

운반 가스 전환을 위한 헬륨 절약 모듈을 갖춘 Agilent 8850 GC 시스템을 사용하여 바닐라 추출물 분석의 분석법 변환

저자

Jessica Kovach
Agilent Technologies, Inc.

개요

전 세계 향료 전문점에서 향료 및 향미료 성분의 구성을 분석하고 이해하는 일은 품질 관리(QC) 및 연구 개발(R&D) 실험실 모두에서 핵심적입니다. 이 응용 자료는 향미의 상세한 분리를 위해 R&D 실험실에서 흔히 사용하지만 오래 걸리는 GC 분석법의 성공적 구현과 QC 분석에 적합한 고속 분석법의 성공적인 구현에 Agilent 8850 단일 채널 GC가 발휘하는 성능을 집중적으로 소개합니다. 애질런트 분석법 변환기 소프트웨어를 사용하면 R&D 및 QC와 같은 실험실 간에 크로마토그래피 분석법을 변환할 수 있는 간편한 도구를 얻을 수 있습니다.¹ 헬륨과 수소를 모두 운반 가스로 사용하여 상대적으로 긴(50분) R&D 분석법을 고속(5분 미만) QC 분석법으로 전환하는 과정을 시연합니다. 헬륨 절약 모듈은 단일 시퀀스에서 두 가지 운반 가스를 평가하는 동안 시료 처리량을 높이기 위한 가스 전환 장치로 사용되었습니다. 헬륨과 수소에 대해 각각 10배와 14배의 효율성 향상은 분리의 크로마토그래피 특성이나 분석법의 정밀도 및 직선성을 저하시키지 않았습니다. 마지막으로, 시장에서 인기 있는 제품 3종(바닐라 추출물 2종, 바닐라 향 1종) 분석에 수소 운반 가스를 이용한 고속 분석법을 적용했습니다. 복잡한 매트릭스가 포함된 시장 제품에 적용된 고속 분석법은 예상되는 성능 기준을 입증하는 동시에 높은 분리 효율성도 보여주었습니다.

소개

향료 및 향미료의 매력은 소비자가 매일 구매하는 제품에 대한 결정을 내리는 데 영향을 미칩니다. 매년 소비자들이 영양에 대한 관심이 높아지고 있어 천연 및 인공(N&A) 제조 성분으로 제조된 제품에서 벗어나 천연, 더 나아가 유기농으로 분류된 성분이 호응을 얻고 있습니다. 바닐라는 소비자 습관의 변화에 큰 영향을 받은 향료 품종입니다. 이는 세계에서 가장 많이 판매되는 향료 중 하나이며 시장에 판매되는 대부분의 제품에서 찾을 수 있습니다.² 최근 바닐라 콩에 대한 수요 및 공급 압력으로 인해 식료품점 진열대에서 독립형 제품으로 판매되거나 천연 바닐라 향료 및 향미료로 사용하기 위한 고품질 바닐라 추출물을 생산하기가 어렵고 비용도 커졌습니다. 이러한 조건하에 천연 물질의 공급을 늘리기 위해 바닐라 추출물을 세밀하게 혼합하는 방법에 관심이 쏠리고 있습니다. 일반적으로 모니터링되는 바닐라 혼합물에는 coumarin, ethyl vanillin, eugenol, guaiacol 등이 포함됩니다.^{2,3}

하지만 혼합물은 미국 식품의약국(FDA)이 정한 바닐라 추출물의 식별 표준의 영향을 받습니다. 따라서 향료 업체는 QC 실험실의 도움을 받아 신뢰할 수 있고 민감한 분석 기술을 사용하여 입고 원료 성분을 선별하므로써 성분 공급업체로부터 구매한 재료가 곧 제조되는 향료 제조법에 들어가기 전에 예상되는 순도 기준을 충족하도록 보장할 수 있습니다. 일반적으로, R&D 실험실에서 사용되는 분석법에 기초한 GC 기반 분석법이 사용되지만 컬럼 길이, 직경 및 위상차로 인해 R&D 및 QC 기능 전반에 걸쳐 분석법을 조화시키는 것이 어려울 수 있습니다.

애질런트 분석법 변환기 소프트웨어는 특히 각 실험실에서 서로 다른 GC 컬럼을 사용할 때 GC 분석법을 조화시키는 데 유용한 도구로, 각 GC 시스템에 포함되어 있으며 다운로드할 수 있습니다.¹ 이 도구는 속도 향상 변환 옵션뿐만 아니라 변환되는 두 컬럼 치수에 대해 최상의 효율성을 고려하는 변환(직접 변환)을 지원합니다.

이 응용 자료에서는 긴 R&D 형식의 분석법을 높은 시료 처리량과 간단한 정량 요구에 적합한 빠르고 효율적인 QC 분석법으로 변환하는 방법을 보여줍니다. 하나는 헬륨 운반 가스를 사용하고 다른 하나는 수소 운반 가스를 사용하는 두 가지 분석법 변환을 시연합니다. 두 운반 가스 모두의 경우에 변환되는 초기 분석법은 동일합니다. 분석 표준물질의 정확성과 직선성 및 바닐라 추출물 품종에 대한 적용에 따라 변환의 성공 여부를 보여줍니다.

실험

화학물질 및 시약

바닐라 추출물에 존재, 바닐라 향료에 존재 또는 바닐라 추출물에서 검출될 수 있기 때문에 바닐라 특성을 지닌 5 가지 화학물질을 구입했습니다. 이러한 표준물질에는 vanillin($\geq 97\%$, FCC, FG), ethyl vanillin($\geq 98\%$, FCC, FG), guaiacol($\geq 99\%$, FG), eugenol($\geq 99\%$, FG) 및 coumarin crystalline이 포함되었으며 모두 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입했습니다. 또한 Sigma-Aldrich의 anhydrous decane($\geq 99\%$)을 내부 표준물질로 사용했으며, 바닐라 추출물의 제조된 표준물질 및 희석제에서 200도 anhydrous ethanol($\geq 99.5\%$)을 용매로 사용했습니다.

