

# 高效液相色谱检测大麻中 $\Delta^9$ -四氢大麻酚的分析方法研究

翟晚枫<sup>1\*</sup>, 张春水<sup>2</sup>, 高利生<sup>2</sup>

(1. 中国人民公安大学 刑事科学技术系, 北京 100038; 2. 公安部物证鉴定中心, 北京 100038)

**摘要:** 建立了大麻毒品中主要有效成分  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的液相色谱分析方法。选择甲醇作为大麻植物或大麻树脂的提取溶剂。采用岛津 ODS-SP 型(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m)色谱柱作为定量方法的标准柱, 紫外检测器主定量波长为 210 nm, 辅定量波长为 195 nm 或 220 nm。以水-乙腈为流动相进行梯度洗脱, 流速 1 mL/min, 柱温 40  $^{\circ}$ C, 进样量 10  $\mu$ L。在优化条件下,  $\Delta^9$ -四氢大麻酚在 0.5 ~ 100.0 mg/L 范围内线性良好, 外标法及内标法的相关系数( $r^2$ )均大于 0.999 99。方法的检出限( $S/N \geq 3.3$ )和定量下限( $S/N \geq 10$ )分别为 0.12 mg/L 和 0.40 mg/L。用该方法检测某大麻树脂样本,  $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量的不确定度评定结果为 5.32%  $\pm$  0.17%,  $k=2$ 。实验结果表明, 该方法快速、灵敏、准确、可靠, 适用于大麻植物及树脂的定量测定。

**关键词:** 液相色谱; 四氢大麻酚; 定量

中图分类号: O657.72; TS102.224 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2012)11-1379-06

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2012.11.006

## Study on Determination of $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol in Cannabis by High Performance Liquid Chromatography

ZHAI Wan-feng<sup>1\*</sup>, ZHANG Chun-shui<sup>2</sup>, GAO Li-sheng<sup>2</sup>

(1. Department of Forensic Science, Chinese People's Public Security University, Beijing 100038, China;

2. Institute of Forensic Science Ministry of Public Security P. R. C., Beijing 100038, China)

**Abstract:** A quantitative method was established for the determination of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in cannabis using high performance liquid chromatography. Methanol was selected as the solvent to extract tetrahydrocannabinol from cannabis plant or resin. The separation of tetrahydrocannabinol was performed on a Shimadzu ODS-SP column(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m) using water-acetonitrile as mobile phase by gradient elution. The primary quantitative wavelength of UV detector was set at 210 nm and the auxiliary one was at 195 nm or 220 nm. Flow rate was set at 1 mL/min, column temperature was 40  $^{\circ}$ C and injection volume was 10  $\mu$ L. Under the optimal conditions, good linearity was achieved over the range of 0.5 - 100.0 mg/L, with correlation coefficients( $r^2$ ) more than 0.999 99. The limit of detection( $S/N \geq 3.3$ ) was 0.12 mg/L and the limit of quantitation( $S/N \geq 10$ ) was 0.40 mg/L. Using this method to detect a cannabis resin sample, the result of uncertainty evaluation on  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol's content was 5.32%  $\pm$  0.17% with  $k$  value of 2. The result showed that the method was rapid, sensitive and accurate, and was applicable in the quantitative determination of cannabis plant and resin.

**Key words:** liquid chromatography; tetrahydrocannabinol; quantitative

大麻(Cannabis)属于桑科植物,是一种多用途的古老栽培作物,可对中枢神经产生强烈刺激,与海洛因、可卡因并称“世界三大毒品”,已在世界范围内带来了严重的社会问题,开展针对大麻毒品的分析研究工作具有非常重要的意义。

收稿日期: 2012-06-13; 修回日期: 2012-07-20

基金项目: 公安部重点研究计划支持项目(2009ZDYJGAES024)

