



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

“EXTRACCIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE *Cannabis sativa* L. UTILIZANDO DOS  
TÉCNICAS DE LABORATORIO, DETERMINANDO EL MÉTODO MÁS  
EFICIENTE”

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

AUTORAS: MELANIA NICOLE ALBA NARANJO

LISSETH ALEXANDRA MINCHALA ESPINOZA

TUTORA: DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS, MGTR.

Cuenca - Ecuador

2022

**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Nosotras, Melania Nicole Alba Naranjo con documento de identificación N° 0104561154 y Lisseth Alexandra Minchala Espinoza con documento de identificación N° 0350101291; manifestamos que:

Somos las autoras 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, 31 de agosto del 2022

Atentamente,



---

Melania Nicole Alba Naranjo  
0104561154



---

Lisseth Alexandra Minchala Espinoza  
0350101291

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

Nosotras, Melania Nicole Alba Naranjo con documento de identificación N° 0104561154 y Lisseth Alexandra Minchala Espinoza con documento de identificación N° 0350101291, 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 autoras del Trabajo Experimental: “Extracción de aceite esencial de *Cannabis sativa* L. utilizando dos técnicas de laboratorio, determinando el método más eficiente”, 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

Cuenca, 31 de agosto del 2022

Atentamente,



---

Melania Nicole Alba Naranjo  
0104561154



---

Lisseth Alexandra Minchala Espinoza  
0350101291

## **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 ACEITE ESENCIAL DE *Cannabis sativa* L. UTILIZANDO DOS TÉCNICAS DE LABORATORIO, DETERMINANDO EL MÉTODO MÁS EFICIENTE**, realizado por Melania Nicole Alba Naranjo con documento de identificación N° 0104561154 y Lisseth Alexandra Minchala Espinoza con documento de identificación N° 0350101291, 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, 31 de agosto del 2022

Atentamente,



---

Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas, Mgr.

0602018160

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación va dedicado a mi Madre, quien me apoyó y creyó en mi desde el primer día que empecé mi proceso universitario.

A mi abuelos, Ruth y Luis, quienes desde muy pequeña supieron guiarme y que hoy desde la eternidad siguen guiando cada uno de mis pasos y estarían orgullosos de todo lo que alcanzado hasta este momento.

A mis hermanos, Franz, Raynner y Anita, quienes han sido un gran ejemplo de superación y que me han demostrado que lo importante en esta vida es luchar por tus sueños.

A mis tíos, quienes me han brindado su apoyo moral y me han enseñado a través de sus sabios consejos el valor de perseverar en la vida.

*Melania Nicole Alba Naranjo*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primeramente, quiero agradecer a mi madre, mi mejor amiga, quien ha sido el pilar fundamental en todo este proceso. Que a pesar de las adversidades que se han presentado en el camino, ha sabido guiarme y motivarme a ser una mejor persona cada día.

A mi padre que, a pesar de nuestras diferencias, en su debido tiempo supo brindarme su apoyo.

A mi familia en general, quienes me brindaron su apoyo incondicional en los momentos más difíciles.

A mi compañera de tesis, Lisseth, por el tiempo y paciencia para poder desarrollar el presente trabajo.

A mis compañeros de la carrera, por brindarme su apoyo a lo largo de este proceso académico, sobre todo por el cariño y empatía.

A mi amiga incondicional, Tita, quien ha estado en mis peores momentos y desinteresadamente supo darme una mano cuando siempre la necesité.

A mi tutora de tesis, la Dra. Myriam Mancheno, por compartir sus conocimientos y enseñanzas durante este proceso y a lo largo de mi vida universitaria.

A todos mis docentes que, con su sabiduría, conocimientos y valores me motivaron a desarrollarme como persona y profesionalmente.

Gracias a todas aquellas personas que han aportado directa e indirectamente en la realización de este trabajo de investigación.

*Melania Nicole Alba Naranjo*

## **DEDICATORIA**

Este proyecto de investigación va dedicado a Dios, a mis padres Roque y Alexandra, y a mi gatita Milú, ya que, si no fuera por ellos, por el amor, el apoyo, las enseñanzas, los esfuerzos, consejos, paciencia, no habría logrado llegar a esta etapa de mis estudios.

De igual manera, a mis hermanos, abuelitos y tíos, que siempre estuvieron a mi lado dándome las mejores palabras de aliento cuando más lo necesité y no rendirme.

*Lisseth Alexandra Minchala Espinoza*

## **AGRADECIMIENTOS**

Principalmente quiero agradecer a Dios, por haberme bendecido con unas maravillosas personas, por darme la paciencia, la sabiduría, la fuerza y las ganas de culminar mis estudios universitarios y por todas las experiencias vividas.

A mis padres, quienes se han esforzado y sacrificado para brindarme el privilegio de estudiar y aconsejado con sus principios y valores.

A mi familia, que han sido un pilar fundamental en mi vida, me han apoyado en todo lo que han podido, sin ellos este proyecto no se habría culminado.

A mi mejor amigo, quien considero un hermano, gracias por la paciencia, la ayuda y todos los consejos que me ha dado para poder seguir adelante.

A mis amigos, quienes con sus locuras y apoyo me han ayudado a no rendirme.

A mi enamorado, por sus enseñanzas, los valores y por estar conmigo en mis buenos y malos momentos.

A mi compañera de tesis, por la paciencia y los consejos que me ha dado, para poder desarrollar de la mejor manera este proyecto.

A mi tutora de tesis, Dra. Myriam Mancheno, por guiarme e instruirme en la realización de este proyecto de tesis.

A la Universidad Politécnica Salesiana, por darme la oportunidad de estudiar y a sus docentes, a los cuales agradezco por cada aprendizaje y conocimiento compartido conmigo durante estos años.

*Lisseth Alexandra Minchala Espinoza*

## Tabla de contenido

Resumen .....	1
Abstract .....	2
Capítulo 1 .....	3
Introducción .....	3
1.1. Introducción.....	3
1.2. Planteamiento del problema .....	5
1.3. Pregunta de investigación.....	5
1.4. Justificación .....	5
1.5. Limitaciones .....	6
1.6. Objetivos.....	7
1.6.1. Objetivo general .....	7
1.6.2. Objetivos específicos.....	7
1.7. Hipótesis .....	7
Capítulo 2.....	8
Fundamentos Teóricos .....	8
2.1. Antecedentes.....	8
2.1.1. Antecedentes Internacionales .....	8
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	11
2.2. Marco Conceptual.....	12
2.3. Bases teóricas .....	13

2.3.1.	Historia del Cannabis .....	13
2.3.2.	Legislación .....	15
2.3.3.	Generalidades de la planta Cannabis sativa .....	17
2.3.4.	Cannabinoides .....	24
2.3.5.	Extracción de Cannabinoides .....	26
2.3.6.	Métodos de extracción de Cannabinoides .....	27
2.3.7.	Técnicas para la cuantificación y caracterización de Cannabinoides .....	31
Capítulo 3	.....	34
Marco Metodológico	.....	34
3.1.	Nivel de investigación .....	34
3.2.	Diseño de Investigación.....	34
3.3.	Variables .....	34
3.4.	Población y muestra.....	34
3.5.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	35
3.6.	Técnicas de procesamiento y análisis de datos.....	35
3.7.	Materiales .....	35
3.8.	Procedimiento .....	36
3.8.1.	Fase 0: Obtención de la muestra .....	36
3.8.2.	Fase 1: Pretratamientos Requeridos .....	37
3.8.3.	Fase 2 Métodos de Extracción .....	39
3.8.4.	Fase 3: Filtración .....	42

3.8.5.	Fase 4: Obtención de Aceite de Cannabis .....	42
3.8.6.	Esquema general del Proceso de Extracción .....	46
3.8.7.	Fase 5: Cuantificación de cannabinoides extraídos.....	47
3.9.	Análisis Estadístico.....	47
3.9.1.	Prueba de Normalidad .....	48
3.9.2.	Análisis estadístico ANOVA de un factor .....	48
3.9.3.	Estadístico Tukey .....	48
Capítulo 4	.....	50
Resultados y Discusión	.....	50
4.1.	Análisis de pretratamiento de material vegetal.....	50
4.1.1.	Descarboxilación.....	50
4.2.	Análisis de porcentaje de solvente recuperado.....	51
4.2.1.	Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Etanol 96%) .....	51
4.2.2.	Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Hexano).....	53
4.3.	Análisis de Rendimiento de extracción (%) .....	54
4.4.	Diseño experimental .....	56
4.4.1.	Prueba de Normalidad .....	57
4.4.2.	ANOVA de un factor .....	59
4.4.3.	Prueba Tukey.....	60
4.5.	Caracterización del aceite de <i>Cannabis sativa</i> L.....	61
4.5.1.	Análisis Cualitativo de Cannabinoides .....	61

4.5.2. Análisis cuantitativo de cannabinoides .....	62
Conclusiones .....	70
Recomendaciones.....	72
Referencias .....	73
Anexos.....	84
Anexo 1 Lista de abreviaturas .....	84
Anexo 2 Materiales.....	86
Anexo 3 Equipos .....	87
Anexo 4 Proceso de extracción y obtención de aceite de <i>Cannabis sativa</i> L .....	89
Anexo 5 Resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas .....	92

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Plantas de <i>Cannabis sativa</i> hembra(Izquierda) y Macho (Derecha).....	18
<b>Figura 2:</b> Subespecies de <i>Cannabis sativa</i> L .....	20
<b>Figura 3:</b> Principales Cannabinoides presentes en <i>Cannabis sativa</i> L .....	23
<b>Figura 4:</b> Muestras de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp. <i>indica</i> de la variedad Black Domina .....	37
<b>Figura 5:</b> Descarboxilación THCA y CBDA .....	38
<b>Figura 6:</b> Descarboxilación de material vegetal .....	39
<b>Figura 7:</b> Fase 2: Proceso de Extracción.....	41
<b>Figura 8:</b> Fase 3: Filtración .....	42
<b>Figura 9:</b> Obtención de aceite de cannabis por medio de rotavapopr y recuperación del solvente .....	43
<b>Figura 10:</b> Muestras finales de aceite de cannabis usando etanol al 96% .....	45
<b>Figura 11:</b> Muestras finales de aceite de cannabis usando hexano.....	46
<b>Figura 12:</b> Esquema general del procese de extracción a partir de hielo seco con etanol 96% y hexano .....	46
<b>Figura 13:</b> Cantidad de material vegetal seco vs cantidad de material descarboxilado.....	51
<b>Figura 14:</b> Gráfica de caja.....	56
<b>Figura 15:</b> Prueba de Normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco con hexano .....	57
<b>Figura 16:</b> Prueba de Normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%.....	58
<b>Figura 17:</b> Porcentaje de cannabinoides en el ensayo 2- etanol 96% .....	65
<b>Figura 18:</b> Porcentaje de cannabinoides en el ensayo 4- etanol 96% .....	66

<b>Figura 19:</b> Porcentaje de cannabinoides en el ensayo 1-hexano.....	67
<b>Figura 20:</b> Porcentaje de cannabinoides en el ensayo 4- hexano.....	68
<b>Figura 21:</b> Materiales empleados para proceso de extracción .....	86
<b>Figura 22:</b> Carbón activado granulado.....	86
<b>Figura 23:</b> Mufla .....	87
<b>Figura 24:</b> Congelador .....	87
<b>Figura 25:</b> Rotavapor .....	88
<b>Figura 26:</b> Cámara de flujo laminar .....	88
<b>Figura 27:</b> Pesaje de muestras de cannabis .....	89
<b>Figura 28:</b> Proceso de descarboxilación .....	89
<b>Figura 29:</b> Inmersión de material vegetal con hielo seco y solvente .....	90
<b>Figura 30:</b> Primera filtración.....	90
<b>Figura 31:</b> Segunda filtración.....	91
<b>Figura 32:</b> Residuos de la filtración .....	91
<b>Figura 33:</b> Obtención de aceite esencial de cannabis a partir de evaporador rotativo [Rotavapor] .....	92

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1:</b> Cantidad referencial de THC, CBD y CBN presentes en las diferentes partes de la planta <i>Cannabis sativa</i> , expresada en $\mu$ .....	18
<b>Tabla 2:</b> Clasificación taxonomica del cannabis .....	19
<b>Tabla 3:</b> Breve descripción de las Variedades de <i>Cannabis sativa</i> L .....	21
<b>Tabla 4:</b> Composición Química de la planta de Cannabis .....	21
<b>Tabla 5:</b> Materiales empleados para el proceso de extracción de aceite de cannabis .....	35
<b>Tabla 6:</b> Cantidad empleadas para el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%.....	40
<b>Tabla 7:</b> Cantidad empleadas para el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol hexano .....	40
<b>Tabla 8:</b> Condiciones de los métodos de extracción del presente trabajo experimental .....	41
<b>Tabla 9:</b> Condiciones para equipo evaporador rotativo .....	44
<b>Tabla 10:</b> Cálculos de la descarboxilación de material vegetal .....	50
<b>Tabla 11:</b> Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en primera fase de extracción con etanol 96%.....	52
<b>Tabla 12:</b> Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en segunda fase de extracción con etanol 96%.....	52
<b>Tabla 13:</b> Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en primera fase de extracción con hexano .....	53
<b>Tabla 14:</b> Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en segunda fase de extracción con hexano .....	54
<b>Tabla 15:</b> Porcentaje de rendimiento obtenido en los dos procesos de extracción de aceite de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp. indica [Black Domina].....	55

<b>Tabla 16:</b> Planteamiento de hipótesis.....	59
<b>Tabla 17:</b> Análisis de Varianza .....	59
<b>Tabla 18:</b> Comparación en parejas de Tukey .....	60
<b>Tabla 19:</b> Análisis cualitativo de cannabinoides presentes en los ensayos .....	61
<b>Tabla 20:</b> Comparación de cannabinoides presente en el aceite de Cannabis sativa L. subsp. indica [Black Domina] .....	63
<b>Tabla 21:</b> Porcentaje de cannabinoides obtenidos en el presente trabajo experimental .....	69

## Resumen

El presente proyecto de investigación tiene como propósito obtener aceite de Cannabis, mediante dos técnicas de laboratorio y de esta manera determinar el método más eficiente, considerando la utilización de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina], planta que fue otorgada por la empresa Pharmacannabis en Ecuador.

Para la extracción, se utilizó materia prima vegetal seca, la cual entra en un proceso de pretratamiento conocido como descarboxilación, a una temperatura de 115°C por 45 minutos. Posteriormente, en el proceso de extracción, se emplearon dos solventes: etanol al 96% y hexano empleando también hielo seco a una temperatura de -78°C, y manteniendo a esta temperatura, para poder evitar el paso de ceras, lípidos y demás impurezas que posee la planta, la mezcla se lo hizo en material de vidrio desinfectado. Luego, se ejecuta un proceso de filtración, donde se emplearon filtros de 25 µm y 10-13 µm, de tal manera que se evite el paso de clorofila y obtener un extracto más puro. Finalizada la filtración, se tiene que separar el solvente del aceite final, donde se usa el equipo de destilación rotatorio [Rotavapor], a diferentes temperaturas, dependiendo del solvente que se esté usando, etanol al 96%: 60°C y hexano: 45°C.

Una vez que se obtenga el producto final, se realiza la cuantificación y caracterización de las muestras de mayor rendimiento, por medio de la empresa HEMP Labs Ecuador, para el debido análisis de cannabinoides. Aplicando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas [CG/MS], se determinó que existe un promedio de 26,13% de CBD en todas las muestras, que es el cannabinoide de interés en el campo medicinal.

Finalmente, al realizar la comparación de los métodos de extracción de aceite de Cannabis, los promedios de los porcentajes de rendimiento de extracción fueron de 10,40% y 12,11% respectivamente, concluyendo que tanto el método de extracción a partir de hielo seco con hexano como etanol 96%, tienen la misma eficiencia en términos de rendimiento. Por otro lado, la concentración de cannabinoides varía significativamente obteniendo un promedio de 75,93%-78,09% entre ambos métodos.

**Palabras clave:** Cannabis, aceite, medicinal, extracción, solventes, cannabinoides, cuantificación.

## Abstract

The purpose of this project is to obtain Cannabis oil, using two laboratory techniques and thus determine the most efficient method, considering the use of Cannabis sativa L. subsp. indica [Black Domina], a plant that was granted by the company Pharmacannabis in Ecuador.

For the extraction, dry plant raw material was used, which enters a pretreatment process known as decarboxylation, at a temperature of 115 ° C for 45 minutes. Subsequently, in the extraction process, two solvents were used: 96% ethanol and hexane, also using dry ice at a temperature of -78 ° C, and maintaining it at this temperature, in order to avoid the passage of waxes, lipids and other impurities that the plant possesses, the mixture was made of disinfected glass material. Then, a filtration process is carried out, where filters of 25 µm and 10-13 µm were used. In such ways to avoid the passage of chlorophyll and obtain a pure extract. Once the filtration is completed, the solvent must be separated from the final oil, where rotary distillation equipment [Rotavapor] is used, at different temperatures, depending on the solvent being used, ethanol at 96%: 60 ° C and hexane: 45 ° C.

Once the final product is obtained, the quantification and characterization of the samples is carried out, through the company HEMP Labs Ecuador, for the proper analysis of cannabinoids. Applying gas chromatography coupled to mass spectrometry [CG/MS], it was determined that there is an average of 26.13% CBD in all samples, which is the cannabinoid of interest in the medicinal field.

Finally, when comparing Cannabis oil extraction methods, the averages were 10.40% and 12.11% respectively, concluding that both the method of extraction from dry ice with hexane and ethanol 96%, have the same efficiency in terms of yield. On the other hand, the concentration of cannabinoids varies significantly, obtaining an average of 75.93%-78.09% between the two methods.

**Key words:** Cannabis, oil, medicinal, extraction, solvents, cannabinoids, quantification

# Capítulo 1

## Introducción

### 1.1. Introducción

El cannabis es un tipo de planta perteneciente a la familia Cannabaceae. Se encuentra constituida de especies como *Cannabis sativa* L y esta se clasifica en subespecies [*Cannabis sativa* L subsp. *sativa*, *Cannabis sativa* L ssp. *indica* y *Cannabis sativa* L ssp. *ruderalis*] (Yoreny Román Vargas *et al.*, 2021). El mismo posee alrededor de 400 principios activos, que incluyen esencialmente cannabinoides o también conocidos como fitocannabinoides, polifenoles, terpenos, terpenoides, aceites y ceras (Pattnaik *et al.*, 2022).

Entre los cannabinoides más importantes se destacan el  $\Delta$ -9-Tetrahidrocannabinol [ $\Delta$ '9-THC], el  $\Delta$ -8-Tetrahidrocannabinol [ $\Delta$ '8-THC], Cannabidiol [CBD] y Cannabinol [CBN]. De esta forma, el CBN al ser un subproducto del THC ha evidenciado propiedades psicoactivas y no psicoactivas, así también como propiedades farmacológicas debido a su interacción con receptores CB1 y CB2 que modulan funciones fisiológicas, siendo un coadyuvante en la mejora del dolor, la inflamación, el apetito y a su vez en el aumento de la producción de células sanas (Murillo y Ojeda, 2021)

Por ello, actualmente el cannabis se ha convertido en una planta mundial debido a sus diversos compuestos bioactivos, que presentan una amplia variedad de utilidad en el área de la salud humana por su potencial terapéutico. El creciente interés de sus propiedades farmacológicas ha desencadenado un paradigma en cuanto a la legislación del cannabis con fines medicinales. Considerando también, los niveles permitidos del compuesto puro y la aplicación del cannabis no psicoactivo con interés farmacéutico y nutraceútico (Marchena

Pinilla, 2021). Como consecuencia, se dio el inicio del desarrollo de métodos analíticos para la obtención de subproductos de cannabis.

Es así como, la complejidad de los productos de *Cannabis sativa* L. ha ocasionado una gran dificultad para aislar sus compuestos bioactivos. Por ende, determinar las tecnologías eficientes y óptimas de extracción, asilamiento, purificación y cuantificación de cannabinoides es trascendental para la producción a nivel de laboratorio y con un enfoque a una escala industrial (Liu *et al.*, 2022).

Por estas razones, el propósito de este proyecto de investigación consiste en obtener aceite de *cannabis*, es decir, extractos de cannabis concentrados mediante dos diferentes métodos de extracción, para definir los rendimientos óptimos de cada proceso considerando la utilización de *Cannabis sativa* L. subsp *indica* (Black Domina), planta cultivada y otorgada por la empresa Pharmacannabis en Ecuador. Teniendo en cuenta la incorporando de una metodología a partir de la inmersión del cannabis en solvente y un proceso de winterización por medio de hielo seco. Del mismo modo, también se tiene como finalidad, evaluar la influencia de los diferentes parámetros de operación de cada proceso de extracción [Temperatura, tiempo de extracción e influencia del solvente] y determinar posteriormente la presencia de cannabinoides a través de un análisis cromatográfico.

En contraste con lo mencionado anteriormente, este trabajo permitirá aportar en el desarrollo de investigaciones posteriores para la obtención de extractos concentrados en cannabinoides considerando la idoneidad de las tecnologías ejecutadas que potencian el rendimiento final de extracción y a su vez generar a futuro un producto de alta calidad que podría ser empleado en el campo de la salud humana.

