

GCMS 让大麻萜烯分析简单化

No. SSI-GCMS-1604

引言

萜烯和萜类化合物是天然存在的芳香族化合物，它赋予了大麻独特的风味和香味。除了芳香性质外，萜烯还十分有益于健康。它们与大麻素产生协同作用，能够进一步增强 THC 的治疗效果。

大麻有超过140种萜烯成分，这些成分大多具有极高的药用价值。¹ 大麻中的萜烯主要包括： β -月桂烯（具有抗生素特性，可增强 THC 的肌肉松弛效果）、 α -蒎烯（具有抗炎作用，可增强 THC 的支气管扩张作用）以及 β -石竹烯（具有抗炎作用，可增强 THC 的胃细胞保护作用，以及其他健康益处）。^{2,3} 个别萜烯的含量因大麻品种而异，可以占总干重的 0.1-1.5%，但其也和收获时间、干燥和储存条件有关。^{1,4} 萜烯含量会随时间的推移而降低，在储存三个月后，萜烯含量会降低一半以上。⁴ 不同的萜烯随时间推移的含量减少程度会有所不同。

由于越来越多的国家增加了对大麻使用的立法，最近涌现许多新的萜烯分析方法。2015年5月，内华达州根据 NRS 453A.368 增加了对十种萜烯的检测。⁵

由于萜烯谱图的独特性，研究人员可以将其作为“指纹”，以鉴定所需的特定大麻品种。本应用报告描述了使用气相色谱质谱仪（GCMS）对几种大麻中的41种萜烯，通过顶空进样分析的结果。

■ 实验

使用 Shimadzu GCMS-QP2010SE 单四极杆质谱仪和 HS-20 顶空自动进样器导入样品以进行萜烯分析。由于萜烯含量可以达到百分之几，所以 HS-20 的流出物以50:1进行分流，以分析高浓度目标物。MS 采用 FFAST（快速自动 SCAN/SIM 模式）模式进行采集，其中SCAN 和 SIM 模式可分别用于鉴定和定量。仪器和操作条件如表1所示。



Shimadzu GCMS-QP2010SE

表 1: 仪器操作条件和方法参数

顶空装置	HS-20 环路型
操作模式	样品环
样品	10 μ L 样品量 10mL 顶空瓶
平衡	150 $^{\circ}$ C 恒温 30 分钟
样品环路	1-mL 环路 顶空瓶加压 1.00 分钟, 加压平衡时间 0.20 分钟 导入时间 1.00 分钟, 导入平衡时间 0.20 分钟 进样时间 1.0 分钟
样品流路温度	150 $^{\circ}$ C
传输线温度	150 $^{\circ}$ C

气相色谱	GC-2010 Plus
进样方式	HS-20 分流进样, 分流比 50: 1
色谱柱	Rxi-624 Sil MS 30.0m x 0.25 mm x 1.40 μ m 载气: 氦气 恒定线速度: 47.2 cm/sec 柱流量: 1.64 mL/min 吹扫流量: 3.0 mL/min
柱温箱程序	80 $^{\circ}$ C, 保持 1.0 min 12 $^{\circ}$ C/min 升温到 150 $^{\circ}$ C, 保持 1.0 min 9 $^{\circ}$ C/min 升温到 250 $^{\circ}$ C, 保持 1 min 总 GC 运行时间 19.94 min 总循环时间 24 min

检测器	GCMS-QP2010 SE
操作模式	选择离子监测模式(SIM)和扫描模式
离子源	200 $^{\circ}$ C, EI 模式, 70eV
溶剂延迟时间	2 min
MS 接口温度	300 $^{\circ}$ C

样品制备

为了获得更完整的萜烯谱图, 我们使用了两组标准品。标准品1, 购自 SPEX(Metuchen, NJ), 100 μ g/mL 储备溶液中包含38种萜烯。标准品2, 购自 Restek (Bellefonte, PA), 2500 μ g/mL 储备溶液中包含23种萜烯。

由于植物材料不溶于溶剂, 因此使用完全蒸发顶空技术 (FET) 进行定量分析。与传统顶空技术中的两相液 - 气系统相比, FET只需少量标准品和样品即可创建单相气体系统。⁶ 用 SPEX 萜烯标准品创建了五点标准曲线, 浓度范围为 12.5-100 μ g/mL。将10 μ L 标准品的等分试样置于10mL顶空瓶中并盖上盖子。用与上述类似的方式, 用 Restek 标准品创建七点标准曲线, 浓度范围 78.125 μ g/mL - 2500 μ g/mL。计算柱上萜烯上样量如表2所示。

