

使用 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性色谱柱和 DB-BAC2 超高惰性色谱柱改善血醇浓度测定的分离度和峰形

应用简报

作者

Vanessa Abercrombie
安捷伦科技公司
Folsom, CA 95630, USA

摘要

本应用简报重点介绍了使用双通道血醇分析仪，采用 J&W DB-BAC1 超高惰性色谱柱和 DB-BAC2 超高惰性色谱柱，通过静态顶空 GC/FID 分析血醇浓度。不论是体检还是尸检样本的血醇浓度分析，DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI 都能对化合物显示出良好的分离度。

前言

顶空气相色谱最常用用于测定血液中的乙醇浓度。本文中的分析使用酒驾人员的血液样本，通用阈值是 0.08 g/dL [1]。使用正丙醇或叔丁醇为内标进行定量分析，由于其与乙醇的特性相似，有助于补偿基质效应。与外标法相比，使用内标法校准乙醇浓度的百分比误差更小。

通常使用固定相不同的两种色谱柱进行分析，以便获得更可靠的数据。本研究重点介绍使用 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性色谱柱和 Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性色谱柱提高多种化合物的分离度，以及在长时间内保持惰性。



Agilent Technologies

材料与方法

使用带分流/不分流进样口的 Agilent 7890B GC/双 FID、带顶空控制软件 ChemStation (B.01.04 版) 的 Agilent 7697A 顶空进样器和用于气相色谱系统的 Agilent OpenLab CDS ChemStation 软件 (C.01.05 版) 进行 GC/FID 实验。

实验

| 参数 | 值 |
|---------------|--|
| 气相色谱条件 | |
| 色谱柱: | Agilent J&W DB-BAC1 UI, 30 m × 0.32 mm, 1.8 μm (部件号: 123-9334UI) Agilent J&W DB-BAC2 UI, 30 m × 0.32 mm, 1.2 μm (部件号: 123-9434UI) |
| 载气: | 氮气, 恒流, 6 mL/min |
| 柱温箱: | 40 °C (5.00 min) |
| 进样口: | 分流模式, 210 °C, 分流比 20:1 |
| 进样口衬管: | 超高惰性直型衬管, 75 mm (部件号 5190-4048) |
| GC/FID: | Agilent 7890B GC, 配置双 FID |
| 进样器: | Agilent 7697A 顶空进样器, 带 108 位样品盘 |
| FID 条件 | |
| 温度: | 250 °C |
| 氢气: | 30 mL/min |
| 空气: | 350 mL/min |
| 色谱柱气流 + | 35 mL/min |
| 尾吹气流: | |
| HS 条件 | |
| 柱温箱: | 70 °C (平衡 15 min) |
| 定量环: | 80 °C |
| 传输线: | 90 °C |
| 流路备件 | |
| 样品瓶: | 平底顶空钳口样品瓶, 20 mL (部件号 5182-0837, 100/包) |
| 样品瓶盖: | 钳口瓶盖和隔垫, PTFE/硅橡胶, 20 mm (部件号 5183-4478, 100/包) |
| 传输线: | 脱活熔融石英, 内径 0.45 mm (部件号 160-2455) |
| 三通接头: | 微板流路控制技术, 两通未吹扫分流器 (部件号 G3181B) |
| 隔垫: | 流失与温度优化 (BTO) 的 11 mm 隔垫 (部件号 5183-4757, 50/包) |
| 分流平板: | 超高惰性分流平板 (部件号 5190-6145, 10/包) |
| CFT 密封垫圈: | 可塑金属密封垫圈 (部件号 G3188-27502, 用于内径 0.32 mm 的色谱柱, 10/包) |
| 进样口/FID: | 85:15 Vespel:石墨密封圈 (部件号 5062-3514, 10/包) |

标样

校准标样

表 1. 乙醇校准标样

| 部件号 | 名称 | 说明 |
|-----------|-----------------|---|
| 5190-9756 | 乙醇 20 mg/dL 标样 | 乙醇 20 mg/dL 或 0.2 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9757 | 乙醇 50 mg/dL 标样 | 乙醇 50 mg/dL 或 0.5 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9758 | 乙醇 80 mg/dL 标样 | 乙醇 80 mg/dL 或 0.8 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9759 | 乙醇 100 mg/dL 标样 | 乙醇 100 mg/dL 或 1.0 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9760 | 乙醇 150 mg/dL 标样 | 乙醇 150 mg/dL 或 1.5 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9761 | 乙醇 200 mg/dL 标样 | 乙醇 200 mg/dL 或 2.0 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9762 | 乙醇 300 mg/dL 标样 | 乙醇 300 mg/dL 或 3.0 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |
| 5190-9763 | 乙醇 400 mg/dL 标样 | 乙醇 400 mg/dL 或 4.0 g/L, 溶于水, (1 mL × 10) |

