

Análisis de la concentración de alcohol en sangre con un sistema GC Agilent Intuvo 9000

Ventaja tecnológica: ruta de flujo para GC modular con robusto muestreo por espacio de cabeza



Introducción

La determinación de la concentración de alcohol en sangre precisa de un control riguroso. Determinar con precisión el contenido de etanol en sangre es fundamental porque se corresponde directamente con el nivel de intoxicación de una persona. Dado que el umbral universal de la concentración de alcohol en sangre es de 0,08 g/dl (80 mg/dl), puede haber consecuencias legales significativas dependiendo del valor notificado. Una calibración precisa y una alta precisión son fundamentales para reducir los errores. La mayoría de los métodos basados en la detección de ionización de llama (FID) especifican dos columnas: la primera para la identificación y cuantificación iniciales y la segunda para la confirmación. Dependiendo del laboratorio, se pueden emplear dos sistemas analíticos distintos o se pueden aprovechar los dispositivos de tecnología de flujo capilar (CFT) para hacer esto en un solo sistema de cromatografía de gases.

El cromatógrafo de gases Agilent Intuvo 9000 permite fácilmente el análisis de doble columna a través del chip de divisor de flujo del inyector Intuvo. El chip de divisor de flujo del inyector gestiona el flujo desde el inyector a través de dos columnas que van a dos detectores FID (u otros atmosféricos). Elimina la necesidad de que los usuarios calculen, midan y corten los restrictores. También proporciona una división 1:1 para ambas columnas, siempre que las dimensiones de las columnas coincidan; por ejemplo, si ambas columnas miden 30 m x 320 µm. Esto permite que la muestra se analice en ambas columnas en un solo análisis.

Para obtener más información, visite:
www.agilent.com



Sistema GC Agilent 9000 Intuvo y muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A.

Experimento

Se equipó un sistema GC Intuvo con un muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A. Las columnas duales de alcohol DB-BAC1 Ultra Inert (UI) y DB-BAC2 Ultra Inert (UI) se configuraron entre un inyector split/splitless individual y FID duales, y se mantuvieron isotérmicas (Tablas 1 y 2). Se prepararon patrones de etanol de 10 a 800 mg/dl en agua con metanol, acetona e isopropanol incluidos a la mitad de la concentración, de 5 a 400 mg/dl. Se utilizaron controles de etanol para evaluar la precisión de la calibración y se utilizó una mezcla de test para análisis de alcohol en sangre (Tabla 3) para demostrar la resolución mejorada obtenida por el nuevo par de columnas DB-BAC. Los viales para espacio de cabeza se prepararon haciendo alícuotas de 50 µl de la calibración o del control en 450 µl de *n*-propanol al 0,03 % (v/v).

Resultados y comentarios

Para determinar las curvas de calibración de ambas columnas, DB-BAC1 UI y DB-BAC2 UI (Figura 1), los patrones de calibración se analizaron por triplicado. Se observó que las curvas de calibración eran lineales en los cuatro analitos incluidos en los patrones de calibración. Se logró un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9995 o mejor para el etanol en ambas columnas. La diferencia de pendiente para el etanol en los dos pares de columnas/detectores fue de solo el 6,3 %, lo que demuestra una división y detección 1:1 exactas después del inyector.

Tabla 1. Se indican las condiciones del instrumento para el sistema GC Agilent Intuvo 9000.

Sistema GC Agilent Intuvo 9000	Valor programado
Horno	40 °C (6,5 minutos)
Inyector split/splitless	Divisor 10:1, 110 °C
DB-BAC1 Ultra Inert (123-9334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Presión constante de helio 21 psi
DB-BAC2 Ultra Inert (123-9434UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,2 µm	Controlado por la columna 1
FID (frontal y trasero)	250 °C
H ₂	30 ml/min
Aire	400 ml/min
N ₂ (auxiliar)	25 ml/min
Chip puente	110 °C (temperatura del inyector)
Bus	Predeterminado (a 200 °C)
Señal frontal/trasera	20 Hz

Tabla 2. Se indican las condiciones del instrumento para el muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A.

Muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A	Valor programado
Horno	70 °C
Loop	70 °C
Línea de transferencia	90 °C
Tiempo de equilibrio del vial	7 minutos
Duración de la inyección	0,5 minutos
Tamaño del vial	20 ml
Agitación del vial	Desactivado
Modo de llenado del vial	Predeterminado (50 ml/min a 15 psi, 0,1 minutos)
Presión de llenado del vial	15 psi
Velocidad de rampa de loop	30 psi/min
Presión final de loop	1,5 psi
Tiempo de equilibrio de loop	0,05 minutos

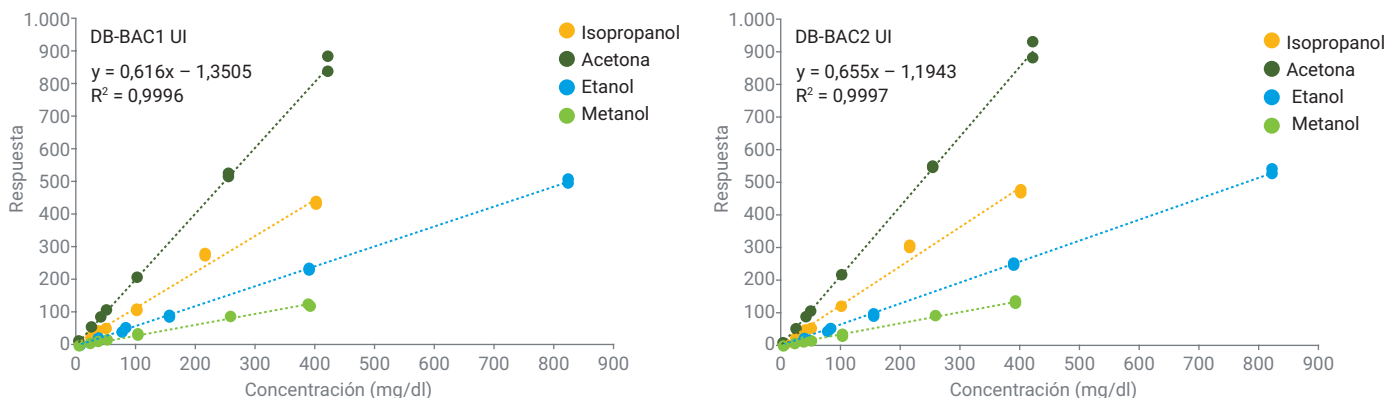


Figura 1. Curvas de calibración de etanol, metanol, acetona e isopropanol para las columnas Agilent DB-BAC1 UI y DB-BAC2 UI.

Después de la calibración, se prepararon cinco muestras de espacio de cabeza con un control de etanol de 80 mg/dl y la mezcla de test para análisis de alcohol en sangre (50 mg/dl). La reproducibilidad de área, medida por la RSD para ambos canales, fue del 4,1 % o mejor (Tabla 4). También se calculó la precisión del tiempo de retención, que resultó ser del 0,1 % o mejor (Tabla 5). La precisión de la calibración se verificó con controles de etanol (Tabla 6).

Tabla 3. Referencias de los controles de etanol y mezcla de test para análisis de alcohol en sangre.

Patrón	Referencia
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
Mezcla de test para análisis de alcohol	5190-9765

Tabla 4. Precisión del área (RSD) para el patrón de etanol de 80 mg/dl y los analitos incluidos en la mezcla de test para análisis de alcohol en sangre en ambas columnas.

Analito	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Patrón de 80 mg/dl de etanol	3,70 %	2,80%
Metanol (50 mg/dl)	4,10%	1,40%
Acetaldehído (50 mg/dl)	2,80%	3,00%
Etanol (50 mg/dl)	2,30%	1,10%
Isopropanol (50 mg/dl)	3,30%	1,90%
terc-butanol (50 mg/dl)	2,80%	2,70%
Propanol (50 mg/dl)	3,40%	3,00%
n-propanol (50 mg/dl)	3,10%	2,10%
Acetona (50 mg/dl)	3,40%	2,90%
Acetonitrilo (50 mg/dl)	2,30%	2,80%
2-butanol (50 mg/dl)	2,00%	3,00%
Acetato de etilo (50 mg/dl)	3,20%	3,10%
2-butanona (50 mg/dl)	3,10%	3,00%

Tabla 5. Precisión del tiempo de retención (RSD) para el patrón de etanol de 80 mg/dl y los analitos incluidos en la mezcla de test para análisis de alcohol en sangre de 50 mg/dl en ambas columnas.

Analito	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Patrón de 80 mg/dl de etanol	0,04 %	0,10 %
Metanol	0,01 %	0,02 %
Acetaldehído	0,01 %	0,02 %
Etanol	0,02 %	0,05 %
Isopropanol	0,02 %	0,04 %
terc-butanol	0,03 %	0,04 %
Propanal	0,01 %	0,02 %
n-propanol	0,03 %	0,04 %
Acetona	0,02 %	0,03 %
Acetonitrilo	0,02 %	0,03 %
2-butanol	0,04 %	0,04 %
Acetato de etilo	0,02 %	0,03 %
2-butanona	0,02 %	0,03 %

Se comprobó que todos los controles se encontraban dentro de una tolerancia de error aceptable ($\pm 6\%$). Los cromatogramas de la Figura 2 demuestran la mejora en la resolución lograda para los distintos analitos incluidos en la mezcla de test para análisis de alcohol en sangre. Los patrones internos habituales, *terc*-butanol y *n*-propanol se resuelven bien con cualquiera de los analitos de interés.

