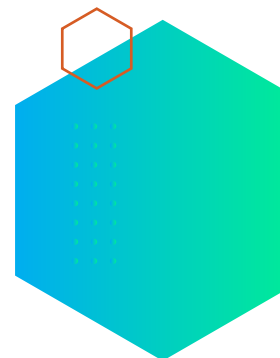
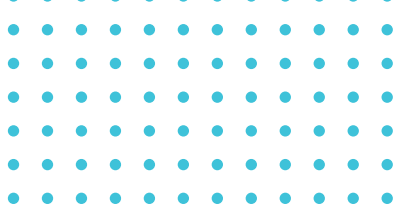
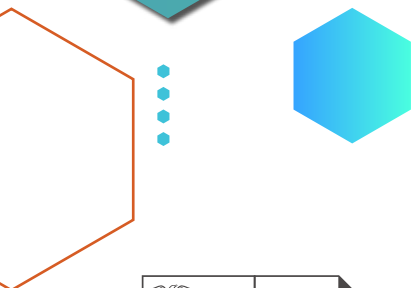
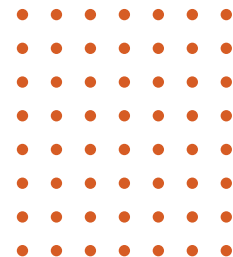
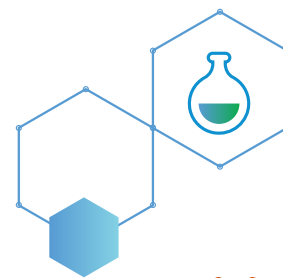




Gobierno de
Tierra del Fuego
Antártida e Islas
del Atlántico Sur



PROGRAMA **ASISTENCIA TÉCNICA** CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE CANNABIS MEDICINAL
EN EL MARCO DE LA ASISTENCIA TECNICA CENPAT- SCyT TIERRA DEL FUEGO.
CCT CONICET CENPAT
5 al 9 de Septiembre de 2022

DÍA 1

Lunes 5 de Septiembre | *Salón Península*

09.00 a 09.45 hs.

- Apertura a cargo del Director del CCT CONICET-CENPAT, Dr. Rolando Gonzalez-José.
- Introducción al Programa Interdisciplinario de Cannabis Dr. Gregorio BIGATTI - Dra. Mariana LOZADA –
- Presentación de los/as participantes.

09.45 hs.

Coffee Break

10.15 a 12.00 hs.

Dr. Tomás BOSCO - Dr. Gregorio BIGATTI – Dra. Mariana LOZADA

Recorrida del predio. Vivero, predio exterior, indoor de propagación y crecimiento vegetativo, indoor de floración.

Lic. Claudia LEAL - Lic. Rodrigo BARRERA

Laboratorios de secado y extracción, laboratorios de preparación de aceites medicinales, laboratorios de medición de cannabinoides.

12.00 a 13.00 hs.

Almuerzo

14.00 a 14.45 hs.

Dr. Gregorio BIGATTI

Generalidades cultivo de cannabis. Botánica y morfología del cannabis (sexos). Ciclo de vida, tipos de cultivares, expresión de cannabinoides. Registro INASE.

14.45 a 15.45 hs.

Dr. Tomás BOSCO

Registro INASE (estabilidad/homogeneidad). Formas de propagación (fisiología). Técnicas de clonación y resultados propios sobre técnicas de enraizamiento y mantenimiento de genéticas.

16.00 a 18.00 hs.

Dr. Gregorio BIGATTI - Dr. Tomás BOSCO

TP cultivo N°1: clonación, registro variables morfológicas de cultivares (INASE).
(4 GRUPOS DE 4 PERSONAS)

CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE CANNABIS MEDICINAL
EN EL MARCO DE LA ASISTENCIA TÉCNICA CENPAT- SCyT TIERRA DEL FUEGO.
CCT CONICET CENPAT
5 al 9 de Septiembre de 2022

DÍA 2

Martes 6 de Septiembre | *Salón Península*

09.00 a 10.00 hs.

Dr. Esteban COLMAN LERNER

Teórico Química: cannabinoides, sus transformaciones, relación con los procesos de preparación, decarboxilación.

10.00 hs.

Coffee Break

10.30 a 12.00 hs.

Dr. Esteban COLMAN LERNER

(cont.) Técnicas analíticas: sus diferencias y limitaciones, aplicaciones en cannabis.

12.00 a 13.00 hs.

Almuerzo

13.00 a 14.00 hs.

Felipe GUERRA - Pablo SANTOS

Seguimiento de clones, registro morfología para cultivares (INASE)

14.00 a 18.00 hs.

Lic. Rodrigo BARRERA - Lic. Claudia LEAL - Dra. Mariana LOZADA - Dr. Gregorio BIGATTI

Práctico química. Se dividen en grupos. Inicia la práctica GRUPO 1 inyectando en FID y MS (40 minutos).

GRUPO 2: pesado y decarboxilación de flores para preparación de aceite. Luego cambian.

GRUPO 1: práctica test de Bean para evaluar presencia de CBD en flores; demostración cromatografía en capa delgada (TLC) para flores y aceites, revelado con colorante específico de cannabinoides (Lab SPMOM)

GRUPO 2: mismas actividades en Lab 8.

CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE CANNABIS MEDICINAL
EN EL MARCO DE LA ASISTENCIA TECNICA CENPAT- SCyT TIERRA DEL FUEGO.
CCT CONICET CENPAT
5 al 9 de Septiembre de 2022

DÍA 3

Miércoles 7 de Septiembre | *Salón Península*

09.00 a 09.45 hs.

BIGATTI

Teórico práctico cultivo: crecimiento vegetativo, floración en indoor outdoor y vivero mixto. Variables ambientales para el crecimiento óptimo de cannabis. Experimentos de nutrición con productos marinos.

09.45 hs.

Coffee Break

10.15 a 11.15 hs.

BOSCO

Longitud de onda, fotoperíodo, DLI, PPF, enriquecimiento con Co2, nutrición vegetal (experimentos MM). Carencias y translocación de nutrientes. Cálculo de capacidad de campo. Buenas prácticas agrícolas (BPA)

11.15 a 12.00 hs.

BOSCO

TP cultivo N°2. Registro de variables ambientales (pH, conductividad, T°, humedad, radiación). Seguimiento de clones. 4 GRUPOS DE 4 PERSONAS.

12.00 a 13.00 hs.

Almuerzo

13.00 a 14.00 hs.

GUERRA - SANTOS

Seguimiento de clones, registro de variables ambientales (pH, conductividad, T°, humedad, radiación), registro morfológica para cultivares (INASE).

14.00 a 16.00 hs.

COLMAN LERNER

Teoría: análisis de calidad de fitopreparados (concentración de cannabinoides, diluciones, metales pesados, análisis microbiológicos, solventes residuales).

16.00 a 18.00 hs.

BARRERA - LEAL - LOZADA - BIGATTI

Práctica preparación de aceite de cannabis. 2 GRUPOS. Cada grupo realizará la extracción en frío con etanol, mientras otro grupo analiza los TLC por gelanalyzer. Luego se coloca en rotavap la primera extracción y cambian los grupos. Al finalizar el 2do grupo coloca en el mismo rotavap la extracción.

CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE CANNABIS MEDICINAL
EN EL MARCO DE LA ASISTENCIA TECNICA CENPAT- SCyT TIERRA DEL FUEGO.
CCT CONICET CENPAT
5 al 9 de Septiembre de 2022

DÍA 4

Jueves 8 de Septiembre | *Salón Península*

09.00 a 09.45 hs.

BARRERA - LEAL - LOZADA

Práctico analítica – resuspensión de la resina, envasado.

09.45 hs.

Coffee Break

10.15 a 12.00 hs.

BARRERA - LEAL - LOZADA

Práctica TLC aceites preparados el día anterior. Utilización de software densitométrico para cuantificación de cannabinoides contra estándares. Cálculo de rendimiento de fitopreparados. Diluciones y concentraciones terapéuticas. Dos GRUPOS en paralelo en Lab SPMOM y Lab 8/11.

12.00 a 13.00 hs.

Almuerzo

13.00 a 14.00 hs.

GUERRA - SANTOS

Seguimiento de clones, registro de variables ambientales (pH, conductividad, T°, humedad, radiación), registro morfología para cultivares (INASE).

14.00 a 15.15 hs.

BOSCO

Teórico: Floración, traslocación y senescencia. Conceptos de poda, arquitectura de canopeo. Fisiología de metabolitos secundarios.

15.15 a 15.45 hs.

BIGATTI

Teórico: Punto óptimo de cosecha, visualización de tricomas, pathways metabólicos cannabinoides.

16.00 a 18.00 hs.

BIGATTI - BOSCO

TP cultivo N° 3: Observación de tricomas en lupa binocular. Técnicas de poda, cosecha, postcosecha, trimming, secado, envasado y almacenamiento. 4 GRUPOS DE 4 PERSONAS



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



Gobierno de
Tierra del Fuego
Antártida e Islas
del Atlántico Sur

CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE CANNABIS MEDICINAL
EN EL MARCO DE LA ASISTENCIA TECNICA CENPAT- SCyT TIERRA DEL FUEGO.
CCT CONICET CENPAT
5 al 9 de Septiembre de 2022

DÍA 5

Viernes 9 de Septiembre | *Salón Península*

09.00 a 09.45 hs.

CÉVOLI

Charla/ debate. Articulación y vinculación tecnológica en proyectos de cannabis medicinal.

09.45 hs.

Coffee Break

10.15 a 12.00 hs.

ARAGÓN McCARTHY

Charla/ debate. Intercambio de experiencias terapéuticas (Dra. Flavia Aragón, médica generalista, diabetóloga y especialista en cannabis medicinal. Fca. Irene McCarthy, farmacéutica del Hospital Zonal Andrés Isola, Puerto Madryn)

11.15 a 12.00 hs.

BOSCO

Seguimiento de clones, medición de variables ambientales (radiómetro, termómetro, higrómetro).
Registro cultivares (INASE)

4 GRUPOS DE 4 PERSONAS

12.00 a 14.00 hs.

Almuerzo de finalización en Buffet del CENPAT

14.00 a 15.00 hs.

Examen final (Dr. Gregorio Bigatti, Dra. Mariana Lozada).

15.00 a 17.00 hs.

Cierre, debate, consultas.

CCT CONICET-CENPAT

Blvd. Brown 2915 (U9120ACD) | Puerto Madryn, Chubut - Argentina

Tel: +54 (0280) 488-3184 | <https://cenpat.conicet.gov.ar/cannabismedicinal/>



Convenio de Asistencia Técnica

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS Y EL GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE TIERRA DEL FUEGO, ANTÁRTIDA E ISLAS DEL ATLÁNTICO SUR

“Capacitación intensiva en cannabis medicinal”

Cuadernillo de apoyo bibliográfico

Septiembre de 2022



INDICE

1. Historia de los usos del cannabis
2. Química del cannabis – cannabinoides y otros compuestos activos
3. El sistema endocannabinoide en el cuerpo humano
4. Acción farmacológica y evidencias clínicas
5. Legislación y aspectos regulatorios
6. Situación actual y perspectiva respecto a la industria del cannabis
7. Botánica del cannabis
8. Fisiología del cannabis
9. Producción de Cannabis para uso medicinal en el marco de las Buenas prácticas agrícolas
10. Sistema de producción vegetal del Programa Interdisciplinario de cannabis del CENPAT
11. Procesos de obtención de derivados del cannabis
12. Aspectos de seguridad y manejo de desechos
13. Técnicas analíticas para la determinación de cannabinoides y otros compuestos activos
14. Análisis de calidad y seguridad
15. Bibliografía
16. Trabajos prácticos



1. Historia de los usos de cannabis

El nombre científico de la planta de cannabis es *Cannabis sativa* L., fue mencionada así por primera vez en el año 60 de nuestra era por Dioscórides y adoptada por Carl von Linneo en su compendio *Species Plantarum* (1753). Existen registros de su uso en numerosas culturas desde tiempos muy remotos. Fue incorporada en la primera farmacopea china, el *Pen-ts'ao Ching*, como hierba medicinal para alivio de dolores. Se han encontrado semillas en tumbas egipcias, y el papiro egipcio de Ebers (siglo XVI AC) consignaba su uso médico. En la Mesopotamia hay registro de su intercambio comercial, y en la India se la asociaba con el dios Shiva. En el siglo II de nuestra era, Plinio el Viejo recetaba semillas de cáñamo para el estreñimiento, hierba para el dolor de oídos y cataplasmas de raíz de cáñamo para aliviar los calambres articulares, la gota y las quemaduras. Galeno, el gran médico del imperio romano, añadió que la semilla de cáñamo "elimina los gases y deshidrata" y describió que los romanos «fríen y consumen estas semillas acompañadas de otros postres". Durante la Edad Media fue ampliamente utilizada como fuente de fibra en velas, sogas, etc. En el siglo XIII, Ibn al Baytar mencionó que los marinos musulmanes consumían habitualmente hachís para controlar el mareo (Pisanti and Bifulco, 2019).



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL

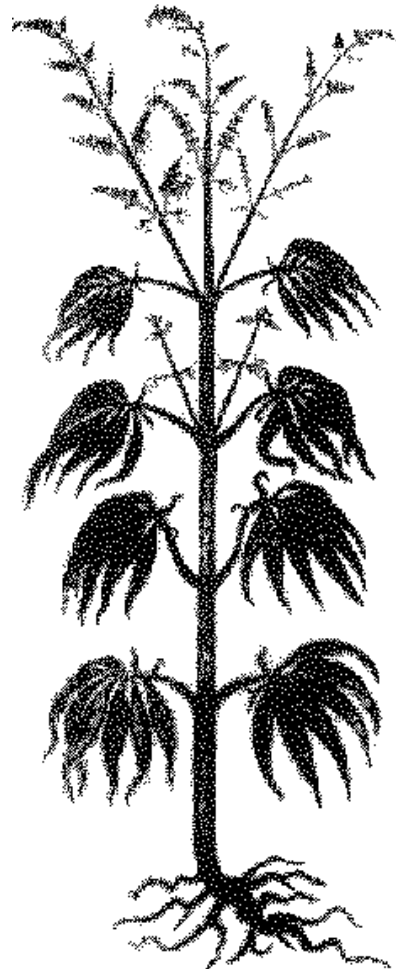
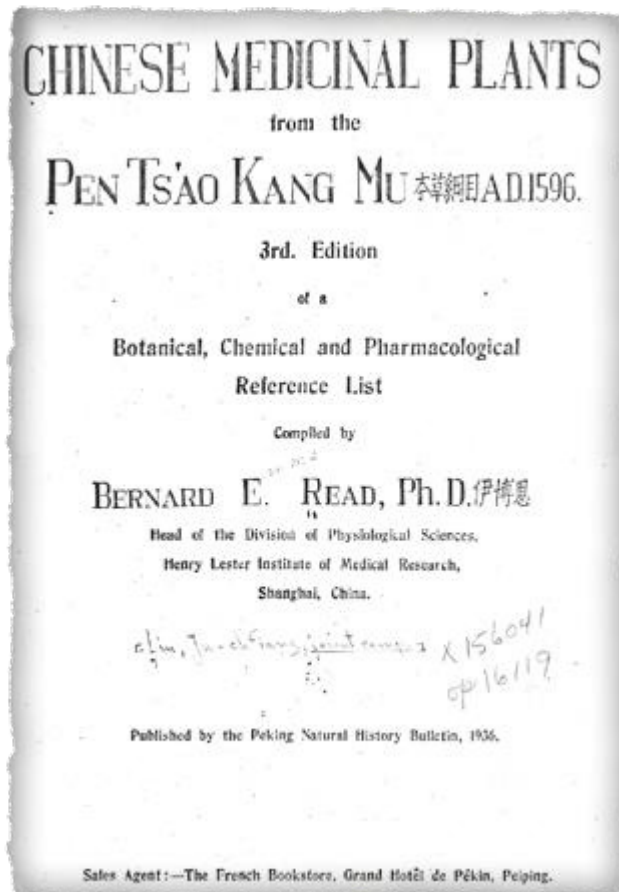


CONICET
CENPAT

Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



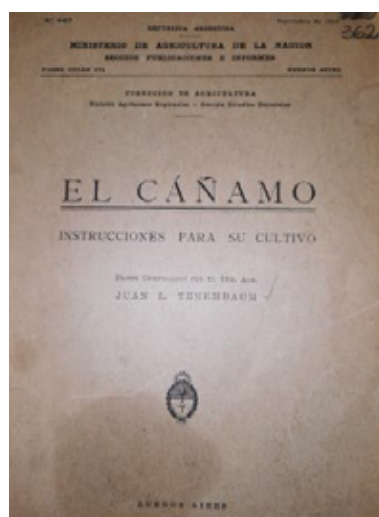
Izq. Compilación inglesa de 1936 de las plantas medicinales del libro *Chino Pen-ts'ao Ching* del siglo XVI. Der. Dibujo romano del cannabis, tomado del *Constantinopolitanus* (500 DC).

Si bien existen todos estos registros del uso milenario de cannabis como tratamiento médico y textil en numerosas culturas, es a partir del siglo XIX que contamos con documentos sobre el uso concreto de extractos crudos y tinturas de hojas, flores y raíces para diversos usos terapéuticos. En 1838, William B. O'Shaughnessy, médico irlandés residente en India, estudio del cáñamo indio en el tratamiento de



enfermedades reumáticas, tétanos, cólera y epilepsia. Su conocimiento, adquirido mediante la aplicación del método científico que combinó etnobotánica, experimentación con animales y observaciones clínicas en humanos, fue compartido rápidamente con colegas en Irlanda e Inglaterra. Esto condujo a su vez a rápidos avances en la terapéutica por parte de colegas posteriores en Irlanda e Inglaterra (Russo, 2017). Sir John Russell Reynolds, médico personal de la reina Victoria de Inglaterra, a lo largo de su extensa trayectoria de 30 años comprobó que el cannabis era útil para el tratamiento de los dolores menstruales, la dismenorrea, la migraña, las neuralgias, las convulsiones epilépticas y el insomnio senil. En 1890 hizo un análisis científico del cannabis en el que, entre otras cosas, declaraba: “Puro y administrado correctamente, es una de las medicinas más valiosas con las que contamos”.

No obstante ello, la falta de un método estandarizado para la elaboración de estos compuestos, y el aumento del interés por los analgésicos sintéticos, asociados a la prohibición del cannabis en la década de 1940, paralizaron la investigación y el desarrollo del uso medicinal del cannabis a mediados del siglo XX. En la Argentina, en el año 1935, el Ministerio de Agricultura de la Nación alentaba el cultivo del cáñamo como una importante fuente de ingresos, aportando datos de su producción masiva, rendimientos y zonas aptas para su cultivo a campo. Sin embargo, en el año 1976 durante la última dictadura militar, se prohibió el cultivo tanto de las variedades medicinales como el cáñamo en todo el territorio Argentino.



Manual de cultivo de cáñamo del Ministerio de Agricultura de la Nación (1935).



2. *Química del cannabis – cannabinoides y otros compuestos activos*

Los fitocannabinoides son compuestos terpenofenólicos que se han encontrado principalmente en *Cannabis sativa*. Sin embargo, además del cannabis, los fitocannabinoides también se han encontrado en la pimienta negra, el cacao, las trufas negras, la kava, el rododendro chino, y otras flores. Se han encontrado más de 500 compuestos distintos en los cannabis, incluidos compuestos de los grupos químicos de cannabinoides, terpenoides, flavonoides y ácidos grasos omega. Se han identificado más de 100 cannabinoides diferentes, los cuales tienen efectos a nivel del cuerpo por su interacción con el sistema endocannabinoide (Knutson, 2020a). Los cannabinoides principales de interés son: el tetrahidrocannabinol y sus variantes ácidos ($\Delta 9$ -THCA, $\Delta 9$ -THC, $\Delta 8$ -THCA, $\Delta 8$ -THC), el cannabidiol y su ácido (CBDA, CBD) el cannabinoil (CBN), el ácido cannabigerólico y cannabigerol (CBGA y CBG), ácido cannabigerovarínico (CBGVA), cannabigerovarina (CBGV), ácido cannabicroménico (CBCA), cannabicromeno (CBC), ácido tetrahidrocannabivarínico ($\Delta 9$ -THCVA), y tetrahidrocannabivarina ($\Delta 9$ -THCV).



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Fitocannabinoides principales. a Estructuras de constituyentes b Las concentraciones de constituyentes se calcularon como (p/p), presentadas como un rango c Puntos de ebullición / fusión registrados a presión atmosférica (760 mmHg) a menos que se indique lo contrario; alores obtenidos de diversas fuentes. Modificado de: Russo, Ethan B., and Franjo Grotenhermen. *The Handbook of Cannabis Therapeutics: From Bench to Bedside*. Routledge, 2014.

Structure ^a	Concentration ^b (% dry weight)	Boiling point °C ^c	Properties
<p>Δ-9-tetrahydrocannabinol (THC)</p>	0.1-25	157	Euphoriant Analgesic Antiinflammatory Antioxidant Antiemetic
<p>cannabidiol (CBD)</p>	0.1-2.89	160-180	Anxiolytic Analgesic Antipsychotic Antiinflammatory Antioxidant Antispasmodic



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

<p>cannabinol (CBN)</p>	0.0-1.6	185	Oxidation breakdown product Sedative Antibiotic
<p>cannabichromene (CBC)</p>	0.0-0.65	220	Antiinflammatory Antibiotic Antifungal
<p>cannabigerol (CBG)</p>	0.03-1.15	MP 52	Antiinflammatory Antibiotic Antifungal

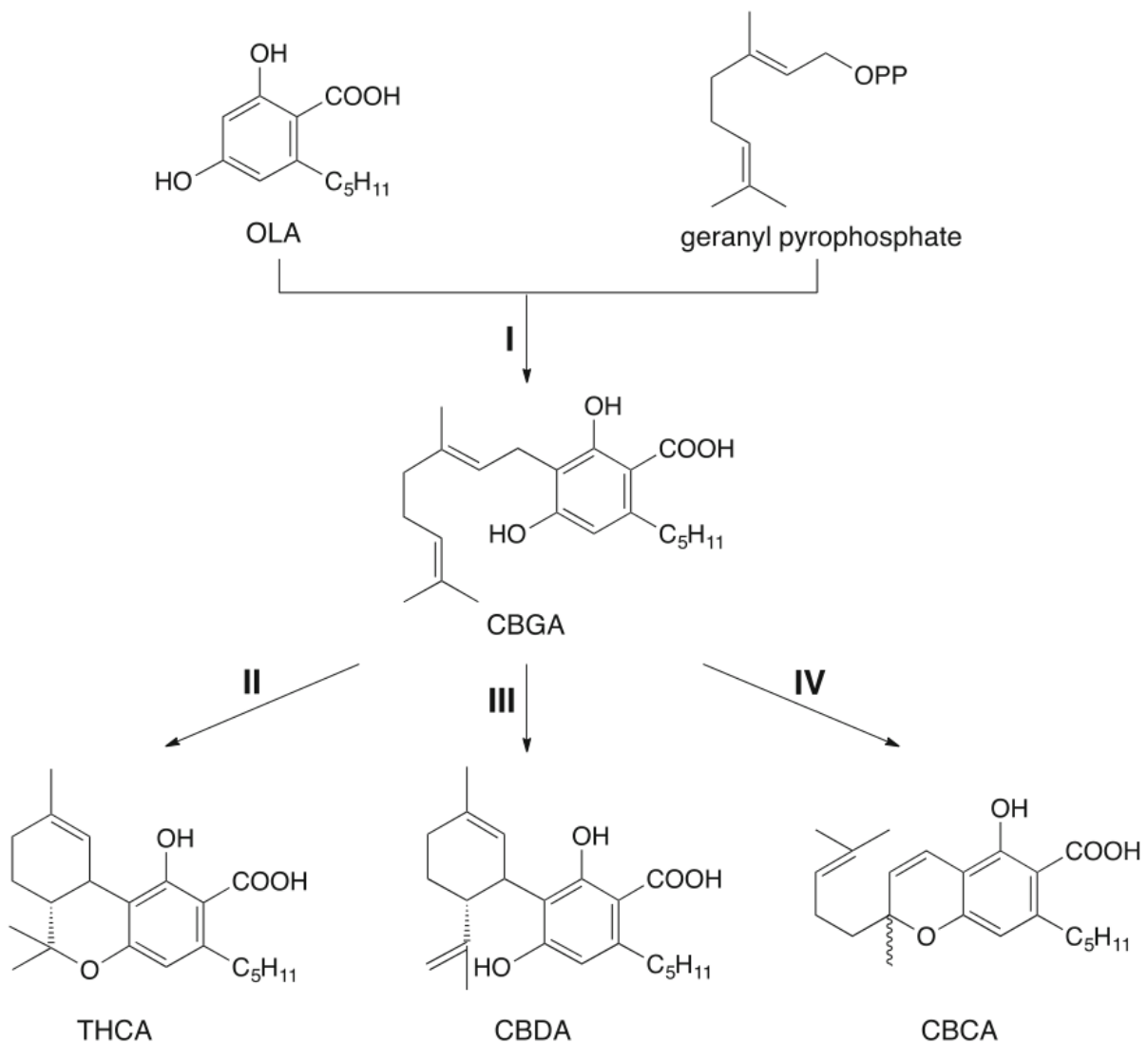
El mecanismo biosintético de estos compuestos ha sido ambiguo durante mucho tiempo, ya que los estudios biogénéticos convencionales que utilizaban precursores radiomarcados no proporcionaban resultados definitivos. Recientemente, diversos estudios enzimológicos, de biología molecular y de base ómica realizados durante las últimas dos décadas han identificado la mayoría de las enzimas y genes implicados en la ruta de los cannabinoides, abriendo el camino a la producción biotecnológica de cannabinoides farmacológicamente activos (Sirikantaramas and Taura, 2017).

Los cannabinoides vegetales se clasifican en dos tipos, cannabinoides neutros y ácidos cannabinoides, en función de si contienen un grupo carboxilo o no. En la planta, los cannabinoides se biosintetizan y acumulan como cannabinoides ácidos, y son descarboxilados no enzimáticamente en sus formas neutras durante el almacenamiento o cuando se calientan, dependiendo la temperatura de descarboxilación del compuesto en particular.

El THCA, CBDA y CBCA se biosintetizan a partir del precursor común CBGA a través de la acción de enzimas oxidoreductasas únicas que incluyen la THCA sintasa, CBDA sintasa y CBCA sintasa,



respectivamente. El CBGA por su parte, se sintetiza mediante la alquilación del ácido olivetólico (OLA) con geranyl pirofosfato a través de una nueva preniltransferasa conocida como geranyl pirofosfato:olivatolato geranyltransferasa. Es importante saber que los genes que codifican para los cannabinoides se encuentran o no presentes en diferentes variedades de esta planta, dando lugar a las variedades conocidas de distintos tipos (altas en THC, altas en CBD o con ambos equilibrados).



