.799	1,122	1	96	-2	-1	
5-Undecene, 4-methyl-	143185-91-5	1,132	12.217	1,129	3	74	4.925	1,130	2	71	-1	4	
7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1195-92-2	1,133	12.401	1,133	0	86	5.003	1,134	-1	90	-1	-4	
cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	3886-78-0	1,133	12.462	1,135	-2	79	5.042	1,137	-4	89	-2	-10	
(+)-(E)-Limonene oxide	6909-30-4	1,139	12.586	1,138	1	97	5.082	1,139	0	98	-1	-1	
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, *cis*-	7299-41-4	1,144	12.826	1,143	1	95	5.171	1,145	-1	93	-2	1	
Cyclohexanol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, *trans*-	7299-40-3	1,161	13.610	1,163	-2	88	5.480	1,164	-3	83	-1	4	
Bicyclo[3.3.0]octan-2-one, 7-methylene-	1000151-92-1	1,166	13.822	1,168	-2	84	5.578	1,170	-4	64	-2	19	Int
1-Nonanol	143-08-8	1,173	13.921	1,170	3	98	5.603	1,171	2	96	-1	2	
Ethanone, 1-(4-methylphenyl)-	122-00-9	1,183	14.452	1,183	0	93	5.822	1,185	-2	95	-2	-2	
p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	35907-10-9	1,186	14.596	1,187	-1	97	5.873	1,188	-2	96	-1	1	
alpha-Terpineol	98-55-5	1,189	14.730	1,190	-1	95	5.928	1,191	-2	94	-1	1	
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-	515-00-4	1,195	14.966	1,196	-1	84	6.018	1,197	-2	86	-1	-2	
Decanal	112-31-2	1,206	15.374	1,206	0	94	6.173	1,206	0	93	0	1	
Acetic acid, octyl ester	112-14-1	1,210	15.663	1,212	-2	91	6.287	1,213	-3	79	-1	12	LR, Int
Dihydro carveol, iso-	18675-35-9	1,212	15.756	1,215	-3	85	6.334	1,216	-4	78	-1	7	
trans-Carveol	1197-07-5	1,217	15.946	1,219	-2	95	6.427	1,221	-4	96	-2	-1	
trans-3(10)-Caren-2-ol	1010151-66-5	1,227	16.281	1,227	0	89	6.550	1,229	-2	85	-2	4	
2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, *cis*-	1197-06-4	1,229	16.423	1,230	-1	96	6.616	1,232	-3	97	-2	-1	
2,4-Cycloheptadien-1-one, 2,6,6-trimethyl-	503-93-5	1,238	16.606	1,235	3	81	6.693	1,237	1	73	-2	8	
Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-	122-03-2	1,239	16.796	1,239	0	73	6.753	1,241	-2	58	-2	14	LR
D-Carvone	2244-16-8	1,246	16.989	1,244	2	98	6.842	1,246	0	98	-2	0	
Geraniol	106-24-1	1,255	17.486	1,255	0	72	7.026	1,257	-2	77	-2	-5	
p-Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	29548-13-8	1,262	17.617	1,258	4	75	7.070	1,259	3	73	-1	2	

화합물 명칭	CAS	Lib RI	헬륨				Hydroinert를 이용한 수소				RI He-RI H_2	LMS He-LMS H_2	
			RT	RI	델타 RI	LMS	RT	RI	델타 RI	LMS			
4-Cyclohexylidenebutyraldehyde	937-59-7	1,268	17.871	1,264	4	75	7.178	1,266	2	76	-2	-2	
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (S)-	16750-82-6	1,270	18.140	1,271	-1	91	7.290	1,272	-2	83	-1	7	
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl)-	2111-75-3	1,273	18.233	1,273	0	97	7.320	1,274	-1	84	-1	14	LR
Carvone oxide	33204-74-9	1,279	18.430	1,278	1	96	7.400	1,279	0	96	-1	0	
Pinocarvyl acetate, *cis*-	73366-18-4	1,285	18.757	1,285	0	80	7.523	1,286	-1	82	-1	-2	
Verbenyl acetate, *trans*-	1203-21-0	1,291	18.907	1,289	2	79	7.588	1,290	1	80	-1	0	
p-Mentha-1,8-dien-7-ol	536-59-4	1,297	19.266	1,297	0	95	7.731	1,298	-1	93	-1	2	
2-Propanol, 1-[(1-ethynylcyclohexyl)oxy]-	54644-17-6	1,303	19.534	1,304	-1	77	7.842	1,305	-2	79	-1	-1	
1,2-Cyclohexanediol, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	1946-00-5	1,321	20.266	1,321	0	80	8.134	1,323	-2	84	-2	-4	
(1S,4R,5R)-1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-5-yl acetate	81781-24-0	1,343	21.019	1,339	4	83	8.459	1,342	1	82	-3	1	
exo-2-Hydroxycineole acetate	57709-95-2	1,344	21.273	1,345	-1	86	8.549	1,347	-3	89	-2	-2	
1-Cyclohexene-1-methanol, 4-(1-methylethenyl)-, formate	29621-55-4	1,356	21.612	1,353	3	87	8.664	1,354	2	90	-1	-4	
2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, acetate, (1R-*cis*)-	7111-29-7	1,358	21.856	1,359	-1	80	8.775	1,361	-3	79	-2	1	
Copaene	3856-25-5	1,376	22.546	1,375	1	91	9.024	1,376	0	84	-1	6	
2-Methyl-4-(2,6,6-trimethylcyclohex-2-enyl)but-3-en-2-ol	56763-65-6	1,406	23.737	1,404	2	83	9.528	1,406	0	85	-2	-2	
cis-β-Copaene	18252-44-3	1,432	24.728	1,428	4	93	9.897	1,429	3	89	-1	3	
Sesquicineole, 7-epi-1,2-dehydro-	149067-90-3	1,471	26.498	1,472	-1	78	10.618	1,473	-2	79	-1	-1	
3-Tetradecen-5-yne, (E)-	74744-44-8	1,488	27.032	1,485	3	72	10.842	1,487	1	73	-2	-1	
Valencene	4630-07-3	1,492	27.311	1,492	0	97	10.930	1,493	-1	96	-1	0	
Caryophyllene oxide	1139-30-6	1,581	30.784	1,582	-1	73	12.320	1,582	-1	81	0	-7	
1,5,9-Cyclododecanetriol	2938-55-8	2,007	45.413	2,005	2	72	18.190	2,006	1	76	-1	-4	
3-Eicosyne	61886-66-6	2,032	46.366	2,036	-4	75	18.573	2,037	-5	76	-1	-2	
Uvidin C, diacetate	1000501-90-0	2,107	48.516	2,107	0	75	19.432	2,107	0	73	0	2	
(9E,11E)-Octadecadienoic acid	544-71-8	2,237	52.406	2,241	-4	74	20.997	2,241	-4	73	0	2	
Incensole oxide, acetate	1000513-23-1	2,270	53.383	2,275	-5	72	21.395	2,276	-6	69	-1	3	

표 4. 헬륨 분석법과 수소 분석법에서 네롤리 오일의 분석 결과. (LR = 낮은 응답, Int = 간섭)

