

司法鉴定技术规范

SF/Z JD0107001-2010

血液中乙醇的测定 顶空气相色谱法

2010-04-07 发布

2010-04-07 生效

中华人民共和国司法部
司法鉴定管理局

发布

前 言

本标准的附录A和附录B为资料性附录。

本标准由中华人民共和国司法部司法鉴定科学技术研究所提出。

本标准由中华人民共和国司法部归口。

本标准起草单位：中华人民共和国司法部司法鉴定科学技术研究所。

本标准主要起草人：卓先义、刘伟、向平、沈保华、卜俊、马栋、严慧。

血液中乙醇的测定

顶空气相色谱法

1 范围

本标准规定了血液中乙醇的顶空气相色谱测定方法。

本标准适用于血液中乙醇的定性及定量分析。

本标准的方法检出限为0.01mg/mL；定量下限为0.05mg/mL。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法（GB/T 6682-2008，ISO 3696：1987，MOD）

GA/T 122 毒物分析名词术语

3 原理

本法利用乙醇的易挥发性，以叔丁醇为内标，用顶空气相色谱火焰离子化检测器进行检测，经与平行操作的乙醇对照品比较，以保留时间或相对保留时间定性，用内标法、峰面积比进行定量分析。

4 试剂和材料

除另有说明外，水为GB/T 6682规定的二级水。

4.1 乙醇

色谱纯。

4.2 乙醇标准溶液

精密称取适量乙醇，用水配成10.0mg/mL乙醇标准储备溶液。储备液在冰箱中冷藏密闭保存，有效期为6个月。试验中所用其它浓度的标准溶液均从上述储备液稀释而得，在冰箱中冷藏密闭保存，有效期为3个月。

4.3 叔丁醇

色谱纯。

4.4 叔丁醇溶液

精密称取适量叔丁醇，用水配成5.0mg/mL叔丁醇储备液。储备液在冰箱中冷藏密闭保存，有效期为12个月。将储备液用水稀释，得40.0 μ g/mL叔丁醇内标工作液，在冰箱中冷藏密闭保存，有效期为6个月。

5 仪器

5.1 气相色谱仪

配火焰离子化检测器(FID)。

5.2 顶空进样器

配1mL定量进样环。

5.3 样品瓶

10mL, 顶空自动进样器用。

5.4 硅橡胶垫。

5.5 铝帽。

5.6 密封钳。

5.7 精密移液器。

5.8 自动稀释仪。

6 测定步骤

6.1 样品处理

用精密移液器或自动稀释仪取样品血0.10 mL及0.50 mL 40.0 μ g/mL 叔丁醇内标工作液,加入样品瓶内, 盖上硅橡胶垫, 用密封钳加封铝帽, 混匀。

6.2 测定

6.2.1 顶空气相色谱测定参考条件

a) 色谱柱(1): DB-ALC1 (30m \times 0.32mm \times 1.8 μ m) 石英毛细管柱或相当者;

柱温: 恒温40 $^{\circ}$ C;

色谱柱(2): DB-ALC2 (30m \times 0.32mm \times 1.2 μ m) 石英毛细管柱或相当者;

柱温: 恒温40 $^{\circ}$ C;

b) 载气: 氮气, 纯度 \geq 99.999%, 流速8mL/min;

c) 进样口温度: 150 $^{\circ}$ C;

d) 检测器温度: 250 $^{\circ}$ C;

e) 加热箱温度: 65 $^{\circ}$ C;

f) 定量环温度: 105 $^{\circ}$ C;

g) 传输线温度: 110 $^{\circ}$ C;

h) 气相循环时间: 3.5min;

i) 样品瓶加热平衡时间: 10.0min;

j) 样品瓶加压时间: 0.10min;

k) 定量环充满时间: 0.10min;

l) 定量环平衡时间: 0.05min;

m) 进样时间: 1.00min。

6.2.2 定性测定

样品溶液按照顶空气相色谱测定条件测定, 以叔丁醇为内标, 计算色谱峰的相对保留时间, 将样品色谱峰的保留时间(或相对保留时间)与乙醇标准对照品的保留时间(或相对保留时间)比较, 相对误差小于2%, 空白对照样品内标物色谱峰正常而无乙醇的色谱峰, 可以认为检材中含有乙醇。如果内标物

色谱峰正常，而无乙醇的色谱峰时，可认为检验结果为阴性。乙醇对照品和内标气相色谱图，参见附录A。

6.2.3 定量测定

本方法采用内标法—校准曲线法或内标法—单点校正法定量测定。

6.2.3.1 内标法—校准曲线法

采用内标-校准曲线法测定（见附录B）。将乙醇对照品溶液进样，以乙醇和内标峰面积比为纵坐标，乙醇对照品工作溶液浓度为横坐标绘制标准曲线，用标准曲线对样品进行定量，所测样品中乙醇的浓度值应在线性范围内。

6.2.3.2 内标法—单点校正法

血液样品乙醇浓度在标准溶液浓度的±30%内可用单点法定量。

6.3 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验。

单柱单检测器两份样品测定结果按两份样品的平均值计算，双样相对相差不得超过5%（有凝血块的血样不超过10%）。双样相对相差按式（1）计算：

$$\text{双样相对相差 (\%)} = \frac{|C_1 - C_2|}{\bar{C}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

C_1 、 C_2 ——两份样品平行定量测定的结果；

\bar{C} ——两份样品平行定量测定结果的平均值 $(C_1+C_2)/2$ 。

双柱双检测器两份样品测定结果的相对标准偏差RSD（%）若不超过10%时（有凝血块的血样不超过15%），结果按两份样品结果的平均值计算。

7 结果计算

血液中乙醇浓度测定采用内标法—校准曲线法定量或按式(2)计算：

$$C = \frac{A \times A_i' \times c}{A' \times A_i} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：

