DOI: 10.11895/j.issn.0253-3820.170164

基于超高效液相色谱-质谱联用技术对大麻植物中 3 种成分及化学表型分析

孙维来[1] 郑晓雨[2] 赵彦彪[2] 曾令华[1] 高利生[2] 郑 珲*[2] 刘 耀*[1,2]
[1](中国人民公安大学, 北京 100038) [2](公安部物证鉴定中心, 北京 100038)

摘 要 建立了超高效液相色谱–质谱联用(UPLC/PDA-QDa)同时对大麻植物中 Δ9-四氢大麻酚(Δ9-THC)、大麻酚(CBN)和大麻二酚(CBD)进行定性与定量分析的方法。缴获的大麻植物用甲醇超声萃取, 采用甲醇(含 0.1% 甲酸)和超纯水为流动相, 等度洗脱, 流速为 0.2 mL/min, 经 Waters UPLC BEH C_{18} 柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 利用光电二极管阵列检测器(PDA)在 220 nm 波长下检测, 并通过质谱检测器(QDa)对目标洗脱峰进行追踪确证。在 0.5 ~ 20 μg/mL 浓度范围内, 3 种大麻酚类化合物的质量浓度与峰面积呈良好的线性关系, $R \geq 0.999$; 低、中、高添加水平的平均回收率为 82% ~ 102%, 相对标准偏差(RSD)在 0.4% ~ 4.1% 之间。本方法稳定、简便、灵敏, 能够满足检测需求。根据 Δ9-THC、(Δ9-THC+CBN)/CBD、Δ9-THC/CBD或 CBN/CBD 表型指数, 区分不同产地大麻的化学表型, 为大麻植物的检测分析和质量控制提供了有效手段。

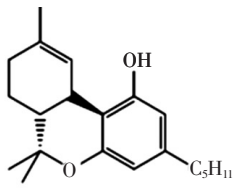
关键词 超高效液相色谱-质谱联用; 大麻植物; Δ9-四氢大麻酚; 大麻酚; 大麻二酚; 化学表型

1 引 言

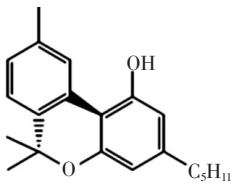
大麻植物是非法加工制造大麻制品的基本原料。大麻中的大麻酚类化合物是影响中枢神经最重要的成分, 其中作用最强的精神活性物质是 Δ9-四氢大麻酚(Δ9-Tetrahydrocannabinol, Δ9-THC), 非精神活性的大麻二酚(Cannabidiol, CBD)可以调节 Δ9-THC 的欣快效应, 大麻酚(Cannabinol, CBN)具有镇静和麻醉功效[1,2]。大麻酚类类化合物的含量受遗传、栽培环境、收获时间、储存条件等因素的影响[3~5], 根据以下 3 种表型指数, 可将大麻分为毒品型大麻(Ⅰ型)和纤维型大麻(Ⅱ型)[2,6~9]:(1)依据 Δ9-THC 含量判断。若 Δ9-THC 含量>0.3%, 则为毒品型大麻; 若 Δ9-THC 含量<0.3%, 则为纤维型大麻。(2)依据表型指数计算公式(Δ9-THC+CBN)/CBD 判断。若表型指数>1, 则为毒品型大麻; 若表型指数<1, 则为纤维型大麻。(3)依据两个表型指数 Δ9-THC/CBD 和 CBN/CBD 判断。若两个表型指数之一大于 1, 则为毒品型大麻; 而如果两个都小于 1, 则为纤维型大麻。

