

使用顶空采样和大气压GC-MS/MS分析大麻油中的残留溶剂

Douglas M. Stevens

Waters Corporation



摘要

从大麻植物材料中提取活性化合物是通过各种工艺使用多种溶剂实现的。由于提取物通常直接食用，或用作人

类消费品的成分，因此必须注意确保减少或消除可能对产品质量造成负面影响或导致不可接受的人体暴露的残留溶剂。过去一直采用配备火焰离子化检测器(FID)的气相色谱仪(GC)分析植物提取物中的残留溶剂。但随着大麻衍生产品的消费方式以及这些产品合法化的地区数量增加，出现了报告限下降且分析物列表加长的趋势，FID的常规分析性能已无法满足需求。因此，此类分析对气质联用系统的应用越来越多。传统GC-MS采用电子电离(EI)，其发生在质谱仪的真空区域，而本研究考察了使用APGC（大气压气相色谱）离子源的大气压电离GC-MS对大麻油中残留溶剂的检测。所得结果证明了顶空(HS) APGC-MS/MS定量分析20多种常见残留溶剂的实用性，该系统还能够分析大麻样品中的萜烯和农药残留¹。

优势

- APGC具有出色的灵敏度，能够减少向系统中引入的基质量和分析物量，有助于降低MS和GC的维护频率，同时仍然确保性能达到最低报告限的要求
- 自动化HS样品提取只需少量样品前处理操作，还能够限制系统中的基质载样量
- 只需使用一台质谱仪就能对大麻衍生产品进行多种质量和安全性分析，大幅减少操作员培训工作和实验台空间要求

简介

全球许多政府和专业机构均对植物材料提取物中残留溶剂的分析提供了监管和指导方法，化合物的报告限范围低至1 ppm，高达5000 ppm。在这些方法中，由于常用提取溶剂以及可能在无意中作为污染物从工艺设备、包装、储存或提取溶剂本身引入提取物的分析物不同，具体的分析物列表可能会有变化。此外，可能还需要监测因使用不正当提取工艺或溶剂而产生的残留溶剂。基于上述原因，大麻油和含有大麻衍生成分的产品通常需要定量筛查残留溶剂。

分析物列表加长和报告限降低促使GC-MS的使用日益增加。在考虑以上因素的同时，还必须权衡防止分析时间过长的需求，以及随着新法规和指南的发布而纳入更多化合物的预期需求。

非MS检测（例如GC-FID）只能根据有限标准（例如色谱分离结果和保留时间）区分邻近洗脱的分析物，而MS在质量数(m/z)维度上增加了分离潜力，甚至能够分离共洗脱分析物。得益于这一特性，MS可以在相同或更短的分析时间内对更多分析物实现准确、精密的定量分析。尽量缩短顶空温育时间有助于对整个分析物列表实现代表性和可重现的定量，因此常作为分析时间的限制因素，而非GC或MS的分析速度。不过，使用顶空从大麻油样品中提取残留溶剂的优点在于减少了GC-MS中的基质载样量，同时高效提取目标分析物，并且只需少量样品前处理操作。之前在QToF MS上应用HS SPME（固相微萃取）和APGC-MS的研究集中于未知物定性鉴定²，而不是定量分析。本研究将评价HS APGC-MS在定量分析大麻油中残留溶剂方面的应用。图1所示为利用该

