

doi: 10.12452/j.fxcxb.26062305

基于响应曲面法优化的HS/GC-MS测定血液和肝脏中10种挥发性有机麻醉物

朱小涵^{1,3}, 邹波², 魏春明², 范琳媛^{1*}, 张云峰^{2*}

(1. 中国人民公安大学 侦查学院, 北京 100038; 2. 公安部鉴定中心, 北京 100038; 3. 长春市公安司法鉴定中心, 吉林 长春 130000)

摘要: 本文建立了顶空/气相色谱-质谱联用 (HS/GC-MS) 同时测定血液和肝脏中10种挥发性有机麻醉物 (包括二氯甲烷、三氯甲烷、异氟烷、恩氟烷、七氟烷、乙醚、二甲氧基甲烷及三种二甲苯异构体) 的分析方法。采用单因素实验结合 Box-Behnken 设计的响应曲面法, 对气相色谱进样口温度、顶空孵化温度及平衡时间三个关键参数进行优化, 确定最佳仪器条件为: 孵化温度 63 °C, 进样口温度 200 °C, 平衡时间 18 min。在优化条件下, 10种待测物在各自线性范围内相关系数 (R^2) 均大于 0.990, 方法检出限为 0.005 ~ 0.2 $\mu\text{g/mL}$, 定量下限为 0.02 ~ 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 。除苯系物因与生物基质相互作用导致回收率偏低外, 其余物质的加标回收率为 83% ~ 117%; 日内相对标准偏差为 0.6% ~ 10.6%, 日间相对标准偏差为 1.5% ~ 9.8%, 表明方法具有良好的准确度和精密度。将该方法应用于实际案件检测中, 在一例非正常死亡案件中, 从死者血液中检出乙醚成分; 在一例腐败浮尸检验中, 从死者肝组织中检出七氟烷, 为案件定性提供了关键毒物学依据。该方法无需复杂前处理, 直接顶空进样, 操作简便、绿色环保、灵敏度高, 可在较短时间内实现多种挥发性有机麻醉物的同时检测, 显著提升筛查效率, 能够为法医学中毒案件的侦查与鉴定提供可靠的技术支撑。

关键词: 挥发性有机麻醉物; 响应曲面法; 顶空/气相色谱-质谱法; 血液; 肝脏

中图分类号: O657.7; R991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-11

Determination of 10 Volatile Organic Anesthetics in Blood and Liver by Response Surface Methodology-optimized HS/GC-MS

ZHU Xiao-han^{1,3}, ZOU Bo², WEI Chun-ming², FAN Lin-yuan^{1*}, ZHANG Yun-feng^{2*}

(1. College of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China; 2. Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China; 3. Forensic Center of Changchun Public Security Bureau, Changchun 130000, China)

Abstract: A headspace-gas chromatography/mass spectrometry (HS-GC/MS) method was established for the simultaneous determination of 10 volatile organic anesthetics in blood and liver samples, including dichloromethane, trichloromethane, isoflurane, enflurane, sevoflurane, diethyl ether, dimethoxymethane, and three xylene isomers. Single-factor experiments followed by Box-Behnken design based response surface methodology were employed to optimize three key parameters: gas chromatographic injector temperature, headspace incubation temperature, and equilibration time. The optimal conditions were determined as follows: incubation temperature 63 °C, injector temperature 200 °C, and equilibration time 18 min. Under the optimized conditions, the 10 volatile organic anesthetics showed good linearity within their respective concentration ranges, with correlation coefficients (R^2) greater than 0.990. The limits of detection ranged from 0.005 to 0.2 $\mu\text{g/mL}$, and the limits of quantification from 0.02 to 0.5 $\mu\text{g/mL}$. Except for benzene series compounds, which exhibited relatively low recoveries due to interaction with biological matrices, the recoveries of the other analytes were between 83% and 117%. The intra-day relative standard deviations were 0.6% - 10.6%, and the inter-day relative standard deviations were 1.5% - 9.8%, indicating satisfactory accuracy and precision. The developed method was applied to actu-

收稿日期: 2026-06-23; 修回日期: 2026-09-22

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2023YFC3303903), 中华预防医学会中毒控制科研项目 (CPMAZD2024003)

* 通讯作者: 范琳媛, 博士, 讲师, 研究方向: 刑事科学技术, E-mail: fanly@ppsuc.edu.cn;

张云峰, 博士, 研究员, 研究方向: 理化检验技术, E-mail: zhangyunfeng2009@foxmail.com

网络首发日期: XXXX-XX-XX

损失,使得现有方法难以兼顾灵敏度、抗干扰性与操作便捷性^[25-26]。相比之下,静态顶空法操作简便、绿色环保,且能有效减少挥发性有机物的损失。值得关注的是,现有研究多聚焦于环境或药品领域,针对生物检材中多种挥发性有机麻醉物同时检测的报道较少,难以满足法庭科学对复杂基质中多目标物高通量检测的实战需求。

本研究选取氯代烷烃、苯系物及醚类等危害程度高、涉毒案件多发的典型 VOCs 作为目标物,引入响应曲面法(RSM)对顶空-气相色谱/质谱联用(HS-GC/MS)中平衡温度、平衡时间、进样口温度等关键参数进行系统优化,在保障灵敏度的同时有效降低基质干扰,建立了一种适用于血液和肝脏中多种挥发性有机麻醉物的同步、快速、准确检测方法。该方法为疑难案件侦破、中毒死因判定、刑事案件取证提供可靠技术支持,并为法庭科学相关标准的制定奠定方法学基础。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器:TRACE 1310/ISQ 7000 气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),配备 TriPlus 500 顶空自动进样器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);Milli-Q 实验室超纯水仪(德国 Merck Millipore 公司);

试剂:10 mL 螺纹口径顶空样品瓶,带隔垫 18 mm 磁性开孔螺旋盖(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);乙二醇(色谱纯,上海麦克林生化科技股份有限公司);10 种挥发性有机麻醉物标准物质(天津阿尔塔科技有限公司)具体信息见表 1;实验用血由公安部鉴定中心提供;肝脏为新鲜猪肝样品。

