

Agilent Intuvo 9000 GC システム を用いた血中アルコール濃度の 分析

革新技术:堅牢なヘッドスペースサンブラと
モジュール化された GC フローパス



はじめに

血中アルコール濃度 (BAC) の測定には厳格な管理が必要になります。人の中毒レベルに直結するため、血中エタノール含有量の測定に正確性は不可欠となっています。BAC の一般的なスレッショールドが 0.08 g/dL (80 mg/dL) であることを考慮すると、報告された値によっては重大な法的結果に至る可能性もあります。誤差を低減するには、正確なキャリブレーションと高精度がきわめて重要です。水素炎イオン化検出器 (FID) ベースのメソッドの大半は、カラムを 2 種指定します。1 つ目は最初の同定および定量用で、2 つ目は確認用です。ラボではこれに対して、別個の分析システム 2 種を用いる場合もあれば、単一ガスクロマトグラフィーシステムでキャピラリー・フロー・テクノロジー (CFT) 機器を活用する場合があります。

Agilent Intuvo 9000 ガスクロマトグラフでは、Intuvo 注入口プリッタフローチップを用いてデュアルカラム分析が容易に行えます。注入口プリッタフローチップにより、注入口から 2 つのカラムを経てそれぞれの FID (またはその他、出口圧力が大気圧の) 検出器に到達するまでのフローが管理可能となり、従来必要であったユーザーによるリストリクタの内径や長さの計算、カットが不要になります。また、カラム寸法が同じ場合、例えば両方のカラムが 30 m × 320 μm の場合には、両カラムに 1:1 に分割されます。これにより、サンプルを両カラムで 1 回で分析することができます。

詳細については、以下をご覧ください。
www.agilent.com/chem/jp



Agilent Intuvo 9000 GC および Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ

実験方法

Intuvo GC システムと Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラを組み合わせて使用しました。血中アルコール分析に最適化された 2 本のカラム、DB-BAC1 ウルトライナート (UI) および DB-BAC2 ウルトライナート (UI) を、単一のスプリット/スプリットレス注入口とデュアル FID との間に取り付け、オープン温度一定の条件で分析を行いました (表 1 および表 2)。10 ~ 800 mg/dL の範囲のエタノール標準溶液は水を希釈溶媒として、メタノール、アセトンおよびイソプロパノールが最終濃度で 5 ~ 400 mg/dL となるように調製しました。エタノールコントロールを用いてキャリブレーションの正確さを評価し、血中アルコールチェックアウト混合物 (表 3) を用いて、新しい DB-BAC UI カラムペアによる分解能の向上を実証しました。ヘッドスペースバイアルは、0.03 % (v/v) *n*-プロパノール 450 μ L にキャリブレーション液またはコントロール液を 50 μ L 添加して調製しました。

結果と考察

DB-BAC1 UI および DB-BAC2 UI カラム (図 1) 双方の検量線を作成するために、標準溶液を 3 回繰り返して分析しました。標準溶液に含まれる分析対象物 4 種の検量線は線形であることが分かりました。両カラムのエタノールの決定係数 (R^2) として、0.9995 以上が得られました。この 2 種のカラム/検出器の組み合わせにおけるエタノールの傾きの差異はわずか 6.3 % であり、注入口後の 1:1 のスプリッ

表 1. Agilent Intuvo 9000 GC の機器条件

Agilent Intuvo 9000 GC	設定値
オープン	40 °C (6.5 分)
スプリット/スプリットレス注入口	スプリット比 10:1、110 °C
DB-BAC1 ウルトライナート (123-9334UI-INT) 30 m × 320 μ m、1.8 μ m	ヘリウム定圧、21 psi
DB-BAC2 ウルトライナート (123-9434UI-INT) 30 m × 320 μ m、1.2 μ m	カラム 1 によりコントロール
FID (フロントおよびバック)	250 °C
H ₂	30 mL/min
空気	400 mL/min
N ₂ (メークアップ)	25 mL/min
ジャンパーチップ	110 °C (注入口温度)
バス	デフォルト (設定 200 °C)
フロント/バックシグナル	20 Hz

表 2. Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラの機器条件

Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ	設定値
オープン	70 °C
ループ	70 °C
トランスファーライン	90 °C
バイアル平衡化時間	7 分
注入時間	0.5 分
バイアルのサイズ	20 mL
バイアル攪拌	オフ
バイアル充填モード	デフォルト (50 mL/min で 15 psi、0.1 分間)
バイアル充填圧力	15 psi
ループ昇圧速度	30 psi/min
ループ最終圧力	1.5 psi
ループ平衡化時間	0.05 分

