



G
O
I
B
/

CONSELLERIA
AGRICULTURA,
PESCA I ALIMENTACIÓ
FONS GARANTIA
AGRÀRIA I PESQUERA
ILLES BALEARS



Universitat
de les Illes Balears

Justificació tècnica projecte BIA06/21

Títol: *Influència de la varietat i el maneig de la planta de cànem sobre el seu contingut en cannabinoïdes (THC, CBD i CBN, CBG) durant les fases de creixement i maduresa*

Nom i llinatges de l'investigador principal: *Valeria Eim Iznardo*

Entitat sol·licitant: *Universitat dels Illes Balears (UIB)*



1. Resumen del proyecto

Este proyecto de investigación se dedicó a explorar los efectos de la variedad, la densidad de plantación, la aplicación de abono y el tiempo de floración en el contenido de cannabinoides, compuestos antioxidantes y terpenos en el cáñamo. El objetivo era proporcionar información fundamental que optimice las prácticas de cultivo y mejore tanto la calidad del producto como la sostenibilidad económica y medioambiental de la producción de cáñamo.

Los investigadores se propusieron varios objetivos. En primer lugar, querían determinar cómo las diferentes variedades de cáñamo influían en el contenido de cannabinoides (CBD, CBG, THC, THCV, CBDV, CBC y CBN), así como en los compuestos antioxidantes (Contenido total en polifenoles y actividad antioxidante (ABTS y FRAP)) y los terpenos (Pineno, Mirceno, Limoneno, Cariofileno y Bisabolol). Además, buscaron evaluar cómo las distintas densidades de plantación afectaban en la calidad del cáñamo. Otro objetivo importante fue comparar el efecto del uso de abono o no, en el crecimiento y la composición química del cáñamo. Finalmente, estudiaron el momento óptimo de floración para maximizar el contenido de compuestos bioactivos en las plantas.

Para llevar a cabo este estudio, se diseñó un experimento que incluía múltiples parcelas con diferentes combinaciones de variedades de cáñamo (Enectaliana y Enectarol), densidades de plantación (2,3, 3,6 y 4,6 plantas/m²) y regímenes de abono (con y sin abono). Cada combinación fue monitoreada cuidadosamente durante 6 semanas (tiempo de floración) para evaluar su impacto en el crecimiento y composición química de las plantas. Los análisis químicos detallados permitieron identificar las variaciones en el contenido de cannabinoides, antioxidantes y terpenos entre las diferentes condiciones de cultivo.

La variedad de cáñamo mostró diferencias claras: la variedad Enectarol exhibió un contenido notablemente superior de polifenoles totales en comparación con Enectaliana, subrayando la influencia genética en la concentración de estos compuestos. En cuanto a los terpenos, solo el β -cariofileno varió significativamente entre las variedades estudiadas. Además, la variedad influyó significativamente en la concentración de todos los cannabinoides analizados, excepto en el THCV, con Enectarol mostrando niveles más altos de CBG y Enectaliana siendo rica en CBD, ambos cumpliendo con los límites reglamentarios de THC. El tiempo de floración también tuvo un impacto crucial: se observó un aumento progresivo en el contenido total de polifenoles y en la actividad antioxidante durante las semanas de floración, alcanzando su pico máximo en la sexta semana. Los terpenos como α -pineno, mirceno, limoneno y β -cariofileno mostraron variaciones notables a lo largo del período de floración, mientras que todos los cannabinoides analizados alcanzaron sus concentraciones máximas en la sexta semana, destacando la importancia de este período para la cosecha de CBD y CBG. El uso de abono también tuvo repercusiones: las plantas sin abonar mostraron una mayor actividad antioxidante en comparación con las abonadas, y el terpeno bisabolol fue notablemente afectado por este factor. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el contenido de cannabinoides debido al uso de abono, sugiriendo que este factor no influye de manera determinante en la concentración de estos compuestos en las variedades estudiadas. En cuanto a la densidad de plantación, no se encontró una influencia significativa en el contenido de compuestos antioxidantes, aunque los terpenos, excepto el mirceno, mostraron diferencias



según el sector de plantación, con mayor contenido en terpenos en las plantas de menor densidad. La densidad de plantación no afectó significativamente la concentración de cannabinoides, destacando la importancia de otras variables ambientales y de manejo en la producción de cáñamo.

En resumen, el proyecto presenta una visión comprensiva de cómo las diferentes prácticas de manejo, la selección de variedades y el tiempo de floración afectan la producción de compuestos bioactivos en el cáñamo. Los hallazgos de este estudio son cruciales para maximizar la calidad del cáñamo y sus beneficios potenciales en aplicaciones industriales y medicinales, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y optimizaciones en el cultivo de esta planta.

2. Objetivos del proyecto

El objetivo general de este estudio fue **evaluar la influencia de la variedad (Enectaliana y Enectarol) y de las condiciones de cultivo de la planta de cáñamo sobre el contenido de los principales cannabinoides (CBDV, THCV, CBC, THC, CBD, CBN, CBG) a lo largo de su crecimiento y maduración.**

En Mallorca, el cultivo de cáñamo se realiza de manera tradicional de mayo a octubre en el exterior. La fase de floración comienza aproximadamente a mediados de Julio, empezando a mostrar los primeros estigmas en agosto. A partir de este momento, los cannabinoides empiezan a aumentar su presencia en la planta de manera más notable.

Cabe destacar, que el proyecto fue solicitado en el año 2021 y resuelta su concesión en el año 2023, por este motivo el objetivo general se mantuvo y se amplió, mientras que los objetivos parciales se modificaron en base a la experiencia de los productores en las cosechas de los años 2021 y 2022. Los principales cambios consistieron en simplificar el uso de diferentes tipos de abonos, compost y estiércol, y quedarse para el estudio con el uso o no de abono. Además, se añadió como parámetro de estudio la densidad de plantación, ya que al parecer según la bibliografía es un factor importante. Por otra parte, se amplió el estudio evaluando no solo el perfil de cannabinoides, sino también el efecto sobre la capacidad antioxidante y los terpenos presentes en la flor del cáñamo. Por todo esto:

El objetivo general de este estudio fue **evaluar la influencia de la variedad (Enectaliana y Enectarol) y de las condiciones de cultivo de la planta de cáñamo sobre el contenido de los principales cannabinoides (CBDV, THCV, CBC, THC, CBD, CBN, CBG), terpenos (mirceno, α -pineno, limoneno, cariofileno y bisabolol) y compuestos antioxidantes (contenido total en polifenoles y la actividad antioxidante) a lo largo de su crecimiento.**

Por tanto, el objetivo general se concretó en los siguientes objetivos parciales:

1. Evaluar el efecto de la variedad, Enectaliana y Enectarol, en el contenido en antioxidantes, terpenos y cannabinoides, para confirmar la hipótesis de partida de elegir una variedad con un alto contenido en CBD y otra en un alto contenido en CBG.



2. Evaluar el efecto del tiempo de floración. De esta manera se pretende determinar cuál es el mejor tiempo de floración para la obtención de una flor con elevado contenido en cannabidiol (CBD) o cannabigerol (CBG) y bajo contenido en tetrahidrocannabinol (THC).
3. Estudiar el efecto del uso de abono, con el objetivo de determinar las mejores condiciones de cultivo, tomando en consideración el cumplimiento de los límites legales de THC y la obtención de una flor con un alto contenido en terpenos y compuestos antioxidantes.
4. Estudiar el efecto de tres densidades de plantación (2,3, 3,6, y 4,6 plantas/m²) diferentes en el contenido en compuestos antioxidantes, terpenos y cannabinoides.

3. Equipo investigador:

Investigadora responsable:

- Dra. Valeria Eim, profesora Titular de Universidad de Ingeniería Química de la UIB.

Investigadores:

- Dr. Antoni Femenia Marroig, Catedrático de Ingeniería Química de la UIB.
- Dra. Maria Esperanza Dalmau Estelrich, contratada postdoctoral "Margarita Salas".
- Sra. Cristina Reche Landinez, Becaria FPI – CAIB

4. Actuaciones y metodología:

Cabe destacar que para el desarrollo del proyecto fue de vital importancia la participación y el buen hacer de la Cooperativa de cáñamo de las Islas Baleares (NOMA), que en todo momento nos suministró la información necesaria para poder realizar la descripción científica del procedimiento agronómico. Así como también, han sido activos en la comunicación con las empresas colaboradoras y en suministro de la materia prima de acuerdo al procedimiento descrito en las normativas.

4.1. Muestras

Para el estudio se seleccionaron dos variedades genéticas de cáñamo: Enectaliana, rica en CBD, y Enectarol, rica en CBG y se considerarán dos grupos de muestras:

- Muestras cultivadas en Mallorca mediante cultivo tradicional proporcionadas por la Cooperativa de cáñamo de las Islas Baleares (NOMA). En este caso las muestras de las dos variedades se separan en tres sectores, donde se siembran de distinta manera:
 - Sector 1: líneas de doble riego, separadas 50 cm entre ellas. Plantas separadas 2 m entre ellas, al tresbolillo. Densidad de siembra (2,3 plantas/m²)
 - Sector 2: líneas de triple riego, separadas 50 cm entre ellas. Plantas separadas 1 m entre ellas, al tresbolillo. Densidad de siembra (3,6 plantas/m²)

- Sector 3: líneas de doble riego, separadas 50 cm entre ellas. Plantas separadas 1 m entre ellas, al tresbolillo. Densidad de siembra (4,6 plantas/m²)

A su vez, dentro de los tres sectores, las plantas de la variedad Enectaliana (rica en CBD), también tienen la variable que no han sido abonadas ni han recibido aditivos, es decir, solo recibieron agua. El número de muestras analizadas fue de 90 para la variedad Enectarol, dicho valor corresponde a 5 muestras por cada sector ($\times 3$ sectores), por las 6 semanas del estudio ($5 \times 3 \times 6 = 90$). Mientras que las muestras analizadas para la variedad Enectaliana fue similar solo que hay que añadir un factor más que es sin abono, por tanto el número de muestras analizadas fue de 180.

- Muestras cultivadas en Andalucía mediante cultivo hidropónico en invernadero proporcionadas por las empresas Molecule y Hoku. Estas muestras fueron analizadas por la empresa Hoku. Del total de datos enviados por la empresa de Andalucía, para el estudio comparativo con el cultivo en Mallorca, se emplearon únicamente las correspondientes a flor de la variedad Enectaliana ($n = 15$).

En ambos casos, las muestras fueron recogidas siguiendo los procedimientos descritos en el Reglamento Nº1177/2000. Por tanto, las muestras se secaron a 70 °C hasta peso constante, procediendo al envasado y etiquetado de cada una de ellas. El etiquetado contenía una identificación clara de las muestras, indicando, cantidad en gramos, fechas de recolección y llegada al laboratorio, variedad de la planta y tipo de cultivo. Las muestras fueron almacenadas protegiéndolas de la luz y a una temperatura inferior a 25 °C hasta su transporte al laboratorio del grupo de investigación de Ingeniería Agroalimentaria (UIB). Una vez recibidas, las muestras se conservaron, en un lugar oscuro y a una temperatura inferior a 25°C hasta su posterior análisis.

4.2. Nomenclatura

En la tabla 1 se presenta la nomenclatura utilizada en el presente estudio. Se asignan códigos diferentes según la variedad, el modo de siembra (sector), la utilización de abono o no y la planta a la que se ha realizado el seguimiento durante el tiempo de cosecha.

Tabla 1. Nomenclatura

Variedad	Enectaliana	CBD
	Enectarol	CBG
Sector	Línea doble 2 m	1
	Línea triple 1 m	2
	Línea triple 1 m	3
Abono	Con abono	G
	Sin abono	
Planta	Planta 1	A
	Planta 2	B
	Planta 3	C

4.3. Diseño experimental

En la figura 1 se presenta el diseño experimental utilizado para la obtención de las muestras.

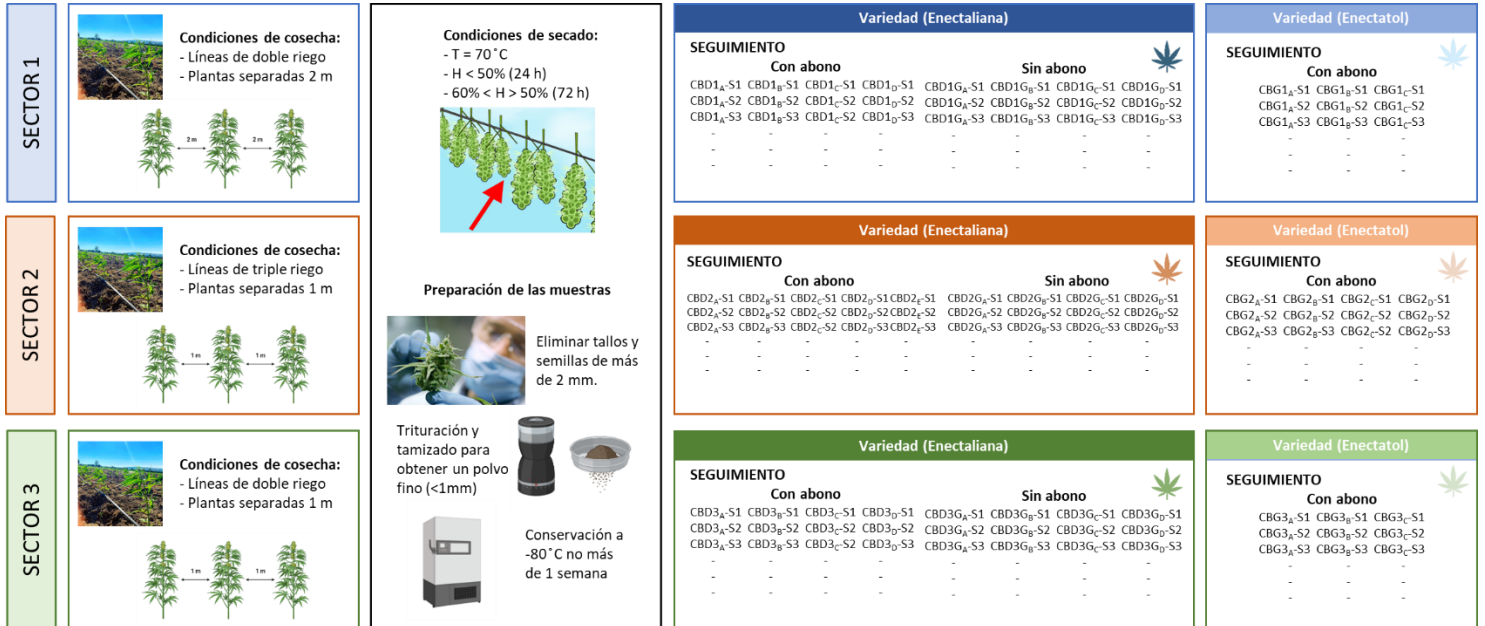


Figura 1: Esquema del diseño experimental. Condiciones de cultivo: densidad de siembra, variedad cultivada y uso de abono.

El manejo y tratamientos principales que tuvieron lugar en la plantación fueron los siguientes:

13.05.23 Germinación por parte de Vivers Mores Rossello

08.06.23 Se trasplantaron a tierra las plantas de la variedad Enectaliana de los sectores 2 y 3. Se realizaron podas apicales de dichas plantas.

09.06.23 Se trasplantaron a tierra las plantas de la variedad Enectaliana del sector 1 y las plantas de la variedad Enectarol.

10.06.23 Se aplicó el fertilizante Mygal (Micorrizas Hype) (500 ml)

16.06.23 Se realizaron podas apicales a las plantas de la variedad Enectarol (Sectores 2 y 3)

19.06.23 Se realizaron podas apicales a las plantas de la variedad Enectarol (Sectores 1)

29.06.23 Se coloca trampas cromáticas

04.07.23 Se aplicó el fertilizante Eckosil (Silicio & Microelementos Asfertglobal) (500 mL)

14.07.23 Se aplicó el fertilizante Mygal (Micorrizas Hype) (500 mL)

17.07.23 Se detectó la presencia de Phytium/Fusarium, por lo que redujo el riego.



- 21.07.23 Se aplicó el estimulante radicular Raziel (500 g)
- 26.07.23 Se aplicó el fertilizante Eckosil (Silicio & Microelementos Asfertglobal) (500 mL)
- 27.07.23 Se aplicó el fungicida Trichodermas T-34 (Trichoderma asperellum-IQV) (125 g)
- 30.07.23 Se aplicó el insecticida Piretrinas (Cordial – 400 L caldo – 150 cc/hL)
- 31.07.23 Se aplicó el insecticida Piretrinas (Cordial – 200 L caldo – 150 cc/hL)
- 01.08.23 Se aplicó el fungicida Trichodermas T-34 (125 g)
- 02.08.23 Se aplicó el fertilizante Eckosil (Silicio & Microelementos Asfertglobal) (500 mL)
- 14.08.23 Se aplicó el insecticida *Bacillus Thuriensis* vr Kustaki (Kenogard 500 L caldo - 500g)
- 21.08.23 Se aplicó el insecticida *Bacillus Thuriensis* vr Kustaki (Kenogard 500 L caldo - 500g)

Los tratamientos por fertiirrigación se aplicaron mediante Venturi conectado al sistema de riego. Los tratamientos foliares se aplicaron mediante carretilla fumigadora de 100 L. Las líneas denominadas "sin abono" no han tenido tratamientos por fertiirrigación.

Desde el inicio de la cosecha (21.08.23) hasta el final (01.10.23) se realizaron muestreos semanales para el posterior análisis del contenido en humedad, en cannabinoides (CBDV, THCV, CBC, THC, CBD, CBN, CBG) mediante cromatografía de gases, polifenoles totales y actividad antioxidante por espectrofotometría UV-VIS y terpenos por cromatografía de gases asociada a masa.

Asimismo, se realizó el análisis del sustrato utilizado antes y después del cultivo. Para ello se enviaron las muestras a laboratorios externos que determinaron el contenido en fósforo, sodio, potasio, calcio, magnesio y nitrógeno. Las empresas colaboradoras suministraron los datos del medio de cultivo empleado en hidroponía.

4.4. Metodología analítica

4.4.1. Contenido en humedad

La determinación experimental del contenido en humedad de las muestras de cáñamo se realizó siguiendo el método descrito por la Comisión Europea para la determinación cuantitativa de Δ^9 -THC en cáñamo (Reglamento (CE) Nº 1177/2000). Se pesaron aproximadamente 200 mg de muestra y se secaron en una estufa a 70 °C hasta peso constante. Según la normativa europea (Reglamento (CE) Nº 1177/2000), las muestras se deben secar hasta alcanzar un peso constante y una humedad situada entre el 8 % y el 13 %.