表2: 色谱柱上萜烯标准品上样量的计算

标准品	浓度(μ g/mL)	进样体积 (mL)	色谱柱上样量 (μ g)
SPEX	12.5	0.01	0.125
SPEX	25	0.01	0.25
SPEX	50	0.01	0.50
SPEX	75	0.01	0.75
SPEX	100	0.01	1.0
Restek	78.125	0.01	0.78
Restek	156.25	0.01	1.25
Restek	312.5	0.01	3.25
Restek	625	0.01	6.25
Restek	1250	0.01	12.5
Restek	2000	0.01	20.0
Restek	2500	0.01	25.0

将重1.0克花的一部分冷冻, 然后研磨作为代表性样品。然后称量10至30mg的花, 并放置于顶空瓶中并盖上盖子。计算最终结果, 得到重量百分比(wt%)。

■ 结果和讨论

色谱

图1a和1b显示了使用 SPEX 和 Restek 标准品的 TIC 图。

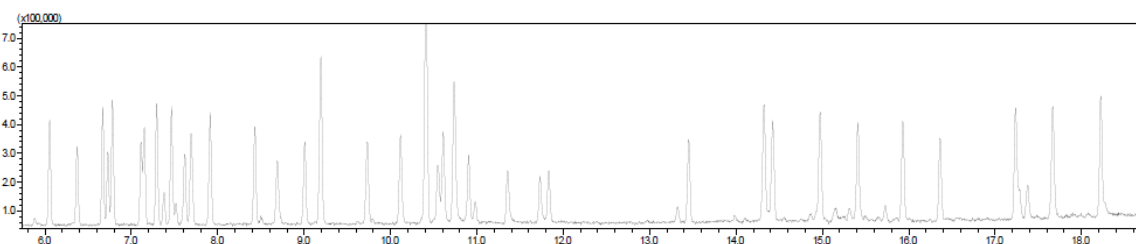


图 1a: SPEX 标准品的 TIC 图

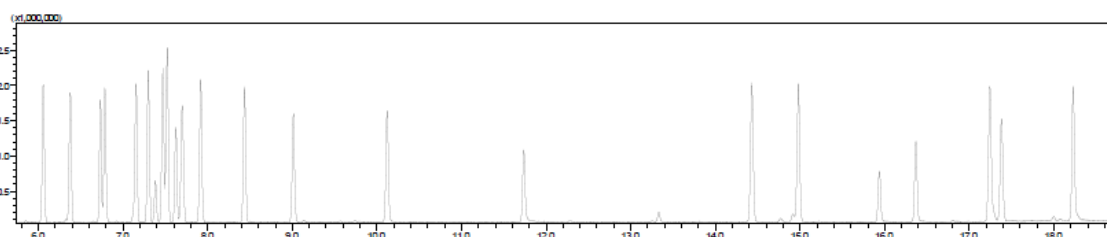
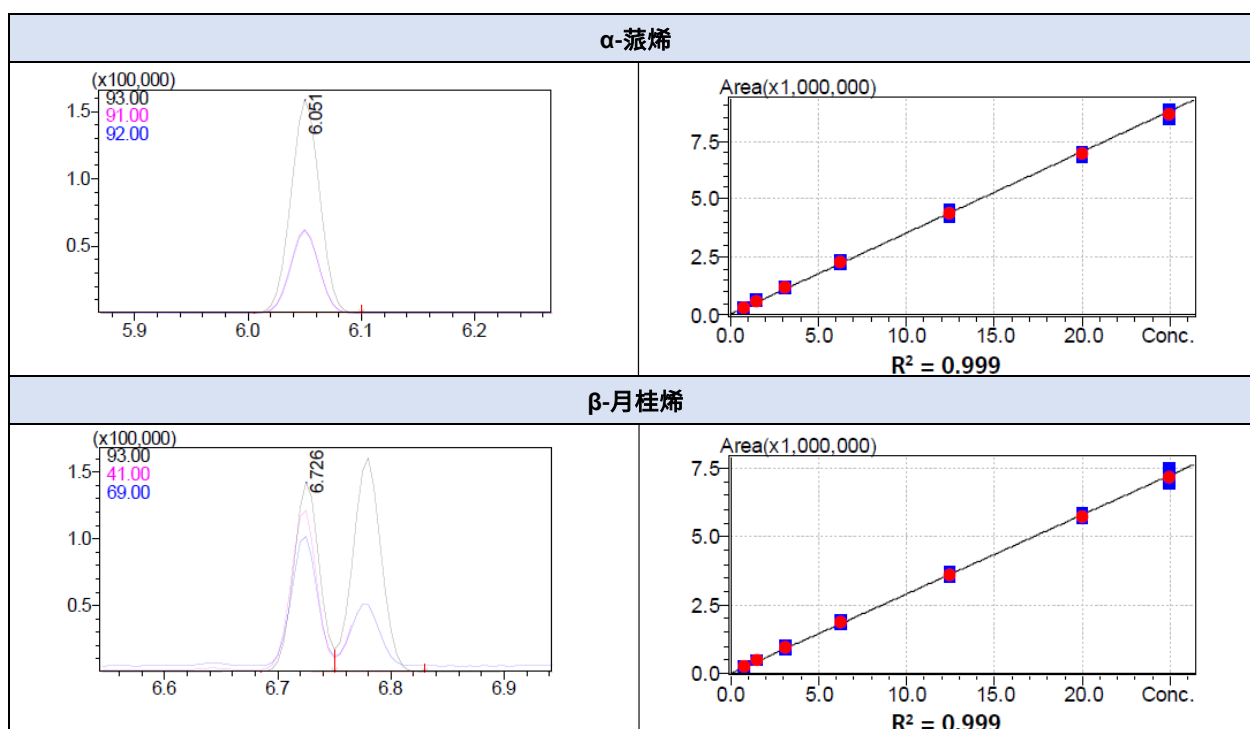


