

## 超高效液相色谱 (UHPLC) -二极管阵列检测器 测定 16 种大麻素的效价

### ■ 引言

自大麻在美国多个州以及最近在加拿大合法化以来，人们对大麻制品中大麻素的定量测定引起了极大的兴趣。大麻或提取物中含有100多种大麻素<sup>(1)</sup>。四氢大麻酚 (THC) 和大麻二酚 (CBD) 以及它们的酸性形式是效价检测中优先级最高的测定项目。酸性形式四氢大麻酚酸 (THCA) 和大麻二酚酸 (CBDA) 主要存在于植物中，通过暴露于光和热下的脱羧作用随后转化为THC和CBD<sup>(2)</sup>。

传统的高效液相色谱法是大麻素分析的黄金标准，包括其酸性形式，几乎能完全分离大麻素，并具有很强的定量能力。为了获得最佳的分离度、灵敏度和通量，已经开发了多种方法。为了在保持高灵敏度和分离度的同时又有助于提高分析通量，本应用报告验证了利用 UHPLC 系统建立的 4.5 分钟等度洗脱分析方法的可行性。

### ■ 实验

利用岛津Nexera-i (LC-2040C 3D) 超高效液相色谱仪以及光电二极管阵列检测器进行效价分析。表1给出了该方法的条件。从历史数据看，276 nm是酸性大麻素的理想选择，但非酸性大麻素在该波长下的响应较弱。与之前的文献一致，选择波长为228 nm作为可接受的折衷方案 (3)。PDA的实验结果支持这一发现 (图1)。

表 1: 仪器方法参数

液相色谱法	Nexera-i (LC-2040C 3D)
流动相A	水, 5 mM甲酸铵, 0.1%甲酸
流动相B	乙腈, 0.1%甲酸
MP成分	等度, 25/75
色谱柱	岛津 NexLeaf CBX II, 1.8 μm, 3.0 x 100mm (220-91525-75) 岛津 NexLeaf CBX II Guard, 1.8 μm (220-91525-76)
柱温	30°C
流速	1.0 mL/min
检测波长	228 nm

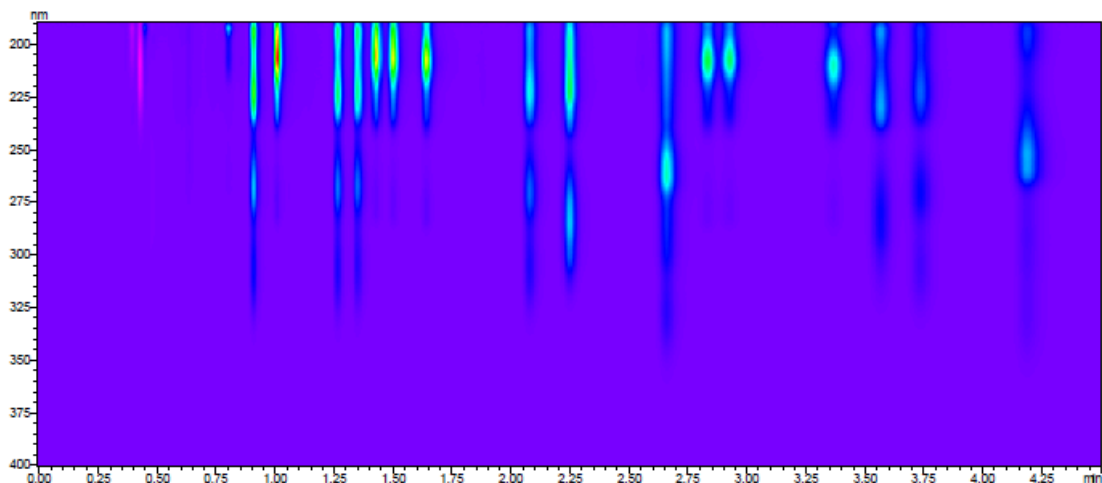


图 1: 波长为 190-400 nm 的 PDA 等高线图

### ■ 标准品制备

在含有11种大麻素的混合物（岛津220-91239-21）中，添加5种额外的大麻素（Cerilliant），得到16种大麻素的浓度为100.0 ppm综合混合物。表2为16种大麻素初始浓度汇总表。

表 2：大麻素标准品

标准	化合物	浓度 (mg/L)
岛津	CBDV	250
岛津	CBDA	250
岛津	CBGA	250
岛津	CBG	250
岛津	CBD	250
岛津	THCV	250
岛津	CBN	250
岛津	$\Delta^9$ -THC	250
岛津	$\Delta^8$ -THC	250
岛津	CBC	250
岛津	$\Delta^9$ -THCA	250
Cerilliant	CBDVA	1000
Cerilliant	THCVA	1000
Cerilliant	CBNA	1000
Cerilliant	CBL	1000
Cerilliant	CBCA	1000