4.4.2. Extracción de compuestos bioactivos

En la figura 2 se presenta el esquema del proceso de extracción y los análisis químicos que se realizaron a partir de dicho extracto. Se realizó una extracción metanólica de los compuestos bioactivos de las inflorescencias secas, de cada una de las plantas se eliminaron los tallos y las semillas de más de 2 mm. Se trituraron y tamizaron para la obtención de un polvo con un tamaño de partícula < 0,1 mm. La extracción de los cannabinoides se realizó siguiendo la metodología

Tabla 2: Condiciones del cromatógrafo

Temperatura del detector	300 °C
Temperatura del inyector	300 °C
Caudal del gas portador (He)	1,3 mL/min
Relación de Split	Modo splitless
Gradiente de temperatura	<ul style="list-style-type: none"> - Inicialmente se mantiene 2 min a T = 160 °C - Después, se aumenta 25 °C /min hasta 242 °C y 2 °C/min hasta 250 °C - Finalmente, se aumenta 25 °C /min hasta 300 °C y después se mantiene a 305 °C durante 5 min
Volumen inyectado	1 µL
Tiempo total	25 min

La cuantificación de los cannabinoides se realizó empleando una recta de calibrado para cada uno de los cannabinoides analizados (Figura 3). La recta de calibrado de los compuestos CBDV y THCV estuvo compuesta por disoluciones de las siguientes concentraciones: 10, 20, 30, 40 y 50 ppm. Para los compuestos CBD, CBG y CBN las concentraciones de las disoluciones fueron: 30, 60, 90, 120 y 150 ppm. Y para los compuestos restantes, CBC y THC, las concentraciones de las disoluciones de las rectas patrones fueron: 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. A partir de estas rectas de calibrado y la ecuación 1. se realizó el cálculo del contenido de los diferentes cannabinoides para las diferentes muestras.

$$\frac{g \text{ cannabinoide}}{100 g \text{ sólido seco}} = \frac{c \cdot V \cdot F \cdot 10 \cdot W}{m \cdot H} \quad \text{Ec. 1}$$

Donde c se refiere a la concentración de cannabinoide obtenida a partir de la recta de calibrado (mg/L), V es el volumen de disolvente de extracción (L), F es el factor de dilución, m la masa de la muestra (g), W contenido en humedad en base seca y H contenido en humedad en base húmeda.

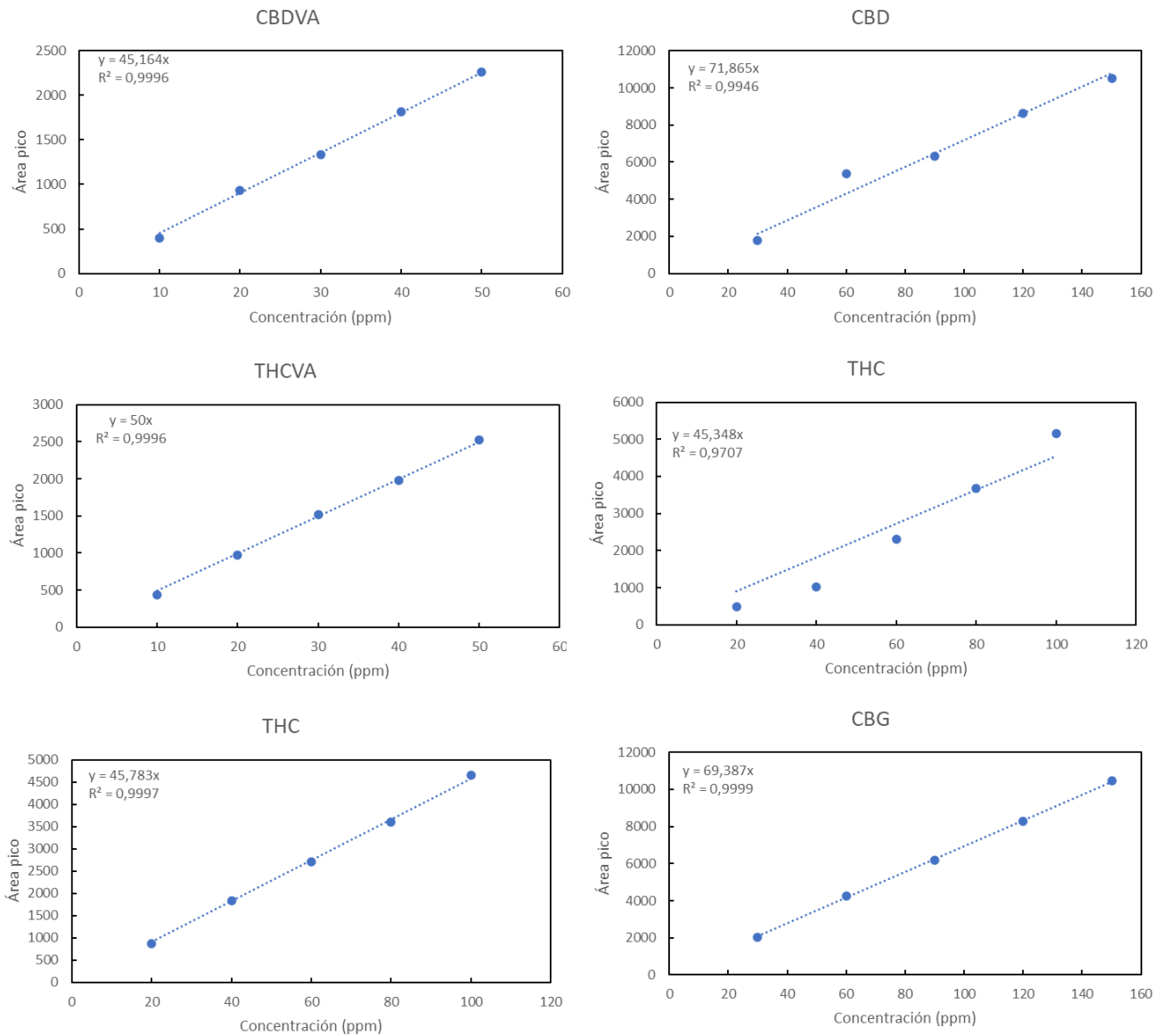


Figura 3: Rectas de calibrado para cada uno de los cannabinoides analizados

4.4.4. Análisis de terpenos mediante GC-Masas

La cuantificación de algunos de los terpenos presentes en las muestras de cáñamo fue realizada siguiendo el método descrito por Ibrahim et al. (2019).

Condiciones del cromatógrafo de gases

Los análisis se realizaron con un cromatógrafo de gases Agilent 6890A (Agilent) equipado con un detector espectrómetro de masas Agilent 5975 y un autosampler Agilent 7683B. La columna usada fue una columna capilar SC-5 MS (30 m x 0,25 mm I.D., 0,25 μ m espesor de la fase sólida; Scharlab). Como gas portador se utilizó helio con un flujo constante de 1 mL/min. La temperatura de entrada fue 250 °C con un Split de 15:1. El volumen de inyección fue de 1 μ L. La



temperatura del horno se programó empezando a 50 °C mantenida durante 2 min seguido de una rampa de temperatura hasta 85 °C con una velocidad de 2 °C/min y hasta 165 °C con una velocidad de 3 °C/min. Finalmente, se mantuvo la temperatura a 165 °C durante 10 min.

Condiciones del espectrómetro de masas

El espectrómetro de masas operó en modo de escaneo completo de 40 – 450 uma. La energía de ionización fue de 70 eV. La temperatura de la fuente de iones fue de 230 °C y la temperatura del cuadrupolo fue de 150 °C. Se realizó un retardo por solvente de 4 min. La temperatura de la línea de transferencia fue de 280 °C. Para la identificación de los compuestos se utilizó el software NIST (Programa estándar de referencia Data del Instituto Nacional de patrones y tecnología, distribuido por Agilent Technologies).

Cuantificación de contenido en terpenos

- Preparación de soluciones patrón: las soluciones de cada patrón, α -pineno, mirceno, D-limoneno, cariofileno y bisabolol fueron preparados en metanol. Los patrones de terpenos fueron mezclados y se ajustó la concentración de cada terpeno a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de la cual se prepararon diferentes diluciones para realizar los puntos individuales de la curva de calibración.

- Preparación del patrón interno: como patrón interno se utilizó n-tridecano (carbohidrato C_{13}). Se preparó una disolución madre de una concentración 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la cual se añadió a todas las disoluciones de la curva de calibrado y a las disoluciones de las muestras.

- Curva de calibración: se prepararon 12 puntos de calibración en el rango de 0,75-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a partir de la disolución stock de patrones mencionada anteriormente y el patrón interno (0,75, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La concentración de patrón interno en cada punto de la recta de calibrado fue de 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Estas disoluciones fueron usadas para construir las curvas de calibración de los terpenos individuales (Figura 4).

- Preparación de las muestras: se emplearon los extractos metanólicos obtenidos según la metodología descrita en el apartado 4.4.2. A 2 mL de extracto se añadió patrón interno y se trató con 1,5 mg de carbón activo, se mezcló con la ayuda de un agitador vórtex durante 30 segundo, para seguidamente ser centrifugado a 4200 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró mediante un filtro de membrana de 0,45 μm de tamaño de poro y se almacenó en un congelador a – 80 °C hasta su posterior análisis. El procedimiento de tratar con carbón activo permite eliminar pigmentos y otras sustancias que podrían generar problemas de obstrucción y deterioro del equipo de CG-MS.

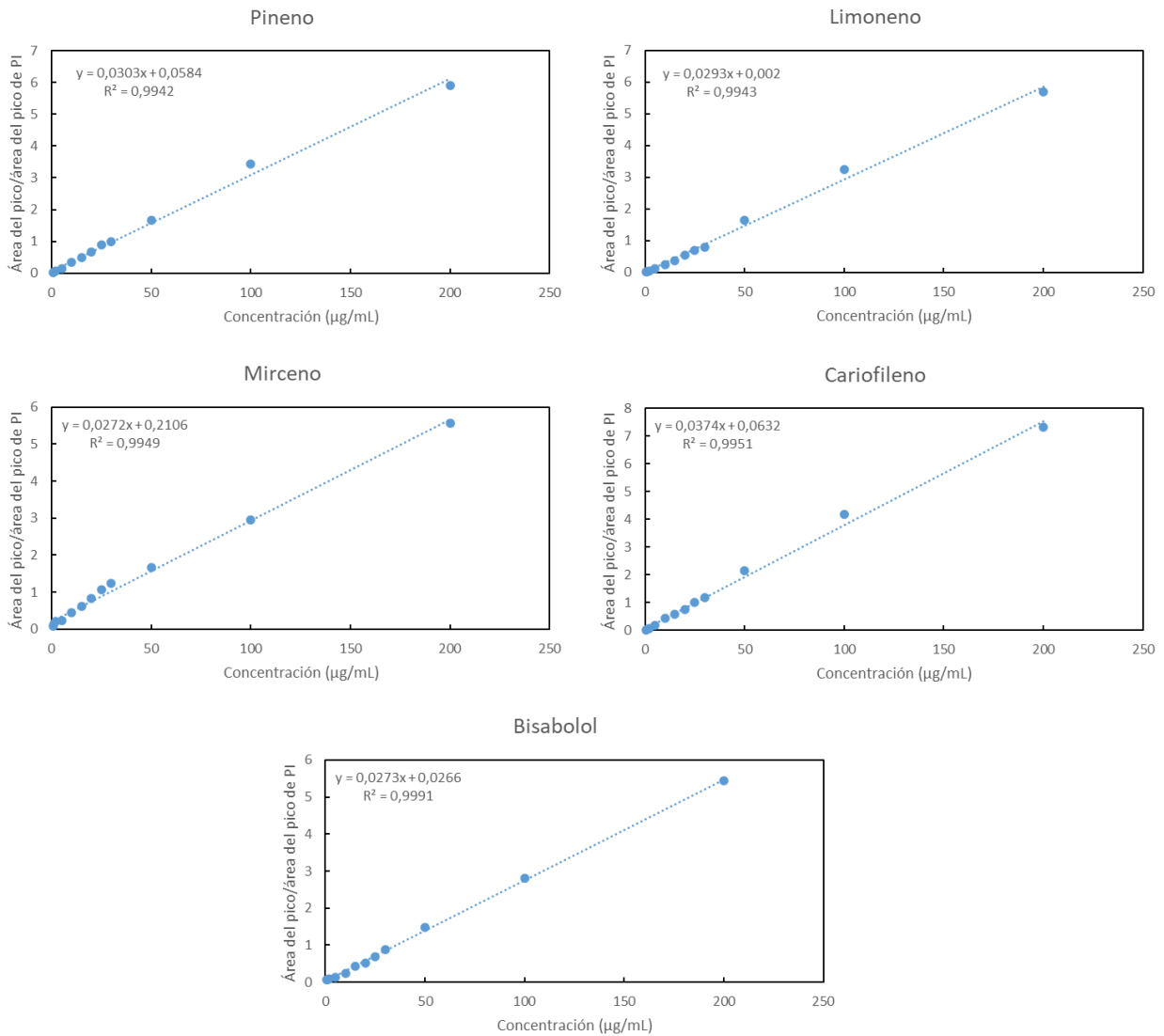


Figura 4: Rectas de calibrado de cada uno de los terpenos analizados

4.4.4. Análisis de compuestos antioxidantes

Para la determinación de los compuestos antioxidantes se realizó una dilución 1:10 de los extractos metanólicos obtenidos según metodología descrita en el apartado 4.4.2.

Contenido total en polifenoles (CTP)

Se determinó el contenido total en compuestos fenólicos de las muestras en base al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965), con ciertas modificaciones para ser adaptado al análisis en microplacas (Eim et al., 2013). En una placa de 96 pocillos, se mezclaron una alícuota de 25 µL de extracto metanólico, 80 µL de agua destilada, 5 µL del reactivo Folin Ciocalteu y se incubó durante 5 min a 25 °C dentro del espectrofotómetro (Multiskan UV/Vis/NIR, Thermo Scientific, Finlandia). La reacción se detuvo mediante la adición



de 80 μL de Na_2CO_3 al 7,5% (p/v). Finalmente, se midió la absorbancia a 765 nm cada 5 min, durante 30 min.

Los datos del espectrofotómetro se procesaron con el software Shantl 2.4.2. El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó a partir de una calibración con ácido gálico (GA, 25 – 250 ppm). Todos los resultados se calcularon como la media de tres determinaciones y se expresaron como mg ácido gálico/g ss.

Actividad antioxidante (AA)

La capacidad antioxidante que se le atribuye a la fracción fenólica de los vegetales incluye múltiples mecanismos de actuación desde un punto de vista químico. Por esta razón, no hay una metodología analítica que permita por sí sola, cuantificar la capacidad antioxidante y, por tanto, para su determinación se recomienda el uso combinado de diferentes métodos (Pellegrini et al., 2003). En este estudio se han considerado dos métodos espectrofotométricos, ABTS y FRAP, con el primero se determina la capacidad de neutralizar radicales libres y con el segundo se determina la capacidad de reducir metales.

a) Método ABTS

La determinación de la capacidad antioxidante mediante el método ABTS se basó en la metodología descrita por Re et al. (1999), a la cual se realizaron ciertas modificaciones para adaptarla al análisis con microplacas González-Centeno et al. (2012).

Para la preparación del catión radical ABTS se mezclaron volúmenes equivalentes (1:1) de dos disoluciones acuosas diferentes: por una parte, una disolución 7 mM de ABTS (ácido 2,2'-Azinobis-(3-etilBenzoTiazolina-6-Sulfonic) y por otra una disolución 2,45 mM de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$. Esta disolución madre se dejó reaccionar durante 16 h a 21 ± 2 °C en condiciones de oscuridad, para ser utilizada en las próximas 48 h. En el momento del análisis, se cogieron 8 mL de la disolución madre de ABTS y se diluyó con EtOH:H₂O (25:75, v/v) hasta un volumen final de 100 mL.

En cada pocillo de la microplaca se introdujeron 190 μL del reactivo ABTS y se dejó incubar durante 10 min a 25 °C. Después de este tiempo se realizó una lectura de la absorbancia (A_0) a una longitud de onda de 734 nm, a continuación, se procedió a iniciar la reacción añadiendo 10 μL de la extracción metanólica de la muestra en cada pocillo. La mezcla se dejó reaccionar bajo las mismas condiciones durante 30 min, tras los cuales se realizó la lectura de la absorbancia a la misma longitud de onda (A_1).

El cálculo de la capacidad oxidante se realizó a partir de la diferencia entre las absorbancias A_1 y A_0 que se correlacionó con una recta de calibrado obtenida a partir de concentraciones conocidas (comprendidas entre 25 y 800 μM) del estándar Trolox (análogo hidrosoluble de la vitamina E). Todos los resultados se calcularon como la media de seis determinaciones y se expresaron como mg trolox/g ss.



b) Método FRAP

El método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) se basa en la capacidad de los compuestos antioxidantes que se encuentran presentes en la muestra para reducir el ion férrico (Fe^{3+}) a su forma ferrosa (Fe^{2+}), lo que se mide mediante la formación de un complejo coloreado de ferroso-tripiridiltriazina (Benzie & Strain, 1996). El método FRAP que se utilizó se llevó a cabo con ciertas modificaciones para adaptarla al análisis con microplacas (González-Centeno et al., 2012).

Para la preparación del reactivo FRAP el mismo día del análisis, se mezclaron tres disoluciones diferentes en la proporción (1:1:10, v/v/v): una disolución 0,01 M de TPTZ (2,4,6- tri(2-piridil)-s-triazine), una de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,02 M y un tampón acético-acetato (de pH 3,6, preparado con 3,1 g de CH_3COONa y 16 mL de CH_3COOH glacial por 1000 ml de solución tampón).

El protocolo y las condiciones experimentales, así como los cálculos para determinar la capacidad antioxidante fueron las mismas que los utilizados en el caso del método de ABTS, pero en este caso las lecturas de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 593 nm.

4.5. Tratamiento estadístico

Para llevar a cabo el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos para cada muestra respecto a las variables físicas y químicas, se ha usado el software Statgraphics19 Centurion (Statgraphics Technologies, Inc.).

4.5.1. Análisis Multivariante

Las técnicas multivariantes se pueden clasificar según dos posibles criterios:

- (i) Se está interesado en la asociación entre las distintas variables, es decir, en las relaciones entre las mismas, donde parte de estas variables dependen o se miden en función de las otras. Son los llamados **Métodos Dependientes**. Subyace en ellos siempre un interés predictivo.
- (ii) Se está interesado en investigar las asociaciones que se presentan entre variables sin distinción de tipos entre ellas. Son **Métodos Independientes**. Tienen un interés descriptivo más bien.

