

Аналіз канабісу та його продуктів у контексті судової експертизи

Ірина Кучинська *

* Канд. фарм. наук, Український науково-дослідний інститут спеціальної техніки та судових експертиз СБУ, м. Київ, Україна, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0269-9463>, e-mail: irynakuchynska@ukr.net

DOI: 10.32353/khrife.1.2024.06 УДК 543:343.98

Надійшло 25.12.2023 / Рецензовано 05.01.2024 / Прийнято до друку 27.03.2024 / Доступно онлайн 29.03.2024



Легалізація вирощування рослин роду *Cannabis* із низьким умістом тетрагідроканабінолу й високим умістом канабідіолу набирає обертів через зростання попиту на ці продукти. У деяких країнах тестування канабісу та продуктів, що його містять, є юридичною вимогою: канабіс ідентифікують, оцінюють кількість у ньому тетрагідроканабінолу або канабідіолу та їхніх кислот-попередниць. Сучасні дослідження потребують більш чутливих і надійних аналітичних методів для точної ідентифікації та кількісного визначення компонентів канабісу. Мета цієї статті — огляд представлених у наукових джерелах останніх досягнень щодо виокремлення й аналізу канабісу та продуктів, які його містять, у контексті судової експертизи. Методи дослідження містили аналіз інформації із цієї тематики за допомогою пошукових систем, зокрема Google, Google Scholar, Web of Science, PubMed і ScienceDirect. Пошукові запити враховували наукові, аналітичні та статистичні звіти в галузі судово-експертних досліджень. Оскільки судовий експерт має добре орієнтуватися в сучасних тенденціях аналізу заборонених речовин і послуговуватися у своїй роботі останніми даними аналітичної та судово-криміналістичної літератури, така інформація допоможе їм обирати методи проведення досліджень, зважаючи на фактичні ресурси й обладнання судово-криміналістичних лабораторій. Згідно

з метою статті розглянуто переваги і недоліки наявних методів екстрагування й аналізу об'єктів, що містять канабіс, для ідентифікації, кількісного визначення, профілювання та оцінювання віку канабісу.

Ключові слова: канабіс; фітоканабіноїди; екстрагування; ідентифікація; кількісне визначення; газова хроматографія; рідинна хроматографія; метод ядерного магнітного резонансу; методи коливальної спектроскопії.

Постановка наукової проблеми

Незаконний обіг наркотичних засобів, психотропних речовин, їхніх аналогів і прекурсорів є однією з провідних соціальних проблем. Канабіс залишається найбільш поширеною забороненою для вживання речовиною. Культивування та виробництво конопель охоплює всі регіони світу, головний акцент робиться на досягненні високого вмісту тетрагідроканабінолу (далі — ТГК) у рослинах. За даними звіту Європейського центру моніторингу наркотиків та наркозалежності (англ. *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA*) за 2023 рік, у країнах Європейського Союзу в 2021 році середній уміст ТГК у трав'яному канабісі складав 9,5 %, у смолі канабісу — 20 %¹.

Регулятивні заходи щодо канабісу все частіше стикаються з новими формами та способами його використання. Сьогодні продукти канабісу представлені субстанціями з високим умістом ТГК або містять канабідіол (далі — КБД) на тлі низьких рівнів ТГК в оліях або настоянках. Ці продукти використовують для виробництва їжі (такої, як випічка, цукерки, шоколад, мармелад, картопляні чіпси, пироги, супи, напої різних

кольорів і смаків), а також в електронних цигарках і рідинах для вейпінгу. Традиційна смола канабісу все частіше зустрічається у розсипчастому вигляді, і відомі випадки, коли смолу канабісу виробляють із рослинного матеріалу з високим умістом КБД.

Збільшення кількості таких матеріалів і їхніх різноманітних характеристик потребує від судових експертів перегляду методів проведення аналізу, щоб запобігти недостовірним результатам. До того ж судові експерти (зокрема, у країнах ЄС) часто мають не тільки виявляти, а й кількісно визначати низькі рівні ТГК, диференціювати його ізомери, зокрема дельта-9-тетрагідроканабінол (далі — Δ^9 -ТГК) і дельта-8-тетрагідроканабінол (далі — Δ^8 -ТГК), а також ідентифікувати інші присутні канабіноїди. Розв'язання такої значної кількості аналітичних задач потребує надійних, відтворюваних і чутливих аналітичних методів. Водночас відсутність еталонних матеріалів Δ^9 -ТГК, його ізомерів та інших канабіноїдів стає на заваді якісним результатам судово-криміналістичних лабораторій.

Рослини роду *Cannabis* містять приблизно 500 сполук, із яких понад 144 класифікують як фітоканабіноїди (природні канабіноїди), тоді як інші

1 European Drug Report 2023: Trends and Developments. Lisbon : EMCDDA, 2023. URL: https://www.emcdda.europa.eu/index_en (дата звернення: 25.09.2023).

представлені флавоноїдами, жирними кислотами та фенолами. Серед хімічних компонентів, найвідоміших у рослинах роду *Cannabis*, виокремлюють ТГК і КБД. Через складність терпенофенольного складу рослин та досліджуваної матриці, наприклад, продуктів, які містять екстракти канабісу, їхній аналіз і кількісне оцінювання потребують використання багатоетапних протоколів підготовки зразків із подальшою валідацією кожного нового методу, який запроваджуватимуть у лабораторії.

Для України ця тема є актуальною, оскільки канабіс і товари з умістом канабісу активно просуваються на ринку рекреаційних продуктів. Швидкість поширення цих речовин (на тлі не завжди відомої їхньої психоактивності, недостатньої вивченості й відсутності контролю) надає їм статусу високої соціальної небезпеки та потребує подальших досліджень, які вже проводять у країнах ЄС.

Мета статті

Огляд представлених у наукових джерелах останніх досягнень щодо виокремлення й аналізу канабісу та продуктів, які його містять, у контексті судової експертизи. Оскільки судовий експерт має добре орієнтуватися в сучасних тенденціях аналізу заборонених речовин і послуговуватися у своїй роботі останніми даними аналітичної та судово-криміналістичної літератури, така інформація допоможе їм обирати методи проведення досліджень, зважаючи на фактичні

ресурси й обладнання судово-криміналістичних лабораторій.

Методи дослідження

Дослідження інформації за порушеною тематикою здійснено шляхом вивчення пошукових систем, зокрема *Google*, *Google Scholar*, *Web of Science*, *PubMed*, *ScienceDirect*. Пошукові запити враховували наукові, аналітичні та статистичні звіти в галузі судово-експертних досліджень.

Аналіз основних досліджень і публікацій

Аналіз спеціальної наукової літератури останніх років свідчить про активний інтерес до аналізу складної матриці рослин канабісу. Багато досліджень спрямовано на вивчення процесів екстрагування фітоканабіноїдів для подальшого аналізу. Дослідження G. Micalizzi з колегами властивостей розчинників (метанолу, етанолу, ацетону, гексану) продемонструвало, що етанол виявляє найкращі екстракційні властивості щодо канабіноїдних кислот у їхніх декарбоксильованих формах; з іншого боку, використання гексану зменшує результати екстрагування канабіноїдів ².

N. Christinat зі співавторами вивчив властивості суміші води й ацетонітрилу як екстракційних реагентів для визначення різних видів канабіноїдів у зразках конопляного масла, молока, різних напоїв і продуктів харчування ³. В інших подібних дослідженнях найбільш

- 2 Micalizzi G., Vento F., Alibrando F., Donnarumma D., Dugo P., Mondello L. *Cannabis Sativa L.: A comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization*. *Journal of Chromatography A*. 2021. Jan 25:1637:461864. DOI: [10.1016/j.chroma.2020.461864](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461864) (дата звернення: 27.09.2023).
- 3 Christinat N., Savoy M.-C., Mottier P. Development, Validation and Application of a LC-MS/MS Method for Quantification of 15 Cannabinoids in Food. *Food Chemistry*. 2020. Vol. 318. Art. 126469. DOI: [10.1016/j.foodchem.2020.126469](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126469) (дата звернення: 27.09.2023).

ефективним екстрагентом (порівняно з метанолом та ацетонітрилом) під час екстрагування фітоканабіноїдного складу насіння коноплі визнано ізопропанол⁴.

V. Brighenti з колегами порівняла екстракційні методи, їхні параметри й розчинники, досліджуючи склад канабіноїдів у квітках канабісу; найвищу ефективність для подальшого дослідження загальної кількості канабіноїдів, а також їх нейтральних і кислих форм, продемонструвала динамічна мацерація в етанолі за кімнатної температури⁵.

