

# Análisis forense de la concentración de alcohol en sangre

Uso del GC Agilent 8860 con las columnas J&W DB-BAC1 UI y J&W DB-BAC2 UI de Agilent y el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A

## **Autores**

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

## **Resumen**

Esta nota de aplicación pone de relieve la determinación de la concentración de alcohol en sangre (BAC) con el GC Agilent 8860 configurado con dos detectores de ionización de llama (FID) y un muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A. El sistema demuestra un rendimiento estadístico excepcional, con linealidad en el rango esperado de concentraciones y reproducibilidad entre numerosas inyecciones. La productividad aumenta considerablemente cuando se implementa un divisor para resolver los componentes de la muestra de forma simultánea en dos columnas: la Agilent J&W DB-BAC1 UI y la Agilent J&W DB-BAC2 UI.

## Introducción

La concentración de alcohol en sangre corresponde al porcentaje de etanol (alcohol etílico) en el flujo sanguíneo y puede medirse mediante pruebas de sangre, orina o aliento. El análisis de concentración de alcohol en sangre es una práctica rutinaria en muchos laboratorios forenses y su flujo de trabajo estándar incluye el muestreo por espacio de cabeza y el uso de FID<sup>1</sup>. El sistema GC 8860 es muy adecuado para análisis de rutina como el de la concentración de alcohol en sangre. Configuraciones del hardware sencillas, como el muestreador de espacio de cabeza + doble FID, se realizan fácilmente con la interfaz del GC 8860 para OpenLab CDS versión 2.2, y cumplen con la mayoría de los requisitos del método. Esta nota de aplicación describe un método para determinar la concentración de alcohol en sangre con el GC 8860, doble FID y el muestreador de espacio de cabeza 7697A.

## Experimento

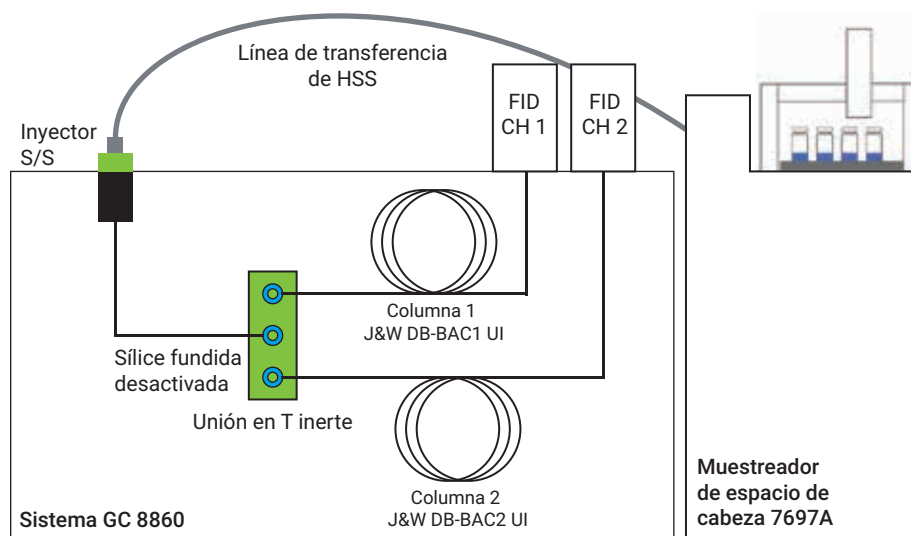
### Equipo

Se configuró un GC 8860 con un inyector split/splitless (SSL) y doble FID, y el muestreo se realizó con un muestreador de espacio de cabeza 7697A.

El GC 8860 puede utilizar dispositivos de flujo sin purgar. En este caso, se instaló una unión en T inerte para ejecutar el análisis en la configuración de doble columna y doble FID. En la Figura 1 se muestra un diagrama con dicha configuración.

### Consumibles

En la Tabla 1 se muestran los consumibles utilizados en la presente nota de aplicación. En la Tabla 2 se muestran los patrones de etanol ofrecidos por Agilent. Estos patrones pueden combinarse para crear patrones de calibración precisos o utilizarse por separado para comprobar la precisión de una curva de calibración.



**Figura 1.** Configuración experimental con doble columna/FID para el análisis de la concentración de alcohol en sangre.