En este trabajo se realizará un estudio mediante un método dependiente usando un **análisis multivariante de la varianza** y otro mediante un método independiente usando un **análisis de componentes principales**.

Análisis multivariante de la varianza

En este estudio, se llevó a cabo un análisis multifactorial de varianza (ANOVA) para investigar la influencia conjunta de cuatro factores: Variedad, Tiempo de cosecha, aplicación de abono y sector de plantación, sobre las variables cuantitativas de interés. Antes de proceder con el ANOVA, se realizaron pruebas para verificar la normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas de los datos (prueba de Levene). Es importante destacar que en

caso de que se cumpliera la normalidad y homogeneidad de varianzas, se aplicaron técnicas de transformación de datos adecuadas para poder aplicar ANOVA.

Análisis de componentes principales

Como técnicas de análisis independientes, se emplearon la matriz de correlaciones de Pearson y el análisis de componentes principales (ACP).

La matriz de correlaciones es una tabla de doble entrada, que muestra el coeficiente de correlación entre cada pareja de variables (valor comprendido entre -1 y 1). Cuanto más cercano a la unidad (en valor absoluto) sea el coeficiente de correlación, mayor es la correlación existente entre ambas variables. Las correlaciones positivas se muestran en rojo y las negativas en verde. La intensidad del color es proporcional al coeficiente de correlación.

En un conjunto de datos, determinadas variables pueden estar relacionadas entre ellas puesto que más de una variable puede estar midiendo el mismo efecto o comportamiento del sistema. Esta redundancia de información se puede simplificar mediante el análisis de componentes principales (ACP). El ACP es una técnica utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. Sirve para hallar las causas de la variabilidad de un conjunto de datos y ordenarlas por importancia. Se genera un nuevo grupo de variables (componentes principales) cada una de las cuales es combinación lineal de las variables originales y que en conjunto forman una base ortogonal (evitar información redundante). El ACP no requiere la suposición de normalidad multivariante de los datos.

Del conjunto de variables analizadas, se seleccionaron para el ACP, aquellas que mostraron ser significativamente diferentes entre muestras. Cuando todas las variables están en la misma zona de la escala, se puede realizar el ACP directamente sobre ellas. Si están en diferentes órdenes de magnitud o sus varianzas son muy diferentes, se estandarizan previamente los datos utilizando por ejemplo la inversa de la varianza.

5. Descripción de los resultados y difusión del proyecto

La Tabla 3 presenta la nomenclatura utilizada durante la presentación y la discusión de los resultados.

Tabla 3: Nomenclatura utilizada en la presentación de resultados para designar a las variables químicas

CLAVE	VARIABLE	Unidades*
TPC	Contenido en polifenoles totales	mg ác. Gálico/100 g ss
ABTS	Actividad antioxidante ABTS	mg trolox/100 g ss
FRAP	Actividad antioxidante FRAP	mg trolox/100 g ss
Pineno	Contenido en el terpeno pineno	mg/g ss
Mirceno	Contenido en el terpeno mirceno	mg/g ss
Limoneno	Contenido en el terpeno limoneno	mg/g ss
Cariofileno	Contenido en el terpeno cariofileno	mg/g ss
Bisabolol	Contenido en el terpeno bisabolol	mg/g ss
CBDV	Contenido en cannabidivarina	% ss
THCV	Contenido en tetrahidrocannabivarina	% ss
CBD	Contenido en cannabidiol	% ss

<i>CBC</i>	Contenido en cannabicromeno	% ss
<i>THC</i>	Contenido en tetrahidrocannabinol	% ss
<i>CBG</i>	Contenido en cannabigerol	% ss
<i>CBN</i>	Contenido en cannabinol	

*ss: sólido seco

5.1. Análisis multifactorial de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra

El presente estudio se enfoca en investigar el efecto de distintas variables en el contenido de compuestos antioxidantes, terpenos y cannabinoides en diversas muestras de cáñamo (*Cannabis sativa* L.) cultivadas en tierra. Para llevar a cabo este estudio, se recolectaron muestras de cáñamo de diferentes variedades, Enectaliana y Enectarol, algunas de las cuales se cultivaron utilizando abono, mientras que otras se cultivaron sin él. Además, se seleccionaron diferentes sectores de cultivo para estudiar el efecto de la densidad del cultivo. Las muestras se recolectaron durante 6 semanas para examinar cómo el tiempo de floración puede afectar al contenido de estos compuestos.

En la tabla 4 se muestra una visión general de como los diferentes factores (variedad, abono, sector y tiempo) afectan significativamente a los diferentes compuestos estudiados. Cabe destacar en este punto que las interacciones entre factores fueron evaluadas y en ningún caso fueron significativas.

Tabla 4: Efectos significativos ($p < 0,05$) de los distintos factores (Variedad, abono, sector y tiempo) a las variables analizadas.

		Variedad	Abono	Sector	Tiempo
Humedad					
Compuestos antioxidantes	TPC	x	x		x
	ABTS		x		x
	FRAP				x
Terpenos	α -Pino			x	x
	Mirceno				x
	Limoneno			x	x
	Cariofileno	x		x	x
	Bisabolol		x	x	
Cannabinoides	CBDV	x			x
	THCV				x
	CBD	x			x
	CBC	x			x
	THC	x			x
	CBG	x			x
	CBN	x			x

Se observó que el contenido en humedad no presentó diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las muestras analizadas. El contenido en humedad de las muestras analizadas en todo el estudio presentó un valor promedio de $9,5 \pm 1,7$ % base húmeda. Este valor está dentro del rango que establece la normativa europea (8-13% base húmeda) (Reglamento (CE) Nº 1177/2000); por

tanto, el proceso de secado de las muestras fue uniforme durante todo el desarrollo del estudio lo que indica que el acondicionamiento realizado fue adecuado.

Por otra parte, el estudio mostró que los compuestos antioxidantes presentaron una clara dependencia en relación con el tiempo de floración. De todos los parámetros analizados, dos (TPC y ABTS) estuvieron significativamente influenciados por la aplicación de abono. Además, se observó que el contenido total de polifenoles fue dependiente de la variedad de cáñamo utilizada, destacando la influencia de la diversidad genética en la concentración de estos compuestos bioactivos. En cuanto a los terpenos, los resultados indican que los niveles de pineno, mirceno, limoneno y cariofileno están significativamente influenciados por el tiempo de la floración. Por otro lado, el bisabolol es el único terpeno que muestra una dependencia significativa respecto al uso de abono. En relación con la variedad de cáñamo, solo el cariofileno presenta una variación significativa. Adicionalmente, se encontró que todos los terpenos, a excepción del mirceno, están significativamente afectados por el sector de cultivo, subrayando la importancia de las condiciones de cultivo en la producción de estos compuestos. El análisis de los cannabinoides revela que todos los compuestos de este grupo están significativamente influenciados por el tiempo de floración. Exceptuando el THCV, se ha determinado que la variedad de cáñamo utilizada tiene un impacto significativo en la concentración de todos los cannabinoides estudiados, lo que pone de manifiesto la importancia de la selección varietal para optimizar la producción de estos compuestos.

A partir de estos resultados, a continuación, se proporcionará una visión detallada de cómo diferentes factores de manejo, selección varietal y tiempo de floración pueden influir en la producción de compuestos bioactivos en el cáñamo, lo que es esencial para maximizar su calidad y beneficios potenciales en aplicaciones industriales y medicinales.

5.1.1. Compuestos antioxidantes

A continuación, se presentan los resultados del estudio de los compuestos antioxidantes de las muestras de cáñamo mediante las determinaciones de contenido total en polifenoles y de actividad antioxidante (ABTS y FRAP).

Como se puede observar en la figura 5a El contenido total en polifenoles presentó diferencias significativas ($p < 0,05$) según la variedad, presentando un contenido en polifenoles totales de 54 ± 2 mg de ácido gálico/100 g ss y 65 ± 4 mg de ácido gálico/100 g ss, la variedad Enectaliana y Enectarol respectivamente. Los valores de contenido total en polifenoles obtenidos en este estudio fueron similares a descritos en la bibliografía, Trovato et al. (2023) obtuvieron valores de 83,9 - 86,2 mg ácido gálico/100g para la variedad Futura17, mientras que Brkljača et al. (2023) señalaron valores de 40,66, 43,91 y 43,25 mg ácido gálico/100g para las variedades Futura 25, Helena y Marina. Las muestras de la variedad Enectarol presentaron un mayor contenido en polifenoles totales (21%) respecto a las muestras de la variedad Enectaliana. En el estudio realizado por Brkljaca et al. (2023) se observó que el contenido total en polifenoles dependía de la variedad de cáñamo cultivada, ya que las muestras de las variedades Helena y Marina tuvieron un 5% más contenido en polifenoles totales que las muestras de la variedad Fedora 17.



El contenido total en polifenoles, también se vio afectado significativamente por el uso de abono. En la figura 5b se presenta el contenido en polifenoles totales (mg ácido gálico/100 g ss) de las muestras de cáñamo de la variedad Enectaliana con aplicación o no de abono. Se puede observar que el contenido en polifenoles totales de las muestras abonadas fue de 54 ± 2 mg de ácido gálico/100 g ss, mientras que la no abonada presentó valores de 65 ± 4 mg de ácido gálico/100 g ss. Las muestras de las plantas sin abonar presentaron un contenido total de polifenoles significativamente mayor (18%) a las muestras de las plantas que recibieron abono, esto puede ser debido a que la ausencia de abono podría haber provocado un estrés inducido por la falta de nutrientes que provoca una mayor producción de compuestos fenólicos como mecanismo de defensa (Sharma et al., 2012). Sin embargo, en la bibliografía también hay estudios como el de Bernstein et al. (2019) que demuestran que la fertilización, especialmente con abonos orgánicos, pueden incrementar el contenido de antioxidantes en las plantas. Estos estudios explican que los nutrientes adicionales proporcionados por el abono mejoran la síntesis de compuestos fenólicos y otros antioxidantes.

Al evaluar el efecto de la densidad del cultivo (figura 5c), se pudo observar que no hay diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido en polifenoles totales según el sector de cultivo (densidad de plantación), presentando un valor promedio de 59 ± 3 mg de ácido gálico/100 g ss.

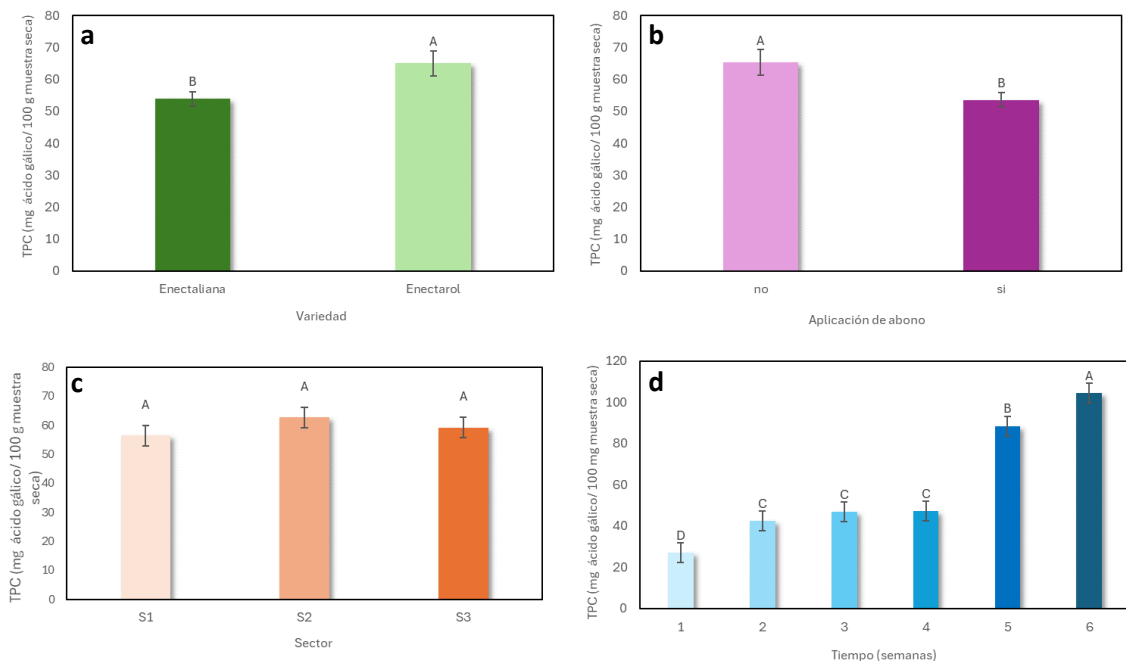


Figura 5: Contenido total en polifenoles de muestras de cáñamo según: a): Variedad; b): Aplicación de abono; c): sector de plantación y d): tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 5d se presentan los resultados del efecto del tiempo de floración sobre el contenido en polifenoles totales. Se puede observar un aumento progresivo en el contenido total de polifenoles conforme avanzaba el tiempo de crecimiento de la planta. El contenido en polifenoles totales en la primera semana de recolección fue de 27 ± 5 mg de ácido gálico/100 g ss. Se observó un incremento del 70% en la segunda semana respecto a la primera,

manteniéndose hasta la cuarta semana. En la semana 5 de cosecha volvió aumentar significativamente (225%, respecto la primera semana), para finalmente en la última semana de cosecha observar un aumento del 285% respecto a la primera semana de cosecha, alcanzando un contenido en polifenoles totales de 105 ± 5 mg de ácido gálico/100 g ss. La variación en el contenido fenólico de las plantas a lo largo de las etapas de crecimiento puede explicarse por los cambios bioquímicos que ocurren durante el crecimiento, así como por una respuesta inmune al estrés biótico y abiótico (Jalloul et al., 2022).

En la Figura 6 se presentan los resultados de la actividad antioxidante mediante el método ABTS. Se puede observar que tanto la variedad como el sector de plantación no afectan significativamente en la actividad antioxidante determinada mediante el método ABTS, presentando valores promedios de 1230 ± 40 mg trolox/100g ss.

Según la bibliografía, la actividad antioxidante determinada mediante el método de ABTS en muestras de cáñamo, presenta un amplio rango de valores. Nuestros resultados se encuentran dentro de este rango. Brkljača et al. (2023) reportaron una actividad antioxidante de 550 – 725 mg trolox/100g ss, mientras que Kitrytė et al. (2018) obtuvieron valores de actividad antioxidante de 7799 ± 1 mg trolox/100 g ss.

El evaluar el efecto del uso de abono, se pudo observar que las muestras de las plantas que fueron abonadas presentaron 16% menos contenido en actividad antioxidante (1121 ± 45 mg trolox/100g ss) respecto a las muestras que no fueron abonadas (1332 ± 78 mg trolox/100g ss). Se ha observado el mismo efecto en el contenido en polifenoles totales.

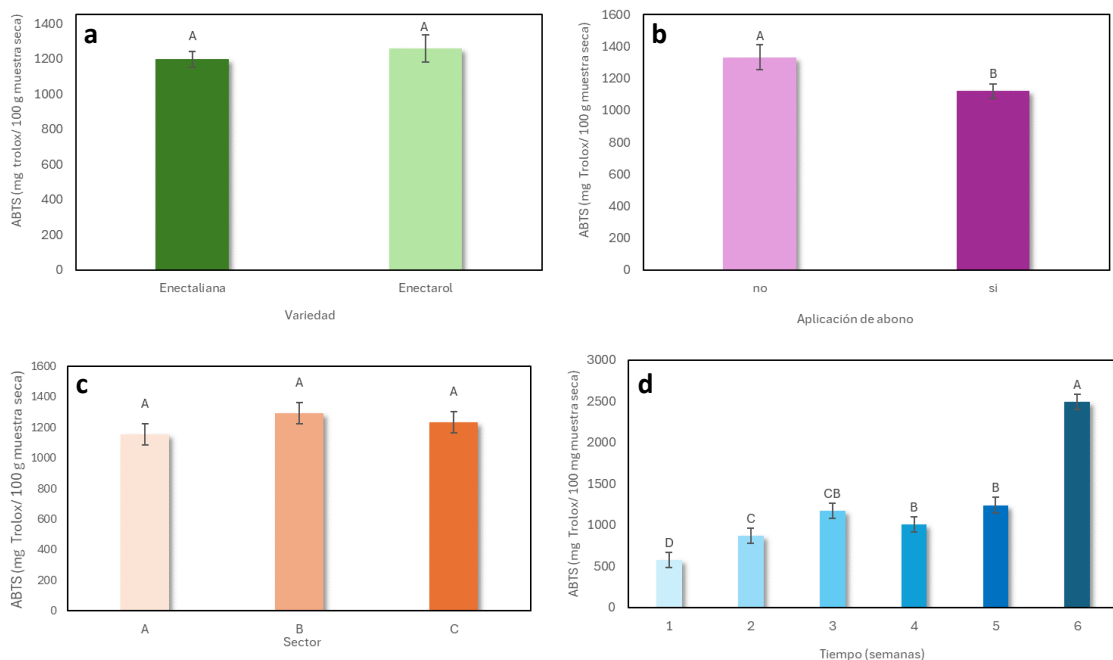


Figura 6: Actividad antioxidante (ABTS) de las muestras de cáñamo según: a): Variedad; b): Aplicación de abono; c): sector de plantación y d): tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).



En la Figura 7 se presentan los resultados de la actividad antioxidante mediante el método FRAP. Se puede observar que solo el tiempo de floración afecta significativamente en la actividad antioxidante (FRAP). Por tanto, las muestras de cáñamo del presente estudio presentaron unos valores de actividad antioxidante de 120 ± 30 mg de trolox/100 g ss, mediante el método FRAP. En la bibliografía se observó un comportamiento similar para la actividad antioxidante medida a través del método FRAP.

