

8890 GC 듀얼 FID 시스템에서 통합 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러를 이용한 혈중 알코올 농도 분석

저자

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

개요

자동차 운전에 대한 법적 혈중 알코올 농도(BAC) 허용치는 전 세계적으로 다양하지만 많은 국가에서 0.05 또는 0.08%를 주취 수준으로 지정하고 있습니다. Agilent 8890 GC에 연결된 Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러를 통계적으로 평가한 결과, 0.02~0.4% 범위에서 에탄올 직선성이 탁월한 것으로 나타났습니다. 이 기기는 듀얼 컬럼, 듀얼 FID 구성 및 0.05%의 바이알 간 재현성을 갖추고 있으며, 혼합물의 대부분 알코올 및 카르보닐 화합물의 RSD는 2% 미만입니다.

서론

GC를 이용한 BAC 분석은 법률, 법과학 및 진단 시나리오에서 확립된 테스트입니다. 혈액은 대부분 휘발성 물질로 구성된 매우 복잡한 혼합물입니다. 이는 기존의 GC 접근 방식으로 전혈 시료를 직접 주입하는 데에 상당히 까다로운 문제를 제시합니다. 알코올 중독 또는 노출 시 존재하는 저분자량 알코올 및/또는 알코올 대사 산물은 나머지 혈액 매트릭스보다 휘발성이 훨씬 더 높기 때문에 헤드스페이스 샘플링의 기회를 제공합니다.

샘플러를 도입하여 시료의 휘발성 물질 함량을 추출하면 광범위한 시료 전처리와 인적 오류로 인한 불편을 최소화할 수 있습니다. 8697 헤드스페이스 샘플러는 이전에 성공적으로 입증된 밸브 및 루프 기술을 기반으로 하여 개선된 기체역학 제어, GC 드라이버에 대한 완전한 통합 및 여러 가지 사용자 개선 사항을 추가하였습니다. 이러한 개선 사항에는 브라우저 인터페이스 또는 터치스크린 상호 작용을 통해 사용할 수 있는 단계별 진단, 올바른 트레이 배치를 알려주는 표시등 및 강화된 이송 라인이 포함됩니다. 파라미터 영역의 유사성 덕분에 기존 7697A 헤드스페이스 파라미터를 원활하게 이전할 수 있습니다.^{1,2,3}

실험

Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러로부터 시료를 받기 위해 분할/비분할 주입구 및 듀얼 볼륨 이온화 검출기(FID)로 구성된 Agilent 8890 GC를 사용했습니다. 추가 시스템 정보를 표 1에 나타내었고, 테스트에 사용된 분석 표준물질과 소모품은 표 1에

나타냈습니다. 분석법 조건은 표 2에 나와 있습니다. 0.1%(v/v) *t*-butanol을 함유한 1L 배치의 물(밀리포어 분주)을 내부 표준물질 및 용매용으로 준비했습니다. 테스트를 위한 헤드스페이스 바이알에는 50 μ L의 표준물질을 450 μ L의 물/*t*-butanol 용액에 첨가한 0.5mL의 시료를 담았습니다.

