

Analyse de la concentration d'alcool dans le sang avec un système de GC Agilent Intuvo 9000

Avantage technologique : Circuit de GC modulaire avec un échantillonnage HS robuste



Introduction

La détermination de la concentration d'alcool dans le sang (BAC) nécessite un contrôle rigoureux. La détermination exacte de la concentration en éthanol dans le sang est impérative car elle correspond directement au niveau d'intoxication de la personne. Étant donné que le seuil universel de BAC est de 0,08 g/dL (80 mg/dL), les conséquences légales peuvent être importantes en fonction de la valeur rapportée. Un étalonnage exact et une haute précision sont essentiels pour réduire les erreurs. La plupart des méthodes basées sur les détecteurs à ionisation de flamme (FID) prévoient deux colonnes : la première pour la première identification et la quantification et la seconde pour confirmation. Selon les laboratoires, cela peut impliquer d'avoir deux systèmes analytiques séparés, ou bien de tirer parti d'appareils à technologie de flux capillaire (CFT) pour n'utiliser qu'un seul système de chromatographie en phase gazeuse.

Le chromatographe en phase gazeuse Agilent Intuvo 9000 permet d'effectuer facilement des analyses sur deux colonnes grâce au Flow Chip avec diviseur d'injecteur d'Intuvo. Le Flow Chip avec diviseur d'injecteur gère le débit depuis l'injecteur vers les deux détecteurs FID (ou tout autre détecteur atmosphérique) en passant par les deux colonnes. Cela permet d'éviter aux utilisateurs de calculer, mesurer et de couper des restricteurs. Il comprend également une division 1:1 vers les deux colonnes, sous réserve que celles-ci soient de même dimension, par exemple, si elles font 30 m x 320 µm. Cela permet l'analyse de l'échantillon sur les deux colonnes en une seule analyse.

Pour plus d'informations, rendez-vous sur : www.agilent.com



GC Agilent Intuvo 9000 et échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A

Données expérimentales

Un système de GC Intuvo a été équipé d'un échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A. Deux colonnes pour alcools DB-BAC1 Ultra Inert (UI) et DB-BAC2 Ultra Inert (UI) ont été configurées entre un injecteur simple split/splitless et deux FID et ont été maintenues en mode isotherme (Tableaux 1 et 2). Des étalons d'éthanol allant de 10 à 800 mg/dL ont été réalisés dans de l'eau avec du méthanol, de l'acétone et de l'isopropanol à une concentration réduite de moitié, de 5 à 400 mg/dL. Des contrôles à l'éthanol ont été utilisés pour évaluer l'exactitude de l'étalonnage et un mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang (Tableau 3) a été utilisé pour démontrer que la résolution a été améliorée avec la nouvelle paire de colonnes DB-BAC UI. Des flacons d'échantillonnage pour espace de tête ont été préparés à partir d'une aliquote de 50 µL de solution d'étalonnage ou de contrôle dans 450 µL à 0,03 % (v/v) de *n*-propanol.

Résultats et discussion

Le mélange étalon a été analysé trois fois afin de déterminer les courbes d'étalonnage pour les colonnes DB-BAC1 UI et DB-BAC2 UI (Figure 1). Les courbes d'étalonnage se sont révélées linéaires pour les quatre composés inclus dans les mélanges étalons. Un coefficient de détermination (R^2) supérieur ou égal à 0,9995 a été obtenu pour l'éthanol sur les deux colonnes. La différence de pente pour l'éthanol sur les deux paires de colonnes/détecteurs n'était que de 6,3 %, ce qui démontre une division 1:1 après injection exacte et une détection fiable.

Tableau 1 : Paramètres de l'instrument données pour le GC Agilent Intuvo 9000

| GC Agilent Intuvo 9000 | Consignes |
|---|---------------------------------------|
| Four | 40 °C (6,5 minutes) |
| Injecteur split/splitless | Rapport de division 10:1 à 110 °C |
| DB-BAC1 Ultra Inert (123-9334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm | Pression d'hélium constante de 21 psi |
| DB-BAC2 Ultra Inert (123-9434UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,2 µm | Contrôlé par la colonne 1 |
| FID (avant et arrière) | 250 °C |
| H ₂ | 30 mL/min |
| Air | 400 mL/min |
| N ₂ (gaz d'appoint) | 25 mL/min |
| Jumper Chip | 110 °C (température de l'injecteur) |
| Bus | Par défaut (sur 200 °C) |
| Signal avant/arrière | 20 Hz |

Tableau 2 : Paramètres de l'instrument de l'échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A

| Échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A | Consignes |
|--|---|
| Four | 70 °C |
| Boucle | 70 °C |
| Ligne de transfert | 90 °C |
| Temps de stabilisation du flacon | 7 minutes |
| Durée d'injection | 0,5 minute |
| Taille du flacon | 20 mL |
| Agitation du flacon | Off |
| Mode de remplissage de flacon | Par défaut (50 mL/min à 15 psi, 0,1 minute) |
| Pression de remplissage du flacon | 15 psi |
| Montée du remplissage de la boucle | 30 psi/min |
| Pression finale de la boucle | 1,5 psi |
| Temps de stabilisation de la boucle | 0,05 minute |

