



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**EXTRACCIÓN DE COMPONENTES DE *Cannabis sativa* L. UTILIZANDO MÉTODOS  
LIBRES DE SOLVENTES ORGÁNICOS**

Trabajo de titulación previo a la obtención del  
título de Ingeniera Biotecnóloga

**AUTORES: MARIO ALEXANDER BANEGAS RODAS**

**DAYANNA ESTEFANIA GUZHÑAY LOZANO**

**TUTORA: DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS, MGTR.**

Cuenca - Ecuador

2024

## CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Mario Alexander Banegas Rodas con documento de identificación N° 0302431382 y Dayanna Estefania Guzhñay Lozano con documento de identificación N° 0150296028; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 20 de febrero del 2024

Atentamente,



\_\_\_\_\_  
Mario Alexander Banegas Rodas

0302431382



\_\_\_\_\_  
Dayanna Estefania Guzhñay Lozano

0150296028

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Mario Alexander Banegas Rodas con documento de identificación N° 0302431382 y Dayanna Estefania Guzhñay Lozano con documento de identificación N° 0150296028, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: “Extracción de componentes de *Cannabis sativa* L. utilizando métodos libres de solventes orgánicos”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Biotecnóloga, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 20 de febrero del 2024

Atentamente,



Mario Alexander Banegas Rodas

0302431382



Dayanna Estefania Guzhñay Lozano

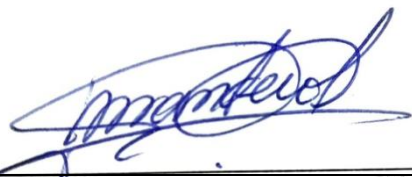
0150296028

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Myriam Ximena Mancheno Cárdenas con documento de identificación N° 0602018160 docente de la Universidad Politécnica Salesiana declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: *EXTRACCIÓN DE COMPONENTES DE Cannabis sativa* L. UTILIZANDO MÉTODOS LIBRES DE SOLVENTES ORGÁNICOS, realizado por Mario Alexander Banegas Rodas con documento de identificación N°. 0302431382 y por Dayanna Estefania Guzhñay Lozano con documento de identificación N° 0150296028 obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 20 de febrero del 2024

Atentamente,



---

Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas, Mgtr.  
0602018160

## **DEDICATORIA**

Quiero dedicar este logro a mi madre, cuyo amor incondicional, constante apoyo y numerosos sacrificios han sido pilares fundamentales en mi camino hacia este éxito.

Agradezco profundamente a mis hermanos por su constante ánimo y motivación a lo largo de mi trayectoria académica.

A mi compañero de tesis, le agradezco de todo corazón su inquebrantable respaldo desde el inicio hasta este momento crucial.

Mi más sincero reconocimiento va dirigido a la Dra. Myriam Mancheno, mi estimada tutora, por su orientación experta, paciencia y dedicación, factores vitales para el desarrollo de mi investigación y mi crecimiento personal y profesional.

A mis amigos y seres queridos, les agradezco de corazón su comprensión, palabras de aliento y apoyo incondicional durante los momentos difíciles.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que participaron en mi investigación, ya sea como colaboradores, asesores o participantes; su contribución fue invaluable para el éxito de este estudio.

Dayanna Estefania Guzhñay Lozano

## **DEDICATORIA**

Con profundo cariño y gratitud, dedico este logro a mis amados padres, quienes no solo han sido los pilares fundamentales de mi vida, sino también los arquitectos de mis sueños y aspiraciones. Su apoyo incondicional y el amor que me han brindado han sido los pilares sobre los cuales he construido este proyecto prioritario en mi vida.

A mis queridos hermanos, les agradezco desde lo más profundo de mi corazón por ser una fuente constante de inspiración y aliento en todas las etapas de mi vida académica. Su apoyo inquebrantable y su confianza en mis capacidades han sido un faro de esperanza y motivación en los momentos más desafiantes.

A mi compañera de tesis, agradezco su presencia constante y su colaboración desde el primer día hasta esta etapa trascendental de nuestra carrera. Su compañerismo y compromiso han enriquecido este viaje académico, convirtiéndolo en una experiencia inolvidable y enriquecedora.

A mi estimada tutora, la Dra. Myriam Mancheno, le expreso mi más sincero agradecimiento por su orientación experta, paciencia infinita y compromiso inquebrantable en este proyecto de investigación. Su sabiduría y dedicación han sido la brújula que ha guiado mis pasos, y su apoyo incondicional ha sido el motor que me ha impulsado hacia la culminación de este importante logro académico. Sin su guía y aliento, este camino habría sido mucho más difícil de transitar.

Mario Alexander Banegas Rodas

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero expresar mi gratitud en primer lugar a Dios, quien me ha permitido alcanzar este momento y me ha brindado la oportunidad de compartir experiencias inolvidables con mis compañeros y profesores, a quienes guardaré en mi corazón con profundo afecto. Agradezco también a mi madre por ser mi sostén en los momentos de mayor dificultad, por acompañarme en cada paso de este extraordinario viaje. Reconozco en mí mismo la fortaleza para perseverar a pesar de los desafíos que enfrenté, momentos en los que me sentí abrumado, solo y sin estímulo. Aunque las noches lejos de casa me llenaron de lágrimas, hallé la determinación para levantarme cada mañana y seguir adelante.

Dayanna Estefania Guzhñay Lozano

## **AGRADECIMIENTO**

Con gratitud, deseo honrar a mi madre y padre, cuyo amor sin límites, apoyo constante y sacrificios innumerables han sido esenciales en el logro de este hito.

Expreso mi sincero agradecimiento a mis hermanos por su aliento constante y motivación a lo largo de mi travesía académica.

A mi compañero de tesis, le estoy profundamente agradecido por su apoyo incansable desde el inicio hasta este momento crucial.

A la Dra. Myriam Mancheno, mi tutora estimada, le reconozco con gratitud por su guía experta, paciencia infinita y dedicación, elementos fundamentales para el progreso de mi investigación y mi desarrollo personal y profesional.

A mis amigos y seres queridos, les agradezco de todo corazón su comprensión, palabras de aliento y apoyo incondicional durante los desafíos.

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que contribuyeron a mi investigación, ya sea como colaboradores, asesores o participantes; su aporte fue invaluable para el éxito de este proyecto.

Mario Alexander Banegas Rodas



## INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
CAPÍTULO 1 .....	5
INTRODUCCIÓN.....	5
1.2 Planteamiento del problema de investigación .....	6
1.3 Pregunta de investigación .....	8
1.4 Justificación .....	8
1.5 Objetivos.....	10
1.5.1 Objetivo general .....	10
1.5.2 Objetivos específicos.....	10
1.6 Limitaciones del estudio .....	10
1.8 Hipótesis .....	11
CAPÍTULO 2 .....	12
MARCO TEÓRICO .....	12
2.1 Antecedentes.....	12
2.2 Marco Conceptual.....	13
2.2.1 <i>Cannabis sativa</i> L.....	13
2.2.2 Taxonomía.....	14

2.2.3 Composición Química.....	20
2.2.4 Cannabinoides .....	21
2.2.5 El sistema endocannabinoide .....	24
2.2.6 Legislación de <i>Cannabis sativa</i> L .....	25
2.2.7 Métodos de extracción .....	32
2.2.8 Liofilización .....	35
2.2.9 Técnicas de cuantificación de cannabinoides.....	37
CAPÍTULO 3 .....	40
METODOLOGÍA.....	40
3.2 Nivel de investigación .....	40
3.3 Diseño de investigación .....	40
3.4 Población y muestra.....	40
3.5 Variables .....	40
3.6 Técnicas e instrumentación de recolección de datos .....	41
3.7 Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	41
3.8 Materiales.....	42
3.9 Procedimiento .....	43
3.9.1 Obtención de muestra.....	43
3.9.2 Descarboxilación .....	45
3.9.3 Trituración del material vegetal .....	47

3.9.4 Métodos de extracción .....	47
3.10 Filtrado .....	54
3.11 Diagrama de procesos de extracción .....	55
3.12 Liofilización .....	55
3.13 Determinación del rendimiento de los extractos.....	56
3.14 Cuantificación de Cannabinoides extraídos.....	57
3.14.1 Análisis cromatográfico .....	57
3.15 Análisis estadístico .....	58
3.15.1 Prueba de normalidad.....	58
3.15.2 Análisis estadístico ANOVA de un factor .....	59
3.15.3 Análisis Estadístico con la Prueba de Tukey .....	59
CAPÍTULO 4 .....	60
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	60
4.1. Análisis de pretratamientos de material vegetal .....	60
4.1.1. Descarboxilación .....	60
4.2. Análisis de Rendimiento de extracción (%) .....	61
4.3 Diseño experimental .....	66
4.3.1 Prueba de Normalidad.....	66
4.3.2 ANOVA de un factor .....	70
4.3.3 Prueba Tukey.....	71

4.5 Caracterización de componentes de <i>Cannabis sativa</i> L. ....	74
4.5.1. Análisis Cualitativo de Cannabinoides .....	74
4.5.2. Análisis Cuantitativo de Cannabinoides .....	76
CONCLUSIONES.....	85
RECOMENDACIONES .....	87
BIBLIOGRAFIA .....	88
ANEXOS .....	100
ANEXO 1 lista de abreviaturas .....	100
ANEXO 2 Equipos utilizados en la investigación.....	102
ANEXO 3 Proceso de extracción y obtención de componentes de <i>Cannabis sativa</i> L..	104
ANEXO 4 Resultados de la cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) .....	111

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Planta de <i>Cannabis sativa</i> L. ....	18
<b>Figura 2</b> Tipos de plantas de Cannabis.....	20
<b>Figura 3</b> Estructura química del THC de <i>Cannabis sativa</i> L. ....	22
<b>Figura 4</b> Estructura química del CBN de <i>Cannabis sativa</i> L.....	23
<b>Figura 5</b> Estructura química del CBD de <i>Cannabis sativa</i> L.....	24
<b>Figura 6</b> Muestras de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp. sativa. [Y griega].....	44
<b>Figura 7</b> Descarboxilación THCA y CBDA.....	46
<b>Figura 8</b> Descarboxilación de materia vegetal .....	47
<b>Figura 9</b> Extracción con el método de agua fría.....	49
<b>Figura 10</b> Extracción asistida con Ultrasonido.....	51
<b>Figura 11</b> Extracción con hielo seco .....	53
<b>Figura 12</b> Esquema general de los procesos para extracción de cannabinoides.....	55
<b>Figura 13</b> Liofilización de los extractos de agua fría y ultrasonido .....	56
<b>Figura 14</b> Prueba de normalidad para el método de extracción con agua fría .....	67
<b>Figura 15</b> Prueba de normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco .....	68
<b>Figura 16</b> Prueba de normalidad para el método de extracción de ultrasonido.....	69
<b>Figura 17</b> Diagrama de cajas .....	73
<b>Figura 18</b> Porcentaje de cannabinoides de la muestra 1 con hielo seco .....	80
<b>Figura 19</b> Porcentaje de cannabinoides de la muestra 2 con hielo seco .....	81
<b>Figura 20</b> Porcentaje de cannabinoides de la muestra 3 de ultrasonido .....	82
<b>Figura 21</b> Porcentaje de cannabinoides de la muestra 4 de ultrasonido .....	83

<b>Figura 22</b> Shaker .....	102
<b>Figura 23</b> Ultra-congelador .....	103
<b>Figura 24</b> Liofilizador .....	103
<b>Figura 25</b> Estufa .....	104
<b>Figura 26</b> Pesaje de muestras de Cannabis.....	105
<b>Figura 27</b> Proceso de descarboxilación.....	105
<b>Figura 28</b> Trituración de las muestras .....	106
<b>Figura 29</b> Muestras de ultrasonido .....	106
<b>Figura 30</b> Proceso de agua fría .....	107
<b>Figura 31</b> Proceso de hielo seco.....	107
<b>Figura 32</b> Resina obtenida con el hielo seco .....	108
<b>Figura 33</b> Muestras para el ultra-congelador.....	108
<b>Figura 34</b> Muestras para el liofilizado.....	109
<b>Figura 35</b> Resina obtenida de las muestras, tanto de Agua fría y ultrasonido.....	109
<b>Figura 36</b> Muestras de las extracciones con agua fría y ultrasonido para enviar al análisis de cromatografía en el laboratorio de HEMP Labs Ecuador.....	110
<b>Figura 37</b> Muestras de la extracción con hielo seco para enviar al análisis de cromatografía en el laboratorio de HEMP Labs Ecuador .....	110

## ÍNDICE DE TABLA

<b>Tabla 1</b> Clasificación taxonómica del <i>Cannabis sativa</i> L. ....	15
<b>Tabla 2</b> Características morfológicas de <i>Cannabis sativa</i> L. ....	16
<b>Tabla 3</b> Cantidad referencial de THC presente en las diferentes partes de la planta Cannabis sativa, expresada en %.....	22
<b>Tabla 4</b> Cantidad referencial de CBD presente en las diferentes partes de la planta <i>Cannabis sativa</i> L, expresada en µg.....	24
<b>Tabla 5</b> Niveles de THC permitidos en productos finales.....	31
<b>Tabla 6</b> Materiales destinados para los procesos de extracción .....	42
<b>Tabla 7</b> Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método con agua fría ....	48
<b>Tabla 8</b> Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método asistido por ultrasonido .....	50
<b>Tabla 9</b> Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método con de hielo seco .....	52
<b>Tabla 10</b> Parámetros, cantidades y condiciones de los métodos de extracción del presente estudio experimental.....	54
<b>Tabla 11</b> Cálculos de la descarboxilación de material vegetal .....	61
<b>Tabla 12</b> Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de <i>Cannabis sativa</i> L. con en el método de agua fría.....	62
<b>Tabla 13</b> Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de <i>Cannabis sativa</i> L. con el método de ultrasonido .....	63
<b>Tabla 14</b> Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de <i>Cannabis sativa</i> L. obtenido en el método de hielo seco.....	64

<b>Tabla 15</b> Planteamiento de hipótesis .....	70
<b>Tabla 16</b> Análisis de varianza.....	71
<b>Tabla 17</b> Comparaciones múltiples con prueba Tukey.....	72
<b>Tabla 18</b> Análisis cualitativo de los cannabinoides que se encuentran en las muestras evaluadas .....	75
<b>Tabla 19</b> Análisis cuantitativo de cannabinoides.....	77
<b>Tabla 20</b> Resumen de la cantidad de cannabinoides encontrados en la investigación actual .....	84



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como propósito extraer componentes de Cannabis utilizando métodos libres de solventes orgánicos en laboratorio y de esta manera determinar el método más eficiente, considerando la utilización de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega], planta que fue otorgada por la empresa de Pharmacannabis en Ecuador.

Para la extracción, se utilizó materia prima vegetal seca, la cual entra en proceso de pretratamiento, a una temperatura de 115°C por 45 minutos. Posteriormente, en el proceso de extracción se emplearon solventes inorgánicos, en el cual agua fría tuvo una temperatura de 2°C al inicio y se lo dejó en movimiento a 100 rpm por 24 horas a temperatura ambiente, al finalizar el proceso se emplearon filtros de 25 µm para obtener el extracto. En el método con hielo seco se dio una agitación manual durante 1 – 3 minutos, para posteriormente tamizar y por último para el método asistido por ultrasonido, se utilizó agua como solvente, el proceso duro 30 minutos a una temperatura de 40°C, igualmente se filtró para recuperar el extracto. Una vez obtenido los extractos líquidos se realizó una liofilización para recuperar el extracto en este caso resina.

Una vez que se obtuvo el producto final, se procedió a la cuantificación y caracterización de las muestras con mayor concentración de cannabinoides a través del laboratorio externo HEMP Labs Ecuador, una empresa especializada en el análisis de cannabinoides. Utilizando cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID), se determinó que la muestra 2, sometida al tratamiento de hielo seco, presentaba la concentración más alta de cannabinoides en términos de porcentaje. Se registraron los

siguientes valores: 14,26 % de CBD, 0.19 % de CBN, 1.65 % de D9-THC y 0.13 % de D8-THC.

**Palabras clave:** Cannabis, cannabinoides, cromatografía, extracción, inorgánico, cuantificación

## ABSTRACT

The purpose of this research work is to extract Cannabis components using organic solvent-free methods in the laboratory and thus determine the most efficient method, considering the use of *Cannabis sativa* L. *subsp. sativa* [Y griega], a plant that was granted by the Pharmacannabis company in Ecuador.

For the extraction, dry vegetable raw material was used, which enters in a pre-treatment process, at a temperature of 115°C for 45 minutes. Subsequently, inorganic solvents were used in the extraction process, in which cold water had a temperature of 2°C at the beginning and was left in motion at 100 rpm for 24 hours at room temperature; at the end of the process, 25 um filters were used to obtain the extract. In the dry ice method, a manual agitation was done for 1 - 3 minutes, to later sieve and finally for the ultrasound-assisted method, water was used as a solvent, the process lasted 30 minutes at a temperature of 40°C, and the extract was also filtered to recover the extract. Once the liquid extracts were obtained, a lithiolization was performed to recover the extract in this case resin.

Once the final product was obtained, we proceeded to the quantification and characterization of the samples with the highest concentration of cannabinoids through the external laboratory HEMP Labs Ecuador, a company specialized in the analysis of cannabinoids. Using gas chromatography with flame ionization detector (GC-FID), it was determined that sample 2, subjected to dry ice treatment, presented the highest concentration of cannabinoids in terms of percentage. The following values were recorded: 14,26 % de CBD, 0.19 % de CBN, 1.65 % de D9-THC y 0.13 % de D8-THC.

**Keywords:** Cannabis, cannabinoids, chromatography, extraction, inorganic, quantification, inorganic, quantification

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, ha aumentado el interés en las aplicaciones médicas del Cannabis, que puede ser clasificado según su genética, características fenotípicas y composición química. Todos estos tipos de Cannabis son ricos en fitoquímicos bioactivos, pero su composición varía entre ellos. Por ejemplo, el *Cannabis sativa* L., o cáñamo industrial, contiene niveles más elevados de cannabidiol [CBD] que el *Cannabis indica* y el *Cannabis ruderalis*. En contraste, el *Cannabis indica* tiene mayores niveles del cannabinoide psicoactivo delta-9-tetrahidrocannabinol [ $\Delta$ 9-THC], mientras que el *Cannabis ruderalis* posee niveles más bajos de  $\Delta$ 9-THC en comparación con el *Cannabis sativa* L. (Ubeed y col., 2022). La mayoría de los cannabinoides del Cannabis derivan del ácido cannabigerólico [CBGA] a través de la geranil transferasa olivetolato (Dhir, 2018).

Con la transición de la industria del Cannabis del mercado negro al mercado legal, se ha vuelto esencial enfocarse en el desarrollo de productos y métodos de extracción. Históricamente, la flor seca de Cannabis ha sido el producto principal para fumar y vapear. Sin embargo, el crecimiento de la industria ha aumentado la demanda de productos de Cannabis en diversas formas y con mayor potencia. Actualmente, los productos medicinales y recreativos están disponibles en forma de tópicos, comestibles, bebidas y cartuchos de vaporización. Cada tipo de producto tiene sus propias ventajas y desventajas, lo que permite la personalización para satisfacer necesidades específicas (Lazarjani y col., 2021).

Por ende, la extracción de fitoquímicos de *Cannabis sativa* L., es un paso crucial para separar las moléculas bioactivas de la matriz vegetal y potenciar diversas aplicaciones en las

industrias farmacéutica y alimentaria. Esta extracción se puede llevar a cabo mediante métodos convencionales y avanzados, cuya eficiencia depende de parámetros críticos. Para optimizar este proceso, es esencial comprender la naturaleza de la matriz vegetal y la química de los compuestos bioactivos (Zhang y col., 2018). En este sentido, la identificación de tecnologías eficaces y óptimas para la extracción, aislamiento, purificación y cuantificación de cannabinoides se convierte en una necesidad tanto en la producción a nivel de laboratorio como en una perspectiva de escala industrial (Jiang y col., 2016).

## **1.2 Planteamiento del problema de investigación**

El *Cannabis sativa* L. y el *Cannabis indica* son generalmente bien conocidos, mientras que la subespecie *Cannabis ruderalis* a menudo se pasa por alto debido a su limitada capacidad para producir compuestos activos, en este caso la *Cannabis sativa* L., es la más empleada en diferentes áreas de producción (Lazarjani y col., 2021). El Cannabis contiene una variedad de compuestos activos conocidos como cannabinoides, incluyendo el CBD [Cannabidiol] y el THC [tetrahidrocannabinol], que son evaluados para la extracción de Cannabis con diversos objetivos (Bridgeman y Abazia, 2017).

De este modo, los procedimientos de extracción y la creación de productos se han vuelto esenciales a medida que la industria del Cannabis evoluciona de un mercado ilícito a uno legal. Tradicionalmente, los cogollos secos de cáñamo se han identificado como una "sustancia" debido a sus efectos psicoactivos y su repercusión en la sociedad. No obstante, a medida que la industria avanza, también aumenta la necesidad de diversas presentaciones y productos derivados del cáñamo con un gran potencial.

