

Hidroponía del cáñamo para obtención de CBD con fines terapéuticos Hemp hydroponics to obtain CBD for therapeutic purposes

A. León-Alarcón ^a, E.A. Vargas-León ^a, G.I. Cerón-Montes ^a, F.J. Martínez-Valdez ^a, G. Carrillo-Sancén ^{a,*}

^aDivisión Químico Biológicas, Universidad Tecnológica de Tecámac, Carretera Federal México - Pachuca, Km. 37.5, Predio Sierra Hermosa, C.P. 55740, Tecámac, Estado de México, México.

Resumen

El cannabidiol o CBD es un cannabinoide no psicoactivo derivado de *Cannabis* de tipo fibra (cáñamo), utilizado como alternativa terapéutica para tratamiento de diversas patologías. Derivado de la importancia médica del CBD, y su demanda farmacológica, surge la necesidad de homogenizar el proceso de obtención de extractos de CBD a partir del cultivo cáñamo. Un sistema de hidroponía facilita determinar condiciones para la producción de esta especie vegetal. Las ventajas más importantes de la hidroponía son que, no se requiere del suelo como soporte o fuente de nutrimentos, control de plagas, adaptación a cualquier espacio y condición climática e inclusive incrementaría los rendimientos. Por lo tanto, se presenta una propuesta de un sistema hidropónico del cultivo del cáñamo para la obtención de CBD; incluye distribución del sistema, sustratos, temperatura, contenedores, iluminación, aireación, humedad, pH, sistema de drenaje y riego, solución nutritiva y electro conductividad sugerida. Además, se incluye una revisión bibliográfica de la identificación del CBD por HPLC.

Palabras Clave: Cannabidiol, hidroponía, cáñamo.

Abstract

Cannabidiol or CBD is a non-psychoactive cannabinoid derived from fiber-type *Cannabis* (hemp), used as a therapeutic alternative for the treatment of various pathologies. Derived from the medical importance of CBD, and its pharmacological demand, the need arises to homogenize the process of obtaining CBD extracts from hemp cultivation. A hydroponic system makes it easier to determine conditions to produce this plant species. The most important advantages of hydroponics are that the soil is not required as a support or source of nutrients, pest control, adaptation to any space and climatic condition, and it would even increase yields. Therefore, a proposal for a hydroponic hemp cultivation system to obtain CBD is presented; includes system layout, substrates, temperature, containers, lighting, aeration, humidity, pH, drainage and irrigation system, nutrient solution, and suggested electroconductivity. In addition, a bibliographic review of the identification of CBD by HPLC is included.

Keywords: Cannabidiol, hydroponics, hemp.

1. Introducción

Cannabis sativa es una planta con flores dioicas, la cual se cree que fue descubierta en el año 5000 a.C. en Asia central, en ese entonces la planta era utilizada para la producción de fibra, aceites y algunos usos tradicionales. (Farag y Kayser, 2017). Contiene más de 500 componentes diferentes, entre los que destacan compuestos de importancia medicinal, tales como: cannabinoides, terpenoides, flavonoides, alcaloides, entre otros componentes. Los cannabinoides son la única clase de compuestos terpeno fenólicos en las plantas, se acumulan principalmente en la cavidad de los tricomas. Cabe mencionar que, en el material fresco, todos los cannabinoides están presentes en su forma ácida y se descarboxilan en sus formas neutras. El tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD),

siendo el THC psicotrópico y el CBD no psicotrópico, son los cannabinoides más ampliamente estudiados, además, están asociados con las propiedades medicinales y terapéuticas de la planta (Farag y Kayser, 2017). De aquí la necesidad de la obtención del CBD a partir del cultivo de la planta, así como su caracterización y purificación. Según (Cervantes, 2007), el producir plantas de cualquier tipo resulta difícil cuando se realiza a cielo abierto, ya que existe un sinfín de variables ambientales que afectan al cultivo. Bajo esta limitante se diseñaron y conformaron los sistemas de producción hidropónica. Es importante tomar en cuenta el tipo de sistema hidropónico a utilizar, y sus características, ya que de esto depende el rendimiento del cultivo. Por lo tanto, en el presente artículo se hace la propuesta de un sistema hidropónico del cultivo del cáñamo para la obtención de CBD derivado de una

*Autor para la correspondencia: casaby@hotmail.com

Correo electrónico: casaby@hotmail.com (Gabriela Carrillo Sancén), leonska2000@gmail.com (Adriana León-Alarcón), evargasl@uttecamac.edu.mx (Enaim A. Vargas-León), gceronm@uttecamac.edu.mx (Genaro I. Cerón-Montes), fmartinezv@uttecamac.edu.mx (Francisco Javier Martínez-Valdez).

revisión bibliográfica, además de una revisión de la detección de CBD por HPLC.

