SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

ガスクロマトグラフ　Brevis™ GC-2050

Brevis GC-2050による窒素キャリアを用いた血中アルコール類のデュアルカラム分析

吉田 真優、真保 恵美子

ユーザーベネフィット

- ◆ デュアルFIDを搭載したGCに、分離特性の異なる2本のカラムを接続することで、定性能力を向上させることができます。
- ◆ 代替キャリアガスとして安価な窒素を使用し、良好な分離を保ったまま血中揮発性有機化合物を分析できます。
- ◆ コンパクトな設計であるBrevis GC-2050 を使用することで、実験室の省スペース化ができます。

■はじめに

エタノールを主体とする血中のアルコール類および揮発性有機化合物の測定は、警察では飲酒による暴行・傷害、交通事故等の立証や酩酊度の判定、法医学講座では、犯罪・中毒原因の特定の目的で実施されています。

この分析には一般的にヘッドスペースサンプラおよびFIDを搭載したガスクロマトグラフを使用します。正確性が求められる血中アルコール分析では、クロスチェックのために、分離特性の異なる2本のカラムを用いた分析を実施する場合があります。1台のHS-GCシステムに2種類のカラムと2台のFIDを繋ぐデュアルカラムの構成にすることで、1回の分析でもクロスチェックが可能です。本分析では2穴フェルールを用いてカラムを直接トランスファーラインに接続しているため、吸着によるサンプルロスを最小限に抑えることができます。

ガスクロマトグラフには当社ハイエンドモデルのNexis™ GC-2030だけでなく、コンパクトな設計のBrevis™ GC-2050を使用可能です。本稿では、ガスクロマトグラフBrevis GC-2050およびヘッドスペースサンプラHS-20 NX(図1)を使用した血中アルコール分析例をご紹介します。アプリケーションニュース01-00570では、キャリアガスに水素を用いましたが、本稿ではより安価な窒素を用いています。また、一般的に窒素キャリアガスを用いると分離が悪化する傾向にあることから、本稿では10種類の血中揮発性有機化合物について分離する条件を検討しました。

図 1　Brevis™ GC-2050とHS-20 NX
(GC-2050用省スペーストランスファーライン)

表 1　カラム接続時の必要部品一覧

図2,3中の番号	部品名	P/N	備考
①	1/16″ MF フェルール 004X2	225-19056	・2穴フェルール ・10個入り
②	1/16″ MF コネクター	225-19057	1個
③	SMI ユニオンキット	227-35024-02	0.4 mm - 0.5 mm
④	不活性化処理チューブ	227-35023-02	2 mチューブを 100 mm ×2にカット

■装置の準備

本分析では図2のように、ヘッドスペースサンプラに分離特性の異なる2本のカラムを接続し、2つのFIDを使用しました。2つのラインで同時分析することにより、定性能力および生産性を向上させることができます。カラムには、血中アルコール分析に適したSH-BAC PLUS1 (30 m × 0.32 mm I.D., 1.8 µm)およびSH-BAC PLUS2 (30 m × 0.32 mm I.D., 0.6 µm)を用いました。

2本のカラムの同時分析に必要な部品一覧を表1に示し、HS側に接続するカラムへの各部品の取付け方法を図3に示します。2本の分析カラムはそれぞれSMIユニオンキット(0.4 mm - 0.5 mm) で不活性化処理チューブ (0.22 mm I.D.、100 mm) に繋ぎました。HS接続ナット部分には、1/16″ MF フェルール004X2と1/16″ MF コネクターを使用しました。また、HS-20 NXのサンプルループには0.5 mLループ (P/N: 225-21889-85)を使用しました。

