

國立臺灣大學醫學院法醫學研究所



碩士論文

Institute of Forensic Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Master Thesis

採檢及保存條件對於血液檢體的酒精濃度測定之影響

Influence of Different Sampling and Storage Conditions on
Alcohol Concentration of Blood Samples

周佳選

Jia-Hsuan Chou

指導教授：翁德怡 博士

Advisor: Te-I Weng, M.D., Ph.D.

中華民國 102 年 6 月

June, 2013

誌謝

感謝翁德怡老師、陳珮珊老師以及郭宗禮老師在論文完成的過程當中給予我的指導，以及實驗室的成員蓉萱、坤城以及琬瀾對於我在實驗上的協助與支持。



中文摘要



之前的研究顯示，採檢體積未達建議容量，及抗凝劑或保存劑的種類之不同，其對於血液酒精濃度有可能造成影響。本實驗以外加酒精的方式於空白血液中，探討不同的採檢體積對於血液酒精濃度在分析上可能造成的誤差，結果顯示採檢體積越少，越有可能低估血液酒精濃度達 20 %。

臨床上採檢血液酒精濃度的標準作業方法，係採用含氟化鈉 (NaF) 抗凝劑的灰頭管採血以避免細菌發酵產生酒精，並在保持真空的狀態下儲存(室溫可穩定 2 天、於 2-8°C 可穩定 14 天)，但是在某些較為特殊的情況下並沒有氟化鈉 (NaF) 抗凝劑的檢體可供檢驗。之前的文獻認為不同的鹽類造成酒精因為鹽析效應以致造成誤差，可以用內標準品作為代償。本實驗以一般的臨床檢驗流程，在進入氣相層析質譜儀(GC-MS) 分析前才加入內標準品，探討鹽類可能造成的影響，結果顯示使用含有 Heparin 及 EDTA 的採血管其酒精濃度較接近外加的酒精濃度 (50 mg/dL)，而使用含有 NaF 的採血管相較於 EDTA 採血管則可能被低估達 10 %。

關鍵字：血液酒精濃度、採血管、採檢體積

ABSTRACT



According to the former reasearches, insufficient volume of blood sample and different types of collecting tubes may affect the analytical results of alcohol concentration. Our study showed that insufficient volume of blood sample leads to excess air space on the top of the tube where ethanol vapors and makes underestimation of blood alcohol concentration.

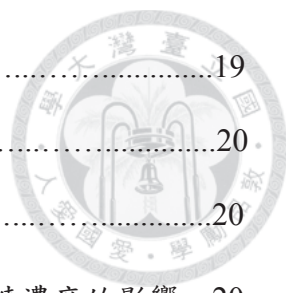
Sodium fluoride (NaF) collecting tubes can suppress glycolysis and ethanol formation is widely used for analysis of the blood alcohol concentration. In our study, comparison with NaF collecting tubes, blood alcohol concentration analysis using Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and Heparin tubes are more close to the expected value.

Keywords : Blood Alcohol Concentration 、 Collecting Tubes 、 Sample Volume

目錄



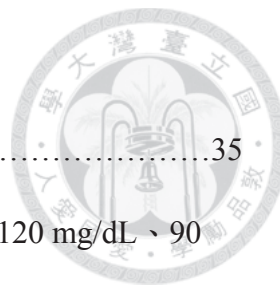
第一章 緒論	9
1. 前言.....	9
2. 文獻回顧.....	10
2.1 保存溫度對酒精檢測的影響.....	10
2.2 採血管的不同對於酒精檢測的影響.....	10
2.3 頂空法與 GC-MS 的應用.....	12
3. 研究動機.....	13
第二章 材料與方法.....	15
1. 實驗材料.....	15
1.1 血液樣本.....	15
1.2 標準品試劑.....	15
1.3 採血管.....	15
2. 實驗儀器設備.....	16
3. 實驗方法.....	16
3.1 實驗分組.....	16
3.2 分析方法.....	18
第三章 實驗結果.....	19
1. 方法確效.....	19
1.1 檢量線.....	19
1.2 Intraday Repeatability.....	19



1.3 Interday Reproducibility.....	19
1.4 LOD/LOQ.....	20
2. 檢體分析.....	20
2.1 第一組為研究採血管在分析前是否經過混合對血液酒精濃度的影響...20	
2.2 第二組為研究採檢體積對血液酒精濃度的影響.....	21
2.3 第三組為研究不同採血管對血液酒精濃度的影響.....	23
第四章 討論.....	25
1. 檢體混合與否對血液酒精濃度的影響.....	25
2. 採檢體積對血液酒精濃度的影響.....	26
3. 不同採血管對血液酒精濃度的影響.....	27
第五章 結論與建議.....	29
參考文獻.....	32

表目錄

表 1. Headspace GC 儀器設定.....	35
表 2. 檢量線 (300 mg/dL、240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL).....	36
表 3. Intraday Repeatability.....	37
表 4. Interday Reproducibility.....	38
表 5. LOQ, LOD.....	39





圖目錄

圖 1. 檢量線.....	40
圖 2. 標準品(乙醇)及內標準品(1-丙醇)滯留時間.....	41
圖 3. 標準品(乙醇)質譜圖.....	42
圖 4. 內標準品(1-丙醇)質譜圖.....	43
圖 5. 外加 50 mg/dL 乙醇, 靜置 24 小時不混合.....	44
圖 6. 外加 50 mg/dL 乙醇, 靜置 24 小時不混合、混合後靜置 10 分鐘、混合後不 靜置.....	45
圖 7. 外加 50 mg/dL 乙醇, 採檢體積 0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL.....	46
圖 8. 外加 50 mg/dL 乙醇, 採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL.....	47
圖 9. 外加 70 mg/dL 乙醇, 採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL.....	48
圖 10. 外加 180 mg/dL 乙醇, 採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL.....	49
圖 11. 外加 50 mg/dL 乙醇, 採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL 在 4°C 保存.....	50
圖 12. 外加 50 mg/dL 乙醇, 採用採血管灰頭(含 NaF)、藍頭(含 Citrate)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝.....	51
圖 13. 外加 50 mg/dL 乙醇, 採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝.....	52
圖 14. 外加 100 mg/dL 乙醇, 採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭 (含 EDTA)分裝.....	53
圖 15. 外加 200 mg/dL 乙醇, 採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭 (含 EDTA)分裝.....	54

第一章 緒論




1. 前言

酒精可以抑制人體中樞神經的運動。令反應減慢、影響動作協調、視力、集中力、認知能力等，從而導致嚴重車禍及傷亡[1][16][18]。血液酒精含量指血液中的酒精含量，通常以每 100 毫升多少毫克為單位表示 (mg/dL)。法定血液酒精含量標準指法律允許司機血液中酒精的最大含量，也是最直接且證明力最強的證據。

我國刑法第 185 條之 3 規定：「服用毒品、麻醉藥品、酒類或其他相類之物，不能安全駕駛動力交通工具而駕駛者，處一年以下有期徒刑、拘役或科或併科十五萬元以下罰金。」另外依據道路交通安全規則第 114 條第 2 款：「汽車駕駛人有下列情形之一者，不得駕車：一、連續駕車超過八小時。二、飲用酒類或其他類似物後其吐氣所含酒精濃度超過每公升〇·二五毫克或血液中酒精濃度超過百分之〇·〇五以上。」而根據警政署統計，民國 101 年取締酒駕件數達到 12 萬 4,620 件，比 100 年度增加 11,190 件、增加率達 9.87%，酒駕者酒精濃度超過 0.55 毫克而被移送地檢署法辦的案件，有 52,519 件，佔酒駕案件的 42.14%。顯見台灣酒駕情形仍層出不窮。而根據新修訂的道路交通安全規則第 114 條第 1 項第 3 款規定：自中華民國 102 年 1 月 1 日起，未領有駕駛執照、初次領有駕駛執照未滿 2 年之駕駛人或職業駕駛人駕駛車輛時，飲用酒類或其他類似物後其吐氣所含酒精濃度超過每公升 0.15 毫克或血液中酒精濃度超過百分之 0.03，不得駕車。對於剛領駕駛執照 2 年內的新手駕駛，如有飲酒駕車情形，採取了比其他駕駛人（吐氣酒精濃度每公升 0.25 毫克或血液中酒精濃度百分之 0.05）較為嚴格的執法標準

臨床上採檢血液酒精濃度的標準作業方法採用含氟化鈉 (NaF) 抗凝劑的灰頭管



採血以避免細菌發酵產生酒精，並在保持真空的狀態下儲存（室溫可穩定 2 天、於 2-8°C 可穩定 14 天），並以氣相層析法進行定量[2][3]。但是在某些較為特殊的情況下並沒有氟化鈉 (NaF) 灰頭管的檢體可供檢驗，例如一開始醫療單位沒有以灰頭管採血，而是以乙二胺四乙酸 (EDTA) 紫頭管或是肝素 (Heparin) 綠頭管採檢其他項目，事後發現須加做血液酒精濃度時，是否會因為採血管的不同而造成誤差則可能在司法調查時引起爭議。另外，採檢的體積差異造成採血管上端空間所能逸散的酒精氣體量不同，可能導致在血液中的酒精濃度測定上的誤差[12]。

本論文的實驗目的在於驗證不同的採血管、不同的採檢體積、吸取採血管中血液檢體的深度以及保存的溫度是否會造成誤差。


2. 文獻回顧

2.1 保存溫度對酒精檢測的影響

Winek 在 1996 年的 *Forensic Sci. Int.* Vol.78 以「The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration」為題[6]，發表關於不同溫度的儲存條件對於血液酒精濃度的影響，並證明溫度並非影響血液酒精濃度的主要因素，但在高於室溫（26~37°C）且儲存 35 天時，分析測得的血液酒精濃度會下降約 19%。


2.2 採血管的不同對於酒精檢測的影響

Jones AW 在 2003 年的 *Medicine, Science and the Law*, vol.43[7]發表針對「Blood analysis by headspace gas chromatography: does a deficient sample volume distort ethanol concentration?」的探討與實驗研究。關於 1988 年的一樁交通意外中，筆事者的辯護律師以氟化鈉 (NaF) 灰頭管中的血液檢體量不足造成氟化鈉過量，導致



