



Produkt	: Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25
Customer	: Saxonia Diagnostics GmbH Praterschütz 5 01683, Nossen, Sachsen Deutschland
Methode	: Vorgehen nach Gebrauchsanweisung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests
Analyt(en)	: Cannabinoids: Δ^9 -THC, CBD
Verwendete Matrix	: Cannabisextrakt Ch-B: 23007102 QSI-Probennummer: 555254
Ziel der Validierung	: Bestätigung der Eignung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests für die Identifizierung von Cannabinoiden anhand des Tilray Cannabisextrakts THC25: CBD25
Verantwortliches Labor	: Quality Services International GmbH
Dokumentation	: N:\CH QSI\K\23195_Saxonia Diagnostics GmbH\06_Validierungen\Cannafix-ID THC_CBD-Schnelltest\Tilray\Validierungspläne Tilray Cannabisextrakte

Vorbemerkung:

Dieser Validierungsplan beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) im Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 gemäß ICH Q2(R1). Die Analysenmethode wird von der Quality Services International GmbH validiert. Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD im Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25. Der verwendete Cannabis Extrakt ist in MCT-Öl eingestellt. Beim Testsystem handelt es sich um einen 2-stufigen Farbttest, welcher die strukturellen Unterschiede von Δ^9 -THC und CBD ausnutzt. In der ersten Stufe wird die Probe mit einem alkalischen Verdünner extrahiert. Bei Anwesenheit von CBD wird dieses durch eine violette Farbe des korrespondierenden CBD-Phenolat-Ions angezeigt. Das entsprechende THC-Phenolat-Ion zeigt im sichtbaren Bereich keine Absorption, so dass auf dieser Stufe CBD auch in Anwesenheit von Δ^9 -THC sicher identifiziert werden kann. In der zweiten Stufe wird ein Teil des Verdünner-Extraktes-Gemisches in eine Ampulle mit einem Farbreagenz überführt. Bei diesem Farbreagenz handelt es sich um ein Diazoniumsalz. Dieses Diazoniumsalz reagiert via Azo-Kupplung mit Δ^9 -THC und mit CBD. Die dabei gebildeten Kupplungsprodukte von Δ^9 -THC und CBD unterscheiden sich in der Farbe (siehe Abbildung 9).



1 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Zusammenfassung der Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9-THC / CBD	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike: (25 mg/ml THC, 25 mg/ml CBD in 1 ml MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike: CBD 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Orange → Identität THC: Negativ</p> <p><u>THC-Spike: Δ^9-THC 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: Positiv</p> <p><u>CBD-Referenz: CBD 25 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Orange, Farbe dient als Referenz zur Beurteilung der Probe, der Spike-Proben und der THC-Referenz.</p> <p><u>THC-Referenz: Δ^9-THC 25 mg/ml (in 2-Propanol)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: Positiv</p>	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 (n = 3)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv</p> <p><u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p> <p><u>CBD-Referenz (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv</p> <p><u>THC-Vergleichslösung (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ</p>
Spezifität der Methode	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Eingestellter Cannabisextrakt“</p> <p><u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt → keine Farbreaktion.</p> <p><u>MCT-Blank</u> MCT-Öl ohne CBD/THC wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion</p>	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 (je n = 1)</u> Identität identisch zu Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests</p> <p><u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Negativ</p> <p><u>MCT-Blank</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Negativ</p>
Robustheit	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Standard: 100 µl). Niedrigere Probenmenge (75 µl) Höhere Probenmenge (125 µl)</p>	<p><u>Probe: Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 (je n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv</p>

