

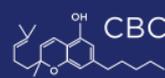
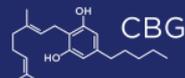
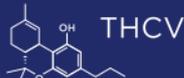
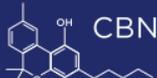
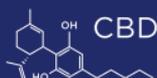
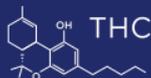


ALPHA-CAT®

THE RECOGNIZED STANDARD

TEST DI ANALISI DEI CANNABINOIDI

Manuale del Protocollo di Laboratorio



<http://www.alpha-cat.org/wp-content/uploads/2017/05/Protocol-Manual.pdf>

© Copyright 2017 ALPHA-CAT™ laboratory protocol manual.

INDICE:

PRECAUZIONI E NOTE DI SICUREZZA	1
INTRODUZIONE AD ALPHA-CAT	3
COMPONENTI C.A.T. INCLUSI NELLA CONFEZIONE	4
GLOSSARIO	6
TEST DI POTENZA	7
PROFILAZIONE DEL CHEMIOTIPO	8
PREPARAZIONE PER IL TEST	9
1. ESTRAZIONE	10
2. POSIZIONAMENTO DEL CAMPIONE	11
3. RISCALDAMENTO IN FORNO	12
4. SVILUPPO	13
5. RIVELAZIONE	14
6. UPLOAD	15
CALCOLO PER FATTORE X	16
RIGHELLO PERCENTUALI CANNABINOIDI	17
COME USARE IL RIGHELLO	18
INFORMAZIONI SULLA PROFILAZIONE DEL CHEMIOTIPO	19

PRECAUZIONI:

1. Non Inalare, bere o ingerire nessuno dei componenti del kit
2. Non lasciare incustoditi i componenti chimici.
3. Indossare sempre guanti di nitrile quando maneggiate prodotti chimici.
4. Eseguire il test solo in luoghi ben ventilati o sotto una cappa di aspirazione.
5. Procurarsi alcuni fogli di carta assorbente in caso di cadute accidentali del solvente.
6. Se il solvente viene versato accidentalmente porre la carta assorbente sul liquido versato ed uscire immediatamente dal locale permettendo la completa ventilazione fino a quando non se ne avverte più l'odore.
7. Dopo l'apertura della confezione tenere il reagente colorante refrigerato a 5° per evitare la degradazione dovuta a luce e calore.
8. Conservare il fluido per test in un luogo fresco e buio. Se lasciato in luogo caldo il fluido può venire danneggiato e sarà necessario smaltirlo in modo idoneo.
9. Tenere le lastrine di vetro in un luogo asciutto, lontano da umidità a temperatura ambiente.

PRECAUZIONI:

Questo kit contiene due componenti chimici che devono essere maneggiati con cautela. Quando si utilizzano sostanze chimiche bisogna sempre indossare i guanti di nitrile. Sono anche raccomandati degli **occhiali protettivi** e una **mascherina** quando si utilizzano prodotti chimici. Questi prodotti hanno una scadenza. Si raccomanda di usare il kit entro un anno dalla data di produzione che si trova sul fondo della confezione.

Raccomandazioni

Tenere tutti i componenti del kit lontano da bambini e animali. Il fluido di test è soggetto ad evaporazione; assicurarsi di chiudere bene immediatamente dopo l'uso.

Smaltimento dei componenti chimici

Per smaltire ogni componente utilizzato, inutilizzato o materiali che sono stati contaminati dai componenti chimici contenuti nel kit si prega di seguire le procedure locali per lo smaltimento di sostanze pericolose in modo rispettoso per l'ambiente.

PRESENTAZIONE DI ALPHA-CAT

L'ALPHA-CAT (Cannabinoid Analysis Test) è parte di un'opera di collaborazione internazionale per fornire supporto scientifico a tutti i produttori e alle persone attive nella comunità cannabica.