图 1b: Restek 标准品的 TIC 图

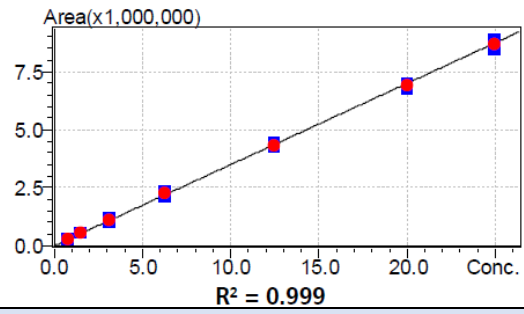
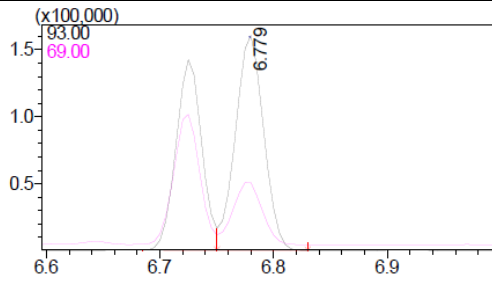
校准

使用最优的 HS-20 和 GC-MS 参数制备和分析校准标准品, SPEX 萜烯标准品浓度范围为 0.125 μg 至 0.1 μg , Restek 标准品浓度范围为 0.78 μg 至 25 μg 。标准曲线上的所有浓度点重复进样 6 次。

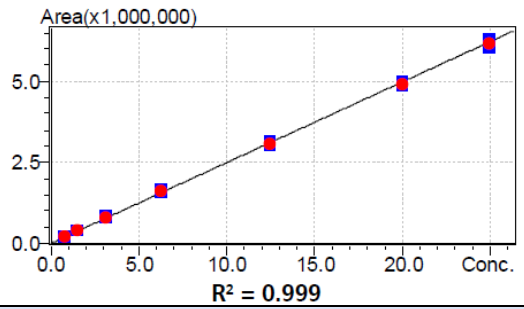
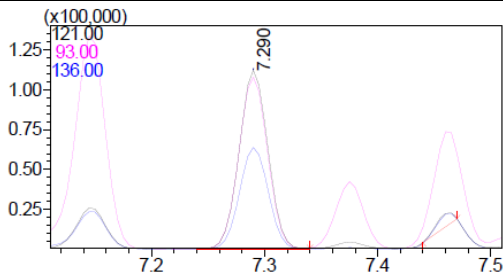
图2显示了内华达州要求检测的萜烯标准曲线与其线性相关系数。SIM 色谱图为每种萜烯的最低校准点 (0.78 μg) 的色谱图。各个浓度水平对应的色谱图很容易实现积分。表3a和3b列出了所有校准点完整的统计数据。