Досліджуючи вплив умов екстрагування на вивільнення канабіноїдів і квіток канабісу, E. M. Mudge зі співавторами довів, що ультразвукове екстрагування ефективніше за струшування, однак посилене оброблення ультразвуком протягом 15 хвилин спричиняє певну деградацію канабіноїдів⁶.

Про переваги мікрохвильового екстрагування для декарбоксильованих форм канабіноїдів зазначила D. de Vita та її колеги⁷.

L. J. Rovetto та N. V. Aieta розробили стратегію надкритичного рідинного екстрагування з пульсуючим подаванням вуглекислого газу й етанолу як співрозчинників, що збільшило швидкість екстрагування й загальний вихід канабіноїдів, зменшило витрати розчинника та час проведення аналізу; цей метод виявився корисним для екстрагування загальної кількості ТГК або КБД у нейтральних і кислих формах⁸.

M. A. ElSohly та C. Cuttler повідомляють про тенденцію до збільшення концентрації ТГК у рослинах конопель від 10–14 %⁹ до 20 %¹⁰. Кількісне оцінювання канабісу зазвичай проводять за допомогою газової хроматографії (далі — ГХ) із пламеневі-іонізаційним детектором

- 4 Chang Ch.-W., Tung Ch.-W., Tsai Ch.-Ch., Wu Yu-T., Hsu M.-Ch. Determination of Cannabinoids in Hemp Nut Products in Taiwan by HPLC-MS/MS Coupled with Chemometric Analysis: Quality Evaluation and a Pilot Human Study. *Drug Testing and Analysis*. 2017. No. 9. Pp. 888–897. DOI: [10.1002/dta.2062](https://doi.org/10.1002/dta.2062) (дата звернення: 29.09.2023).
- 5 Brighenti V., Pellati F., Steinbach M., Maran D., Benvenuti S. 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*. 2017. Vol. 143. Pp. 228–236. DOI: [10.1016/j.jpba.2017.05.049](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049) (дата звернення: 21.09.2023).
- 6 Mudge E. M., Murch S. J., Brown P. N. Leaner and Greener Analysis of Cannabinoids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2017. Vol. 409. Pp. 3153–3163. DOI: [10.1007/s00216-017-0256-3](https://doi.org/10.1007/s00216-017-0256-3) (дата звернення: 22.09.2023).
- 7 De Vita D., Madia V. N., Tudino V., Saccoliti F., De Leo A., Messori A., Roscilli P., Botto A., Pindinello I., Santilli G. et al. Comparison of Different Methods for the Extraction of Cannabinoids from Cannabis. *Natural Product Research*. 2019. Vol. 34 (20). Pp. 2952–2958. DOI: [10.1080/14786419.2019.1601194](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1601194) (дата звернення: 23.09.2023).
- 8 Rovetto L. J., Aieta N. V. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cannabinoids from *Cannabis Sativa* L. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017. Vol. 129. Pp. 16–27. DOI: [10.1016/j.supflu.2017.03.014](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.014) (дата звернення: 22.09.2023).
- 9 ElSohly M. A., Chandra S., Radwan M., Majumdar Ch. G., Church J. C. A Comprehensive Review of Cannabis Potency in the United States in the Last Decade. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*. 2021. Vol. 6. No. 6. Pp. 603–606. DOI: [10.1016/j.bpsc.2020.12.016](https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2020.12.016) (дата звернення: 22.09.2023).
- 10 Cuttler C., LaFrance E. M., Stueber A. Acute effects of high-potency cannabis flower and cannabis concentrates on everyday life memory and decision making. *Scientific Reports*. 2021. Vol. 11. No. 1. Art. 13784. DOI: [10.1038/s41598-021-93198-5](https://doi.org/10.1038/s41598-021-93198-5) (дата звернення: 24.09.2023).

(далі — ГХ-ПІД), як зауважено у праці G. R. Borges зі співавторами ¹¹.

V. Cardenia та його колеги порівняли методи ГХ-ПІД і ГХ з мас-детектором (далі — ГХ-МС), показали взаємозамінність детекторів у разі дослідження канабісу і продуктів, що його містять, і розробили метод ГХ-МС для кількісного визначення канабіноїдів, дозволених для використання в країнах Європи, на квадрупольному ГХ-МС із іонізацією електронним ударом ¹².

C. Citti зі співавторами зауважила, що метод ГХ-МС для кількісного оцінювання потребує використання дорогих дейтерованих стандартів, які не є доступними для всіх канабіноїдів ¹³. Використовувати N,O-біс(триметилсиліл)трифтороацетамід для процесу дериватизації, що відбувається під час ідентифікації фітоканабіноїдних кислот, рекомендують L. A. Ciolino та її колеги ¹⁴. G. R. Borges і його співавтори порівняли кілька хроматографічних методів

на прикладі Δ9-ТГК і визначили значну кількість Δ8-ТГК та канабінолу (далі — КБН), які є відомими продуктами розкладу Δ9-ТГК і присутні на ГХ-хроматограмах, на відміну від результатів, здобутих методами високоефективної рідинної хроматографії (далі — ВЕРХ), ядерного магнітного резонансу (далі — ЯМР) і тонкошарової хроматографії (далі — ТПХ) ¹⁵. M. M. Delgado-Povedano разом зі співавторами описав метод для проведення дослідження екстрактів рослин роду *Cannabis* із використанням квадрупольних часопрольотних мас-детекторів у поєднанні з ГХ для неполярних сполук або методу рідинної хроматографії (далі — РХ) для більш полярних канабіноїдів і їхніх кислот ¹⁶.

L. Calvi та його колеги оцінили можливість ВЕРХ із детектором *Orbitrap* для дослідження канабіноїдів у комерційних екстрактах канабісу й дослідили деградацію цих екстрактів за різних умов зберігання ¹⁷.

- 11 Borges G. R., Birk L., Scheid C., Morés L., Carasek E., Kitamura R. O. S., Roveri F. L. et al. Simple and Straightforward Analysis of Cannabinoids in Medicinal Products by Fast-GC-FID. *Forensic Toxicology*. 2020. Vol. 38. Pp. 531—535. DOI: [10.1007/s11419-020-00522-1](https://doi.org/10.1007/s11419-020-00522-1) (дата звернення: 22.09.2023).
- 12 Cardenia V., Toschi T. G., Scappini S., Rubino R. C., Rodriguez-Estrada M. T. Development and Validation of a Fast Gas Chromatography/Mass Spectrometry Method for the Determination of Cannabinoids in *Cannabis Sativa* L. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018. Vol. 26 (4). Pp. 1283—1292. DOI: [10.1016/j.jfda.2018.06.001](https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.001) (дата звернення: 25.09.2023).
- 13 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanutto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Pitfalls in the analysis of phytocannabinoids in cannabis inflorescence. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2020. Vol. 412. No. 17. Art. 4009—4022. DOI: [10.1007/s00216-020-02554-3](https://doi.org/10.1007/s00216-020-02554-3) (дата звернення: 25.09.2023).
- 14 Ciolino L. A., Ranieri T. L., Taylor A. M. Commercial cannabis consumer products part 1: GC-MS qualitative analysis of cannabis cannabinoids. *Forensic Science International*. 2018. Vol. 289. Pp. 429—437. DOI: [10.1016/j.forsciint.2018.05.032](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.05.032) (дата звернення: 24.09.2023).
- 15 Borges G. R., Birk L., Scheid C., Morés L., Carasek E., Kitamura R. O. S., Roveri F. L. et al. Op. cit. DOI: [10.1007/s11419-020-00522-1](https://doi.org/10.1007/s11419-020-00522-1) (дата звернення: 28.09.2023).
- 16 Delgado-Povedano M. M., Sánchez-Carnerero Callado C., Priego-Capote F., Ferreira-Vera C. Untargeted Characterization of Extracts from *Cannabis Sativa* L. Cultivars by Gas and Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry in High Resolution Mode. *Talanta*. 2020. Vol. 208. Art. 120384. DOI: [10.1016/j.talanta.2019.120384](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120384) (дата звернення: 27.09.2023).
- 17 Calvi L., Pentimalli D., Panzeri S., Giupponi L., Gelmini F., Beretta G., Vitali D., Bruno M., Zilio E., Pavlovic R., Giorgi A. Comprehensive Quality Evaluation of Medical *Cannabis Sativa* L. Inflorescence and Macerated Oils Based on HS-SPME Coupled to GC-MS and LC-HRMS (q-exactive Orbitrap®) Approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018. Vol. 150. Pp. 208—219. DOI: [10.1016/j.jpba.2017.11.073](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.073) (дата звернення: 28.09.2023).