## **1.2. Planteamiento del problema**

Hoy en día, la industria del cannabis ha crecido desmedidamente a nivel mundial en conjunto con los avances productivos y tecnológicos. Sin embargo, su desarrollo desde el punto de vista medicinal ha tenido un crecimiento elevado en cuanto a la producción de subproductos en la mejora de la salud humana. En contraste con los estudios preestablecidos en áreas de producción alimenticia, cosmética, entre otros, no se ha evidenciado un impacto representativo, como en el área medicinal (Pastrana, 2020).

De esta forma, el uso de derivados de Cannabis otorga una amplia gama de oportunidades para la fabricación de productos como aceite con un valor agregado a partir de sus compuestos no psicoactivos [CBD y CBN] (Espitia-Vargas, 2020). Considerando también que, la calidad y la composición del extracto dependerá en gran medida del proceso de extracción (Blake y Nahtigal, 2019).

De esta manera la presente investigación podrá ofrecer y aportar datos contundentes en la valoración, extracción, concentración y purificación del aceite de *Cannabis sativa* L. subsp *indica* (Black Domina) y potenciar posteriormente su uso como producto medicinal.

## **1.3. Pregunta de investigación**

De acuerdo a lo métodos aplicados ¿La cantidad de cannabinoides presentes en el aceite extraído son correctos para formular un producto medicinal?

## **1.4. Justificación**

Actualmente, la industria del cannabis está siendo consolidada como una industria en gran medida rentable, atractiva, sostenible y en auge en todo el mundo, permitiendo el crecimiento de innovadoras líneas de investigación, no sólo científicas sino también para el desarrollo de novedosos productos con propiedades provechosas enfocadas en la salud y la medicina (Fuentes-Pérez y Acurio-Arcos, 2020).

Según estudios y reportes científicos analizados en los últimos años, hace énfasis en que las sustancias activas que se encuentran presentes en el cannabis, conocidas como cannabinoides tienen potenciales propiedades terapéuticas, actuando como analgésicos, ansiolíticos, antieméticos, etc. Generalmente, los cannabinoides más estudiados son el cannabidiol [CBD], tetrahidrocannabinol [THC] y el cannabinol [CBN], cada uno posee diferentes propiedades, mecanismos de acción y efectos. Sin embargo, la utilización de estos se basa en su actividad psicoactiva (Quiñones y Catacora, 2019).

Considerando lo mencionado anteriormente, gran parte del desarrollo de compuestos cannabinoides a lo largo de los años centraron sus estudios en la estructura de delta-9-tetrahidrocannabinol [ $\Delta^9$ -THC] debido a sus propiedades psicoactivas y terapéuticas. Sin embargo, se ha dado un enfoque a la utilización del cannabidiol [CBD] y cannabinol [CBN] por sus efectos prometedores en el tratamiento de diversas enfermedades y su relevancia en el desarrollo de productos farmacéuticos (Morales y Reggio, 2019).

Desde esta perspectiva, el potencial terapéutico que posee el CBD y CBN ha dado origen a la búsqueda de nuevos métodos de extracción y producción de cannabis medicinal. Por esta razón, el objetivo de este proyecto de investigación es obtener aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* (Black Domina) por medio de dos metodologías de extracción, determinando los mejores rendimientos de cada proceso y la concentración de cannabinoides presentes en las muestras, las cuales podrán servir como referente en futuras investigaciones con un enfoque en la aplicación de la biotecnología en el campo de la salud humana.

### **1.5. Limitaciones**

La principal investigación se lleva a cabo en los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, durante un período de seis meses. Sin embargo, dentro de las principales limitaciones que surgen durante el proceso investigativo

serán: el tiempo, el uso del laboratorio por terceros, equipos para realizar procesos estandarizados de purificación, procesos de aislamiento de cannabinoides psicoactivos y el uso de sustancias catalogadas sujetas a fiscalización.

Asimismo, se determinó que existe información limitada del tema en Ecuador debido a su especificidad, por ello no se halló amplia gama de antecedentes nacionales, sin embargo, las bases teóricas se fundamentan en investigaciones y estudios a nivel internacional.

## **1.6. Objetivos**

### ***1.6.1. Objetivo general***

- Extraer aceite esencial de *Cannabis sativa* L. utilizando la técnica de hielo seco con dos diferentes solventes orgánicos, para la determinación del método más eficiente.

### ***1.6.2. Objetivos específicos***

- Obtener el aceite esencial de *Cannabis sativa* L. por medio de los métodos de extracción a partir de hielo seco con etanol y hexano, para su posterior estudio.
- Evaluar los extractos obtenidos de cannabis a través de Cromatografía de gases/masa GC-MS, cuantificando sus principios activos.
- Comparar los resultados obtenidos por medio de un análisis estadístico, para la determinación del método más eficiente.

## **1.7. Hipótesis**

**H1:** Existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L.

**H0:** No existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L.

## Capítulo 2

### Fundamentos Teóricos

#### 2.1. Antecedentes

En el presente trabajo, se explican los antecedentes, donde se encuentra información específica sobre los métodos de extracción, efectos terapéuticos y también cómo fueron analizados.

##### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

La marihuana o también conocido con su nombre científico como *Cannabis* y sus derivados, son muy usados dentro del área médica, por la presencia de cannabinoides, que contienen principios activos diferentes. De esta manera, a nivel internacional se han desarrollado diversas investigaciones y estudios, incluyendo el proceso de extracción para la obtención de productos derivados del cannabis

En base al artículo de Leal *et al.* (2018) hace énfasis en el uso extenso del cannabis, como lo son para fines lúdicos y de recreación, hasta el uso en tratamiento de enfermedades y alivio de ciertas patologías. Las primeras referencias del cannabis medicinal mencionan al médico William Brooke, donde preparó extractos usando el cannabis como materia prima y la convirtió en píldoras y las empezó a experimentar en animales. De tal manera que, al ver resultados positivos, empezó a usarla para diferentes enfermedades del organismo humano, como en cóleras, convulsiones y tétanos. Tras pasar el tiempo y la aparición de las jeringas, pudo observar que el aceite que extrajo del cannabis no era soluble en agua, debido a su alta densidad, por lo que se dio la opción a la fabricación de los opiáceos. Por consiguiente, Osorio y Tangarife (2009), en su artículo “*Cannabis*, una opción terapéutica”, hace énfasis en las preparaciones de *Cannabis sativa* L. [extractos, hashish y dagga], que han sido empleados en

la medicina desde tiempos remotos. Actualmente, se conoce que sus compuestos psicoactivos como el  $\Delta$ -9-Tetrahidrocannabinol [ $\Delta$ -9 THC] y sus derivados, poseen una amplia gama de beneficios sobre el sistema inmune, digestivo, reproductivo, ocular, cardiovascular, y nervioso central. Por ende, el cannabis es una alternativa sustancial para investigaciones científicas que buscan acondicionar los principios activos de la planta para su posterior utilización en productos derivados del *cannabis* con una aplicación terapéutica.

Por otro lado, Marchena Pinilla (2021) en su investigación titulada “Determinación Cuantitativa de CBD presente en la planta de *cannabis*, en las especies Hard Diesel (sativa) y Black Domina(indica) a partir de extracción química con etanol [Tesis de pregrado]”. El objetivo era determinar cuantitativamente el CBD presente en las dos variedades de *cannabis* a través de extracción con alcohol etílico al 96%. Posterior al método de extracción se realizó un proceso de filtración con la finalidad de separar la materia prima del extracto, el cual se sometió a un calentamiento para obtener un extracto [aceite de cannabis] con la menor cantidad de etanol residual. Finalmente, por medio de cromatografía líquida [HPLC] se llevó a cabo la cuantificación de CBD, la cual se estimó un valor  $<0,0050$  de CBD presente en las dos variedades de cannabis. Este valor mínimo de CBD se generó debido a una posible desnaturalización de los cannabinoides ocasionada durante la separación del solvente para la purificación del extracto a través de calentamiento.

De acuerdo con la investigación de Murillo y Ojeda (2021), titulada “Determinación del método de extracción más efectivo en la obtención de extractos ricos en cannabinoides a partir de tres procesos diferentes [Tesis de pregrado]”. El objetivo de este trabajo se centró en la implementación de tres métodos de extracción diferentes; extracción con solvente básico/ ultrasonido, extracción por arrastre de vapor y extracción con hielo seco. Estos métodos eran característicos de ser eficientes y proporcionar extractos más puros, determinando así que a

partir de la extracción por arrastre con vapor; el porcentaje de CBD fue de 7,42% identificada por medio de cromatografía en capa fina [TLC], en contraste con los otros métodos que no se evidenció la presencia de CBD.

Conforme al artículo de Lui *et al.* (2022) titulado “Compuestos bioactivos de *Cannabis sativa* y sus tecnologías de extracción, separación, purificación e identificación: una revisión actualizada”. Nos menciona que, el *Cannabis sativa* [*C. sativa*] posee múltiples compuestos bioactivos con propiedades terapéuticas. Sin embargo, las metodologías óptimas de extracción, separación, purificación e identificación de cannabinoides siguen presentando grandes problemáticas. De esta manera, esta revisión recalca los principios básicos para una extracción y la recuperación de compuestos bioactivos en *C.sativa*. Puesto que las metodologías convencionales [Extracción soxhlet y maceración] requieren tiempo y no son ecológicas, considera esencial la aplicación de extracciones peculiares y eficientes como la extracción asistida por microondas, extracción asistida por ultrasonidos, extracción con fluidos supercríticos [CO<sub>2</sub>], extracción con solventes eutécticos profundos [DESs] y la extracción dinámica sólido-líquido rápida, las cuales han permitido optimizar las condiciones de operación a escala de laboratorio de los principales compuestos del *cannabis* con una visión a una escala industrial. Es así como, *Cannabis sativa* es una planta prometedora por las propiedades que brinda sus compuestos bioactivos [cannabinoides, terpenos, flavonoides, etc.], y a partir de las tecnologías de extracción, separación y purificación e identificación pueden ser eficientes en los procesos de producción a futuro.

Probablemente, la extracción de su aceite es sencilla básicamente y no requiere de instrumentación compleja si se lo realiza de manera tradicional. Se puede extraer con disolvente como etanol, nafta o aceite de oliva, entre otros. De tal manera que cuando se concluya la extracción se finaliza con la cuantificación y análisis del aceite de cannabis. Romano y

Hazekamp llegaron a la conclusión de que, en el proceso de descarboxilación, hay una pérdida significativa de terpeno, y todos los componentes del cannabis son importantes para poder brindar los efectos terapéuticos antes mencionados al producto final. Es por eso por lo que es importante producir de manera óptima los terpenos y cada componente del cannabis (Romano y Hazekamp, 2013).

### ***2.1.2. Antecedentes Nacionales***

En Ecuador, el uso del cannabis para fines terapéuticos fue aprobado por el COIP (Código Orgánico Integral Penal) en el 2019, donde la molécula [THC] sea menor al 1% en peso seco (Ministerio de salud, 2021). Hasta la actualidad, en Ecuador, no se registran muchos trabajos relacionados con la extracción de los compuestos del cannabis ya que es reciente su legalización.

Sin embargo, se destaca que Solís y Suntaxi (2021) en su investigación titulada “Obtención de aceite de cannabidiol a partir de flor de cannabis no psicoactivo para uso medicinal”, centraron su objetivo en definir las condiciones de operación que permitan determinar los rendimientos de extractos de cannabidiol a partir de tres métodos de extracción y dos variables de cannabis no psicoactivo. Se trabajó con dos variedades Green World y Dinamed Plus de cannabis no psicoactivo a partir de los métodos de extracción por Soxhlet, extracción por fluidos supercríticos y extracción asistida por ultrasonido. En donde los mayores rendimientos de extracto como 18,25% y 20,30% para la variedad Dinamed Plus y Green World, respectivamente, se obtuvieron a partir del método de extracción por ultrasonido. Determinando así que, la temperatura a 50°C y el tiempo de extracción de 90 minutos, fueron las variables que tuvieron mayor influencia en la extracción de los extractos concentrados de cannabis. Sin embargo, a partir del del análisis cromatográfico determinaron que la extracción

por fluidos supercríticos posee un mayor beneficio en cuanto al uso medicinal ya que presenta mayor porcentaje de cannabidiol y pureza debido a su sencilla extracción del solvente residual.

En contraste con lo mencionado anteriormente, se evidencia que la aplicación de los principios activos del cannabis refleja una gran importancia al realizar estudios en base a sus propiedades como también a la búsqueda de métodos que garanticen la obtención de cannabis medicinal de calidad.

## 2.2. Marco Conceptual

**Cannabinoides:** grupo de sustancias químicas que independientemente de su estructura u origen, tienen la capacidad de unirse a receptores cannabinoides del cuerpo y del cerebro y que poseen efectos semejantes a los producidos por la planta *Cannabis sativa* L (ADF, 2020).

**Fitocannabinoides:** son compuestos terpenofenólicos biosintéticamente relacionados producidos únicamente por la planta *Cannabis sativa*. [THC, CBD, CBN] (Schlatter, 2014)

**Cannabinol:** primer cannabinoide identificado y aislado del cannabis. Es el subproducto de la oxidación no enzimática del THC, generalmente producido por la degradación durante el secado, almacenamiento y calentamiento de los productos de cannabis (Russo y Marcu, 2017).

**Cannabidiol:** fitocannabinoides derivado de la especie Cannabis, que carece de actividad, con actividades analgésicas, antiinflamatorias, antineoplásicas y quimiopreventivas (NCI, s. f.).

**Tetrahidrocannabinol:** principal ingrediente psicoactivo del cannabis comúnmente conocido como THC [ $\Delta^9$ -THC y  $\Delta^8$ -THC] (Aas y Melle, 2017).

**Terpenos:** son hidrocarburos de estructura compleja, que enlazados a cadenas orgánicas establecen un conjunto de compuestos con características propias y que determinan la diversidad de efectos terapéuticos que presentan las plantas que lo contienen (Murillo y Ojeda, 2021).

**Descarboxilación:** Es una reacción química en donde el grupo carboxilo es eliminado de un compuesto en forma de dióxido de carbono [CO<sub>2</sub>] (Vollhardt, 1992).

## 2.3. Bases teóricas

### 2.3.1. *Historia del Cannabis*

En base a la historia, el cannabis ha sido considerado como una sustancia con una amplia aplicación y muy disputada. Con el paso del tiempo, esta planta, y desde hace más de 5000 años, ha sido aplicada para diversos fines, que van desde el uso recreativo, hasta su aplicación en el tratamiento de diferentes patologías (Leal *et al.*, 2018).

De acuerdo con su origen, el cannabis tuvo lugar en China en el año 2737 a.C. alrededor del periodo neolítico. En donde su uso se centraba en textiles, alimentos y la utilización de las semillas oleaginosas para tratar enfermedades como la malaria. Sin embargo, su aplicación y propagación se extendió hasta Europa y Oriente Medio en la Edad del Bronce, posteriormente apareciendo así también la especie *Cannabis sativa* en India hace unos tres mil años. Por ende, se focalizó su expansión en África en el siglo XIII, extendiéndose a América Latina en el siglo XVI y llegando a América del Norte hasta principios del siglo XX (Cabrera, 2021).

De esta forma, los efectos del cannabis han sido justificados como medicamento a lo largo de los años. Su utilización y aceptación continúa evolucionando en los diferentes países que actualmente permiten su aplicación para afecciones medicas específicas. Tal es el caso en Estados Unidos, donde el cannabis medicinal está aprobado para su uso en veinte y ocho diferentes estados (Bridgeman y Abazia, 2017). De esta forma, se hace énfasis sobre sus efectos

que se focalizan sobre el sistema endocannabinoide. Por ende, se demuestra a partir de los estudios que generan un impacto en diferentes órganos y sistemas, utilizando al mismo como analgésico, inmunosupresor, relajante muscular, agente antiinflamatorio, modulador del apetito, antidepresivo, antibiótico, broncodilatador, neuroléptico, antineoplásico y anti alérgico (Covarrubias, 2019).

### **2.3.1.1. El cannabis medicinal y la importancia de su aplicación**

La utilización del cannabis como una alternativa terapéutica para diversas condiciones en el área médica ha recibido un interés notable en las últimas dos décadas. En los últimos años, el cannabis medicinal se ha considerado como un coadyuvante en el tratamiento eficiente para ciertas patologías y sintomatologías en específico (Ng *et al.*, 2022). Es así como, en ciertos países está autorizado su uso en el tratamiento de enfermedades, siendo aplicada en dosificaciones pequeñas (Ebbert *et al.*, 2018).

Desde un enfoque aplicativo, la utilización del cannabis para el desarrollo de productos derivados del mismo, como extractos [aceite] ha tenido un gran auge en la actualidad. Debido a su contenido de principios bioactivos [cannabinoides]. Tanto el THC como el CBD y CBN conservan grandes propiedades terapéuticas. Sin embargo, el CBD [Cannabidiol] es uno de los compuestos mayormente analizados debido a su actividad no psicoactiva (Solís y Suntaxi, 2021). Es así como, se han visto grandes resultados en el tratamiento de enfermedades crónicas a partir del CBD, utilizando a este compuesto bioactivo como un paliativo a enfermedades como esquizofrenia, epilepsias, artritis, glaucoma, esclerosis múltiple y en otros casos se evidencia una disminución en efectos secundarios ocasionados por la quimioterapia (León Cam, 2017).

De esta manera, para la aplicación del cannabis medicinal se debe tener en cuenta ciertos parámetros, tales como la variedad y la parte de la planta a utilizar, así también como el método

de extracción y aislamiento de sus componentes. De esta forma, su utilización garantiza la calidad y el contenido de sus principios activos.

### **2.3.2. Legislación**

#### **2.3.2.1. Legislaciones internacionales del cannabis medicinal**

El cannabis y sus subproductos son consideradas como sustancias estupefacientes reguladas por medio de la legislación penal alrededor del mundo. Sin embargo, al pasar los años ha generado un debate y controversia frente a su utilización. Por ello, la mayor parte de los países regulan su uso por medio de leyes respecto al cultivo, tenencia, venta y adquisición. En cuanto a sus productos no psicoactivos son legales en diversos países con algunas excepciones tales como su utilización medicinal (Freiria, 2016).

#### **Estados Unidos**

En el año 1961 la Convención Única de Estupefacientes empezó la lucha por la regulación legal del cannabis, fortaleciéndose con el tiempo. Sin embargo, debido a la represión que existía en esa época, la Convención Única no pudo modular la utilización aceptable del cannabis. Por ello, se dio mayor privilegio para establecer leyes e investigación que justifiquen la prohibición de este. Posteriormente, en el año 1972 la Comisión de Shafer en conjunto con el Gobierno, analizaron las aplicaciones y usos que puede otorgar el cannabis, aceptando así las recomendaciones de este informe. Sin embargo, esto no significó la despenalización total del cannabis por lo que se empezó a regular a partir de diferentes leyes de la Comisión Shafer y el reporte de Wooton (Zuleta *et al.*, 2021).

Actualmente, Estados Unidos es una de las nacionales en aprobar la utilización de cannabis medicinal en 29 de sus 50 estados (Solís y Suntaxi, 2021). A pesar de eso, la mayor parte de estados de Estados Unidos aun controlan estrictamente el uso de la marihuana, ya que consideran como una “ofensa federal” al uso que le dan (Prospéro García *et al.*, 2019).

## **Colombia**

Colombia intentó legalizar el uso de cannabis medicinal en 2016 y en 2020, donde hubo mucha controversia frente a su legalización y de esta manera el proyecto de ley quedó archivado. Sin embargo, al tener un enfoque sobre el crecimiento de la industria del cannabis y sus principios terapéuticos, la legislación colombiana decretó en base a la ley 1787 el uso regulado de extractos de cannabis medicinal en proporciones pequeñas (Maiti y Bidinger, 2019).

## **México**

Por otro lado, tenemos a México que, hasta el año de 2018 seguían restringido sus estudios tanto medicinales como científicos. Sin embargo, a partir de la ley 30 681 “Que regula el uso medicinal y terapéutico del cannabis y sus derivados”, permitió la importación y comercialización con un enfoque medicinal de productos derivados del cannabis. Además, se despenalizó el uso personal, recalcando que “La posesión de derivados de marihuana con fines medicinales, siempre que la cantidad sea la necesaria para el tratamiento de quien la posea o de un tercero que se encuentre bajo su cuidado o tutela” (Labiano, 2020).

## **Otros Países**

Holanda fue el primer país en despenalizar el cannabis en 1976, así también como California que legalizó el cannabis medicinal y de esta manera muchos pacientes de cáncer y sida podían consumir y cultivar marihuana sin ningún problema que involucre la ley. Después de varios procesos, actualmente existen varios países que aceptan y dominan a la marihuana como una droga medicinal, a diferencia de otras que realmente son consideradas peligrosas como la heroína, con fines terapéuticos y recreativos. Uno de los principales países son Portugal, que se considera pionero en cuanto a las leyes de reforma de drogas, donde despenalizó el uso personal de drogas en 2001. Por otro lado, Uruguay es el primer país de Latinoamérica en legalizar el cannabis en 2013, sigue Canadá en 2018 y en el 2019 muchos

países de Sudamérica han tomado como iniciativa la legislación de cannabis como uso medicinal (Mönckeberg B., 2014; Morales Torres, 2019).