최소한의 시료 전처리만 필요한 주요 시장 제품에 변환된 분석법을 적용하기 위해 일반 브랜드의 3가지 바닐라 추출물인 순수 바닐라 추출물, 유기농 바닐라 추출물 및 바닐라 향료(인공 향료)를 온라인 소매점에서 구입했습니다.

99.9999% 순도 사양의 사내 수소를 수소 운반 가스 분석법에 사용했으며, 유사한 사양의 사내 헬륨을 헬륨 분석법을 위한 헬륨 운반 가스로 사용했습니다.

반복성 연구에는 내부 표준물질인 decane을 포함하여 100ppm의 각 분석물질을 포함하는 다중 성분 표준물질을 사용했습니다. 연구 후반에 시장 제품을 10배로 희석한 경우에도 바닐라 추출물과 관련된 정확성이 나타났습니다.

직선성 연구는 10-100,000ppm(10% v/v)에서 10배 증분으로 수행했습니다. 5가지 분석물질 각각에 대해 에탄올에서 100,000ppm 표준물질을 개별적으로 제조했습니다. 10, 100, 1,000 및 10,000ppm 표준물질은 에탄올에서 연속적으로 제조되었습니다. Decane은 분석물질과 동일한 농도로 각 표준물질에 포함되었습니다.

상점에서 구입한 바닐라 추출물 시료에 존재하는 분석물질의 정량화를 위해 100-5,000ppm의 작업 검량 범위가 생성되었습니다. 분석법 직선성 실험에 사용된 이전에 만들어진 1,000 및 10,000ppm 용액으로부터 500 및 5,000ppm의 다성분 표준물질을 제조했습니다. 이전에 전처리한 분석법 직선성 시료에서 직접 100 및 1,000ppm 용액을 바이알로 분취했습니다.

기기 및 분석법

이 전체 연구는 분할/비분할(S/SL) 주입구, 운반 가스 전환을 위한 헬륨 절약 모듈(그림 1) 및 불꽃 이온화 검출기(FID)가 장착된 Agilent 8850 GC 시스템에서 수행했습니다. 헬륨 절약 모듈을 운반 가스 전환 장치로 사용하면 두 개의 운반 가스를 모듈의 입력에 연결하여 시퀀스 테이블에 주어진 분석법에 따라 어떤 가스를 S/SL 주입구에 운반 가스로 공급해야 하는지 지정할 수 있습니다.



그림 1. AUX 채널에서 수소 또는 질소를 헬륨에 대한 두 번째 운반 가스로 지원하는 애질런트 헬륨 절약 모듈.

사내 헬륨은 헬륨 절약 모듈의 He 채널에 연결했고, 사내 수소는 헬륨 절약 모듈의 AUX 채널에 연결했습니다(그림 2). 출력 채널은 S/SL 기체역학 모듈의 운반 가스 채널에 직접 연결했습니다.

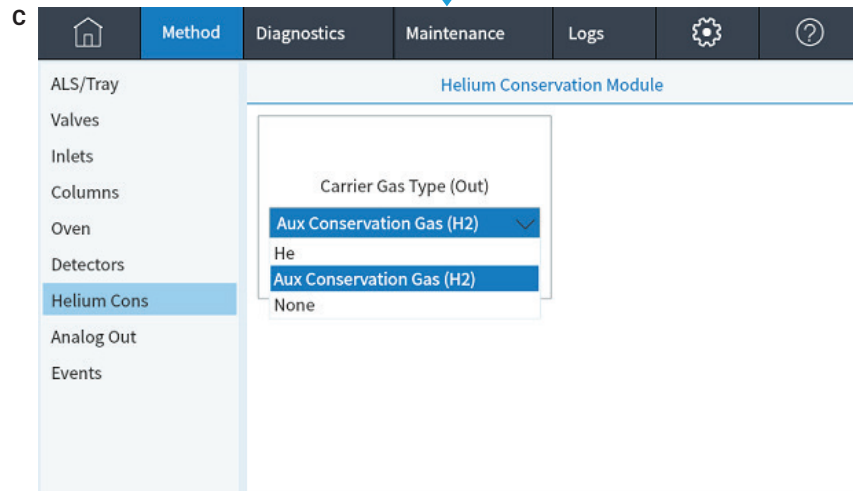
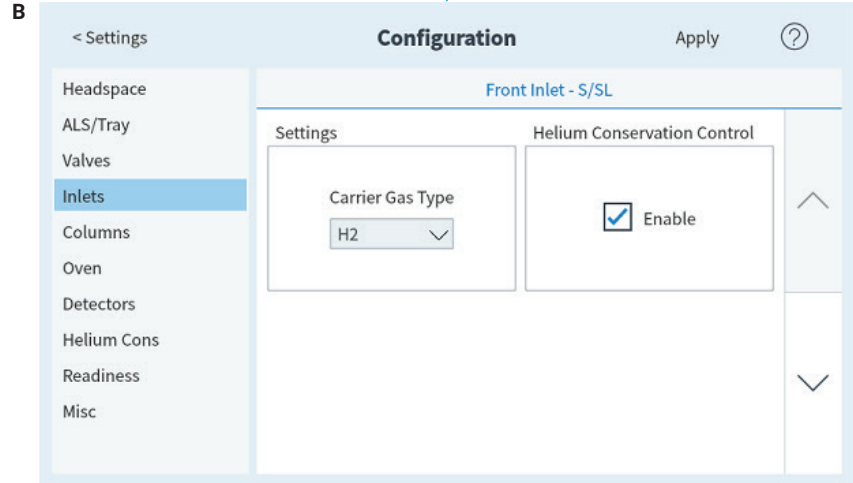
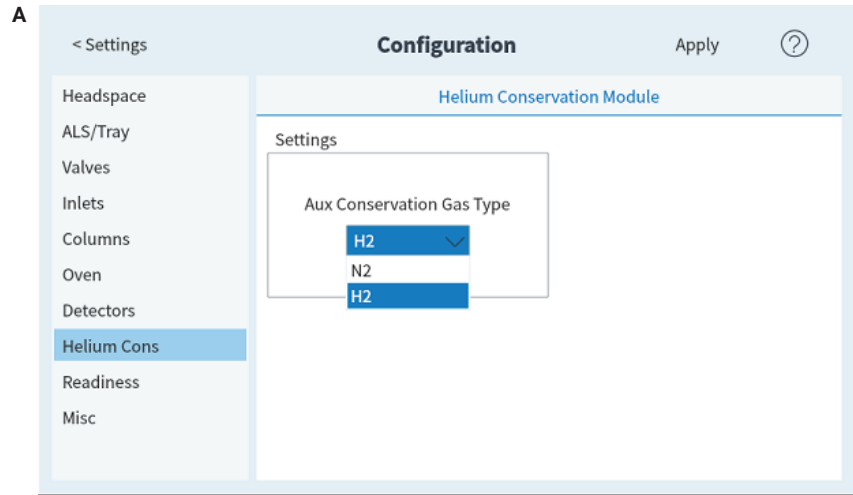