方法得到的整个分析物列表的色谱分离结果，分析物名称见表2。

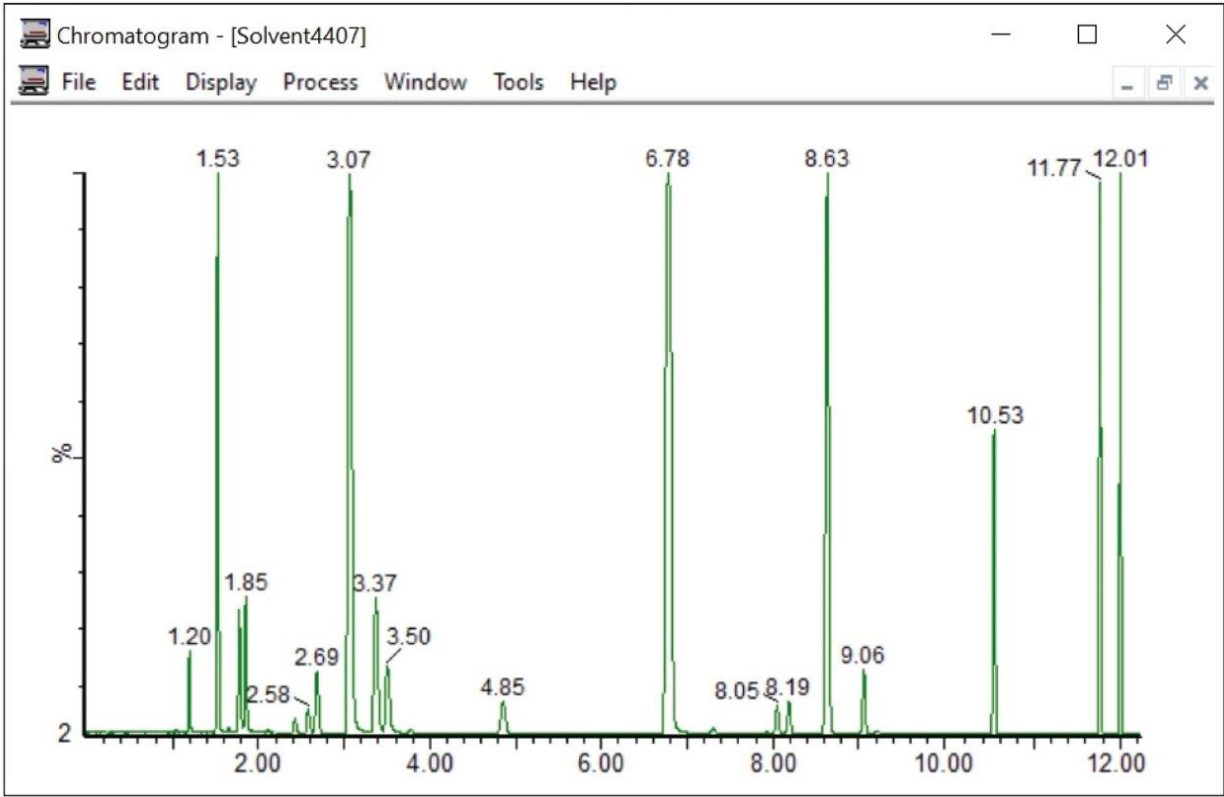


图1.利用HS APGC-MS/MS分析得到的残留溶剂的叠加MRM色谱图

实验

样品描述

大麻籽油和技术测试(PT)样品（部件号54996和38554）购自Absolute Standards（美国康涅狄格州哈姆登）。标准品CA I类残留溶剂和CA II类残留溶剂（Z-G34-115300-03-5PAK、Z-G34-115301-03-5PAK）购自CPI International（美国加利福尼亚州圣罗莎）。一开始将标准品加入n,n-二甲基乙酰胺（DMA，38840-1L-F，Millipore Sigma，美国密苏里州圣路易斯）中按1:10的比例稀释一次，然后进行连续稀释，得到浓度为0.32 ppm、1.6 ppm、8 ppm、40 ppm、200 ppm和1000 ppm的II类分析物的标准曲线标样，以及浓度为0.0032 ppm、0.016 ppm、0.08 ppm、0.4 ppm、2 ppm和10 ppm的I类分析物标准曲线标样。将50 μ L样品和标准品直接加载至20 mL顶空样品瓶中进行分析。技术测试样品在分析前用DMA按1:10的比例稀释。

