

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

Produkt	: Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9
Customer	: Saxonia Diagnostics GmbH Praterschütz 5 01683, Nossen, Sachsen Deutschland
Methode	: Vorgehen nach Gebrauchsanweisung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests
Analyt(en)	: Cannabinoide: d9-THC, CBD
Verwendete Matrix	: Cannabisblüte Ch-B: 22GS18WLC010109 QSI-Probennummer: 555261
Ziel der Validierung	: Bestätigung der Eignung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests für die Identifizierung von Cannabinoiden anhand der Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9
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 Cannabisblüte T18-T9C9

Vorbemerkung:

Dieser Validierungsplan beschreibt die Validierung einer Identitätsmethode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) in den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 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 in den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9. 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 8).

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

1 Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Tabelle 1: Zusammenfassung der Akzeptanzkriterien und Prüfparameter

Parameter	Beschreibung und Erwartungswerte	Akzeptanzkriterien
Eignungsprüfung der Methode: Identität, Δ^9-THC / CBD	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: Positiv <u>THC/CBD-Spike: (10 mg/ml THC, 10 mg/ml CBD in 20 mg Kräutertee)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: Positiv <u>CBD-Spike: (CBD 10 mg/ml in 20 mg Kräutertee)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: Positiv Stufe 2: Orange → Identität THC: Negativ <u>THC-Spike: (Δ^9-THC 10 mg/ml in 20 mg Kräutertee)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: Negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: Positiv	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 (n = 3)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv <u>THC/CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv <u>CBD-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Positiv <u>THC-Spike (n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Negativ
Spezifität der Methode	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9</u> Dünnschichtchromatographie gemäß DAB-Monographie „Cannabis flos“ <u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt → keine Farbreaktion. <u>Matrix-Blank</u> Kräuterteemischung (ohne CBD/THC) wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 (je n = 1)</u> Identität identisch zu Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest <u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Negativ <u>Matrix-Blank</u> Identität THC: Negativ Identität CBD: Negativ
Robustheit	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Standard: 20 mg). Niedrigere Probenmenge (15 mg) Höhere Probenmenge (25 mg)	<u>Probe: Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 (je n = 1)</u> Identität THC: Positiv Identität CBD: Positiv

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

2 Reagenzien, Materialien und Equipment

Tabelle 2: Verwendete Materialien und deren Ansatz

Material	Ansatz
Probe Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9	20 mg Blüte 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	20 mg Kräuterteemischung werden wie beschrieben geprüft. Anhand dieser Probe wird überprüft, ob pflanzliche Matrixbestandteile das Testergebnis beeinflusst.
THC-Stock (10 mg/ml)	20 mg $\pm$ 0,29 mg Dronabinol werden in einen 2 ml Messkolben eingewogen. Das Dronabinol wird in 2-Propanol gelöst und der Messkolben mit 2-Propanol auf Volumen aufgefüllt.
THC-Spike	20 mg Kräuterteemischung wurden in die Verdünnerflasche gefüllt und mit 100 μ l THC-Stock dotiert.
CBD-Stock (10 mg/ml)	20 mg $\pm$ 0,18 mg Cannabidiol werden in einen 2 ml Messkolben eingewogen. Das Cannabidiol wird in 2-Propanol gelöst und der Messkolben mit 2-Propanol auf Volumen aufgefüllt.
CBD-Spike	20 mg Kräuterteemischung wurden in die Verdünnerflasche gefüllt und mit 100 μ l THC-Stock dotiert.
THC/CBD-Stock (10 mg/ml)	20 mg $\pm$ 0,10 mg Dronabinol und 40 mg $\pm$ 0,70 mg Cannabidiol werden in einen 2 ml Messkolben eingewogen. Das Dronabinol und Cannabidiol werden in 2-Propanol gelöst und der Messkolben mit 2-Propanol auf Volumen aufgefüllt.
THC/CBD-Spike	20 mg Kräuterteemischung werden in die Verdünnerflasche gefüllt und mit 100 μ l THC/CBD-Stock dotiert.

Tabelle 3: Verwendete Geräte und Reagenzien

Geräte/Reagenzien	Hersteller / Lieferant
Pipette (für exakte Volumina)	Eppendorf
Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest	Saxonia Diagnostics GmbH
2-Propanol	ChemSolute
Methanol	Honeywell
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 an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

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
Cannabisblüte (Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9)	555261	22GS18WLC010109	10/2024

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 7 und 8 abgebildeten Schema durchzuführen (siehe Anhang).

