

Análisis de alcohol en sangre con el muestrador de espacio de cabeza Agilent 8697 integrado en el sistema GC 8890 con FID dual

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

Los límites legales del contenido de alcohol en sangre (BAC) para conducir vehículos motorizados varían en función del país, pero en muchos de ellos el nivel de intoxicación se sitúa en el 0,05 o 0,08 %. La evaluación estadística del muestrador de espacio de cabeza Agilent 8697 conectado al sistema GC Agilent 8890 muestra una excelente linealidad del etanol entre el 0,02 y el 0,4 %. El instrumento consta de una configuración de doble columna y doble FID y ofrece reproducibilidad entre viales a la concentración del 0,05 %, con una DER inferior al 2 % para la mayor parte de los compuestos alcohólicos y carbonílicos de una muestra.

Introducción

El análisis de concentración de alcohol en sangre mediante GC es una prueba consolidada en casos legales, forenses y de diagnóstico. La sangre es una mezcla extraordinariamente compleja de material principalmente no volátil, lo que supone grandes obstáculos para las inyecciones directas de muestras de sangre entera con los sistemas de GC tradicionales. Los alcoholes o metabolitos de alcoholes de bajo peso molecular presentes en casos de intoxicación o exposición son mucho más volátiles que el resto de la matriz de la sangre, lo que supone una oportunidad para el muestreo de espacio de cabeza.

La incorporación de un muestreador para extraer el contenido volátil de una muestra reduce al mínimo los problemas de la exhaustiva preparación de muestras y los errores humanos. El muestreador de espacio de cabeza 8697 se basa en la tecnología de válvula y loop con excelentes resultados en el pasado, que añade un control de la neumática mejorado, total integración en el controlador de GC y diversas mejoras para el usuario. Estas mejoras incluyen el diagnóstico paso a paso, disponible a través de la interfaz del navegador o mediante interacciones con la pantalla táctil, luces indicadoras para confirmar la correcta colocación de las bandejas y una línea de transferencia reforzada. Las similitudes en cuanto a zonas de parámetros permiten una migración sin problemas desde los parámetros anteriores del espacio de cabeza 7697A.^{1,2,3}

Experimento

Se utilizó un sistema GC Agilent 8890 configurado con un inyector split/splitless y dos detectores de ionización de llama (FID) para recibir la muestra procedente del muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697. En la Figura 1 se ofrecen otros detalles del sistema; los patrones analíticos y los consumibles usados en el análisis se

muestran en la Tabla 1. Las condiciones del método se muestran en la Tabla 2. Se preparó un lote de 1 l de agua (dispensada en Millipore) con un 0,1 % (v/v) de t-butanol como patrón interno y disolvente. Los viales para espacio de cabeza del análisis contenían 0,5 ml de volumen de muestra, con 50 µl de patrón que se añadieron a 450 µl de solución de agua/t-butanol.

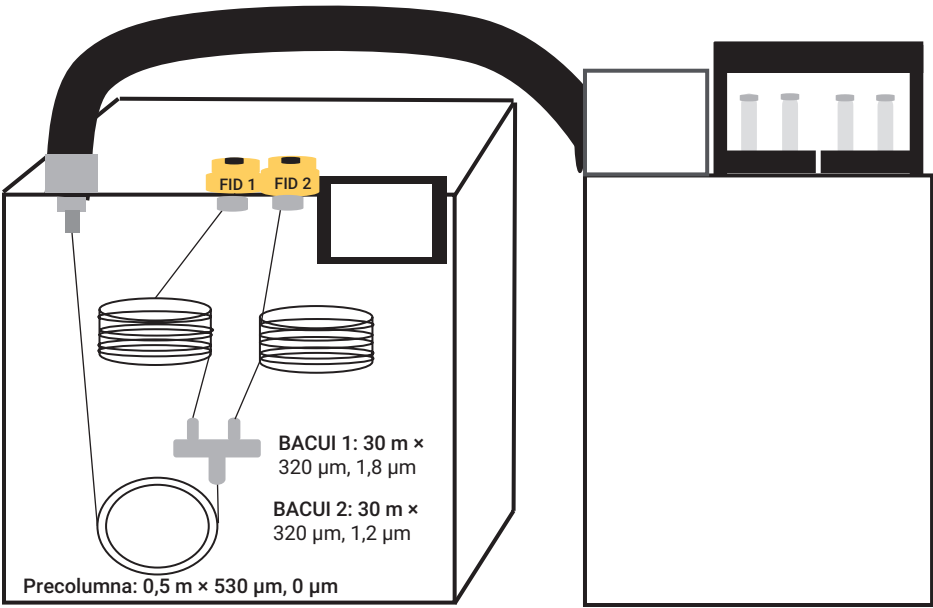


Figura 1. Detalles de la configuración del sistema espacio de cabeza/GC usado en el análisis.

