

Analyse de l'alcool dans le sang à l'aide de l'échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 8697 intégré sur un système de GC double FID 8890

Auteur

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Les limites légales de concentration d'alcool dans le sang (TAS) pour la conduite de véhicules motorisés varient dans le monde, de nombreux pays définissant des taux de 0,05 ou 0,08 % pour l'intoxication. L'évaluation statistique de l'échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 8697 connecté au système de GC Agilent 8890 démontre son excellente linéarité pour l'éthanol entre 0,02 et 0,4 %. Doté d'une configuration à deux colonnes et deux FID, cet instrument présente une reproductibilité entre flacons à une concentration de 0,05 %, avec un RSD inférieur à 2 % pour la plupart des composés à fonction alcool et carbonyle présents dans un mélange.

Introduction

L'analyse de la concentration d'alcool dans le sang par GC est un test établi dans le cadre légal, médico-légal et diagnostique. Le sang est un mélange extrêmement complexe de substances majoritairement non volatiles. Cela crée de sérieuses difficultés pour les injections directes d'échantillons de sang total dans les approches de GC traditionnelles. Les alcools et/ou les métabolites issus d'alcools de faible poids moléculaire, présents en cas d'intoxication ou d'exposition, sont beaucoup plus volatils que le reste de la matrice sanguine, permettant l'échantillonnage d'espace de tête (headspace).

L'incorporation d'un échantillonneur pour extraire le contenu volatil d'un échantillon diminue les contraintes d'une longue préparation d'échantillon et le risque d'erreur humaine. La conception de l'échantillonneur d'espace de tête (headspace) 8697 s'appuie sur la technologie éprouvée à vanne et boucle, ajoutant un contrôle des pressions plus efficace, une intégration complète dans le pilote GC et plusieurs autres améliorations pour l'utilisateur. Ces améliorations comprennent des outils de diagnostic par étape, disponibles depuis l'interface navigateur ou l'écran tactile, des voyants indicateurs pour confirmer le positionnement correct du plateau et une ligne de transfert renforcée. La similitude entre les zones de paramètres permet un transfert direct des paramètres d'espace de tête (headspace) du 7697A^{1,2,3}.

Données expérimentales

Un système de GC Agilent 8890 équipé d'un injecteur split/splitless et de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) a été utilisé pour l'analyse de l'échantillon provenant de l'échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 8697. Des détails supplémentaires sur le système sont indiqués dans la figure 1, les étalons analytiques et les consommables utilisés

dans les tests sont présentés dans le tableau 1. Les paramètres de méthode figurent dans le tableau 2. Un volume d'eau de 1 L (traitée par Millipore) contenant 0,1 % (v/v) de *t*-butanol a été préparé pour l'étalon interne et le solvant. Les flacons d'échantillonnage pour headspace contenaient un volume d'échantillon de 0,5 mL, avec 50 µL d'étalon ajouté à 450 µL de solution eau/*t*-butanol.

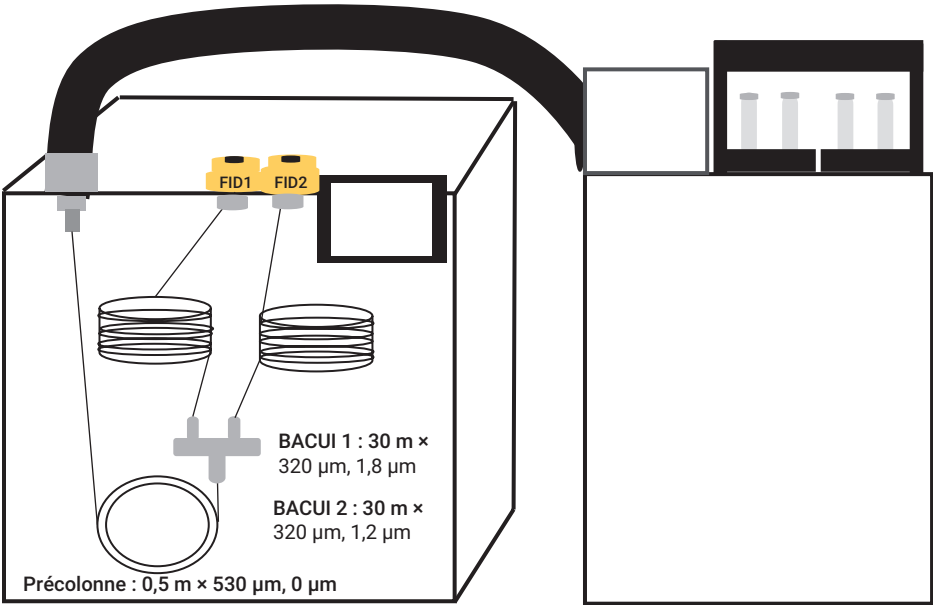


Figure 1. Détails de la configuration du système espace de tête (headspace)/GC utilisé dans les tests.