\* 通讯作者: 翟晚枫, 硕士研究生, 研究方向: 毒品检验, Tel: 15901192785, E-mail: 765838505@qq.com

目前,对于大麻主要活性成分  $\Delta^9$ -四氢大麻酚( $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol,  $\Delta^9$ -THC)的检测方法集中于气相色谱及气相色谱-质谱联用法<sup>[1-6]</sup>、液相色谱及液相色谱-质谱联用法<sup>[6-18]</sup>,公安办案中也会采用常规化学检验法<sup>[19]</sup>进行初步定性检测。气相色谱技术较为成熟,应用也比较普遍,但受到流动相必须是气体的限制,并且高温往往使四氢大麻酚酸脱羧从而导致其定量分析结果偏高<sup>[6]</sup>。而液相色谱、液相色谱-质谱联用技术突破了气相色谱技术在流动相和温度方面的限制,更适合于大麻类毒品的定量分析,已报道的研究主要集中于大麻代谢过程<sup>[7-10]</sup>或复杂基质中大麻成分的提取分离过程<sup>[11-17]</sup>。

目前,我国各级公安技术部门对大麻毒品仍缺乏准确可靠、灵敏高效、易普及的定量检测方法,给打击犯罪、定罪量刑带来不利影响。本文旨在通过系统、严谨、全面的步骤建立大麻主要活性成分  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的液相色谱普适性定量分析方法,服务于办案和科研工作。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与装置

日本岛津公司 Prominence UFLC 液相色谱仪,包括 LC-20AD XR 型泵、SIL-20AC XR 型进样器、SPD-20A 型检测器、CTO-20AC 型柱温箱、数据处理软件 LC Solution; 十万分之一电子分析天平(瑞典 Mettler 公司); EYELA 型涡旋混合器(日本 EYELA 公司); KQ3200 型超声振荡器(昆山市超声仪器有限公司); 台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); Synergy UV 型纯水制备系统(美国 Millipore 公司); 100~1 000  $\mu$ L 移液枪(德国 Eppendorf 公司); 标称容量 10 mL 的瓶口移液器(德国 Brand 公司)。

### 1.2 试剂与材料

盐酸溶液、正己烷(分析纯,北京化学试剂公司); 乙醇、氯仿、乙酸乙酯、乙醚、石油醚、苯、甲苯、环己烷、异丙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司); 庚烷(色谱纯,东京化成工业株式会社); 乙腈、四氢呋喃(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司); 四氢大麻酚标准品(纯度大于 99.5%,美国 Cerilliant 公司); 大麻酚、大麻二酚对照品(纯度均大于 97%,中国药品生物制品检定所); 内标物 葱(纯度大于 99%,美国 Fluka 公司); 甲醇(前处理使用优级纯,作液相色谱流动相时使用色谱纯)分别购自国药集团化学试剂有限公司和美国 Fluka 公司; 大麻树脂样品来源于案件中收缴。

### 1.3 色谱条件

岛津 ODS-SP 型(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)色谱柱,紫外检测器主定量波长为 210 nm、辅定量波长为 220 nm,以高纯水-乙腈作为流动相进行梯度洗脱,乙腈初始浓度为 70%,梯度陡度为 2.1% / min,流速 1 mL/min,柱温 40  $^{\circ}$ C,进样量 10  $\mu$ L。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法的选择

分别考察了水、甲醇、乙醇、氯仿、石油醚、苯、甲苯、乙酸乙酯、正己烷、环己烷、异丙醇、乙醚、四氢呋喃、庚烷 14 种不同溶剂对  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的提取效果(见图 1),综合考虑基线稳定、杂质、重复性等因素,选择甲醇作为最佳提取溶剂<sup>[20]</sup>。

### 2.2 色谱柱的选择

$\Delta^9$ -四氢大麻酚的极性较弱,适合采用反相色谱进行分离。目前最常用的反相色谱柱为  $C_{18}$  柱,而不同公司生产的相同规格的色谱柱之间存在较大差异。考虑到本实验使用的仪器是岛津公司的超快速液相色谱仪,兼颜色谱柱规格、技术水平、仪器设备等情况,最终采用岛津 ODS-SP 型(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)色谱柱,并在确定最佳色谱柱参数后与其它型号的色谱柱进行比较,所用柱各项柱效指标均表现优异。

