



中华人民共和国国家标准

GB/T 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

Examination methods for ethanol, methanol, n-propanol, acetone,
isopropanol and n-butanol in blood and urine

2023-08-06 发布

2024-03-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

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专利的责任。

本文件由全国刑事技术标准化技术委员会(SAC/TC 179)归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院、公安部鉴定中心、上海市公安局、四川大学。

本文件主要起草人：刘伟、沈敏、卓先义、沈保华、向平、严慧、于忠山、张云峰、王瑞花、王爱华、张玉荣、梁晨、廖林川。

血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、 丙酮、异丙醇和正丁醇检验

1 范围

本文件描述了采用顶空气相色谱(HS/GC)和顶空气相色谱-质谱(HS/GC-MS)检验血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇的方法。

本文件适用于血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇的顶空气相色谱-质谱定性分析和顶空气相色谱定性定量分析。其他体液和非生物样品可参照使用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 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

根据乙醇等 6 种化合物易挥发的特性,经与平行操作的标准物质比较,采用顶空气相色谱(HS/GC)检测,依据两种不同性质色谱柱的保留时间进行定性,以峰面积为依据,内标法或外标法定量。或采用顶空气相色谱-质谱(HS/GC-MS)检测,依据保留时间、质谱特征碎片离子进行定性。

5 试剂、仪器和材料

5.1 试剂

5.1.1 水,符合 GB/T 6682 规定的三级。

5.1.2 标准物质:乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇、叔丁醇,纯度均不小于 99.5%。

5.1.3 10.0 mg/mL 乙醇(甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇)标准物质储备溶液:分别精密称取标准物质乙醇(甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、正丁醇)适量,用水配制成 10.0 mg/mL 标准物质储备溶液,0℃~4℃保存,有效期 6 个月。实验中所用其他浓度的标准溶液均由 10.0 mg/mL 标准储备溶液用水逐级稀释得到。或采用市售标准物质溶液。

5.1.4 5.0 mg/mL 内标物叔丁醇标准物质储备溶液:精密称取 500.0 mg 叔丁醇至 100 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,0℃~4℃保存,有效期 6 个月。

5.1.5 0.04 mg/mL 内标物叔丁醇工作溶液：精密吸取 5.0 mg/mL 内标物叔丁醇标准物质储备溶液 0.8 mL 至 100 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，0 °C ~ 4 °C 保存，有效期 3 个月。

5.2 仪器和材料

5.2.1 气相色谱仪：配有氢火焰离子化检测器(FID)。

5.2.2 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击(EI)源。

5.2.3 电子天平：分度值(d)小于或等于 0.1 mg。

5.2.4 顶空自动进样器。

5.2.5 移液器：1.0 mL 和 0.1 mL。

5.2.6 顶空进样瓶：10 mL。

5.2.7 硅橡胶垫。

5.2.8 铝帽。

5.2.9 密封钳。

5.2.10 恒温水浴锅：控温精度 ± 2.0 °C。

5.2.11 注射器：1 mL。

6 分析步骤

6.1 定性分析

6.1.1 检材样品制备

取检材样品血液或尿液 100 μ L 及 0.04 mg/mL 内标物叔丁醇工作溶液 500 μ L(采用外标法时，以水代替内标物叔丁醇工作溶液)置于顶空进样瓶内，盖上硅橡胶垫，用密封钳加封铝帽，混匀，置于顶空自动进样器样品架上进样，或置于 65 °C 恒温水浴中加热 10 min，用 1 mL 注射器吸取瓶内液面上气体 0.4 mL，进样。