Los diferentes métodos de extracción pueden influir en la calidad y composición de los extractos (Blake y Nahtigal, 2019). Dado que los cannabinoides, al ser liposolubles, tienden a mezclarse mejor con disolventes no polares, como el aceite de oliva o los triglicéridos de cadena media, lo que afecta la selección de disolventes utilizados en la extracción (Esmaeilzadeh Kenari y Dehghan, 2020; Kornpointner y col., 2021; Al Ubeed y col., 2022). Además, la extracción puede realizarse con diversos disolventes orgánicos, tanto polares como no polares, como el CO<sub>2</sub> supercrítico y el etanol (Qamar y col., 2021). Los métodos tradicionales, como el Soxhlet y la maceración dinámica, requieren grandes cantidades de solventes y tiempo prolongado para completar el proceso de extracción.

En contraste, métodos como la extracción por tamizado con hielo seco o la maceración son alternativas más respetuosas con el medio ambiente en contraposición a las técnicas convencionales. Estos procedimientos suelen reducir la necesidad de utilizar solventes orgánicos o sintéticos, lo que conlleva una disminución en el tiempo de extracción y la producción de un extracto de mayor calidad, con un rendimiento superior (Lazarjani y col., 2021).

Con la utilización de métodos de extracción con agua, con hielo seco y asistida por ultrasonido en la obtención de cannabinoides se fundamenta en su capacidad de selectividad para extraer compuestos específicos, su seguridad al no involucrar solventes químicos peligrosos, la pureza que ofrecen al evitar la contaminación por residuos de solventes, su sostenibilidad ambiental y al control preciso de la temperatura para preservar la integridad de los cannabinoides (Lazarjani y col., 2021; Valizadehderakhshan y col., 2021; Martinez y col., 2023).

El desafío más considerable en este estudio es establecer una metodología estandarizada que garantice una extracción eficiente y sostenible, dadas las restricciones relacionadas con el uso del Cannabis y los métodos de extracción tradicionalmente establecidos. La investigación busca identificar, a nivel de laboratorio, el método de extracción de componentes de Cannabis sin solventes orgánicos óptimo en términos de eficiencia y rentabilidad, evaluando el rendimiento obtenido.

### **1.3 Pregunta de investigación**

¿Cuál de los métodos de extracción libres de solventes orgánicos resulta más eficaz en la obtención de cannabinoides?

### **1.4 Justificación**

En los últimos tiempos, se ha observado un crecimiento significativo en la utilización del Cannabis y su interés por los cannabinoides en las diversas industrias. La adopción de tecnologías y métodos innovadores, así como la introducción de protocolos actualizados, ha conducido a mejoras notables en la eficiencia, el rendimiento y la calidad de los productos derivados del cáñamo. Mientras el mercado de cannabinoides, especialmente médico y cosmética, continúa expandiéndose, la demanda de estos compuestos y su pureza son esenciales para formar productos de alta calidad.

Por lo cual, es de suma importancia tomar en cuenta que la mayoría de las técnicas de extracción carecen de consideraciones ecológicas y los residuos que generan pueden representar una posible amenaza para el entorno ambiental. Por lo tanto, es fundamental desarrollar una técnica de extracción o separación que sea altamente eficiente y selectiva. La



extracción con fluidos supercríticos [SFE], por sus siglas en inglés ha atraído especial atención en la comunidad científica, en particular en el ámbito forense, para detectar el consumo prolongado de drogas o para analizar la cantidad de sustancias relacionadas con el momento de la muerte. En el proceso de SFE, se emplea predominantemente el CO<sub>2</sub> como material supercrítico para la extracción de estas sustancias, debido a sus ventajas en cuanto a capacidad de fraccionamiento, poder solvente, alta selectividad y su perfil respetuoso con el medio ambiente, entre otros aspectos (Qamar y col., 2021).

Por otro lado, la extracción de cannabinoides se ha hecho mediante técnicas con disolventes orgánicos, ya que han sido simples y pueden tener beneficios, como su asequibilidad y facilidad de manejo, evitando la necesidad de usar equipos altamente sofisticados. Sin embargo, su propensión a inflamarse y su posible toxicidad pueden plantear riesgos significativos para la salud, además de causar un impacto medioambiental importante. Además, si se usan temperaturas elevadas en el proceso de extracción, diversos componentes de la planta podrían sufrir cambios químicos por su susceptibilidad al calor por las propiedades termolábiles que posee (Villaverde, 2019).

El objetivo de este estudio es determinar cuál es el método más efectivo y amigable con el medio ambiente para extraer cannabinoides, comparando los resultados obtenidos a partir de tres técnicas distintas, utilizando agua fría, hielo seco y ultrasonido. Este trabajo contribuirá al avance de la tecnología relacionada con el Cannabis. Es importante destacar que, en 2020, el Gobierno ecuatoriano, a través de la Asamblea Nacional, aprobó una reforma en el Código Orgánico Integral Penal [COIP], lo que respalda la incorporación de la industria del Cannabis en varios sectores de producción en Ecuador. Esto ofrece la oportunidad de

investigar a fondo este campo, aplicando métodos de laboratorio y considerando su aplicabilidad en la industria, aprovechando el Cannabis como materia prima (LASA, 2020).

## **1.5 Objetivos**

### **1.5.1 Objetivo general**

Extraer cannabinoides de *Cannabis sativa* L. utilizando técnicas libres de solventes orgánicos, para la determinación de un método más eficiente.

### **1.5.2 Objetivos específicos**

- Obtener cannabinoides de *Cannabis sativa* L., por medio de métodos libres de solventes orgánicos, para la obtención del extracto de cannabinoides.
- Cuantificar los extractos obtenidos de *Cannabis sativa* L., a través de técnicas analíticas de instrumentación evaluando la concentración de cannabinoides.
- Establecer con los resultados obtenidos a través de análisis estadísticos, que método de extracción libres de solventes orgánicos es óptimo para la obtención de cannabinoides.

## **1.6 Limitaciones del estudio**

Este estudio se realiza en los Laboratorios de Ciencia de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca-Ecuador, durante seis meses. Sin embargo, entre las principales limitaciones que se presentan durante la fase de investigación será: el tiempo debido a situaciones externas en el país, el laboratorio enfrenta restricciones en cuanto a la disponibilidad de equipos especializados y reactivos, lo cual podría restringir la ejecución de

análisis instrumentales específicos. A pesar de la aplicación meticulosa de técnicas de extracción, persiste la posibilidad de errores humanos en la manipulación de reactivos, medición de parámetros y ejecución de procedimientos, lo que podría incidir en la precisión de los resultados obtenidos. Según la técnica empleada, la cantidad de producto puede ser relativamente reducida, lo que podría resultar en un rendimiento inferior.

### **1.8 Hipótesis**

Si se aplican diversas técnicas de extracción libres de solventes orgánicos en la obtención de cannabinoides a partir de *Cannabis sativa* L., entonces se observará una disparidad significativa entre los resultados obtenidos.

## CAPÍTULO 2

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes

La *Cannabis sativa* L., es uno de los cultivos más antiguos de la Tierra, datan de antes del inicio de la agricultura hace unos 13,000 años. Se encuentra evidencia arqueológica de su uso humano desde el 10,000 a.C. en fibras de cáñamo halladas en tumbas. La historia completa es difícil de resumir, ya que su existencia precede a la época de los primeros textos escritos conocidos (Martínez y col., 2023).

El Cannabis, conocido científicamente como Cannabis, y sus derivados, se emplean por las sustancias psicoactivas que contienen. Su producción abarca desde aplicaciones medicinales hasta el potencial adictivo. En Ecuador, el uso de Cannabis terapéuticos se autorizó en 2019, si la concentración de la molécula [THC] es inferior al 1% en peso seco. Hasta el momento, no se han documentado esfuerzos relacionados con la extracción de los componentes del Cannabis, ya que su legalización es un acontecimiento relativamente reciente.

Los extractos de Cannabis medicinal están experimentando un crecimiento en su popularidad a nivel mundial en los últimos años, y numerosos países están simplificando el acceso a estos recursos vegetales para un gran número de pacientes. Es una información ampliamente aceptada que los fitocannabinoides en su forma ácida no son activos en los receptores CB, y que sus versiones descarboxiladas son compuestos potentes que actúan como ligandos (Lewis-Bakker y col., 2019).

La tecnología actual permite producir una variedad de productos terapéuticos a partir de la marihuana, desde formulaciones con un solo cannabinoide, como el CBD, hasta mezclas de amplio espectro con todos los cannabinoides y terpenos, excluyendo el THC, así como formulaciones de espectro completo que incluye el THC. La combinación de cannabinoides y terpenos en estas formulaciones puede ofrecer resultados terapéuticos diversos y beneficiosos, aunque su producción puede volverse más compleja debido a la falta de instrumentación de laboratorio para análisis y purificación (Souza, 2022).

Es importante resaltar que distinguir naturalmente la proporción de CBD y THC en el Cannabis basándose en apreciaciones externas, como su tamaño, olor o color, no es posible. Se requiere usar métodos de análisis para caracterizar y cuantificar los compuestos de interés, para fines médicos, policiales, forenses o para el control de calidad en la industria del Cannabis en países donde su producción, venta o consumo está regulado (Ibáñez García, 2021).

## **2.2 Marco Conceptual**

### **2.2.1 *Cannabis sativa* L.**

El cáñamo, científicamente conocido como *Cannabis sativa* L., era una planta que crecía de forma natural en ciertas regiones de Asia Central hace alrededor de 8,000 años antes de la era común. La evidencia más antigua que se tiene de esta planta se remonta a un antiguo tratado de farmacopea chino datado en el año 2727 antes de nuestra era. Incluso se relata la historia de Boudha, quien aparentemente logró sobrevivir alimentándose exclusivamente con semillas de cáñamo (Convenga, 2022).

Además de esto, a lo largo de la historia, diversas culturas han empleado el Cannabis con una variedad de propósitos, incluyendo usos medicinales. En la actualidad, se ha generado un creciente interés en la perspectiva de utilizar compuestos terapéuticos derivados de la planta *Cannabis sativa* L. Los cannabinoides presentes en estos derivados se emplean para tratar diferentes enfermedades, aliviando los síntomas asociados con afecciones como el cáncer, la epilepsia, el glaucoma, la esclerosis múltiple, la fibromialgia, el dolor crónico, y otras condiciones (Ortega Serrano, 2017).

En Ecuador, la planta de *Cannabis sativa* L., se conoce bajo el nombre de cáñamo industrial, una planta que tiene sus raíces en la cordillera del Himalaya. Esta planta se puede encontrar en la localidad de Tabacundo, donde se estableció CannAndes, la primera empresa en el país en obtener todos los permisos legales necesarios para aprovechar los diversos usos derivados de la planta de Cannabis (Chacán y Quizpe, 2022).

### **2.2.2 Taxonomía**

En cuanto a la variedad del *Cannabis sativa* L., es considerada como la variedad más popular y común a nivel mundial. Estas plantas suelen tener un bajo contenido de cannabinoides, menos ramas laterales y una mayor altura por su cultivo para producir fibra. Además, estas variedades tienen su origen en Sudamérica y se caracterizan por sus características más suaves en comparación con la *Cannabis indica*. Su proceso de floración es más tardío por la necesidad de más horas de oscuridad para inducirla, lo que influye directamente en la producción y calidad de las fibras obtenidas. Sin embargo, es importante destacar que, gracias a los esfuerzos de mejora actuales, se han desarrollado variedades de

*Cannabis sativa* L. que presentan una apariencia similar a la marihuana y contienen niveles elevados de fitocannabinoides que no incluyen el THC (Schilling y col., 2020).

**Tabla 1**

*Clasificación taxonómica del Cannabis sativa L.*

<b>Reino:</b>	<i>Plantae</i>
<b>Phylum o División</b>	<i>Tracheophyta</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden:</b>	<i>Rosales</i>
<b>Familia:</b>	<i>Moraceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Cannabis</i>
<b>Especie:</b>	<i>Cannabis sativa</i>
<b>Nombre científico:</b>	<i>Cannabis sativa</i> L.

**Fuente:** Elaboración propia

### 2.2.2.1 Morfología de *Cannabis sativa* L.

**Tabla 2**

*Características morfológicas de Cannabis sativa L.*

<b>Tipo de Planta</b>	Planta anual, herbácea, arbustiva
<b>Altura</b>	1m a > 6m
<b>Tallo</b>	Rígido, epigeo, erecto, cilíndrico en la base, cuadrangular después del segundo o tercer entrenudo. Cuatro surcos.
<b>Estructura de planta</b>	Modular con fitómeros, reducen tamaño hacia el meristemo apical.
<b>Fitómeros</b>	Compuestos por hoja bandera con yema axilar, originan ramas con inflorescencia. Flor solitaria y bráctea axilar.
<b>Hoja</b>	Pecioladas, bordes aserrados, disposición decusada y alternas en floración. Lámina palmatisecta. Número impar de foliolos.
<b>Longitud de Foliolo</b>	5cm a >20cm
<b>Ancho de Foliolo</b>	1 cm a >5cm



---

<b>Pecíolo</b>	Longitud variable, con surco, pubescente.
----------------	---

---

<b>Venación de Hojas</b>	Actinódroma, nervios secundarios terminan en margen aserrado.
--------------------------	---

---

**Fuente:** (Romero Betancourt, 2021)

En cuanto a la planta de Cannabis, es importante destacar que existen dos sexos distintos: el Cannabis hembra y el Cannabis macho. Entre las cuales presenta características morfológicas y funciones específicas cruciales en el ciclo de vida y reproducción de esta planta.

En el trabajo de Romero Betancourt (2021) menciona que la inflorescencia femenina de *Cannabis sativa* L. se destaca por un racimo que replica la estructura de los fitómeros de manera reducida, con una diferenciación ascendente hacia los ápices, siendo los órganos de primer orden los más basales. Las flores femeninas, sésiles, se encuentran solitarias cerca de yemas axilares o agrupadas en racimos. El perianto comprende una bráctea perigonal verde y acuminada, que se dehíscence longitudinalmente y está densamente poblada por tricomas glandulares, junto con una membrana hialina que se desintegra a medida que la flor madura. Desde el interior de estas brácteas perigonales se proyecta un estilo dividido en un par de pistilos con estigmas agudos, también cubiertos por tricomas. El ovario es unilocular, ovalado, con un solo óvulo penduncular uncinado.

En contraste, la inflorescencia masculina se presenta como una panícula cimosa que contiene múltiples pares de cúlulas o botones florales, los cuales pueden incluir dos o más flores de diferentes tamaños junto con pedicelos de flores abortadas. Las flores masculinas

son pentámeras y carecen de corola, exhibiendo sépalos del cáliz amarillentos, oblongos y acuminados. Los estambres consisten en un filamento delgado y corto que sostiene anteras oblongas, cuadrangulares y dehiscentes longitudinalmente. La estructura del polen se caracteriza por ser colpada y triporada. Estas diferencias morfológicas entre las flores femeninas y masculinas de *Cannabis sativa* L. son esenciales para la reproducción y desarrollo de la planta (Romero Betancourt, 2021).

### Figura 1

*Planta de Cannabis sativa* L.



**Fuente:** (Leafwell, 2023)

Existen diferencias físicas mayormente destacables entre la planta de *Cannabis sativa* L hembra y macho; en la planta macho se encuentran tallos gruesos y robustos, las hojas son escasas, en cuanto a tamaño son más altas, tienen sacos de polen que forman flores verdes y blancas. Por el contrario, la planta hembra tiene tallos delgados, con hojas abundantes, de tamaño más corto, tiene finos pelos translúcidos de color blanco o naranja, el pistilo tiene forma de V con capa protectora [cáliz] y contiene cogollos resinosos (Leafwell, 2023).

### 2.2.2.2 Subgéneros de *Cannabis sativa* L.

Según Riera (2015), en su libro "El gran libro del Cannabis" existen tres subgéneros de Cannabis: *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis*, cada uno con cientos de variantes. Todos ellos crean fibra de alta calidad adecuada para aplicaciones textiles e industriales. Su concentración de cannabinoides, en particular de THC, difiere. El contenido de THC varía según el subgénero y el cultivar. En este sentido, también existe una distinción natural: las hembras generan más y mejor THC que los machos.

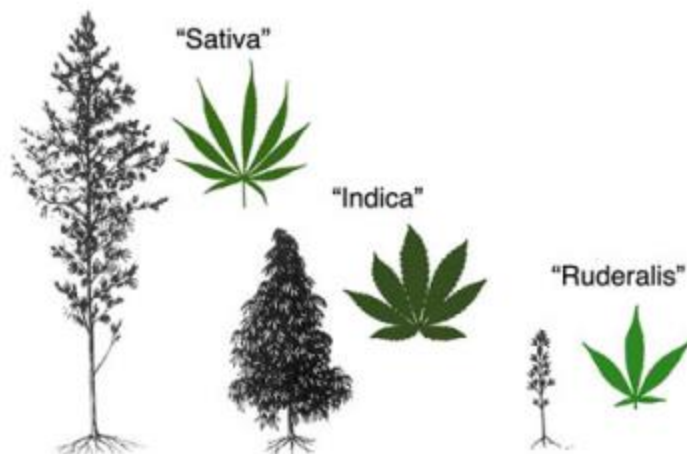
*Cannabis sativa*: Países tropicales como Tailandia, Indonesia, Nigeria y Colombia albergan esta especie. Es un arbusto enorme y ancho con numerosas ramas laterales. Tiene hojas delgadas. Los cogollos de este cultivar suelen ingerirse en forma de hierba [marihuana]. La hoja suele ser de color verde más claro que la de la *índica*. Suelen florecer entre septiembre y octubre en nuestra latitud. Tiene un sabor e impacto suave y eufórico.

*Cannabis indica*: Se encuentra en el Himalaya y en la cuenca mediterránea, así como en la India, Pakistán, Afganistán, Líbano y Marruecos. Es una planta más corta que la *sativa*, con hojas más grandes y más resina. Por ello, tras la cosecha, se suele extraer la resina de la planta para producir hachís. Florece antes que las *sativas* en los cultivos al aire libre, generalmente hacia finales de julio, y está lista para la cosecha en septiembre-octubre.

*Cannabis ruderalis*: Al no contener prácticamente THC, sus aplicaciones son casi exclusivamente industriales. Su hoja es similar a la de la *sativa*, pero su aspecto general es más achaparrado y tupido. Es originaria de la antigua Unión Soviética.

## Figura 2

### *Tipos de plantas de Cannabis*



**Nota:** Taxonomía del Cannabis basada en la existencia de tres especies (McPartland, 2018).

### 2.2.3 Composición Química

La *Cannabis sativa* L., pertenece a la familia *Cannabaceae* y contiene una diversidad significativa de alrededor de 750 compuestos de origen vegetal, de los cuales aproximadamente 100 son cannabinoides. El mayor porcentaje de cannabinoides se encuentran presentes en los tricomas, dentro de estos los cannabinoides más notables en esta planta incluyen el cannabidiol [CBD], el  $\Delta$ 9-tetrahidrocannabinol [ $\Delta$ 9-THC] y el cannabinol [CBN], según lo señalado en un estudio reciente (Monton y col., 2023).

Además, se han llevado a cabo investigaciones enfocadas en la estructura química de esta variedad, lo que ha resultado en la identificación de aproximadamente 500 compuestos distintos, que abarcan cannabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides, estilbenos, amidas fenólicas y lignanamidas. De entre estos elementos, los cannabinoides sobresalen como los

metabolitos más destacados y característicos de esta especie. De hecho, se conocen alrededor de 70 cannabinoides, entre los cuales el THC ha sido ampliamente estudiado (López y col.,2014).

Los cannabinoides constituyen una clase de compuestos meroterpenoides que se encuentran de manera común en el *Cannabis sativa* L., también conocido como cáñamo. El THC es conocido por su capacidad de provocar efectos psicoactivos, aunque también se le atribuyen propiedades terapéuticas que afectan la actividad de diversas células en el sistema inmunológico. Por otro lado, el cannabidiol es otro cannabinoide que se encuentra en abundancia en estas plantas, y se caracteriza por sus propiedades antiinflamatorias, anticonvulsivas y antipsicóticas (Ortega Serrano, 2017).

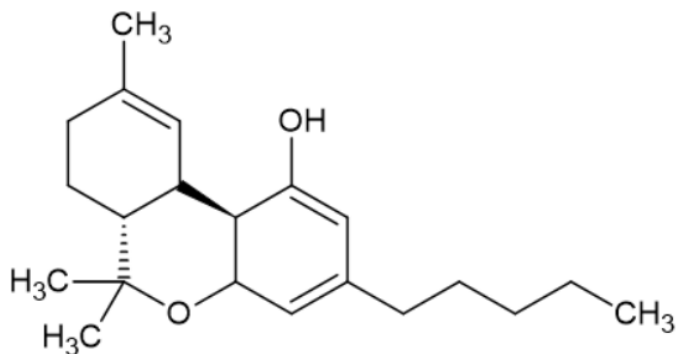
## **2.2.4 Cannabinoides**

### **2.2.4.1 Tetrahidrocannabinol [THC]**

El  $\Delta^9$ -Tetrahidrocannabinol [THC], es el cannabinoide que ha suscitado un amplio debate con relación a la legalización del Cannabis, principalmente debido a algunos de sus efectos, como la alteración de la memoria y la percepción. Sin embargo, es importante reconocer que el THC también tiene efectos terapéuticos significativos. Incluso ciertos efectos que pueden preocupar en el desempeño y estado de ánimo pueden tener beneficios terapéuticos potenciales, dependiendo de cómo se usen, como se menciona en un informe de la Fundación CANNA en 2017.