分离度混标

安捷伦血醇校验混标 (部件号 5190-9765) 各组分 50 mg/dL, 溶于水, 共 1 mL。

表 2. 安捷伦血醇校检混标 (部件号 5190-9765) 中包含的目标化合物

| 序号 | 化合物 | 序号 | 化合物 |
|----|-----------------------|----|------------------------------------|
| 1 | 甲醇 (MeOH) | 7 | 正丙醇 (<i>n</i> -C ₃ OH) |
| 2 | 乙醛 | 8 | 丙酮 |
| 3 | 乙醇 (EtOH) | 9 | 乙腈 (ACN) |
| 4 | 异丙醇 (IPA) | 10 | 2-丁醇 (2-BuOH) |
| 5 | 叔丁醇 (<i>t</i> -BuOH) | 11 | 乙酸乙酯 (EtAc) |
| 6 | 丙醛 | 12 | 2-丁酮 |

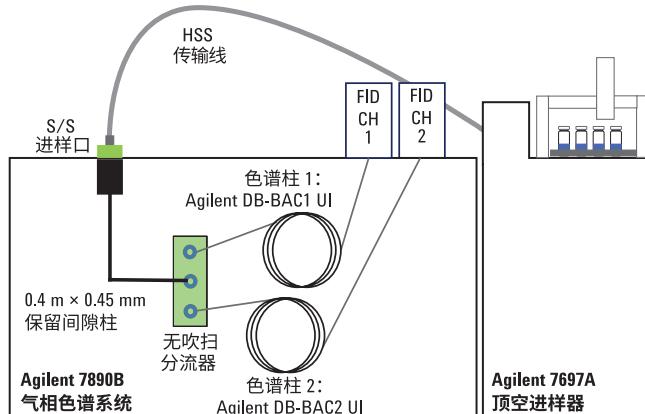


图 1. 测定血醇的安捷伦双柱/FID 的实验设置

样品前处理

实验中使用安捷伦参比标样。标样的前处理步骤同样品，即将 500 μL 各参比标样溶液加入 4.5 mL 去离子水和 5 mL 经稀释的内标物中。

将叔丁醇或正丙醇（购自 Fluka 公司）用去离子水稀释制得 1.5 g/dL 的内标储备液。再将该储备液经去离子水稀释至 0.150 g/dL 的最终工作浓度，制得工作溶液装入样品瓶。根据样品前处理程序制备已知浓度的乙醇校准标样和分离度混标。

结果与讨论

图 2 和图 3 显示了含 12 种不同化合物的安捷伦血醇校检混标通过 DB-BAC1 UI (FID1) 和 DB-BAC2 UI (FID 2) 获得的色谱图。在定性鉴定时，每种标样的保留时间都能准确匹配其相应单独标样的保留时间。所有 12 种化合物在 DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI 上都能完全分离，并且流出顺序清楚可辨，方便进行色谱峰鉴定。该双柱方法的一个优点在于乙醇和其他化合物在两个固定相上的流出顺序不同。这种方法为我们提供了额外的确认信息，还进一步减少了干扰，同时降低了其他醇类与乙醇共洗脱的可能。

