

Analyse der Blutalkohol- konzentration mit einem Agilent Intuvo 9000 GC-System

Vorteil durch Technologie: Modularer
GC-Flussweg mit robuster HS-Probennahme



Einführung

Die Ermittlung der Blutalkoholkonzentration (BAK) muss streng kontrolliert werden. Der Ethanolgehalt im Blut muss genau bestimmt werden, da er mit dem Grad der Intoxikation einer Person direkt korreliert ist. Der BAK-Schwellenwert liegt generell bei 0,08 g/dl (80 mg/dl), und je nach berichtetem Wert können die rechtlichen Folgen signifikant sein. Zur Vermeidung von Fehlern sind eine präzise Kalibrierung und hohe Genauigkeit sehr wichtig. Die meisten Methoden für Flammenionisationsdetektoren (FID) sehen zwei Säulen vor: eine Säule für die anfängliche Identifizierung und Quantifizierung und eine für die Bestätigung. In manchen Laboren werden dazu zwei separate analytische Systeme eingesetzt. Die Kapillarflusstechnologie (CFT) bietet dagegen den Vorteil, diese Untersuchungen auf nur einem Gaschromatographiesystem durchführen zu können.

Das Agilent Intuvo 9000 GC-System ist am Einlass mit einem Intuvo Splitter-Flow-Chip ausgestattet, der eine unkomplizierte Analyse mit zwei Säulen ermöglicht. Dieser Splitter-Flow-Chip teilt den Fluss vom Einlass auf und leitet ihn durch zwei Säulen zu zwei FID (oder andere Detektoren, die bei Atmosphärendruck arbeiten). Das Berechnen, Messen und Beschneiden von Restriktoren durch die Anwender entfällt. Der Splitter teilt den Fluss im Verhältnis 1:1, wenn beide Säulen die gleichen Säulenabmessungen besitzen, z. B. 30 m x 320 µm. Auf diese Weise kann eine Probe im Rahmen eines einzigen Analysenlaufs gleichzeitig mit beiden Säulen analysiert werden.

Weitere Informationen finden
Sie unter:
www.agilent.com



Agilent Intuvo 9000 GC und Agilent 7697A Headspace-Probengeber.

Experimentelles

Ein Intuvo GC-System wurde mit einem Agilent 7697A Headspace-Probengeber ausgestattet. Zwei Säulen für Alkohol – DB-BAC1 Ultra Inert (UI) und DB-BAC2 Ultra Inert (UI) – wurden zwischen einem Split/Splitless-Einlass und zwei FID installiert und eine isotherme Temperatur eingestellt (Tab. 1 und 2). Es wurden Ethanolstandards in Wasser über einen Konzentrationsbereich von 10 bis 800 mg/dl hergestellt und dabei 5 bis 400 mg/dl (halbe Ethanolkonzentration) Methanol, Aceton und Isopropanol hinzugefügt. Die Ethanolkontrollproben dienten zur Bewertung der Genauigkeit der Kalibrierung. Eine Blutalkohol-Checkout-Mischung (Tab. 3) diente zum Nachweis der verbesserten Auflösung des neuen DB-BAC UI Säulenpaares. Headspace-Probenflaschen wurden vorbereitet: Dazu wurden je 50 µl der Kalibrierungs- bzw. Kontrollprobe in je 450 µl 0,03 % (v/v) *n*-Propanol gegeben.

Ergebnisse und Diskussion

Zur Ermittlung der Kalibrierungskurven für die Säulen DB-BAC1 UI und DB-BAC2 UI (Abb. 1) wurden drei Replikate der Kalibrierungsstandards analysiert. Die Kalibrierungskurven für die vier Analyten in den Kalibrierungsstandards waren linear. Für Ethanol wurde auf beiden Säulen ein Bestimmtheitsmaß (R^2) von 0,9995 oder besser erzielt. Im Vergleich der Geraden der beiden Säulen/Detektor-Paare für Ethanol wichen die Steigungen nur um 6,3 % ab. Dies beweist eine genaue Aufteilung nach dem Einlass und eine Detektion im Verhältnis 1:1.

Tabelle 1: Gerätebedingungen für das Agilent Intuvo 9000 GC-System.

Agilent Intuvo 9000 GC	Sollwert
Ofen	40 °C (6,5 min)
Split/Splitless-Einlass	Split 10:1 bei 110 °C
DB-BAC1 Ultra Inert (123-9334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Helium, konstanter Druck 21 psi
DB-BAC2 Ultra Inert (123-9434UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,2 µm	Kontrolliert von Säule 1
FID (vorne und hinten)	250 °C
H ₂	30 ml/min
Luft	400 ml/min
N ₂ (Makeup)	25 ml/min
Jumper Chip	110 °C (Einlasstemperatur)
Bus	Standard (200 °C)
Vorderes/hinteres Signal	20 Hz

Tabelle 2: Gerätebedingungen für den Agilent 7697A Headspace-Probengeber.

Agilent 7697A Headspace-Probengeber	Sollwert
Ofen	70 °C
Schleife	70 °C
Übertragungsleitung	90 °C
Äquilibrierungszeit der Probenflaschen	7 min
Injektionsdauer	0,5 min
Probenflaschengröße	20 ml
Schütteln der Probenflaschen	aus
Füllmodus der Probenflaschen	Standard (50 ml/min bis 15 psi, 0,1 min)
Fülldruck der Probenflaschen	15 psi
Anstiegsrate der Schleife	30 psi/min
Enddruck der Schleife	1,5 psi
Äquilibrierungszeit der Schleife	0,05 min

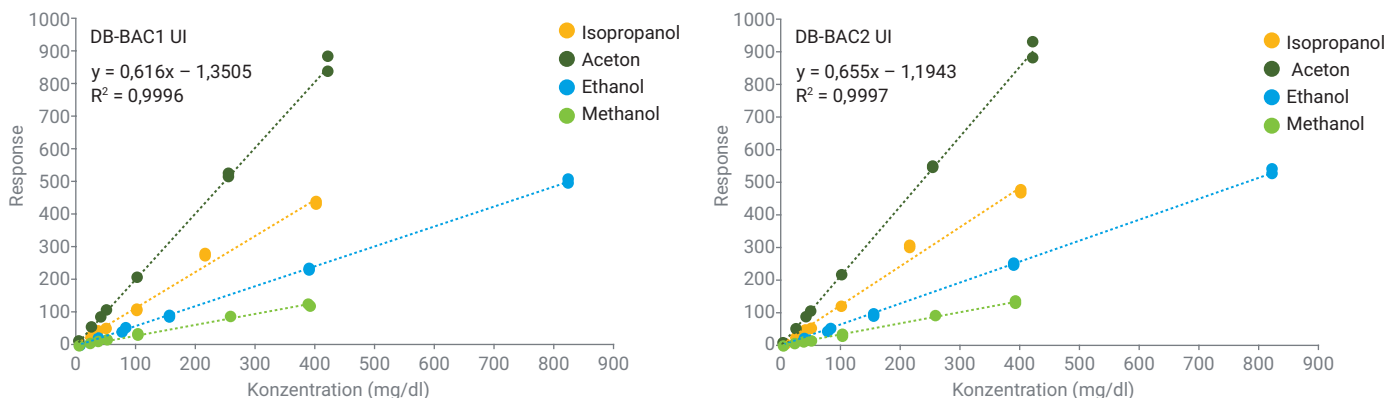


Abbildung 1: Kalibrierungskurven für Ethanol, Methanol, Aceton und Isopropanol für die Agilent DB-BAC1 UI und DB-BAC2 UI Säulen.

