

INSTITUTO DE QUÍMICA - UFMS

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO
SUL**

INSTITUTO DE QUÍMICA

Curso de Química – Bacharel em Química Tecnológica

**DISCRIMINAÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE *CANNABIS*
SATIVA MEDICINAIS E APREENDIDAS POR *FINGERPRINT*
CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR CG-EM E QUIMIOMETRIA**

Joice Aguiar Teixeira Carvalho

**Campo Grande – MS
2026**

Joice Aguiar Teixeira Carvalho

**DISCRIMINAÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE *CANNABIS*
SATIVA MEDICINAIS E APREENDIDAS POR *FINGERPRINT*
CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR CG-EM E QUIMIOMETRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de
Química como requisito básico para a conclusão do Curso de
Química Bacharelado em química tecnológica.

Orientador (a): Prof. Dr(a). Nidia Cristiane Yoshida

Campo Grande - MS
2026

JOICE AGUIAR TEIXEIRA CARVALHO

**DISCRIMINAÇÃO QUÍMICA DE AMOSTRAS DE *CANNABIS*
SATIVA MEDICINAIS E APREENDIDAS POR *FINGERPRINT*
CROMATOGRÁFICO OBTIDO POR CG-EM E QUIMIOMETRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado
pela Banca Examinadora para obtenção do
Grau de Bacharel, no Curso de Química-
Bacharelado em química tecnológica da
Universidade da Federal de Mato Grosso de
Sul.

Campo Grande, 07 de julho de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Prof. - Prof. Dr(a). Nidia Cristiane Yoshida – INQUI- UFMS – Orientador

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato – Universidade de São Paulo

Analista. Evandro Rodrigo Pedão - Instituto de Análises Laboratoriais Forenses- IALF

“A persistência é o caminho do êxito.”
— Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois sem Ele minha vida não seria nada. Estar aqui hoje, realizando um sonho, só foi possível porque seus caminhos sempre foram melhores do que os meus. Ao longo dessa jornada, aprendi a confiar em seus planos e a valorizar cada momento vivido durante minha formação acadêmica.

Ao amor da minha vida, Fabrício, meu mais sincero agradecimento por estar ao meu lado em todos os momentos, especialmente nos dias mais difíceis. Obrigada pelo apoio, pela compreensão, pelo incentivo constante e por respeitar minhas escolhas e objetivos. Sua presença tornou essa caminhada muito mais leve.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Nidia Cristiane Yoshida, agradeço por todo o conhecimento compartilhado, pela confiança depositada em mim e pela orientação ao longo da iniciação científica e deste trabalho. Mais do que uma excelente profissional, levo comigo seu exemplo de dedicação, competência e humanidade.

À minha melhor amiga, Alessandra, agradeço por ter compartilhado comigo os desafios, as preocupações e as conquistas dessa trajetória. Sua amizade foi um dos maiores presentes que a universidade me proporcionou. Sou grata por todo o carinho, companheirismo e por ter sido acolhida por sua família como uma irmã.

À Polícia Científica de Mato Grosso do Sul, em especial ao Instituto de Análises Laboratoriais Forenses (IALF), agradeço a oportunidade de desenvolver parte deste trabalho em suas dependências. Em especial, agradeço ao perito Evandro Rodrigo Pedão, chefe do Setor de Análises Químicas, pelo acompanhamento, pelas orientações durante as atividades laboratoriais e pela disponibilidade em compartilhar seus conhecimentos. Estendo também meus agradecimentos a todos os peritos e servidores do Instituto, pela receptividade e pelo apoio ao longo desse período.

À Associação Divina Flor, que desenvolve um trabalho admirável no atendimento a pacientes de Cannabis medicinal, agradeço pela parceria e pelo apoio. Sem essa colaboração, a realização deste trabalho não teria sido possível.

Ao grupo PRONABIO, agradeço por me receber desde o início da minha trajetória acadêmica e por proporcionar um contato mais próximo com a rotina de pesquisa e de um laboratório científico, contribuindo significativamente para minha formação.

Por fim, agradeço a todos os professores, técnicos e colaboradores do Instituto de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação acadêmica e profissional. Cada ensinamento recebido foi fundamental para que eu chegasse até aqui.

A todos que fizeram parte dessa caminhada, meu muito obrigada.

RESUMO

No Brasil, as recentes mudanças regulatórias relacionadas ao cultivo e ao uso medicinal da espécie *Cannabis sativa* L., em virtude das suas diversas propriedades medicinais relatadas, ampliam a necessidade de métodos analíticos capazes de caracterizar e diferenciar materiais provenientes de cultivos legalizados e amostras apreendidas em ações policiais de combate ao tráfico ilegal. Nesse contexto, este trabalho avaliou a aplicação de *fingerprints* cromatográficos obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, associados à análise multivariada, na diferenciação de amostras de *Cannabis sativa*, incluindo inflorescências cultivadas para fins medicinais, inflorescências e materiais prensados apreendidos em diferentes regiões de fronteira e encaminhados aos Instituto de Análises Laboratoriais Forenses da Polícia Civil do estado de MS. Os perfis químicos das amostras foram caracterizados pela predominância de canabinoides, sesquiterpenos e derivados oxigenados. Os dados cromatográficos foram submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais, visando identificar padrões de agrupamento e variáveis discriminantes. As análises quimiométricas demonstraram que a variabilidade observada está relacionada ao balanço entre canabinoides e compostos voláteis suscetíveis à degradação, refletindo diferenças nas condições de conservação das amostras. O tipo de material constituiu o principal fator discriminante, permitindo distinguir agrupamentos distintos entre inflorescências cultivadas, inflorescências apreendidas e materiais prensados, com PCA explicando 71,2% da variância total. Em contraste, a origem geográfica não promoveu agrupamentos consistentes entre as amostras analisadas. Os resultados demonstram que os *fingerprints* cromatográficos obtidos por CG-EM constituem uma ferramenta robusta para a caracterização química de amostras de *C. sativa*. Quando associados à análise quimiométrica, esses perfis tornam-se uma importante ferramenta complementar para a diferenciação entre amostras. Contudo, sua interpretação deve ser realizada, sempre que possível, em conjunto com informações sobre a origem, o histórico e outras evidências disponíveis, de modo a aumentar a confiabilidade das inferências.

Palavras-chave: Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Δ 9-Tetraidrocanabinol (THC). Canabidiol (CBD). Análise Multivariada. Canabinoides. Química Forense.

ABSTRACT

Recent regulatory changes in Brazil concerning the cultivation and medicinal use of *Cannabis sativa* L., driven by its well-documented therapeutic potential, have increased the demand for analytical methods capable of characterizing and differentiating materials originating from legally cultivated plants and samples seized during police operations targeting illicit drug trafficking. In this context, this study evaluated the application of chromatographic fingerprints obtained by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS), combined with multivariate statistical analysis, to differentiate *Cannabis sativa* samples, including medicinally cultivated inflorescences, seized inflorescences, and compressed cannabis samples collected from different border regions and submitted to the Forensic Laboratory Analysis Institute of the Civil Police of Mato Grosso do Sul State, Brazil. The chemical profiles were characterized by the predominance of cannabinoids, sesquiterpenes, and oxygenated derivatives. Chromatographic data were analyzed using Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis to identify clustering patterns and discriminant variables. Chemometric analyses demonstrated that the observed variability was primarily associated with the balance between cannabinoids and volatile compounds susceptible to degradation, reflecting differences in sample preservation conditions. Sample type was identified as the main discriminating factor, allowing clear differentiation among cultivated inflorescences, seized inflorescences, and compressed cannabis samples, with PCA explaining 71.2% of the total variance. In contrast, geographical origin did not produce consistent clustering among the analyzed samples. The results demonstrate that GC–MS-based chromatographic fingerprints constitute a robust tool for the chemical characterization of *C. sativa* samples. When combined with chemometric analysis, these fingerprints become an important complementary tool for sample differentiation. However, whenever possible, their interpretation should be integrated with information regarding sample origin, case history, and other available forensic evidence to improve the reliability of the resulting inferences.

Keywords: Gas Chromatography–Mass Spectrometry. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC). Cannabidiol (CBD). Multivariate Analysis. Cannabinoids. Forensic Chemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Via biossintética dos principais fitocanabinoides em <i>Cannabis sativa</i>	12
Figura 2- Principais transformações químicas dos fitocanabinoides derivados do ácido canabigerólico (CBGA), incluindo as reações de descarboxilação, oxidação e isomerização.....	12
Figura 3- Aspecto visual das amostras de <i>Cannabis sativa</i> apreendidas utilizadas no estudo	19
Figura 4- Fluxograma das etapas de preparo das amostras de <i>Cannabis sativa</i> para obtenção dos <i>fingerprints</i> cromatográficos por CG-EM	20
Figura 5- Comparação dos <i>fingerprints</i> cromatográficos das amostras apreendidas e controles de <i>Cannabis sativa</i> obtidos por CG-EM	23
Figura 6- Análise de Componentes Principais (PCA) obtida a partir do <i>fingerprint</i> cromatográfico das amostras de <i>Cannabis sativa</i> analisadas por CG-EM	27
Figura 7- Biplot da PCA evidenciando a associação entre tempos de retenção (RTs) e grupos amostrais de <i>Cannabis sativa</i>	29
Figura 8. Comparação dos espectros de massas dos sinais discriminantes em RT 11,875 e 11,985 min e estruturas representativas da família dos selinenos.....	30
Figura 9- Agrupamento hierárquico (HCA) gerados a partir da matriz de áreas integradas dos tempos de retenção (RT).....	36
Figura 10- <i>Heatmap</i> gerados a partir da matriz de áreas integradas dos tempos de retenção.....	37
Figura 11- <i>Heatmap</i> e agrupamento hierárquico (HCA) das amostras de <i>Cannabis sativa</i> agrupadas segundo a origem geográfica (Capital, Fronteira, Interior e NI).....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBD – Canabidiol

CBDA – Ácido Canabidiólico

CBC – Canabicromeno

CBCA – Ácido Canabicromênico

CBG – Canabigerol

CBGA – Ácido Canabigerólico

CBN – Canabinol

CG-EM – Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas

GC-MS – Gas Chromatography–Mass Spectrometry

COVs – Compostos Orgânicos Voláteis

HCA – Hierarchical Cluster Analysis

HRMS – High Resolution Mass Spectrometry

IALF – Instituto de Análises Laboratoriais Forenses

LF – Lifter

LRI – Índice de Retenção Linear

NIST – National Institute of Standards and Technology

PCA – Análise de Componentes Principais

PLS-DA – Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais

RT – Tempo de Retenção

SPME – Microextração em Fase Sólida

Δ^9 -THC – Δ^9 -Tetraidrocanabinol

THCA – Ácido Δ^9 -Tetraidrocanabinólico

TR – Tipo Rico em THC

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO-TEMA E PROBLEMATIZAÇÃO.....	11
2. JUSTIFICATIVA	17
3. OBJETIVO.....	18
3.1 GERAL	18
3.2 ESPECÍFICO.....	18
4. METODOLOGIA DE PESQUISA.....	19
4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS E PREPARO DOS EXTRATOS.....	19
4.2 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	21
4.3 OBTENÇÃO DO FINGERPRINT CROMATOGRÁFICO E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
5. RESULTADOS	23
5.1 CARACTERIZAÇÃO GLOBAL DO FINGERPRINT CROMATOGRÁFICO.....	23
5.2 ANÁLISE MULTIVARIADA GLOBAL DAS AMOSTRAS.....	26
5.3 VARIÁVEIS DISCRIMINANTES E REGIÕES CROMATOGRÁFICAS RELEVANTES E POTENCIAIS MARCADORES QUÍMICOS.....	29
5.4 RELAÇÃO ENTRE AS CLASSES QUÍMICAS E A VARIABILIDADE DAS AMOSTRAS E INFLUÊNCIA DO TIPO DE AMOSTRAS NO PERFIL QUÍMICO.....	35
5.5 INFLUÊNCIA DA ORIGEM GEOGRÁFICA E LIMITAÇÕES DE RASTREABILIDADE.....	38
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS.....	42
8. ANEXOS	48

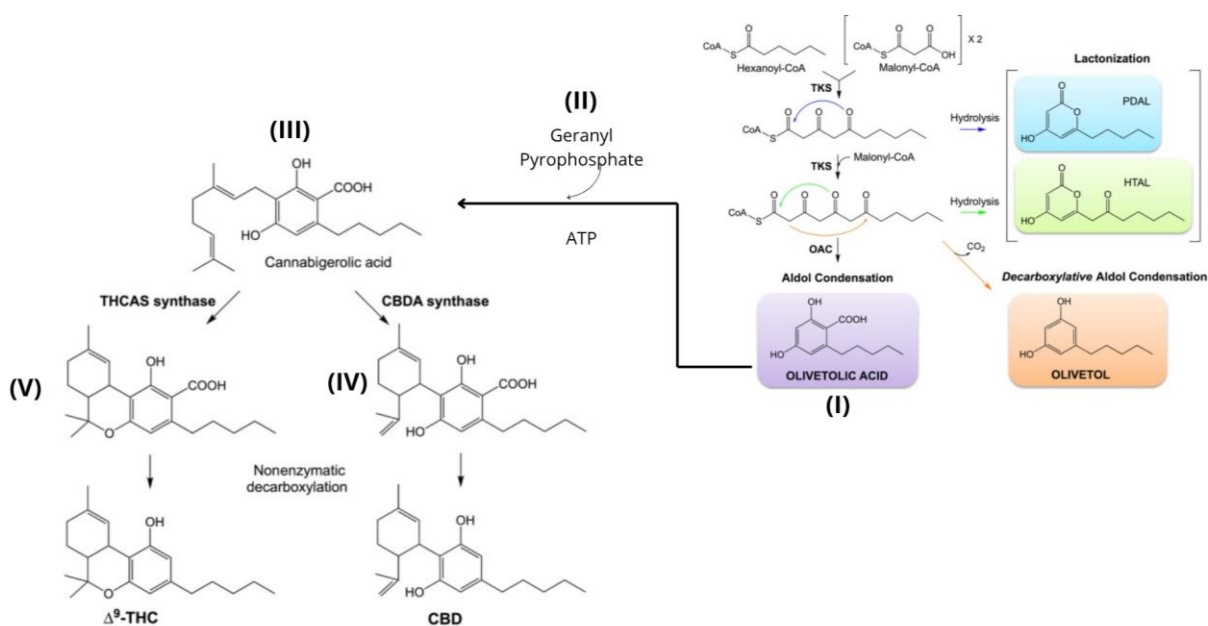
1. INTRODUÇÃO – TEMA E PROBLEMATIZAÇÃO

A *Cannabis sativa* apresenta uma composição química rica e complexa, sendo caracterizada pela presença de diferentes classes de metabólitos secundários. Atualmente, cerca de 566 metabólitos secundários pertencentes a diversas classes fitoquímicas foram identificados em plantas de *Cannabis* incluindo canabinoides, terpenos, flavonoides e compostos fenólicos (FORDJOUR et al., 2023). Esses compostos estão associados a diversas atividades biológicas, como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antibacterianos e analgésicos (BLEBEA et al., 2024).

Dentre essas classes de compostos, destacam-se os canabinoides, que são biossintetizados predominantemente em sua forma ácida. A biossíntese dos fitocanabinoides inicia-se com a formação do ácido olivetólico (OLA, II) a partir do hexanoil-CoA e de unidades de malonil-CoA, em reações catalisadas pelas enzimas *tetraketide synthase* (TKS) e *olivetolic acid cyclase* (OAC) (TAURA et al., 2009; GAGNÉ et al., 2012). Em seguida, o ácido olivetólico sofre condensação com o geranyl difosfato (GPP, III), originando o ácido canabigerólico (CBGA, I), considerado o principal precursor dos fitocanabinoides. A partir do CBGA são sintetizados o ácido canabícromênico (CBCA), o ácido canabidiólico (CBDA) e o ácido Δ^9 -tetraidrocanabinólico (THCA) por ação de sintases específicas. Em condições naturais ou mediante aquecimento, esses canabinoides ácidos sofrem descarboxilação, originando suas formas neutras correspondentes (Figura 1) (KEARSEY et al., 2020).

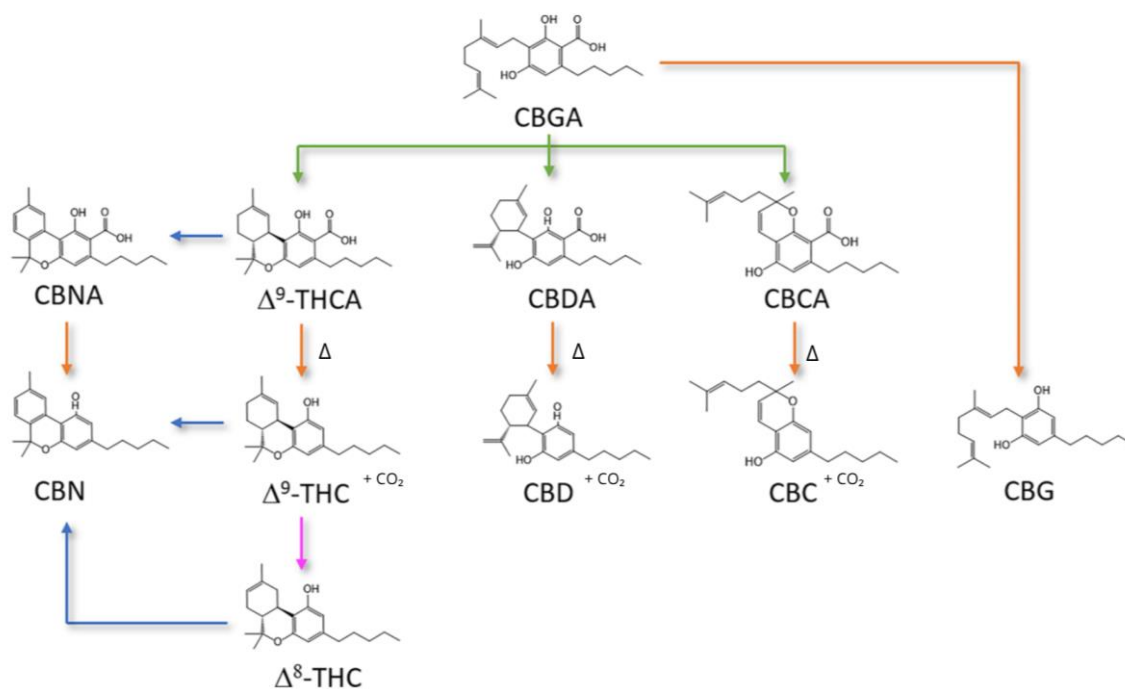
Além da descarboxilação, os fitocanabinoides também podem sofrer processos de oxidação e isomerização (Figura 2), resultando na formação de novos compostos, como o canabinol (CBN), frequentemente associado à degradação oxidativa do Δ^9 -THC (WANG et al., 2020). Dentre os fitocanabinoides neutros, destacam-se o Δ^9 -THC, principal responsável pelos efeitos psicoativos da planta, e o CBD, amplamente associado às aplicações terapêuticas, sendo ambos os compostos de maior interesse científico e farmacológico (GAGNÉ et al., 2012; HANUŠ et al., 2016).

Figura 1- Via biossintética dos principais fitocanabinoides em *Cannabis sativa*



Fonte: Adaptado de KEARSEY et al. (2020).

Figura 2- Principais transformações químicas dos fitocanabinoides derivados do ácido canabigerólico (CBGA), incluindo as reações de descarboxilação, oxidação e isomerização.



Fonte: Adaptado de MORENO et al. (2020). As setas verdes representam as etapas de biossíntese; as laranjas, as reações de descarboxilação; as azuis, as vias de oxidação; e as rosas, as reações de isomerização.

O perfil químico da *Cannabis sativa* apresenta elevada variabilidade, sendo influenciado tanto pelo genótipo (cultivar/chemovar) quanto por fatores ambientais. Diferentes estudos têm demonstrado que essas variações são detectáveis por abordagens metabolômicas associadas à análise estatística multivariada, evidenciando alterações significativas na composição química das amostras (GOVINDARAJAN et al., 2023; CERRATO et al., 2023; TZIMAS et al., 2024)). De forma geral, o perfil químico da espécie mostra-se altamente sensível a fatores externos, de modo que condições de cultivo, como intensidade luminosa, temperatura, umidade, características do solo e práticas agrotécnicas, podem influenciar diretamente a biossíntese e a distribuição de compostos de interesse, incluindo canabinoides, terpenos e outros metabólitos bioativos. Além disso, variações ao longo do desenvolvimento da planta e condições pós-colheita contribuem para modificações adicionais no perfil fitoquímico, especialmente em decorrência da degradação e volatilização de determinados constituintes (ANDRE et al., 2016; YOUNAS et al., 2024; JURGA et al., 2024).