6.1.2 质控样品制备

取质量浓度为 0.10 mg/mL 待测目标物标准溶液 100 μ L，作为添加样品，与检材样品平行操作。

取水 100 μ L，作为空白样品，与检材样品平行操作。

6.1.3 仪器条件

6.1.3.1 气相色谱仪参考条件

用气相色谱法定性时应选用两根不同性质的色谱柱进行分析。

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) 色谱柱型号可选择但不限于以下四种：

1) BAC1(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.8 μ m)柱或等效色谱柱；

2) BAC2(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.2 μ m)柱或等效色谱柱；

3) ALC1(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.8 μ m)柱或等效色谱柱；

4) ALC2(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.2 μ m)柱或等效色谱柱。

b) 柱温：恒温 40 °C。

c) 进样口温度：150 °C。

- d) 检测器温度:300 ℃。
- e) 载气:氮气。
- f) 柱流量:4 mL/min。

6.1.3.2 气相色谱-质谱仪参考条件

- 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:聚乙二醇固定相(30 m×0.32 mm×0.25 μm)色谱柱或等效色谱柱;
 - b) 柱温:42 ℃保持 3 min,以 25 ℃/min 升温至 120 ℃保持 4 min;
 - c) 载气:氦气;
 - d) 流速:1.25 mL/min;
 - e) 进样量:0.4 mL;
 - f) 分流比:10:1;
 - g) 进样口温度:160 ℃;
 - h) EI 源电压:70 eV;
 - i) 溶剂延迟:1.50 min;
 - j) 离子源温度:230 ℃;
 - k) 四极杆温度:150 ℃;
 - l) 接口温度:180 ℃;
 - m) 采集方式:全扫描(SCAN);
 - n) 乙醇等 6 种化合物及内标物的保留时间与特征碎片离子见表 1。

表 1 乙醇等 6 种化合物及内标物的保留时间和特征碎片离子

化合物名称	保留时间 min	特征碎片离子(<i>m/z</i>)
丙酮	1.747	43 *、58、42
甲醇	2.199	31 *、29、32
叔丁醇(内标物)	2.226	59 *、31、41
异丙醇	2.483	45 *、43、59
乙醇	2.556	31 *、45、46
正丙醇	3.897	31 *、42、59
正丁醇	5.219	31 *、56、41
注: * 表示基峰。		

6.1.3.3 顶空自动进样器参考条件

- 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:7.5 min;

- 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) 定量环平衡时间:0.05 min;
- h) 进样时间:1.00 min。

6.1.4 进样

分别取空白样品、添加样品和检材样品按 6.1.3 条件进行检测。进样顺序应确保结果有效。

6.2 定量分析

6.2.1 样品制备

取检材样品血液或尿液 100 μ L 各两份,按 6.1.1 操作。

采用单点校正法定量,取与检材样品等量的目标物标准溶液各两份,与检材样品平行操作,得到添加样品,检材样品中目标物浓度应在添加样品中目标物浓度的(100 $\pm$ 30)%内。

采用校准曲线法定量,配制系列浓度目标物标准溶液,每个浓度取与检材样品等量的目标物标准溶液各两份,得到系列浓度的添加样品,与检材样品平行操作。检材样品中目标物浓度应在校准曲线的线性范围内,相关系数(r)不小于 0.997。

6.2.2 仪器参考条件

气相色谱仪参考条件见 6.1.3.1,顶空自动进样器参考条件见 6.1.3.3。

6.2.3 进样

分别取检材样品、系列浓度的添加样品或单点浓度的添加样品,按 6.2.2 条件进样分析。

6.2.4 结果计算

6.2.4.1 含量计算

6.2.4.1.1 内标-校准曲线法

记录检材样品和添加样品中目标物和内标物的峰面积值,以添加样品中目标物与内标物的峰面积比为纵坐标、添加样品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。根据检材样品中目标物及内标物的峰面积比,按公式(1)计算出检材样品中目标物的质量浓度。

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

式中:

- ω ——检材样品中目标物的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- Y ——检材样品中目标物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。

6.2.4.1.2 内标-单点校正法

记录检材样品和添加样品中目标物和内标物的峰面积值,根据检材样品和添加样品中目标物及内标物的峰面积,按公式(2)计算出检材样品中目标物的质量浓度。

$$\omega = \frac{A \times A_i' \times \omega'}{A' \times A_i} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

ω ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

A ——检材样品中目标物的峰面积；

A' ——添加样品中目标物的峰面积；

A_i ——检材样品中内标物的峰面积；

A_i' ——添加样品中内标物的峰面积；

ω' ——添加样品中目标物的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)。

6.2.4.1.3 外标-校准曲线法

记录检材样品和添加样品中目标物的峰面积值，以添加样品中目标物峰面积为纵坐标、添加样品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。根据检材样品中目标物的峰面积，按公式(3)计算出检材样品中目标物的质量浓度。