Schritt 1: Probenvorbereitung

- Flasche mit Verdünner öffnen.
- Zugabe der entsprechenden Probemenge.

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 „Cannabis Flos“

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

4 Eignungsprüfung Identität

Für die Eignungsprüfung der Identität des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests wurden die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9, mit entweder THC oder CBD dotierter Kräutertee, sowie mit THC und CBD dotierter Kräutertee mit den in Tab. 6 aufgeführten Einwaagen verwendet. Die Durchführung des Tests erfolgte nach Abb. 7 & 8.

Tabelle 6: Konzentrationen für die Bestimmung der Identität

Probe	Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9	CBD/THC-Spike	THC-Spike	CBD-Spike
Anzahl (n)	3	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	9 g/100 g	10 mg/ml	10 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	9 g/100 g	10 mg/ml	0 mg/ml	10 mg/ml
Probenvolumen	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: positiv CBD: positiv	THC: positiv 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



Abbildung 1: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

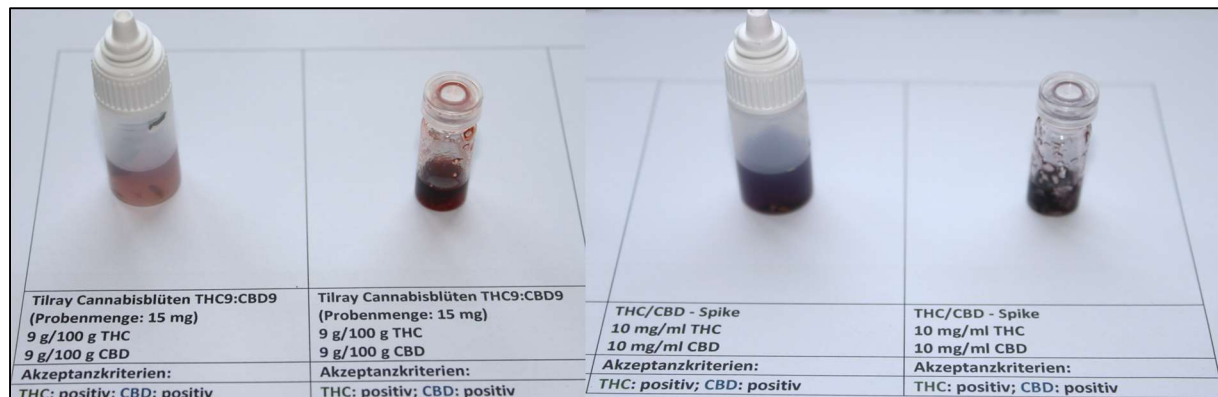


Abbildung 2: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 und dem THC/CBD-Spike

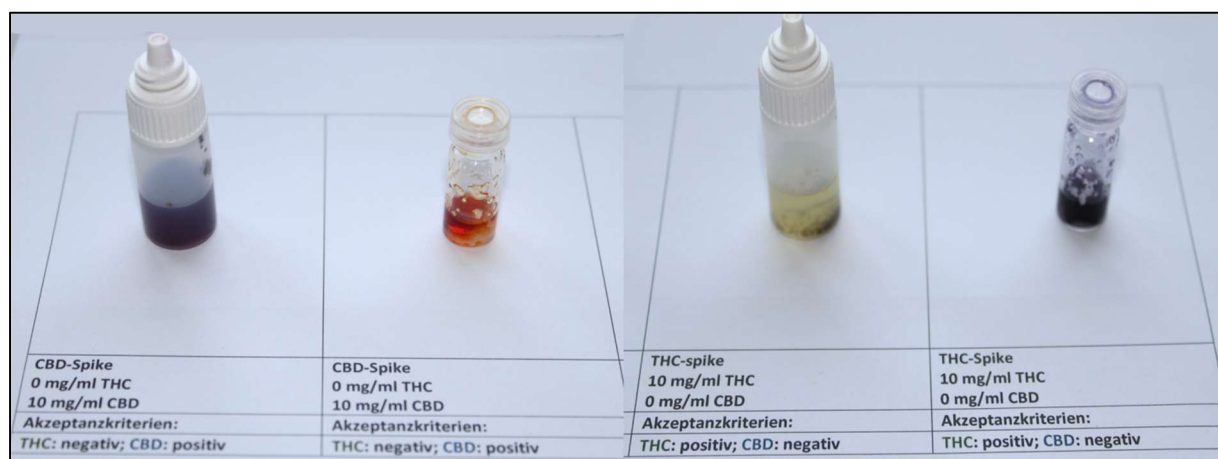


Abbildung 3: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests am THC-Spike und CBD-Spike

