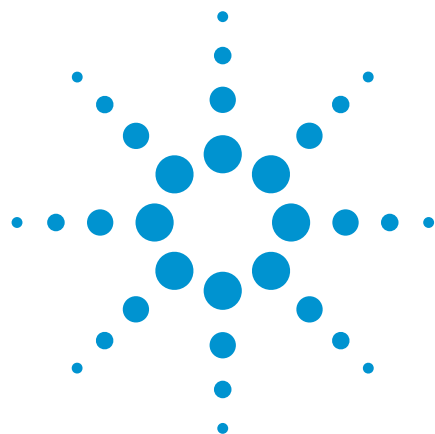




Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナートと DB-BAC2 ウルトライナートカラムによる 血中アルコール濃度測定 の分離能と ピーク形状の向上

アプリケーションノート

著者

Vanessa Abercrombie
Agilent Technologies, Inc.
Folsom, CA 95630, USA

概要

このアプリケーションノートは、デュアルチャネル血中アルコールアナライザを使用した静的ヘッドスペース GC/FID による血中アルコール濃度分析での Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナートおよび DB-BAC 2 ウルトライナートカラムの使用に焦点を当てています。DB-BAC1 UI および DB-BAC2 UI は、生体および死亡時の血中アルコール濃度の分析で対象となる化合物に対して適切な分離能を示します。

はじめに

ヘッドスペースガスクロマトグラフィーのアプリケーションで普及しているものの 1 つに、血中のエタノール濃度の測定があります。この分析は、飲酒運転の嫌疑をかけられた人々から得たサンプルを分析しました。一般的な閾値は 0.08 g/dL です [1]。定量分析用の内部標準、*n*-プロパノールまたは *t*-ブタノールの使用により、エタノールとの類似性から、マトリックスの違いに対する補正が促進されました。エタノールのキャリブレーションのための内部標準メソッドの使用により、外部標準メソッドと比べて、パーセント誤差が低減しました。

分析は多くの場合、データの信頼性を高めるために、固定相が異なる 2 種類のカラムを使用して実施されます。今回の調査では、追加の化合物の分離能を向上させ、経時的な不活性度を改善するための、Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナートと Agilent J&W DB-BAC2 ウルトライナートの使用に焦点を当てています。



Agilent Technologies

サンプルおよび実験方法

GC/FID の実験では、スプリット／スプリットレス注入口を搭載した Agilent 7890B GC/デュアル FID と、Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラとヘッドスペースコントロールソフトウェア Chemstation Edition B.01.04、GC システム用 Agilent OpenLab CDS Chemstation Edition for C.01.05 ソフトウェアを使用しました。

分析条件

パラメータ	内容
GC 条件	
カラム	Agilent J&W DB-BAC1 UI、30 m × 0.32 mm、1.8 μm (p/n 123-9334UI) Agilent J&W DB-BAC2 UI、30 m × 0.32 mm、1.2 μm (p/n 123-9434UI)
キャリア:	ヘリウム、定流量、6 mL/分
オープン:	40 °C (5.00 分)
注入口:	スプリットモード、210 °C、スプリット比 20:1
注入口ライナ:	ウルトライナーナートストレートライナ、75 mm (p/n 5190-4048)
GC/FID:	Agilent 7890B GC、デュアル FID 付
サンブラ:	Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ、108 ポジショントレイ付
FID 条件	
温度:	250 °C
水素:	30 mL/分
空気:	350 mL/分
カラム + メーク	35 mL/分
アップガス:	
ヘッドスペースサンブラ条件	
オープン:	70 °C (15 分 平衡化)
ループ:	80 °C
トランスファー	90 °C
ライン:	
使用した消耗品	
バイアル:	平底クリンキャップヘッドスペースバイアル、20 mL (p/n 5182-0837、100 個)
バイアルキャップ:	クリップキャップとセプタム、PTFE/シリコン、20 mm (p/n 5183-4478、100 個)
トランスファー	不活性化フーズドシリカ、内径 0.45 mm (p/n 160-2455)
ライン:	
ティフィッティング:	キャピラリフローテクノロジー、パージなし 2 ウェイスプリッタ (p/n G3181B)
セプタム:	ブリード/温度最適化、BTO 11 mm セプタム (p/n 5183-4757、50 個)
ゴールドシール:	ウルトライナーナートゴールドシール (p/n 5190-6145、10 個)
CFT フェーラル:	フレキシブルメタルフェーラル (p/n G3188-27502、内径 0.32 カラム用、10 個;
注入口/FID:	85:15 ポリイミド: グラファイトフェーラル (p/n 5062-3514、10 個)

