应用简报

大麻和火麻检测

Agilent
Trusted Answers

全自动样品前处理用于分析大麻花中的萜烯

将 Agilent PAL3 系列 II RTC 自动化系统与 Agilent Intuvo 9000/5977C GC/MS 结合使用

作者

Saurabh U. Patel，
Jessica L. Westland，
Samuel P. Haddad
安捷伦科技有限公司

摘要

气相色谱/质谱 (GC/MS) 联用分析大麻中的萜烯，已经成为市售大麻品系味道和气味特征表征的重要工具。本应用简介展示了 Agilent PAL3 系列 II 自动更换进样模块 (RTC) 进样器使大麻花萜烯样品前处理过程实现全自动化的能力。使用自动化样品前处理有助于减少用户错误以及分析所需的样品和溶剂量。PAL3 系列 II RTC 自动化功能与 Agilent Intuvo 9000/5977C 气质联用系统相结合，可节省时间并降低能耗，打造更环保的高通量实验室。

前言

萜烯是一类化合物，为每种大麻属品系赋予了独特的风味和香气。气相色谱/质谱 (GC/MS) 联用分析大麻中的萜烯，已经成为市售大麻品系味道和气味特征表征的重要工具。手动溶剂萃取过程虽然简单易行，但可能会在工作台上引入萃取错误。本应用简介展示了 Agilent PAL3 系列 II RTC 进样器使大麻花萜烯样品前处理过程实现全自动化的能力。PAL3 系列 II RTC 与 Agilent Intuvo 9000 GC 和 5977C MS 检测器 (MSD) 配合使用，为任何想要分析萜烯的大麻实验室开发了一款简单而强大的解决方案。

实验部分

化学品与试剂

萜烯标准混合物 CAN-TERP-MIX1H 和 CAN-TERP-MIX2H 均含有 21 种萜烯，购自 SPEX CertiPrep (Metuchen, NJ, US)。内标 (ISTD)、2-氟联苯和乙酸乙酯（纯度 99.9%）购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, US)。用于校准的测试基质冷榨火麻籽油（空白基质）来自 Nutiva (Richmond, CA, US)。各种大麻花品系磨碎样品获自密西西比大学。

仪器

GC/MS 仪器方法参数遵循安捷伦应用指南 5994-2032EN 中所述的方法[1]。GC 仪器参数见表 1，MS 仪器参数见表 2，PAL3 系列 II RTC 仪器配置见表 3。表 4 列出了本实验使用的消耗品。

表 1. 萜烯分析的气相色谱条件

Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统、自动进样器和样品盘	
进样量	1.0 µL
进样口	EPC 分流/不分流
模式	分流
分流比	150:1
隔垫吹扫模式	标准，3 mL/min
进样口温度	250 °C
芯片式保护柱升温	250 °C（炉温跟踪关闭）
总线温度	260 °C
柱温箱	初始：75 °C（保持 1 min） 温阶 1：以 5 °C/min 升至 165 °C 温阶 2：以 175 °C/min 升至 250 °C（保持 10.514 min）
色谱柱 1	Agilent J&W DB-Select 624, 30 m × 0.25 mm, 1.4 µm
流量控制模式	恒流，2.0 mL/min
色谱柱 2	Agilent J&W DB-Select 624, 30 m × 0.25 mm, 1.4 µm
流量控制模式	恒流，2.2 mL/min
PSD 吹扫流速	3 mL/min
Agilent Intuvo 9000 气相色谱反吹参数	
进样口压力（反吹）	2 psi
反吹压力	65 psi
死体积	5
反吹时间	3.236

表 2. 萜烯分析的 MS 条件

Agilent 5977C MSD	
离子源	Agilent Extractor
提取透镜	9 mm
传输线温度	260 °C
离子源温度	300 °C
四极杆温度	200 °C
模式	SIM
电子倍增器电压增益	可变
溶剂延迟	13 min
调谐文件	atune.u

表 3. 萜烯分析的 PAL 3 配置

PAL3 系列 II RTC 导轨	
工具	液体处理工具
注射器	10 µL（货号 8010-1307） 25 µL（货号 8010-1310） 1 mL（货号 8010-1326）
控制系统	PAL Method Composer 软件 1.4 版
PAL 模块	涡旋混合器、托盘支架、大型清洗模块
可选模块	快速清洗站，稀释器模块

表 4. 在萜烯分析方法中使用的安捷伦消耗品及其货号

消耗品	描述	货号
进样口隔垫	高级绿色隔垫，不粘连，11 mm	5183-4759
进样口衬管	通用超高惰性低压降进样口衬管	5190-2295
芯片式保护柱	Agilent Intuvo S/SL 芯片式保护柱	G4587-60565
色谱柱	DB-Select 624 30 m × 250 µm, 1.4 µm（数量：2）	122-0334UI-INT
垫片	Intuvo 聚酰亚胺垫圈	5190-9072
压缩螺栓	Intuvo 压缩螺栓	G4581-60260
检测器尾部	Intuvo MS 尾部	G4590-60009
提取透镜	Extractor EI 9 mm 透镜	G3870-20449
PAL 样品瓶	螺口，透明，圆底，10 mL	5188-5392
PAL 螺口盖	钢质，磁性瓶盖，PTFE/硅橡胶隔垫 18 mm	5188-2759

自动校准和样品前处理

所有自动化前处理步骤均使用 PAL Method Composer (G7388A) 编写脚本。图 1 详细介绍了各校准曲线浓度自动前处理的操作指导，图 2 详细介绍了自动样品前处理的操作指导。

为评估各校准曲线的自动前处理，使用 PAL3 系列 II RTC 建立了三条独立的曲线。总共使用了 8 个校准点，范围为 3.83 µg/mL–490.2 µg/mL。使用低 (3.83 µg/mL)、中 (30.64 µg/mL) 和高 (245.10 µg/mL) 校准浓度标准品，计算每种萜烯 (n = 3) 的准确度和精密度。

为了评估样品的自动化前处理，研究中萃取了均质化大麻花。对两种不同的大麻花样品进行四次重复萃取 (n = 4) 以显示精确度（图 3），并萃取另外 6 个大麻花样品 (n = 1) 以显示样品差异（图 4）。



图 1. 各萜烯校准曲线自动化前处理的 PAL Method Composer 操作指导。通过实验确定准确转移 5 mg 大麻籽油所需的体积，同时考虑其密度和粘度。ISTD 1（10000 µg/mL 2-氟联苯的乙酸乙酯溶液）的前处理指导可参见安捷伦应用简报 5994-2032EN[1]

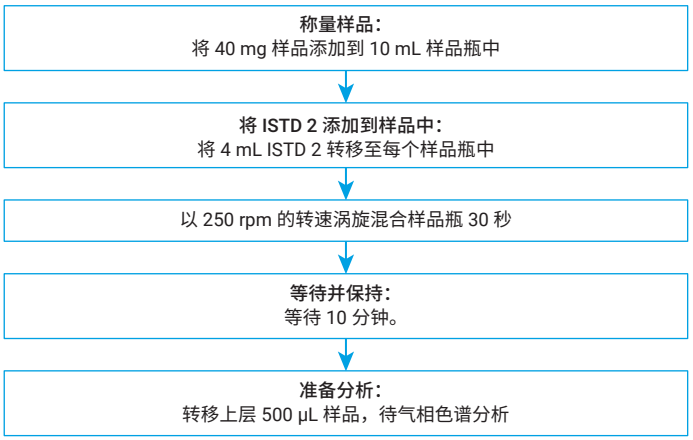


图 2. 萜烯样品自动化前处理的 PAL Method Composer 操作指导。ISTD 2（200 µg/mL 2-氟联苯的乙酸乙酯溶液）的前处理指导可参见安捷伦应用简报 5994-2032EN[1]



图 3. 2 种不同的大麻花样品





图 4. 6 种不同的大麻花样品

结果与讨论

校准、准确度和精密度

自动化样品前处理的主要优点是可以减少错误和降低资源消耗。结果表明此过程十分稳定，仅需极少用户干预即可轻松实施和维护。表 5 提供了使用 PAL3 系列 II RTC 导轨绘制的三条独立校准曲线的保留时间和线性 (R^2)。所有 R^2 值均 > 0.99，表明配制的校准标样拟合性非常好。表 6 显示了三个校准浓度下的准确度和精密度数据。所有准确度均在 91.5%–118.6% 之间，所有精密度 (RSD) 均低于 8.7%。