**Figura 3**

*Estructura química del THC de Cannabis sativa L.*



**Fuente:** (Díaz y col.,2021)

**Tabla 3**

*Cantidad referencial de THC presente en las diferentes partes de la planta Cannabis sativa, expresada en %.*

<b>Flores</b>	<b>Hojas</b>	<b>Tallos</b>	<b>Raíces</b>
10 a 12 %	1 a 2 %	0,1 a 0,3 %	< 0,03%

**Fuente:** (UNODC, 2010)

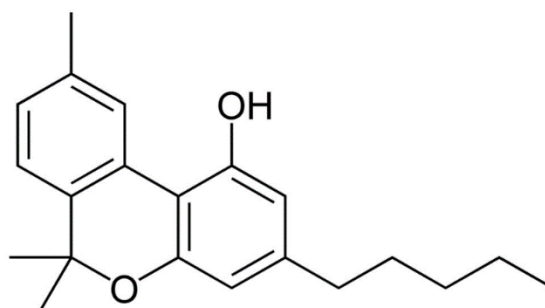
**2.2.4.2 Cannabinol [CBN]**

El cannabinol [CBN] posee un nivel de actividad psicoactiva, aunque esto solo se manifiesta en dosis extremadamente elevadas. En su mayor parte, se considera que este cannabinoide, al igual que el CBD, carece de propiedades psicoactivas. El CBN también

presenta ciertas propiedades medicinales particulares que han capturado el interés de los investigadores en años recientes. El CBN actúa sobre los mismos receptores que el THC, los receptores CB1 y CB2, aunque sus efectos son aproximadamente un 10 % de la potencia del THC. En ciertos casos y en dosis muy elevadas, esto puede dar lugar a efectos psicoactivos en algunas personas (Cooke, 2021).

#### **Figura 4**

*Estructura química del CBN de Cannabis sativa L.*



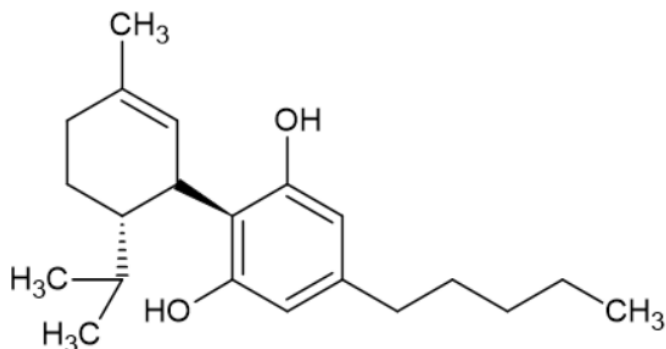
**Fuente:** (Furian, 2021)

#### **2.2.4.3 Cannabidiol [CBD]**

Aunque el CBD influye en el sistema nervioso central y tiene un impacto en la función cerebral, no posee los efectos psicotrópicos característicos del THC. Más bien, contrarresta los efectos psicomiméticos [similares a la psicosis] inducidos por el THC. Actualmente, el CBD es el cannabinoide reconocido por tener más efectos beneficiosos en el tratamiento de síntomas y enfermedades, tiene un amplio margen terapéutico, lo que significa que sus efectos secundarios son leves en dosis. En general, el CBD es bien tolerado (Fundación CANNA, 2017).

**Figura 5**

*Estructura química del CBD de Cannabis sativa L.*



**Fuente:** (Díaz y col.,2021)

**Tabla 4**

*Cantidad referencial de CBD presente en las diferentes partes de la planta Cannabis sativa L., expresada en µg.*

<b>Flores</b>	<b>Hojas</b>	<b>Tallos</b>	<b>Raíces</b>
<b>76300 µg</b>	1790 µg	179 µg	14,3 µg

**Fuente:** (Andre y col., 2016)

**2.2.5 El sistema endocannabinoide**

La mayoría de los receptores cannabinoides del cuerpo se encuentran en las membranas celulares y, cuando se estimulan, inician una serie de funciones fisiológicas. Se reconocen dos variedades principales: CB1, que se encuentra en el sistema inmunitario, el tejido conjuntivo, las gónadas, las glándulas y los órganos; y CB2, que se encuentra sobre



todo en el sistema neurológico. Ambos tipos están presentes en muchos tejidos y tienen funciones distintas. Existen conjeturas sobre la posible presencia de receptores cannabinoides no identificados. Para activar estos receptores, el cuerpo crea endocannabinoides como la anandamida y el 2-araquidonoilglicerol. Actúan localmente y tienen una vida media breve antes de ser degradados por enzimas como la monoacilglicerol ligasa [MAGL] y la amidohidrolasa de ácidos grasos [FAAH]. Se sintetizan a demanda en las membranas celulares (Ross, 2023).

### **2.2.6 Legislación de *Cannabis sativa* L**

Los países tienen leyes diferentes que regulan la posesión, distribución y producción de Cannabis y las condiciones para usar con fines medicinales y recreativos. Tres tratados de las Naciones Unidas -la Convención contra el Tráfico Ilícito de Estupefacientes y Sustancias Psicotrópicas de 1968, el Convenio sobre Sustancias Psicotrópicas de 1971 y la Convención Única sobre Estupefacientes de 1961- regulan estas prácticas en la mayoría de los países (ICEERS, 2021).

#### **2.2.6.1 Legislación en América**

En América, la legislación sobre el Cannabis ha experimentado cambios significativos, reflejando un cambio hacia enfoques más progresistas. Varios países han explorado la despenalización y legalización del Cannabis, tanto para uso medicinal como recreativo, marcando un cambio en la percepción cultural y abordando los desafíos asociados con su regulación. En este contexto, también es relevante mencionar a Ecuador, donde se ha llevado a cabo discusiones similares sobre la de modificación de leyes relacionadas con el

Cannabis, buscando adaptarse a las tendencias globales y abordar las necesidades de la sociedad ecuatoriana.

**Uruguay** es la primera nación del mundo que ha legalizado completamente el uso del Cannabis tanto para usos industriales y recreativos como medicinales y de investigación científica. En esta pequeña nación, el Estado - con la ayuda del Instituto de Regulación y Control del Cannabis - determina quién cultiva Cannabis, cuánto se cultiva, cuándo se cultiva y, bajo qué circunstancias, a quién se le permite consumirlo. Los tres métodos de entrada al mercado del Cannabis recreativo son el autocultivo, los clubes de Cannabis y la compra en farmacias. El marco legislativo para el uso recreativo se basa en la concesión de licencias a particulares dedicados a la plantación, cultivo, cosecha, producción y venta de Cannabis. Estas licencias son intransferibles y la asignación mensual de Cannabis está limitada a 40 gramos (Constitución de la República Oriental del Uruguay, 2014, Ley N° 19.172).

Desde 2005, el consumo de Cannabis con fines recreativos está despenalizado en **Chile**. Sin embargo, sigue siendo obligatorio consumir Cannabis en entornos privados para evitar ser detenido y perder las pertenencias. El cultivo se permite siempre que se haga para uso personal (Sumpter, 2020).

Más recientemente, con fines medicinales, la planta se cultiva en el país desde 2014. Aunque, no obstante, un porcentaje considerable del Cannabis que se consume en el país se importa de varios países vecinos. Tras esta aprobación en 2015, se permitió a los farmacéuticos vender medicamentos derivados del Cannabis (Congreso nacional de Chile, 2015, Decreto 84; Sumpter, 2020).

En **Colombia**, la aprobación de la Ley 1787 en 2015 proporcionó un marco jurídico para el acceso medicinal y científico al Cannabis, con el control estatal del mercado y la concesión de licencias a empresas privadas para diferentes actividades asociadas. La ley tuvo en cuenta el hecho de que algunos pequeños agricultores cultivan Cannabis para su sustento, y ordena que las empresas autorizadas compren la materia prima directamente a estos agricultores (Ramírez & Fedesarrollo, 2019). Aunque esta estrategia tiene en cuenta las demandas de los agricultores, sigue siendo necesario el apoyo tecnológico para asegurarse de que las plantas cumplen los requisitos de la marihuana medicinal. El resultado final es una clase de medicamentos llamados fitofármacos, de libre acceso en farmacias y para los que el Gobierno pretende fijar tarifas razonables. Según el informe de 2018 de la JIFE, el mayor consumo de Cannabis medicinal se registra en Colombia (Ministerio de Salud y Protección Social, 2015, Decreto 2467).

Desde 2014, **Brasil** permite la importación de medicamentos a base de aceite de CBD. En 2016, legalizó usar THC y flores de marihuana para terapéuticos y medicinales. No obstante, el Consejo Médico Federal prohíbe a los médicos recetar marihuana en forma de planta a menos que existan condiciones especiales. Para este tratamiento deben cumplirse los criterios de la ANVISA, que incluyen el registro del paciente, la importación personal y la obtención de permisos. Aún está en discusión si se puede cultivar Cannabis para estos usos (*Maconha: Anvisa não é contra uso para fins medicinais - Cosmetovigilância - Anvisa*, 2015).

En la actualidad, 29 estados de **EE.UU.** cuentan con leyes que permiten el cultivo, la producción, el procesamiento, la venta y la tributación del Cannabis y sus derivados con fines médicos. Así pues, Estados Unidos ofrece un interesante crisol de regímenes reguladores que

alternan entre los que dan prioridad a la salud pública y los que persiguen más bien fines comerciales legítimos y objetivos de ingresos. Esto convierte el caso de Estados Unidos en un excelente ejemplo de procesos mixtos con resultados mixtos, donde tanto los procesos legislativos como los referendarios han respondido a necesidades e intereses diferentes (Redacción EC, 2020).

#### **2.2.6.2 Legalización en otros países**

En los **Países Bajos**, la legalización del Cannabis medicinal se produjo en 2000, dando lugar a la Oficina de Cannabis Medicinal [BMC] y estimulando una robusta industria farmacéutica liderada por Bedrocan Medical Cannabis. En el país, el Cannabis medicinal es producido y distribuido exclusivamente por Bedrocan. La empresa ha estandarizado el suministro local y ha empezado a exportar algunos artículos desarrollando cinco tipos distintos de medicamentos de Cannabis flos [flores] con concentraciones variables de THC y CBD. La Agencia del Cannabis Medicinal supervisa la producción nacional de Cannabis medicinal, que se vende en farmacias con receta para diversas enfermedades. En los últimos diez años se ha producido un notable aumento del uso terapéutico; en los Países Bajos, más de 50.000 personas tienen ya receta para consumir Cannabis (Korf, 2019).

En otro caso, **Alemania** finalizó recientemente las modificaciones legales necesarias para ampliar el uso del Cannabis con fines médicos. Antes de la nueva ley, que entró en vigor en enero de 2017, los pacientes sólo podían obtener Cannabis medicinal con una autorización individual específica. Alemania es ahora una de las primeras naciones del mundo en incluir el Cannabis medicinal en la gama básica de medicamentos que pagarán las aseguradoras comerciales y las agencias de salud pública (Stöver y col., 2019). El Instituto Federal de

Medicamentos y Productos Sanitarios [BfArM] creó una Agencia Nacional del Cannabis para gestionar el nuevo procedimiento, tal y como exigen los tratados internacionales sobre medicamentos. La ley de 2017 también permite el desarrollo de la fabricación local de Cannabis, aunque actualmente todos los medicamentos a base de Cannabis se importan, principalmente de los Países Bajos (*Doctors Rejoice as Germany Kicks off Medical Marijuana Prescriptions*, 2017).

### **2.2.6.3 Marco legal del *Cannabis sativa* L. en el Ecuador**

En Ecuador, tras un largo esfuerzo en la batalla por la aprobación del uso medicinal del Cannabis, se ha establecido una regulación adicional que habilita la obtención de autorizaciones para: importar, cultivar, recolectar, transformar, comercializar y exportar Cannabis con fines industriales.

Por ello en la normativa ecuatoriana, ha establecido una regulación para el cultivo de Cannabis no psicoactivo.

El Artículo 127, enmienda la Ley Orgánica Reformatoria al Código Orgánico Integral Penal, modificando la disposición general 3 de la Ley Orgánica de Prevención Integral para excluir al Cannabis no psicoactivo o cáñamo de la lista de sustancias sujetas a fiscalización. Esta exclusión se basa en la consideración de que la planta que contiene menos del 1% en peso seco de THC [delta-9-tetrahidrocannabinol] no está sujeta a regulación y recae bajo la jurisdicción de la Autoridad Agraria Nacional (Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020)

Como resultado, la modificación de la Ley Penal fue aprobada el 19 de octubre de 2020. A través del Ministerio de Agricultura, se emitió el Acuerdo Ministerial No. 109-2020,

el cual establece la regulación de la importación, el cultivo, la cosecha, el almacenamiento y otras actividades relacionadas con la comercialización y exportación del Cannabis no psicoactivo, también conocido como cáñamo, con fines industriales.

Según Samaniego (2021), este reglamento establece la necesidad de cumplir con los requisitos para obtener las siete categorías de licencias requeridas para realizar actividades relacionadas con el Cannabis o cáñamo que contiene menos del 1% de concentración de THC.

1. Autorización específica para importar y comercializar semillas de Cannabis no psicoactivo o cáñamo con fines industriales.
2. Licencia para importar y comercializar Cannabis no psicoactivo, así como semillas de Cannabis no psicoactivo y semillas para uso industrial.
3. Autorización para el cultivo de Cannabis no psicoactivo.
4. Licencia para el cultivo de Cannabis no psicoactivo con fines industriales.
5. Licencia para el procesamiento de Cannabis no psicoactivo y la producción de derivados de cáñamo.
6. Autorización para actividades de fitomejoramiento, bancos de germoplasma e investigación.
7. Licencia para la adquisición de Cannabis no psicoactivo o sus derivados, así como biomasa, flores o biomasa para uso industrial y exportación.

Por tal razón, el 25 de febrero de 2021, la Agencia de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria [ARCSA] emitió la Resolución N° ARCSA-DE-002-2021-MAFG, que establece la normativa técnica sanitaria para supervisar y controlar los productos destinados al uso y consumo humano que contengan Cannabis no psicoactivo o sus productos derivados.

**Tabla 5**

*Niveles de THC permitidos en productos finales*

<b>Productos</b>	<b>Porcentaje permitido (%)</b>
<b>Medicamentos en general</b>	< 1%
<b>Alimentos y suplementos alimenticios</b>	< 0.3%
<b>Productos cosméticos</b>	< 1%
<b>Dispositivos médicos</b>	< 1%
<b>Productos higiénicos de uso industrial y domésticos</b>	< 1%
<b>Plaguicidas de uso doméstico y en salud pública o industrial</b>	< 1%

**Fuente:** " Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria " Arcsa (2021).

Los productos mencionados en la Tabla 3 deben contener derivados de Cannabis no psicoactivo o cáñamo < 1%, así como debe tener estándares que garanticen la seguridad y calidad de productos destinados al consumo y uso humano.

### **2.2.7 Métodos de extracción**

Los métodos de extracción de componentes de Cannabis Sativa L. ofrecen diversas alternativas, como la extracción con agua fría, el empleo de hielo seco, la asistencia por ultrasonido, la extracción por microondas y la extracción por fluidos supercríticos. Estas técnicas son consideradas más amigables con el medio ambiente debido a que no requieren el uso de solventes orgánicos.

#### **2.2.7.1 Extracción con agua**

La extracción con agua es un método sin disolventes utilizado para extraer cannabinoides de las plantas de Cannabis. Este proceso implica sumergir el material vegetal en agua fría y agitarlo para facilitar la extracción (Szalata y col., 2022). Se caracteriza por su simplicidad y efectividad en la separación de cannabinoides. Es particularmente útil para preservar la integridad de los tricomas, que almacenan los terpenos y cannabinoides en la planta. El proceso se puede optimizar aún más mediante técnicas como la descarboxilación in situ y la extracción con agua caliente (Nuapia y col., 2021; Szalata y col., 2022). Este enfoque se considera ecológico y es preferido por su eficacia al eliminar compuestos polares y semipolares (Nuapia y col., 2020).



### **2.2.7.2 Extracción por hielo seco**

La extracción de Cannabidiol a partir del hielo seco es un método sencillo y menos riesgoso que el uso de solventes convencionales. El hielo seco consiste en dióxido de carbono [CO<sub>2</sub>] en estado sólido, y su característica esencial es que se sublima, es decir, pasa directamente de estado sólido a estado gaseoso sin dejar ningún residuo de humedad. El hielo seco se encuentra a una temperatura de -78°C, lo que facilita el proceso de extracción al permitir una separación más rápida de los tricomas de la materia orgánica. Estos tricomas son las glándulas que contienen la resina cannábica (Castillo y Rico, 2020).

Para llevar a cabo este proceso, es necesario congelar la materia [previamente descarboxilada], lo que facilitará la agitación para liberar los tricomas y recolectarlos. Estos tricomas albergan el espectro completo de cannabinoides y terpenos que se encuentran en la planta de cáñamo.

Al trasvasar con la malla, los sólidos de mayor tamaño, como el hielo seco y las hojas de muestra, quedan retenidos en ella, mientras que el polvo resultante de la extracción atraviesa la malla y se recoge en el recipiente. Se agita la malla hasta asegurarse de que no caiga más resina. Es importante repetir este procedimiento varias veces con la muestra retenida en la malla para garantizar la extracción completa de los cannabinoides (Murillo Castro y Ojeda Maldonado, 2021).

### **2.2.7.3 Extracción asistida por ultrasonido**

En el trabajo de Martínez y col. (2023) menciona que las ondas ultrasónicas se difunden a través de la rarefacción y compresión, lo que resulta en la creación de una presión

negativa. Cuando la fuerza de tracción del solvente es menor que esta presión generada, se forman burbujas de vapor que implosionan en un proceso llamado cavitación, generando turbulencias y perturbaciones a mayor escala. La cavitación cerca de la interfaz entre líquido y sólido provoca un rápido flujo de líquido a través de la cavidad en la superficie, lo que a su vez causa erosión, ruptura de partículas y desprendimiento superficial. Esto favorece la liberación de compuestos de interés de la materia vegetal, resultando en una mayor eficiencia de extracción gracias a una mejora en la transferencia de masa.

#### **2.2.7.4 Extracción con fluidos supercríticos**

Este proceso se distingue por el uso frecuente de dióxido de carbono [CO<sub>2</sub>] como agente fluido. Recibe su nombre del proceso que utiliza disolventes a presiones y temperaturas superiores al punto crítico, en el que una sustancia química presenta características tanto de su fase gaseosa como líquida. El CO<sub>2</sub> es la opción preferida por su sencillez de fabricación y eliminación, así como por su no toxicidad e inflamabilidad. Utilizar CO<sub>2</sub> tiene la ventaja añadida de permitir que la extracción se realice en un entorno libre de oxígeno y luz, lo que ralentiza significativamente el proceso de oxidación de los fitocannabinoides (Lazarjani y col., 2021).

#### **2.2.7.5 Extracción asistida por microondas**

La extracción producida por el proceso de extracción asistida por microondas [MAE] se produce por calentamiento volumétrico en lugar de por transferencia de calor del exterior al interior. Esta variación permite un control más preciso de la temperatura y de la duración del contacto, lo que mejora la eficacia y la uniformidad del proceso (Radoiu y col., 2020).

Este proceso se considera respetuoso con el medio ambiente, ya que elimina la necesidad de disolventes y mejora la producción y la calidad del producto final, en este caso, el aceite esencial de cannabis. El proceso consta de dos etapas: la primera produce un residuo acuoso con fenoles bioactivos y la segunda produce biomasa libre de terpenos (Mazzara y col., 2022).

### **2.2.8 Liofilización**

La liofilización se considera el mejor método para eliminar el agua de materiales sensibles al calor, como frutas y verduras, y producir productos deshidratados (Nowak y Jakubczyk, 2020). Esta técnica elimina el agua por sublimación a temperaturas y presiones extremadamente bajas, garantizando la alta calidad de los artículos deshidratados. La liofilización tiene grandes ventajas sobre otros procesos de deshidratación, como mantener la estructura y el color originales, la escasa pérdida nutricional y la capacidad de rehidratación por la formación de una estructura porosa en el producto. Por ende, la liofilización se elige para secar frutas, verduras y sus extractos con el fin de fabricar productos de alto valor (Jiang y col., 2024). Los importantes costes de procesamiento asociados a la liofilización limitan su utilidad industrial para el secado de alimentos. Se han realizado esfuerzos para establecer nuevos procedimientos para producir artículos de calidad comparable a los obtenidos mediante FD, aunque varias cualidades, como la rehidratación, el color y la textura, son difíciles de alcanzar. El coste de este puede reducirse aumentando la velocidad de secado mediante calentamiento externo sin que el producto se derrita (Jangam y col., 2016).

En el trabajo realizado por Nowak y Jakubczyk (2020) expone que las fases de la liofilización incluyen la congelación del producto, el secado primario y el secado secundario, que a continuación se habla.

La primera fase, la congelación del producto, es crucial ya que implica la formación de cristales de hielo en el producto. Esta etapa es fundamental para inmovilizar los ingredientes y prevenir cambios no deseados durante la deshidratación. Además, la estructura de los cristales de hielo formados durante la congelación afecta la migración del vapor de agua en las etapas posteriores del proceso.

