

Análise de álcool no sangue com o amostrador headspace Agilent 8697 integrado no sistema GC-Dual FID 8890

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumo

Os limites legais de concentração de álcool no sangue (BAC) para operar veículos motorizados variam em todo o mundo, com muitos países definindo níveis de intoxicação a 0,05 ou 0,08%. A avaliação estatística do amostrador headspace Agilent 8697 conectado ao GC Agilent 8890 exibe excelente linearidade do etanol entre 0,02 a 0,4%. A instrumentação apresenta uma configuração de coluna dupla e FID duplo e reprodutibilidade vial a vial na concentração de 0,05%, com RSD inferior a 2% para a maioria dos compostos de álcool e carbonila em uma mistura.

Introdução

A análise de alcoolemia por GC é um teste estabelecido em cenários legais, forenses e de diagnóstico. O sangue é uma mistura extremamente complexa de materiais não voláteis. Isso apresenta desafios significativos para injeções diretas de amostras de sangue total em abordagens tradicionais de GC. Álcoois e/ou metabólitos de álcool de baixo peso molecular, presentes em casos de intoxicação ou exposição, são muito mais voláteis que o resto da matriz sanguínea, criando uma oportunidade para trabalhar com amostragem por headspace.

A incorporação de um amostrador para extrair o conteúdo volátil de uma amostra minimiza a inconveniência do extenso preparo de amostra e da possibilidade de erro humano. O amostrador headspace 8697 baseia-se na tecnologia de válvula e loop, demonstrada com sucesso no passado, e incorpora controle pneumático aprimorado, integração total no driver do GC e diversas melhorias para o usuário. Essas melhorias incluem diagnósticos passo a passo, disponíveis via interface do navegador ou interações na tela de toque, luzes indicadoras para confirmar o posicionamento correto da bandeja e uma linha de transferência reforçada. Semelhanças em zonas de parâmetro criam uma migração perfeita dos parâmetros existentes do headspace 7697A.^{1,2,3}

Parte experimental

Um GC Agilent 8890, configurado com um injetor split/splitless e dois detectores de ionização de chama dupla (FID), foi usado para receber a amostra do amostrador headspace Agilent 8697. Detalhes adicionais do sistema são fornecidos na Figura 1, com padrões analíticos e consumíveis usados nos testes fornecidos na Tabela 1.

As condições do método são mostradas na Tabela 2. Um lote de 1 L de água (dispensada pela Millipore) contendo 0,1% (v/v) de t-butanol foi preparado para o padrão interno e solvente. Os vials do headspace para teste continham 0,5 mL de volume da amostra, com 50 µL de padrão adicionado a 450 µL de solução de água/t-butanol.

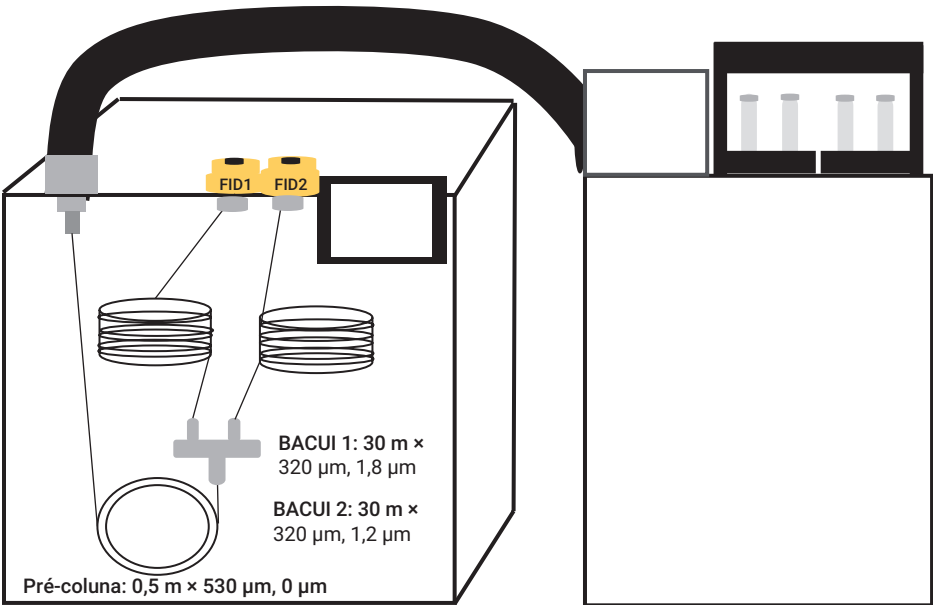


Figura 1. Detalhes da configuração do sistema headspace/GC usado no teste.