2 Reagenzien, Materialien und Equipment

Tabelle 2: Verwendete Materialien und deren Ansatz

Material	Ansatz
Probe (Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25)	100 µl Extrakt sind zu prüfen. Mit dieser Probe wird überprüft, ob der Schnelltest in der Praxis mit Routineproben funktioniert (n = 3).
Blank (Reagenzien-Blank)	Der reine Verdünner wird geprüft und ausgewertet. (n = 1). Anhand dieser Probe wird der Einfluss des Reagenzien-Blindwertes überprüft.
Matrix-Blank	100 µl MCT-Öl werden geprüft und ausgewertet (n = 1). Anhand dieser Probe wird überprüft, ob die Matrix das Testergebnis beeinflusst.
THC-Spike	25 mg ± 0,43 mg Dronabinol (Δ^9 -THC) werden in 1 ml MTC-Öl gelöst (n = 1). Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet.
CBD-Spike	25 mg ± 0,60 mg eines reinen CBD-Isolats (kristallin) werden in 1 ml MTC-Öl gelöst (n = 1). Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet.
THC/CBD-Spike	25 mg ± 0,16 mg CBD-Isolat und 25 mg ± 0,27 mg Dronabinol (Δ^9 -THC) werden in 1 ml MTC-Öl gelöst (n = 1). Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet.
THC-Vergleichslösung	25 mg ± 0,53 mg Dronabinol (Δ^9 -THC) werden in einen 1 ml Messkolben eingewogen. Das Dronabinol wird in 2-Propanol gelöst und der Messkolben mit 2-Propanol auf Volumen aufgefüllt (n = 1). Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet.
CBD-Referenz	25 mg ± 0,12 mg eines reinen CBD-Isolats (kristallin) werden in einen 1 ml Messkolben eingewogen. Das CBD-Isolat wird in 2-Propanol gelöst und der Messkolben mit 2-Propanol auf Volumen aufgefüllt (n = 1). Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet.

Tabelle 3: Verwendete Geräte und Reagenzien

Geräte/Reagenzien	Hersteller / Lieferant
Pipette (für exakte Volumina)	Eppendorf
Skalierte Pipette für Cannabisextrakte	Eppendorf
Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests	Saxonia Diagnostics GmbH
2-Propanol	ChemSolute
Methanol	Honeywell
MCT-Öl	Megamax
Eisessig	Supelco
Wasser	AppliChem
THC-Standard	Supelco
CBD-Standard	Supelco
DC-Platte	Merck
Kapillaren	Blaubrand

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25		

Tabelle 4: Verwendete Reagenzien

Referenzen	Hersteller / Lieferant	Charge	Gehalt	Verwendbar bis
Dronabinol (Δ^9 -THC)	Alpha Cannabis Pharma GmbH	ACPS212901	100 % (m/m)	01/2026
Cannabidiol (CBD)	CBD Pharma GmbH	23N29251	100,3% (m/m)	08/2028

Tabelle 5: Verwendete Proben

Probenbeschreibung	Proben-ID	Charge	Verwendbar bis
Cannabis Extrakt (Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25)	555254	23007102	09/2024

3 Methoden

Die Prüfungen werden bei Raumtemperatur (15-25°C) durchgeführt, d.h. Proben und Reagenzien haben Raumtemperatur.

Die Prüfungen sind nach dem in Abbildung 8 und 9 abgebildeten Schema durchzuführen (siehe Anhang).

Schritt 1: Probenvorbereitung

- Flasche mit Verdünner öffnen.
- Zugabe der entsprechenden Probemenge mit Hilfe der beiliegenden skalierten Pipette für Cannabisextrakte.

Schritt 2: Nachweis von CBD

- Flasche mit dem Verdünner verschließen, kurz schütteln und für ca. 5 Minuten ruhen lassen.
- Ergebnis anhand Farbskala beurteilen und mit einer Digitalkamera dokumentieren.

Schritt 3: Nachweis von THC

- Ampulle mit Reagenz öffnen.
- Zugabe von 10 Tropfen der Verdünnung (siehe Schritt 2).
- Zugabe der Entwicklerlösung.
- Mit Kappe verschließen und schütteln.
- Ergebnis anhand Farbskala beurteilen und mit einer Digitalkamera dokumentieren.

