

## 血中アルコール濃度の法医学分析

Agilent J&W DB-BAC1 UI および Agilent J&W DB-BAC2 UI  
カラムと Agilent 8860 GC/Agilent 7697A ヘッドスペース  
サンプリャによる分析

### 著者

Lukas Wieder, Jie Pan, and  
Rebecca Veeneman  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808

### 概要

このアプリケーションノートでは、デュアル水素炎イオン化検出器 (FID) と Agilent 7697A ヘッドスペースサンプリャで構成した Agilent 8860 GC による血中アルコール濃度 (BAC) の測定について解説します。このシステムは、卓越した統計的性能、想定濃度範囲全体での直線性、複数注入における再現性が実証されました。スプリッタを実装し、Agilent J&W DB-BAC1 UI と Agilent J&W DB-BAC2 UI の 2 つのカラムでサンプル成分を同時に分離することにより、生産性が大幅に向上します。

## はじめに

BAC は血流中のエタノール（エチルアルコール）の濃度（%）に相当し、血液、尿、呼気の検査によって測定できます。BAC 分析は多くの法医学ラボにおいて、ヘッドスペースサンプリングと FID で構成される標準的なワークフローによるルーチンワークとなっています<sup>1</sup>。8860 GC システムは BAC などのルーチン分析に最適です。OpenLab CDS バージョン 2.2 と連動した 8860 GC で、HSS-デュアル FID などのシンプルなハードウェア構成を容易に実現でき、この構成はほとんどのメソッド要件に適合します。このアプリケーションノートでは、8860 GC、デュアル FID、7697A ヘッドスペースサンブラによる BAC の測定メソッドを説明します。

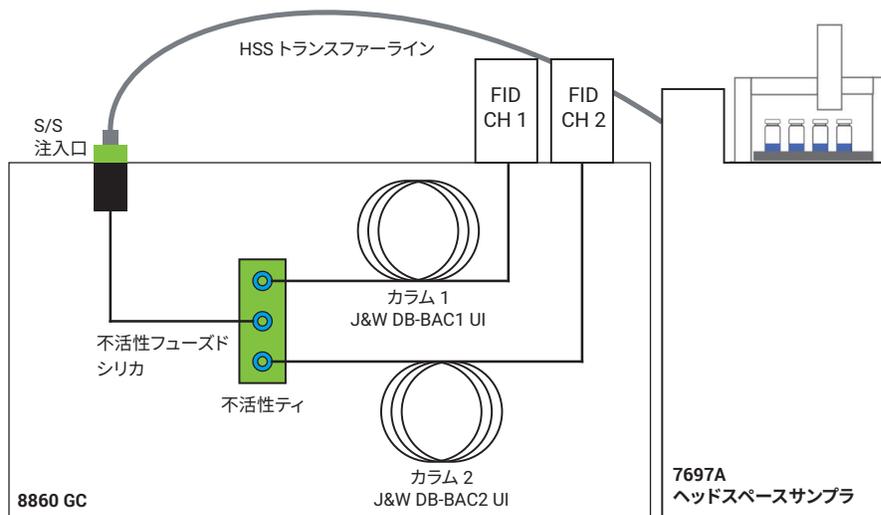


図 1. 血中アルコール濃度分析用のデュアルカラム/FID を用いた実験設定

## 実験方法

### 装置

8860 GC をスプリット/スプリットレス注入口 (SSL) とデュアル FID で構成し、7697A ヘッドスペースサンブラを使用してサンプリングを実行しました。

8860 GC ではパーズ無しフローデバイスを使用できます。今回は、不活性ティを取り付け、デュアルカラム、デュアル FID 構成で分析を実行しました。図 1 はこの構成を示したものです。

### 消耗品

表 1 は、このアプリケーションノートで使用した消耗品です。表 2 は、アジレントが提供するエタノール標準溶液です。これらの標準溶液は、組み合わせて正確な標準溶液を作成したり、個々に使用して検量線の正確さを確認したりするために使用できます。