鹽析效應造成血液酒精濃度的頂空氣相層析儀 (Headspace Gas Chromatography, HS-GC) 分析結果被高估作為抗辯，最後肇事者無罪釋放。作者認為檢體量不足的確有可能使採血管上端空間中的酒精濃度增加，但不代表經過頂空氣相層析儀分析的酒精濃度也會變高，原因是添加了內標準品正丙醇 (n-propanol) 並以酒精和正丙醇 (n-propanol) 的比值來作為估計，抵銷了鹽析效應造成的影響。為了避免凝血或是為了檢測特定項目，採血管中通常會在每 10 mL 的容量中加入 100 mg 的抗凝劑或是保存劑。以 NaF 採血管為例，如果待分析的檢體採血量不足(僅部分填充)，則此時檢體中的 NaF 濃度會比血液全部填充時更高。而根據廠商的參考資料(The Merck Index, 12th edition)，NaF 在 20 °C 時溶解度是 4.0 g/100 mL (4%)，也就是說當採血管中的血量少於 2.5mL 時 NaF 會達到飽和。經過實驗後得到的結論是：NaF 採血管的所測得的血液酒精濃度因為以內標準品參與定量，不但抵銷了 NaF 的飽和產生的鹽析效應，相較於 Heparin 採血管測得的血液酒精濃度還會相對的降低 2~3%。

之後 David M. Penetar 等人在 Journal of Analytical Toxicology, Vol. 32, September 2008[10]中以三位白人女性和兩位白人男性為樣本，分別在飲酒前 60 分鐘以及飲酒後 20、40、60、120 及 180 分鐘時採血，並將血液立刻分出 10mL 加入不含抗凝劑的紅頭試管中，而含 EDTA 抗凝血劑試管、含 NaF 防腐劑 30 mg(gray-top-1，血清用)及含 NaF 防腐劑 15 mg 合併 12 mg 草酸鉀的試管(gray-top-2，血漿用)各注入 7 mL 的血液樣本。血漿用的檢體(EDTA 及 gray-top-2)經過離心 3500 rpm 15 分鐘後，吸取上層根據不同條件進行儲存。血清用的檢體(紅頭試管和 gray-top-1)室溫下產生 clot 後，離心 3500 rpm 15 分鐘。全血的檢體 (EDTA 及 gray-top-2)。



種儲存的條件如下：採檢後 6 小時內分析、室溫儲存 24 小時後分析、室溫儲存 10 天後分析、4°C 儲存 10 天後分析。冷藏的檢體在分析前要回到室溫，震盪混合(vortex) 並且再次離心 3500 rpm 5 分鐘。全血檢體則是上下混合 8~10 次。結果顯示，平均而言血漿和血清的酒精濃度比全血的酒精濃度高約 11%，而血漿和血清之間的酒精濃度沒有明顯差異。儲存條件方面也沒有造成酒精濃度的明顯差異，但在放了 10 天的組別酒精濃度有輕微下降的趨勢。不同的採血管對酒精濃度也沒有顯著的影響，有沒有含抗凝劑或保存劑的組別間沒有差異。飲酒後採檢的時間在 40 分鐘和 60 分鐘時出現，之後下降。作者認為血漿和血清的酒精濃度較高和之前其他作者的實驗結果類似，而不同的採血管並不會影響酒精的濃度分析。

2.3 頂空法與 GC-MS 的應用

A W JONES 等人在 *Medicine Science and the Law*. 2003 中以 "Blood Analysis by Headspace Gas Chromatography: Does a deficient sample volume distort ethanol concentration?" 為題[7]，提及關於 HS-GC 用於酒精測定的方法大致上是以亨利定律為基礎，也就是在密閉的容器中，物質的氣態和液態之間的比值，如酒精可溶於水，溶解後的酒精同時也會回到空間中 (25°C 時乙醇飽和蒸氣壓 75 torr = 75 mmHg，通常物質的蒸氣壓大於 0.1 mmHg 被認為具有揮發性)；而在溶劑也就是水的部分，也同時有蒸發成為氣態的水蒸氣，和水蒸氣液化回到水的過程。當這個過程達到動態平衡後，液相為酒精與和水形成的溶液，而氣相為酒精和水蒸氣的混合物。對於這種體系，氣體在液體中的溶解度與氣體的平衡分壓成正比，比值為常數，即亨利定律的表現。

$$\frac{\text{物質在溶液內的濃度 Concentration of substance in the liquid phase(CL)}}{\text{物質在空間中的濃度 Concentration of substance in the air phase(CA)}}$$

$$= \text{常數 Partition constant(K)}$$

而頂空法 (Headspace GC/MS) 中所得到的波峰積分面積則和物質 (本研究中為酒精和內標準品 1-Propanol) 的濃度成正比[7][11][17]，所以實際上不需要知道常數 Partition constant(K) 是多少，且假設分配係數的表現在水 (檢量線的基質) 和血液 (待測物的基質) 中是一樣的。在製作檢量線時，vial 中標準品稀釋過後的酒精濃度是已知的，而經過分析之後可測得在 vial 的 air space 中，氣態的酒精通過 GC/MS 所產生的圖譜和波峰下的積分面積。因此，以酒精和內標準品 1-Propanol 積分面積的比值對已知濃度作圖可以得到檢量線，而血液中的酒精濃度也可以藉此方法分析。

挑選製作檢量線的濃度必須涵蓋待測物的濃度，以乙醇對正丙醇的波峰積分面積比值為 Y 軸，已知的酒精濃度為 X 軸作圖，藉此得到檢量線[11]。

3.研究動機

由於台灣的司法審判已漸漸走向交互詰問制度，對於證據的要求更加嚴格，生物檢體的採集不符合標準作業流程或是沒有一致的採檢、保存及分析方法，將會使證據的證明力大幅下降甚至不被採信。實務上，待測酒精的法醫檢體多由胸腔液或心臟血得到，且並未封裝採血管中，甚至常溫保存；如果是由醫院得到的證物，雖然大多保存在採血管內且冷藏，但難免會有已開封或是檢體量不足的情形。

本研究著重於採檢量不同造成採血管上端剩餘空間的體積不同，是否可能因此使乙醇蒸發總量不同而影響留存在血液中的酒精濃度。而根據 Clausius–Clapeyron

relation, 物質的蒸氣壓隨著溫度非線性增加, 因此推測如果降低儲存的环境溫度, 進一步探討控制溫度是否可以抵消採檢量差異的影響。

除了採檢體積可能造成血液酒精分析的差異, 之前的研究也顯示不同的抗凝劑會造成分析血液酒精濃度時的差異, 因此本研究以添加 NaF、Heparin、EDTA 和 Citrate 等四種抗凝劑或保存劑的採血管分別進行實驗, 分析是否對血液酒精濃度的測定造成影響。

第二章 材料與方法



1. 實驗材料

1.1：血液樣本

血液樣本從單一自願受試者採取，以避免基質效應如血容比、血脂肪等物質可能造成的差異。受試者從前一天晚間 10 點後禁食，避免抽血時受試者處於高血糖和高血脂的狀態，取周邊靜脈血並以無菌技術處理，依照所需乙醇濃度外加酒精後迅速混合，並按實驗組別之需求分裝。

1.2：標準品試劑

1.2.1. 乙醇標準品(C_2H_5OH ；Ethanol)：99.5% GC 級絕對酒精、已知濃度標準品 300mg/dL、80mg/dL、50mg/dL，Sigma-Aldrich 製造。

1.2.2. 1-丙醇標準品(C_3H_7OH ；1-propanol)：99.9%，Allied Signal 製造。於本研究中將 50ul 99.9%的 1-propanol 加入 50mL ddH₂O 泡製成濃度 80mg/dL 的溶液作為內標準品使用。

1.3：採血管

1.3.1. EDTA："BD" Vacutainer™ EDTA Blood Collection Tubes

1.3.2. NaF：BD Vacutainer™ Plastic Plasma Tube with Glycolytic Inhibitor

1.3.3. Heparin：BD Vacutainer™ Sodium Heparin Blood Collection Tubes

1.3.4. Citrate：BD Vacutainer™ Plus Plastic Citrate Tubes



2. 實驗儀器設備

2.1：頂空氣相層析儀系統(Headspace Gas Chromatography)：由 Agilent 公司製造。(表 1.)

2.1.1. 頂空進樣器：HP7694E Headspace Autosampler。

2.1.2. 氣相層析儀：HP6890 GC system，包括樣品注入系統(Injector)、分離管柱(Column)、烘箱。

2.2：層析管柱：INNOWAX，JW 公司製造，長 30m，內徑 0.32mm，film 0.5 μ m

2.3：載流氣體：He

2.4：分析軟體：Chemestation

3. 實驗方法

3.1 實驗分組

3.1.1 第一組為研究採血管在分析前是否經過混合，對血液酒精濃度測定產生的影響。

3.1.1.1 採血並外加酒精至 50mg/dL 之後，分裝至三支 EDTA 管中，每管各 3mL，靜置 24 小時後產生分層，分別在上層距液面 0.5cm、中間 buffy coat、以及距底部 0.5cm 等三處吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.1.2 採血並外加酒精至 50mg/dL 之後，分裝至三支 EDTA 管中，每管各 3mL，靜置 24 小時後於分析前混合 5 分鐘再靜置 10 分鐘，分別在上層距液面 0.5cm、中間白血球層(buffy coat)、以及距底部 0.5cm 等三處吸取 200 μ l 的

血液加入 GC 分析用的玻璃管(vial)，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.1.3 採血並外加酒精至 50mg/dL 之後，分裝至三支 EDTA 管中，每管各 3mL，靜置 24 小時後於分析前混合 5 分鐘，不待靜置立即分別在上層距液面 0.5cm、中間 buffy coat、以及距底部 0.5cm 等三處吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.2 第二組為研究不同的採血量對血液酒精濃度分析的影響

3.1.2.1 採血並外加酒精至 50mg/dL 之後，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.2.2 採血並外加酒精 55mg/dL，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.2.3 採血並外加酒精至 70mg/dL，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.2.4 採血並外加酒精至 180mg/dL，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.2.5 採血並外加酒精至 50mg/dL，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，4 $^{\circ}$ C 靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。



3.1.3 第三組為研究不同的採血管對血液酒精濃度分析的影響

3.1.3.1 採血並外加酒精至 50mg/dL 之後，依含不同抗凝劑或保存劑的採血管(NaF /Citrate/Heparin/EDTA)，各 2mL 分別分裝，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol。

3.1.3.2 採血並外加酒精至 200mg/dL 之後，依含不同抗凝劑或保存劑的採血管(NaF、Heparin 及 EDTA)，室溫靜置 24 小時之後混合，吸取 200 μ l 的血液加入 GC 分析用的 vial，並加入內標準品 1-propanol 各 2mL 分別分裝。

3.2 分析方法

3.2.1 將 vial 放入頂空自動進樣器，以 GC-MS 進行分析得到乙醇和正丙醇的波峰下積分面積，以 EtOH 對 1-Propanol 的比值對照檢量線得到待測血液酒精濃度。

第三章 實驗結果



1. 方法確效

1.1 檢量線

以濃度 300 mg/dL 的標準品，分別稀釋至濃度 240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL，吸取 200 μ l 的溶液加入 vial 中並添加 200 μ l 的 1-Propanol (80 mg/dL)作為內標準品，得到檢量線之 $RSQ = 0.99919$ 。(表 2.)(圖 1.)