Die Prüfung der Dünnschichtchromatographie erfolgt nach den Vorgaben der DAB-Monografie „Eingestellter Cannabisextrakt“.

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25		

4 Eignungsprüfung Identität

Für die Eignungsprüfung der Identität des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests wurden der Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25, mit entweder mit THC oder CBD dotiertem MCT-Öl, mit THC und CBD dotiertem MCT-Öl, sowie einer THC- und CBD-Referenzsubstanz mit den in Tab. 6 aufgeführten Einwaagen verwendet. Die Durchführung des Tests erfolgte nach Abb. 8 & 9.

Tabelle 6: Konzentrationen für die Bestimmung der Identität

Probe	Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25	CBD/THC-Spike	THC-Spike	CBD-Spike	THC Vergleichslösung	CBD Referenz
Anzahl (n)	3	1	1	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l					
Verdünner	2 ml					
Akzeptanzkriterium	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv
Ergebnis	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv

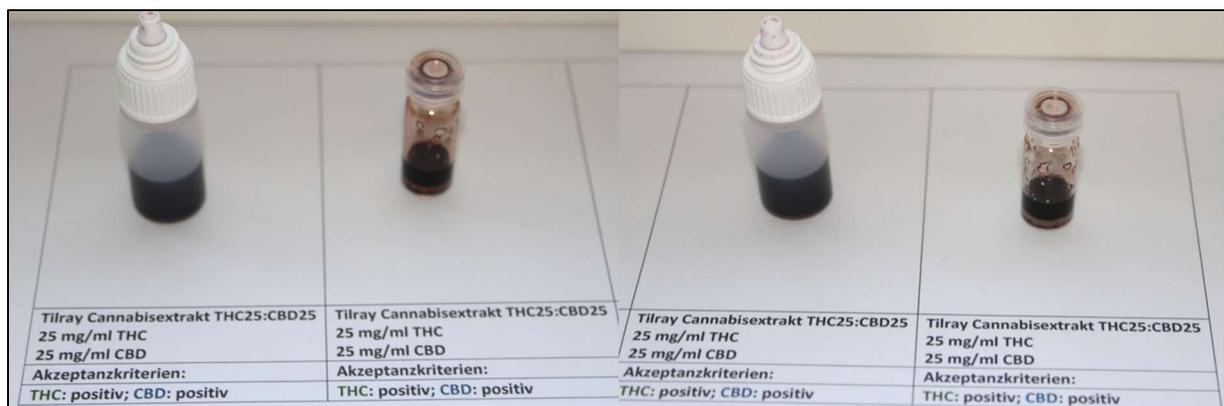


Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25

Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25

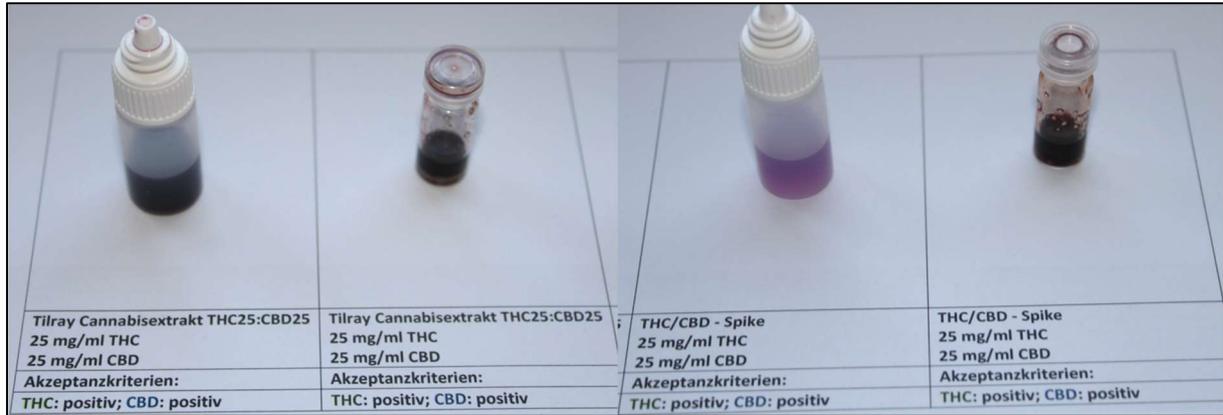


Abbildung 2: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 und THC/CBD-Spike



