



Analýza fytoKANABINOIDŮ v komerčních produktech

Magdaléna Vágnerová, Alžběta Nemeškalová,
Lucie Janečková, Martin Kuchař

Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek
VŠCHT Praha
magdalena.vagnerova@vscht.cz

Analýza konopných produktů

- Popularita konopných přípravků (potravin, kosmetika, doplňky stravy)

Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek:

- Příjem konopných vzorků k analýze
- Stanovení obsahu kanabinoidů

→ snaha o univerzální analytickou metodu

Volně prodejné konopné produkty na trhu

Současné výzvy v analýze konopných produktů:

Široké rozmezí
koncentrací
kanabinoidů

CBD

THC



Velké množství
produktů
různých typů

Kanabinoidy

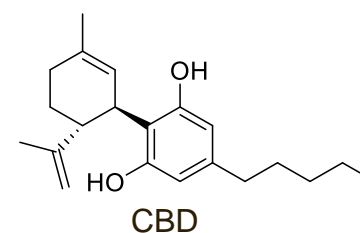
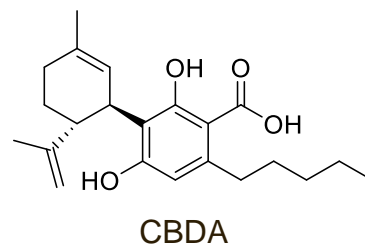
V současnosti známo přes 90 různých fytokanabinoidů

Pro analýzu konopných produktů jsou významné:



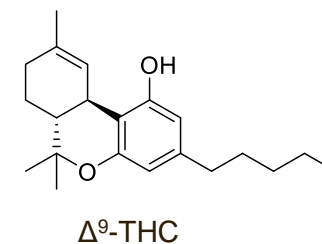
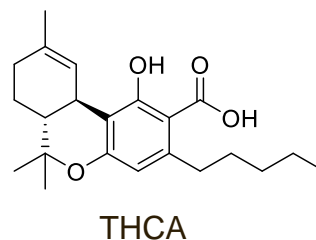
Kanabidiol

+ prekurzor: kanabidiolová kyselina (CBDA)



Δ^9 -Tetrahydrokanabinol

+ prekurzor: tetrahydrokanabinolová kyselina (THCA)



Kanabinoidy: Obsah v komerčních produktech

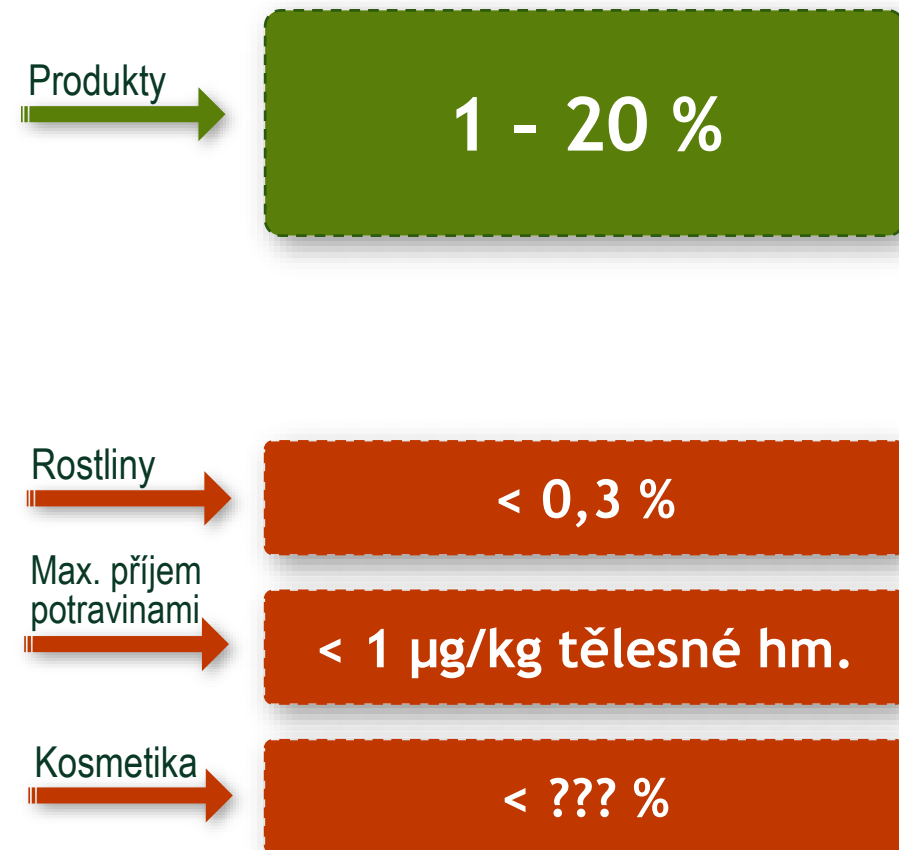
Kanabidiol (CBD)