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

式中：

ω ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

Y ——检材样品中目标物的峰面积；

a ——线性方程的截距；

b ——线性方程的斜率。

6.2.4.1.4 外标-单点校正法

记录检材样品和添加样品中目标物的峰面积值，根据检材样品和添加样品中目标物的峰面积，按公式(4)计算出检材样品中目标物的质量浓度。

$$\omega = \frac{A \times \omega'}{A'} \dots\dots\dots (4)$$

式中：

ω ——检材样品中目标物的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

A ——检材样品中目标物的峰面积；

ω' ——添加样品中目标物的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)；

A' ——添加样品中目标物的峰面积。

6.2.4.2 相对相差计算

记录两份平行操作的检材样品含量，按公式(5)计算相对相差。

$$RD = \frac{|\omega_1 - \omega_2|}{\overline{\omega}} \times 100\% \dots\dots\dots (5)$$

式中：

RD ——相对相差；

$\omega_1、\omega_2$ ——两份检材样品平行定量测定的质量浓度，单位为毫克每毫升(mg/mL)。

$\overline{\omega}$ ——两份检材样品平行定量测定的质量浓度的平均值，单位为毫克每毫升(mg/mL)。

7 结果评价

7.1 定性分析结果评价

7.1.1 顶空气相色谱法定性结果评价

阳性结果评价：在相同条件下进行样品测定时，检材样品中目标物的色谱峰保留时间与添加样品一致（相对误差在±1%之内），空白样品无干扰，且经选用不同性质的色谱柱进行分析，结果一致，则可判断检材样品中检出目标物。乙醇等6种化合物及内标物的气相色谱图见附录A中图A.1～图A.4。

阴性结果评价：检材样品未出现与添加样品目标物一致的色谱峰，空白样品无干扰，则可判断检材样品中未检出目标物。

7.1.2 顶空气相色谱-质谱法定性结果评价

阳性结果评价：在相同条件下进行样品测定时，检材样品中目标物的色谱峰保留时间与添加样品一致（相对误差在±1%之内），且在扣除背景后的检材样品质谱图中，目标物特征碎片离子（不少于3个）与添加样品一致，离子丰度比与浓度接近的添加样品相比，相对误差不超过表2规定的范围，空白样品无干扰，则可判断检材样品中检出目标物。

表 2 离子丰度比的最大允许相对误差范围

离子丰度比	>50%	>20%~50%	>10%~20%	≤10%
最大允许相对误差	±10%	±15%	±20%	±50%

阴性结果评价：检材样品未出现与添加样品目标物一致的色谱峰，空白样品无干扰，则可判断检材样品中未检出目标物。

7.2 定量分析结果评价

两份检材样品中目标物含量的相对相差不大于10%（有凝血块的血样不大于15%），定量数据可靠，其含量按两份检材的平均值计算。检材样品中目标物含量的相对相差大于10%（有凝血块的血样大于15%），定量数据不可靠，应按6.2重新测定。