La Nostra Missione

ALPHA-CAT è impegnata nell'avanzamento e normalizzazione della cannabis per uso terapeutico per creare un metodo standardizzato di dosaggio per i pazienti e per educare l'utilizzatore finale sui composti contenenti cannabinodi naturali.

Nostro metodo

Il test kit Alpha-Cat utilizza il metodo chiamato High Performance Thin Layer Chromatography con l'obiettivo di analizzare i cannabinoidi presenti in campioni di cannabis o dei suoi prodotti derivati. Il metodo è stato validato scientificamente dall'Università di Leiden in Olanda rispettando le linee guida ICH per fornire risultati veloci e accurati. Il test kit ALPHA-CAT fornisce percentuali quantitative di CBD, CBN, THC, THCV, CBG and CBC). Analizza anche la forma acida come THCA, CBDA che permettono di ottenere informazioni sulla qualità di conservazione ed età del campione. Serve solo un campione di 100mg per fornire risultati in meno di 45 minuti, potendo analizzare diversi campioni simultaneamente. È un kit portatile che può essere portato dovunque per testare infiorescenze, estratti e concentrati solidi e liquidi, rivelando dati necessari per titolare i dosaggi nell'etichettatura dei prodotti.

Il Nostro obiettivo

Fornire strumenti a pazienti, medici e coltivatori. Per avere un'analisi comprensiva di riferimento che permette di capire il rapporto tra il profilo di cannabinoidi del campione e il suo effetto su chi lo usa.

COMPONENTI C.A.T. INCLUSI:

CONTENUTO MINI KIT:

CONTENUTO REGULAR KIT:

Pipette (2ml)



x2
x5



x9
x42

Tubi Capillari



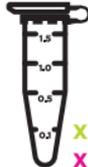
x1
(15ml)
x2
(30ml)

Solvente



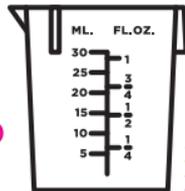
Bulbo per Pipette

x1
x1



x8
x40

Provette Eppendorf



x1
x1

Caraffa (30ml)



x2
x10

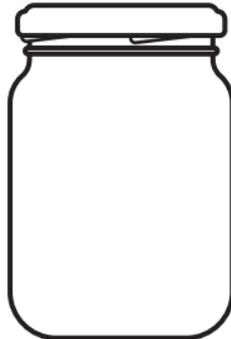
Reagente



Lastre test TLC

x2
x10

Barattolo di sviluppo



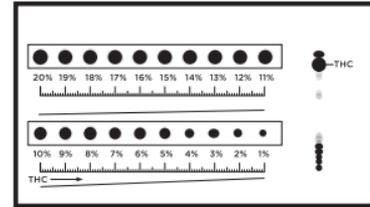
x1
x1

Guanti in nitrile

x4
x20



Righello percentuali di THC & CBD x2 x2



Vassoio di immersione x1 x1



LEGGERE ATTENTAMENTE L'INTERO MANUALE DI ISTRUZIONI PRIMA DI PROCEDERE CON IL PRIMO TEST

Video tutorial:

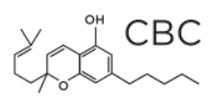
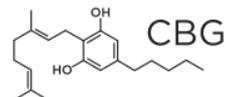
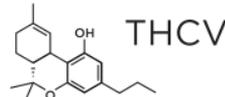
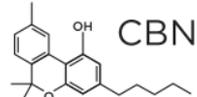
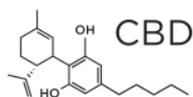
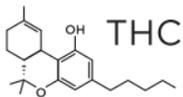
www.alpha-cat.org/wp-content/uploads/2017/05/Protocol-Manual.pdf

Video tutorial: <https://vimeo.com/203071844>

o cerca direttamente su youtube : “ Alpha-Cat Cannabinoid Analysis Test Kit Demo Video”

rigelli per misurare le percentuali di cannabinoidi sono inclusi nel test kit Alpha-Cat. Questi rigelli vi permettono di determinare facilmente le percentuali di cannabinoidi così come i rapporti tra cannabinoidi nel vostro campione.

ANALIZZA PER CONOSCERE COSA C'È NELLA TUA MEDICINA!



GLOSSARIO

Cannabinoidi: i componenti farmacologicamente attivi naturalmente presenti nella cannabis.

Cannabis: pianta che produce cannabinoidi nelle foglie e nei fiori.

Matrice cannabinoide: qualunque materiale contenente cannabinoidi.

Impronta grezza: I punti di origine non sono scaldati; il risultato dopo lo sviluppo della piastrina è un'impronta naturale. I cannabinoidi in forma acida e neutra verranno rivelati. Misura la freschezza del campione.

Hashish: Prodotto dai tricomi essiccati di infiorescenze di cannabis.

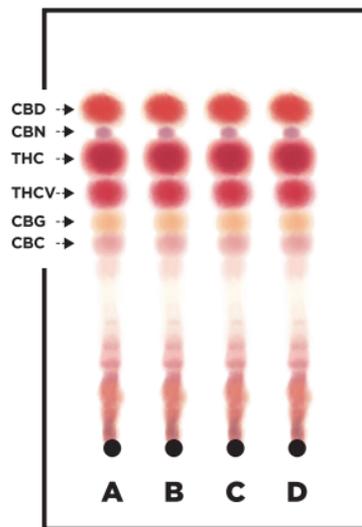
Canapa: Varietà di cannabis coltivata per la fibra con livelli minimi di THC. Un tipo di cannabis non psicoattivo

Impronta calda: Prima dello sviluppo delle piastre TLC i punti di origine sono scaldati per 1 minuto (in forno) in modo da trasformare gli acidi cannabinoidi nella loro forma neutra.

Origine: Punto di applicazione del fluido di estrazione. Il posto sulla piastra TLC dove 1 o 2ul di fluidodi estrazione viene applicatocon un tubo capillare.

6 **Tricoma:** Piccola appendice che ricopre foglia e fiore di cannabis. I tricomi di cannabis (peli ghiandolari) sono formati da una testa bulbosa che secerne resina: una sacca che ricorda una sfera di cristallo si forma durante la fioritura, i tricomi producono i cannabinoidi.

TEST DELLA POTENZA



PISTA 1

posizione di
origine A

Campione 1

1 μ l impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Moltiplicare per
2 il risultato
ottenuto
con il righello di
misurazione dei
cannabinoidi.

PISTA 2

posizione di
origine B

Campione 2

1 μ l impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Moltiplicare per
2 il risultato
ottenuto
con il righello di
misurazione dei
cannabinoidi.

PISTA 3

posizione di
origine C

Campione 3

1 μ l impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Moltiplicare per
2 il risultato
ottenuto
con il righello di
misurazione dei
cannabinoidi.

PISTA 4

posizione di
origine D

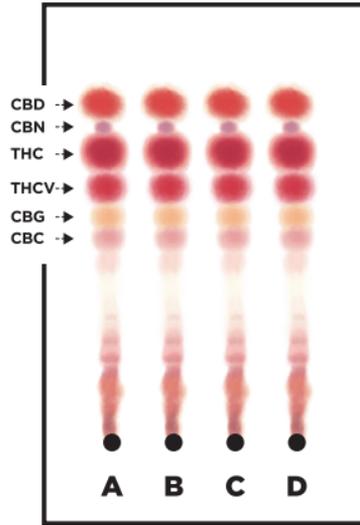
Campione 4

1 μ l impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Moltiplicare per
2 il risultato
ottenuto
con il righello di
misurazione dei
cannabinoidi.

