



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

“COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DE CBD EN EL ACEITE DE CANNABIS
(*Cannabis Sativa L.*) OBTENIDO POR DOS SOLVENTES ORGÁNICOS,
DETERMINANDO EL SOLVENTE CON MEJOR RENDIMIENTO”

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

AUTORAS: LIZBETH EULALIA AVENDAÑO TANDAZO

NATHALY JEANNINE ROMERO OCHOA

TUTORA: DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS, Mgtr.

Cuenca - Ecuador

2023

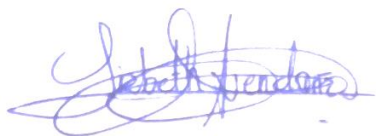
CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo con documento de identificación N° 0302892229 y Nathaly Jeannine Romero Ochoa con documento de identificación N° 0706297694; 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, 17 de agosto del 2023

Atentamente,



Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo

0302892229



Nathaly Jeannine Romero Ochoa

0706297694

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

Nosotras, Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo con documento de identificación N° 0302892229 y Nathaly Jeannine Romero Ochoa con documento de identificación N° 0706297694, 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: “Comparación del porcentaje de CBD en el aceite de cannabis (*Cannabis sativa* L.) obtenido por dos solventes orgánicos, determinando el solvente con mejor rendimiento”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de Ingeniera Biotecnóloga, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

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

Cuenca, 17 de agosto del 2023

Atentamente,

Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo

0302892229

Nathaly Jeannine Romero Ochoa

0706297694

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Myriam Ximena Mancheno Cárdenas con documento de identificación N° 0602018160, docente de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DE CBD EN EL ACEITE DE CANABIS (*CANNABIS SATIVA* L.) OBTENIDO POR DOS SOLVENTES ORGÁNICOS, DETERMINANDO EL SOLVENTE CON MEJOR RENDIMIENTO”, realizado por Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo con documento de identificación N° 0302892229 y por Nathaly Jeannine Romero Ochoa con documento de identificación N° 0706297694, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción de Trabajo Experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 17 de agosto del 2023

Atentamente,



Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas, Mgtr.

0602018160

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación está dedicado con profundo agradecimiento a mis padres, quienes siempre me han brindado su incondicional apoyo y me supieron guiar a lo largo de mi camino. A mi hermana, quien desde temprana edad ha sido mi protectora y ha brindado su apoyo inquebrantable. También, agradezco a mis abuelitos, quienes me han enseñado a no tomarme la vida tan en serio ya disfrutar cada momento con alegría.

Nathaly Jeannine Romero Ochoa.

Agradecimientos

En primer lugar, deseo expresar mi sincero agradecimiento a mis padres por la confianza que depositaron en mí y por brindarme un apoyo incondicional a lo largo de mi trayectoria académica. Agradezco especialmente a mis maestros, quienes supieron orientarme y guiarme en mi proceso de formación.

Agradezco a mi tutora, cuya paciencia, comprensión y sus amplios conocimientos fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo de titulación. Además, quiero reconocer y agradecer la colaboración de la Dra. Inés Malo y del M Sc. Edmond Geraud, quienes contribuyeron en la elaboración de este trabajo de investigación.

También quiero destacar el apoyo de mi compañera de tesis, quien estuvo a mi lado durante todo el proceso de elaboración de este trabajo y cuya paciencia fue clave para superar los desafíos que surgieron en el camino. Por otro lado, quiero expresar mi gratitud a mis compañeras, quienes hicieron de mi vida universitaria una etapa llena de bonitos momentos que siempre recordaré con alegría.

Nathaly Jeannine Romero Ochoa.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mis amados padres, Nelson y Martha, quienes con su amor, guía y sacrificio han sido el motor que me ha impulsado a alcanzar mis metas. Gracias por creer en mí y por brindarme todo su apoyo en cada paso que he dado.

A mi dulce hija, María Paula, mi razón de ser, mi mayor orgullo y mi maestra más grande quien con su sonrisa y amor me ha enseñado a creer en mí y seguir luchando por alcanzar mis sueños. Cada esfuerzo que he realizado ha sido con el objetivo de ser mejor una mujer y mamá.

A mis queridos abuelitos, Luz y Víctor, quienes siempre me han brindado su amor incondicional y sabiduría me han acompañado en este camino y durante toda mi vida.

A mis hermanas, Angelica y Fernanda, quienes han sido un apoyo incondicional en todo momento de mi vida, por su amor y risas imparables que llenan siempre mi corazón.

A mi compañero de vida, Washington, por su apoyo inquebrantable, su paciencia y su comprensión durante esta etapa. Gracias por estar siempre a mi lado, alentándome a alcanzar mis sueños.

A todos ustedes, mi familia, mi pilar y mi refugio, les dedico este logro con todo mi corazón. Cada paso que he dado ha sido posible gracias a su amor y apoyo incondicional.

Gracias por ser mi fuerza, mi motivación y mi mayor alegría en este maravilloso camino de aprendizaje y crecimiento.

Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios, quien ha sido mi guía y fortaleza en cada paso de este camino académico. Su amor incondicional y su infinita sabiduría me han dado la fuerza para perseverar y alcanzar este logro.

A mis queridos padres, les agradezco desde lo más profundo de mi corazón por su apoyo incondicional, sus sacrificios y su confianza en mí. Gracias por ser mi fuente de inspiración y por brindarme todas las oportunidades para alcanzar mis metas. Su amor y aliento han sido la base de mi éxito.

A mi tutora de tesis, Dra. Myriam Mancheno, le agradezco por su orientación, paciencia y dedicación en guiarme durante este proceso de investigación, también quiero agradecer a la Dra. Inés Malo y Dr. Pablo Arévalo por sus conocimientos y valiosas sugerencias que sirvieron para enriquecer significativamente mi trabajo.

Un agradecimiento especial a mi compañera de tesis, Nathaly, por su colaboración, apoyo y trabajo en equipo. Juntas hemos superado obstáculos y hemos compartido triunfos, y su presencia ha hecho que esta experiencia sea aún más gratificante.

A mis amigas, quienes han sido un apoyo inmenso en este proceso, gracias por siempre estar y hacer que esta etapa sea de las más bonitas que he vivido, hemos creado recuerdos imborrables y formamos un lazo de amistad que perdurara a lo largo de los años.

Y a toda mi familia, quiero expresarles mi gratitud por su apoyo constante y sus palabras de aliento en los momentos de duda. Su amor y respaldo han sido esenciales en este proceso.

Lizbeth Eulalia Avendaño Tandazo

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract.....	2
Capítulo 1	3
1.1. Introducción	3
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Justificación	4
1.4. Formulación del problema o pregunta de investigación	6
1.5. Objetivos	6
1.5.1. General:	6
1.5.2. Específicos:	6
1.6. Hipótesis	6
1.6.1. Hipótesis Nula.....	6
1.6.2. Hipótesis Alternativa.....	6
Capítulo 2	7
Fundamentos Teóricos.....	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Fundamentos teóricos	8
2.2.1. Generalidades de la planta Cannabis sativa L.....	8
2.2.2. Descripción de los cannabinoides	12

2.3. Usos de los cannabinoides en el ámbito de la salud	13
2.4. Descripción del aceite de cannabis	14
2.5. Legislación del Cannabis en el Ecuador	14
2.6. Métodos de extracción del aceite de cannabis	15
2.6.1. Extracción por Soxhlet	15
2.6.2. Extracción por fluidos supercríticos.....	16
2.6.3. Extracción asistida por ultrasonido	16
2.6.4. Extracción a partir de hielo seco	17
2.6.5. Extracción fase sólida.....	17
2.6.6. Extracción con solvente líquido	17
2.7. Metodología de Análisis	18
2.7.1. Cromatografía de gas-líquida	19
2.7.2. Espectrometría de masas	19
2.7.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS).....	20
Capítulo 3	21
Marco Metodológico	21
3.1. Nivel de investigación	21
3.2. Diseño de investigación	21
3.3. Variables	21
□ Variable independiente:	21

□ Variable dependiente:	21
□ Variable Intervinientes:.....	21
3.4. Población y muestra.....	22
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	22
3.6. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	22
3.7. Materiales.....	22
3.8. Procedimiento	23
3.8.1. Obtención de la muestra.....	23
3.8.2. Pretratamientos realizados.....	24
3.8.3. Métodos de Extracción.....	26
3.8.4. Parámetros y condiciones de los métodos de extracción	27
3.8.5. Filtración	28
3.8.6. Obtención de Aceite de Cannabis	28
3.8.7. Esquema del proceso de extracción	30
3.9. Análisis Cromatográfico	31
3.10. Análisis Estadístico.....	32
3.10.1. Prueba de Normalidad.....	32
3.10.2. Análisis de la Varianza (ANOVA).....	32
3.10.3. Método de Tukey	33
3.10.4. Prueba de Wilcoxon	33

Capítulo 4	34
Resultados y discusión	34
4.1. Análisis de pretratamiento de materia vegetal	34
4.1.1. Descarboxilación	34
4.2. Análisis de porcentaje de solvente recuperado	35
4.2.1. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Isopropanol)	35
4.2.2. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Acetona)	37
4.3. Análisis de rendimiento de extracción	39
4.4. Diseño experimental	40
4.4.1. Análisis del rendimiento del aceite.	40
4.4.2. Análisis del solvente recuperado	42
4.5. Caracterización del aceite de <i>Cannabis Sativa L.</i>	43
4.5.1. Análisis cualitativo de cannabinoides	43
Capítulo 5	49
Conclusiones y Recomendaciones	49
5.1. Conclusiones	49
5.2 Recomendaciones:	51
Referencias bibliográficas:	52
Anexos 1:	61
Anexo 2: Resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	64

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1:

Principales cannabinoides presentes en la planta de cannabis. 12

Ilustración 2:

Cannabis Sativa L. variedad Y griega..... 24

Ilustración 3:

Descarboxilación de la materia prima 25

Ilustración 4:

Material vegetal triturado 26

Ilustración 5:

Equipo utilizado en la filtración 28

Ilustración 6:

Separación del solvente mediante el uso del rotavapor 29

Ilustración 7:

Esquema del proceso de extracción de aceite de cannabis realizado en el laboratorio. 30

Ilustración 8:

Material seco vs cantidad del material descarboxilado 35

Ilustración 9:

Porcentajes de cannabinoides presentes en la muestra de Acetona..... 47

Ilustración 10:

Porcentajes de cannabinoides presentes en la muestra de Isopropanol. 48

Ilustración 11:

Peso del material vegetal..... 61

Ilustración 12:

Peso del material vegetal después de la descarboxilación..... 61

Ilustración 13:

Proceso de extracción del aceite de cannabis. 62

Ilustración 14:

Filtrado del extracto obtenido, con el equipo de filtrado..... 62

Ilustración 15:

Se coloca el extracto en el rotavapor, para separar el solvente del aceite. 63

Ilustración 16:

Se mide el volumen del aceite obtenido. 63

Ilustración 17:

Resultados obtenidos con la extracción del aceite utilizando como solvente acetona. 64

Ilustración 18:

Cromatograma de la muestra: Extracto acetona 64

Ilustración 19:

Resultados obtenidos con la extracción del aceite utilizando como solvente isopropanol .. 65

Ilustración 20:

Cromatograma de la muestra: Extracto isopropanol. 66

Índice de Tablas

Tabla 1:

Variedades de *Cannabis Sativa* L..... 9

Tabla 2:

Taxonomía del *Cannabis Sativa* L..... 10

Tabla 3:

Materiales utilizados en el proceso de extracción de aceite de cannabis. 22

Tabla 4:

Parámetros y condiciones de la extracción de aceite de cannabis..... 27

Tabla 5:

Condiciones para la separación del solvente 29

Tabla 6:

Valores obtenidos de la descarboxilación del material vegetal. 34

Tabla 7:

Volúmenes después de la extracción de aceite de cannabis con solvente isopropanol, utilizando 25 g de materia prima, a un tiempo de 20 min, con una temperatura de extracción de -78°C y una cantidad de hielo seco de 1 kg por muestra. 36

Tabla 8:

Volúmenes recuperados del solvente isopropanol después del uso del rotavapor, utilizando 25 g de materia prima, un tiempo de 20 minutos y una temperatura de extracción de 70°C.
..... 36

Tabla 9:

Volúmenes después de la extracción de aceite de cannabis con solvente acetona, utilizando 25 g de materia prima, a un tiempo de 20 min, con una temperatura de extracción de -78°C y una cantidad de hielo seco de 1 kg por muestra. 38

Tabla 10:

Volúmenes recuperados del solvente acetona después del uso del rotavapor, utilizando 25 g de materia prima, un tiempo de extracción de 20 minutos y una temperatura de 50°C. 39

Tabla 11:

Análisis del rendimiento del aceite extraído 39

Tabla 12:

Resultados obtenidos de la prueba de Shapiro-Wilk para el rendimiento del aceite..... 40

Tabla 13:

Resultado de la prueba Wilcoxon..... 41

Tabla 14:

Resultados de la prueba se Shapiro-Wilk para comprar la cantidad de solvente recuperado.
..... 42

Tabla 15:

Resultados de ANOVA. 42

Tabla 16:

Resultados de la prueba de Tukey. 43

Tabla 17:

Análisis cualitativo de las muestras obtenidas 44

Tabla 18:

Porcentaje de Cannabinoides presentes en las muestras de acetona. 45

Tabla 19:

Porcentaje de Cannabinoides presentes en las muestras de isopropanol..... 46

Resumen

El siguiente trabajo de investigación tiene la finalidad de obtener aceite de cannabis, con la utilización de la técnica de hielo seco utilizando dos solventes diferentes para que de esta forma se pueda identificar el solvente con mejor rendimiento. El material vegetal fue otorgado por la empresa Pharmacannabis en Ecuador.

