



**UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS
FACULTAD DE POSGRADOS
MAESTRÍA EN DESARROLLO E INNOVACIÓN DE ALIMENTOS**

TEMA: DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN MÉTODO POR HPLC-DAD PARA CUANTIFICAR MOLÉCULAS DE CBD EN UNA FORMULACION DE MAYONESA CON EXTRACTO DE CANNABIS SATIVA

Autores:

María Genoveva Granda Albuja,
Giovanni Sebastián Chávez Cuesta

Docente:

Eduardo Tejera, PhD

2023

RESUMEN

El análisis de compuestos químicos de cáñamo es importante para poder evaluar la calidad de la materia prima utilizada en la fabricación de diversos productos comerciales. El cáñamo es una especie de cannabis que tiene alrededor de 500 compuestos químicos cannabinoides, que comúnmente se encuentran en las flores, hojas, tallos, y raíces de las plantas hembra. Actualmente, se consume en varios productos que se considera suplementos alimentarios. En este trabajo, se desarrolló una mayonesa enriquecida con un extracto elaborado a partir de la flor del cáñamo en aceite vegetal o aceite de oliva. Esto permitió el desarrollo de un producto con valor agregado que puede acompañar o incorporar a otros alimentos. La formulación de la mayonesa incluyó diferentes concentraciones de materia prima (2,5% - 5% y 7,5%) y se utilizaron diferentes solventes de extracción. Estos tratamientos se sometieron a un análisis sensorial para determinar las preferencias de los consumidores en cuanto a la dosis más aceptada y a las especias utilizados para su elaboración. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis por HPLC-UV para la determinación de los diferentes compuestos con una columna Zorbax C18 como fase estacionaria y acetonitrilo: metanol: agua como fase móvil. La detección de analitos se realizó a 206 nm. El método demostró ser bastante preciso, obteniendo porcentajes de recuperación de alrededor de 80 %. El análisis confirmó la ausencia de THC en las muestras, cumpliendo con la normativa nacional vigente para el desarrollo de productos a base de cáñamo.

PALABRAS CLAVE: Cáñamo, CBD, THC, mayonesa, aderezo, HPLC-UV

ABSTRACT

The analysis of chemical compounds in hemp is crucial for assessing the quality of the raw material used in the production of various commercial products. Hemp, a cannabis specie, contains around 500 cannabinoid chemical compounds, commonly found in the flowers, leaves, stems, and roots of female plants. Currently, it is consumed in various products considered dietary supplements. In this study, an enriched mayonnaise was developed using an extract derived from hemp flowers in vegetable oil or olive oil. This allowed the creation of a value-added product that can complement or be incorporated into other foods. The mayonnaise formulation included different concentrations of the raw material (2.5%, 5%, and 7.5%), and different extraction solvents were used. These formulations were analyzed sensorially to determine consumer preferences regarding the most accepted dosage and the spices used in their preparation. Subsequently, an analysis by HPLC-UV was conducted to determine the different compounds, using a Zorbax C18 column as the stationary phase and acetonitrile: methanol: water as the mobile phase. The detection of analytes was performed at 206 nm. The method proved to be quite accurate, achieving recovery percentages of around 80%. The analysis confirmed the absence of THC in the samples, complying with current national regulations for the development of hemp-based products.

KEYWORDS: Hemp, CBD, THC, mayonnaise, dressing, HPLC-UV

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción	1
2. Marco Teórico	1
2.1 <i>Definición y composición del cáñamo</i>	1
2.2 <i>Aplicaciones terapéuticas del CBD</i>	2
2.3 <i>Extracción a partir de la flor</i>	3
2.4 <i>Definición de una mayonesa o salsa emulsionada</i>	3
2.5 <i>Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)</i>	5
<i>Figura 1 Esquema de la Cromatografía Líquida de Alta eficiencia.</i>	5
3. Planteamiento del problema	9
4. Identificación del objeto de estudio.	10
5. Objetivos	11
5.1 <i>Objetivo general</i>	11
5.2 <i>Objetivos específicos</i>	11
6. Justificación	11
7. Aplicación de la metodología	12
7.1 <i>Preparación de los extractos</i>	12
7.2 <i>Preparación de la mayonesa</i>	15
7.3 <i>Evaluación de la mayonesa</i>	17
7.4 <i>Análisis sensorial</i>	20
7.5 <i>Determinación de la concentración de CBD por HPLC - DAD</i>	21
8. Resultados	24
8.1 <i>Resultados del análisis microbiológico</i>	24
8.2 <i>Resultados del análisis sensorial</i>	24
8.3 <i>Resultados de análisis de pH</i>	25
8.4 <i>Resultados de análisis de metales pesados</i>	26
8.5 <i>Resultados del análisis por HPLC</i>	27
8.6 <i>Rendimiento de extracción con los diferentes métodos</i>	29
8.7 <i>Información Nutricional</i>	31

8.8	<i>Costos</i>	31
9.	Discusión de los resultados y propuesta de solución	32
10.	Conclusiones y recomendaciones	34
10.1	<i>Conclusiones</i>	34
10.2	<i>Recomendaciones</i>	35
	<i>Referencias</i>	36
	Anexos	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Materiales, equipos e ingredientes para realizar el extracto con base de aceite de oliva	12
Tabla 2 Materiales, equipos e ingredientes para realizar el extracto con base de aceite neutro	13
Tabla 3 Materiales, equipos e ingredientes para la preparación de la mayonesa	15
Tabla 4 Formulaciones de mayonesa enriquecida con extracto de CBD	16
Tabla 5 Diluciones realizadas para el análisis microbiológico	17
Tabla 6 Descripciones para el análisis sensorial mediante escala hedónica.....	20
Tabla 7 Resultados del análisis microbiológico	24
Tabla 8 Descripción y codificación de los tratamientos del análisis sensorial	25
Tabla 9 Datos obtenidos en el análisis de pH por triplicado	26
Tabla 10 Datos obtenidos en el análisis de metales (arsénico) por triplicado	26
Tabla 11 Datos obtenidos en el análisis de metales (Plomo) por triplicado	27
Tabla 12 Datos obtenidos en el análisis de CBD en las diferentes muestras analizadas	28
Tabla 13 Cantidad total de CBD y THC	29
Tabla 14 Rendimiento de extracción de CBD y THC de Flor de cáñamo con aceite neutro	30
Tabla 15 Rendimiento de extracción de CBD y THC de Flor de cáñamo con aceite de oliva	30
Tabla 16 Detalle de costos para el extracto de CBD en aceite neutro	31
Tabla 17 Detalle de costos para la formulación de mayonesa con CBD	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema de la Cromatografía Líquida de Alta eficiencia	5
Figura 2. Diagrama de flujo de extracción en aceites	14
Figura 3. Diagrama de flujo de la elaboración de mayonesa	17
Figura 4. Potenciómetro Termo Fisher Scientific	19
Figura 5. Extracción de mayonesa	22
Figura 6. Aceptación de muestras según análisis sensorial	25
Figura 7. Estándar mixto compuestos CBD	28
Figura 8. Rendimiento de extracción de THC en aceites	30
Figura 9 Rendimiento de extracción de CBD en aceites	31

1. Introducción

La planta de cáñamo tiene un crecimiento anual y se originó en las Cordilleras del Himalaya en el continente asiático. Desde hace muchos años se utiliza esta planta con fines terapéuticos, para el tratamiento de algunas enfermedades y sobre todo para dolores intensos.

La normativa legal vigente aplicada en el Ecuador, indica cuáles son los porcentajes óptimos tanto para medicamentos, productos farmacéuticos o cosméticos, como para los alimentos, lo cual es primordial tomar en cuenta al momento de la formulación de un producto para que este se encuentre dentro del marco legal.

Existen varios tipos de plantas de la especie cáñamo, sin embargo, es importante diferenciar estas especies para poder obtener sus productos y hacer uso de sus derivados de manera responsable. El CBD y la marihuana son dos plantas similares que provienen de la especie *Cannabis Sativa*, pero la diferencia es su estatus legal y la composición que tienen estas plantas. La diferencia entre estas dos plantas son las características fitoquímicas de la planta, lo que ayuda a que esta pueda desarrollar y su crecimiento.

Existen dos tipos de moléculas en estas plantas, las cuales son CBD y THC. Estas moléculas tienen una estructura similar químicamente, pero el mecanismo de acción y los efectos en el organismo y principalmente en el cerebro son muy diferentes (Stella, 2022).

La molécula de THC se caracteriza por ser una molécula psicoactiva, que produce sensaciones diferentes en las personas cuando la consumen; comúnmente esta molécula se encuentra en la planta de marihuana en cantidades superiores al 0,3%. De esta manera, se puede inferir que la nomenclatura de cáñamo como tal hace alusión a un bajo porcentaje del componente psicoactivo, es decir, que su consumo no alterará al consumidor. En este mismo sentido, los derivados del cáñamo también son utilizados para textiles, fibras, entre otras industrias diferentes a la alimentaria.

2. Marco Teórico

2.1 Definición y composición del cáñamo

Se conoce como cáñamo a una de las especies de cannabis que contiene alrededor de

500 diferentes cannabinoides que se encuentran en las flores, hojas, tallos y raíces de las plantas hembras (Kornpointner et al., 2021) Las variantes entre estas especies no tienen un límite establecido que permita determinar qué variante contiene los diferentes fitocannabinoides (Legare et al., 2022). La clasificación de marihuana y cáñamo radica en el contenido del cannabinoide tetrahidrocannabinol que es conocido como un psicoactivo que está sujeto a fiscalización. Si dentro de la composición de la planta el contenido del cannabinoide mencionado anteriormente es menor al 0,3 % del total de la flor seca, se puede considerar a esta como cáñamo. (Schilling et al., 2020) (Pourseyed Lazarjani et al., 2020).

2.2 Aplicaciones terapéuticas del CBD

Se han realizado diversas investigaciones acerca de las acciones y aplicaciones terapéuticas del cannabidiol (CBD) para la ansiedad, la falta de apetito, el dolor, entre otros; pero todavía se considera un tema en estudio el poder determinar la efectividad de estos tratamientos. Las terapias a largo plazo con CBD han dado resultados que permitirían aseverar que es efectivo para el control y la reducción de sintomatologías enlazadas con la depresión, la euforia, el pánico y hasta el síndrome de abstinencia, sin ningún efecto adverso después de su uso (Khalsa, 2021).

Los diferentes tipos de cannabinoides que se pueden encontrar en el cáñamo tienen sus distintas aplicaciones en distintos parámetros. En un metaanálisis realizado por Bilbao & Spanagel (2022) demuestra la efectividad del CBD para enfermedades como el Parkinson y la epilepsia. En este mismo sentido, los síntomas post-covid, como el síndrome de estrés post-traumático, la ansiedad, la depresión y otras complicaciones se han visto mitigadas por el uso de CBD, combinadas con terapia motivacional y terapia cognitiva conductual (Khalsa, 2021).

El uso de esta planta es integral, se pueden utilizar todas las partes que la componen, incluyendo la raíz. Mediante el estudio de Ryz et al. (2017) se puede inferir y recabar información de los beneficios encontrados en la decocción de las raíces de esta planta, aseverando su funcionalidad para el alivio de dolores articulares, fiebre e inflamaciones. Por otro lado, los beneficios más renombrados radican en el alivio del estrés y la ansiedad. Trastornos para los cuales se ha recetado CBD de manera medicinal, variando las

diferentes dosis que se administran y encontrando los beneficios de las mismas en comparación con tratamientos existentes que no han tenido el mismo impacto (Berger et al., 2022).

