

Produkt	: CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml
Hersteller	: Saxonia Diagnostics GmbH Praterschütz 5 01683 Nossen Deutschland
Methode	: Vorgehen nach Gebrauchsanweisung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets
Analyt(en)	: Cannabinoids: Δ^9 -THC, CBD
Verwendete Matrix	: Dronabinollösung Ch-B: ACPSO30901
Ziel der Validierung	: Bestätigung der Eignung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets für die Identifizierung von Cannabinoiden anhand der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml
Verantwortliches Labor & Dokumentation	: Saxonia Diagnostics GmbH

Vorbemerkung:

Dieser Validierungsplan beschreibt die Validierung einer Methode zur Identifizierung von Δ^9 -THC und Cannabidiol (CBD) in der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml. Die Analysenmethode wird von der Saxonia Diagnostics GmbH validiert. Ziel der Validierung ist der Nachweis über die Eignung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets zur Identifizierung von Δ^9 -THC und CBD in der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml. 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 5).

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: alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml</u> Stufe 1: Keine violette Farbe → Identität CBD: negativ Stufe 2: Violette Farbe → Identität THC: positiv <u>CBD-Referenzlösung: CBD 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: positiv Stufe 2: Orange → Identität THC: negativ <u>THC-Referenzlösung: Δ^9-THC 25 mg/ml (in MCT)</u> Stufe 1: Keine Farbe → Identität CBD: negativ Stufe 2: Violett → Identität THC: positiv <u>THC/CBD-Referenzlösung: (12,5 mg THC und 12,5 mg CBD in MCT-Öl)</u> Stufe 1: Violette Farbe → Identität CBD: positiv Stufe 2: Braun → Identität THC: positiv	<u>Probe: alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml (n = 3)</u> Identität THC: positiv Identität CBD: negativ <u>CBD-Referenzlösung (n = 1)</u> Identität THC: negativ Identität CBD: positiv <u>THC-Referenzlösung (n = 1)</u> Identität THC: positiv Identität CBD: negativ <u>THC/CBD-Referenzlösung (n = 1)</u> Identität THC: positiv Identität CBD: positiv
Spezifität der Methode	<u>Reagenzien-Blank</u> Verdünner wird mit Farbreagenz gemischt und entwickelt → keine Farbreaktion. <u>Spezifitätskontrolle I: Hanföl</u> Hanföl ohne CBD/THC wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion <u>Spezifitätskontrolle II (MCT)</u> MCT-Öl ohne CBD/THC wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion <u>Spezifitätskontrolle III (Kräuterteemischung)</u> Eine Kräuterteemischung ohne CBD/THC wird mit Verdünner (Stufe 1) und Farbreagenz (Stufe 2) geprüft. → keine Farbreaktion	<u>Reagenzien-Blank (je n = 1)</u> Identität THC: negativ Identität CBD: negativ <u>Hanföl (n = 1)</u> Identität THC: negativ Identität CBD: negativ <u>MCT Öl (n = 1)</u> Identität THC: negativ Identität CBD: negativ <u>Kräuterteemischung (n = 1)</u> Identität THC: negativ Identität CBD: negativ
Robustheit	<u>Probe: alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml</u> Die Probenmenge ist zu variieren (Standard: 100 µl/20 mg). Niedrigere Probenmenge (75 µl/ 15 mg) Höhere Probenmenge (125 µl/25 mg)	<u>Probe: alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml (je n = 1)</u> Identität THC: positiv Identität CBD: negativ

	Validierungsbericht	17.12.2024
Validierung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets an der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml		

2 Reagenzien, Materialien und Equipment

Tabelle 2: Verwendete Materialien und deren Ansatz

Material	Ansatz
Probe (alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml)	100 µl Dronabinollösung wurden eingesetzt. Mit dieser Probe wird überprüft, ob der Schnelltest in der Praxis mit Routineproben funktioniert (n = 3).
Reagenzien-Blank	Der reine Verdünner wird geprüft und ausgewertet. Keine Probenzugabe (n = 1). Anhand dieser Probe wird der Einfluss des Reagenzien-Blindwertes überprüft.
Spezifitätskontrolle I	100 µl Hanföl werden geprüft und ausgewertet (n = 1). Anhand dieser Probe wird überprüft, ob weitere Inhaltsstoffe der Cannabispflanze das Testergebnis beeinflussen.
Spezifitätskontrolle II	100 µl MCT-Öl werden geprüft und ausgewertet (n = 1). Anhand dieser Probe wird überprüft, ob die Matrix das Testergebnis beeinflusst.
Spezifitätskontrolle III	20 mg Kräuterteemischung mit 31% Hopfenanteil werden geprüft und ausgewertet (n = 1). Anhand dieser Probe wird geprüft, ob andere sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe das Testergebnis beeinflussen.
THC-Referenz	100 µl Dronabinollösung (25 mg/ml) werden für die Durchführung des Tests verwendet (n = 1).
CBD-Referenz	25 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-Referenz	THC-Referenz und CBD-Referenz werden im Verhältnis 1:1 gemischt, was einer THC- bzw. CBD-Konzentration in der fertigen Prüflösung von 12,5 mg/ml entspricht. Es werden 100 µl für die Durchführung des Tests verwendet (n = 1).

Tabelle 3: Verwendete Geräte und Reagenzien

Geräte/Reagenzien	Hersteller / Lieferant
Skalierte Feindosierspritze	B. Braun
CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets	Saxonia Diagnostics GmbH
MCT-Öl	Endima
Hanföl, kaltgepresst	Chiron
Kräutertee	Bad Heilbrunner: Anti-Stress-Tee (mit 31% Hopfenanteil)
Feinwaage	Sartorius

Tabelle 4: Verwendete Reagenzien

Referenzen	Hersteller / Lieferant	Charge	Gehalt	Verwendbar bis
Dronabinollösung CAN 25 mg/ml (Δ^9 -THC)	Cantourage	24002408001	>95% (m/m)	11/25
Cannabidiol (CBD)	CannaFlos	23N29251/003-10300024	>98,0% (m/m)	08/28

	Validierungsbericht	17.12.2024
Validierung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets an der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml		

Tabelle 5: Verwendete Proben

Probenbeschreibung	Charge	Verwendbar bis
alpha cannabis Dronabinollösung 25mg/ml	ACPSO30901	09/25

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 4 und 5 abgebildeten Schema durchzuführen (siehe Anhang).

Schritt 1: Probenvorbereitung

- Flasche mit Verdünner öffnen.
- Zugabe der entsprechenden Probemenge mit Hilfe der beiliegenden skalierten Feindosierspritze 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.

4 Eignungsprüfung Identität

Für die Eignungsprüfung der Identität des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets wurden die in Tabelle 2 aufgeführten Ansätze verwendet. Die Durchführung und Auswertung des Tests erfolgte nach Abbildung 4 und 5.

Tabelle 6: Wirkstoffkonzentrationen für die Bestimmung der Identität

Probe	alpha cannabis Dronabinollösung	CBD-Referenz	THC-Referenz	THC/CBD-Referenz
Anzahl (n)	3	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml	0 mg/ml	25 mg/ml	12,5 mg/ml
CBD-Gehalt	< 1 mg/ml	25 mg/ml	0 mg/ml	12,5 mg/ml
Probenvolumen	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Akzeptanz- kriterium	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: positiv
Ergebnis	THC: positiv CBD: negativ	THC: negativ CBD: positiv	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: positiv

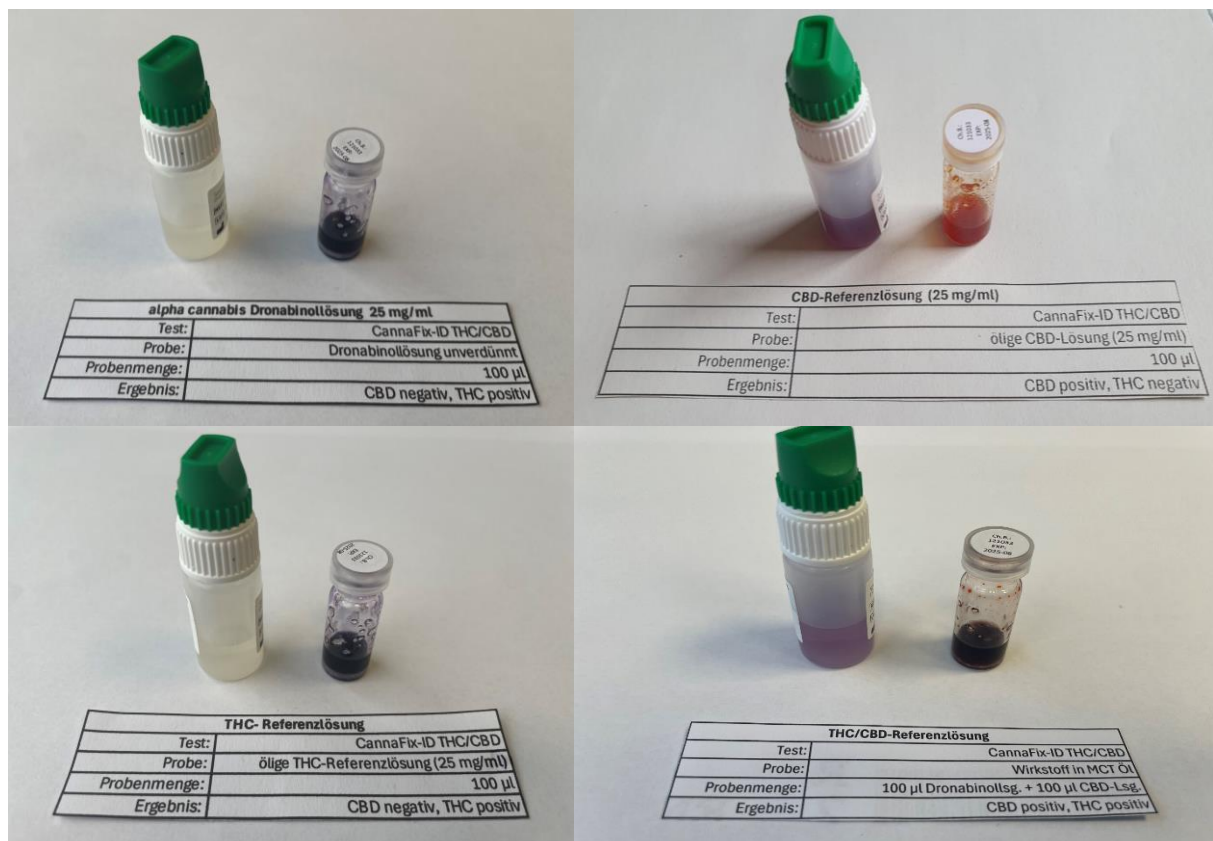


Abbildung 1: Foto nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltests an der alpha cannabis Dronabinollösung, , CBD-Referenz, THC-Referenz und THC/CBD -Referenz.

	Validierungsbericht	17.12.2024
Validierung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets an der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml		

Die alpha cannabis Dronabinollösung 25mg/ml wies in der ersten Stufe des Farbtest, nach der Reaktion mit dem Verdünner keine Färbung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein dunkelvioletter Farbumschlag.

Die Farbumschläge aller weiteren untersuchten Substanzen entsprachen der in Tabelle 1 erwarteten Ergebnisse und der in Abbildung 5 dargestellten Farbskala. Somit erfüllte der Tests für die alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml und alle verwendeten Referenzen die Akzeptanzkriterien. Die Eignungsprüfung der Identität gilt als bestanden.

5 Spezifität

Für die Ermittlung der Spezifität des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets wurden folgende Proben (je n = 1) verwendet: Reagenzien-Blank, kaltgepresstes Hanföl (Spezifitätskontrolle I), MCT-Öl (Spezifitätskontrolle II) und Kräutertee mit Hopfenanteil (Spezifitätskontrolle III). Die genauen Spezifikationen sind Tabelle 2 und 7 zu entnehmen. Die Durchführung des Tests erfolgte nach Abb. 4 und 5.

Tabelle 7: Kontrollen für die Bestimmung der Spezifität

Probe	Reagenzien-Blank	Spezifitätskontrolle I (Hanföl)	Spezifitätskontrolle II (MCT-Öl)	Spezifitätskontrolle III (Kräutertee)
Anzahl (n)	1	1	1	1
Δ^9 -THC -Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
CBD-Gehalt	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml	0 mg/ml
Probenvolumen	-	100 µl	100 µl	25 mg
Verdünner	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Akzeptanzkriterium	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ
Ergebnis	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ	THC: negativ CBD: negativ

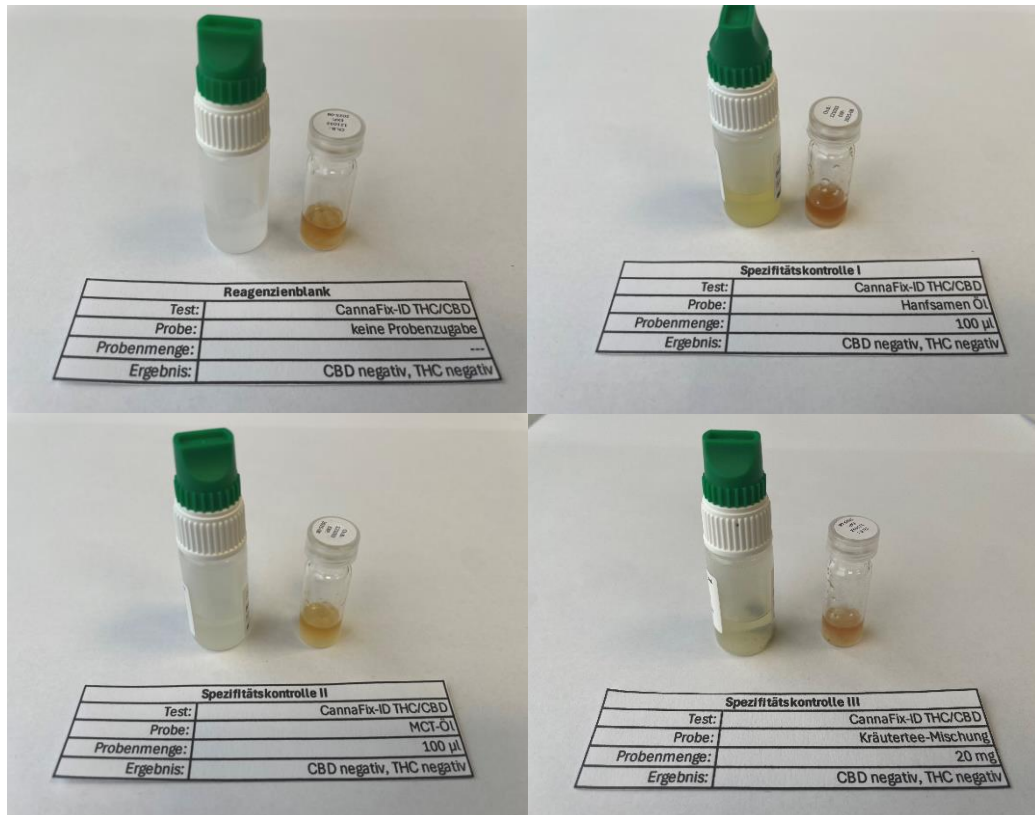


Abbildung 2: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets mit Reagenzien-Blank und Spezifitätskontrollen I – III.

Die Tests am Reagenzien-Blank, sowie den Spezifitätskontrollen I - III ergaben das erwartete Ergebnis (vgl. Abbildung 2 und 5). Im ersten Schritt ergab sich kein Farbumschlag. Lediglich das verwendete Hanföl bewirkte durch die intensive Eigenfärbung eine gelbliche Färbung des Verdünners, die sich jedoch eindeutig von den Referenzsubstanzen unterschied. Auch im zweiten Schritt ergab sich kein Farbumschlag. Alle Ergebnisse entsprachen somit der in Tabelle 1 dargestellten Erwartungshaltung und zeigten sich sowohl CBD-, als auch THC-negativ. Eine Kreuzreaktion mit sekundären Pflanzeninhaltsstoffen oder Matrixeffekte werden somit ausgeschlossen. Damit werden alle Akzeptanzkriterien erfüllt und die Spezifität des Tests ist gewährleistet.

6 Robustheit

Es ist denkbar, dass in Praxis das Probenvolumen etwas variiert oder nicht exakt eingehalten wird. Die nachfolgenden Experimente wurden durchgeführt, um sicherzustellen, dass die Methode für diese Variation robust genug ist. Für die Ermittlung der Robustheit des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets wurde die alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml bei verschiedenen Volumina, wie in Tabelle 8 beschrieben, getestet (75 %, 100 %, 125%).

	Validierungsbericht	17.12.2024
Validierung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets an der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml		

Tabelle 8: Probenmengen für die Bestimmung der Robustheit

Probe	alpha cannabis Dronabinollösung	alpha cannabis Dronabinollösung	alpha cannabis Dronabinollösung
Anzahl (n)	1	Ergebnisse der Eignungsprüfung gelten hier ebenfalls. 100 µl	1
Δ^9 -THC -Gehalt	25 mg/ml		25 mg/ml
CBD-Gehalt	< 1 mg/ml		< 1 mg/ml
Probenvolumen	75 µl		125 µl
Verdünner	2 ml		2 ml
Anzahl	n = 1		n = 1
Akzeptanz- kriterium	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ
Ergebnis	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ	THC: positiv CBD: negativ

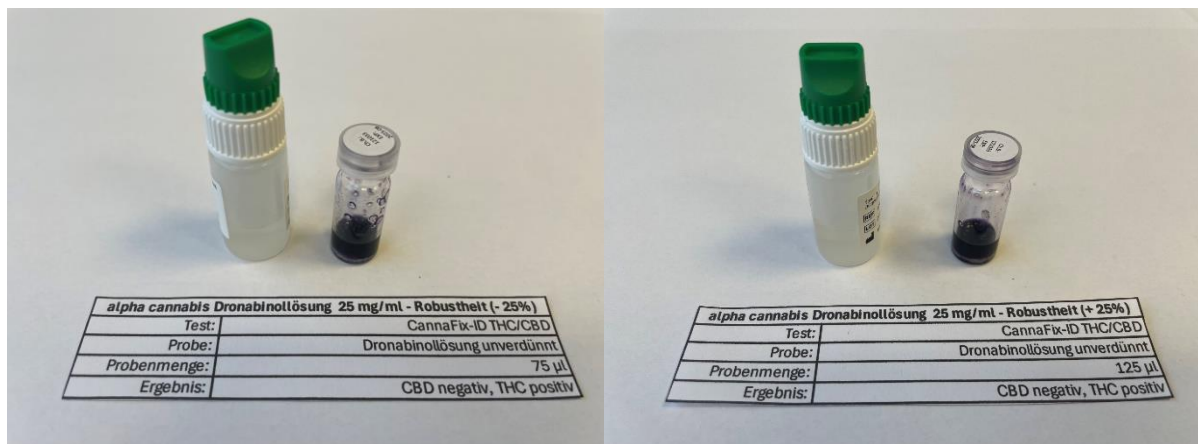


Abbildung 3: Fotos nach Durchführung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets mit der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml bei unterschiedlichem Probenvolumen (Probenvolumen: 75 µl und 125 µl).

Die alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml wies im ersten Schritt keine Farbentwicklung auf. In der zweiten Stufe des Farbtests, nach der Reaktion des Verdünner-Extraktes mit der Farbreagenz und dem Entwickler, ergab sich ein dunkelvioletter Farbumschlag. Demnach erfüllte die alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml bei einem Probenvolumen von 75µl und 125µl die Akzeptanzkriterien. Die Robustheit des Tests ist sichergestellt.

	Validierungsbericht	17.12.2024
Validierung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets an der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml		

7 Zusammenfassung und Bewertung

Das CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set wurde für die Bestimmung von THC und CBD in der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml in vollem Umfang validiert. Die Validierungsparameter der Eignungsprüfung der Identität, Spezifität und Robustheit wurden alle erfüllt. Daher eignet sich das CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Set zur alternativen Identitätsfeststellung in der alpha cannabis Dronabinollösung 25 mg/ml.

8 Historie

Datum	Version	Bemerkungen	Signatur
17.12.2024	01	Erste Version	SF

Labor:

Saxonia Diagnostics GmbH

Praterschütz, 17.12.2024

Natalie Andrich

(Leitung der Qualitätssicherung)

Dr. Stefanie Fröhlich

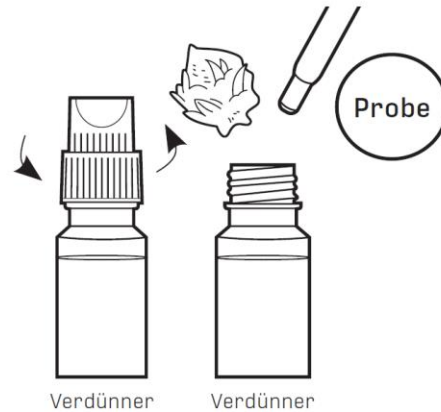
(Leitung Labor)

9 Anhang

So einfach geht's:

1 Probenzugabe

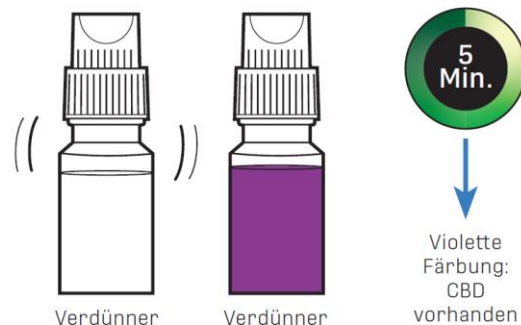
- Flasche mit Verdünner öffnen
- Zugabe der zu prüfenden Rezeptur:
Cannabisextrakt: 0,1 ml*
Cannabisblüte: 20 mg
Dronabinol: 5 mg
Cannabidiol: 5 mg



*Bei einer THC-Konzentration von > 50 mg/ml ist der Einsatz eines geringeren Probenvolumens oder eine Vorverdünnung des zu testenden Extrakts in MCT-Öl notwendig, so dass die zu identifizierende Substanz in einem Konzentrationsbereich von ca. 25-50 mg/ml vor Testdurchführung vorliegt.

2 Nachweis von CBD

- Flasche mit Verdünner verschließen, kräftig schütteln und für ca. 5 Minuten ruhen lassen
- Ergebnis mit Farbskala beurteilen



3 Nachweis von THC

- Phiole mit Reagenz öffnen
- Zugabe von 10 Tropfen des Verdünners
- Zugabe von 5 Tropfen des Entwicklers
- Verschließen und schütteln
- Ergebnis mittels Farbskala beurteilen

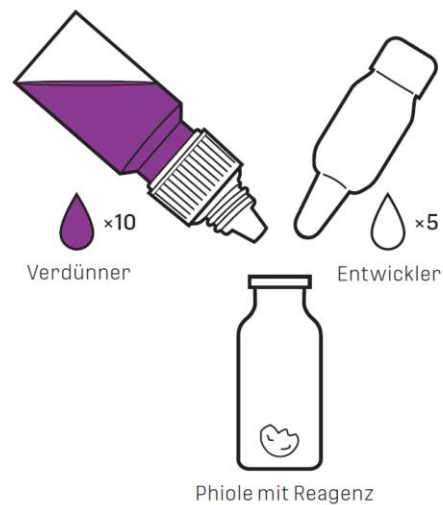


Abbildung 4: Handhabung des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets (Schritt 1 & 2, Verdünner)

Ergebnis ablesen

	Verdüner 	Reagenz 
KEIN THC/CBD		
THC		
THC & CBD		
CBD		

CBD/THC-Farbskala

Dieser 2-stufige Farbtest nutzt die strukturellen Unterschiede von CBD und Δ^9 -THC aus. In der ersten Stufe wird bei Anwesenheit von CBD eine violette Farbe angezeigt. Die in der zweiten Stufe gebildeten Farben sind Kupplungsprodukte und abhängig von Δ^9 -THC sowie CBD:

- THC-dominante Ausgangsstoffe verursachen einen dunkelvioletten Farbumschlag.
- Liegen sowohl THC als auch CBD vor, entsteht eine Mischfarbe, die je nach Mischungsverhältnis mehr in die eine oder andere Richtung ausschlägt.
- CBD-dominante Ausgangsstoffe sorgen für einen orangen Farbumschlag.

Grundsätzlich gilt: Die Intensität der Farben kann je nach Ausgangsprobe und THC/CBD-Gehalt stärker oder schwächer ausfallen. Bei sehr niedrigen Wirkstoffkonzentrationen von ≤ 1 mg/ml in Cannabisextrakten oder 1% in Cannabisblüten ist kein erkennbarer Farbumschlag zu erwarten.

Die Eigenfarbe des Cannabisextraktes bzw. co-extrahiertes Chlorophyll (bei Cannabisblüten) kann im ersten Schritt zu einer nicht wirkstoffbedingten, gelb/grünen Einfärbung des Verdünners führen. Bei der Anwesenheit von CBD entwickelt sich ein zusätzlicher violetter Farbton.

Abbildung 5: Farbskala der Stufe 1 und 2 des CannaFix-ID THC/CBD Schnelltest-Sets