Nach der Kalibrierung wurden fünf HS-Proben mit 80 mg/dl Ethanolkontrollprobe und der Blutalkohol-Checkout-Mischung (50 mg/dl) hergestellt. Die Reproduzierbarkeit der Fläche, gemessen als relative Standardabweichung (RSD), betrug bei beiden Kanälen höchstens 4,1 % (Tab. 4). Auch die Präzision der Retentionszeit wurde berechnet, die Standardabweichung (RSD) betrug höchstens 0,1 % (Tab. 5). Die Kalibriergenauigkeit wurde anhand der Ethanolkontrollproben ermittelt (Tab. 6).

Tabelle 3: Bestellnummern für Ethanolkontrollproben und Blutalkohol-Checkout-Mischung.

Standard	Bestellnummer
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
Alkohol-Checkout-Mischung	5190-9765

Tabelle 4: Flächengenauigkeit (RSD) des Ethanolstandards (80 mg/dl) und der Analyten der Blutalkohol-Checkout-Mischung bei beiden Säulen.

Analyt	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Ethanol, 80 mg/dl, Standard	3,70 %	2,80 %
Methanol (50 mg/dl)	4,10 %	1,40 %
Acetaldehyd (50 mg/dl)	2,80 %	3,00 %
Ethanol (50 mg/dl)	2,30 %	1,10 %
Isopropanol (50 mg/dl)	3,30 %	1,90 %
t-Butanol (50 mg/dl)	2,80 %	2,70 %
Propanal (50 mg/dl)	3,40 %	3,00 %
n-Propanol (50 mg/dl)	3,10 %	2,10 %
Aceton (50 mg/dl)	3,40 %	2,90 %
Acetonitril (50 mg/dl)	2,30 %	2,80 %
2-Butanol (50 mg/dl)	2,00 %	3,00 %
Ethylacetat (50 mg/dl)	3,20 %	3,10 %
2-Butanon (50 mg/dl)	3,10 %	3,00 %

Tabelle 5: Präzision der Retentionszeit (RSD) des Ethanolstandards (80 mg/dl) und der Analyten der Blutalkohol-Checkout-Mischung (je 50 mg/dl) bei beiden Säulen.

Analyt	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Ethanol, 80 mg/dl, Standard	0,04 %	0,10 %
Methanol	0,01 %	0,02 %
Acetaldehyd	0,01 %	0,02 %
Ethanol	0,02 %	0,05 %
Isopropanol	0,02 %	0,04 %
t-Butanol	0,03 %	0,04 %
Propanal	0,01 %	0,02 %
n-Propanol	0,03 %	0,04 %
Aceton	0,02 %	0,03 %
Acetonitril	0,02 %	0,03 %
2-Butanol	0,04 %	0,04 %
Ethylacetat	0,02 %	0,03 %
2-Butanon	0,02 %	0,03 %

Bei allen Kontrollen lag der Fehler innerhalb der akzeptablen Fehlertoleranz ($\pm 6\%$). Die in Abbildung 2 dargestellten Chromatogramme illustrieren die erzielte bessere Auflösung der verschiedenen Analyten in der Blutalkohol-Checkout-Mischung. Die Peaks der üblicherweise verwendeten internen Standards, *t*-Butanol und *n*-Propanol, sind gut aufgelöst von allen Zielanalyten.

Abschließende Bemerkungen

Das Agilent Intuvo 9000 GC-System mit Agilent 7697A Headspace-Probengeber und Einlass-Splitter erlaubt die Erkennung, Quantifizierung und Bestätigung von Blutalkoholanalyten in einem einzigen Analysenlauf. Die Linearität der beiden Säulen und Detektoren, die Präzision (Fläche und Retentionszeit) und die Genauigkeit der Konzentrationsbestimmung sind hervorragend. Das Intuvo 9000-System sorgt für Höchstleistungen, wobei der modulare Flussweg die Konfiguration von zwei Säulen und zwei Detektoren vereinfacht. Das chromatographische Gesamterlebnis mit dem Intuvo 9000 GC-System wird außerdem durch die kompakte Standfläche, die brillanten Farben des Touchscreens und die Click-and-Run-Anschlüsse weiter gesteigert.