表 1. このアプリケーションで使用した消耗品のリスト

| 消耗品  | 部品番号        |
|--|-------------|
| 10 mL、透明、クリンブトップ、ヘッドスペースバイアル                             | 5190-2285   |
| ウルトライナート、低圧力損失、ガラスウール入りスプリット注入口ライナ                       | 5190-2295   |
| 不活性ティ、キャピラリー・フロー・テクノロジー用                                 | G3184-60065 |
| カラム注入口フェラル (グラファイト、0.4 mm、0.25 mm カラム用)                  | 500-2114    |
| FID フェラル (グラファイト、0.5 mm、0.32 mm カラム用)                    | 5080-8853   |
| CFT フェラル (UltiMetal Plus フレキシブルメタルフェラル、内径 0.32 mm)       | G3188-27502 |
| Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m × 320 μm、1.8 μm)            | 123-9334UI  |
| Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m × 320 μm、1.2 μm)            | 123-9434UI  |
| 不活性フューズドシリカ、プレカラムから不活性ティ用 (30 m × 内径 250 μm × 外径 350 μm) | 160-2255-30 |

表 2. エタノール標準溶液の濃度とその部品番号

| 標準溶液      | 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 |

## 実験パラメータ

表 3 は、このアプリケーションノートで使用した GC とヘッドスペースサンブラのメソッドパラメータを示しています。

## サンプル前処理

標準溶液をバイアルで調整して、エタノール濃度が 10 ~ 320 mg/dL の範囲となるようにしました。内部標準の *n*-プロパノールを添加し、最終濃度を 100 mg/dL としました。

再現性を測定するために、100 mg/dL の内部標準を用いてエタノール標準溶液 (n = 10) を 15 mg/dL および 60 mg/dL で準備しました。

表 3. GC とヘッドスペースサンブラのパラメータ

| GC パラメータ       | 8860 GC                        |
|----------------|--------------------------------|
| キャリアガス         | ヘリウム                           |
| 注入口タイプ         | スプリット/スプリットレス                  |
| 注入口温度          | 110 °C                         |
| 注入口圧力          | 24 psi                         |
| スプリット比         | 10:1                           |
| オープンプログラム      | 40 °C で 4.5 分                  |
| FID            | 250 °C                         |
| ヘッドスペースのパラメータ  | 7697A ヘッドスペースサンブラ              |
| バイアル加圧ガス       | ヘリウム                           |
| ループサイズ         | 1 mL                           |
| バイアルのサイズ       | 10 mL                          |
| バイアル攪拌         | オフ                             |
| キャップ           | PTFE ライナ付き                     |
| バイアルスタンバイ流量    | 20 mL/min                      |
| バイアル平衡化時間      | 7.00 分                         |
| 注入時間           | 1.00 分                         |
| GC サイクルタイム     | 4.50 分                         |
| 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     | 内径 0.53 mm、不活性フューズドシリカ、セプタムを通す |
| トランスファーライン温度   | 90 °C                          |
| バイアル充填圧力       | 15 psi                         |
| ループ充填モード       | カスタム                           |
| 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                         |
| 注入後パージ         | 200 mL/min で 3 分               |
| GC によるキャリアガス制御 |                                |

## キャリブレーション/直線性

J&W DB-BAC1 UI カラムと J&W DB-BAC2 UI カラムでキャリブレーションを実行しました。最初にそれぞれのカラムで個別に実行した後、デュアルカラム、デュアル-FID 構成で実行しました。どちらの場合も、内部標準として 100 mg/dL の *n*-プロパノールを使用し、10、

20、40、80、160、320 mg/dL のエタノール水溶液について、6 レベルの検量線を収集しました。各レベルで繰り返し注入 ( $n = 3$ ) しました。図 2 と図 3 に、シングルカラム構成における J&W DB-BAC1 UI カラムと J&W DB-BAC2 UI カラムでのエタノールの検量線を示します。

カラムを個別にキャリブレーションした後、不活性ティを取り付けて検量線を同時に作成しました。図 4 と図 5 は、デュアルカラム、デュアル-FID の場合の検量線を示しています。