Tableau 1. Consommables et étalons utilisés pour les tests.

Consommables		Étalons		Fournisseur	Test
Flacons de 20 mL avec capsules à serti	Réf. 5190-2286	Mélange de résolution pour TAS	5190-9765	Agilent	Résolution
Insert GC (2 mm de d.i.)	Réf. 5190-6168	Étalonnage pour l'éthanol	G3440-85035	Agilent	Linéarité
Ligne de transfert (silice fondue désactivée)	0,53 mm de d.i.	<i>t</i> -butanol, > 99 %	24127	Millipore/Sigma	
Colonnes		Solvants à façon	À façon	Restek	Reproductibilité
Précolonne : 0,5 m x 0,53 mm x 0 µm	Réf. 160-2535-10				
Colonne 1 : Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m x 0,32 mm x 1,8 µm)	Réf. 123-9334UI				
Colonne 2 : Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m x 0,32 mm x 1,2 µm)	Réf. 123-9434UI				

Tableau 2. Paramètres de l'espace de tête (headspace) et du GC utilisés dans les tests.

Paramètres de l'espace de tête (headspace) 8697	
Température du four	70 °C
Température de la boucle	80 °C
Température de la ligne de transfert	90 °C
Stabilisation des flacons	7 min
Durée d'injection	1 min
Taille de flacon	20 mL
Mode de remplissage des flacons	Mode par défaut
Pression de remplissage	15 psi
Gaz de pressurisation	Azote
Mode de remplissage de la boucle	Adapté
Pression finale de la boucle	1,5 psi
Stabilisation de la boucle	0,05
Volume de la boucle	1 mL
Paramètres du GC 8890	
Température de l'injecteur	150 °C
Rapport de division	10:1
Mode	Pression constante
Pression de l'injecteur	21 psi (hélium)
Four	40 °C, isotherme pendant 5 minutes
Température des deux FID	250 °C
Débit d'air	400 mL/min
Débit d'hydrogène	30 mL/min
Gaz d'appoint (N ₂)	25 mL/min

Résultats et discussion

Les performances de l'échantillonneur d'espace de tête (headspace) 8697 ont été évaluées dans les trois tests suivants : linéarité pour l'éthanol, reproductibilité entre flacons et résolution d'un mélange étalon pour TAS.

Linéarité pour l'éthanol

Une courbe d'étalonnage a été établie avec six points de données entre 0,02 et 0,4 mg/dL. Les courbes individuelles du test d'étalonnage sont représentées dans la figure 2. La courbe de régression a été obtenue à l'aide de l'étalon interne, le *t*-butanol, et des réponses relatives sans pondération. Le test de linéarité pour l'éthanol a été répété plusieurs fois, et les valeurs de R² dépassaient 0,9995 sur cette gamme.

