

Análise da concentração de álcool no sangue com o sistema GC Agilent 9000 Intuvo

Vantagem tecnológica: Trajetória de fluxo do GC modular com amostragem HS robusta



Introdução

A determinação da concentração de álcool no sangue (BAC) requer controle rigoroso. A determinação precisa do teor de etanol no sangue é imperativa porque corresponde diretamente ao nível de intoxicação de uma pessoa. Dado que o limiar universal para BAC é de 0,08 g/dL (80 mg/dL), pode haver consequências legais significativas, dependendo do valor relatado. Uma calibração precisa e alta precisão são essenciais para a redução de erros. A maioria dos métodos baseados no detector de ionização de chama (FID) especifica duas colunas: a primeira para identificação e quantificação inicial e a segunda para confirmação. Dependendo do laboratório, isso pode envolver dois sistemas analíticos separados ou é possível fazer o uso dos dispositivos de tecnologia de fluxo capilar (CFT) para realizar o procedimento em um único sistema de cromatografia gasosa.

O cromatógrafo gasoso Agilent 9000 Intuvo permite facilmente análises com coluna dupla por meio do chip de fluxo do divisor do injetor Intuvo. O chip de fluxo do divisor do injetor gerencia o fluxo do injetor através de duas colunas indo para dois detectores FID (ou outros detectores atmosféricos). Ele elimina a necessidade dos usuários de calcularem, medirem e cortarem os restritores. E também fornece uma divisão de 1:1 para ambas as colunas, desde que as dimensões de coluna sejam correspondentes, por exemplo, se ambas as colunas tiverem 30 m x 320 µm. Ele permite que a amostra seja analisada em ambas as colunas em uma única corrida analítica.

Para obter mais informações, acesse:
www.agilent.com



GC Agilent 9000 Intuvo e amostrador headspace Agilent 7697A.

Parte experimental

Um sistema GC Intuvo foi equipado com um amostrador headspace Agilent 7697A. Colunas duplas de álcool, DB-BAC1 Ultra Inert (UI) e DB-BAC2 Ultra Inert (UI) foram configuradas entre um único injetor split/splitless e FIDs duplos, e mantidas isotérmicas (Tabelas 1 e 2). Padrões de etanol variando de 10 a 800 mg/dL foram feitos em água com metanol, acetona e isopropanol adicionados a metade da concentração, 5 a 400 mg/dL. Controles de etanol foram utilizados para avaliar a precisão da calibração e uma mistura padrão de álcool no sangue (Tabela 3) foi usada para demonstrar a resolução aprimorada obtida pelo novo par de colunas DB-BAC UI. Os frascos do headspace foram preparados com alíquotas de 50 µL da calibração ou controle em 450 µL de *n*-propanol a 0,03% (v/v).

Resultados e discussão

Para determinar as curvas de calibração para as colunas DB-BAC1 UI e DB-BAC2 UI (Figura 1), os padrões de calibração foram executados em triplicado. Verificou-se que as curvas de calibração são lineares para os quatro analitos incluídos nos padrões de calibração. Um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9995 ou melhor foi alcançado para etanol em ambas as colunas. A diferença de inclinação para o etanol nos dois pares coluna/detector foi de apenas 6,3%, demonstrando divisão e detecção precisas pós-injetor de 1:1.

Tabela 1. As condições do instrumento são fornecidas para o GC Agilent 9000 Intuvo.

Sistema GC Agilent 9000 Intuvo	Ponto de ajuste
Forno	40 °C (6,5 minutos)
Injetor split/splitless	Split 10:1, 110 °C
DB-BAC1 Ultra Inert (123-9334UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,8 µm	Pressão constante de hélio de 21 psi
DB-BAC2 Ultra Inert (123-9434UI-INT) 30 m × 320 µm, 1,2 µm	Controlado pela coluna 1
FID (frontal e posterior)	250 °C
H ₂	30 mL/min
Ar	400 mL/min
N ₂ (makeup)	25 mL/min
Jumper Chip	110 °C (temperatura do injetor)
Barramento	Padrão (a 200 °C)
Sinal frontal/posterior	20 Hz

Tabela 2. As condições do instrumento são fornecidas para o amostrador headspace Agilent 7697A.

