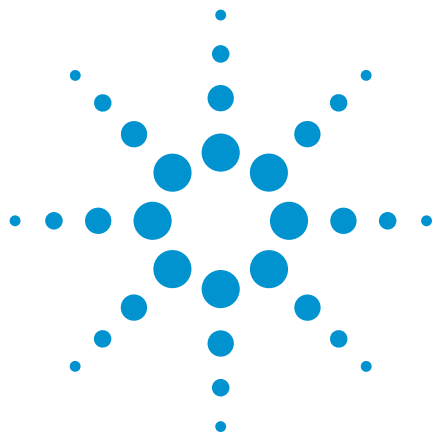




Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 및 DB-BAC2 Ultra Inert 컬럼을 이용해 혈중 알코올 농도 측정에 향상된 분리능 및 피크 모양 제공

응용 자료

저자

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

개요

이 응용 자료는 Static Headspace GC/FID의 듀얼 채널 혈중 알코올 분석기를 이용해 혈중 알코올 농도 분석하는 데 쓰이는 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 및 DB-BAC 2 Ultra Inert 컬럼의 사용 방법을 중점적으로 설명합니다. DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI는 사망전 및 사망후 혈중 알코올 농도 분석에서 검출되는 화합물에 대해 우수한 분리능을 나타냅니다.

소개

Headspace 가스 크로마토그래피가 가장 널리 활용되는 응용 분야 중 하나는 혈중 알코올 농도 측정입니다. 이 분석은 만취 운전(범용 임계값 0.08g/dL)으로 고발된 사람의 시료를 이용하여 수행되었습니다[1]. 정량 분석에 에탄올과 유사한 내부 표준물질(n-propanol 또는 t-butanol)을 사용함으로써 매트릭스 차이를 보상합니다. 에탄올의 검량에 내부 표준물질 분석법을 사용하면 외부 표준물질 분석법에 비해 오류 발생 확률이 낮습니다.

신뢰성이 보다 뛰어난 데이터를 얻기 위해 일반적으로 고정상이 서로 다른 두가지 컬럼을 사용하여 분석을 수행합니다. 이 연구는 추가 화합물의 분리능과 오래 지속되는 비활성을 향상시키기 위해 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 및 Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert를 사용하는 법을 중점적으로 설명합니다.



Agilent Technologies

재료 및 방법

이 GC/FID 실험에 Split/Splitless 주입구가 장착된 Agilent 7890B GC/dual FID, Headspace 제어 소프트웨어 Chemstation Edition B.01.04가 설치된 Agilent 7697A Headspace Sampler 및 GC 시스템 C.01.05 소프트웨어용 Agilent OpenLab CDS Chemstation Edition이 사용되었습니다.

실험

파라미터	값
GC 조건	
컬럼:	Agilent J&W DB-BAC1 UI, 30m × 0.32mm, 1.8μm (p/n 123-9334UI) Agilent J&W DB-BAC2 UI, 30m × 0.32mm, 1.2μm (p/n 123-9434UI)
Carrier:	Helium, constant flow, 6 mL/min
오븐 온도:	40°C(5.00min)
주입구:	Split 모드, 210°C, Split Ratio 20:1
주입구 라이너:	Ultra Inert straight liner, 75 mm (p/n 5190-4048)
GC/FID:	듀얼 FID가 장착된 Agilent 7890B GC
시료 주입기:	108 포지션 트레이를 가진 Agilent 7697A Headspace Sampler
FID 조건	
온도:	250°C
수소:	30mL/min
공기:	350mL/min
Col + Makeup:	35mL/min
HS 조건	
오븐 온도:	70°C(평형시간 15min)
루프:	80°C
Transfer line:	90°C
유동 경로(Flow Path) 소모품	
바이알:	Flat-bottom crimp cap headspace vials, 20 mL (p/n 5182-0837, 100/pk)
바이알 캡:	Crimp caps and septa, PTFE/silicone, 20 mm (p/n 5183-4478, 100/pk)
Transfer line:	Deactivated fused silica, 0.45 mm id (p/n 160-2455)
Tee fitting:	Capillary Flow Technology, 2-way unpurged splitter (p/n G3181B)
Septum:	Bleed and Temperature Optimized, BTO 11 mm septa (p/n 5183-4757, 50/pk)
Gold Seal:	Ultra Inert Gold Seals(p/n 5190-6145, 10/pk)
CFT 페룰:	Flexible metal ferrules (p/n G3188-27502 for 0.32 id column, 10/pk;
Inlet/FID:	85:15 Vespel: graphite ferrules(p/n 5062-3514, 10/pk)