그림 2. Agilent 8850 로컬 사용자 인터페이스에서 사용자는 원하는 AUX 가스를 선택하고(A), 모듈이 주입구를 제어할 수 있도록 한 다음(B), 특정 분석을 위해 주입구에 공급할 가스를 분석법 내에서 선택(C)하는 방식으로 헬륨 절약 모듈의 사용을 쉽게 구성할 수 있습니다.

두 개의 운반 가스가 연결된 헬륨 절약 모듈은 대체 운반체가 필요할 때 가스 연결을 수동으로 구성 및 재구성할 필요성을 없애 GC 사용을 단순화할 뿐만 아니라 단일 시퀀스 내에서 두 개의 운반 가스를 이용할 수 있는 기능도 제공합니다. 이러한 장점은 유연성과 시료 처리량을 모두 향상시켜 야간과 주말에 GC 시스템의 이용을 최적화합니다. 전반적으로, 헬륨 절약 모듈은 실험실의 일상적인 작업 효율을 향상시킵니다.

컬럼 선택

60m × 0.25µm, 320µm 내경 Agilent J&W DB-1이 분석법 변환의 시작점이었습니다. DB-1 상(Phase)의 60m 컬럼은 가스 크로마토그래피에 의한 향료 및 향미료 R&D 분석에 일반적으로 사용되는 컬럼입니다. 품질 관리 실험실에서는 분석 속도와 효율성을 높이기 위해 10m, 100µm 내경 컬럼을 사용하는 것이 더 적합하므로 10m × 100µm 내경, 0.1µm 필름 크기의 J&W DB-1이 선택되었습니다. 단계적 분석법 변환을 시연하기 위해 두 개의 J&W DB-1 컬럼을 추가로 선택하여 10m×100µm 내경 컬럼과 위상 비율을 동일하게 유지했습니다. 추가 컬럼은 20m × 180µm 내경, 0.18µm 및 30m × 250µm 내경, 0.25µm 치수였습니다. 10m, 20m, 30m 컬럼에 대해 일정하게 유지된 상(Phase) 비율은 249.25였습니다. 표 1은 4개의 DB-1 컬럼에 대해 헬륨과 수소 운반 가스를 모두 사용하는 작동 조건의 세부 내용을 보여줍니다. 그림 3은 분석법 변환기의 사용을 보여주며, 원래 50분 분석법에서 조건이 어떻게 유도되었는지 정의합니다.

표 1. 헬륨 및 수소 운반 가스 모두에 대한 분석법 변환 조건.

파라미터	값	
GC 시스템	7693A 자동 액체 시료 주입기를 갖춘 Agilent 8850 GC	
ALS	1µL 주입	
	용매 A = isooctane, 사전 세척 1회, 사후 세척 1회 용매 B = isooctane, 사전 세척 1회, 사후 세척 1회, 시료 세척 1회, 시료 펌프 6회 S/SL 시린지: 10µL(품번 G4513-80203)	
분할/비분할 주입구	325°C 셋타 퍼지: 3mL/분 1) 25:1 분할 2) 25:1 분할 3) 50:1 분할 4) 200:1 분할	
	- Inlet septa, advanced green, nonstick(품번 5190-3158) - Low pressure drop split liner(품번 5183-4647) - Column nut for GC capillaries(품번 5181-8830) - Column connection - 6 mm using graphite ferrule tool(품번 G3440-80217)	
헬륨 절약 모듈	- S/SL EPC에 연결되는 출력 채널 - 수소(H ₂) 가스를 수용하기 위해 배관된 AUX 보존 가스 채널 - 헬륨(He) 가스를 수용하는 헬륨 채널	
컬럼	1) Agilent J&W DB-1 60m × 320µm, 0.25µm(5" 케이지)(품번 123-1062E) 흑연 페룰 0.1-0.32mm 컬럼(품번 5080-8853) 2) Agilent J&W DB-1 30m × 250µm, 0.25µm(5" 케이지)(품번 123-1032E) 흑연 페룰 0.05-0.25mm 컬럼(품번 500-2114) 3) Agilent J&W DB-1 20m × 180µm, 0.18µm(5" 케이지)(품번 123-1022E) 흑연 페룰 0.05-0.25mm 컬럼(품번 500-2114) 4) Agilent J&W DB-1 10m × 100µm, 0.10µm(5" 케이지)(품번 123-1012E) 흑연 페룰 0.05-0.25mm 컬럼(품번 500-2114)	
	일정 유속(He): 1) 1mL/분 2) 1mL/분 (최고 효율 변환) 3) 0.72mL/분 4) 0.4mL/분	일정 유속(H ₂): 1) 1mL/분 2) 1.25mL/분 (최고 효율 변환) 3) 0.90mL/분 4) 0.5mL/분
오븐	He 운반 가스 파라미터: 1) 40°C(0분 유지), 5°C/분으로 280°C까지 승온(2분 유지), 실행 시간 = 50분 2) 40°C(0분 유지), 12.556°C/분으로 280°C까지 승온(0.8분 유지), 실행 시간 = 19.91분 3) 40°C(0분 유지), 21.136°C/분으로 280°C까지 승온(0.48분 유지), 실행 시간 = 11.84분 4) 40°C(0분 유지), 51.36°C/분으로 280°C까지 승온(0.2분 유지), 실행 시간 = 4.87분 H ₂ 운반 가스 파라미터: 1) 40°C(0분 유지), 5°C/분으로 280°C까지 승온(2분 유지), 실행 시간 = 50분 2) 40°C(0분 유지), 14.756°C/분으로 280°C까지 승온(0.68분 유지), 실행 시간 = 16.94분 3) 40°C(0분 유지), 27.109°C/분으로 280°C까지 승온(0.37분 유지), 실행 시간 = 9.22분 4) 40°C(0분 유지), 69.974°C/분으로 280°C까지 승온(0.14분 유지), 실행 시간 = 3.57분 * 옵션: 실행 후 베이क्र아웃 대신 60°C/분으로 280°C에서 325°C까지 승온하는 두 번째 램프를 추가하여 실행 중 컬럼 베이क्र아웃을 수행합니다.	
	오븐 평형 = 1분 실행 후 베이क्र아웃 = 2분 동안 325°C(* 컬럼 베이क्र아웃의 경우 선택 사항)	
FID	300°C, H ₂ = 30mL/분, 공기 = 400mL/분, N ₂ = 25mL/분 범용 0.011인치 내경 FID 제트(품번 5200-0176)	
데이터 속도	20Hz	
주입 시퀀스	일간 정밀도를 알아보기 위한 3일 10회 주입; 헬륨 주입 후 수소 주입	
	직선성 및 작업 검량에서 농도 수준별 4회 주입; 헬륨 주입 후 수소 주입	
	바닐라 추출물 종류당 6회 주입; 헬륨 주입 후 수소 주입	

