

# Forensische Analyse der Blutalkoholkonzentration

Mit dem Agilent 8860 GC-System mit Agilent J&W DB-BAC1 UI- und Agilent J&W DB-BAC2 UI-Säulen und dem Agilent 7697A Headspace-Probengeber

## Autoren

Lukas Wieder, Jie Pan und  
Rebecca Veeneman  
Agilent Technologies, Inc.  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808

## Zusammenfassung

Diese Application Note behandelt die Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (BAK) mit dem Agilent 8860 GC-System in Konfiguration mit zwei Flammenionisationsdetektoren (FID) und einem Agilent 7697A Headspace-Probengeber. Das System zeigt eine außergewöhnliche statistische Leistung mit Linearität über einen erwarteten Konzentrationsbereich und Reproduzierbarkeit über viele Injektionen. Die Produktivität wird deutlich gesteigert, wenn ein Splitter eingesetzt wird, um die Probenkomponenten gleichzeitig auf zwei Säulen aufzulösen: der Agilent J&W DB-BAC1 UI und der Agilent J&W DB-BAC2 UI.

## Einführung

Die BAK entspricht dem Prozentsatz von Ethanol (Ethylalkohol) im Blut und kann mit Blut-, Urin- oder Atemtests gemessen werden. Die BAK-Analyse ist ein Routineverfahren in vielen forensischen Laboren mit einem Standard-Arbeitsablauf, der Headspace-Probenvorbereitungstechnik und FID-Detektion umfasst<sup>1</sup>. Das 8860 GC-System ist für Routineanalysen wie die BAK gut geeignet. Einfache Hardware-Konfigurationen wie HSS mit zwei FID-Detektoren können mit dem 8860 GC-System problemlos umgesetzt und über eine Schnittstelle mit OpenLab CDS Version 2.2 verbunden werden; diese Konfigurationen erfüllen die meisten Methodenanforderungen. Diese Application Note beschreibt eine Methode für die Bestimmung des BAK mit dem 8860 GC-System, zwei FID-Detektoren und dem 7697A Headspace-Probengeber.

## Experimentelles

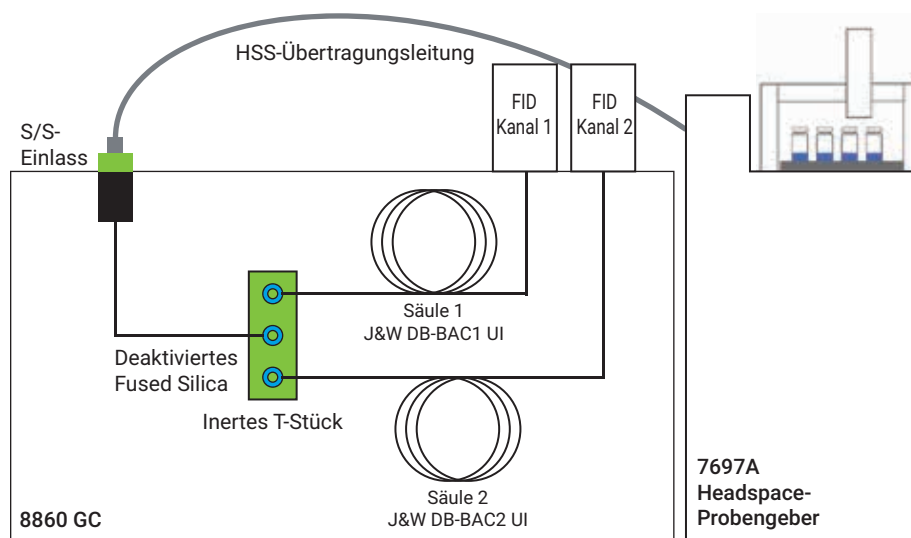
### Ausstattung

Ein 8860 GC-System wurde mit einem Split/Splitless-Einlass (SSL) und zwei FID-Detektoren konfiguriert und die Probenerfassung mit einem 7697A Headspace-Probengeber vorgenommen.