화합물 명칭	CAS	Lib RI	헬륨				Hydroinert를 이용한 수소				RI He-RI H_2	LMS He-LMS H_2	
			RT	RI	델타 RI	LMS	RT	RI	델타 RI	LMS			
Ethane, 1,1-diethoxy-	105-57-7	726	2.445	723	3	98	1.060	732	-6	97	-9	1	
3-Hexen-1-ol	544-12-7	856	3.982	851	5	93	1.685	856	0	80	-5	13	LR
1-Hexanol	111-27-3	868	4.184	863	5	95	1.762	867	1	92	-4	3	
Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	2867-05-2	929	5.501	926	3	98	2.258	926	3	92	0	6	
(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	7785-70-8	932	5.688	933	-1	98	2.334	933	-1	98	0	1	
Camphene	79-92-5	952	6.087	948	4	98	2.496	949	3	97	-1	1	
Benzaldehyde	100-52-7	962	6.380	959	3	98	2.628	961	1	96	-2	2	
Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-	18172-67-3	978	6.899	978	0	97	2.824	980	-2	98	-2	0	
m-Mentha-4,8-diene, (1S,3S)-(+)-	5208-51-5	983	7.047	984	-1	82	2.875	985	-2	77	-1	5	
beta-Myrcene	123-35-3	991	7.240	991	0	97	2.952	992	-1	97	-1	0	
Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)-	499-97-8	1,004	7.667	1,005	-1	98	3.121	1,006	-2	97	-1	1	
cis-Anhydrolinalool oxide	54750-69-5	1,007	7.775	1,008	-1	93	3.166	1,009	-2	79	-1	14	LR, Int
3-Carene	13466-78-9	1,011	7.874	1,011	0	97	3.203	1,012	-1	97	-1	1	
1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	99-86-5	1,017	8.082	1,017	0	97	3.285	1,018	-1	97	-1	0	
D-Limonene	5989-27-5	1,031	8.536	1,029	2	99	3.476	1,031	0	99	-2	0	
1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	3338-55-4	1,038	8.782	1,036	2	97	3.562	1,037	1	97	-1	0	
trans-beta-Ocimene	3779-61-1	1,049	9.174	1,047	2	97	3.724	1,049	0	97	-2	0	
gamma-Terpinene	99-85-4	1,060	9.540	1,058	2	99	3.860	1,058	2	99	0	0	
trans-Sabinene hydrate	17699-16-0	1,070	9.843	1,066	4	90	3.994	1,068	2	81	-2	9	
cis-Linalool oxide	5989-33-3	1,074	10.047	1,072	2	98	4.071	1,073	1	96	-1	2	
1,4-Undecadiene, (Z)-	55976-14-2	1,080	10.241	1,077	3	81	4.138	1,078	2	80	-1	1	
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	586-62-9	1,088	10.638	1,088	0	98	4.294	1,089	-1	98	-1	0	
Linalool	78-70-6	1,099	11.285	1,106	-7	98	4.618	1,111	-12	98	-5	0	
Phenylethyl alcohol	60-12-8	1,116	11.611	1,114	2	98	4.725	1,117	-1	96	-3	1	
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, cis-	29803-82-5	1,122	11.938	1,122	0	93	4.837	1,124	-2	93	-2	0	
2,4,6-Octatriene, 2,6-dimethyl-, (E,Z)-	7216-56-0	1,131	12.231	1,129	2	99	4.935	1,130	1	99	-1	0	
2-Isopropylimidazole	36947-68-9	1,132	12.318	1,131	1	71	4.973	1,132	0	70	-1	1	
cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	3886-78-0	1,133	12.460	1,134	-1	83	5.029	1,136	-3	82	-2	1	
Benzyl nitrile	140-29-4	1,144	12.594	1,138	6	98	5.095	1,140	4	94	-2	5	
Myroxide	28977-57-3	1,140	12.747	1,142	-2	92	5.144	1,143	-3	71	-1	20	LR, Int
Terpinen-4-ol	562-74-3	1,177	14.182	1,177	0	96	5.709	1,178	-1	96	-1	1	
Benzenemethanol, alpha,alpha,4-trimethyl-	1197-01-9	1,183	14.515	1,185	-2	91	5.864	1,187	-4	90	-2	1	
alpha-Terpineol	98-55-5	1,189	14.790	1,192	-3	99	5.972	1,194	-5	99	-2	0	
1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	116-26-7	1,201	15.153	1,200	1	78	6.099	1,202	-1	79	-2	-2	
(3E,5E)-2,6-Dimethylocta-3,5,7-trien-2-ol	206115-88-0	1,202	15.481	1,208	-6	88	6.229	1,210	-8	89	-2	-1	
Acetic acid, octyl ester	112-14-1	1,210	15.648	1,212	-2	92	6.285	1,213	-3	89	-1	3	
Benzofuran, 2-ethenyl-	7522-79-4	1,220	15.994	1,220	0	89	6.428	1,221	-1	86	-1	4	
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)-	106-25-2	1,228	16.337	1,228	0	97	6.577	1,230	-2	98	-2	0	
Neral	106-26-3	1,240	16.860	1,241	-1	90	6.776	1,242	-2	88	-1	2	
Carvone	99-49-0	1,242	16.966	1,243	-1	87	6.821	1,245	-3	86	-2	2	
Linalyl acetate	115-95-7	1,257	17.587	1,258	-1	95	7.079	1,260	-3	92	-2	3	
Citral	5392-40-5	1,273	18.124	1,270	3	93	7.283	1,272	1	89	-2	4	

