

双通道顶空-气相色谱法测定血液中的酒精含量



内容提要 | ◎ 前言 ◎ 实验部分 ◎ 结果与讨论

摘要

参考《血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇的测定》(GB/T 42430-2023), 测定血液中酒精含量。

前言

饮酒驾车, 特别是醉酒后驾车, 是严重危害道路交通安全的行为。根据国家标准《车辆驾驶人员血液、呼气酒精含量阈值与检验 (GB 19522- 2010)》(国家质检总局、国家标准委 2011 年 1 月 14 日发布, 2011 年 7 月 1 日起实施) 和《关于批准发布 GB 19522- 2010 <车辆驾驶人员血液、呼气酒精含量阈值与检验>国家标准第 1 号修改单的公告》(国家标准委 2017 年 2 月 28 日印发) 的规定, 车辆驾驶人员血液中酒精含量检验方法按照 GA/T 1073 或者 GA/T 842 的规定, 强制执行。

国家标准《血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇的测定》(GB/T 42430-2023) 将于2024年3月1日起实施。标准在公共安全行业标准《生物样品血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇和正丁醇的顶空 - 气相色谱检验方法》(GA/T 1073-2013) 基础上, 由全国刑事技术标准化技术委员会毒物分析分技术委员会组织制定。标准将为《刑法》《道路交通安全法》和《车辆驾驶人员血液、呼气酒精含量阈值与检验》(GB19522) 实施提供更有力的技术支撑。本文参考标准内容, 进行仪器测试。

实验部分

仪器配置

北京普析通用仪器有限公司 G5 气相色谱仪
(配置双毛细柱进样口 + 双 FID)

北京中惠普分析技术研究所 HS-4 型顶空进样器 (双通道)

试剂和材料

怡宝饮用纯净水;

色谱纯试剂: 甲醇、乙醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇和叔丁醇;

100mL 容量瓶若干、100 μ L 和 1000 μ L 移液枪、20mL 顶空瓶若干;

标准溶液和样品

叔丁醇内标溶液: 4mg/100mL;

空白样品: 全血空白 (以纯水代替) 0.1mL + 叔丁醇内标溶液 0.50mL。

检出限添加样品: 1mg/100mL 乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准溶液 0.1mL + 叔丁醇内标溶液 0.50mL。

标准样品: 用水配置成 1000mg/100mL 乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 储备液, 分别稀释为 5mg/100mL、10 mg/100mL、20 mg/100mL、50 mg/100mL、100 mg/100mL、200 mg/100mL 的乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准工作溶液。

顶空瓶内加入 (内标液 0.5mL + 样品 0.1 mL);

顶空进样定量环体积: 1mL

仪器条件

· 顶空进样器条件

样品温度: 65°C [↔]	样品加热平衡时间: 10min [↔]
阀箱温度: 105°C [↔]	加压时间: 6s/0.10min [↔]
管路温度: 110°C [↔]	取样时间: 6s/0.10min [↔]
[↔]	定量环平衡时间: 3s/0.05min [↔]
顶空压力: 90kPa [↔]	进样时间: 60s/1.00min [↔]

· 色谱

· 温度

进样口: 200°C;

检测器温度: 250°C

柱箱: 恒温分析, 40°C;

· 流量

载气: 氮气

进样模式: 分流进样

柱流量:

约 4mL/min (柱前压 100kPa);

稳流阀 - 背压阀, 恒压模式;

分流流量: 27mL/min

分流比: 7:1

· 色谱柱

KB-BAC1, 30m \times 0.32mm \times 1.8 μ m;

KB-BAC2, 30m \times 0.32mm \times 1.2 μ m;

· 检测器

氢火焰离子化检测器 (FID);

灵敏度: 1010;

检测器 A 氢气 (H₂): 15ml/min (4.4 圈);

检测器 A 空气 (AIR): 150ml/min (4.5 圈);

检测器 A 尾吹气 (N₂): 20ml/min (4.0 圈);

检测器 B 氢气 (H₂): 15ml/min (4.4 圈);

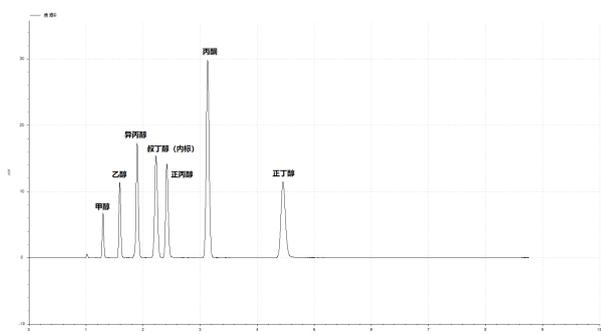
检测器 B 空气 (AIR): 150ml/min (4.5 圈);

