

Analyse médico-légale de la concentration d'alcool dans le sang

Utilisation du GC Agilent 8860 avec des colonnes Agilent J&W DB-BAC1 UI et Agilent J&W DB-BAC2 UI et un échantillonneur d'espace de tête 7697A

Auteurs

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

Résumé

Cette note d'application décrit la détermination de la concentration d'alcool dans le sang (BAC) à l'aide d'un GC Agilent 8860 configuré avec deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) et un échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 7697A. Ce système présente d'excellentes performances statistiques, assurant la linéarité sur la plage de concentrations attendues et la reproductibilité sur de nombreuses injections. La productivité est grandement augmentée en utilisant un diviseur pour séparer les composants de l'échantillon simultanément sur deux colonnes : les colonnes Agilent J&W DB-BAC1 UI et Agilent J&W DB-BAC2 UI.

Introduction

Le pourcentage d'éthanol (alcool éthylique) dans le sang peut être déterminé par un test sanguin, urinaire ou respiratoire. L'analyse de la concentration d'alcool dans le sang est pratiquée de routine dans les laboratoires de médecine légale, avec une procédure comprenant généralement un échantillonnage d'espace de tête et un FID¹. Le GC 8860 est parfaitement adapté pour de telles analyses de routine. Des configurations matérielles simples, impliquant par exemple un échantillonneur d'espace de tête et deux FID, peuvent être facilement mises en œuvre avec un GC 8860 piloté à l'aide d'OpenLab CDS version 2.2 et satisfont à la plupart des exigences de méthode. Cette note d'application décrit une méthode pour la détermination de la concentration d'alcool dans le sang à l'aide du GC 8860, de deux FID et d'un échantillonneur d'espace de tête 7697A.

Données expérimentales

Équipement

Un GC 8860 a été configuré avec un injecteur split/splitless (SSL) et deux FID. L'échantillonnage a été réalisé à l'aide d'un échantillonneur d'espace de tête 7697A.

Le GC 8860 peut être utilisé avec la technologie de flux capillaire sans purge. Dans cette note d'application, un raccord en T inerte a été installé pour exécuter l'analyse avec une configuration à deux colonnes et deux FID. Un schéma de cette configuration est représenté dans la Figure 1.

Consommables

Les consommables utilisés dans cette note d'application sont indiqués dans le Tableau 1. Le Tableau 2 contient la liste des étalons d'éthanol d'Agilent. Ces étalons peuvent être combinés pour créer des mélanges étalon exacts ou utilisés individuellement pour vérifier l'exactitude de la courbe d'étalonnage.

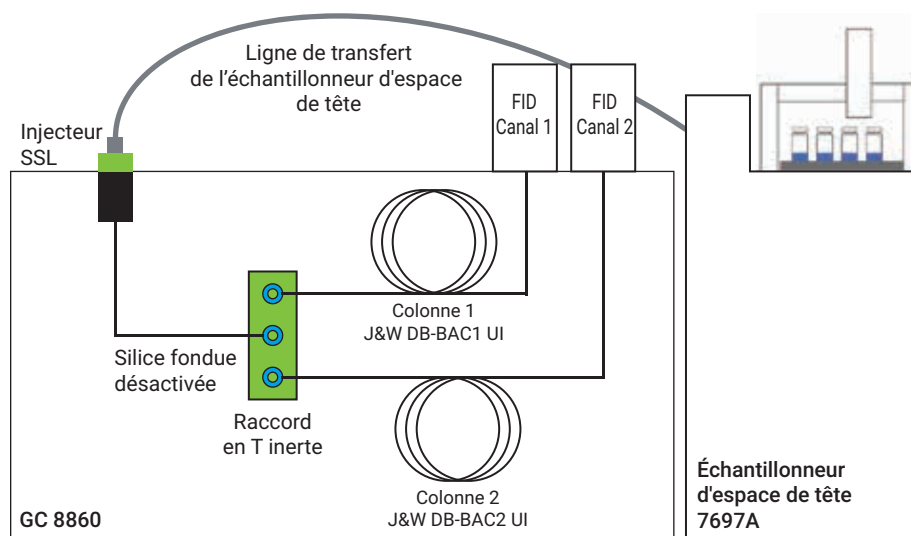


Figure 1. Configuration expérimentale avec deux colonnes et deux FID pour l'analyse de la concentration d'alcool dans le sang.

Tableau 1. Liste des consommables utilisés pour cette note d'application.