### **2.3.2.2.Legislación en el Ecuador del cannabis medicinal**

De acuerdo con el Código Orgánico Integral Penal [COIP] el 17 de septiembre del 2019 de acuerdo con el artículo 220, entra en vigor el uso de cannabis medicinal y terapéutico. En donde se establece la despenalización del cultivo y producción de cannabis con un contenido de delta-9-tetrahidrocannabinol [THC] inferior a 1% en peso seco (Ministerio de salud, 2021). En base al acuerdo establecido, esto permitirá realizar investigaciones dentro del país empleando principios no psicoactivos de la planta [CBD y CBN] que aporten a la salud.

### **2.3.3. Generalidades de la planta *Cannabis sativa***

El cannabis o también denominado marihuana, es una planta procedente de la familia *Cannabaceae*, siendo la especie *Cannabis sativa* L. la más empleada en diferentes áreas de producción. Esta posee diversos principios activos denominados cannabinoides tales como CBD [Cannabidiol], CBN [Cannabinol] y THC [tetrahidrocannabinol] (García *et al.*, 2016).

De acuerdo con su morfología, esta se caracteriza por ser una planta herbácea y dioica, que presenta inflorescencias masculinas y femeninas ramificadas con flores (García *et al.*, 2016). La misma alcanza una altura de 4m, con una longitud de tallos de aproximadamente 0,2 a 6 m, que dependen de factores hereditarios, ambientales y del tipo de cultivo(UNODC, 2014)

**Figura 1**

*Plantas de Cannabis sativa hembra (Izquierda) y Macho (Derecha)*



**Fuente:** (Herbies, 2022).

En cuanto al contenido porcentual de cannabinoides varía de acuerdo con la parte de la planta, ya sea semillas, raíces, tallos, hojas y flores. De manera que, la mayor parte de cannabinoides se encuentran presente en la flor o conocido como cogollo, con un 38,15% de THC, 4,80% de CBD y 0,05% de CBN más que en las hojas, haciendo de esta parte de la planta la óptima para su utilización en procesos extractivos (Castillo y Rico, 2020).

**Tabla 1**

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

	<b>Raíz</b>	<b>Semilla</b>	<b>Tallo</b>	<b>Hojas</b>	<b>Flor</b>
<b>THC</b>	-	3-29	196-475	2000	76300
<b>CBD</b>	14,3	67-244	179	1790	8590
<b>CBN</b>	-	2-7	0-47	-	-

**Fuente:** (Andre *et al.*, 2016)

### 2.3.3.1. Taxonomía

El *Cannabis sativa* fue clasificada de acuerdo con su morfología por primera vez en 1753 por Carl Linnaeus. Posteriormente, Jean Baptiste Lamarck descubre una nueva especie denominada *C. indica* en el año 1785. Actualmente, de acuerdo con la bibliografía, se reconoce alrededor de trece especies de cannabis: *sativa*, *indica*: *americana*, *chinensis*, *erratica*, *faetens*, *generalis*, *gigantea*, *intersita*, *kafiristanica*, *lupulus*, *macrosperma* y *ruderalis*; además de una serie de variedades para las especies *C. sativa* y *C. indica* (García *et al.*, 2016). A pesar de que existe una clasificación de las variedades de la especie de *Cannabis sativa*, se ha generado una gran controversia, ya que actualmente existen diferentes cultivares, como las subespecies *sativa* e *indica*. Es decir, un híbrido conformado entre estas dos subespecies (Yoreny Román Vargas *et al.*, 2021).

**Tabla 2**

#### *Clasificación Taxonómica del Cannabis*

<b>Reino:</b>	<b>Plantae</b>
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase:</b>	Hamamelidae
<b>Orden:</b>	Urticales
<b>Familia:</b>	Cannabaceae
<b>Genero:</b>	<i>Cannabis</i>
<b>Especie:</b>	<i>Sativa</i>
<b>Subespecie:</b>	<i>C. sativa</i> L. subsp. <i>Sativa</i> (L.) Small <i>et</i> Cronquist. <i>C. sativa</i> subsp. <i>Indica</i> (Lam.) Small <i>et</i> Cronquist
<b>Variedades:</b>	<i>C. sativa</i> L. subsp. <i>Sativa</i> (L.) Small <i>et</i> Cronquist var. <i>Sativa</i> (L.) Small <i>et</i> Cronquist, Taxon 25 (1976) 421. <i>C. sativa</i> L. subsp. <i>Sativa</i> (L.) Small <i>et</i> Cronquist var. <i>Spontanea</i> Vavilov, Taxon 25 (1976) 423. <i>C. sativa</i> L. subsp. <i>Indica</i> (Lam.) Small <i>et</i> Cronquist var. <i>Indica</i> (Lam.) Wehmer, Die Pflanzenstoffe (1911) 248. <i>C. sativa</i> L. subsp. <i>Indica</i> (Lam.) Small <i>et</i> Cronquist var. <i>Kafiristanica</i> (Vavilov) Small <i>et</i> Cronquist, Taxon 25 (1976) 429
<b>Fuente:</b> (Brown, 1998; Hanan Ana Maria, 2009).	

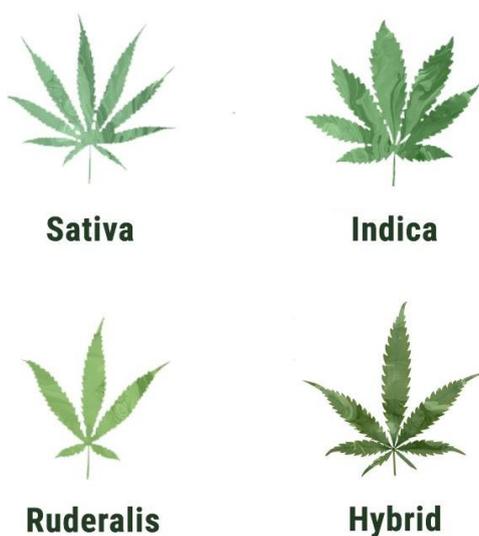
### 2.3.3.2. Variedades de *Cannabis sativa*

Morais (2018) analiza en su estudio a Carl Van Linnaeus y su obra “*Species Planarum*”, en donde establece la existencia de tres especies de cannabis: *sativa*, *indica* y *ruderalis*, cada una con subespecies y variedades. La *Cannabis sativa* es la más cultivada y está caracterizada por su alto porcentaje de cannabinoides; en cambio, la *indica* tiene principios bioactivos, pero en menor medida que la *sativa*; finalmente, la *ruderalis* no cuenta con principios activos.

Cabe destacar que, algunos autores entran en un dilema ya que se supone que la subespecie de *C. ruderalis* es un híbrido entre las dos subespecies *indica* y *sativa*. Por lo que no garantizan que sea clasificada como otra subespecie (Yoreny Román Vargas *et al.*, 2021).

#### Figura 2

*Subespecies de Cannabis sativa L.*



**Fuente:** (Royal Queen Seeds, 2020).

**Tabla 3.**

*Breve descripción de las Variedades de Cannabis sativa L*

<b>Variedad</b>	<b>Descripción</b>
<i>Cannabis sativa</i>	Variedad perteneciente a <i>Cannabis sativa L.</i> <b>Origen:</b> Asia, África, América <b>Características:</b> Alta estatura, hojas alargadas, color verde claro y poco follaje
<i>Cannabis indica</i>	Variedad perteneciente a <i>Cannabis sativa L.</i> <b>Origen:</b> Tíbet, Nepal, India, Pakistán <b>Características:</b> Menor altura, hojas pequeñas, mayor follaje, color oscuro.
<i>Cannabis ruderalis</i>	Variedad perteneciente a <i>Cannabis sativa L.</i> <b>Origen:</b> Sur de Siberia, Norte de Kazajstán <b>Características:</b> Tamaño menor, periodo de floración corta

**Fuente:** (Agnese *et al.*, 2019; Freiria, 2016).

### 2.3.3.3. Composición Química del Cannabis

La planta de *Cannabis* presenta un número representativo de compuestos químicos tales como terpenos, terpenoides, flavonoides, polifenoles y antioxidantes (Solís y Suntaxi, 2021). Sin embargo, los cannabinoides [terpenofenoles] se encuentran en mayor proporción, identificando alrededor de 100 cannabinoides en general. Entre los principales cannabinoides presentes en la planta se encuentran el THC, CBD y CBN (Hopp *et al.*, 2019).

**Tabla 4.**

*Composición Química de la planta de Cannabis*

<b>Tipo de Compuesto</b>	<b>Cantidad Referencial de compuestos</b>
<b>Terpenos</b>	>120
<b>Pigmentos</b>	>70
<b>Hidrocarbonos</b>	50

<b>Azucares</b>	34
<b>Fenoles no cannabinoides</b>	25
<b>Ácidos Grasos</b>	22
<b>Ácidos Simples</b>	21
<b>Aminoácidos</b>	18
<b>Cetonas Simples</b>	13
<b>Esteres Simples y Lactonas</b>	13
<b>Aldehídos Simples</b>	12
<b>Proteínas, Glicoproteínas y enzimas</b>	11
<b>Alcoholes Simples</b>	7
<b>Pigmentos</b>	2
<b>Vitaminas</b>	1

**Fuente:** (Marchena Pinilla, 2021).

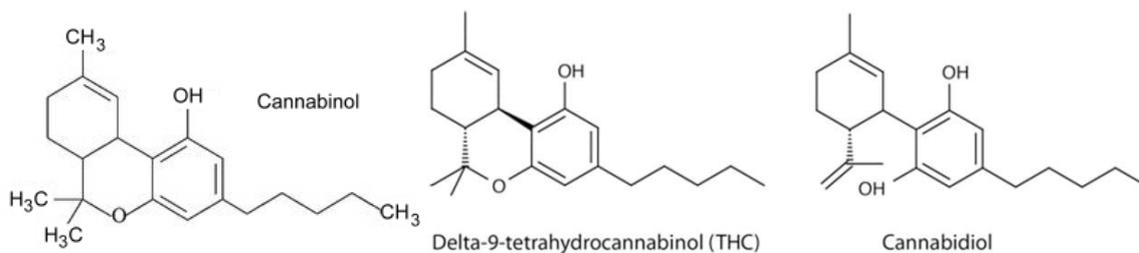
En cuanto a su estructura, estos se caracterizan por poseer un grupo carboxilo que generalmente consta de tres anillos, ciclohexeno, tetrahidropirano y benceno, lo cual le otorga la actividad terapéutica al cannabis; siendo así también compuestos inodoros. Estos se dividen en dos grupos esenciales: endocannabinoides [producidos por los organismos del reino animal] y fitocannabinoides [producidos en la planta de *Cannabis sativa* L] (Villaverde, 2019). Estos grupos están interrelacionados para que se dé el efecto propio de los principios activos del cannabis.

Los principales cannabinoides que se encuentran presentes en el cannabis son  $\Delta^9$  -tetrahidrocannabinol [ $\Delta^9$  -THC],  $\Delta^8$  -tetrahidrocannabinol [ $\Delta^8$  -THC], cannabidiol [CBD] y cannabinol [CBN]. Otros cannabinoides presentes en la planta son el cannabicromeno [CBC], cannabiciclol [CBL], cannabigerol [CBG], monometiléter del cannabigerol [CBGM], cannabielsoina [CBE], cannabinodiol [CBND], cannabitriol [CBT], dehidrocannabifurano y

cannabicitrano, que se encuentran en cantidades diferentes según la variedad de *Cannabis sativa* ha valor(SEIC, 2002).

### Figura 3

*Principales Cannabinoides presentes en Cannabis sativa L.*



**Fuente:** (SEIC, 2002)

#### 2.3.3.4. Biosíntesis y Sistema Endocannabinoide

El proceso de síntesis se genera por medio de un precursor localizado dentro de los fitocannabinoides, los cuales a partir de varios procesos permiten la obtención de sus principios activos para ser aplicados en los diversos productos conocidos hasta la fecha.

Es así como, los fitocannabinoides son sintetizados por medio de un mismo precursor. Esta sustancia precursora se localiza dentro del grupo de los fitocannabinoides, destacando así el ácido cannabigerólico [CBGA], en donde esta interactúa con tres diferentes enzimas: Ácido cannabícromenico sintasa [CBCAS], ácido cannabidiólico sintasa [CBDAS] y ácido tetrahidrocannabinólico sintasa [THCAS], transformando así los principales cannabinoides dentro de la planta: el ácido tetrahidrocannabinólico [THCA], ácido cannabícromenico [CBCA] y el ácido cannabidiólico [CBDA], que son los productos finales de la biosíntesis de los cannabinoides(Pharmacology University, 2021). De esta manera, cuando se induce a calor, se genera un proceso de pirólisis y los compuestos sufren un reordenamiento espontáneo y

descarboxilación, donde la forma ácida de los cannabinoides se convierte en su forma psicoactiva (Gülck y Møller, 2020).

Destacando así que los fitocannabinoides ácidos, como  $\Delta^9$ -THCA, CBDA y CBCA exhiben una toxicidad y baja afinidad por los receptores CB, responsables de la actividad cannabimimética. Por ello, los fitocannabinoides descarboxilados son de mayor interés, como como  $\Delta^9$ -THC, CBD y CBC, ya que se transformarán a su forma neutra, exhibiendo así una mayor afinidad y respuesta a las actividades fisiológicas (Lewis-Bakker *et al.*, 2019).

Por consiguiente, al encontrarse activos los cannabinoides tendrán una influencia sobre el sistema endocannabinoide, el cual es responsable de modular funciones en el sistema nervioso (aprendizaje, memoria, movimientos, sueño), así también como el sistema inmunológico y cardiovascular (Casadiego-Mesa y Lastra-Bello, 2015).

De acuerdo con su funcionamiento, los receptores responsables son CB1 y CB2, los cuales se unen a  $\Delta^9$ -THC, generando efectos psicotrópicos propios de la planta de *Cannabis*. Por otro lado, el cannabidiol [CBD] al poseer poca afinidad a receptores CB1 y CB2, inhiben en una proporción la unión a tetrahidrocannabinol [ $\Delta^9$ -THC], permitiendo así potenciar o inhibir efectos nocivos sobre las células e influyendo sobre la modulación de inflamación y respuesta nociceptivas. Por ende, este principio bioactivo [CBD] no induce un efecto psicoactivo sobre el organismo (Millán-Guerrero y Isais-Millán, 2019).

#### **2.3.4. *Cannabinoides***

##### **2.3.4.1. Descripción de Cannabidiol [CBD]**

El Cannabidiol, representado por su abreviación como CBD, es uno de los principales principios activos que derivan de la planta de *Cannabis* y el más estudiado por su aplicación médica en proporciones mínimas, seguido del tetrahidrocannabinol [THC] y cannabino [CBN] (Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías, 2018). Químicamente, su

composición está caracterizada por un compuesto de terpenofenol que está constituido por 21 átomos de carbono, el cual se estructura por un anillo de ciclohexano, un anillo fenólico y una cadena lateral de pentilo, los cuales brinda los efectos terapéuticos al cannabis. (Atalay *et al.*, 2020).

En cuanto a su acción dentro del sistema endocannabinoide, actúa como agonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, donde estos se unen directamente a los tejidos neuronales, así también como en el sistema digestivo y cardiovascular (González, 2013). Por ello, se considera como un receptor de interés ya que influye sobre elementos neuronales, actuando directamente en la producción de neurotransmisores que permite disminuir el dolor y ejercer efectos analgésicos, antieméticos, antiepilépticos, antitumorales, ansiolíticas, antiinflamatoria, antirreumáticas e inductoras de sueño (Hanna Guerrero, 2021).

Es así que, debido a la gran capacidad del CBD permitirá equilibrar la acción del THC haciendo que se reduzcan sus efectos secundarios y aumenta su biodisponibilidad (Kratz y Garcia de Palau, 2018).

#### **2.3.4.2. Descripción de Cannabinol [CBN]**

El Cannabinol, o conocido por su abreviación [CBN] es otro tipo de fitocannabinoide que posee propiedades psicoactivas, en una proporción diez veces menor, comparada al compuesto de THC. De acuerdo con su estructura química, es considerada como un compuesto bicíclico, ya que consta de un anillo de tetrahidropirano escindido. Además, por su rendimiento porcentual de efecto psicoactivo, lo hace un principio de interés para el tratamiento y paliativo para diversas patologías (SEIC, 2002).

Es así como, por medio de investigaciones indica que los efectos que otorga CBN son sedantes y puede aliviar la inflamación y dolor, los cuales llegan al sistema nervioso actuando

sobre los receptores CB1 y CB2, generando su efecto psicoactivo sin afectar los neurotransmisores(Studebaker, s. f.).

### **2.3.5. Extracción de Cannabinoides**

Para realizar un proceso de extracción de cannabinoides de la planta *Cannabis sativa* L., se debe conocer los principios sobre el método a utilizar, en donde se debe considerar parámetros muy importantes como la presión, temperatura, tiempo de extracción y la naturaleza del solvente a emplear (Villaverde, 2019).

Existen diversos métodos para extraer aceite concentrado en cannabinoides, los cuales pueden ser desde métodos muy innovadores como la extracción de fluidos supercríticos [CO<sub>2</sub>] hasta método convencionales basada en solventes como etanol, el cual es uno de los métodos más seguros para la obtención de productos derivados del cannabis(Teräsvalli Työn ohjaaja y Sainio, 2020).

Independientemente del método que se pretenda realizar, hay que saber que la planta de cannabis debe pasar por un tratamiento previo antes de su uso. Su materia vegetal se induce a un proceso previo de secado, el cual se lleva a cabo a una temperatura de entre 18 a 21°C reduciendo su humedad en un porcentaje del 50-55% en un periodo de cinco a seis días. Sin embargo, esto no asegura un tiempo total de secado(Challa *et al.*, 2021).

Por otro lado, también se lleva a cabo un proceso de descarboxilación, que también permite reducir la humedad presente en la planta y convertir a su forma activa los cannabinoides. Se debe tener en cuenta el tamaño a usar de la planta, ya que al usarse tamaños muy grandes puede aumentar el tiempo de extracción y muestras muy pequeñas pueden causar apelmazamiento. Es así como, este proceso puede ser ejecutado en un sistema abierto a 37 y 60°C por un periodo largo o a 100°C por 60 minutos; en cambio en un sistema cerrado se lo

podría ejecutar a una temperatura de 200°C por 3 minutos debido a que un tiempo superior podría destruir los cannabinoides (Lewis-Bakker *et al.*, 2019).

Los pasos de procesamiento previo o posterior pueden variar de acuerdo con las condiciones que se le dé al método de extracción a realizar.

### **2.3.6. Métodos de extracción de Cannabinoides**

#### **2.3.6.1.Extracción asistida por ultrasonido [EUA]**

En este método se pueden usar diferentes solventes como el hexano o isopropanol a una temperatura de 30-40 y 60°C por 60-90 minutos. El aceite se debe extraer siempre en las condiciones más óptimas. El producto que se obtiene de este proceso de extracción se puede usar como antioxidante ya que contiene altos contenidos nutricionales. Esta técnica también se puede mejorar a medida que se hagan más investigaciones, ya que es considerado un método simple y rápido (Esmailzadeh Kenari y Dehghan, 2020).

#### **2.3.6.2.Extracción por preparados de aceite de oliva**

A este procedimiento también se lo conoce como preparación de aceite de oliva cannábico, donde se obtendrá un concentrado de cannabinoides. Los parámetros para tener en cuenta durante el proceso son la temperatura y el tiempo de extracción. Estos parámetros deben estar regulados para que al final del proceso se obtenga un resultado positivo. Generalmente, a temperaturas de 100°C por 40 a 120 minutos no son significativamente eficientes debido a que el porcentaje de THC en la muestra se presenta en un 1,52 % p/p y sin la presencia de CBN. Por ello, se debe adaptar la extracción a una temperatura de 115°C por 40 minutos, ya que permite obtener una concentración mucho menor de 0,18 % p/p de THC, la cual es óptima para su evaluación y producción (Casiraghi *et al.*, 2018).

Es así como, este método permite extraer de manera eficaz cannabinoides y terpenos en contraste con la utilización de solventes como etanol, ya que no degrada rápidamente sus compuestos bioactivos. Además, a partir de este método se puede genera la extracción favorable de la clorofila, el cual es característico de poseer un color verde que provoca un sabor no agradable al producto final (Al Ubeed *et al.*, 2022).

#### **2.3.6.3.Extracción asistida por microondas [MAE]**

Este método no usa solventes, se considera un método verde, donde aumenta el rendimiento y la calidad del resultado final, que sería el aceite esencial de cannabis. En este proceso se va a tener dos fases, la primera se formará un residuo acuoso donde estarán presentes fenoles bioactivos y en la segunda habrá una biomasa deterpenada. En base a este resultado se puede hacer una purificación de fitocannabinoides y posteriormente una caracterización de los mismo en donde se podría obtener por muestra una concentración de 160,45 mg/g de cannabidiol [CBD], 14,95 mg/g de Cannabinol [CBN] y 2,74-9,70 mg/g de tetrahidrocannabinol [THC] (Mazzara *et al.*, 2022).

