



中华人民共和国公共安全行业标准

GA/T 1073—2013

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

HS-GC examination methods for ethanol, methanol, n-propanol, aldehyde, acetone, isopropanol and n-butanol in blood and urine

2013-06-28 发布

2013-06-28 实施

中华人民共和国公安部 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准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(SAC/TC 179/SC 1)提出并归口。

本标准起草单位:司法部司法鉴定科学技术研究所。

本标准主要起草人:沈敏、刘伟、卓先义、向平、沈保华。

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

1 范围

本标准规定了生物样品血液、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(HS-GC)检验方法。

本标准适用于生物样品血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇和正丁醇的定性及定量分析。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件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文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

GA/T 122 毒物分析名词术语

3 术语和定义

GA/T 122 界定的术语和定义适用于本文件。

4 原理

利用此类化合物的易挥发性,用顶空-气相色谱/氢火焰离子化检测器(HS-GC/FID)进行检测;经与平行操作的对照品比较,以保留时间进行定性分析;以峰面积为依据,采用内标法或外标法定量测定。

5 试剂、仪器及材料

5.1 试剂

本标准所用试剂除另有说明外均为色谱纯,试验用水为二级水(见 GB/T 6682—2008 规定):

- a) 乙醇;
- b) 甲醇;
- c) 正丙醇;
- d) 乙醛;
- e) 丙酮;
- f) 异丙醇;
- g) 正丁醇;
- h) 叔丁醇;

- i) 乙醇(甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)对照品标准溶液:分别精密称取对照品乙醇(甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)适量,用水配成 10.0 mg/mL 乙醇(甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)对照品标准储备溶液,置冰箱中冷藏保存,保存时间为 6 个月。试验中所用其他浓度的对照品标准溶液均从上述储备液用水稀释而得;
- j) 内标物叔丁醇对照品标准溶液:精密称取叔丁醇适量,用水配制成 5.0 mg/mL 叔丁醇对照品标准储备溶液,置冰箱中冷藏保存,保存时间为 6 个月。将储备液用水稀释得 4.0×10^{-2} mg/mL 叔丁醇内标工作液,置冰箱中冷藏保存,保存时间为 3 个月。

5.2 仪器和材料

仪器和材料包括:

- a) 气相色谱仪:配有氢火焰离子化检测器(FID);
- b) 分析天平:感量 0.1 mg;
- c) 顶空自动进样器;
- d) 精密移液器;
- e) 自动稀释仪;
- f) 顶空小瓶;
- g) 硅橡胶垫;
- h) 铝帽;
- i) 密封钳;
- j) 恒温水浴锅;
- k) 注射器(1 mL)。

6 检验

6.1 定性分析

6.1.1 案件样品制备

取待测血液(或尿液)100 μ L 及叔丁醇内标工作液 500 μ L 置于顶空小瓶内,盖上硅橡胶垫。用密封钳加封锅帽,混匀,待测。

6.1.2 添加样品及空白样品

取 0.01 mg/mL 乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)标准溶液 100 μ L 及叔丁醇内标工作液 500 μ L 作为检测限添加样品,另取空白血液(或尿液)100 μ L 及叔丁醇内标工作液 500 μ L 作为空白样品。按上述操作与案件样品平行提取和分析。

6.1.3 气相色谱仪参考条件

以下为参考条件,可根据不同品牌仪器和不同样品等实际情况进行调整:

- a) 色谱柱(1):DB-ALC1(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.8 μ m)柱或等效色谱柱;
色谱柱(2):DB-ALC2(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.2 μ m)柱或等效色谱柱;
色谱柱(3):5% Carbowax 20M/Carbopack(80-120 目)2 m $\times$ 2 mm 玻璃柱或等效色谱柱;
- b) 色谱柱温程:色谱柱(1)和色谱柱(2):恒温 40 $^{\circ}$ C;色谱柱(3):初始温度 70 $^{\circ}$ C,以 50 $^{\circ}$ C/min 程序升温至 170 $^{\circ}$ C,保持 5 min;
- c) 进样口温度:150 $^{\circ}$ C;

- d) 检测器温度:250 ℃;
- e) 载气:高纯氮气,纯度大于等于 99.999%;
- f) 柱流量:4 mL/min~8 mL/min。

6.1.4 进样

6.1.4.1 顶空自动进样器进样

将样品置于顶空自动进样器样品架上,顶空自动进样器自动加热、进样。顶空自动进样器参考条件:

- a) 加热箱温度:65 ℃;
- b) 定量环温度:105 ℃;
- c) 传输线温度:110 ℃;
- d) 气相循环时间:3.5 min(色谱柱 1、色谱柱 2),8.5 min(色谱柱 3);
- e) 样品瓶加热平衡时间:10.0 min;
- f) 样品瓶加压时间:0.10 min;
- g) 定量环充满时间:0.10 min;
- h) 定量环平衡时间:0.05 min;
- i) 进样时间:1.00 min。