Tabelle 6: Mit den gesammelten Kalibrierungskurven berechnete Konzentrationen für einen Satz Ethanolstandards. Alle Konzentrationen lagen innerhalb $\pm 6\%$ des Erwartungswertes.

Ethanolstandard	Berechnete Konzentration Agilent DB-BAC1 UI	bestanden/nicht bestanden	Berechnete Konzentration Agilent DB-BAC2 UI	bestanden/nicht bestanden
20 mg/dl	19,8 mg/dl	bestanden	19,3 mg/dl	bestanden
50 mg/dl	50 mg/dl	bestanden	47,1 mg/dl	bestanden
80 mg/dl	79,3 mg/dl	bestanden	76,8 mg/dl	bestanden
100 mg/dl	96,7 mg/dl	bestanden	94,4 mg/dl	bestanden
150 mg/dl	152 mg/dl	bestanden	149 mg/dl	bestanden
200 mg/dl	197 mg/dl	bestanden	193 mg/dl	bestanden
300 mg/dl	302 mg/dl	bestanden	302 mg/dl	bestanden
400 mg/dl	384 mg/dl	bestanden	386 mg/dl	bestanden

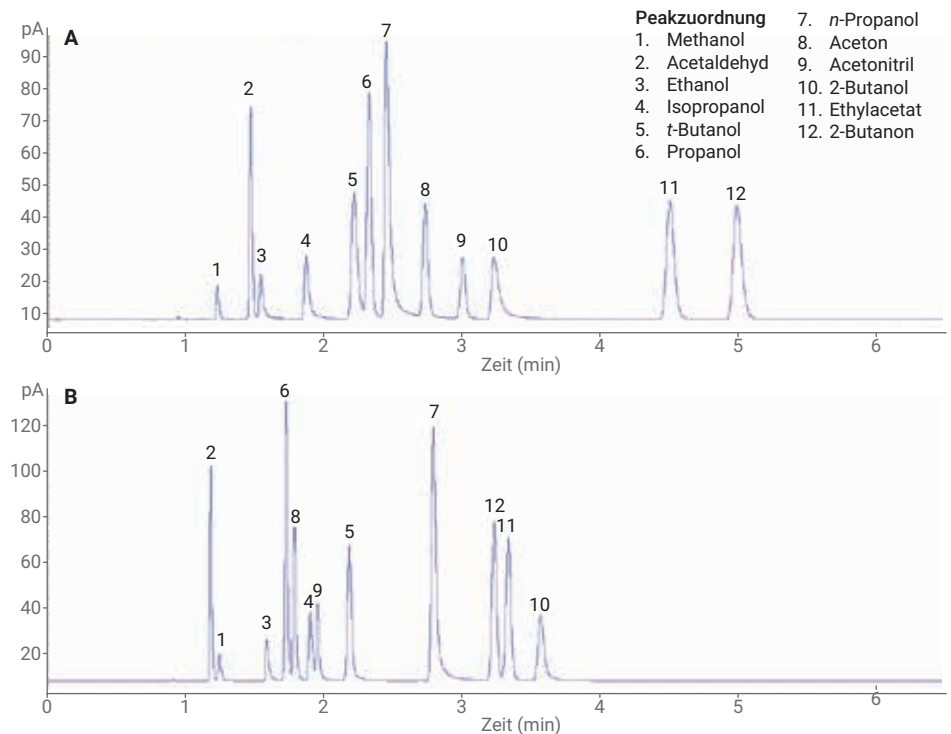


Abbildung 2: Die Chromatogramme der Blutalkohol-Checkout-Mischung zeigen die Auflösung von *t*-Butanol (5) und *n*-Propanol (7) von anderen Zielanalyten auf einer Agilent DB-BAC1 UI Säule (A). Bei der Komplementärsäule Agilent DB-BAC 2 UI (B) hat sich die Elutionsreihenfolge geändert.