AS条件

自动进样器：	CTC PAL3 RSI
注射器：	2.5 mL智能顶空注射器，105 °C
温育时间：	在250 rpm下温育15 min，开5 s，关2 s
温育温度：	80 °C
进样体积：	500 µL
GC运行周期：	22 min

GC条件

气相色谱仪：	Agilent 7890B
色谱柱：	Restek Rxi-624Sil MS, 30 m × 0.25 mm（内径）× 1.4 µm（膜厚）
色谱柱出口：	14 psi
进样：	SSL，225 °C，分流比50:1，Restek Topaz 1 mm内径衬管
载气：	氦气流速1.5 mL/min，线速度25 cm/s，温度30 °C
升温程序：	在30 °C下保持6 min，以15 °C/min的速率升至85 °C，以35 °C/min的速率升至260 °C，保持1.5 min

质谱条件

质谱仪：	Xevo TQ-S micro
离子源类型：	APGC，干燥离子源模式
离子源温度：	120 °C
传输管路温度：	260 °C
电晕针电流：	2.0 μA
辅助气体流速：	100 L/h
锥孔气流速：	45 L/h
检测器增益：	0.3
锥孔电压和碰撞能量：	见表2

数据管理

质谱采集软件：	MassLynx v4.2 SCN 1017
定量软件：	TargetLynx XS

结果与讨论

由于本方法中分析物的分子量较低，因此预计并非所有分析物都会生成典型MRM通道中使用的电荷保留片段。9种分析物产生传统的母离子>子离子MRM通道，其余13种分析物则需要使用母离子>母离子MRM通道。图2显示了使用母离子>母离子MRM通道监测到的甲醇灵敏度示例。无论使用何种通道，所有分析物均能够达到适合多种方法中所述报告限的灵敏度^{3,4,5}。请注意，由于对二甲苯和间二甲苯发生共洗脱，因此22种分析物洗脱出21个色谱峰。由于二甲苯异构体通常以二甲苯总量报告，因此无需色谱分离对位异构体和间位异构体。除环氧乙烷和乙腈外，所有其他分析物都有次级MRM通道。