El secado primario es la siguiente fase, donde se produce la sublimación del agua congelada del producto. Durante esta etapa, se transfiere masa desde el producto al entorno a través de la sublimación, lo que implica la eliminación del agua en forma de vapor sin pasar por el estado líquido. Este proceso se realiza generalmente a presiones reducidas para facilitar la sublimación.

Finalmente, el secado secundario es la fase en la que se elimina el agua adsorbida en el producto. A diferencia del secado primario, el secado secundario implica la eliminación de agua que está más fuertemente unida a la matriz del producto. Esta etapa requiere un mayor control de la temperatura y la presión para garantizar la eliminación completa del agua y obtener un producto final con la humedad deseada.

## **2.2.9 Técnicas de cuantificación de cannabinoides**

### **2.2.9.1 Cromatografía de capa fina [TLC]**

Para identificar cannabinoides como el CBD, el  $\Delta^9$ -THC y el CBN se utiliza un método analítico cualitativo denominado cromatografía en capa fina [CCF]. Este proceso utiliza hexano u otros disolventes no polares como fase móvil y una capa de gel de sílice o alúmina como fase estacionaria sobre un sustrato de metal, plástico o vidrio. Aunque es rápido y barato y no requiere un equipo costoso, tiene límites porque no puede dar resultados precisos de los niveles de cada cannabinoide. La fase estacionaria sólida y la fase móvil líquida se combinan para producir una tonalidad que facilita la identificación de los cannabinoides presentes (AnandaLab, 2021; Gil, 2021).

### **2.2.9.2 Cromatografía de líquidos de alto rendimiento [ HPLC]**

El método de cromatografía líquida de alto rendimiento [HPLC] se usa con frecuencia para perfilar la cantidad de cannabinoides en el Cannabis o sus productos derivados como están en la naturaleza. La técnica HPLC, a diferencia del análisis GC, no requiere largos pretratamientos de la muestra ni estrés térmico. También permite la cuantificación de compuestos ácidos naturales, así como sus formas neutras, sin necesidad de protocolos de derivatización específicos o técnicas de calentamiento. Por lo tanto, la HPLC es la mejor técnica para medir la cantidad de cannabinoides vegetales reales antes de la descarboxilación (Micalizzi y col., 2021). No obstante, la intrincada composición de la matriz del Cannabis provoca un gran solapamiento de picos, lo que dificulta la separación de los principales cannabinoides (Borille y col., 2017).

### 2.2.9.3 Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas [GC/MS]

Los cannabinoides se analizan mediante un método analítico denominado cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas [GC-MS]. Este método combina la detección y cuantificación del Cannabis por espectrometría de masas con la separación de componentes por cromatografía de gases (Velasco Rodríguez, 2018).

Utilizando una columna capilar y un gas portador inerte, la muestra se volatiliza y se divide en sus componentes en el proceso de cromatografía de gases. Los periodos de retención son los intervalos en los que estos componentes eluyen de la columna a medida que se separan (Villaverde, 2019). A continuación, los componentes separados se añaden al espectrómetro de masas, donde se dividen y ionizan en iones individuales. La relación masa-carga  $[m/z]$  de estos iones se utiliza para identificarlos y registrarlos, lo que permite identificar y medir los cannabinoides contenidos en la muestra (Martín Gavilán & Gómez Juaristi, s. f.)

Debido a su capacidad para distinguir e identificar sustancias químicas volátiles y semivolátiles, la GC-MS es un método muy sensible y preciso que se emplea con frecuencia en el análisis del cannabis. Proporciona información precisa sobre la estructura química de los cannabinoides y permite calcular su cantidad en una muestra.

El método de ionización GC-MS más utilizado para la investigación del Cannabis es el modo de impacto de electrones [EI], que produce espectros MS con picos distintivos de iones fragmento necesarios para la identificación de compuestos. Sin embargo, debido al grado de fragmentación de la molécula en este contacto, suele faltar el ion molecular. Actualmente, la GC también se usa con métodos de ionización más suaves, como la química

[IC], que informa sobre los iones moleculares, para investigar el cannabis. Nótese que en el análisis GC-MS del Cannabis también se utilizan métodos de ionización alternativos, como el de fotoionización [PI]. Estas dos técnicas no son las únicas que se utilizan a este respecto (Nahar y col., 2020).

#### **2.2.9.4 Cromatografía Gaseosa con detector de Ionización de llama [GC/FID]**

El propósito fundamental de esta cromatografía es realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de ciertos cannabinoides sintéticos de interés, entre los que se incluyen el CBD, CBN y THC (UNODC, 2014). Su operatividad se basa en una detección mediante una fase móvil en una llama de hidrógeno/oxígeno. En este proceso, los cannabinoides se introducen en la fase móvil, experimentan ionización y, posteriormente, son detectados. Para llevar a cabo este procedimiento de manera precisa, es esencial realizar una preparación de la muestra, teniendo en cuenta su curva de calibración y la inclusión de estándares internos de control. Parámetros distintivos por considerar incluyen una temperatura de inyección de 275°C durante 9 minutos y un modo de inyección de 1:25 (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

## CAPÍTULO 3

### METODOLOGÍA

#### 3.2 Nivel de investigación

Se utiliza un enfoque de investigación explicativa que tiene como objetivo establecer la conexión causal, evaluando las variables independientes que comprenden tres métodos distintos de extracción de cannabinoides de la planta *Cannabis sativa* L. Luego, los resultados se analizan y describen para determinar la eficacia de la extracción.

#### 3.3 Diseño de investigación

El enfoque del diseño de investigación aplicado que se aborda en este estudio es de carácter experimental, ya que expone la planta *Cannabis sativa* L. a distintos factores para identificar cuál de los tres métodos de extracción analizados influye en el rendimiento obtenido.

#### 3.4 Población y muestra

La unidad experimental que se utiliza consta de 10 g de cogollos, los cuales se colocan en un matraz de 250 mL que contiene un solvente no orgánico definido para dos de los tres métodos de extracción, y 1 g en 50 mL en un tubo falcón para el último método. La unidad experimental se obtiene de un lote de 1 kg de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* de la variedad Y griega, el cual se somete a un pretratamiento de descarboxilación.

#### 3.5 Variables



- **VARIABLES INDEPENDIENTES:** Métodos de extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* L.
- **VARIABLE DEPENDIENTE:** Rendimiento de extracción obtenido
- **VARIABLES INTERVINIENTES:** Temperatura de extracción de los métodos empleados, técnicas de análisis y eficiencia de extracción.

### 3.6 Técnicas e instrumentación de recolección de datos

Para llevar a cabo esta investigación, se emplean diversas técnicas y herramientas de recopilación de datos. Esto incluye el análisis documental mediante la consulta de libros, la revisión de artículos científicos, el acceso a bases de datos y repositorios institucionales, así como la revisión de publicaciones en revistas de variado impacto. Además, para analizar observaciones no estructuradas, se recurre a la captura de imágenes y a la toma de notas en el campo. En contraste, para llevar a cabo observaciones estructuradas, se utilizan herramientas estadísticas diseñadas para recopilar datos y obtener resultados, con pruebas estadísticas paramétricas. Si los datos no siguen una distribución normal, se emplean pruebas estadísticas no paramétricas.

### 3.7 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Con el fin de examinar la normalidad de los datos adquiridos, se aplica la prueba de Shapiro-Wilk para verificar si los datos siguen una distribución normal. Después de este procedimiento, se realizan pruebas paramétricas, tal como se describe a continuación.

Se emplea el método estadístico paramétrico, específicamente el análisis de varianza [ANOVA], para identificar diferencias significativas entre grupos. Posteriormente, se utiliza el método de Tukey para precisar qué pares de grupos exhiben divergencias entre sí.

En el caso del método estadístico no paramétrico, se implementa la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar diferencias estadísticamente significativas en los rendimientos de cannabinoides entre los métodos de extracción evaluados.

### 3.8 Materiales

**Tabla 6**

*Materiales destinados para los procesos de extracción*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Probeta 100 mL	Ultra congelador [TDE Series]	Hielo seco
Varilla	Shaker [MAXQ 4000]	Agua destilada
Mortero y pistilo	Liofilizador [Alpha 1-2 LDplus]	
Tubos falcón 50 mL	Balanzas analíticas	
Luna de reloj	Estufa	
Vaso de precipitación 250 mL		
Cajas de Petri		

---

Matraz Erlenmeyer

Papel aluminio

Fundas ziploc

Papel filtro 25  $\mu\text{m}$

Frascos ámbar 100 mL y

5 mL

Termómetro

---

### **3.9 Procedimiento**

El procedimiento se fundamenta en la metodología de Szalata y col. (2022) para el tratamiento de agua fría. En cuanto al tratamiento con hielo seco, se sigue el enfoque propuesto por Castillo y Rico (2020), mientras que para el proceso de ultrasonido se adopta la metodología de Martínez y col. (2023), con modificaciones realizadas en ciertos parámetros.

#### **3.9.1 Obtención de muestra**

En la investigación, se emplea *Cannabis sativa* L. como materia prima, previamente secada y lista para su uso. Esta materia prima se obtiene gracias a la colaboración de la empresa "PharmaCannabis", una compañía farmacéutica ecuatoriana dedicada a la producción y comercialización de productos basados en Cannabis, con un enfoque particular en aplicaciones medicinales.

La variedad por emplear de Cannabis es Y griega, perteneciente a la subespecie *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa*. Es una variedad híbrida desarrollada por Medical Seeds que es 80% sativa dominante y se distingue en el mercado del Cannabis por su excepcional potencia y su perfil de efectos matizados. Este híbrido se creó cruzando cepas de Kali Mist y Amnesia (*Y Griega*, s. f.). En cuanto a las muestras otorgadas, estas incluyen flores, hojas y tallos. No obstante, se eligen las flores [cogollos], ya que los tallos y semillas de la planta de Cannabis feminizada tienen concentraciones de cannabinoides inferiores a las de sus flores, que contienen 10 veces más cantidad de cannabinoides que las hojas (León Cam, 2017). Se elige una muestra representativa de 500 g de flores feminizadas, las cuales se almacenan herméticamente en bolsas para preservar la integridad de sus componentes y evitar cualquier degradación.

## Figura 6

*Muestras de Cannabis sativa* L. subsp. *sativa*. [*Y griega*]



**Fuente:** Autores

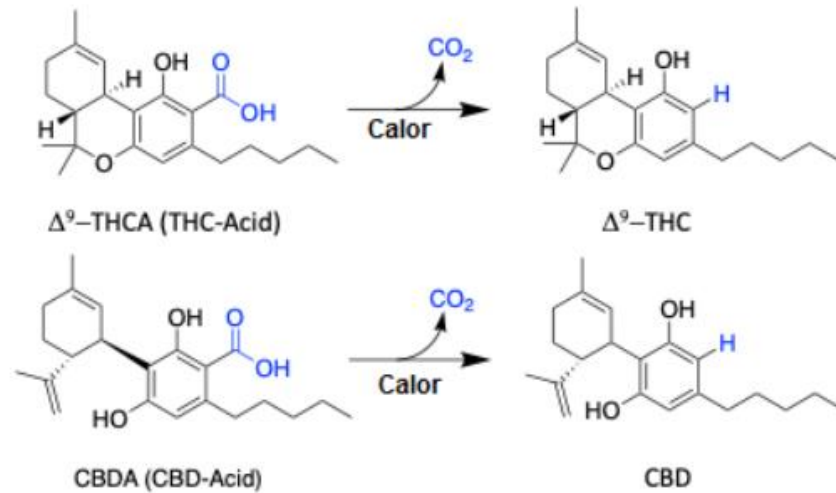
### **3.9.2 Descarboxilación**

El propósito de este proceso es transformar los compuestos THCA y CBDA, que son inestables térmicamente y se encuentran de forma natural en la flor de Cannabis, en sus formas estables de THC y CBD, responsables de las propiedades medicinales atribuidas a la planta. Generalmente, se aplica calor o luz de manera controlada a la muestra para promover la descarboxilación y prevenir la degradación de los cannabinoides de interés. Cabe destacar que la aplicación inadecuada de calor puede llevar a la degradación de los aceites esenciales de la planta o incluso de los cannabinoides (Castillo y Rico, 2020).

Para llevar a cabo este proceso, es necesario triturar las hojas de la planta, esparcir las de forma uniforme en un recipiente resistente al calor y luego colocarlo en una estufa de secado a 115°C durante 45 minutos, evitando exceder esta temperatura, ya que, por encima de la misma, los cannabinoides se destruyen. Este paso se llevará a cabo en los tres tipos de extracción (José, 2021).

## Figura 7

### Descarboxilación THCA y CBDA



**Fuente:** (Castillo y Rico, 2020)

Durante este procedimiento, no se debe superar la temperatura, ya que es fundamental para la posterior extracción del aceite de Cannabis, y hacerlo podría destruir los principios bioactivos conocidos como cannabinoides. Para cada procedimiento de extracción, se lleva a cabo una descarboxilación.

## Figura 8

### *Descarboxilación de materia vegetal*



**Fuente:** Autores

### 3.9.3 Trituración del material vegetal

Una vez descarboxilado, se procede a triturar la materia vegetal. Este proceso se realiza de forma manual, evitando así la adición de elementos extraños como tallos o residuos. Al triturar el material, los componentes de la planta seca (flores) se rompen y aumenta el área de contacto con el disolvente. A continuación, se pesan los volúmenes necesarios para completar cada procedimiento de extracción.

### 3.9.4 Métodos de extracción

Tras aplicar el pretratamiento al material vegetal, se considera que la planta está preparada para proceder con los tratamientos experimentales de extracción de cannabinoides de la *Cannabis sativa* L. A continuación, se describen en detalle los procedimientos empleados para la extracción utilizando los tres tratamientos distintos.

### 3.9.4.1 Método de extracción con agua fría

En este proceso, se utilizan las mismas cantidades del material vegetal, con una base de 10 g y una variación de microgramos, junto con un volumen de 100 mL de agua destilada, como se muestra en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método con agua fría*

<b>Muestra (g)</b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
10.05 g	100 mL
10.07 g	100 mL
10.00 g	100 mL
10.03 g	100 mL
10.02 g	100 mL
10.02 g	100 mL
10.03 g	100 mL
10.04 g	100 mL
10.04 g	100 mL

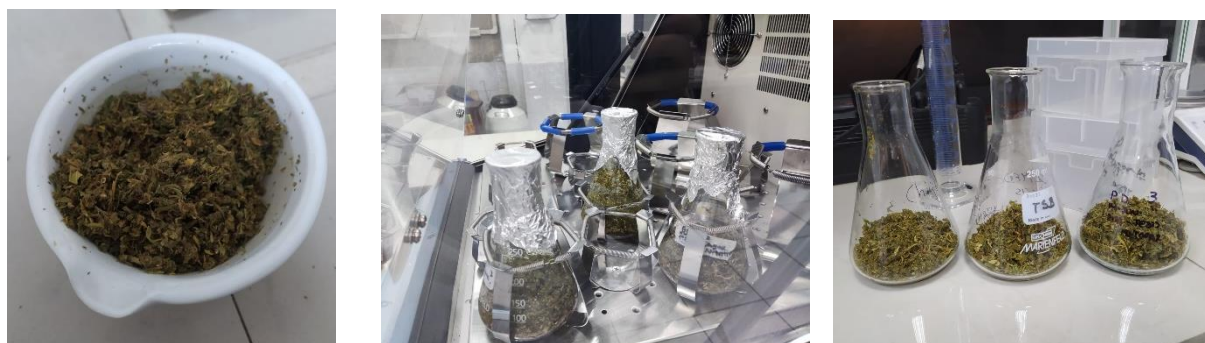


**Fuente:** Autores

Para este proceso de extracción, primero se muelen 10 gramos de muestra seca con un mortero, luego se agregan 100 mL de agua fría destilada a una temperatura inicial de 2°C en un matraz de 250 mL. Posteriormente, se lleva a cabo la extracción durante 24 horas, manteniendo el sistema a una temperatura ambiente controlada de 20°C a 25°C y una velocidad de agitación de 100 rpm [revoluciones por minuto]. Este tratamiento se repite ocho veces más.

### **Figura 9**

*Extracción con el método de agua fría*



**Fuente:** Autores

#### **3.9.4.2 Método de extracción con asistida por ultrasonido**

Este procedimiento se fundamenta en la metodología delineada por Martínez y col. (2023), donde este menciona que utiliza 10g por cada 500 mL, esto implica adaptar varias modificaciones a las condiciones específicas del entorno de laboratorio. En este sentido, se emplean 1g de material vegetal contenido en tubos falcón de 50mL, los cuales son dispuestos en el equipo de ultrasonido para su procesamiento.

**Tabla 8***Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método asistido por ultrasonido*

<b>Muestra (g)</b>	<b>Agua destilada (mL)</b>
1.04 g	50 mL
1.01 g	50 mL
1.01 g	50 mL
1.01 g	50 mL
1.03 g	50 mL
1.04 g	50 mL
1.01 g	50 mL
1.02 g	50 mL
1.03 g	50 mL

**Fuente:** Elaboración propia

Para este tratamiento, primero se muele con un mortero. Después, se agrega 1 gramo de material seco a 50 mL de agua destilada y se somete a un tratamiento ultrasónico durante 30 minutos. Este proceso se lleva a cabo a una temperatura controlada de 40°C y una potencia

ultrasonica específica de 80 W. La utilización de esta potencia ultrasónica y la temperatura controlada se diseñan estratégicamente para maximizar la dispersión y la interacción material-agua, lo que facilita la extracción de componentes particulares presentes en el material seco. Este tratamiento se realiza ocho veces más.

### Figura 10

#### *Extracción asistida con Ultrasonido*



Fuente: Autores

#### 3.9.4.3 Método de extracción con hielo seco

En este proceso, se utilizan las mismas cantidades del material vegetal, con una base de 10 g y una variación de microgramos, junto con un volumen de 100 g de hielo seco, como se muestra en la Tabla 9.

**Tabla 9***Cantidad empleada para el proceso de extracción con el método con de hielo seco*

<b>Muestra (g)</b>	<b>Hielo seco (g)</b>
10.03 g	100g
10.02 g	100g
10.01 g	100g
10.04 g	100g
10.02 g	100g
10.01 g	100g
10.04 g	100g
10.06 g	100g
10.05 g	100g

**Fuente:** Elaboración propia

Para este proceso de extracción, se colocan diez gramos de material vegetal en un recipiente de un litro y se agregan 100 gramos de hielo seco a una temperatura baja de -78,6°C. El sistema experimenta una fase de agitación intensiva de 1 a 3 minutos, seguida de un período de reposo. Después, se coloca una malla de 400  $\mu\text{m}$  en el recipiente y se mueve

para extraer el extracto, que es la resina. Este proceso se lleva a cabo minuciosamente para facilitar la liberación y recopilación de resina en la materia original y maximizar la extracción utilizando las condiciones frías del hielo seco. Este tratamiento se realiza ocho veces más.