2.3 Extracción a partir de la flor

Existen diferentes tipos de extracción para poder obtener el cannabis medicinal a partir de la flor, entre los cuáles se encuentran la extracción con CO₂ y la extracción con etanol. La extracción con etanol permite la producción de derivados de cannabinoide ya que es un disolvente utilizado ampliamente a escala industrial. A pesar de su amplio uso, es importante tomar en consideración sus propiedades químicas, por ejemplo, el grado de inflamación, lo que requiere tomar muchas medidas de seguridad para poder utilizarlo. El proceso de extracción de manera general se lo realiza de la siguiente manera:

- a) Enfriamiento del alcohol a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para reducir las ceras y clorofilas en el extracto.
- b) Extracción, remojo y agitación de la biomasa en etanol frío para extraer los compuestos cannabinoides durante tiempos variables.
- c) Filtración de partículas para eliminar los adsorbentes si se añaden en el proceso.
- d) Evaporación del disolvente.
- e) Descarboxilación para liberar el grupo carboxilo de las formas ácidas de las moléculas cannabinoides (THCA, CBDA Y CBGA) y convertirlas en formas asimilables: THC, CBD y CBG.
- f) Destilación para eliminación de pigmentos, productos de descarboxilación y otros productos.

2.4 Definición de una mayonesa o salsa emulsionada

Se puede considerar aderezo a una salsa de diferentes consistencias que se haya realizado a base de aceites o materias grasas emulsionadas con distintos ingredientes que puedan o no aportar sabor a la preparación. Dicha salsa se categoriza por el contenido de grasas presente, los saborizantes y condimentos añadidos, así como por el uso de un agente emulsificante que, generalmente, es a base de huevo. (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2011).

Debido a todas las variantes que se pueden elaborar a partir de esta base, es necesario

entender que las salsas emulsionadas pueden tener diferentes aplicaciones, ya sea como aderezos para carnes, ensaladas, untables e incluso marinados (Codex Alimentarius, 1995). Una de las constantes que podemos encontrar en este tipo de salsas, es su estabilidad, ya que este producto no debe ser reconstruido antes de su consumo. Entonces, dicha salsa debe permanecer emulsionada por todo su tiempo de vida útil y no presentar diferencias de texturas o de color durante su almacenamiento (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2011).

Se puede catalogar a la mayonesa como una de las salsas más utilizadas a nivel mundial (Alves Gomes et al., 2017), así como la base para un sinnúmero de otras salsas. Gracias a la emulsión que se genera por acción mecánica, la textura de las mayonesas o aderezos es semi sólida, de colores pálidos que dependen de los demás ingredientes añadidos (Widerström & Öhman, 2017). Estas características físicas son cruciales para su producción y distribución debido a que son propiedades objetivas que permiten la aceptación de los consumidores. En este mismo sentido, esta salsa tiene un pH bajo que ayuda a potenciar los sabores ácidos que le son característicos. Si bien existen mayonesas menos ácidas, es necesario entender que el bajo pH, disminuye la proliferación de bacterias, y aumenta su tiempo de vida útil (Alves Gomes et al., 2017; Widerström & Öhman, 2017). El tiempo de vida útil de una mayonesa depende de cuánta oxidación pueden tener sus componentes lípidicos. Esta oxidación puede provocarse por la exposición de la fase oleosa al oxígeno presente en la fase acuosa (Depree & Savage, 2001). Para que este fenómeno tome lugar, se deben dar las condiciones necesarias de luz y calor. De esta manera, las propiedades organolépticas de la salsa se ven afectadas, dando un sabor rancio, bajando su valor nutricional, así como un deterioro en su textura y color (Alves Gomes et al., 2017).

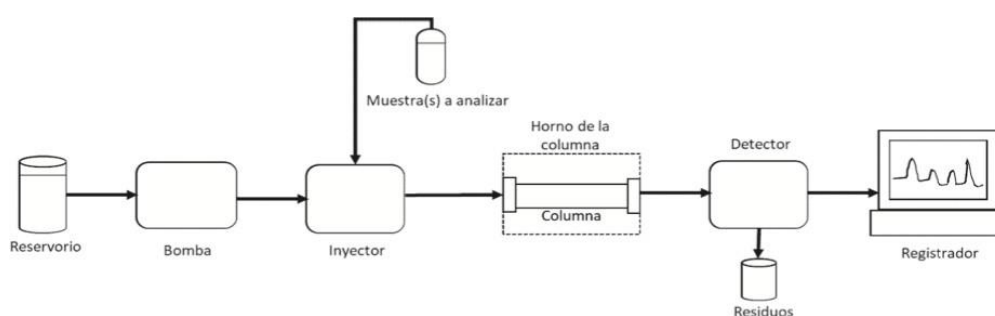
La textura de este tipo de salsas emulsionadas es de suma importancia para su aplicación como acompañante en diversos alimentos. Todos los ingredientes que se presentan en esta solución tienen parámetros que aportan a la estructura de esta. La yema de huevo contiene varios componentes que estabilizan esta emulsión, tales como: lipoproteínas de alta y baja densidad, así como la lecitina (Taslikh et al., 2021).

2.5 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

La cromatografía líquida de alta eficiencia es un método analítico que permite conocer la composición de los compuestos en base a una fase móvil y una fase estacionaria afín a los compuestos que se están analizando.

Para poder realizar la separación de las moléculas que se analizan, el sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia está conformado bajo el esquema de la figura 1:

Figura 1 Esquema de la Cromatografía Líquida de Alta eficiencia.



Fuente: (Suarez, O. Morales, H, 2018)

2.5.1 Componentes de un Cromatógrafo

Los principales componentes de este equipo son los siguientes:

- **Reservorio o bandeja de solventes:** Donde se encuentran los solventes que forman parte de la fase móvil y también se encuentran los solventes que forman parte de la limpieza del equipo, como: agua-metanol, agua-isopropanol, agua desionizada.
- **Bomba:** La bomba tiene la función de succionar los solventes desde la bandeja de solventes para que así pueda fluir por todo el sistema a un flujo determinado.
- **Inyector:** Existen dos tipos de inyectores: manual y automático. El sistema automático ayuda a que la muestra sea inyectada junto con la fase móvil pre-surrizada de una manera exacta (Suarez., et al., 2018).
- **Horno de la columna:** El horno regulariza la temperatura a la que debe estar la columna, ya que este factor es primordial para la separación de los

compuestos dependiendo su naturaleza (Suarez., et al., 2018).

- **Detector:** Existen diferentes tipos de detectores para poder utilizar en HPLC. Uno de los detectores utilizados es el DAD (Diode Array Detector), que permite analizar compuestos en el rango UV-VIS (190-800 nm).
- **Software:** El software es el encargado de poder analizar los datos obtenidos en la corrida del HPLC.

2.5.2 Consideraciones para realizar un análisis cromatográfico

El método de HPLC es una de las técnicas más precisas para poder analizar compuestos de naturaleza compleja. Para su análisis es importante verificar la fase móvil, columna cromatográfica, condiciones de temperatura, pH, entre otras características importantes para este análisis. Algunas características para realizar el análisis son:

- **Selección de la columna cromatográfica:** Actualmente existen un número muy grande de columnas cromatográficas, sin embargo, las más utilizadas en los análisis químicos son: C8, C18, C4. Estas columnas pueden ir variando por la fase estacionaria, la dimensión de la columna (50 mm, 75 mm, 125 mm o 250 mm) y el tamaño de poro.
- **Selección fase móvil:** La fase móvil puede ser polar o apolar y debe ser afín a la fase estacionaria (Columna Cromatográfica). Es muy importante la selección del solvente de elución de los compuestos ya que esto generará la retención en la fase estacionaria, emitiendo una señal en el detector y así se podrá determinar la composición de la muestra.
- **Selección de pH:** El pH es importante en las columnas cromatográficas ya que esto afecta directamente a la fase estacionaria. Las columnas de fase reversa tienen una estabilidad cuando el rango de pH se encuentra entre 2 a 8. El pH

fundamentalmente tiene una respuesta en los tiempos de retención de los compuestos y también en la disolución del material de empaque de la columna según sea el caso.

- **Selección de temperatura:** La temperatura es importante para aumentar la solubilidad de un compuesto y evitar que este se quede pegado en la fase estacionaria. Se debe tomar en cuenta también que la temperatura puede afectar a compuestos que son termolábiles por lo que es importante tomar en cuenta la naturaleza de los compuestos que se están analizando.
- **Selección de estándares:** Los estándares son compuestos puros y con una concentración conocida. Para la elección de los estándares se debe verificar la fórmula química y la similitud con el compuesto que se quiere analizar.

Análisis sensorial

El análisis sensorial es parte de las evaluaciones específicas que se deben realizar a un producto alimenticio que está diseñando para evaluar, mediante los sentidos, sus propiedades organolépticas: olor, textura, sabor, color, apariencia (Ruiz-Capillas, 2021). Este tipo de análisis se pueden realizar de manera cuantitativa o cualitativa para determinar el grado de aceptación que el producto tendría, en este caso, se utilizaron pruebas hedónicas (García- Gómez et al., 2022).

La información recabada en este tipo de análisis puede realizarse por panelistas no necesariamente entrenados, pero que puedan aportar, mediante calificaciones establecidas por el desarrollador de productos, una perspectiva organoléptica que determine la viabilidad de las características previamente descritas, así como los valores implícitos y explícitos del producto a evaluar (Ruiz-Capillas, 2021).

2.5.3 Legislación aplicada

Es necesario comprender que existen cuatro categorías para este tipo de salsa de acuerdo con la norma NTE INEN 2 295:2010 del Instituto Técnico de Normalización, las

cuales se especifican como: mayonesa, salsa o aderezo mayonesa, mayonesa baja en calorías y mayonesa con sabor. Como consecuencia de estas categorías, se encuentran las tablas con los porcentajes de ingredientes mínimos y máximos para establecer su pertenencia. De acuerdo con esto, se puede formular y establecer una categoría para cualquier salsa emulsionada con base en sus ingredientes. (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2011).

En este mismo sentido, existe la resolución por parte de la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCOSA) ARCOSA-DE-002-2021 que ha expedido la normativa técnica sanitaria “Norma Técnica Sanitaria para la regulación y control de productos terminados de uso y consumo humano que contenga Cannabis No Psicoactivo o Cáñamo, o Derivados de Cannabis No Psicoactivo o Cáñamo” (publicado en Registro Oficial Suplemento 398 de 25 de febrero de 2021) (ARCOSA, Control sanitario, 2021) para poder regularizar los productos terminados de consumo humano, en este caso, alimenticios, que contengan cannabis no psicoactivo o cáñamo, así como sus derivados. Estas normativas aplican directamente a todas las personas naturales o jurídicas de cualquier origen para cualquier actividad inherente a estos productos sea este con fines alimenticios o cosméticos. En esta normativa, se pueden encontrar todas las directrices para alimentos procesados y suplementos alimenticios, donde se pueden denotar las prohibiciones para los mismos:

- Uso de cannabis psicoactivo o derivados en sus formulaciones
- Concentraciones iguales o mayores al 0,3 % total de THC.
- El uso de concentraciones de cannabinoides que puedan presentar una actividad terapéutica.
- El uso de logos que indiquen o aseveren beneficios saludables consecuencia del consumo de cáñamo no psicoactivo o sus derivados.
- La atribución de propiedades terapéuticas ya sea en su etiqueta o en la publicidad inherente.
- La circulación de pruebas sin valor comercial que contengan la concentración de THC previamente expuesta.
- Elaborar productos con mercados objetivo de lactantes, niños pequeños y menores de 12 años.

3. Planteamiento del problema

En los últimos años en Ecuador se han implementado una serie de leyes que regulan el cultivo y comercialización de cannabis. Por ejemplo, la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria, emitió la Resolución 21 ARCSA 2 que se encuentra en el Registro Oficial Suplemento 398 de 25-feb.-2021: Normativa Técnica Sanitaria para la Regulación y Control de productos terminados de uso y consumo humano que contenga cannabis no psicoactivo o cáñamo o derivados de cannabis no psicoactivo o cáñamo (ARCSA, 2021). La presencia de la normativa, así como la creciente demanda, han motivado un incremento de la aparición de pequeñas empresas centradas en la producción y uso de cannabis y/o sus derivados. Por otro lado, el uso del CBD como compuesto bioactivo en diferentes alimentos también se ha visto incrementado.

Todos estos cambios y demandas del mercado han motivado la siembra de diversas variedades de cannabis con mayores o menores contenidos de THC y CBD. Esto no sólo potencia el desarrollo de futuras investigaciones dentro de la universidad, sino que también crea un problema relacionado con la implementación y certificación de métodos de cuantificación de cannabinoides de forma tal que puedan garantizar la seguridad y en cierta forma el cumplimiento de las regulaciones establecidas para el uso de cannabis en diversos alimentos funcionales.

Dentro de los cannabinoides más importantes presentes en las variedades de cannabis están el cannabidiol (CBD), tetrahidrocannabinol (THC), cannabinol (CBN) y ácido tetrahidrocannabinólico (THCA). El CBD es un estupefaciente que no se considera psicoactivo de acuerdo con las regulaciones y normas emitidas por el Ministerio de Gobierno de acuerdo con el Registro Oficial No. 615 de la “Ley Orgánica de Prevención Integral del Fenómeno Socioeconómico de las Drogas y de Regulación y Control del Uso de Sustancias Catalogadas Sujetas a Fiscalización” en el Anexo 1 “Sustancias catalogadas sujetas a Fiscalización”.

Este compuesto (cannabidiol) es el que actualmente se utiliza en mayor cantidad tanto en la industria farmacéutica como en el área de alimentos funcionales. Por otro lado, el tetrahidrocannabinol se encuentra en la forma d9- THC y d8-THC y es el responsable mayoritario de los efectos psicoactivos del cannabis. La presencia de estas moléculas es

uno de los principales puntos de la regulación legal en el país ya que forman parte de los compuestos controlados por el Ministerio de Gobierno de acuerdo con el Registro Oficial No. 615.

Sin embargo, hay otros dos metabolitos del cannabis que son igualmente importantes: el CBN y el THCA. El CBN es un producto de la degradación del THC (principalmente por efectos de temperatura y luminosidad) y debe encontrarse en pequeñas cantidades en la planta cuando esta se encuentra en condiciones favorables de almacenamiento, sin embargo, en el proceso de degradación del THC, el contenido de CBN puede aumentar (Ruso & Marcu, 2017). Esta molécula también es considerada psicoactiva, pero de acción mucho más leve que el THC (Hazekamp et al., 2010). Por otro lado, el THCA es el precursor de la formación de THC. El THCA se convierte en THC en el proceso de calentamiento (sea en el secado, o el calentamiento causado por combustión) y por tanto es necesario conocer la concentración tanto del THC como del THCA.

Paralelamente, desde el punto de vista de aplicación en alimentos funcionales, recientemente se ha demostrado que el THCA tiene propiedades antiinflamatorias, mejora las náuseas y regula el apetito (Ruhaak et al., 2011) (Rock et al., 2015). Es por estas razones que la cuantificación de estos 5 cannabinoides son de gran importancia para un correcto uso del cannabis con fines alimenticios y/o como indicadores de calidad.

4. Identificación del objeto de estudio.

Los aderezos son comúnmente utilizados para aportar sabor, textura y humedad a cualquier tipo de comida en los que se utilicen. Estos productos se elaboran generalmente a partir de una emulsión de agua con aceite, con un agente emulsificante, que generalmente son yemas de huevo o huevos enteros. Dicho emulsificante puede pasteurizarse para aumentar el tiempo de vida útil de esta salsa y poder utilizarla sin afectar a la inocuidad del producto.

Debido al contenido de aceite de la mayonesa, y la liposolubilidad del CBD como compuesto bioactivo, se puede incorporar a este producto para aumentar su propuesta de valor y su funcionalidad. Para elaborar el extracto se utilizó materia prima que fue elaborada mediante procesos propios del fabricante para obtener un polvo fino con un alto porcentaje de concentración, además la flor a utilizar fue criada por el fabricante para

umentar la cuantificación de su principio activo y certificar su composición.

Los ingredientes utilizados para elaborar la mayonesa fueron los clásicos para un aderezo base al cual se le incorporó el extracto de CBD o, se siguió el proceso regular y se determinó cuál de estas opciones tuvo una mejor disponibilidad de dicha funcionalidad, así como la propuesta sensorial que se puede obtener a partir de estos procesos.

El estudio se realizó en el norte de Quito, en los laboratorios de la Universidad de las Américas durante un periodo comprendido entre los meses de junio y octubre del 2023.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

- Desarrollar una mayonesa enriquecida con CBD para su uso como alimento ocasional

5.2 Objetivos específicos

- Determinar la concentración de CBD en el extracto realizado
- Formular una mayonesa enriquecida con el extracto de CBD validada mediante pruebas sensoriales
- Identificar por el método de cromatografía líquida (HPLC) el contenido de CBD presente en las fórmulas de la mayonesa

6. Justificación

El CBD trae consigo un sinnúmero de beneficios que ayudan a la salud de los consumidores. Si bien el cultivo de cáñamo está despenalizado en Ecuador, todavía se puede notar un sesgo en los consumidores hacia este producto por los efectos psicoactivos que se asocian con el mismo. La mayoría de productos que se encuentran en el mercado son fabricados a base de aceites, en gomitas, en chocolates, entre otros. Estos, generalmente son productos de consumo ocasional que los consumidores incluyen como algo adicional a su dieta.

La razón por la cual se propuso incorporar CBD en una mayonesa, es la inclusión de un alimento en la dieta de los consumidores que tenga alta calidad en sus propiedades organolépticas, así como la propuesta funcional que se obtendría con dicho producto. Para

poder determinar su funcionalidad es necesario la cuantificación de este compuesto mediante cromatografía líquida HPLC y para asegurar la disponibilidad del mismo. De igual manera, por la variación entre la incorporación de un extracto a la fórmula o la infusión de la flor en el aceite inherente al aderezo, fue necesario realizar un análisis sensorial que permita evaluar la calidad de las propiedades organolépticas.

El uso de la planta dentro de esta formulación permitió obtener ciertos matices de sabor propios de la flor en cuestión, así como matices de color para el producto final. La mayonesa original es un producto que ya se comercializa actualmente, por lo que esta investigación agregó un valor funcional para las personas que ya lo consumen en el momento. El perfil de sabores actual de este aderezo puede incluir el perfil de sabores de dicha planta, por lo que se pudo incorporar sin afectar la aceptación del producto.

Según lo expuesto anteriormente, esta investigación permitió ampliar la propuesta de valor del producto con una nueva fórmula que estaría destinada a consumidores mayores de 18 años y adultos mayores, sin la necesidad de una condición médica que dictamine su consumo.

7. Aplicación de la metodología

En los siguientes apartados, se presentan las diferentes metodologías aplicadas a la investigación realizada.

7.1 Preparación de los extractos

Los materiales, equipos e ingredientes se muestran en la tabla a continuación.

Tabla 1 Materiales, equipos e ingredientes para realizar el extracto con base de aceite de oliva

Ingredientes	Materiales	Equipos
Aceite de oliva	Fundas empaque al vacío	Horno Rational
Cáñamo	Vaso volumétrico	Empacadora al vacío
	Guantes de látex	Balanza
	Filtros de tela	Molino

Tabla 2 Materiales, equipos e ingredientes para realizar el extracto con base de aceite neutro

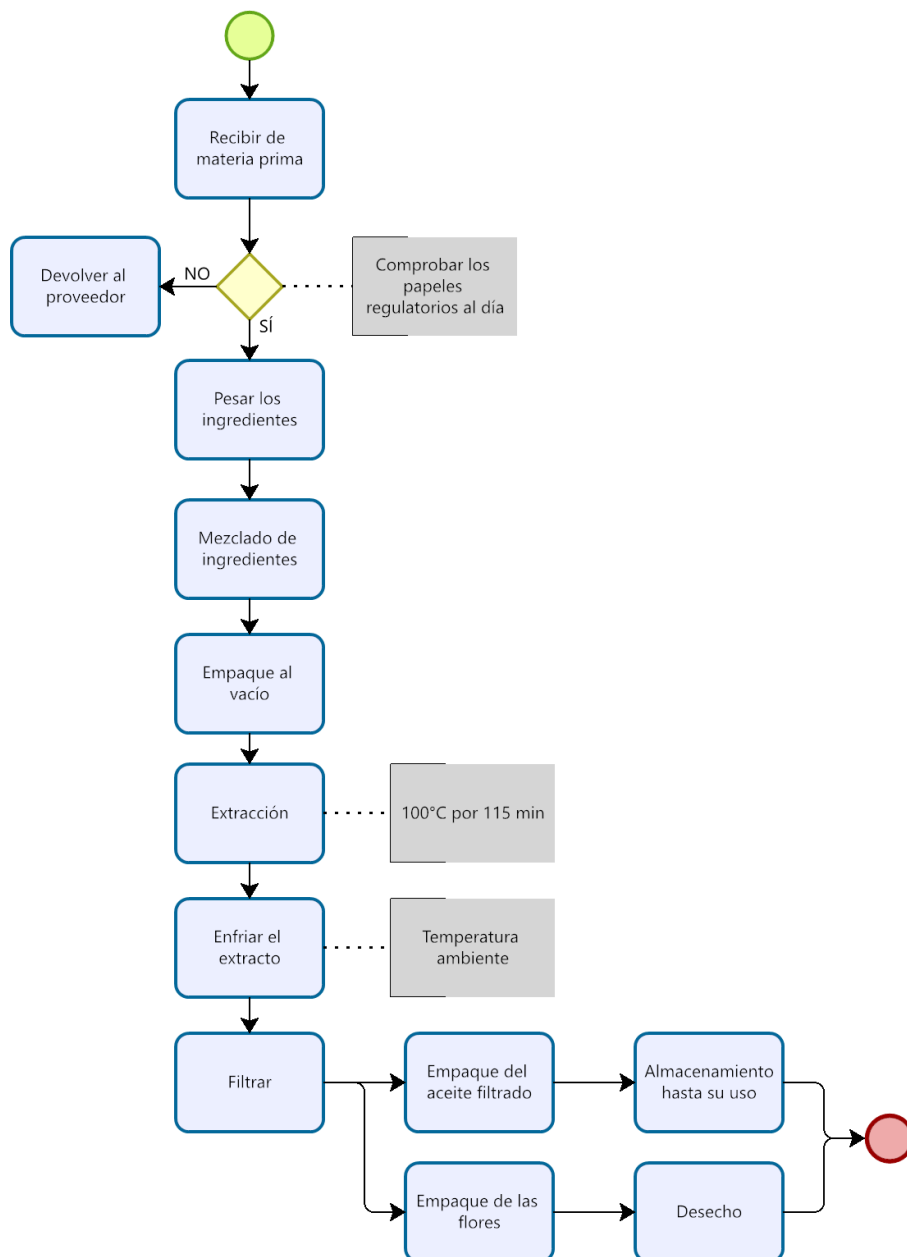
Ingredientes	Materiales	Equipos
Aceite de girasol	Fundas empaque al vacío	Horno Rational
Cáñamo	Vaso volumétrico	Empacadora al vacío
	Guantes de látex	Balanza
	Filtros de tela	Molino

La mayoría de las técnicas de extracción de compuestos en plantas se basan en la aplicación de un soluto y un solvente que permita la solución de dicho soluto de manera independiente de la matriz inicial para obtener el compuesto objetivo, ya sea bajo aplicación de calor o movimiento. (Azmir et al., 2013).

En este caso, se realiza la extracción de los compuestos cannabinoides de la flor de cáñamo a partir de la aplicación de calor, lo que facilita la interacción entre el solvente (aceites) y el soluto (flor de cáñamo). Se preparó la muestra disminuyendo el tamaño de partícula de la flor mediante el uso de un molino, luego se pesó 2 g de cáñamo molido para añadir 20 ml de cada uno de los aceites en contenedores diferentes. Se agitó para homogeneizar la mezcla. Se llevó a la funda de empaque al vacío para proceder a empacar con un tiempo de vacío de 30 segundos respectivamente.

Posteriormente, se precalentó el primer horno Rational a 100°C con la configuración de 100 % de vapor de agua. Ambas muestras preparadas ingresaron a los hornos al mismo tiempo durante 115 minutos cada una. Luego de finalizado el tiempo de extracción, se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos para enfriar los extractos. Se filtraron los extractos y se almacenaron en refrigeración hasta su uso.

En la Figura 2 se encuentra el diagrama de flujo de este proceso.

Figura 2. Diagrama de flujo de extracción en aceites

7.2 Preparación de la mayonesa

Los materiales, equipos e ingredientes para la preparación de la mayonesa se detallan en la Tabla No. 3.

Tabla 3 Materiales, equipos e ingredientes para la preparación de la mayonesa

Ingredientes	Materiales	Equipos
Aceite	Fundas empaque al vacío	Horno Rational
Extracto de CBD	Bowls	Empacadora al vacío
Agua	Guantes de látex	Balanza
Mostaza	Espátula de goma	Licuada
Vinagre		
Limón		
Huevo pasteurizado		
Sal		
Pimienta		
Cilantro		
Albahaca		

Los ingredientes básicos de una mayonesa se basan en aceite, huevos, un acidulante, sal y especias para aumentar sus propiedades organolépticas. Dichos ingredientes se mezclan para realizar la emulsión de aceite en agua, que se produce gracias al agente emulsificante que es inherente al huevo. De igual manera, se pueden añadir otros agentes estabilizantes y diversos aditivos alimentarios para mejorar sus características generales (Servicio Ecuatoriano de Normalización, 2011).

Para elaborar los huevos pasteurizados se realizó el siguiente tratamiento: en primer lugar, se utilizó huevo líquido, que se refiere a la mezcla de las claras y las yemas por batido en proporciones naturales y sin añadir ningún ingrediente extra (Bermudez-Aguirre y Niemira, 2022). A esta mezcla se la llevó, empacada al vacío durante 35 segundos, a un horno Rational a 62°C por 90 minutos y, posteriormente, a un abatidor de frío hasta lograr una temperatura de refrigeración 4°C para su almacenamiento hasta su utilización. Contando con los huevos pasteurizados, más el extracto de CBD en aceite de oliva, se pudo elaborar la mayonesa. Según el Servicio Ecuatoriano de Normalización (2011), para ser considerada una mayonesa debe tener un porcentaje mayor a 65% de grasa,

información cotejada con Taslikh et al., (2022). Tomando como base los parámetros establecidos en la normativa nacional vigente, se realizan tres formulaciones con diferentes concentraciones del extracto que luego fueron evaluaciones en esta investigación.

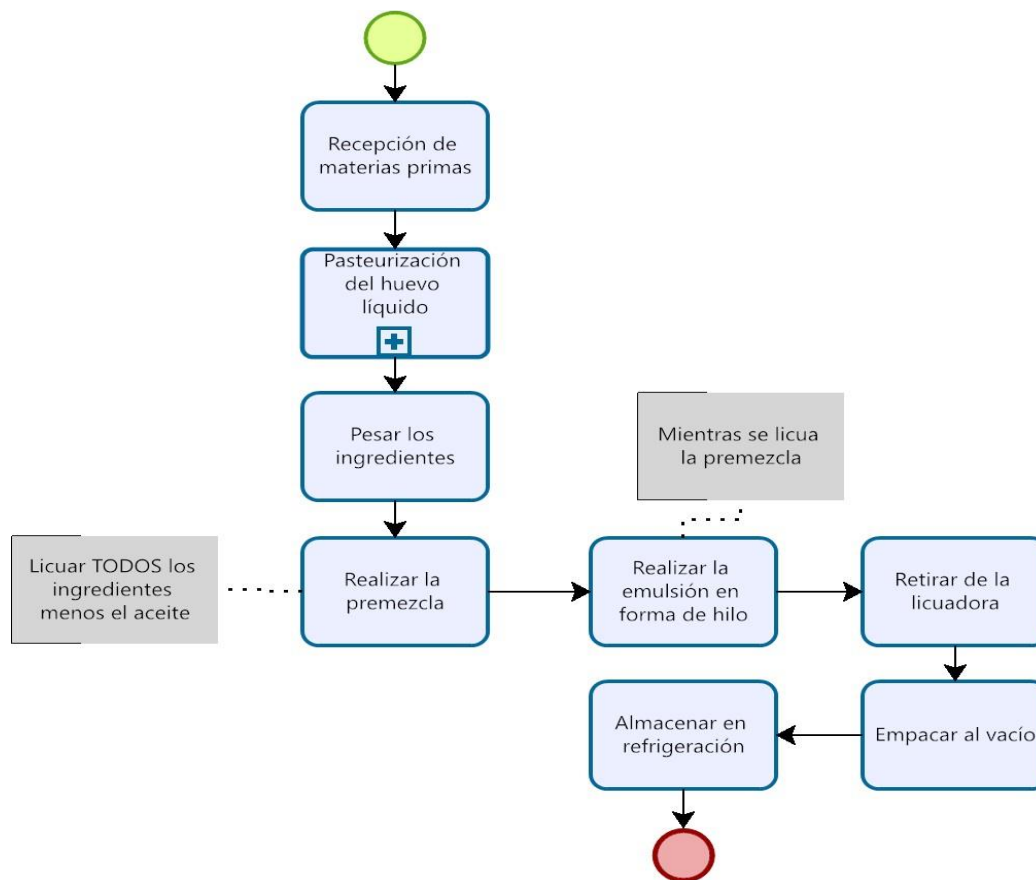
Tabla 4 Formulaciones de mayonesa enriquecida con extracto de CBD

INGREDIENTES	Extracto en aceite de oliva			Extracto en aceite neutro		
	A	B	C	D	E	F
Aceite (%)	67.5	65	62	67.5	65	62
CBD ext (oil) (%)	2.5	5	7.5	2.5	5	7.5
Agua (%)	-	-	5	-	-	5
Mostaza (%)	6	6	6	6	6	6
Vinagre (%)	5	5	4	5	5	4
Limón (%)	3	3	3	3	3	3
Huevo pasteurizado (%)	12	12	8.5	12	12	8.5
Sal (%)	2	2	2	2	2	2
Pimienta (%)	1	1	1	1	1	1
Cilantro (%)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Albahaca (%)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
TOTAL (%)	100	100	100	100	100	100

Tomando en cuenta las distintas formulaciones, se procedió a elaborar las diferentes mayonesas. Para realizar la emulsión se procedió a hacer una premezcla de todos los ingredientes, menos el aceite neutro, dentro de la licuadora, por 15 segundos para homogeneizar los ingredientes. Este paso previo permitió tener una mejor distribución de todos los saborizantes que se han añadido.

Posteriormente, se incorporaron los diferentes porcentajes de aceite en forma de hilo para completar la emulsión. Se almacenaron todas las muestras empacadas al vacío en refrigeración hasta su uso posterior (Mishra et al., 2022).

Figura 3. Diagrama de flujo de la elaboración de mayonesa



7.3 Evaluación de la mayonesa

7.3.1 Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó conforme a lo establecido por la Norma INEN NTE 2295. En dicha norma se especifican los tipos de análisis a realizar, así como sus mínimos, máximos y ausencias totales de las diferentes categorías.

Tabla 5 Diluciones realizadas para el análisis microbiológico

<i>Diluciones</i>

1 g de muestra	9 ml de agua peptonada
1 g de D1	9 ml de agua peptonada
1 g de D1	9 ml de agua peptonada

Para el recuento de aerobios mesófilos se realizó con 1 ml de cada dilución en cajas Petri mediante siembra de profundidad. A continuación, se colocaron 20 ml de agar nutritivo para cada caja y se incubaron las mismas durante 24 horas a 37°C.

Para el recuento de coliformes, se tomó 1 ml de la dilución D1 en una caja Petri estéril y vacía para colocar agar MacConkey sobre esta, como siembra de profundidad. Posteriormente, se incubó a 37°C durante 48 horas. En este mismo recuento, se realizó una siembra por estrías de la misma muestra, diluido en 9 ml de caldo nutritivo. Estos tubos se incubaron durante 24 horas a 37°C con agitación de 230 rpm. Aparte, el tubo con caldo peptona de la dilución inicial (D1) también se incubó bajo las mismas condiciones. Después de este tiempo, se sembró por estrías en agar MacConkey tanto el contenido del tubo con caldo nutritivo y el tubo con caldo peptona. Las cajas se incubaron por 24 horas a 37°C. Para control positivo, para los dos tipos de siembra, se utilizó *Escherichia coli*.

Para el recuento de *Staphylococcus aureus*, se realizó una dilución entre 1 ml de D1 con 9 ml de caldo nutritivo, la cual se incubó a 37°C por 24 horas con agitación de 230 rpm. La dilución inicial (D1) también se incubó bajo las mismas condiciones. Después de dicho tiempo, se sembró por estrías en agar Sal Manitol ambas preparaciones. Las cajas se incubaron por 48 horas a 37°C.

Para el recuento de *Salmonella*, se incubó un tubo con 1 ml de D1 con 9 ml de caldo nutritivo durante 24 horas a 37°C con agitación de 230 rpm. Pasado el tiempo de incubación, se sembró por estrías en agar Shigella-Salmonella. Las cajas se incubaron por 48 horas a 37°C.

Por último, para el recuento de levaduras, se incubó un tubo con 1 ml de D1 con 9 ml de caldo Saubouroud durante 48 horas a 37°C con agitación de 230 rpm. Se realizó la siembra por estrías en agar Saubouroud. Se llevaron a incubación las cajas por 48 horas a 37°C.

7.3.2 Análisis de pH

El análisis de pH se lo realizó en el equipo Thermo Fisher Scientific Orion 3 star (Figura 3) ubicado en los laboratorios de Investigación de la Universidad de las Américas. El equipo fue calibrado con los buffers de calibración (Marca: Merck) en un rango de 4,00 – 7,00 y 10,00. El procedimiento para la medición de pH se lo realizó de la siguiente manera:

- Se tomó alrededor de 10 – 15 g de muestra
- Se homogeneizó la muestra durante 10 minutos
- Se insertó el electrodo en la muestra y se lo dejó durante 3 minutos aproximadamente, con el fin de que la lectura se estabilice y se pueda tener una lectura exacta de la muestra. (Figura 3)

Este proceso se realizó por triplicado.

Figura 4. Potenciómetro Thermo Fisher Scientific



7.3.3 Análisis de metales pesados

Para determinar la cantidad de metales pesados, y de acuerdo con lo requerido en la Norma INEN para mayonesas y aderezos, se analizó el contenido de Pb y As en las muestras en el equipo ICP-OES DUOS 7400 Thermo Fisher Scientific. El procedimiento para la medición de metales pesados se lo realizó de la siguiente manera:

- Se pesó 0,5 g de muestra en un tubo de teflón y se colocó con 10 ml de ácido nítrico Trace Metal Fisher Scientific y se digirió la muestra con el método FOOD del

microondas marca CEM.

- Se filtró la muestra con papel filtro normal en un balón de 50 ml y se aforó con agua ultrapurificada.
- Antes de realizar el análisis de las muestras se realizó la curva de calibración con el estándar Periodic Table Mix 1 92091 Sigma Aldrich de 33 metales (10mg L^{-1}) en un rango de concentraciones de $0,001\text{ mg L}^{-1}$ a $2,5\text{ mg L}^{-1}$. Las muestras para la curva de calibración junto con las muestras del producto fueron analizadas en el equipo Thermo Fisher Scientific ICP-OES DUOS 7400 (Figura 4).
- La cuantificación de la muestra se la realizó con el Software Qtegra y los resultados obtenidos se encuentran en unidades de mg Kg^{-1} .

7.4 Análisis sensorial

Para la evaluación o análisis sensorial que permita validar las propiedades organolépticas de cada uno de los seis tratamientos y para determinar el mejor de ellos, se utilizó la técnica de escala hedónica que permite a cada consumidor o panelista calificar las distintas categorías dispuestas, entregando datos fidedignos de sus percepciones (Gupta et al., 2021). Esta escala hedónica se realizó en 50 panelistas no entrenados presentando una escala del 1 – 9 para su evaluación, entendiéndose las distintas calificaciones según la Tabla 6.

Tabla 6 *Descripciones para el análisis sensorial mediante escala hedónica*

Calificación	Significado
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta poco
4	Me disgusta
5	No me gusta ni me disgusta
6	Me gusta
7	Me gusta poco
8	Me gusta mucho
9	Me gusta extremadamente

Nota. Tabla descriptora de los niveles de aceptación para las evaluaciones sensoriales

de tipo hedónicas utilizadas. De “Hedonic scaling: A review of methods and theory”, por Lim, J., 2011, Food Quality and Preference, 22(8), pp. 733-747.

Lim (2011) indica que estas calificaciones permiten que los panelistas cuenten un espectro amplio para una mejor evaluación del producto, así como a los encargados de dicho desarrollo un mejor análisis. Con base en estas calificaciones se procedió a realizar las preguntas específicas acerca de propiedades organolépticas inherentes al olor, color, sabor, regusto y una pregunta referente a una evaluación general que pueda determinar qué muestra tiene un mayor grado de aceptabilidad para cada una de las formulaciones.

7.5 Determinación de la concentración de CBD por HPLC - DAD

Existen varios pasos importantes para realizar el análisis de HPLC, entre los cuales se tiene: método instrumental, método de extracción de CBD en la muestra y método de cuantificación de la muestra.

7.5.1 Método instrumental

El método instrumental utilizado para el análisis de la concentración de CBD en la mayonesa es HPLC-DAD, el mismo que ha sido desarrollado y verificado en los Laboratorios de Investigación de la Universidad de las Américas.

El proceso para realizar este método se lo desarrollo de la siguiente manera:

- Se escogió la columna cromatográfica y la fase móvil, en base a trabajos realizados anteriormente y en base a la verificación de los parámetros en los laboratorios de investigación.
- Se escogieron las siguientes condiciones instrumentales:

HPLC: Vanquish Flex Thermo Fisher Scientific

FASE MÓVIL: Metanol: Acetonitrilo: Agua (60:30:10)

COLUMNA: Zorbax Eclipse XDB C18 4.6 x 150 mm 5µm

DETECTOR: DAD 206 nm

TEMPERATURA DE COLUMNA: 30°C

FLUJO: 0.5 ml/min

TIEMPO DE CORRIDA: 20 minutos

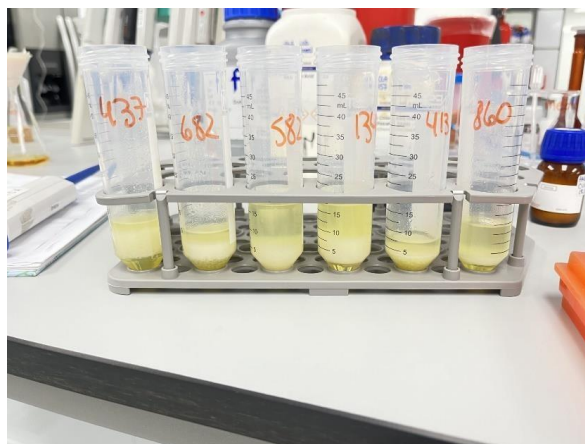
VOLUMEN DE INYECCIÓN: 10 μ L

7.5.2 Método de extracción

Una vez escogido el método instrumental se verificó el método de extracción en la flor del cáñamo, el aceite con el extracto y la mayonesa. Se realizó el siguiente procedimiento:

- Se pesó en un balón aforado ámbar alrededor de 0,100 g para la flor de cáñamo y aceite de extracción y para la mayonesa se pesó entre 1 a 2 g de muestra.
- Se disolvió con 20 ml de Metanol: Cloroformo (9:1) y se colocó en el ultrasonido durante 20 minutos. Se obtuvo una solución separada de la grasa y la fase orgánica como se puede observar en la figura 5.
- Se pasó por un rotavapor para poder eliminar el cloroformo y concentrar la muestra.
- La solución restante del proceso con el rotavapor se disolvió con 10 ml de metanol puro.
- Se filtró con un filtro jeringa y se colocó en viales ámbar de 1,5 ml para poder realizar el análisis por HPLC.

Figura 5. Extracción de mayonesa



7.5.3 Método de cuantificación

Para realizar la cuantificación de CBD en el producto elaborado, se realizó una curva de calibración utilizando los siguientes estándares:

ST. TETRAHYDROCANNABIVARIN (THCV)

Concentración: 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Marca: Restek

Lote: 0649116

Fecha de Caducidad: 25/Mayo/2025

ST. CANNABINOL

Concentración: 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Marca: Restek

Lote: A0180792

Fecha de Caducidad: 31/Enero/2024

ST. CANNABIDIOL

Concentración: 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Marca: Restek

Lote: A0184218

Fecha de Caducidad: 31/Abril/2024

ST. ÁCIDO CANNABIDIOLICO (CBDA)

Concentración: 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Marca: Restek

Lote: A0181059

Fecha de Caducidad: 31/Julio/2024

ST. DELTA-9-THC

Concentración: 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

Marca: Restek

Lote: A0180799

Fecha de Caducidad: 31/Enero/2024

Se preparó una solución madre de cada uno de los estándares correspondiente a una concentración de 100 $\mu\text{g ml}^{-1}$, a partir de la cual se preparó un rango de curva de calibración de 0,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$ a 75 $\mu\text{g ml}^{-1}$.

La cuantificación se realizó en base al área obtenida en el cromatograma y la

concentración de cada uno de los estándares.

8. Resultados

8.1 Resultados de análisis microbiológico

Se realizaron los análisis microbiológicos de todas las muestras de la mayonesa enriquecida con CBD para recopilar los datos de ausencia o presencia dentro de los límites permisibles según la normativa. Después de dichos análisis se pudieron recabar los resultados que se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7 Resultados del análisis microbiológico

Muestra	Aerobios mesófilos (UFC/g)			Staphylococcus			
	D1	D2	D3	Coliformes	aureus	Salmonella	Levaduras
860	ND	ND	73x10 ³	A	A	A	A
134	ND	ND	ND	A	A	A	P
582	ND	ND	77x10 ³	A	A	A	P
437	ND	ND	88x10 ³	A	A	A	P
682	ND	ND	ND	A	A	A	P
413	ND	ND	ND	A	A	A	P

Nota. Tabla con los resultados de análisis microbiológico, donde ND corresponde a Bajo el nivel de detección, A corresponde a Ausencia y P corresponde a Presencia.

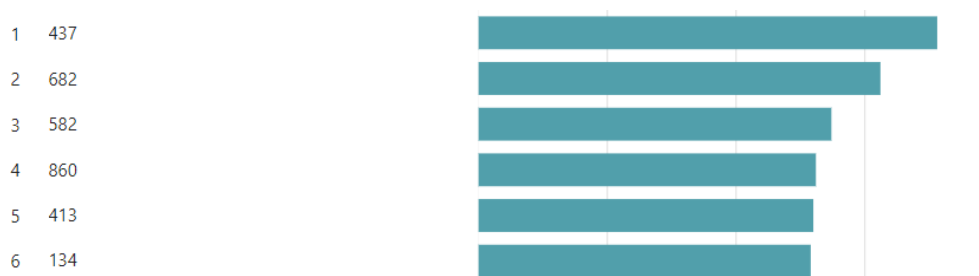
8.2 Resultados del análisis sensorial

Para proceder con el análisis sensorial se realizaron las seis formulaciones previamente descritas, a las que se asignó códigos de tres dígitos escogidos al azar para presentar las muestras a los panelistas.

Tabla 8 Descripción y codificación de los tratamientos del análisis sensorial

Fórmula	Tratamientos	Código análisis sensorial
A	2.5 % Extracto en aceite de oliva	860
B	5 % Extracto en aceite de oliva	134
C	7.5 % Extracto en aceite de oliva	582
D	2.5 % Extracto en aceite neutro	437
E	5 % Extracto en aceite neutro	682
F	7.5 % Extracto en aceite neutro	413

El análisis sensorial inherente a los tratamientos de las mayonesas enriquecidas se realizó a una población de 50 personas de diferentes edades y géneros. Debido a la utilización de una pregunta de ordenamiento, se pudo definir el tratamiento que mayor aceptación tuvo y se determinó que el tratamiento número 437 fue el de mayor aceptación.

Figura 6. Aceptación de muestras según análisis sensorial

8.3 Resultados del análisis de pH

El análisis de pH se realizó por triplicado y se obtuvieron los valores indicados en la Tabla 9.

Tabla 9 Datos obtenidos en el análisis de pH por triplicado

Muestra	M1	M2	M3	Promedio
437	3,9	4,1	4	4,0
682	3,8	3,6	3,7	3,7
413	4,1	3,9	3,9	4,0
860	3,6	3,6	3,8	3,7
134	4	3,9	4,1	4,0
582	3,8	3,7	3,9	3,8

El requisito establecido en la norma INEN 2295 (Anexo 2) indica que el valor máximo de pH para la mayonesa es de 4,1 por lo que todos los datos se encuentran dentro del límite.

8.4 Resultados de análisis de metales pesados

El análisis de metales pesados se lo realizó por ICP y se obtuvieron los valores de las Tablas 10 y 11.