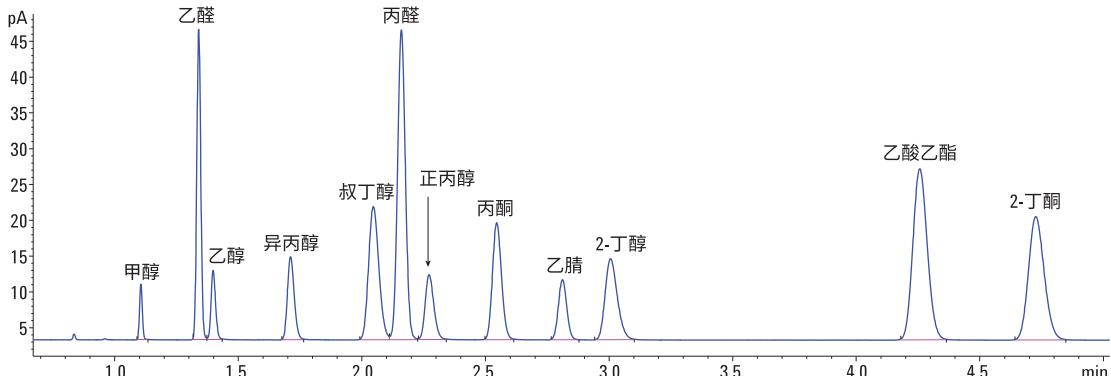


图 2. 使用 FID1、Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性气相色谱柱分离混标

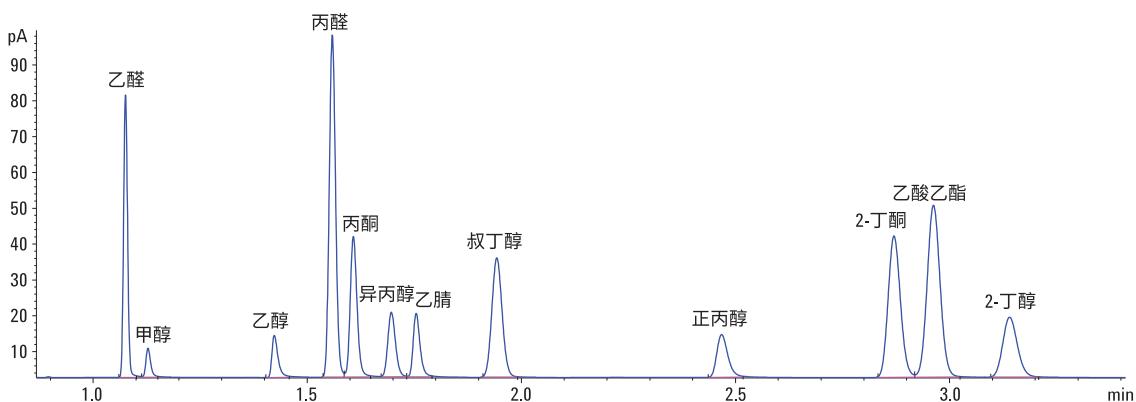


图 3. 使用 FID2、Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性气相色谱柱分离混标

重现性和分离度研究

图 4 显示了在超过 175 次进样的分析中，第一次与最后一次进样血醇校验混标所得到的乙醛和乙醇分离度的偏移放大图。在此期间，分离度和峰形保持一致，显示了这些色谱柱具有很长的使用寿命和出色的稳定性。

进样 100 次后，将包含 12 种组分的分离度混标在 DB-BAC1 超高惰性色谱柱（表 3）和 DB-BAC2 超高惰性色谱柱（表 4）上都重复运行 10 次。所有化合物的 %RSD 均小于 0.1%，其中多数小于 0.05%，显示了 DB-BAC1 超高惰性色谱柱和 DB-BAC2 超高惰性色谱柱在很长一段时间都能保持良好的重现性与稳定性。

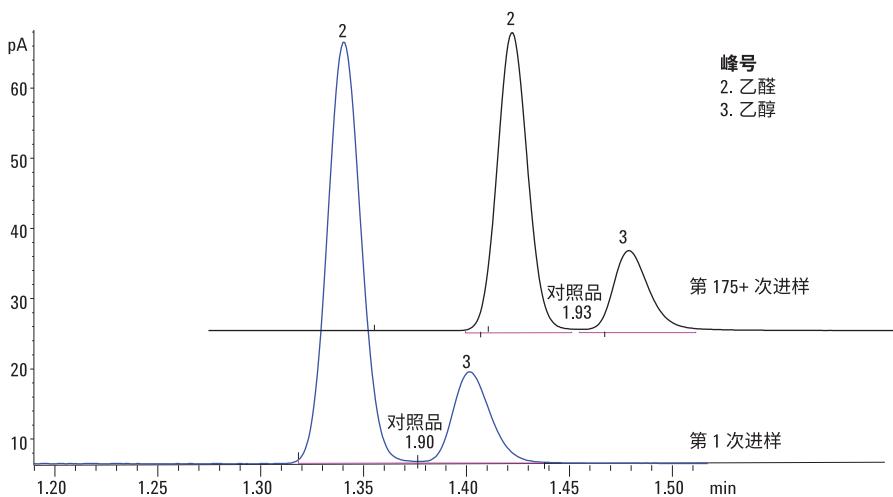


图 4. 乙醛和乙醇分离的放大图，含 12 种组分的分离度混标在 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性气相色谱柱和 FID1 上第 1 次与最后一次进样（总进样次数大于 175）的偏移视图