Tabla 1. Consumibles instrumentales y patrones que se usan para el análisis.

Consumibles		Patrones		Proveedor	Ensayo
Viales de 20 ml y tapones de encapsulado	Ref. 5190-2286	Mezcla de resolución para BAC	5190-9765	Agilent	Resolución
Liner para GC (2 mm de d.i.)	Ref. 5190-6168	Calibración de etanol	G3440-85035	Agilent	Linealidad
Línea de transferencia (sílice fundida desactivada)	0,53 mm de d.i.	t-Butanol, >99 %	24127	Millipore/Sigma	
Columnas		Disolventes personalizados	Personalizado	Restek	Reproducibilidad
Precolumna: 0,5 m x 0,53 mm x 0 µm	Ref. 160-2535-10				
Columna 1: Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m x 0,32 mm x 1,8 µm)	Ref. 123-9334UI				
Columna 2: Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m x 0,32 mm x 1,2 µm)	Ref. 123-9434UI				

Tabla 2. Condiciones del espacio de cabeza y del sistema GC que se usan para el análisis.

Condiciones del espacio de cabeza 8697	
Temperatura del horno	70 °C
Temperatura de loop	80 °C
Temperatura de la línea de transferencia	90 °C
Equilibrado del vial	7 min
Tiempo de inyección	1 min
Tamaño de vial	20 ml
Modo de llenado del vial	Predeterminado
Presión de llenado	15 psi
Gas de presurización	Nitrógeno
Modo de llenado del loop	Personalizado
Presión final del loop	1,5 psi
Equilibrado del loop	0,05
Volumen del loop	1 ml
Condiciones del sistema GC 8890	
Temperatura del inyector	150 °C
Relación de split	10:1
Modo	Presión constante
Presión en el inyector	21 psi (helio)
Horno	40 °C, isotérmico durante 5 minutos
Temperatura del FID (ambos)	250 °C
Flujo de aire	400 ml/min
Flujo de hidrógeno	30 ml/min
Auxiliar (N ₂)	25 ml/min

Resultados y comentarios

Para evaluar el rendimiento del muestreador de espacio de cabeza 8697 se utilizaron tres pruebas: linealidad del etanol, reproducibilidad entre viales y resolución del patrón de mezcla para contenido de alcohol en sangre.

Linealidad del etanol

Se creó una curva de calibración con seis puntos de datos entre 0,02 y 0,4 mg/dl. En la Figura 2 se muestran los gráficos individuales de una prueba de calibración. La curva de regresión se generó con el patrón interno, *t*-butanol y comparando las relaciones relativas sin ponderación. Se repitieron algunas pruebas de linealidad del etanol y todos los valores de R² fueron superiores a 0,9995 en este rango.

