

# Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러-XL 트레이(120개 바이알 용량 구성) 및 Dual-FID Agilent 8890 GC 시스템을 사용한 혈중 알코올 함량 분석

## 저자

Scott Hoy  
Agilent Technologies, Inc.

## 개요

혈중 알코올 함량(BAC) 테스트는 전세계 법과학 실험실에서 진행하는 중요한 분석법입니다. 운전자의 법적 혈중 ethanol 한도는 관할 구역에 따라 다를 수 있지만, 법의학 실험실의 테스트 시간 지연 문제는 지역에 상관없이 일반적으로 보고되는 문제 중 하나입니다. 이 응용 자료에서는 이중 컬럼 및 이중 불꽃 이온화 검출기(FID)가 있는 Agilent 8890 GC 시스템 및 120개 바이알 용량으로 구성된 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러 -XL 트레이를 사용한 BAC 측정법을 설명합니다. 8697의 정밀성과 인텔리전스가 확장된 120개 바이알 용량 트레이와 결합하여 8697 헤드스페이스 샘플러-XL 트레이를 구성합니다. 8697 -XL 트레이와 이중 컬럼 및 듀얼 FID 8890 GC를 사용한 ethanol의 분석은 0.025~0.3% 농도에서 뛰어난 선형성 및 0.05% 농도에서 2.0% RSD(상대 표준 편차)의 바이알 간 재현성을 보였으며 0.4% 농도에서 ethanol 캐리오버가 관찰되지 않았습니다.

## 소개

많은 법과학 및 진단 실험실에서 BAC 테스트는 잘 확립된 보편화된 시험법 중 하나입니다. 분석법 파라미터는 관할 구역에 따라 다를 수 있지만, 일반적으로 헤드스페이스 GC 및 ethanol 검량의 선행 모델을 이용하여 검량한 시료의 ethanol 수치가 법정 한도 내에 있는지 확인하는 것이 일반적인 접근 방식입니다. BAC 분석에 널리 사용되는 헤드스페이스 샘플러를 사용한 샘플링은 액상 시료를 직접 주입하는 표준방식과 달리 비휘발성 시료 매트릭스를 기기에 주입하지 않습니다. 시료가 채취된 바이알을 밀봉한 후 일정 온도로 유지하면, 시료에 포함된 ethanol과 그 대사를 등과 같은 휘발성 성분은 기화되어 평형상태의 증기층을 형성합니다. 이 증기는 비휘발성 매트릭스가 바이알에 남아 있는 상태에서 GC 기기에 주입되어 과도한 불순물 피크 및 바탕선(baseline) 잡음이 없는 깔끔한 크로마토그램을 생성합니다.

이러한 시료 주입 방식은 컬럼과 주입구 라이너와 같은 기기 소모품이 비휘발성 매트릭스에 존재하는 염 및 단백질에 불필요하게 노출되는 것을 보호함으로써 그 수명을 크게 연장합니다. 또한 시료에 내부 표준물질(ISTD)을 첨가하는 것 외에 복잡한 세척 단계나 특별한 전처리 단계가 필요하지 않습니다. 간편하고 빠른 시료 전처리와 기기의 수명을 연장하는 헤드스페이스 샘플링은 분석 결과에 영양을 주지 않으면서 개인과 실험실의 분석 처리량을 향상합니다.<sup>1</sup> 이 응용 자료에서는 8697 -XL 트레이와 이중 컬럼 및 듀얼 FID로 구성된 8890 GC 시스템을 사용한 BAC 측정법을 설명합니다.

## 실험

Agilent 8890 GC는 분할/비분할(SSL) 주입구와 듀얼 FID로 구성되어 있습니다. 8697 -XL 트레이는 온도 유지 처리가 되어 있는 이송 라인을 통해 GC의 SSL 주입구에 직접 연결됩니다. 주입구는 단일 시료 주입으로 이중 동시 분리가 가능하도록 기본 컬럼인 Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert(UI)와 확인 컬럼인 Agilent J&W DB-BAC2 UI가 모두 연결되어 있는 퍼지되지 않은 분배기(splitter)에 짧은 프리 컬럼으로 연결되어 있습니다. 표 1에는 기기 부품 및 소모품, 표 2에는 여기에서 사용된 표준 화학물질에 관한 자세한 정보가 정리되어 있습니다.

