

Magistritöö: Kahe lahutusmeetodi võrdlus kannabinoidide määramise näitel

Autor: Kristiina Leiman

Juhendaja: Maria Kulp, vanemteadur

Analüütilise keemia osakond

## KOKKUVÕTE

Antud töö põhiliseks eesmärgiks oli demonstreerida, et lisaks klassikalistele meetodidele võimaldab kapillaarelektroforees kannabinoidide usaldusväärset määramist kanepitoodetes. Võrdlusmeetodina kasutati klassikalist vedelikkromatograafiat. Selleks oli vaja optimeerida taimematerjali ettevalmistust, valideerida meetodikaid ja võrrelda nende tulemuslikkust.

Sooritatud töö käigus saadi järgmised tulemused:

- Töö käigus töötati välja kanepitaimede ekstraktsiooni ja kuivatusprotsessi tingimused. Antud töös võrreldi viite erinevat kuivatustemperatuuri ning kolme erinevat ekstraktsiooni tüüpi. Optimaalseimaks osutus 140°C juures kuivatamine (2h) ning klassikaline ultraheli-toetatud ekstraktsioon etanoolis (1,5h, 50°C), mille saagis oli ca. 75-85%.
- HPLC ja CE meetodikad valideeriti vastavalt Eurachem'i juhendis toodud nõuetele ning meetodikaid võrreldi üldiste aspektide poolest (valideerimise ja lahutamisprotsessi karakteristikute võrdlus). Mõlema meetodika puhul signaali ja kontsentratsiooni sõltuvus oli lineaarne vahemikus 1-30 ppm ( $R^2=0,99$ ). CE ja HPLC meetodikate avastamis- ja määramispiirid olid CBD puhul väga sarnased (vastavalt ca. 0,3 ppm ja 0,5 ppm). THC puhul HPLC meetodika näitas paremaid detekteerimis- ja kvantiseerimispiire, kui kapillaarelektroforees, kuigi see ei avaldanud tähtsat mõju tulemustele, kuna THC sisaldus taimedes oli üldjuhul väga kõrge. Vaatamata sellele, et piikide migratsiooniaegade korduvus oli CE-s tunduvalt suurem (ca. 8%) ja kromatograafias oli see vähem kui 1%, siis mõlema meetodika laiendmääramatused jäid vahemikku 18-22%. Seejuures kapillaarelektroforeesi katse aeg on palju lühem ja meetod on säästlikum (reagentide ja proovi kogused on väikesed (mikroliitrites)).
- CE meetodika usaldusväärsust kinnitati ka hašiõli proovi sõltumatu GC-MS analüüsiga akrediteeritud EKEI laboris.
- Töö raames analüüsiti üheksa eriliiki marihuaanat, kus THC'd leidub kõigis taimedes välja arvatud tööstuslikus kanepis. CBD'd leidub samuti enamustes marihuaana

liikides välja arvatud *Bedica*, *Bedrocan* ja *Bedrobinol*. Täiendavalt uuriti ka kannabinoidide stabiilsust, kus selgus, et THC säilimine on kriitiline eelkõige kuivatatud taimeproovides, seda tõestas ka THC laguprodukti CBN suurenemine. CBD puhul märgati aga vastupidiselt paremat säilimist pigem kuivatatud vormis.

- CE ja HPLC meetodikate tulemuste kokkulangevust hinnati kasutades statistilist analüüsi. Selleks teostati kolm ekstraktsiooni paralleeli erinevatel ajaperioodidel ning ekstrakte analüüsiti nii CE kui ka HPLC meetodikaga. Saadud tulemusi võrreldi Student'i paaris  $t$ -testiga, kus 95% usaldusnivool kahepoolse testi puhul saadi kõigi kolme paralleeli puhul  $t_{exp} < t_{crit}$ . Järelikult CE ja HPLC tulemuste vahelised kõikumised saab seletada juhusliku veaga ning need statistiliselt ei erine.

Töö tulemuste põhjal võib järeldada, et CE meetodika natiivse fluoresentsdetekteerimisega on kohane kannabinoidide määramiseks eriliiki marihuaanas kui ka hašišiõli proovides. Meetodika kinnitamine nii klassikalise kromatograafilise meetodiga kui ka sõltumatus laboris tõestab hüpoteesi, et kapillaarelektroforees võimaldab kannabinoidide kvantitatiivset analüüsi klassikaliste kromatograafiliste meetodite võimekuse ning usaldusväärsuse tasemel.