A caracterização da espécie torna-se complexa e desafiadora, especialmente quando se consideram as múltiplas condições às quais o material vegetal pode estar submetido ao longo da cadeia de produção, apreensão, transporte e armazenamento. Do ponto de vista analítico, essa dificuldade está diretamente relacionada à elevada complexidade da matriz, uma vez que estudos não direcionados (*untargeted*) evidenciam a presença de muitos metabólitos, incluindo compostos majoritários e uma ampla diversidade de constituintes em baixas concentrações (BERMAN et al., 2018; JIN et al., 2020; JURGA et al., 2024). Essa complexidade exige abordagens analíticas robustas, associadas a estratégias rigorosas de garantia e controle da qualidade (*Quality Assurance/Quality Control*), bem como ferramentas estatísticas capazes de lidar com a elevada dimensionalidade dos dados.

Diante desses fatores, a escolha da técnica analítica torna-se um fator determinante para a adequada caracterização das amostras. Diversas metodologias cromatográficas têm sido empregadas para a caracterização química de *Cannabis sativa*, destacando-se principalmente a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), cuja escolha depende dos objetivos analíticos do estudo (MICALIZZI et al., 2021). Embora o HPLC seja amplamente empregada para a quantificação de fitocanabinoides, especialmente em

análises direcionadas e controle de qualidade de produtos medicinais, o CG-EM apresenta vantagens importantes quando o objetivo é caracterizar o perfil químico global da planta.

Além da elevada eficiência de separação cromatográfica, o CG-EM permite a análise simultânea da fração terpênica e dos canabinoides neutros, fornecendo informações complementares por meio do espectro de massas e do Índice de Retenção Linear (LRI), que aumentam a confiabilidade da identificação dos metabólitos. Após a ionização por impacto de elétrons as moléculas sofrem fragmentação reprodutível, originando íons característicos cuja distribuição constitui um padrão de fragmentação específico para cada composto. A comparação desses espectros com bibliotecas espectrais, associada à concordância do LRI com valores descritos na literatura, permite realizar a identificação tentativa dos metabólitos com maior robustez analítica (ADAMS, 2007; MICALIZZI et al., 2021). Essas características tornam o CG-EM particularmente adequado para estudos de fingerprint cromatográfico e análises quimiométricas voltadas à diferenciação química de amostras de *Cannabis sativa*.

Diante de um perfil químico global complexo, a discriminação entre amostras pode, em muitos casos, ser conduzida por um número limitado de compostos-chave. Em Al Bakain et al. (2020), foram analisadas amostras de *Cannabis*, provenientes de 23 estados norte-americanos utilizando cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC-FID), associada às análises quimiométricas de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA). Os autores observaram que os compostos Δ^9 -THC, CBN e o monoterpene fenchol exerceram a maior contribuição para a separação estatística dos grupos, sendo identificados como os principais discriminantes entre as amostras. Além disso, verificou-se que alterações na contribuição desses metabólitos modificaram significativamente os padrões de agrupamento, evidenciando a elevada sensibilidade das ferramentas quimiométricas para detectar diferenças químicas sutis. Embora alguns compostos exerçam contribuição significativa para a discriminação estatística das amostras, sua avaliação isolada não é suficiente para representar toda a complexidade química da matriz. Esses resultados reforçam a necessidade da caracterização baseada no perfil químico global, abrangendo canabinoides, mono e sesquiterpenos, bem como seus derivados oxigenados, para uma descrição química mais abrangente e robusta das amostras.

Outro fator crítico, principalmente no cenário forense, está relacionado à vulnerabilidade do material vegetal aos processos de degradação química pós-colheita. A compreensão fitoquímica desse envelhecimento é atualmente embasada por modelos

cinéticos desenvolvidos em ambientes laboratoriais controlados. Jaidee et al. (2022), por exemplo, ao avaliarem resinas purificadas de *Cannabis* submetidas a estresse térmico programado, demonstraram que a degradação do CBD e a conversão do Δ^9 -THC em CBN são reações fortemente aceleradas pela exposição a altas temperaturas, evidenciando a influência das condições ambientais sobre o perfil químico da planta.

Entretanto, a maior parte dessas informações é proveniente de experimentos conduzidos sob condições laboratoriais controladas, que nem sempre representam a realidade das amostras apreendidas, frequentemente submetidas a condições imprevisíveis de armazenamento, transporte e exposição ambiental. Essa lacuna dificulta a compreensão integrada da transformação química ao longo do tempo, comprometendo a interpretação dos perfis obtidos e a definição de padrões consistentes.

Nesse contexto, o emprego de técnicas cromatográficas e espectrométricas modernas, como a microextração em fase sólida em headspace (HS-SPME) acoplada à GC-MS, tem se destacado na análise de compostos orgânicos voláteis (COVs). Essas técnicas geram *fingerprints* cromatográficos que, quando associados à análise multivariada, permitem reconhecer padrões químicos em matrizes complexas. Ilias et al. (2005) demonstraram a eficácia dessa abordagem ao utilizar HS-SPME-GC-MS associado à análise de agrupamento para discriminar amostras ilícitas de *Cannabis* de acordo com sua origem geográfica. De forma complementar, Cerrato et al. (2023) demonstraram que abordagens não direcionadas (*untargeted*), aliadas à estatística multivariada, possibilitam a diferenciação de amostras com base no perfil fitoquímico global, permitindo classificá-las de acordo com a variedade genética e a localização de cultivo. Esses resultados evidenciam o potencial do perfilamento químico global para a caracterização de matrizes complexas e aplicações em investigações forenses, sem a necessidade da identificação individual de todos os analitos.

Métodos como a Análise de Componentes Principais (PCA) e a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) são amplamente empregados para redução da dimensionalidade, identificação de padrões de agrupamento e seleção de variáveis discriminantes em perfis químicos obtidos por abordagens direcionadas (*targeted*) e não direcionadas (*untargeted*). De modo geral, esses métodos permitem evidenciar diferenças entre amostras e explorar relações entre composição química e fatores como origem e condições de produção. Essa procura por uma diferenciação específica acaba esbarrando nas enormes dificuldades de padronização amostral para regiões e cultivos diferentes e, conseqüentemente, muitos resultados são baseados nas

concentrações de três canabinoides específicos (CBG, THC e CBD) presentes nos quimiotipos, também chamados de quimiovariedades, da *Cannabis L. sativa* (CERRATO et al., 2023; ELSOHL et al., 2017).

Embora a maioria dos estudos envolvendo *Cannabis sativa* concentre a caracterização química principalmente na quantificação de canabinoides majoritários, como THC e CBD, o perfil fitoquímico da espécie é significativamente mais complexo. Compostos voláteis, especialmente mono e sesquiterpenos, desempenham papel relevante tanto na caracterização química quanto na atividade biológica da planta. A interação entre canabinoides e terpenoides, frequentemente descrita como *entourage effect*, tem sido associada à modulação e potencialização dos efeitos terapêuticos da espécie, reforçando a importância da avaliação integrada dessas diferentes classes químicas (RUSSO, 2011). Dessa forma, abordagens analíticas associadas à quimiometria tornam-se ferramentas relevantes tanto para a diferenciação química das amostras, como para a compreensão de padrões relacionados à composição fitoquímica, condições de cultivo e possíveis aplicações biológicas.

As limitações existentes tornam-se ainda mais evidentes em análises envolvendo amostras apreendidas em contexto forense. Por se tratar de amostras sem nenhum tipo de padronização seja no cultivo, condições climáticas e geográficas, os entraves de informações confiáveis dificultam significativamente as investigações de biomarcadores específicos (TZIMAS et al., 2024). Outros fatores relevantes são os processos de degradação, mistura de lotes e exposição a diferentes condições ambientais que podem alterar substancialmente a composição fitoquímica das amostras, reduzindo a robustez de modelos baseados exclusivamente em compostos majoritários.

Nesse contexto, a identificação de biomarcadores químicos mais estáveis e representativos surge como uma estratégia promissora para aplicações de rastreabilidade e diferenciação de amostras, especialmente no âmbito forense. Além disso, estudos que avaliem simultaneamente processos de degradação, variabilidade temporal e múltiplas classes de metabólitos tornam-se fundamentais para ampliar a compreensão sobre a dinâmica química da *Cannabis sativa* em condições reais. A integração dessas informações, associada a ferramentas de análise multivariada, pode contribuir para o desenvolvimento de modelos analíticos mais robustos, capazes de melhorar a interpretação química e a confiabilidade da caracterização dessas amostras.

2. JUSTIFICATIVA

A caracterização química de *Cannabis sativa* permanece como um dos principais desafios analíticos na área de produtos naturais, em decorrência da elevada complexidade fitoquímica da espécie e da interação entre fatores genéticos, edafoclimáticos e pós-colheita, que modulam a composição qualitativa e quantitativa de canabinoides, terpenos e outros metabólitos especializados (HANUŠ et al., 2016; ELSOHL et al., 2017). No caso de condições edáficas, elas podem influenciar diretamente a biossíntese de metabólitos secundários como mecanismos de adaptação fisiológica da planta às diferentes condições ambientais, enquanto as etapas ligadas ao processamento, das plantas como, armazenamento, transporte, exposição a luz, calor e acondicionamento determinam a preservação desses compostos ou aceleram processos de degradação e transformação química. Em conjunto, esses fatores contribuem para a construção do perfil químico da *Cannabis*.

No contexto forense, o Estado do Mato Grosso do Sul possui posição estratégica nas rotas do tráfico de drogas por ser um estado fronteiriço, integrando uma das principais vias de circulação de entorpecentes provenientes de países vizinhos. O Estado figura entre os estados com maiores volumes acumulados de apreensão de drogas e constitui um ponto relevante nas rotas transnacionais do tráfico. Além disso, o relatório evidencia o crescimento das apreensões de maconha no país e a importância da região Centro-Oeste nesse cenário (MARQUES; BOHNENBERGER, 2024, p. 268). Isso reforça de forma expressiva a necessidade de metodologias analíticas robustas para a caracterização química desses materiais para auxiliar as análises já utilizadas através da polícia forense do Estado.

Somado a isso, grande parte da literatura e da rotina analítica foca quase que exclusivamente na quantificação de canabinoides majoritários como Δ^9 -THC devido ao seu contexto psicoativo e ao CBD que possui inúmeros estudos sobre a atuação em diversas comorbidades. Essa abordagem, embora útil para a tipagem da droga e fins medicinais, negligencia o enorme potencial de outras classes químicas presentes na matriz. Compostos voláteis, especialmente a complexa fração de mono e sesquiterpenos e seus derivados oxigenados, respondem de forma muito mais expressiva ao envelhecimento e às condições de armazenamento. Além disso, no cenário farmacológico, esses compostos são os grandes responsáveis pelo efeito *entourage* (efeito comitiva), atuando em forte sinergia com os canabinoides para modular e potencializar

as respostas terapêuticas no organismo. Essas moléculas voláteis podem atuar como possíveis biomarcadores para atestar a qualidade medicinal, permitir uma diferenciação química e o rastreio do histórico logístico das amostras.

Portanto, para poder extrair de forma ampla e eficiente todas as informações e permitir uma contribuição mais favorável desses metabólitos, o uso do *fingerprint* cromatográfico global, aliado à quimiometria, supera a visão de alvos isolados e permite a avaliação integrada do perfil químico. Com essa abordagem, o estudo gera uma dupla contribuição que visa além de fornecer à perícia criminal uma possibilidade mais abrangente para obtenção de informação investigativa, também possibilita um perfilamento químico mais abrangente e pode fornecer um rigoroso instrumento de controle de qualidade para a padronização e segurança da *Cannabis sativa*.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Caracterizar o perfil químico de amostras de *Cannabis sativa* apreendidas em condições reais por meio de *fingerprint* cromatográfico obtido por CG-EM associado à análise multivariada.

3.2 ESPECÍFICOS

- Obter fingerprints cromatográficos das amostras de *Cannabis sativa* por CG-EM;
- Caracterizar qualitativamente os metabólitos discriminantes presentes nas amostras;
- Aplicar análise multivariada para investigar padrões de similaridade e variabilidade química entre os grupos;
- Avaliar a influência de fatores relacionados ao processamento, armazenamento e origem das amostras sobre o perfil químico;
- Explorar o potencial da integração entre *fingerprint* cromatográfico e quimiometria para a diferenciação de amostras e apoio à rastreabilidade em contexto forense;

4. METODOLOGIA DA PESQUISA

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS E PREPARO DOS EXTRATOS;

O estudo foi iniciado por meio da separação das amostras destinadas às análises químicas. Ao todo, foram utilizadas 68 amostras de *Cannabis sativa* L. sendo 14 amostras de inflorescências e 24 amostras de material prensado, ambas fornecidas pelo Instituto de Análises Laboratoriais Forenses (IALF), localizado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Adicionalmente, foram utilizadas 30 amostras controle fornecidas pela Associação Divina Flor, também situada em Campo Grande- MS. Dentre as amostras controle, 10 pertenciam à variedade denominada LF (linhagem rica em CBD) e 20 da variedade TR (linhagem rica em THC), de acordo com as especificações previamente fornecidas. Todos os procedimentos foram realizados no laboratório do IALF.

Figura.3 - Aspecto visual das amostras de Cannabis sativa apreendidas utilizadas no estudo



Nota: (A–B) Amostras de inflorescências apreendidas; (C–D) amostras de material prensado; (a ao d) respectivas amostras após moagem e homogeneização utilizadas no preparo para análise cromatográfica por CG-EM. As amostras foram fornecidas pelo Instituto de Análises Laboratoriais Forenses (IALF), Campo Grande – MS.

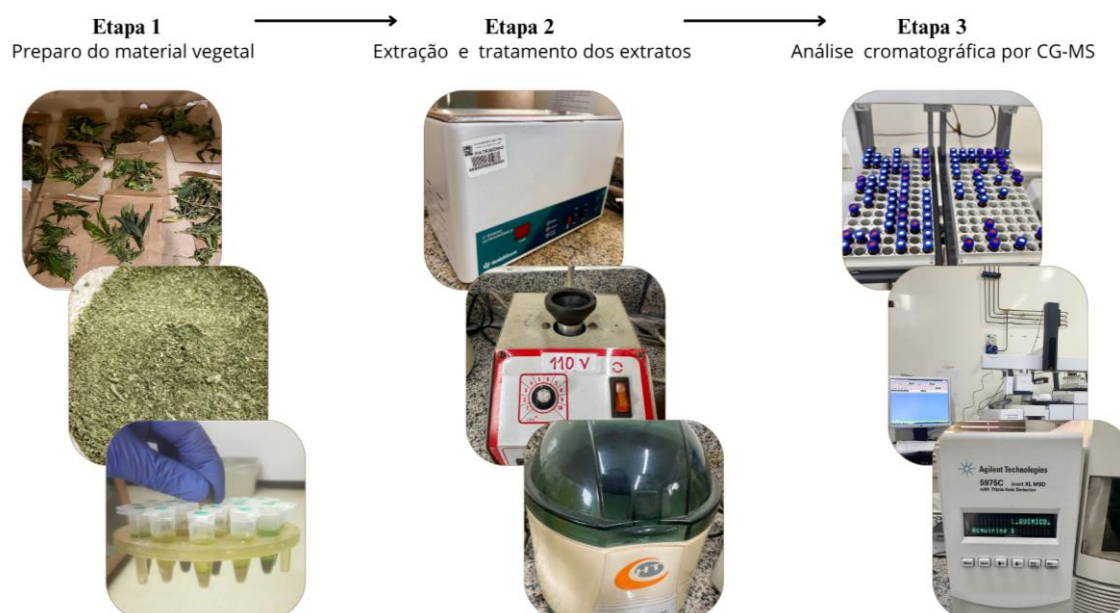
Após a separação das amostras, o material vegetal foi submetido a um procedimento padronizado de preparo visando a obtenção dos *fingerprints* cromatográficos para análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Inicialmente, aproximadamente 25 mg de cada amostra foram pesados diretamente em microcubos de polipropileno de 1,5 mL e, em seguida, 1 mL de etanol

P.A. foi adicionado como solvente extrator. As amostras foram submetidas à extração assistida por ultrassom durante 15 minutos, favorecendo a solubilização dos metabólitos presentes no material vegetal.

Posteriormente, foram adicionados aproximadamente 20 mg de carvão ativado (Êxodo Científica), seguido de homogeneização em vórtex por aproximadamente 1 minuto. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 6000 rpm durante 5 minutos para promover a separação do sobrenadante. A solução extrativa foi então filtrada em membrana de 0,45 µm e transferida para um novo microtubo de 1,5 mL.

Como o objetivo do estudo foi a obtenção de fingerprints cromatográficos para caracterização qualitativa foi incluída a etapa de diluição. Para adequação da concentração às condições instrumentais de análise, uma alíquota da solução extrativa foi diluída na proporção de 100 µL para 900 µL de etanol P.A. Por fim, as soluções foram transferidas para vials e submetidas à análise por CG-EM.

Figura 4- Fluxograma das etapas de preparo das amostras de Cannabis sativa para obtenção dos fingerprints cromatográficos por CG-EM



Fonte: Elaboração própria.

4.2 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

As análises cromatográficas foram realizadas em sistema de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) Agilent Technologies 5975C Inert XL EI/CI MSD acoplado a cromatógrafo gasoso Agilent 7890A. As separações cromatográficas foram conduzidas utilizando coluna capilar RTX-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), empregando hélio (He, pureza 99,9999%) como gás de arraste em modo de velocidade linear constante.

A temperatura do injetor foi mantida em 260 °C, utilizando modo de injeção *split* com razão de divisão de 5:1. O fluxo da coluna foi ajustado para 1,0 mL min⁻¹, com velocidade linear de 36,8 cm s⁻¹ e fluxo total de 9,0 mL min⁻¹. O programa de temperatura do forno cromatográfico foi iniciado em 80 °C, permanecendo por 2 minutos, seguido de aquecimento à taxa de 10 °C min⁻¹ até 290 °C, com permanência final de 7 minutos, totalizando 30 minutos de corrida cromatográfica.

4.3 OBTENÇÃO DO FINGERPRINT CROMATOGRÁFICO E ANÁLISE ESTATÍSTICA;

Após a aquisição dos cromatogramas, os dados foram processados visando a construção dos *fingerprints* cromatográficos das amostras. A integração dos picos foi realizada utilizando os parâmetros de área mínima (*Initial Area Reject*) igual a 200, peso inicial (*Initial Peak Width*) de 0,040 e limiar inicial (*Initial Threshold*) de 14,0, com detecção de ombros (*Shoulder Detection*) desativada. Os picos cromatográficos foram selecionados com base em sua recorrência, intensidade relativa e relevância estatística no conjunto de amostras.

As atribuições químicas foram realizadas de forma tentativa por comparação entre os espectros de massas obtidos por CG-EM e as bibliotecas espectrais NIST/Wiley, associadas à avaliação dos índices de retenção lineares experimentais (LRI_{exp}) calculados neste estudo e comparados com valores descritos na literatura (Adams, 2007). Os tempos de retenção (RT_s) e as áreas relativas dos picos selecionados foram utilizados para construção da matriz de dados destinada às análises quimiométricas.

A confirmação dos principais canabinoides foi realizada utilizando padrões analíticos certificados de canabidiol. O padrão de CBD (1,0 mg mL⁻¹ em metanol) foi adquirido da LGC Standards (Luckenwalde, Alemanha). O padrão foi analisado sob as mesmas condições cromatográficas empregadas para as amostras e utilizados

exclusivamente para confirmação dos tempos de retenção e dos espectros de massas dos principais canabinoides observados no *fingerprint* cromatográfico. Dessa forma, a identificação de CBD foi realizada por comparação direta entre o padrão e as amostras analisadas. A classificação dos demais compostos baseada na comparação dos espectros de massas com a biblioteca NIST, na avaliação das fórmulas moleculares propostas e na compatibilidade dos índices de retenção lineares descritos na literatura (Adams, 2007).

Para o tratamento e a interpretação das análises, os dados cromatográficos foram avaliados de forma multivariada utilizando a plataforma *MetaboAnalyst 6.0* (módulo *Statistical Analysis - one factor*). Inicialmente, construiu-se uma matriz de dados na qual as amostras foram organizadas nas linhas e as áreas integradas de cada pico representadas pelos seus tempos de retenção foram dispostas nas colunas.

Durante a etapa de pré-processamento, não foram aplicados filtros de exclusão de variáveis, para garantir que toda a complexidade do *fingerprint* fosse considerada. As células da matriz de dados correspondentes a compostos não detectados em determinadas amostras (valores ausentes) foram preenchidas pelo software utilizando estimativas de baixa intensidade (*replace by small value*), evitando distorções nas análises estatísticas subsequentes. Em seguida, os dados foram submetidos à transformação logarítmica ($\log_{10}$) seguida do escalonamento de Pareto (*Pareto scaling*). Esse tratamento foi essencial para nivelar a influência das variáveis sem descaracterizar a estrutura original da matriz.