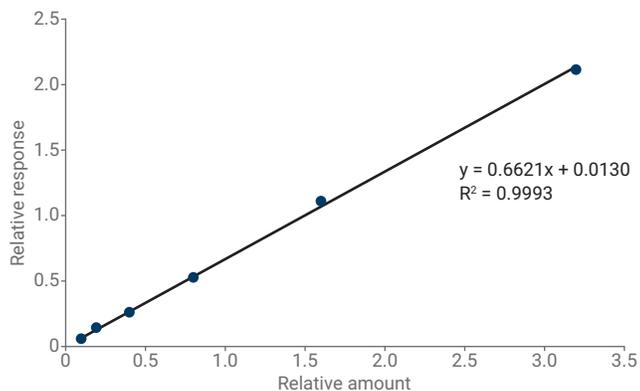


図 2. シングルカラム構成における J&W DB-BAC1 UI カラムでの内部標準に対するエタノールの検量線

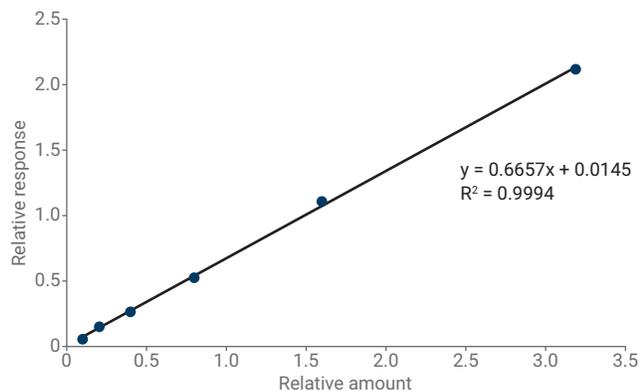


図 3. シングルカラム構成における J&W DB-BAC2 UI カラムでの内部標準に対するエタノールの検量線

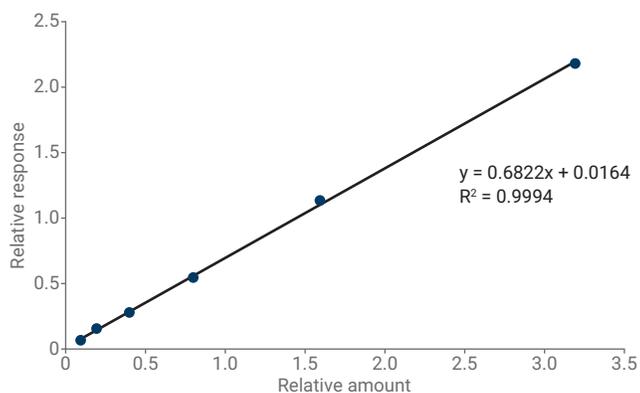


図 4. デュアルカラム構成における J&W DB-BAC1 UI カラムでの内部標準に対するエタノールの検量線

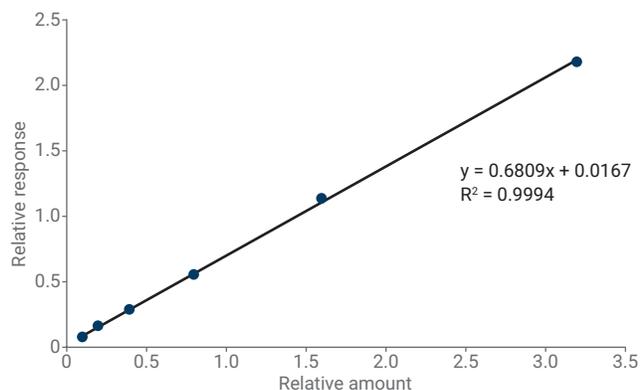


図 5. デュアルカラム構成における J&W DB-BAC2 UI カラムでの内部標準に対するエタノールの検量線

## 再現性

15 mg/dL と 60 mg/dL のそれぞれで、面積とリテンションタイムの再現性を計算しました (表 4 ~ 6)。

表 4 から、各濃度と各カラムの RSD が 2 % 未満であることが分かります。

化合物、カラム、濃度のすべての組み合わせで、リテンションタイムが基本的に一定して 0.07 % 未満に保持されました。

## BAC チェックアウト混合物を用いた汎用の分離能試験

J&W DB BAC1-UI カラムと J&W DB BAC2-UI カラムの性能を記録するために、デュアルカラム構成で Agilent BAC チェックアウト混合物 (p/n 5190-9765) を分析しました。図 6 は、J&W DB-BAC1 UI カラムと J&W DB-BAC2 UI カラムの両方での混合物内の化合物の分離を表すクロマトグラムです。

図 6 のクロマトグラムでは、BAC チェックアウト混合物中のアセトアルデヒドとエタノールを含む 12 種類の化合物すべてが両方のカラムで互いに分離されていることが分かります。両方のカラムで、すべてのピークが左右対称であることも示されています。