PROFILAZIONE DEL CHEMIOTIPO



PISTA 1

posizione di
origine A

Campione 1

4µl impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Dividere per 2 il
risultato ottenuto
con il righello di
misurazione dei
cannabinoidi

PISTA 2

posizione di
origine B

Campione 1

2µl impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Risultato finale
ottenuto con il
righello di
misurazione dei
cannabinoidi

PISTA 3

posizione di
origine C

Campione 1

1µl impronta
calda

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Moltiplicare per 2
il risultato
ottenuto con il
righello di
misurazione dei
cannabinoidi

PISTA 4

posizione di
origine D

Campione 1

2µl impronta
grezza

CBD, CBN, THC,
THCV, CBG,
CBC%

Risultato finale
ottenuto con il
righello di
misurazione
deicannabinoidi

PREPARATIVI PER IL TEST

Prima di procedere con il test assicuratevi di identificare e familiarizzare con tutti i componenti del test kit e di prepararli per il loro uso corretto durante il processo. Eseguire questo test in un locale ben ventilato o sotto una cappa con filtri a carbone. Indossare sempre i guanti in vinile.

1. Assicurarvi che gli strumenti di misura, le pipette e le provette siano a portata di mano.
2. Assicurarvi che i prodotti chimici siano facilmente raggiungibili.
3. Disporre le lastre TLC necessarie. Con la pratica nell'esecuzione del test l'operatore può effettuare fino a 4 test simultaneamente.
4. Disporre il barattolo di sviluppo. Serve un barattolo di sviluppo per ogni lastra TLC utilizzata.
5. Disporre una bilancia e un timer
6. Leggere questo manuale tutte le volte necessarie per ben chiari tutte le procedure e i metodi prima di iniziare il test.

Di seguito i componenti di cui disporre:



Timer



bilancia con scala
0.001g to 0.01g



scanner 600dpi



carta assorbente



un locale ventilato ideale
una cappa con filtro a carbone



Campioni di cannabinoidi in
varie forme

IMPORTANTE: L'immagine si sbiadisce col passare del tempo e questo succede più velocemente se esposto a luce diretta. Una scannerizzazione della piastra dovrebbe essere fatta non appena la piastra si asciuga dopo la colorazione (15 minuti).

1. ESTRAZIONE

1.

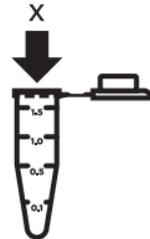


indossare i guanti

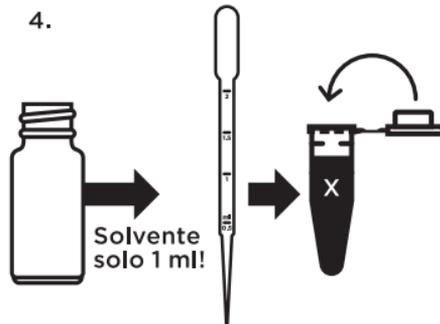
2.



3. CAMPIONE X



4.



Solvente solo 1 ml!

5.



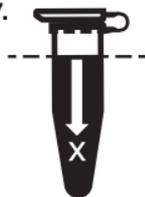
Scuotere 10 secondi

6.



Solvente

7.



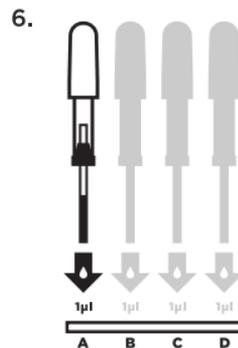
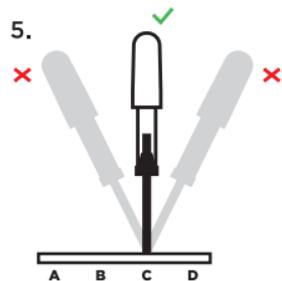
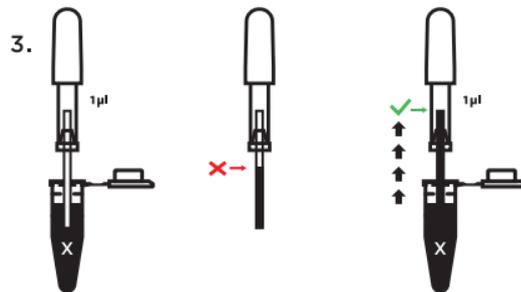
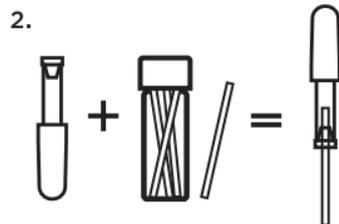
Sommergere il campione

8.