4개 컬럼 각각에 대해 바닐라 분석 표준물질에 대해 변환된 분석법의 주간 정밀도 측정을 수행했습니다. 30m 및 10m 규격의 DB-1 컬럼에서 직선성이 입증되어 분석법의 속도 향상과 함께 큰 컬럼에서 작은 컬럼으로의 분석법에 대한 바닐라 분석물질 작업 농도 전체 범위에 걸쳐 주입기와 검출기가 직선성을 보임을 보여주었습니다. 실제 시료의 정확성을 위해 바닐라 추출물 및 향료의 실제 시료에 10m 컬럼에 대한 변환 분석법을 적용했습니다. 이러한 바닐라 추출물 제품의 5개 분석물질에 대한 작업 검량을 통해 정량을 실행했습니다.

Method Translator

Last file imported:

Speed gain

 Translate
 Best Efficiency

Original Method Parameters		Calculated Method Parameters	
Gas: H2		Gas: H2	
Length (m)	60 m	10 m	
Inner Diameter (µm)	320 µm	100 µm	
Film Thickness (µm)	0.25 µm	0.10 µm	
Phase Ratio	319.25	249.25	
Inlet Pressure (gauge)	4.6893 psi	25.49 psi	
Outlet Flow (mL/min)	1 mL/min	0.5 mL/min	
Average Velocity (cm/s)	18.712 cm/sec	55.902 cm/sec	
Outlet Pressure (abs)	14.696 psi	14.696 psi	
Holdup Time	5.3442 min	0.29814 min	
Outlet Velocity (cm/s)	21.766 cm/sec	111.44 cm/sec	

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		40	0
1	5	280	2

Total Run Time: 50.00 min

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		40	0
1	69.974	280	0.14

Total Run Time: 3.57 min

Pressure Units: PSI

Original Column Capacity: 3.51

Translated Column Capacity: 0.10

The column capacity of the translated method is 3% of the original column capacity. You may need to adjust your injection volume.

그림 3. 최고 효율을 사용하여 수소 운반체 조건에서 60m DB-1을 10m DB-1로 변환하기 위한 분석법 파라미터를 결정하는 데 사용되는 분석법 변환기를 보여주는 스크린샷.

결과 및 토의

분석법 변환

100ppm 다성분 표준물질의 크로마토그램 (그림 4)에서 알 수 있듯이, 이 연구에 사용된 4개의 크로마토그래피 컬럼 모두에 대해 두 가지 운반 가스 조건에서 5가지 관심 화합물에 대해 우수한 크로마토그래피 피크 모양과 베이스라인 분리능을 얻었습니다. 관심 분석물질의 분리능 값은 60m DB-1 에서 > 4, 10m DB-1에서 > 3.5였습니다 (표 2). 헬륨 운반 가스를 사용한 분석법 변환은 분석 속도가 10배 증가한 반면, 수소 운반 가스를 사용한 분석법 변환은 분석 속도가 14배 증가했습니다(그림 3). 두 가지 운반 가스 중 하나를 사용하는 SOP 실험실에서는 동일한 용출 특성을 유지하면서 분석법 효율성이 크게 향상됩니다.

표 2. 수소 운반 가스 사용 및 100ppm의 바닐라 분석물질 조건에서 60m에서 10m 컬럼으로 분석법을 변환한 후의 분리능.