A partir da normalização dos dados foi conduzida a análise estatística de forma não supervisionada por meio da Análise de Componentes Principais (PCA), focando nos dois eixos de maior variância (PC1 e PC2) e adotando o percentual de 95% de confiança. Complementarmente, aplicou-se a Análise Discriminante por Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA) para validar e refinar esses agrupamentos sob uma ótica supervisionada. Por fim, para investigar o grau de parentesco químico e visualizar a distribuição dos metabólitos entre as linhagens, construíram-se mapas de calor (*heatmaps*) associados à Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA), adotando-se a distância Euclidiana e o método de Ward.

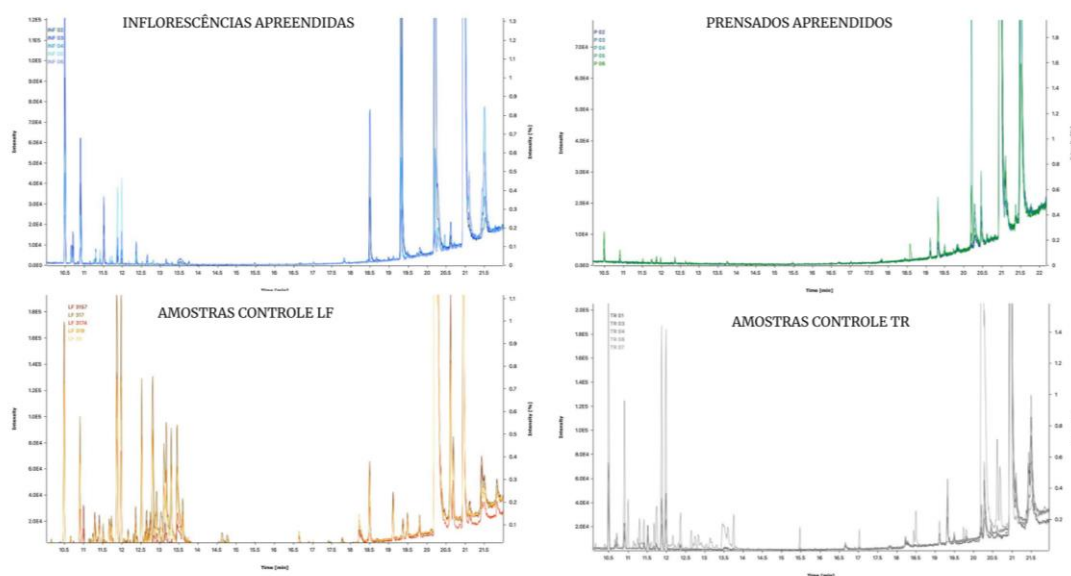
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO GLOBAL DO FINGERPINT CROMATOGRÁFICO;

As amostras analisadas apresentaram perfis cromatográficos distintos, porém com sinais em regiões de tempo de retenção semelhantes entre os grupos avaliados, indicando a presença recorrente de classes químicas características da espécie *Cannabis sativa* (Tabela S6). Em relação à análise macroscópica, de forma geral as amostras analisadas apresentaram diferença visual entre as matrizes, principalmente em coloração, textura e integridade estrutural. As amostras de LF e TR, adquiridas de um cultivo em ambiente controlado, apresentaram coloração esverdeada e sem compactação. No caso das amostras apreendidas, a textura e compactação foram evidentes em relação às amostras LF e TR e apresentaram variação de cor para coloração acobreada.

A análise por CG-EM demonstrou diferença em relação à quantidade de compostos entre as amostras apreendidas e as amostras controle. De maneira geral, os cromatogramas apresentam a predominância de duas regiões químicas, região 1 para compostos mais voláteis e com grupos oxigenados entre 10 e 14 min e região 2 entre 18 e 21 min onde foram visualizados grupos característicos de compostos encontrados em *Cannabis*, canabinoides. (figura 5).

Figura 5. Comparação dos *fingerprints* cromatográficos das amostras apreendidas e controles de *Cannabis sativa* L. obtidos por GC-MS



Observação: *fingerprint* químico entre os grupos analisados, com predominância de duas regiões cromatográficas principais: Região 1 (10–14 min), associada principalmente à

fração terpênica, e Região 2 (18–21 min), relacionada predominantemente à fração canabinoides.

A redução da intensidade dos compostos na primeira região cromatográfica das amostras apreendidas, em comparação às amostras padrão, provavelmente está relacionada às condições de armazenamento, degradação e processamento pós-colheita as quais esse material foi submetido. Em contraste, as amostras controle foram cultivadas, colhidas e armazenadas sob condições controladas, preservaram de forma mais eficiente sua composição química. Esses fatores podem promover alterações qualitativas e quantitativas nos metabólitos voláteis e canabinoides, resultando em um perfil químico menos complexo e robusto nas amostras apreendidas.

A Região 1, compreendida entre aproximadamente 10 e 14 minutos de tempo de retenção, foi caracterizada por elevada complexidade cromatográfica, apresentando um grande número de sinais atribuídos predominantemente a compostos estruturalmente relacionados pertencentes à fração terpênica. A proximidade estrutural desses metabólitos favoreceu a ocorrência de coeluição parcial, resultando em sinais distribuídos ao longo de toda a região cromatográfica.

Os compostos identificados nessa região apresentaram, principalmente, fórmulas moleculares $C_{15}H_{24}$, $C_{15}H_{24}O$ e $C_{15}H_{26}O$, compatíveis com sesquiterpenos hidrocarbonetos e sesquiterpenos oxigenados frequentemente descritos em *Cannabis sativa* L. Entre os principais esqueletos estruturais observados destacaram-se derivados dos tipos cariofilano, selinano e cadinano, bem como seus análogos oxigenados, incluindo óxido de cariofileno, eudesmol e derivados. A identificação tentativa desses metabólitos foi realizada por comparação dos espectros de massas com as bibliotecas NIST e Wiley, associada aos índices de retenção descritos por Adams (2007).

A distribuição dos sinais ao longo dessa região indicou uma separação consistente entre os sesquiterpenos hidrocarbonetos e seus derivados oxigenados. De maneira geral, os compostos oxigenados apresentaram maiores tempos de retenção, comportamento esperado em razão de sua maior polaridade e, conseqüentemente, de sua maior interação com a fase estacionária da coluna cromatográfica (Tabela S6).

A segunda região cromatográfica, compreendida entre aproximadamente 18 e 21 minutos, foi caracterizada pela predominância de canabinoides em suas formas neutras e de alguns produtos de oxidação, correspondendo aos compostos de maior retenção e maior massa molecular detectados por GC-EM. Os metabólitos identificados nessa região apresentaram predominantemente fórmulas moleculares compatíveis com derivados

estruturais do tipo $C_{21}H_{30}O_2$ e $C_{21}H_{26}O_2$, frequentemente associadas a fitocanabinoides neutros e seus produtos de degradação em *Cannabis sativa* L (HANUŠ et al., 2016; ELSOHL et al., 2017).

Entre os principais compostos identificados destacaram-se sinais compatíveis com canabidiol CBD, Δ^9 -THC e derivados, conforme apresentado na (tabela S6). Picos nessa região cromatográfica foram observados de forma consistente tanto nas amostras controle quanto nas apreendidas, embora diferenças expressivas na intensidade relativa dos sinais tenham sido verificadas entre os diferentes tipos de amostras. De maneira geral, a maioria das amostras apresentou a coexistência de CBD e Δ^9 -THC, porém em proporções variáveis. Nas amostras controle, foi possível distinguir com maior clareza perfis químicos compatíveis com diferentes quimiotipos, incluindo materiais ricos em CBD e materiais ricos em THC, refletindo a origem conhecida e as condições controladas de cultivo dessas amostras.

Outro aspecto relevante evidenciado pelo perfil cromatográfico foi a elevada complexidade química característica de *Cannabis sativa* L. Diferentemente de matrizes vegetais com composição química menos diversificada, essa espécie produz uma ampla diversidade de metabólitos secundários pertencentes à diferentes classes químicas, o que resulta em perfis cromatográficos altamente complexos. Consequentemente, a região correspondente aos terpenoides, especialmente nas amostras controle, apresentou elevada densidade de sinais cromatográficos, com numerosos compostos eluindo em intervalos muito próximos de retenção.

Esse comportamento é esperado principalmente para sesquiterpenos hidrocarbonetos, uma vez que muitos desses compostos compartilham a mesma fórmula molecular, elevada similaridade estrutural, e padrões de fragmentações de massas bastante semelhantes quando analisados por CG-EM. Em função disso, pequenas diferenças estruturais entre isômeros frequentemente resultam em espectros de massas muito similares, dificultando sua discriminação inequívoca apenas por essa técnica. Além disso, a proximidade dos tempos de retenção favorece a ocorrência de coeluição parcial, contribuindo para a sobreposição de sinais cromatográficos e aumentando a complexidade da interpretação dos perfis obtidos.

Além disso, as diferenças observadas entre as amostras apreendidas e as amostras controle sugerem alterações decorrentes das condições de armazenamento, transporte e processamento pós-colheita. De maneira geral, as amostras provenientes de apreensões apresentaram um perfil cromatográfico menos complexo na Região 1, caracterizado pela

menor intensidade e menor número de sinais associados aos compostos terpênicos, indicando uma possível perda de metabólitos voláteis.

Diferenças ainda mais pronunciadas foram observadas quando comparadas as amostras de material prensado e as inflorescências apreendidas. Embora ambos os grupos tenham origem em apreensões, as inflorescências preservaram uma fração significativa dos sesquiterpenos hidrocarbonetos e de seus derivados oxigenados identificados na primeira região cromatográfica. Em contrapartida, o material prensado apresentou um perfil substancialmente mais empobrecido, evidenciado pela redução expressiva da diversidade e da intensidade dos compostos terpênicos, bem como pela baixa ocorrência de sesquiterpenos oxigenados.

Esse comportamento pode ser atribuído ao efeito combinado do envelhecimento da matriz vegetal, da volatilização dos terpenos e das condições às quais o material é submetido durante o processamento, a compactação, o transporte e o armazenamento. Em conjunto, esses fatores contribuem para modificações significativas na composição química das amostras, resultando em perfis cromatográficos menos complexos quando comparados às inflorescências e às amostras controle.

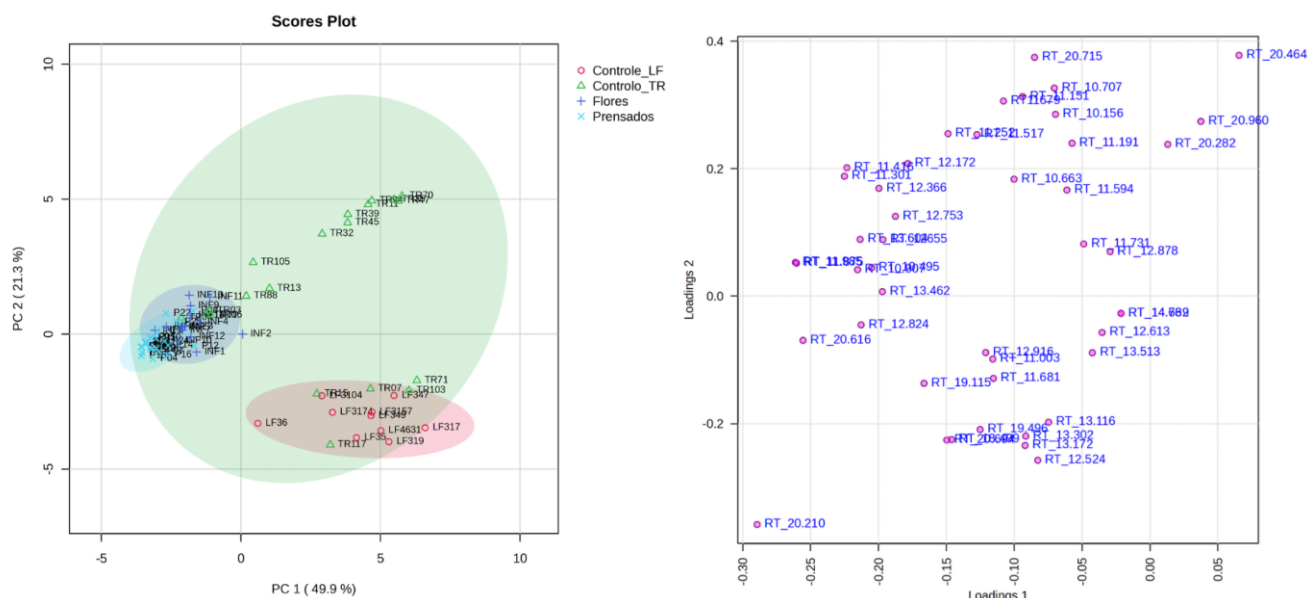
5.2 ANÁLISE MULTIVARIADA GLOBAL DAS AMOSTRAS;

A análise de componentes principais (PCA) revelou diferenças na composição química das amostras analisadas, permitindo a visualização dos padrões de agrupamento com base nos *fingerprints* cromatográficos obtidos por GC-MS. Os dois primeiros componentes principais explicaram 71,2% da variância total dos dados (PC1 = 49,9% e PC2 = 21,3%), demonstrando que esses eixos capturaram a maior parte da variabilidade química do conjunto de amostras. O *score plot* (Figura 6) evidenciou tanto separação entre grupos quanto à dispersão intragrupo. De maneira geral, amostras posicionadas próximas no espaço multivariado apresentaram maior similaridade em seus perfis químicos, enquanto aquelas localizadas mais distantes refletiram perfis cromatográficos significativamente distintos.

Ao avaliar os *loadings*, foi possível observar que a separação ao longo do PC1 esteve associada principalmente aos sinais localizados na região entre 20 e 21 minutos de retenção. Nessa faixa cromatográfica encontram-se sinais compatíveis com CBD, Δ^9 -THC e outros derivados relacionados. Nesse caso, entre os tempos de retenção que mais contribuíram para a variabilidade observada, destacaram-se os RT 20,210; 20,464; 20,616

e 20,715, sugerindo que diferenças na composição e na abundância relativa desses compostos exerceram influência na distribuição das amostras ao longo desse eixo

Figura 6. Análise de Componentes Principais (PCA) obtida a partir do fingerprint cromatográfico das amostras de Cannabis sativa L. analisadas por CG-EM



Nota: Score plot demonstrando a distribuição dos grupos controle_LF, controle_TR, Inflorescências apreendidas e prensados, juntamente com o loading dos tempos de retenção (RT) responsáveis pela variabilidade observada entre as amostras.

Por outro lado, o PC2 apresentou maior contribuição de sinais distribuídos entre aproximadamente 10 e 14 minutos de retenção, região caracterizada pela predominância de sesquiterpenos hidrocarbonetos e sesquiterpenos oxigenados. Diferentemente da região dos canabinoides, essa faixa apresentou uma maior variabilidade geral entre as amostras estudadas. Assim, a separação observada ao longo do PC2 está relacionada principalmente às diferenças na composição da fração terpênica, especialmente quanto à possível presença ou redução de compostos voláteis ao longo do *fingerprint* cromatográfico.

Em relação às amostras controle, a separação entre LF e TR foi observado uma separação geral, contudo, algumas amostras classificadas como TR apresentaram posicionamento intermediário ou maior proximidade com o agrupamento LF. Esse comportamento sugere a existência de perfis químicos parcialmente semelhantes entre determinados indivíduos dos dois grupos, indicando que a classificação previamente

estabelecida não explica integralmente toda a variabilidade observada no conjunto de dados em geral. É válido destacar que o presente estudo aplicou uma abordagem não direcionada (*untargeted*) para o *fingerprint* cromatográfico global. Entretanto, comportamentos de sobreposição semelhantes também são relatados na literatura por meio de análises direcionadas (*targeted*), demonstrando que diferentes quimiotipos e variedades frequentemente compartilham características metabólicas comuns quando avaliados de forma multivariada (FISCHEDICK et al., 2010; HAZEKAMP; FISCHEDICK, 2012).

Embora a maioria das amostras de TR e LF tenham apresentado uma maior diversidade química e um maior número de compostos detectados ao longo do *fingerprint* cromatográfico, as amostras LF demonstraram perfil relativamente constante entre si, sugerindo menor variabilidade intragrupo. Esse comportamento pode estar relacionado às diferenças esperadas entre quimiotipos ricos em THC e quimiotipos ricos em CBD, considerando que linhagens associadas ao THC frequentemente apresentam maior diversidade terpênica e maior variabilidade fitoquímica (CERRATO et al., 2023; FISCHEDICK, 2017; SMITH et al., 2022).

Em contraste, as amostras de inflorescências apreendidas e de material prensado apresentaram elevada proximidade no *score plot*, formando agrupamentos parcialmente sobrepostos. Apesar das diferenças observadas nos cromatogramas individuais, principalmente em relação à quantidade de compostos detectados, a análise multivariada indicou que ambos os grupos compartilham características químicas semelhantes. Esse decaimento na quantidade de compostos presentes na região 1 também pode ser observado quando comparados os cromatogramas presentes nas figuras suplementares (S4-S7). As amostras de material prensado apresentaram os menores teores de compostos terpênicos entre todos os grupos avaliados.

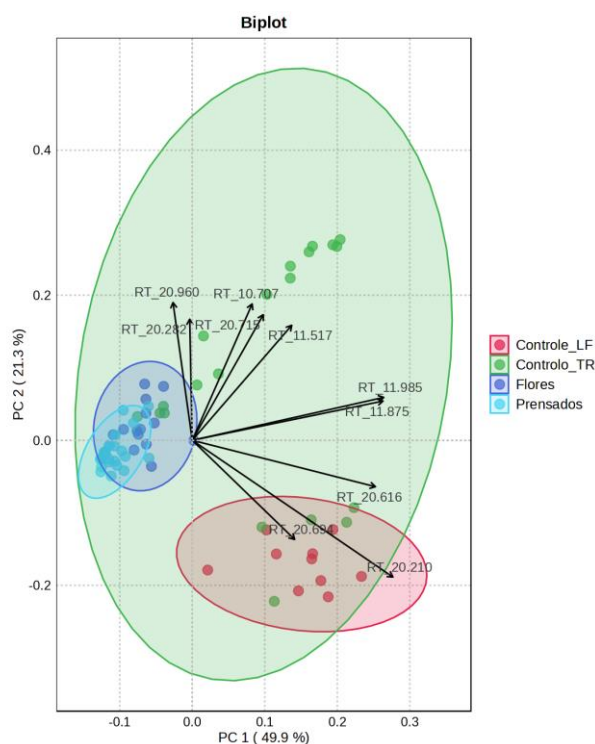
Na Região 1, observou-se uma redução expressiva da diversidade química, sendo os sinais com tempos de retenção de 10,907 e 10,945 min os únicos recorrentes em um maior número de amostras, evidenciando uma perda substancial de metabólitos voláteis. Por sua vez, a Região 2 foi caracterizada pela predominância de sinais atribuídos ao Δ^9 -THC, os quais apresentaram maior intensidade e área relativa quando comparados aos demais canabinoides (Tabelas Suplementares S3, S4A e S4B). Esse padrão pode refletir tanto os efeitos dos processos de degradação e volatilização dos compostos terpênicos durante o armazenamento e processamento pós-colheita quanto a predominância de

materiais pertencentes a quimiotipos ricos em THC, característica frequentemente associada às amostras destinadas ao mercado ilícito.

5.3 VARIÁVEIS DISCRIMINANTES E REGIÕES CROMATOGRÁFICAS RELEVANTES E POTENCIAIS MARCADORES QUÍMICOS;

O *biplot* (figura 7) da análise de componentes principais permitiu visualizar simultaneamente a distribuição das amostras e a contribuição de cada metabólito a partir dos tempos de retenção (RT_s). Os vetores direcionados para determinadas regiões do gráfico indicaram associação entre sinais cromatográficos específicos e grupos amostrais particulares.

Figura 7. Biplot da PCA principal evidenciando a associação entre tempos de retenção (RT_s) e grupos amostrais de Cannabis.