Deklarované účinky:

- Působí proti bolesti a zánětu
- Zmírňuje úzkost
- Potlačuje křeče
- a další

Δ^9 -Tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC)

- Psychoaktivní kanabinoid
- Obsah v produktech kontrolovaný
- Legislativa nejednotná



Typy konopných produktů



Oleje

- tekuté, nemísitelné s vodou



Extrakty a náplně do e-cigaret

- tekuté, mísitelné s vodou



Cukrovinky

- tuhé, s obsahem cukru, rozpustné ve vodě



Masti a balzámy

- polotuhé, bez obsahu vody



Krémy a mýdla

- polotuhé, s obsahem vody/emulgátorů

Zpracování vzorku:

1) Přizpůsobeno typu matrice:

- × Nutná příprava kalibrace pro každý typ vzorku zvlášť
- × Nutné použití analytů prosté matrice
- × Neekonomické

2) Univerzální pro všechny matrice

- ✓ Možnost souběžné analýzy několika typů produktů

Zpracování vzorků před analýzou

Metoda ředění → výběr vhodného rozpouštědla pro každý typ vzorku



Propan-2-ol/Ethylacetát (1:1)



Propan-2-ol



Voda, Acetonitril



Propan-2-ol/Ethylacetát (1:1)



Propan-2-ol

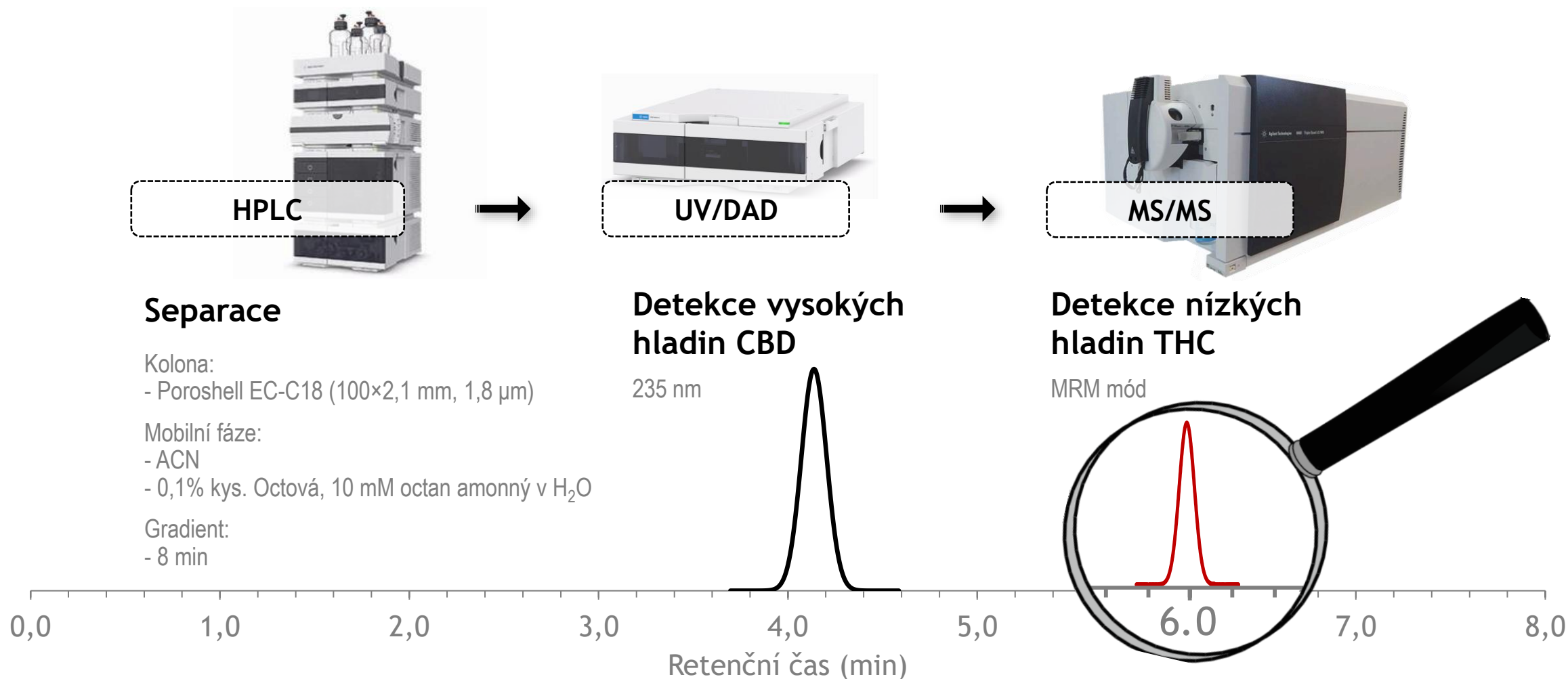


Ředění mobilní fáze (1:20)