화합물	60m 머무름 시간(분)	평균 분리능 (H ₂ 운반 가스) (n = 10)	10m 머무름 시간(분)	평균 분리능(H ₂ 운반 가스) (n = 10)
Decane (ISTD)	16.254	88.995	1.260	16.471
Guaiacol	18.092	25.169	1.401	18.403
Eugenol	25.574	97.835	1.962	69.526
미지 불순물	25.858	3.725	n.d.	n.d.
Vanillin	26.165	4.024	2.010	5.818
Coumarin	27.160	12.183	2.088	9.175
Ethyl Vanillin	27.678	6.444	2.122	3.979

* n.d. = 감지되지 않음

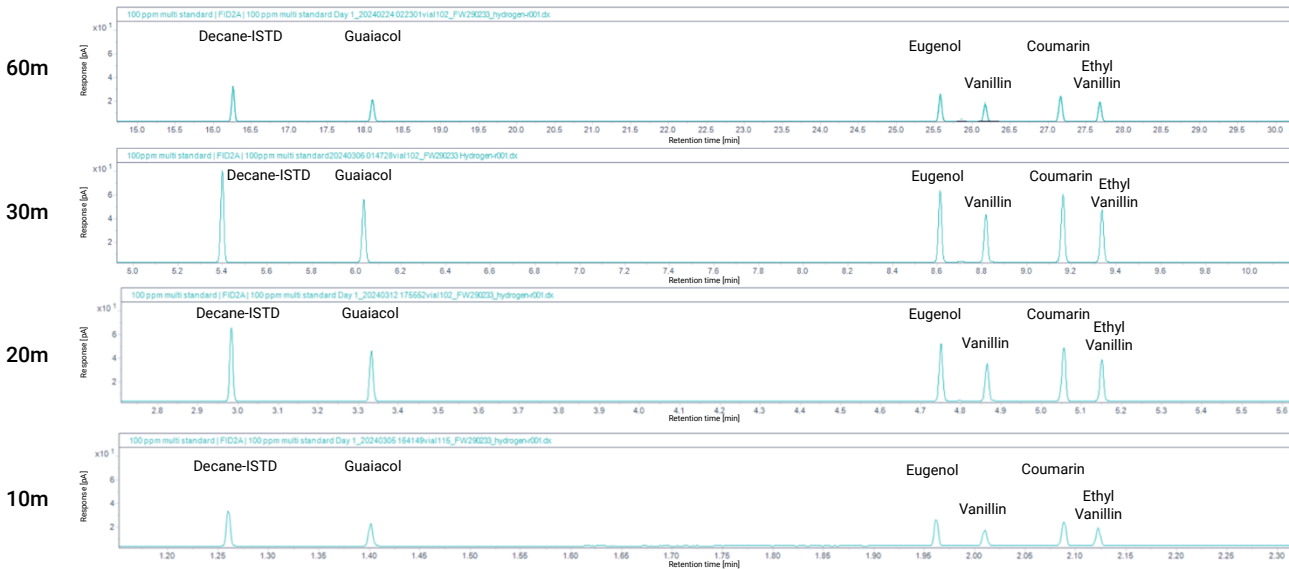


그림 4. 바닐라 향 분석물질과 내부 표준물질인 decane을 사용하여 60m에서 10m DB-1 컬럼으로 수소 운반 가스 분석법을 변환했습니다.

면적 정밀도

5개 관심 분석물질의 면적 정밀도는 운반 가스별 하루 10회 주입, 3일 간의 분석법 변환에 사용된 4개 컬럼 각각에 대해 평가되었습니다. 운반 가스당 하루 10회 주입 결과를 내부 표준물질로 정규화하고 평균을 구한 다음 표로 작성했습니다.

여러 컬럼에 대해 연구된 5가지 분석물질과 4가지 변환된 분석법 모두에서 헬륨 운반 가스 하의 면적 정밀도는 < 1.85% RSD, 수소 운반 가스의 경우 < 2.5% RSD였습니다 (표 3). 두 가지 운반 가스 모두의 경우에 관심 분석물질에 대한 정밀도가 낮기 때문에 이 분석법은 일회성으로 사용되는 각 유형의 컬럼에 대한 분리는 물론 며칠 간의 반복 측정에 걸친 분리를 안정적으로 처리할 수 있습니다.

분석법 검량

직선성은 30m DB-1 및 10m DB-1 분석법을 사용하여 입증됩니다. 5가지 관심 분석물질 각각은 헬륨 및 수소 운반 가스를 모두 사용하여 10-100,000ppm에서 연구되었습니다. 5가지 화합물의 사용 범위는 최종 응용 분야에 따라 상당히 클 수 있으므로 넓은 농도 범위에서 선형 반응을 보여주는 검량 범위가 매우 중요합니다. 추출물과 향료 중 이들 화합물의 농도는 다양할 수 있습니다. 다양한 식품이나 향수에

들어가는 향료의 농도는 훨씬 더 다양할 수 있으므로 넓은 농도 범위에 걸쳐 적합한 분석법을 확보하는 것이 매우 중요합니다. 획득한 가장 낮은 R²은 0.9997이었고, 여러 화합물에 대해 획득된 R² = 1.0000였습니다. 그림 5는 두 가지 운반 가스 조건에서 10m

DB-1 분석법에 대한 vanillin의 선형 회귀 모델을 예시한 것입니다. 표 4에서 볼 때, 더 큰 치수의 컬럼에서 훨씬 더 작은 길이와 직경의 컬럼까지 직선성이 유지되는 동시에 실행 시간이 크게 감소한 것이 명확하게 나타납니다.

표 3. 수소 운반 가스를 사용하여 변환된 4개의 Agilent J&W DB-1 컬럼에 대한 일중 면적 정밀도(%RSD).

