

Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラと 8890 GC デュアル FID システムによる 血中アルコール分析

著者

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

概要

自動車の運転時の血中アルコール濃度 (BAC) の法定上限は国によって異なりますが、多くの国ではその濃度レベルを 0.05 % または 0.08 % と定めています。Agilent 8697 ヘッドスペースサンプラと Agilent 8890 GC を接続して実施した統計的評価では、0.02 ~ 0.4 % の範囲のエタノールの直線性は、非常に優れた結果を示しました。この機器はデュアルカラム、デュアル FID 構成であり、混合物中のほとんどのアルコールおよびカルボニル化合物の 0.05 % 濃度における再現性は 2 % 未満でした。

はじめに

GC による BAC 分析は、法律、法医学、および診断分野で確立されている試験方法です。血液は、そのほとんどが非揮発性物質で構成される非常に複雑な混合物です。このため、従来の GC 方式で全血サンプルを直接注入することは非常に困難です。中毒や曝露などの場合に見られる低分子質量アルコールやアルコール代謝物は他の血液マトリックスよりはるかに揮発性が高いため、ヘッドスペースサンプリングができる可能性があります。

サンブラを組み込んでサンプルの揮発性成分を抽出することで、サンプル前処理の手間や人的エラーを大幅に減らすこともできます。過去に実績のあるバルブおよびループ技術を活かした 8697 ヘッドスペースサンブラは、圧力制御、GC ドライバへの完全統合、操作性など、多くの点が改善されています。具体的には、ブラウザインタフェースやタッチスクリーン操作による段階的診断、正しいトレイ配置を確認するためのインジケータライト、トランスファーラインの強化などが挙げられます。また既存の 7697A ヘッドスペースパラメータとパラメータゾーンが類似しているため、シームレスに移行できます。^{1, 2, 3}

実験方法

Agilent 8890 GC とスプリット/スプリットレス注入口およびデュアル水素炎イオン化検出器 (FID) を組み合わせて構成し、Agilent 8697 ヘッドスペースサンブラからサンプルを受け取るようにしました。その他のシステム詳細については図 1 を、試験で使用した分析標準と消耗品については表 1 を参照してください。メソッド条件については表 2 を参照してく

ださい。0.1 % (v/v) の *t*-ブタノールを含む 1 L の水 (Millipore で分注) を、内部標準と溶媒用に調製しました。試験用ヘッドスペースバイアル内のサンプル量は 0.5 mL です (50 μ L の標準液を 450 μ L の水/*t*-ブタノール溶液に添加)。