### ■ 结果与结论

#### 色谱分析法

图2显示了100 ppm下大麻素的色谱分离情况。所有分析物的USP分离度均大于1.0。

制作了线性范围为 0.5-100.0 ppm (n=6) 的六点校准曲线。由于线性范围宽 (0.5-100.0ppm)，对标准曲线采用加权 (1/C) 拟合。图 3 显示了所选的标准曲线。在六次重复进样过程中，还进行了一系列的低中高浓度点的精确度检查 (图 4)。所有统计结果如表 3 所示。

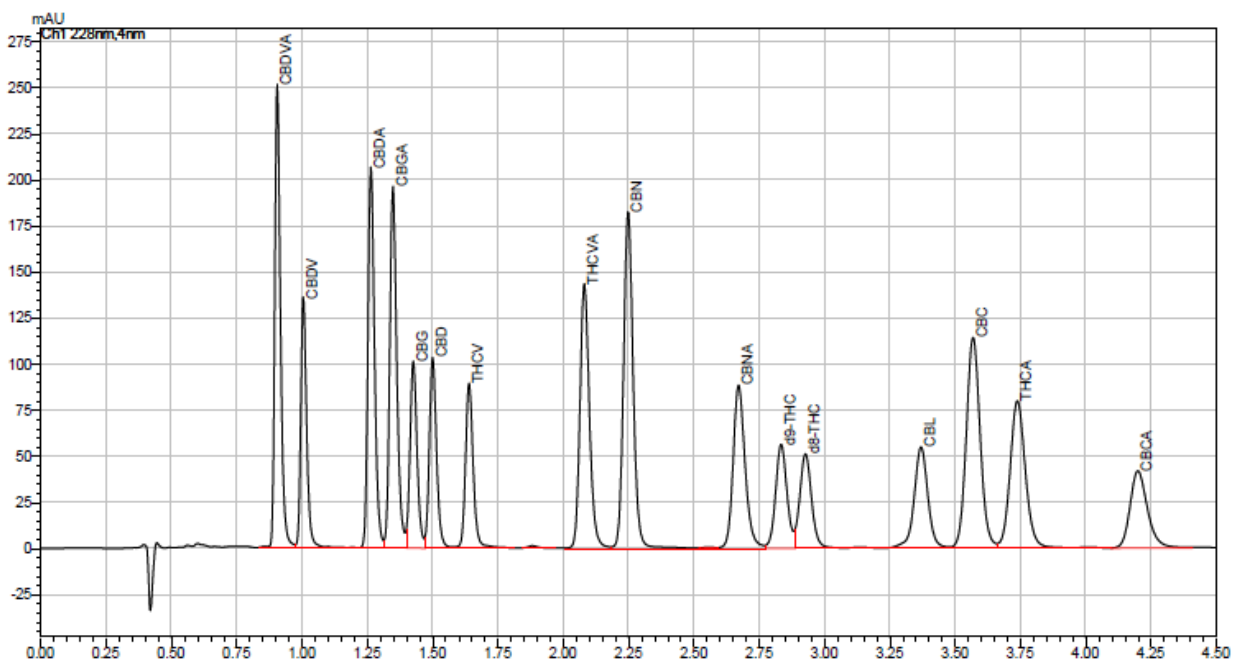


图 2：UHPLC-PDA 色谱图 - 16 种大麻素

图 3：选定大麻素的校准曲线

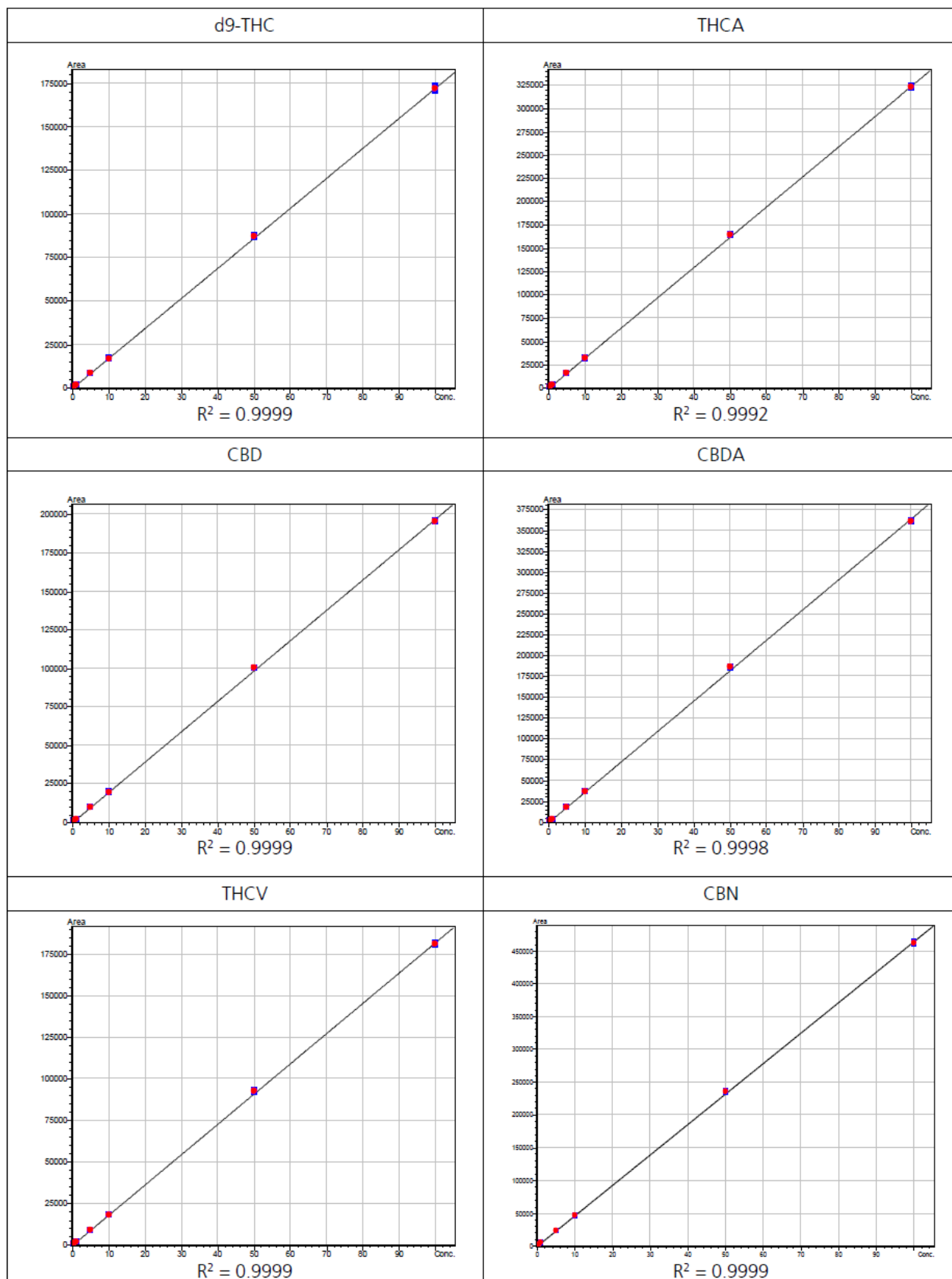


表 3：16 种大麻素综合混合物的校准曲线及精确度统计结果

	校准结果		2.5 ppm			25.0 ppm			75.0 ppm		
	1/C		(n=6)			(n=6)			(n=6)		
	RF RSD (%)	R <sup>2</sup>	平均浓度	RSD (%)	精确度 (%)	平均浓度	RSD (%)	精确度 (%)	平均浓度	RSD (%)	精确度 (%)
CBDVA	1.758	0.9998	2.435	0.804	97.4	25.18	0.496	100.7	73.44	0.288	97.9
CBDV	2.622	0.9999	2.428	3.08	97.1	24.95	0.396	99.8	73.25	0.195	97.7
CBDA	1.962	0.9998	2.473	1.72	98.9	25.06	0.8	100.3	73.45	0.175	97.9
CBGA	2.198	0.9999	2.459	1.843	98.4	24.98	0.225	99.9	73.08	0.209	97.4