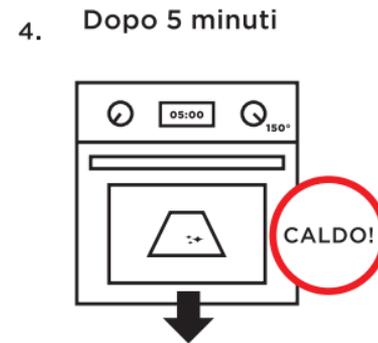
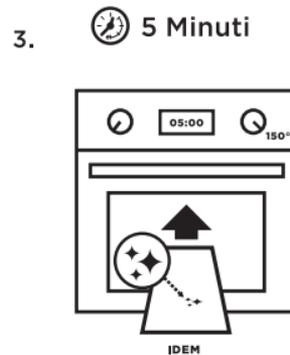
2 Minuti

2. POSIZIONAMENTO DEI CAMPIONI

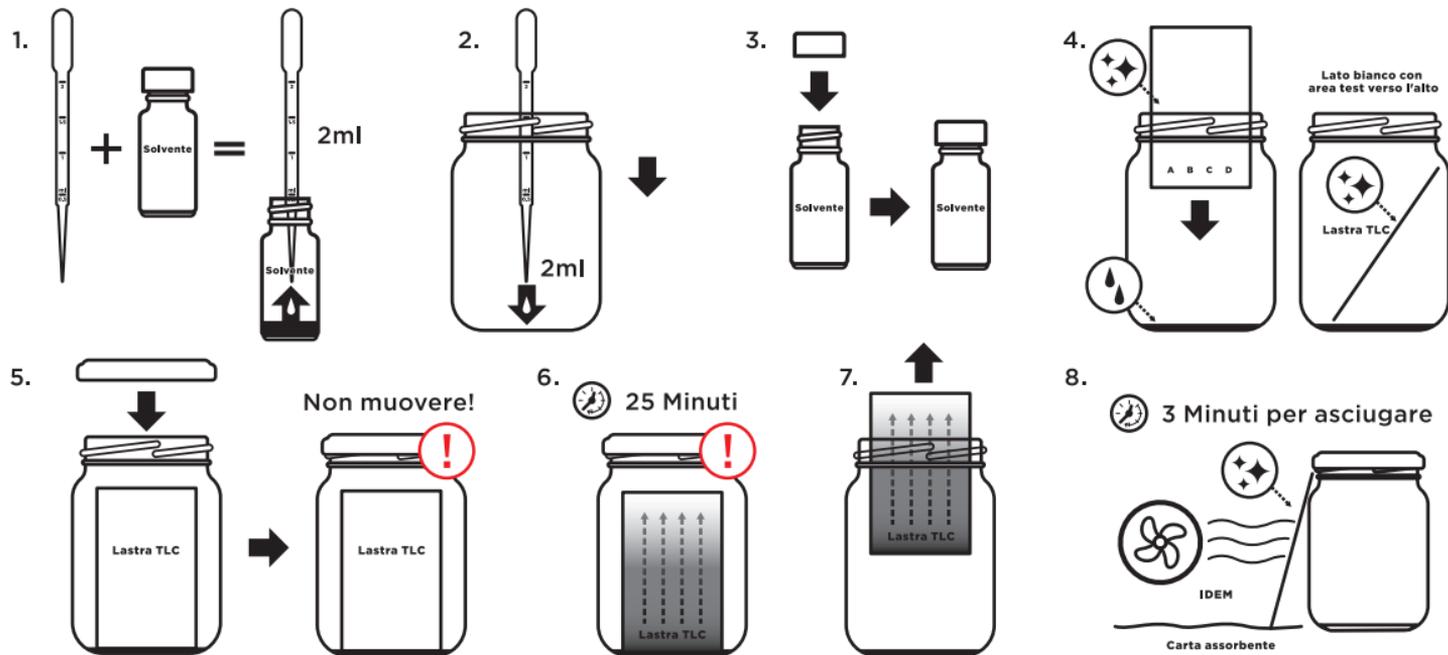


Lasciare asciugare 30 secondi

3. RISCALDAMENTO IN FORNO



4. SVILUPPO



RILEVAZIONE

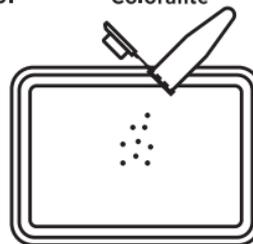


Indossare iguanti

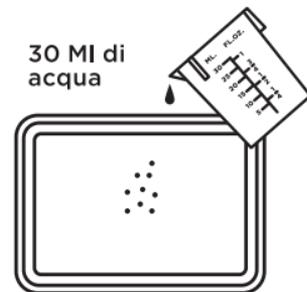
2. Preparare l'area di asciugatura



3. Colorante



4. 30 MI di acqua

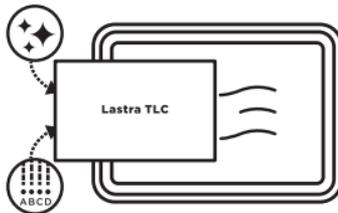


5.

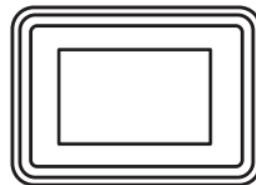


Miscelare

6. Lato bianco con area test verso il basso



7.  Solo un secondo!



8.  Lasciare asciugare 8-15 minuti



6. REGISTRARE I RISULTATI

9.



10.



Acquisire immagine

CALCOLARE IL FATTORE DI MOLTIPLICAZIONE

Fattore di Moltiplicazione = $(100\text{mg} \times 2 \mu\text{l}) / (\text{peso del campione (mg)} \times \text{solvente di estrazione } (\mu\text{l}))$