Tabla 10 Datos obtenidos en el análisis de metales (arsénico) por triplicado

Muestra	As 193,759 {474} (Axial) [mg Kg-1]	As 193,759 {474} (Axial) [mg Kg-1]	As 193,759 {474} (Axial) [mg Kg-1]	Promedio As mg Kg-1	Desv. Están- dar	CV
437	0,018	0,019	0,022	0,020	0,002	10,58
682	0,009	0,011	0,011	0,010	0,001	11,17
413	0,029	0,028	0,021	0,026	0,004	16,76
860	0,019	0,018	0,016	0,018	0,002	8,65
134	0,039	0,036	0,038	0,038	0,002	4,06
582	0,029	0,028	0,028	0,028	0,001	2,04

Tabla 11 Datos obtenidos en el análisis de metales (Plomo) por triplicado

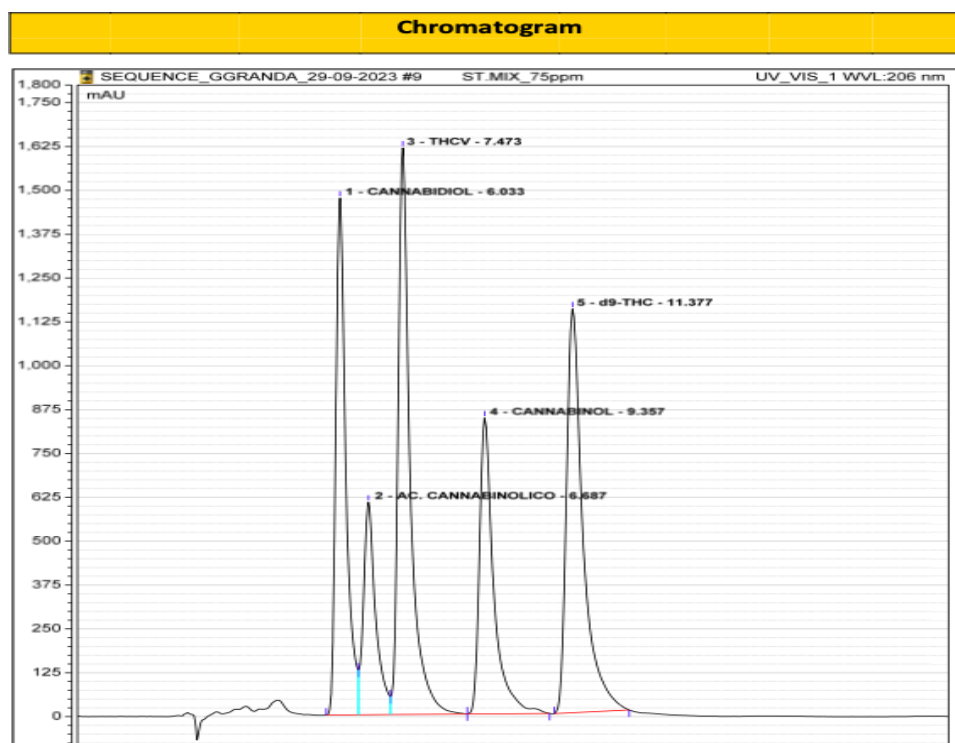
Muestra	Pb 216,999 {455} (Axial) [mg Kg ⁻¹]	Pb 216,999 {455} (Axial) [mg Kg ⁻¹]	Pb 216,999 {455} (Axial) [mg Kg ⁻¹]	Promedio Pb mg Kg ⁻¹	Desv. Están- dar	CV
437	0,073	0,075	0,079	0,076	0,003	4,038
682	0,065	0,064	0,066	0,065	0,001	1,538
413	0,081	0,089	0,084	0,085	0,004	4,773
860	0,073	0,071	0,070	0,071	0,002	2,141
134	0,069	0,066	0,065	0,067	0,002	3,122
582	0,004	0,059	0,064	0,059	0,005	8,475

El requisito en la norma INEN 2295 (Anexo 2) indica que el valor máximo para Arsénico y Plomo es de 0,1 mg Kg⁻¹, por lo que cumple con el requisito las formulaciones realizadas.

8.5 Resultados del análisis por HPLC

Se obtuvo el cromatograma con los 5 picos obtenidos de los diferentes estándares (Figura 7), los mismos que tienen una buena resolución y separación para poder identificarlos en las muestras.

Figura 7. Estándar mixto compuestos CBD



Nota. (Cromatograma obtenido en los laboratorios de investigación de la Universidad de las Américas)

A partir de este cromatograma se obtuvo la curva de calibración de cada uno de los compuestos analizados con las diferentes concentraciones, la misma que cumple con los parámetros para poder realizar la cuantificación de las muestras.

En la Tabla 12 se encuentran los resultados para CBD y THC de los diferentes tratamientos y muestras analizadas. Este resultado corresponde a la cantidad en $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ contenido en la muestra. En la Tabla 13 se encuentra el contenido total de compuestos de CBD y THC. El análisis se realizó por triplicado y los cromatogramas se encuentran en el Anexo 3.

Tabla 12 Datos obtenidos en el análisis de CBD en las diferentes muestras analizadas

Muestra	Cannabidiol $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$	Ác. Cannabinólico $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$	THCV $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$	d9-THC $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$
Hampa Cannabis (Flor de cáñamo)	3.978	6.04	0.098	0.287

Extracción con aceite neutro	0,162	0,314	0,005	0,012
Extracción con aceite de oliva	0,229	0,376	0,007	0,015
Muestra 437	0,004	0,016	0,005	ND
Muestra 682	0,005	0,041	0,012	ND
Muestra 413	0,004	0,058	0,017	ND
Muestra 860	0,005	0,02	0,007	ND
Muestra 134	0,005	0,024	0,007	ND
Muestra 582	0,007	0,047	0,013	ND

Tabla 13 Cantidad total de CBD y THC

Muestra	Cantidad Total de CBD	Cantidad Total de THC
Flor de Cáñamo	10,018	0,386
Extracto con aceite neutro	0,476	0,018
Extracto con aceite de oliva	0,605	0,022
Muestra 437	0,020	0,005
Muestra 682	0,046	0,012
Muestra 413	0,062	0,017
Muestra 860	0,026	0,007
Muestra 134	0,029	0,007
Muestra 582	0,054	0,013

8.6 Rendimiento de extracción con los diferentes métodos

Se realizaron dos métodos de extracción para realizar la mayonesa, los mismos que dieron

diferentes resultados tanto en el análisis sensorial como en la composición y extracción del producto. En la tabla 14 se observan los porcentajes obtenidos en la extracción de Flor de cáñamo con aceite neutro de CBD y THC y en la tabla 15 se observan los porcentajes obtenidos en la extracción de Flor de cáñamo con aceite de oliva de CBD y THC.

Tabla 14 Rendimiento de extracción de CBD y THC de Flor de cáñamo con aceite neutro

% Rendimiento CBD	59,45
% Rendimiento THC	58,16

Tabla 15 Rendimiento de extracción de CBD y THC de Flor de cáñamo con aceite de oliva

% Rendimiento CBD	75,51
% Rendimiento THC	71,82

Figura 8 Rendimiento de extracción de THC en aceites

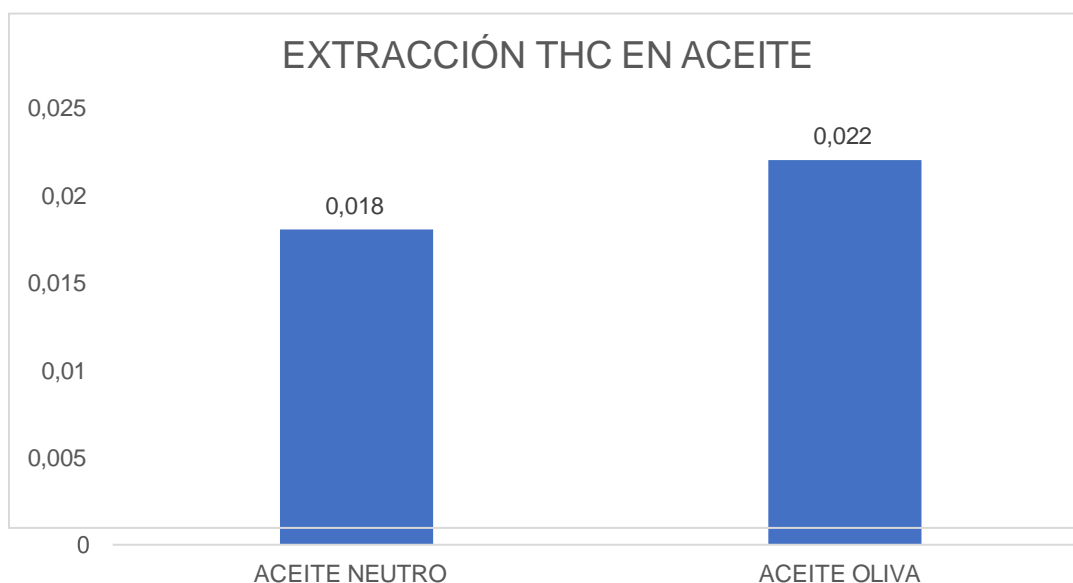
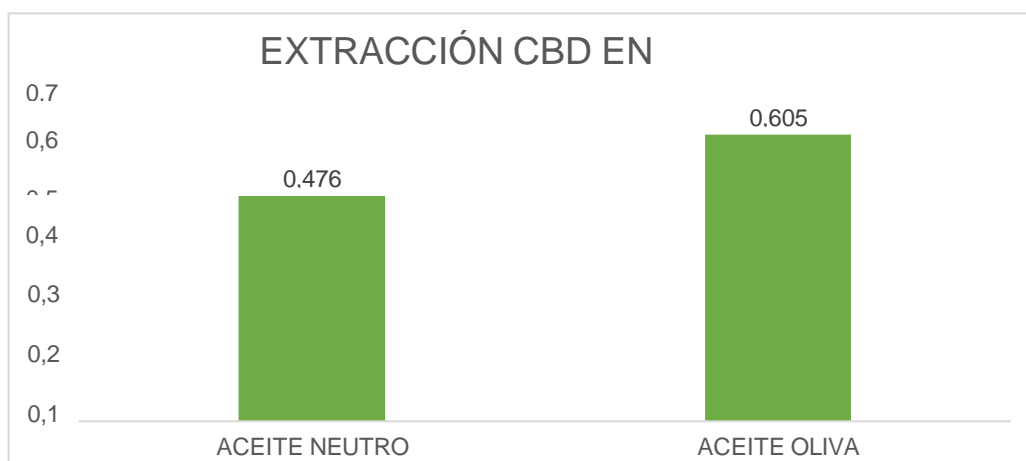


Figura 9 Rendimiento de extracción de CBD en aceites

8.7 Información Nutricional

Después de haber realizado los análisis químicos, se completó la información nutricional con la tabla nutricional (Anexo 4) y la etiqueta nutricional (Anexo 4). Esta información es importante para la comercialización del producto y también para poder controlar la cantidad de ingesta diaria en los consumidores del producto.

8.8 Costos

Para la obtención de los costos de la preparación del extracto se considera el detalle expuesto en la Tabla 16.

Tabla 16 Detalle de costos para el extracto de CBD en aceite neutro

			Rendimiento	51 g
Cantidad	Unidad	Ingrediente	Costo unitario	Costo Total
0.08	L	Aceite neutro	\$ 2.58	\$ 0.21
0.004	Kg	CBD 17 %	\$ 2,487.00	\$ 9.95

1	u	Funda de empaque	\$	0.17	\$	0.17
Costo total					\$	10.32

Para obtener el costo de la mayonesa se tomó en cuenta la formulación del tratamiento con mayor aceptabilidad que tuvo los costos que se detallan en la Tabla 17.

Tabla 17 Detalle de costos para la formulación de mayonesa con CBD

			Peso total	145 gr
			Precio por porción	14 gr
Cantidad	Unidad	Ingrediente	Costo unitario	Costo Total
0.203	KG	Aceite	\$ 2.58	\$ 0.26
0.0075	KG	Extracto CBD	\$ 202.50	\$ 0.76
0.018	KG	Mostaza	\$ 3.90	\$ 0.04
0.015	KG	Vinagre	\$ 1.68	\$ 0.01
0.009	KG	Limón	\$ 4.45	\$ 0.02
0.036	KG	Huevo pasteurizado	\$ 3.59	\$ 0.06
0.006	KG	Sal	\$ 0.54	\$ 0.00
0.003	KG	Pimienta	\$ 13.00	\$ 0.02
0.001	KG	Cilantro	\$ 4.08	\$ 0.00
0.001	KG	Albahaca	\$ 8.85	\$ 0.00
1	U	Frasco de vidrio	\$ 0.53	\$ 0.53
Costo total			\$	1.71
Costo porción			\$	0.17

9. Discusión de los resultados y propuesta de solución

Para realizar las emulsiones, se tomó en cuenta como punto de partida el nivel mínimo de contenido graso establecido en la normativa nacional vigente. Cabe denotar que dichas emulsiones tomaron diferentes texturas mientras se fabricaban, característica

importante para el análisis sensorial de cada muestra.

La utilización de saborizantes y especias ayudó a enmascarar el aroma específico del extracto realizado. Esto ayudó a que la dosis determinada para cada formulación fuera evaluada de forma imparcial.

Se realizaron los análisis microbiológicos de todas las formulaciones y no se encontró ningún tipo de contaminación por microorganismos patógenos.

El análisis sensorial dio como resultado que la muestra 437 tuvo mayor aceptación, la misma que fue realizada con aceite neutro y una concentración de 2,5% de flor de cáñamo. El sabor de esta muestra fue agradable para los consumidores, ya que el sabor no fue fuerte y se sintió una excelente combinación con el resto de ingredientes.

La muestra realizada con 7.5% de extracto de flor de cáñamo con aceite de oliva tuvo una aceptación sensorial más alta respecto a la muestra realizada con el mismo porcentaje, pero con aceite neutro. Es importante anotar que el aceite de oliva puede enmascarar el sabor fuerte que tiene la flor de cáñamo, lo que se notó en la percepción del sabor por parte de los panelistas.

Todas las muestras cumplieron con el valor de pH definido en la norma INEN 2295 que indica que el pH debe ser máximo de 4,1. El valor de pH en la mayonesa es sumamente importante para definir la estabilidad del producto y el tiempo de duración (Piushani et al., 2016). El pH es importante también para el control del crecimiento de microorganismos como la *Salmonella que puede* provenir de los huevos. Existen algunas guías de inocuidad alimentaria publicadas por las autoridades australianas, que sugieren al factor de pH como un mecanismo de control ante esta contaminación por microorganismos (Piushani et al., 2016).

El arsénico y el plomo son metales pesados que deben ser analizados en los alimentos para controlar su contaminación y evitar la toxicidad que pudiera presentarse al consumir alimentos contaminados con estos metales. Estos metales se analizaron por ICP y los resultados se encontraron dentro del rango establecido para este producto.

El análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia dio como resultado 5 picos separados de cada una de las sustancias. Esta separación sirvió para poder realizar la curva de calibración de cada uno de los compuestos en los rangos de concentración de 0.5 a 75 $\mu\text{g ml}^{-1}$, los cuales dieron un coeficiente de correlación R^2 0,9900 que es una

correlación lineal. (Wang et al., 2018)

La extracción de las moléculas de CBD en la flor de cáñamo dieron un resultado correspondiente a 10,018 (g 100 g⁻¹) y de THC correspondientes a 0,386 (g 100 g⁻¹) Los resultados que indicaron el certificado de análisis del proveedor (Anexo 5) tienen un valor más alto al obtenido en el laboratorio de investigación; sin embargo no se tiene conocimiento exacto de la técnica utilizada por el proveedor para verificar la cantidad de CBD y THC en la planta ni los equipos utilizados en estos análisis lo que genera que se tenga una diferencia con los resultados obtenidos.

Se realizó la extracción de la flor de cáñamo tanto en aceite de oliva como en aceite neutro, la diferencia es significativa en cuanto al rendimiento en la extracción de las dos moléculas, lo que puede deberse a que el aceite de oliva no tiene un proceso de oxidación tan rápido en relación con el aceite neutro, debido a la presencia de los tocoferoles que forman parte del aceite de oliva. (Silva et al., 2010)

En base a los análisis realizados de CBD y THC en las muestras de mayonesa que fueron preparadas bajo la formulación establecida, ninguna muestra tiene presencia de THC en su composición, lo que cumple con lo establecido en la Resolución Arcsa 2, Registro Oficial Suplemento 398, "Todos los alimentos procesados y suplementos alimenticios que se elaboren con Cannabis no Psicoactivo o Cáñamo o con derivados de Cannabis no Psicoactivo o Cáñamo deben contener un valor inferior al 0,3% de THC en producto terminado".

10. Conclusiones y recomendaciones

10. 1 Conclusiones

- Es necesario el uso de buenas prácticas de manufactura para evitar la contaminación cruzada a la hora de realizar las formulaciones para el estudio, ya que dicha contaminación puede desencadenar el crecimiento de microorganismos patógenos.
- Se puede concluir que los saborizantes utilizados para dichas formulaciones deben congeniar los unos con los otros para llegar a obtener propiedades organolépticas de alta calidad. Este es un factor determinante para proceder a un análisis sensorial fidedigno.
- Es importante el manejo de muestras en el momento de su elaboración, así también como pH, metales pesados, entre otros, pues estos, al no ser manejados adecuadamente,

pueden generar el crecimiento de microorganismos patógenos que afecten al producto y generar toxicidad al momento de ser consumido. De igual manera, los ingredientes deben ser frescos y encontrarse en las mejores condiciones para que no exista ningún tipo de riesgo hacia el consumidor.

- El análisis sensorial es un factor muy importante para poder determinar los gustos de los consumidores y también poder determinar, en el caso de la mayonesa, cuál es el mejor solvente para extracción.
- El análisis de Arsénico y Plomo en la mayonesa es importante para evitar cualquier tipo de acumulación de estos en el organismo, además de tener impacto en la salud. Es recomendable poder realizar este tipo de análisis a todos los alimentos, con el fin de verificar los límites de aceptación de acuerdo a la normativa vigente emitida por las entidades regulatorias.
- El aceite de oliva al contener compuestos fenólicos y otras moléculas es más fuerte para la extracción de las moléculas de CBD, además que produce una sensación más agradable cuando se encuentra mezclado con la flor de cáñamo. Se podría probar con una concentración más alta de CBD y también con diferentes tipos de aceite de oliva para poder obtener un producto con más beneficios.
- La extracción de CBD y THC en las muestras para realizar el análisis por HPLC fue adecuado, pues se puede verificar en los rendimientos de extracción y en las cantidades obtenidas que se encuentran dentro de los rangos específicos para cada una de las formulaciones.

10.2 Recomendaciones

- El rendimiento de extracción siempre debe ser calculado, con el fin de verificar si el proceso de extracción que se realiza es la técnica adecuada para las muestras que se está realizando el análisis. En este caso se obtuvo rendimientos de extracción en aceite neutro 59% y en aceite de oliva 79%, lo que indica que se puede utilizar otros solventes más fuertes, o mejorar la mezcla que se utilizó de metanol: cloroformo. Hay que tomar en cuenta también muchos factores antes de realizar este proceso, tales como: método en HPLC, materiales de laboratorio, entre otros.

Referencias

- Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria, D.L.I.P. Técnica Sanitaria para la regulación y control de productos terminados de uso y consumo humano que contenga cannabis no psicoactivo o cáñamo o derivados de cannabis no psicoactivo o cáñamo.
- Alves Gomes, I., dos Santos Gomes, F., Freitas-Silva, O., Lima da Silva, J. (2017). Ingredients of mayonnaise: Future perspectives focusing on essential oils to reduce oxidation and microbial counts. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 67(3), 187-199. <http://www.alan-revista.org/ediciones/2017/3/art-4/>
- Azmir J, Zaidul, I.S.M., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafood., K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bilbao, A., & Spanagel, R. (2022). Medical cannabinoids: a pharmacology-based systematic review and meta-analysis for all relevant medical indications. *BMC medicine*, 20(1),259. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02459-1>
- Berger, M., Amminger, G. P., & McGregor, I. S. (2022). Medicinal cannabis for the treatment of anxiety disorders. *Australian journal of general practice*, 51(8), 586–592. <https://doi.org/10.31128/AJGP-04-21-5936>
- Bermudez-Aguirre, D., & Niemira, B. A. (2023). A review on egg pasteurization and disinfection: Traditional and novel processing technologies. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 22(2), 756–784. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13088>
- Codex Alimentarius. (1995). NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B192-1995%252FCXS_192s.pdf
- Depree, J.A., Savage, G.P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 157-163. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00079-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00079-6)

- García-Gómez, B., Fernández-Canto, N., Vázquez-Odériz, M., Quiroga-García, M., Muñoz-Ferreiro, N., Romero-Rodríguez, M. (2022). Sensory descriptive analysis and hedonic consumer test for Galician type breads. *Food Control*, 134(108765). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108765>
- Gupta, M., Torrico, D. D., Hepworth, G., Gras, S. L., Ong, L., Cottrell, J. J., & Dunshea, F.R. (2021). Differences in Hedonic Responses, Facial Expressions and Self-Reported Emotions of Consumers Using Commercial Yogurts: A Cross-Cultural Study. *Foods*, 10(6), 1237. <https://doi.org/10.3390/foods10061237>
- Hadener, M.; König, S.; Weinmann, W. (2019). Quantitative determination of CBD and THC and their acid precursors in confiscated cannabis samples by HPLC-DAD. *Forensic Science International*, Vol 299,142-150. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.03.046>
- Hazekamp, A.; Fishedick, J.T.; Díez, M.L.; Lubbe, A.; Ruhaak, R.L. Chemistry of Cannabis. In *Comprehensive Natural Products II*; Elsevier, 2010; pp. 1033–1084.
- Khalsa, J. H., Bunt, G., Maggirwar, S. B., & Kottlil, S. (2021). COVID-19 and Cannabidiol (CBD). *Journal of addiction medicine*, 15(5), 355–356. <https://doi.org/10.1097/ADM.0000000000000771>
- Kornpointnet, C., Martínez, A., Marinovic, S., Haselmair-Gosch, C., Jamnik, P., Schröder, K., Löffke, C., Halbwirth, H. (2021). Chemical composition and antioxidant potential of Cannabis sativa L. roots. *Industrial Crops and Products*, 165(113422). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113422>
- Lee, J.; Hwang, J.; Lee, H.; Kim, T.; Choi, J.; Gang, G.; (2019) Effects of food processing methods on migration of heavy metals to food. *Applied Biological Chemistry* 62, 64 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0470-0>
- Legare, C. A., Raup-Konsavage, W. M., & Vrana, K. E. (2022). Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol, and Cannabinoid-Based Pharmaceuticals. *Pharmacology*, 107(3-4), 131–149. <https://doi.org/10.1159/000521683>

- Lim, J. (2011). Hedonic scaling: A review of methods and theory. *Food Quality and Preference*, 22(8), 733-747. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.05.008>
- Mishra, P., van Dijk, M., Wintermeyer, C., Sabater, C., Bot, A., Verkleij, T., & Broeze, J. (2022). At-line and inline prediction of droplet size in mayonnaise with near-infrared spectroscopy. *Infrared Physics and Technology*, 123(104155). <https://doi.org/10.1016/j.infrared.2022.104155>
- Normalizacion, (2011). INEN. Obtenido de <https://inencloud.normalizacion.gob.ec/index.php/s/TtTGFTZi2kQfWEC>
- Pourseyed Lazarjani, M., Torres, S., Hooker, T., Fowlie, C., Young, O., & Seyfoddin, A. (2020). Methods for quantification of cannabinoids: a narrative review. *Journal of cannabis research*, 2(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00040-2>
- Piushani, T.; Roos, K.; Fallowfield, H.; Whiley, H. (2016). A review at Temperature, pH, and other factors that influence the survival of *Salmonella* in mayonnaise and other raw egg products. *Pathogens*, 2016, 5(4), 63. <https://doi.org/10.3390/pathogens5040063>
- Rock, E. M., Limebeer, C. L., & Parker, L. A. (2015). Effect of combined doses of $\Delta(9)$ - tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiolic acid (CBDA) on acute and anticipatory nausea using rat (Sprague- Dawley) models of conditioned gaping. *Psychopharmacology*, 232(24), 4445–4454. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4080-1>
- Ruiz-Capillas, C., & Herrero, A. M. (2021). Sensory Analysis and Consumer Research in New Product Development. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(3), 582. <https://doi.org/10.3390/foods10030582>
- Russo, E. B., & Marcu, J. (2017). Cannabis Pharmacology: The Usual Suspects and a Few Promising Leads. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)*, 80, 67–134. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.03.004>
- Ruhaak, L. R., Felth, J., Karlsson, P. C., Rafter, J. J., Verpoorte, R., & Bohlin, L. (2011). Evaluation of the cyclooxygenase inhibiting effects of six major cannabinoids isolated from Cannabis

- sativa. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 34(5), 774–778. <https://doi.org/10.1248/bpb.34.774>
- Ryz, N. R., Remillard, D. J., & Russo, E. B. (2017). Cannabis Roots: A Traditional Therapy with Future Potential for Treating Inflammation and Pain. *Cannabis and cannabinoid research*, 2(1), 210–216. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0028>
- Silva, L.; Pinto, J.; Carrola, J.; Palva-Martins, F.; (2010). Oxidative stability of olive oil after food processing and comparison with other vegetable oils. *Food Chemistry*, 121(4) (1177-1187). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.001>
- Schilling, S., Melzer, R., & McCabe, P. F. (2020). Cannabis sativa. *Neuron: Volume 111, Issue 3, P302-327*. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2022.12.022>
- Stella N., (2023). THC and CBD: Similarities and differences between siblings. *Current biology : CB*, 30(1), R8–R9. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.10.039>
- Tasliikh, M., Mollakhalili-Meybodi, N., Alizadeh, A. M., Mousavi, M. M., Nayebzadeh, K., & Mor-tazavian, A. M. (2022). Mayonnaise main ingredients influence on its structure as an emul-sion. *Journal of food science and technology*, 59(6), 2108–2116. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05133-1>
- Wang, Y-H.; Avula, B.; ElSholy, M.; Radwan, M.; Wang, M.; Wanas, A.; Mehmedic, Z.; Khan, I.; (2018). Quantitative Determination of Δ^9 – THC, CBG, CBD, Their acid precursors and five other neutral cannabinoids by UHPLC-UV-MS. *Planta Medica*, 84(04) 260- 266 DOI: 10.1055/S-0043-124873
- Winderstorm, E., Öhman, R. (2017). Mayonnaise. Quality and Catastrophic Phase Inver-sion. [Tesis de maestría, Lunds Universitet] LUP Student Papers registration.

Anexos

Anexo 1. Fragmento de la Ley Orgánica de prevención integral del fenómeno socio económico de las drogas y de regulación y control de uso de Sustancias Catalogadas Sujetas a Fiscalización

LEXIS S.A.

**LEY ORGÁNICA DE PREVENCIÓN INTEGRAL
FENÓMENO SOCIO ECONÓMICO DROGAS**

Ley 0
Registro Oficial Suplemento 615 de 26-oct.-2015
Última modificación: 13-ago.-2020
Estado: Reformado

NOTA GENERAL:

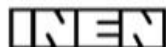
El Decreto Ejecutivo No. 81, publicado en el Registro Oficial Suplemento 53 de 8 de agosto del 2017 dispone sustituir la denominación "Secretaría Técnica de Drogas" por Secretaría Técnica de Prevención Integral de Drogas".

Por disposición del Decreto Ejecutivo No. 376 promulgado en Registro Oficial Suplemento No. 234 de 4 de mayo del 2018 , se suprime la Secretaría Técnica de Prevención Integral de Drogas.

"LEY ORGÁNICA DE PREVENCIÓN INTEGRAL DEL FENÓMENO SOCIO ECONÓMICO DE LAS DROGAS Y DE REGULACIÓN Y CONTROL DEL USO DE SUSTANCIAS CATALOGADAS SUJETAS A FISCALIZACIÓN"

PRESIDENCIA DE LA REPÚBLICA

Oficio No. T.7129-SGJ-15-766



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

FE DE ERRATAS
(2011-05-13)

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 2 295:2010
Primera Revisión

MAYONESA. REQUISITOS.

Primera Edición

MAYONNAISE. REQUIREMENTS.

First Edition

ANTECEDENTES:

En la página 2, Tabla 1 existe un error mecanográfico en el % mínimo de "Salsa o aderezo mayonesa", del requisito "Grasa".

Dice:

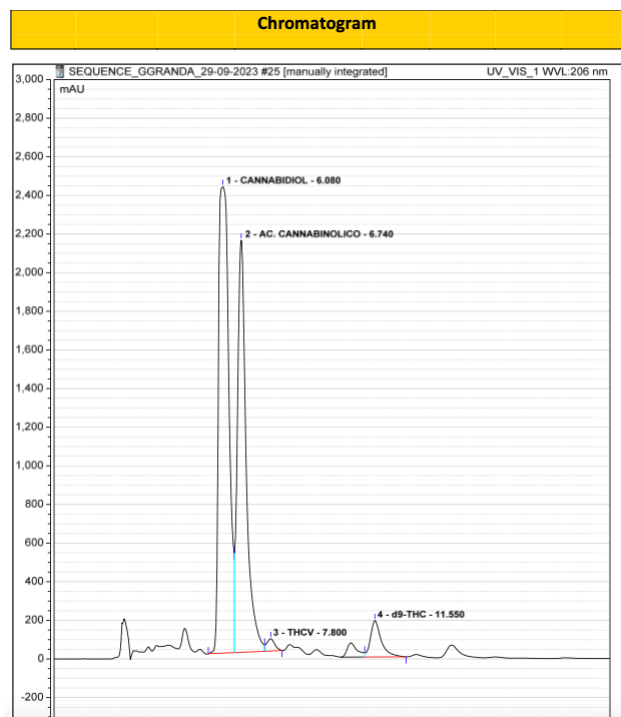
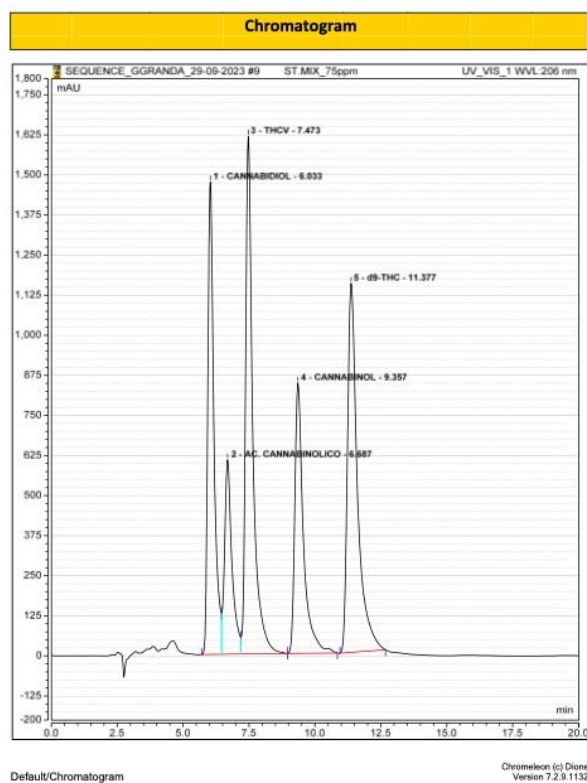
TABLA 1. Requisitos para la mayonesa

REQUISITO	MAYONESA		SALSA O ADEREZO MAYONESA		MAYONESA BAJA EN CALORÍAS		MÉTODO DE ENSAYO
	Min.	Máx.	Min.	Max.	Min.	Máx.	
Grasa (extracto etéreo),%m/m	65	--	>30	30	30	<65	NTE INEN 165

Anexo 3. Cromatogramas de muestras por HPLC-DAD

Instrument: Vanquash1 Sequence: SEQUENCE_GGRANDA_29-09-2023

Page 1 of 1



Anexo 4. Información nutricional

Información Nutricional

Tamaño de la porción 14 ml
 Porciones por envase 10

Cantidad por porción
 Energía (calorías) 86 kcal
 Energía de la grasa 84 kcal

% VALOR DIARIO

Grasa total	9 g	14%	
Grasa saturada	1 g	5%	
Grasa trans	0 g		
Grasa insaturada	8 g		
Colesterol	6 mg	2%	
Sodio	120 mg	5%	
Carbohidratos totales	0 g	0%	
Fibra dietética	0 g	0%	
Azúcares totales	0 g		
Proteína	0 g		
Calcio	0%	Hierro	0%
Vitamina C	0%	Vitamina A	0,067%

POR 100 GRAMOS / ml:

GRASA 66,7052
 AZÚCAR 0,70355
 SAL 2374,94

Componentes y concentraciones permitidas (1)

Las etiquetas tendrán los colores rojo, amarillo y verde para indicar qué contienen los productos.

Nivel / Componente	Concentración baja	Concentración media	Concentración alta
Grasas totales	Menor o igual a 3 gramos en 100 gramos Menor o igual a 1,5 gramos en 100 mililitros	Mayor a 3 y menor a 20 gramos en 100 gramos Mayor a 1,5 y menor a 10 gramos en 100 mililitros	Igual o mayor a 20 gramos en 100 gramos Igual o mayor a 10 gramos en 100 mililitros
Azúcares	Menor o igual a 5 gramos en 100 gramos Menor o igual a 0,3 gramos en 100 gramos	Mayor a 5 y menor a 15 gramos en 100 gramos Mayor a 2,5 y menor a 7,5 gramos en 100 mililitros	Igual o mayor a 15 gramos en 100 gramos Igual o mayor a 7,5 gramos en 100 mililitros
Sal	Menor o igual a 0,3 gramos en 100 gramos Menor o igual a 0,3 gramos en 100 mililitros (0,3 gramos de sal contienen 120 miligramos de sodio)	Mayor a 0,3 y menor a 1,5 gramos en 100 gramos Mayor a 0,3 y menor a 1,5 gramos en 100 mililitros (0,3 a 1,5 gramos de sal contienen entre 120 y 600 miligramos de sodio)	Igual o mayor a 1,5 gramos en 100 gramos Igual o mayor a 1,5 gramos en 100 mililitros (1,5 gramos de sal contiene 600 miligramos de sodio)



Tomando como ejemplo el chocolate

Fuente: Ministerio de Salud Pública - Diario oficial másCherros.

Anexo 5. Certificado materia prima

Formato carta trazabilidad Flor de Cañamo update Nov 2023

Análisis de Laboratorio con contenido inferior al 1% de THC

Variedad Interra (Uruguay)

		UNIFAM Laboratorio analítico INFORME DE RESULTADOS			
		<small>PARAGUAY 2512 11800 - MONTEVIDEO Tels. 2205 7055 Fax 2205 7055 E-Mail info@unifam.com.uy www.unifam.com.uy</small>			
N° de Muestra: A / 2413					
Identificación del Cliente					
Nombre		Dirección			
MATIAS GALEANO SUSSANICH		RUTA 104 Km 4 0 MALDONADO, MALDONADO			
Identificación de la Muestra					
Nombre de la muestra		Fecha Recepción Muestra		20/05/2021	
Lote / Referencia		Fecha Inicio Análisis		24/05/2021	
Descripción		Fecha Final Análisis		15/06/2021	
CAÑAMO INTERRA					

GRUPO FÍSICO-QUÍMICO - Cannabinoides					
Pruebas/Ensayos	Resultados	Unidades	Valores referencia	Metodología	Codigo T.A
CBDA	17.9	g/100 g	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
CBD	1.35	g/100 g	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
THC-A	0.511	g/100 g	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
THC	0.263	g/100 g	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
Contenido total de CBD	17.0	% p/p	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
Contenido total de THC	0.711	% p/p	---	HPLC/DAD	TA.FQ.111
Pérdida por secado 105°	11.8	%	---	---	AHP.2014
Análisis Microbiológico					
Pruebas/Ensayos	Resultados	Unidades	Valores referencia	Metodología	Codigo T.A
Búsqueda de Escherichia coli	Ausente	10 g	Ausente	USP 42	TA.MB.015
Búsqueda de Salmonella spp	Ausente	25 g	Ausente	USP 42	TA.MB.015
Contaminantes					
Pruebas/Ensayos	Resultados	Unidades	Valores referencia	Metodología	Codigo T.A
Metalos pesados	---	---	---	USP 36 (231)	---