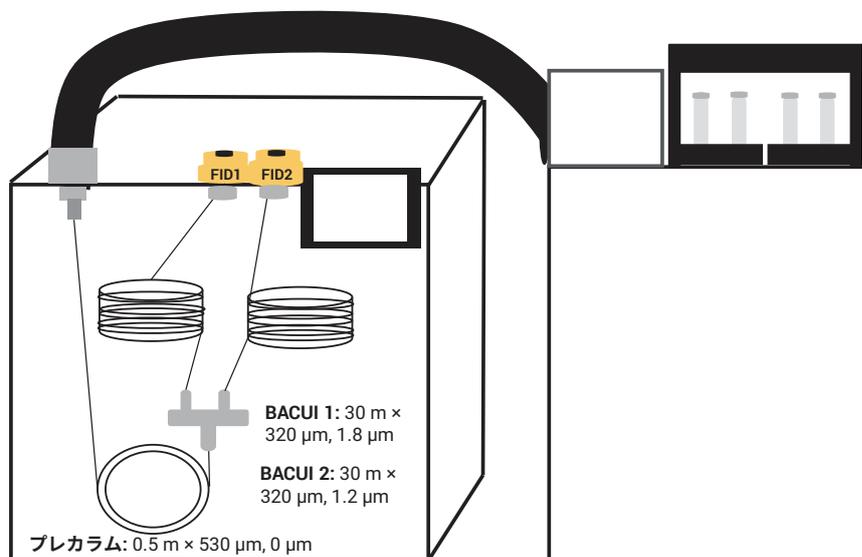


図 1. 試験用のヘッドスペース/GC システム構成の詳細

表 1. 試験で使用した機器の消耗品と標準液

消耗品		標準液		ベンダー	試験
20 mL バイアルおよびクリンキャップ	p/n 5190-2286	BAC 分析混合物	5190-9765	アジレント	分離度
GC ライナ (内径 2 mm)	p/n 5190-6168	エタノール検量線	G3440-85035	アジレント	直線性
トランスファーライン (不活性化フューズドシリカ)	内径 0.53 mm	<i>t</i> -ブタノール、>99 %	24127	Millipore/Sigma	
カラム		カスタム溶媒	カスタム	Restek	再現性
プレカラム: 0.5 m × 0.53 mm × 0 μ m	p/n 160-2535-10				
カラム 1: Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m × 0.32 mm × 1.8 μ m)	p/n 123-9334UI				
カラム 2: Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m × 0.32 mm × 1.2 μ m)	p/n 123-9434UI				

表 2. 試験用のヘッドスペースおよび GC 条件

8697 ヘッドスペース条件	
オープン温度	70 °C
ループ温度	80 °C
トランスファーライン温度	90 °C
バイアル平衡化時間	7 min
注入時間	1 min
バイアルサイズ	20 mL
バイアル充填モード	デフォルト
充填圧力	15 psi
加圧ガス	窒素
ループ充填モード	カスタム
最終ループ圧力	1.5 psi
ループの平衡化	0.05
ループ容量	1 mL
8890 GC 分析条件	
注入口温度	150 °C
スプリット比	10:1
モード	一定圧力
注入口圧力	21 psi (ヘリウム)
オープン	40 °Cで5分間保持
FID 温度 (両方)	250 °C
空気流量	400 mL/min
水素流量	30 mL/min
メークアップ (N ₂)	25 mL/min

結果と考察

3 つの試験で 8697 ヘッドスペースサンプラの性能（エタノールの直線性、バイアル間の再現性、BAC 混合標準液の分離度）を評価しました。

エタノールの直線性

0.02 ~ 0.4 mg/dL の間の 6 個のデータポイントを用いて検量線を作成しました。検量線の個々のプロットについては、図 2 を参照してください。曲線回帰は、内部標準、*t*-ブタノールを用いて、重み付けせずに相対比を比較して生成しました。エタノールの直線性試験を数回繰り返して実行しました。すべての R² 値が 0.9995 を超えていました。

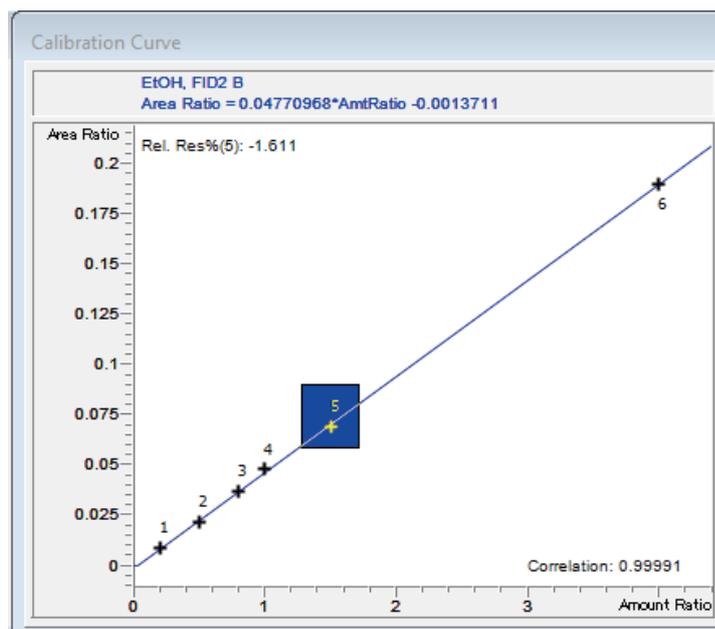
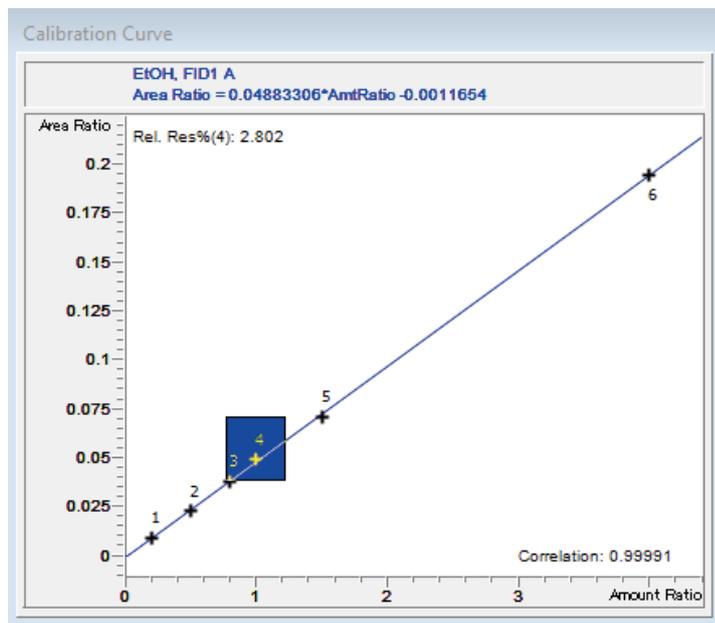