Para poder realizar la extracción, se utilizó material vegetal seco, fue sometido a un proceso de pretratamiento denominado descarboxilación a una temperatura de 115°C durante 45 minutos. En el proceso de extracción se utilizaron dos solventes: isopropanol y acetona y la utilización de hielo seco a una temperatura de -78°C. La mezcla se realizó en un material de vidrio previamente desinfectado. Posteriormente, se realiza el filtrado con la ayuda del equipo de filtración, para asegurarnos de tener un extracto más puro. Una vez que finaliza la filtración se procede a separar el solvente del aceite extraído, se lo realiza mediante la utilización del equipo de destilación rotativo en diferentes temperaturas, esto dependerá del solvente utilizado, acetona 50°C e isopropanol 70 °C. Una vez obtenido el producto final, se realiza la cuantificación y caracterización de las muestras, se analizaron dos muestras en la empresa HEMP ECUADOR LABS. Se aplicó cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/MS), se determinó que en el aceite de cannabis obtenido con el solvente de acetona se encuentra un porcentaje de 31,82% de CBD y en la muestra de isopropanol el 35,84% de CBD, es un cannabinoide de interés en el campo de la medicina.

Palabras claves: Cannabis, cannabinoides, medicinal, rendimiento, cannabidiol, extracción, aceite.

Abstract

The following research work has the purpose of obtaining cannabis oil, with the use of the dry ice technique using two different solvents so that in this way the solvent with the best performance can be identified. The plant material was provided by the company Pharmacannabis in Ecuador.

In order to perform the extraction, dry plant material was used, it was subjected to a pretreatment process called decarboxylation at a temperature of 115°C for 45 minutes. In the extraction process two solvents were used: isopropanol and acetone and the use of dry ice at a temperature of -78°C. The mixture was carried out in previously disinfected glassware. Subsequently, filtering is carried out with the help of the filtration equipment, to ensure that we have a purer extract. Once the filtration is finished, the solvent is separated from the extracted oil, it is done by using rotary distillation equipment at different temperatures, this will depend on the solvent used, acetone 50°C and isopropanol 70°C.

Once the final product is obtained, the quantification and characterization of the samples is carried out, two samples were analyzed in the company HEMP ECUADOR LABS. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG/MS) was applied, it was determined that a percentage of 31.82% CBD was found in the cannabis oil obtained with the acetone solvent and 35% in the isopropanol sample. 84% CBD, it is a cannabinoid of interest in the medical field.

Keywords: Cannabis, cannabinoids, medicinal, performance, cannabidiol, extraction, oil.

Capítulo 1

1.1. Introducción

En los últimos años, el uso terapéutico del cannabis (*Cannabis sativa L.*) ha ganado cada vez más popularidad, debido a sus propiedades medicinales potenciales. Uno de los componentes clave de interés en el cannabis es el cannabidiol (CBD), un compuesto no psicoactivo que tiene propiedades analgésicas, antiinflamatorias, ansiolíticas y anticonvulsivas, entre otras.

La extracción de aceite de cannabis es un proceso fundamental para obtener concentraciones significativas de CBD y otros compuestos activos. En este contexto, la elección del método de extracción y solventes adecuados desempeñan un papel fundamental en la obtención de un producto de alta calidad y con un rendimiento óptimo.

El presente estudio se enfoca en la comparación del porcentaje de CBD en el aceite de cannabis obtenido por dos solventes orgánicos ampliamente utilizados: la acetona y el isopropanol. Ambos solventes se usaron antes en la extracción de compuestos bioactivos de plantas por su capacidad de disolver muchos compuestos orgánicos. esto nos permitirá obtener información relevante para optimizar los procesos de extracción, específicamente en el contexto del uso medicinal del aceite de cannabis.

Además, esta investigación facilita datos comparativos sobre la extracción de CBD mediante dos solventes específicos. Los resultados nos permitirán identificar la sustancia de extracción más efectiva para extraer aceite con un alto porcentaje de CBD, lo cual es fundamental para desarrollar terapias más eficaces y tratar diversas condiciones médicas de manera natural.

1.2. Planteamiento del problema

En la actualidad, más de 50 países a nivel mundial han utilizado al cannabis como una alternativa medicinal, debido a la presencia de los cannabinoides como el tetrahidrocanabinol (THC) y el cannabidiol (CBD). El THC es la sustancia que produce los efectos psicoactivos del cannabis, y se ha comprobado que este cannabinoide tiene beneficios medicinales en ciertas formulaciones. Por otro lado, el CBD no contiene dichas propiedades, pero se ha estudiado ampliamente por sus propiedades medicinales y se ha encontrado que tiene varios beneficios potenciales. Se ha podido demostrar que el CBD tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas y anticonvulsivas, lo que lo hace útil para tratar una variedad de condiciones médicas, como la epilepsia, el dolor crónico y la ansiedad. Además, el CBD es seguro y tolerado por los pacientes, lo que lo convierte en una opción atractiva para quienes buscan un tratamiento más natural y menos invasivo. Por estas razones es que se comenzó a comercializar y estudiar productos medicinales que utilizan al cannabis como su principio activo (Iván, 2022).

De esta forma el siguiente trabajo pretende proporcionar información que ayude a obtener datos de interés para la extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. que se rijan bajo la normativa y puedan ser utilizados en la medicina con el fin de aplacar la deficiente aplicación de la biotecnología en el campo de la salud (Plancarte-Sánchez, 2019).

1.3. Justificación

Existen enfermedades poco comunes detectadas alrededor del mundo con tratamientos muy poco eficaces y que tienen un costo elevado que no está al alcance para todas las personas, por lo que existe la necesidad de buscar medicamentos derivados de plantas que puedan complementar y proporcionar mejores resultados que los medicamentos que son elaborados en los laboratorios.

Se han estudiado las propiedades de la planta de la marihuana (*Cannabis sativa* L.) y se ha determinado la existencia de compuestos con tres anillos en su estructura conocidos como cannabinoides. Entre los cannabinoides encontrados está el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) que es el que le da la actividad psicotrópica, cannabinal (CBN), Cannabigerol (CBG) y el cannabidiol (CBD) estos no contienen acciones psicotrópicas. Se realizaron estudios acerca de sus beneficios medicinales y terapéuticos, presentando efectos positivos en enfermedades como el Parkinson, la enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple, entre otros (Libardo, 2020).

El consumo del cannabis con fines medicinales y terapéuticos que se legalizó en diferentes países en la última década, en Ecuador la legalización del cannabis medicinal y terapéutico se dio en septiembre del 2019, reformando reglamentos del Código Orgánico Integral Penal (COIP) que legalizó el consumo del cannabis no psicoactivo, mientras que la concentración del delta-9-Tetrahidrocannabinol (THC) sea menor al 1% en peso seco (David, 2023).

Por esta razón se busca las técnicas adecuadas para extraer aceite con concentraciones altas de CBD para que sean utilizados en el campo de la medicina; mediante la aplicación de la extracción a partir de hielo seco utilizando solventes como la acetona que es un compuesto incoloro de olor característico. útil para disolver y purificar compuestos orgánicos. Además, la acetona es un solvente muy volátil, lo que significa que se evapora rápidamente y no deja residuos, es inflamable y es soluble en agua.

Otro solvente que se manejará en este trabajo será el isopropanol, es un alcohol con propiedades químicas similares al etanol, pero con una polaridad ligeramente más baja. Esto lo hace un solvente más efectivo para extraer ciertos compuestos orgánicos. La temperatura fría hace que las glándulas de resina se vuelvan frágiles y se separen de la planta con mayor facilidad (Bhairam,2019).

1.4. Formulación del problema o pregunta de investigación

¿Con cuál de los dos solventes utilizados en la extracción de aceite de cannabis se obtuvo un mayor porcentaje de CBD para uso medicinal?

1.5. Objetivos

1.5.1. General:

- Comparar el porcentaje de CBD en el aceite de cannabis (*Cannabis sativa* L.) obtenido por dos solventes orgánicos para la determinación del solvente con mejor rendimiento.

1.5.2. Específicos:

- Extraer el aceite del *Cannabis sativa* L. aplicando la técnica de hielo seco utilizando los solventes acetona e isopropanol, para su análisis posterior.
- Cuantificar los componentes principales de los extractos obtenidos de cannabis mediante la Cromatografía de gases/masa GC-MS, conociendo la concentración de CBD del aceite.
- Evaluar los resultados obtenidos mediante un análisis estadístico, determinando cual es el solvente más eficiente para la extracción de CBD.

1.6. Hipótesis

1.6.1. Hipótesis Nula

- No existe una diferencia significativa en los porcentajes de CBD presentes en el aceite de cannabis (*Cannabis Sativa* L.) obtenidos con distintos solventes orgánicos.

1.6.2. Hipótesis Alternativa

- Existe una diferencia significativa en los porcentajes de CBD presentes en el aceite de cannabis (*Cannabis Sativa* L.) obtenidos con distintos solventes orgánicos.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos

2.1. Antecedentes

El cannabis también conocido comúnmente como marihuana ha sido utilizada desde la antigüedad en el campo de la medicina convencional, además posee una fuente de fibras, aceite y moléculas que pueden ser utilizados en otros campos a nivel industrial (Machaca Gonzales, 2022).

Las propiedades medicinales que posee el cannabis han generado en las últimas décadas un debate muy controversial, pero se ha dado paso en algunos países al uso de medicamentos basados en compuestos derivados del cannabis, como son el THC que ha sido empleado en la elaboración de píldoras para tratar los efectos secundarios de las quimioterapias; sin embargo, el CBD está siendo estudiado para ser aplicado en tratamientos de epilepsia (NIDA, 2020).

El aceite de cannabis es el resultado que se obtiene de una extracción y eliminación de solventes, teniendo una apariencia pegajosa y viscosa el porcentaje de THC y CBD varía dependiendo de la parte de la planta empleada para la extracción, los cogollos son los más utilizados, pero contienen un alto índice de THC, las hojas, tallos y semillas tienen porcentajes inferiores (León Cam, 2017).

Según Castillo Cruz y Rico Nieto (2020) en su investigación señalan que la extracción de aceite de cannabis mediante la técnica de hielo seco es un método apto ya que al utilizar bajas temperaturas se puede aprovechar al máximo el material vegetal, se necesita de condiciones y parámetros específicos tales como mantener una temperatura de -78°C y la presión atmosférica.

Alba y Minchala (2022) mencionan en su trabajo que la extracción de aceite de cannabis utilizando la técnica de hielo seco es eficaz y tiene buenos rendimientos; por otro lado, destacan que se debería estudiar la extracción de hielo seco con solventes menos tóxicos para evaluar si hay un aumento o disminución en el rendimiento.

Rojas, Marín y Oropeza (2010) realizaron preparación de una mezcla entre dos solventes acetona y etanol para la extracción de aceite de cannabis que genera que la elusión y separación de los compuestos se den de una forma eficiente y rápida debido a la polaridad que tienen estos compuestos.

2.2. Fundamentos teóricos

2.2.1. Generalidades de la planta *Cannabis sativa* L.

2.2.1.1. Descripción Botánica.

La familia del cannabis es originaria de Asia Central y el subcontinente indio. *Cannabis Sativa* Les una especie cosmopolita que está ampliamente distribuida por todo el mundo, y es el nombre general que se utiliza para describir diferentes variedades de cannabis. *Cannabis sativa* L. es una especie dioica donde las plantas individuales desarrollan solo órganos reproductores masculinos o femeninos (flores).

Cannabis sativa L. tiene diferentes variedades botánicas, dos de las cuales son económicamente importantes: *Cannabis sativa* var. *sativa* y *Cannabis sativa* var. *Indica*. Las variedades de plantas de cannabis difieren en la composición química, el hábito de la planta, los requisitos para su crecimiento y la idoneidad para la reproducción. Contienen más de cien compuestos orgánicos identificados conocidos como cannabinoides. La calidad de los productos de cannabis se determina principalmente por la designación de la materia prima, por el parámetro

de cultivo que tiene esta planta y en el momento en el que se cosecha (Zuk-Golaszewska, K. and Golaszewski, 2018).

Tabla 1:

Variedades de *Cannabis Sativa* L.

Variedad	Características
Cannabis sativa	Lugar de origen: África, Asia y América. <ul style="list-style-type: none">• Tiene una alta estatura.• Sus hojas son alargadas.• Tiene un color verde claro.• Contiene un poco follaje.
Cannabis indica	Lugar de origen: Tíbet, Nepal, Pakistán, India. <ul style="list-style-type: none">• Son de mediana estatura.• Sus hojas son pequeñas.• Tiene un color verde oscuro.• Contiene un mayor follaje.

Fuentes: (Radwan, MM, Wanas, and others, 2017)

2.2.1.2. Clasificación taxonómica.

Cannabis sativa L. es una planta anual que forma parte de la familia *Cannabaceae*. Carl Linnaeus la clasificó por primera vez en el año de 1753. Es una especie de planta polimórfica compleja que produce una amplia gama de metabolitos bioactivos, siendo los principales grupos químicos los cannabinoides y los terpenoides.