標準液

キャリブレーション溶液

表 1.Agilent エタノール標準液

部品番号	品名	説明
5190-9756	エタノール 20 mg/dL 標準	エタノール 20 mg/dL または 0.2 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9757	エタノール 50 mg/dL 標準	エタノール 50 mg/dL または 0.5 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9758	エタノール 80 mg/dL 標準	エタノール 80 mg/dL または 0.8 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9759	エタノール 100 mg/dL 標準	エタノール 100 mg/dL または 1.0 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9760	エタノール 150 mg/dL 標準	エタノール 150 mg/dL または 1.5 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9761	エタノール 200 mg/dL 標準	エタノール 200 mg/dL または 2.0 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9762	エタノール 300 mg/dL 標準	エタノール 300 mg/dL または 3.0 g/L、水溶液、(1 mL × 10)
5190-9763	エタノール 400 mg/dL 標準	エタノール 400 mg/dL または 4.0 g/L、水溶液、(1 mL × 10)

分析混合物

Agilent 血中アルコールチェックアウト混合物 (p/n 5190-9765) 各 50 mg/dL、水溶液中、1 mL

表 2.Agilent 血中アルコールチェックアウト混合物 (p/n 5190-9765) 中のターゲット化合物

番号	化合物	番号	化合物
1	メタノール (MeOH)	7	<i>n</i> -プロパノール (<i>n</i> -C ₃ OH)
2	アセトアルデヒド	8	アセトン
3	エタノール (EtOH)	9	アセトニトリル (ACN)
4	イソプロパノール (IPA)	10	2-ブタノール (2-BuOH)
5	<i>t</i> -ブタノール (<i>t</i> -BuOH)	11	酢酸エチル (EtAc)
6	プロパナール	12	2-ブタノン

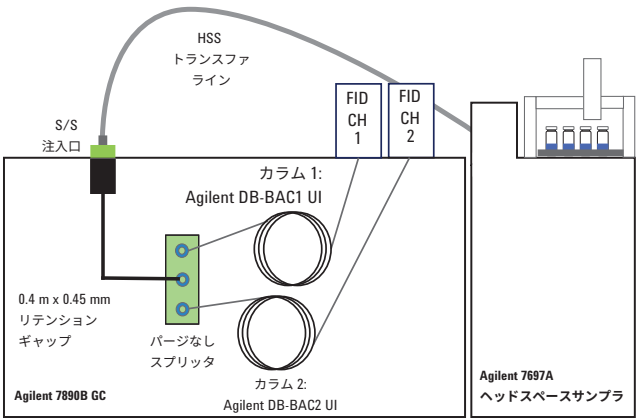


図 1. 血中アルコール検出用の Agilent デュアルカラム/FID を用いた実験設定

サンプル前処理

実験では、アジレントの混合参照標準を使用しました。これらの標準は、すべてのサンプルで使用されるサンプル前処理プロセスが施されました。つまり、500 μ L の各混合参照標準を 4.5 mL の脱イオン水および 5 mL の希釈済み内部標準に加えました。

t-ブタノールまたは *n*-プロパノール (Fluka) の 1.5 g/dL 内部標準原液を脱イオン水で希釈して準備しました。この原液を、脱イオン水で希釈して最終濃度の 0.150 g/dL とし、サンプル溶液をバイアルに準備しました。既知のエタノール標準液と分析混合物をサンプル前処理プロセスに従って準備しました。

結果と考察

図 2 と 3 は、12 種類の個別の化合物を含む Agilent 血中アルコールチェックアウト混合溶液について、DB-BAC1 UI (FID1) と DB-BAC2 UI (FID 2) から得られたクロマトグラムを示しています。各標準は、定性的同定において、相当する標準リテンションタイムと正確に一致しました。DB-BAC1 UI および DB-BAC2 UI の両方で、12 種類すべての化合物が適切に分離され、明確な溶出順序でピーク同定を実現しました。デュアルカラム手法には、2 つの固定相においてエタノールとその他の化合物の溶出順序が異なるという利点があります。また、高いレベルの確証が得られ、エタノールとの干渉や共溶出がさらに低減します。