화합물 명칭	CAS	Lib RI	헬륨				Hydroinert를 이용한 수소				RI He-RI H_2	LMS He-LMS H_2	
			RT	RI	델타 RI	LMS	RT	RI	델타 RI	LMS			
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, formate, (Z)-	2142-94-1	1,282	18.575	1,281	1	89	7.452	1,282	0	89	-1	0	
Levo-bornyl acetate	5655-61-8	1,285	18.780	1,286	-1	99	7.534	1,287	-2	95	-1	4	
Indole	120-72-9	1,294	18.998	1,291	3	99	7.637	1,293	1	99	-2	0	
Benzene, (2-nitroethyl)-	6125-24-2	1,302	19.280	1,298	4	89	7.746	1,299	3	86	-1	3	
Geranyl formate	105-86-2	1,300	19.483	1,303	-3	91	7.811	1,303	-3	91	0	1	
δ-Elemene	20307-84-0	1,338	20.958	1,338	0	86	8.392	1,338	0	96	0	-10	
Methyl anthranilate	134-20-3	1,343	21.020	1,339	4	94	8.439	1,341	2	98	-2	-4	
alpha-Terpinyl acetate	80-26-2	1,350	21.445	1,349	1	97	8.593	1,350	0	96	-1	2	
6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate	150-84-5	1,354	21.647	1,354	0	84	8.669	1,354	0	81	0	2	
2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	141-12-8	1,364	22.133	1,366	-2	99	8.881	1,367	-3	99	-1	0	
Copaene	3856-25-5	1,376	22.543	1,375	1	82	9.026	1,376	0	80	-1	2	
Geranyl acetate	105-87-3	1,382	22.966	1,385	-3	98	9.222	1,387	-5	98	-2	0	
levo-β-Elemene	515-13-9	1,391	23.236	1,392	-1	96	9.307	1,393	-2	95	-1	1	
Benzoic acid, 2-amino-, ethyl ester	87-25-2	1,414	24.091	1,413	1	86	9.662	1,414	0	93	-1	-7	
Caryophyllene	87-44-5	1,419	24.340	1,419	0	99	9.751	1,420	-1	99	-1	0	
gamma-Elemene	29873-99-2	1,434	24.921	1,433	1	83	9.977	1,434	0	88	-1	-6	
Humulene	6753-98-6	1,454	25.707	1,453	1	92	10.293	1,453	1	91	0	1	
(E)-beta-Farnesene	18794-84-8	1,457	25.894	1,457	0	96	10.363	1,458	-1	96	-1	0	
Alloaromadendrene	25246-27-9	1,461	26.002	1,460	1	92	10.408	1,460	1	84	0	8	
gamma-Muurolene	30021-74-0	1,477	26.657	1,476	1	93	10.669	1,476	1	91	0	2	
Germacrene D	23986-74-5	1,481	26.824	1,480	1	95	10.736	1,481	0	97	-1	-2	
Bicyclogermacrene	24703-35-3	1,496	27.445	1,496	0	98	10.985	1,496	0	97	0	1	
alpha-Muurolene	10208-80-7	1,499	27.605	1,500	-1	96	11.048	1,500	-1	93	0	3	
alpha-Farnesene	502-61-4	1,508	27.955	1,509	-1	94	11.186	1,509	-1	96	0	-1	
γ-Cadinene	39029-41-9	1,513	28.137	1,513	0	97	11.261	1,514	-1	96	-1	1	
δ-Cadinene	483-76-1	1,524	28.519	1,523	1	97	11.413	1,524	0	97	-1	1	
α-Cadinene	24406-05-1	1,538	29.047	1,537	1	80	11.626	1,537	1	81	0	-2	
alpha-Calacorene	21391-99-1	1,542	29.254	1,542	0	94	11.710	1,543	-1	82	-1	13	LR
β-Germacrene	15423-57-1	1,557	29.779	1,556	1	96	11.915	1,556	1	87	0	10	Int
1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	7212-44-4	1,564	30.146	1,565	-1	97	12.091	1,567	-3	97	-2	0	
Spathulenol	6750-60-3	1,576	30.574	1,576	0	93	12.244	1,577	-1	85	-1	9	
Caryophyllene oxide	1139-30-6	1,581	30.788	1,582	-1	92	12.329	1,583	-2	90	-1	2	
tau-Cadinol	5937-11-1	1,640	32.985	1,641	-1	96	13.198	1,641	-1	95	0	2	
δ-Cadinol	19435-97-3	1,645	33.163	1,646	-1	92	13.276	1,646	-1	88	0	4	
alpha-Cadinol	481-34-5	1,653	33.462	1,654	-1	96	13.396	1,654	-1	94	0	2	
Naphthalene, 1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	483-78-3	1,674	34.205	1,675	-1	92	13.695	1,674	0	78	1	14	LR, Int
8-Heptadecene	2579-04-6	1,677	34.320	1,678	-1	95	13.731	1,677	0	94	1	2	
6,10-Dodecadien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	51411-24-6	1,692	34.795	1,691	1	81	13.928	1,690	2	87	1	-6	
2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-	3790-71-4	1,697	35.110	1,700	-3	92	14.058	1,699	-2	89	1	3	
trans-Farnesol	106-28-5	1,722	35.968	1,724	-2	97	14.418	1,724	-2	98	0	-1	
Farnesol, 2E, 6Z-	3879-60-5	1,742	36.652	1,743	-1	79	14.676	1,743	-1	78	0	1	
all-*trans*-Farnesyl acetate	4128-17-0	1,843	40.112	1,842	1	94	16.057	1,843	0	92	-1	3	
Cubitene	66723-19-1	1,878	41.166	1,874	4	82	16.479	1,874	4	78	0	3	
m-Camphorene	20016-73-3	1,960	43.728	1,952	8	95	17.508	1,953	7	93	-1	3	
p-Camphorene	20016-72-2	1,995	44.815	1,986	9	92	17.942	1,986	9	91	0	1	
Hexadecanoic acid, ethyl ester	628-97-7	1,993	45.083	1,995	-2	73	18.054	1,995	-2	75	0	-2	

결론

본 응용 자료에 설명된 기술을 사용하여 에센셜 오일의 정성 분석을 위한 일반적인 분석법을 수소 운반 가스를 사용하는 분석법으로 성공적으로 전환했습니다. 이렇게 얻은 수소 분석법은 원래 분석법과 동일한 크로마토그래피 분리능과 상대적 용출 순서를 유지하지만 분석 시간은 2.5배 더 짧습니다. 새로운 분석법을 사용하면 컬럼 수용량이 계산상 원래 분석법의 36%로 줄어들므로 경우에 따라 주입량을 조정해야 할 수도 있습니다.

그런 다음 새로운 수소 분석법을 두 가지 에센셜 오일 분석에 적용하여 헬륨 분석법과 대등한 결과가 얻어지는 것을 확인했습니다. Agilent MassHunter Unknowns Analysis에서 스펙트럼 디콘볼루션과 머무름 지수 검색 필터링을 사용하여 이전 식별 방법보다 더 빠르고 향상된 검색 결과를 얻을 수 있었습니다. 에센셜 오일 성분과 RI에 대한 확장된 데이터를 포함한 NIST23 라이브러리를 통해 존재하는 화합물의 상당 부분을 식별할 수 있었습니다.

Agilent HydroInert 소스는 성공적인 수소 전환에 핵심 요소입니다. 이 소스가 없으면 소스 내 반응으로 인해 일부 화합물의 스펙트럼 식별이 잘못 인식될 정도로 성능이 저하되는 것으로 나타났습니다.

참고 문헌

1. Agilent EI GC/MS 기기에서 운반 가스를 헬륨에서 수소로 전환. *애질런트 사용자 가이드*, 발행물 번호 5994-2312KO, **2020**.
2. Blumberg, L. M. Method Translation in Gas Chromatography. US Patent US6634211B1. **2002**.
3. Blumberg, L. M.; Klee, M. S. Method Translation and Retention Time Locking in Partition GC. *Anal. Chem.* **1998**, *70(18)*, 3828–3839.
4. 애질런트 GC 계산기 및 분석법 변환 소프트웨어. 다음 링크에서 도구를 다운로드할 수 있습니다. https://www.agilent.com/ko-kr/support/gas-chromatography/gccalculators
5. Agilent Inert Plus GC/MS 시스템과 HydroInert 소스 실제 GC/MS 분석에 H2 운반 가스 적용. *Agilent Technologies 기술 개요*, 발행물 번호 5994-4889KO, **2022**.
6. Godina, L. 수소 운반 가스 및 Agilent HydroInert 소스를 사용한 조미료 및 향료 GC/MS 분석, *애질런트 응용 자료*, 발행물 번호 5994-6015KO, **2023**.
7. MassHunter Unknowns Analysis 비디오: https://www.youtube.com/watch?v=y_zJkBfnN3g
8. Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, version 4, available through Diablo Analytical (Antioch, CA).
9. Sparkman, O. D. NIST 23: The Largest Increases in Compound Coverage for the Tandem and NIST/EPA/NIH EI Libraries Since NIST Became Curator, Separation Science, July **2023**. NIST 23: The Largest Increases in Compound Coverage for the Tandem and NIST/EPA/NIH EI Libraries Since NIST Became Curator - Separation Science (sepscience.com)
10. David, F.; Scanlan, F.; Sandra, P.; Szelewski, M. Analysis of Essential Oil Compounds Using Retention Time Locked Methods and Retention Time Databases, *Agilent Technologies application note*, publication number 5988-6530EN, **2002**.