Consommable	Référence
Flacons d'échantillonnage d'espace de tête, transparents, avec capsules à sertir, 10 mL	5190-2285
Insert d'injection, avec division, à faible perte de charge, ultra inerte, avec laine de verre	5190-2295
Raccord en T inerte pour technologie de flux capillaire	G3184-60065
Ferrules d'entrée de colonne (graphite, 0,4 mm, pour colonnes de 0,25 mm)	500-2114
Ferrules pour FID (graphite, 0,5 mm, pour colonnes de 0,32 mm)	5080-8853
Ferrules pour technologie de flux capillaire (ferrules métalliques flexibles UltiMetal Plus, d.i. 0,32 mm)	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
Silice fondue désactivée pour précolonne vers raccord en T inerte (30 m × d.i. 250 µm × d.e. 350 µm)	160-2255-30

Tableau 2. Concentrations des étalons éthanol Agilent et références correspondantes.

Étalon	Référence
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

Paramètres expérimentaux

Les paramètres de méthode du GC et de l'échantillonneur d'espace de tête utilisés dans cette note d'application sont indiqués dans le Tableau 3.

Préparation des échantillons

Des mélanges étalon ont été préparés dans des flacons avec une plage de concentration en éthanol allant de 10 à 320 mg/dL. Un étalon interne de *n*-propanol a été ajouté à une concentration de 100 mg/dL.

Afin de déterminer la reproductibilité, des étalons d'éthanol (*n* = 10) ont été préparés à 15 et 60 mg/dL avec le même étalon interne à 100 mg/dL.

Tableau 3. Paramètres du GC et de l'échantillonneur d'espace de tête.

Paramètre du GC	GC 8860
Gaz vecteur	Hélium
Type d'injecteur	Split/splitless
Température de l'injecteur	110 °C
Pression de l'injecteur	24 psi
Rapport de division	10:1
Programme du four	40 °C pendant 4,5 minutes
FID	250 °C
Paramètre d'espace de tête	Échantillonneur d'espace de tête 7697A
Gaz de pressurisation des flacons	Hélium
Taille de la boucle	1 mL
Taille des flacons	10 mL
Agitation des flacons	Aucune
Capsules	Avec une face PTFE
Débit d'attente des flacons	20 mL/min
Temps de stabilisation des flacons	7,00 minutes
Durée d'injection	1,00 minute
Temps de cycle GC	4,50 minutes
Température du four	70 °C
Température de la boucle	80 °C
Ligne de transfert	d.i. 0,53 mm, silice fondue désactivée à travers le septum
Température de la ligne de transfert	90 °C
Pression de remplissage des flacons	15 psi
Mode de remplissage de la boucle	Personnalisé
Montée en pression de la boucle	30 psi/min
Pression finale de la boucle	1,5 psi
Temps de stabilisation de la boucle	0,05 minute
Purge après injection	200 mL/min pendant 3 minutes
Gaz vecteur contrôlé par le GC	

Étalonnage/linéarité

L'étalonnage a été réalisé sur les colonnes J&W DB-BAC1 UI et J&W DB-BAC2 UI sur chaque colonne individuellement, puis dans la configuration à deux colonnes et deux FID. Dans les deux cas, une courbe d'étalonnage a été créée avec 100 mg/dL de *n*-propanol comme étalon interne et les six niveaux de concentration

suivants : 10, 20, 40, 80, 160 et 320 mg/dL d'éthanol dans l'eau. Les injections ont été répétées ($n = 3$) pour chaque niveau de concentration. Les Figures 2 et 3 présentent les courbes d'étalonnage pour l'éthanol obtenues sur les colonnes J&W DB-BAC1 UI et J&W DB-BAC2 UI dans la configuration à une seule colonne.

Après la réalisation de l'étalonnage individuellement sur chaque colonne, un raccord en T inerte a été installé afin d'obtenir des courbes d'étalonnage simultanées. Les Figures 4 et 5 présentent les courbes d'étalonnage pour la configuration à deux colonnes et deux FID.