2. *Cannabis sativa*

Para efectos de esta revisión, se considera a *Cannabis sativa* L. como fuente principal del CBD. *Cannabis sativa* es una planta que se puede aprovechar casi en su totalidad, pues proporciona fibras textiles, combustible, alimento y también es utilizada como fuente de medicamentos (Ángeles *et al.*, 2014).

2.1 *Cannabis sativa* L.

Macroscópicamente la especie es de tallos angulares, surcados, ramificados con interior leñoso, entrenudos huecos que varían de 1 a 6 metros de altura. De ramificación alterna. La raíz primaria es ramificada, generalmente mide entre 30 a 60 cm de profundidad. Las hojas son verdes y palmeadas de siete lóbulos (Faray y Kayser, 2017), ver Figura 1.

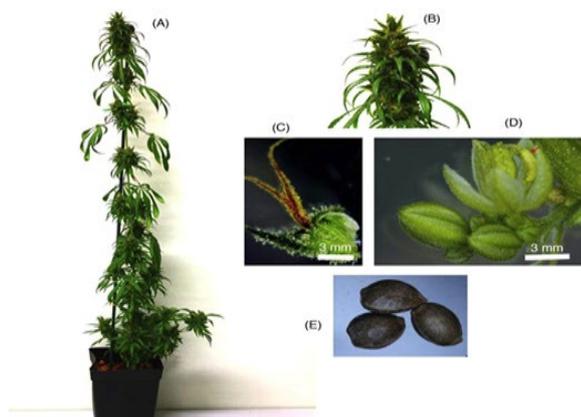


Figura 1: (A) hembra de *C. sativa*; (B) parte de las flores femeninas; (C) flor femenina pistilada (estigmas, estilo, bráctea perigonal y estípula); (D) parte de las flores femeninas muestra la antera; (E) semilla madura. Fuente: Faray y Kayser (2017).

Microscópicamente, *Cannabis* tiene una diversidad de estructuras y diferentes tipos de tricomas, los cuales en su cavidad segregan los cannabinoides. En las plantas femeninas se han descrito diversos tipos de tricomas glandulares, como se muestra en la Figura 2, que, a diferencia de una planta masculina, ésta tiene una mayor cantidad de tricomas, incrementando la obtención de metabolitos secundarios (Faray y Kayser, 2017). Como complemento, los tricomas glandulares producen una resina como una forma de protección a la planta contra las agresiones externas (Turner *et al.*, 1979).

2.2 Usos del cannabidiol en la salud

La inflorescencia del cáñamo es rica en cannabinoides no psicoactivos y biológicamente activos, entre los cuales se encuentra el CBD. Se ha reportado que el CBD produce efectos ansiolíticos, espasmolíticos y anticonvulsivos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, antineoplásica, además de reducir gravedad de la encefalomiélitis autoinmune, proliferación de células T en respuesta al antígeno de mielina, además de procedimientos de trastornos del sueño, tratante de fobia social, síndrome de estrés postraumático, abuso y dependencia de sustancias, esquizofrenia, síndrome de Dravet,

TDAH, autismo, trastorno bipolar, depresión, fatiga, diarrea, elevación de las transaminasas, sarpullido, y trastornos del sueño (Pellegrino *et al.*, 2021). Otras indicaciones en las que se receta el CBD mencionadas por Landa *et al.* (2018) incluyen dolor crónico o persistente, principalmente en asociación con el cáncer, náuseas y vómitos, estimulación del apetito en pacientes con cáncer y VIH, síndrome de Tourette, tratamiento superficial de dermatosis y lesiones de mucosas.

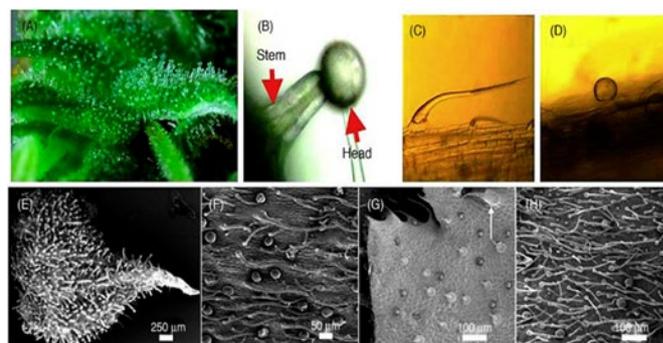


Figura 2: Fotografías microscópicas de los tricomas de *C. sativa*. (A) Tricomas en la flor; (B) tricoma capitado-astillado; (C) tricoma capitado-sésil; (D) tricoma bulboso; (E) tricomas en la bráctea de 250 µm; (F) tricomas de 50 µm en el tallo; (G) tricomas 100 µm en la superficie adaxial de una hoja floral de. Un gran tricoma capitado-sésil se indica con una flecha; (H) tricomas de 100 µm en la superficie abaxial de una hoja. Presenta abundantes tricomas pequeños capitado-sésiles y bulbosos. Fuente: (Faray y Kayser, 2017).