N. Christinat зі співавторами тестував різноманітні їстівні продукти, які продають на теренах ЄС, на наявність і кількісний уміст канабіноїдів за допомогою ультраефективної рідинної хроматографії з гібридною потрійною квадрупольно-лінійною іонною пасткою. Дослідження довели, що концентрація КБД у молоці корів, яких годували коноплями, досягає 10 мг/кг. У своїх дослідженнях автори також зазначили про перевищення допустимих рівнів токсичності й концентрації ТГК у деяких продуктах, що містять екстракт канабісу¹⁸.

G. R. Borges із колегами розробив швидкий (5 хв) метод високоефективної рідинної хроматографії в поєднанні з діодним детектором для кількісного визначення ТГК без утрати роздільної здатності основних канабіноїдів¹⁹.

Застосування методу рідинної хроматографії з ультрафіолетовим детектуванням для класифікації зразків канабісу з метою розрізнення їх на рекреаційні й волокнисті запропонувала М. Mandrioli зі співавторами²⁰.

М. Deville та її колеги зауважили про існування значущої метаболічної різниці

між рослинами, вирощеними в приміщенні та на відкритому повітрі: вирощені на відкритому повітрі сорти мали значно вищі концентрації ТГК, КБД і КБН²¹.

G. Stefkov і співавтори дослідили фітоканабіноїди з рослин роду *Cannabis* із використанням УФ-детектування²². Водночас колектив італійських дослідників оприлюднив повідомлення про труднощі спільного елюювання піків канабіноїдів і їхню низьку чутливість до УФ-випромінювання, що ускладнює кількісне оцінювання ТГК і КБД упродовж одного аналітичного циклу²³.

C. Duchateau з колегами описала труднощі ідентифікації та розрізнення законних і незаконних (легальних і нелегальних) суцвіть канабісу, із якими стикаються правоохоронні органи на місцях (поза лабораторіями), та розробила інноваційний підхід до класифікації зразків канабісу (відповідно до європейських і швейцарських законів) із застосуванням стаціонарного й портативного аналізаторів ближнього інфрачервоного (далі — БІЧ) спектру і хеометричних методів із визначенням концентрації ТГК на ГХ-ПІД²⁴.

18 Christinat N., Savoy M.-C., Mottier P. Op. cit. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126469 (дата звернення: 27.09.2023).

19 Borges G. R., Birk L., Scheid C., Morés L., Carasek E., Kitamura R. O. S., Roveri F. L. et al. Op. cit. DOI: 10.1007/s11419-020-00522-1 (дата звернення: 28.09.2023).

20 Mandrioli M., Tura M., Scotti S., Toschi T. G. Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in *Cannabis sativa* L. *Molecules*. 2019. Is. 24. No. 11. Art. 2113. DOI: 10.3390/molecules24112113 (дата звернення: 10.10.2023).

21 Deville M., Dubois N., Denooz R., Charlier C. Validation of an UHPLC/DAD Method for the Determination of Cannabinoids in Seized Materials: Analysis of 213 Samples Sold in Belgian CBD shops. *Forensic Science International*. 2020. Vol. 310. Art. 110234. DOI: 10.1016/j.forsci-int.2020.110234 (дата звернення: 06.10.2023).

22 Stefkov G., Cvetkovikj Karanfilova I., Stoilkovska Gjorgievska V., Trajkovska A., Geskovski N., Karapandzova M., Kulevanova S. Analytical Techniques for Phytocannabinoid Profiling of Cannabis and Cannabis-Based Products — A Comprehensive Review. *Molecules*. 2022. Vol. 27. Is. 3. Art. 975. DOI: 10.3390/molecules27030975 (дата звернення: 11.10.2023).

23 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanotto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-020-02554-3 (дата звернення: 07.10.2023).

24 Duchateau C., Kauffmann J.-M., Canfyn M., Stévigny C., De Braekeleer K., Deconinck E. Discrimination of legal and illegal *Cannabis* spp. according to European legislation using near infrared spectroscopy and chemometrics. *Drug Testing and Analysis*. 2020. Vol. 12. No. 9. Pp. 1309–1319. DOI: 10.1002/dta.2865 (дата звернення: 12.10.2023).

Про отримання прийнятних прогностичних результатів в оцінюванні концентрації канабіноідів за допомогою БІЧ і БІЧ із Фур'є-перетворенням та використанням математичних і статистичних моделей повідомили С. *Sánchez-Carnerero Callado* зі співавторами: на їхню думку, цей аналітичний метод спрощує оцінювання кількісного вмісту канабіноідів у рослинах роду *Cannabis* порівняно із традиційним методом ГХ²⁵.

Л. *Sanchez* і його колеги використали раманівську спектроскопію для дослідження конопель із високим умістом КБД, досягнувши 100 %-ї точності завдяки використанню хеометричних методів²⁶.

Ж. А. *de Leite* та її колеги зауважували про труднощі виокремлення кана-

біноідів зі складної рослинної матриці з використанням методу ЯМР: для виокремлення й очищення зразків вони застосовували препаративну рідинну хроматографію високого тиску²⁷.

С. *Citti*²⁸, Г. *Stefkov*²⁹ і Ж. А. *de Leite*³⁰ у своїх роботах описали використання методу ЯМР для якісного й кількісного дослідження компонентів канабісу.

Хеометричний аналіз для оцінювання віку трав'яного канабісу застосовувала К. С. *Mariotti* зі співавторами³¹. Для диференціювання волокнистого та рекреаційного типу канабісу методами хеометрики послуговувались Г. Р. *Borges* та його колеги³².

А. *Slosse* обробляв хеометричними методами дані під час профілювання канабісу³³.

- 25 Sánchez-Carnerero Callado C., Núñez-Sánchez N., Casano S., Ferreira-Vera C. The potential of near infrared spectroscopy to estimate the content of cannabinoids in *Cannabis sativa* L.: A comparative study. *Talanta*. 2018. Vol. 90. No. 1. Pp. 147–157. DOI: [10.1016/j.talanta.2018.07.085](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.07.085) (дата звернення: 11.10.2023).
- 26 Sanchez L., Filter C., Baltensperger D., Kurouski D. Confirmatory non-invasive and non-destructive differentiation between hemp and cannabis using a hand-held Raman spectrometer. *Royal Society of Chemistry Advances*. 2020. Vol. 10. Is. 6. Pp. 3212–3216. DOI: [10.1039/C9RA08225E](https://doi.org/10.1039/C9RA08225E) (дата звернення: 11.10.2023).
- 27 De Leite J. A., de Oliveira M. V. L., Conti R., de S. Borges W., Rosa Th. R., Filgueiras P. R., Lacerda Jr. V., Romão W., Neto Á. C. Extraction and isolation of cannabinoids from marijuana seizures and characterization by 1H NMR allied to chemometric tools. *Science & Justice*. 2018. Vol. 58. Is. 5. Pp. 355–365. DOI: [10.1016/j.scijus.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.06.005) (дата звернення: 01.10.2023).
- 28 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanutto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: [10.1007/s00216-020-02554-3](https://doi.org/10.1007/s00216-020-02554-3) (дата звернення: 07.10.2023).
- 29 Stefkov G., Cvetkovikj Karanfilova I., Stoilkovska Gjorgievska V., Trajkovska A., Geskovski N., Karapandzova M., Kulevanova S. Op. cit. DOI: [10.3390/molecules27030975](https://doi.org/10.3390/molecules27030975) (дата звернення: 11.10.2023).
- 30 De Leite J. A., de Oliveira M. V. L., Conti R., de S. Borges W., Rosa Th. R., Filgueiras P. R., Lacerda Jr. V., Romão W., Neto Á. C. Op. cit. DOI: [10.1016/j.scijus.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.06.005) (дата звернення: 12.10.2023).
- 31 Mariotti K. C., Marcelo M. C. A., Ortiz R. S., Borille B. T., dos Reis M., Fett M. S., Ferrão M. F., Limberger R. P. Seized Cannabis Seeds Cultivated in Greenhouse: A Chemical Study by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Chemometric Analysis. *Science & Justice*. 2016. Vol. 56. Pp. 35–41. DOI: [10.1016/j.scijus.2015.09.002](https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.09.002) (дата звернення: 10.10.2023).
- 32 Borges G. R., Birk L., Scheid C., Morés L., Carasek E., Kitamura R. O. S., Roveri F. L. et al. Op. cit. DOI: [10.1007/s11419-020-00522-1](https://doi.org/10.1007/s11419-020-00522-1) (дата звернення: 28.09.2023).
- 33 Slosse A., Van Durme F., Samyn N., Mangelings D., Vander Heyden Yv. Gas Chromatographic Fingerprint Analysis for the Comparison of Seized Cannabis Samples. *Molecules*. 2021. Vol. 26. Is. 21. Art. 6643. DOI: [10.3390/molecules26216643](https://doi.org/10.3390/molecules26216643) (дата звернення: 10.10.2023).

