

Application News

No. SSK-GCMS-2406

Gas Chromatograph-Mass Spectrometry GCMS-TQ8050NX

Aroma Office와 SPME-GCMS-O를 이용한 오렌지 주스 중 향 화합물의 정성 분석

Qualitative Analysis of Flavor Compounds using Aroma Office and SPME-GCMS-O in Orange Juice

■ 서론

일반적인 향 화합물 분석의 경우, 검출된 성분들의 Retention Time(RT)을 n-Alkane 표준물질을 이용하여 각 성분들의 Retention Index(RI)를 계산함으로써 여러 문헌들과 대조하는 방식으로 연구를 진행해 왔다. 이는 논문을 수집하고, 수집된 데이터와 대조해야 하는 등의 번거로운 과정임과 동시에 시간 소요도 많은 작업이다.

Aroma Office는 국내외 주요 저널에 수록된 향 성분에 대한 화합물의 정보, 특성, 분석 조건 및 RI를 포함한 문헌정보 데이터베이스와 GCMS 라이브러리가 접목된 향 화합물 분석을 위한 소프트웨어이다. 10,000 개 이상의 향 화합물 정보와 14 만 개 이상의 분석 정보가 포함되어 있으며, 저널 상의 문헌을 토대로 만들어졌기 때문에 데이터베이스 내 정보의 신뢰 수준이 높다.

일반적으로 식품 중 향 분석은 시료로부터 향 화합물을 다양한 전처리를 통해 추출한 후, GCMS와 같은 분석장비를 이용해 분석한다. 향 화합물 추출법 중 하나인 SPME (Solid Phase Microextraction)법을 이용하면 미량의 시료로도 별도의 전처리 절차 없이 간단하고 손쉽게 분석을 수행 할 수 있다^[1]. 또, Olfactometry는 인간의 후각을 이용해 냄새를 감지하고 특성을 평가하는 장치로 GC컬럼에서 분리된 물질들을 Splitter를 이용하여 각각 검출기와 Olfactometry 탐지포트로 보냄으로써 크로마토그램과 평가자의 냄새 관능 평가 결과를 동시에 얻을 수 있는 장점이 있다.

본 뉴스레터에서는 향화합물을 추출하여 분석할 수 있는 장치인 SPME-GCMS와 후각으로 냄새를 감지하고 특성을 평가할 수 있는 Olfactometry가 결합된 장비인 SPME-GCMS-O와 함께 향화합물 분석을 위한 Aroma Office 소프트웨어를 이용하여 오렌지 주스 중의 향 화합물 정성 분석을 수행하고자 한다.

■ 아로마 검색

일반적인 GC/MS를 이용한 정성 분석 시 활용되는 라이브러리 검색은 분석 대상 피크의 MS 스펙트럼 정보만을 이용하여 유사도를 결정한다. 하지만, Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 이용한 아로마 검색의 경우, 해당 MS 라이브러리 검색 결과에 문헌 상의 RI 값을 이용해 가능성 있는 화합물의 범위를 좁혀주기 때문에 MS 라이브러리 검색만을 수행했을 때 보다 정성 분석 검색 결과의 정확도가 높아진다.

Aroma Search = MS Spectrum x Retention Index (RI)
(아로마 검색) (GC MS Library) (Aroma Office)

특정 피크에 대해 아로마 검색을 수행하면 그림 1과 같이 검색 결과를 확인할 수 있다. 문헌들의 평균 RI의 정보와 더불어 해당 평균 RI와 분석 대상 피크의 RI와의 차이인 RI-Diff, MS 라이브러리를 통한 유사도(Hit, %), 해당 향 화합물의 이름, CAS RN, Formula, 향 정보 등을 한 번에 쉽게 확인할 수 있다.

Aroma search result list												
분석 RT와 RI		Aroma Office의 RI		MS 라이브러리 유사도(%)		화합물 명 (라이브러리 내 성분)						
RT	PkRI	Cnt	RI-Ave	RI-Diff	Hit	CAS RN	Formula	Character	Name (Ms Library)	Name (AromaOffice)		
11.847	1044	4	1038	6	94	5989-27-5	C10H16	citric	D-Limonene ; Cyclohexene	D-limonene		
11.847	1044	24	1038	6	87	138-86-3	C10H16	(+) lemon	Limonene ; Cyclohexene, 1-	limonene		
11.847	1044	1	1036	8	87	5989-54-8	C10H16	harsh	Cyclohexene, 1-methyl-4-(	l-Limonene		
11.847	1044	10	1052	-8	30	99-85-4	C10H16	camphor-like	gamma-Terpinene ; 1,4-C	gamma-Terpinene		

그림 1. Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 이용한 실제 아로마 검색 결과

표 1. 오렌지 주스 중 향 화합물 분석을 위한 SPME-GCMS-O의 기기 분석조건

SPME Conditions		AOC-6000
Sample volume		5 mL
SPME fiber		75 μ m Carboxen / Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS), Fused Silica
Incubation temp.		80°C
Incubation time		5 min
Agitator speed		250 rpm
Sample extract time		30 min
Sample desorb time		1 min
Conditioning Temp.		280°C
GC Parameter		GCMS-TQ8050NX
Column		DB-5 (30 m x 0.25 mm x 1.0 μ m)
Column Oven Temp.		50 °C (2 min) → 100 °C/min → 300 °C (3 min)
Column flow		1.3 mL/min
Purge flow		3 mL/min
Ion Source Temp.		250 °C
Interface Temp.		230 °C
Acquisition mode		Scan (35-500 m/z)

