

Application News

No.C238K

LCMS, LCMS-8060NX

Food Metabolomics

트리플 4중극 질량분석계 LCMS™-8060NX를 이용한 와인 분석

Metabolomics란 세포의 활동에 따라 발생하는 아미노산이나 유기산 등의 저분자 대사물을 총체적으로 해석하여 복수의 시료군에서의 차이를 밝히는 학술 분야입니다. 식품분야에서도 그 기술을 응용하여 식품의 품질과 영양적 가치를 찾는 수법(Food Metabolomics)으로서 이용되고 있습니다.

최근 맥주를 중심으로 무알코올 음료에 관심이 집중되고 있습니다. 보다 진품에 가까운 맛과 풍미를 부여하기 위해 제조법을 개량하면서 향기성 성분이나 정미성분 등 성분 분석의 중요성이 커지고 있습니다. 와인 업계에서도 진품에 가까운 무알코올 와인에 대한 관심이 높아지는 한편, 가짜 와인도 문제시되고 있습니다. 가짜 와인이란 고급 와인에 저렴한 와인을 섞거나 라벨만 바꿔 붙이는 와인을 말합니다.

Application News No. C226에서는 산지, 포도 품종이 다른 와인을 Food Metabolomics를 통해 분석하고 와인의 발효과정 및 맛과의 관계성 평가에 응용할 수 있음을 소개했습니다. 본 Application News에서는 무알콜 와인과의 차이, 고급 와인과 저급 와인의 차이를 밝히기 위한 고속 액체 크로마토그래프 질량분석기(LC/MS/MS)에 의한 Food Metabolomics의 사례를 소개합니다.

■ 시료의 전처리

무알콜 와인, 고급 와인, 저급 와인, 고급 와인과 저급 와인을 50:50 비율로 섞은 와인을 샘플로 하였습니다.

전처리는 와인을 멤브레인 필터로 여과 후, 초순수로 100배 희석하였습니다. 희석 시 내부 표준물질로 1 µmol/L 농도의 2-Morpholinoethanesulfonic acid를 첨가하였습니다.

■ 분석조건

LC/MS/MS Method Package 1차 대사물 ver.2에 포함된 이온 pair free LC/MS/MS법을 사용하였습니다. 본 분석법에서는 아미노산, 유기산, Nucleoside, Nucleotide 등 친수성 대사물 97 성분의 일제 분석이 가능합니다. 표 1 에 HPLC 및 MS 의 분석 조건을 나타냅니다. 질량 분석기는 LCMS8060NX를 사용하였습니다. LCMS-8060NX의 Ion Focus™ Unit(그림 1)은 이온 수송용 포커스 전극으로 이온만을 효율적으로 질량분석계에 집어넣어 불필요한 중성입자를 제거합니다. 따라서 생체 유래나 식품과 같은 매트릭스가 많은 샘플이라도 고감도 분석과 높은 장치 강건성을 양립할 수 있습니다. 자세한 내용은 애플리케이션 뉴스 No. C226, C233을 참조하여 주세요.

표 1 분석조건

[HPLC conditions] (Nexera™ X3)	
Column	: Reversed-phase column
Mobile phases	: A) 0.1 % Formic acid in water B) 0.1 % Formic acid in acetonitrile
Mode	: Gradient elution
Flow rate	: 0.25 mL/min
Injection volume	: 3 µL
[MS conditions] (LCMS-8060NX)	
Ionization	: ESI (Positive and negative mode)
Probe position	: +3 mm
Mode	: MRM
IonFocus voltage	: ±2 kV
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 10.0 L/min
Heating gas flow	: 10.0 L/min
DL temp.	: 250 °C
Block heater temp.	: 400 °C
Interface temp.	: 300 °C

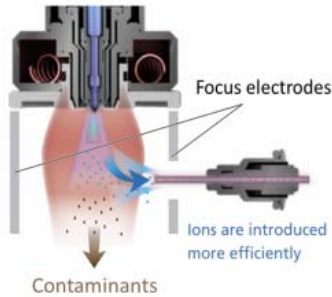


그림 1 LCMS-8060 NX 및 Ionfocus Unit의 Concept

■ Metabolome 분석

LC/MS/MS 분석 결과 아미노산, 유기산, 핵산계 대사물을 중심으로 67개 성분이 검출되었습니다. 내부 표준 물질에 대한 각 성분의 피크 면적비를 사용하여 주성분 분석을 Traverse MS™ 소프트웨어로 실시하였습니다. 그림 2에 스코어 플롯 및 로딩 플롯을 나타냅니다. 제1주성분 축으로 무알콜 와인과 와인을 구별할 수 있습니다. 무알콜 와인에는, Arginine이나 Proline, 4-히드록시 Proline 등의 아미노산과 구연산이 많이 포함되어 있었습니다. 와인 중의 Proline은 쓴맛이나 단맛을 더하는 것으로 잘 알려져 있습니다.