Conclusión

El sistema GC Agilent Intuvo 9000, equipado con un muestreador de espacio de cabeza Agilent 7697A y un divisor de inyector, permite la identificación, cuantificación y confirmación de analitos de alcohol en sangre en un único análisis. La linealidad en ambas columnas y detectores es excelente, al igual que la precisión (área y tiempo de retención) y la exactitud en la determinación de la concentración. Con una ruta de flujo modular que simplifica la configuración de columna dual/detector dual, el sistema Intuvo 9000 ofrece un rendimiento superior. Para mejorar la experiencia de la cromatografía, el Intuvo 9000 ofrece ventajas adicionales tales como una superficie más pequeña, una pantalla táctil luminosa y conexiones de tipo click-and-run.

Tabla 6. Se calcularon las concentraciones de un conjunto de patrones de etanol evaluados con las curvas de calibración recogidas. Todas las concentraciones estaban dentro del 6 % de la concentración esperada.

Patrón de etanol	Concentración calculada para Agilent DB-BAC1 UI	Pasa/Falla	Concentración calculada para Agilent DB-BAC2 UI	Pasa/Falla
20 mg/dl	19,8 mg/dl	Pasa	19,3 mg/dl	Pasa
50 mg/dl	50,0 mg/dl	Pasa	47,1 mg/dl	Pasa
80 mg/dl	79,3 mg/dl	Pasa	76,8 mg/dl	Pasa
100 mg/dl	96,7 mg/dl	Pasa	94,4 mg/dl	Pasa
150 mg/dl	152 mg/dl	Pasa	149 mg/dl	Pasa
200 mg/dl	197 mg/dl	Pasa	193 mg/dl	Pasa
300 mg/dl	302 mg/dl	Pasa	302 mg/dl	Pasa
400 mg/dl	384 mg/dl	Pasa	386 mg/dl	Pasa

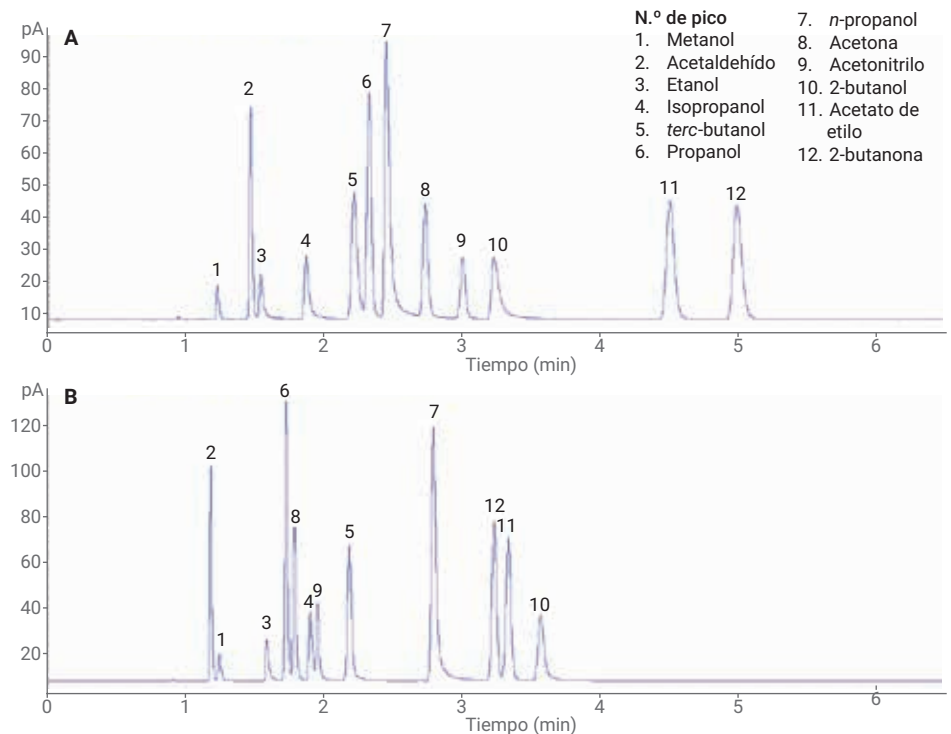


Figura 2. Los cromatogramas para la mezcla de test para análisis de alcohol en sangre demuestran la resolución de *terc*-butanol (5) y *n*-propanol (7) de otros analitos de interés en la columna Agilent DB-BAC1 UI (A). El orden de elución cambia en la columna complementaria Agilent DB-BAC 2 UI (B).