表 1 10 种挥发性有机麻醉物信息表

Table 1 Information table of 10 volatile organic anesthetics

No.	Compound	Molecular Formula	Molecular Weight	CAS
1	Ortho-xylene	C ₈ H ₁₀	106.165	95-47-6
2	Meta-xylene	C ₈ H ₁₀	106.165	108-38-3
3	Para-xylene	C ₈ H ₁₀	106.165	106-42-3
4	Enflurane	C ₃ H ₂ ClF ₅ O	184.492	13838-16-9
5	Isoflurane	C ₃ H ₂ ClF ₅ O	184.492	26675-46-7
6	Sevoflurane	C ₄ H ₃ F ₇ O	200.05	28523-86-6
7	Diethyl ether	C ₄ H ₁₀ O	74.12	60-29-7
8	Dichloromethane	CH ₂ Cl ₂	84.94	75-09-2
9	Trichloromethane	CHCl ₃	119.37	67-66-3
10	Dimethoxymethane	C ₃ H ₈ O ₂	76.094	109-87-5

1.2 仪器条件

1.2.1 顶空自动进样系统 顶空样品瓶体积:10 mL;瓶孵化温度:63℃;瓶平衡时间:18 min;瓶压力:150 kPa;瓶压力平衡时间:0.2 min;管路温度:100℃;传输线温度:120℃;环压:25 kPa;环平衡时间:0.5 min;进样时间:0.5 min;进样体积:1 mL。

1.2.2 色谱条件 色谱柱:GS-GASPRO (30 m×0.32 mm),美国 Agilent Technologies 公司;进样口温度:200℃;分流比:10:1;分流流量:12.5 mL/min;流速:1.25 mL/min;载气:高纯度氦气,纯度为 99.999%;程序升温:初始温度 50℃,保持 2 min,以 10℃/min 速率升温至 250℃,保持 6 min,共计 28 min。

1.2.3 质谱条件 离子源:电子轰击源(EI),电离能量:70eV;离子源温度:280℃;传输线温度:250℃;溶剂延迟:2 min;采集模式:全扫描(SCAN);扫描范围:m/z 20~300。

1.3 标准溶液配制

分别准确称量 10 种挥发性有机麻醉物的标准物质,用乙二醇:水(体积比=1:1)溶解并定容至 10 mL 容量瓶中,配制成质量浓度为 100 μg/mL 的单一标准物质储备液,有效期 6 个月。系列浓度的标准工作液均由上述储备液逐级稀释得到,现用现配。

1.4 样品前处理

准确吸取 0.5 mL 血液样本或精密称取 0.5 g 肝脏样本置于 10 mL 顶空样品瓶中,加入 0.5 mL 去离子水,加盖密封后振荡混匀,置于顶空自动进样器中,供 HS-GC/MS 分析检测。

2 结果与讨论

2.1 配标溶剂的选择

配制标准溶液时,通常选择高沸点、低蒸气压的溶剂,以减少顶空气相中溶剂蒸气的含量,并避免水蒸气进入色谱柱导致的峰形拖尾。经查阅文献^[24],选用乙二醇-水(体积比=1:1)作为溶剂。能够与10种待测物标准物质互溶,且黏性较低,便于顶空进样时的溶剂相搅拌均匀,保证目标物分配平衡的重复性,且毒性较低。

2.2 单因素实验

2.2.1 升温程序的选择

本研究考查了5、10、20℃/min三种色谱柱升温速率。结果表明,升温速率过快(20℃/min)时,目标物分离度下降,难以实现多种组分的有效分离;升温速率较慢(5℃/min)时,虽分离度提高,但分析时间显著延长,影响检验效率。综合权衡分离效果与分析时长,最终选择升温速率为10℃/min。此条件下,除间二甲苯与对二甲苯作为同分异构体共流出一个色谱峰外,其余各色谱峰之间的分离度均大于1.5,且分析时间合理。

2.2.2 顶空及进样口条件的优化

2.2.2.1 气相色谱进样口温度的优化 进样口温度直接影响样品的气化效率及进入色谱柱的初始状态,合适的温度有助于各组分快速、均匀气化并获得良好分离效果。本研究初步考察了160、180、200、220℃四种进样口温度对10种待测物(色谱分离为9个色谱峰)峰面积的影响。

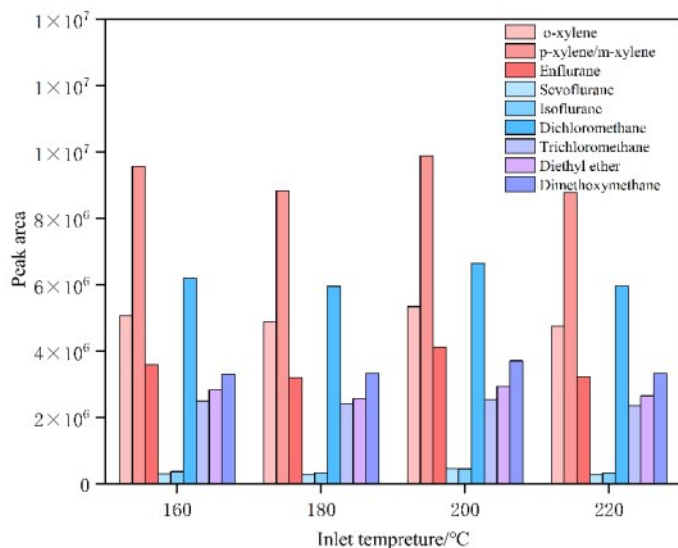


图2 进样口温度对10种待测物峰面积的影响

Fig. 2 Effects of inlet temperature on the peak areas of 10 substances.

