

血液中乙醇测定结果与酒精呼气值差异的法医学及实验分析

张陈明*

(安徽百友司法鉴定中心, 合肥 230081)

摘要: **目的** 探究血液中乙醇含量测定值与酒精呼气值之间存在差异的原因。**方法** 从个体差异、人体乙醇代谢规律、抽血时间对 7326 例涉嫌饮酒驾驶的案例进行分析, 研究采血消毒方式、血液保存条件以及探讨尸体腐败、采血抗凝管、测量不确定度等对乙醇检测值的影响。**结果** 个体遗传和代谢差异、抽血时间、血液的保存温度和时间、尸体腐败、采血抗凝管, 以及不确定度等因素均会导致血液中乙醇测定结果与酒精呼气值出现差异。**结论** 应结合案情、乙醇代谢规律与相关实验数据对血液中乙醇含量检测异常结果进行客观分析和判定。

关键词: 血液中乙醇; 呼气值; 法医学分析; 实验分析

0 引言

在酒驾查获现场, 一般先用呼气式酒精检测仪对驾驶员呼气中乙醇浓度进行初测, 涉嫌饮酒驾驶时再对其抽取静脉血送至第三方司法鉴定机构进行检测。在实践中, 时常出现鉴定机构出具的血液中乙醇含量检测值与查获现场当事人酒精呼气值不一致甚至相差较大的情形, 导致在诉讼活动中的各方提出质疑, 甚至怀疑鉴定机构出具虚假鉴定报告。因此, 本文旨在研究血液中乙醇含量检测值与呼气值之间产生差异的原因, 探讨个体酒精代谢差异、抽血时间、采血消毒方式、血液保存条件、测量不确定度、尸体腐败、采血抗凝管等因素对血液中乙醇含量测定的影响, 为鉴定结果的科学解释以及更好的服务诉讼活动提供参考和支持。

1 材料与方法

1.1 样本来源

本中心法医毒物实验室 2019 年 7 月至 2024 年 6 月五年间受理的 7326 例涉嫌酒驾案件, 选出已知高、中、低 3 种乙醇含量值的血样, 储存在不同温度条件下探究其保存时效; 来自办案机关送检的尸体血样 6 份以及血液乙醇检测值异常偏高的同批次肝素钠抗凝管 4 支; 28 名年龄在 25~50 岁的志愿者, 男女数量各半, 身体健康, 无酒精过敏史及相关引发性疾病等, 所有人在 72 小时内未饮酒, 分组采用不同消毒抽血方式分析乙醇消毒剂对血液中乙醇测定值的影响; 选取同一时间段内本实验室与其他实验室关于血液中乙醇含量测定不确定度的数据, 分析不确定度对乙醇检测值结果的影响。

1.2 仪器与实验条件

8860 气相色谱仪(美国安捷伦)、气相色谱工作站(美国安捷伦 8860)、HS-72A 顶空自动进样器(上海思达)、单道 F3 移液器(美国赛默飞)和 QZ-GDW-16L 恒温恒湿试验箱(东莞勤卓)。

色谱条件: 色谱柱(1)Agilent DB-BAC1 UI(30 m×0.32 mm, 1.8 μm), 色谱柱(2)Agilent DB-BAC2 UI(30 m×0.32 mm, 1.2 μm), 柱温: 40°C, 进样口温度: 150°C, 检测器温度: 250°C, 检测器类型: FID; 载气: 氮气, 柱流量: 4 mL/min, 燃气: 氢气 30 mL/min, 助燃气: 空气 400 mL/min。

顶空进样条件: 加热箱温度: 65°C; 定量环温度: 105°C; 传输线温度: 110°C; 气相循环时间: 7.5 min; 样品瓶加热平衡时间: 10.0 min; 样品瓶加压时间: 0.10 min; 进样时间: 1.00 min。