Die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 wiesen 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. Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen der in Abbildung 8 dargestellten Farbskala. Somit erfüllte der Tests für die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9, den THC/CBD-Spike, den THC-Spike und den CBD-Spike 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 (Kräutertee; n = 1) und ein Reagenzien-Blank (Verdünner; n = 1) mit den in Tab. 7 aufgeführten Einwaagen verwendet. Die Durchführung des Tests erfolgte nach Abb. 7. Der Weiteren wurde eine Dünnschichtchromatographie nach DAB durchgeführt, um die Spezifität des Tests zu bestätigen.

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

5.1 Negativkontrollen

Tabelle 7: Konzentrationen für die Bestimmung der Spezifität

Probe	Matrix-Blank (Kräutertee)	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	20 mg	-
Verdünner	2 ml	2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ
Ergebnis	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ

Abbildung 4: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests mit Matrix-Blank (Kräutertee) und Reagenzien Blank (Verdünner)

5.2 Dünnschichtchromatografie nach DAB

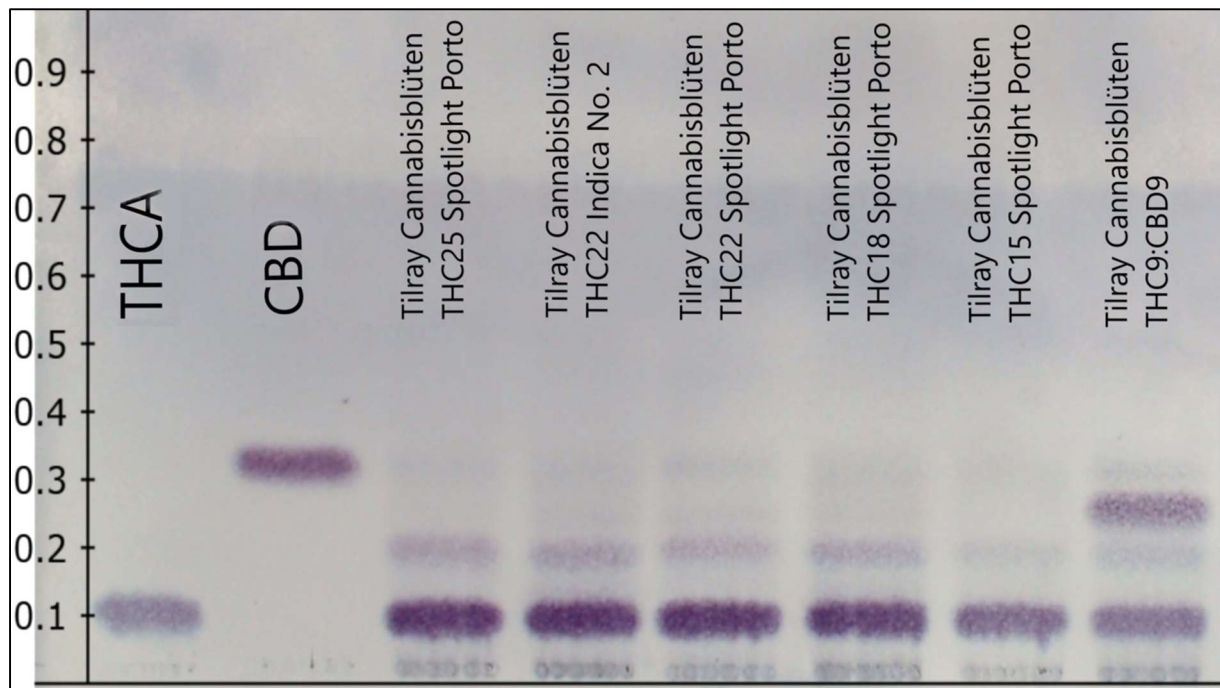


Abbildung 5: Auswertung der Dünnschichtchromatografie der Tilray Cannabisblüten, sowie eines THC-Standards und eines CBD-Standards.