Vía biosintética de cannabinoides. Las enzimas biosintéticas incluyen geranyl pirofosfato: olivetolato geranyltransferasa (I), ácido tetrahidrocannabinólico (THCA) sintasa (II), ácido cannabidiólico (CBDA) sintasa (III) y ácido cannabicroménico (CBCA) sintasa (IV). OLA, ácido olivetólico; CBGA, ácido cannabigerólico.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**

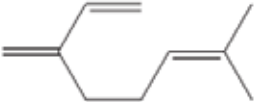
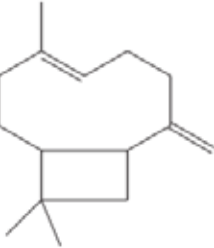



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

El aroma típico del cannabis es el resultado de la presencia de unos 140 terpenoides diferentes. Los terpenoides son moléculas complejas compuestas por unidades de isopreno (C₅H₈) repetidas. La estructura final de los terpenoides varía desde cadenas lineales simples hasta moléculas policíclicas complejas, y pueden incluir grupos funcionales alcohol, éter, aldehído, cetona o éster. Estos compuestos son volátiles y se extraen fácilmente del material vegetal mediante destilación o arrastre por vapor. Este destilado se llama aceite esencial o aceite volátil de la planta. Los terpenoides o terpenos crean el aroma único de la planta de cannabis, dando el perfil de sabor y aroma de los productos de cannabis. Algunos terpenos comunes que se encuentran de forma natural en el cannabis incluyen el mirceno, el limoneno, el pineno, el linalol, el cariofileno, y el humuleno. El beta-mirceno, el monoterpene más abundante en el cannabis, tiene propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antibióticas y anti mutagénicas. El beta-cariofileno, el sesquiterpene más común, exhibe actividad antiinflamatoria, citoprotectora de la mucosa gástrica y antipalúdica.

Cannabis constituent structure ^a	Concentration ^b (% dry weight)	Boiling point °C ^c	Properties
 <chem>CC(=C)CC=CC=C</chem>	0.47	166-168	Analgesic Anti-inflammatory Antibiotic Antimutagenic
 <chem>CC1=C(C)CC2=C(C1)C=CC2</chem>	0.05	119	Anti-inflammatory Cytoprotective (gastric mucosa) Antimalarial
 <chem>CC1=CC=CC(C1)C=C</chem>	0.14	177	Cannabinoid agonist? Immune potentiator Antidepressant Antimutagenic



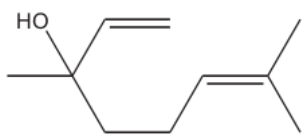
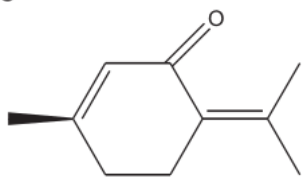
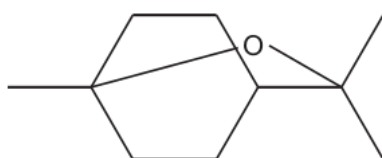
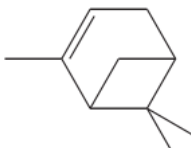
PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL

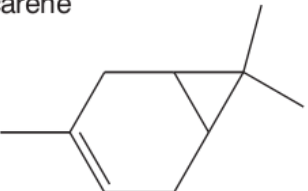


Programa Interdisciplinario
de Cannabis

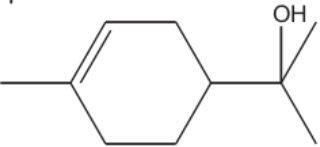
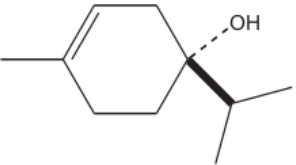
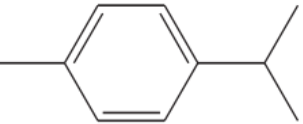
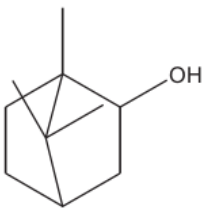


somos Gobierno de
Tierra del Fuego

linalool 	0.002	198	Sedative Antidepressant Anxiolytic Immune potentiator
pulegone 	0.001	224	Memory booster? AChE inhibitor Sedative Antipyretic
1,8-cineole (eucalyptol) 	>0.001	176	AChE inhibitor Increases cerebral blood flow Stimulant Antibiotic Antiviral Anti-inflammatory Antinociceptive
α -pinene 	0.04	156	Anti-inflammatory Bronchodilator Stimulant Antibiotic Antineoplastic AChE inhibitor

Δ -3-carene 	0.004	168	Anti-inflammatory
--	-------	-----	-------------------

Algunos terpenos y terpenoides del cannabis. Modificado de Russo, Ethan B., and Franjo Grotenhermen. *The Handbook of Cannabis Therapeutics: From Bench to Bedside*. Routledge, 2014.

α -terpineol 	0.02	217-218	Sedative Antibiotic AChE inhibitor Antioxidant Antimalarial
terpineol-4-ol 	0.0004	209	AChE inhibitor Antibiotic
<p>p-cymene</p> 	0.0004	177	Antibiotic Anticandidal AChE inhibitor
borneol 	0.008	210	Antibiotic

Más allá de los cannabinoides y terpenos están los flavonoides, compuestos aromáticos tipo fenoles policíclicos. El cannabis produce alrededor de 20 de estos compuestos como flavonoides libres y glucósidos conjugados. Los flavonoides no son estrictamente vitaminas, pero juegan un papel similar con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimutagénicas y anticancerígenas. Existe un área de investigación creciente en el futuro sobre los flavonoides en el cannabis como la canflavina A y la canflavina B.

En el aceite de semillas de cannabis se han identificado un total de 33 ácidos grasos diferentes, principalmente ácidos grasos insaturados. Los más comunes son el ácido linoleico (53 a 60% del total de ácidos grasos), el ácido D-linolénico (15 a 25%) y el ácido oleico (8,5 a 16%).



3. *El sistema endocannabinoide en el cuerpo humano*

A partir de 1960, ocurrieron avances significativos en torno al conocimiento químico básico del cannabis, que comenzaron con el aislamiento del delta-9-tetrahydrocannabinol ($\Delta 9$ -THC) por el Dr. Raphael Mechoulam. Alrededor de 1980 se desarrollaron los primeros fármacos basados en cannabinoides sintéticos para tratamiento de ansiedad, vómitos, anorexia y dolor. Este fue el caso del *Dronabinol* y la *Nabilona*, que se incorporaron a la farmacopea mundial.

Recién en los años '90 se identificaron los primeros receptores para cannabinoides en el cuerpo humano. Esta identificación permitió la búsqueda de los ligandos endógenos, favoreciendo la descripción del sistema endocannabinoide, también por el grupo del Dr. Mechoulam. El sistema endocannabinoide se encuentra desarrollado en numerosas especies de mamíferos y otros vertebrados, y se descubrió que controla la *homeostasis* del cuerpo, esto es, la función de autorregulación que tienen los seres vivos para mantener condiciones constantes y beneficiosas para el organismo. El sistema endocannabinoide ha sido llamado la "llave maestra" del cuerpo, ya que en su función autorregulatoria interacciona con muchos otros sistemas (inmune, endocrino, nervioso, digestivo, etc.). Esto permite que las estrategias terapéuticas basadas en cannabinoides se apliquen en un diverso espectro de patologías.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL

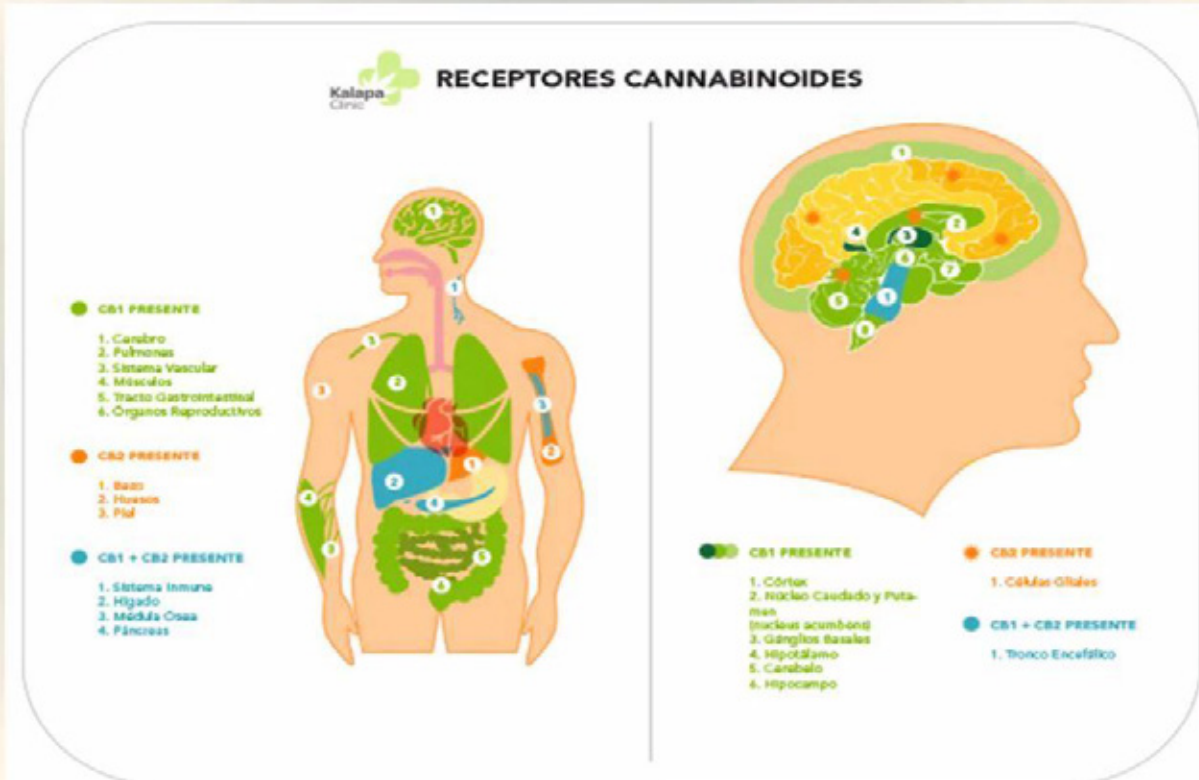


Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Receptores



www.kalapa-clinic.com



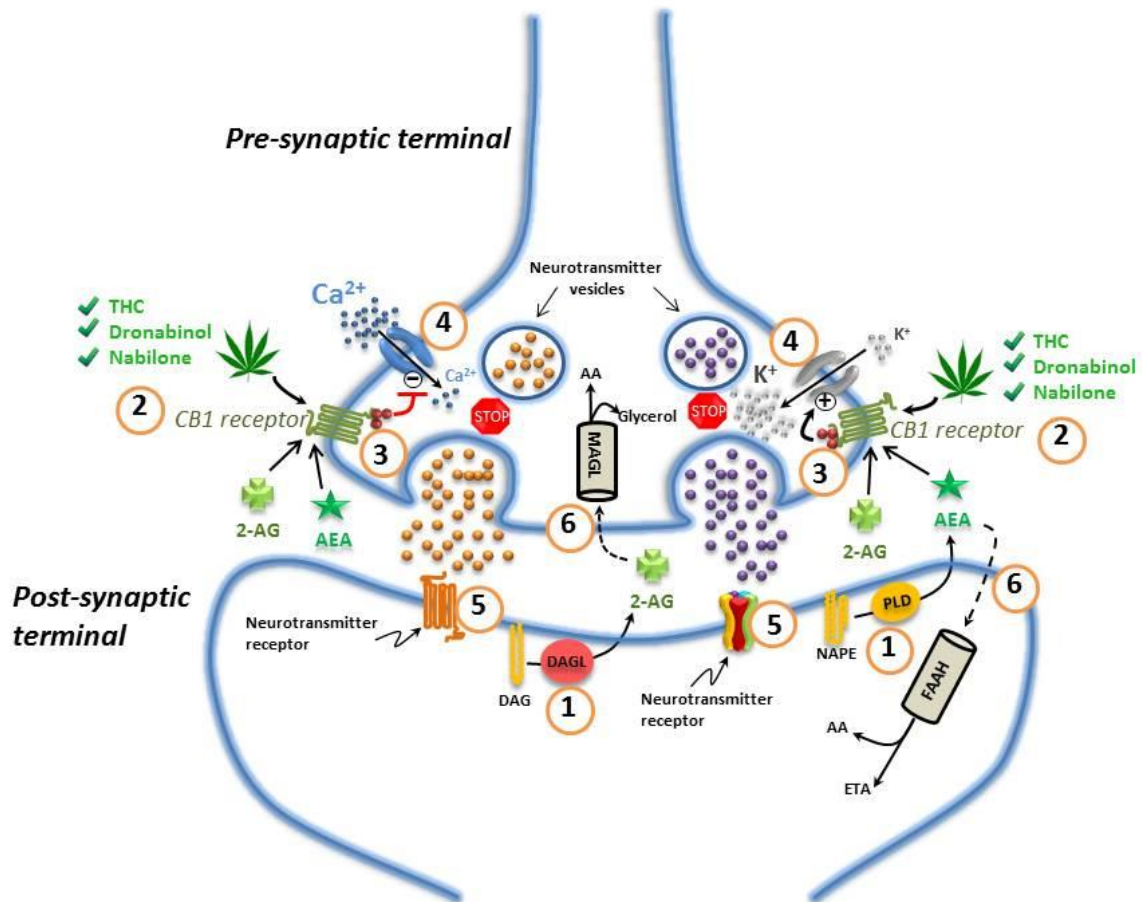
[/kalapaclinic](https://www.facebook.com/kalapaclinic)



[@kalapa_clinic](https://twitter.com/kalapa_clinic)

© Copyright Kalapa Clinic 2016

Los receptores cannabinoides en el cuerpo humano.



El sistema endocannabinoide en el sistema nervioso. Tomado de (Health Canada, 2018).

Los fito y endocannabinoides son reguladores importantes de varios aspectos de las funciones fisiológicas, conductuales, inmunológicas y metabólicas, a través de su acción sobre los receptores cannabinoideos (CBR). En el sistema nervioso, los endocannabinoides se fabrican "a demanda" (p. ej., en respuesta a un potencial de acción en las neuronas) en las terminales postsinápticas: la anandamida (AEA) se genera a partir de la hidrólisis mediada por fosfolipasa-D (PLD) del lípido de la membrana N-aracidoilfosfatidiletanolamina (NAPE); el 2-AG de la hidrólisis mediada por diacilglicerol lipasa (DAGL) del lípido de membrana diacilglicerol (DAG)(1). Estos endocannabinoides (AEA y 2-AG) se difunden retrógradamente hacia las terminales presinápticas y, al igual que los cannabinoideos exógenos como el THC



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

(del cannabis), se unen y activan los receptores CB1 acoplados a proteínas G presinápticas (2), es por ello que estos cannabinoides se llaman *agonistas* de estos receptores. La unión de agonista a los receptores CB1 desencadena la señalización de la proteína Gi/Go que, por ejemplo, inhibe la adenilil ciclasa, lo que disminuye la formación de AMP cíclico y la actividad de la proteína quinasa A, y provoca la apertura (dependiente de la proteína Gi/Go) de los canales de K⁺ y el cierre de los canales de Ca²⁺ (3 y 4), deteniendo la liberación de neurotransmisores inhibidores y excitadores almacenados (por ejemplo, glutamato, GABA, 5-HT, acetilcolina, noradrenalina, dopamina, D-aspartato y colecistoquinina) que una vez liberados, se difunden y se unen a post-receptores sinápticos (5). La anandamida y el 2-AG vuelven a entrar en las terminales nerviosas postsinápticas o presinápticas (posiblemente a través de las acciones de un transportador especializado representado por una línea "punteada") donde son respectivamente catabolizados (degradados) por la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) o monoacilglicerol lipasa (MAGL) para producir ácido araquidónico (AA) y etanolamina (ETA), o ácido araquidónico (AA) y glicerol.

Anteriormente se pensaba que los los receptores CB2 se expresaban predominantemente en las células inmunitarias de la periferia y tradicionalmente se los denominaba receptores CB2 periféricos. La expresión neuronal y funcional de los CB2R en el cerebro se ha caracterizado menos en comparación con la expresión de los omnipresentes CB1R. Mas recientemente se ha demostrado la expresión de CB2R en células neuronales, gliales y endoteliales en el cerebro, y esto justifica una reevaluación de los efectos de los CB2R en el SNC. La señalización del receptor cannabinoide CB2 juega un papel importante en la actividad neuroinmucannabinoide y más allá, con objetivos terapéuticos potenciales en enfermedades neurológicas y mentales (Onaivi et al., 2017).

El CBD es un compuesto con actividad en múltiples objetivos. Tiene baja afinidad por los receptores cannabinoides, actuando en CB1 y CB2 solo en concentraciones muy altas ($\geq 10 \mu\text{M}$). También muestra actividad agonista indirecta en los receptores CB1 y aumenta los niveles endógenos de anandamida (AEA), al inhibir la enzima responsable de su degradación, la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH). Por el contrario, no afecta el metabolismo del endocannabinoide 2-araquidonoilglicerol (2-AG), por lo que no influye en la acción del 2-AG sobre los receptores CB1 o CB2. Sin embargo, el CBD reduce la eficacia y potencia del 2-AG en CB1, actuando así como un modulador alostérico negativo de los receptores CB1. El CBD también inhibe los efectos psicoactivos del Δ^9 -THC por mecanismos que no se comprenden aun completamente. El CBD también se une a objetivos no cannabinoides en bajas concentraciones, por ejemplo, interactúa con



receptores vainilloides (TRPV-1 y 2), TRPM8, receptores para glicina y adenosina, receptor de serotonina 1A (5-HT1A) y el receptor PPAR- γ . Incrementa los niveles endógenos de dopamina, interactuando con los transportadores de captación de dopamina (Junior et al., 2020).

Un aspecto clave a considerar sobre por qué tal diversidad de cannabinoides y terpenos son deseables es el concepto del “efecto séquito”. El término se refiere a una serie de compuestos químicos que trabajan en conjunto para producir resultados terapéuticos específicos, que no podrían obtenerse con un compuesto aislado. Es (biológicamente hablando) una forma de ejercer actividad reguladora del sistema endocannabinoide que puede aumentar la actividad del receptor por diversas vías (no todas conocidas). El resultado es que se precisan concentraciones mucho menores de los compuestos de interés para ejercer el mismo efecto, e inclusive aparecen efectos que solo pueden ser explicados por el conjunto, ya que no se pueden reproducir con ninguno de los compuestos por separado. Cannabinoides como THCV, CBN, CBG y Δ^8 -THC, y también moléculas como terpenos y terpenoides, contribuyen al efecto séquito.

4. *Acción farmacológica y evidencias clínicas*

Teniendo en cuenta que los cannabinoides se proponen para aliviar una amplia gama de dolencias, el estudio de su farmacocinética es esencial para su uso como productos farmacéuticos. La mayor información disponible sobre la farmacocinética de los cannabinoides pertenece a Δ^9 -THC. Otros cannabinoides, entre ellos el cannabidiol y cannabinol, muestran perfiles cinéticos similares al THC, y son generalmente similares entre hombres y mujeres.



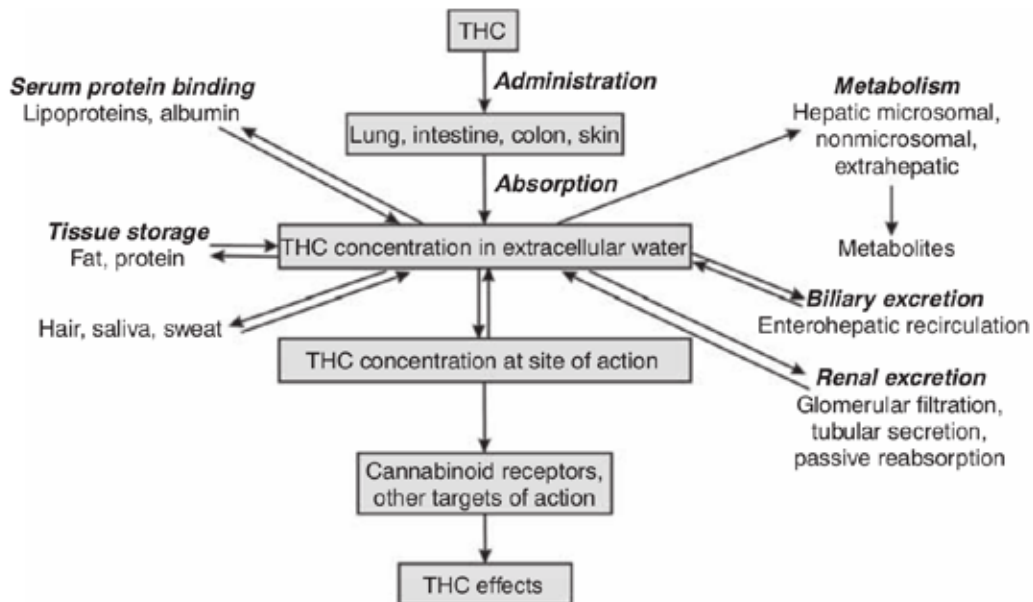
PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Propiedades farmacocinéticas del THC. Tomado de (Russo and Grotenhermen, 2014).

La absorción y el metabolismo del THC varían según la vía de administración. El curso de la concentración plasmática después de la inhalación es similar a la de la administración intravenosa con una concentración plasmática máxima alta que se desarrolla en cuestión de minutos, la cual luego cae rápidamente. La ingestión oral da como resultado una absorción retardada con un curso plasmático plano que alcanza su máximo generalmente después de una a dos horas.

En 2020 se realizó una revisión para examinar los datos disponibles sobre THC después de la administración oral de cannabis y THC, según lo informado en humanos. Para ello, se realizó una búsqueda de la literatura publicada utilizando la base de datos PubMed hasta marzo de 2020 (Poyatos et al., 2020). De los 363 resultados que cumplían los criterios propuestos, se observó que la absorción oral de THC se estudió utilizando cápsulas de aceite, tabletas, productos horneados (brownies y galletas), aceites y decocciones. La mayoría de estos estudios se centraron en formas farmacéuticas, como cápsulas y comprimidos. A pesar de ser formulaciones recomendadas para el uso terapéutico del cannabis en algunos países, había pocos datos sobre la farmacocinética del cannabinoide tras la ingesta de aceites o decocciones de cannabis. El THC oral



tiene un perfil farmacocinético muy variable, que difiere entre formulaciones, con una variabilidad aparentemente mayor en productos horneados y formulaciones de aceite. En particular, faltan datos farmacocinéticos sobre decocciones (té) y aceites, que son métodos de ingestión recomendados para uso médico.

De los cientos de compuestos activos que produce la planta de cannabis, el THC es quizás el más conocido. Es estimulante del apetito y reduce las náuseas y vómitos, por lo que es actualmente utilizado en pacientes oncológicos en tratamiento con quimioterapia. Otros efectos incluyen miorelajación y analgesia (Shin et al., 2019), y en altas dosis, alteración de los sentidos visuales, auditivos, y olfativos (efecto psicoactivo). Además está comprobado que posee un fuerte efecto broncodilatador, antiinflamatorio, y modulador del sistema inmune. El cannabidiol (CBD), otro de los cannabinoides mayoritarios presentes en la planta de cannabis, ha cobrado relevancia en los últimos años debido a que no produce efecto psicoactivo y tiene múltiples beneficios medicinales (Larsen and Shahinas, 2020). Quizás su uso más conocido y ya establecido es para controlar las convulsiones en personas afectadas por epilepsia refractaria (Ali et al., 2019; Nabbout and Thiele, 2020; Stockings et al., 2018; Tzadok et al., 2016). Sin embargo, también se está estudiando activamente en el contexto de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson (Cassano et al., 2020; Junior et al., 2020; Schubert et al., 2019), así como en cáncer de mama (Kisková et al., 2019). En distintos ensayos también se ha probado su utilidad en mitigar espasmos y temblores, lo que dio origen a la aprobación de un medicamento en conjunto con THC para la esclerosis múltiple (Sativex). La capacidad del CBD de ejercer efectos ansiolíticos es especialmente promisorio, y se están llevando a cabo ensayos abordando trastornos del espectro autista, tanto con CBD purificado (Barchel et al., 2019) como con cannabis enriquecido en CBD (Aran et al., 2019). La forma oxidada del THC, el cannabinol (CBN), ha recibido mucha atención en los últimos años debido a su efecto analgésico, relajante e inductor del sueño. Al igual que el CBD, presenta poca a nula psicoactividad. Se observó que este compuesto generalmente debe venir acompañado de una cierta cantidad de otros cannabinoides, necesarios para su correcta acción terapéutica.

A pesar de que los cannabinoides naturales o sintéticos aislados siguen siendo el modelo dominante en el mercado farmacéutico básicamente por la simplicidad de su desarrollo, evaluación y dosificación, existen amplias evidencias de que los preparados full spectrum pueden potenciar el efecto terapéutico de los cannabinoides y modular posibles efectos secundarios no deseados, debido al efecto séquito. Por ejemplo, estudios del CBD en trastornos de ansiedad han demostrado un efecto dosis-respuesta tipo U



invertida, limitando su efecto terapéutico (Zuardi et al., 2017), sin embargo en un estudio de analgesia este tipo de comportamiento se ha observado con el CBD purificado, pero no con extractos de planta cruda. En estudios de epilepsia, las dosis que se utilizaron cuando el preparado tenía 20:1 CBD:THC fueron significativamente más bajas respecto de las normalmente utilizadas para el CBD purificado. Los efectos adversos fueron más frecuentes en los productos que contenían CBD purificado que en los extractos ricos en CBD (Pamplona et al., 2018; Tzadok et al., 2016). Más aún, los efectos terapéuticos del THC como paliativo del dolor de origen oncológico, incluso en preparados de planta completa, parecen verse sinergizados por la presencia de CBD en el fitopreparado (Gallily et al., 2015). Este efecto sinérgico se amplía a otro tipo de moléculas como los terpenos y terpenoides, las cuales se encuentran presentes en muchas otras especies vegetales y que constituyen la base de la fitoterapia como hoy se conoce. (Russo, 2018a).