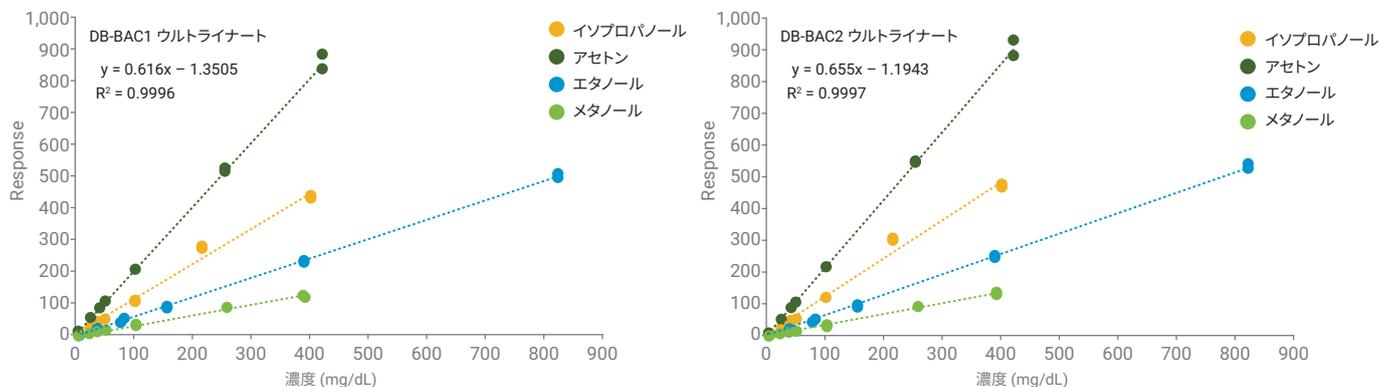


図 1. Agilent DBBAC1 UI および DBBAC2 UI カラム用のエタノール、メタノール、アセトンおよびイソプロパノールの検量線

トと検出の精度が実証されました。

キャリブレーション後、80 mg/dL のエタノールコントロールおよび血中アルコールチェックアウト混合物 (50 mg/dL) で 5 つの HS サンプルを調製しました。面積再現性は両チャンネルの相対標準偏差 (RSD) によって測定し、4.1 % 以下であることが示されました (表 4)。また、リテンションタイム精度を計算したところ、0.1 % 以下でした (表 5)。キャリブレーションの正確さ (真度) はエタノールコントロールを用いて確認しました (表 6)。

表 3. エタノールコントロールおよび血中アルコールチェックアウト混合物の部品番号

標準	部品番号
20 mg/dL	5190-9756
50 mg/dL	5190-9757
80 mg/dL	5190-9758
100 mg/dL	5190-9759
150 mg/dL	5190-9760
200 mg/dL	5190-9761
300 mg/dL	5190-9762
400 mg/dL	5190-9763
アルコールチェックアウト混合物	5190-9765

表 4. 80 mg/dL エタノール標準液および血中アルコールチェックアウト混合物に含まれる分析対象物の両カラムにおける面積精度 (RSD)

分析対象物	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
エタノール 80 mg/dL 標準	3.70 %	2.80 %
メタノール (50 mg/dL)	4.10 %	1.40 %
アセトアルデヒド (50 mg/dL)	2.80 %	3.00 %
エタノール (50 mg/dL)	2.30 %	1.10 %
イソプロパノール (50 mg/dL)	3.30 %	1.90 %
t-ブタノール (50 mg/dL)	2.80 %	2.70 %
プロパノール (50 mg/dL)	3.40 %	3.00 %
n-プロパノール (50 mg/dL)	3.10 %	2.10 %
アセトン (50 mg/dL)	3.40 %	2.90 %
アセトニトリル (50 mg/dL)	2.30 %	2.80 %
2-ブタノール (50 mg/dL)	2.00 %	3.00 %
酢酸エチル (50 mg/dL)	3.20 %	3.10 %
2-ブタノン (50 mg/dL)	3.10 %	3.00 %

表 5. 80 mg/dL のエタノール標準液および 50 mg/dL の血中アルコールチェックアウト混合物に含まれる分析対象物の両カラムにおけるリテンションタイム精度 (RSD)

分析対象物	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
エタノール 80 mg/dL 標準	0.04 %	0.10 %
メタノール	0.01 %	0.02 %
アセトアルデヒド	0.01 %	0.02 %
エタノール	0.02 %	0.05 %
イソプロパノール	0.02 %	0.04 %
t-ブタノール	0.03 %	0.04 %
プロパノール	0.01 %	0.02 %
n-プロパノール	0.03 %	0.04 %
アセトン	0.02 %	0.03 %
アセトニトリル	0.02 %	0.03 %
2-ブタノール	0.04 %	0.04 %
酢酸エチル	0.02 %	0.03 %
2-ブタノン	0.02 %	0.03 %