Příprava kalibrace v mobilní fázi

Instrumentální analýza

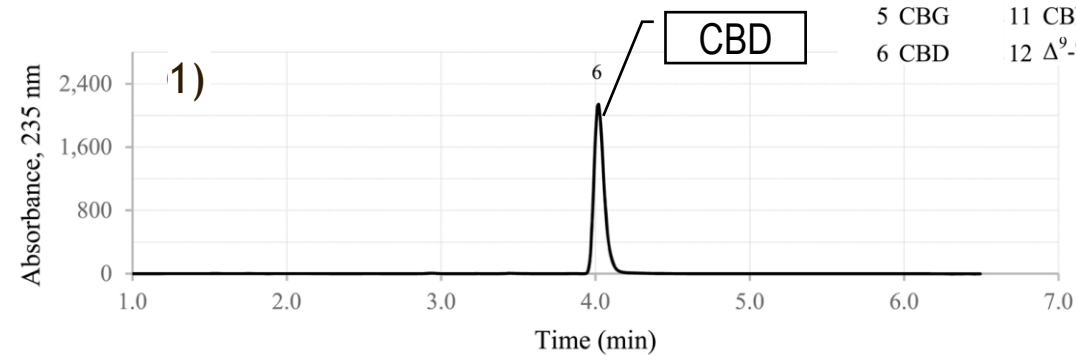
Kapalinová chromatografie + kombinace dvou detektorů s odlišnou citlivostí



Kompletní chromatogram

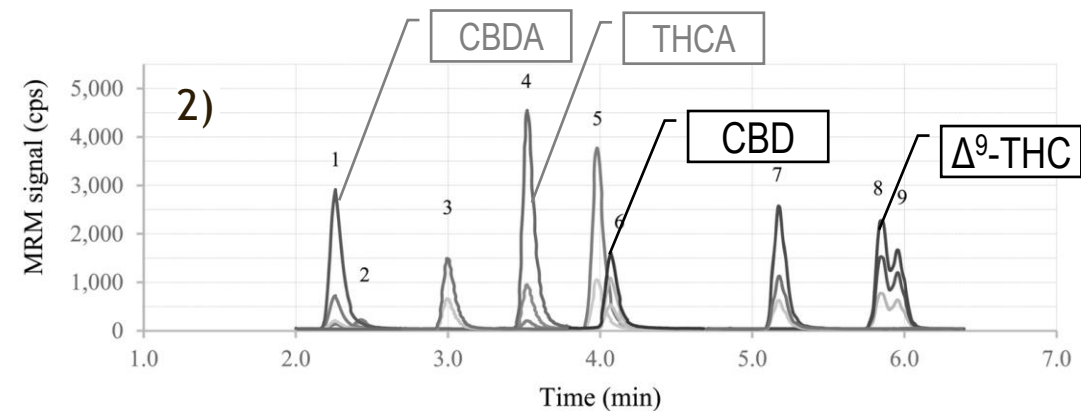
1) UV detektor (235 nm)

Std CBD v rozsahu 0,5 - 150 µg/mL



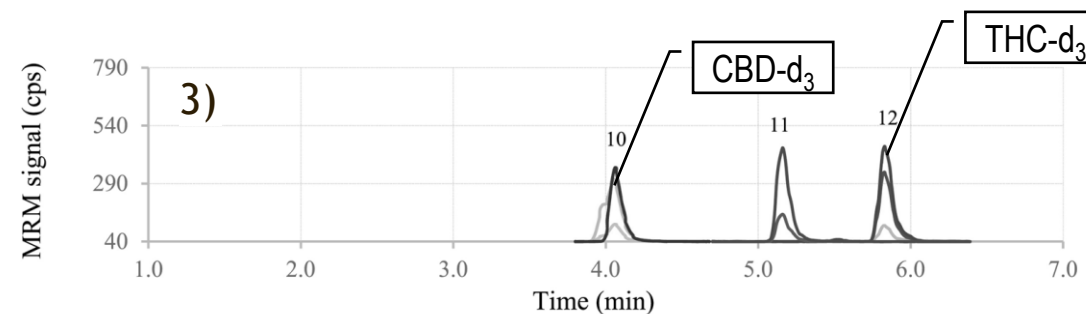
2) MS detektor (MRM mód)