随进样口温度升高,各物质峰面积逐渐增大,至200℃时达到较高水平;但当温度升至220℃时,峰面积呈下降趋势,可能与部分热不稳定物质发生分解或降解有关(图2)。综合考虑,为避免高温导致目标物损失,同时为后续响应曲面法优化提供足够的数据范围,本研究选择180、200、220℃作为进样口温度的三个水平进行响应面实验分析。

2.2.2.2 顶空孵化温度的优化 根据亨利定律,升高孵化温度可改变挥发性有机麻醉物的气液分配系数,从而影响目标物的峰面积。本研究考察了45、60、75、90℃四个孵化温度对10种待测物峰面积的影响。

在较低温度区间(45~60℃),目标物挥发性较弱,大部分保留于基质中,顶空气相浓度较低;随着温度升高,目标物挥发能力增强,分配系数降低,更多组分转移至顶空,峰面积逐渐增大,至60℃时峰面积达到最大。继续升温至75℃和90℃时,部分热稳定性较差的物质可能发生分解,或水汽增加干扰顶空分配平衡,导致峰面积呈下降趋势(如图3)。综合考虑,为避免低温下响应过低及高温下物质分解,并确保覆盖最佳响应区域,本研究选择50、60、70℃三个水平进行后续响应面法优化。

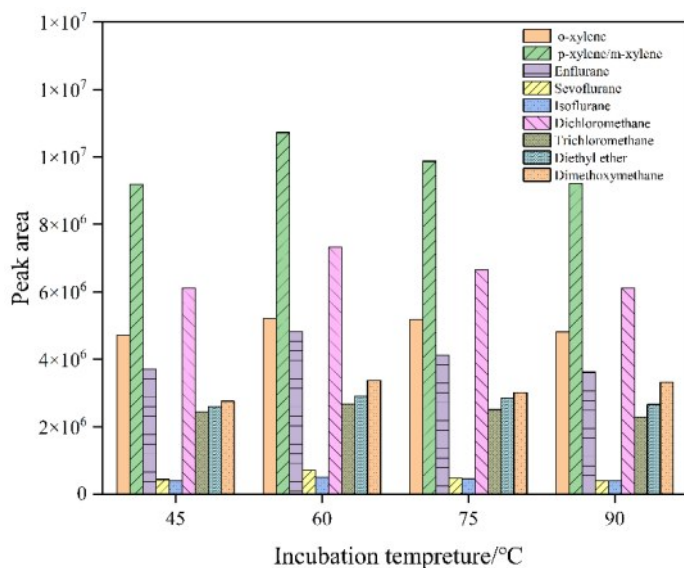


图3 顶空孵化温度对 10 种待测物峰面积的影响

Fig. 3 Effects of headspace incubation temperature on the peak areas of 10 substances

2.2.2.3 顶空平衡时间的优化 平衡时间是指目标物在顶空瓶内达到气-液（或气-固）分配平衡所需的时间。本研究考察了 10、20、30、40min 四个平衡时间对 10 种待测物峰面积的影响。

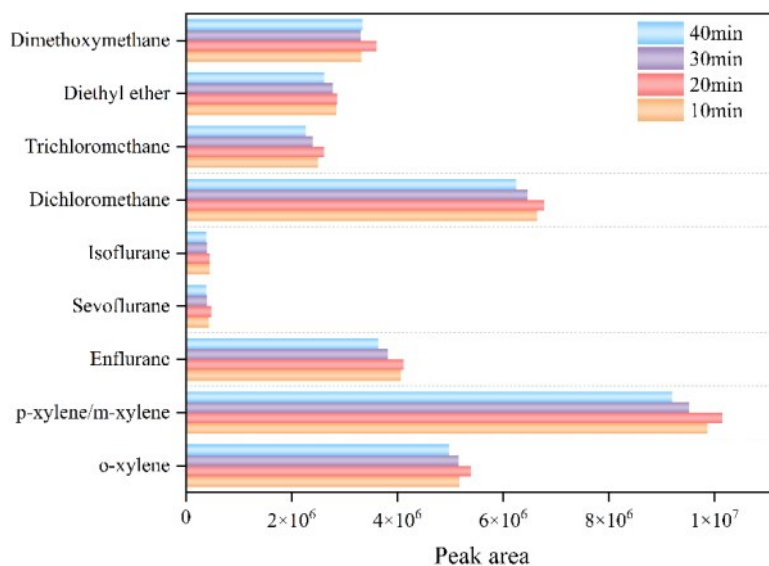


图4 顶空平衡时间对 10 种待测物峰面积的影响

Fig. 4 Effects of headspace equilibrium time on the peak areas of 10 substances

平衡时间为 10 min 时，目标物尚未充分挥发，峰面积较低；20 min 时峰面积达到最高；平衡时间继续延长至 30 min 和 40 min 时，部分目标物峰面积呈下降趋势，可能与长时间加热导致目标物分解或顶空瓶内压力变化有关。综合考虑分析效率与响应强度，本研究预选 15 min、20 min、25 min 三个平衡时间进行后续响应曲面法优化。

2.2.3 响应曲面法实验

为评估多因素对响应值的交互影响，本研究采用响应面法（RSM）进行条件优化^[27]。其中，Box-Behnken 设计（BBD）可通过建立数学模型来评估因素间的交互作用，同时以较少的实验次数快速获取最优条件^[28]。根据单因素实验结果，选取顶空孵化温度（ X_1 , °C）、气相色谱进样口温度（ X_2 , °C）、顶空平衡时间（ X_3 , min）三个因素为自变量，以目标物的平均峰面积为响应值（Y）。其中，间二甲苯与对二甲苯为同分异构体，在本实验采用的 GS-GASPRO 色谱柱上共流出一个色谱峰，因此以 9 个色谱峰（对应 10 种待测物）的平均峰面积为响应值 Y。采用 Design-Expert 13 软件进行三因素三水平 BBD 实验设计。孵化温度 $X_1 = -1, 0, 1$ 分别对应顶空孵化温度 50°C、60°C、70°C；进样口温度 $X_2 = -1, 0, 1$

分别对应气相色谱进样口温度 180℃、200℃、220℃；顶空平衡时间 $X_3 = -1$ 、0、1 分别对应顶空平衡时间 15 min、20 min、25 min。实验共计 17 组，其中中心点重复 5 次。按“1.3”节方法配制的 1 μg/mL 混合标准溶液，准确吸取 100 μL 置于顶空瓶中，按实验设计依次进行测试。BBD 实验设计及结果见表 2。