1.2 Intraday Repeatability

以濃度 300 mg/dL 的標準品，分別稀釋至濃度 240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL，吸取 200 μ l 的溶液加入 vial 中並添加 200 μ l 的 1-Propanol (80 mg/dL)作為內標準品，重複三次後得到各濃度之 CV(%)值依序為 2.43%、1.17%、6.43%、0.57%、2.72%、0.40%、1.67%、1.43%、1.86%、12.53%。(表 3.)

1.3 Interday Reproducibility

以濃度 300 mg/dL 的標準品，分別稀釋至濃度 240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL，吸取 200 μ l 的溶液加入 vial 中並添加 200 μ l 的 1-Propanol (80 mg/dL)作為內標準品，連續三天重複後得到各濃度之 CV(%)值依序為 6.82%、4.37%、4.01%、2.93%、3.95%、2.77%、1.93%、2.92%、1.66%、1.55%。(表 4.)

1.4 LOD / LOQ

以濃度 5 mg/dL 時，EtOH 的質譜設定定性離子為 m/z 45，定量離子為 m/z 31(圖 2.)，前者與後者之離子比值為 0.841，將標準品稀釋至 0.12 mg/dL 時，重複三次分析並計算質譜中所得到的離子比值，分別為 0.814、0.858、0.928，都落在 0.841 的 $\pm 20\%$ 的區間內(0.673~1.009)。三次分析的波峰下積分面積分別為 41711、43927、39939，CV(%)值為 4.77%。因此 LOD 及 LOQ 定為 0.12 mg/dL。(表 5.)

2. 檢體分析

2.1 第一組為研究採血管在分析前是否經過混合對血液酒精濃度的影響

2.1.1 靜置不混合 (圖 5.)

在靜置 24 小時後，檢體會因為重力的關係而分層，此時檢體內的酒精也會重新分布。在不混合的情況下進行了 7 組實驗，分別在上層、中層以及下層各吸取 200 μ l 的血液進行後續的分析，上層血液酒精濃度平均為 57.49 ± 2.03 mg/dL，中層血液酒精濃度平均為 45.56 ± 4.56 mg/dL，下層血液酒精濃度平均為 39.25 ± 6.49 mg/dL。

2.1.2 靜置不混合、混合後靜置 10 分鐘、混合後不靜置的差別 (圖 6.)

靜置 24 小時後在不混合、混合後靜置 10 分鐘、混合後不靜置三種情況下各進行了 3 組實驗，分別在上層、中層以及下層各吸取 200 μ l 的血液進行後續的分析。靜置 24 小時的血液在上層、中層以及下層的酒精濃度平均值分別為 57.11 ± 2.74 mg/dL、 47.11 ± 1.23 mg/dL 和 44.24 ± 2.17 mg/dL。混合後靜置 10 分鐘的血液在上層酒精濃度平均值為 49.29 ± 0.79 mg/dL，中層血液酒精濃度平均值為 $50.72 \pm$

0.79 mg/dL，下層血液酒精濃度平均值為 51.33 ± 0.65 mg/dL。混合後不靜置的上層血液酒精濃度平均值為 48.20 ± 1.69 mg/dL，中層血液酒精濃度平均值為 48.87

\pm

1.93 mg/dL，下層血液酒精濃度平均值為 49.28 ± 1.56 mg/dL。

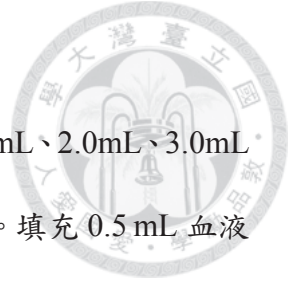
2.2 第二組為研究採檢體積對血液酒精濃度的影響

2.2.1 外加酒精 50 mg/dL 組 (圖 7.)

採血並外加酒精至 50 mg/dL 之後，依體積 0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 7 組實驗，填充 0.5mL 血液的樣品酒精濃度平均為 40.63 ± 2.18 mg/dL，填充 1.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 42.28 ± 2.12 mg/dL，填充 2.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 45.38 ± 3.28 mg/dL，填充 3.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 48.45 ± 2.54 mg/dL。

2.2.2 外加酒精 55 mg/dL 組 (圖 8.)

採血並外加酒精至 55 mg/dL 之後，依體積 0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、3.0 mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 3 組實驗。填充 0.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 39.33 ± 3.61 mg/dL，填充 1.0 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 42.88 ± 6.70 mg/dL，填充 1.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 44.29 ± 7.28 mg/dL，填充 2.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 46.21 ± 7.31 mg/dL，填充 3.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 54.44 ± 1.14 mg/dL。



2.2.3 外加酒精 70 mg/dL 組 (圖 9.)

採血並外加酒精至 70 mg/dL 之後，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 4 組實驗。填充 0.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 51.61 ± 7.84 mg/dL，填充 1.0 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 57.25 ± 5.24 mg/dL，填充 1.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 58.83 ± 6.60 mg/dL，填充 2.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 64.61 ± 6.17 mg/dL，填充 3.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 66.95 ± 2.85 mg/dL。

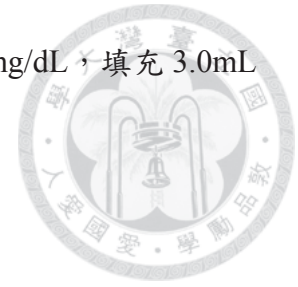
2.2.4 外加酒精 180 mg/dL 組 (圖 10.)

採血並外加酒精至 180 mg/dL 之後，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 6 組實驗。填充 0.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 130.60 ± 6.83 mg/dL，填充 1.0 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 128.01 ± 7.49 mg/dL，填充 1.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 134.19 ± 7.57 mg/dL，填充 2.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 142.80 ± 16.02 mg/dL，填充 3.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 176.20 ± 2.15 mg/dL。

2.2.5 外加酒精 50 mg/dL，4°C 保存組 (圖 11.)

採血並外加酒精至 50 mg/dL 之後，依體積 0.5mL、1.0mL、1.5mL、2.0mL、3.0mL 分裝，4°C 靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 4 組實驗。填充 0.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 50.41 ± 1.09 mg/dL，填充 1.0 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 47.71 ± 4.29 mg/dL，填充 1.5 mL 血液的樣品酒精濃度平均為 48.46 ± 1.65

mg/dL，填充 2.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 48.27 ± 1.05 mg/dL，填充 3.0mL 血液的樣品酒精濃度平均為 48.00 ± 2.25 mg/dL。



2.3 第三組為研究不同採血管對血液酒精濃度的影響

2.3.1 外加酒精至 50 mg/dL (一) (圖 12.)

採血並外加酒精至 50 mg/dL 之後，依灰頭(含 NaF)、藍頭(含 Citrate)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 5 組實驗。灰頭(含 NaF)管平均血液酒精濃度為 43.46 ± 3.28 mg/dL，藍頭(含 Citrate)管平均血液酒精濃度為 42.89 ± 2.31 mg/dL，綠頭(含 Heparin)管平均血液酒精濃度為 48.22 ± 1.79 mg/dL，紫頭(含 EDTA)管平均血液酒精濃度為 48.34 ± 1.49 mg/dL。

2.3.2 外加酒精至 50 mg/dL (二) (圖 13.)

採血並外加酒精至 50 mg/dL 之後，依灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 6 組實驗。灰頭(含 NaF)管平均血液酒精濃度為 46.12 ± 0.93 mg/dL，綠頭(含 Heparin)管平均血液酒精濃度為 49.64 ± 0.47 mg/dL，紫頭(含 EDTA)管平均血液酒精濃度為 48.22 ± 0.80 mg/dL。

2.3.3 外加酒精至 100 mg/dL (圖 14.)

採血並外加酒精至 100 mg/dL 之後，依灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 4 組實驗。灰頭(含

NaF)管平均血液酒精濃度為 88.16 ± 2.36 mg/dL，綠頭(含 Heparin)管平均血液酒精濃度為 98.14 ± 2.02 mg/dL，紫頭(含 EDTA)管平均血液酒精濃度為 95.40 ± 4.45 mg/dL。



2.3.4 外加酒精至 200 mg/dL (圖 15.)

採血並外加酒精至 200 mg/dL 之後，依灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝，室溫靜置 24 小時之後混合後進行分析，共進行 3 組實驗灰頭(含 NaF)管平均血液酒精濃度為 184.01 ± 2.59 mg/dL，綠頭(含 Heparin)管平均血液酒精濃度為 193.51 ± 2.62 mg/dL，紫頭(含 EDTA)管平均血液酒精濃度為 192.81 ± 1.18 mg/dL。

第四章 討論



1. 檢體混合與否對血液酒精濃度的影響

第一組實驗中，為了探討進行血液酒精濃度分析前，採血管中的檢體是否經過前處理而成為均質化的狀態，對於分析結果的影響。在靜置的過程當中，血液中大部分的固態的物質如血球，會集中到底層，上層則為水分較多的血漿(有加抗凝劑)或血清(未加抗凝劑)。之前的研究顯示，因為乙醇在水中的分配係數較高，所以在分離血漿進行酒精濃度分析時會得到較高的數值[8]，而本實驗則推測因為乙醇的密度較低，在靜置 24 小時後會產生集中到上層的現象，因此在採血管的上端距液面 0.5 公分處、中間白血球層(buffy coat)以及底部距管底 0.5 公分處採檢會產生不同的結果。在外加酒精 50mg/dL 的組別，上端血液進行酒精分析時得到的結果平均為 57.49 ± 2.03 mg/dL，明顯高估了原本的血液酒精濃度達 15%；而中層血液得到的結果為平均為 45.56 ± 4.56 mg/dL，較為接近 50mg/dL；而底部的血液酒精濃度平均則為 39.25 ± 4.56 mg/dL，低估的幅度達 21%。

