

Evaluation of uncertainty in determination of blood alcohol content

Deng Qi

Guangdong Heng'an Judicial Appraisal Institute, Yunfu, Guangdong, 527300, China

Abstract

Objective: To evaluate the uncertainty of blood ethanol content determination results. **Methods:** Blood alcohol concentration was detected using headspace gas chromatography (HS-GC) with internal standard calibration curve method according to GB/T 42430-2023. Uncertainty was assessed according to relevant technical specifications for uncertainty evaluation. **Results:** Sources of uncertainty in blood ethanol determination by headspace gas chromatography included random effects during measurement, ethanol reference material, tert-butanol internal standard preparation, pipetting of blood samples, gas chromatograph (GC), calibration curve method, and peak area comparison between blood samples and standard solutions. **Conclusion:** The main contributors to uncertainty in blood ethanol determination by headspace gas chromatography were sample testing, ethanol reference materials, and calibration curves.

Keywords

Forensic toxicological analysis; Determination uncertainty; Headspace gas chromatography (HS-GC); Blood; Ethanol

测定血液中乙醇含量的不确定度评定

邓启

广东恒安司法鉴定所, 中国·广东 云浮 527300

摘要

目的: 对血液中乙醇含量测定结果的不确定度展开评估。**方法:** 按照GB/T 42430-2023规定的方法, 采用顶空气相色谱(HS-GC)内标校准曲线法检测乙醇浓度; 按照不确定度评定的相关技术规范, 评定不确定度。**结果:** 顶空气相色谱法测定血液中乙醇含量的不确定度来源包括: 测定过程的随机效应, 乙醇标准物质, 叔丁醇内标工作液的配置, 移液器移取血液检材, 气相色谱仪(GC), 标准曲线法, 以及血液样品与标准溶液峰面积。**结论:** 顶空气相色谱法测定血液中乙醇含量结果的不确定度, 样品检测、校准曲线对检测结果不确定度的贡献最大。

关键词

法医毒物分析; 测定不确定度; 顶空气相色谱法(HS-GC); 血液; 乙醇

1 引言

乙醇检测结果在酒驾或醉驾的司法判定中扮演着决定性角色, 其准确性直接关系到案件的公正裁决。根据我国法律规定, 血液中乙醇含量达到 20mg/100mL 即为酒驾, 达到 80mg/100mL 则构成醉驾, 这两个阈值成为区分违法与犯罪的关键标尺, 而检测数据的精准度是适用法律条款的前提。在司法实践中, 乙醇检测结果往往是法庭量刑的核心证据。因此, 检测结果的可靠性直接影响司法公正的实现。

因此司法鉴定机构在受理此类案件时, 对体内乙醇含量的测定尤为重要。在实际检测环节中, 设备因素、试剂与标准物质、操作过程、方法与计算、随机效应等因素, 都会对

最终的检验结果产生影响。因此, 需要对检测结果进行不确定度评估。本文应用国家标准 GB/T 42430-2023 中提供的方法^[1], 使用顶空气相色谱法进行血液中乙醇的检测, 依据 JJF1059.1-2012^[2] 并参考中国合格评定委员会的要求和不确定度评定指导性文件^[4], 对检测结果进行不确定度评定。

2 材料与方法

2.1 试剂

乙醇标准溶液(0.10-3.0mg/mL) 购自 Cerilliant Corporation, 叔丁醇(纯度大于 99.5%, 购自 Kermel), 蒸馏水。

2.2 溶液配制

叔丁醇内标液: 精密量取叔丁醇 0.5012g 于 100mL 容量瓶中, 添加蒸馏水定容至刻度, 混匀, 得 5.00mg/mL 叔丁醇储备液; 用 5mL 刻度移液管吸取 4mL 叔丁醇储备液定容 500mL 容量瓶, 混匀, 得 0.04mg/mL 叔丁醇内标工作液^[6]。