#### **2.3.6.4.Extracción por fluidos supercríticos [SFE]**

La extracción a partir de fluidos supercríticos es una metodología innovadora aplicada a gran escala para realizar extracciones de aceite esencial y de diferentes principios activos del cannabis. Su funcionamiento permite preservar la integridad del material vegetal y su proceso extractivo no es toxico en comparación a métodos convencionales(Grijó *et al.*, s. f.).

Estos fluidos presentan valores de temperatura y presión que se deben tomar en cuenta, ya que estos son superiores a su punto crítico, siendo capaces de disolver varios compuestos y manteniendo las propiedades de un gas. Generalmente se aplica presiones entre 300-400 bar con temperaturas de 40 y 60°C por un periodo de 240 minutos, obteniendo así un rendimiento

entre 0,890 -0,956 g/mL que son los óptimos. Por otro lado, los cambios que se provocan en la presión y temperatura generan una densidad específica de este fluido supercrítico, de tal manera que la separación del solvente y el extracto será muy fácil. (Grijó *et al.*, s. f.; Villaverde, 2019)

#### **2.3.6.5.Extracción a partir de hielo seco**

A este producto también se lo conoce como Dióxido de Carbono [CO<sub>2</sub>] en estado sólido, que tiene una temperatura de -78°C, a comparación del hielo tradicional, este es mucho más frío en un 270%. De esta manera el hielo seco tiene un gran poder de enfriamiento y congelación, además de que es estéril, incoloro, inodoro, atóxico y tampoco es un producto inflamable (Castillo y Rico, 2020). Actualmente es uno de los métodos más prominentes dentro de la industria del cannabis, ya sea para extraer hachís, aceites esenciales o extractos concentrados. Esta es una de las opciones que se emplea para desarrollar cannabis medicinal, dado que los principales compuestos farmacológicos de interés se conservan adecuadamente (SEO, 2022).

De esta manera, la técnica de extracción por medio de hielo seco, está estructurada para aislar tricomas presentes en la planta de cannabis. Es así que, permite conservar su perfil bioquímico constituido por fitocannabinoides, terpenoides y monoterpenoides que generalmente suelen perderse al realizar otros procesos extractivos. Su objetivo es generar un efecto liofilizante en las muestras por medio de la exposición al vapor de CO<sub>2</sub> sólido, teniendo en cuenta que aparte de aislar sus principios bioactivos, la misma permite precipitar elementos contraproducentes como la clorofila, compuestos lipídicos, ceras y otros compuestos innecesarios. Al mismo tiempo, la concentración de las muestras puede llegar a tener un 60,7% de cannabinoides, preservando así sus compuestos(Russo *et al.*, 2021).

Por su baja temperatura, no deja residuos ni bacterias que perjudiquen la materia prima. De esta manera se extraerán los cannabinoides al máximo, los tricomas se separarán con facilidad, haciendo que la extracción sea más exitosa y menos peligrosa para la salud. Por ello, se considera un método accesible y óptimo para su ejecución, ya que permite obtener altos rendimientos (Murillo y Ojeda, 2021).

#### **2.3.6.6.Extracción con solventes**

##### ***2.3.6.6.1. Extracción de aceite de cannabis con etanol***

El etanol al ser un solvente orgánico, volátil, atóxico y de fácil acceso. Este solvente constituye uno de los métodos más efectivos para extraer aceite esencial de materia prima vegetal, cannabis y cáñamo (Biotech CBG, 2021). Sin embargo, su uso no presenta muchas ventajas a la hora de extraer aceites esenciales, es un disolvente polar por lo que, además de los cannabinoides, extraerá terpenos como ceras y clorofila. Por lo que, en el producto final se podrá observar un color oscuro y tendrá un sabor amargo si es que no se elimina o purifica estos contaminantes. Para eso interviene el proceso de winterización, como se dijo anteriormente, reducirá la extracción de ceras, grasas y clorofila, facilitando una separación del extracto-solvente. Para tener aceite esencial de cannabis puro, se debe extraer el etanol, que este se puede evaporar a temperatura ambiente, sin tener que calentarlo. En otros casos, se puede realizar un proceso de evaporación rotativa considerando el punto de ebullición del etanol para separar el solvente sin afectar el extracto obtenido (Cáñamo, s. f.; Marchena Pinilla, 2021).

##### ***2.3.6.6.2. Extracción de aceite de cannabis con hexano***

El Hexano es un solvente apolar, volátil, líquido, incoloro y también inflamable. La gran ventaja que presenta este compuesto es que tiene una buena selectividad en cuanto a la ceras y grasas que presenta el cannabis. A pesar de que es considerado como tóxico para el ser humano,

su punto de ebullición bajo [68.5°C] hará que después pueda ser evaporado, y así de esta manera extraer el solvente del aceite. (Lazarjani *et al.*, 2021).

### **2.3.7. Técnicas para la cuantificación y caracterización de Cannabinoides**

La cuantificación y caracterización de cannabinoides presentes en las muestras de aceites elaborados en base a cannabis se realiza a partir de un análisis cromatográfico. Cabe considerar que, existen diferentes tipos de técnicas analíticas de detección, destacando la cromatografía de capa delgada [CCD], cromatografía de gases con detector ionización de llamas [GC/FID], cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas [GC/MS] y cromatografía líquida de alto rendimiento [HPLC] (Solís y Suntaxi, 2021).

#### **2.3.7.1. Cromatografía en Capa Fina [CCF]**

La cromatografía en Capa Fina [CCF] es un tipo de análisis cualitativo que permite determinar los principales cannabinoides como CBD,  $\Delta^9$ -THC y CBN. Su funcionamiento se rige a partir de dos fases: fase móvil [líquida] y una fase estacionaria [sólida], en donde se genera una coloración e identifica a partir de la misma los diferentes cannabinoides (Gil, 2021).

#### **2.3.7.2. Cromatografía de Gases- Detector de Ionización de Llamas [GC-FID]**

El objetivo de este tipo de cromatografía es analizar tanto cualitativa como cuantitativamente algunos cannabinoides sintéticos de interés [CBD, CBN, THC] (UNODC, 2014). Su funcionamiento consiste en una detección a partir de una fase móvil en una llama de hidrógeno/oxígeno, en donde al introducir los cannabinoides en fase móvil, se ionizan y posteriormente son detectados. Se requiere una preparación de la muestra, considerando su curva de calibración y estándares internos de control. Los parámetros característicos para tener en cuenta son su temperatura de inyección de 275°C por 9 minutos y un modo de inyección 1:25 (ANANDALAB, 2021; Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

### **2.3.7.3. Cromatografía de Gases acopladas a Espectrometría de Masas [GC/MS]**

Uno de los análisis más utilizados para caracterizar cannabinoides, es la cromatografía de gas-líquido o denominado como cromatografía de gases. Se basa en la técnica de separación considerando la muestra vaporizada, la cual considera dos fases: fase móvil gaseosa y fase estacionaria líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido mantenida en una columna capilar (Martinez M, 2019).

Al realizar la separación, la muestra se volatiliza térmicamente y se inyecta sobre la cabeza de la columna, la cual contiene un gas inerte [ $H_2$ ,  $N_2$  o  $He$ ], permitiendo la elusión de sus componentes y logrando que el gas portador actúe sobre la fase móvil (Villaverde, 2019). El análisis de los picos obtenidos de la evaluación cromatográfica estándar y la muestra de estudio permite establecer los compuestos que posea el analito.

Por otro lado, en conjunto con la espectrometría de masas, que es una técnica de análisis cualitativo, permite determinar estructuras orgánicas, en combinación o no de otras técnicas, considerando su especificidad y sensibilidad. Esta se caracteriza por la obtención de iones por medio de moléculas orgánicas situadas en la fase gaseosa, de tal manera que al obtener los iones estos se separan en base a su masa y carga [ $m/z$ ] generados a partir de la muestra (MNCN, 2017).

Durante la extracción de fase sólida, aísla o concentra el compuesto de interés dentro de una mezcla compleja [Aniónico o Catiónico], a través de una fase sólida de manera estacionaria. El resultado de esta permite eliminar la matriz interferente, no retenida y el analito, para así evaluar con una mayor sensibilidad (Torres y Alvarez, 2021).

En el caso de análisis de cannabinoides, se debe tener en cuenta el contacto que existe entre el solvente orgánico a utilizar, puesto que provoca la elusión de los compuestos orgánicos en la fase sólida entre ambos por sus interacciones moleculares. Es así como, al elegir el solvente se debe considerar las características propias del analito que se desea extraer.

#### **2.3.7.4. Cromatografía de Líquidos de Alto Rendimiento [HPLC]**

El análisis de HPLC es un método que cuantifica y detecta la estructura y composición de cannabinoides presentes en extractos obtenidos por medio de la planta de cannabis (Rovetto y Aieta, 2017). Esta técnica es básica para determinar cannabinoides ácidos como CBDA y THCA, como cannabinoides neutros [CBD, CBN y THC] a partir de temperaturas menores, en donde se establece una fase estacionaria y una fase móvil que interactúan entre sí, permitiendo una adecuada separación de sus componentes (Villaverde, 2019). Los resultados que otorga este tipo de cromatografía son óptimos, ya que se separan e identifican alrededor de 10 cannabinoides en un tiempo de 4 minutos, induciendo así su gran potencial para el análisis eficaz de cannabinoides (LABOMERSA, 2022).

## Capítulo 3

### Marco Metodológico

#### 3.1. Nivel de investigación

La presente investigación tiene un nivel explicativo, ya que se determinó la relación causa y efecto, considerando el análisis de las variables independientes, los cuales son los diferentes métodos extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina], cada variable tendrá como determinante la eficiencia y rendimiento de aceite de Cannabis que se obtenga con cada proceso.

#### 3.2. Diseño de Investigación

El diseño de investigación es experimental, debido a que se someterá a la materia prima *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] a dos métodos de extracción de aceite [Extracción a partir de hielo seco con etanol y hexano] [Variables independientes] para estimar el rendimiento de extracción obtenida [variable dependiente].

#### 3.3. Variables

- **Variable independiente:** Métodos de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L.
- **Variable dependiente:** Rendimiento de extracción obtenido
- **Variables intervinientes:** Tipo de especie de cannabis empleado, tiempo de extracción de los dos métodos, solventes, purificación de aceite esencial, instrumentos de análisis, cromatografía de GC/MS y eficiencia de extracción.

#### 3.4. Población y muestra

En esta investigación se contó con una población accesible, la cual fue otorgada por la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, en colaboración con la empresa Pharmacannabis, tomando como muestra una cantidad representativa de 2 kg de cogollos de

*Cannabis sativa* L. subsp. *indica* de la variedad Black Domina, con la finalidad de obviar variaciones en los resultados durante el desarrollo de la investigación.

### 3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Como instrumento de recaudación de información, se emplearon libros, artículos científicos, base de datos, repositorios institucionales, publicaciones en revistas de alto y bajo impacto, etc. Además, para citas y referencias de APA 7ma edición empleando el programa Mendeley. Por último, para análisis de observaciones no estructuradas se emplean fotografías y registros de campo, en cambio, para la observación estructurada se emplea un instrumento estadístico para el levantamiento de datos y recolección de resultados.

### 3.6. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para el procesamiento de datos se empleó gráficos y tablas, los mismos que facilitaron la interpretación de los resultados; mientras que para el análisis estadístico se aplicó previamente un test de Normalidad, para poder establecer, posteriormente un análisis ANOVA y la prueba de significancia de Tukey con la finalidad de dar a conocer cuál de los dos métodos evaluados es el más eficiente.

### 3.7. Materiales

**Tabla 5**

*Materiales empleados para el proceso de extracción de aceite de cannabis*

<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>
Embudo de Buchner	Mufla	Carbón activado granulado
Matraz Kitasato 1000 y 2000 mL	Bomba de vacío Cámara de flujo laminar	Etanol al 96% Hexano
	Rotavapor	Hexano Recuperado

---

Vasos de precipitación 1000

Hielo Seco

y 500 mL

Probetas de 250 mL

Crisoles

Pinza metálica

Papel Aluminio

Filtros de 25  $\mu\text{m}$

Filtros de 10-13  $\mu\text{m}$

---

**Fuente:** Autor

### **3.8. Procedimiento**

Se usó como base el procedimiento de Marchena Pinilla (2021), Solís y Suntaxi (2021) representado a continuación:

#### **3.8.1. Fase 0: Obtención de la muestra**

Para la investigación se emplea como materia prima *Cannabis sativa L.*, la cual ya se encuentra seca para su utilización. La misma fue obtenida gracias a la colaboración de la empresa “PharmaCannabis”, empresa farmacéutica ecuatoriana que centra su aplicación en la producción y comercialización de productos con *Cannabis*, con un enfoque medicinal (Pharma Cannabis, 2022).

La variedad de *Cannabis* a emplear es Black Domina, que es perteneciente a la subespecie *Cannabis sativa L. subsp. indica*. La misma es un tipo de híbrido feminizada, que se caracteriza por poseer tres variedades diferentes [Afghan, Ortega, Northern Lights y Hash Plant] (World of Seeds, 2022). En cuanto a las muestras otorgadas fueron hojas, flores y tallos. Sin embargo, se priorizó la utilización de las flores [Cogollos], debido a que las flores de la planta feminizada de *Cannabis* contienen una cantidad de cannabinoides diez veces mayor que

las hojas, mientras que los tallos y semillas poseen niveles mucho más pequeños (León Cam, 2017). Por ende, se tomó como muestra representativa una cantidad 2 kg de flores feminizadas [cogollos], que estaban almacenadas en bolsas negras selladas, para que de esta manera no se degraden sus componentes.

#### Figura 4

*Muestras de Cannabis sativa L. subsp. indica de la variedad Black Domina*



Fuente: Autor

### 3.8.2. Fase 1: Pretratamientos Requeridos

#### 3.8.2.1. Trituración del material vegetal

El proceso de trituración del material vegetal consiste en disgregar las partes de la planta seca [flores] y maximizar el área de contacto con el solvente a utilizar, mejorando el proceso de extracción. Este proceso se lo realiza de manera manual, permitiendo así receptar las partes de interés, evitando la incorporación de otros materiales como tallos o residuos no deseados. Posteriormente, se pesa las cantidades requeridas para cada proceso de extracción a realizar.

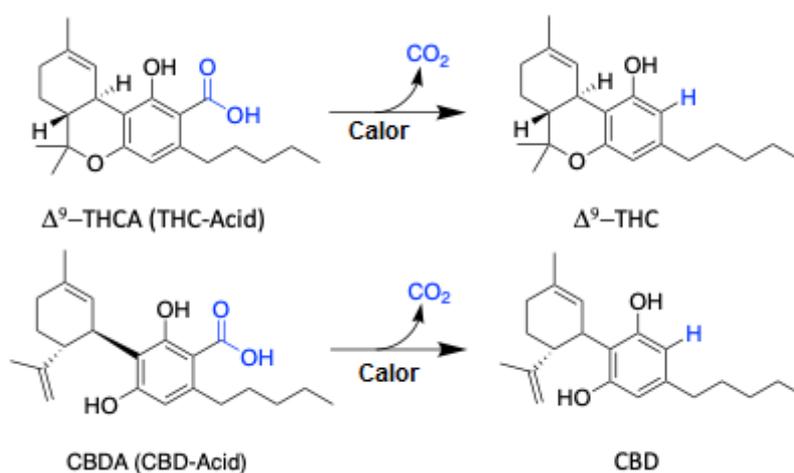
#### 3.8.2.2. Proceso de precalentado: Descarboxilación

Posteriormente al pesaje, se procedió a descarboxilar el material vegetal [*Cannabis*]. Este proceso consiste en activar los principios activos del *Cannabis*, eliminando el grupo

carboxilo CBDA [ácidos cannabidiólico] y THCA [ácido Tetrahidrocannabinólico] que se encuentran en su forma no psicoactiva a partir de un proceso de precalentado a una temperatura de 115°C por 45 minutos, convirtiéndolo a su análogo 'neutro' CBD y THC (Castillo y Rico, 2020; Romano y Hazekamp, 2013).

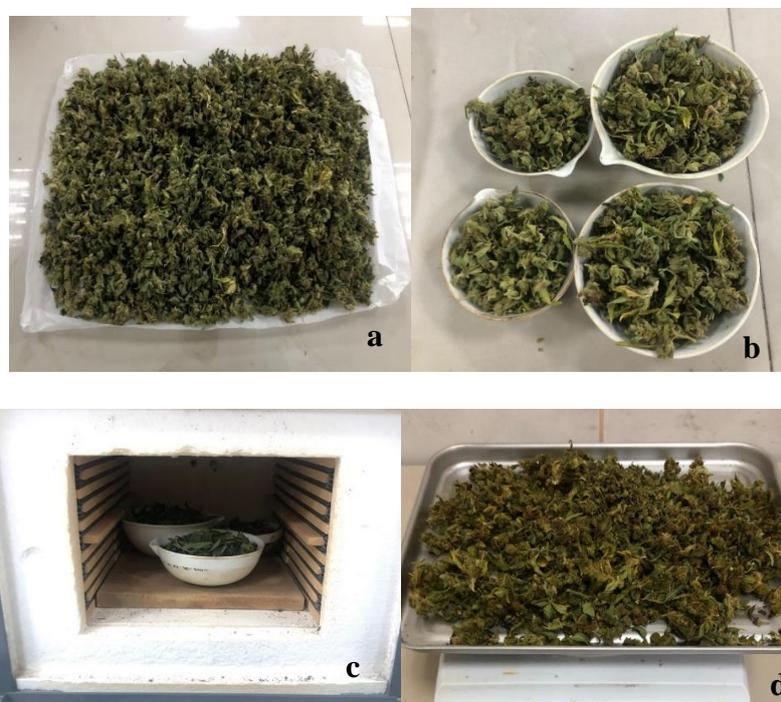
### Figura 5

#### Descarboxilación THCA y CBDA



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

Este procedimiento es básico para después poder realizar la extracción de aceite de *Cannabis*, por lo que no se debe exceder la temperatura, porque se podrían destruir sus principios bioactivos [cannabinoides]. La descarboxilación se realizó para los dos procesos de extracción.

**Figura 6***Descarboxilación de material vegetal*

*Nota.* a) Material vegetal seco pesado; b) Crisoles para descarboxilar; c) Mufla; d) Material vegetal descarboxilado. Fuente: Autor

**3.8.3. Fase 2 Métodos de Extracción**

Una vez definidos y establecidos los pretratamientos, podríamos decir que el material vegetal se encuentra en condiciones para que se pueda proceder a la extracción experimental del aceite de cannabis. La selección del solvente a emplear se define de acuerdo con su disponibilidad, costo, grado de pureza y capacidad de aislamiento de cannabinoides.

Por ello se escogió, para el primer proceso de extracción, etanol al 96% debido a su bajo costo, accesibilidad y obtención de un alto rendimiento de cannabinoides. Para el segundo proceso de extracción, se empleó hexano debido a su baja polaridad y aislamiento de terpenos y cannabinoides.

### 3.8.3.1. Método de extracción a partir de hielo seco usando como solvente etanol al 96%

En este proceso, se usaron diferentes cantidades de materia vegetal con diferentes volúmenes de etanol con una concentración del 96%, como se muestra en la Tabla 6.

**Tabla 6**

*Cantidad empleada para el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%*

<b>Muestra (g)</b>	<b>Etanol al 96% (mL)</b>
100	1500
110	1650
120	1800
130	1950

**Fuente:** (Autor)

En cada extracción se colocaron 2 kg de hielo seco una temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$ , de tal manera que las ceras e impurezas de la materia vegetal se precipiten en el fondo del recipiente, por 24 horas, manteniéndola a congelación a la temperatura antes dicha.

### 3.8.3.2. Método de extracción a partir de hielo seco usando como solvente Hexano

En este proceso, se usaron diferentes cantidades de materia vegetal con diferentes volúmenes de hexano, como se muestra en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Cantidad empleada para el proceso de extracción a partir de hielo seco con hexano*

<b>Muestra (g)</b>	<b>Hexano (mL)</b>
100	1500
110	1650
120	1800
130	1950

**Fuente:** (Autor)

En cada extracción se colocaron 2 kg de hielo seco una temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$ , de tal manera que las ceras e impurezas de la materia vegetal se precipiten en el fondo del recipiente, por 20 horas, manteniéndola a refrigeración a la temperatura antes dicha.

### Figura 7

#### Fase 2: Proceso de Extracción



Nota. a) Inmersión de muestra vegetal con solvente y hielo seco; b) Winterización a  $-78^{\circ}\text{C}$ .

Fuente: Autor

### 3.8.3.3. Parámetros y condiciones de los métodos de extracción en estudio

Tabla 8

Condiciones de los métodos de extracción del presente trabajo experimental.