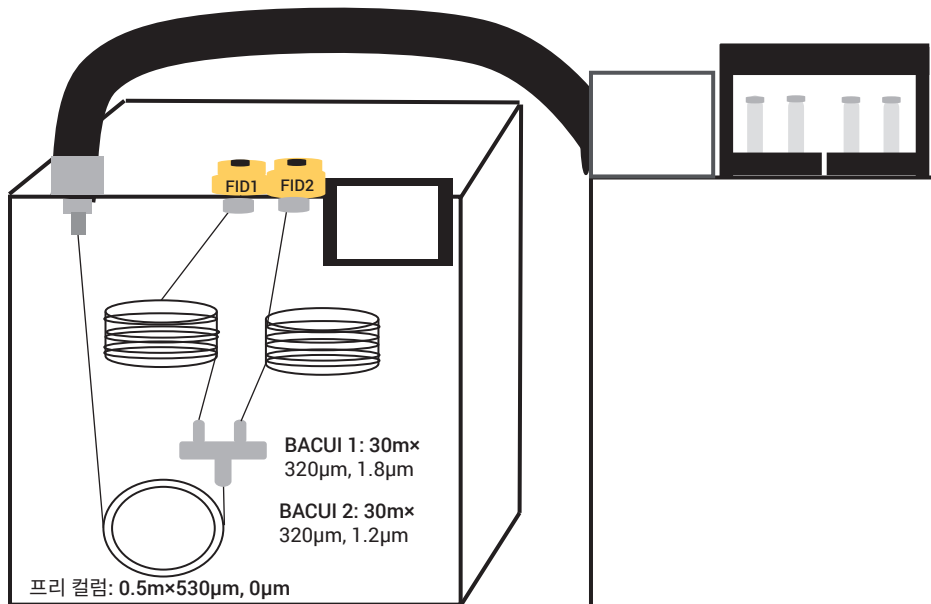


그림 1. 테스트에 사용된 헤드스페이스/GC 시스템의 상세 구성

표 1. 테스트에 사용된 기기 소모품 및 표준물질

소모품		표준물질		공급업체	테스트
20mL 바이알 및 크립프 캡	p/n 5190-2286	BAC 분리능 테스트 혼합물	5190-9765	애질런트	분리능
GC 라이너(2mm 내경)	p/n 5190-6168	에탄올 검량	G3440-85035	애질런트	직선성
이송 라인(비활성 용융 실리카)	0.53mm 내경	<i>t</i> -Butanol, >99%	24127	Millipore/Sigma	
컬럼		맞춤 용매	맞춤형	Restek	재현성
프리 컬럼: 0.5m×0.53mm×0 μ m	p/n 160-2535-10				
컬럼 1: Agilent J&W DB-BAC1 UI (30m×0.32mm×1.8 μ m)	p/n 123-9334UI				
컬럼 2: Agilent J&W DB-BAC2 UI (30m×0.32mm×1.2 μ m)	p/n 123-9434UI				

표 2. 테스트에 사용된 헤드스페이스 및 GC 조건

8697 헤드스페이스 조건	
오븐 온도	70°C
루프 온도	80°C
이송 라인 온도	90°C
바이알 평형	7분
주입 시간	1분
바이알 크기	20mL
바이알 채우기 모드	기본값
채우기 압력	15psi
가압 가스	질소
루프 채우기 모드	맞춤형
최종 루프 압력	1.5psi
루프 평형	0.05
루프 부피	1mL
8890 GC 조건	
주입구 온도	150°C
분할비	10:1
모드	일정 압력
주입구 압력	21psi(헬륨)
오븐	40°C, 등온으로 5분 유지
FID 온도(둘 모두)	250°C
공기 유속	400mL/분
수소 유속	30mL/분
보충 가스(N ₂)	25mL/분

결과 및 토의

8697 헤드스페이스 샘플러 성능을 평가하기 위해 에탄올 직선성, 바이알 간 재현성 및 BAC 혼합 표준물질의 분리능 등 세 가지 테스트를 수행했습니다.

에탄올 직선성

0.02~0.4mg/dL 범위의 6개 데이터 포인트를 사용하여 검량선을 만들었습니다. 검량 테스트의 개별 플롯을 그림 2에 나타내었습니다. 내부 표준물질인 *t*-butanol을 사용하고 가중치 없이 상대 비율을 비교하여 곡선 회귀를 생성했습니다. 에탄올 직선성 테스트를 여러 번 반복 수행했으며 이 범위에서 모든 R² 값은 0.9995를 초과했습니다.