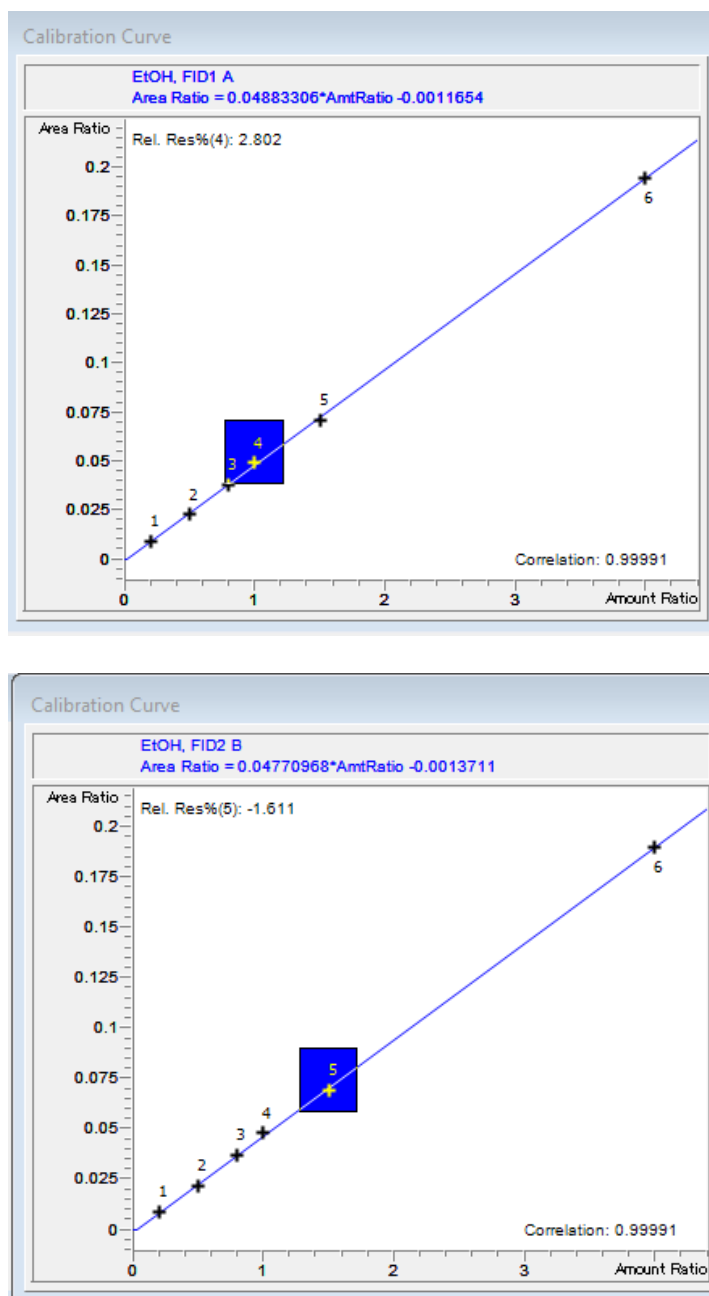


Figura 2. Gráficos de calibración de etanol para ambos FID en el rango de 0,02 a 0,4 mg/dl.

Reproducibilidad

Se llevó a cabo un estudio de reproducibilidad con una solución multicomponente añadida al agua/patrón interno para crear una solución de 0,05 mg/dl de concentración en cada vial del espacio de cabeza. En la Tabla 3 se detalla el tiempo de retención y la reproducibilidad de cada compuesto con referencia al patrón interno, t-butanol, en 12 inyecciones consecutivas.

Resolución

El uso de la pareja de confirmación de columnas formada por Agilent J&W DB-BAC1 y DB-BAC2 UI proporciona una resolución significativa en estas condiciones. El flujo se puede acelerar o ralentizar en función de la lista de compuestos individuales y de los requisitos de resolución. En la Figura 3 se muestran los cromatogramas para ambas columnas, mientras que en la Tabla 4 aparecen el tiempo de retención y los datos sobre resolución.

Tabla 3. Reproducibilidad entre viales del patrón de mezcla de BAC

Compuesto	FID 1		FID 2	
	TR	RRF	TR	RRF
Metanol	0,03%	2,06%	0,03%	1,72%
Acetaldehído	0,04 %	2,09%	0,00%	2,11%
Etanol	0,00 %	2,16%	0,02%	1,69%
Isopropanol	0,02 %	1,49%	0,03%	1,34%
Acetona	0,02%	0,74%	0,00%	1,01%
1-propanol	0,04 %	1,90%	0,02%	1,61%
2-butanona	0,04 %	2,74%	0,02%	2,68%

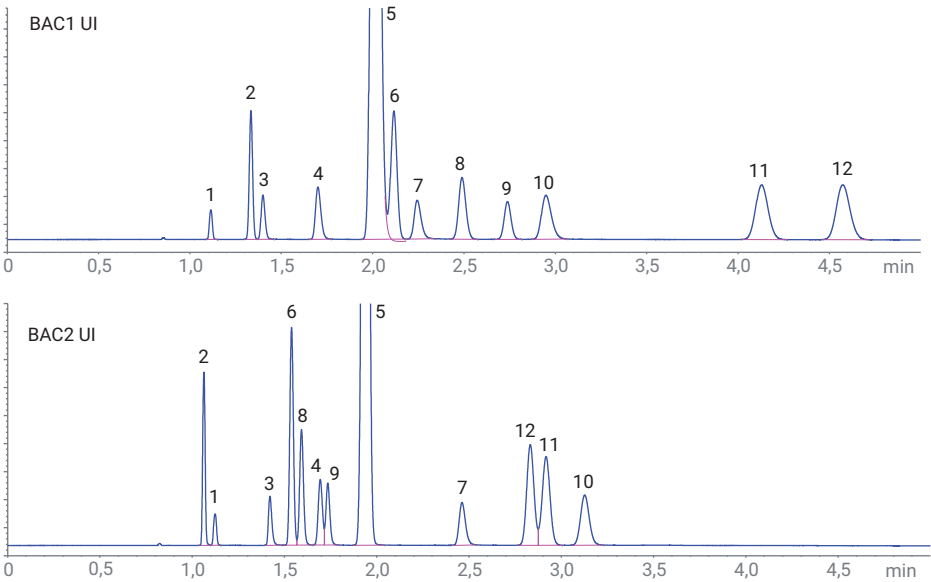


Figura 3. Cromatogramas FID de la mezcla de resolución para BAC de Agilent en columnas Agilent J&W DB-BAC1 UI y DB-BAC2 UI.

Tabla 4. N.º de pico, tiempos de retención y cálculos de resolución (USP) en columnas BAC1 UI y BAC2 UI.