表 2 Box-Behnken (BBD) 试验设计及结果
Tab. 2 Box-Behnken (BBD) design matrix and results

Trial	Coded level of variables			Actual level of variables			Average peak area
	X_1	X_2	X_3	Incubation temperature / °C	Inlet temperature / °C	Equilibrium time / min	
1	-1	-1	0	50	180	20	3109821
2	1	-1	0	70	180	20	3854609
3	-1	1	0	50	220	20	3065430
4	1	1	0	70	220	20	3654389
5	-1	0	-1	50	200	15	3395437
6	1	0	-1	70	200	15	4087642
7	-1	0	1	50	200	25	3293768
8	1	0	1	70	200	25	3896231
9	0	-1	-1	60	180	15	3933456
10	0	1	-1	60	220	15	3865439
11	0	-1	1	60	180	25	3904326
12	0	1	1	60	220	25	3756454
13	0	0	0	60	200	20	4254903
14	0	0	0	60	200	20	4260091
15	0	0	0	60	200	20	4249526
16	0	0	0	60	200	20	4326632
17	0	0	0	60	200	20	4267634

响应值与各因素之间的关系通常用二阶多项式模型表示^[27]：

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i,j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (1)$$

其中，Y 为响应值， X_i 为自变量， β_0 为常数项， β_i 、 β_{ii} 、 β_{ij} 分别为线性项、二次项、交互作用项的回归系数， ε 为误差项，k 为自变量数量（本实验 k=3）。

利用 Design-Expert 13 软件对表 2 数据进行多元回归拟合，得到二次回归模型方程如式（2）所示：

$$Y = 4271760 + 328552X_1 - 57562.5X_2 - 53899.38X_3 - 38957.25X_1X_2 - 22435.5X_1X_3 - 19963.75X_2X_3 - 523672X_1^2 - 327023X_2^2 - 79815.64X_3^2 \quad (2)$$

方差分析 (ANOVA) 结果见表 3，该统计检验方法主要用于对模型进行评估。其中，p 值常被用来判断变量是否具有显著性，通过 p 值可以了解某个变量对响应值的影响是否明显。同时，p 值也能够一定程度上体现各个独立变量之间相互作用的情况，帮助知晓变量之间是否存在关联以及关联的程度如何^[28]。由表 3 得知，模型 p 值 < 0.0001，表明二次回归模型极其显著，失拟项 p 值为 0.4417 > 0.05，说明模型与实验数据拟合良好，纯误差项不显著，模型可信度高。变异系数 (C. V. %) 为 0.84%，表明模型具有较好的精密度和重现性^[29]。

多项式模型的拟合质量由相关系数 R^2 评价， R^2 越接近 1，模型解释响应值与自变量之间关系的能力越强^[25, 30]。本模型相关系数 $R^2 = 0.9973$ ，校正相关系数与预测相关系数之差 ($R_{adj}^2 - R_{pre}^2$) 为 $0.0157 < 0.2$ ，表明模型回归效果显著。从回归系数显著性检验可知，一次项 X_1 、 X_2 、 X_3 对平均峰面积影响极显著 ($p < 0.01$)，各因素影响程度由大到小依次为 $X_1 > X_2 > X_3$ ；二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 对平均峰面积影响极显著 ($p < 0.01$)；交互项 X_1X_2 对平均峰面积影响显著 ($p < 0.05$)。孵化温度与进样口温度的交互项对平均峰面积的影响显著 ($p < 0.05$)。这一交互作用可归因于两因素对目标物迁移效率的协同影响：一方面，较高的孵化温度促进了目标物从液相到气相的传质过程；另一方面，适当升高的进样口温度有助于气化的目标物快速、完全地进入色谱柱，避免冷热点造成的峰展宽或吸附损失。然而，当两者同时处于过高水平时，部分热稳定性较差的目标物（如二氯甲烷、乙醚）可能发生热降解，导致峰面积下降。此外，过高的进样口温度还可能加剧样品基质中高沸点组分的汽化，增加色谱柱污染风险，从

而间接影响目标物的分离效果和响应强度。

表 3 回归模型方差分析结果
Tab. 3 Analysis of variance of the regression model

Source	Sum of squares	df	Mean square	F-value	p-value
Model	2.68×10 ¹²	9	2.97×10 ¹¹	287.64	<0.0001
X ₁	8.64×10 ¹¹	1	8.64×10 ¹¹	835.13	<0.0001
X ₂	2.65×10 ¹⁰	1	2.65×10 ¹⁰	25.63	0.0015
X ₃	2.32×10 ¹⁰	1	2.32×10 ¹⁰	22.48	0.0021
X ₁ X ₂	6.07×10 ⁹	1	6.07×10 ⁹	5.87	0.0459
X ₁ X ₃	2.01×10 ⁹	1	2.01×10 ⁹	1.95	0.2056
X ₂ X ₃	1.59×10 ⁹	1	1.59×10 ⁹	1.54	0.2544
X ₁ ²	1.16×10 ¹²	1	1.16×10 ¹²	1116.63	<0.0001
X ₂ ²	4.50×10 ¹¹	1	4.50×10 ¹¹	435.46	<0.0001
X ₃ ²	2.68×10 ¹⁰	1	2.68×10 ¹⁰	25.94	0.0014
Residual	7.24×10 ⁹	7	1.03×10 ⁹		
Lack of fit	3.30×10 ⁹	3	1.10×10 ⁹	1.11	0.4417
Pure error	3.94×10 ⁹	4	9.86×10 ⁸		
Cor total	2.68×10 ¹²	16			
R ²	0.9973				
R ² _{adj}	0.9938				
R ² _{pre}	0.9781				

三维响应曲面图和二维等高线图常用于分析因素间的交互作用，结果见图 5。平均峰面积随孵化温度、进样口温度、平衡时间的增大呈先升高后降低的趋势。等高线图的弧度越大，表明交互作用越强。其中 X₁X₂ 对应的等高线呈椭圆形，且响应面较其他响应面更为陡峭，说明进样口温度与孵化温度之间的交互作用显著。从曲面图的陡峭程度可以判断，孵化温度对平均峰面积大小的影响最为明显，其次为进样口温度，平衡时间对峰面积的影响比较微弱。