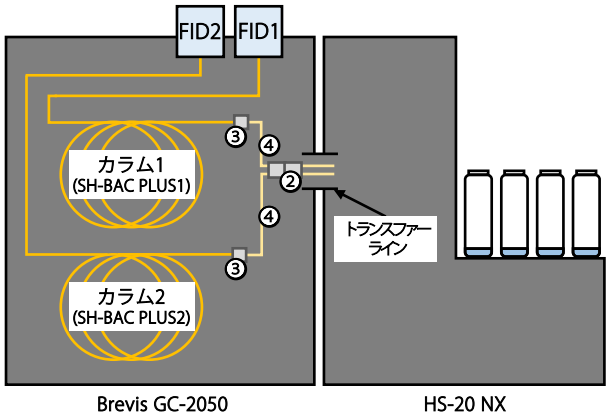

図 2　HS-GCデュアルカラム分析の模式図

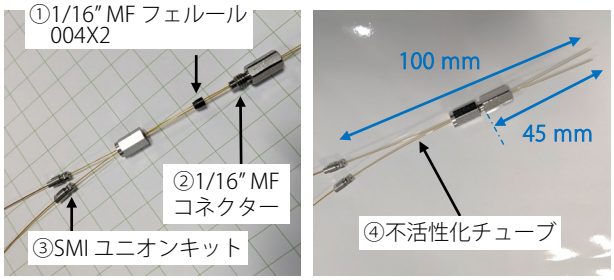

図 3　HS側カラムへの各部品の取付け方法

■分析条件

分析条件を表2に示します。

表 2　分析条件

GC	: Brevis GC-2050
HS	: HS-20 NX
[HS-20 NX]	
オーブン温度	: 65℃ (20 min)
サンプルライン温度	: 90℃
トランスファーライン温度	: 100℃
バイアル攪拌	: 3
バイアル加圧時間	: 0.5 min
加圧平衡時間	: 0.1 min
ロード時間	: 0.5 min
ロード平衡化時間	: 0.1 min
注入時間	: 0.5 min
ニードルフラッシュ時間	: 3 min
GCサイクルタイム	: 9.1 min
バイアル加圧用ガス圧力	: 100 kPa, N_2
サンプルループサイズ	: 0.5 mL
[GC-2050]	
キャリアガス	: N_2
制御モード	: 線速度一定 (30 cm/sec)
パージ流量	: 2 mL/min
スプリット比	: 20
カラム	: SH-BAC PLUS1 (P/N：227-36260-01) (30 m × 0.32 mm I.D., 1.8 µm) SH-BAC PLUS2 （P/N：227-36263-01） (30 m × 0.32 mm I.D., 0.6 µm)
カラム温度	: 50℃ (8.5 min)
FID温度	: 250 ℃
FID H2流量	: 32 mL/min
FIDメイクアップガス流量	: 24 mL/min, N_2
FID Air流量	: 200 mL/min

■サンプルの準備

エタノール検量線用標準試料は最終濃度が0.1、0.5、1.0、2.0 mg/mLとなるように調製しました。内部標準試料にはtert-ブタノールを用い、最終濃度が1.0 mg/mLとなるように調製しました。

20 mL容量のHSバイアルに、水または血液を480 µL添加した後、検量線用標準試料を20 µL、続けて内部標準試料を100 µL添加して密栓し、混合しました。本アプリケーションニュースでは、市販のヒト全血を使用しました。実際の血液を分析する際には、血液500 µLと内部標準試料100 µLを封入する想定です。

■分析フロー

血液試料の分析を実施する際の推奨分析フローを図4に示します。

再現性を向上させるために、はじめにプレコンディショニングとして高濃度サンプル分析を実施しました。エタノールやメタノールなどの極性成分はサンプルラインへ吸着しやすい性質があり、分析開始直後は面積値が低く検出され、分析を繰り返すうちに面積値が増加する場合があります。そこで、高濃度サンプル分析により吸着活性点をあらかじめマスキングしてから連続分析を始めることで、面積値変動を抑制する効果が期待できます。

高濃度サンプルとして、エタノールとtert-ブタノールの各10 mg/mL混合水溶液を使用しました。高濃度サンプル分析後は、ブランクとして水を2回分析しました。水ブランク分析時のクロマトグラムを確認し、キャリーオーバーがないことを確かめました。

プレコンディショニング実施後、検量線作成のための標準試料5点を分析しました。次に、血液試料を分析しました。分析時間の経過に伴う面積値変化を確認するため、血液試料5回分析ごとにバイアル内最終濃度1 mg/mLのエタノール水溶液標準試料を分析しました。

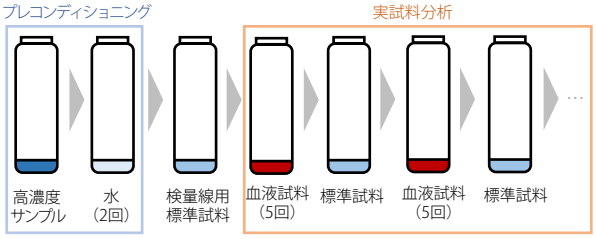

図 4　推奨分析フローイメージ

■検量線の直線性確認

血液及び水溶液で希釈列を調製し、検量線を作成しました。検量線の比較結果を図5に示します。血液及び水溶液で調製した場合でも寄与率(R^2)は0.999以上であり、良好な直線性を示しました。

