

采用 Agilent 1220 Infinity II 液相色谱系统 进行大麻素效价测定

作者

Christy Storm,
Michael Zumwalt 和 Anthony
Macherone
安捷伦科技有限公司

摘要

安捷伦提供了一种可靠的解决方案，能够对大麻花朵及其相关产品中常见的目标大麻素进行快速、稳定、准确和精密的定量分析。

- 定量分析大麻中的大麻素，以确保质量、安全性和合规性
- 购买或租用最佳分析设备
- 借助安捷伦专用方法实现快速的方法实施
- 咨询服务为您的员工提供帮助和培训

前言

Agilent 1220 Infinity II 液相色谱系统可为大麻以及来源于植物材料的产品（如食品）中 11 种最常见的目标大麻素提供可靠且稳定的分析和定量。该方法确定了分析柱、流动相改性剂和所有的系统参数，可在 10 分钟内分离目标大麻素。该方法已在两个独立的 1220 Infinity II 液相色谱系统上完成了测试和验证。表 5-7 分别给出了日内和日间准确度、精度和线性。

实验部分

表 1. 目标化合物

次大麻二酚 (CBDV)
四氢次大麻酚 (THCV)
(-)-反式- Δ^9 -四氢大麻酚 (THC)
大麻二酚 (CBD)
大麻萜酚 (CBG)
Δ^9 -四氢大麻酚酸 (THCA-A)
大麻二酚酸 (CBDA)
大麻酚 (CBN)
大麻萜酚酸 (CBGA)
大麻环萜酚 (CBC)
(-)- Δ^8 -THC

表 2. 硬件和消耗品

硬件和软件	部件号
Agilent 1220 Infinity II 液相色谱梯度系统 VL 包括带有集成式脱气单元的梯度泵（最大压力为 400 bar）、 自动进样器、柱温箱和带有标准流通池的可变波长检测器。	G4290C
Agilent OpenLAB CDS VL 工作站	M8417AA

消耗品	部件号
Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 50 mm, 2.7 μm	699975-302
0.45 μm 再生纤维素 (RC) 针头过滤器	5190-5107
甲酸	G2453-85060
LC/MS 级水, 4 L	5190-6897
LC/MS 级甲醇, 1 L	5190-6896
陶瓷均质子, 50 mL 管, 100/包	5982-9313

流动相配制

- **0.1% (v/v) 甲酸水相:** 向一个 1 L 的 A 级容量瓶中加入约 500 mL 高纯度 HPLC 级水 (5190-6897)。加入 1.0 mL 甲酸 (G2452-85060)。轻轻摇晃混合并定容至 1 L。充分混合后转移至 HPLC 流动相瓶中
- **0.05% (v/v) 甲酸有机相:** 向一个 1 L 的 A 级容量瓶中加入约 500 mL 高纯度 HPLC 级甲醇 (5190-6896)。加入 0.5 mL 甲酸 (G2452-85060)。轻轻摇晃混合并定容至 1 L。充分混合后转移至 HPLC 流动相瓶中

表 3. 液相色谱条件

参数	值
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 50 mm, 2.7 μm
流动相	A) 0.1% (V/V) 甲酸水相 B) 0.05% (V/V) 甲酸有机相
流速	1.0 mL/min
停止时间	9.5 min
后运行	1.5 min
柱温	50 °C 恒温
进样量	5.0 μL
自动进样器温度	室温
峰宽	>0.0063 min (0.13 秒响应时间) (80 Hz)
可变波长检测器	230 nm

表 4. 液相色谱流动相梯度

时间 (min)	%B
0	60
1.0	60
7.0	77
8.2	95

样品前处理

1. 称取 200 mg 花朵/叶子并切碎，置于 50 mL 离心管中。使用陶瓷均质子和市售研磨机对其进行均质化处理
2. 加入 20 mL 甲醇。涡旋/振荡 10 分钟
3. 移取 1 mL 至新样品瓶。在 5000 rpm 的转速下离心 5 分钟
4. 将 50 μL 上清液转移至新样品瓶。加入 950 μL 甲醇。短暂混合
5. 使用 4 mm, 0.45 μm 再生纤维素 (RC) 针头过滤器 (部件号 5190-5107) 进行过滤