Abbildung 3: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit THC-Spike und CBD-Spike

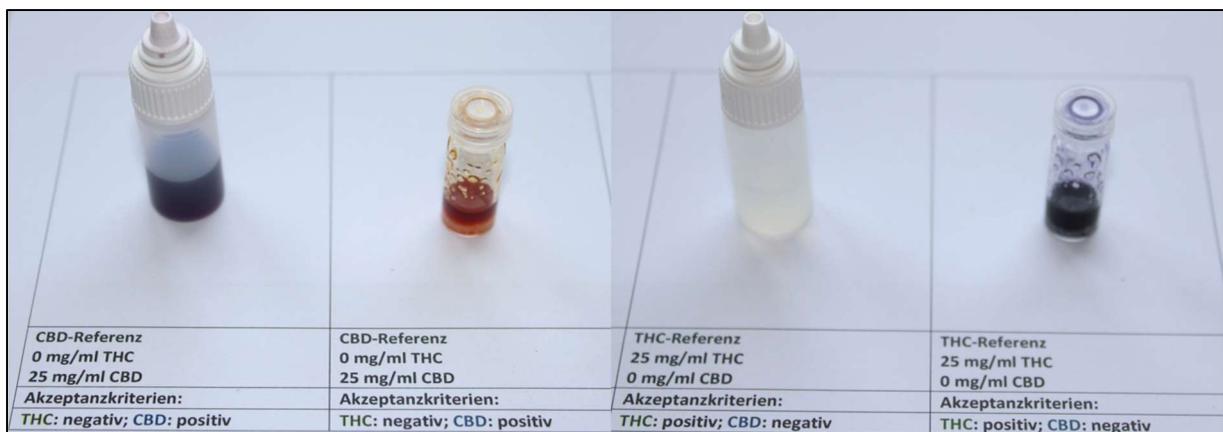


Abbildung 4: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit THC-Referenz und CBD-Referenz

Der Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdüner eine violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des

Verdüner-Extrakt mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen der in Abbildung 9 dargestellten Farbskala. Somit erfüllte der Tests für den Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25, den THC/CBD-Spike, den THC-Spike, den CBD-Spike, die THC-Referenz und die CBD-Referenz die Akzeptanzkriterien. Die Eignungsprüfung der Identität gilt als bestanden.

5 Spezifität

Für die Ermittlung der Spezifität des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests wurden ein Matrix-Blank (MCT-Öl ; n = 1) und ein Reagenzien-Blank (Verdüner ; n = 1) mit den in Tab. 7 aufgeführten Einwaagen verwendet. Die Durchführung des Tests erfolgte nach Abb. 8 und 9. Der Weiteren wurde eine Dünnschichtchromatographie nach DAB durchgeführt, um die Spezifität des Tests zu bestätigen.

5.1 Negativkontrollen

Tabelle 7: Konzentrationen für die Bestimmung der Spezifität

Probe	MCT-Blank (Trägeröl)	Reagenzien-Blank
Anzahl (n)	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l	-
Verdüner	2 ml	2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ
Ergebnis	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ



Abbildung 5: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit Matrix-Blank (MCT-Öl) und Reagenzien-Blank (Verdüner)