### **Figura 11**

*Extracción con hielo seco*



**Fuente:** Autores

#### **3.9.4.4 Parámetros, cantidades y condiciones de los métodos para la extracción de cannabinoides en estudio**

**Tabla 10**

*Parámetros, cantidades y condiciones de los métodos de extracción del presente estudio experimental*

<b>Métodos de extracción</b>	<b>Material vegetal</b>	<b>Solvente</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Potencia ultrasónica</b>	<b>Revoluciones por minuto</b>
<b>con agua fría</b>	10 g	Agua 100 mL	24 h	Temp del agua [-2°C]  Temp del shaker [-24°C]	-	100 rpm
<b>con hielo seco</b>	10 g	Hielo seco 100 g	1–3 min	[- 78,6° C]	-	
<b>UAE</b>	1 g	Agua 50 mL	30 min	40° C	80 W	

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.10 Filtrado

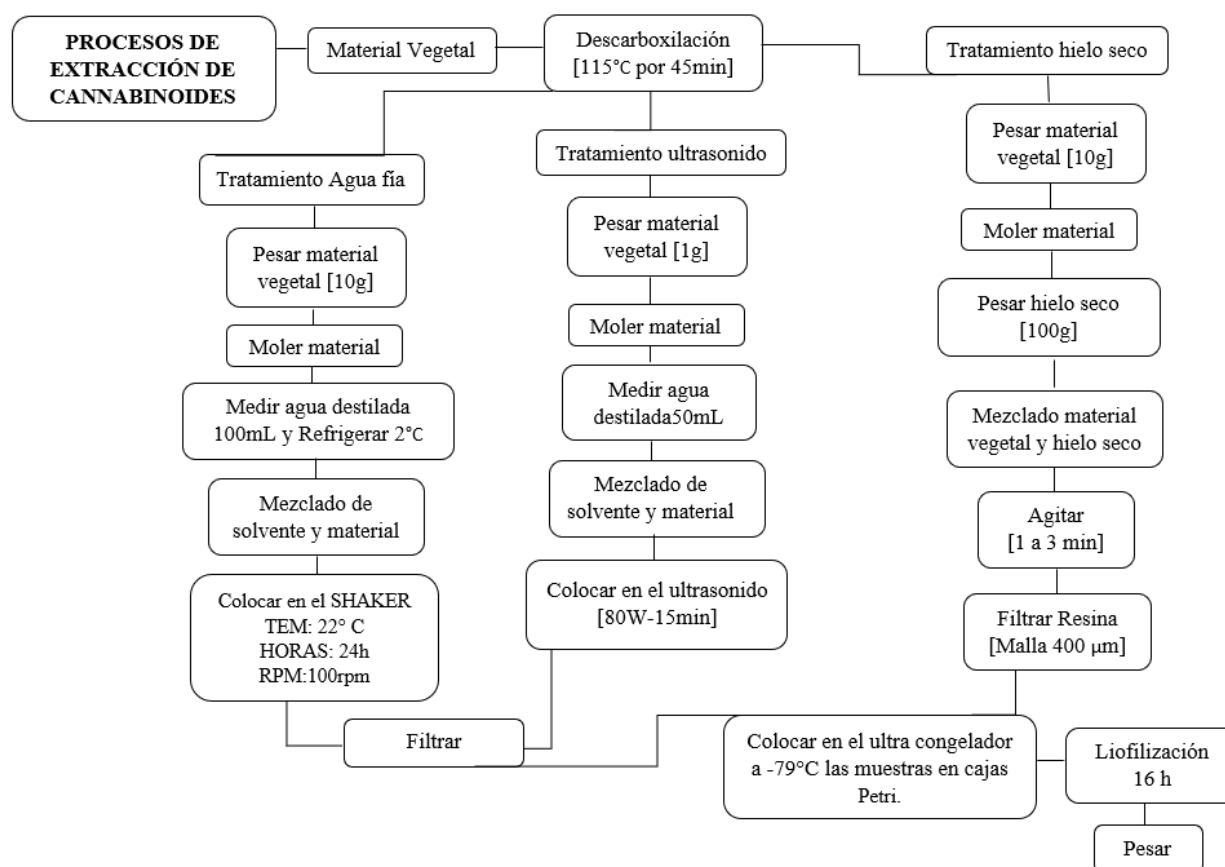
Después del tiempo de inmersión del material vegetal, se realizan las filtraciones para extraer los desechos y restos vegetales de la muestra. En este proceso, se lleva a cabo una filtración inicial con un filtro de 25 µm para eliminar los desechos vegetales. Después de la

filtración, se deja reposar a temperatura entre 4-8°C en la oscuridad para posteriormente someterlas al análisis y cuantificación.

### 3.11 Diagrama de procesos de extracción

**Figura 12**

*Esquema general de los procesos para extracción de cannabinoides*



**Fuente:** Autores

### 3.12 Liofilización

La preparación de la muestra es el primer paso en la técnica del proceso de liofilización. El líquido se coloca en placas de Petri y se congela en un ultra-congelador

durante 30 minutos a  $-79^{\circ}\text{C}$ . A continuación, se congela el condensador del aparato de liofilización durante 30 minutos hasta alcanzar una temperatura de  $-55^{\circ}\text{C}$ . La muestra se seca durante tres horas a  $-50^{\circ}\text{C}$  y 0,040 mbar de vacío tras el proceso de secado primario, para el segundo secado son las mismas condiciones. Una vez finalizado el procedimiento, la resina que se extrae se pesa y posteriormente se almacenamiento. El vacío y la temperatura se controlan continuamente durante el proceso para proporcionar unas condiciones de secado ideales.

### **Figura 13**

*Liofilización de los extractos de agua fría y ultrasonido*



**Fuente:** Autores

### **3.13 Determinación del rendimiento de los extractos**

El cálculo del rendimiento de extracción se basa en la relación entre la masa total recuperada después de la liofilización y la masa inicial utilizada en los tres tratamientos [agua



fría, hielo seco, ultrasonido] expresada como un porcentaje, según se describe en la siguiente ecuación.

$$\% \text{ rendimiento} = \left( \frac{\text{masa experimental}}{\text{masa teórica}} \right) \times 100$$

Donde:

**% rendimiento** = Porcentaje de rendimiento total

**Masa experimental** = Masa total de la liofilización

**Masa teórica** = Masa inicial que se utiliza en los tratamientos

### 3.14 Cuantificación de Cannabinoides extraídos

La cuantificación de cannabinoides es el procedimiento mediante el cual se determina la concentración de compuestos cannabinoides presentes en una muestra de Cannabis tras su extracción. Este proceso implica la aplicación de métodos analíticos y técnicas especializadas para determinar la presencia y concentración de cannabinoides, incluyendo THC, el CBD y otros componentes que se encuentran en la muestra analizada.

#### 3.14.1 Análisis cromatográfico

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en los laboratorios de HEMP ECUADOR LABS, con sede en Quito [Ecuador], empresa dedicada al examen y estudio del Cannabis dentro del país.

En el contexto de la presente investigación, el enfoque utilizado para analizar la composición de los extractos de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega] se basó en el uso

de dos muestras representativas de cada método. Se eligió una tecnología específica: la cromatografía de gases con detector de ionización de llama [GC-FID], con hidrógeno como gas portador. Para garantizar la precisión y repetibilidad de los resultados, se utilizó un volumen de inyección de 1 $\mu$ L. Es importante destacar que, por motivos de confidencialidad, la información suministrada se limita a determinadas características críticas del proceso analítico utilizado. Esta técnica minuciosa permitió obtener datos fiables y útiles para evaluar la composición de los aceites considerados.

### **3.15 Análisis estadístico**

Se utilizó el software RStudio para realizar el análisis estadístico y se seleccionó el mejor método de análisis para determinar si había diferencias entre los métodos de extracción de cannabinoides utilizados. Se identificaron los siguientes métodos:

#### **3.15.1 Prueba de normalidad**

La prueba de Shapiro-Wilk es altamente recomendada por su capacidad para manejar tamaños de muestra pequeños, inferiores a 50 muestras. La evaluación de la suposición de normalidad se basa en el estadístico  $W$ , el cual oscila entre cero y uno. Un valor de  $W$  cercano a uno sugiere que los datos se distribuyen normalmente. En contraste, a medida que el valor de  $W$  se acerca a cero, la probabilidad de que los datos sigan una distribución normal disminuye (Souza y col., 2023).

Prueba de hipótesis

- $H_0$ : los datos poseen una distribución normal /  $p\_Value > 0,05$
- $H_1$ : los datos no poseen una distribución normal /  $p\_Value < 0,05$

Con un 95 % de confianza

### 3.15.2 Análisis estadístico ANOVA de un factor

El porcentaje de rendimiento de extracción obtenido es la variable de salida para el análisis estadístico en este trabajo experimental, y los métodos de extracción [hielo seco, ultrasonido y agua fría] son las variables de entrada. Se realizan nueve réplicas para cada método. Los datos obtenidos en el punto 3.13 se analizan utilizando el software RStudio. Se emplea un nivel de significación de 0,05 en el análisis estadístico.

Para esta prueba se desarrollaron los siguientes supuestos:

- H0: No hay una disparidad entre los métodos de extracción libre de solventes orgánicos utilizadas para obtención de cannabinoides a partir de *Cannabis sativa* L. subsp *sativa* [Y griega].
- H1: hay una disparidad entre los métodos de extracción libre de solventes orgánicos para la obtención de cannabinoides a partir de *Cannabis sativa* L. subsp *sativa* [Y griega].

### 3.15.3 Análisis Estadístico con la Prueba de Tukey

La prueba de Tukey se realiza después del análisis de varianza [ANOVA], para comparar las medias de distintos grupos o tratamientos para determinar si una de las medias varía mucho con respecto a las demás.

Se utiliza un análisis de la varianza y la prueba de Tukey para comprobar si existen diferencias significativas entre los métodos de extracción.

## CAPÍTULO 4

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Análisis de pretratamientos de material vegetal

En esta sección, examinaremos cómo el pretratamiento afecta la pérdida de masa del material vegetal. Esta medida se usa para determinar la eficacia de los métodos de extracción utilizados después en la investigación.

##### 4.1.1. Descarboxilación

Antes de la etapa de descarboxilación, se extrajo una muestra completa de *Cannabis sativa* L, con un peso total de 261,42 g. Esta muestra, perteneciente a la subespecie *sativa* [Y griega], es sometida a una temperatura de 115°C en un horno durante 45 minutos. Una vez finaliza este proceso, se deja enfriar la muestra hasta alcanzar la temperatura ambiente antes de proceder al pesaje, tal y como se especifica en la Tabla 11.

**Tabla 11***Cálculos de la descarboxilación de material vegetal*

<b>Muestra</b>	<b>Peso en seco (g)</b>	<b>Peso descarboxilado (g)</b>	<b>Pérdida (g)</b>
<b>1</b>	261.42	251,63	9,79

**Fuente:** Autores

En este proceso se observó la diferencia entre masa/masa de la materia vegetal inicial y final, donde se perdió 9,79 gramos. De acuerdo con Villaverde (2019), esta diferencia podría deberse a que las muestras otorgadas al principio presentaban un porcentaje de humedad, ocasionando de esta forma una reducción de masa y volumen del material vegetal.

#### **4.2. Análisis de Rendimiento de extracción (%)**

Con el propósito de cumplir el primer objetivo específico, se llevó a cabo la evaluación de los rendimientos porcentuales de extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* L. subsp *sativa* [Y griega], empleando la metodología descrita en el Capítulo 3, sección 3.13. Se hace el análisis con nueve repeticiones para cada método usado [agua fría, ultrasonido y hielo seco], cuyos resultados se detallan en las tablas 12, 13 y 14, respectivamente.

**Tabla 12**

*Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de Cannabis sativa L. con en el método de agua fría*

<b>No. Repeticiones</b>	<b>Masa de cogollo (flor) (g)</b>	<b>Peso del Liofilizado (g)</b>	<b>Porcentaje de Rendimiento (%)</b>
<b>1</b>	10.05 g	0.61 g	6.06%
<b>2</b>	10.07 g	1.05 g	10.42%
<b>3</b>	10.00 g	1.3 g	13%
<b>4</b>	10.03 g	0.59 g	5.88%
<b>5</b>	10.02 g	1.21 g	12.07%
<b>6</b>	10.02 g	1.2 g	11.97%
<b>7</b>	10.03 g	0.99 g	9.87%
<b>8</b>	10.04 g	1 g	9.96%
<b>9</b>	10.04 g	1.01 g	10.05%
<b>Promedio</b>			9.92%

**Fuente:** Autores

En el procedimiento utilizado, según se detalla en la tabla 12, se logra un rendimiento promedio del 9.92%. Este resultado se contrasta con los obtenidos en el estudio de Politi y col. (2008), donde se emplea una metodología similar de extracción con la adición de n-hexano. En dicho estudio, se obtiene una fracción orgánica, que posteriormente se seca para

obtener un rendimiento de extracto del 70%. Estas discrepancias en los rendimientos entre los diferentes métodos de extracción subrayan la influencia significativa que pueden tener las condiciones experimentales y los solventes utilizados en el proceso de obtención de extractos.

**Tabla 13**

*Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de Cannabis sativa L. con el método de ultrasonido*

<b>No. Repeticiones</b>	<b>Masa de cogollo (flor) (g)</b>	<b>Peso del Liofilizado (g)</b>	<b>Porcentaje de Rendimiento (%)</b>
<b>1</b>	1.04 g	0.097 g	9.32 %
<b>2</b>	1.01 g	0.119 g	11.78 %
<b>3</b>	1.01 g	0.130 g	12.87 %
<b>4</b>	1.01 g	0.117 g	11.58 %
<b>5</b>	1.03 g	0.103 g	10 %
<b>6</b>	1.04 g	0.135 g	12.98 %
<b>7</b>	1.01 g	0.123 g	12.17 %
<b>8</b>	1.02 g	0.117 g	11.47 %
<b>9</b>	1.03 g	0.119 g	11.55 %
<b>Promedio</b>			11.52 %

**Fuente:** Autores

El método empleado para la extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* subsp. *sativa* [Y griega] produjo resultados significativos, como se detalla en la Tabla 13, revelan un rendimiento promedio de 11,52% de todo el conjunto de nueve réplicas. Este rendimiento refleja la eficacia del método de extracción y su capacidad para obtener cannabinoides de la planta *Cannabis sativa* L. Por ejemplo, en el estudio de Agarwal y col. (2020) se utilizó un proceso de extracción por ultrasonidos con una combinación de metanol y agua en diferentes proporciones, y los resultados mostraron un rendimiento similar, del 12,77%. Esta comparación demuestra la eficacia y aplicabilidad del enfoque sin disolventes orgánicos utilizado en este trabajo, que es casi igual el rendimiento producido por las técnicas tradicionales que utilizan disolventes orgánicos.

**Tabla 14**

*Porcentaje de rendimiento de componentes extraídos de Cannabis sativa L. obtenido en el método de hielo seco*

<b>No. Repeticiones</b>	<b>Masa de cogollo (flor) (g)</b>	<b>Resina obtenida (g)</b>	<b>Porcentaje de Rendimiento (%)</b>
<b>1</b>	10.03 g	4.672 g	46.58 %
<b>2</b>	10.02 g	6.403 g	63.90 %
<b>3</b>	10.01 g	6.873 g	68.66 %
<b>4</b>	10.04 g	5.040 g	50.19 %
<b>5</b>	10.02 g	6.510 g	64.97 %



<b>6</b>	10.01 g	6.167 g	61.60 %
<b>7</b>	10.04 g	6.40 g	63.74 %
<b>8</b>	10.06 g	6.937 g	68.95 %
<b>9</b>	10.05 g	6.660 g	60.26 %
<b>Promedio</b>			60.98 %

**Fuente:** Autores

Los datos de la Tabla 14 demuestran los excelentes resultados de la técnica utilizada para extraer cannabinoides de *Cannabis sativa* subsp. *sativa* [Y griega]. Sobre la base del examen de nueve duplicados, se observó una amplia gama de rendimientos, cuyo promedio es 60,98%. Este rendimiento demuestra eficacia del método de extracción utilizado y extrayendo con éxito cannabinoides. La utilidad del método en este estudio se ve reforzada por la consistencia de los resultados en las nueve repeticiones, lo que indica una repetibilidad fiable.

Un proceso similar fue utilizado por Russo y col. (2021), pero con el uso de equipos no convencionales; el mayor rendimiento producido, que alcanzó un 60,7%. Esta diferencia en la variación puede ser en las especies de Cannabis utilizadas en los dos ensayos causando la disparidad en los resultados. En la investigación actual, la cepa usada para la extracción se describió anteriormente, mientras que Russo y col. (2021) emplea cepas especiales, Doug Fir, Astral Works, Tangie Biscotti, Ursa Major, aka Krypto Chronic con sus respectivas condiciones de cultivo. Diversas cepas de Cannabis presentan perfiles de cannabinoides distintos, lo que influye directamente en los resultados del proceso de extracción.

### **4.3 Diseño experimental**

Para lograr el tercer objetivo, se identifica la técnica de extracción más eficaz comparando los rendimientos porcentuales de extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega] obtenidos mediante los métodos de extracción con agua fría, hielo seco y ultrasonidos.

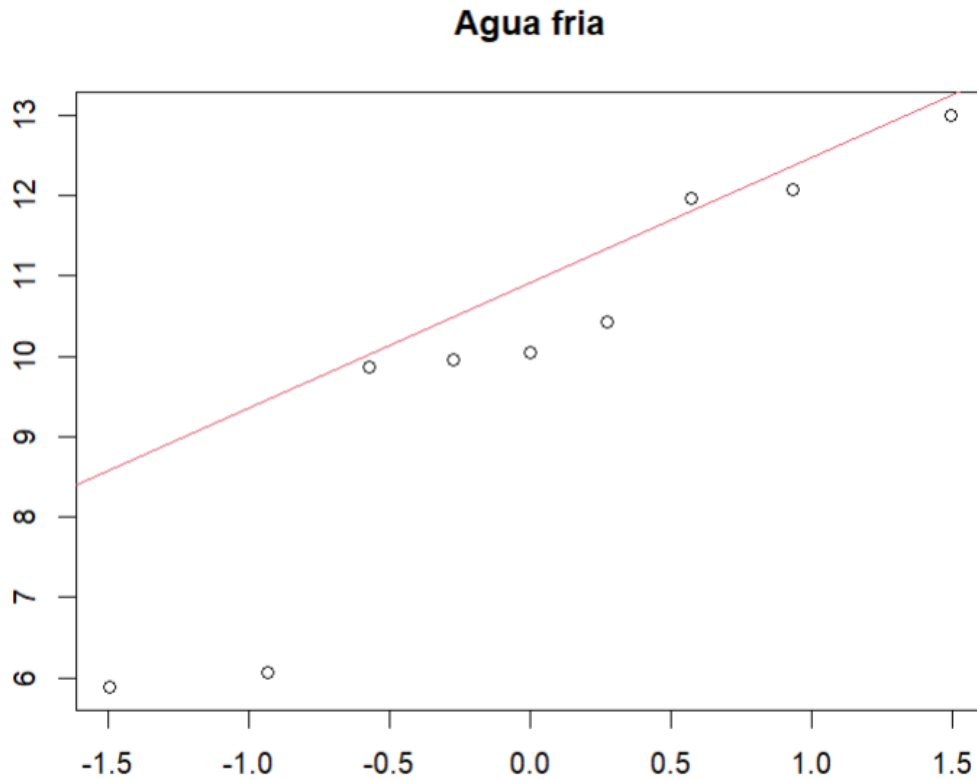
Se emplearon las pruebas de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de los datos antes de realizar un análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey. Estos análisis se llevaron a cabo para comparar las variaciones en las medias de las muestras. Todas las pruebas se aplicaron a los conjuntos de datos obtenidos mediante las diferentes técnicas de extracción.

#### **4.3.1 Prueba de Normalidad**

Se determina la normalidad del conjunto de datos con las pruebas de Shapiro-Wilk.

**Figura 14**

*Prueba de normalidad para el método de extracción con agua fría*



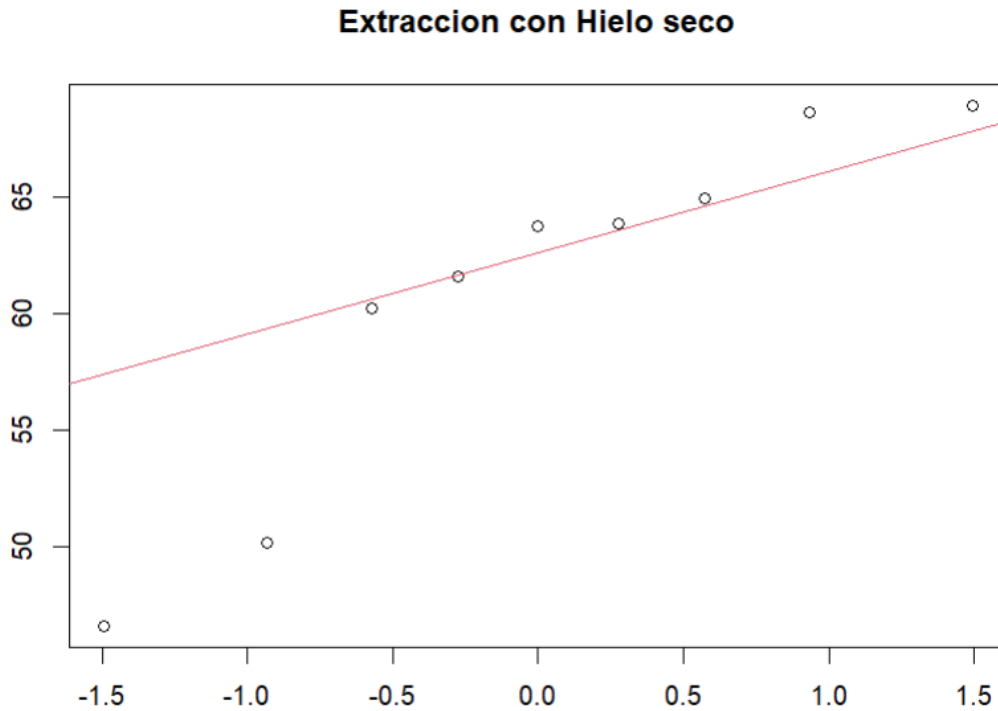
**Fuente:** RStudio

**Realizado por:** Autores

En la figura 14 se puede evidenciar la prueba de normalidad para la extracción con agua fría, donde se obtuvo un valor de P de 0,1379 mayor al nivel de significancia de 0,05; así que el supuesto de normalidad se cumple evidenciando una distribución normal. La mayoría de los puntos se aproximan a la línea de normalidad.