図 2. 0.02~0.4 mg/dL 範囲での両方の FID のエタノール検量線

再現性

水/内部標準に多成分溶液を添加して各ヘッドスペースバイアル中の溶液濃度を 0.05 mg/dL にし、これを用いて再現性を調査しました。表 3 に、12 回連続注入した場合の各化合物のリテンションタイムと再現性を示します（内部標準、*t*-ブタノールを参照）。

分離度

Agilent J&W DB-BAC1 と DB-BAC2 UI をペアとして確認用に使用すると、これらの条件での分離度が非常に高くなります。個々の化合物リストと分離度の要件によって、フローを加速したり減速したりすることができます。2 種類のカラムのクロマトグラムを図 3 に、リテンションタイムと分離度データを表 4 に示します。

表 3. BAC 混合標準液のバイアル間の再現性

化合物	FID 1		FID 2	
	RT	RRF	RT	RRF
メタノール	0.03 %	2.06 %	0.03 %	1.72 %
アセトアルデヒド	0.04 %	2.09 %	0.00 %	2.11 %
エタノール	0.00 %	2.16 %	0.02 %	1.69 %
イソプロパノール	0.02 %	1.49 %	0.03 %	1.34 %
アセトン	0.02 %	0.74 %	0.00 %	1.01 %
1-プロパノール	0.04 %	1.90 %	0.02 %	1.61 %
2-ブタノン	0.04 %	2.74 %	0.02 %	2.68 %

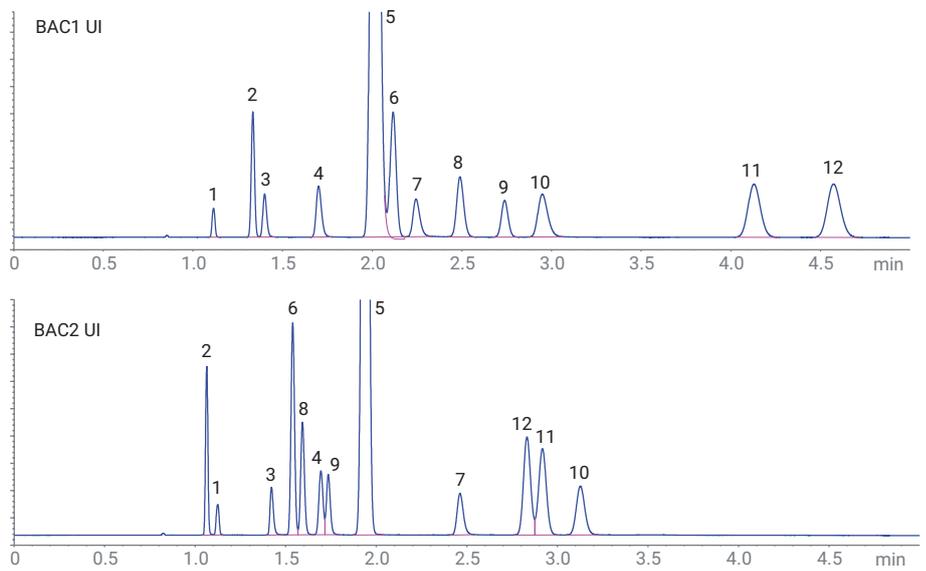


図 3. Agilent J&W DB-BAC1 UI および DB-BAC2 UI カラムにおける Agilent BAC 分析混合物の FID クロマトグラム