通过对回归模型进行优化求解，得到仪器最佳理论条件为：孵化温度为 63.268℃，进样口温度 199.418℃，平衡时间 17.782min。综合考虑实验操作的可控性，将最佳条件修正为：孵化温度 63℃，进样口温度 200℃，平衡时间 18min。

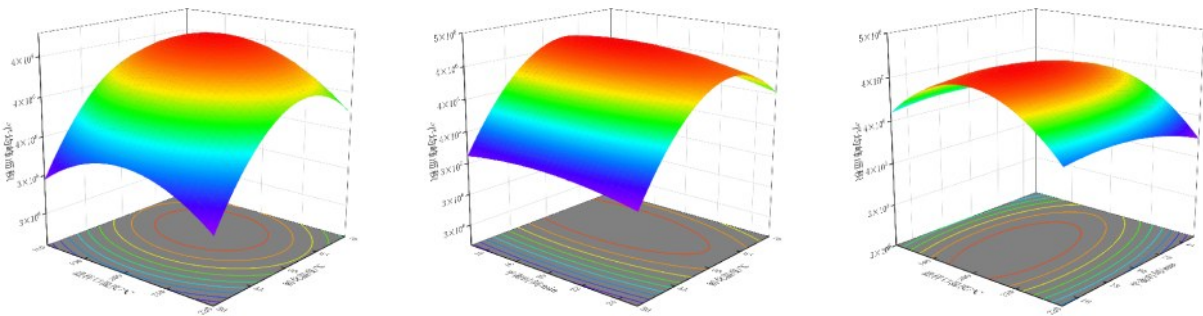


图 5 三因素交互影响对平均峰面积的响应面图
Fig. 5 Response surface plots for the effect of three-factor interaction on the average peak area

2.3 HS-GC/MS 对 10 种挥发性有机麻醉物的检测结果

在优化后的仪器条件下，采用所建立的 HS-GC/MS 方法对 10 种挥发性有机麻醉物进行分析，得到总离子流色谱图（图 6），从图中可以看出邻二甲苯与间二甲苯和对二甲苯能够完全分离，但间二甲苯与对二甲苯共流为一个色谱峰，原因是间二甲苯和对二甲苯的物理化学性质差异极小，而邻二甲苯与二者的结构差异（取代位置导致的空间构型、极性等）足以实现分离。除此之外，其他物质分离效果较好，因此本试验将间二甲苯和对二甲苯以总量峰面积进行检测研究。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性关系、检出限及定量限 在优化条件下，取空白血液和空白肝脏样本于顶空瓶中，加入不同体积的混合标准溶液，配制得到浓度系列为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/mL 的标准添加样本，以各目标物的定量峰面积（y）对相应质量浓度（x）进行线

性回归分析。结果表明, 10种挥发性有机麻醉物在各自浓度范围内线性关系良好, 相关系数 R^2 均大于0.990。以信噪比(S/N)为3和10时对应的浓度分别确定方法的检出限(LOD)和定量限(LOQ)^[31], 具体结果见表4。各目标物的定量峰面积通过Thermo Xcalibur数据处理系统提取, 采用选择离子监测(SIM)与全扫描(SCAN)并行采集模式下的提取离子色谱图峰面积进行定量分析。各物质的定量特征离子分别为: 二氯甲烷 m/z 84、三氯甲烷 m/z 83、二甲氧基甲烷 m/z 45、乙醚 m/z 59、异氟烷 m/z 117、恩氟烷 m/z 117、七氟烷 m/z 131、间/对二甲苯 m/z 91、邻二甲苯 m/z 91。

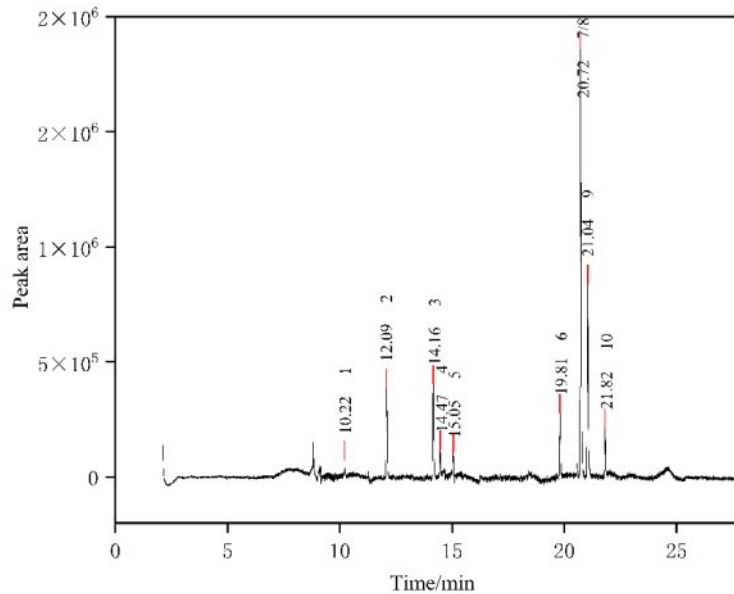


图6 10种挥发性有机麻醉物总离子流图

Fig. 6 Total ion chromatogram of 10 volatile organic anesthetics

(R_t : 1. Dichloromethane 10.22 min; 2. Trichloromethane 12.09min; 3. Isoflurane 14.16 min; 4. Enflurane 14.47 min; 5. Sevoflurane 15.05 min; 6. Diethyl Ether 19.81 min; 7/8. m-Xylene/p-Xylene 20.72 min; 9. o-Xylene 21.04 min; 10. Dimethoxymethane 21.82 min) (保留时间: 1. 二氯甲烷10.22 min; 2. 三氯甲烷12.09min; 3. 异氟烷14.16 min; 4. 恩氟烷14.47 min; 5. 七氟烷15.05 min; 6. 乙醚19.81 min; 7/8. 间二甲苯/对二甲苯20.72 min; 9. 邻二甲苯21.04 min; 10. 二甲氧基甲烷21.82 min)