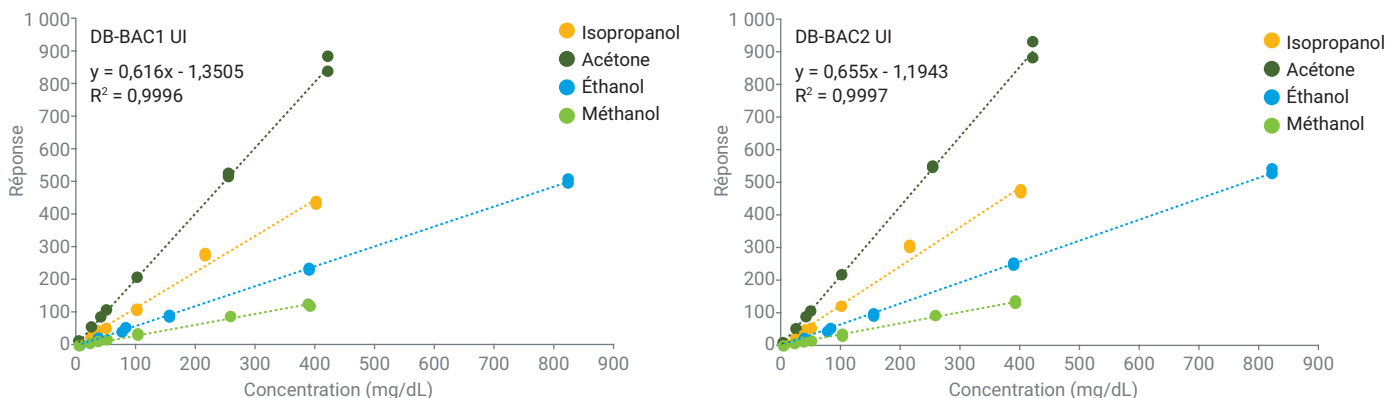


Figure 1 : Courbes d'étalonnage pour l'éthanol, le méthanol, l'acétone et l'isopropanol pour les colonnes DB-BAC1 UI et DB-BAC2 UI d'Agilent

Après étalonnage, cinq échantillons HS ont été réalisés avec 80 mg/dL de contrôle à l'éthanol et avec le mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang (50 mg/dL). La reproductibilité des aires, mesurée à l'aide de l'écart-type relatif (RSD) pour les deux canaux, s'est révélée inférieure ou égale à 4,1 % (Tableau 4). La précision des temps de rétention a également été calculée et s'est révélée supérieure ou égale à 0,1 % (Tableau 5). L'exactitude de l'étalonnage a été vérifiée avec des contrôles à l'éthanol (Tableau 6).

Tableau 3 : Référence pour les contrôles de l'éthanol et le mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang

| Standard | Référence |
|--------------------------------------|-----------|
| 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 |
| Mélange de contrôle du taux d'alcool | 5190-9765 |

Tableau 4 : Précision des aires (RSD) pour un étalon d'éthanol à 80 mg/dL et pour les composés du mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang pour les deux colonnes

| Composé | Agilent DB-BAC1 UI | Agilent DB-BAC2 UI |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| Étalon d'éthanol 80 mg/dL | 3,70 % | 2,80 % |
| Méthanol (50 mg/dL) | 4,10 % | 1,40 % |
| Acétaldéhyde (50 mg/dL) | 2,80 % | 3,00 % |
| Éthanol (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 % |
| Acétone (50 mg/dL) | 3,40 % | 2,90 % |
| Acétonitrile (50 mg/dL) | 2,30 % | 2,80 % |
| 2-Butanol (50 mg/dL) | 2,00 % | 3,00 % |
| Acétate d'éthyle (50 mg/dL) | 3,20 % | 3,10 % |
| 2-Butanone (50 mg/dL) | 3,10 % | 3,00 % |

Tableau 5 : Précision des temps de rétention (RSD) pour un étalon d'éthanol à 80 mg/dL et pour les composés du mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang à 50 mg/dL pour les deux colonnes

| Composé | Agilent DB-BAC1 UI | Agilent DB-BAC2 UI |
|---------------------------|--------------------|--------------------|
| Étalon d'éthanol 80 mg/dL | 0,04 % | 0,10 % |
| Méthanol | 0,01 % | 0,02 % |
| Acétaldéhyde | 0,01 % | 0,02 % |
| Éthanol | 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 % |
| Acétone | 0,02 % | 0,03 % |
| Acétonitrile | 0,02 % | 0,03 % |
| 2-Butanol | 0,04 % | 0,04 % |
| Acétate d'éthyle | 0,02 % | 0,03 % |
| 2-Butanone | 0,02 % | 0,03 % |

Tous les contrôles ont été mesurés avec une tolérance d'erreur acceptable ($\pm 6\%$). Les chromatogrammes de la Figure 2 montrent une amélioration de la résolution pour les divers composés inclus dans le mélange de contrôle du taux d'alcool dans le sang. Les étalons internes communs, le *t*-butanol et le *n*-propanol, ont été correctement séparés des composés recherchés.