Das 8860 GC-System kann ungespülte Flusseinheiten verwenden. In diesem Fall wurde ein inertes T-Stück installiert, um die Analyse in der Konfiguration mit zwei Säulen und zwei FID-Detektoren durchzuführen. Abbildung 1 enthält ein Diagramm, das diese Konfiguration zeigt.

### Verbrauchsmaterialien

Tabelle 1 führt die in dieser Application Note verwendeten Verbrauchsmaterialien auf. Tabelle 2 führt die von Agilent angebotenen Ethanolstandards auf. Diese Standards können miteinander kombiniert werden, um genaue Kalibrierungsstandards zu erstellen, oder sie können alleine verwendet werden, um die Genauigkeit einer Kalibrierungskurve zu überprüfen.



**Abbildung 1:** Experimenteller Aufbau mit zwei Säulen/FID-Detektoren für die Analyse der Blutalkoholkonzentration.

**Tabelle 1:** Liste der für diese Applikation verwendeten Verbrauchsmaterialien.

Verbrauchsmaterial	Bestellnummer
Durchsichtige 10-ml-Headspace-Probenflaschen mit Bördelverschluss	5190-2285
Ultra Inert, geringer Druckabfall, Split-Einlass-Liner mit Glaswolle	5190-2295
Inertes T-Stück für Capillary Flow Technology	G3184-60065
Säuleneinlass-Ferrulen (Graphit, 0,4 mm, für 0,25-mm-Säulen)	500-2114
FID-Ferrulen (Graphit, 0,5 mm, für 0,32-mm-Säulen)	5080-8853
CFT-Ferrulen (UltiMetal Plus flexible Metallferrulen, 0,32 mm ID)	G3188-27502
Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m × 320 µm, 1,8 µm)	123-9334UI
Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m × 320 µm, 1,2 µm)	123-9434UI
Deaktivierte Fused Silica-Kapillare als Vorsäule zu inertem T-Stück (30 m × 250 µm ID × 350 µm AD)	160-2255-30

**Tabelle 2:** Ethanol-Kalibrierungsstandard-Konzentrationen und entsprechende Bestellnummern.

Standard	Bestellnummer
20 mg/dl	5190-9756
50 mg/dl	5190-9757
80 mg/dl	5190-9758
100 mg/dl	5190-9759
150 mg/dl	5190-9760
200 mg/dl	5190-9761
300 mg/dl	5190-9762
400 mg/dl	5190-9763

## Experimentelle Parameter

Tabelle 3 führt die Methodenparameter für das in dieser Application Note verwendete GC-System und den Headspace-Probengeber auf.

## Probenvorbereitung

Kalibrierungsstandards wurden in Probenflaschen vorbereitet, um Ethanolkonzentrationen im Bereich von 10 bis 320 mg/dl zu erreichen. Der interne *n*-Propanol-Standard wurde zugegeben, um eine Endkonzentration von 100 mg/dl zu erreichen.

Zur Bestimmung der Reproduzierbarkeit wurden Ethanolstandards (*n* = 10) bei 15 und 60 mg/dl mit dem internen Standard bei 100 mg/dl vorbereitet.