表 3. 进样 100 次后，含 12 种组分的混标在 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性色谱柱和 FID1 上连续 10 次重复运行的分析结果

| | 重复测定次数 | | | | | | | | | | 平均值 | %RSD |
|------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| 甲醇 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 1.107 | 0.000 |
| 乙醛 | 1.340 | 1.340 | 1.341 | 1.340 | 1.341 | 1.341 | 1.341 | 1.340 | 1.341 | 1.340 | 1.341 | 0.039 |
| 乙醇 | 1.402 | 1.402 | 1.403 | 1.402 | 1.403 | 1.403 | 1.403 | 1.403 | 1.403 | 1.403 | 1.403 | 0.034 |
| 异丙醇 | 1.717 | 1.718 | 1.718 | 1.718 | 1.719 | 1.719 | 1.719 | 1.719 | 1.719 | 1.718 | 1.718 | 0.041 |
| 叔丁醇 | 2.054 | 2.055 | 2.055 | 2.055 | 2.056 | 2.055 | 2.056 | 2.055 | 2.056 | 2.055 | 2.055 | 0.031 |
| 丙醛 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 2.162 | 0.000 |
| 正丙醇 | 2.281 | 2.282 | 2.283 | 2.283 | 2.284 | 2.284 | 2.285 | 2.284 | 2.285 | 2.284 | 2.284 | 0.056 |
| 丙酮 | 2.551 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.552 | 2.551 | 2.552 | 0.017 |
| 乙腈 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.815 | 2.814 | 2.815 | 0.011 |
| 2-丁醇 | 3.019 | 3.020 | 3.021 | 3.021 | 3.023 | 3.023 | 3.024 | 3.023 | 3.024 | 3.023 | 3.022 | 0.057 |
| 乙酸乙酯 | 4.267 | 4.267 | 4.267 | 4.267 | 4.268 | 4.268 | 4.268 | 4.268 | 4.268 | 4.267 | 4.268 | 0.012 |
| 2-丁酮 | 4.739 | 4.739 | 4.740 | 4.740 | 4.740 | 4.740 | 4.740 | 4.739 | 4.740 | 4.739 | 4.740 | 0.011 |

表 4. 进样 100 次后，含 12 种组分的混标在 Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性色谱柱和 FID2 上连续 10 次重复分析的结果

| | 重复测定次数 | | | | | | | | | | 平均值 | %RSD |
|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | | |
| 乙醛 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 1.075 | 0.000 |
| 甲醇 | 1.129 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 1.130 | 0.028 |
| 乙醇 | 1.426 | 1.427 | 1.427 | 1.426 | 1.428 | 1.427 | 1.428 | 1.427 | 1.428 | 1.426 | 1.427 | 0.057 |
| 丙醛 | 1.559 | 1.559 | 1.559 | 1.559 | 1.559 | 1.559 | 1.559 | 1.558 | 1.559 | 1.558 | 1.559 | 0.027 |
| 丙酮 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 1.609 | 0.000 |
| 异丙醇 | 1.700 | 1.701 | 1.701 | 1.701 | 1.702 | 1.701 | 1.702 | 1.701 | 1.702 | 1.700 | 1.701 | 0.043 |
| 乙腈 | 1.755 | 1.755 | 1.755 | 1.755 | 1.756 | 1.755 | 1.756 | 1.755 | 1.756 | 1.755 | 1.755 | 0.028 |
| 叔丁醇 | 1.948 | 1.948 | 1.948 | 1.948 | 1.949 | 1.948 | 1.949 | 1.948 | 1.949 | 1.948 | 1.948 | 0.025 |
| 正丙醇 | 2.475 | 2.475 | 2.476 | 2.475 | 2.476 | 2.476 | 2.476 | 2.475 | 2.477 | 2.475 | 2.476 | 0.028 |
| 甲基乙基酮 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.873 | 2.872 | 2.873 | 0.011 |
| 乙酸乙酯 | 2.965 | 2.965 | 2.965 | 2.965 | 2.965 | 2.965 | 2.965 | 2.964 | 2.965 | 2.964 | 2.965 | 0.014 |
| 2-丁醇 | 3.150 | 3.150 | 3.150 | 3.150 | 3.151 | 3.150 | 3.151 | 3.150 | 3.151 | 3.149 | 3.150 | 0.020 |

