



T/CAIA

中国分析测试协会标准

T/CAIA/SH017-2021

工业大麻 大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸含量测定 高效液相色谱法

Industrial hemp - determination of cannabinol, Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and tetrahydrocannabinolic acid - high performans liquid chromatography

2021-12-25 发布

2022-02-01 实施

中国分析测试协会发布

目 次

前言	II
1 范围	2
2 规范性引用文件	2
3 术语与定义	2
4 原理	2
5 试剂和材料	2
6 仪器和设备	3
7 分析步骤	3
8 结果计算与表示	3
9 精密度	4
10 附录A	6

前 言

本文件按照GB/T 1.1-2020给出的规则起草。

本文件由中国分析测试协会标准化委员会提出并归口。

本文件起草单位：中国标准化研究院、齐齐哈尔大学、福州海关技术中心、中国中医科学院中药研究所、中国食品药品检定研究院、苏州汇通色谱分离纯化有限公司、华东理工大学、大连依利特分析仪器有限公司

本文件主要起草人：云振宇、兰韬、赵明、李军、时志春、王丹、孙立秋、张维冰、初红涛、杨方、李慧、初侨、王海燕、戈兆松、王丰琳、于聪聪、孙冬梅

工业大麻 大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸含量测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了测定工业大麻中大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸分析方法的原理、仪器与试剂材料、分析步骤、仪器测定条件、结果计算与表示、数据精密度。

本文件适用于工业大麻中大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸含量的测定，定量测定范围为：0.2 mg/g ~ 10 mg/g。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 26792 高效液相色谱仪

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

工业大麻 **Industrial hemp**

植株群体花期顶部叶片及花穗干物质中的四氢大麻酚（THC）质量分数 $<0.3\%$ ，不能直接作为毒品利用的一类大麻作物品种。

4 原理

工业大麻样品烘干、粉碎、研磨、过筛后，经 95% 乙醇溶液提取，微孔滤膜过滤，反相色谱分离，紫外检测器检测，采用外标法定量。

5 试剂和材料

除另外有规定外，所用试剂均为分析纯。

5.1 甲醇（ CH_3OH ）：色谱纯。

5.2 乙腈（ $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$ ）：色谱纯。

5.3 乙醇（ $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ）：色谱纯。

5.4 磷酸（ H_3PO_4 ）：纯度 $\geq 85\%$ 。

- 5.5 大麻酚 (CBN) 标准品 ($C_{21}H_{26}O_2$) : CAS: 521-35-7, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.6 四氢大麻酚 (THC) 标准品 ($C_{21}H_{30}O_2$) : CAS: 1972-08-3, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.7 四氢大麻酚酸 (THCA) 标准品 ($C_{22}H_{30}O_4$) : CAS: 23978-85-0, 纯度 $\geq 98\%$ 。
- 5.8 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) : 分析纯。
- 5.9 95%乙醇溶液: 准确移取 950 mL 无水乙醇 (5.3) 于 1 L 容量瓶 (6.9) 中, 以水定容至刻度线, 混匀。
- 5.10 流动相 A (pH = 4 磷酸盐缓冲液): 准确称取 1.640g 磷酸二氢钾 (5.8) 于 1 L 容量瓶 (6.9), 加入 900 mL 水, 用磷酸 (5.4) 调整 pH 为 4, 再以水定容, 使用前经滤膜 (6.7) 抽滤。
- 5.11 流动相 B (0.1%磷酸乙腈溶液): 准确移取 1 mL 磷酸 (5.4) 于 1 L 容量瓶 (6.9), 以乙腈定容, 使用前经有机相滤膜 (6.8) 抽滤, 超声 (6.2) 脱气。
- 5.12 混合标准储备溶液 (40 $\mu\text{g/mL}$): 准确移取 1 mg/mL CBN 标准品 (5.5)、1 mg/mL THC 标准品 (5.6)、1 mg/mL THCA 标准品 (5.7) 各 1 mL, 置于 25 mL 容量瓶 (6.9) 中, 用甲醇 (5.1) 溶解并定容, 标准储备溶液避光保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用, 有效期 3 个月。