5.2 Dünnschichtchromatografie nach DAB

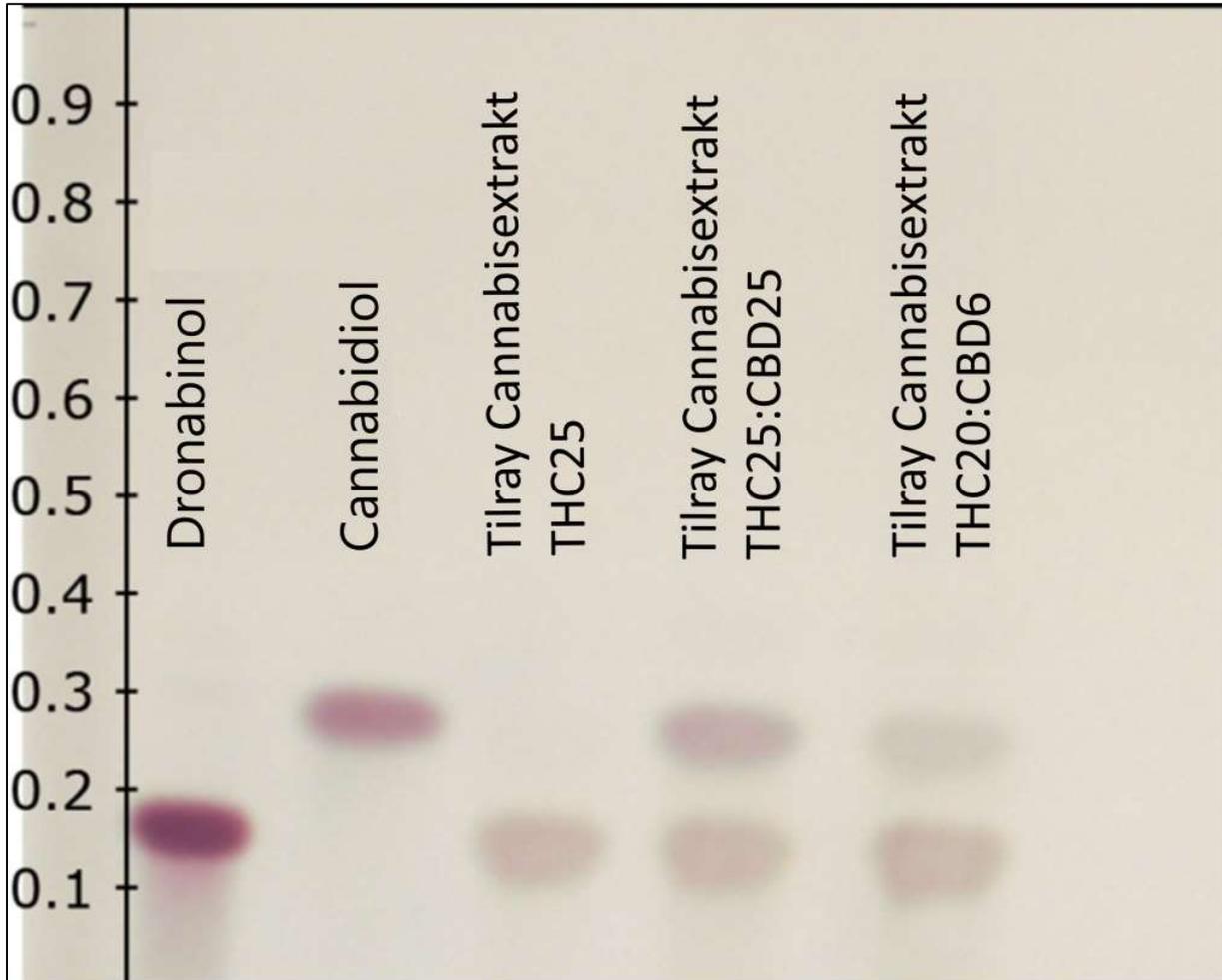


Abbildung 6: Auswertung der Dünnschichtchromatografie der Tilray Cannabisextrakte, sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards.

Die Tests am Matrix-Blank und Reagenzien-Blank ergaben den erwarteten Farbumschlag. Die Dünnschichtchromatografie nach DAB bestätigte ebenfalls den positiven Farbumschlag aus Abbildung 9. Somit erfüllte der Tests die Akzeptanzkriterien und die Spezifität des Tests ist gewährleistet.