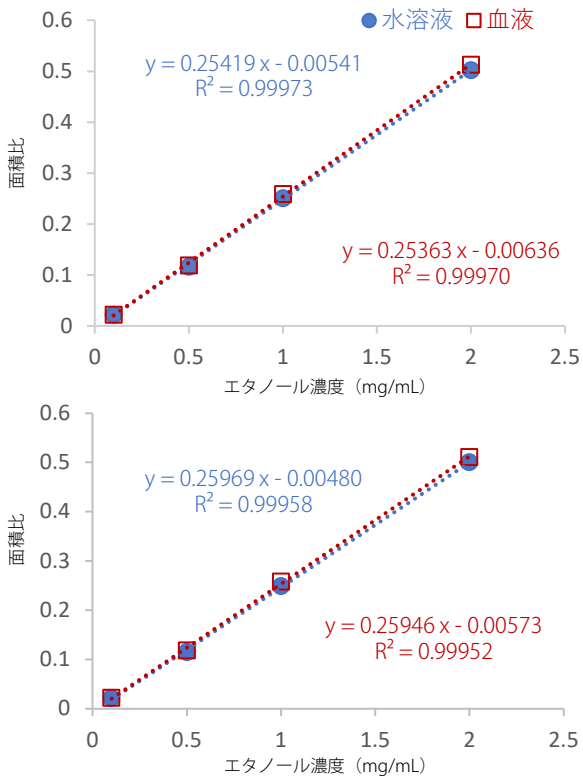

図 5　エタノール標準試料の検量線
（上：SH-BAC PLUS1、下： SH-BAC PLUS2）

■血液試料における定量値・再現性の確認

血液試料を分析した際の定量精度を確かめるため、所定濃度となるように調製した血液試料を、血液及び水溶液で調製した検量線を用いて定量し、各濃度の面積比再現性(%RSD)を確認しました。結果を次項の表3に示します。推奨分析フロー(図4)に従い、各濃度で5回連続分析を行いました。また、分析時間の経過に伴う面積値変化を確認するため、血液試料5回分析ごとに1 mg/mL水溶液標準試料を測定しました。1 mg/mL水溶液標準試料の面積比再現性は%RSD=1.51となり、良好な再現性が得られました。

表3　定量値および面積比再現性%RSD（n=5）

バイアル内最終濃度（内部標準試料を除く）	水溶液検量線使用時 定量値 (mg/mL)	血液検量線使用時 定量値 (mg/mL)	面積比再現性 (%RSD)
0.1 mg/mL			
SH-BAC PLUS1	0.114	0.118	1.93
SH-BAC PLUS2	0.114	0.119	1.89
0.5 mg/mL			
SH-BAC PLUS1	0.512	0.499	0.50
SH-BAC PLUS2	0.511	0.497	0.52
1 mg/mL			
SH-BAC PLUS1	1.04	1.019	1.23
SH-BAC PLUS2	1.05	1.019	1.21
2 mg/mL			
SH-BAC PLUS1	2.11	2.059	1.60
SH-BAC PLUS2	2.11	2.059	1.60

■血中揮発性有機化合物10種の分離確認

分離確認のため、血中揮発性有機化合物10種(メタノール、アセトアルデヒド、エタノール、イソプロピルアルコール、アセトニトリル、アセトン、tert-ブタノール、1-プロパノール、メチルエチルケトン、酢酸エチル)の混合水溶液を分析しました。各0.1 mg/mL混合水溶液0.5 mLを、20 mL容量のHSバイアルに封入して分析しました。得られたクロマトグラムを図6に示します。 BAC PLUS1カラムでは全ピークが6.0分以内、BAC PLUS2カラムでは3.5分以内に検出され、分離も良好でした。また、両カラムの血中揮発性有機化合物10種の溶出順序は大きく異なり、定性能力を向上できます。表4に、各成分の保持時間再現性と、内部標準であるtert-ブタノールに対する面積比の再現性(n=5)を示します。

