

## **Análise de folhas de *Cannabis sativa* L. por espectrometria de massas ambiente**

### *Analysis of Cannabis sativa L. leaves by ambient mass spectrometry*

<sup>1</sup>Nayara Araujo dos Santos.

<sup>2</sup>Rafael Scorsatto Ortiz.

<sup>3</sup>Mauro Sander Fett.

<sup>4</sup>Wanderson Romão.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil. E-mail: nayara.ads@gmail.com.

<sup>2</sup>Polícia Federal, Superintendência no Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. E-mail: ortiz.rs@gmail.com.

<sup>3</sup>Polícia Federal, Superintendência no Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil. E-mail: sanderfett@gmail.com.

<sup>4</sup>Instituto Federal do Espírito Santo, Vila Velha, Brasil. E-mail: wandersonromao@gmail.com.

Artigo submetido em 20/06/2023, aceito em 22/07/2023 e publicado em 01/11/2023.

**Resumo:** A planta *Cannabis* possui uma relação muito próxima com a sociedade há vários anos, seja devido ao seu uso medicinal, cultural, ou para fins recreativos (como maconha e haxixe). Independente da finalidade do uso, a rápida e eficiente identificação da *Cannabis* deve ser alcançada com, por exemplo, a detecção de compostos da sua principal classe; os canabinoides. Nesse sentido, este trabalho apresenta uma alternativa de análise rápida e com reduzido efeito de matriz utilizando técnicas *Ambient Mass Spectrometry*: com as fontes *paper spray* (PS) e *leaf spray ionization* (LS), e comparando-as com a técnica *Atmospheric Pressure Ionization* (API): com a fonte *electrospray* (ESI). Todas as fontes mostraram-se hábeis no processo de ionização da classe alvo: canabinoides, no entanto, uma maior intensidade relativa, e menor efeito de supressão iônica foram observados com uso da técnica de LS-MS, indicando-a como uma ferramenta promissora para rápida detecção de canabinoides diretamente do tecido vegetal, extinguindo etapas de extração e diluição requeridas nas outras fontes apresentadas.

**Palavras-chave:** canabinoides; espectrometria de massas ambiente; *leaf spray ionization*.

**Abstract:** The *Cannabis* plant has had a very close relationship with society for many years, whether due to its medicinal, cultural, or recreational purposes (such as marijuana and hashish). Regardless of the purpose of use, the fast and efficient identification of *Cannabis* must be achieved by the detection of compounds of its main class: the cannabinoids. In this sense, the present work presents an alternative of fast analysis with a reduced matrix effect using Ambient Mass Spectrometry techniques: with paper spray (PS) and leaf spray ionization (LS) sources and comparing them with the Atmospheric Pressure Ionization technique (API): using electrospray ionization (ESI) source. All sources proved adequate in the target class's ionization process: cannabinoids. However, the LS-MS technique exhibited greater relative intensity and a smaller ionic suppression effect, indicating it is a promising tool for the rapid detection of cannabinoids directly from plant tissue, eliminating the extraction and dilution steps required in the other presented sources.

**Keywords:** cannabinoids; ambient mass spectrometry; leaf spray ionization.

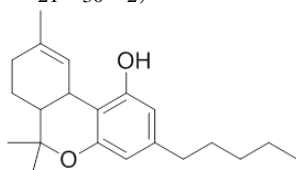
## 1 INTRODUÇÃO

A planta *Cannabis sativa* L. pode ser cultivada em várias regiões do mundo (MARIOTTI *et al.*, 2016). Trata-se de uma erva anual, dioica, pertencente à família *Cannabaceae*, gênero *Cannabis* (ELSOHLY & SLADE, 2005).

No Brasil, a planta é popularmente conhecida como maconha, um dos seus principais produtos derivados e nacionalmente ilícito (CARLINI, 2006). Esta apresenta grande potencial terapêutico, podendo produzir compostos de importância medicinal utilizados no tratamento de diversas doenças e sintomas, tais como a esclerose múltipla, dor crônica, glaucoma, asma, entre outros, além de possuir compostos com propriedades psicotrópicas (HONORIO, ARROIO, SILVA, 2005; ELSOHLY, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2023).

A *Cannabis* possui uma vasta e complexa composição química que contém diversas classes de compostos naturais (BORILLE *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2023). Entre eles, uma maior notoriedade é dada ao composto  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC), principal canabinoide responsável pelos efeitos psicoativos da planta. O  $\Delta^9$ -THC possui uma estrutura química que contém um éter cíclico, fundido a um anel aromático que tem a função orgânica fenol, no qual está presente uma cadeia alquila e um ciclo de seis membros insaturado, ao qual também há uma hidroxila alcoólica ligada (PASSAGLI, 2009).

Figura 1: Estrutura da molécula de  $\Delta^9$ -THC, M = C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>, 314Da.



Fonte: Próprio autor.

No material vegetal fresco, a maioria dos canabinoides estão dispostos sob a forma de seus precursores ácidos, como por exemplo, 95% de  $\Delta^9$ -THC e *cannabidiol* (CBD) consistem de seus precursores ácidos:  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid ( $\Delta^9$ -THCA) e *cannabidiolic acid* (CBDA), respectivamente (BROSÉUS, ANGLADA, ESSEIVA, 2010), que posteriormente são convertidos, por um processo de descarboxilação, aos seus correspondentes canabinoides neutros, e isso pode ocorrer por fatores como o tempo, o aquecimento ou em condições alcalinas (VANHOVE, VAN DAMME, MEERT, 2011).