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

Die Tests am Matrix-Blank und Reagenzien-Blank ergaben den erwarteten Farbumschlag. Die Dünnschichtchromatografie nach DAB bestätigte ebenfalls den positiven Farbumschlag aus Abbildung 8. 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 wurden die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 bei verschiedenen Mengen, wie in Tab. 8 beschrieben, getestet (75 %, 100 %, 125%).

Tabelle 8: Probenmengen für die Bestimmung der Robustheit

Probe	Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9	Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9	Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9
Anzahl (n)	1	Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 20 mg	1
Δ^9 -THC -Gehalt	9 g/100 g		9 g/100 g
CBD-Gehalt	9 g/100 g		9 g/100 g
Probenvolumen	15 mg		25 mg
Verdünner	2 ml		2 ml
Anzahl	n = 1		n = 1
Akzeptanz- kriterium	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

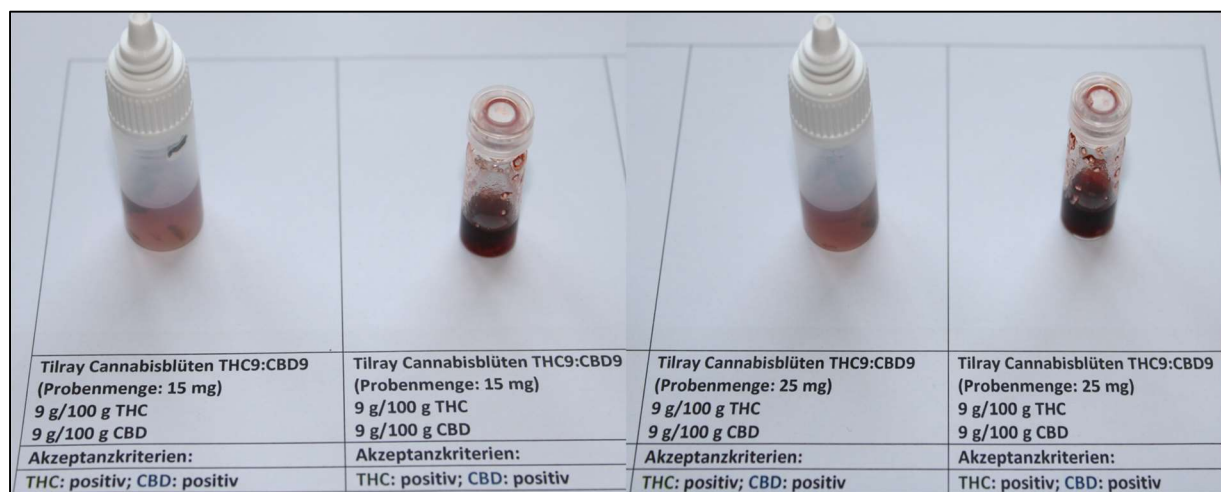


Abbildung 6: Fotos nach Durchführung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an der Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 (Probenvolumen: 15 mg und 25 mg)

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

Die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 wiesen in der ersten Stufe des Farbtest, nach der Reaktion mit dem Verdünner, eine violette Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein brauner Farbumschlag. Demnach erfüllten die Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 bei einer Probenmenge von 15 mg und 25 mg die Akzeptanzkriterien. Die Robustheit des Tests ist sichergestellt.

7 Zusammenfassung und Bewertung

Der Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest wurde für die Bestimmung von THC und CBD in den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9 in vollem Umfang validiert. Die Validierungs-Parameter der Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle Akzeptanzkriterien erfüllt. Daher eignet sich der Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltest zur alternativen Identitätsfeststellung der Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9.