表 5. 使用 PAL3 系列 II RTC 导轨绘制的三条独立校准曲线的保留时间和线性 (R^2)。所有校准曲线均采用二次关系拟合和 1/x 加权

名称	RT (min)	校准样品 1 (R^2)	校准样品 2 (R^2)	校准样品 3 (R^2)
α-蒎烯	13.963	0.9993	0.9980	0.9992
莰烯	14.710	0.9994	0.9984	0.9992
桧烯	15.399	0.9996	0.9987	0.9989
β-月桂烯	15.536	0.9989	0.9987	0.9991
β-蒎烯	15.665	0.9993	0.9984	0.9995
α-水芹烯	16.449	0.9992	0.9989	0.9992
δ-3-蒈烯	16.496	0.9995	0.9984	0.9991
α-松油烯	16.817	0.9982	0.9968	0.9978
E-β-罗勒烯	16.995	0.9996	0.9992	0.9987
D-柠檬烯	17.177	0.9995	0.9986	0.9988
Z-β-罗勒烯	17.490	0.9996	0.9991	0.9989
桉树脑	17.685	0.9998	0.9997	0.9992
γ-松油烯	18.072	0.9996	0.9989	0.9989
异松油烯	19.053	0.9993	0.9984	0.9984
水合桧烯	19.484	0.9999	0.9998	0.9981
芳樟醇	19.779	1.0000	0.9998	0.9980
[±]-小茴香酮	19.975	0.9998	0.9998	0.9989
内型-葑基醇	20.446	0.9999	0.9997	0.9983
异胡薄荷醇	20.802	0.9999	0.9998	0.9979
[±/N]-樟脑	21.088	0.9999	0.9998	0.9987
异莰醇	21.186	0.9991	0.9999	0.9975
薄荷醇	21.207	0.9994	0.9996	0.9989
[±]-茨醇	21.330	0.9999	0.9997	0.9971
α-松油醇	21.431	0.9999	0.9998	0.9981
γ-松油醇	21.431	0.9999	0.9998	0.9977
橙花醇	21.729	0.9999	0.9999	0.9975
香叶醇	21.996	0.9999	0.9998	0.9972
长叶薄荷酮	22.147	0.9999	0.9998	0.9978
乙酸香叶酯	23.215	0.9999	0.9999	0.9985
金合欢烯	23.935	0.9998	0.9989	0.9981
α-柏木烯	24.175	0.9999	0.9992	0.9987
E-石竹烯	24.227	0.9984	0.9990	0.9992
α-葎草烯	24.721	0.9997	0.9996	0.9985
朱栾倍半萜	25.106	0.9994	0.9995	0.9984
Z-橙花叔醇	25.357	0.9999	0.9999	0.9991
E-橙花叔醇	25.802	0.9999	0.9999	0.9991
愈创木醇	27.097	0.9999	0.9999	0.9990
石竹烯氧化物	27.460	0.9997	0.9998	0.9991
雪松醇	27.918	0.9999	1.0000	0.9992
α-红没药醇	28.359	0.9999	0.9999	0.9990