ISTD 원액으로는 1L의 0.1%(v/v) *n*-propanol이 포함된 물(Millipore 초순수)을 사용했습니다. 헤드스페이스 샘플러의 각 바이알에 시료 50 $\mu$ L와 ISTD 용액 450 $\mu$ L를 섞어 총부피 500 $\mu$ L의 분석 시료를 취합니다. 모든 용액은 4°C 냉장고에 보관하였으며, 이 응용 자료에 사용된 GC와 헤드스페이스 샘플러의 분석법 파라미터는 표 3에 기재되어 있습니다.

표 1. 애질런트 기기 부품 및 소모품

부품 및 소모품	
설명	제품 번호
Crimp Top Vials, 20mL	5190-2286
Crimp Top Caps/Septa	5183-4477
Inlet liner, Ultra Inert, 2mm id	5190-6168
Precolumn, 0.5m x 0.53mm (Deactivated Fused Silica)	160-2535-10
컬럼 1: DB-BAC1 UI	123-9334UI
컬럼 2: DB-BAC2 UI	123-9434UI
CFT Unpurged Two-Way Splitter	G3181-60500

표 2. 화학 표준물질

표준물질		
설명	제품 번호	테스트
Agilent Blood Alcohol Checkout Mix	5190-9765	반복성/분리능
Agilent Ethanol Calibration Kit	G3440-85035	Ethanol 검량
Agilent Multicomponent Alcohol Calibration Kit	G3440-85036	캐리오버 확인
1-Propanol	34871 (Millipore Sigma)	ISTD

## GC 주기 시간

GC 주기 시간은 헤드스페이스 샘플러의 자동화를 최적화하여 최대 처리량을 달성하기 위한 중요한 파라미터입니다. GC 주기 시간이란 한 마디로 시료 주입부터 시스템의 다음 "준비" 상태까지 걸리는 시간을 지칭합니다. 구체적으로는, GC 수집 시간, 오븐 냉각 시간(비등온 방법의 경우), 각 제어 구역의 온도 및 압력 평형화 시간 및 컴퓨터/소프트웨어 처리 시간의 총합을 의미합니다. 평형화에 걸리는 시간은 실험실 환경의 변화(예: 주변 기압 변화를 유발하는 문 열림 또는 냉각 중 근처 GC 배출)로 인해 압력 변동이 발생할 수 있으며 일반적으로 약 1분의 여유를 두는 것이 바람직합니다. 이 응용 자료에서는 5분의 실행 시간과 6분의 GC 주기 시간을 사용합니다.

GC 주기 시간이 너무 짧게 설정된 경우 시스템이 시퀀스 "중단", 시료 "건너뛰기" 또는 GC 준비를 위한 "대기"로 진행되도록 프로그래밍할 수 있습니다. 이 옵션은 그림 1과 같이 Sequence Actions 아래의 8697-XL 트레이 분석법 설정에서 설정할 수 있습니다. 사용자가 최적의 GC 주기 시간을 설정하는 데 도움을 주기 위해 OpenLab CDS의 활동 로그에서는 설정된 내용에 따라 실행된 시료 분석의 실제 GC 주기 시간을 계산합니다. 그림 2는 활동 로그를 통해 보고된 GC 주기 시간의 캡처된 화면을 보여줍니다.

### Sequence Actions

What should the sequence do if it encounters the following:

Vial Missing	Skip
Wrong Vial Size	Pause
Leak Detected	Skip
System Not Ready	Abort Skip Abort Wait
The system always logs detected issues	

그림 1. Agilent OpenLab CDS의 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러 -XL 트레이의 분석 파라미터 설정에서 헤드스페이스 샘플러에 문제가 발생할 때 시퀀스 동작을 제어할 수 있습니다.

