

헤드스페이스 GC-MS를 이용한 혈중 알코올 및 휘발성 독성물질의 동시 분석

Simultaneous Analysis of Blood Alcohol and Volatile Toxic Substances Using Headspace GC-MS

사용자 활용 포인트

- ◆ 헤드스페이스 GC-MS를 이용하여 혈중 알코올 및 시안화물, 아지드와 같은 휘발성 독성물질 동시 분석
- ◆ HS-20 NX는 불활성화 처리 된 샘플 경로와 차단 경로로 인해 Carry over 현상을 줄일 수 있음
- ◆ 비교적 높은 농도의 혈중 알코올 분석 및 미량의 시안화물과 아지드를 간단하고 정확하게 동시 분석

■ 서론

사건, 사고 및 범죄를 조사하는 과정에서 관련된 증거를 찾기 위해 경찰 연구소 및 법의학에서는 다양한 화학 물질을 분석하여 증거를 찾는다. 대표적인 사건의 증거와 관련된 화학 물질로는 혈중 알코올이 있다. 혈중 알코올(에탄올, Ethanol) 수치는 음주운전, 신체폭행, 음주 및 급성 알코올 중독 상태에서 발생한 상해 등 교통사고에서 음주 사건의 증거로 사용될 수 있다.

또한 사회 사건과 관련된 다른 화학물질로는 휘발성 독성물질인 시안화물(Cyanide) 및 아지드(Azide)가 있다. 이들은 산업용 화합물로 종종 해당 산업에 종사자들이 보호구 없이 사용하는 등의 잘못된 작업으로 인해 해당 물질에 중독되는 등의 사고로 이어져 사회적 큰 이슈가 되곤 했다. 이렇듯 각종 범죄의 원인을 보다 잘 규명할 수 있도록 화학 물질 검사 시스템이 강화되었다.

시안화물 및 아지드 분석에서는 주로 PFB 유도체화 및 용매 추출 후 액체 주입을 거친 샘플에 대해 GC-MS로 분석한다. 그러나 이 기법은 유도체화 및 추출 단계의 샘플의 전처리를 필요로 하기 때문에 번거롭다. 헤드스페이스 기법은 이러한 전처리 과정 없이 비교적 간단하게 혈중 알코올과 휘발성 독성물질의 농도 측정이 가능하다.

본 뉴스레터에서는 헤드스페이스 GC-MS 기술을 사용하여 복잡한 전처리 과정 없이 혈중 알코올 및 휘발성 독성물질을 동시에 분석하는 방법을 소개한다.

■ 표준용액 및 시약

시안화칼륨 (KCN) 250 mg을 0.1 M NaOH 수용액에 용해시켜 시안화 이온 (CN⁻) 표준 용액 (1 mg/mL)을 100 mL 부피로 제조하였다. 아지드화나트륨 (NaN₃) 표준시약 (1 mg/mL) 155 mg은 초순수 용해시킨 후 아지드화 이온 (N₃⁻) 표준 용액 (1 mg/mL)을 100 mL 부피로 제조하였다.

내부표준물질은 2-메틸-1-프로판올 (2-methyl-1-propanol) 및 2-프로판올-d8 (2-propanol-d8)을 사용하였으며, 초순수에 용해시켜 0.2 mg/mL 2-메틸-1-프로판올과 0.005 µg/mL 2-프로판올-d8을 조제하였다.

전처리에 사용되는 시약은 초순수에 L-아스코르브산 (L-Ascorbic acid) 1.76 g을 용해시킨 후 100 mL 부피로 아스코르브산 용액 (0.1 M)을 제조하고, 초순수에 시판 인산 (H₃PO₄, 85 %)을 1.7배 희석하여 인산 수용액 (50 %)을 제조하였다.