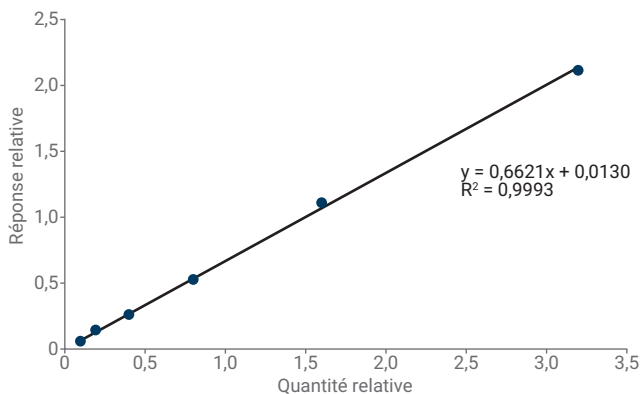


Figure 2. Courbe d'étalonnage pour l'éthanol par rapport à l'étalon interne sur la colonne J&W DB-BAC1 UI dans la configuration à une seule colonne.

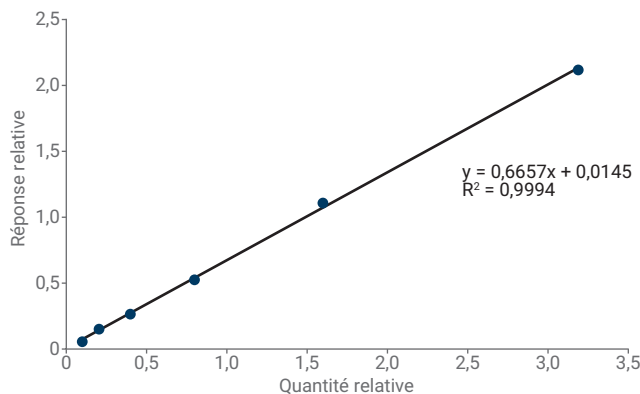


Figure 3. Courbe d'étalonnage pour l'éthanol par rapport à l'étalon interne sur la colonne J&W DB-BAC2 UI dans la configuration à une seule colonne.

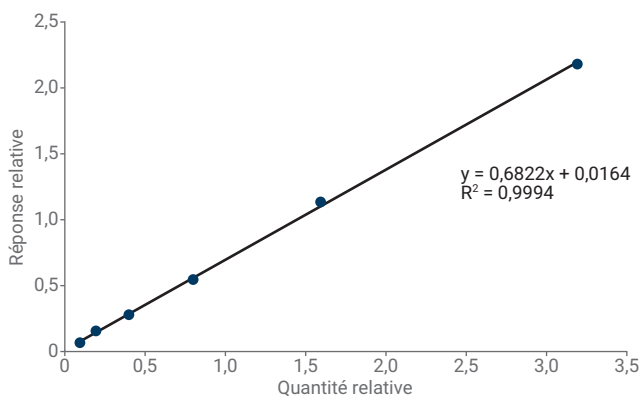


Figure 4. Courbe d'étalonnage pour l'éthanol par rapport à l'étalon interne sur la colonne J&W DB-BAC1 UI dans la configuration à deux colonnes.

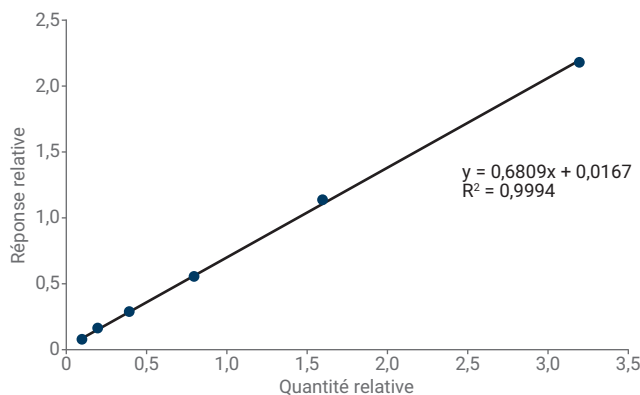


Figure 5. Courbe d'étalonnage pour l'éthanol par rapport à l'étalon interne sur la colonne J&W DB-BAC2 UI dans la configuration à deux colonnes.

Reproductibilité

La reproductibilité des temps de rétention et des aires de pics a été déterminée à 15 et 60 mg/dL, respectivement (Tableaux 4 et 6).

Le Tableau 4 montre que les RSD pour chaque concentration et chaque colonne sont inférieures à 2 %.

Les temps de rétention pour toutes les combinaisons de composés, de colonnes et de concentrations sont demeurés pratiquement constants, avec une RSD de 0,07 % ou moins.

Test de résolution générale avec le mélange de vérification de la concentration d'alcool dans le sang

Afin d'évaluer les performances des colonnes J&W DB BAC1 UI et J&W DB BAC2 UI, le mélange de vérification de la concentration d'alcool dans le sang d'Agilent (réf. 5190-9765) a été analysé à l'aide de la configuration à deux colonnes. La Figure 6 présente les chromatogrammes de la séparation des composés du mélange sur les colonnes J&W DB BAC1 UI et J&W DB BAC2 UI.