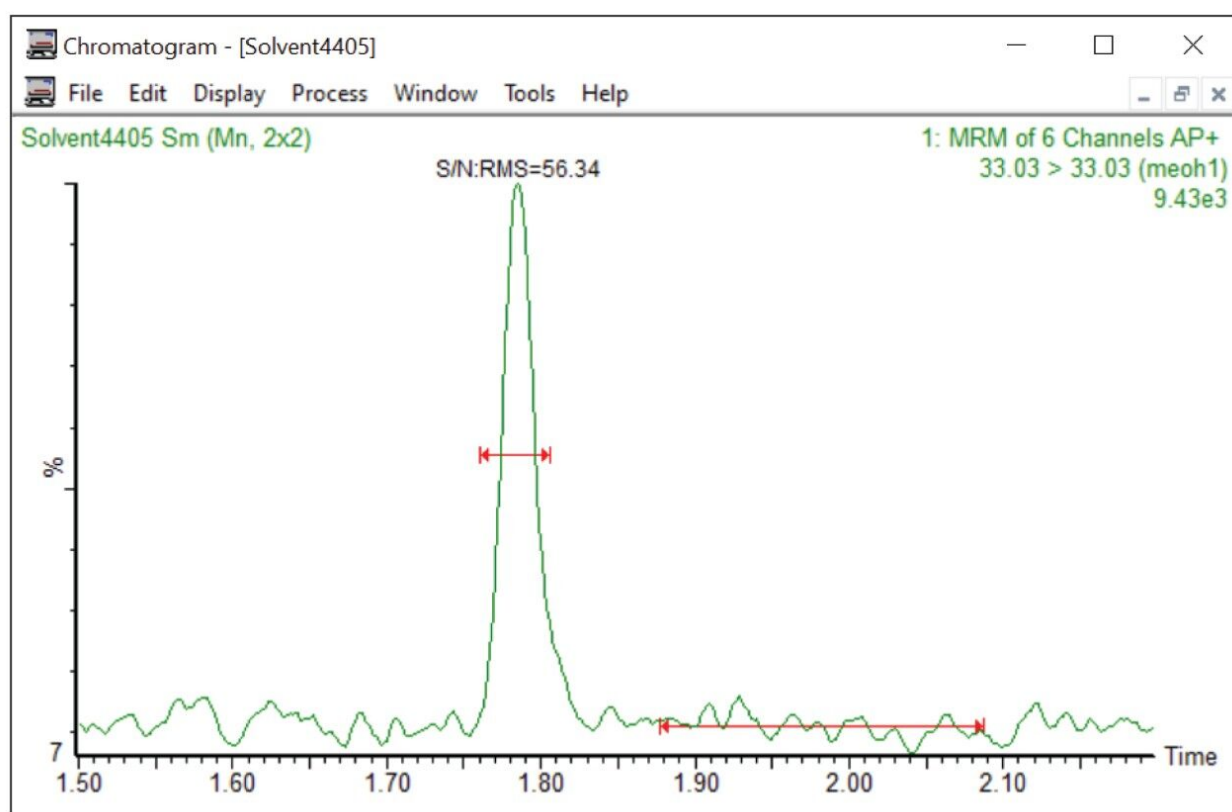


图2.40 ppm甲醇的灵敏度评估

对于使用母离子>子离子MRM通道靶向的化合物，采用强度最高的通道进行定量，同时利用次级通道作为确认离子，如图3A所示。对于使用母离子>母离子MRM通道靶向的化合物，将两个强度最高的通道累加用于定量，如图3B所示。可以将这些通道累加，并以其中一个值作为定性离子，将其相应的比率用作额外的确认指标。