평균 면적 정밀도(%RSD)(n = 10회 주입/일)					
컬럼	Guaiacol	Eugenol	Vanillin	Coumarin	Ethyl Vanillin
1일차					
60m	2.114	1.789	1.487	1.487	1.597
30m	0.885	0.956	1.013	0.930	0.997
20m	0.649	0.801	0.844	0.849	0.850
10m	1.125	0.818	0.995	0.966	1.067
2일차					
60m	1.429	1.537	1.424	1.595	1.594
30m	0.707	0.676	1.227	0.732	0.970
20m	0.467	0.560	0.646	0.509	0.621
10m	1.119	0.920	1.096	0.908	0.984
3일차					
60m	1.224	1.357	2.441	1.780	2.223
30m	0.792	1.110	1.434	1.170	1.317
20m	0.590	0.655	0.722	0.569	0.666
10m	0.582	0.740	0.746	0.749	0.900

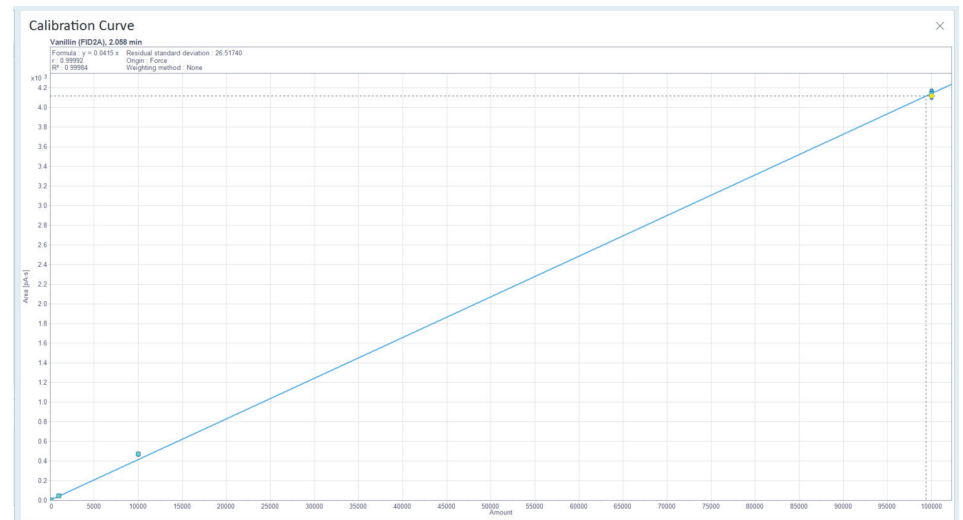


그림 5. 수소 운반 가스 사용 시 Agilent J&W DB-1, 10m 컬럼에서 전체 범위 검량선(vanillin의 경우 10-100,000ppm)을 보여주는 예입니다.

바닐라 추출물과 향료

온라인 소매업체에서 구입한 바닐라 추출물 2개와 바닐라 향료 1개에 10m DB-1 컬럼의 분석법을 적용한 결과, 두 운반 가스 모두에서 성공적인 분석법 변환이 추가적으로 입증되었습니다. 분석법 변환과 마찬가지로 작업 검량 범위 전반에 걸친 면적 정밀도와 선형 반응에 대한 연구가 중요했습니다. 추출물과 향료에서 검출된 관심 바닐라 향료 화합물의 정량화 역시 이 응용 자료에서 최종적으로 중요한 측면이었습니다.

두 가지 운반 가스 조건에서 각 추출물과 향료를 6회 주입한 면적 정밀도는 10m DB-1 분석법에서 검출 가능한 분석물질 면적에 대해 < 4% RSD였습니다(표 5). 면적 정밀도는 각각 분석 표준물질보다 더 복잡한 매트릭스를 가진 바닐라 추출물 및 바닐라 향료 시료에 적용했을 때 변환된 분석법이 성공적이었음을 보여줍니다.

구체적으로 추출물 및 향료에서 5가지 바닐라 향 화합물의 검출 가능한 양을 더 효과적으로 정량화하기 위해 이전에 논의한 전체 분석법 검량 외에도 작업 검량 범위를 100-5,000ppm에서 연구했습니다. 추출물의 예상 분석물질 농도와 더 관련성이 높기에 더 엄격한 농도 범위가 선택되었습니다. 작업 검량 범위의 5개 분석물질 각각에 대한 R²는 더 넓은 분석법 검량에서 나타난 성능과 유사했습니다(표 6).

표 4. 30m 및 10m DB-1에서 10ppm-100,000ppm 범위의 바닐라 분석물질에 대한 선형 측정 계수.

화합물	R ²	
	헬륨 운반 가스	수소 운반 가스
30m DB-1(n = 4)		
Guaiacol	0.9999	0.9999
Eugenol	1.0000	0.9999
Vanillin	0.9997	0.9997
Coumarin	0.9998	0.9998
Ethyl Vanillin	1.0000	0.9999
10m DB-1(n = 4)		
Guaiacol	1.0000	1.0000
Eugenol	0.9999	0.9999
Vanillin	0.9998	0.9998
Coumarin	0.9998	0.9998
Ethyl Vanillin	1.0000	1.0000

표 5. 세 가지 실제 바닐라 제품에서 검출 가능한 분석물질의 면적 정밀도(%RSD).

컬럼	Guaiacol	Eugenol	Vanillin	Coumarin	Ethyl Vanillin
헬륨 운반 가스, 10m(n = 6)					
순수 바닐라 추출물	n.d.	n.d.	1.263	n.d.	n.d.
유기농 바닐라 추출물	n.d.	n.d.	1.009	n.d.	n.d.
인공 바닐라 향료	n.d.	n.d.	3.812	n.d.	2.631
수소 운반 가스, 10m(n = 6)					
순수 바닐라 추출물	n.d.	n.d.	0.862	n.d.	n.d.
유기농 바닐라 추출물	n.d.	n.d.	0.342	n.d.	n.d.
인공 바닐라 향료	n.d.	n.d.	1.269	n.d.	0.902

* n.d. = 감지되지 않음

표 6. 10m Agilent J&W DB-1 컬럼에서 100-5,000ppm 범위의 바닐라 향 분석물질에 대한 측정 계수, n = 4.

화합물	R ²	
	헬륨 운반 가스	수소 운반 가스
Guaiacol	0.9998	0.9998
Eugenol	0.9999	1.0000
Vanillin	0.9999	0.9998
Coumarin	0.9999	0.9999
Ethyl Vanillin	0.9998	0.9998

각 추출물과 인공 향료는 주입구의 소모품에 대한 매트릭스 효과를 줄이고 주입 증기량을 줄이기 위해 에탄올에서 10배 희석이 필요했습니다. 추출물에는 주입 시 주입구에서 증기 부피를 팽창시키는 상당한 함량의 물로 인해 컬럼에서 질량 일관성이 떨어질 수 있습니다. 추출물 매트릭스의 비휘발성 성분은 희석하지 않은 상태로 남아 있을 경우 주입구 라이너를 손상시키므로, 기본적으로 주입구 라이너의 패키징은 시료 유로 내 필터로 취급될 수 있습니다. 이는 다중 주입의 정밀도를 연구할 때 컬럼의 질량 일관성에도 영향을 미칩니다.