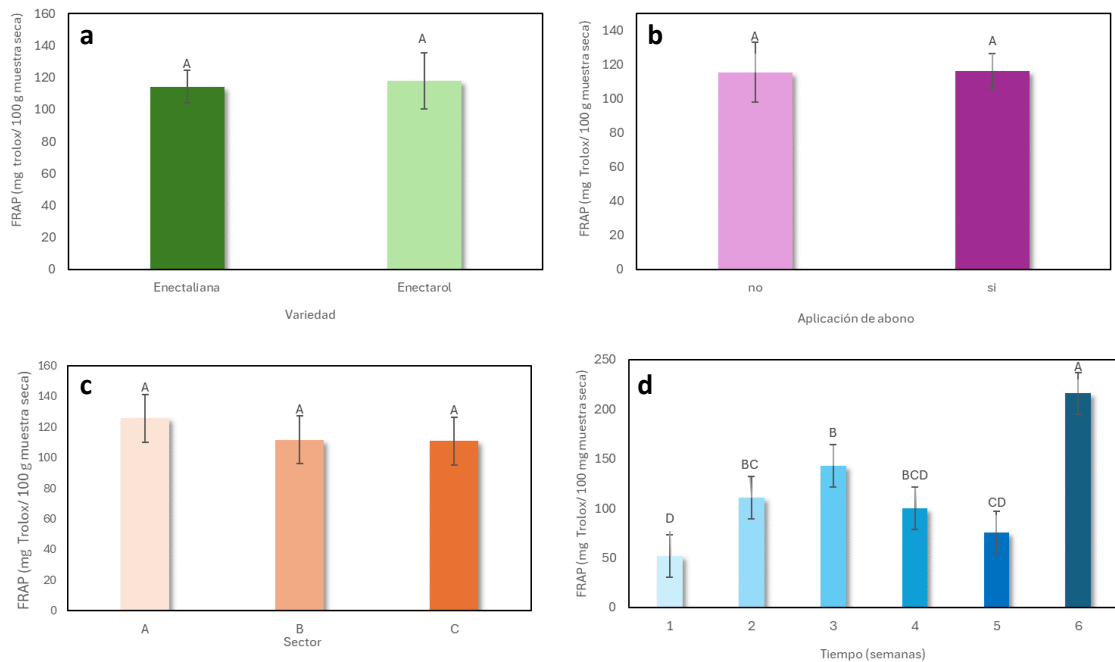


Figura 7: Actividad antioxidante (FRAP) de las muestras de cáñamo según: a) Variedad; b) Aplicación de abono; c) sector de plantación y d) tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras

Como puede observarse en la Figura 6d y Figura 7d, el tiempo de plantación afecto significativamente en la actividad antioxidante las muestras recolectadas a lo largo de las seis semanas estudiadas. Se observó que la semana 6 presentó una actividad antioxidante significativamente mayor (334 y 316% en ABTS y FRAP, respectivamente) en comparación con el resto de las semanas. Lu et al. (2015) reportaron que la actividad antioxidante de *Lycopus lucidus Turcz* dependió no solo del tiempo de floración sino de la localización de la siembra, ya que evaluaron el efecto de tres tiempos de floración en dos localizaciones y se observó que el contenido en compuestos antioxidantes en un lugar aumentaba a medida que lo hacia el tiempo de floración y en el otro sitio tenía un comportamiento contrario. Por tanto, serán necesarias más investigaciones para comprender el mecanismo de los cambios en el contenido de los compuestos antioxidantes durante los diferentes tiempos de floración.

5.1.2. Contenido en terpenos

En la Tabla 5 se presenta el contenido en terpenos de las muestras de cáñamo, se pudieron detectar y cuantificar el α -pineno, mircenol, limoneno, cariofileno y bisabolol. Además, se pudo



detectar, pero no cuantificar el terpeno de Eucaliptol durante la primera semana de cosecha en las muestras de la variedad Enectaliana sin aplicación de abono.

El contenido en α -pineno ($0,40 \pm 0,13$ mg/g ss) no presentó diferencias significativas entre las dos variedades de cáñamo estudiadas. En el estudio de Ibrahim et al. (2019) se observó que el contenido en α -pineno de una variedad de cáñamo con alto contenido en CBD fue de $0,493 \pm 0,015$ mg/g similar al observado en el presente trabajo. En este mismo estudio también observaron que no había diferencias significativas en el contenido en α -pineno entre las variedades con alto contenido en CBD (similar a la variedad Enectaliana) y alto contenido en THC, sin embargo, si se observaron diferencias significativas con una variedad con contenido intermedio de CBD y THC. Por tanto, el contenido en α -pineno puede variar según la variedad de cáñamo.

En cuanto a la aplicación o no de abono se observó que no tuvo un efecto significativo ($p > 0,05$) en el contenido de α -pineno en las muestras de cáñamo ($0,400 \pm 0,003$ mg/g ss). Ostadi et al. (2020) observaron que el contenido de α -pineno en la menta no se vio afectado por la aplicación de diferentes fertilizantes.

Tabla 5: Contenido en terpenos (mg/g ss) de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra

	α -pineno	Mirceno	Limoneno	Cariofileno	Bisabolol
VARIEDAD					
Enectaliana	$0,31 \pm 0,08$	$0,12 \pm 0,01$	$0,08 \pm 0,01$	$2,15 \pm 0,19$	$1,35 \pm 0,12$
Enectarol	$0,49 \pm 0,13$	$0,08 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,01$	$0,93 \pm 0,32$	$1,08 \pm 0,21$
ABONO					
no	$0,40 \pm 0,13$	$0,08 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,01$	$1,32 \pm 0,32$	$2,18 \pm 0,21$
si	$0,40 \pm 0,08$	$0,12 \pm 0,01$	$0,07 \pm 0,01$	$1,75 \pm 0,19$	$0,25 \pm 0,12$
SECTOR					
A	$0,87 \pm 0,12$	$0,13 \pm 0,02$	$0,11 \pm 0,01$	$2,35 \pm 0,29$	$1,04 \pm 0,18$
B	$0,11 \pm 0,12$	$0,06 \pm 0,02$	$0,05 \pm 0,01$	$1,21 \pm 0,29$	$0,95 \pm 0,18$
C	$0,22 \pm 0,12$	$0,10 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$	$1,05 \pm 0,29$	$1,65 \pm 0,18$
TIEMPO (semana)					
1	$0,61 \pm 0,16$	$0,14 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,02$	$2,47 \pm 0,39$	$1,38 \pm 0,25$
2	$0,60 \pm 0,16$	$0,16 \pm 0,03$	$0,11 \pm 0,02$	$2,44 \pm 0,39$	$1,39 \pm 0,25$
3	$0,65 \pm 0,16$	$0,17 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,02$	$2,68 \pm 0,39$	$1,45 \pm 0,25$
4	$0,18 \pm 0,16$	$0,05 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,39$	$1,03 \pm 0,25$
5	$0,18 \pm 0,16$	$0,04 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,39$	$1,06 \pm 0,25$
6	$0,17 \pm 0,16$	$0,05 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,02$	$0,58 \pm 0,39$	$0,97 \pm 0,25$

En la Figura 8 se puede observar el contenido en α -pineno de las muestras de cáñamo de diferentes sectores de plantación (Figura 8a) y en diferentes tiempos de cosecha (Figura 8b).

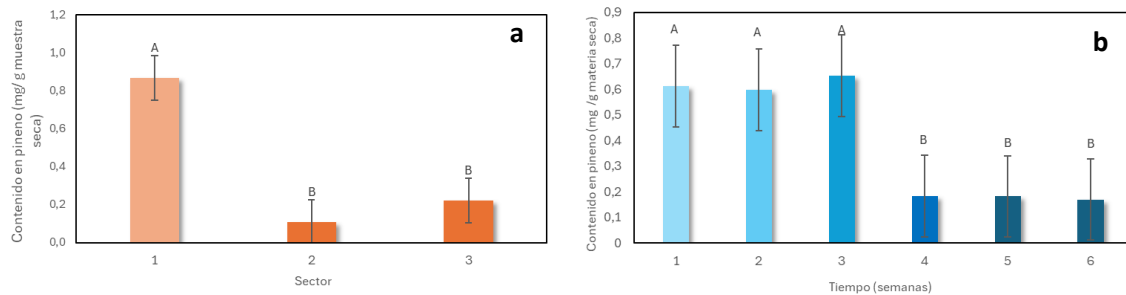


Figura 8: Contenido en α -pineno de las muestras de cáñamo según: a) sector de plantación y b) tiempo de cosecha. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$)

En la Figura 8a se puede observar que el contenido de α -pineno depende significativamente del sector de plantación en el que se encuentra la planta. Las plantas del sector 1 (2.3 plantas/m²) presentaron un 81% más de contenido en α -pineno que las plantas del sector 2 (3.6 plantas/m²) y 3 (4.6 plantas/m²), por lo que parece indicar que el contenido de α -pineno se ve favorecido por una plantación menos densa. En la bibliografía se ha observado que una densidad de plantación menor en *Artemisia dracuncululus* L favorece al contenido en aceites esenciales, aumentando en un 38% cuando la densidad de plantación pasa de 13,33 planta/m² a 6,67 planta/m². En la Figura 8b se puede observar que el contenido en α -pineno disminuye de forma significativa (71%) a partir de la cuarta semana de floración respecto al inicio de esta. Aizpurua-Olaizola et al. (2016) observaron una disminución del 16% del contenido en α -pineno después de 28 días de floración, bastante inferior al encontrado en nuestro trabajo. Sin embargo, en este estudio también demostraron que el tiempo de cosecha afectaba de forma diferente según el tipo de variedad de cáñamo.

El contenido en mircenolol ($0,10 \pm 0,02$ mg/g ss) no mostró diferencias significativas entre las dos variedades de cáñamo estudiadas. En el estudio realizado por Ibrahim et al. (2019), se encontró que la variedad de cáñamo Finola, conocida por su alto contenido en CBD, presentaba un contenido en mircenolol de $0,103 \pm 0,015$ mg/g, valor similar al estudio realizado.

En cuanto al estudio sobre la aplicación de abono, se observó que ésta que no tuvo un efecto significativo ($p > 0,05$) en el contenido de mircenolol de las muestras de cáñamo estudiadas ($0,10 \pm 0,02$ mg/g ss). En el estudio de André et al. (2020), se estudiaron diferentes variedades de *Cannabis sativa* L y mostraron que las variedades Finola y Futura 75, no se vieron afectadas en el contenido de mircenolol por la aplicación de abono.

Las muestras cultivadas en diferentes sectores tampoco mostraron una diferencia significativa ($0,10 \pm 0,03$ mg/g ss). En el estudio de Molnar et al. (2022) sobre la extracción de terpenos mediante CO₂ de diversas variedades de cáñamo industrial, incluyendo Kompolti y Ferimon, se encontró que el contenido de mircenolol no variaba significativamente con la densidad de plantación.

En la Figura 9 se presenta el contenido en mircenolol de todas las muestras de cáñamo a diferentes tiempos de floración. Se observa que el contenido en mircenolol disminuye de forma significativa (71%) a partir de la cuarta semana de floración respecto al inicio de esta. En el estudio de Mudge et al. (2018), investigaron diversas variedades de *Cannabis sativa* L., incluyendo Blueberry L,



Purple Pineberry, Finola, Futura 75, entre otras. Esta investigación describió que el contenido de mirceno puede variar significativamente dependiendo de la etapa de floración de la planta. De manera similar a lo que se observa en nuestro estudio, estos autores describieron que los niveles de mirceno eran más altos en las primeras etapas de floración y disminuían significativamente hacia el final del ciclo de floración.

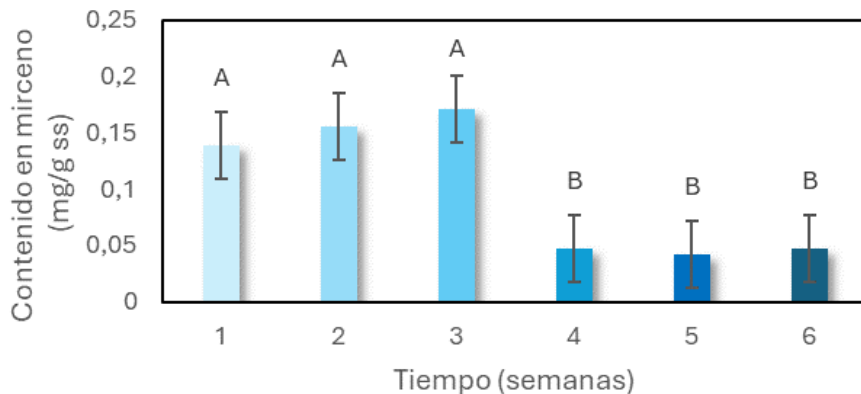


Figura 9: Contenido en mirceno de las muestras de cáñamo según el tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$)

El contenido en limoneno ($0,076 \pm 0,003$ mg/g ss) no mostró diferencias significativas entre las diferentes variedades de cáñamo estudiadas. En el estudio de Mudge et al. (2018), se investigaron varias variedades de *Cannabis sativa* L., como Blueberry L, Purple Pineberry, Finola y Futura 75 y no encontraron diferencias significativas en el contenido de limoneno entre las variedades Blueberry L y Purple Pineberry. Sin embargo, si observaron diferencias significativas entre las variedades Finola y Futura 75. Además, el contenido de limoneno varió entre 0,05 mg/g y 0,1 mg/g, valores comparables al obtenido en nuestro estudio ($0,076$ mg/g ss).

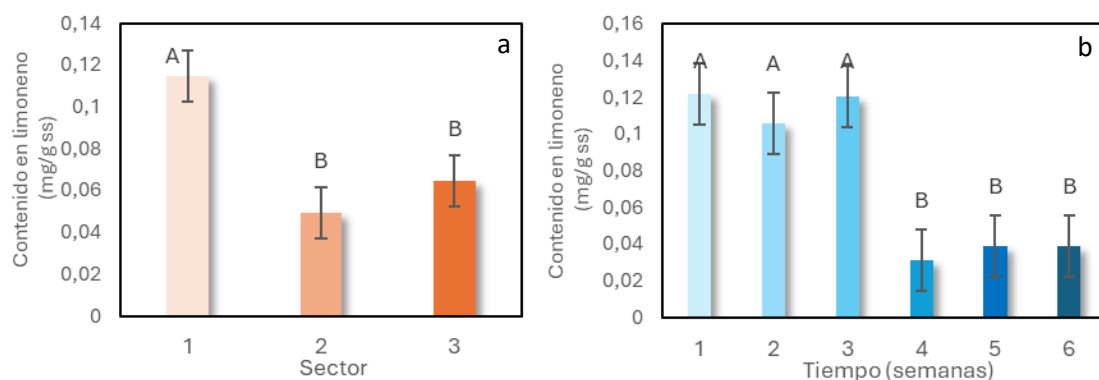


Figura 10: Contenido en limoneno de las muestras de cáñamo según: a) sector de plantación y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$)

Respecto al efecto del uso de abono, en nuestro estudio el uso de abono no afectó significativamente al contenido en limoneno en las muestras de cáñamo analizadas presentando valor promedio de $0,076 \pm 0,009$ mg/g ss. Resultados similares fueron descrito por Andre et al.

(2020) para las variedades Felina 32 y Uso 31, donde la aplicación de abono no afectó significativamente en el contenido de limoneno.

En la Figura 10 se presentan los resultados del contenido en limoneno de las muestras de cáñamo de diferentes sectores de plantación (Figura 10a) y en diferentes tiempos de floración (Figura 10b). En la Figura 10a se observa que el contenido en limoneno depende significativamente del sector de plantación en el que se encuentra la planta. Las plantas del sector 1 (2,3 plantas/m²) presentaron un 51% más de contenido en limoneno que las plantas del sector 2 (3,6 plantas/m²) y 3 (4,6 plantas/m²), lo cual sugiere que el contenido de limoneno se ve favorecido por una plantación menos densa. En el estudio de Andre et al. (2020), se observó que las plantas con menor densidad de plantación presentaron una mayor concentración de terpenos, incluyendo el limoneno, en las variedades Felina 32 y Uso 31.

En la figura 10b se observa que el contenido en limoneno depende significativamente del tiempo de floración, donde las tres primeras semanas mostraron un 69% más de contenido que las tres últimas semanas de floración. Resultados similares fueron obtenidos por Aizpurua-Olaizola et al. (2016), quienes describieron que el contenido de limoneno disminuía en un 16% después de 28 días de floración en muestras de *Cannabis sativa* L. de las variedades Cannatonic, ACDC y Charlotte's Web.

El contenido en β -cariofileno ($1,54 \pm 0,31$ mg/g ss) no presentó diferencias significativas entre las muestras de cáñamo con y sin aplicación de abono. En el estudio de Fishedick J (2015), se encontraron resultados similares para *Cannabis sativa* L., de las variedades OG Kush, Haze y Sour Diesel, donde la aplicación de abono no afectó al contenido de β -cariofileno.

En la Figura 11 se observa el contenido en β -cariofileno de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 11a), y en diferentes sectores de plantación (Figura 11b). En la figura 11a se observa diferencia significativa entre las dos variedades estudiadas, donde la variedad Enectaliana presenta un contenido de β -cariofileno 57% mayor que la variedad Enectarol. Según la bibliografía, Russo (2011) describió que el contenido de β -cariofileno puede verse afectado por la variedad. Por ejemplo, las variedades de OG Kush y Sour Diesel presentaron valores mucho más elevados en el contenido de β -cariofileno a diferencia de las variedades como Haze y Blueberry L.

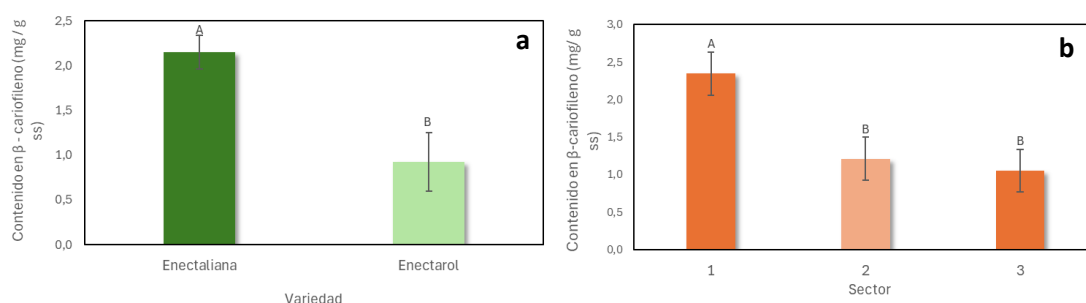


Figura 2: Contenido en β -cariofileno de las muestras de cáñamo según: a) variedad y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$)



En la Figura 11b se observa que el contenido en β -cariofileno depende significativamente del sector de plantación en el que se encuentra la planta. Las plantas del sector 1 (2,3 plantas/m²) presentaron un 52% más de contenido en cariofileno que las plantas del sector 2 (3,6 plantas/m²) y 3 (4,6 plantas/m²), lo cual sugiere que el contenido de β -cariofileno se ve favorecido por una plantación menos densa. Resultados similares fueron descritos por Andre et al. (2020), quienes determinaron que las variedades Felina 32 y Uso 31 presentaron mayores concentraciones de β -cariofileno en plantaciones menos densas. El estudio también determinó que el contenido de β -cariofileno disminuía significativamente a lo largo del tiempo de floración. De manera similar, en la Figura 12 se observa que las muestras de cáñamo diferentes tiempos de floración presentan diferencias significativas en el contenido de β -cariofileno, en las tres primeras semanas de floración se observó un 79% más de contenido en β -cariofileno que en las tres últimas semanas de floración.