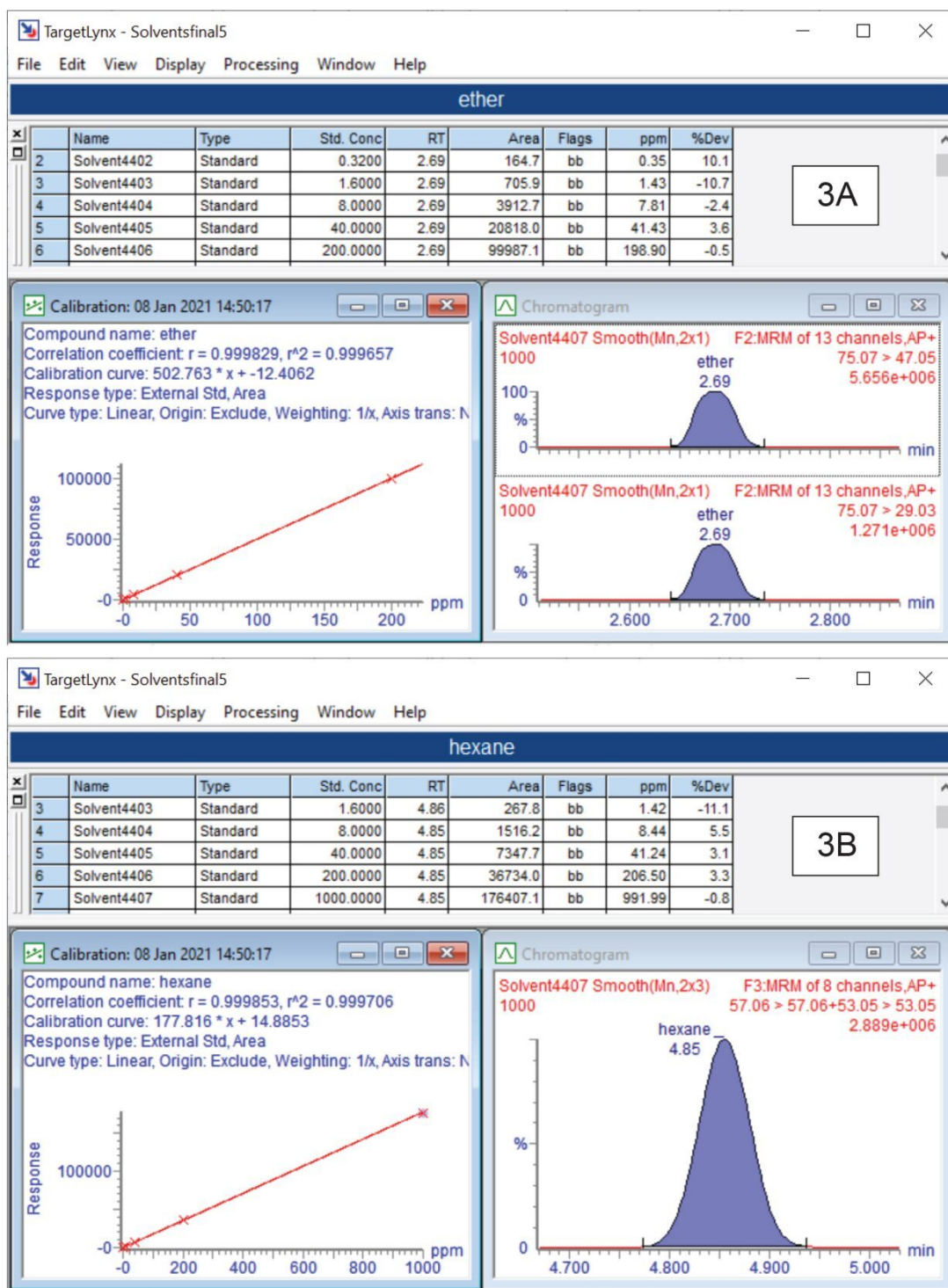


图3.乙醚(3A)和己烷(3B)的标准曲线示例

除丙烷采用响应因子拟合外，所有其他分析物均使用线性标准曲线拟合（采用 $1/x$ 加权）进行定量。所有化合物的最小 r^2 值为0.990，所有线性曲线的平均 r^2 值为0.9975，丙烷的RSD为12%。

如预期一样，在大麻油中未检测到来自该方法的分析物。因此，为测试该方法的定量能力，还分析了大麻油PT样品。PT样品中包含的所有五种分析物均使用该方法检出。此外，计算得出的浓度均处于报告的可接受下限和上限范围内。三氯乙烯的分析示例见图4，其中平均计算浓度31.3 ppm在该化合物指定值38.2 ppm的18%范围内。本研究的可接受范围为计算浓度在指定值的40%范围内，因此三氯乙烯的可接受报告范围为22.9~53.5 ppm。使用该方法测得的所有报告浓度以及可接受的报告值上限和下限见表1。

