

# Análise Forense da Concentração de Álcool no Sangue

Usar o GC Agilent 8860 com colunas Agilent J&W DB-BAC1 UI e Agilent J&W DB-BAC2 UI e com o amostrador headspace Agilent 7697A

## **Autores**

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

## **Resumo**

Esta Nota de aplicação destaca a determinação da concentração de álcool no sangue (BAC) usando o GC Agilent 8860 configurado com detectores de ionização de chama (FIDs) e um amostrador headspace Agilent 7697A. O sistema demonstra desempenho estatístico excepcional, com linearidade em toda a faixa esperada de concentrações e repetibilidade através de várias injeções. A produtividade é grandemente aumentada quando se implementa um divisor para resolver simultaneamente os componentes da amostra em duas colunas: Agilent J&W DB-BAC1 UI e Agilent J&W DB-BAC2 UI.

## Introdução

A concentração de álcool no sangue corresponde à porcentagem de etanol (álcool etílico) na corrente sanguínea e pode ser medida através de exames de sangue, urina e bafômetro. A análise de alcoolemia é rotineira em vários laboratórios forenses, com um fluxo de trabalho padrão que inclui amostragem por headspace e FID<sup>1</sup>. O sistema GC 8860 é bem adequado a análises de rotinas, como a concentração de álcool no sangue. Configurações do hardware simples, como FID com HSS duplo, são facilmente obtidas com o GC 8860 interligado com o OpenLab CDS versão 2.2 e atendem à maioria dos requisitos do método. Esta Nota de aplicação descreve um método para a determinação de concentração de álcool no sangue com o GC 8860, FIDs duplos e o amostrador headspace 7697A.

## Parte experimental

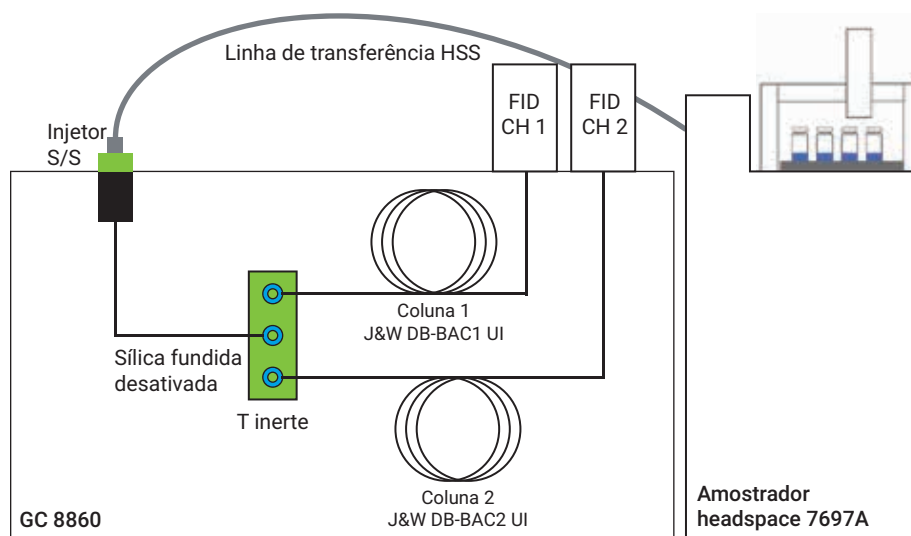
### Equipamento

Um GC 8860 foi configurado com um injetor split/splitless (SSL) e FIDs duplos, sendo que a amostragem foi realizada usando um amostrador headspace 7697A.

O GC 8860 pode usar dispositivos de fluxo não purgados. Neste caso, um T inerte foi instalado para executar a análise na configuração de coluna dupla e FID duplo. A Figura 1 contém um diagrama que mostra esta configuração.

### Consumíveis

A Tabela 1 lista os consumíveis usados nesta Nota de aplicação. A Tabela 2 lista os padrões de etanol oferecidos pela Agilent. Esses padrões podem ser combinados para criar padrões de calibração precisos ou usados isoladamente para verificar a precisão de uma curva de calibração.