Викладення основного матеріалу дослідження

Розроблення аналітичних методів для ідентифікації та кількісного визначення канабіноїдів у різних матрицях є особливим завданням. У природі ТГК зустрічається в рослинах роду *Cannabis*, його вважають основним психоактивним компонентом канабісу. Термін «тетрагідроканабінол» охоплює всі стереохімічні варіанти, якщо не зазначено інше. Для судово-криміналістичних досліджень важливими є такі компоненти канабісу: тетрагідроканабінолова кислота (далі — ТГКК), КБН, КБД, канабігерол, канабіварин, канабіхромен (далі — КБХ).

ТГК, КБД і КБХ є основними фітоканабіноїдними компонентами канабісу. У свіжій біомасі приблизно 95 % цих компонентів існують у вигляді вихідних сполук: ТГКК, канабідіолової кислоти (далі — КБДК) і канабіхроменової кислоти. Усі вони утворюються внаслідок ферментативного каталізу канабігеролової кислоти. Відповідні ТГК, КБД і КБХ утворюються шляхом декарбоксілювання під впливом світла й тепла.

Декарбоксілювання рідко добігає кінця, тож обидві форми залишаються присутніми в матриці. КБН є продуктом неприродного розкладу ТГК, тому під час оброблення канабісу та продуктів, які його містять, необхідно враховувати чинники, які впливають на стабільність канабіноїдів і наслідки умов зберігання зразків, лабораторного аналізу й інтерпретації результатів (такі, як декарбоксілювання ТГКК, окислення ТГК до КБН, КБД — в ізомери ТГК, ізомеризація Δ9-ТГК у Δ8-ТГК).

Декарбоксілювання ТГКК з утворенням ТГК відбувається під час збирання та сушіння конопель, нагрівання зразка,

наприклад, під час паління, хімічних досліджень і під впливом світла. В аналогічних умовах ТГК також може самостійно перетворитися на КБН. Тому правильне зберігання зразків і продуктів, що містять коноплі, а також вибір відповідних методів їх хімічного аналізу мають вирішальне значення.

Важливим чинником для визначення загального вмісту ТГК також є стабільність канабіноїдів у досліджуваному об'єкті. На основі вмісту ТГК і КБН можна визначити вік конкретного зразка конопель, тому порівняльний аналіз зазвичай є недоцільним за три місяці після вилучення матеріалу.

Смола канабісу зазвичай має форму великих щільних блоків, ступінь декарбоксілювання та деградації канабіноїдів, отже, і профілі канабіноїдів різняться в різних частинах таких блоків через різний вплив світла й тепла (під час зберігання смола канабісу також чутлива до впливу тепла та світла).

КБН і Δ8-ТГК останнім часом привертають усе більше уваги: Δ8-ТГК, який є вторинним компонентом, що зустрічається у природі в рослинах роду *Cannabis*, виявлено як основний компонент у рідинних засобах для вейпінгу, жувальних цукерках і настоянках.

Окрім Δ8-ТГК, у рідинах для вейпінгу виявлено такі ізомери ТГК, як дельта-6a- і дельта-10a-тетрагідроканабінол³⁴.

Для проведення рутинного аналізу (ідентифікації та кількісного оцінювання) зразків канабісу та продуктів, що його містять, важливо використовувати репрезентативний матеріал. Загальні аспекти репрезентативного відбору зразків наркотичних речовин для проведення аналізу представлено в «Посібнику з репрезентативного відбору зразків наркотиків» і «Посібнику з відбору

³⁴ European Drug Report 2023 ... URL: https://www.emcdda.europa.eu/index_en (дата звернення: 25.09.2023).

зразків незаконних наркотиків для кількісного аналізу» Робочої групи з наркотиків Європейської мережі інститутів судової експертизи (англ. *The European Network of Forensic Science Institutes, ENFSI*).

Для зберігання рослинної сировини важливо дотримувати найкращих умов, зокрема темного місця за температури -20°C , оскільки на цьому етапі ТГК все ще чутливий до повітря й ультрафіолету (світла), яке може спричинити окислення ТГК до КБН. Свіжий рослинний матеріал слід зберігати в паперових пакетах, оскільки полімерне пакування може спровокувати розклад і появу плісняви через високий вміст вологи.

Зразки необхідно висушити. Існують різні підходи до сушіння рослин роду *Cannabis*, наприклад, за температури нижче 70°C до постійної ваги та вмістом вологи від 8 % до 13 %³⁵, або за 40°C у печі протягом 12 годин³⁶. Висушений матеріал має неоднорідний склад: його слід подрібнити. Подрібнення сприяє вивільненню маслянистої смоли, що містить канабіноїди, терпени й інші вторинні метаболіти рослин, збільшує поверхню та підвищує ефективність екстрагування³⁷.

Гомогенізація рослинного канабісу не є обов'язковою для якісного аналізу

хроматографічними методами в разі використання частин рослин із найвищими рівнями ТГК. Сушіння смоли канабісу також не є необхідним. Утім, зважаючи на природу матриці, процес подрібнення ускладнюється, і заморожування зразків може полегшити подрібнення за допомогою ступки й товкача³⁸.

Об'єкти у вигляді продуктів харчування, напоїв або добавок перед аналітичним тестуванням потребують підготовки до проведення конкретного аналітичного методу. Для дослідження рідких зразків, що містять канабіноїди, їх змішують з обраним розчинником, гомогенізують і (за потреби) декарбоксілюють³⁹. Такий спосіб підготовки проб є простим і зрозумілим, але може призвести до перевантаження аналізатора й недостовірних результатів.

Процедура екстрагування є важливим етапом підготовки зразків, що містять канабіс. Вилучення зразків має бути простим, селективним і відтворюваним⁴⁰. Залежно від ліпофільності екстрагованих компонентів канабісу, використовують розчинники від полярних до неполярних⁴¹. Неполярні розчинники (гексан, петролейний ефір) добре екстрагують нейтральні, але погано —

35 Recommended methods for the identification and analysis of Cannabis and Cannabis products / United Nations Office on Drugs and Crime. March 2022. 82 p. URL: <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-cannabis-and-cannabis-products.html> (дата звернення: 13.10.2023).

36 Slosse A., Van Durme F., Samyn N., Mangelings D., Vander Heyden Yv. Op. cit. DOI: 10.3390/molecules26216643 (дата звернення: 10.10.2023).

37 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zannotto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-020-02554-3 (дата звернення: 12.10.2023).

38 Recommended methods for the identification and analysis ... URL: <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-cannabis-and-cannabis-products.html> (дата звернення: 13.10.2023).

39 Borges G. R., Birk L., Scheid C., Morés L., Carasek E., Kitamura R. O. S., Roveri F. L. et al. Op. cit. DOI: 10.1007/s11419-020-00522-1 (дата звернення: 13.10.2023).

40 Micalizzi G., Vento F., Alibrando F., Donnarumma D., Dugo P., Mondello L. Op. cit. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461864 (дата звернення: 13.10.2023).

41 Rovetto L. J., Aieta N. V. Op. cit. DOI: 10.1016/j.supflu.2017.03.014 (дата звернення: 13.10.2023).

кислі канабіноїди (наприклад, ТГКК). Отже, отримані в такий спосіб екстракти не задовольняють вимогам кількісного аналізу ТГКК або суми ТГК і ТГКК. Для екстрагування кислих канабіноїдів використовують полярні розчинники (ізопропіловий спирт, етанол, метанол, суміші метанолу з хлороформом та ацетонітрилом)⁴².

Поширеними методами є рідинно-рідинне екстрагування, яке застосовують для витягання біоактивних речовин з олій або інших рідин, що містять КБД, і твердо-рідинне екстрагування, коли до рослинного матеріалу додають органічний розчинник⁴³.

Окрім типу розчинника, на загальний вихід канабіноїдів впливають кількість послідовних екстрагувань, розмір частинок і температура. Екстрагування за підвищених температур спричиняє декарбоксилювання канабіноїдних кислот до нейтральних сполук, що спотворює результати для кожного присутнього канабіноїда, тому рекомендовано застосовувати методи екстрагування з використанням ультразвуку, мікрохвильового випромінювання, рідинне екстрагування під тиском і надкритичне рідинне екстрагування⁴⁴.

Вибір відповідного методу для дослідження канабісу та продуктів, що його містять, залежить від мети аналізу, характеристик об'єктів та аналітичних вимог (якісні і/або кількісні дані, визначення низьких рівнів Δ9-ТГК, диферен-

ціювання ізомерів Δ9-ТГК, виявлення інших канабіноїдів, присутніх у зразку).