바닐라 추출물과 향료의 크로마토그래피 (그림 7)는 vanillin 및 ethyl vanillin 이외의 많은 분석물질이 검출될 가능성이 있음을 나타내지만, 이러한 신호는 신호 대 잡음비 (S/N)가 10 미만이므로(10은 정량 한계 (LOQ)의 임계값) 가능한 불순물로 설명된 분석물질이라도 정량화를 신뢰할 수 없었습니다.

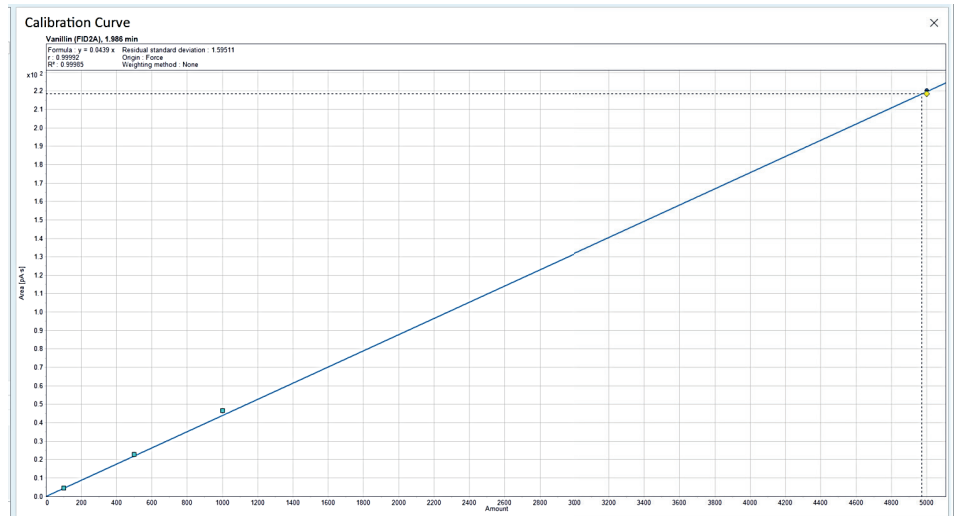


그림 6. 수소 운반 가스를 사용하는 Agilent J&W DB-1, 10m 컬럼에서 작업 검량 범위(vanillin의 경우 100-5,000ppm)를 보여주는 예.

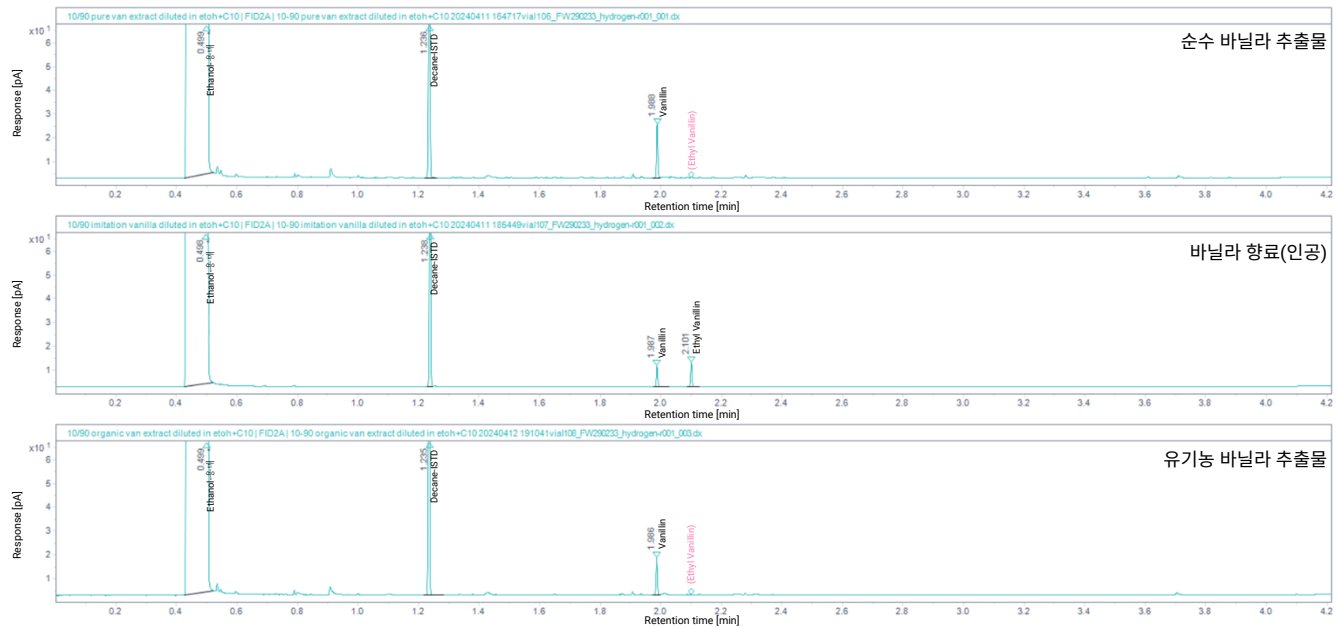


그림 7. 10m Agilent J&W DB-1 컬럼의 변환된 분석법에서 얻은 세 가지 바닐라 추출물 시장 제품의 대표적 크로마토그램.

