

生物样品血液中甲醇、乙醇、乙醛、正丙醇、异丙醇、丙酮和正丁醇的顶空 - 气相色谱检测方法 (内标法)

GC-087

摘要: 本文利用岛津 GC-2010 Plus 结合双柱、双 FID 检测器, 建立了生物样品血液中甲醇、乙醇、乙醛、正丙醇、异丙醇、丙酮和正丁醇的顶空 - 气相色谱检测方法。采用内标法, 使用叔丁醇作为内标化合物, 在 0.1~3 mg/mL 浓度范围内建立标准曲线, 线性关系良好, 化合物相关系数 r 均大于 0.999, 检出限均小于 0.01 mg/mL。用浓度为 1mg/mL 的标准溶液验证重复性, 重复进样 7 针, 峰面积 RSD 均小于 1.5%。用 1 mg/mL 的标准溶液测试回收率, 7 种化合物的加标回收率为 90-111.4% 之间。该方法可用于生物样品血液中乙醇等化合物的快速定量测定。

关键词: 气相色谱仪 血液 乙醇

酒精中毒是一种最常见的成瘾行为, 也是法医学和临床毒理学的一个重要课题。临床上对酒精中毒主要是根据患者饮酒史及临床症状做出诊断, 但对酒精中毒程度的判定则主要依靠血液中酒精浓度。法医在处理酒精中毒类案件时, 除做全面的现场勘查和调查外, 对体内乙醇含量的测定至关重要, 乙醇含量测定结果中蕴藏着丰富的信息, 往往成为解决问题的关键。因此, 快速准确检测人血液中乙醇含量具有重要的现实意义。

顶空 - 气相色谱检测方法是检测血液中乙醇浓度最

常用的方法, 被世界各国广泛采用。本文参考《中华人民共和国公共安全行业标准》(GA/T 1073-2013), 利用岛津公司 GC-2010 Plus, 对血液中乙醇含量进行了分析, 通过两根毛细管柱的相互验证, 排除样品中其他物质的干扰, 实现对血液中乙醇的定性和定量分析。本方法所有待测组分的检出限低于 0.01 mg/mL, 适用于公安司法鉴定领域测定人体血液中的乙醇、甲醇等化合物浓度。

实验部分

1.1 仪器

GC-2010 Plus 气相色谱仪

1.2 分析条件

GC 条件:

色谱柱 1: Rtx-BAC1, 30 m×0.32 mm×1.8 μ m

色谱柱 2: Rtx-BAC2, 30 m×0.32 mm×1.2 μ m

进样口温度: 150°C

进样方式: 分流进样, 分流比 20:1

载气控制方式: 恒线速度

色谱柱流量: 2.5 mL/min

柱温程序: 35°C (4.5 min)_60°C /min_120°C (3 min)

检测器温度: 250°C

HS-20 条件:

恒温炉温度: 65°C

样品流路温度: 105°C

传输线温度: 110°C

恒温时间: 10 min

样品瓶加压时间: 0.1 min

导入平衡时间: 0.05 min

进样时间: 1 min

GC 循环时间: 18 min

1.3 样品制备

配制系列浓度为 0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 2.0, 3.0 mg/ml 的甲醇、乙醇、乙醛、正丙醇、异丙醇、丙酮和正丁醇的对照品标准溶液, 用水配制 0.04 mg/ml 的叔丁醇内标工作液。取以上标准溶液 100 μ L 及 500 μ L 叔丁醇工作液置于顶空小瓶内, 拧紧瓶盖, 摇匀, 待测。

取待测血液 100 μ L 及 500 μ L 叔丁醇内标工作液, 置于顶空小瓶内, 拧紧瓶盖, 摇匀, 待测。

结果

2.1 标准样品谱图

8 种混标溶液通道 1 色谱图如图 1 所示。

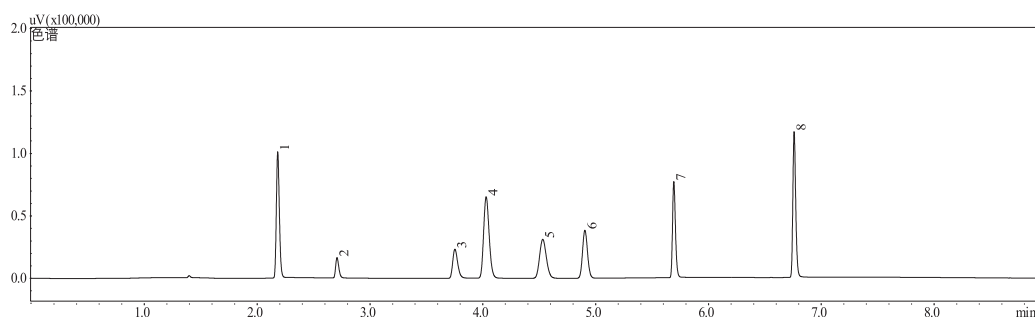


图1 标准样品通道1色谱图(0.5mg/mL)