為了確認充分混合檢體可以消除這種濃度不均的狀況，接下來以混合為應變變因進行實驗，發現混合過後直接進行分析，與混合過後靜置 10 分鐘就進行分析的組別，血液酒精濃度並不會因為採用上端、中層或底部而出現明顯差異。

因此在這部分的實驗，可以確認在採檢後如果無法立刻進行分析而儲存檢體，則在進行分析前必須將混合的步驟確實執行(本實驗為混合 5 分鐘)，可避免檢體內的酒精濃度產生梯度，造成低估或高估的誤差。




2. 採檢體積對血液酒精濃度的影響

醫院的常規檢查流程通常能夠採取足夠的檢體，建議容量依各型採檢管有所不同。但在法醫學上收到的檢體證物可能會有因為部分檢體已進行分析，導致剩餘檢體體積不足的狀況。由於酒精極易揮發(25°C時乙醇飽和蒸汽壓 75 torr = 75 mmHg，通常物質的蒸氣壓大於 0.1 mmHg 被認為具有揮發性)，在這種情形下，推測檢體量不足可能會導致乙醇蒸氣累積在採血管上端的量變多，也就是留存在血液中的乙醇量變少，也就導致血液酒精濃度被低估。


為了驗證這個假設，本實驗在室溫環境外加不同的濃度 (50 mg/dL、55 mg/dL、70 mg/dL、180 mg/dL)，調整不同的分裝體積 (0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、3mL)並在達到平衡後(靜置 24 小時)進行實驗分析。結果顯示採檢體積越少，血液酒精濃度的平均值和預期的理想值相差越多，且濃度越高差距越大。

根據 Clausius–Clapeyron relation，物質的蒸氣壓都隨著溫度非線性增加，因此推測如果降低儲存的环境溫度，乙醇的蒸氣壓也隨之降低，將可使採檢體積差異造成的血液酒精分析誤差降低。因此在低溫環境(4°C)外加不同的濃度(50 mg/dL、55 mg/dL、70 mg/dL、180 mg/dL)，調整不同的分裝體積(0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、3mL)並在達到平衡後(靜置 24 小時)進行實驗分析，結果顯示在外加 50 mg/dL 組別的差距不大，而高濃度(180 mg/dL)組別雖然血液酒精濃度仍然因為體積變少而降低，但與室溫環境下的組別相比差距仍然明顯變小。因此本實驗認為，血液酒精濃度會隨著採檢量降低而被低估，但此一誤差會因為環境溫度下降而減少。

3. 不同採血管對血液酒精濃度的影響



為了避免凝血或是為了檢測特定項目，採血管中通常會在每 10 mL 的容量中加入 100 mg 的抗凝劑(如 EDTA 或 heparin)或是保存劑(酵素抑制劑如 NaF)。含有 NaF 保存劑的可以抑制 Enolase，進一步抑制糖解作用。由於採血過程或是血液遭受污染時，存在血液中的細菌可以利用葡萄糖進行無氧發酵而製造酒精，因而使血糖下降，乙醇量上升，故使用添加 NaF 的採血管可以避免此一情形。因此，臨床上檢驗血糖或是血液酒精濃度多用 NaF 的灰頭採血管。David M. Penetar 等人在 Journal of Analytical Toxicology, Vol. 32, September 2008 認為在血漿和血清的酒精濃度會比全血的酒精濃度高，但是不同的採血管之間差距不大。本研究使用全血以及含 NaF、Heparin 和 EDTA 的採血管進行實驗，整體而言 NaF 灰頭管的分析結果酒精濃度稍低，在低濃度的組別雖然相差不大 (NaF 管平均血液酒精濃度 43.46 ± 3.28 mg/dL，Heparin 管平均血液酒精濃度為 48.22 ± 1.79 mg/dL，EDTA 管平均血液酒精濃度為 48.34 ± 1.49 mg/dL)，但隨著酒精濃度提高，此一差距也隨之擴大(NaF 管平均血液酒精濃度為 184.01 ± 2.59 mg/dL，綠頭(含 Heparin)管平均血液酒精濃度為 193.51 ± 2.62 mg/dL，紫頭(含 EDTA)管平均血液酒精濃度為 192.81 ± 1.18 mg/dL)。本研究認為，和過往研究結果不同的主要因素，在於內標準品加入的時機。國外的標準作業流程[4]為實驗一開始就加入內標準品(1-丙醇)，在儲存和分析的過程當中如果以純因為其物理性質或化學性質造成逸散，可以性質相近的 1-丙醇作內部控制，以比值作為定量標準，因此若有逸散則乙醇和 1-丙醇散失的比例相當；本研究在進入氣相層析儀分析前才加入 1-丙醇，因此可以反映乙醇在採血管中因為溫度或鹽析效應而造成和預期值的差異，且此一步驟多為目前國內臨床檢驗之作法，有



可能造成血液酒精濃度低估的狀況。目前臨床上檢測血液酒精濃度的標準作業流程須採用含氟化鈉 (NaF) 抗凝劑的灰頭管採血，可避免細菌發酵產生酒精影響分析結果[2][3]。但是在某些較為特殊的情況下並沒有氟化鈉 (NaF) 灰頭管的檢體可供檢驗，例如一開始醫療單位沒有以灰頭管採血，而是以乙二胺四乙酸 (EDTA) 紫頭管或是肝素 (Heparin) 綠頭管採檢其他項目，再以剩餘檢體做血液酒精分析，都有可能導致血液酒精分析的結果不同。


第五章 結論與建議



酒醉駕駛或酒後駕駛 (Driving under the influence, DUI) 指的是在酒精或酒類飲品影響下控制並駕駛車輛[16][18]。我國現行法律對於酒後駕車的規範包括：血液酒精濃度 0.03% 以上未滿 0.05% 者罰鍰新台幣 15,000 至 90,000 元，吊扣駕照一年；0.05% 以上者吊扣駕照一年，並依公共危險罪移送法辦，處兩年以下有期徒刑（不得易科罰金），得併科新台幣 20 萬元以下罰金。肇事致人重傷者，處一年以上、七年以下有期徒刑；肇事致人於死者，處三年以上、十年以下有期徒刑。（均吊銷駕照並終身不得考領），因此測定血液酒精濃度經常成為司法訴訟爭議的焦點。由於交通法規對酒後駕車的罰責在近日修法後明顯加重，酒後駕車的標準也大幅降低，再加上保險公司對酒後肇事大都不予理賠，因此血液酒精濃度測定的結果就顯得格外重要與敏感。實務上，酒精濃度的測定其實存在許多變數，從檢體採集時機、採集方法及部位、檢體保存方式、受檢者的代謝能力及檢驗方法等都可能使檢驗結果產生變數。

乙醇因為物理性質極易揮發，因此在臨床的採檢定量容易造成誤差，因而在成為司法調查的證據時，可能導致認定上的歧異。本研究的主要結論在於分析的前處理必須充分混合以避免採血管內局部高濃度或低濃度，產生高估或低估的現象；採檢體積應足夠建議的採血量，避免上端空間累積過多的乙醇蒸氣導致血液酒精濃度被低估。

在以不同的採血管進行血液酒精分析的實驗中，各類型的採血管之分析結果誤差不大，外加酒精至 50 mg/dL 時，NaF 管平均血液酒精濃度 43.46 ± 3.28 mg/dL，Heparin 管平均血液酒精濃度為 48.22 ± 1.79 mg/dL，EDTA 管平均血液酒精濃度



為 48.34 ± 1.49 mg/dL)。隨著酒精濃度提高，此一差距也隨之擴大，外加酒精至 200 mg/dL 時 NaF 管平均血液酒精濃度為 184.01 ± 2.59 mg/dL，Heparin 管平均血液酒精濃度為 193.51 ± 2.62 mg/dL，EDTA 管平均血液酒精濃度為 192.81 ± 1.18 mg/dL。由此可見當血液酒精濃度提高時，NaF 灰頭採血管相對於 EDTA 紫頭採血管及 Heparin 綠頭採血管，血液酒精濃度的分析結果較低，誤差可達 10%。由於本實驗使用臨床上常用的採血管，僅能就同樣的採檢體積進行比較，將來可進一步配製含相同濃度的抗凝劑或保存劑的血液檢體，在相同的添加物濃度下進行比較更能看出不同抗凝劑對於血液酒精檢體之分析結果的影響。

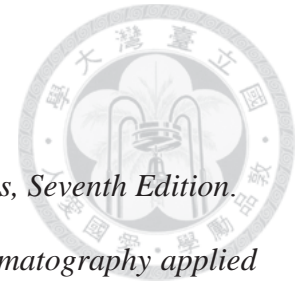
目前台灣臨床上檢測酒精的方法有生化儀測定菸鹼醯胺腺嘌呤二核苷酸 (Nicotinamide adenine dinucleotide, NADH) 的吸光值或是以氣相層析儀進行定量。前者由於非直接測定血液酒精濃度，而是以代謝產物做為標的，因此易受其它同樣產生 NADH 產物的代謝路徑干擾；而以氣相層析儀或氣相層析質譜儀可直接測定酒精濃度，相對而言較為準確且不易受干擾。但目前對血液酒精檢測的採檢及保存條件仍有相當歧異，以採血管為例，國外文獻及作業規範皆以含氟化鈉(NaF)保存劑之灰頭真空管做為血液酒精分析的採血管，但以本研究的結論而言卻有可能低估實際的血液酒精濃達 10%；而部分單位以含乙二胺四乙酸 (Ethylene- diamine-tetraacetic acid, EDTA) 之紫頭管進行血液酒精之分析，以本研究的結論固然較接近實際預期的血液酒精濃度，但若有細菌汙染的情況，以之前的研究顯示無法避免細菌在管內行無氧呼吸產生額外的酒精而造成血液酒精濃度高估的情形[13]。

綜合以上實驗結果，在以含抗凝劑的採血管進行血液酒精的採檢及分析時，以 EDTA 採血管依照建議的採檢量 3 mL (臨床上以真空採血法，即等採血管自動停


止吸取血液)，立即混合後進行封裝與分析所得到的結果最接近預期的血液酒精濃度，但如無法及時進行分析，則必須以 NaF 採血管進行採血並儲存在 4°C，以避免雜菌汙染產生內生性的酒精。

本研究的基質為全血，為將個別血液樣本之間基質效應的差異降到最低，皆採用同一來源。為求血液酒精濃度的預期值，採用外加酒精的方式，將來可進一步以實際飲酒後抽血的血液檢體作為分析樣本，並在抽血後立刻進行分析以求得血液酒精濃度分析的預期值，再接著進行各種保存及採檢條件的變因控制。