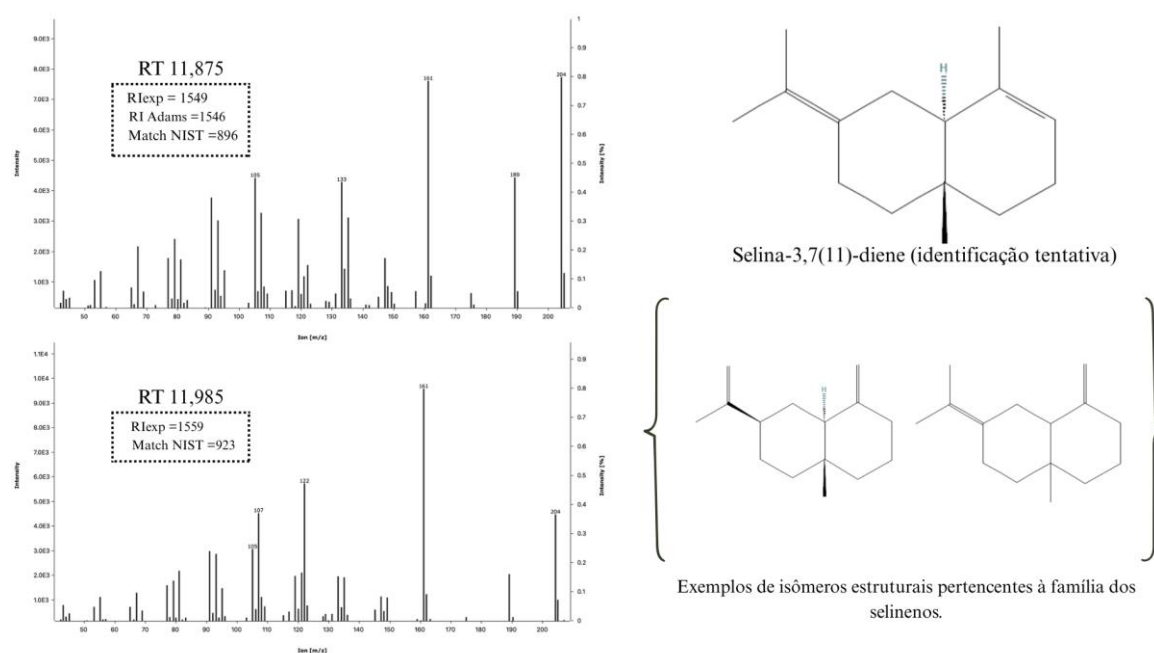


Nota: Biplot da PCA demonstrando a correlação entre os tempos de retenção (RT_s) e os grupos amostrais analisados. Os vetores indicam os sinais cromatográficos com maior contribuição para a variabilidade observada entre as amostras de Controle_LF, Controle_TR, inflorescências apreendidas e prensados.

Os RT_s em destaque apresentam maior contribuição para separação entre os grupos devido ao maior distanciamento em relação à origem do gráfico. Os sinais observados em 11,875 e 11,985 min apresentaram elevada contribuição para a separação

estatística das amostras, sendo tentativamente atribuídos a isômeros da classe dos selinenos com base na combinação entre espectro de massas e índice de retenção linear. Os espectros apresentaram elevada similaridade, com predominância do fragmento m/z 161 e íon molecular em m/z 204, padrão característico de sesquiterpenos hidrocarbonados da família dos selinanos. A ocorrência simultânea desses isômeros terpênicos representa um perfil característico de *Cannabis sativa*, uma vez que essas moléculas apresentam elevada similaridade estrutural, frequentemente compartilham a mesma fórmula molecular e são biossintetizadas a partir de precursores comuns da via dos terpenoides (FISCHEDICK et al., 2010; HANUS; HOD, 2020). Em consequência, exibem perfis cromatográficos e padrões de fragmentação bastante semelhantes (figura 8).

Figura 8. Comparação dos espectros de massas dos sinais discriminantes em RT 11,875 e 11,985 min e estruturas representativas da família dos selinenos.



No presente estudo, esses compostos demonstraram elevado potencial como marcadores químicos para a diferenciação das amostras. Os sinais correspondentes foram detectados em 100% das amostras controle e em aproximadamente 64% das inflorescências apreendidas. Em contrapartida, sua frequência foi drasticamente reduzida nas amostras de material prensado, sendo observados em apenas 12% dos indivíduos analisados. Esse comportamento reforça a hipótese de que inflorescências com maior integridade estrutural preservam de forma mais eficiente seus metabólitos voláteis. Por outro lado, o material prensado, submetido a processos de compactação, transporte e

armazenamento frequentemente inadequados, apresentou menor abundância desses constituintes. Esse comportamento pode estar relacionado à maior suscetibilidade dos terpenos de *Cannabis sativa* à volatilização, degradação e oxidação durante o armazenamento e favorecidos pela exposição ao calor, à luz e ao oxigênio (HANUS et al., 2021; JAIDEE et al., 2022).

Outro sinal de destaque na discriminação das amostras foi o pico em RT 10,707 min, tentativamente identificado como α -guaieno (Tabela S6). A distribuição desse metabólito revelou um comportamento distinto entre os grupos avaliados, estando presente nas amostras controle da linhagem TR), em parte das inflorescências apreendidas e em uma amostra de material prensado, enquanto não foi detectado nas amostras controle da linhagem LF. Esse comportamento fitoquímico corrobora a literatura; embora existam poucos estudos abordando especificamente o α -guaieno em *Cannabis sativa*, esse composto pertence à classe dos sesquiterpenos hidrocarbonetos, cuja biossíntese ocorre pela via do ácido mevalônico (MEV) a partir do farnesil difosfato (FPP). Sua formação é dependente da atividade de enzimas sesquiterpeno sintases (sesqui-TPS), cuja expressão e composição variam amplamente entre os diferentes genótipos da espécie (BOOTH; BOHLMANN, 2019). Dessa forma, a distribuição observada neste estudo sugere que o α -guaieno possa estar diretamente associado às diferenças genéticas e metabólicas inerentes aos quimiotipos avaliados.

Além disso, a presença residual desse composto nas amostras forenses é de grande relevância investigativa. Do ponto de vista físico-químico, os sesquiterpenos apresentam, de modo geral, maior massa molecular, menor volatilidade e maior estabilidade quando comparados aos monoterpenos, podendo ser preservados por períodos mais longos nas inflorescências de *Cannabis* (MICALIZZI et al., 2021). Estudos recentes apontam que, embora o tempo e as condições de armazenamento reduzam significativamente a fração terpênica global das plantas, os sesquiterpenos demonstram ser expressivamente menos suscetíveis à degradação a longo prazo do que os monoterpenos (BIRENBOIM et al., 2024). Nesse contexto, a detecção do α -guaieno em parte das amostras apreendidas sugere o potencial emprego desse metabólito como um marcador químico complementar na caracterização e rastreabilidade de materiais de *Cannabis* envelhecidos em contexto forense.

A análise da matriz de dados também evidenciou tanto a presença quanto a ausência simultânea dos sinais com tempos de retenção de 10,495 e 10,907 min em um grupo específico composto por sete amostras de material prensado (Tabelas S4A e S4B).

Esses picos foram atribuídos ao β -cariofileno e a um derivado do aromadendreno, respectivamente (Tabela S6). Como observado de modo geral no *fingerprint*, o β -cariofileno costuma figurar entre os principais sesquiterpenos descritos no perfil terpênico de *Cannabis sativa*, permanecendo detectável na grande maioria das amostras de material prensado analisadas neste estudo, mesmo após a perda de outros analitos (BOOTH; BOHLMANN, 2019; SOMMANO et al., 2020).

Do ponto de vista químico, esses constituintes compartilham propriedades físico-químicas muito semelhantes, como o ponto de vaporização. Dessa forma, a matriz submetida aos processos avançados de degradação, é esperado que a perda de sesquiterpenos mais abundantes, como o β -cariofileno, seja acompanhada da perda de sesquiterpenos minoritários com índice de retenção semelhante a ele, como o derivado do aromadendreno observado neste estudo, tornando-os progressivamente menos detectáveis (SPADAFORA et al., 2024). Do ponto de vista forense, essa perda conjunta de marcadores característicos pode funcionar como um importante indicativo do histórico de processamento e conservação do material vegetal. O padrão observado nas sete amostras de material prensado sugere que elas foram submetidas a condições de armazenamento e envelhecimento semelhantes, compatíveis com possíveis estágios avançado de degradação da fração sesquiterpênica (SPADAFORA et al., 2024). Embora esse comportamento, isoladamente, não permita confirmar uma origem comum, ele pode indicar que essas amostras compartilharam condições ambientais ou de processamento semelhantes, reforçando o potencial desses compostos como marcadores químicos auxiliares na diferenciação e interpretação de amostras de *Cannabis sativa*.

Adicionalmente, o pico com RT 20,960 min, atribuído ao Δ^9 -THC, foi detectado em todas as 68 amostras analisadas, embora com diferenças expressivas em relação à intensidade dos picos e áreas relativas. Nas amostras de material prensado, inflorescência apreendida e quimiotipo controle TR, o Δ^9 -THC representou mais de 90% da área relativa analisada, evidenciando um perfil compatível com materiais ricos nesse fitocanabinoide.

Além da influência do quimiotipo, esse comportamento também pode refletir a ocorrência de processos de descarboxilação do THCA para sua forma neutra Δ^9 -THC, favorecidos pela exposição prolongada ao calor, à luz ou ao envelhecimento da matriz vegetal, bem como por temperaturas superiores a aproximadamente 140 °C (GAO et al., 2023). Entretanto, a predominância de Δ^9 -THC, isoladamente, não constitui evidência de maior grau de oxidação, uma vez que esse processo também pode estar associado

principalmente à conversão do THC em canabinol (CBN) (JAIDEE et al., 2022; HANUŠ et al., 2016).

Outro ponto importante foi a presença do sinal em RT 20,715 min, identificado de forma tentativa como um canabinoide. Esse sinal apareceu quase que exclusivamente associado às amostras do grupo controle TR (Tabela 1) e a somente dois indivíduos, sendo o primeiro a inflorescência 13 (INF 13) e o segundo um prensado (P 22). A *Canabis* é uma planta capaz de produzir dezenas de canabinoides minoritários que vão muito além dos alvos comerciais mais comuns (BERMAN et al., 2018; ELSOHL et al., 2017). Como a produção desses compostos secundários é muito ligada à genética da planta, eles acabam funcionando como uma espécie de assinatura química de algumas linhagens (CERRATO et al., 2023; TZIMAS et al., 2024). Dessa forma, esse possível canabinoide tem um excelente potencial para atuar como um marcador químico exclusivo do quimiotipo TR.

Por outro lado, em amostras controle do quimiotipo LF, o padrão de intensidade acima de 90% da área relativa do pico pode ser diretamente relacionado com o sinal em RT 20,210 min, correlacionado ao CBD. Esse perfil reflete um comportamento clássico da quimiotaxonomia da *Cannabis*, evidenciando um quimiotipo distinto, no qual a genética da planta prioriza a via biossintética de acúmulo do ácido canabidiólico (CBDA) e, conseqüentemente, seu correspondente descarboxilado, o CBD. Essa divergência metabólica natural justifica a nítida separação química e espacial desse grupo nas análises multivariadas em relação às demais amostras ricas em THC (FISCHEDICK et al., 2010; HAZEKAMP; FISCHEDICK, 2012).

Uma observação relevante nos perfis cromatográficos diz respeito à correlação inversa de intensidade entre os sinais associados ao canabidiol e ao possível canabicromeno em RT 20,282 min. A análise das áreas relativas (tabelas S1; S2; S3; S4A; S4B) evidenciou que, nas amostras onde o CBD aparece de forma isolada, seu sinal apresenta intensidade e percentual de área significativamente maiores. No entanto, nas amostras em que há a concorrência do pico de CBC, o sinal do CBD apresenta uma nítida redução proporcional. Diferentemente de uma interconversão química espontânea entre essas duas moléculas, esse comportamento que pode ser o reflexo de uma competição biossintética que ocorre na planta viva. Conforme estabelecido na literatura, a biossíntese dos fitocannabinoides ocorre a partir de um precursor comum, o ácido canabigerólico (CBGA), o qual é convertido enzimaticamente em ácido canabicromênico (CBCA), ácido canabidiólico (CBDA) ou THCA (LEWIS-BAKKER et al., 2019). Portanto, a variação

de área observada no *fingerprint* demonstra a variabilidade metabólica das amostras. Assim, genótipos que expressam maior atividade na via do CBC acabam consumindo o *pool* de CBGA disponível, o que pode naturalmente limitar a biossíntese conjunta de CBD, justificando a diminuição de sua abundância relativa nos cromatogramas (GAGNE et al., 2012; HANUŠ et al., 2016).

A grande proximidade observada entre os tempos de retenção do CBD e do possível CBC é um comportamento cromatográfico esperado e pode ser justificado pela elevada similaridade química entre as moléculas. Por serem isômeros estruturais de fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$, esses fitocanabinoides neutros compartilham propriedades físico-químicas muito semelhantes, como ponto de ebulição e polaridade. Consequentemente, apresentam interações análogas com a fase estacionária da coluna, o que frequentemente resulta em tempos de retenção quase idênticos ou acabam sofrendo coeluição (FISCHEDICK et al., 2010).

Tabela 1. Principais sinais cromatográficos associados à diferenciação química das amostras de *Cannabis sativa* L. analisadas por GC-EM e PCA.

Região cromatográfica	RT	Classe química provável	Ocorrência predominante	Observação
Região 1 (10–14 min)	10.495	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Todas as amostras	Sinal persistente mesmo em prensados;
	10.707	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Inflorescências, prensados e controles TR	Persistente em amostras degradadas; possível marcador residual da fração volátil;
	10.907	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Todas as amostras em conjunto do sinal 10,495	Detectável em diferentes grupos amostrais;
	11.517	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Principalmente inflorescências e controles	Redução significativa em prensados;
	11.875	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Grupo controle e inflorescências	Menor ocorrência em amostras degradadas;
	11.985	Sesquiterpeno hidrocarboneto	Grupo controle e inflorescências	Menor ocorrência em amostras degradadas;
Região 2 (20–21 min)	20.210	Canabinoide (compatível com CBD)	LF e TR	Possível marcador químico para quimiotipo CBD

20.464	Canabinoide	Principalmente LF e TR	Relacionado à maior complexidade química das amostras controle;
20.616	Canabinoide	Principalmente LF	Maior contribuição para diferenciação química do grupo LF;
20.694	Canabinoide	LF e TR	Associado às amostras de Prensado e TR;
20.715	Canabinoide	Principalmente TR	Relacionado às amostras controle com perfil TR;
20.960	Canabinoide (compatível com Δ^9 -THC)	Todas as amostras	Possível marcador químico para quimiotipo THC

Nota: os tempos de retenção (RT) apresentados correspondem às variáveis com maior contribuição para a diferenciação das amostras na PCA. As informações e observações foram obtidas a partir da integração dos dados cromatográficos, das tabelas (S1A; S2A; S3; S4A; S4B) e da matriz utilizada nas análises multivariadas realizadas no MetaboAnalyst.

5.4 RELAÇÃO ENTRE AS CLASSES QUÍMICAS E VARIABILIDADE DAS AMOSTRAS E INFLUÊNCIA DO TIPO DE AMOSTRAS NO PERFIL QUÍMICO;

A avaliação conjunta do *heatmap* e do agrupamento hierárquico (HCA) permitiu visualizar padrões de similaridade entre as amostras e compreender como diferentes classes químicas contribuíram para a variabilidade observada no conjunto de dados. De modo geral, os agrupamentos observados corroboraram os resultados obtidos pela PCA, evidenciando maior proximidade química entre as amostras apreendidas, enquanto os grupos controle apresentaram perfis mais distintos, ponto reforçado a partir da análise (figura 9).

Ao cruzar as informações sobre as classes químicas com as características físicas do material, a Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA) e o *heatmap* (Figura 10) serviram para confirmar os padrões anteriormente observados na PCA geral. A avaliação conjunta dessas ferramentas permitiu visualizar relações de similaridade entre as amostras e compreender como diferentes classes químicas contribuíram para a variabilidade observada no conjunto de dados. Na prática, o HCA confirmou o agrupamento das amostras com base na similaridade global de seus perfis químicos já observados nos

scores da PCA, evidenciando a maior proximidade química entre as amostras apreendidas, enquanto os grupos controle apresentaram perfis mais distintos conforme a predominância dos quimiotipos THC (TR) e CBD (LF).

No caso do *heatmap*, é importante ressaltar que as intensidades representadas correspondem aos valores normalizados utilizados na análise multivariada, não refletindo diretamente as concentrações absolutas dos compostos nas amostras. Desse modo, os tons de laranja escuro indicaram os compostos com as maiores áreas relativas, enquanto os tons em azul apontam aqueles com a menor intensidade de sinal. O que esse padrão de cores pode especificar em relação ao trabalho é como a concentração dos metabólitos varia significativamente em função do estado de conservação da planta, refletindo as alterações químicas relevantes proporcionadas pelo tratamento do material vegetal após sua colheita (HANUŠ; HOD, 2021).

Figura 9- Agrupamento hierárquico (HCA) gerados a partir da matriz de áreas integradas dos tempos de retenção (RT)

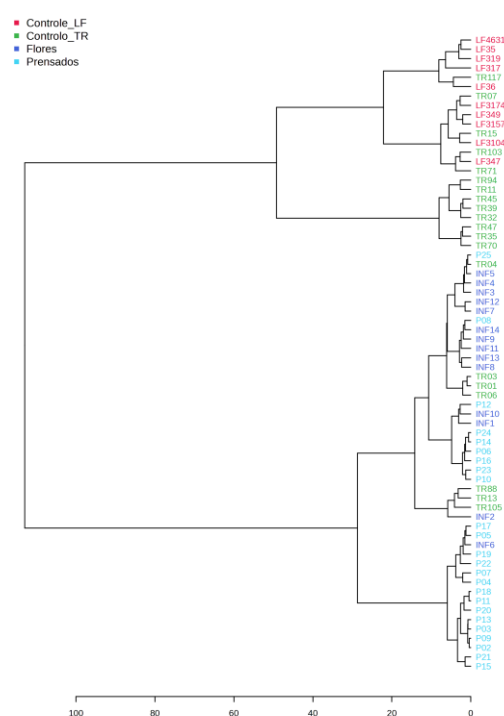
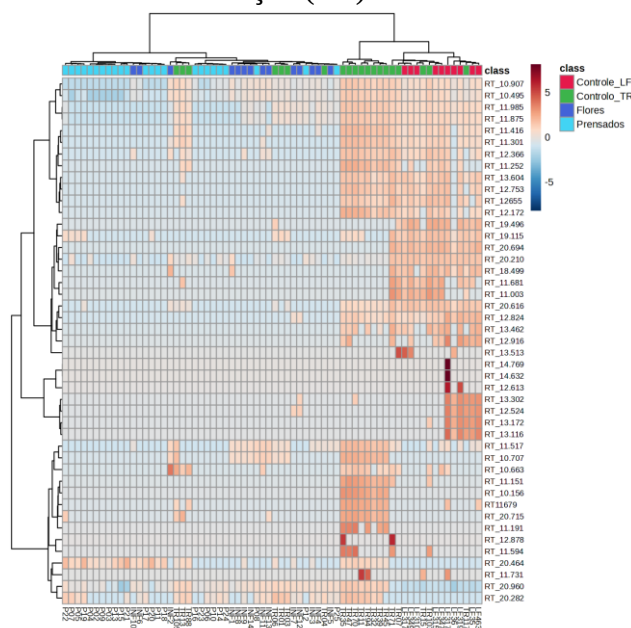


Figura 10- *Heatmap* gerados a partir da matriz de áreas integradas dos tempos de retenção (RT)



Nota: Heatmap das amostras de Cannabis sativa, gerados a partir da matriz de áreas integradas dos tempos de retenção (RT) após normalização e escalonamento dos dados no MetaboAnalys.

Além disso, a visualização em blocos no gráfico permitiu identificar exatamente quais compostos atuam como fortes discriminantes na formação de cada grupo. O mapa destacou, por exemplo, o bloco do Canabidiol em RT 20,210 min atuando como o grande marcador do grupo LF, bem como a presença do possível canabinoide não identificado em RT 20,715 min como uma assinatura em potencial para as amostras do quimiotipo TR. Já na região terpênica, o contraste de cores ilustrou a distinção causada pelos isômeros de selineno em RT 11,875 e 11,985 min e pelo cariofileno em RT 10,495 min, uma vez que esses compostos voláteis se mantêm predominantemente intensos em inflorescências e em amostras controle, e se mostraram menos proeminentes em amostras de materiais prensados.

A partir da Análise de Componentes Principais (PCA), observou-se que a maioria das amostras apresentou o padrão de agrupamento esperado, de acordo com seus perfis químicos. No entanto, alguns indivíduos encontravam-se afastados da tendência predominante de seus respectivos grupos, caracterizando-se como possíveis *outliers* no espaço multivariado. Como exemplo, algumas amostras controle identificadas como pertencentes à linhagem TR agruparam com as amostras da linhagem LF. Isso pode acontecer devido em decorrência do nome comercial ou a semente que o cultivador utiliza (o cultivar) não corresponder à química real que aquela planta produz (o seu quimiovar).

Como a metodologia deste trabalho avaliou a planta de forma global e não direcionada, os indivíduos se agruparam pelo seu verdadeiro parentesco químico. Esse é um comportamento muito comum relatado na literatura, pois no mercado de *Cannabis* é frequente que plantas cultivadas com o mesmo nome comercial apresentem perfis químicos totalmente diferentes na prática (FISCHEDICK et al., 2010; HAZEKAMP; FISCHEDICK, 2012).