目前, 对大麻酚类的分析检测方法主要有气相色谱-串联质谱法(GC-MS/MS)、液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)。气相色谱分析过程需要对大麻样品进行加热衍生化的前处理, 在此过程中, 酸性大麻酚类会脱羧成为它们的中性对应物[6,8]; 液相色谱法则不需要加热即可直接分析测定大麻中的酸性和中性大麻酚类[10~13], 实现对大麻植物中组成成分的完整分析。Happyana 等采用 LC-MS 方法对大麻植物中大麻酚类成分的分析检测, 耗时 40 min[1]。Ambach 等采用 HPLC-DAD 方法, 将时间缩短至 16 min[10]。本研究的超高效液相色谱采用高压小颗粒填料, 使分析效率和分离度显著提高[14~17], 同时借助 QDa 质谱检测器对目标物分子信息进一步确认。利用此技术, 成功建立了一种可在 7 min 内完成对大麻植物中 3 种成分 Δ9-THC、CBN 和 CBD 检测的分析方法(3 种大麻酚类的分子结构式见图 1), 从而实现对大麻植物化学表型的分类, 为大麻原植物类毒品犯罪的缉查及从法庭科学角度为大麻原植物类毒品犯罪的定罪量刑提供科学依据和理论参考。

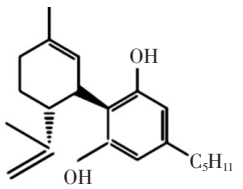
2017-03-17 收稿; 2017-04-28 接受
本文系国家重大仪器研发专项毒品现场定性定量分析仪项目(No. 2012YQ12004910)资助
* E-mail: huizheng99999@hotmail.com; liuyaol123@yahoo.cn



(−)-Δ9-*trans*-tetrahydrocannabinol
Δ9-四氢大麻酚
(Δ9-THC, $C_{21}H_{30}O_2$, MW=314.5)



Cannabinol
大麻酚
(CBN, $C_{21}H_{26}O_2$, MW=310.4)



Cannabidiol
大麻二酚
(CBD, $C_{21}H_{30}O_2$, MW=314.5)

图 1　3 种大麻酚类的分子结构式

Fig. 1　Chemical structures of three cannabinoids

2　实验部分

2.1　仪器与试剂

ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪(Waters Empower™3 数据处理系统, 美国 Waters 公司); ACQUITY 光电二极管阵列检测器(PDA, 可操作波长 190 ~ 500 nm, 光学分辨率 1.2 nm)和 ACQUITY QDa™质谱检测器(美国 Waters 公司); 超声波清洗器(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); Mettler Toledo-XS105 电子天平(瑞士 Mettler 公司); 高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司); 0.22 μm MCE 针头式过滤器(上海岛津技迩商贸有限公司)。

甲醇(美国 Fisher Scientific 公司)、甲酸(美国 Sigma 公司)为色谱纯; 实验用水均为超纯水(美国 Millipore 公司超纯水装置制备); Δ9-THC、CBD 和 CBN 标准品(均为 1.0 mg/mL 甲醇溶液, 美国 Cerilliant 公司), −20℃避光保存。

混合标准溶液的配制:分别准确移取 Δ9-THC、CBD 和 CBN 标准储备液置于 2 mL 容量瓶中, 以甲醇稀释并定容, 配制成 0.5、1、2、5、10 和 20 μg/mL 的系列混合标准溶液。

2.2　样品前处理

选取不同产地的 30 个大麻样本, 经登记备案获批后, 研磨成均匀细粉待用。准确称取 10 mg 大麻植物粉末, 置于 15 mL 塑料离心管中, 加入甲醇 5 mL, 经水浴超声萃取 30 min 后, 以 6000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 针孔滤膜, 供 UPLC/PDA-QDa 分析。

2.3　分析条件和数据分析

色谱条件:色谱柱为 Waters ACQUITY™ UPLC BEH C_{18}柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 35℃; 样品室温度为 20℃; 进样体积为 2 μL; 流动相为甲醇(含 0.1% 甲酸)-水(87∶13, *V*/*V*), 等度洗脱, 流速为 0.2 mL/min; 在 220 nm 波长处进行检测; 使用 10% 甲醇溶液清洗密封圈; 运行时间 7 min。

质谱条件:Waters 质谱检测器 QDa, 电喷雾离子源, 扫描质量范围为 *m*/*z* 100 ~ 500 Da。从超高效液相色谱柱流出来的样品直接进入质谱分析, 正离子扫描, 采样速率 10 点/s, 毛细管电压为 0.8 kV, 锥孔电压为 30 V, 探头温度为 600℃。