6.1.4.2 顶空手动进样

将样品置于 65 ℃恒温水浴中加热 10 min,用 1 mL 注射器吸取加热后瓶内液面上气体 0.4 mL,进样。

6.1.5 记录

记录各样品中叔丁醇、乙醇和可疑色谱峰的保留时间。

6.2 定量分析

6.2.1 样品制备

取案件血液(或尿液)100 μ L 两份,样品制备同 6.1.1。

配制系列浓度的乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)(见附录 A 中 A.2)或单点浓度的对照品标准溶液,取以上标准溶液 100 μ L 各两份,样品制备同 6.1.1。

案件样品中乙醇的浓度应在校准曲线的线性范围内。配制单点浓度的对照品标准溶液时,案件中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)浓度需在该对照品溶液浓度的 $\pm 30\%$ 内。

若以外标法定量,样品制备时以水代替叔丁醇内标工作液即可。

6.2.2 气相色谱仪参考条件

同 6.1.3。

6.2.3 进样

分别取案件样品、系列浓度的标准溶液样品或单点浓度标准溶液样品,按 6.1.4 条件进样分析。

6.2.4 记录

记录案件样品、系列浓度的标准溶液样品或单点浓度标准溶液样品中乙醇及内标物叔丁醇的峰面

积值,然后计算含量。

6.2.5 计算

6.2.5.1 案件样品中乙醇含量

6.2.5.1.1 内标-校准曲线法

在系列浓度的标准溶液样品中,以乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)与内标叔丁醇的峰面积比(Y)为纵坐标、乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)质量浓度(C)为横坐标进行线性回归,得线性方程。

根据案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)及内标叔丁醇峰面积值,按式(1)计算出案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度。

$$C = \frac{Y - a}{b} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

C ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

Y ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)与内标物叔丁醇的峰面积比;

a ——线性方程的截距;

b ——线性方程的斜率。

6.2.5.1.2 内标-单点校正法

根据案件样品和标准溶液样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)及内标物的峰面积值,按式(2)计算出案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度。

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

式中:

C ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

A ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积;

A' ——标准溶液样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积;

A_i ——案件样品中内标物的峰面积;

A_i' ——标准溶液样品中内标物的峰面积;

c ——标准溶液中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL)。

6.2.5.1.3 外标-校准曲线法

在系列浓度的标准溶液样品中,以乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积(Y)为纵坐标、乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)质量浓度(C)为横坐标进行线性回归,得线性方程。

根据案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积值。按式(3)计算出乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度。

$$C = \frac{Y - a}{b} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

C ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

Y ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积;

a ——线性方程的截距;

b ——线性方程的斜率。

6.2.5.1.4 外标-单点校正法

根据案件样品和标准溶液样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积值,按式(4)计算出乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度。

$$C = \frac{A \times c}{A'} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

C ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

A ——案件样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积;

A' ——标准溶液样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的峰面积;

c ——标准溶液中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL)。

6.2.5.2 相对相差

记录两份平行操作的案件样品含量,按式(5)计算相对相差:

$$RD = \frac{|X_1 - X_2|}{\bar{X}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

RD ——相对相差;

X_1, X_2 ——两份案件样品平行定量测定的含量数值;

$\bar{X}$ ——两份案件样品平行定量测定含量的平均值。

7 结果评价

7.1 定性结果评价

7.1.1 如果添加样品中出现乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰,空白样品中未出现相应的色谱峰,而案件样品中出现相应的色谱峰,且保留时间与添加样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰保留时间比较,相对误差在±2%内,经选择不同的色谱条件,结果一致时,一般可以认定案件样品中含有乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)成分,必要时,用气相色谱-质谱确证。乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)对照品和内标的保留时间参见附录A中表A.1。乙醇校准曲线参见附录A中A.2。

7.1.2 如果案件样品中内标物色谱峰正常,而无乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰时,或外标法添加样品中出现乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰,案件样品中未出现乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰,空白无干扰,则阴性结果可靠。如果案件样品中内标物色谱峰未出现或外标法添加样品中乙醇(或甲醇、正丙醇、乙醛、丙酮、异丙醇、正丁醇)的色谱峰未出现,则阴性结果不可靠。

7.1.3 本标准各化合物的检出限均为 0.01 mg/mL。

7.2 定量结果评价

7.2.1 两份案件样品的相对相差若不超过 10% (有凝血块的血样不得超过 15%), 定量数据可靠, 结果按两份案件样品的平均值计算, 否则需要重新进行测定。

7.2.2 本标准中各化合物的定量下限均为 0.05 mg/mL。

7.2.3 乙醇和甲醇中毒诊断参考资料参见附录 B 和附录 C。

附 录 A
(资料性附录)