**Tabla 1.** Lista de consumibles utilizados para esta aplicación.

Consumible	Referencia
Viales para espacio de cabeza de 10 ml transparentes, con tapón de encapsulado	5190-2285
Liner de inyección ultrainerte, baja caída de presión, split con lana de vidrio	5190-2295
Unión en T inerte para tecnología de flujo capilar	G3184-60065
Férrulas de inyector de columna (grafito, 0,4 mm, para columnas de 0,25 mm)	500-2114
Férrulas de FID (grafito, 0,5 mm, para columnas de 0,32 mm)	5080-8853
Férrulas de CFT (férrula metálica flexible UltiMetal Plus, 0,32 mm de d.i.)	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
Sílice fundida desactivada para precolumna a unión en T inerte (30 m × 250 µm d.i. × 350 µm d.e.)	160-2255-30

**Tabla 2.** Concentraciones del patrón de calibración de etanol y referencias correspondientes.

Patrón	Referencia
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

### Parámetros experimentales

En la Tabla 3 se muestran los parámetros del método para el GC y el muestreador de espacio de cabeza utilizados en esta nota de aplicación.

### Preparación de muestras

Los patrones de calibración se prepararon en viales para alcanzar concentraciones de etanol en el rango de 10 a 320 mg/dl. Se agregó el patrón interno de *n*-propanol para lograr una concentración final de 100 mg/dl.

Para determinar la reproducibilidad, se prepararon patrones de etanol (*n* = 10) a 15 y 60 mg/dl con el patrón interno a 100 mg/dl.

Tabla 3. Parámetros de GC y del muestreador de espacio de cabeza.

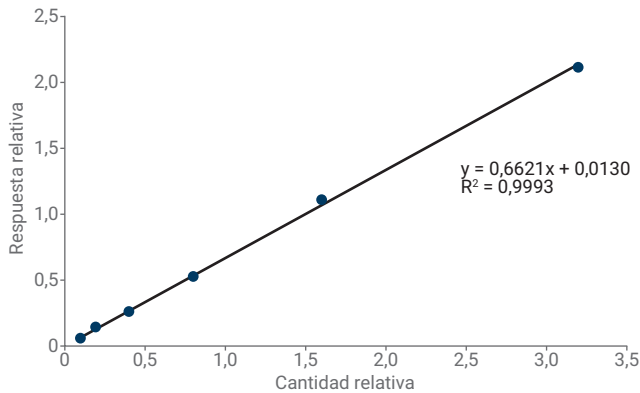
Parámetro de GC	Sistema GC 8860
Gas portador	Helio
Tipo de inyector	Split/splitless
Temperatura del inyector	110 °C
Presión de entrada	24 psi
Relación de split	10:1
Programa del horno	40 °C para 4,5 minutos
FID	250 °C
Parámetro de espacio de cabeza	Muestreador de espacio de cabeza 7697A
Gas de presurización de vial	Helio
Tamaño del loop	1 ml
Tamaño del vial	10 ml
Agitación del vial	Desactivado
Tapones	Forrado de PTFE
Flujo de viales en espera	20 ml/min
Tiempo de equilibrio del vial	7,00 minutos
Tiempo de inyección	1,00 minutos
Duración del ciclo de GC	4,50 minutos
Temperatura del horno	70 °C
Temperatura de loop	80 °C
Línea de transferencia	0,53 mm de diámetro interior, sílice fundida desactivada a través del séptum
Temperatura de la línea de transferencia	90 °C
Presión de llenado del vial	15 psi
Modo de llenado del loop	Personalizados
Velocidad de rampa de loop	30 psi/min
Presión final de loop	1,5 psi
Tiempo de equilibrio de loop	0,05 minutos
Purga posterior a la inyección	200 ml/min en 3 minutos
Gas portador controlado por GC	