表1 通道1标液组分信心

No.	中英文名称	CAS号	通道1 保留时间 (min)
1	乙醛(Acetaldehyde)	75-07-0	2.182
2	甲醇(Methanol)	67-56-1	2.708
3	乙醇(Ethanol)	64-17-5	3.752
4	丙酮(Acetone)	67-64-1	4.029
5	异丙醇(Isopropanol)	67-63-0	4.531
6	叔丁醇(tert-Butanol)	75-65-0	4.904
7	正丙醇(n-Propanol)	71-23-8	5.693
8	正丁醇(n-Butanol)	71-36-3	6.759

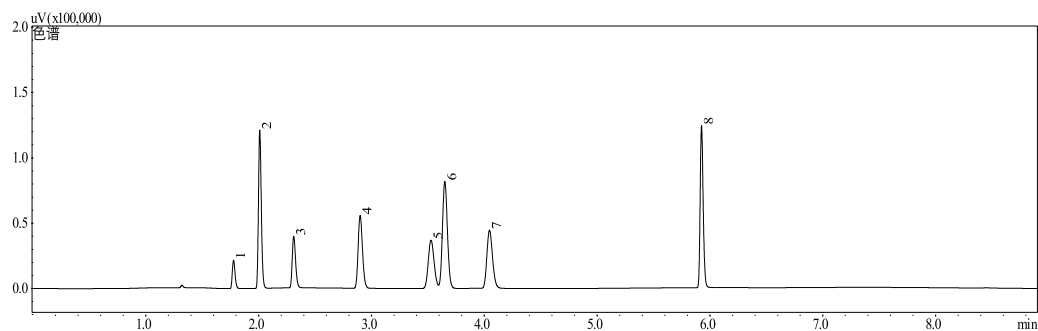


图2 标准样品通道2色谱图(0.5 mg/mL)

表2 通道2标液组分信息

No.	中英文名称	通道2保留时间 (min)
1	甲醇(Methanol)	1.778
2	乙醛(Acetaldehyde)	2.010
3	乙醇(Ethanol)	2.311
4	异丙醇(Isopropanol)	2.900
5	叔丁醇(tert-Butanol)	3.528
6	丙酮(Acetone)	3.650
7	正丙醇(n-propanol)	4.046
8	正丁醇(n-butanol)	5.925

2.2 标准曲线及检出限

使用水配制混合标准系列，浓度分别为 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0、3.0 mg/mL。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，制作标准曲线。各组分标准曲线如图 3，4 所示，各组分标准曲线相关系数及检测限见表 3。

