

# **Количественный анализ и подтверждение содержания алкоголя в крови с использованием нового анализатора алкоголя в крови на базе ГХ/МС/ПВД**

## **Рекомендации по применению**

Судмедэкспертиза и токсикология

### **Авторы**

Фред Фейерхерм (Fred Feyerherm)

Agilent Technologies, Inc.

Хьюстон, штат Техас

Джессика Уэстленд

(Jessica Westland) и Крэйг Марвин

(Craig Marvin)

Agilent Technologies, Inc.

Уилмингтон, штат Делавэр

### **Аннотация**

Данная методическая информация содержит основные положения метода определения концентрации алкоголя в крови посредством совместного использования ГХ Agilent 7890В с ПВД и МСД Agilent 5977А. Комбинированный метод определения с помощью пламенно-ионизационного детектора и МСД обеспечивает точность количественного анализа концентрации алкоголя наряду со спектральным подтверждением присутствия алкоголя в пробе крови со сложной матрицей.



**Agilent Technologies**

## Введение

Концентрация алкоголя в крови напрямую соответствует уровню алкогольного опьянения водителя, управляющего транспортным средством. Для решения проблемы вождения в состоянии алкогольного опьянения правоохранительные органы установили пороговые значения концентрации алкоголя в крови. Анализы с использованием алкогольно-респираторной трубки и методы проверки наличия алкогольного опьянения на дороге позволяют выявить субъективный признак опьянения. Для правовой защиты в суде требуется проведение количественного анализа содержания алкоголя. Это делает определение концентрации алкоголя в крови наиболее широко применяемым тестом в токсикологических лабораториях.

В связи с числом получаемых проб и их относительно коротким временем хранения для токсикологических лабораторий требуются быстрые, точные и надежные тесты для определения концентрации алкоголя в крови. Парофазная газовая хроматография широко применяется лабораториями правоохранительных органов [1]. Эта методика отвечает многим требованиям данных лабораторий, но из-за возможности получения ложноположительных результатов, вызванных эффектом памяти пробы или созданием загрязняющих веществ, востребованность масс-спектрального подтверждения присутствия этанола стала выше по сравнению с рутинным анализом методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (ГХ-ПИД). Сочетание парофазного ГХ с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) и масс-спектрометром (МС) позволяет одновременно проводить количественный анализ и спектральное подтверждение присутствия этанола в крови

Данная методика тестирует сочетание парофазного пробоотборника 7697А, ГХ 7890В производства компании Agilent с пламенно-ионизационным детектором и ГХ-МС 5977А для разделения, количественного анализа и подтверждения содержания соединений алкоголя в крови. Целью данного исследования было продемонстрировать, что добавление метода масс-спектрометрии подтверждает идентификацию алкоголя и увеличивает достоверность данных для защиты в суде. Оборудование компании Agilent использовалось для получения точных результатов при проведении быстрых высокопроизводительных анализов.

## Экспериментальная часть

Данный эксперимент проводился на ГХ Agilent 7890В, оснащенный испарителем с делением и без деления потока, пламенно-ионизационным детектором, ГХ-МСД Agilent 5977А и парофазным пробоотборником Agilent 7697А. На рис. 1 показана экспериментальная установка. Для разделения потока на выходе из колонки между пламенно-ионизационным детектором и масс-детектором используется специальный делитель, основанный на технологии капиллярных потоков (capillary flow technology, CFT). Данное расположение обеспечивало точное и воспроизводимое поступление потока к обоим детекторам (рис. 2).

Использовалось следующее программное обеспечение: Agilent MassHunter GC/MS Acquisition B.07.00.SP2 и ChemStation Enhanced Data Analysis F.01.00.1903.