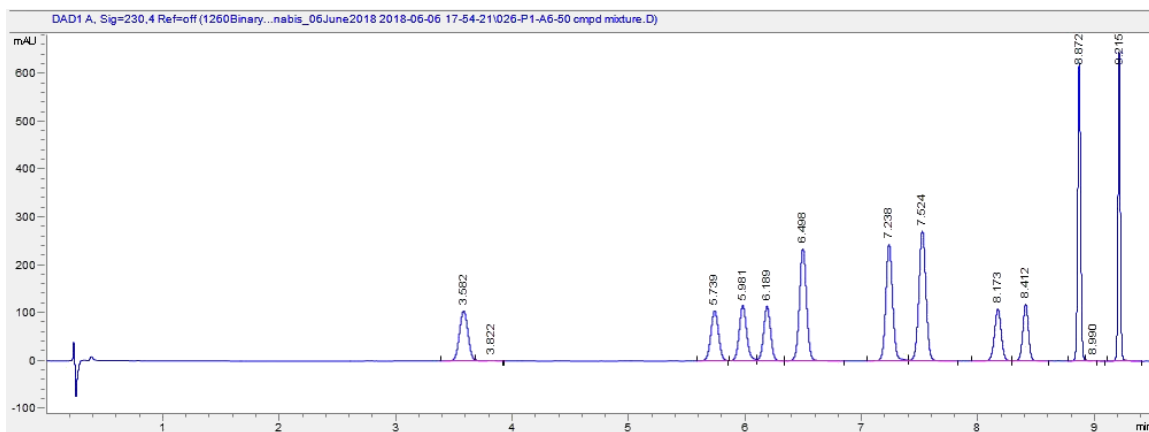
出于以下原因，未采用 QuEChERS 方法进行效价测定：

- 必须向大麻花中加入水：加入水后，悬浮液将在 2-4 分钟内变为强碱性。这会将 THCA 转化为 THC，并可能生成其他分解产物，例如将 CBDA 转化为 CBD
- QuEChERS 盐的加入会引起放热反应：在有水存在的情况下，这也将导致 THCA 脱羧生成 THC

校准曲线

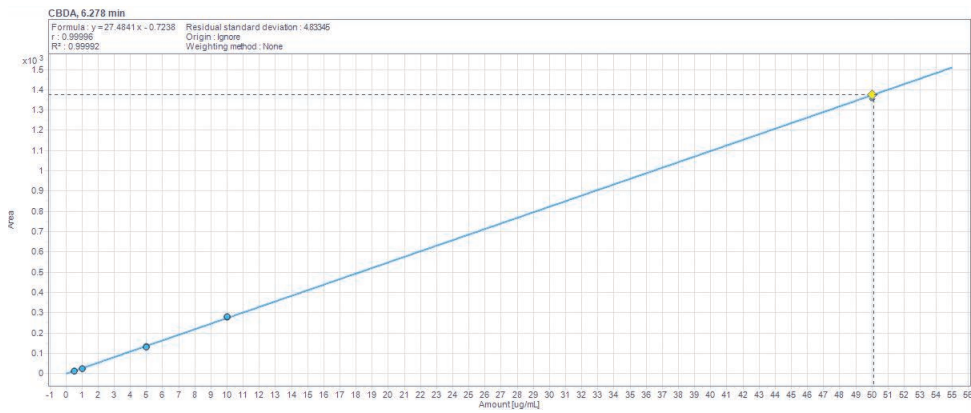
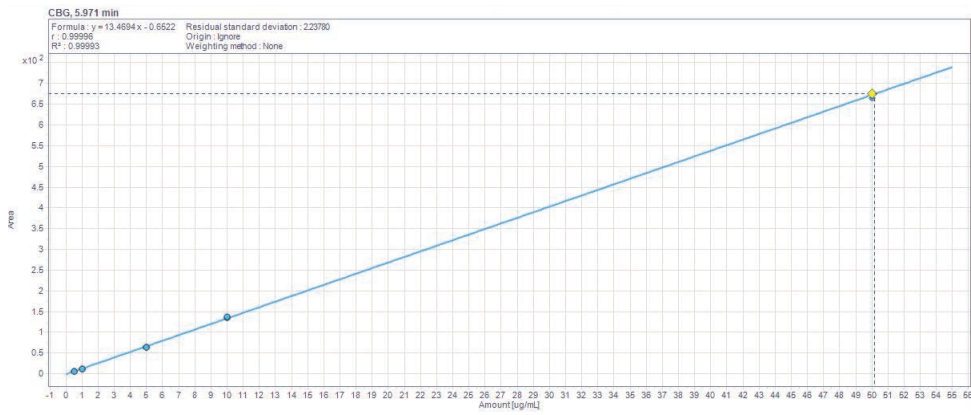
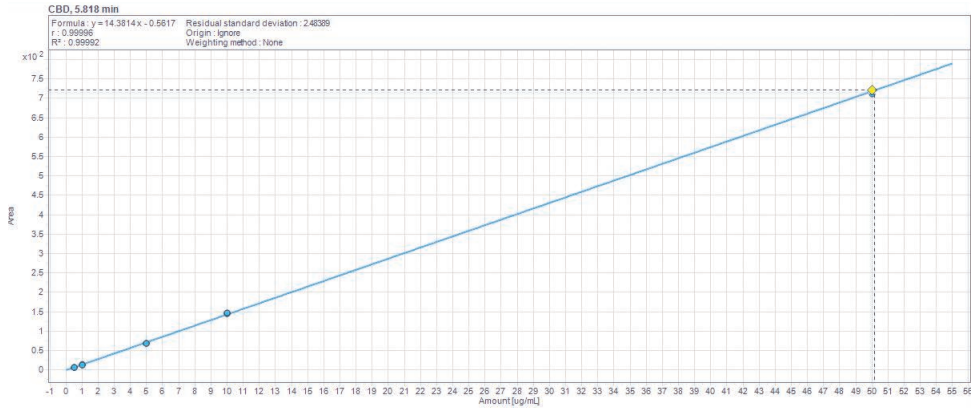
由单独的市售认证参比标准品配制标准校准物，每种标样在有机溶剂中的浓度为 1.0 mg/mL。将每种参比标样等体积混合，然后使用高纯度甲醇稀释至 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 。然后进行连续稀释，配制浓度为 50.0、10.0、5.0、1.0 和 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 的 5 点校准标样。以浓度为横坐标，响应为纵坐标构建外部标准化校准曲线，并将其用于准确度、精度和线性的测定。