Apesar da sua aplicação e uso para fins medicinais, a *Cannabis* é precursora da droga mais utilizada e apreendida no mundo; a maconha (*marijuana*) (*United Nations Office On Drugs And Crime*, 2022). Nesse sentido, entre as diversas técnicas instrumentais aplicadas para sua correta identificação e estudo global da sua composição, destaca-se a espectrometria de massas, do inglês *mass spectrometry* (MS) (DOS SANTOS *et al.*, 2023).

A utilização da MS já foi limitada à análise de moléculas relativamente pequenas, voláteis e preferencialmente puras por muitos anos; no entanto, devido ao avanço da tecnologia instrumental, e ao desenvolvimento de novas fontes de ionização e analisadores de massas, esta técnica tornou-se acessível para análise de diferentes tipos de matrizes, inclusive aquelas de conteúdo mais complexo como a planta *Cannabis* e seus produtos derivados: maconha, haxixe, óleo, medicamentos etc (CORREA *et al.*, 2016; PACIFICI *et al.*, 2017; POURSEYED LAZARJANI *et al.*, 2020).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A análise química direta por MS usando técnicas de ionização ambiente, do inglês *Ambient Mass Spectrometry* (AMS) avançou significativamente desde o seu surgimento, e considera-se que após as técnicas *desorption electrospray ionization* (DESI) e a *direct analysis in real time* (DART), mais de 40 métodos de AMS foram desenvolvidos, muitos destes extinguindo a etapa de pré-tratamento da amostra e separações cromatográficas (MA *et al.*, 2015).

Dentre as diversas técnicas de ionização, as fontes *Paper Spray Ionization* (PS) e *Leaf Spray Ionization* (LS) têm se apresentado como uma proposta versátil para solucionar inúmeros problemas em diversas áreas da Ciência, inclusive aplicada à produtos derivados da *Cannabis* (LIU *et al.*, 2011; DOMINGOS *et al.*, 2017; HUANG, *et al.*, 2021).

Domingos e colaboradores (2017) avaliaram a eficiência de ionização das fontes PS e LS para análises de folhas de *Cannabis*, no modo de ionização positivo. Eles observaram um sinal de alta intensidade referente ao íon protonado do  $\Delta^9$ -THC,  $[C_{21}H_{31}O_2+H]^+$ ,  $m/z$  315,2321, e erros de massas igual a 0,80 ppm, para a fonte LS(+) MS. O mesmo sinal foi detectado na análise de PS(+) MS, no entanto, ao comparar a eficiência de ionização entre os métodos (LS(+) e PS(+) MS), PS apresentou maior efeito de matriz, com detecção de sinais do substrato (papel).

Outros trabalhos abordaram a aplicação da técnica de PS-MS em *Cannabis* e seus produtos relacionados (ESPY, *et al.*, 2014; BILLS e MANICKE, 2020; HUANG, *et al.*, 2021) com intuito de uma rápida e inequívoca detecção. Por outro lado, até o momento apenas um trabalho apresenta o uso da técnica de LS-MS para análise direta de folhas de *Cannabis*. Nesse sentido, o presente estudo buscou avaliar a eficiência da técnica de LS na ionização de canabinoides em diferentes amostras de folhas de *Cannabis* apreendidas pela

polícia Federal do Rio Grande do Sul, e comparou esta eficiência com outras duas técnicas de ionização já consolidadas para tal finalidade; a técnica de ionização à pressão atmosférica, *Atmospheric Pressure Ionization* (API): *electrospray* (ESI), e técnica AMS: PS.

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Amostras e Reagentes

As dez folhas de diferentes apreensões (e localidades geográficas) de *Cannabis sativa* L., denominadas A1-A10, foram fornecidas pela Polícia Federal do Rio Grande do Sul (PF-RS), Brasil.

As folhas haviam sido recentemente apreendidas, cerca de 10 dias, e apresentavam aspecto verde, sem ranhuras e aparentemente não quebradiças. Todas as folhas foram armazenadas no *freezer* até a etapa de análise.

Para as análises com as fontes PS e ESI, foi preparada uma solução a partir de parte aleatória da região da folha de *Cannabis* (amostra A9, utilizada para comparação das fontes), onde cerca de 1 mg de amostra (folha) foi solubilizadas em 1 mL de metanol, com grau de pureza analítico superior a 99,5% (Vetec<sup>®</sup> Química Fina Ltda, Brasil), e posteriormente, para análise por ESI, 10  $\mu$ L do produto da extração foi diluído com 990  $\mu$ L de metanol para ser analisado. Para as análises com a fonte LS não houve preparo de amostra, apenas realizado um corte triangular em parte da folha para posterior análise direta.

### 3.2 ESI(-), PS(-) e LS(-)FT-ICR MS

O espectrômetro de massas utilizado foi o *Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance* (FT-ICR MS), Modelo 9.4 T *Solarix*, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha. Todos os espectros de massas foram calibrados externamente usando uma solução de arginina (0,05 mg mL<sup>-1</sup>), adquirida pela Sigma-Aldrich Chemicals, St. Louis, MO, USA.

Cada espectro foi adquirido pelo acúmulo de 32 *scans*, no domínio do tempo em 4M (mega-point) para ESI(-), e 512 k PS(-) e LS(-). O poder de resolução  $m/\Delta m$  50% de 400.000 para ESI(-) MS, e ~ 50.000 para PS(-) e LS(-) MS, todos com precisão de massas inferior a 5 ppm, que forneceu atribuições de fórmula moleculares inequívocas para íons moleculares de carga única.