參考文獻



- [1] Casarett and Doull's Toxicology - *The Basic Science of Poisons, Seventh Edition.*
- [2] Jones AW, Schuberth J . *Computer-aided headspace gas chromatography applied to blood-alcohol analysis: importance of online process control.* Journal of Forensic Sciences, 1989. Vol 34, p.1116-1127.
- [3] T Macchia, R Mancinelli, S Gentili, EC Lugaresi, A Raponi, F Taggi. *Ethanol in biological fluids: headspace GC measurement.* J Anal Toxicol, 1995. Vol. 19, p.241-246.
- [4] LA sheriff's department scientific services bureu. *Forensic alcohol analysis of blood and urine samples by headspace gas chromatography.*
- [5] Jones AW, Anderson L. *Influence of age, gender, and blood-alcohol concentration on the disappearance rate of alcohol from blood in drinking drivers.* J Forensic Sci, 1996. Vol. 41, p.922–926.
- [6] T. Winek, C.L. Winek, and W.W. Wahba. *The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration.* Forensic, Sci. Int, 1996. Vol. 78, p.179–185.
- [7] Jones AW, Fransson M. *Blood analysis by headspace gas chromatography: does a deficient sample volume distort ethanol concentration?* Medicine, Science and the Law, 2003. Vol. 43, p. 241-247.
- [8] Yun-Seng Giang, Ph.D. Sheng-Meng Wang, Ph.D. Chung-Chih Tsai, M.S. Ming-Chang Lee, M.S. Chip-Jin Ng, M.D. *Analyzing alcohol in breath, blood, saliva, and urine for forensic purposes: Taiwanese population.* Forensic Science Journal, 2007. Vol. 6, p. 1–19.

- 
- [9] Stojan Petković, Slobodan Savić, Dragana Zgonjanin¹ and Isidora Samojlik. *Ethanol Concentrations in Antemortem Blood Samples Under Controlled Conditions*. *Alcohol & Alcoholism*, 2008. Vol. 43, p. 658–660.
- [10] David M. Penetar, Jane F. McNeil, Elizabeth T. Ryan, and Scott E. Lukas. *Comparison Among Plasma, Serum, and Whole Blood Ethanol Concentrations: Impact of Storage Conditions and Collection Tubes*. *Journal of Analytical Toxicology*, 2008. Vol. 32, p.505–510.
- [11] Nicholas B. Tiscione, Ilene Alford, Dustin Tate Yeatman. *Ethanol Analysis by Headspace Gas Chromatography with Simultaneous Flame-Ionization and Mass Spectrometry Detection*. *Journal of Analytical Toxicology*, 2011. Vol. 35, p.501–511.
- [12] Rod G. Gullberg. *Estimating the Measurement Uncertainty in Forensic Blood Alcohol Analysis*. *Journal of Analytical Toxicology*, 2012. Vol. 36, p.153–161.
- [13] Yajima D, Motani H, Kamei K, Sato Y, Hayakawa M, Iwase H. *Ethanol production by Candida albicans in postmortem human blood samples: effects of blood glucose level and dilution*. *Forensic Science International*, 2006. Vol. 164, p.116–121.
- [14] Skoog, 儀器分析精華版, 2007.
- [15] 中華民國行政院環境保護署環境檢驗所, 環境檢驗室減量限制備及確認指引, 2007.
- [16] Raymond C. Pecka, Michael A. Gebersb, Robert B. Voasa, Eduardo Romanoa. *The relationship between blood alcohol concentration (BAC), age, and crash risk*. *Journal of Safety Research*, 2008. Vol.39, p.311–319
- [17] Gottfried Machata. *The advantages of automated blood alcohol determination by head space analysis*. *International Journal of Legal Medicine*, 1975. Vol. 75, p 229–

234.

- [18] Peter R. Giancola, Amos Zeichner. *Alcohol-Related Aggression in Males and Females: Effects of Blood Alcohol Concentration, Subjective Intoxication, Personality, and Provocation*. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 1995. Vol. 19, p.130–134

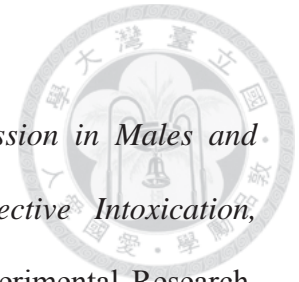
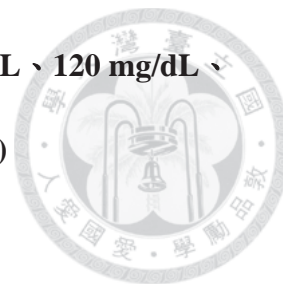


表 1：Headspace GC 儀器設定



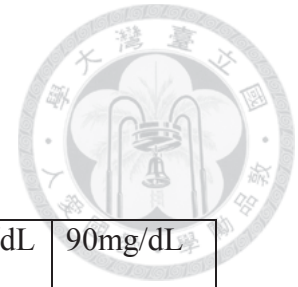
層析儀及質譜儀廠牌	Agilent	
頂空自動進樣器	HP7649E	
流程	Vial EQ (min)	10
	Loop fill time (min)	0.5
	Loop EQ (min)	0.2
	Pressurize time (min)	0.2
	Transfer line temperature (°C)	200
	Injection volume (μ l)	1
氣相層析儀型號	HP6890	
管柱廠牌	INNOWAX, JW 公司製造, 長 30 m, 內徑 0.32 mm, film 0.5 μ m	
進樣口溫度(°C)	180	
分流比	50:1	
載流氣體	He	載流氣體壓力 (1.2 psi)
烘箱溫度設定	初始溫度 70 °C 持續 4 分鐘後, 以每分鐘 25 °C 上升至 150 °C 停止	

表 2. 檢量線 (300 mg/dL、240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、
90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL)



乙醇標準品濃度 (mg/dL)	乙醇波峰積分面積平均值 / 1-丙醇波峰積分面積平均值
10	0.14668
20	0.29607
40	0.57148
60	0.79326
90	1.08455
120	1.55612
150	1.91686
180	2.32762
240	3.05574
300	3.71472
RSQ	0.99919

表 3. Intraday Repeatability



	300mg/dL	240mg/dL	180mg/dL	150mg/dL	120mg/dL	90mg/dL
Mean	3.717	3.056	2.328	2.052	1.718	1.349
SD	0.090	0.036	0.150	0.012	0.047	0.005
CV %	2.429	1.166	6.428	0.572	2.725	0.400

(乙醇波峰積分面積平均值 / 1-丙醇波峰積分面積平均值)

	60mg/dL	40mg/dL	20mg/dL	10mg/dL	0mg/dL
Mean	0.793	0.571	0.296	0.147	0.000
SD	0.013	0.008	0.005	0.004	0.000
CV %	1.669	1.426	1.856	2.532	0.000

(乙醇波峰積分面積平均值 / 1-丙醇波峰積分面積平均值)

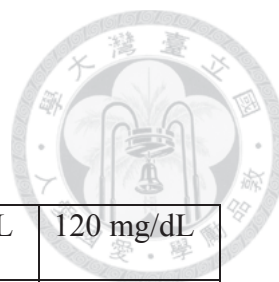


表 4. Interday Reproducibility

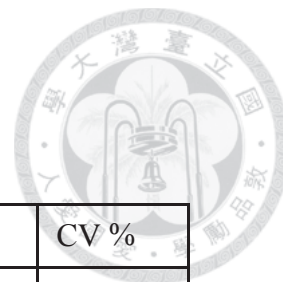
	300 mg/dL	240 mg/dL	180 mg/dL	150 mg/dL	120 mg/dL
Mean	3.493	2.866	2.276	1.951	1.633
SD	0.238	0.125	0.091	0.057	0.064
CV %	6.824	4.366	4.007	2.930	3.946

(乙醇波峰積分面積平均值 / 1-丙醇波峰積分面積平均值)

	90 mg/dL	60 mg/dL	40 mg/dL	20 mg/dL	10 mg/dL	0 mg/dL
Mean	1.303	0.853	0.592	0.314	0.175	0.000
SD	0.036	0.0165	0.017	0.005	0.003	0.000
CV %	2.770	1.931	2.917	1.663	1.552	0.000

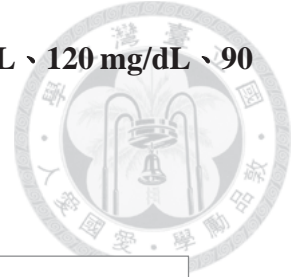
(乙醇波峰積分面積平均值 / 1-丙醇波峰積分面積平均值)

表 5. LOQ, LOD

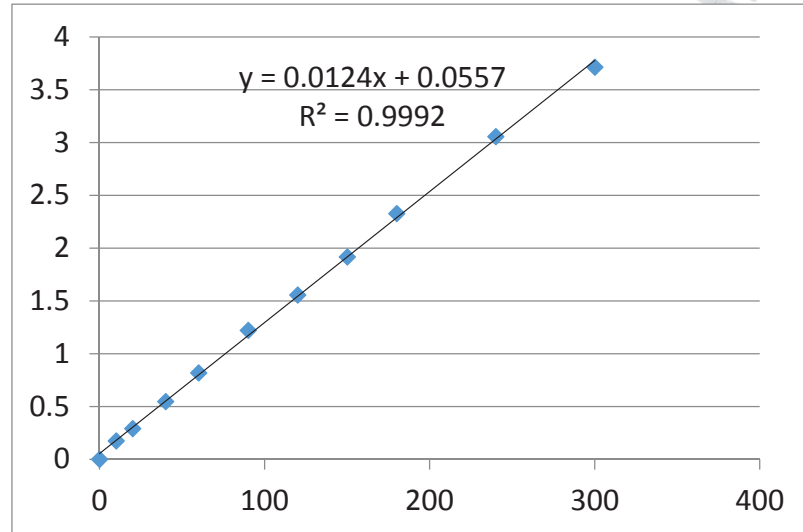


乙醇濃度	m/z 45	m/z 31	Ion ratio	Peak area	CV %
5 mg/dL	7076	8417	0.84		
0.12mg/dL (1)	1673	2056	0.81	41711	4.77%
0.12mg/dL (2)	2623	3058	0.86	43927	
0.12mg/dL (3)	2052	2212	0.93	39939	

圖 1. 檢量線 (300 mg/dL、240 mg/dL、180 mg/dL、150 mg/dL、120 mg/dL、90 mg/dL、60 mg/dL、40 mg/dL、20 mg/dL、10 mg/dL)