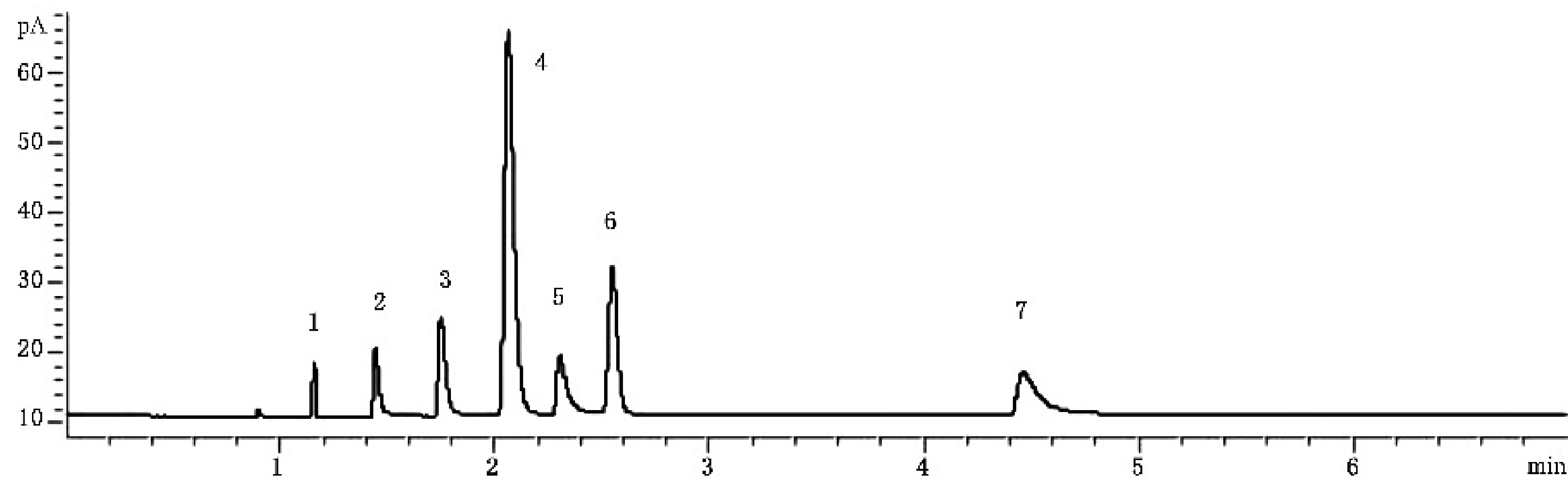
乙醇和甲醇中毒参考资料见附录B和附录C。

附 录 A
(资料性)

血液、尿液中乙醇等化合物的气相色谱图、校准曲线、检出限和定量限

A.1 乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图

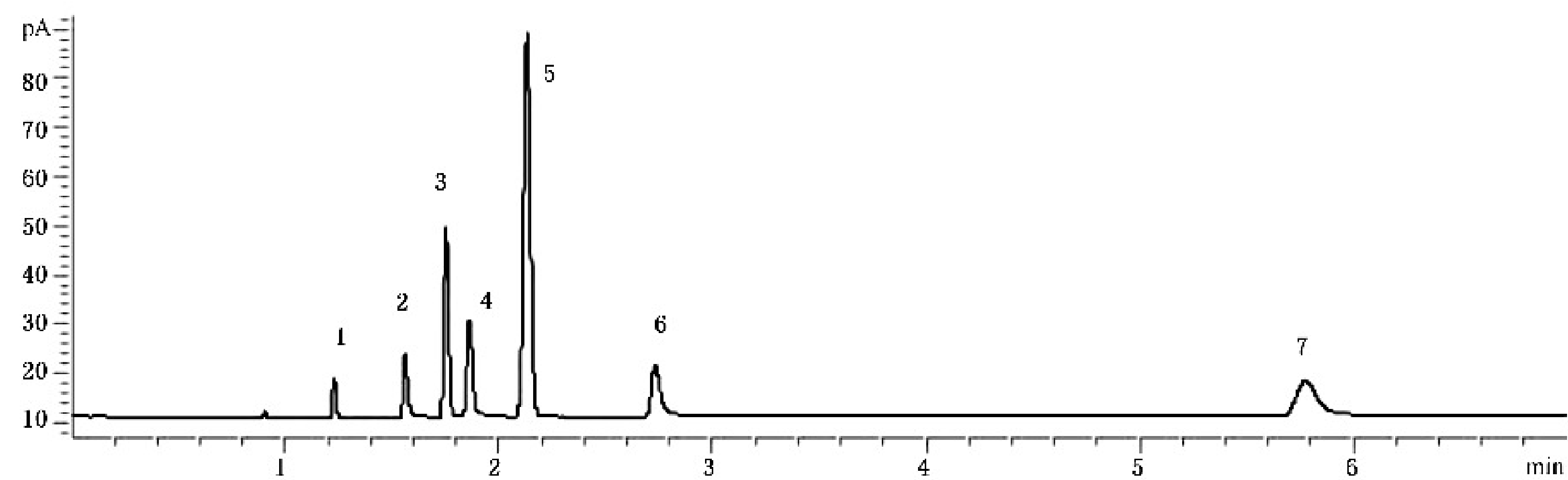
乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图见图 A.1～图 A.4。