■ 재료 및 방법

시판 오렌지 주스를 구매하여 SPME-GCMS-O로 분석하였다. SPME-GCMS는 AOC-6000과 GCMS-TQ8050NX(Shimadzu)을 사용하였으며, Olfactometry는 PHASER (GC Olfactory Detection Port, GL Science)를 이용하였다. 기기 분석조건은 표 1과 같으며, 분석 후 얻어진 크로마토그램을 이용하여 Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 활용해 MS 라이브러리 및 아로마 검색을 수행하였다.

■ 결과

분석을 수행한 결과, 아래 크로마토그램(그림 3)에서 보는 것과 같이 9 군데에서 냄새가 감지되었으며, 냄새가 감지되었을 때 검출된 피크의 화합물을 Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 이용해 MS 라이브러리 및 아로마 검색을 수행한 결과를 표 2에 나타내었다. 그림 3의 RT 11.847에 해당하는 화합물을 실제 Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 이용하여 검색한 결과 D-limonene이 가장 유사도가 높은 화합물로 나타났다(그림 1).

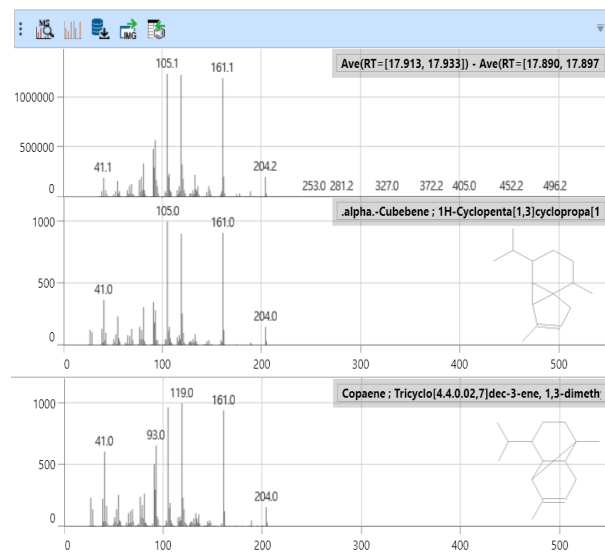


그림 2. RT 17.913분에 해당하는 피크 MS 스펙트럼과 MS 라이브러리 내의 α -Cubebene 및 α -Copaene의 MS 스펙트럼

아로마 검색을 통해서 정성 평가된 화합물은 13 종으로 테르펜 7종, 알데하이드 3종, 알코올 2종, 에스터 1종으로 확인되었다. 테르펜은 에센셜 오일의 화학성분 중 하나로 제약, 기능성 식품, 식품 및 음료 제품, 화장품, 향수, 합성 화학 물질, 방향 및 향미 첨가 등의 여러 산업 분야에 사용되고 있다. 특히 본 분석 결과에서 비교적 큰 피크로 검출된 D-limonene, γ -terpinene 및 p-cymenene은 야생 오렌지 에 풍부하게 함유되어 있는 모노테르펜계열 화합물로 오렌지 주스 시료 중 주요 향인 시트러스 향 유발 원인 물질로 판단된다. 또, 알데하이드 류인 1-decanol, n-decanal 등은 테르펜 류와 마찬가지로 오렌지에서 많이 발견되는 휘발성 화합물로 확인되었다^[2].

아로마 검색 결과, 대부분의 냄새가 감지된 부분에서 MS 라이브러리 검색 결과와 일치하는 것으로 나타났지만, 특정 피크의 경우, 다른 결과를 보이기도 했다(표 2, 그림 2). 그 예로 RT 17.913분의 쓴 냄새로 감지된 피크(RI 1411)가 MS 라이브러리 검색 결과에서는 α -Cubebene의 유사도(Hit, %)가 99%로 가장 높게 나타났지만, 아로마 검색 결과에서는 α -Cubebene의 구조 이성질체인 α -Copaene가 가장 유사한 화합물로 나타났다.