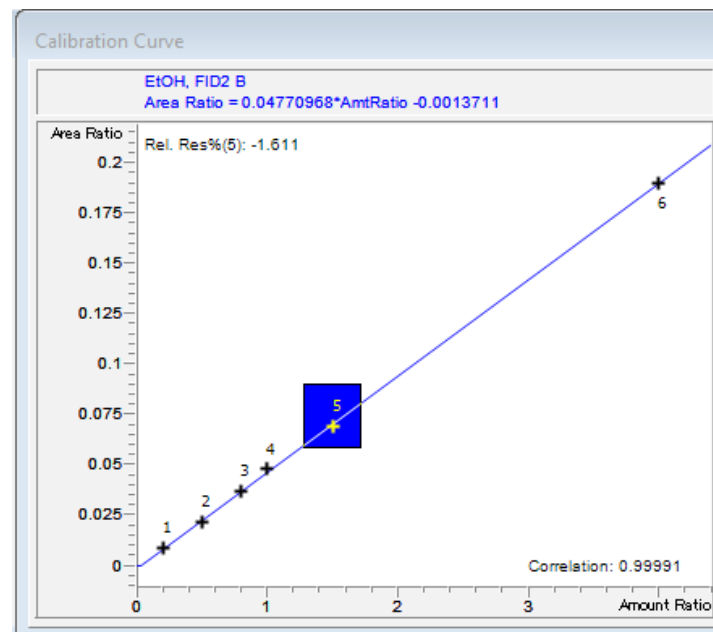
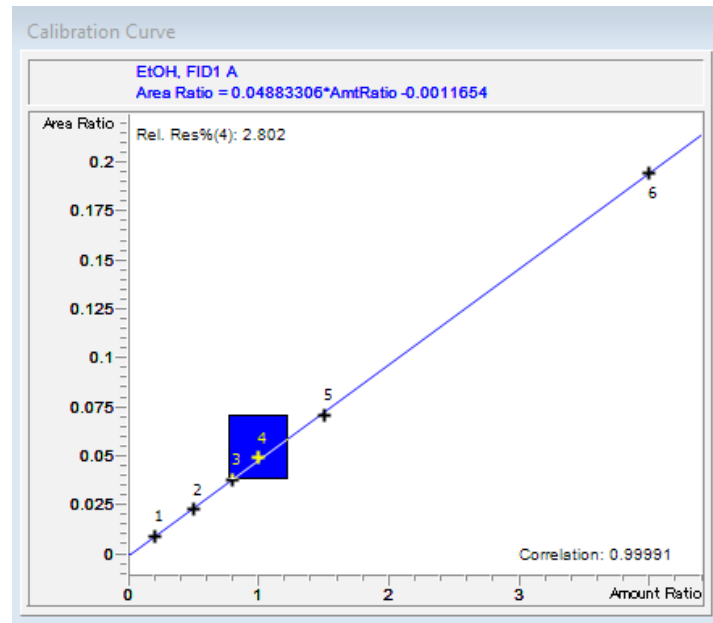


그림 2. 0.02~0.4mg/dL 범위에서 두 FID의 에탄올 검량 플롯

재현성

반복성 연구는 물/ISTD에 추가된 다성분 용액을 사용하여 실행했는데, 각 헤드스페이스 바이알에 0.05mg/dL 용액 농도를 만들었습니다. 내부 표준물질인 t-butanol을 참조하여 12회 연속 주입에서 각 화합물의 머무름 시간과 재현성 정보를 표 3에 자세히 나타냈습니다.

분리능

Agilent J&W DB-BAC1 및 DB-BAC2 UI의 컬럼 확인 쌍을 사용하면 이러한 조건에서 상당한 분리능이 얻어집니다. 개별 화합물 목록과 분리능 요구에 따라 흐름이 더 빨라지거나 느려질 수 있습니다. 두 컬럼에 대한 크로마토그램을 그림 3에 나타내었으며, 표 4에 머무름 시간과 분리능 데이터를 나타냈습니다.