Campioni di estratti concentrati (alta concentrazione di THC)

In caso di campioni di estratti dai quali ci si aspetta concentrazioni dal 40% al 100% di THC, si userà un campione di 40 mg con 1ul di fluido di estrazione con l'apposito tubo capillare, usando il seguente Fattore di Moltiplicazione: $(100 \times 2) / (40 \times 1) = 5$ (fattore di moltiplicazione).

Quindi dopo la lettura della % di cannabinoidi sulla lastra con il righello, calcolare con il fattore di moltiplicazione la vera percentuale, per esempio quando si legge 13% di THC con il righello si dovrà moltiplicare per 5 che darà come risultato 65% di THC.

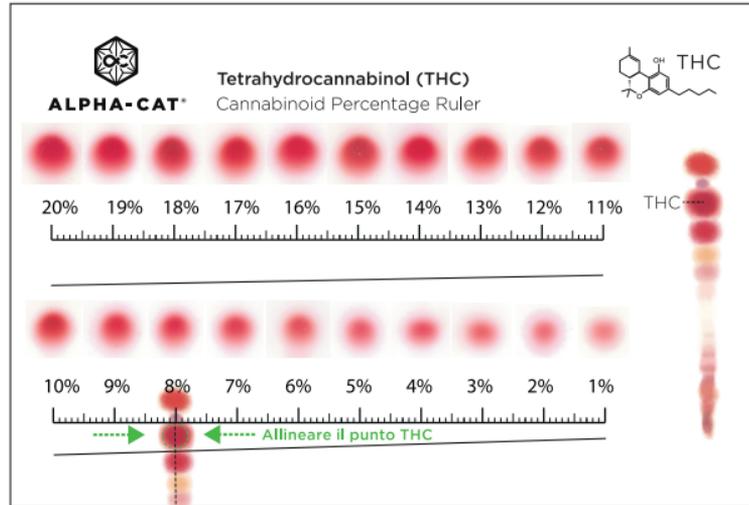
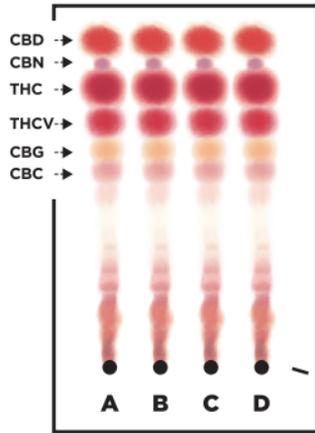
Campioni diluiti (bassa concentrazione di THC)