	Solvente	Temperatura	Presión	Tiempo
<b>Extracción a partir de hielo seco usando etanol</b>	Etanol al 96%	$-78^{\circ}\text{C}$	Atmosférica	24h
<b>Extracción a partir de hielo seco usando hexano</b>	Hexano	$-78^{\circ}\text{C}$	Atmosférica	20h

Fuente: (Autor)

### 3.8.4. Fase 3: Filtración

Transcurrido el tiempo de inmersión del material vegetal, se procedió a realizar dos filtraciones, con el propósito de retirar los residuos y remanentes vegetales de la muestra. Como primer paso, se realizó una primera filtración con un filtro de 25  $\mu\text{m}$  para retirar la mayor parte de residuo vegetal. Después de la primera filtración, se realiza un proceso de winterización con hielo seco durante un tiempo aproximado de 20 a 30 minutos a una temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$ , con la finalidad de precipitar la clorofila. En una segunda filtración, se empleó un filtro de 10-13  $\mu\text{m}$  en conjunto con la aplicación de carbón activado granulado, para establecer un proceso de purificación más eficiente, permitiendo la retención de partículas de clorofila, ceras e impurezas. De esta manera, se obtuvo un extracto con una coloración más clara.

## Figura 8

*Fase 3: Filtración.*



*Nota.* a) Primera filtración; b) Segunda filtración

**Fuente:** Autor

### 3.8.5. Fase 4: Obtención de Aceite de Cannabis

#### 3.8.5.1. Separación del sustrato del solvente

Al finalizar la filtración, se realizó la separación del solvente y el aceite, a través del evaporador rotativo [Rotavapor], el cual, mediante una destilación a vacío, permite una

evaporación eficaz del solvente presente en la muestra, recuperando la muestra de interés [Aceite de *Cannabis*].

De acuerdo con la literatura analizada previamente, los cannabinoides entran en un proceso de desnaturalización a una temperatura mayor a los 60°C, es así que se debe tener en cuenta las temperaturas de ebullición del Etanol que es de 78.37°C y del Hexano que es 69°C (Finley y BESTWICK, 2020). Es por eso por lo que para los extractos obtenidos de Etanol al 96% se mantuvo a una temperatura de 60°C y para los extractos obtenidos de Hexano se mantuvo a una temperatura de 45°C, durante 90 minutos por muestra y 6 horas de todo el extracto para garantizar la evaporación del solvente sin dañar los principios activos del *Cannabis*.

### Figura 9

*Obtención de aceite de cannabis por medio de rotavapor y recuperación de solvente*



**Fuente:** Autor

Finalmente, las muestras obtenidas son almacenadas en frascos recubiertos para evitar la incidencia de la luz que genera la degradación de los cannabinoides.

**Tabla 9***Condiciones para equipo evaporador rotativo*

	<b>Solvente</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tiempo</b>
<b>Recuperación de solvente y muestra de interés (Etanol)</b>	Etanol al 96%	60°C	90min x muestra
<b>Recuperación de solvente y muestra de interés (Hexano)</b>	Hexano	45°C	90min x muestra

**Fuente:** (Autor)

En cuanto a la cantidad de solvente recuperado y rendimiento obtenido de aceite en el proceso de extracción se expresa en porcentaje y se debe calcular mediante las siguientes ecuaciones, utilizado por Solís y Suintaxi (2021):

### 3.8.5.2.Determinación de porcentaje de solvente recuperado

$$\%VR = \frac{Vr}{Vi} \times 100$$

**Donde:****VR:** Porcentaje de volumen recuperado (%)**Vr:** Volumen recuperado (mL)**Vi:** Volumen inicial (mL)

### 3.8.5.3. Determinación del rendimiento del extracto

$$R = \frac{m.v.e - m.v.v}{m.m.i} = \frac{m.e}{m.m.i} \times 100\%$$

**Donde:**

**R:** Rendimiento (%)

**m.v.e:** Masa frasco vial + extracto (g)

**m.v.v:** Masa de frasco vial vacío (g)

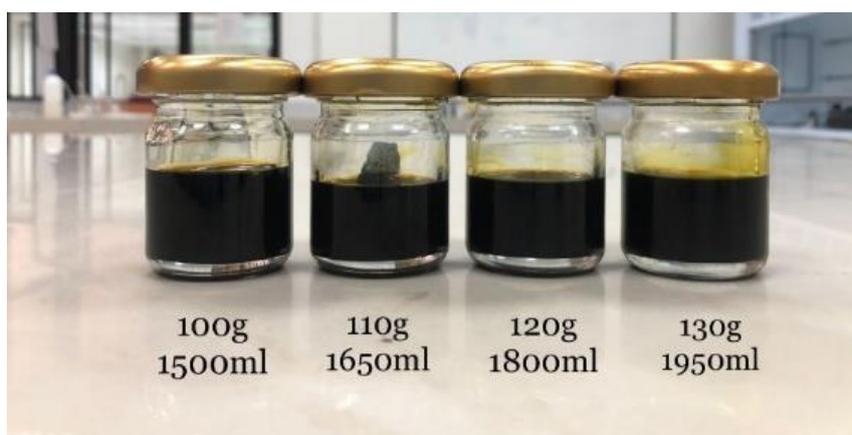
**m.e :** Masa del extracto (g)

**m.m.i:**

Masa de muestra inicial (g)

### Figura 10

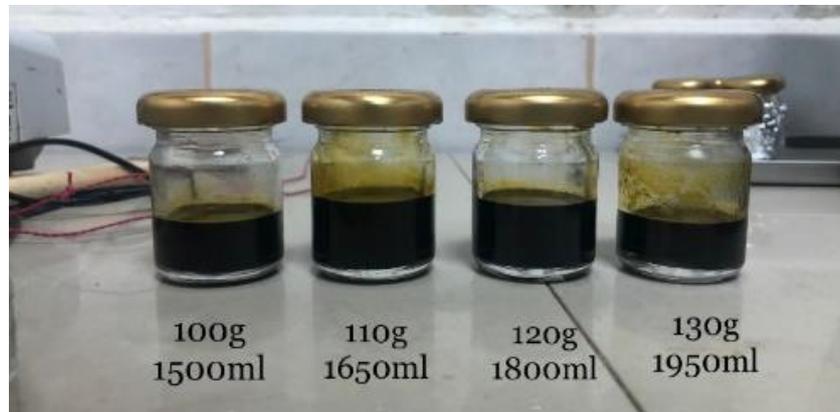
*Muestras finales de aceite de cannabis usando etanol al 96%*



**Fuente:** Autor

**Figura 11**

*Muestras finales de aceite de cannabis usando hexano*

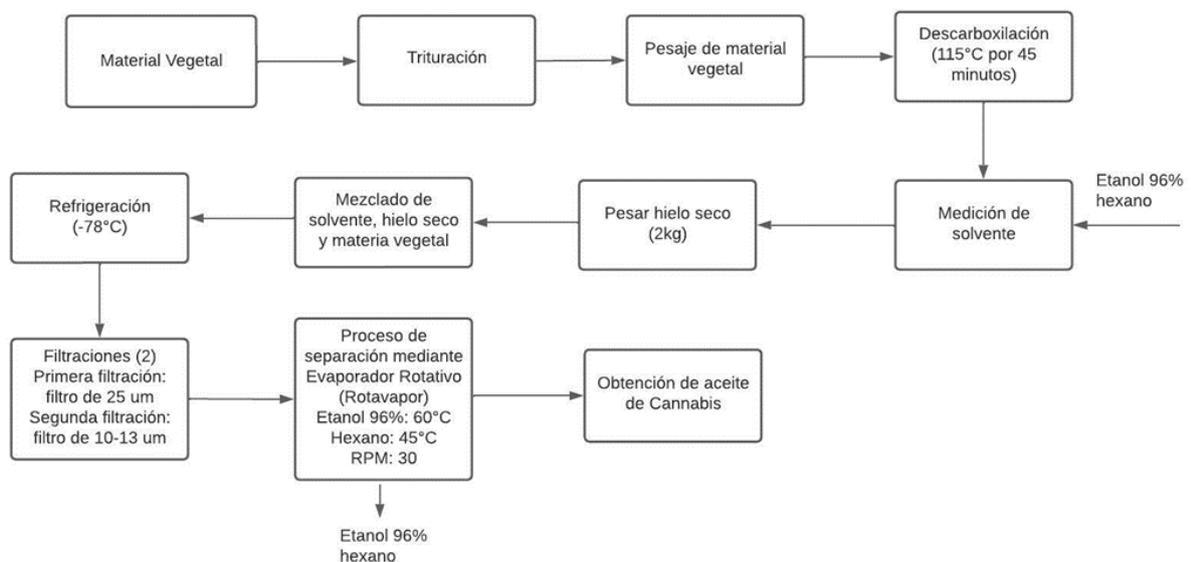


**Fuente:** Autor

### 3.8.6. Esquema general del Proceso de Extracción

**Figura 12**

*Esquema general del proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96% y hexano*



**Fuente:** (Autor)

### **3.8.7. Fase 5: Cuantificación de cannabinoides extraídos**

#### **3.8.7.1. Análisis Cromatográfico**

El análisis cromatográfico se realizó en los laboratorios de la empresa HEMP ECUADOR LABS dedicado al análisis e investigación de Cannabis en Ecuador, situado en la ciudad de Quito.

Para el análisis de la composición de los aceites extraídos *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina], se tomó como referencia 4 muestras de todos los ensayos para su evaluación. Se empleó un equipo de Cromatografía de Gases, acoplado a un detector selectivo de masas, con una columna capilar TG-5MS. Considerando como referencia la metodología aplicada por Velasco-Rodríguez (2018) para la cuantificación de cannabinoides.

Se utilizó una columna de 30 m de longitud x 0.25 mm de diámetro interno y 0,25  $\mu$ m espesor de película. La técnica considera un flujo completo (Split), con un volumen de 25:1. La temperatura del inyector es de 250°C y la del detector de 290°C.

Además, se empleó como gas de arrastre Helio a un flujo constante de 1.0 mL/min. La temperatura del horno inicialmente será de 200°C/min. Esta se incrementa posteriormente a 230°C/min y por último a 290°C/ 5 min por un periodo de aproximadamente 50-60 minutos.

En cuanto a la identificación de cannabinoides de las muestras de aceite extraído se realiza por medio de una comparación con los tiempos de retención de los estándares [InternalStd 4.443], analizado a las mismas condiciones. De acuerdo con las áreas de los picos del cromatograma se determinó la concentración de cada cannabinoide extraído.

### **3.9. Análisis Estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó Minitab 21, en donde se eligió la técnica óptima para encontrar si existía una diferencia entre los métodos de extracción de aceite de cannabis empleados, los métodos establecidos fueron:

### 3.9.1. Prueba de Normalidad

El estadístico Shapiro-Wilks es un test que contrasta la normalidad de un conjunto de datos menor de 50 elementos, en donde se plantea que la hipótesis nula de una muestra proviene de una distribución normal (Dietrichson, 2019; Parada, 2019).

Prueba de Hipótesis

- H0: Los datos poseen una distribución normal /  $p\_Value > 0,05$
- H1: Los datos no poseen una distribución normal /  $p\_Value < 0,05$

Con el 95% de confianza

### 3.9.2. Análisis estadístico ANOVA de un factor

Para el análisis estadístico en el presente trabajo experimental, se considera como variable de salida el porcentaje de rendimiento de extracción obtenido, y como variables de entrada los métodos de extracción [hielo seco con hexano y hielo seco con etanol 96%], con 4 réplicas para cada uno de los métodos, habiendo analizado los datos obtenidos en el ítem 3.8.5 a través del Software Minitab 21. Considerando que el nivel de significancia a emplear en el análisis estadístico es de 0,05.

Las hipótesis establecidas en esta prueba son:

- H0: Existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina].
- H1: No existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina].

### 3.9.3. Estadístico Tukey

La prueba de Tukey es una prueba estadística empleada en conjunto con ANOVA, para analizar y comparar las diferencias entre las medias de las muestras (Minitab19, 2020).

Una vez que se realiza el análisis de varianza, por medio de la prueba de Tukey se establece si existen diferencias significativas o no entre los métodos de extracción.

## Capítulo 4

### Resultados y Discusión

#### 4.1. Análisis de pretratamiento de material vegetal

##### 4.1.1. Descarboxilación

Previamente al proceso de descarboxilación se tomó muestras de 100, 110, 120 y 130 gramos, donde se sometieron a las muestras de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] a una temperatura de 115 °C en la mufla durante 45 minutos, después se deja en reposo unos 10 minutos hasta que alcancen una temperatura ambiente para proceder rápidamente a pesarlas. Posteriormente se pesó el material vegetal descarboxilado, el mismo que tuvo una pérdida significativa en cada uno de los ensayos como se evidencia en la Tabla 10.

**Tabla 10**

*Cálculos de la descarboxilación de material vegetal*

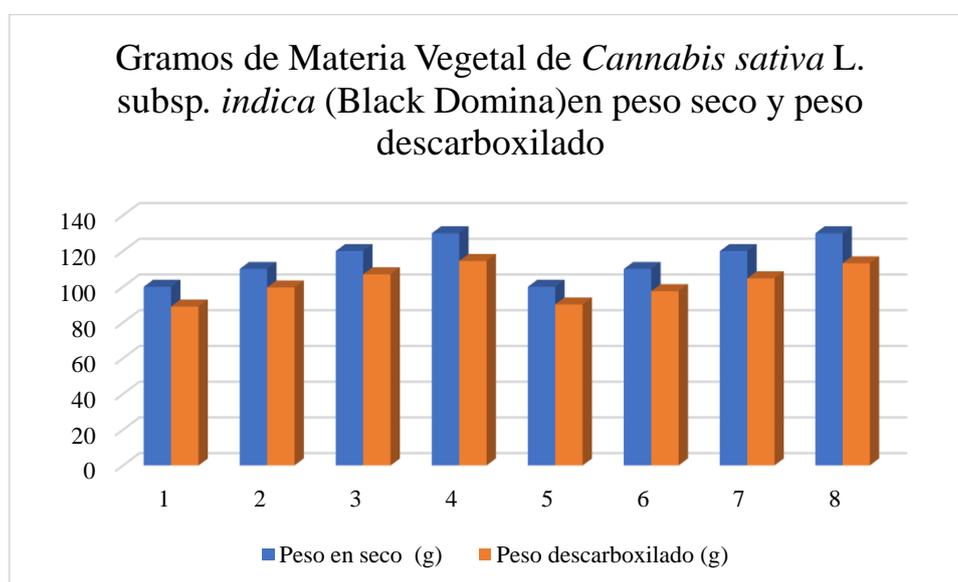
No. de Ensayos	Peso en seco (g)	Peso descarboxilado (g)	Pérdida
1	100	88,96	11,04
2	110	99,60	10,40
3	120	107,02	12,98
4	130	114,45	15,55
5	100	90,12	9,88
6	110	97,55	12,45
7	120	104,75	15,25
8	130	113,16	16,84
<b>Total</b>	920	815,61	104,39
<b>Promedio</b>	-	-	13,05

**Fuente:** Autor

En este proceso se pudo observar la diferencia entre peso/peso de la materia vegetal inicial y final, en donde se perdió un promedio de 13,05 gramos por número de ensayo (Véase Figura 13). De acuerdo a Villaverde (2019), esta diferencia podría deberse a que las muestras otorgadas inicialmente presentaban un porcentaje de humedad, ocasionando de esta forma una reducción muy importante de peso y volumen del material vegetal.

### Figura 13

*Cantidad de material vegetal seco vs cantidad de material descarboxilado*



Fuente: Autor

## 4.2. Análisis de porcentaje de solvente recuperado

### 4.2.1. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Etanol 96%)

En la Tabla 11, se puede observar que, en la primera fase de extracción, al realizar el proceso de inmersión de la muestra de cannabis en solvente etanol 96% en un tiempo de veinte y cuatro horas a una temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$ , se recuperó un promedio de 76,71% de Etanol 96% es decir 1325 mL en relación de cada uno de los ensayos realizados.

**Tabla 11**

*Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en primera fase de extracción con etanol 96%*

Muestra	No. Ensayo (Etanol 96%)	Cant. De Hielo seco (kg)	Masa de la flor (Cogollo) (g)	Cant. de solvente Inicial (mL)	Tiempo de extracción (h)	Temperatura de extracción (°C)	Cant. de solvente recuperado (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
<b>Black Domina (Cogollos)</b>	1	2	100	1500	24	-78	1100	73,33
	2	2	110	1650	24	-78	1300	78,79
	3	2	120	1800	24	-78	1400	77,78
	4	2	130	1950	24	-78	1500	76,92
<b>Promedio</b>	-	-	-	1725	-	-	1325	76,71

**Fuente:** Autor

En cambio, en la Tabla 12, se puede observar que, en la segunda fase de extracción por medio del evaporador rotativo [Rotavapor], con un tiempo aproximado de noventa minutos y temperatura de 60°C, se recuperó un promedio de 86,43% de Etanol 96% es decir 1138,75 mL en relación de cada uno de los ensayos realizados.

**Tabla 12**

*Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en segunda fase de extracción con etanol 96%*

Muestra	No. Ensayo (Etanol 96%)	Masa de la flor (Cogollo) (g)	Cant. de solvente Inicial (mL)	Tiempo de extracción (min)	Temperatura de extracción (°C)	Cant. de solvente recuperado (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
<b>Black Domina (Cogollos)</b>	1	100	1100	90	60	1050	95,45
	2	110	1300	90	60	1130	86,92
	3	120	1400	90	60	1050	75,00
	4	130	1500	90	60	1325	88,33
<b>Promedio</b>	-	-	1325	-	-	1138,75	86,43

**Fuente:** Autor

#### 4.2.2. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Hexano)

En la Tabla 13, se puede observar que, en la primera fase de extracción, al realizar el proceso de inmersión de la muestra de cannabis en solvente hexano en un tiempo de veinte horas a una temperatura de  $-78^{\circ}\text{C}$ , se recuperó un promedio de 75,68% de hexano, es decir 1300 mL en relación de cada uno de los ensayos realizados.

**Tabla 13**

*Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en primera fase de extracción con hexano*

Muestra	No. Ensayo (Hexano)	Cant. De Hielo seco (kg)	Masa de la flor (Cogollo) (g)	Cant. de solvente Inicial (mL)	Tiempo de extracción (h)	Temperatura de extracción ( $^{\circ}\text{C}$ )	Cant. de solvente recuperado (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
<b>Black</b>	1	2	100	1500	20	-78	1100	73,33
<b>Domina (Cogollos)</b>	2	2	110	1650	20	-78	1500	90,91
	3	2	120	1800	20	-78	1200	66,67
	4	2	130	1950	20	-78	1400	71,79
<b>Promedio</b>	-	-	-	1725	-	-	1300	75,68

**Fuente:** Autor

En cambio, en la Tabla 14, se puede observar que, en la segunda fase de extracción por medio del evaporador rotativo [Rotavapor], con un tiempo aproximado de noventa minutos y temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$ , se recuperó un promedio de 86,43% de hexano, es decir 1119,25 mL en relación de cada uno de los ensayos realizados.

**Tabla 14**

*Cálculos de porcentaje de solvente recuperado en segunda fase de extracción con hexano*

<b>Muestra</b>	<b>No. Ensayo</b>	<b>Masa de la flor (Cogollo) (g)</b>	<b>Cant. de solvente Inicial (mL)</b>	<b>Tiempo de extracción (min)</b>	<b>Temperatura de extracción (°C)</b>	<b>Cant. de solvente recuperado (mL)</b>	<b>Porcentaje de solvente recuperado (%)</b>
<b>Black</b>	1	100	1100	90	50	1000	90,91
<b>Domina</b>	2	110	1500	90	50	1290	86,00
<b>(Cogollos)</b>	3	120	1200	90	50	1030	85,83
	4	130	1400	90	50	1157	82,64
<b>Promedio</b>		-	1300	-	-	1119,25	86,35

**Fuente:** Autor

Conforme a la Tabla 11 y 12, en el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96% se puede mencionar que se recuperó un promedio entre las dos fases de 81,57% de solvente. En cambio, en la Tabla 13 y 14 se determinó que en el proceso de extracción a partir de hielo seco con hexano se recuperó un promedio de 81,01% de solvente. Estos resultados son significativamente menores a comparación de los resultados evidentes en la investigación de Solís y Suntaxi (2021), en donde se recuperó un promedio de 88,42% en el proceso de extracción por fluidos supercríticos CO<sub>2</sub>.

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

Para alcanzar el primer objetivo específico, se procedió a determinar los rendimientos porcentuales de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] empleada en la presente tesis, aplicando el procedimiento redactado en el Capítulo 3 ítem 3.8.5. Los mismos que fueron analizados por medio de cuatro réplicas respectivamente para cada método, que se expone en la Tabla 15.