표준물질

검량 표준물질

표 1. 에탄올 검량 표준물질

부품 번호	명칭	설명
5190-9756	Ethanol 20 mg/dL standard	Ethanol 20 mg/dL or 0.2 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9757	Ethanol 50 mg/dL standard	Ethanol 50 mg/dL or 0.5 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9758	Ethanol 80 mg/dL standard	Ethanol 80 mg/dL or 0.8 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9759	Ethanol 100 mg/dL standard	Ethanol 100 mg/dL or 1.0 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9760	Ethanol 150 mg/dL standard	Ethanol 150 mg/dL or 1.5 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9761	Ethanol 200 mg/dL standard	Ethanol 200 mg/dL or 2.0 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9762	Ethanol 300 mg/dL standard	Ethanol 300 mg/dL or 3.0 g/L, in water, (1 mL × 10)
5190-9763	Ethanol 400 mg/dL standard	Ethanol 400 mg/dL or 4.0 g/L, in water, (1 mL × 10)

분리능 혼합물

애질런트 혈중 알코올 확인용 혼합물(p/n 5190-9765) 각각 50mg/dL, 수용액, 총 1mL

표 2. 애질런트 혈중 알코올 확인용 혼합물에 포함된 대상 화합물(p/n 5190-9765)

번호	화합물	번호	화합물
1	Methanol(MeOH)	7	<i>n</i> -Propanol(<i>n</i> -C ₃ OH)
2	Acetaldehyde	8	Acetone
3	Ethanol(EtOH)	9	Acetonitrile(ACN)
4	Isopropanol(IPA)	10	2-Butanol(2-BuOH)
5	<i>t</i> -Butanol(<i>t</i> -BuOH)	11	Ethyl acetate(EtAc)
6	Propanal	12	2-Butanone

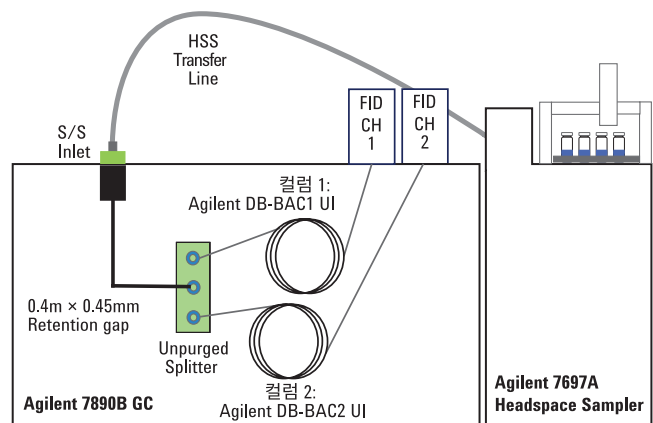


그림 1. 혈중 알코올 검출을 위한 애질런트 듀얼 컬럼/FID의 실험 설정

시료 전처리

이 실험에는 애질런트 참조 표준물질이 사용되었습니다. 모든 시료의 전처리 절차에 이러한 표준물질을 사용하였습니다. 즉, 4.5mL 탈이온수 및 5mL의 희석된 내부 표준물질에 500 μ L의 각 참조 표준물질 용액을 첨가합니다.

1.5g/dL의 내부 표준물질 저장 용액인 *t*-butanol 또는 *n*-propanol(Fluka)을 탈이온수로 희석하여 전처리를 합니다. 저장 용액을 탈이온수로 희석하여 바이알에서의 농도가 0.150 g/dL인 최종 작업 용액을 만듭니다. 알려진 에탄올 검량 표준물질과 분리능 혼합물은 시료 전처리 절차에 따라 전처리되었습니다.

결과 및 토의

그림 2 및 3은 12가지 성분을 포함하고 있는 혈중 알코올 확인용 혼합물에 대한 DB-BAC1 UI(FID1) 및 DB-BAC2 UI(FID 2)의 크로마토그램을 보여줍니다. 각 표준물질은 해당 표준물질 머무름 시간과 정확하게 일치하여 정성분석을 가능하게 합니다. 12가지 성분은 DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI 모두에서 식별 가능한 용리 순서에 따라 완벽하게 분리되어 피크 식별을 용이하게 합니다. 이 듀얼 컬럼 접근법은 두 개의 고정상에서 에탄올과 기타 화합물의 용리 순서가 다르다는 이점을 제공합니다. 이 접근법은 확증을 더해주고, 간섭을 더 한층 감소시키며, 에탄올과 공동용리 가능성도 줄여줍니다.