标引序号说明：

- 1——甲醇(1.154 min)；
- 2——乙醇(1.450 min)；
- 3——异丙醇(1.755 min)；
- 4——叔丁醇(2.069 min)；
- 5——正丙醇(2.310 min)；
- 6——丙酮(2.542 min)；
- 7——正丁醇(4.458 min)。

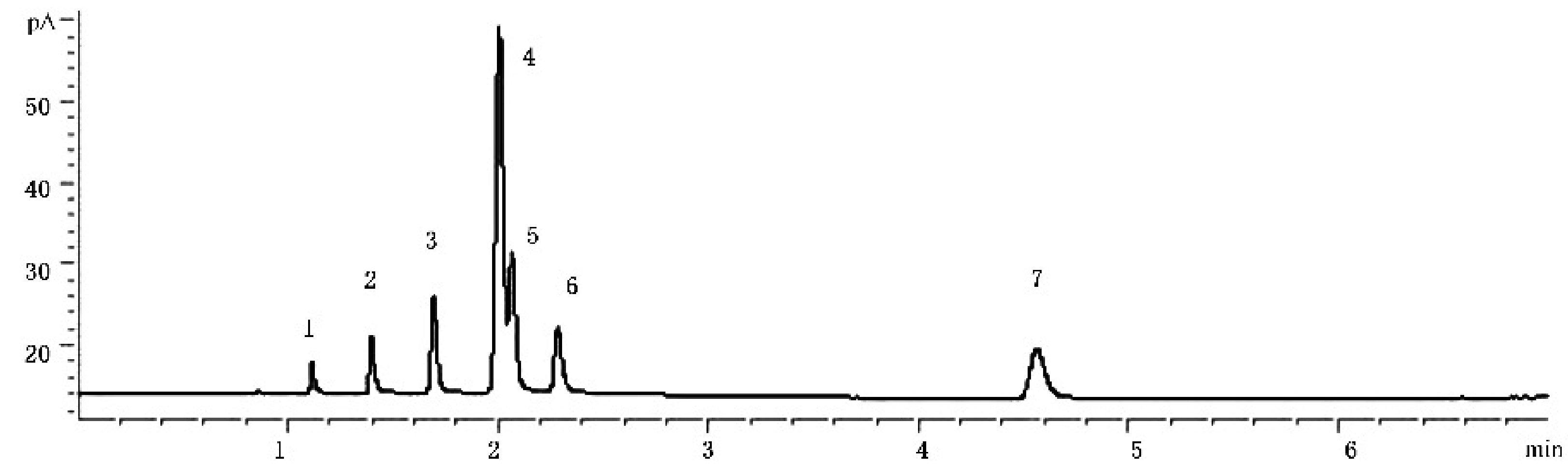
图 A.1 在色谱柱(1)参考条件下乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图



标引序号说明：

1——甲醇(1.234 min)；
2——乙醇(1.567 min)；
3——丙酮(1.756 min)；
4——异丙醇(1.868 min)；
5——叔丁醇(2.137 min)；
6——正丙醇(2.726 min)；
7——正丁醇(5.781 min)。