利用 Waters Empower™3 数据处理系统得到 3 种大麻酚类化合物的含量数据, 采用 SIMCA-P11.5 (Umetrics AB, Umea, Sweden)软件作主成分分析, 通过得分图获得不同产地大麻样本的分型信息。

3　结果与讨论

3.1　样品前处理条件的优化

为进一步优化前处理条件, 实验选用甲醇作为提取剂, 以超声方式进行萃取, 考察了不同萃取时间(15、30 和 45 min)和萃取次数(1 和 2 次)对大麻酚类提取效率(峰面积)的影响。最终采用 30 min 超声 1 次的条件, 第 1 次提取后, 各目标物峰面积均达到两次提取各目标物峰面积之和的 95% 以上。

3.2　UPLC/PDA-QDa 条件的选择

为改善峰形, 本实验尝试在甲醇中加入 0.1% 甲酸溶液, 采用甲醇-水(87∶13, *V*/*V*)等度洗脱时,

不仅能达到较好的分离效果，且分离时间较短，目标分析物可在 4 min 内流出色谱柱。为避免天然产物中组分众多可能存在的样品间干扰，将分离检测时间延长至 7min。采用优化后的实验条件，对大麻混合标准溶液及大麻植物样品溶液检测，3 种目标大麻酚类化合物的色谱图见图 2。

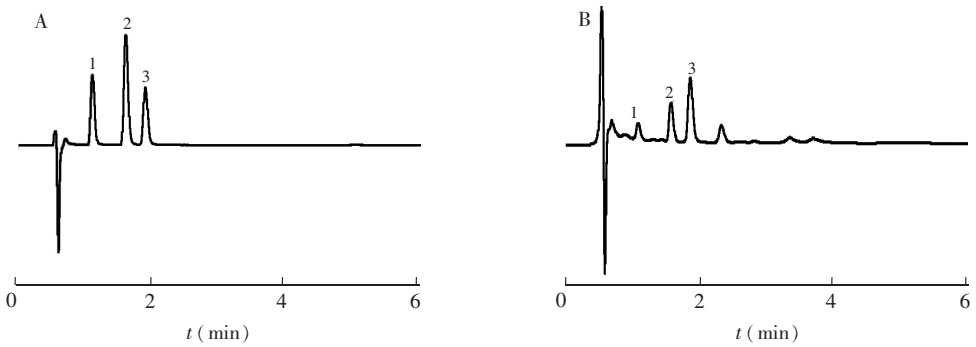


图 2 大麻混合标准溶液(A)和大麻植物样品溶液(B)的超高效液相色谱图

Fig. 2 UPLC chromatograms of cananbis mixture reference (A) and cannabis plant (B)

1. CBD, 2. CBN, 3. Δ9-THC.

3.3 UPLC 方法学验证

3.3.1 方法的专属性 在方法建立期间，通过优化峰间距并增大分离度，保证峰的专属性。CBD、CBN 和 Δ9-THC 的保留时间分别为 1.1、1.6 和 1.9 min，各成分与其相邻色谱峰的分离度均大于 1.6，拖尾因子在 1.16 ~ 1.23 之间。同时，QDa 检测器作为光学数据的补充，具有更高质量的定性质谱数据，可对组分进行进一步确证。在正离子模式下扫描，根据对混合标准溶液的碎片离子质谱图分析，Δ9-THC、CBN 和 CBD 的 *m/z* 分别为 315、311 和 315。分别在 *m/z* 315 和 311 下提取离子流质谱图，对大麻样本的洗脱峰进行比对分析。图 3 和图 4 是利用质谱检测器 QDa 对 Δ9-THC、CBN 和 CBD 各峰的追踪确证结果，与 PDA 检测分析一致，且无基质干扰。在选定实验条件下，所测的 3 个大麻酚类组分与其它组分完全分离，满足含量测定要求。