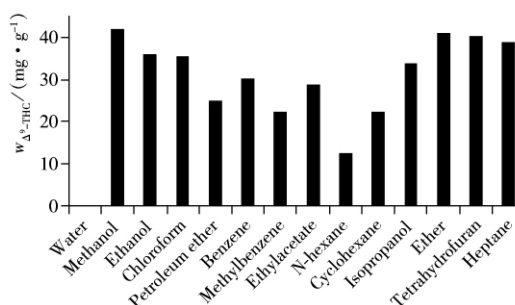


图 1 溶剂种类对四氢大麻酚提取效率的影响

Fig. 1 Effect of solvent types on extraction efficiency of  $\Delta^9$ -THC

考虑到本实验使用的仪器是岛津公司的超快速液相色谱仪,兼颜色谱柱规格、技术水平、仪器设备等情况,最终采用岛津 ODS-SP 型(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m)色谱柱,并在确定最佳色谱柱参数后与其它型号的色谱柱进行比较,所用柱各项柱效指标均表现优异。

## 2.3 检测波长的选择

液相色谱仪配备的检测器多为紫外检测器或二极管阵列检测器,这两种检测器均基于目标物质吸收紫外光的原理设计。由于检测的化合物在不同紫外波长下具有不同的吸光度,且流动相也会产生一定的本底吸收,因此,需要对  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的吸收波长进行考察,确定目标组分的最强吸收波长,以提高检测的灵敏度。紫外检测器通常可以使用 2 个采集波长检测,即设定一个主定量波长和一个辅定量波长。

实验采用二极管阵列检测器对大麻进行了全波长扫描(190~700 nm),获得的  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的保留时间-吸收波长-吸光度三维等高线视图表明:波长在 210 nm 附近时吸收强度达到最大值,其两侧的吸收强度逐渐减弱,故确定主定量波长为 210 nm。考虑到复杂样本中可能存在的某些杂质在该波长处有较强吸收,对定量造成干扰,所以在吸收相对较弱且与最大吸收波长有一定波段间隔处另确定了备用的两个辅定量波长:195 nm 或 220 nm。

## 2.4 流动相组成的选择

**2.4.1 有机相的选择** 液相色谱中常用的有机相溶剂包括甲醇、乙腈和四氢呋喃。按照甲醇-水、乙腈-水、四氢呋喃-水二元流动相洗脱能力的换算关系<sup>[21]</sup>,以 60% 乙腈-水、70% 甲醇-水、45% 四氢呋喃分别作为二元流动相进行实验,通过比较峰形、柱效、保留时间、拖尾因子等指标发现, $\Delta^9$ -四氢大麻酚在乙腈条件下的各项技术指标均高于甲醇。此外,已确定的大麻检测波长为 210 nm,乙腈在此波长处的最大吸光度仅为 0.1,而甲醇则为 0.6,对紫外检测器的干扰比乙腈大得多;采用四氢呋喃作为流动相时,也会导致峰高显著降低,而且四氢呋喃的强洗脱能力易导致 ODS 色谱柱性质改变和加速失效。综上所述,最终选择乙腈作为二元流动相中的有机相。

**2.4.2 水相的选择** 分别考察了高纯水-乙腈、0.05% 醋酸水溶液-乙腈、5 mmol/L 醋酸铵缓冲液-乙腈等流动相体系的分离效果。结果表明,同一梯度条件下,加入醋酸和醋酸铵均会导致基线变动增大,不利于分析,且加入醋酸铵后虽然响应增强,但 3 种物质的保留时间大大缩短、分离度降低。因此,放弃使用这两种添加剂。实验还考察了 50 mmol/L 的磷酸-磷酸二氢钠缓冲液-乙腈体系的分离效果,与高纯水-乙腈相比,在同一色谱条件下,两体系的柱效相差不大,但在高纯水中响应更强、峰形更好,所以选择高纯水-乙腈为流动相。

## 2.5 梯度洗脱方法的建立

**2.5.1 洗脱方式对分离效果的影响** 对于大麻类物质,文献多采用等度洗脱方法<sup>[8-16]</sup>。本实验对等度洗脱的效果进行了考察,分别使用 40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85% 的乙腈水溶液进行等度洗脱,结果表明,应用等度洗脱时,虽然在合适的流动相配比下(如 70% 乙腈-水)峰形较好,但理论塔板数(NTP)较低、峰形展宽、分离效率不高,且在本实验中,容易引入一次性塑料吸管溶解物(可能是塑料增塑剂)的干扰,从而造成  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的定量结果偏高。因此,本文采用梯度洗脱方法进行分离。

