Kor. J. Food Hygiene 7(1), 45-48 (1992)

GC를 이용한 주류중 에탄올 및 유해 성분의 동시 분석법

정의한 · 이명자 · 강금자 · 문혜성 · 유병옥 · 황정구 · 장준식
국립부산검역소 식품검사과

Simultaneous Analysis of Ethanol and Harmful Components by GC in Alcoholic Liquors

E.-H. Jung, M.-J. Lee, G.-J. Kang, H.-S. Moon, B.-O. Yoo
J.-G. Hwang and J.-S. Jang
National Pusan Quarantine Station, Food Inspection Div.

ABSTRACT－In Food revolution of Korea, colorimetries or a titration methods are introduced for the analysis of alcoholic liquors. But, these wet analyses have disadvantages such as individual errors, long process time, and sometimes tedious pretreatments. In the process of making alcoholic liquors, fusel oils are produced as by products. Five main fusel components that could be produced are 2-propanol, n-propanol, iso-butanol, n-butanol, and isoamyl alcohol. Also acetaldehyde and methanol could be produced as by-products of ethanol. With using capillary FFAP column in GC or GC/MSD, we analysed these five fusel components as well as internal standard (acetonitrile) including methanol, acetaldehyde and ethanol simultaneously. We obtained excellent mass spectra as qualitative data of all species. We also took excellent quantitative data with GC by using the internal standard method.

Keywords□Alcoholic liquors, Ethanol, Fusel components, GC, GC/MSD

우리나라의 경제수준이 향상되어 전 분야에 걸친 외국과의 교류가 활발하므로 많은 종류의 술을 접할 수 있다. 따라서 이런 술의 정확하고 신속한 분석이 요구되고 있다. 우리나라의 경우 주류의 분석은 보건사회부 식품공전에 그 근거를 두고 있고 AOAC 등에 다른 분석방법들이 나타나 있고[1] 알데히드류나 메탄올을 충진칼럼을 이용하여 분석한 방법들이 소개되어 있다.[2] 에탄올과 주류의 부산물인 알데히드, 메탄올, 휴젤류에 대하여 식품공전에는 Table 1과 같은 분석방법을 제시하고 있다. 그러나, 이런 종류의 비색, 증류, 그리고 적정 등의 방법으로 분석할 경우 시간이 많이 걸리며, 사용하는 시약 등을 주기적으로 표정해 주어야 하고, 특히 개인간의 오차를 유발할 가능성이 많다. 그리고, 휴젤류는 탄수화물이

Received for publication 23 April, 1992
Reprint request: Dr. J.S. Jang at the above address

Table 1 식품공전의 주류 검사법. (요약)

분석성분	공 전 법
메 탄 올	증류후 푹신아황산법에 의한 비색정량
알데히드	아황산수소나트륨 및 요오도를 넣어 치오황산나트륨으로 적정
에 탄 올	주정계로 주도 측정
휴 젤 류	증류후 바닐린 황산 시액을 넣어 비색

에탄올로 이르는 반응 경로에서 생기는 고급 알콜을 총칭한다. 그러나, 특정 아미노산에 의해 생성되는 휴젤성분은 Table 2와 같이 이미 알려져 있다. 따라서, n-propanol, 2-propanol, n-butanol, iso-butanol 그리고 iso-amylalcohol을 휴젤류의 표준물질로 사용할 수 있다.[3-7] 주류 수입 물량의 증가추세로 볼 때 현대적인 분석기기 장비들을 이용하여 개인간의 오차를 최소화하고 단시간내에 분석할 수 있는 방

Table 2. 특정아미노산에 의해 생성되는 휴젤 성분

아미노산	생성되는 휴젤 성분들
Leucine	i-Amyl alcohol
Isoleucine	Active Amyl alcohol
α-Ketobutyric Acid	n-Propanol, n-Butanol
Valine	i-Butanol
초산의 축합반응	2-Propanol, Amyl alcohol

법이 절실히 필요하다. 본 실험은 이러한 필요성에 근거하여 이들 8종의 물질과 내부 표준물질로 사용하는 아세토니트릴을 가스크로마토그래피(GC) 및 가스크로마토그래피/질량선택검출기(GC/MSD)를 이용하여 동시에 분리하여 정성 및 정량자료를 얻어 보았다.