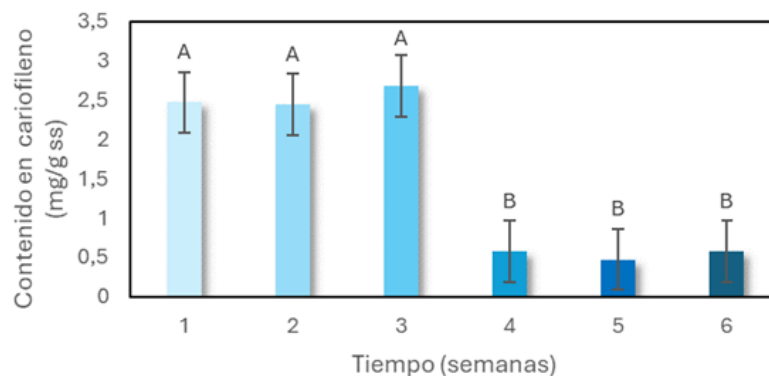


Figura 3: Contenido en β -cariofileno de las muestras de cáñamo según el tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

El contenido en bisabolol ($1,21 \pm 0,18$ mg/g ss) no mostró diferencias significativas entre las variedades de cáñamo estudiadas en este trabajo. En el estudio de Mudge et al. (2019) se estudiaron las variedades de Blueberry L, Purple Pineberry, Finola y Futura 75, y describieron que el contenido de bisabolol en las variedades de cáñamo estudiadas estaba en el rango de 0,05 a 0,15 mg/g, con pequeñas variaciones entre las diferentes variedades, pero sin diferencias significativas observadas. Sin embargo, se observó que el contenido en bisabolol de las variedades estudiadas en el estudio de Mudge et al. (2019) fue inferior al de las variedades objeto de nuestro estudio.

Se observó que el tiempo de floración tampoco afectó significativamente en el contenido de bisabolol ($1,21 \pm 0,21$ mg/g ss). Resultados similares fueron descritos por Andre et al. (2020), las variedades de Kompolti y Futura 75 presentaron contenidos de bisabolol que no variaron significativamente en con el tiempo de floración.

En la Figura 13 se presentan los resultados del contenido en bisabolol de las muestras de cáñamo con la aplicación o no de abono (Figura 13a), y en diferentes sectores de plantación (Figura 13b).

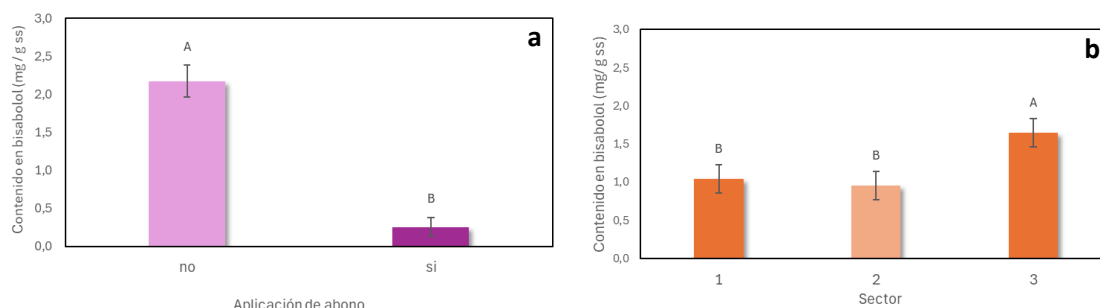


Figura 4: Contenido en bisabolol de las muestras de cáñamo según: a) aplicación de abono y b) sector de plantación. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 13a se observa que el contenido en bisabolol depende de la aplicación de abono, donde las plantas que no se les aplicó abono presentaron un contenido superior en bisabolol (88%) que las muestras que si fueron abonadas. En el estudio de Giese et al. (2015) encontraron que la fertilización puede tener diferentes efectos en el contenido de terpenos en *Cannabis sativa*. Algunos terpenos mostraron un aumento de concentración con el uso de fertilizantes, pero en el caso del contenido en bisabolol se observó que no se vio afectado por el uso de fertilizantes. En la Figura 13b se observa que el contenido en bisabolol depende significativamente del sector de plantación en el que se encuentra la planta. Las plantas del sector 3 (4,6 plantas/m²) presentaron un 39% más de contenido en bisabolol que las plantas del sector 1 (2,3 plantas/m²) y 2 (3,6 plantas/m²), lo cual sugiere que el contenido de bisabolol se ve favorecido por una plantación más densa. En el estudio de Andre et al. (2016) se determinó que las plantas con una densidad de plantación más alta mostraron mayores concentraciones en el terpeno bisabolol

5.1.2. Contenido en cannabinoides

En la Tabla 6 se presenta el contenido en cannabinoides de las muestras de cáñamo, se pudieron detectar y cuantificar el CBDV, THCV, CBD, CBC, THC, CBG y CBN.

Tabla 6: Contenido en cannabinoides (% ss) de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra

	CBDV	THCV	CBD	CBC	THC	CBG	CBN
VARIEDAD							
Enectaliana	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01	5,40 ± 0,38	0,09 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,58	0,03 ± 0,04
Enectarol	nd	0,04 ± 0,01	0,35 ± 0,65	0,16 ± 0,03	0,07 ± 0,03	7,81 ± 1,01	0,49 ± 0,07
ABONO							
no	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,01	2,82 ± 0,65	0,12 ± 0,03	0,16 ± 0,03	4,05 ± 1,01	0,26 ± 0,07
si	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	2,93 ± 0,38	0,13 ± 0,02	0,18 ± 0,02	4,06 ± 0,58	0,26 ± 0,04
SECTOR							
A	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	2,40 ± 0,58	0,12 ± 0,02	0,16 ± 0,03	3,74 ± 0,89	0,27 ± 0,06
B	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	3,17 ± 0,58	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,03	4,20 ± 0,89	0,24 ± 0,06
C	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	3,06 ± 0,58	0,11 ± 0,02	0,19 ± 0,03	4,23 ± 0,89	0,27 ± 0,06
TIEMPO (semana)							



1	nd	nd	nd	0,08 ± 0,03	0,01 ± 0,03	1,63 ± 1,22	0,11 ± 0,09
2	nd	nd	nd	0,05 ± 0,03	nd	1,49 ± 1,22	0,10 ± 0,09
3	0,02 ± 0,02	0,08 ± 0,01	1,53 ± 0,79	0,14 ± 0,03	0,16 ± 0,03	2,47 ± 1,22	0,36 ± 0,09
4	0,07 ± 0,02	0,03 ± 0,01	4,72 ± 0,79	0,26 ± 0,03	0,41 ± 0,03	3,98 ± 1,22	0,57 ± 0,09
5	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01	4,70 ± 0,79	0,15 ± 0,03	0,25 ± 0,06	7,37 ± 1,22	0,27 ± 0,09
6	0,09 ± 0,02	0,06 ± 0,01	7,27 ± 0,79	0,07 ± 0,03	0,22 ± 0,06	7,38 ± 1,22	0,16 ± 0,09

Se observó que la variedad Enectaliana destacó por su alto contenido de CBD, mientras que la variedad Enectarol se distinguió por su elevado contenido de CBG, confirmando así la hipótesis inicial de la elección de una variedad con un alto contenido en CBD y otra con un alto contenido en CBG. Además, la variedad Enectaliana también presentó un mayor contenido de THC. Aun así, ambas variedades presentaron un contenido en THC inferior a 0,3 % como marca la normativa.

Durante el estudio realizado, se observó que tanto la variedad como el tiempo de floración de la planta afectaron significativamente en el contenido de todos los cannabinoides estudiados. Sin embargo, se observó que el uso de abono ni los diferentes sectores de plantación no afectaron significativamente en el contenido de cannabinoides. En el estudio de Park et al. (2022) se determinó que la suplementación con nutrientes aumentaba la producción de cannabinoides. Además, aunque el uso de diferentes sectores de plantación no mostró diferencias significativas en el contenido de cannabinoides durante el estudio, varios estudios sugieren que este factor podría influir en la variación del contenido de cannabinoides. El estudio Yazici (2023) determina que la densidad de planta puede afectar a la biosíntesis de cannabinoides debido a la eficiencia de la luz, agua y nutrientes.

En la Figura 14 se observa el contenido en CBDV de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 14a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 14b). En la figura 14a se observa que el contenido de CBDV depende significativamente de la variedad de cáñamo analizada. La variedad Enectaliana presentó un contenido del 94% más en CBDV que la variedad Enectarol. En el estudio de Glivar et al. (2020) se demostró que la variedad Carmagnola de *Cannabis sativa* L presentó un contenido superior en CBDV (90%) que la variedad Ferimon. Por otro lado, en la figura 14b se observa que el contenido de CBDV depende significativamente del tiempo de floración. En el análisis temporal, se observó que durante las primeras tres semanas de floración apenas se detectó CBDV, aumentando significativamente en las semanas 4 y 5, y alcanzando su mayor contenido en la sexta semana de floración, obteniéndose hasta un 78% más de cannabinoide. En el estudio Happyana & Kayser (2016), se realizó el estudio de diferentes variedades como son Bediol o Bedica, las cuales presentaron un contenido máximo de CBDV durante la quinta semana de floración.

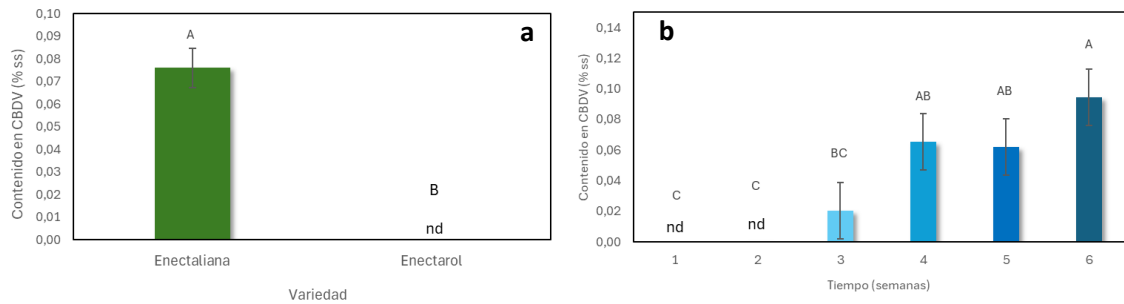


Figura 5: Contenido en CBDV de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 15 se presenta el contenido en THCV de las muestras a diferentes tiempos de floración, única variable que afectó significativamente. Se observa un contenido en THCV significativamente mayor a partir de la tercera semana de floración, una disminución durante la cuarta semana de floración y un aumento durante las semanas cinco y seis. Los resultados obtenidos son diferentes a los reportados por la bibliografía. En el estudio Happyana & Kayser (2016), se observa que las variedades como Bedrocan, Bedrolite y Bedropuur tuvieron el contenido máximo en THCV durante la sexta semana de floración. Estas diferencias pueden ser debido que la cuarta semana de floración coincidió con una gran tormenta.

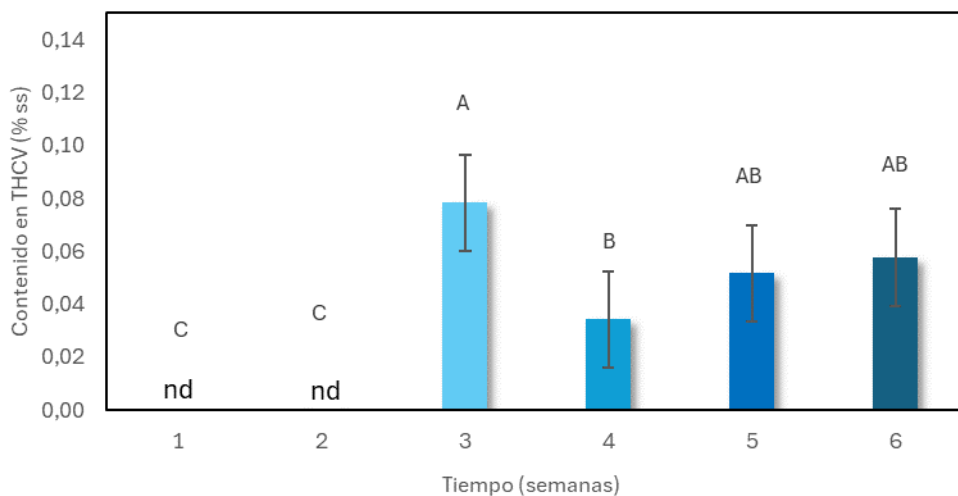


Figura 6: Contenido en THCV de las muestras de cáñamo según el tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 16 se presentan los resultados del contenido en CBD de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 16a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 16b). En la figura 16a se observa que el cannabinoide CBD, depende significativamente de la variedad analizada durante el estudio. La variedad Enectaliana presentó un contenido de CBD significativamente mayor en comparación con la variedad Enectarol (94%), la cual prácticamente no mostró presencia de CBD. En el estudio Glivar et al. (2020) se observa que variedades como Finola o Uso 31 son ricas en contenido de CBD, mientras que variedades como Uso 31 o Kompolti hibrid TC presentan un contenido mucho menor. En la figura 16b se observa, que el contenido de CBD

también depende significativamente del tiempo de floración, donde durante las primeras tres semanas, se detectó apenas una mínima cantidad de CBD. Sin embargo, en las semanas 4 y 5, el contenido de CBD aumentó significativamente, alcanzando su máximo en la sexta semana de plantación (35 %). En el estudio Yang et al. (2020) se observó que el contenido de CBD en la variedad Cherry Blossom y Cherry T1 aumentó con el tiempo, obteniendo su máximo contenido en CBD durante la sexta semana de floración.

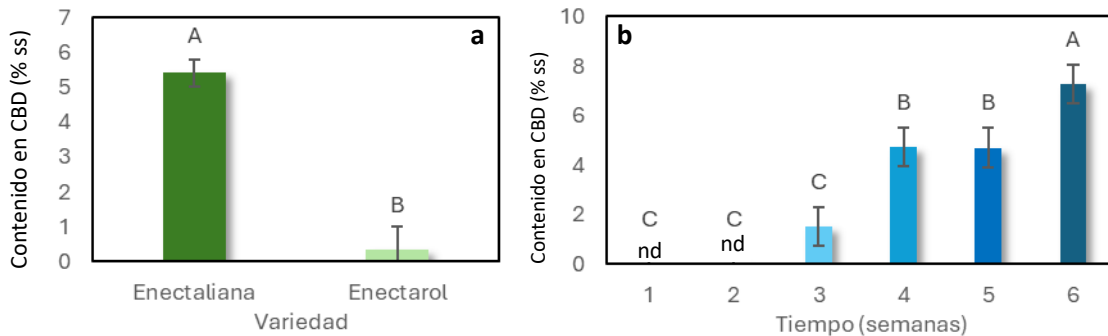


Figura 7: Contenido en CBD de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 17 se observa el contenido en CBC de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 17a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 17b). En la figura 17a se observa que el cannabinoide CBC, depende significativamente de la variedad analizada durante el estudio. La variedad Enectarol presentó un contenido de CBC significativamente mayor en comparación con la variedad Enectaliana (46%). En el estudio Glivar et al. (2020) se observa que la variedad de Uso 31 presenta un contenido superior de CBC (56%) que la variedad de Fedora 17. En la figura 17b se observa, un contenido significativamente mayor de CBC durante la cuarta semana de floración (44%). En el estudio Dowling et al. (2021) se observa que para la variedad de Cherry 308 se obtiene el mayor contenido de CBC durante la cuarta semana de plantación.

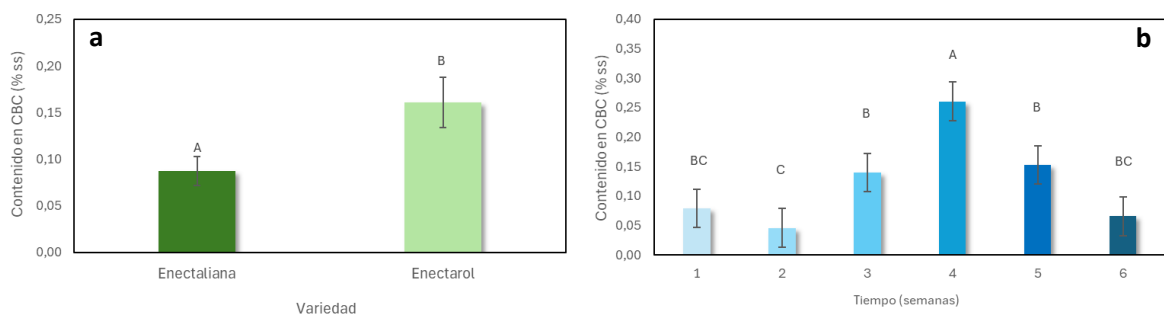


Figura 8: Contenido en CBC de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 18 se presentan los resultados del contenido en THC de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 18a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 18b). En la figura 18a se observa que el cannabinoide THC, depende significativamente de la variedad. La variedad Enectaliana presentó un contenido de THC significativamente mayor (75%) en comparación con la variedad Enectarol. En el estudio Glivar et al. (2020) se observa que la variedad de KC dora

presenta un contenido superior de THC (77%) que la variedad de Tisza. En la figura 18b se observa el contenido de THC durante el tiempo de floración. En las dos primeras semanas de floración, no se pudo detectar THC. Sin embargo, a partir de la cuarta semana de floración, el contenido de THC aumentó significativamente con respecto al resto de semanas (49%). Durante la cuarta semana de floración se puede observar un contenido en THC anormalmente elevado, que vuelve a coincidir con el hecho de haber ocurrido una gran tormenta en la plantación. En el estudio Dowling et al. (2021) se observó que las variedades de Late Sue y Umpqua tuvieron un mayor contenido de THC durante la cuarta semana de floración.