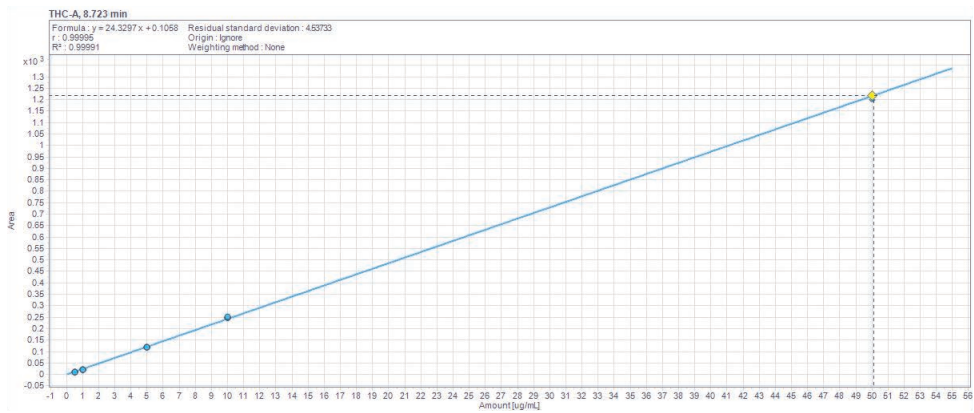
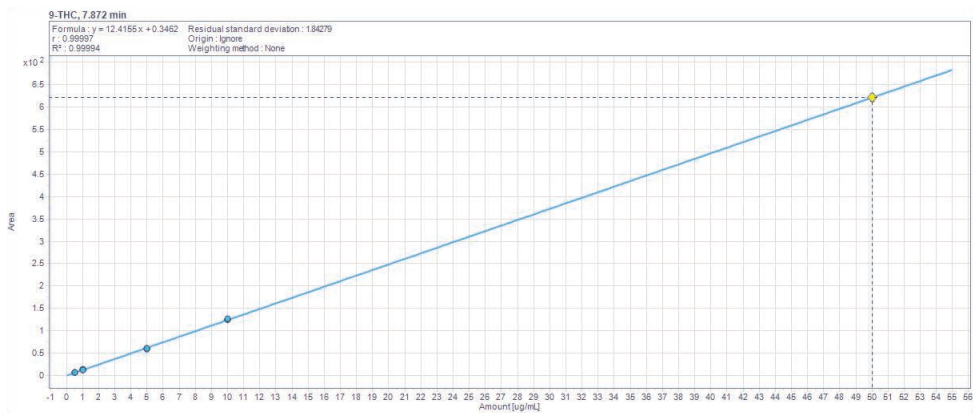
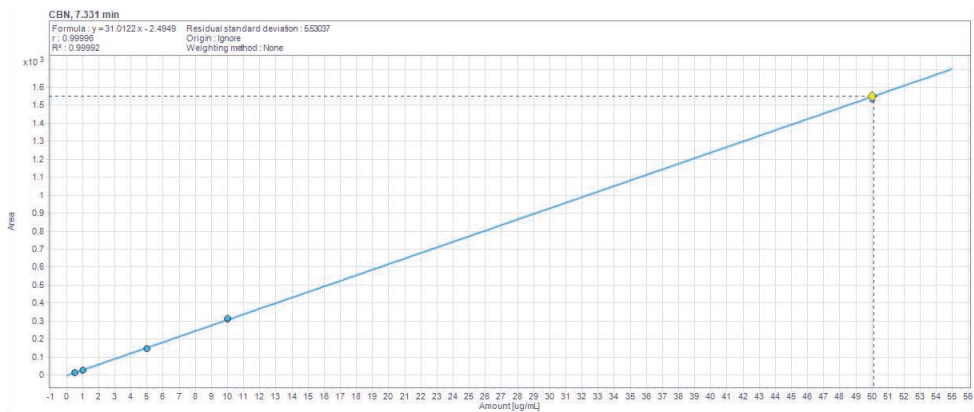
代表性色谱图 (50 $\mu\text{g/mL}$ 进样)