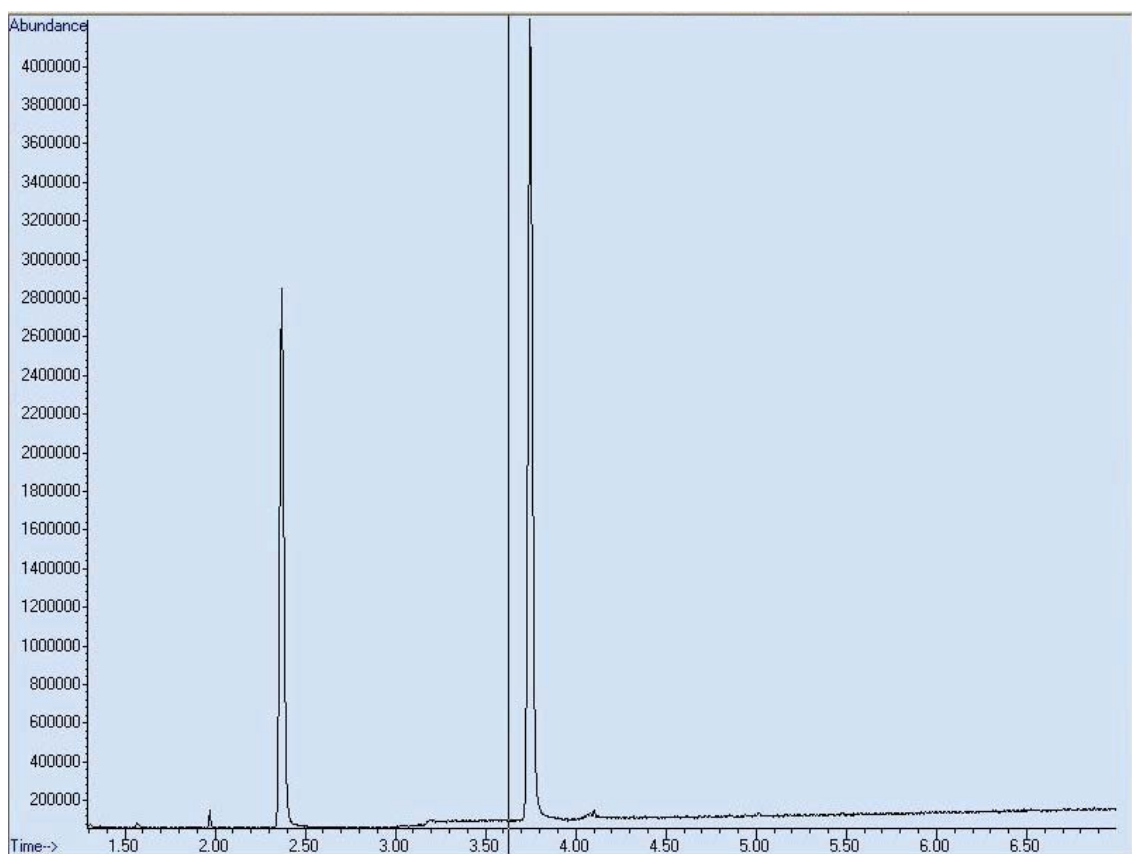


乙醇波峰積分面
積平均值
/ 1-丙醇波峰積
分面積平均值



乙醇標準品濃度 (mg/dl)

圖 2. 標準品(乙醇, 50 mg/dL)及內標準品(1-丙醇, 80 mg/dL)滯留時間



EtOH

1-Propanol

(2.370 min)

(3.749 min)

圖 3. 標準品(乙醇)質譜圖

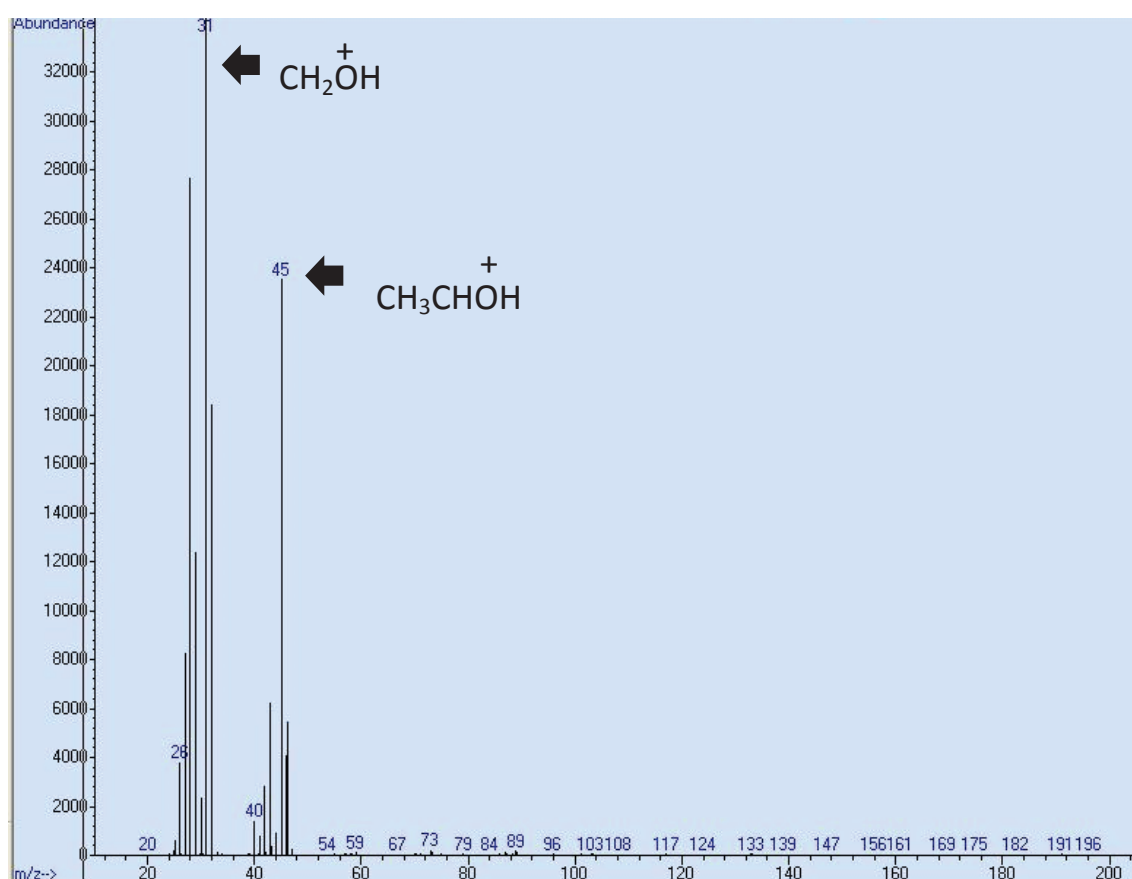


圖 4. 內標準品(1-丙醇)質譜圖

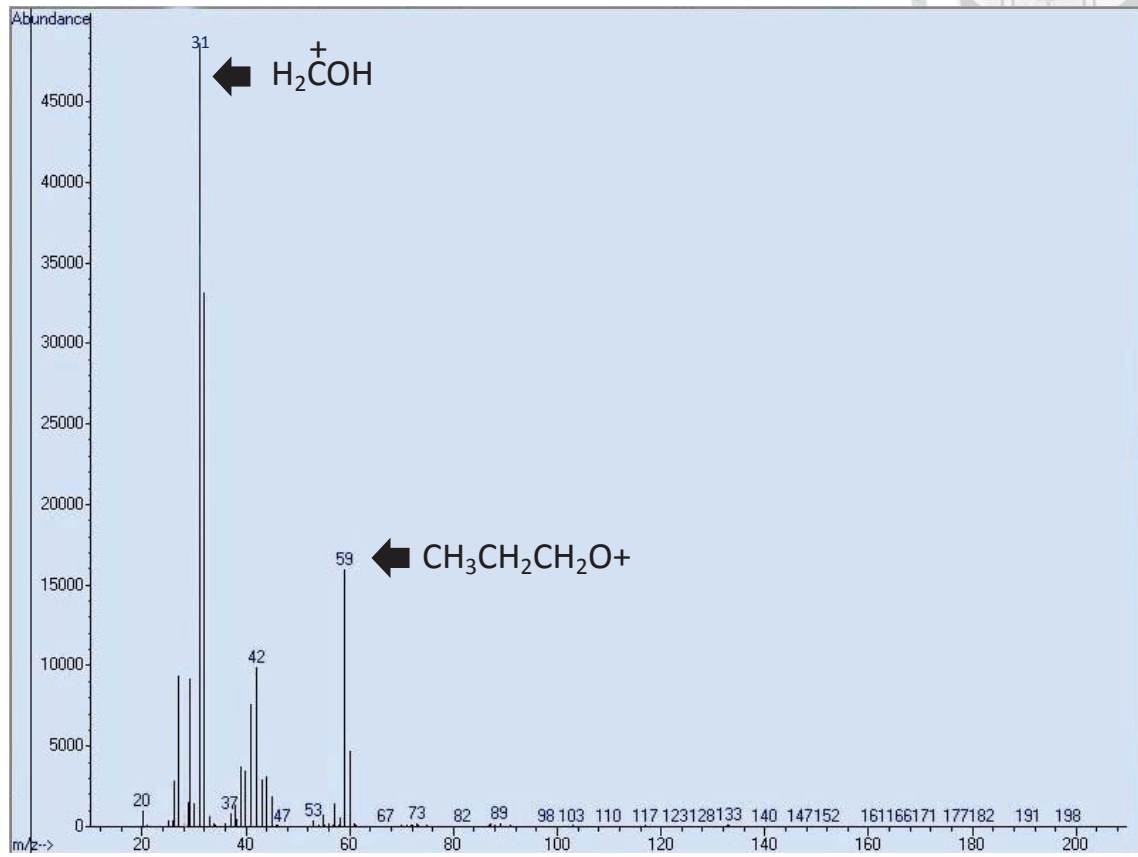
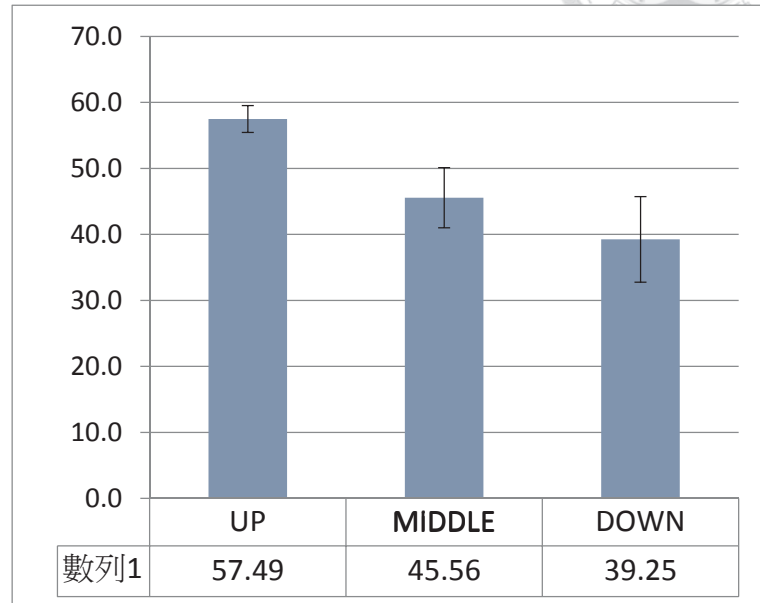