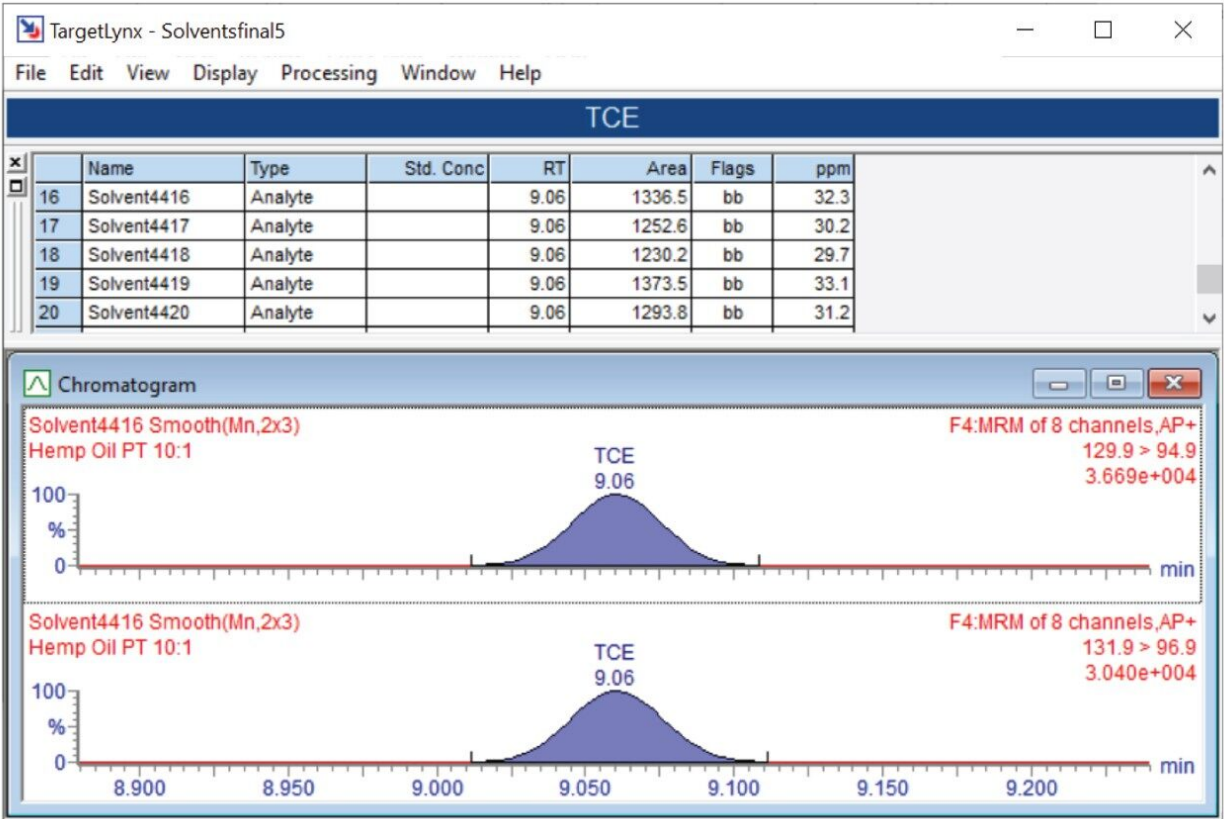


图4.大麻油PT样品中三氯乙烯的定量结果

表1. 浓度报告信息

分析物	研究平均值， 指定值	可接受下限	可接受上限	计算浓度
三氯乙烷	38.2	22.9	53.5	31.3
二氯甲烷	12.0	7.2	16.8	9.3
环氧乙烷	22.2	13.3	31.1	18.1
1,2-二氯乙烷	28.2	16.9	39.5	20.7
三氯甲烷	17.2	10.3	24.1	11.2