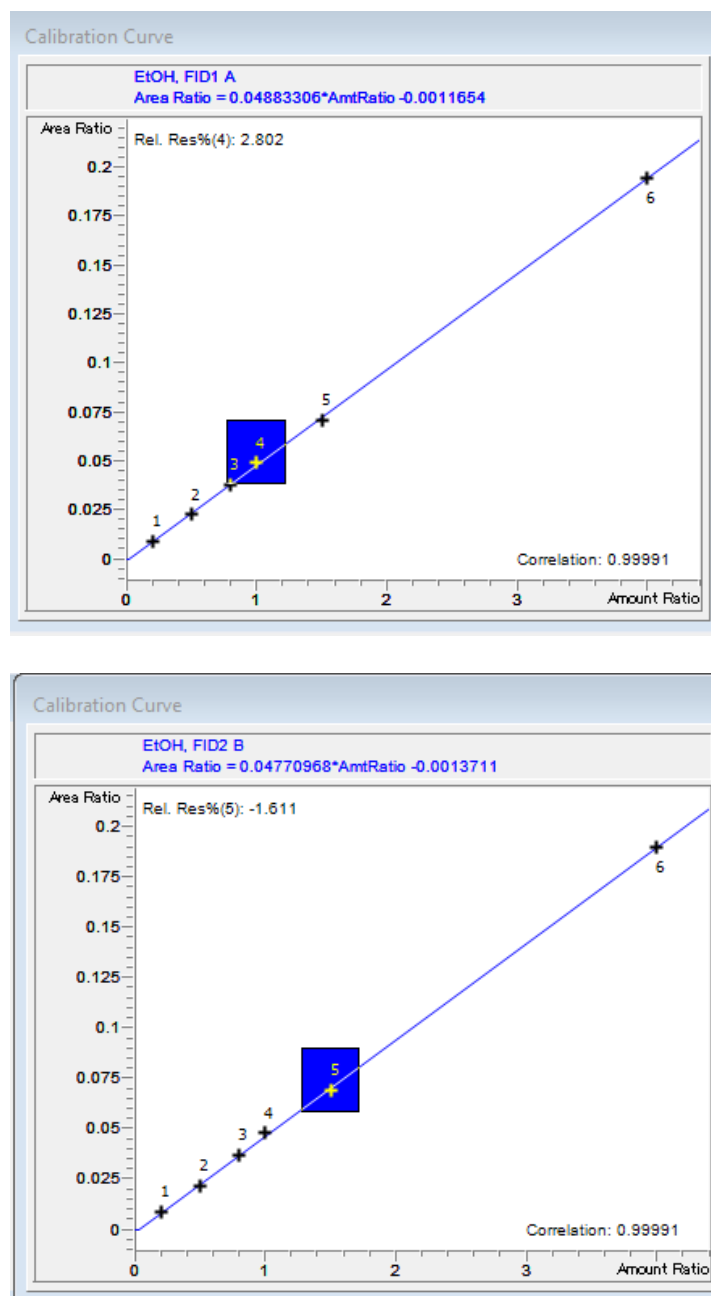


Figure 2. Courbes d'étalonnage pour l'éthanol sur les deux FID dans une gamme de 0,02 à 0,4 mg/dL.

Reproductibilité

Une étude de reproductibilité a été réalisée en ajoutant une solution contenant plusieurs composés à la solution eau/étalon interne pour obtenir une solution de 0,05 mg/dL de concentration dans chaque flacon d'échantillonnage pour headspace. Le tableau 3 liste le temps de rétention et la reproductibilité pour chaque composé par rapport à l'étalon interne, le t-butanol, pour 12 injections séquentielles.

Résolution

L'utilisation de la paire de colonnes de confirmation Agilent J&W DB-BAC1 et DB-BAC2 UI apporte une résolution remarquable dans ces conditions. Le débit peut être accéléré ou ralenti, en fonction de la liste des composés et de la résolution nécessaire. La figure 3 représente les chromatogrammes pour les deux colonnes, tandis que le temps de rétention et la résolution sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 3. Reproductibilité entre flacons avec le mélange étalon pour TAS.

Composé	FID 1		FID 2	
	TR	RRF	TR	RRF
Méthanol	0,03 %	2,06 %	0,03 %	1,72 %
Acétaldéhyde	0,04 %	2,09 %	0,00 %	2,11 %
Éthanol	0,00 %	2,16 %	0,02 %	1,69 %
Isopropanol	0,02 %	1,49 %	0,03 %	1,34 %
Acétone	0,02 %	0,74 %	0,00 %	1,01 %
1-propanol	0,04 %	1,90 %	0,02 %	1,61 %
2-butanone	0,04 %	2,74 %	0,02 %	2,68 %

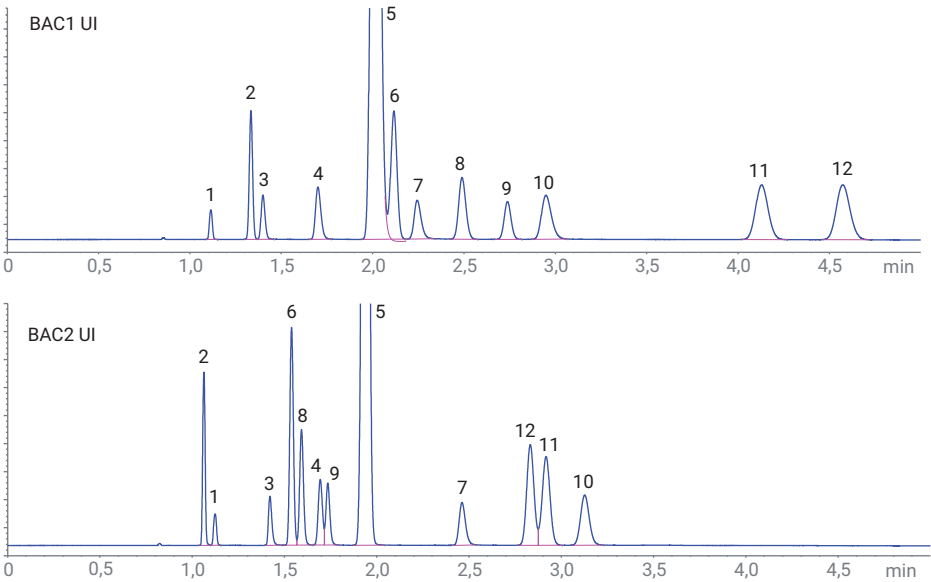


Figure 3. Chromatogrammes FID du mélange de résolution pour TAS Agilent sur les colonnes Agilent J&W DB-BAC1 UI et DB-BAC2 UI.

