

毛发中 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的 液相色谱-串联质谱检验方法

李悦

(广州禾信仪器股份有限公司, 广州 510530)

摘要:使用禾信液相色谱-质谱联用仪 (LC-TQ 5100), 依照SF/Z JD0107022-2018《毛发中-四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的液相色谱-串联质谱检验方法》标准, 对毛发进行加标回收实验。实验结果表明, 在0.05 ng/mg~2.5 ng/mg的浓度范围内, Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚目标物的标准曲线线性相关系数 R^2 均大于0.995, 精密度RSD范围为1.49%~9.39%, 毛发样品加标回收率为82.8%~106.5%, 方法检出限为0.05 ng/mg, 方法定量限为0.05 ng/mg, 定性参数保留时间的相对误差在标准要求的 $\pm 2.50\%$ 内, 定性参数相对离子对丰度比均 $\leq 10\%$, 且其相对误差在标准要求的 $\pm 50\%$ 内, 均满足SF/Z JD0107022标准要求。

关键词:毛发; Δ^9 -四氢大麻酚; 大麻二酚; 大麻酚

大麻是世界上使用最为广泛的违禁物质, 长期使用可能导致具有依赖性, 因此大麻类物质是最常见检测的非法药物之一。 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚是大麻植物中主要的活性成分, 其还可产生一系列代谢物, 而大麻素及其代谢物在吸食大麻后会被检出。毛发中精神活性组分的定性分析结果是判定是否吸食大麻的一个指标。

本文参考 SF/Z JD0107022《毛发中 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的液相色谱-串联质谱检验方法》标准, 使用液相色谱-串联质谱仪对毛发中的 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚进行分析, 通过检出限、定量限、精密度、准确度等指标评估质谱仪 (禾信 LC-TQ 5100) 性能, 证明禾信 LC-TQ 5100 满足毛发中 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚化合物检测的需要。

1 材料和方法

1.1 试剂和材料

甲酸 (CH_2O_2): 色谱级

乙腈 (CH_3CN): 色谱级

甲醇 (CH_3OH): 色谱级

Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚标准品 (1.0 mg/mL);

甲氧那明标准物质 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

内标甲氧那明标准工作溶液 (1.0 ng/mL)：由甲氧那明标准物质 (1.0 mg/mL) 用甲醇稀释混匀而得；

Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚标准工作溶液：由 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚 (1.0 mg/mL) 用甲醇稀释混匀而得。

1.2 仪器和设备

液相色谱质谱仪：禾信 LC-TQ 5100

色谱柱：菲罗门 Titank C18 色谱柱 (2.1 $\text{mm}\times 100\text{ mm}$, 3 μm)；

电子天平、离心机、超声波清洗仪，

恒温水浴锅、冷冻研磨仪、移液器。

1.3 样品前处理

毛发样品经过水和丙酮洗涤处理后研磨成粉末状，称取 20 mg 毛发粉末样品，加入 1.0 mL 内标甲氧那明标准工作溶液 (1.0 ng/mL)，超声提取 30 min ，离心，转移上清液于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴空气流下吹干，用 100 μL 甲醇复溶，供仪器分析 (控制样品同步)

1.4 仪器条件

表1 仪器方法参数

模块	参数	值
色谱	色谱柱	Titank C18柱 (2.1 $\text{mm}\times 100\text{ mm}$, 3 μm)
	柱温	40 $^{\circ}\text{C}$
	流动相	A相: 0.1%甲酸水溶液; B相: 0.1%甲酸乙腈
	流速	0.3 mL/min
	进样量	5 μL
	洗脱	梯度洗脱,梯度洗脱条件见表 2
	采集时间	10 min
质谱	离子源	ESI+
	检测模式	多反应监测 (MRM)
	检测器电压	2350V
	碰撞气 (CAD)	15psi
	气帘气 (CUR)	5 psi
	雾化气 (GS1)	30 psi
	加热气 (GS2)	30 psi
喷雾电压 (IS)	5500V	
加热温度 (TEM)	450 $^{\circ}\text{C}$	

表2 梯度洗脱条件

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
---------	----------	----------

0	40	60
0.5	40	60
3	10	90
8	10	90
8.5	40	60
10	40	60

2 结果与讨论

2.1 标准谱图和物质信息

标准溶液总离子流图见图1，案件样品总离子流图见图2，质控样品MRM色谱图见图3。目标化合物的加标浓度为0.1 ng/mg，各目标化合物和内标出峰顺序、保留时间以及特征离子信息见表3，各目标化合物的定性参数保留时间及其相对误差、特征峰相对离子对丰度比及其相对误差信息见表4。