1.3 试剂与材料

购买市售有证书乙醇标准物质, 质量浓度分别为 0.10、0.20、0.50、0.80、1.00、2.00、3.00 mg/mL; 称取适量叔丁醇标准溶液(分析纯, 浓度不低于 99.5%)置于容量瓶中, 添加去离子水至刻度, 混匀得到 5.0 mg/mL 叔丁醇标准储备液, 再稀释混匀得到 0.04 mg/mL 叔丁醇内标工作液; 实验用酒为古井贡酒 5 年, 酒精度 50% 的浓香型白酒; 采血抗凝管为一次性真空负压 EDTA-K2 管, 3 mL 规格; 消毒液为不含乙醇的碘伏(安多福 0.1% PVP-I 消毒液)与 75% 医用酒精消毒液。

1.4 方法与操作

1.4.1 尸体血检测

从一具腐败尸体和另一具未见腐败的尸体中分别各提取尸体股静脉血、心包血和心腔积液各 1 份, 约 2~3 mL, 共采集 6

* 通信作者: 张陈明, 硕士, 副主任法医师, 研究方向为法医物证和法医毒物司法鉴定。E-mail: 448531970@qq.com

份检材进行乙醇含量检测。

1.4.2 采血抗凝管对照实验

EDTA-K2 管和上述乙醇检测值异常的同批次肝素钠管各 4 支, 均分别添加纯水、空白血、已知低乙醇浓度含量值(首次检测值为 0.22 mg/mL)的血样以及高乙醇浓度含量值(首次检测值为 1.97 mg/mL)的血样各 2 mL, 得到平行对照样品共 8 份, 适当摇晃 3~5 分钟后, 室温密封静止放置 3 h 后转至低温冷藏备检。

1.4.3 志愿者实验

28 名志愿者, 随机分为 6 组。前 4 组(第 1、2、3、4 组)

每组男、女各 3 人, 不饮酒; 后 2 组(第 5、6 组)每组男、女各 1 人, 4 人同时伴食饮酒 100~300 mL, 30 min 内饮完。等待 60 min 后, 全部人员均采用左、右臂同时静脉抽血对照, 具体见表 1。

1.4.4 实验操作

取待测样品 100 μ L 与 500 μ L 0.04 mg/mL 的叔丁醇内标工作液置于顶空瓶内, 盖上硅橡胶垫, 密封混匀, 置于顶空进样器样品架上自动进样检测。按 GB/T 42430—2023^[1] 制作乙醇校准曲线并对待测样本进行定性定量分析。

表 1 志愿者分组消毒采血方式

组号	消毒剂类型	消毒后处理方式	按压拔针方式
1、5	左臂: 75% 酒精, 右臂: 碘伏	不干燥立即抽血	干燥无菌棉签按压
2、6	左臂: 75% 酒精, 右臂: 碘伏	干燥 20 秒后抽血	干燥无菌棉签按压
3、5	左臂: 碘伏, 右臂: 75% 酒精	不干燥立即抽血	含 75% 乙醇湿棉签按压
4、6	左臂: 碘伏, 右臂: 75% 酒精	干燥 20 秒后抽血	含 75% 乙醇湿棉签按压

2 结果与分析

2.1 涉嫌酒驾案例数据统计分析

对 7326 名涉嫌酒驾当事人的酒精呼气值与血液中乙醇检测值差异的人数分布见表 2, 当事人在酒驾查获现场酒精呼气检测时间与实际采血时间差的人数分布见表 3。

从表 2 和表 3 可看出 65% 以上的酒驾人员酒精呼气值与检测值差异值在 0.30 以内, 差异值在 0.10 与 0.50 以内, 均表现为呼气检测时间与采血时间差在 0.5 小时以内的人数所占比例最高, 其次是时间差在 0.5~1.5 小时之间的人数比例相对较高。相反, 当差异值大于 0.50 时, 抽血时间差在 1.5 小时与 2.5 小时以上的人数比例最高。