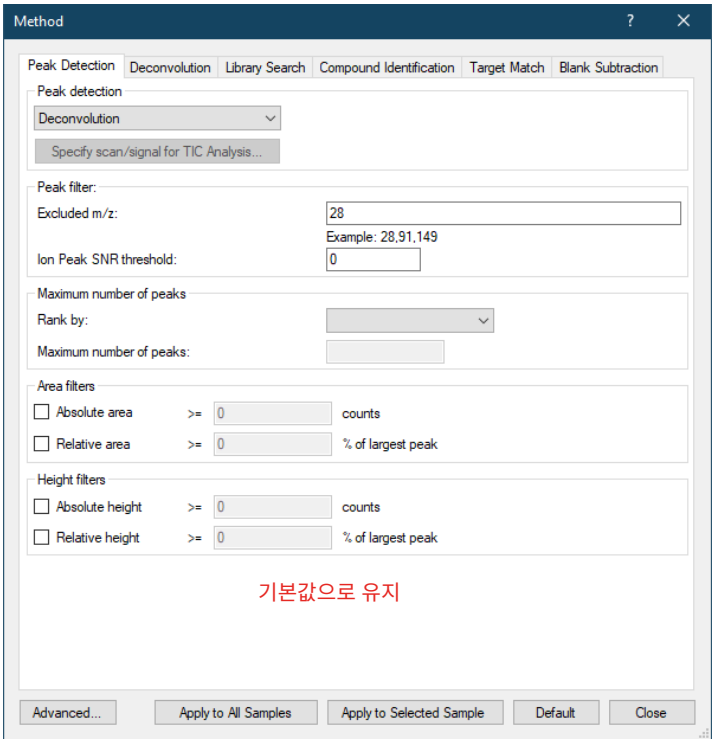
부록

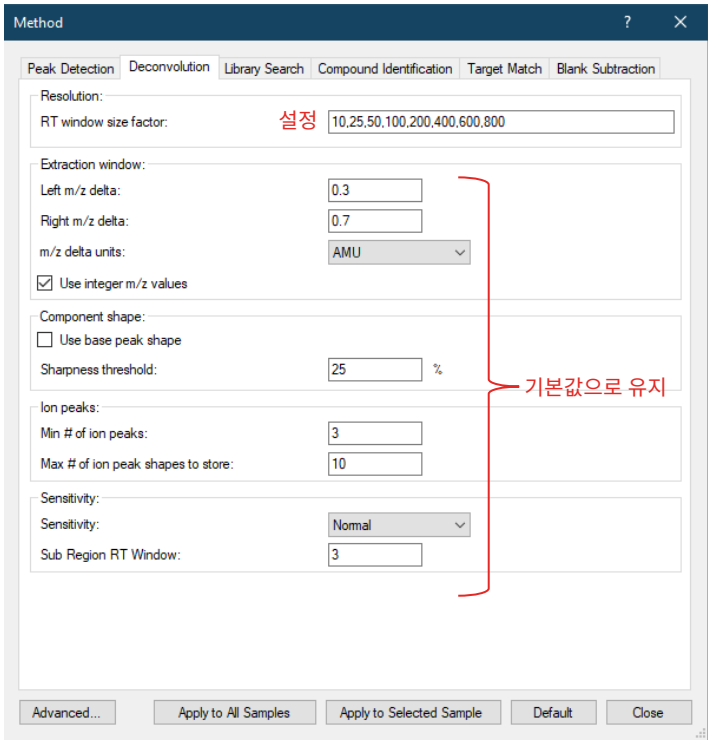
MassHunter Unknowns Analysis 설정

이 섹션에서는 Agilent MassHunter Unknowns Analysis를 설정하는 방법을 보여줍니다. 여기에 나온 파라미터는 이 특정 응용 작업에서 사용되었습니다. 다른 응용 작업의 경우 프로세스를 최적화하기 위해 다양한 파라미터가 사용될 수 있습니다.

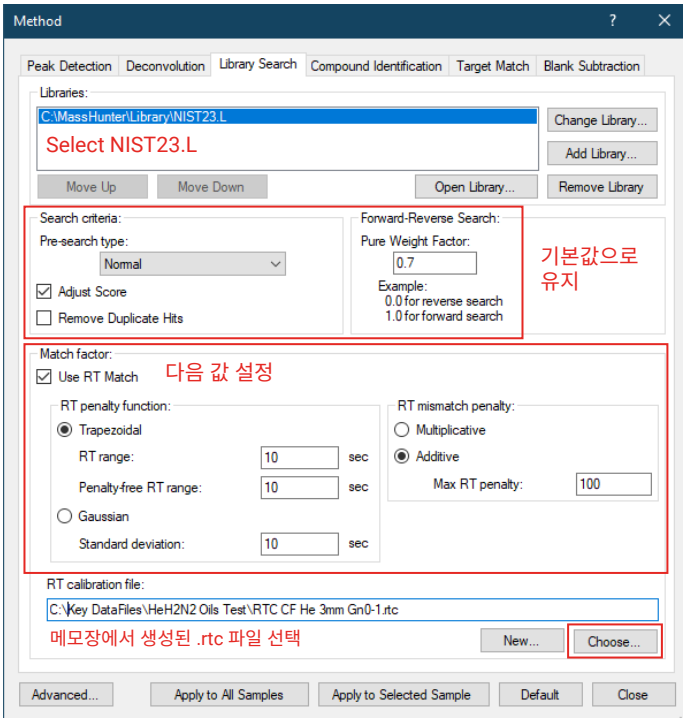
Microsoft Windows 시작 메뉴에서 Agilent MassHunter Quantitative Analysis 소프트웨어 폴더를 찾아 MassHunter Unknowns Analysis 프로그램을 엽니다.

1. **File(파일) > New Analysis(새 분석)**를 클릭합니다. 데이터 파일이 포함된 디렉터리로 이동합니다.
2. 분석을 위한 파일 이름을 입력합니다.
3. **File(파일) > Add Samples(시료 추가)**를 클릭합니다. 처리하려는 데이터 파일을 선택합니다. 크로마토그램의 TIC가 나타나는 것을 볼 수 있습니다.
4. **Method(분석법) > Edit(편집)**을 클릭합니다. 부록 그림 1-5에 표시된 대로 파라미터를 설정합니다.