La especie *Cannabis sativa* L. una de las más antiguas que se han cultivado en todo el mundo. Se trata de una especie dioica, sus plantas individuales tienen solo órganos reproductores masculinos y femeninos (flores), alcanza a medir hasta 4 m de altura.

Tabla 2:

Taxonomía del *Cannabis Sativa* L.

Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Familia	Cannabaceae
Orden	Rosales
Género	Cannabis
Especie	<i>Cannabis sativa</i> L
Filum	Fanerógama

Fuente: (Madelen, 2021)

2.2.1.3. Principios activos

La planta de cannabis contiene diversos compuestos con propiedades medicinales. Estos compuestos incluyen cannabinoides, terpenos, flavonoides, ácidos grasos y proteínas. Las interacciones que tienen estos compuestos pueden tener efectos únicos y complejos en el cuerpo humano, porque se convierten en una fuente continua de investigación en la comunidad científica.

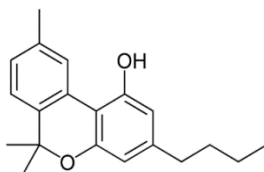
Los cannabinoides son compuestos únicos que se encuentran solo en la planta de cannabis y se han identificado más de 100 cannabinoides diferentes. Siendo los cannabinoides más conocidos y los que se han estudiado con más profundidad son el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD), otros cannabinoides importantes estudiados son el cannabinol (CBN), el cannabinoide (CBC) y el tetrahidrocannabinol (THCV) (Madelen, 2021).

Los terpenos, por otro lado, son compuestos orgánicos que se encuentran en muchas plantas, incluida la planta de cannabis. Los terpenos son los responsables del característico aroma y sabor de la planta de cannabis y también tienen propiedades medicinales. Algunos de los terpenos más comunes que se encuentran en la planta de cannabis son el linalool, el limoneno, el pineno, el mirceno.

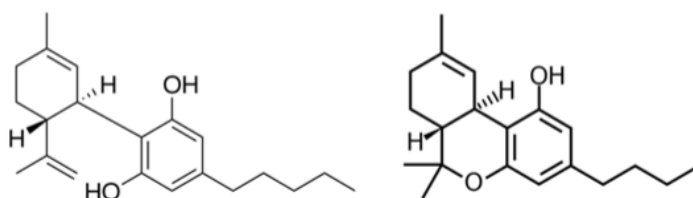
Los flavonoides son compuestos que se pueden encontrar en varias plantas, incluida la planta de cannabis. Se cree que los flavonoides pueden llegar a tener propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales. Algunos de los flavonoides que se han encontrado en la planta de cannabis son el kaempferol, la apigenina y la quercetina. También contiene ácidos grasos esenciales como el ácido alfa-linolénico y el ácido linoleico, se sabe que son importantes para la salud cardiovascular y cerebral (Rivera-Olmos, 2016).

Ilustración 1:

Principales cannabinoides presentes en la planta de cannabis.



CBN (Cannabinol)



Cannabidiol

Tetrahydrocannabinol

Fuente: (Pertwee, RG, 2005)

2.2.2. Descripción de los cannabinoides

2.2.2.1. Cannabidiol (CBD)

El cannabidiol, es uno de al menos 85 cannabinoides que se encuentran activos en la planta de cannabis. Es un fitocannabinoide de gran importancia ya que se encuentra presente en un 40% de extracto de planta de cannabis que se une a varios objetivos fisiológicos en el sistema endocannabinoide del cuerpo.

Es un ciclohexeno esta sustituida sustituido por un grupo metilo en la posición 1, un grupo 2,6-dihidroxi-4-pentilfenilo en la posición 3 y un grupo prop-1-en-2-ilo que se encuentra en la posición 4. Forma parte de los resorcinoles, un compuesto olefínico y un fitocannabinoide.

El CBD se ha mostrado muy prometedor como objetivo para fármacos y agentes terapéuticos. Se ha mostrado que tiene efectos como analgésico, anticonvulsivo, como un relajante muscular, ansiolítico, antipsicótico y también posee actividades neuro protectoras, antiinflamatorias y antioxidantes, entre otros usos que actualmente se continúa investigando (Mead 2017).

2.2.2.2. Cannabinol (CBN)

Cannabis Sativa L, contiene pequeñas cantidades de cannabinol (CBN), derivado del THC, que oscilan entre el 0,1 % y el 1,6 % de la materia seca. Este es uno de los cannabinoides secundarios menos estudiados. Se han investigado los posibles beneficios del CBN como agente neuroprotector y para la prevención de la enfermedad de Huntington.

El CBN estimula el reclutamiento de células madre mesenquimales inactivas en la médula ósea (10 μ M), lo que promueve la formación de hueso y posiblemente influya en las proteínas resistentes al cáncer de mama (Manca et al., 2022).

2.3. Usos de los cannabinoides en el ámbito de la salud

El cannabis es una planta que ha sido utilizada por los humanos durante siglos por sus propiedades medicinales. Lo avances científica nos muestra que los cannabinoides que están presentes en la planta de cannabis tienen propiedades terapéuticas únicas y pueden usarse para tratar una variedad de enfermedades y afecciones (Carrillo-Sancen et al., 2022)

El cannabidiol, comúnmente conocido como CBD, es un compuesto que se encuentra en la planta de cannabis. A diferencia del tetrahidrocannabinol (THC), otro compuesto que se encuentra en la planta de cannabis, el CBD no produce efectos psicoactivos. Se ha demostrado que el CBD tiene varios beneficios para la salud y se usa ampliamente en medicina. El CBD es utilizado

para tratar diferentes tipos de enfermedades que pueden llegar a incluir desde el dolor crónico, epilepsia, la depresión y la ansiedad. Se ha demostrado que el CBD tiene propiedades neuro protectoras, antioxidantes y antiinflamatorias, por lo que es una opción de tratamiento atractiva para una variedad de condiciones de salud (Boyaji et al., 2020).

2.4. Descripción del aceite de cannabis

Ha habido una falta de claridad con respecto a los diferentes tipos de aceite de cannabis y productos de CBD debido a las diferencias en la legislación con respecto a la introducción de nuevos productos al mercado. Dependerá de la parte de la planta extraída para el aceite, ya que existen diferentes componentes. Los compuestos que son fitocannabinoides como el CBD y THC, los terpenoides, el β -cariofileno (BCP) y el limoneno, estos se encuentran acumulados en las flores y las hojas. Por lo contrario, las semillas de la planta de cannabis contienen poco fitocannabinoides, estas son ricas en ácidos grasos esenciales omega-3, omega-6 y otros antioxidantes nutritivos.

Los principales componentes del aceite de cannabis son los fitocannabinoides como el CBD y los terpenoides como el BCP y el limoneno. Por lo contrario, existe poca investigación clínica sobre estos importantes ingredientes, ya que la mayoría de los estudios se centran en los receptores THC y CB1 (VanDolah, HJ, and others, 2019)

2.5. Legislación del Cannabis en el Ecuador

Varios países en todo el mundo, particularmente en la región de América Latina, han adoptado regulaciones de acceso al cannabis medicinal para controlar el cultivo, producción, cosecha, distribución, importación y entre otros aspectos el cannabis. La producción de medicamentos a partir de compuestos de la planta de cannabis, en tanto que el derecho a la obtención de medicamentos para las personas que padecen determinadas enfermedades está

legalmente protegido como condición esencial para el disfrute del derecho a la más alta salud física y mental posible.

El uso de cannabis medicinal entró en vigor el 17 de septiembre de 2019 al amparo del artículo 220 del Código Orgánico Integral Penal (COIP). La legalización del cultivo y producción de cáñamo con un contenido de delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) inferior al 1% en peso seco está bien establecida. Bajo los protocolos establecidos, permitirá la investigación local utilizando principios no psicoactivos de origen vegetal (CBD y CBN) que promuevan la salud (Castañeda López, D. F. 2015).

2.6. Métodos de extracción del aceite de cannabis

A través de los años, se han desarrollado diversos métodos de extracción para liberar y capturar los compuestos volátiles de manera eficiente y mantener la integridad de las propiedades terapéuticas del aceite esencial. Entre los más utilizados y que han demostrado un mejor rendimiento tenemos:

2.6.1. Extracción por Soxhlet

Este método propuesto por Franz Ritter Von Soxhlet es empleado para la extracción de lípidos; no obstante, a lo largo de los años, este método se ha utilizado extensamente con distintos propósitos de extracción. La extracción Soxhlet es un procedimiento de separación sólido-líquido continuo que hace uso de un solvente. Mediante la aplicación constante de calor, el solvente se evapora, se condensa y luego se precipita sobre el material sólido que contiene el soluto de interés. El resultado de este proceso de extracción corresponde al contenido de compuestos bioactivos de la materia vegetal (Toapanta, et al., 2022)

El procedimiento comienza colocando una pequeña cantidad de muestra seca en un dedal, que luego se transfiere a un matraz de destilación que contiene un solvente especial. Cuando la

solución alcanza el punto de desbordamiento, el soluto se aspira con un sifón y se transfiere a un matraz de destilación, donde los analitos extraídos se mezclan con el líquido principal. Este ciclo se repite varias veces hasta lograr la extracción completa del analito (Manuel, s. f.).

2.6.2. Extracción por fluidos supercríticos

La extracción con fluidos supercríticos (SFE) es una técnica ampliamente utilizada para extraer aceites esenciales y varios componentes bioactivos del material vegetal. Algunos compuestos se pueden aislar de sólidos o líquidos mediante extracción con un solvente supercrítico.

Los fluidos supercríticos conservan otras ventajas sobre los solventes líquidos tradicionales además de sus capacidades de solventes selectivos. Los fluidos supercríticos tienen baja densidad y viscosidad, y la difusión de solutos en estos fluidos es alta, es decir, estas diluciones pueden ser unas 100 veces mayores que en fluidos normales (Melo-Guerrero et al., 2020)

2.6.3. Extracción asistida por ultrasonido

El método ultrasónico se utilizó comercialmente por primera vez en 1917, desde entonces la investigación y el desarrollo sobre el tema ha crecido para muchas aplicaciones. La extracción ultrasónica (US) o sonicación se usa ampliamente para extraer compuestos bioactivos.

El método se basa en el fenómeno de formación de burbujas y su rápido colapso, conocido como cavitación, por el cual el solvente se libera en el área local. Con este proceso de sonicación, los compuestos de interés o los solutos se disuelven en el solvente según atraviesa las paredes celulares, lo que aumenta el rendimiento de la extracción en menos tiempo que con otros métodos (Azuola, 2007).

2.6.4. Extracción a partir de hielo seco

El hielo seco es dióxido de carbono (CO₂) en estado sólido, es comúnmente utilizado en la industria para enfriar y congelar productos. En la técnica de extracción de aceites, se utiliza para enfriar la muestra de aceite antes de su análisis. Esto se hace para reducir la viscosidad del aceite, lo que permite que fluya más fácilmente a través de la columna de vidrio.

Para obtener la muestra de aceite con hielo seco, se agrega una pequeña cantidad de hielo seco a la materia prima y se mezcla bien. A medida que el hielo seco se sublima (se convierte de sólido a gas directamente), absorbe el calor de la muestra de aceite y la enfría. Esto hace que la viscosidad del aceite disminuya, lo que facilita su análisis (José, 2021).

2.6.5. Extracción fase sólida

La extracción fase sólida (SPE) es una técnica de separación que se utiliza en el área de química analítica y en la industria para extraer y concentrar compuestos específicos de una muestra compleja. Esta técnica se centra en la afinidad selectiva de ciertos compuestos por una fase sólida específica, por lo que se da la separación de dichos compuestos de otros componentes de la muestra. El proceso SPE implica el uso de columnas de extracción que contienen una fase sólida que tiene una afinidad específica por el compuesto objetivo (Portela Pino, J.2022)

2.6.6. Extracción con solvente líquido

Muchos compuestos o sustancias biológicas, tanto orgánicas como inorgánicas, existen como mezclas de diferentes compuestos contenidos en un sólido. La fase líquida o solvente se usa para separar el compuesto o soluto de interés de la fase sólida, permitiendo que los compuestos originales se separen del sólido.

Los disolventes utilizados para este tipo de extracción son etanol, hexano, ciclohexano, xileno, tolueno y butano. La concentración de cada solvente puede variar y esto dependerá de los costos y beneficios que se quieran lograr (Odín, 2021).

2.6.6.1. Isopropanol

El isopropanol es un solvente común para la extracción de aceite de cannabis porque puede extraer de manera eficiente los compuestos activos del cannabis y es relativamente económico en comparación con otros solventes. Incluyen su capacidad para poder extraer una amplia variedad de compuestos activos como: cannabinoides, terpenos y flavonoides. Además, el isopropanol es un solvente relativamente seguro y fácil de obtener, lo que lo hace una opción popular (Grijó, D et al., 2017)

2.6.6.2. Acetona

La acetona es un líquido incoloro, volátil y altamente inflamable con un característico olor dulce y penetrante. La acetona es miscible en agua y en muchos disolventes orgánicos, lo que la hace muy versátil en varias aplicaciones (Rifna & Dwivedi, 2022).

Se utiliza como solvente en el proceso de extracción de aceites esenciales o vegetales de diversas fuentes naturales, como plantas, semillas o frutas. La acetona se pone en contacto con la materia prima vegetal, lo que permite que los compuestos volátiles, incluidos los aceites esenciales, se disuelvan en acetona (E, 2021).