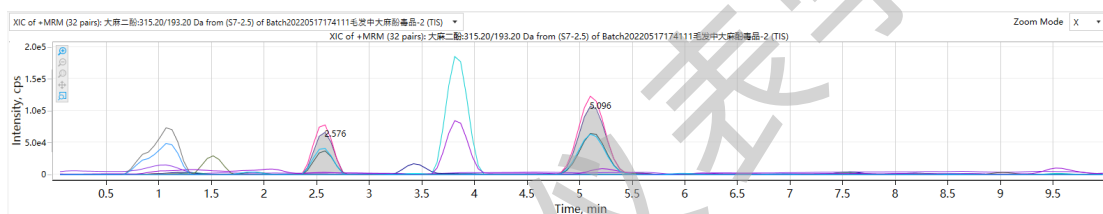


图1 标准样品总离子流图

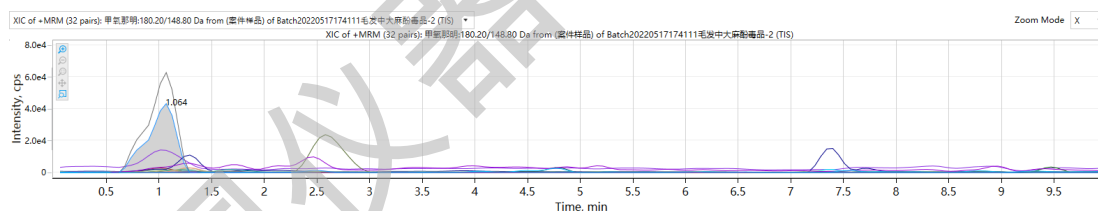


图2 案件样品总离子流图

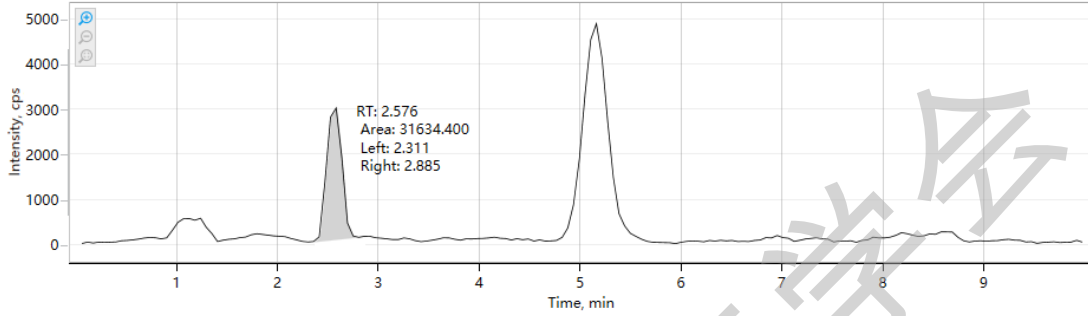
表3 各目标化合物的定性、定量离子对和保留时间、碰撞能量条件

序号	目标化合物	CAS	RT, min	定量离子对	定性离子对	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CX P (V)
1	大麻二酚	13956-2 9-1	2.576	315.2/193.2	315.2/259.1	75	3	28	6
					315.2/193.2	40	5	33	8
2	大麻酚	521-35- 7	3.864	311.2/223.2	315.2/293.3	68	10	26	7
					311.2/223.2	70	7	30	11
3	Δ^9 -四氢大麻酚	1972-08 -3	2.576	315.2/193.2	315.2/259.1	55	6	26	13
					315.2/193.2	59	5	30	12
4	甲氧那明	93-30-1	1.064	180.2/148.8	180.2/148.8	38	8	17	8
					180.2/120.8	38	8	26	5

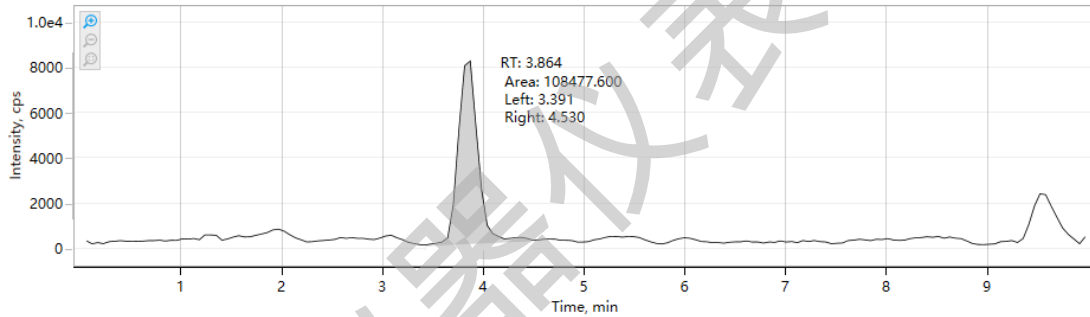
表4 目标化合物的保留时间和相对离子对丰度比信息表

序号	目标化合物	RT, min	保留时间误差	相对离子对丰度比	相对离子对丰度比相对误差
1	大麻二酚	2.576	±2.17%	≤1.92%	±16.4%
2	大麻酚	3.864	±1.45%	≤2.26%	±41.2%
3	Δ ⁹ -四氢大麻酚	2.576	±2.17%	≤1.90%	±26.8%