**2.5.2 柱流量对分离效果的影响** 考察了柱流量为 0.6~2.0 mL/min 时的色谱分离情况,结果表明, $\Delta^9$ -四氢大麻酚的塔板数、保留时间、峰高以及与干扰物的分离度均随柱流量的增加而降低;为获得较高柱效和分离度,应选择较低的柱流量,但过低的柱流量将使保留时间大幅延长,不利于分析的时效性,综合选择最佳流量为 1 mL/min。

**2.5.3 流动相条件优化** 在流量为 1 mL/min 条件下,设柱温为 40 °C,梯度度为 1.5%/min,考察有机相(乙腈)初始浓度对分离效果的影响。结果表明,有机相中乙腈的初始浓度在 55%~75% 范围内时, $\Delta^9$ -四氢大麻酚的理论塔板数(见图 2)和保留时间(未给出)均随初始浓度的增加而减少,而峰高(见图 2)逐渐增加; $\Delta^9$ -四氢大麻酚峰与干扰峰的分离度在乙腈初始浓度为 55%~70% 时不断增加,而在 71% 左右出现拐点,之后开始迅速下降(见图

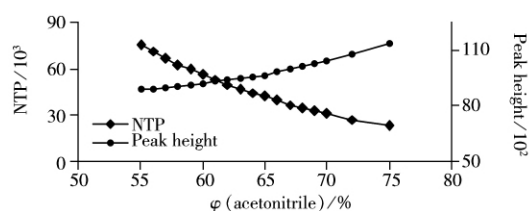


图 2 流动相中乙腈初始浓度对  $\Delta^9$ -四氢大麻酚柱效和峰高的影响

Fig. 2 Effect of acetonitrile's initial content in mobile phase on column efficiency and peak height of  $\Delta^9$ -THC

3)。由图3分析其原因是:当乙腈初始浓度在55%~70%范围内时,干扰物出峰在 $\Delta^9$ -四氢大麻酚之后,并且随浓度升高,分离度增大,但由于该干扰物峰为重叠峰,另一杂质的峰(较小)被覆盖,随着乙腈初始浓度升高,该杂质与干扰物峰逐渐分离,而与 $\Delta^9$ -四氢大麻酚之间的距离不断减小,至乙腈初始浓度为77%时与 $\Delta^9$ -四氢大麻酚峰交叠。为获得较高的分离度,选择70%作为乙腈初始浓度。

在柱流量为1 mL/min的条件下,设柱温为40℃、乙腈初始浓度为70%,考察梯度陡度对分离效果的影响。结果表明 $\Delta^9$ -四氢大麻酚的保留时间随梯度陡度增加而减小,塔板数、峰高随着梯度陡度增加而增大。但在梯度陡度达到2.3%/min时,分离度发生锐减,这是因为被干扰物峰“覆盖”的杂质与之发生分离,并且该杂质出峰时间与 $\Delta^9$ -四氢大麻酚不断接近。

根据上述实验结果,初始浓度和梯度速率可有3种组合类型,即低初始梯度配高速率、中初始配中速率、高初始配低速率,据此确定的参数组合、实验条件以及 $\Delta^9$ -四氢大麻酚的分析结果如表1所示。综合考虑保留时间、塔板数、峰高、拖尾因子、分离度,选择最佳分离条件为梯度陡度2.1%/min,乙腈初始浓度70%。

2.5.4 柱温对分离效果的影响 考察了柱温在30~40℃范围内对 $\Delta^9$ -四氢大麻酚分离效果的影响,结果表明,随柱温升高,四氢大麻酚的保留时间、塔板数略有降低,峰高略有升高。而温度对 $\Delta^9$ -四氢大麻酚与干扰性杂质的分离度影响明显,当柱温由30℃升至40℃时,两者的分离度呈上升趋势。这是因为 $\Delta^9$ -四氢大麻酚对温度变化比该杂质更敏感,随温度升高其保留时间的前移速度更快。考虑到当柱温升至39℃时已基本进入平台期,且40℃以上的柱温在冬天气温较低时难以达到,故选择最佳柱温为40℃。