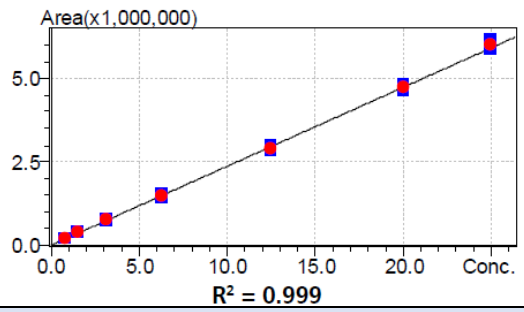
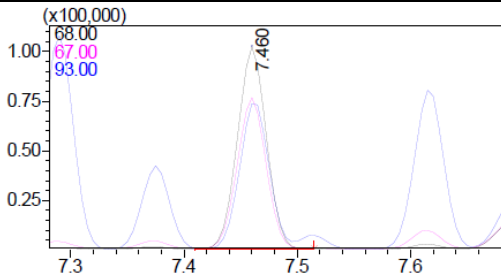
β-蒎烯



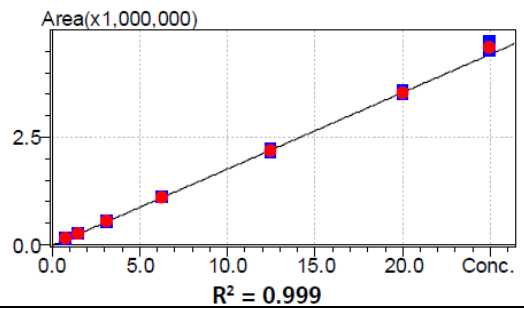
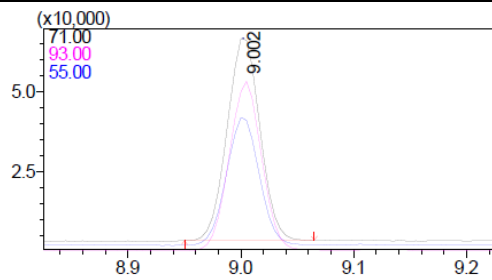
α-松油烯



(R)-(+)-柠檬烯



芳樟醇



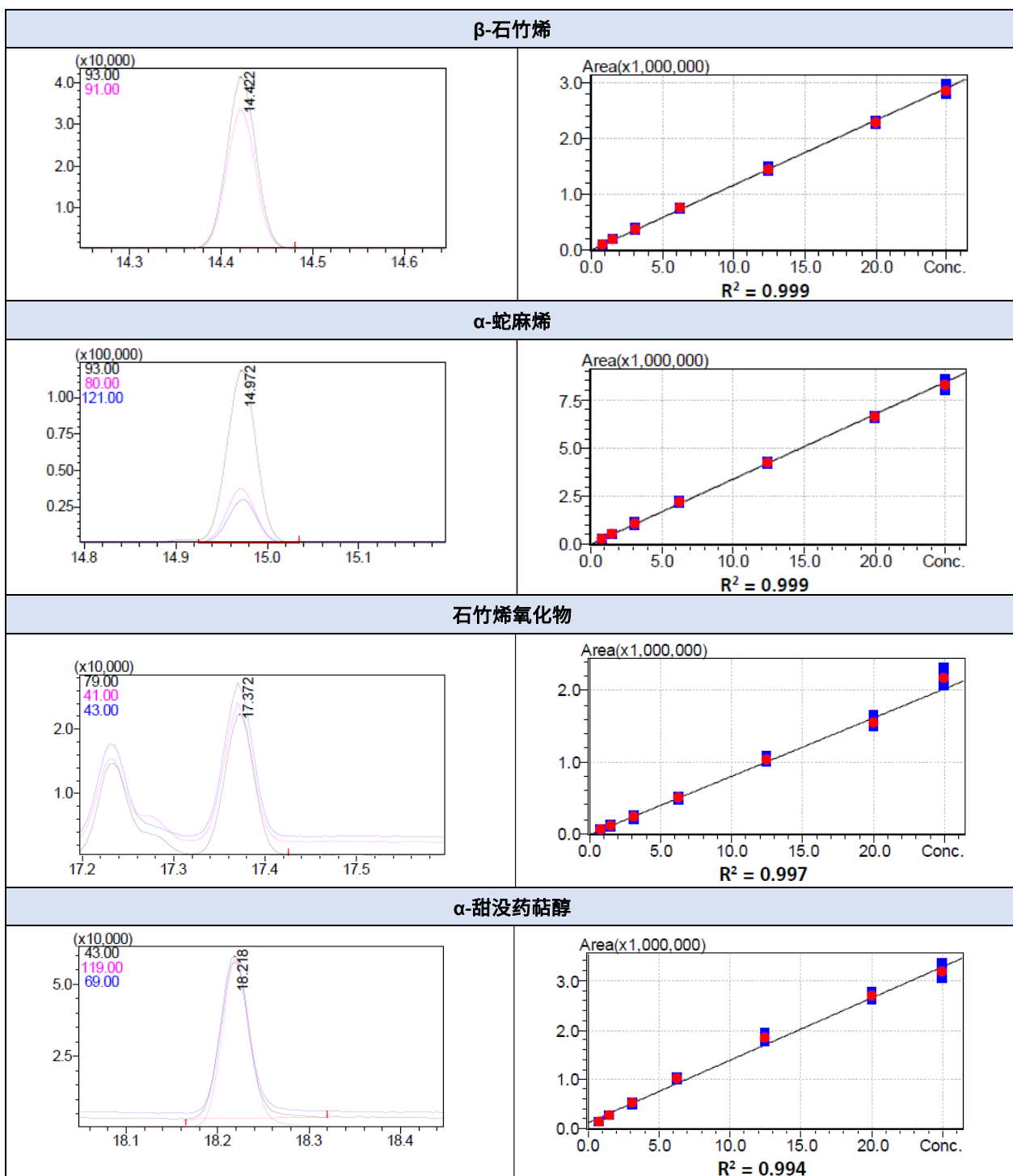


图 2：内华达州要求的 Restek 萜烯检测标准曲线；色谱柱上样量的范围为 1.25µg 至 25µg

表 3a: 用于萜烯分析的 5 点校准和精确度 (SPEX 标准品)

萜烯	校准结果		精确度 12.5ppm (n=6)		精确度 100 ppm (n=6)	
	RF RSD (%)	R ²	浓度平均值	RSD (%)	浓度平均值	RSD (%)
α-蒎烯	5.549	0.998	0.123	0.796	0.948	2.980
苾烯	3.642	0.999	0.124	1.164	0.964	3.734
桉烯	3.440	0.999	0.121	1.447	0.972	2.005
β-月桂烯	3.732	0.997	0.126	1.317	0.994	3.038
β-蒎烯	3.998	0.998	0.124	1.180	0.963	2.294
α-水芹烯	4.367	0.999	0.124	3.533	0.959	2.602
(1S)-3-萜烯	5.247	0.999	0.124	3.386	0.978	2.841
α-松油烯	5.916	0.996	0.107	1.269	0.935	1.982
反式-β-罗勒烯	3.757	0.998	0.125	1.041	0.957	2.857
(R)-(+)-柠檬烯	5.817	0.997	0.123	0.887	0.950	1.914
罗勒烯 (异构体混合物)	4.109	0.997	0.124	1.334	0.950	2.776
桉树脑	3.675	0.998	0.124	0.766	0.952	2.720
γ-松油烯	3.695	0.998	0.124	0.908	0.947	1.954
异松油烯	4.095	0.998	0.124	1.024	0.948	1.426
Sabedine 水合物	9.252	0.995	0.122	2.926	0.950	5.300
芳樟醇	2.863	0.999	0.126	1.763	0.989	2.055
茴香酮 (异构体混合) *	0.607	0.999	0.125	1.011	-	-
(R)-Endo-(+)-葑醇	5.338	0.999	0.125	4.560	0.980	0.979
异胡薄荷醇	2.433	0.999	0.126	2.210	0.981	2.109
樟脑 (异构体混合物) *	0.785	0.999	0.125	0.952	-	-
异龙脑	8.659	0.992	0.130	6.949	1.050	2.745
薄荷醇	4.979	0.998	0.128	3.287	1.005	1.939
冰片 (异构体)	4.774	0.997	0.125	5.422	0.983	2.094
松油醇 (异构体混合物)	1.376	0.999	0.125	1.909	0.981	1.242
γ-松油醇	2.161	0.999	0.126	1.657	0.985	1.359
橙花醇	11.23	0.998	0.127	6.418	0.997	3.828
香叶醇	14.27	0.999	0.125	8.386	0.985	2.858
胡薄荷酮	1.859	0.999	0.124	2.093	0.973	1.841
乙酸香叶酯	3.574	0.998	0.126	0.922	0.979	2.142
α-雪松烯	3.058	0.999	0.124	1.087	0.958	1.630
反式石竹烯	2.899	0.999	0.126	1.899	1.021	4.524
α-蛇麻烯	2.146	0.999	0.125	1.180	0.969	1.652
瓦伦烯	2.382	0.999	0.126	1.427	0.979	2.107
顺式橙花叔醇	3.688	0.999	0.126	1.141	0.993	2.531
反式橙花叔醇	1.577	0.999	0.125	5.449	0.988	1.360
愈创醇	1.565	0.999	0.125	1.246	0.976	1.237
(+)-雪松醇	3.077	0.999	0.126	1.211	0.984	1.750
α-甜没药萜醇	2.911	0.999	0.126	1.862	0.986	1.536