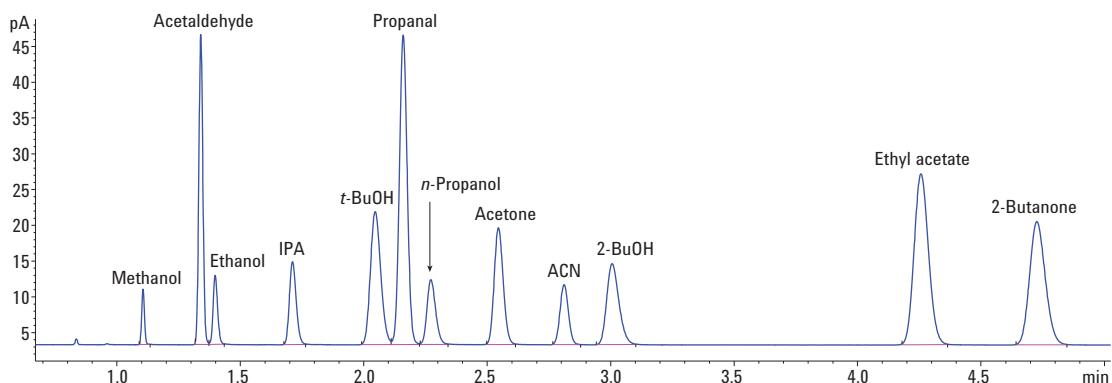


그림 2. FID1의 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert GC 컬럼으로 분리능 혼합물 분리

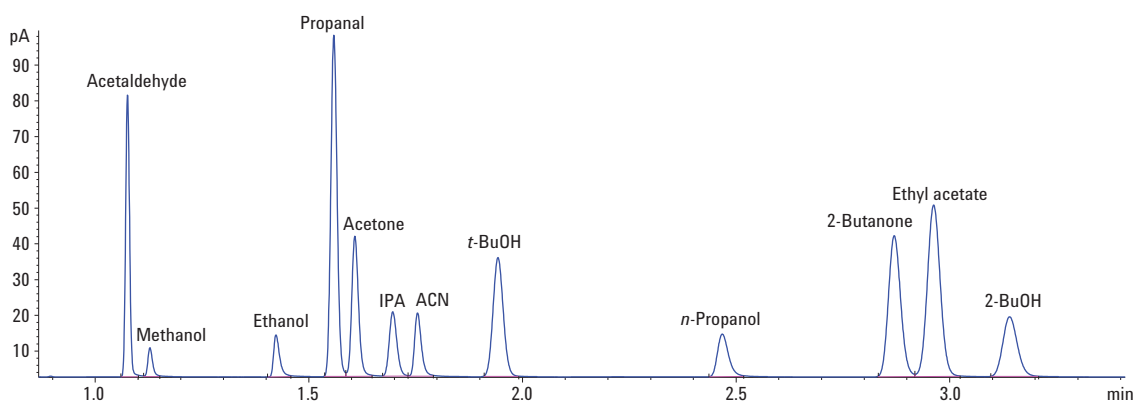


그림 3. FID2의 Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert GC 컬럼으로 분리능 혼합물 분리

재현성 및 분리능 연구

그림 4는 혈중 알코올 확인용 혼합물의 175회 이상 주입 중, 첫번째와 마지막 주입에서 아세트알데하이드와 에탄올 사이의 분리능 편차를 확대하여 보여줍니다. 이 기간 동안 분리능과 피크 모양은 일관되게 유지되었으며, 이는 이 컬럼의 긴 사용수명과 완전성을 증명합니다.

100회 주입을 반복한 후, DB-BAC1 Ultra Inert(표 3) 및 DB-BAC2 Ultra Inert(표 4) 컬럼에서 12가지 성분 분리능 혼합물을 10회 반복 분석합니다. 모든 화합물의 %RSD는 0.1% 미만이며 대부분은 0.05% 미만이었습니다. 이는 DB-BAC1 Ultra Inert 및 DB-BAC2 Ultra Inert 컬럼의 오래 지속되는 재현성과 안정성을 보여줍니다.