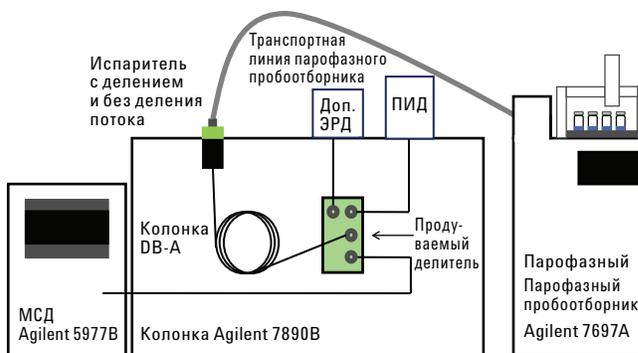


Рис. 1. Конфигурация ГХ/ПИД/МС для анализа содержания алкоголя в крови

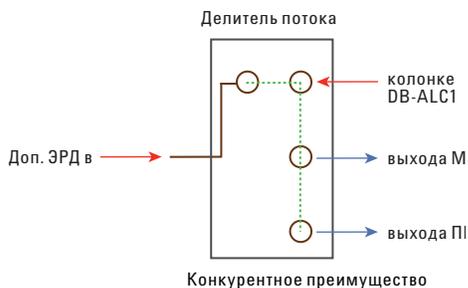


Рис. 2. Воспроизводимое разделение потока между детекторами с использованием специализированного делителя на базе технологии капиллярных потоков

## Параметры оборудования

|   |   |
|---|---|
| Колонка   | DB-ALC-1  |
| Носитель  | Гелий   |
| Термостат   | 55 °С, изотермический   |
| Испаритель  | Капиллярный с делением и без деления потока с ЭРД   |
| Лайнер испарителя                                   | Ultra inert (кат. № 5190-4047)  |
| ГХ  | Agilent 7890В   |
| Детектор  | Пламенно-ионизационный детектор с ЭРД   |
| МСД   | Масс-спектрометр Agilent 5977А  |
| Пробоотборник                                       | Парофазный пробоотборник Agilent 7697А  |
| Транспортная линия                                  | Трубка из деактивированного плавленного кварца с внутренним диаметром 0,53 мм   |
| Устройство на базе технологии капиллярных потоков   | Продуваемый делитель на два потока  |
| Септы для ГХ  | С оптимизированными температурными и герметизирующими характеристиками (ВТО), 11 мм (кат. № 5183-4757)  |
| Позолоченное уплотнение                             | Позолоченное уплотнение Ultra Inert (кат. № 5190-6145)  |
| Обжимные феррулы для технологии капиллярных потоков | Гибкие металлические обжимные феррулы (кат. № G3188-27502 для колонки с внутренним диаметром 0,32 мм, кат. № G3188-26503 для трубки с внутренним диаметром 0,53 мм), внутренняя гайка (кат. № GB2855-20530) |
| Испаритель/Пламенно-ионизационный детектор          | Обжимные феррулы, состав Vespel/графит 85/15 (кат. № 5062-3514, 10 шт./уп.)   |
| Скорость потока в МСД                               | 1,25 мл/мин   |

## Пробоподготовка

Стандартные эталонные образцы этанола готовили путем добавления 500 мкл каждого стандартного эталонного раствора к 4,5 мл дистиллированной воды и 5 мкл разведенного внутреннего стандарта.

Основной раствор внутреннего стандарта готовили путем разведения *n*-пропанола в дистиллированной воде в соотношении 1 : 10 до получения номинальной итоговой рабочей концентрации 0,08 г/дл. Эффективность данной методики оценивалась посредством проведения анализа реальных проб.

Калибранты этанола готовили отдельно.

## Результаты и обсуждение

На рис. 3 показаны хроматограммы, полученные на колонке DB-ALC1, которые отражают разделение и порядок элюирования анализируемых веществ в многокомпонентной смеси на основе комбинированных сигналов пламенно-ионизационного детектора и масс-спектрометра. На рис. 4 представлено сопоставление времен удерживания для многокомпонентной смеси. При условии анализа разделение этанола, других возможных составляющих пробы, например метанола, 2-пропанола и ацетона, было достигнуто менее чем за 3 (три) минуты.