**Figura 15**

*Prueba de normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco*



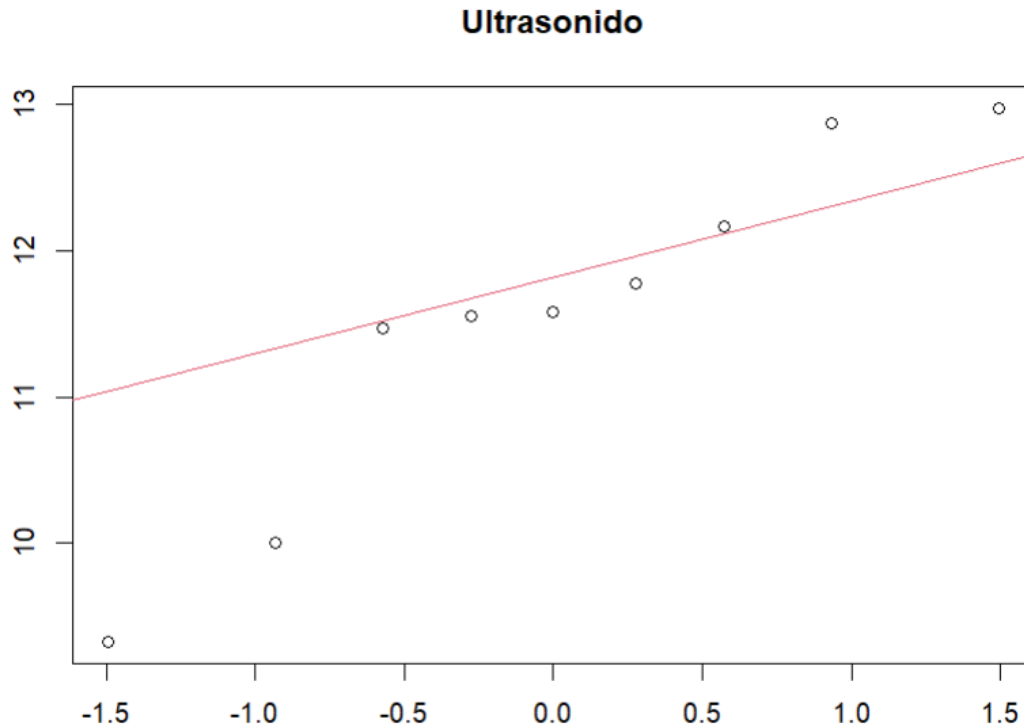
**Fuente:** RStudio

**Realizado por:** Autores

Al analizar la figura 15 se puede evidenciar la prueba de normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco, donde se obtuvo un valor de P de 0,09761, siendo mayor al nivel de significancia de 0,05; por lo que se confirma que el supuesto de normalidad se cumple evidenciando así una distribución normal. La mayoría de los puntos se aproximan a la línea de normalidad.

**Figura 16**

*Prueba de normalidad para el método de extracción de ultrasonido*



**Fuente:** RStudio

**Realizado por:** Autores

Al analizar la figura 16 se puede evidenciar la prueba de normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco, donde se obtuvo un valor de P de 0,3028, siendo mayor al nivel de significancia de 0,05; por lo que se confirma que el supuesto de normalidad se cumple evidenciando así una distribución normal. La mayoría de los puntos se aproximan a la línea de normalidad.

### 4.3.2 ANOVA de un factor

Luego de demostrar la normalidad, se procede a plantear la hipótesis alternativa y nula, para efectuar el análisis estadístico ANOVA. Conforme se observa en la tabla 15 detallada a continuación.

**Tabla 15**

*Planteamiento de hipótesis*

Nivel de confianza	Significancia	Hipótesis nula	Hipótesis alternativa
95%	$\alpha = 0,05$	No hay una disparidad entre los métodos de extracción libre de solventes orgánicos utilizadas para obtención de cannabinoides a partir de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp <i>sativa</i> [Y griega].	Hay una disparidad entre los métodos de extracción libre de solventes orgánicos para la obtención de cannabinoides a partir de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp <i>sativa</i> [Y griega].

**Fuente:** Autores

Después de tener las hipótesis, se realiza el análisis ANOVA de un solo factor, para analizar significancia estadística de sus datos y determinar si los métodos poseen un comportamiento similar o no, obteniéndose los resultados descritos en la Tabla 16.

**Tabla 16***Análisis de varianza*

	<b>DF</b>	<b>Sum sq</b>	<b>Mean sq</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Método	2	15169	7584	336.7	<2e-16
Residuos	24	541	23		

**Fuente:** Autores

Utilizando un análisis de varianza (ANOVA) se puede examinar las posibles variaciones que existe entre cada método empleado. La hipótesis nula afirma que no habría ninguna diferencia significativa entre estos procedimientos, mientras que la hipótesis alternativa afirma que sí. Una comparación de las técnicas de extracción utilizando ANOVA mostró una diferencia significativa ( $F = 336.7$ ,  $p < 0.05$ ), lo que indica que al menos una de las técnicas produce una concentración distinta de cannabinoides. Esto evidencia que hay una diferencia en las técnicas de extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega] sin solventes orgánicos, lo cual refuta la hipótesis nula.

#### 4.3.3 Prueba Tukey

A través de la prueba Tukey se confirma lo establecido anteriormente en el análisis de varianza. De tal forma que se identificaron como resultados, una disparidad en las agrupaciones de datos, demostrando así que los métodos ejecutados para la extracción de componentes de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega] utilizando métodos libres de solventes orgánicos son significativamente diferentes.

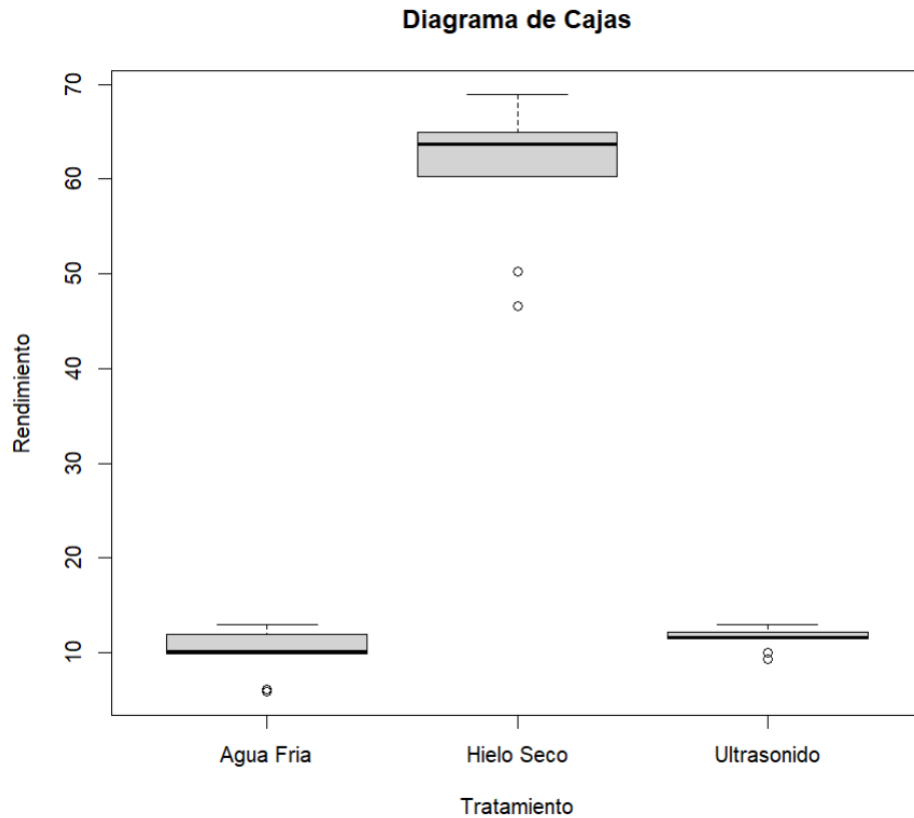
**Tabla 17***Comparaciones múltiples con prueba Tukey*

<b>Método</b>	<b>Diff</b>	<b>LWR</b>	<b>UPR</b>	<b>P adj</b>
Hielo Seco- Agua Fría	51.06	45.47	56.65	0
Ultrasonido- Agua Fría	1.60	-3.98	7.19	0.75
Ultrasonido- Hielo Seco	-49.45	-55.04	- 43.87	0

**Fuente:** Autores

Los resultados de la prueba de Tukey revelan diferencias significativas entre los métodos de extracción de *Cannabis sativa* L. subsp *sativa* [Y griega]. Tras encontrar una disparidad significativa entre los métodos mediante un análisis de varianza (ANOVA), se llevó a cabo la prueba de Tukey para realizar comparaciones múltiples entre los grupos. Las comparaciones mostraron que el rendimiento de los extractos utilizando hielo seco difiere significativamente de la obtenida mediante el uso de agua fría (diferencia media de 51.06,  $p < 0.001$ ), mientras que no se encontraron diferencias significativas entre el uso de ultrasonido y agua fría (diferencia media de 1.60,  $p = 0.756$ ). Sin embargo, se observó una diferencia significativa entre hielo seco y ultrasonido (diferencia media de -49.46,  $p < 0.001$ ). Estos resultados sugieren que la elección del método de extracción puede influir significativamente en la concentración de cannabinoides extraídos de la planta.



**Figura 17***Diagrama de cajas***Fuente:** RStudio**Realizado por:** Autores

Como hay menos variación en el tamaño de la caja representada, el método de extracción con hielo seco es el óptimo. La figura 17 ilustra las diferencias sustanciales entre los métodos utilizados para extraer los componentes del *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega].

## **4.5 Caracterización de componentes de *Cannabis sativa* L.**

La caracterización de componentes de *Cannabis sativa* L., específicamente centrada en cannabinoides, es esencial para comprender y aprovechar plenamente las propiedades terapéuticas y recreativas de esta planta. Enviando muestras al laboratorio de HEMP Ecuador Labs, se garantiza un análisis detallado y preciso de los perfiles cannabinoides presentes, gracias a su experiencia y tecnología avanzada en este campo.

### **4.5.1. Análisis Cualitativo de Cannabinoides**

Para identificar los cannabinoides presentes y sus concentraciones, las muestras se remitieron a un laboratorio externo en la ciudad de Quito para análisis cromatográficos. El análisis reveló la presencia de cuatro cannabinoides en las muestras, los cuales se describen en detalle en la Tabla 18 a continuación.

**Tabla 18**

*Análisis cualitativo de los cannabinoides que se encuentran en las muestras evaluadas*

<b>Cannabinoides identificados</b>	<b>Agua fría</b>	<b>Ultrasonido</b>	<b>Hielo seco</b>	<b>Fórmula molecular</b>
<b>CBD [Cannabidiol]</b>	<b>x</b>	✓	✓	$C_{21}H_{30}O_2$
<b>CBN [Cannabinol]</b>	<b>x</b>	✓	✓	$C_{21}H_{26}O_2$
<b>THC [<math>\Delta 8</math>-Tetrahidrocannabinol]</b>	<b>x</b>	✓	✓	$\Delta 8 - C_{21}H_{30}O_2$
<b>THC [<math>\Delta 9</math>-Tetrahidrocannabinol]</b>	<b>x</b>	✓	✓	$\Delta 9 - C_{21}H_{30}O_2$

**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autores

Como se puede observar, en la investigación se han identificado 4 cannabinoides en 4 de las 6 muestras analizadas por los tres métodos propuestos. Estos están: Cannabidiol [CBD], Cannabinol [CBN],  $\Delta 8$ -Tetrahidrocannabinol [THC],  $\Delta 9$ -Tetrahidrocannabinol [THC]. Cada cannabinoide está presente en diferentes proporciones según cada extracción.

Los cuatro cannabinoides examinados no aparecieron en el método de extracción con agua fría que se utiliza en este estudio. Sin embargo, otros estudios aplican una metodología similar, incluido el estudio de Szalata y col. (2022), detectaron cantidades muy pequeñas de CBD, THC y CBN. Diferentes condiciones experimentales, como variaciones en la calidad de la muestra o en el tiempo de extracción, pueden ser la causa de estas discrepancias en los resultados.

Según Lazarjani y col. (2021), diversos factores externos, como la duración de la luz, el oxígeno y el momento de la cosecha, han sido identificados como influencias significativas en la producción de metabolitos secundarios en la planta de cannabis. Asimismo, se ha observado que la estabilidad de los cannabinoides está directamente relacionada con variables ambientales como la temperatura, la luz y la exposición al aire. Los autores informan sobre la realización de estudios para evaluar distintas condiciones de almacenamiento, abarcando desde la temperatura ambiente hasta 4°C con exposición a la luz visible, así como la oscuridad y -20°C en ausencia de luz. Estos estudios tienen como objetivo determinar cómo estas condiciones influyen en la conservación de la resina de cannabis y su posterior extracción.

#### **4.5.2. Análisis Cuantitativo de Cannabinoides**

El análisis de los cannabinoides presentes en la muestra de *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega] que fue entregado por la Universidad Politécnica Salesiana en conjunto con la empresa Pharmacannabis, se realizó a partir de cromatografía de gases con detector de ionización de llama.

Los resultados del análisis cromatográfico de los cannabinoides, extraídos con agua fría, hielo seco y ultrasonido, se comparan con diferentes perfiles de estudio, aplicando el mismo método de extracción.

**Tabla 19***Análisis cuantitativo de cannabinoides*

<b>Cannabinoides identificados</b>	<b>Muestras</b>	<b>Resultados</b>
<b>CBD</b> <b>[Cannabidiol]</b>	Muestra 4: Ultrasonido	11,44 mg/ mL [1,14 %]
	Muestra 1: Hielo seco	12,47 %
	Muestra 3: Ultrasonido	13,61 mg/mL [1,36 %]
	Muestra 2: Hielo seco	14,26 %
	Muestra 5: Agua fría	N/D
	Muestra 6: Agua fría	N/D
<b>CBN</b> <b>[Cannabinol]</b>	Muestra 3: Ultrasonido	0,9 mg/mL [0,09 %]
	Muestra 2: Hielo seco	0,19 %
	Muestra 1: Hielo seco	0,24 %
	Muestra 4: Ultrasonido	N/D
	Muestra 5: Agua fría	N/D
	Muestra 6: Agua fría	N/D
<b>THC</b>	Muestra 2: Hielo seco	0,13 %

<b>[<math>\Delta</math>8-Tetrahidrocannabinol]</b>	Muestra 3: Ultrasonido	1,23 mg/mL [0,12 %]	
	Muestra 5: Agua fría	N/D	
	Muestra 6: Agua fría	N/D	
	Muestra 1: Hielo seco	N/D	
	Muestra 4: Ultrasonido	N/D	
	Muestra 2: Hielo seco	1,65 %	
<b>THC</b>	Muestra 1: Hielo seco	2,00 %	
	Muestra 4: Ultrasonido	6,45 mg/mL [0,64 %]	
	<b>[<math>\Delta</math>9-Tetrahidrocannabinol]</b>	Muestra 3: Ultrasonido	21,69 mg/mL [2,16 %]
		Muestra 5: Agua fría	N/D
		Muestra 6: Agua fría	N/D

**Fuente:** Autores

En base a los resultados mostrados en la tabla 19, se puede observar que en el tratamiento realizado con Hielo seco están presentes los cuatro componentes principales corroborando con el estudio presentado por Russo y col. (2021), ya que este tiene resultados similares con el presente trabajo, con un porcentaje analizado de THC 1.08 % y CBD 0.136 %. En otro estudio realizado por Murillo Castro y Ojeda Maldonado (2021), no es posible

cuantificar los cannabinoides mediante HPLC, ya que las muestras presentan áreas por debajo de la curva de calibración. Se supone que estas muestras contienen concentraciones de cannabinoides inferiores a 0,5 ppm.

En el caso del ultrasonido, los valores presentados en la tabla 19 se convierten a porcentajes mediante un cálculo que consiste en dividir la cantidad de miligramos del cannabinoide por el total de la muestra y multiplicarlo por 100. Este enfoque proporciona un análisis más preciso de los datos. Por ejemplo, en el estudio de Casiraghi y col. (2022), se cuantificaron los cannabinoides CBD,  $\Delta$ 9-THC y CBN mediante HPLC, con concentraciones de 0.63%, 0.06% y 0.26%, respectivamente. Además, en otro estudio realizado por J. C. D. Rodríguez y col. (2023), se obtuvo una concentración de  $\Delta$ 8-THC de 0.273%. Cabe destacar que estos estudios utilizaron solventes a diferencia de este trabajo, lo que puede influir en los resultados obtenidos y en la comparabilidad entre métodos de extracción y análisis de cannabinoides.

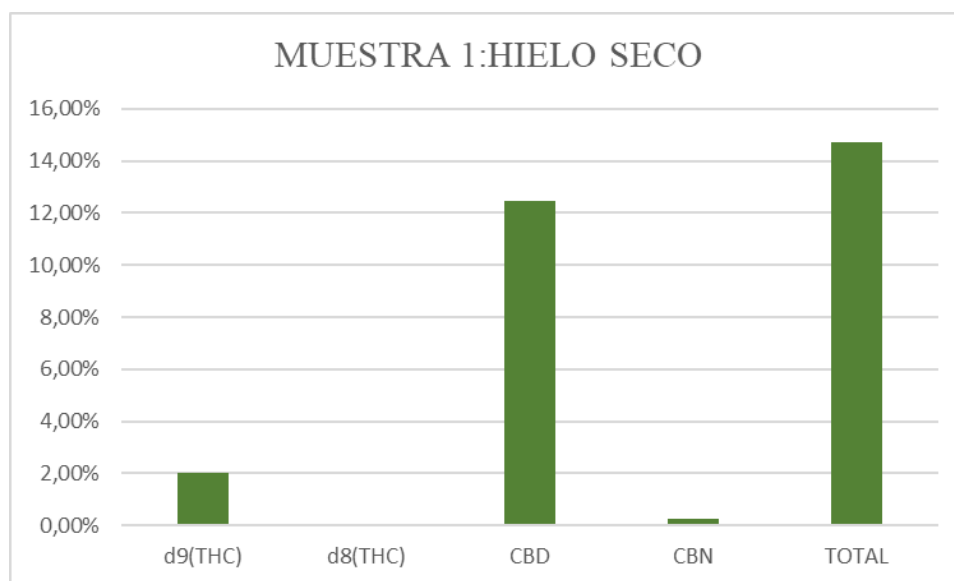
Con el método de extracción con agua fría, como se visualiza en la tabla 19, no se ha detectado ninguna concentración de cannabinoides. Sin embargo, investigaciones como la de Blake y Nahtigal (2019) indican que este método puede producir una resina conocida como hachís de agua o hachís de burbujas, que típicamente contiene entre un 35 % y un 50 % de THC, dependiendo de la potencia de la materia prima utilizada. Asimismo, en el estudio de Szalata y col. (2022), se encontró que, mediante el análisis de HPLC, la extracción con agua fría presentó niveles bajos de CBD, desde un 0,005 % en la variedad polaca Tygra hasta un 0,009 % en el cáñamo húngaro KC Dora. Además, en todas las variedades analizadas no se detectó  $\Delta$ 9-THC. Estas divergencias en los resultados resaltan la importancia de comprender cómo diferentes cepas pueden afectar la composición de cannabinoides en los productos

finales. o también factores externos como la luz, temperatura y exposición al aire y el tiempo de extracción (Lazarjani y col., 2021).

Las investigaciones indican que la generación de metabolitos secundarios en las plantas de Cannabis está influida por condiciones externas, como la duración de la luz, los niveles de oxígeno y el momento de la cosecha [madurez de la flor]. Los resultados de las investigaciones indican que los factores ambientales, como la temperatura, la exposición a la luz y la saturación de oxígeno, pueden afectar a la estabilidad del cannabis (Namdar y col., 2019).