6 仪器和设备

- 6.1 涡旋振荡器;
- 6.2 超声波清洗器, 功率不低于 250 W, 或相当的设备;
- 6.3 离心机, 不低于 4000 rpm, 或相当的设备;
- 6.4 鼓风干燥箱, 能够控制温度在 (70 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 范围;
- 6.5 高效液相色谱, 配有自动进样器、四元泵、柱温箱、二极管阵列检测器等部分;
- 6.6 电子天平, 感量 0.0001 g;
- 6.7 水相滤膜: 孔径 0.22 μm ;
- 6.8 有机相滤膜: 孔径 0.22 μm ;
- 6.9 容量瓶: 1 L, 100 mL, 50 mL, 25 mL, 10 mL。

7 分析步骤

本章所述操作尽可能避免阳光直射或在强光下操作。

7.1 样品提取

取适量阴干的工业大麻样品置于鼓风干燥箱 (6.4) 70 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 h, 全部研细混匀, 过 270 μm 筛; 称取 0.2 g (精确到 0.001 g) 样品于试管中, 记录称量质量 m_i 。

加入 95% 乙醇溶液 (5.9) 10 mL, 用涡旋振荡器 (6.1) 涡旋 20 s, 用超声波清洗器 (6.2) 超声 15 min 后, 在离心机 (6.3) 上以 3500 r/min 离心 3 min, 将上清液转移至 50 mL 容量瓶 (6.9), 重复上述步骤 3 次, 合并上清液, 并用 95% 乙醇溶液 (5.9) 定容至 50 mL。过 0.22 μm 有机微孔滤膜 (6.8) 后待测。

7.2 校准曲线的配制

分别准确移取适量大麻酚标准储备溶液 (5.12), 用甲醇 (5.1) 稀释并定容至刻度线, 摇匀, 得到大麻酚系列校准曲线工作溶液 (质量浓度分别为 0.8 $\mu\text{g/mL}$, 1.6 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 30 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$)。

7.3 样品测定

7.3.1 高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C₁₈, 250 mm×4.6 mm, 粒径 5 μm, 或性能相当者;
- b) 流动相: V(0.1% 磷酸乙腈): V(0.1% 磷酸水溶液) =65:35 溶液等度洗脱
- c) 进样体积: 10 μL;
- d) 柱温: 30 °C;
- e) 流速: 1.0 mL/min;
- f) 洗脱时间: 30 min;
- g) 检测波长: 220 nm

7.3.2 高效液相色谱测定

分别取适量的大麻酚系列标准工作溶液(7.2)及待上机样品溶液,按照7.3.1列出的条件进行高效液相色谱分析测定。由保留时间对各大麻酚物质进行定性,根据各大麻酚校准曲线工作溶液响应信号值和标准品浓度,建立校准曲线,标准曲线线性相关系数 $R^2 \geq 0.999$ 。使用外标法对样品的各大麻酚含量进行定量计算。

待测样液中各大麻酚的响应值应在校准曲线线性范围内,超过线性范围则应稀释后再进行分析。分析过程中,每20次样品测定后应测定1个与样品峰面积相近的标准工作液,如果测得值与原值相对平均偏差超过5.0%,则应重新制作校准曲线。各大麻酚标准溶液色谱图见附录A。

8 结果计算与表示

8.1 结果计算

根据校准曲线(见7.3.2),将试液中各待测组分的色谱峰面积转化为浓度,各组分的质量分数按式(1)计算:

$$w = \frac{\rho \cdot V \cdot f \times 10^{-3}}{m} \quad (1)$$

w —样品中各待测组分的质量分数,单位为毫克每克(mg/g);

ρ —由校准曲线得出的各待测组分质量浓度,单位为微克每毫升(μg/mL);