**Tabelle 3:** Parameter für GC und Headspace-Probengeber.

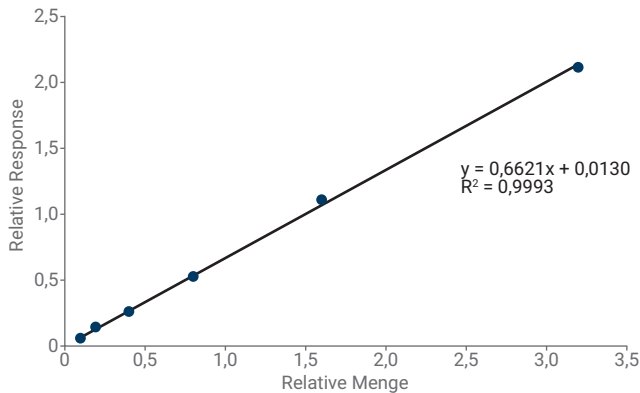
GC-Parameter	8860 GC
Trägergas	Helium
Art des Einlasses	Split/Splitless
Einlasstemperatur	110 °C.
Einlassdruck	24 psi
Splitverhältnis	10:1
Temperaturprogramm Ofen	40 °C für 4,5 Minuten
FID	250 °C
Headspace-Parameter	7697A Headspace-Probengeber
Druckgas für Probenflaschen	Helium
Schleifengröße	1 ml
Probenflaschengröße	10 ml
Schütteln der Probenflaschen	aus
Verschlusskappen	PTFE-ausgekleidet
Standby-Fluss der Probenflaschen	20 ml/min
Äquilibrierungszeit der Probenflaschen	7,00 Minuten
Injektionszeit	1,00 Minuten
GC-Zykluszeit	4,50 Minuten
Ofentemperatur	70 °C
Schleifentemperatur	80 °C
Übertragungsleitung	0,53 mm ID, deaktiviertes Fused Silica durch Septum
Transferlinientemperatur	90 °C
Fülldruck der Probenflaschen	15 psi
Füllmodus der Schleife	Benutzerdefiniert
Anstiegsrate der Schleife	30 psi/min
Enddruck der Schleife	1,5 psi
Äquilibrierungszeit der Schleife	0,05 Minuten
Post-Injektionsspülung	200 ml/min für 3 Minuten
Trägergas durch GC geregelt	

## Kalibrierung/Linearität

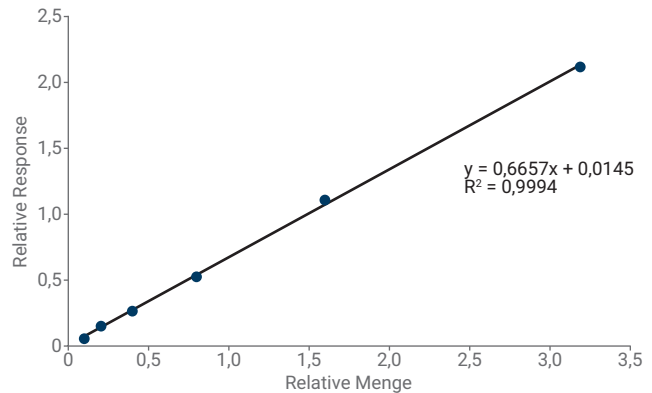
Die Kalibrierung wurde sowohl auf der J&W DB-BAC1 UI- als auch der J&W DB-BAC2 UI-Säule durchgeführt, zuerst auf den einzelnen Säulen und dann in der Konfiguration mit zwei Säulen und zwei FID-Detektoren. In beiden Fällen wurde eine Kalibrierungskurve mit sechs Konzentrationen bei 10, 20, 40, 80, 160

und 320 mg/dl Ethanol in Wasser mit *n*-Propanol bei 100 mg/dl als interner Standard erstellt. Bei jeder Konzentration wurden Wiederholungsinjektionen (*n* = 3) vorgenommen. Abbildungen 2 und 3 zeigen die Kalibrierungskurven für Ethanol auf den J&W DB-BAC1 UI- und J&W DB-BAC2 UI-Säulen in der Konfiguration mit einer Säule.