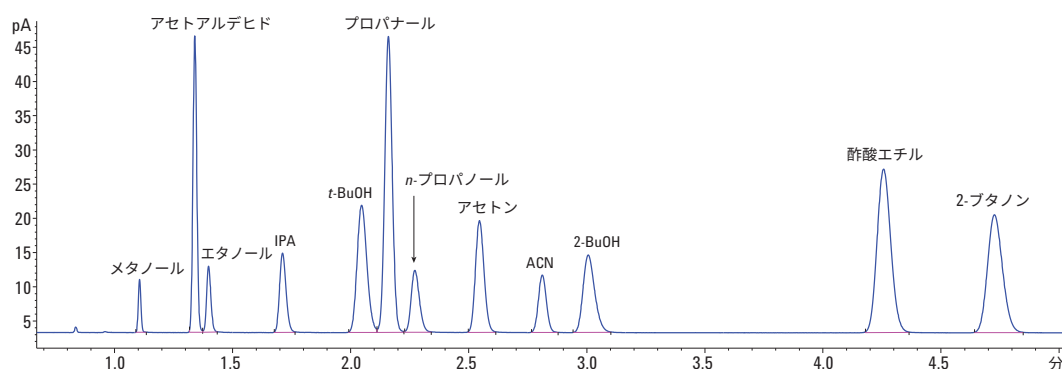


図 2. Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナート GC カラムと FID1 での分析混合物

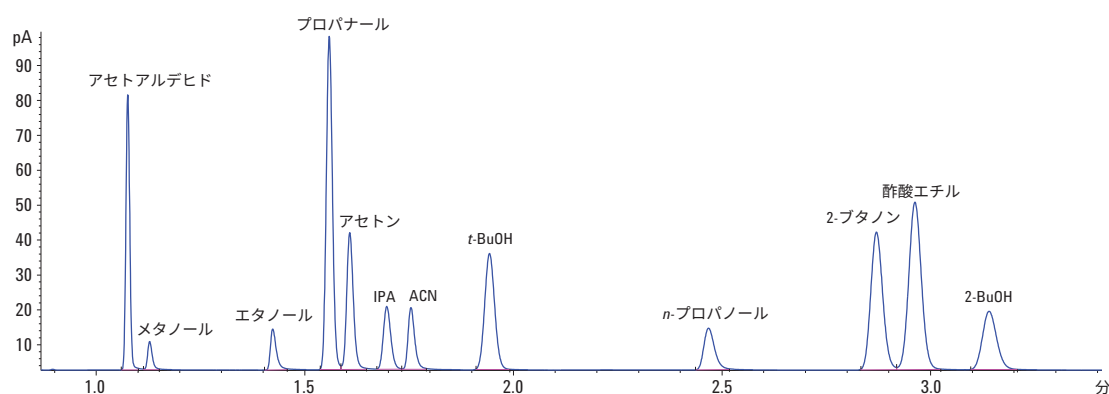


図 3. Agilent J&W DB-BAC2 ウルトライナート GC カラムと FID2 での分析混合物

再現性と分離能の調査

図 4 は、175 回以上注入した血中アルコールチェックアウト混合物の最初と最後の注入から得たアセトアルデヒドとエタノールの間の分離能のオフセット拡大図を示しています。最初から最後まで注入において、分離能とピーク形状は一定で、カラムの優れた耐久性および堅牢性が示されています。

100 回以上の注入に対して 12 成分の溶液混合物の 10 回繰り返し分析を DB-BAC1 ウルトライナートカラム (表 3) と DB-BAC2 ウルトライナートカラム (表 4) で実施しました。すべての化合物の % RSD は 0.1 % 未満、大部分は 0.05 % 未満で、DB-BAC1 ウルトライナートと DB-BAC2 ウルトライナートカラムの長時間にわたっての再現性と安定性が示されました。