Após a extração e diluição, a solução da amostra de folha foi injetada na fonte de ESI, a um fluxo de  $2 \mu\text{L min}^{-1}$ . Os demais parâmetros da fonte de ESI foram: i) voltagem no capilar (cone): 3500 - 4100 V; ii) *end plate offset* = 500 V; iii) temperatura e fluxo do gás de secagem:  $250^\circ\text{C}$  e  $2 \text{ L min}^{-1}$ , respectivamente; vi) pressão do gás nebulizador: 1.5 bar; e v) *skimmer* = 15 V. Na transmissão de íons, o tempo de acumulação de íons no hexapolo (*ion accumulation time*) e o TOF foram de 0,015 s e 0.9 ms, respectivamente.

Para análise de PS(-) MS,  $20 \mu\text{L}$  do produto da extração foi depositado na superfície de um papel triangular (Whatman Grade 1, GE Healthcare, EUA) com base de 7 mm e altura de 12 mm, que foi posteriormente fixado a clipe de metal da fonte PS, posicionado a 5 mm da entrada do MS. Após,  $20 \mu\text{L}$  de metanol foi aplicado, e com alta tensão (3,5 kV) ao papel triangular.

Para análise LS(-) MS, folhas de *Cannabis* foram cortadas em triângulos (base de 7 mm e altura de 12 mm) e individualmente presas ao clipe de metal da fonte PS, à uma distância de 5 mm da entrada do espectrômetro de massas. Aproximadamente  $10\text{-}20 \mu\text{L}$  de metanol e uma alta voltagem (3 kV) foram aplicadas diretamente na folha para gerar os espectros de massas.

A faixa de aquisição foi de  $m/z$  200-1200, independente da fonte. A precisão de massas foi determinada a partir do erro de massas, definido como  $\text{erro} = ((m_{\text{medido}} - m_{\text{teórico}})/m_{\text{teórico}}) \times 10^6$ , e o valor de *double bond equivalent* (DBE) como a equação (1):

$$\text{DBE} = [\text{IV}] - [\text{I}/2] + [\text{III}/2] + 1 \quad (1)$$

Onde, I representa átomos monovalentes, como o hidrogênio, cloro, bromo e iodo; III átomos trivalentes, por exemplo nitrogênio e fósforo; e IV representa os átomos tetravalentes, como o carbono, na fórmula molecular.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises das folhas foram realizadas com modo de ionização negativo devido a característica fenólica dos canabinoides que lhes confere acidez e consequentemente facilidade no processo de desprotonação, formando íons de caráter negativos (BORILLE *et al.*, 2017). Inicialmente, neste estudo do perfil químico das amostras de *Cannabis*, três fontes de ionização foram testadas; ESI, PS, LS, e os espectros de massas adquiridos, **figura 2a-c**, mostram perfis espectrais distintos, com diferenciados íons mais abundantes. Em geral, é possível observar maior detecção de sinais na faixa de massas de  $m/z$  200-500.

Apesar de ser uma técnica de ionização consolidada, e utilizada em outros trabalhos para identificação de canabinoides em amostras de produtos derivados da *Cannabis* (NASCIMENTO, *et al.*, 2015; DOS SANTOS *et al.*, 2016; BORILLE *et al.*, 2017), a fonte ESI, **figura 3a**, na análise da folha “nova”<sup>1</sup> foi a de menor eficiência na ionização dos canabinoides, comparada as demais (PS e LS). No entanto, esta fonte apresentou menores erros de massas aos íons detectados. O menor número de canabinoides detectados ao utilizar a fonte ESI pode ser relacionado, entre outros fatores, a própria composição da matriz de estudo (folha). Por se tratar de um material vegetal, esta possui muitos grupos de diferentes classes químicas, como ácidos graxos, flavonoides, aminoácidos, açúcares e compostos nitrogenados (BROSÉUS, ANGLADA, ESSEIVA, 2010), onde muitos desses, compostos polares e

<sup>1</sup> Folha “nova” recém-colhida/apreendida.

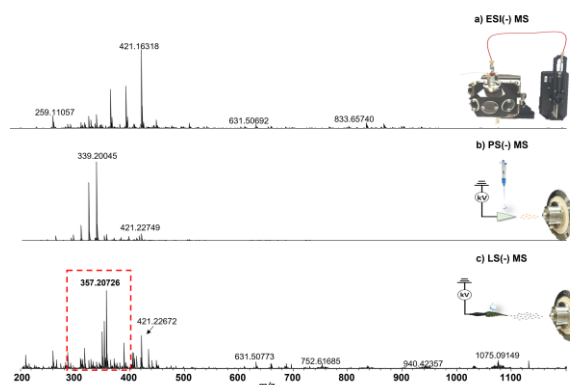
solúveis, podem ser extraídos com ação do solvente na etapa de preparo de amostra, e ionizam nesta mesma faixa de massa, resultando no efeito de supressão iônica dos analitos de interesse (canabinoides).

Por outro lado, com a fonte PS, **figura 3b**, é possível observar que a região de detecção dos canabinoides possui prevalência de sinais possivelmente do substrato da fonte (papel), e os canabinoides foram detectados com baixas intensidades, com erros de massas próximos a 2 ppm. Este erro foi superior quando comparado as demais fontes desse estudo, que obtiveram erros de massas prevalentes menores que 2 ppm.

A fonte LS, **figura 3c**, que já tem demonstrado eficiência na análise de componentes químicos de materiais vegetais intactos, ou seja, sem preparo ou extração prévia, por um método simples e em curto período (LIU *et al.*, 2011; DOMINGOS *et al.*, 2017) ao ser utilizada na análise da folha de *Cannabis*, possibilitou a detecção de uma maior quantidade de canabinoides na mesma amostra analisada nas três fontes. Além disso, a análise foi mais rápida em relação as demais, inclusive por não haver etapa de preparo extenso, como extração prévia e diluição.