5.5 INFLUÊNCIA DA ORIGEM GEOGRÁFICA E LIMITAÇÕES DE RASTREABILIDADE;

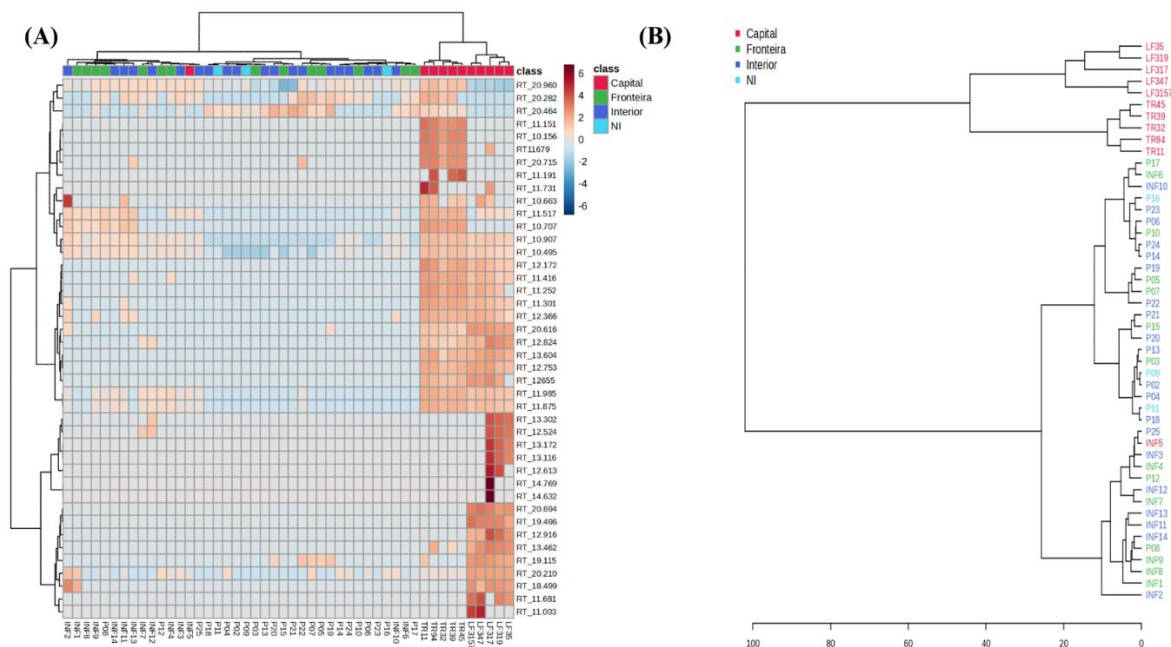
A influência da origem geográfica sobre o perfil químico da *Cannabis* tem sido amplamente discutida na literatura, uma vez que fatores ambientais como temperatura, altitude, regime hídrico, radiação solar e características do solo podem interferir na biossíntese de canabinoides e terpenos (YOUNAS et al., 2024). Nesse contexto, a aplicação das ferramentas de *fingerprint* e análises quimiométricas objetivaram avaliar se amostras provenientes de diferentes regiões apresentam ou não padrões químicos distintos.

A análise dos resultados obtidos indicou uma separação geográfica limitada (figura 11). Diferentemente de estudos conduzidos com materiais de origem conhecida e cultivados sob condições controladas, as amostras forenses possuem histórico de produção, armazenamento e distribuição muitas vezes desconhecidos. Dessa forma, o local de apreensão não necessariamente corresponde ao local de cultivo da planta, limitando inferências relacionadas à rastreabilidade geográfica. Segundo Chouvy (2023), a produção e o tráfico de *Cannabis* envolvem uma cadeia logística longa e complexa. Na prática, isso implica que a droga apreendida em uma determinada região pode não ter sido cultivada no mesmo local. Portanto, ao somarmos processos físicos de plantio e coleta à degradação severa que o material sofre nas más condições de armazenamento, a assinatura química original da planta se torna inconsistente devido a perda de compostos característicos para o tipo de clima, solo e temperatura em que foi cultivada.

Esse comportamento evidencia uma limitação prática do uso do perfilamento químico global como ferramenta para a rastreabilidade geográfica de amostras de *Cannabis sativa*. Por outro lado, embora essa sensibilidade da planta e do material vegetal represente um grande impasse para a rastreabilidade no cenário forense, os resultados deste trabalho trazem uma perspectiva extremamente positiva e reveladora para

rastreabilidade no contexto de diferenciação entre amostras controle por amostras obtidas por meio de apreensão.

Figura 11- Heatmap e agrupamento hierárquico (HCA) das amostras de *Cannabis sativa* agrupadas segundo a origem geográfica (Capital, Fronteira, Interior e NI).



Nota: (A) heatmap (B) agrupamento hierárquico. As amostras foram agrupadas de acordo com os locais de apreensão, no caso das amostras apreendidas, e com os locais de cultivo, no caso das amostras controle.

Como o delineamento experimental incluiu, além das amostras apreendidas, indivíduos cultivados sob condições controladas pertencentes aos quimiovares LF e TR, foi possível contrapor o material ilícito aos indivíduos cultivados sob condições ideais e demonstrar que o cultivo em condições padronizadas favorece maior uniformidade dos perfis químicos. Isso fica evidente diante do perfil de compostos presentes no heatmap (figura 11) pois existe a presença mais acentuada de compostos em amostras controle, demonstrando um perfil mais integro. Observando em conjunto uma diminuição de compostos presentes em inflorescências e dos prensados de forma gradual e acentuada.

O que se observou é que, diante de boas práticas de manejo, a *Cannabis sativa* mostra-se quimicamente muito consistente. Como demonstrado nas análises multivariadas anteriores, as amostras provenientes da Associação Divina Flor apresentaram agrupamentos muito bem definidos, menor variabilidade intragrupo e uma excelente preservação tanto da fração canabinoide quanto da complexidade dos terpenos

voláteis. Esse comportamento reprodutível corrobora os achados da literatura, que atestam que o cultivo sob condições ambientais padronizadas e controladas é a estratégia mais eficaz para garantir a estabilidade do perfil metabólico da espécie (HAZEKAMP; FISCHEDICK, 2012).

Para as associações e entidades cujo foco é a padronização de processos produtivos para a obtenção de produtos medicinais, essa consistência é um achado significativo. Ela comprova na prática que a mesma ferramenta quimiométrica capaz de expor o nível de degradação de plantas provenientes do mercado ilícito serve, de forma inversa, como um rigoroso instrumento de controle de qualidade. Portanto, o *fingerprint* global atesta que, quando cultivada e armazenada de maneira adequada, a *Cannabis* oferece um perfil químico padronizável, requisito que é fundamental para garantir a segurança, a reprodutibilidade e a eficácia terapêutica dos extratos oferecidos aos pacientes.

Além de garantir a padronização e a reprodutibilidade dos extratos, o perfilamento global em matrizes bem conservadas também pode permitir a identificação de biomarcadores químicos importantes. Quando a planta é cultivada de forma contínua em condições específicas de uma região, sob a influência de um clima, solo e manejo particulares, ela desenvolve uma assinatura metabólica única, *terroir* (CHOUVY, 2023). Sem as interferências de processos agressivos de degradação, a quimiometria pode ser uma ferramenta para mapear esses biomarcadores. Dessa forma, a técnica não apenas pode atestar a qualidade do material vegetal e, consequentemente dos produtos derivados, como garantir a sua rastreabilidade e autenticidade, vinculando o medicamento diretamente à Associação e ao ambiente onde foi cultivado.

6. CONCLUSÕES

A *Cannabis sativa* apresenta grandes desafios de estudo devido a sua elevada complexidade química. Isso, associado à diversidade de fatores que influenciam sua composição, torna necessária a utilização de abordagens capazes de avaliar o perfil químico da planta de forma integrada. Nesse contexto, os resultados obtidos demonstraram que a combinação entre *fingerprint* cromatográfico por GC-MS em conjunto com análise multivariada mostrou-se uma ferramenta eficiente para caracterização e comparação de amostras em cenários reais.

A avaliação dos perfis revelou que a variabilidade química das amostras é fortemente influenciada pelo estado de conservação e pelo tipo físico do material, e não necessariamente pela sua origem. Ficou evidente que as amostras de TR e LF preservaram uma complexa rede de compostos voláteis, especialmente os sesquiterpenos. Em contrapartida, as amostras de material de inflorescência, e principalmente os prensados e exibiram um perfil mais empobrecido, marcado pela supressão quase total da fração terpênica. Diante dessa degradação agressiva, os fitocanabinoides como THC e sesquiterpenos de alta estabilidade, como o cariofileno confirmaram ser os marcadores mais persistentes e universais da espécie.

Apesar da degradação das amostras analisadas, a técnica apresentou sensibilidade suficiente para identificar o potencial discriminante de compostos específicos, revelando assinaturas químicas intrínsecas das linhagens. Foi possível, por exemplo, mapear o CBD como o grande responsável pela separação do grupo LF, e identificar um possível derivado canabinoide exclusivo em 20,715 min atuando como marcador único para a linhagem TR.

Em resposta à hipótese de rastreabilidade geográfica, os resultados evidenciaram uma limitação prática importante. A ausência de agrupamentos regionais bem definidos comprova que o severo trauma logístico do tráfico , envolvendo mistura de lotes e péssimo armazenamento se tornaram cruciais para a manutenção dos sinais presentes na primeira região considerada mais volátil apagando a assinatura territorial da planta. Na prática forense, o nível de degradação da amostra exerce uma força de agrupamento estatístico muito maior do que a região em que a semente germinou.

Por outro lado, o estudo entrega uma perspectiva altamente positiva para a rastreabilidade ligada a diferenciação entre amostras controladas cujo objetivo seja o setor medicinal e as amostras apreendidas pela polícia científica. Além disso, a avaliação das amostras cultivadas pela associação atestou que, sob condições controladas e ideais de manejo, a química da *Cannabis* é consistente e reprodutível. Nessas condições, a ferramenta quimiométrica aplicada neste estudo consolida-se não apenas como um método de diferenciação, mas como um rigoroso instrumento de controle de qualidade, capaz de ler o *terroir* da planta e garantir a padronização e a segurança dos extratos medicinais.

Observando pelo aspecto de limitação científica no presente estudo seria a impossibilidade de elucidação estrutural absoluta dos compostos minoritários apenas por GC-MS. O estudo direcionado aos compostos da região 1, terpenoides em específico,

podem favorecer ainda mais a detecção de compostos chave na diferenciação dos perfis químicos. Isso pode favorecer tanto os institutos forenses para uma análise mais robusta, quanto as associações que dependem de padronização e controle para produção de óleos e produtos medicinais.

Outro fator importante é que os materiais apreendidos podem possuir uma certa assinatura de degradação do material. O que pode se tornar uma ferramenta investigativa através da observação dos padrões de perda de compostos voláteis e oxidação, ou seja, a partir da ausência simultânea dos mesmos marcadores terpênicos, é possível afirmar com embasamento científico que elas podem pertencer ao mesmo lote original ou compartilham as mesmas rotas logísticas e de envelhecimento.

O método analítico aplicado necessitou de várias fontes para caracterização da matriz, uma vez que a identificação dos compostos não dependeu de uma única fonte, mas sim do cruzamento rigoroso entre bibliotecas espectrais (NIST/Wiley), índices de retenção da literatura e a confirmação por padrões analíticos certificados nas regiões cromatográficas de interesse. No entanto, a elucidação estrutural de moléculas potencialmente inéditas ou com características estruturais muito próximas, como o marcador canabinoide exclusivo descoberto no grupo TR, exigir uma análise mais direcionada. Para consolidar essa ferramenta na rotina pericial e superar a limitação analítica das bibliotecas de massas convencionais, sugere-se para trabalhos futuros a contínua expansão deste banco de dados com novas apreensões e o uso de espectrometria de alta resolução (HRMS) para a elucidação estrutural dos possíveis marcadores presentes neste estudo.

Além disso, propõe-se a expansão deste banco de dados através de um estudo colaborativo com outras associações de cultivo medicinal localizadas em regiões distintas. Essa análise conjunta permitirá delimitar os biomarcadores específicos de cada região, criando um mapa químico do *terroir* da *Cannabis* brasileira, o que fortalecerá tanto o controle de qualidade dos medicamentos quanto a precisão e o poder de comparação das investigações periciais.

7. REFERÊNCIAS

ADAMS, ROBERT P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.

AL BAKAIN, R. Z. et al. Comprehensive chromatographic profiling of cannabis from 23 USA States marketed for medical purposes. *Acta Chromatographica*, v. 33, n. 1, p. 78–90, 5 jun. 2020.

ANDRE, C. M.; HAUSMAN, J. F.; GUERRIERO, G. *Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules*. *Frontiers in Plant Science*, v. 7, p. 19, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019.

BENKIRANE, C.; MANSOURI, F.; RHAZI, L.; AYERDI GOTOR, A.; SERGHINI-CAID, H.; ELAMRANI, A.; ABID, M. Unraveling the genetic diversity of *Cannabis sativa* L.: Phenotypic and molecular assessment, drivers of variation, and implications. *Industrial Crops and Products*, v. 240, n. 122575, 2026. DOI: 10.1016/j.indcrop.2025.122575.

BERMAN, P.; FUTORAN, K.; LEVY, A.; MUKHA, D.; BENAMI, M.; SHOHAM, Y.; GOLANI, O.; SHENKAR, N.; GAFNI, Y.; MEIRI, D. A new ESI-LC/MS approach for comprehensive metabolic profiling of phytocannabinoids in cannabis. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 14280, 2018.

BIRENBOIM, M.; CHALUPOWICZ, D.; KENIGSBUCH, D.; SHIMSHONI, J. A. **Improved long-term preservation of Cannabis inflorescence by utilizing integrated pre-harvest hexanoic acid treatment and optimal post-harvest storage conditions.** *Plants*, Basel, v. 13, n. 7, p. 992, 2024. DOI: 10.3390/plants13070992.

BOOTH, J. K.; BOHLMANN, J. Terpenes in *Cannabis sativa* – From plant genome to humans. *Plant Science*, v. 284, p. 67–72, 2019. DOI: 10.1016/j.plantsci.2019.03.022.

BLEBEA, N. M.; PRICOPIE, A. I.; VLAD, R. A.; HANCU, G. Phytocannabinoids: exploring pharmacological profiles and their impact on therapeutic use. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 8, p. 4204, 2024. DOI: 10.3390/ijms25084204.

CAJIGAS, J. C.; GOKOOL, V. A.; HOLNESS, H. K.; FURTON, K. G.; DEGREEFF, L. E. Method development for an untargeted HS-SPME-GC-MS analysis of terpenes and cannabinoids for the geographical sourcing of marijuana. *Talanta Open*, v. 9, p. 100300, 2024. DOI: 10.1016/j.talo.2024.100300.

CERRATO, A.; BIANCOLILLO, A.; CANNAZZA, G.; CAVALIERE, C.; CITTI, C.; LAGUNÀ, A.; MARINI, F.; MONTANARI, M.; MONTONE, C. M.; PARIS, R.; VIRZÌ, N.; CAPRIOTTI, A. L. Untargeted cannabinomics reveals the chemical differentiation of industrial hemp based on the cultivar and the geographical field location. *Analytica Chimica Acta*, v. 1278, p. 341716, 2023. DOI: 10.1016/j.aca.2023.341716.

CHOUVY, P.-A. Why the concept of terroir matters for drug cannabis production. *GeoJournal*, v. 88, n. 1, p. 89–106, 2023. DOI: 10.1007/s10708-022-10591-x.

ELSOHLY, M. A.; RADWAN, M. M.; GUL, W.; CHANDRA, S.; GALAL, A. Phytochemistry of *Cannabis sativa* L. In: MÉRILLON, J.-M.; RAMAWAT, K. G. (ed.). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Cham: Springer, 2017. v. 103, p. 1–36. DOI: 10.1007/978-3-319-45541-9_1.

FISCHEDICK, J. T.; HAZEKAMP, A.; ERKELENS, T.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Metabolic fingerprinting of *Cannabis sativa* L., cannabinoids and terpenoids for chemotaxonomic and drug standardization purposes. *Phytochemistry*, v. 71, n. 17–18, p. 2058–2073, 2010.

FISCHEDICK, J. T. Identification of terpenoid chemotypes among high (–)-trans- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-producing *Cannabis sativa* L. cultivars. *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 2, n. 1, p. 34–47, 2017. DOI: 10.1089/can.2016.0040.

FORDJOUR, E.; MANFUL, C. F.; SEY, A. A.; JAVED, R.; PHAM, T. H.; THOMAS, R.; CHEEMA, M. Cannabis: a multifaceted plant with endless potentials. *Frontiers in Pharmacology*, v. 14, p. 1200269, 2023. DOI: 10.3389/fphar.2023.1200269.

GAGNÉ, S. J.; STOUT, J. M.; LIU, E.; BOUVIER-NAVÉ, P.; SHULGA, O.; DIXON, R. A. Identification of olivetolic acid cyclase from *Cannabis sativa* reveals a unique catalytic route to plant polyketides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 109, n. 31, p. 12811–12816, 2012.

GAO, B.; TIAN, Y.; SHI, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, J.; MAO, G. A novel method for monitoring of Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid and cannabidiolic acid thermal

decarboxylation reactions in cannabis plant. Research Square, preprint, dez. 2023. DOI: 10.21203/rs.3.rs-3756583/v1.

GOVINDARAJAN, R.; NAIR, K. P.; et al. *Impact of environmental conditions on phytochemical variability in Cannabis sativa*. Plants, v. 12, n. 5, p. 987, 2023. DOI: 10.3390/plants12050987.

HANUŠ, L. O.; MEYER, S. M.; MUÑOZ, E.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; APPENDINO, G. *Phytocannabinoids: a unified critical inventory*. Natural Product Reports, v. 33, n. 12, p. 1357–1392, 2016. DOI: 10.1039/c6np00074f.

HANUŠ, L. O.; HOD, Y. *Terpenes/Terpenoids in Cannabis: Are They Important?* Medical Cannabis and Cannabinoids, v. 3, n. 1, p. 25–60, 2021. DOI: 10.1159/000509733.

HAZEKAMP, A.; FISCHEDICK, J. T. Cannabis - from cultivar to chemovar. *Drug Testing and Analysis*, v. 4, n. 7-8, p. 660–667, 2012. DOI: 10.1002/dta.407.

JAIDEE, W.; SIRIDECHAKORN, I.; NESSOPA, S.; WISUITIPROT, V.; CHAIWANGRACH, N.; INKANINAN, K.; WARANUCH, N. Kinetics of CBD, Δ^9 -THC Degradation and Cannabinol Formation in Cannabis Resin at Various Temperature and pH Conditions. *Cannabis and Cannabinoid Research*, v. 7, n. 4, p. 537–547, 2022. DOI: 10.1089/can.2021.0004

JIN, D.; DAI, K.; XIE, Z.; CHEN, J. Secondary metabolites profiled in *Cannabis* inflorescences, leaves, stem barks, and roots for medicinal purposes. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, Article 3309, 2020. DOI: 10.1038/s41598-020-60172-6.

JURGA, M.; JURGA, A.; JURGA, K.; KAŻMIERCZAK, B.; KUŚMIERCZYK, K.; CHABOWSKI, M. Cannabis-based phytocannabinoids: overview, mechanism of action, therapeutic application, production, and affecting environmental factors. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 20, p. 11258, 2024. DOI: 10.3390/ijms252011258.

KEARSEY, L. J.; PRANDI, N.; KARUPPIAH, V.; YAN, C.; LEYS, D.; TOOGOOD, H.; TAKANO, E.; SCRUTTON, N. S. Structure of the *Cannabis sativa* olivetol-

producing enzyme reveals cyclization plasticity in type III polyketide synthases. *FEBS Journal*, v. 287, n. 8, p. 1511–1524, 2020. DOI: 10.1111/febs.15089.

LEWIS-BAKKER, M. M.; YANG, Y.; VYAWAHARE, R.; KOTRA, L. P. Extractions of medical cannabis cultivars and the role of decarboxylation in optimal receptor responses. *Cannabis and Cannabinoid Research*, New Rochelle, v. 4, n. 3, p. 183-194, 2019. DOI: 10.1089/can.2018.0067.

MARQUES, David; BOHNENBERGER, Marina. Enxugando o gelo do crime organizado: dez anos de apreensões de drogas no Brasil. In: FÓRUM BRASILEIRO DE SEGURANÇA PÚBLICA. *Anuário Brasileiro de Segurança Pública 2024*. 18. ed. São Paulo: Fórum Brasileiro de Segurança Pública, 2024. p. 264-269. Disponível em: <https://publicacoes.forumseguranca.org.br/items/f62c4196-561d-452d-a2a8-9d33d1163af0>. Acesso em: 10 jul. 2026.

MICALIZZI, G.; VENTO, F.; ALIBRANDO, F.; DONNARUMMA, D.; DUGO, P.; MONDELLO, L. *Cannabis sativa* L.: a comprehensive review on the analytical methodologies for cannabinoids and terpenes characterization. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 1637, p. 461864, 2021. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461864.

MORENO, T.; DYER, P.; TALLON, S. Cannabinoid Decarboxylation: A Comparative Kinetic Study. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, v. 59, n. 46, p. 20307–20315, 2020. DOI: 10.1021/acs.iecr.0c03791.

RUSSO, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, v. 163, n. 7, p. 1344-1364, 2011. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x.

SMITH, C. J.; VERVEER, J.; SMITH, A. R. The *phytochemical diversity of commercial Cannabis* in the United States. *PLOS ONE*, v. 17, n. 5, e0267498, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0267498.

SOMMANO, S. R.; CHITTASUPHO, C.; RUKSIRIWANICH, W.; JANTRAWUT, P. *The Cannabis Terpenes*. *Molecules*, v. 25, n. 24, p. 5792, 2020. DOI: 10.3390/molecules25245792.

SPADAFORA, N. D.; FELLETTI, S.; CHENET, T.; SIRANGELO, T. M.; CESCO, M.; CATANI, M.; DE LUCA, C.; STEVANIN, C.; CAVAZZINI, A.; PASTI, L. The influence of drying and storage conditions on the volatile and cannabinoid content of *Cannabis sativa* L. inflorescences. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 416, n. 18, 2024. DOI: 10.1007/s00216-024-05321-w.

TAURA, F.; TANAKA, S.; TAGUCHI, C.; FUKAMIZU, T.; TANAKA, H.; SHOYAMA, Y.; MORIMOTO, S. Characterization of olivetol synthase, a polyketide synthase putatively involved in cannabinoid biosynthetic pathway. *FEBS Letters*, v. 583, n. 12, p. 2061–2066, 2009. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.05.024.

TZIMAS, P. S.; BETEINAKIS, S.; PETRAKIS, E. A.; PAPASTYLIANOU, P. T.; KAKABOUKI, I.; SMALL-HOWARD, A. L.; SKALTSOUNIS, L. A.; HALABALAKI, M. Uncovering the metabolite complexity and variability of cultivated hemp (*Cannabis sativa* L.): A first phytochemical diversity mapping in Greece. *Phytochemistry*, v. 222, p. 114076, 2024. DOI: 10.1016/j.phytochem.2024.114076.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, Amsterdam, v. 11, p. 463–471, 1963. DOI: 10.1016/S0021-9673(01)80947-X

YANG, Y.; LEWANDOWSKA, U.; FAN, Z.; ZHU, J.; YUAN, J.; LI, P.; ZENG, R. Bioactive chemical composition of cannabis extracts and cannabinoid receptors. *Molecules*, v. 25, n. 18, p. 3937, 2020. DOI: 10.3390/molecules25183937.

YOUNAS, M.; QURESHI, R.; VELZEN, R. Van; MASHWANI, Z.-ur-R.; SAQIB, Z.; ALI, A.; REHMAN, S.; FARAH, M. A.; AL-ANAZI, K. M. Geo-climatic factors co-drive the phenotypic diversity of wild hemp (*Cannabis sativa* L.) in the Potohar Plateau and Lesser Himalayas. *BMC Plant Biology*, v. 24, n. 1031, 2024. DOI: 10.1186/s12870-024-05730-0

8.ANEXOS

Figura S1. Sobreposição dos cromatogramas dos brancos de etanol (EtOH) obtidos por GC-MS

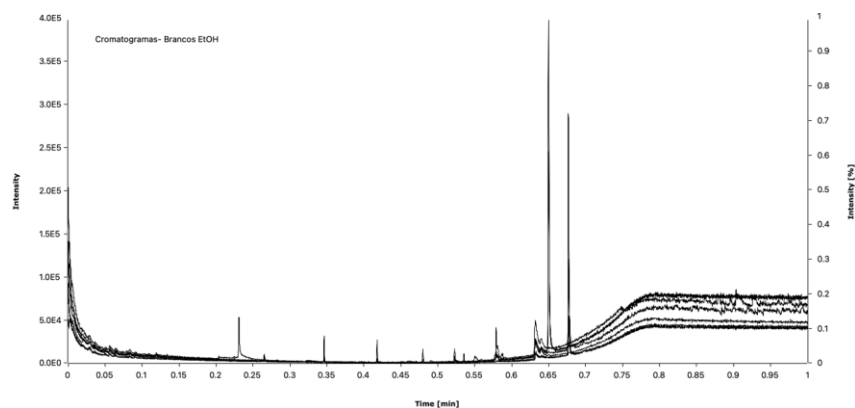


Figura S2. Cromatogramas do branco de CHCl_3 e dos padrões de n-alceno C8–C20 e C8–C40 utilizados na determinação dos índices de retenção lineares (LRI) para a identificação dos compostos detectados por GC-MS

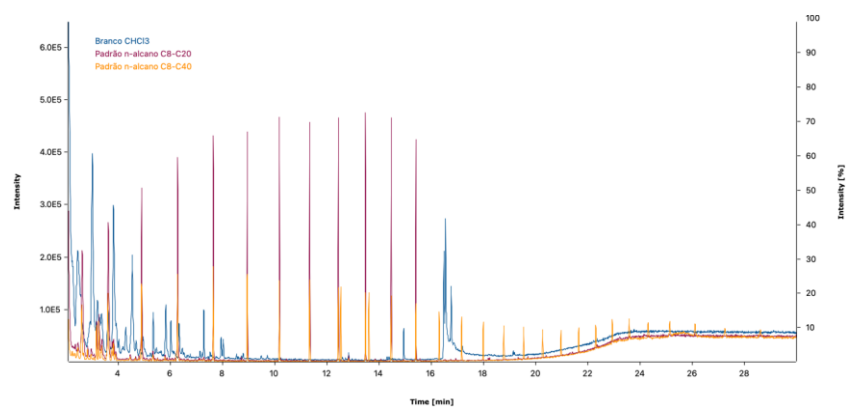


Figura S3. Cromatograma do padrão analítico de canabidiol (CBD) obtido por GC-MS

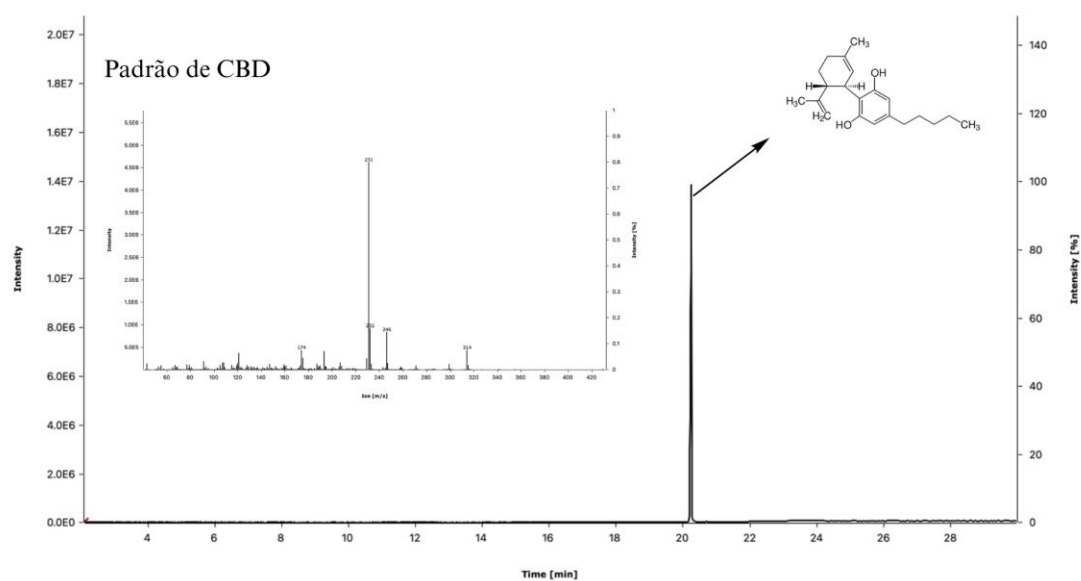
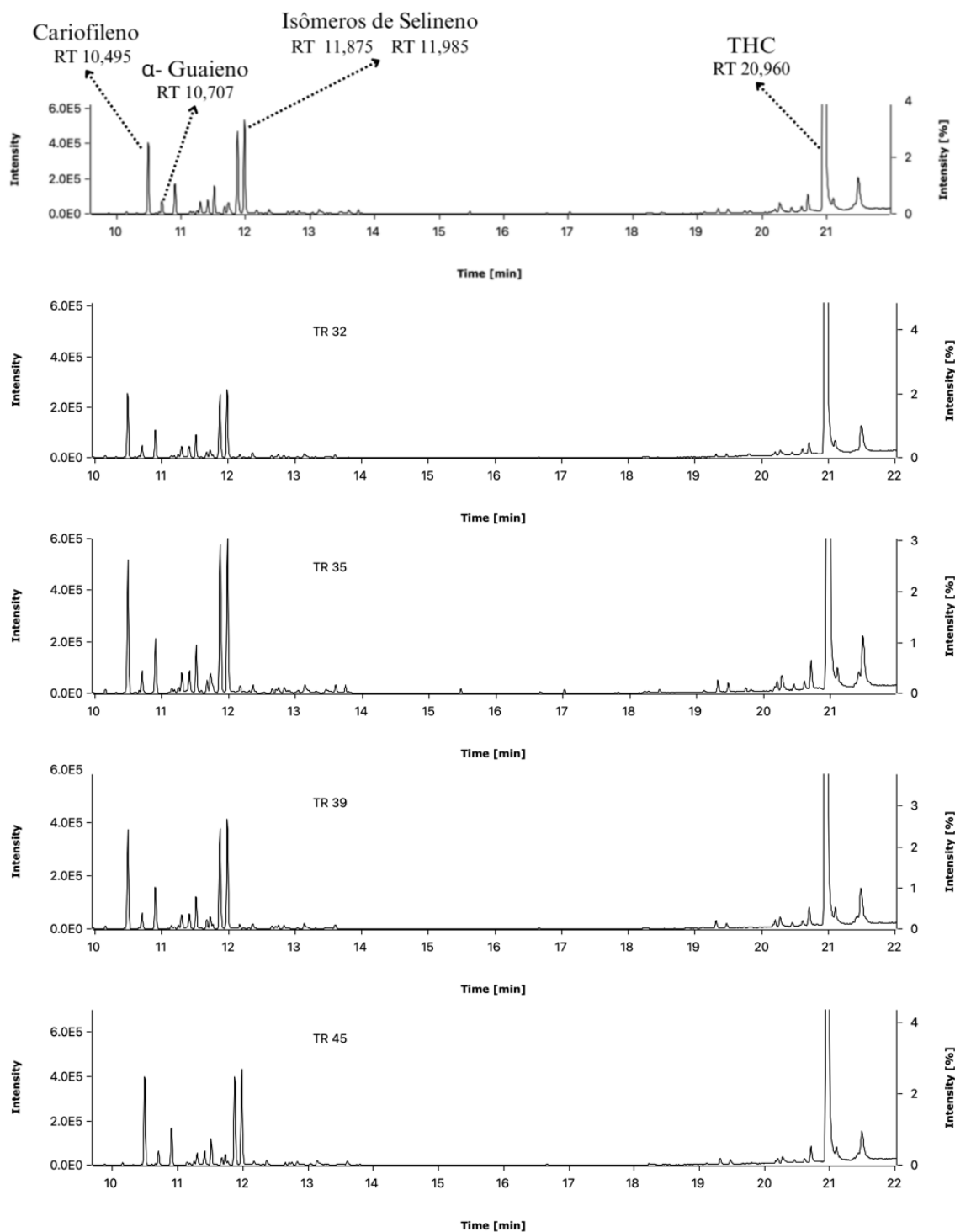
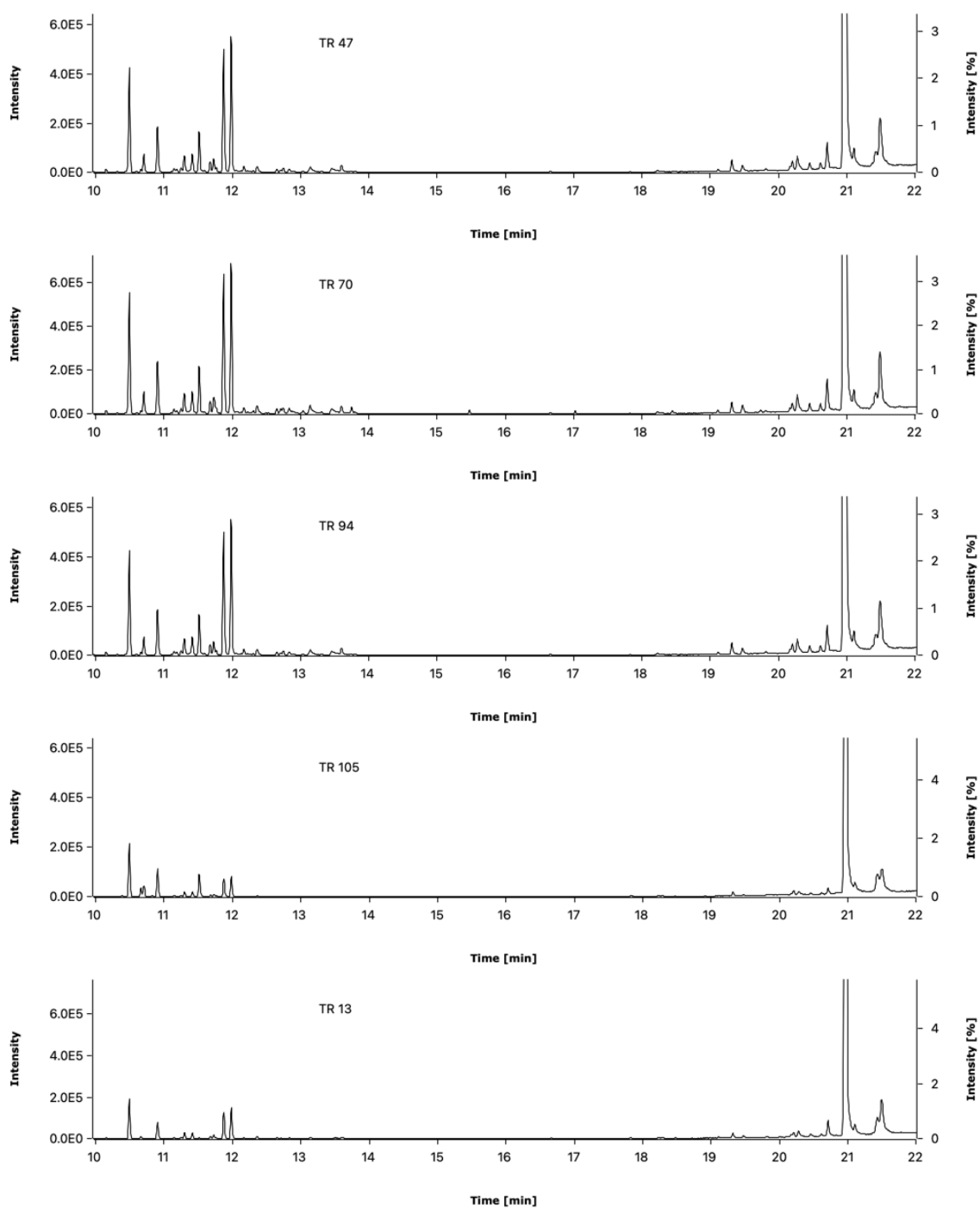


Figura S4. Perfis cromatográficos representativos das amostras controle do tipo TR de *Cannabis sativa* obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)





Nota: foram selecionados os 10 cromatogramas mais representativos de amostras controle TR com o objetivo de facilitar a visualização e comparação dos perfis químicos obtidos por GC-MS.

Tabela S1A. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras controle do tipo TR de *Cannabis sativa*.

RT	TR01 <i>área</i> (%)	TR03 <i>área</i> (%)	TR04 <i>área</i> (%)	TR06 <i>área</i> (%)	TR07 <i>área</i> (%)	TR103 <i>área</i> (%)	TR105 <i>área</i> (%)	TR11 <i>área</i> (%)	TR117 <i>área</i> (%)	TR13 <i>área</i> (%)
10.156	-	-	-	-	-	-	-	0,055	-	-
10.495	0,390	0,484	0,464	0,362	2,077	1,846	1,612	1,872	0,319	1,250
10.663	-	-	-	-	0,044	0,037	0,225	0,054	-	0,058
10.707	0,078	0,085	-	0,045	-	-	0,337	0,365	-	
10.907	0,162	0,153	0,147	0,115	0,850	0,760	0,842	0,815	0,113	0,546
11.003	-	-	-	-	0,268	0,240	0,146	-	0,039	-
11.151	-	-	-	-	-	0,036	-	0,097	-	-
11.191	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.252	-	-	-	-	0,054	0,043	-	0,087	-	0,042
11.301	-	-	-	-	0,181	0,142	-	0,379	0,101	0,203
11.416	-	-	-	-	0,189	0,156	0,154	0,491	0,116	0,202
11.517	0,121	0,148	0,104	0,092	0,085	0,064	0,677	0,752	-	-
11.594	-	-	-	-	-	0,033	-	-	-	-
11.679	-	-	-	-	-	-	0,064	0,220	-	-
11.681	-	-	-	-	0,158	0,135	-	-	0,071	0,083
11.731	-	-	-	-	-	-	-	0,505		
11.875	0,337	0,325	0,261	0,263	1,395	1,167	0,571	2,408	0,938	0,874
11.985	0,373	0,341	0,281	0,279	1,275	1,054	0,616	2,576	1,001	0,999
12.172	-	-	-	-	0,083	0,101	0,192	0,173	-	-
12.366	-	-	-	-	0,228	0,201	0,187	0,185		0,079
12.524	-	-	-	-	-	-	0,072	-	0,332	-

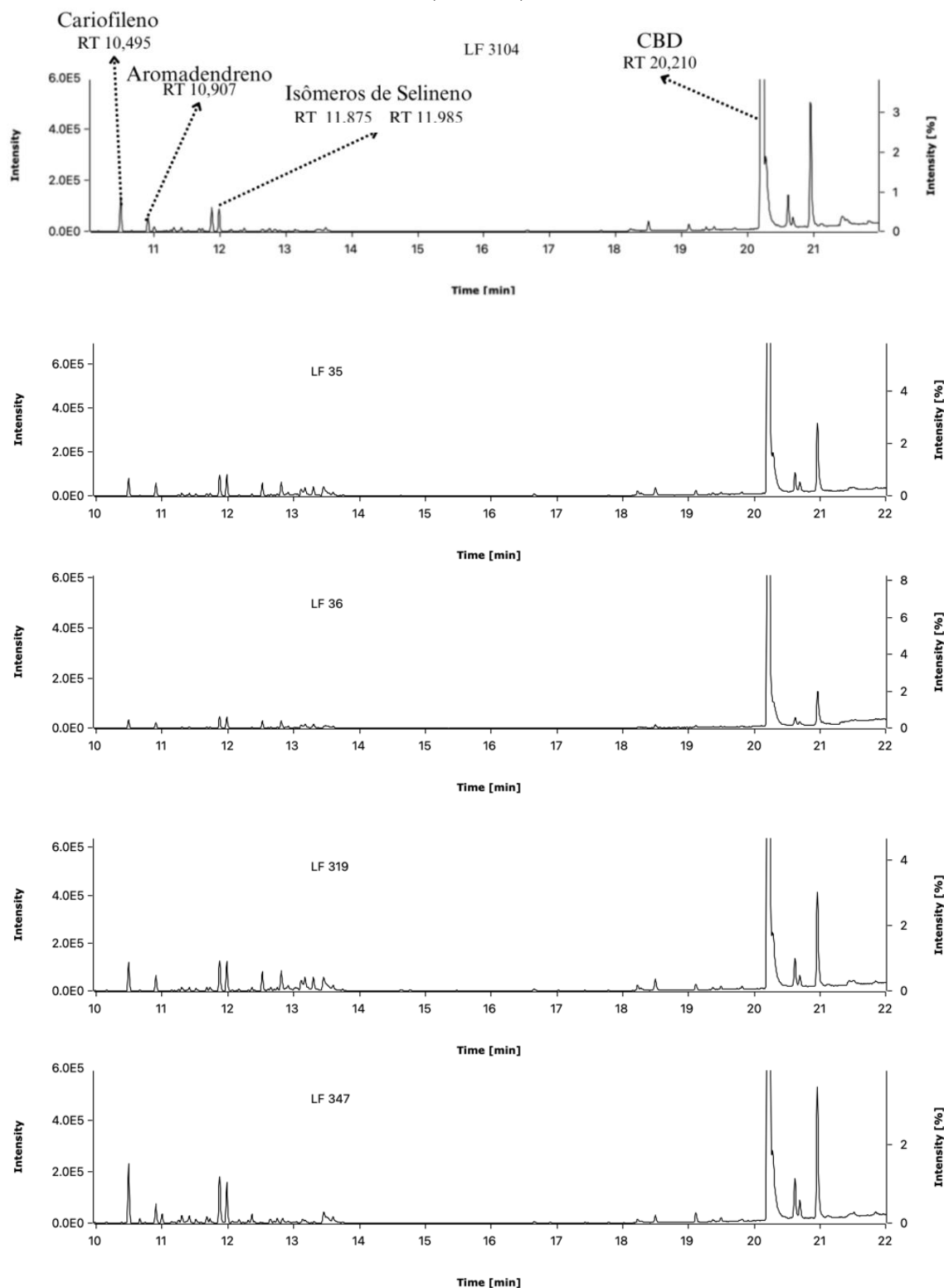
12.613	-	-	-	-	-	-	0,056	-	-	-
12.655	-	-	-	-	0,138	0,136	0,216	0,072	0,065	0,043
12.753	-	-	-	-	0,087	0,087	94,034	0,102	-	-
12.824	-	-	-	-	0,120	0,104	-	0,106	0,430	-
12.878	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.916	-	-	-	-	-	-	-	-	0,171	-
13.462	-	-	-	-	0,248	0,549	-	-	-	-
13.513	-	-	-	-	0,307	0,210	-	-	-	-
13.604	-	-	-	-	0,217	0,327	-	0,161	0,069	0,059
18.499	-	-	-	-	0,249	0,204	-	-	0,109	-
19.115	0,120	0,071	-	0,066	0,147	0,103	-	0,047	0,191	-
19.496	-	-	-	0,050	0,060	87,342	-	-	0,082	-
20.210	0,315	0,098	-	0,212	83,393	0,929	0,192	0,094	89,618	0,166
20.282	0,723	0,600	0,481	0,740	-	-	0,187	0,462	-	0,325
20.464	-	-	-	0,091	-	-	0,072	0,153	-	0,135
20.616	-	0,058	-	0,055	0,587	0,394	0,056	0,183	1,098	0,097
20.694	-	-	-	-	0,444	-	-	-	0,319	-
20.715	-	-	-	-	-	-	0,216	0,557	-	0,630
20.960	97,381	97,638	98,263	97,630	7,113	3,553	94,034	87,029	3,781	94,210

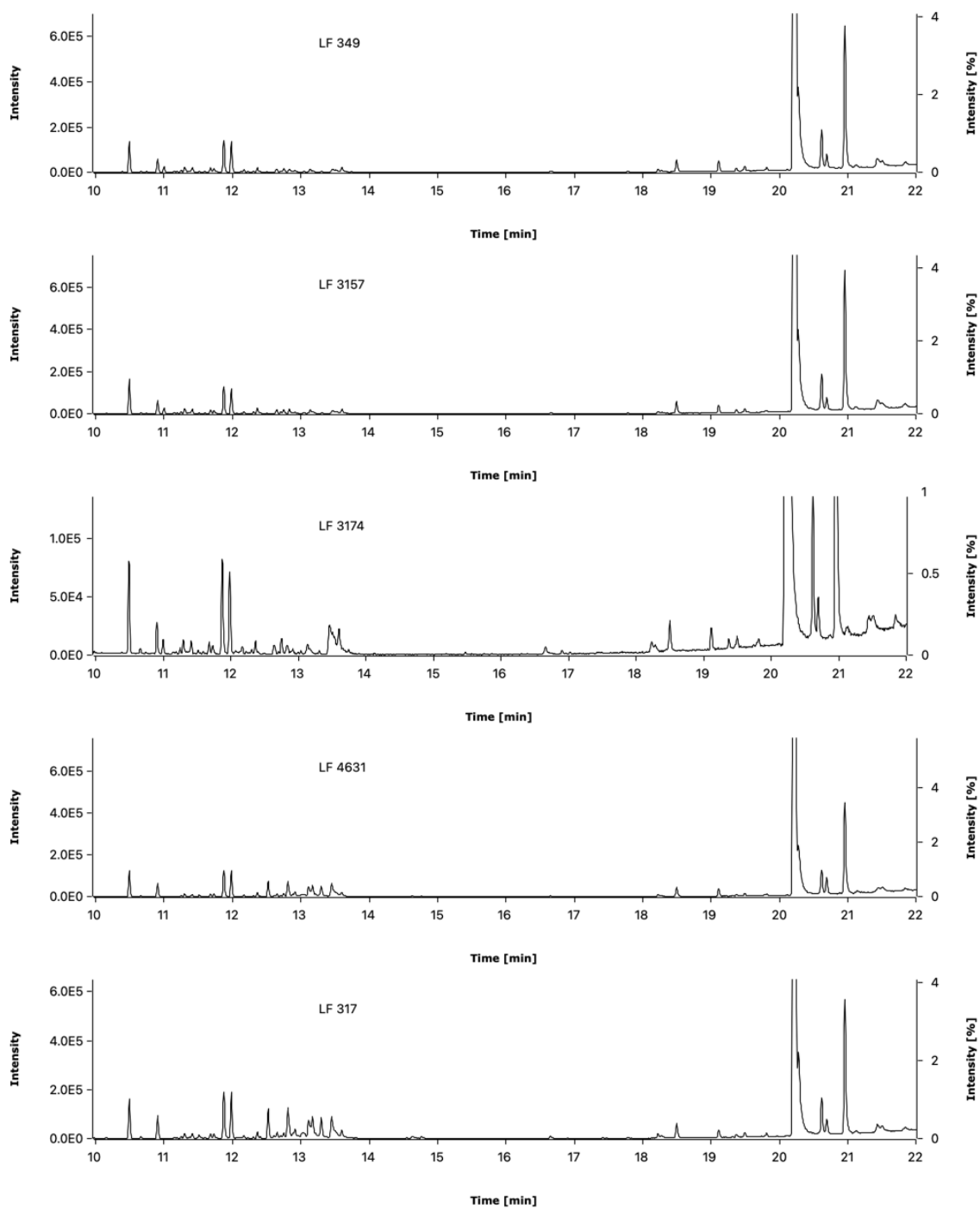
Tabela S1B. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras controle do tipo TR de *Cannabis sativa*

RT	TR15 área (%)	TR32 área (%)	TR35 área (%)	TR39 área (%)	TR45 área (%)	TR47 área (%)	TR70 área (%)	TR71 área (%)	TR88 área (%)	TR94 área (%)
10.156	-	0,047	0,051	0,045	0,046	0,048	0,046	-	-	0,037
10.495	1,353	1,626	1,745	1,668	1,864	1,881	1,827	1,348	0,599	1,491
10.663	-	-	0,029	0,027	0,029	0,033	0,046	0,033	0,122	0,037
10.707	-	0,330	0,311	0,275	0,299	0,313	0,342			0,267
10.907	0,572	0,712	0,762	0,729	0,805	0,820	0,832	0,577	0,262	0,663
11.003	0,177	-	-	-	-	-	-	0,221	-	-
11.151	-	0,080	0,077	0,064	0,075	0,092	0,085	0,038	-	0,063
11.191	-	-	0,047	0,039	0,045	0,047	0,053		-	0,037
11.252	-	0,071	0,079	0,069	0,077	0,081	0,088	0,042	0,043	0,068
11.301	0,120	0,319	0,310	0,281	0,286	0,309	0,357	0,142	0,123	0,281
11.416	0,126	0,386	0,407	0,346	0,381	0,380	0,457	0,160	0,127	0,333
11.517	-	0,608	0,654	0,569	0,592	0,641	0,743	0,071	-	0,609
11.594	-	-	0,042	-	-	0,039	0,046	0,031	-	-
11.679	-	0,159	0,188	0,166	0,173	0,182	0,199	-	0,075	0,172
11.681	0,110	-	-	-	-	-	-	0,122	-	-
11.731	0,115	-	-	-	-	-	-	-	-	0,204
11.875	0,975	1,680	2,075	1,868	1,965	1,968	2,278	1,034	0,519	1,895
11.985	0,891	1,725	2,157	1,876	2,048	2,024	2,307	0,901	0,481	1,986
12.172	-	0,072	0,146	0,089	0,110	0,144	0,152	0,065	-	0,101
12.366	0,156	0,164	0,148	0,121	0,142	0,141	0,178	0,187	0,044	0,114
12.524	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

12.613	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.655	0,116	0,065	0,063	0,047	0,058	0,056	0,075	0,149	-	0,043
12.753	0,072	0,088	0,092	0,065	0,086	0,090	0,111	0,103	-	0,075
12.824	0,064	0,076	0,094	0,055	0,099	0,085	0,118	0,147	-	0,060
12.878	-	-	0,027	-	-	-	-	0,031	-	-
12.916	-	-	0,041	-	-	0,086		0,077	-	-
13.462	-	-	0,112	0,049	-	0,126	0,201	0,635	-	0,164
13.513	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13.604	0,133	0,070	0,134	0,103	0,106	0,129	0,147	0,199	-	0,144
18.499	0,222	-	-	-	-	-	-	0,331	-	-
19.115	0,160	-	0,033			0,030	0,043	0,197	-	-
19.496	-	-	-	-	-	-	-		-	-
20.210	89,756	0,142	0,155	0,132	0,110	0,326	0,156	88,013	0,863	0,164
20.282	-	0,281	0,335	0,270		0,409	0,389	-	0,315	0,327
20.464	-	0,103	0,097	0,077	0,068	0,108	0,142	-	0,168	0,113
20.616	0,807	0,193	0,141	0,131	0,098	0,160	0,139	0,950	0,057	0,126
20.694	0,483	-	-	-	-	-	-	0,378	-	-
20.715	-	0,375	0,497	0,418	0,418	0,520	0,609	-	-	0,458
20.960	3,592	90,625	88,952	90,421	90,021	88,732	87,802	3,817	96,201	89,968

Figura S5. Perfis cromatográficos representativos das amostras controle do tipo LF de *Cannabis sativa* obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)





Nota: foram selecionados os 10 cromatogramas mais representativos de amostras controle LF com o objetivo de facilitar a visualização e comparação dos perfis químicos obtidos por GC-MS.

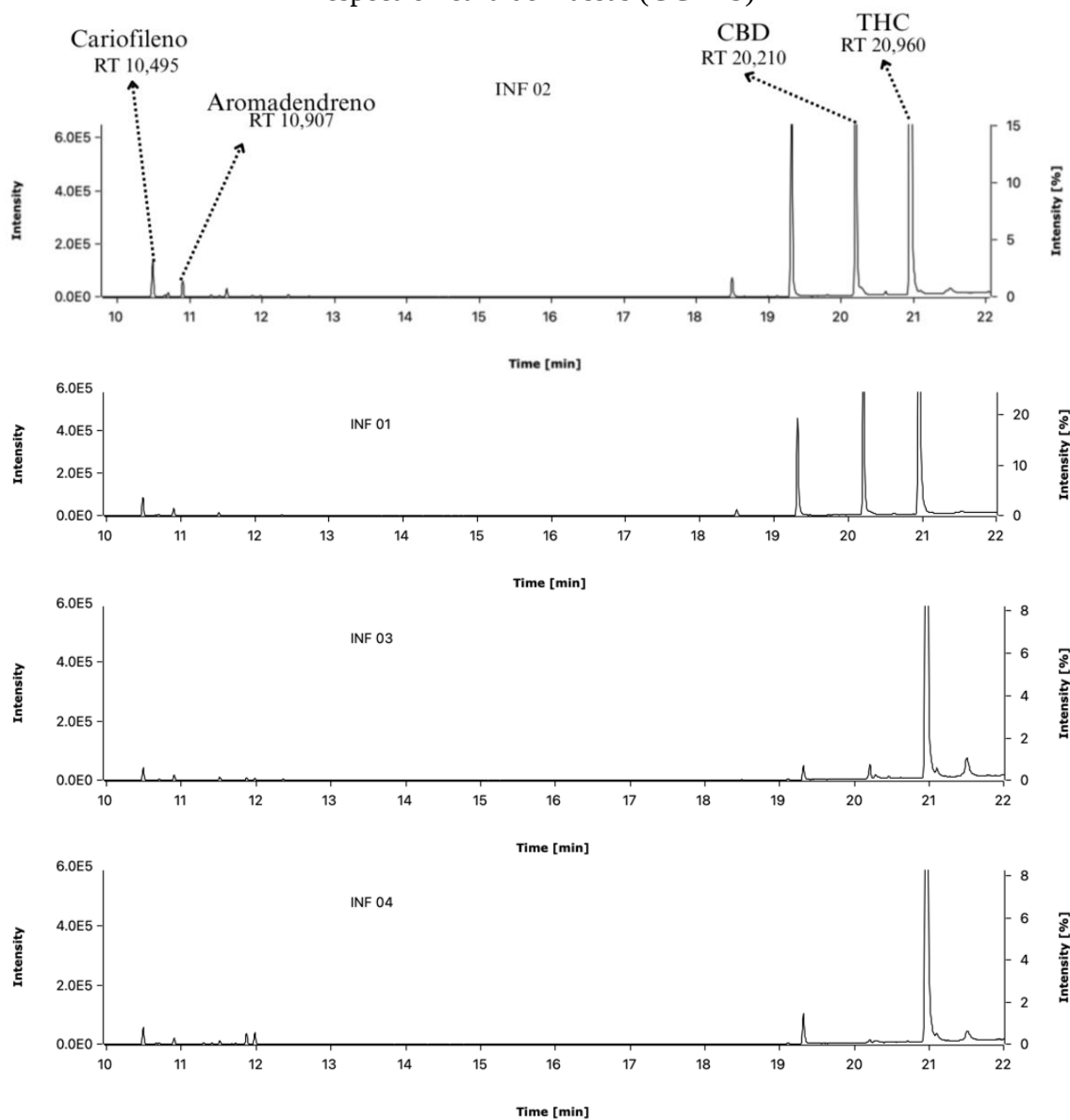
Tabela S3. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras controle do tipo LF de *Cannabis sativa*

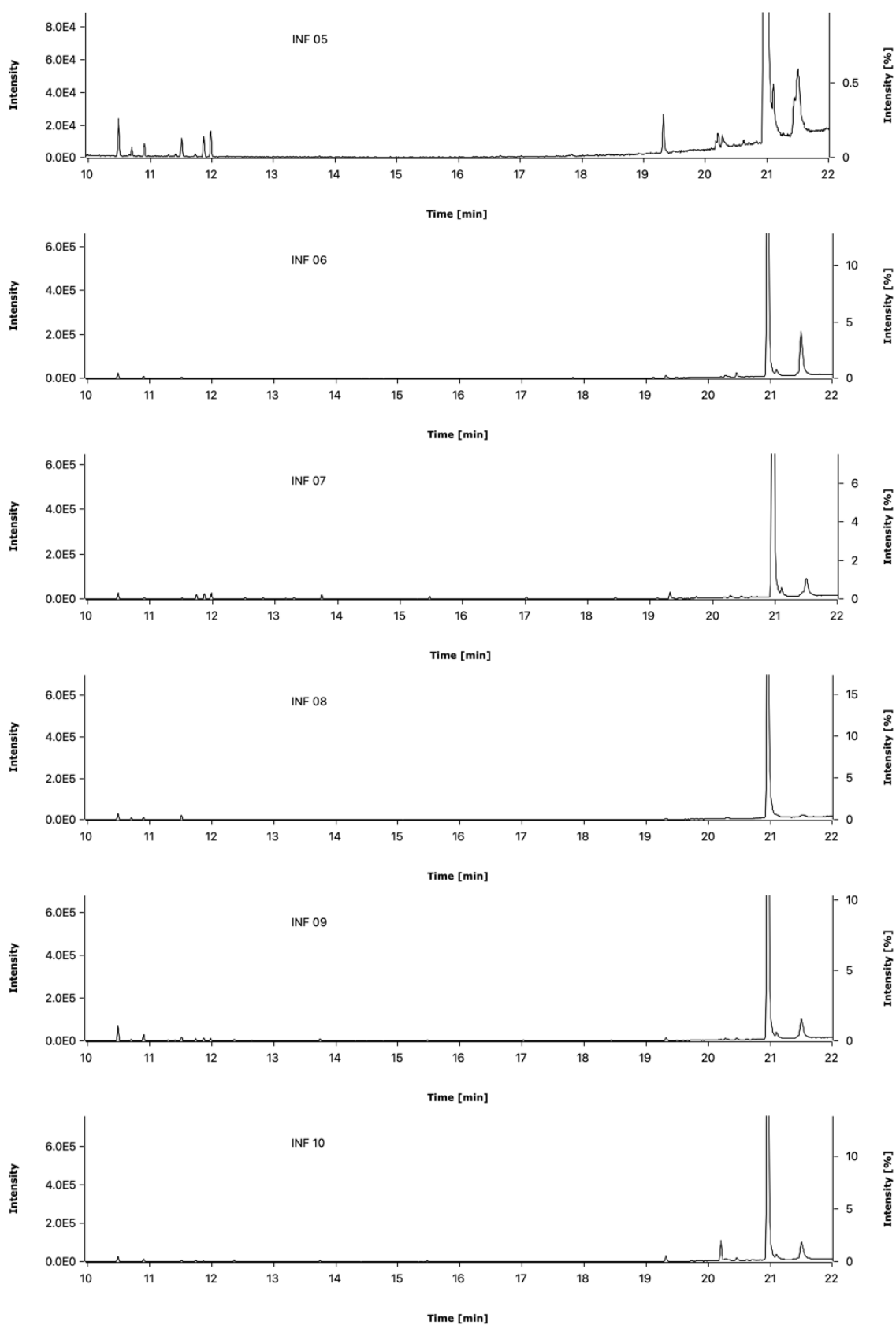
RT	LF 3104 área (%)	LF 3157 área (%)	LF 317 área (%)	LF 3174 área (%)	LF 319 área (%)	LF 347 área (%)	LF 349 área (%)	LF 35 área (%)	LF 36 área (%)	LF 4631 área (%)
10.495	0,709	0,679	0,763	0,445	0,692	1,116	0,590	0,567	0,414	0,685
10.663	-	-	0,029	-	-	0,071	-	-	-	-
10.907	0,283	0,274	0,442	0,158	0,383	0,368	0,265	0,412	0,299	0,377
11.003	0,091	0,122	-	0,071	-	0,176	0,115	0,094	-	0,078
11.252	-	0,033	0,040	-	0,038	0,060	0,034	-	-	-
11.301	0,088	0,117	0,115	0,074	0,095	0,174	0,115	-	-	-
11.416	0,071	0,099	0,140	0,067	0,083	0,211	0,135	0,114	-	0,102
11.517	-	-	0,105	-	0,074	0,070	-	0,059	-	0,062
11.679	-	-	0,100	-	-	-	-	-	-	0,080
11.681	0,058	0,076	-	0,058	0,083	0,131	0,094	0,079	-	-
11.731	-	-	0,108	-	-	-	-	-	-	-
11.875	0,515	0,583	0,993	0,510	0,821	1,027	0,667	0,746	0,593	0,797
11.985	0,451	0,511	0,873	0,403	0,727	0,781	0,599	0,672	0,546	0,710
12.172	0,039	0,048	0,053	0,050	0,049	0,084	0,059	0,056	-	0,050
12.366	0,073	0,125	0,125	0,047	0,091	0,160	0,067	0,056	-	0,092
12.524	-	-	0,595	-	0,482	-	-	0,411	0,370	0,407
12.613	-	-	0,057	-	0,046	-	-	-	-	-
12.655	0,060	0,102	0,140	0,061	0,099	0,106	0,078	-	-	0,087

12.753	0,073	0,102	0,125	0,092	0,087	0,117	0,090	0,088	-	0,085
12.824	0,059	0,128	0,780	0,070	0,593	0,149	0,098	0,529	0,440	0,529
12.916	-	0,053	0,318	-	0,244	0,068	0,055	0,150	-	0,151
13.116	-	-	0,509	-	0,357	-	-	0,293	0,233	0,360
13.172	-	-	0,569	-	0,435	-	-	0,370	0,406	0,485
13.302	-	-	0,566	-	0,475	-	-	0,425	0,340	0,397
13.462	-	0,199	0,873	0,256	0,833	0,564	0,122	0,740	-	0,790
13.513	-	-	-	0,196	-	-	0,079	-	0,106	-
13.604	0,075	0,107	0,238	0,207	0,206	0,204	0,140	0,171	-	0,183
14.632	-	-	0,074	-	-	-	-	-	-	-
14.769	-	-	0,054	-	-	-	-	-	-	-
18.499	-	0,298	0,314	0,211	0,349	0,163	0,298	0,375	0,167	0,303
19.115	0,147	0,155	0,157	0,123	0,152	0,204	0,200	0,147	0,086	0,194
19.496	0,093	0,107	0,091	0,068	0,105	0,095	0,101	0,080	-	0,092
20.210	92,771	91,570	86,320	92,475	88,374	89,314	91,439	89,196	92,705	88,501
20.616	0,848	0,883	0,855	0,891	0,756	0,936	0,907	0,799	0,519	0,775
20.694	0,297	0,343	0,383	0,283	0,340	0,482	0,376	0,451	0,334	0,546
20.960	3,199	3,285	3,097	3,183	2,932	3,169	3,277	2,921	2,442	3,084

Nota: foram incluídos apenas os picos cromatográficos relevantes para a comparação entre as amostras, considerando a recorrência dos sinais, a área relativa (%) e a confiabilidade da identificação espectral. Picos de baixa intensidade e possíveis interferentes foram excluídos para facilitar a interpretação dos perfis químicos obtidos.