表 6. 校准浓度 3.83、30.64 和 245.10 µg/mL 下的准确度（平均百分比，n = 3）和精密度（%RSD，n = 3）

化合物名称	平均准确度（%，n = 3）			精密度（%RSD，n = 3）		
	3.83 µg/mL	30.64 µg/mL	245.10 µg/mL	3.83 µg/mL	30.64 µg/mL	245.10 µg/mL
α-蒎烯	108.1	95.9	105.3	1.5	2.4	2.0
莰烯	108.0	95.9	104.8	1.4	2.2	1.7
桧烯	108.5	95.4	104.5	1.0	1.6	1.7
β-月桂烯	109.6	96.7	104.9	1.5	3.7	0.4
β-蒎烯	109.3	96.2	104.3	1.2	0.4	1.9
α-水芹烯	105.8	97.8	102.0	1.4	4.1	4.0
δ-3-蒈烯	108.0	95.7	104.6	1.3	2.3	1.9
α-松油烯	118.6	91.5	106.4	3.0	0.6	1.6
E-β-罗勒烯	111.2	95.2	104.0	3.8	1.4	1.2
D-柠檬烯	109.8	95.2	104.8	1.4	2.0	1.4
Z-β-罗勒烯	109.0	95.2	104.1	2.7	1.7	1.1
桉树脑	107.2	97.0	102.8	2.1	3.1	1.2
γ-松油烯	108.7	95.6	104.3	2.1	1.9	1.4
异松油烯	112.5	94.3	105.0	2.4	2.0	1.3
水合桧烯	106.6	96.8	103.1	5.1	3.3	2.9
芳樟醇	105.9	96.5	103.2	5.1	3.6	3.0
[±]-小茴香酮	106.9	96.7	103.0	3.6	2.5	1.5
内型-葑基醇	107.7	96.8	103.1	1.5	2.1	2.8
异胡薄荷醇	108.9	95.1	103.0	5.3	2.5	3.2
[±/N]-樟脑	107.3	97.0	102.9	5.3	3.6	1.9
异莰醇	107.3	97.1	104.1	7.9	4.3	2.9
薄荷醇	107.5	97.7	103.4	4.0	3.7	1.2
[±]-茨醇	108.9	95.5	104.0	6.6	4.0	3.4
α-松油醇	108.2	96.3	103.2	5.1	4.1	2.7
γ-松油醇	107.9	95.6	103.5	6.1	4.0	2.9
橙花醇	105.9	98.0	103.2	8.7	5.4	3.5
香叶醇	111.2	95.1	103.4	7.6	5.4	3.4
长叶薄荷酮	108.6	96.1	103.4	6.3	4.2	2.8
乙酸香叶酯	106.7	97.1	102.9	3.2	3.5	2.3
金合欢烯	109.1	98.6	104.1	7.5	4.4	2.4
α-柏木烯	108.6	94.6	103.5	4.8	3.1	1.8
E-石竹烯	107.0	97.0	104.9	3.7	1.4	0.9
α-葎草烯	109.2	95.8	103.7	3.8	2.4	1.7
朱栾倍半萜	108.2	95.5	104.3	4.3	2.2	1.4
Z-橙花叔醇	107.7	96.2	102.1	3.0	2.7	1.8
E-橙花叔醇	106.3	96.6	102.1	3.5	2.5	1.8
愈创木醇	108.0	96.3	102.1	3.7	2.0	2.0
石竹烯氧化物	108.8	95.4	102.7	1.2	1.6	1.4
雪松醇	106.1	96.4	101.7	3.6	2.0	2.0
α-红没药醇	106.7	96.3	102.5	4.4	2.3	1.7

各种大麻样品的分析

所有检测限（LOD）和定量限（LOQ）均低于最低校准点 (3.83 µg/mL)。因此，当前研究的报告限值被定义为大于 3.83 µg/mL 的任意值。不同大麻样品中检测到的萜烯浓度见表 7。每个样品均具有独特的萜烯组成。结果展示了在样品 5（图 5）和样品 6（图 6）的四次重复分析中检出的萜烯浓度。在样品 5 中，检测到的萜烯的 RSD% 范围为 0.69%–7.92%，样品 6 中为 3.47%–10.16%。

表 7. 6 种不同大麻花朵样品中的萜烯浓度 (µg/mL)。样品 5 和 6 重复运行四次 (n = 4) 以确定标准偏差 (SD)

化合物名称	样品 1 (µg/mL)	样品 2 (µg/mL)	样品 3 (µg/mL)	样品 4 (µg/mL)	样品 5（µg/mL ± SD，n = 4）	样品 6（µg/mL ± SD，n = 4）
α-蒎烯	N/A	4.20	N/A	N/A	N/A	N/A
D-柠檬烯	N/A	N/A	N/A	N/A	4.08 ± 0.12	N/A
桉树脑	8.02	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
芳樟醇	19.26	4.45	9.78	4.23	10.16 ± 0.44	N/A
内型-葑基醇	7.46	N/A	11.26	N/A	8.22 ± 0.06	N/A
[±]-茨醇	N/A	N/A	7.72	N/A	N/A	N/A
α-松油醇	18.39	N/A	35.21	7.57	9.26 ± 0.45	4.02 ± 0.25
γ-松油醇	15.34	N/A	24.71	6.90	8.18 ± 0.47	N/A
金合欢烯	139.52	20.34	98.73	130.25	76.83 ± 6.08	31.24 ± 3.17
E-石竹烯	95.40	21.35	57.19	63.06	159.99 ± 4.61	21.12 ± 0.73
α-葎草烯	38.52	7.87	20.82	17.61	40.69 ± 1.41	6.33 ± 0.50
E-橙花叔醇	13.92	N/A	14.50	5.38	7.18 ± 0.38	N/A
愈创木醇	N/A	N/A	9.04	N/A	N/A	N/A
石竹烯氧化物	26.59	20.78	50.75	44.05	20.97 ± 1.08	8.47 ± 0.40
α-红没药醇	16.82	29.43	48.34	21.02	117.33 ± 5.29	23.23 ± 0.94