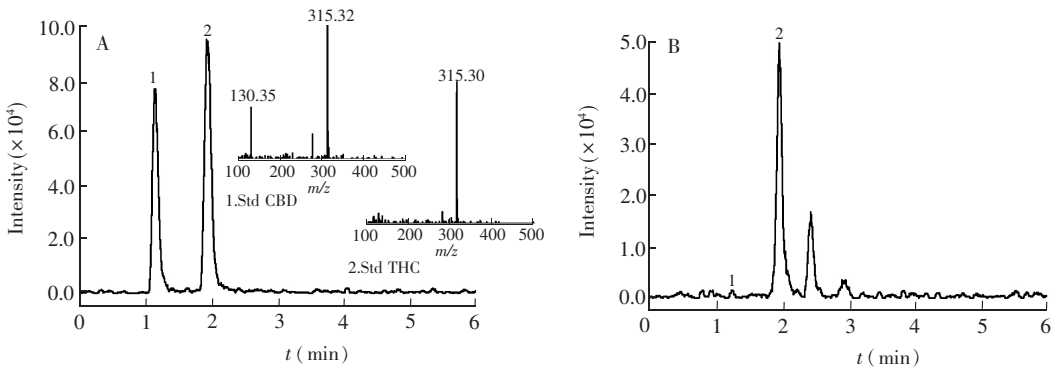


图 3 大麻混合标准溶液(A)和大麻植物样品溶液(B)的提取离子流图(*m/z* 315)

Fig. 3 Extracted ion chromatograms of cananbis mixture reference (A) and cannabis plant (B) (*m/z* 315)

1. CBD; 2. Δ9-THC.

3.3.2 线性关系、检出限和定量限 配制 3 种大麻酚类化合物浓度分别为 0.5 ~ 20.0 μg/mL 的系列混合标准溶液，按照上述条件进行检测分析。以各分析物的峰面积 Y 为纵坐标，浓度 X(μg/mL)为横坐标，绘制标准曲线，进行线性回归分析。采用向空白样品中逐级降低加标浓度的方法确定检出限(LOD)和定量限(LOQ)，按照信噪比 $S/N \geqslant 3$ 和 $S/N \geqslant 10$ 分别计算检出限和定量限。3 种大麻酚类化合物的回归方程、线性范围、相关系数、定量限及检出限见表 1，在 0.5 ~ 20.0 μg/mL 浓度范围内，3 种大麻酚类化合物线性关系良好($R \geqslant 0.999$)，可满足定量分析的要求。

3.3.3 准确度和精密度 向已知含量的大麻样品中分别添加低、中、高浓度水平的混合标准品，

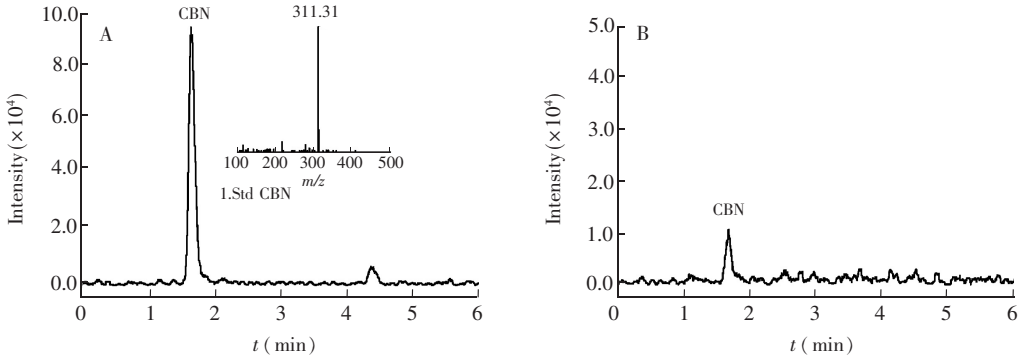


图 4　大麻混合标准溶液(A)和大麻植物样品溶液(B)的提取离子流图(m/z 311)

Fig. 4　Extracted ion chromatograms of cannabis mixture reference (A) and cannabis plant (B) (m/z 311)