【作者简介】邓启(1990-), 男, 中国江西萍乡人, 本科, 检验师, 从事法医毒物分析研究。

2.3 仪器和实验条件

2.3.1 仪器

气相色谱仪(上海灵华气相色谱仪 GC9890B),自动顶空进样器(上海思达 HS-9A),电子天平(力辰科技 FA-N型)。

2.3.2 顶空气相色谱仪实验条件

自动顶空进样器工作条件:顶空瓶平衡温度 80℃,环境温度 90℃,传输管温度 105℃;样品平衡时间 10min;加压时间 0.2min;充样时间 0.2min;充样平衡 0.05min;进针时间 1.00min;清扫时间 1.00min;载气 N₂ 纯度 99.999%,载气阀刻度 4.0;加压阀刻度 6.0。

气相色谱仪工作条件:进样口温度 150℃ 柱箱温度:60℃(恒温)。A 色谱柱(A 检测器)DB-ALC1 30m×0.530mm×3.00μm(毛细管色谱柱),清扫阀刻度:8.0;尾吹阀刻度:5.0;检测器:250℃(FID);燃气:H₂ 阀刻度:4.5;空气阀刻度:7.5;样品分析时间 6min;B 色谱柱(B 检测器)DB-ALC2 30m×0.320mm×1.20μm(毛细管色谱柱),清扫阀刻度:8.0;尾吹阀刻度:5.0;检测器:250℃(FID);燃气:H₂ 阀刻度:3.2;空气阀刻度:8;样品分析时间 6min。

2.4 制样与分析

2.4.1 标准曲线的绘制

取浓度为 0.1mg/mL、0.2mg/mL、0.5mg/mL、0.8mg/mL、1mg/mL、2mg/mL、3mg/mL 乙醇有证标准溶液,各吸取 0.1mL 两份,分别加入顶空瓶内,再添加 0.5mL 浓度为 0.04mg/mL 叔丁醇内标工作液,使用密封钳将铝盖密封垫密封后混匀,置于自动顶空进样器-气相色谱仪中分析,建立标准曲线回归方程^[5]。

2.4.2 血液检材检测

使用移液器吸取 0.1mL 血液检材两份,置于两个顶空瓶内,分别吸取 0.5mL 叔丁醇内标工作液,使用密封钳将铝盖密封垫密封后,混匀,置于自动顶空进样器-气相色谱仪中进行分析,并求得血液检材中平行两次进样的乙醇浓度为 0.51、0.52mg/mL,平均值为 0.52mg/mL,两次平行进样检测结果的相对相差为 1.9%。

3 测量不确定度的评定

3.1 不确定度来源分析

血液中乙醇含量测定的不确定度来源主要有以下几种:1、样品检测随机效应;2、乙醇标准物质;3、天平称量;4、容量瓶定容;5、移液器移取样品;6、标准曲线。7、气相色谱仪(GC);8、血液检材和乙醇标准物质的峰面积^[7]。

3.2 不确定度分量的计算

3.2.1 A 类不确定度 U_A

在重复性的实验条件下,对待测血液样品进行平行 2 次检测,则每个血液样品的检测次数 n=2,以平均值作为

检测结果,从过去检测数据中随机选取 10 组,则组的数量 m=10,进行 A 类不确定度评定。其中为第 j 组第 i 次检测结果,为 i 次检测的平均值。数据见表 1。

表 1 10 个血液检材测定浓度及平均值、残差平方值

序号	检测值 x _i	平均值	残差平方 v ²
1	2.04	2.05	1.0×10 ⁻⁴
	2.06		1.0×10 ⁻⁴
2	2.21	2.23	4.0×10 ⁻⁴
	2.25		4.0×10 ⁻⁴
3	1.93	1.90	9.0×10 ⁻⁴
	1.88		4.0×10 ⁻⁴
4	0.98	1.00	4.0×10 ⁻⁴
	1.01		1.0×10 ⁻⁴
5	1.77	1.76	1.0×10 ⁻⁴
	1.74		4.0×10 ⁻⁴
6	0.71	0.70	1.0×10 ⁻⁴
	0.68		4.0×10 ⁻⁴
7	0.88	0.86	4.0×10 ⁻⁴
	0.85		1.0×10 ⁻⁴
8	1.98	1.99	1.0×10 ⁻⁴
	2.00		1.0×10 ⁻⁴
9	0.98	0.97	1.0×10 ⁻⁴
	0.96		1.0×10 ⁻⁴
10	0.88	0.90	4.0×10 ⁻⁴
	0.91		1.0×10 ⁻⁴