존재할 수 있는 낮은 수준의 신호의 경우, 질량 스펙트럼 검출기(MSD)가 피크 식별의 선호되는 2차 소스입니다. 이는 낮은 수준의 신호가 유사한 머무름 반응을 갖고 있지만 관심 분석물질의 불순물이 아닌 추출물의 복잡한 매트릭스에서 분리된 분석물질일 가능성이 있기 때문입니다. 각 시장 제품은 분석물질이 S/N > 10이고 머무름 시간이 표준과 일치하도록 정량이 가능한 vanillin 수준을 나타냈습니다(그림 8). 이것은 하나의 추가 분석물질인 ethyl vanillin을 사용하여 제조된 유일한 인공 향료였지만 예상치 못한 일은 아니었습니다. 향료의 정체성 표준을 손상시키지 않으면서 천연 ethyl vanillin 공급원을 사용하여 인공 또는 모방 제품을 제조할 수 있습니다.

결론

이 응용 자료에서는 복잡한 향료 매트릭스에 적합한 상대적으로 긴 R&D 분석법에 Agilent 8850 GC 시스템을 사용하여 바닐라 향 화합물의 아집단을 성공적으로 분석하는 방법을 설명했습니다. 동일한 바닐라 향 화합물의 분석도 5분 미만이 걸리는 분석법으로 성공적으로 시연했습니다. 고속 분석법은 향료 제조업체의 QC 실험실 워크플로와 같이 효율성과 높은 시료 처리량을 중심으로 하는 실험실에서 높이 평가됩니다. QC 실험실의 GC 사용자는 앞으로 몇 시간 내에 제조될 향료 제조법에 추가하기 전에 입고 원료 성분의 순도 함량을 주로 분석하기 때문에 더 짧은 길이, 더 작은 직경의 컬럼을 사용합니다. 이러한 이유로 향료 제조업체의 일상적인 운영에는 고속 분석법이 중요합니다.

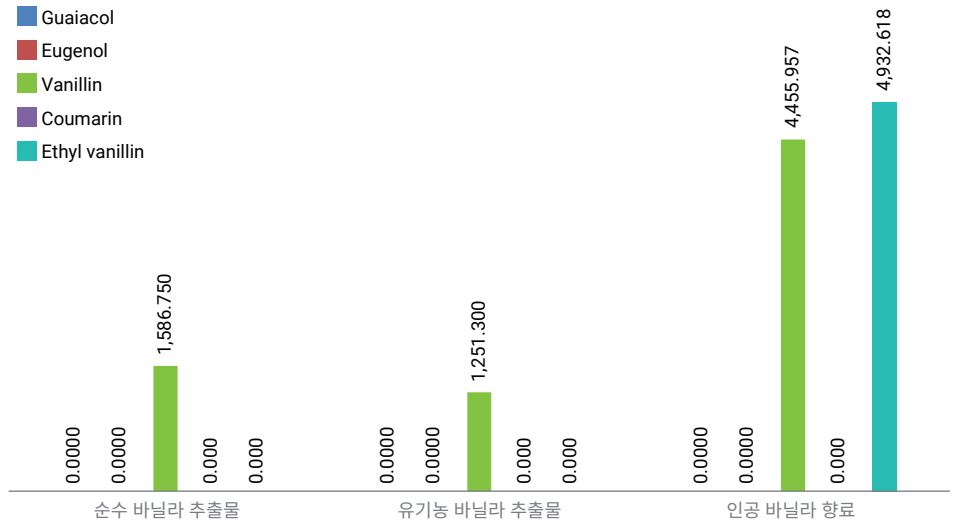


그림 8. 수소 운반 가스 사용 시, 세 가지 바닐라 추출물 시장 제품에 대한 검출 가능한 분석물질 농도(ppm).

50분 길이의 분석법을 5분 미만 길이의 분석법으로 쉽게 전환하기 위해 분석법 변환기를 사용하면 분석법 파라미터를 쉽게 변환할 뿐만 아니라 8850 GC 시스템을 헬륨 절약 모듈과 결합하여 수소와 같은 대체 운반 가스로 작업하기를 원하는 사용자에게 스위칭 장치가 제공됩니다. 이 모듈을 사용하면 주입구에 배관된 가스를 수동으로 변경하거나 대체 운반 가스로 전환하기 위해 시퀀스가 끝날 때까지 기다리는 대신 시퀀스 테이블에서 운반 가스를 한 라인씩 전환할 수 있는 유연성을 얻게 됩니다. 헬륨 절약 모듈이 제공하는 유연성과 시간 절약 기능은 실험실이 분석 효율성을 높이고 시료 처리량을 높일 수 있는 기회를 제공합니다.

긴 분석법을 고속 분석법으로 변환한 결과, 분석 속도가 헬륨 운반 가스의 경우 10배, 수소 운반 가스의 경우 14배 향상되었습니다. 긴 분석법 또는 고속 분석법, 헬륨 운반 가스 또는 수소 운반 가스에 상관 없이, 5가지 바닐라 방향 화합물로 입증된 8850 GC의 성능은 3.5 이상의 기본 분리능, 2.5% RSD 미만의 일일 면적 정밀도, $R^2 \geq 0.9997$ 의 직선성 (여러 화합물에서 $R^2 = 1.0000$ 도달)을 보였습니다.

참고 문헌

1. Agilent GC 계산기 및 분석법 변환기 소프트웨어는 다음 웹사이트에서 다운로드할 수 있습니다. <https://www.agilent.com/ko-kr/support/gas-chromatography/gccalculators>
2. Cristina, M. M.-L.; *et al.* Prediction of coumarin and Ethyl Vanillin in Pure Vanilla Extracts Using MID-FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Talanta* **2019**, *197*, 264–269. DOI: [10.1016/j.talanta.2019.01.033](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.01.033).
3. Lingxia, X.; *et al.* Advances in the Vanillin Synthesis and Biotransformation: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2024**, *189(A)*. DOI: [10.1016/j.rser.2023.113905](https://doi.org/10.1016/j.rser.2023.113905)

www.agilent.com/gc/8850

DE53316897

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2024
2024년 8월 5일 한국에서 발행
5994-7401KO

한국애질런트테크놀로지스(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