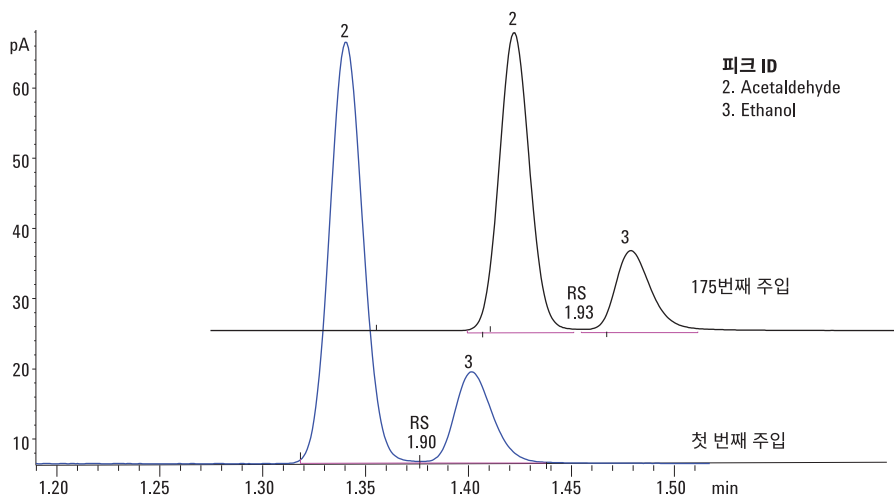


그림 4. FID1의 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert GC 컬럼에서 수행한 12가지 성분 분리능 혼합물의 첫번째와 175번째 주입에서 아세트알데하이드와 에탄올 사이의 분리능 편차를 확대하여 보여주는 그림

표 3. 100회 주입 후, 12가지 성분 혼합물을 FID1의 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 컬럼에서 10회 반복 분석한 결과

	반복 주입 수										평균	%RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Methanol	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	1.107	0.000
Acetaldehyde	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
<i>t</i> -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
Propanal	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	2.162	0.000
<i>n</i> -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
Acetone	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-Butanone	4.739	4.739	4.740	4.740	4.740	4.740	4.740	4.739	4.740	4.739	4.740	0.011

표 4. 100회 주입 후, 12가지 성분 혼합물을 FID2의 Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert 컬럼에서 10회 반복 분석한 결과

	반복 주입 수										평균	%RSD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Acetaldehyde	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	1.075	0.000
Methanol	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
Propanal	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.559	1.558	1.559	1.558	1.559	0.027
Acetone	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

검량 및 내부 표준물질 선택

그림 5 및 6은 두 내부 표준물질 접근법의 검량선을 보여줍니다. 그림 5A 및 5B는 내부 표준물질로서 *t*-butanol과 함께 사용되었을 때 검량 표준물질의 직선성을 증명합니다.