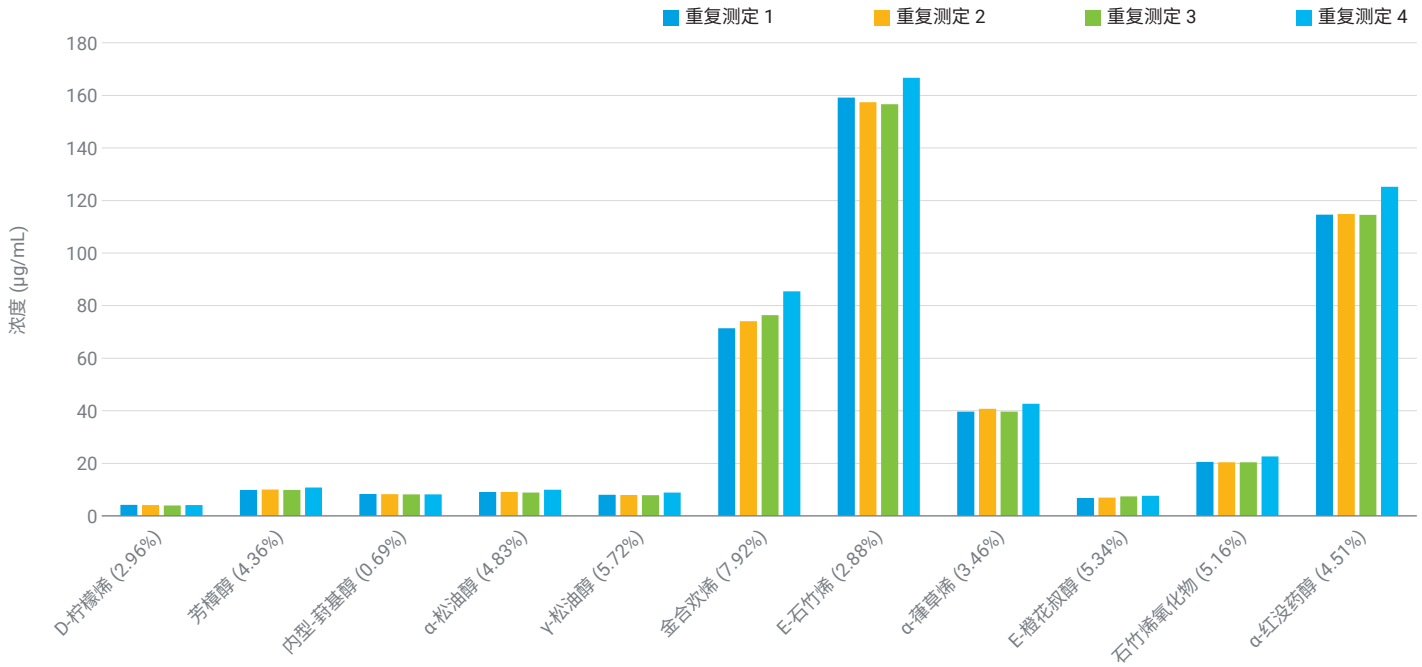


图 5. 样品 5 (n = 4) 中的萜烯浓度 (µg/mL)。括号中显示了重复实验中的 %RSD

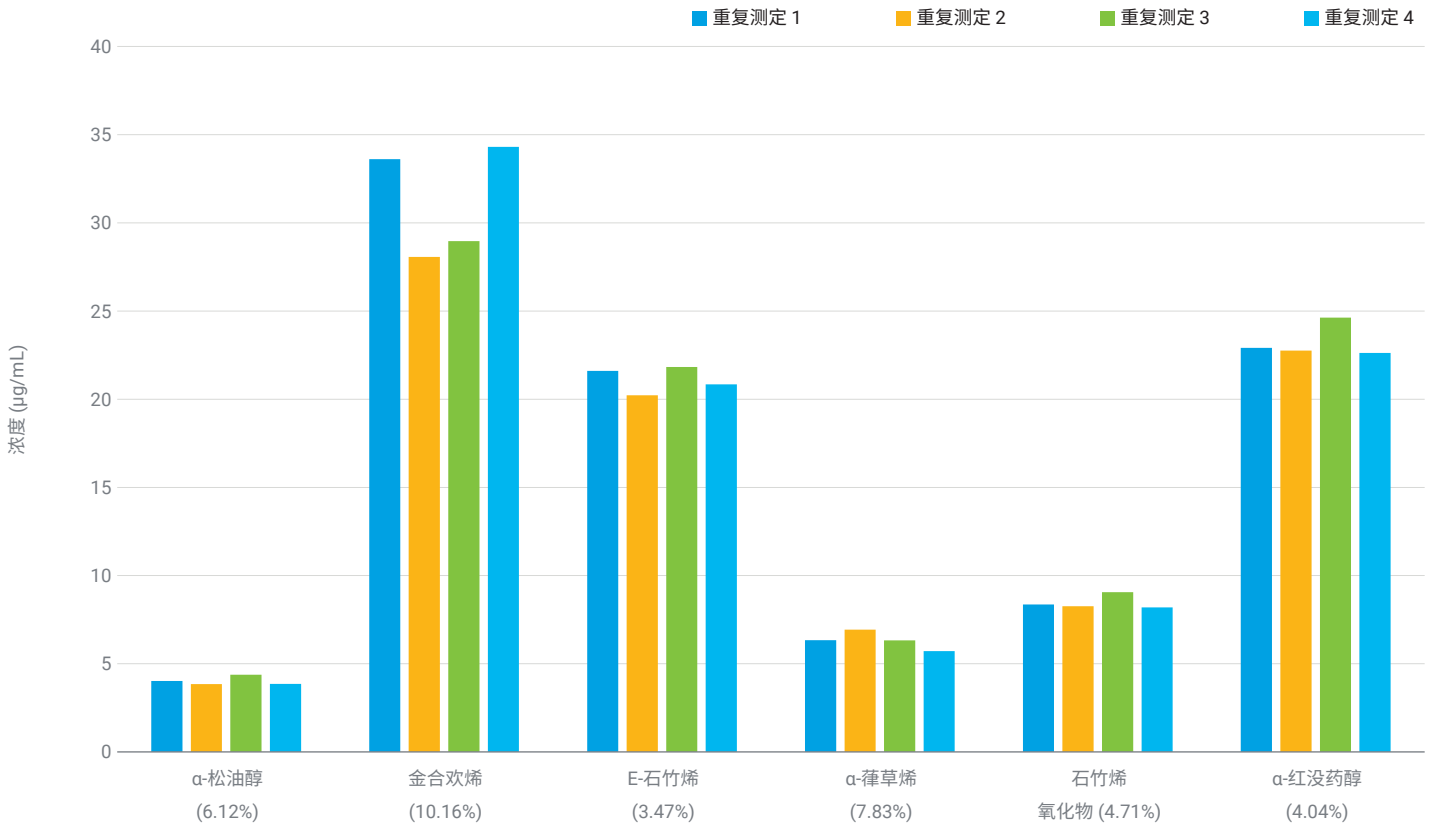


图 6. 样品 6 (n = 4) 中的萜烯浓度 (µg/mL)。括号中显示了重复实验中的 %RSD

结论

本应用简报表明，Agilent PAL3 系列 II RTC 进样器可准确且精确地进行自动化样品前处理，以分析大麻花中的萜烯。使用自动化样品前处理有助于减少用户错误以及分析所需的样品和溶剂量。PAL3 系列 II RTC 自动化功能与 Agilent Intuvo 9000/5977C 气质联用系统相结合，可节省时间并降低能耗，打造更环保的高通量实验室。

参考文献

1. Hollis, J. S.; Harper, T.; Macherone, A. Terpenes Analysis in Cannabis Products by Liquid Injection using the Agilent Intuvo 9000/5977B GC/MS System（使用 Agilent Intuvo 9000/5977B GC/MS 系统通过液体样品进样分析大麻产品中的萜烯），*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-2032EN

安捷伦产品和解决方案旨在帮助实验室进行大麻质量控制和安全检测（在国家/地区法律允许的情况下使用）。

www.agilent.com

DE40874749

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2023
2023 年 6 月 7 日，中国出版
5994-6007ZHCN

查找当地的安捷伦客户中心：
www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：
800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：
LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：
www.agilent.com/chem/erfq-cn

Agilent
Trusted Answers