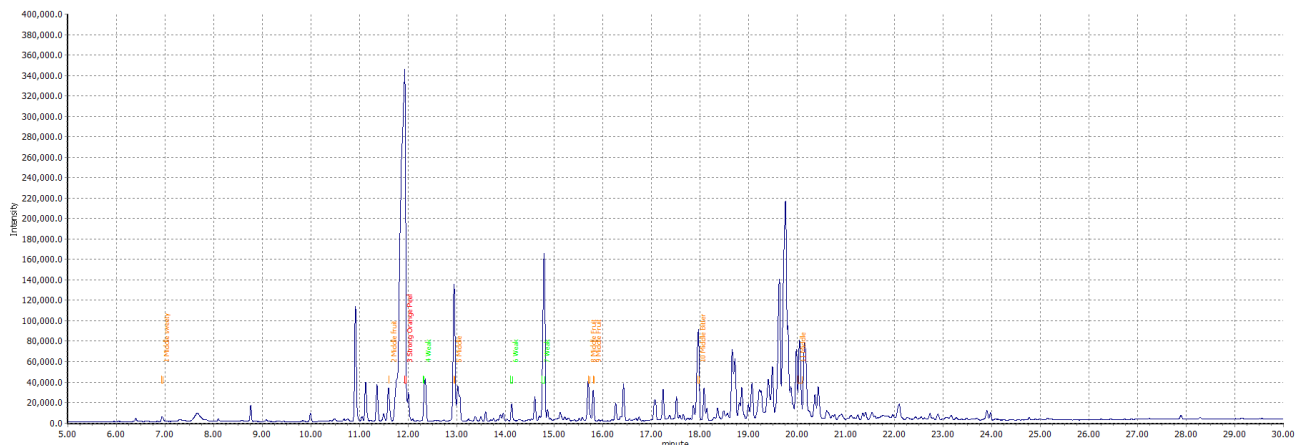


그림 3. 오렌지 주스를 SPME-GCMS-O로 분석한 크로마토그램

표 2. Aroma Office의 AXEL 소프트웨어를 이용한 오렌지 주스 중 아로마 검색 결과

No.	RT (min)	RI	Odor ¹	GC MS Library Search		Aroma Search				
				Compound	Hit (%)	Compound	RI-Diff.	Hit (%)	Character	Classification
1	6.917	776	Sweety	Ethyl butyrate	94	Ethyl butanoate	3	94	Acid fruit	Esters
2	6.957	781		n-Hexanal	70	n-Hexanal	-3	52	Apple	Aldehydes
3	11.603	1030	Fruit	α -Terpinene	98	α -Terpinene	8	98	Berry	Monoterpenes
4	11.847	1047	Orange peel	D-Limonene	94	D-Limonene	-2	94	Citrus	Monoterpenes
5	12.320	1069	Sugar, Honeycomb	n-Octanol	91	n-Octanol	-2	91	Citrus	Alcohols
6	12.360	1071	-	γ -Terpinene	94	γ -Terpinene	7	94	Camphor-like	Monoterpenes
7	12.940	1102	Fruit	p-Cymenene	83	p-Cymenene	5	83	Camphor-like	Monoterpenes
8	14.127	1171	Wool smell, Cucumber	1-Nonanol	94	1-Nonanol	-2	94	Citrus	Alcohols
9	14.797	1210	-	n-Decanal	93	n-Decanal	3	93	Baked	Aldehydes
10	15.697	1266	Fruit	D-Carvone	95	D-Carvone	9	95	Herbal	Monoterpenes
11	15.807	1273	Bitter	1-Decanol	94	n-Decyl alcohol	0	94	Floral	Alcohols
12	17.923	1411		α -Cubebene	99	α -Copaene	4	94	Hops like	Sesquiterpenes
13	17.993	1416		n-Dodecanal	91	n-Dodecanal	4	91	Citrus skin- like	Aldehydes

¹ Olfactometry의 탐지포트로 평가한 냄새

Aroma Office에서 DB-5로 분석한 α -Cubebene을 검색하면 총 48개의 문헌에서 평균 RI는 1352로 최소 1305 부터 최대 1396까지 분포되어 있는 것으로 확인되었다. 이에 반해 DB-5로 분석한 α -Copaene은 총 98개의 문헌에서 평균 RI는 1376이며, 최소 1341부터 최대 1435로 분포되어 있기 때문에 MS 라이브러리 결과에서는 유사도가 94 %로 α -Cubebene 보다 낮게 나왔지만, RI 결과를 통해 α -Copaene가 더 유사한 물질로 검색되었다.

이상에서의 결과를 바탕으로, Aroma Office를 이용한 아로마 검색은 검출된 피크의 MS 스펙트럼 정보만을 이용하여 유사도를 결정하는 MS 라이브러리 검색 결과와 더불어 문헌 상의 RI 값을 이용해 가능성 있는 화합물의 범위를 좁혀주기 때문에 MS 라이브러리에 국한된 정성 분석 결과 보다 정확도를 높일 수 있는 장점이 있어 분석자 입장에서 보다 신뢰할 수 있는 분석 결과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

■ 결론

본 뉴스레터에서는 향화합물을 추출하여 관능 평가 및 정성 분석을 수행할 수 있는 SPME-GCMS-O 장치를 이용하여 오렌지 주스 중 향 화합물을 분석하였다. 또, Aroma Office를 이용해 MS 라이브러리 검색만으로는 정확한 식별이 어려운 화합물도 RI가 포함된 아로마 검색을 이용하여 보다 정확하고 신뢰할 수 있는 결과를 얻을 수 있음을 확인하였다.

■ 참고문헌

1. 향기 분석의 최신 기술과 식품 향료의 개발, 한국산업기술정보연구원, 첨단기술정보분석, 2006
2. 감귤과실의 향기성분, 한국산업기술정보연구원, 첨단기술정보분석, 2009