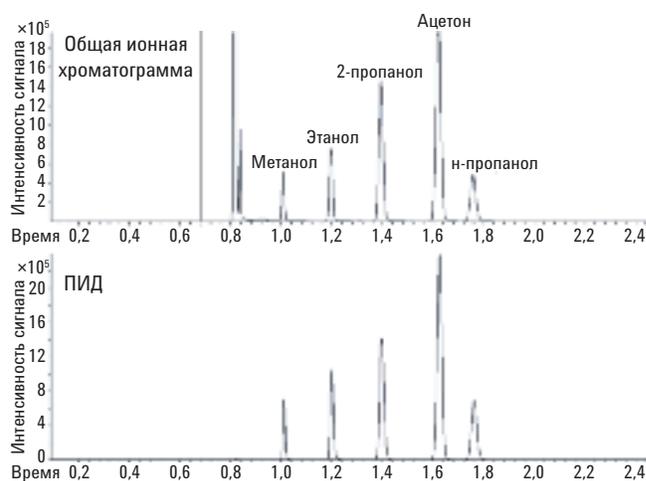


Рис. 3. Хроматографическое разделение многокомпонентной смеси в концентрации 0,4 %, г/дл

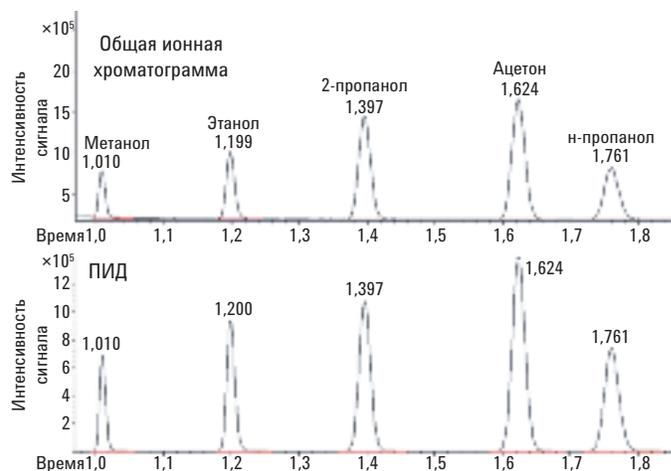


Рис. 4. Сопоставление времен удерживания на хроматограммах, полученных на пламенно-ионизационном детекторе и масс-спектрометре, для многокомпонентной смеси

Для проверки извлечения в калибровочные стандарты и пробы был добавлен *n*-пропанол. Калибровка системы проводилась по этанолу в концентрации от 0,02 до 0,4 г/дл на семи уровнях с 10 параллельными вводами на каждом уровне. На рис. 5 показаны калибровочные кривые, полученные для этанола на обоих детекторах. Согласно графикам калибровочные кривые были линейными как для пламенно-ионизационного детектора, так и для масс-спектрометра, при этом значение  $R^2$  составило 0,9991 и 0,9989, соответственно.

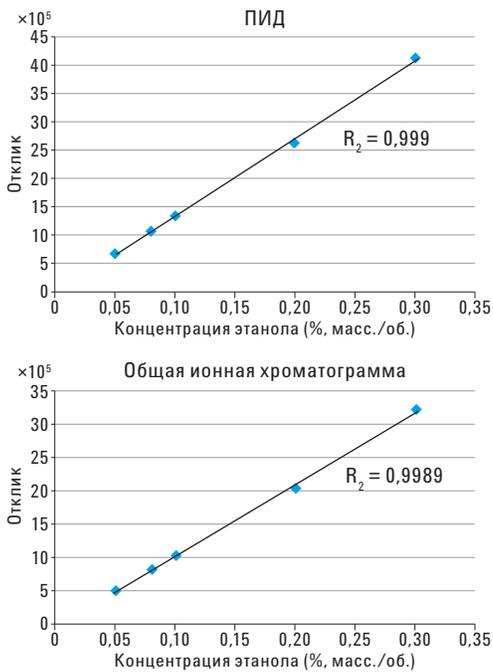


Рис. 5. Калибровочные кривые для обнаружения этанола на пламенно-ионизационном детекторе и масс-спектрометре