El amplio espectro de condiciones que pueden ser abordadas con cannabis muestra el rol preponderante del sistema endocannabinoideo en el cuerpo. Entre ellas se encuentran la artritis, artrosis, reuma y autoinmunes (Navarini et al., 2019, 2018), otros trastornos inflamatorios y fibrosis (Turcotte et al., 2016; Zurier and Burstein, 2016), mejora de la calidad de vida en adultos mayores (Minerbi et al., 2019), enfermedades dermatológicas (Milando and Friedman, 2019; Robinson et al., 2017), estrés oxidativo y su relación con el cáncer (Pellati et al., 2018), trastornos de ansiedad (Kamal et al., 2018), PTSD (Bitencourt and Takahashi, 2018), entre otros, con diferentes niveles de avance en evidencias clínicas.

5. *Legislación y aspectos regulatorios*

Argentina aprobó en 2017 la [Ley Nacional N°27.350](#), que tiene por objeto “establecer un marco regulatorio para la investigación médica y científica del uso medicinal, terapéutico y/o paliativo del dolor de la planta de cannabis y sus derivados, garantizando y promoviendo el cuidado integral de la salud”. Esta ley fue fuertemente impulsada desde las organizaciones cannabicas y grupos de pacientes. Existen muchas organizaciones de cultivadores/as y profesionales a nivel nacional, que se han nucleado para capacitarse, concientizar y capacitar a otros organismos, y para un mejor acompañamiento del paciente. (ejs, Mama Cultiva, CAMEDA, Ciencia Sativa, Procannt, entre otros). Estas organizaciones fueron fundamentales para destrabar los múltiples impedimentos legales e institucionales en el camino del acceso a esta herramienta



terapéutica, provocados por desconocimiento y prejuicios fruto del prohibicionismo imperante en el siglo XX (DEFENSORÍA GENERAL DE LA NACIÓN, 2021). Este camino se ha facilitado con la promulgación del [Decreto Reglamentario 883/2020](#), el cual crea un marco reglamentario que permite un acceso oportuno, seguro, inclusivo y protector de quienes requieren utilizar el cannabis como herramienta terapéutica, incluyendo el autocultivo, mediante la herramienta del REPROCANN (<https://reprocann.msal.gov.ar/auth>). En esta reglamentación quedan claras las facultades del CONICET, Universidades Nacionales y el INTA como organismos autorizados a cultivar con fines tanto científicos como de producción, si bien aun falta avanzar sobre el rol de las ONG y asociaciones en este circuito, las cuales si bien están contempladas en el REPROCANN, aun tienen dificultades para su implementación. En 2020, el comité de estupefacientes de las Naciones Unidas reclasificó el cannabis reconociendo su uso terapéutico, quitándolo de la Lista IV (sustancias peligrosas según la convención de drogas de 1961) (<https://www.who.int/news/item/04-12-2020-un-commission-on-narcotic-drugs-reclassifies-cannabis-to-recognize-its-therapeutic-uses>)

Más aún, la industria del cannabis tanto medicinal como industrial (cáñamo) se posicionan cada vez más como alternativas productivas ambientalmente sostenibles, y con posibilidades de desarrollo de productos de alto valor agregado, a nivel mundial como en Argentina. En mayo de 2022, se aprobó la [Ley 27.669](#) (Marco regulatorio para el desarrollo de la industria del cannabis medicinal y el cáñamo industrial), que establece el mecanismo de la cadena de producción, industrialización y comercialización de la planta de cannabis, sus semillas y sus productos derivados para uso industrial y medicinal, incluyendo la investigación científica con vistas a satisfacer el mercado local y generar exportaciones. Incluyó el aporte de científicos del Conicet, organizaciones cannábicas, empresarios interesados en invertir en el sector y legisladoras de ambas cámaras.

Mediante una Resolución conjunta, el Ministerio de Salud de la Nación y el Instituto Nacional de Semillas ([Resolución Conjunta 5 / 2021](#)) autorizan la inscripción de cultivares de cannabis ante el Registro Nacional de Cultivares y/o el Registro Nacional de la Propiedad de Cultivares del Instituto Nacional de Semillas, organismo descentralizado actuante en el ámbito del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca “con el fin de obtener germoplasma nacional para los usos permitidos por la Ley N° 27.350 y su decreto reglamentario n° 883 de fecha 11 de noviembre de 2020”.



Al momento, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) ha aprobado dos medicamentos de origen nacional, ambos basados en CBD purificado (concentración de 100 mg/ml): el CONVUPIDIOL (del laboratorio Alef) y KANBIS (Elea). Por otro lado esta misma agencia lanzó en 2021 una disposición ([Disposición 8504/2021](#)) donde se autorizan productos cosméticos inclusive de espectro amplio o completo, mientras su contenido de THC/THCA no supere 0.2% p/p, bajo la clasificación Grado 2 (productos de Higiene Personal, Cosméticos y Perfumes con indicaciones específicas cuyas características exigen comprobación de seguridad y/o eficacia, informaciones, cuidados, modo y restricciones de uso, [Disposición 345/06](#)). Posteriormente, en abril de 2022, el Ministerio de Salud crea una tercera categoría de “Productos vegetales a base de cannabis y sus derivados destinados al uso y aplicación en la medicina humana”, la cual se diferencia de las dos categorías existentes actuales en productos ya regulados como “medicamento de especialidad medicinal” y “medicamento herbario” ([Resolución 781/2022](#)). Esta categoría de producto representa un “producto de uso medicinal en humanos no limitado al grado no farmacéutico”, tal como existe en otras partes del mundo, y tiene la particularidad de que al ser un medicamento, debe ser cubierto por las estructuras de salud tales como Obras Sociales y prepagas. Estas formas, según la disposición, estarán disponibles en farmacias para su dispensa bajo receta médica, con calidad controlada, sujetos a los principios de las buenas prácticas de cultivo y de manufactura, libres de contaminantes peligrosos como pesticidas y metales pesados entre otros, con la identificación y determinación cuali-cuantitativa de sus Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFA) y excipientes verificados por metodologías de control de calidad validadas. Cuando los IFA de cannabinoides mencionados previamente, posean porcentajes de THC superiores a 0,3% P/P en base seca (considerando el ácido tetrahidrocannabinol THCA que pudiera estar presente) se les aplicará el régimen correspondiente a las sustancias psicotrópicas. A los IFA de cannabinoides con porcentajes de THC menores o igual 0,3% P/P en base seca no se considerarán sustancias psicotrópicas. Asimismo, otros componentes no cannabinoides podrán formar parte de la categoría previamente definida. Recientemente la ANMAT, responsable de controlar estos productos a través del INAME, dictó la [Disposición 6431/2022](#) y su Anexo a seguir para la implementación de la norma (“Guía para la autorización sanitaria de productos vegetales a base de cannabis y sus derivados destinados al uso y aplicación en la medicina humana, según resolución MS N° 781/22”). Los productos a base de Cannabidiol (CBD) u otros cannabinoides aislados no están alcanzados por la presente normativa.



Debido a que la jurisdicción provincial no es alcanzada por las normas mencionadas previamente, las cuales son más recientes y sólo aplican al ámbito federal, las provincias ya han avanzado a distintos ritmos, en lo que respecta producción de cannabis y sus derivados. Especialmente la provincia de La Rioja (Agrogenética Riojana, sociedad anónima con mayoría estatal) y la provincia de Jujuy (Cannava Sociedad del Estado). Ambas provincias han logrado tener una producción y desarrollar productos. La provincia de Jujuy además ya publicó una guía de manejo clínico de cannabis medicinal, en una iniciativa conjunta de la que participaron varios actores a través de Cannava ([PLAN TERAPÉUTICO ESPECIAL and GRUPO DE TRABAJO DE CANNABIS MEDICINAL, 2021](#)).

Desde la aprobación de la ley 27.350, se ha avanzado mucho en Argentina, comenzando por ensayos clínicos en el hospital Garrahan y Roffo, y siguiendo con otros varios proyectos de investigación básica y clínica (Cáceres Guido et al., 2020). Al mismo tiempo, se avanza en lo que serían guías para la indicación de productos herbales a nivel internacional (Brunetti et al., 2020; Health Canada, 2018; Kanosch W. Kratz and anosch W. Kratz, Mariano Garcia de Palau, 2018).

6. *Situación actual y perspectiva respecto a la industria del cannabis*

Muchas empresas se han mostrado interesadas en invertir en proyectos de cannabis en América Latina, básicamente por dos factores: la posibilidad de producir a contraestación y los menores costos. Respecto a esto último, una estimación para Colombia (parcialmente extrapolable a nuestro país) indicaba que el costo de producción de un gramo de flor de cannabis llegaba a USD 0,5-0,8 contra más de USD 2 en Canadá. Todo parece indicar que las oportunidades más inmediatas para Argentina estarían en el área medicinal (tanto con productos farmacológicos recetados de esta nueva categoría específica como eventualmente productos menos regulados como suplementos dietarios u otras variantes), y se concentrarían en el mercado doméstico y de países de la región. Por el contrario, las condiciones agroecológicas y la distancia a los principales mercados de consumo son factores que debilitan la posibilidad de consolidarnos como un país productor de biomasa primaria para exportación.

Existen por el momento cuatro opciones básicas para la producción y venta de cannabis medicinal:

- Producción del extracto básico de cannabis (preservando el conjunto de cannabinoides de la planta).



- Producción de CBD purificado.
- Producción de mezclas que no sean clasificadas como medicamentos (con proporciones específicas de CBD y otros cannabinoides, que entren en la categoría del tipo cosmético.
- Elaboración de medicamentos de la categoría III con concentraciones específicas de cannabinoides.

Cuando hablamos de aplicación medicinal, es importante tener en cuenta las regulaciones y certificaciones exigidas para llevar los productos al mercado. Es por ello que el método de cultivo *indoor* suele ser el escogido, dado que las condiciones están totalmente controladas y los productos son más estables en términos de la presencia de compuestos activos que se buscan obtener. A su vez, al estar estos cultivos aislados del resto del medioambiente, la utilización de fitosanitarios suele ser mucho menor. Esto es relevante no tanto para ahorrar costos, sino porque evita la presencia de residuos indeseados en el producto cosechado, lo que es un requisito para poder certificar cannabis medicinal. Por lo expuesto, la producción *outdoor* es mucho menos frecuente cuando el cultivo de cannabis es utilizado principalmente con fines medicinales pero sí resulta más habitual cuando el cannabis será utilizado con fines recreativos o industriales.

Cuando hablamos de fines industriales, hacemos referencia esencialmente al cáñamo – planta de cannabis con muy bajo nivel de compuestos psicoactivos- que representa una oportunidad amplia de desarrollo y negocios, dada la extensa serie de derivados que se pueden producir a partir de la planta.



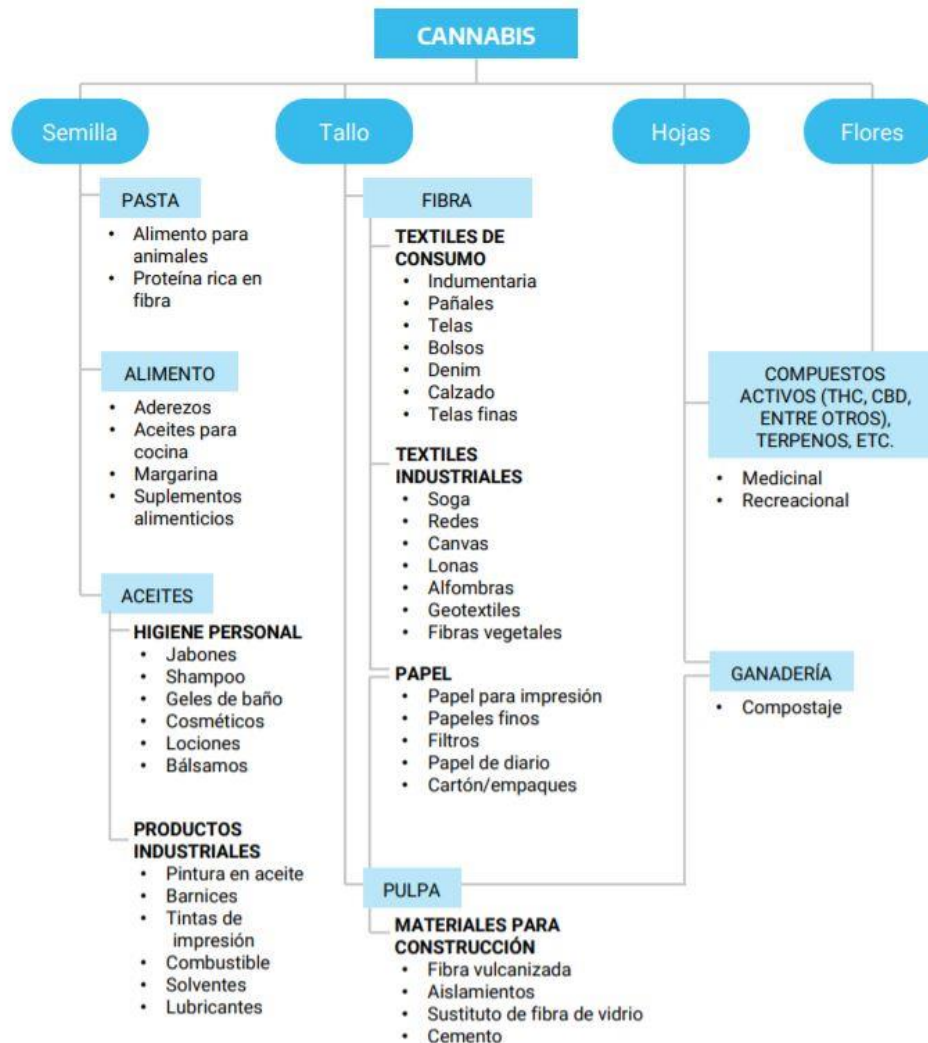
**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Usos industriales derivados del cannabis. Extraído de: López, A. La cadena de valor del cannabis: situación y tendencias internacionales, y oportunidades para la Argentina. Documentos de Trabajo del CCE N° 1, marzo de 2021, Consejo para el Cambio Estructural - Ministerio de Desarrollo Productivo de la Nación.

El avance en la legalización del cannabis, y la consecuente emergencia de mercados regulados donde operan empresas privadas, dio lugar a que se establecieran requerimientos y estándares para el intercambio en dichos mercados. Si bien esto puede abarcar la producción de cannabis para cualquiera de sus usos ya referidos, es en el segmento medicinal donde estos sellos se encuentran más presentes. Cuestiones tales como las prácticas agrícolas y manufactureras, la trazabilidad, la calidad del producto final e incluso la huella



ambiental de los procesos productivos son aspectos que las empresas deben registrar y comunicar para poder participar en los mercados. En el mundo las certificaciones que ganaron mayor adherencia en lo relativo a cannabis son EU/Global GAP (Good Agricultural Practices) para la fase de producción agrícola y EU/Global GMP (Good Manufacturing Practices) para la instancia de transformación industrial. Estos “sellos” tienen por objetivo garantizar que en las operaciones de mercado se intercambie un producto homogéneo, inocuo, higiénico y con niveles de potencia y pureza claramente identificados (Lopez, 2021).

7. Botánica del cannabis

El cannabis es una especie muy extendida en la naturaleza. Se encuentra en varios hábitats que van desde el nivel del mar hasta las zonas templadas y alpinas del Himalaya, desde donde probablemente se extendió durante los últimos 10.000 años. Su cultivo milenario hace que su distribución original sea difícil de precisar.

El cannabis es una planta anual dioica (flores masculinas y femeninas están en plantas diferentes). Se caracteriza por una estructura similar a una caña, con una altura de entre 1 y 5 metros. Sus hojas son finas y palmadas, con 3 a 11 folíolos dentados, de 7-10 cm de largo. Las flores masculinas se disponen en panículas de 23 - 40 cm de largo y las femeninas en espigas de alrededor de 2 cm de longitud. En ambos casos son de color verdoso. La flor femenina es polinizada por el viento. Por lo general, las plantas masculinas son más altas y con entrenudos más largos que las femeninas. Las semillas son globulares, miden aproximadamente 2 mm de diámetro y por lo general están cubiertas por brácteas. Los compuestos activos (cannabinoides) se concentran principalmente en las estructuras florales femeninas, en órganos llamados *tricomos* que producen una resina pegajosa. Los tricomas se consideran biofábricas de compuestos químicos llamados metabolitos secundarios, entre los cuales se encuentran los cannabinoides, terpenos y otros, con diversas funciones. La producción de resina con estos compuestos podría ser una reacción adaptativa de la planta con la función de proteger a la flor hasta que se fecunda y a la semilla en maduración. El cannabis se considera una planta mono-específica altamente heterogénea (*Cannabis sativa* L.), existiendo hibridación a nivel global por lo que no es posible diferenciar entre especies (McPartland and McKernan, 2017). Las variedades se pueden clasificar en cuanto a su *quimiotipo*, de acuerdo al tipo de cannabinoides presentes en la planta, y la relación entre las concentraciones de los mismos (*ratio*). Las variedades tipo 1 contienen



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

predominantemente THC, mientras que las tipo 2 contienen ratios variables y más o menos equilibrados de THC/CBD, y las de tipo 3 contienen predominantemente CBD (Hazekamp et al., 2016).

El clonado o clonación implica cortar un brote o esqueje de una planta “madre”, para posteriormente dejar que este tallo produzca raíces y luego se planten. Se obtiene así un duplicado genético de su madre, que puede utilizarse para generar otros esquejes. Esta técnica presenta varias ventajas: la garantía de que los esquejes o brotes sean exclusivamente hembras y la obtención de duplicados de una madre cuyo ciclo vital y rendimiento se conoce. Además, el clon acelera la fase del ciclo vital de su madre, demandando menor tiempo para florecer (respecto a una planta cultivada a partir de la semilla)(Thomas and ElSohly, 2016).



Estructuras de la planta de *Cannabis sativa*. A Inflorescencia planta masculina B Planta femenina (pistilada) con fruto 1 Flor estaminada 2 Estambre (antera y filamento corto) 3 Estambre 4 Granos de polen 5 Flor pistilada con bráctea 6 Flor pistilada sin bráctea 7 Flor pistilada donde se aprecia el ovario (sección longitudinal) 8 Semilla (aquenio) con bráctea 9 Semilla sin bráctea 10 Semilla (vista lateral) 11 Semilla (sección transversal) 12 Semilla (sección longitudinal) 13 Semilla sin pericarpio (pelada).

8. Fisiología del cannabis



El cannabis es un cultivo con requerimientos particulares de condiciones ambientales tales como luz, humedad, temperatura y CO₂ así como de nutrientes, que se van modificando de acuerdo la fase de desarrollo. Conocer y mantener esas condiciones a lo largo del ciclo es fundamental para obtener un producto estable tanto en cantidad como calidad.

Temperatura

La temperatura es un factor determinante de la actividad metabólica, el crecimiento y desarrollo de las plantas. Todos los procesos fisiológicos ocurren adecuadamente en un rango óptimo de temperaturas. Por debajo o por encima de este rango posiblemente la planta no alcance su máximo potencial de rendimiento. Además, determinados procesos metabólicos tienen lugar en la planta tanto durante el día como durante la noche, por lo que la temperatura óptima para la planta variará consecuentemente (termoperiodismo diario). Estas variaciones diarias de temperaturas tienen un efecto directo sobre la floración, fructificación y crecimiento.

Dependiendo de la fase en que se encuentre dentro del ciclo, el cannabis presenta distintas temperaturas óptimas para el día y para la noche como se muestra en la siguiente tabla.

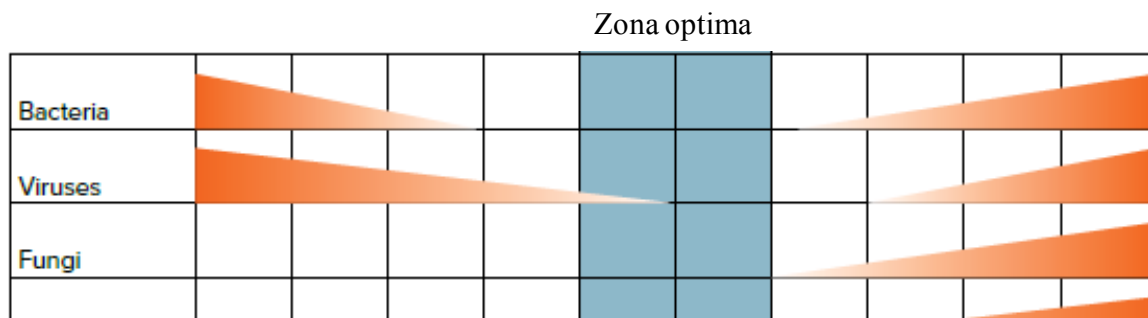
Temperaturas óptimas de cannabis (°C) para cada una de las fases del ciclo durante el día y noche

Temperaturas óptimas (°C)

	día	noche
fase vegetativa	23-29	20-24
fase floración	20-28	20-25

Humedad

El manejo de la humedad relativa es también un factor importante porque involucra tanto el control de funciones fisiológicas como las condiciones que podrían ser favorables para la aparición de patógenos. Cuando la humedad relativa es baja (ambiente seco), se afecta la transpiración de las plantas lo que trae asociado, cuando no es tan severo como para provocar el cierre de estomas, un uso ineficiente tanto del agua como de los nutrientes. Por el contrario, cuando la humedad relativa es alta (ambiente húmedo) pueden formarse láminas de humedad sobre las hojas proveyendo un medio propicio para el desarrollo de enfermedades y plagas (**Figura 13**).



Desarrollo de patógenos y zona optima de mantenimiento de la humedad relativa para el cultivo de cannabis.

Radiación

El cannabis es una planta fotoperiodica, esto es que ante un cambio en el régimen de duración en la iluminación, percibida a través de determinados mecanismos fisiológicos, se generan cambios en su metabolismo, pasando de la fase vegetativa a la reproductiva en su ciclo de vida. Los fotoperiodos de 18 horas de luz y 6 de oscuridad mantienen a la planta en su fase vegetativa, mientras que en periodos de oscuridad de 12 horas la planta desarrolla la fase de floración.

Además de la cantidad de horas de luz que recibe la planta, es muy importante la calidad de esa luz, esto es, que aporten la cantidad de energía necesaria en forma de radiación PAR para lograr el óptimo desarrollo de las mismas. La radiación integral diaria (DLI, del inglés Daily Light Integral) es una medida que analiza la cantidad de fotones de radiación PAR acumulados por el dosel de una planta durante un tiempo



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis

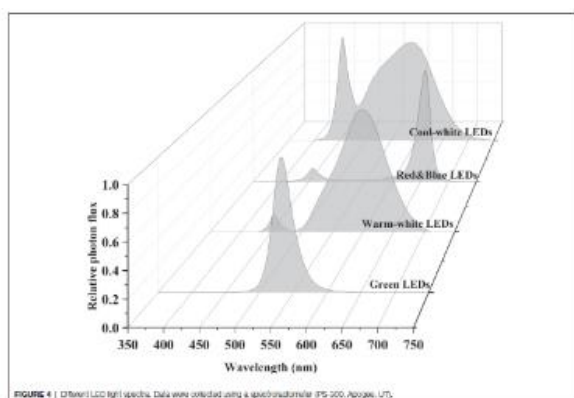
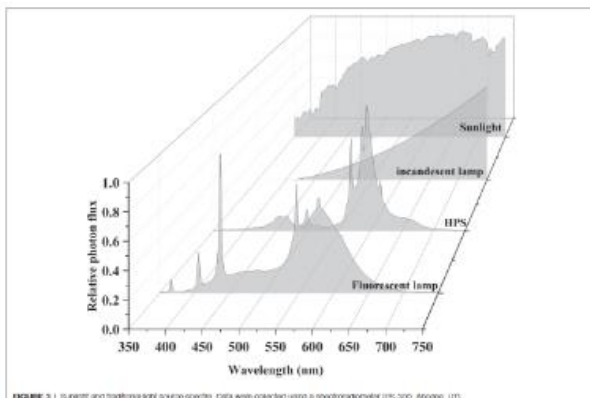
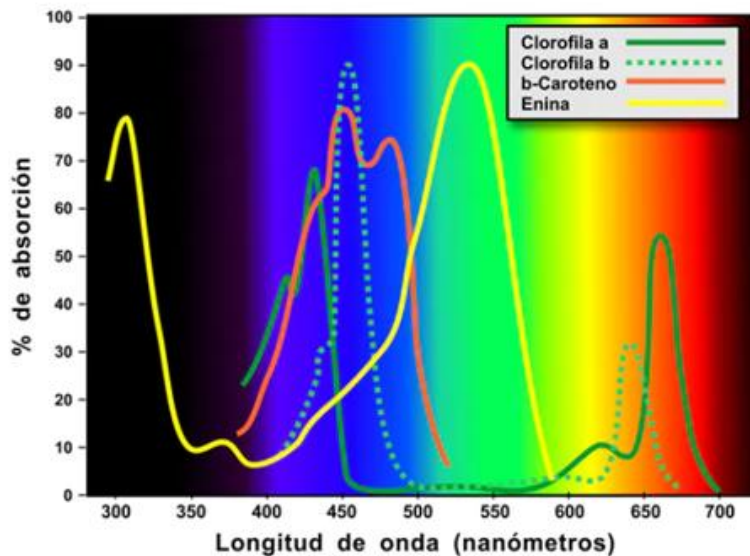


somos Gobierno de
Tierra del Fuego

determinado ($\text{mol m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$), a diferencia de la medida de PPF (del inglés Photosynthetically Photon Flux Density) que es una estimación instantánea de la cantidad de fotones de radiación PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Las lámparas emiten distintas longitudes de onda, pero ninguna logra cubrir todo el espectro de la luz solar, por lo que se deben usar distintos tipos de lámpara que emiten de rangos acotados de longitud de onda, tratando de cubrir todo el espectro necesario para que se produzca fotosíntesis en las plantas. El rango de luz entre 300 y 800 nm es fundamental para la realización de la fotosíntesis, donde se fija CO₂ ambiental y se producen azúcares de vital importancia para la fisiología de las plantas.

Espectros de absorción de diferentes pigmentos fotosintéticos.