2.2 尸体血液中乙醇检测结果

经检测, 腐败尸体的股静脉血、心包血和心腔积液这 3 份检材中乙醇含量值分别为 1.12 mg/mL、2.07 mg/mL 和 4.44 mg/mL, 而未见腐败尸体中提取的同类型 3 份检材中乙醇含量值分别为 1.06 mg/mL、1.10 mg/mL 和 1.59 mg/mL。可见, 尸体的心腔积液中乙醇含量值最高, 其次是心包血, 股静脉血中乙醇检出值最低。腐败尸体的 3 份检材中乙醇检测值差异较大, 而未见腐败尸体的股静脉血和心包血中乙醇检测值无显著差别。

表 2 呼气值与乙醇检测值的差异值人数分布

差异值 X (mg/mL)	人数	所占比例(%)
$X \leq 0.10$	2057	28.08
$0.10 < X \leq 0.30$	2991	40.83
$0.30 < X \leq 0.50$	1552	21.18
$0.50 < X \leq 0.70$	689	9.40
$X > 0.70$	37	0.51

2.3 不同抗凝剂采血管实验对照结果

使用 EDTA-K2 管和肝素钠管存储不同平行对照样品中的乙醇检测结果见表 4。EDTA-K2 管中的纯水和空白血均未检出乙醇, 已知乙醇浓度血样的检出值未出现显著变化; 而在肝素钠管中,

纯水和空白血均检出较高含量的乙醇, 无论是已知低乙醇浓度血样, 还是已知高乙醇浓度的血样, 其乙醇检出值均显著提高。

表 3 呼气检测时间与实际采血时间差的人数分布

差异值 X (mg/mL)	时间差 T (h)	所占比例(%)
$X \leq 0.10$	$T \leq 0.5$	54.17
	$0.5 < T \leq 1.5$	35.26
	$1.5 < T \leq 2.5$	9.62
	$T > 2.5$	0.95
$0.10 < X \leq 0.50$	$T \leq 0.5$	44.75
	$0.5 < T \leq 1.5$	21.09
	$1.5 < T \leq 2.5$	25.51
	$T > 2.5$	8.65
$X > 0.50$	$T \leq 0.5$	7.15
	$0.5 < T \leq 1.5$	11.83
	$1.5 < T \leq 2.5$	43.88
	$T > 2.5$	37.14

2.4 志愿者血样中乙醇含量的测定

按 1.4.3 方法对 6 组 28 名志愿者血液乙醇含量进行检测, 每份血液平行测定 2 次, 取平均值。前 4 组 24 份血样均未检出乙醇色谱峰, 后 2 组 4 位饮酒志愿者左、右臂抽分别抽取的两份血样中乙醇检测值之间无显著差别, 质控与空白对照检测无异常, 见表 5。

2.5 设置血样储存温度与时间梯度的案例检验

将高、中、低 3 种乙醇质量浓度的血样各分成 4 份, 分别设置 4 个温度条件和 7 个时间梯度进行存放, 结果见表 6。

表 4 两种类型抗凝剂采血管对照实验结果(mg/mL)

添加物	EDTA-K2 管	肝素钠管
纯水	未检出乙醇	1.52
空白血	未检出乙醇	1.48
低乙醇浓度血	0.23	1.91
高乙醇浓度血	1.95	4.04

表 5 饮酒志愿者血液中乙醇含量(mg/mL)

组号	志愿者性别	检测结果
5	男性	左臂血: 0.8411; 右臂血: 0.8383
	女性	左臂血: 0.4122; 右臂血: 0.4018
6	男性	左臂血: 0.7557; 右臂血: 0.7497
	女性	左臂血: 0.3316; 右臂血: 0.3301
5	男性	左臂血: 0.8310; 右臂血: 0.8397
	女性	左臂血: 0.4101; 右臂血: 0.4204
6	男性	左臂血: 0.7613; 右臂血: 0.7508
	女性	左臂血: 0.3524; 右臂血: 0.3477