表 4. BAC1 UI および BAC2 UI カラムにおけるピーク ID、リテンションタイム、および分離度 (USP) の計算

ピーク インデックス	化合物名	RT BAC1 UI (min)	Rs BAC1 UI	RT BAC2 UI (min)	Rs BAC2 UI
1	メタノール	1.071		1.081	2.7
2	アセトアルデヒド	1.284	7.9	1.022	
3	エタノール	1.348	2.0	1.371	11.5
4	イソプロパノール	1.644	7.2	1.640	3.1
5	<i>t</i> -ブタノール	1.953	5.2	1.881	5.3
6	プロパノール	2.048	1.3*	1.485	4.1
7	<i>n</i> -プロパノール	2.175	2.0*	2.388	10.6
8	アセトン	2.412	3.8	1.538	1.8
9	アセトニトリル	2.65	3.9	1.674	1.1
10	2-ブタノール	2.867	3.0	3.043	3.3
11	酢酸エチル	4.027	12.4	2.84	1.6
12	2-ブタノン	4.456	4.1	2.753	7.1

分離度の表の値は、ターゲットピークとターゲット直前の化合物ピークの比較値です。プロパナールと *n*-プロパノールの分離度の値は手動で計算しました。エタノール標準溶液と分析混合標準液の間で *t*-ブタノール（内部標準）反応の一貫性を保つため、積分パラメータでテールスキムを適用しました。この変更により、USP 分解能の計算に必要な接線ピーク幅の自動計算が無効になりました（図 4）。2 つのカラム間で溶出順序が同じではないため、カラム 1 の低分解能化合物はカラム 2 でより分離され、この確認分析の補完的な性質を効果的に示しています。代わりに、*n*-プロパノールを内部標準として使用できます。

ピーク幅やピーク対称性などのピーク属性によって、システムや消耗品の全体的な状態を把握できます。8890 システムと Intuvo 9000 GC システムには、ピーク評価⁴ という機能があります。この機能を有効にすると、アプリケーションの主要機能のモニタリングが実行され、微細な差異がユーザーに通知されるため、生産性が低下する前に対処できます。簡単なファームウェアアップグレードによって、この機能を対象となる既存の GC メインフレームに追加できます。

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

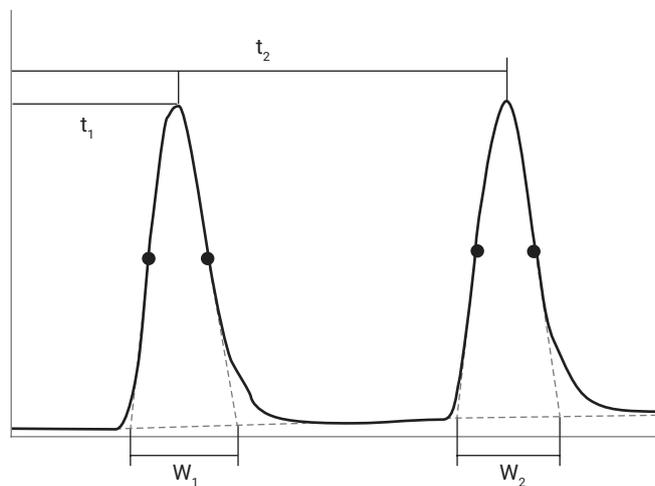


図 4. USP の分離度は、Agilent OpenLab ChemStation Edition、バージョン C.1.10 によって計算されました。

結論

Agilent 8697 ヘッドスペースサンブラは、Agilent 7697A サンブラ間のメソッド移管が容易であり、同等のパフォーマンスを備えています。さらに 8697 では、さまざまな機能が進化しています。例えば完全統合型ドライバの GC インテリジェンスの拡張、ユーザーによる診断機能の改善、ユーザー自身でメンテナンス、操作、トラブルシューティングを効率的に実行するための便利なリソースなどです。

参考文献

1. Agilent Intuvo 9000 GC システムを用いた血中アルコール濃度の分析. *Agilent Technologies application note*, publication number 5991-8999JAJ, **2020**.
2. Abercrombie, V. Agilent J&W DB-BAC1 ウルトラライナートと DB-BAC2 ウルトラライナートカラムによる血中アルコール濃度測定の実験的向上. *Agilent Technologies application note*, publication number 5991-8206JAJ, **2017**.
3. Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. 血中アルコール濃度の法医学分析. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0443JAJ, **2019**.
4. Agilent Technologies: GC Intelligence. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (accessed 16 February 2021).

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. 2021
Printed in Japan, March 8, 2021
5994-3126JAJ
RA44246.726412037