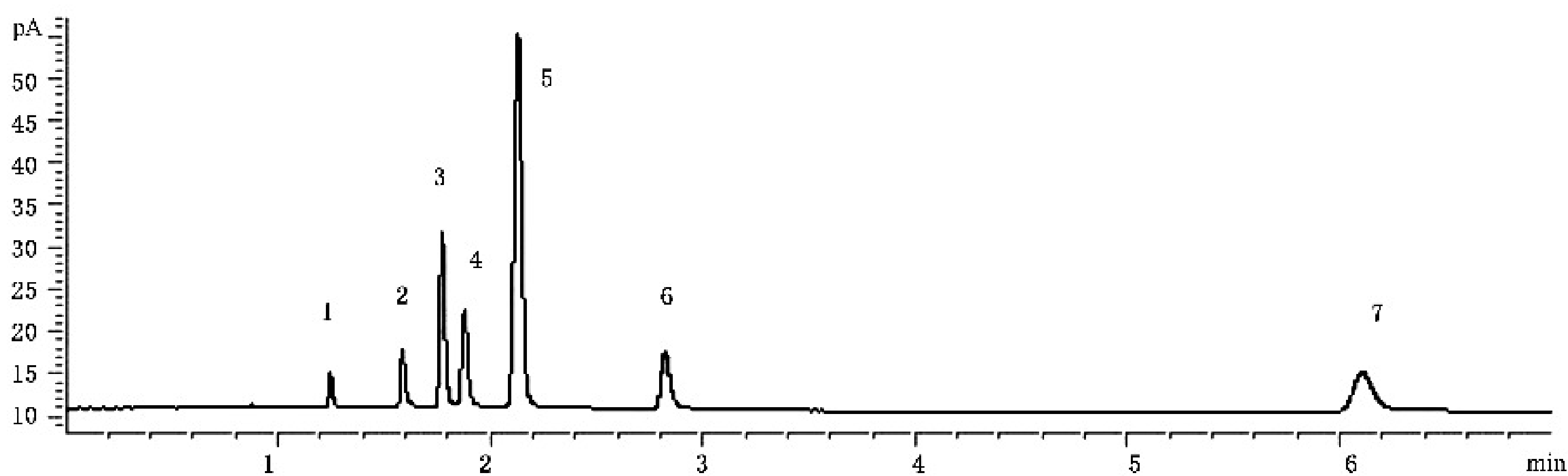
图 A.2 在色谱柱(2)参考条件下乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图



标引序号说明：

1——甲醇(1.110 min)；
2——乙醇(1.391 min)；
3——异丙醇(1.688 min)；
4——叔丁醇(2.001 min)；
5——丙酮(2.061 min)；
6——正丙醇(2.278 min)；
7——正丁醇(4.558 min)。

图 A.3 在色谱柱(3)参考条件下乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图



- 标引序号说明：
- 1—— 甲醇(1.241 min)；
 - 2—— 乙醇(1.580 min)；
 - 3—— 丙酮(1.767 min)；
 - 4—— 异丙醇(1.873 min)；
 - 5—— 叔丁醇(2.125 min)；
 - 6—— 正丙醇(2.818 min)；
 - 7—— 正丁醇(6.101 min)。

图 A.4 在色谱柱(4)参考条件下乙醇等 6 种化合物及内标物的气相色谱图

A.2 乙醇的参考校准曲线

配制乙醇质量浓度为 0.10 mg/mL、0.20 mg/mL、0.50 mg/mL、0.80 mg/mL、1.00 mg/mL、2.00 mg/mL、3.00 mg/mL 的标准溶液，按 6.2 分析，以乙醇与内标物叔丁醇的峰面积比(Y)为纵坐标、乙醇质量浓度(ω)为横坐标进行线性回归。得线性回归方程 $Y = 1.240\ 9\omega - 0.046\ 2$ (色谱柱 1)， $Y = 1.216\ 1\omega - 0.057\ 8$ (色谱柱 2)， $Y = 1.030\ 7\omega - 0.027\ 6$ (色谱柱 3)， $Y = 1.028\ 7\omega - 0.013$ (色谱柱 4)， r 均不小于 0.997。

若检材样品的浓度超出线性范围，需用水稀释检材样品或重新制作校准曲线，使检材样品的浓度在校准曲线的线性范围内。

A.3 检出限和定量限

本文件的 HS/GC 方法检出限除正丙醇为 0.005 mg/mL 外，其余化合物均为 0.05 mg/mL；定量限均为 0.10 mg/mL。

本文件的 HS/GC-MS 方法检出限均为 0.05 mg/mL。

附 录 B
(资料性)
乙醇中毒参考资料

B.1 中毒症状

乙醇对中枢神经的抑制作用由浅入深,可能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。中毒的临床表现分为三期:

I 期:兴奋期(血液中乙醇质量浓度 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(血液中乙醇质量浓度 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(血液中乙醇质量浓度 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。中毒死亡血液乙醇质量浓度: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})一般出现在酒后 60 min~90 min,最大尿液乙醇质量浓度(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,可以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 测定值可以推测消除期某一时刻(案发时)的可能 BAC 范围。

附 录 C
(资料性)
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,可能出现呼吸困难、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,打开胃腔,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。中毒死亡血液甲醇质量浓度:0.74 mg/mL~1.10 mg/mL,中毒死亡尿液甲醇质量浓度:0.40 mg/mL~2.40 mg/mL。