检测器 B 尾吹气 (N₂): 20ml/min (4.0 圈);

结果与讨论

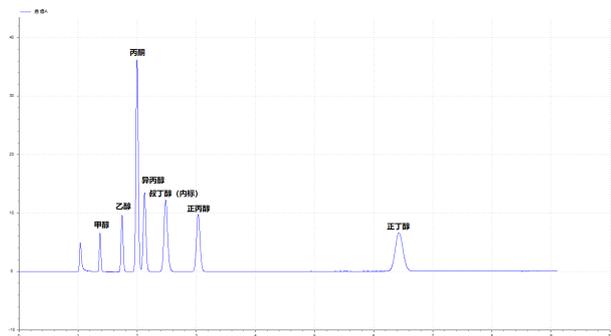
色谱图及出峰顺序

浓度为 50 mg/100mL 的乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准工作溶液在 KB-BAC1 上的色谱图及出峰顺序:



出峰顺序为: 甲醇、乙醇, 异丙醇, 叔丁醇 (内标), 正丙醇, 丙酮, 正丁醇

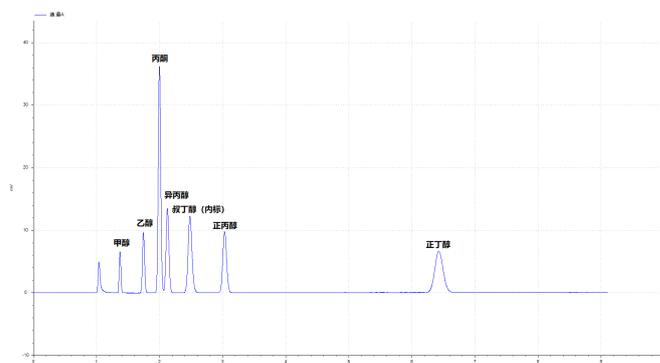
浓度为 50 mg/100mL 的乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准工作溶液在 KB-BAC2 上的出峰:



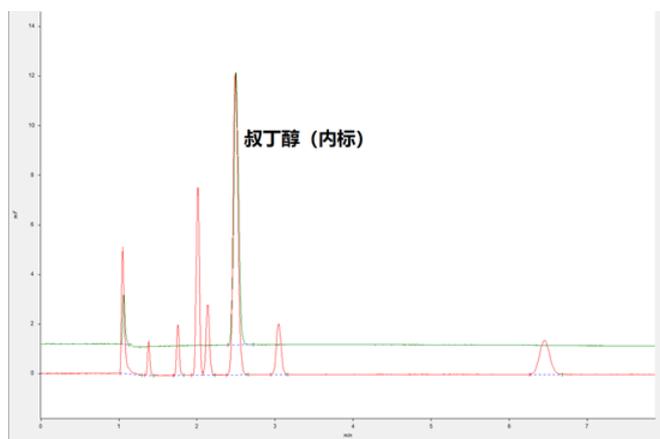
出峰顺序为: 甲醇、乙醇, 丙酮, 异丙醇, 叔丁醇 (内标), 正丙醇, 正丁醇

空白样品

全血空白 (以纯水代替) 0.1mL + 叔丁醇内标溶液 0.50mL, KB-BAC1 (B 通道) 各目标组分处无干扰:

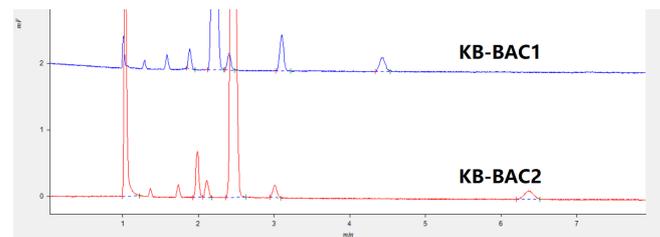


全血空白 (以纯水代替) 0.1mL + 叔丁醇内标溶液 0.50mL, KB-BAC2 (A 通道) 各目标组分处无干扰:



检出限样品:

根据《GBT 42430-2023 血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇检验》附录 A.3, HS/GC 方法检出限除正丙醇为 0.005mg/mL 外, 其余化合物均为 0.05 mg/mL; 定量限均为 0.10mg/mL。本次实验选取 1mg/100mL 乙醇 (以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准溶液 0.1mL + 叔丁醇内标溶液 0.50mL 进行测定, 仅作为参考:



在 G5 气相色谱仪上使用 KB-BAC1 和 KB-BAC2 上进行测试, 均可满足 3 倍信噪比。

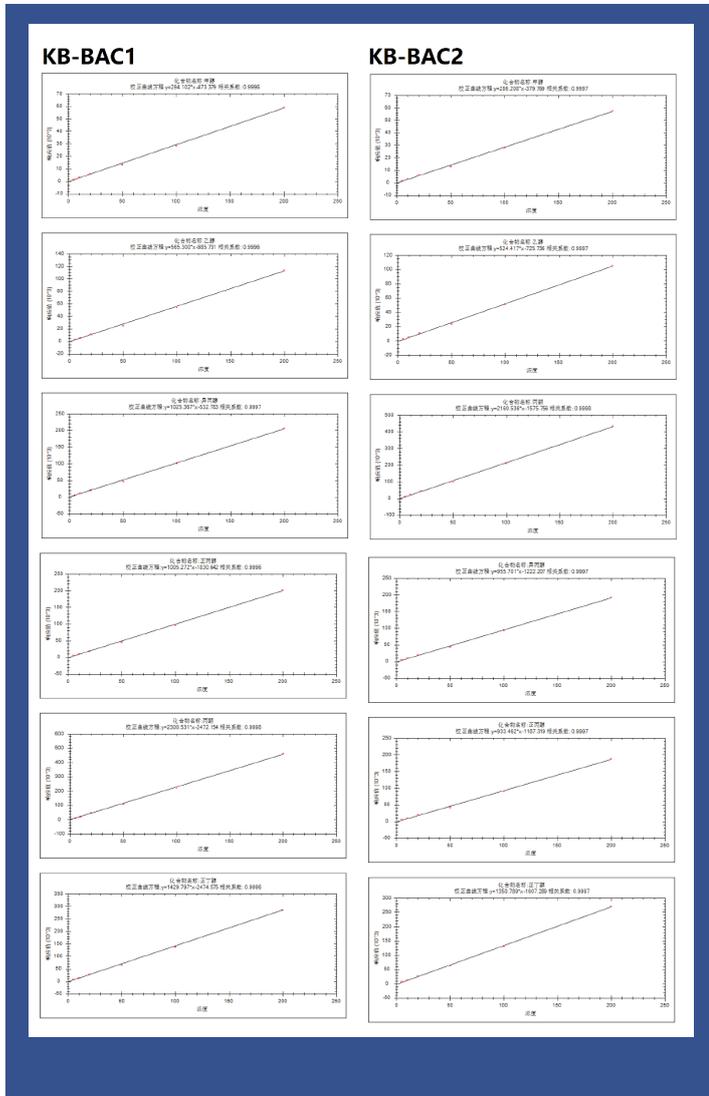
标准曲线和线性

用水配置成 1000mg/100mL 乙醇(以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 储备液, 分别稀释为 5mg/100mL、10 mg/100mL、20 mg/100mL、50 mg/100mL、100 mg/100mL、200 mg/100mL 的乙醇(以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 标准工作溶液; 依据两种不同性质色谱柱的保留时间进行定性; 以标准工作溶液中目标物与内标物的峰面积比为纵坐标、标准工作溶液中目标物的质量浓度为横坐标进行线性回归, 得到线性方程, 内标法定量。

分析方法讨论

使用北京普析通用仪器有限公司 G5 气相色谱仪和北京中惠普分析技术研究所 HS-4 型顶空进样器(双通道), 依据《血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇的测定》(GB/T 42430-2023) 进行仪器测试, 线性和检出限均可满足标准要求。

另外, 标准中使用叔丁醇作为内标物, 由于叔丁醇熔点较低 (25-26°C), 很难用于温度控制不太理想的实验室中; 按照标准中的要求, 配置 500mg/100mL 的内标物叔丁醇标准物质储备液, 使用时稀释为 4mg/100mL 的内标物叔丁醇工作溶液, 可以使叔丁醇溶解并保持溶液状态, 有效保证实验进行。



乙醇(以及甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇) 回归方程相关系数均在 0.999 以上, 满足标准要求。