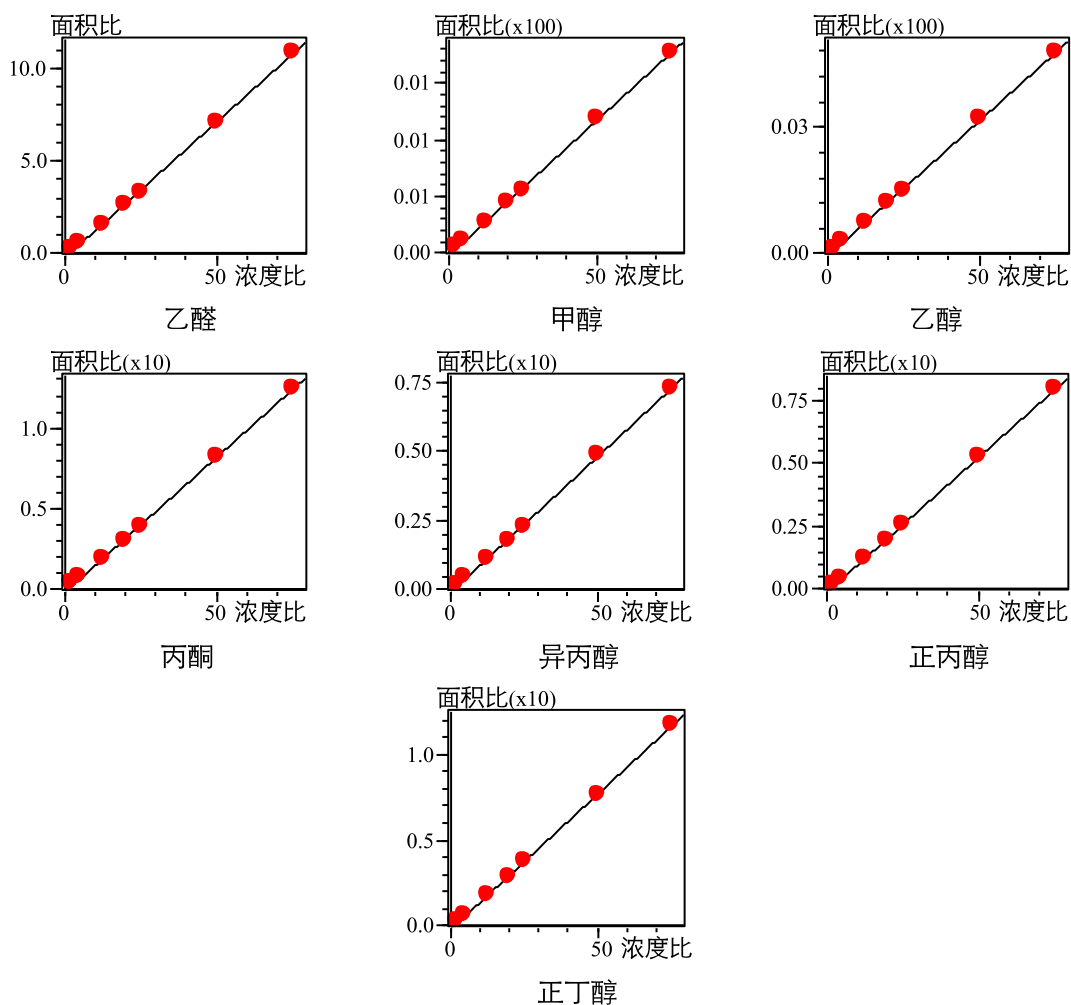


图3 通道1标准曲线

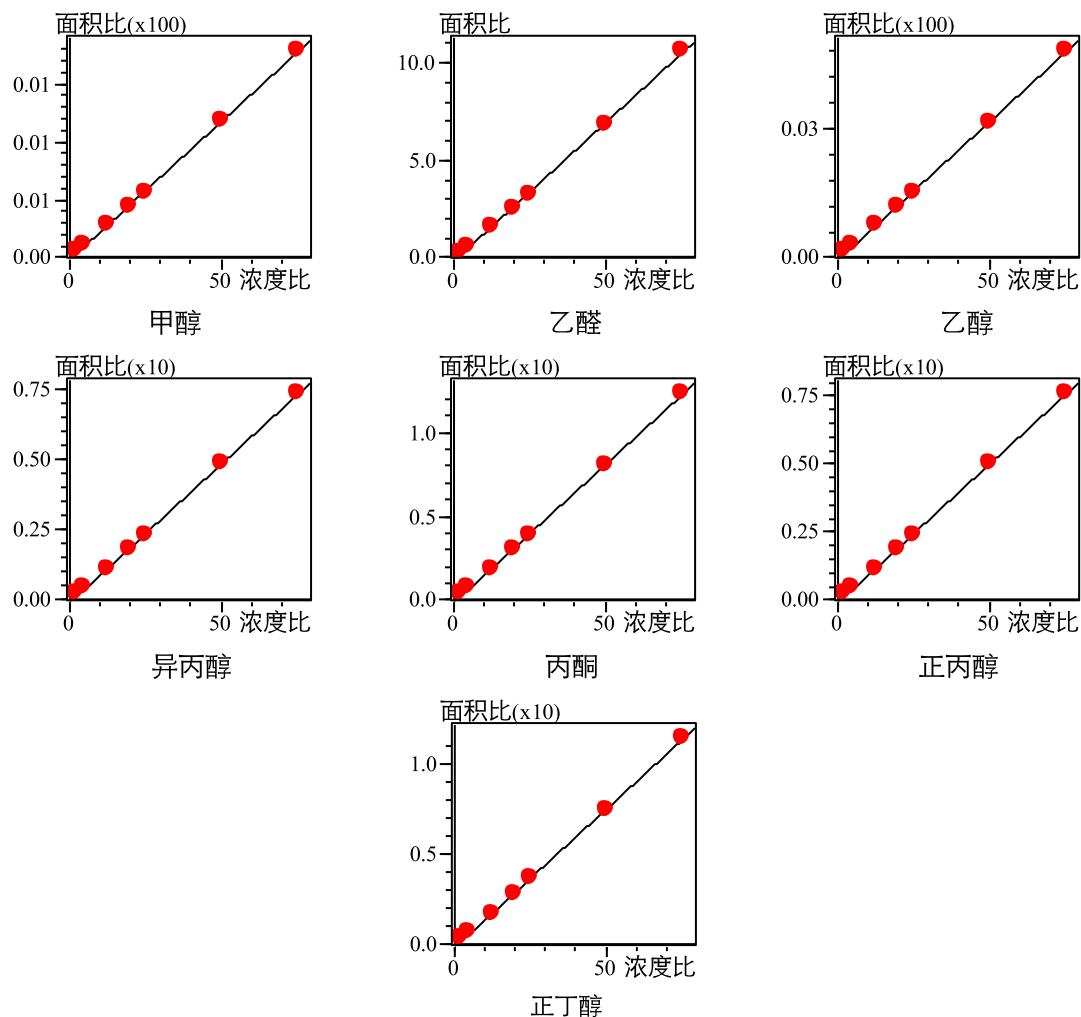


图4 通道2标准曲线

表3 7种化合物相关系数及检出限

No.	组分名称	通道1 相关系数	通道2 相关系数	通道1 检出限 (mg/mL)	通道2 检出限 (mg/mL)
1	乙醛	0.9997	0.9995	0.001	0.001
2	甲醇	0.9998	0.9998	0.007	0.007
3	乙醇	0.9998	0.9998	0.005	0.004
4	丙酮	0.9997	0.9997	0.002	0.002
5	异丙醇	0.9998	0.9998	0.004	0.003
6	正丙醇	0.9998	0.9998	0.002	0.004
7	正丁醇	0.9998	0.9998	0.001	0.001

2.3 重复性

用浓度为 1 mg/mL 的标准溶液，重复进样 7 次，面积重复性良好，详细结果见表 4，5。

表4 通道1中8种化合物峰面积重复性结果(n=7)

No.	组分名称	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
1	乙醛	382178.2	372414.7	378741.4	384638.6	384928.8	374590.0	386970.6	380637.6	1.46
2	甲醇	64444.2	62374.8	63842.3	64288.1	64152.8	62715.5	64816.1	62053.7	1.43
3	乙醇	144119.8	139158.5	141621	143517.4	142909.4	139328.9	142857.3	141930.3	1.40
4	丙酮	448277.1	433166.4	441395.5	448435.8	443875.9	438529.9	450216.8	443413.9	1.39
5	异丙醇	263341.2	252388.5	259031.5	260577	259972.1	258351	261425.9	259298.2	1.33
6	叔丁醇	114173.6	112718.8	112468.5	113144	115238.6	110415.1	113417	113082.2	1.33
7	正丙醇	293146.8	284287.3	283960.7	284653.4	286164.6	2872880	283557.1	286151.1	1.17
8	正丁醇	422214.7	418997.6	420986.5	428058.8	418321.7	417673.5	434630.7	422983.4	1.47