2.7. Metodología de Análisis

La cuantificación analítica y caracterización de cannabinoides en muestras de aceite de cannabis se realiza a partir de varios métodos, siendo el más utilizado el análisis por la cromatografía. Así como también existen técnicas de análisis para la detección de compuestos como: la cromatografía de gas- líquida (GC), espectrometría de masas (MS), extracción fase sólida

(SPE), la de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS), entre otros (Guerra Calderón, C. 2018).

2.7.1. Cromatografía de gas-líquida

La cromatografía de gas-líquido (GC) es una técnica de análisis que se utiliza comúnmente en la industria del cannabis para analizar la composición química del aceite de cannabis. Se trata de una técnica muy sensible que permite separar y cuantificar los componentes del aceite de cannabis, como los cannabinoides, terpenos y entre otros compuestos. Esto es especialmente importante en la industria del cannabis, donde la composición química del aceite es crítica para la eficacia del tratamiento y la calidad del producto como, por ejemplo, nos permite identificar los cannabinoides específicos presentes en el aceite, como el THC y el CBD, y terpenos (Sandiego Villaverde, P. 2020).

2.7.2. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica utilizada para identificar y cuantificar moléculas en una muestra. Es una técnica muy poderosa que puede identificar con precisión compuestos en una muestra, incluso en cantidades muy pequeñas.

El analizador de masa nos ayuda a separar los iones en función de su relación masa-carga. Existen varios tipos de analizadores de masas, como lo es el analizador de tiempo de vuelo (TOF), el analizador de cuadrupolo y el analizador de sector magnético. Cada uno de los tipos analizadores tiene sus propias ventajas y desventajas y se ponen en práctica según las necesidades específicas de la aplicación (Relloso et al., 2015).

2.7.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS)

Es una técnica analítica avanzada utilizada en química y ciencias afines para identificar y analizar compuestos químicos presentes en una muestra. Combina dos métodos poderosos: la cromatografía de gases (GC) y la espectrometría de masas (MS).

La cromatografía de gases es una técnica de separación que divide una mezcla compleja de compuestos en sus componentes individuales. La muestra se inyecta en un cromatógrafo de gases, donde se vaporiza y se arrastra a través de una columna capilar mediante un gas. Los distintos compuestos de la muestra interactúan de manera única con la columna y el gas de arrastre, lo que lleva a su separación de acuerdo con sus propiedades químicas y físicas (Wang et al., 2020).

Por otro lado, la espectrometría de masas es una técnica que permite determinar la composición y estructura de los compuestos químicos presentes en una muestra. En un espectrómetro de masas, los iones generados a partir de los compuestos de la muestra se separan en función de su relación masa/carga y se detectan para crear un espectro de masas característico de la muestra analizada (Fernandez, 2019)

En la técnica GC-MS, los gases eluidos por la cromatografía de gases se dirigen directamente hacia el espectrómetro de masas para su análisis. Como resultado, los componentes separados por la cromatografía de gases se identifican de manera secuencial y precisa mediante la espectrometría de masas. La combinación de estos dos métodos proporciona una poderosa herramienta para la identificación de compuestos en muestras complejas y la determinación de su estructura química (Tetty et al., 2021).

Capítulo 3

Marco Metodológico

3.1. Nivel de investigación

Para el presente trabajo se utiliza una investigación explicativa, se determina la relación causa y efecto, tomando en cuenta el análisis de las variables independientes, que son los diferentes métodos de extracción de aceite de *Cannabis sativa* L. Cada variable estará determinada por la eficiencia y el rendimiento de CBD en el aceite del cannabis producido en cada proceso.

3.2. Diseño de investigación

El diseño de investigación que se utiliza es el experimental, debido a que la materia prima *Cannabis sativa* L. será sometida a dos solventes para la extracción de aceite, para posteriormente evaluar el rendimiento de extracción de CBD obtenido.

3.3. Variables

- **Variable independiente:** Los métodos de extracción de aceite de Cannabis sativa L. con la utilización de dos solventes orgánicos.
- **Variable dependiente:** El rendimiento de extracción de CBD obtenido.
- **Variable Intervinientes:** Tipo de especie de cannabis que se va a utilizar, el tiempo de extracción de los dos métodos aplicados, purificación de aceite esencial, instrumentos de análisis, cromatografía de GC/MS.

3.4. Población y muestra

Se utilizó 240 g de las flores (cogollos) de la variante Y griega del *Cannabis sativa* L. que fue proporcionada por la empresa farmacéutica ecuatoriana Pharmacannabis a la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la realización de este proyecto los instrumentos de recolección de datos a emplear son los siguientes: artículos científicos, base de datos, libros. Por otro lado, también se utilizan citas y referencias bajo la normativa de APA séptima edición.

Se llevar a cabo el análisis de observación estructurada, es necesario realizar un análisis estadístico para la recolección de datos y la interpretación de resultados. Por otro lado, para la observación no estructurada, se deben tomar fotografías y hacer registros de campo.

3.6. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Para el procesamiento de datos se utilizará gráficos y tablas para facilitar la interpretación de los resultados. Para el análisis estadístico se empleó la prueba de normalidad, dependiendo los resultados de esta prueba podemos saber si nuestros datos tienen una distribución normal y de ser así se realiza el análisis de varianza (ANOVA) y después la prueba de Tukey. En caso de que nuestros datos no tengan una distribución normal se procede a realizar pruebas no paramétricas. De esta forma nos va a permitir analizar el rendimiento de los solventes y la cantidad de aceite de cannabis obtenido.

3.7. Materiales

Tabla 3

Materiales utilizados en el proceso de extracción de aceite de cannabis.

Materiales	Equipos	Reactivos
Matraz Kitasato 1000	Estufa	Isopropanol
mL	Bomba la vacío	Acetona
Probetas de 10 mL y	Cámara de flujo laminar	Hielo seco
250 mL	Rotavapor	
Filtros de 20		
Filtros pirinola de 20		
Vasos de precipitación		
50 mL		
Papel aluminio		
Bandejas de aluminio		
2 platos hondos vacío		
de vidrio		
Jeringuillas de 3 mL		

Fuentes: Autor

3.8. Procedimiento

Se describe los procesos que se emplearon en la investigación, para la obtención de aceite de cannabis en porcentajes que estén bajo normativa, y puedan ser utilizados con fines medicinales. Para ellos se aplicaron métodos cuantitativos y cualitativos que se describen a continuación:

3.8.1. Obtención de la muestra

Para la investigación se empleó como materia prima *Cannabis sativa* L., en su variedad Y griega, que fue obtenida gracias a la empresa “PharmaCannabis”, que se enfoca en la producción y comercialización de productos con cannabis, con fines medicinales.

La variedad de cannabis utilizada es Y griega, fueron utilizados las flores (cogollos), ya que esta especie produce cogollos grandes y robustos. Es por ello por lo que se utilizó 240 g de materia vegetal.

Ilustración 2:

Cannabis Sativa L. variedad Y griega



The image shows a sample analysis form for cannabis, titled "ANÁLISIS VARIOS". The form is divided into two sections: "CLIENTE INTERNO" and "CLIENTE EXTERNO".

ANÁLISIS VARIOS	
CLIENTE INTERNO	Pharmaceuticals
TÉCNICO ENTREGA LA MUESTRA:	09/02/2022
LOTE:	(2000)
FECHA DE MUESTREO:	Y Griega (S)
CULTIVO:	Flores (hojas) (seca)
VARIEDAD/HÍBRIDO:	
EDAD AL MUESTREO:	
DENSIDAD DE SIEMBRA:	
CLIENTE EXTERNO	118,16g
AGRICULTOR:	Sg - Bitano
FINCA:	Sg - Mearca
ZONA:	Sg - Amateva
FECHA DE MUESTREO:	
CULTIVO:	
VARIEDAD/HÍBRIDO:	
EDAD AL MUESTREO:	
DENSIDAD DE SIEMBRA:	

At the bottom of the form, there is a label with the text "INIAP25953" and a small number "3".

Fuente: Autor

3.8.2. Pretratamientos realizados

3.8.2.1. Descarboxilación

La descarboxilación nos permitirá activar los principios activos del cannabis; ya que los Cannabinoides principales presentes en esta planta de forma natural (THCA: Ácido Tetrahidrocannabinólico y CBDA: Ácido cannabidiólico) no poseen propiedades psicoactivas, o analgésicas, por lo cual es necesario eliminar un grupo carboxilo para convertirlos en THC y CBD.

Para lograr este paso se realizó un precalentado a la materia prima y lo colocamos en una estufa a una temperatura de 115°C por 45 minutos. (Murrilo & Ojeda,2021)

Ilustración 3:

Descarboxilación de la materia prima



Fuente: Autor

3.8.2.2. Trituración

Este procedimiento consiste en reducir el tamaño de las partículas del material vegetal descarboxilado y mantener una mayor área de contacto con el solvente y de esta manera optimizar el proceso de extracción.

Ilustración 4:

Material vegetal triturado



Fuente: Autor

3.8.3. Métodos de Extracción

Una vez que se realizó los pretratamientos establecidos y se cuenta con el material vegetal preparado para proceder con la extracción del aceite de cannabis utilizando la técnica de hielo seco con dos solventes diferentes.

Como solvente se eligió el isopropanol por presentar alta solubilidad para los compuestos de interés. además, es muy volátil lo que significa que no deja residuos y tiene un bajo costo.

Otro solvente utilizado fue la acetona ya que es compuesto muy efectivo para disolver sustancias polares y no polares, no obstante, es un reactivo altamente inflamable.

3.8.3.1. Método de extracción a partir de hielo seco usando como solvente acetona

Este proceso se realizó utilizando las mismas cantidades tanto de solvente como soluto, es decir se realizó la muestra por triplicado para obtener resultados precisos y minimizar errores. Se utilizó 25 g de materia prima con 270 mL del solvente por cada muestra.

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

Este proceso se realizó por triplicado la muestra para obtener resultados precisos y minimizar errores, empleando 25 g de material vegetal con 270 mL del solvente por muestra.

3.8.4. Parámetros y condiciones de los métodos de extracción

En la Tabla 4 se describe los parámetros y condiciones aplicadas en el proceso de extracción del aceite de cannabis.

Tabla 4:

Parámetros y condiciones de la extracción de aceite de cannabis.

	Solvente	Temperatura	Presión	Tiempo
Extracción a partir de hielo seco con solvente isopropanol	Isopropanol	-78°C	Atmosférica	20 min
Extracción a partir de hielo con solvente acetona	Acetona	-78°C	Atmosférica	20 min

Fuente: Autor

3.8.5. Filtración

Luego de haber transcurrido el tiempo de reacción, se procedió a filtrar el extracto obtenido, con el fin de remover la mayor cantidad de residuos vegetales, para este procedimiento se utilizó una bomba al vacío y un matraz Kitasato. Se realizaron dos filtraciones, en la primera filtración se utilizó un filtro de 25 μm y se obtuvo un extracto oscuro, y para la segunda filtración se usó un filtro de 20 μm y el resultado fue un extracto de coloración clara.

Ilustración 5:

Equipo utilizado en la filtración



Fuente: Autor

3.8.6. Obtención de Aceite de Cannabis

3.8.6.1. Separación del sustrato del solvente

Después de la filtración, se procedió a separar el aceite del solvente y utilizando el equipo llamado rotavapor, el mismo que a través de la evaporación disgrega el solvente y se recupera el aceite.

La temperatura de ebullición de la acetona es de 56°C y del isopropanol es de 82.5°C, por lo que se debe tener en consideración al momento de realizar este proceso, ya que en el rotavapor se debe colocar la temperatura para que se produzca la separación.

Debido a la presión reducida con la que se trabaja se utilizaron temperaturas de 50°C para extraer el solvente acetona y 70°C para el isopropanol y se mantuvieron en un tiempo de 15 y 20 minutos respectivamente.

Ilustración 6:

Separación del solvente mediante el uso del rotavapor.



Fuente: Autor

Las muestras obtenidas fueron almacenadas en frascos ámbar para evitar que la luz del ambiente provoque reacciones con los compuestos cannabinoides.

Tabla 5:

Condiciones para la separación del solvente.

Solvente	Temperatura	Tiempo
Isopropanol	70°C	15 min por muestra
Acetona	50°C	20 min por muestra

Fuente: Autor

3.8.6.2. Determinación de porcentaje de solvente recuperado

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

Donde:

VR: Porcentaje del volumen recuperado

Vr: El volumen recuperado (mL)

Vi: El volumen inicial (mL)

3.8.6.3. 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 del frasco sumando el extracto (g)

m.v.v: Masa de frasco vacío (g)

m.e: Masa del extracto (g)

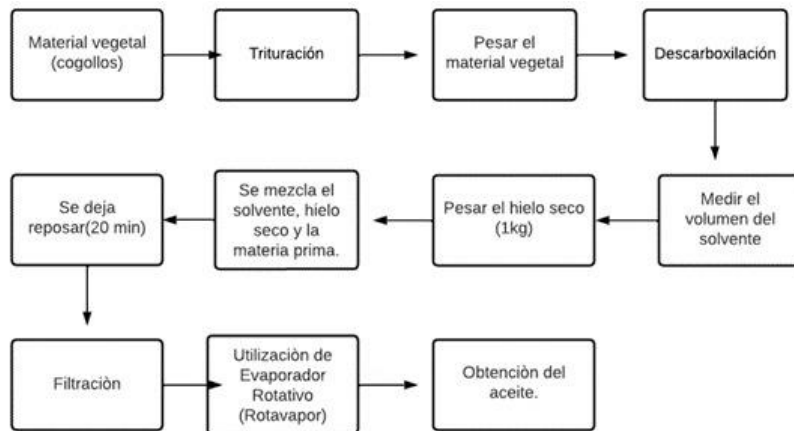
m.m.i: Masa de la muestra inicial (g)

3.8.7. Esquema del proceso de extracción

A continuación, se detalla un esquema del proceso realizado a nivel de laboratorio para la extracción de aceite de cannabis a partir de la utilización de hielo seco con dos diferentes solventes.

Ilustración 7:

Esquema del proceso de extracción de aceite de cannabis realizado en el laboratorio.



Fuente: Autor

3.9. Análisis Cromatográfico

El análisis cromatográfico se realizó en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana utilizando un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrofotómetro de masas, utilizando una columna capilar TG-5MS. Se analizaron dos muestras de cada solvente. El volumen de inyección es 0,5 uL, con una temperatura en el puerto de inyección de 250°C, el gas portador fue el helio. Se programó el horno de la siguiente forma: la temperatura inicial fue de 80°C y se mantuvo por 2 minutos, rampa de 15°C/min a 330°C y se mantuvo por 6 minutos, se tuvo un tiempo de retención de 26.667 minutos por cada muestra.

Para poder identificar los cannabinoides de las muestras de aceite, se lo hace mediante una comparación con los tiempos de retención de los estándares, que se analizan en las mismas condiciones. Dependiendo de las áreas de los picos del cromatograma se analiza la concentración de cada cannabinoide extraído.

Se analizaron dos muestras en los laboratorios de la empresa ecuatoriana HEMP ECUADOR LABS que realizan investigación y análisis de cannabis. Se utilizó una columna MXT-502, el volumen de la inyección es de 1uL de la muestra, el gas portador fue de hidrógeno la temperatura de la rampa es 150°C a 250°C.

3.10. Análisis Estadístico

Para poder conocer si existe una diferencia significativa entre los métodos de extracción de aceite de cannabis, se realizaron los siguientes análisis estadísticos:

3.10.1. Prueba de Normalidad

La prueba de Shapiro-Wilk es una prueba de hipótesis que evalúa si un conjunto de datos se distribuye normalmente. Valora los datos de una muestra con la hipótesis nula de que el conjunto de datos se distribuye normalmente. Un valor p alto indica que el conjunto de datos tiene una distribución normal y un valor p bajo indica que el conjunto de datos no tiene una distribución normal. Tiene un nivel de confianza del 95% (González-Estrada et al., 2022).

H0: Datos que tienen una disposición normal / $p_Value < 0,05$

H1: Datos que no tienen una distribución normal / $p_Value > 0,05$

3.10.2. Análisis de la Varianza (ANOVA)

Esta es una prueba estadística utilizada para determinar si existen diferencias estadísticas significativas entre los dos o más grupo grupos categóricos mediante la comprobación de las diferencias de las medias utilizando la varianza (Kim, 2017).

En este estudio experimental, el método de extracción se considerará como variable de entrada, mientras que la tasa de extracción resultante se considerará como variable de salida. Se utilizó un nivel de significación de 0,05.

Hipótesis establecidas:

- H0: Existe una diferencia significativa entre los métodos utilizados para la extracción de aceite de cannabis.

- H1: No existe una diferencia significativa entre los métodos utilizados para la extracción de aceite de cannabis.

3.10.3. Método de Tukey

La prueba de Tukey es un método para comparar las medias individuales de un ANOVA de varias muestras con diferentes tratamientos (Abdi, H. y Williams, LJ 2010).

3.10.4. Prueba de Wilcoxon

Es una prueba estadística no paramétrica utilizada para comparar dos grupos independientes y determinar si existe una diferencia significativa entre sus distribuciones. A menudo se usa cuando los datos no cumplen con los supuestos requeridos en las pruebas paramétricas, como las t-test (Ríos & Peña, 2020).

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Análisis de pretratamiento de materia vegetal

4.1.1. Descarboxilación

Se tomó muestras por triplicado de 25 gramos de Cannabis sativa L. en su variedad Y griega, que fueron tratados a una temperatura de 115°C por 45 minutos en una estufa, luego de este proceso se deja reposar las muestras para posteriormente volverlas a pesar, se evidenció que existe una pérdida significativa de la masa en cada una de las muestras, como se puede observar en la Tabla 6.

Tabla 6:

Valores obtenidos de la descarboxilación del material vegetal.

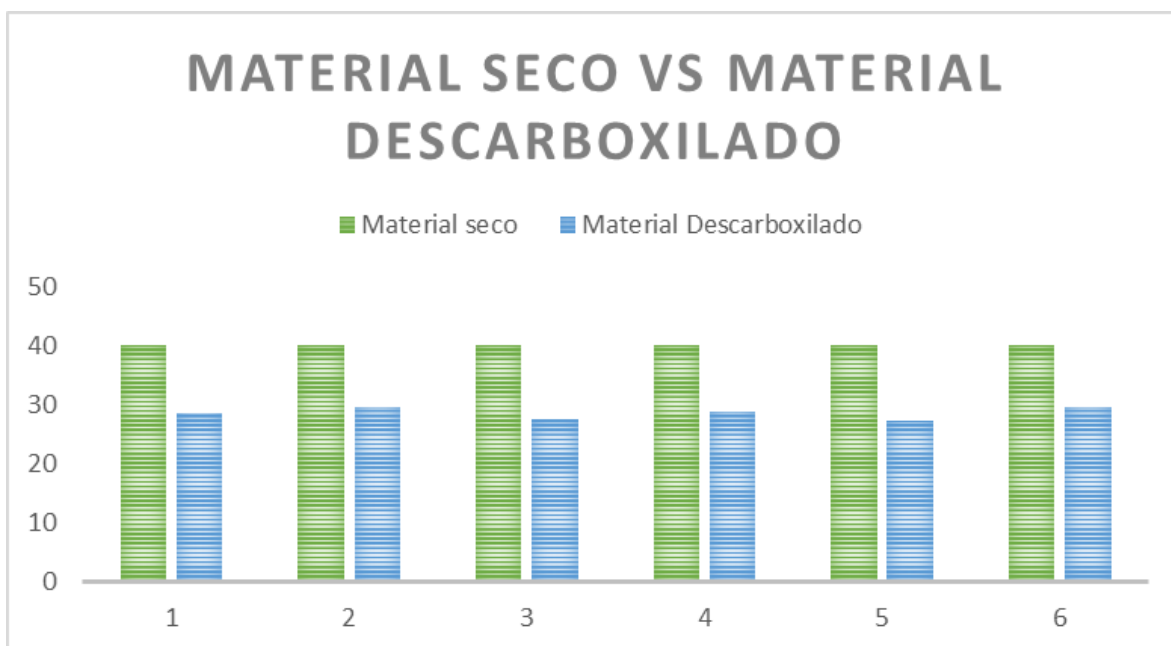
N.º de Muestra	Peso en seco (g)	Peso descarboxilado (g)	Pérdida	%
1	40	28.51	11.49	71.28%
2	40	29.44	10.56	73.6%
3	40	27.53	12.47	68.83%
4	40	28.67	11.33	71.68%
5	40	27.16	12.84	67.9%
6	40	29.41	10.59	73.53%
Total	240	170.72	69.28	
Promedio			11.55	

Fuente: Autor

Con los resultados obtenidos se pudo evidenciar que existe una diferencia de peso en cuanto al material inicial y final después de la descarboxilación, el promedio de pérdida fue de 11,55 gramos. Pérez, L. (2021) menciona que esta diferencia se debería a que el material vegetal inicial presenta un porcentaje de humedad, esto provoca la disminución de masa y el volumen del material vegetal.

Ilustración 8:

Material seco vs cantidad del material descarboxilado.



Fuente: Autor

4.2. Análisis de porcentaje de solvente recuperado

4.2.1. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Isopropanol)

En la siguiente tabla, se puede observar los resultados obtenidos después del proceso de extracción del aceite utilizando como solvente isopropanol en tres diferentes muestras en donde se obtuvo un porcentaje de 81.48% de solvente recuperado, es decir se consiguió recuperar un total

de 660 mL de solvente. Según Villegas, J (2019), en su trabajo de investigación el porcentaje de recuperación del isopropanol fue del 29,33%, siendo el segundo solvente con mayor porcentaje de recuperación, esto se debe a que el proceso de extracción se realizó a 82°C por 5 horas en comparación al proceso realizado en este trabajo que fue a -78°C por 20 minutos y este resultado frente a otros trabajos nos indica que los parámetros establecidos de tiempo y temperatura fueron óptimos para obtener un mayor porcentaje de recuperación del solvente isopropanol.

Tabla 7:

Volúmenes después de la extracción de aceite de cannabis con solvente isopropanol, utilizando 25 g de materia prima, a un tiempo de 20 min, con una temperatura de extracción de -78°C y una cantidad de hielo seco de 1 kg por muestra.

N° de Muestra	Volumen inicial de solvente (mL)	Volumen recuperado de solvente (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
1	270	220	81.48
2	270	215	79.62
3	270	225	83.33
Promedio	810	660	81.48

Fuente: Autor

Tabla 8:

Volúmenes recuperados del solvente isopropanol después del uso del rotavapor, utilizando 25 g de materia prima, un tiempo de 20 minutos y una temperatura de extracción de 70°C.

N° de Muestra	Volumen inicial de solvente (mL)	Volumen recuperado de solvente (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
1	220	162	73.64
2	215	170	79.07
3	225	169	75.11
Promedio	660	501	75.94

Fuente: Autor

En la **Tabla 8**, se obtuvo los resultados obtenidos en la segunda fase de la extracción utilizando el evaporador rotativo, con un tiempo aproximado de 15 minutos a una temperatura de 70 °C se tuvo un promedio recuperado de 75.94% esto significa 660 mL en relación con cada muestra obtenida. Vallarta, D (2017) en su trabajo obtiene un porcentaje de 93.97% de solvente recuperado, cuyos parámetros de temperatura y tiempo fueron de 60°C por un rango de 30 minutos a 90 minutos, en comparación a los parámetros establecidos en este trabajo. Se puede determinar que el tiempo y temperatura utilizados no fueron los indicados para la recuperación del isopropanol.

4.2.2. Determinación del porcentaje de solvente recuperado (Acetona)

En la siguiente **Tabla 9**, se obtuvo los resultados obtenidos en la primera fase de la extracción, con un tiempo aproximado de 20 minutos a una temperatura de -78°C se tuvo un promedio recuperado de 82.84 %, esto significa 671mL en relación de cada uno de los ensayos realizados.

Cardona et al., (2012) en su investigación realiza la extracción por un tiempo de 15 minutos teniendo un rendimiento del solvente de 83.33% luego de la extracción, en comparación con nuestros resultados se puede apreciar que el tiempo de extracción sin aumenta el porcentaje de recuperación sin embargo no existe una diferencia significativa.

Tabla 9:

Volúmenes después de la extracción de aceite de cannabis con solvente acetona, utilizando 25 g de materia prima, a un tiempo de 20 min, con una temperatura de extracción de -78°C y una cantidad de hielo seco de 1 kg por muestra.

N.º de Muestra	Volumen inicial de solvente (mL)	Volumen recuperado de solvente (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
1	270	223	82.59
2	270	217	80.37
3	270	231	85.55
Promedio	810	671	82.84

Fuente: Autor

En la **Tabla 10**, obtuvimos los resultados de la segunda fase de la extracción utilizando el rotavapor, se tuvo un promedio recuperado de 64.13 %, esto significa 671 mL en relación de cada uno de los ensayos realizados. Hermógenes et al., (2010) tienen como resultado en su investigación que la extracción de aceite con solvente acetona tiene un porcentaje de recuperación del 83.5% a una temperatura de 52°C por un tiempo de 60 minutos. En comparación a los resultados obtenidos

se concluye que los parámetros establecidos para la recuperación en el rotavapor influyen en la recuperación del solvente.

Tabla 10:

Volúmenes recuperados del solvente acetona después del uso del rotavapor, utilizando 25 g de materia prima, un tiempo de extracción de 20 minutos y una temperatura de 50°C.

Nº de Muestra	Volumen inicial de solvente (mL)	Volumen recuperado de solvente (mL)	Porcentaje de solvente recuperado (%)
1	223	159	71.30
2	217	120	55.29
3	231	152	65.80
Promedio	810	671	64.13

Fuente: Autor

4.3. Análisis de rendimiento de extracción

Se realizó la determinación de los rendimientos en porcentajes de la extracción de aceite de cannabis, que fueron analizados muestras por triplicado de cada solvente, se utilizó la metodología descrita en el capítulo 3 para la obtención de los datos que se describen en la Tabla 11.

Tabla 11

Análisis del rendimiento del aceite extraído.

Muestra	Extracción a partir de hielo seco con acetona	Extracción a partir de hielo seco con isopropanol
1	13.26%	15.15%
2	11.36%	17.05%
3	13.26%	11.36%

Fuente: Autor

4.4. Diseño experimental

Se realiza una comparación con los métodos de extracción de hielo seco utilizando acetona e isopropanol para saber cuál solvente nos da un mejor rendimiento de aceite y para saber cuál fue el que se recuperó en mejor cantidad.