표 3. BAC 혼합 표준물질의 바이알 간 재현성

화합물	FID 1		FID 2	
	RT	RRF	RT	RRF
메탄올	0.03%	2.06%	0.03%	1.72%
Acetaldehyde	0.04%	2.09%	0.00%	2.11%
에탄올	0.00%	2.16%	0.02%	1.69%
이소프로판올	0.02%	1.49%	0.03%	1.34%
아세톤	0.02%	0.74%	0.00%	1.01%
1-Propanol	0.04%	1.90%	0.02%	1.61%
2-Butanone	0.04%	2.74%	0.02%	2.68%

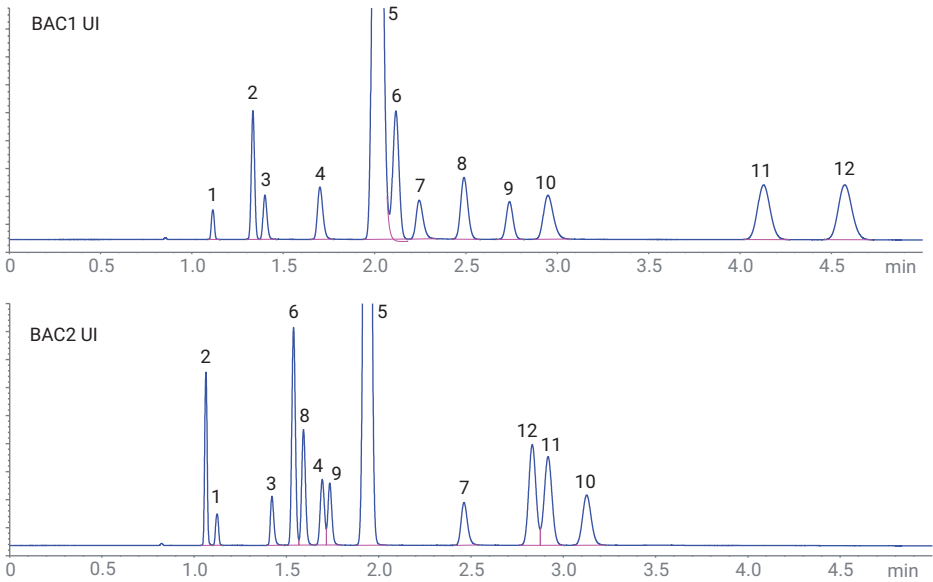


그림 3. Agilent J&W DB-BAC1 UI 및 DB-BAC2 UI 컬럼에서 Agilent BAC 분리능 테스트 혼합물의 FID 크로마토그램

표 4. BAC1 UI 및 BAC2 UI 컬럼에 대한 피크 ID, 머무름 시간 및 분리능(USP) 계산

피크 인덱스	화합물 명	RT BAC1 UI (분)	Rs BAC1 UI	RT BAC2 UI (분)	Rs BAC2 UI
1	메탄올	1.071		1.081	2.7
2	Acetaldehyde	1.284	7.9	1.022	
3	에탄올	1.348	2.0	1.371	11.5
4	이소프로판올	1.644	7.2	1.640	3.1
5	t-Butanol	1.953	5.2	1.881	5.3
6	프로판올	2.048	1.3*	1.485	4.1
7	n-Propanol	2.175	2.0*	2.388	10.6
8	아세톤	2.412	3.8	1.538	1.8
9	아세토니트릴	2.65	3.9	1.674	1.1
10	2-Butanol	2.867	3.0	3.043	3.3
11	Ethyl acetate	4.027	12.4	2.84	1.6
12	2-Butanone	4.456	4.1	2.753	7.1