Radiación relativa para distintos tipos de lámparas utilizadas para el cultivo de cannabis



PROGRAMA ASISTENCIA TÉCNICA CANNABIS MEDICINAL



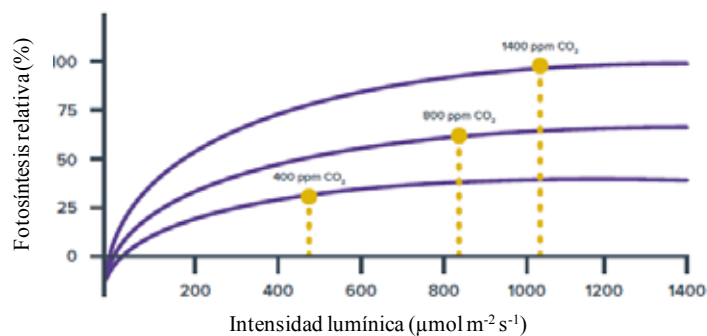
Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

CO₂

La concentración de CO₂ es fundamental para optimizar el proceso de fotosíntesis en las plantas de cannabis. Existe una estrecha relación entre la temperatura, la luz, el CO₂ y el proceso de fotosíntesis. En general si los valores de concentración de CO₂ se mantienen sin enriquecer (300-400 ppm en ambientes naturales), como el ambiente del invernáculo o indoor maneja niveles superiores a los 20 °C, es probable que la relación de los gases del aire se modifique y eso disminuya la disponibilidad de CO₂ para que la planta pueda fijarlo a través de la fotosíntesis. Esto es particularmente importante en plantas de metabolismo C3 como es el cannabis. Por otro lado, si se logra un ambiente lumínico intenso en los invernaderos, el inadecuado suministro de CO₂ limitará los procesos fotosintéticos.



Fotosíntesis relativa (%) según las concentraciones de CO₂ a distintas intensidades lumínicas

9. Producción de Cannabis para uso medicinal en el marco de las Buenas prácticas agrícolas

La producción de cannabis medicinal es una práctica agrícola que debe proporcionar al consumidor todas las garantías necesarias en cuanto a inocuidad y calidad del producto final. En este sentido, toda producción de cannabis, independientemente de su sistema (en condiciones controladas, semi-controladas o en exterior) debe realizarse en el marco de las buenas prácticas agrícolas (BPA). Según la FAO, las buenas prácticas agrícolas se definen como “las prácticas orientadas a la sostenibilidad ambiental, económica y social para los procesos productivos de la explotación agrícola que garantizan la calidad e inocuidad de los alimentos y de los productos no alimenticios”. De esta definición se desprenden las intenciones de



implementar acciones que permitan gestionar las producciones en base al conocimiento disponible en pos de la sostenibilidad en las dimensiones ambiental, económica y social de las explotaciones, resultando en productos inocuos y de calidad. Como se puede ver, las implicancias de las BPA están asociadas centralmente a la inocuidad y calidad de los productos. La inocuidad de un producto hace referencia a la garantía de que no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado o ingerido de acuerdo con el uso a que se destine, mientras que la calidad se refiere a la propiedad o conjunto de propiedades inherentes a algo, que permiten juzgar su valor.

Los conceptos de inocuidad y calidad se encuentran asociados, pero no deben confundirse. La inocuidad de un producto es un objetivo no negociable, y hace referencia a todos los riesgos que pueden hacerlo nocivo para la salud del consumidor. El concepto de calidad abarca todos los demás atributos que influyen en el valor de un producto para el consumidor.

Las Buenas Prácticas Agrícolas son presentadas por un conjunto de normas y documentos de apoyo (manuales, protocolos y guías) que sirven de guía para la producción. En general estas normas establecen criterios sobre la documentación obligatoria y trazabilidad, utilización de productos fitosanitarios, agua, manipulación de productos, animales en el predio, utilización de fertilizantes orgánicos y enmiendas y asistencia técnica.

En este sentido, la producción de cannabis debe realizarse con material conocido, trazable y debidamente identificable a fin de poder contar con toda la historia de vida del lote cultivado, desde el órgano de propagación a la cosecha y proceso de postcosecha.

Sistemas de producción de cannabis

Existen principalmente 3 sistemas de producción:

- Exterior: se realiza a campo abierto, en el suelo natural de la zona como sustrato. Solo se manejan los parámetros de riego y nutrición.
- Mixto: Se realiza en condiciones de invernáculo o semicubierto. Se puede realizar directamente en el suelo, sobre bancales o en macetas con sustrato. En este caso se pueden manejar desde algunos hasta todos los parámetros ambientales. La gran ventaja de estos sistemas es que se puede aprovechar la luz solar para la producción.



- Interior: Se realiza en lugares cerrados donde se manejan todos los parámetros ambientales. Depende totalmente del suministro de energía externa.

Sustratos

El término sustrato se aplica a todo material sólido distinto del suelo in situ; natural o de síntesis, mineral u orgánico que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radical desempeñando la función de soporte para la planta y puede o no intervenir en la nutrición de la misma. El sustrato puede ser fuente de algún nutriente (generalmente sustratos orgánicos como compost, turba, etc.) o no (ej. perlita, espumas agrícolas, lana de roca, etc.). En el primer caso se habla de “cultivo sin suelo”, mientras que en el segundo caso es “hidroponía”, ya que todos los nutrientes son aportados por la solución nutritiva.

Un sustrato apropiado debe presentar las siguientes características: propiedades físicas y químicas bien balanceadas, drenaje rápido con alta conductividad hidráulica saturada (K_{sat}), mantenimiento del contenido de agua moderado entre riegos y amplio espacio poroso ocupado con aire para reducir el riesgo de patógenos de raíz. En este sentido, la naturaleza del sustrato (puro o en mezclas), según sus características determinará: 1) la porosidad total, 2) la capacidad de retención de agua, 3) el pH y 4) la conductividad eléctrica (CE). La porosidad total está relacionada al tamaño de partícula y a la capacidad de aireación del sustrato. Para la producción de cannabis, es recomendable un sustrato liviano y bien aireado. En este sentido, estudios realizados muestran que, en este tipo de sustratos, no solo se observa un mejor crecimiento de raíz, sino que también se produce un mejor desarrollo de las ramas laterales y un aumento en la producción. La capacidad de retención de agua, es un parámetro que permite manejar las frecuencias de riego o fertirriego y está asociada a la capacidad de absorber y retener agua, así como de entregarla fácilmente a las raíces durante los sucesivos riegos. El pH es importante porque determinará la disponibilidad de los nutrientes en la solución del suelo mientras que las CE determinará la concentración de las sales de la solución.

En el mercado existe gran variedad de tipos de sustratos cada uno con características particulares. Según el origen de los materiales se los puede clasificar en:

Materiales orgánicos:



- De origen natural: Se caracterizan por estar sujetos a descomposición biológica (turbas).
- De síntesis: Son polímeros orgánicos no biodegradables, que se obtienen mediante síntesis química (espuma de poliuretano, poliestireno expandido, etc.).
- Subproductos y residuos de diferentes actividades agrícolas, industriales y urbanas: La mayoría de los materiales de este grupo deben experimentar un proceso de compostaje, para su adecuación como sustratos (cascarillas de arroz, pajas de cereales, fibra de coco, orujo de uva, cortezas de árboles, serrín y virutas de la madera, residuos sólidos urbanos, lodos de depuración de aguas residuales, etc.).

Materiales inorgánicos o minerales:

- De origen natural: Se obtienen a partir de rocas o minerales de origen diverso, modificándose muchas veces de modo ligero, mediante tratamientos físicos sencillos. No son biodegradables (arena, grava, tierra volcánica, etc.)
- Transformados o tratados: A partir de rocas o minerales, mediante tratamientos físicos, más o menos complejos, que modifican notablemente las características de los materiales de partida (perlita, lana de roca, vermiculita, arcilla expandida, etc.).
- Residuos y subproductos industriales: Comprende los materiales procedentes de muy distintas actividades industriales (escorias de horno alto, estériles del carbón, etc.).

Es importante destacar que no existe un sustrato ideal, sino que la elección de cada uno de ellos depende de muchos factores entre los que se destacan: la disponibilidad local, su costo, sus propiedades, las características del agua de riego, el tipo y dosis de fertilizantes a utilizar, el tipo de contenedor, la experiencia previa que se tiene en el empleo del material y su impacto ambiental.

Riego

La producción de Cannabis en exterior se realiza desde primavera y hasta otoño (cultivo de verano) por lo que dependiendo de las condiciones de la zona de cultivo se podrá necesitar riego suplementario, para complementar los momentos de déficit naturales, o podrá ser necesario el aporte de agua durante todo el ciclo del cultivo. Mientras que en las producciones mixtas o de interior, el riego es indefectiblemente un insumo más de la producción. El riego no solo aporta el agua necesaria para el



crecimiento del cultivo, sino que puede también aportar parte o todos los nutrientes necesarios para su desarrollo. En este sentido, el aporte de nutrientes debe estar ajustado a las necesidades de la planta.

Necesidades de riego

Como se mencionó previamente, en las producciones de exterior es necesario conocer las características del sitio y elaborar un plan de riego teniendo en cuenta diversos factores como la demanda atmosférica, la demanda de agua del cultivo, la disponibilidad de agua (constante o por turnos), las características del agua y del suelo y la tecnología disponible (riego localizado, por surco, etc).

En las producciones de interior, la producción se realiza en general en sistemas hidropónicos o cultivos sin suelos en macetas con diversos sustratos. En este caso, las necesidades de riego son menores y su manejo se ajusta a las condiciones ambientales en que se desarrolle el cultivo. Se puede decir que las necesidades de riego en cultivos de interior son en promedio de entre 0,6 y 1 l de agua por planta por día, sin embargo, estos valores son muy variables ya que dependen de factores tanto ambientales (Humedad relativa, temperatura) como los relativos a la planta (tamaño) y sistema de producción (tamaño de las macetas, sustrato utilizado, ciclo del cultivo, etc). Si bien existen instrumentos que pueden medir la cantidad de agua en el sustrato, en producciones de interior se puede establecer el punto de capacidad de campo, que es la cantidad relativamente constante de agua que contiene un suelo saturado después de 24/48 horas de drenaje, y teniendo en cuenta la pérdida por evaporación, poder estimar el agua a reponer. Esto se debe realizar siempre observando el cultivo y el sustrato (aparición y tacto) a fin de verificar que no se presenten tanto deficiencias como excesos de humedad.

Las producciones mixtas, dependiendo de sus características, contemplan un poco de cada una de las situaciones descriptas para los otros sistemas.

Calidad del agua

En toda producción agrícola es fundamental conocer la calidad del agua a utilizar. La misma debe estar libre de contaminaciones fecales humanas y/o de animales, de sustancias peligrosas como metales pesados, arsénicos, cianuros y de microorganismos como bacterias coliformes, parásitos, etc. Por este motivo se deben realizar análisis que midan la contaminación biológica, química o física potencial, incluyendo metales pesados, de todas las fuentes de agua de riego. La frecuencia de los análisis del agua



deberá ser, como mínimo anual o según lo establecido en la legislación vigente. No se deben utilizar aguas residuales sin tratar para el riego.

Fertirriego

La fertirrigación se refiere al aporte de los nutrientes necesarios del cultivo mediante el agua de riego. El manejo del fertirriego requiere de conocimientos técnicos como las necesidades nutritivas del cultivo, las características del agua (pH y CE), y manejo de fertilizantes. La adopción del fertirriego aporta ventajas como la localización exacta del agua y los nutrientes en la zona de absorción de raíces, la posibilidad de establecer diferentes planes de fertilización de acuerdo al estado fenológico del cultivo, la mayor capacidad de respuesta ante excesos o deficiencias nutricionales, y la posibilidad de utilizar aguas de baja calidad agronómica (siempre con el manejo adecuado). El sistema más utilizado en cultivos sin suelo o hidropónicos es el de la aplicación del fertilizante por volumen de agua utilizado. Por ejemplo, se utilizan unidades como mg de nutriente/ml de agua; g/l, aunque también son utilizadas unidades de concentración como ppm (partes por millón), mmol/l, (milimoles por litro) o meq/l (miliequivalentes por litro).

Fertilizantes

Como ya se indicó, los nutrientes necesarios para el desarrollo del cultivo se proporcionan a través de fertilizantes. En principio, los fertilizantes, para ser adecuados para fertirrigación deben ser solubles, puros y compatibles. Además, los mismos se clasifican según su uso en dos categorías: líquidos y sólidos y a su vez, estos dos tipos pueden ser simples o compuestos y contener o no microelementos.

Los fertilizantes líquidos son soluciones saturadas listas para su uso sin tratamientos previos. Estos generalmente contienen menor concentración de nutrientes, pero su manejo en la práctica es más cómodo que los fertilizantes sólidos.

Los fertilizantes sólidos, deben ser fácilmente solubles para poder disolverse antes de comenzar la fertilización. La solubilidad de los mismos está directamente relacionada con la temperatura, generalmente aumentando a medida que esta se incrementa. En un fertilizante sólido interesa saber la solubilidad en función de la temperatura como se muestra en las siguientes tablas.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Efecto de la temperatura sobre la disolución de algunas sales (g/L)

Fertilizante	Temperatura °C					
	0	5	10	20	25	30
Urea	680	780	850	1060	1200	1330
Sulfato de amonio	700	715	730	750	770	780
Sulfato de potasio	70	80	90	110	120	130
Cloruro de potasio	280	290	310	340	350	370
Nitrato de potasio	130	180	210	320	370	460

Solubilidad de algunas sales a 20° C

FERTILIZANTE	SOLUBILIDAD g/L (20°C)
NITRATO DE CALCIO	1220
NITRATO AMÓNICO	1630
SULFATO MAGNÉSICO	445
FOSFATO MONOAMÓNICO	384
FOSFATO DIAMÓNICO	696

Un factor muy importante a tener en cuenta cuando se realizan mezclas de fertilizantes es la compatibilidad entre ellos en la solución madre y su interacción con el agua de riego, ya que si se mezclan fertilizantes que no son compatibles es posible que se produzca la reacción de los compuestos que los forman.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Compatibilidad de las mezclas de los fertilizantes utilizados en fertirriego

ABONOS	Sulfato Amónico	Urea	Nitrato Cálcico	Nitrato Potásico	Fosfato Monoamónico	Acido Fosfórico	Sulfato Potásico	Urea Fosfato	Acido Nítrico	Nitrato Amónico
Sulfato Amónico		X	I	C	I	I	C	X	C	C
Urea	X		X	X	X	X	C	C	C	X
Nitrato Cálcico	I	X		X	I	I	I	I	C	I
Nitrato potásico	C	X	C		C	C	C	X	C	C
Fosfato Monoamónico	I	X	I	C		C	C	C	C	C
Ácido Fosfórico	I	X	I	C	C		C	C	C	X
Sulfato Potásico	C	C	I	C	C	C		C	C	C
Urea Fosfato	X	C	I	X	C	C	C		C	X
Ácido Nítrico	C	C	C	C	C	C	C	C		C
Nitrato Amónico	C	X	I	C	C	X	C	X	C	

Actualmente, se encuentran en el mercado varias líneas de fertilizantes especialmente formulados para fertirriego, que evitan en gran parte las complicaciones antes mencionadas. La aplicación de los fertilizantes puede hacerse directamente en el tanque donde se realiza la mezcla y luego se distribuye para todo el sistema de cañerías (producciones con bajos caudales de riego y con productos preformulados) o pueden inyectarse al sistema desde una solución madre preparada en otro tanque. Para realizar esta operación se pueden utilizar tanques de 20 a 200 litros, en donde se prepara la solución madre del fertilizante con agua y desde donde es inyectada a la red de riego.



Los sistemas de inyección son básicamente tres: uso de inyector que utiliza la presión del agua en la red de cañerías (inyector tipo Venturi), uso de bombas auxiliares y la inyección por succión positiva en el chupador de la bomba.

Conductividad eléctrica (CE)

El contenido de sales presentes en el sustrato donde se desarrolla el cultivo determina tanto la calidad como la fertilidad. La presencia excesiva de sales reduce el potencial osmótico de la solución del suelo, lo que genera una reducción en el agua disponible para la planta. La manera de medir la salinidad es a través de la conductividad eléctrica (CE). La CE es la medida de la capacidad de un material para conducir la corriente eléctrica, por lo tanto, a mayor concentración de sales, mayor serán los valores de CE. Las unidades que se utilizan para medir la CE son dS/m (decisiemen por metro), mS/cm (milisiemen por centímetro) o mmhos/cm (medida utilizada anteriormente).

En general se puede decir que en el cultivo de Cannabis los valores de CE en la solución de riego oscilan entre 2 y 3 dS/m. Una forma de poder relacionar la aplicación de sales y el aprovechamiento de estas por las plantas es a través de distintos métodos como los extractos de pasta saturada de suelo, extractos de relación 1:2,5 suelo agua y el método PourThru o de medición de lixiviados. El método de PourThru, si bien presenta algunas limitaciones en su uso, es el único que permite monitorear en tiempo real el estado del sustrato en la maceta mientras crecen las plantas. Este método consiste en comparar la CE de la solución aplicada en la maceta con los valores de los lixiviados. Si los valores son mucho más bajos en los lixiviados, podría interpretarse como un déficit de nutrientes, mientras que, si son parecidos, se podría estar en presencia de un exceso de fertilizante como se muestra en la siguiente tabla.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario de Cannabis



somos Gobierno de Tierra del Fuego

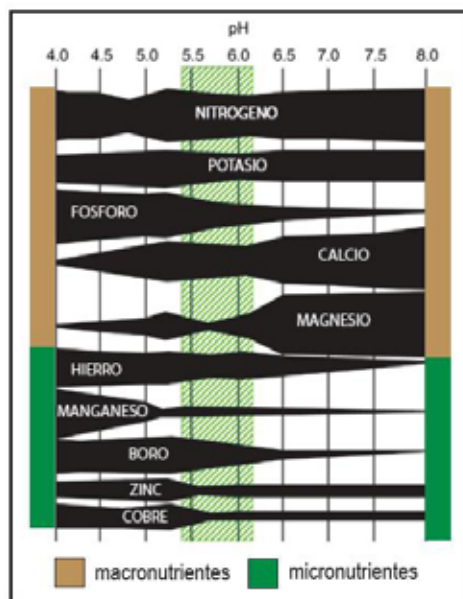
Rangos deseables de conductividad eléctrica según el método de muestreo e indicaciones nutricionales.

PourThru	Dilución 1:2	Saturado	CE	Indicaciones
0-0.9	0-0.25	0-0.75	Muy Bajo	Niveles de nutrientes pueden no ser suficientes para sostener un rápido crecimiento.
1.0-2.6	0.26-0.75	0.76-2.0	Bajo	Adecuado para plántulas, plantas en macetas, y plantas sensitivas a sales.
2.7-4.6	0.76-1.25	2.1-3.5	Normal	Rango estandar para zona radicales de la mayoría de plantas. Rango superior para plantas sensitivas a sales.
4.7-6.5	1.26-1.75	3.6-5.0	Alto	Posible reducción en el vigor, especialmente en climas calientes.
6.6-7.8	1.76-2.25	5.1-6.0	Muy Alto	Posible daño por sales debido a reducida absorción de agua. Probable reducción en crecimiento. Síntomas incluyen quemaduras en el borde de hojas y marchitamiento.
> 7.8	> 2.25	> 6.0	Extremo	La mayoría de cultivos tiene problemas de sales en este nivel. Se requiere inmediata lixiviación de sales.

pH

El pH de los sustratos afecta la disponibilidad de nutrientes, especialmente de los micronutrientes. En este sentido, los valores de pH alejados de los rangos óptimos, pueden reflejar una deficiencia de algún nutriente, aunque este se encuentre presente en la solución del suelo. En la siguiente figura se observa la disponibilidad de los nutrientes de acuerdo al rango de pH.

Efecto del pH de los sustratos sobre la disponibilidad de los distintos nutrientes.





En general los valores óptimos en cuanto a disponibilidad de nutrientes se dan entre 5,5 y 6,5. El cannabis se desarrolla correctamente en sustratos que presenten esos rangos de pH. El pH también se mide tanto en la solución del riego como en el sustrato siguiendo los mismos procedimientos que para la CE.

Manejo del cultivo y factores abióticos que afectan la producción de Cannabis.

El cultivo de cannabis se puede separar fácilmente en tres etapas o estadios distintos de producción. La primera etapa es la de propagación, que involucra los primeros días en la vida del nuevo individuo juvenil. El cannabis puede propagarse por semilla (sexual), por esquejes de tallos vegetativos (clonación, agámica) y por técnicas de propagación in vitro. El método más común para la propagación en sistemas productivos suele ser la agámica ya que, además de ser un método de bajo costo, produce plantas genéticamente uniformes con tasas constantes de crecimiento y producción de cannabinoides en comparación con la propagación a partir de semillas. Si bien la propagación por semillas no presenta ninguna complejidad, si presenta los inconvenientes de no haber en el mercado local todavía acceso a semillas de producción controlada, que haya cumplido con todos los requisitos necesarios y pueda asegurar su estabilidad, corriendo el riesgo de tener producciones que, a partir de las semillas, presenten plantas y resultados distintos a los esperados. En este sentido, es importante destacar que, si se va a realizar el cultivo desde semilla, es fundamental disponer de semillas debidamente registradas, bajo los protocolos que rige el INASE para asegurar un producto estable y seguro. Cuando se trabaja con clones, al ser cada individuo exactamente igual genéticamente que el material del cual se parte, se puede asegurar que, manteniendo las condiciones ambientales dentro de las salas de cultivo se obtendrán los mismos resultados, tanto en relación al rendimiento de peso seco de flores, sino como de su perfil y concentración de cannabinoides.

El objetivo principal de la propagación por clones es facilitar la formación de raíces adventicias. Se han identificado varios factores que favorecen el enraizamiento adventicio en esquejes. Algunos de estos incluyen el área foliar (o número de hojas), la posición de corte en la planta madre, el uso de hormonas de



enraizamiento, la iluminación, el medio de enraizamiento, la humedad, la temperatura, el estado del agua y la nutrición mineral. Todos estos factores en su conjunto hacen al éxito o fracaso de la clonación.

Si bien la fase de propagación es crítica, en el sentido que se están generando los nuevos individuos para la producción, las fases de crecimiento vegetativo y floración serán las que realmente influyan en el rendimiento final del cultivo. Como ya se dijo, el cannabis es una planta de día corto, es decir comienza a florecer cuando los días se empiezan a acortar. En este sentido, en condiciones controladas, es posible manejar las etapas tanto vegetativa como de floración.

Para mantener a la planta en el estadio vegetativo, se la somete a un fotoperiodo de 18 hs de luz y 6 de oscuridad continuo. Durante este estadio, se realizarán los manejos culturales necesarios para maximizar la producción de flores y promover el aumento de los metabolitos secundarios. La respuesta de una planta a los factores ambientales y a su manejo varía según el cultivar, el genotipo y la ruta metabólica responsable de la producción de esos metabolitos secundarios.

Las técnicas de manejo de cultivo aplicadas en la producción de cannabis incluyen las podas del tallo principal una, dos o incluso tres veces, la eliminación de hojas, (eliminación de hojas viejas hasta defoliación total), la eliminación de ramas, el uso de enrejados para la conducción, o una combinación de todas las técnicas descritas. En general, los principales objetivos de la poda son promover un mayor desarrollo de las ramas laterales y limitar el tamaño de las plantas, pero también brinda otros beneficios. La poda induce cambios hormonales que explican el efecto fisiológico y cambios metabólicos, altera la morfología de la planta, y en consecuencia tienen un impacto en las condiciones microclimáticas. A pesar que es una práctica muy difundida, muy pocos estudios evaluaron el efecto de la poda en el rendimiento de los metabolitos secundarios.

La elección de la técnica de poda debe considerar el objetivo para la que se la emplea. Es decir, debe tenerse muy claro si la poda es para aumentar el rendimiento, modificar el microclima, o promover una mayor uniformidad en la producción de fitocannabinoides en la planta. Por lo tanto, es importante evaluar si el costo operativo (como mano de obra, herramientas, y materiales) aumenta el rendimiento.



Manejo de plagas

El manejo para la prevención y el combate de plagas y enfermedades debe enfocarse dentro de lo que se denomina Manejo Integrado de Plagas (MIP). Este es un enfoque multidimensional que intenta armonizar la eficiencia del combate de plagas y enfermedades con la responsabilidad social y la productividad. Existen una serie de herramientas que se utilizan para establecer un manejo adecuado de las plagas y se agrupan según su impacto en el ambiente



Esquema de toma de decisiones dentro del manejo integrado de plagas.

Para un programa de monitoreo exitoso, es esencial entrenarse en los síntomas de las infecciones y la identificación de las especies perjudiciales (plagas). La toma de decisiones puede pasar desde las buenas prácticas con manejo de raleos y monitoreos, hasta el control biológico a través de especies de insectos benéficas para la agricultura. Si la infección es severa se continúa con acciones mecánicas como retiro del material afectado y podas fuertes y como última alternativa el control químico. En este caso se utilizarán productos orgánicos o de baja toxicidad en casos severos, siguiendo las recomendaciones nacionales para este tipo de cultivos.



Residuos

En relación a la producción de desechos, en la etapa de producción vegetal se generan desechos de dos tipos: los restos propios del cultivo, esto es, partes de la planta que no se utilizan luego de la cosecha, y los restos asociados a la práctica del cultivo que son los relacionados a los insumos utilizados para la producción, que a su vez se pueden dividir en orgánicos (en este caso fibra de coco) y sintéticos (contenedores, bolsas de fertilizantes, descartes de los materiales de riego, etc.).

En principio se debe contar con sectores para almacenar por separado los residuos orgánicos (en este sitio pueden juntarse los restos del cultivo con todos los otros orgánicos) e inorgánicos o sintéticos. Al no poseer sustancias tóxicas, todo lo que son residuos orgánicos pueden ser tratados como compostables. Por otro lado, los residuos sintéticos deben ser almacenados y descartados según la normativa local vigente para este tipo de desechos (ej. separación de residuos “secos/limpios” de los desechos comunes).

10. Sistema de producción vegetal del Programa Interdisciplinario de cannabis del CENPAT

En el Programa de producción de cannabis para la Salud Pública, se utilizan producciones de interior (*indoor*), se realiza clonado de 6 cultivares de plantas madre que fueron desarrollados en el Cenpat, y se los coloca en condiciones controladas de luz (18 hs de luz y 6 de oscuridad) y temperatura (26°C). La iniciativa de utilizar plantas clonadas favorece la producción de la variedad “sin-semilla” (plantas hembras no fecundadas).



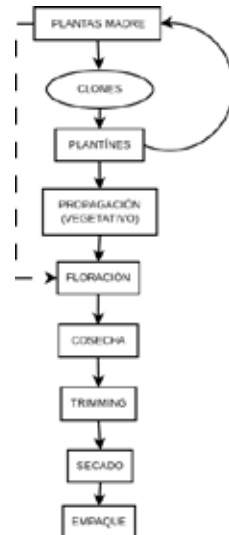
**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Procesos realizados en la etapa de cultivo desde clonado hasta poscosecha

Durante la fase vegetativa (propagación) las plantas están en contenedores de 20l con sustrato inerte. En esta fase las plantas son expuestas a PPFD entre 250 y 750 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Se utiliza un fotoperiodo de 18hs de luz y 6 hs de oscuridad. Se fertiliza con sales con macro y micronutrientes, con mayor proporción de nitrógeno (N). Durante la fase de floración se utiliza las mismas condiciones ambientales de la fase vegetativa, pero se acortan los ciclos lumínicos a 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad, lo cual induce la floración. Se fertiliza con sales con macro y micronutrientes, con mayor proporción de Potasio (K). Se cosecha a mano luego de 120 días de comenzada la fase de floración y se mantiene un ciclo de producción continua con 5 o 6 cosechas anuales y aproximadamente 1kg de flores secas/mes. Para el proceso de limpieza de las flores de cannabis, se retiran las hojas de la planta mediante corte manual con tijera previamente esterilizada o con maquina peladora de cogollos. Las flores adheridas a las ramas, y toda la planta se seca. Se colgarán las plantas previamente trimmeadas o las flores en mallas de secado, en un lugar oscuro, seco y con ventilación por aproximadamente 2 semanas para obtener la eliminación de la clorofila y finalizar la maduración de los cannabinoides presentes en los tricomas que protegen a las flores. Luego del secado se procede al empaque en bolsas de vacío plásticas que se almacenen en freezer o en un lugar fresco y oscuro.

Sala de genética y clonación



En esta sala se mantienen madres de las genéticas de interés con 6 cultivares que fueron desarrollados en el CENPAT. Se cortan entre 10 y 20 esquejes por planta madre cada 60 días. Esto permite una recuperación de las madres que son podadas teniendo en cuenta la arquitectura aérea de la planta. Aproximadamente cada 6 meses, las madres son reemplazadas con otros clones que a su vez crecen en la Sala de crecimiento vegetativo, para así asegurar la propagación agámica mediante el desarrollo continuo de clones.



Sala de genética del Proyecto Cannabis del CCT CONICET CENPAT

Sala de clones

En esta sala se usa un ciclo de 18hs de luz y 6 de oscuridad, con ventilación, humedad controlada de 50% y una temperatura de 26°C. Los clones se desarrollan en bandejas de clonación con sustrato inerte (fibra de coco o tacos de turba prensada -"jiffy"-). El sustrato se humedece con solución de hormona de enraizamiento o polvo de alga *Undaria pinnatifida* (pH 5,5) y cada esqueje se corta y se introduce en el sustrato embebido en hormona de enraizamiento. Se mantienen los clones en ambiente con 100% de humedad, 26°C y se aumenta la intensidad de luz desde oscuridad total en el primer día hasta una intensidad de 120 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (PPFD). Luego del día 5 se comienza a rustificar los clones, abriendo la cámara de clonación hasta llegar al día 15 con humedad igual a la de la sala de clones (50%)



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Obtención de clones por técnicas desarrolladas en el Proyecto Cannabis del CCT CONICET CENPAT

Sala de Propagación (crecimiento vegetativo)

Se mantiene una temperatura entre 15 y 28 °C con predominancia de temperaturas promedio de 26°C durante las horas de luz. Durante la fase vegetativa se utilizan 18 hs de luz y 6 de oscuridad, lo que favorece el crecimiento de la biomasa aérea. Se trasladan y trasplantan los clones obtenidos anteriormente, a macetas de tela geotextil de 20 litros con sustrato profesional para cannabis o fibra de coco.



Sala de propagación del Proyecto Cannabis del CCT CONICET CENPAT

Se realiza un monitoreo continuo de las variables ambientales predominantes: humedad entre 40 y 60%, intensidad de luz mayor a 500 PPFD, oscuridad total durante 6 hs, ventilación y provisión de CO₂, así



como el manejo de patógenos, riego y fertilización. La luz artificial tiene longitudes de onda del visible (luz blanca fría entre 400 y 700 nm) y UV B y UV A.

Sala de floración

Se utilizan las plantas que fueron crecidas en la sala de en contenedores de 20L . Se utiliza un fotoperíodo a 12 hs de luz y 12 hs de oscuridad, con 26°C de temperatura ambiente y una intensidad de luz mayor a 500 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (PPFD)



Medición de flujo de fotones con radiómetro



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Sala de floración del CCT CONICET CENPAT

Sala de Trimming

En esta sala se reciben las plantas cosechadas con flores y se procede en una primer instancia a retirar las hojas de las plantas, dejando únicamente las flores y las brácteas protectoras, para evitar romper los tricomas, que es donde se secretan los cannabinoides. Para retirar las hojas de los cogollos se utiliza el método manual con tijera o utilizando maquina peladora de cogollos.



Flores recién cosechadas y para ser procesadas en Sala de Trimming



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Sala de Secado

La sala de secado tiene unas mallas de secado con ventilación, entrada de aire y oscuridad. Es muy importante evitar la contaminación en este paso, especialmente evitar la propagación de hongos. Luego de aproximadamente 15 días, las plantas estarán secas y se procederá a la obtención de las flores y el descarte de los tallos. Antes de envasar los cogollos se observará bajo lupa estereoscópica si existe presencia de hongos u otros patógenos.

Envasado

Se obtienen los cogollos (flores) secos y se envasan al vacío. Este proceso se hace teniendo en cuenta la asepsia del lugar y de los operarios. Las bolsas al vacío se guardan en freezer hasta su utilización en los procesos de extracción de cannabinoides o son utilizadas directamente para realizar derivados de cannabis.



Envasado al vacío de flores de cannabis (Proyecto Cannabis CCT CONICET CENPAT)

11. *Procesos de obtención de derivados del cannabis*



Los fitopreparados se definen como extractos de origen vegetal en que se mantiene la mezcla de compuestos activos de la planta, en contraposición a los purificados (*isolates*) donde un compuesto químico único se purifica a partir de la misma. Dentro de los fitopreparados están los de espectro completo (*full spectrum*) que contienen el perfil químico completo de la planta de cannabis que se procesó. Durante la extracción, el solvente extrae una gama más amplia de productos químicos que se encuentran dentro del material vegetal. El resultado es una mayor abundancia de diferentes cannabinoides (no limitados al THC o al CBD) además de terpenos y flavonoides. Por otro lado, los de espectro amplio, contienen varios compuestos de la planta, pero algunos de ellos han sido extraídos a posteriori para cumplir con determinados requisitos, siendo el más típico ejemplo la extracción del THC.

Existe una amplia variedad de derivados del cannabis, de acuerdo al tipo de procesamiento y matriz de extracción.

Fitopreparados en base oleosa (aceites): Es el tipo de preparado medicinal más ampliamente utilizado. Se preparan extrayendo la resina por diferentes métodos, y luego la misma se diluye en un aceite carrier apropiado, como aceite de oliva o coco. Este diluyente oleoso permite manejar la concentración a medida de la necesidad.

Tinturas herbales: Se realizan utilizando etanol como disolvente para disolver el material vegetal. El vinagre y el glicerol también crean tinturas, pero no con tanta eficacia. El solvente absorbe los químicos: cannabinoides, aceites, terpenos. Al igual que los aceites, las tinturas se administran debajo de la lengua, o también agregarse en un vaso de agua u otras bebidas. Tienen la ventaja de una rápida absorción por lo cual se utilizan como opciones de “rescate”.

Comestibles: Los comestibles vienen en diferentes formas: brownies, caramelos, galletas y bebidas. Procesados comercialmente, los comestibles tienen una exhibición prominente en los dispensarios médicos y recreativos, sobre todo en la industria norteamericana, siendo una opción interesante y promisoria, de diversificación y alto valor agregado.

Productos de uso tópico: Los extractos concentrados permiten derivar en una variedad de productos cosméticos tópicos. Los tópicos son productos no ingeribles tales como lociones, bálsamos, aerosoles, parches transdérmicos, cremas, ungüentos, shampoo, y otros destinados a aplicarse directamente sobre la piel. A diferencia de algunos productos de cannabis que pueden provocar un efecto psicoactivo, los tópicos

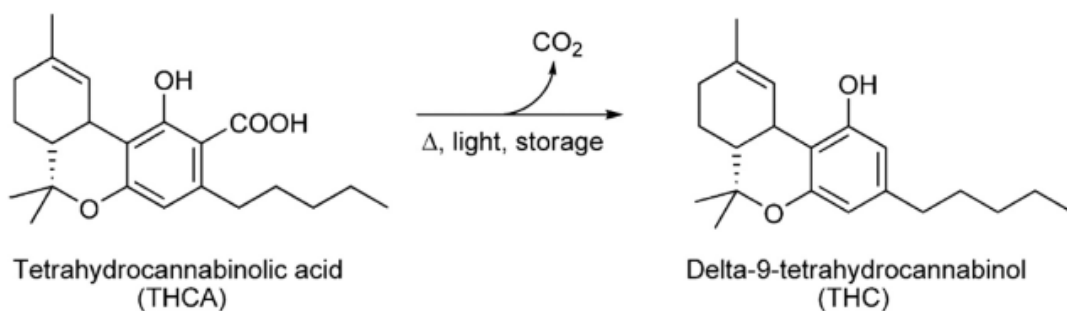


de THC proporcionan efectos localizados en el área específica del cuerpo donde se aplican sin efecto sistémico. La piel absorbe mejor el CBD, por lo que los tópicos de CBD pueden ofrecer un efecto más completo en todo el cuerpo.

Procesos de extracción

La extracción es el proceso de separar los compuestos del cáñamo o el material de la planta de cannabis en un concentrado que se puede utilizar en aplicaciones *downstream*. Existen varios tipos de extracción que pueden aplicarse a nivel industrial, que daran lugar a extractos con diferentes características y rendimientos.

La *descarboxilación* es el proceso de eliminar químicamente un grupo carboxilo hecho de COOH de la forma ácida natural de un cannabinoide, para pasar a la neutral y bioquímicamente activa del cannabinoide. Por lo tanto, el THCA se convierte en THC y CBDA se convierte en CBD. El alto calor asociado a la combustión o tostado de la hierba provoca descarboxilación forma bioquímicamente activa del cannabinoide se absorbe y circula a través del cuerpo y rápidamente se abre paso a receptores en el cerebro y el sistema inmunológico Con los productos tópicos, la forma bioquímicamente activa del cannabinoide, CBD en la mayoría de los casos, se absorbe en los vasos sanguíneos de la piel para una efecto local relativamente rápido.



Extracción con etanol

La extracción con etanol se realiza utilizando etanol 96 de grado alimenticio, mediante el principio de que los cannabinoides tendrán alta afinidad por el solvente por sus características lipofílicas. Luego de la



extracción, se realiza una destilación para evaporar el alcohol, generalmente en evaporador rotatorio (*rotavap*), aplicando calor en un baño conteniendo un balón giratorio, en donde se recupera la resina conteniendo los cannabinoides, los cuales son luego recuperados en un solvente oleoso como el aceite de oliva o coco. Este proceso se puede llevar a cabo tanto a pequeña como a gran escala sin problemas. El procesamiento de etanol es una excelente respuesta para la producción de aceite de espectro completo, la desventaja es que es necesario hacer la extracción en frío porque de lo contrario es posible que no logre la misma claridad o sabor en su producto final como lo haría con otros métodos. Además, si bien el etanol se puede reciclar durante el destilado, se producen pérdidas ya que la biomasa de cannabis es un material extremadamente absorbente, por lo cual se da una recuperación incompleta de ese solvente, y generalmente también el etanol va incorporando agua, con lo cual su capacidad para ser reciclado es limitada. Para la extracción de etanol, se requiere aproximadamente 1L de alcohol cada 50 g de biomasa, y se pierde aproximadamente un 10% en cada extracción. De todas formas, no es recomendable más de 3 o 4 ciclos por la posibilidad de incorporación de contaminantes que pueden estar en las plantas en muy baja concentración pero se van acumulando diferencialmente en el solvente por sus características químicas. Generalmente se llevan a cabo 2 extracciones con el mismo marco de material vegetal. El rendimiento de las mismas depende mucho de la variedad y el grado de optimización del proceso.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Rotavapor industrial R-300 (Buchi), con capacidad de hasta 50 L y control semiautomático con parámetros optimizados. Los usuarios pueden programar de manera flexible sus propios protocolos en el sistema y luego monitorear sus destilaciones de forma remota a través de una aplicación.

Extracción con CO₂

La extracción mediante CO₂ se ha impuesto últimamente en el sector del cannabis y del CBD a nivel internacional. El CO₂ supercrítico funciona como líquido y como gas al mismo tiempo para extraer eficazmente la mayor cantidad posible de terpenos y cannabinoides. Los extractores de CO₂ son más costosos que los equipos de extracción en alcohol, y se debe tener un conocimiento técnico específico para poder configurar el sistema de acuerdo a las necesidades de extracción. La extracción por CO₂ permite rendimientos moderados, pero lleva menos tiempo que las basadas en etanol. Los extractores de CO₂ evitan el contacto entre el material vegetal y el aire, lo que ayuda a mantener intactos los terpenos y los cannabinoides, con una alteración y oxidación mínimas, manteniendo las propiedades organolépticas de las cepas originales.



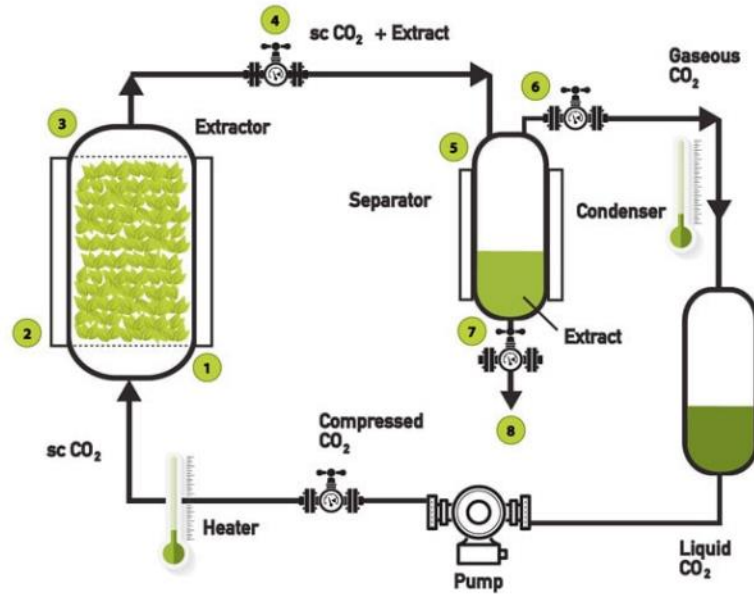
PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Arriba: resumen del proceso de extracción por CO₂ supercrítico. Abajo: Dispositivo de extracción (extraktLAB E-180, ExtraktLab)



Purificación por cromatografía ultrarrápida (*flash chromatography*)

La cromatografía ultrarrápida es una técnica que permite la separación de compuestos aislados a partir de muestras multicomponentes. La técnica utiliza es gas comprimido, como aire o nitrógeno, o, en algunos casos, se utiliza una bomba en lugar de gas, para mover un solvente (fase móvil) a través de una columna llena de un medio sólido puro (fase estacionaria). Los compuestos de las mezclas se comportan diferente en función de su carga, adsorción y solubilidad relativa. Una vez que la mezcla se ha introducido en la parte superior de la columna, los compuestos con mayor solubilidad descienden por la columna a velocidades más rápidas que aquellos con menor solubilidad. La gravedad facilita este movimiento. Los componentes resultantes emergen de la parte inferior de la columna en diferentes momentos dependiendo de su velocidad de difusión, lo que permite separar los componentes de una mezcla en función de su solubilidad. La velocidad medible a la que una sustancia pasa a través del sistema cromatográfico se conoce como retención, que es el tiempo entre la inyección y la detección.

El método de cromatografía ultrarrápida es esencialmente una versión acelerada de la cromatografía convencional. La técnica se puede considerar como un método híbrido, que combina presión media y cromatografía en columna más corta y utiliza presión de aire para acelerar el proceso y obtener los compuestos resultantes en un período de tiempo más corto. En este caso, se utiliza para poder separar componentes puros del cannabis (ej. CBD) a partir de extractos obtenidos anteriormente, por alguno de los métodos como por ejemplo por extracción con etanol. Sin embargo, cuando se utilizan a escala industrial, se debe encontrar un compromiso entre su poder separador y la cantidad que se puede depurar. Mayor capacidad y carga suelen ser perjudiciales para la separación, es decir, reducen la resolución entre las sustancias a eluir. Dado que el escalado generalmente disminuye la eficiencia de la separación, el proceso se realiza optimizando primero los parámetros para la separación a pequeña escala, antes de la adaptación al tamaño deseado. Por otro lado, se deben combinar procesos con cartuchos analíticos y preparativos para llegar a separar los componentes.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



BUCHI Pure Chromatography System. Sistemas flash o combinación de flash / HPLC preparativa, capaz de purificar a pequeña y gran escala mezclas complejas. La detección UV es estándar y se puede agregar la detección ELS para detectar todos los compuestos.

Winterización

Luego de la extracción, se puede llevar a cabo un proceso adicional llamado *winterización*. La winterización es un proceso que elimina los elementos indeseables extraídos del cannabis, por ejemplo, grasas, ceras, otros lípidos y clorofila, dejando atrás aceite limpio. Sin la winterización, estos materiales no



deseados harían que el producto final fuera turbio, más oscuro y tuviera un sabor desagradable. Esto se realiza normalmente luego de la extracción y antes de la destilación. La mayoría de los métodos de extracción primarios para obtener el aceite crudo requerirán que se realice este paso, ya que el butano, el propano y el CO₂ son no polares y disolverán el exceso de compuestos lipídicos del material vegetal. El etanol, que es más polar, si se mantiene a temperaturas frías, recogerá mucho menos grasas, lípidos y ceras en la extracción primaria, por lo que no será necesario en principio realizar este proceso.

El proceso implica tomar una sustancia no polar (aceite crudo) y disolverla en un solvente polar (etanol) a temperaturas bajo cero. Esta acción crea una mezcla llamada micela, que debe mantenerse a esas temperaturas bajo cero para que los compuestos que está tratando de eliminar puedan coagularse y filtrarse. Luego se realiza un filtrado en frío. El filtrado normalmente es asistido por un vacío para ayudar a sacar la micela a través del filtro. La filtración también debe ocurrir rápidamente, ya que debe permanecer fría para asegurar que los lípidos y las ceras no se disuelvan nuevamente en la solución. No mantener las temperaturas bajo cero correctas hará que las ceras, los lípidos y las grasas no se separen, y la preparación para el invierno del aceite no se puede completar de manera eficiente. Últimamente se han desarrollado métodos de winterización a temperatura ambiente, con más de 95% de eficacia para remover estos compuestos.

12. Aspectos de seguridad y manejo de desechos

En la etapa de producción vegetal se generan dos tipos de desechos: los restos propios del cultivo, esto es, partes de la planta que no se utilizan luego de la cosecha, y los restos asociados a la práctica del cultivo que son los relacionados a los insumos utilizados para la producción, que a su vez se pueden dividir en orgánicos (en este caso fibra de coco) y sintéticos (contenedores, bolsas de fertilizantes, descartes de los materiales de riego, etc.). En principio se debe contar con sectores para almacenar por separado los residuos orgánicos (en este sitio pueden juntarse los restos del cultivo con todos los otros orgánicos) e inorgánicos o sintéticos. Al no poseer sustancias tóxicas, todos residuos orgánicos pueden ser tratados como compostables. Por otro lado, los residuos sintéticos deben ser almacenados y descartados según la normativa local vigente para este tipo de desechos (ej. separación de residuos “secos/limpios” de los desechos comunes).



En cuanto a la seguridad del personal se deberá contar con protección ante la radiación en las salas de cultivo, así como tener un servicio de urgencias médicas via ART y elementos de primeros auxilios. En todo momento el personal debe contar con el equipamiento de seguridad apropiado (guardapolvo, guantes, anteojos de seguridad). Se debe tener en cuenta que se maneja material de vidrio, y que la extracción con etanol implica un riesgo al ser un solvente inflamable. El stock de alcohol debe ser almacenado en salas frescas (15-20 °C) y al resguardo del sol, para evitar la generación de vapores, y monitoreado constantemente para que la temperatura no pase del máximo. Se recomienda implementar un sistema contra incendios.

Las extracciones deberán hacerse bajo campana, y luego ser enviadas al rotavap para su evaporación por destilación. La generación de residuos de solvente debe ser tenida en cuenta: el etanol se almacena y descarta como residuo peligroso siguiendo su Ficha de Seguridad de productos químicos (MSDS) y en función del ANEXO I de la [Ley Nº 24.051](#) de Residuos Peligrosos (bajo la categoría Y42 “Disolventes orgánicos, con exclusión de disolventes halogenados”). Para el transporte y disposición final existen empresas dedicadas a tal fin.

13. *Técnicas analíticas para la determinación de cannabinoides y otros compuestos activos*

El aspecto fundamental a la hora de caracterizar una variedad o un producto derivado del cannabis es el tipo y concentración de los distintos cannabinoides, los cuales se cuantificarán con métodos analíticos específicos. En el caso de la caracterización de variedades, es importante para conocer qué cannabinoides expresa y en qué ratio para conocer sus potencialidades terapéuticas, como también así para determinar su potencia (el rendimiento de cannabinoides totales, expresado como miligramos por gramo de flor, o como porcentaje peso en peso, o sea g/100 g de flor). En el caso de los derivados como aceites u otros fitopreparados, es importante saber el rendimiento que se ha obtenido con el método utilizado (el cual también se refiere como mg/g de flor, pero se llega a este número primero cuantificando la concentración en el fitopreparado en mg/ml, para luego multiplicar por los ml totales y dividir por cantidad en g de flores utilizada).

Cuando se tiene el dato de concentración de cannabinoides, éste debe estar acompañado de una fecha, teniendo en cuenta que su estabilidad no es 100% y por lo tanto los valores de concentración en el



largo plazo cambiarán. Los cannabinoides, especialmente el THC, son termolábiles y fotolábiles. En el caso del THC, el almacenamiento conduce a una disminución del contenido acumulado a través de su oxidación a CBN. En estudios realizados en biomasa de cannabis sin procesar, se observó que en el primer año, el contenido de Δ^9 -THC en hojas y flores secas disminuyó en un 7 % con almacenamiento oscuro y seco a 5°C, y en un 13 % a 20°C. Con una exposición adicional a la luz, la pérdida llegó al 36 % (Fairbairn et al., 1976). En aceites también se observó el efecto de la luz y la temperatura sobre este proceso. Pero en este caso, en el primer año el 21.6% of THC se perdió cuando se almacenó a 5 °C en oscuridad, mientras que a 22°C y a la luz, el 23.16% del THC se perdió en el primer año. Esto se debe probablemente a la falta de efecto protector de las estructuras celulares (IRENNE GABRIELA TROFIN, GABRIEL DABIJA, DANUT-IONEL VAIREANU, LAURENTIU FILIPESCU, 2012).

Los métodos utilizados normalmente para la identificación y determinación de la concentración de cannabinoides se describen a continuación.

Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases (GC) es un método muy utilizado para el análisis cuantitativo de flores de cannabis. Durante una separación por GC, la muestra se vaporiza y la fase de gas móvil (es decir, el gas portador) la transporta a través de la columna hasta un detector. El detector detecta una propiedad fisicoquímica del analito y proporciona una respuesta que se amplifica y convierte en una señal electrónica para producir el cromatograma. Existen más de 60 tipos de detectores, entre los más típicos se encuentran el espectrómetro de masas (MS), detector por ionización en flama (FID), conductividad termal (TCD), emisión atómica (AED).

La separación de los diferentes componentes se logra en base a su presión de vapor relativa y sus diferentes afinidades por la fase estacionaria. La afinidad de una sustancia hacia la fase estacionaria se puede describir en términos químicos como una constante de equilibrio llamada constante de distribución (K_c), también conocida como coeficiente de partición, que se calcula dividiendo $[A]_s$, la concentración del compuesto A en la fase estacionaria, por $[A]_m$, la concentración del compuesto A en la fase móvil. La constante de distribución K_c controla el movimiento de los diferentes compuestos a través de la columna, por lo que las diferencias en la constante de distribución de los diferentes compuestos permiten la separación



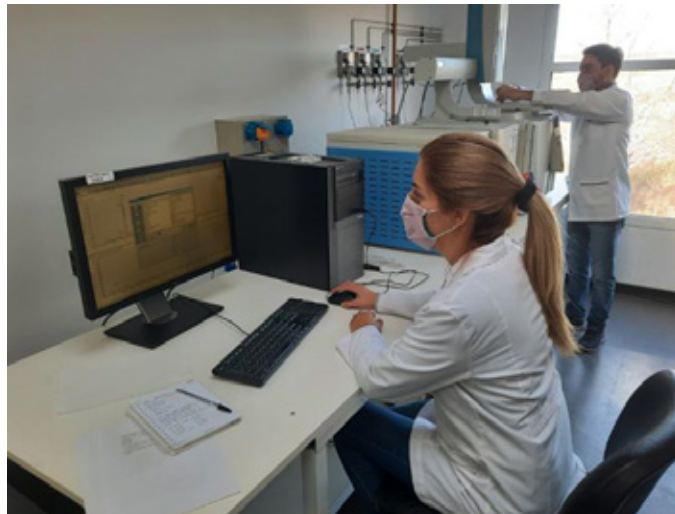
cromatográfica. Kc depende de la temperatura y también depende de la naturaleza química de la fase estacionaria, por lo tanto, la temperatura o una fase estacionaria diferente se pueden utilizar como una forma de mejorar la separación de diferentes compuestos a través de la columna. El tiempo que tarda un compuesto particular en viajar a través de la columna hasta el detector se conoce como su *tiempo de retención*. Este tiempo se mide desde el momento en que se inyecta la muestra hasta el punto en que la pantalla muestra una altura de pico máxima para ese compuesto. Diferentes compuestos tienen diferentes tiempos de retención. Cuando se trata del mismo compuesto, el tiempo de retención será el mismo, pero el área bajo el pico será proporcional a la concentración del compuesto en la mezcla. Esto permite cuantificar la muestra incógnita interpolando contra una curva construida a partir de diluciones de un material de referencia (standard).

Los detectores de ionización de llama (FID) son los detectores de aplicación más general y más utilizados. En un FID, la muestra se dirige a una llama de aire e hidrógeno después de salir de la columna, y sufre pirólisis o descomposición química a través de un intenso calentamiento. Los compuestos pirolizados liberan iones y electrones que transportan corriente, la cual es medida por un picoamperímetro. El GC/FID es extremadamente sensible (límites de detección de 1 pg/s), sin embargo, esta técnica requiere gas inflamable y también destruye la muestra. En el caso del GC/MS, parte de lo que pasa por el detector se desvía al MS, donde el espectrómetro de masas escanea las masas continuamente a lo largo de la separación. A continuación, la muestra se ioniza y fragmenta. Luego, los iones pasan a un analizador de masas donde los iones se clasifican según su valor m/z , o relación masa-carga. Esto dará un patrón de fragmentación que se puede comparar con una base de datos informática de patrones conocidos. Eso significa que se puede encontrar la identidad de una amplia gama de compuestos sin tener que conocer sus tiempos de retención.



Debido a las altas temperaturas utilizadas, todos los cannabinoides de la muestra se decarboxilan, por lo tanto, el GC permite cuantificar los cannabinoides *totales*, sin distinguir entre la forma ácida o neutra, por ejemplo para caracterizar una cepa en cuanto a sus componentes. Cuando se requiere distinguirlas, por ejemplo en productos ya procesados o para ver la eficacia de la decarboxilación, es necesaria una derivatización previa. El GC/MS, si bien posee menor sensibilidad, es el método de elección para identificar *de novo* no solo cannabinoides sino toda la gama de otros compuestos como terpenos y flavonoides, lo cual permite crear perfiles de cannabis (huellas dactilares químicas), una herramienta para atribuir el país de origen, las condiciones de cultivo (interior, exterior), o el registro de variedades, etc. Si se cuenta con estándares específicos, los terpenos también pueden ser cuantificados.

Equipo de GC/FID/MS.





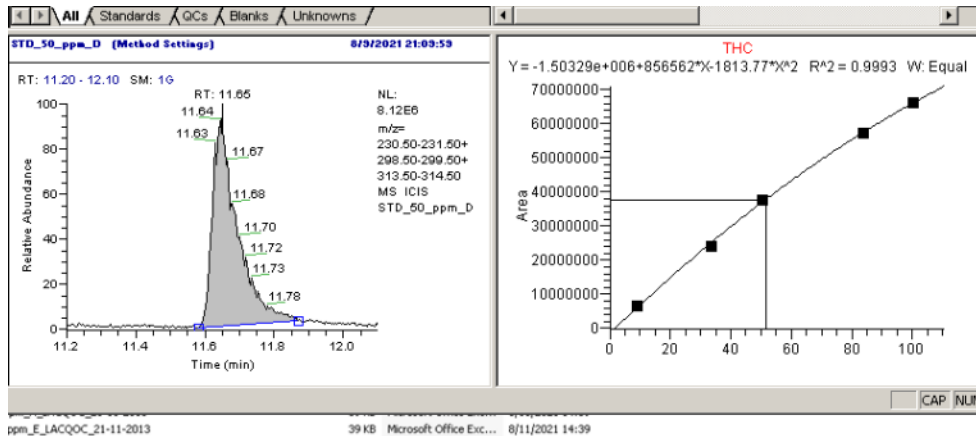
**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Curva standard para cuantificación del THC (Laboratorio de Cromatografía, CCT CONICET-CENPAT).

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución es básicamente una forma muy mejorada de cromatografía líquida en columna. En lugar de permitir que un solvente gotee a través de una columna por gravedad, se fuerza a través de altas presiones, de hasta 400 atmósferas, lo cual lo hace mucho más rápido. También le permite usar un tamaño de partícula mucho más pequeño para el material de relleno de la columna, lo que brinda un área de superficie mucho mayor para las interacciones entre la fase estacionaria y las moléculas que fluyen a través de ella. Esto permite una separación mucho mejor de los componentes de la mezcla. La otra gran mejora con respecto a la cromatografía en columna tradicional se refiere a los métodos de detección que se pueden utilizar. Estos métodos son altamente automatizados y extremadamente sensibles. Uno de los más utilizados es el de la absorción ultravioleta, ya que muchos compuestos orgánicos absorben la luz UV de varias longitudes de onda. El equipo utiliza un haz de luz UV que irradia a través de la corriente de líquido que sale de la columna y un detector en el lado opuesto de la corriente. De esta manera puede obtener una lectura directa de la cantidad de luz que se absorbe, la cual dependerá del tipo y la cantidad de un compuesto particular que esté pasando a través del haz en ese momento. Otra opción es acoplar el equipo a un espectrómetro de masas (MS).

Hay dos variantes en uso en HPLC, dependiendo de la polaridad relativa del solvente y la fase estacionaria: fase normal y fase reversa. El método más utilizado es el de fase reversa. En este caso, el tamaño de la columna es el mismo, pero la sílica se modifica para hacerla no polar, uniendo largas cadenas de



hidrocarburos a su superficie, normalmente con 8 o 18 átomos de carbono en ellas. Se utiliza un disolvente polar, por ejemplo, una mezcla de agua y un alcohol como el metanol.

En este caso, habrá una fuerte atracción entre el solvente polar y las moléculas polares en la mezcla que pasa a través de la columna. No habrá tanta atracción entre las cadenas de hidrocarburos unidas a la sílice (la fase estacionaria) y las moléculas polares en la solución. Por lo tanto, las moléculas polares en la mezcla pasarán la mayor parte de su tiempo moviéndose con el solvente, mientras que los compuestos no polares de la mezcla tenderán a formar atracciones con los grupos hidrocarbonados. También serán menos solubles en el solvente. Por lo tanto, pasan menos tiempo disueltos en el solvente y esto los ralentizará en su paso por la columna. Eso significa que ahora son las moléculas polares las que viajarán más rápido a través de la columna (tendrán menor tiempo de retención). Para un compuesto en particular, el tiempo de retención variará dependiendo de: la presión utilizada (porque eso afecta la velocidad de flujo del solvente), la naturaleza de la fase estacionaria (no solo de qué material está hecho, sino también el tamaño de las partículas), la composición exacta del disolvente, y la temperatura de la columna. Eso significa que las condiciones deben controlarse cuidadosamente si están utilizando tiempos de retención como una forma de identificar compuestos. Lo ideal es tener un material de referencia para poder comparar los picos.

El HPLC hace posible la determinación simultánea de fitocannabinoides neutros y ácidos sin derivatización. Se requieren columnas de fase reversa y, preferentemente, sistemas de gradiente programado con solvente para la separación de cannabinoides mayores y menores y sus ácidos correspondientes. Esta técnica se puede utilizar para estimar la edad del cannabis, mediante el cálculo de la proporción de cannabinoides ácidos / neutros, estudiar el efecto de los procesos de fabricación y las condiciones de almacenamiento, comparar lotes, etc. La detección generalmente se realiza mediante fotómetros UV y detección por arreglo de diodos, así como por fluorescencia, electroquímicamente y, recientemente, también por MS.

Cromatografía de capa delgada (TLC)

La cromatografía en capa delgada (TLC) se utiliza para separar y aislar mezclas que no son volátiles por naturaleza. Al igual que otros procesos de cromatografía, éste consta de una fase móvil (en este caso el solvente o mezcla de solventes de corrida) y una fase estacionaria (la placa cromatográfica, de sílica). El



principio de separación del procedimiento TLC se basa en la afinidad relativa de cada compuesto de la mezcla por la fase móvil y estacionaria. El proceso comienza sembrando en la base de la placa y luego colocándola vertical, para que se embeba en el solvente y así sube la fase móvil por capilaridad sobre la superficie de la fase estacionaria. Durante este movimiento, los compuestos de mayor afinidad ganan menos velocidad en comparación con los compuestos de menor afinidad. Esto resulta en su separación. Una vez que se completa el procedimiento, se pueden encontrar diferentes spots en la superficie estacionaria en distintos niveles, reflejando los varios elementos de la mezcla. Básicamente, los compuestos que son más atraídos hacia la fase estacionaria aseguran su posición en los niveles más bajos mientras que otros se mueven hacia los niveles más altos de la superficie.

La TLC es un método relativamente simple y económico, que no precisa equipamiento sofisticado, si bien utiliza solventes y otros insumos (placas, colorantes). Es adecuada para la adquisición de perfiles cualitativos de cannabinoides a partir de material vegetal. Se utilizan placas de sílica, generalmente extendida sobre aluminio para poder recortarlas al tamaño deseado para la cantidad de muestras a sembrar. Si bien los spots se pueden observar al UV utilizando placas con revestimiento para fluorescencia tipo F254 (la placa fluoresce al ser irradiada con luz UV), para revelar los cannabinoides generalmente se utiliza el colorante Fast Blue B, dando como resultado patrones de colores característicos de los diferentes cannabinoides. Este es un método rápido de screening que permite monitorear casi en tiempo real los avances de los cultivos, confirmar la identidad de cepas mediante el análisis de ratios, y confirmar el resultado de los métodos de extracción. Si se acopla a un análisis densitométrico podemos obtener un perfil semi-cuantitativo de los cannabinoides presentes en la muestra, e incluso referirlos contra un estándar, teniendo medidas de concentración aproximadas.



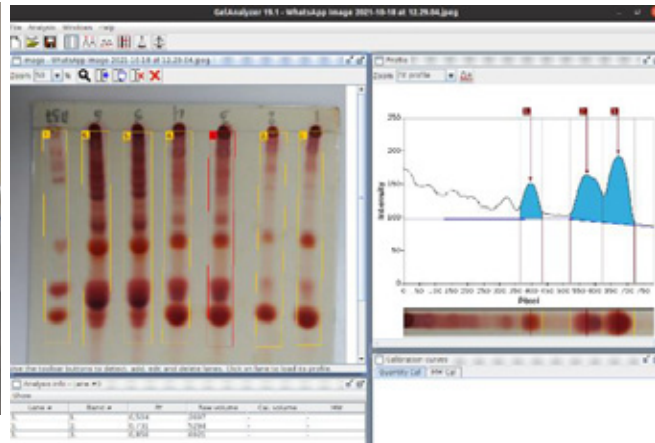
PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Izquierda Corrida cromatográfica de TLC *Derecha* Análisis densitométrico de una cromatografía en capa delgada de aceites de cannabis con distintos ratios de cannabinoides.

Espectroscopia infrarroja por Transformadas de Fourier (FTIR)

En la espectroscopia infrarroja, la radiación infrarroja pasa a través de una muestra; parte de esta radiación es absorbida por la muestra y parte de ella pasa a través (se transmite). El espectro resultante representa la absorción y transmisión molecular, creando una huella molecular de la muestra. Debido a que dos huellas nunca son idénticas, este método permite aplicaciones interesantes cuando se trata de productos complejos tales como los extractos herbarios. Por ejemplo, permite identificar materiales desconocidos, determinar la calidad o consistencia de una muestra, o determinar la cantidad de componentes en una mezcla. Además, el tamaño de los picos en el espectro es una indicación directa de la cantidad de material presente. Con algoritmos de software modernos, es una excelente herramienta para el análisis cuantitativo. Debido a que en una mezcla los picos de los distintos compuestos pueden estar juntos, se emplean una serie de métodos quimiométricos que separan estadísticamente los picos superpuestos. Una vez que ha sido contrastada contra una técnica de referencia (ej. HPLC), y cuando es calibrado correctamente, produce resultados cuantitativos, por lo cual puede ser utilizada como una técnica rápida, de muy bajo costo y amigable con el medio ambiente (no lleva solventes ni ningún otro tipo de reactivo) para el análisis de gran cantidad de muestras, lo cual resulta ideal para el monitoreo de procesos. El monitoreo por FTIR no es



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**

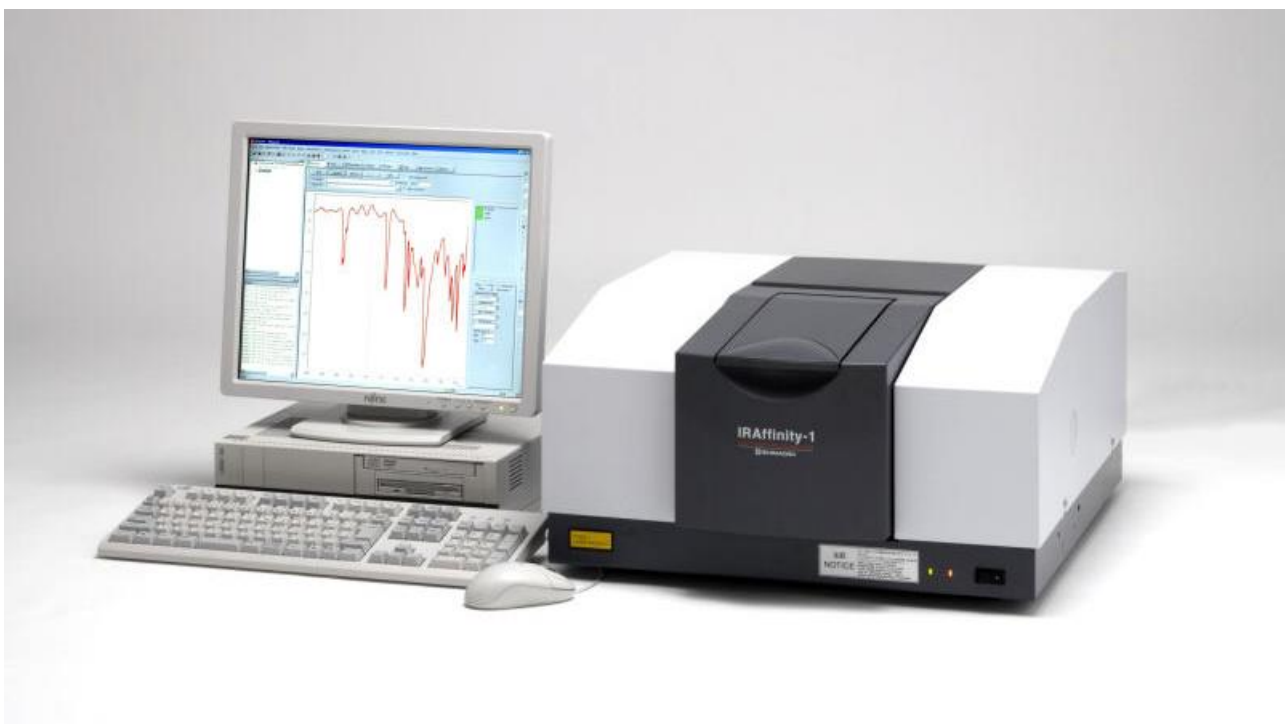


Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

destrutivo, no requiere procesamiento de la muestra, y se puede realizar de forma continua durante el crecimiento de la planta, lo que permite cambiar las condiciones rápidamente para maximizar el rendimiento de THC y CBD. La señal se puede medir muy rápidamente, generalmente en el orden de un segundo más o menos. Por tanto, el elemento de tiempo por muestra se reduce a unos pocos segundos en lugar de a varios minutos. El FTIR es un método relativamente económico y preciso que proporciona la posibilidad de monitorear los niveles de THC y CBD en tiempo real.



Instrumento FTIR marca Shimadzu modelo IRAffinity-1

Tabla Comparación entre métodos analíticos

	TLC	HPLC	GC/FID	FTIR
principio	Separación cromatografica	Separación cromatografica	Separación cromatografica	espectroscopia
exactitud	media	alta	alta	alta
precisión	media	alta	alta	media-alta



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

requiere derivatizar	no	no	si	no
Permite detectar otros compuestos	no	solo acoplado a masa	Solo acoplado a masa	si
Permite monitoreo	si	no	no	si
Especialización operador	media	alta	alta	media
Precio (aprox)	USD 3.000	USD 150.000	USD 120.000	USD 55.000

14. Análisis de calidad y seguridad

Además de la determinación de cannabinoides y terpenos, hay otros análisis que hacen a la calidad de los productos derivados del cannabis. Estos tienden a establecer la seguridad del producto para consumo humano o veterinario, y serán diferentes dependiendo de las regulaciones de cada país. La alta aplicabilidad del cannabis para medicamentos y productos alimenticios, combinada con la capacidad de la planta para acumular contaminantes, ha generado inquietudes con respecto a la seguridad de los productos derivados del cannabis. Según la OMS, “Este riesgo se puede limitar asegurando que los medicamentos a base de hierbas que contienen contaminantes y residuos nocivos no lleguen al público, evaluando la calidad de las plantas medicinales, los materiales a base de hierbas y los productos a base de hierbas finales antes de que lleguen al mercado” (World Health Organization, 2007). Las fuentes de contaminación más frecuentes son microorganismos, metales pesados y pesticidas (Dryburgh et al., 2018; McPartland and McKernan, 2017). Los análisis requeridos por tanto, son en general microbiológicos, de determinación de concentraciones de sustancias potencialmente tóxicas, y evaluación de la presencia en flores de organismos como hongos y material extraño. En todos ellos se determina un valor límite, por arriba del cual el producto es considerado inadecuado para su consumo. La mayor parte de la contaminación microbiana se produce durante la preparación y el almacenamiento inadecuados de los productos de cannabis. Por ejemplo, la cosecha, el secado y/o el almacenamiento en condiciones húmedas pueden provocar infecciones fúngicas como oídio y botritis, e infestaciones de ácaros o gusanos cogolleros. Históricamente, ha habido informes de



contaminación bacteriana con Salmonella, Enterobacter, Streptococcus y Klebsiella. Hay varios informes de casos de contaminantes de esporas fúngicas, incluidas cepas de Aspergillus productoras de micotoxinas. Las aflatoxinas, micotoxinas cancerígenas, se producen como metabolito por ciertas especies de Aspergillus y han sido detectadas en preparaciones de cannabis. En un caso con estudio de control, la comparación de dos especies de Aspergillus, *A. flavus* y *A. parasiticus*, cultivados con cannabis versus un sustrato de flora natural, de la zona demostró que el crecimiento en el sustrato de cannabis produjo aflatoxinas B1 y G1. Sin embargo, hay que tener en cuenta que estas infecciones no son frecuentes, y que gran parte de la información sobre la contaminación microbiana emana de informes de casos aislados y no controlados, así como de la comunicación personal de los productores (Dryburgh et al., 2018).

Las condiciones de producción y procesamiento de derivados comestibles de cannabis son fundamentales para la seguridad alimentaria, por ejemplo para evitar posibles contaminaciones con un patógeno del equipo o del entorno de la sala de fabricación o envasado. Para evitar contaminaciones es necesario verificar los procedimientos de limpieza y desinfección usando métodos indicadores para patógenos ambientales en muestras de superficies varias, basados en criterios zonificación higiénica. Se ha sugerido que las instalaciones para la fabricación y el envasado de comestibles derivados de cannabis deben implementar un programa de monitoreo ambiental para Salmonella y Listeria antes de la regulación por parte de la FDA y para proteger al consumidor inmunocomprometido (Knutson, 2020b, 2020c). Las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP, por sus siglas en inglés) son programas, procedimientos y políticas específicos de las instalaciones de una planta de procesamiento para producir comestibles seguros de cannabis. En USA por ejemplo, la industria del cannabis considera la regulación federal de suplementos dietéticos y de alimentos como modelos para GMP, y muchas de las empresas buscan certificaciones por operar con GMP (Knutson, 2020d).

Existen compendios de protocolos estandarizados para calcular los diferentes valores en los que luego se basan las reglamentaciones. Por ejemplo el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la FDA (Nutrition, 2022), o la monografía Monografía “Control de Calidad de la Inflorescencia de Cannabis” publicado por la American Herbal Pharmacopeia (American Herbal Pharmacopoeia, 2014). Como ejemplo, para los medicamentos herbarios, la ANMAT solicita los siguientes análisis microbiológicos:

Para materias primas y productos terminados para la preparación de tés medicinales



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

- Recuento de bacterias aeróbicas: No mayor de 10^7 ufc/g
- Recuento de Enterobacteriaceae: no mayor de 10^4 /g
- Investigación de Escherichia coli: ausencia en 1 gramo
- Investigación de Salmonella sp: ausencia en 1 gramo
- Investigación de Staphylococcus aureus: ausencia en 1 gramo
- Investigación de sulfito reductores: ausencia en 1 gramo
- Recuento de hongos y levaduras: no mayor de 10^4 ufc/g
- Determinación de aflatoxinas: límite de aceptabilidad 20 ug/kg para las cuatro aflatoxinas sumadas (B1, B2, G1 y G2) siempre que B1 no supere los 5 ug/Kg

Para medicamentos fitoterápicos de uso tópico:

- Recuento de bacterias aeróbicas: No mayor de 10^4 ufc/g
- Recuento de Enterobacteriaceae: no mayor de 10^2 /g
- Investigación de Staphylococcus aureus: ausencia en 1 gramo
- Investigación de Pseudomonas aeruginosa: ausencia en 1 gramo — Recuento de hongos y levaduras: no mayor de 10^2 ufc/g
- Determinación de aflatoxinas: negativo

Para medicamentos fitoterápicos cuya forma farmacéutica sea de uso oral:

- Recuento de bacterias aeróbicas totales: No mayor de 10^4 ufc/g
- Recuento de Enterobacteriaceae: no mayor de 10^2 /g
- Investigación de Escherichia coli: ausencia en 1 gramo
- Investigación de Salmonella sp: ausencia en 1 gramo
- Investigación de Staphylococcus aureus: ausencia en 1 gramo



- Investigación de sulfito reductores: ausencia en 1 gramo
- Recuento de hongos y levaduras: no mayor de 10^2 ufc/g
- Determinación de aflatoxinas: negativas

Como se mencionó anteriormente, recientemente la ANMAT dictó la [disposición 6431/2022](#) y su anexo “Guía para la autorización sanitaria de productos vegetales a base de cannabis y sus derivados destinados al uso y aplicación en la medicina humana, según resolución ms n° 781/22”. En este último, se menciona que “se deben realizar los siguientes controles de acuerdo al tipo de materia prima utilizada en la fabricación del producto (droga vegetal, preparado de droga vegetal como extractos, aceites, resinas, cannabinoides purificados), utilizando métodos validados o verificados en caso de estar codificados en farmacopeas vigentes internacional o nacionalmente reconocidas, aportando Bibliografía de referencia. Las características químicas del producto deben compararse contra sustancias de referencia oficiales o debidamente caracterizadas. Se deberán utilizar aquellos establecidos en la metodología de control seleccionada”.

- Aspecto, características organolépticas
- Análisis macroscópico y microscópico de la droga vegetal
- Materia extraña en droga vegetal
- Pérdida por secado/contenido de agua
- Cenizas totales en droga vegetal
- Punto de fusión de cannabinoides purificados
- Rotación óptica de cannabinoides purificados
- Identificación espectroscópica/cromatográfica de cannabinoides
- Valoración de Cannabinoides
- Contenido de THC
- Micotoxinas



- Pesticidas
- Productos de degradación (ej CBN)
- Impurezas orgánicas
- Impurezas elementales / Determinación de metales pesados
- Control microbiológico
- Control de excipientes
- La autoridad sanitaria podrá solicitar información adicional que considere necesaria para garantizar la calidad del producto a autorizar.

También se especifica que la ANMAT “emitirá a solicitud del Laboratorio que cumpla con las condiciones definidas en la norma una Autorización Sanitaria de producto vegetal a base de cannabis y sus derivados destinado al uso y aplicación en la medicina humana. La Autorización Sanitaria sólo podrá ser solicitada por laboratorios que cuenten con la habilitación correspondiente y que cumplan con las Buenas Prácticas de Fabricación y Control (BPF) según Disposición [ANMAT N°3602/18](#) (t.o. Disposición [ANMAT N°3827/18](#)) o las que en el futuro la modifiquen o complementen. El laboratorio titular es el responsable de la calidad y seguridad de los productos vegetales a base de cannabis y sus derivados”.

Esto significa que cualquier producto que quiera ser comercializado como medicamento a base de cannabis en el ámbito federal, deberá cumplir con todos los requisitos comunes a otros medicamentos de uso humano, dejando margen para que sólo grandes laboratorios de producción puedan acceder a este mercado. Sin embargo, las provincias pueden tener sus propias reglamentaciones que permitan la dispensa de productos a nivel provincial, en donde la correspondiente fiscalización queda a cargo del Ministerio de Salud provincial. En este sentido, existe la posibilidad de regular productos provenientes de PYMEs, o artesanales, los cuales, sin desmedro de su seguridad para consumo humano, puedan ser sujetos a un control de calidad más acorde a sus posibilidades económicas. Esto sólo traerá beneficios porque se estará regulando un mercado gris ya existente en diversos lugares del país.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

15. Bibliografía

Ali, S., Scheffer, I.E., Sadleir, L.G., 2019. Efficacy of cannabinoids in paediatric epilepsy. *Dev. Med. Child Neurol.* 61, 13–18. <https://doi.org/10.1111/dmnc.14087>

American Herbal Pharmacopoeia, 2014. Cannabis Inflorescence Quality Control Monograph, AHP Monographs.

Aran, A., Cassuto, H., Lubotzky, A., Wattad, N., Hazan, E., 2019. Brief Report: Cannabidiol-Rich Cannabis in Children with Autism Spectrum Disorder and Severe Behavioral Problems—A Retrospective Feasibility Study. *J. Autism Dev. Disord.* 49, 1284–1288. <https://doi.org/10.1007/s10803-018-3808-2>

Barchel, D., Stolar, O., De-Haan, T., Ziv-Baran, T., Saban, N., Fuchs, D.O., Koren, G., Berkovitch, M., 2019. Oral Cannabidiol Use in Children With Autism Spectrum Disorder to Treat Related Symptoms and Co-morbidities. *Front. Pharmacol.* 9.

Benjamin De Backer, Kevin Maebe, Alain G. Verstraete, Corinne Charlier. 2012. Evolution of the Content of THC and Other Major Cannabinoids in Drug-Type Cannabis Cuttings and Seedlings During Growth of Plants. *J for sci.* 54: 918-922

Bernstein N., Gorelick J., Koch S. 2019. Interplay between chemistry and morphology in medical cannabis (Cannabissativa L.). *J crop prod.* 129: 185-194

Bernstein N, Gorelick J, Zerahia R and Koch S (2019) Impact of N, P, K, and Humic Acid Supplementation on the Chemical Profile of Medical Cannabis (Cannabis sativa L). *Front. Plant Sci.* 10:736.

Bevan L, Jones M and Zheng Y(2021) Optimisation of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium for Soilless Production of Cannabis sativa in the Flowering Stage Using Response Surface Analysis. *Front. Plant Sci.* 12:764103.

Bitencourt, R.M., Takahashi, R.N., 2018. Cannabidiol as a Therapeutic Alternative for Post-traumatic Stress Disorder: From Bench Research to Confirmation in Human Trials. *Front. Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00502>

Brunetti, P., Pichini, S., Pacifici, R., Busardò, F.P., del Rio, A., 2020. Herbal Preparations of Medical Cannabis: A Vademecum for Prescribing Doctors. *Medicina (Mex.)* 56. <https://doi.org/10.3390/medicina56050237>

Cáceres Guido, P., Riva, N., Calle, G., Dell'Orso, M., Gatto, M., Sberna, N., Schaiquevich, P., 2020. Medicinal cannabis in Latin America: History, current state of regulation, and the role of the pharmacist in a new clinical experience with cannabidiol oil. *J. Am. Pharm. Assoc.* 60, 212–215. <https://doi.org/10.1016/j.japh.2019.09.012>

Cassano, T., Villani, R., Pace, L., Carbone, A., Bukke, V.N., Orkisz, S., Avolio, C., Serviddio, G., 2020. From Cannabis sativa to Cannabidiol: Promising Therapeutic Candidate for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Front. Pharmacol.* 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00124>



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Defensoría General de la Nación, 2021. Cannabis Medicinal: una cuestión de derechos. Subdirección de Comunicación Institucional Coordinación de Prensa, Comunicación Institucional y Relaciones con la Comunidad.