*高含量数据不适用

表 3b: 用于萜烯分析的 7 点校准和精确度 (SPEX 标准品)

萜烯	校准结果		精确度 78.125 ppm (n=6)		精确度 2500 ppm (n=6)	
	RF RSD (%)	R ²	浓度平均值	RSD (%)	浓度平均值	RSD (%)
α-蒎烯	2.545	0.999	0.764	1.478	24.614	2.12
蒎烯	2.095	0.999	0.766	1.674	24.501	2.195
β-月桂烯	1.833	0.999	0.768	1.599	24.604	3.013
β-蒎烯	1.973	0.999	0.767	1.386	24.725	1.948
(1S)-3-萜烯	2.029	0.999	0.767	1.412	24.690	2.390
α-松油烯	2.150	0.999	0.766	1.611	24.706	1.940
反式-β-罗勒烯	1.746	0.999	0.777	1.349	25.381	2.525
(R)-(+)-柠檬烯	1.611	0.999	0.777	1.630	25.395	1.914
对聚伞花素	2.777	0.999	0.767	1.780	24.712	2.390
罗勒烯 (异构体混合物)	1.452	0.999	0.772	1.395	25.011	2.494
桉树脑	3.597	0.998	0.768	1.498	25.664	4.007
γ-松油烯	2.231	0.999	0.766	1.562	24.578	2.489
异松油烯	1.831	0.999	0.768	1.553	24.726	2.380
芳樟醇	3.545	0.999	0.784	1.156	25.783	1.876
异胡薄荷醇	2.816	0.999	0.780	1.773	25.432	1.992
香叶醇	10.282	0.999	0.796	1.273	25.944	2.812
反式石竹烯	2.077	0.999	0.768	1.493	24.565	2.487
α-蛇麻烯	2.213	0.999	0.768	1.430	24.436	2.553
顺式橙花叔醇	2.532	0.999	0.772	1.640	24.095	3.597
反式橙花叔醇	3.043	0.999	0.769	1.699	23.772	3.692
愈创醇	5.176	0.996	0.757	1.535	22.852	3.800
石竹烯氧化物	9.397	0.997	0.804	7.127	26.803	4.869
α-甜没药萜醇	9.873	0.993	0.046	28.412	24.053	3.741

大麻结果

表 4 显示了三种不同大麻品种中萜烯的重量百分比 (wt%): CB Diesel、Blue Dream 和 Haze Wreck

图5显示了内华达州要求检测的萜烯色谱图。

表 4: 三种不同大麻品种中萜烯的重量百分比(wt%)