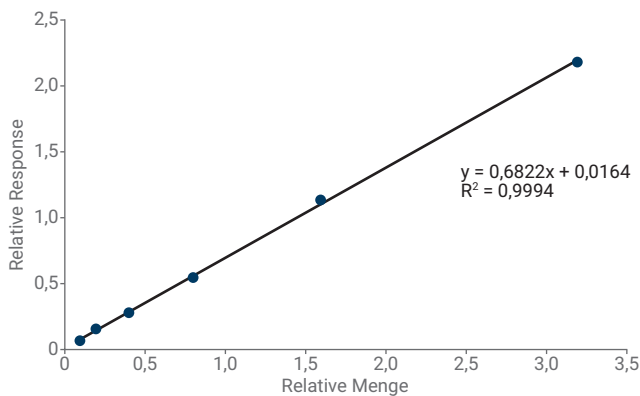
Nachdem die Säulen einzeln kalibriert wurden, wurde ein inertes T-Stück installiert, um simultane Kalibrierungskurven zu erfassen. Abbildungen 4 und 5 zeigen die Kalibrierungskurven für die Konfiguration mit zwei Säulen und zwei FID-Detektoren.



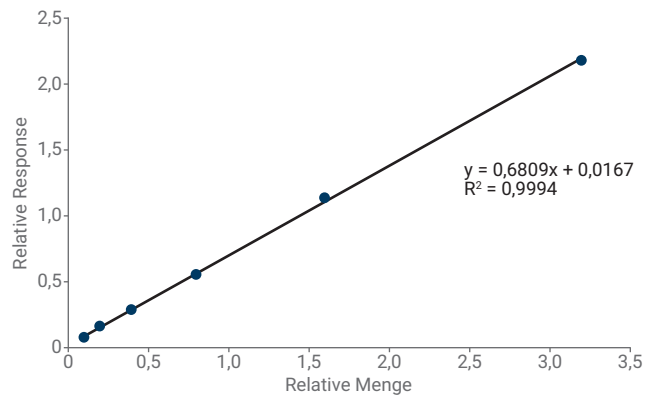
**Abbildung 2:** Kalibrierungskurve für Ethanol relativ zum internen Standard auf der J&W DB-BAC1 UI-Säule in der Konfiguration mit einer Säule.



**Abbildung 3:** Kalibrierungskurve für Ethanol relativ zum internen Standard auf der J&W DB-BAC2 UI-Säule in der Konfiguration mit einer Säule.



**Abbildung 4:** Kalibrierungskurve für Ethanol relativ zum internen Standard auf der J&W DB-BAC1 UI-Säule in der Konfiguration mit zwei Säulen.



**Abbildung 5:** Kalibrierungskurve für Ethanol relativ zum internen Standard auf der J&W DB-BAC2 UI-Säule in der Konfiguration mit zwei Säulen.

## Reproduzierbarkeit

Die Flächen- und Retentionszeit-Reproduzierbarkeiten wurden jeweils bei 15 und 60 mg/dl bestimmt (Tabellen 4 bis 6).

Tabelle 4 zeigt, dass die relativen Standardabweichungen für jede Konzentration und Säule unter 2 % liegen.

Die Retentionszeiten für alle Kombinationen von Verbindung, Säule und Konzentration blieben im Wesentlichen konstant bei 0,07 % oder weniger.

## Allgemeiner Auflösungsstest mit der BAK-Checkout-Mischung

Zur Dokumentation der Leistung der J&W DB BAC1-UI- und J&W DB BAC2-UI-Säulen wurde die Agilent BAK-Checkout-Mischung (Best.-Nr. 5190-9765) unter Verwendung der Konfiguration mit zwei Säulen analysiert. Abbildung 6 zeigt Chromatogramme, die die Trennung der Verbindungen in der Mischung auf sowohl der J&W DB-BAC1 UI- als auch der J&W DB-BAC2 UI-Säule darstellen.

Die Chromatogramme in Abbildung 6 zeigen, dass alle 12 Komponenten in der BAK-Checkout-Mischung auf beiden Säulen voneinander getrennt aufgelöst werden, einschließlich Acetaldehyd und Ethanol. Alle Peaks zeigen außerdem auf beiden Säulen Symmetrie.

**Tabelle 4:** Relative Standardabweichungen (RSD%) über 10 Injektionen für die Ethanol-Response relativ zur Response des internen Standards bei 15 und 60 mg/dl auf jeder Säule.