■ 전처리

에탄올 및 시안화물, 아지드에 대한 표준용액을 분석 직전, 말의 용혈물(Equine hemolysate) 시료에 첨가하여 에탄올 농도 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 및 2.0 mg/mL, 시안화물 농도 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 및 10.0 µg/mL, 아지드 농도 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 및 50.0 µg/mL로 표준용액을 만들었다. 각 농도의 표준용액 0.5 mL와 혼합 내부표준용액 0.5 mL, 0.1M L-아스코르브산 수용액 0.2 mL을 20 mL 헤드스페이스 바이알에 첨가 한 후, 바이알의 내벽을 따라 50 % 인산 0.2 mL를 넣어주었다. 그 다음 바이알을 캡으로 밀봉하고 교반 하였다.

■ 분석 조건

표 1은 헤드스페이스(HS) 및 GC/MS 분석 조건을 나타낸다. 알코올, 시안화물 및 아지드는 모두 동일한 장비조건으로 분석 되었다.



그림 1. HS-20 NX 및 GCMS-QPT™2020 NX

표 1. HS-20 NX와 GCMS-QP2020 NX의 분석 조건

HS	: HS-20 NX		
GC-MS	: GCMS-QP2020 NX		
[HS]		[GC]	
Headspace Mode	: Loop	Column	: SH-BAC2 (length : 30 m, 0.32 mm, I.D., df = 1.2 μm)
Oven Temp.	: 60 °C	P/N	: 227-36262-01
Sample Line Temp.	: 100 °C	Column Oven Temp.	: 40 °C (5 min) → (40 °C/min) → 200 °C (1 min)
Transfer Line Temp.	: 150 °C	Carrier Gas	: Helium
Pressurizing Gas Pressure	: 70 kPa	Flow Control Mode	: Linear velocity (62.5 cm/sec)
Equilibrating Time	: 10 min	Injection Mode	: Split
Vial Pressurization Pressurizing Time	: 0.5 min	Split Ratio	: 10:1 (alcohol, cyanide, azide)
Pressure Equilibration Time	: 0.1 min	Carrier Gas Save Mode	: Split ratio 5 (1 min)
Load Time	: 0.5 min	[MS]	
Load Equilibration Time	: 0 min	Interface Temp.	: 230 °C
Injection Time	: 0.5 min	Solvent Cut Time	: 0.7 min
Needle Flush Time	: 5 min	Analysis Mode	: Scan
GC Cycle Time	: 19 min	Event Time	: Scan 0.1 sec, SIM 0.2 sec
		Ion Source Temp.	: 200 °C
		Data Acquisition Time	: 1-10 min
		Mass Range	: m/z 10-300

* Detector Voltage는 장비의 상태에 따라 다르기 때문에 각각의 최적 조건이 다르다.

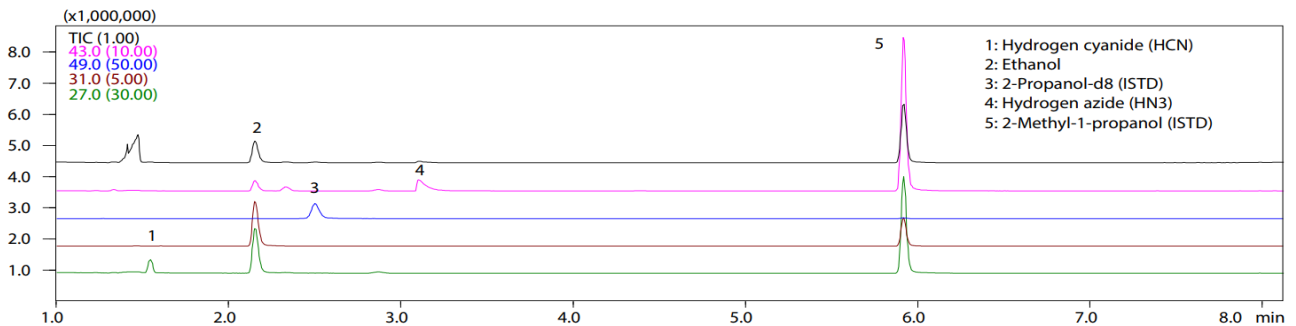


그림 2. 총 이온 크로마토그램 (에탄올 : 0.3 mg/mL, 시안화수소 : 1 μg/mL, 아지드화수소 : 10 μg/mL)