Tabela 1. Consumíveis e padrões de instrumentos usados em testes.

Consumíveis		Padrões		Fornecedor	Teste
Vials de 20 mL e tampas lacráveis	p/n 5190-2286	Mistura de resolução BAC	5190-9765	Agilent	Resolução
Liner do GC (2 mm de DI)	p/n 5190-6168	Calibração do etanol	G3440-85035	Agilent	Linearidade
Linha de transferência (sílica fundida desativada)	0,53 mm de DI	t-Butanol, >99%	24127	Millipore/Sigma	
Colunas		Solventes personalizados	Personalizado	Restek	Reprodutibilidade
Pré-coluna: 0,5 m x 0,53 mm x 0 µm	p/n 160-2535-10				
Coluna 1: Agilent J&W DB-BAC1 UI (30 m x 0,32 mm x 1,8 µm)	p/n 123-9334UI				
Coluna 2: Agilent J&W DB-BAC2 UI (30 m x 0,32 mm x 1,2 µm)	p/n 123-9434UI				

Tabela 2. Condições de headspace e GC usadas no teste.

Condições do headspace 8697	
Temperatura do forno	70 °C
Temperatura do loop	80 °C
Temperatura da linha de transferência	90 °C
Equilíbrio do vial	7 min
Tempo de injeção	1 min
Tamanho do vial	20 mL
Modo de enchimento do vial	Padrão
Pressão de enchimento	15 psi
Gás de pressurização	Nitrogênio
Modo de enchimento do loop	Personalizado
Pressão final do loop	1,5 psi
Equilíbrio do loop	0,05
Volume do loop	1 mL
Condições do GC 8890	
Temperatura do injetor	150 °C
Razão de split	10:1
Modo	Pressão constante
Pressão de entrada	21 psi (hélio)
Forno	40 °C, isotérmico por 5 minutos
Temperatura do FID (ambos)	250 °C
Fluxo de ar	400 mL/min
Fluxo de hidrogênio	30 mL/min
Makeup (N ₂)	25 mL/min

Resultados e discussão

Três testes foram usados para avaliar o desempenho do amostrador headspace 8697: linearidade do etanol, reprodutibilidade vial a vial e resolução do padrão de mistura de BAC.

Linearidade do etanol

A curva de calibração foi criada usando seis pontos de dados entre 0,02 e 0,4 mg/dL. Os gráficos individuais de um teste de calibração são fornecidos na Figura 2. A regressão da curva foi gerada usando o padrão interno, *t*-butanol, e comparando as razões relativas sem ponderação. Foram realizadas diversas replicatas do teste de linearidade do etanol e todos os valores de R² excederam 0,9995 nesta faixa.