Um total de 20 canabinoides (desprotonados e com aduto de cloro) foram detectados, e as informações de massas teóricas, fórmulas moleculares, DBE, e erros de massas estão representados na **tabela 1**.

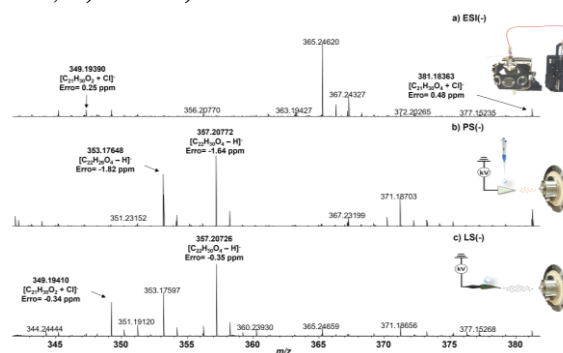
Figura 2: Espectros de massas da folha de *Cannabis* (A9) em três fontes de ionização; a) ESI, b) PS e c) LS.



Fonte: Próprio autor.

Uma expansão na região de  $m/z$  340-385, **figura 3a-c**, foi realizada, para avaliação das intensidades de alguns canabinoides identificados e seus erros de massas relativos.

Figura 3: Espectros de massas, ampliados na região de  $m/z$  340-385, da folha de *Cannabis* em três fontes de ionização; a) ESI, b) PS e c) LS.



Fonte: Próprio autor.

Na expansão do espectro, na **figura 3a**, utilizando a fonte de ionização ESI(-), foram identificados os íons com adutos de cloro;  $[\Delta^9\text{-THC}+\text{Cl}]^-$ ,  $m/z$  349,19390, erro de 0,25 ppm,  $[\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2+\text{Cl}]^-$ , DBE 7, e intensidade relativa (IR) de 4,81%, e  $[\text{CBT}+\text{Cl}]^-$ ,  $m/z$  381,18363, erro de 0,48 ppm,  $[\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4+\text{Cl}]^-$ , DBE 7, IR de 5,29%.

Ao utilizar a fonte PS(-), **figura 3b**, a maior IR entre os canabinoides foram observadas nas moléculas desprotonadas; *cannabinolic acid* (CBNA);  $[\text{CBNA}-\text{H}]^-$ ,

$m/z$  353,17648, erro de massas -1,82 ppm,  $[C_{22}H_{26}O_4 - H]^-$ , DBE 10, e IR de 5,93%; e o íon  $[\Delta^9\text{-THCA-H}]^-$ ,  $m/z$  357,20772, erro de -1,64 ppm,  $[C_{22}H_{30}O_4-H]^-$ , DBE 8, com IR de 8,01%. Esses íons detectados são ácidos precursores dos canabinoides;  $\Delta^9$ -THC e *cannabinol* (CBN), respectivamente (SHIBUYA *et al.*, 2006).

Com a fonte LS(-), **figura 3c**, cerca de 15 canabinoides, representados na **tabela 1 (A9)**, foram identificados. Esse maior número pode ser relacionado a facilidade de desprotonação dos canabinoides devido ao grupo fenólico ou carboxílico, comparando com demais moléculas presentes na folha, que embora também estejam suscetíveis à ionização, e por isso são detectadas em outras fontes, não são prevalentes na análise direta.

Destacam-se, por maior abundância na região dos canabinoides na fonte LS; o  $\Delta^9$ -THC com aduto de cloro  $[\Delta^9\text{-THC+Cl}]^-$ ,  $m/z$  349,19410,  $[C_{21}H_{30}O_2+Cl]^-$ , erro de -0,34 ppm, DBE 7, IR de 47,29% e o seu ácido precursor, e também íon mais intenso, 100% de IR, no espectro de LS(-);  $[\Delta^9\text{-THCA-H}]^-$ ,  $m/z$  357,20726, erro de -0,35 ppm, fórmula molecular  $[C_{22}H_{30}O_4-H]^-$ , e DBE 8. A maior abundância do  $\Delta^9$ -THCA no espectro da folha de *Cannabis* corrobora com a literatura quanto a sua maior disponibilidade em folhas novas (BROSÉUS, ANGLADA, ESSEIVA, 2010; DOS SANTOS *et al.*, 2019).

Assim, compreende-se que as três fontes de ionização (ESI, PS e LS) mostraram-se hábeis para identificação de canabinoides, porém a fonte LS(-) mostrou-se mais eficiente devido ao maior número de canabinoides detectados, além da agilidade durante as análises tanto na aquisição dos dados, como por consequência da extinção da etapa de extração e diluição. Portanto, sequencialmente, outras nove folhas de diferentes apreensões de *Cannabis sativa* L. foram analisadas utilizando a técnica *Leaf Spray*, por análise direta da folha.