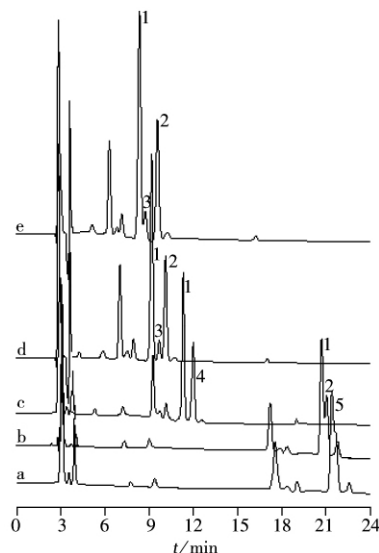


图3 流动相中乙腈初始浓度对 $\Delta^9$ -四氢大麻酚与干扰物分离度的影响

Fig. 3 Effect of acetonitrile's initial content in mobile phase on separation of  $\Delta^9$ -THC and its interferent acetonitrile content (a-e): 45%, 51%, 69%, 75%, 78%; 1.  $\Delta^9$ -THC, 2. interferent, 3. impurity, 4. interferent and impurity, 5.  $\Delta^9$ -THC and interferent

表1 不同梯度程序参数组合及与之对应的色谱结果

Table 1 Results of different groups of gradient procedure's parameters

Type	Acetonitrile's initial content/%	Gradient steepness/(%·min <sup>-1</sup> )	Retention time/s	Number of theoretical plate	Peak area	Peak height	Tailing factor	Resolution
Low initial content & high gradient steepness	68	2.1	10.833	38 926.47	92 873	11 977	1.028	2.011
	68	2.2	10.691	39 786.23	93 921	12 306	1.035	1.991
	69	2.0	10.616	37 247.89	94 389	11 955	1.030	2.014
	69	2.1	10.492	37 669.02	94 950	12 274	1.024	1.981
Middle initial content & middle gradient steepness	69	2.2	10.388	38 668.22	94 522	12 502	1.014	1.967
	70	2.0	10.262	36 059.35	94 651	12 280	1.001	2.039
	70	2.1	10.157	36 600.48	94 846	12 532	0.998	2.057
	70	2.2	10.061	37 344.36	95 303	12 868	0.988	2.066
	71	1.9	9.750	35 642.17	94 954	13 004	0.984	0.994
	71	2.0	9.638	33 490.74	95 217	12 783	0.983	1.137
High initial content & low gradient steepness	71	2.1	9.847	35 078.34	95 084	12 725	0.977	2.181
	72	1.8	9.817	31 945.53	95 597	12 180	0.966	2.167
	72	1.9	9.721	32 637.05	95 407	12 486	0.972	2.226
	72	2.0	9.638	33 490.74	95 217	12 783	0.983	1.137
	73	1.8	9.478	30 518.91	96 997	12 518	0.981	1.361
	73	1.9	9.403	31 351.42	96 905	12 872	0.999	1.384

## 2.6 进样体积的选择

液相色谱一般采用进样环进样,在理论上可以精确控制进样量,但为了降低偶然误差带来的不确

定度,考察了不同进样体积下的峰面积精密度情况,结果表明,对于 20  $\mu\text{L}$  进样环,采用 10  $\mu\text{L}$  以上的进样体积(最大体积 50%)时,进样误差可控制在 0.2% 以下。

## 2.7 方法验证

**2.7.1 专属性** 对大麻样品进行了专属性(抗干扰)验证,色谱图见图 4。结果显示, $\Delta^9$ -四氢大麻酚与同为大麻主要成分且结构相似的大麻二酚、大麻酚能实现较好分离,且峰形良好,分离效率和分离度高,保留时间合适。在优化条件下, $\Delta^9$ -四氢大麻酚峰纯度指数 1.000,单点阈值 0.972,分离度 2.116,拖尾因子 0.998,理论塔板数 95 126,色谱行为良好。

**2.7.2 线性范围与工作曲线** 精密吸取一定量的 0.1 g/L 标准溶液,用 0.1 g/L 葱的甲醇溶液(内标液)逐级稀释,配制成质量浓度为 0.05、0.01、0.005、0.001、0.000 5 g/L 的标准工作液,分别进

样,每份样品平行进样 3 次,在优化色谱条件下进行分析,用峰面积积分值( $Y$ )对其质量浓度( $X$ )进行线性回归。结果表明, $\Delta^9$ -四氢大麻酚在 0.5 ~ 100.0 mg/L 范围内线性良好,外标法线性方程:  $Y = 7.220 \times 10^4 X + 6.630 \times 10^2$ ,  $r^2 > 0.999\ 99$ ; 内标法线性方程:  $Y = 2.051X - 7.171 \times 10^{-4}$ ,  $r^2 > 0.999\ 99$ 。