4.4.1. Análisis del rendimiento del aceite.

4.4.1.1. Prueba de Normalidad

Se determino la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, para esto se utilizó los porcentajes del rendimiento del aceite.

Tabla 12:

Resultados obtenidos de la prueba de Shapiro-Wilk para el rendimiento del aceite.

Muestra	p-Value
Acetona	2.2e-16
Isopropanol	0.6381

Fuente: Autor

Como se puede evidenciar en la **Tabla 12** la prueba de normalidad para el método de extracción utilizando acetona, nos dio un valor de P 2.2e-16, siendo menor al nivel de significancia de 0.05, por lo que podemos decir que no tiene una distribución normal y se sugiere hacer un

análisis con pruebas no paramétricas. En el caso del isopropanol, se tiene un valor de P de 0.6381, siendo un valor mayor al nivel de significancia por lo que tiene una distribución normal. Debido a que uno de nuestros datos no sigue una distribución normal se va a realizar pruebas no paramétricas.

4.4.1.2. Prueba de Wilcoxon

Dado que nuestros datos no siguen una distribución normal, hemos optado por realizar pruebas no paramétricas para determinar la existencia de diferencias significativas. A continuación, se presentan las hipótesis establecidas:

H0: Existe una diferencia significativa entre los rendimientos del aceite/ $p\text{-Value} < 0.05$

H1: No existe una diferencia significativa entre los rendimientos del aceite/ $p\text{ Value} > 0.05$

Tabla 13:

Resultado de la prueba Wilcoxon.

Comparación	p-Value
Rendimiento de aceite obtenido entre acetona e isopropanol.	0.6579

Fuente: Autor

Como se puede observar en la **Tabla 13**, el valor p resultante es 0,6579, que es mayor que el nivel de significancia de 0,05. Por lo tanto, podemos concluir que no existe una diferencia significativa en el rendimiento de aceite obtenido por el método de hielo seco utilizando disolventes de acetona e isopropanol.

4.4.2. Análisis del solvente recuperado

4.4.2.1. Prueba de normalidad

Se determinó la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk, para poder realizar este análisis se tomó encuentra el porcentaje de solvente recuperado.

Tabla 14:

Resultados de la prueba se Shapiro-Wilk para comprar la cantidad de solvente recuperado.

Muestra	p-Value
Acetona	0.997
Isopropanol	0.8428

Fuente: Autor

En la **Tabla 14** podemos observar que en el método de extracción de aceite usando acetona tiene un valor de P de 0.997 y con isopropanol de 0.8428. Ambos valores son mayores al nivel de significancia de 0.05 por lo que sugiere que ambas muestras siguen una distribución normal.

4.4.2.2. Análisis de la Varianza (ANOVA)

Luego de obtener los datos de la normalidad se empieza plantear las hipótesis alternativa y nula para realizar la prueba de ANOVA.

H0: No existe diferencia significativa en el solvente recuperado entre los dos solventes.

H1: Existe una diferencia significativa en el solvente recuperado entre los dos solventes.

Tabla 15:

Resultados de ANOVA.

Comparación	p-Value
Entre el volumen de solvente recuperado acetona e isopropanol	0.502

Fuente: Autor

Como se puede constatar en la **Tabla 15** obtuvimos un valor de P de 0.502 es mayor que el nivel de significancia de 0.05, por lo que podemos concluir que no se rechaza la hipótesis nula y por lo tanto no se muestra una diferencia significativa en los porcentajes de solvente recuperado entre los dos solventes.

4.4.2.3. Método de Tukey

Los resultados de la prueba de Tukey muestran las comparaciones múltiples de medias entre los dos solventes que son acetona e isopropanol para el porcentaje recuperado.

Tabla 16:

Resultados de la prueba de Tukey.

Comprobación	p-Value
Entre el volumen de solvente	
recuperado acetona e	0.5016034
isopropanol	

Fuente: Autor

Se obtuvo un valor de P ajustado obtenido 0.5016034 es mayor que el nivel de significancia de 0.05. Esto significa que no se rechaza la hipótesis nula y que no existe diferencia significativa en el porcentaje recuperado entre los dos solventes.

4.5. Caracterización del aceite de *Cannabis Sativa* L.

4.5.1. Análisis cualitativo de cannabinoides

Para realizar el análisis de los cannabinoides presentes en el aceite de cannabis obtenidos mediante la extracción con hielo seco utilizando dos solventes distintos (acetona e isopropanol),

se realizó a partir de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, las muestras fueron enviadas al laboratorio HEMP Ecuador Labs, que se encuentra ubicado en la ciudad de Quito. Los resultados obtenidos dentro de este análisis nos mostraron la presencia de cuatro diferentes cannabinoides presentes en las muestras enviadas para su estudio. Se van a comparar los resultados con ensayos realizados con la misma metodología aplicada.

Tabla 17:

Análisis cualitativo de las muestras obtenidas.

Cannabinoide presente	Hielo seco con solvente acetona	Hielo seco con solvente isopropanol
delta-9- tetrahidrocannabinol (d9-THC)	SI	SI
Cannabidiol (CBD)	SI	SI
Delta-8 Tetrahidrocannabinol (d8-THC)	SI	SI
Cannabinol (CBN)	SI	SI

Fuente: Hemp Ecuador Labs.

Se puede observar que las muestras tanto del aceite obtenido con acetona como con isopropanol dentro de su composición cuentan con estos cuatro tipos de cannabinoides: Delta-9-tetrahidrocannabinol (d9-THC), Cannabidiol (CBD), Delta-8 Tetrahidrocannabinol (d8-THC), Cannabinol (CBN), los mismos que se encuentran en distintos porcentajes dentro de cada muestra.

4.5.1.1 Análisis cuantitativo de cannabinoides

El análisis cuantitativo de las muestras obtenidas de aceite mediante la extracción con hielo seco utilizando acetona e isopropanol respectivamente como solventes, fueron estudiadas mediante cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas, se compararon los resultados de cada uno de los métodos de extracción propuesto obteniendo los siguientes resultados descritos en la Tabla 18.

Tabla 18:

Porcentaje de Cannabinoides presentes en las muestras de acetona.

Cannabinoide presente	Muestra	Porcentaje obtenido en el trabajo de experimental	Rodríguez, S., & Hámer, A. (2020)
delta-9-tetrahidrocannabinol (d9-THC)	Muestra Acetona	6.41%	0.0657%
Cannabidiol (CBD)	Muestra Acetona	31.82%	0.1315%
Cannabinol (CBN)	Muestra Acetona	1.01%	-

Fuente: Hemp Ecuador Lbs, Rodríguez, S., & Hámer, A. (2020)

Los porcentajes obtenidos de los cannabinoides detectados en las muestras de nuestro estudio fueron los siguientes: el delta-9- tetrahidrocannabinol (d9-THC) se encuentra en un 6.41%, el Cannabidiol (CBD) en un 31.82% y Cannabinol (CBN) en un 1.01%.

Se realiza la comparación con el estudio de (Rodríguez, S., & Hámer, A. 2020) en el cual se puede notar que existe una diferencia en los porcentajes de cannabinoides presente en el aceite cannabis. Esta variedad en los datos se debe a que en su estudio se realiza un secado no natural del material vegetal previo a la descarboxilación, es decir la materia prima se sometió a una temperatura de 79.85°C por 30 minutos, lo que pudo influenciar en la desnaturalización de los compuestos cannabinoides.

Tabla 19:

Porcentaje de Cannabinoides presentes en las muestras de isopropanol.

Cannabinoide presente	Muestra	Porcentaje obtenido en el trabajo de experimental	(Marchena Pinilla, 2021)
delta-9-tetrahydrocannabinol (d9-THC)	Isopropanol	6.63%	0.1055
Cannabidiol (CBD)	Isopropanol	35.84%	<0.0050
Cannabinol (CBN)	Isopropanol	0.62%	<0.0050

Fuente: Hemp Ecuador Lbs, Marchena Pinilla (2021)

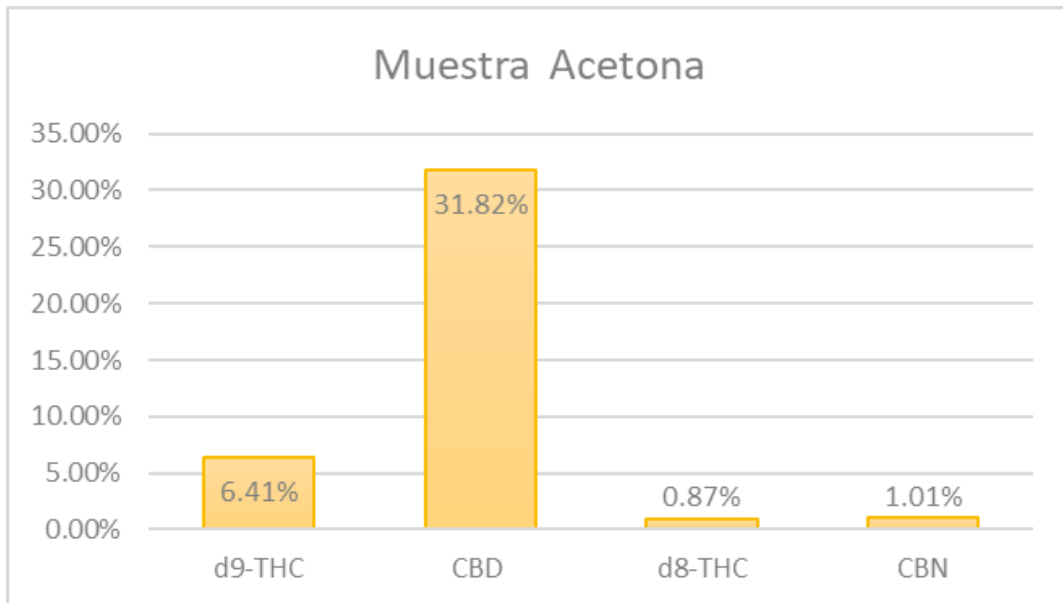
Los porcentajes de los cannabinoides diferenciados en la muestra obtenido con solvente isopropanol fueron de: delta-9-tetrahydrocannabinol (d9-THC) en un 6.63%, Cannabidiol (CBD) es de 35.84% y de Cannabinol (CBN) en un 0.62%.

Los resultados presentados por Marchena Pinilla (2021) muestran claramente diferencias en el número de cannabinoides encontrados. En su estudio, se observaron cantidades relativamente pequeñas de cannabinoides a comparación de los porcentajes obtenidos en este trabajo de investigación. La discrepancia se atribuye a la realización de una nueva descarboxilación después de obtener el aceite y llevar a cabo la cromatografía, lo cual podría haber provocado la desnaturalización de los compuestos.

En las Ilustraciones 9 y 10, podemos observar los valores en porcentajes de los compuestos cannabinoides presentes en las muestras de aceite de cannabis extraídas a partir de hielo seco con solvente acetona e isopropanol analizadas por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Ilustración 9:

Porcentajes de cannabinoides presentes en la muestra de Acetona

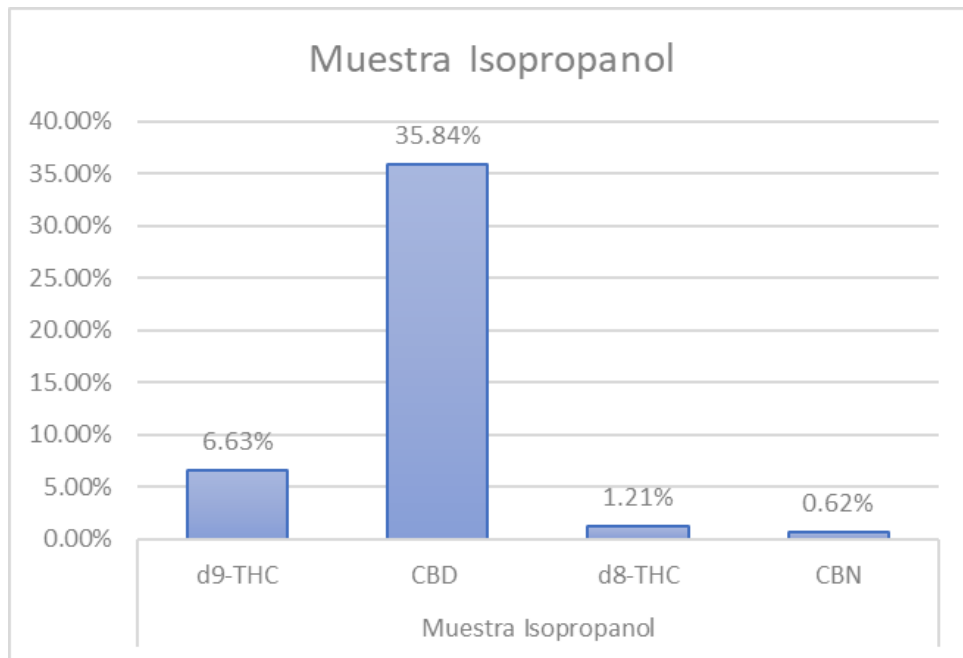


Fuente: Hemp Ecuador Labs.

Realizado por: Autor

Ilustración 10:

Porcentajes de cannabinoides presentes en la muestra de Isopropanol.



Fuente: Hemp Ecuador Labs.