Методом тонкошарової хроматографії часто послуговуються для початкового якісного скринінгу канабіноїдів: це простий і доступний метод для попереднього відбору на наявність кислих та нейтральних канабіноїдів.

Швидким методом із відмінними розділними властивостями є ГХ, яку використовують для аналізу канабіноїдів у рослинних матеріалах і біологічних матрицях. Утім, через термолабільність кислих форм фітоканабіноїдів цей метод не працює для ідентифікації канабіноїдних кислот (ТГКК і КБДК), оскільки у високотемпературному інжекторі газового хроматографа відбувається їхнє декарбоксилювання.

За відсутності конкретних юридичних вимог усталеною практикою є визначення загального вмісту ТГК, оскільки це найкраще відображає фармакологічну активність матеріалу, але навіть у цьому разі підвищена температура може призвести до розкладання ТГК (до КБН). Для не призначених для куріння продуктів із вмістом ТГК, ТГК і ТГКК слід ідентифікувати й кількісно визначати окремо. ТГК, як і канабіс, на відміну від ТГКК, підлягає міжнародному контролю. Висновки щодо загального вмісту ТГК є загальною практикою у разі, якщо матеріал призначений для паління, оскільки цей процес перетворює ТГКК на ТГК. У досліджуваних

42 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanotto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-020-02554-3 (дата звернення: 13.10.2023).

43 Deidda R., Dispas A., De Bleye Ch., Hubert Ph., Ziemons É. Critical review on recent trends in cannabinoid determination on cannabis herbal samples: From chromatographic to vibrational spectroscopic techniques. *Analytica Chimica Acta*. 2021. May 29:1209:339184. DOI: 10.1016/j.aca.2021.339184 (дата звернення: 10.10.2023) ; Valizadehderakhshan M., Shahbazi A., Kazem-Rostami M., Todd M. S., Bhowmik A., Wang L. Extraction of Cannabinoids from *Cannabis sativa* L. (Hemp) — Review. *Agriculture*. 2021. Vol. 11. Is. 5. Art. 384. DOI: 10.3390/agriculture11050384 (дата звернення: 11.10.2023).

44 Delgado-Povedano M. M., Sánchez-Carnerero Callado C., Priego-Capote F., Ferreira-Vera C. Op. cit. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120384 (дата звернення: 09.10.2023).

матеріалах, що не піддаються нагріванню під час використання, ТГКК не перетворюється на ТГК (наприклад, у харчових продуктах), тому їх слід ідентифікувати й описувати окремо.

Із метою збереження кислотної структури й оцінювання окремо всіх компонентів канабісу, перед початком досліджень проводять дериватизацію, що сприяє отриманню більш докладного профілю канабіноїдів (хоча ця процедура подовжує підготовку проб і підвищує вартість аналізу). Також можуть виникати труднощі з досягненням повної дериватизації, що призведе до неточних результатів через імовірність термічної деградації канабіноїдів в інжекторних порту та колонці.

Незважаючи на зазначені вище проблеми, метод ГХ залишається корисним для аналізу канабіноїдів. Найпоширенішими детекторами для аналізу канабіноїдів на ГХ є мас-спектрометричний (далі — МС) і полум'яно-іонізаційний детектори (далі — ПІД). Золотим стандартом ідентифікації є метод ГХ-МС, у якому застосовано електронну іонізацію, що забезпечує високий рівень фрагментації сполук разом із використанням комерційних та власних бібліотек для кваліфікації продуктів канабісу⁴⁵. У ГХ-ПІД такої можливості немає, оскільки ідентифікація речовин залежить від часу утримання, а для ідентифікації компонентів використовують еталонні стандарти. Водночас ГХ-ПІД пропонує простий і доволі економічний метод виявлення з високою роздільною здатністю й більш широким лінійним дина-

мічним діапазоном, що забезпечує точне кількісне визначення канабіноїдів⁴⁶.

Для точної ідентифікації та кількісного визначення найбільш поширених канабіноїдів (Δ9-ТГК, Δ8-ТГК, КБД, КБХ, канабіциклолу і їхніх кислотних попередників, які мають однакову молекулярну масу й ідентичні масові фрагменти) під час тестування з використанням мас-спектрометричних детекторів необхідно ретельно вибирати початковий метод хроматографічного розділення в поєднанні з чутливими методами виявлення.

Рідинна хроматографія — це передовий метод розділення складних зразків канабіноїдів. Основні застосовувані для цього методи — це ВЕРХ та ультраефективна РХ.

Переваги РХ порівняно з ГХ: скорочення часу розділення та можливість аналізувати всі канабіноїди безпосередньо, включно із кислотними попередниками, оминаючи процес дериватизації. Використання цього методу не супроводжується нагріванням зразків, тому не відбувається декарбоксилування природних кислот. Це забезпечує збереження автентичного складу й дає змогу виявити кислоти та їхні відповідні нейтральні форми, що сприяє отриманню більш повного профілю⁴⁷.

У поєднанні з ВЕРХ для кількісного визначення канабіноїдів у складних екстрактах рослин роду *Cannabis* часто використовують детектори на діодній матриці й УФ-детектори — прості та доволі недорогі методи, які дають точні результати. Детектори на діодній

45 Slosse A., Van Durme F., Samyn N., Mangelings D., Vander Heyden Yv. Op. cit. DOI: [10.3390/molecules26216643](https://doi.org/10.3390/molecules26216643) (дата звернення: 09.10.2023).

46 Stefkov G., Cvetkovikj Karanfilova I., Stoilkovska Gjorgievska V., Trajkovska A., Geskovski N., Karapandzova M., Kulevanova S. Op. cit. DOI: [10.3390/molecules27030975](https://doi.org/10.3390/molecules27030975) (дата звернення: 12.10.2023).

47 Micalizzi G., Vento F., Alibrando F., Donnarumma D., Dugo P., Mondello L. Op. cit. DOI: [10.1016/j.chroma.2020.461864](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461864) (дата звернення: 11.10.2023).

матриці мають перевагу: одночасно вимірюють широкий діапазон довжин хвиль (порівняно з УФ-скануванням, де використовують одну фіксовану довжину хвилі на цикл). Оприлюднені аналітичні методи ВЕРХ цілком ⁴⁸ або частково ⁴⁹ валідовані для різних матриць ⁵⁰ і відповідають вимогам міжнародного стандарту ISO/IEC 17025 ⁵¹, яким обумовлено загальні вимоги до випробувальних і калібрувальних лабораторій. Утім, автори зауважують різні значення рівнів виявлення, кількісного аналізу, лінійної області та повторюваності через властивості матриці, приладу й конструкції детекторів.

Відсутність селективності детекторів на діодній матриці під час аналізування складних матриць екстрактів канабіноїдів, коли інші сполуки, що поглинають канабіноїди на довжині хвилі виявлення, можуть одночасно елюювати з тим самим часом утримання та спотворювати аналітичні результати, спонукала наукову спільноту дослідити більш чутливі та специфічні МС-детектори.

РХ-МС є переважним методом аналізу канабіноїдів із використанням режимів іонізації (іонізації електро-розпиленням або хімічної іонізації за атмосферного тиску). Канабіноїди

можна досліджувати в будь-якому типі мас-детектора, оскільки вони містять іонізовані гідроксильні й карбоксильні групи. Більшість цих мас-детекторів і їхніх комбінованих систем успішно використовують для визначення канабіноїдів у рослинному матеріалі канабісу ⁵².

Часопрольотний мас-детектор (окремо або в комбінації з квадрупоєм) використовують для ідентифікації та кількісного визначення канабіноїдних сполук у складних рослинних сумішах і матрицях: таких, як харчові продукти, що містять канабіс (наприклад, шоколад з канабісом) ⁵³.

Оскільки відношення маси до заряду канабіноїдів і характер фрагментації подібні, фахівці використовують подвійний підхід до їхнього кількісного визначення — хроматографічне розділення з використанням діодного детектора в поєднанні із квадрупольним кількісним аналізом. Також у дослідженнях можна використовувати два окремі РХ-МС-прилади з метою ефективної ідентифікації та кількісного визначення всіх канабіноїдів у їхніх екстрактах.

Мас-детектор з потрійним квадрупоєм особливо корисний для кількісного визначення сполук із дуже низькою концентрацією канабіноїдів (наприклад,

48 Mudge E. M., Murch S. J., Brown P. N. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-017-0256-3 (дата звернення: 13.10.2023).

49 Brighenti V., Pellati F., Steinbach M., Maran D., Benvenuti S. Op. cit. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.05.049 (дата звернення: 13.10.2023).