**Tabla 15**

*Porcentaje de rendimiento obtenido en los dos procesos de extracción de aceite de Cannabis sativa L. subsp. indica [Black Domina]*

<b>Repeticiones</b>	<b>Extracción a partir de hielo seco con hexano</b>	<b>Extracción a partir de hielo seco con etanol 96%</b>
1	7,71%	11,35%
2	11,56%	13,07%
3	10,79%	11,95%
4	11,61%	12,05%

**Fuente:** (Autor)

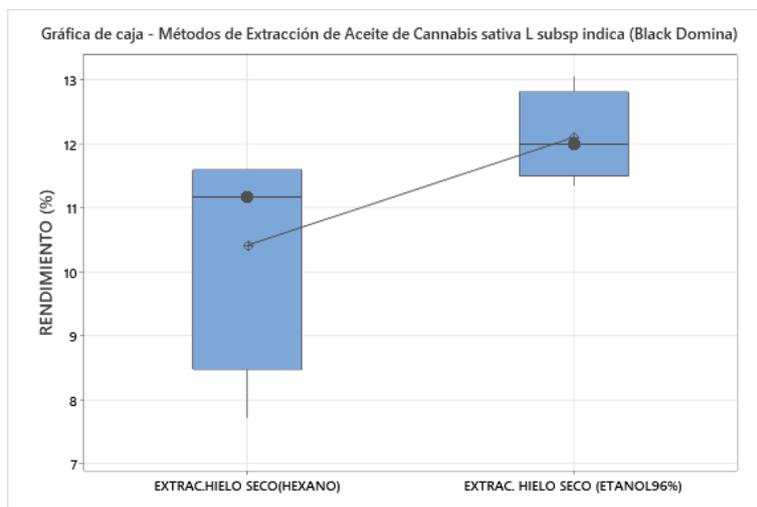
De acuerdo con los métodos de extracción ejecutados, el porcentaje de rendimiento de extracción para cada ensayo en conjunto con su réplica, se obtuvo valores entre 7,71% y 11,61% para el proceso de extracción a partir de hielo seco con hexano, mientras que, para el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96% se obtuvo valores entre 11,35% y 13,07%. Conforme se observa en la Tabla 15 del porcentaje de rendimiento de extracción de aceite de *Cannabis sativa L. subsp. indica* [Black Domina], analizando con cuatro replicas.

El mayor porcentaje de rendimiento de extracción fue de 13,07%, mediante el método de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%, mientras que el método de extracción a partir de hielo seco empleando hexano como solvente, fue menor con un porcentaje de rendimiento de extracción de 11,61%. Estos resultados son mayores a los encontrados en la bibliografía de Solís y Suntaxi (2021), en donde se obtuvo un rendimiento de 8,87%, empleando una metodología estandarizada de extracción por fluido supercrítico CO<sub>2</sub>.

Para tener una mejor perspectiva de los datos obtenidos se realizó un gráfico de cajas de los rendimientos obtenidos a partir de los métodos de extracción establecidos en la presente investigación.

**Figura 14**

Gráfica de caja



**Fuente:** Minitab 21.

**Realizado por:** Autor

Por medio de la figura 14 se evidencia que los métodos de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina], son significativamente iguales, considerando que el método óptimo es el método de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%, ya que se observa una menor variabilidad con respecto al tamaño de la caja representada.

#### 4.4. Diseño experimental

Para alcanzar el tercer objetivo específico, se procedió a comparar los métodos de extracción de hielo seco a partir de hexano y etanol 96% en relación con los rendimientos porcentuales de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] obtenidos, para la determinación del método más eficiente.

Para ello se realizó una prueba de normalidad por medio de pruebas Shapiro-Wilk para determinar si los datos poseen una distribución normal. Seguido de un análisis de varianza y prueba de Tukey para contrastar las diferencias entre las medias de las muestras. Cada una de

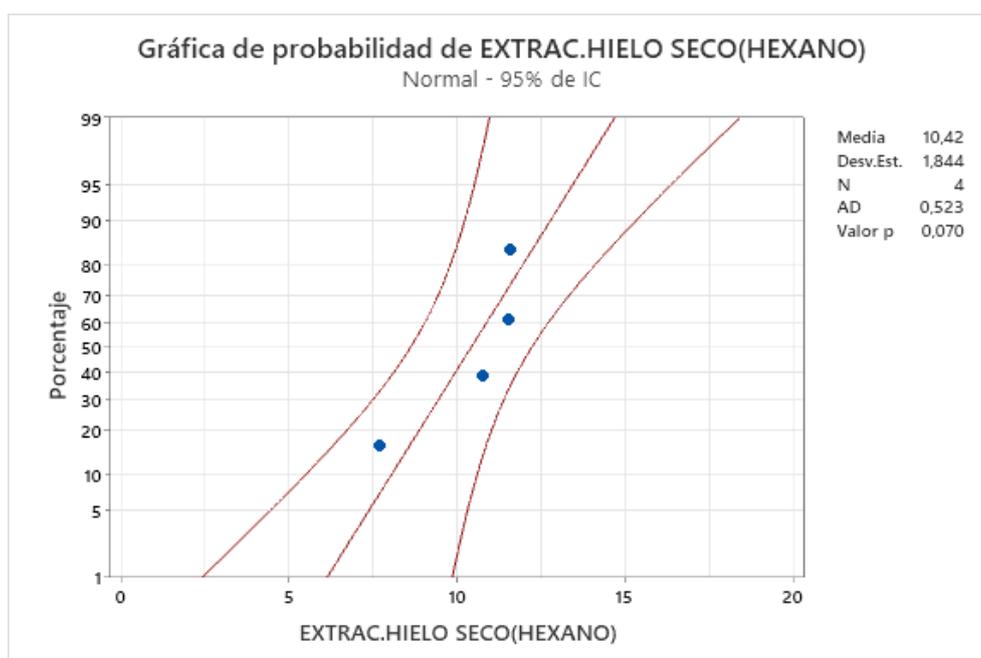
las pruebas se realizó para cada conjunto de datos obtenidos de los diferentes métodos de extracción ejecutados, es decir, tanto para la extracción a partir de hielo seco con hexano como para la extracción a partir de hielo seco con etanol 96%.

#### 4.4.1. Prueba de Normalidad

Se determinó la normalidad del conjunto de datos por medio de las pruebas Shapiro-Wilk.

### Figura 15

*Prueba de Normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco con hexano*



**Fuente:** Minitab 21.

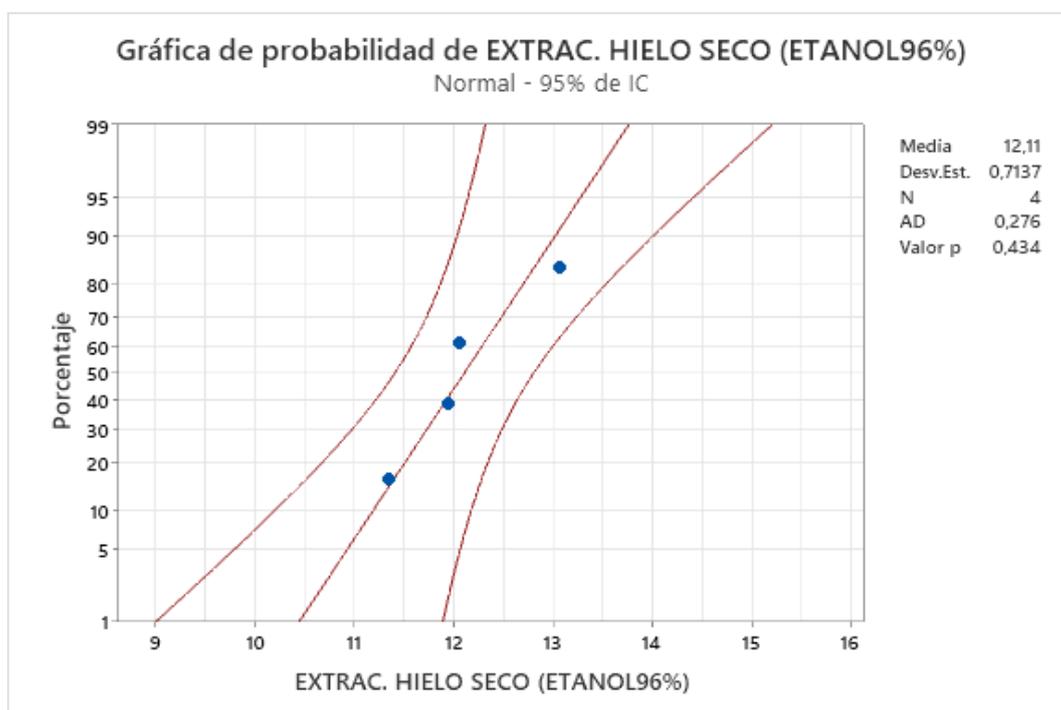
**Realizado por:** Autor

En la figura 15 se puede evidenciar la prueba de normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco con hexano, donde se obtuvo un valor de P de 0,070, 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. Cada uno de los puntos se aproximan a la línea de normalidad.

**Figura 16**

*Prueba de Normalidad para el método de extracción a partir de hielo seco con etanol 96%*



**Fuente:** Minitab 21.

**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 con etanol 96%, donde se obtuvo un valor de P de 0,434, 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. Cada uno de los puntos se aproximan a la línea de normalidad.

#### 4.4.2. ANOVA de un factor

Luego de demostrar la normalidad de los datos, se procedió a plantear la hipótesis alternativa y nula, para efectuar el análisis estadístico ANOVA. Conforme se observa en la Tabla 16, detallada a continuación.

**Tabla 16**

##### *Planteamiento de hipótesis*

Nivel de confianza	Significancia	Hipótesis Nula	Hipótesis Alternativa
95%	$\alpha=0,05$	No existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp. <i>indica</i> [Black Domina].	Existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de <i>Cannabis sativa</i> L. subsp. <i>indica</i> [Black Domina].

**Fuente:** Autor

Consecuentemente, se efectuó el análisis de varianza ANOVA de un solo factor, con la finalidad de realizar un análisis de significancia estadística de sus datos y determinar si los métodos poseen un comportamiento similar o no, obteniéndose los resultados descritos en la Tabla 17.

**Tabla 17**

##### *Análisis de Varianza*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor F crítica	Valor p
<b>Método de Extracción</b>	1	5,695	5,695	2,914	5,987	0,139
<b>Error</b>	6	11,725	1,954			
<b>Total</b>	7	17,42				

**Fuente:** Autor

De esta manera, en la prueba de varianza con respecto a los métodos de extracción ejecutados, el valor de F calculada fue de 2,914 y el valor de F crítica fue de 5,987; esto demuestra que entre los dos métodos de extracción a partir de hielo seco con hexano y etanol 96% no existe una diferencia significativa en el rendimiento de extracción de los métodos ejecutados en el trabajo experimental. De tal forma que, la hipótesis nula se acepta y la alternativa se rechaza, considerando que la media de los métodos de extracción es igual.

En cuanto al Valor de p fue de 0,139, se determinó que fue mayor al nivel de significancia de 0,05. Por ello, se acepta la hipótesis nula y se rechazó la hipótesis alternativa, demostrando que las medias son iguales, es decir que, no existe diferencia entre los métodos empleados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina].

#### 4.4.3. Prueba Tukey

A través de la prueba de Tukey se confirmó lo establecido anteriormente en el análisis de varianza. De tal forma que se identificaron como resultados, una semejanza en las letras de las agrupaciones, demostrando así que los métodos ejecutados para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] no son significativamente diferentes. Véase en la Tabla 18.

**Tabla 18**

*Comparación en parejas de Tukey*

<b>Extracción</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>
<b>Extracción con Hielo seco (Etanol 96%)</b>	4	12,105	A
<b>Extracción con Hielo seco (Hexano)</b>	4	10,418	A

*Nota.* Las medias que no comparten la misma letra son significativamente diferentes.

**Fuente:** Autor

En otras palabras, tanto el método de extracción a partir de hielo seco con hexano resultó ser similar en cuanto a resultados de los rendimientos porcentuales de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica* [Black Domina] al método de extracción a partir de hielo seco con etanol al 96%.

#### 4.5. Caracterización del aceite de *Cannabis sativa* L

##### 4.5.1. Análisis Cualitativo de Cannabinoides

Para poder determinar los cannabinoides que están presentes y en qué cantidad, las muestras fueron enviadas al laboratorio *HEMP Ecuador Labs*, en la ciudad de Quito, para realizar los respectivos análisis de cromatografía de gases. Dentro del análisis cromatográfico se identificaron 4 cannabinoides presentes en cada muestra de aceite obtenido por cada proceso de extracción. Estos se detallan en la Tabla 19 a continuación.

**Tabla 19**

*Análisis cualitativo de cannabinoides presentes en los ensayos*

<b>Cannabinoides Identificados en cada muestra</b>	<b>Fórmula molecular</b>	<b>Hielo seco usando como solvente Etanol 96%</b>	<b>Hielo seco usando como solvente Hexano</b>
<b>CBD (cannabidiol)</b>	$C_{21}H_{30}O_2$	✓	✓
<b>CBN (cannabinol)</b>	$C_{21}H_{26}O_2$	✓	✓
<b><math>\Delta^9</math>-THC (<math>\Delta^9</math>-tetrahidrocannabinol)</b>	$\Delta^9-C_{21}H_{30}O_2$	✓	✓

---

**$\Delta 8$ -THC ( $\Delta 8$ -  
tetrahidrocannabinol)**

$\Delta 8$ - C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>



**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autor

Como se puede observar, en la investigación se han identificado 4 cannabinoides que están presentes en los 4 ensayos realizados por los dos métodos propuestos. Entre estos están: Cannabidiol [CBD], Cannabinol [CBN],  $\Delta 9$ -tetrahidrocannabinol [ $\Delta 9$ -THC] y  $\Delta 8$ -tetrahidrocannabinol [ $\Delta 8$ -THC]. Cada uno de los cannabinoides se encuentran presentes en diferentes proporciones de acuerdo con cada extracción.

#### ***4.5.2. Análisis cuantitativo de cannabinoides***

El análisis de los cannabinoides presentes en las muestras de aceite de *Cannabis sativa* L. subsp. *indica*- Black Domina que fue entregado por la Universidad Politécnica Salesiana en conjunto con la empresa Pharmacannabis, se realizó a partir de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Los resultados del análisis cromatográfico de los cannabinoides, mismos que fueron extraídos mediante el método de maceración usando hielo seco y dos solventes diferentes como el etanol al 96% y el hexano, se los comparó con un perfil de estudio, donde se aplicó el mismo método de extracción de aceite de cannabis [Véase en la Tabla 20].

**Tabla 20**

*Comparación de cannabinoides presentes en el aceite de Cannabis sativa L. subsp. indica*

*[Black Domina]*

Cannabinoides identificados en el análisis cromatográfico	Fórmula molecular	Ensayos	Presente Trabajo experimental	(Marchena Pinilla, 2021)
<b>CBD (cannabidiol)</b>	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Ensayo 2: Etanol 96%	24%	<0,0050%
		Ensayo 4: Etanol 96%	24,37%	
		Ensayo 1: Hexano	26,56%	
		Ensayo 4: Hexano	29,60%	
<b>CBN (cannabinol)</b>	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	Ensayo 2: Etanol 96%	3,87%	<0,0050%
		Ensayo 4: Etanol 96%	2,89%	
		Ensayo 1: Hexano	2,00%	
		Ensayo 4: Hexano	3,22%	
<b>Δ9-THC (Δ9-tetrahidrocannabinol)</b>	Δ9- C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Ensayo 2: Etanol 96%	46,73%	0,1055%
		Ensayo 4: Etanol 96%	48,32%	
		Ensayo 1: Hexano	34,61%	

		Ensayo 4: Hexano	51,67%	
		Ensayo 2: Etanol 96%	3,37%	
<b>Δ8-THC (Δ8-tetrahidrocanna binol)</b>	$\Delta 8\text{-C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	Ensayo 4: Etanol 96%	2,72%	
		Ensayo 1: Hexano	1,74%	<0,0050%
		Ensayo 4: Hexano	2,48%	

**Fuente:** Hemp Ecuador Labs, Marchena Pinilla (2021)

**Realizado por:** Autor

En base a los estudios realizados por los diferentes autores se puede observar que hubo diferencia en la cantidad presente de cannabinoides en cada muestra, a pesar de que se ha aplicado el mismo método de extracción usando los mismos solventes. Esto puede darse por diferentes parámetros, los cuales son: temperatura, tiempo y la cantidad del solvente, donde esto se ve reflejado en cada uno de los ensayos analizados por el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En el estudio presentado por Marchena Pinilla (2021), se han identificado cuatro de los cannabinoides principales, entre estos Δ8-THC, Δ9-THC, CBD Y CBN, en diferentes porcentajes. El número de cannabinoides presentes es relativamente baja, debido a que, cuando terminó con la extracción del aceite, al emplear HPLC se descarboxiló nuevamente la muestra y los principios activos antes mencionados se desnaturalizaron. Además, se realizó un proceso de separación a partir de destilación simple con variaciones en la temperatura, lo que pudo ocasionar una repercusión en la cantidad de cannabinoide presentes en el aceite.

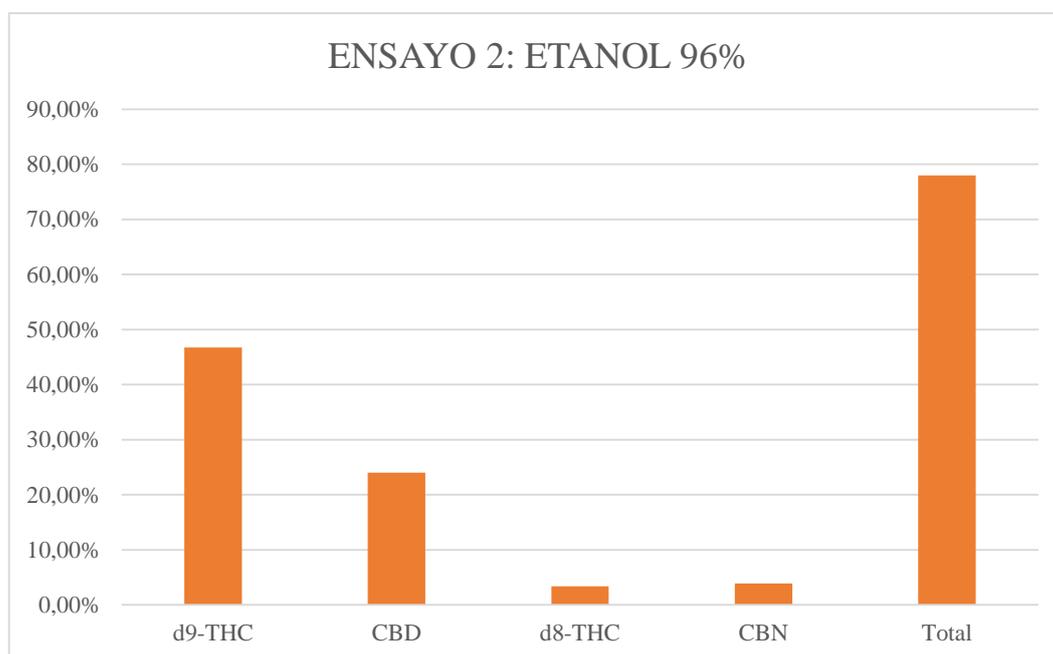
Basándose en la Tabla 20 se distingue que, el porcentaje de cannabinoides en la presente investigación fue mayor con un porcentaje entre 74,9-78,1% de cada método, que en el estudio

de Marchena Pinilla (2021), donde los valores para CBD, CBC, CBN fueron significativamente menores con un valor de  $<0,0050$  y d9-THC con un valor de  $0,1055$ . Como se mencionó anteriormente, puede deberse a los diferentes factores con los que se trabajó al momento del procedimiento de extracción de aceite esencial de Cannabis.

En las figuras 17, 18, 19 y 20, se observa los porcentajes que se han obtenido después del análisis cromatográfico de los cannabinoides. Siendo los más importantes  $\Delta 8$ -THC,  $\Delta 9$ -THC, CBD Y CBN, donde el CBD y CBN son los de mayor interés para la posible formulación de un producto en el campo medicinal.