Conclusion

Le système de GC Intuvo 9000 d'Agilent, équipé d'un échantillonneur d'espace de tête Agilent 7697A, avec un diviseur d'injecteur, permet l'identification, la quantification et la confirmation d'alcools dans le sang en une seule analyse.

La linéarité pour les deux colonnes et détecteurs est excellente, tout comme la précision (aire et temps de rétention) et l'exactitude de la détermination de la concentration. Avec un circuit modulaire qui simplifie la configuration double colonne/double détecteur, l'Intuvo 9000 offre des performances supérieures. L'Intuvo 9000 présente des avantages supplémentaires tels qu'un encombrement moindre, un écran tactile à couleurs vives, et des connexions « click & run », ce qui améliore l'expérience en chromatographie.

Tableau 6 : Les concentrations ont été calculées pour un ensemble d'étalons d'éthanol à l'aide des courbes d'étalonnage. Les concentrations présentaient un écart-type relatif inférieur ou égal à 6 % au regard des valeurs attendues.

| Étalon d'éthanol | Concentration calculée pour la colonne Agilent DB-BAC1 UI | Succès/Échec | Concentration calculée pour la colonne Agilent DB-BAC2 UI | Succès/Échec |
|------------------|---|--------------|---|--------------|
| 20 mg/dL | 19,8 mg/dL | Succès | 19,3 mg/dL | Succès |
| 50 mg/dL | 50,0 mg/dL | Succès | 47,1 mg/dL | Succès |
| 80 mg/dL | 79,3 mg/dL | Succès | 76,8 mg/dL | Succès |
| 100 mg/dL | 96,7 mg/dL | Succès | 94,4 mg/dL | Succès |
| 150 mg/dL | 152 mg/dL | Succès | 149 mg/dL | Succès |
| 200 mg/dL | 197 mg/dL | Succès | 193 mg/dL | Succès |
| 300 mg/dL | 302 mg/dL | Succès | 302 mg/dL | Succès |
| 400 mg/dL | 384 mg/dL | Succès | 386 mg/dL | Succès |

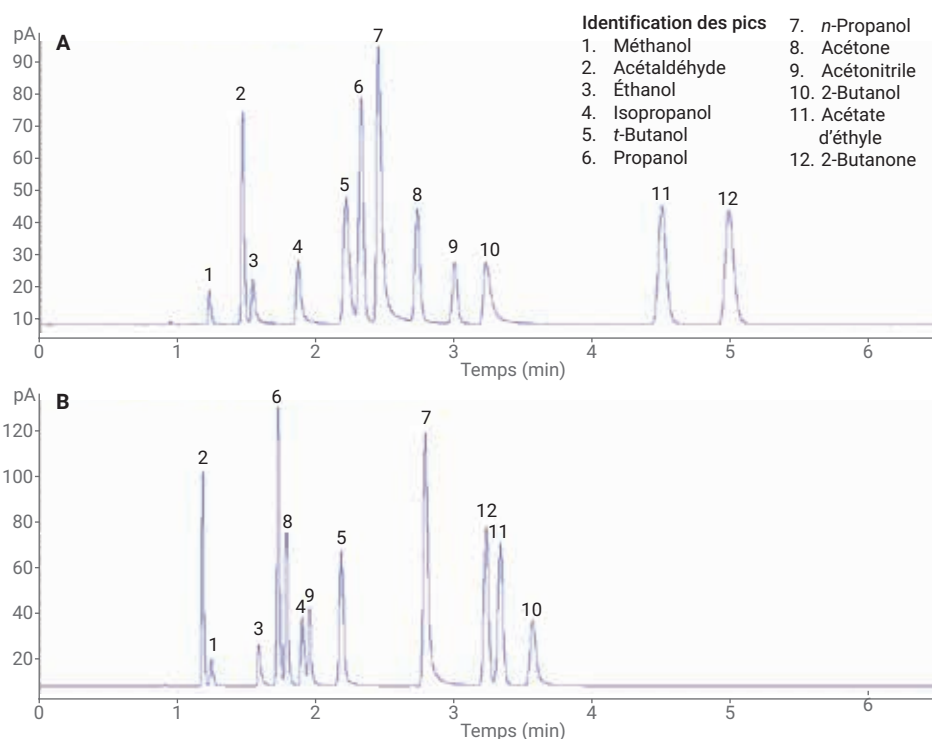


Figure 2 : Les chromatogrammes pour les mélanges de contrôle du taux d'alcool dans le sang représentent la séparation du *t*-butanol (5) et du *n*-propanol (7) des autres composés recherchés sur une colonne DB-BAC1 UI Agilent (A). L'ordre d'élution est différent sur la colonne complémentaire DB-BAC 2 UI Agilent (B).