Les chromatogrammes de la Figure 6 montrent que les 12 composés du mélange de vérification de la concentration d'alcool dans le sang sont bien séparés les uns des autres sur les deux colonnes, y compris l'acétaldéhyde et l'éthanol. Tous les pics sont symétriques sur les deux colonnes.

Tableau 4. Déviations standard relatives (RSD en %) sur 10 injections pour la réponse de l'éthanol par rapport à la réponse de l'étalon interne à 15 et 60 mg/dL sur chaque colonne.

Colonne/concentration d'éthanol	15 mg/dL	60 mg/dL
J&W DB-BAC1 UI	1,33 %	1,08 %
J&W DB-BAC2 UI	1,25 %	1,10 %

Tableau 5. RSD en % du temps de rétention de l'éthanol à 15 et 60 mg/dL sur 10 injections.

Colonne/concentration d'éthanol	15 mg/dL	60 mg/dL
J&W DB-BAC1 UI	0,07 %	0,03 %
J&W DB-BAC2 UI	0,07 %	0,03 %

Tableau 6. RSD en % sur 10 injections du temps de rétention du *n*-propanol pour les ensembles de données avec l'éthanol aux concentrations de 15 et 60 mg/dL.

Colonne/concentration d'éthanol	15 mg/dL	60 mg/dL
J&W DB-BAC1 UI	0,05 %	0,02 %
J&W DB-BAC2 UI	0,05 %	0,05 %

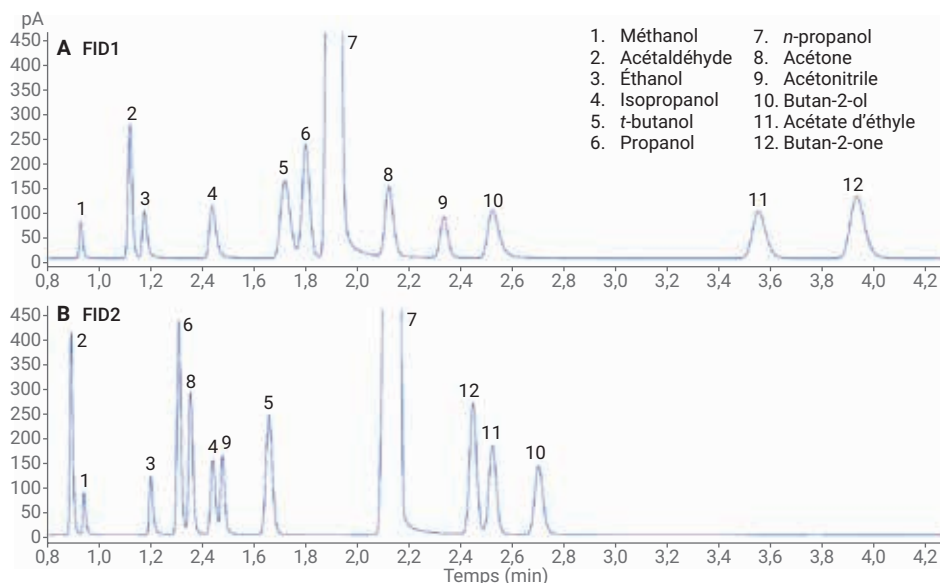


Figure 6. Chromatogrammes du mélange de vérification de la concentration d'alcool dans le sang obtenus avec les colonnes J&W DB-BAC1 UI (A) et J&W DB-BAC2 UI (B).

Conclusion

Le GC 8860 équipé d'un échantillonneur d'espace de tête 7697A permet l'identification, la quantification et la confirmation des composés relatifs à la détermination de la concentration d'alcool dans le sang et ce, en une seule analyse. Ce système satisfait également la plupart des exigences méthodologiques. La linéarité sur les deux colonnes est excellente aussi bien dans les configurations à une seule qu'à deux colonnes. La précision des aires de pics et des temps de rétention, ainsi que la capacité de séparer efficacement tous les composés d'intérêt est également excellente. Le GC 8860 constitue un moyen économique, mais efficace, de déterminer la concentration d'éthanol dans le sang dans les analyses de routine.

Référence

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

Pour utilisation médico-légale.

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Imprimé aux États-Unis, le 8 janvier 2019
5994-0443FR