와인에는 Lactic acid과 Succinic acid이 다량 함유되어 있습니다. 제2주성분축으로 퀄리티 와인과 테이블 와인의 차이를 구별할 수 있습니다. 고급 와인과 저급 와인을 섞은 샘플은 두 와인의 플롯의 중간에 위치하였습니다.

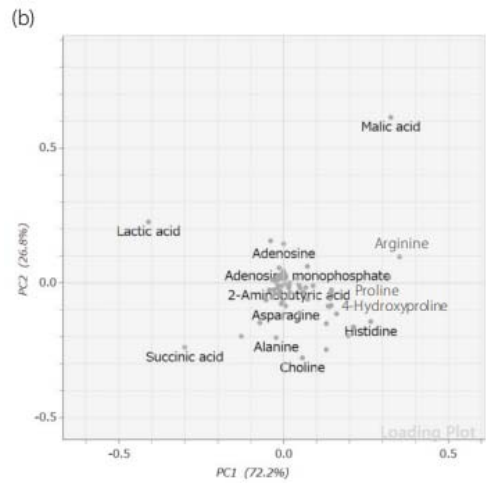
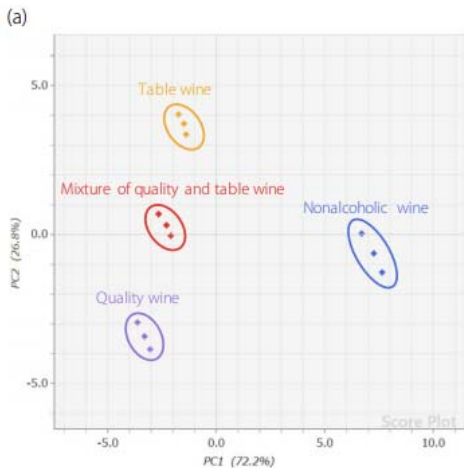


그림 2 주성분 분석결과

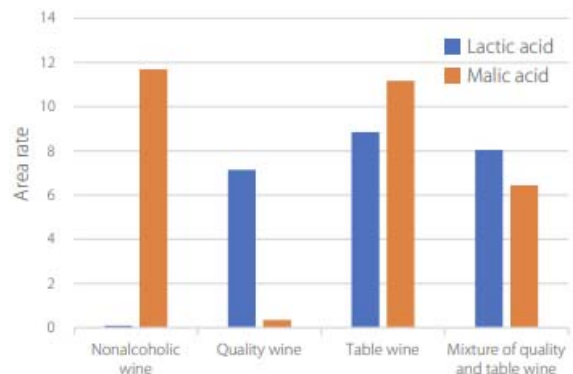


그림 3 Lactic acid과 Malic acid의 피크 면적비

그림 3에 각 와인의 Lactic acid과 Malic acid의 피크 면적비를 나타냅니다. 일반적으로 와인의 발효 공정에서는 알코올 발효 후 Malolactic 발효가 일어나며, 유산균에 의해 과즙이나 와인 속에 포함된 Malic acid이 Lactic acid과 이산화탄소로 분해됩니다. Malolactic 발효를 통해 와인의 신맛이 부드러워지는 것으로 알려져 있습니다. 고급 와인은 Malic acid보다 Lactic acid의 비율이 커, Malolactic 발효가 진행되고 있는 것이 시사되었습니다. 한편, 무알콜 와인이나 저급 와인은 Malic acid의 비율이 Lactic acid보다 커서 Malolactic 발효가 잘 진행되지 않는다는 것도 시사되었습니다.

■ 고찰 및 정리

위와 같이 와인 중 친수성 대사물을 분석함으로써 무알코올 와인과 와인의 차이 및 고급 와인과 저급 와인의 차이를 알 수 있었습니다. 무알코올 와인을 개량하거나 위조 와인을 구별하는데 있어서도 본 분석 방법이 유용할 것으로 생각됩니다.