표 3. Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러 -XL 트레이 및 8890 GC 시스템 분석법 파라미터

Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러 - XL 트레이 조건		Agilent 8890 GC 시스템 조건	
오븐 온도	70°C	주입구 온도	150°C
루프 온도	80°C	운반 가스	헬륨
이송 라인 온도	90°C	분할비	10:1
바이알 평형	7분	제어 모드	일정 압력
주입 시간	1분	주입구 압력	21psi
GC 주기 시간	6분	셋텀 퍼지	3mL/분
바이알 크기	20mL	가스 절약 기능	2분 후 20mL/분
바이알 진탕	250회/분(설정 9)	오븐 프로그램	5분 동안 40°C 등온
바이알 채우기 모드	압력	FID A/B 온도	250°C
채우기 압력	15psi	FID A/B 공기 유속	400mL/분
가압 가스	질소	FID A/B 수소 가스 유속	30mL/분
압력 평형 시간	0.05분	FID A/B Makeup 가스(N <sub>2</sub> ) 유속	25mL/분
루프 채우기 모드	맞춤형		
루프 가압 속도	40psi/분		
최종 루프 압력	1.5psi		
루프 평형	0.05분		
추출 모드	단일		
추출 후 바이알 압력 배출	콤		
주입 후 퍼지	맞춤형		
퍼지 유속	200mL/분		
퍼지 시간	3분		

Activity Log

Filters

User: \_\_\_\_\_ From: 03/08/2023 12:00 AM  
Description: GC Cycle Time To: 03/15/2023 11:59 PM

Search

Date and Time (yyyy-MM-dd)	User	Description	Details
2023-03-13 17:13:24-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 17:07:07-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 17:00:54-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:54:35-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:22	
2023-03-13 16:48:20-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:42:01-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:21	
2023-03-13 16:35:51-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:22	
2023-03-13 16:29:35-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:26	
2023-03-13 16:23:20-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:17:03-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:28	
2023-03-13 16:10:49-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	
2023-03-13 16:04:31-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:27	
2023-03-13 15:58:17-04:00	SIDAPPAIC1	Calculated GC Cycle Time: 0:05:23	

그림 2. Agilent OpenLab CDS 소프트웨어 활동 로그를 통해 보고된 일련의 BAC 시료에 대해 계산된 GC 주기 시간 캡처 화면

## 결과 및 토의

### 검량

물에 50, 80, 100, 200 및 300mg/dL의 ethanol이 포함된 검량 표준물질을 3회 분석했습니다. 또한 헤드스페이스 바이알에 25 $\mu$ L의 50mg/dL 표준물질과 25 $\mu$ L의 물을 첨가하여 만든 50 $\mu$ L의 25mg/dL 표준물질(다른 표준물질과 동일하게 0.5mL로 유지하기 위해)도 3회 분석했습니다.

*n*-propanol에 대한 ethanol의 상대 감응(Y축)을 *n*-propanol에 대한 ethanol의 상대적인 양(X축)에 대해 그래프화하고, OpenLab CDS에서 비가중 선형 곡선 모델을 수립했습니다. 모델은 원점을 무시하고 각 검량 수준에 대한 평균을 사용하여 계산하도록 설정되었습니다. FID A의 R<sup>2</sup> 값은 0.99994이고 FID B의 R<sup>2</sup> 값은 0.99993입니다. 그림 3과 4는 FID A와 B 각각에 의해 도출된 값을 이용해 수립한 검량 모델을 보여줍니다.