**Figura 1.** Configuração experimental usando coluna/FID duplos para análise da concentração de álcool no sangue.

**Tabela 1.** Lista de consumíveis usados nesta aplicação.

Consumível	Part number
Vials do headspace lacráveis e transparentes de 10 mL	5190-2285
Liner do injetor com queda de pressão baixa, ultra inerte, com lã de vidro	5190-2295
T inerte para tecnologia de fluxo capilar	G3184-60065
Anilhas para entrada de coluna (grafite, 0,4 mm, para colunas de 0,25 mm)	500-2114
Anilhas para FID (grafite, 0,5 mm, para colunas de 0,32 mm)	5080-8853
Anilhas para tecnologia de fluxo capilar (anilhas de metal flexível UltiMetal Plus, diâmetro interno de 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
Sílica fundida desativada para pré-coluna a T inerte (30 m × 250 µm de diâmetro interno × 350 µm de diâmetro externo)	160-2255-30

**Tabela 2.** Concentrações do padrão de calibração de etanol e part numbers correspondentes.

Padrão	Part number
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

### Parâmetros experimentais

A Tabela 3 lista os parâmetros do método para o GC e o amostrador headspace usados nesta Nota de aplicação.

### Preparo de amostras

Os padrões de calibração foram preparados em vials para obter concentrações de etanol na faixa de 10 a 320 mg/dL. O padrão interno de *n*-propanol foi adicionado para atingir uma concentração final de 100 mg/dL.

Para determinar a repetibilidade, padrões de etanol (n = 10) foram preparados em concentrações de 15 e 60 mg/dL com o padrão interno em 100 mg/dL.

Tabela 3. Parâmetros do GC e do amostrador headspace.

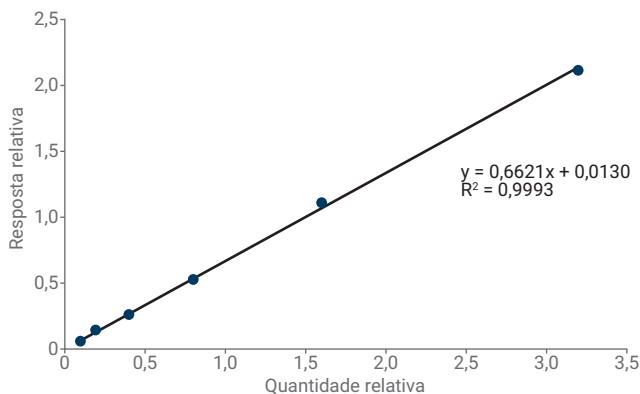
Parâmetros do GC	GC 8860
Gás de arraste	Hélio
Tipo de injetor	Split/splitless
Temperatura do injetor	110 °C
Pressão de entrada	24 psi
Razão de split	10:1
Programa do forno	40 °C durante 4,5 minutos
FID	250 °C
Parâmetros do headspace	Amostrador headspace 7697A
Gás de pressurização de vial	Hélio
Tamanho do loop	1 mL
Tamanho do vial	10 mL
Agitação do vial	Desligada
Tampas	Revestidas com PTFE
Fluxo de espera do vial	20 mL/min
Tempo de equilíbrio do vial	7,00 minutos
Tempo de injeção	1,00 minutos
Tempo do ciclo do GC	4,50 minutos
Temperatura do forno	70 °C
Temperatura do loop	80 °C
Linha de transferência	Diâmetro interno de 0,53 mm, sílica fundida desativada através do septo
Temperatura da linha de transferência	90 °C
Pressão de enchimento do vial	15 psi
Modo de enchimento do loop	Personalizado
Taxa de aumento do loop	30 psi/min
Pressão final do loop	1,5 psi
Tempo de equilíbrio do loop	0,05 minutos
Purga pós-injeção	200 mL/min durante 3 minutos
Gás de arraste controlado pelo GC	