表 6 不同温度与不同存放时间条件下血液中乙醇含量变化(mg/mL)

初次检测 (mg/mL)	温度(°C)	存放时间(d)						
		3	7	14	30	60	90	120
0.2867	-10	0.2868	0.2864	0.2811	0.2778	0.2762	0.2709	0.1876
	8	0.2843	0.2855	0.2779	0.2206	0.1782	0.1565	0.1138
	25	0.2812	0.2156	0.1972	0.1247	< 0.1	< 0.1	未检出
	35	0.2804	0.1918	0.1727	0.1139	< 0.1	< 0.1	未检出
1.2264	-10	1.2268	1.2277	1.2189	1.2204	1.2146	1.2091	1.0712
	8	1.2276	1.2220	1.2083	0.9896	0.8364	0.6995	0.6122
	25	1.2211	0.9886	0.9656	0.7826	0.6338	0.4755	0.3007
	35	1.2232	1.0073	0.8962	0.7618	0.5863	0.4121	0.3118
2.1519	-10	2.1539	2.1606	2.1588	2.1441	2.1339	2.1107	1.9060
	8	2.1584	2.1502	2.1377	1.9027	1.7772	1.6442	1.5815
	25	2.1417	1.9007	1.8670	1.7011	1.5122	1.1776	0.8233
	35	2.1342	1.8898	1.7670	1.6805	1.5433	1.0675	0.7448

从表 6 可见, 3 种乙醇浓度高低不同的血样在 -10°C 冷冻保存 90 天以内、在 8°C 冷藏保存 14 天以内以及在 25°C 和 35°C 室温条件下保存 3 天, 乙醇含量基本均无明显变化。此后, 血液中乙醇检出值随保存时间的延长不断降低。

2.6 实验室间测量不确定度差异的分析

不确定度定义是表征可以合理地赋予被测量的量值之间的分散程度, 以一个范围或区间的形式表示, 表明测量真值是有一定概率处于此可信区间范围内的。不确定度是判断一个实验

室检测水平高低的重要指标, 不确定度越小, 说明检测结果越接近真实值, 反之, 检测结果就越偏离真实值。表 7 是本鉴定机构实验室与其他实验室在同一时间段关于血液中乙醇含量测定不确定度评定结果。

本机构实验室总不确定度计算后可表示为 $\bar{X} \pm (0.024 \times \bar{X})$, 其他实验室为 $\bar{X} \pm (0.05 \times \bar{X})$, “ \bar{X} ” 为检材血样 2 次平行测定的乙醇质量浓度的平均值。可见, 实验室间的不确定度差异会直接导致实验室间的血液中乙醇含量的检出值不同。

表 7 本机构实验室与其他实验室测量不确定度分量评定结果

不确定度类别	来源	相对标准不确定度分量	
		数值	
		本机构实验室	其他实验室
A	不同人员重复测定	3.87×10^{-3}	1.64×10^{-2}
B1	校准曲线	7.06×10^{-3}	4.70×10^{-3}
B2	对照品标准溶液纯度	7.15×10^{-3}	6.47×10^{-3}
B3	气相色谱仪	7.35×10^{-3}	1.47×10^{-2}
B4	移液器	1.29×10^{-3}	9.13×10^{-3}
B5	容量瓶	9.52×10^{-5}	6.88×10^{-4}
B6	电子天平称量	2.38×10^{-4}	2.19×10^{-4}

3 讨论与结论

通过对 7326 名涉嫌酒驾当事人的血液中乙醇检测数据进

行统计分析, 抽血时间与个体酒精代谢差异是导致血液中乙醇检测值与呼气值之间存在差异的重要因素。这主要是因为个体在饮酒半小时内, 酒精主要分布在口腔等呼吸道, 约 10% 的

