

AGROPharm

Soluciones integrales para la industria del cannabis medicinal

Proyectos llave en mano:



Diseño de instalaciones



Proyecto, licencias y certificaciones
GACP/GMP



Ejecución y seguimiento

MUJERES EN FARMA

CULTIVO

INSTALACIONES

EXTRACCIÓN

TRAZABILIDAD

CALIDAD

PURIFICACIÓN

REGULACIÓN

agropharm.com

Síguenos en LinkedIn

Nuestros partners:



ÓRGANO DIFUSOR DE



www.aepimifa.org



Extracción de cáñamo

El creciente interés por la planta *Cannabis sativa* L y sus propiedades terapéuticas para la industria farmacéutica, requiere profundizar también en los diferentes métodos de extracción. En este artículo la Dra. Lourdes Calvo Garrido y el Dr. Diego F. Tirado Armesto presenta dos métodos y evalúa sus pros y sus contras.



DRA. LOURDES CALVO GARRIDO
CATEDRÁTICA DE UNIVERSIDAD
EN INGENIERÍA QUÍMICA,
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
DE MADRID (UCM)

DR. DIEGO F. TIRADO ARMESTO
ACTUALMENTE EN DIRECCIÓN ACADÉMICA,
UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA,
LA PAZ, COLOMBIA

Aunque se han descrito varios métodos para la extracción de cáñamo y cannabis, los más utilizados a escala industrial utilizan como disolventes etanol y CO₂ supercrítico. En ambos casos, la biomasa es previamente secada y molida.

Extracción con etanol

La extracción etanólica permite producir casi cualquier derivado cannabinoide porque es un disolvente muy versátil. Sin embargo, hay que tener en cuenta varios aspectos en relación con su uso. Aunque no es muy tóxico y “recomendable” en la mayoría de las guías de la industria farmacéutica¹, es muy inflamable (categoría 2), lo que implica medidas especiales de seguridad, y bastante contaminante para el aire y en su deshecho². En muchos casos se usa el etanol “desnaturalizado” porque tiene un coste 2-3 veces menor que el etanol puro. Significa que le acompañan pequeñas cantidades de heptano, metanol u otras sustancias para que no pueda ser imponible como etanol alimentario y desalentar el consumo recreativo. Ello conduce a que los desnaturalizantes puedan persistir en los extractos como residuos, aportando toxicidad, por lo que los límites son estrictos tanto en EE. UU. como en Europa. Además, las guías GMP obligan a que el disolvente tiene que devolverse a su estado original para volverlo a utilizar.

Las etapas que incluye la extracción con etanol son las siguientes^{3,4}:

1. Enfriamiento del etanol a <-20 °C para simplificar el post-procesamiento. Se reduce la presencia de ceras y clorofilas

La extracción con CO₂ supercrítico del cáñamo permite obtener un aceite más puro. Manipulando las condiciones de operación se puede ajustar su color y composición

en el extracto. Otra opción es añadir adsorbentes específicos para la captación de estos pigmentos.

2. Extracción, remojando y agitando la biomasa en el etanol frío (en relación mínima de 8 L etanol/kg cáñamo) para extraer los compuestos cannabinoides durante tiempos variables de minutos hasta horas dependiendo del equipo. Esta etapa se puede intensificar sonicando la mezcla para acortar el tiempo de operación⁵.
3. Filtración de partículas. Tiene como objetivo eliminar las partículas en suspensión y los adsorbentes (si se han añadido).
4. Evaporación del disolvente. Es una etapa que requiere la aportación de mucha energía y debe realizarse con eficacia para dejar la menor cantidad de residuos de etanol (y sus desnaturalizantes) en el extracto. Los equipos que se utilizan son rotavapores, evaporadores de película fina o descendente. De la biomasa se retira el etanol típicamente por decantación o más eficazmente con métodos mecánicos tales como filtros prensa o centrifugas.
5. Descarboxilación (o activación). El crudo se calienta (>150 °C) preferiblemente a vacío de 2 a 4 horas para liberar el grupo carboxilo de las formas ácidas de las moléculas de cannabinoides (como THCA, CBDA y CBGA) y convertirlas en las formas más asimilables THC (Δ9-te-

trahidrocannabinol), CBD (cannabidiol) y CBG (cannabigerol), respectivamente. El resultado es el aceite crudo, que se puede utilizar para cartuchos de vapeo, tapas de gel, comestibles, tinturas, gotas sublinguales y tópicos.

6. Destilación para eliminar pigmentos, productos de decarboxilación, y otros subproductos y así, obtener un aceite de mayor calidad y consistencia.

En este proceso se pierden los terpenos que dan el aroma y olor típicos al cannabis y pueden modificar las acciones farmacológicas de los cannabinoides⁶. No obstante, pueden ser añadidos al aceite y obtener Terpsolato de CBD.

7. Separación y aislamiento del THC, CBD, CBG u otras moléculas deseables. Para alcanzar un nivel muy alto de pureza (> 98 %) se utiliza fundamentalmente cromatografía y cristalización.

Extracción con CO₂ supercrítico

El dióxido de carbono (CO₂) en condiciones supercríticas es un buen disolvente de sustancias no polares como los cannabinoides. Tiene baja temperatura (TC = 31°C) y presión críticas (PC = 74 bar), no es tóxico y tiene bajo coste. Es un disolvente universal “verde” que se encuentra en la atmósfera, en los alimentos y en las bebidas y del que no es necesario establecer un contenido mínimo en los extractos, por lo que puede utilizarse con total seguridad, incluso en la preparación de fármacos.

En la extracción supercrítica, el CO₂ a presión (100-350 bar) y temperatura (40-60 °C) adecuados⁷ circula a través del lecho de la biomasa. Como su densidad, y por tanto su capacidad disolvente, se puede modificar ampliamente ajustando las condiciones de extracción, es posible obtener distintos extractos tanto en composición como en color.

El CO₂ cargado con el extracto sale por la parte superior del extractor y va a un separador flash, donde se reduce la presión típica-

mente a la presión de vapor a temperatura ambiente (55-60 bar) y el crudo precipita. Desde este recipiente se recircula el CO₂ al proceso previo reacondicionamiento de su presión y temperatura. Dado que el CO₂ es gas en condiciones atmosféricas, el extracto del fondo del separador se recoge libre de disolvente. A este extracto se le denomina “de espectro completo”. De la misma forma el cáñamo tratado se descarga sin restos de disolvente y puede utilizarse para otros fines.

Para eliminar ceras y grasas, se procede con una etapa de winterización, donde el crudo se disuelve en etanol de calidad alimentaria y se enfría desde -20 a -80 °C hasta 24 horas. Así, las ceras precipitan y se separan por filtración. El filtrado que contiene los cannabinoides en disolución se introduce en un evaporador para eliminar el etanol que se limpia para su reutilización. Se puede utilizar extracción sub-crítica para no tener que winterizar y obtener un aceite rico en terpenos. También se pueden recuperar los terpenos previa extracción supercrítica, realizando una destilación a vacío durante la decarboxilación del cáñamo⁸.

El post-procesamiento continua igual que en la extracción etanólica, para conseguir productos finales más puros y aislados.

Trabajo experimental

En el laboratorio de Procesos en Fluidos Supercríticos y Extracción Avanzada de la UCM (<https://www.ucm.es/leffs/supercritical-fluid-extraction>) se hizo un estudio exploratorio de la extracción de crudo de cáñamo. Se utilizó CO₂ supercrítico y extracción asistida por ultrasonidos (US) utilizando etanol.

Se partió de una biomasa donada por Good Earth, S.A., seca (5,3 % humedad), molida (2-3 mm) y con un contenido total de cannabinoides del 6,5 %, donde la mayor concentración era de CBDA (5,0 %) y CBA (0,3 %), el resto era fundamentalmente CBG. El contenido de THC total (incluido THCA) era de 0,14 %. Estaba sin descarboxilar, de ahí que la mayor proporción de los cannabinoides estuviera en forma ácida.

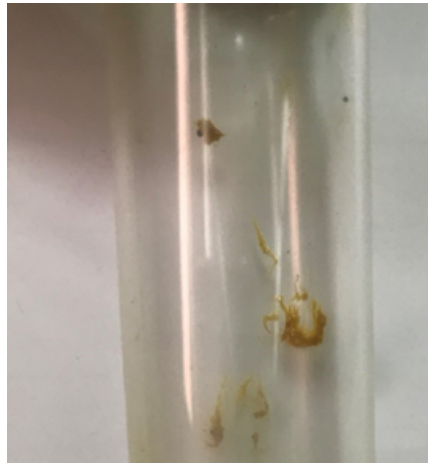
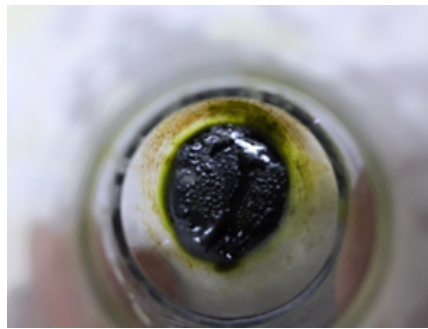


Figura 1a (arriba). Crudo de la extracción etanólica después de la eliminación del disolvente.
Figura 1b (debajo). Crudo de la extracción supercrítica.

La extracción supercrítica se realizó a 350 bar y 60 °C porque a esa temperatura se demostró previamente que los cannabinoides derivados de CBD eran más solubles en CO₂ cannabigerol (CBG). En la extracción etanólica asistida por ultrasonidos (US) se empleó una relación disolvente/cáñamo de 10 mL/g, aplicando una energía de 25 J/mL a un 50 % de amplitud durante 30 s. Por motivos comparativos, se realizó una extracción Soxhlet también con etanol, que supuestamente proporciona el mayor rendimiento de extracción, aunque no sea escalable. En esta operación se usó una relación etanol/cáñamo de 20 mL/g, aplicando reflujo durante 4 horas. Después, se eliminó el etanol en un rotavapor a vacío obteniéndose un extracto verde, ceroso, muy viscoso, tal y como muestra la imagen de la Figura 1a. Debajo (Figura 1b) se muestra el color del extracto obtenido con CO₂ supercrítico: marrón claro, también viscoso.

En los extractos se analizó el contenido de cannabinoides por cromatografía de gases en el Centro Tecnológico Nacional Agroalimentario (CTAEX), así como el contenido de clorofilas y la capacidad antioxidante (mediante técnicas espectroscópicas). Esta última determinación aporta idea del potencial del extracto y es una medida indirecta de concentración de terpenos, flavonoides, etc. Estos datos junto con los rendimientos de extracción se muestran en la Tabla 2. El 96 % del total de cannabinoides en todos los casos era CBD.

El mayor rendimiento se obtuvo en la extracción Soxhlet como era previsible por la duración, el elevado calor aportado por el reflujo del etanol a 78,4 °C, y el tiempo. En la extracción asistida por US, se obtuvo algo menos de la mitad, pero aportando solo la energía de la sonicación y con una duración menor de 1 minuto. En la extracción supercrítica el rendimiento fue muy bajo, del 1 %. Sin embargo, este extracto contenía similar proporción de cannabinoides, con mayor actividad antioxidante y mucha menor concentración de clorofilas, unido a la ausencia de disolvente, hizo que el extracto fuese más “refinado”.

No obstante, en el trabajo de Moreno y colaboradores, se reportan rendimientos de extracción supercrítica mayores, de hasta 60 g de aceite utilizando tan solo 7 kg CO₂ por kg de cáñamo¹⁰. El rendimiento depende mucho de la materia prima y de si está o no descarboxilada, pues normalmente da mejores resultados. Se extraen mejor las formas neutras que las ácidas y que el orden de solubilidad de los cannabinoides en CO₂ supercrítico es THC < CBG < CBD; de tal forma que incluso a presiones relativamente bajas de operación, de 100 bar, es posible extraer CBD prácticamente puro (97,8 % del total de los cannabinoides a partir de la flor descarboxilada y 96,4 % de la materia prima sin descarboxilar). Además, estos autores reportaron que la presión no solo afectaba a la composición del extracto, también a su color y aspecto visual. A 100 bar, el extracto era un aceite fino, rico en CBD

Método de extracción	Rendimiento (%)	Contenido clorofila (µg/g)	Capacidad antioxidante (mM Trolox/g)	Cannabinoides totales (%)
US (etanol)	10	176	323	35.5
Soxhlet (etanol)	22	527	641	29.8
Supercrítica (CO ₂)	1	44	705	30.4

Tabla 1. Rendimiento de extracción y caracterización de los extractos obtenidos con distintas técnicas de cáñamo.

Muestra	Medio	N ₀	N	Reducción (log N/N ₀)
Materia prima, cáñamo industrial	PCA	1.0E+06		
	DRBC	1.2E+05		
	DG18	5.1E+03		
Extracto de etanol	PCA	0.0E+00	0.0E+00	-6.0
	DRBC	0.0E+00	0.0E+00	-5.1
	DG18	0.0E+00	0.0E+00	-3.7
Extracto de CO₂ supercrítico	PCA	9.3E+03	9.3E+03	-2.0
	DRBC	8.6E+01	8.6E+01	-3.1
	DG18	0.0E+00	0.0E+00	-3.7

Tabla 2. Recuento microbiano del cáñamo y de los extractos.

y con un color suave dorado. A medida que se incrementaba la presión de la extracción, la viscosidad del extracto aumentó y el color se fue haciendo más oscuro y marrón, como también observamos nosotros (ver Figura 1b).

Además, realizamos el análisis microbiológico tanto en la materia prima como en los extractos, utilizando medio de recuento general, PCA ("Plate Count Agar") cultivado a 37 °C durante 48 h en posición invertida. Asimismo, el recuento se hizo en los dos medios que marca la normativa para recuento de hongos filamentosos y levaduras cultivados a 25 °C durante cinco días en posición normal. La norma ISO 21527 recomienda el uso del agar Diclorán Rosa de Bengala con Cloranfenicol (DRBC) en muestras con una actividad de agua alta y el Diclorán 18% Glicerol (DG18) en las que tienen una actividad de agua inferior o igual a 0,95. A pesar de la elevada carga microbiana de la materia prima (N₀), los extractos con etanol se obtuvieron estériles, es decir, el recuento fue nulo en todas las diluciones hasta seis órdenes de magnitud (N). Mientras que en la extracción supercrítica hubo una reducción significativa de la contaminación microbiana, pero no total, a pesar del conocido efecto microbicida del CO₂ a alta presión¹¹. Seguramente fue por la baja cantidad de agua de la biomasa. Cierta humedad es necesaria para la acción antimicrobiana del CO₂¹².

Conclusiones

No existe un método único y perfecto para la extracción del cáñamo. Depende del producto deseado, de la aplicación final y de la disponibilidad de las instalaciones. La extracción con etanol es eficiente, fácil, pero no

es selectiva. Los residuos de este disolvente y de sus acompañantes pueden ser un problema en el ámbito farmacéutico. El etanol es "caro" e inflamable, en cambio las instalaciones son más baratas.

La extracción con CO₂ supercrítica es la preferida en la industria farmacéutica, ya que el aceite es más puro. Además, es el método más seguro y respetuoso con el medio ambiente. Los costes de operación y de disolvente son bastante menores. Para recuperar el etanol hay que evaporarlo tanto del cáñamo tratado como del extracto y posteriormente condensarlo y limpiarlo. En todas estas operaciones se pierde más etanol, que en el ciclo del CO₂, en el que típicamente se disipa un 3 % de lo circulado, durante la recuperación del extracto y en la descarga del cáñamo. A cambio, las instalaciones son más caras, del orden del doble que las instalaciones necesarias para la extracción con etanol. Bien es cierto que la amortización de la instalación en esta aplicación concreta se podría lograr en poco tiempo por el alto valor añadido del producto, desde 4 a 6 órdenes de magnitud más que el propio cáñamo.

De ahí que exista un enorme mercado potencial para la extracción del cáñamo, tanto por el aumento de la demanda de productos derivados del CBD, como por su elevado precio. España por sus condiciones climáticas posee buenas tierras para el cultivo. Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, la superficie dedicada al cáñamo se ha multiplicado por 8 en los últimos 5 años, alcanzándose más de 500 ha de plantación. Sin embargo, falta definición en la legislación, especialmente para la manipulación y la extracción. Consecuentemente, se podría

perder la oportunidad de procesar el cáñamo cultivado en nuestro país para obtener el beneficio de la valorización de esta rica materia prima ●

Referencias

- [1] D. Prat, A. Wells, J. Hayler, H. Sneddon, C.R. McElroy, S. Abou-Shehadeh, P.J. Dunn, CHEM21 selection guide of classical and less classical solvents, Green Chem. 18 (2016) 288–296. doi:10.1039/c5gc01008j.
- [2] ACS GCI Pharmaceutical Roundtable Solvent Selection Guide, in: ACS Green Chem. Pharm. Roundtable, 2011; pp. 1–2.
- [3] Prohibition Partners, The Cannabis Extraction report, 2021. <https://prohibitionpartners.com/reports/the-cannabis-extraction-report/>.
- [4] Delta Separations LLC by GIBALTAR Industries, Cannabis & Hemp Extraction Methods, 2020. <https://deltaseparations.com/the-ultimate-guide-to-cannabis-oil-extraction/cannabis-hemp-extraction-methods/>.
- [5] Hielscher, Ultrasonic CBD Extraction-Step by Step, 2020. <https://www.hielscher.com/wp-content/uploads/Ultrasonic-Cannabis-Extraction-Step-by-Step-Hielscher-Ultrasonic.pdf>.
- [6] J.A. Atance Ramos, M. Guzmán Pastor, Usos medicinales del cannabis, Los libros de la catarata, 2019.
- [7] Adam Mueller, Method for producing an extract from cannabis plant matter, containing a tetrahydrocannabinol and a cannabidiol and cannabis extracts, US 20040049059A1, 2004.
- [8] extraktLAB, Advanced Hemp & Botanical Extraction Guide, n.d. <https://extraktlab.com/advanced-extraction-guide/>.
- [9] H. Perrotin-Brunel, M.C. Kroon, M.J.E. Van Roosmalen, J. Van Spronsen, C.J. Peters, G.J. Witkamp, Solubility of non-psychoactive cannabinoids in supercritical carbon dioxide and comparison with psychoactive cannabinoids, J. Supercrit. Fluids. 55 (2010) 603–608. doi:10.1016/j.supflu.2010.09.011.
- [10] T. Moreno, F. Montanes, S.J. Tallon, T. Fenton, J.W. King, Extraction of cannabinoids from hemp (Cannabis sativa L.) using high pressure solvents: An overview of different processing options, J. Supercrit. Fluids. 161 (2020) 104850. doi:10.1016/j.supflu.2020.104850.
- [11] L. Calvo, C. Diaz, Sterilization using supercritical carbon dioxide, Ing. Quim. 37 (2005).
- [12] L. Calvo, E. Torres, Microbial inactivation of paprika using high-pressure CO₂, J. Supercrit. Fluids. 52 (2010) 134–141. doi:10.1016/j.supflu.2009.11.002.