■ 분석 결과

알코올, 시안화물 및 아지드

그림 2는 검량선의 중간농도에 대한 표준용액의 총 이온 크로마토그램을 나타내고 있으며, 그림 3은 공시료와 최저농도의 표준용액에 대한 SIM 크로마토그램을 나타낸다. 각 물질의 검량선에 대한 직선성은 0.999 이상으로 양호한 결과를 보인다 (그림 4).

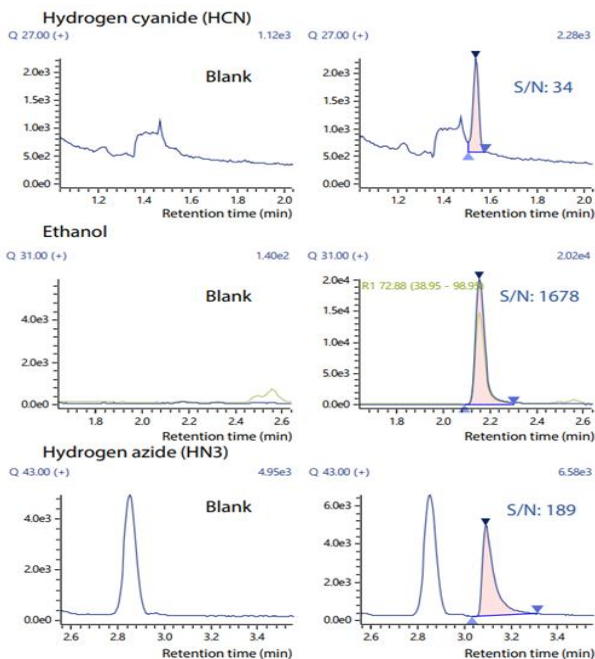
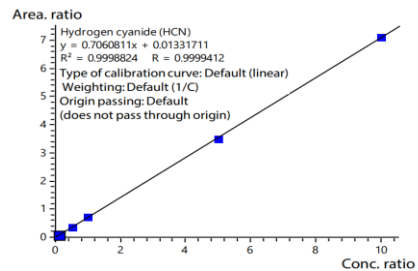
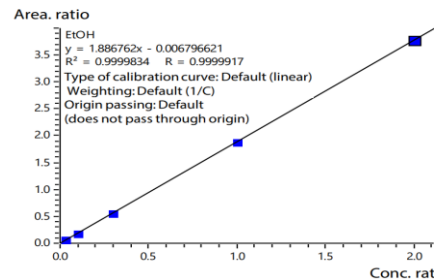


그림 3. 각 분석 물질에 대한 SIM 크로마토그램

Hydrogen cyanide (concentration: 0.1–10 μg/mL)



Ethanol (concentration: 0.03–2 mg/mL)



Hydrogen azide (concentration: 2–50 μg/mL)

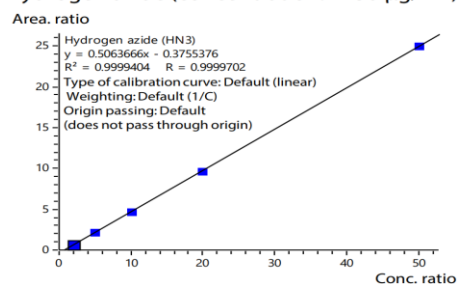


그림 4. 각 분석 물질에 대한 검량선

표 2. 검량선 최저농도(LV1)에 대한 Intra-Day 반복 재현성 (n=7)

