

食用油中 Δ^9 -四氫大麻酚、大麻酚及大麻二酚之檢驗方法

Method of Test for Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, Cannabinol and
Cannabidiol in Edible Oils

1. 適用範圍：本檢驗方法適用於食用大麻籽油中 Δ^9 -四氫大麻酚(Δ^9 -tetrahydrocannabinol)、大麻酚(cannabinol)及大麻二酚(cannabidiol)之檢驗。
2. 檢驗方法：檢體經萃取及淨化後，以液相層析串聯質譜儀(liquid chromatograph/tandem mass spectrometer, LC/MS/MS)分析之方法。
 - 2.1. 裝置：
 - 2.1.1. 液相層析串聯質譜儀：
 - 2.1.1.1. 離子源：電灑離子化負離子(negative ion electrospray ionization, ESI)
 - 2.1.1.2. 層析管：Atlantis[®] T3, 3 μm ，內徑2.1 mm \times 100 mm，或同級品。
 - 2.1.2. 離心機(Centrifuge)：轉速可達7000 \times g以上者。
 - 2.1.3. 減壓濃縮裝置(Rotary evaporator)。
 - 2.1.4. 超音波振盪器(Ultrasonicator)。
 - 2.2. 試藥：甲醇及正己烷均採用液相層析級；去離子水(比電阻於25 $^{\circ}\text{C}$ 可達18 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ 以上)； Δ^9 -四氫大麻酚(Δ^9 -tetrahydrocannabinol, THC, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、大麻二酚(cannabidiol, CBD, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)及大麻酚(cannabinol, CBN, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)對照用標準品；氘代四氫大麻酚(THC-d₃, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)及氘代大麻二酚(CBD-d₃, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)內部標準品。
 - 2.3. 器具及材料：
 - 2.3.1. 固相萃取匣(Solid phase extraction cartridge)：Supelclean[™] LC-Alumina, 1 g, 或同級品。
 - 2.3.2. 離心管：50 mL, PP材質。
 - 2.3.3. 容量瓶：10 mL、25 mL及50 mL。
 - 2.3.4. 濃縮瓶：100 mL。
 - 2.3.5. 濾膜：孔徑0.22 μm , Nylon材質。
 - 2.4. 移動相溶液之調製：

甲醇與去離子水以83：17 (v/v)之比例混勻，以濾膜過濾，取濾液供作移動相溶液。
 - 2.5. 內部標準溶液之配製：

精確量取THC-d₃及CBD-d₃內部標準品各1 mL，共置於25 mL容

量瓶中，以甲醇定容，供作內部標準溶液，於4°C貯存備用。

2.6. 標準溶液之配製：

精確量取THC、CBD及CBN對照用標準品各1 mL，分別以甲醇定容至10 mL，作為標準原液。分別取適量各標準原液混合後，以甲醇稀釋至10 µg/mL，作為混合標準原液，於4°C貯存備用。臨用時，取適量混合標準原液及內部標準溶液，以甲醇稀釋至0.002~0.4 µg/mL (含內部標準品濃度為0.01 µg/mL)，供作標準溶液。

2.7. 檢液之調製：

2.7.1. 萃取：

取混勻後檢體約1 g，精確稱定，置於離心管中，加入內部標準溶液125 µL及甲醇10 mL，以超音波振盪10分鐘後，於7000 × g離心3分鐘，收集上層液於濃縮瓶中。下層液加入甲醇10 mL同樣操作2次，合併上層液，於35°C減壓濃縮至約0.5 mL，以正己烷5 mL溶解，供淨化用。

2.7.2. 淨化：

取2.7.1節供淨化用溶液，注入預先以正己烷5 mL潤洗之固相萃取匣，收集流出液，再以正己烷5 mL清洗濃縮瓶，洗液注入固相萃取匣，合併流出液，於35°C減壓濃縮至乾。殘留物以甲醇溶解並定容至50 mL，經濾膜過濾後，供作檢液。

2.8. 標準曲線之製作：

精確量取標準溶液各10 µL，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依下列條件進行液相層析串聯質譜分析，就THC、CBD及CBN與內部標準品波峰面積比，與對應之THC、CBD及CBN濃度，分別製作標準曲線。

液相層析串聯質譜測定條件^(註)：

移動相溶液：依2.4節所調製之溶液。

移動相流速：0.2 mL/min。

注入量：10 µL。

毛細管電壓(Capillary voltage)：2.8 kV。

離子源溫度(Ion source temperature)：110°C。

溶媒揮散溫度(Desolvation temperature)：350°C。

進樣錐氣體流速(Cone gas flow rate)：50 L/hr。

溶媒揮散流速(Desolvation flow rate)：600 L/hr。

偵測模式：多重反應偵測(multiple reaction monitoring, MRM)。偵測離子對、進樣錐電壓(cone voltage)與碰撞能量(collision energy)如下表：

| 分析物 | 離子對 | 進樣錐 | 碰撞 |
|-----|-----|-----|----|
|-----|-----|-----|----|

| | 前驅離子(m/z) > 產物離子(m/z) | 電壓 (V) | 能量 (eV) |
|--------------------|-------------------------------|-----------|------------|
| THC | 313 > 245 | 48 | 28 |
| | 313 > 191 | 48 | 29 |
| CBD | 313 > 245 | 36 | 26 |
| | 313 > 179 | 36 | 22 |
| CBN | 309 > 279 | 48 | 38 |
| | 309 > 222 | 48 | 42 |
| THC-d ₃ | 316 > 248 | 49 | 31 |
| CBD-d ₃ | 316 > 182 | 36 | 19 |

定量離子對：THC為 m/z 313 > 245，CBD為 m/z 313 > 179，
CBN為 m/z 309 > 279。

內部標準品：THC及CBN均採用THC-d₃，CBD採用CBD-d₃。

註：上述測定條件分析不適時，可依所使用之儀器，設定適合之測定條件。

2.9. 鑑別試驗及含量測定：

精確量取檢液及標準溶液各10 μ L，分別注入液相層析串聯質譜儀中，依2.8節測定條件進行分析，就檢液與標準溶液所得波峰之滯留時間及多重反應偵測相對離子強度^(註)鑑別之，並依下列計算式求出檢體中THC、CBD或CBN之含量(ppm)。

$$\text{檢體中THC、CBD或CBN之含量(ppm)} = \frac{C \times V}{M}$$

C：由標準曲線求得檢液中THC、CBD或CBN之濃度(μ g/mL)

V：檢體最後定容之體積(mL)

M：取樣分析檢體之重量(g)

註：相對離子強度由2組離子對之波峰面積相除而得($\leq 100\%$)，

容許範圍如下：

| 相對離子強度(%) | 容許範圍(%) |
|-----------|----------|
| > 50 | ± 20 |
| > 20 ~ 50 | ± 25 |
| > 10 ~ 20 | ± 30 |

≤ 10

± 50

- 附註： 1. 本檢驗方法之檢出限量 THC、CBD 及 CBN 均為 0.1 ppm。
2. 食品中有影響檢驗結果之物質時，應自行探討。