圖 5. 外加 50 mg/dL 乙醇，靜置 24 小時不混合



乙醇濃度
(mg/dl)



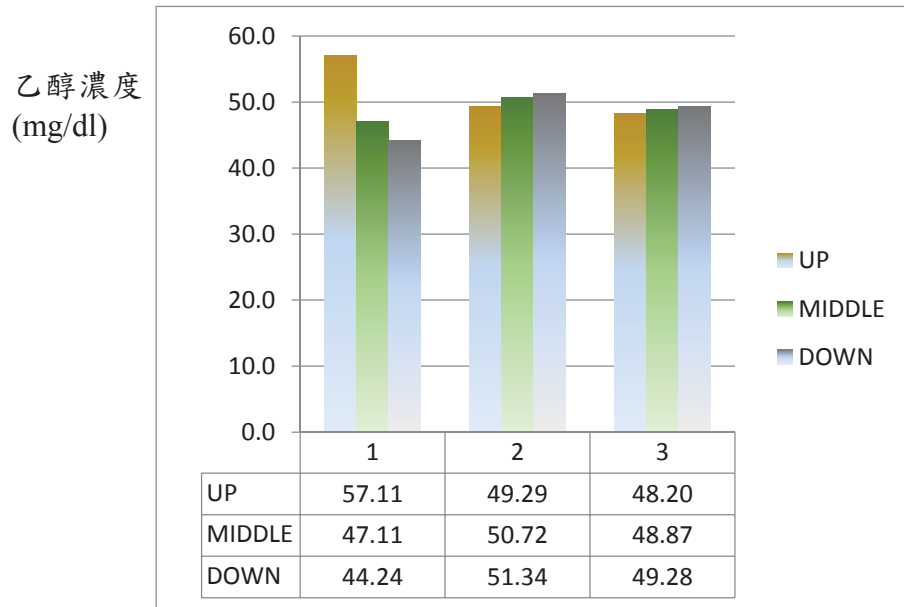
採血管內吸取位置

UP:距液面 0.5 公分處

MIDDLE: 中間白血球層(buffy coat)

DOWN:底部距管底 0.5 公分處

圖 6. 外加 50 mg/dL 乙醇，靜置 24 小時不混合、混合後靜置 10 分鐘、混合後不
靜置



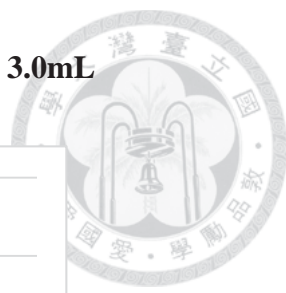
採血管內吸取位置

UP:距液面 0.5 公分處

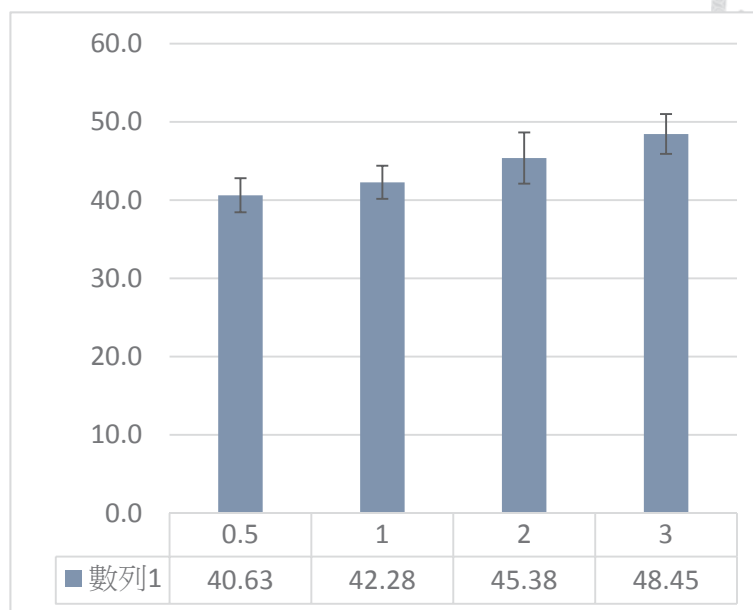
MIDDLE:中間白血球層(buffy coat)

DOWN:底部距管底 0.5 公分處

圖 7. 外加 50 mg/dL 乙醇，採檢體積 0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL



乙醇濃度
(mg/dl)



採檢體積(ml)
乙醇濃度
(mg/dl)

圖 8. 外加 50 mg/dL 乙醇，採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL

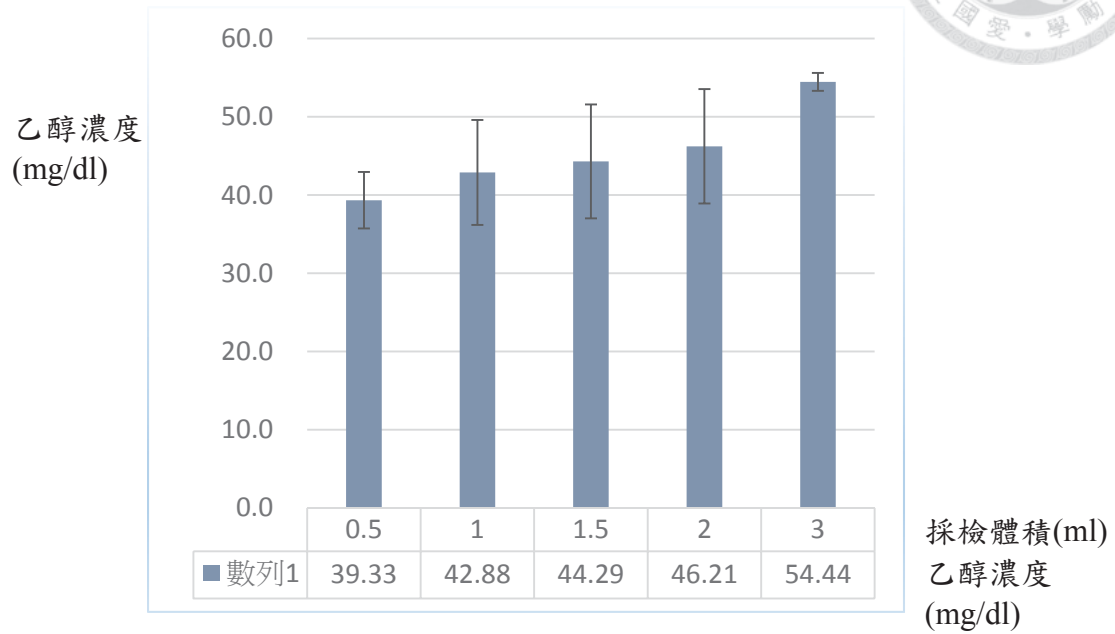
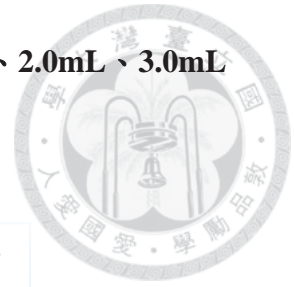
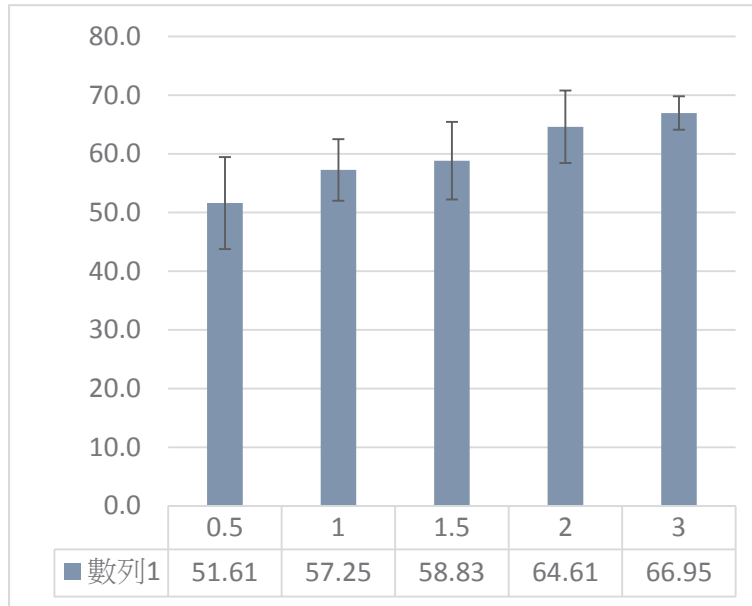


圖 9. 外加 70 mg/dL 乙醇，採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL



乙醇濃度
(mg/dl)



採檢體積(ml)
乙醇濃度
(mg/dl)