校准和内标选择

图 5 和图 6 显示了两种内标法的校准曲线。图 5A 和图 5B 显示了当使用叔丁醇为内标时校准标样的线性。

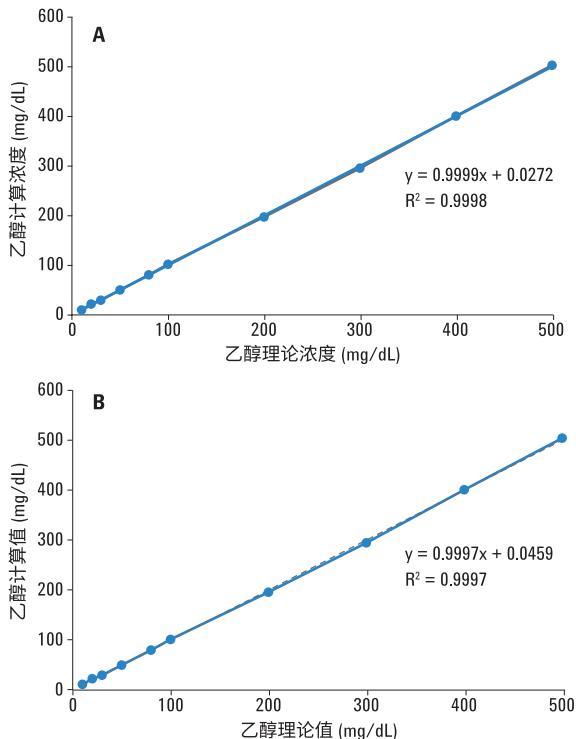


图 5. 使用叔丁醇作为内标在 FID1 (A) 和 FID 2 (B) 上得到的校准曲线

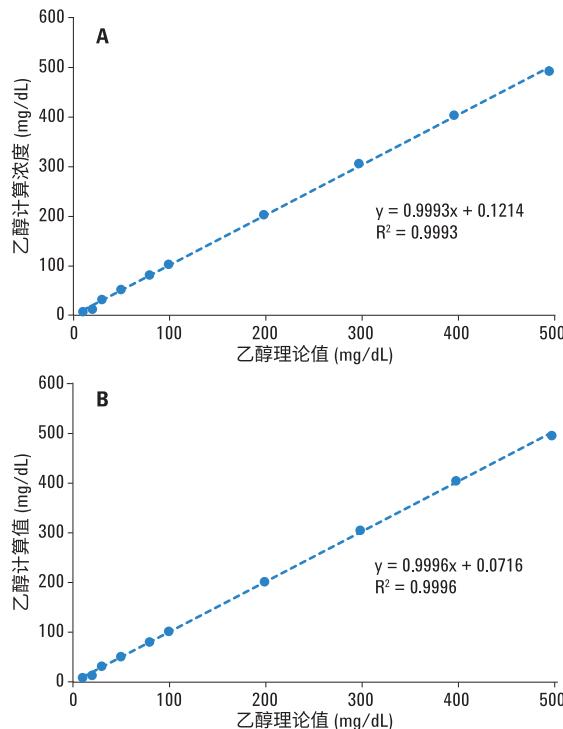


图 6. 使用正丙醇作为内标在 FID1 (A) 和 FID 2 (B) 上得到的校准曲线

由于叔丁醇熔点较低 (25-26 °C)，很难用于温度控制不太理想的实验室中。使用高浓度的储备液 (1.5 g/dL) 有助于使叔丁醇溶解并保持溶液状态，使其更容易准确稀释并用作工作内标溶液。

虽然正丙醇仍然比叔丁醇有更高的响应因子，不过这两种内标法在与乙醇校准标样联用时都显示出极佳的线性。

结论

本文评估了通过 Agilent J&W DB-BAC1 超高惰性 30 m × 0.32 mm, 1.8 μm 和 Agilent J&W DB-BAC2 超高惰性 30 m × 0.32 mm, 1.2 μm 色谱柱使用含 12 种组分的混标用于水性基质中血醇浓度分析的方法。使用了正丙醇和叔丁醇两种内标，并且在乙醇的校准中没有发现显著差异。

在使用静态顶空 GC/FID 双柱（DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI）、双 FID 配置分析血醇浓度时，正丙醇和叔丁醇都可用作内标法。

采用双柱配置时，DB-BAC1 UI 和 DB-BAC2 UI 色谱柱具有更高的惰性，使 11 种与潜在干扰物质有关的额外化合物产生更好的峰形和分离度。

参考文献

1. K. Lynam, F. Droman, H. Boswell, 使用双柱/双 FID 精确、高重现地测定血醇，应用简报，安捷伦科技公司，出版号 5991-3671CHCN, 2013

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

用于法医鉴定。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2017
2017 年 6 月 6 日，中国出版
5991-8206CHCN



Agilent Technologies