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

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



Dr. Johannes Junemann

(Leitung der Qualitätskontrolle)

Bremen, 20.09.2024



Pascal Lilla

(Stellv. Leitung der Qualitätssicherung)

Validierung durch den Kunden akzeptiert:

,	,

9 Anhang

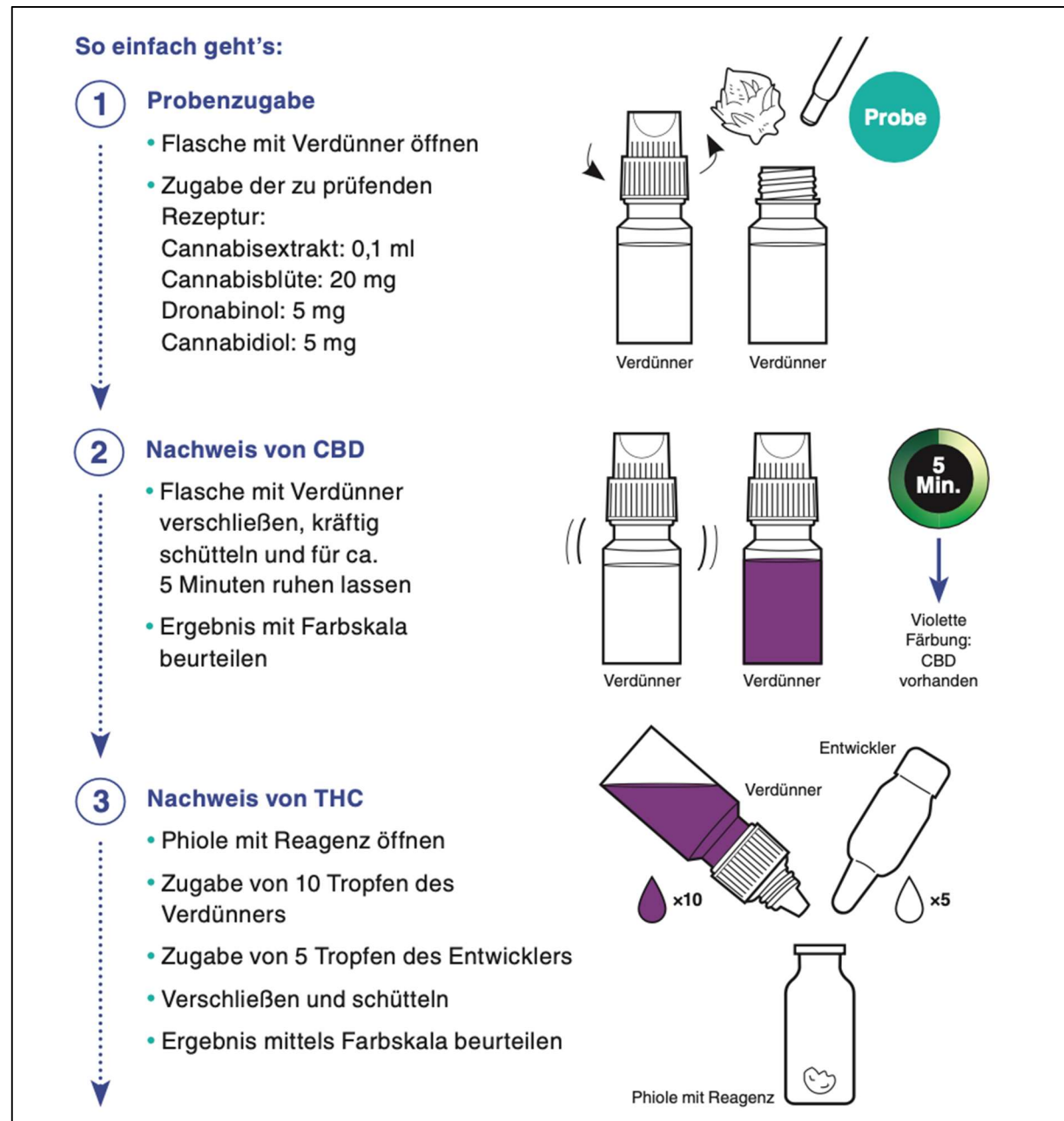


Abbildung 7: Handhabung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests

	Validierungsbericht	20.09.2024
Validierung des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests an den Tilray Cannabisblüten THC9:CBD9		

Ergebnis ablesen		
	Verdüner 	Reagenz 
KEIN THC/CBD		
THC		
THC & CBD		
CBD		

Abbildung 8: Farbskala der Stufe 1 und 2 des Tilray Quick-ID THC-/CBD-Schnelltests