재료 및 방법

표준품으로 사용되는 n-Propanol, i-Butanol, n-Butanol과 i-Amyl alcohol은 Junsei Chemical Co. 제품이고, Acetonitrile과 Methanol은 Fisher Scientific Co.의 HPLC용을 사용하였으며 Ethanol은 Formerly James Burrough LTD. 제품이고, 2-Propanol은 Merck Co. 제품이고 Acetaldehyde은 Riedel Co. 제품을 사용하였다. 전처리 과정에서 사용되는 Sepak Filter는 Water사 제품(P/N 85995)을 사용하였다. 전처리 과정은 술을 Sepak filter를 사용하여 여과한 후 20 ml를 정량 플라스크에 채우고 GC의 주입에 따른 개인오차를 줄이기 위해 내부표준물질로 아세토니트릴 100 μl를 넣어 섞은 후 그 중 1 μl를 GC의 시료주입구에 직접 주입한다. 사용한 GC는 HP-5890A, 칼럼은 HP-FFAP(cross-linked FFAP 50 m×0.2 mm×0.33 μm film)를 사용했다. 이동상의 기체량은 Helieum으로 0.6 ml/min이며 온도 프로그램은 60℃(4 min)/(6℃/min)/100℃(0 min)/(10℃/min)/130℃(1 min)으로 분석했다. 검출기는 수소이온화 검출기로서 200℃, 시료주입구의 온도는 200℃에서 사용했다. 공기유속량은 300 ml/min, 보조가스량은 Helium으로 30 ml/min로 사용했고, 분리비는 70~80 : 1로 하였다. 정성실험을 위한 GC/MSD의 기기는 HP-5890II GC를 사용했고 칼럼, 이동상의 기체량, 온도 프로그램, 분리비, 시료주입부 온도와 검출기 온도는 GC와 동일하다.

Table 3. 제조한 표준물질의 농도

표준물질	Ethanol	Methanol	Acetaldehyde	Fusel oil (5종 각각)
A	2.5% (V/V)	0.1 mg/ml	0.05 mg/ml	0.2 mg/ml
B	5.0% (V/V)	0.2 mg/ml	0.10 mg/ml	0.4 mg/ml
C	12.5% (V/V)	0.5 mg/ml	0.25 mg/ml	1.0 mg/ml
D	25.0% (V/V)	1.0 mg/ml	0.50 mg/ml	2.0 mg/ml
E	50.0% (V/V)	2.0 mg/ml	1.00 mg/ml	4.0 mg/ml
공전규격	5%~55%	0.5 mg/ml~1.0 mg/ml	0.1 mg/ml~0.7 mg/ml	1.0 mg/ml~3.0 mg/ml

Table 4. 표준 시료 A-E의 GC 정량분석 결과

분석물질	상관계수	검출한계	공전기준
Acetaldehyde	0.99897	0.018 mg/ml	0.1 mg~0.7 mg/ml
Methanol	0.99865	0.0202 mg/ml	0.5 mg~1.0 mg/ml
Ethanol	0.9984	0.31425%	5%~55% (V/V)
2-Propanol	0.9996	<0.04 mg/ml	1.0 mg~3.0 mg/ml
n-Propanol	0.9976	0.0392 mg/ml	〃
i-Butanol	0.9981	0.04482 mg/ml	〃
n-Butanol	0.9979	0.0412 mg/ml	〃
iso-amyl alc.	0.99865	0.0472 mg/ml	〃