酒精以汗液、尿液与呼气形式排出体外, 80%~90% 的酒精会被肝细胞中乙醇脱氢酶氧化分解成乙醛, 乙醛在乙醛脱氢酶的作用下氧化成乙酸, 最后乙酸经过三羧酸循环分解成水喝二氧化碳^[2]。个体遗传差异会产生乙醇脱氢酶与乙醛脱氢酶的表达数量、活性的差异, 表现为机体乙醇代谢与乙醇代谢酶表达基因多样性高度相关^[3]。个体饮酒后, 一般经约 1~1.5 小时体内血液中乙醇浓度达高峰^[4-5], 此后会按照每小时 0.10 mg 的消除速率下降直至完全消除, 且该消除率与个体的性别、年龄均无关。因此, 刚饮酒立即用呼气式酒精检测仪测的呼气值通常都比较高, 而抽血检测值一般都较低, 这是因为此时乙醇尚未完全进入到血液中; 若饮酒后 1.5 小时前后进行呼气检测, 此时血液中乙醇浓度检测值一般比呼气值偏高。

从尸体血实验结果可知, 尸体发生腐败后, 应首选采集股静脉血进行酒精检测, 当股静脉血无法提取时, 应提取完整心包内的血液, 避免采集到心腔积液。在酒精呼气值与检测值差异大于 0.70 mg/mL 的 37 例案例统计中, 也发现有 8 例心包血以及 4 例肝素钠管盛装的血液中乙醇检测值均大于 4 mg/mL, 表现为异常畸高。从法医学角度分析, 人死亡后, 乙醇会从胃中向其他组织器官、体液进行扩散, 其中心包腔内体液乙醇含量最高, 这也是单纯抽心包血检测出乙醇含量值异常偏高的主要原因^[6]。腐败尸体在微生物作用下会平行产生乙醇和正丙醇等产物, 也会造成尸体血中乙醇检测值的异常。可以通过检测正丙醇与乙醇含量之间关系来判定乙醇是机体生前饮入还是死后腐败生成, 血液中乙醇与正丙醇的比值大于 20, 可判为生前饮酒, 反之则考虑为死后生成, 尿液中未检出乙醇而在血液中检出, 则判为死后生成。此外, 乙基葡萄糖醛酸苷 (EtG) 和乙基硫酸酯 (EtS) 是活体人摄入乙醇的直接代谢物, 无法在死后的机体中代谢产生, 可作为判断死者是否生前饮酒的重要标志物。

出现肝素钠管盛装的血液中乙醇检测值畸高的情形, 经查证, 肝素钠生产工艺流程中最后一步需要用高浓度酒精 (一般为 95% 的乙醇) 脱水沉淀后再干燥, 若干燥不充分即会有酒精残留。这也印证了本文的实验结果, 在未经充分干燥的肝素钠抗凝管中加入不含乙醇的纯水和空白血, 摇匀后再测均可检出较高含量的乙醇。因此, 建议办案机关尽量采用 EDTA-K2 管储存血样。

国内外均有文献报道^[6-7] 采血使用含乙醇消毒剂会导致血液中乙醇含量增高的案例。本实验结果是在使用不含乙醇的无菌干燥棉签按压针口拔针情形下, 无论采血消毒剂中是否含有乙醇、且消毒后是否干燥, 血样均未受到污染, 这与 Mirte Malingré M 等^[8]、杜鹃等^[9] 的研究结果一致。在使用含 75% 乙醇的湿棉签按压针口拔针情形下, 前 4 组 (1~4 组) 所有血样也均未检出乙醇, 后 4 组 (5~8 组) 所有血样也显示未被污染, 这与杜鹃等^[9] 的实验结果不一致, 可能是采血后按压针口时顺着针头进入血液的乙醇量极小, 检测值低于本实验室仪器的检出限 (0.01 mg/mL), 从而观察不到乙醇含量值有明显的增高。