Realizado por: Autor

Después de analizar los resultados obtenidos, se puede apreciar que existe un mayor porcentaje de CBD en las dos muestras analizadas con valores de 31.82% en la muestra correspondiente al solvente acetona y 35.84% en la muestra del solvente isopropanol. Asimismo, el tetrahidrocannabinol (THC) también presenta una mayor concentración, alcanzando un porcentaje del 6,41%, durante el proceso de extracción con hielo seco y acetona como solvente, mientras que al utilizar isopropanol como solvente se obtiene un 6,63%. Los resultados demuestran que el método de extracción y los solventes utilizados son efectivos para obtener un aceite con mayores porcentajes de CBD, lo cual es de gran interés para aplicaciones medicinales.

Capítulo 5

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Se obtiene las siguientes conclusiones con respecto al estudio realizado:

- Mediante el método estadístico aplicado, se ha demostrado que la acetona y el isopropanol como disolventes proporcionan un rendimiento similar en términos de volumen de aceite extraído.
- Se concluye que tanto la temperatura como el tiempo de extracción son parámetros que repercuten en la obtención de los resultados de extracción del aceite.
- Basándonos en los datos obtenidos de los porcentajes de solvente recuperados (64.13% de acetona y 75.94% de isopropanol), se puede concluir que el aceite de cannabis presenta concentraciones bajas o insignificantes de estos solventes en su composición. Esto se debe a que, al ser compuestos altamente volátiles, los porcentajes recuperados se encuentran en un rango considerado como ideal, lo que demuestra que el proceso de extracción ha sido efectivo y seguro en cuanto a la eliminación de dichos solventes.
- Los resultados obtenidos mediante el análisis cromatográfico nos dan a conocer que cuando se realiza el método de extracción de aceite con hielo seco usando como solvente el isopropanol nos arroja un mayor porcentaje de CBD en la muestra siendo el valor de 35.84%, en comparación con el método en el que se utilizó acetona cuyo porcentaje de CBD es de 31.82%.
- Mediante la utilización de la cromatografía de gases/masa GC-MS, se logró cuantificar de manera precisa los componentes principales de los extractos obtenidos de cannabis. Esta

técnica permitió conocer con exactitud la concentración de CBD presente en el aceite extraído.

5.2 Recomendaciones:

- Mantener el mismo proceso para la extracción del aceite de cannabis, pero mejorar los parámetros y condiciones para controlar la pérdida de solvente y que de esta forma mejorar los resultados del rendimiento de los solventes.
- Evaluar el método utilizado en este estudio para conocer si es viable realizarlo a escala industrial.
- Utilizar materia prima, que se encuentre seca y libre de contaminantes ya que esto influirá en el rendimiento y cantidad de los compuestos extraídos, de esa forma podemos obtener un aceite de óptima calidad.
- Filtrar el extracto obtenido más de dos veces para eliminar las partículas vegetales y sólidos no deseados o buscar técnicas de filtración que ayuden a capturar las resinas presentes.
- Se recomienda no utilizar solventes que sean muy volátiles, ya que en el momento de la extracción estos se van a evaporar en el ambiente y esto dificultaría que la materia prima entre en contacto con el solvente.
- Establecer el método cromatográfico de gases acoplada a espectrometría de masas para el análisis del aceite de cannabis debido a su capacidad para proporcionar información detallada y precisa sobre la composición química de la muestra.

Referencias bibliográficas:

- Ríos, A. R., & Peña, A. M. (2020). Estadística inferencial. Elección de una prueba estadística no paramétrica en investigación científica. *Horizonte de la ciencia*, 10(19). <https://doi.org/10.26490/uncp.horizonteciencia.2020.19.597>
- Abdi, H. y Williams, LJ (2010). Prueba de Newman-Keuls y prueba de Tukey. *Enciclopedia de diseño de investigación* , 2 , 897-902.
- Acosta, J., Sevilla, I., Salomón, S., Nuevas, L., Romero, A., & Amaro, D. (2016). Determinación de la solubilidad de mangiferina en solventes utilizados en la industria biofarmacéutica. *Revista de Investigación de Farmacia y Farmacognosia*, 4 (2), 49-53. <https://www.redalyc.org/pdf/4960/496053934001.pdf>
- Alba Naranjo, M. N., & Minchala Espinoza, L. A. (2022). Extracción de aceite esencial de *Cannabis sativa* L. utilizando dos técnicas de laboratorio, determinando el método más eficiente (Bachelor's thesis).
- Alberto, M. P. C. (2011). *Evaluación del método analítico colorimétrico de dosaje etílico frente al método de cromatografía de gasses: Estudio en bebedores sociales y diabéticos abstemios de la ciudad del Cusco, determinación de interferentes: Especial interés en acetona e isopropanol*. <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/1069>
- Azuola, R., & Vargas-Aguilar, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Revista Tecnología en marcha*, 20(4).
- Bhairam, C, Bell, Z: Método para hacer productos de café que contienen ingredientes de cannabis. Solicitud de patente estadounidense 20.200.060.305. 10 de febrero de 2019.
- Boyaji, S., Merkow, J., Elman, R. N. M., Kaye, A. D., Yong, R. J., & Urman, R. D. (2020). The role of cannabidiol (CBD) in chronic pain management: an assessment of current

evidence. Current pain and headache reports, 24, 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11916-020-0835-4>

- Brunson, M: Producto vegetal infundido con aceite y método de infusión. Solicitud de patente estadounidense 16/819.082. 9 de julio de 2020.
- Carrillo-Sancen, G., León-Alarcón, A., Vargas-León, E. A., Cerón-Montes, G. I., & Martínez-Valdez, F. J. (2022). Hidroponía del cáñamo para obtención de CBD con fines terapéuticos. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 10(Especial7), 150-156. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/icbi/article/view/9919/9874>
- Castañeda López, D. F. (2015). La legalización del consumo de marihuana en el marco jurídico penal ecuatoriano (Doctoral dissertation, Universidad Internacional SEK). <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/1190/1/Tesis%20Diego%20Casta%20c3%b1eda%20.pdf>
- Castillo Cruz, J. D., & Rico Nieto, J. S. (2020). Desarrollo de una propuesta para la obtención de un aceite de THC y/o CBD por el método de extracción con solvente (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).
- CARDONA, J. E., CARRILLO, M. P., MOSQUERA, D. M., GUTIERREZ, R. H., & HERNANDEZ, M. S. (2012). EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE DE MILPESILLOS (OENOCARPUS MAPORA). *Vitae*, 19(1), S183-S185.
- David, O. G. (2023, 8 marzo). Beneficios del Cannabis Medicinal para la Salud. <https://repository.universidadean.edu.co/handle/10882/12495>
- Ewing, G. W., & Meza, E. E. (1978). *Métodos instrumentales de análisis químicos* (No. 543.08 E95 1978.). McGraw-Hill.

- Fernández Lainez, C. (2019). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría.
- Filho, J. F. M., Libardi, P. L., De Jong Van Lier, Q., & Corrente, J. E. (2002). Método convencional e «bootstrap» para estimar o número de observações na determinação dos parâmetros da função $K(\Theta)$. *Revista Brasileira De Ciencia Do Solo*, 26(4), 895-903.
<https://doi.org/10.1590/s0100-06832002000400006>
- Garcia Pacheco, Y. E., Morales, N., Meriño, L., Palacio Montañez, J. M., Angarita Santana, A., & Vargas-Barrios, D. (2021). Obtención de clorofila a partir de cáscaras de sábila (*Aloe barbadensis*) por medio de solventes. *INGE CUC*, 17(2), 133-142.
- Giraldo, H., Velásquez, J., & Cuartas, P. (2010). Extracción con solventes y purificación de aceite a partir de semillas de *Jatropha curcas*. *Revista Investigaciones Aplicadas*.
- González Helguera, E. O., HELGUERA, G., & ERICK, O. (2021). Determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en bellota (*Quercus rugosa*) (Bachelor's thesis).
- Grijó, D., Maceiras, L., Callejas, N., Vieitez, I., & Cardozo-Filho, L. (2017). Extracción y caracterización del aceite de semillas de cáñamo (*Cannabis sativa* L.). Asociación de Ingenieros Químicos del Uruguay.
https://www.aiqu.org.uy/encuentro2017/src/assets/presentacion/14_Trabajo%20completo_Extraccion%20supercritica%20semillas%20cannabis.pdf
- Guerra Calderón, C. (2018). Validación de un método analítico por cromatografía gaseosa para la cuantificación de cannabinoides.
<http://repositoriobibliotecas.uv.cl/handle/uvsc1/6677>

- Guerra Calderón, C. (2018). Validación de un método analítico por cromatografía gaseosa para la cuantificación de cannabinoides. <http://repositoriobibliotecas.uv.cl/handle/uvsc1/6677>
- Iván, M. T. F. (2022, 1 marzo). Factibilidad de introducir al mercado de Quito el aceite de CBD y sus derivados. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/20173>
- José, C. S. J. (2021). Determinación del método de extracción más efectivo en la obtención de extractos ricos en cannabinoides a partir de 3 procesos diferentes. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/4436>
- León Cam, J. J. (2017). El aceite de Cannabis. Revista de la sociedad química del Perú, 83(3), 261-263.
- Libardo, L. C. O. (2020b, octubre 2). Desarrollo de una propuesta para la obtención de un aceite de THC y/o CBD por el método de extracción con solvente. <http://52.0.229.99/handle/20.500.11839/8186>
- Machaca Gonzales, L. F. (2022). Diseño del equipo para la extracción del aceite de cannabis de la marihuana (cannabis sativa l) a nivel banco.
- Madelen, G. J. D. (2021, 3 agosto). 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. <http://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/8652>
- Manca, A., Palermi, A., Mula, J., De Vivo, E. D., Zeaiter, S., Simiele, M., De Nicolò, A., Cantù, M., Cusato, J., & D'Avolio, A. (2022). A description of cannabinoid levels in cannabis oil by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry in a reference

laboratory of North-Italy. *Phytomedicine*, 102, 154218.

<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154218>

- 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 (Bachelor's thesis, Fundación Universidad de América).
- Mead, A. (2017). The legal status of cannabis (marijuana) and cannabidiol (CBD) under U.S. law. *Epilepsy & Behavior*, 70, 288-291. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.021>
- Melo-Guerrero, M. C., Ortiz-Jurado, D. E., & Hurtado-Benavides, A. M. (2020). Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 44(172), 845-856.
- Mora-Barrantes, J. C., Ramos, L. M., Ulate-Salas, M., Núñez-Agüero, V., Acuña-Salazar, E., & Cordero-Carvajal, M. (2022). Clasificación del riesgo químico de solventes orgánicos mediante la aplicación del método “CHEM21 selection guide of classical-and less classical-solvents”. (“Clasificación del riesgo químico de solventes orgánicos mediante la ...”) Un caso de estudio en cursos de docencia universitaria de química orgánica y bioquímica. *Revista Tecnología en Marcha*, ág-28.
- Murillo Castro, J. P., & Ojeda Maldonado, L. J. (2021). Determinación del método de extracción más efectivo en la obtención de extractos ricos en cannabinoides a partir de 3 procesos diferentes.

- NIDA. 2020, Julio 14. ¿La marihuana es segura y eficaz como medicina? Retrieved from <http://nida.nih.gov/es/publicaciones/serie-de-reportes/la-marihuana/la-marihuana-es-segura-y-eficaz-como-medicina> en 2023, April 12
- Pérez, L. (2021). Estudio de las diferentes técnicas de extracción de aceite utilizadas en la industria del cannabis medicinal.
- Pertwee, RG (2005). Acciones farmacológicas de los cannabinoides. En: Pertwee, RG (eds) Cannabinoides. Manual de Farmacología Experimental, vol 168. Springer, Berlín, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_1
- Plancarte-Sánchez, R. (2019, 17 julio). Aplicaciones terapéuticas por acción de los cannabinoides. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=87901>
- Portela Pino, J. (2022) Análisis Teórico y Experimental de Extracciones en Fase Sólida aplicadas a Cannabinoides Sintéticos. https://repositori.urv.cat/estatic/TFM0011/es_TFM1146.html
- Radwan, MM, Wanas, AS, Chandra, S., ElSohly, MA (2017). Cannabinoides naturales del cannabis y métodos de análisis. En: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M. (eds) Cannabis sativa L. - Botánica y Biotecnología. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_7
- Rea, K. A., Casaretto, J. A., Al-Abdul-Wahid, M. S., Sukumaran, A., MacNeil, A. J., Rothstein, S. J., & Akhtar, T. A. (2019). Biosynthesis of cannflavins A and B from Cannabis sativa L. Phytochemistry, 164, 162-171. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.05.009>