因此单个测得值的合并样本标准偏差为:

$$S_A = \sqrt{\frac{1}{m(n-1)} \sum_{j=1}^m \sum_{n=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} = \sqrt{\frac{1}{10} \sum_{j=1}^m \sum_{n=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2} = 2.2804 \times 10^{-2}$$

平均值的标准偏差: $S_{\bar{A}} = \frac{S_A}{\sqrt{n}}$; $u_c(A) = S_{\bar{A}} = 0.0161$;

血液检材的相对标准不确定度: $U_{rel}(A) = \frac{u_c(A)}{\bar{C}} = 0.03096$

3.2.2 乙醇标准溶液引入的不确定度

由各浓度乙醇标准溶液证书给出的相对标准不确定度 $U_{rel}(1) = 1.94 \times 10^{-3}$ 。

3.2.3 天平称量引入的不确定度

根据天平的校准证书所标明其称量的最大允差为 1.0mg,称量重复性误差为 0.2mg,采用矩形分布计算,换算成标准不确定度为 $\frac{\sqrt{1.0^2 + 0.2^2}}{\sqrt{3}} = 0.5888$,称取 0.5012g 标准液引入的相对标准不确定度为:

$$U_{rel}(2) = \frac{\sqrt{2 \times 0.5888^2}}{501.2} = 9.78 \times 10^{-4}$$

3.2.4 容量瓶引入的不确定度

配制叔丁醇内标工作液时使用到 100 及 500mL 容量瓶稀释定容,则定容引入的相对标准不确定度由容量瓶校准检定可得,见表 2。

表2 容量瓶的校准数据

标称容量 /mL	容量允差 /mL	$U_{(v)}$ 矩形分布
100	±0.10	0.10/√3
500	±0.25	0.25/√3

即 100mL 容量瓶的相对标准不确定度为： $U_{rel(100)}=U_{(100)}/100=0.0005773$

500 mL 容量瓶的相对标准不确定度为： $U_{rel(500)}=U_{(500)}/500=0.0002886$

容量瓶引入的合成标准不确定度为：

$$U_{rel(3)}=\sqrt{U_{rel(100)}^2+U_{rel(500)}^2}=6.45\times 10^{-4}$$

3.2.5 移液器引入的不确定度

吸取血液样本使用 100 μL 移液枪，其吸取 100 μL 血液样本时，根据校准证书所标明其允许误差为 ±2.0%，按三角分布计算，其相对标准不确定度为： $U_{rel(检材)}=2.0\%/ \sqrt{6}=0.00816$ 。

吸取叔丁醇内标工作液使用 1000 μL 移液枪，其吸取 500 μL 叔丁醇内标液时，根据校准证书所标明其允许误差为 ±1.0%，按三角分布计算^[7]，其相对标准不确定度为： $U_{rel(内标)}=1.0\%/ \sqrt{6}=0.00408$ 。

移液器引入的合成标准不确定度为：

$$U_{rel(4)}=\sqrt{U_{rel(检材)}^2+U_{rel(内标)}^2}=0.009123$$

3.2.6 气相色谱仪引入的不确定度

气相色谱仪，其检定重复性 RSD=1.2%,k=2, 则 $U_{rel(5)}=RSD/k=1.2\%/2=0.006$

3.2.7 血液检材和标准物质峰面积引入的不确定度

血液样品及叔丁醇内标的峰面积由仪器自动积分，所带来的误差对于不确定度的贡献非常小，可以忽略不计。

3.2.8 标准曲线引入的不确定度

实验得到的标准曲线为 $y=1.1539x-0.0055$ ，相关系数 $r=0.9999$,y为乙醇和叔丁醇内标峰面积比值，x为乙醇的浓度 mg/mL，标准曲线的不确定度来源于标准曲线残差的标准偏差^[8]，其计算结果见表3。