有研究表明^[10], 采用 EDTA-K2 抗凝管储存血液在 -20℃ 冷冻保存 90 天以内乙醇含量比较稳定, 90 天后检测值呈显著下降趋势; 在 4~8℃ 冷藏保存 14 天内乙醇含量基本稳定, 14 天后下降明显; 在 25℃ 和 35~42℃ 储存 3 天内乙醇含量基本

稳定, 3 天后显著下降, 这与本文实验结果基本一致。刘冬娴等^[11] 实验结果表明, 血样在 4℃ 冷藏条件下保存 15 天, 乙醇含量无明显变化; 在 -18℃ 冷冻条件下保存 60~120 天, 血液中乙醇含量均有不同程度的下降, 且下降比例与血样中乙醇含量高低有关, 血样中乙醇含量越低, 下降比例越大。

实验室血液中乙醇含量测定结果的不确定度主要来源于样品平行检测的误差、不同人员重复测定的误差、气相色谱仪、对照品标准溶液纯度以及校准曲线等。不同实验室由于不确定度测定值的差异, 会导致同一检材在不同实验室间的检测结果存在差异。因此, 需要定期对气相色谱仪等检测计量设备进行检定校准确认, 加强对标准溶液购买和使用的监管、保证标准对照品溶液的质量, 加强实验人员的技术培训和实验室质量控制, 尽可能使血液中乙醇含量检测结果接近客观真实值。

在酒驾查获现场, 办案机关对嫌疑人呼气检测后, 尽可能在 0.5 小时内进行抽血备检, 不建议使用肝素钠抗凝采血管盛装血液。血液样本在短时间内无法送检的, 血液样本应在 4~8℃ 冷藏保存, 长时间无法送检应置于 -18~-10℃ 冷冻储存。此外, 鉴定机构还应加强实验室质量控制和实验人员的业务培训, 提高实验室的检测水平和对异常检测值的科学分析能力。

参考文献

- [1] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. 血液、尿液中乙醇、甲醇、正丙醇、丙酮、异丙醇和正丁醇检验: GB/T 42430—2023 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2023.
- [2] EDENBERG HJ. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants [J]. *Alcohol Res Health*, 2007, 30(01): 5-13.
- [3] 叶懿, 陈帆, 卢翔, 等. 基因多态性、饮酒种类与乙醇代谢的相关性 [J]. *法医学杂志*, 2018, 34(02): 142-146.
- [4] 袁克明. 法医毒物动力学 [M]. 武汉: 人民卫生出版社, 2015.
- [5] 卓先义, 卜俊, 向平, 等. 血中酒精浓度的回推算研究 [J]. *中国法医学杂志*, 2010, 25(05): 345-347.
- [6] 卓先义, 卜俊, 向平, 等. 血液中乙醇检测结果的法医学分析 [J]. *中国司法鉴定*, 2010, (01): 22-25.
- [7] YIGIT O, ARSLAN S. Swabbing skin with alcohol could change the blood alcohol level significantly [J]. *J Emerg Med*, 2012, 43(04): 718-719.
- [8] MALINGRÉ M, VERVERS T, BOS S, *et al.* Alcohol swabs and venipuncture in a routine hospital setting: no effect on blood ethanol measurement [J]. *Ther Drug Monit*, 2005, 27(03): 403-404.
- [9] 杜鹃, 周枝凤, 刘源, 等. 采血消毒对血液中乙醇含量的影响 [J]. *中国法医学杂志*, 2015, 30(02): 192-193.
- [10] 涂国章, 张显强. 血液中乙醇含量测试影响因素筛选及模型建立 [J]. *中国刑警学院学报*, 2019, (03): 103-107.
- [11] 刘冬娴, 陈志伟, 贺江南. 酒后驾驶认定中血液样品检测时间对乙醇含量的影响 [J]. *刑事技术*, 2018, 43(06): 459-462.