代表性校准曲线

THC、THCA、CBD、CBDA、CBN 和 CBG 按 RT 排序





准确度

表 5. 两个独立 Agilent 1220 液相色谱系统的日内和日间准确度

仪器 1	准确度				
	化合物 (按 RT 排序)	日内			
化合物	浓度 (µg/mL)	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBDV	0.5	107.2	109.3	110.9	109.1
	1.0	100.3	99.2	100.6	100.0
	5.0	97.6	96.9	95.1	96.6
	10.0	93.4	92.9	91.3	92.5
	50.0	101.5	101.6	102.1	101.7
THCV	0.5	106.7	105.9	108.6	107.1
	1.0	99.8	101.4	102.4	101.2
	5.0	98.1	98.3	95.4	97.2
	10.0	94.0	93.0	91.6	92.9
	50.0	101.3	101.5	102.0	101.6
CBD	0.5	105.8	108.0	105.0	106.3
	1.0	101.2	100.7	97.8	99.9
	5.0	97.8	96.8	93.2	95.9
	10.0	93.7	92.9	97.8	94.8
	50.0	101.4	101.6	102.3	101.8
CBG	0.5	107.4	108.2	109.1	108.2
	1.0	99.9	100.9	101.7	100.8
	5.0	97.7	96.2	95.6	96.5
	10.0	93.5	93.0	91.6	92.7
	50.0	101.4	101.7	102.0	101.7
CBDA	0.5	106.4	108.5	108.7	107.9
	1.0	100.4	100.1	102.2	100.9
	5.0	98.0	96.8	95.5	96.8
	10.0	93.9	92.9	91.5	92.8
	50.0	101.4	101.6	102.0	101.7
CBGA	0.5	106.4	108.3	109.1	107.9
	1.0	100.2	100.4	101.9	100.8
	5.0	98.1	96.8	95.5	96.8
	10.0	94.0	92.9	91.5	92.8
	50.0	101.3	101.7	102.0	101.7

仪器 1	准确度				
	化合物 (按 RT 排序)	日内			
化合物	浓度 (µg/mL)	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBN	0.5	103.9	106.9	107.7	106.2
	1.0	100.0	100.9	102.4	101.1
	5.0	99.6	97.4	96.1	97.7
	10.0	95.6	93.2	92.0	93.6
	50.0	100.9	101.5	101.9	101.4
9-THC	0.5	107.4	111.5	109.3	109.4
	1.0	99.6	97.1	101.1	99.3
	5.0	97.7	96.9	95.9	96.8
	10.0	93.9	92.9	91.7	92.8
	50.0	101.4	101.7	102.0	101.7
8-THC	0.5	107.9	107.2	108.0	107.7
	1.0	99.5	101.1	102.5	101.0
	5.0	97.5	97.2	95.8	96.9
	10.0	93.6	93.0	91.8	92.8
	50.0	101.4	101.6	101.9	101.6
CBC	0.5	64.8	107.2	107.8	93.3
	1.0	95.7	100.2	101.5	99.1
	5.0	123.8	97.6	96.4	105.9
	10.0	122.1	93.6	92.5	102.7
	50.0	93.7	101.5	101.7	99.0
THC-A	0.5	78.6	106.6	107.4	97.5
	1.0	96.8	100.0	101.0	99.3
	5.0	115.5	98.0	96.9	103.5
	10.0	112.9	94.1	93.0	100.0
	50.0	96.2	101.3	101.6	99.7

仪器 2	准确度				
	化合物 (按 RT 排序)	日内			
化合物	浓度 (µg/mL)	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBDV	0.5	107.2	112.1	112.5	110.6
	1.0	94.8	92.2	89.1	92.1
	5.0	96.6	93.2	83.7	91.2
	10.0	101.3	102.3	116.2	106.6
	50.0	100.1	100.3	98.5	99.6
THCV	0.5	104.4	105.3	107.9	105.9
	1.0	96.7	96.7	92.8	95.4
	5.0	97.1	94.4	83.8	91.8
	10.0	101.9	103.7	117.2	107.6
	50.0	99.9	99.8	98.2	99.3
CBD	0.5	103.6	105.2	108.9	105.9
	1.0	97.5	96.7	92.3	95.5
	5.0	97.1	94.6	83.9	91.9
	10.0	101.9	103.7	116.6	107.4
	50.0	99.9	99.8	98.4	99.4
CBG	0.5	104.8	105.7	108.2	106.2
	1.0	96.8	96.6	92.8	95.4
	5.0	96.8	94.4	83.8	91.7
	10.0	101.6	103.4	116.8	107.3
	50.0	100.0	99.9	98.3	99.4
CBDa	0.5	104.8	106.6	107.9	106.4
	1.0	96.7	96.1	93.2	95.3
	5.0	96.8	94.2	84.3	91.8
	10.0	101.7	103.1	116.2	107.0
	50.0	100.0	100.0	98.4	99.5
CBGA	0.5	105.2	106.8	108.4	106.8
	1.0	96.8	96.3	93.0	95.4
	5.0	96.7	94.1	84.0	91.6
	10.0	101.2	102.7	116.0	106.6
	50.0	100.1	100.1	98.4	99.5