Směs 9 std v rozsahu 0,005 - 1 µg/mL



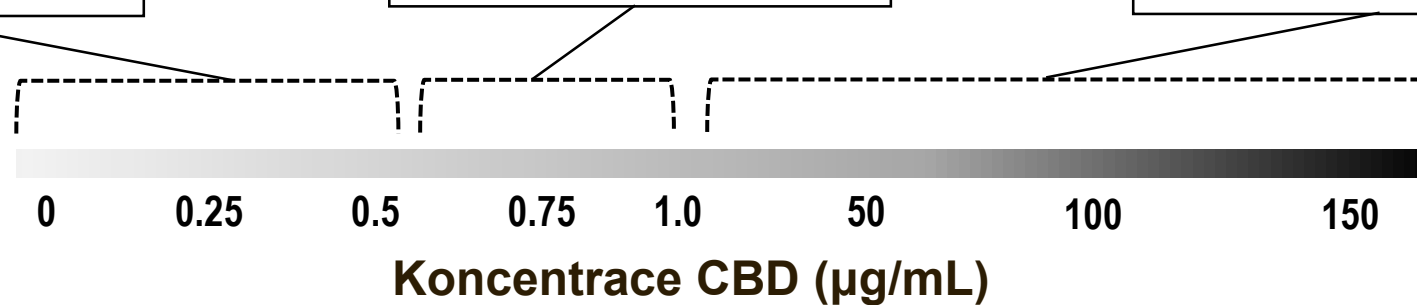
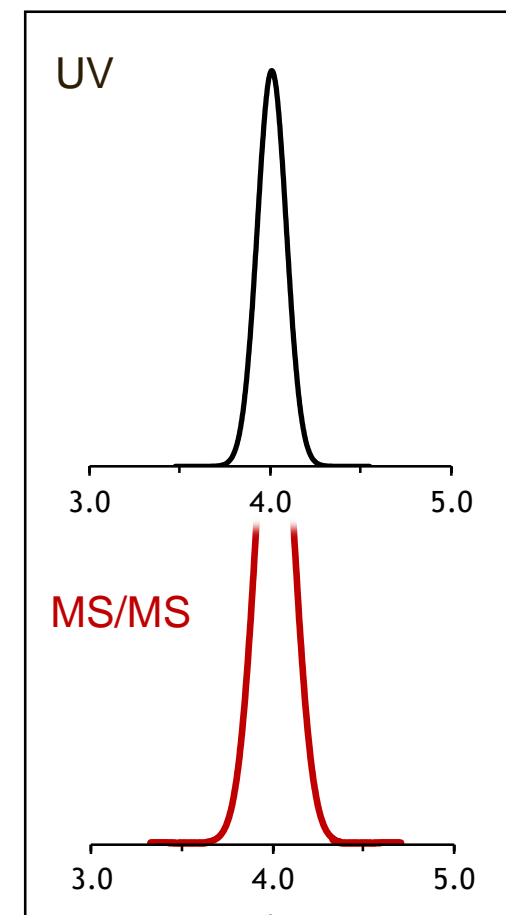
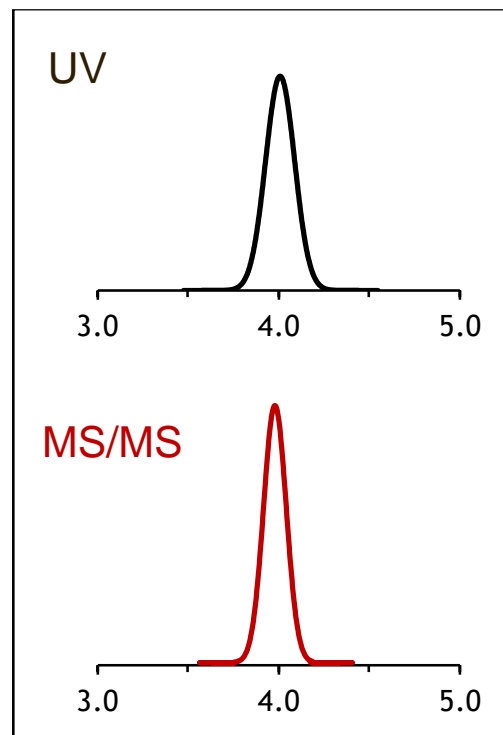
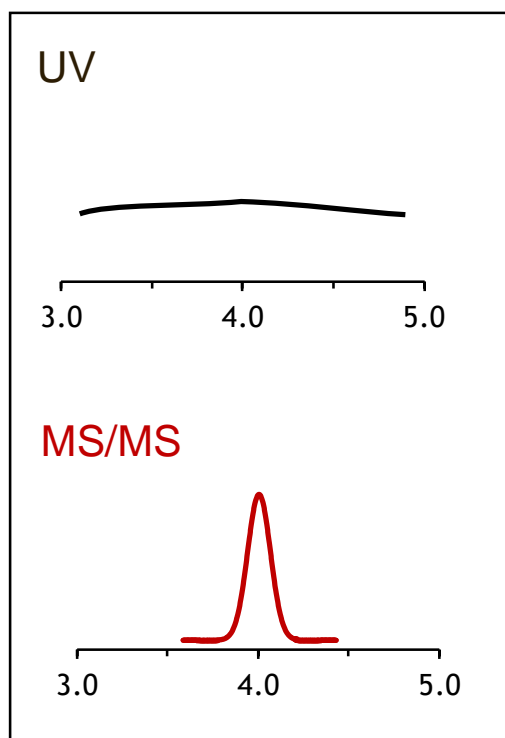
3) MS detektor (MRM mód, IS)