**2.7.3 检出限与定量下限** 分别按  $S/N \geq 3.3$  及  $S/N \geq 10$  进行计算,得到本方法对  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的检出限为 0.12 mg/L,定量下限为 0.40 mg/L。

**2.7.4 精密度** 取低(0.5 mg/L)、中(0.01 g/L)、高(0.1 g/L) 3 个浓度的  $\Delta^9$ -四氢大麻酚标准溶液,每一浓度分别于 1 日内进样 6 次,低、中、高浓度的峰面积日内相对标准偏差(RSD)分别为 0.79%、0.12%、0.10%; 每一浓度分别连续测定 6 日,低、中、高浓度的峰面积 RSD 分别为 2.5%、1.2%、0.77%,精密度良好。

**2.7.5 重复性** 取同一大麻样品 6 份,每份约 60.15 mg,精密称定,按本方法制备样品溶液并进样分析,外标法计算, $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量的 RSD 为 2.0%; 内标法计算,其 RSD 为 1.6%,方法的重复性良好。

**2.7.6 稳定性** 取一份样品溶液,室温下静置并于 0、2、4、8、12、18、24 h 时进样分析,四氢大麻酚在 24 h 内峰面积的 RSD 为 0.15%,表明样品在 24 h 内稳定性良好。

**2.7.7 准确度** 精密称取已知含量(6.02%)的大麻粉末 9 份,分别加入高、中、低 3 个浓度水平的标准品对照品溶液,采用本方法检测,外标法的加标回收率为 100%,RSD 为 1.6%; 内标法的加标回收率 101%,RSD 为 1.8%,表明方法准确度良好。

## 2.8 测量不确定度评定

采用上述建立的方法检测某收缴的大麻树脂样品,按照公式(1)、(2)对  $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量测定结果进行不确定度评定<sup>[22]</sup>。各不确定度分量评定结果如表 2 所示。

高效液相色谱(外标工作曲线)法测定单份供试品溶液中  $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量的公式:

$$w_i = C_{\text{pred}} \times V_1 \times (V_2 + V_3) \times 100 / (V_2 m) \quad (1)$$

高效液相色谱(外标工作曲线)法测定多份供试品溶液中  $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量的公式:

$$w = \sum w_i / n \quad (2)$$

将表 2 中各不确定度分量合成,95% 置信概率下  $U = k \times u_c(w) \%$ ,  $k = 2$ 。样品中  $\Delta^9$ -四氢大麻酚含量的不确定度结果为  $5.32\% \pm 0.17\%$ ,  $k = 2$ 。

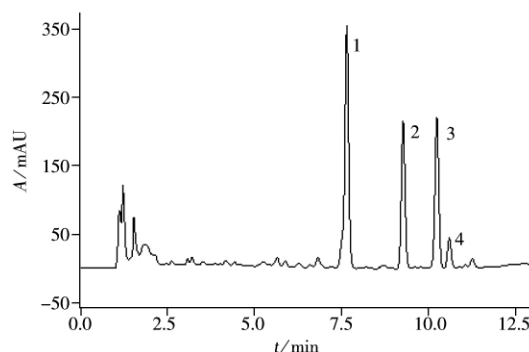


图 4 某大麻样品(树脂)的色谱图

Fig. 4 Chromatogram of a cannabis sample(resin)

1. cannabidiol, 2. cannabinol, 3.  $\Delta^9$ -THC, 4. interferent

表2 不确定度分量评定结果  
Table 2 Results of evaluation of components of uncertainty

Source	Symbol of physical measurement	$x$	$u(x)$	$u_{\text{rel}}(x) = u(x)/x$
Sample weight	$\bar{m}$	59.8 mg	0.080 0 mg	0.001 35
Volume of extraction	$V_1$	10.0 mL	0.042 0 mL	0.004 20
Volume sucked up from $V_1$	$V_2$	1.00 mL	0.006 33 mL	0.006 33
Volume of dilution (added)	$V_3$	10.0 mL	0.042 0 mL	0.004 20
Concentration of sample solution	$C_{\text{pred}}$	0.029 1 mg/mL	0.000 312 mg/mL	0.010 7
Repeatability of measurements	$w$	5.32	0.046 7	0.008 77