	Hydrogen Cyanide		Ethanol		Hydrogen Azide	
	Concentration (µg/mL)	Accuracy (%)	Concentration (mg/mL)	Accuracy (%)	Concentration (µg/mL)	Accuracy (%)
1 st	0.105	104.8	0.032	106.6	1.819	91.0
2 nd	0.099	99.0	0.032	107.5	1.820	91.0
3 rd	0.105	105.1	0.033	108.7	1.658	82.9
4 th	0.103	103.5	0.033	109.8	1.618	80.9
5 th	0.103	103.3	0.032	106.1	1.469	73.5
6 th	0.107	107.5	0.033	109.0	1.573	78.6
7 th	0.104	103.7	0.032	107.5	1.541	77.1
Mean	0.104	103.8	0.032	107.9	1.643	82.1
Standard deviation (SD)	0.003	2.567	0.000	1.347	0.135	6.729
%RSD	2.472	2.472	1.249	1.249	8.192	8.192

표 3. 검량선 최저농도 (LV1) 에 대한 Inter-Day 반복 재현성 (5 일)

	Hydrogen Cyanide		Ethanol		Hydrogen Azide	
	Concentration (µg/mL)	Accuracy (%)	Concentration (mg/mL)	Accuracy (%)	Concentration (µg/mL)	Accuracy (%)
Day 1	0.094	94.5	0.033	108.7	1.910	95.5
Day 2	0.105	105.2	0.033	110.2	1.999	99.9
Day 3	0.103	103.1	0.033	110.9	1.851	92.5
Day 4	0.100	100.2	0.033	109.1	2.140	107.0
Day 5	0.099	99.2	0.033	111.0	2.132	106.6
Mean	0.100	100.4	0.033	110.0	2.006	100.3
Standard deviation (SD)	0.004	4.080	0.000	1.032	0.130	6.490
%RSD	4.063	4.063	0.939	0.939	6.470	6.470

정확도 및 정밀도 평가를 위해 검량선의 최저농도(LV1) 표준용액을 하루에 7회 측정 하였다. 표 2에 1일 동안의 반복 측정에 대한 결과를 나타냈으며, 5일 후 1일 동안의 반복 측정 결과는 표 3에 나와 있다. 하루 동안 정확도 평가 결과에서 에탄올은 106.1 - 109.8 % (평균 107.9 %), 시안화수소 99.0 - 107.5 % (평균 103.8 %), 아지드화수소 73.5 - 91.0% (평균 82.1 %)였다. 아지드화수소의 낮은 정확도는 피크 테일링에 의한 흡착률에 기인했다. 정밀도는 모든 화합물에 대해 10 % 이하였다. 5일 후의 하루 중 정확도와 정밀도는 에탄올 108.7 - 111.0 % (평균 110.0 %, %RSD 0.939), 시안화수소 94.5 - 105.2 % (평균 100.4 %, %RSD 4.063), 아지드화수소 95.5 - 106.6 % (평균 100.3 %, %RSD 6.470)로 모든 화합물에 대해 좋은 정확도 및 정밀도 평가 결과를 산출했다.

■ 결론

본 뉴스레터에서는 샘플에 L-아스코르브산 수용액과 인산을 첨가하는 단순한 방법으로도 혈중 알코올 (에탄올)과 함께 휘발성 독성 물질인 시안화물과 아지드를 동일한 컬럼 및 분석 조건으로 분석 할 수 있음을 보여준다. HS-20 NX 헤드스페이스 샘플러는 뛰어난 전처리 성능을 가지고 있으며, 헤드스페이스 내 불활성화 처리가 되어있는 샘플경로를 가지고 있다. 또한 최단거리로 컬럼에 기화된 샘플을 제공하도록 설계되어 Carry over 현상을 줄이고 비교적 높은 농도의 혈중 알코올 분석 및 미량의 시안화물과 아지드를 간단하고 정확하게 동시 분석할 수 있다.

GCMS-QP는 Shimadzu Corporation 및 계열사에 일본 및 해외에서 등록된 상표입니다.

01-00667-ENK



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/
 Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China.
 This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2024 SHIMADZU group. All rights reserved.