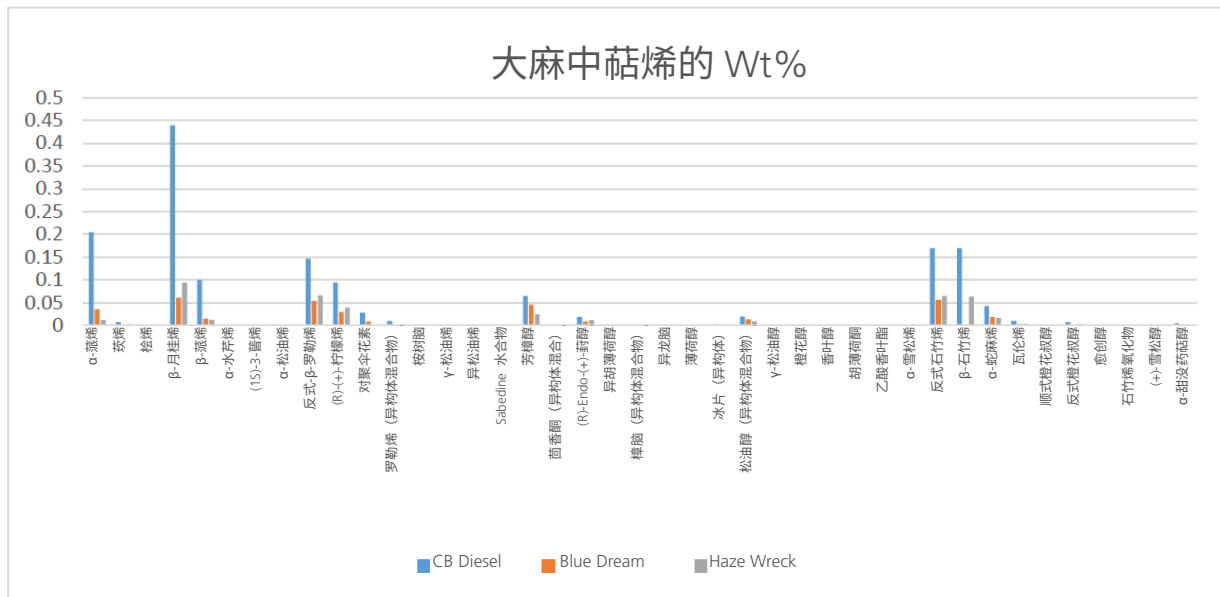
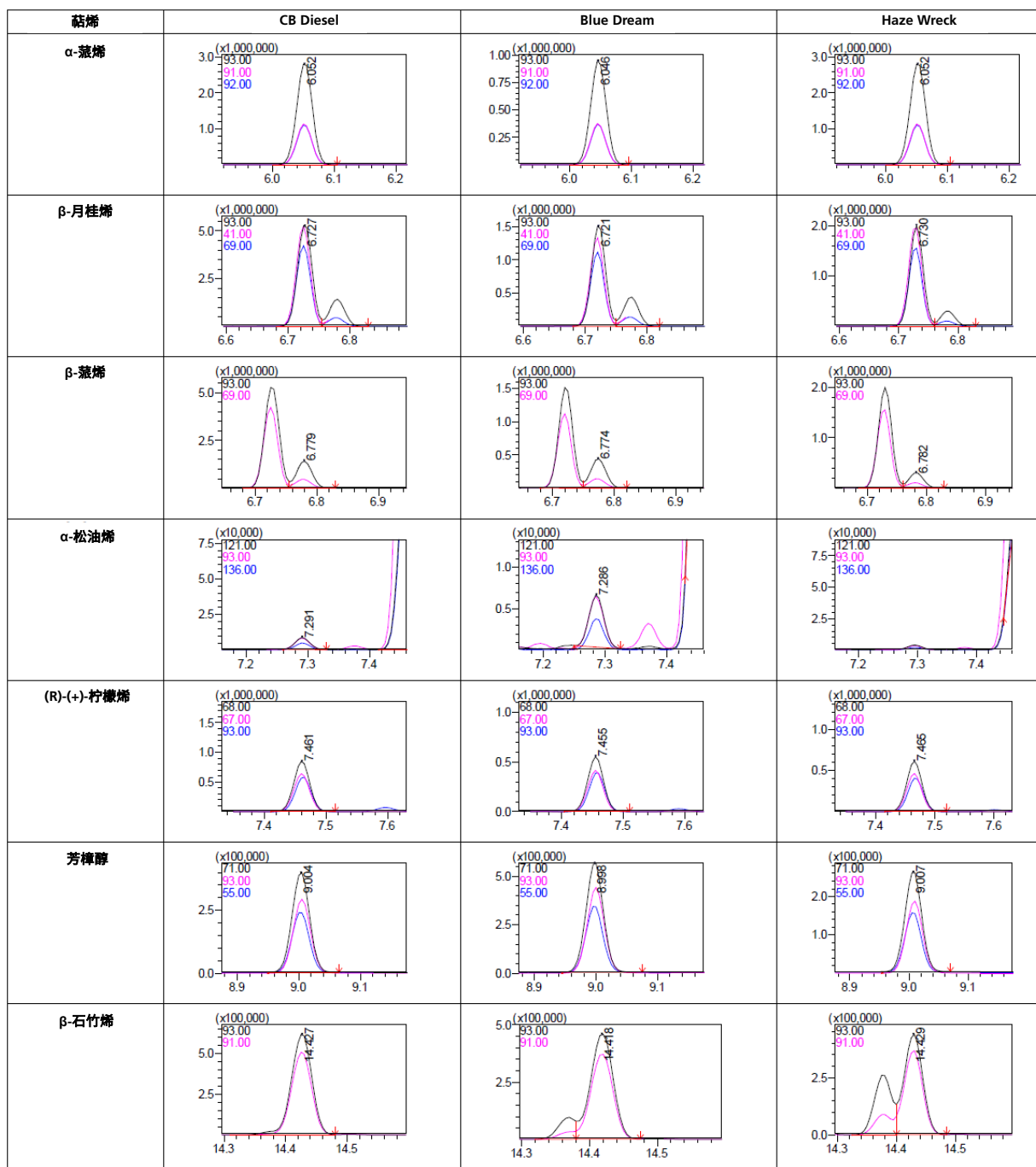
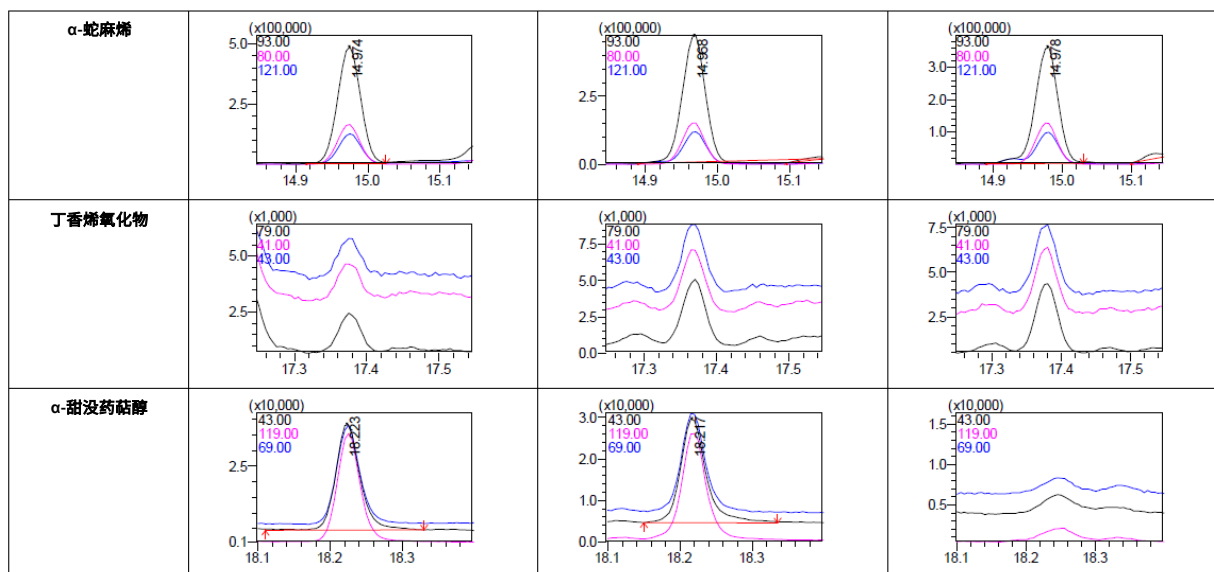