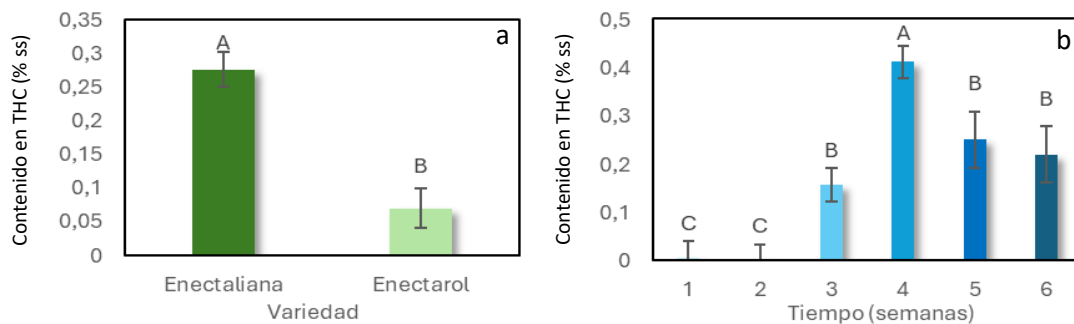


Figura 9: Contenido en THC de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 19 se observa el contenido en CBG de las muestras de cáñamo de las diferentes variedades (Figura 19a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 19b). En la figura 19a se observa que el cannabinoide CBG, depende significativamente de la variedad analizada durante el estudio. La variedad Enectarol presentó un contenido de CBG significativamente mayor en comparación con la variedad Enectaliana (96%). En el estudio Glivar et al. (2020) se observa que la variedad de Santhica destaca por su alto contenido en CBG, a diferencia de la variedad Finola que apenas obtuvo contenido de CBG, su diferencia es del 99%. En la figura 19b se observa una gran diferencia significativa en el tiempo de floración. Las dos últimas semanas de plantación presentaron un contenido de CBG significativamente mayor con respecto al resto de semanas (68%), las cuales mantuvieron un contenido prácticamente constante de CBG. En el estudio Yang et al. (2020), se determinó que variedades como Cherry Blossom y Cherry Wine alcanzaban su máximo contenido en CBG durante la sexta semana de floración.

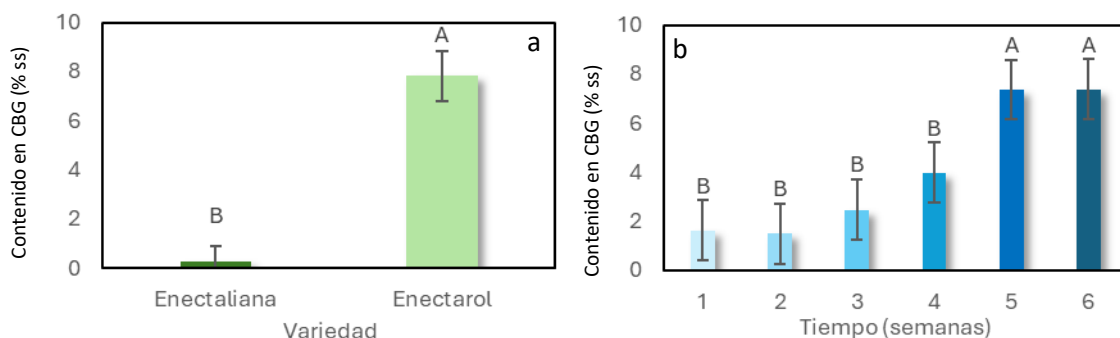


Figura 10: Contenido en CBG de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

En la Figura 20 se observa el contenido en CBN de las muestras de cáñamo de diferentes variedades (Figura 20a), y en diferentes tiempos de floración (Figura 20b). En la figura 20a se observa que el cannabinoide CBN, depende significativamente de la variedad analizada durante el estudio. La variedad Enectarol presentó un contenido de CBN significativamente mayor en comparación con la variedad Enectaliana (93%). En el estudio Glivar et al. (2020) de todas las variedades estudiadas, solo presentó contenido en CBN la variedad Finola, el resto de las variedades estudiadas no presentaron contenido de este. En la figura 20b se observa diferencia significativa en el tiempo de floración. Las dos primeras semanas mostraron un contenido reducido de CBN, mientras que la cuarta semana presentó un contenido significativamente mayor en comparación con las demás semanas (53%). En el estudio Happyana & Kayser (2016), se observa que las variedades como Bedrocan, Bediol y Bedica obtiene su máximo contenido en CBN durante la séptima semana de floración.

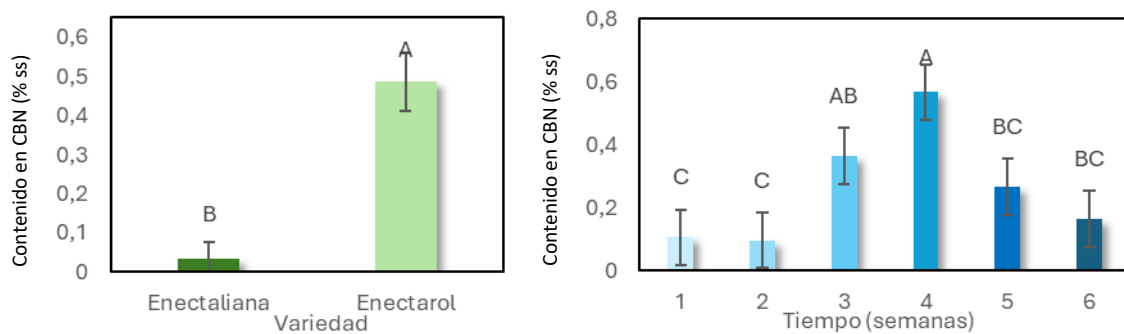


Figura 11: Contenido en CBN de las muestras de cáñamo según: a) diferentes variedades y b) tiempo de floración. Las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas entre muestras ($p < 0,05$).

5.2. Análisis de componentes principales de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra

A continuación, se presenta un estudio estadístico multivariable de componentes principales con el objetivo de evaluar la existencia de diferencias entre las muestras de cáñamo debidas a las variables químicas. Para proceder a realizar un análisis estadístico multivariante de componentes principales, se elaboró la matriz de correlaciones que se muestra en la Figura 21. Se han indicado en color rojo las correlaciones positivas entre variables, con mayor intensidad cuanto más cercana es la correlación a 1, y en color azul, las correlaciones negativas con mayor intensidad cuanto más cercana es la correlación a -1.

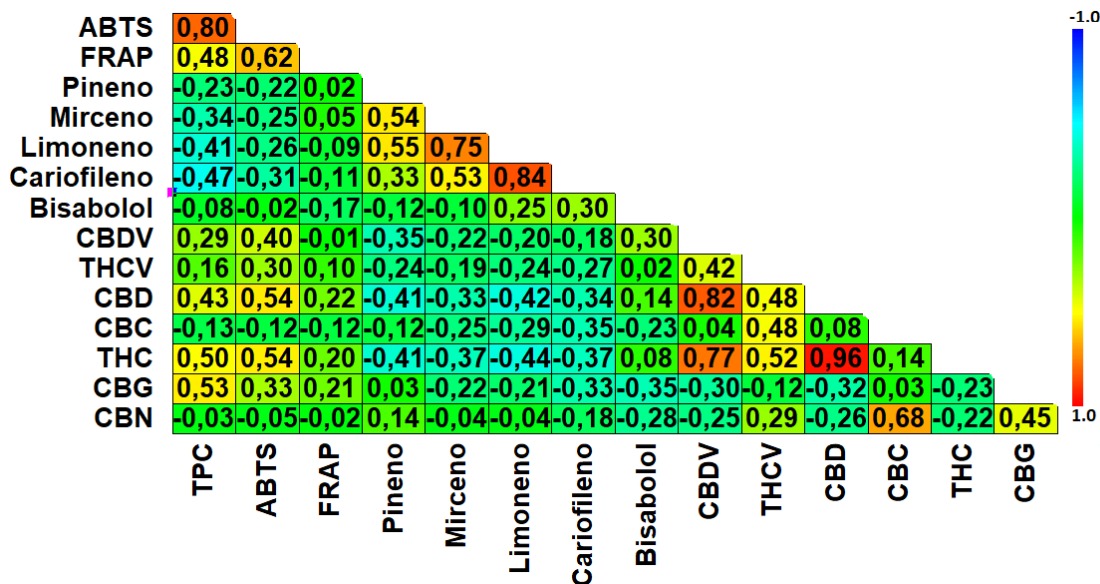


Figura 12: Matriz de correlaciones entre variables químicas

Como puede observarse en dicha figura (Figura 21), se han obtenido algunas correlaciones entre variables, siendo las más elevada (>0,75), las obtenidas entre los siguientes grupos:

- Contenido total en polifenoles (TPC) y actividad antioxidante (ABTS) (positiva).
- Contenido en limoneno, con mirceno y cariofileno (positivas)
- Contenido en THC, CBDV y CBD (positiva)
- Contenido en CBDV y CBD (positiva)

A continuación, se ha llevado a cabo un análisis de componentes principales (ACP). De acuerdo con la matriz de correlaciones, existen importantes correlaciones entre las variables, por lo que se redujo el número de variables para el ACP eliminando las que estaban excesivamente correlacionadas con otras. Así, el ACP se realizó con 10 variables: **contenido total en polifenoles, FRAP, contenido en limoneno, bisabolol y pineno, contenido en THCv, THC, CBG, CBN y CBC.**

Dicho análisis se llevó a cabo utilizando la función PCA del paquete de R FactoMineR, escalando previamente las variables a varianza igual a 1 para normalizar el rango de las variables. De esta manera, todas las variables tienen la misma desviación estándar, por lo tanto, todas las variables tienen el mismo peso.

En la Tabla 7 se muestran los coeficientes de los tres primeros componentes principales. Como puede observarse, las variables TPC y THC presentaron los coeficientes positivos más elevados y el contenido en limoneno presentó el coeficiente negativo más elevado en el primer componente principal, mientras que, en el segundo, la variable con mayor contribución positiva fue contenido en CBN.



Tabla 7: ACP. Componentes de los tres primeros componentes principales.

	Dim1	Dim2	Dim3
TPC	0,403	-0,126	0,438
FRAP	0,220	-0,045	0,408
Pineno	-0,330	0,280	0,148
Limoneno	-0,457	0,061	0,005
Bisabolol	-0,162	-0,372	-0,184
THCV	0,368	-0,003	-0,372
CBC	0,276	0,373	-0,445
THC	0,408	-0,374	-0,124
CBG	0,198	0,373	0,459
CBN	0,166	0,586	-0,153

En la Tabla 8 se muestra la varianza, el porcentaje de varianza explicada por los 10 componentes principales y la varianza acumulada. El primer componente principal (Dim1) explicó el 27,5 % de la varianza, mientras que el segundo (Dim2) explicó el 21,03 %, sumando ambos componentes aproximadamente el 48,55 % de la varianza. La Figura 22, muestra la varianza explicada y el porcentaje de varianza explicada acumulada por cada componente principal mediante un screen plot. Se observa que los tres primeros componentes principales explican el 66,82 % de la varianza.

Tabla 8: ACP. Porcentaje de varianza explicada por los 10 componentes principales.

Dimensión	Varianza	%Varianza Explicada	%Varianza Explicada Acumulada
1	2,75	27,52	27,52
2	2,10	21,03	48,55
3	1,83	18,26	66,82
4	1,07	10,72	77,54
5	0,82	8,25	85,79
6	0,54	5,39	91,18
7	0,37	3,75	94,93
8	0,28	2,76	97,69
9	0,14	1,39	99,08
10	0,09	0,92	100

En la Figura 23 se representan las variables en el espacio Dim2-Dim1. En este tipo de gráfico, además de indicarse el % de varianza explicada por el primer (Dim1) y segundo componente (Dim2), las variables positivamente correlacionadas se agrupan juntas o próximas, mientras que las negativamente correlacionadas se representan en lados opuestos del origen o cuadrantes opuestos. Ángulos pequeños entre vectores representa alta correlación entre las variables implicadas (observaciones con valores altos en una de esas variables tendrá valores altos en la variable o variables correlacionadas); ángulos rectos representan falta de correlación, y ángulos



opuestos representan correlación negativa (una observación con valores altos en una de las variables irá acompañado de valores bajos en la otra). Además, la distancia entre las variables y el origen mide la calidad de la representación de las variables (mayor cuanto más próxima a la circunferencia o círculo de correlación, siendo éstas las que más contribuyen en los dos primeros componentes). Variables posicionadas cerca del origen puede ser un indicativo de que serían necesarios más de dos componentes principales para su representación.

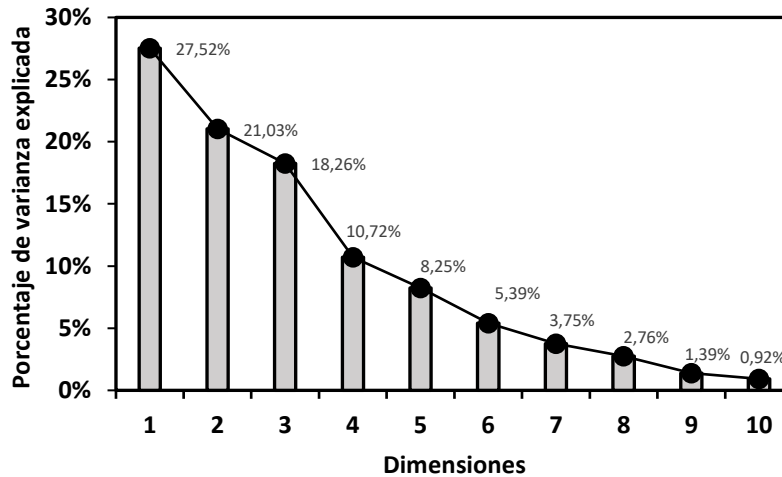


Figura 13: ACP. Porcentaje de varianza explicada por cada componente principal

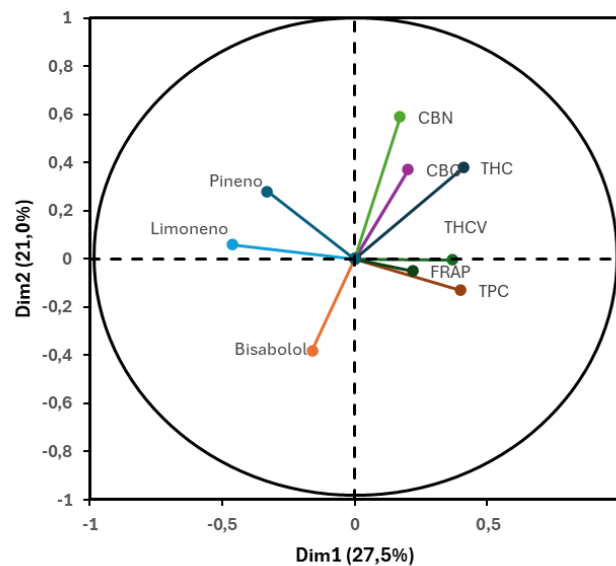


Figura 14: ACP. Representación de las variables en las coordenadas Dim2 vs Dim1.

Se observa como las variables contenido en cannabinoides y contenido en compuestos antioxidantes se localizan en la parte positiva del primer componente principal, las variables de contenido en cannabinoides hacia la parte positiva del segundo componente principal (cuadrante I) y las variables de compuestos antioxidantes hacia la negativa (cuadrante IV). En cuanto a las variables contenido en terpenos se localizan hacia valores negativos de Dim1, el

contenido en pineno y limoneno hacia el lado positivo de Dim2 (cuadrante II) y el contenido en bisabolol hacia el negativo (cuadrante III).

En las Figura 24 y Figura 25 se representan las variables y las muestras en el nuevo sistema de coordenadas Dim2-Dim1. En este tipo de gráfico, además de indicarse el % de varianza explicada por el primer (Dim1) y segundo componente (Dim2), las variables positivamente correlacionadas se agrupan juntas o próximas, mientras que las negativamente correlacionadas se representan en lados opuestos del origen o cuadrantes opuestos. Con respecto a las muestras, en la figura se observa que puntuaciones próximas representan observaciones de similares características. Además, la relación de las muestras con las variables se puede estudiar proyectando las observaciones sobre la dirección de los vectores. Se puede observar que cuando se representan las muestras de cáñamo en el espacio formado por el primer (Dim1) y segundo (Dim2) componentes principales, la mayoría se agrupan en diferentes zonas según su variedad (Enectaliana y Enectarol, Figura 24) y según el tiempo de floración (Figura 25).

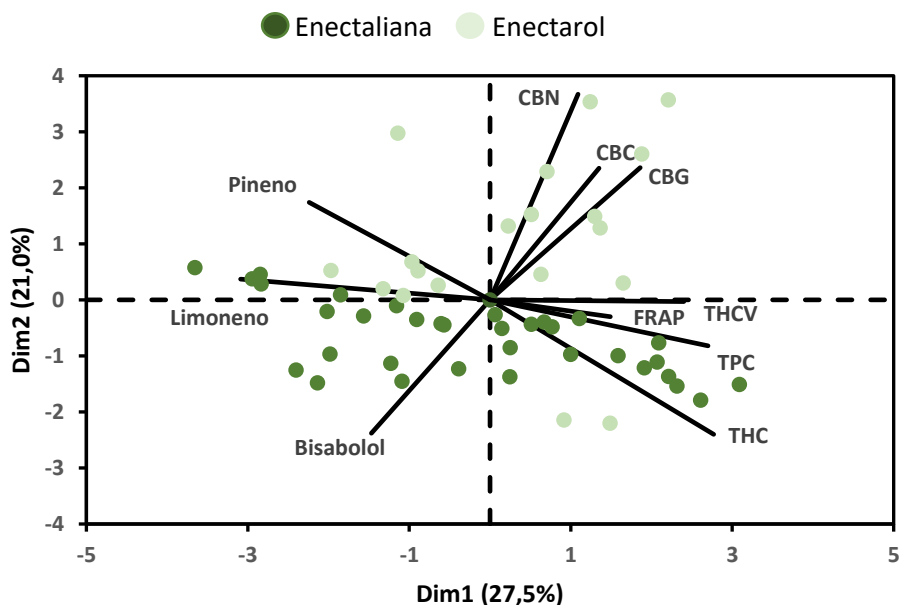


Figura 15: ACP. Representación de las variables y las muestras en las coordenadas Dim2 vs Dim1. Muestras de la variedad Enectaliana y Enectarol

Las muestras de la variedad Enectaliana se concentran en la zona inferior del gráfico, principalmente en el III y IV cuadrante (lado positivo o valores negativos bajos del segundo componente principal), mientras que las de la variedad Enectarol se localizan en la parte positiva del eje Dim2 (cuadrantes I y II). Por lo tanto, mediante el ACP se puede concluir que el porcentaje de varianza explicada por el segundo componente principal fue 21,0% entre ambos grupos de muestras y que este componente permite diferenciar claramente entre la mayoría de las muestras de la variedad Enectaliana y Enectarol. Si bien la contribución de diferentes variables a este componente es alta, destacan las variables contenido en CBN, CBG y CBC (valores positivos) y contenido en bisabolol y THC (valores negativos). Por tanto, las muestras de la variedad Enectaliana tendrán valores bajos en contenido en CBN, CBG y CBC y elevados en

contenido en bisabolol y THC. Del mismo modo, las muestras de la variedad Enectarol presentarán valores altos en CBN, CBG y CBC y bajos en bisabolol y THC.