Tableau 4. Identification des pics, temps de rétention et calculs de la résolution (USP) sur les colonnes BAC1 UI et BAC2 UI.

Indice de pic	Nom du composé	TR sur BAC1 UI (min)	Rs sur BAC1 UI	TR sur BAC2 UI (min)	Rs sur BAC2 UI
1	Méthanol	1,071		1,081	2,7
2	Acétaldéhyde	1,284	7,9	1,022	
3	Éthanol	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	Acétone	2,412	3,8	1,538	1,8
9	Acétonitrile	2,65	3,9	1,674	1,1
10	2-butanol	2,867	3,0	3,043	3,3
11	Acétate d'éthyle	4,027	12,4	2,84	1,6
12	2-butanone	4,456	4,1	2,753	7,1

Les valeurs de résolution listées sont calculées à partir de la valeur du pic cible et du pic du composé le précédant immédiatement. Les valeurs de résolution pour le propanal et le *n*-propanol ont été calculées manuellement. Afin de maintenir une réponse constante du *t*-butanol (l'étalon interne) entre l'étalonnage pour l'éthanol et les mélanges étalon pour l'étude de résolution, une approximation a été appliquée en traînée de pic dans les paramètres d'intégration. Cette modification a désactivé le calcul automatisé de la largeur de pic tangentielle, qui est nécessaire pour les calculs de résolution de l'USP (figure 4). Comme l'ordre d'élution n'est pas le même sur les deux colonnes, les composés à faible résolution sur la colonne 1 sont mieux séparés sur la colonne 2, démontrant la nature complémentaire de cette analyse de confirmation. Une autre solution consiste à utiliser le *n*-propanol comme étalon interne.

Les caractéristiques des pics telles que la largeur et la symétrie peuvent être de précieux indicateurs de l'état général du système et des consommables. Les systèmes GC 8890 et Intuvo 9000 disposent d'une fonctionnalité nommée « Évaluation des pics⁴ » qui peut être activée pour contrôler les principaux aspects d'une application, notifiant l'utilisateur de la survenue de légères différences avant toute perte de productivité. Une simple mise à niveau du firmware permet d'utiliser cette fonctionnalité sur les unités centrales GC qualifiées existantes.

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

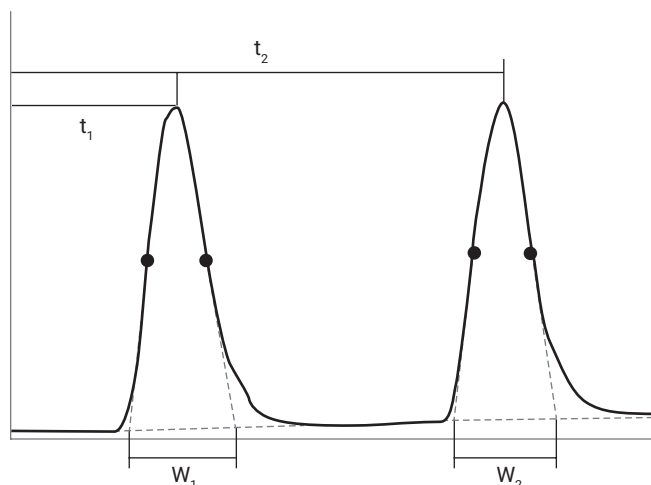


Figure 4. Calculs de résolution conformément à l'USP, effectués par Agilent OpenLab édition ChemStation, version C.1.10.

Conclusion

L'échantillonneur d'espace de tête (headspace) Agilent 8697 se prête facilement au transfert de méthode et offre des performances équivalentes à l'échantillonneur Agilent 7697A. Ce qui distingue le 8697, c'est l'extension des fonctions GC intelligentes dans un pilote complètement intégré, avec des outils diagnostiques dirigés par l'utilisateur et des ressources directement accessibles qui guident l'utilisateur dans le cadre de la maintenance, de l'utilisation ou de la résolution des problèmes afin d'augmenter l'efficacité.

Références

1. Analysis of Blood Alcohol Concentration with an Agilent Intuvo 9000 GC System. Note d'application Agilent Technologies, publication numéro 5991-8999EN, **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. Note d'application Agilent Technologies, publication numéro 5991-8206EN, **2017**.
3. Wieder, L. ; Pan, J. ; Veeneman, R. Forensic Analysis of Blood Alcohol Concentration. Note d'application Agilent Technologies, publication numéro 5994-0443EN, **2019**.
4. Agilent Technologies: GC Intelligence. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (consulté le 16 février 2021).

www.agilent.com/chem

Pour utilisation médico-légale.

RA44246.726412037

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Imprimé aux États-Unis, le 8 mars 2021
5994-3126FR