



CONCESSIONE DI CONTRIBUTO ALLA RICERCA

“Caratterizzazione dei tessuti vegetali di *Cannabis sativa* L. ad uso alimentare”

Caratterizzazione ed analisi quali-quantitativa dei metaboliti aromatici e volatili per GC-MS, GCxGC-MS in diversi tessuti vegetali di varietà di Cannabis sativa L. ad uso alimentare. Valutazione quantitativa per Aree %.

Estrazione ed Analisi HPLC-DAD-MS

La macerazione dinamica per 45 minuti con etanolo (EtOH) a temperatura ambiente si è dimostrata la tecnica più adatta per l'estrazione dei cannabinoidi nei campioni di canapa secondo Brighenti et al [1]. Il metodo analitico ottimizzato in questo studio è stato pienamente validato per dimostrare la conformità ai requisiti internazionali.

Questo metodo è stato applicato per i campioni di infiorescenze F.LLI Susini come riportato di seguito. Una quantità pesata di infiorescenze di (0,25 g) sono state estratte con 10 mL di EtOH a temperatura ambiente per 15 minuti, sotto agitazione magnetica. La soluzione è stata filtrata ed il residuo è stato estratto altre due volte con 10 e 5 mL di solvente, rispettivamente. I filtrati delle tre estrazioni sono stati quindi combinati e portati a 25 mL con il solvente in un matraccio tarato. Il rapporto 10 mg/ml solvente è conforme al rapporto presente nella **Monograph Cannabis Flos Version 7.1/November 28, 2014**. Prima dell'iniezione nel sistema HPLC, gli estratti sono stati filtrati utilizzando un filtro da 0,45 mPTFE. È stata utilizzata una colonna Poroshell 120 EC-C18 2,7 µm 3x150 mm (Agilent), flusso 0.4 ml/min con il seguente metodo cromatografico: H₂O⁺ pH.3.2 per acido formico (A), Acetonitrile (B), 60% B per 13 min, 80% a 17 min, 90% a 22 min, mantenuta fino a 30 min.

I cannabinoidi sono stati quantificati a 210 e 220 nm mediante curva di calibrazione esterna con gli standard analitici di riferimento. In particolare è stato utilizzata una soluzione standard di Cannabidiol in MeOH (Merck Life Science S.r.l.) per tutti i composti identificati ed è stata effettuata la correzione del peso molecolare come segue: conoscendo il peso molecolare di ciascun composto (PM_x), la sua concentrazione è stata ottenuta applicando il fattore moltiplicativo PM_x/PM_y, dove PM_y è il peso molecolare dello standard di riferimento specifico.

Le rette di calibrazione sono state calcolate in modo che la concentrazione dei diversi campioni analizzati risultasse nel range di linearità delle stesse. In particolare sono stati usati cinque livelli di concentrazione e sono state ottenute rette di calibrazione con valori di R² ≥ 0.999.

Bibliografia

1. Brighenti V. et al (2017) Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type Cannabis sativa L. (hemp). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 143: 228–236

Profilo dei cannabinoidi

DiSIA – Dipartimento di Statistica, Informatica, Applicazioni “G. Parenti”

Laboratorio PHYTO LAB

POLO SCIENTIFICO E TECNOLOGICO

Via Ugo Schiff, 6 – 50019 Sesto F.no, Firenze

telefono +39 055 4573775 fax +39 055 4573780 | e-mail: annalisa.romani@unifi.it



Data di analisi **12/2020** | codice campione **DF20RM** | Strumento utilizzato **HPLC** | Metodo utilizzato **Metodica interna**

Nota: la metodica impiegata riflette la Monograph Cannabis Flos Version 7.1 / November 28, 2014.
I valori di THC sono calibrati su standard di CBD

		RM*	
	nm	mg/g	% p/p
CBDA	220	59,13	5,91
CBD	210	2,31	0,23
CBN	210	0,47	0,05
Δ9-THC	210	1,03	0,10
Δ8-THC	210	0,71	0,07
CBC	220	0,65	0,06
THCA	220	2,52	0,25
CBGA	220	2,02	0,20
CBG	210	0,60	0,06
THC totale (%) (%THCA*0.877+%THC)			0,32
CBD totale (%) (%CBDA*0.877 +%CBD)			5,42
rapporto Δ9-THC/CBD			0,45

*valori espressi su peso fresco

Legenda

Cannabichromene (**CBC**)

Cannabidiol (**CBD**): componente terapeutico primario

Δ⁸-tetrahydrocannabinol (**Δ⁸-THC**)

Δ⁹-tetrahydrocannabinol (**Δ⁹-THC**): componente psicoattivo primario

Cannabigerol (**CBG**)

Cannabinol (**CBN**): degradazione del campione a causa dell'età o delle cattive condizioni di conservazione

THC Acid (**THCA**) (carboxy THC): Forma nativa di THC nel materiale vegetale

Cannabidiolic Acid (**CBDA**) (Carboxy CBD): Forma nativa di CBD nel materiale vegetale