Para la evaluación de los efectos del CBD en la actividad cognitiva y cardiovascular empleando dosis de 90 mg por día, se demostró un aumento de la perfusión cerebral y una reducción de la presión arterial sin ningún evento adverso del hemograma, inflamación o marcadores metabólicos (Pellegrino *et al.*, 2021). Rivera y Parra (2016) refieren que su administración oral en forma de tabletas o de aceite produce efectos farmacodinámicos y quinéticos más consistentes y medibles que otras presentaciones de administración.

2.3 Semillas del cáñamo como suplementos alimenticios

Las semillas de cáñamo proveen ~500–600 Kcal/100 g de producto y contiene aproximadamente una cuarta proteica, una cuarta parte de carbohidratos y una tercera parte de grasa, siendo ricos en metionina y cistina, aminoácidos que otorgan arginina, un aminoácido esencial con propiedades antihipertensivas. Cabe destacar que 50 mg de semillas de cáñamo abastecen del 50 al 100 % de la ingesta diaria recomendada de minerales, incluidos cobre, magnesio y zinc, y proporcionan más del 100 % de la dosis diaria recomendada de vitaminas A, D y E (Pellegrino *et al.*, 2021). Aunado a ello, Kaul *et al.* (2008) explican que el aceite de semilla de cáñamo se compone de 50% de ácidos grasos poliinsaturados, siendo cardioprotector debido a la presencia de ácido linoleico y ácido alfa-linoléico. Además de que 2g/día de aceite de cáñamo no producen cambios en colesterol de alta y baja densidad o triglicéridos.

3. Cultivo de *Cannabis sativa* para la obtención de cannabidiol

Si se desea tener una mayor producción y rendimiento de obtención de CBD, se debe tener en cuenta características, tanto en el sistema de hidroponía, como el uso de un cultivo en tierra. Según Elango *et al.* (2022) entre las ventajas principales del sistema de hidroponía destaca la independencia de fenómenos meteorológicos ya que, al contar con un sistema de drenaje, el cultivo mantiene humedad uniforme, facilita el control de pH, corregir deficiencias y excesos de fertilizante. A su vez, esto logra productos de mayor calidad, acorta el tiempo para la cosecha, reduce costos de producción, y facilita la limpieza e higiene.

3.1 Condiciones del cultivo

En un sistema hidropónico el cultivo de las plantas se hace en un depósito que contiene agua con todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta.

Para llevar a cabo un cultivo hidropónico es necesario saber la distribución del sistema en el cual se desarrollará. En la Figura 3 se muestra una propuesta de distribución de un sistema hidropónico para el cultivo del cáñamo. En la Tabla 1 se describen los parámetros sugeridos para el cultivo del cáñamo.

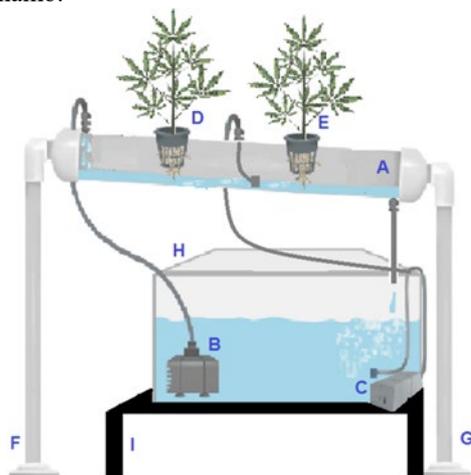


Figura 3: Propuesta de Técnica de Película de Nutrientes o NFT para un área de 1.05m². Fuente: Autor. A. Tubo de PVC de 0.88m*0.20m; B. bomba de agua sumergible con capacidad de 100 L/h; C. bomba de aireación de doble entrada; D y E. plantas de Cannabis; F. tubo de soporte de acero inoxidable de 0.52m*0.04m; G. tubo de soporte de acero inoxidable de 0.50m*0.04m; H. caja de plástico con tapa de 72 L³; I. plataforma acero inoxidable 0.80m*0.10m.

