

식품 중 칸나비디올(CBD) 및 테트라하이드로칸나비놀(THC) 시험법

가. 시험법 적용범위

커피에 적용한다.

나. 분석원리

검체를 메탄올로 추출하고 여과하여 액체크로마토그래프/질량분석기로 분석한다.

다. 장치

액체크로마토그래프-질량분석기(LC-MS/MS)를 사용한다.

라. 시약 및 시액

- 1) 용매: 액체크로마토그래피용 또는 이와 동등한 것
- 2) 표준원액: CBD(Cannabidiol) 및 THC((-)- δ -9-Tetrahydrocannabinol) 표준품을 메탄올에 녹여 100 mg/L가 되게 한다.
- 3) 표준용액: 표준원액을 무처리 시료 추출물을 이용하여 적당한 농도로 혼합, 희석한다(무처리 시료 추출물 90% 이상 포함).
- 4) 기타시약: 특급 또는 이와 동등한 것

마. 시험용액의 조제

검체 1 g에 메탄올 20 mL을 가하여 10분간 진탕한 후 10분간 초음파 추출한다. 이를 4°C, 4,000 G에서 10분간 원심분리하고 상등액을 멤브레인 필터(PTFE, 0.2 μ m)로 여과한 후 시험용액으로 한다.

바. 시험조작

1) 액체크로마토그래프의 분석조건

가) 칼럼: C₁₈계 역상 칼럼 또는 이와 동등한 것

나) 칼럼 온도: 40°C

다) 이동상

(1) 이동상 A: 0.1% 포름산 함유 물

(2) 이동상 B: 0.1% 포름산 함유 아세토니트릴

(3) 농도구배조건

시간(분)	A(%)	B(%)
0.0	70	30
0.5	70	30
2.5	30	70
10	30	70
10.1	70	30
13.0	70	30

라) 이동상 유속: 0.4 mL/min

마) 주입량: 5 µL

2) 질량분석기 분석조건

가) 이온화 : ESI positive-ion mode

나) 분자량 범위 : 100 ~ 500 m/z

표 1. 액체크로마토그래프-질량분석기 분석을 위한 특성이온

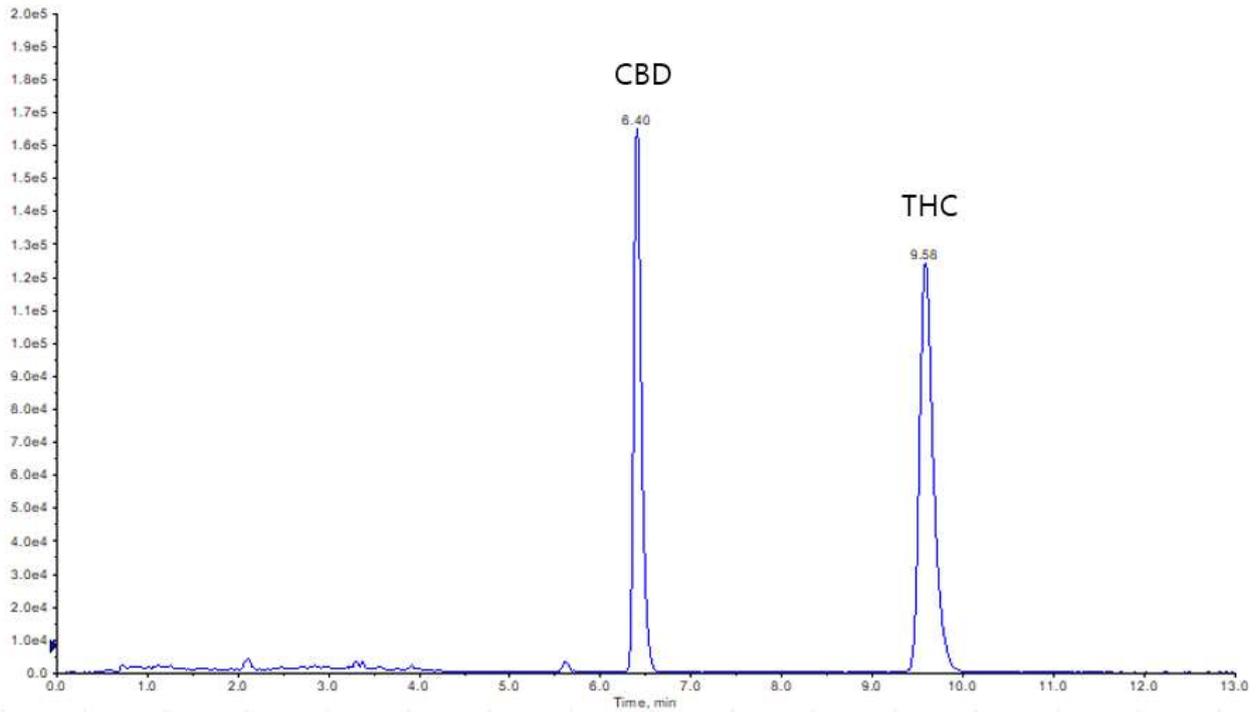
분석성분 (Compound)	평균 분자량 (MW)	관측질량 (Exact mass)	선구이온 (Precursor ion, [M+H] ⁺ , <i>m/z</i>)	생성이온 (Product ion, <i>m/z</i>)	충돌에너지 (Collision energy, eV)
칸나비디올 (Cannabidiol)	314.5	314.20	315	193.1 ¹⁾	23
				259.2	20
테트라하이드로칸나비놀 (Tetrahydrocannabinol)	314.5	314.22	315	193.1 ¹⁾	25
				259.3	14

1) 정량이온이며, 그 외는 정성이온임.

※ 각 생성이온에 대한 질량분석기의 기기조건은 사용기기의 최적값으로 변경하여 사용할 수 있으며, 제시된 이외의 생성이온도 적용이 가능함.

3) 검량선의 작성

표준용액을 농도별로 일정량 취하여 액체크로마토그래프-질량분석기에 각각 주입하여 얻은 크로마토그램상의 피크 높이 또는 면적을 구하여 검량선을 작성한다.



**그림 1. 액체크로마토그래프-질량분석기에서 표준품의 크로마토그램(예시)
CBD(6.40분), THC(9.57분)**

* 분석기기: LC(Osaka Soda HTS-Z), MS/MS(AB Sciex TQ4500), 칼럼(Cadenza CD-C₁₈, 2.0 mm I.D.× 100 mm L., 3 μm)

4) 정량한계 : 0.1 mg/kg

사. 정량시험

위 조건으로 얻어진 크로마토그램상의 피크가 표준용액 피크의 머무름 시간과 일치할 때 피크 높이 또는 면적을 검량선에 대입하여 정량한다.