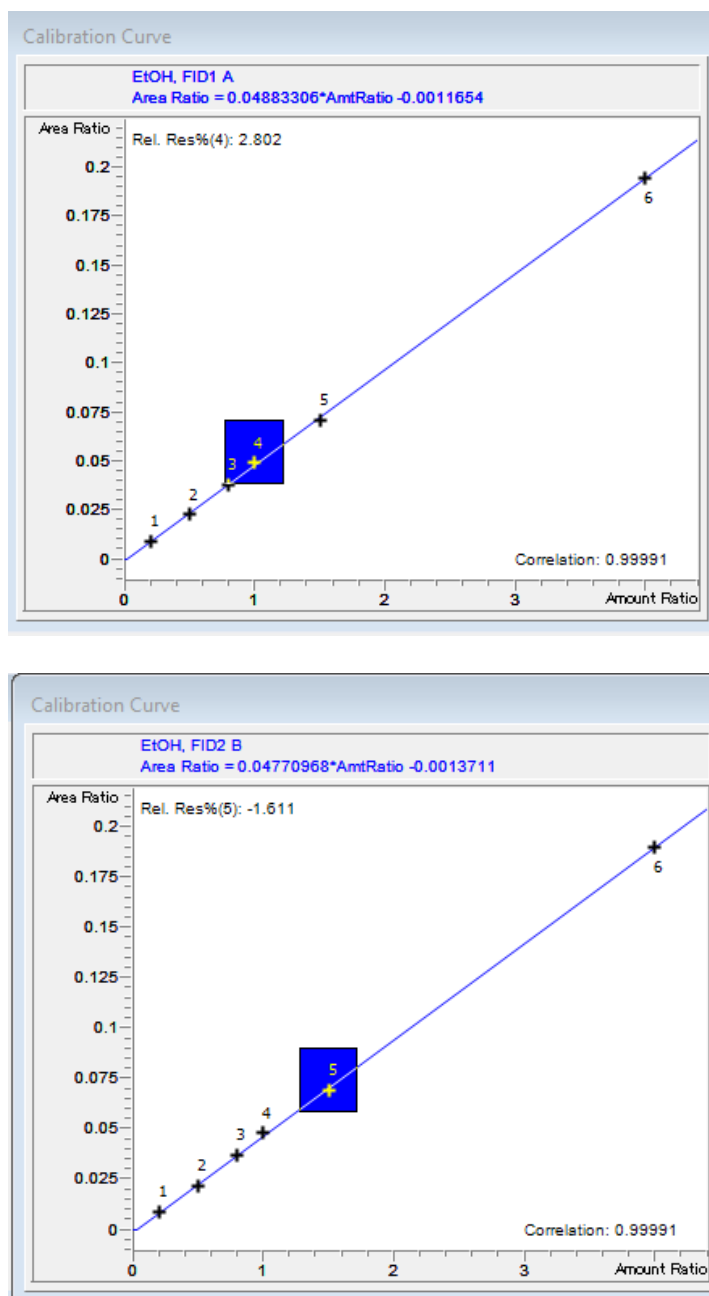


Figura 2. Gráficos da calibração do etanol para ambos os FIDs na faixa de 0,02 a 0,4 mg/dL.

Reprodutibilidade

Um estudo de repetibilidade foi executado usando uma solução multicomponente adicionada à água/ISTD para criar uma concentração de solução de 0,05 mg/dL em cada vial do headspace. A Tabela 3 detalha os tempos de retenção e a reprodutibilidade de cada composto referenciado ao padrão interno, *t*-butanol, em 12 injeções sequenciais.

Resolução

O uso dos pares de colunas de confirmação da Agilent J&W DB-BAC1 e DB-BAC2 UI alcança resolução significativa sob essas condições. O fluxo pode ser acelerado ou diminuído, dependendo da lista de compostos individuais e dos requisitos de resolução. Os cromatogramas para ambas as colunas são fornecidos na Figura 3, com tempo de retenção e dados de resolução na Tabela 4.

Tabela 3. Reprodutibilidade vial a vial do padrão de mistura de BAC.

Composto	FID 1		FID 2	
	TR	RRF	TR	RRF
Metanol	0,03%	2,06%	0,03%	1,72%
Acetaldeído	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%

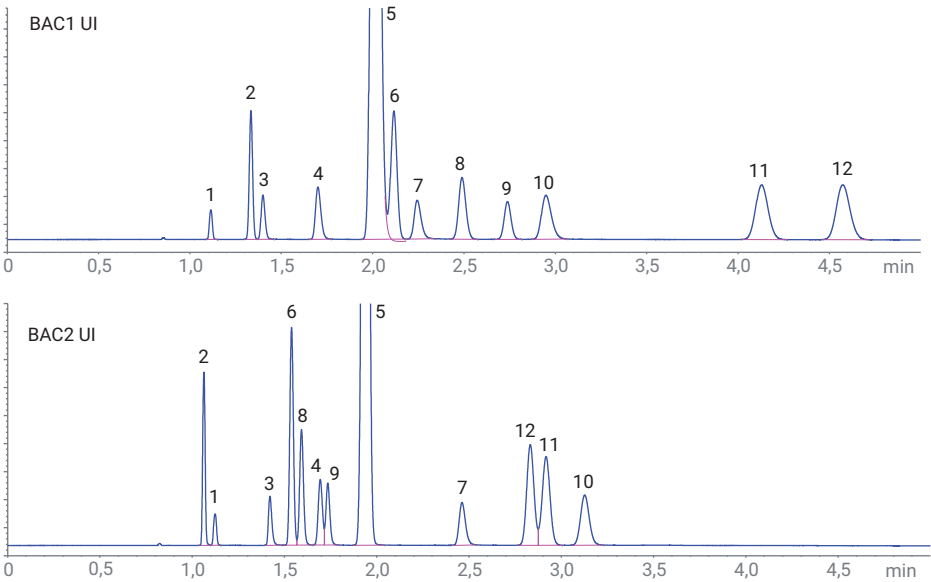


Figura 3. Cromatogramas FID da mistura de resolução BAC nas colunas Agilent J&W DB-BAC1 UI e DB-BAC2 UI.

Tabela 4. IDs de picos, tempos de retenção e cálculos de resolução (USP) para as colunas BAC1 UI e BAC2 UI.