La técnica de la película de nutrientes (NFT, por sus siglas en inglés) es la que se propuso para el cultivo del cáñamo (Figura 3), esta consiste en cultivar plantas manteniendo una capa de solución nutritiva alrededor de las raíces. Este sistema es de 2.10 m * 0.50 m ó 1.05 m², contemplando dos plantas de *Cannabis* en contenedores de macetas con rejillas, con una separación de 0.60 m entre ambas. El sustrato propuesto es Arlita, ya que Cervantes (2007) menciona que retienen el oxígeno y soluciones nutritivas. El tipo de semillas es de *Cannabis* de Tipo fibra, en el que el contenido en THC es muy bajo (<0.25%) y el de CBD es superior al 0,5% (FDA, 2020).

Para más características propuestas para el cultivo del cáñamo véase la Tabla 1.

Tabla 1: Parámetros sugeridos para el cultivo de *Cannabis*. Fuente: (Cervantes, 2007).

Temperatura del cultivo	22 a 24 +/- 5 C °
Iluminación	Crecimiento 18 h/día, floración 18 h/día, plantas madre 14 h/día. Distancia de la bombilla verde por encima de las plantas, de 0.45 a 0.60 m
Soluciones Nutritivas General Hydroponics®	FloraGro: crecimiento foliar y minerales secundarios. Flora Bloom: raíces sanas y floración. GHE Flora Micro: microelementos y pH óptimo
pH	6 a 6.5
Humedad	65 a 80%
Electro conductividad	1.8 a 2.0
Aireación	Continuo las 24 horas
Sistema de Drenaje y Riego	Continuo las 24 horas

Se ha reportado el uso de sistemas hidropónicos en el cultivo del Cannabis en diversas ocasiones (Tabla 2), pero no se hace una descripción detallada de la distribución del sistema como se realizó en el presente trabajo.

Tabla 2: Sistemas hidropónicos para el cultivo del Cannabis.

Sistema hidropónico	Solución nutritiva	Referencia
Tubos de plástico cónicos con apertura para las raíces.	Fertilizante "Peters Professional M-77"	Mendel <i>et al.</i> (2018)
Macetas con perlita (10x10x12 cm).	Solución Knop's modificada	Kalousek <i>et al.</i> (2020)
Tanques de 5 L con soporte en un plato de poliestireno flotante.	Solución Hoagland	Luyckx <i>et al.</i> (2022)

4. Evaluación cualitativa del cultivo

Como se mostró en la Tabla 1, los parámetros nos ayudan a tener un estándar de medición que, de no ser llevada a cabo, podría ocasionar graves daños al cultivo. Por lo tanto, el cultivador tiene que observar detalladamente el cultivo, con la finalidad de detectar a tiempo y/o anticipar cualquier contaminación o deficiencia de nutrimentos. No sólo ayuda a identificar un problema sino también a decidir si el problema es lo suficientemente importante como para prestarle atención, o de lo contrario, si es pequeño como para ignorarlo. Se

recomienda hacer un análisis cualitativo del cultivo, como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3: Análisis cualitativo del cultivo. Fuente: (FDA, 2020).

Las plantas buenas y las que están en mal estado, ¿tienen diferentes colores?	Sí	No
Las diferencias de color, ¿están en toda la planta?	Sí	No
Las diferencias de color, ¿están en algunas partes?	Sí	No
¿Las hojas viejas son diferentes?	Sí	No
¿Las hojas jóvenes son diferentes?	Sí	No
¿Los tallos o raíces son diferentes?	Sí	No

Las variaciones en coloración en las diferentes partes de la planta del cáñamo (Tabla 3) son guías para detectar un posible exceso o deficiencia de algún nutriente en la solución nutritiva en un cultivo hidropónico, en Cervantes (2007) se puede encontrar detallada información para este tipo de análisis cualitativo.