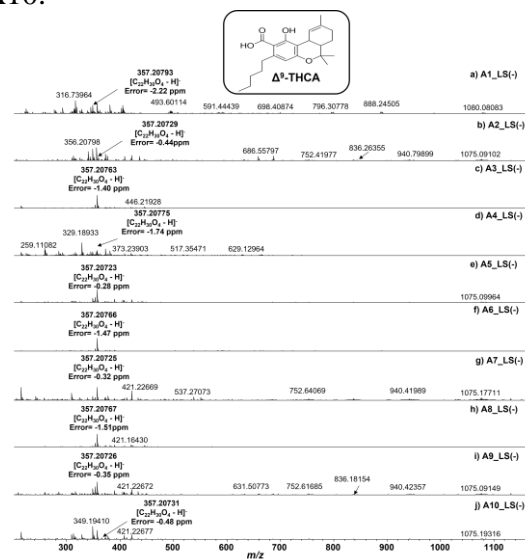
A folha foi a parte da planta escolhida por ser a segunda região de maior concentração de  $\Delta^9$ -THC, principal

composto ativo da *Cannabis*, e pela facilidade de manuseio na etapa de corte (formato triangular).

Após a análise das dez folhas, denominadas sequencialmente de A1-A10, **figura 4**, a partir dos espectros de massas adquiridos foram elencados na **tabela 1** os canabinoides detectados.

Os espectros de massas resultantes forneceram a identificação de 20 tipos de canabinoides em suas formas ácidas e neutras, como íons desprotonados ou com aduto de cloro.

Figura 4: Espectros de LS(-)FT-ICR MS; a-j) folhas de *Cannabis* denominadas A1-A10.

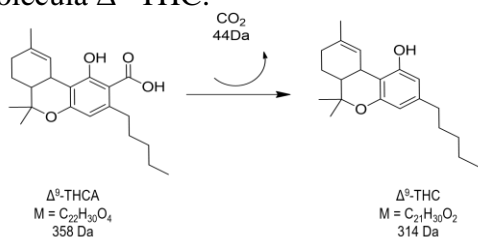


Fonte: Próprio autor.

O perfil espectral das análises de LS(-)MS das dez amostras de folhas apresenta a prevalência na abundância de detecção do principal ácido precursor do  $\Delta^9$ -THC; a molécula do  $\Delta^9$ -THCA, detectada na forma de íon desprotonado,  $[\Delta^9\text{-THCA-H}]^-$ , com massa teórica de 357,20713, identificado nas dez amostras de folha de *Cannabis*. Particularmente nas amostras A3-A10, **figura 4c-i**, erros de massas entre -0,28 a -1,51 ppm, este  $m/z$  destaca-se por ser o íon mais intenso, 100% de IR, nos espectros. Nas demais amostras, este íon também foi identificado, porém com menores IR, e com erros de massas < 3 ppm. De acordo com a literatura, o  $\Delta^9$ -THCA está presente

em quantidade substancial em amostras de *Cannabis* e a partir de sua descarboxilação, **figura 5**, o precursor  $\Delta^9$ -THCA é convertido em  $\Delta^9$ -THC (BROSÉUS *et al.*, 2010; VANHOVE, VAN DAMME, MEERT, 2011; DOS SANTOS *et al.*, 2019), o que justifica, novamente, sua prevalência nos espectros adquiridos.

Figura 5: Demonstração simplificada da descarboxilação do  $\Delta^9$ -THCA gerando a molécula  $\Delta^9$ -THC.



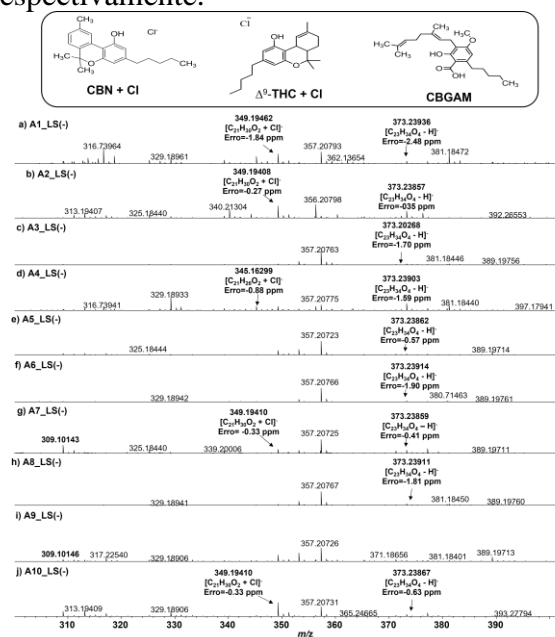
Fonte: Próprio autor.

O  $\Delta^9$ -THC também pode ser identificado, com a expansão da região de  $m/z$  300-400 do espectro, **figura 6**, na forma desprotonada [ $\Delta^9$ -THC-H] $^-$ ,  $m/z$  teórico 313,21730, com erros de massas inferior a 2 ppm, DBE 7, e com aduto de cloro [ $\Delta^9$ -THC+Cl] $^-$ ,  $m/z$  teórico 349,19398 e com seus erros de massas inferior a 3 ppm, e DBE 7. Além deste, outros canabinoides na forma de íons desprotonados, [M-H] $^-$ , foram detectados, **figura 6**, destacando-se os seguintes íons, como mais intensos encontrados nessa região: CBN com massa teórica 309,18600, fórmula molecular [ $C_{21}H_{26}O_2$ -H] $^-$ , DBE 9, com erros de massas entre -0,98 e -1,95 ppm, e o *cannabigerolic acid A monomethyl ether* (CBGAM), massa teórica 373,23843, fórmula molecular [ $C_{23}H_{34}O_4$ -H] $^-$ , DBE 7 e erros de massas entre -0,13 e -2,48 ppm.