CBG	3.065	0.9999	2.469	1.94	98.8	25.16	0.265	100.6	73.79	0.281	98.4
CBD	1.814	0.9999	2.468	1.121	98.7	25.2	0.884	100.8	73.93	0.348	98.6
THCV	2.919	0.9999	2.413	1.945	96.5	25.09	0.332	100.3	73.78	0.469	98.4
THCVA	1.934	0.9999	2.457	1.971	98.3	25.03	0.288	100.1	73.59	0.168	98.1
CBN	1.949	0.9999	2.447	1.919	97.9	24.99	0.559	100	73.76	0.238	98.3
CBNA	2.688	0.9999	2.441	2.646	97.7	24.79	0.365	99.2	73.6	0.232	98.1
d9-THC	5.303	0.9999	2.411	2.524	96.4	24.56	0.454	98.3	72.85	0.387	97.1
d8-THC	3.32	0.9999	2.487	2.119	99.5	25.18	0.532	100.7	74.06	0.675	98.8
CBL	3.224	0.9999	2.469	3.447	98.7	24.84	0.231	99.4	73.67	0.302	98.2
CBC	2.172	0.9999	2.43	1.988	97.2	24.89	0.25	99.6	73.52	0.183	98
THCA	2.741	0.9992	2.449	2.764	97.9	24.89	0.316	99.6	73.61	0.219	98.1
CBCA	5.258	0.9999	2.424	2.843	96.9	24.76	0.382	99	73.92	0.266	98.6