表4　各成分の保持時間と面積比再現性%RSD（n-=5）

ID	化合物名	SH-BAC PLUS1 保持時間 (min)	SH-BAC PLUS1 面積比再現性 (%RSD)	SH-BAC PLUS2 保持時間 (min)	SH-BAC PLUS2 面積比再現性 (%RSD)
1	メタノール	2.107	1.61	1.713	1.12
2	アセトアルデヒド	2.114	0.98	1.642	0.87
3	エタノール	2.409	0.69	1.945	1.03
4	2-プロパノール	2.816	0.41	2.134	1.36
5	アセトニトリル	2.939	0.85	2.365	1.02
6	アセトン	3.023	0.59	2.080	1.34
7	tert-ブタノール	3.226	I.S.	2.229	I.S.
8	1-プロパノール	3.629	0.42	2.736	1.50
9	メチルエチルケトン	5.020	0.49	2.977	1.31
10	酢酸エチル	5.314	0.70	2.833	1.08

■まとめ

コンパクトモデルであるBrevis GC-2050とHS-20 NXを用いて血中アルコール類のデュアルカラム分析を実施しました。デュアルカラムの構成にしたことで、1回の分析で2本のカラムによる結果が得られ、クロスチェックが可能です。本分析では、ヘリウムの代替として窒素をキャリアガスに用いました。水素キャリアガスを用いると高速分析が可能ですが、取り扱いに注意が必要なことから各種安全オプションの使用が推奨されています。窒素キャリアガスは安価で取り扱いが簡便な上、良好な分離を保った信頼性の高い結果を得ることができました。両アプリケーションニュースを参照し、適切なキャリアガスをご使用ください。

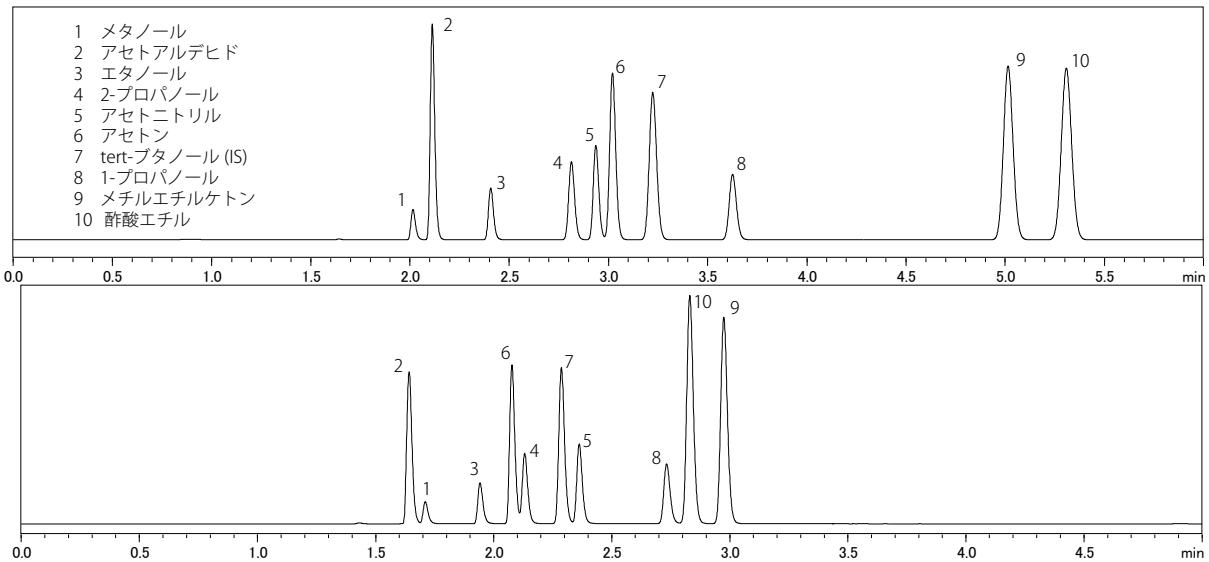

図6　血中揮発性有機化合物10種混合水溶液のクロマトグラム
（上：SH-BAC PLUS1、下：SH-BAC PLUS2）

BrevisおよびNexisは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
https://www.an.shimadzu.co.jp/
01-00899-JP　初版発行：2025年 6月
島津コールセンター 0120-131691

本文書に記載されている製品は、医薬品医療機器法に基づく医療機器、体外診断用医薬品として承認・認証等を受けておりません。本文書に記載されている分析手法を治療診断目的およびその手続き上で使用することはできません。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
本文中に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

© Shimadzu Corporation, 2025

アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

Brevis™ GC-2050

ガスクロマトグラフ

関連分野

臨床研究・法科学

法科学

価格お問い合わせ

製品お問い合わせ

技術お問い合わせ

その他お問い合わせ