仪器 2	准确度				
	化合物 (按 RT 排序)	日内			
化合物	浓度 (µg/mL)	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBN	0.5	104.5	105.5	107.1	105.7
	1.0	96.8	96.6	92.7	95.4
	5.0	97.0	94.3	84.2	91.9
	10.0	101.8	103.6	117.9	107.8
	50.0	99.9	99.9	98.1	99.3
9-THC	0.5	104.2	105.7	107.8	105.9
	1.0	96.9	96.4	92.8	95.4
	5.0	97.2	94.4	84.0	91.8
	10.0	101.8	103.7	117.3	107.6
	50.0	99.9	99.8	98.2	99.3
8-THC	0.5	104.1	105.5	108.1	105.9
	1.0	97.0	96.2	92.0	95.1
	5.0	97.0	94.6	84.2	91.9
	10.0	101.9	103.8	117.5	107.7
	50.0	99.9	99.8	98.2	99.3
CBC	0.5	102.2	103.4	105.7	103.8
	1.0	96.8	96.3	92.2	95.1
	5.0	98.3	95.7	85.3	93.1
	10.0	103.1	105.1	119.0	109.1
	50.0	99.6	99.4	97.8	98.9
THC-A	0.5	102.2	103.8	106.2	104.1
	1.0	96.7	96.1	91.9	94.9
	5.0	98.4	95.8	85.7	93.3
	10.0	103.2	104.8	118.4	108.8
	50.0	99.6	99.5	97.9	99.0

精度

表 6. 两个独立 Agilent 1220 HPLC 系统的日内和日间精度

仪器 1 精度 (%RSD) — 5 µg/mL				
化合物	日间			日内
	CBDV	3.39	0.59	
THCV	0.13	0.56	0.59	3.71
CBD	0.30	0.36	0.15	3.80
CBG	0.39	0.24	0.19	4.00
CBDA	0.23	0.66	0.59	3.25
CBGA	0.19	0.28	0.62	3.39
CBN	0.27	0.36	0.31	3.80
9-THC	1.30	1.08	0.69	1.59
8-THC	1.31	0.88	0.48	1.82
CBC	0.32	0.19	0.13	3.06
THC-A	0.12	0.15	0.30	3.07

仪器 2 精度 (%RSD) — 5 µg/mL				
化合物	日间			日内
	CBDV	1.25	0.80	
THCV	0.33	0.65	0.30	5.81
CBD	0.08	0.34	0.56	6.67
CBG	0.32	0.28	0.32	6.80
CBDA	0.34	0.51	0.16	6.06
CBGA	0.23	0.43	0.32	6.38
CBN	0.22	0.13	0.13	6.69
9-THC	0.33	0.68	0.43	6.91
8-THC	0.65	0.47	0.13	5.64
CBC	0.20	0.20	0.05	4.75
THC-A	0.19	0.22	0.14	6.26

线性

表 7. 忽略原点且不进行加权

仪器 1 线性 (R ²)				
化合物	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBDV	0.9997	0.9995	0.9995	0.9996
THCV	0.9997	0.9995	0.9995	0.9996
CBD	0.9997	0.9995	0.9995	0.9996
CBG	0.9997	0.9995	0.9995	0.9996
CBDA	0.9998	0.9995	0.9995	0.9996
CBGA	0.9997	0.9995	0.9995	0.9996
CBN	0.9997	0.9995	0.9996	0.9996
9-THC	0.9997	0.9991	0.9995	0.9994
8-THC	0.9997	0.9971	0.9984	0.9984
CBC	0.9998	0.9996	0.9996	0.9997
THC-A	0.9998	0.9996	0.9996	0.9997