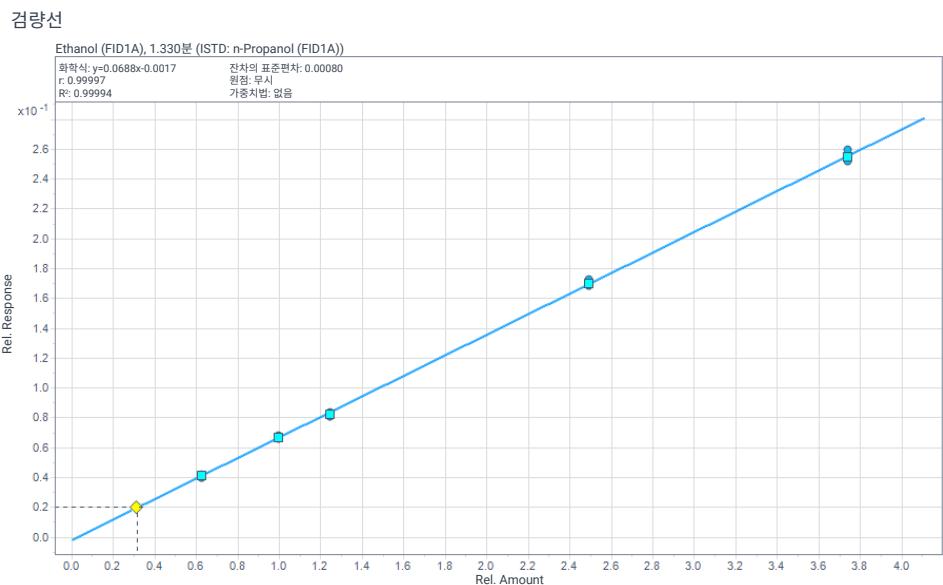


그림 3. FID A(Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 기본 컬럼)의 ethanol 검량 모델

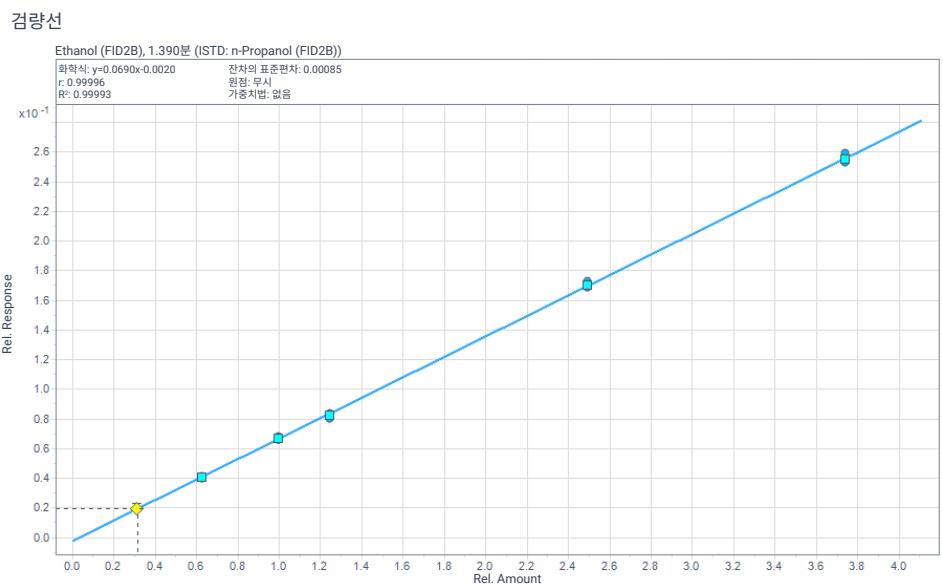


그림 4. FID B(Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert 확인 컬럼)의 ethanol 검량 모델

## 반복성

Agilent Blood Alcohol checkout mix (제품 번호 5190-9765)는 시스템의 크로마토그래피 성능이 적절한지 확인하는데 사용되는 12가지 화합물의 혼합물입니다. 각 화합물은 50mg/dL의 농도로 포함되어 있으며, 분석법의 정밀성을 파악할 수 있는 우수한 표준물질로 사용할 수 있습니다. 그림 5와 6은 각각 DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI 컬럼을 이용한 Blood Alcohol checkout mix의 크로마토그램 상의 분리를 보여주고 있으며, 각 물질 피크의 식별 및 머무름 시간은 표 4에 나열되어 있습니다. 분석법의 반복성을 입증하기 위해 동일한 Blood Alcohol checkout mix 시료 12개를 연속 주입하고 분석했으며 이 결과는 표 5에 정리되어 있습니다.