### Calibração/linearidade

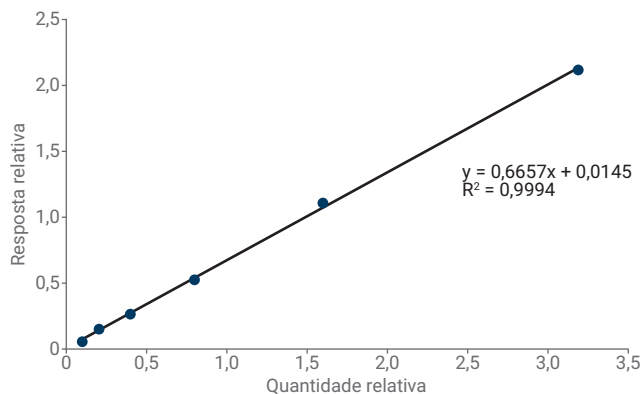
A calibração foi realizada nas duas colunas J&W DB-BAC1 UI e J&W DB-BAC2 UI, primeiramente nas colunas individuais e depois na configuração de coluna dupla e FID duplo. Em ambos os casos, uma curva de calibração de seis níveis foi coletada com 10, 20, 40,

80, 160 e 320 mg/dL de etanol em água com *n*-propanol em 100 mg/dL como padrão interno. Replicatas de injeções (*n* = 3) foram realizadas em cada nível. As Figuras 2 e 3 mostram curvas de calibração para o etanol nas colunas J&W DB-BAC1 UI e J&W DB-BAC2 UI na configuração de coluna única.

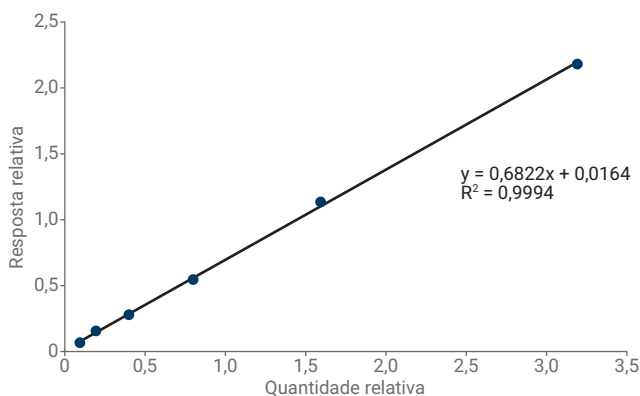
Após calibrar as colunas individualmente, um T inerte foi instalado para determinar curvas de calibração simultâneas. As Figuras 4 e 5 mostram as curvas de calibração para a configuração de coluna dupla e FID duplo.



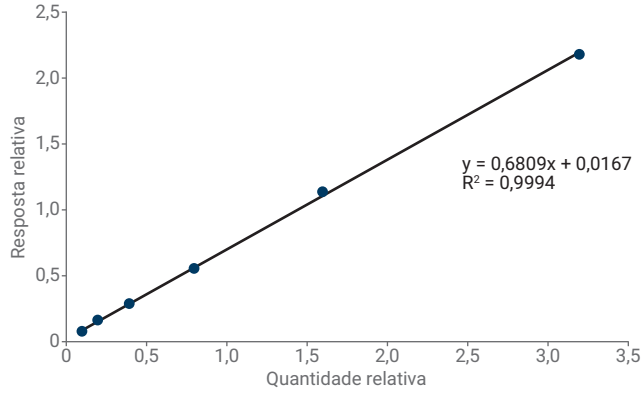
**Figura 2.** Curva de calibração para o etanol em relação ao padrão interno na coluna J&W DB-BAC1 UI na configuração de coluna única.



**Figura 3.** Curva de calibração para o etanol em relação ao padrão interno na coluna J&W DB-BAC2 UI na configuração de coluna única.



**Figura 4.** Curva de calibração para o etanol em relação ao padrão interno na coluna J&W DB-BAC1 UI na configuração de coluna dupla.



**Figura 5.** Curva de calibração para o etanol em relação ao padrão interno na coluna J&W DB-BAC2 UI na configuração de coluna dupla.

## Repetibilidade

A repetibilidade da área e do tempo de retenção foi determinada com 15 e 60 mg/dL, respectivamente (Tabelas 4 a 6).

A Tabela 4 mostra que os desvios padrão relativos para cada concentração e coluna são inferiores a 2%.

Os tempos de retenção para todas as combinações de compostos, colunas e concentrações permaneceram essencialmente constantes em 0,07% ou menos.