V —样品溶液最终定容体积,单位为毫升(mL);

s —样品溶液的稀释倍数;

m —样品质量,单位为克(g)。

8.2 结果表示

3次独立测量结果的极差不应大于1.2倍的本标准9.1规定的重复性限,测定结果以3次独立测量值的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

9 精密度和回收率

9.1 重复性

在重复性条件下,获得的两次独立测量结果的绝对差值不超过重复性限(r),超过重复性限(r)的情况不超过总测定次数的5%。表1给出了大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸重复性限的计算线性方程。

表1 三种大麻酚类待测组分的测定重复性限

待测组分	含量范围 w / (mg/g)	重复性限
CBN	0.20~2.00	$r=0.0457 w + 0.0164$
THC	2.00~4.00	$r=0.0345 w + 0.0481$
THCA	0.80~2.80	$r=0.0363 w + 0.0018$

表注1: w -测定值的平均值 (mg/g)

9.2 再现性

在再现性条件下, 获得的两次独立测量结果的绝对差值不超过再现性限 (R), 超过再现性限 (R) 的情况不超过总测定次数的5%。表2给出了大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸再现性限的计算线性方程。

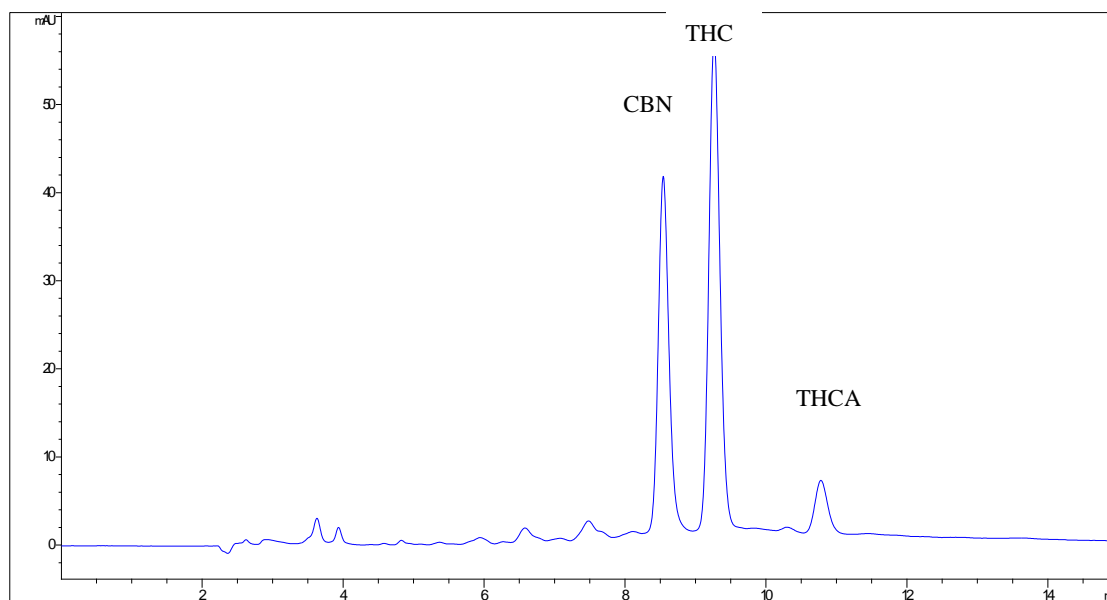
表2 三种大麻酚类待测组分的测定再现性限

待测组分	含量范围 w / (mg/g)	再现性限
CBN	0.20~2.00	$R=0.0474 w + 0.0268$
THC	2.00~4.00	$R=0.0254 w + 0.1338$
THCA	0.80~2.80	$R=0.0294 w + 0.0447$

表注1: w -测定值的平均值 (mg/g)

附录 A (资料性附录)

大麻酚、四氢大麻酚、四氢大麻酚酸标准溶液色谱图见图 A.1。



A.1 大麻酚类物质标准溶液色谱图