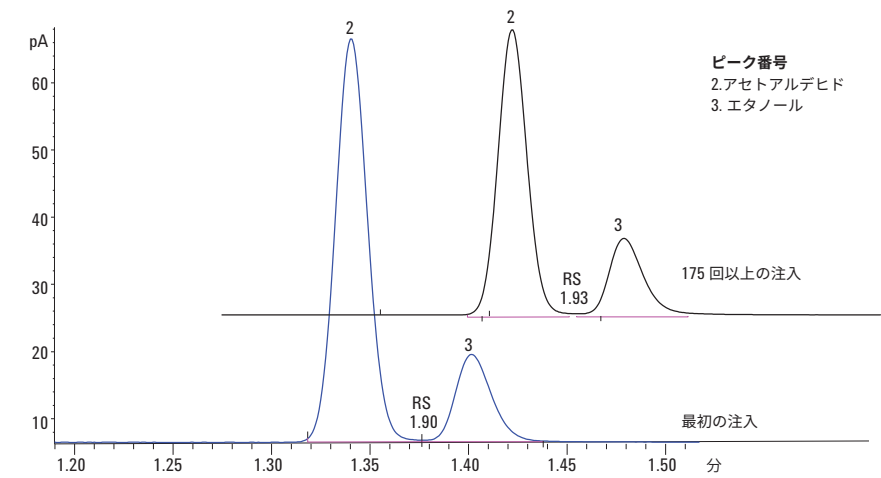


図 4. Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナートカラムと FID1 での 12 成分の分析混合物の
アセトアルデヒドとエタノールとの分離能、最初と 175 回以上を注入した後のオフセット

表 3. Agilent J&W DB-BAC1 ウルトライナートカラムと FID1 による、12 成分混合物の 100 回注入での 10 回繰り返し分析

	繰り返し分析番号										平均値	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
メタノール	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	0.000
アセトアルデヒド	1.340	1.340	1.341	1.340	1.341	1.341	1.341	1.340	1.341	1.340	1.341	0.039
EtOH	1.402	1.402	1.403	1.402	1.403	1.403	1.403	1.403	1.403	1.403	1.403	0.034
IPA	1.717	1.718	1.718	1.718	1.719	1.719	1.719	1.719	1.719	1.718	1.718	0.041
t-BuOH	2.054	2.055	2.055	2.055	2.056	2.055	2.056	2.055	2.056	2.055	2.055	0.031
プロパナール	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	0.000
n-C ₃ OH	2.281	2.282	2.283	2.283	2.284	2.284	2.285	2.284	2.285	2.284	2.284	0.056
アセトン	2.551	2.552	2.552	2.552	2.552	2.552	2.552	2.552	2.552	2.551	2.552	0.017
ACN	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-BuOH	3.019	3.020	3.021	3.021	3.023	3.023	3.024	3.023	3.024	3.023	3.022	0.057
EtAc	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-ブタノン	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. Agilent J&W DB-BAC2 ウルトラライナートカラムと FID2 による、12 成分混合物の100 回注入での 10 回繰り返し分析

	繰り返し分析番号										平均値	RSD (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
アセトアルデヒド	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	0.000
メタノール	1.129	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	1.130	0.028
EtOH	1.426	1.427	1.427	1.426	1.428	1.427	1.428	1.427	1.428	1.426	1.427	0.057
プロパナール	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.558	1.559	1.558	1.559	0.027
アセトン	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	1.609	0.000
IPA	1.700	1.701	1.701	1.701	1.702	1.701	1.702	1.701	1.702	1.700	1.701	0.043
ACN	1.755	1.755	1.755	1.755	1.756	1.755	1.756	1.755	1.756	1.755	1.755	0.028
<i>t</i> -BuOH	1.948	1.948	1.948	1.948	1.949	1.948	1.949	1.948	1.949	1.948	1.948	0.025
<i>n</i> -C ₃ OH	2.475	2.475	2.476	2.475	2.476	2.476	2.476	2.475	2.477	2.475	2.476	0.028
MEK	2.873	2.873	2.873	2.873	2.873	2.873	2.873	2.873	2.873	2.872	2.873	0.011
EtAc	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-BuOH	3.150	3.150	3.150	3.150	3.151	3.150	3.151	3.150	3.151	3.149	3.150	0.020

キャリブレーションと内部標準の選択

図 5 と 6 は、2 種類の内部標準手法における検量線を示しています。図 5A と 5B は、*t*-ブタノールを内部標準として使用した場合の標準液の直線性を示しています。