### Linealidad/calibración

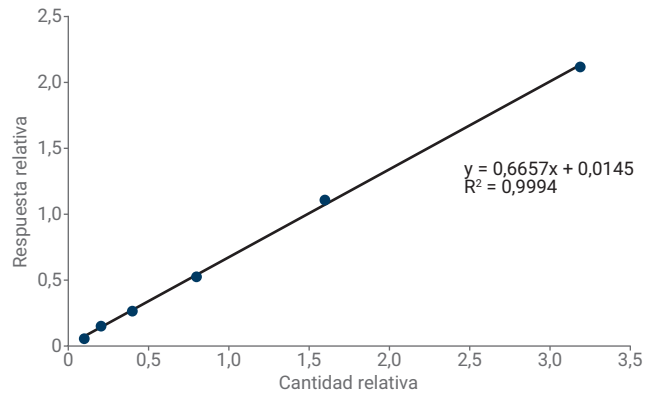
La calibración se realizó en las columnas J&W DB-BAC1 UI y J&W DB-BAC2 UI, primero en las columnas por separado y luego en la configuración de doble columna y doble FID. En ambos casos, se obtuvo una curva de calibración de seis niveles a 10, 20, 40, 80, 160

y 320 mg/dl de etanol en agua con *n*-propanol a 100 mg/dl como patrón interno. Se realizaron inyecciones repetidas ( $n = 3$ ) en cada nivel. Las Figuras 2 y 3 muestran las curvas de calibración para etanol en las columnas J&W DB-BAC1 UI y J&W DB-BAC2 UI en la configuración de una sola columna.

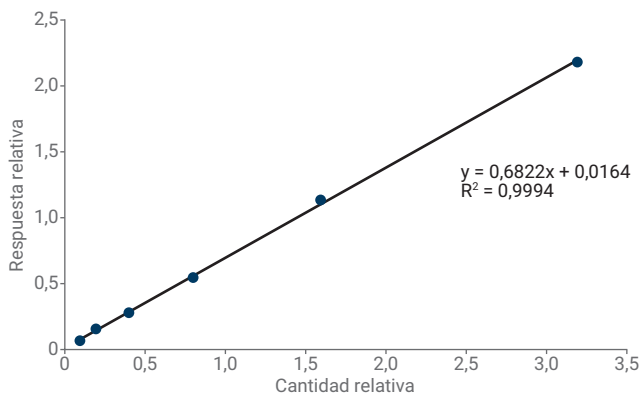
Después de calibrar las columnas de forma individual, se instaló una unión en T inerte para determinar las curvas de calibración simultáneas. En las Figuras 4 y 5 se muestran las curvas de calibración para la configuración de doble columna y doble FID.



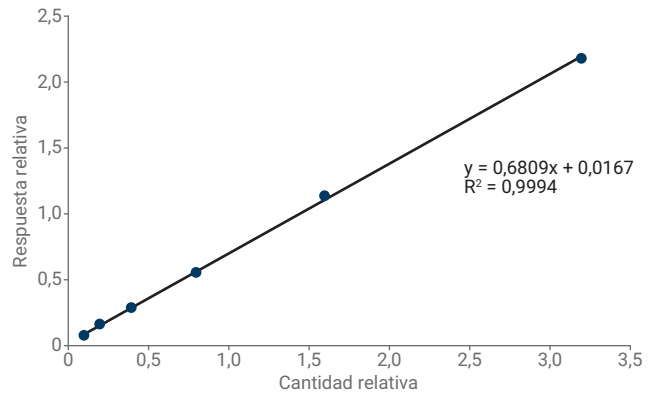
**Figura 2.** Curva de calibración para etanol relativa al patrón interno en la columna J&W DB-BAC1 UI en la configuración de una columna.



**Figura 3.** Curva de calibración para etanol relativa al patrón interno en la columna J&W DB-BAC2 UI en la configuración de una columna.



**Figura 4.** Curva de calibración para etanol relativa al patrón interno en la columna J&W DB-BAC1 UI en la configuración de doble columna.



**Figura 5.** Curva de calibración para etanol relativa al patrón interno en la columna J&W DB-BAC2 UI en la configuración de doble columna.

## Reproducibilidad

La reproducibilidad del área y del tiempo de retención se determinó a 15 y 60 mg/dl, respectivamente (Tablas 4 a 6).

En la Tabla 4 se muestra que las DER para cada concentración y columna son inferiores al 2 %.

Los tiempos de retención para todas las combinaciones de compuestos, columnas y concentraciones se mantuvieron esencialmente constantes en un 0,07 % o inferior.