50 Deville M., Dubois N., Denooz R., Charlier C. Op. cit. DOI: 10.1016/j.forsciint.2020.110234 (дата звернення: 13.10.2023).

51 ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT) : затв. наказ. ДП «УкрНДНЦ» від 23.12.2019 р. № 483 [Чинний з 01.01.2021]. URL: https://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=88724 (дата звернення: 12.10.2023).

52 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanotto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-020-02554-3 (дата звернення: 12.10.2023).

53 McRae G., Melanson J. E. Quantitative Determination and Validation of 17 Cannabinoids in Cannabis and Hemp Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2020. Vol. 412. No. 27. Pp. 7381–7393. DOI: 10.1007/s00216-020-02862-8 (дата звернення: 12.10.2023).

екстрактів насіння конопель і рідин людського організму) у режимі позитивної іонізації⁵⁴.

Мас-детектори з іонною пасткою (такі, як *Orbitrap*), часто об'єднують із квадрупольним мас-детектором, утворюючи *QTrap*. Детектори цього типу проводять багатоетапний мас-спектроскопічний аналіз із високим розділенням і селективністю. Мас-детектори типу *Orbitrap*, як і *PX* із потрійно квадрупольним мас-спектрометром (англ. *LC-QqQ*), використовують для дослідження продуктів із низьким умістом канабіноїдів (харчових продуктів і напоїв)⁵⁵.

Для задоволення високого попиту на аналіз канабісу та продуктів, що його містять, сьогодні розробляють спеціальні аналітичні інструменти для тестування таких зразків. Наприклад, уже доступний аналізатор *VERX* від компанії *Shimadzu*, призначений винятково для кількісного визначення вмісту канабіноїдів, який постачають із колонкою, рухомою фазою та стандартним матеріалом і який не потребує розроблення туромісткого методу.

Метод високороздільної мас-спектрометрії із прямим аналізом у реальному часі (англ. *DART-HRMS*) використовують для скринінгу продуктів, що містять канабіс (наприклад, листя, стебла, коріння, порошки, настоянки, капсули й інші рослинні продукти) із судово-криміналістичною метою. Цей метод дає змогу швидко виявляти необ-

хідну субстанцію у складних матрицях без попереднього оброблення проб⁵⁶.

Метод ЯМР є потужним інструментом для аналізу хімічних сполук, включно з канабіноїдами. У судово-криміналістичних лабораторіях метод ЯМР використовують для ідентифікації та кількісного визначення канабіноїдів у зразках наркотичних засобів і психотропних речовин. ЯМР ґрунтується на реакції ядер з магнітним полем та вимірює випромінювання електромагнітних сигналів, які надають інформацію про структуру й кількість речовин у зразку. Дериватизація є необхідним етапом дослідження деяких зразків для отримання достовірних результатів аналізу, особливо для канабідіолових кислот, які набувають нейтральної форми під час декарбоксілювання. Пряме вимірювання можливе для олій канабісу. Одна з головних переваг методу ЯМР — його застосування не передбачає використання стандартних зразків для калібрування. Цей метод дає змогу швидко й надійно визначати склад складних сумішей, вимірюючи взаємодії ядер із магнітним полем, що особливо важливо для дослідження складних речовин, які містять багато різних сполук і в яких складно визначити стандартні концентрації кожної окремої складової.

Останніми роками методи коливальної спектроскопії, зокрема інфрачервоної та раманівської, активно використовують для аналізування трави

54 Chang Ch.-W., Tung Ch.-W., Tsai Ch.-Ch., Wu Yu-T., Hsu M.-Ch. Op. cit. DOI: [10.1002/dta.2062](https://doi.org/10.1002/dta.2062) (дата звернення: 29.09.2023).

55 Aizpurua-Olaizola O., Omar J., Navarro P., Olivares M., Etzebarria N., Usobiaga A. Identification and Quantification of Cannabinoids in *Cannabis Sativa* L. Plants by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406. Pp. 7549–7560. DOI: [10.1007/s00216-014-8177-x](https://doi.org/10.1007/s00216-014-8177-x) (дата звернення: 11.10.2023).

56 Appley M. G., Chambers M. I., Musah R. A. Quantification of Hordenine in a Complex Plant Matrix by Direct Analysis in Real Time-High-Resolution Mass Spectrometry: Application to the “Plant of Concern” *Sceletium Tortuosum*. *Drug Testing and Analysis*. 2021. Vol. 14. Is. 4. Pp. 604–612. DOI: [10.1002/dta.3193](https://doi.org/10.1002/dta.3193) (дата звернення: 07.10.2023).

канабісу. Метод БІЧ вважають найбільш поширеним у спектральному діапазоні інфрачервоної спектроскопії. Основними перевагами цих методів є зручність використання, швидкість вимірювань, а також неінвазивний і неруйнівний аналіз рослинного матеріалу без потреби у попередньому обробленні зразка⁵⁷.

Наявність портативних пристроїв дає змогу проводити тестування поза лабораторією⁵⁸. Незважаючи на зазначені переваги, варто зауважити низьку чутливість цього методу порівняно з РХ і ГХ. Інтерпретація таких спектрів потребує багатовимірного аналізу отриманих даних через значну кількість інформації⁵⁹. Також варто відзначити, що на результати раманівської спектроскопії можуть впливати молекули, які спричиняють флуоресценцію (наприклад, хло-рофіл)⁶⁰.

Аналітичні методи надають великий і складний обсяг даних, який потребує багатовимірного аналізу для отримання необхідної інформації. Ці дані можна опрацювати з метою вибрати оптимальні процедури вимірювання, дослідити закономірності або передбачити певні властивості. Для отримання максимально цінної інформації використовують методи хеометрики. Останнім часом для оброблення складних матриць (як у випадку із *Cannabis*) вико-

ристовують хеометричні інструменти, які дають змогу здобувати необхідну інформацію із даних вибірки⁶¹.

Зважаючи на те, що результати, надані судово-криміналістичними лабораторіями, є складовою розслідування правоохоронних органів і їх можуть використовувати як докази в суді, важливо забезпечувати надійні та відтворювані дані. Для підтвердження технічної компетентності судово-криміналістичних лабораторій слід послуговуватися акредитованими методами ISO/IEC 17025. Головним параметром є вимірювальна невизначеність, особливо за кількісного визначення Δ9-ТГК та інших заборонених до використання канабіноїдів для перевірки їхньої законності (0,08 % — максимально допустима норма ТГК у рослинній сировині в Україні). Слід пам'ятати про цей параметр, оскільки він відображає дисперсію результатів і має значний вплив на інтерпретацію результатів відповідно до чинного законодавства. Без урахування цього параметра існує ризик неправильної інтерпретації та неправомірного судового переслідування⁶².

Аналітичні стандарти є наріжною складовою кількісного аналізу канабіноїдів. Сьогодні існує кілька виробників і дистриб'юторів однокомпонентних та багатоконпонентних аналітичних

57 Deidda R., Dispas A., De Bleye Ch., Hubert Ph., Ziemons É. Op. cit. DOI: 10.1016/j.aca.2021.339184 (дата звернення: 12.10.2023).

58 Sanchez L., Filter C., Baltensperger D., Kourouski D. Op. cit. DOI: 10.1039/C9RA08225E (дата звернення: 11.10.2023).

59 Citti C., Russo F., Sgrò S., Gallo A., Zanotto A., Forni F., Vandelli M. A., Laganà A., Montone C. M., Gigli G., Cannazza G. Op. cit. DOI: 10.1007/s00216-020-02554-3 (дата звернення: 12.10.2023).

60 Deidda R., Dispas A., De Bleye Ch., Hubert Ph., Ziemons É. Op. cit. DOI: 10.1016/j.aca.2021.339184 (дата звернення: 07.10.2023).

61 Duchateau C., Kauffmann J.-M., Canfyn M., Stévigny C., De Braekeleer K., Deconinck E. Op. cit. Pp. 1309—1319. DOI: 10.1002/dta.2865 (дата звернення: 13.10.2023).

62 Sgrò S., Lavezzi B., Caprari C., Polito M., D'Elia M., Lago G., Furlan G., Girotti S., Ferri E. N. Delta9-THC Determination by the EU Official Method: Evaluation of Measurement Uncertainty and Compliance Assessment of Hemp Samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2021. Vol. 413. No. 13. Pp. 3399—3410. DOI: 10.1007/s00216-021-03283-x (дата звернення: 13.10.2023).