コントロールはすべて、誤差の許容範囲内 ($\pm 6\%$) にありました。図 2 のクロマトグラムは、血中アルコールチェックアウト混合物に含まれる種々の分析対象物に対する分解能の改善を示しています。一般的な内部標準である *t*-ブタノールおよび *n*-プロパノールは、目的の分析対象物のいずれからも良好に分離されています。

結論

Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ付きの Agilent Intuvo 9000 GC システムでは、注入口スプリッタを活用して、血中アルコール分析対象物の同定、定量および確認を 1 回で行うことができます。カラムおよび検出器双方の直線性は優れており、濃度決定の精度 (面積およびリテンションタイム) ならびに真度も同様に優れています。デュアルカラム/デュアル検出器の設定を簡素化するモジュラ型流路により、Intuvo 9000 は卓越した性能を提供します。クロマトグラフィーの使いやすさの向上のため、Intuvo 9000 は、より小さな専有スペース、明るい色のタッチスクリーン、クイック接続などの利点が含まれています。

表 6. 濃度は、取得した検量線で評価したエタノール標準液のセットに基づき算出しました。すべての濃度が予想された値の 6% 以内に収まっています。

エタノール標準液	算出濃度		算出濃度	
	Agilent DB-BAC1 UI	合格/不合格	Agilent DB-BAC2 UI	合格/不合格
20 mg/dL	19.8 mg/dL	合格	19.3 mg/dL	合格
50 mg/dL	50.0 mg/dL	合格	47.1 mg/dL	合格
80 mg/dL	79.3 mg/dL	合格	76.8 mg/dL	合格
100 mg/dL	96.7 mg/dL	合格	94.4 mg/dL	合格
150 mg/dL	152 mg/dL	合格	149 mg/dL	合格
200 mg/dL	197 mg/dL	合格	193 mg/dL	合格
300 mg/dL	302 mg/dL	合格	302 mg/dL	合格
400 mg/dL	384 mg/dL	合格	386 mg/dL	合格

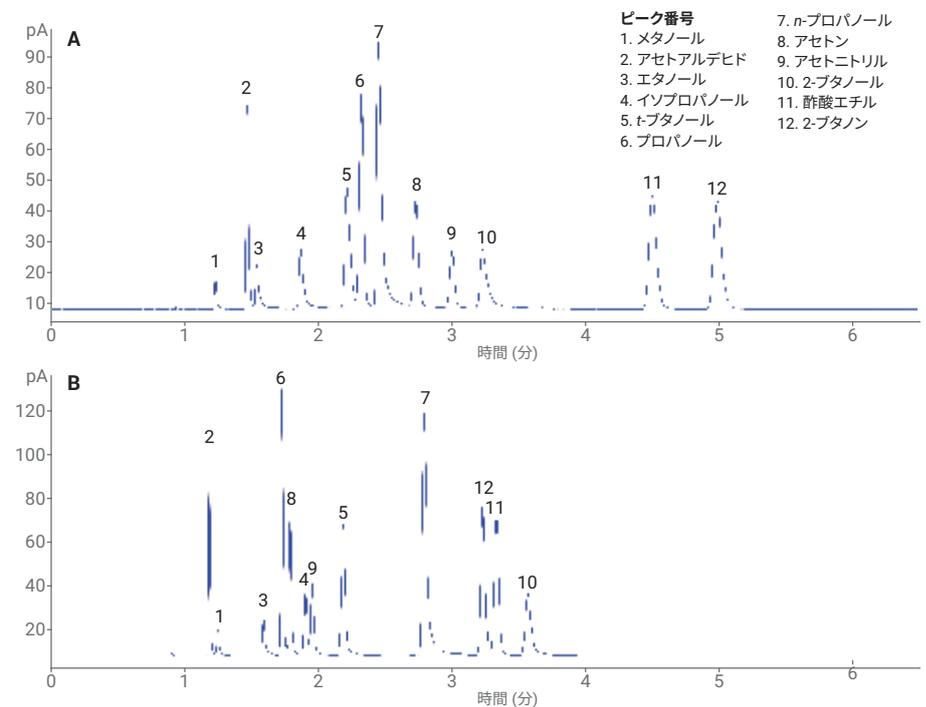


図 2. Agilent DB-BAC1 UI カラム (A) を用いた 血中アルコールチェックアウト混合物のクロマトグラムでは、*t*-ブタノール (5) および *n*-プロパノール (7) とその他の目的の分析対象物が分離しています。溶出順序は補完する Agilent DB-BAC 2 UI カラム (B) では異なります。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, February 16, 2018

5991-8999JAJP