表 1　Δ9-THC、CBN 和 CBD 的线性回归方程、检出限(LOD)和定量限(LOQ)

Table 1　Calibration curves, limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) for Δ9-THC, CBN and CBD

序号 Number	成分 Component	保留时间 Retention time (min)	线性范围 Linear range (μg/mL)	回归方程 Regression equation	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
1	Δ9-THC	1.924	0.5 ~ 20	$y=3.76\times10^4x-1.15\times10^3$ ($R=0.9999$)	0.1	0.4
2	CBN	1.630	0.5 ~ 20	$y=6.64\times10^4x+3.44\times10^3$ ($R=0.9998$)	0.05	0.2
3	CBD	1.129	0.5 ~ 20	$y=4.00\times10^4x-1.06\times10^3$ ($R=0.9999$)	0.1	0.4

每个浓度水平做 6 次平行实验，进行加标回收实验，评价方法的准确度。同时，对每个浓度水平在一天内重复测定 6 次，连续测定 6 天，评价方法的日内精密度(Intra-day precision)和日间精密度(Inter-day precision)。由如表 2 可知，3 种大麻酚类化合物的加标回收率范围为 82% ~ 102%，相对标准偏差(RSD)均小于 5%，表明本方法精确可靠，重复性良好。

表 2　大麻中 3 种成分的加样回收率实验结果($n=6$)

Table 2　Results of recovery test of the three constituents in cannabis ($n=6$)

成分 Component	初始量 Original (μg/mL)	加入值 Added (μg/mL)	精密度 Precision(%)		测定值 Total found (μg/mL)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD(%)
			日内 Intra-day	日间 Inter-day			
	10.850	0.6	2.6	1.0	11.42	96	2.5
Δ9-THC	10.658	2.0	2.4	2.0	12.39	86	4.1
	10.045	8.0	4.1	3.3	16.57	82	0.77
	1.987	0.6	0.3	3.0	2.60	102	3.3
CBN	1.947	2.0	0.8	3.5	3.80	92	0.65
	1.791	8.0	4.8	3.3	9.56	97	0.47
	0.590	0.6	0.6	3.8	1.21	103	3.6
CBD	0.578	2.0	2.0	0.9	2.52	97	0.61
	0.543	8.0	3.2	3.4	8.16	95	0.36

3.4　实际样品分析

应用本方法测定不同产地的大麻植物样本中 3 种大麻酚类化合物的含量，依据不同的表型指数计算公式对样本进行化学表型划分，结果见表 3。

受遗传特征、栽培环境、收获时间、储存条件等因素的影响，大麻植物样本中 3 种大麻酚类化合物的含量有很大差异。在许多国家，大麻种植被认为是非法的，而在允许种植的国家中，需要测试栽培品种中精神活性物质 Δ9-THC 的含量需低于法律允许下限。在欧洲，允许种植的大麻，其 Δ9-THC 最大含量为干物质重量的 0.2% 或 0.3%，以此作为国家规定限度[11]。本实验测定的大麻植物样本中 Δ9-THC、CBN 和 CBD 含量变化范围分别在 0.026% ~ 1.44%、0.006% ~ 3.33% 和 0.006% ~ 3.84% 之间。根据含量结果判断，表 3 中有 12 个大麻样本的 Δ9-THC 含量大于 0.3%，可归为毒品型大麻。

据文献[4]报道，由于对热和光的不稳定性，大麻植物样品中的Δ9-THC浓度会随时间延长而降

表 3 大麻样本中 3 种大麻酚类化合物的测定结果
Table 3 Contents of 3 kinds of cannabinoids in cannabis samples