Směs 3 vnitřních std o konc. 0,025 µg/mL

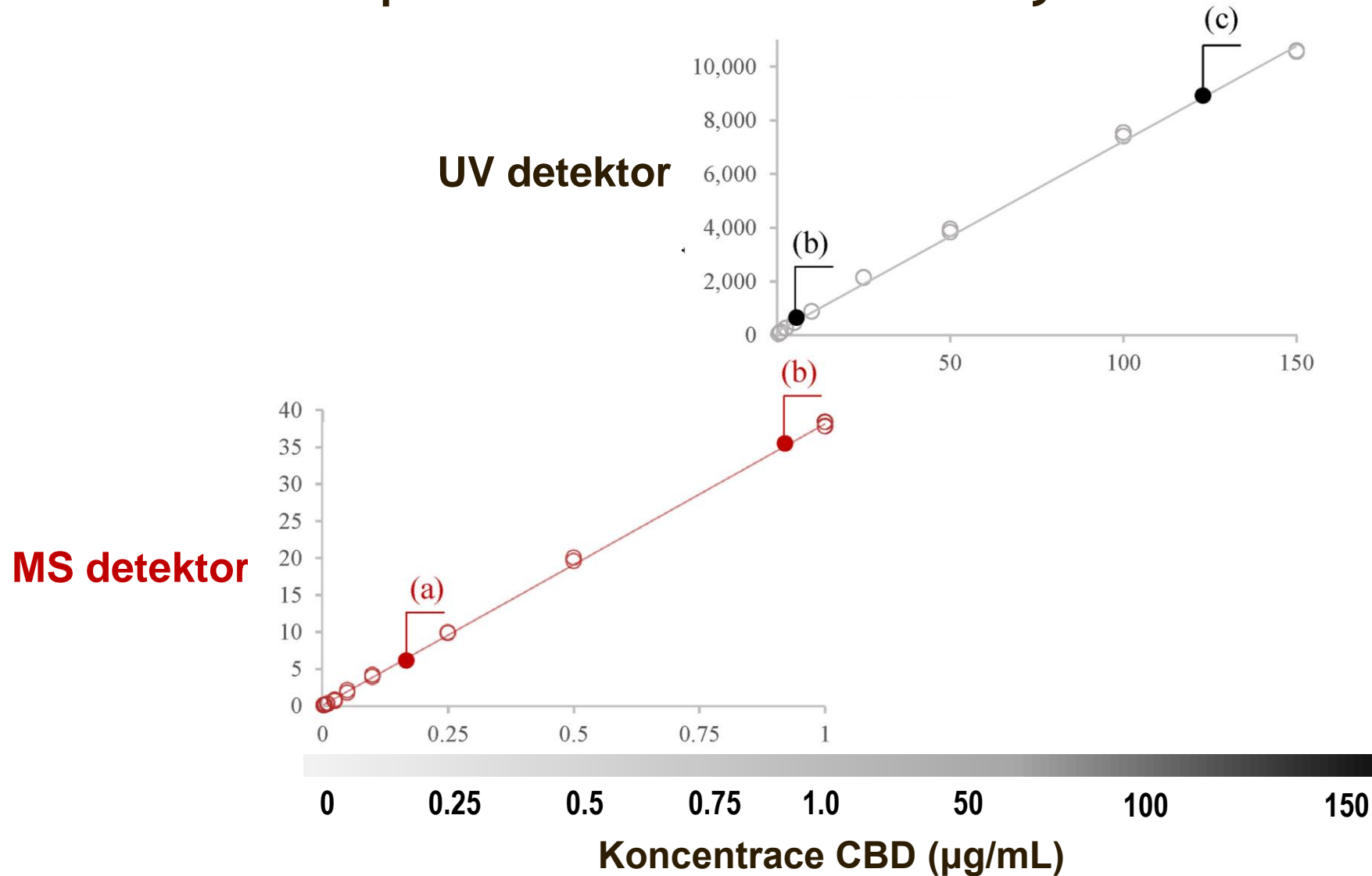


1 CBDA	7 CBN
2 CBGA	8 Δ ⁹ -THC
3 CBDV	9 Δ ⁸ -THC
4 THCA	10 CBD-d ₃
5 CBG	11 CBN-d ₃
6 CBD	12 Δ ⁹ -THC-d ₃

Kvantifikace pomocí kalibrační řady



Kvantifikace pomocí kalibrační řady



Validace metody

Během validace hodnoceno:

- Správnost
- Preciznost
- Limit detekce a kvantifikace
- Selektivita
- Matricový efekt

pro každý typ vzorku

pro dva detektory (UV, MS)

Matricový efekt (ME)