表4 血液、肝脏中10种挥发性有机麻醉物的线性关系、LOD、LOQ

Table 4 Linear relationships, LOD, and LOQ of 10 volatile organic anesthetics in blood and liver

Compound	Matrix	Linear equation	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	R^2	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
o-xylene	Blood	$y = 4697764x + 226269$	0.02~5	0.9989	0.005	0.02
	Liver	$y = 459221x + 42677$	0.05~5	0.9975	0.02	0.05
p-xylene/m-xylene	Blood	$y = 9330626x + 398449$	0.02~5	0.9992	0.005	0.02
	Liver	$y = 887249x + 79810$	0.05~5	0.997	0.02	0.05
Enflurane	Blood	$y = 165734x + 22729$	0.05~5	0.998	0.02	0.05
	Liver	$y = 67050x + 301.44$	0.05~2	0.9995	0.02	0.05
Sevoflurane	Blood	$y = 66660x + 2764.1$	0.5~10	0.9996	0.2	0.5
	Liver	$y = 28180x + 224.52$	0.2~5	0.9995	0.02	0.2
Isoflurane	Blood	$y = 266210x + 9099.1$	0.05~5	0.9992	0.02	0.05
	Liver	$y = 101745x + 10055$	0.2~5	0.9996	0.02	0.2
Dichloromethane	Blood	$y = 1065009x + 85522$	0.05~2	0.9928	0.02	0.05
	Liver	$y = 523491x - 67.395$	0.05~1	0.9996	0.02	0.05
Trichloromethane	Blood	$y = 905981x + 82334$	0.1~5	0.9979	0.05	0.1
	Liver	$y = 193335x + 7634.7$	0.05~5	0.9985	0.02	0.05
Diethyl ether	Blood	$y = 578594x + 56709$	0.05~5	0.9973	0.02	0.05
	Liver	$y = 222982x + 12301$	0.1~2	0.999	0.05	0.1
Dimethoxymethane	Blood	$y = 875113x + 21619$	0.05~5	0.999	0.02	0.05
	Liver	$y = 189883x + 22470$	0.1~5	0.9975	0.05	0.1

2.4.2 准确度、精密度和回收率 在各自线性范围内, 分别选取低、中、高三个浓度添加样品进行仪器分析, 每个浓度水平平行制备6份样本, 一日内测定3次(日内), 并连续测定3天(日间), 将测得的峰面积代入线性回归方程, 计算方法的准确度与精密度。回收率按文献^[24]方法计算, 即相同浓度

下生物基质添加样本与纯水添加样本的峰面积比值 ($Y_{\text{生物样本}}/Y_{\text{水}}$)。

在血液基质中, 各物质的日内准确度为 81.5%~118.9%, 日内精密度为 0.6%~6.2%; 日间准确度为 82.8%~119.4%, 日间精密度为 1.5%~9.7%。在肝脏基质中, 各物质的日内准确度为 78.3%~112.5%, 日内精密度为 1.3%~10.6%; 日间准确度为 82.5%~117.4%, 日间精密度为 1.6%~9.8% (表 5)。以上结果表明, 该方法在两种生物基质中均具有良好的准确度和精密度。

回收率结果显示, 除苯系物外, 其他物质的回收率均在 83%~117% 之间。苯系物回收率偏低的原因可能是其易与生物基质成分发生相互作用, 从而抑制挥发释放; 苯系物的蒸气压较高、水溶性较低, 在高水活度基质中挥发效率可能进一步降低。同时, 该类化合物分子结构较大, 易在进样系统及色谱柱中产生吸附, 共同导致其顶空提取效率下降, 回收率偏低。尽管如此, 苯系物的检出限仍低于中毒剂量, 且线性关系良好, 能够满足实际案件的分析检验要求。

在静态顶空进样模式下, 目标物的基质效应与挥发效率耦合在一起, 难以通过传统的提取后加标法单独分离评价。本研究采用的生物基质/纯水基质峰面积比值法, 能够综合反映基质对气液分配平衡的实际影响, 较单纯计算基质效应因子更具操作指导意义。

表 5 血液和肝脏中 10 种待测物的日内、日间准确度、精密度和回收率

Table 5 Intra-day and inter-day accuracy, precision, and recovery rates of 10 volatile organic anesthetics in blood and liver