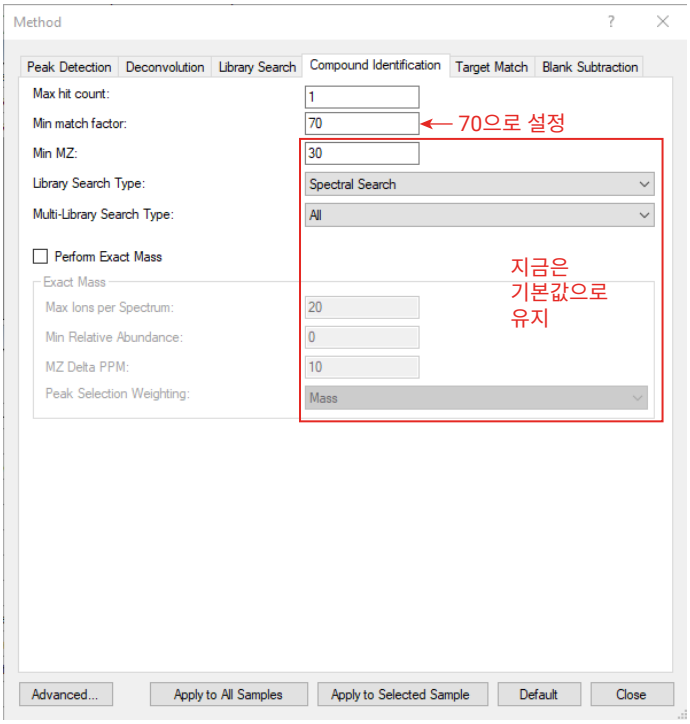




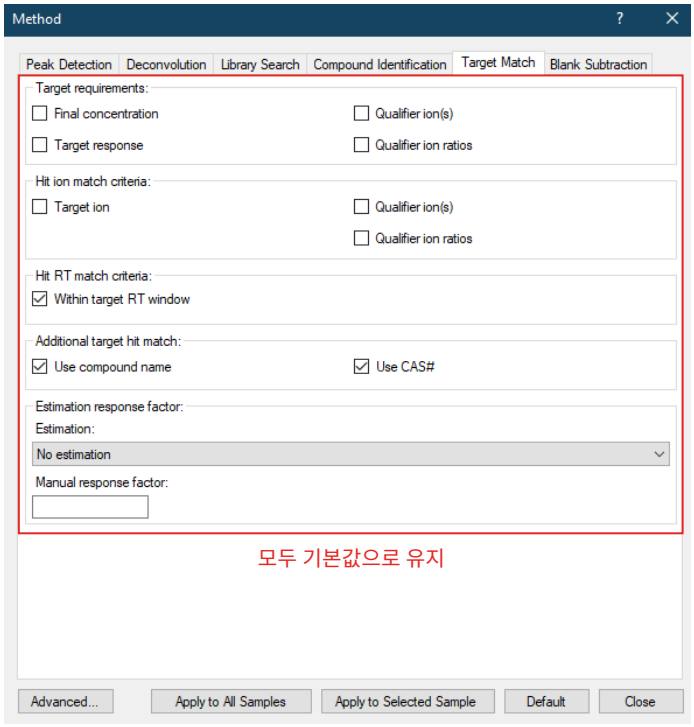
부록 그림 1. Agilent MassHunter Unknowns Analysis의 피크 검출 및 디콘볼루션 탭에서 파라미터 설정



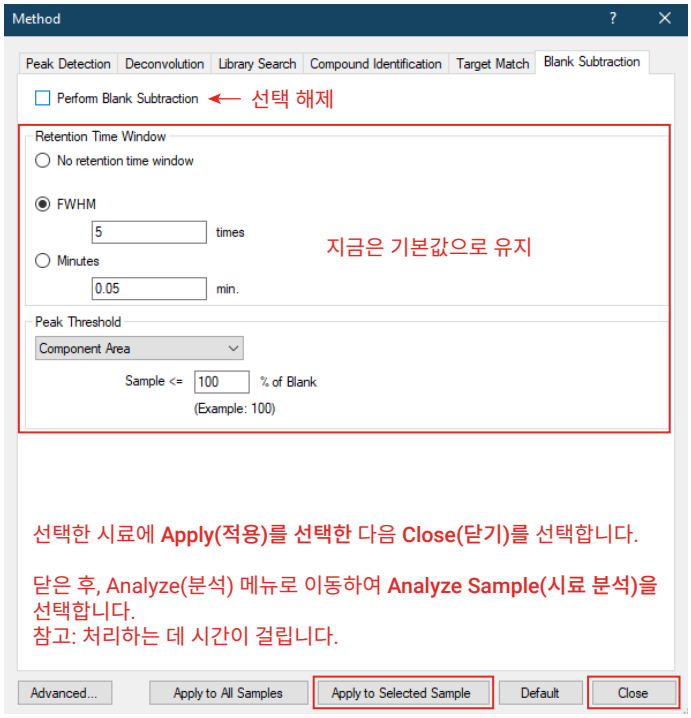
부록 그림 2. Agilent MassHunter Unknowns Analysis의 라이브러리 검색 탭에서 파라미터 설정



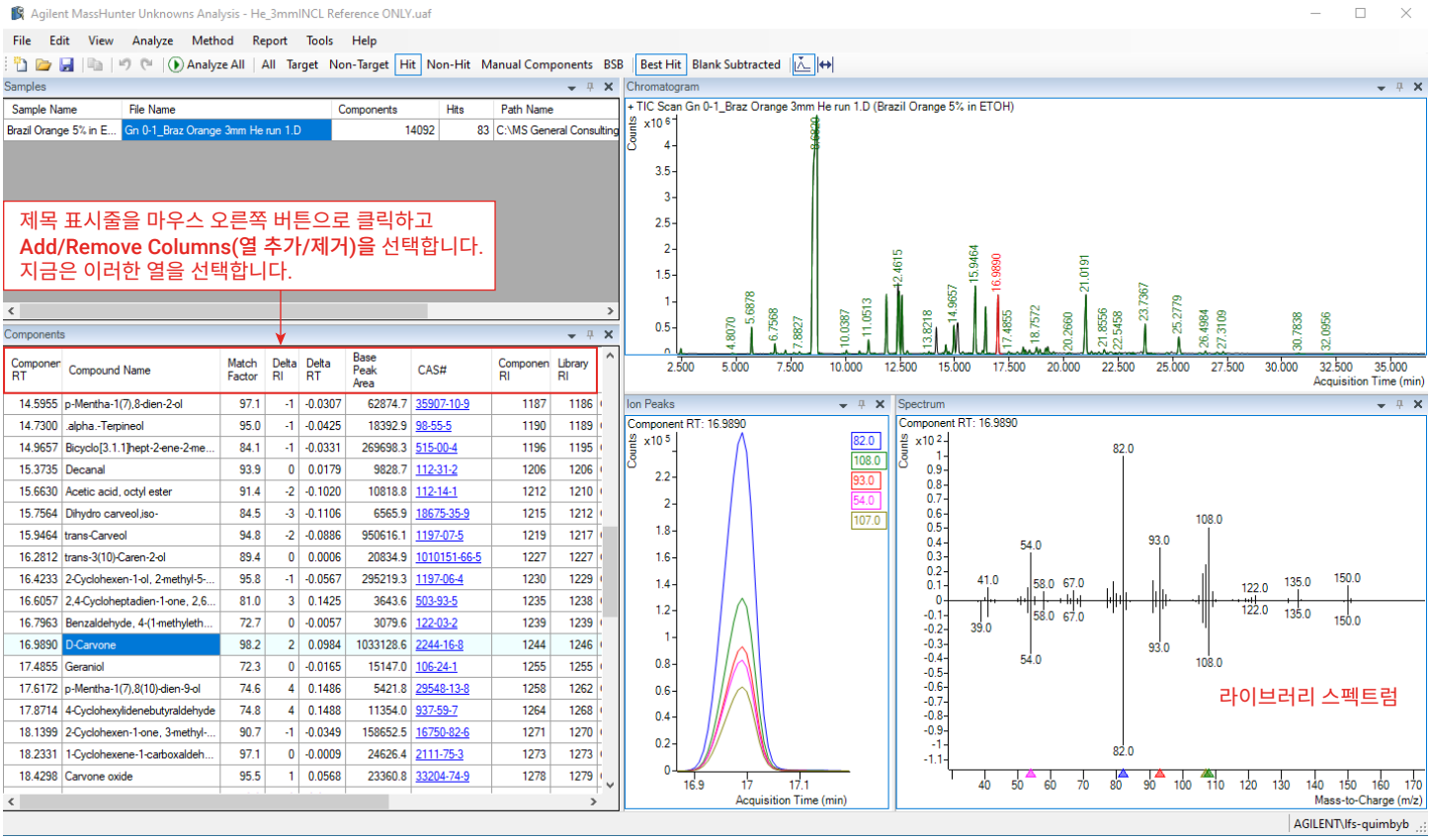
부록 그림 3. Agilent MassHunter Unknowns Analysis의 화합물 식별 탭에서 파라미터 설정