仪器 2 线性 (R ²)				
化合物	第 1 天	第 2 天	第 3 天	平均值
CBDV	0.9999	0.9998	0.9977	0.9991
THCV	0.9999	0.9998	0.9975	0.9991
CBD	0.9999	0.9998	0.9977	0.9991
CBG	0.9999	0.9998	0.9977	0.9991
CBDA	0.9999	0.9999	0.9977	0.9992
CBGA	0.9999	0.9999	0.9978	0.9992
CBN	0.9999	0.9998	0.9975	0.9991
9-THC	0.9999	0.9999	0.9978	0.9992
8-THC	0.9999	0.9998	0.9975	0.9991
CBC	0.9999	0.9998	0.9972	0.9990
THC-A	0.9999	0.9998	0.9974	0.9990

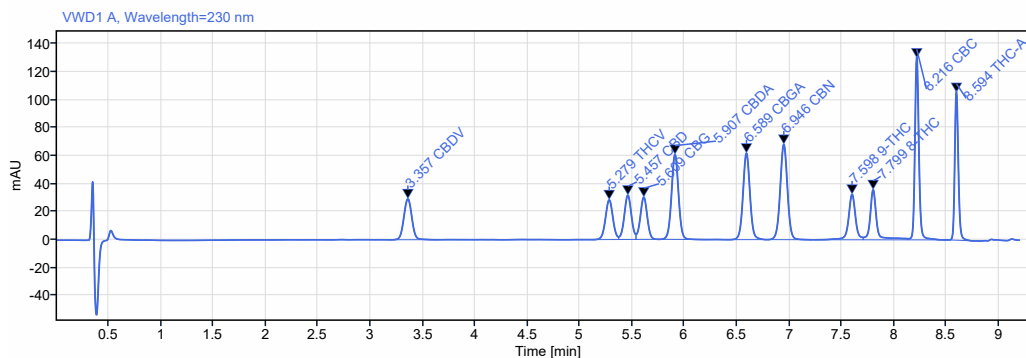
附录：样品报告示例

Single Injection Report



Agilent Technologies

Sample name: 10 11 compd mix
Data file: 022-5-25 11 compd mix.D
Instrument: 1220 Right
Inj. volume: 5.0
Acq. method: Agilent_Cannabis_EC.M
Processing method: *GC_LC
 Quantitative_DefaultMethod.pmx
Operator: SYSTEM
Injection date: 2018-02-01 09:44:39-07:00
Location: 5
Type: Sample
Calib Level:
Sample amount: 0.00
Manually modified: None



Signal: VWD1 A, Wavelength=230 nm

Name	RT [min]	RF	Area	Amount [ug/mL]	Concentration [ug/mL]
CBDV	3.36	16.762	155.076	9.252	9.252
THCV	5.28	15.188	140.236	9.234	9.234
CBD	5.46	16.167	149.623	9.255	9.255
CBG	5.61	14.960	138.518	9.259	9.259
CBDA	5.91	30.625	282.626	9.229	9.229
CBGA	6.59	30.972	286.065	9.236	9.236
CBN	6.95	35.386	327.881	9.266	9.266
9-THC	7.60	15.223	150.199	9.866	9.866
8-THC	7.80	14.998	154.177	10.280	10.280
CBC	8.22	36.808	346.170	9.405	9.405
THC-A	8.59	27.174	252.937	9.308	9.308

Total Potency [ug/mL]	Total CBD [ug/mL]
18.03	17.35

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）。

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

www.agilent.com

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，2018
2018年8月16日，中国出版
5991-9285ZHCN