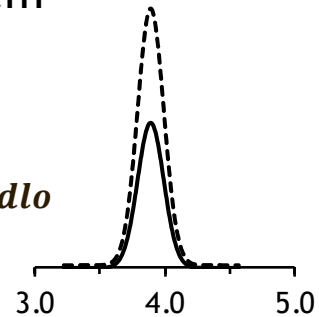
- Příprava vzorků prostým rozpouštěním → nedochází k odstranění matrice
- Zbytková matrice může potlačit signál analytů v hmotnostním spektrometru
- Hodnocení Matricového efektu je zásadní

Hodnocení matricového efektu

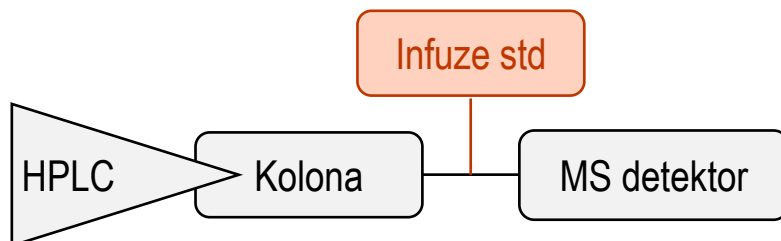
Dva způsoby hodnocení:

Porovnání ploch pod píkem

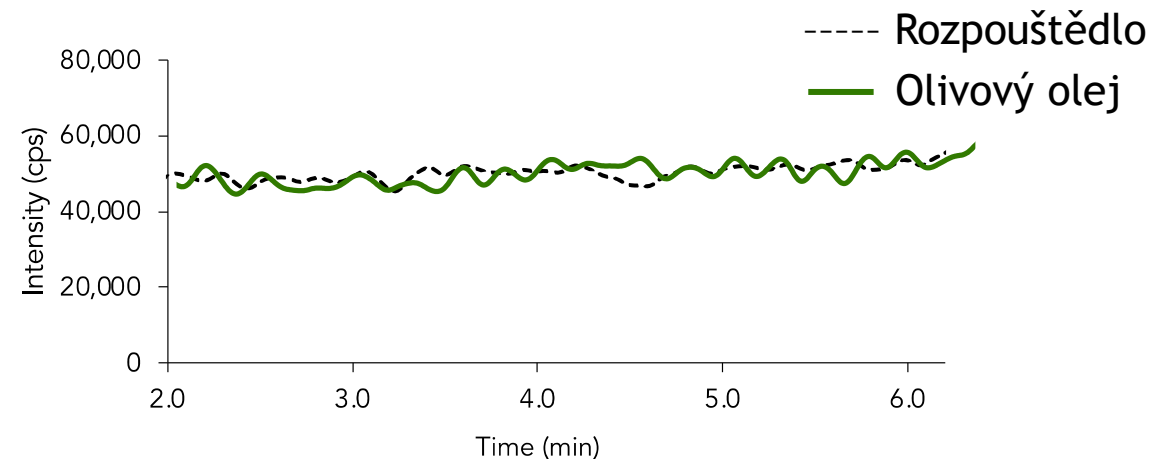
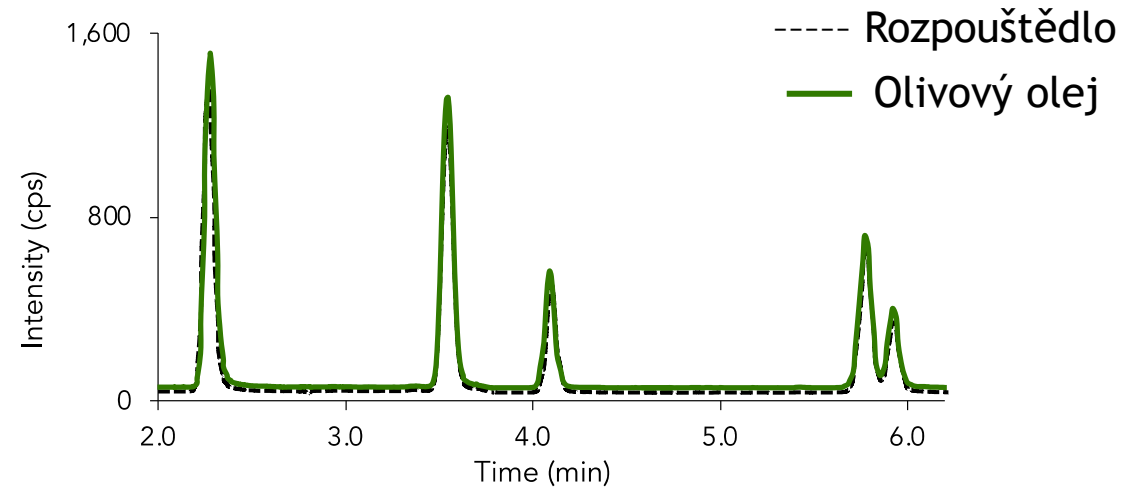
$$ME = A_{matrice} / A_{rozpouštědlo}$$