분리능에 대한 표 값은 표적 피크와 표적 바로 앞의 화합물 피크를 비교한 값입니다. Propanal 및 *n*-propanol의 분리능 값은 수동으로 계산했습니다. 에탄올 검량 및 분리능 테스트 혼합 표준물질 사이에 일관된 *t*-butanol(ISTD) 감응을 유지하기 위해 적분 파라미터에 테일 스킴(tail skim)을 적용했습니다. 이 수정으로 인해 USP 분리능 계산에 필요한 접선 피크 폭의 자동 계산을 할 수 없게 되었습니다(그림 4). 두 컬럼 간에 용리 순서가 동일하지 않아 컬럼 1의 저분리능 화합물이 컬럼 2에서 더 잘 분리됨에 따라 이 확인 분석의 보완적 성격이 입증되었습니다. 또 다른 방법으로, *n*-propanol을 내부 표준물질로 사용할 수 있습니다.

피크 폭 및 피크 대칭과 같은 피크 속성은 시스템 및 소모품의 전반적인 상태를 나타내는 유용한 지표가 될 수 있습니다. 8890 및 Intuvo 9000 GC 시스템은 응용의 주요 특징을 모니터링할 수 있는 피크 평가⁴라는 기능을 제공하여 생산성 손실이 발생하기 전에 사용자에게 약간의 차이가 있음을 알려줍니다. 적용되는 기존 GC 메인프레임 사용자는 간단한 펌웨어 업그레이드만으로 이 기능을 사용할 수 있습니다.

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

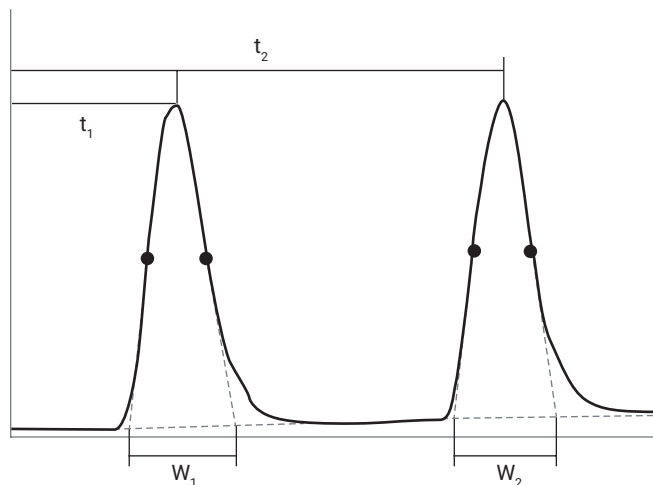


그림 4. Agilent OpenLab ChemStation 에디션, 버전 C.1.10으로 측정된 분리능의 USP 계산

결론

Agilent 8697 헤드스페이스 샘플러는 분석법 이전을 간소화하고 Agilent 7697A 샘플러와 동일한 성능을 제공합니다. 8697의 주목할 장점은 완전 통합된 드라이버에서 GC 인텔리전스의 확장, 사용자 안내 진단의 개선, 사용자에게 유지보수, 운영 및 문제해결을 안내해 효율성을 높이는 간편한 리소스를 제공하는 것입니다.

참고 문헌

1. Agilent Intuvo 9000 GC 시스템을 이용한 혈중 알코올 농도 분석. *애질런트 테크놀로지스 응용 자료*, 발행번호 5991-8999KO, **2020**.
2. Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert 및 DB-BAC2 Ultra Inert 컬럼을 이용해 혈중 알코올 농도 측정에 향상된 분리능 및 피크 모양 제공. *애질런트 테크놀로지스 응용 자료*, 발행번호 5991-8206KO, **2017**.
3. Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. Forensic Analysis of Blood Alcohol Concentration. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-0443EN, **2019**.
4. Agilent Technologies: GC Intelligence. <https://www.agilent.com/ko-kr/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (2021년 2월 16일 접속).

www.agilent.com/chem

법과학 용도.

RA44246.726412037

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
2021년 3월 8일, 한국에서 인쇄
5994-3126KO

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

 **Agilent**
Trusted Answers