Os íons com aduto de cloro; [CBN+Cl] $^-$ , massa teórica 345,16268, fórmula molecular [ $C_{21}H_{26}O_2$ +Cl] $^-$ , DBE 9, e erros de massas entre -0,45 e -2,14 ppm; e o [ $\Delta^9$ -THC+Cl] $^-$ , com massa teórica 349,19398, fórmula molecular [ $C_{21}H_{30}O_2$ +Cl] $^-$ , DBE 7 e erros de massas entre -0,27 e -1,84 ppm. Vale ressaltar que a baixa intensidade do sinal referente a molécula CBN corrobora com a literatura que o apresenta como um

produto de degradação natural da planta, formado principalmente a partir do canabinoide  $\Delta^9$ -THC, e que possui baixa concentração em folhas novas de *Cannabis* (NAHLER; JONES; RUSSO, 2019; MILAY *et al.*, 2020; MARTINEZ *et al.* 2023).

Figura 6: Espectros de LS(-)FT-ICR MS com ampliação na região  $m/z$  300-400; a-j) folhas de *Cannabis* denominadas; A1-A10, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

Tabela 1: Informações detalhadas dos principais canabinoides detectados nos espectros de LS(-)FT-ICR MS das dez folhas de *Cannabis*, nas formas de  $[M-H]^-$  e  $[M+Cl]^-$ : fórmula molecular,  $m/z$  teórico, DBE, erros de massas (ppm). Fonte: Próprio autor.

Nº	Fórmula molecular	$m/z$ teórico	D B E	canabinoide	Folhas de <i>Cannabis</i>									
					A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
1	$[C_{21}H_{26}O_2-H]^-$	309,18600	9	<i>cannabinol</i> (CBN)	-1,95	-	-1,18	-0,98	-	-1,32	-	-1,27	-	-
2	$[C_{21}H_{26}O_2+Cl]^-$	345,16268		CBN + aduto de cloro	-2,14	-0,45	-1,53	-0,88	-0,64	-1,71	-0,47	-1,38	-0,51	-0,70
3	$[C_{21}H_{30}O_2-H]^-$	313,21730	7	$\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC)	-1,94	-	-1,24	-1,18	-	-1,88	-	-1,32	-	-
4	$[C_{21}H_{30}O_2+Cl]^-$	349,19398		$\Delta^9$ -THC + aduto de cloro	-1,84	-0,27	-	-1,18	-	-	-0,33	-	-0,34	-0,33
5	$[C_{21}H_{28}O_3-H]^-$	327,19657	8	10- <i>Oxo</i> - $\Delta^{6a(10a)}$ - <i>Tetrahydrocannabinol</i> (OTHC)	-1,95	-	-1,41	-	-	-1,07	-	-0,81	-	-
6	$[C_{21}H_{28}O_3+Cl]^-$	363,17325		OTHC + aduto de cloro	-2,06	-0,48	-1,26	-0,10	-0,58	0,34	-0,08	-0,18	-0,36	-0,76
7	$[C_{20}H_{26}O_4-H]^-$	329,17583	8	<i>cannabidivarinic acid</i> (CBDVA)	-1,76	-0,56	-1,44	-	-0,59	-1,50	-0,57	-1,45	-0,75	-0,72
8	$[C_{20}H_{26}O_4+Cl]^-$	365,15251		CBDVA + aduto de cloro	-0,42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	$[C_{21}H_{30}O_3-H]^-$	329,21222	7	<i>cannabielsoin</i> (CBE)	-1,9	-	-1,28	-	-0,95	-0,95	-1,13	-1,22	-	-
10	$[C_{21}H_{30}O_3+Cl]^-$	365,18890		CBE + aduto de cloro	-0,92	-	-1,19	-	-0,48	1,66	-0,36	-0,02	-0,43	-0,45
11	$[C_{20}H_{28}O_4-H]^-$	331,19148	7	<i>cannabigerovarinic acid</i> (CBGVA)	0,60	-	0,73	1,01	-2,83	-	-	0,67	0,67	-
12	$[C_{20}H_{28}O_4+Cl]^-$	367,16816		CBGVA + aduto de cloro	-2,48	-	-	-	-	-2,04	-	-	-	-
13	$[C_{21}H_{32}O_3-H]^-$	331,22789	6	9 $\alpha$ - <i>hydroxyhexahydrocannabinol</i> (9 $\alpha$ -OH-hexahydrocannabinol)	-2,25	-	-1,37	-	-	-	-	-	-	-
14	$[C_{21}H_{32}O_3+Cl]^-$	367,20455		9 $\alpha$ -OH-hexahydrocannabinol + aduto de cloro	-1,61	-0,11	-1,63	0,04	-0,53	-1,01	-	-1,05	-	-
15	$[C_{21}H_{28}O_4-H]^-$	343,19148	8	$\Delta^9$ - <i>Tetrahydrocannabinolic acid</i> -C <sub>4</sub> ( $\Delta^9$ -THCA-C <sub>4</sub> )	-1,75	-	-1,09	-	-	-	-	-0,92	-	-
16	$[C_{21}H_{28}O_4+Cl]^-$	379,16816		$\Delta^9$ -THCA-C <sub>4</sub> + aduto de cloro	-2,71	-0,54	-1,47	-1,33	-0,68	-1,03	-	-	-0,72	-0,76
17	$[C_{21}H_{30}O_4-H]^-$	345,20713	7	<i>cannabitrinol</i> (CBT)	-2,10	-0,40	-1,53	-1,52	-0,74	-1,76	-	-1,61	-0,59	-0,56
18	$[C_{21}H_{30}O_4+Cl]^-$	381,18381		CBT + aduto de cloro	-2,39	-0,48	-1,69	-1,56	-0,61	-1,77	-0,38	-1,80	-0,52	-0,68
19	$[C_{22}H_{26}O_4-H]^-$	353,17583	10	<i>cannabinolic acid</i> (CBNA)	-2,29	-0,43	-1,52	-1,49	-0,41	-1,72	-0,38	-1,59	-0,40	-0,64
20	$[C_{22}H_{30}O_4-H]^-$	357,20713	8	$\Delta^9$ - <i>Tetrahydrocannabinolic acid</i> ( $\Delta^9$ -THCA)	-2,22	-0,44	-1,40	-1,74	-0,28	-1,47	-0,32	-1,51	-0,35	-0,48
21	$[C_{22}H_{32}O_4-H]^-$	359,22278	7	<i>cannabigerolic acid</i> (CBGA)	-2,14	-0,24	-1,41	-1,43	-0,50	-1,55	-0,29	-1,52	-0,45	-0,60
22	$[C_{22}H_{32}O_4+Cl]^-$	395,19946		CBGA + aduto de cloro	-2,43	-	-3,80	-	-	-	-	-	-	-
23	$[C_{21}H_{30}O_5-H]^-$	361,20205	7	<i>cannabitetrol</i> (CBTT)	-2,81	-	-1,77	-1,50	-0,61	-2,04	-	-1,76	-0,28	-
24	$[C_{21}H_{30}O_5+Cl]^-$	397,17873		CBTT + aduto de cloro	-2,14	-	-1,78	-1,73	-0,48	-1,63	-	-1,61	-0,51	-0,58