圖 10. 外加 180 mg/dL 乙醇，採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL

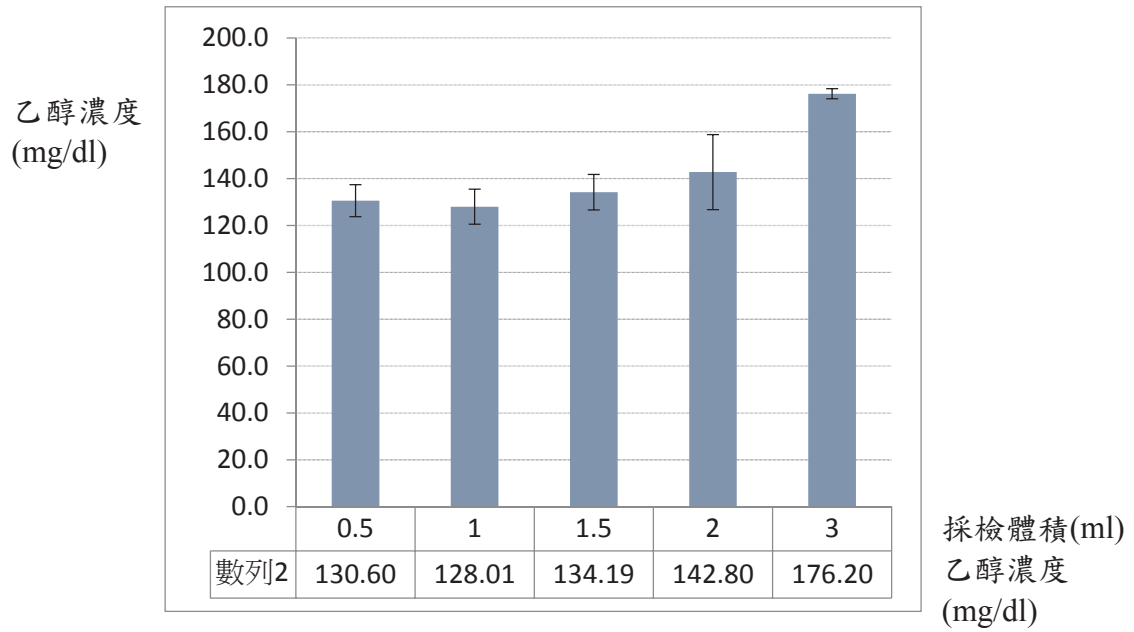


圖 11. 外加 50 mg/dL 乙醇，採檢體積 0.5mL、1.0mL、1.5 mL、2.0mL、3.0mL
在 4°C 保存

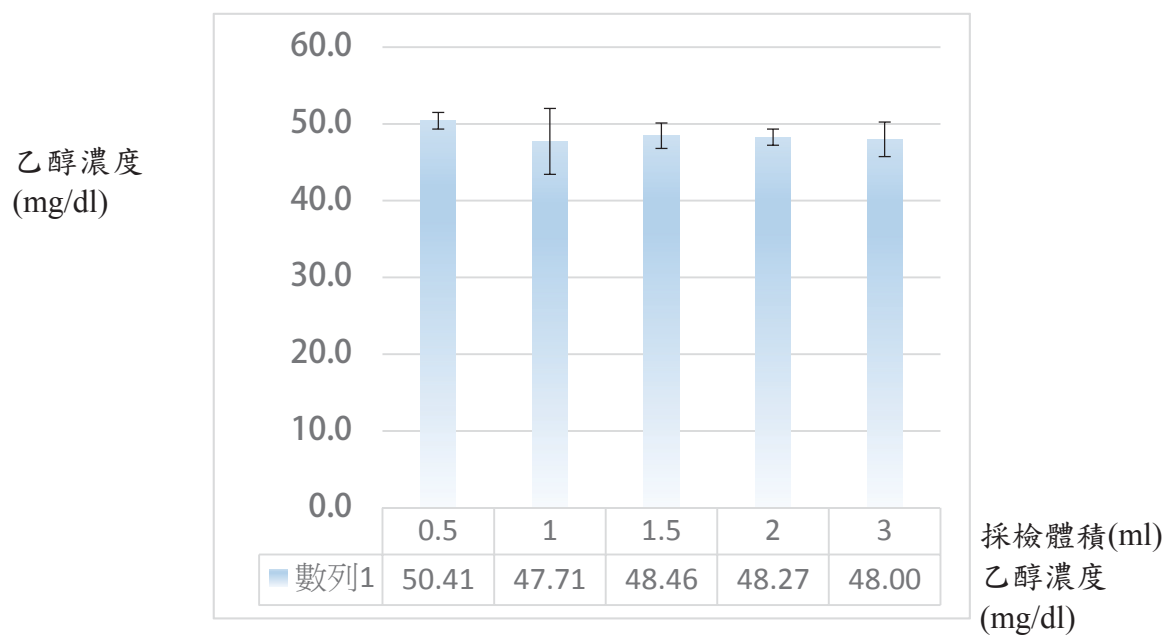


圖 12. 外加 50 mg/dL 乙醇，採用採血管灰頭(含 NaF)、藍頭(含 Citrate)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝

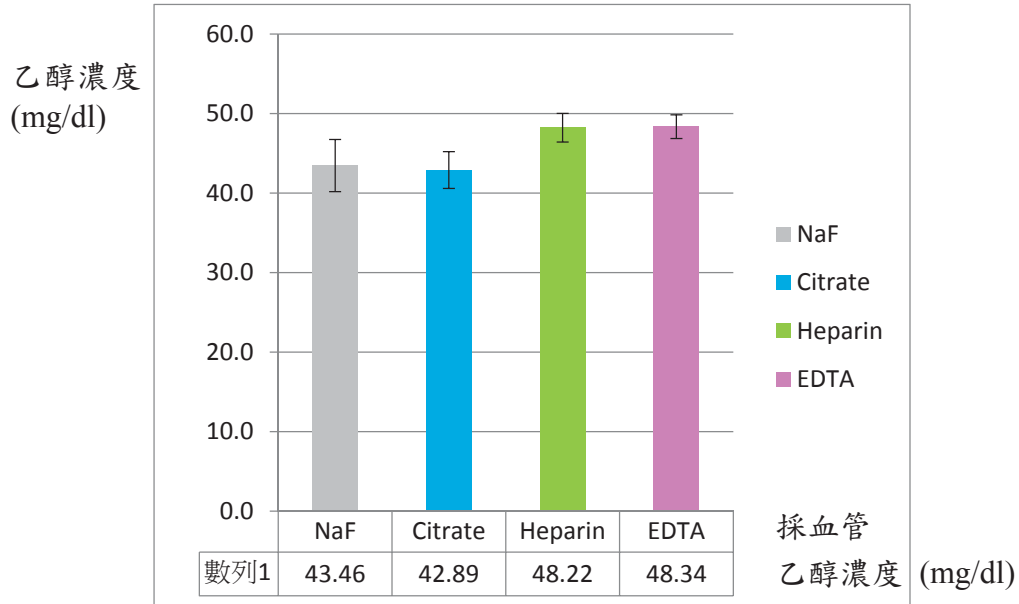


圖 13. 外加 50 mg/dL 乙醇，採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝

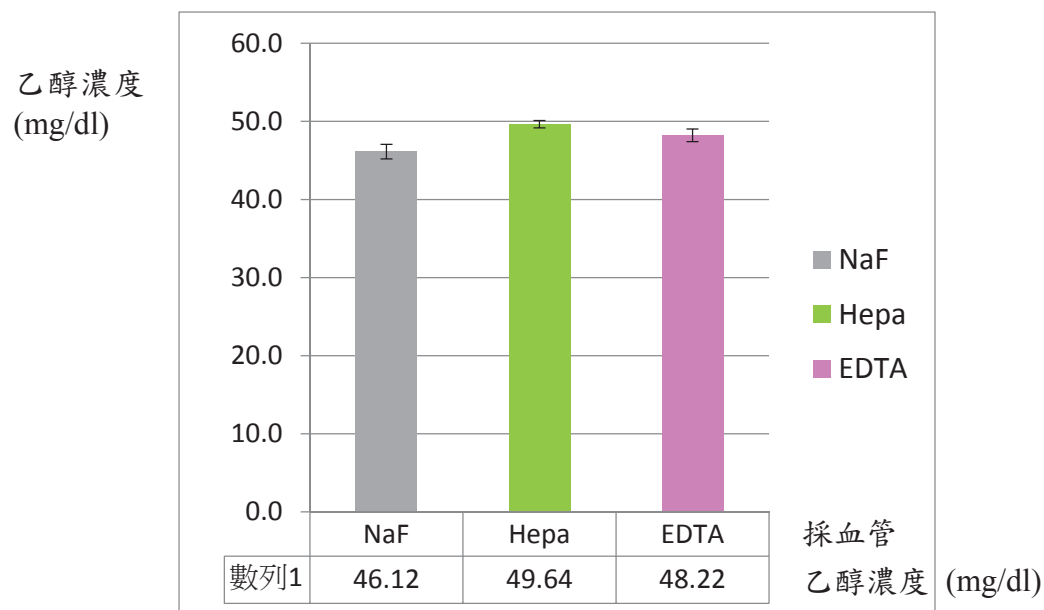


圖 14. 外加 100 mg/dL 乙醇，採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝



乙醇濃度
(mg/dl)

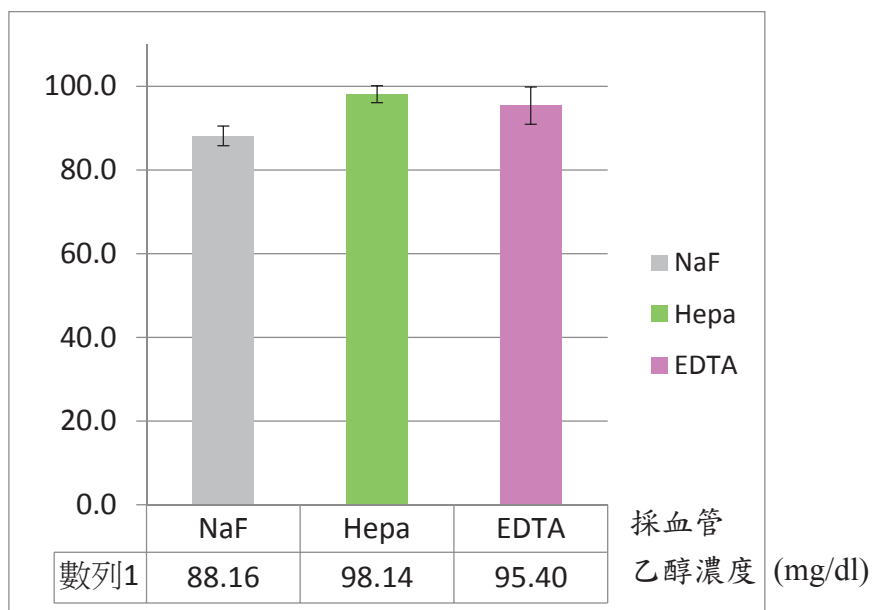


圖 15. 外加 200 mg/dL 乙醇，採用採血管灰頭(含 NaF)、綠頭(含 Heparin)、紫頭(含 EDTA)分裝