### Figura 18

*Porcentaje de cannabinoides de la muestra 1 con hielo seco*



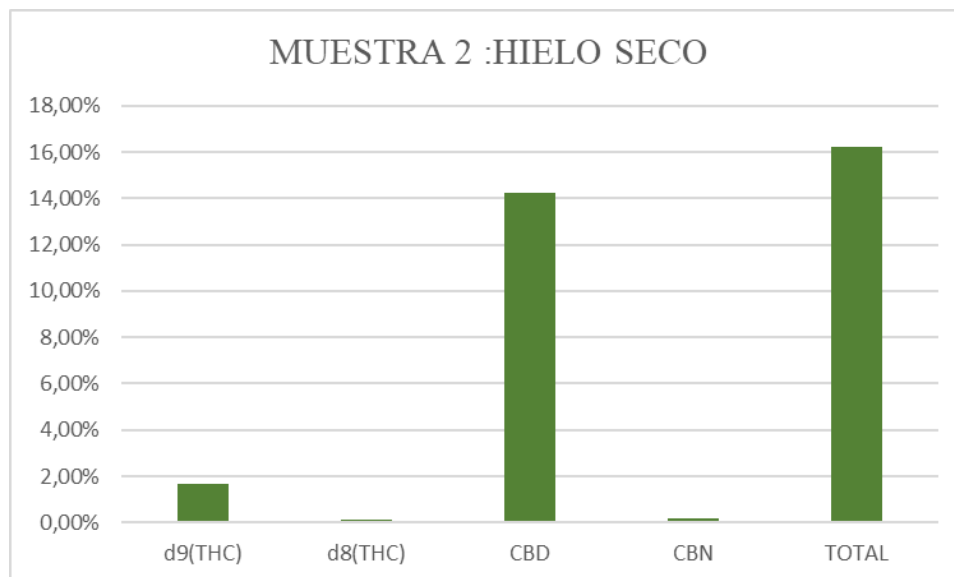
**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autores



**Figura 19**

*Porcentaje de cannabinoides de la muestra 2 con hielo seco*

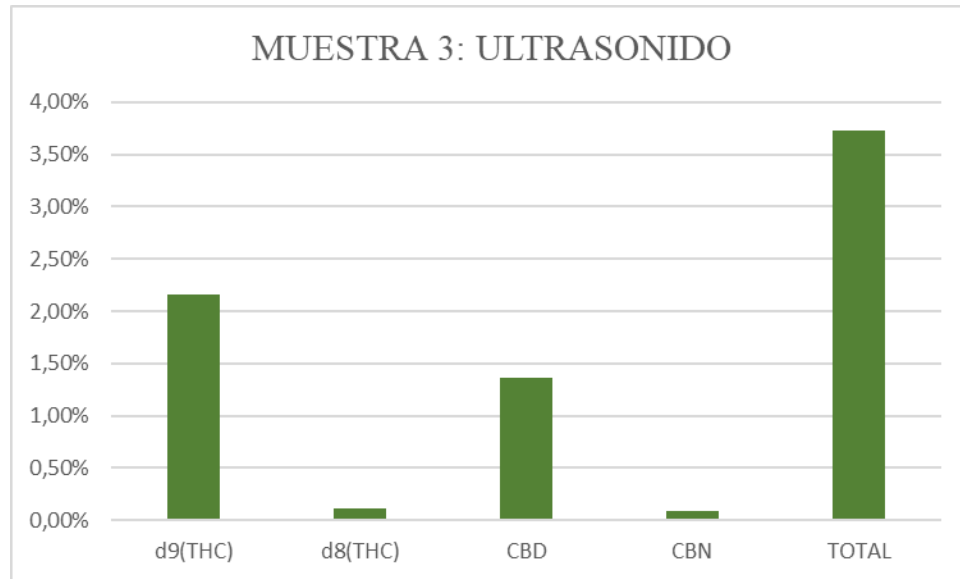


**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autores

**Figura 20**

*Porcentaje de cannabinoides de la muestra 3 de ultrasonido*

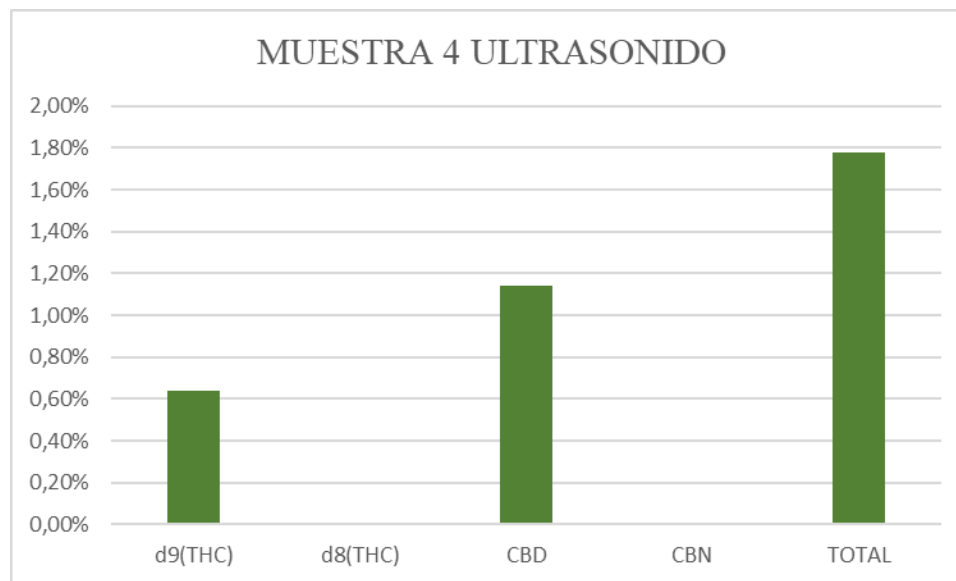


**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autores

**Figura 21**

*Porcentaje de cannabinoides de la muestra 4 de ultrasonido*



**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autores

Las gráficas de los resultados del porcentaje de cannabinoides de la muestra 5 y muestra 6 de agua fría no están representadas, ya que no muestran resultados al no haber sido identificados.

En comparación con los otros cannabinoides, el compuesto d9-THC fue identificado con mayor cantidad en relación con las demás muestras con 21,69 mg/mL presente en la muestra 3 de ultrasonido. Por otro lado, se observa que el compuesto de CBD tiene diferencia significativa en los resultados en todas las muestras con 14,26 % muestra 2 [hielo seco], 12,47 % muestra 1 [hielo seco], 13,61 mg/mL muestra 3 [ultrasonido] y 11,44 mg/mL muestra 4 [ultrasonido].

**Tabla 20**

*Resumen de la cantidad de cannabinoides encontrados en la investigación actual*

Cannabinoides detectados	Agua fría		Ultrasonido		Hielo seco	
	Muestra 6	Muestra 5	Muestra 4	Muestra 3	Muestra 2	Muestra 1
<b>CBD</b>	N/D	N/D	1,4 %	1,36 %	14,26 %	12,47 %
<b>CBN</b>	N/D	N/D	N/D	0,09 %	0,19 %	0,24 %
<b>D9-TCH</b>	N/D	N/D	0,64 %	2,16 %	1,65 %	2,00 %
<b>D8-THC</b>	N/D	N/D	N/D	0,12 %	0,13 %	N/D

**Fuente:** Autores

En la tabla 20, se presentan los resultados del análisis cromatográfico, destacando que la muestra 2 sometida al tratamiento de hielo seco exhibe la concentración más alta de cannabinoides en porcentaje, con un contenido de 14,26 % de CBD, 0.19 % de CBN, 1.65 % de D9-THC y 0.13 % de D8-THC.

## CONCLUSIONES

Después de llevar a cabo un estudio de los tres procesos de extracción distintos de los componentes de Cannabis Sativa L, mediante métodos libres de solventes orgánicos, se han obtenido las siguientes conclusiones:

- En el análisis de rendimiento, se observa que el porcentaje de rendimiento de extracción varía significativamente entre los diferentes métodos utilizados. Específicamente, se registraron rendimientos de 9.92 % para el método de extracción con agua, 11.52 % para el método de ultrasonido, y 60.98 % para el método de extracción con hielo. Estos resultados destacan la notable disparidad en la eficacia de los métodos de extracción empleados.
- Se encontró una diferencia altamente significativa entre las técnicas de extracción, lo que indica que al menos una de ellas produce una concentración de cannabinoides diferente. Por lo tanto, se deduce que hay disparidad entre las técnicas de extracción de cannabinoides de *Cannabis sativa* L.
- La prueba de Tukey reveló diferencias significativas entre los métodos de extracción. El rendimiento de los extractos con hielo seco difiere significativamente de los obtenidos con agua fría. No hay diferencias significativas entre ultrasonido y agua fría, pero sí entre hielo seco y ultrasonido. Estos hallazgos destacan la influencia significativa del método de extracción en la concentración de cannabinoides extraídos.
- El análisis cromatográfico llevado a cabo permitió concluir que la cantidad de cannabinoides presentes en cada muestra de Cannabis varía dependiendo del método empleado.

- El análisis cromatográfico reveló que la muestra 2, sometida al tratamiento de hielo seco, exhibe la concentración más alta de cannabinoides en porcentaje. Esta muestra presenta con un contenido de 14,26 % de CBD, 0.19 % de CBN, 1.65 % de D9-THC y 0.13 % de D8-THC.
- Basándonos en los resultados, se concluye que el método de extracción con hielo seco supera a los métodos de agua fría y ultrasonido para obtener concentraciones óptimas de cannabinoides en *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [Y griega]. Esto resalta la importancia de elegir el método de extracción adecuado.

## RECOMENDACIONES

- La principal recomendación es aislar al THC tras las extracciones, para formular un producto con menos del 1 % de este cannabinoide.
- Se sugiere realizar estudios adicionales con muestras de extractos obtenidos para perfeccionar los métodos empleados en esta investigación.
- Se aconseja que, antes de llevar a cabo cualquier proceso posterior al descarboxilado, se triture el material vegetal con el fin de promover un contacto más efectivo entre el solvente y la materia vegetal.
- Usar la misma metodología, pero con diferentes condiciones o equipos no convencionales, para ver si su rendimiento aumenta o disminuye.
- El análisis cromatográfico es una herramienta que debe incorporarse al procedimiento de extracción del cannabis. La información exhaustiva sobre el contenido de cannabis de las muestras que proporciona este análisis permite evaluar lo bien que han funcionado las técnicas de extracción y garantizar la calidad de los productos acabados.

**BIBLIOGRAFIA**

- Agarwal, C., Máthé, K., Hofmann, T., & Csóka, L. (2018). Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa L. Optimized by Response Surface Methodology. *Journal of Food Science*, 83(3), 700-710. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14075>
- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria» Arcsa emite normativa para regular productos que contengan cannabis no psicoactivo en Ecuador. (2021). <https://www.controlsanitario.gob.ec/normativa-cannabis/>
- Al Ubeed, H. M. S., Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Basu, A., & Vuong, Q. V. (2022). A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis. *Molecules*, 27(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/molecules27030604>
- AnandaLab. (2021, agosto 17). *Análisis de cannabinoides y cromatografía*. Ananda Analytics Lab. <https://www.anandalab.com/post/cromatografía>
- Andre, C. M., Hausman, J. F., y Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(FEB2016), 4. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>
- Blake, A., & Nahtigal, I. (2019). The evolving landscape of cannabis edibles. *Current Opinion in Food Science*, 28, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.009>



- Borille, B. T., González, M., Steffens, L., Ortiz, R. S., & Limberger, R. P. (2017). CANNABIS SATIVA: A SYSTEMATIC REVIEW OF PLANT ANALYSIS. *Drug Analytical Research*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.22456/2527-2616.73676>
- Bridgeman, M. B., & Abazia, D. T. (2017). Medicinal Cannabis: History, Pharmacology, And Implications for the Acute Care Setting. *Pharmacy and Therapeutics*, 42(3), 180-188.
- Casiraghi, A., Gentile, A., Selmin, F., Gennari, C. G. M., Casagni, E., Roda, G., Pallotti, G., Rovellini, P., & Minghetti, P. (2022). Ultrasound-Assisted Extraction of Cannabinoids from Cannabis Sativa for Medicinal Purpose. *Pharmaceutics*, 14(12), 2718. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122718>
- Castillo Cruz, J. D. y Rico Nieto, J. S. (2020) Desarrollo de una propuesta para la obtención de un aceite de THC y/o CBD por el método de extracción con solvente. [Trabajo de grado, Fundación Universidad de América] Repositorio Institucional Lumieres. <https://hdl.handle.net/20.500.11839/8186>
- Chacán Campos, J. S., y Quizpe Tocte, L. A. (2022). Evaluación de dos metodologías de la extracción de la fibra del (Cannabis sativa L.) [bachelorThesis, Ecuador: Latacunga: Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)]. <http://localhost/handle/27000/8634>
- Congreso Nacional de Chile. (2015, 30 de octubre). Decreto 84. Diario Oficial de la República de Chile, 140(42.792), 1-4.

Convenga. 2022. Historia y Usos del Cáñamo (en línea, sitio web). Consultado 5 ago. 2022.

Disponible en 24

[https://www.convenga.com/lagramaera/html/html\\_cayamo/historia.htm](https://www.convenga.com/lagramaera/html/html_cayamo/historia.htm).

Cooke, J. (2021, 12 abril). *¿Qué es el CBN (Cannabinol)? ¿Cuáles son sus beneficios?* Daily

CBD – Español. <https://dailycbd.com/es/cbn/>

Dhir, A. (2018). Cannabidiol in refractory epilepsy. En *Studies in natural products chemistry*

(pp. 419-438). <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-64056-7.00014-3>

Díaz, N., Rueda, D. A. y Valdelamar, R. E. (2021). Extracción de CBD por medio de la

destilación de vapor saturado [Trabajo de grado, Universidad EAN]. Recuperado de:

<http://hdl.handle.net/10882/11362>.

*Doctors rejoice as Germany kicks off medical marijuana prescriptions.* (2017, marzo 3). The

Local Germany. [https://www.thelocal.de/20170303/doctors-rejoice-as-germany-](https://www.thelocal.de/20170303/doctors-rejoice-as-germany-kicks-off-medical-marijuana-prescriptions)

[kicks-off-medical-marijuana-prescriptions](https://www.thelocal.de/20170303/doctors-rejoice-as-germany-kicks-off-medical-marijuana-prescriptions)

Esmailzadeh Kenari, R., & Dehghan, B. (2020). Optimization of ultrasound-assisted

solvent extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil using RSM: Evaluation of

oxidative stability and physicochemical properties of oil. *Food Science & Nutrition*,

8(9), 4976-4986. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1796>

Fundación CANNA. 2017. *¿Qué es el Cannabidiol?* | Fundación CANNA: Investigación y

análisis de Cannabis (en línea, sitio web). Disponible en [https://www.fundacion-](https://www.fundacion-canna.es/cannabidiol-cbd)

[canna.es/cannabidiol-cbd](https://www.fundacion-canna.es/cannabidiol-cbd)

Furian, (22 dic 2021) CBN fórmulas estructuras químicas Los cannabinoides mejor estudiados. (s. f.). Depositphotos. Disponible en <https://depositphotos.com/es/vector/cannabinol-cbn-chemical-formula-structure-non-psychoactive-cannabinoid-compound-found-537447424.html>

Gil, F. (2021). *Identificación de Productos Sospechoso: Cannabis*. Departamento de Medicina Legal, Toxicología y Psiquiatría. <https://shorturl.at/dgiMP>

Ibáñez García, P. (2021). *Estudio para la determinación de cannabidiol (CBD). Aplicación a su determinación en plantas de cannabis*. <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/49748>

ICEERS. (2021, enero 26). *Situación legal del cannabis en el mundo | ICEERS*. <https://www.iceers.org/es/cannabmed/mapa-legal-cannabis/>

Instituto de Salud Pública de Chile. (2015). Instituto de Salud Pública GUÍA TÉCNICA TOXICOLOGÍA Y ANÁLISIS DE CANNABIS Y SUS DERIVADOS. *Instituto de Salud Pública de Chile*. <https://bit.ly/3wE4Fkj>

J. C. Delgado Rodríguez, P. A. Arango Romero, y R. Benítez Benítez, «Extracción verde y eficiente de cannabidiol, tetrahidrocannabinol, cannabinol y cannabigerol de Cannabis sativa empleando disolventes eutécticos profundos naturales basados en mentol», *Cien.Ing.Neogranadina*, vol. 33, n.º 1, pp. 87-104, jun 2023. <http://dx.doi.org/10.18359/rcin.6588>

Jangam, S. V., Mujumdar, A. S., & Adhikari, B. (2016). Drying: Physical and Structural Changes. En B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food*

- and Health* (pp. 446-455). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00241-5>
- Jiang, H., Zhang, M., & Adhikari, B. (2024). Chapter 24—Fruits and vegetable powders. En B. Bhandari, N. Bansal, M. Zhang, & P. Schuck (Eds.), *Handbook of Food Powders (Second Edition)* (pp. 423-436). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98820-9.00010-7>
- Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. (2016). Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Current protocols in plant biology*, 1, 345–358. <https://doi.org/10.1002/cppb.20024>
- Korf, D. J. (2019, marzo 27). *Cannabis Regulation in Europe: Country Report Netherlands / Transnational Institute*. Transnational Institute. <https://www.tni.org/en/publication/cannabis-regulation-in-europe-country-report-netherlands>
- Kornpointner, C., Martinez, A. S., Schnürch, M., Halbwirth, H., & Bica-Schröder, K. (2021). Combined ionic liquid and supercritical carbon dioxide based dynamic extraction of six cannabinoids from *Cannabis sativa* L. *Green Chemistry*, 23(24), 10079-10089. <https://doi.org/10.1039/d1gc03516a>
- LASA. (2020). Aplicación del semáforo nutricional en el Ecuador – Laboratorio Lasa. Retrieved April 20, 2022, from <https://laboratoriolasa.com/el-cannabis-un-mercado-de-expansion-en-el-ecuador/>

- Lazarjani, M. P., Young, O., Kebede, L., & Seyfoddin, A. (2021). Processing and extraction methods of medicinal cannabis: A narrative review. *Journal of Cannabis Research*, 3(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00087-9>
- Leafwell. (2023, 28 noviembre). *Plantas de marihuana femeninas y masculinas*. Leafwell. <https://leafwell.com/es/blog/plantas-de-cannabis-femeninas-y-masculinas-en-que-se-parecen-y-en-que-se-diferencian>
- León Cam, J. J. (2017). El aceite de Cannabis. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(3), 261-263. <https://bit.ly/2PQO7OP>
- Lewis-Bakker, M. M., Yang, Y., Vyawahare, R., & Kotra, L. P. (2019). Extractions of Medical Cannabis Cultivars and the Role of Decarboxylation in Optimal Receptor Responses. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 4(3), 183-194. <https://doi.org/10.1089/can.2018.0067>
- López, G. E., Brindis, F., Niizawa, S. C. y Martínez, R. V. (2014). *Cannabis sativa* L., una planta singular. *Revista Mexicana Ciencia Farmacéutica*. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcf/v45n4/v45n4a4.pdf>
- Maconha: Anvisa não é contra uso para fins medicinais - Cosmetovigilância - Anvisa*. (2015). <https://shorturl.at/blwHJ>
- Martín Gavilán, O., & Gómez Juaristi, M. (s. f.). *Técnica Cromatografía de Gases-Masas (GC-MS)*. <https://cai.ucm.es/ciencias-tierra-arqueometria/tecnicas-geologicas/tecnicas/cromatografia-de-gases-masas-gc-ms/38/>

- Martinez, A. S., Lanaridi, O., Stigel, K., Halbwirth, H., Schnürch, M., & Bica-Schröder, K. (2023). Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis. *Natural Product Reports*, 40(3), 676-717. <https://doi.org/10.1039/d2np00059h>
- Mazzara, E., Carletti, R., Petrelli, R., Mustafa, A. M., Caprioli, G., Fiorini, D., Scortichini, S., Dall'Acqua, S., Sut, S., Núñez, S., López, V., Zheljazkov, V. D., Bonacucina, G., Maggi, F., & Cespi, M. (2022). Green extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) using microwave method for recovery of three valuable fractions (essential oil, phenolic compounds and cannabinoids): A Central Composite Design Optimization study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(14), 6220-6235. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11971>
- McPartland, J. M. (2018). Cannabis Systematics at the Levels of Family, Genus, and Species. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 3(1), 203-212. <https://doi.org/10.1089/can.2018.0039>
- Micalizzi, G., Vento, F., Alibrando, F., Donnarumma, 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*, 1637, 461864. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461864>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). (2020). [Sitio web del Ministerio de Agricultura y Ganadería]. Recuperado de <https://www.agricultura.gob.ec/>

Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. (2015, 22 de diciembre). Decreto 2467.

Por el cual se reglamentan los aspectos de que tratan los artículos 3o, 5o, 6o y 8o de la Ley 30 de 1986. Diario Oficial No. 49.734.

Monton, C., Tanpao, T., Navakul, C., Pengkum, T., Santanasuwan, S., Suksaeree, J., Charoenchai, L., & Songsak, T. (2023). Cannabidiol,  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, and cannabinol contents of *cannabis sativa* L. Inflorescences claimed to be Hang Kra rog Phu phan cultivar cultivated outdoors in various locations of Thailand. *Phytochemistry Letters*, *57*, 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2023.08.009>

Murillo Castro, J y Ojeda Maldonado, L. (2021). *Determinación del método de extracción más efectivo en la obtención de extractos ricos en cannabinoides a partir de 3 procesos diferentes*. Corporación Tecnológica de Bogotá.

Nahar, L., Guo, M., & Sarker, S. D. (2020). Gas chromatographic analysis of naturally occurring cannabinoids: A review of literature published during the past decade. *Phytochemical Analysis*, *31*(2), 135-146. <https://doi.org/10.1002/pca.2886>

Namdar, D., Charuvi, D., Ajjampura, V., Mazuz, M., Ion, A., Kamara, I., & Koltai, H. (2019). LED lighting affects the composition and biological activity of *Cannabis sativa* secondary metabolites. *Industrial Crops and Products*, *132*, 177-185. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.016>

Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The Freeze-Drying of Foods—The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods*, *9*(10), 1488. <https://doi.org/10.3390/foods9101488>

- Nuapia, Y., Maraba, K., Tutu, H., Chimuka, L., & Cukrowska, E. (2021). In situ Decarboxylation-Pressurized hot water extraction for selective extraction of cannabinoids from cannabis sativa. chemometric approach. *Molecules*, 26(11), 3343. <https://doi.org/10.3390/molecules26113343>
- Nuapia, Y., Tutu, H., Chimuka, L., & Cukrowska, E. (2020). Selective extraction of cannabinoid compounds from cannabis seed using pressurized hot water extraction. *Molecules*, 25(6), 1335. <https://doi.org/10.3390/molecules25061335>
- Ortega Serrano, A. E. (2017). *Caracterización del aceite de cannabidiol utilizado como anticonvulsivante en el centro nacional de epilepsia*. [bachelorThesis, Quito: UCE]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/14079>
- Politi, M., Peschel, W., Wilson, N., Zloh, M., Prieto, J. M., & Heinrich, M. (2008). Direct NMR analysis of cannabis water extracts and tinctures and semi-quantitative data on  $\Delta^9$ -THC and  $\Delta^9$ -THC-acid. *Phytochemistry*, 69(2), 562-570. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.07.018>
- Qamar, S., Torres, Y. J. M., Parekh, H. S., & Falconer, J. R. (2021). Extraction of medicinal cannabinoids through Supercritical carbon dioxide Technologies: A review. *Journal of Chromatography B*, 1167, 122581. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122581>
- Radoiu, M., Kaur, H., Bakowska-Barczak, A., & Splinter, S. (2020). Microwave-Assisted Industrial Scale Cannabis Extraction. *Technologies*, 8(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/technologies8030045>



Ramírez, J. M., & Fedesarrollo. (2019). *La industria del cannabis medicinal en Colombia*.  
<http://www.repository.fedesarrollo.org.co/handle/11445/3823>

Redacción EC. (2020, junio 9). Estados Unidos: ¿en qué estados de USA es legal la marihuana? *El Comercio*. <https://elcomercio.pe/respuestas/estados-unidos-cuales-son-los-estados-donde-la-marihuana-es-legal-eeuu-legalizacion-de-la-marihuana-marihuana-recreativa-marihuana-medicinal-estados-unidos-revtli-noticia/>

República Oriental del Uruguay. (2014, 24 de diciembre). Constitución de la República Oriental del Uruguay. Ley N° 19.172. Diario Oficial de la República Oriental del Uruguay, 244(246), 1-44.