表2. MS实验文件摘要

功能通道1, 10.00~2.20 min	驻留时间 (s)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)	分析物
1 : 33.03 > 33.03	0.007	15	3	甲醇
2 : 39.04 > 39.04	0.007	15	3	丙烷
3 : 45.04 > 45.04	0.007	15	3	环氧乙烷
4 : 53.05 > 53.05	0.007	15	3	丙烷/丁烷
5 : 57.06 > 57.06	0.007	15	3	丁烷
功能通道2, 2.20~4.20 min				
1 : 42.04 > 42.04	0.010	15	3	乙腈
2 : 45.04 > 45.04	0.010	15	3	乙醇
3 : 53.05 > 53.05	0.010	15	3	戊烷/乙醇/异丙醇
4 : 59.06 > 31.03	0.010	15	6	丙酮
5 : 59.06 > 43.04	0.010	15	10	丙酮
6 : 59.06 > 59.06	0.010	15	3	异丙醇
7 : 71.07 > 71.07	0.010	15	3	戊烷
8 : 75.07 > 29.03	0.010	15	8	乙醚
9 : 75.07 > 47.05	0.010	15	5	乙醚
10 : 82.90 > 82.90	0.010	15	3	二氯甲烷
11 : 84.90 > 84.90	0.010	15	3	二氯甲烷
功能通道3, 4.20~7.75 min				
1 : 53.05 > 53.05	0.020	15	3	己烷
2 : 57.06 > 57.06	0.020	15	3	己烷
3 : 61.06 > 43.04	0.020	15	7	乙酸乙酯
4 : 61.06 > 61.06	0.020	15	3	乙酸乙酯
5 : 82.90 > 82.90	0.020	15	3	三氯甲烷
6 : 84.90 > 84.90	0.020	15	3	三氯甲烷
功能通道4, 7.75~10.00 min				
1 : 39.04 > 39.04	0.020	15	3	庚烷
2 : 57.06 > 57.06	0.020	15	3	庚烷
3 : 61.90 > 61.90	0.020	15	3	二氯乙烷
4 : 63.90 > 63.90	0.020	15	3	二氯乙烷
5 : 78.08 > 52.05	0.020	20	12	苯
6 : 78.08 > 63.06	0.020	20	15	苯
7 : 129.90 > 94.90	0.020	15	16	三氯乙烷
8 : 131.90 > 96.90	0.020	15	16	三氯乙烷
功能通道5, 10.00~16.00 min				
1 : 93.09 > 51.05	0.025	20	22	甲苯
2 : 93.09 > 77.08	0.025	20	12	甲苯
3 : 107.10 > 65.06	0.025	20	22	二甲苯
4 : 107.10 > 91.09	0.025	20	12	二甲苯
5 : 107.10 > 105.10	0.025	20	10	二甲苯

结论

本研究证明HS APGC-MS/MS能够定量分析大麻油样品中的残留溶剂，实现监测和产品质量保证目的。使用HS进行样品提取可防止将大量基质加载到进样口和色谱柱中。APGC的高灵敏度进一步减少了系统中的基质载样量，同时仍然能够达到适用于报告大麻油中残留溶剂的检测限，符合多种地区监管和指导方法的要求。

致谢

感谢ProVerde Laboratories的Christopher Hudalla和Alejandro Gutierrez在实施本方法时提出的宝贵建议。

参考资料

1. Tran K, Young M, Organtini K, Twohig M, Hudalla C. Determination of Pesticide and Mycotoxin Residues in Dried Cannabis Flower: LC-MS/MS and GC-MS/MS Methodology to Meet the Recommended AOAC Regulatory Requirements for US States and Canada. Waters Application Note 720006780EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006780en.pdf>> 2020 Feb.
2. Canellas E, Vera P, Domeño C, Alfaro P, Nerín C. Atmospheric Pressure Gas Chromatography Coupled to Quadrupole-Time of Flight Mass Spectrometry as a Powerful Tool for Identification of Non-Intentionally Added Substances in Acrylic Adhesives used in Food Packaging Materials. Journal of Chromatography A. 2012 Apr 27;1235:141–8.
3. Bureau of Cannabis Control. California Code of Regulations Title 16 Division 42. Adopted June 2018. https://bcc.ca.gov/law_regs/readopt_text_final.pdf <https://bcc.ca.gov/law_regs/readopt_text_final.pdf> .
4. United States Pharmacopeia and National Formulary. USP <467> Residual Solvents. Official December 1, 2020. https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf <https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/revisions/gc-467-residual-solvents-ira-20190927.pdf> .
5. European Medicines Agency. ICH Guideline Q3C (R6) on Impurities: Guideline for Residual

Solvents.August 9, 2019.https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-33.pdf <https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-33.pdf> .

特色产品

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

沃特世大气压气相色谱(APGC) <<https://www.waters.com/10100362>>

720007150ZH, 2021年2月