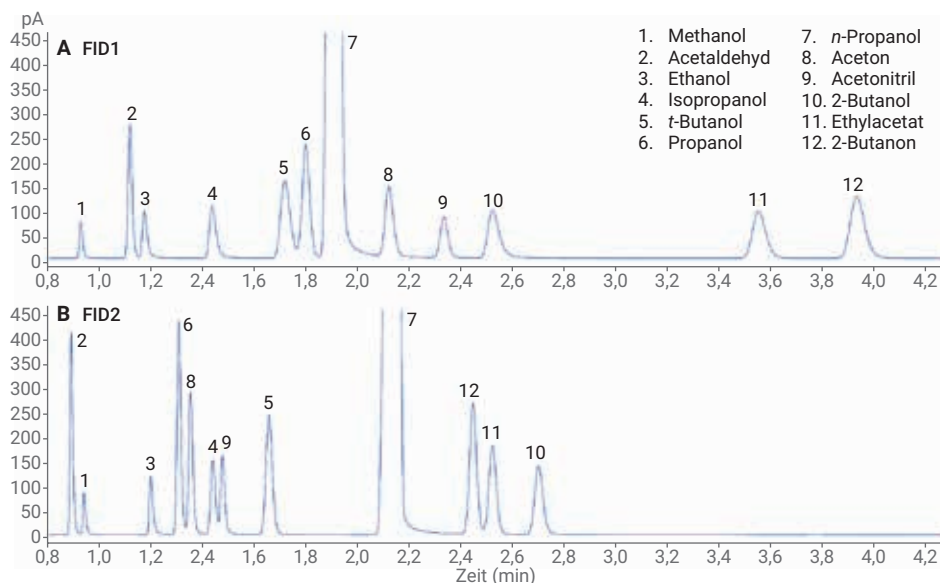
Säule/Ethanolkonzentration	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	1,33 %	1,08 %
J&W DB-BAC2 UI	1,25 %	1,10 %

**Tabelle 5:** Relative Standardabweichung (RSD%) über 10 Injektionen der Retentionszeit von Ethanol bei 15 und 60 mg/dl.

Säule/Ethanolkonzentration	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	0,07 %	0,03 %
J&W DB-BAC2 UI	0,07 %	0,03 %

**Tabelle 6:** Relative Standardabweichung (RSD%) der Retentionszeit über 10 Injektionen von *n*-Propanol für die Datensätze mit Ethanol bei Konzentrationen von 15 und 60 mg/dl.

Säule/Ethanolkonzentration	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	0,05 %	0,02 %
J&W DB-BAC2 UI	0,05 %	0,05 %



**Abbildung 6:** Chromatogramme der BAK-Checkout-Mischung, die mit den Säulen J&W DB-BAC1 UI (A) und J&W DB-BAC2 UI (B) getrennt wurden.

## Abschließende Bemerkungen

Das 8860 GC-System, ausgestattet mit einem 7697A Headspace-Probengeber, ermöglicht die Identifizierung, Quantifizierung und Bestätigung der Blutalkoholanalyten in einem einzigen Lauf und erfüllt die meisten Methodenanforderungen. Die Linearität sowie die Genauigkeit der Fläche und der Retentionszeit sind auf beiden Säulen ausgezeichnet, sowohl in der Konfiguration mit einer als auch mit zwei Säulen; außerdem können alle Verbindungen von Interesse effektiv voneinander getrennt werden. Das 8860 GC-System bietet eine ökonomische und zugleich effektive Methode für die Bestimmung der Ethanolkonzentration bei Routineanalysen.

## Literatur

1. Boswell, H. A.; Dorman, F. L. Uncertainty of Blood Alcohol Concentration (BAC) Results as Related to Instrumental Conditions: Optimization and Robustness of BAC Analysis Headspace Parameters. *Chromatography* **2015**, 2, 691–708.

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

Für forensische Zwecke.

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
Gedruckt in den USA, 8. Januar 2019  
5994-0443DEE