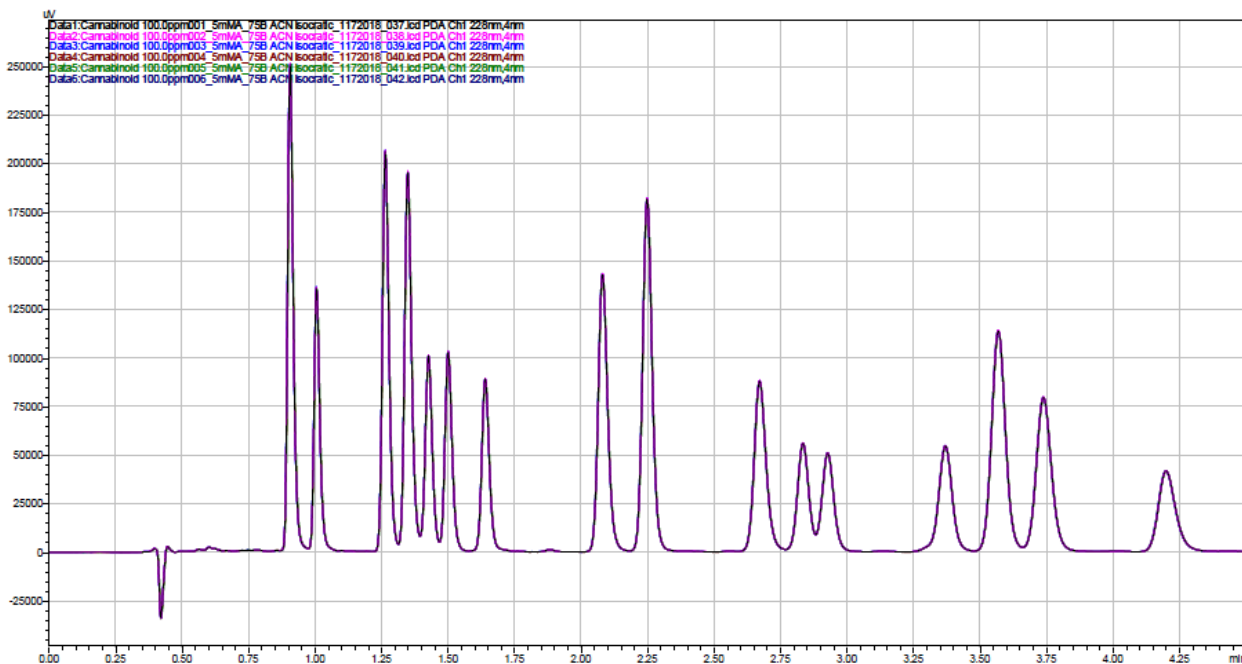


图 4：16 种大麻素混合物重复 6 次进样叠图 (1 $\mu$ L; 100 ppm)

### 进样残留评估和基质样品

在 36 次标准进样后，进行了一系列溶剂空白进样。首次空白进样显示在 CBDVA 出峰位置检测到一个小峰值，其他大麻素没有检测到。随后的空白进样显示，未检测到任何目标成分残留。当进行样品基质分析时，建议清洗色谱柱，以尽量减少随着时间的累积的残留物对色谱柱性能的影响。

以下是两种常见的方法：其一，可进行程序修改，在距离结束前约 2 分钟时添加一个色谱柱清洗程序（梯度控制方式）；其二，采用不进样或者溶剂进样方式并运行色谱柱清洗方法，这种清洗方式可以在进样批表中按照一定间隔加入，或许可以在每 10 次进样后加入。要确定最佳结果，需做进一步测试。

### ■ 参考文献

1. Wang, M., Wang, Y. H., Avula, B., Radwan, M. M., Wanas, A. S., van Antwerp, J., ... & Khan, I. A. (2016). Decarboxylation study of acidic cannabinoids: a novel approach using ultra-high-performance supercritical fluid chromatography/photodiode array-mass spectrometry. *Cannabis and cannabinoid research*, 1(1), 262-271.
2. ElSohly, M., & Gul, W. (2014). Constituents of cannabis sativa. *Handbook of cannabis*, 3.
3. Restek. (2017). 16 Cannabinoids on Raptor ARC-18 1.8  $\mu\text{m}$  by LC-UV.

本文由美国岛津科学仪器有限公司提供。



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明：

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；  
\* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。  
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2019 年 4 月