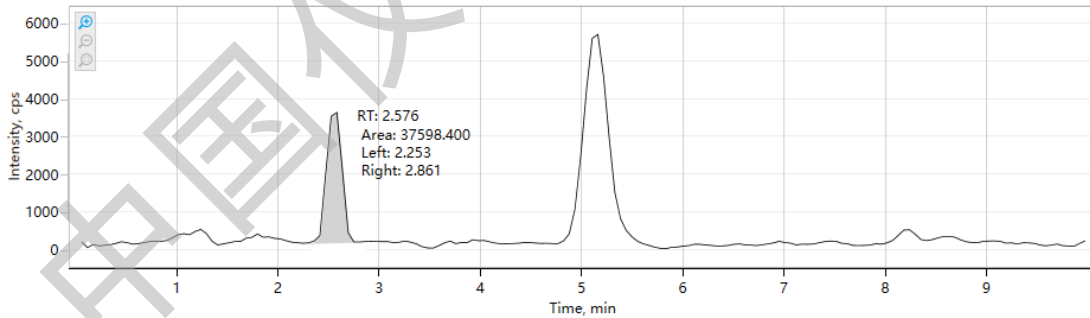
202205171741350011 - 大麻二酚(Standard) 大麻二酚:315.20/193.20 Da of Batch20220517174111毛发中大麻酚毒品-2 手动积分 ode: X 高级



202205171741350011 - 大麻酚(Standard) 大麻酚:311.20/223.20 Da of Batch20220517174111毛发中大麻酚毒品-2 手动积分 n Mode: X 高级



202205171741350011 - 四氢大麻酚(Standard) 四氢大麻酚:315.20/193.20 Da of Batch20220517174111毛发中大麻酚毒品-2 手动积分 X 高级



202205171741350011 - 甲氧那明(InternalStandard) 大麻二酚:315.20/193.20 Da of Batch20220517174111毛发中大麻酚毒品-2 手动积分 : X 高级

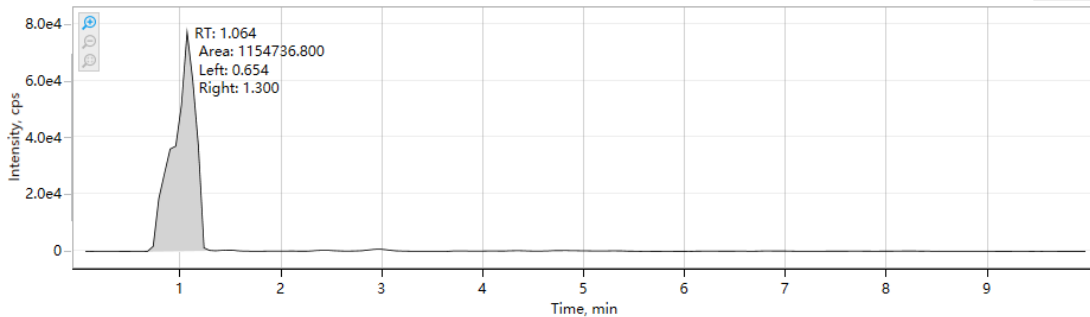


图3 质控样品的MRM色谱图

2.2 标准曲线

称取空白样品若干份，添加 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚标准工作溶液，使其浓度分别为 1.0ng/mL、2.0ng/mL、4.0ng/mL、8.0ng/mL、20ng/mL、30ng/mL 和 50ng/mL（相当于毛发中的质量浓度分别为 0.05ng/mg、0.1ng/mg、0.2ng/mg、0.4ng/mg、1.0ng/mg、1.5ng/mg 和 2.5ng/mg），对目标物 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的混合标准曲线溶液进行分析。3 种目标物的线性相关系数 R^2 均大于 0.995，详见表 5，均符合标准要求。