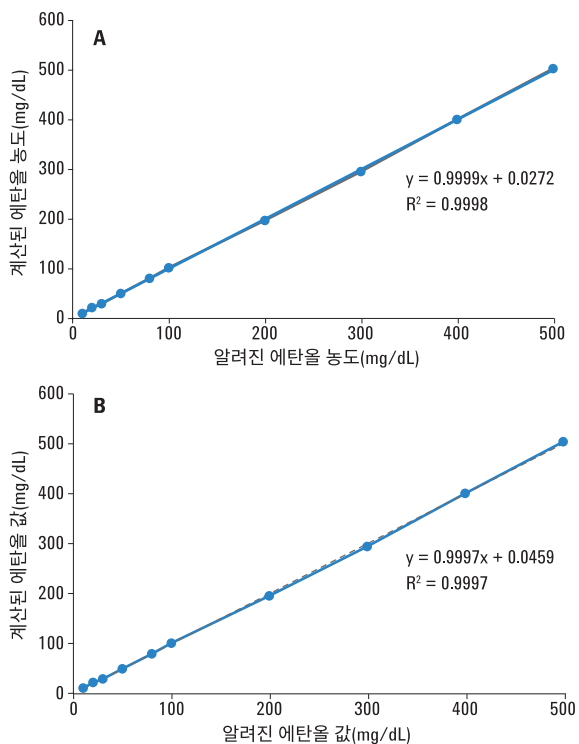


그림 5. FID1(A)와 FID2(B)에서 *t*-butanol을 내부 표준물질로 사용한 검량선

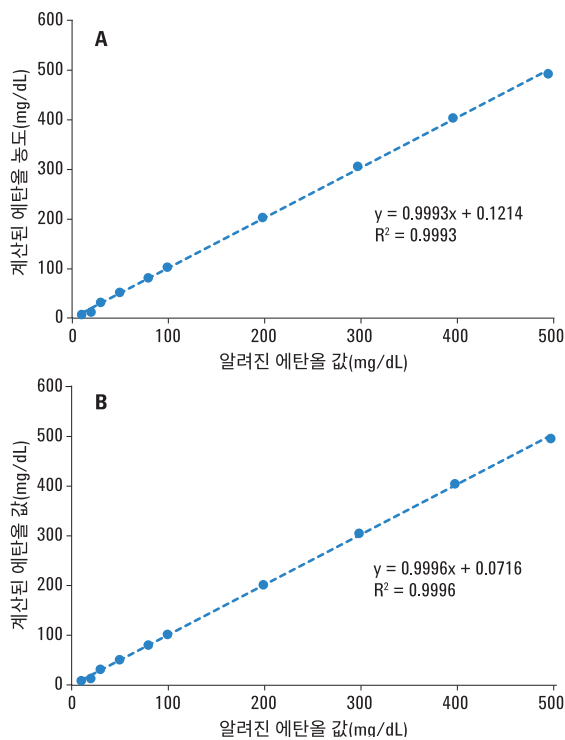


그림 6. FID1(A)와 FID2(B)에서 *n*-propanol을 내부 표준물질로 사용한 검량선

t-Butanol은 녹는점(25 ~ 26°C)이 낮기에, 온도 제어가 이상적이지 못한 실험실에서 사용하기 어려울 수 있습니다. 높은 농도의 저장 용액(1.5g/dL)을 사용하면 *t*-butanol의 용해와 용액 상태로 유지하는 데 도움이 되어, 정확하게 희석하고 유효한 내부 표준물질 용액으로 사용하기가 더 쉽습니다.

n-propanol이 여전히 *t*-butanol보다 높은 감응 계수를 제공하지만 두 내부 표준물질 접근법은 에탄올 검량 표준물질과 함께 사용할 때 우수한 직선성을 나타냅니다.

결론

12가지 성분 확인용 혼합물을 첨가한 물 혼합물로부터 혈중 알코올 농도 분석을 위해 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert, 30m × 0.32mm, 1.8µm 및 Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert, 30m × 0.32mm, 1.2µm 컬럼이 평가되었습니다. 두 개의 내부 표준물질 *n*-propanol 및 *t*-butanol이 사용되었으며, 에탄올 검량에서 뚜렷한 차이점이 관찰되지 않았습니다.

듀얼 컬럼, DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI, 듀얼 FID 구성을 가진 Static Headspace GC/FID를 이용하여 *n*-propanol 또는 *t*-butanol을 혈중 알코올 농도 분석을 위한 내부 표준물질로 사용하여 내부 표준물질 분석법을 수행할 수 있습니다.

듀얼 컬럼 구성을 사용할 때 DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI 컬럼의 비활성은 향상되며 잠재적 간섭과 관련된 11개의 추가 성분에 대해 더 나은 피크 모양과 분리능을 제공합니다.

참고 문헌

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.

자세한 정보

이러한 데이터는 일반적인 결과를 나타냅니다. 애질런트의 제품 및 서비스에 대한 자세한 정보는 애질런트 웹 사이트 (www.agilent.com/chem)를 방문하십시오.

www.agilent.com/chem

애질런트는 이 문서에 포함된 오류나 이 문서의 제공, 이행 또는 사용과 관련하여 발생한 부수적인 또는 결과적인 손해에 대해 책임을 지지 않습니다.

이 발행물의 정보, 설명 및 사양은 사전 공지 없이 변경될 수 있습니다.

법의학용

© Agilent Technologies, Inc. 2017
2017년 6월 6일
한국에서 인쇄
5991-8206KO

서울시 용산구 한남대로 98, 일신빌딩 4층 우)04418
한국애질런트테크놀로지스(주) 생명과학/화학분석 사업부
고객지원센터 080-004-5090 www.agilent.co.kr



Agilent Technologies