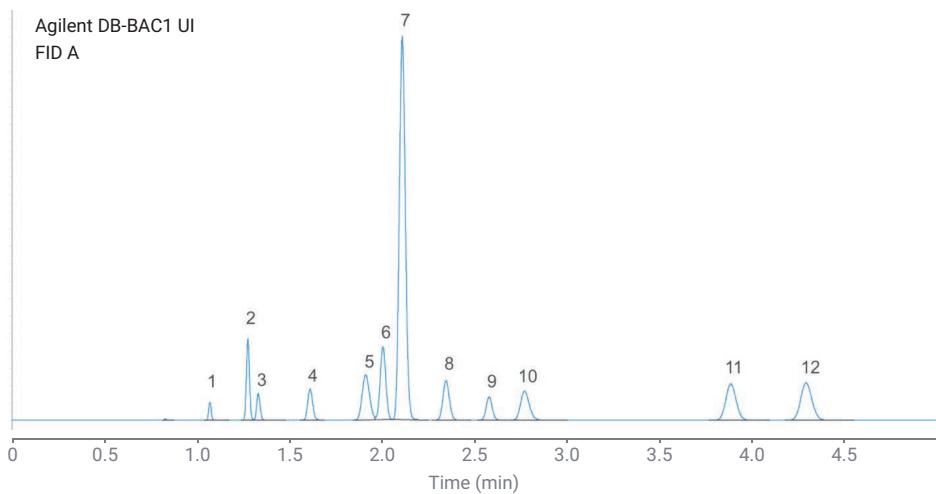


그림 5. Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 컬럼으로 분석한 Agilent Blood Alcohol checkout mix FID A 크로마토그램

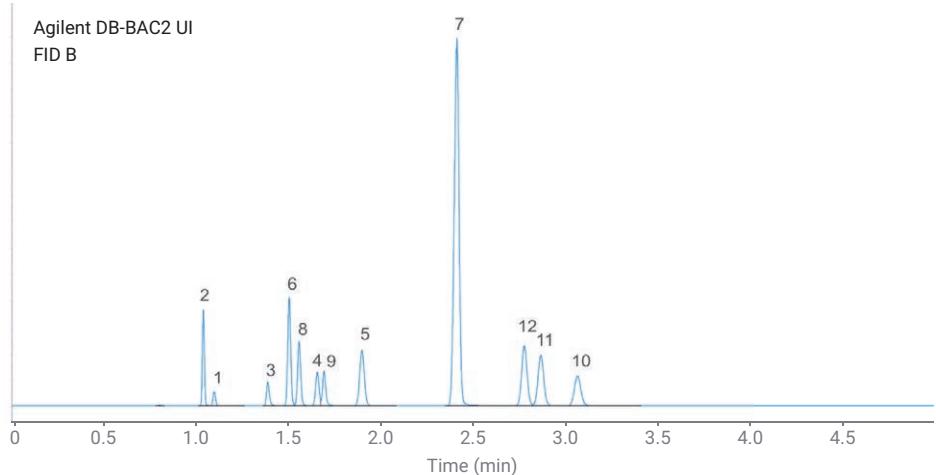


그림 6. Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert 컬럼으로 분석한 Agilent Blood Alcohol checkout mix FID B 크로마토그램

표 4. 그림 5와 6에 표시된 Agilent Blood Alcohol checkout mix의 피크 ID 및 머무름 시간(RT)

피크 라벨	화합물	RT DB-BAC1 UI(분)	RT DB-BAC2 UI(분)
1	Methanol	1.066	1.095
2	Acetaldehyde	1.271	1.036
3	Ethanol	1.327	1.385
4	Isopropanol	1.606	1.653
5	t-Butanol	1.906	1.895
6	Propanal	1.999	1.501
7	n-Propanol(ISTD)	2.103	2.409
8	Acetone	2.339	1.555
9	Acetonitrile	2.571	1.689
10	2-Butanol	2.762	3.062
11	Ethyl acetate	3.873	2.864
12	2-Butanone	4.279	2.774

## 캐리오버

시료가 헤드스페이스 오븐에서 잔류없이 GC로 이동하는지 확인하기 위해 methanol, ethanol, isopropanol, acetone 및 *n*-propanol(ISTD)을 포함하는 동일한 400mg/dL 표준물질 시료 10개의

연속 분석 후 공시료 분석(blank run)을 수행했습니다. 그림 7과 8은 컬럼 DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI 각각으로 수행한 표준물질 샘플 10개의 크로마토그램을 중첩한 크로마토그램과 이어서 수행된 공시료 분석을 통해 얻은 크로마토그램을

확대해서 보여줍니다. 크로마토그램에서 볼 수 있듯이 두 컬럼 모두 표준물질에 포함된 어떤 화합물에 대해서도 측정할 수 있는 캐리오버를 보이지 않았습니다.