Índice de picos	Nome do composto	TR do BAC1 UI (min)	Rs BAC1 UI	TR do BAC2 UI (min)	Rs BAC2 UI
1	Metanol	1,071		1,081	2,7
2	Acetaldeído	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	<i>t</i> -Butanol	1,953	5,2	1,881	5,3
6	Propanal	2,048	1,3*	1,485	4,1
7	<i>n</i> -Propanol	2,175	2,0*	2,388	10,6
8	Acetona	2,412	3,8	1,538	1,8
9	Acetonitrila	2,65	3,9	1,674	1,1
10	2-Butanol	2,867	3,0	3,043	3,3
11	Acetato de etila	4,027	12,4	2,84	1,6
12	2-Butanona	4,456	4,1	2,753	7,1

O valor tabulado para resolução é o valor comparativo do pico-alvo e do pico do composto imediatamente anterior ao alvo. Os valores de resolução para propanal e *n*-propanol foram calculados manualmente. Para manter uma resposta consistente de *t*-butanol (ISTD) entre a calibração do etanol e a resolução dos padrões da mistura, foi aplicado um skim de cauda nos parâmetros de integração. Essa modificação desativou o cálculo automatizado da largura tangencial do pico, que é necessária para cálculos de resolução USP (Figura 4). Como a ordem de eluição não é idêntica entre as duas colunas, os compostos de baixa resolução na coluna 1 mostram uma separação melhor na coluna 2, demonstrando efetivamente a natureza complementar desta análise confirmatória. Alternativamente, o *n*-propanol pode ser usado como um padrão interno.

Atributos de pico, como largura e simetria de pico, podem ser indicadores úteis da integridade geral do sistema e dos consumíveis. Os sistemas de GC 8890 e Intuvo 9000 oferecem um recurso chamado avaliação de pico⁴ que pode ser habilitado para monitorar os principais recursos de uma aplicação, notificando o usuário sobre pequenas diferenças antes que qualquer perda de produtividade seja encontrada. Uma simples atualização de firmware permite que os mainframes dos usuários de GC qualificados existentes usufruam desse recurso.

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

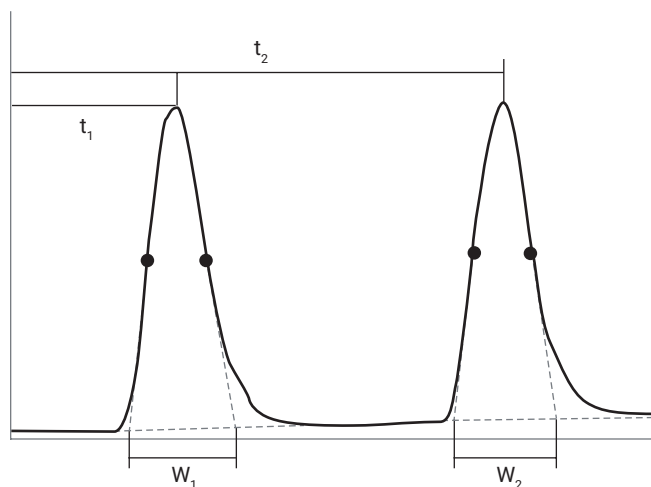


Figura 4. Cálculo USP para resolução conforme determinado pelo Agilent OpenLab edição ChemStation, versão C.1.10.

Conclusão

O amostrador headspace Agilent 8697 oferece transferência de métodos simples e desempenho equivalente ao amostrador Agilent 7697A. O 8697 apresenta uma expansão da inteligência de GC em um driver totalmente integrado, diagnósticos aprimorados guiados pelo usuário e recursos na ponta dos dedos para orientar o usuário na manutenção, operação e solução de problemas, promovendo a eficiência.

Referências

1. Análise da concentração de álcool no sangue com um sistema GC Agilent 9000 Intuvo. Nota de aplicação da Agilent Technologies, número de publicação 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. Nota de aplicação da Agilent Technologies, número de publicação 5991-8206EN, **2017**.
3. Wieder, L.; Pan, J.; Veeneman, R. Forensic Analysis of Blood Alcohol Concentration. Nota de aplicação da Agilent Technologies, número de publicação 5994-0443EN, **2019**.
4. Agilent Technologies: Inteligência de GC. <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-intelligence> (acessado em 16 de fevereiro de 2021).

www.agilent.com/chem

Para uso forense.

RA44246.726412037

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Impresso nos EUA, 8 de março de 2021
5994-3126PTBR