Las muestras recolectadas durante las tres primeras semanas de floración se concentran en la zona izquierda del gráfico, principalmente en el II y III cuadrante (lado negativo o valores negativos bajos del primer componente principal), mientras que las muestras recolectadas durante las tres últimas semanas de floración se localizan en la parte positiva del eje Dim1 (cuadrantes I y IV). Por lo tanto, mediante el ACP se puede concluir que el mayor porcentaje de varianza explicada entre ambos grupos de muestras (27,5 %) corresponde al primer componente principal (Dim1), y que este componente permite diferenciar claramente entre la mayoría de las muestras de cáñamo recolectadas durante las tres primeras semanas de floración y las tres últimas. Si bien la contribución de diferentes variables a este componente es alta, destacan las variables TPC, THC y THCV (valores positivos) y contenido en limoneno (valores negativos). Por tanto, las muestras recolectadas durante las primeras semanas de floración tendrán valores bajos en TPC, THC y THCV y elevados en contenido en limoneno. Del mismo modo, las muestras recolectadas durante las tres últimas semanas de floración presentarán valores altos en TPC, THC y THCV y bajos en limoneno.

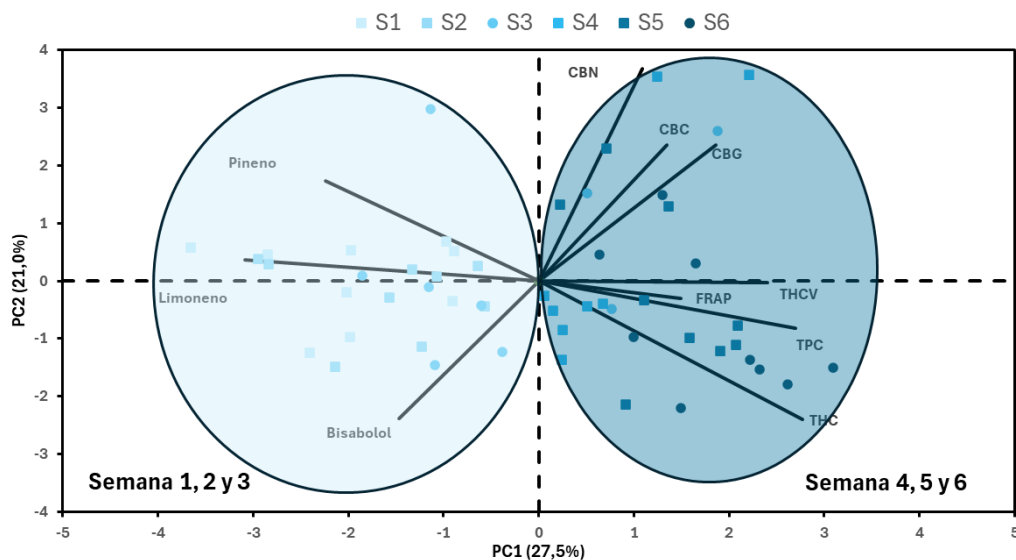


Figura 16: Representación de las variables y las muestras en las coordenadas Dim2 vs Dim1. Muestras de cáñamo a distintos tiempos de floración.

5.3. Estudio comparativo de las características físico-químicas de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra y las de cultivo hidropónico

Situación actual del cultivo de cáñamo en España

El cáñamo es el término que comúnmente se usa para referirse al tipo de cannabis con un bajo contenido en THC (tetrahidrocannabinol), el componente psicoactivo que lo convierte en marihuana. A lo largo de la historia se ha cultivado principalmente con fines industriales (obtención de fibra, grano o semillas). La superficie dedicada al cultivo del cáñamo en España se

ha multiplicado por ocho en los últimos cinco años, pasando de 61 a 510 hectáreas, según los datos de 2020 del Fondo Español de Garantía Agraria (FEGA), impulsada como una oportunidad de negocio por agricultores y asociaciones cannábicas. En relación al cultivo de cáñamo en Mallorca, a principios del siglo XX existía una industria muy potente, esta materia prima se utilizaba en el sector textil y fue un gran motor para la economía de la Isla.

Recientemente, el 21 de mayo de 2024, La secretaria de Estado de Agricultura y Alimentación, Begoña García, ha reflejado el compromiso del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) con el cultivo del cáñamo en España, durante su intervención en la presentación del Clúster del Cáñamo Industrial que se ha celebrado hoy en Madrid. La secretaria de Estado ha destacado que este tipo de cultivo “se presenta como una interesante alternativa, porque se adapta perfectamente a las condiciones agroclimáticas de nuestro país, y por sus positivas implicaciones medioambientales”. Entre éstas, ha señalado que previene la erosión del suelo y posee un rápido crecimiento y un ciclo productivo corto que reducen la competencia con malas hierbas. Igualmente, su alta tolerancia a plagas y enfermedades favorece que se reduzca el uso de productos fitosanitarios.

El cannabis (*Cannabis sativa* L.) es utilizado por la humanidad desde hace miles de años para uso medicinal (ElSohly & Slade, 2005). En los últimos años, su cultivo y la demanda de productos de cannabis de calidad médica está aumentando de forma considerable (Decorte & Potter, 2015). Los efectos terapéuticos del cannabis se derivan de sus componentes químicos, que abarcan cientos de metabolitos secundarios biológicamente activos, incluidos los terpenoides, los flavonoides y, en particular, los cannabinoides específicos del cannabis (Russo, 2011; Shapira et al., 2019).

Análisis edafoclimáticos del cultivo de cáñamo

Con el objetivo de evaluar el efecto del cultivo de cáñamo en tierra o mediante cultivo hidropónico es importante describir las condiciones agroclimáticas en las que se ha realizado el cultivo del cáñamo en este estudio en Mallorca.

Para poder describir las características del suelo y el efecto del cultivo sobre el mismo después de la cosecha se ha realizado el análisis edáfico antes y después del cultivo del cáñamo. En la tabla 9 se presentan los resultados del análisis del suelo antes del cultivo del cáñamo en los diferentes sectores y en la tabla 10 el mismo análisis al finalizar la cosecha. Estos análisis se han realizado en laboratorios externos.

Los tres sectores de suelo utilizados para el cultivo del cáñamo presentaron inicialmente características similares. Respecto a la textura, los porcentajes de arcilla, limo y arena permiten clasificar el suelo como franco-arcilloso. En todos los casos el contenido en humedad fue superior al 5%. La determinación del pH es importante porque permite conocer las características del suelo, los intervalos más frecuentes en los suelos agrícolas se sitúan entre 6,0 y 8,4. Los suelos muy ácidos presentan en muchos casos concentraciones altas de elementos que pueden provocar fitotoxicidad. Por otro lado, en suelos muy básicos o alcalinos se reduce la solubilidad de ciertos micronutrientes. El suelo de la finca en estudio presentó una pH de $8,1 \pm 0,1$, considerado medianamente básico.

Tabla 9. Resultados edáficos (2023) al inicio del estudio, de los tres sectores de cultivo de la finca de Consell de la Cooperativa NOMA. Fuente: datos de Eurofins agroambiental S.L.

PARÁMETRO	SECTOR 1	SECTOR 2	SECTOR 3	INTERPRETACIÓN
Arcilla (%)	37,4	31,3	27,1	
Limos (%)	34,4	36,4	40,7	
Arena (%)	28,2	32,3	32,2	
Textura - usada bouyoucos	Franco-arcillosa	Franco-arcillosa	Franco-arcillosa	
Humedad (%)	>5	>5	>5	
pH	8,2	8,1	8,2	Medianamente básico
Conductividad eléctrica (dS/m, 25 °C)	0,29	0,33	0,33	No limitante
Materia orgánica W&B (% s.m.s)	2,68	3,40	4,17	Medio-Alto-Muy Alto
Carbonato cálcico equivalente (% s.m.s.)	33,18	30,07	25,06	Muy calcáreo-calcáreo
Caliza activa (% s.m.s.)	7	6	5	Medio, colosante-bajo poco colosante
Nitrógeno total (% s.m.s)	0,22	0,29	0,33	
Fósforo (mg/kg s.m.s.)	19,4	45,4	63,7	Normal/Muy Alto
Potasio (mg/kg s.m.s.)	515	708	966	Muy alto
Calcio (mg/kg s.m.s.)	7426	6883	7024	Alto
Magnesio (mg/kg s.m.s.)	215	272	320	Normal-Alto
Sodio (mg/kg s.m.s.)	81	109	113	Normal-Alto
Capacidad de intercambio catiónico (mEq/100 g ss)	15	16,3	17,3	Correcta

La materia orgánica tiene un papel relevante en la física, la química y la biología del suelo. Niveles muy bajos de materia orgánica, en un horizonte superficial, indican algún tipo de factor limitante. En los tres sectores cultivados el contenido en materia orgánica estuvo comprendido entre 2,68% y 4,17%, considerado entre medio y muy alto dicho contenido.

La medición de la conductividad eléctrica es un indicador de la cantidad de sales solubles presentes en la solución del suelo. Dicho análisis se complementa con la determinación del contenido en los minerales individuales. Se considera un suelo muy calcáreo debido al elevado contenido en carbonato cálcico. El suelo presenta un alto contenido en fósforo, potasio y calcio, mientras que el contenido en magnesio y sodio se considera normal/alto.

Tabla 10. Resultados edáficos (2023) al final del estudio, de los tres sectores de cultivo de la finca de Consell de la Cooperativa NOMA. Fuente: datos de Eurofins agroambiental S.L.

PARÁMETRO	SECTOR 1	SECTOR 2	SECTOR 3	INTERPRETACIÓN
Arcilla (%)	41,1	35,2	27,1	
Limos (%)	33,6	31,6	40,7	
Arena (%)	25,3	33,2	32,2	
Textura - usda bouyoucos	Arcillosa	Franco-arcillosa	Franco-arcillosa	
Humedad (%)	>5	>5	>5	
pH	8,1	8,2	8,2	Medianamente básico
Conductividad eléctrica (dS/m, 25 °C)	0,35	0,35	0,28	No limitante
Materia orgánica W&B (% s.m.s)	1,76	3,07	2,77	Medio-bajo/Alto/Medio-alto
Carbonato cálcico equivalente (% s.m.s.)	33,85	31,2	28,26	Muy calcáreo
Caliza activa (% s.m.s.)	7	8	6	Medio, ligero colosante
Nitrógeno total (% s.m.s)	0,16	0,26	0,23	
Fósforo (mg/kg s.m.s.)	8,99	24,1	20,6	Bajo
Potasio (mg/kg s.m.s.)	519	>700	>700	Muy alto
Calcio (mg/kg s.m.s.)	7209	6838	6947	Alto
Magnesio (mg/kg s.m.s.)	203	251	258	Normal
Sodio (mg/kg s.m.s.)	151	130	111	Normal-Alto
Capacidad de intercambio catiónico (mEq/100 g ss)	16,4	15,9	16,8	Correcta

Después de la cosecha, el suelo ha presentado pérdida de materia orgánica y de algunos minerales, principalmente de fósforo y magnesio. Mientras que los demás parámetros analizados presentaron valores similares clasificándose como un suelo de textura arcillosa/franco arcillosa y muy calcáreo.

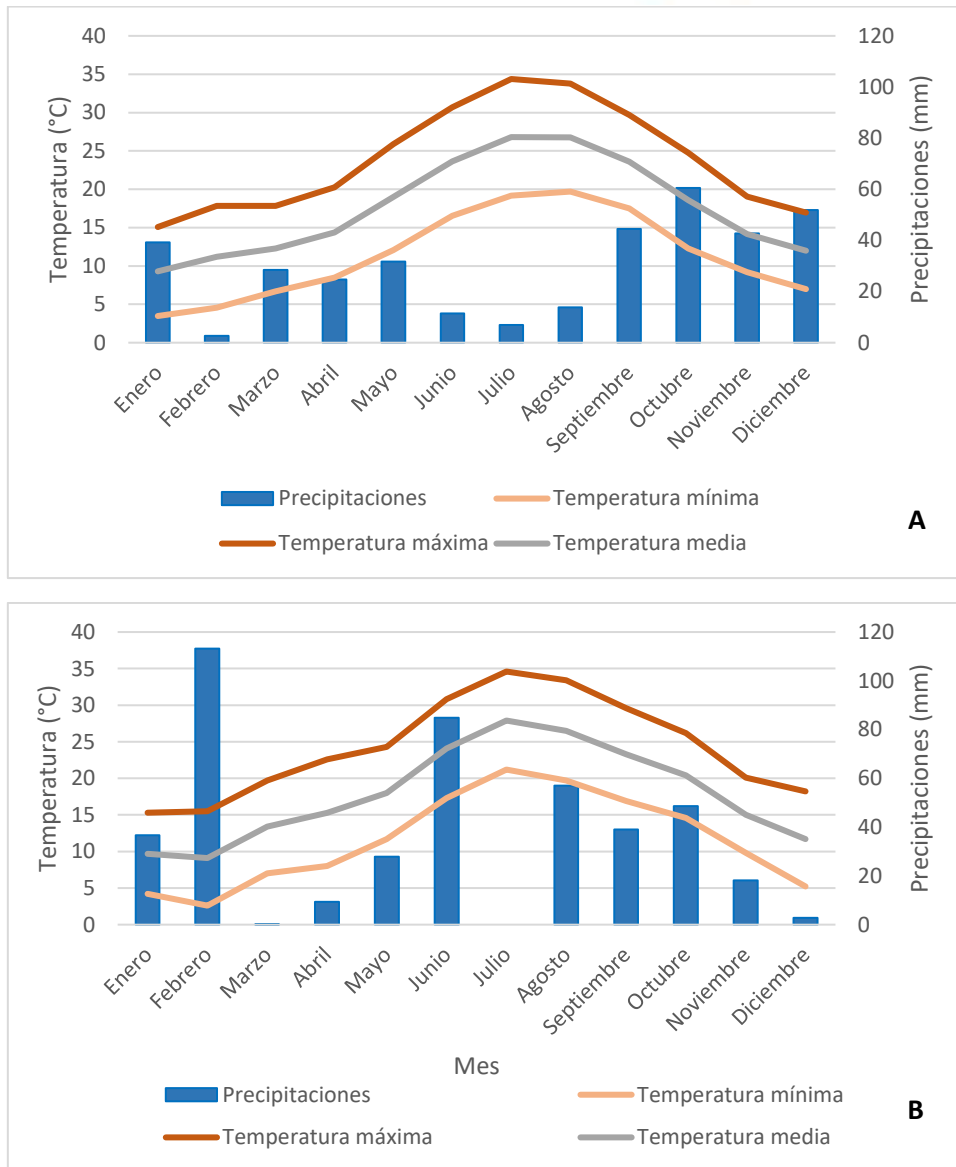


Figura 17: Climograma elaborado con los datos de la estación meteorológica de Binnisalem. A) Datos de los años 2019, 2000, 2021 y 2022. B) Datos del año 2023.

En la figura 26A se presenta el climograma elaborado con los datos de los 4 últimos años antes del estudio. La temperatura media anual varió desde los 9,3 °C a los 26,8 °C. Se observa la temperatura máxima de 34,4 °C en julio y la mínima es de 3,7 °C en enero. Las precipitaciones medias mensuales oscilaron entre 3 mm en febrero y 61 mm en octubre. No se produjeron variaciones en lo que respecta a las temperaturas registradas.

Los datos climáticos del año del estudio se presentan en la figura 26B, se ha decidido presentar de manera independiente debido a que ha sido un año anómalo y que permiten justificar los resultados obtenidos. Se puede observar que fue un año lluvioso con precipitaciones extremas en los meses de febrero con 113 mm y en junio con 85 mm y una gran tormenta que destruyó



parte del cultivo. La temperatura media anual en el año 2023 varió desde 9,7 °C a los 27,9 °C en los meses de enero y julio respectivamente.

Para visualizar mejor los resultados y evaluar si existen diferencias significativas entre las muestras de cáñamo cultivadas en tierra y las cultivadas en hidropónico, los resultados se presentan con diagramas de columnas, agrupadas por los parámetros de THC, CBD y CBG (Figura 27). Cabe destacar que, en este caso, al solo tener resultados de la variedad Enectaliana del cultivo hidropónico solo serán comparados los resultados de esta variedad. Como los datos suministrados corresponden a la muestra correspondiente al punto final, es decir punto de cosecha, para el estudio comparativo se han empleado el conjunto de datos correspondiente a la variedad Enectaliana cultivada en Mallorca, de los tres sectores de cultivo y de las tres últimas semanas.

Como puede observarse en la Figura 27 las muestras cultivadas en tierra tienen un menor contenido en CBD y CBG (32 y 70%, respectivamente) que las muestras de cultivo hidropónico, sin embargo, no se encuentran diferencias significativas entre los dos tipos de cultivo en el contenido de THC.

Los sistemas hidropónicos generalmente producen una mayor biomasa y permiten un mejor control sobre la entrega de nutrientes (Yep et al., 2020; Malik et al., 2023). Sin embargo, requieren una mayor inversión inicial y consumo de energía en comparación con los métodos convencionales basados en suelo (Pomoni et al., 2023). Los sistemas hidropónicos de recirculación demuestran una mayor eficiencia en el uso de agua y nutrientes, aunque con tiempos de cultivo más largos (Malik et al., 2023). Ambos métodos afectan de manera diferente la fisiología de la planta, el rendimiento y los perfiles de cannabinoides, con los sistemas hidropónicos produciendo a veces mayores concentraciones de ciertos cannabinoides y terpenos (Yep et al., 2020). Yep et al. (2020) encontraron que el contenido en CBD y THC fue más elevado en las plantas de cultivo hidropónico que en las cultivadas en tierra.