标准曲线引入的不确定度为：

$$U_C=\frac{S_E}{b} \sqrt{\frac{1}{p}+\frac{1}{n}+\frac{(\bar{C}-\bar{X})^2}{S_{XX}}}$$

式中，斜率 $b=1.1539$ ；p为血液检材次数， $p=2$ ；n为标准溶液测定次数， $n=14$ ； \bar{X} 为各个标准溶液浓度的平均值， S_E 为残差的标准偏差， $S_E=\sqrt{\frac{\sum(y-\hat{y})^2}{n-2}}=0.0096$ ； $S_{XX}=\sum_{i=1}^{14}(x_i-\bar{X})^2=13.38$ ； \bar{C} 为血液检材中所测得乙醇的平均浓度， $\bar{C}=0.52\text{mg/mL}$ 。

$$\text{因此， } U_C=\frac{0.0096}{1.1539} \times \sqrt{\frac{1}{2}+\frac{1}{14}+\frac{(0.52-1.086)^2}{13.38}}=0.0064$$

所以此项引入的相对标准不确定度：

$$U_{rel(C)}=\frac{U_C}{\bar{C}}=\frac{0.0064}{0.52}=0.0123$$

3.2.9 合成标准不确定度的计算

各分量的相对标准不确定度见表4。

表3 标准曲线残差计算表

x	y	\hat{y}	$ y-\hat{y} ^2$
0.1	0.1210	0.1209	1.00×10^{-8}
	0.1152	0.1209	3.25×10^{-5}
0.2	0.2291	0.2363	5.18×10^{-5}
	0.2293	0.2363	4.90×10^{-5}
0.5	0.5855	0.5824	9.61×10^{-6}
	0.5783	0.5824	1.68×10^{-5}
0.8	0.9382	0.9286	9.22×10^{-5}
	0.9375	0.9286	7.92×10^{-5}
1.0	1.1649	1.1594	3.03×10^{-5}
	1.1517	1.1594	5.93×10^{-5}
2.0	2.3252	2.3133	1.42×10^{-4}
	2.3209	2.3133	5.78×10^{-5}
3.0	3.4459	3.4672	4.54×10^{-4}
	3.4719	3.4672	2.21×10^{-5}

表4 相对标准不确定度分量一览表

来源	符号	数值
样品检测	$U_{rel(A)}$	0.03096
乙醇标准液	$U_{rel(1)}$	1.94×10^{-3}
天平称量	$U_{rel(2)}$	9.78×10^{-4}
容量瓶	$U_{rel(3)}$	6.45×10^{-4}
移液器	$U_{rel(4)}$	9.12×10^{-3}
气相色谱仪	$U_{rel(5)}$	0.006
血液检材与标准物质峰面积	$U_{rel(6)}$	可忽略
标准曲线	$U_{rel(c)}$	0.0123

由以上分析得出，不确定度主要来源样品检测、乙醇标准液、天平称量、容量瓶、移液器、气相色谱仪、标准曲线，其他来源的不确定度分量可忽略。因此，合成检测结果的相对标准不确定度为：

$$U_{rel(C)}=\sqrt{U_{rel(A)}^2+U_{rel(1)}^2+U_{rel(2)}^2+U_{rel(3)}^2+U_{rel(4)}^2+U_{rel(5)}^2+U_{rel(c)}^2}=0.0351$$