## Prueba de resolución general con mezcla de comprobación de concentración de alcohol en sangre

Para documentar el rendimiento de las columnas J&W DB BAC1-UI y J&W DB BAC2-UI, se analizó la mezcla de comprobación de concentración de alcohol en sangre Agilent (ref. 5190-9765) con la configuración de doble columna. En la Figura 6 se muestran cromatogramas que representan la separación de los compuestos de la mezcla en las columnas J&W DB-BAC1 UI y J&W DB-BAC2 UI.

Los cromatogramas de la Figura 6 muestran que los 12 compuestos de la mezcla de comprobación de concentración de alcohol en sangre se resuelven en ambas columnas, incluido el acetaldehído y el etanol. Todos los picos muestran también simetría en ambas columnas.

**Tabla 4.** Desviaciones estándar relativas (DER %) en 10 inyecciones para la respuesta del etanol en relación con la respuesta del patrón interno a 15 y 60 mg/dl en cada columna.

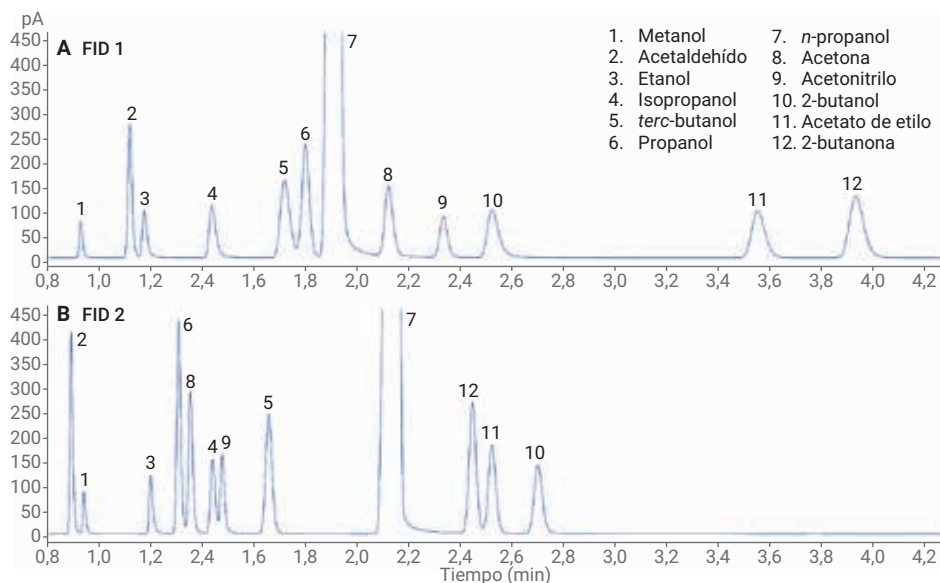
Columna/concentración de etanol	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	1,33 %	1,08 %
J&W DB-BAC2 UI	1,25 %	1,10 %

**Tabla 5.** DER% en 10 inyecciones del tiempo de retención de etanol a 15 y 60 mg/dl.

Columna/concentración de etanol	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	0,07 %	0,03 %
J&W DB-BAC2 UI	0,07 %	0,03 %

**Tabla 6.** DER% en 10 inyecciones del tiempo de retención de *n*-propanol para los conjuntos de datos con etanol a concentraciones de 15 y 60 mg/dl.

Columna/concentración de etanol	15 mg/dl	60 mg/dl
J&W DB-BAC1 UI	0,05 %	0,02 %
J&W DB-BAC2 UI	0,05 %	0,05 %



**Figura 6.** Cromatogramas de la mezcla de comprobación de BAC separados mediante las columnas J&W DB-BAC1 UI (A) y J&W DB-BAC2 UI (B).

## Conclusión

El sistema GC 8860 equipado con un muestreador de espacio de cabeza 7697A permite la identificación, cuantificación y confirmación de analitos de alcohol en sangre en un único análisis y cumple con la mayoría de los requisitos del método. La linealidad en ambas columnas es excelente en las configuraciones tanto de una sola columna como de dos columnas, al igual que la precisión para el área y el tiempo de retención y la capacidad de separar eficazmente todos los compuestos de interés. El GC 8860 proporciona un método económico pero eficaz para determinar la concentración de etanol en análisis de rutina.

## Referencia

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)

Para uso forense.

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
Impreso en EE. UU., 8 de enero de 2019  
5994-0443ES