Índice de pico	Nombre del compuesto	TR BAC1 UI (min)	Rs BAC1 UI	TR BAC2 UI (min)	Rs BAC2 UI
1	Metanol	1,071		1,081	2,7
2	Acetaldehído	1,284	7,9	1,022	
3	Etanol	1,348	2,0	1,371	11,5
4	Isopropanol	1,644	7,2	1,640	3,1
5	t-Butanol	1,953	5,2	1,881	5,3
6	Propanal	2,048	1,3*	1,485	4,1
7	n-Propanol	2,175	2,0*	2,388	10,6
8	Acetona	2,412	3,8	1,538	1,8
9	Acetonitrilo	2,65	3,9	1,674	1,1
10	2-butanol	2,867	3,0	3,043	3,3
11	Acetato de etilo	4,027	12,4	2,84	1,6
12	2-butanona	4,456	4,1	2,753	7,1

Los datos tabulados sobre resolución son la comparación entre el pico diana y el pico del compuesto que precede inmediatamente a la diana. Los valores de resolución para propanal y *n*-propanol se han calculado manualmente. Para mantener una respuesta de *t*-butanol (patrón interno) uniforme entre los patrones de la calibración de etanol y de la mezcla de resolución, se aplicó un skim de cola en los parámetros de integración. Esta modificación deshabilitó el cálculo automatizado de la anchura de pico tangencial, necesario para los cálculos de resolución USP (Figura 4). Como el orden de elución no es idéntico entre las dos columnas, los compuestos de baja resolución de la columna 1 se separan mejor en la columna 2, lo que demuestra eficazmente la naturaleza complementaria de este análisis de confirmación. Como alternativa, se puede emplear *n*-propanol como patrón interno.

Los atributos de los picos, como anchura de pico y simetría de pico, pueden ser indicadores útiles del estado general del sistema y de los consumibles. Los sistemas GC 8890 y 9000 Intuvo cuentan con una característica denominada Evaluación de picos⁴ que puede habilitarse para monitorizar características clave de una aplicación, que indican al usuario si existen ligeras diferencias antes de que se observe cualquier pérdida de productividad. Una sencilla actualización del firmware proporciona esta característica a los usuarios que dispongan de unidades centrales de GC aptas para ello.

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

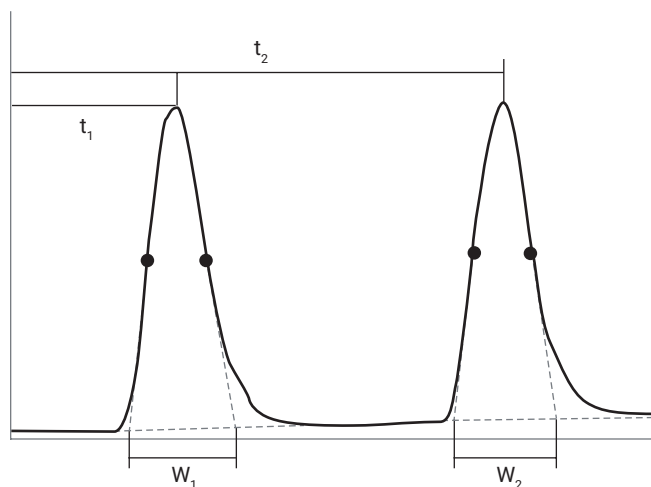


Figura 4. Cálculo USP para la resolución, determinado en Agilent OpenLab ChemStation Edition, versión C.1.10.

Conclusión

El muestreador de espacio de cabeza Agilent 8697 ofrece una sencilla transferencia de métodos y un rendimiento equivalente al del muestreador Agilent 7697A. Lo que proporciona el sistema 8697 es una ampliación de la inteligencia de GC en un controlador totalmente integrado, un diagnóstico mejorado guiado por el usuario y unos recursos al alcance de la mano para ayudar al usuario en tareas de mantenimiento, funcionamiento y resolución de problemas para aumentar el rendimiento.

Referencias

1. Análisis de la concentración de alcohol en sangre con un sistema GC Agilent Intuvo 9000. Nota de aplicación de Agilent Technologies, número de publicación 5991-8999ES, **2020**.

2. Abercrombie, V. Improved Resolution and Peak Shape Performance for the Determination of Blood Alcohol Concentration Using Agilent J&W DB-BAC1 Ultra Inert and DB-BAC2 Ultra Inert Columns. Nota de aplicación de Agilent Technologies, número de publicación 5991-8206ES, **2017**.
3. Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. Forensic Analysis of Blood Alcohol Concentration. Nota de aplicación de Agilent Technologies, número de publicación 5994-0443ES, **2019**.
4. Agilent Technologies: GC Intelligence. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (con acceso el 16 de febrero de 2021).

www.agilent.com/chem

Para uso forense.

RA44246.726412037

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Impreso en EE. UU., 8 de marzo de 2021
5994-3126ES