编号 No.	大麻样本 Cannabis sample	含量 Content (*w*/*w*, %)			表型指数(2) Phenotypic index(2)	表型指数(3) Phenotypic index(3)		化学表型 Phenotype
		Δ9-THC 表型指数(1) Phenotypic index(1)	CBN	CBD	(Δ9-THC+CBN)/CBD	Δ9-THC/CBD	CBN/CBD	
1	HLJ-1	0.395	ND	ND	–	–	–	Ⅰ
2	HLJ-2	0.505	ND	0.035	14.43	14.43	–	Ⅰ
3	HLJ-3	1.44	3.33	0.317	15.04	0.43	10.49	Ⅰ
4	HLJ-4	0.423	0.01	0.409	1.06	1.03	0.02	Ⅰ
5	HLJ-5	0.047	ND	0.056	0.84	0.84	–	Ⅱ
6	HLJ-6	0.021	ND	0.108	0.19	0.19	–	Ⅱ
7	HLJ-7	0.033	ND	0.351	0.094	0.094	–	Ⅱ
8	HLJ-8	0.224	0.006	0.053	4.34	4.23	0.11	Ⅰ, Ⅱ
9	NMG-1	0.671	0.012	0.031	22.03	21.65	0.39	Ⅰ
10	NMG-2	0.632	0.007	0.029	22.03	21.79	0.24	Ⅰ
11	NMG-3	0.693	0.012	ND	–	–	–	Ⅰ
12	NMG-4	0.031	ND	0.325	0.095	0.095	–	Ⅱ
13	NMG-5	0.038	ND	0.046	0.83	0.83	–	Ⅱ
14	NMG-6	0.045	ND	0.034	1.91	1.91	–	Ⅰ, Ⅱ
15	XJ-1	0.375	ND	ND	–	–	–	Ⅰ
16	XJ-2	0.338	ND	ND	–	–	–	Ⅰ
17	XJ-3	0.485	ND	ND	–	–	–	Ⅰ
18	XJ-4	0.454	0.007	0.014	32.93	32.43	0.5	Ⅰ
19	XJ-5	0.202	2.92	3.84	0.81	0.05	0.76	Ⅱ
20	XJ-6	0.125	0.007	0.01	13.2	12.5	0.7	Ⅰ, Ⅱ
21	XJ-7	0.216	ND	0.084	2.57	2.57	–	Ⅰ, Ⅱ
22	XJ-8	0.101	0.01	0.067	1.65	1.51	0.15	Ⅰ, Ⅱ
23	SX-1	0.731	ND	0.484	1.51	1.51	–	Ⅰ
24	SX-2	0.386	ND	0.037	10.43	10.43	–	Ⅰ
25	SX-3	0.026	ND	0.070	0.37	0.37	–	Ⅱ
26	SX-4	0.033	0.033	ND	–	–	–	Ⅱ
27	SX-5	0.084	ND	0.008	10.5	10.5	–	Ⅰ, Ⅱ
28	SX-6	0.072	ND	0.042	1.71	1.71	–	Ⅰ, Ⅱ
29	SX-7	0.034	ND	0.010	3.4	3.4	–	Ⅰ, Ⅱ
30	SX-8	0.095	0.006	0.006	16.83	15.83	1	Ⅰ, Ⅱ

HLJ: 黑龙江(Heilongjiang); NMG: 内蒙古(Inner Mongolia); XJ: 新疆(Xinjiang); SX: 陕西(Shaanxi)。Ⅰ: 毒品型大麻(drug-type cannabis); Ⅱ: 纤维型大麻(fiber-type cannabis)。ND, not detected.

低。考虑到检材中大麻酚类受环境等因素造成的含量变化, 可以 3 种大麻酚类化合物的相对组成含量判断化学表型。以表型指数(2)进行样本分型, 有 17 个样本被归为毒品型, 其中有 9 个样本的Δ9-THC 含量均低于 0.3%, 但仍归为毒品型大麻。表型指数(3)是对表型指数(2)的拆分, 据此分型, 得到判断与表型指数(2)的结果一致。该判断方法不适用于未检出 CBD 的植物样本表型分析, 但对于利用检材中 Δ9-THC 含量降低推断检材变化, 对法庭科学具有一定的信息价值。