转化成合成标准不确定度为：

$$u_c(C)=U_{rel(C)} \times \bar{C}=0.018\text{mg/mL}$$

3.2.10 扩展不确定度的计算

实验结果的不确定度通常以扩展不确定度来呈现，其计算方式为合成标准不确定度与选定的包含因子相乘。扩展不确定度的意义在于提供一个预期区间，被测量的数值分布中绝大多数应处于该区间之内^[4]。扩展不确定度U可表示为合成标准不确定度 $U_{rel(C)}$ 与包含因子的乘积。当置信水准设定为 95% 或 99% 时，包含因子取 2 或 3，在无特殊规定的情形下，包含因子一般采用 $k=2$ ^[8]，则扩展不确定度：

$$U = k \times U_{rel}(C) = 2 \times 0.018 \text{ mg/mL} = 0.036 \text{ mg/mL}$$

因此, 本文血液样品检测的乙醇含量为 (0.52 ± 0.036) mg/mL, $k=2$ 。

4 结论

血液检材中乙醇检测结果的不确定度是反映检测结果质量的重要内容, 从以上分析得出, 对于使用顶空气相色谱法测定血液中乙醇含量的不确定度, 其主要来源于样品检测的随机效应、移液器、乙醇标准物质以及标准曲线, 其中样品测定的随机效应引入的标准不确定度分量贡献最大, 其次是标准曲线引入的不确定度, 对于其他不确定度分量贡献相对较小。

不确定度对检测结果的重要性不言而喻, 它是衡量检测数据可靠性的核心指标, 直接关系到检测结果的科学性与公信力。在司法、医疗、环境监测等关键领域, 检测结果往往成为决策的重要依据。以血液中乙醇含量检测为例, 其结果可能决定案件的司法判定方向, 而不确定度的评定能清晰呈现结果的可信区间, 避免因数据误差导致误判。若忽略不确定度, 仅以单一数值作为判定标准, 可能掩盖检测过程中潜在的误差来源, 使决策失去科学支撑。

从检测方法的角度看, 不确定度分析能推动检测体系的优化。它要求检测人员系统梳理影响结果的各类因素, 如仪器精度、试剂纯度、操作规范等, 通过量化各环节的误差分量, 找到检测流程中的薄弱环节。这一过程不仅能提升检测数据的准确性, 还能为方法改进提供明确方向, 促进检测

技术的持续完善。

在实验室质量控制中, 不确定度是衡量检测能力的重要参数。通过定期评定不确定度, 实验室可验证自身检测体系的稳定性, 确保不同时间、不同人员的检测结果具有可比性。当检测结果存在争议时, 不确定度报告能客观说明数据的可信范围, 为争议解决提供科学依据, 增强检测结果的权威性。

参考文献

- [1] GB 19522-2024. 车辆驾驶人员血液、呼气酒精含量阈值与检验 [S]. 中华人民共和国国家标准, 2024:08-01.
- [2] 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 [S]. 中华人民共和国国家标准, 2024:03-01.
- [3] JJF1059.1-2012. 测量不确定度评定与表示 [S]. 中华人民共和国国家计量技术规范, 2013:06-03.
- [4] CNAS-GL006. 化学分析中不确定度的评估指南 [S]. 中国合格评定国家认可委员会, 2019:03-15.
- [5] 翟金晓, 朱军, 孙建楠, 等. HS-GC法测定酒驾人员血乙醇含量的不确定度评定[J]. 济宁医学院学报, 2017, 40(3): 185-188.
- [6] 张陈明, 郭思齐, 双柱双检测器顶空气相色谱法测定血液中乙醇含量的不确定度分析[J]. 品牌与标准化, 2025, (03): 22-25.
- [7] 王妍, 王伟, 刘永锁, 等. 顶空气相色谱法测定血液中乙醇含量不确定度的评定[J]. 现代测量与实验室管理, 2012, 20(05): 12-14.
- [8] 周枝凤, 马安德, 陈凌云, 等. 自动顶空GC/MS测定血液中乙醇含量不确定度评定[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(01): 43-45+47.