Риск эффекта памяти проб может иметь значение при анализе проб с высокой концентрацией алкоголя в крови. В данном исследовании внимание уделялось не только тестированию эффекта памяти между пробами, но и эффекту памяти, вызванному возможным наличием остаточного количества образца в парофазном пробоотборнике. Проверка выполнялась путем анализа многокомпонентной смеси с этанолом в высокой концентрации (0,4 г/дл) с последующим анализом холостого раствора внутреннего стандарта. На рис. 6 подтверждается отсутствие этанола в холостом растворе внутреннего стандарта, что демонстрирует отсутствие эффекта памяти пробы для данного метода.

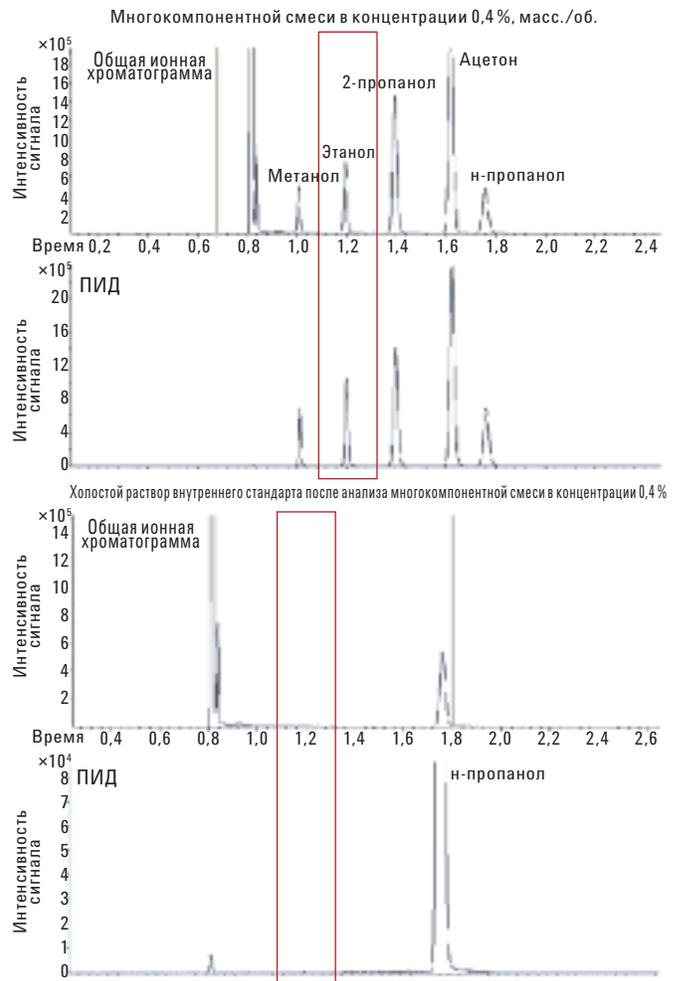


Рис. 6. На верхних хроматограммах показан анализ содержания этанола в стандартном образце высокой концентрации (4 г/дл). На нижних хроматограммах подтверждается отсутствие эффекта переноса этанола из стандартного образца в концентрации 4 г/дл в холостой раствор внутреннего стандарта

Программное обеспечение Agilent ChemStation предлагает варианты настраиваемого отчета для представления и сравнения данных. Отчет о пробе, показанный на рис. 7, включает количественные результаты анализа пробы. Количественный анализ проводится на основе отклика пламенно-ионизационного детектора, также отображается сравнение спектров, полученных на масс-спектрометре, со спектральными данными библиотеки (NIST). Данный отчет удобен для просмотра данных по концентрации и визуального подтверждения присутствия этанола в анализируемой пробе. Конструкция системы выполнена таким образом, что значения времен удерживания совпадают для каждого компонента на ПИД и МСД.