Amostrador headspace Agilent 7697A	Ponto de ajuste
Forno	70 °C
Loop	70 °C
Linha de transferência	90 °C
Tempo de equilíbrio do frasco	7 minutos
Duração da injeção	0,5 minutos
Tamanho do frasco	20 mL
Agitação do frasco	Desligado
Modo de enchimento do frasco	Padrão (50 mL/min até 15 psi, 0,1 minuto)
Pressão de enchimento do frasco	15 psi
Taxa de aumento do loop	30 psi/min
Pressão final do loop	1,5 psi
Tempo de equilíbrio do loop	0,05 minutos

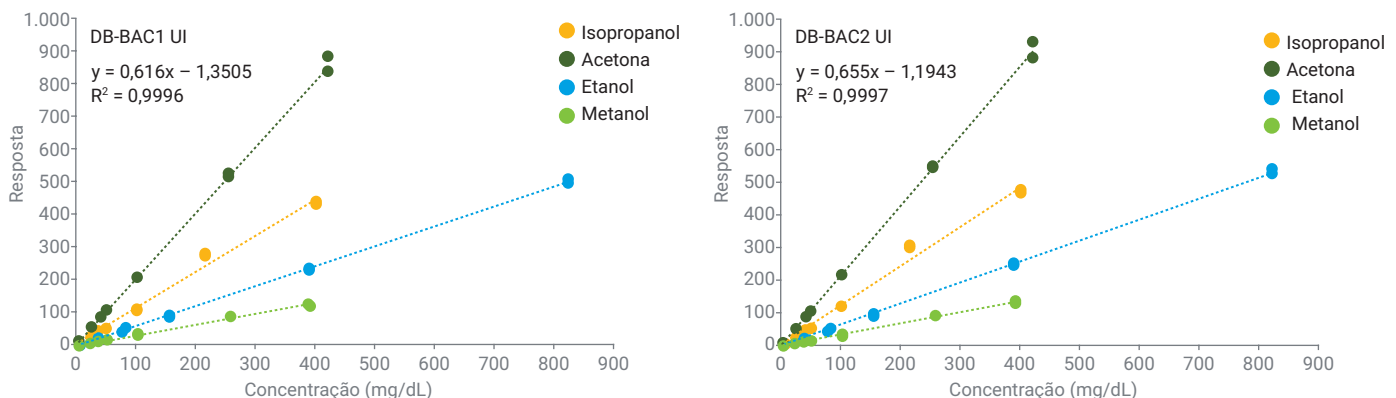


Figura 1. Curvas de calibração para etanol, metanol, acetona e isopropanol para as colunas Agilent DB-BAC1 UI e DB-BAC2 UI.

Após a calibração, cinco amostras de HS foram preparadas com um controle de etanol de 80 mg/dL e a mistura padrão de álcool no sangue (50 mg/dL). A repetibilidade da área, medida pelo desvio padrão relativo (RSD) para ambos os canais foi de 4,1% ou melhor (Tabela 4). A precisão do tempo de retenção também foi calculada e considerada 0,1% ou melhor (Tabela 5). A precisão da calibração foi verificada com controles de etanol (Tabela 6).

Tabela 3. Números de referência para controles de etanol e mistura padrão de álcool no sangue.

Padrão	Número de referência
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
Mistura padrão de álcool	5190-9765

Tabela 4. Precisão da área (RSD) para o padrão de etanol de 80 mg/dL e os analitos incluídos na mistura padrão de álcool no sangue para ambas as colunas.

Analito	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Padrão de etanol de 80 mg/dL	3,70%	2,80%
Metanol (50 mg/dL)	4,10%	1,40%
Acetaldeído (50 mg/dL)	2,80%	3,00%
Etanol (50 mg/dL)	2,30%	1,10%
Isopropanol (50 mg/dL)	3,30%	1,90%
t-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%
Acetonitrila (50 mg/dL)	2,30%	2,80%
2-Butanol (50 mg/dL)	2,00%	3,00%
Acetato de etila (50 mg/dL)	3,20%	3,10%
2-Butanona (50 mg/dL)	3,10%	3,00%

Tabela 5. Precisão do tempo de retenção (RSD) para o padrão de etanol de 80 mg/dL e os analitos incluídos na mistura padrão de álcool no sangue de 50 mg/dL em ambas as colunas.

Analito	Agilent DB-BAC1 UI	Agilent DB-BAC2 UI
Padrão de etanol de 80 mg/dL	0,04%	0,10%
Metanol	0,01%	0,02%
Acetaldeído	0,01%	0,02%
Etanol	0,02%	0,05%
Isopropanol	0,02%	0,04%
t-Butanol	0,03%	0,04%
Propanol	0,01%	0,02%
n-Propanol	0,03%	0,04%
Acetona	0,02%	0,03%
Acetonitrila	0,02%	0,03%
2-Butanol	0,04%	0,04%
Acetato de etila	0,02%	0,03%
2-Butanona	0,02%	0,03%

Todos os controles foram encontrados dentro de uma tolerância de erro aceitável ($\pm 6\%$). Os cromatogramas na Figura 2 mostram a melhoria na resolução alcançada para os vários analitos incluídos na mistura padrão de álcool no sangue. Os padrões internos comuns, *t*-butanol e *n*-propanol, são bem resolvidos em qualquer um dos analitos de interesse.

