



Determinación de CBD y THC en diferentes alimentos

Alumno: Nahuel Vega

Asignatura: Análisis Químico, Biorgánica,
Química General III, Filosofía, Sociología,
Ingles

Grupo: 3° BG

Profesores: Raúl Britos, Anarella Gatto,
Pablo Álvarez, Viviana Sica, Virginia de la
Fuente, Rodrigo Fernández

Índice

Abstract	1
Resumen	1
Introducción	1
Objetivo	1
Pregunta Investigable	1
Hipótesis	2
Marco Teórico	2
Materiales	12
Sustancias / Soluciones	12
Procedimiento	12
Resultados	14
Conclusión y perspectivas	18
Referencias bibliográficas	19
Anexo	20
Medidas de seguridad	20

Resumen

En la investigación realizada se logró cuantificar Cannabidiol (CBD) y Δ -9 Tetrahidrocannabinol (THC) en % m/m presentes en diferentes muestras de aceites de cannabis y yerba de cannabis. La pregunta investigable guía de este proyecto fue la siguiente; ¿cómo varía la concentración de CBD y THC en 2 tipos de aceites de cannabis y 2 tipos de yerba de cannabis?

El método utilizado para la extracción de CBD y THC fue sólido-líquido siendo los solventes utilizados Metanol:Cloroformo (9:1) V/V y se identificó mediante un cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC) acoplado a un detector de arreglos de diodos (DAD) marca Agilent de la serie 1100. Se pudo determinar que en las Yerba 1 y 2 no se detectó THC ni CBD, mientras que los aceites 1 y 2 poseen CBD pero no THC.

Abstract

The research carried out quantified Cannabidiol (CBD) and Δ -9 Tetrahidrocannabinol (THC) in % m / m present in different samples of cannabis oils and cannabis herb. The guiding question for this project was as follows; how does the concentration of CBD and THC vary in 2 types of cannabis oils and 2 types of cannabis herb?

The method used for the extraction of CBD and THC was solid-liquid with the solvents used Methanol:Chloroform (9:1) V / V and was identified by a high efficiency liquid chromatograph (HPLC) coupled to a detector of diode arrays (DAD) Agilent brand of the 1100 series. It could be determined that in Yerba 1 and 2 neither THC nor CBD was detected, while oils 1 and 2 have CBD but not THC

Introducción

Este proyecto fue realizado para el egreso del bachillerato de Química Básica e Industrial, el mismo fue llevado a cabo en la UMADD (Unidad de Medio Ambiente Drogas y Doping) utilizando los equipos y materiales necesarios.

Se optó por este proyecto ya que se ha puesto de moda el consumo de yerba de cannabis y aceite de cannabis. Por eso el objetivo de este proyecto es identificar CBD y THC para analizar qué alimentos es correcto consumir para ingerir los cannabinoides recientemente nombrados, además mediante una exhaustiva búsqueda bibliográfica se trató analizar porque el cannabis tiene utilidades médicas. Por otra parte se realizaron encuestas para analizar las percepciones sobre el tema de un grupo formado por 65 personas cuyo rango de edad está comprendido entre los 18-65 años.

Objetivo

Determinar la concentración de CBD, THC en dos muestras de aceites de cannabis.

Determinar la concentración de CBD, THC en dos muestras de yerba de cannabis.

Pregunta Investigable

¿Cómo varía la concentración de CBD y THC en 2 tipos de aceites de cannabis y 2 tipos de yerba de cannabis?

Hipótesis

Los dos aceites de cannabis poseen más THC que CBD porque es un mercado que no está controlado por agentes autorizados.

La Yerba A posee más CBD y THC que la B ya que es una marca más reconocida.

Marco Teórico

En este proyecto se trabajó con Cannabis por eso se incluye la información en el marco teórico.

La marihuana o *Cannabis sativa* es una planta con propiedades psicoactivas. Globalmente, existen entre 119 y 224 millones de consumidores. Una gran proporción (55.7 %) de las personas que han consumido Cannabis alguna vez en su vida lo hizo antes de los 17 años, y de 23 a 31 % de estas personas acudió a un centro de rehabilitación por problemas relacionados con su nivel de consumo. En los últimos 50 años, el consumo recreativo de la Cannabis ha aumentado en adolescentes y adultos jóvenes, quienes buscan sus efectos euforizantes, relajantes y de intensificación perceptual, incluyendo cierta facilitación de la socialización. En este contexto, y por ser considerada una “droga blanda”, su uso presenta una alta prevalencia. (Alejandra, 2014 p-1)

El Cannabis o cáñamo (*Cannabis sativa*), en sus distintas variedades, se utiliza desde hace miles de años para la producción de fibra y por sus efectos terapéuticos. Hay constancia de su uso para el tratamiento del reuma, la gripe y el paludismo en los tratados médicos chinos de 2700 a.C. Fue introducido en Europa en el siglo XIII. Hasta el siglo XIX el Cannabis fue uno de los preparados usados habitualmente en medicina como anticonvulsiva, analgésica, ansiolítica y antiemética. No obstante, fue cayendo en desuso a principios del siglo XX debido a la aparición de fármacos sintéticos alternativos y también a la presión política y social en relación con su uso recreativo. En el mercado farmacéutico internacional hay 2 cannabinoides comercializados: la nabilona, un equivalente sintético del Δ 9-tetrahidrocannabinol (THC) registrado en el Reino Unido, Canadá e Irlanda para el tratamiento de las náuseas y vómitos, y el THC sintético o dronabinol, registrado en Estados Unidos para la misma indicación, así como para el síndrome de anorexia-caquexia de los pacientes con sida o cáncer terminal. En otros países como en Uruguay se fabrican extractos de cannabis con un contenido conocido y estandarizado de principios activos de CBD para uso farmacéutico (Epifractan en Uruguay). (Herrera, 2010 p28-56).

La planta del Cannabis

La flor, las hojas y la resina de la planta *Cannabis sativa* contienen más de 400 sustancias, de las cuales 60 tienen una estructura cannabinoide similar a su principio activo más importante, el THC. El mismo produce la mayoría de las acciones psicoactivas y efectos terapéuticos atribuidos al Cannabis, como los efectos analgésicos y sedantes. En estado puro, es un sólido vítreo a bajas temperaturas, y se torna viscoso y pegajoso al calentarlo. El THC es poco soluble en agua, pero se disuelve fácilmente en la mayoría de solventes orgánicos, específicamente lípidos y alcoholes. Otros cannabinoides con más o menos relevancia clínica son el cannabidiol (CBD) y el cannabinol (CBN), estos 3 surgen del Cannabigerol (CBGA). De manera natural, la planta de cannabis produce enzimas que convierten el CBGA en uno de los dos cannabinoides más importantes: Cannabidiol ácido (CBDA) y Δ -9 Tetrahidrocannabinol ácido (THCA). La exposición prolongada del THCA al aire causa la pérdida de hidrógeno, oxidándolo y convirtiéndolo en CBNA, la forma ácida del CBN. Si el CBNA es sometido al calor o a rayos ultravioleta, se descarboxila y se convierte en CBN. (Pertwee, 2014 p112-119).

El CBD es un cannabinoide no psicoactivo, el mismo es insoluble en agua pero soluble en solventes orgánicos. A temperatura ambiente es un sólido cristalino incoloro. En medios fuertemente básicos y en la presencia de di oxígeno, se oxida en una quinona. Bajo condiciones opuestas, en medios ácidos, se vuelve cíclico formando THC. A pesar de que actúa por un mecanismo diferente al del THC, comparte algunos de sus efectos terapéuticos. Ha mostrado efecto neuroprotector in vitro, así como efecto analgésico, antiinflamatorio, inmunodepresor, anti nauseoso, hipnótico y ansiolítico en modelos de experimentación animal. En estudios con personas sanas se ha observado que puede evitar la ansiedad y las crisis de pánico inducidas por dosis altas de THC (0,5 mg/kg), aunque otros estudios no han confirmado este efecto. También se ha visto efecto anticonvulsivo en el ser humano, pero los datos actuales no indican que sea eficaz como antiepiléptico. Se ha determinado que, administrados conjuntamente de los cannabinoides opacarían la acción del THC y potenciarían algunos de sus efectos terapéuticos. Esto explica por qué algunos pacientes que utilizan tratamientos con cannabis no optan por los derivados sintéticos. (Ferrer, 2005 p-18-26).

A continuación se puede apreciar la formación y formulación de los cannabinoides más destacados

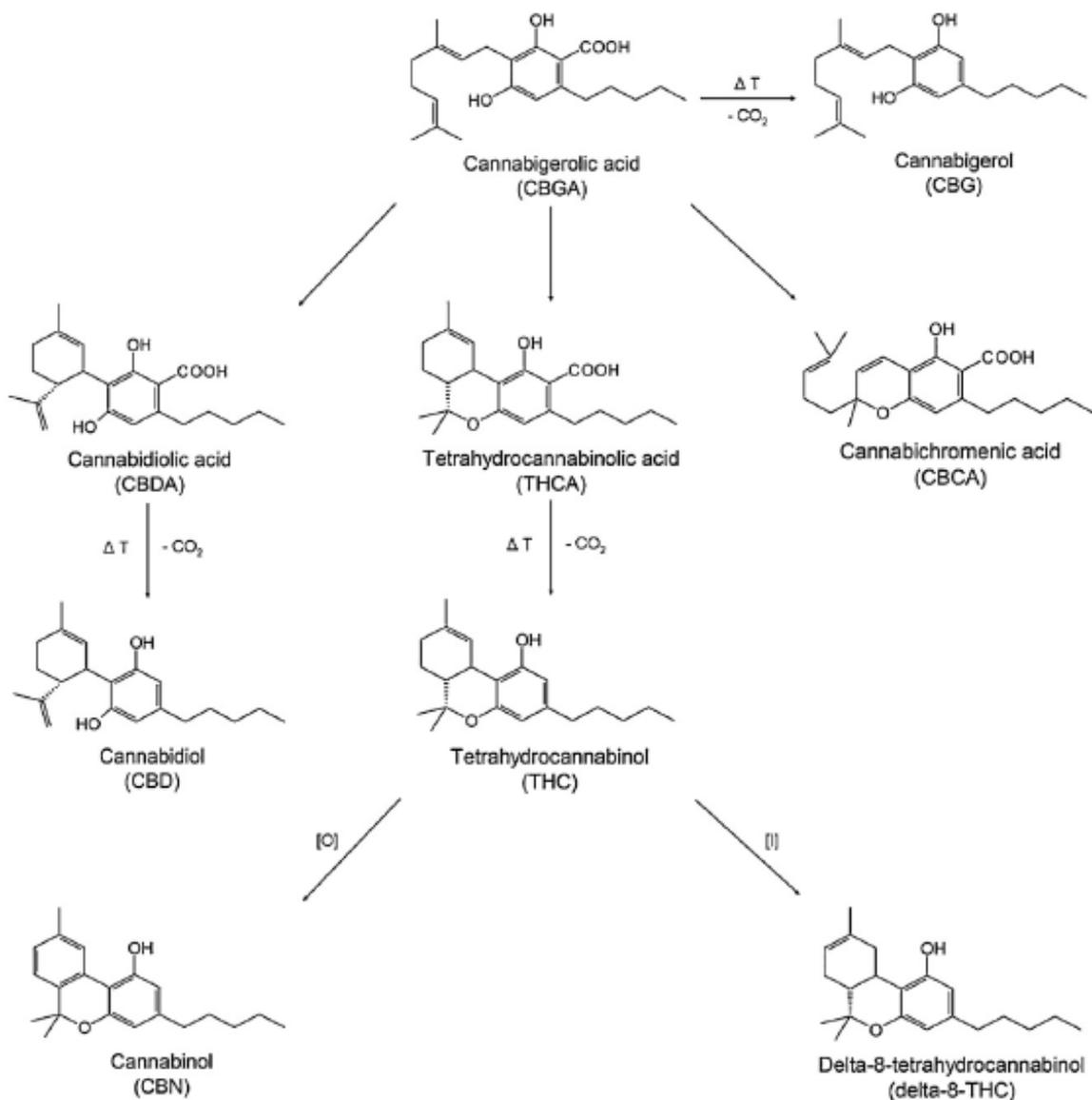


Ilustración 1 - formación y formulación de los cannabinoides más importantes Backera, B. Debrusb, B. Lebrunb, P. Theunisa, L Duboisa, N. Decockc, L. Verstraetec, A. Hubertb, P. C, Charliera. (2009)

Características físicas

El cannabis es una hierba, por lo general, las plantas masculinas son más altas que las femeninas, pero menos resistentes. Sus tallos son rígidos y su altura varía entre 0,2 y 6 m. A continuación se puede apreciar una imagen que muestra todas las partes de la planta (Pertwee, 2014 p208-212).



Ilustración 2 - Partes de la planta de cannabis Clarke, R. & Merlin, M. (2013). *Cannabis: evolution and ethnobotany*. Berkeley: University of California Press.

Receptores cannabinoides

Durante la década de los 80, los trabajos experimentales con cannabinoides marcados con isótopos radiactivos permitieron observar la acción de sus receptores en el cuerpo. En 1990 se describió por primera vez la estructura molecular del receptor CB1 y 3 años más tarde se aisló el receptor CB2. En general, se ha descubierto que la distribución de los receptores CB1 guarda estrecha relación con los efectos farmacológicos de los cannabinoides. Los receptores CB1 se encuentran principalmente en el sistema nervioso central. Los receptores CB2 se encuentran sobre todo en los macrófagos y en el bazo, y se han relacionado con el sistema inmunitario. (Russo, 2013 p-144)

Endocannabinoides

Se han identificado 3 familias de sustratos endógenos derivados del ácido araquidónico que se unen con mayor o menor afinidad a los receptores cannabinoides produciendo los mismos efectos que el THC o CBD en modelos de experimentación animal. En 1992 se descubrió la araquidoniletanolamida (anandamida). Tres años más tarde se caracterizó el 2-araquidonilglicerol (2-ARA-G), un endocannabinoide del grupo de los ésteres del ácido araquidónico. El éter de 2-araquidonilgliceril o noladina es un tercer tipo de endocannabinoide identificado recientemente. Los endocannabinoides se sintetizan a partir de fosfolípidos de las membranas de las neuronas y otras células. Son liberados al espacio intersináptico por un mecanismo de difusión a favor de gradiente, activan los receptores cannabinoides de las células vecinas. (Brown, 1998 p10-15)

Mecanismo de acción de los cannabinoides

Los cannabinoides se unen a los receptores CB1 y CB2, su activación produce una serie de efectos en el cuerpo que incluyen la inhibición de la producción de mono fosfato cíclico de adenosina y la activación de las MAPK (mitogen-activatedproteinkinases). Los receptores CB1, a diferencia de los CB2, pueden controlar la actividad de los canales iónicos generando una inhibición de los canales de Ca^{2+} el efecto sobre estos canales parece ser la base de la inhibición que los cannabinoides ejercen sobre la liberación de neurotransmisores. Asimismo, se ha visto que los cannabinoides aumentan la producción de óxido nítrico. Esta acción se ha relacionado con el efecto vasodilatador de estos compuestos. Por otro lado, los cannabinoides pueden disminuir la inducción de la enzima óxido nítrico sintetasa, que se genera a partir de determinados estímulos inflamatorios. (Clarke y Merlin, 2013 p310-322).

Método de análisis de los cannabinoides: cromatografía líquida de alta eficiencia

La cromatografía líquida de alta eficiencia es un instrumento analítico de alta precisión, se utiliza mayormente en la determinación y cuantificación de determinados compuestos cuya concentración se encuentra en porcentajes muy bajos. El utilizado en este proyecto fue un HPLC acoplado a un DAD.

Para entender bien el equipo utilizado es necesario aclarar unos conceptos

Cromatografía- La cromatografía se define como un método físico de separación el cual tiene aplicación y una relevante importancia en toda las ramas de las ciencias más concretamente en el de la química; es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes.

Fase móvil- Sustancia cuyo objetivo es transportar la sustancia inyectada a la columna y hacerla fluir. La misma no debe absorber a una longitud de onda similar a lo inyectado dado que genera interferencias, además la misma no debe alterar sus condiciones a lo largo del tiempo ya que esto podría cambiar los

Tiempos de retención. El tiempo de retención es el lapso de tiempo que demora en visualizarse un pico correspondiente a un analito en el cromatograma.

Repetibilidad- La repetibilidad es la comparación de los tiempos de retención, en esta práctica si su variación representaba 1 % o menos se les consideraban repetibles.

A continuación se puede apreciar una imagen del equipo utilizado detallando todas sus partes

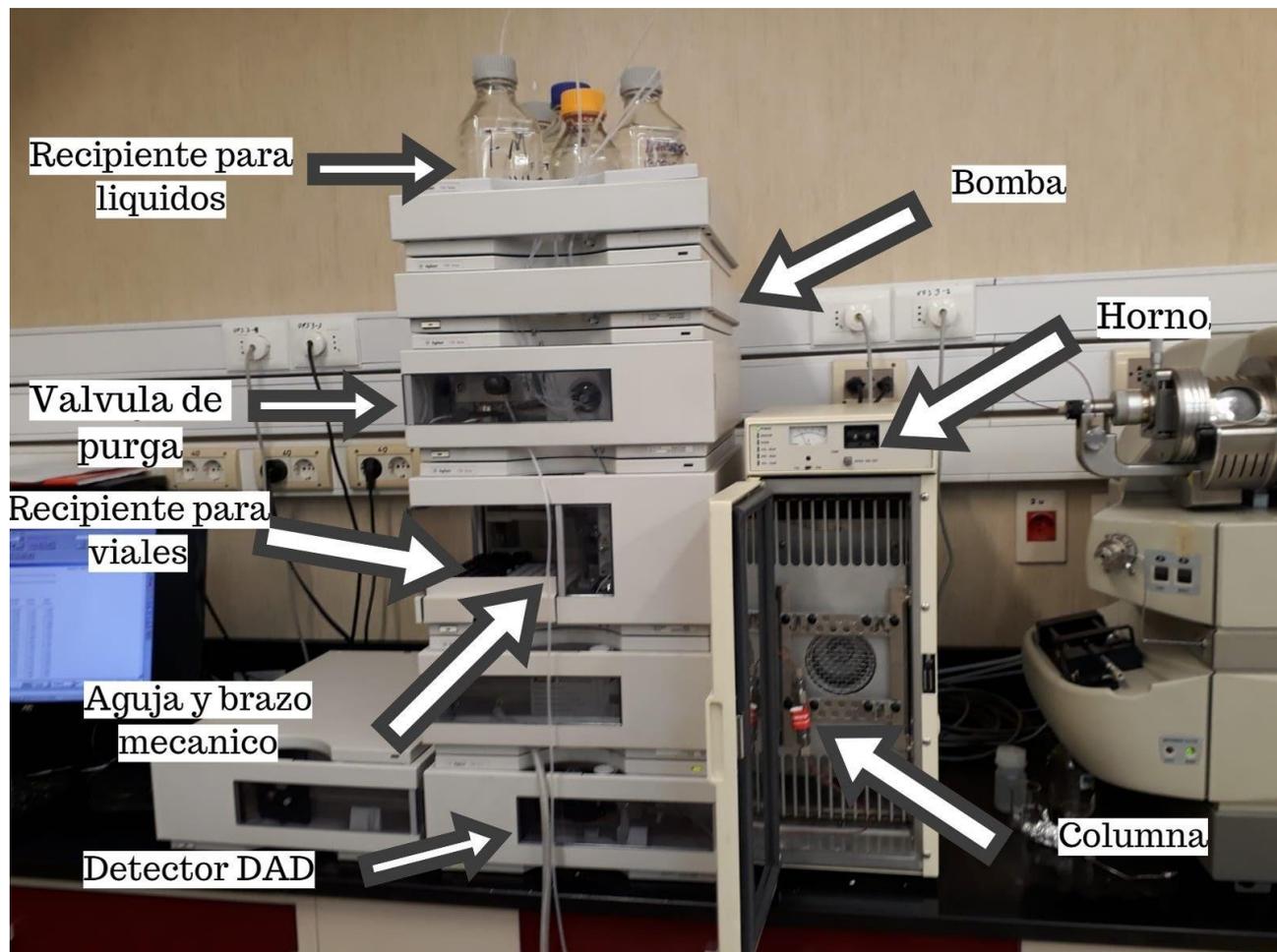


Ilustración 3- Cromatógrafo líquido de alta eficiencia acoplado a un DAD marca Agilent serie 1100

Recipiente para líquidos- En esta parte se colocan todos los recipientes que contienen la fase móvil a utilizar y que mediante una cañería que recorre el equipo se conectan a la bomba.

Bomba- Su objetivo es impulsar la fase móvil depositada en el recipiente a los conductos que la llevan por todo el equipo. Debe aportar altas presiones en forma uniforme para aumentar el poder de separación del sistema y que las corridas sean de menor duración y se ahorre fase móvil. Una alteración en la presión que ejerce podría cambiar los tiempos de retención. Esto alteraría los datos que brinda el equipo conduciendo a resultados erróneos.

Válvula de purga- Su objetivo es eliminar las burbujas de aire que hay sobre los conductos por donde pasa la fase móvil ya que podría cambiar su tiempo de retención.

Recipientes de viales- Lugar donde se colocan todos los viales a utilizar, esta numerado del 1 al 100 para indicarle al equipo que vial se dispone a inyectar, también se le puede fijar una temperatura para que el contenido dispuesto dentro del vial se conserve y no sufra cambio.

Brazo mecánico con aguja- El brazo mecánico cumple la función de tomar un vial determinado del recipiente de viales para depositarlo en la zona de inyección, luego procede a bajar la aguja para tomar la cantidad indicada del líquido contenido en el vial. A continuación procede a inyectar lo tomado en el conducto por el que está pasando la fase móvil.

Columna- Lugar donde ocurre la separación de una mezcla. Los compuestos de la mezcla arrastrados por la fase móvil tienden a separarse por diferencia de la afinidad que posee la columna con ellos, por ejemplo la columna utilizada en este proyecto poseía mayor afinidad con el THC que el CBD, por eso se lo puede separar sabiendo que posee un mayor tiempo de retención. En el detector se ve en primer lugar la señal del CBD y más tarde la del THC por ejemplo.

Horno- Cumple el objetivo de mantener constante la temperatura en la columna, esto genera una repetitividad en los tiempos de retención lo que los hace comparable

Detector DAD- El detector de arreglo de diodos posee un haz de radiación que atraviesa el líquido que fluye por el conducto (celda de detección) luego de haber atravesado la columna, eso genera que el haz de luz sea dispersado por medio de una red de difracción fija, siendo recogidas simultáneamente todas las longitudes de onda dispersadas mediante una matriz de fotodiodos

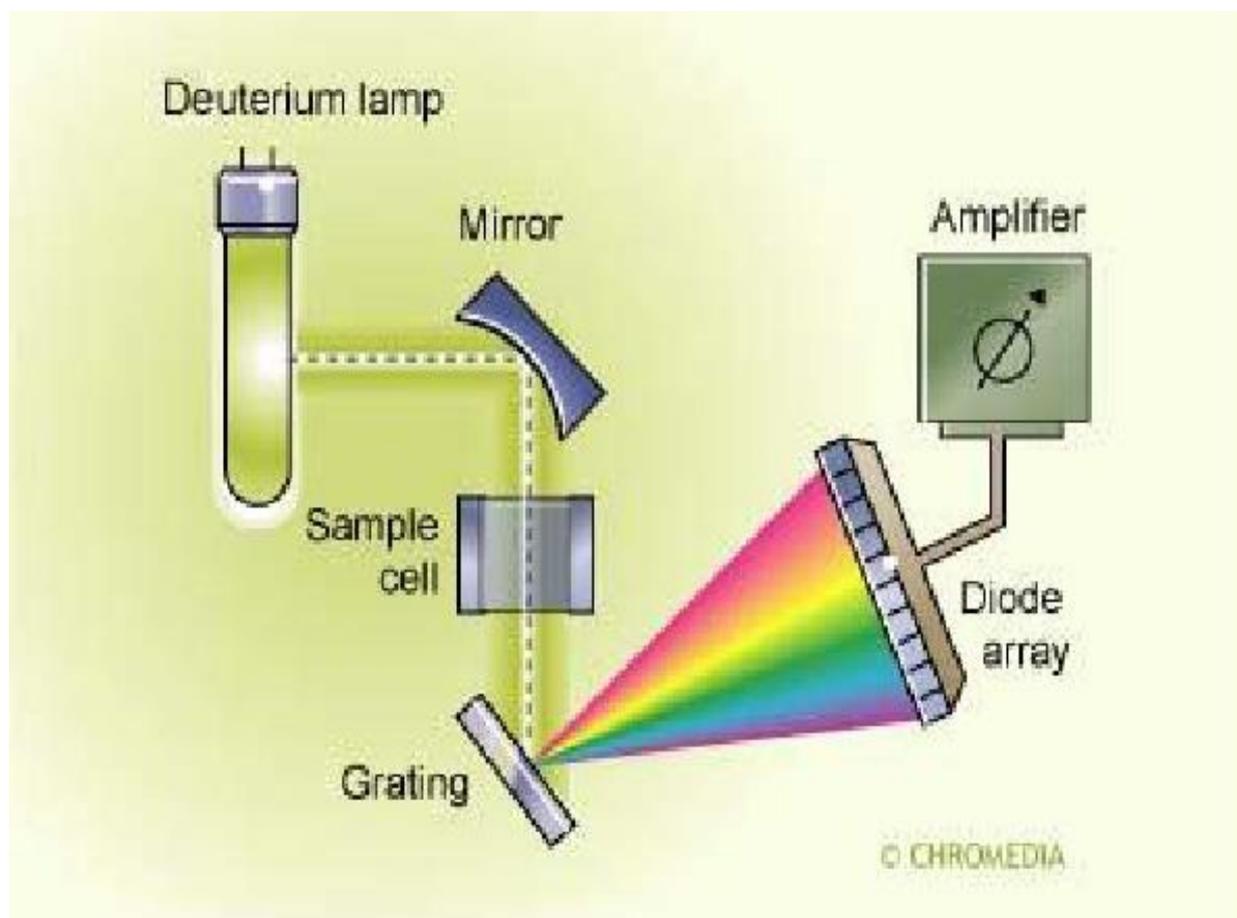


Ilustración 4- Diagrama de detector DAD Harris, D. & Navarro, V. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona: Reverte.

Ética del Cannabis

Como se ha detallado anteriormente en el marco teórico, el cannabis tiene unos muy buenos efectos sobre la salud. Y entonces, ¿qué es salud?, la salud es un estado, el cual puede ser subjetivo para cada persona, de

bienestar o equilibrio mental, social y físico; la gran mayoría de las personas que consumen cannabis tienen la perspectiva de que su salud mejora notablemente, a pesar de que en un futuro puedan llegar a sufrir problemas por ejemplo a nivel pulmonar si se fuma. Esta cuestión es bastante contraproducente ya que al mismo tiempo que el consumo de cannabis alivia dolores, ya sea musculares o de articulaciones, también genera dificultades en otras partes del cuerpo como pulmones o cerebro, aunque que depende mucho el método de consumo

Otro punto de vista muy válido es la religión ya que según Serrano(2018 p-201) representan el 17% de la población total, la religión católica se opone totalmente al consumo de esta, argumentando los riesgos que le genera y podría llegar a generar para la humanidad, provocando problemas sociales muy grandes; Monseñor Arizmendi Esquivel expuso que “la sociedad debe cuestionarse qué tipo de valores enseñan los padres a los hijos, así como las instituciones a los ciudadanos”. Otras religiones toman el cannabis como una planta sagrada, y la ven como símbolo de fuerza pureza, bienestar y tranquilidad, muchas de estas religiones son antiguas y de origen africano como el sintoísmo

Cannabis en Uruguay

Debido a la ley N° 19.172 se disponen las medidas tendientes al control y regulación del cannabis psicoactivo y sus derivados, así como aquellas que buscan educar, concientizar y prevenir a la sociedad de los riesgos para la salud del uso del cannabis, particularmente en lo que tiene que ver con el desarrollo de las adicciones. Se priorizarán la promoción de actitudes vitales, los hábitos saludables y el bienestar de la comunidad, teniendo en cuenta las pautas de la Organización Mundial de la Salud respecto al consumo de los distintos tipos de sustancias psicoactivas.

Ya han transcurrido 5 años de la aprobación de la ley, gracias a la habilitación se generaron 2 mercados, uno ilegal y el otro legal. En el legal se encuentran las yerbas que contienen cáñamo cuya concentración de CBD, THC está regulada, en el mercado ilegal se encuentran los aceites cuya concentración no está contralada, por eso se decidió realizar una investigación en la cual se le delimitó una franja de edad desde los 18 a los 65 años cuyo objetivo fuera saber la percepción que tenían ellos sobre si les generó algún cambio.

Se tomó como edad máxima 65 años porque según Liu, Head, Gharib, Yuan, y Hagense (2002 p-2-5) es una edad en la cual no se notan pérdidas de memoria considerables pero sin embargo en los años siguientes se aprecia una pérdida notoria de la misma, lo que podría afectar los resultados de la encuesta. Se tomó como edad mínima 18 años porque es la edad mínima con la cual pueden portar cannabis.

Las encuestas se realizaron en forma anónima, aclarando desde un principio que no se anotarían nombres, edades ni lugares de donde se realizó para mantener el anonimato. Además se les preguntó a los encuestados si se sentía condicionados a la hora de responder, si su respuesta era positiva se decidía no realizar las preguntas.

Total de personas que informaron sentirse condicionados-0

Las preguntas fueron las siguientes

ACEITE DE CANNABIS

1) ¿Usted alguna vez ha consumido aceite de cannabis?

2) ¿Cuántas gotas consumió de aceite de cannabis?

3) ¿El aceite medicinal genero algún cambio en usted?

YERBA DE CANNABIS

1) ¿Usted alguna vez ha consumido yerba de cannabis?

2) ¿Cuántas gotas consumió de yerba de cannabis?

3) ¿La yerba de cannabis genero algún cambio en usted?

Resultados de la encuesta

Preguntas aceite de cannabis

Total de personas encuestadas 65

1)

	¿Usted alguna vez ha consumido aceite de cannabis?
Sí	11
No	54

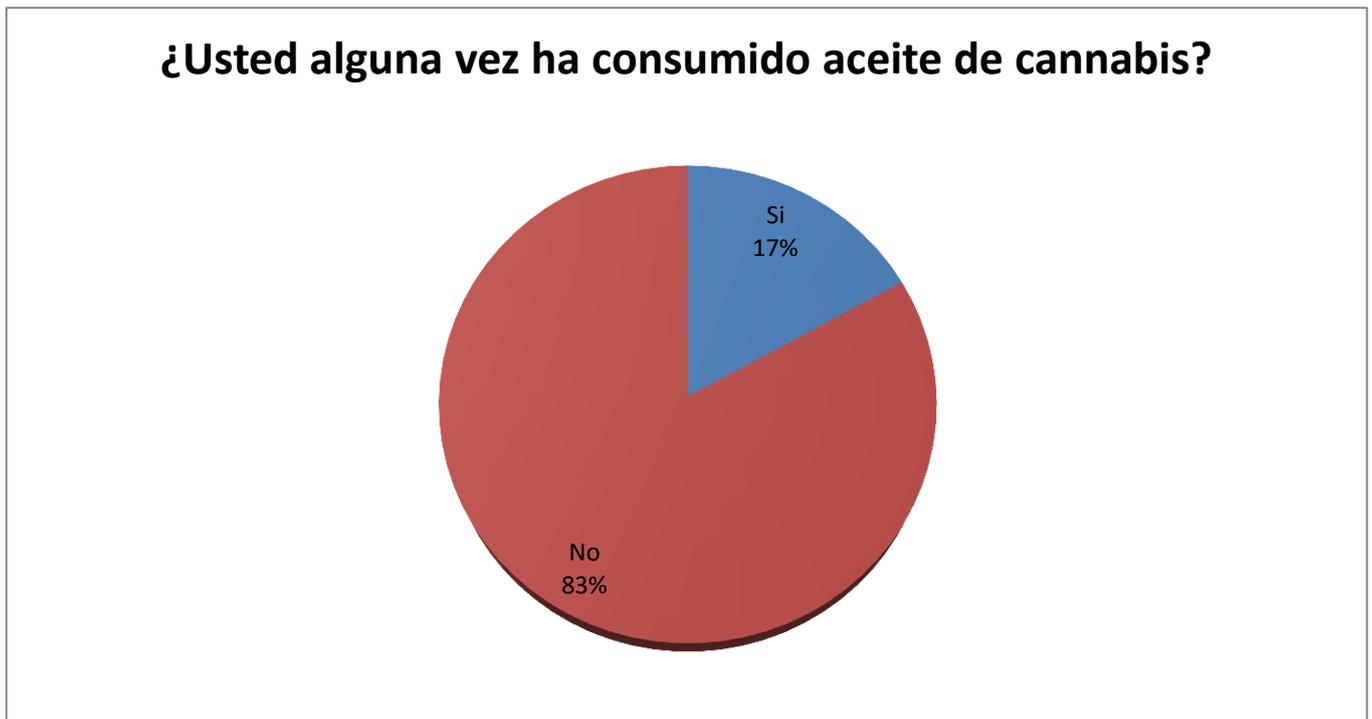


Gráfico 1

A las personas que afirmaron positivamente se les realizaron las preguntas 2 y 3

2)

	¿Cuántas gotas consumió de cannabis?
Menos de 10 gotas	9
Más de 10 gotas	2

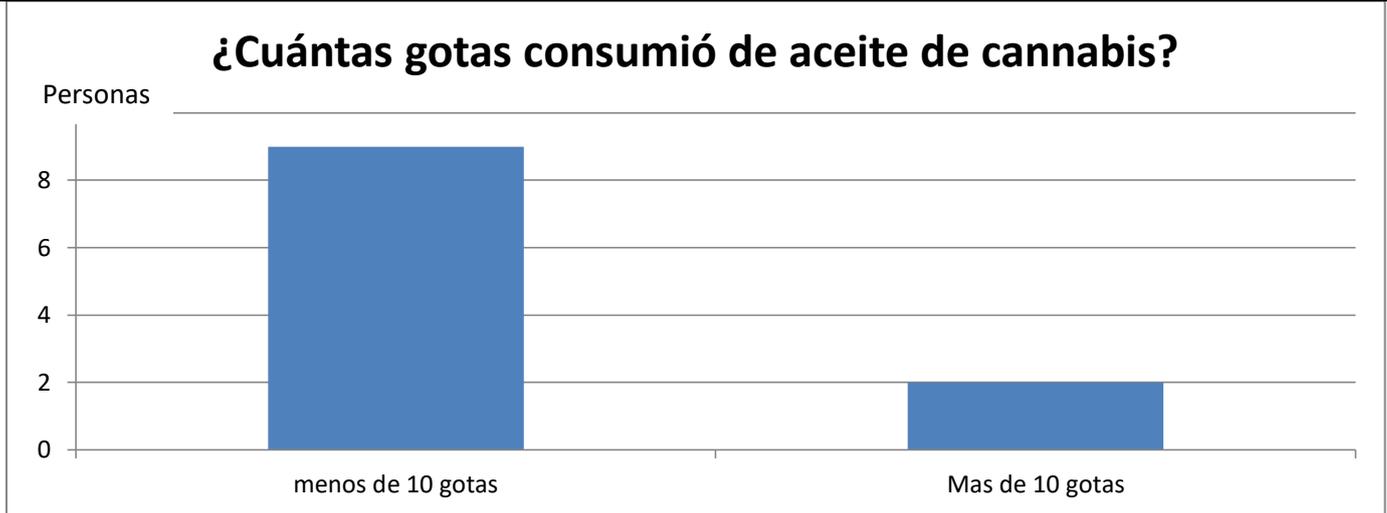


Gráfico 2

3)

Respuestas	Número de personas
No me generó nada	4
Solo sueño	4
Dolores estomacales	1
Tranquilidad	2

Gráfico 3

Se obtuvo que el 17% de los encuestados han consumido alguna vez en su vida aceite de cannabis, esto representa un porcentaje muy alto, ya que estamos hablando que es ilegal portar un aceite de cannabis que no sea el regulado por el estado. También 2 de las 11 personas que afirmaron haber consumido aceite de cannabis, se consideran consumidores regulares, admitiendo consumir mas de 10 gotas.

Preguntas yerba de cannabis

1)

	¿Usted alguna vez consumió yerba de cannabis?
Sí	28
No	37

¿Usted alguna vez consumió yerba de cannabis?

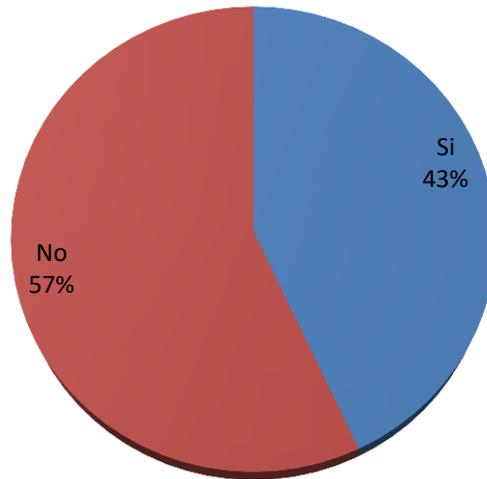


Gráfico 4

2)

	¿Cuántas mates de yerba de cannabis consumió?
1 mate	17
Más de 1 mate	11

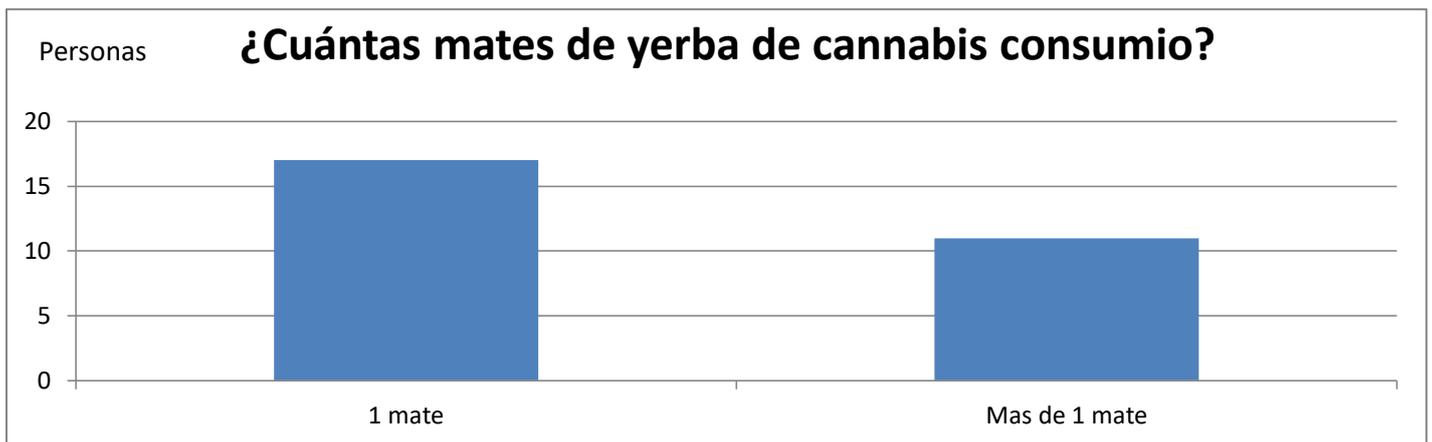


Gráfico 5

3)

Respuestas	Número de personas
No me generó nada	24
Dolores estomacales	4

Gráfico 6

Como se puede apreciar el 43% de los encuestados consumieron alguna vez yerba de cannabis. Además 11 de los 28 consumieron más de un mate. Sin embargo la percepción que obtuvieron los consumidores no fue muy positiva, la misma no les generó ningún efecto de los que están aclarados en la etiqueta del producto.

Materiales

Balanza analítica

Vórtice

Baño ultrasónico

Centrifuga Sorval GLC 2-b

Pipeta automática

Rapidvap

Cromatógrafo de alta eficiencia

Detector de arreglos de diodos

Filtro

Sustancias / Soluciones

Metanol:cloroformo (9:1) V/V

Acetonitrilo

Agua miliQ

100 µg/mL de CBD y THC

Yerba de Cannabis 1 2% cáñamo

Yerba de Cannabis 2 2% cáñamo

Aceite de Cannabis 1

Aceite de Cannabis 2

Procedimiento

Preparación de fase móvil

- 1) Colocar en un matraz aforado 750 mL de acetonitrilo y 250 mL de agua miliQ.
- 2) Filtrar la fase móvil y colocarla en el recipiente para líquidos del Cromatógrafo

Preparación de cromatógrafo

- 1) Encender todas las unidades del cromatógrafo en conjunto con la computadora
- 2) Purgar el sistema abriendo la válvula de purga y con un flujo de fase móvil de 10 mL/min
- 3) Disminuir el flujo de fase móvil a 0.5 mL/min y cerrar la válvula de purga
- 4) Dejar estabilizar durante 30 minutos

Curva de calibración

- 1) Realizar las siguientes diluciones detalladas en el cuadro de manera sucesiva para el estándar de THC

Núm.	Concentración (µg/mL)	STD (V. de patrón)	Metanol (V. de metanol)
1	0	0 µL 100 µg/mL	100 µL
2	10	10 µL 100 µg/mL	90 µL
3	20	20 µL 100 µg/mL	80 µL

Tabla 1- Diluciones de THC

- 1) Realizar las siguientes diluciones detalladas en el cuadro de manera sucesiva para el estándar de CBD

Núm.	Concentración (µg/mL)	STD (V. de patrón)	Metanol (V. de metanol)
1	0	0 µL 100 µg/mL	100 µL
2	2	2µL 100 µg/mL	98µL
3	10	10 µL 100 µg/mL	90 µL
4	100	100 µL 100µg/mL	0µL

Tabla 2- Diluciones de CBD

Preparación de la muestra

- 1) Extraer 500 mg de yerba o aceite y colocarlo en un tubo de ensayo.
- 2) Colocar 5 mL de metanol:cloroformo (9:1 V/V).
- 3) A continuación colocar el tubo de ensayo durante 10 segundos en el vórtice.
- 4) Colocar 15 minutos en baño ultrasónico
- 5) Luego agitar de nuevo en el vórtice durante 5 min
- 6) Centrifugar durante 10 minutos a 5000 rpm
- 7) Colocar por duplicado 200 µL de lo obtenido en el tubo de ensayo. Un vial colocarlo en el recipiente para viales del cromatógrafo, al otro realizarle los pasos siguientes

Descarboxilación

- 1) Colocar el vial durante 15 minutos a una temperatura de 25 °C y una presión de 5 atm
- 2) Luego colocar en mufla a 210 °C durante 15 minutos
- 3) Depositar 200 µL en el vial y colocar en el recipiente para viales del cromatógrafo

Configuración de cromatógrafo

- 1) Colocar en el software del equipo la posición de todos los viales a inyectar
- 2) Solicitar inyectar 10 µL
- 3) Ordenar un flujo de fase móvil de 0.5 mL/min
- 4) Colocar un tiempo máximo de corrida de 10 min, luego ordenar que la bomba se quede en reposo, así se evita desperdiciar fase móvil.

Los tiempos de retención son comparables cuando su coeficiente de variación es igual o menor al 1 %

Resultados

Nombre de muestra	Tiempo de retención (min) de CBD	Tiempo de retención (min) de THC	Área de CBD 220 nm (mAU*s)	Área de CBD 240 nm (mAU*s)	Área de THC 220 nm (mAU*s)	Área de THC 240 nm (mAU*s)
Estándar 0 µg/mL	2.445	-	0.0	0.0	-	-
Estándar 20 µg/mL	2.445	-	1820.0	364	-	-
Estándar 40 µg/mL	2.455	-	3484.6	704.275	-	-
Estándar 100 µg/mL	2.455	-	7244.5	1738.7	-	-
Estándar THC 0 µg/mL	-	5.120	-	-	0.0	0.0
Estándar THC 10 µg/mL	-	5.120	-	-	424.5	100.6
Estándar THC 20 µg/mL	-	5.120	-	-	971.2	185.7
Aceite 1 descarboxilado	2.442	-	11155.0	427.7	-	-
Aceite 1 sin descarboxilar	2.443	-	2136.0	413.2	-	-
Aceite 2 descarboxilado	2.446	-	1440.179444	291.3	-	-
Aceite 2 sin descarboxilar	2.443	-	2161.1731	441.6	-	-
Yerba 1 descarboxilada	-	-	-	-	-	-
Yerba 1 sin descarboxilar	-	-	-	-	-	-
Yerba 2 descarboxilado	-	-	-	-	-	-
Yerba 2 sin descarboxilar	-	-	-	-	-	-

Tabla 3- Tiempos de retención y áreas de THC y CBD.

Cálculo de coeficiente de variación del tiempo de retención del CBD

Desviación estándar de los tiempos de retención del CBD - 1,549193338

Promedio de los tiempos de retención del CBD - 2.444 min

Coficiente de variación de los tiempos de retención del CBD - 0,063387616 %

Los tiempos de retención se consideran comparables ya que su coeficiente de variación es menor al 1 %

Curva de calibración de CBD

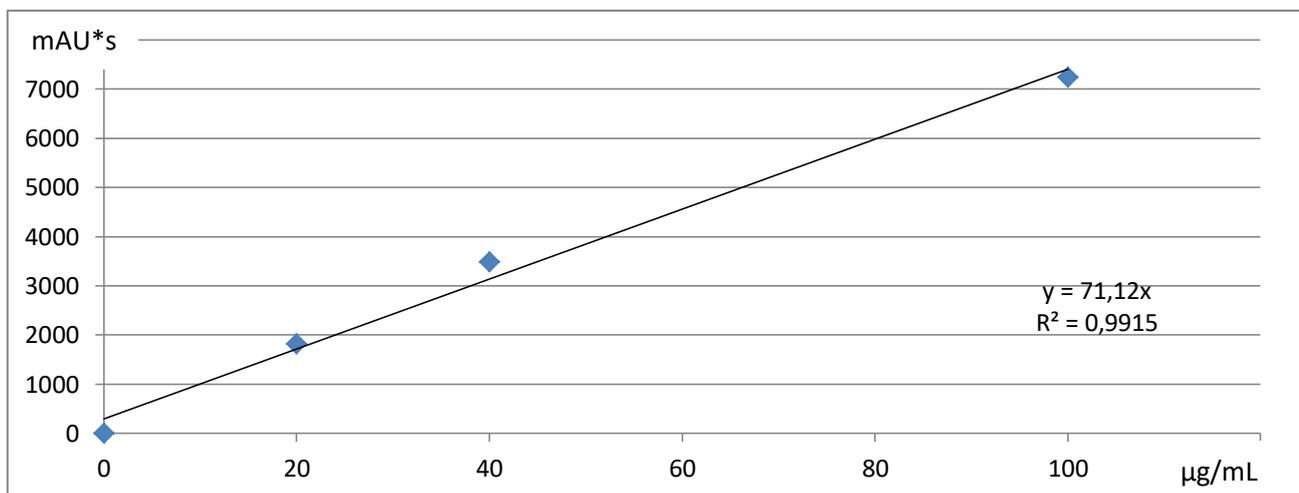


Gráfico 7- Curva de calibración de CBD 220 nm

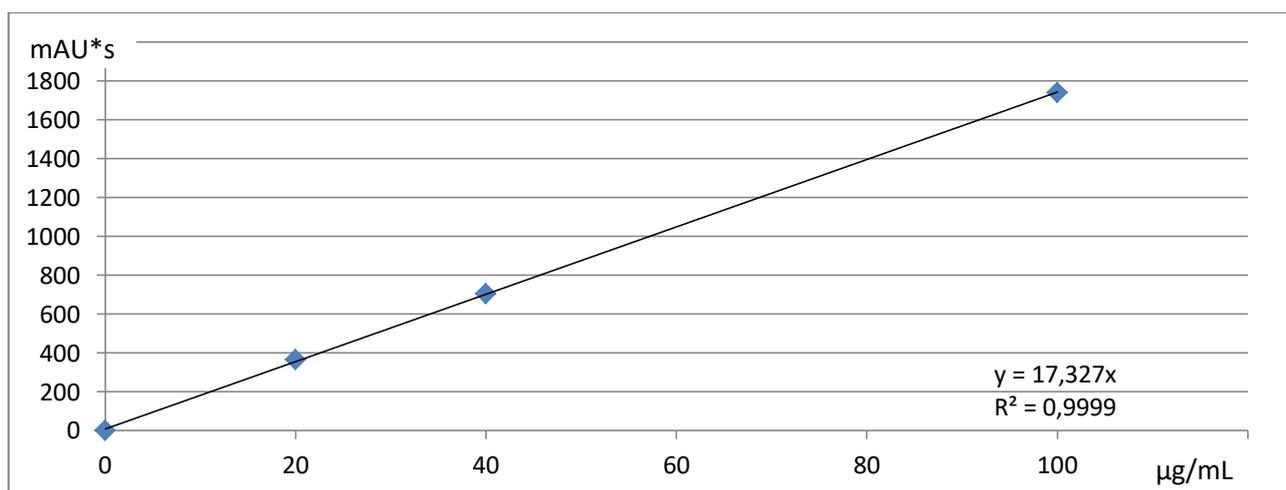


Gráfico 8- Curva de calibración de CBD 240 nm

Se optó la utilización de la longitud de onda a 240 nm ya que el valor 100 ppm de la longitud 220 nm satura el detector, lo que genera un error en el dato.

Curva de calibración de THC

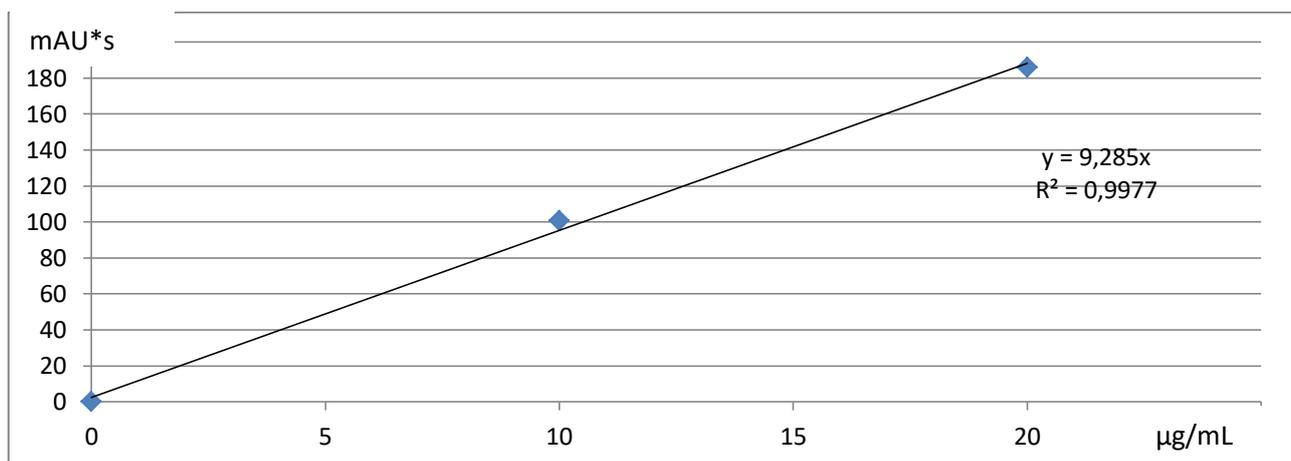


Gráfico 9- Curva de calibración de THC 220 nm

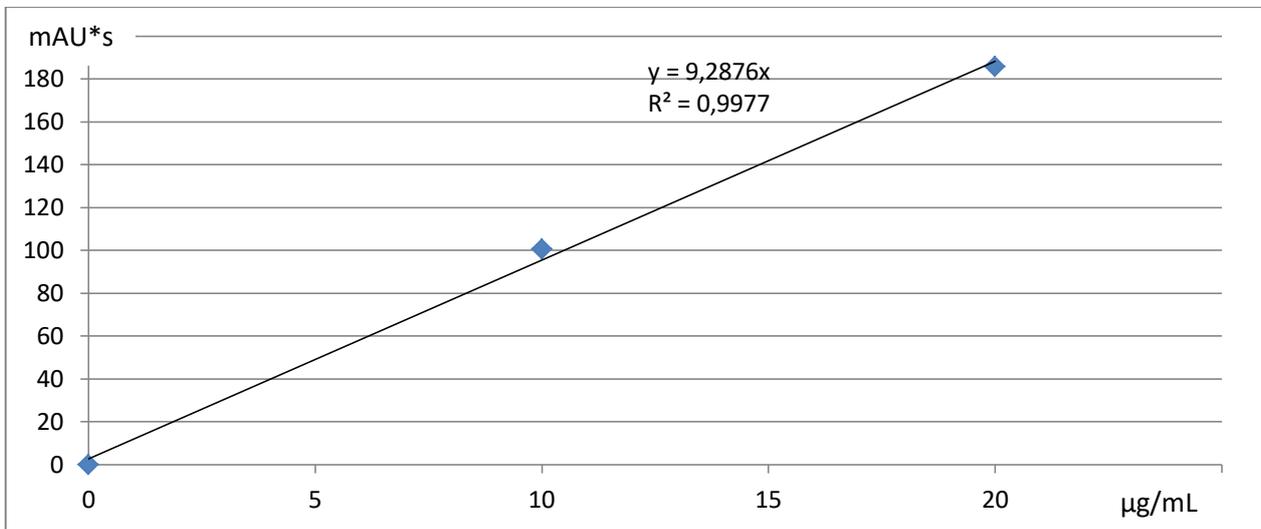


Gráfico 10- Curva de calibración de THC 240 nm

Se opta por utilizar la longitud 240 nm ya que posee un mayor R^2

Aceite 1 descarboxilado

Masa tomada de aceite- (0,49500±0.00004) g

Volumen agregado de metanol cloroformo (9:1) V/V- 5 mL

$$\text{Concentración de CBD en el vial} = \frac{\text{Area} - 8.783}{17.327}$$

Concentración de CBD en el vial descarboxilado= 24.177 µg/mL

En 1 mL de la solución presente en el vial hay 24.177 µg de CBD, el volumen total es de 5mL por ende tengo una masa de CBD de 120.855µg

En 495000 µg de aceite de cannabis hay 120.885 µg de CBD

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{\text{masa de CBD}}{\text{Masa total}} \times 100$$

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{120.855}{495000.000} \times 100.000 = 0.024 \%$$

Aceite 1 sin descarboxilar

Masa tomada de aceite- (0,49500±0.00004) g

Volumen agregado de Metanol cloroformo (9:1) V/V- 5mL

$$\text{Concentración de CBD en el vial} = \frac{\text{Area} - 8.783}{17.327}$$

Concentración de CBD en el vial descarboxilado= 23.34 µg/mL

En 1 mL de la solución presente en el vial hay 23.34 µg de CBD, el volumen total es de 5mL por ende tengo una masa de CBD de 116.7 µg

En 495000 µg de aceite de cannabis hay 116.7 µg de CBD

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{\text{masa de CBD}}{\text{Masa total}} \times 100$$

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{116.7}{495000.0} \times 100.0 = 0.024\%$$

Aceite 2

Como se leyó en la etiqueta del aceite 2 tiene una alta concentración de CBD, se le realizó una dilución al décimo para no saturar el equipo y correr el riesgo de generarle un desperfecto.

Aceite descarboxilado

Masa tomada de aceite- (0,48742±0.00004) g

Volumen agregado de Metanol cloroformo (9:1) V/V- 5 mL

$$\text{Concentración de CBD en el vial} = \frac{\text{Area} - 8.783}{17.327}$$

Concentración de CBD en el vial descarboxilado = 16.30 µg/mL

16.30 µg/mL representan la concentración para la dilución 1/10, la concentración de la solución inicial es de 163 µg/mL de CBD

En 1 mL de la solución presente en el vial hay 163 µg de CBD, el volumen final es de 5mL por ende hay una masa de CBD de 816 µg

En 487420 µg de aceite de cannabis hay 816 µg de CBD

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{\text{masa de CBD}}{\text{Masa total}} \times 100$$

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{816}{487420} \times 100 = 0.16 \%$$

Aceite sin descarboxilar

Masa tomada de aceite- (0,48742±0.00004) g

Volumen agregado de Metanol cloroformo (9:1) V/V- 5 mL

$$\text{Concentración de CBD en el vial} = \frac{\text{Area} - 8.783}{17.327}$$

Concentración de CBD en el vial descarboxilado= 24.97 µg/mL

24.97 µg/mL representan la concentración para la dilución 1/10, la concentración de la solución inicial es de 249.7 µg/mL de CBD

En 1 mL de la solución presente en el vial hay 249.7 µg de CBD, el volumen final es de 5mL por ende hay una masa de CBD de 1248.9 µg

En 487420 µg de aceite de cannabis hay 1248.9 µg de CBD

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{\text{masa de CBD}}{\text{Masa total}} \times 100$$

$$\% \frac{m}{m} \text{ de CBD} = \frac{1248.9}{487420.0} \times 100.0 = 0.26\%$$

Yerba de cannabis

No se identificó CBD ni THC en las yerbas de cannabis

Conclusión y perspectivas

En las dos yerbas analizadas no se identificó CBD ni THC.

Se determinó que el aceite 1 tiene 0.024 % *m/m* de CBD estando descarboxilado y sin descarboxilar. Además se comprobó que no hay THC.

También se observó que el aceite 2 posee descarboxilado 0.16 % *m/m* de CBD y sin descarboxilar 0.26 % *m/m* de CBD. No hay THC.

Como podemos apreciar en el aceite 2 se nota una variación en el porcentaje de CBD, la misma puede ser un indicativo de que se está realizando mal la descarboxilación, ya que su objetivo es eliminar el CBD ácido para transformarlo a CBD y así poder reconocerlo. Concluimos que al aplicar la descarboxilación se pierde CBD, lo que es por una alta temperatura en la estufa. Por eso la continuidad de este proyecto es el ajuste de la etapa de descarboxilación.

Referencias bibliográficas

- Brown, D. (1998). *Cannabis: the genus Cannabis*. Australia Canada Amsterdam, the Netherlands: Harwood Academic Publishers OPA.
- Clarke, R. & Merlin, M. (2013). *Cannabis: evolution and ethnobotany*. Berkeley: University of California Press.
- Liu, H. Head, U. Gharib, M. Yuan, L. Hagense. (2002). *Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R-alpha -lipoic acid*. Nueva York: Routledge
- Ferrer, C. (2005). *La biblia del cannabis: terapéutica, cultivo e historia de la planta prohibida*. Valencia: Carena Editors.
- Herrera, S. (2010). *Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis: manual para uso de los laboratorios nacionales de estupefacientes*. Nueva York: Naciones Unidas.
- Pertwee, R. (2014). *Handbook of cannabis*. Oxford: Oxford University Press.
- Russo, E. (2013). *Cannabis: from pariah to prescription*. New York: Routledge.
- Alejandra, E. (2014). *La marihuana*. Ciudad de México: Revista ciencia
- Backera, B. Debrusb, B. Lebrunb, P. Theunisa, L. Duboisa, N. Decockc, L. Verstraetec, A. Hubertb, P. C, Charliera. (2009). *Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material*. Amsterdam: El Savier
- Harris, D. & Navarro, V. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. Barcelona: Reverte.
- Serrano, R. (2018). *El origen de la biblia*. Carol Stream, Ill: Tyndale House Publishers, Inc.
- Medidas de seguridad, Metanol recuperado el día 30/10/2018
https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/T/SDB_T193_ES_ES.pdf
- Medidas de seguridad, Cloroformo recuperado el día 30/10/2018
https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/A/SDB_AE59_ES_ES.pdf
- Medidas de seguridad, Acetonitrilo recuperado el día 30/10/2018
https://www.carlroth.com/downloads/sdb/es/H/SDB_HN40_ES_ES.pdf

Anexo

Medidas de seguridad

Metanol

Pictogramas



Frases H y P

H225 Líquido y vapores muy inflamables

H301+H311+H331 Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación

H370 Provoca daños en los órganos (ojo)

P210 Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.

P270 No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P280 Llevar guantes/gafas de protección.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente toda la ropa contaminada. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P304+P340 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P308+P311 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar a un CENTRO DE Toxicología/médico.

Cloroformo

Pictogramas



Frases H y P

H331 Tóxico en caso de inhalación.

H351 Se sospecha que provoca cáncer.

H361d Se sospecha que daña al feto.

H372 Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

P202 No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P260 No respirar la niebla/los vapores/el aerosol.

P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: lavar con agua y jabón abundantes.

P304+P340 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P308+P313 EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico.

Acetonitrilo

Pictogramas



Frases H y P

H225 Líquido y vapores muy inflamables

H302+H312+H332 Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación

H319 Provoca irritación ocular grave

P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P280 Llevar guantes/gafas de protección.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.