生物样品血液、尿液中乙醇等化合物保留时间及线性方程等

A.1 保留时间

生物样品血液、尿液中乙醇等化合物及内标的保留时间见表 A.1。

表 A.1 乙醇等化合物及内标的保留时间

单位为分钟

化合物	色谱柱 1	色谱柱 2	色谱柱 3
乙醇	1.43	1.51	3.85
甲醇	1.13	1.19	2.12
正丙醇	2.38	2.67	6.90
乙醛	1.24	1.09	1.37
丙酮	2.13	1.69	2.93
异丙醇	1.75	1.78	5.24
正丁醇	4.82	5.76	11.33
叔丁醇	2.09	2.02	6.50

A.2 乙醇校准曲线

配制乙醇质量浓度为 0.10、0.20、0.50、0.80、1.00、2.00、3.00 mg/mL 的对照品标准溶液,按 6.2 规定进行分析,以乙醇与内标叔丁醇的峰面积比(Y)为纵坐标、乙醇浓度(C)为横坐标进行线性回归。得线性回归方程 $Y=1.0761C-0.0162$ (色谱柱 1), $Y=1.0655C-0.0177$ (色谱柱 2), $Y=1.0801C-0.0229$ (色谱柱 3), r 均不小于 0.999。

附 录 B
(资料性附录)
乙醇中毒诊断参考资料

B.1 中毒症状

乙醇对中枢神经的抑制作用由浅入深,可出现一系列的精神与神经系统症状,急性中毒的醉酒状态和血液中乙醇含量有关。中毒的临床表现可分为三期:

I期 兴奋期(血中乙醇浓度 1.0 mg/mL~1.5 mg/mL):中毒者有舒适感,多言,失常态,自制力部分丧失,易感情冲动。

II期 共济失调期(血中乙醇浓度 1.5 mg/mL~3.0 mg/mL):言语、行动失调,呕吐,呈典型的醉汉状态。

III期 抑制期(血中乙醇浓度 3.0 mg/mL~5.0 mg/mL):知觉丧失,脸色苍白,皮肤湿冷,体温下降,可因呼吸麻痹而死亡。

B.2 尸检所见

乙醇急性中毒致死,尸表无特殊病理变化,打开胃腔有浓郁的乙醇气外逸。胃壁黏膜充血、出血,脑组织及各脏器均有不同程度的充血现象,个别有急性胰腺出血病灶。慢性中毒死者,检见明显胃肠炎症。肝脏脂肪浸润、甚至肝硬化。脑组织及脑黏膜水肿,硬脑膜增厚。

B.3 中毒量、致死量及致死浓度

人口服乙醇的中毒量为 75 g~80 g,致死量为 250 g~500 g,由于饮酒有习惯性,每个人的耐受性不同,故个体差异较大。中毒死亡血液乙醇浓度:4.0 mg/mL~5.0 mg/mL。

B.4 乙醇中毒的法医毒理学

B.4.1 血液、尿液中乙醇的时间-浓度曲线

中国人饮酒后,最大血液乙醇浓度(BAC_{max})出现在酒后 60 min~90 min,最大尿液乙醇浓度(UAC_{max})出现在酒后 90 min~150 min。吸收期内(高峰前)BAC 高于 UAC,UAC/BAC 小于 1,消除期内(高峰后)UAC 高于 BAC,UAC/BAC 为 1.24 ± 0.21 。根据测定的 UAC/BAC,可推测死亡发生于酒后的时间。

B.4.2 乙醇消除速率

消除期内血液中乙醇消除速率为 0.10 mg/(mL·h)~0.12 mg/(mL·h),根据消除速率及 BAC、UAC 测定值可推测消除期某一时刻(案发时)的可能 BAC、UAC 范围。

附 录 C
(资料性附录)
甲醇中毒诊断参考资料

C.1 中毒症状

甲醇主要作用于神经系统,对视神经的伤害尤为严重。甲醇中毒症状为:剧烈头痛、头晕、恶心、呕吐、深度中毒出现共济失调、视觉障碍、视神经萎缩,以致双目失明,抢救不及时,可出现呼吸困难、昏迷,最后死于呼吸中枢麻痹。

C.2 尸检所见

尸体皮肤青紫色,打开胸腔,急性中毒死者醇性气体外逸,各脏器充血,脑组织尤为明显,肺脏有较严重的水肿。

C.3 致死量及致死浓度

人口服甲醇致死量:30 mL~60 mL。中毒死亡血液甲醇浓度:0.74 mg/mL~1.10 mg/mL,中毒死亡尿液甲醇浓度:0.40 mg/mL~2.40 mg/mL。

中华人民共和国公共安全
行 业 标 准
生物样品血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙
醇、乙醚、丙酮、异丙醇和正丁醇的顶空-
气相色谱检验方法

GA/T 1073—2013

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100013)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 20 千字
2013年12月第一版 2013年12月第一次印刷

*

书号: 155066·2-26125 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GA/T 1073—2013