표 5. Agilent Blood Alcohol checkout mix의 각 화합물에 대한 머무름 시간, 면적 감응 및 피크 높이의 반복성(%RSD).

이름	신호 설명	%RSD		
		RT	면적	높이
2-Butanol	FID1A	0.022	1.342	1.441
	FID2B	0.010	1.363	1.406
2-Butanone	FID1A	0.012	1.810	1.838
	FID2B	0.000	1.804	1.767
Acetaldehyde	FID1A	0.000	2.036	1.998
	FID2B	0.000	2.048	1.911
Acetone	FID1A	0.017	1.544	1.511
	FID2B	0.026	1.536	1.493
Acetonitrile	FID1A	0.000	1.497	1.444
	FID2B	0.000	1.534	1.362
Ethanol	FID1A	0.000	2.018	2.034
	FID2B	0.034	1.995	2.021

이름	신호 설명	%RSD		
		RT	면적	높이
Ethyl Acetate	FID1A	0.008	2.747	2.777
	FID2B	0.016	2.759	2.834
Isopropanol	FID1A	0.025	1.455	1.513
	FID2B	0.028	1.454	1.435
Methanol	FID1A	0.047	2.454	2.443
	FID2B	0.000	2.706	2.224
<i>n</i> -Propanol	FID1A	0.022	1.378	1.455
	FID2B	0.022	1.424	1.530
Propanal	FID1A	0.000	2.442	2.321
	FID2B	0.000	2.258	2.259
<i>t</i> -Butanol	FID1A	0.021	1.310	1.319
	FID2B	0.027	1.341	1.297

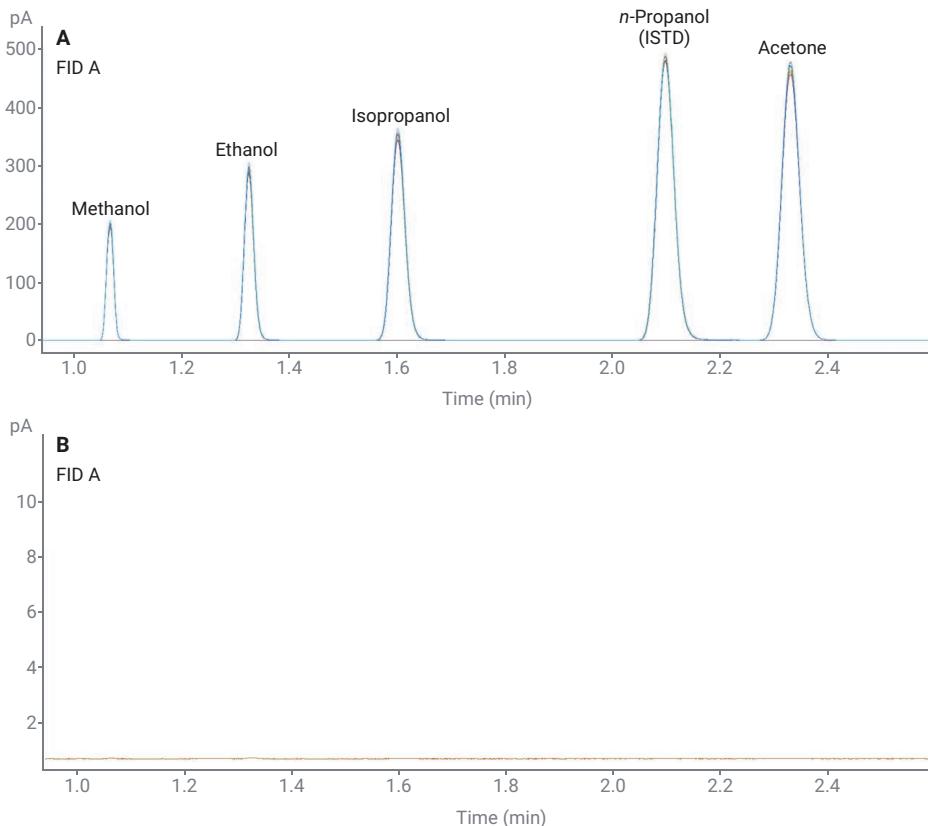


그림 7. Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 기본 컬럼으로 분석한 (A)400mg/dL 표준물질 혼합물 10회 연속 주입 크로마토그램의 중첩 크로마토그램과 (B)이어서 실행한 공시료 분석 크로마토그램(FID A)