### Figura 17

*Porcentaje de cannabinoides presentes en el ensayo 2- etanol 96%*

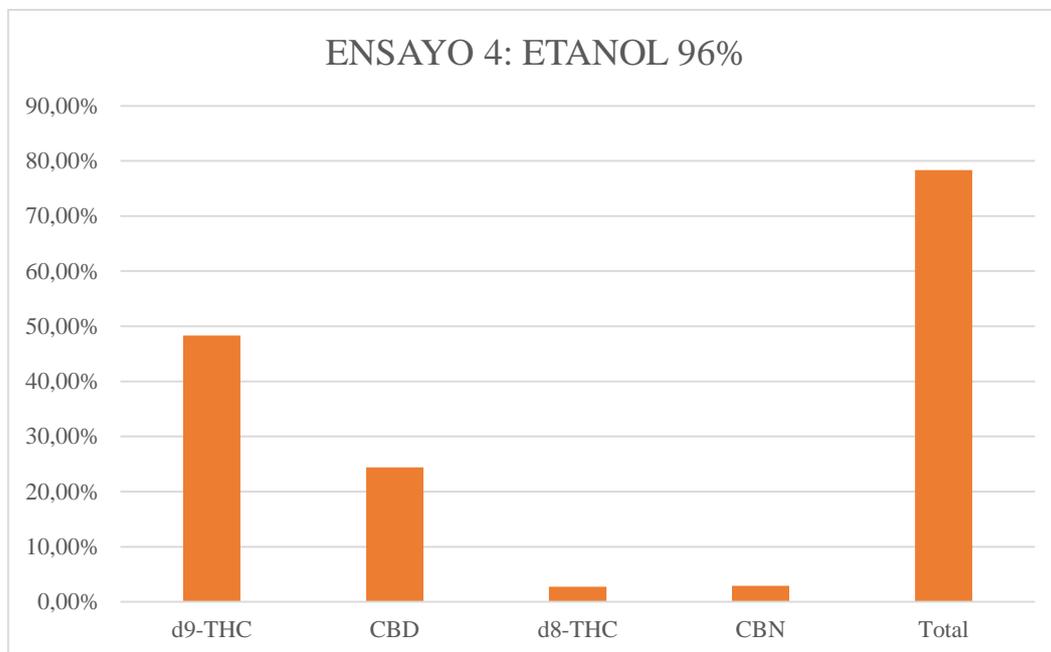


**Fuente:** Hemp Ecuador Lab

**Realizado por:** Autor.

**Figura 18**

*Porcentaje de cannabinoides presentes en el ensayo 4- etanol 96%*

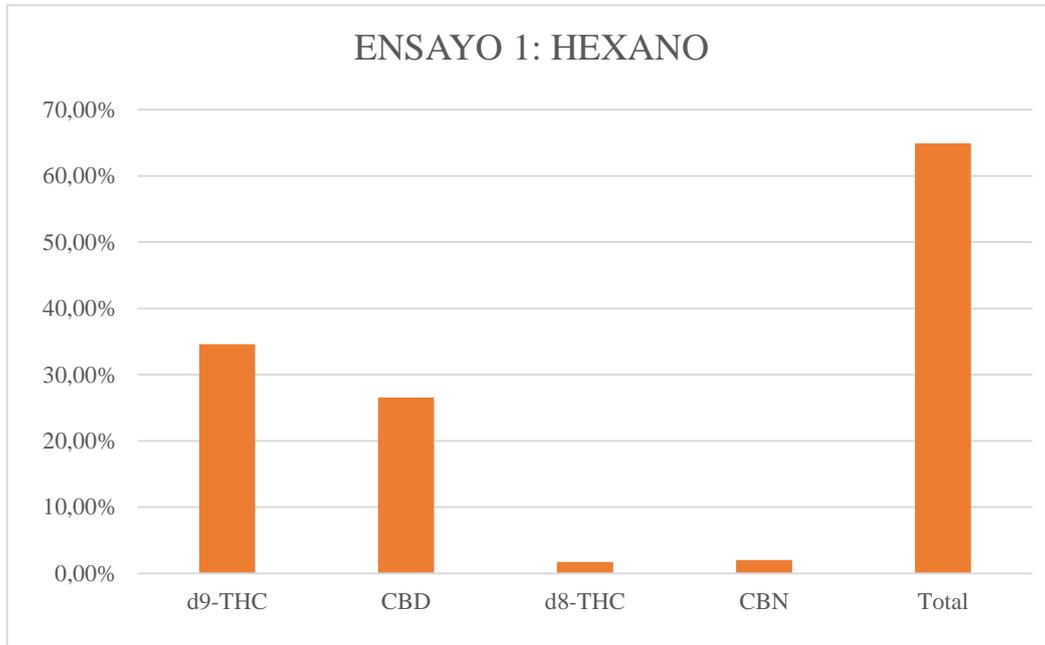


**Fuente:** Hemp Ecuador Lab

**Realizado por:** Autor.

**Figura 19**

*Porcentaje de cannabinoides presentes en el ensayo 1- hexano*

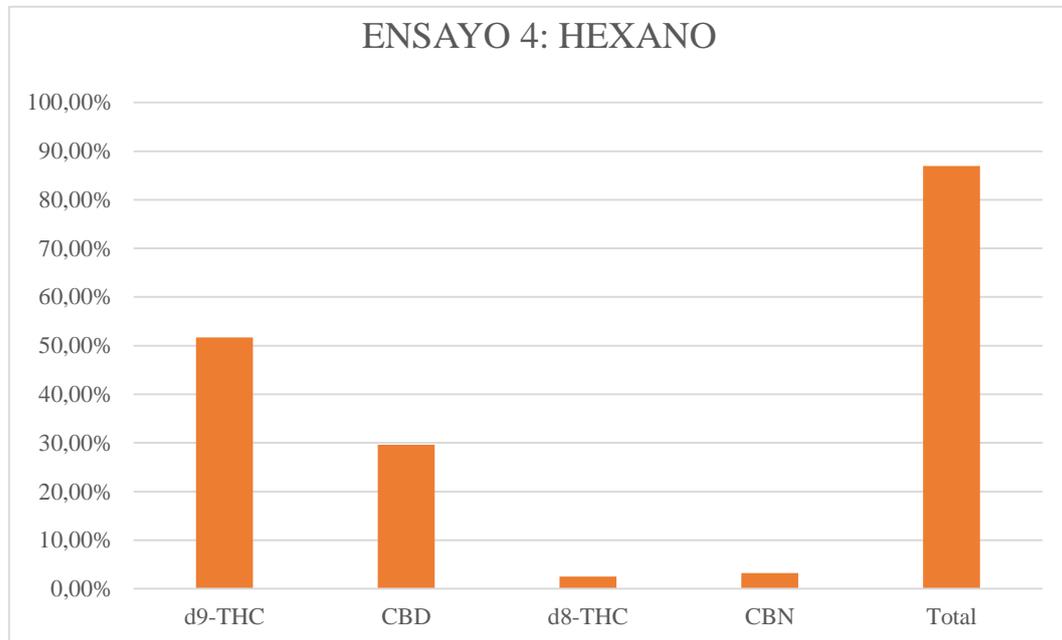


**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autor.

**Figura 20**

*Porcentaje de cannabinoides presentes en el ensayo 4- hexano*



**Fuente:** Hemp Ecuador Labs

**Realizado por:** Autor.

En base a los resultados obtenidos, el porcentaje de d9-THC es mayor en los diferentes ensayos con un promedio de 47,5% en la extracción a partir de hielo seco con etanol 96% y 43,1% empleando hexano con solvente en comparación a los otros cannabinoides en todas las muestras analizadas. Por otro lado, también se muestran porcentajes representativos de CBD de un 24,1% en el proceso de extracción a partir de hielo seco con etanol 96% y 28,1% con hexano.

**Tabla 21**

*Resumen de porcentaje de cannabinoides obtenidos en el presente trabajo experimental*

<b>Cannabinoides Identificados</b>	<b>Etanol 96%</b>		<b>Hexano</b>	
	<b>Ensayo 2</b>	<b>Ensayo 4</b>	<b>Ensayo 1</b>	<b>Ensayo 4</b>
<b>CBD</b>	24%	24,37%	26,56%	29,60%
<b>CBN</b>	3,87%	2,89%	2%	3,22%
<b>D9-THC</b>	46,73%	48,32%	34,61%	51,67%
<b>D8-THC</b>	3,37%	2,72%	1,74%	2,48%
<b>Total</b>	77,97%	78,30%	64,91%	86,97%

**Fuente:** Autor

En la Tabla 21, se puede evidenciar los resultados que se han obtenido a partir del análisis cromatográfico, en donde el ensayo 4 empleando hexano como solvente resultó ser el que más alto porcentaje de cannabinoides tuvo; con un 86,97% en total, siendo 51,67% de D9-THC; 29,60% de CBD; 2,48% de D8-THC y 3,22% de CBN.

## Conclusiones

De acuerdo con el estudio realizado “Extracción de aceite esencial de *Cannabis sativa* L. utilizando dos técnicas de laboratorio, determinando el método más eficiente”, se concluye lo siguiente:

- Según el método estadístico aplicado, los procedimientos llevados a cabo en esta investigación establecen que al usar etanol al 96% no existe diferencia cuando se usa el solvente hexano, ya que los rendimientos que se han obtenido tienen resultados similares.
- En cuanto a rendimiento, el método más eficiente resultó ser el proceso de extracción a partir de hielo seco empleando como solvente el Etanol al 96%.
- Los resultados del análisis cromatográfico indican que en el método donde se usó como solvente al hexano, tiene mayor cantidad de cannabinoides, siendo 86.96% el número más alto.
- El porcentaje de solvente recuperado entre los métodos de extracción a partir de hielo seco con hexano y etanol al 96% fue de 81,01% y 81,57% respectivamente. Esto garantiza la calidad del aceite, ya que no existe una proporción mayor de trazas de solvente.
- Se determinó que, diferentes parámetros como la temperatura, tiempo y cantidad de solvente influyen a la hora de obtener resultados en cada muestra.
- El método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas es de gran importancia para poder determinar el perfil de cannabinoides que existen en cada muestra y en qué porcentaje.

- Mediante el análisis cromatográfico, se concluye que la cantidad de cannabinoides presentes en cada ensayo de aceite de cannabis está en función al método empleado.
- Dependiendo del uso que se le quiera dar al aceite obtenido, se establece el método de extracción, ya que los solventes que se usen podrán determinar los cannabinoides presentes en cada muestra.

## Recomendaciones

- Lo principal que se recomienda es el aislamiento del THC, para que de esta manera se pueda formular un producto con menos del 1% de este cannabinoide.
- Buscar solventes menos tóxicos, como es el caso del hexano, y se los pueda usar sin ningún riesgo al momento de aplicar en diferentes métodos.
- Usar la misma metodología, pero con diferentes solventes, para ver si su rendimiento aumenta o disminuye.
- Realizar un estudio donde se pueda analizar qué tan factible fue el método usado, y poder evaluarlo si es viable a gran escala.
- A partir de las muestras de los aceites esenciales obtenidos, se recomienda continuar con nuevas investigaciones, para poder mejorar el método que se ha llevado a cabo en este estudio.

## Referencias

- Aas, M., y Melle, I. (2017). Childhood Trauma and Cannabis: Risk Factors in Severe Mental Disorders? En *Handbook of Cannabis and Related Pathologies: Biology, Pharmacology, Diagnosis, and Treatment* (pp. 208-214). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800756-3.00024-7>
- ADF. (2020). *Cannabinoids - Alcohol and Drug Foundation*. Alcohol and Drug Foundation. <https://adf.org.au/drug-facts/cannabinoids/>
- Agnese, O., Sueiro López, R. M., Taito Vicenti, I. Y., y Franco, J. V. A. (2019). Cannabis medicinal en Argentina: perspectiva desde la salud pública. *Evidencia, actualizacion en la práctica ambulatoria*, 22(1), e001119. <https://doi.org/10.51987/evidencia.v22i1.4215>
- Al Ubeed, H. M. S., Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Basu, A., y Vuong, Q. V. (2022). A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis. *Molecules*, 27(3), 1-18. <https://doi.org/10.3390/molecules27030604>
- ANANDALAB. (2021). *Análisis de cannabinoides y cromatografía*. ANANDALAB. <https://bit.ly/3z733wO>
- 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>
- Atalay, S., Jarocka-karpowicz, I., y Skrzydlewska, E. (2020). Antioxidative and anti-inflammatory properties of cannabidiol. *Antioxidants*, 9(1), 1-20. <https://doi.org/10.3390/antiox9010021>
- Biotech CBG. (2021). *Ethanol Extraction Systems for Extracting Cannabis Oil | CBG Biotech*.

CBG Biotech. <https://bit.ly/3PSUdcO>

Blake, A., y 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>

Bridgeman, M. B., y Abazia, D. T. (2017). Medicinal Cannabis: History, Pharmacology, And Implications for the Acute Care Setting. *Pharmacy and Therapeutics*, 42(3), 180. [/pmc/articles/PMC5312634/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3512634/)

Brown, D. (1998). *CANNABIS- The Genus Cannabis* (R. Hardman (ed.); Volume 4). Harwood Academic. <https://bit.ly/3cGqaXK>

Cabrera, M. (2021). *La cannabis es una planta milenaria y pudo originarse en China*. GQ. <https://bit.ly/3zvcXda>

Cáñamo. (s. f.). *Extracción | Cáñamo*. Cáñamo. Recuperado 3 de julio de 2022, de <https://bit.ly/3zwjHaw>

Casadiago-Mesa, A. F., y Lastra-Bello, S. M. (2015). Synthetic cannabis: Toxicological effects, clinical use and designer drugs. *Revista Facultad de Medicina*, 63(3), 501-510. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v63n3.47460>

Casiraghi, A., Roda, G., Casagni, E., Cristina, C., Musazzi, U. M., Franzè, S., Rocco, P., Giuliani, C., Fico, G., Minghetti, P., y Gambaro, V. (2018). Extraction Method and Analysis of Cannabinoids in Cannabis Olive Oil Preparations. *Planta Medica*, 84(4), 242-249. <https://doi.org/10.1055/S-0043-123074>

Castillo, J., y Rico, J. (2020). Desarrollo De Una Propuesta Para La Obtención De Un Aceite De Thc Y/O Cbd Por El Método De Extracción Con Solvente. En *Repositorio Institucional Lumieres* (Vol. 53, Número 9). <https://bit.ly/3cDHLQ1>

- Challa, S. K. R., Misra, N. N., y Martynenko, A. (2021). Drying of cannabis—state of the practices and future needs. *Drying Technology*, 39(14), 2055-2064. <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1752230>
- Covarrubias, N. (2019). Uso medicinal de la Marihuana. *Anestesia en México*, 31(2), 49-58. <https://bit.ly/3J1wBR4>
- Dietrichson, A. (2019). *Prueba de Shapiro-Wilks | Métodos Cuantitativos*. Bookdown. <https://bit.ly/3v92r8H>
- Ebbert, J. O., Scharf, E. L., y Hurt, R. T. (2018). Medical Cannabis. En *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 93, Número 12, pp. 1842-1847). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.09.005>
- Esmaeilzadeh Kenari, R., y 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 and Nutrition*, 8(9), 4976-4986. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1796>
- Espitia-Vargas, J. V. (2020). Desafíos y condicionantes de la industria de cannabis con fines medicinales en Colombia. *Universidad de la Salle*, 60. <https://bit.ly/3PqKE5b>
- Finley, C., y BESTWICK, H. (2020). *Cannabis oil compositions and methods for preparation thereof* - (Patent N.º 10,086,707). <https://bit.ly/3PzuXbT>
- Freiria, M. (2016). *Dentro de la Marihuana*. [www.teaming.net/marihuanaymedicina-grupo](http://www.teaming.net/marihuanaymedicina-grupo)
- Fuentes-Pérez, E. M., y Acurio-Arcos, L. P. (2020). El Cañamo (*Cannabis sativa* L.) para uso industrial y farmacéutico: una visión desde la industria alimentaria. *CienciAmérica*, 9(4), 99. <https://doi.org/10.33210/ca.v9i4.350>

- García, C., Jaramillo, D., Djabayan, P., Vásconez, P., y Falconí, F. (2016). Cannabis sativa L., una planta singular. *Rev Mex Cienc Farm*, 4(47), 26-34. <https://bit.ly/3osmQC0>
- Gil, F. (2021). *Identificación de Productos Sospechosos: Cannabis*. Departamento de Medicina Legal, Toxicología y Psiquiatría. <https://bit.ly/3PP8UOb>
- Grijó, D. ., Maceiras, L., Callejas, N., Vieitez, I., y Cardozo-Filho, L. (s. f.). Extracción y caracterización de aceite de semillas de cáñamo (Cannabis sativa L.). En *Asociación de Ingenieros Químicos del Uruguay* (Número 1). <https://bit.ly/3zuqJfY>
- Gülck, T., y Møller, B. L. (2020). Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis. En *Trends in Plant Science* (Vol. 25, Número 10, pp. 985-1004). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.005>
- Hanan Ana Maria, M. J. (2009). *Cannabis sativa - ficha informativa*. Conabio. <https://bit.ly/3OBLP0d>
- Hanna Guerrero, S. A. (2021). *Diseño Preliminar de una planta de extracción de aceite de CBD en Ecuador* [UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ]. <https://bit.ly/3z5cq03>
- Herbies. (2022). *La anatomía de una planta de cannabis*. <https://n9.cl/es/s/kmbc0>
- Hopp, C., Belfer, I., y Shurtleff, D. (2019). Cannabis and cannabinoids. *Medical Letter on Drugs and Therapeutics*, 61(1585), 179-183. <https://doi.org/10.1201/9781315187853-29>
- 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/3OBwg8W>
- Kratz, J. W., y Garcia de Palau, M. (2018). MANUAL SOBRE CANNABIS MEDICINAL:

- Formación en el uso profesional y responsable de cannabinoides y terpenos. *KALAPA CLINIC, Primera Ed*, 29-29. <https://bit.ly/3Pwq3wd>
- Labiano, V. I. (2020). La difusión de las políticas de cannabis medicinal en América Latina (2015-2017). *Redes. Revista de Estudios Sociales de la Ciencia y la Tecnología*, 26(50), 147-179. <https://doi.org/10.48160/18517072re50.13>
- LABOMERSA. (2022). *Análisis de Cannabinoides por HPLC*. LABOMERSA. <https://bit.ly/3BiOvgn>
- Lazarjani, M. P., Young, O., Kebede, L., y Seyfoddin, A. (2021). Processing and extraction methods of medicinal cannabis: a narrative review. *Journal of Cannabis Research*, 3(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/s42238-021-00087-9>
- Leal, P., Betancourt, D., González, A., y Romo, H. (2018). A brief history of marijuana in the western world. *Revista de Neurologia*, 67(4), 133-140. <https://doi.org/10.33588/rn.6704.2017522>
- 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., y 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>
- Liu, Y., Liu, H. Y., Li, S. H., Ma, W., Wu, D. T., Li, H. Bin, Xiao, A. P., Liu, L. L., Zhu, F., y Gan, R. Y. (2022). Cannabis sativa bioactive compounds and their extraction, separation, purification, and identification technologies: An updated review. En *TrAC - Trends in*

*Analytical Chemistry* (Vol. 149, p. 116554). Elsevier.

<https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116554>

Maiti, y Bidinger. (2019). Análisis Y Perspectivas De Las Exportaciones De Cannabis Medicinal En Colombia En El Marco Del Tlc Colombia -Estados Unidos De Norteamérica. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689-1699.  
<https://bit.ly/3cEqHJG>

Marchena Pinilla, D. F. (2021). *DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CBD PRESENTE EN LA PLANTA DE CANNABIS, EN LAS ESPECIES HARD DIESEL (SATIVA) Y BLACK DOMINA (INDICA) A PARTIR DE EXTRACCIÓN QUÍMICA CON ETANOL. DANIEL FELIPE MARCHENA PINILLA Proyecto Integral de Grado para optar al título de* [Fundación Universidad de América]. <https://bit.ly/3opKi2P>

Martinez M. (2019). *CARACTERIZACIÓN DE CANNABINOIDES POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA CON ESPECTROSCOPIA DE MASAS [UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA SEDE VIÑA DEL MAR- JOSÉ MIGUEL CARRERA]*.  
<https://bit.ly/3RVSaGN>

Mazzara, E., Carletti, R., Petrelli, R., Mustafa, A. M., Caprioli, G., Fiorini, D., Scortichini, S., Dall'Acqua, S., Sut, S., Nuñez, S., López, V., Zheljazkov, V. D., Bonacucina, G., Maggi, F., y 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*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11971>

Millán-Guerrero, R. O., y Isais-Millán, S. (2019). Cannabis y los sistemas exocannabinoide y endocannabinoide. Su uso y controversias. *Gaceta Medica de Mexico*, 155(5), 508-512.

<https://doi.org/10.24875/GMM.19004881>

Ministerio de salud. (2021). Reglamento para el uso terapeutico del cannabis Medicinal.

*Acuerdo ministerial 148*, 10. [www.lexis.com.ec](http://www.lexis.com.ec)

Minitab19. (2020). *¿Qué es el método de Tukey para comparaciones múltiples?* - Minitab.

Minitab. <https://bit.ly/3cycpKx>

MNCN. (2017). ESPECTROMETRIA DE MASAS. *Museo Nacional de Ciencias Naturales*.

<https://bit.ly/3zvrMfW>

Mönckeberg B., F. (2014). Los pro y contra de la legalización de la marihuana. En *Revista*

*Chilena de Pediatría* (Vol. 85, Número 2, pp. 229-237). Sociedad Chilena de Pediatría.

<https://doi.org/10.4067/S0370-41062014000200014>

MORAIS, M. E. . (2018). *(Cannabaceae): UMA ABORDAGEM MORFOLÓGICA E MEDICINAL* [UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE FORMAÇÃO DE PROFESSORES-CFP].