C ——血液样品中乙醇浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

A ——血液样品中乙醇的峰面积；

A' ——标准溶液中乙醇的峰面积；

A_i' ——标准溶液中内标物的峰面积；

A_i ——血液样品中内标物的峰面积；

c ——标准溶液中乙醇浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)。

附录 A
(资料性附录)
乙醇对照品和内标气相色谱图

A.1 按色谱柱 (1) 条件得乙醇对照品和内标气相色谱图, 见图 A.1。

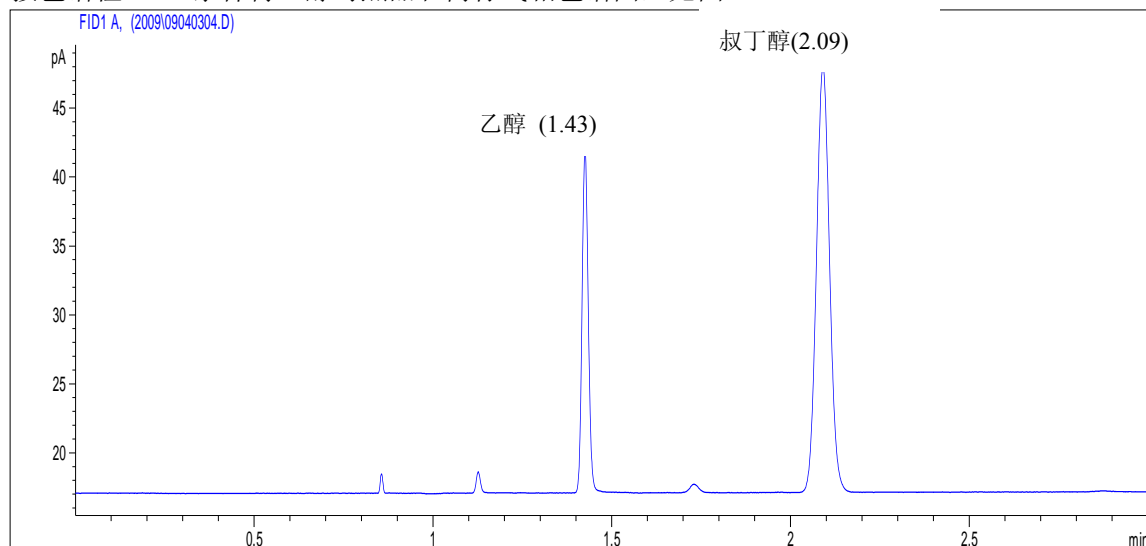


图 A.1 按色谱柱 (1) 条件得的乙醇对照品和内标气相色谱图

A.2 按色谱柱 (2) 条件得乙醇对照品和内标气相色谱图, 见图 A.2。

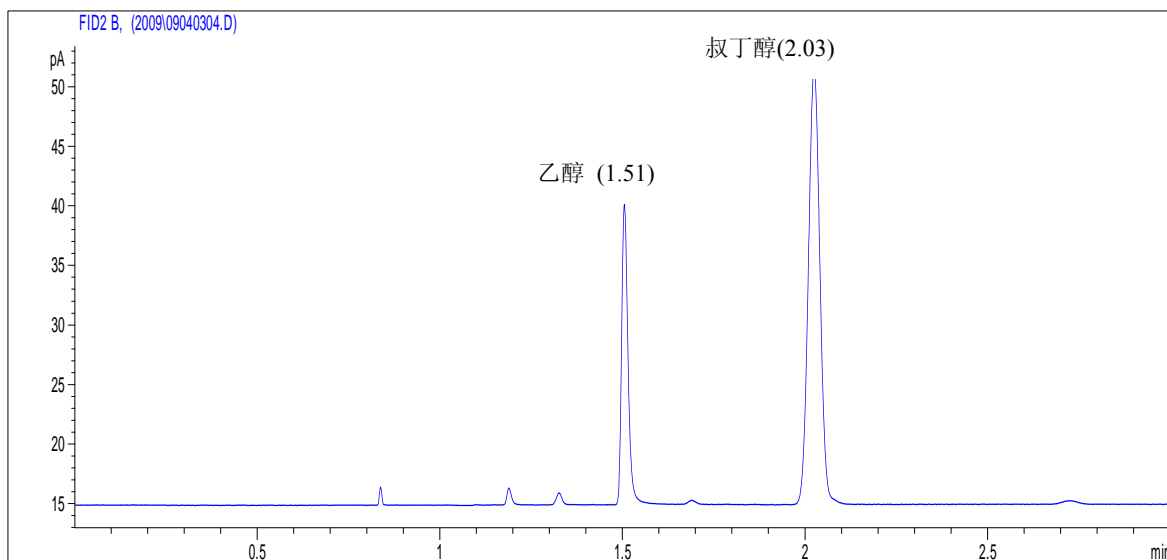


图 A.2 按色谱柱 (2) 条件得的乙醇对照品和内标气相色谱图

附 录 B
(资料性附录)
校准曲线

配制乙醇浓度为0.10、0.20、0.50、0.80、1.00、2.00、3.00mg/mL的水溶液，按6.1和6.2项下分析，每一浓度点取2份，以乙醇与内标叔丁醇的峰面积比对乙醇浓度做工作曲线。

按色谱柱(1)条件测得的工作曲线方程为 $X = 1.0761 C - 0.0162$ ($r = 0.9997$)，按色谱柱(2)条件测得的工作曲线方程为 $X = 1.0655 C - 0.0177$ ($r = 0.9997$)。式中 X 为乙醇与叔丁醇的峰面积比值， C 为乙醇工作溶液浓度(mg/mL)。