**表 4.** 各カラムにおける 15 mg/dL および 60 mg/dL の内部標準レスポンスに対するエタノールのレスポンスの 10 回注入での相対標準偏差 (RSD %)

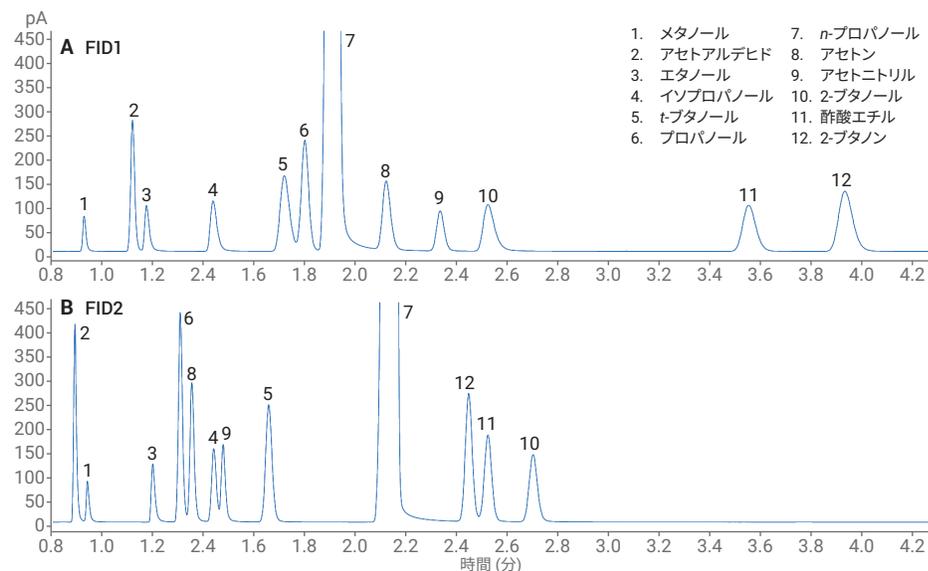
| カラム/エタノール濃度    | 15 mg/dL | 60 mg/dL |
|----------------|----------|----------|
| J&W DB-BAC1 UI | 1.33 %   | 1.08 %   |
| J&W DB-BAC2 UI | 1.25 %   | 1.10 %   |

**表 5.** 15 mg/dL および 60 mg/dL のエタノールの 10 回注入によるリテンションタイムの RSD %

| カラム/エタノール濃度    | 15 mg/dL | 60 mg/dL |
|----------------|----------|----------|
| J&W DB-BAC1 UI | 0.07 %   | 0.03 %   |
| J&W DB-BAC2 UI | 0.07 %   | 0.03 %   |

**表 6.** 15 mg/dL および 60 mg/dL エタノール濃度でのデータセットについての *n*-プロパノールの 10 回注入によるリテンションタイムの RSD %

| カラム/エタノール濃度    | 15 mg/dL | 60 mg/dL |
|----------------|----------|----------|
| J&W DB-BAC1 UI | 0.05 %   | 0.02 %   |
| J&W DB-BAC2 UI | 0.05 %   | 0.05 %   |



**図 6.** J&W DB-BAC1 UI (A) および J&W DB-BAC2 UI (B) カラムを使用して分離した BAC チェックアウト混合物のクロマトグラム

## 結論

8860 GC システムと 7697A ヘッドスペースサンプラを組み合わせることで、1 回の分析で血中のアルコール分析対象物の同定、定量、確認が可能です。また、多くのメソッドの要件を満たします。シングルカラム構成でもデュアルカラム構成でも、両方のカラムで優れた直線性が得られ、面積もリテンションタイムも精度が高く、目的の化合物すべてを互いに効果的に分離できます。8860 GC は、ルーチン分析においてエタノール濃度を経済的かつ効果的に測定するメソッドを提供します。

## 参考文献

1. Boswell, H. A.; Dorman, F. L. Uncertainty of Blood Alcohol Concentration (BAC) Results as Related to Instrumental Conditions: Optimization and Robustness of BAC Analysis Headspace Parameters. *Chromatography* **2015**, 2, 691–708.

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタムコンタクトセンタ

**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. 2019

Printed in Japan, January 8, 2019

5994-0443JAJP