6 Robustheit

Für die Ermittlung der Robustheit des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests wurde der Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 bei verschiedenen Volumina, wie in Tab. 8 beschrieben, getestet (75 %, 100 %, 125%).

Tabelle 8: Probenmengen für die Bestimmung der Robustheit

Probe	Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25	Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25	Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25
Anzahl (n)	1	Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 µl	1
Δ ⁹ -THC -Gehalt	25 mg/ml		25 mg/ml
CBD-Gehalt	25 mg/ml		25 mg/ml
Probenvolumen	75 µl		125 µl
Verdünner	2 ml		2 ml
Anzahl	n = 1		n = 1
Akzeptanzkriterium	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv
Ergebnis	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv CBD: positiv

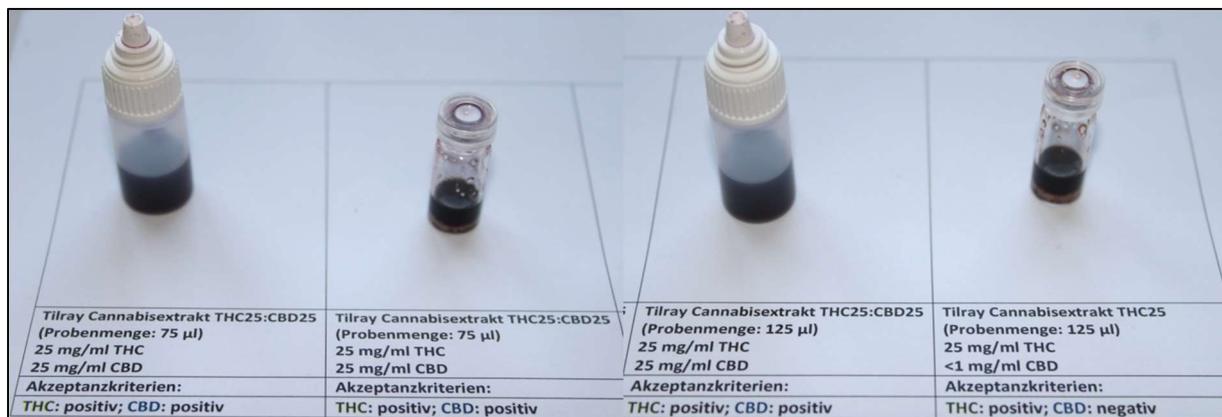


Abbildung 7: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 (Probenvolumen: 75 µl und 125 µl)

Der Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 wies in der ersten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion mit dem Verdünner eine violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreaenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Demnach erfüllte der Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25 bei einem Probenvolumen von 75 µl und 125 µl die Akzeptanzkriterien. Die Robustheit des Tests ist sichergestellt.

7 Zusammenfassung und Bewertung

Der Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests wurde für die Bestimmung von THC und CBD im Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD15 in vollem Umfang validiert. Die Validierungs-Parameter der Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle erfüllt. Daher eignet sich der Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests zur alternativen Identitätsfeststellung des Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25.

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25		

8 Historie

Datum	Version	Bemerkungen	Signatur
12.09.2024	01	Erste Version	PLi
20.09.2024	02	Korrektur der Bewertung "4 Eignungsprüfung Identität"	PLi

Labor:

Quality Services International GmbH

Bremen, 20.09.2024

Bremen, 20.09.2024




Dr. Johannes Junemann

Pascal Lilla

(Leitung der Qualitätskontrolle)

(Stellv. Leitung der Qualitätssicherung)

Validierung durch den Kunden akzeptiert:

9 Anhang

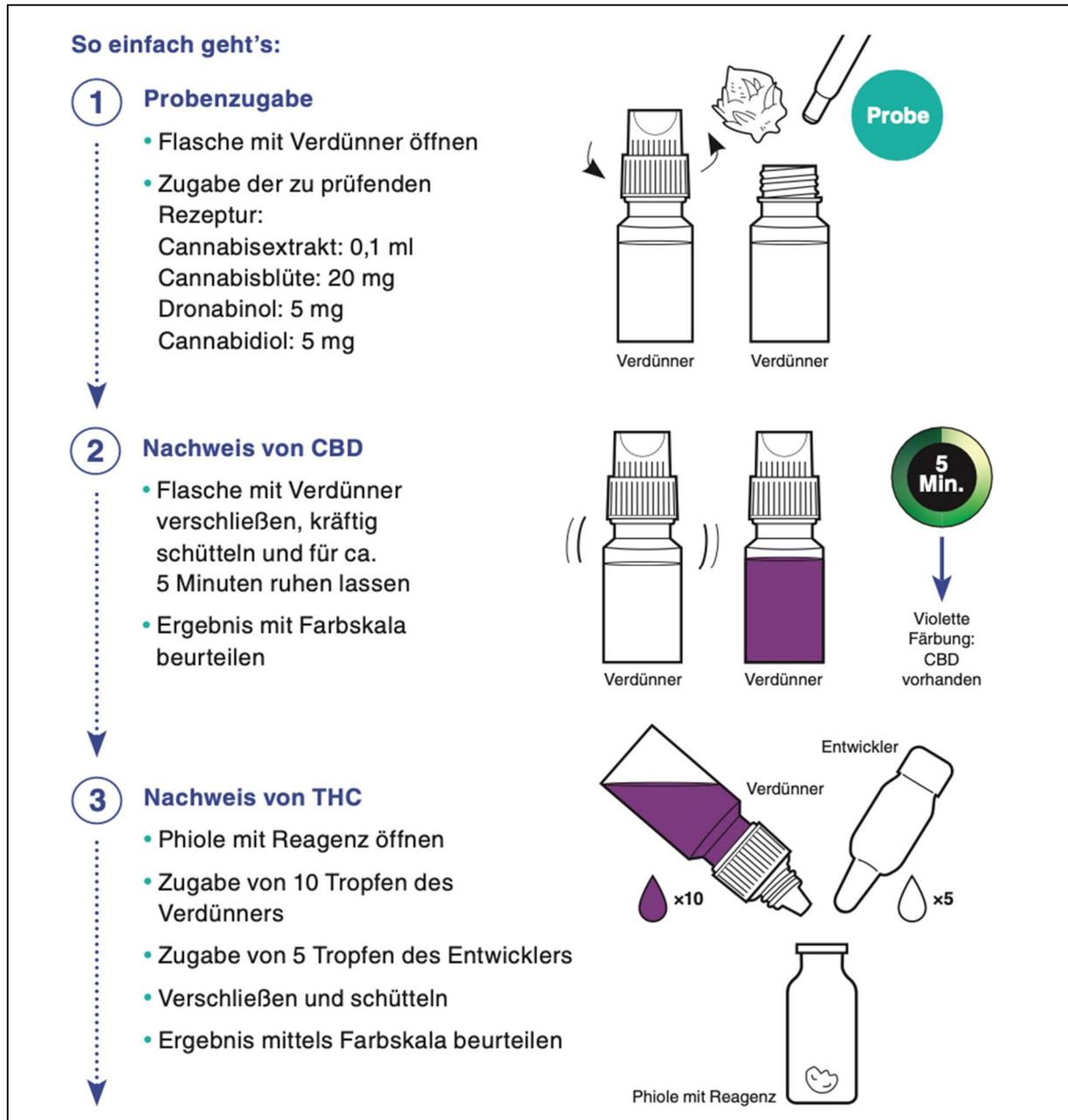


Abbildung 8: Handhabung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests

Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am Tilray Cannabisextrakt THC25: CBD25

Ergebnis ablesen

	Verdüner 	Reagenz 
KEIN THC/CBD		
THC		
THC & CBD		
CBD		

Abbildung 9: Farbskala der Stufe 1 und 2 des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests