



Evaluación de la extracción de cannabinoides mediante un equipo nacional con CO₂ supercrítico: Estudio Integral para la Mejora del Rendimiento y la Calidad de los Extractos de Cannabis

Jessica Vanessa Pardo Sarmiento

Informe de práctica presentado para optar al título de Ingeniera Química

Práctica Empresarial

Asesores

Nora Eugenia Restrepo Sánchez, Doctor en Ciencias-Química

Asesora interna

Carlos Peláez Jaramillo, Doctor en Química

Coasesor interno

James Alberto Marín Gómez, Magíster en Ingeniería

Asesor Externo

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería

Ingeniería Química

Medellín, Antioquia, Colombia

2024

Cita	Pardo Sarmiento [1]
Referencia Estilo IEEE (2020)	[1] Pardo Sarmiento, "Evaluación de la extracción de cannabinoides mediante un equipo nacional con CO ₂ supercrítico: Estudio Integral para la Mejora del Rendimiento y la Calidad de los Extractos de Cannabis", Trabajo de grado profesional, Ingeniería Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia, Colombia, 2024.



Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Agradecimientos

Agradezco a todas las personas que hicieron parte de mi formación personal y profesional, a mis padres Patricia Sarmiento y Carlos Alberto Pardo por su amor incondicional, su apoyo constante y sus sacrificios. A mis hermanos por su comprensión y motivación en los momentos difíciles, gracias por ser una fuente constante de inspiración y alegría. A mis amigos por su amistad, consejos y momentos compartidos que hicieron de la universidad una experiencia completa en todos los sentidos, especialmente a Daniel Domínguez por enseñarme curiosidades sobre las plantas que años después llegaron a ser material clave para el desarrollo de este trabajo. Expreso mi gratitud a la empresa Equipos Ingeniería y Análisis (EIA Instruments) por brindarme la oportunidad y los recursos necesarios para desarrollar esta investigación y al Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares GIEM de la universidad de Antioquia por proporcionar el espacio y los equipos imprescindibles para llevar a cabo todos los experimentos.

TABLA DE CONTENIDO

CONTENIDO

RESUMEN.....	13
ABSTRACT	14
I. INTRODUCCIÓN	15
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
III. JUSTIFICACIÓN.....	23
IV. OBJETIVOS	25
A. Objetivo general	25
B. Objetivos específicos.....	25
V. MARCO TEÓRICO	26
Cannabis	26
Fitocannabinoides.....	27
Sistema endocannabinoide	29
Descarboxilación ácida de cannabinoides	30
Cannabidiol (CBD).....	31
Extracción de cannabinoides.....	32
Extracción con Solventes	33
Extracción asistida por ultrasonido (UAE).....	33
Extracción asistida por microondas MAE	34
Extracción en Aceite de Oliva	35
Extracción con Fluidos Iónicos	35
Cromatografía	36
Extracción con Agua.....	36
Extracción por Prensado	37

Extracción Soxhlet	38
Extracción con fluidos supercríticos (SFE).....	39
VI. METODOLOGÍA	48
Preparación materia prima	48
Evaluación Soxhlet.....	48
Extracción con CO ₂ supercrítico	49
Determinación de los Fitocannabinoides	51
Cromatografía de capa fina (TLC).....	51
Cuantificación de cannabinoides	52
VII. RESULTADOS	54
Propiedades termodinámicas del CO ₂	54
Cromatografía de capa fina (TLC)	57
% Rendimiento de los extractos	62
Cuantificación de cannabinoides Cromatografía de gases	64
Consumo de CO ₂	68
VIII. DISCUSIÓN.....	73
Termodinámica de los experimentos.....	73
Limitaciones operacionales	73
Placas de cromatografía TLC.....	74
Efectos descarboxilación.....	75
Comparación cualitativa extracto Soxhlet y SFE.....	77
Comparación cuantitativa rendimiento	77
Perfil de Cannabinoides	79
Comparación de cannabinoides diferentes métodos	80
Consumo de CO ₂	81

Ventajas y desventajas de cada método de extracción.....	82
IX. CONCLUSIONES	84
X. RECOMENDACIONES	86
REFERENCIAS	87

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Propiedades termofísicas del CO₂ [91]</i>	40
<i>Tabla 2. Condiciones de los factores del diseño de experimentos</i>	48
<i>Tabla 3. Condiciones de operación de las ejecuciones del diseño de experimentos.</i>	48
<i>Tabla 4. Optimización de los experimentos y sus condiciones.</i>	49
<i>Tabla 5. Propiedades termofísicas del CO₂</i>	52
<i>Tabla 6. Caracterización materia prima.</i>	54
<i>Tabla 7. Resultados de rendimiento de cada experimento y sus respectivas condiciones de extracción.</i>	60
<i>Tabla 8. Perfil de cannabinoides obtenidos en cromatografía de gases</i>	61
<i>Tabla 9. Cantidad de THC y CBD presentes en cada experimento.</i>	62
<i>Tabla 10. Porcentajes de recuperación y porcentaje de cannabinoides en el extracto.</i>	63
<i>Tabla 11. Porcentaje de cada cannabinoide respecto a los cannabinoides totales presentes en el extracto.</i>	65
<i>Tabla 12. Consumo de CO₂ en cada experimento de SFE.</i>	66
<i>Tabla 13. Resultados análisis estadísticos de los experimentos</i>	67
<i>Tabla 14. Análisis de varianza del análisis estadístico.</i>	67
<i>Tabla 15. Resultados del modelo y datos experimentales</i>	69
<i>Tabla 16. Ventajas y desventajas de los métodos de extracción Soxhlet y SFE</i>	79

LISTA DE FIGURAS

<i>Ilustración 1. Tricomas cistolíticos (Ng), glandulares (Gt-1) y bulbosos (Gt-2) del cannabis sativa sp. Tomado de [50]</i>	24
<i>Ilustración 2. Descripción gráfica de la biosíntesis de cannabinoides y rutas putativas. Tomado de [49].</i>	25
<i>Ilustración 3. Distribución fitocannabinoides en tricomas glandulares. Tomado de [44]</i>	26
<i>Ilustración 4. Reacción de descarboxilación del CBD</i>	27
<i>Ilustración 5. Reacción de descarboxilación del THC</i>	27
<i>Ilustración 6. Formación de quinonas a partir del CBD [62].</i>	29
<i>Ilustración 7. Fenómeno de cavitación [11]</i>	31
<i>Ilustración 8. Diagrama de extracción Soxhlet [85].</i>	36
<i>Ilustración 9. Propiedades físicas típicas de los fluidos gaseosos, líquidos y supercríticos [88].</i>	38
<i>Ilustración 10. (a) Diagrama de fases de presión y temperatura de dióxido de carbono y (b) Diagrama de fases de presión y densidad del dióxido de carbono [90].</i>	38
<i>Ilustración 11. Esquema de una planta piloto de extracción de fluidos supercríticos equipada con dos celdas de fraccionamiento. (1) bomba de CO₂; (2) bomba modificadora; (3) celda de extracción de muestras sólidas; (4) celda de fraccionamiento 1; (5) celda de fraccionamiento 2; (6) válvula. [88]</i>	40
<i>Ilustración 12. Solubilidad molar del Δ^9THC (a), CBD (b) y CBN (c) experimental en función de la temperatura y presión [39]</i>	41
<i>Ilustración 13. Equipo de extracción de fluidos supercríticos EIA.</i>	42
<i>Ilustración 14. Interfaz de control equipo de fluidos supercríticos EIA.</i>	43
<i>Ilustración 15. Sistema de control equipo de fluidos supercríticos EIA.</i>	44
<i>Ilustración 16. Proceso molienda material vegetal.</i>	45
<i>Ilustración 17. Proceso tamizaje material vegetal.</i>	45
<i>Ilustración 18. Montaje Soxhlet por triplicado.</i>	46
<i>Ilustración 19. Cromatógrafo gaseoso Agilent Technologies 6890N</i>	49
<i>Ilustración 20. Diagrama de fases del CO₂ con las condiciones del diseño de experimentos</i>	52
<i>Ilustración 21. Diagrama de fases del CO₂, densidad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos.</i>	52

<i>Ilustración 22. Diagrama de fases del CO₂, viscosidad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos</i>	53
<i>Ilustración 23. Diagrama de fases del CO₂, difusividad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos</i>	53
<i>Ilustración 24. Patrón de identificación cannabinoides de un kit de AlphaCat tomado de [94]</i>	54
<i>Ilustración 25. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B1.</i>	54
<i>Ilustración 26. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B2.</i>	55
<i>Ilustración 27. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B3.</i>	55
<i>Ilustración 28. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 3 CO₂ supercrítico.</i>	56
<i>Ilustración 29. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 5 CO₂ supercrítico</i>	56
<i>Ilustración 30. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 6 CO₂ supercrítico</i>	56
<i>Ilustración 31. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 9 CO₂ supercrítico.</i>	57
<i>Ilustración 32. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 10 CO₂ supercrítico.</i>	57
<i>Ilustración 33. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 11 CO₂ supercrítico.</i>	57
<i>Ilustración 34. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 12 CO₂ supercrítico</i>	58
<i>Ilustración 35. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 13 CO₂ supercrítico</i>	58
<i>Ilustración 36. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 14 CO₂ supercrítico</i>	58
<i>Ilustración 37. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 15 CO₂ supercrítico</i>	59
<i>Ilustración 38. Diagrama de barras de los porcentajes de rendimiento de cada experimento.</i>	60
<i>Ilustración 39. Porcentaje de recuperación de THC o CBD respecto a la muestra inicial de cada extracción.</i>	63
<i>Ilustración 40. Perfil de cannabinoides obtenidos en cada extracto.</i>	64
<i>Ilustración 41. Comparación THC y CBD contenidos en el extracto de cada experimento respecto a la totalidad de THC y CBD.</i>	65
<i>Ilustración 42. Superficie de respuesta % extracción respecto al tiempo y temperaturas empleados</i>	67
<i>Ilustración 43. Comparación con cromatografía de capa fina del efecto de la descarboxilación.</i>	71

SIGLAS, ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

IEEE	Institute of Electrical and Electronics Engineers
EIA	Equipos Ingeniería y Análisis
SFE	Supercritical Fluid Extraction
THC	Tetrahidrocannabinol
THCA	Tetrahidrocannabinol ácido
CBD	Cannabidiol
CBDA	Cannabidiol ácido
CBN	Cannabinol
CBG	Cannabigerol
CBGA	Ácido cannabigerólico
CBCA	Ácido cannabicroménico
COOH	Grupo carboxilo
CO₂	Dióxido de carbono
GRAS	Generalmente Reconocido Como Seguro
MPa	Mega Pascales
SC	Supercrítico
a. C	antes de Cristo
d. C	después de Cristo
DOXP/MEP	fosfato de desoxixilulosa/metileritritol
GPP	difosfato de geranilo
µm	Micrómetros
CB_x	Receptores endocannabinoides
MAE	Extracción Asistida por Microondas
UAE	Extracción Asistida por Ultrasonido
VIH	Sida
FID	Detectores de Ionización de Llama
GC	Cromatografía de gases
HPLC	"High-Performance Liquid Chromatography" (Cromatografía Líquida de Alta Resolución)

kg/m³	kilogramo/metro cúbico
cP	CentiPoises
m²/s	metro cuadrado/ segundos
TLC	Cromatografía de capa fina
HMI	Human Machine Interface
MSc	Magister Scientiae
UdeA	Universidad de Antioquia

RESUMEN

Equipos Ingeniería y Análisis (EIA) desarrolló un equipo de extracción con fluidos supercríticos (SFE), para evaluar su desempeño en la extracción de cannabinoides y su eficiencia frente a métodos tradicionales como Soxhlet. La metodología empleada incluyó la descarboxilación, trituración, tamizado del material vegetal, con un diseño experimental de superficie de respuesta para la SFE. La extracción Soxhlet se realizó con etanol al 93% durante 12 horas, mientras que para SFE se utilizó CO₂ a diferentes combinaciones de presión (250-350 bar), temperatura (35-55 °C) y tiempo (0,5-2 horas) en tres niveles. Los resultados demostraron que la técnica Soxhlet permite obtener rendimientos muy superiores en cuanto a la extracción de cannabinoides, siendo el rendimiento más alto de 38,7% con un contenido de THC y CBD en el extracto del 33,3%, en coherencia con los mayores tiempos de interacción entre el solvente y material vegetal dado que se trata de un proceso de extracción iterativa. En contraste, la SFE con CO₂ dio lugar a una selectividad mucho mayor respecto a la extracción de los metabolitos de interés; el rendimiento máximo de 6,3% se obtuvo a 45°C y 250 bar durante 2 horas con un contenido de THC y CBD en el extracto de 54,2%, mientras que el mayor contenido de cannabinoides con SFE fue de 63,1% de THC y CBD en el extracto. Las conclusiones destacaron las ventajas del SFE en términos de selectividad, tiempo de extracción y capacidad de ajuste fino, aunque se identificaron desafíos operativos y costos iniciales elevados. El análisis cromatográfico confirmó la superioridad del SFE en la especificidad de recuperación de cannabinoides, consolidando su aplicabilidad en la industria de extracción de bioactivos de alto valor.

***Palabras clave* — Fluido supercrítico, extracción de cannabinoides, cannabis, rendimiento, Soxhlet, análisis cromatográfico, perfil de cannabinoides.**

ABSTRACT

Equipos Ingeniería y Análisis (EIA) teams developed a supercritical fluid extraction (SFE) equipment evaluate its performance in cannabinoid extraction and its efficiency against traditional methods like Soxhlet. The methodology used included decarboxylation, crushing, sieving of plant material, with an experimental design of response surface for SFE. Soxhlet extraction was performed with 93% ethanol for 12 hours, while SFE used CO at different pressure (250-350 bar), temperature (35-55 °C) and time combinations (0,5-2 hours) on three levels. The results showed that the Soxhlet technique allows to obtain much higher yields in terms of cannabinoid extraction, with the highest yield being 38,7% with a THC and CBD content in the extract of 33,3%, consistent with the longer interaction times between solvent and plant material since it is an iterative extraction process. In contrast, SFE with CO resulted in much greater selectivity for the extraction of metabolites of interest; maximum yield of 6,3% was obtained at 45°C and 250 bar for 2 hours with a THC and CBD content in the extract of 54,2%, while the highest cannabinoid content with SFE was 63,1% of THC and CBD in the extract. The chromatographic analysis confirmed the superiority of SFE in the specificity of cannabinoid recovery, consolidating its applicability in the high-value bioactive extraction industry.

Keywords — **Supercritical fluids, cannabinoid extraction, cannabis, yield, Soxhlet, chromatographic analysis, cannabinoid profile.**

I. INTRODUCCIÓN

La planta de *Cannabis Sativa sp.*, en las últimas décadas ha generado mucho interés por tener múltiples aplicaciones, tanto por su matriz vegetal como sus extractos [1]. La apertura normativa en diversos países incluida Colombia, a despenalizado el uso medicinal de la planta, permitiendo que cada vez se investigue más para diversos fines, como nuevos medicamentos, cosméticos, remedios a base de hierbas, biocombustibles, alimentos, materiales de construcción, papel, entre otros [2],[3],[4]. Los efectos medicinales de los metabolitos de *Cannabis* se denominan cannabinoides, son específicos de la planta de Cannabis y se les atribuyen los efectos medicinales[5], entre los múltiples cannabinoides presentes en la planta hay dos que han sido el foco principal de la investigación bioactiva, el Δ^9 -Tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) el cuál posee efectos psicoactivos y el Cannabidiol (CBD) tiene efectos reguladores del sistema inmunológico, principalmente antiinflamatorios y anti convulsionantes [6]. Estos cannabinoides están presentes de forma natural en la planta como sus análogos ácidos Δ^9 -Ácido tetrahidrocannabinólico (THCA) y ácido cannabidiólico (CBDA). El THCA y el CBDA son los principales cannabinoides que se encuentran en el cannabis, aunque se han informado más de 90 cannabinoides [7]. Los ácidos se degradan naturalmente a las especies neutras correspondientes a un ritmo lento mediante procesos no enzimáticos [8]. Para obtener los cannabinoides en su forma neutra es necesario hacer un proceso de descarboxilación asistida la cual consiste en calentar el material a 105°C durante 2 horas, logrando que las formas ácidas de todos los cannabinoides se vuelvan neutras esto con el fin de disminuir la polaridad de estos, siendo un fenómeno reportado ampliamente en literatura [9].

Algunos de los métodos para obtener los cannabinoides de la planta son procesos de extracción en los cuales se pueden usar diferentes metodologías. Estas pueden incluir solventes como el etanol, mecánicas como las prensas y con sistemas de gases presurizados como el butano o el dióxido de carbono supercrítico [10],[6].

Una técnica clásica de extracción con solventes es la extracción Soxhlet, que constituye una de las metodologías más empleadas para la obtención de extractos. Actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. En este método se pueden usar diferentes solventes como lo son acetato de etilo, hexano, etanol, entre otros. Consiste en poner el disolvente en un matraz, aumentar su temperatura, condensar y dejar caer gota a gota sobre el material vegetal extrayendo los metabolitos solubles en el solvente empleado, según

estudios previos el mejor rendimiento se obtiene con etanol como solvente durante 12 horas teniendo un porcentaje de recuperación de extracto de 37,16% [11].

El uso del dióxido de carbono como solvente, en su punto crítico (31,06°C, 73,83 bar) con una densidad de 0,466 g/mL [12], [13] tiene la capacidad de difundirse a través de otros materiales e interactuar con sustancias afines a su polaridad, lo que permite extraer los cannabinoides de la planta de cannabis con una selectividad según las condiciones supercríticas del CO₂, en los cuales se obtienen en menor proporción clorofilas, flavonoides, carbohidratos, proteínas, entre otros, que si se obtienen en los extractos obtenidos con otras técnicas [14].

Las extracciones con dióxido de carbono supercrítico (SFE) satisface las demandas del mercado de consumo de extractos ricos en cannabinoides con la ventaja de ser producidos a partir de una tecnología ecológica, sostenible y libre de solventes residuales; enfocando la extracción al procesamiento de Cannabis para obtener sus valiosas propiedades farmacéuticas [15]. Las SFE proporcionan varias ventajas operativas, como la preservación de compuestos termosensibles utilizando bajas temperaturas y la reducción de los costos operativos y tiempos de extracción [16]. SFE utiliza fluidos en rangos de presión y temperatura superiores a su valor crítico, explorando así sus propiedades fisicoquímicas intermedias entre las de líquidos y gases. Al manejar la presión y la temperatura, la densidad y difusión del fluido supercrítico se pueden ajustar para permitir extracciones selectivas [15].

En este contexto, la presente investigación busca realizar un estudio comparativo de diferentes condiciones de operación para la extracción de cannabis en un equipo de extracción de fluidos supercríticos elaborado por la empresa Equipos Ingeniería y Análisis (EIA)¹ en Medellín Colombia. Este equipo opera por lotes, lo que quiere decir, que cuando la columna o cámara de extracción se encuentra a una temperatura y presión uniforme, se considera que es una única etapa teórica sin reflujo y sin alimentación continua [17].

Con el fin de producir extractos de *Cannabis Sativa sp.*, de alto valor agregado, teniendo en cuenta el porcentaje de recuperación y el porcentaje en peso de cannabinoides principales obtenidos a partir de inflorescencias de cannabis, esta investigación pretende la optimización del proceso de extracción en el equipo de fluidos supercríticos diseñado y fabricado por EIA, determinando las condiciones de presión, temperatura y tiempo de operación en los que se obtenga el mayor rendimiento junto con una buena selectividad a los cannabinoides objetivos.

¹ EIA Equipos Ingeniería Y Análisis S A S. Dirección: Calle 45 E 76 30. Teléfono: 3227403173. Medellín Colombia.

Para mejorar la solubilidad de los compuestos de interés en los extractos obtenidos con CO₂, la temperatura y la presión son las variables que más afectan la densidad del gas en condiciones supercríticas. Al disminuir la temperatura y aumentar la presión se obtiene una mayor densidad, en consecuencia, mayor solubilidad de los compuestos y mejor rendimiento de extracción [18]. La metodología general comprende la descarboxilación, trituración y tamizaje del material vegetal, seguido de extracciones comparativas mediante Soxhlet y SFE, utilizando un diseño experimental de superficie de respuesta para optimizar las condiciones operativas.

Los resultados preliminares indican que el SFE es más eficiente que el método Soxhlet, con un rendimiento máximo de extracción a temperaturas y tiempos elevados, además permite una extracción selectiva de cannabinoides. La SFE es una técnica superior en términos de eficiencia, tiempo de extracción y capacidad de ajuste fino, aunque presenta desafíos operativos y costos iniciales elevados, sin embargo, si se desea recuperar la totalidad de los cannabinoides contenidos en la matriz sólida la extracción Soxhlet presenta la recuperación total de los compuestos de la planta, lo que indica que contiene todos los cannabinoides, pero también otros compuestos de menor interés.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente, el sector farmacéutico y sanitario está innovando mediante el uso de extractos de cannabis, debido a que estos poseen propiedades medicinales y aplicaciones de diversa índole. El proceso de extracción de cannabinoides es crucial para satisfacer la creciente demanda de la industria del cannabis y del ámbito médico. La selección de un buen método de extracción permite obtener concentrados puros y estandarizados, garantizando consistencia y dosificación precisa en un producto final. Además, la eliminación de impurezas mejora la calidad del producto y es esencial para la investigación científica y el desarrollo de nuevas terapias.

Los cannabinoides son compuestos químicos que interactúan con los receptores del sistema endocannabinoide en el cuerpo humano, se encuentran principalmente en la planta de Cannabis Sativa. En la extracción de cannabinoides se pueden obtener extractos con diferentes características según la metodología empleada. El perfil de cannabinoides en un extracto se refiere a la composición y concentración de la variedad de cannabinoides presentes. Un extracto de espectro completo de cannabis es un producto que contiene la gama completa de compuestos naturales en la planta, incluidos todos los cannabinoides, terpenos, flavonoides y otros compuestos fitoquímicos. Estos extractos se obtienen a través de métodos de extracción que preservan la integridad de los compuestos.

Algunos métodos producen un mejor perfil de cannabinoides, otros logran rendimientos más altos o niveles de pureza superiores, hay extractos libres de terpenos o con el espectro completo, la variación de la composición de los extractos debe tenerse en cuenta según el uso que se les dará.

Los procedimientos de extracción utilizados generalmente consumen tanto tiempo como disolventes. En la mayoría de los casos, gran parte del tiempo de análisis está dedicado al proceso de extracción y preparación de muestras, y un porcentaje del error es debido a la manipulación de la materia vegetal durante esta ejecución. La mejora y automatización de la etapa de extracción pueden reducir el tiempo necesario y aumentar la fiabilidad del análisis y de los resultados.

Tradicionalmente la extracción de cannabinoides se ha realizado mediante el método Soxhlet, que utiliza disolventes orgánicos y da como resultado un extracto crudo con espectro completo, es decir con la mayor cantidad de compuestos de la materia prima en el extracto. Los extractos son mezclas complejas y un extracto con mayor cantidad de los compuestos resultará en

la presencia de sustancias de poco interés y posteriormente requerirá la purificación y eliminación de compuestos para aumentar la calidad del extracto.

Para mejorar la calidad y eficiencia de la extracción se ha implementado el uso de dióxido de carbono (CO₂) en estado supercrítico. Este método ofrece ventajas como el comportamiento de un líquido y un gas simultáneamente según su condición supercrítica. Además, al ser un compuesto de carácter no tóxico es más amigable con el medio ambiente y de esta manera tiene la capacidad para obtener extractos más puros.

Pese a que la extracción con CO₂ supercrítico es beneficiosa, la obtención de un equipo de fluidos supercríticos a nivel nacional es complejo y costoso. La empresa Equipos, Ingeniería y Análisis con sede en Medellín, se dedica a la fabricación equipos a nivel nacional y ha construido uno de fluidos supercríticos. Sin embargo, este equipo no ha sido validado de manera integral en el contexto de la extracción de Cannabinoides, por lo tanto, existe la necesidad de estudiar en profundidad las condiciones óptimas de extracción que maximicen el rendimiento y el perfil de los cannabinoides obtenidos en el extracto, en comparación con el método tradicional Soxhlet.

A. Antecedentes

La evidencia física más antigua del consumo de cannabis data del 2727 a.C., y describe los efectos medicinales y psicoactivos en los humanos. A lo largo de los años, su uso se fue extendiendo en Asia y Europa y fue llevado a América en 1619 d.C., principalmente para aplicaciones en la industria textil [19]. El cannabis ha sido usado ampliamente a través de la historia, con aplicaciones en diversas culturas para tratar una variedad de afecciones. Durante el siglo XIX, las tinturas de cannabis eran comunes en las farmacias y sus aplicaciones estaban descritas en la farmacopea americana para la migraña, la depresión, dolor, entre otros síntomas [20], [21]. Investigaciones científicas han confirmado muchas de las propiedades terapéuticas del cannabis, como los efectos antiinflamatorios, analgésicos y neuroprotectores [22].

En 1937, la Ley del impuesto sobre la marihuana prohibió efectivamente el consumo y la venta de cannabis en los Estados Unidos; este documento fue reemplazado en la década de 1970 por la Ley de Sustancias Controladas, que clasificó el cannabis como una sustancia de la lista I (mayor peligrosidad y potencial de acción). Sin embargo, en 1996, California fue el primer estado

(de 37 actuales) en legalizar el uso del cannabis con fines médicos en Estados Unidos y 18 estados tienen legalizado el cannabis para uso adulto [5], [6].

En Latinoamérica Uruguay fue el primer país en legalizar completamente el cannabis en 2013, permitiendo la producción, venta y consumo. México aprobó la legalización de cannabis para uso recreativo en el 2021, aunque la implementación de la ley aún está en proceso; Argentina y Chile permiten el uso medicinal y ha despenalizado el cultivo para uso personal; Perú permite el uso medicinal y la importación y actualmente rige la resolución número 227 del 2022 para la regulación y permisos para nivel investigativo y medicinal de productos derivados del cannabis. En Colombia entró en vigencia la ley 1787 de 2016 que establece que “los ministerios de Justicia y del Derecho, Salud y Protección Social, y Agricultura y Desarrollo Rural, conjuntamente reglamentarán lo concerniente a la importación, exportación, cultivo, producción, fabricación adquisición a cualquier título, almacenamiento, transporte, comercialización, distribución, uso de las semillas de la planta de cannabis y de sus derivados, para fines médicos y científicos, así como los productos que los contengan y el establecimiento, conservación, financiación y explotación de cultivos de cannabis”. Desde entonces, en Colombia se ha desarrollado una industria legal de cannabis medicinal y científico [25]–[27]. Las regulaciones actuales exigen estándares rigurosos de calidad y consistencia, impulsando la necesidad de métodos de extracción más avanzados y eficientes.

Los métodos de extracción de cannabinoides incluyen la extracción con solventes (etanol, butano, propano), extracción mecánica, arrastre por vapor o métodos más novedosos como la extracción asistida por microondas, la extracción con fluidos supercríticos, iónicos y ultrasónicos. Cada técnica tiene sus ventajas y desventajas en términos de eficiencia, costos y seguridad. Además, deben cumplir con las normativas de seguridad y calidad para garantizar la reproducibilidad y pureza del extracto [10], [11]. Las tecnologías ecológicas, como la extracción supercrítica y la extracción por microondas, son buenas alternativas para obtener extractos resultantes sin disolventes [30].

Tradicionalmente, la extracción de cannabinoides se ha realizado mediante el método Soxhlet, que da un extracto completo, pero presenta limitaciones significativas, como lo es el uso de disolventes orgánicos, la obtención de extractos impuros y riesgos de la toxicidad e inflamabilidad [31].

La industria del cannabis ha presentado un crecimiento exponencial tanto en el ámbito medicinal como en el recreativo, lo cual ha hecho surgir una demanda creciente por productos de alta calidad [32]. La extracción con fluidos supercríticos (SFE) es una tecnología utilizada a gran escala para la extracción de aceites esenciales y una gran variedad de componentes bioactivos de matrices vegetales. El principal disolvente supercrítico (SC) utilizado es el dióxido de carbono (CO₂), un disolvente GRAS (generalmente reconocido como seguro por sus siglas en español) económico y con propiedades fisicoquímicas muy conocidas, es reciclable, económico, relativamente inerte y no inflamable [19], [33]. El CO₂ alcanza su estado supercrítico a 304,25 K y 7,39 MPa y regresa al estado gaseoso en condiciones ambientales, lo que permite una recuperación sencilla del soluto proporcionando un producto libre de disolventes. Mediante cambios sensibles de presión y temperatura se puede ajustar la concentración del CO₂; este cambio en el medio proporciona, hasta cierto punto, selectividad al proceso de extracción. La baja polaridad del SC CO₂ se puede superar empleando modificadores polares (alcoholes, agua, ácidos, etc.) como disolventes, ampliando en consecuencia el rango de extracción para incluir más componentes polares [34], [35].

En el 2011, H. Perrotin-Brunel et al., realizó un estudio de la purificación de tetrahidrocannabinol (THC) a partir de cannabinoides extraídos en diferentes condiciones de SF mediante extracción de fase sólida (SPE), en el cuál con un flujo constante durante 4h, tomando muestra cada 30 min para analizarlas en por cromatografía líquida HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) la cual para separar los componentes del extracto, tenía una columna analítica Vydac (Hesperia,CA) y una fase móvil compuesta por una mezcla de etanol, agua destilada y tetrahidrofurano en las proporciones v/v/v=10/4/1 y un detector UV-VIS (modelo 340-Varian), que registraban la solubilidad de cada cannabinoide. Cuando la concentración medida entre muestras no variaba, se registraba el valor de la solubilidad de cada metabolito en la condición específica de presión (11,3 a 20,6 MPa) y temperatura (315, 326 y 334 K). El resultado es que el comportamiento de solubilidad del CO₂ del cannabigerol (CBG) muestra similitudes con el (Δ^9 -THC) es mayor a la presión y temperatura más alta de los experimentos [36].

En el 2020, S. Rochfort *et al.*, reportó un estudio para la extracción repetida de grandes cantidades de cannabis (15 kg en total) con una relación de THC:CBD de 1;1,5. Se determinó que se obtiene un rendimiento mayor (7,1%) en la extracción de cannabis con un alto caudal (150g/min) de CO₂ a alta presión (320 bar) con un tiempo de extracción prolongado (600 min) [1].

En el 2021, U. Kargılı and E. Aytaç, desarrolló un estudio que mostró el efecto de la variabilidad del rendimiento de CBD y THC en el extracto obtenido por SFE de cuatro variedades plantadas con diferentes condiciones climáticas. Las condiciones de extracción se hicieron con presiones de 15 y 33 MPa y temperaturas de 40 y 30 °C, con y sin presencia de etanol como cosolvente. Los mayores rendimientos de CBD y THC se obtuvieron de una variedad con 90,82% THC, 3,71% CBD a las condiciones de 40°C y 33MPa durante 2h usando etanol al 2% en peso. La presión parece ser el parámetro más importante para el rendimiento de la extracción. Además, se observó que el rendimiento del cannabis cultivado en las regiones con más lluvia, menor temperatura y mayor humedad relativa tuvo mayor rendimiento [37].

Existen a modo investigativo revisiones de la extracción de cannabinoides de cannabis sativa l. empleando fluidos supercríticos en el cual se revisa los avances en la extracción de cannabinoides de la planta de cannabis utilizando fluidos supercríticos, con un enfoque en la situación en Colombia [38]. A nivel nacional se ha hecho investigación también sobre la variabilidad de los extractos obtenidos a partir de semillas de Cannabis [38]. Investigaciones recientes han modelado y simulado la extracción de cannabinoides usando diferentes ecuaciones de estado para extracciones con fluidos supercríticos y comparándolas con otras metodologías [39]. Entre otras investigaciones, Viera Dos Santos, et al., hacen una revisión de literatura sobre la aplicación de fluidos supercríticos para la extracción de cannabinoides en Brasil [40]. Estos estudios no solo destacan el progreso científico y tecnológico en la extracción de cannabinoides, sino que también apuntan hacia una industria más sostenible y eficiente.

La ley vigente para las licencias, cupos y autorizaciones para el acceso seguro e informado al uso del cannabis y de la planta de cannabis, sus derivados y productos, y se establecen otras disposiciones está establecida por la Resolución número 227 de 2022. La Resolución N° 1134 de 22 de noviembre de 2021 inscribió a la Universidad de Antioquia para el uso legal de ciertas sustancias reguladas por el Fondo Nacional de Estupefacientes [41].

III. JUSTIFICACIÓN

La extracción eficiente y selectiva de cannabinoides de las plantas de cannabis es de gran importancia debido a las propiedades terapéuticas y medicinales de estos compuestos. Los cannabinoides han demostrado tener efectos beneficiosos en el tratamiento de diversas condiciones médicas, como el dolor crónico, la epilepsia y los trastornos del sueño. Sin embargo, las técnicas tradicionales de obtención de extractos hacen que sea difícil obtener extractos puros; por lo tanto, el posterior uso del extracto puro favorece la seguridad y la eficacia de los productos, así como sus aplicaciones terapéuticas y farmacéuticas.

El método tradicional Soxhlet para la extracción de cannabinoides presenta limitaciones significativas en términos de selectividad. Aunque con esta metodología se pueden obtener mayores cantidades de extracto, la composición de este puede variar considerablemente dependiendo de la composición del material vegetal seleccionado para extraer. Los compuestos presentes en el extracto pueden incluir no solo el perfil deseado de cannabinoides, sino también terpenos, flavonoides y otros compuestos bioactivos como clorofila, ácidos grasos, vitaminas y minerales. Estos compuestos adicionales, aunque bioactivos son considerados impurezas en el contexto de la extracción de cannabinoides, ya que los extractos de mayor pureza y concentración de cannabinoides son más valorados por sus propiedades terapéuticas específicas. Por lo tanto, los extractos obtenidos mediante el método Soxhlet requieren pasos adicionales de purificación para eliminar estas impurezas, lo cual puede aumentar los costos junto con el tiempo de procesamiento. Además, el uso de disolventes orgánicos en el método Soxhlet plantea riesgos ambientales y de seguridad, lo que subraya la necesidad de métodos de extracción más eficientes y sostenibles [1].

La implementación de la tecnología de fluidos supercríticos en Colombia, aunque prometedora, enfrenta desafíos debido a los altos costos y la complejidad de adquirir y operar estos equipos. Sin embargo, la empresa Equipos, Ingeniería y Análisis ha dado un paso significativo para la ingeniería colombiana fabricando un equipo de fluidos supercríticos a nivel nacional.

La evaluación de desempeño de un equipo nacional de fluidos supercríticos no solo beneficiará a la industria del cannabis en Colombia, al reducir la dependencia de tecnologías importadas y sus costos asociados, sino que también impulsará la innovación local y fortalecerá la capacidad de producción nacional de extractos de alta calidad. Además, proporcionará una

herramienta valiosa para la investigación científica, permitiendo estudios más precisos y eficientes sobre las propiedades terapéuticas del cannabis.

La optimización de las condiciones de operación del equipo de fluidos supercríticos nacional es fundamental como herramienta para mejorar la eficiencia y la pureza de los extractos de cannabinoides en Colombia. Esto beneficiaría tanto a la industria del cannabis como a la investigación científica, impulsando el desarrollo de nuevas terapias y productos de alta calidad, mientras satisface la demanda del mercado de manera más sostenible y económica. Representa una oportunidad única para investigar y optimizar las condiciones de extracción utilizando este equipo, en comparación con el método tradicional Soxhlet.

IV. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Evaluar el desempeño de un equipo de extracción de fluidos supercríticos con CO₂ construido con tecnología y diseño nacional, mediante un estudio integral utilizando cannabis como matriz de estudio bajo diferentes condiciones.

B. Objetivos específicos

- Determinar las condiciones óptimas de temperatura, presión y tiempo de extracción que maximicen el rendimiento de los cannabinoides extraídos de la planta de cannabis.
- Realizar análisis detallados de los perfiles de cannabinoides obtenidos en función de las diferentes combinaciones de temperatura, presión y tiempo, con el fin de identificar las condiciones que permitan la extracción selectiva de compuestos específicos.
- Evaluar la calidad de los extractos resultantes en términos de perfil de cannabinoides y compararlos con los obtenidos mediante el método de extracción Soxhlet como referencia.
- Maximizar el proceso de extracción de cannabinoides con CO₂ supercrítico en términos de porcentaje de recuperación mediante un análisis estadístico.

V. MARCO TEÓRICO

Cannabis

Cannabis sativa sp. comúnmente conocida como marihuana, dagga o cáñamo, es una planta anual dioica y dicotiledónea perteneciente a la familia Cannabaceae y al género cannabis [42]. El cannabis es una planta ampliamente distribuida encontrándose en una variedad de hábitats y altitudes [43]. Su uso por parte del hombre se remonta a más de 5000 años siendo una de las plantas más antiguas de alimento y fibra textil. El cultivo de *Cannabis sativa sp* para fibra textil se originó en Asia occidental y Egipto [7], hoy en día, cannabis sativa se cultiva abiertamente en más de 86 países de África, América, Asia y Europa [44]. El cannabis también ha sido indicado para tratamientos del dolor, glaucoma, náuseas, depresión y neuralgia. También se ha informado el valor terapéutico de los fitocannabinoides para el manejo de los síntomas del VIH, tratamientos de la esclerosis múltiple, entre otros [45],[46]. En los textos de la medicina Ayurvédica, se describen por primera vez tres preparaciones de *Cannabis sativa*: el "bhang", preparado con las hojas secas; el "ganja", preparado con flores femeninas secas; y, el "charas", que es la resina que se encuentra en las hojas [47]. El cannabis es una planta dioica, es decir, tiene flores masculinas y femeninas en plantas separadas; la planta masculina tiene flores estaminadas y las femeninas tiene flores postiladas que eventualmente se convierten en flores; la única función de las plantas masculinas es polinizar a las hembras, luego de esto las plantas masculinas se marchitan y mueren, mientras que las hembras ya polinizadas forman semillas [48].

La composición química de esta especie se ha estudiado ampliamente. Se han identificado aproximadamente 500 compuestos, entre los que se encuentran cannabinoides, terpenos, flavonoides, alcaloides, estilbenos, amidas fenólicas y lignanamidas y cannabinoides exógenos o fitocannabinoides [47],[11]. Las concentraciones de estos compuestos encontrados en la planta dependen del tipo de tejido, edad, variedad, condiciones de crecimiento como nutrición, humedad, niveles de luz, tiempo de cosecha y condiciones de almacenamiento [49]. Los cannabinoides son los compuestos más estudiados del cannabis, los cuales corresponden a compuestos terpenofenólicos con 22 carbonos (o 21 en la forma neutra), los compuestos neutros se forman por descarboxilación de los ácidos correspondientes inestables, aunque parte de la descarboxilación ocurre en la planta viva, esta aumenta durante el almacenamiento después de la cosecha especialmente a temperatura elevadas. La planta de *Cannabis* se caracteriza por poseer unos apéndices denominados tricomas glandulares, los cuales se presentan en mayor medida en las

plantas hembra en sus flores o inflorescencias y en menor cantidad en las brácteas y sus hojas, en los cuales se presentan compartimientos de almacenaje donde se hallan células glandulares, con actividad fotosintética con capacidad de secretar diferentes metabolitos secundarios. Los tricomas se clasifican como bulbosos, cistolíticos y glandulares. Los tricomas bulbosos son pequeños en tamaño, presentan menor cantidad de células en el tallo y mayor cantidad en la cabeza globular, por lo general tienen diámetros entre 10 y 20 μm . Los tricomas glandulares sésiles poseen una cabeza globosa de mayor diámetro (<30 μm) y aunque sean definidas como sésiles muestran un tallo pequeño pero espeso, de tal manera que contienen un disco multicelular en el que se encarga de secretar y almacenar metabolitos. Las demás morfologías son responsables de casi toda la producción de cannabinoides, como se muestra en la Ilustración 1 [50], [44].

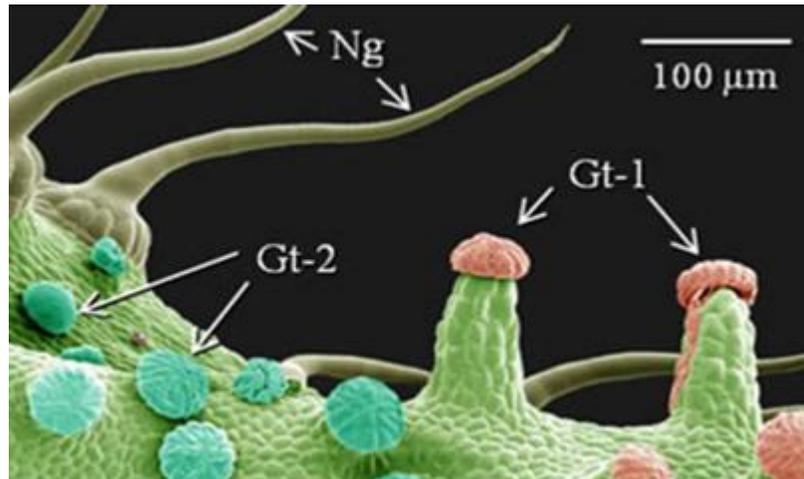


Ilustración 1. Tricomas cistolíticos (Ng), glandulares (Gt-1) y bulbosos (Gt-2) del *cannabis sativa* sp. Tomado de [50]

Fitocannabinoides

Los fitocannabinoides son compuestos terpenofenólicos bioactivos que se encuentran en algunas plantas hepáticas, con flores y hongos [51]. Los precursores de los fitocannabinoides se sintetizan a partir de dos vías, la vía del policétido y la vía del fosfato de desoxixilulosa/metileritritol (DOXP/MEP) [52]. De la vía de los policétidos se deriva el ácido olivetólico y de la vía DOXP/MEP se deriva el difosfato de geranilo (GPP). Ambos son condensados para formar el ácido cannabigerólico (CBGA) [44]. A partir de éste (CBGA) junto con las siguientes enzimas ácido cannabidiólico sintasa, Δ^9 -ácido tetrahidrocannabinólico sintasa y el ácido cannabícroménico sintasa, forman los fitocannabinoides ácido cannabidiólico (CBA),

ácido Δ^9 -tetrahidrocannabinólico (Δ^9 -THCA) y ácido cannabícroménico (CBCA) respectivamente como se muestra en la ilustración 2.

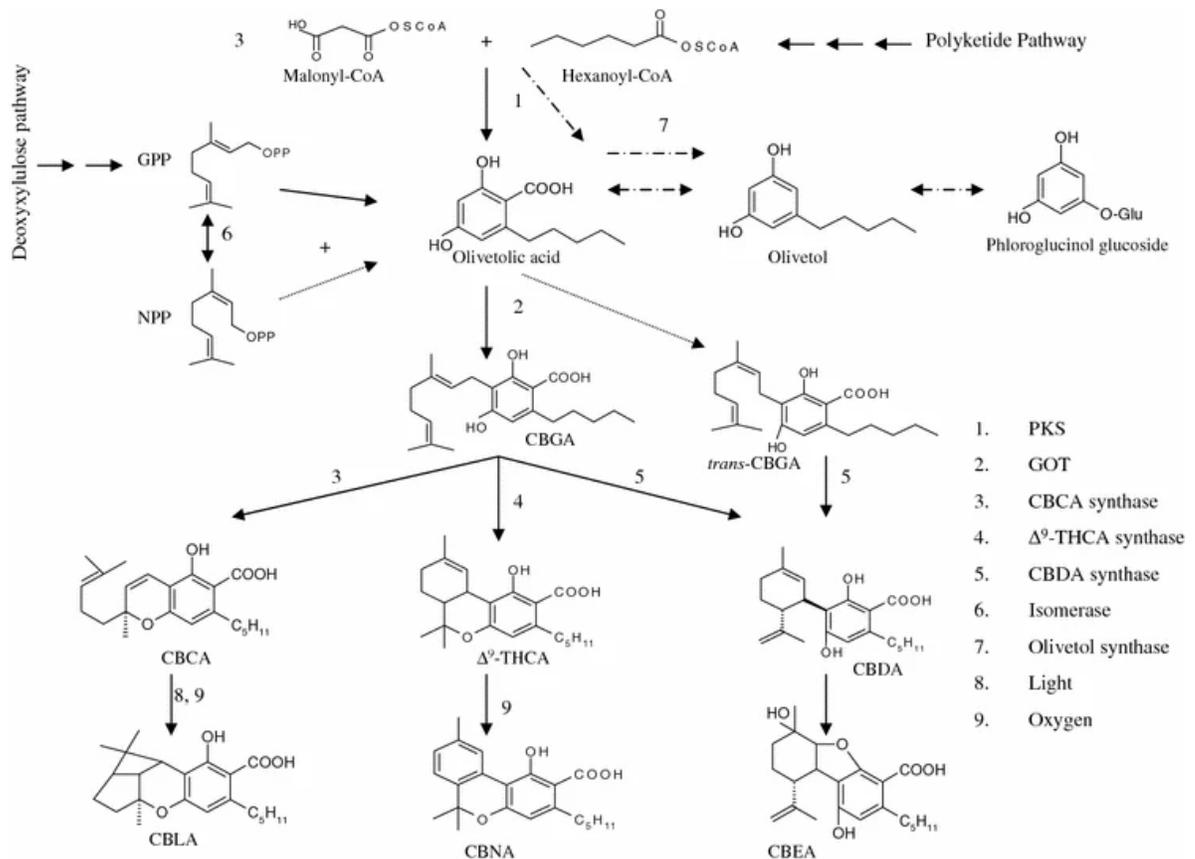


Ilustración 2. Descripción gráfica de la biosíntesis de cannabinoides y rutas putativas. Tomado de [49].

En la literatura se han reportado más de 113 fitocannabinoides diferentes, aunque algunos de ellos son productos de degradación, aún se encuentran en investigación la identificación de más de estos metabolitos secundarios [53],[11]. El cannabis contiene alrededor del 24% de fitocannabinoides del total de productos que se encuentran naturalmente en la planta. El compuesto más conocido y estudiado hasta la fecha es el Δ^9 -Tetrahidrocannabinol que se encuentra en mayor proporción en las plantas de cannabis, siendo de 17,3% del contenido total de fitocannabinoides, seguida por el tipo cannabidiol y cannabigerol en sus formas ácidas. Sin embargo, la proporción de fitocannabinoides encontrados en cada planta de cannabis depende de las condiciones de cultivo, ubicación geográfica, métodos de procesamiento y la variedad o quimiotipo de la planta [54]. Los fitocannabinoides se acumulan en la cavidad secretora de los tricomas glandulares, que se encuentran principalmente en las flores femeninas y en la mayoría de las partes aéreas de las plantas [55]. En la ilustración 3 se puede apreciar una distribución de los fitocannabinoides en los tricomas,

además de mostrar cómo ocurre la síntesis del CBGA con ayuda de las enzimas presentes para formar los fitocannabinoides THCA, CBDA y CBN [44].

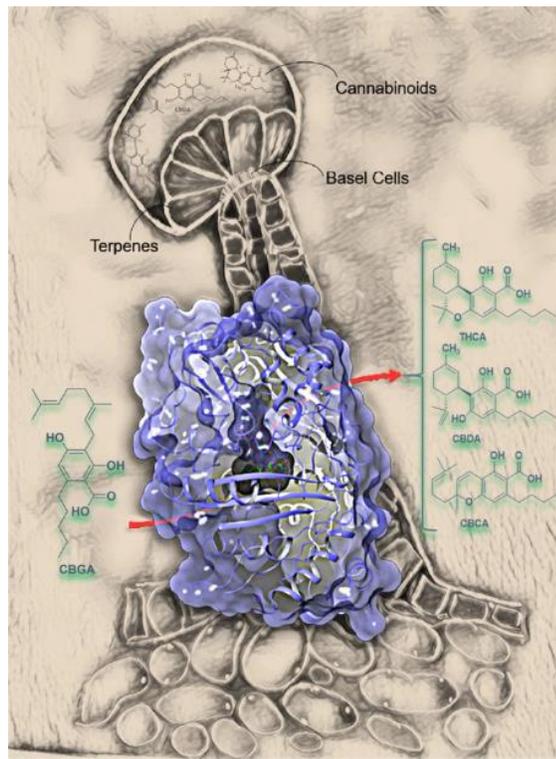


Ilustración 3. Distribución fitocannabinoides en tricomas glandulares. Tomado de [44]

Sistema endocannabinoide

Los mamíferos tienen en el cerebro, sistema nervioso periférico y células del sistema inmune receptores que responden a compuestos que se encuentran en las plantas de cannabis, como lo son Δ^9 -THC, CBN y CBD. En consecuencia, estos receptores se denominan receptores cannabinoides (CB_x) y son la base del sistema endocannabinoide. Estos cannabinoides interactúan particularmente con los receptores CB_1 y CB_2 , siendo el Δ^9 -THC selectivo para el receptor CB_1 generando efectos psicoactivos y el CBD con el receptor CB_2 generando una respuesta antiinflamatoria principalmente. Los estudios en humanos y animales demostraron que el sistema endocannabinoide regula una amplia gama de funciones biológicas, incluida la memoria, el estado de ánimo, los sistemas de recompensa cerebral y la adicción a las drogas, así como procesos metabólicos como la lipólisis, el metabolismo de la glucosa y el equilibrio energético [51].

Descarboxilación ácida de cannabinoides

La descarboxilación ácida de cannabinoides es un proceso químico que implica la eliminación de un grupo carboxilo (COOH) de los cannabinoides ácidos presentes en la planta de cannabis formando así la forma neutra y desprendiendo dióxido de carbono (CO₂), tal como se observa en la ilustración 5. Este proceso convierte los cannabinoides ácidos, como el ácido cannabidiólico (CBDA) y el ácido tetrahidrocannabinólico (THCA), en sus formas activas o neutras, no ácidas, como el cannabidiol (CBD) y el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), respectivamente. La descarboxilación es esencial para activar plenamente los efectos psicoactivos y terapéuticos de muchos cannabinoides, aunque se han atribuido propiedades farmacológicas específicas al CBDA y al THCA, ya que pueden cruzar la barrera hematoencefálica. A diferencia de la descarboxilación ácida de cannabinoides, la mayoría de las otras descarboxilaciones requieren catalizadores [56].

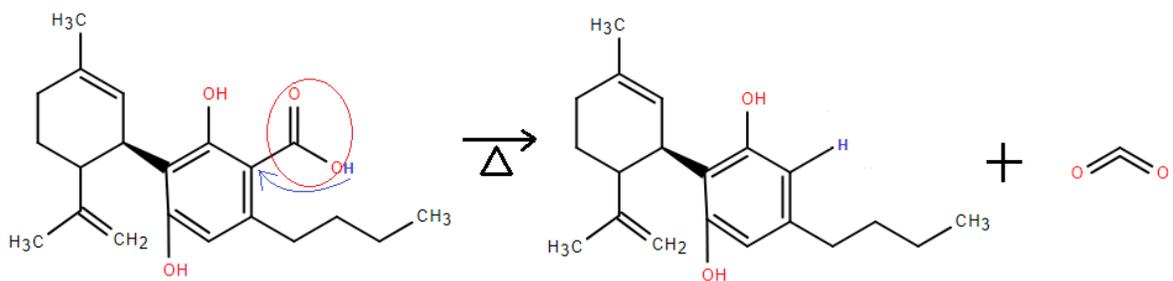


Ilustración 4. Reacción de descarboxilación del CBD

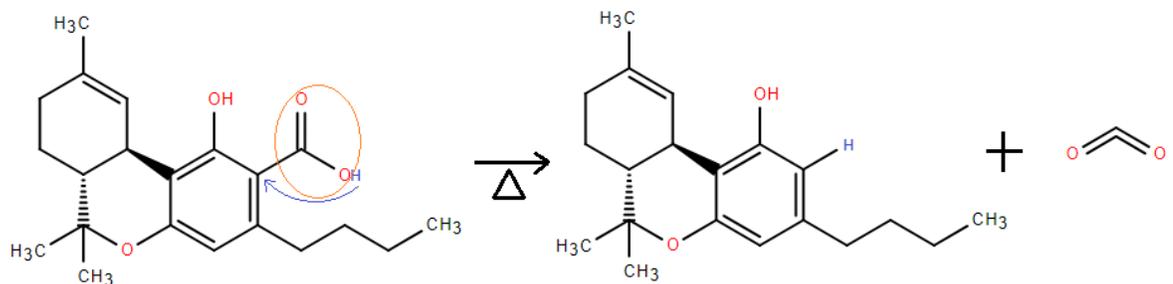


Ilustración 5. Reacción de descarboxilación del THC

El proceso de descarboxilación se puede realizar ya sea sobre el material vegetal antes de la extracción o directamente sobre la oleoresina extraída; sin embargo, generalmente se prefiere el primero ya que se elimina la humedad presente en la planta durante la descarboxilación. Los principales aspectos para tener en cuenta sobre la descarboxilación de fitocannabinoides son según el perfil químico de cada variedad de Cannabis, la temperatura y el tiempo ya que esta ocurre mediante la aplicación de calor, las temperaturas suelen oscilar entre aproximadamente 100 a

150°C (212 a 302°F), dependiendo del cannabinoide ácido específico y del tiempo de exposición, es importante graduar a una temperatura adecuada porque demasiado calor puede degradar otros compuestos y afectar la calidad del producto final [57]. El tiempo necesario para la descarboxilación varía según la temperatura y la cantidad de material que se está tratando, por lo general puede variar de 30 min a horas. Basados en estudios previos para la obtención de una materia vegetal rica en fitocannabinoides neutros GW pharma patentó que las condiciones en que se logra conseguir alta tasa de conversión o descarboxilación son a 120°C durante una hora [9].

Cannabidiol (CBD)

El cannabidiol, comúnmente conocido como CBD, es uno de los muchos compuestos químicos que se encuentran en la planta de cannabis. Es un cannabinoide no psicoactivo y no tiene efectos tóxicos en humanos en dosis de entre 10 y 700 mg [51], lo que significa que no produce un "subidón" ni una intoxicación asociada con otro cannabinoide muy conocido, el tetrahidrocannabinol (THC) [58]. El cannabidiol fue aislado por primera vez por el químico orgánico Roger Adams [59], sin embargo, se han continuado con investigaciones para el aislamiento, efectos terapéuticos, actividad en el sistema endocannabinoide y sus diferentes características fisicoquímicas del CBD. En previas investigaciones se ha estudiado la relación en cuanto a la estabilidad química del Cannabidiol, en las cuales se encontró que esta especie química a pH alcalino tiende a oxidarse a sus respectivas quinonas como se observa en la ilustración 4 [60], mientras que isomeriza a su análogo psicoactivo Δ^9 -THC en medios ácidos y/o mediante tratamiento térmico [61].

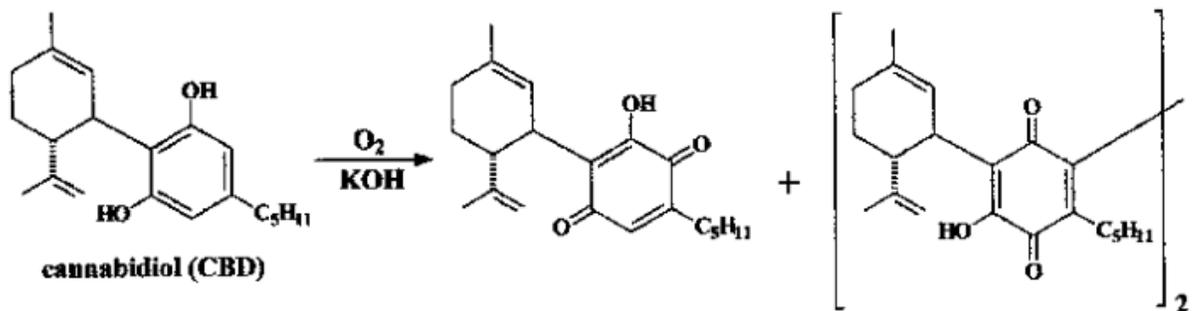


Ilustración 6. Formación de quinonas a partir del CBD [62].

El CBD ha llamado la atención por sus posibles beneficios terapéuticos. Algunos estudios y evidencia anecdótica sugieren que puede ser útil para controlar diversas afecciones, como ansiedad, dolor, inflamación, epilepsia y trastornos del sueño, también se le han asignado propiedades anticonvulsivas, ansiolíticas, antipsicóticas, antinaúicas y antiartritis reumatoide [63],[47]. En la última década ha sido empleado para tratamiento del VIH, fibromialgia [64],[65] y como potencial uso terapéutico en pacientes con cáncer [66] y esclerosis múltiple [67].

El CBD está disponible en varias formas, incluidos aceites, tinturas, cápsulas, comestibles y cremas tópicas. La dosis y la forma adecuadas pueden depender de la condición de salud específica que se esté tratando. Se encuentra en fármacos como el Epidolex, patentado por la farmacéutica británica GW para su uso frente al síndrome de Lennox-Gastaut y el síndrome de Dravet e incluso en casos de epilepsia refractaria [68]; y el Neviot, producido por la compañía Procaps partiendo del desarrollo realizado con el Epidiolex, además de tener uso aprobado en Colombia [69].

El CBD generalmente se considera seguro y los efectos secundarios graves son raros. Sin embargo, algunas personas pueden experimentar efectos secundarios leves como somnolencia, sequedad de boca o cambios en el apetito. Es importante consultar con un profesional de la salud antes de usar CBD, especialmente si está tomando otros medicamentos.

El estatus legal del CBD varía en todo el mundo. En muchos lugares, el CBD derivado del cáñamo con menos del 0,3% de THC es legal, mientras que el CBD derivado de la marihuana puede estar sujeto a regulaciones más estrictas. En Colombia particularmente el cannabis estaba completamente prohibido hasta el 2015 que el gobierno colombiano aprobó la Ley 1787, que autoriza el uso medicinal del cannabis. Esta ley permitió la investigación, producción, fabricación y comercialización de productos medicinales derivados del cannabis. En cuanto al CBD específicamente, el Ministerio de Salud y Protección Social emitió la Resolución 577 de 2017, que regula el uso de derivados no psicoactivos del cannabis con fines medicinales. Esta resolución establece requisitos específicos para la producción, fabricación, comercialización, prescripción y dispensación de productos que contienen CBD u otros cannabinoides no psicoactivos [70].

Extracción de cannabinoides

La extracción de cannabinoides es un proceso crucial en la producción a base de cannabis. Existen diversas técnicas de extracción para la obtención de metabolitos secundarios de cannabis,

cada una con sus propias ventajas y desventajas en términos de eficiencia, pureza y seguridad. En general, la metodología más adecuada para la obtención de un preparado medicinal debe seleccionarse según las características del producto deseado. Entre las diferentes metodologías para el proceso de extracción de cannabis se diferencian en dos categorías, los métodos convencionales como la extracción con disolventes orgánicos o Soxhlet, implican la maceración del material vegetal en un disolvente orgánico; el extracto se concentra destilando el disolvente a presión reducida [71]. En segundo lugar, los métodos más innovadores como la extracción de fluidos supercríticos (SFE) que implica el uso de disolventes presurizados, la extracción asistida por microondas (MAE), extracción asistida por ultrasonido (UAE), extracción de carácter criogénico y extracciones mecánicas. Los rendimientos según cada técnica utilizada varían significativamente, esto se debe a varios factores, como lo son el tipo de inflorescencia, cáñamo o semillas usadas y su respectiva genética [72], debido a esas variaciones es necesario seleccionar aquellos métodos que permitan estandarizar estos procesos de extracción y purificación permitiendo el escalamiento a nivel industrial, para tener productos terminados ricos en fitocannabinoides con variaciones mínimas de los porcentajes de recuperación.

Extracción con Solventes

Se utilizan solventes como etanol, hexano o isopropanol para disolver los cannabinoides en la cual el material vegetal se sumerge en el solvente para extraerlos a través de la absorción. Algunas extracciones con solventes se someten posteriormente a calentamiento, con el fin de reducir la cantidad de solvente en el extracto. Los constituyentes de las especies vegetales originales están sujetos a los efectos combinados del calor y el disolvente pueden llegar a tener modificaciones químicas, de hecho, una de las desventajas de estas técnicas convencionales está relacionada con la termolabilidad de los componentes extraídos, al alterar las estructuras químicas debido a las altas temperaturas aplicadas [71].

Extracción asistida por ultrasonido (UAE)

Se trata de un enfoque que aprovecha las ondas ultrasónicas para mejorar y acelerar el proceso de extracción. Estas ondas tienen frecuencias más altas que el límite superior del rango audible humano, aproximadamente 20,000 Hz. Esta tecnología se reconoce por ser más eficiente en términos energéticos, respetuosa con el medio ambiente y relativamente más limpia [73]. El

aumento en la eficacia de la extracción mediante el uso de ultrasonido se atribuye principalmente al fenómeno de cavitación acústica, que implica la formación y colapso de pequeñas burbujas de gas en el solvente debido al impacto de las ondas ultrasónicas, como se observa en la ilustración 8 [74].

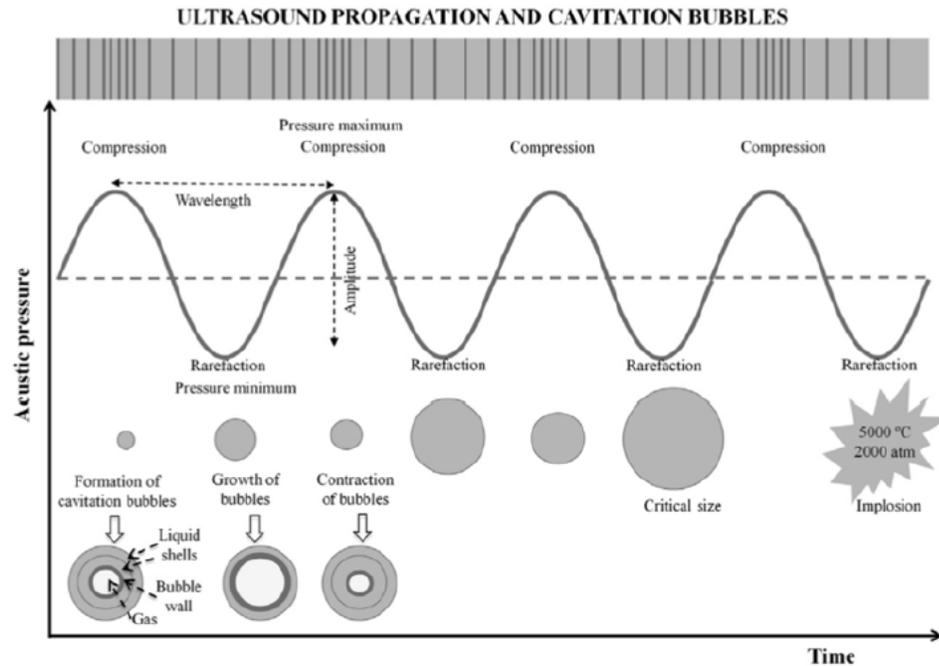


Ilustración 7. Fenómeno de cavitación [11]

El ultrasonido también ejerce un efecto mecánico que facilita la penetración del solvente en el tejido, incrementando la superficie de contacto entre la fase sólida y líquida. Este proceso acelera la difusión del soluto desde la fase sólida hacia el solvente [75], [76]. En consecuencia, las ondas ultrasónicas desempeñan un papel clave al romper las paredes celulares, facilitando así la liberación de cannabinoides [77].

Extracción asistida por microondas MAE

Las microondas son radiaciones no ionizantes que excitan las moléculas del aceite esencial, aumentando así la tasa de extracción, cuanto mayor sea el momento dipolar de la muestra, mayor será su interacción con la radiación incidente. [78], [79]. Las microondas se pueden utilizar junto con la extracción con disolventes, la extracción Soxhlet y destilación [80]. Es importante destacar que la extracción asistida por microondas es un método seguro y respetuoso con el medio ambiente, ya que reduce el uso de disolventes y el consumo de energía, junto con diversos peligros medioambientales, como los residuos químicos. Los estudios de investigación han concluido que

la concentración de metabolitos secundarios en los extractos se puede aumentar utilizando un sistema de extracción asistido por microondas. Las microondas abarcan longitudes de onda, frecuencias y energías fotónicas de $\lambda=[3\text{mm}-0.3\text{m}]$, $\nu=[300\text{GHz}-3000\text{MHz}]$ y $E=[1.24\text{meV}-1.24\mu\text{eV}]$ respectivamente [11].

Esta metodología aprovecha los fenómenos de conducción iónica y rotación dipolar para perturbar las células, permitiendo que el disolvente penetre en la matriz celular por difusión. La concentración de metabolitos secundarios obtenidos está limitada por las características celulares y la capacidad del solvente.

Extracción en Aceite de Oliva

Es un método de extracción no tóxico donde la planta se sumerge en aceite de oliva y se calienta para extraer los cannabinoides, posteriormente se filtra dejando el extracto libre de material vegetal, su uso medicinal es principalmente para uso tópico, puesto que al ingerirse este todavía contiene efectos psicoactivos al contener todos los cannabinoides liposolubles en el extracto.

Extracción con Fluidos Iónicos

La extracción de cannabis con fluidos iónicos es un enfoque que utiliza líquidos iónicos como solventes para extraer compuestos de interés de la planta de cannabis.

Los fluidos iónicos son sales líquidas que consisten en iones y suelen tener propiedades únicas que los hacen atractivos como solventes en algunos procesos de extracción.

El proceso de extracción con fluidos iónicos implica la selección de un fluido iónico apropiado para los compuestos de interés a extraer teniendo en cuenta que los fluidos pueden ser modificados para tener propiedades específicas como afinidad por ciertos compuestos, la preparación de la muestra mediante trituración o molienda, y se debe tener una mezcla controlada de la muestra con el fluido iónico. Los iones en el fluido iónico interactúan con los compuestos de la planta, facilitando la extracción de cannabinoides y otros compuestos deseados. Posteriormente, se puede realizar una separación de fases, recuperar el extracto, evaporar el fluido iónico para obtener un extracto más puro, y realizar análisis y purificación adicionales si es necesario [81].

Entre las ventajas y consideraciones asociadas con este método se encuentran la selectividad, ya que los fluidos iónicos pueden diseñarse para ser selectivos en la extracción de compuestos específicos. Además, algunos fluidos iónicos son menos volátiles y tóxicos que

algunos solventes tradicionales, lo que podría tener beneficios ambientales [82]. Sin embargo, se destaca que el uso de fluidos iónicos puede agregar complejidad al proceso, requiriendo un conocimiento especializado para su aplicación efectiva. Es crucial señalar que el uso de fluidos iónicos en la extracción de cannabis está en una fase de investigación y desarrollo, y su aplicación práctica puede variar, debiendo seguirse las regulaciones y pautas éticas pertinentes al trabajar con cannabinoides y otros compuestos de cannabis.

Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación utilizada para extraer y analizar cannabinoides, entre otros compuestos. Existen varios tipos de cromatografía que se aplican en el campo del cannabis, siendo la cromatografía de fase líquida (HPLC) y la cromatografía de gases (GC) las más comunes. En la HPLC, la muestra se disuelve en un solvente y se inyecta en una columna, donde los cannabinoides se separan según su interacción con una fase estacionaria y una fase móvil líquida, los cannabinoides se separan y se detectan a través de un detector, comúnmente de UV o fluorescencia. Esta técnica es eficaz para analizar THC, CBD y otros cannabinoides en muestras de cannabis [83].

Por otro lado, la cromatografía de gases (GC) volatiliza la muestra e inyecta los cannabinoides en una columna donde se separan según sus propiedades de volatilidad. Empleando una columna capilar y detectores como el de ionización de llama (FID) o de masa (MS), la GC es apropiada para analizar cannabinoides ácidos y compuestos volátiles, aunque se debe tener en cuenta el riesgo de descarboxilación durante el proceso [84]. La preparación de la muestra implica extracción con un solvente adecuado y filtración para eliminar partículas no deseadas, y la interpretación de los resultados se realiza para determinar la concentración de cannabinoides en la muestra. La elección entre HPLC y GC dependerá de los cannabinoides específicos y las condiciones de la muestra, y se debe seguir procedimientos estandarizados para garantizar resultados precisos y reproducibles.

Extracción con Agua

La extracción con agua de cannabinoides es un método que utiliza agua o soluciones acuosas para extraer compuestos de interés, como cannabinoides, de la planta de cannabis. Este proceso implica la trituración de la planta para aumentar la superficie de contacto, seguida de la

mezcla con agua en condiciones controladas. Los cannabinoides, al ser compuestos lipofílicos, se liberan de las estructuras de la planta y se dispersan en el agua. Tras la extracción, se permite una separación de fases, donde los cannabinoides forman una capa en la interfaz agua-aceite, que se recoge como extracto. Aunque presenta ventajas como ser un método sostenible y no tóxico, con menor riesgo de contaminación química, puede tener una eficiencia menor en comparación con solventes más potentes, y algunos compuestos pueden no ser completamente solubles en agua, afectando la recuperación total de cannabinoides. Se pueden realizar pasos adicionales para concentrar y purificar el extracto, adaptándose a aquellos que buscan alternativas más sostenibles y menos dependientes de solventes químicos, pero su eficacia puede variar según los cannabinoides y la composición química de la planta de cannabis utilizada.

Extracción por Prensado

La extracción de cannabis por prensado implica la aplicación de presión mecánica a la planta de cannabis para liberar los aceites y compuestos activos presentes en sus tricomas. Este método, puede emplear prensado en frío o en caliente, el prensado en frío se realiza mediante el uso de prensas hidráulicas o mecánicas que comprimen la materia vegetal a bajas temperaturas. El proceso de prensado genera una resina que contiene cannabinoides, terpenos y otros compuestos bioactivos. La principal ventaja de esta técnica radica en su simplicidad y el uso mínimo de solventes, preservando así los perfiles aromáticos y terpénicos de la planta.

La extracción de cannabis por prensado en caliente o en calor, implica la aplicación de temperatura y presión a las inflorescencias para extraer los compuestos activos, principalmente los cannabinoides, terpenos y flavonoides. Este método se realiza mediante prensas que aplican calor junto con presión simultáneamente, facilitando la liberación tanto de los aceites esenciales como de la resina de la planta. La combinación de temperatura y presión ayuda a aumentar la eficiencia de extracción al acelerar el proceso de liberación de los compuestos deseados [81]. Aunque el prensado caliente es considerado un método más eficiente en comparación con el prensado en frío, es esencial controlar cuidadosamente las condiciones de temperatura y tiempo para evitar la degradación de los compuestos sensibles al calor y garantizar la calidad del extracto final. Este enfoque puede ofrecer una alternativa rápida y efectiva para obtener productos concentrados de cannabis con perfiles específicos de cannabinoides y terpenos.

Extracción Soxhlet

En 1879 se inventó esta técnica de extracción por el químico alemán Franz Ritter von Soxhlet y fue considerada como el estándar de oro en la extracción analítica de sólidos [85]. Es un método clásico de extracción que se ha utilizado en diversos campos para la obtención de aceites esenciales. Actualmente es considerada como el método principal de referencia para comparar otros métodos de extracción [11].

El método es un proceso continuo donde el solvente se recircula a través del material vegetal para mejorar la eficiencia de extracción. Consta de tres partes principales: un matraz, un condensador y un extractor Soxhlet en el que en un dedal de material poroso se ubican los sólidos a extraer, posteriormente se somete a calentamiento el solvente en el matraz, cuando este ebulle y cambia de fase a vapor sube hacia el condensador donde se enfría, desciende gota a gota cayendo al dedal, entrando en contacto con el material vegetal y extrayendo los metabolitos solubles en el solvente empleado, cuando el líquido en el dedal alcanza un nivel de desbordamiento, un sifón aspira todo el contenido del dedal y lo descarga nuevamente en el matraz de destilación, transportando los analitos extraídos en el matraz de ebullición, el proceso se repite hasta que se completa la extracción de metabolitos de la muestra y se concentran en el disolvente, tal como se observa en la ilustración 6. En la medida en que el disolvente actúa por etapas, el conjunto puede considerarse como un sistema por lotes; sin embargo, dado que el disolvente recircula a través de la muestra, el sistema también tiene un carácter continuo.

Para utilizar este método de extracción es importante tener en cuenta el tamaño de partícula, generalmente no debe ser más grande que el del tamaño del café molido (aproximadamente 1000 μm), para partículas muy finas debe ser necesario mezclarse con un material inerte para dispersar la muestra, se deben considerar generalidades de solubilidad del material en el solvente y el impacto ambiental que genera el uso de este solvente, debido a que posterior a la extracción Soxhlet en muchos casos es necesaria la evaporación del disolvente y la limpieza del extracto; el porcentaje de humedad debe ser aproximadamente 10% de contenido de agua, ya que esta afecta directamente a la eficiencia de la extracción. La velocidad de los ciclos de extracción se rige predominantemente por la velocidad del calentamiento del matraz del depósito de disolventes, la manta que calienta el matraz debe programarse para que realice ciclos de 4 a 6 ciclos por hora, si hay una tasa de ciclos más frecuente hay un riesgo de canalización y extracción ineficiente taponando el sifón [85].

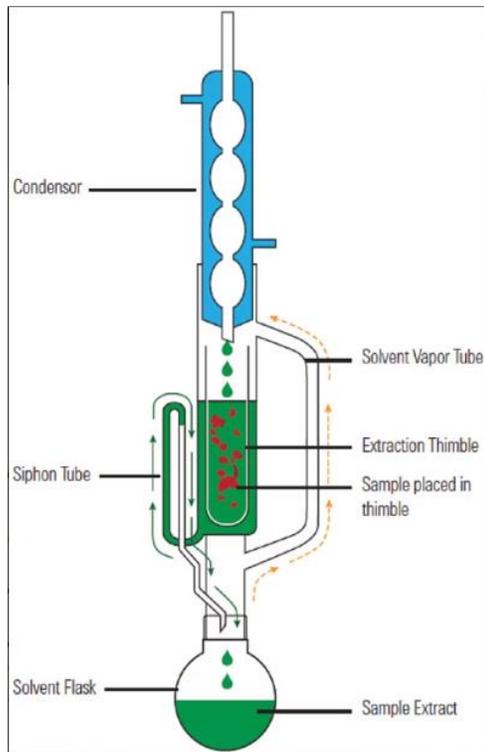


Ilustración 8. Diagrama de extracción Soxhlet [85].

Las ventajas que presenta este método son que la fase de muestra se pone en contacto repetidamente con porciones nuevas del disolvente, de esta manera mejora el desplazamiento del analito de la matriz, la temperatura del sistema es mayor que la temperatura ambiente ya que el calor aplicado al matraz de destilación llega a la cavidad de extracción y no se requiere filtración, pese a esto los inconvenientes principales son que se requieren tiempos prolongados de extracción y la gran cantidad de disolvente orgánico que se puede desperdiciar a la hora de la reducción, que además puede causar contaminación ambiental [86].

Basados en rendimiento el tiempo de extracción es otra variable importante por considerar en este método, en investigaciones previas en el Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares de la Universidad de Antioquia se determinó que se obtiene un porcentaje máximo de recuperación de un 37,16% utilizando etanol durante 12 horas de extracción, mientras que con 8 y 6 horas de extracción se obtienen rendimientos de 35,69% y 34,60% respectivamente [11].

Extracción con fluidos supercríticos (SFE)

Es una técnica avanzada que utiliza un fluido en estado supercrítico, es conocida como la tecnología “verde” emergente, al utilizar solventes seguros y capaces en su estado crítico para

extraer químicos de manera eficiente [87]. Un fluido se encuentra en estado supercrítico cuando se expone a condiciones de presión y temperatura por encima de su punto crítico, lo que le atribuye características entre gas y líquido, como por ejemplo la densidad es mayor que la de un gas y menor que la de un líquido, significa que tiene una mayor capacidad para disolver sustancias como un líquido pero se expande para llenar el espacio como un gas, un fluido supercrítico tiene una solubilidad mejorada comparada con su estado gaseoso, la viscosidad en estado supercrítico es menor que la de un líquido, lo que facilita su flujo a través de materiales y la penetración en pequeñas grietas y poros, la difusividad que consiste en la rapidez con la que un componente se dispersa en otro es mayor en estado supercrítico comparándola con su estado líquido. Todas estas características y propiedades son altamente sensibles a los cambios en la temperatura y la presión, pequeñas variaciones en estas condiciones pueden tener un impacto significativo en las propiedades del fluido supercrítico, es importante tener en cuenta el diagrama de fases del solvente a utilizar, de tal manera que este permite definir las interfases entre los estados de gas, líquido y sólido y el punto en que estos sobrepasan el punto crítico y empieza a tener comportamientos de fluido supercrítico [87]. En la ilustración 7 se puede observar las propiedades físicas típicas de los fluidos gaseosos, líquidos y supercríticos.

State of fluid	Density (ρ , g/cm ³)	Diffusivity (D_{AB} , cm ² /s)	Viscosity (μ , g s/cm)
Gas $p = 1 \text{ atm}; T = 21 \text{ }^\circ\text{C}$	10^{-3}	10^{-1}	10^{-4}
Liquid $p = 1 \text{ atm}; T = 15\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$	1	$<10^{-5}$	10^{-2}
Supercritical $p = p_c; T = T_c$	0.3–0.8	$10^{-3}\text{--}10^{-4}$	$10^{-4}\text{--}10^{-3}$

Ilustración 9. Propiedades físicas típicas de los fluidos gaseosos, líquidos y supercríticos [88].

Se han empleado varios fluidos en el proceso SFE, como el eteno, agua, metanol, dióxido de carbono, óxido nitroso, hexafluoruro de azufre, n-buteno y n-pentano. El dióxido de carbono es el más utilizado debido a su temperatura crítica moderada (31,3°C) y presión (72,9 atm), a temperatura ambiente es un gas, por lo que una vez finalizada la extracción y descomprimido el sistema se consigue una eliminación sustancial del CO₂ sin residuos y obteniéndose un extracto libre de solventes [88]. El CO₂ se utiliza en un estado supercrítico para actuar como solvente, siendo selectivo para disolver sobre todo sustancias apolares; empleando un cosolvente o modificador completamente miscible en CO₂ es posible lograr que con CO₂ se solubilicen compuestos de

naturaleza polar. El CO₂ es el solvente supercrítico más usado al ser económico, abundante y a escala industrial cuando el consumo de este es alto, se puede reutilizar teniendo así bajo impacto ambiental [89]. En la ilustración 8 se puede observar el diagrama de fases del CO₂.

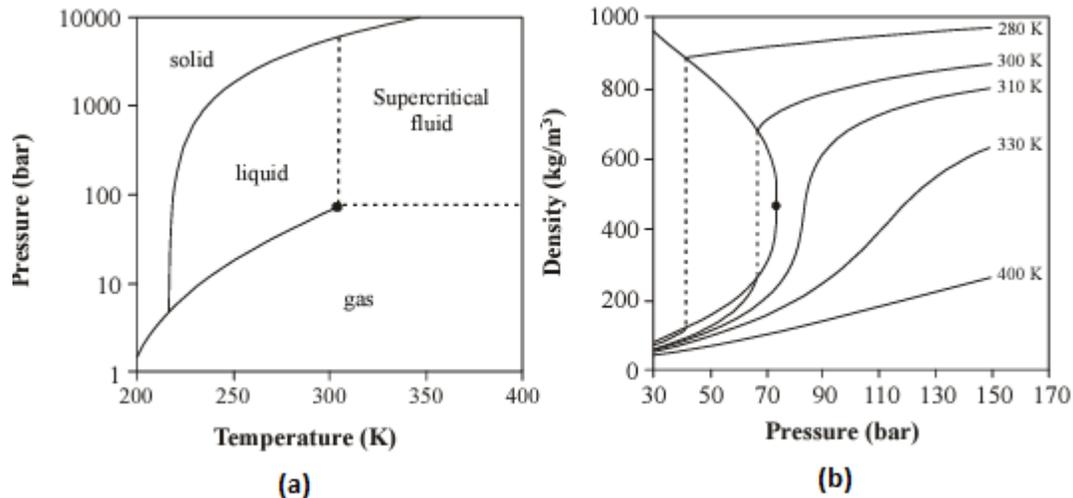


Ilustración 10. (a) Diagrama de fases de presión y temperatura de dióxido de carbono y (b) Diagrama de fases de presión y densidad del dióxido de carbono [90].

En el diagrama de fases presión-temperatura (a), la ebullición separa la región gaseosa y líquida y termina en el punto crítico, donde las fases líquida y gaseosa desaparecen para convertirse en una única fase supercrítica. Esto se puede observar en el diagrama de fases densidad-presión del dióxido de carbono, como se muestra en la (b). Muy por debajo de la temperatura crítica, 280 K, a medida que aumenta la presión, el gas se comprime y eventualmente (a poco más de 40 bar) se condensa en un líquido mucho más denso, lo que resulta en la discontinuidad en la línea (línea de puntos vertical). El sistema consta de 2 fases en equilibrio, un líquido denso y un gas de baja densidad. A medida que se acerca la temperatura crítica (300 K), la densidad del gas en equilibrio se vuelve más densa y la del líquido menor. En el punto crítico (304,1 K y 7,38 MPa (73,8 bar)), no hay diferencia de densidad y las 2 fases se convierten en una fase fluida. Por tanto, por encima de la temperatura crítica, un gas no puede licuarse mediante presión. Ligeramente por encima de la temperatura crítica (310 K), en las proximidades de la presión crítica, la línea es casi vertical. Un pequeño aumento de presión provoca un gran aumento de la densidad de la fase supercrítica. Muchas otras propiedades físicas también muestran grandes gradientes con la presión cerca del punto crítico, como la viscosidad, la permitividad relativa y la fuerza del disolvente, que están estrechamente relacionadas con la densidad. A temperaturas más altas, el fluido comienza a

comportarse como un gas, como se puede ver en la ilustración 8 (b). Para el dióxido de carbono a 400 K, la densidad aumenta casi linealmente con la presión [90].

Los datos específicos de densidad, difusividad y viscosidad obtenidos a través de Libro del Web de Química del NIST [91] en la sección de propiedades termofísicas de los fluidos para el CO₂ en condiciones de saturación para gas, líquido y el punto crítico se encuentra a continuación.

Tabla 1. Propiedades termofísicas del CO₂ [91]

Estado CO ₂	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Densidad [kg/m ³]	Viscosidad [cP]	Difusividad [m ² /s]
Gas	-39,65	10,179	26,465	0,012	1,4489 x10 ⁻⁵
Líquido	-39,65	10,179	1115	0,192	8,8982 x10 ⁻⁷
Punto crítico	30,62	73,180	468,375	0,033	6,1041 x10 ⁻⁶

Un sistema de extracción con fluidos supercríticos consta de una bomba de solvente que entrega el fluido por todo el sistema, una bomba modificadora si es necesario, aunque muchas veces como modificador puede usarse aire para incrementar rápidamente la presión del dióxido de carbono, una celda de extracción o columna de extracción que puede ser para sólidos o líquidos respectivamente y uno o más separadores o celdas de fraccionamiento.

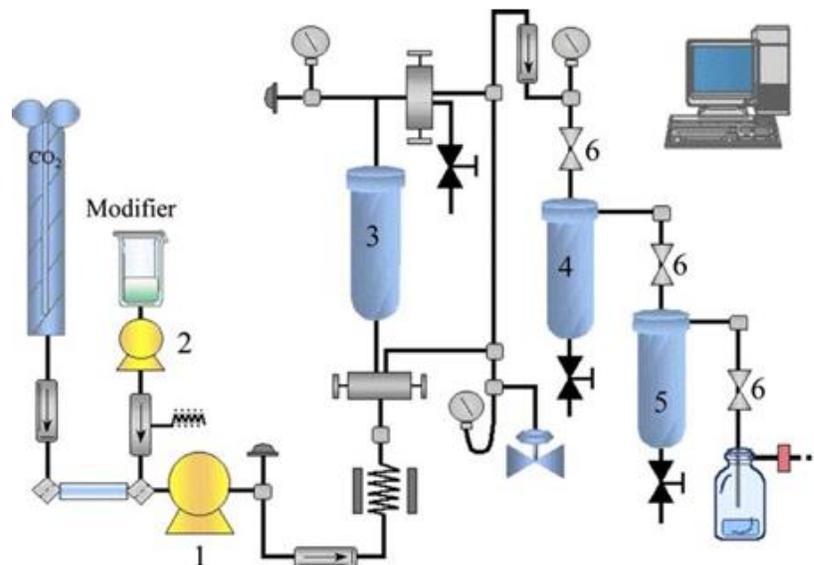


Ilustración 11. Esquema de una planta piloto de extracción de fluidos supercríticos equipada con dos celdas de fraccionamiento. (1) bomba de CO₂; (2) bomba modificadora; (3) celda de extracción de muestras sólidas; (4) celda de fraccionamiento 1; (5) celda de fraccionamiento 2; (6) válvula. [88]

El procesamiento de sólidos siempre se realiza por lotes en un proceso discontinuo o semicontinuo, mientras que el procesamiento de líquidos generalmente se realiza en condiciones de contracorriente en modo continuo. En las extracciones de muestras líquidas, el fluido supercrítico (normalmente CO₂) se mueve hacia arriba mientras que la alimentación de muestra, introducida en el sistema desde la parte superior o el centro de la columna, se mueve hacia abajo por gravedad.

El cannabidiol extraído con fluidos supercrítico está sujeto a la solubilidad debida a la variación de la densidad y selectividad del CO₂ consecuencia de las variaciones de presión y temperatura, esta solubilidad a diferentes condiciones ha sido estudiada tanto para el CBD como para sus otros dos cannabinoides principales, como el Δ^9 -THC y el CBN y para algunos terpenos relevantes presentes en la materia prima [39], [92], [93]. Los cannabinoides encontrados en la planta presentan diferentes solubilidades entre sí, y varían conforme se hacen cambios de temperatura y presión, por lo general la solubilidad aumenta en el orden de CBD>CBN> Δ^9 -THC, por lo que se requerirá de mayor presión para la extracción en muestras con alta cantidad de THC. En la ilustración 12 se puede observar el comportamiento de la solubilidad molar experimental del CBD, CBN y THC en función de la presión y la temperatura en condiciones supercríticas tomadas de [92].

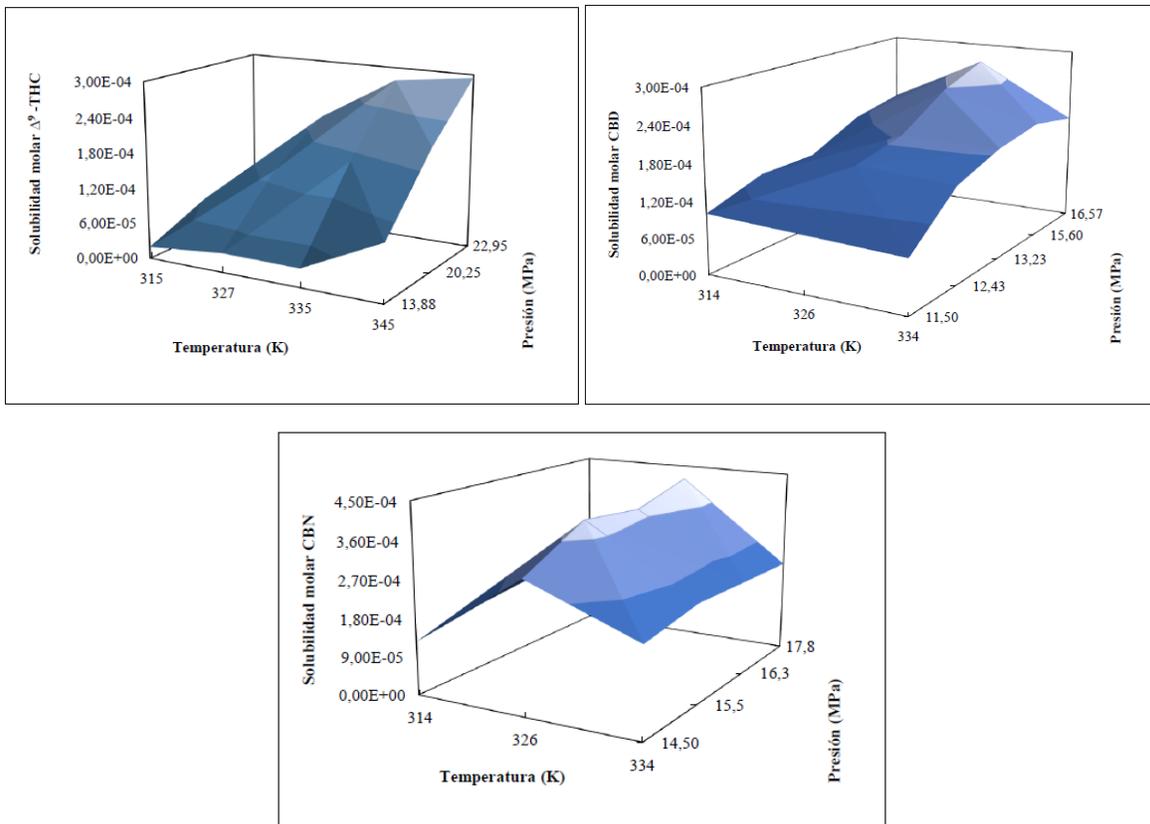


Ilustración 12. Solubilidad molar del Δ^9 THC (a), CBD (b) y CBN (c) experimental en función de la temperatura y presión [39]

En la Ilustración 12, se evidencia una correlación entre la temperatura y la presión, influenciando de manera específica la solubilidad molar de los cannabinoides con CO_2 supercrítico. En el caso del Δ^9 -THC (a), se observa un aumento en su solubilidad a medida que se aumentan tanto la temperatura como la presión, siendo más dependiente de la presión. Las condiciones óptimas para la máxima solubilidad son 22.95 MPa y una temperatura entre 335K y 345K. En cuanto al CBD (b), la presión tiene un papel predominante, incrementando significativamente la solubilidad en comparación con la temperatura. Las condiciones óptimas son 326K y una presión entre 15.6 MPa y 16.6 MPa. En el caso del CBN (c), el aumento de la presión en todo el rango favorece la solubilidad, siendo la temperatura adecuada de 326K y un rango de presión entre 15.6 y 16.6 MPa para lograr la mayor solubilidad molar con CO_2 supercrítico [39].

Es importante destacar que la elección de la técnica de extracción puede depender de factores como el equipo disponible, la escala de producción, la legalidad y las características específicas de los cannabinoides junto con otros compuestos deseados. Cada método tiene sus

propias implicaciones en términos de calidad del producto final y costos asociados. Además, las regulaciones locales y la seguridad deben ser consideradas al seleccionar una técnica de extracción.

Equipos ingeniería y análisis

Es una empresa ubicada en la ciudad de Medellín que se encarga de desarrollar equipos y prototipos a escala de laboratorio y demostrativa para diferentes procesos incluyendo sistemas pilotos para extracción de bioactivos de alto valor y su purificación.

Equipo de fluidos supercríticos por EIA

La empresa mencionada anteriormente se encargó de diseñar y fabricar un equipo de fluidos supercríticos; el cuál puede ser utilizado para diversas aplicaciones industriales y de investigación, tales como la extracción de compuestos, la producción de materiales avanzados y procesos de limpieza. Este equipo aprovecha las propiedades únicas de los fluidos supercríticos para mejorar la eficiencia y efectividad de los procesos.



Ilustración 13. Equipo de extracción de fluidos supercríticos EIA.

El equipo se compone de varias partes, como se observa en la Ilustración 13, contiene una pantalla HMI (Human Machine Interface) que permite monitorear y controlar los parámetros operativos del equipo en tiempo real. Esta pantalla transmite las lecturas de presión y temperatura específicas en cada parte del sistema, además permite una interacción con el estado de diferentes

condiciones de set points y activación manual de válvulas, ofreciendo una interfaz intuitiva para el operador como se observa en la ilustración 14.

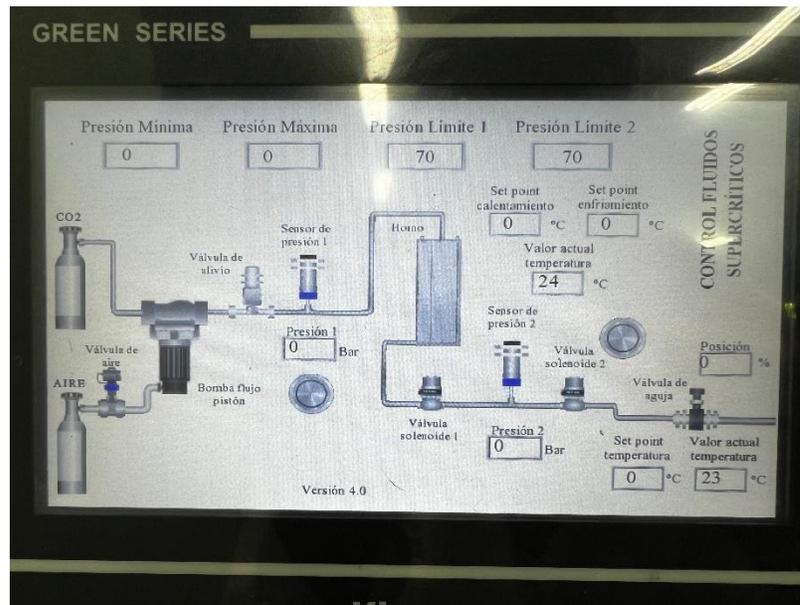


Ilustración 14. Interfaz de control equipo de fluidos supercríticos EIA.

En cuanto al sistema de presión, el equipo cuenta con bombas de flujo de pistón utilizadas para presurizar el fluido supercrítico, típicamente CO₂. Estas bombas son capaces de alcanzar y mantener presiones elevadas, esenciales para mantener el estado supercrítico del fluido. Además, el sistema incluye válvulas de alivio y control de aire que regulan y estabilizan la presión dentro del sistema, evitando sobrepresiones y asegurando la seguridad operativa.

El control de la temperatura es gestionado a través de una manta de calentamiento que se observa como “horno” en la ilustración, responsable de calentar el fluido hasta la temperatura deseada. El equipo permite ajustar la temperatura en el reactor, asegurando un control preciso de la temperatura. Los sensores de temperatura y presión proporcionan datos en tiempo real al sistema de control, permitiendo ajustes automáticos y precisos, manteniendo así las condiciones óptimas del proceso.

Para el control y seguridad del sistema, se utilizan válvulas solenoides que abren y cierran flujos de fluidos dentro del sistema automáticamente, controladas por el sistema HMI. También se incluye una válvula de aire para impulsar con un compresor de aire VERTOR que suministra aire comprimido al sistema, necesario para el funcionamiento de algunas válvulas y componentes neumáticos.

El funcionamiento del equipo de fluidos supercríticos se desarrolla en varias etapas. Primero, el CO₂ se almacena en un tanque y se presuriza mediante la bomba de flujo de pistón. Luego, el fluido se calienta en el horno hasta alcanzar una temperatura deseada en condición supercrítica, controlada por los sensores de temperatura y presión. Durante el proceso de extracción o tratamiento, el fluido supercrítico se pasa a través de una matriz o sustancia objetivo, donde se lleva a cabo la extracción o tratamiento. Las válvulas solenoides y de alivio aseguran que el sistema opere dentro de los parámetros seguros, mientras que el compresor de aire mantiene la presión neumática necesaria.

Este equipo de fluidos supercríticos representa una avanzada tecnología de ingeniería que permite llevar a cabo procesos industriales y de investigación de manera eficiente y controlada. Su diseño modular y sus componentes de alta calidad aseguran un rendimiento óptimo y una operación segura, haciendo de este equipo una herramienta esencial en el campo de la ingeniería de procesos.

A continuación, se ilustra el sistema de control del equipo:

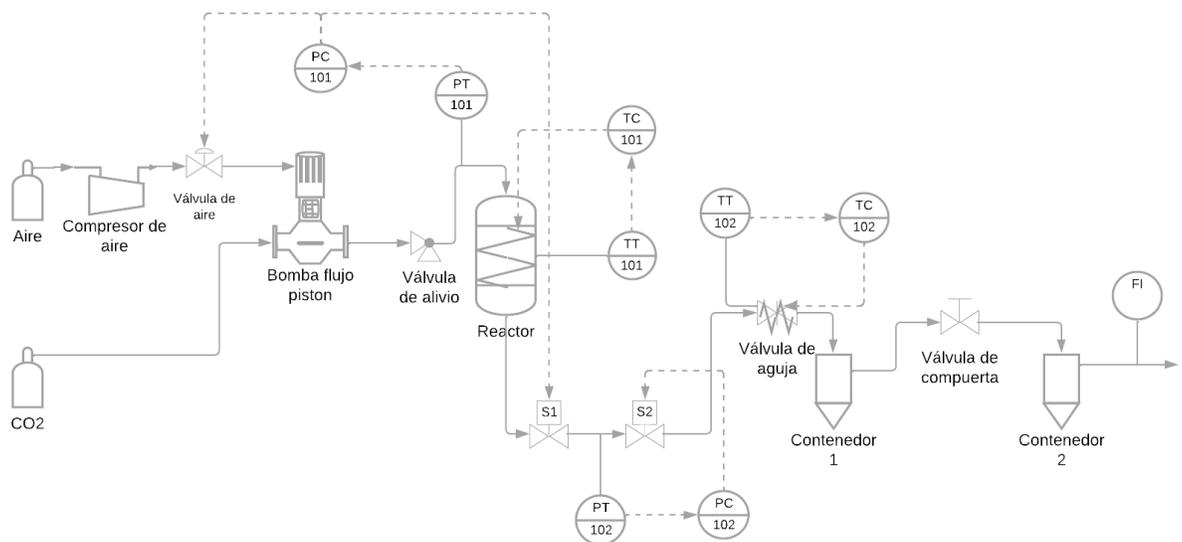


Ilustración 15. Sistema de control equipo de fluidos supercríticos EIA.

VI. METODOLOGÍA

Preparación materia prima

Descarboxilación: 105°C durante 2 horas

Trituración: Con el fin de disminuir el tamaño de partícula y aumentar el área superficial de contacto, se usa un molino High-speed Multifunction (HC-150) con una capacidad de 150g con una finura entre 50-300µm.



Ilustración 16. Proceso molienda material vegetal.

Tamizaje: Para asegurar el mismo tamaño de partícula se tamiza la materia vegetal en 1 tamiz de 150µm, se toma la materia vegetal contenida en (EL TAMIZ) y la que sobrepasa el tamiz se descarta, de tal manera que se asegura un tamaño de partícula mayor a 150 µm



Ilustración 17. Proceso tamizaje material vegetal.

Evaluación Soxhlet.

Como método de referencia, se hace por triplicado la extracción Soxhlet con 150 mL de etanol al 93 % como solvente de un mismo lote, con manta de calentamiento constante durante 12

horas con un total de 5 gramos de materia vegetal, posteriormente se concentra el extracto y se recupera el solvente en un rotoevaporador hasta eliminar la mayor cantidad posible de humedad del extracto.

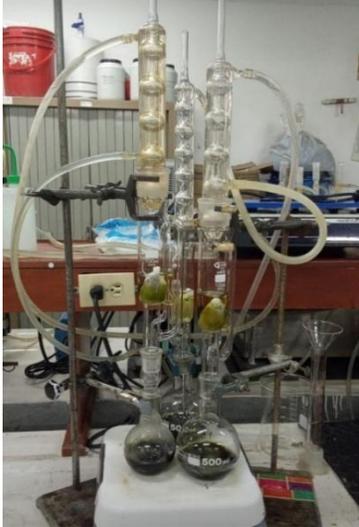


Ilustración 18. Montaje Soxhlet por triplicado.

Extracción con CO₂ supercrítico

La evaluación del rendimiento en la extracción con CO₂ supercrítico se lleva a cabo un diseño de experimentos de superficie de respuesta para determinar qué entradas del proceso tienen un efecto significativo en las salidas del proceso.

En este diseño de experimentos, cada variable o factor se investiga en niveles predefinidos, alto, bajo y medio, con un total de 15 ensayos o experimentos en los cuales se consideran 3 factores: presión, temperatura y tiempo de residencia, mediante cargas de CO₂ por lotes, manteniendo constantes las condiciones del experimento dentro de la cámara extractora.

La recuperación del extracto se hizo mediante la disminución de las condiciones de operación de manera gradual, disminuyendo la presión hasta llegar a la presión atmosférica. Posteriormente, se desmonta el reactor y se lava el equipo con etanol y CO₂ hasta 110 bar y otra con iguales condiciones, pero con hexano, el extracto obtenido, se concentra recuperando los solventes dando como resultado un extracto libre de disolventes.

A continuación, en la Tabla 2, se presentan las variaciones de los factores del diseño de experimentos

Tabla 2. Condiciones de los factores del diseño de experimentos

Factores	Bajo	Medio	Alto
Temperatura [°C]	35	45	55
Presión [bar]	250	300	350
Tiempo [h]	0,5	1	2

Se evaluaron 4 variables de salida en las cuales se tiene en cuenta, el rendimiento, y el porcentaje de cannabinoides obtenidos, principalmente THC, CBD y CBN.

Se ha creado un diseño de Box-Behnken el cual estudiará los efectos de 3 factores en 15 ejecuciones. El diseño deberá ser ejecutado en un solo bloque. El orden de los experimentos ha sido completamente aleatorizado. Esto aporta protección contra el efecto de variables ocultas. Se presenta en la Tabla 3., las condiciones de las 15 ejecuciones.

Tabla 3. Condiciones de operación de las ejecuciones del diseño de experimentos.

Ejecución	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [horas]
1	55,0	300,0	2,0
2	35,0	300,0	1,0
3	55,0	350,0	1,0
4	55,0	250,0	1,0
5	35,0	300,0	0,5
6	35,0	250,0	1,0
7	45,0	350,0	2,0
8	45,0	300,0	1,0
9	45,0	300,0	2,0
10	45,0	250,0	2,0
11	35,0	350,0	1,0
12	35,0	300,0	2,0
13	45,0	250,0	0,5
14	55,0	300,0	0,5
15	45,0	350,0	0,5

Con el fin de eliminar los puntos más extremos en los cuales sea poco probable una respuesta que cumpla con las expectativas del diseño de experimentos se hace una optimización en la cual se obtienen 10 ejecuciones en las cuales se obtienen las condiciones reportadas en la Tabla 3.

Tabla 4. Optimización de los experimentos y sus condiciones.

Experimento	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [h]
3	55	350	1
5	35	300	0,5
6	35	250	1
9	45	300	2
10	45	250	2
11	35	350	1
12	35	300	2
13	45	250	0,5
14	55	300	0,5
15	45	350	0,5

Con los resultados obtenidos del diseño de experimentos planteado anteriormente se hará un análisis estadístico y las estimaciones de cuáles de los efectos, presión, temperatura y tiempo tienen un impacto significativo ($p < 0,05$) en el rendimiento de extracción.

Determinación de los Fitocannabinoides

Cromatografía de capa fina (TLC)

En una placa de TLC Silicagel 60 F254 de 10 cm x 5 cm se marca la línea de sembrado a 1 cm desde el borde inferior, los puntos de sembrado se marcaron sobre esta línea con una separación de 1 cm entre cada punto de sembrado y 0,5 cm en los bordes. La cámara de desarrollo utilizada fue una cámara de vidrio de fondo plano de 20 x 10 cm. Una vez preparada la placa, se procedió al desarrollo cromatográfico. Las muestras se aplicaron en la línea de inicio de la placa, y esta se colocó en la cámara de desarrollo. Se permitió que la placa se desarrollara hasta que el eluyente alcanzara la altura marcada. Luego, se retiró cuidadosamente la placa de la cámara, y se permite que se evapore el solvente completamente a temperatura ambiente.

Se aplicaron en siembras por separado, un estándar secundario de THC, un estándar CBD y un extracto Soxhlet o un extracto con SFE según el experimento, la fase móvil utilizada fue Hexano: Cloroformo: Diclorometano en las proporciones de volumen 1,5:1:0,5. Como agente revelador para las pruebas se utilizó inmersión con vainillina.

Cuantificación de cannabinoides

Se hace uso de un cromatógrafo Agilent Technologies 6890N equipado con un detector de ionización en llama (FID), un sistema de inyección Split/ Splitless y autoinyector Agilent 7683, con una columna capilar DB-1 de 30.0 m, diámetro interno 0.250 mm y espesor de película 0.25 μm , procesando cada uno de los datos con ChemStation.



Ilustración 19. Cromatógrafo gaseoso Agilent Technologies 6890N

En el análisis de cannabinoides exógenos por GC-FID el material vegetal seco se muele hasta obtener un polvo homogéneo el cual posteriormente se lleva a una estufa a una temperatura de 105°C por 2 horas (descarboxilación). Seguido se pasa el material por una malla o tamiz de 1mm. Para la extracción, se mezclan entre 200-500 mg del material vegetal de cannabis y 5 ml de mezcla extrayente de solventes de metanol: hexano (proporción de 9:1 v/v) o metanol: cloroformo (proporción de 9:1 v/v) en un vial. Este proceso de extracción con solvente es acompañado de una extracción por ultrasonido, en el cual se sónica la muestra de 20-30 minutos. Agitar la muestra en un vortex y dejar reposar durante, al menos 5 minutos. Diluir el sobrenadante de color claro con la mezcla de extracción, filtrar y llevar la muestra al equipo de cromatografía para el proceso de

descarboxilación y posterior identificación y cuantificación de los cannabinoides de interés. Cuyo orden de elución por esta técnica es CBD, THC Y CBN.

Para los derivados, si la muestra es líquida (aceite de cannabis) se debe de tomar un peso de alrededor de 30 - 50 mg de la muestra y un volumen de solvente para realizar la dilución respectiva y llevarlo al sistema de cromatografía en el cual las condiciones de análisis deben de garantizar el proceso de descarboxilación del THCA que no provoquen la descomposición del THC.

VII. RESULTADOS

Propiedades termodinámicas del CO₂

Para determinar las propiedades del CO₂ en cada condición se consulta en la base de datos NIST para determinar densidad y viscosidad del fluido en cada condición en el respectivo experimento y en las propiedades de saturación para construir un diagrama de fases completo.

Para determinar la difusividad del CO₂ se usó una correlación de Wilke y Chang modificada para fluidos supercríticos:

$$D = \frac{7,4 \times 10^{-8} \cdot \left(\frac{T}{M}\right)^{0,5}}{\eta}$$

Donde:

D : es la difusividad en m²/s

η : es la viscosidad en centipoise [cP]

M : es el peso molecular del CO₂ (44,01 g/mol)

T : es la temperatura en Kelvin

En la tabla que se presenta a continuación se observan los datos de densidad, viscosidad y difusividad para el CO₂ en cada una de las condiciones de operación del diseño de experimentos.

Tabla 5. Propiedades termofísicas del CO₂

Experimento	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Densidad [kg/m³]	Difusividad [m²/s]	Viscosidad cP
3	55	350	881,17	2,2839E-06	0,088474
5	35	300	929,11	1,9544E-06	0,10019
6	35	250	901,23	2,10624E-06	0,092967
9	45	300	890,33	2,20031E-06	0,090425
10	45	250	857,14	2,39599E-06	0,08304
11	35	350	952,29	1,83412E-06	0,10676
12	35	300	929,11	1,9544E-06	0,10019
13	45	250	857,14	2,39599E-06	0,08304
14	55	300	850,22	2,46951E-06	0,081824
15	45	350	917,12	2,05083E-06	0,097016

A continuación, se presentan los diagramas de fases obtenido con datos de la base de datos NIST para las propiedades de saturación y en las condiciones experimentales diseñadas.

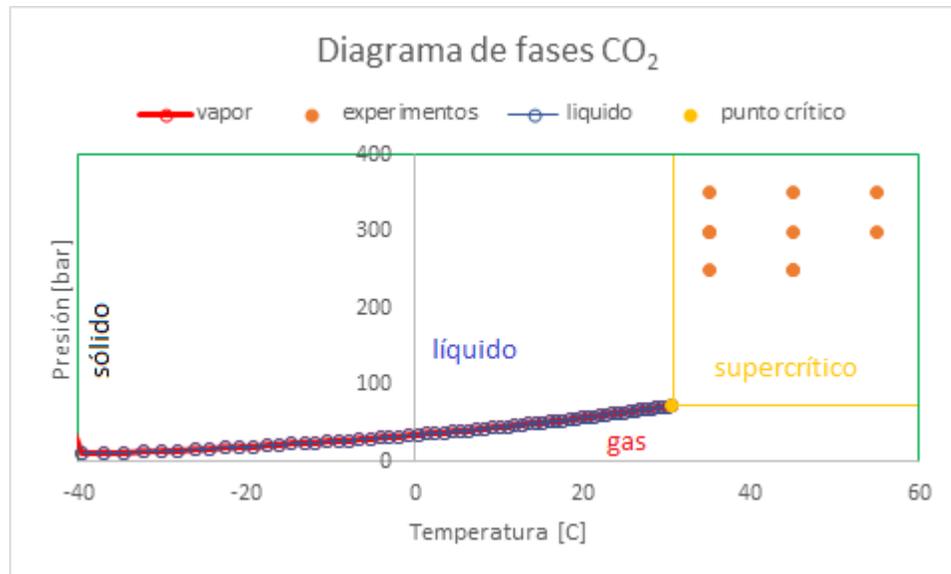


Ilustración 20. Diagrama de fases del CO_2 con las condiciones del diseño de experimentos

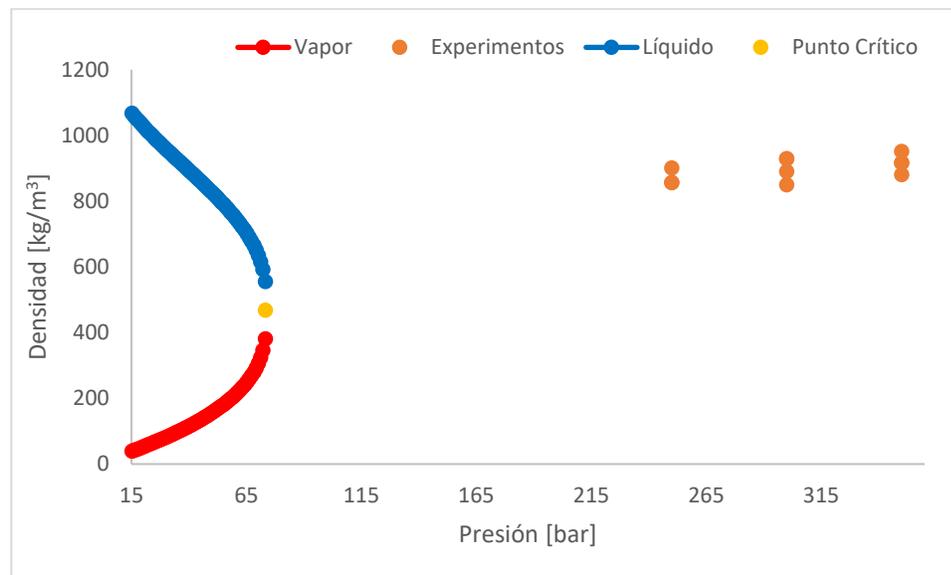


Ilustración 21. Diagrama de fases del CO_2 , densidad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos.

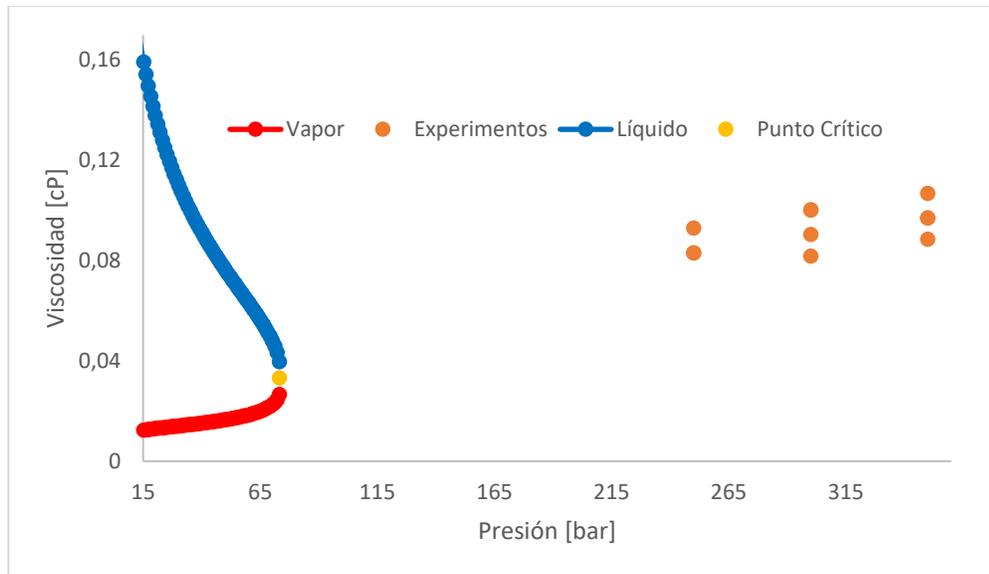


Ilustración 22. Diagrama de fases del CO₂, viscosidad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos

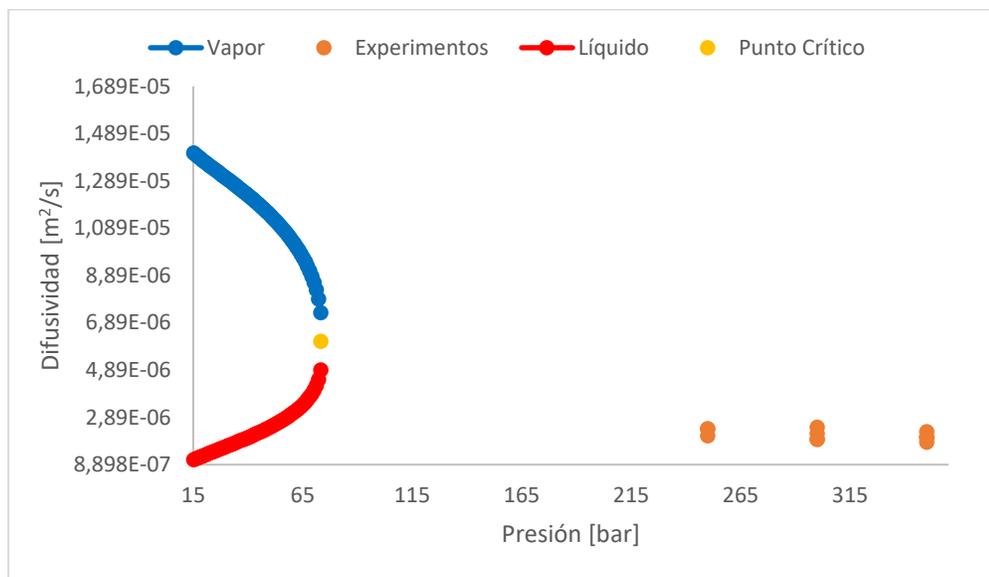


Ilustración 23. Diagrama de fases del CO₂, difusividad vs presión con las condiciones del diseño de experimentos

Caracterización del material vegetal inicial por cromatografía de gases FID

Tabla 6. Caracterización materia prima.

Cannabinoides flor		Desviación
THC [%]	5,01	0,01
CBD [%]	5,105	0,004

Es evidente que la flor inicial está caracterizada mayormente en una proporción 1:1 en THC: CBD

Cromatografía de capa fina (TLC)

El kit AlphaCAT para la identificación de cannabinoides establece que las distancias de revelado de los cannabinoides a partir del siguiente patrón:

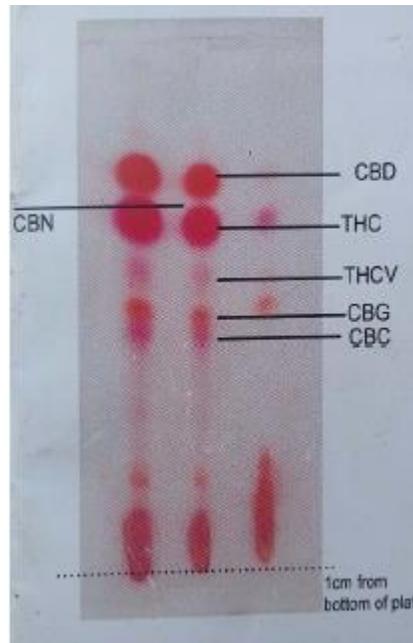


Ilustración 24. Patrón de identificación cannabinoides de un kit de AlphaCat tomado de [94]

El revelado de las placas se hizo en 3 partes, primero con luz ultravioleta con una longitud de onda verde y otra azul, posteriormente se hizo el revelado con inmersión en vainillina.

Extracción Soxhlet B1

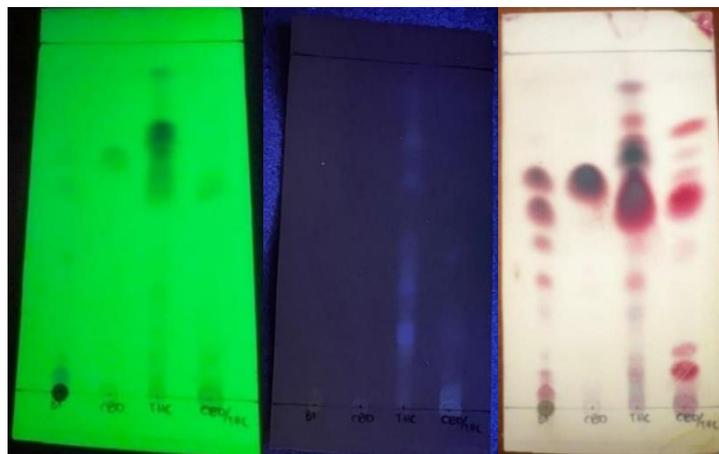


Ilustración 25. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B1.

Soxhlet B2

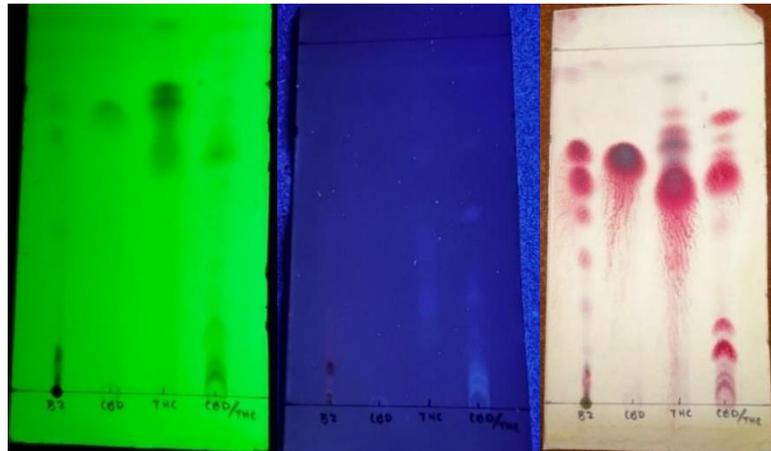


Ilustración 26. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B2.

Soxhlet B3

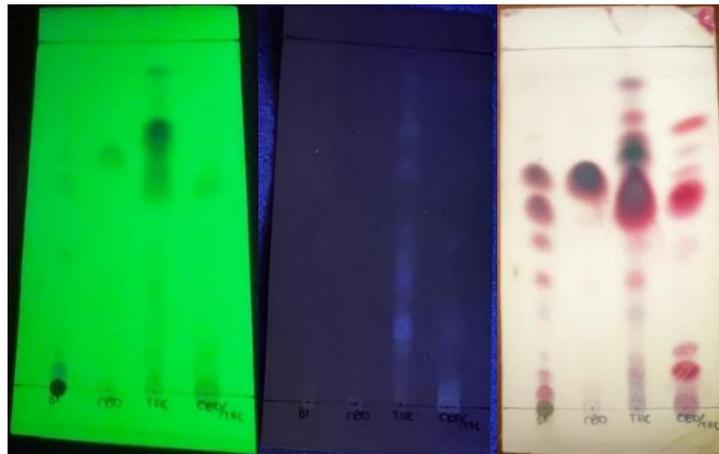


Ilustración 27. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimentación Soxhlet B3.

Extracción con CO₂ Supercrítico

Experimento 3 (12,0597 g a 55°C y 350 bar durante 1 hora)

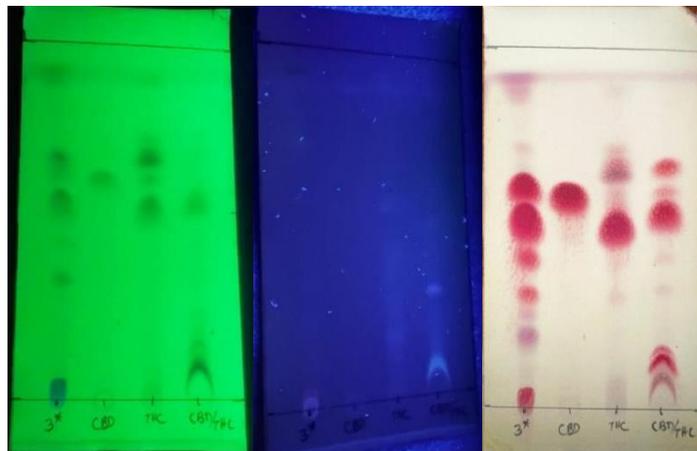


Ilustración 28. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 3 CO₂ supercrítico.

Experimento 5 (12,1577 g a 35°C y 300 bar durante 1/2 hora)

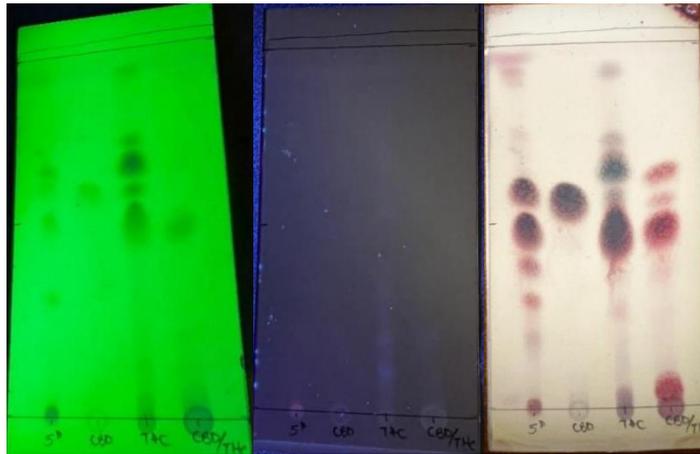


Ilustración 29. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 5 CO₂ supercrítico

Experimento 6 (12,1918 g a 35°C y 250 bar durante 1 hora)

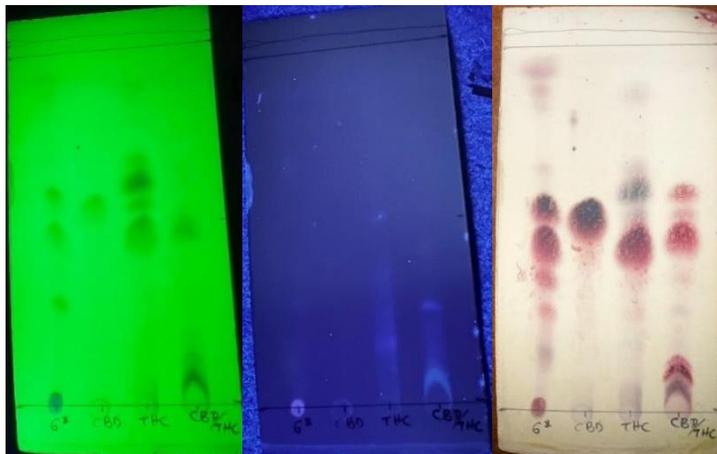


Ilustración 30. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 6 CO₂ supercrítico

Experimento 9 (12,1149 g a 45°C y 300 bar durante 2 horas)

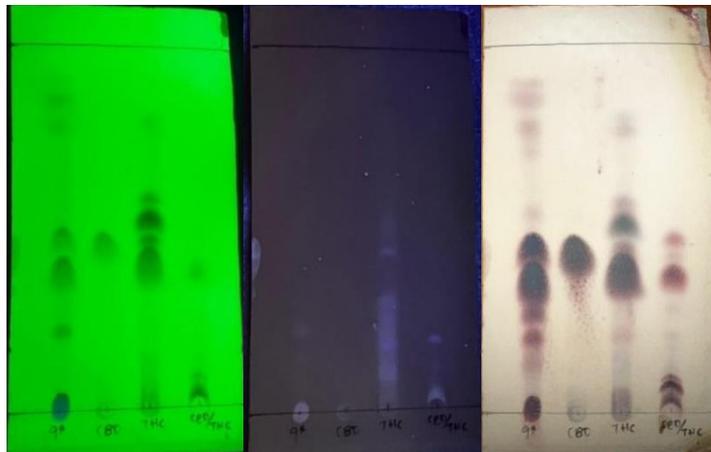


Ilustración 31. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 9 CO₂ supercrítico.

Experimento 10 (12,0648 g a 45°C y 250 bar durante 2 horas)

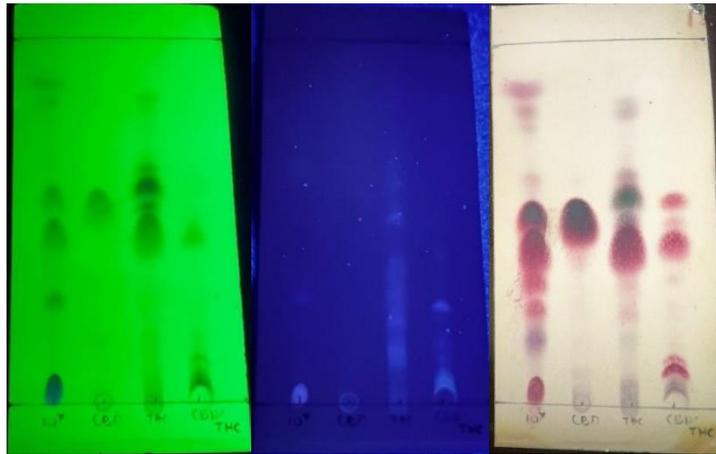


Ilustración 32. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 10 CO₂ supercrítico.

Experimento 11 (12,20566 g a 35°C y 350 bar durante 1 hora)

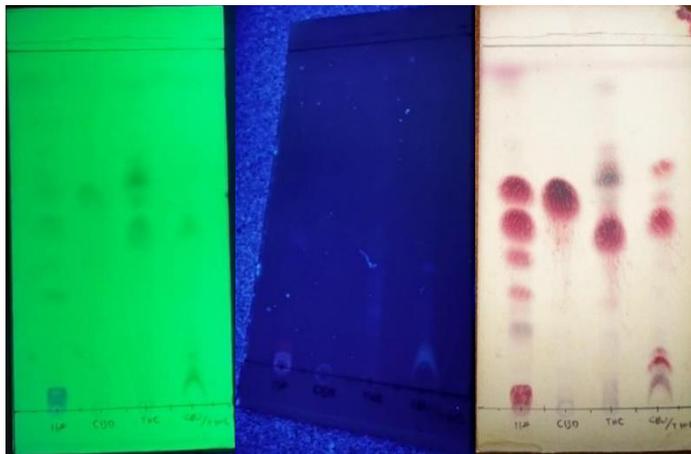


Ilustración 33. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 11 CO₂ supercrítico.

Experimento 12 (12,4613 g a 35°C y 300 bar durante 2 hora)

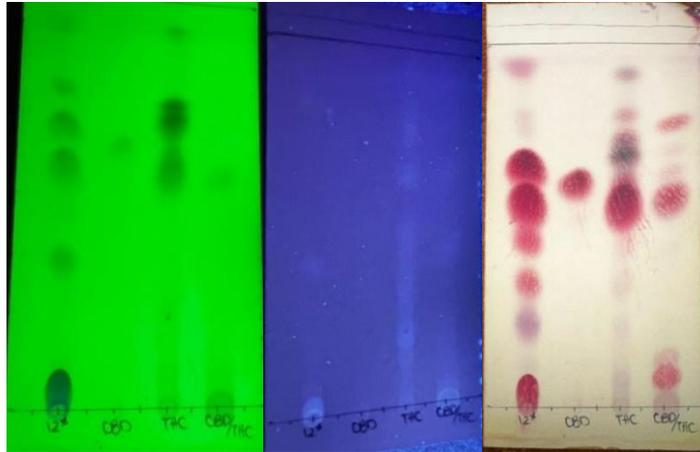


Ilustración 34. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 12 CO₂ supercrítico
Experimento 13 (12,0754 g a 45°C y 250 bar durante 1/2 hora)

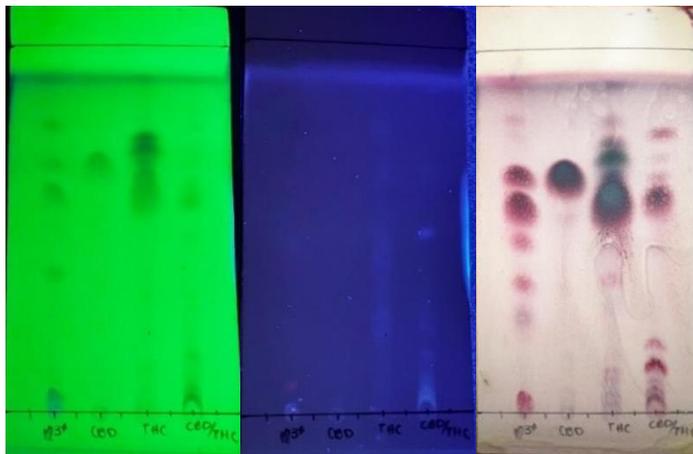


Ilustración 35. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 13 CO₂ supercrítico
Experimento 14 (12,1908 g a 55°C y 300 bar durante 1/2 hora)

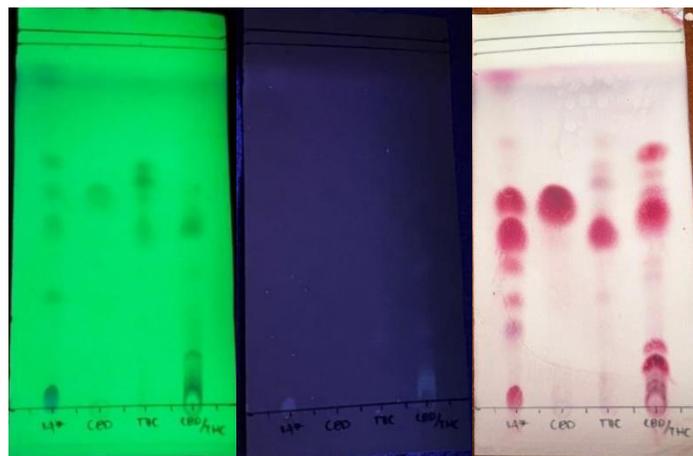


Ilustración 36. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 14 CO₂ supercrítico

Experimento 15 (12,1669 g a 45°C y 350 bar durante 1/2 hora)

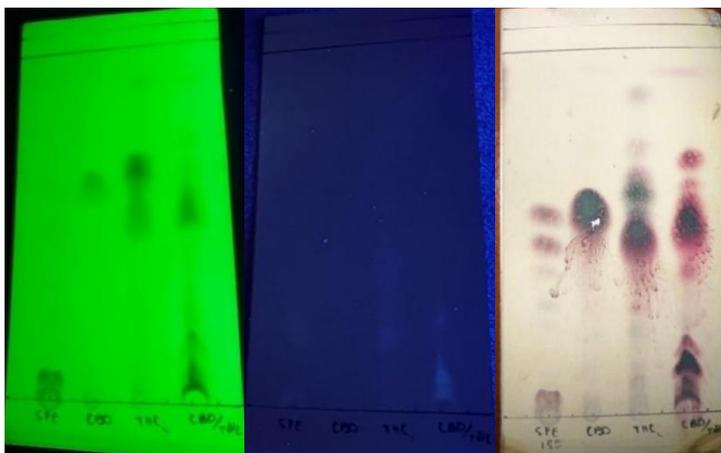


Ilustración 37. Placa de cromatografía de capa fina (TLC) experimento 15 CO₂ supercrítico

% Rendimiento de los extractos

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de extracto [g]}}{\text{Cantidad de muestra [g]}} \times 100$$

Los resultados se presentan en la Tabla 7. A partir de aquí los resultados presentados en las tablas contienen un formato de color de mayor a menor, en un degradé de colores del verde al amarillo, de tal manera que aquellos que tengan fondo verdes oscuros son los de mayor valor, hasta los colores amarillos claros que son los de menor valor, con el fin de visualizar mejor los puntos máximos y mínimos de los valores en cada tabla.

Tabla 7. Resultados de rendimiento de cada experimento y sus respectivas condiciones de extracción.

Experimento	Condiciones de Extracción			Cantidad de muestra [g]	Cantidad de extracto [g]	% Rendimiento
	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [horas]			
3	55	350	1	12,0597	0,6821	5,7
5	35	300	0,5	12,1577	0,3224	2,7
6	35	250	1	12,1918	0,4951	4,1
9	45	300	2	12,1149	0,7512	6,2
10	45	250	2	12,0648	0,7541	6,3
10 sdr ²	45	250	2	15,1999	0,3793	2,5
11	35	350	1	12,2066	0,3259	2,7
12	35	300	2	12,4613	0,609	4,9

13	45	250	0,5	12,0754	0,2829	2,3
14	55	300	0,5	12,1908	0,2898	2,4
15	45	350	0,5	12,1669	0,4775	3,9
15'	45	350	0,5	16,2927	0,249	1,5
Soxhlet B1	150mL etanol, durante 12 h			5,0168	1,8972	37,8
Soxhlet B2				4,8622	1,8803	38,7
Soxhlet B3				5,1078	1,8315	35,9

². Extracción realizada sin descargas intermedias (SDI) con iguales condiciones del experimento 10.

A continuación, se presenta un diagrama de barras, en el cual se observa el rendimiento obtenido en cada experimento, con fines comparativos se promedia el rendimiento de los 3 experimentos Soxhlet al ser evaluado en las mismas condiciones.

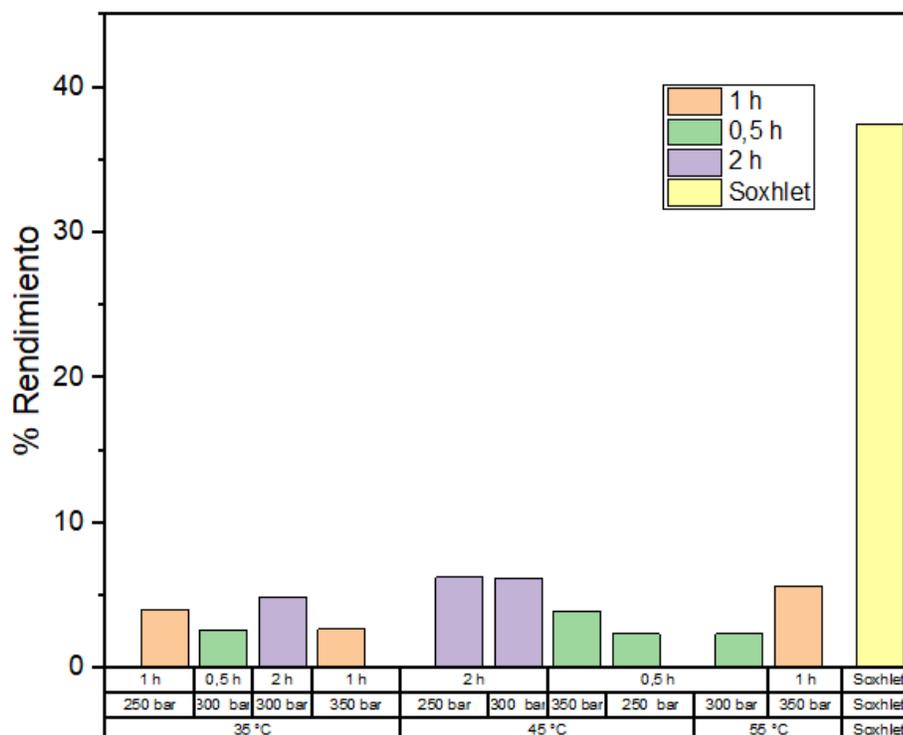


Ilustración 38. Diagrama de barras de los porcentajes de rendimiento de cada experimento.

Es notable que los rendimientos obtenidos con CO₂ supercrítico son mucho menores que los que se obtienen con el método de extracción Soxhlet, principalmente debido a que la extracción Soxhlet arrastra la mayor cantidad de compuestos presentes en la materia vegetal inicial, mientras que la extracción con CO₂ supercrítico es más selectiva.

Cuantificación de cannabinoides Cromatografía de gases

Tabla 8. Perfil de cannabinoides obtenidos en cromatografía de gases

Experimento	THC (%)		CBD (%)		THC+CBD [%]
3	27,8	0,1	30,8	0,2	58,6
5	26,2	0,1	36,4	0,5	62,6
6	20,3	0,4	25,7	0,5	46
9	25,1	0,1	28,7	0,4	53,8
10	23,6692	0,0006	30,5	0,3	54,17
11	23,31	0,04	31,06	0,07	54,37
12	28,1	0,2	35	0,3	63,1
13	19,9	0,3	30,7	0,3	50,6
14	22,04	0,05	32	0,07	54,04
15	22,2	0,1	34,2	0,3	56,4
15'	24,8	0,2	35,7	0,2	60,5
Soxhlet B1	12,2	0,2	13,2	0,1	25,4
Soxhlet B2	12,5	0,2	13,9	0,2	26,4
Soxhlet B3	16,5	0,1	16,8	0,1	33,3

Con los porcentajes de los cannabinoides se calcula la cantidad de THC y CBD contenidos en cada experimento en la muestra inicial y en cada extracto de la siguiente manera:

$$THC_{muestra}[g] = Cantidad\ de\ muestra\ [g] \cdot \frac{THC_{flor}(\%)}{100}$$

$$CBD_{muestra}[g] = Cantidad\ de\ muestra\ [g] \cdot \frac{CBD_{flor}(\%)}{100}$$

$$THC_{extracto}[g] = Cantidad\ de\ extracto\ [g] \cdot \frac{THC(\%)}{100}$$

$$CBD_{extracto}[g] = Cantidad\ de\ extracto\ [g] \cdot \frac{CBD(\%)}{100}$$

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9.

Los datos que se reportan como THC muestra y CBD muestra son las cantidades en gramos contenidas en la cantidad de materia prima a extraer, es decir, la máxima cantidad de THC y CBD que se puede obtener en el extracto.

Tabla 9. Cantidad de THC y CBD presentes en cada experimento.

Experimento	Cantidad de muestra [g]	Cantidad de extracto [g]	THC muestra [g]	CBD muestra [g]	THC extracto [g]	CBD extracto [g]	THC+CBD extracto [g]
3	12,0597	0,6821	0,6042	0,6156	0,1896	0,2101	0,3997
5	12,1577	0,3224	0,6091	0,6207	0,0845	0,1174	0,2018
6	12,1918	0,4951	0,6108	0,6224	0,1005	0,1272	0,2277
9	12,1149	0,7512	0,6070	0,6185	0,1886	0,2156	0,4041
10	12,0648	0,7541	0,6044	0,6159	0,1785	0,2300	0,4085
11	12,2066	0,3259	0,6116	0,6231	0,0760	0,1012	0,1772
12	12,4613	0,609	0,6243	0,6361	0,1711	0,2132	0,3843
13	12,0754	0,2829	0,6050	0,6164	0,0563	0,0869	0,1431
14	12,1908	0,2898	0,6108	0,6223	0,0639	0,0927	0,1566
15	12,1669	0,4775	0,6096	0,6211	0,1060	0,1633	0,2693
15'	16,2927	0,249	0,8163	0,8317	0,0618	0,0889	0,1506
Soxhlet B1	5,0168	1,8972	0,2513	0,2561	0,2315	0,2504	0,4819
Soxhlet B2	4,8622	1,8803	0,2436	0,2482	0,2350	0,2614	0,4964
Soxhlet B3	5,1078	1,8315	0,2559	0,2608	0,3022	0,3077	0,6099

A partir de los datos obtenidos en la Tabla 6 se calculan los porcentajes de recuperación de THC y CBD en cada experimento con la siguiente ecuación:

$$\text{Recup THC [\%]} = \frac{\text{THC}_{\text{extracto}}[\text{g}]}{\text{THC}_{\text{muestra}}} \cdot 100$$

$$\text{Recup CBD [\%]} = \frac{\text{CBD}_{\text{extracto}}[\text{g}]}{\text{CBD}_{\text{muestra}}} \cdot 100$$

Además, con los datos se recalculan los porcentajes de THC y CBD presentes en cada extracto de la siguiente manera:

$$\text{THC [\%]} = \frac{\text{THC}_{\text{extracto}}[\text{g}]}{\text{Cantidad de extracto}[\text{g}]} \cdot 100$$

$$\text{CBD [\%]} = \frac{\text{CBD}_{\text{extracto}}[\text{g}]}{\text{Cantidad de extracto}[\text{g}]} \cdot 100$$

Los resultados se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Porcentajes de recuperación y porcentaje de cannabinoides en el extracto.

Experimento	% Recup THC	% Recup CBD	THC [%]	CBD [%]
3	31,4	34,1	27,8	30,8

5	13,9	18,9	26,2	36,4
6	16,5	20,4	20,3	25,7
9	31,1	34,9	25,1	28,7
10	29,5	37,3	23,7	30,5
11	12,4	16,2	23,3	31,1
12	27,4	33,5	28,1	35,0
13	9,3	14,1	19,9	30,7
14	10,5	14,9	22,0	32,0
15	17,4	26,3	22,2	34,2
15'	7,6	10,7	24,8	35,7
Soxhlet B1	92,1	97,8	12,2	13,2
Soxhlet B2	96,5	105,3	12,5	13,9
Soxhlet B3	118,1	118,0	16,5	16,8

A partir de los datos obtenidos se elaboran los siguientes gráficos ilustrativos

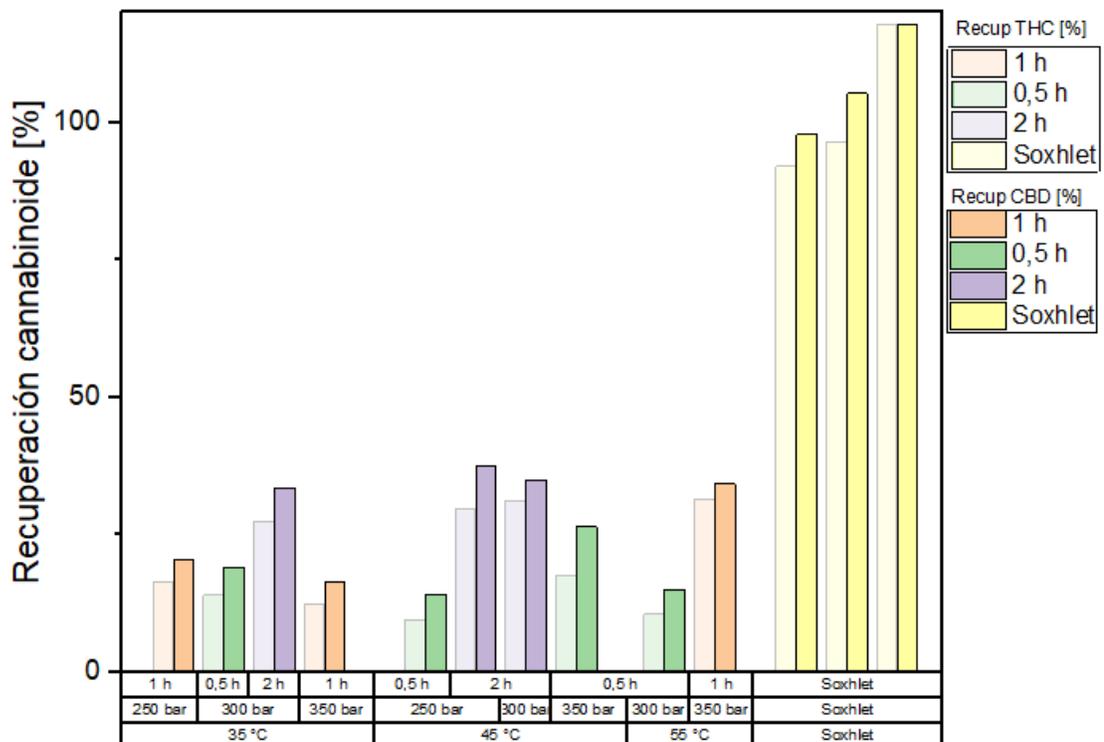


Ilustración 39. Porcentaje de recuperación de THC o CBD respecto a la muestra inicial de cada extracción.

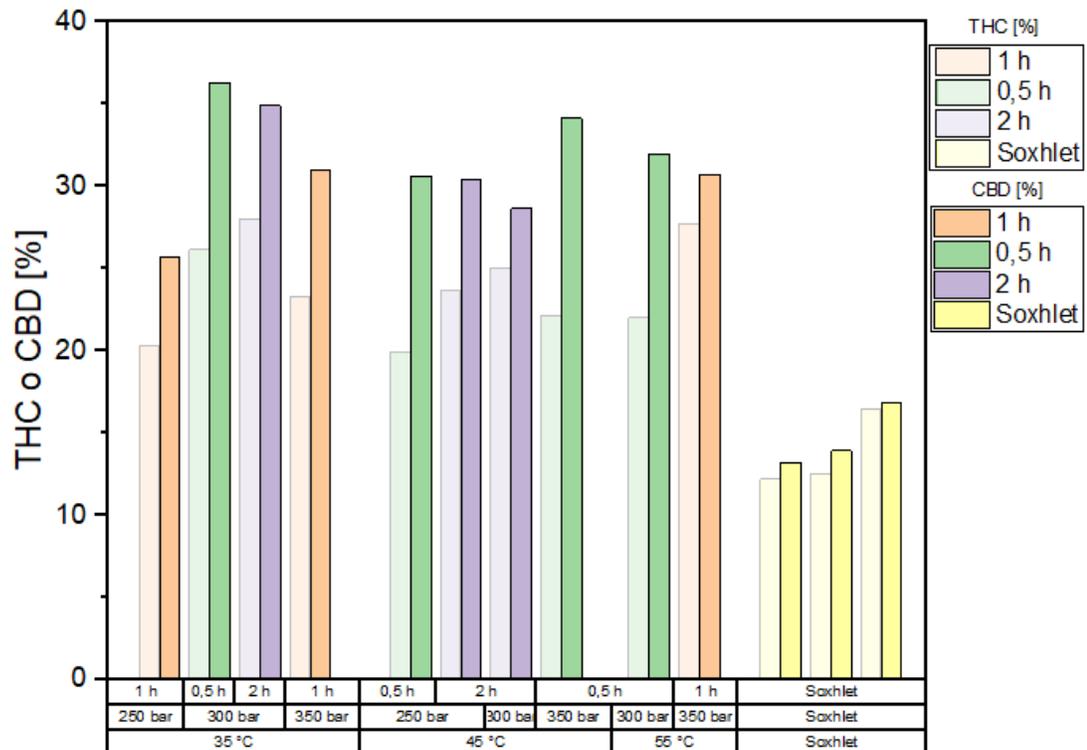


Ilustración 40. Perfil de cannabinoides obtenidos en cada extracto.

Teniendo en cuenta la cantidad en gramos de THC y CBD presentes en cada extracción se calcula el porcentaje de cada cannabinoide con la siguiente ecuación:

$$\frac{THC_{extracto} [g]}{CBD_{extracto} [g] + THC_{extracto} [g]} \cdot 100\% = \frac{THC}{CBD + THC} [\%]$$

Los resultados se muestran en la Ilustración 41 y en la Tabla 11.

Tabla 11. Porcentaje de cada cannabinoide respecto a los cannabinoides totales presentes en el extracto.

Experimento	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [horas]	THC/ (THC+CBD) [%]	CBD/ (THC+CBD) [%]	CBD/THC
3	55	350	1	47,44	52,56	1,11
5	35	300	0,5	41,85	58,15	1,39
6	35	250	1	44,13	55,87	1,27
9	45	300	2	46,65	53,35	1,14
10	45	250	2	43,69	56,31	1,29
11	35	350	1	42,87	57,13	1,33
12	35	300	2	44,53	55,47	1,25
13	45	250	0,5	39,33	60,67	1,54
14	55	300	0,5	40,78	59,22	1,45
15	45	350	0,5	39,36	60,64	1,54

15'	45	350	0,5	40,99	59,01	1,44
Soxhlet B1	150mL etanol, durante 12 h, c/u con 5g de materia prima.			48,03	51,97	1,08
Soxhlet B2				47,35	52,65	1,11
Soxhlet B3				49,55	50,45	1,02

Los datos resaltados en verde oscuro son los resultados con mayor contenido del cannabinoide respectivo en cuanto al total de cannabinoides, con el fin de observar mejor gráficamente estas diferencias se grafica en columnas agrupadas según la condición respectiva (ilustración 38). Es notable que la extracción con CO₂ supercrítico es más selectivo al CBD, mientras que Soxhlet extrae en una proporción muy similar cada cannabinoide respecto a la flor inicial.

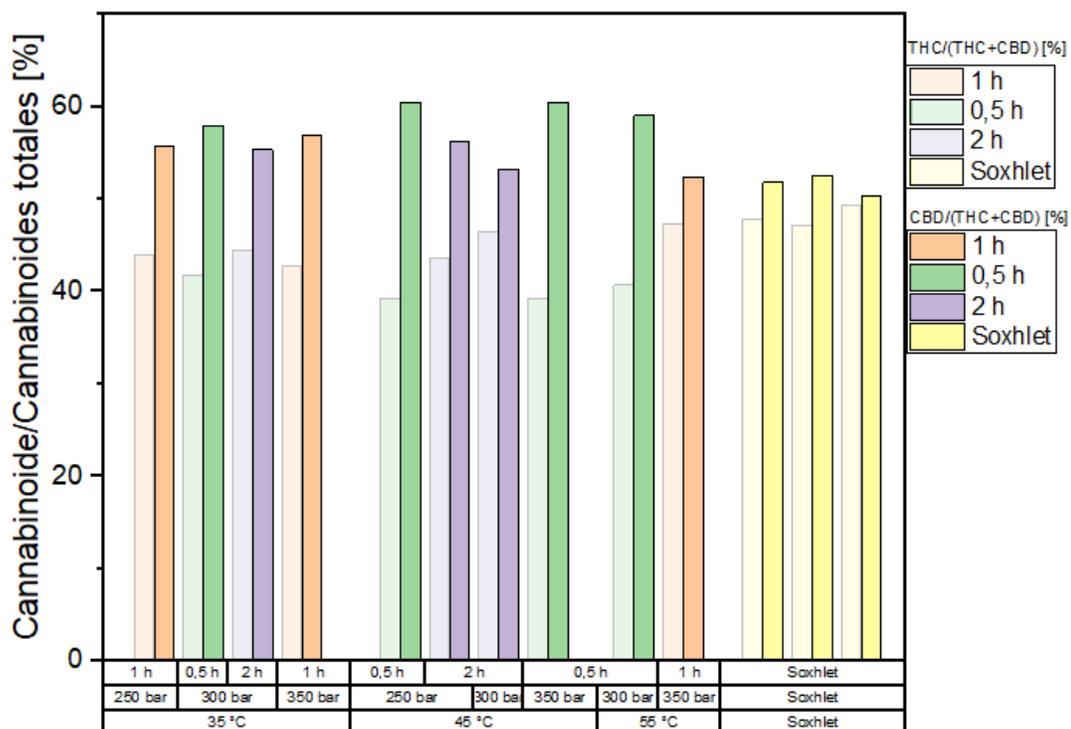


Ilustración 41. Comparación THC y CBD contenidos en el extracto de cada experimento respecto a la totalidad de THC y CBD.

Consumo de CO₂

Tabla 12. Consumo de CO₂ en cada experimento de SFE.

Experimento	Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [horas]	% Rendimiento	Consumo de CO ₂ [L]
3	55	350	1	5,7	152,36
5	35	300	0,5	2,7	134,63

6	35	250	1	4,1	130,85
9	45	300	2	6,2	264,86
10	45	250	2	6,3	189,12
10 SDI	45	250	2	2,5	131,06
11	35	350	1	2,7	131,93
12	35	300	2	4,9	256,76
13	45	250	0,5	2,3	185,42
14	55	300	0,5	2,4	122,69
15	45	350	0,5	3,9	141,72
15'	45	350	0,5	1,5	115,18

Análisis estadístico

Variables estudiadas

Independientes:

- Temperatura [°C]
- Presión [bar]
- Tiempo [h]

Respuesta:

- Rendimiento extracción [%]
- Contenido de cannabinoides THC-CBD [%]

Se hace una regresión múltiple del rendimiento teniendo en cuenta que:

Variable dependiente: Rendimiento [%]

Variables independientes:

- Temperatura [°C]
- Tiempo [horas]

Como resultado se tiene:

Tabla 13. Resultados análisis estadísticos de los experimentos

		<i>Error</i>	<i>Estadístico</i>	
<i>Parámetro</i>	<i>Estimación</i>	<i>Estándar</i>	<i>T</i>	<i>Valor-P</i>
Temperatura [°C]	0,0383721	0,0114233	3,3591	0,0084
Tiempo [horas]	2,15345	0,411386	5,23463	0,0005

Análisis de varianza

Tabla 14. Análisis de varianza del análisis estadístico.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	186,955	2	93,4775	111,06	0,0000
Residuo	7,57506	9	0,841673		
Total	194,53	11			

$$R^2=96,106\%$$

$$R^2 \text{ (ajustado para g.l.)} =95,6733\%$$

$$\text{Error estándar del est.} =0,917428$$

$$\text{Error absoluto medio}=0,756329$$

$$\text{Estadístico Durbin-Watson}=1,61358$$

$$\text{Autocorrelación de residuos en retraso1} =-0,0550643$$

La regresión múltiple indica que tanto la temperatura como el tiempo tienen un impacto significativo aumentando el rendimiento de la extracción.

La ecuación del modelo ajustado es:

$$\text{Rendimiento [\%]} = 0,0383721 \cdot \text{Temperatura [}^\circ\text{C]} + 2,15345 \cdot \text{Tiempo[horas]}$$

Los coeficientes para la temperatura y el tiempo son estadísticamente significativos con valores p de 0,0084 y 0,005 respectivamente como se muestra en la Tabla 13, lo que indica que ambos factores contribuyen al modelo predictivo del rendimiento. El análisis de varianza muestra que el modelo se ajusta a las variables de respuesta, con un R2 del 95,67%, lo que indica que el modelo explica gran parte de la variabilidad observada en los datos, se construye la superficie de respuesta con los datos obtenidos con el modelo como se observa en la Ilustración 42.

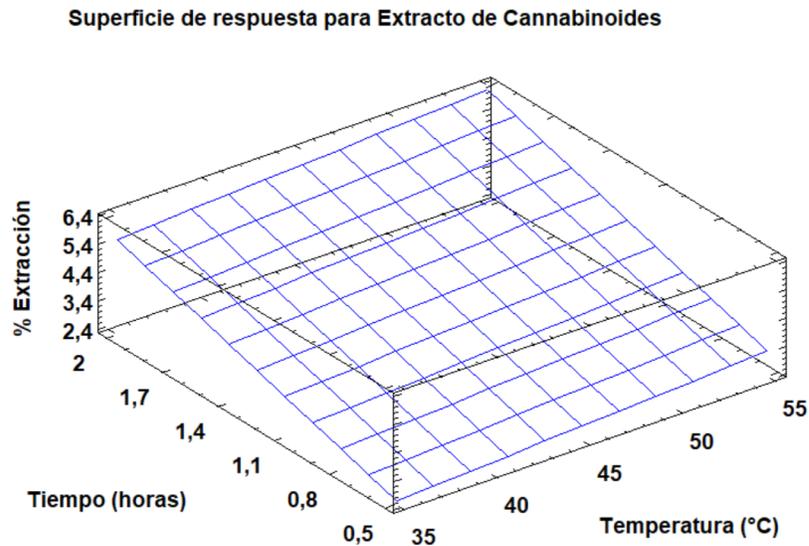


Ilustración 42. Superficie de respuesta % extracción respecto al tiempo y temperaturas empleados

La superficie de respuesta revela que el rendimiento de la extracción aumenta con la temperatura y con el tiempo. A temperaturas más altas, el CO₂ alcanza una mayor densidad y solubiliza más fácilmente los compuestos lipofílicos, como los cannabinoides. Este efecto se ve intensificado con tiempos de extracción más largos, lo que permite un mayor contacto entre el solvente y el material vegetal.

Las diferencias de los datos ajustados por modelo y los obtenidos experimentalmente se pueden observar en la Tabla 15:

Tabla 15. Resultados del modelo y datos experimentales

Temperatura [°C]	Presión [bar]	Tiempo [horas]	Rendimiento Experimental [%]	Rendimiento Obtenido [%]	Rend _{exp} -Rend _{obt} [%]
45	350	0,5	1,5	2,8	1,3
45	250	0,5	2,3	2,8	0,5
55	300	0,5	2,4	3,2	0,8
35	300	0,5	2,7	2,4	-0,3
45	350	0,5	3,9	2,8	-1,1
35	350	1	2,7	3,5	0,8
35	250	1	4,1	3,5	-0,6
55	350	1	5,7	4,3	-1,4
35	300	2	4,9	5,6	0,7
45	300	2	6,2	6,0	-0,2
45	250	2	6,3	6,0	-0,3

Al mirar en la tabla 15 la diferencia entre los rendimientos experimentales y los rendimientos obtenidos con el modelo permite evidenciar que ningún dato dista más de un 1,5%, lo que demuestra el buen ajuste del modelo a los datos experimentales.

VIII. DISCUSIÓN

Termodinámica de los experimentos

Las ilustraciones 20, 21, 22 y 23 que son los diagramas de fases respectivos a cada propiedad, proporcionan un panorama claro del comportamiento termodinámico del CO₂ y los puntos asociados a cada experimento dentro de la región supercrítica evaluada. La correcta interpretación de los datos y la relación entre las diferentes fases (vapor, líquido y punto crítico) es muy importante para entender el comportamiento de cada experimento.

Los diagramas de fases del CO₂ revelan el comportamiento del dióxido de carbono bajo diversas condiciones de presión y temperatura. Estos diagramas son fundamentales para entender los puntos de transición de fase y las propiedades termodinámicas del CO₂, especialmente en aplicaciones de extracción supercrítica. La curva de saturación divide las regiones de líquido y vapor, y las condiciones por debajo de esta curva indican una mezcla de composición en líquido y vapor en equilibrio termodinámico. El punto crítico resaltado en cada uno de los diagramas se observa como el punto donde la fase líquida se vuelven indistinguibles y más allá de este punto el CO₂ existe en un estado supercrítico.

A medida que la presión aumenta a temperatura constante, la densidad del CO₂ también aumenta, resultando en un fluido con densidad y viscosidad similares a las del líquido. Contrariamente, la difusividad disminuye con el aumento de la presión, teniendo valores y comportamientos más cercanos a los del gas. Estas variaciones afectan la solubilidad de los compuestos en el CO₂ durante los experimentos.

La extracción selectiva de compuestos bioactivos como carotenoides, lípidos y otros compuestos valiosos presentes en las plantas y microalgas es posible debido a la variación de las propiedades termodinámicas en condiciones supercríticas. Además, la polaridad del CO₂ puede ajustarse mediante la modificando las condiciones o adicionando cosolventes.

Limitaciones operacionales

Durante la validación del desempeño del equipo de extracción con fluidos supercríticos, se presentaron varias limitaciones operacionales significativas. Inicialmente, se experimentaron problemas de despresurización del CO₂ debido a una obstrucción en un filtro de 15 micrómetros ubicado después del reactor, antes de la primera válvula solenoide. Esta obstrucción fue causada

por el arrastre de las bolsitas de té o dedales, utilizados como sujetadores del material vegetal (cannabis descarboxilada), a través de la tubería durante el proceso de despresurización.

Debido a las altas presiones, las bolsitas de té o dedales fueron forzados a través de la tubería, causando bloqueos en el filtro. Para mitigar esta obstrucción, se disminuyó la cantidad de material cargado en cada dedal, con el objetivo de evitar que funcionara como un tapón durante la despresurización. Sin embargo, esta solución no fue completamente efectiva, ya que los dedales con material vegetal continuaron siendo absorbidos por la tubería.

Para resolver este problema, se optó por utilizar material vegetal con un tamaño de partícula mayor a 15 micras y se descartó el uso de dedales. En su lugar, se empleó una malla de 180 micrómetros, incluida en el diseño del equipo. No obstante, esta malla permitió la filtración de partículas más pequeñas, causando nuevamente obstrucciones en el filtro.

Con el fin de evitar estas filtraciones y obstrucciones, se ajustó el proceso de descarboxilación y molienda, reduciendo el tiempo de molienda para mantener un tamaño de partícula mayor. Además, se tamizó el material hasta 150 micras, utilizando para la extracción únicamente las partículas mayores a este tamaño. Con esta configuración, se logró que el equipo funcionara de manera eficiente.

Una observación adicional fue que, a presiones y temperaturas muy altas durante tiempos prolongados, las válvulas de seguridad comenzaron a liberar gas, y en las condiciones más extremas de los experimentos, el extracto empezó a salir por pequeños orificios de seguridad. Esto indicaba el empuje del extracto o la saturación del CO₂ durante la extracción, lo que podría estar relacionado con la alta solubilidad de los compuestos en CO₂ supercrítico y las dinámicas de transferencia de masa a esas condiciones extremas.

Los problemas de obstrucción iniciales se resolvieron mediante ajustes en el tamaño de las partículas del material vegetal y la configuración del equipo. Sin embargo, se observó que las condiciones extremas de presión y temperatura afectaban la integridad del sistema, lo que sugiere la necesidad de una calibración cuidadosa y monitoreo continuo para garantizar el desempeño óptimo del equipo de extracción con fluidos supercríticos.

Placas de cromatografía TLC

Se presentaron las revelaciones de las placas de cromatografía en capa fina (TLC) en tres condiciones. El revelado con luz ultravioleta (UV) se hizo a 254 nm y 365 nm, cada longitud de

onda permite la visualización y detección de una variedad de compuestos químicos específicos dependiendo de sus propiedades de absorción y fluorescencia.

Las placas de TLC de Silicagel utilizadas están recubiertas con un indicador fluorescente que brilla bajo la luz UV. Los compuestos aplicados en la placa absorben esta luz, bloqueando la fluorescencia y apareciendo como manchas oscuras en la placa fluorescente. La luz UV de 254nm, comúnmente conocida como luz morada. Esta longitud de onda se utiliza para visualizar compuestos orgánicos como anillos aromáticos y algunos compuestos insaturados. En general, en todas las placas obtenidas la presencia de los compuestos revelados a esta longitud de onda aparece como áreas claras o fluorescentes sobre un fondo más oscuro, esto indica, que los compuestos están absorbiendo fuertemente la luz UV de 254nm y no están fluoresciendo, sino apagando la fluorescencia de la placa.

La luz UV de 365 nm es referida comúnmente como luz verde, normalmente es utilizada para la visualización de compuestos que fluorescen a esta longitud de onda, como ciertos alcaloides, flavonoides y otros compuestos conjugados específicos. En las placas reveladas a esta longitud de onda, la presencia de manchas oscuras sugiere que los compuestos no están generando fluorescencia, pero si están absorbiendo la luz UV de 365nm, esto se corrobora en la presencia de manchas oscuras que indican la absorción de la luz UV y la consiguiente falta de fluorescencia del fondo de la placa.

El revelado por inmersión con vainillina proporcionó una evidencia clara al comparar con una placa teórica del kit de Alpha-cat (Ilustración 21), evidenciando coincidencias con las distancias a las que cada cannabinoide se revela respectivamente.

En el contexto de los 13 experimentos de extracción de cannabinoides con CO₂ supercrítico, estas coincidencias permiten evidenciar la presencia de THC y CBD, reforzando la asignación de las manchas observadas a estos compuestos específicos. La posición y el comportamiento de las manchas bajo ambas longitudes de onda coinciden con las características conocidas de absorción y no fluorescencia de estos cannabinoides, permitiendo una identificación confiable y una comparación directa con los patrones.

Efectos descarboxilación

En la extracción Soxhlet, no es necesario descarboxilar previamente el material vegetal, ya que el proceso implica temperaturas y tiempos suficientemente altos para facilitar la

descarboxilación in situ. Según el Fondo Nacional de Estupefacientes, la descarboxilación completa del ácido tetrahidrocannabinólico (THCA) a THC puede lograrse a 70°C durante 17 horas [95]. La extracción Soxhlet utiliza etanol como solvente y que dura 12 horas a temperaturas superiores a 70°C, garantizando una descarboxilación efectiva durante la extracción [96], [97].

La extracción con CO₂ supercrítico es un método más selectivo y respetuoso con el medio ambiente, permite la obtención de cannabinoides sin necesidad de altas temperaturas. Sin embargo, la descarboxilación previa del material vegetal puede ser necesaria para maximizar la cantidad de cannabinoides activos en el extracto final. Las condiciones de extracción utilizadas en los experimentos varían la presión entre 250-350 bar y temperaturas entre 35-55°C, temperaturas que no son suficientes para promover la descarboxilación completa de los ácidos cannabinoides en el tiempo de extracción establecido de 30 minutos a 2 horas. Por lo tanto, realizar una descarboxilación previa a la extracción es necesaria para obtener los metabolitos en su forma neutra.

A continuación, observamos la placa de cromatografía en capa fina (TLC) realizada para comparar la presencia de los metabolitos de interés antes y después de descarboxilar.

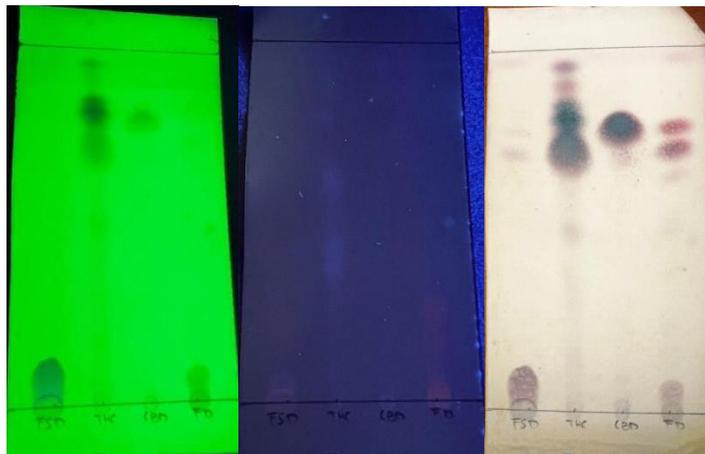


Ilustración 43. Comparación con cromatografía de capa fina del efecto de la descarboxilación.

La flor de cannabis sin descarboxilar (FSD) muestra varias manchas con diferentes R_f (factores de retención), indicando la presencia de una mezcla de compuestos, incluyendo ácidos cannabinoides como THCA y CBDA, que no se han convertido formas neutras (THC y CBD). Por lo tanto, la flor de cannabis sin descarboxilar (FSD) contiene predominantemente THCA, CBDA y otros compuestos que se observan como las manchas más cercanas a la línea de sembrado, ya que éstas manchas no corresponden a los factores de retención de los patrones comparativos de THC y CBD, aunque también estos se observan en menor concentración. Al descarboxilar la flor

de cannabis (FD), se observa la aparición de manchas que coinciden con los patrones de THC y CBD, lo que indica que la descarboxilación ha sido efectiva en convertir los ácidos cannabinoides en sus formas activas.

Comparación cualitativa extracto Soxhlet y SFE

Soxhlet B3

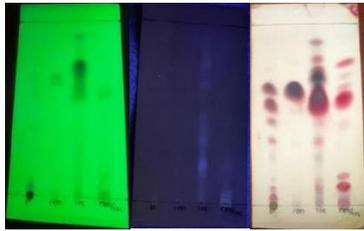


Ilustración 27. Soxhlet B3

Patrón

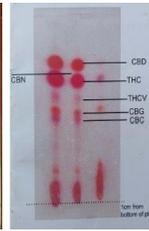


Ilustración 24. Patrón

Experimento 10 (12,0648g a 45°C y 250bar durante 2 horas)

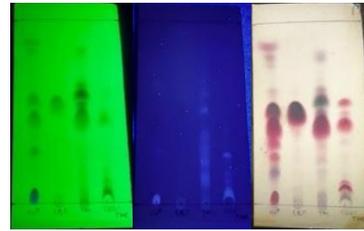


Ilustración 32. Experimento 10

Basando la comparación en las Ilustraciones 24, 27 y 32 que incluyen las TLC patrón de referencia del kit Alpha-cat y los obtenidos de las extracciones con Soxhlet B3 y el experimento 10 de fluidos supercríticos, la presencia de THC y CBD se evidencia al comparar con los experimentos con el patrón. También se observa la presencia del THCV y CBC en el revelado por inmersión del extracto con Soxhlet y en el extracto con fluidos supercríticos.

Cualitativamente el extracto hecho con CO₂ supercrítico contiene una mayor concentración de cannabinoides, evidenciado por las manchas más grandes en las distancias correspondientes a cada cannabinoide. La TLC de la extracción con CO₂ muestra la presencia de otros compuestos en menor proporción, ubicados más arriba de los patrones de THC y CBD, que no se revelan en la TLC del Soxhlet, indicando una selectividad para otros compuestos que no se encuentren en el extracto Soxhlet. Para identificar a qué compuestos va asociada cada marca correspondiente es necesario efectuar otro tipo de análisis.

Comparación cuantitativa rendimiento

Como se observó en la Ilustración 38, el método tradicional Soxhlet permite mayor rendimiento en cantidad de extracto, pero comparando con la ilustración 40 los extractos obtenidos con CO₂ supercrítico contienen mayor cantidad de cannabinoides, lo que resulta en mayor pureza,

con extractos que contienen más del 50% de su peso en THC y CBD, mientras que con el método Soxhlet solo se obtienen aproximadamente 30% del extracto en THC y CBD.

El rendimiento aumenta con tiempos prolongados de extracción. En promedio, para media hora de extracción se tiene un 2,8% de rendimiento, para una hora un 4,2% y con 2 horas de extracción se obtiene en promedio 5,8%. El experimento 10 obtuvo el mayor rendimiento, para los experimentos que duran 2 horas de extracción es necesario hacerle descargas intermedias cada 40 minutos. Sin descargas intermedias dio un rendimiento del 2,4% mientras que el que se hizo con descargas intermedias dio un rendimiento de 6,3%, lo cual da una diferencia de 3,9% más de cantidad de extracto, indicando que sin descargas intermedias se obtiene menos de la mitad del extracto que con las despresurizaciones intermedias. Este rendimiento del experimento de 2 horas sin descargas intermedias es muy similar y más cercano al promedio del rendimiento de los experimentos con media hora de extracción. Lo que ratifica la necesidad de ejercer descargas intermedias en el proceso para tiempos largos de extracción, evitar la saturación del CO₂ y lograr rendimientos más altos.

La normalización de los datos permite evidenciar cuantos cannabinoides se recuperaron de la muestra inicial de la matriz sólida, la Ilustración 39 y la Tabla 10 permite observar el porcentaje de recuperación de cada cannabinoide. La extracción Soxhlet arrastra todos los cannabinoides presentes inicialmente el material vegetal con una recuperación de más del 90%, mientras que los extractos con CO₂ supercrítico varían entre 7 y 37% de recuperación de cada cannabinoide. También se evidencia que con CO₂ supercrítico se recupera mayor cantidad de CBD que de THC, por lo tanto, corrobora la selectividad que tiene para cada cannabinoide.

Los datos estadísticos indican que la presión no ejerce un impacto significativo en el rendimiento del proceso. Las únicas variables significativas son la temperatura y el tiempo. Altas presiones requieren más fluido, pero no aumentan significativamente la cantidad de extracto, solo el consumo de CO₂.

Comparando la superficie de respuesta para el porcentaje de extracción, la cantidad obtenida con fluidos supercríticos es aproximadamente la sexta parte del extracto con Soxhlet, que requiere 12 horas comparado con experimentos de máximo 2 horas. Según la ecuación obtenida por el modelo de regresión múltiple, si se emplea una extracción con dióxido de carbono supercrítico la misma cantidad de tiempo que requeriría una extracción Soxhlet se obtendría un 27,9% de rendimiento aproximadamente, sin embargo, este extracto contendría un mejor perfil y

menor cantidad de compuestos indeseados en el extracto, lo cual resulta beneficioso según el uso posterior del extracto.

Perfil de Cannabinoides

Teniendo en cuenta los resultados de la Tabla 10 representados en las Ilustraciones 39 y 40 se observa que a 35 °C el rendimiento de CBD tiende a aumentar con la presión, sin embargo, a 350 bar y mayor tiempo de extracción disminuye este rendimiento. En particular, a 300 bar y 0,5 horas de extracción, se alcanza el máximo porcentaje de CBD. El incremento de la presión aumenta la densidad del CO₂, mejorando su capacidad solvente para el CBD. El THC sigue una tendencia similar, con un aumento en el rendimiento de cada cannabinoide en las condiciones respectivas, aunque los valores absolutos son generalmente menores que los del CBD en estas condiciones.

A 45 °C, el rendimiento de extracción del CBD mejora notablemente, especialmente a 350 bar, donde el rendimiento es superior al observado a 35 °C. La combinación de mayor temperatura y presión optimiza la solubilidad del CBD en el CO₂ supercrítico. Para el THC, se observa una tendencia similar. La extracción a 350 bar y 0,5 horas proporciona un buen rendimiento, lo que indica que las condiciones de alta presión y temperatura favorecen la extracción de THC.

A 55 °C, se mantiene la tendencia de alto rendimiento para el CBD, destacándose a 350 bar y 0,5 horas de extracción. La mayor temperatura reduce la viscosidad del CO₂, facilitando la penetración en el material vegetal y la solubilización del CBD. El THC muestra un comportamiento similar, con rendimientos elevados bajo condiciones de alta presión y temperatura.

En general es notable que en todas las condiciones de temperatura la mayor cantidad de cannabinoides se obtuvo a menores tiempos de extracción, lo que indica que con menores tiempos de extracción se obtienen mayor cantidad de cannabinoides en el extracto y menor cantidad de otros compuestos que puedan ser arrastrados en el proceso.

Comparando estos resultados con la metodología Soxhlet, se observa que los rendimientos de CBD son inferiores en comparación con la extracción con CO₂ supercrítico en las mejores condiciones para mayor cantidad de cannabinoides en el extracto (alta temperatura y cortos tiempos de extracción). Esto sugiere que el CO₂ supercrítico es un solvente más eficiente para el CBD, probablemente debido a su mayor capacidad de penetración y solubilización bajo condiciones supercríticas. De manera similar, los rendimientos de THC con Soxhlet son inferiores a los

obtenidos con CO₂ supercrítico, reafirmando la selectividad del CO₂ supercrítico en la extracción de THC, que se beneficia de la alta solubilidad y selectividad del CO₂ en estado supercrítico.

El CO₂ supercrítico presenta una alta afinidad por compuestos lipofílicos, el CBD al ser un metabolito secundario proveniente de los lípidos es altamente soluble en CO₂ supercrítico. A presiones elevadas, el CO₂ aumenta su densidad, mejorando la solubilización del CBD. La temperatura también juega un papel importante, ya que incrementa la energía cinética de las moléculas, facilitando su desorción y solubilización. Aunque el THC también es soluble en CO₂ supercrítico, muestra una solubilidad ligeramente menor que el CBD, posiblemente debido a diferencias en la estructura molecular y polaridad. Sin embargo, el aumento de presión y temperatura mejora significativamente su extracción, similar al CBD.

Se observa una tendencia hacia una mayor extracción de CBD en comparación con THC, debido a la mayor afinidad del CBD, que es ligeramente más polar que el THC, por el CO₂ supercrítico en estas condiciones [98]. La extracción Soxhlet, que utiliza solventes orgánicos a temperaturas elevadas durante un período prolongado, muestra una menor selectividad entre CBD y THC en comparación con CO₂ supercrítico, debido a que no permite ajustes finos en las condiciones del solvente como lo hace el CO₂ supercrítico [54]

Comparación de cannabinoides diferentes métodos

La gráfica de la ilustración 40 muestra la cuantificación de los extractos de cannabis realizados con CO₂ supercrítico en diferentes condiciones de presión y temperatura, comparados con la extracción Soxhlet. Los colores claros representan el contenido de THC, mientras que los colores oscuros indican el contenido de CBD sobre la totalidad de THC y CBD contenidos en el extracto.

El CO₂ supercrítico es un solvente versátil y eficiente para la extracción de cannabinoides debido a su capacidad de ajustar sus propiedades (densidad, viscosidad, etc.) mediante cambios en la presión y la temperatura. Este solvente puede ser más selectivo para ciertos compuestos dependiendo de las condiciones de extracción.

La selectividad del CO₂ supercrítico se puede explicar en términos de la solubilidad diferencial de los cannabinoides bajo diferentes condiciones de presión y temperatura. El CBD, siendo más polar que el THC, puede disolverse mejor en CO₂ supercrítico a presiones y temperaturas específicas. Además, el CO₂ supercrítico tiene la ventaja de poder penetrar

eficientemente en la matriz vegetal y extraer compuestos de manera selectiva mediante ajustes en las condiciones operativas. Se ha observado que diferentes combinaciones de temperatura y presión pueden favorecer la extracción de CBD sobre THC o viceversa. Por ejemplo, temperaturas más bajas combinadas con presiones elevadas pueden ser más selectivas para el CBD [99].

Basados en la ilustración 41, que compara la eficiencia de la extracción de cannabinoides utilizando diversas condiciones de CO₂ supercrítico y el método Soxhlet. También se observa que la extracción de CBD con CO₂ supercrítico durante media hora (0.5 h) a diferentes temperaturas y presiones produce mayores rendimientos de CBD en comparación con los tiempos de extracción de 1 hora y 2 horas en muchas condiciones. Este fenómeno se puede explicar por factores relacionados con la cinética de extracción rápida, ya que el CO₂ puede disolver y transportar la mayor parte de los cannabinoides disponibles en la superficie y en los poros accesibles de la matriz; un estudio sobre la cinética de extracción de compuestos bioactivos sugiere que los primeros minutos de la extracción son críticos y proporcionan una cantidad significativa del compuesto objetivo debido a la alta concentración de solutos accesibles [100].

Durante los primeros 30 minutos, el CO₂ supercrítico puede no alcanzar la saturación completa de solutos, permitiendo una extracción más eficiente de CBD. Sin embargo, a medida que el tiempo avanza, la saturación del CO₂ con los solutos extraídos puede reducir la eficiencia de extracción en cuanto a este cannabinoide [101]. Las condiciones óptimas para tener mayores concentraciones de CBD en los extractos son a 45°C durante media hora a 250 bar y 350 bar, estudios demuestran que en estas condiciones aumenta la solubilidad del compuesto en tiempos cortos [102].

Extracciones con tiempos prolongados enfrentan limitaciones debidos a la difusión del CBD desde el interior de la matriz vegetal. La cinética de extracción muestra que los tiempos adicionales proporcionan rendimientos incrementales menores [100]. Aunque a temperaturas moderadas se minimiza la degradación térmica, tiempos prolongados de extracción pueden incrementar la degradación de compuestos sensibles [103].

Consumo de CO₂

Basados en los resultados de la Tabla 12. El tiempo de extracción es determinante para alcanzar el equilibrio entre el solvente y la matriz sólida. Un tiempo más prolongado permite una mayor interacción entre el CO₂ supercrítico y la matriz, mejorando el rendimiento.

Aumentar la temperatura conlleva al aumento de la solubilidad de los compuestos en CO₂ supercrítico debido a la mayor energía cinética de las moléculas, lo que facilita su difusión y disolución. Aumentar la presión generalmente aumenta la densidad del CO₂ supercrítico, mejorando su capacidad de disolución. Sin embargo, más allá de cierto punto, el aumento de presión puede no incrementar significativamente el rendimiento debido a la saturación del solvente.

El experimento 9 (35°C, 300 bar, 2 horas) muestra un rendimiento del 6,2% con un consumo de CO₂ de 264,86 L, indicando que una alta presión a temperatura moderada puede ser efectiva, pero también resultando en un mayor consumo de CO₂. En el experimento 10 (45°C, 250 bar, 2 horas), se obtiene el mayor rendimiento del 6,3% con un consumo de CO₂ de 189,12 L. Demostrando que un tiempo adecuado de extracción y condiciones optimizadas de temperatura y presión, puede maximizar el rendimiento sin un consumo excesivo de CO₂.

Experimentos como el 11 (35°C, 300 bar, 1 hora) muestran un bajo rendimiento del 2,7% con un consumo de CO₂ de 131,93 L, indicando que, aunque el consumo de CO₂ es bajo, el rendimiento extracción es bajo.

Ventajas y desventajas de cada método de extracción.

Tabla 16. Ventajas y desventajas de los métodos de extracción Soxhlet y SFE

Ventajas	Desventajas
Extracción con fluidos supercríticos (SFE)	
Las condiciones termodinámicas en las que se hace la extracción son bajas, la temperatura y la presión operan bajo condiciones suaves, lo que implica mayor control en el proceso.	La aplicación de esta técnica implica conocimiento técnico especializado para operar y optimizar las condiciones del proceso limitando la accesibilidad.
Los fluidos supercríticos utilizados normalmente son compuestos no tóxicos y seguros, el más utilizado es el CO ₂ , que es un solvente no tóxico inerte y seguro.	Los costos de inversión para una extraer con fluidos supercríticos es mayor, lo que puede implicar una barrera significativa para pequeñas empresas o laboratorios
Los tiempos de extracción son menores al implementar presiones elevadas para arrastrar o solubilizar rápidamente los compuestos de interés, permitiendo una mayor eficacia en el tiempo	El nivel de escalación puede ser limitado, aunque a nivel de laboratorio sea viable a pequeña escala, puede presentar desafíos técnicos y económicos [100]

Aumento de la velocidad de reacción en procesos que ocurren en fase líquida (controlados por la difusión)	Los rendimientos de extracción son menores comparados con otros métodos de extracción
El CO ₂ utilizado puede ser recuperado y reutilizado fácilmente, lo que mejora la sostenibilidad y reduce los costos operativos a largo plazo	El CO ₂ supercrítico tiene una polaridad similar a la de un solvente no polar, lo que puede limitar su capacidad para extraer compuestos muy polares sin el uso de cosolventes
Según las condiciones termodinámicas del proceso existirá una preservación de compuestos termolábiles, lo que implica una mayor selectividad y un aumento en la pureza del extracto.	
Extracción Soxhlet	
Es un proceso sencillo, económico y fácil de implementar, requiere equipos básicos y es fácil de implementar en la mayoría de los laboratorios.	Es una extracción muy lenta ya que el ciclo de extracción dura varias horas de proceso, lo cual limita su uso cuando se necesita una extracción rápida
Es un método que permite una extracción exhaustiva de los compuestos presentes en el material vegetal inicial.	Requiere grandes cantidades de volúmenes de solvente, lo cual además de afectar su economía también afecta el tema ambiental implicando la necesidad de su recuperación y manejo adecuado para evitar problemas de seguridad y contaminación
Es especialmente útil para extraer compuestos que tienen baja solubilidad en el solvente a temperatura ambiente	Al requerir temperaturas elevadas durante el proceso para la ebullición del solvente puede causar degradación térmica de los compuestos sensibles al calor afectando calidad y pureza del extracto.
No requiere un control muy preciso de las condiciones operativas como temperatura y presión	No es una técnica adecuada para la extracción de compuestos volátiles ya que pueden evaporarse y perderse durante el proceso de ebullición y condensación
Debido a su naturaleza continua y repetitiva tiende a ser altamente reproducible	
Permite extraer grandes cantidades de muestras con una buena consistencia en los resultados	

IX. CONCLUSIONES

- La extracción con CO₂ supercrítico ha demostrado ser más selectivo que el método Soxhlet en términos de la obtención de cannabinoides como CBD y THC. La capacidad del CO₂ supercrítico de ajustar sus propiedades físicas mediante cambios en presión y temperatura, confiere en una alta selectividad y pureza en la extracción de compuestos específicos.
- Las condiciones óptimas de extracción de cannabinoides con CO₂ supercrítico son a 45°C durante 2 horas a 250 bar, obteniendo un rendimiento del 6,3%.
- Los resultados estadísticos indican que las variables que más impacto tienen en el rendimiento de la extracción con CO₂ supercrítico son la temperatura y el tiempo, estas variables impactan directamente proporcional al rendimiento, sin embargo, con la presión ha demostrado no tener un impacto significativo.
- Al comparar el método Soxhlet con la extracción con CO₂ supercrítico, se evidencia que el segundo ofrece ventajas significativas en términos de tiempo de extracción y selectividad. El método Soxhlet, aunque exhaustivo y con mayores rendimientos de extracción es lento y menos selectivo, además de requerir grandes volúmenes de solvente orgánico y temperaturas elevadas que pueden degradar los compuestos sensibles.
- La selectividad del CO₂ supercrítico para compuestos como el CBD es mayor que para el THC, debido a diferencias en la solubilidad y polaridad molecular. Siendo mayor esta diferencia con menores tiempos de extracción. Lo cual permite ajustar las condiciones de extracción (presión y temperatura) para maximizar la recuperación de CBD sobre THC o viceversa, según los objetivos del proceso.
- El perfil de cannabinoides obtenido con cada método varía significativamente respecto a la caracterización de la materia vegetal inicial, los extractos obtenidos con Soxhlet son en proporción muy similares a la materia prima, sin embargo, los extractos con CO₂ supercríticos contienen un perfil que favorece al CBD.
- La recuperación de THC y CBD es mayor en la extracción Soxhlet, ya que al ser un extracto de espectro completo recupera aproximadamente el 100% de los metabolitos contenidos en el material vegetal inicial. Mientras que en la extracción con CO₂ supercrítico el residuo de la extracción todavía contiene THC y CBD disponible para extraer.

- El manejo del equipo de extracción con CO₂ supercrítico requiere conocimientos técnicos especializados debido a la necesidad de controlar con precisión las condiciones de presión y temperatura para optimizar la extracción de cannabinoides. La configuración y operación del equipo demandan una formación adecuada para asegurar la seguridad y eficiencia del proceso.
- La cinética de extracción rápida con CO₂ supercrítico muestra que los primeros 30 minutos son críticos para obtener una cantidad significativa de cannabinoides debido a la alta concentración de solutos accesibles. A medida que el tiempo avanza, la saturación del CO₂ con los solutos extraídos puede reducir la eficiencia de extracción, sugiriendo que los tiempos de extracción prolongados proporcionan rendimientos incrementales menores.

X. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios adicionales para optimizar aún más los parámetros de extracción de CO₂ supercrítico, explorando combinaciones de temperatura, presión y tiempo más allá de los límites establecidos en este estudio. La implementación de un diseño experimental más amplio podría identificar condiciones operativas que maximicen aún más el rendimiento y la selectividad de los cannabinoides.

Investigar la viabilidad de escalar el proceso de extracción con CO₂ supercrítico a niveles industriales, el estudio de resultados más acertados sobre la eficiencia y el costo en condiciones de operación a gran escala proporcionarán una visión más clara sobre la aplicabilidad comercial de esta tecnología.

La incorporación de cosolventes amigables con el medio ambiente podría mejorar la solubilidad de los compuestos objetivo. Futuros estudios deberían investigar el efecto de diferentes cosolventes en la eficiencia de extracción y en la calidad de los extractos obtenidos.

Además de los cannabinoides principales (THC, CBD y CBN), se recomienda estudiar la extracción de otros componentes bioactivos presentes en el *Cannabis Sativa sp.* La identificación y cuantificación de estos componentes podría abrir nuevas vías de aplicación y mercado.

El estudio financiero de las metodologías empleadas en este trabajo permitiría visualizar la aplicabilidad para pequeñas y grandes industrias de extracción.

REFERENCIAS

- [1] S. Rochfort *et al.*, “Utilisation of Design of Experiments Approach to Optimise Supercritical Fluid Extraction of Medicinal Cannabis,” *Sci. Rep.*, vol. 10, no. 1, pp. 1–7, 2020, doi: 10.1038/s41598-020-66119-1.
- [2] S. Qamar, Y. J. M. Torres, H. S. Parekh, and J. Robert Falconer, “Extraction of medicinal cannabinoids through supercritical carbon dioxide technologies: A review,” *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, vol. 1167, no. February, p. 122581, 2021, doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122581.
- [3] A. C. Bradford and W. David Bradford, “Factors driving the diffusion of medical marijuana legalisation in the United States,” *Drugs Educ. Prev. Policy*, vol. 24, no. 1, pp. 75–84, Jan. 2017, doi: 10.3109/09687637.2016.1158239.
- [4] C. Wilkins, “After the legalisation of cannabis: the Cannabis Incorporated Society (CIS) regulatory model for recreational cannabis in New Zealand,” *NZMJ*, vol. 22, p. 1433, 2016, Accessed: Dec. 19, 2023. [Online]. Available: www.nzma.org.nz/journal.
- [5] J. Omar, M. Olivares, M. Alzaga, and N. Etxebarria, “Optimisation and characterisation of marihuana extracts obtained by supercritical fluid extraction and focused ultrasound extraction and retention time locking GC-MS,” *J. Sep. Sci.*, vol. 36, no. 8, pp. 1397–1404, Apr. 2013, doi: 10.1002/JSSC.201201103.
- [6] G. Micalizzi, F. Vento, F. Alibrando, D. Donnarumma, P. Dugo, and L. Mondello, “Cannabis Sativa L.: a comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1637, p. 461864, 2021, doi: 10.1016/j.chroma.2020.461864.
- [7] C. M. Andre, J. F. Hausman, and G. Guerriero, “Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules,” *Front. Plant Sci.*, vol. 7, no. FEB2016, pp. 1–17, 2016, doi: 10.3389/fpls.2016.00019.
- [8] I. J. Flores-Sanchez and R. Verpoorte, “Secondary metabolism in cannabis,” *Phytochem. Rev.*, vol. 7, no. 3, pp. 615–639, 2008, doi: 10.1007/s11101-008-9094-4.
- [9] B. Whittle and G. Hill, Colin A.; Flockhart, Ian R.; Downs, David; Gibson, Peter y Wheatley, “Extracción de cannabinoides farmacéuticamente activos de materiales vegetales,” pp. 1–30, 2012.
- [10] A. C. de Aguiar, R. Vardanega, J. Viganó, and E. K. Silva, “Supercritical Carbon Dioxide Technology for Recovering Valuable Phytochemicals from Cannabis sativa L. and Valorization of Its Biomass for Food Applications,” *Molecules*, vol. 28, no. 9, 2023, doi: 10.3390/molecules28093849.
- [11] M. Chavarria, “Evaluación del porcentaje de recuperación y determinación de cannabinoides principales de inflorescencias de Cannabis: Un enfoque comparativo de diferentes técnicas de extracción,” 2023.
- [12] S. Qamar, Y. J. Manrique, H. S. Parekh, and J. R. Falconer, “Development and Optimization

- of Supercritical Fluid Extraction Setup Leading to Quantification of 11 Cannabinoids Derived from Medicinal Cannabis,” pp. 1–19, 2021.
- [13] H. Boumghar, M. Sarrazin, X. Banquy, D. C. Boffito, G. S. Patience, and Y. Boumghar, “Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Fluid Extraction of Medicinal Cannabis from Quebec,” *Processes*, vol. 11, no. 7, pp. 1–12, 2023, doi: 10.3390/pr11071953.
- [14] V. Pilařová, Z. Hadysová, F. Švec, and L. Nováková, “Supercritical fluids in analysis of cannabinoids in various Cannabis products,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 1232, no. September, 2022, doi: 10.1016/j.aca.2022.340452.
- [15] S. V. Luca, T. Kittl, and M. Minceva, “Supercritical CO₂ extraction of hemp flowers: A systematic study to produce terpene-rich and terpene-depleted cannabidiol fractions,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 187, no. PA, p. 115395, 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2022.115395.
- [16] P. W. Addo, V. Desaulniers Brousseau, V. Morello, S. MacPherson, M. Paris, and M. Lefsrud, “Cannabis chemistry, post-harvest processing methods and secondary metabolite profiling: A review,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 170, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.INDCROP.2021.113743.
- [17] M. Kondo, N. Akgun, M. Goto, A. Kodama, and T. Hirose, “Semi-batch operation and countercurrent extraction by supercritical CO₂ for the fractionation of lemon oil,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 23, no. 1, pp. 21–27, 2002, doi: 10.1016/S0896-8446(01)00133-4.
- [18] V. M. Gómez-López *et al.*, “Guidelines on reporting treatment conditions for emerging technologies in food processing,” *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 62, no. 21, pp. 5925–5949, 2022, doi: 10.1080/10408398.2021.1895058.
- [19] L. J. Rovetto and N. V. Aieta, “Supercritical carbon dioxide extraction of cannabinoids from *Cannabis sativa* L.,” *J. Supercrit. Fluids*, vol. 129, pp. 16–27, 2017, doi: 10.1016/j.supflu.2017.03.014.
- [20] E. B. Russo, “History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet,” *Chem. Biodivers.*, vol. 4, no. 8, pp. 1614–1648, 2007, doi: 10.1002/cbdv.200790144.
- [21] M. Robin M, M. Paul D, C. H. Forti, and M. Di, “Cannabis, the mind and society: the hash realities,” *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 8, pp. 885–895, 2007, [Online]. Available: <https://www.nature.com/articles/nrn2253>.
- [22] R. G. Pertwee, “Cannabinoid pharmacology: the first 66 years,” 2006, doi: 10.1038/sj.bjp.0706406.
- [23] “Marijuana Policy Project - We Change Laws!” <https://www.mpp.org/> (accessed Jun. 17, 2024).
- [24] “Legislative News, Studies and Analysis | National Conference of State Legislatures.” <https://www.ncsl.org/> (accessed Jun. 17, 2024).
- [25] N. Álvarez, N. Pose, and C. Luján, “La política internacional de la regulación del cannabis en Uruguay. Un análisis de la respuesta uruguaya a los desafíos y oportunidades del régimen internacional de drogas,” *Desafíos*, vol. 29, no. 2, Jun. 2017, doi: 10.12804/revistas.urosario.edu.co/desafios/a.5223.

- [26] J. M. Ospina Díaz, F. G. Manrique Abril, P. A. Ospina Ariza, and A. Manrique Abril, "LEGALIZACION DE LA MARIHUANA EN COLOMBIA : Legalization of marijuana in Colombia : economic perspective .," *Rev. Salud Hist. y Sanid.*, vol. 10, no. 2, pp. 3–22, 2015.
- [27] I. R. Y. Globales, *La problemática del tráfico ilícito de drogas: impactos regionales y globales*. 2018.
- [28] A. C. Elkins, M. A. Deseo, S. Rochfort, V. Ezernieks, and G. Spangenberg, "Development of a validated method for the qualitative and quantitative analysis of cannabinoids in plant biomass and medicinal cannabis resin extracts obtained by super-critical fluid extraction," *J. Chromatogr. B*, vol. 1109, pp. 76–83, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.JCHROMB.2019.01.027.
- [29] C. M. Andre, J. F. Hausman, and G. Guerriero, "Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules," *Front. Plant Sci.*, vol. 7, no. FEB2016, p. 174167, Feb. 2016, doi: 10.3389/FPLS.2016.00019/BIBTEX.
- [30] U. Karğılı and E. Aytaç, "Supercritical fluid extraction of cannabinoids (THC and CBD) from four different strains of cannabis grown in different regions," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 179, p. 105410, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.supflu.2021.105410.
- [31] A. Hazekamp, *Cannabis : extracting the medicine*. 2007.
- [32] T. P. Freeman, T. Groshkova, A. Cunningham, R. Sedefov, P. Griffiths, and M. T. Lynskey, "Increasing potency and price of cannabis in Europe, 2006–16," *Addiction*, vol. 114, no. 6, pp. 1015–1023, 2019, doi: 10.1111/add.14525.
- [33] C. Da Porto, D. Voinovich, D. Decorti, and A. Natolino, "Response surface optimization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) oil yield and oxidation stability by supercritical carbon dioxide extraction," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 68, pp. 45–51, 2012, doi: 10.1016/j.supflu.2012.04.008.
- [34] M. M. R. De Melo, A. J. D. Silvestre, and C. M. Silva, "Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 92, pp. 115–176, 2014, doi: 10.1016/j.supflu.2014.04.007.
- [35] J. W. King, "Modern Supercritical Fluid Technology for Food Applications," 2014, doi: 10.1146/annurev-food-030713-092447.
- [36] H. Perrotin-Brunel, M. C. Kroon, M. J. E. van Roosmalen, J. van Spronsen, C. J. Peters, and G.-J. Witkamp, "Solubility of non-psychoactive cannabinoids in supercritical carbon dioxide and comparison with psychoactive cannabinoids," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 55, no. 2, pp. 603–608, Dec. 2010, doi: 10.1016/j.supflu.2010.09.011.
- [37] U. Karğılı and E. Aytaç, "Supercritical fluid extraction of cannabinoids (THC and CBD) from four different strains of cannabis grown in different regions," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 179, no. April 2021, 2021, doi: 10.1016/j.supflu.2021.105410.
- [38] T. Moreno, A. M. Valencia, and C. A. Cardona, "Extracción de cannabinoides de cannabis sativa l. empleando fluidos supercríticos: una revisión," *Rev. Colomb. Ciencias Químico Farm.*, vol. 45, 2019.

- [39] C. Paipa and N. Ruda, “Modelamiento y simulación del proceso de extracción de cannabinoides con CO₂ supercrítico como solvente y etanol como co-solvente mediante el uso herramientas de cómputo,” 2022.
- [40] VIEIRA DOS SANTOS and BEATRIZ, “EXTRAÇÃO DE CANABINOIDES DE *Cannabis sativa* L. ATRAVÉS DA EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO,” *Nucl. Phys.*, vol. 13, no. 1, pp. 104–116, 2023.
- [41] R. de Colombia and U. A. E. F. N. de E. . M. de S. y P. S. Social, “Resolucion 570 FNE Oct 2022.pdf.” .
- [42] I. J. Flores-Sanchez, J. Peč, J. Fei, Y. H. Choi, J. Dušek, and R. Verpoorte, “Elicitation studies in cell suspension cultures of *Cannabis sativa* L.,” *J. Biotechnol.*, vol. 143, no. 2, pp. 157–168, Aug. 2009, doi: 10.1016/J.JBIOTEC.2009.05.006.
- [43] R. G. (Roger G. . Pertwee, “Handbook of cannabis,” p. 747.
- [44] M. N. Tahir, F. Shahbazi, S. Rondeau-Gagné, and J. F. Trant, “The biosynthesis of the cannabinoids,” *J. Cannabis Res.*, vol. 3, no. 1, pp. 1–12, Dec. 2021, doi: 10.1186/S42238-021-00062-4/FIGURES/6.
- [45] K. Ramphul, R. Verma, P. K. Peksi-Boateng, and H. Sakthivel, “Growing cannabis use among Multiple Sclerosis adults with chronic pain; An analysis from the United States,” *Mult. Scler. Relat. Disord.*, vol. 82, p. 105390, Feb. 2024, doi: 10.1016/J.MSARD.2023.105390.
- [46] T. M. Santarossa, R. So, D. P. Smyth, D. S. Gustavsen, and D. R. T. Tsuyuki, “Medical cannabis use in Canadians with multiple sclerosis,” *Mult. Scler. Relat. Disord.*, vol. 59, no. May 2021, p. 103638, 2022, doi: 10.1016/j.msard.2022.103638.
- [47] G. E. Ángeles López, F. Brindis, S. Cristians Niizawa, R. Ventura Martínez, D. Guadalupe, and E. Ángeles López, “*Cannabis sativa* L., una planta singular,” *Rev. Mex. ciencias Farm.*, vol. 45, no. 4, pp. 1–6, 2014, Accessed: Jan. 05, 2024. [Online]. Available: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- [48] A. J. Vanegas Garcés, “Aceite de semillas de *Cannabis sativa* L.: sus aplicaciones y regulación en Colombia y el mundo,” 2020.
- [49] I. J. Flores-Sanchez and R. Verpoorte, “Secondary metabolism in cannabis,” *Phytochem. Rev.*, vol. 7, no. 3, pp. 615–639, Oct. 2008, doi: 10.1007/S11101-008-9094-4/FIGURES/15.
- [50] J. D. Romero Betancourt, “Caracterización morfológica, bioquímica y molecular de cuatro accesiones de *Cannabis sativa* L.,” 2021.
- [51] T. Gülck and B. L. Møller, “Phytocannabinoids: Origins and Biosynthesis,” *Trends Plant Sci.*, vol. 25, no. 10, pp. 985–1004, Oct. 2020, doi: 10.1016/J.TPLANTS.2020.05.005.
- [52] M. Fellermeier, W. Eisenreich, A. Bacher, and M. H. Zenk, “Biosynthesis of cannabinoids,” *Eur. J. Biochem.*, vol. 268, no. 6, pp. 1596–1604, Mar. 2001, doi: 10.1046/J.1432-1327.2001.02030.X.
- [53] A. Englund, J. M. Stone, and P. D. Morrison, “Cannabis in the Arm: What Can we Learn

- from Intravenous Cannabinoid Studies?,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 18, no. 32, pp. 4906–4914, 2012, doi: 10.2174/138161212802884618.
- [54] S. E. Turner, C. M. Williams, L. Iversen, and B. J. Whalley, “Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids,” *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.*, vol. 103, pp. 61–101, Jan. 2017, doi: 10.1007/978-3-319-45541-9_3/TABLES/9.
- [55] S. A. Ross, Z. Mehmedic, T. P. Murphy, and M. A. ElSohly, “GC-MS Analysis of the Total Δ^9 -THC Content of Both Drug- and Fiber-Type Cannabis Seeds,” *J. Anal. Toxicol.*, vol. 24, no. 8, pp. 715–717, Nov. 2000, doi: 10.1093/JAT/24.8.715.
- [56] C. N. Filer, “Acidic Cannabinoid Decarboxylation,” *Cannabis Cannabinoid Res.*, vol. 7, no. 3, pp. 262–273, 2022, doi: 10.1089/can.2021.0072.
- [57] T. Moreno, P. Dyer, and S. Tallon, “Cannabinoid Decarboxylation: A Comparative Kinetic Study,” *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 59, no. 46, pp. 20307–20315, 2020, doi: 10.1021/acs.iecr.0c03791.
- [58] S. Abuse, M. Health, and S. Administration, “Cannabidiol (CBD) – Potential Harms, Side Effects, and Unknowns,” no. February, 2023.
- [59] W. A. Devane *et al.*, “Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor,” vol. 1558, no. 10, pp. 19–22, 1992.
- [60] R. Mechoulam, Z. Ben-Zvi, and Y. Gaoni, “Hashish-XIII. On the nature of the beam test,” *Tetrahedron*, vol. 24, no. 16, pp. 5615–5624, 1968, doi: 10.1016/0040-4020(68)88159-1.
- [61] A. M. Chavarr and C. Exactas, “cannabinoides principales de inflorescencias de Cannabis : Un enfoque comparativo de diferentes técnicas de extracción,” 2023.
- [62] R. Mechoulam and L. Hanuš, “Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: chemical aspects,” *Chem. Phys. Lipids*, vol. 121, no. 1–2, pp. 35–43, Dec. 2002, doi: 10.1016/S0009-3084(02)00144-5.
- [63] R. Mechoulam, L. A. Parker, and R. Gallily, “Cannabidiol: An Overview of Some Pharmacological Aspects,” pp. 11–19, 2002, doi: 10.1177/0091270002238789.
- [64] I. Sagy, L. B. L. Schleider, M. Abu-Shakra, and V. Novack, “Safety and efficacy of medical cannabis in fibromyalgia,” *J. Clin. Med.*, vol. 8, no. 6, 2019, doi: 10.3390/jcm8060807.
- [65] C. T. Costiniuk *et al.*, “Oral cannabinoids in people living with HIV on effective antiretroviral therapy: CTN PT028-study protocol for a pilot randomised trial to assess safety, tolerability and effect on immune activation,” *BMJ Open*, vol. 9, no. 1, pp. 1–14, 2019, doi: 10.1136/bmjopen-2018-024793.
- [66] C. G. Heider, S. A. Itenberg, J. Rao, H. Ma, and X. Wu, “Mechanisms of Cannabidiol (CBD) in Cancer Treatment: A Review,” *Biology (Basel)*, vol. 11, no. 6, p. 817, May 2022, doi: 10.3390/biology11060817.
- [67] J. Sastre-Garriga, C. Vila, S. Clissold, and X. Montalban, “THC and CBD oromucosal spray (Sativex®) in the management of spasticity associated with multiple sclerosis,” *Expert Rev. Neurother.*, vol. 11, no. 5, pp. 627–637, May 2011, doi: 10.1586/ern.11.47.

-
- [68] M. Múrez Díaz, “Potencial Terapéutico De Cannabis Sativa: Tratamiento De La Epilepsia Refractaria Infantil,” 2021.
- [69] R. Abu-Sawwa, B. Scutt, and Y. Park, “Emerging Use of Epidiolex (Cannabidiol) in Epilepsy,” *J. Pediatr. Pharmacol. Ther.*, vol. 25, no. 6, pp. 485–499, Aug. 2020, doi: 10.5863/1551-6776-25.6.485.
- [70] H. Araméndiz-Tatis, C. Cardona-Ayala, M. Espitia-Camacho, A. Herrera-Contreras, and A. Villalba-Soto, “Agronomic evaluation of Cannabis sativa (L.) cultivars in northern Colombia,” *Rev. Colomb. Ciencias Hortícolas*, vol. 17, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.17584/rcch.2023v17i1.15695.
- [71] C. L. Ramirez, M. A. Fanovich, and M. S. Churio, *Cannabinoids: Extraction Methods, Analysis, and Physicochemical Characterization*, 1st ed., vol. 61. Elsevier B.V., 2018.
- [72] D. De Vita *et al.*, “Comparison of different methods for the extraction of cannabinoids from cannabis,” *Nat. Prod. Res.*, vol. 34, no. 20, pp. 2952–2958, Oct. 2020, doi: 10.1080/14786419.2019.1601194.
- [73] N. Mehta *et al.*, “Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications,” *Foods*, vol. 11, no. 19, pp. 1–35, 2022, doi: 10.3390/foods11192973.
- [74] K. Ghafoor, Y. H. Choi, J. Y. Jeon, and I. H. Jo, “Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins from Grape (*Vitis vinifera*) Seeds,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 11, pp. 4988–4994, Jun. 2009, doi: 10.1021/jf9001439.
- [75] T.-B. Zou, Q. Jia, H.-W. Li, C.-X. Wang, and H.-F. Wu, “Response Surface Methodology for Ultrasound-Assisted Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*,” *Mar. Drugs*, vol. 11, no. 5, pp. 1644–1655, May 2013, doi: 10.3390/md11051644.
- [76] N. Mehta *et al.*, “Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications,” *Foods*, vol. 11, no. 19, 2022, doi: 10.3390/foods11192973.
- [77] R. Esmaeilzadeh Kenari and B. Dehghan, “Optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil using RSM: Evaluation of oxidative stability and physicochemical properties of oil,” *Food Sci. Nutr.*, vol. 8, no. 9, pp. 4976–4986, 2020, doi: 10.1002/fsn3.1796.
- [78] S. Chandrasekaran, S. Ramanathan, and T. Basak, “Microwave food processing—A review,” *Food Res. Int.*, vol. 52, no. 1, pp. 243–261, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.foodres.2013.02.033.
- [79] S. L. R. García and V. Raghavan, “Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Broccoli (*Brassica oleracea*) Stems, Leaves, and Florets: Optimization, Characterization, and Comparison with Maceration Extraction,” *Recent Prog. Nutr.*, vol. 2, no. 2, pp. 1–1, Feb. 2022, doi: 10.21926/rpn.2202011.
- [80] J. L. Luque-García and M. D. Luque de Castro, “Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications,” *Talanta*, vol. 64, no. 3, pp. 571–577, Oct. 2004, doi:

- 10.1016/j.talanta.2004.03.054.
- [81] A. S. Martínez, O. Lanaridi, K. Stägel, H. Halbwirth, M. Schnürch, and K. Bica-schröder, "Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis," pp. 676–717, 2023, doi: 10.1039/d2np00059h.
- [82] J. R. Lim, L. S. Chua, and A. A. Mustaffa, "Ionic liquids as green solvent and their applications in bioactive compounds extraction from plants," *Process Biochem.*, vol. 122, no. P2, pp. 292–306, 2022, doi: 10.1016/j.procbio.2022.10.024.
- [83] C. Citti *et al.*, "Analysis of impurities of cannabidiol from hemp. Isolation, characterization and synthesis of cannabidibutol, the novel cannabidiol butyl analog," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 175, 2019, doi: 10.1016/j.jpba.2019.06.049.
- [84] Y. Liu *et al.*, "Cannabis sativa bioactive compounds and their extraction, separation, purification, and identification technologies: An updated review," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 149, p. 116554, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.trac.2022.116554.
- [85] D. E. Raynie, "Looking at the Past to Understand the Future: Soxhlet Extraction," *LCGC North Am.*, vol. 37, no. 8, pp. 510–513, 2019, [Online]. Available: <https://www.chromatographyonline.com/view/looking-past-understand-future-soxhlet-extraction>.
- [86] J. L. Luque-García and M. D. Luque De Castro, "Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: Devices and applications," *Talanta*, vol. 64, no. 3, pp. 571–577, 2004, doi: 10.1016/j.talanta.2004.03.054.
- [87] M. Valizadehderakhshan, A. Shahbazi, M. Kazem-Rostami, M. S. Todd, A. Bhowmik, and L. Wang, "Extraction of Cannabinoids from Cannabis sativa L. (Hemp)—Review," *Agriculture*, vol. 11, no. 5, p. 384, Apr. 2021, doi: 10.3390/agriculture11050384.
- [88] M. Herrero, A. Cifuentes, and E. Ibañez, "Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae - A review," *Food Chem.*, vol. 98, no. 1, pp. 136–148, 2006, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.058.
- [89] G. M. Schneider, "Physicochemical Principles of Extraction with Supercritical Gases," *Angew. Chemie Int. Ed. English*, vol. 17, no. 10, pp. 716–727, Oct. 1978, doi: 10.1002/anie.197807161.
- [90] R. M. Twyman, "Supercritical Fluid Extraction," *Encycl. Anal. Sci. Second Ed.*, vol. 8, no. 2, pp. 440–445, 2004, doi: 10.1016/B0-12-369397-7/00588-4.
- [91] "Libro del Web de Química del NIST." <https://webbook.nist.gov/chemistry/> (accessed Jul. 05, 2024).
- [92] H. Perrotin-Brunel, *Sustainable Production of Cannabinoids with Supercritical Carbon Dioxide Technologies*, no. april. 2011.
- [93] G. Rodríguez and J. Dávila-Rincón, "Evaluación de la solubilidad de Cannabinoides y Terpenos contenidos en aceite de Cannabis en CO₂ supercrítico usando métodos de contribución de grupos para la estimación de sus propiedades," *Rev. Ing-Nova*, vol. 1, no. 1,

- pp. 99–120, 2022, doi: 10.32997/rin-2022-3730.
- [94] D. Flórez Gómez and C. A. Peláez Jaramillo, “Método cualitativo y cuantitativo de cromatografía de capa fina (TLC) para el análisis de delta-9- tetrahidrocanabinol y cannabidiol en Cannabis Sativa L . Contenido,” pp. 1–37, 2023.
- [95] Gobierno de Colombia, “Legítimas Del País Y Establecer Las De Cannabis Psicoactivo Y De Sus Derivados Para Fines Médicos Y Científicos,” 2018.
- [96] H. M. S. Al Ubeed, D. J. Bhuyan, M. A. Alsherbiny, A. Basu, and Q. V. Vuong, “A Comprehensive Review on the Techniques for Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Cannabis,” *Molecules*, vol. 27, no. 3, pp. 1–18, 2022, doi: 10.3390/molecules27030604.
- [97] C. Seo *et al.*, “Thermal decarboxylation of acidic cannabinoids in Cannabis species: identification of transformed cannabinoids by UHPLC-Q/TOF-MS,” *J. Anal. Sci. Technol.*, vol. 13, no. 1, 2022, doi: 10.1186/s40543-022-00351-4.
- [98] A. Hazekamp, J. T. Fishedick, M. D. Llano, A. Lubbe, and R. L. Ruhaak, “Chemistry of Cannabis,” *Compr. Nat. Prod. II Chem. Biol.*, vol. 3, pp. 1033–1084, 2010, doi: 10.1016/b978-008045382-8.00091-5.
- [99] K. J. Olejar *et al.*, “Thermo-chemical conversion of cannabis biomass and extraction by pressurized liquid extraction for the isolation of cannabidiol,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 170, p. 113771, Oct. 2021, doi: 10.1016/J.INDCROP.2021.113771.
- [100] P. A. Uwineza and A. Wa’skiewicz, “Recent Advances in Supercritical Fluid Extraction of Natural Bioactive Compounds from Natural,” 2020.
- [101] M. HERRERO, A. CIFUENTES, and E. IBANEZ, “Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgaeA review,” *Food Chem.*, vol. 98, no. 1, pp. 136–148, 2006, doi: 10.1016/j.foodchem.2005.05.058.
- [102] C. G. Pereira and M. A. A. Meireles, “Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives,” *Food Bioprocess Technol.*, vol. 3, no. 3, pp. 340–372, Jun. 2010, doi: 10.1007/s11947-009-0263-2.
- [103] S. M. Pourmortazavi and S. S. Hajimirsadeghi, “Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis,” *J. Chromatogr. A*, vol. 1163, no. 1–2, pp. 2–24, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.chroma.2007.06.021.