4.1 Porcentaje de evaluación del cultivo

Rawson y Gómez, (2001) enfatizan que es necesario observar a detalle las enfermedades presentes a simple vista en las áreas de muestreo y conforme el cultivador camina entre ellas, se debe identificar las enfermedades, así como cualquier tipo de cambio del cultivo y la búsqueda de plagas que puedan aparecer en el cultivo. Para estimar el porcentaje del cultivo afectado, se tiene que caminar diagonalmente a través de este y así mismo recolectar 50 tallos. Por ejemplo, si el cultivo tiene 50 metros de ancho, es responsabilidad del cultivador recoger una muestra en cada paso largo. Del material recolectado, es preciso contar el total de hojas verdes y cuántas de estas están enfermas, así mismo calcular el porcentaje de hojas infectadas. Refiérase a (1).

$$\% \text{ Infección} = \frac{\text{número de hojas infectadas} \times 100}{\text{número total de hojas verdes}} \quad (1)$$

Cervantes (2007) reitera que, para evitar cualquier tipo de amenaza patógena, es necesario utilizar las soluciones nutritivas conforme a cada etapa del ciclo de vida del cultivo, así como hacer un seguimiento constante del mismo. De ser necesario, se recomienda usar soluciones fungicidas como tratamiento del cultivo, siguiendo las recomendaciones de uso del fabricante; así mismo, tomando en cuenta la temperatura y electro conductividad del agua usada en el sistema de riego, Rawson y Gómez, (2001) recomiendan hacer una bitácora de estos parámetros como la que se presenta en la Tabla 4.

4.2 Evaluación del encamado

El fenómeno del encamado descrito por Rawson y Gómez (2001), ocurre cuando el cultivo no se mantiene erecto. Un cultivo sano está en posición vertical, de lo contrario puede que otros factores rompan ese equilibrio (Figura 4), por lo que es indispensable su medición. Para la evaluación de este carácter, se debe hacer entre las once de la mañana y las tres de la tarde. El responsable del cultivo debe tomar una hoja verde más baja

del tallo y quitar todo el material muerto en su extremo y/o alrededor.

Tabla 4: Bitácora de uso de soluciones. Fuente: (Rawson y Gómez, 2001).

Marca o nombre de la solución:	
Etapa del ciclo de vida de aplicación:	a) Germinación b) Crecimiento c) Floración
Fecha de aplicación:	
Dosis empleada (mL o L):	
Concentración empleada:	
Tipo N-P-K:	
Horario de aplicación (horas/días/semanas):	
Motivos por los que se está empleando la solución:	
Observaciones:	

Dicho lo anterior, el encamado se considera ligero cuando las plantas están apenas inclinadas, moderado cuando la altura de la planta está reducida a la mitad y severo cuando el cultivo está aplastado contra el suelo, véase la Figura 4. Cuando el encamado en el cáñamo es ocasionado por una gran altura de la planta se pueden utilizar soportes, como por ejemplo varas de bambú, para mantener la planta en posición vertical (Cervantes, 2007).

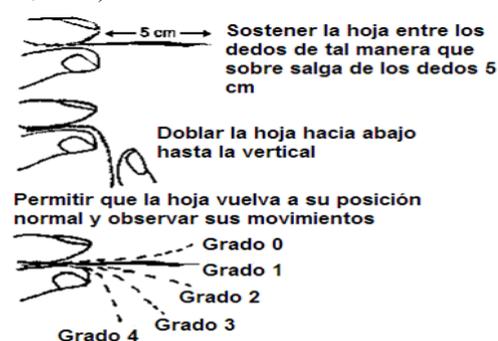


Figura 4: Evaluación del encamado. Fuente: Rawson y Gómez (2001).

5. Evaluación cuantitativa del cultivo

Para poder analizar el cultivo, las muestras deben ser representativas. Es indispensable que de todo el cultivo se elijan cinco plantas de diferentes zonas del cultivo, para que de esta manera sea una muestra representativa. Para ello, se debe evitar cabeceras, bordes y zonas cerca de árboles; es decir, zonas en donde no haya otras especies vegetales cercanas, y cada vez que se revise el cultivo, las muestras deben ser de las mismas plantas y de la misma zona de cultivo (FDA, 2020).

Sin embargo, es fundamental conocer las concentraciones de cannabinoides a lo largo del cultivo y el procesamiento para garantizar la calidad y la seguridad de los productos del *Cannabis*. Una técnica que pueda superar la heterogeneidad de la flor del *Cannabis* que es de gran importancia analítica para garantizar una medición precisa y representativa de los metabolitos secundarios de la flor es la técnica de HPLC que se describe a continuación.

5.1 Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

La técnica analítica de HPLC es una técnica de separación, identificación y cuantificación de analitos (Da Porto *et al.*, 2015), en la Figura 5 se observa un diagrama general de la técnica, por medio de la cual se obtiene un cromatograma, es decir, un gráfico con curvas que determinan la presencia de sustancias de interés. El análisis por HPLC no degrada los cannabinoides (a diferencia de cromatografía de gases) así que es posible someter al análisis la muestra vegetal directamente. La técnica de HPLC en fase inversa se ha utilizado con éxito en la identificación de cannabinoides (Rustichelli *et al.*, 1996a, b; Ferioli *et al.*, 2000; De Backer *et al.*, 2009). También se ha reportado el desarrollo de un método de farmacopea totalmente validado para el control de calidad de los cannabinoides, utilizando la técnica de cromatografía de líquidos de ultra rendimiento (UPLC) (Hazeckamp, 2006). Esto con la finalidad de que se puedan diferenciar los picos cromatográficos superpuestos.

