

顶空气相色谱内标法测定血液中乙醇含量

邹 黎(湖北省荆州市中医医院检验科 434000)

【摘要】 目的 建立顶空气相色谱内标法测定血液中乙醇含量的快速分析方法。**方法** 取加入正丙醇、叔丁醇内标液的待检测的全血样品 0.50 mL 2 份和加入乙醇、正丙醇、叔丁醇混合内标液的空白全血 0.50 mL 2 份,直接顶空进样。在选定的色谱条件下,血中的乙醇能与样品中可能存在的主要干扰成分实现基线分离,空白全血中的乙醇、正丙醇、叔丁醇分别作为对照^[5]。**结果** 顶空气相色谱内标法采用醇类的易挥发性,以叔丁醇作为内标,用顶空气相色谱、火焰离子化检测器进行检测;经与平行操作的醇类标准品比较,以保留时间定性、峰面积定量来对醇类进行分析,用内标法以醇类对内标物的峰面积比进行定量。在 0.1~400.0 mg/100 mL 范围内线性良好,检出限为 0.1 mg/100 mL。**结论** 顶空气相色谱内标法直接顶空进样,不受进样误差干扰,结果稳定,操作方便,分析时间短、线性关系良好、灵敏度高,适用于全血中乙醇含量的测定。

【关键词】 乙醇; 自动顶空进样; 气相色谱; 内标法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.22.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)22-2761-02

Determination of the ethanol content in blood with headspace gas chromatography(internal standard method) ZOU Li
(Department of Clinical Laboratory, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Jingzhou City, Hubei 434000, China)

【Abstract】 Objective To propose a rapid analysis method for the determination of ethanol content in blood by headspace gas chromatography (HSGC). **Methods** We took 0.50 mL of two blood samples together with 1-propanol, tert-butyl alcohol internal standard and 0.50 mL of two blank blood samples mixed with ethanol, 1-propanol, tert-butyl alcohol internal standard, then did the automatic headspace injection. In the selected HSGC conditions, ethanol of blood with the main interference components might be presented in the samples and achieved baseline separation. Ethanol, 1-propanol, tert-butyl alcohol of blank blood samples were contrasted respectively. **Results** The HSGC (internal standard method) took the high volatility of alcohols and tert-butyl alcohol as internal standard, and used HSGC, detector of flame ionization to do the test. Compared with the alcohols standard samples operating parallelly, the retention time was used as ration and the quantitative of peak area was used to analyze alcohols. The internal standard method was used for peak area of internal standard method. Good linearity of alcohols was detected within the of 0.1—400.0 mg/100 mL. **Conclusion** The method is rapid, sensitive and suitable for detecting trace amounts of alcohol in blood. The result is not affected by the error of injection.

【Key words】 ethanol; auto-headspace injection; gas chromatography; internal standard method

血液中乙醇含量的检测是法医鉴定和临床诊断的常规检测项目。目前国内常用的方法主要有气相色谱法、干化学法、速率法等,其中干化学法、速率法影响因素较多,结果不稳定^[1]。气相色谱法是《中华人民共和国公共安全行业标准》(GA/T 105-1995)中规定的检测方法。本文采用 GA/T 105-1995 中要求的气相色谱法,采用样品直接顶空进样,中等极性的毛细管气相色谱柱分离,叔丁醇作为内标物。顶空气相色谱(内标法)优化了顶空进样器和气相色谱仪的各项工作参数,以期建立一种快速简便、高效准确的分析方法,适用于批量样品的测定。

1 材料与方

1.1 仪器与试剂 (1)仪器。7890N 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司);氢火焰离子化检测器(FID);色谱柱:柱长 30 m,内径 0.53 mm,液膜厚 1 μm;具有中文软件操作的化学工作站;7694E 型顶空进样器(美国 Agilent 公司);20 mL 顶空瓶及配套瓶盖。(2)试剂。标准物质:乙醇、正丙醇、叔丁醇均为分析纯;其中叔丁醇用作内标,使用前均配成 1 mg/mL 的工作液