25	[C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub> -H] <sup>-</sup>	369,17075	10	<i>cannabicoumaric acid</i>	-2,42	-	-1,66	-0,82	-0,53	-1,81	-0,32	-1,79	-0,40	-0,55
26	[C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub> -H] <sup>-</sup>	371,18640	9	$\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinolic acid-8-one ( $\Delta^9$ -THCA-8-one)	-2,33	-	-1,66	-1,11	-0,50	-1,96	-0,36	-0,36	-0,45	-0,62
27	[C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub> +Cl] <sup>-</sup>	407,16327		$\Delta^9$ -THCA-8-one + aduto de cloro	-	-	-	-	-0,48	-	-0,34	0,34	-0,48	-0,56
28	[C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> -H] <sup>-</sup>	371,22278	8	<i>cannabidiolic acid methyl ester</i>	-1,65	-0,38	-0,67	-1,96	-0,42	-1,74	-2,56	-1,47	2,06	-0,58
29	[C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> -H] <sup>-</sup>	373,20205	8	<i>cannabielsoic acid</i>	-2,60	-	-1,70	-2,65	-0,61	-1,99	-0,31	-1,79	-0,54	-0,79
30	[C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> -H] <sup>-</sup>	373,23843	7	<i>cannabigerolic acid A monomethyl ether (CBGAM)</i>	-2,48	-0,35	-1,70	-1,59	-0,57	-1,90	-0,41	-1,81	-	-0,63
31	[C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>6</sub> -H] <sup>-</sup>	387,18131	9	11-nor-9-COOH- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid	-2,05	-	-1,35	-1,25	-0,45	-1,51	-	-1,58	-0,40	-0,56
32	[C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub> -H] <sup>-</sup>	389,19696	8	8 $\alpha$ ,11-dihydroxy- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid	-2,24	-	-1,54	-1,22	-0,46	-1,67	-0,38	-1,63	-0,44	-0,66
33	[C <sub>42</sub> H <sub>60</sub> O <sub>4</sub> -H] <sup>-</sup>	627,44188	13	Dímero: 313 Da + 314 Da = ([C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> -H] <sup>-</sup> ) + [C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> ]	-4,52	-	-2,90	-	-	-	-	-3,97	-	-

- não detectado.

## 5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, as três fontes de ionização avaliadas (ESI, PS e LS) mostraram-se eficientes na ionização dos canabinoides da planta *Cannabis sativa* L., no entanto, a fonte de ionização ambiente LS apresentou espectro com maiores intensidades relativas, menores efeitos de supressão iônica, além da agilidade na análise por consequência da extinção das etapas de extração e diluição necessárias para as outras fontes desse estudo. Assim, com uso da técnica LS-MS, dez diferentes folhas de *Cannabis* apreendidas foram analisadas, e a partir dos espectros adquiridos foram detectados cerca de 20 tipos de canabinoides em suas formas ácidas e neutras, como íons desprotonados ou com aduto de cloro, com prevalência de detecção do  $\Delta^9$ -THCA, o principal ácido precursor do  $\Delta^9$ -THC (composto psicoativo da planta). Portanto, este método mostra-se promissor para rápida e eficiente detecção de canabinoides diretamente do tecido vegetal.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES (Código Financeiro 1), FAPES (PRONEM (596/2018 e 597/2018); PPSUS (165/2021); UNIVERSAL (492/2021); PROFIX 2022 (714/2022 P: 2022-SS849); NÚCLEOS CAPIXABAS (991/2022P; 2022-5KMF0); e APOIO À INFRAESTRUTURA (1069/2022 P: 2022-98VRN)), e CNPq (310057/2020-5, INCT Forense 465450/2014-8, e 422555/2018-5) pelo suporte financeiro. Os autores também agradecem à Polícia Federal do Rio Grande do Sul, ao Núcleo de Competências em Química do Petróleo, ao Laboratório Multiusuário de Petrolômica e Forense/LabPetro pelo uso de suas

instalações, e ao Centro Multiusuário para o Desenvolvimento Tecnológico e Inovação de Vila Velha-Ifes.