부록 그림 4. Agilent MassHunter Unknowns Analysis의 표적 매칭 탭에서 파라미터 설정



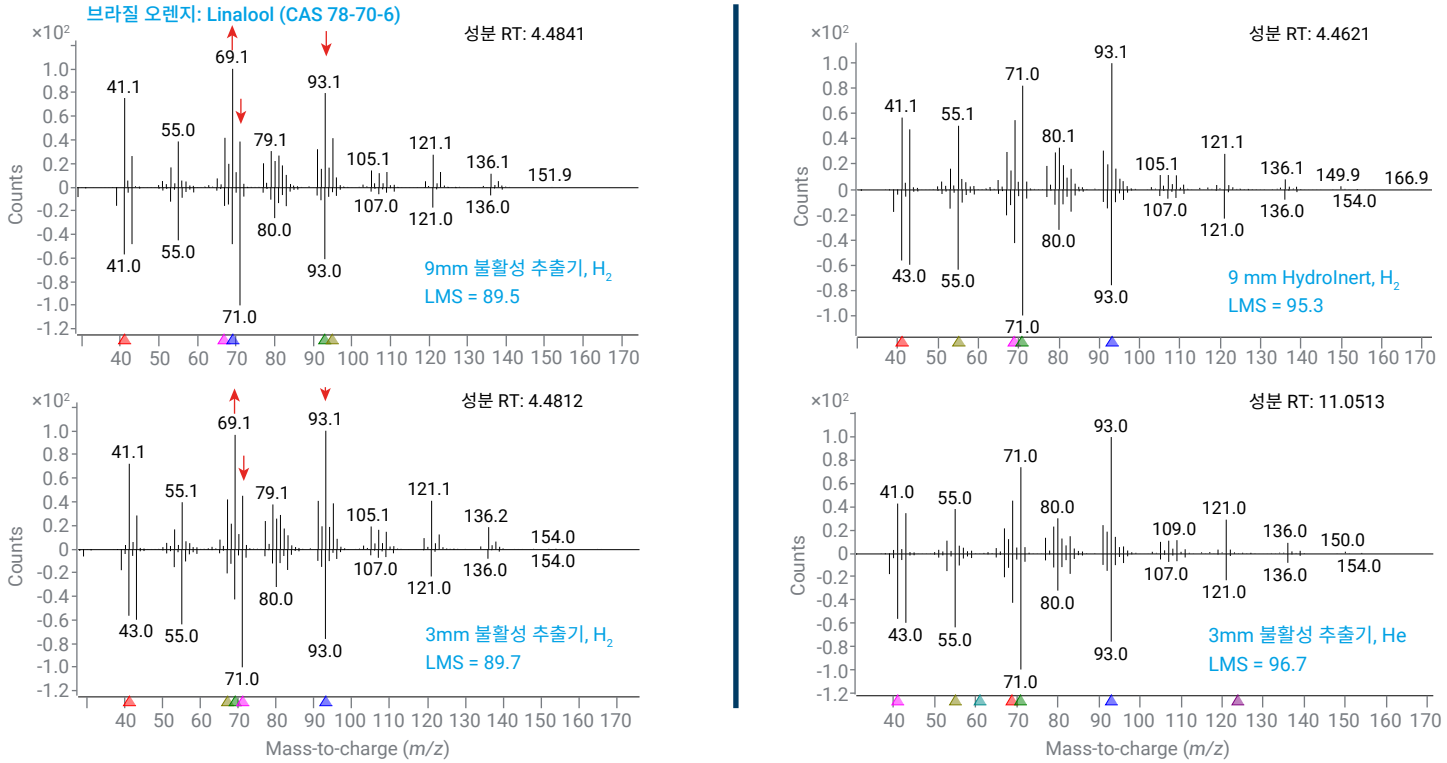
부록 그림 5. Agilent MassHunter Unknowns Analysis의 블랭크 제외 탭에서 파라미터 설정



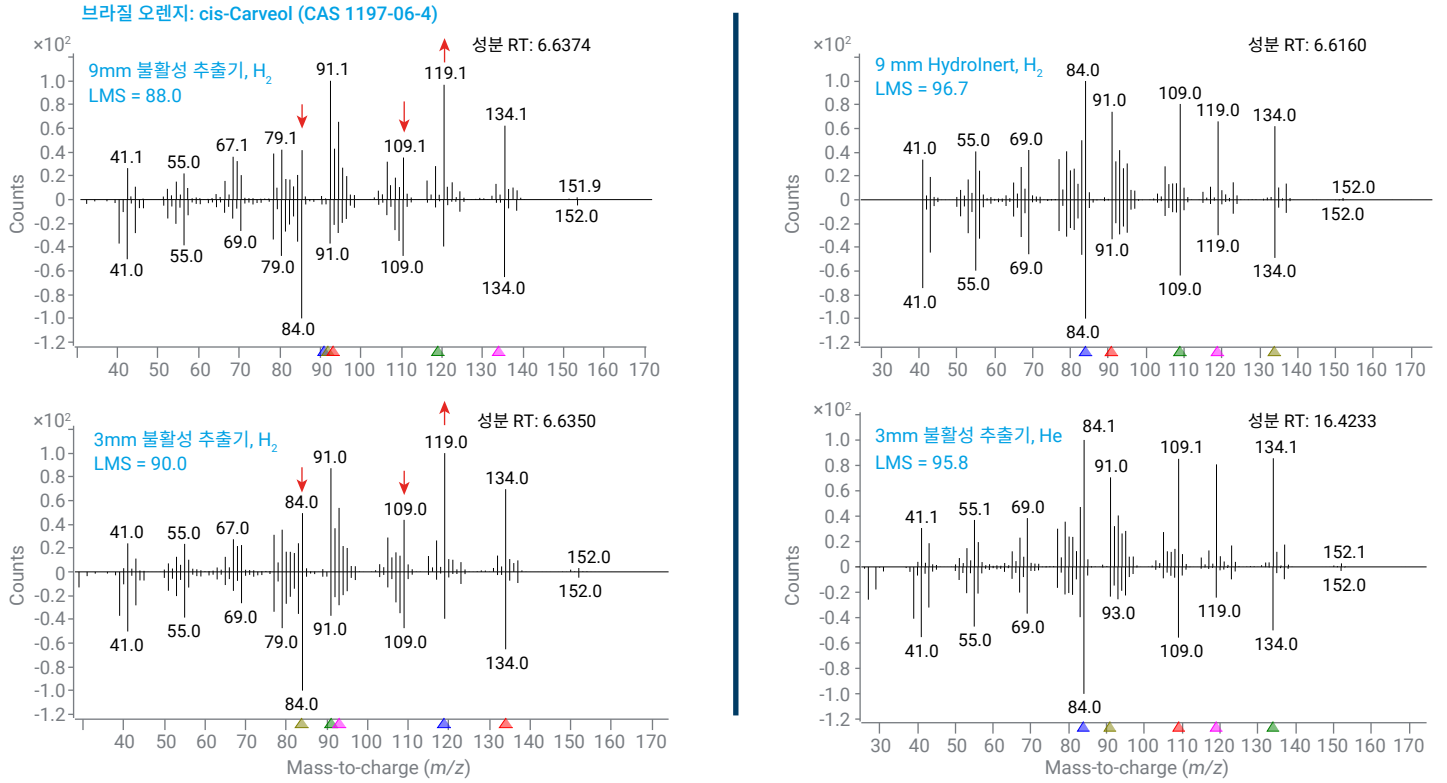
부록 그림 6. Agilent MassHunter Unknowns Analysis에서 디콘볼루션/검색된 데이터 파일의 결과 예시