- Relloso, M. S., Nievas, J., Taie, S. F., Farquharson, V., Mujica, M. T., Romano, V., ... & Smayevsky, J. (2015). Evaluación de la espectrometría de masas: MALDI-TOF MS para la identificación rápida y confiable de levaduras. *Revista argentina de microbiología*, 47(2), 103-107.
- Rifna, E. J., & Dwivedi, M. (2022). Effect of pulsed ultrasound assisted extraction and aqueous acetone mixture on total hydrolysable tannins from pomegranate peel. *Food Bioscience*, 45, 101496.
- Rivera-Olmos, V. M. (2016). Cannabis: efectos en el sistema nervioso central. Consecuencias terapéuticas, sociales y legales. <https://www.redalyc.org/journal/4577/457746956012/html/>
- Rodríguez, J. C. D., & Benitez, R. B. Extracción verde de cannabinoides y terpenos de Cannabis Sativa empleando disolventes eutécticos profundos naturales, una extracción más eficiente. *Reflexiones de los proyectos de Jóvenes Investigadores e Innovadores en el Departamento del Cauca 2022*, 155.
- Rodríguez, S., & Hámer, A. (2020). Prefactibilidad técnica y financiera de un proceso de extracción de aceite de cannabis para uso medicinal.
- Rojas, A., Marín, L., & Oropeza, Y. (2010). Extracción del aceite de la semilla de mango utilizando solventes orgánicos. Venezuela, UEP Dr. Rafael Andreani Pieretti.
- Sandiego Villaverde, P. (2020). Técnicas de extracción y caracterización de cannabinoides a partir de la planta de cannabis sativa L. https://dspace.uib.es/xmlui/bitstream/handle/11201/154558/Sandiego_Villaverde_Pablo.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Tettey, J. N., Crean, C., Rodrigues, J., Yap, T. W. A., Lim, J. L. W., Lee, H. Z. S., & Ong, M. C. (2021). United Nations Office on Drugs and Crime: recommended methods for the identification and analysis of synthetic cannabinoid receptor agonists in seized materials. *Forensic science international: Synergy*, 3, 100129.
- Toapanta Guanín, S., Delgado Araujo, A. J., Santamaría Carrera, J., García Narváez, E., & Delgado Araujo, R. (2022). OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN SOXHLET DEL DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*) USANDO CRITERIOS DE DISEÑO DE EXPERIMENTOS BOX-BEHNKEN.
- Vallarta Cardona, D. E. Extracción de aceite de *Jatropha curcas* L., en un proceso batch, utilizando isopropanol como disolvente.
- VanDolah, HJ, Bauer, BA y Mauck, KF (2019). Guía de médicos sobre cannabidiol y aceites de cáñamo. *Actas de la Clínica Mayo*. *Clínica Mayo*, 94 (9), 1840–1851. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.003>
- Velasco Rodríguez, J. A. (2018). Verificación del método de análisis cualitativo de cannabinoides por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
- Viera Ribot, O. M., & Morales Fernández, S. (2020). Comparación de los métodos de extracción para hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos marinos empleando Soxhlet y baño ultrasónico. *Centro Azúcar*, 47(3), 14-23.
- Villegas Ramírez, J. C. (2019). Extracción de Aceite de Higuera (*Ricinus communis*) con cuatro Alcoholes Disolventes a Nivel de Laboratorio, Jaén-Cajamarca.
- Wang, S., Chen, H., & Sun, B. (2020). Recent progress in food flavor analysis using gas chromatography–ion mobility spectrometry (GC–IMS). *Food Chemistry*, 315, 126158.

- Zuk-Golaszewska, K. y Golaszewski, J. (2018). Cannabis sativa L.–cultivo y calidad de la materia prima. *Revista de Elementología* , 23 (3).
- González-Estrada, E., Villaseñor-Alva, J. A., & Acosta-Pech, R. (2022). Shapiro-Wilk test for multivariate skew-normality. *Computational Statistics*, 37(4), 1985-2001. <https://doi.org/10.1007/s00180-021-01188-y>

Anexos 1:

Ilustración 11:

Peso del material vegetal.



Fuente: Autor.

Ilustración

12:

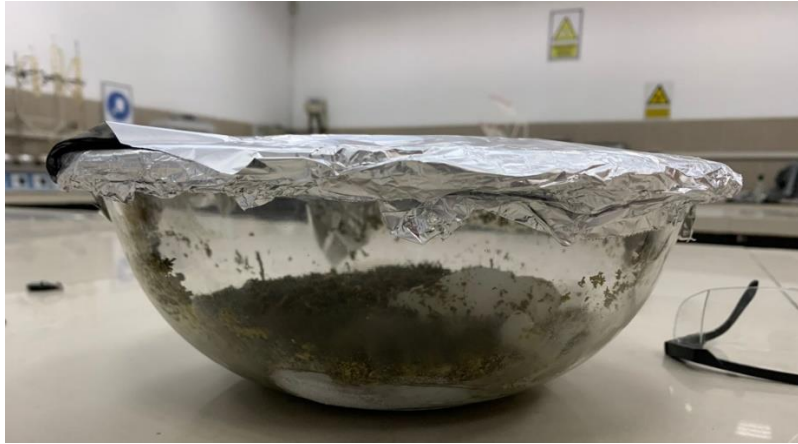
Peso del material vegetal después de la descarboxilación.



Fuente: Autor.

Ilustración 13:

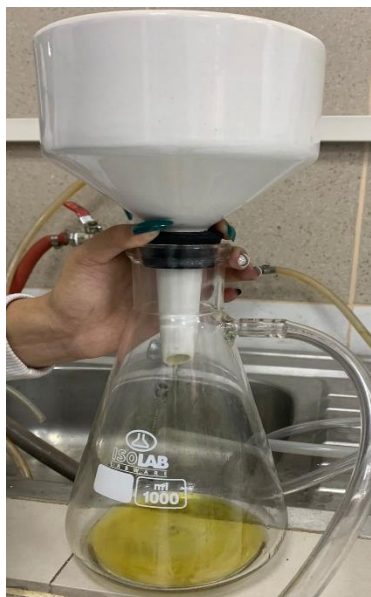
Proceso de extracción del aceite de cannabis.



Fuente: Autor

Ilustración 14:

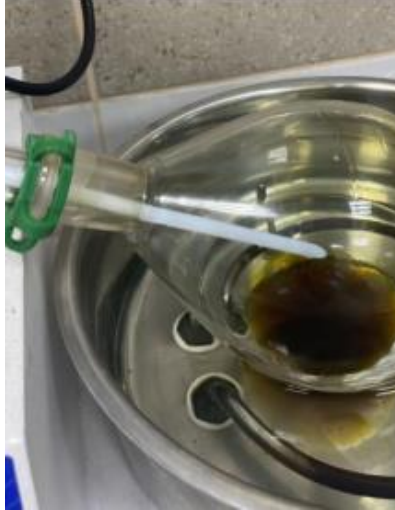
Filtrado del extracto obtenido, con el equipo de filtrado.



Fuente: Autor

Ilustración 15:

Se coloca el extracto en el rotavapor, para separar el solvente del aceite.



Fuente: Autor.

Ilustración 16:

Se mide el volumen del aceite obtenido.

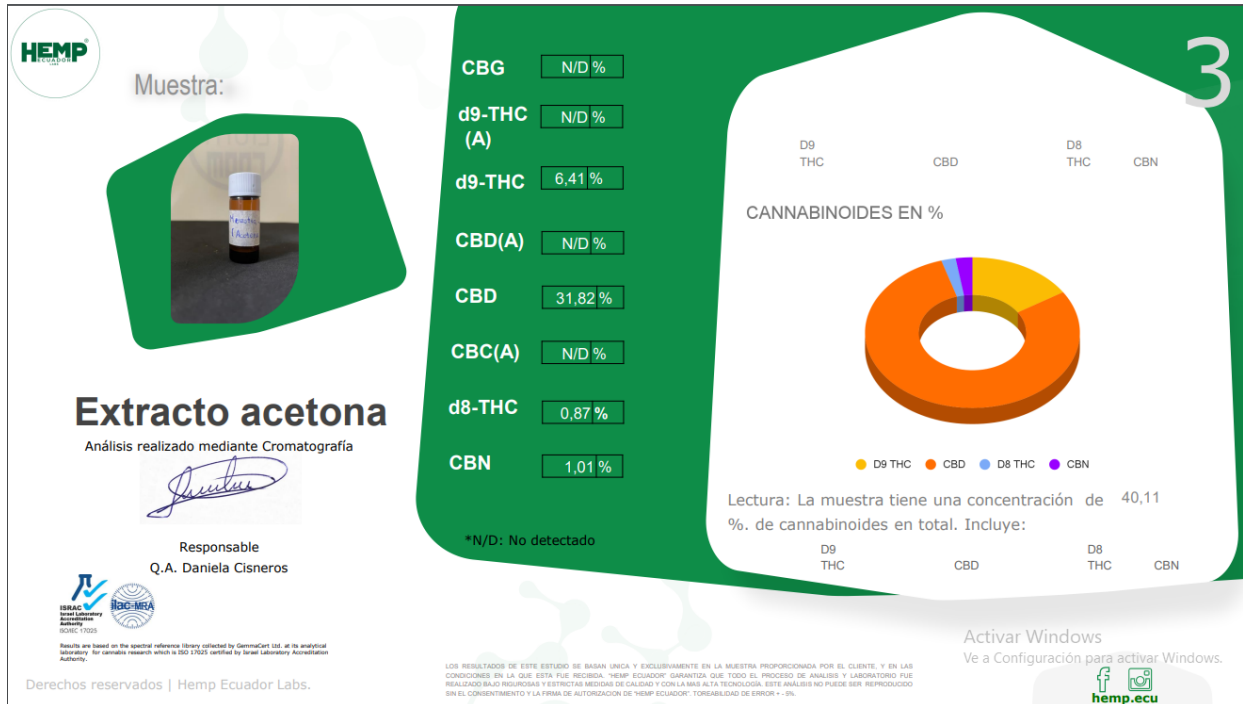


Fuente: Autor.

Anexo 2: Resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Ilustración 17:

Resultados obtenidos con la extracción del aceite utilizando como solvente acetona.



Fuente: HEMP ECUADOR LABS.

Ilustración 18:

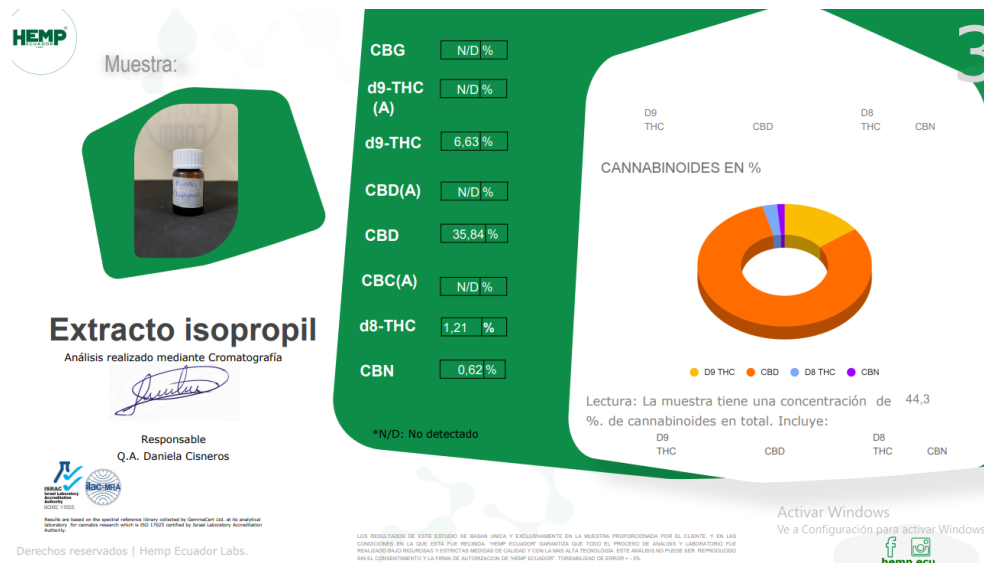
Cromatograma de la muestra: Extracto acetona



Fuente: HEMP ECUADOR LABS.

Ilustración 19:

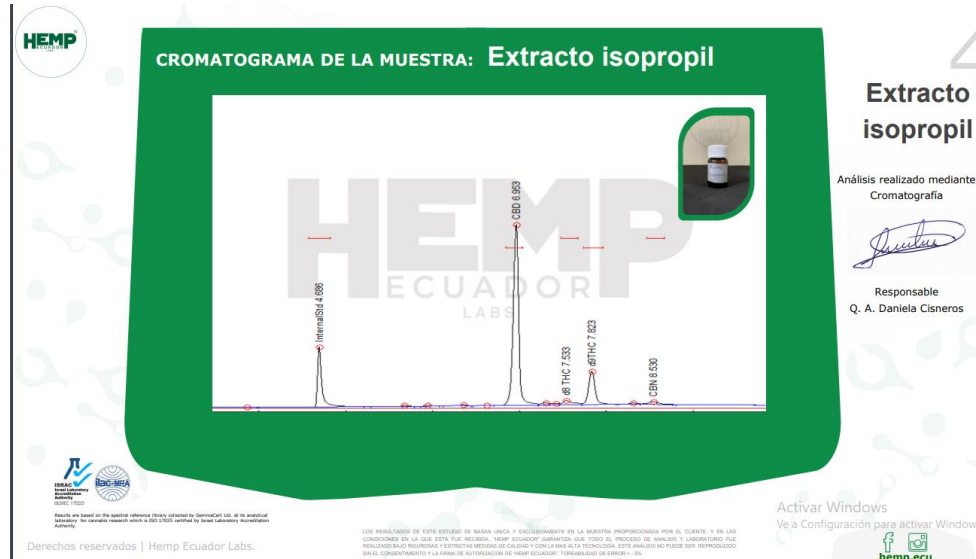
Resultados obtenidos con la extracción del aceite utilizando como solvente isopropanol.



Fuente: HEMP ECUADOR LABS.

Ilustración 20:

Cromatograma de la muestra: Extracto isopropanol.



Fuente: HEMP ECUADOR LABS.