1.2 仪器工作条件

1.2.1 顶空进样条件 (1)玻璃瓶 70 ℃;(2)定量环温度 80 ℃;(3)传输管温度 90 ℃;(4)气相循环时间 15 min;(5)顶空瓶平衡时间 10 min;(6)加压时间 0.2 min;(7)填充定量环时间 0.2 min;(8)定量环平衡时间 0.05 min;(9)进样时间 0.2 min。

1.2.2 色谱条件 (1)柱温 40 ℃;(2)检测器 FID 300 ℃;(3)汽化室温度 250 ℃;(4)分流比 10:1;(5)载气流速,氮气为 2 mL/min,氢气为 30 mL/min,空气为 400 mL/min。尾吹:23 mL/min。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备 准确吸取待测全血 0.5 mL 2 份,分别加入 2 个 20 mL 样品瓶内,加 100 μL(1 mg/mL)正丙醇、叔丁醇内标液,用密封钳加封铝帽,混匀。另取空白全血 0.5 mL 2 份,加入 100 μL 乙醇、正丙醇、叔丁醇混合内标液,乙醇、正丙醇、叔丁醇浓度均为 1 mg/mL,按上述方法平行操作^[2]。

1.3.2 检测 将空白瓶、样品瓶、标准瓶放入自动顶空进样器后,在选定好的仪器工作条件下进行测定。乙醇、正丙醇、叔

丁醇的保留时间分别为 1.27、1.69、2.23 min。

1.4 结果计算

1.4.1 计算公式 (1)计算相对校正因子(f)=(空白检材中醇添加量 $\times$ 内标物峰面积平均值)/(空白检材中内标添加量 $\times$ 醇峰面积平均值);(2)计算检材中醇含量(W)(mg/100 mL)= $[f \times \text{检材中的醇峰面积平均值} \times \text{内标添加量}(\mu\text{g}) \times 100]/(\text{检材中内标物峰面积平均值} \times \text{检材量} \times 1\,000)$;(3)相对相差($\%$)= $(W_1 - W_2) \times 100/W$ 。

计算式中 W_1 、 W_2 为 2 份检材平行定量测定的结果, W 为 2 份检材平均值。

1.4.2 将检测的峰面积代入公式计算

2 结 果

2.1 乙醇、正丙醇、叔丁醇的保留时间分别为 1.27、1.69、2.23 min。

2.2 取 3 种不同浓度的标准溶液(20、80、400 mg/mL)进行分析,在 0.0~400.0 mg/100 mL 乙醇浓度范围内线性良好。根据 3 倍基线噪声所对应的标准物质的浓度,计算出该方法的检出限为 0.1 mg/100 mL。

2.3 取混合的血样进行加标回收试验。加入的乙醇浓度为 80 mg/mL。每份血样分装成 4 份平行样品,其中 1 份用以测定样品的本底值,其余 3 份加入乙醇标准溶液后进行测定,计算其加标回收率为 98.5%,回收率良好^[3-4]。

2.4 取 1 mg/mL 的乙醇、叔丁醇混合标准溶液,加入 10 个检测瓶,连续测定 10 次,以乙醇、叔丁醇的峰面积分别计算标准差和变异系数,乙醇、叔丁醇的变异系数分别 2.56%、2.74%。在本精密度试验中得到的值均小于 10%,查相关文献得知,精密度良好^[5]。

3 讨 论

3.1 柱温的选择 柱温是影响气相色谱分离的重要因素之一。本实验在 40~80 °C 范围内考察了柱温对分离的影响,并在不同柱温下,对和乙醇结构近似的常见低级醇类,如甲醇、异丙醇、正丙醇、叔丁醇配制了混合溶液进行了试验。结果表明,与乙醇最接近的峰为甲醇和异丙醇,因此以它们的分离情况作为考察指标,温度越高,乙醇与甲醇、异丙醇保留时间越接近,分离不好。进行多次研究发现,在作者设定的色谱条件下,40 °C 时乙醇与甲醇和异丙醇的分离情况和峰形最好,其余物质,如正丙醇、叔丁醇亦不会产生干扰,因此试验最后选定柱温为 40 °C。甲醇、乙醇、异丙醇、正丙醇、叔丁醇的保留时间分别为 1.00、1.27、1.49、1.69、2.23 min^[6-7]。