[http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/bitstream/riufcg/8121/3/MARIA\\_ELIAMARY\\_FERREIRA\\_MORAIS\\_TCC\\_LICENCIATURA\\_EM\\_CIÊNCIAS\\_BIOLÓGICAS\\_2018.pdf](http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/bitstream/riufcg/8121/3/MARIA_ELIAMARY_FERREIRA_MORAIS_TCC_LICENCIATURA_EM_CIÊNCIAS_BIOLÓGICAS_2018.pdf)

Morales, P., y Reggio, P. (2019). CBD: A New Hope? *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 10(5),

694-695. <https://doi.org/10.1021/acsmmedchemLett.9b00127>

Morales Torres, E. N. (2019). *PLAN DE NEGOCIOS PARA LA CREACIÓN DE UNA EMPRESA INDUSTRIAL PRODUCTORA Y COMERCIALIZADORA DE ACEITE DE CANNABIS (CBD) PARA USO MEDICINAL* [PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR]. <https://bit.ly/3b0Goua>

- Murillo, J., y Ojeda, L. (2021). *DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE EXTRACCIÓN MÁS EFECTIVO EN LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS RICOS EN CANNABINOIDES A PARTIR DE 3 PROCESOS DIFERENTES*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/4436>
- NCI. (s. f.). *Definición de cannabidiol*. National Cancer Institute. Recuperado 13 de julio de 2022, de <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/cannabidiol>
- Ng, J. Y., Homayouni, P., Usman, S., y Gomes, Z. (2022). The medical cannabis regulatory framework in Canada: A narrative review. En *European Journal of Integrative Medicine* (Vol. 50, p. 102104). Urban y Fischer. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2022.102104>
- Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías. (2018). Uso médico del cannabis y los cannabinoides: Preguntas y respuestas para la elaboración de políticas. *Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías*, 1-52. <https://doi.org/10.2810/189819>
- Osorio, J. H., y Tangarife, H. F. (2009). CANNABIS, UNA OPCIÓN TERAPÉUTICA. *Biosalud*, 8(1), 166-177. <https://bit.ly/3BfgWf2>
- Parada, L. (2019). *PRUEBA DE NORMALIDAD DE SHAPIRO-WILK*. RPubS by RStudio. <https://bit.ly/3Bf9kcL>
- Pastrana, J. (2020). Cannabis Medicinal Oportunidad de Negocio en Colombia o Solo un Espejismo. En *UNIVERSIDAD DEL ROSARIO* (Vol. 21, Número 1). <https://bit.ly/3PBk8WQ>
- Pattnaik, F., Nanda, S., Mohanty, S., Dalai, A. K., Kumar, V., Ponnusamy, S. K., y Naik, S. (2022). Cannabis: Chemistry, extraction and therapeutic applications. *Chemosphere*, 289, 133012. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133012>

- Pharma Cannabis. (2022). *Infomación General - Pharma Cannabis*. Pharma Cannabis.  
<https://pharmacannabismedical.com/>
- Pharmacology University. (2021). Los compuestos del cannabis: Un acercamiento a la bioquímica de la planta. En Pharmacology University (Ed.), *Los compuestos del cannabis: Un acercamiento a la bioquímica de la planta*. <https://bit.ly/3vAu8b5>
- Prospéro García, O. E., Ruiz Contreras, A. E., Cortés Morelos, J., Herrera Solís, A., y Méndez Díaz, M. (2019). Marihuana: legalización y atención médica. *Revista de la Facultad de Medicina*, 62(6), 6-23. <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2019.62.6.02>
- Quiñones, D., y Catacora, M. (2019). Cannabis medicinal. *Bol Inst Nac Salud*, 25(9), 114-122.  
<https://bit.ly/3PUumBx>
- Romano, L. L., y Hazekamp, A. (2013). Aceite de cannabis: evaluación química de un nuevo medicamento derivado del cannabis. *Cannabinoids*, 1(1), 1-12. [www.cannabis-med.org](http://www.cannabis-med.org)
- Rovetto, L. J., y Aieta, N. V. (2017). Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from Cannabis sativa L. *Journal of Supercritical Fluids*, 129, 16-27.  
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.03.014>
- Royal Queen Seeds. (2020). *Cannabis ruderalis: una hierba resistente con un talento oculto*.  
<https://bit.ly/3z7PJZ6>
- Russo, E. B., y Marcu, J. (2017). Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. En *Advances in Pharmacology* (Vol. 80, pp. 67-134). Academic Press.  
<https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.004>
- Russo, E. B., Plumb, J., y Whiteley, V. L. (2021). Novel solventless extraction technique to preserve cannabinoid and terpenoid profiles of fresh cannabis inflorescence. *Molecules*,

26(18). <https://doi.org/10.3390/molecules26185496>

Schlatter, J. (2014). Synthetic cannabinoids: Synthesis and biological activities. En *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 43, pp. 291-311). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63430-6.00009-6>

SEIC. (2002). *Guía Básica sobre los Cannabinoides SOCIEDAD ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN SOBRE CANNABINOIDES*. Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. <http://www.ucm.es/info/seic-web/>

SEO, M. (2022). *Cómo extraer hachís utilizando hielo seco*. Mufyrío. <https://bit.ly/3PBgVqg>

Solís, H., y Suntaxi, S. (2021). *Obtención de aceite de cannabidiol a partir de flor de cannabis no psicoactivo para uso medicinal* [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/24761>

Studebaker, J. (s. f.). *The Benefits of CBN - Saving Grace CBD*. Savinfg Grace CBD. Recuperado 1 de julio de 2022, de <https://bit.ly/3PPytOZ>

Teräsvalli Työn ohjaaja, H., y Sainio, T. (2020). *Extraction and Purification of Cannabidiol* [LAPPENRANNAN-LAHDEN TEKNILLINEN YLIOPISTO LUT]. <https://bit.ly/3S0zUfC>

Torres, S., y Alvarez, D. (2021). *EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD TÉCNICO-FINANCIERA PARA LA OBTENCIÓN DE TERPENOS PARTIENDO DE CANNABIS MEDIANTE UNA REVISIÓN DEL ARTE* [UNIVERSIDAD DE AMÉRICA]. <https://bit.ly/3RYEV8j>

UNODC. (2014). Métodos recomendados para la identificación y el análisis de los agonistas de los receptores de cannabinoides sintéticos en los materiales incautados. *Oficina de las*

*Naciones Unidas en Viena*, 72. <https://bit.ly/3BcU7sw>

Velasco, J. (2018). Verificación del método de análisis cualitativo de cannabinoides por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. En *NIH Publication number 07-5581* (Vol. 1, Número April). <https://bit.ly/3PNE8Wx>

Villaverde, P. (2019). Técnicas de extracción y caracterización de cannabinoides a partir de la planta de cannabis sativa L. En *Dspace.Uib.Es*. <https://bit.ly/3vec8CS>

Vollhardt, K. P. C. (1992). *Química orgánica*. <https://bit.ly/3J21RBX>

World of Seeds. (2022). *BLACK DOMINA FEM (Sensi Seeds)*. WORLD OF SEEDS. <https://bit.ly/3S9nHFw>

Yoreny Román Vargas, A., María Benjumea Gutiérrez, D., Andrea Chávez Camargo, L., Lorena Hernández Orjuela, D., Hernán Blandón Naranjo Químico, L., Doctor en Ciencias, M., y David Porras Arguello, J. (2021). *Todo lo que querías saber sobre cannabis y no te atrevías a preguntar* [Universidad de Antioquia]. <https://bit.ly/3z2bFoB>

Zuleta, P., Martínez, T., Restrepo, D., y Ramos, B. (2021). Serie Cannabis Legal: Evolución de la normativa mundial. *Centro De Estudios Sobre Seguridad Y Drogas, CESED*, 1(20), 1-20. <https://bit.ly/3OwEeQN>

## **Anexos**

### **Anexo 1** Lista de abreviaturas

**CBD:** cannabidiol

**CBN:** cannabinol

**THC:** tetrahidrocannabinol

**CBDA:** ácido cannabidiólico

**THCA:** ácido tetrahidrocannabinólico

**HPLC:** cromatografía líquida de alta eficacia

**GC/MS:** cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

**Ha:** hipótesis alternativa

**Ho:** hipótesis nula

**mL:** mililitro

**g:** gramo

**°C:** grados centígrados

**Subsp:** subespecie

**TLC:** cromatografía en capa fina

**EUA:** Extracción asistida por ultrasonido

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

**CCD:** cromatografía de capa delgada

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

**CCF:** cromatografía en capa fina

**Kg:** kilogramo

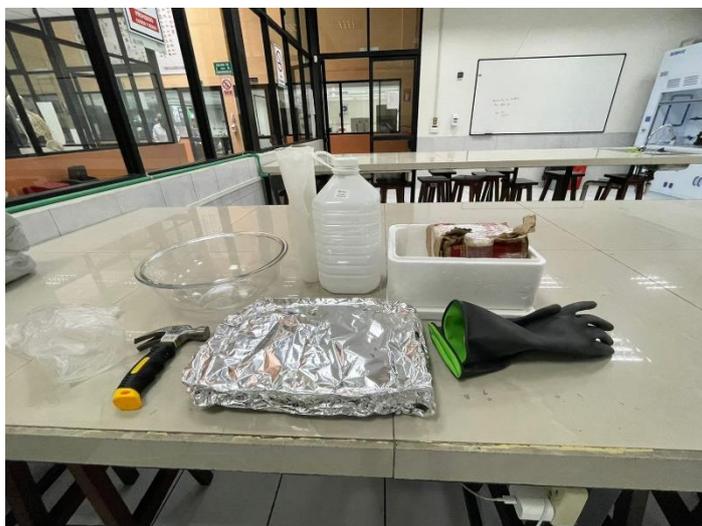
**μm:** micrómetro

**ANOVA:** análisis de varianza

## Anexo 2 Materiales

### Figura 21

*Materiales empleados para proceso de extracción*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

### Figura 22

*Carbón activado granulado*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

### Anexo 3 Equipos

#### Figura 23

##### *Mufla*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

#### Figura 24

##### *Congelador*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 25***Rotavapor*

*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 26***Cámara de flujo laminar*

*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

#### Anexo 4 Proceso de extracción y obtención de aceite de *Cannabis sativa* L

##### Figura 27

*Pesaje de muestras de cannabis*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

##### Figura 28

*Proceso de descarboxilación*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 29**

*Inmersión de material vegetal con hielo seco y solvente*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 30**

*Primera filtración*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 31**

*Segunda filtración*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Figura 32**

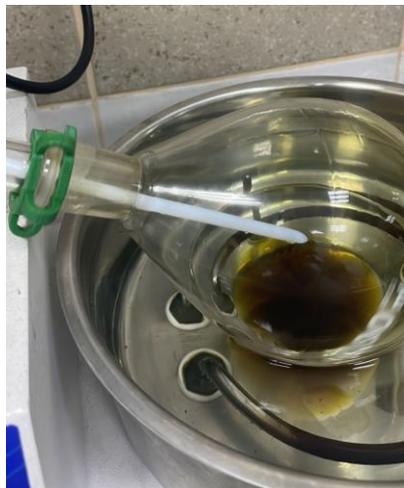
*Residuos de la filtración*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Auto

**Figura 33**

*Obtención de aceite esencial de cannabis a partir de evaporador rotativo [Rotavapor]*



*Nota.* Fotografía tomada de los laboratorios “Ciencias de la vida” de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Fuente: Autor

**Anexo 5** Resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas



Resultados.  
**Análisis de Laboratorio**  
10/06/2022

2

“Ayudamos a crear productos con calidad de exportación”.



Ciente  
Nicole Alba  
Lisseth Minchala



Muestras  
Extracción



Entrega de resultados  
14/06/2022

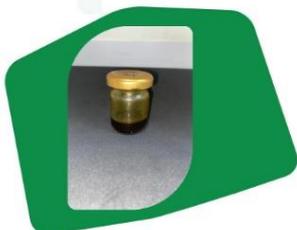


Tipo de cliente  
Análisis Individual

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.



Muestra:



**Extracción**

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Q. A. Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

3

CBG	N/D mg/ml	N/D %
d9-THC (A)	N/D mg/ml	N/D %
d9-THC	N/D mg/ml	34,81 %
CBD(A)	N/D mg/ml	N/D %
CBD	N/D mg/ml	26,55 %
CBC(A)	N/D mg/ml	N/D %
d8-THC	N/D mg/ml	1,74 %
CBN	N/D mg/ml	1,99 %

CANNABINOIDES EN %

● D9-THC ● CBD ● d8-THC ● CBN

Lectura: Una muestra de 30 mL tendrá una concentración **64,89 %** de cannabinoides en total. Incluye:

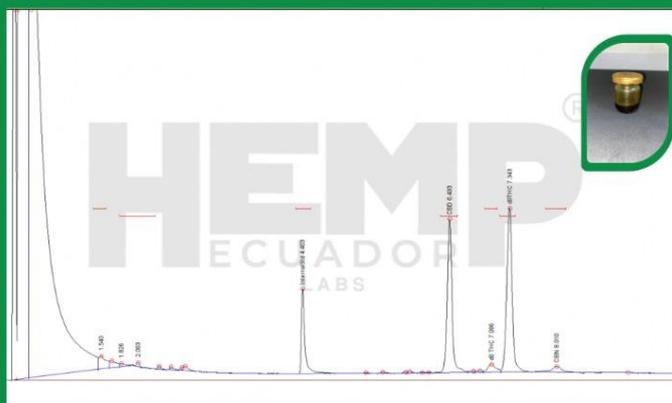
\*N/D: No detectado

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 ESTÁNDARES SEVEROS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA AUTORIZADA DE "HEMP ECUADOR". TOBACCO AND CANNABIS OILS - 2021





### CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracción



# 4

## Extracción

Análisis realizado mediante Cromatografía

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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 Israel 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 LAS QUE ESTE FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTÁNDARES MECANOS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO LA FIRMA AUTORIZADA DE "HEMP ECUADOR". CORREGIENDO DE ERRORES: 1/26



LABORATORIOS  
CANÁBICOS



"Ayudamos a crear productos con  
calidad de exportación".

## Contáctenos

+593-9876-88855

hempecu@gmail.com

Gaspar de Villarreal

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

<https://www.whatsatiendas.com/hempecuador>

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.



2

Resultados.

# Análisis de Laboratorio

13/05/2022

“Ayudamos a crear productos con calidad de exportación”.

Cliente  
Nicole Alba



Muestras

Extracto Etanol 96%  
Extracto 2 Etanol 96%  
Extracto Hexano



Entrega de resultados  
15/07/2022

Tipo de cliente  
Análisis Individual





Muestra:



### Extracto Etanol 96% (Ensayo 2)

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

CBG N/D %

d9-THC (A) N/D %

d9-THC 46,73 %

CBD(A) N/D %

CBD 23,9 %

CBC(A) N/D %

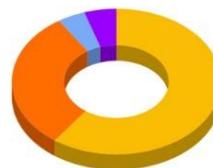
d8-THC 3,37 %

CBN 3,87 %

\*N/D: No detectado

D9 THC CBD D8 THC CBN

CANNABINOIDES EN %



● D9-THC ● CBD ● D8-THC ● CBN

Lectura: Una muestra de 30 g tendrá una concentración 77,87 % de cannabinoides en total. Incluye:

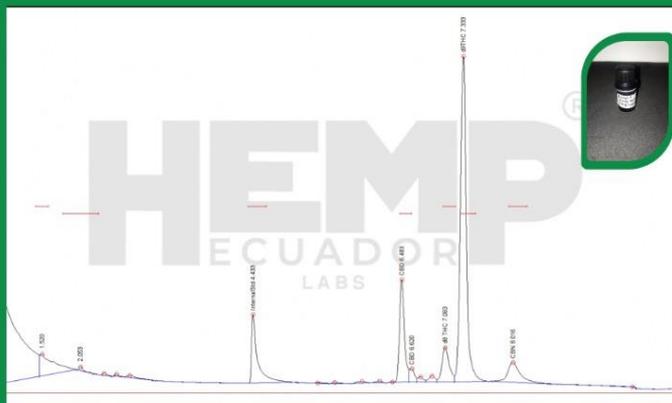
D9 THC CBD D8 THC CBN

3

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO DE BASTA ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTE FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RESPONSA 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". TORREBLANQUE DE ERIBO - 2021



### CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto Etanol 96%



### Extracto Etanol 96%

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO DE BASTA ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTE FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RESPONSA 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". TORREBLANQUE DE ERIBO - 2021



4



Muestra:



### Extracto 2 Etanol 96% (Ensayo 4)

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

CBG N/D %

d9-THC (A) N/D %

d9-THC 48,32 %

CBD(A) N/D %

CBD 24,37 %

CBC(A) N/D %

d8-THC 2,72 %

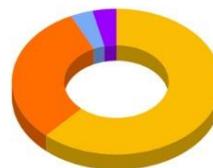
CBN 2,89 %

\*N/D: No detectado

5

D9 THC CBD D8 THC CBN

CANNABINOIDES EN %



● D9 THC ● CBD ● D8 THC ● CBN

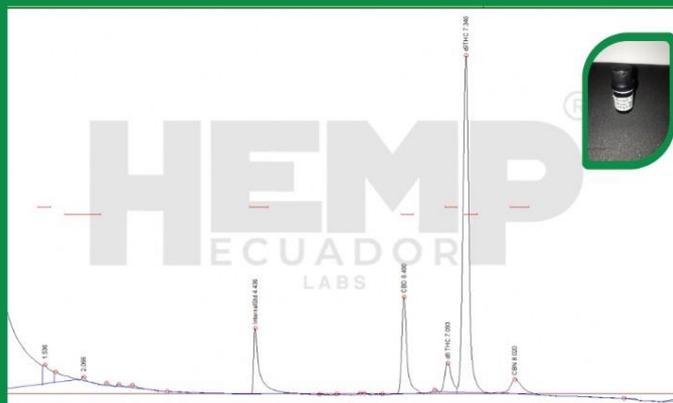
Lectura: Una muestra de 30 g tendrá una concentración 78,3 % de cannabinoides en total. Incluye:

D9 THC CBD D8 THC CBN

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO DE BASTA ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTO FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RESPONSA Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA AUTORIZADA DE "HEMP ECUADOR". TOQUE EN UNO DE ESTOS: [FB](#) [TW](#)



### CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto 2 Etanol 96%



6

### Extracto 2 Etanol 96%

Análisis realizado mediante  
Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO DE BASTA ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LA QUE ESTO FUE RECIBIDA. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO RESPONSA Y ESTRUCTURAS MEDIDAS DE CALIDAD Y CON LA MÁS ALTA TECNOLOGÍA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA AUTORIZADA DE "HEMP ECUADOR". TOQUE EN UNO DE ESTOS: [FB](#) [TW](#)





Muestra:



### Extracto hexano

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



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

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

CBG	N/D %
d9-THC (A)	N/D %
d9-THC	51,67 %
CBD(A)	N/D %
CBD	29,59 %
CBC(A)	N/D %
d8-THC	2,48 %
CBN	3,22 %

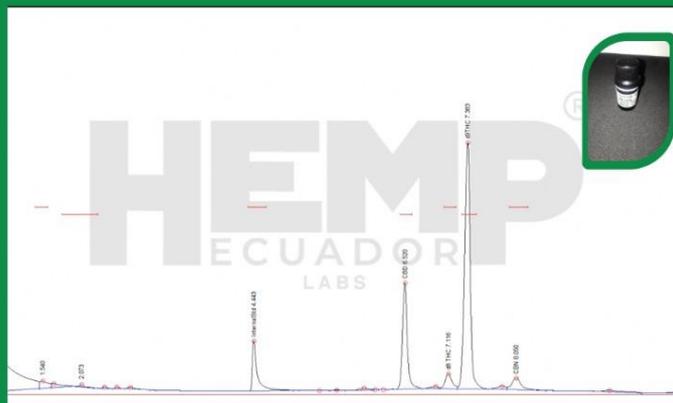
\*N/D: No detectado



LOS RESULTADOS DE ESTE ESTUDIO SE BASAN ÚNICAMENTE EN LA MUESTRA PROPORCIONADA POR EL CLIENTE, Y EN LAS CONDICIONES EN LAS QUE ESTO FUE REALIZADO. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRATEGIAS MEDIANTE DE CALIDAD Y CON LA MAS ALTA TECNOLOGIA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACION DE "HEMP ECUADOR". TORREBLANCA DE ERIBO - JN.



### CROMATOGRAMA DE LA MUESTRA: Extracto hexano



### Extracto hexano

Análisis realizado mediante Cromatografía

*Andrea Pozo*

Responsable  
Q. A. Andrea Pozo



Results are based on the spectral reference library collected by GeneralCet Ltd. at its analytical laboratory for cannabis research which is ISO 17025 certified by Israel 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 LAS QUE ESTO FUE REALIZADO. "HEMP ECUADOR" GARANTIZA QUE TODO EL PROCESO DE ANÁLISIS Y LABORATORIO FUE REALIZADO BAJO PROCEDIMIENTOS Y ESTRATEGIAS MEDIANTE DE CALIDAD Y CON LA MAS ALTA TECNOLOGIA. ESTE ANÁLISIS NO PUEDE SER REPRODUCIDO SIN EL CONSENTIMIENTO Y LA FIRMA DE AUTORIZACION DE "HEMP ECUADOR". TORREBLANCA DE ERIBO - JN.





LABORATORIOS  
CANÁBICOS

"Ayudamos a crear productos con  
calidad de exportación".

**Contáctenos**

+593-9876-88855

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

Gaspar de Villarreal

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

<https://www.whatsatiendas.com/hempcuador>

Derechos reservados | Hemp Ecuador Labs.

