

OZNACZANIE ALKOHOLU ETYLOWEGO METODĄ GC, TECHNIKĄ „HEADSPACE”

Sprzęt i odczynniki

1. Chromatograf gazowy z detektorem FID HP5890
2. Naczynka szklane do izolowania techniką "head-space" o pojemności 25 ml
3. Wodny roztwór wzorcowy etanolu o stężeniu 50‰
4. Wodny roztwór *tert*-butanolu (standard wewnętrzny) o stężeniu 0,8 ml/litr

Wykonanie analizy

1. Przygotować roztwory wzorcowe:
 - a. Wodny roztwór wzorcowy *tert*-butanolu o stężeniu 0,8 mL/L
 - b. Wodny roztwór wzorcowy etanolu o stężeniu 50‰
2. Dobór warunków chromatograficznych.
 - a. Do naczynia head-space pobrać po 0,5 mL roztworów wzorcowych, zamknąć zakrętką z gumowym septum i umieścić w komorze do inkubacji w temperaturze 30°C na 20 minut. Po tym czasie nastrzyknąć 250 µL gazu znad roztworów na kolumnę kapilarną ZB-WAX Phenomenex.
 - b. Dobrać temperaturę analizy tak aby uzyskać separację pików chromatograficznych do linii bazowej.

3. Krzywa wzorcowa.

Do próbek wlać kolejno 0; 0,04; 0,08; 0,12; 0,16 i 0,2 mL podstawowego roztworu alkoholu etylowego i uzupełnić wodą do objętości 2 mL, co odpowiada stężeniom etanolu 0; 1; 2; 3; 4 i 5‰ w surowicy. Każdy punkt z krzywej przygotować w trzech powtórzeniach. Do naczynek do head-space pobrać po 0,5 mL przygotowanego roztworu oraz 0,5 mL standardu wewnętrznego (alkohol *tert*-butylowy o stężeniu 0,8 mL/L). Naczynko zamknąć szczelnie i umieścić w komorze do inkubacji w temperaturze 30°C na 20 minut. Po tym czasie nastrzyknąć 250 µL gazu znad roztworów na kolumnę kapilarną ZB-WAX Phenomenex.

Krzywa kalibracji przedstawia zależność stosunku pola powierzchni etanolu i standardu wewnętrznego do stężenia etanolu wyrażonego w promilach. Po wykreśleniu krzywej kalibracji odczytuje się zawartość etanolu w badanych próbach. Należy uwzględnić fakt, że stężenie etanolu w osoczu lub w surowicy jest o około 20% wyższe niż w krwi pełnej.

4. Wykonanie oznaczenia

Do naczyniek do head-space pobiera się po 0,5 mL badanej surowicy (roztworu) następnie dodaje się 0,5 mL standardu wewnętrznego. Naczynko zamknąć szczelnie i umieścić w komorze do inkubacji w temperaturze 30°C na 20 minut. Po tym czasie nastrzyknąć 250 µL gazu znad roztworów na kolumnę kapilarną ZB-WAX Phenomenex. Obliczyć zawartość alkoholu etylowego w surowicy na podstawie wyznaczonej krzywej wzorcowej.

Z punktu widzenia prawnolekarskiej oceny trzeźwości przyjmuje się następujące kryteria oceny wyników (stężenia odnoszą się do badania we krwi):

poniżej 0,2‰ - poziom fizjologiczny

powyżej 0,2‰ do 0,5‰ stan wskazujący na użycie etanolu

powyżej 0,5‰ - stan nietrzeźwości

powyżej 5‰ - zatrucie śmiertelne

Lit: opracowano na podstawie danych Zakładu Toksykologii Wydziału Farmaceutycznego, Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego