

Validación de un método analítico para la cuantificación de CBD y Δ9-THCA en muestras de cáñamo mediante HPLC-DAD

PROBLEMA

El crecimiento en la investigación y desarrollo de medicamentos a base de cannabis resalta la necesidad de cuantificar cannabinoides, proporcionando datos confiables que apoyen el desarrollo del sector. Difundir información validada y accesible es clave para reducir el estigma asociado al cáñamo, fomentar su aceptación social y promover su integración como una industria clave en la economía nacional.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar, mediante análisis estadístico, el cumplimiento del método analítico para la cuantificación los cannabinoides Δ9-THCA y CBD en muestras de cáñamo, con las directrices establecidas en la guía de validación de la AOAC y normativas nacionales e internacionales.

PROPUESTA

Este trabajo presenta un plan de validación y estimación de la incertidumbre para la cuantificación precisa de los compuestos activos CBD y Δ9-THCA en muestras de cáñamo, utilizando cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). El protocolo analítico desarrollado tiene como objetivo garantizar la calidad y seguridad del producto final, facilitar la regulación comercial del cáñamo, apoyar la creación de estándares en la industria, y ofrecer beneficios tanto a consumidores como a productores.

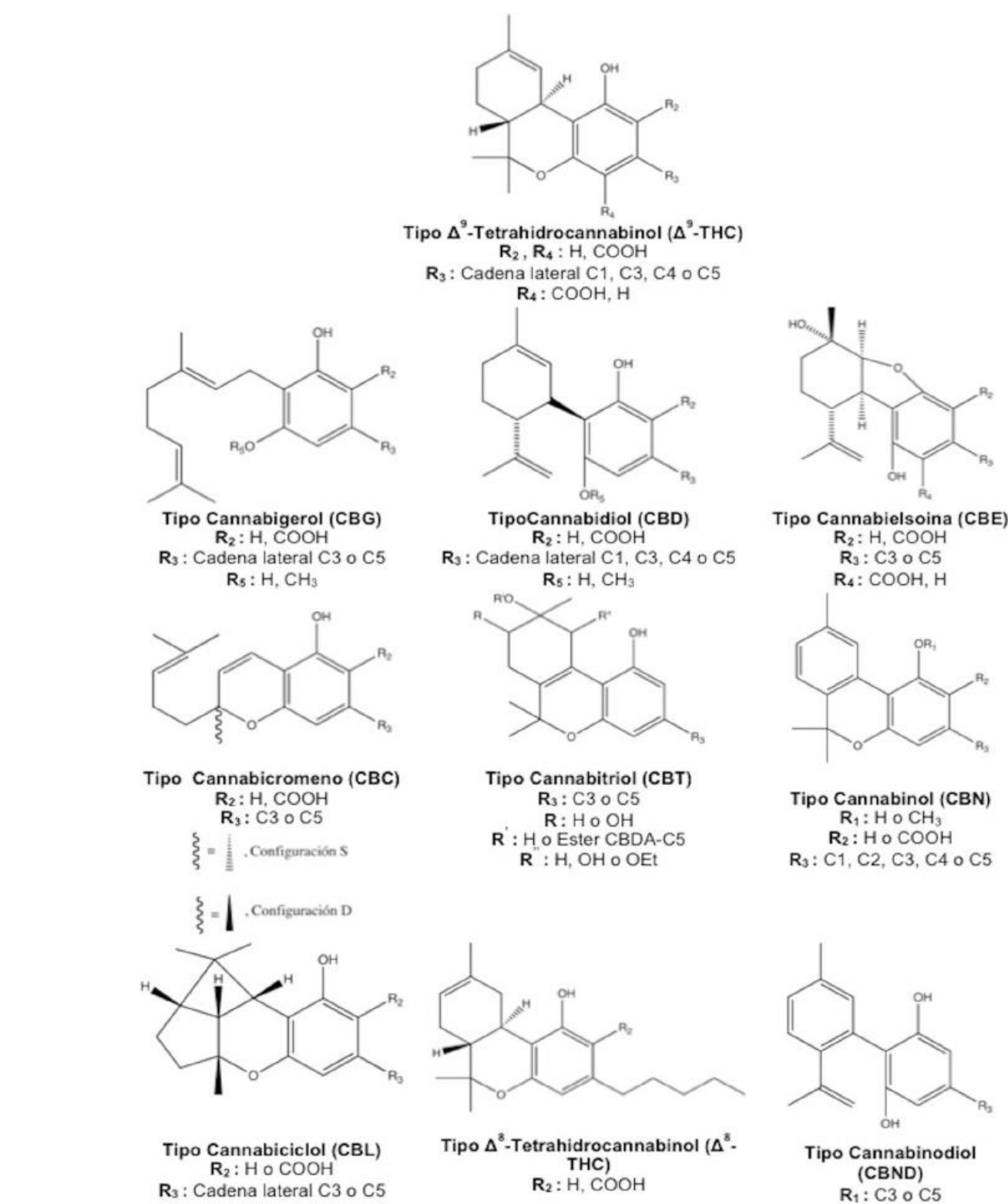


Figura 1 Cannabinoides presentes en el cannabis (Ángeles López et al., 2014)

Parámetros	Valores
Tipo de columna	Zorbax C18 (100x46 mm y tamaño de partícula de 5 μm)
Temperatura de la columna (°C)	30
Temperatura de inyección (°C)	20
Caudal (mL/min)	0,8
Volumen de inyección (μL)	10
Longitud de onda (nm)	235
Tiempo de corrida (min)	20
Fase móvil A	Acetonitrilo
Fase móvil B	Agua y ácido fosfórico al 0,085%

Tabla 1. Parámetros y configuración del HPLC-DAD

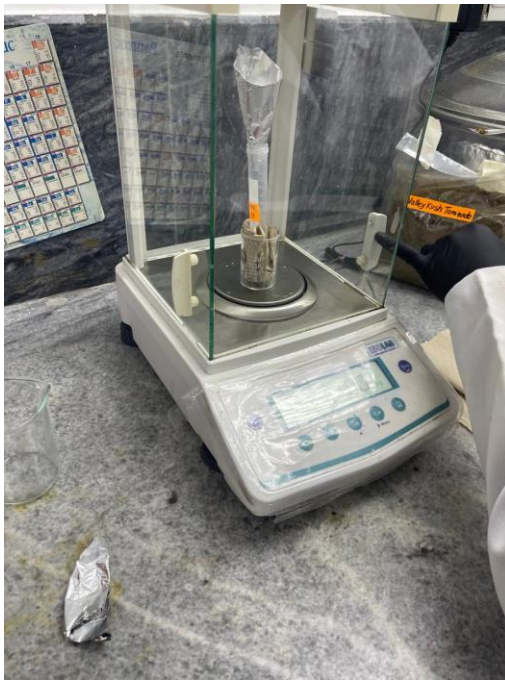


Figura 2 Pesaje de las muestras



Figura 3 Agitación vortex de las muestras (10 min)



Figura 4 Sonicación de las muestras (10 min)

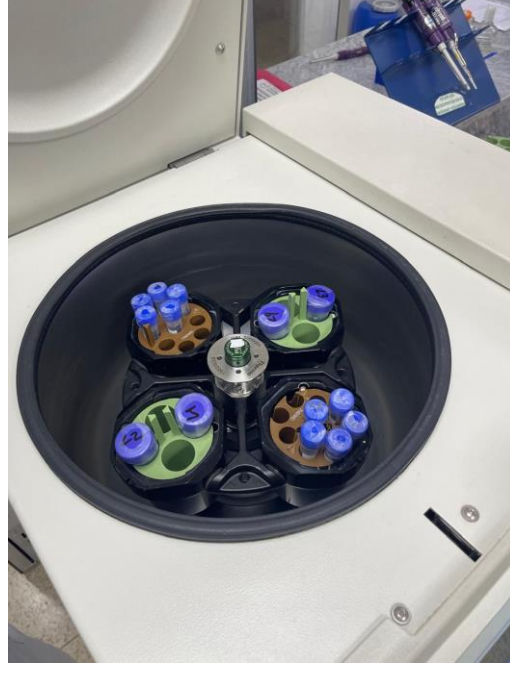


Figura 5 Centrifugación de las muestras (1125g, 10 min, 25°C)



Figura 6 Análisis HPLC-DAD

RESULTADOS

OBJETIVOS DE VALIDACIÓN				
PARÁMETRO	NIVEL (ppm)	CRITERIO DE ACEPTACIÓN (%)	Resultados	
			CBD	Δ9-THCA
Exactitud	5	75 - 120	139,16	125,85
	50	80-115	102,13	95,72
	100	90-108	100,33	96,74
Precisión Repetibilidad	5	5	3,1	1,9
	50	3	2	3,2
	100	2	1,8	1,5
Precisión intermedia	5	10	3,1	1,9
	50	8	2	4,2
	100	6	2	1,9
Límite de cuantificación	0,5% (peso/peso)			
Selectividad	Rs > 1		1,04	1,24
Linealidad	5	r > 0,995;	0,999	0,999
	25			
	50			
	75			
	100			

Tabla 2. Resultados de los objetivos de validación para CBD y Δ9-THCA

Componente	Valor medio de los picos cromatográficos	Desviación estándar	Concentración (mg/L)	Concentración en peso base seca (%)
CBD	1430115.89	0.2475	87.64	8.764
Δ9-TCHA	25454.49	0.3392	0.483	0.048

Tabla 3. Resultados de la cuantificación de CBD y Δ9-THCA del ecotipo Valley Kush

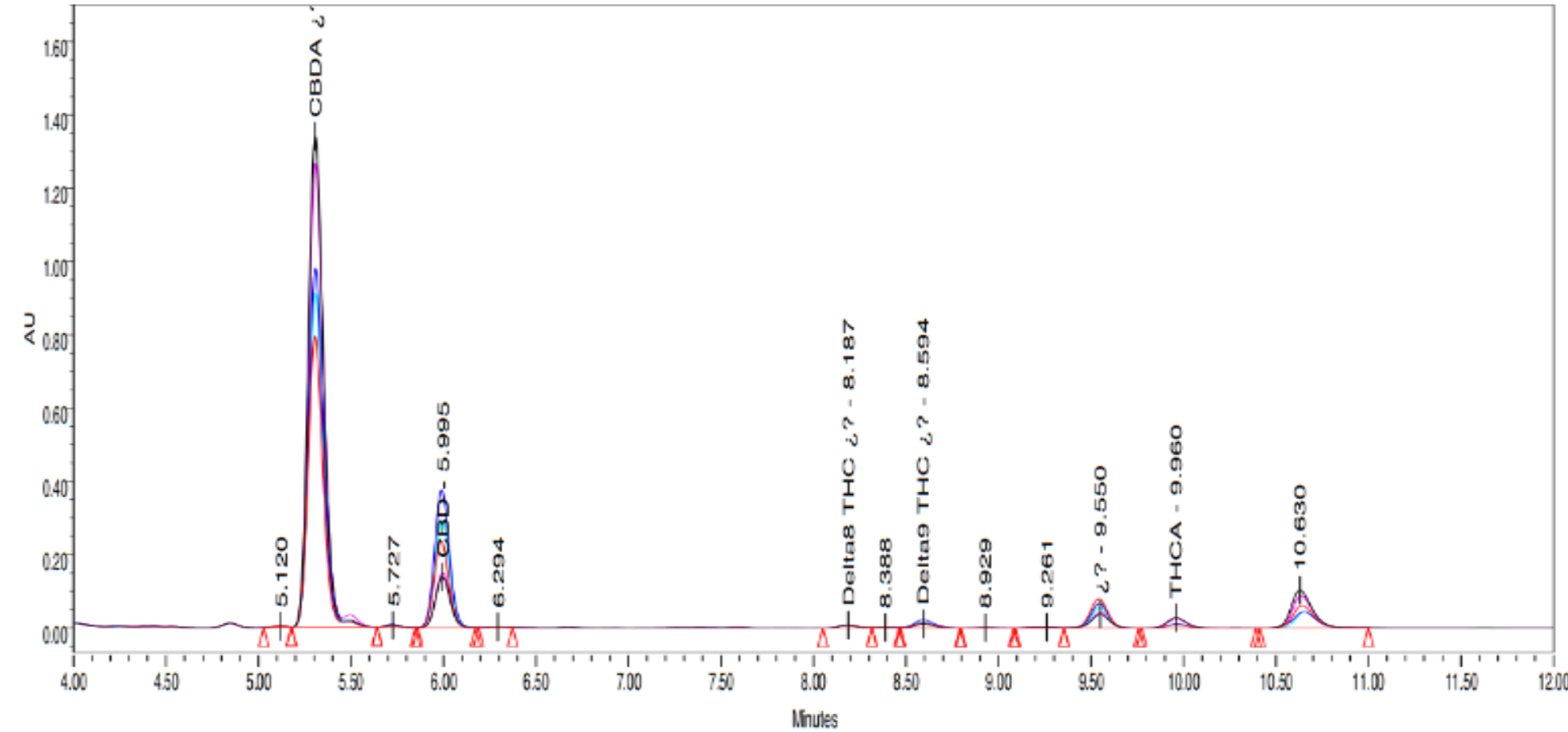


Figura 2 Cromatograma por HPLC-DAD de CBD y Δ9-THCA del ecotipo Valley Kush

CONCLUSIONES

- Se cuantificaron las concentraciones de Δ9-THCA (0.05%) y CBD (8.76%) en muestras de cáñamo del ecotipo Valley Kush utilizando el método implementado en el laboratorio del CIBE, validando su funcionalidad.
- El análisis estadístico confirmó que el método es adecuado para cuantificar Δ9-THCA y CBD, cumpliendo con normativas nacionales e internacionales y siendo aplicable para análisis rutinarios.
- La verificación frente a los parámetros de la guía de la AOAC mostró que el método cumple con los estándares internacionales, aunque la exactitud en el nivel bajo de ambos analitos fue ligeramente superior al rango aceptado, y la robustez presentó limitaciones, especialmente en el CBD.

REFERENCIAS

- Mandrioli, M., Tura, M., Scotti, S., & Toschi, T. G. (2019). Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in Cannabis sativa L. *Molecules*, 24(11). <https://doi.org/10.3390/molecules24112113>
- Vaclavik, L., Houston, D., & Mastovska, K. (2020). Modification of AOAC Official Method 2018.11 for Quantification of Cannabinoids in Plant Materials, Concentrates and Oils to Include Determination of Cannabinoids on a Dry-Weight Basis. AOAC INTERNATIONAL . Obtenido de <https://www.aoac.org/news/aoac-scientists-approve-official-method-of-analysis-for-cannabinoids-in-hemp/>