3.5 基于主成分分析的分型研究

主成分分析(Principal component analysis, PCA)通过对数据进行降维处理后, 可以直观显示各组样品的差异[18~20]。以大麻样本中 Δ9-THC、CBN、CBD 的含量为变量, 作主成分(PCA)分析, 将黑龙江、内蒙古、新疆和陕西 4 个产地大麻样本的 30 组含量数据导入 SIMCA-P 软件, 将数据标准化后进行 PCA 分析, 3 种大麻酚类化合物的累计贡献率达到 94.4%, 所得的载荷图如图 5 所示, 不同产地的大麻样本被分为 2 类即毒品型和纤维型大麻, 按照 3 种大麻酚类化合物的影响进行分类, 获得与表型指数(1)吻合的分型结果。

4　结 论

本研究采用光电二极管阵列(PDA)检测器与质谱检测(QDa)技术联用，建立了同时测定大麻植物中 3 种大麻酚类化合物含量的超高效液相色谱与质谱联用分析方法，可对3 种大麻酚类实现色谱的快速分离及质谱的追踪确证。利用本方法对不同产地的大麻植物样本进行含量分析，并对利用不同的表型指数和主成分分析判断大麻植物的化学表型进行了探讨，为监测和打击毒品型大麻的非法种植提供了高通量快速检测方法和判断依据。

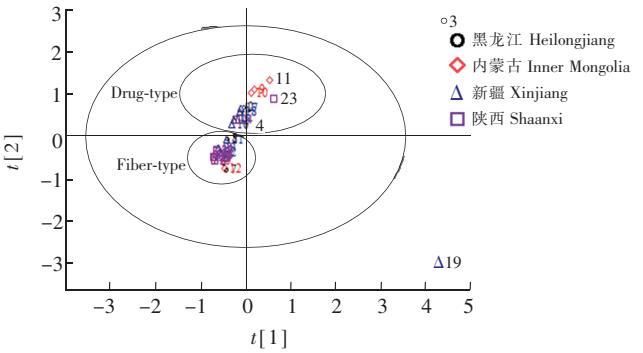


图 5　不同产地大麻样本 PCA 分析得分图

Fig. 5　Score plots of cannabis samples from different origin analyzed by principal component analysis (PCA)

References

1　Happyana N, Agnolet S, Muntendam R, Dam V, Schneider B, Kayser O. *Phytochemistry*, **2013**, 87: 51-59

2　BenjaminD B, Kevin M, Alain G V, Corinne C. *J. Forensic sci.*, **2012**, 57(4): 918-922

3　Turner C E, Hadley K W, Fetterman P S, Doorenbos N J, Quimby M W, Waller C. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1973**, 62(10): 1601-1605

4　Trofin I, Vlad C, Dabija G, Filipescu L. *Revista de Chimie*, **2011**, 62(6): 639-645

5　Fairbairn J W, Liebmann J A, Rowan M G. *J. Pharmacy Pharmacol.*, **1976**, 28: 1-7

6　Tipparat P, Natakankitkul S, Chamnivikaipong P, Chutiwat S. *Forensic Sci. Inter.*, **2012**, 215: 164-170

7　Stefanidou M, Dona A, Athanaselis S, Papoutsis I, Koutselinis A. *Forensic Sci. Inter.*, **1998**, 95: 153-162

8　Pellegrini M, Marchei E, Pacifici R, Pichini S. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, **2005**, 36: 939-946

9　Oliveira G L, Voloch M H, Sztulman G B, Neto O N, Yonamine M. *Forensic Toxicol.*, **2008**, 26: 31-35

10　Ambach L, Penitschka F, Broillet A, König S, Wolfgang W, Bernhard W. *Forensic Sci. Inter.*, **2014**, 243: 107-111

11　Backer B D, Debrus B, Lebrun P, Theunis L, Dubois N, Decock L, Verstraete A, Hubert P, Charlier C. *J. Chromatogr. B*, **2009**, 877: 4115-4124

12　Gambaro V, Acqua L D, Farè F, Froldi R, Saligari E, Tassoni G. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 468: 245-254