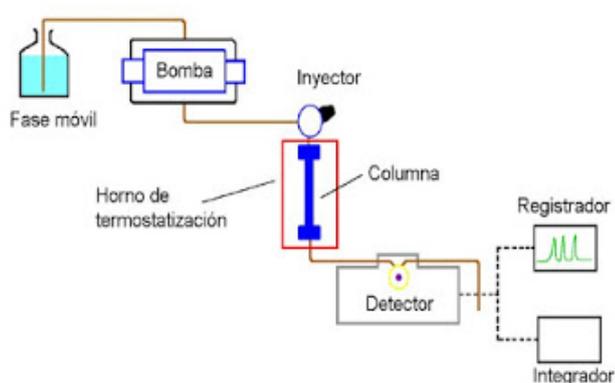


Figura 5: Diagrama general de la técnica de HPLC. Fuente: UNODC (2010).

La técnica de HPLC permite detectar las variaciones que existen entre flores de Cannabis cultivadas bajo diferentes condiciones, como los diferentes lotes de cosecha, los cultivares, las composiciones químicas y las morfologías de las flores. En la Tabla 5 se encuentran las condiciones para el análisis de CBD utilizando HPLC de diferentes referencias, se observa el uso del detector de arreglo de diodos (DAD) en cuatro de las cinco referencias, Hädener *et al.* (2019) sugiere la técnica de HPLC con DAD para analizar los cannabinoides, ya que es simple y eficiente, además de ser el procedimiento recomendado por la *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNODC, 2010).

6. Extracción y purificación de CBD

Se presenta un diagrama de flujo de un proceso reportado para la extracción y purificación de CBD en la Figura 6. El tratamiento térmico permite acelerar la cinética de descarboxilación del ácido cannabidiólico (CBDA) a CBD, obteniendo un fluido súper crítico de aproximadamente el 50% de cannabidiol, y así posteriormente pasar al proceso de Winterización para eliminar del 5 al 10% (Attard *et al.*, 2018). Después de la hibridación se obtuvo un ascenso del contenido de CBD hasta el 53 % y se puede combinar con otra técnica cromatográfica, obteniendo hasta 79% de CBD. En la etapa de purificación con CO₂ después de 100 °C durante 6 h de tratamiento térmico, el porcentaje de extracto es de 50.2 ± 0.2 y en la etapa de Winterización es de 53.2 ± 0.3.

7. Otras técnicas de purificación

Attard *et al.* (2018) Menciona que existen diferentes técnicas de extracción del extracto de cáñamo, entre ellas:

- Prensa en frío para obtención de aceite de cáñamo.
- Maceración con solventes como etanol, metanol, butano, cloroformo y hexano, para las semillas y la planta.
- Extracción líquida presurizada para semillas y planta. Con el objetivo de identificar cannabinoides en su forma ácida, y aceite de cáñamo.
- Extracción asistida por microondas de CBD: cannabidiol, CBDA, es decir, para cannabinoides ácidos y bases.
- Extracción asistida por ultrasonido por medio de solventes para obtención de aceite de cáñamo, polifenoles y fenoles.
- Extracción por medio de fluidos súper críticos para obtener aceite del cáñamo.

8. Conclusiones

El CBD es un metabolito secundario con potencial uso en tratamiento para diversas patologías. En base a la investigación bibliográfica realizada, se logró proponer un sistema hidropónico para el cultivo del cáñamo para la obtención de CBD y así mismo se revisaron los parámetros necesarios requeridos para realizar el monitoreo del cultivo. HPLC es la técnica más beneficiosa para la identificación del CBD debido al nulo maltrato de la muestra y modificación molecular.