HydroInert 소스로 제거된 소스 내 반응의 기타 예

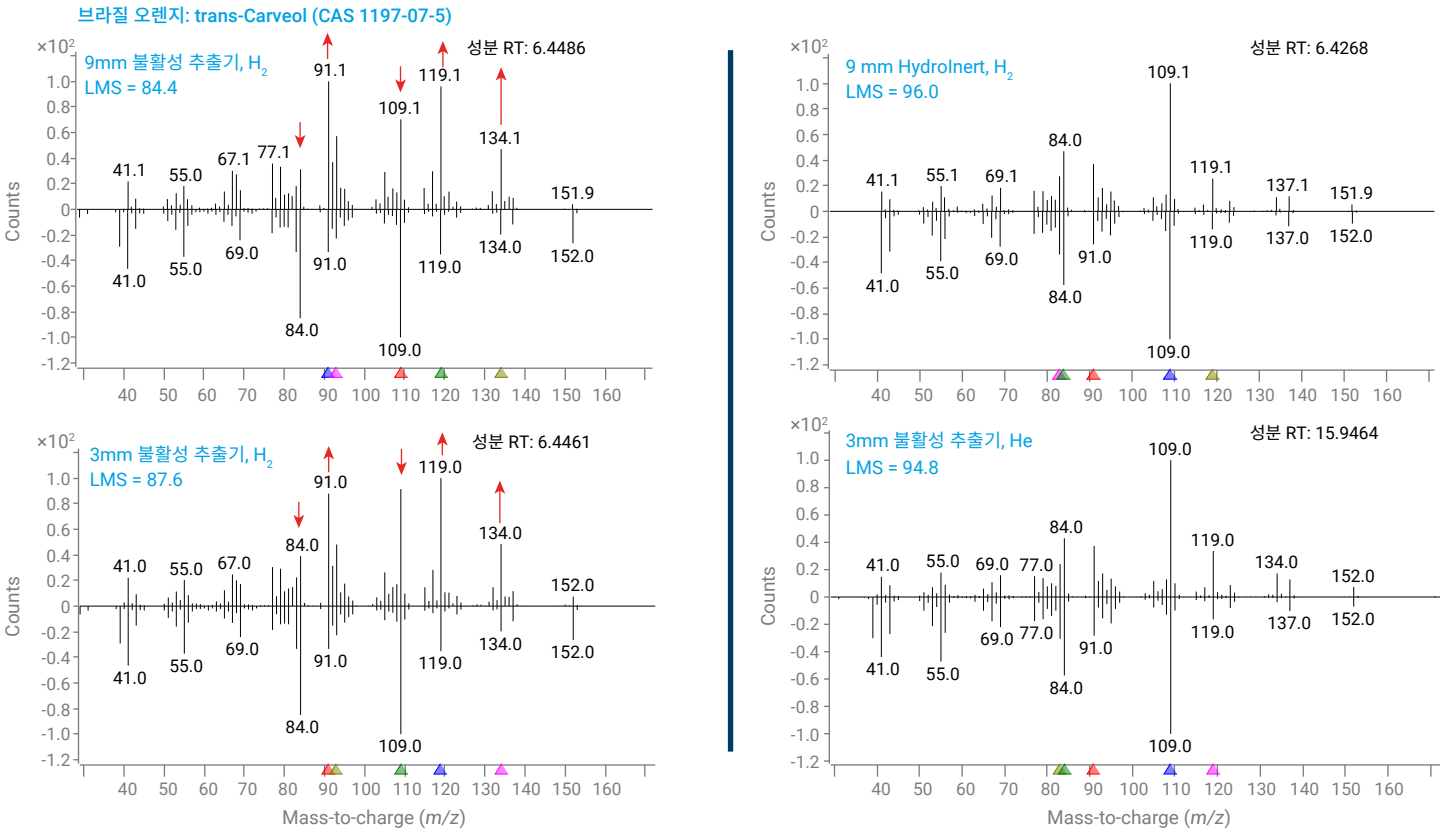
이 섹션에서는 브라질 오렌지 및 네롤리 오일의 여러 화합물 스펙트럼을 조사했습니다. 각 화합물에 대해 헬륨과 3mm 불활성 추출기 소스를 사용하여 얻은 스펙트럼을 9mm HydroInert 소스 및 9mm/3mm 추출기 렌즈가 있는 불활성 추출기 소스의 수소를 사용하여 얻은 각 화합물에 대한 스펙트럼과 함께 표시했습니다. 그림 7-11에 표시된 것처럼 HydroInert 소스가 없는 수소 스펙트럼의 변화는 명확하여 LMS 값과 식별 신뢰도가 감소합니다.



