

司法 鉴 定 技 术 规 范

SF/Z JD0107001—2016

血液中乙醇的测定 顶空气相色谱法

2016-9-22 发布

2016-9-22 实施

中华人民共和国司法部司法鉴定管理局 发布

目 次

前言.....	I
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 原理.....	1
4 试剂和材料.....	1
5 仪器.....	1
6 测定步骤.....	2
7 结果计算.....	3
附录 A（资料性附录） 乙醇对照品和内标气相色谱图.....	4
附录 B（资料性附录） 校准曲线.....	5

前 言

本技术规范按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本技术规范的附录A和附录B为资料性附录。

本技术规范由司法部司法鉴定科学技术研究所提出。

本技术规范由司法部司法鉴定管理局归口。

本技术规范起草单位：司法部司法鉴定科学技术研究所。

本技术规范主要起草人：卓先义、刘伟、向平、沈保华、卜俊、马栋、严慧。

本技术规范所代替规范的历次版本发布情况为：SF/Z JD0107001——2010。

血液中乙醇的测定

顶空气相色谱法

1 范围

本技术规范规定了血液中乙醇的顶空气相色谱测定方法。
本技术规范适用于血液中乙醇的定性及定量分析。
本技术规范的方法检出限为0.01mg/mL；定量下限为0.05mg/mL。

2 规范性引用文件

下列文件对于本技术规范的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本技术规范。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本技术规范。

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，以保留时间进行定性分析；以峰面积为依据，用内标法定量。

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待测血液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，记录色谱峰的保留时间。将待测样品色谱峰的保留时间与乙醇标准对照品的保留时间比较，相对误差在 \pm 2%内，空白对照样品内标物色谱峰正常而无乙醇的色谱峰，一般可以认为待测样品中含有乙醇；必要时，选择不同的色谱条件或用气相色

谱-质谱法确证。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，用标准曲线对待测样品进行定量，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

待测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

按以上步骤对同一待测样品进行平行试验。

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10%（有凝血块的血样不超过15%）。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5%时（有凝血块的血样不超过10%），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。

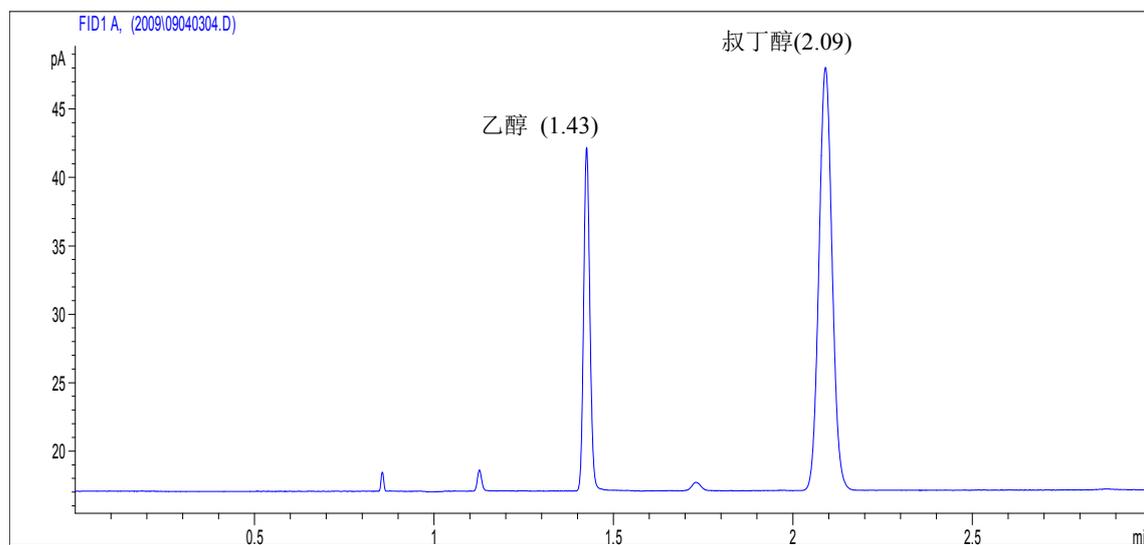


图 A.1 按色谱柱 (1) 条件得的乙醇对照品和内标气相色谱图

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。

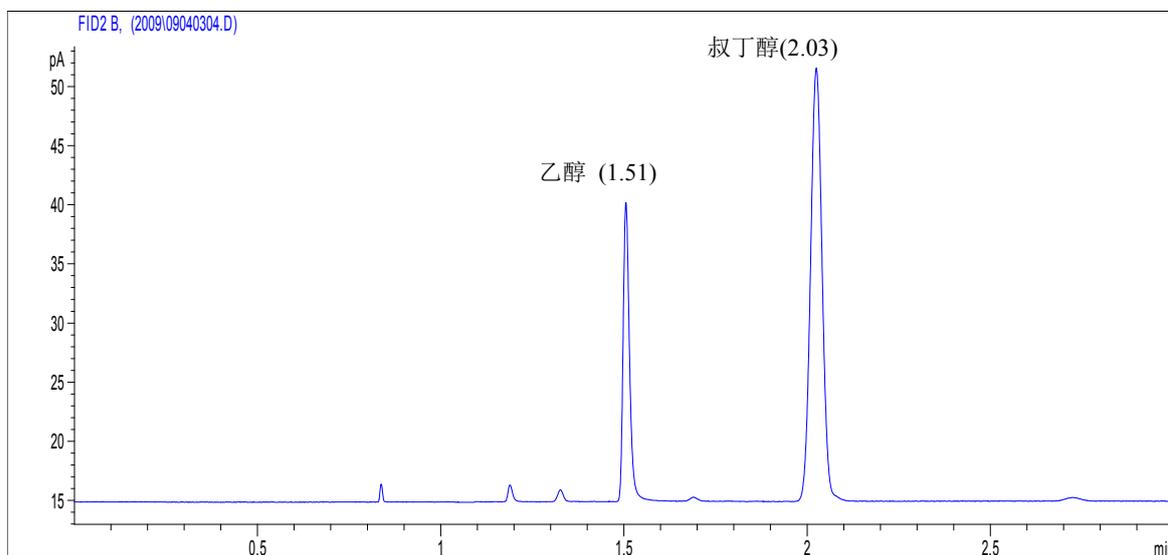


图 A.2 按色谱柱 (2) 条件得的乙醇对照品和内标气相色谱图

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标准曲线。

按色谱柱(1)条件测得的标准曲线方程为 $X = 1.0761 C - 0.0162$ ($r = 0.9997$)，按色谱柱(2)条件测得的标准曲线方程为 $X = 1.0655 C - 0.0177$ ($r = 0.9997$)。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)。