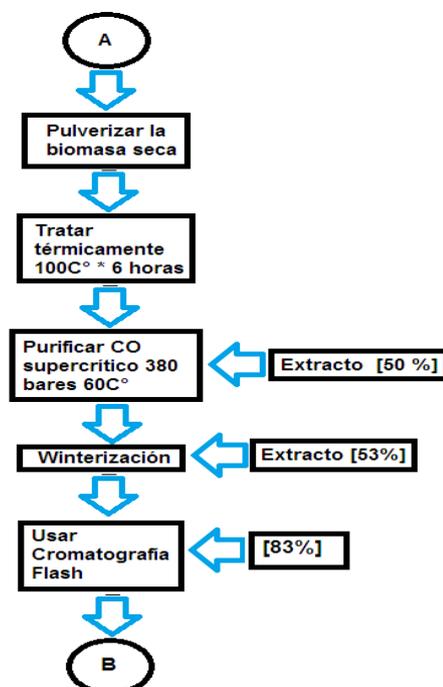


Figura 6: Diagrama de flujo del proceso de extracción y purificación de cannabidiol, desde las inflorescencias nativas hasta el producto final, CBD purificado. Fuente: Attard *et al.* (2018).

Tabla 5: Condiciones para el análisis de CBD utilizando HPLC. DAD: detector de arreglo de diodos; UV: ultravioleta.

Mezcla de solventes para la extracción de cannabinoides	Columna de HPLC	Detector	Longitud de onda para cuantificación de cannabinoides (nm)	Referencia
Metanol/n-hexano 9:1 (v/v)	LiChroCart 125-4, LiChrospher 60, RP Select B, 5 mm (Merck)	DAD	210	Ambach <i>et al.</i> (2014)
Metanol/cloroformo 9:1 (v/v)	Agilent Poroshell 120 SB-C18 (3.0 x 75 mm, 2.7 µm)	DAD	235	Patel <i>et al.</i> (2017)
Metanol/cloroformo 9:1 (v/v)	Agilent ZORBAX RX-C18 (4.6 x 150 mm, 3.5 µm)	DAD	No especificado	Jin <i>et al.</i> (2017)
Metanol/n-hexano 9:1 (v/v)	Kinetex C8 (100 x 2.1 mm, 2.6 µm)	DAD	210	Hädener <i>et al.</i> (2019)
Metanol/cloroformo 9:1 (v/v)	Fase reversa C18, Nex-Leaf CBX Potency (150 x 4.6 mm, 2.7 µm)	UV	220	Mandrioli <i>et al.</i> (2019)