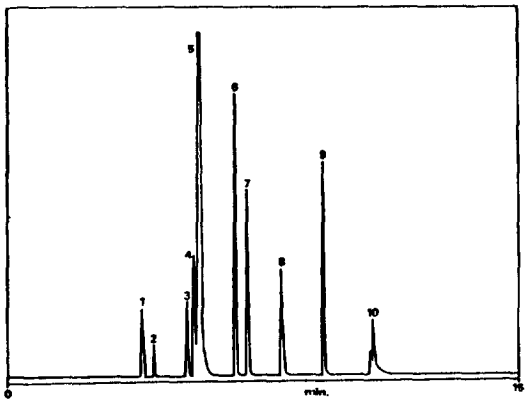

Fig. 1. GC/MSD chromatogram obtained from the standard sample-C in table 3. by using GC/MSD. 1. air 2. acetaldehyde 3. methanol 4. 2-propanol 5. ethanol 6. acetonitrile 7. n-propanol 8. iso-butanol 9. n-butanol 10. i-amylalcohol.

결과 및 고찰

GC/MSD에 의한 정성적 결과로서 Table 3의 표준물질중 C를 GC/MSD에 주입하여 Fig. 1과 같은 크로마토그램을 얻었다. 유사한 종류의 알콜들에 대해 FFAP 칼럼이 좋은 분리능을 나타내 주었으며, 9종의 각 피이크들이 단일종이라는 것을 각각의 Mass 스펙트럼으로 확인하였다. 이중 아세트알데히드에 대한 mass 스펙트럼이 Fig 3과 같이 얻어졌고, 아세트알데히드의 표준 mass스펙트럼도 같이 나타내었다. GC에 의한 정량적 결과로서 Table 3의 표준시료(A-E)를 GC에 주입하여 분리한 알콜들에 대한 크로마토그램은 Fig 2와 같다. 다섯종류의 표준시료들을 내부 표준법에 의해 정량분석한 결과를 Table 4에 정리하였다. 상관계수와, 검출한계는 최소자승법으로 구하였다. 이와같이 GC 또는 GC/MSD를 이용한 기기 분석법은 종래의 습식 분석법과 비교하여 훨씬 신속하고 간편하며 정확한 분석을 할 수 있다. 내부표준법으로 얻은 결과의 상관계수가 0.998이상으로 거의 1에 가깝기 때문에 개인간의 오차를 줄일 수 있고 검출한계도 모두 공전상의 최소값의 10분의 1 이하의 좋은 값을 보여준다. 특히 시료들을 동시에 정량 정성 분석할 수 있는 것이 큰 장점이며, FFAP칼럼이 알콜류나 알데히드들에

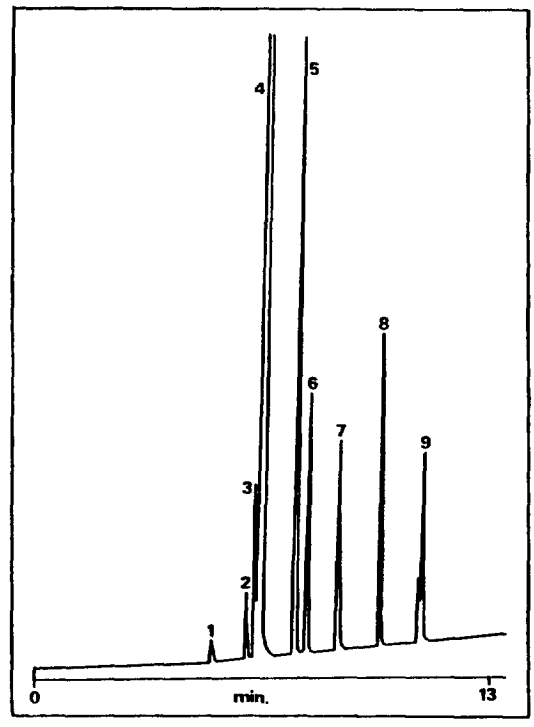

Fig. 2. GC chromatogram of the standard sample-C in table 3. 1. acetaldehyde 2. methanol 3. 2-propanol 4. ethanol 5. acetonitrile 6. n-propanol 7. iso-butanol 8. n-butanol 9. i-amyl alcohol.

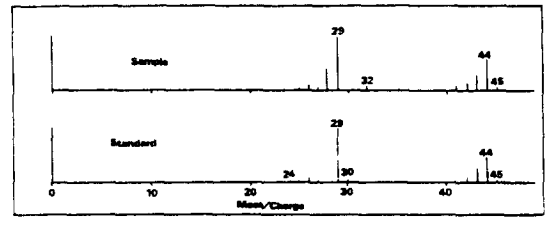

Fig. 3. Mass spectrum of acetaldehyde appeared in Fig. 2 taken by the GC/MSD.

대한 분리도가 좋아 방해작용이 없었다. 본 실험에서 2-propanol(b.p 82.5℃)과 ethanol(b.p 78.5℃)의 b.p.가 비슷하여 분리에 다소 어려움이 있었다. Carbowax 20 M이라는 충진 칼럼을 이용하여 9종을 분리하여 보았지만, 에탄올의 농도가 높은 경우에는 분리능이 좋지 않았다. 그러나 Capillary FFAP칼럼을 이용한 결과는 각 단일종에 대해 좋은 mass스펙트럼을 나타내 주었다.

국문요약

우리나라의 식품공전에서 주류의 검사방법이 비색 및 적정의 방법으로 나타나 있다. 그러나 이런 습식분석법은 시간이 많이 걸리고 개인오차 등 심각한 문제를 내포하고 있다. 주류의 제조과정중 휴젤류가 생성되는데 n-propanol, 2-propanol, n-butanol, i-butanol, i-amyl alcohol이 주로 생성된다. 우리는 GC를 이용하여 개개의 물질을 분리하고 농도에 따른 신호가 직선성이 얻어지면 동시에 정성 및 정량자료를 얻을 수 있다. 즉 GC나 GC/MSD에 의해 capillary FFAP 칼럼을 이용하여, 다섯가지 휴젤성분, 아세트알데히드, 메탄올, 에탄올 그리고 내부표준물질인 아세토니트릴을 동시에 분리하였다. 그리고 capillary FFAP 칼럼으로 분리된 각 피이크가 단일종이라는 것을 GC/MSD를 이용하여 각각의 mass 스펙트럼으로 확인할 수 있었다. 또한 내부표준법으로 GC에 의해 각 물질에 대한 좋은 정량자료를 얻었다.

참고문헌

1. Kenneth Helrich, AOAC(Association of Offical Analytical Chemists) 15th ed. p. 699-701, (1990).
2. 일본약학회편, 위생시험법 주해, 금원출판주식회사, (1990).
3. Crowell, E.A., Guym, J.F. and Ingraham, J.L.: *Techniques for studying the mechanism of higher alcohol formation by yeasts, Am. J. Enol. Vitic,* **12**, 111-116 (1961).
4. Guymon, J.F. Ingraham, J.L. and Crowell, Edward A.: *The formation of n-propyl alcohol by saccharomyces cerevisiae, Archives of Biochemistry and Biophysics.*, **95**, 163-168 (1961).
5. Ingraham, J.L. and Guymon, J.F.: *The formation of higher aliphatic alcohol by mutant strains of saccharomyces cerevisiae, Archives of Biochemistry and Biophysics.*, **88**, 157-166 (1960).
6. Amerin and Ough, "Methods for Analysis of Musts and Wines", Wiley Interscience p. 103-110 (1980).
7. Rankine, B.C.: *Formation of higher alcohols by wine yeasts, and relationship to taste thresholds., J. Sci. Fd. Agric.,* **18**, 583-589 (1967).