Compound	Blood						Liver					
	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day ac- curacy	Intra-day RSD	Inter-day ac- curacy	Inter-day RSD	Recovery /%	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day ac- curacy	Intra-day RSD	Inter-day ac- curacy	Inter-day RSD	Recovery/%
		/%	/%	/%	/%	/%		/%	/%	/%	/%	
p-xylene/m-xylene	0.2	97.4	5.6	97.8	2.8	71.5	0.2	108.9	7.6	100.1	7.4	57.3
	1	102.8	3.5	104.3	2.9	74.6	1	108.8	5.0	106.4	4.8	36.0
	5	99.7	2.6	100.5	3.6	78.9	5	100.9	3.3	99.4	3.7	32.5
o-xylene	0.2	93.6	6.2	93.7	9.7	70.3	0.2	93.3	8.4	93.1	9.8	50.3
	1	104.5	3.7	105.2	1.6	73.1	1	106.3	5.0	109.9	4.1	31.0
	5	98.1	3.2	96.1	5.7	75.9	5	99.8	5.0	102.8	8.9	30.1
Enflurane	0.2	96.6	3.2	93.3	5.1	99.1	0.2	105.4	9.8	117.4	3.4	107.0
	1	108.0	2.0	108.9	7.0	100.1	1	93.9	7.1	94.4	2.9	107.7
	5	100.9	5.8	99.8	2.4	100.3	2	99.3	5.0	97.4	4.4	116.6
Sevoflurane	0.2	85.6	5.4	92.5	6.5	100.7	0.2	100.1	10.1	74.6	3.8	92.5
	1	100.0	2.5	89.8	6.2	100.3	1	86.1	10.1	86.7	3.6	89.8
	5	102.1	4.6	104.1	3.7	102.9	5	90.6	10.6	93.6	1.6	104.1
Isoflurane	0.2	98.8	4.9	99.0	4.1	99.3	0.2	84.4	9.5	110.8	8.6	108.3
	1	109.1	3.6	106.9	5.4	99.5	1	95.6	4.9	86.7	8.1	106.2
	5	102.7	5.7	103.0	3.4	94.8	5	97.6	3.8	98.3	6.0	111.0
Dichloromethane	0.2	97.4	5.2	97.3	8.0	86.0	0.05	94.6	6.8	90.7	9.7	86.2
	1	107.6	5.4	113.6	3.2	83.9	0.2	101.2	3.9	94.6	3.0	77.0
	5	78.9	3.8	97.6	2.0	100.4	1	90.7	9.4	101.2	3.3	88.9
Trichloromethane	0.2	121.8	5.0	117.6	7.9	84.2	0.2	78.3	4.5	74.3	5.3	110.5
	1	98.9	2.8	99.5	3.3	90.5	1	106.7	6.0	112.9	6.8	83.9
	5	100.8	4.0	103.5	6.8	93.0	5	98.6	2.2	95.8	3.9	101.1
Diethyl ether	0.2	81.5	3.1	82.8	3.7	103.9	0.2	102.1	3.1	100.5	3.1	105.1
	1	118.9	2.6	119.4	1.5	98.8	1	100.1	6.1	92.8	3.0	102.3
	5	101.8	3.0	99.9	3.1	96.8	2	100.1	6.1	95.2	4.1	89.4
Dimethoxymethane	0.2	94.6	2.4	86.4	5.9	94.8	0.2	81.7	6.9	82.5	4.3	103.0
	1	104.6	0.6	103.3	2.3	96.0	1	112.5	1.3	105.9	5.6	109.1
	5	101.4	2.8	106.5	4.6	99.1	5	95.4	3.5	93.1	2.1	107.7

2.5 案例应用

为评价本方法的实际应用效果, 将其应用于两个案例中。案例一为某非正常死亡案件, 死者样本经本方法筛查, 在心血中检出乙醚成分 (图 7), 含量为 187 $\mu\text{g/mL}$, 空白血液对照中未检出乙醚成分, 阳性对样品 (加标 5 $\mu\text{g/mL}$) 的回收率为 98.6%, 质控合格。据报道, 乙醚的致死血浓度为 100~300 $\mu\text{g/mL}$, 本案检出浓度在该范围内, 结合法医病理学鉴定, 最终认定为吸入乙醚致死, 为案件定性提供了明确的毒物学依据。案例二涉及一具腐败浮尸, 常规血液检材已无法满足检测要求, 故提取死者肝组织, 应用本方法进行检测, 成功检出七氟烷成分, 含量为 30.2 $\mu\text{g/g}$ (图 8), 空白肝脏对照中未检

出七氟烷, 阳性对照样品 (加标 $2 \mu\text{g/g}$) 的回收率为 89.2%, 质控合格。结合法医病理鉴定, 认定七氟烷为致死因素之一。该方法有效排除了其他挥发性有机麻醉物的干扰, 为案件性质的判定提供了可靠的科学支撑。两例实际应用表明, 本方法不受生物样本腐败程度的影响, 对血液及肝脏均具有良好的检测适用性, 可满足法医学挥发性有机麻醉物筛查的实战需求。

3 结 论

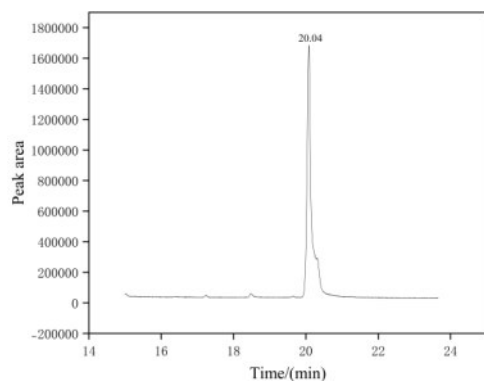


图7 案例一心血检材中乙醚总离子流图
Fig. 7 TIC chromatograms of diethyl ether in heart blood sample from case 1

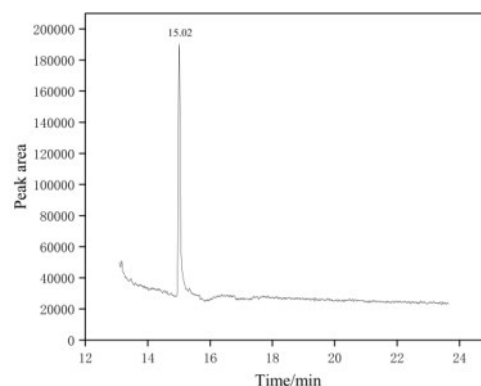


图8 案例二肝脏检材中七氟烷总离子流图
Fig. 8 TIC chromatogram of sevoflurane in liver sample from case 2

本研究成功建立了顶空-气相色谱/质谱联用 (HS-GC/MS) 同时测定血液和肝脏中 10 种挥发性有机麻醉物的分析方法。通过单因素实验结合 Box-Behnken 设计响应曲面法优化仪器条件, 确定最佳参数为: 孵化温度 63°C 、进样口温度 200°C 、平衡时间 18 min。方法学验证表明, 10 种待测物在各自浓度范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.990$), 检出限为 $0.005 \sim 0.2 \mu\text{g/mL}$, 定量限为 $0.02 \sim 0.5 \mu\text{g/mL}$; 除苯系物外, 其他物质的回收率为 $83\% \sim 117\%$, 日内与日间精密度良好, 满足生物样本分析要求。将该方法应用于实际案件检测, 在一例非正常死亡案件中从死者血液中检出乙醚成分, 在一例腐败浮尸检验中从死者肝组织中检出七氟烷, 为案件定性提供了关键毒物学依据。该方法无需复杂前处理, 操作简便、绿色环保、灵敏度高, 可在较短时间内实现多种挥发性有机麻醉物的同时检测, 显著提升筛查效率, 为法医学中毒案件的侦破提供了有效的技术支撑。