Riera, E. (2015). *El gran libro del cannabis*. Integral.  
[https://books.google.com.ec/books?id=j\\_\\_NDwAAQBAJ](https://books.google.com.ec/books?id=j__NDwAAQBAJ)

Romero Betancourt, J. D. (2021). *Caracterización morfológica, bioquímica y molecular de cuatro accesiones de Cannabis sativa L.* Universidad Nacional de Colombia.  
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/82259/1023911851.2022.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Ross, I. A. (2023). *Plant-Based Therapeutics, Volume 1: Cannabis Sativa*. Alemania: Springer International Publishing.

Russo, E. B., Plumb, J., & Whiteley, V. L. (2021). Novel Solventless Extraction Technique to Preserve Cannabinoid and Terpenoid Profiles of Fresh Cannabis Inflorescence. *Molecules*, 26(18), 5496. <https://doi.org/10.3390/molecules26185496>

- Samaniego, F. (2021, mayo 27). La industria emergente del cannabis y el cáñamo de Ecuador. Corral Rosales. <https://corralrosales.com/industria-emergente-del-cannabis-y-canamo-en-ecuador/>
- Schilling, S., Melzer, R., & McCabe, P. F. (2020). Cannabis sativa. *Current Biology*, 30(1), R8–R9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.10.039>
- Souza, M. A. d. (2022). *Avaliação dos processos de produção caseira de extratos de Cannabis sativa L. para fins medicinais*.
- Souza, R. R. de, Toebe, M., Mello, A. C., & Bittencourt, K. C. (2023). Sample size and Shapiro-Wilk test: An analysis for soybean grain yield. *European Journal of Agronomy*, 142, 126666. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2022.126666>
- Stöver, H., Michels, I. I., Werse, B., & Pfeiffer-Gerschel, T. (2019, 20 marzo). *La regulación del cannabis en Europa: informe sobre Alemania*. [https://www.tni.org/files/publication-downloads/germany\\_spanish.pdf](https://www.tni.org/files/publication-downloads/germany_spanish.pdf)
- Sumpter, L. (2020, 13 agosto). *Situación legal de la marihuana en Chile - CannaConnection*. <https://www.cannaconnection.com/es/blog/14783-estatus-legal-chile>
- Szalata, M., Dreger, M., Zielińska, A., Banach, J., Szalata, M., & Wielgus, K. (2022). Simple Extraction of Cannabinoids from Female Inflorescences of Hemp (*Cannabis sativa L.*). *Molecules*, 27(18), 5868. <https://doi.org/10.3390/molecules27185868>
- UNODC (2014). *Metodos Recomendados Para La Identificacion y El Analisis del Cannabis y Los Productos del Cannabis*. United Nations. [https://www.unodc.org/documents/scientific/Cannabis\\_manual-Sp.pdf](https://www.unodc.org/documents/scientific/Cannabis_manual-Sp.pdf)

- 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*, *11*(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/agriculture11050384>
- Velasco Rodríguez, J. A. (2018). *Verificación del método de análisis cualitativo de cannabinoides por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas*. [http://repository.icesi.edu.co/biblioteca\\_digital/handle/10906/84550](http://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/handle/10906/84550)
- Villaverde, S, P. (2019, 30 noviembre). *Técnicas de extracción y caracterización de cannabinoides a partir de la planta de cannabis sativa L*. <http://hdl.handle.net/11201/154558>
- Y griega*. (s. f.). Medical Seeds S.L. Recuperado 3 de febrero de 2024, de <https://medicalseeds.net/es/semillas-feminizadas/19-y-griega-.html>
- Zhang, QW., Lin, LG. & Ye, WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med* *13*, 20 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

## ANEXOS

### ANEXO 1 lista de abreviaturas

**CBD:** cannabidiol

**CBN:** cannabinol

**THC:** tetrahidrocannabinol

**CBDA:** ácido cannabidiólico

**THCA:** ácido tetrahidrocannabinólico

**HPLC:** cromatografía líquida de alta eficacia

**GS/MS:** cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa

**H1:** hipótesis alternativa

**H0:** hipótesis nula

**mL:** mililitro

**g:** gramos

**°C:** grados centígrados

**Subsp:** subespecie

**TLC:** cromatografía de capa fina

**CCF:** cromatografía de capa fina

**EUA:** Extracción asistida por ultrasonido

**CO<sub>2</sub>:** dióxido de carbono

**GC/FID:** cromatografía de gases con detector ionización de llamas

**µm:** micrómetro

**ANOVA:** análisis de varianza

## ANEXO 2 Equipos utilizados en la investigación

### Fuente de las fotografías:

Todas las fotografías incluidas en este trabajo fueron tomadas por los autores en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

### Figura 22

*Shaker*



**Figura 23***Ultra-congelador***Figura 24***Liofilizador*

**Figura 25***Estufa*

**ANEXO 3** Proceso de extracción y obtención de componentes de *Cannabis sativa* L.

**Fuente de las fotografías:**

Todas las fotografías incluidas en este trabajo fueron tomadas por los autores en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.



**Figura 26**

*Pesaje de muestras de Cannabis*

**Figura 27**

*Proceso de descarboxilación*

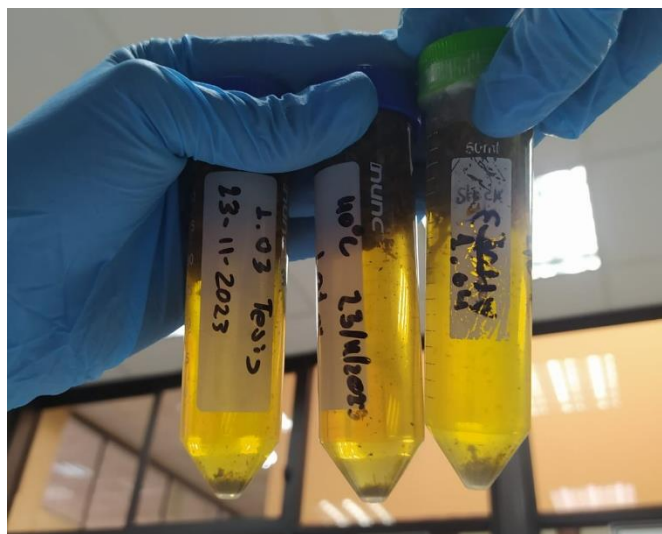


**Figura 28**

*Trituración de las muestras*

**Figura 29**

*Muestras de ultrasonido*



**Figura 30**

*Proceso de agua fría*

**Figura 31**

*Proceso de hielo seco*



**Figura 32**

*Resina obtenida con el hielo seco*

**Figura 33**

*Muestras para el ultra-congelador*



**Figura 34**

*Muestras para el liofilizado*

**Figura 35**

*Resina obtenida de las muestras, tanto de Agua fría y ultrasonido*



**Figura 36**

*Muestras de las extracciones con agua fría y ultrasonido para enviar al análisis de cromatografía en el laboratorio de HEMP Labs Ecuador*

**Figura 37**

*Muestras de la extracción con hielo seco para enviar al análisis de cromatografía en el laboratorio de HEMP Labs Ecuador*



**ANEXO 4** Resultados de la cromatografía de gases con detector de ionización de llama  
(GC-FID)





Muestra:



### Materia vegetal (4HS)

Análisis realizado mediante Cromatografía

*[Signature]*

Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros



Results are based on the spectral reference library collected by GammaCell Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Inmet Laboratory Accreditation Authority.

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

3

CBG	N/D %
d9-THC (A)	N/D %
d9-THC	2,00 %
CBD(A)	N/D %
CBD	12,47 %
CBC(A)	N/D %
d8-THC	N/D %
CBN	0,24 %

D9 THC      CBD      CBN

#### CANNABINOIDES EN %

● D9 THC ● CBD ● CBN

Lectura: La muestra tiene una concentración de 14,71 % de cannabinoides en total. Incluye:

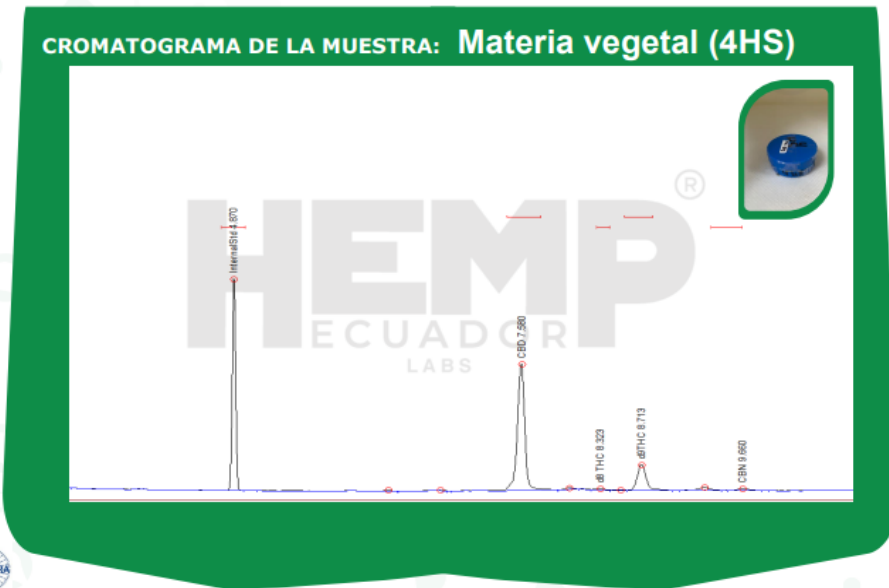
D9 THC      CBD      CBN

\*N/D: No detectado

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRICCIÓNES MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCCIONADO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TORABILIDAD DE ERROR: ± 1%.



### CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Materia vegetal (4HS)



### 4 Materia vegetal (4HS)

Análisis realizado mediante Cromatografía

*[Signature]*

Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros




Results are based on the spectral reference library collected by GammaCell Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Inmet Laboratory Accreditation Authority.

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

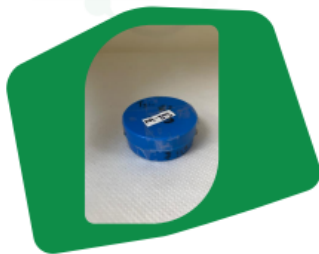
LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRICCIÓNES MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCCIONADO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TORABILIDAD DE ERROR: ± 1%.



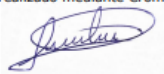





Muestra:



**Materia vegetal (7HS)**  
Análisis realizado mediante Cromatografía



Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros



Results are based on the spectral reference library collected by GeneralLab Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.


CBG	N/D %
d9-THC (A)	N/D %
d9-THC	1,65 %
CBD(A)	N/D %
CBD	14,26 %
CBC(A)	N/D %
d8-THC	0,13 %
CBN	0,19 %

\*N/D: No detectado

5

D9 THC
CBD
D8 THC
CBN


CANNABINOIDES EN %




● D9 THC
 ● CBD
 ● D8 THC
 ● CBN

Lectura: La muestra tiene una concentración de 16,23 % de cannabinoides en total. Incluye:


D9 THC
CBD
D8 THC
CBN




[hemp.ecu](http://hemp.ecu)



**Materia vegetal (7HS)**  
Análisis realizado mediante Cromatografía

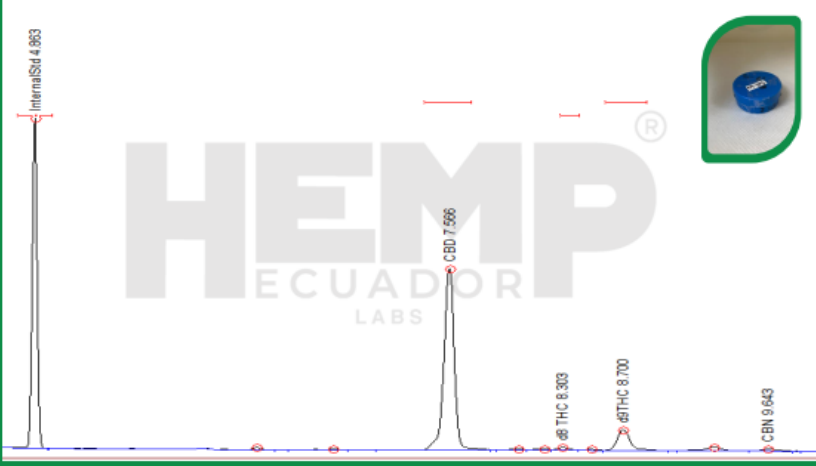


Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros




Results are based on the spectral reference library collected by GeneralLab Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.


CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Materia vegetal (7HS)



6

**Materia vegetal (7HS)**





[hemp.ecu](http://hemp.ecu)

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.




Muestra:




**Extracto en agua T1M1**

Análisis realizado mediante Cromatografía



Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros



Results are based on the spectral reference library collected by ChromCert Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

CBG N/D mg/ml

d9-THC (A) N/D mg/ml

d9-THC N/D mg/ml

CBD(A) N/D mg/ml

CBD N/D mg/ml

CBC(A) N/D mg/ml

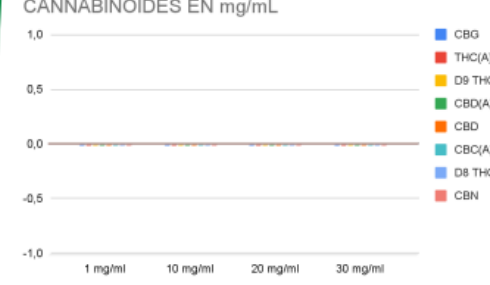
d8-THC N/D mg/ml

CBN N/D mg/ml

\*N/D: No detectado


7

CANNABINOIDES EN mg/mL



Lectura: No se detecta ninguna señal 0

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTÁ FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TORNEABILIDAD DE ERROR: ± 5%.



**hemp.ecu**



**CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto en agua T1M1**





Results are based on the spectral reference library collected by ChromCert Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

**Extracto en agua T1M1**

Análisis realizado mediante Cromatografía



Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros

8

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTÁ FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TORNEABILIDAD DE ERROR: ± 5%.



**hemp.ecu**



Muestra:



**Extracto en agua T1M2**

Análisis realizado mediante Cromatografía

Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros



Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

CBG

d9-THC (A)

d9-THC

CBD(A)

CBD

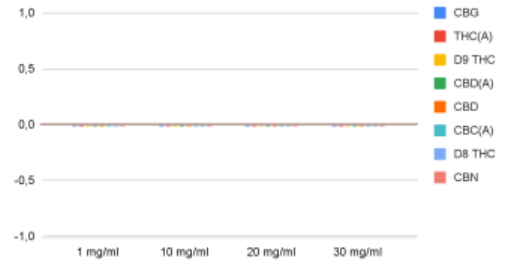
CBC(A)

d8-THC

CBN

\*N/D: No detectado

CANNABINOIDES EN mg/mL



Lectura: No se detecta ninguna señal

9



hemp.ecu

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO REQUISITOS Y ESTRICIAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERABILIDAD DE ERROR: ± 5%.



**CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto en agua T1M2**



10

**Extracto en agua T1M2**

Análisis realizado mediante Cromatografía

Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros



Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.



hemp.ecu

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO REQUISITOS Y ESTRICIAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERABILIDAD DE ERROR: ± 5%.



Muestra:



**Extracto ultrasonido T2M1**

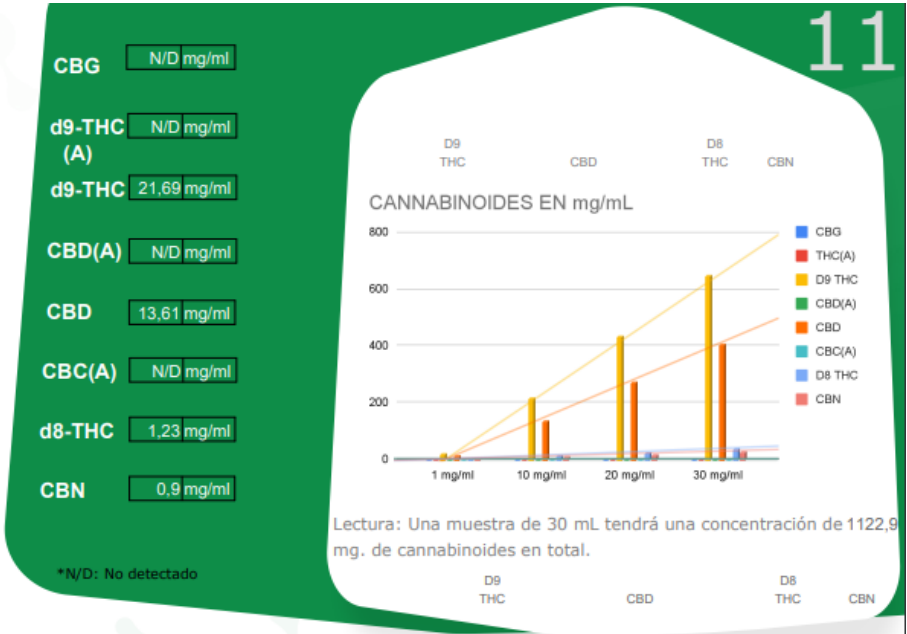
Análisis realizado mediante Cromatografía

Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros



Results are based on the spectral reference library supplied by ChemCort Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Siret Laboratory Accreditation Authority.

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.



LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO REGULACIONES Y ESTRICTA MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERABILIDAD DE ERROR = 5%.



**CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto ultrasonido T2M1**



12

**Extracto ultrasonido T2M1**  
Análisis realizado mediante Cromatografía

Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros




Results are based on the spectral reference library supplied by ChemCort Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Siret Laboratory Accreditation Authority.


Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO REGULACIONES Y ESTRICTA MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERABILIDAD DE ERROR = 5%.






Muestra:




**Extracto ultrasonido T2M2**

Análisis realizado mediante Cromatografía



Responsable  
Q.A. Daniela Cisneros

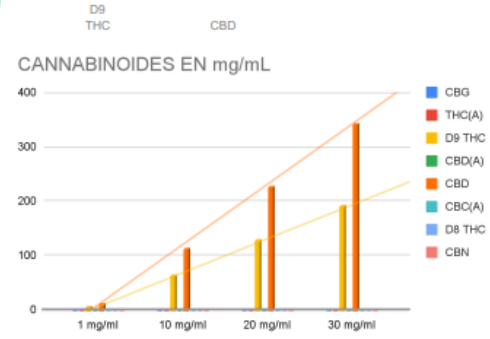


Results are based on the spectral reference library collected by ChromaCert Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.

13

CBG	N/D mg/ml
d9-THC (A)	N/D mg/ml
d9-THC	6,45 mg/ml
CBD(A)	N/D mg/ml
CBD	11,44 mg/ml
CBC(A)	N/D mg/ml
d8-THC	N/D mg/ml
CBN	N/D mg/ml

CANNABINOIDES EN mg/mL




1 mg/ml    10 mg/ml    20 mg/ml    30 mg/ml

Lectura: Una muestra de 30 mL tendrá una concentración de 536,7 mg. de cannabinoides en total.


\*N/D: No detectado

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.



LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BAJAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RECURSOS Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERANCIA DE ERROR: ± 5%.



hemp.ecu



**CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto ultrasonido T2M2**





Results are based on the spectral reference library collected by ChromaCert Ltd. at its analytical laboratory. For cannabis research which is ISO 17025 certified by Swiss Laboratory Accreditation Authority.

14

**Extracto ultrasonido T2M2**


Análisis realizado mediante Cromatografía



Responsable  
Q. A. Daniela Cisneros

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BAJAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTA FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RECURSOS Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACIÓN DE "HEMP ECUADOR". TOLERANCIA DE ERROR: ± 5%.



hemp.ecu



LABORATORIOS  
CANÁBICOS



"Ayudamos a crear productos con  
calidad de exportación".

Contáctenos

+593-9876-88855

[hempecu@gmail.com](mailto:hempecu@gmail.com)

[www.hempecu.com](http://www.hempecu.com)

Gaspar de Villarreal

E4-20 y Jorge Drom Ed. San Xavier planta baja

Ecuador