De Prato Luca,, Omid Ansari,b,c, Giles E. St.J. Hardya,d, John Howiesona, Graham O’Haraa, Katinka X. Ruthro. 2022. The cannabinoid profile and growth of hemp (*Cannabis sativa* L.) is influenced by tropical daylengths and temperatures, genotype and nitrogen nutrition. *J Ind Crops & Prod* 178: 114605

Dryburgh, L.M., Bolan, N.S., Grof, C.P.L., Galettis, P., Schneider, J., Lucas, C.J., Martin, J.H., 2018. Cannabis contaminants: sources, distribution, human toxicity and pharmacologic effects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 84, 2468–2476. <https://doi.org/10.1111/bcp.13695>

Fairbairn, J.W., Liebmann, J.A., Rowan, M.G., 1976. The stability of cannabis and its preparations on storage. *J. Pharm. Pharmacol.* 28, 1–7. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1976.tb04014.x>

Farag S., O. Kayser. *The Cannabis Plant: botanical Aspects*. Technical University Dortmund, Technical Biochemistry Dortmund, Dortmund, Germany

Gallily, R., Yekhtin, Z., Hanuš, L.O., 2015. Overcoming the Bell-Shaped Dose-Response of Cannabidiol by Using <i>Cannabis</i> Extract Enriched in Cannabidiol. *Pharmacol. Amp Pharm.* 06, 75–85. <https://doi.org/10.4236/pp.2015.62010>

Hazekamp, A., Tejkalová, K., Papadimitriou, S., 2016. Cannabis: From Cultivar to Chemovar II—A Metabolomics Approach to Cannabis Classification. *Cannabis Cannabinoid Res.* 1, 202–215. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0017>

Health Canada, 2018. Cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids Dried or fresh plant and oil for administration by ingestion or other means Psychoactive agent, Information for Health Care Professionals.

IRENE GABRIELA TROFIN, GABRIEL DABIJA, DANUT-IONEL VAIREANU, LAURENTIU FILIPESCU, 2012. Long-term Storage and Cannabis Oil Stability. *Rev. Chim.* 63, 0–0.

Junior, N.C.F., Dos-Santos-Pereira, M., Guimarães, F.S., Del Bel, E., 2020. Cannabidiol and Cannabinoid Compounds as Potential Strategies for Treating Parkinson’s Disease and L-DOPA-Induced Dyskinesia. *Neurotox. Res.* 37, 12–29. <https://doi.org/10.1007/s12640-019-00109-8>

Kamal, B.S., Kamal, F., Lantela, D.E., 2018. Cannabis and the Anxiety of Fragmentation—A Systems Approach for Finding an Anxiolytic Cannabis Chemotype. *Front. Neurosci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00730>

Kanosch W. Kratz, anosch W. Kratz, Mariano Garcia de Palau, 2018. manual sobre cannabis medicinal. Formación en el uso profesional y responsable de cannabinoides y terpenos.

Kisková, T., Mungenast, F., Suváková, M., Jäger, W., Thalhammer, T., 2019. Future Aspects for Cannabinoids in Breast Cancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 20. <https://doi.org/10.3390/ijms20071673>

Knutson, K., 2020a. Chapter 5 - Chemistry of cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol, in: Knutson, K. (Ed.), Food Safety Lessons for Cannabis-Infused Edibles. Academic Press, pp. 69–75. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819512-3.00005-5>

Knutson, K., 2020b. Chapter 7 - Preventive controls, in: Knutson, K. (Ed.), Food Safety Lessons for Cannabis-Infused Edibles. Academic Press, pp. 91–109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819512-3.00007-9>

Knutson, K., 2020c. Chapter 8 - Nobody is talking about environmental monitoring, in: Knutson, K. (Ed.), Food Safety Lessons for Cannabis-Infused Edibles. Academic Press, pp. 111–137. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819512-3.00008-0>

Knutson, K., 2020d. Chapter 4 - Good manufacturing practice compliance is not optional, in: Knutson, K. (Ed.), Food Safety Lessons for Cannabis-Infused Edibles. Academic Press, pp. 47–68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819512-3.00004-3>

Larsen, C., Shahinas, J., 2020. Dosage, Efficacy and Safety of Cannabidiol Administration in Adults: A Systematic Review of Human Trials. *J. Clin. Med. Res.* 12, 129–141. <https://doi.org/10.14740/jocmr4090>

Lopez, A., 2021. La cadena de valor del cannabis: situación y tendencias internacionales y oportunidades para la Argentina. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26046.20808>

McPartland, J.M., McKernan, K.J., 2017. Contaminants of Concern in Cannabis: Microbes, Heavy Metals and Pesticides, in: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M.A. (Eds.), Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology. Springer International Publishing, Cham, pp. 457–474. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_22

Milando, R., Friedman, A., 2019. Cannabinoids: Potential Role in Inflammatory and Neoplastic Skin Diseases. *Am. J. Clin. Dermatol.* 20, 167–180. <https://doi.org/10.1007/s40257-018-0410-5>

Minerbi, A., Häuser, W., Fitzcharles, M.-A., 2019. Medical Cannabis for Older Patients. *Drugs Aging* 36, 39–51. <https://doi.org/10.1007/s40266-018-0616-5>

Nabbout, R., Thiele, E.A., 2020. The role of cannabinoids in epilepsy treatment: a critical review of efficacy results from clinical trials. *Epileptic. Disord.* 22, S23–S28. <https://doi.org/10.1684/epd.2019.1124>

Nada Hammami, Jean-Pierre Prived, David L. Joly, Gaetan Moreau. 2021. Associations between cannabinoids and growth stages of twelve industrial hemp cultivars grown outdoors in Atlantic Canada. *Ind crop prod.* 172:113997

Nadav Danziger, Nirit Bernstein. 2021. Plant architecture manipulation increases cannabinoid standardization in ‘drug-type’ medical cannabis. *J crop prod* 167: 113528

Nadav Danziger, Nirit Bernstein. 2021. Plant architecture manipulation increases cannabinoid standardization in ‘drug-type’ medical cannabis. *J crop prod* 167: 113528

Naim-Feil E, Breen EJ, Pembleton LW, Spooner LE, Spangenberg GC and Cogan NOI(2022) Empirical Evaluation of Inflorescences’ Morphological Attributes for Yield Optimization of Medicinal Cannabis Cultivars. *Front. Plant Sci.* 13:858519.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Navarini, L., Bisogno, T., Mozetic, P., Piscitelli, F., Margiotta, D.P.E., Basta, F., Afeltra, A., Maccarrone, M., 2018. Endocannabinoid system in systemic lupus erythematosus: First evidence for a deranged 2-arachidonoylglycerol metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 99, 161–168. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2018.04.010>

Navarini, L., Margiotta, D.P.E., Afflitto, G.G., Afeltra, A., 2019. Chapter 38 - Cannabinoids in Autoimmune and Rheumatic Diseases, in: Perricone, C., Shoenfeld, Y. (Eds.), *Mosaic of Autoimmunity*. Academic Press, pp. 417–429. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814307-0.00038-4>

Nutrition, C. for F.S. and A., 2022. *Bacteriological Analytical Manual (BAM)*. FDA.

Nemati, R.; Fortin, J.-P.; Craig, J.; Donald, S. 2012. Growing Mediums for Medical Cannabis Production in North America. *Agronomy*, 11:1366.

Oier Aizpurua-Olaizola, Umut Soydaner, Ekin Ozturk, Daniele Schibano, Yilmaz Simsir, Patricia Navarro, Nestor Etxebarria, and Aresatz Usobiaga. 2016. Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of Cannabis sativa Plants from Different Chemotypes. *J nat prod.* 79, 324–331

Onaivi, E.S., Ishiguro, H., Liu, Q.-R., 2017. Cannabinoid CB2 Receptor Mechanism of Cannabis sativa L., in: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M.A. (Eds.), *Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 227–247. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_10

Pamplona, F.A., da Silva, L.R., Coan, A.C., 2018. Potential Clinical Benefits of CBD-Rich Cannabis Extracts Over Purified CBD in Treatment-Resistant Epilepsy: Observational Data Meta-analysis. *Front. Neurol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00759>

Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S., Corsi, L., 2018. Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *BioMed Res. Int.* 2018, 1691428. <https://doi.org/10.1155/2018/1691428>

Pisanti, S., Bifulco, M., 2019. Medical Cannabis: A plurimillennial history of an evergreen. *J. Cell. Physiol.* 234, 8342–8351. <https://doi.org/10.1002/jcp.27725>

Plan terapéutico especial, grupo de trabajo de cannabis medicinal, 2021. *Guía de manejo clínico de cannabis medicinal*. Cannava Sociedad del Estado, Gobierno de Jujuy.

Poyatos, L., Pérez-Acevedo, A.P., Papaseit, E., Pérez-Mañá, C., Martín, S., Hladun, O., Siles, A., Torrens, M., Busardo, F.P., Farré, M., 2020. Oral Administration of Cannabis and Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) Preparations: A Systematic Review. *Medicina (Mex.)* 56. <https://doi.org/10.3390/medicina56060309>

Robinson, E.S., Alves, P., Bashir, M.M., Zeidi, M., Feng, R., Werth, V.P., 2017. Cannabinoid reduces inflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha and type I interferons in dermatomyositis in vitro. *J. Invest. Dermatol.* 137, 2445–2447. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.05.035>

Russo, E.B., 2018a. The Case for the Entourage Effect and Conventional Breeding of Clinical Cannabis: No “Strain,” No Gain. *Front. Plant Sci.* 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01969>



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Russo, E.B., 2018b. Cannabis Therapeutics and the Future of Neurology. *Front. Integr. Neurosci.* 12, 51. <https://doi.org/10.3389/fnint.2018.00051>

Russo, E.B., 2017. History of Cannabis as Medicine: Nineteenth Century Irish Physicians and Correlations of Their Observations to Modern Research, in: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M.A. (Eds.), *Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 63–78. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_2

Russo, E.B., Grotenhermen, F., 2014. *The Handbook of Cannabis Therapeutics: From Bench to Bedside*. Routledge.

Schubert, D., Kepchia, D., Liang, Z., Dargusch, R., Goldberg, J., Maher, P., 2019. Efficacy of Cannabinoids in a Pre-Clinical Drug-Screening Platform for Alzheimer's Disease. *Mol. Neurobiol.* 56, 7719–7730. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1637-8>

Shin, S., Mitchell, C., Mannion, K., Smolyn, J., Meghani, S.H., 2019. An Integrated Review of Cannabis and Cannabinoids in Adult Oncologic Pain Management. *Pain Manag. Nurs.* 20, 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.pmn.2018.09.006>

Sirikantaramas, S., Taura, F., 2017. Cannabinoids: Biosynthesis and Biotechnological Applications, in: Chandra, S., Lata, H., ElSohly, M.A. (Eds.), *Cannabis Sativa L. - Botany and Biotechnology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 183–206. https://doi.org/10.1007/978-3-319-54564-6_8

Stockings, E., Zagic, D., Campbell, G., Weier, M., Hall, W.D., Nielsen, S., Herkes, G.K., Farrell, M., Degenhardt, L., 2018. Evidence for cannabis and cannabinoids for epilepsy: a systematic review of controlled and observational evidence. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 89, 741–753. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2017-317168>

Thomas, B.F., ElSohly, M.A., 2016. Chapter 1 - The Botany of Cannabis sativa L., in: Thomas, B.F., ElSohly, M.A. (Eds.), *The Analytical Chemistry of Cannabis*. Elsevier, pp. 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804646-3.00001-1>

Torres A., Diane Camberato, Roberto G. Lopez, y Mike Mickelba. Medición de pH y Conductividad Eléctrica en Sustratos. Departamento de Horticultura y Arquitectura de Áreas Verdes, Purdue University www.hort.purdue.edu

Turcotte, C., Blanchet, M.-R., Laviolette, M., Flamand, N., 2016. The CB2 receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 73, 4449–4470. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2300-4>

Tzadok, M., Uliel-Siboni, S., Linder, I., Kramer, U., Epstein, O., Menascu, S., Nissenkorn, A., Yosef, O.B., Hyman, E., Granot, D., Dor, M., Lerman-Sagie, T., Ben-Zeev, B., 2016. CBD-enriched medical cannabis for intractable pediatric epilepsy: The current Israeli experience. *Seizure* 35, 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2016.01.004>

World Health Organization, 2007. WHO guidelines for assessing quality of herbal medicines with reference to contaminants and residues. World Health Organization.



Zuardi, A.W., Rodrigues, N.P., Silva, A.L., Bernardo, S.A., Hallak, J.E.C., Guimarães, F.S., Crippa, J.A.S., 2017. Inverted U-Shaped Dose-Response Curve of the Anxiolytic Effect of Cannabidiol during Public Speaking in Real Life. *Front. Pharmacol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00259>

Zurier, R.B., Burstein, S.H., 2016. Cannabinoids, inflammation, and fibrosis. *FASEB J.* 30, 3682–3689. <https://doi.org/10.1096/fj.201600646R>



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

16. Trabajos prácticos

	Capacitación Técnica TDF	LACQOC
Laboratorio Centralizado de Química Orgánica y Cromatografía		Septiembre 2022

VISITA A INSTALACIONES DEL LABORATORIO DE QUIMICA

OBJETIVO:

- Visitar y observar las instalaciones establecidas para el procesamiento integral de material vegetal post cosecha, hasta la obtención del aceite y análisis de calidad.
- Observar la sectorización de las actividades, a fin de visualizar su adaptación en otras instalaciones.
- Comprender la sectorización mínima para el proceso integral.
- Comprender la necesidad de un sistema de gestión que abarque todo el proceso.

DESARROLLO

El CENPAT cuenta con las siguientes instalaciones, las cuales se describen de acuerdo al proceso integral para la obtención de análisis de los extractos.

SALA DE BALANZAS: sala acondicionada, con temperatura controlada. Mesada anti vibración sobre la cual se encuentra una balanza analítica (precisión de 1 mg) utilizada en el pesado de muestras de análisis (resinas y aceites) y patrones de cromatografía. Balanza granataria (precisión 0,1 g) utilizada en el pesado del material vegetal, previo y posterior a la descarboxilación, y del balón de extracción.

SALA DE ESTUFAS: sala acondicionada donde se encuentran estufas y muflas. Estufa para descarboxilación, de control automático, selección digital de temperatura. Mufla con control automático, selección digital de temperatura, para muflar material de vidrio utilizado en los ensayos.

LABORATORIO N° 8: cuenta con mesada central amplia para el trabajo de preparación del material proveniente del indoor, y ensayos de calidad de los aceites/flores/resinas. Materiales necesarios: bandejas de aluminio para pesar y descarboxilar, espátulas de inox, molinillo, equipo de filtración por gravedad,



agitadores, microcentrífuga, equipo y accesorios para TLC, etc. Aquí se realizan los ensayos de cromatografía en placa delgada (TLC).

LABORATORIO N° 11. Este laboratorio cuenta con rotaevaporador, indispensable para la preparación de la resina, chiller para condensar el etanol evaporado (reutilización de recursos), campanas de extracción, agitador y sonicador.

LABORATORIO N°10. Sala de cromatografía. Cuenta con dos cromatógrafos de gases, donde se realizan los análisis de muestras.

LABORATORIO N° 9. Cuenta con espectrofotómetro de emisión atómica (ICP-OES) con el cual se realizan los análisis de metales pesados, y un cromatógrafo líquido de alta presión con detector UV (HPLC-UV).

El laboratorio posee un **Cuaderno de Laboratorio** donde se registran: ingreso de las muestras con seguimiento desde origen, datos del proceso en la obtención de aceite para evaluar rendimientos, volúmenes de extracción, masa de resina, masa de flores, etc.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Trabajo práctico N° 1. QUIMICA -TECNICAS ANALITICAS 1- PESADO Y DECARBOXILACION PARA PREPARACION DE ACEITE

OBJETIVO:

- Observar el desarrollo de diferentes técnicas de análisis de cannabinoides.
- Familiarización con técnicas y nomenclatura específica.
- Familiarización con equipamiento e instrumental específicos.

CROMATOGRAFIA GASEOSA CON DETECTOR DE LLAMA (demostración).

Para iniciar esta jornada realizaremos una inyección de muestra en el cromatógrafo gaseoso, observando y comentando las partes principales del equipo. La inyección consta de un “blanco” de hexano y una muestra de aceite conservada en el laboratorio. Tiempo estimado: 40 minutos. Se observará el cromatograma al final de las otras prácticas de laboratorio.

Materiales y equipos: bandeja de muestras, muestreador automático, horno de columna, detector, pantalla de procesamiento.

TEST DE BEAM (práctica)

Permite observar presencia/ausencia de CBD mediante una reacción colorimétrica.

Fundamento: El test de Beam se trata de una reacción colorimétrica sencilla para la determinación selectiva de cannabidiol (CBD). Este método tiene sus bases en la formación de hidroxiquinonas que presentan coloración violácea, púrpura o rosa, a partir de una oxidación que ocurre con la participación fundamental de un hidroxilo fenólico, presente en el CBD, con el reactivo de Beam que es KOH (hidróxido de potasio) al 5% en etanol u otro solvente similar.

Materiales:

- Reactivo: KOH al 5% en etanol
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- micropipeta p1000 regulable con sus tips
- varilla de vidrio
- guantes descartables

Preparación del reactivo de Beam: el hidróxido de potasio es un compuesto químico inorgánico que tiene muchos usos tanto industriales como comerciales. Es una sustancia fuertemente alcalina (pH alto) y por lo



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

tanto es corrosivo y peligroso para la salud, así que deber ser manipulado con precaución. El alcohol etílico se puede adquirir en casi cualquier lugar, como una farmacia o un supermercado. La preparación del reactivo es al 5 % en etanol, es decir, que por ejemplo, para preparar 100 ml de reactivo, se pesarán 5 gramos de KOH. Es importante siempre utilizar material de vidrio. También es relevante aclarar que esta reacción puede precipitar, esto significa que no todo el hidróxido de potasio se disuelve en el etanol. Suelen utilizarse baños sonicadores con un poco de temperatura para salvar este problema. Agitar prolongadamente y dar calor puede servir también.

Cuando se trata de identificar CBD en productos de cannabis, es importante tener en cuenta de qué tipo de producto se trata, para evaluar cuál es la mejor forma de hacer el test de Beam. La reacción puede llevarse a cabo en un recipiente pequeño, lo que se suele utilizar en el laboratorio es un eppendorf o un tubo de ensayo. Cuando se trata de un aceite o una resina, el procedimiento consiste, generalmente, en la aplicación de 3 y 5 gotas (o en exceso) del reactivo de Beam en 0,05 ml (1 gota) del aceite o resina. Como la resina es un extracto muy concentrado, es necesario diluirla en etanol antes de proceder con el test. Si lo que interesa es analizar una flor, hay que proceder con una extracción previa. Las formas de extracción de los cannabinoides son muchísimas y muy variadas. Lo más sencillo, es hacer una extracción con etanol. Cuando se quieren analizar otros productos como cremas, ungüentos o pomadas, es importante entender que las matrices suelen ser diferentes de acuerdo al proceso de formulación. Por lo tanto, quizás convenga evaluar cómo es la matriz y ver si conviene también hacer una dilución (o extracción) en etanol.

Referencias:

- R. MEMOIR, Z. BEN-Zvr, Y. GAONI, *Tetrahedron*, Vol 24, pp 5615 to 5624 (1968)
- <https://softsecrets.com/es-ES/articulo/test-de-beam-el-genesis-de-la-identificacion-quimica-de-cannabis-sativa>.
- <https://softsecrets.com/es-ES/articulo/laboratorio-en-casa>

Procedimiento:

Tomar una porción pequeña de flores dentro de un tubo cónico de vidrio, agregar 2 ml de etanol y machacar suavemente con una varilla de vidrio durante unos 20 segundos. Volcar el sobrenadante en otro tubo de ensayo y agregar algunas gotas del reactivo de Beam. Esperar y observar cambios. Color violáceo= positivo, marron = negativo.

TLC (CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA)(demostración)

Conocida como cromatografía en capa delgada o TLC por sus siglas en inglés (thin layer chromatography), se trata de una técnica muy sencilla pero ampliamente utilizada en química orgánica. Básicamente una fina



película de alúmina o silicagel uniformemente distribuida (fase estacionaria), permite la separación de componentes orgánicos de una muestra al ser movilizada por un solvente (fase móvil).

Materiales:

- micropipetas p1000 y p2-p10 regulables con sus tips
- vortex
- minicentrífuga
- placas TLC
- cloroformo
- cuba para cromatografía
- varilla de vidrio
- campana de gases
- guantes de nitrilo
- muestras: flores decarboxiladas de distintos tipos, aceites de tres tipos (250 ul de c/u concentración 4-5 mg/ml aprox)
- papel para limpiar
- vaporizador con colorante Fast Blue B

Procedimiento:

Primer paso (en campana): colocar la fase móvil en la cuba para cromatografía y cerrar para permitir el equilibrio líquido/vapor.

Aceites: mezclar con agitador durante 1 minuto, 250 ul de etanol y 250 ul de aceite. Esperar 10 minutos (proceso de extracción). Centrifugar 1 minuto. Tomar 2 ul del sobrenadante y sembrar en placa de TLC en pequeñas alícuotas.

Flores: mezclar en tubo eppendorf aprox 100 mg de flores y 500 ul de etanol. Machacar suavemente y dejar 10 minutos en proceso de extracción. Centrifugar 1 minuto, tomar 2 ul del sobrenadante y sembrar en pequeñas alícuotas.

Colocar la placa en forma vertical dentro de la cuba cromatográfica y esperar 20 minutos aproximadamente hasta que el frente de corrida llegue arriba. Retirar, dejar secar y sin sacar de la campana aplicar revelador específico con el vaporizador (Fast Blue B).

PREPARACIÓN DE MATERIAL VEGETAL PARA DESCARBOXILACIÓN (práctica)

Materiales:

- balanza granataria
- bandeja de aluminio
- molinillo eléctrico de café
- estufa
- espátula de metal



Encender la estufa aproximadamente 1 hora antes.

Pre-pesar bandeja de aluminio, registrar.

Picar las flores seleccionadas en molinillo eléctrico y obtener el peso neto a decarboxilar (en este caso 5 g).

Colocar en estufa a 140°C durante 2.5 hs.

EXPRESION DE UNIDADES EMPLEADAS

ml: mililitro, milésima parte de un litro; 0,001 litro

ul: microlitro, milésima parte de un mililitro; 0,001 ml



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Trabajo práctico N° 2. QUIMICA - ELABORACION DE ACEITE de CANNABIS en el LABORATORIO

OBJETIVO:

- Observar el desarrollo de la técnica de extracción en frío.
- Familiarización con técnicas y nomenclatura específica.
- Familiarización con equipamiento e instrumental específicos.

Materiales:

- material vegetal decarboxilado (5 g)
- etanol 96 grado alimenticio (100 ml)
- espátula de metal
- varilla de vidrio
- vaso de precipitados de 250 ml
- freezer -20C
- embudo
- papel de filtro tipo Whatman
- balón para rotavapor, con un pie para sostener

EXTRACCION EN FRIO y EVAPORACIÓN EN ROTAVAP (práctica)

El material vegetal y solvente utilizados estarán acondicionados con 24 horas previas en freezer.

El material vegetal se sumerge en el etanol, mezclando suavemente cada tanto con una varilla de vidrio, dentro del freezer. Se deja en reposo durante 8/10 minutos y se retira para filtrado por gravedad directo al balón.

El filtrado se lleva en balón al rotavap para su reducción a 80°C. Se evapora con rotación hasta obtener un botón de resina.

ANALISIS DENSITOMETRICO DE TLC (demostración)

Fotografiar la placa revelada de TLC para luego levantar el archivo con el software.

Para la cuantificación de los spots revelados en la TLC se debe sembrar también un aceite de concentraciones conocidas (patrón secundario) y utilizar el software GelAnalyzer para referir al volumen de cada spot. Se utiliza un factor de proporcionalidad para inferir la concentración de la muestra incógnita. Si se diluyó la muestra para sembrar se debe multiplicar por el factor de dilución utilizado.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Trabajo práctico N° 3. QUIMICA - ENVASADO Y EVALUACION FINAL DEL ACEITE EN EL LABORATORIO

OBJETIVO:

- Observar el desarrollo de la técnica de extracción en frío.
- Familiarización con técnicas y nomenclatura específica.
- Familiarización con equipamiento e instrumental específicos.

PREPARACION FINAL DE ACEITE DE CANNABIS

1 grupo por laboratorio. Laboratorios : LACQOC y SPMOM

Material es:

- baño termostático o recipiente con agua a 70-80C
- aceite de oliva
- etanol
- frascos color caramelo

PROCEDIMIENTOS:

Se pesa el balón que contiene la resina final. Calcular la cantidad de aceite necesario (en este caso 40 ml para 10 gramos de flores). En el frasco de envasado trasvasar un volumen similar de etanol, y realizar una marca externa de nivel utilizando cinta de enmascarar y marcador. Dejar escurrir el etanol antes de introducir el aceite.

Sumergir el balón en baño termostático para licuar la resina y agregar 1/3 del volumen de aceite total, mezclar lo mejor posible y volcar en frasco final. Repetir y envasar.

CROMATOGRAFIA TLC DEL ACEITE OBTENIDO

Realizar previamente dilución 1/6 del aceite obtenido para luego preparar su extracto etanólico y sembrar. Referir al TP n2 para el procedimiento.

CUANTIFICACION CON GELANALYZER

Tipificación y cuantificación de aceite obtenido.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Trabajo Practico N°1- CULTIVO

Se realizarán clones con esquejes obtenidos de plantas “madre” mantenidas en el indoor del CCT CONICET CENPAT.

A. CLONACIÓN

Los clones son individuos obtenidos a partir de esquejes de una planta madre, que será tratada con hormonas de enraizamiento y condiciones ambientales óptimas para el desarrollo radicular.

MATERIALES

Alcohol 70%

Papel tissue

Guante de nitrilo o latex

Tijeras afiladas

Hormona enraizante

Recipientes conteniendo agua

Elementos para rotular

Cámara de desarrollo de esquejes

Rociador

Tacos de coco (jiffy)

PROCEDIMIENTO

Limpiar todos los elementos con alcohol 70% papel tissue. Utilizar guantes y trabajar sobre un área limpia.