In caso di campioni dove ci si aspetta risultati tra lo 0,2% e il 5% di THC, si useranno 200mg di campione con 8ul di fluido di estrazione con l'apposito tubo capillare. Il fattore di moltiplicazione sarà $(100 \times 2) / (200 \times 8) = 0,125$ (fattore di moltiplicazione).

Quindi dopo la lettura della % di cannabinoidi sulla lastra TLC con il righello, calcolare con il fattore di moltiplicazione la vera percentuale, per esempio quando si legge 5% di THC con il righello si dovrà moltiplicare per 0,125 che darà come risultato 0,63% di THC.

* Tubi capillari da 1, 2, o 4ul possono essere acquistati online su alpha-cat.org.

RIGHELLO DI MISURAZIONE DELLE PERCENTUALI DEI CANNABINOIDI



Centrare l'impronta di cannabinoidi usando il righello di misurazione delle percentuali di cannabinoidi.
Es. 8% come mostrato in figura.

COME USARE IL RIGHELLO DI MISURAZIONE DELLE PERCENTUALI DI CANNABINOIDI

Il righello di misurazione delle percentuali è stampato su un foglio di plastica trasparente e permette di misurare in due modi tutti i punti di Cannabinoidi.

Ci sono due file di punti che gradualmente si ingrandiscono da destra verso sinistra: La fila più in basso di punti (da 1% a 10%) e la fila in alto (da 11% a 20%). Sotto questi punti si vede una linea con tacche che misurano le percentuali. Queste tacche corrono parallele con la dimensione dei punti e lavorano insieme alla linea inclinata che corre vicina al punto del 1% e lentamente si allarga man mano che i punti si ingrandiscono.

Come usare il righello delle percentuali:

Il righello funziona usando la linea delle percentuali e quella inclinata. Appoggiare il righello sul punto che si vuole misurare. Il punto deve rimanere aderente all'interno delle due linee. Muovere il righello finché il punto rimane perfettamente a contatto delle due linee. Il posto in cui il punto viene a contatto con le linee è quello dove si può rilevare la percentuale sul righello. Usare il righello fino a farlo coincidere con un numero, come 8% nell'esempio sopra.