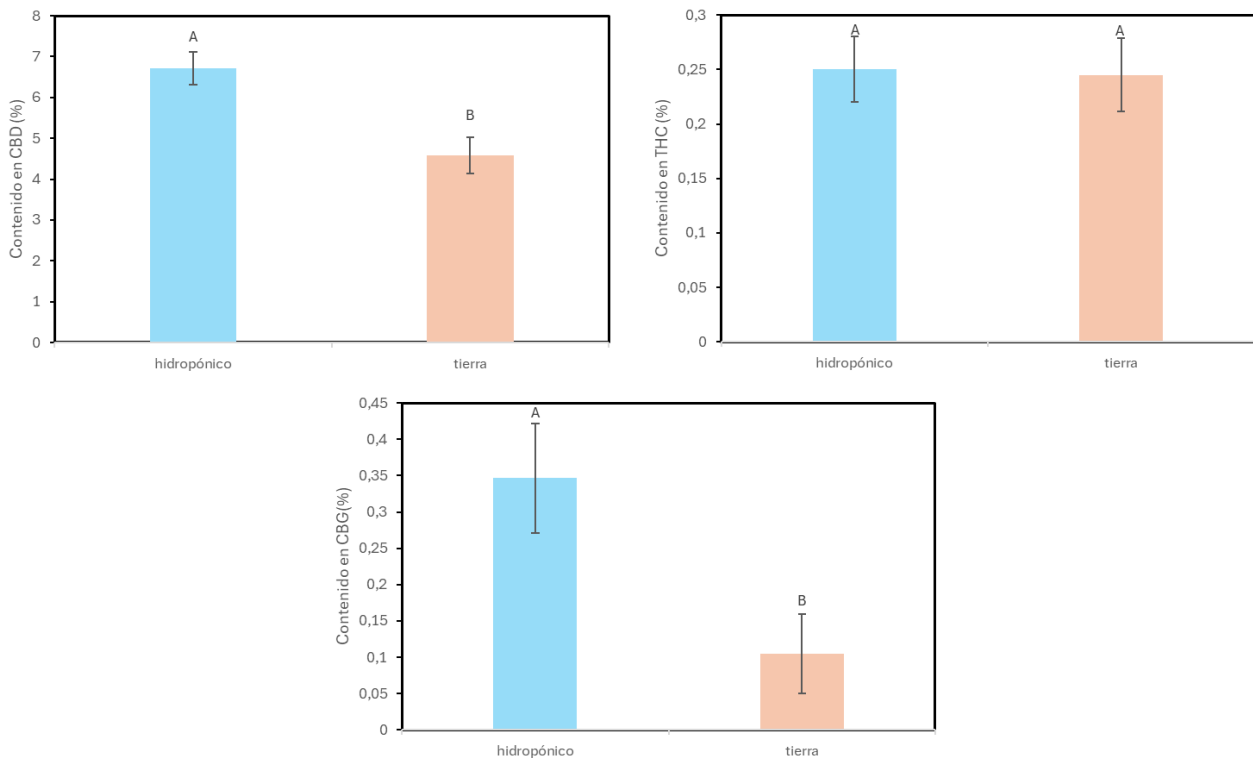


Figura 18: Contenido en CBD (a), THC (b) y CBG (c) de las muestras de cáñamo cultivadas en tierra y en cultivo hidropónico

La elección entre cultivo hidropónico y en tierra implica compensaciones entre eficiencia de recursos, impacto ambiental y calidad del producto, subrayando la necesidad de más investigación para optimizar los métodos de producción del cáñamo. Así como también, evaluar como afecta el cultivo hidropónico a la capacidad antioxidante y producción de terpenos.

6. Conclusiones

En el presente estudio se ha evaluado el impacto de diversas variables en el contenido de compuestos antioxidantes, terpenos y cannabinoides en muestras de cáñamo. A partir de los resultados obtenidos, se pueden extraer varias conclusiones que aportan valor al estudio:

Influencia de la Variedad:

- La variedad Enectarol presentó un mayor contenido en polifenoles totales (21%) en comparación con Enectaliana, lo cual destaca la influencia de la genética en la concentración de estos compuestos polifenólicos.
- Entre todos los terpenos cuantificados solo el contenido en β -cariofileno se vio afectado por la variedad.
- La variedad de cáñamo tuvo un impacto significativo en la concentración de todos los cannabinoides estudiados, exceptuando el THCV. La variedad Enectarol mostró un contenido significativamente mayor de CBG, mientras que la Enectaliana fue rica en CBD. Ambas tuvieron un contenido en THC inferior al límite marcado por la normativa.



Influencia del Tiempo de Floración:

- Se observó que el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante aumentaron progresivamente con el tiempo de floración. La sexta semana de floración mostró la mayor actividad antioxidante (334 y 316%) tanto en el método ABTS como en el FRAP.
- El tiempo de floración influyó significativamente en los niveles de α -pineno, mirceno, limoneno y β -cariofileno, con variaciones notables a lo largo del período de estudio.
- Todos los cannabinoides analizados mostraron una variación significativa con el tiempo de floración. El contenido máximo de CBD y CBG se alcanzó en la sexta semana de floración y el contenido en THC no superó el límite máximo indicado en la normativa, sugiriendo que este es el período óptimo para la recolección de estos compuestos.

Influencia del Uso de Abono:

- Las plantas sin abonar presentaron una mayor actividad antioxidante (16%) con respecto a las plantas abonadas.
- El bisabolol fue el único terpeno que mostró dependencia significativa respecto al uso de abono.
- No se observaron diferencias significativas en el contenido de cannabinoides debido al uso de abono, lo que sugiere que este factor no es determinante para la concentración de estos compuestos en las variedades estudiadas.

Influencia de la densidad de plantación:

- La densidad de plantación no mostró una influencia significativa en el contenido compuestos antioxidantes.
- Excepto el mirceno, todos los terpenos analizados fueron significativamente afectados por el sector de plantación, observando un mayor contenido en terpenos en las plantas del sector una menor densidad de plantación.
- La densidad de plantación no tuvo un impacto significativo en la concentración de cannabinoides.

Efecto del tipo de cultivo sobre el contenido en cannabinoides

- Las condiciones controladas del cultivo hidropónico influyen en la producción de cannabinoides. Sin embargo, es necesario realizar nuevos estudios que permitan evaluar el impacto económico y medioambiental.

7. Análisis de sostenibilidad económica y medioambiental de los resultados

El análisis de sostenibilidad económica y medioambiental del proyecto de investigación enfocado en las diferentes condiciones de cultivo en tierra aborda varios aspectos cruciales. Estos aspectos incluyen la viabilidad financiera, el uso de recursos y el impacto ecológico de las prácticas agrícolas implementadas.



- Sostenibilidad Económica

Costos de Implementación y Operación:

- Preparación del Terreno: Los costos iniciales incluyen la preparación del suelo, que puede variar dependiendo de la calidad inicial del terreno. Esto abarca la labranza, nivelación y enmiendas necesarias para optimizar las condiciones de cultivo.
- Densidad de Plantación: La elección de una densidad de plantación adecuada es crucial. Densidades más altas pueden aumentar el rendimiento por unidad de superficie, pero también pueden incrementar los costos de manejo debido a la necesidad de un mayor control de plagas y enfermedades, así como de una mayor cantidad de insumos.
- Aplicación de Abono: El tipo y la cantidad de abono aplicado tienen un impacto significativo en los costos. La utilización de abonos orgánicos puede ser más costosa que los sintéticos, pero puede mejorar la sostenibilidad a largo plazo del suelo.

Rendimiento y Rentabilidad:

- Variedad de Cáñamo: Las diferentes variedades de cáñamo presentan variaciones en los rendimientos de biomasa y contenido de cannabinoides, compuestos antioxidantes y terpenos. Elegir variedades con alto rendimiento y contenido de compuestos deseados puede mejorar la rentabilidad.
- Impacto del Abono y Densidad: Las combinaciones óptimas de abono y densidad de plantación pueden maximizar tanto el rendimiento como la calidad del producto final, aumentando los ingresos potenciales.

Costos de Mano de Obra y Mantenimiento:

Las prácticas agrícolas en cultivos densos pueden requerir más mano de obra para el control de plagas, enfermedades y malezas, así como para la cosecha. Sin embargo, una correcta planificación y mecanización pueden mitigar estos costos.

- Sostenibilidad Medioambiental

Uso de Recursos:

- Agua: La eficiencia en el uso del agua es un factor crítico. Las prácticas de riego deben ser optimizadas para minimizar el consumo sin comprometer el crecimiento de las plantas. La implementación de sistemas de riego por goteo puede mejorar la eficiencia hídrica.
- Nutrientes: El manejo adecuado de fertilizantes es esencial para evitar la contaminación del suelo y de las fuentes de agua cercanas. La aplicación de abonos orgánicos puede mejorar la salud del suelo a largo plazo, pero debe ser equilibrada para no causar lixiviación excesiva.

Impacto en el Suelo:

- Erosión y Compactación: La densidad de plantación y las prácticas de manejo del suelo deben ser cuidadosamente gestionadas para prevenir la erosión y la compactación, que pueden degradar la calidad del suelo a largo plazo.



- Biodiversidad del Suelo: El uso de abonos orgánicos y la rotación de cultivos pueden fomentar una mayor biodiversidad en el suelo, mejorando su estructura y fertilidad.

Control de Plagas y Enfermedades:

- Métodos Naturales: La implementación de controles biológicos y la promoción de biodiversidad pueden reducir la dependencia de pesticidas químicos, disminuyendo el impacto ambiental.
- Prácticas Integradas: Un manejo integrado de plagas y enfermedades, que combine prácticas culturales, biológicas y químicas, puede ser más sostenible y efectivo a largo plazo.

Ciclo de Vida y Emisiones de Carbono:

- Secuestro de Carbono: El cáñamo es una planta que puede contribuir al secuestro de carbono durante su crecimiento. Sin embargo, las prácticas agrícolas deben estar diseñadas para maximizar este beneficio y minimizar las emisiones relacionadas con el uso de maquinaria y la producción de fertilizantes.

En conclusión, el análisis de sostenibilidad económica y medioambiental del cultivo de cáñamo en tierra revela que las prácticas de manejo adecuadas pueden mejorar significativamente la rentabilidad y reducir el impacto ambiental. La elección de variedades, la densidad de plantación y el uso de abonos orgánicos juegan roles cruciales en la optimización de los resultados. Una gestión integral y consciente de los recursos es esencial para lograr una producción sostenible y rentable de cáñamo

8. Costos y beneficios

En la tabla 8.1. se presenta un desglose del presupuesto del proyecto. Los costos del proyecto fueron los siguientes teniendo en cuenta que las muestras de cáñamo analizadas fueron proporcionadas por las empresas colaboradoras.

Tabla 8.1. Presupuesto del proyecto

PERSONAL	Salario y la cuota de la Seguridad Social del personal investigador de plantilla de la UIB y personal contratado	11.137,19€
MATERIAL FUNGIBLE	<ul style="list-style-type: none"> • Pequeño material de laboratorio y material de vidrio (adquisición reposición) • Reactivos químicos incluidos disolventes, patrones, etc. • Semillas certificadas 	6.610,72 €
OTROS GASTOS	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis de suelo • Kilometraje recogida de muestras 	389,28€
TOTAL		18.137,19 €

Los beneficios de este proyecto fue dotar al sector productivo local de unos protocolos de manejo y selección de variedades que permiten mejorar la producción de cáñamo para uso

medicinal, así como, proporcionar a las empresas colaboradoras una mayor información sobre el contenido en compuestos bioactivos de su materia prima.

9. Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo financiero del Fons de Garantia Agrària i Pesquera de les Illes Balears (FOGAIBA) y a la Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació de la CAIB (proyecto BIA6/21). Así como también, el apoyo y colaboración de diferentes instituciones investigadoras de prestigio, tanto de carácter internacional como nacional, así como de empresas y cooperativas del entorno balear.

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Universidad Nacional de Córdoba



INSTITUTO DE
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS CÓRDOBA

Grupo de Investigación de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios

Universitat Politècnica De València



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Empresa portuguesa

Empresa tecnológica relacionados con el
cannabis medicinal y el cáñamo industrial



HOKU IDEAS S.L.

Empresa tecnológica relacionados con el
cannabis medicinal y el cáñamo industrial

HOKŪ

NOMA microcooperativa de cáñamo de las Islas
Balears



Cooperatives Agràries de Balears



10. Diseminación de los resultados

Los resultados del proyecto han sido recogidos en una memoria que se encuentra publicada en la web <http://engalim.uib.es/>.

11. Bibliografía

- Aizpurua-Olaizola, O., Soydaner, U., Öztürk, E., Schibano, D., Simsir, Y., Navarro, P., Etxebarria, N., & Usobiaga, A. (2016). Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of Cannabis sativa Plants from Different Chemotypes. *Journal of Natural Products*, 79(2), 324–331. https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.5B00949/ASSET/IMAGES/LARGE/NP-2015-009494_0007.JPEG
- André, A., Leupin, M., Kneubühl, M., Pedan, V., & Chetschik, I. (2020). Evolution of the Polyphenol and Terpene Content, Antioxidant Activity and Plant Morphology of Eight Different Fiber-Type Cultivars of Cannabis sativa L. Cultivated at Three Sowing Densities. *Plants 2020, Vol. 9, Page 1740, 9(12)*, 1740. <https://doi.org/10.3390/PLANTS9121740>
- Andre, C. M., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(FEB2016). <https://doi.org/10.3389/FPLS.2016.00019>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Brkljača, N., Đurović, S., Milošević, S., Gašić, U., Panković, D., Zeković, Z., & Pavlić, B. (2023). Sequential extraction approach for sustainable recovery of various hemp (Cannabis sativa L.) bioactive compounds. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 35, 101213. <https://doi.org/10.1016/J.SCP.2023.101213>
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. (2000). *Reglamento (CE) No 1177/2000 de la comisión de 31 de mayo de 2000*. 1999–2001.
- Dowling, C. A., Melzer, R., & Schilling, S. (2021). Timing is Everything: the Genetics of Flowering Time in Cannabis Sativa. *Biochemist*, 43(3), 34–38. https://doi.org/10.1042/BIO_2021_138
- Eim, V. S., Urrea, D., Rosselló, C., García-Pérez, J. V., Femenia, A., & Simal, S. (2013). Optimization of the Drying Process of Carrot (Daucus carota v. Nantes) on the Basis of Quality Criteria. *Drying Technology*, 31, 951–962. <https://doi.org/10.1080/07373937.2012.707162>
- Fischedick J, E. S. (2015). Cannabinoids and Terpenes as Chemotaxonomic Markers in Cannabis. *Natural Products Chemistry & Research*, 03(04). <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000181>
- Giese, M. W., Lewis, M. A., Giese, L., & Smith, K. M. (2015). Method for the Analysis of Cannabinoids and Terpenes in Cannabis. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 98(6), 1503–1522. <https://doi.org/10.5740/JAOACINT.15-116>



- Glivar, T., Eržen, J., Kreft, S., Zagožen, M., Čerenak, A., Čeh, B., & Tavčar Benković, E. (2020). Cannabinoid content in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties grown in Slovenia. *Industrial Crops and Products*, *145*, 112082. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2019.112082>
- González-Centeno, M. R., Jourdes, M., Femenia, A., Simal, S., Rosselló, C., & Teissedre, P.-L. (2012). Proanthocyanidin Composition and Antioxidant Potential of the Stem Winemaking Byproducts from 10 Different Grape Varieties (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 11850–11858. <https://doi.org/10.1021/jf303047k>
- Happyana, N., & Kayser, O. (2016). Monitoring Metabolite Profiles of *Cannabis sativa* L. Trichomes during Flowering Period Using 1H NMR-Based Metabolomics and Real-Time PCR. *Planta Medica*, *82*(13), 1217–1223. <https://doi.org/10.1055/S-0042-108058>
- Ibrahim, E. A., Wang, M., Radwan, M. M., Wanas, A. S., Majumdar, C. G., Avula, B., Wang, Y. H., Khan, I. A., Chandra, S., Lata, H., Hadad, G. M., Abdel Salam, R. A., Ibrahim, A. K., Ahmed, S. A., & Elsohly, M. A. (2019). Analysis of Terpenes in *Cannabis sativa* L. Using GC/MS: Method Development, Validation, and Application. *Planta Medica*, *85*(5), 431–438. <https://doi.org/10.1055/A-0828-8387>
- Jalloul, A. ben, Char, H., Tounsi, M. S., & Abderrabba, M. (2022). Variations in phenolic composition and antioxidant activities of *Scabiosa maritima* (*Scabiosa atropurpurea* sub. *maritima* L.) crude extracts and fractions according to growth stage and plant part. *South African Journal of Botany*, *146*, 703–714. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2021.12.004>
- Kitrytė, V., Bagdonaitė, D., & Rimantas Venskutonis, P. (2018). Biorefining of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) threshing residues into cannabinoid and antioxidant fractions by supercritical carbon dioxide, pressurized liquid and enzyme-assisted extractions. *Food Chemistry*, *267*, 420–429. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.09.080>
- Lu, Y. H., Huang, J. H., Li, Y. C., Ma, T. T., Sang, P., Wang, W. J., & Gao, C. Y. (2015). Variation in nutritional compositions, antioxidant activity and microstructure of *Lycopus lucidus* Turcz. root at different harvest times. *Food Chemistry*, *183*, 91–100. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.03.033>
- Mudge, E. M., Murch, S. J., & Brown, P. N. (2018). Chemometric Analysis of Cannabinoids: Chemotaxonomy and Domestication Syndrome. *Scientific Reports*, *8*(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-018-31120-2>
- Ostadi, A., Javanmard, A., Amani Machiani, M., Morshedloo, M. R., Nouraein, M., Rasouli, F., & Maggi, F. (2020). Effect of different fertilizer sources and harvesting time on the growth characteristics, nutrient uptakes, essential oil productivity and composition of *Mentha x piperita* L. *Industrial Crops and Products*, *148*, 112290. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112290>
- Park, S. H., Pauli, C. S., Gostin, E. L., Staples, S. K., Seifried, D., Kinney, C., & Vanden Heuvel, B. D. (2022). Effects of short-term environmental stresses on the onset of cannabinoid



- production in young immature flowers of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Journal of Cannabis Research*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/S42238-021-00111-Y>
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2812–2819.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay - electron-transfer reactions with organic compounds in solutions containing nitrite or nitrate. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237. <http://www.ingentaconnect.com/content/els/08915849/1999/00000026/00000009/art00315>
- Russo, E. B. (2011). Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344–1364. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>
- Sánchez-Carnerero Callado, C., Núñez-Sánchez, N., Casano, S., & Ferreiro-Vera, C. (2018). The potential of near infrared spectroscopy to estimate the content of cannabinoids in *Cannabis sativa* L.: A comparative study. *Talanta*, 190, 147–157. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2018.07.085>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158. <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>
- Trovato, E., Arena, K., La Tella, R., Rigano, F., Laganà Vinci, R., Dugo, P., Mondello, L., & Guarnaccia, P. (2023). Hemp seed-based food products as functional foods: A comprehensive characterization of secondary metabolites using liquid and gas chromatography methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 117, 105151. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2023.105151>
- Yang, R., Yang, R., Berthold, E. C., McCurdy, C. R., McCurdy, C. R., Da Silva Benevenuto, S., Brym, Z. T., & Freeman, J. H. (2020). Development of Cannabinoids in Flowers of Industrial Hemp (*Cannabis sativa* L.)-a Pilot Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(22), 6058–6064. <https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.0C01211>
- Yazici, L. (2023). Optimizing plant density for fiber and seed production in industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Journal of King Saud University - Science*, 35(1), 102419. <https://doi.org/10.1016/J.JKSUS.2022.102419>