表5 通道2中8种化合物峰面积重复性结果(n=7)

No.	组分名称	1	2	3	4	5	6	7	平均值	RSD%
1	甲醇	73115.2	71199.3	72853.7	73306.1	73240.4	71434.2	73215.4	726235	1.25
2	乙醛	424954.3	415918	418203.3	424518	423819.1	410332.2	425697.2	420491.7	1.39
3	乙醇	163528.8	157675.1	160558.9	162789.1	163212.7	159756.7	161252.3	161253.4	1.31
4	异丙醇	293763.6	288595.2	294499.4	294952.5	296852.4	286322.8	297994.7	293282.9	1.46
5	叔丁醇	128634	127392.4	127911.4	130517.7	128142.6	124484.8	129283.7	128052.4	1.47
6	丙酮	498283.9	482560.5	491338.2	501687.8	492064.5	489124.5	501735.8	493827.9	1.44
7	正丙醇	303714.9	299427.4	304882.4	302178.4	306344.6	298958.8	309114.1	303517.2	1.21
8	正丁醇	461898.1	463212.5	459951.3	462479.6	453678.6	451310.1	461166.7	459099.6	1.02

2.4 回收率测性

将 1 mg/mL 浓度的混标溶液添加到血液样品中，按照样品前处理方法制备，平行制样 6 次，回收率结果见表 6。

表6 加标回收率测试结果(n=6)

No.	化合物名称	通道1 平均回收率(%)	通道2 平均回收率(%)
1	乙醛	91.5	93.5
2	甲醇	101.9	100.4
3	乙醇	100.4	101.7
4	丙酮	106.9	102.2
5	异丙醇	100.1	90.0
6	正丙醇	111.4	102.5
7	正丁醇	97.6	97.8

■ 结论

采用岛津公司 GC-2010 Plus 气相色谱仪结合 HS-20 顶空自动进样器分析生物样品血液中乙醇、甲醇等化合物，方法操作简单，在 0.1~3 mg/mL 浓度范围内，7 种化合物线性良好，相关系数均大于 0.999，检出限均小于 0.01 mg/mL。用浓度为 1 mg/mL 的标准溶液验证重复性，峰面积 RSD 均小于 1.5%。在 1 mg/mL 添加浓度下，7 种化合物的加标回收率为 90-111.4% 之间。该方法操作方便、重现性好、回收率高，适合血液中乙醇等化合物含量的快速准确检测。