Post-kolonová infuze standardu



Příklady matic:

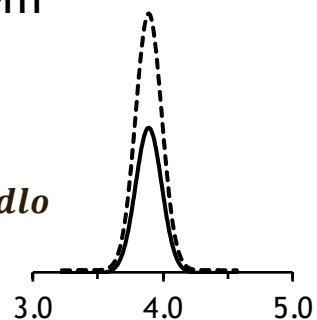


Hodnocení matricového efektu

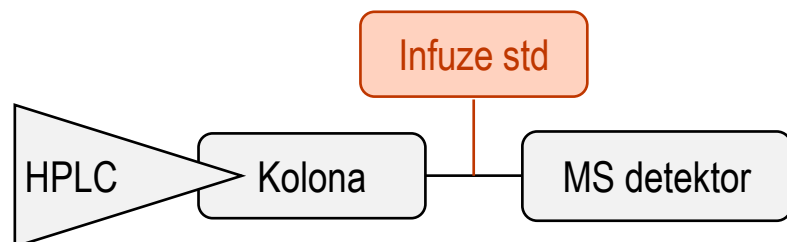
Dva způsoby hodnocení:

Porovnání ploch pod píkem

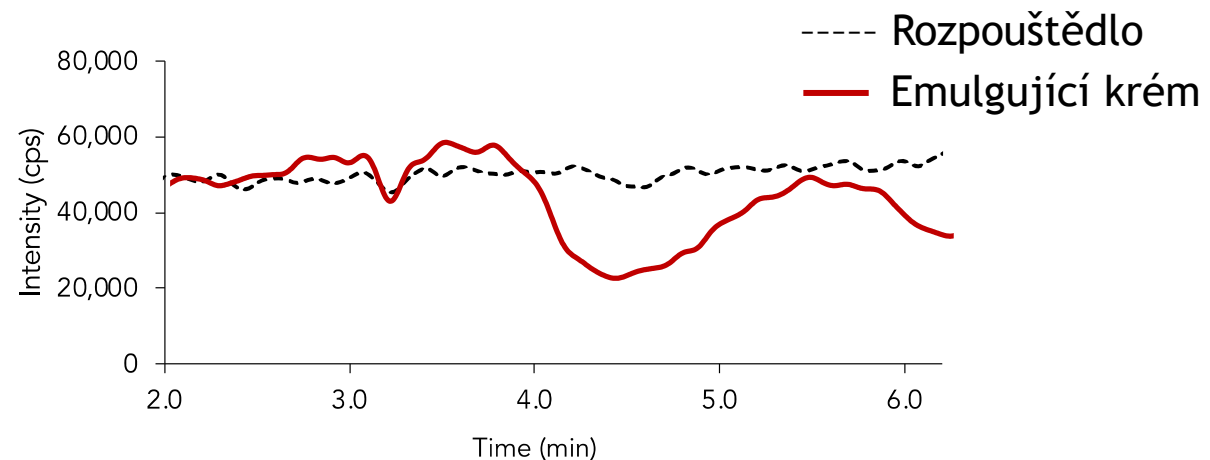
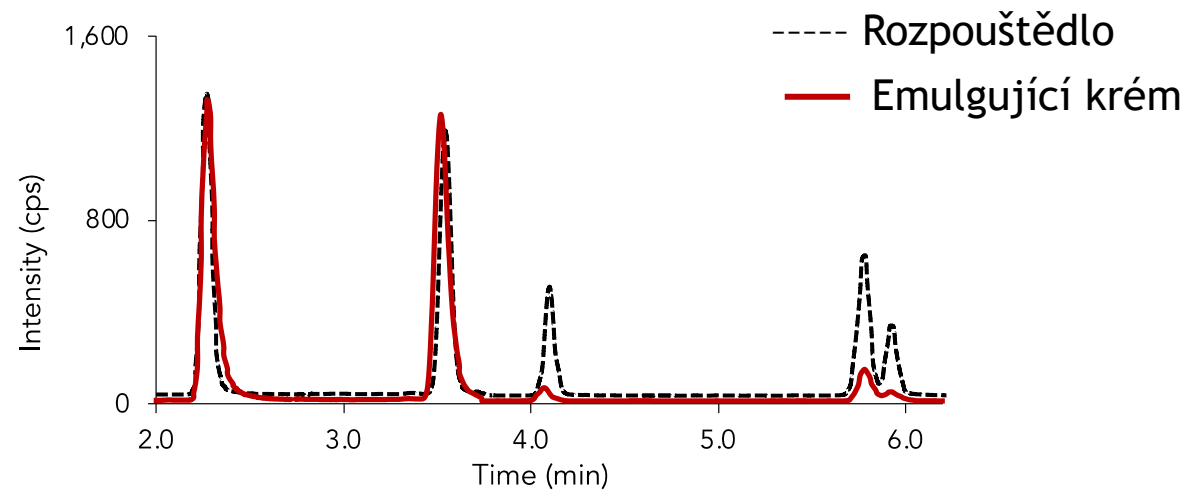
$$ME = A_{matrice} / A_{rozpouštědlo}$$