Conclusão

O sistema GC Agilent 9000 Intuvo, equipado com um amostrador headspace Agilent 7697A e um divisor de injetor, permite a identificação, quantificação e confirmação de analitos de álcool no sangue em uma única corrida. A linearidade em ambas as colunas e detectores é excelente, bem como a precisão (área e tempo de retenção) e a precisão da determinação da concentração. Com uma trajetória de fluxo modular simplificando a configuração de coluna dupla/detector duplo, o Intuvo 9000 oferece um desempenho superior. Para melhorar a experiência de cromatografia, o Intuvo 9000 tem benefícios adicionais, como uma pegada de carbono menor, uma tela colorida sensível ao toque e conexões click-and-run.

Tabela 6. As concentrações foram calculadas para um conjunto de padrões de etanol avaliados com as curvas de calibração coletadas. Todas as concentrações estavam dentro dos 6% de concentração esperada.

Padrão de etanol	Concentração	Aprovado/ Reprovado	Concentração	Aprovado/ Reprovado
	calculada Agilent DB-BAC1 UI		calculada Agilent DB-BAC2 UI	
20 mg/dL	19,8 mg/dL	Aprovado	19,3 mg/dL	Aprovado
50 mg/dL	50,0 mg/dL	Aprovado	47,1 mg/dL	Aprovado
80 mg/dL	79,3 mg/dL	Aprovado	76,8 mg/dL	Aprovado
100 mg/dL	96,7 mg/dL	Aprovado	94,4 mg/dL	Aprovado
150 mg/dL	152 mg/dL	Aprovado	149 mg/dL	Aprovado
200 mg/dL	197 mg/dL	Aprovado	193 mg/dL	Aprovado
300 mg/dL	302 mg/dL	Aprovado	302 mg/dL	Aprovado
400 mg/dL	384 mg/dL	Aprovado	386 mg/dL	Aprovado

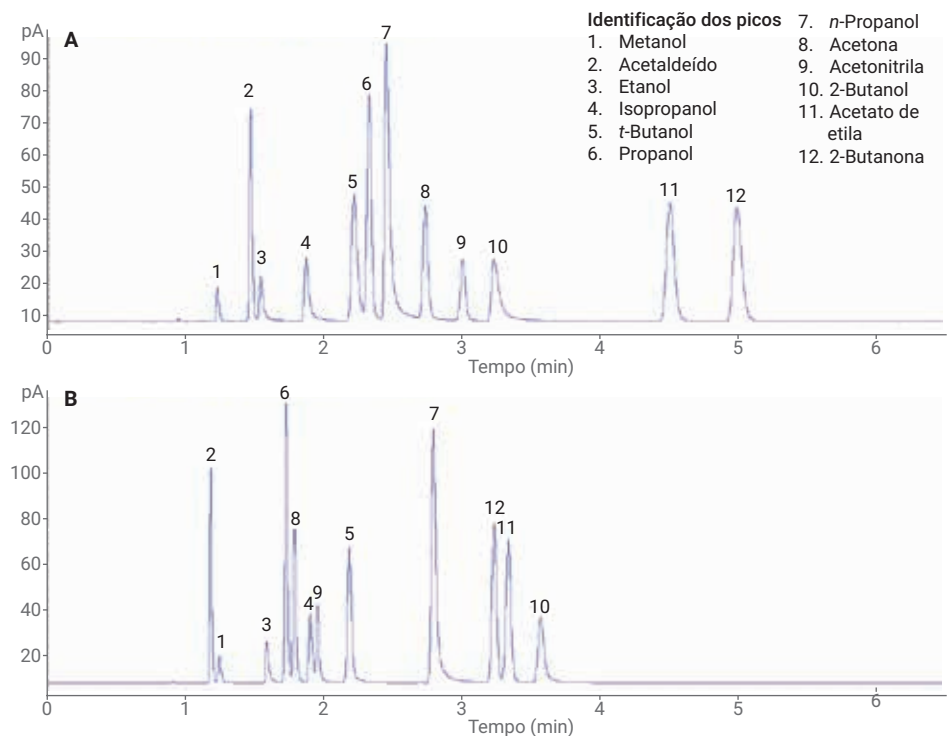


Figura 2. Cromatogramas para a mistura padrão de álcool no sangue demonstram a resolução de *t*-butanol (5) e *n*-propanol (7) de outros analitos de interesse em uma coluna Agilent DB-BAC1 UI (A). A ordem de eluição muda na coluna complementar Agilent DB-BAC 2 UI (B).