стандартів канабіноїдів: *Sayman*, *Cerilliant*, *Accu Standard*, *Merck*, *Restek* (США), *LGC Standards*, *Reagecon Diagnostics* (ЄС). Найбільш доступним є аналітичний стандарт, який містить 10 різних сполук канабіноїдів. Утім, для отримання стандартного матеріалу експерти мають зважати на законодавство, яке регулює придбання та імпорт таких матеріалів.

Морфологічні й хіміко-аналітичні методи дослідження канабісу та продуктів, що його містять, зазвичай є достатніми для його ідентифікації. Однак у ситуаціях, коли зразок не має виразних морфологічних ознак рослинного матеріалу канабісу або містить низький рівень ТГК (наприклад, якщо це сильно фрагментований матеріал, молоді саджанці, насіння, коріння або голі гілки), ідентифікація канабісу на основі аналізу ДНК є більш ефективною та результативною за ідентифікацію на рівні виду⁶³.

Висновки

Проведена на високому професійному рівні судова експертиза наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів відіграє важливу роль для системи судочинства зокрема та суспільства загалом. Більшість поточних досліджень спрямовано на три або чотири основні канабіноїди та їхні кислоти-попередниці. Із розширенням знань про інші канабіноїди, імовірно, зростатиме попит і на їхні дослідження як добавки до багатьох товарів споживання, що зумовлює потребу розробити протоколи ідентифікації та методи кількісного визначення.

Існує принаймні від 16 до 20 різних канабіноїдів, що потребують негайного

розроблення процедур їхнього екстрагування й аналізування через те, що інтерес до них як до продуктів для споживання зростає день у день.

Викладений огляд методів аналізу об'єктів, що містять канабіс, свідчить, що для правильного розділення й ідентифікації фітоканабіноїдів із рослинної матриці і/або матриці їстівних або інших продуктів, отриманих із канабісу, різноманітні хроматографічні методи пропонують різні можливості з позицій меж виявлення, лінійності, відтворюваності та специфічності. Вони залежать від параметрів конкретного приладу (типу детектора, наявності іонізації, можливостей програмного забезпечення для збирання й аналізування даних). Отже, для вибору найбільш доцільного аналітичного методу важливо застосовувати зважений підхід, який має ґрунтуватися на обсязі аналізу й аналітичних можливостях конкретної лабораторії.

Під час розроблення процедур проведення аналізу варто зважати також на умови зберігання та вплив різних чинників на склад об'єктів, що містять канабіс, а також на аналітичні стандарти дослідження. Це особливо важливо, оскільки за своєю природою канабіноїди можуть розкладатися або перетворюватися один на інший під впливом світла, тепла або окислення.

Із розвитком аналізу екстрактів канабіноїдів важливо узгодити стандартизовані методи досліджень, що сприятиме гармонізації методів тестування й узгодженню аналітичних результатів.

Хемометрика стає важливим і потужним інструментом судової експертизи, особливо в разі потреби профілювати канабіс або під час роботи з даними

63 CBOI Plant Working Group, Hollingsworth P. M., Forrest L. L., Little D. P. A DNA Barcode for Land Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 2009. Vol. 106. Is. 31. Pp. 12794–12797. DOI: [10.1073/pnas.0905845106](https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106) (дата звернення: 10.10.2023).

спектроскопічних методів, де зазвичай використовують багатовимірний аналіз даних.

Незважаючи на доволі складні сучасні підходи до процедур дослідження канабісу та продуктів, що його містять, вони можуть не знадобитися для рутинних досліджень. Вибір методу аналізу й розв'язання питання про необхідність застосувати додаткові методи залишається на розсуд експерта й залежить від наявності відповідного лабораторного обладнання та юридичних особливостей.

Наведений перелік методів дослідження канабісу та продуктів, що його містять, не є вичерпним. У межах однієї статті неможливо охопити всі аналітичні методи дослідження рослинного матеріалу та продуктів на його основі, застосовувані під час судово-експертних досліджень,— ми зробили акцент лише на провідних.

Analysis of Cannabis and its Products in the Context Forensic Science

Iryna Kuchynska

Legalization of low-tetrahydrocannabinol-high-cannabidiol cannabis plants is gaining momentum due to growing demand for these products. In some countries, the testing of cannabis and products containing it is a legal requirement: cannabis is identified, the amount of tetrahydrocannabinol or cannabidiol and their precursor acids is assessed. Current research requires more sensitive and reliable analytical methods for accurate identification and quantification of cannabis components. This article purpose is to review the latest advances in the scientific literature on the isolation and analysis of cannabis and cannabis-containing products in the context of forensic science. Research methods included analysis of information on this topic using search engines, including Google, Google Scholar, Web of Science, PubMed, and ScienceDirect. Search requests

took into account scientific, analytical and statistical reports in the field of forensic research. Since the forensic expert must be well-versed in modern trends in the analysis of prohibited substances and use the latest data from the analytical and forensic literature in his work, such information will help them choose research methods, taking into account the actual resources and equipment of forensic laboratories. According to the article purpose, advantages and disadvantages of existing methods of extraction and analysis of objects containing cannabis for identification, quantification, profiling and age estimation of cannabis are considered.

Keywords: *cannabis; phytocannabinoids; extraction; identification; quantitative definition; gas chromatography; liquid chromatography; nuclear magnetic resonance method; methods of vibrational spectroscopy.*

Фінансування

Це дослідження не отримало жодного спеціального гранту від фінансових установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

Відмова від відповідальності

Засновники не грали жодної ролі у розробленні дослідження, добиранні й аналізуванні даних, рішенні про публікацію або підготовку рукопису.

Учасники

Авторка зробила свій внесок винятково в інтелектуальну дискусію, що є основою цього документа, дослідження судової практики, написання та редагування, і бере на себе відповідальність за її зміст і тлумачення.

Декларація щодо конфлікту інтересів

Авторка заявляє, що у неї відсутній конфлікт інтересів.

References

- Aizpurua-Olaizola, O., Omar, J., Navarro, P., Olivares, M., Etxebarria, N., Usobiaga, A. (2014). Identification and Quantification of Cannabinoids in Cannabis Sativa L. Plants by High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical and*