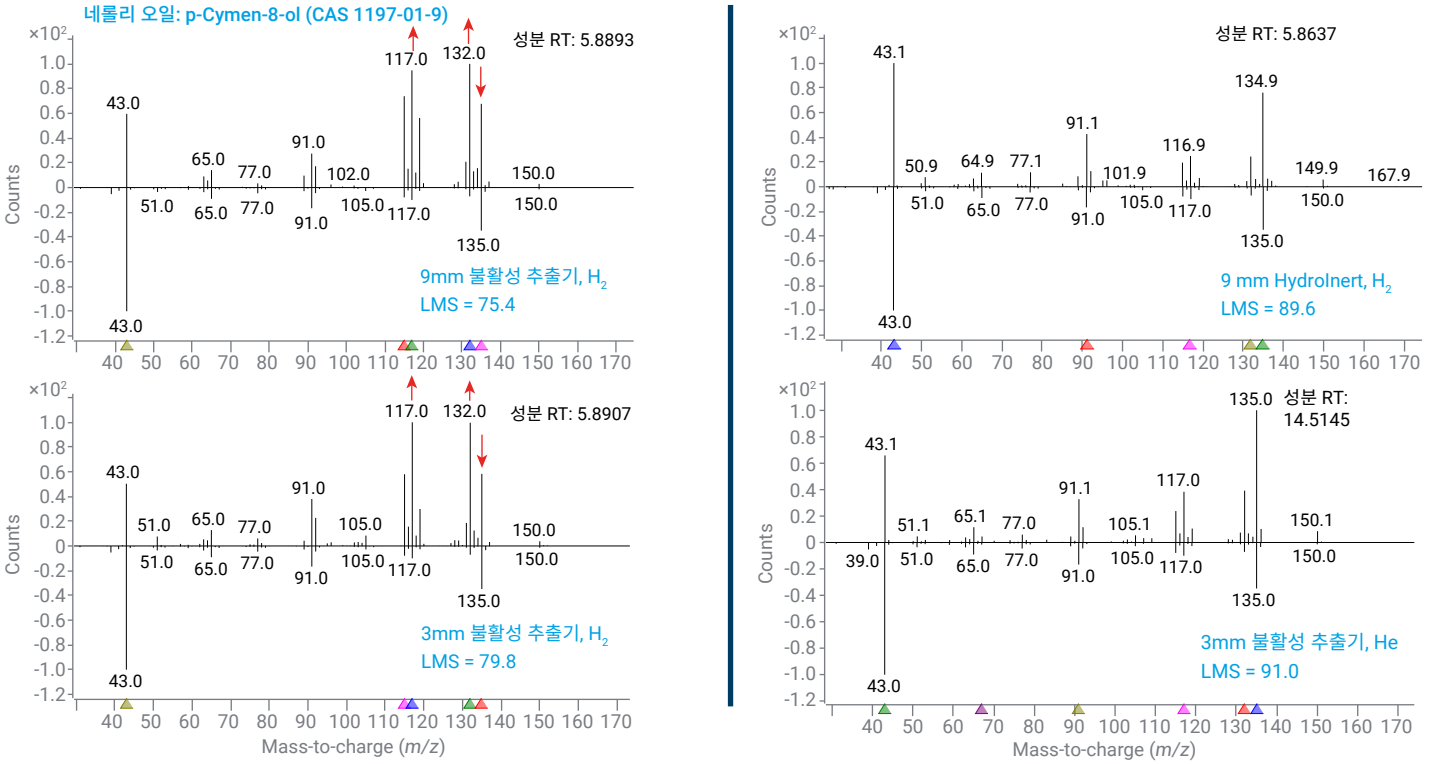
부록 그림 7. 브라질 오렌지 오일 내 Linalool. 빨간색 화살표는 수소 운반체 및 비 HydroInert 소스에서 관찰된 스펙트럼 변화를 나타냅니다



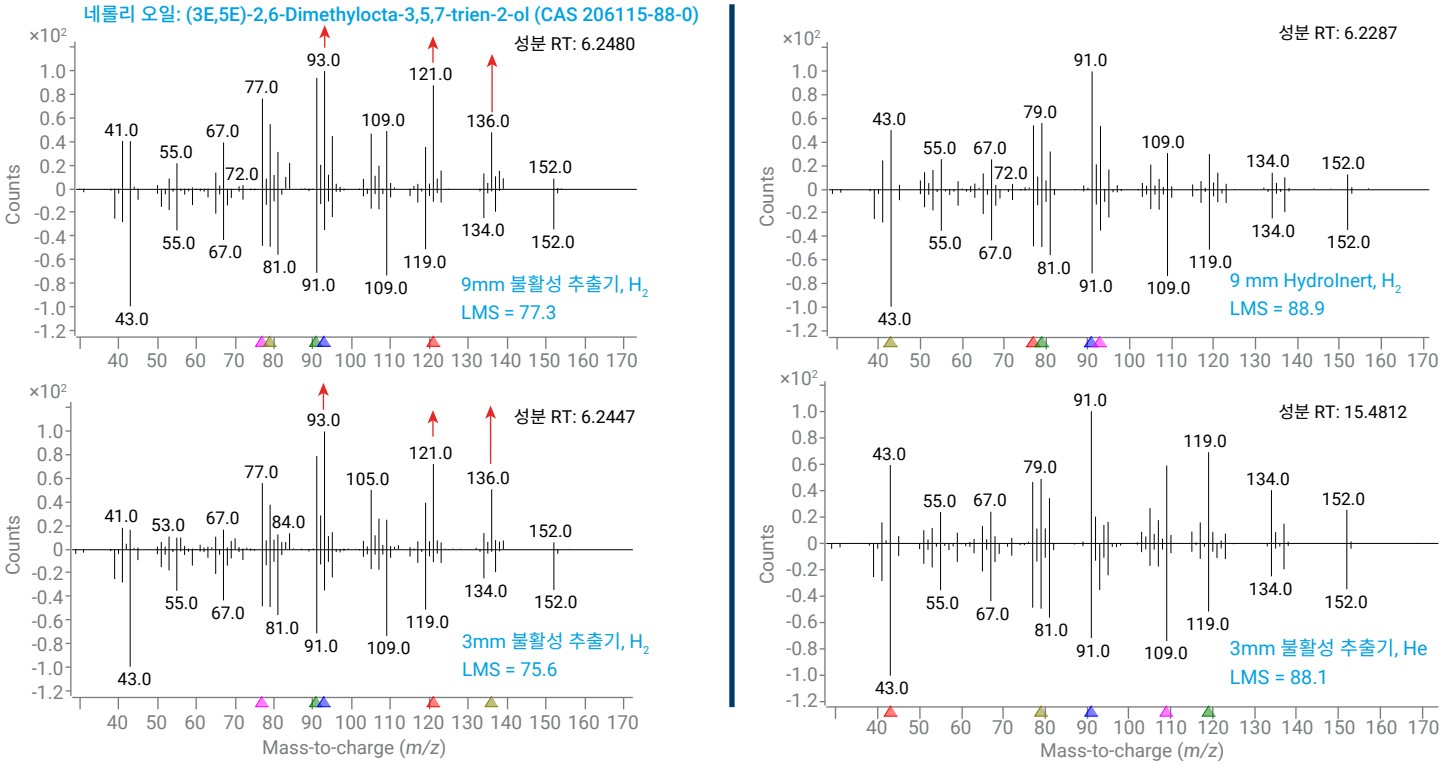
부록 그림 8. 브라질 오렌지 오일의 *cis*-Carveol. 빨간색 화살표는 수소 운반체 및 비 HydroInert 소스에서 관찰된 스펙트럼 변화를 나타냅니다



부록 그림 9. 브라질 오렌지 오일의 *trans*-Carveol. 빨간색 화살표는 수소 운반체 및 비 HydroInert 소스에서 관찰된 스펙트럼 변화를 나타냅니다



부록 그림 10. 네롤리 오일의 p-Cymen-8-ol. 빨간색 화살표는 수소 운반체 및 비 HydroInert 소스에서 관찰된 스펙트럼 변화를 나타냅니다



부록 그림 11. 네롤리 오일의 (3E,5E)-2,6-Dimethylocta-3,5,7-trien-2-ol. 빨간색 화살표는 수소 운반체 및 비 HydroInert 소스에서 관찰된 스펙트럼 변화를 나타냅니다

www.agilent.com

DE52560836

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024

2024년 1월 26일, 한국에서 발행
5994-7058KO

한국애질런트테크놀로지스㈜
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

Agilent
Trusted Answers