图 5: 三种大麻品种中内华达州要求检测的萜烯色谱图





■ 结论

收获后立即分析了第一个大麻样品 CB Diesel。分析得到的萜烯重量百分比(wt%)与现有文献中所述的相似。¹ 将 Blue Dream 和 Haze Wreck 这两个样品在环境温度下储存,并在分析前暴露于光下持续一个月。

经证明,随着时间的推移,不同的储存条件会导致不同的萜烯含量结果,⁴在分析大麻样品时应考虑这一点,因为结果会低于预期。随着大麻检测规定的不断变化,接下来应研究不断变化的储存条件和降解实验对大麻中萜烯检测结果的影响。

■ 参考文献

1. Giese, M.W., Lewis, M.A., Giese, L., and Smith, K.M. Development and Validation of a Reliable and Robust Method for the Analysis of Cannabinoids and Terpenes in Cannabis. Napro Research, California, 2015.
2. Parland, J.M., and Russo, E.B. Cannabis and Cannabis Extracts: Greater than the Sum of Their Parts? *The Haworth Press*, Pennsylvania, 2001
3. [1] E. Russo, *Taming THC: Potential Cannabis Synergy and Phytocannabinoid-Terpenoid Entourage Effects*, *British Journal of Pharmacology* 163 (2011) 1344.
4. Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents. Humana Press, New Jersey
5. Information on all Policies related to Nevada’s Medical Marijuana Establishments can be found at http://dpbh.nv.gov/Reg/MME/MME_-_Home/
6. http://www.restek.com/Technical-Resources/Technical-Library/Foods-Flavors-Fragrances/fff_FFAN2045-UNV

有关岛津大麻检测解决方案的更多信息,请访问 www.GrowYourLab.com

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