Referencias

- Ángeles, G. E., Brindis, F., Cristians, S., Ventura, R. (2014). Cannabis sativa L., una planta singular. *Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas* 45 (4), 1-6.
- Ambach, L. Penitschka F., Broillet A., König S., Weinmann W., Bernhard, W. (2014). Simultaneous quantification of delta-9-THC, THC-acid A, CBN and CBD in seized drugs using HPLC-DAD. *Forensic Science International* 24, 107–111. DOI: 10.1016/j.forsciint.2014.06.008
- Attard, M., Bainier, C., Reinaud, M., Lanot, A., McQueen-Mason, J., Hunt, J. (2018). Utilisation of supercritical fluids for the effective extraction of waxes and Cannabidiol (CBD) from hemp wastes. *Industrial Crops & Products* 112, 38–46. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.10.045
- Cervantes, J. (2007). *Marihuana: Horticultura del Cannabis la Biblia del Cultivador Medico de Interior y Exterior*. Vol.1. Van Patten Publishing, Estados Unidos, Ch. 6-13, pp. 106-307.
- Da Porto, C. Natolino, A., Decorti, D. (2015). Effect of Ultrasound Pre-Treatment of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed on Supercritical CO₂ Extraction of Oil. *Association of Food Scientists & Technologists* 52, 1748–1753. DOI: 10.1007/s13197-013-1143-3
- De Backer, B., Debrus, B., Lebrun, P., Theunis, L., Dubois, N., Decock, L., Verstraete, A., Hubert, P., Charlier C. (2009) Innovative development and validation of an HPLC/DAD method for the qualitative and quantitative determination of major cannabinoids in cannabis plant material. *Revista de cromatografía* 32, 4115–4124.
- Elango, D., Dony, K., Kumar, H., Rajendran, K., Thoomatti, V. K., Dharmaraj, D., Vadankoor, C., Misericordia, W., Mishra, R., Vembu, K., Wang, X. (2022). Intervenciones agronómicas, de mejoramiento y biotecnológicas para mitigar los problemas de toxicidad de metales pesados en la agricultura. *Journal of Agriculture and Food Research* 10, 1-8.
- Farag, S., Kayser, O. (2017). The Cannabis Plant: Botanical Aspects. *Manual de Cannabis y Patologías Relacionadas* 1, 1-12. DOI: 10.1016/B978-0-12-800756-3.00001-6
- Ferioli, V., Rustichelli, C., Pavesi, G., Gamberini, G. (2000). Analytical characterization of Hashish samples. *Chromatographia* 52, 39–44. DOI: 10.1007/BF02490790
- FDA. (2020). Regulación de la FDA sobre el Cannabis y los productos derivados del Cannabis, incluido el cannabidiol (CBD). Razón Pública. <https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd>
- Hädener, 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* 1, 142-150. DOI: 10.1016/j.forsciint.2019.03.046
- Hazekamp, A. (2006). An evaluation of the quality of medicinal grade cannabis in the Netherlands. *Cannabinoids* 1(1),1–9
- Jin, D., Jin, S., Yu, Y., Lee, C., Chen, J. (2017). Classification of Cannabis Cultivars Marketed in Canada for Medical Purposes by Quantification of Cannabinoids and Terpenes Using HPLC-DAD and GC-MS. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques* 8, 349. DOI: 10.4172/2155-9872.1000349
- Kalousek, P., Schreiber, P., Vyhnanek, T., Trojan, V., Adamcová, D., Vaverková, M. D. (2020). Effect of Landfill Leachate on the Growth Parameters in Two Selected Varieties of Fiber Hemp. *International Journal of Environmental Research* 14(8). DOI: 10.1007/s41742-020-00249-2
- Kaul, N., Kreml, R., Austria, J.A., Richard, M. N., Edel, A.L., Dibrov, E., Hirono, S. M. D., Zettler, M. E., Pierce, G. N. (2008). A Comparison of Fish Oil, Flaxseed Oil and Hempseed Oil Supplementation on Selected Parameters of Cardiovascular Health in Healthy Volunteers. *Journal of the American College of Nutrition* 2(1), 51-58. DOI: 10.1080/07315724.2008.10719674
- Landa, L., Jurica, J., Sliva, J., Pechackova, M., Demlova, R. (2018). Medical cannabis in the treatment of cancer pain and spastic conditions and options of drug delivery in clinical practice. *Biomedical Papers* 28(3), 19-20. DOI: 10.5507/bp.2018.007
- Luyckx, M., Hausman, J. F., Guerriero, G., Lutts, S. (2022). Silicon Reduces Zinc Absorption and Trigger Oxidative Tolerance Processes Without Impacting Growth in Young Plants of Hemp (*Cannabis sativa* L.). *Research Square*. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1347314/v1
- Mandrioli, M., Tura, M., Scotti, S., Toschi, T. G. (2019). Fast Detection of 10 Cannabinoids by RP-HPLC-UV Method in *Cannabis sativa* L. *Molecules* 24, 2113. DOI: 10.3390/molecules2412113
- Mendel, P., Grulichova, M., Dordevic, B., Winkler, J., Trojan, V., Vaverkova, M. D., Adamcova, D., Bjelkova, M., Vyhnanek, T. (2018). Morphological and photosynthetic characteristics of hemp (*Cannabis sativa* L.) grown in hydroculture with landfill leachate. *Mendel Net*.
- Patel, B., Wene, D., Fan, Z. (2017). Qualitative and quantitative measurement of cannabinoids in cannabis using modified HPLC/DAD method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 146, 15-23. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.07.021
- Pellegrino, C., Buonerba, C., Cannazza, G., D'Auria, J., Ermete, Fulgione A., Di Stasio A., Pierri B., Gallo A. (2021). Una revisión del cáñamo como alimento y suplemento nutricional. *Cannabis and Cannabinoid Research* 6, 19-27. DOI: 10.1089/can.2020.0001

- Rawson, M. H., Gómez, M. H. (2001). Trigo Regado. Manejo del cultivo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO, Roma.
- Rivera, V. M., Parra, M. C. (2016). Cannabis: efectos en el sistema nervioso central. Consecuencias terapéuticas, sociales y legales. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* 54(5), 629-630.
- Rustichelli, C., Ferioli, V., Vezzalini, F., Gamberini, G. (1996). Simultaneous separation and identification of hashish constituents by coupled liquid chromatography mass spectrometry (HPLCMS). *Chromatographia* 43, 129–134.
- Rustichelli, C., Ferioli, V., Baraldi, M., Zanolini, P., Gamberini, G. (1998). Analysis of cannabinoids in fiber hemp plant varieties (*Cannabis sativa* L.) by high performance liquid chromatography. *Chromatographia* 8(7), 215–222.
- Turner, C. E., Cheng, P. C., Lewis, G. S., Russell, M. H., Sharma, G. K. (1979). *Planta médica* 37(11), 217-221.
- UNODC. (2010). *Métodos recomendados para la identificación y el análisis del cannabis y los productos del cannabis*. United Nations Publication. New York.