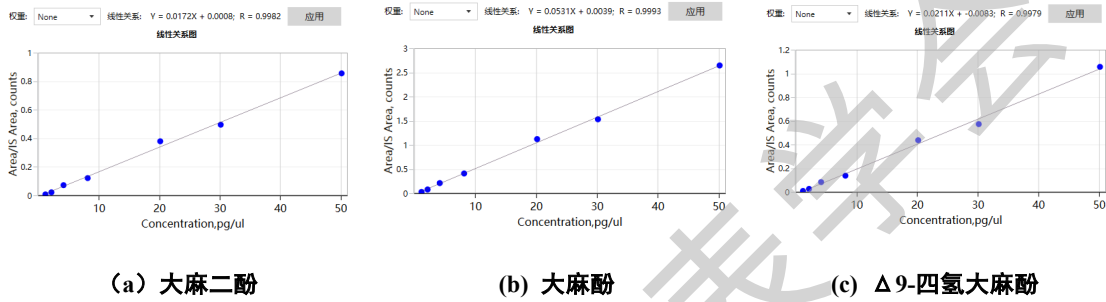


图 4 3 种目标物标准曲线图：(a) 大麻二酚；(b) 大麻酚；(c) Δ^9 -四氢大麻酚

表5 3种目标化合物的标准曲线的线性相关系数

序号	目标化合物	线性方程	线性范围/(ng/mg)	线性相关系数 R^2
1	大麻二酚	$Y=0.0172X+0.0008$	0.05~2.5	0.9982
2	大麻酚	$Y=0.0531X+0.0039$	0.05~2.5	0.9993
3	Δ^9 -四氢大麻酚	$Y=0.0211X+0.0083$	0.05~2.5	0.9979

2.3 毛发样品加标回收实验

1) 精密度

分别对毛发样品进行加标浓度为 0.05 ng/mg、0.4 ng/mg 和 2.0 ng/mg 的加标实验，均平行实验 7 次，对精密度进行评估，具体信息详见下表 6。加标浓度为 0.05 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 2.72%~9.39%内，加标浓度为 0.4 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 2.64%~4.86%内，加标浓度为 2.0 ng/mg 的目标物的相对标准偏差 (RSD) 在 1.49%~5.00%内，实验结果优于标准要求的精密度 (RSD 小于 11.4%)。

表6 目标物毛发样品加标精密度

序号	化合物	目标物加标浓度 (ng/mg)		
		0.05	0.4	2.0
1	大麻二酚	7.23%	4.86%	1.49%
2	大麻酚	9.39%	2.64%	3.90%
3	Δ^9 -四氢大麻酚	2.72%	4.63%	5.00%

2) 准确度

分别对毛发样品进行加标浓度为 0.05 ng/mg、0.4 ng/mg 和 2.0 ng/mg 的加标回收实验，均平行实验 7 次，对方法回收率进行评估，具体信息详见下表 7。加标浓度为 0.05 ng/mg、0.4 ng/mg 和 2.0 ng/mg 的毛发样品的平均回收率分别为 82.8%~94.1%、100.7%~104.2%、94.7%~106.5%，均符合标准要求。

表7 目标物毛发样品加标平均回收率

序号	化合物	目标物加标浓度 (ng/mg)		
		0.05	0.4	2.0
1	大麻二酚	82.8%	104.2%	94.7%
2	大麻酚	86.1%	102.3%	105.4%
3	Δ^9 -四氢大麻酚	94.1%	100.7%	106.5%

3) 检出限

方法 SF/Z JD0107022 提供了方法学验证数据中的最低检出限和定量下限，通过毛发样品加标实验分析，确定了方法检出限为 0.05 ng/mg，定量下限为 0.05 ng/mg，仪器性能满足标准检测要求。

表8 3种目标物的方法检出限与标准检出限

序号	化合物	本仪器	标准要求
		方法检出限 (ng/mg)	方法检出限 (ng/mg)
1	大麻二酚	0.05	0.05
2	大麻酚	0.05	0.05
3	Δ^9 -四氢大麻酚	0.05	0.05

2.4 结论

本文依据 SF/Z JD0107022 《毛发中 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的液相色谱-串联质谱检验方法》，采用禾信 LC-TQ 5100 分析了实际毛发样品中的 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚。实验结果显示： Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的线性相关系数 R^2 均大于 0.995，符合标准要求；加标精密度 RSD 在 1.49%~9.39% 范围内，优于标准要求的精密度（RSD 小于 11.4%）；毛发样品基质加标平均回收率在 82.8%~106.5% 范围内，符合标准要求；目标物的方法检出限为 0.05 ng/mg，符合标准提供的检出限要求；定性目标物的特征峰保留时间和相对离子对丰度比及其相对误差均在标准要求内。上述结果表明禾信 LC-TQ 5100 具有优异的重现性和检测灵敏度，完全满足 SF/Z JD0107022 标准要求。

参考文献

[1] SF/Z JD0107022 毛发中 Δ^9 -四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚的液相色谱-串联质谱检验方

法

中国仪器仪表学会