### 3 结 论

本实验建立了大麻毒品主要有效成分  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的高效液相色谱分析方法。其优化和验证过程系统、全面、严谨，方法快速、灵敏、准确、可靠，适合作为测定大麻植物及树脂中  $\Delta^9$ -四氢大麻酚的定量方法推广使用。

#### 参考文献:

- [1] Meng P J. *Forensic Sci. Technol.* (孟品佳. 刑事技术), **2001**, 1: 26–27.
- [2] Xiang P, Shen M, Shen B H, Liu W, Bu J, Wu H J. *J. Forensic Med.* (向平, 沈敏, 沈保华, 刘伟, 卜俊, 吴何坚. 法医学杂志), **2002**, 18(4): 216–219.
- [3] Aurélien T, Christèle W, Gérard H, Christian S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2007**, 45: 495–503.
- [4] Eunyoung H, Yonghoon P, Eunmi K, Sangwhan I, Wonkyung Y, Sooyeon L, Hwakyung C, Sangki L, Heesun C, Joonmyong S. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2011**, 55: 1096–1103.
- [5] Balducci C, Nervegna G, Cecinato A. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 641: 89–94.
- [6] Veniero G, Lucia D, Fiorenza F, Rino F, Elisa S, Giovanna T. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 468: 245–254.
- [7] Yang R Q. *Journal of the People's Public Security University: Nat. Sci. Ed.* (杨瑞琴. 中国人民公安大学学报: 自然科学版), **2006**, 2: 9–10.
- [8] Antonia G, Gisela S. *Forensic Sci. Int.*, **2011**, 210: 7–11.
- [9] Teixeira H, Proença P, Castanheira A, Santos S, López – Rivadulla M, Corte – Real F, Marques E P, Vieira D N. *Forensic Sci. Int.*, **2004**, 146S: S61–S63.
- [10] Del Mar Ramirez Fernandez M, De Boeck G, Wood M, López – Rivadulla M, Samyn N. *J. Chromatogr. B*, **2008**, 875: 465–470.
- [11] Concheiro M, de Castro A, Quintela O, Cruz A, López – Rivadulla M. *J. Chromatogr. B*, **2004**, 810: 319–324.
- [12] Helena T, Alain V, Paula P, Francisco C, Paula M, Duarte N V. *Forensic Sci. Int.*, **2007**, 170: 148–155.
- [13] Helena T, Paula P, Alain V, Francisco C, Duarte N V. *Forensic Sci. Int.*, **2005**, 150: 205–211.
- [14] Ruiqin Y, Wenlin X. *Forensic Sci. Int.*, **2006**, 162: 135–139.
- [15] Guo Y, Xia L B, Deng S R. *Chem. Eng.* (郭莹, 夏林波, 邓仕任. 化学工程师), **2009**, 9: 23–24.
- [16] Anna M, John L, Philip D, Glyn H, Tatiana P, Shanlin F. *Forensic Sci. Int.*, **2012**, 215: 92–96.
- [17] Wang C, Yang H L, Li Q, Chen X H, Zhang T H, Bi K S. *Chin. J. Pharm. Anal.* (王超, 杨宏丽, 李清, 陈晓辉, 张天虹, 毕开顺. 药物分析杂志), **2010**, 30(9): 1742–1745.
- [18] Corcia D D, D'Urso F, Gerace E, Salomone A, Vincenti M. *J. Chromatogr. B*, **2012**, 899: 154–159.
- [19] Niu Y, Lu Y X, Liu Y. *Forensic Science and Technology* (牛勇, 卢延旭, 刘媛. 刑事科学技术), **2004**, 6: 21–23.
- [20] Zhai W F. *Chem. Eng.* (翟晚枫. 化学工程师), **2012**, 8: 7–9.
- [21] Sun Y Q, Hu Y Z. *Selection and Optimization of Liquid Chromatography Mobile Phase*. 3rd ed. Beijing: Chemical Industry Press(孙毓庆, 胡育筑. 液相色谱流动相的选择与优化. 3版. 北京: 化学工业出版社), **2008**: 41.
- [22] CNAS—GL 06: 2006. Guidance on Evaluating the Uncertainty in Chemical Analysis(化学分析中不确定度的评估指南).