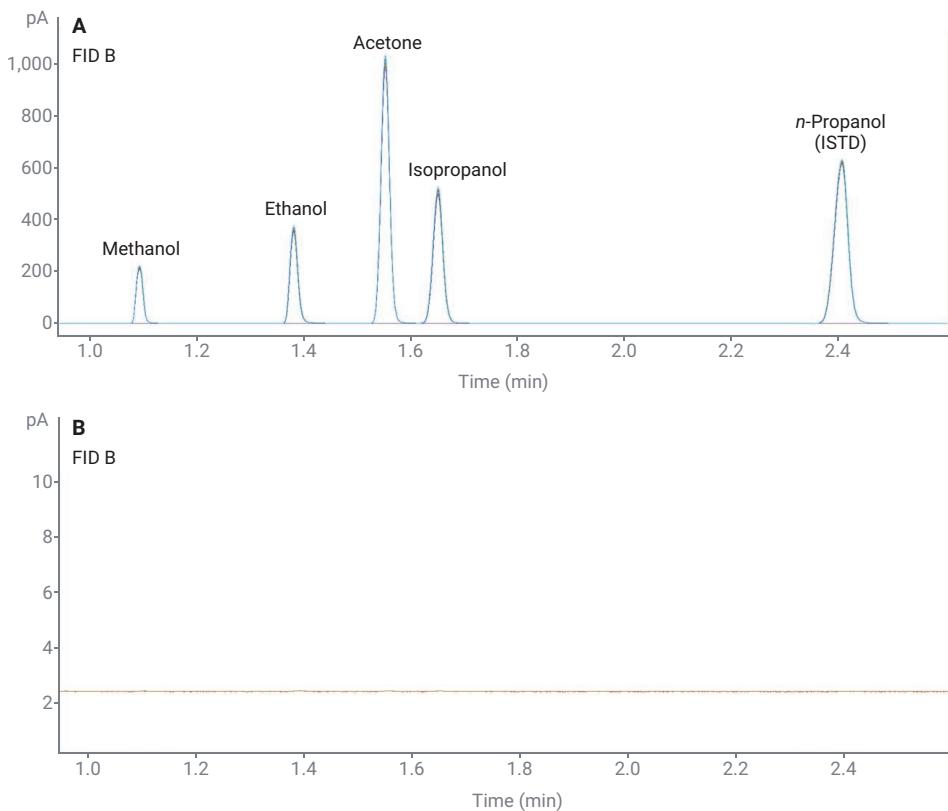


그림 8. Agilent J&W DB-BAC2 Ultra Inert 확인 컬럼으로 분석한 (A) 400mg/dL 표준물질 혼합물 10회 연속 주입 크로마토그램의 중첩 크로마토그램과 (B) 이어서 실행한 공시료 분석 크로마토그램(FID B)

## 결론

8697-XL 트레이이는 기존 8697에서 확립된 정밀성, 견고성 및 인텔리전스와 바이알 용량이 120개로 확장된 트레이이로 구성됩니다. 8697 헤드스페이스 샘플러-XL 트레이이와 Agilent 8890 GC 시스템을 사용한 BAC 테스트는 탁월한 선형성, 낮은 캐리오버 및 향상된 분석 처리 능력으로 시료 분석 지연 문제를 해결할 수 있는 획기적인 방법입니다.

## 참고 문헌

1. 8890 GC 듀얼 FID 시스템에서 통합 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러를 이용한 혈중 알코올 농도 분석 Agilent Technologies 응용 자료, 발행 번호 5994-3126KO, 2022.

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

RA45056.5805902778

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2023  
2023년 5월 18일 한국에서 발행,  
5994-6090KO

한국애질런트테크놀로지스(주)  
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
A+ 에셋타워 9층, 06621  
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)  
팩스: 82-2-3452-2451  
이메일: korea-inquiry\_lsca@agilent.com