3.2 内标物质的选择 内标法可在一定程度上消除操作条件

(如进样量的变化、色谱条件的微小变化)的变化所引起的误差,特别是在样品前处理加入内标物,可部分补偿待测组分在样品前处理过程中的损失。血中乙醇的测定,文献中多以叔丁醇、异丙醇和正丙醇为内标物,本方法选择叔丁醇作为内标物,在选定的色谱条件下,它能和待测组分及干扰成分达到很好的分离^[8]。

3.3 本法乙醇最低检出限为 0.1 mg/100 mL。如果添加于空白检材中 100 mL(1 mg/mL)乙醇出现相应的色谱峰,而检材中未出现相应的醇类色谱峰,可以认为检材中不含醇类,阴性结果可靠。如果添加了乙醇的空白检材中未出现相应的色谱峰,而检材中也未出现醇类色谱峰,属操作有误,阴性结果不可靠,应重新检验^[9]。

3.4 2 份标本的相对相差若不超过 15%,结果按 2 份标本的平均值计算,相对相差若超过 15%,需重新进行测定。

参考文献

- [1] 任琳,孙成均,邹晓莉.全血中乙醇的毛细管气相色谱快速检测法[J].四川大学学报:医学版,2010,41(6):1055-1058.
- [2] 周枝凤,陈凌云,沈梅.自动顶空-气相色谱-质谱法测定血液中乙醇含量[J].理化检验-化学分册,2010,46(1):22-24.
- [3] 段爱军,常文海,袁保华,等.气相色谱法检测全血、血清、血浆乙醇结果的比较[J].检验医学,2006,21(3):283-284.
- [4] 罗靖,李天蓉,张玉美.空顶气相色谱外标法测定全血乙醇含量[J].预防医学情报杂志,2011,27(3):239-240.
- [5] 王宇.气相色谱(内标)法测定酒中甲醇、杂醇油含量[J].现代预防医学,2010,37(1):90-91.
- [6] 胡朝阳,裘璐,肖海涛.气相色谱-质谱法测定白酒中挥发性成分[J].贵阳医学院学报,2010,35(4):377-381.
- [7] 单晓梅,张振宇,刘立明,等.饮酒后血中乙醇的监测[J].安徽预防医学,2004,10(3):142-144.
- [8] 黄诚,卢丽明,刘国平.内标法和外标法测定血液中乙醇含量的比较分析[J].生命科学仪器,2008,6(3):41-43.
- [9] 朱亚立,李联,梁建军,等.血液乙醇检测内外标法比较研究[J].刑事技术,2007,32(3):27-29.

(收稿日期:2011-08-17)

(上接第 2760 页)

参考文献

- [1] 张有江,张军民,罗燕萍,等.400 例泌尿生殖道支原体、衣原体检测及药敏结果分析[J].中华医院感染学杂志,2003,13(7):689-690.
- [2] 江涛,邱晓艳,袁琳.泌尿生殖道支原体感染及药敏结果分析[J].临床医学与检验,2004,11(2):16-17
- [3] 陈冬科,陈丽,胡云建.泌尿生殖道支原体感染趋势及耐药性分析[J].中华检验医学杂志,2006,29(2):170-172.

- [4] 郑松贵,金玲玲,李小永,等.泌尿生殖道支原体体外药敏试验结果分析[J].中华医院感染学杂志,2003,13(12):1187-1188.
- [5] 李玉叶,王永兰,何黎,等.2001 年昆明地区泌尿生殖道支原体感染状况及对抗生素的敏感性测定[J].临床皮肤科杂志,2003,32(8):453-454.
- [6] 张利红,施芳.泌尿生殖道支原体感染及耐药性研究[J].检验医学与临床,2011,8(6):671-674.

(收稿日期:2011-06-20)