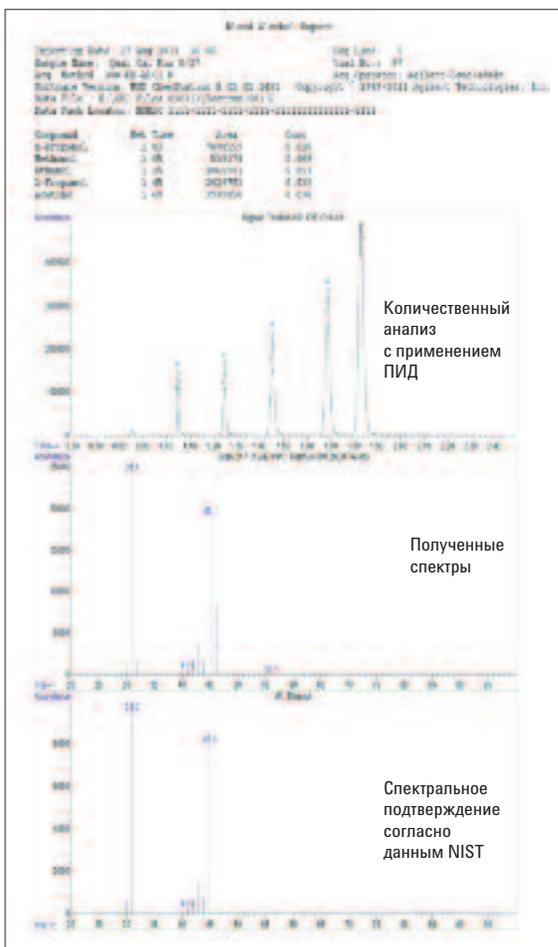


Рис. 7. Настраиваемый отчет, полученный в программной обеспечении Agilent ChemStation

## Выводы

Данное исследование подтверждает быстроту, надежность и точность анализа концентрации алкоголя в крови с использованием ГХ 7890В, оснащенного пламенно-ионизационным детектором и МСД 5977А. Прямое подсоединение транспортной линии парофазного пробоотборника 7697А к испарителю с делением и без деления потока и отбор проб из виал при значениях давления выше атмосферного позволило добиться воспроизводимой эффективности в широком диапазоне калибровки и устранило эффект памяти. Технология капиллярных потоков с ЭРД обеспечивала воспроизводимое разделение потока после колонки между пламенно-ионизационным детектором и МСД, что позволяло проводить одновременное детектирование и спектральное подтверждение присутствия этанола при однократном вводе. В системе отсутствовал эффект перекрестного загрязнения между пробами даже после ее испытания путем ввода этанола в высокой концентрации. Кроме того, эта методика позволяет получить данные, применимые для правовой защиты, с помощью количественного анализа на основе пламенно-ионизационного детектирования и спектрального подтверждения методом масс-спектрометрии этанола и других целевых веществ. Различные варианты создания настраиваемых отчетов также предоставляют информацию о концентрации, примеры хроматографии и сравнение полученных и эталонных библиотечных спектров. В целом сочетание ГХ-ПИД Agilent 7890В с МСД Agilent 5977А и парофазным пробоотборником 7697А является отличным решением для использования правоохранительными органами. Оно демонстрирует точные, воспроизводимые и применимые для правовой защиты данные при обнаружении и количественном анализе концентрации алкоголя в крови.

## Литература

1. J.L. Westland, F.L. Dorman, *Forensic Sci. Int.*, **231**(2013), pp. 50-56.
2. H. Boswell, F. Dorman "Determine Blood Alcohol with Dual Column/Dual FID for Precision and Reproducibility"  
*Agilent Technologies publication* 5991-3671EN.

## Дополнительная информация

Представленные данные являются стандартными значениями. Для получения дополнительной информации о наших продуктах и услугах посетите наш веб-сайт по адресу [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem).

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и спецификации в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Компания Agilent Technologies, Inc., 2014  
Напечатано в США.  
19 мая 2014 г.  
5991-4059RU



**Agilent Technologies**