Post-kolonová infuze standardu



Příklady matic:



Výsledky validace

Validováno pro:



Oleje

- v rozsahu 0,001-120 mg/g



Extrakty a náplně do e-cigaret

- v rozsahu 0,001-120 mg/g



Cukrovinky

- v rozsahu 0,0005-60 mg/g



Masti a balzámy bez obsahu vody

- v rozsahu 0,001-120 mg/g

Nesplněny validační parametry:



Krémy a mýdla

- Během validace nevyhovoval ME, správnost a preciznost
- Pozorován vysoký ME, způsobený neznámými interferenty
- Korekce pomocí deuterovaných IS není možná u všech analytů
- Riziko falešně negativních výsledků




Analýza reálných vzorků

V roce 2019 přijato k analýze 9 vzorků:

- Vzorky před uvedením na trh
- S deklarovaným obsahem CBD

5 přípravků
>20 % odchylka
od deklarovaného
obsahu CBD

2 perorální
2 topické přípravky
S obsahem
<100 µg/g Δ⁹-THC

Typ vzorku	Deklarovaný obsah CBD	Výsledný obsah CBD	Δ ⁹ -THC (µg/g)
 Oleje	10 %	6,5 ± 0,02 %	32,8 ± 0,3
	5 %	3,7 ± 0,09 %	19,4 ± 1,1
	3,3 %	5,3 ± 0,07 %	23,8 ± 1,6
	1,7 %	1,7 ± 0,06 %	11,1 ± 0,5
 Masti	0,88 %	0,89 ± 0,04 %	254,6 ± 8,1
	0,44 %	0,47 ± 0,02 %	162,8 ± 6,3
 Kapsle, cukrovinky	1,7 %	2,1 ± 0,10 %	419,2 ± 18,7
	1,7 %	2,4 ± 0,09 %	295,7 ± 10,1
	0,35 %	0,35 ± 0,01 %	2,6 ± 0,6

Současný výzkum

Identifikace interferentů v kosmetice s obsahem vody/emulgátorů

- Odstranění interferentů
- Validace metody
- Analýza reálných vzorků

- Syntéza komerčně nedostupných IS



Souhrn



Talanta

Volume 219, 1 November 2020, 121250



Combination of UV and MS/MS detection for the LC analysis of cannabidiol-rich products

Alžběta Nemeškalová ^{a, b, c}, Kateřina Hájková ^{a, b, c}, Lukáš Mikulů ^{b, c}, David Sýkora ^a, Martin Kuchař ^{b, c}  

Poděkování

- Laboratoř forenzní analýzy biologicky aktivních látek, VŠCHT Praha
- Projekt TN01000048 - „Biorafinace jako oběhové technologie“ konkrétně dílčí projekt č. 4: *Valorizace rostlinné biomasy biorafinačními postupy*, který je spolufinancován TA ČR v rámci Programu Národní centra kompetence.