- Bioanalytical Chemistry*. Vol. 406. DOI: [10.1007/s00216-014-8177-x](https://doi.org/10.1007/s00216-014-8177-x).
- Appley, M. G., Chambers, M. I., Musah, R. A. (2021). Quantification of Hordenine in a Complex Plant Matrix by Direct Analysis in Real Time-High-Resolution Mass Spectrometry: Application to the "Plant of Concern" *Sceletium Tortuosum*. *Drug Testing and Analysis*. Vol. 14. Is. 4. DOI: [10.1002/dta.3193](https://doi.org/10.1002/dta.3193).
- Borges, G. R., Birk, L., Scheid, C., Morés, L., Carasek, E., Kitamura, R. O. S., Roveri, F. L. et al. (2020). Simple and Straightforward Analysis of Cannabinoids in Medicinal Products by Fast-GC-FID. *Forensic Toxicology*. Vol. 38. DOI: [10.1007/s11419-020-00522-1](https://doi.org/10.1007/s11419-020-00522-1).
- Brighenti, V., Pellati, F., Steinbach, M., Maran, D., Benvenuti, S. (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*. Vol. 143. DOI: [10.1016/j.jpba.2017.05.049](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.049).
- Calvi, L., Pentimalli, D., Panseri, S., Giupponi, L., Gelmini, F., Beretta, G., Vitali, D., Bruno, M., Zilio, E., Pavlovic, R., Giorgi, A. (2018). Comprehensive Quality Evaluation of Medical Cannabis Sativa L. Inflorescence and Macerated Oils Based on HS-SPME Coupled to GC-MS and LC-HRMS (q-exactive Orbitrap®) Approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol. 150. DOI: [10.1016/j.jpba.2017.11.073](https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.073).
- Cardenia, V., Toschi, T. G., Scappini, S., Rubino, R. C., Rodriguez-Estrada, M. T. (2018). Development and Validation of a Fast Gas Chromatography/Mass Spectrometry Method for the Determination of Cannabinoids in Cannabis Sativa L. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol. 26 (4). DOI: [10.1016/j.jfda.2018.06.001](https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.001).
- CBOL Plant Working Group, Hollingsworth, P. M., Forrest, L. L., Little, D. P. (2009). A DNA Barcode for Land Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. Vol. 106. Is. 31. DOI: [10.1073/pnas.0905845106](https://doi.org/10.1073/pnas.0905845106).
- Chang, Ch.-W., Tung, Ch.-W., Tsai, Ch.-Ch., Wu, Yu-T., Hsu, M.-Ch. (2017). Determination of Cannabinoids in Hemp Nut Products in Taiwan by HPLC-MS/MS Coupled with Chemometric Analysis: Quality Evaluation and a Pilot Human Study. *Drug Testing and Analysis*. No. 9. DOI: [10.1002/dta.2062](https://doi.org/10.1002/dta.2062).
- Christinat, N., Savoy, M.-C., Mottier, P. (2020). Development, Validation and Application of a LC-MS/MS Method for Quantification of 15 Cannabinoids in Food. *Food Chemistry*. Vol. 318. Art. 126469. DOI: [10.1016/j.foodchem.2020.126469](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126469).
- Ciolino, L. A., Ranieri, T. L., Taylor, A. M. (2018). Commercial cannabis consumer products part 1: GC-MS qualitative analysis of cannabis cannabinoids. *Forensic Science International*. Vol. 289. DOI: [10.1016/j.forsciint.2018.05.032](https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2018.05.032).
- Citti, C., Russo, F., Sgrò, S., Gallo, A., Zanutto, A., Forni, F., Vandelli, M. A., Laganà, A., Montone, C. M., Gigli, G., Cannazza, G. (2020). Pitfalls in the analysis of phytocannabinoids in cannabis inflorescence. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 412. No. 17. Art. 4009–4022. DOI: [10.1007/s00216-020-02554-3](https://doi.org/10.1007/s00216-020-02554-3).
- Cuttler, C., LaFrance, E. M., Stueber, A. (2021). Acute effects of high-potency cannabis flower and cannabis concentrates on everyday life memory and decision making. *Scientific Reports*. Vol. 11. No. 1. Art. 13784. DOI: [10.1038/s41598-021-93198-5](https://doi.org/10.1038/s41598-021-93198-5).
- De Leite, J. A., de Oliveira, M. V. L., Conti, R., de S. Borges, W., Rosa, Th. R., Filgueiras, P. R., Lacerda, Jr. V., Romão, W., Neto, Á. C. (2018). Extraction and isolation of cannabinoids from marijuana seizures and characterization by 1H NMR allied to chemometric tools. *Science & Justice*. Vol. 58. Is. 5. DOI: [10.1016/j.scijus.2018.06.005](https://doi.org/10.1016/j.scijus.2018.06.005).
- De Vita, D., Madia, V. N., Tudino, V., Saccoliti, F., De Leo, A., Messoro, A., Roscilli, P., Botto, A., Pindinello, I., Santilli, G. et al. (2019). Comparison of Different Methods for the Extraction of Cannabinoids from Cannabis. *Natural Product Research*. Vol. 34 (20). DOI: [10.1080/14786419.2019.1601194](https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1601194).
- Deidda, R., Dispas, A., De Bleye, Ch., Hubert, Ph., Ziemons, É. (2021). Critical review on recent trends in cannabinoid determination on cannabis herbal samples: From chromatographic to vibrational

- spectroscopic techniques. *Analytica Chimica Acta*. May 29:1209:339184. DOI: 10.1016/j.aca.2021.339184.
- Delgado-Povedano, M. M., Sánchez-Carnerero Callado, C., Priego-Capote, F., Ferreiro-Vera, C. (2020). Untargeted Characterization of Extracts from Cannabis Sativa L. Cultivars by Gas and Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry in High Resolution Mode. *Talanta*. Vol. 208. Art. 120384. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120384.
- Deville, M., Dubois, N., Denooz, R., Charlier, C. (2020). Validation of an UHPLC/DAD Method for the Determination of Cannabinoids in Seized Materials: Analysis of 213 Samples Sold in Belgian CBD shops. *Forensic Science International*. Vol. 310. Art. 110234. DOI: 10.1016/j.forsciint.2020.110234.
- Duchateau, C., Kauffmann, J.-M., Canfyn, M., Stévigny, C., De Braekeleer, K., Deconinck, E. (2020). Discrimination of legal and illegal Cannabis spp. according to European legislation using near infrared spectroscopy and chemometrics. *Drug Testing and Analysis*. Vol. 12. No. 9. DOI: 10.1002/dta.2865.
- ElSohly, M. A., Chandra, S., Radwan, M., Majumdar, Ch. G., Church, J. C. (2021). A Comprehensive Review of Cannabis Potency in the United States in the Last Decade. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*. Vol. 6. No. 6. DOI: 10.1016/j.bpsc.2020.12.016.
- European Drug Report 2023: Trends and Developments (2023). Lisbon : EMCDDA. URL: https://www.emcdda.europa.eu/index_en.
- 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*. Is. 24. No. 11. Art. 2113. DOI: 10.3390/molecules24112113.
- Mariotti, K. C., Marcelo, M. C. A., Ortiz, R. S., Borille, B. T., dos Reis, M., Fett, M. S., Ferrão, M. F., Limberger, R. P. (2016). Seized Cannabis Seeds Cultivated in Greenhouse: A Chemical Study by Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Chemometric Analysis. *Science & Justice*. Vol. 56. DOI: 10.1016/j.scijus.2015.09.002.
- McRae, G., Melanson, J. E. (2020). Quantitative Determination and Validation of 17 Cannabinoids in Cannabis and Hemp Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 412. No. 27. DOI: 10.1007/s00216-020-02862-8.
- Micalizzi, G., Vento, F., Alibrando, F., Donnaruma, D., Dugo, P., Mondello, L. (2021). Cannabis Sativa L.: A comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization. *Journal of Chromatography A*. Jan 25:1637:461864. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461864.
- Mudge, E. M., Murch, S. J., Brown, P. N. (2017). Leaner and Greener Analysis of Cannabinoids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 409. DOI: 10.1007/s00216-017-0256-3.
- Recommended methods for the identification and analysis of Cannabis and Cannabis products (2022) / United Nations Office on Drugs and Crime. March 2022. URL: <https://www.unodc.org/unodc/en/scientists/recommended-methods-for-the-identification-and-analysis-of-cannabis-and-cannabis-products.html>.
- Rovetto, L. J., Aieta, N. V. (2017). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa L. *The Journal of Supercritical Fluids*. Vol. 129. DOI: 10.1016/j.supflu.2017.03.014.
- Sanchez, L., Filter, C., Baltensperger, D., Kourouski, D. (2020). Confirmatory non-invasive and non-destructive differentiation between hemp and cannabis using a handheld Raman spectrometer. *Royal Society of Chemistry Advances*. Vol. 10. Is. 6. DOI: 10.1039/C9RA08225E.
- Sánchez-Carnerero Callado, C., Núñez-Sánchez, N., Casano, S., Ferreiro-Vera, C. (2018). The potential of near infrared spectroscopy to estimate the content of cannabinoids in Cannabis sativa L.: A comparative study. *Talanta*. Vol. 90. No. 1. DOI: 10.1016/j.talanta.2018.07.085.
- Sgrò, S., Lavezzi, B., Caprari, C., Polito, M., D'Elia, M., Lago, G., Furlan, G., Girotti, S., Ferri, E. N. (2021). Delta9-THC Determination by the EU Official Method: Evaluation of

- Measurement Uncertainty and Compliance Assessment of Hemp Samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Vol. 413. No. 13. DOI: [10.1007/s00216-021-03283-x](https://doi.org/10.1007/s00216-021-03283-x).
- Slosse, A., Van Durme, F., Samyn, N., Mangelings, D., Vander Heyden, Yv. (2021). Gas Chromatographic Fingerprint Analysis for the Comparison of Seized Cannabis Samples. *Molecules*. Vol. 26. Is. 21. Art. 6643. DOI: [10.3390/molecules26216643](https://doi.org/10.3390/molecules26216643).
- Stefkov, G., Cvetkovikj Karanfilova, I., Stoilkovska Gjorgievska, V., Trajkovska, A., Geskovski, N., Karapandzova, M., Kulevanova, S. (2022). Analytical Techniques for Phytocannabinoid Profiling of Cannabis and Cannabis-Based Products — A Comprehensive Review. *Molecules*. Vol. 27. Is. 3. Art. 975. DOI: [10.3390/molecules27030975](https://doi.org/10.3390/molecules27030975).
- Valizadehderakhshan, M., Shahbazi, A., Kazem-Rostami, M., Todd, M. S., Bhowmik, A., Wang, L. (2021). Extraction of Cannabinoids from Cannabis sativa L. (Hemp) — Review. *Agriculture*. Vol. 11. Is. 5. Art. 384. DOI: [10.3390/agriculture11050384](https://doi.org/10.3390/agriculture11050384).
- Кучинська, І. (2024). Аналіз канабісу та його продуктів у контексті судової експертизи. *Теорія та практика судової експертизи і криміналістики*. Вип. 1 (34). С. 92—110. DOI: [10.32353/khrife.1.2024.06](https://doi.org/10.32353/khrife.1.2024.06).