## REFERÊNCIAS

- BILLS, Brandon; MANICKE, Nicholas. Using sesame seed oil to preserve and preconcentrate cannabinoids for paper spray mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 31, n. 3, p. 675-684, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/jasms.9b00113>
- BORILLE, Bruna T. *et al.* Chemical profiling and classification of cannabis through electrospray ionization coupled to Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry and chemometrics. **Analytical Methods**, v. 9, n. 27, p. 4070-4081, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7AY01294B>
- BROSÉUS, Julian; ANGLADA, Frédéric; ESSEIVA, Pierre. The differentiation of fiber- and drug-type Cannabis seedlings by gas chromatography/mass spectrometry and chemometric tools. **Forensic Science International**. v.200, p.87–92, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.03.034>
- CARLINI, Elisaldo Araújo. A história da maconha no Brasil. **Jornal brasileiro de psiquiatria**, v. 55, p. 314-317, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0047-20852006000400008>
- CORREA, Deleon N. *et al.* Forensic chemistry and ambient mass spectrometry: a perfect couple destined for a happy marriage? **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 5, p. 2515–2526, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b02397>

DOMINGOS, Eloilson *et al.* Paper spray ionization mass spectrometry applied to forensic chemistry—drugs of abuse, inks and questioned documents. **Analytical Methods**, v. 9, n. 30, p. 4400-4409, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7AY01091E>

DOS SANTOS, Nayara A. *et al.* Evaluating the selectivity of colorimetric test (Fast Blue BB salt) for the cannabinoids identification in marijuana street samples by UV–Vis, TLC, ESI (+) FT-ICR MS and ESI (+) MS/MS. **Forensic Chemistry**, v. 1, p. 13-21, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forc.2016.07.001>

DOS SANTOS, Nayara Araujo *et al.* LDI and MALDI-FT-ICR imaging MS in Cannabis leaves: optimization and study of spatial distribution of cannabinoids. **Analytical Methods**, v. 11, n. 13, p. 1757-1764, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/C9AY00226J>

DOS SANTOS, Nayara Araujo *et al.* Cannabinomics studies—A review from colorimetric tests to modern analytical techniques: Part II. **Forensic Chemistry**, v. 33, n. 1, p. 1-12, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forc.2023.100477>

ELSOHLY, Mahmoud A. **Marijuana and the Cannabinoids**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007. p. 57-68

ELSOHLY, Mahmoud A.; SLADE, Desmond. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. **Life Sciences**, v. 78, p.539-548, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.011>

ESPY, Ryan D. *et al.* Paper spray and extraction spray mass spectrometry for the direct and simultaneous quantification of eight drugs of abuse in whole

blood. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 15, p. 7712-7718, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac5016408>

HONORIO, Káthia. M.; ARROIO, Agnaldo; SILVA, Albérico B. F. Aspectos terapêuticos de compostos da planta *Cannabis sativa*. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p.318-325, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200024>

HUANG, Si *et al.* Rapid distinction and semiquantitative analysis of THC and CBD by silver-impregnated paper spray mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 93, n. 8, p. 3794-3802, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04270>

LIU, Jiangjiang, *et al.* Leaf spray: direct chemical analysis of plant material and living plants by mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.83, n. 20, p. 7608-7613, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac2020273>

MA, Qiang *et al.* Rapid analysis of synthetic cannabinoids using a miniature mass spectrometer with ambient ionization capability. **Talanta**, v. 142, p. 190-196, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.04.044>

MARIOTTI, Kristiane de Cássia *et al.* Seized Cannabis seeds cultivated in greenhouse: A chemical study by gas chromatography–mass spectrometry and chemometric analysis. *Science & Justice*, v.56, n.1, p.35-41, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scijus.2015.09.002>

MARTINEZ, Aitor Sainz *et al.* Extraction techniques for bioactive compounds of cannabis. **Natural Product Reports**, v.40, p.676-717, 2023. DOI: [10.1039/D2NP00059H](https://doi.org/10.1039/D2NP00059H)

MILAY, Looz *et al.* Metabolic profiling of cannabis secondary metabolites for evaluation of optimal postharvest storage conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1556-1571, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.583605

NAHLER, Gerhard; JONES, Trevor M.; RUSSO, Ethan B. Cannabidiol and contributions of major hemp phytocompounds to the “entourage effect”; possible mechanisms. **Journal of Alternative, Complementary & Integrative Medicine**, v. 5, p. 1-16, 2019. DOI: 10.24966/ACIM-7562/100070

NASCIMENTO, Iendel R. *et al.* Chemical identification of cannabinoids in street marijuana samples using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. **Analytical Methods**, v. 7, n. 4, p. 1415-1424, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4AY02355B>

PACIFICI, Roberta *et al.* Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 55, n. 10, p. 1555-1563, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1515/cclm-2016-1060>

PASSAGLI, Marcos. **Toxicologia Forense: Teoria e Prática**. 2ª edição. São Paulo: Millennium, 2009. 50-180;

POURSEYED LAZARJANI, Masoumeh *et al.* Methods for quantification of cannabinoids: A narrative review. **Journal of Cannabis Research**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42238-020-00040-2>

SHIBUYA, Elisa K. *et al.* Sourcing Brazilian marijuana by applying IRMS analysis to seized samples. **Forensic Science International**, v. 160, p. 35-43.

2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.08.011>

VANHOVE, Wouter; VAN DAMME, Patrick; MEERT, Natalie. Factors determining yield and quality of illicit indoor Cannabis (*Cannabis* spp.) production. **Forensic science international**, v. 212, n. 1-3, p. 158-163. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2011.06.006>