## Teste de resolução geral com mistura padrão para concentração de álcool no sangue

Para documentar o desempenho das colunas J&W DB BAC1-UI e J&W DB BAC2-UI, a mistura padrão para concentração de álcool no sangue da Agilent (p/n 5190-9765) foi analisada usando a configuração de coluna dupla. A Figura 6 mostra cromatogramas que revelam a separação dos compostos da mistura nas colunas J&W DB-BAC1 UI e J&W DB-BAC2 UI.

Os cromatogramas na Figura 6 mostram que todos os 12 compostos na mistura padrão para concentração de álcool no sangue são resolvidos entre si em ambas as colunas, inclusive acetaldeído e etanol. Todos os picos também apresentam simetria em ambas as colunas.

**Tabela 4.** Desvios padrão relativos (DPR%) em 10 injeções para resposta do etanol em relação à resposta do padrão interno em concentrações de 15 e 60 mg/dL em cada coluna.

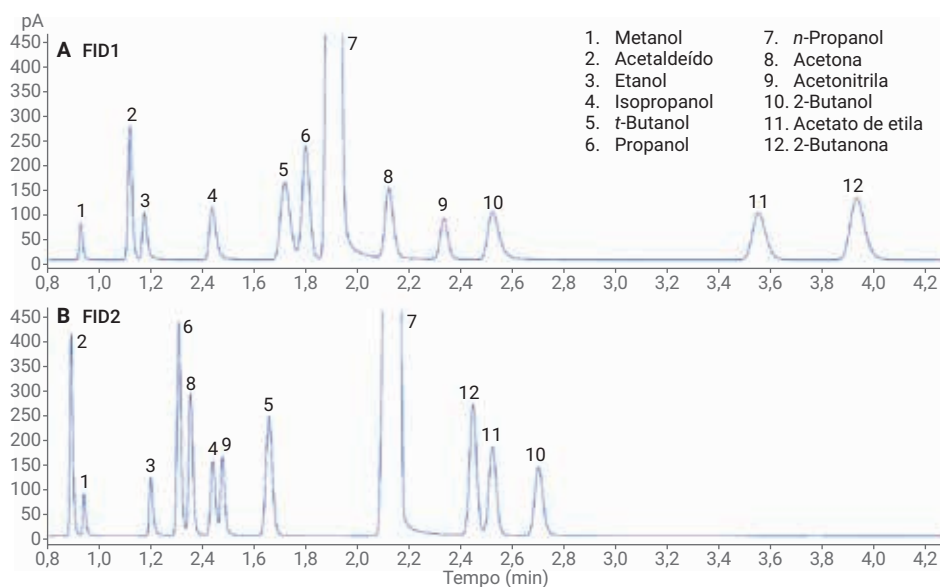
Coluna/concentração de etanol	15 mg/dL	60 mg/dL
J&W DB-BAC1 UI	1,33%	1,08%
J&W DB-BAC2 UI	1,25%	1,10%

**Tabela 5.** Porcentagem de desvio padrão relativo em 10 injeções do tempo de retenção de etanol em concentrações de 15 e 60 mg/dL.

Coluna/concentração 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%

**Tabela 6.** Porcentagem de desvio padrão relativo em 10 injeções do tempo de retenção de *n*-propanol para os conjuntos de dados com etanol em concentrações de 15 a 60 mg/dL.

Coluna/concentração 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 da mistura padrão para concentração de álcool no sangue separada usando as colunas J&W DB-BAC1 UI (A) e J&W DB-BAC2 UI (B).

## Conclusão

O sistema GC 8860 equipado com amostrador headspace 7697A permite a identificação, quantificação e confirmação de analitos de álcool no sangue em uma única execução, e atende à maioria dos requisitos do método. A linearidade em ambas as colunas é excelente nas configurações de coluna única e dupla, bem como a precisão da área e do tempo de retenção, além da habilidade de separar de modo eficaz todos os compostos de interesse entre si. O GC 8860 fornece um método econômico porém eficaz de determinar a concentração de etanol em análises de rotina.

## Referência

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.

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
Impresso nos EUA, 8 de janeiro de 2019  
5994-0443PTBR