13　Peschel W, Politi M. *Talanta*, **2015**, 140: 150-165

14　ZHANG Gang, GUO Jiang-Ning, BI Kai-Shun. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, **2003**, 34(5): 269-271
张 岗, 郭江宁, 毕开顺. 沈阳药科大学学报, **2003**, 34(5): 269-271

15　ZHANG Ai-Zhi, WANG Quan-Lin, MO Shi-Jie. *Chinese Journal of Chromatography*, **2010**, 28(11): 1015-1019
张爱芝, 王全林, 莫世杰. 色谱, **2010**, 28(11): 1015-1019

16　ZHANG Ai-Zhi, WANG Quan-Lin. *Food Science*, **2011**, 32(10): 194-198
张爱芝, 王全林. 食品科学, **2011**, 32(10): 194-198

17　Waseem G, Shahbaz W G, Mohamed M R, Amira S W, Zlatko M, Ikhlas I K, Maged H S, Mahmoud A E. *J. AOAC Inter.*, **2015**, 98(6): 1523-1528

18　SIRI Guleng, LIU Xiao-Ling, LI Tong-Mei, SHI Lu-Wen. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2015**, 43(5): 675-681
斯日古楞, 刘小玲, 李冬梅, 史录文. 分析化学, **2015**, 43(5): 675-681

19　LI Xue, PI Zi-Feng, XING Jun-Peng, LIN Na, LIU Zhi-Qiang, SONG Feng-Rui. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(11): 1646-1650
李 雪, 皮子凤, 邢俊鹏, 林 娜, 刘志强, 宋凤瑞. 分析化学, **2014**, 42(11): 1646-1650

20　ZENG Mao-Mao, LI Yang, HE Zhi-Yong, QIN Fang, CHEN Jie. *Chinese J. Anal. Chem.*, **2014**, 42(1): 71-76
曾茂茂, 李 洋, 何志勇, 秦 昉, 陈 洁. 分析化学, **2014**, 42(1): 71-76

Determination of Three Kinds of Cannabinoids in Cannabis Using Ultra-high Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Analysis of Phenotype of Cannabis

SUN Wei-Lai[1], ZHENG Xiao-Yu[2], ZHAO Yan-Biao[2], ZENG Ling-Hua[1], GAO Li-Sheng[2], ZHENG Hui*[2], LIU Yao*[1,2]

[1](*People's Public Security University of China*, *Beijing* 100038, *China*)

[2](*Institute of Forensic Science*, *Ministry of Public Security*, *Beijing* 100038, *China*)

Abstract An analytical method of ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC/PDA-QDa) for the qualitative and quantitative analysis of Δ9-tetrahydrocannabinol (Δ9-THC), cannabidiol (CBD), and cannabinol (CBN) in confiscated cannabis was developed. The seized cannabis was extracted in methanol by sonication. The binary mobile phase consisted of methanol (containing 0.1% formic acid) and water. After centrifugation, the supernatant was separated on Waters UPLC BEH C18 column (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) with isocratic elution at a flow rate of 0.2 mL/min. The three cannabinoids were analyzed by photodiode array (PDA) detector at 220 nm and confirmed by mass spectrometer QDa. The correlation coefficient of standard curve for the three cannabinoids in linearity range was not less than 0.999, as well as the recoveries were 82%-102% with the relative standard deviations (RSD) of 0.36%-4.12% at three spiked levels. The method is specific, easy, quick and suitable for confirmation of the cannabinoids in seized cannabis. Cannabis plants in different areas were classified by their chemical phenotype as drug-type or fiber-type plants, taking into account the phenotypic index Δ9-THC, (Δ9-THC+CBN)/CBD, or the Δ9-THC/CBD and the (Δ9-THC + CBN)/CBD ratios. The analysis of the original composition of plant material is necessary for the detection and the quality control of cannabis plants.

Keywords Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; Cannabis plants; Δ9-Tetrahydrocannabinol; Cannabidiol; Cannabinol; Phenotype

(Received 17 March 2017; accepted 28 April 2017)

This work was supported by the National Major Scientific Instruments and Equipments Special Project (No. 2012YQ12004910)