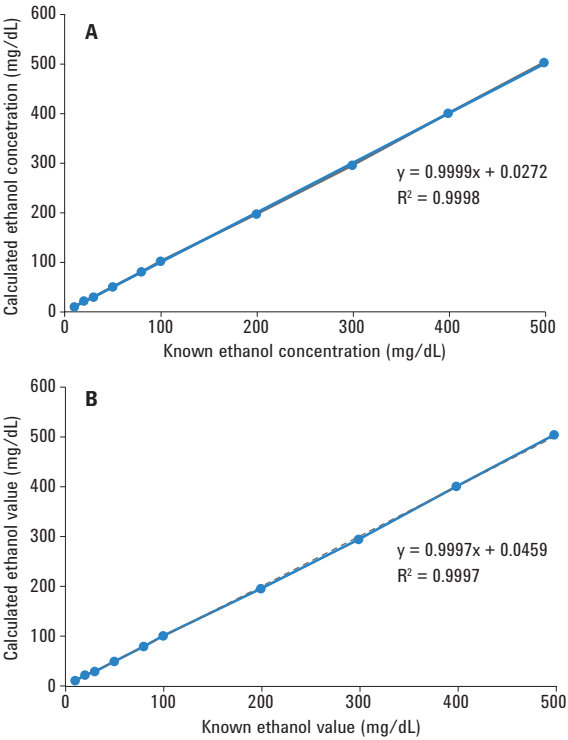


図 5. FID1 (A) および FID 2 (B) での *t*-ブタノールを内部標準として使用した場合の検量線

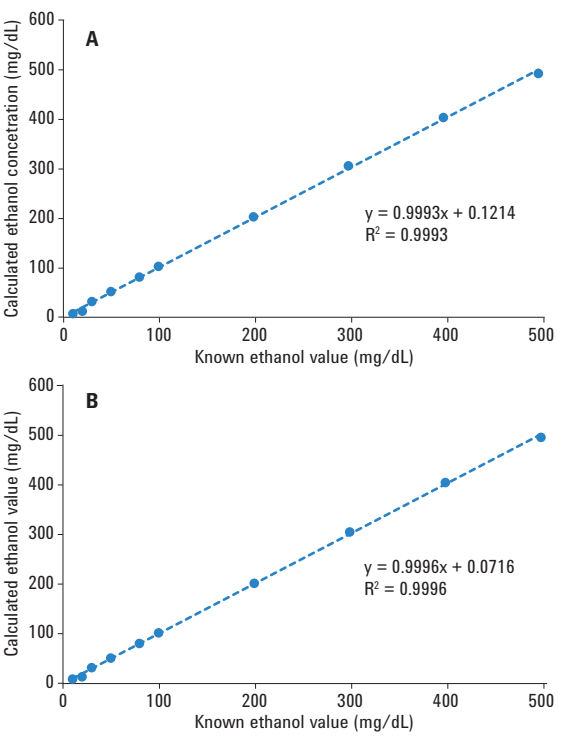


図 6. FID1 (A) および FID 2 (B) での *n*-プロパノールを内部標準として使用した場合の検量線

溶融点が低い (25 °C ~ 26 °C) ために、温度管理が理想的とはいえませんが、ラボでの *t*-ブタノールの取り扱いには困難な場合があります。高濃度の原液 (1.5 g/dL) を用いた作業により、*t*-ブタノールを溶液中に溶解した状態を維持し、正確に希釈しやすくし、作業用内部標準液として使用します。

n-プロパノールは、*t*-ブタノールよりも高い応答係数を提供しますが、どちらの内部標準手法もエタノール標準液に関連して優れた直線性を示しています。

結論

12 成分のチェックアウト混合物が加えられた水マトリックスから血中アルコール濃度の分析について、Agilent J&W DB-BAC1 ウルトラライナート、30 m × 0.32 mm、1.8 µm カラムと Agilent J&W DB-BAC2 ウルトラライナート、30 m × 0.32 mm、1.2 µm カラムを評価しました。2 種類の内部標準、*n*-プロパノールと *t*-ブタノールを使用した結果、エタノールのキャリブレーションにおいて 2 種類の標準の使用による大きな違いは認められませんでした。

内部標準メソッドは、血中アルコール濃度の分析で *n*-プロパノールまたは *t*-ブタノールを内部標準として使用し、静的スタティックヘッドスペース GC/FID とデュアルカラム、DB-BAC1 UI と DB-BAC2 UI、デュアル FID 構成によって実施できます。

DB-BAC1 UI および DB-BAC2 UI カラムの不活性度の向上により、確認レベルの高いデュアルカラムを使用した分析は、エタノールだけでなく、干渉が生じる可能性のある 11 種類の化合物に対しても、より適切なピーク形状と分離能を実現しています。

参考文献

1. K. Lynam, F. Droman, H. Boswell, *Determine Blood Alcohol with Dual Column/ Dual FID Precision and Reproducibility*, Application note, Agilent Technologies, Inc. Publication number 5991-3671EN, **2013**.

詳細情報

本文書のデータは代表的な結果を記載したものです。
アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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. 2017
Printed in Japan, June 6, 2017
5991-8206JAJP



Agilent Technologies