Hidratar los tacos de coco antes de comenzar.

Cortar una rama con un brote apical y más de 4 nudos con hojas. Colocar inmediatamente en un recipiente con agua para evitar formación de embolias en los vasos del esqueje. Retirar las hojas presentes en los nudos inferiores.

Hacer un corte en sesgo en la parte inferior del tallo y raspar levemente la epidermis con ayuda del filo de la tijera de podar. Insertar la parte distal del esqueje en hormona enraizante y colocar en los tacos de coco (jiffy).

Colocar el taco con el esqueje dentro de la cámara de clonado previamente humedecida con agua rociada. Rociar las hojas de los esquejes que no deberán ser cortadas en sus puntas. Cerrar la cámara y cubrir de la luz por 24 hs.



Al día siguiente descubrir de la luz y colocar en estanterías con 1 tubo led de luz fría (aprox 120 umol/m²/s) con timer a 18hs de luz y 6 hs de oscuridad, temperatura en las raíces entre 26 y 28°C y humedad 100% (rociar cada día que se noten las hojas secas y volver a cerrar la tapa de la cámara de clonado). Dejar tapado durante 3 días más.

Al 5to día empezar a abrir la tapa de la cámara de clonado durante 5 minutos e ir aumentando el tiempo de apertura cada 10min/día, controlando que no haya deshidratación de las hojas.

Cuando se comiencen a ver raíces saliendo de los tacos de coco regar por abajo.

Aproximadamente luego de 2 semanas estará listo para transplantar a sustrato final (o hasta la aparición de raíces).



B. REGISTRO DE VARIABLES MORFOLOGICAS PARA INASE

Para el registro de nuevos cultivares se deberán aportar descriptores morfológicos característicos y distinguibles de un conjunto de al menos 20 plantas. Dichos descriptores serán volcados en el Anexo II de INASE.

PROCEDIMIENTO

Cada participante completará los descriptores en una planilla que se adjunta, utilizando al menos un cultivar de los desarrollados por CONICET y mantenidos en los indoor del CCT CONICET CENPAT. Se trabajará con plántulas, plantas madre y machos.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Dirección de Registro de Variedades

ANEXO II.

DESCRIPCIÓN DE CULTIVARES DE CÁÑAMO (*Cannabis sativa* L.)

(Para las expresiones numéricas tomar como margen el extremo derecho, completándose con ceros cuando sea necesario).

Nombre propuesto _____

Nombre definitivo (1) _____

(1) A completar por el Instituto Nacional de Semillas

La siguiente descripción corresponde a observaciones efectuadas en:

Localidad _____

Provincia _____

Partido o Depto. _____

Latitud _____ Longitud _____

Altura sobre el nivel del mar _____ m

Año/s de observación _____

DISEÑO DE LOS ENSAYOS

En el caso de las variedades propagadas mediante semillas, cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos dos repeticiones de 200 plantas.

En el caso de las variedades de multiplicación vegetativa, cada ensayo deberá tener por finalidad la obtención de al menos dos repeticiones de 40 plantas.

Los ensayos deberán concebirse de tal manera que se permita la extracción de plantas o partes de plantas para efectuar medidas y conteos, sin perjudicar las observaciones ulteriores que deberán efectuarse hasta el final del ciclo de cultivo.

DESCRIPCION

A menos que se indique lo contrario, todas las observaciones para la evaluación de la distinción, homogeneidad y estabilidad se deberán tomar, como mínimo, sobre 20 plantas o partes de 20 plantas.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Entre paréntesis, en determinados niveles de expresión de algunas características, se encuentran las variedades ejemplo.

Entre corchetes, en determinadas características, encontrará el estado de desarrollo en el que se debe realizar la observación. Al final de este documento encontrará los estados de desarrollo principales y secundarios del Cáñamo.

En algunas características encontrará explicaciones relativas a varios caracteres (a), (b), (c). Las referencias se encuentran luego de la tabla de características.

Los caracteres con asterisco (señalados con *) son los caracteres incluidos en las directrices de examen que son importantes para la armonización internacional de las descripciones de variedades.

Los caracteres con signo más (señalados con +) cuentan con una explicación luego de la tabla de características.

1.- COTILEDÓN: Forma [0003] (+)

1. Oboval estrecha (Fibrimon)
2. Oboval media (Epsilon 68)
3. Oboval ancha (Futura 75)

2.- COTILEDÓN: Color [0003]

1. Amarillo (Chamaeleon)
2. Verde claro (Fedora 17)
3. Verde medio (Ferimon)
4. Verde oscuro (Dioica 88)

3.- HIPOCÓTILO: Intensidad de la pigmentación antociánica [0003]

3. Débil (Uso 31)
5. Media (Dioica 88)
7. Fuerte (KC Dora)

4.- PLANTA: Pigmentación antociánica de la corona [1006]



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

1. Ausente o muy débil
3. Débil (Felina 32)
5. Media (Epsilon 68)
7. Fuerte (Finola)

5.- HOJA: Intensidad del color verde (a)

1. Ligero (Chamaeleon)
2. Medio (Fedora 17)
3. Oscuro (Epsilon 68)

6.- HOJA: Longitud del pecíolo (a) (b)

1. Corto (Santhica 27)
2. Medio (Fedora 17)
3. Largo (Ermes)

7.- HOJA: Pigmentación antociánica del pecíolo (*) (a) (b)

1. Ausente o muy débil (Fibrol)
2. Débil (Ruby)
3. Media (Dioica 88)
4. Fuerte (Epsilon 68)
5. Muy fuerte (Finola)

8.- HOJA: Número de folíolos (*) (+) (a) (b)

1. Bajo (Ermes)
2. Medio (Epsilon 68)
3. Alto (Kompolti)

9.- FOLÍOLO CENTRAL: Longitud (a) (b)

3. Corto (Santhica 27)
5. Medio (Epsilon 68)
7. Largo (Kompolti)

10.- FOLÍOLO CENTRAL: Anchura (a) (b)

3. Estrecho (Santhica 27)
5. Medio (Dioica 88)
7. Ancho (Kompolti)



PROGRAMA ASISTENCIA TÉCNICA CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario de Cannabis



somos Gobierno de Tierra del Fuego

11.- ÉPOCA DE FLORACIÓN MASCULINA (*) (+)

- 1. Muy temprana (Finola)
- 3. Temprana (Santhica 27)
- 5. Media (Dioica 88)
- 7. Tardía (Futura 75)
- 9. Muy tardía (Kompolti)

12.- INFLORESCENCIA: Pigmentación antociánica de las flores masculinas [2102] [2304]

- 1. Ausente o muy débil (Kompolti)
- 3. Débil (Beniko)
- 5. Media (Uso 31)
- 7. Fuerte (Ermes)
- 9. Muy fuerte (Finola)

13.- INFLORESCENCIA: Contenido en THC (*) (+)

- 1. Ausente o muy bajo (Santhica 23)
- 3. Medio (Uso 31)
- 5. Muy alto (Medisins)

14.- INFLORESCENCIA: Indicar contenido de los siguientes cannabinoides expresados en porcentaje (%) (Indicar Metodología)

THC

CBD

Otros (expresar cannabinoide y contenido del mismo en %):

.....

.....

Metodología

utilizada:.....



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

15.- PLANTA: Proporción de plantas hermafroditas (*) (+) [2102] [2202] [2302] [2304]

1. Baja
3. Media
5. Alta

16.- PLANTA: Proporción de plantas femeninas (*) (+) [2102] [2202] [2302] [2304]

1. Baja
3. Media
5. Alta

17.- PLANTA: Proporción de plantas masculinas (*) (+) [2102] [2202] [2302] [2304]

1. Baja
3. Media
5. Alta

18.- PLANTA: Altura natural (*) (+) [2202] [2302]

3. Baja (Finola)
5. Media (Uso 31)
7. Alta (Ferimon)

19.- TALLO PRINCIPAL: Color (*) (c) [2202] [2302]

1. Amarillo (Chamaeleon)
2. Verde medio (Epsilon 68)
3. Verde oscuro (Kompolti)
4. Púrpura (Fibranova)

20.- TALLO PRINCIPAL: Longitud del entrenudo (c) [2202] [2302]

3. Corto (Ferimon)
5. Medio (Uso 31)
7. Largo (KC Dora)

21.- TALLO PRINCIPAL: Grosor (c) [2202] [2302]



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

1. Delgado (Finola)
2. Medio (Epsilon 68)
3. Grueso (Kompolti)

22.- TALLO PRINCIPAL: Profundidad de los surcos (c) [2202] [2302]

1. Poco profundos (Finola)
2. Medios (Ferimon)
3. Profundos (Dioica 88)

23.- TALLO PRINCIPAL: Médula en sección transversal (+) (c) [2204] [2306]

1. Ausente o delgada (Ermes)
2. Media (Santhica 27)
3. Gruesa (Chamaeleon)

24.- SEMILLA: Peso de 1000 semillas [2205] [2307]

1. Muy bajo (Finola)
2. Bajo (Chamaeleon)
3. Medio (Uso 31)
4. Alto (Fedora 17)
5. Muy alto (Epsilon 68)

25.- SEMILLA: Color del tegumento [2205] [2307]

1. Gris ligero (Fibrol)
2. Gris medio (Finola)
3. Marrón gris (Futura 75)
4. Marrón amarillento (Santhica 27)
5. Marrón (Ermes)

26.- SEMILLA: Veteado (+) [2205] [2307]

1. Débil (Finola)
2. Medio (Kompolti)
3. Fuerte (Futura 75)



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Explicaciones de la tabla de caracteres

Explicaciones relativas a varios caracteres

Los caracteres que contengan la siguiente clave deberán examinarse como se indica a continuación:

- (a) Las observaciones deberán efectuarse en el período comprendido entre el inicio de la floración (estado de desarrollo 2101, 2201 o 2301, el que tengalugar antes) y el inicio de la madurez de la semilla.
- (b) Las observaciones deberán efectuarse en las últimas hojas opuestas completamente abiertas.
- (c) Las observaciones deberán efectuarse en el entrenudo situado bajo las últimas hojas opuestas de plantas femeninas o hermafroditas exclusivamente.

Explicaciones relativas a caracteres individuales

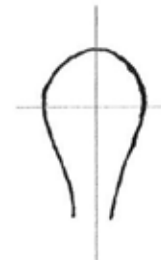
Ad. 1: Cotiledón: forma



1



2



3

Ad. 8:
folíolos

oboval estrecho

oboval medio

oboval ancho

Número de

El promedio de folíolos es 7 (número predominante de folíolos). Menos de 7 folíolos constituye un número bajo. Más de 7 folíolos constituyen un número alto.

Ad. 11: Época de floración masculina

Variedades monoicas: 50% de todas las plantas con la primera flor masculina abierta.

Otras variedades: 50% de todas las plantas masculinas con la primera flor masculina abierta.

Las primeras flores masculinas aparecen principalmente a partir de las axilas de las hojas del tallo principal. Las flores masculinas aparecen habitualmente unas 2 semanas antes de que sean



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

visibles los estilos de las flores femeninas.

Ad. 13: Inflorescencia: Contenido en THC

El método utilizado para determinar el contenido en THC se basa en la determinación cuantitativa del Δ^9 -tetrahidrocannabinol por cromatografía de gases previa extracción mediante un disolvente adecuado.

Muestreo

La muestra (mezcla de 20 plantas) se tomará de los 30 cm superiores del tallo principal, en el que aparezca la inflorescencia femenina. El muestreo se realizará en el período que va desde los 20 días posteriores al inicio de la floración femenina hasta el fin de la floración. Las muestras deberán secarse inmediatamente (en un plazo de 48 horas) a una temperatura inferior a 60 °C. Las muestras se secarán hasta adquirir un peso constante y una humedad comprendida entre el 8 y el 13 %. Tras el secado, las muestras se podrán conservar (sin aplastarlas) en un lugar oscuro a una temperatura inferior a 25 °C.

Determinación del contenido en THC (véase asimismo Cole, 2003).

1. Preparación de la muestra de ensayo

Se eliminan de las muestras secadas los tallos y las semillas de más de 2 mm.

Se trituran las muestras secadas hasta obtener un polvo semifino (que pase por un tamiz demalla de 1 mm).

El polvo puede conservarse durante 10 semanas a una temperatura inferior a 25 °C, en un lugar oscuro y seco.

2. Reactivos

- * Δ^9 -tetrahidrocannabinol, de pureza cromatográfica.
- * escualano, de pureza cromatográfica, como patrón interno.

3. Solución de extracción

- * 35 mg de escualano por 100 ml de hexano

4. Extracción del Δ^9 -THC

Se pesan 100 mg de la muestra de ensayo en polvo, se ponen en un tubo de centrifugación y se añaden 5 ml de solución de extracción con el patrón interno.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Se coloca la muestra en un baño de ultrasonidos y se deja en él durante veinte minutos. Se centrifuga durante cinco minutos a 3000 rpm y después se retira la solución sobrenadante de THC. Se inyecta la solución en el cromatógrafo y se efectúa el análisis cuantitativo.

5. *Cromatografía de gases*

a) Equipo

* cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama e inyector split/splitless.

* columna que permita una buena separación de los cannabinoides, por ejemplo, una columna capilar de vidrio de 25 m de longitud y 0.22 mm de diámetro, impregnada con una fase apolar de fenilmetil-siloxano al 5 %.

b) Banda de calibración

Al menos tres puntos en el procedimiento A y cinco en el procedimiento B, con inclusión de los puntos de 0.04 y 0.50 mg/ml Δ^9 -THC en la solución de extracción.

c) Condiciones experimentales

Las siguientes condiciones se dan a título de ejemplo respecto de la columna descrita en la letra a)

temperatura del horno:	260 °C
temperatura del inyector:	300 °C
temperatura del detector:	300 °C

c) Volumen inyectado: 1 μ l.

Resultados

Los resultados se expresarán con dos cifras decimales en gramos de Δ^9 -THC por 100 gramos de muestra analítica secada hasta alcanzar un peso constante. Se aplicará una tolerancia de 0.03 g/100 g. Los resultados se expresarán en porcentaje de peso seco.

Aunque las diferencias varietales de contenido en THC se mantienen constantes, los niveles absolutos del contenido son sensibles a las variaciones medioambientales. Los niveles de expresión tienen que calibrarse mediante las variedades ejemplo.

Ad. 15, 16 y 17: Planta: Proporción de plantas hermafroditas, plantas femeninas y plantas masculinas resp.

La *Cannabis sativa* L. es dioica por naturaleza y contiene aproximadamente las mismas proporciones de plantas masculinas y femeninas. Las plantas hermafroditas (flores masculinas y femeninas en una planta) surgen de vez en cuando, pero se crean especialmente con la actividad de mejoramiento (Bócsa, 1998). Existen varias formas intersexuales y los factores medioambientales pueden modificar la expresión del sexo.



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Plantas hermafroditas: plantas con flores masculinas y femeninas
Plantas femeninas: plantas con flores femeninas exclusivamente
Plantas masculinas: plantas con flores masculinas exclusivamente

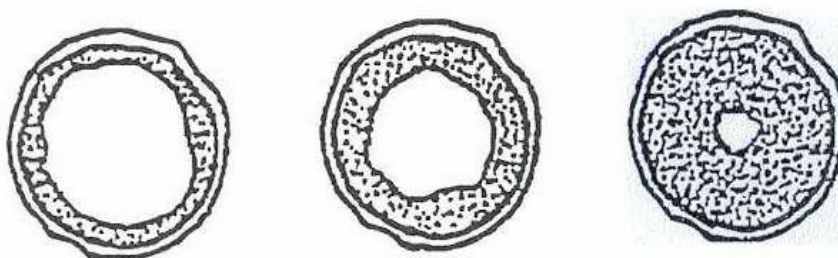
Proporción	Nota	Escalas (porcentaje)
baja	1	<= 5 %
baja a media	2	6-35 %
media	3	36-65 %
media a alta	4	66-95 %
alta	5	>= 96 %

La proporción deberá basarse en al menos 200 plantas en el caso de las variedades propagadas mediante semillas y en al menos 40 plantas en las variedades de multiplicación vegetativa (los números están redondeados a números enteros).

Ad. 18: Planta: altura natural

La altura natural se observará en plantas femeninas o hermaphroditas, teniendo en cuenta la inflorescencia.

Ad. 23: Tallo principal: médula en sección transversal



1
ausente o delgada

2
media

3
gruesa

Ad. 26: Semilla: veteado



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Veteado del tegumento: pautas de distribución en mosaico negro.



1
débil



2
media



3
fuerte

Estados de desarrollo del cáñamo

Todos los caracteres deberán registrarse en el momento adecuado para la planta en cuestión. Los estados de desarrollo se registran mediante un código de cuatro dígitos en el que se describen los estados de desarrollo principales, en función del sexo de la planta, seguidos de los estados de desarrollo detallados (Mediavilla, Vito *et al.*, 1998):

Estados de desarrollo principales

Cuatro estados principales describen el ciclo de vida de la planta y se codifican mediante el primer dígito del código de cuatro dígitos.

Primer dígito del código	Definición
0	Germinación y emergencia
1	Fase vegetativa
2	Floración y formación de la semilla
3	Senescencia

Estados de desarrollo secundarios

Los estados de desarrollo secundarios se describen mediante el segundo dígito, que indica el sexo de la planta, mientras que el tercer y el cuarto dígitos indican el estado de desarrollo de la planta.

Código	Definición	Observaciones
Germinación y emergencia		
0000	Semilla seca	
0003	Cotiledones desplegados	
El estado vegetativo se refiere al tallo principal. Las hojas se consideran desplegadas cuando los folíolos tienen al menos un cm. de largo.		
1002	Primer par de hojas	1 folíolo



**PROGRAMA
ASISTENCIA
TÉCNICA
CANNABIS MEDICINAL**



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

1004	Segundo par de hojas	3 folíolos
1006	Tercer par de hojas	5 folíolos
10xx	Último par de hojas opuestas	xx = 2 veces enésimo par de hojas
La floración y formación de la semilla se refieren al tallo principal y las ramas		
2000	punto GV (es decir, inducción de la floración)	Cambio de la filotaxis en el tallo principal de opuesta a alterna. La distancia entre los pecíolos de las hojas alternas es al menos 0,5 cm.
2001	Primordios florales	Sexo casi indistinguible
Planta masculina		
2100	Formación de la flor	Primeras flores estaminadas cerradas
2101	Inicio de la floración	Primeras flores estaminadas abiertas
2102	Floración	50% de flores estaminadas abiertas
2103	Fin de la floración	95% de flores estaminadas abiertas o marchitas
Planta femenina		
2200	Formación de la flor	Primeras flores pistiladas Bráctea sin estilos
2201	Inicio de la floración	Estilos en las primeras flores femeninas
2202	Floración	50% de brácteas formadas
2203	Inicio de la madurez de las semillas	Primeras semillas duras
2204	Madurez de las semillas	50% de semillas duras
2205	Fin de la madurez de las semillas	95% de semillas duras o quebradas
Planta hermafrodita		
2300	Formación de la flor femenina	Primeras flores pistiladas Brácteas perigonales sin estilos
2301	Inicio de la floración femenina	Primeros estilos visibles
2302	Floración femenina	50% de brácteas formadas
2303	Formación de la flor masculina	Primeras flores estaminadas cerradas
2304	Floración masculina	50% de flores estaminadas abiertas
2305	Inicio de la madurez de las semillas	Primeras semillas duras
2306	Madurez de las semillas	50% de semillas duras
2307	Fin de la madurez de las semillas	95% de semillas duras o quebradas
Senescencia		
3001	Desección de la hoja	Hojas secas
3002	Desección del tallo	Caída de las hojas
3003	Descomposición del tallo	Fibras despegadas



Bibliografía

Bócsa, I., 1998: Genetic Improvement : Conventional Approaches. In: Advances in Hemp Research. Paolo

Ranalli (Ed.). Haworth Food Products Press, Nueva York. 272 pp.

Bredemann, G., 1922 : Die Bestimmung des Fasergehaltes in Bastfaserpflanzen bei züchterischen Untersuchungen. Faserforschung 2. Leipzig : Hirzel Verlag. S. 239-258.

Clarke, R. C., 1998: Botany of the Genus Cannabis. In: Advances in Hemp Research. Paolo Ranalli (Ed.). Haworth Food Products Press, Nueva York. 272 pp.

Cole, M.D., 2003. The analysis of controlled substances – a systematic approach. John Wiley and Sons Ltd., Chichester, Reino Unido. ISBN 0-471-49252-3.

Mediavilla, Vito, Manuel Jonquera.\, Ingrid Schmid-Slembrouck and Alberto Soldati, 1998. Decimal code for growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.). Journal of the International Hemp Association 5(2) : 67-72.

Meijer de, E., 1995: Fibre hemp cultivars: A survey of origin, ancestry, availability and brief agronomic characteristics. Journal of the International Hemp Association 2(2) : 66-73

Meijer de, E., 1998: Cannabis Germplasm Resources. In: Advances in Hemp Research. Paolo Ranalli (Ed.). Haworth Food Products Press, Nueva York. 272 pp.

TG/276/1 Cáñamo, 2012-03-28. International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV).



Trabajo Practico N°2- CULTIVO

Se realizará el registro de variables ambientales; pH y Conductividad Eléctrica (CE) del agua de riego y sustrato, T°, humedad, radiación) en el indoor del CCT CONICET CENPAT.

VARIABLES AMBIENTALES EN EL CRECIMIENTO DE *Cannabis sativa*

Para el crecimiento óptimo de *Cannabis sativa* se deben controlar las variables ambientales tales como temperatura (entre 24 y 28°C), humedad (menor a 60%), una radiación mayor a 250 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, una CE entre 2 y 3 dS/m y un pH con valores de 5,5-6,5

MATERIALES

Higrómetro

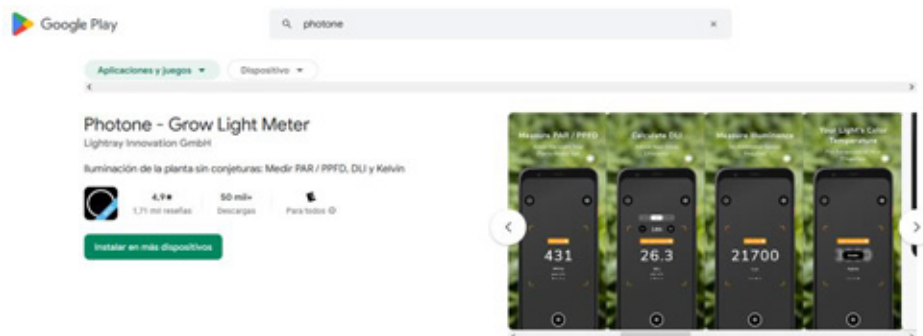
pHmetro

Radiómetro

Conductímetro

Termómetro

App Photone: <https://play.google.com/store/search?q=photone&c=apps>



PROCEDIMIENTO

Cada participante deberá registrar humedad, pH y conductividad en los sustratos. A su vez deberán medir temperatura ambiental y radiación sobre el canopeo de las plantas.

Las mediciones deberán realizarse a un conjunto de al menos 5 plantas e informar el promedio y desvío standard



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Radiómetro (mide en $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$)

Los valores de pH y CE del agua de fertirriego se medirán directamente sobre una muestra mientras que en el sustrato se medirán mediante el método de PourThru. Los pasos son los siguientes:

1. Fertirrigar o irrigar el cultivo rutinariamente como en el programa de producción
2. Dejar drenar el sustrato por 30 a 60 minutos
3. Colocar un platillo de recolección debajo de la maceta, midiendo directamente
4. Aplicar suficiente agua destilada (100 mililitros aproximadamente para coleccionar 50 mililitros de lixiviados lo más exacto posible
5. Medir el pH y el CE del lixiviado.

Los resultados mostraran las condiciones de pH y CE en las cuales está creciendo el cultivo.

Por otro lado, se medirá el pH y la CE de mezclas de agua con fertilizantes de distintos tipos y a diferentes concentraciones.

Realizar estas mediciones durante dos días sucesivos y comparar los resultados.



PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego

Trabajo Practico N°3- CULTIVO

Observación de tricomas en lupa binocular. Técnicas de poda, cosecha, postcosecha, trimming, secado, envasado y almacenamiento.

TECNICAS DE PODA, COSECHA Y POST COSECHA DE *Cannabis sativa*

Las podas durante el desarrollo de las plantas de Cannabis permite un mejor manejo durante la cosecha y mayor producción de flores. La observación de tricomas permite verificar el punto óptimo de cosecha de manera rápida y sin necesidad de medición de cannabinoides.

MATERIALES

Tijeras

Guantes de latex o nitrilo

Alcohol 70%

Envasadora al vacío

Bolsas para envasar al vacío

Balanza

Material para rotular

Máquina para pelar cogollos

Recipientes plásticos de distintos tamaños

Mallas de secado

Lupa



PROCEDIMIENTO

Limpiar las tijeras con alcohol 70% y utilizar guantes.

Para la observación de tricomas en las inflorescencias femeninas, utilizar una lupa binocular o lupa digital y observar la coloración de los tricomas capitados en las flores maduras. Registrar si los tricomas están transparentes, tienen coloración blanquecina o color ámbar, según su estado de maduración y oxidación.



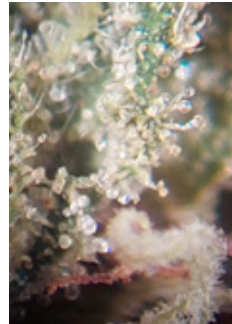
PROGRAMA
**ASISTENCIA
TÉCNICA**
CANNABIS MEDICINAL



Programa Interdisciplinario
de Cannabis



somos Gobierno de
Tierra del Fuego



Para la poda de ramas bajas de plantas en floración cortar todas las ramas basales que no reciban luz directa, a la altura del tallo principal. Tener en cuenta que queden ramas sin muchas bifurcaciones para poder hacer un trimmeado más ágil.

Poda apical en plantas propagadas por semillas. Realizar poda de meristemas apicales totales y poda “fin”, donde se deja una parte del meristema apical para obtener numerosas ramas laterales.

Para el proceso de trimmeado, retirar las hojas con pecíolos de las inflorescencias femeninas maduras. Utilizar tijera manual o máquina para pelar cogollos. Retirar manualmente los cogollos del tallo que los soporta y dejar secar en mallas de secado vertical hasta obtener flores secas (aprox 1 semana).



Luego del secado, proceder al pesado de cada planta, y junto con su rotulo, envasar al vacío con máquina y bolsas plásticas, introduciendo el precinto de trazabilidad dentro de la bolsa y anotando en la misma el cultivar, peso seco en gramos y el quimiotipo. Registrar los mismos datos en un cuaderno y pasar a planilla Excel para su posterior trazabilidad.