参考文献:

- [1] You C, Li B Y, Li J J. *Environ. Pollut. Control.* (游晨, 李冰雁, 李金娟. 环境污染与防治), **2024**, 46 (9): 1384-1390.
- [2] Lei Q, He J, Zhao H L, Chen R Y, Liu H. *China Water & Wastewater.* (雷琼, 何娟, 赵海玲, 陈如意, 刘慧. 中国给水排水), **2025**, 41 (8): 130-136.
- [3] Regina M M, Rocío L V, Omar A A. *Ann. Glob. Health*, **2018**, 84 (2): 225-238.
- [4] Lian J. *Juv. Delinquency Prev. Res.* (廉洁, 预防青少年犯罪研究), **2019** (6): 19-24.
- [5] Fan C, Wang G, Chen Y, Ko C. *Sci. Total Environ.*, **2009**, 407 (7): 2165-2174.
- [6] Sun D, Wang Y G, Dai Y J, Zhao Q X, Liang Z Y, Shao H S. *J. Chin. Soc. Power Eng.* (孙豆, 王云刚, 戴艳俊, 赵钦新, 梁志远, 邵怀爽. 动力工程学报), **2023**, 43 (5): 641-654.
- [7] Cheng S, Zhang J, Wang Y, Zhang D, Teng G, Chang-Chien G P, Huang Q, Zhang Y B, Yan P. *Aerosol Air Qual. Res.*, **2019**, 19 (8): 1834-1843.
- [8] Hoseini L K, Yengejeh R Y, Rouzbehani M M, Sabzalipour S. *Front. Public Health*, **2022** (10): 978354.
- [9] He H, Sun Z, Chen X, Tao X, Tao M, Dong D, Liu Z, Xu Y, Qu C. *J. Affect. Disord.*, **2025**, 379: 194-203.
- [10] Hoang A, Fagan K, Cannon D L, Rayasam S D G, Harrison R, Shusterman D, Singla V. *JAMA Intern. Med.*, **2021**, 181 (6): 797-805.
- [11] Martinez M A, Ballesteros S. *J. Anal. Toxicol.*, **2006**, 30 (7): 449-453.
- [12] Riße M, Erdmann F, Schütz H, Weiler G. *Forensic Sci. Int.*, **2001**, 124 (2-3): 209-213.
- [13] Rafiee A, Delgado-Saborit J M, Gordi E, Quémerais B, Moghadam V K, Lu W, Hashemi F, Hoseini M. *Sci. Total Environ.*, **2018**, 631-632: 857-865.
- [14] Wan L L, Zheng L H, Jiang Z P, He Z Z. *Prev. Med. Trib.* (万玲利, 郑丽辉, 姜志鹏, 柯宗枝. 预防医学论

- 坛), **2024**, 30 (12): 892–898, 904.
- [15] Deng J, Gu J, Lv K, Du X, Ye X, He C, Li H, Yao Q. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2024**, 312: 124018.
- [16] Nie Q, Liu Z, Cheng M, Pei S, Yang D, Guo D, Yang M. *Photonic Sens.*, **2024**, 14 (4): 240412.
- [17] Ma J, Zhang L, Fang Y L. *Forensic Sci. Tech.* (马骥, 张磊, 方雅莉. 刑事技术), **2025**, 50 (3): 285–290.
- [18] Rahimpour R, Firoozichahak A, Nematollahi D, Alizadeh S, Alizadeh P M, Langar A A A. *Microchem. J.*, **2021**, 166: 106229.
- [19] Taunk K, Taware R, More T H, Porto-Figueira P, Pereira J A M, Mohapatra R, Soneji D, Camara J S, Nagarajaram H A, Rapole S. *RSC Adv.*, **2018**, 8 (44): 25040–25050.
- [20] Peng J, Yang Y, Zhou Y, Hocart C H, Zhao H, Hu Y, Zhang F. *Food Chem.*, **2020**, 313: 126136.
- [21] Drabińska N, Starowicz M, Krupa-Kozak U. *J. Anal. Chem.*, **2020**, 75 (6): 792–801.
- [22] Mesquita A S, Zamora-Obando H R, Santos F N, Schmidt-Filho J, Lima V C, Costa F D, Andrade V P, Eberlin M N, Simionato A V C. *Microchem. J.*, **2020**, 159: 105479.
- [23] Lin Q, Zhou Z R, Hu X J, Lin S B. *J. Environ. Hyg.* (林强, 周志荣, 胡小键, 林少彬. 环境卫生学杂志), **2017**, 7 (3): 243–247, 254.
- [24] Zou B, Wei C M, Chang J, Ren X X, Wang A H, Song G, Zhang Y F, Yu Z S. *Forensic Sci. Tech.* (邹波, 魏春明, 常靖, 任昕昕, 王爱华, 宋歌, 张云峰, 于忠山. 刑事技术), **2019**, 44 (5): 425–428.
- [25] Chen H Y, Chen C. *Appl. Sci.*, **2025**, 15 (13): 7206.
- [26] Celik I, Şensoy A T, Seven G, Celik D. *Materials*, **2025**, 18 (7): 1424.
- [27] Mehrabi O, Beiranvand Z M, Rasoul F A, Moradi M. *Processes*, **2025**, 13 (5): 1279.
- [28] Wang H T, Li H Y, Lu Q W, He S L. *Chin. J. Chromatogr.* (王海棠, 李含音, 陆启伟, 何士龙. 色谱), **2024**, 42 (9): 856–865.
- [29] Almalki A H, Abduljabbar M H, Alnemari R M, Alosaimi M E, Alaqel S I, Serag A. *Microchem. J.*, **2024**, 205: 111381.
- [30] Qian Z Y, Li Z G, Ma J, Gong T T, Xian Q M. *Talanta*, **2017**, 173: 101–106.
- [31] Zhang J W, Wang Y H, Liu J N, Wang Y, Yang R Q. *Chin. J. Anal. Chem.* (张婧文, 王禹衡, 刘俊宁, 王勇, 杨瑞琴. 分析化学), **2023**, 51 (11): 1802–1813.

(责任编辑:)