Figura S6. Perfis cromatográficos representativos das amostras de inflorescências apreendidas de *Cannabis sativa* obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS)





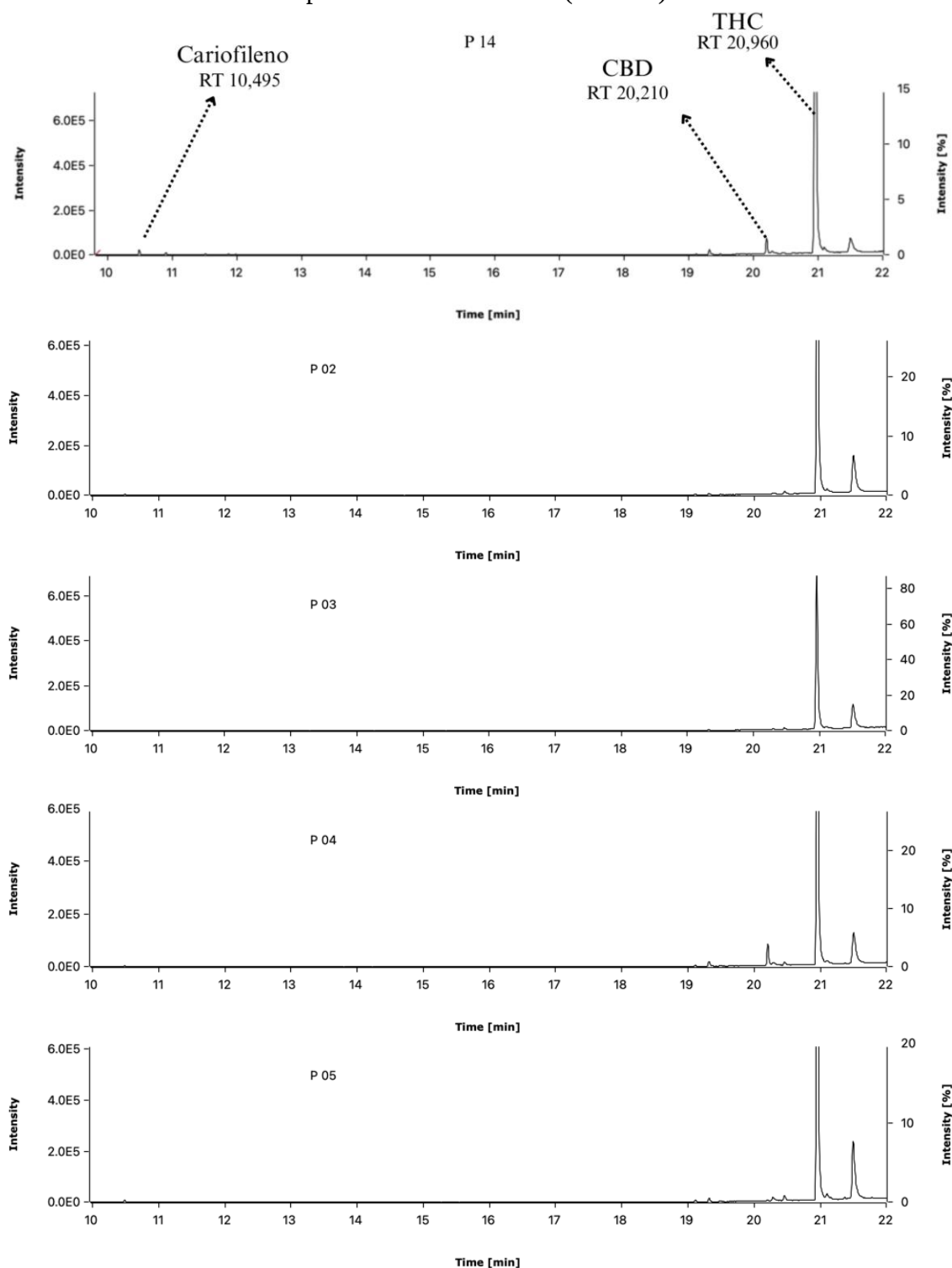
Nota: foram selecionados os 10 cromatogramas mais representativos das inflorescências apreendidas com o objetivo de facilitar a visualização e comparação dos perfis químicos obtidos por GC-MS

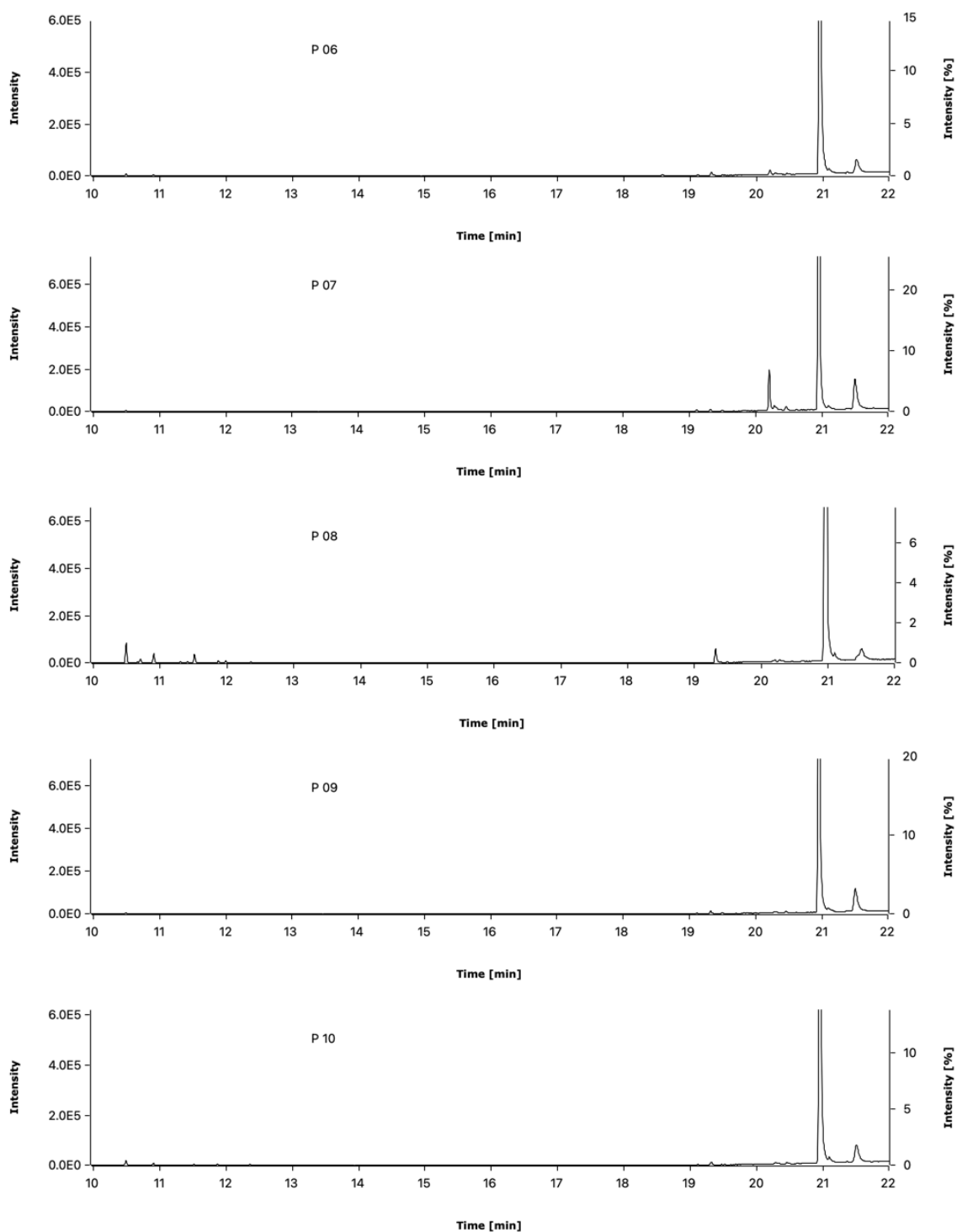
Tabela S4. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras de inflorescências apreendidas de *Cannabis sativa*.

RT	INF1 área (%)	INF2 área (%)	INF3 área (%)	INF4 área (%)	INF5 área (%)	INF6 área (%)	INF7 área (%)	INF8 área (%)	INF9 área (%)	INF10 área (%)	INF11 área (%)	INF12 área (%)	INF13 área (%)	INF14 área (%)
10.495	2,276	2,107	0,501	0,688	0,197	0,417	0,266	0,631	0,951	0,465	0,980	0,481	1,112	1,149
10.663	-	0,130	-	-	-	-	-	-	-	-	0,081	-	-	-
10.707	0,228	0,224	-	-	-	-	-	0,195	0,105	-	0,193	-	0,203	0,137
10.907	0,984	0,951	0,226	0,287	0,063	0,157	0,093	0,223	0,407	0,206	0,383	0,155	0,462	0,484
11.301	-	0,090	-	-	-	-	-	-	-	-	0,069	-	-	-
11.416	-	-	-	0,081	-	-	-	-	-	-	-	-	0,085	-
11.517	-	0,531	0,129	0,145	0,102	-	-	0,476	0,267	0,103	0,451	-	0,537	0,369
11.594	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.875	-	0,113	0,096	0,491	0,121	-	0,244	-	0,193	-	0,137	0,324	-	0,330
11.985	-	0,090	0,084	0,505	0,149	-	0,267	-	0,174	-	0,083	0,386	-	0,272
12.172	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12.366	-	0,169	-	-	-	-	-	-	0,134	0,146	0,073	-	0,080	-
12.524	-	-	-	-	-	-	0,077	-	-	-	-	0,100	-	-
12.824	-	-	-	-	-	-	0,090	-	-	-	-	0,128	-	-
13.302	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,097	-	-
18.499	1,012	1,284	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.210	23,521	25,316	0,699	0,174	0,100	-	-	-	-	2,006	0,094	-	-	-
20.282	-	-	0,324	0,185	0,127	0,220	0,125	-	0,167	-	0,272	0,190	0,281	-
20.464	-	-	0,084	-	-	0,452	0,092	-	0,131	0,324	-	-	-	-
20.616	-	0,225	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.715	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,178	-
20.960	71,482	68,769	97,857	97,444	99,140	98,754	98,746	98,475	97,472	96,750	97,184	98,138	97,063	97,259

Nota: foram incluídos apenas os picos cromatográficos relevantes para a comparação entre as amostras, considerando a recorrência dos sinais, a área relativa (%) e a confiabilidade da identificação espectral. Picos de baixa intensidade e possíveis interferentes foram excluídos para facilitar a interpretação dos perfis químicos obtidos.

Figura S7. Perfis cromatográficos representativos das amostras de prensados apreendidos de *Cannabis sativa* obtidos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).





Nota: foram selecionados os 10 cromatogramas mais representativos de prensados apreendidos com o objetivo de facilitar a visualização e comparação dos perfis químicos obtidos por GC-MS.

Tabela S5A. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras de prensados apreendidos de *Cannabis sativa*.

RT	P02 área (%)	P03 área (%)	P04 área (%)	P05 área (%)	P06 área (%)	P07 área (%)	P08 área (%)	P09 área (%)	P10 área (%)	P11 área (%)	P12 área (%)	P13 área (%)
10.495	-	-	-	0,181	0,202	-	0,846	-	0,370	0,241	0,643	-
10.707	-	-	-	-	-	-	0,148	-	-	-	-	-
10.907	-	-	-	-	-	-	0,382	-	0,146	-	0,192	-
11.517	-	-	-	-	-	-	0,370	-	-	-	-	-
11.875	-	-	-	-	-	-	0,107	-	-	-	0,305	-
11.985	-	-	-	-	-	-	0,081	-	-	-	0,360	-
19.115	-	-	-	0,229	-	0,256	-	-	-	-	-	-
20.210	-	-	3,773	-	0,533	6,312	0,146	-	-	-	2,181	-
20.282	-	-	-	0,757	0,381	1,625	0,182	-	0,263	-	-	-
20.464	0,672	1,077	0,686	0,745	-	0,767	-	0,256	-	0,656	-	2,080
20.616	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.715	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20.960	99,328	98,923	95,541	98,087	98,883	91,040	97,739	99,744	99,221	99,103	96,318	97,920

Nota: valores expressos em porcentagem de área relativa (%). A Tabela S4A, referente às amostras de prensado de P02 a P13.

Tabela S5B. Distribuição relativa dos picos cromatográficos selecionados em amostras de prensados apreendidos de *Cannabis sativa*

RT	P14 área (%)	P15 área (%)	P16 área (%)	P17 área (%)	P18 área (%)	P19 área (%)	P20 área (%)	P21 área (%)	P22 área (%)	P23 área (%)	P24 área (%)	P25 área (%)
10.495	0,399	-	0,640	0,341	0,222	0,162	0,808	1,159	0,126	0,493	0,310	0,431
10.707	-	-	-	-	-			-	-	-		
10.907	0,178	-	0,272	-	-			-	-	-	0,126	0,176
11.517	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,143
11.875	-	-	-	-	-	-	-	-	0,089	-	-	0,126
11.985	-	-	-	-	-	-	-	-	0,087	-	-	0,119
19.115	-	-	-	-	-	0,144	0,599	-	0,114	-	-	-
20.210	1,479	-	1,403	0,255	-			-	-	-	-	-
20.282	0,494	-	-	0,748	-	0,628	-	3,276	0,703	-	0,258	0,178
20.464	-	29,441	-	1,829	1,771	2,220	13,849	46,966	1,323	-	0,243	
20.616	-	-	-	-	-	0,157			-	-	-	-
20.715	-	-	-	-	-				0,328	-	-	
20.960	97,450	70,559	97,685	96,826	98,007	96,689	84,744	48,599	97,230	99,507	99,063	98,827

Nota: valores expressos em porcentagem de área relativa (%). A Tabela S4B, referente às amostras de prensado de P14 a P25

Tabela S6. Compostos detectados por GC-MS nas amostras de Cannabis e respectivos índices de retenção lineares experimentais (LRI_{experimental}) comparados com valores descritos na literatura (Adams, 2007)

<i>RT (min)</i>	<i>RI Exp.</i>	<i>RI Lit.</i>	<i>Classe Química</i>	<i>Composto</i>	<i>Fórmula Molecular</i>	<i>m/z Base</i>	<i>Match</i>
10,156	1391	-	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Sesquiterpeno hidrocarbonado não identificado	C ₁₅ H ₂₄	108	-
10,495	1427	1419	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	93	956
10,663	1436	1434	Sesquiterpeno hidrocarbonado	trans- α -Bergamotene	C ₁₅ H ₂₄	93	894
10,707	1440	1439	Sesquiterpeno hidrocarbonado	α -Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	105	913
10,907	1459	1462	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Aromadendrane <dehydro>	C ₁₅ H ₂₄	93	834
11,003	1468	1465	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Muurola-4(14),5-diene (cis-)	C ₁₅ H ₂₄	161	-
11,151	1482	-	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Sesquiterpeno hidrocarboneto não identificado	C ₁₅ H ₂₄	93	-
11,191	1486	-	Sesquiterpeno hidrocarbonado	sesquiterpeno hidrocarbonado não identificado	C ₁₅ H ₂₄	105	-
11,252	1492	1490	Sesquiterpeno hidrocarbonado	β -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	189	857
11,301	1496	1495	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Cadina-1,4-diene <cis->	C ₁₅ H ₂₄	119	922
11,416	1507	1498	Sesquiterpeno hidrocarbonado	α -Selinene	C ₁₅ H ₂₄	189	915
11,517	1516	1515	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Bisabolelle «Z» -y-> (proposto)	C ₁₅ H ₂₄	107	949
11,594	1523	1522	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Selinene <7-epi- α ->	C ₁₅ H ₂₄	161	680
11,679	1531	1531	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Dauca-4(11),8-diene	C ₁₅ H ₂₄	121	840
11,731	1535	1534	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Cadina-1,4-Diene (trans)	C ₁₅ H ₂₄	161	-
11,875	1549	1546	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Selina-3,7(11) -diene (tentativa)	C ₁₅ H ₂₄	161	896
11,985	1559	1546	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Selinene Isômero	C ₁₅ H ₂₄	161	923
12,172	1576	-	Sesquiterpeno hidrocarbonado	Sesquiterpeno hidrocarbonado não identificado	C ₁₅ H ₂₄	204	860
12,366	1593	1583	Sesquiterpeno oxigenado	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	79	787
12,524	1608	1600	Sesquiterpeno oxigenado	Guaiol	C ₁₅ H ₂₄ O	161	884
12,613	1617	1616	Sesquiterpeno oxigenado	Derivado de Himachaleno (sesquiterpeno oxigenado)	C ₁₅ H ₂₄ O	161	625
12,655	1621	1608	Sesquiterpeno oxigenado	Derivado oxigenado de humuleno	C ₁₅ H ₂₄ O	109	708
12,753	1630	1636	Sesquiterpeno oxigenado	Cadin-4-En-7-ol (tentativo)	C ₁₅ H ₂₄ O	43	673

12,824	1637	1640	Sesquiterpeno oxigenado	Cadinol<epi-a->	C ₁₅ H ₂₆ O	189	-
12,878	1642	-	Sesquiterpeno oxigenado	Sesquiterpeno oxigenado não identificado	C ₁₅ H ₂₄ O	59	-
12,916	1646	1646	Sesquiterpeno oxigenado	Cubenol	C ₁₅ H ₂₄ O	161	784
13,116	1665	-	Sesquiterpeno oxigenado	Álcool sesquiterpênico (azulenemethanol derivado)	C ₁₅ H ₂₄ O	59	806
13,172	1670	1663	Sesquiterpeno oxigenado	Isômero de Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	149	903
13,302	1683	1671	Sesquiterpeno oxigenado	Bulnesol (tentativo)	C ₁₅ H ₂₆ O	107	832
13,462	1698	1698	Sesquiterpeno oxigenado	α-Bisabolol	C ₁₅ H ₂₄ O	109	911
13,513	1703	-	Sesquiterpeno oxigenado	Sesquiterpeno oxigenado não identificado	C ₁₅ H ₂₄ O	109	-
13,604	1713	1700	Sesquiterpeno oxigenado	Eudesm-7(11)-en-4-ol (Juniper camphor)	C ₁₅ H ₂₄ O	43	824
14,632	1817	-	Sesquiterpeno oxigenado	Sesquiterpeno oxigenado não identificado	C ₁₅ H ₂₄ O	149	-
14,769	1832	-	Sesquiterpeno oxigenado	Sesquiterpeno oxigenado não identificado	C ₁₅ H ₂₄ O	149	-
18,499	2263	-	Cannabinoide	Cannabidivarin-type cannabinoid (CBDV/CBDVL)	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	203	867
19,115	2343	-	Cannabinoide	Cannabicitran	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	231	758
19,496	2394	-	Cannabinoide	Cannabichromene (CBC)	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	231	773
20,21	2491	-	Cannabinoide	Cannabidiol	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	231	957
20,282	2501	-	Cannabinoide	Cannabichromene / Cannabicyclol (CBC/CBL)	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	231	890
20,464	2527	-	Cannabinoide	Cannabicoumaronone	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	286	745
20,616	2549	-	Cannabinoide	Δ ⁹ -THC isomer	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	299	905
20,694	2560	-	Cannabinoide	Cannabielsoin (CBE)	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	205	617
20,715	2563	-	Cannabinoide	Unidentified cannabinoid derivative	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	207	837
20,96	2597	-	Cannabinoide	Δ ⁹ -Tetrahydrocannabinol	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	299	916

Nota: os índices de retenção lineares experimentais (LRI_{exp}) dos compostos terpênicos foram comparados com valores descritos por Adams (2007), enquanto a atribuição tentativa dos canabinoides foi realizada por comparação entre espectros de massas, comportamento cromatográfico.