INFORMAZIONI SULLA PROFILAZIONE DEL CHEMIOTIPO

Come misurare i cannabinoidi in forma acida

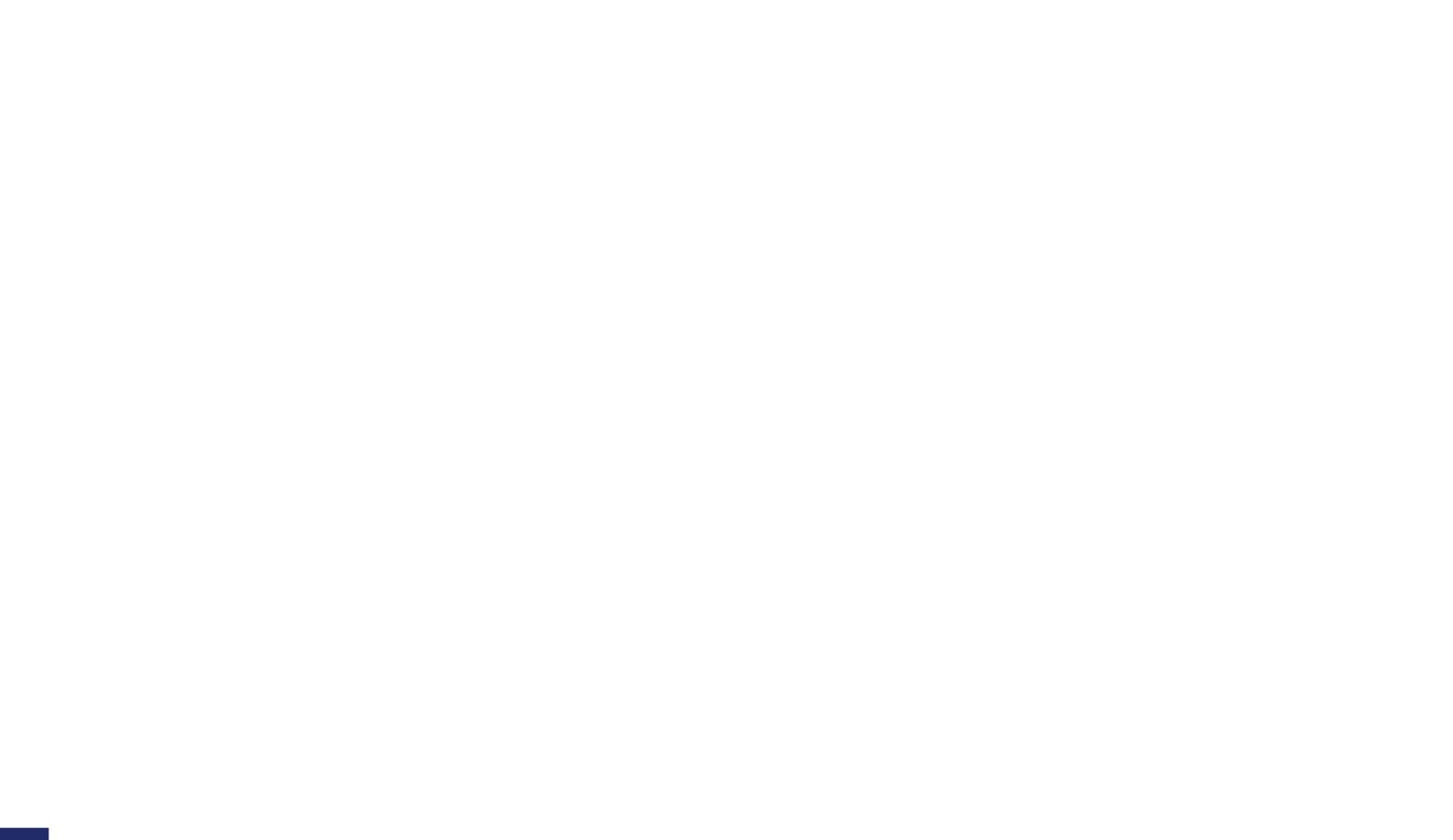
Utilizzando la profilazione del chemiotipo si può calcolare la forma acida dei singoli cannabinoidi, facendo la differenza tra i cannabinoidi misurati in posizione B (2ul di impronta calda, campione sottoposto a decarbossilazione) e in posizione D (2µl di impronta grezza, campione non sottoposto a decarbossilazione). Per esempio se si ottiene 16% THC sulla posizione B e 5% sulla posizione D, il THCA = 16% - 5% = 11%.

Come misurare i cannabinoidi secondari (CBN, THCV, CBG, CBC)

Utilizzando la profilazione del chemiotipo sarete in grado di visualizzare e misurare i cannabinoidi secondari guardando la posizione A (4ul di impronta calda) e dividendo il risultato ottenuto per due.

Per qualunque domanda, contattateci:  info@alpha-cat.org







ALPHA-CAT[®]

THE RECOGNIZED STANDARD